

DAYANA ALVES RODRIGUES

**COMPOSTOS FENÓLICOS DO BACUPARI (*Garcinia gardneriana*),
SEMISSÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DA GUTTIFERONA-A E ATIVIDADE
BIOLÓGICA**

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*.

Orientador: Marcelo Henrique dos Santos

Coorientador: Antônio Jacinto Demuner

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2019**

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

T

R696c
2019
Rodrigues, Dayana Alves, 1989-
Compostos fenólicos do bacupari (*Garcinia gardneriana*),
semissíntese de novos derivados da guttiferona-A e atividade
biológica / Dayana Alves Rodrigues. – Viçosa, MG, 2019.
216 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Marcelo Henrique dos Santos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Benzofenona. 2. 7-epiclusianona. 3. Fukugetina.
4. Herbicidas. 5. Inseticidas. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica. II. Título.

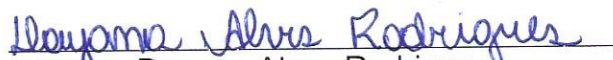
CDD 22. ed. 547.632

DAYANA ALVES RODRIGUES

**COMPOSTOS FENÓLICOS DO BACUPARI (*Garcinia gardneriana*),
SEMISSÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DA GUTTIFERONA-A E ATIVIDADE
BIOLÓGICA**

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: 18 de julho de 2019.


Dayana Alves Rodrigues
Autor


Marcelo Henrique dos Santos
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus por guiar meus passos, iluminar minha mente e pelas pessoas que conheci nessa caminhada que me ajudaram muito.

Aos meus pais Rosmarina e Wanderley que sempre me apoiam, me ensinam e me dão forças para seguir sempre acreditando no meu potencial.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de fazer o curso.

Aos melhores irmãos do mundo, Luana, Hyanna e Mateus pela nossa união, conversas, desabafos, incentivos e pelo amor e carinho.

Ao meu namorado Gustavo, meu amor, conselheiro e amigo, pela paciência, por me acalmar e por todo cuidado e carinho que me ajudaram muito nesta caminhada.

Aos meus sogros e cunhados, a segunda família que Deus colocou na minha vida.

À minha irmã por opção Andressa pela amizade por sempre me dar forças e incentivos.

Ao meu orientador Marcelo Henrique pela confiança, compreensão e incentivo ao longo deste trabalho.

Ao meu coorientador Demuner por sempre acreditar em mim.

Aos professores Vânia, Marisa, Demuner e Lidervan por aceitarem o convite para avaliação do trabalho.

Aos técnicos José Luiz, Cristiane e Márcio pela aquisição dos espectros.

Às amigas que viçosa me deu, Maria Cecília, Polliana, Ana Paula, Michelle, Bianca, Juliana, Ângela, Crístielle e Francielle.

Aos colegas de laboratório, principalmente aos irmãos de orientação melhores “irmãos” de orientação e amigos, Bianca, Liseth, Júnio, Guilherme e Tiago, sem vocês a minha batalha não seria fácil, tornando nossa rotina mais alegre, amizades que levarei sempre comigo.

Aos amigos Katarine e Vinicius pela amizade e momentos de alegrias.

Aos amigos de república.

A todos os professores que contribuíram para realização deste trabalho: Antonio Alberto, Dalila, Marisa Ionta, Marcelo Picanço e Eduardo Pilau.

Aos professores Vânia, Lidervan e Marisa por aceitarem o convite para avaliação do trabalho.

Aos técnicos da UFV, UEM e UNIFAL.

À CAPES-001, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos e a FAPEMIG e ao CNPq pelo suporte financeiro.

A todos os funcionários do DEQ.

A todos que direto ou indiretamente, contribuíram e tornaram possível o desenvolvimento deste trabalho.

“A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las”.

(Aristóteles)

RESUMO

RODRIGUES, Dayana Alves, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2019. **Compostos fenólicos do bacupari (*Garcinia gardneriana*), semissíntese de novos derivados da guttiferona-A e atividade biológica.** Orientador: Marcelo Henrique dos Santos. Coorientador: Antônio Jacinto Demuner.

O estudo da atividade biológica de metabólitos secundários presentes em plantas têm sido uma importante ferramenta para a descoberta de novas moléculas de uso na indústria química. A espécie *Garcinia gardneriana* (bacupari) possui compostos fenólicos, incluindo xantonas, benzofenonas e biflavonóides, os quais tem despertado o interesse em diversos estudos. Estas classes de compostos apresentam diversas atividades biológicas comprovadas, agindo como antialérgicos, antitumorais, antioxidantes, anti-inflamatórios, analgésicos antimicrobianos, leishmanicidas, pesticidas, dentre outras. No entanto, estudos com a *G. gardneriana* carecem de maiores aprofundamentos. Esta pesquisa teve a proposta de isolar por cromatografia em coluna, identificar e quantificar por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV-vis) os compostos majoritários extraídos das sementes desta espécie, utilizando solvente orgânico acetato de etila e em seguida, avaliar a atividade biológica do extrato bruto e compostos isolados, em ensaios, inseticida e fitotóxico. O ensaio inseticida sobre as lagartas *Plutella xylostella* e *Ascia monuste* não apresentaram atividade potencial contra as lagartas testadas. O ensaio fitotóxico com *Sorghum bicolor* (sorgo) indicou que os compostos fukugetina e 7-epiclusianona têm moderada ação sobre a matéria seca de plantas de sorgo e o extrato bruto não apresentou atividade. Já a guttiferona-A possui atividade potencial herbicida, pois reduz a matéria seca de sorgo e causa severas intoxicações que podem resultar na morte das plantas semelhante ao glifosate. De acordo com o potencial biológico da benzofenona natural guttiferona-A, novos estudos foram realizados para o desenvolvimento de quatro novos derivados etéreos sendo dois inéditos com rendimento de 50 a 72%. Além destes derivados, a partir da estratégia de hibridização molecular entre a guttiferona-A e um núcleo 1,2,3-triazólico via reação “click”, foram obtidos 11 derivados triazólicos inéditos com rendimentos que variam de 52 a 95%. Todos os constituintes químicos foram identificados por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométricas (IV, RMN de ¹H e ¹³C e ESI-MS). Em seguida, a atividade citotóxica dos derivados triazólicos foi avaliada em três

linhagens celulares tumorais: MCF-7, A549 e HepG2. Os derivados *14-O-Propargilguttiferona-A*, *14-O-(1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A*, *14-O-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A* e *14-O-(1-(4-fluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A* apresentaram redução de viabilidade celular relevante nas linhagens testadas. Embora os derivados apresentaram menos ativos que a *guttiferona-A*, os mesmos, exibiram uma citotoxicidade menor que a molécula de partida no ensaio com células normais.

Palavras-chave: Benzofenona. 7-epiclusianona. Fukugetina. Inseticida. Herbicida.

ABSTRACT

RODRIGUES, Dayana Alves, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2019. **Phenolic compounds of bacupari (*Garcinia gardneriana*), semi-synthesis of new guttiferone-A derivatives and biological activity.** Adviser: Marcelo Henrique dos Santos. Co-adviser: Antônio Jacinto Demuner.

The study of the biological activity of secondary metabolites present in plants has been an important tool for the discovery of new molecules of use in the chemical industry. The species *Garcinia gardneriana* (bacupari) has phenolic compounds, including xanthenes, benzophenones and biflavonoids, which has aroused interest in several studies. These classes of compounds present several proven biological activities, acting as antiallergics, antitumor, antioxidants, anti-inflammatories, antimicrobial analgesics, leishmanicides, pesticides, among others. However, studies with *G. gardneriana* need further study. This research had the proposal to isolate by column chromatography, to identify and to quantify by liquid chromatography (HPLC) the major compounds extracted from the seeds of this species using organic solvent ethyl acetate and then to evaluate the biological activity of the crude extract and isolated, test, insecticidal and phytotoxic compounds. The insecticide test on *Plutella xylostella* and *Ascia monuste* caterpillars showed no potential activity against the caterpillars tested. The phytotoxic assay with *Sorghum bicolor* (sorghum) indicated that the compounds fukugetin and 7-epiclusianone have moderate action on the dry matter of sorghum plants and the crude extract showed no activity. Guttiferone-A has herbicide potential activity, as it reduces the dry matter of sorghum and causes severe intoxications that can result in the death of the plants. According to the biological potential of natural benzophenone guttiferone-A, new studies have been carried out to develop new derivatives of this compound. 6 ether derivatives of guttiferone-A were obtained, of which 4 were unpublished. In addition to these derivatives, from the molecular hybridization strategy between guttiferone-A propargyl and a 1,2,3-triazole nucleus via a click reaction, 11 unpublished triazolic derivatives were obtained. All chemical constituents were identified by spectroscopic and spectrometric techniques (IR, RMN de ^1H e ^{13}C e ESI-MS). Then, the cytotoxic activity of the triazole derivatives was evaluated in three tumor cell lines: MCF-7, A549 and HepG2. Derivatives *14-O-Propargyl-guttiferone-A*, *14-O-(1-(4-bromobenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methylguttiferone-A*, *14-O-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-*

5-ylmethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methylguttiferone-A and *14-O-(1-(4-fluorobenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methylguttiferone-A* showed reduction of relevant cell viability in the tested strains. Although the derivatives showed less active than guttiferone-A, it exhibited less cytotoxicity than the starting molecule in the normal cell assay.

Keywords: Benzophenone. 7-epiclusianone. Fukugetin. Insecticide. Herbicide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química de três compostos naturais.	29
Figura 2: Partes aéreas da espécie <i>Garcinia gardneriana</i> : a) folhas e fruto, b) semente, c) fruto (Fonte: Bernardi, 2009).	30
Figura 3: Biflavonoides isolados da espécie <i>G. gardneriana</i>	31
Figura 4: Estrutura química geral das benzofenonas.	32
Figura 5: Biossíntese da estrutura básica da benzofenona.....	33
Figura 6: Algumas benzofenonas naturais preniladas.....	34
Figura 7: Cromatografia em camada delgada (CCD), da esquerda para direita; Extrato bruto da semente de <i>Garcinia gardneriana</i> em acetato de etila (EAE); padrão da bezofenona natural guttiferona-A (G-A), padrão da benzofenona natural 7-epiclusianona (7-EP) e padrão do biflavonoide natural fukugetina (FUK). Eluente hexano/acetato de etila (7:3 v/v) revelado com solução de vanilina em ácido sulfúrico.	45
Figura 8: Cromatograma do EAE da espécie <i>G. gardneriana</i> , 1)fukugetina ($t_R= 1,8$ min), 2) guttiferona-A ($t_R= 26,3$ min) e 3) 7-epiclusianona ($t_R= 37,2$ min). Coluna C18, fluxo $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.....	46
Figura 9: Cromatograma dos padrões, 1) fukugetina ($t_R= 1,8$ min), 2) guttiferona-A ($t_R = 26,3$ min) e 3) 7-epiclusianona ($t_R = 37,2$ min), coluna C18, fluxo $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.	47

Figura 10: Curva analítica do composto guttiferona-A preparado em acetonitrila, coluna C18, fluxo 1,0 mL min ⁻¹ , acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.....	47
Figura 11 Curva analítica do composto 7-epiclusianona preparado em acetonitrila, coluna C18, fluxo 1,0 mL min ⁻¹ , acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.....	48
Figura 12: Curva analítica do biflavonoide natural fukugetina preparado em acetonitrila, fluxo 1,0 mL min ⁻¹ , acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.....	48
Figura 13: Fórmula estrutural da 7-epiclusianona.....	50
Figura 14: Espectro no Infravermelho (ATR) da 7-epiclusianona.....	50
Figura 15: Equilíbrio tautomérico em solução para a 7-epiclusianona.....	51
Figura 16: Fórmula estrutural para a molécula clusianona.....	51
Figura 17: Equilíbrio tautomérico para a molécula clusianona.....	52
Figura 18: Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) da 7-epiclusianona.....	54
Figura 19: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) ampliado de 1,0 a 2,8 ppm da 7-epiclusianona.....	55
Figura 20: Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) para a 7-epiclusianona.....	57
Figura 21: Mapa de contornos HSQC ¹ H – ¹³ C (300 MHz, CDCl ₃) da 7-epiclusianona.....	58

Figura 22: Mapa de contornos NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) da 7-epiclusianona.	59
Figura 23: Estrutura química da guttiferona-A isolada das sementes de <i>G. gardneriana</i>	61
Figura 24: Espectro no Infravermelho (ATR) da guttiferona-A.	62
Figura 25: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da guttiferona-A.	64
Figura 26: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) ampliado de 1,0 a 3,0 ppm da guttiferona-A.	65
Figura 27: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para a guttiferona-A.	67
Figura 28: Mapa de contornos COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 300 MHz) para a guttiferona-A.	69
Figura 29: Mapa de contornos expandido de COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) da guttiferona-A.	70
Figura 30: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) da guttiferona-A.	71
Figura 31: Estrutura química da morfina.	84
Figura 32: Estrutura dos fármacos N-heterocíclicos sulfapiridina, itraconazol, viagra [®] , flucanazol.	85
Figura 33: Isômeros 1,2,3-1 <i>H</i> -triazol e 1,2,4-1 <i>H</i> -triazol.	85
Figura 34: Derivados 1,2,3-triazólicos com atividade antibacteriana.	86

Figura 35: Reação de cicloadição levando a formação dos regioisômeros triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos.....	87
Figura 36: Derivado 10j sintetizado por PUTTAWASMY et al. (2018).....	88
Figura 37: Esquema de síntese dos derivados etéricos da guttiferona-A.	90
Figura 38: Síntese das azidas orgânicas a partir de brometos de benzila.	96
Figura 39: Mesilação de alcoois.	96
Figura 40: Estrutura de fármacos e agroquímicos.....	111
Figura 41: Espectro no IV (ATR) do composto 2.....	113
Figura 42: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 2.	115
Figura 43: Mapa de contornos NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 2.	116
Figura 44: Mapa de contornos (expandido) NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 2.....	117
Figura 45: Correlação existente entre os hidrogênios do composto 2.....	117
Figura 46: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 300 MHz) para o composto 2.	118
Figura 47: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto 2.....	120
Figura 48: Etapas para obtenção dos derivados triazólicos a partir da guttiferona-A.	121
Figura 49: Proposta do ciclo catalítico para catálise de cobre e formação do triazol. Adaptado de SCHULZE e SCHUBERT, 2014.....	122

Figura 50: Estrutura dos derivados triazólicos sintetizados a partir da propargila da guttiferona-A.....	123
Figura 51: Espectro no IV (ATR) do composto 9.....	124
Figura 52: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 9.	126
Figura 53: Espectro de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3 ,) do composto 9.....	127
Figura 54: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 9.	128
Figura 55: Espectro no IV (ATR) do composto 10.....	129
Figura 56: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) para o composto 10.....	131
Figura 57: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 10.....	132
Figura 58: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 10.	133
Figura 59: Intoxicação de plantas de sorgo submetidas a doses crescentes de extrato bruto (A), 7-epiclusianona (B), fukugetina (C) e guttiferona-A (D), comparados com o uso do herbicida glyphosate, aos 21 DAA.	148
Figura 60: Plantas de sorgo submetidas a doses crescentes de extrato bruto (A), 7-epiclusianona (B), fukugetina (C) e guttiferona-A (D) aos 21 DAA.....	149
Figura 61: Porcentagem de inibição ou estímulo de Matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) de plantas de sorgo submetidas a doses crescentes de extrato bruto (A), 7-epiclusianona(B), fukugetina (C) e guttiferona-A (D), comparados com o uso do herbicida glyphoste, aos 21 DAA.....	150
Figura 62: Mortalidade (média + erro padrão) das lagartas <i>Plutella xylostella</i> (A) e <i>Ascia monuste</i> (B) em função da aplicação das substâncias sintetizadas. Os	

histogramas seguidos pela mesma letra possuem médias que não diferem, entre si, pelo teste Tukey a $P < 0,05$	152
Figura 63: Estrutura química de compostos naturais em diferentes fases clínicas.	159
Figura 64: Estrutura do sal tetrazólio MTS.	162
Figura 65: Viabilidade celular determinada por MTS após 48 horas de tratamento com as diferentes substâncias na linhagem A549.	163
Figura 66: Viabilidade celular determinada por MTS após 48 horas de tratamento com as diferentes substâncias na linhagem MCF-7.	163
Figura 67: Viabilidade celular determinada por MTS após 48 horas de tratamento com as diferentes substâncias na linhagem HepG2.	163
Figura 68: Estrutura química da benzofenonas G-A e seu derivado 2.	164
Figura 69: Estrutura química dos derivados triazólico mais ativos.	165
Figura 70: Viabilidade celular determinada por MTS após 48 horas de tratamento com as amostras em diferentes concentrações (3, 12; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 μM).	166
Figura 71: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 3.	174
Figura 72: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 3.	175
Figura 73: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 3.	176
Figura 74: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 3.	177
Figura 75: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 4.	178

Figura 76: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 4.	179
Figura 77: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 4.	180
Figura 78: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 5.	181
Figura 79: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 5.	182
Figura 80: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 5.	183
Figura 81: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 5. .	184
Figura 82: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 6.	185
Figura 83: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 6.	186
Figura 84: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 6.	187
Figura 85: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 7.	188
Figura 86: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 7.	189
Figura 87: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 7.	190
Figura 88: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 7. .	191
Figura 89: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 8.	192
Figura 90: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 8.	193
Figura 91: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 8.	194

Figura 92: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 11.	195
Figura 93: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 11.	196
Figura 94: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 11.....	197
Figura 95: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 11.	198
Figura 96: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 12.	199
Figura 97: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 12.	200
Figura 98: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 12.....	201
Figura 99: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 13.	202
Figura 100: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 13.	203
Figura 101: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 13.....	204
Figura 102: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 1E1.....	205
Figura 103: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 1E1.....	206
Figura 104: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 1E1.	207
Figura 105: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 1E2.....	208
Figura 106: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 1E2.....	209
Figura 107: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 1E2.	210
Figura 108: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 1E3.....	211

Figura 109: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 1E3.....	212
Figura 110: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 1E3.	213
Figura 111: Espectro no Infravermelho (ATR) da fukugetina.	214
Figura 112: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da fukugetina.	215
Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da fukugetina.....	216

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C da 7-epiclusianona (^1H a 300 MHz, ^{13}C a 75 MHz, CDCl_3 , δ em ppm, M^* = multiplicidade).	60
Tabela 2: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C guttiferona-A (^1H 300 MHz, ^{13}C 75 MHz, CDCl_3 , δ em ppm, M^* = multiplicidade).	72
Tabela 3: Rendimento das azidas orgânicas benzílicas obtidas a partir de brometos, cloreto e álcoois.	97
Tabela 4: Principais doenças e desordens investigadas por grupos de pesquisa brasileiros e publicadas nos principais periódicos em Química Medicinal.	140
Tabela 5: Doses dos compostos e herbicida utilizados no ensaio de teste fitotóxico.	143
Tabela 6: Valores de $\text{IC}_{50} \pm \text{DP}$ (μM) determinados a partir dos resultados obtidos no ensaio de viabilidade (MTS).	167

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Å	Angström
AcOEt	Acetato de etila
A549	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de pulmão
ATR	Reflectância Total Atenuada
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CI ₅₀	Concentração capaz de inibir 50% do crescimento
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
COSY	Correlated spectroscopy
CuAAC	Cicloadição entre alcino terminal e azida orgânica catalisada por cobre
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo duplete
DAA	Dias Após Aplicação
DCM	Diclorometano
DMEM	Meio Mínimo de Eagle modificado
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DP	Desvio padrão
MTS	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio
EAE	Extrato em Acetato de etila
Jaca	Linhagem de célula queratinócitos derivado de pele humana
HepG2	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de fígado
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSMR	High Resolution Mass Spectrometry
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz	Hertz

IC ₅₀	Concentração do fármaco responsável por 50% de inibição
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
<i>m/z</i>	Massa/carga
μM	Micromolar
MHz	Megahertz
MCF-7	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de mama
MSR	Matéria seca raiz
MSPA	Matéria seca parte aérea
PF	Ponto de fusão
pH	Potencial Hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
<i>q</i>	Quarteto
R _f	Fator de retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
TEA	Trietilamina
<i>t</i>	Triplete
t.a	Temperatura ambiente
t _R	Tempo de Retenção
T _f	Temperatura de fusão
<i>s</i>	Simpleto
SI	Seletividade
UNIFAL	Universidade Federal de Alfenas
UEM	Universidade Estadual de Maringá
UV-Vis	Ultravioleta-visível
v/v	Volume/volume
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

Capítulo 1: Importância dos produtos naturais e isolamento de metabólitos secundários	26
1. Revisão da literatura	27
1.1 Importância das plantas medicinais	27
1.2. <i>Garcinia gardneriana</i>	30
1.3. Importância da espécie <i>G. gardneriana</i>	31
1.4. Benzofenonas	32
2. JUSTIFICATIVA	36
3. Material e métodos	38
3.1 Equipamentos cromatográficos	38
3.1.2 Cromatografia em coluna	38
3.1.3 Cromatografia em camada delgada	38
3.1.4. Cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis (CLAE-UV)	39
3.2. Espectroscopia no infravermelho (IV)	40
3.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.	40
3.4. Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS)	40
4. Procedimento Experimental	41
4.1 Coleta e classificação do material vegetal	41
4.2. Preparação dos extratos	41
4.3. Isolamento dos constituintes químicos	41
4.4. Dados espectrométricos dos compostos isolados	42
5. Resultados e discussão	45
5.1 Preparo do extrato e isolamento dos compostos majoritários	45
5.2. Identificação e quantificação	46
5.3 Quantificação dos compostos isolados no EAE	47

5.3 Caracterização dos compostos isolados	49
6. Conclusão	73
7. Referências bibliográficas	74
CAPÍTULO 2: Síntese de novos derivados da guttiferona-A	83
1. Compostos heterocíclicos	84
1.2. Reações “Click”	86
2. Material e Métodos	89
2.1 Generalidades	89
2.2. Síntese dos derivados etéreos e triazólicos da guttiferona-A.....	89
<i>Síntese do derivado 14-O-Benzilguttiferona-A (1E1)</i>	90
<i>Síntese do derivado 14-O-(4-Bromobenzil)guttiferona-A (1E2)</i>	92
<i>Síntese do derivado 14-O-(4-Clorobenzil)guttiferona-A (1E3)</i>	93
<i>Síntese do alcino terminal 14-O-Propargil-guttiferona-A (2)</i>	94
2.4 Síntese dos derivados triazólicos da benzofenona natural guttiferona-A.....	98
<i>Síntese do 14-O-(1-(4-nitrobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (3)</i> ..	98
<i>Síntese do 14-O-(1-(4-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (4)</i> ..	99
<i>Síntese do 14-O-(1-(4-Iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona A (5)</i> ..	100
<i>Síntese do 14-O-(1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (6)</i>	102
<i>Síntese do 14-O-(1-piridinil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona A (7)</i>	103
<i>Síntese do 14-O-(1-(4-trifluorometilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona A (8)</i>	104
<i>Síntese do 14-O-(1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona A (9)</i>	105
<i>Síntese do 14-O-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4- il)metilguttiferona-A (10)</i>	106
<i>Síntese do 14-O-(1-(4-clorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (11)</i>	107

<i>Síntese do 14-O-(1-(4-fluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (12)</i>	108
<i>Síntese do 14-O-(4-acetato de etila)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (13)</i>	110
3. Resultados e Discussão	111
5. Referências bibliográficas	135
CAPÍTULO 3: Atividade agroquímica do extrato bruto das sementes de <i>Garcinia gardneriana</i> e dos compostos isolados	139
1. Introdução	140
2. Material e Métodos	143
2.1 Avaliação da atividade fitotóxica do extrato e compostos isolados da <i>Garcinia gardneriana</i>	143
2.1.2 Preparo das soluções estoques dos compostos testados.	144
2.1.3. Preparo do material inerte	144
2.1.4. Montagem do ensaio fitotóxico	144
2.3 Avaliação da atividade inseticida	145
3. Resultados e discussão.....	147
3.1. Avaliação da atividade fitotóxica	147
3.2. Avaliação da atividade Inseticida	151
4. Conclusão	153
5. Referências Bibliográficas.....	154
CAPÍTULO 4: Atividade citotóxica do extrato, metabólitos isolados e derivados da guttiferona-A.....	157
1. Introdução	158
2. MATERIAL E MÉTODOS	160
2.1 Linhagens celulares	160
2.2 Condições de cultura	160

2.3 Ensaio de Viabilidade Celular (MTS) e determinação do IC ₅₀	160
2.5 Análise estatística	161
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	162
CONCLUSÃO GERAL	172

Capítulo 1: Importância dos produtos naturais e isolamento de metabólitos secundários

1. Revisão da literatura

Os produtos naturais são compostos químicos sintetizados por um ser vivo, podendo ser biossintetizados por fungos, bactérias, organismos marinhos, animais e plantas. O conhecimento das estruturas químicas e a função biológica desempenhada no próprio organismo vivo destes compostos servem como espelho ou guia para o químico orgânico interessado no isolamento, síntese total, semissíntese ou síntese de um novo fármaco ou agroquímico. Neste texto, o foco será a respeito da importância das plantas e seus metabólitos secundários como ferramenta para síntese de novos fármacos, agroquímicos e outros compostos da indústria química que auxiliam o homem.

1.1 Importância das plantas medicinais

As plantas medicinais possuem compostos químicos que ajudam no alívio de desconfortos abdominais, intestinais, mal-estar e na cura ou até mesmo na prevenção de muitas doenças.

A busca por profissionais da saúde e também pela população por terapias alternativas e complementares, como a utilização de produtos naturais, no tratamento ou cura de suas enfermidades principalmente por pacientes diagnosticados com doenças crônicas que, buscam qualidade de vida melhor tem crescido consideravelmente, não somente pelo poder curativo, mas, também pelo custo mais acessível quando comparados à medicina tradicional (MENDES et al., 2018, FIRMO et al., 2011).

O conhecimento tradicional sobre a utilização e emprego dos produtos naturais no tratamento de diversas profilaxias é universal, porém de expressão regional, sendo a forma de utilização das fontes naturais diferentes quando comparada com as diversas organizações culturais espalhadas mundialmente (POSEY 2002).

A sabedoria adquirida ao longo das gerações dos povos indígenas ou comunidades sobre a fauna e flora são fundamentais no entender, utilizar os recursos naturais e proteger a biodiversidade natural (BOY et al., 2018).

A natureza é a maior e principal fornecedora das variadas classe de compostos orgânicos conhecidos. As grandes classes de compostos, terpenos,

flavonoides, cumarinas, xantonas, alcaloides, benzofenonas e compostos fenólicos utilizados hoje pelo homem, são oriundos do metabolismo secundário das plantas. Estas classes de compostos são denominadas metabólitos secundários e são responsáveis pela interface química entre planta e meio ambiente, os quais já foram biossintetizados com finalidades predestinadas de forma a garantir a perpetuação da espécie no meio que está inserida, atuando no mecanismo de defesa, planta-planta, planta-animal, planta-meio ambiente (RODRIGUES et al., 2019).

A biossíntese dos metabólitos secundários é afetada pelas condições edafoclimáticas, à presença de microrganismo e insetos predadores ou não (THAKUR et al., 2019). Outros fatores externos também podem afetar na identificação e concentração dos metabólitos presentes da planta, como o momento da coleta do material a ser estudado e a estação do ano (PASSARI et al., 2014).

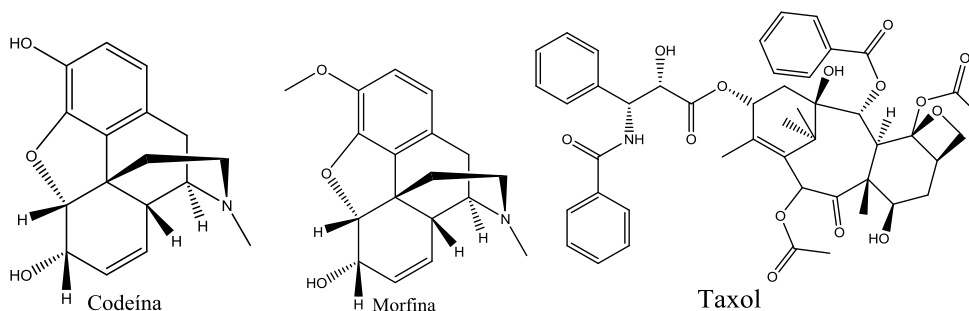
Os recursos naturais são empregados de diversas maneiras com diferentes finalidades, sendo os mais utilizados: in natura através de preparações caseiras, onde o chá é a forma mais consumida; sob a forma pulverizada ou extrato bruto seco, comercializados geralmente em cápsulas ou tinturas, podendo conter mais de uma espécie vegetal (VEIGA JUNIOR et al., 2005; RATES 2001).

A importância dos estudos dos constituintes químicos e farmacológicos extraídos de diferentes espécies naturais, como plantas, organismos marinhos, microrganismos ou fungos, é incessantemente relatada por diversos autores e, são promissores no desenvolvimento de novas drogas (YUNES et al., 2001; MONTANARI E BOLZANI, 2001).

Os produtos naturais caracterizam-se como importantes blocos construtores que, são utilizados na síntese de novos fármacos e agroquímicos em razão de apresentarem uma gama de atividades biológicas, tais como, anticancerígenos, antiofídicos, anestésicos, sedativos, anti-inflamatórios, antibacteriano, antifúngico (HOSSARY et al., 2017; BROWN et al., 2014; CECHINEL FILHO e YUNES 1998).

O isolamento *in natura* mostra-se como alternativa viável para obtenção de moléculas orgânicas com finalidade farmacológica, uma vez que, a síntese de algumas moléculas orgânicas naturais em laboratórios é inviável economicamente devido à complexidade em suas estruturas químicas em relação ao tamanho e presença de centros quirais. Como por exemplo, os alcaloides morfina (morfina e codeína) e o diterpeno taxol (Figura 1) (GERARDY e ZENK 1993).

Figura 1: Estrutura química de três compostos naturais.



A motivação por novas descobertas de compostos farmacologicamente ativos pode ser atribuída ao alto faturamento das indústrias com a venda de medicamentos de origem natural, aumentando a visibilidade e o interesse dos pesquisadores na exploração dos produtos naturais (KATO 2001).

As pesquisas com produtos naturais têm dois enfoques principais: a etnofarmacologia e a toxicologia, sendo a primeira uma estratégia eficiente, pois dinamiza os trabalhos de investigação científica, por indicar espécies a serem estudadas e os testes biológicos a serem realizados, ainda que, inúmeras vezes são descobertas atividades não relatadas pela medicina tradicional para determinada espécie vegetal (TULP e BOHLIN 2004).

O Brasil, apesar de ser um país dotado de uma rica flora representando 20% de todas as espécies de plantas conhecidas mundialmente, somente 5% destas têm sido estudadas fitoquimicamente. Quando se considera o número de plantas submetidas a ensaios biológicos esse percentual é ainda menor (CECHINEL FILHO & YUNES, 1998). Entretanto, a comunidade científica já tem demonstrado interesse em validar as plantas utilizadas na medicina popular, principalmente quando se refere ao desenvolvimento de novos fitoterápicos e fitofármacos, os quais beneficiaram as indústrias brasileiras e a população (CECHINEL FILHO & YUNES 1998, YUNES et al., 2001).

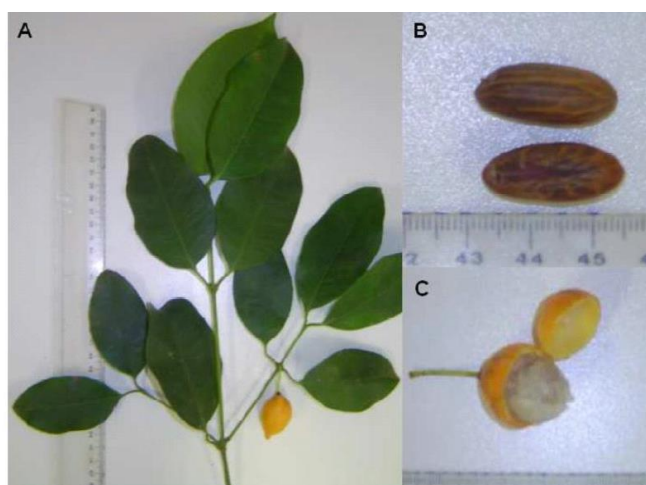
Sob este aspecto, dentre as inúmeras espécies já estudadas, foi selecionado para este trabalho a espécie *Garcinia gardneriana*, detentora de um arsenal químico (metabólitos secundários) valioso e com propriedades farmacológicas contra várias doenças (CASTARDO et al., 2008; DELLE MONACHE et al., 1988 e 1983; CORRÊA et al., 1984; BRAZ-FILHO et al., 1970).

1.2. *Garcinia gardneriana*

A *G. gardneriana* é conhecida popularmente como bacupari, bacuri, porocó e bacuripari pertencente à família Clusiaceae ou Guttiferae. A família Guttiferae é composta por árvore, arbusto, erva de interesse econômico, madeiras nobres e importantes derivados químicos de interesse industrial e farmacológico (FERREIRA et al., 2012). Entre as principais classes químicas presentes nesta família, destaca-se a ocorrência de xantonas, benzofenonas e compostos fenólicos. Tal espécie faz parte de uma família de 47 gêneros, entre eles, Buchanani, Vismia, Ternstroemia, *Garcinia*, *Clusia*, *Cratoxylum*, *Harungana*, *Mesua*, *Hypericum*, *Kielmeyera* e mais de mil espécies que estão agrupadas em seis subfamílias, amplamente espalhadas por todo território brasileiro (DEROGIS et al., 2008).

A *Garcinia gardneriana* é uma árvore frutífera de pequeno porte, com até 5 metros de altura, folhas opostas, pecioladas e coriáceas. Possuem botões florais, frutos (baga amarelo) com comprimento variando de 1,5 a 2,5 cm, largura de 1,5 a 2,0 cm, contendo polpa branca mucilaginosa, adocicada e comestível, envolvendo a semente (Figura 2), cultivada em diferentes partes do território brasileiro, em destaque os estados do Rio Grande do Sul, Ceará e Minas Gerais (COELHO et al., 2008).

Figura 2: Partes aéreas da espécie *Garcinia gardneriana*: a) folhas e fruto, b) semente, c) fruto.



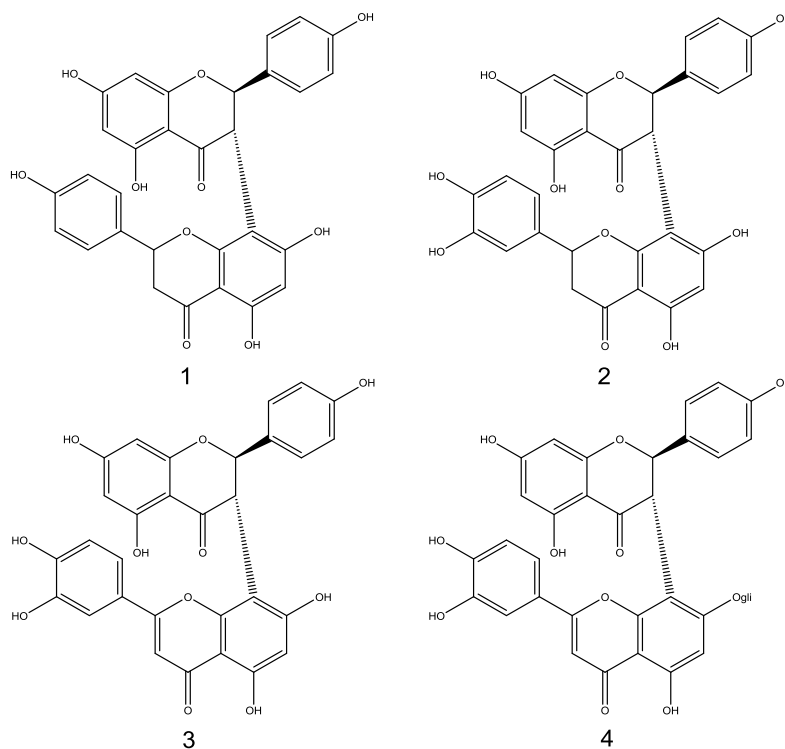
(Fonte: Bernardi, 2009).

1.3. Importância da espécie *G. gardneriana*

A *G. gardneriana*, além da presença dos compostos fenólicos, cumarinas, biflavonoides, xantonas e benzofenonas característicos da família Guttiferae, esta planta é muito conhecida pela presença de látex (DEROGIS et al., 2007) e fornecimento de madeira de pequenas dimensões para a construção civil (CORREA 1984).

Estudos fitoquímicos realizados com folhas e casca do tronco da espécie *G. gardneriana* orientado para o isolamento de substâncias com efeitos analgésicos possibilitou obtenção de 4 biflavonóides (Figura 3), identificados como volkensiflavona (1), GB-2a (2), fukugetina (ou morelloflavone) (3) e fukugesida (4) (CECHINEL-FILHO et al., 2000).

Figura 3: Biflavonoides isolados da espécie *G. gardneriana*.



Esses compostos, especialmente a volkensiflavona, apresentaram considerável efeito analgésico. Os flavonóides (volkensiflavona, GB50-2a, GB-1a, fukugetina, fukugesida) encontrados no extrato bruto hidroalcoólico das folhas de *G. gardneriana* apresentaram ação analgésica nos processos de inflamação, assim como atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas

(VERDI et al., 2004). Estudos realizados por CASTARDO et al., (2008) comprovaram a ação anti-inflamatória do extrato alcoólico das folhas da espécie *G. gardneriana* atribuído aos biflavonoides fukugetina e GB-2a.

Outros estudos realizados com o extrato etanólico da casca da espécie *Garcinia brasiliensis* da mesma família que a espécie *G. gardneriana*, o extrato continha a benzofenona 7-epiclusianona e o biflavonoide morfoflavona, apresentou atividade anti-obesidade em ratos obesos (MOREIRA et al., 2017).

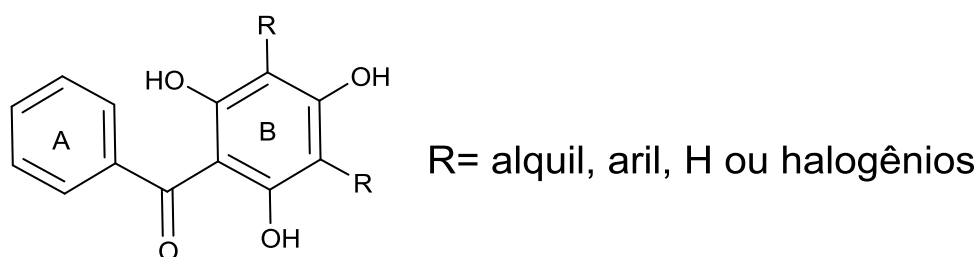
Além dos biflavonoides, também foram isolados importantes benzofenonas, como: guttiferona-A, garciniafenona e 7-epiclusianona (CRUZ et al., 2006; ALVES et al., 1999). Estas benzofenonas são substâncias fenólicas apolares que exibem aumento na hidrofobicidade à medida que aumenta o número de grupo funcional prenila ligado ao composto (SANTA-CECÍLIA et al., 2012).

1.4. Benzofenonas

O interesse dos pesquisadores pelas benzofenonas está relacionado às inúmeras atividades farmacológicas já comprovadas, bactericida, antialérgico, anti-inflamatório, antihiperlipidêmico, antitumoral, antipirético, antihelmintico, antisecretor, antiulcerogênico, agente contra filariose, depressor e estimulante do sistema nervoso central, shistosomicida, músculo-relaxante, agente antiparkinsonismo (HONGTHONG et al., 2016; DONGMO et al., 2007; TCHAMADEU et al., 2010; KUETE et al., 2007; SILVA et al., 2013; NGUEMFO et al., 2007).

As benzofenonas são cetonas aromáticas (Figura 4) de origem sintética ou natural (Figura 4).

Figura 4: Estrutura química geral das benzofenonas.



A diversidade estrutural das benzofenonas é devido a diferentes substituições por grupos prenil, geranil e a presença ou não de hidroxila no anel B, permitindo diferentes rearranjos para formar novos esqueletos (WU *et al.*, 2014).

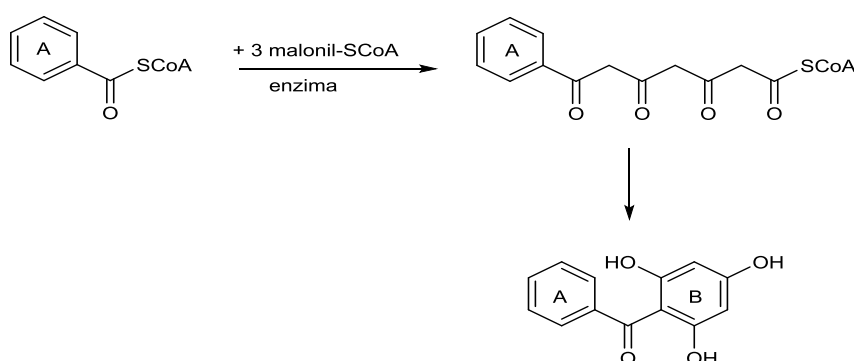
As benzofenonas podem ser agrupadas em dois grandes grupos. O primeiro refere-se aquele que possui o esqueleto básico da benzofenona, tendo o anel benzênico A e B completos.

O outro grupo é representado pelas benzofenonas em que o anel B é substituído por grupos prenila, geranila e, portanto, no anel B pode haver diferentes possibilidades de formações de anéis bi, tri ou tetracíclicos, além de epóxidos (BAGETT *et al.*, 2005).

A família Guttiferae destaca-se pela presença de benzofenonas com estrutura [3.3.1]nonano-2,4,9-triona ligado a um anel fenílico substituído 13,14-dihidroxilado.

BAGETT *et al.* (2005) em seus estudos sobre possíveis rotas biossintéticas das benzofenonas utilizando ^{14}C e ^3H , concluiu que o anel **A** é derivado do aminoácido fenilalanina da rota do chiquimato e a porção **B** é derivado da rota mista acetato/malonato obtido a partir da condensação de três acetatos, catalisado pela enzima benzofenona sintase (BPS), formando assim o esqueleto C13 característico da benzofenona (Figura 5). Na formação dos derivados hidroxilados e prenilados, o esqueleto é modificado havendo uma grande diversidade estrutural (LIU *et al.*, 2003).

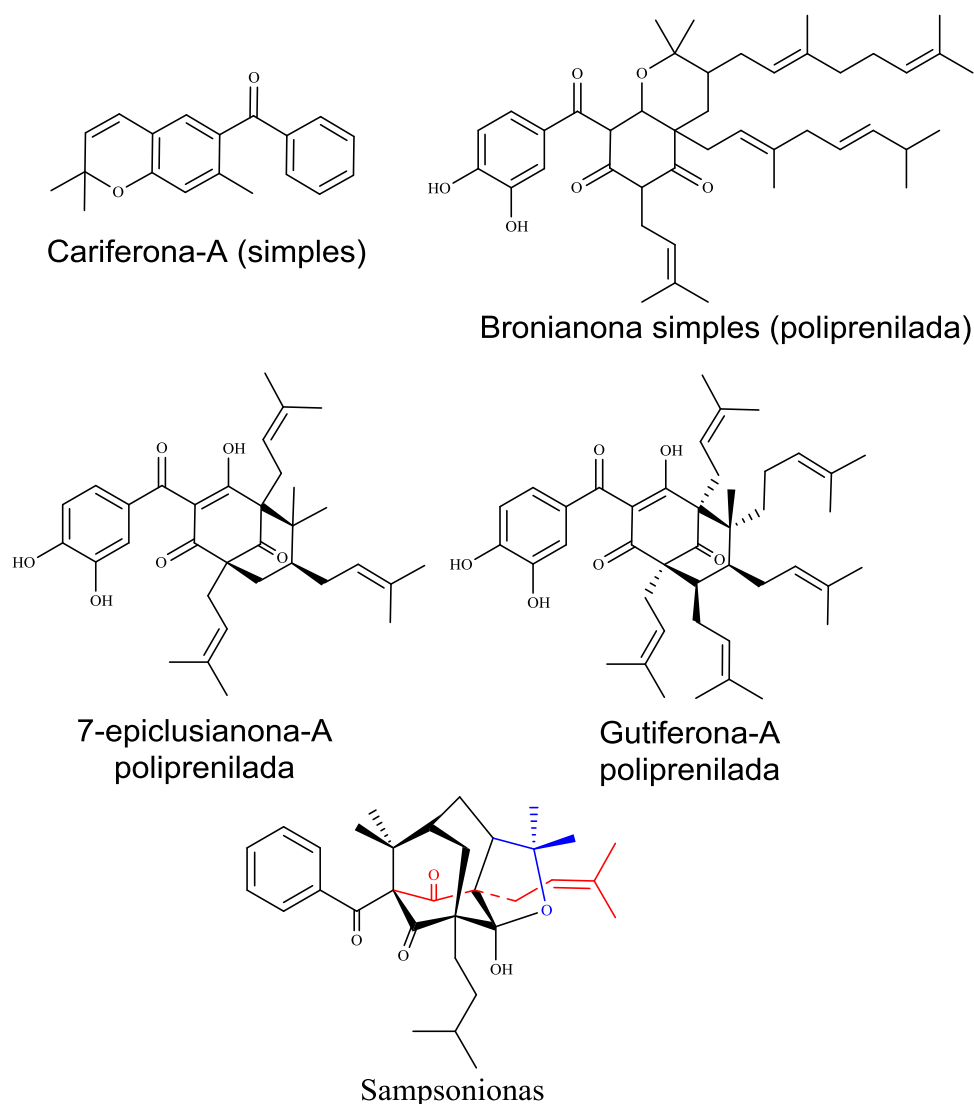
Figura 5: Biossíntese da estrutura básica da benzofenona.



De um modo geral, as benzofenonas polipreniladas são caracterizadas por um núcleo biciclo[3.3.1]nonano-2,4,9-triona ou biciclo[3.2.1]octano-2,4,8-triona oxigenado e substituído ao qual estão ligados grupos benzoila, em C-1 ou C-3, e

cadeias laterais C_5H_9 ou $C_{10}H_{17}$ (prenila, geranila, etc.) (BEERHUES et al., 2009). As benzofenonas do tipo sampsonionas são consideradas mais raras e complexas estruturalmente, possuem um esqueleto triciclo (Figura 6) (FREDERICO et al., 2004 e LIU et al., 2003).

Figura 6: Algumas benzofenonas naturais preniladas.



A guttiferona-A e a 7-epiclusianona (figura 6) são benzofenonas polipreniladas de grande interesse farmacológico, devido às várias atividades relacionadas a este metabólito.

Estudos realizados por alguns autores determinaram várias atividades associadas ao metabólito guttiferona-A como, atividade anti-HIV (GUSTAFSON et

al., 1992), atividade anticancer (ANDREU et al., 2011), anticolinesterásica e leishmanicida (LENTA 2007), inibidor da tripsina, papaína e catepsina B e G (MARTINS et al., 2009), plasmodicida (MARTINS et al., 2009; PEREIRA et al., 2010), antibacteriana (NALDONI et al., 2009), tripanomicida (ABE et al., 2004).

Uma série de éteres e ésteres derivados da guttiferona-A foram sintetizados e em seguida avaliadas as suas atividades, antiplasmodiais, tripanocidas e antileishmania. Alguns destes derivados apresentaram promissoras atividades antiparasitária, contra o *Plasmodium falciparum*, *Trypanossoma brucei* e *Leishmania* (FROMENTIN et al., 2013).

Em outros estudos, DIAS et al. (2012) sintetizaram seis diferentes derivados ésteres, benzílicos e alquilícos da guttiferona-A e avaliaram sua atividade antimicrobiana em fungos patogênicos do gênero *Candida*, antibacteriano, em bactérias gram-negativas e gram-positivas patogênicas do gênero *Staphylococcus* sp., entre outros gêneros de bactérias. Os autores comprovaram que os derivados da guttiferona-A além de serem mais potentes que a molécula original, também foram mais potentes que as drogas comerciais utilizadas na terapêutica.

Tendo em vista as muitas atividades biológicas oriundas de produtos naturais e o grande potencial de compostos presentes na espécie *G. gardneriana*, neste trabalho objetivou-se o isolamento das benzofenonas, guttiferona-A e 7-epiclusianona e o biflavonoide, fukugetina presentes nas sementes da espécie *G. gardneriana* e síntese de novos derivados do metabólito guttiferona-A a fim torná-lo mais potente e em seguida avaliação da atividade biológica destes compostos.

2. JUSTIFICATIVA

Os metabólitos secundários de plantas são uma importante alternativa para a indústria química na busca por novos protótipos bioativos, podendo ser uma estratégia bem-sucedida na descoberta de novos fármacos e agroquímicos, dado comprovado pela maioria das inovações produzidas pelas grandes indústrias. Tal afirmação pode estar relacionada à biossíntese *in natura* que, já possui uma finalidade biológica importante, ao contrário de moléculas orgânicas puramente sintéticas.

No cenário atual, vários setores carecem da descoberta de novos compostos, por exemplo, na agricultura, a resistência das plantas daninhas, dos microrganismos (fungos, bactéria, ácaros) e outros seres vivos (nematóides, insetos, etc.) vêm aumentando ano após ano e causando grandes prejuízos as lavouras. Tal fato deve-se a perda da seletividade ou resistência adquirida aos antibióticos e agroquímicos anteriormente utilizados, resultado da exposição excessiva do mesmo composto à praga alvo. Sendo assim, é imediata a necessidade de introdução no mercado de novas moléculas orgânicas promissoras neste cenário, a fim de aumentar a rotação de moléculas e assim reduzir a pressão de seleção. Outro setor com a mesma necessidade é a indústria de fármacos, que busca alternativas para o rodizio de medicamentos e a introdução de compostos mais eficientes para as mais diversas doenças.

As espécies do gênero *Garcinia* possuem classe de compostos promissores em atividades biológicas como: fenólicos, benzofenonas, biflavonóides e xantonas. Este gênero tem sido objeto de estudo por muitos pesquisadores, dos quais já se estudaram a relevância biológica das sementes, frutos, folhas e cascas. As benzofenonas e compostos fenólicos, por exemplo, possuem um amplo espectro de atividades biológicas, destacando as atividades, anticâncer, leishmanicida, antibacteriano e fungicida. A espécie *G. gardneriana* é uma das mais promissoras do gênero e das que mais carecem de estudos sobre a atividade biológica de seus metabólitos secundários. Sendo assim, este

estudo se justifica por propor o isolamento dos constituintes majoritários da *G. gardneriana* e produção de novos derivados do metabólito guttiferona-A a fim de torná-los mais potente e em seguida avaliação da atividade biológica destes compostos, tanto na ação agroquímica quanto farmacológica.

3. Material e métodos

Os solventes utilizados para extração e isolamento dos compostos fenólicos foram de grau PA adquiridos do Sigma Aldrich. E os solventes utilizados na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram grau CLAE adquiridos do Sigma Aldrich.

3.1 Equipamentos cromatográficos

Para a caracterização do perfil químico do extrato, e verificação da pureza dos compostos isolados descritas neste trabalho, foram utilizadas as seguintes técnicas cromatográficas: cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia em coluna (CC), cromatografia líquida de alta eficiência com detector de UV-Vis (CLAE-UV).

3.1.2 Cromatografia em coluna

Inicialmente o extrato em acetato de etila das sementes (EAE) foi submetido à cromatografia líquida em coluna a fim de isolar e purificar os compostos majoritários presentes nas sementes da espécie *G. gardneriana*. Foi utilizado sílica-gel (70-230 mesh) como fase estacionária e como fase móvel um gradiente entre hexano e acetato de etila acidificada com 0,5% de ácido acético.

3.1.3 Cromatografia em camada delgada

O extrato foi analisado e o isolamento foi monitorado usando placa para cromatografia de camada delgada (CCD) com base de alumínio (Macherey-Nagel DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra SiL (G/UV 254). Após eluição a placa de CCD foi observada sob luz UV ($\lambda = 254$ nm) e revelada com solução de vanilina.

3.1.4. Cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis (CLAE-UV)

Para a obtenção dos perfis cromatográficos do extrato bruto e quantificação dos compostos isolados empregou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (modelo Shimadzu, bomba LC 20AT) com detecção por espectroscopia UV-Vis, injetor automático modelo SIL-10^a e forno Shimadzu (CTO 10 ASVP).

A análise cromatográfica foi realizada em coluna de fase reversa utilizando uma coluna analítica C18 Shimadzu VP-ODS (150 mm comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno). As amostras foram filtradas em filtro 0,45 µm antes da injeção (20 µL).

Inicialmente foi realizada a injeção (20 µL) dos compostos (fukugetina, guttiferona-A e 7-epiclusianona) isolados da planta e dissolvidos em acetonitrila, após a obtenção dos tempos de retenção de cada padrão foi realizado a injeção (20 µL) do EAE e identificado os tempos de retenção dos padrões no extrato bruto nas mesmas condições. Após identificação dos tempos de retenção dos padrões no extrato foi realizado a otimização cromatográfica.

A otimização cromatográfica foi realizada priorizando a separação dos compostos majoritários (guttiferona-A, 7-epiclusianona e fukugetina) presentes no EAE, visando um menor tempo de corrida e melhor simetria dos picos referente a cada composto. As variáveis empregadas foram, fluxo 1,0 mL min⁻¹, temperatura do forno de 30 °C, fase móvel foi empregada no modo isocrático, 80:20 acetonitrila/água acidificada com 0,5 % de ácido ortofosfórico, comprimento de onda 254 nm.

Para a quantificação dos compostos majoritários presentes no EAE da espécie *Garcinia gardneriana*, foi construída uma curva analítica para cada composto isolado. Foi preparada separadamente uma solução estoque de 5,0 mg/ mL em acetonitrila grau HPLC para os padrões e dessa solução estoque foram preparados todos os pontos da curva. A faixa de concentração empregada para a preparação da curva analítica para cada padrão foi, 2,0; 1,8; 1,7; 1,5; 1,3; 1,0; 0,7 e 0,5 mg mL⁻¹ para a

guttiferona-A, 2,0; 1,8; 1,5; 1,3; 1,0; 0,7; 0,5; 0,25 mg mL⁻¹ para a 7-epiclusianona e 1,00; 0,70; 0,50; 0,40; 0,25; 0,12; 0,06 e 0,01 mg mL⁻¹ para a fukugetina. O EAE (5,0 mg) foram dissolvidos em 1,0 mL de acetonitrila grau HPLC.

3.2. Espectroscopia no infravermelho (IV)

Os espectros de IV foram registrados num espectrofotômetro VARIAN 660-IR (Varian, Palo Alto, CA, USA) equipado com GladiATR scanning de 4000 para 500 cm⁻¹.

3.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.

Os espectros de RMN de ¹H (300 MHz) e de ¹³C (75 MHz) foram obtidos em um espectrômetro VARIAN MERCURY 300 (Varian, Palo Alto, CA, USA). Foi utilizado como padrão de referência interna o TMS (tetrametilsilano), clorofórmio (CDCl₃) e dimetilsufóxido (DMSO-*d*₆) deuterados como solventes. Os dados do RMN de ¹H foram apresentados como: deslocamento químico (δ) ppm, multiplicidade, o número de hidrogênios e valores de *J* em Hertz (Hz). A multiplicidade são apresentadas com as seguintes abreviaturas: *s* (simpleto), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete), *m* (multiplete).

3.4. Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS)

A análise de espectrometria de massas de alta resolução foi realizada na Universidade Estadual de Maringá em parceria com professor Eduardo Pilau. Foi utilizado para as análises um espectrofotometro Quattro micro API Waters (Milford, MA, EUA) com fonte de eletrospray. O software de aquisição utilizado foi o manual MassHunter Data Acquisition.

4. Procedimento Experimental

4.1 Coleta e classificação do material vegetal

As sementes da espécie *G. gardneriana* utilizadas para o objeto de estudo químico foram coletadas na Mata-do-Paraíso, região de Viçosa-MG, Brasil (coordenadas: 20°47'48.6"S 42°51'35.6"W). A coleta foi cadastrada no SISGEN que recebeu o código A1DE111.

4.2. Preparação dos extratos

As sementes frescas (1,500 kg) foram submetidas ao processo de extração por maceração em acetato de etila durante cinco dias sendo trocado o solvente a cada 24 horas. A cada 24 horas a solução em acetato de etila foi filtrada concentrada em evaporador rotativo a 40 °C e o solvente extrator foi retornado ao recipiente contendo as sementes trituradas. Ao final dos cinco dias foram obtidos 107,6 g de extrato de acetato de etila (EAE). A torta foi desprezada.

4.3. Isolamento dos constituintes químicos

O EAE (1,074 g) foi submetido à cromatografia em coluna (CC) de vidro 3,4x20 cm e eluída com misturas de hexano/acetato de etila contendo 0,5% de ácido acético em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 110 frações de 15 mL cada e estas analisada por cromatografia em camada delgada (CCD) sendo reveladas sob luz ultravioleta ($\lambda = 254$ nm) e com solução de vanilina em ácido sulfúrico.

As frações 3 a 12 com a mesma similaridade observada na CCD contendo a 7-epiclusianona foram reunidas e submetidas novamente a CC, utilizando como fase móvel uma mistura de hexano/acetato de etila (95:5 v/v), e, depois, precipitada em metanol.

As frações 32 a 78 contendo a guttiferona-A foram reunidas e submetidas novamente a CC utilizando como fase móvel uma mistura de hexano/acetato de etila (6:1) com 0,5% de ácido acético, concentradas

em rotaevaporador à 40 °C sob pressão reduzida. O resíduo oleoso foi tratado com hexano gelado e deixado em repouso por 12 horas. Após este tempo foi observado a precipitação de um sólido amarelado. O hexano extrator foi concentrado em rotaevaporador a 40 °C sob pressão reduzida obtendo um resíduo oleoso. O procedimento de lavagem do resíduo oleoso com hexano gelado foi repetido e o precipitado amarelado foi reunido com o precipitado obtido anteriormente.

As frações 82 a 98 contendo o biflavonoide fukugetina foram reunidas e submetidas novamente a CC, utilizando como fase móvel uma mistura de hexano/acetato de etila (2:1 v/v).

As demais frações não foram trabalhadas devido a pequena quantidade/ou complexidade de isolamento.

4.4. Dados espectrométricos dos compostos isolados

7-epiclusianona

Característica: sólido amarelado.

CCD: Rf: 0,58 (Hexano/ Acetato de etila 15:1 v/v).

PF: 92-93 °C.

IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 2962, 2912, 2855, 1725, 1671, 1606, 1546, 1440, 1388, 1281, 1178, 956, 750, 690.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 7,54-7,49 (*m*, 3H, H-12/H-14/H-16); 7,40-7,34 (*m*, 2H, H-13/ H-15); 5,23-4,80 (*m*, 3H, H-20/ H-25/H-30); 2,77-1,80 (*m*, 8H, H-8/H-19/H-24/H-29); 1,78-1,48 (*s*, 18H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33); 1,43 (*m*, 2H, H-7); 1,30-0,97 (*s*, 6H, H-17/ H-18).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 208,0 (C-9); 196,7 (C-10); 197,7 (C-2); 193,6 (C-4); 132,6 (C-14); 127,8 (C-13/C-15); 136,8 (C-11); 134,8 (C-21/C-31); 134,6 (C-21/C-31); 132,8 (C-26); 129,0 (C-12/C-16); 127,8 (C-13/ C-15); 123,5 (C-25); 119,7 (C-20); 115,8 (C-3); 68,7/65,5 (C-5); 63,2/58,4 (C-1); 48,8 (C-6); 46,6 (C-7); 40,3 (C-8); 30,5 (C-29); 28,9 (C-

24); 26,9 (C-17); 26,5-25,7 (C-27/C-23/C-33/ C-19); 22,5 (C-18); 18,1-17,1 (C-22/ C-28/ C-32).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₃₃H₄₂O₄: 503,3155; encontrado 503,3167.

Guttiferona-A

Característica: sólido amarelo.

CCD: Rf: 0,43 (Hexano/ acetato de etila 6:2 v/v).

PF: 120-123 °C.

IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3520, 2970, 2912, 2857, 1726, 1639, 1601, 1434, 1380, 1281, 1194, 777, 563, 483, 447.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7,03-6,95 (*m*, 2H, H-12/H-16); 6,54 (*d*, 1H, H-15, *J* = 8,22 Hz); 4,78-5,22 (*m*, 4H, H-20/ H-25/H-30/H-35); 2,74-1,88 (*m*, 10H, H-34/H-24/ H-29/H-19/H-8/H-7); 1,78-1,48 (*m*, 25H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38); 1,33-1,21 (*m*, 5H, H-17/H-18).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 207,8 (C-9); 198,7 (C-10); 196,8 (C-2); 194,8 (C-4); 149,7 (C-14); 143,8 (C-13); 135,3-134,9 (C-21/C-31); 133,0 (C-26/C-36); 127,9 (C-11); 124,0-123,6 (C-30/C-35); 123,6 (C-16); 119,9-118,3 (C-20/C-30); 116,5 (C-12); 115,7 (C-3); 114,7 (C-15); 69,6-66,7 (C-5); 62,9-58,8 (C-1); 50,9 (C-6); 40,0 (C-7); 38,1 (C-8); 35,6 (C-17); 30,5 (C-24); 28,5 (C-29); 26,0-25,3 (C-22/C-27/C-32/C-34/C-37); 19,4-17,5 (C-18/C-33/C-23/C-28/C-38).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₃₈H₅₀O₆: 603,3680; encontrado 603,3639.

Fukugetina (ou Morelloflavona)

Característica: sólido amarelo.

CCD: Rf: 0,28 (Acetato de etila/ hexano 2:1 v/v).

PF: 233-235 °C (com decomposição) .

IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3232, 1642, 1602, 1519, 1368, 1253, 1162, 1087, 833, 528.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12,6 (s, OH-5); 12,0 (s, OH-5'); 7,49 (s, 2H, 6'''/2'''); 7,23 (dd, 2H, H-5'/H-3', $J = 7,0$ Hz); 7,02 (d, 1H, H-5'', $J = 7,9$ Hz); 6,71 (d, 1H, H-8''); 6,53 (dd, 2H, H-6'/H-2', $J = 8,1$ Hz); 6,47 (s, 1H, H-8); 6,40 (s, 1H, 6'') 6,35 (s, H-3'', $J = 5$ Hz); 6,03 (d, 6H, $J = 1,9$ Hz); 5,87 (d, 1H, H-2, $J = 12,4$ Hz); 4,98 (d, 1H, H-3, $J = 12,4$ Hz)

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 197,8 (C-4); 182,7 (C-4''); 168,5 (C-7); 165,1 (C-5); 164,1 (C-2''/C-7''); 163,3 (C-9); 161,9 (C-5''); 159,0 (4'); 155,8 (C-9''); 151,3 (C-4'''); 147,4 (C-3'''); 144,8 (C-2'''); 128,7 (C-1'); 122,8 (C-1'''); 119,3 (C-6'''); 116,5 (C-5'''); 115,6 (C-6'/C-5'/C-3'/C-2'); 104,1 (C-10''); 103,6 (C-3''); 102,8 (C-10); 101,8 (C-8''); 99,2 (C-6''); 97,4 (C-6); 94,4 (C-8), 82,2 (C-2); 50,1(C-3).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$: 557,1078; encontrado 557,1076.

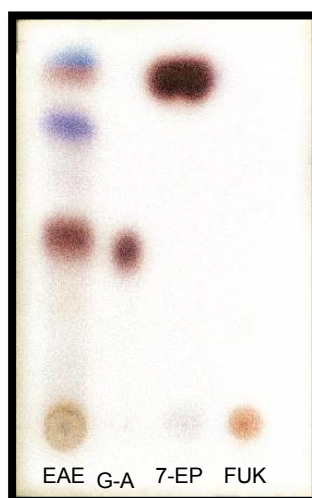
Os dados espectrométricos dos compostos isolados estão de acordo com os trabalhos de PICCINELLI et al., 2005 e de DIAS et al., 2012.

5. Resultados e discussão

5.1 Preparo do extrato e isolamento dos compostos majoritários

Inicialmente foi realizada análise em cromatografia em camada delgada (CCD) para o extrato em acetato de etila (EAE) e os padrões isolados, guttiferona-A, 7-epiclusianona e fukugetina (Figura 7).

Figura 7: Cromatografia em camada delgada (CCD), da esquerda para direita; Extrato bruto da semente de *Garcinia gardneriana* em acetato de etila (EAE); padrão da benzofenona natural guttiferona-A (G-A), padrão da benzofenona natural 7-epiclusianona (7-EP) e padrão do biflavonoide natural fukugetina (FUK). Eluente hexano/acetato de etila (7:3 v/v) revelado com solução de vanilina em ácido sulfúrico.



O fracionamento do EAE (1,07 g) foi realizado utilizando CC e foram obtidas 115 frações. As frações foram agrupadas de acordo com a similaridade observada por CCD. A benzofenona natural 7-epiclusianona foi obtida nas frações 3 a 12. As frações foram agrupadas obtendo 0,360 g, submetidas novamente à CC obtendo-se 0,180 g do composto puro.

A benzofenona guttiferona-A foi obtida nas frações 32 a 78. Essas frações foram reunidas e submetidas novamente a CC e obtendo-se 0,250 g de um sólido amarelado.

O biflavonoide fukugetina foi obtido nas frações 82 a 88. Essas frações foram reunidas e submetidas novamente a CC obtendo-se 0,078 g de um sólido amarelo.

5.2. Identificação e quantificação

A separação, identificação e quantificação dos compostos isolados EAE da espécie *G. gardneriana* obtido durante o desenvolvimento do trabalho foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em fase reversa. Foram quantificados os três compostos majoritários guttiferona-A, fukugetina e 7-epiclusianona.

A identificação dos compostos foi feita a partir da comparação do tempo de retenção (t_R) dos picos observados no cromatograma do extrato bruto EAE (5 mg/mL) (Figura 8) com os padrões isolados, diluídos em acetonitrila e injetados separadamente (Figura 9).

Figura 8: Cromatograma do EAE da espécie *G. gardneriana*, 1) fukugetina ($t_R = 1,8$ min), 2) guttiferona-A ($t_R = 26,3$ min) e 3) 7-epiclusianona ($t_R = 37,2$ min). Coluna C18, fluxo $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

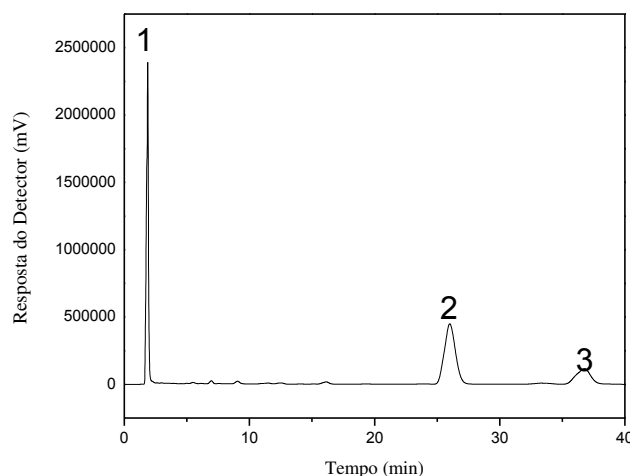
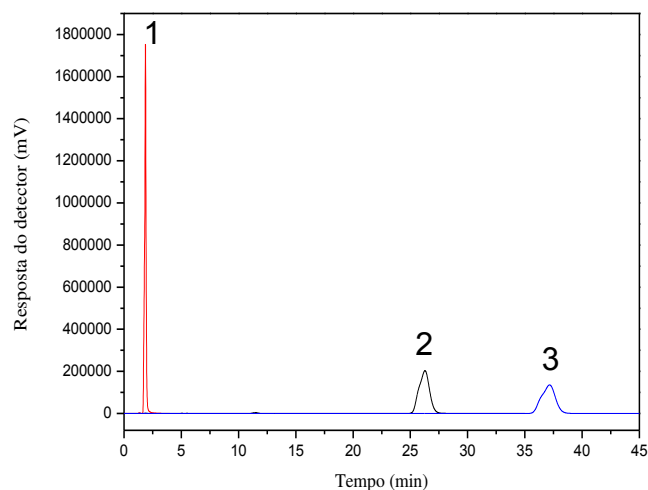


Figura 9: Cromatograma dos padrões, 1) fukugetina ($t_R = 1,8$ min), 2) guttiferona-A ($t_R = 26,3$ min) e 3) 7-epiclusianona ($t_R = 37,2$ min), coluna C18, fluxo $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, $30 \text{ }^\circ\text{C}$.



5.3 Quantificação dos compostos isolados no EAE

Para a quantificação dos compostos isolados foi construída uma curva analítica separadamente para a guttiferona-A (Figura 10), 7-epiclusianona (Figura 11) e fukugetina (Figura 12).

Figura 10: Curva analítica do composto guttiferona-A preparado em acetonitrila, coluna C18, fluxo $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

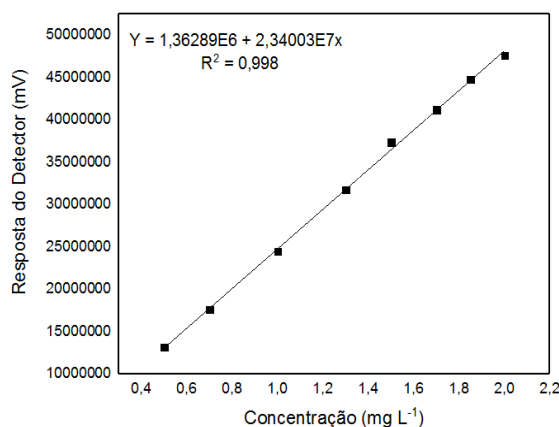


Figura 11 Curva analítica do composto 7-epiclusianona preparado em acetonitrila, coluna C18, fluxo 1,0 mL min⁻¹, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.

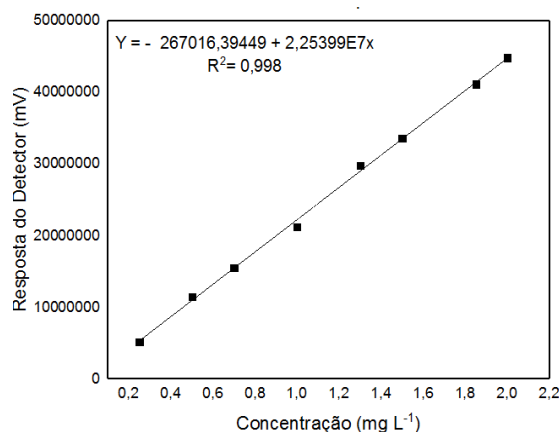
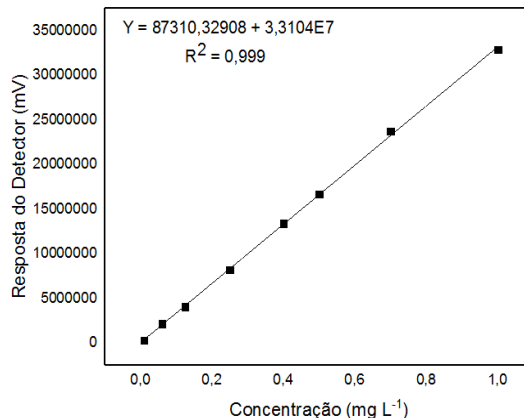


Figura 12: Curva analítica do biflavonoide natural fukugetina preparado em acetonitrila, fluxo 1,0 mL min⁻¹, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.



Segundo a ANVISA 2003, a linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração de um analito na amostra, em um intervalo especificado. Sendo esse intervalo composto por no mínimo 5 concentrações distintas. O principal critério para se avaliar uma boa linearidade é o coeficiente de correlação. O coeficiente de correlação igual a 1, indica uma baixa dispersão dos pontos experimentais e incerteza nos

coeficientes de regressão estimados, sendo assim a ANVISA sugere que o valor desse coeficiente deve ser igual ou superior a 0,99. Desta forma, esta técnica de análise pode-se determinar de forma confiável a concentração de um determinado analito. Neste trabalho foi determinado a concentração dos compostos empregando as equações da reta obtidas através da curva analítica para cada composto guttiferona-A, 7-epiclusianona e fukugetina foram obtidos, 1,13 mg mL⁻¹, 0,46 mg mL⁻¹ e 0,7 mg mL⁻¹ para os compostos respectivamente contidos em 5 mg de extrato bruto EAE.

5.3 Caracterização dos compostos isolados

Elucidação estrutural dos compostos isolados (7-epiclusianona e guttiferona-A).

Os compostos isolados da espécie *G. gardneriana* foram caracterizados por infravermelho, faixa de fusão e espectrometria de ressonância magnética nuclear de ¹H, e ¹³C unidimensional e bidimensional.

O composto natural de fórmula molecular C₃₃H₄₂O₄ (Figura 13), com massa molecular de 502,31g é um sólido levemente amarelado, t_r = 37,15 min, eluente acetonitrila/água com ácido ortofosfórico (8:2:0,5% v/v/v). O espectro de IV (Figura 14) apresentou bandas características em 1725 (C=O não conjugada) e 1671 (C=O conjugada), bandas de deformação axial assimétrica de C-O em 1178 cm⁻¹ apresenta bandas intensas em 2855 e 2912 cm⁻¹ característico de deformação axial C-H e em 1440 cm⁻¹ referente à deformação angular de C-H. Também foram observadas bandas de deformação axial (C=C) de anel aromático em 1606 cm⁻¹.

Figura 13: Fórmula estrutural da 7-epiclusianona.

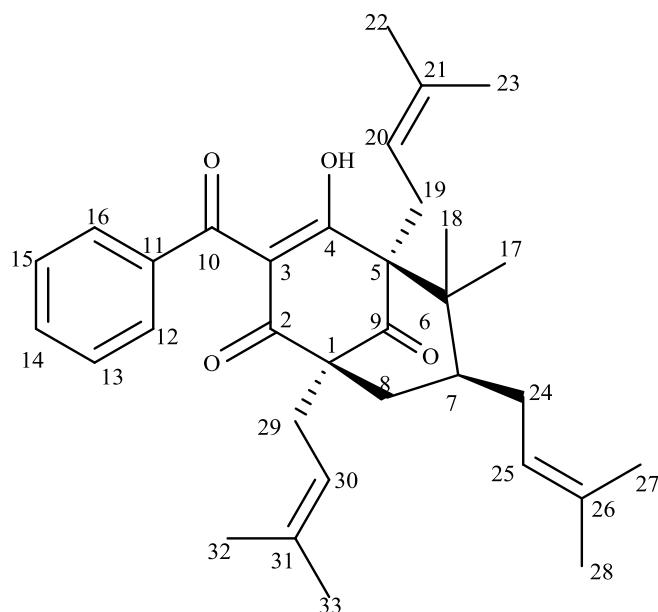
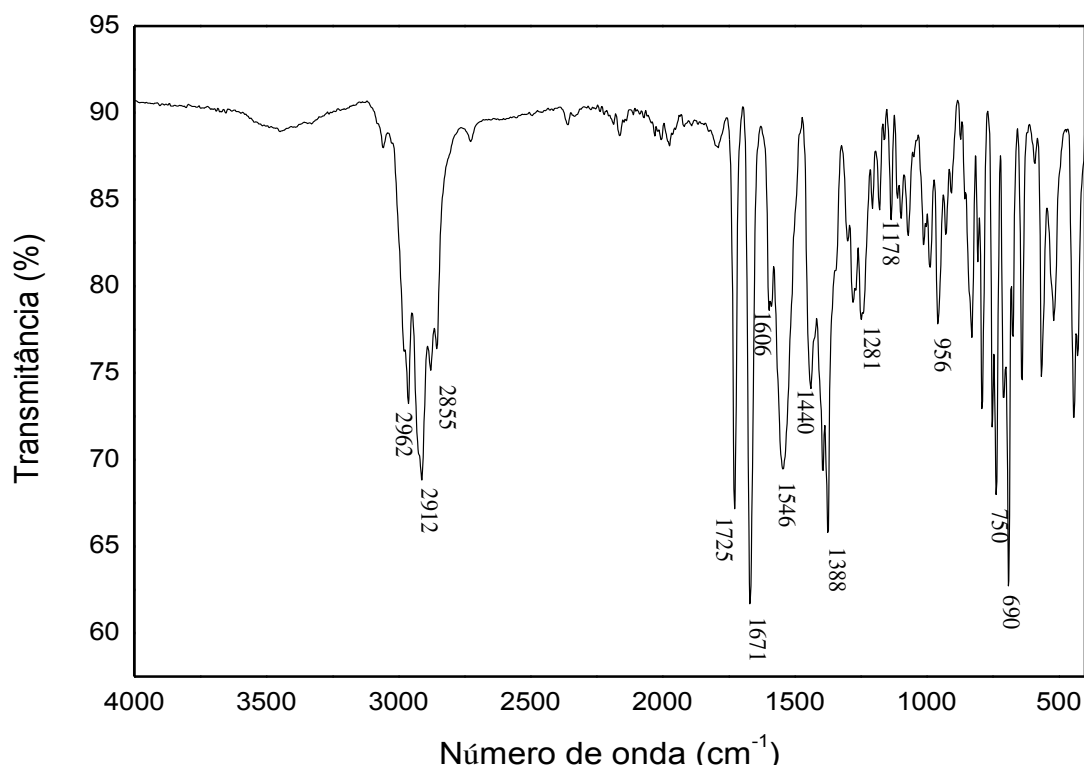
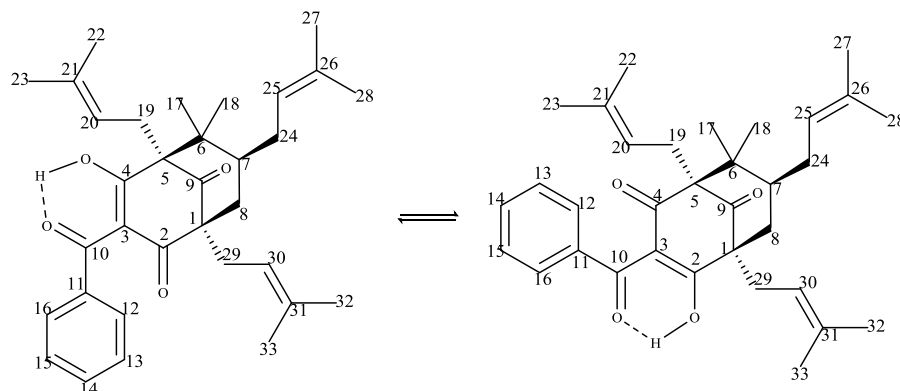


Figura 14: Espectro no Infravermelho (ATR) da 7-epiclusianona.



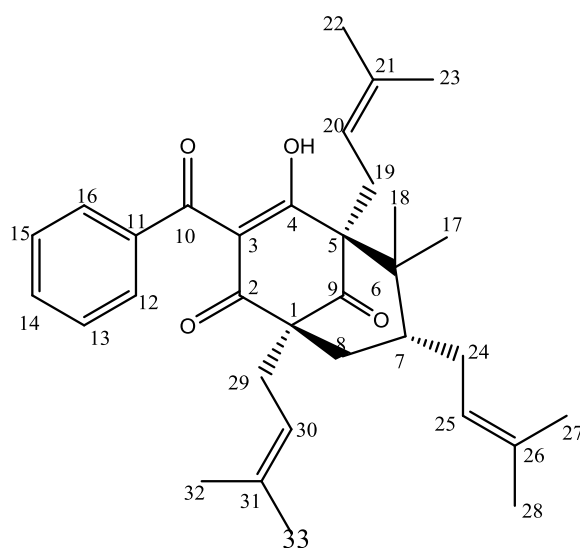
Estudos de elucidação estrutural para a 7-epiclusianona realizados por DOS SANTOS *et al.* (1998) a partir dos dados cristalográficos comprovaram a presença de dois tautômeros (Figura 15).

Figura 15: Equilíbrio tautomérico em solução para a 7-epiclusianona.



Neste mesmo trabalho, os autores compararam seus dados com os dados cristalográficos para a molécula clusianona (Figura 16) realizados pelos autores McCANDLISH (1976).

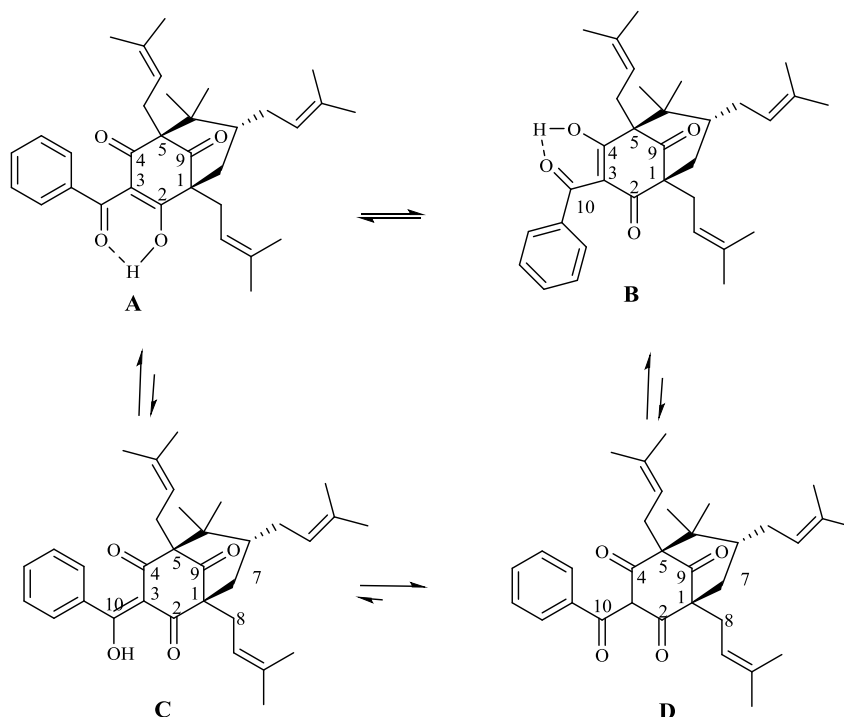
Figura 16: Fórmula estrutural para a molécula clusianona.



McCANDLISH (1976) concluiu que a clusianona cristalizada pode ser representada como tautômeros das estruturas **A**, **B** e **C**, **D** (Figura 17). A contribuição relativa das estruturas **C** e **D** foram consideradas sem importância significativa, sendo que a estrutura **D** possui um hidrogênio

ligado ao carbono C-3 muito ácido desfavorecendo ainda mais a formação desse intermediário.

Figura 17: Equilíbrio tautomérico para a molécula clusianona.



Os dados de raios X da molécula 7-epiclusianona feitos por DOS SANTOS *et al.* (1998) permitiram deduções análogas ao proposto por McCANDLISH (1976), já que a diferença estereoquímica entre os dois produtos naturais 7-epiclusianona e clusianona restringe-se apenas ao carbono quiral C-7. Sendo assim, devido à existência do equilíbrio tautomérico para essas moléculas, os sinais são duplicados nos espectros de RMN. Outros autores, DEROGIS *et al.*, 2007, mostraram que dependendo do solvente utilizado nas mensurações de RMN para as benzofenonas polipreniladas a duplicidade de sinais pode ser vista. DELLE MONACHE *et al.* (1991) concluiu que quando se utiliza em C_6D_6 a duplicação dos sinais ocorre na proporção 1:1. Já os pesquisadores DOS SANTOS *et al.* (1996) constataram uma proporção 5:4 quando se utiliza $CDCl_3$ e GUSTAFSON *et al.* (1992) em seus estudos concluíram que

quando se utiliza CDCl_3 como solvente para a benzofenona guttiferona-A a proporção é 3:1 atribuído ao equilíbrio tautomérico em solução.

O espectro de RMN de ^1H da 7-epiclusianona (Figura 18) e (Figura 19) confirma seu caráter aromático pelos sinais em δ_{H} 7,54-7,49 (*m*) integrado para 3 hidrogênios, referente aos hidrogênios H-12/H-14/H-16 e os sinais na região δ_{H} 7,40- 7,34 integrado para dois hidrogênios referente aos hidrogênios H-13 e H-15. Além dos sinais aromáticos, foi observada a presença de sinais largos de hidrogênios ligados a carbono sp^2 de ligação dupla (C=C-H) característica a prótons vinílicos na região δ_{H} 5,23 - 4,80 integrados para 3 hidrogênios atribuídos aos hidrogênios H-20, H-25 e H-30.

Foi observada também a presença de oito sinais em δ_{H} 1,78, 1,71, 1,67, 1,62, 1,57, 1,54, 1,53 e 1,48 integrados para 18 hidrogênios atribuídos as metilas ligadas aos carbonos vinílicos referente aos hidrogênios H-22, H-23, H-27, H-28, H-32, H-33 os sinais na região de δ_{H} 1,5 a δ_{H} 1,0 integrados para sete hidrogênios referem-se aos hidrogênios H-7, H-17 e H-18. Da mesma forma, os sinais na região entre δ_{H} 2,77 e 2,00 integrado para 6 hidrogênios foram relacionados aos hidrogênios alílicos, H-19, H-24, e H-29 indicando a possibilidade de três grupos isopentenila e o sinal de multiplete na região de δ_{H} 2,05 a δ_{H} 1,97 integrado para dois hidrogênios refere-se ao H-8. Além destes foi observado um sinal alargado duplicado na região δ_{H} 17,76 ppm duplicado devido a presença dos tautômeros, referente ao hidrogênio quelatogênico da hidroxila OH-4, em anel de seis membros, sugerindo a participação de ligação de hidrogênio intramolecular.

Figura 18: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) da 7-epiclusianona.

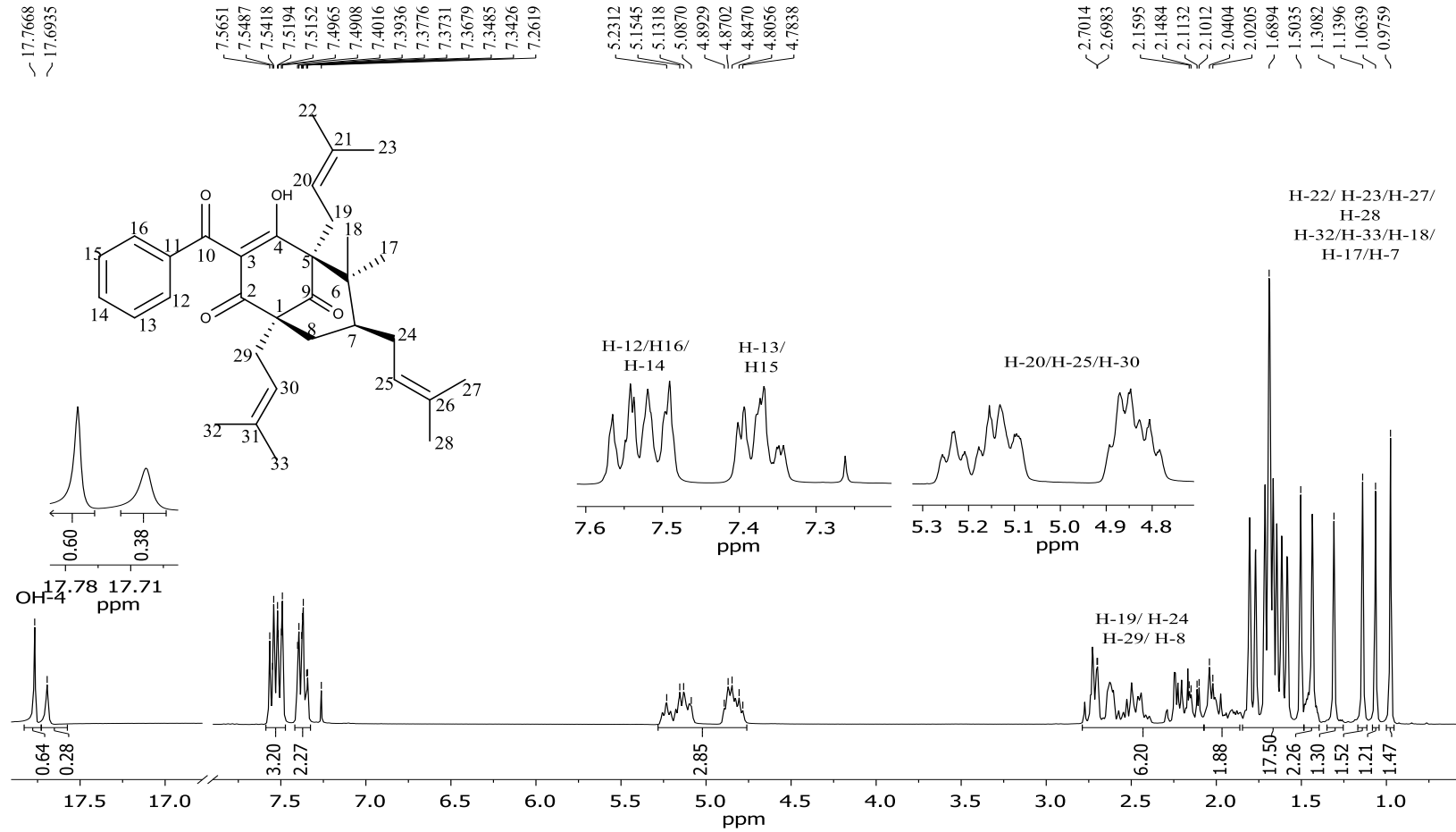
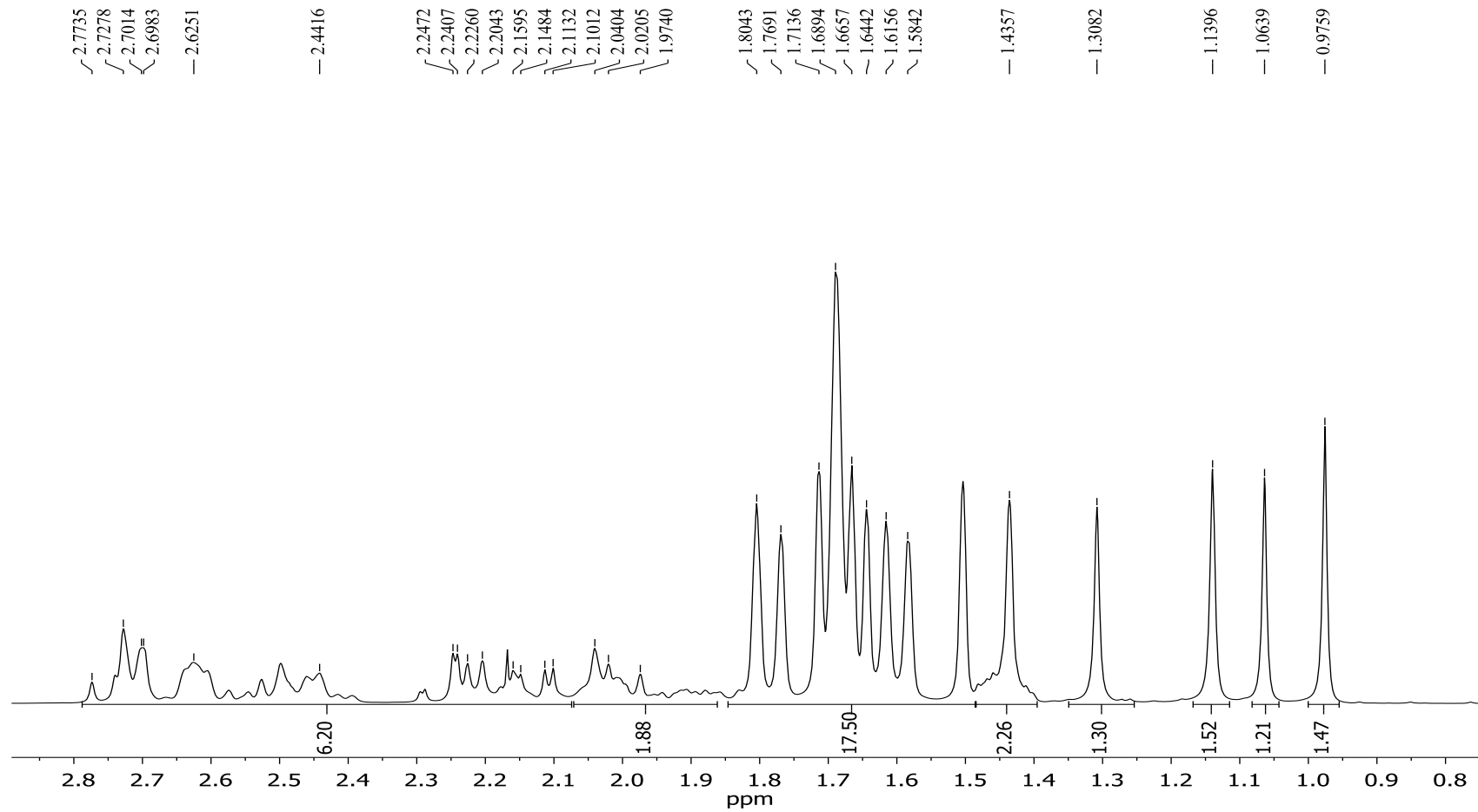


Figura 19: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) ampliado de 1,0 a 2,8 ppm da 7-epiclusianona.



No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20) foi observado dois sinais em δ_{C} 208,0 e δ_{C} 196,7 típicos de carbonos carbonílicos atribuído ao C-9 e C-10. Além destes, três sinais foram observados os sinais δ_{C} 193,6, 115,8 e 197,7 típicos de um sistema enolizado 1,3-dicetona e atribuídos aos carbonos C-4, C-3 e C-2. Podemos perceber com mais clareza a duplicidade do sinal atribuído ao equilíbrio tautomérico quando analisamos os contribuintes A e B (Figura 17, pág 51) para a diferença de deslocamento químico para os carbonos quaternários C-5 e C-1. Os dois sinais referentes ao carbono C-5 com δ_{C} 68,7 e δ_{C} 65,5 o maior deslocamento químico de 68,7 ppm pode ser justificado pelo maior efeito retirador de elétrons do grupo carbonila adicional localizado no carbono C-4, o que está de acordo com o maior δ_{C} 63,2 do C-1 quando comparado com o outro sinal para o mesmo carbono C-1 δ_{C} 58,4. Outros sinais no espectro de carbono que confirmam essa estrutura de biciclo do tipo [3.3.1]nonano δ_{C} 48,9, 46,6 e δ_{C} 63,2 relacionados aos carbonos C-6, C-7 e C-1. Os sinais referentes aos carbonos aromáticos δ_{C} 136,8; 127,8 e δ_{C} 132,8 referem-se aos carbonos C-11, C-13/C-15, e C-14 e o sinal δ_{C} 129,00 refere-se aos carbonos C-12/C-16. Outros sinais que merecem destaque são os sinais δ_{C} 119,7, 123,5, e δ_{C} 120,1 atribuídos a C-20, C-25 e C-30.

A partir de uma análise mais detalhada dos mapas de contornos HSQC e NOESY (Figura 21 e Figura 22) e em comparação com os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C da literatura dos estudos de PICCINELLI *et al.* (2005); DIAS *et al.* (2012); DOS SANTOS *et al.* (1998 e 1999); GUSTAFSON (1992); FROMENTI *et al.* (2013) e MCCANDLISH (1976) pode-se atribuir os deslocamentos químicos dos núcleos de hidrogênio e carbono da molécula 7-epiclusianona (Tabela 1).

Figura 20: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para a 7-epiclusianona.

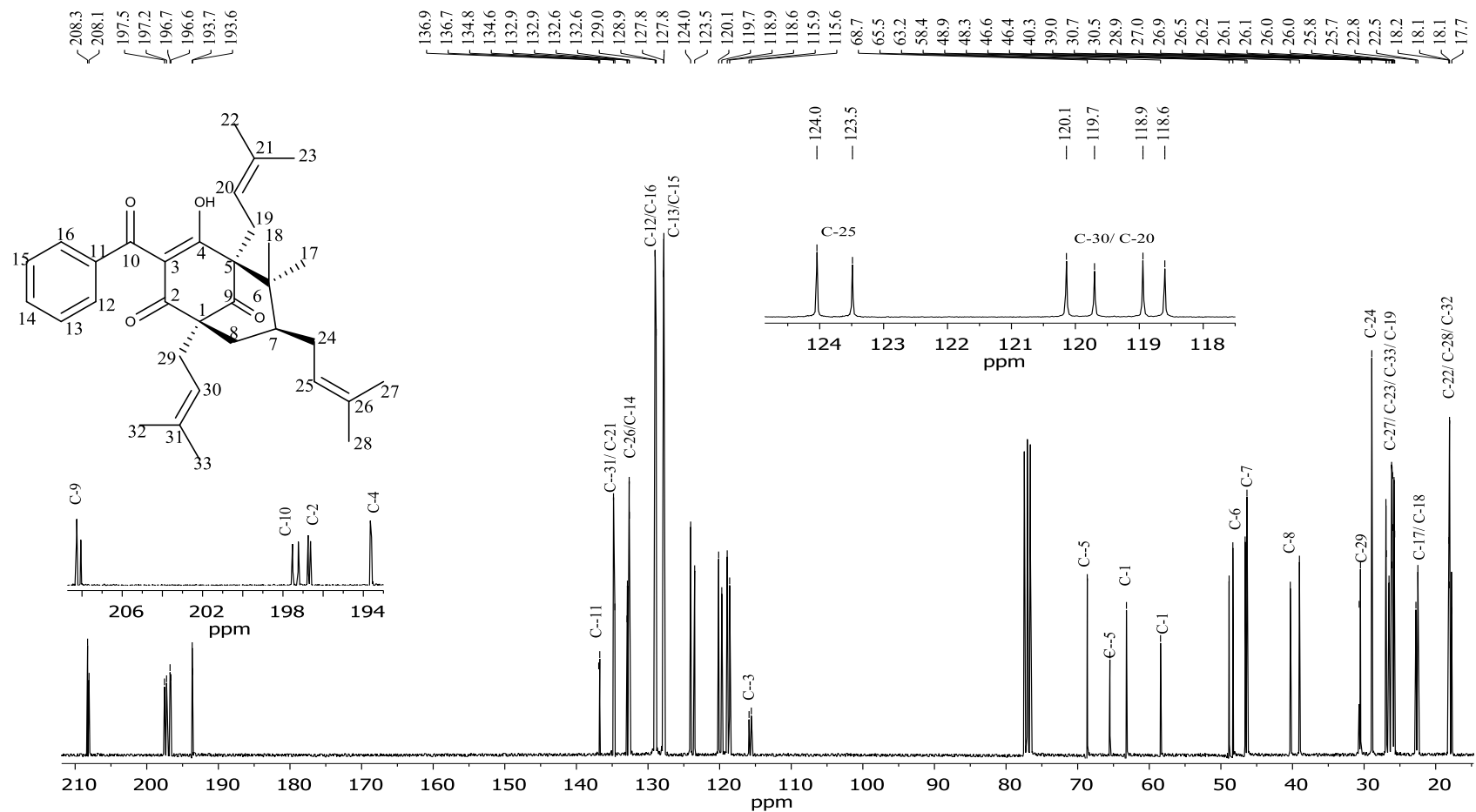


Figura 21: Mapa de contornos HSQC ^1H – ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) da 7-epiclusianona.

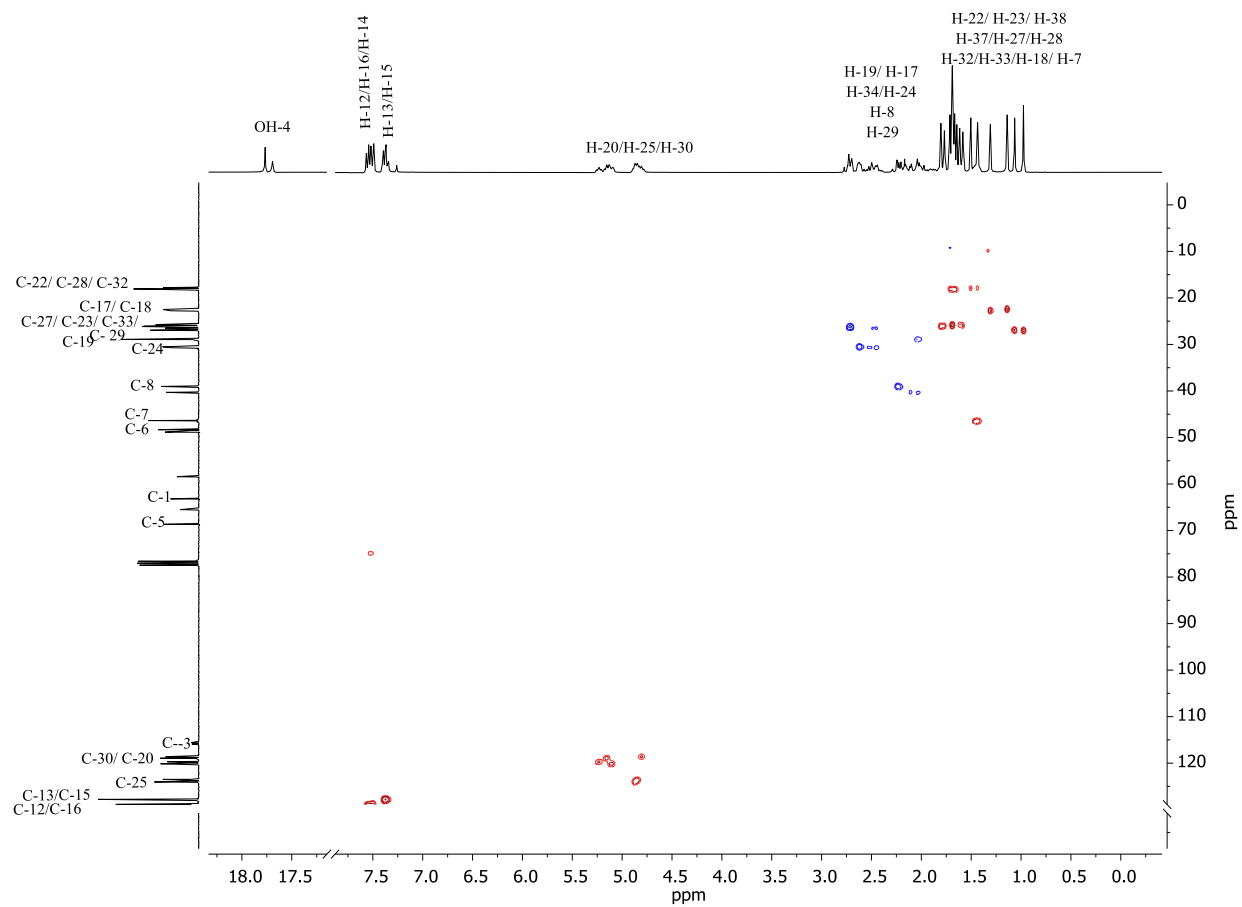


Figura 22: Mapa de contornos NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) da 7-epiclusianona.

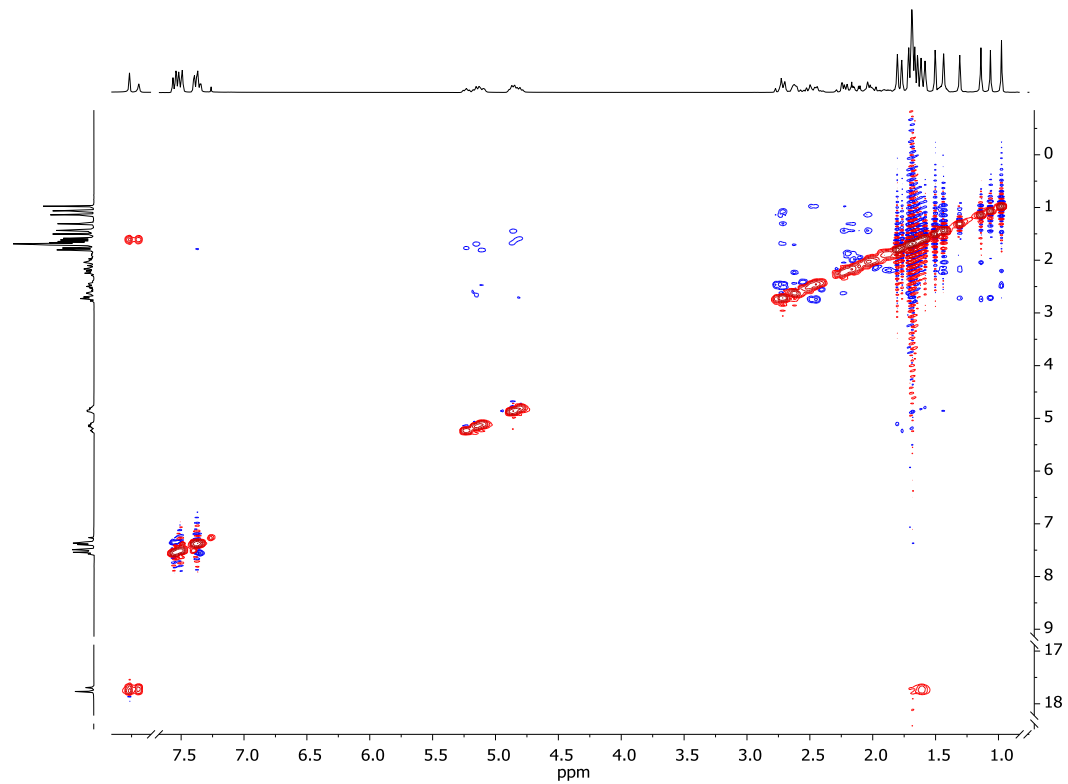
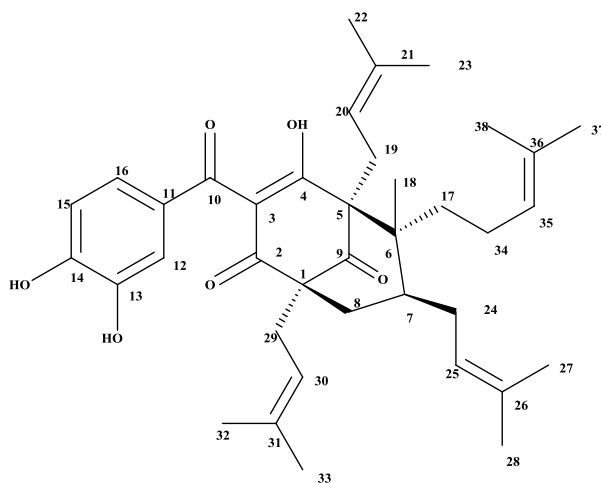


Tabela 1: Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C da 7-epiclusianona (^1H a 300 MHz, ^{13}C a 75 MHz, CDCl_3 , δ em ppm, M^* = multiplicidade).

Posição	$\delta^1\text{H}$	M^*	$\delta^{13}\text{C}$	Posição	$\delta^1\text{H}$	M^*	$\delta^{13}\text{C}$
1	-		63,2/58,4	19	2,04	<i>m</i>	26,9
2	-		196,7	20	5,23	<i>m</i>	119,7
3	-		115,8	21/31	-		134,6
4	-		193,6	22	1,66	<i>s</i>	18,2
5	-		68,7/65,5	23	1,50	<i>s</i>	27,0
6	-		48,8	24	2,63		28,9
7	1,44	<i>m</i>	46,6	25	4,85	<i>m</i>	123,5
8	2,04	<i>m</i>	40,3	26	-		132,8
9	-		208,0	27	1,69	<i>s</i>	25,8
10	-		196,7	28	1,43	<i>s</i>	17,8
11	-		136,8	29	2,02		30,5
12/16	7,54	<i>m</i>	129,0	30	5,10	<i>m</i>	120,1
13/15	7,34	<i>m</i>	127,8	31/21	-		134,6
14	7,54	<i>m</i>	132,6	32	1,66	<i>s</i>	18,1
15	7,34	<i>m</i>	127,8	33	1,76	<i>s</i>	26,0
16	7,54	<i>m</i>	128,6				
17	1,06	<i>s</i>	26,9				
18	1,13	<i>s</i>	22,5				

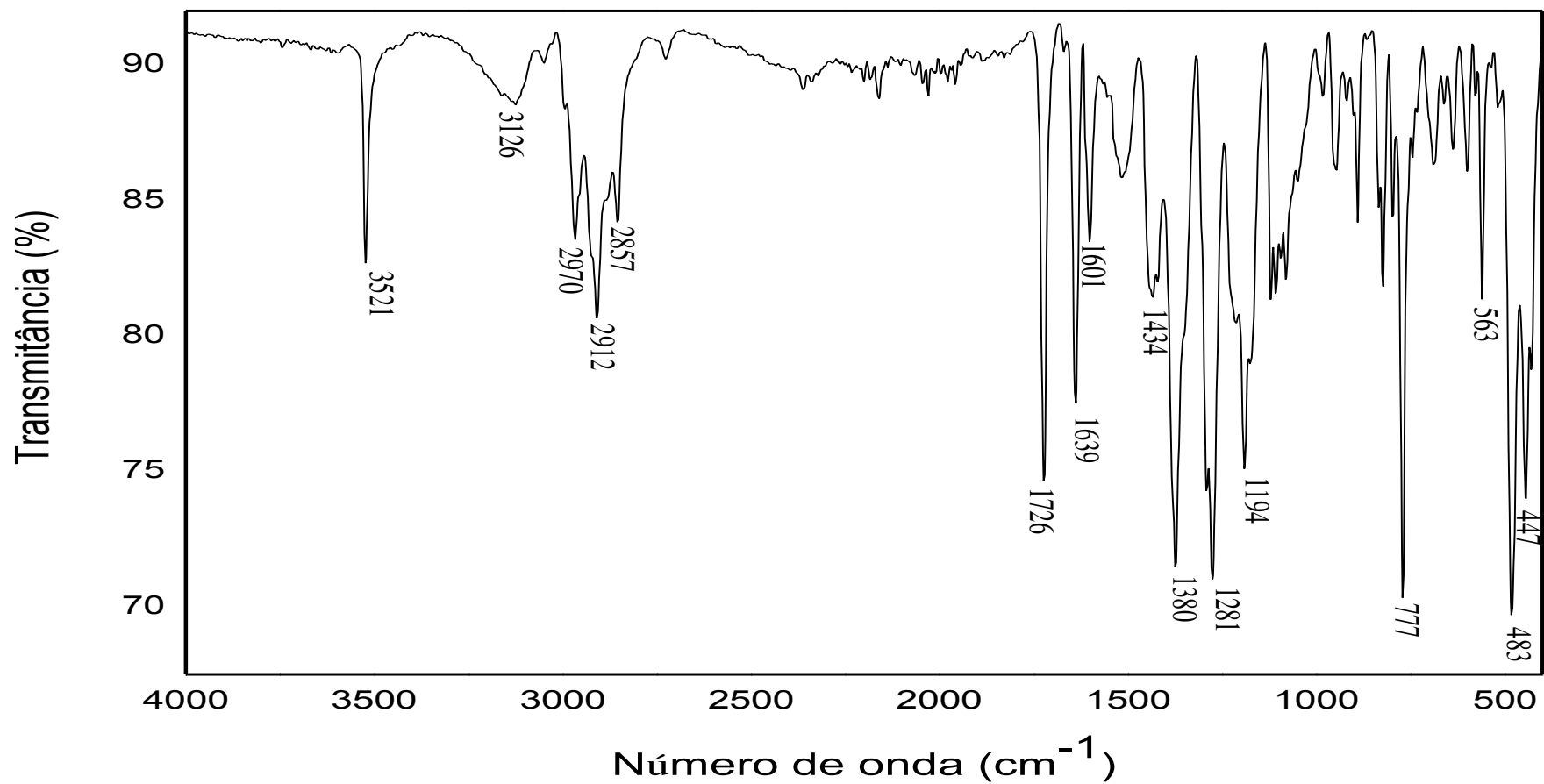
O composto de fórmula molecular $C_{38}H_{50}O_6$ (Figura 23) e com massa molecular de 602,80 g é um sólido amarelado, t_r 26,27 min, eluente acetonitrila/água com ácido ortofosfórico (8:2:0,5% v/v).

Figura 23: Estrutura química da guttiferona-A isolada das sementes de *G. gardneriana*.



O espectro de IV (Figura 24) apresenta bandas intensas em 2857 e 2970 cm^{-1} característico de deformação axial C-H e em 1434 cm^{-1} referente a deformação angular de C-H e banda aguda e fina em 3521 cm^{-1} típica de fenóis com ligação de hidrogênio intramolecular. Também foram observadas bandas de deformação axial C=C de anel aromático em 1601 cm^{-1} , de deformação axial assimétrica de C-O em 1194 cm^{-1} além de banda de absorção em 1726 cm^{-1} atribuída à carbonila não conjugada C-9 e em 1639 cm^{-1} atribuída à carbonila conjugada C-10.

Figura 24: Espectro no Infravermelho (ATR) da guttiferona-A.



A partir das análises espectroscópicas de RMN de ^1H e de ^{13}C bem como os dados da literatura, foi possível identificar como sendo uma benzofenona poliprenilada e denominada guttiferona-A. Assim como a 7-epiclusianona, a molécula guttiferona-A apresenta sinais duplicados nos espectros de RMN que é atribuído ao equilíbrio tautomérico existente em solução.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 25 e Figura 26) confirma seu caráter aromático pelo duplete em δ_{H} 6,56 ($J= 8,22$ Hz) refere-se ao hidrogênio H-15 que está acoplado com H-16, integrado para 1 hidrogênio. Já o sinal entre δ_{H} 6,95-7,03 (*m*) integrado para 2 hidrogênios refere-se aos hidrogênios H-12 e H-16. Além dos sinais aromáticos, foi observado a presença de quatro sinais característicos a hidrogênios vinílicos na região 4,78-5,22 ppm integrados para 4 hidrogênios atribuídos aos hidrogênios vinílicos, ligados aos carbonos sp^2 , dos grupos prenilas, H-30, H-35, H-25 e H-20.

Foi observada também a presença dos sinais aparentemente simpletos sobrepostos gerando um multiplete na região de δ_{H} 1,78 a δ_{H} 1,48 integrado para 25 hidrogênios atribuídos as metilas ligadas aos carbonos vinílicos referente aos hidrogênios H-22, H-23, H-27, H-28, H-32, H-33, H-37 e H-38 e um hidrogênio referente ao H-7. O deslocamento na região de 1,44-1,21 integrado para cinco hidrogênios refere-se aos dois hidrogênios H-17 e aos três hidrogênios H-18 ligados ao grupo metila. Da mesma forma, os sinais na região entre δ_{H} 2,74 a δ_{H} 1,82 integrado para 10 hidrogênios foram relacionados aos hidrogênios, H-34, H-24, H-29 e H-19 indicando a possibilidade de quatros grupos isoprenila. Nesta mesma região também ocorreu a presença dos dois hidrogênios ligados ao carbono metilênico H-8. Além destes foi observado um sinal alargado na região de 18,21 ppm referente ao hidrogênio quelatogênico da hidroxila OH-4, em anel de seis membros, sugerindo uma forte participação de ligação de hidrogênio intramolecular.

Figura 25: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da guttiferona-A.

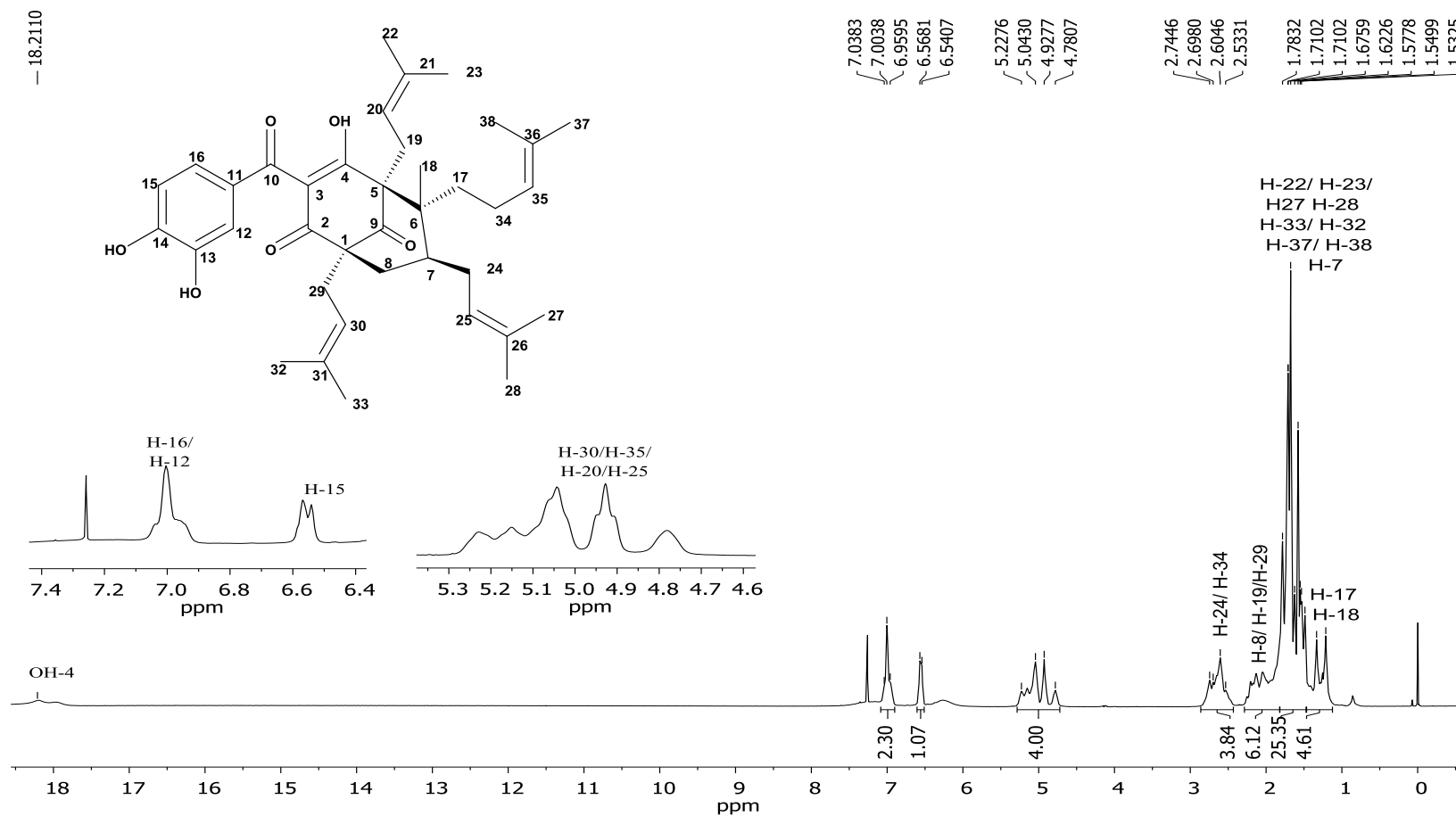
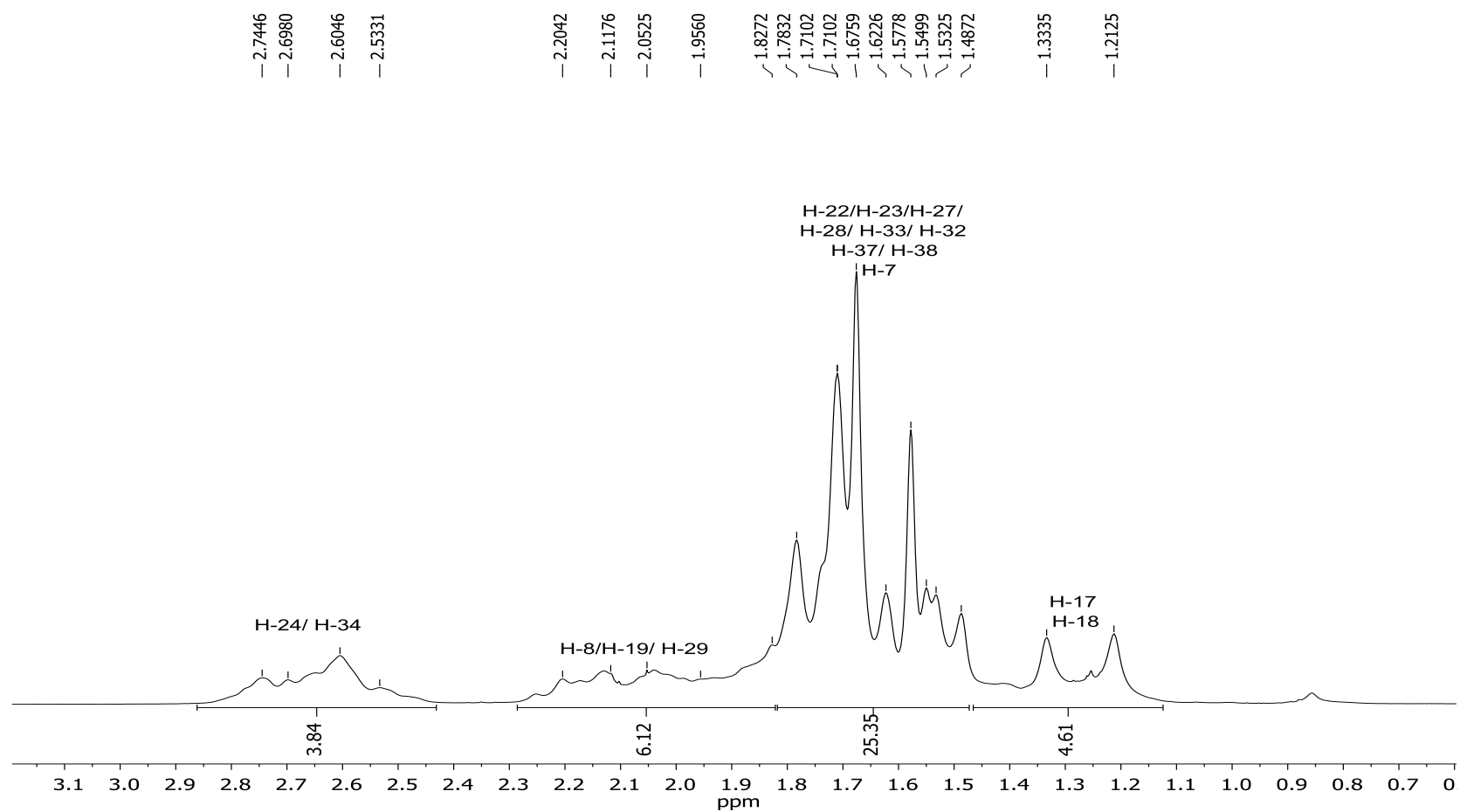


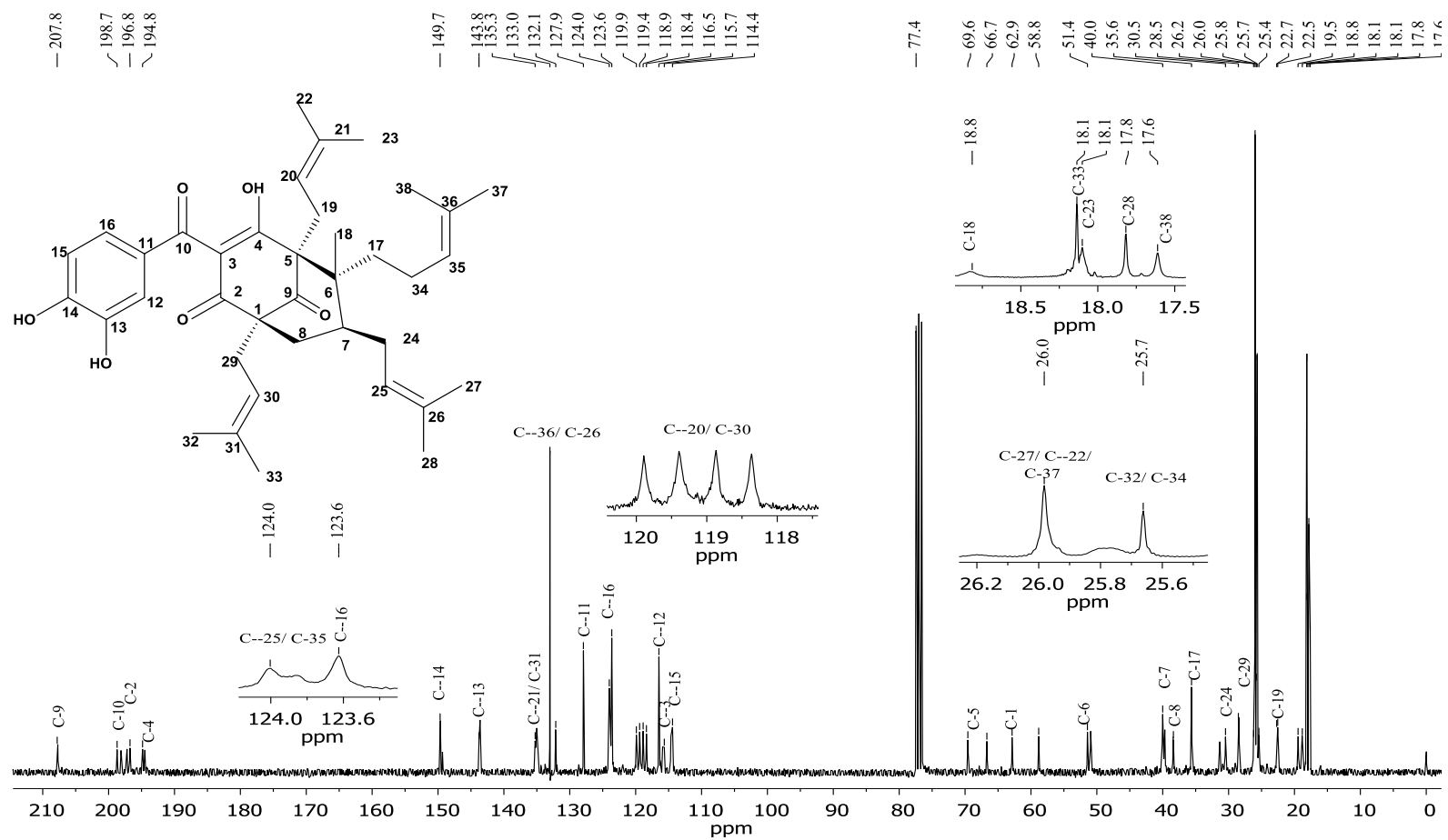
Figura 26: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) ampliado de 1,0 a 3,0 ppm da guttiferona-A.



No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 27) observa-se 2 sinais em δ_{C} 207,8 e δ_{C} 198,7 típicos de carbonos carbonílicos atribuído a C-9 e C-10. Além destes, três sinais em δ_{C} 194,8, 115,7 e δ_{C} 196,8 são típicos de um sistema enolizado 1,3-dicetona e atribuídos aos carbonos C-4, C-3 e C-2. Outros sinais no espectro de carbono que confirmam essa estrutura de biciclo do tipo [3.3.1]nonano são os sinais δ_{C} 50,9, 40,0 e 62,9 encontrados relacionados aos carbonos C-6, C-7 e C-1. Os sinais referentes aos carbonos aromáticos δ_{C} 114,7; 127,9; 143,8 e δ_{C} 149,7 referem-se aos carbonos C-15, C-11, C-13 e C-14 e os sinais δ_{C} 116,5 e δ_{C} 123,6 referem-se aos carbonos C-12 e C-16 respectivamente. Outros sinais que merecem destaque são os sinais entre δ_{C} 124,0-123,6 e δ_{C} 118,3 que justificam a presença de quatro grupos isoprenilas atribuídos aos carbonos C-30/C-35 e C-20/C-25 respectivamente.

A partir de uma análise mais detalhada dos mapas de contornos HSQC e COSY em comparação com os dados da literatura dos estudos de DIAS *et al.* (2012), FROMENTIMN, *et al.* (2013), DEROGIS *et al.* (2007), DOS SANTOS (1998 e 1999) GUSTAFSON (1992) e McCANDLISH (1976) pode-se atribuir os deslocamentos químicos dos núcleos de hidrogênio e carbono da molécula guttiferona-A (Tabela 2).

Figura 27: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para a guttiferona-A.



Para confirmar a presença dos hidrogênios alílicos das prenilas foram realizados o mapa de contornos COSY ^1H - ^1H (Figura 28 e Figura 29) e para identificar as correlações carbono-hidrogênio foi realizado o mapa de contornos HSQC (Figura 30). No mapa de contornos HSQC não foram observados correlação com hidrogênios os carbonos C-5, C-6, C-1 indicando que são carbonos quaternários. Observou ainda correlação do C-7 com hidrogênio H-7 na região 1,77 ppm, confirmando a estrutura do biciclo do tipo [3.3.1]nonano e relacionados aos carbonos C-6, C-7 e C-1. No mapa de contorno COSY ^1H - ^1H (Figura 28 e Figura 29) foram observados acoplamentos dos hidrogênios alílicos H-30, H-35, H-25 e H-20 para os hidrogênios metílicos H-22, H-23, H-37, H-38, H-27, H-28, H-32, H-33.

Figura 28: Mapa de contornos COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 300 MHz) para a guttiferona-A.

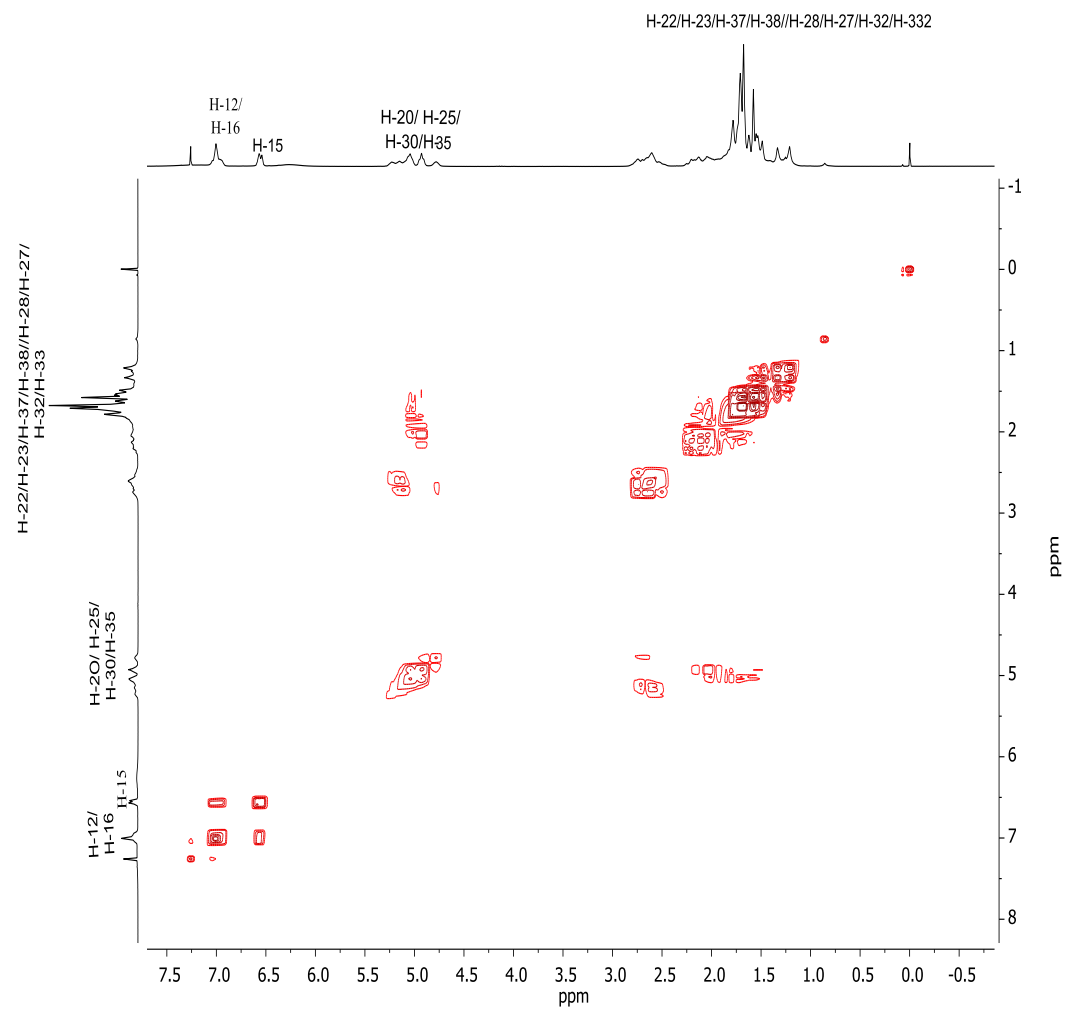


Figura 29: Mapa de contornos expandido de COSY ^1H - ^1H (300 MHz, CDCl_3) da guttiferona-A.

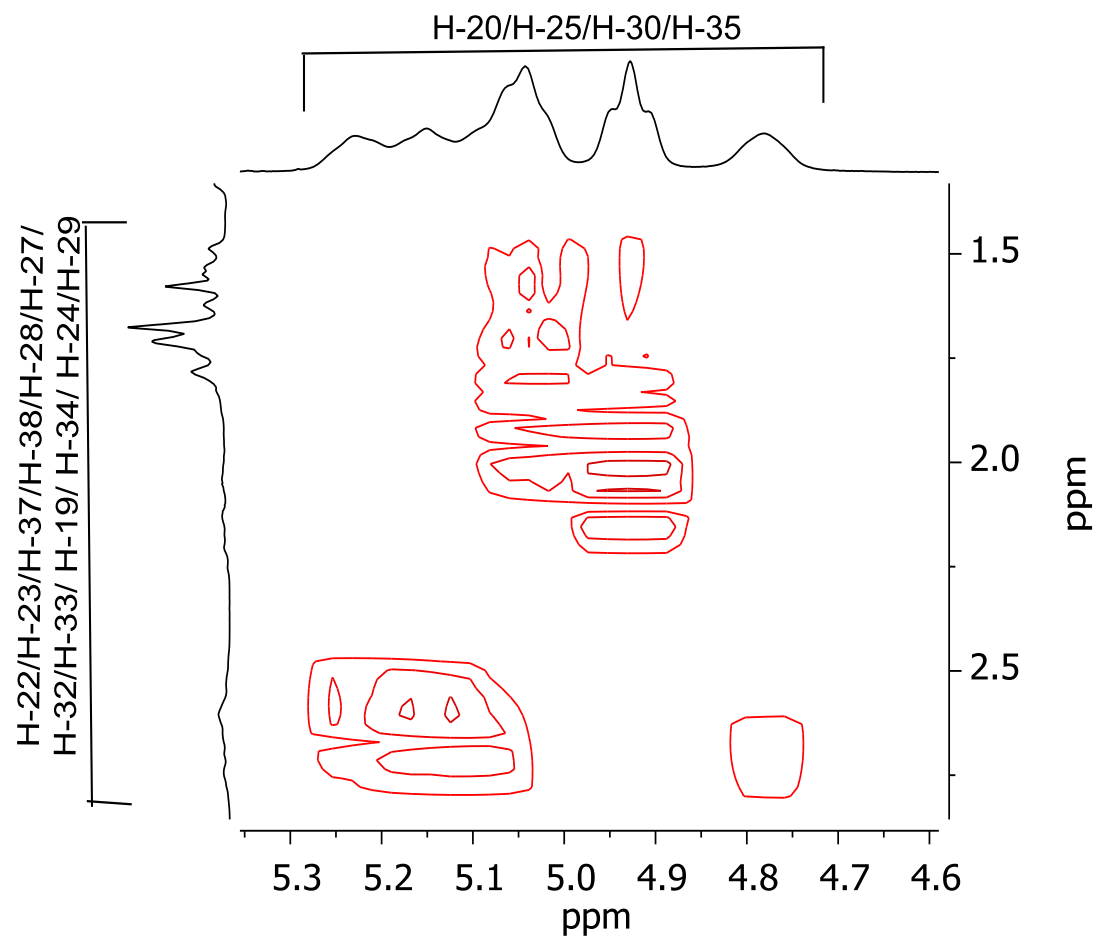


Figura 30: Mapa de contornos HSQC ^1H – ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) da guttiferona-A.

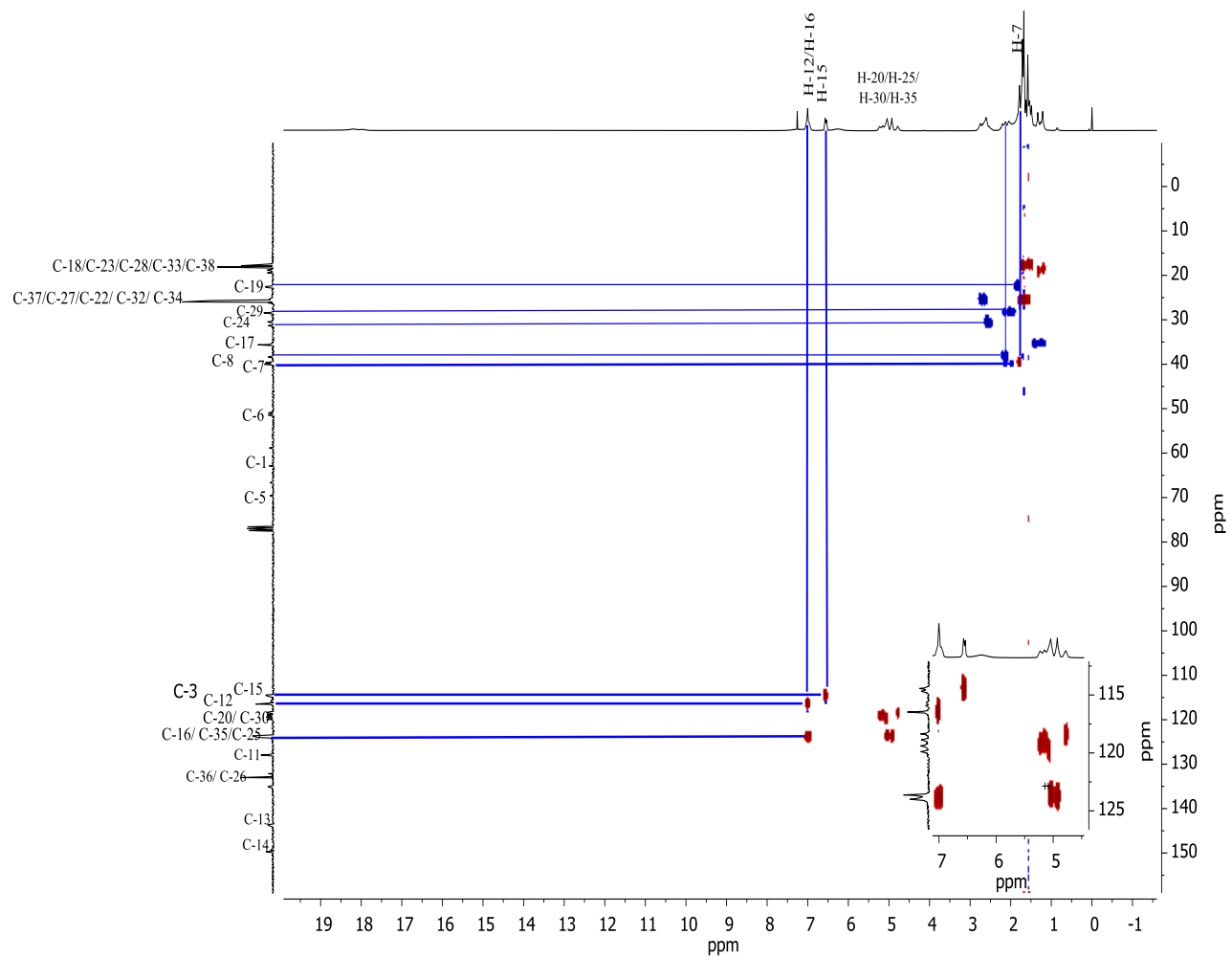


Tabela 2: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C guttiferona-A (^1H 300 MHz, ^{13}C 75 MHz, CDCl_3 , δ em ppm, M*= multiplicidade).

Posição	δ ¹ H	M*	δ ¹³ C	Posição	δ ¹ H	m*	δ ¹³ C
1	-		62,9/58,8	20	5,15	<i>m</i>	118,3/119,9
2	-		196,8	21	-	-	135,3
3	-		115,7	22	1,62	<i>s</i>	25,8
4	-		194,8	23	1,21	<i>s</i>	18,1
5	-		69,6/66,7	24	2,59	<i>m</i>	30,5
6	-		50,9	25	4,92	<i>m</i>	124,0
7	1,77	<i>m</i>	40,0	26	-	-	133,0
8	2,20	<i>m</i>	38,1	27	1,55	<i>s</i>	25,9
9	-		207,8	28	1,49	<i>s</i>	17,8
10	-		198,7	29	2,14	<i>m</i>	28,5
11	-		127,9	30	5,21	<i>m</i>	119,9/118,3
12	6,99	<i>m</i>	116,5	31	-	-	135,3
13	-		143,8	32	1,78	<i>s</i>	26,0
14	-		149,7	33	1,33	<i>s</i>	18,1
15	6,54	<i>d</i>	114,7	34	2,66	<i>m</i>	25,6
16	6,96	<i>m</i>	123,6	35	4,78	<i>m</i>	123,6
17	1,40	<i>m</i>	35,6	36	-	-	133,0
18	1,33	<i>s</i>	19,4	37	1,67	<i>s</i>	25,7
19	1,84	<i>m</i>	22,5	38	1,57	<i>s</i>	17,6

6. Conclusão

O principal objetivo deste capítulo foi isolar e quantificar por CLAE-UV-vis os compostos majoritários do extrato da espécie *Garcinia gardenriana* em acetato de etila.

A concentração dos compostos, guttiferona-A, 7-epiclusianona e fukugentina no extrato bruto foram, 1,13 mg mL⁻¹, 0,46 mg mL⁻¹ e 0,7 mg mL⁻¹ respectivamente.

As estruturas destes compostos foram elucidadas e confirmadas por técnicas de RMN uni e bidimensionais, IV, CLAE/UV-vis e HRMS.

7. Referências bibliográficas

ABE, F.; NAGAFUIJI, S.; OKABE, H.; AKAHANE, H.; ESTRADIA-MUNIZ, E.; HUERTA-REYES, M.; REYES-CHILPA, R. Trypanomicidal constituents in 3 plants: leaves of *Garcinia intermedia* and heartwood of *Calophyllum brasiliense*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 141-143, 2004.

ANDREU, P. G. L.; FIGUEREDO, Y. N.; TUDELLA, V. G.; RUBIO, O. C.; RODRIGUES, F. P.; PESTANA, C. R.; UYEMURA, S. A.; LEOPOLDINO, A. M.; ALBERICI, L. C.; CURTI, C. The anticancer agent guttiferone-A permeabilizes mitochondrial membrane: Ensuing energetic and oxidative stress implications. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 253, p. 282-289, 2011.

ALVES, T. M.; ALVES, R.; ROMANHA, A. J.; ZANI, C. L.; DOS SANTOS, M.; NAGEM, T. J. Biological activities of 7-epclusianone. **Journal Natural Products**, v.2, p. 369-371, 1999.

ANVISA. Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003. D. O. U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo, 02 de Junho de 2003.

BAGGETT, S.; MAZZOLA, E. P.; KENNELLY, E. J. The benzophenones: Isolation, structural elucidation and biological activities. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 32, p. 721-771, 2005.

BEERHUES, L.; LIU, B. Review: Biosynthesis of biphenyls and benzophenones—Evolution of benzoic acid-specific type III polyketide synthases in plants. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1719-1727, 2009.

BERNARDI, C. A. *Garcinia gardneriana* (Plancton & Triana) Zappi. Como alternativa de anti-inflamatório tópico para o tratamento de doenças da pele: Um estudo pré-clínico. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

BOY, H. I. A.; RUTILLA, A. J. H.; SANTOS, K. A.; TY, A. M. T.; YU, A. I.; MAHBOOB, T.; TANGPOONG, J.; NISSAPATORN, V. Recommended Medicinal Plants as Source of Natural Products: A Review. **Digital Chinese Medicine**, v. 1, p. 131-142, 2018.

BRAZ-FILHO, R.; MAGALHÃES, C. G.; GOTLIEB, O. R. Xanthones of *Rheedia gardneriana*. **Phytochemistry**, v. 9, p. 673, 1970.

BROWN, D. G.; LISTER, T.; MAY-DRACKA, T. L. New natural products as new leads for antibacterial drug Discovery. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, p. 413–418, 2014.

CASTARDO, J.C.; PRUDENTE, A.S.; FERREIRA, J.; GUIMARÃES, C.L.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V.; OTUKI, M.F.; CABRINI, D. A. Anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and two biflavonoids from *Garcinia gardneriana* leaves in mouse paw oedema. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 405-411, 2008.

CECHINEL FILHO, V.; DA SILVA, K. L.; DE SOUZA, M. M.; OLIVEIRA, A. E.; YUNES, R. A.; GUIMARÃES, C. L.; VERDI, L. G.; SIMIONATTO, E. L., DELLE MONACHE, F. Z. 13-naringenin-11 β -4'-OMe-eriodictyol - a new potential analgesic agent isolated from *Rheedia gardneriana* leaves. *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences*, v. 55, p. 820-823, 2000.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99-105, 1998.

COELHO, L. P.; SERRA, M.F.; PIRES, A. L.; CORDEIRO, R. S.; RODRIGUES E SILVA, P. M.; DOS SANTOS, M. H.; MARTINS, M. A. 7-Epiclusianone a tetraphenyllated benzophenone, relaxes airway smooth muscle through activation of

the nitric oxide-Cgmp Pathway. **Journal of pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 327, p. 206-214, 2008.

CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas uteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **Ministério da Agricultura, IBDF**, v. 6, p. 318-337, 1984.

CRUZ, A. J.; LEMOS, V. S.; DOS SANTOS, M. H.; NAGEM, T. J.; CORTES, S. F. Vascular effects of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Rheedia gardneriana*, on the rat aorta. **Phytomedicine**, v. 13, p. 442-445, 2006.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; BETTOLO, G. B. M. Chemical investigation of the genus *Rheedia*, II. Prenylated xanthenes from *Rheedia gardneriana*. **Journal Natural Products**, v. 46, p. 655-659, 1983.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; GACS-BAITZ, E. Prenylated benzophenones from *Clusia sadiensis*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 2003-2005, 1991.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; PINHEIRO, R. M.; RADICS, L. Nemorosonol, a derivative of tricyclo-[4.3.1.0^{3,7}]-decane-7-hidroxy-2,9-dione from *Clusia nemerosa*. **Phytochemistry**, v. 27, p. 2305-2308, 1988.

DEROGIS, P. B. M. C.; MARTINS, F. T.; DE SOUZA, T. C.; MOREIRA, M. E. DE C.; SOUZA FILHO, J. D.; DORIGUETO, A. C.; DE SOUZA, K. R. D.; VELOSO, M. P.; DOS SANTOS, M. H. Complete assignment of the H and C NMR spectral of garcinophenone and keto-enol equilibrium statements for prenylated benzophenones. **Magnetic Resonance in chemistry**, v. 46, p. 278-282, 2007.

DIAS, K. S. T.; JANUÁRIO, J. P.; D' DEGO, J. L.; DIAS, A. L.T.; SANTOS, M. H.; CAMPS, I.; COELHO, L. F. L.; VIEGAS JR, C. Semisynthesis and antitumor activity of noel guttiferone-A derivatives. **Biorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 2713-2720, 2012.

DONGMO, A. B.; AZEBAZE, A. G. B.; NGUELEFACK, T. B.; OUAHOUE, B. M.; SONTIA, B.; MEYER, M.; NKENGFACK, A. E.; KAMANYI, A.; VIERLING, A. Vasodilator effect of the extracts and some coumarins from the stem bark of *Mammea africana* (Guttiferae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 329–334, 2007.

DOS SANTOS, M. H.; NAGEM, T. J.; OLIVEIRA, T. T.; BRAZ-FILHO, R. 7-Epiclusianona, a nova benzofenona tetraprenilada e outros constituintes químicos dos frutos de *Rheedia gardneriana*. **Química Nova**, v. 22, p. 369-371, 1999.

DOS SANTOS, M. H.; SPEZIALI, N. L.; NAGEM, T. J. ; OLIVEIRA, T. T. Epiclusianone: a new natural product derivative of bicyclo[3.3.1]nonane-2,4,9-trione. **Acta Crystallographica**. Section C, Crystal Structure Communications, Inglaterra, v. C54, p. 1990-1992, 1998.

FERREIRA, R. O.; DE CARVALHO, M. G.; DA SILVA, T. M. S. Ocorrência de biflavonoides em Clusiaceae: Aspectos químicos e farmacológicos. **Química Nova**, v. 35, p. 2271-2277, 2012.

FIGUEIREDO, S. A.; VILELA, F. M. P.; SILVA, C. A.; CUNHA, T. M.; DOS SANTOS, M. H.; FONSECA, M. J. V. *In vitro* and *in vivo* photoprotective/photochemopreventive potential of *Garcinia brasiliensis* epicarp extract. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 131, p.65-73, 2014.

FIRMO, W. DA C. A.; MENEZES, V. J. M.; PASSOS, C. E. DE C.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; NETO, M. S.; OLEA, R. S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de Pesquisa**, v. 18, p. 90-95, 2011.

FREDERICO, G.; CRUZ, F. G.; TEIXEIRA, J. S. R. Poliprenylated benzophenones with a tricyclo[4.3.1.13,8]undecane skeleton from *Clusia obdeltifolia*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 504-508, 2004.

FROMENTIMN, Y.; KOLAR, N. G.; LENTA, B. N.; WANSI, J. D.; BUISSON, D.; MOURAY, E.; GRELLIER, P.; LOISEUA, P. M.; LALLEMAND, M. C.; MICHEL, S. Synthesis of novel guttiferone-A derivatives: In vitro evaluation toward *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei* and *Leishmania donovani*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 65, p. 284-294, 2013.

GERARDY, R.; ZENK M. H. Formação de salutaridina a partir de (*R*) –reticulina por uma enzima citocromo P-450 ligada à membrana a partir de *Papaver somniferum*. **Phytochemistry**, v. 32, p. 79-86, 1993.

GUSTAFSON, K. R.; BLUNT, J. W.; MUNRO, M. H. G.; FULLER, R. W.; MCKEE, T. C.; CARDELLINA II, J. H.; McMAHON, J. B.; CRAGG, G. M.; BOYD, M. R. The guttiferones, HIV-inhibitory benzophenones from. **Tetrahedron**, v. 48, p. 1093-10102, 1992.

HONGTHONG, S.; MEESINA, J.; PAILEE, P.; SOORUKRAM, D.; KONGSAEREE, P.; PRABPAI, S.; PIYACHATURAWAT, P.; JARIYAWAT, S.; SUKSEN, K.; JAIPETCH, T.; NUNTASAEN, N.; REUTRAKUL, V.; KUHAKARN, C. Cytotoxic lanostanes from fruits of *Garcinia wallichii Choisy* (Guttiferae). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, p. 5773-5779, 2016.

HOSSARY, E. M. E.; CHENG, C.; HAMED, M. M.; HAMED, A. X.; HAMED, EL-S.; OHLSEN, K.; HENTSCHEL, U.; ABDELMOHSEN, U. R. Antifungal potential of marine natural products. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 126, p. 631-651, 2017.

KATO, M. J. Global phytochemistry: the Brazilian approach. **Phytochemistry**, v. 57, p. 621-623, 2001.

KUETE, V.; NGUEMEVING, J. R.; BENG, V. P.; AZEBAZE, A. G. B.; ETOA, F. X.; MEYER, M.; BODO, B.; NKENGFAK, A. E. Antimicrobial activity of the methanolic extracts and compounds from *Vismia laurentii* De Wild (Guttiferae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 372–379, 2007.

LENTA, B. N.; VONTHRON-SÉNÉCHAU, C.; WENIGER, B.; DEVKOTA, K. P.; NGOUPAYO, J.; KAISER, M.; NAZ, Q.; CHOUDARY, M. I.; TSAMO, E.; SEWALD, N. Leshimanicidal and cholinesterase inhibition activities of phenolic compounds from *Allanblackia monticola* and *Symphonia globulifera*. **Molecules**, v. 12, p. 1548-1557, 2007.

LIU, B.; PAUL, H. F.; SCHMIDT, W.; BEERHUES, L. Benzophenones synthase and chalcone synthase from *Hypericum androsaemu* cell cultures: cDNA cloning, functional expression, and site-directed mutagenesis of two polyketide synthases. **The Plant Journal**, v. 34, p. 847-855, 2003.

MARTINS, F. T.; ASSIS, D. M.; DOS SANTOS, M. H.; CAMPS, I.; VELOSO, M. P.; JULIANO, M. A.; ALVES, L. C.; DORIGUETTO, A. C. Natural polyprenylated benzophenones inhibiting cysteine and serine proteases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 1239-1290, 2009.

MARTINS, R. T.; DORIGUETTO, A. C.; DE SOUZA, T. C.; DE SOUZA, K. R. D.; DOS SANTOS, M. H.; MOREIRA, M. E. C.; BARBOSA, L. C. A. Composition and antiinflammatory and antioxidante activities of the volatile oil from the fruit peel of *Garcinia brasiliensis*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, p. 251-258, 2008.

MENDES, V. A.; STOCCO, P.; DE LARA, A. C.; DE OLIVEIRA, C. M.; LISBOA, H. C. F. Avaliação do uso de produtos naturais na prática do profissional de saúde. **Saúde (Santa Maria)**, v. 44, p. 1-8, 2018.

McCANDISH, L. E.; HANSON, J. C.; STOUT, G. H. **Acta Crystallographica**. Sect. B 32: 1793-1801, 1976.

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

MOREIRA, M. E. DE C.; NATAL, D. I. G.; TOLEDO, R. C. L.; RAMIREZ, N. M.; RIBEIRO, S. M. R. BENJAMIN, L. DOS A.; DE OLIVEIRA, L. L.; RODRIGUES, D. A.; DEMUNER, A. J.; VELOSO, M. P.; DOS SANTOS, M. H.; MARTINO, H. S. D. Bacupari peel extracts (*Garcinia brasiliensis*) reduce high-fat diet-induced obesity in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 29, p. 143-153, 2017.

NALDONI, F. J. CLAUDINO, A. L. R.; CRUZ-JR, J. W.; CHAVASCO, J. K.; FARIA E SILVA, P. M.; VELOSO, M. P.; DOS SANTOS, M. H. Antimicrobial, activity of benzophenones and extracts from the fruits of *Garcinia brasiliensis*. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, p. 403-407, 2009.

NGUEMFO, E. L.; DIMO, T.; AZEBAZE, A. G. B.; ASONGALEM, E. A.; ALAOU, K.; DONGMO, A. B.; CHERRAH, Y.; KAMTCHOUING, P. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of the stem bark extracts from *Allanblackia monticola* STANER L.C. (Guttiferae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 417–424, 2007.

PASSARIA, L. M. Z. G.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. D. Experimental designs characterizing seasonal variations and solvent effects on the quantities of coumarin and related metabolites from *Mikania laevigata*. **Analytica Chimica Acta**, v. 821, p. 89-96, 2014.

PEREIRA, I. O.; MARQUES, M. J.; CODONHO, B. S.; BARBIÉRI, C. L.; BEIJO, L. A.; DORIGUETTO, A. C.; D' MARTIN, E. C.; SANTOS, M. H. Leishmanicidal activity of benzophenones and extracts from *Garcinia brasiliensis* Mart. Fruits. **Phytomedicine**, v. 17, p. 339-345, 2010.

POSEY, D. A. Commodification the sacred through intellectual property rights. **Journal Ethnopharmacology**, v. 83 p. 3-12, 2002.

PICCINELLI, A. L.; RUBIO, O. C.; CHICA, M. B.; MAHMOOD, N.; PAGANO, B.; PAVONE, M.; BARONE, V.; RASTRELLI, L. Structural revision of clusianone and 7-epiclusianone and anti-HIV activity of polyisoprenylated benzophenones. **Tetrahedron**, v. 65, p. 8206-8211, 2005.

RATES, S. M. Promoção do uso natural fitoterápicos: uma abordagem no ensino de farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, p. 57-69, 2001.

RODRIGUES, D. A.; PEREIRA, G. A. M.; SILVA, A. M.; SANTOS, M. H; DEMUNER, A. J.; OLIVEIRA, P. M. Phytochemical profile of pasture weeds from the Brazilian Cerrado. **Planta Daninha**, v. 37, p. 1-10, 2019.

SANTA-CECÍLIA, F. V.; FREITAS, L. A. S.; VILELA, F. C.; VELOSO, C. DE C.; ROCHA, C. Q.; MOREIRA, M. E. C.; DIAS, D. F.; PAIVA, A. G.; DOS SANTOS, M. H. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Garcinia brasiliensis*. **European Journal of Pharmacology**, v. 670, p. 280–285, 2012.

SILVA, O. S.; SILVA, F. C.; BARROS, F. M. C.; SILVA, J. L. R.; BORDIGNON, S. A. L.; LIMA, V. L. E.; POSER, G. L. V.; PROPHIRO, J. S. Larvicidal and growth-inhibiting activities of extract and benzopyrans from *Hypericum polyanthemum* (Guttiferae) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Industrial Crops and Products**. v. 45, p. 236-239, 2013.

TCHAMADEU, M. C.; DZEUFUET, P. D.D.; NOUGA, K. C. C.; AZEBAZE, A. G. B.; ALLARD, J.; GIROLAMI, J. P.; TACK, I.; KAMTCHOUING, P.; DIMO, T. Hypoglycaemic effects of *Mammea africana* (Guttiferae) in diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 368–372, 2010.

THAKUR, M.; BHATTACHARYA, S. KHOSLA, P. K.; PURI, S. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 12, p. 1-12, 2019.

TULP, M.; BHOLIN, L. Unconventional natural sources for future drug discovery. **Drug Discov. Today**, v. 9, p. 450-458, 2004.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VERDI, L. G.; PIZZOLATTI, M. G.; MONTANHER, A. B. P.; BRINGHENTE, I. C.; JUNIOR, A. S.; SMÂNIA, E. F. A. SIMIONATTO, E. L. DELLE MONACHE, F. Antibacterial and brine shrimp lethality tests of biflavanoids and derivatives of *Rheedia gardneriana*. **Fitoterapia**, v. 75, p. 360-363, 2004.

WU, S. B.; LONG, C. KENNELLY, E. J. Structural Diversity and Bioactivities of Natural Benzophenones. **Natural Products Reports**, v. 1, p. 1-16, 2014.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade de desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, p. 147-152, 2001.

CAPÍTULO 2: Síntese de novos derivados da guttiferona-A

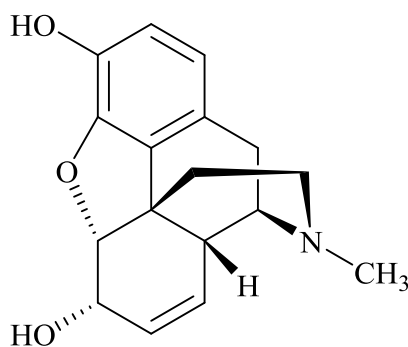
1. Compostos heterocíclicos

Os compostos heterocíclicos possuem variadas aplicações, medicinais e bioquímicas, desempenham importante papel na descoberta de novos fármacos, agroquímicos, conservantes e corantes (LINDSAY-SCOTT e GALLAGHER 2017; ZHAO *et al.*, 2018).

A maioria das publicações em síntese ou semissíntese orgânica envolvem a formação de pelo menos um anel heterocíclico, podendo ser um núcleo promissor em atividades biológicas, por tentar uma maior similaridade com as estruturas naturais.

Os núcleos heterocíclicos presentes nas estruturas naturais desempenham funções de defesa, evolução, adaptação às condições edafoclimáticas dentre outras. Por exemplo, a morfina (Figura 31), um poderoso analgésico, isolada no início do século XIX pelo alemão Friedrich, foi utilizada na síntese de um grande número de análogos (DUARTE 2005; VÁRADI *et al.*, 2011; ALNAJJAR E EL-ZARIA 2008).

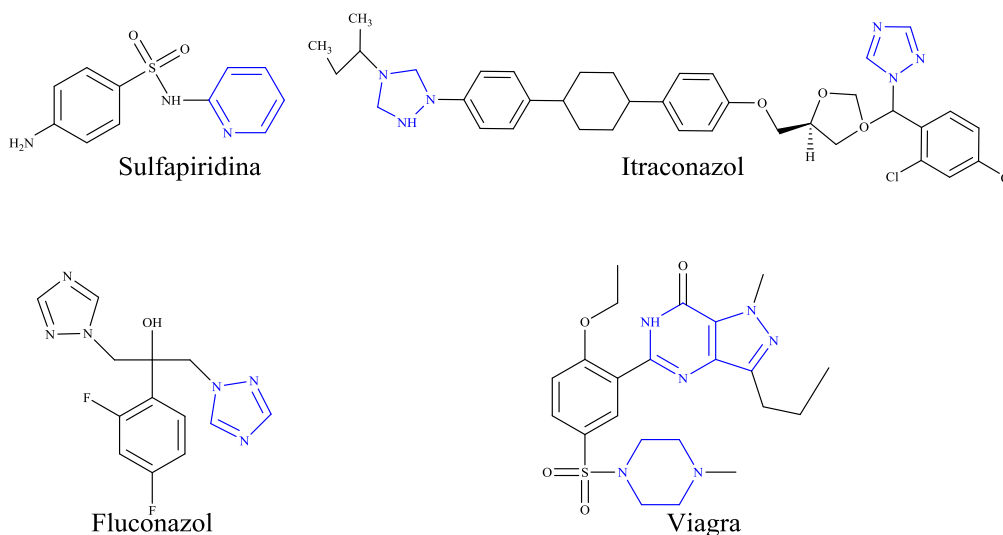
Figura 31: Estrutura química da morfina.



Dentre os compostos heterocíclicos, temos aqueles que possuem em seu anel o átomo de nitrogênio (*N*-heterocíclicos), são consideradas estruturas privilegiadas, possuem inúmeras aplicações biomédicas: antiepilépticos (KOTHAREA, *et al.*, 2017), antidiabéticos (BOKOR, *et al.*, 2010), antituberculose (GILL *et al.*, 2008), antifúngico (AHAER *et al.*, 2009), anti-inflamatório (SYEG *et al.*, 2012), antiviral (CHU *et al.*, 2019), anticancerígeno e antibacterianos (HOLLA *et al.*, 2005), sendo campeões de venda em diversos usos (CHEN *et al.*, 2011). O Viagra por exemplo, primeiro fármaco (lançado no ano de 1999) é o mais comercializado atualmente, útil para o tratamento da disfunção erétil, atuando como inibidor

seletivo da fosfodiesterase. Além dele temos outros fármacos, os fungicidas flucanazol, itraconazol e o antibacteriano sulfapiridina (Figura 32).

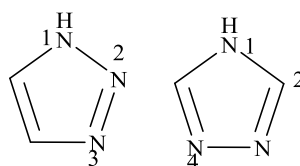
Figura 32: Estrutura dos fármacos N-heterocíclicos sulfapiridina, itraconazol, viagra®, flucanazol.



Dentre a classe dos N-heterocíclicos, temos os aromáticos nitrogenados de cinco membros denominados triazóis.

Os triazóis são divididos de acordo com seu núcleo 1,2,3-*1H*-triazol ou 1,2,4-*1H*-triazol (Figura 33) são núcleos exclusivamente sintéticos, não sendo encontrados na natureza (MELO *et al.*, 2006).

Figura 33: Isômeros 1,2,3-*1H*-triazol e 1,2,4-*1H*-triazol.

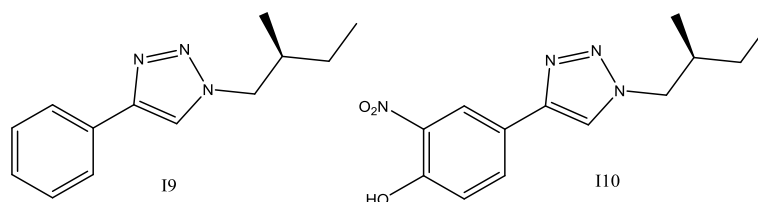


Os compostos contendo o núcleo 1,2,3-triazólico ou 1,2,4-triazólico apresentam uma série de atividades biológicas como; antibacteriana (THOMAS *et al.*, 2010), citotóxica (ANJOS *et al.*, 2009), antitumoral (COLOMBANO *et al.*, 2010), antifúngica (SUMANGALA *et al.*, 2010). Estes anéis triazólicos são considerados

estáveis, permite a realização de diversas reações de modificações químicas em relação aos grupos substituintes.

Para exemplificar a importância do núcleo triazólico na busca de substâncias biologicamente ativas estudo realizado por GALLARDO E COLABORADORES (2007), que, sintetizaram uma série de derivados contendo o núcleo 1,2,3-triazólico para avaliação da atividade antituberculose em comparação com o antibacteriano comercial etambutol[®]. Neste trabalho os autores comprovaram que dois de seus derivados I9 e I10 (Figura 34) foram mais ativos frente as bactérias causadoras de tuberculose quando comparados ao produto comercial.

Figura 34: Derivados 1,2,3-triazólicos com atividade antibacteriana.



A obtenção dos compostos triazólicos pode ser por várias metodologias, via osazona, adição de enolatos em azidas, ciclização de triazinas e a cicloadição 1,3-dipolar (MELO *et al.*, 2006). Recentemente a metodologia mais empregada na obtenção desse núcleo 1,2,3-triazol é a 1,3-dipolar, conhecida como reação “click”.

1.2. Reações “Click”

Reação “click” é um termo criado em 2001 por Sharpless para descrever reações termodinamicamente favoráveis. Quando realizadas em laboratório são capazes de conectar duas moléculas de forma muito simples com altos rendimentos.

Segundo Sharpless para ser considerada uma reação “click” esta deve ser rápida, regioespecífica, quimioselativa e produzir produtos secundários inofensivos, sem uso de solventes ou que sejam atóxicos e inofensivos (SHARPLESS, 2001).

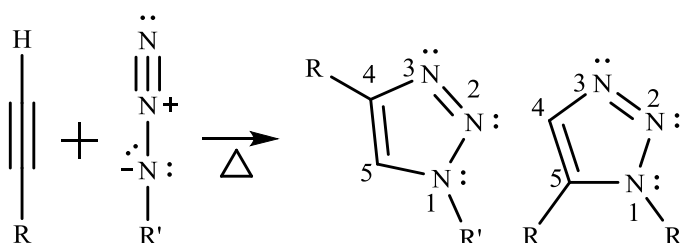
Dentre as reações que compreendem essa ideia de química “click”, temos; a abertura nucleofílica de epóxidos e aziridinas, para as adições as ligações duplas carbono-carbono e reações de cicloadição.

A reação de cicloadição (C) 1,3-dipolar [3+2] entre um alcino terminal (A) e uma azida orgânica (A), catalisada por cobre (Cu(I)), com formação regioespecífica de 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos, também conhecida por CuAAC, é o melhor exemplo que caracteriza esse universo “click”.

A presença do catalisador de Cu(I) proposto em 2002 pelos grupos de pesquisa Sharpless (ROSTOVTSEV *et al.*, 2002) e Meldal (TORNOE *et al.*, 2002) impulsionaram as sínteses desse núcleo, tornando a reação rápida, com altos rendimentos e regioseletiva.

A ausência do metal cobre como catalisador nas reações (1,3-dipolar) proposta anteriormente pelo pesquisador Huisgen era lenta, com baixos rendimentos, emprego de altas temperaturas e os produtos finais eram uma mistura de regioisômeros 1,5 e 1,4 dissubstituídos na proporção 1:1 (Figura 35 **Erro! Fonte e referência não encontrada.**) (CHATUVERD *et al.*, 2011).

Figura 35: Reação de cicloadição levando a formação dos regioisômeros triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos.

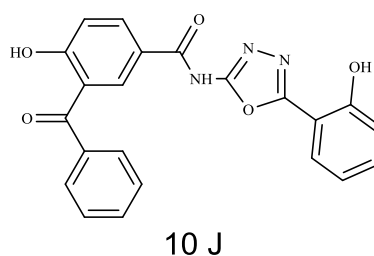


Além da versatilidade dessas reações e o interesse associado ao amplo espectro de aplicações dos anéis triazólicos, que vão desde usos como agroquímicos, fármacos e até como explosivos (LIU *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2006). Os núcleos triazólicos são interessantes por proporcionar a conexão entre duas moléculas biologicamente ativas, uma estratégia de hibridização molecular.

A hibridização molecular é uma estratégia de conjugação de estruturas de compostos orgânicos biologicamente ativos distintos em uma única molécula, sendo uma alternativa eficiente de propor estruturas moleculares como novos compostos protótipos (ARAÚJO *et al.*, 2015). A hibridização molecular de benzofenonas com outras moléculas biologicamente ativas tem aumentado seu potencial biológico (PUTTASWAMY *et al.*, 2018).

Estudos atuais PUTTAWASMY E COLABORADORES (2018) reportou a associação de benzofenona a um núcleo oxadiazole. Neste trabalho eles comprovaram que o derivado 10j (Figura 36) proveniente desta associação pode ser um promissor componente farmacológico ativo frente às atividades, antiinflamatória e anti-angiogênese.

Figura 36: Derivado 10j sintetizado por PUTTAWASMY et al. (2018).



Sendo assim, o presente estudo visa a obtenção de novos derivados da benzofenona natural guttiferona-A contendo o núcleo 1,2,3-triazólico, via reação “click” entre a guttiferona-A contendo uma ligação tripla terminal com diferentes azidas benzílicas, catalisada por Cu(I), visando potencializar a atividade biológica ou até mesmo atribuir uma atividade antes não constatada na guttiferona-A natural.

2. Material e Métodos

2.1 Generalidades

Todos os reagentes utilizados nas sínteses foram de grau PA adquiridos da Sigma Aldrich.

O monitoramento de cada reação foi realizado aplicando-se a técnica de cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de sílica pré-revestida com suporte de alumínio (Macharel-Nagel DC-Fertigfolien ALUGRAM[®] Xtra SIL G/UV₂₅₄). A placa foi eluída com a fase móvel especificada na metodologia de cada reação, após a eluição a placa de sílica foi observada sob luz UV ($\lambda = 254$ nm) e revelada com solução de vanilina. Os rendimentos relatados foram determinados após a purificação por cromatografia em coluna utilizando sílica gel, como fase estacionária.

Os espectros de IV foram registrados em espectrofotômetro VARIAN 660-IR (Varian, Palo Alto, CA, USA), equipado com GLADIATR *scanning* de 4000 para 500 cm^{-1} .

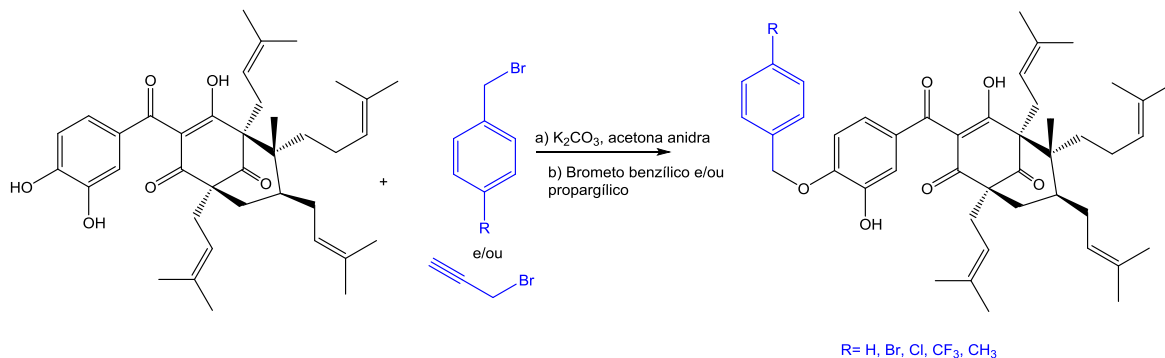
Os espectros de ressonância magnética nuclear RMN unidimensional e bidimensional de hidrogênio ^1H e carbono ^{13}C foram obtidos em um aparelho VARIAN MERCURY 300 (Varian, Palo Alto, CA, USA) em 300 MHz e 75 MHz, respectivamente, utilizando o CDCl_3 como solvente. No experimento de RMN de ^1H os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno. Os espectros de RMN de ^{13}C foram calibrados considerando o pico do 1,2 do CHCl_3 como 77,0 ppm (pico central). A multiplicidade foi exposta com as seguintes abreviaturas; *s* (*simpleto*), *d* (*dupleto*), *t* (*tripleto*) e *m* (*multipleto*). Para os derivados contendo flúor, a multiplicidade de alguns sinais de carbono é descrita juntamente com os valores de *J* em Hertz. As azidas foram sintetizadas conforme as metodologias descritas na literatura (ZHUH *et al.*, 2014).

2.2. Síntese dos derivados etéreos e triazólicos da guttiferona-A

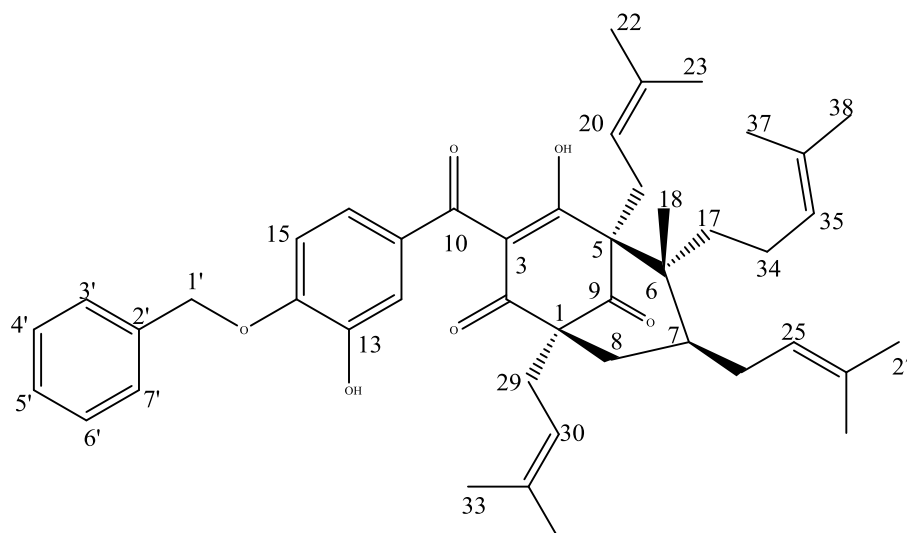
Foram sintetizados seis derivados etéricos da guttiferona-A, dentre estes, cinco foram sintetizados utilizando brometos benzílicos (**1E1**, **1E2** e **1E3**) e um com

brometo propargílico contendo o alcino terminal que será o composto de partida para a síntese dos derivados triazólicos (**2**) (Figura 37).

Figura 37: Esquema de síntese dos derivados etéricos da guttiferona-A.



Síntese do derivado 14-O-Benzilguttiferona-A (1E1)



A um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados a guttiferona-A (**1**) (0,100 g; 0,166 mmol), 5,0 mL de acetona anidra, carbonato de potássio anidro (0,046 g; 0,332 mmol) e peneira molecular 4 Å. Após 30 minutos foi adicionado o brometo de benzila (0,043 g; 0,249 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente durante 48 h. Após o término da reação, que foi evidenciado por CCD, a mistura reacional foi filtrada e levada à evaporação do solvente sob pressão reduzida a 40 °C. Foi ressolubilizado em acetato de etila e lavado com solução aquosa saturada de NaCl, seca com (MgSO₄) anidro, filtrada e concentrado sob pressão reduzida a 40 °C. O material foi purificado por

cromatografia em coluna de sílica gel, eluída com hexano/acetato de etila (6:1 v/v), obtendo-se o composto **1E1**, em **50,0 %** de rendimento (0,057 g; 0,008 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: 0,46 (Diclorometano/hexano 2:1,5 v/v)

IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3443, 2969, 2924, 2857, 1727, 1663, 1508, 1452, 1378, 1276, 1127, 998, 773, 697, 648, 439.

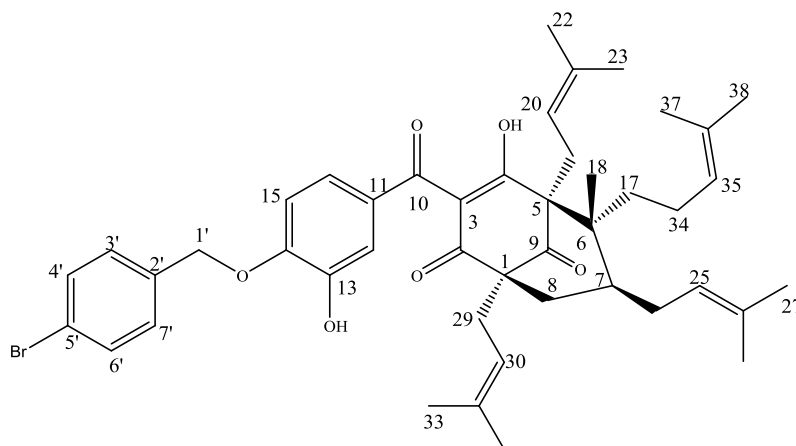
RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 7,51-7,35 (*m*, 5H, H-3'/H-4'/H-5'/H-6'/H-7'); 7,26-7,10 (*m*, 2H, H-12/H-16); 6,88 (*m*, 1H, H-15); 5,70 (*s*, 1H, OH-13); 5,24-4,78 (*m*, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 5,15 (*s*, 2H, H-1'); 2,80-2,42 (*m*, 4H, H-34/H-24); 2,22-1,79 (*m*, 7H, H-29/H-19/H-8/H-7); 1,78-1,35 (*m*, 24H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38); 1,31-1,12 (*m*, 5H, H-17/H-18).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,3 (C-9); 198,0 (C-10); 195,0 (C-2); 193,9 (C-4); 149,9 (C-14); 145,0 (C-13); 134,7 (C-21/C-31); 132,9 (26/C-36); 132,0 (C-2'); 128,9 (C-3'/C-7'); 128,7 (C-5'); 127,9 (C-4'/C-6'); 124,3 (C-11); 123,8 (C-25/C-35); 122,9 (C-16); 120,1-118,7 (C-20/C-30); 115,8 (C-12); 115,6 (C-3); 110,6 (C-15); 70,3 (C-1'); 69,5-66,4 (C-5); 63,0-58,7 (C-1); 50,9 (C-6); 39,9 (C-7); 38,3 (C-8); 35,6 (C-17); 30,4 (C-24); 28,5 (C-29); 26,1-25,4 (C-22/C-27/C-32/C-34/C-37); 22,5 (C-19); 19,6-17,6 (C-18/C-33/C-23/C-28/C-38).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{45}\text{H}_{56}\text{O}_6$: 693,4149; encontrado 693,4136.

Os demais derivados **1E2** e **1E3** seguiu a mesma metodologia acima descrita para o composto **1E1** utilizando os brometos benzílicos correspondentes.

Síntese do derivado 14-O-(4-Bromobenzil)guttiferona-A (**1E2**).



O composto **1E2** (0,079 g; 0,101 mmol) foi obtido como óleo com **61,5%** de rendimento a partir do composto **1** (0,100 g; 0,166 mmol), carbonato de potássio anidro, (0,046g; 0,332 mmol), brometo de 4-bromobenzila (0,083 g; 0,332 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: 0,39 (Diclorometano/Hexano, 2:1,5 v/v)

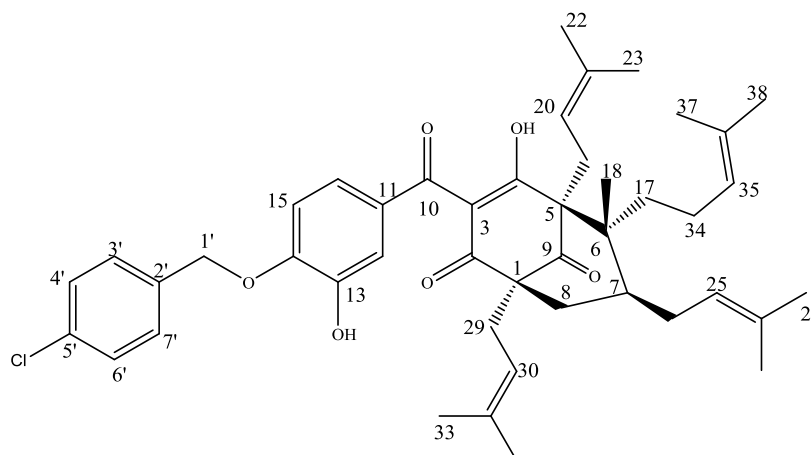
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3441, 2969, 2924, 2857, 1728, 1663, 1590, 1515, 1380, 1277, 1201, 1126, 1007, 809, 737, 595, 444.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 18,7 (s, OH-4); 7,55 (d, 2H, H-4'/H-6', $J = 8,4$ Hz); 7,29 (d, 2H, H-3'/H-7', $J = 8,4$ Hz); 7,17 (m, 2H, H-12/H-16); 6,80 (m, 1H, H-15); 5,61 (s, 1H, OH-13); 5,10 (s, 2H, H-1'); 5,23-4,78 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 2,73-1,85 (m, 10H, H-34/H-24/H-29/H-19/H-8); 1,78-1,47 (m, 25H, H-7/H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38); 1,30-1,14 (m, 5H, H-17/H-18).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,2 (C-9); 198,0 (C-10); 195,0 (C-2); 193,9 (C-4); 149,5 (C-14); 144,9 (C-13); 134,7 (C-21/C-31); 132,9 (C-26/C-36); 132,0 (C-4'/C-6'/C-2'); 129,5 (C-3'/C-7'); 124,3 (C-11); 123,8 (C-25/C-35/C-5'); 122,8 (C-16); 120,1-118,7 (C-20/C-30); 116,0 (C-12); 115,5 (C-3); 110,6 (C-15); 70,4 (C-1'); 69,5-66,4 (C-5); 63,0-58,7 (C-1); 50,9 (C-6); 39,9 (C-7); 38,3 (C-8); 35,6 (C-17); 30,4 (C-24); 28,5 (C-29); 26,1-25,4 (C-22/C-27/C-32/C-34/C-37); 22,5 (C-19); 19,6-17,6 (C-18/C-23/C-33/C-28/C-38).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{45}\text{H}_{55}\text{BrO}_6$: 771,3254; encontrado 771,3200.

Síntese do derivado 14-O-(4-Clorobenzil)guttiferona-A (**1E3**)



O composto **1E3** (0,070 g; 0,096 mmol) foi obtido como óleo com **58,3%** de rendimento a partir do composto **1** (0,100 g; 0,166 mmol), carbonato de potássio anidro, (0,046 g; 0,332 mmol), brometo de 4-clorobenzila (0,068 g; 0,332 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: 0,38 (Diclorometano/hexano 3:1 v/v)

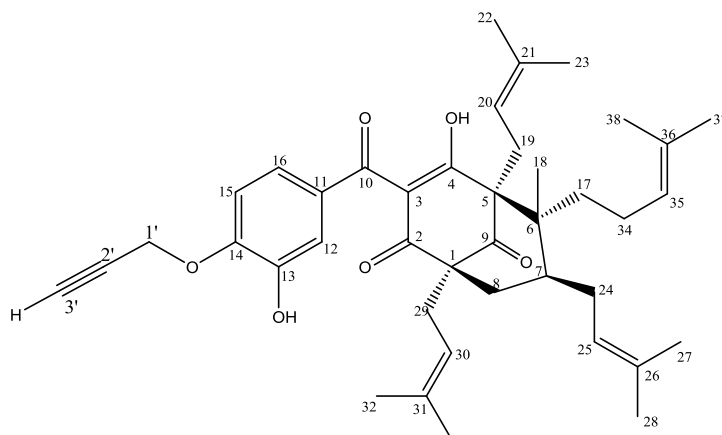
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3418, 2966, 2922, 2855, 1728, 1663, 1600, 1508, 1377, 1275, 1202, 1090, 1011, 810, 735, 444.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 18,07 (OH-4); 7,40-7,32 (*m*, 4H, H-4'/H-6'/H-3'/H-7'); 7,15-7,12 (*m*, 2H, H-12/H-16); 6,84 (*m*, 1H, H-15); 5,64 (*s*, 1H, OH-13); 5,11 (*s*, 2H, H-1'); 5,25 4,78 (*m*, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 2,78-1,87 (*m*, 10H, H-34/H-24/H-29/H-19/H-8); 1,78-1,41 (*m*, 25H, H-7/H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38); 1,30-1,14 (*m*, 5H, H-17/H-18).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,3 (C-9); 198,0 (C-10); 195,0 (C-2); 193,9 (C-4); 149,6 (C-14); 145,0 (C-13); 134,7 (C-21/C-31); 134,0 (C-5'); 132,9 (C-26/C-36); 132,0 (C-2'); 129,5 (C-3'/C-7'); 129,1 (C-4'/C-6'); 124,3 (C-11); 123,8 (C-25/C-35); 122,8 (C-16); 120,1-118,7 (C-20/C-30); 116,0 (C-12); 115,9 (C-3); 110,6 (C-15); 70,3 (C-1'); 69,5-66,4 (C-5); 63,0-58,7 (C-1); 50,9 (C-6); 39,5 (C-7); 38,3 (C-8); 35,6 (C-17); 30,4 (C-24); 28,5 (C-29); 26,2-25,4 (C-22/C-27/C-32/C-34/C-37); 22,5 (C-19); 19,6-17,6 (C-18/C-33/C-23/C-28/C-38).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[M+H]^+$: Calculado para $C_{45}H_{55}ClO_6$: 727,3759; encontrado 727,3741.

Síntese do alcino terminal 14-O-Propargil-guttiferona-A (2)



Composto 2

Para a obtenção do composto **2** foi adotado a metodologia adaptada de FROMENTIN e colaboradores (2013).

Foram testadas diferentes quantidades do composto de partida guttiferona-A (0,100 g; 0,200 g; 0,300 g; 0,400 g; 0,500 g) e em todas foram obtidas rendimentos inferiores a 45%, sendo a melhor condição reacional quando se trabalhou com 1,0 g do material nas condições descritas abaixo.

A um balão de fundo redondo (100 mL) foram adicionados a guttiferona-A (**1**) (1,00 g; 1,66 mmol), 60,0 mL de acetona anidra, carbonato de potássio anidro (0,46 g; 32,0 mmol) e peneira molecular 4 Å. Após 30 minutos foi adicionado o brometo de propargila (0,37 mL; 3,32 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente durante 48 h. Após o término da reação, que foi evidenciado por CCD, a mistura reacional foi filtrada e foi evaporada sob pressão reduzida a 40 °C em rotavapor. O material obtido foi ressolubilizado em acetato de etila e lavado com solução aquosa saturada de NaCl, seca com $MgSO_4$ anidro, filtrado e concentrado sob pressão reduzida a 40 °C. O material foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, eluída com hexano/acetato de etila (6:1 v/v). Foram necessárias quatro colunas para purificação, obtendo-se o composto **2** com **72,0 %** de rendimento (0,768 g; 1,20 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: 0,31 (Hexano/ acetato de etila 6:1 v/v)

IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3450, 3270, 2970, 2919, 2857, 2126, 1726, 1665, 1610, 1510, 1380, 1281, 1200, 1134, 1019, 833, 773, 653, 535, 436.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 18,00 (s, OH-4); 7, 25-7,11 (m, 2H, H-12/H-16); 6,93 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-15); 5,64 (s, 1H, OH-13); 5,27-4,87 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 4,79 (d, 2H, $J = 2,3$ Hz, H-1'); 2,58 (t, 1H, $J = 2,3$ Hz, H-3'); 2,72-1,76 (m, 15H, H-7/H-19/H-17/H-24/H-29/H-32/H-34/H-8); 1,79-1,14 (m, 21H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-33/H-37/H-38); 1,31-1,15 (s, 5H, H-18/H-17).

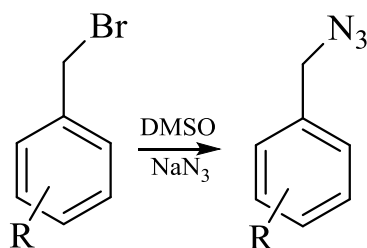
RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,2 (C-9); 197,9 (C-10); 195,0 (C-2); 193,8 (C-4); 148,4 (C-14); 145,0 (C-13); 135,1(C-21/C-31); 132,8 (C-26/C-36); 124,3 (C-11); 123,8 (C-35/C-25); 122,6 (C-16); 120-118,7 (C-30/C-20); 116,5,(C-12); 115,6 (C-3); 111,1 (C-15); 77,3 (C-2'); 76,8 (C-3'); 69,5-66,4 (C-5); 62,9-58,64 (C-1); 62,8 (C-1'), 54,3 (C-4'); 50,8 (C-6); 39,9 (C-7); 38,3 (C-8); 35,6 (C-17); 30,4 (C-24); 28,5 (C-29); 26,1-25,4 (C-22/C-27/C-32/C-37/C-34); 22,5 (C-19); 19,5-17,5 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{41}\text{H}_{53}\text{O}_6$: 641,3836; encontrado 641,3816.

2.3 Síntese das azidas orgânicas

Inicialmente foram sintetizadas diferentes azidas orgânicas benzílicas a partir de brometos comerciais e álcoois (Figura 38 e Tabela 3).

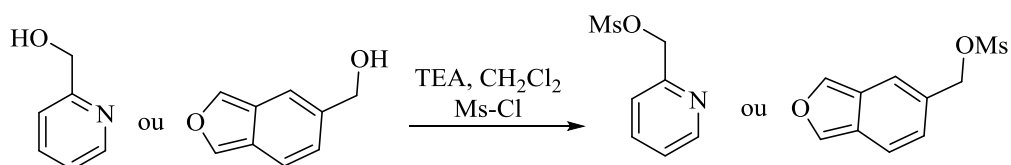
Figura 38: Síntese das azidas orgânicas a partir de brometos de benzila.



A um balão de fundo redondo (25 mL) foram adicionados, a azida de sódio NaN_3 (1 eq), o brometo de benzila correspondente (1,5 eq) e 10 mL de DMSO. A reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por 6 horas e monitorada por CCD. Após o término da reação a mistura reacional foi extraída três vezes com diclorometano. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl e seca com MgSO_4 anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C, obtendo o produto puro.

Para a síntese das azidas a partir de álcoois, inicialmente foi necessária uma etapa de mesilação (Figura 39).

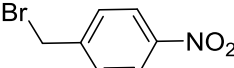
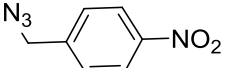
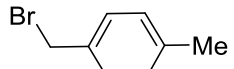
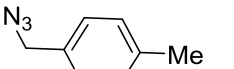
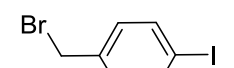
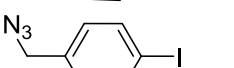
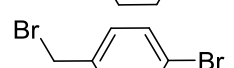
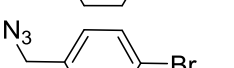
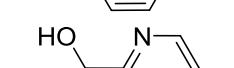
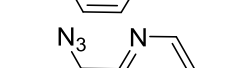
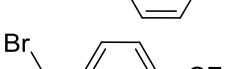
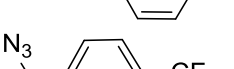
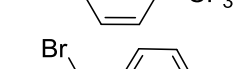
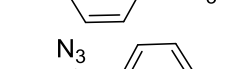
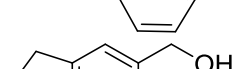
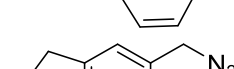
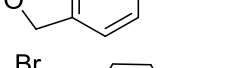
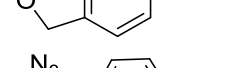
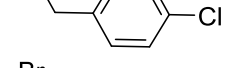
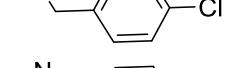
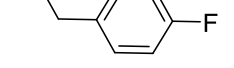
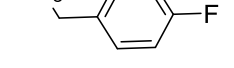
Figura 39: Mesilação de álcoois.



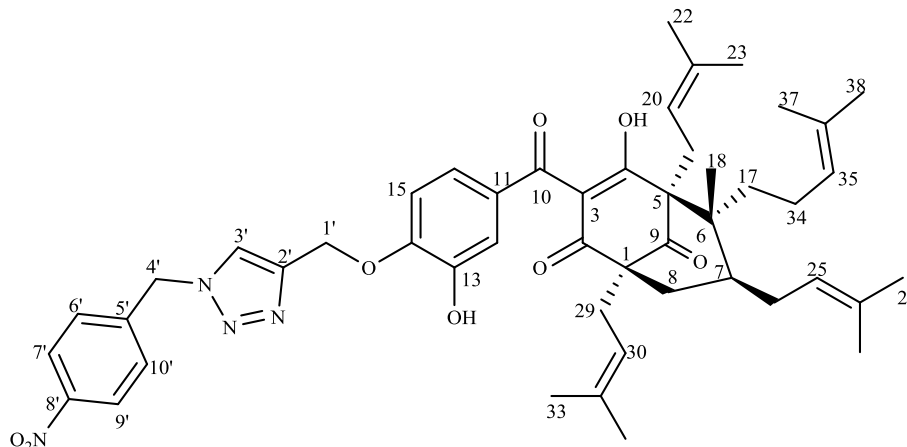
A um balão de fundo redondo foram adicionados o álcool apropriado (1,0 eq), e diclorometano anidro (20 mL). Após a mistura ser resfriada sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionado a trietilamina (TEA) (2 eq). Posteriormente foi adicionado lentamente o cloreto de mesila (Ms-Cl) (1,5 eq) dissolvido em 1,0 mL de diclorometano (DCM). A reação foi mantida sob agitação e monitorada por CCD. Após o término da reação foi adicionado água destilada (20 mL). A fase orgânica foi lavada e separada com solução aquosa ácida (HCl) (1 mol L^{-1}) seguido de uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 , seca com MgSO_4 anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida a 40 °C, obtendo o produto de interesse puro. O

grupo mesila adicionado foi então substituído na próxima etapa pelo nucleófilo N_3^- adotando a mesma metodologia acima citada para os brometos benzílicos.

Tabela 3: Rendimento das azidas orgânicas benzílicas obtidas a partir de brometos, cloreto e álcoois.

Código	Brometos/Álcoois	Azidas	Rendimento (%)
A1			98
A2			98
A3			92
A4			90
A5			93
A6			70
A7			94
A8			95
A9			85
A10			83
A11			74

2.4 Síntese dos derivados triazólicos da benzofenona natural guttiferona-A

Síntese do 14-O-(1-(4-nitrobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (3)

A um balão de fundo redondo (25 mL) foram adicionados o composto **2** (0,098 g; 1,194 mmol), a azida **A1** (0,039 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol), 5 mL de DCM e 5 mL de água destilada. Em seguida foi adicionado sulfato de cobre pentahidratado (0,015 g; 0,062 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética vigorosa à temperatura ambiente durante 12 h. Após o término da reação que foi evidenciado por CCD a mistura reacional foi lavada com solução aquosa de ácido clorídrico (2,00 mol L⁻¹), extraída com acetato de etila (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotativo a 40 °C. O composto **3** foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano/acetato de etila (2:1 v/v) e concentrado em evaporador rotativo a 40 °C, fornecendo um óleo amarelo com **77,00%** de rendimento.

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f: 0,28 (Hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

IV (ART) v_{max}/cm⁻¹: 3408, 2965, 2922, 2856, 1709, 1666, 1610, 1531, 1443, 1356, 1281, 1217, 1130, 999, 829, 726, 531.

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ: 8,18-8,13 (*m*, 2H, H-7'/H-9'); 7,64 (*s*, 1H, H-3'); 7,57-7,53 (*m*, 2H, H-6'/H-10'); 7,10-7,06 (*m*, 2H, H-12/H-16); 6,91 (*d*, 1H, *J* = 8,6 Hz, H-

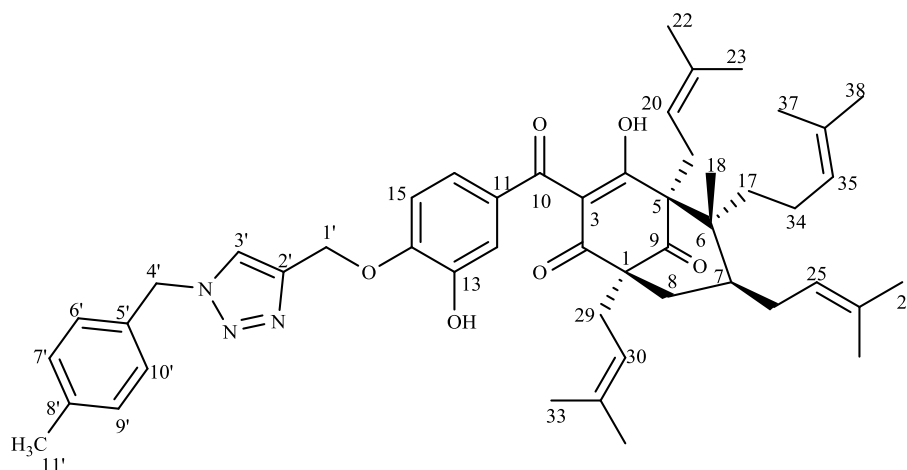
15); 5,60 (s, 2H, H-4'); 5,25 (s, 2H, H-1'); 5,19-4,74 (m, 4H, H-20/H25/H-30/H-35); 2,71-1,91 (m, 10H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,85-1,44 (m, 25H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-7); 1,27-1,10 (m, 5H, H-18/H-17).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,1 (C-9); 197,9 (C-10); 195,0 (C-2); 194,0 (C-4); 149,4 (C-14); 148,5 (C-8'); 145,3 (C-2'); 143,6 (C-13); 136,3 (C-5'); 135,1 (C-21/C-31); 134,0 (C-26/C-36); 130,4 (C-6'/C-10'); 124,2-123,7 (C-7'/C-9'/C-11/C-35/C-25); 123,2 (C-3'); 123,0 (C-16); 120-118,7 (C-20/C-30); 116,5 (C-12); 115,6 (C-3); 69,5-66,4 (C-5); 62,9-58,6 (C-1); 62,6 (C-1'); 53,2 (C-4'); 50,8 (C-6); 39,5 (C-7); 38,3 (C-8); 36,6 (C-17); 29,7 (C-24); 28,5 (C-29); 26,6-23,4 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 22,5 (C-19); 20,7-17,6 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_8$: 819,4327; encontrado 819,4313.

Os compostos **4** a **12** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto **3**. Os dados para estes compostos estão a seguir:

*Síntese do 14-O-(1-(4-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (**4**)*



O composto **4** (0,099 g; 0,125 mmol) foi obtido como óleo com **80,3%** de rendimento a partir do composto **2** (0,100 g; 0,156 mmol), a azida **A2** (0,032 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,016 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f: 0,37 (Hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

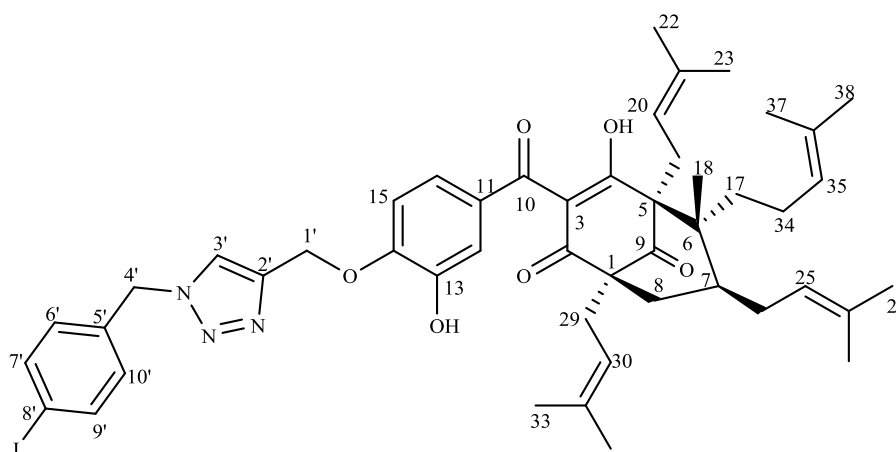
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3358, 2963, 2923, 2855, 1727, 1663, 1609, 1510, 1437, 1378, 1276, 1203, 1131, 998, 824, 735, 444.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 18,06 (s, OH-4); 7,48 (s, 1H, H-3'); 7,18-7,09 (m, 6H, H-7'/H-8'/H-9'/H-10'/H-12/H-16); 6,94 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz, H-15); 5,48 (s, 2H, H-4'); 5,24 (s, 2H, H-1'); 5,18-4,78 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 2,34 (s, 3H, H-11'); 2,72-1,86 (m, 10H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,94-1,14 (m, 30H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-18/H-7/H-17).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,1 (C-9); 197,9 (C-10); 195,0 (C-2); 193,9 (C-4); 149,4 (C-14), 145,3 (C-2'); 143,1 (C-13); 139,0 (C-8') 134,6 (C-21/C-31); 132,8 (C-26/C-36); 131,1 (C-5'); 129,9 (C-7'/C-9'); 128,3 (C-6'/C-10'); 124,3 (C-11); 123,8 (C-35/C-25); 122,7 (C-3'/C-16); 120-118,7 (C-20/C-30/C-3); 116,4 (C-12); 115,3 (C-3); 111,4 (C-15); 69,5-66,4 (C-5); 63,4-58,7 (C-1); 62,8 (C-1'), 54,2 (C-4'); 50,8 (C-6); 40,0 (C-7); 38,3 (C-8); 36,6 (C-17); 29,7 (C-24); 28,5 (C-29); 26,0-22,5 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 22,5 (C-19); 21,2 (C-11'); 19,5-17,6 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{49}\text{H}_{61}\text{N}_3\text{O}_6$: 788,633; encontrado 788,4614.

Síntese do 14-O-(1-(4-Iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona A (5)



O composto **5** (0,099 g; 0,110 mmol) foi obtido como óleo com **70,7%** de rendimento a partir do composto **2** (0,100 g; 0,156 mmol), a azida **A3** (0,056 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,016 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f: 0,37 (Hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

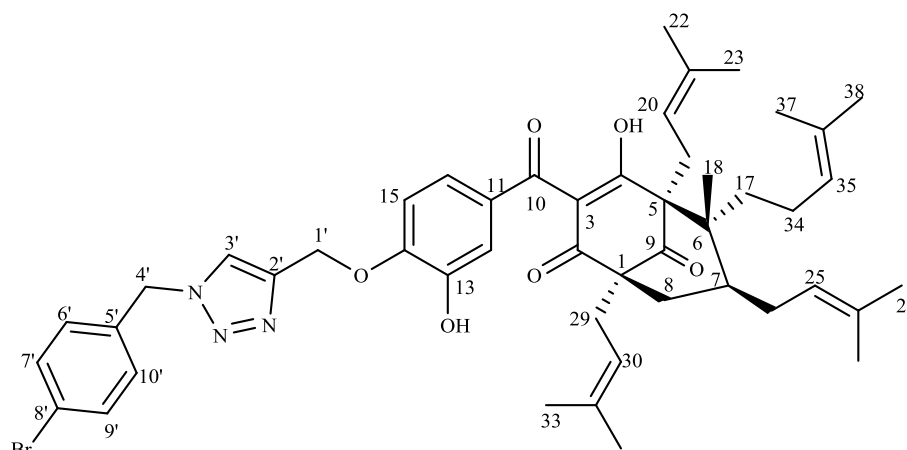
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3393, 2965, 2922, 2855, 1708, 1663, 1609, 1509, 1368, 1277, 1217, 1134, 1007, 829, 777, 531, 444.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 18,05 (s, OH-4); 7,70 (d, 2H, H-7'/H-9', $J = 8,4$ Hz); 7,53 (s, 1H, H-3'); 7,19-7,15 (m, 2H, H-12/H-16); 7,01 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-6'/H-10'); 6,93 (d, 1H, H-15, $J = 9,2$); 5,44 (s, 2H, H-4'); 5,24 (s, 2H, H-1'); 5,17-4,77 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 2,72-1,79 (m, 10H, H-19/H-17/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,78-1,14 (m, 30H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-18/H-7).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,1 (C-9); 197,9 (C-10); 195,0 (C-2); 193,9 (C-4); 149,4 (C-14); 145,4 (C-2'); 143,3 (C-13); 138,4 (C-7'/C-9'); 134,6 (C-21/C-31); 133,8 (C-26/C-36); 132,8 (C-5'); 129,9 (C-6'/C-10'); 124,2 (C-11); 123,8 (C-35/ C-25); 122,8 (C-3'); 122,6 (C-16); 120-118,7 (C-20/C-30); 116,5 (C-12); 115,6 (C-3); 111,5 (C-15); 94,8 (C-8'); 69,5 (C-5); 63,0 (C-1); 63,0 (C-1'); 53,7 (C-4'); 50,8 (C-6); 40,0 (C-7); 38,3 (C-8); 36,6 (C-17); 29,7 (C-24); 28,5 (C-29); 26,9-24,7 (C-37/C-27/C-22/C-32/ C-34); 21,2 (C-19); 20,7-17,6 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{N}_3\text{IO}_6$: 900,3443; encontrado 900,3425.

Síntese do 14-O-(1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (**6**)



O composto **6** (0,113 g; 0,132 mmol) foi obtido como óleo com **84,9%** de rendimento a partir do composto **2** (0,100 g; 0,156 mmol), a azida **A4** (0,046 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,015 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f: 0,25 (Hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

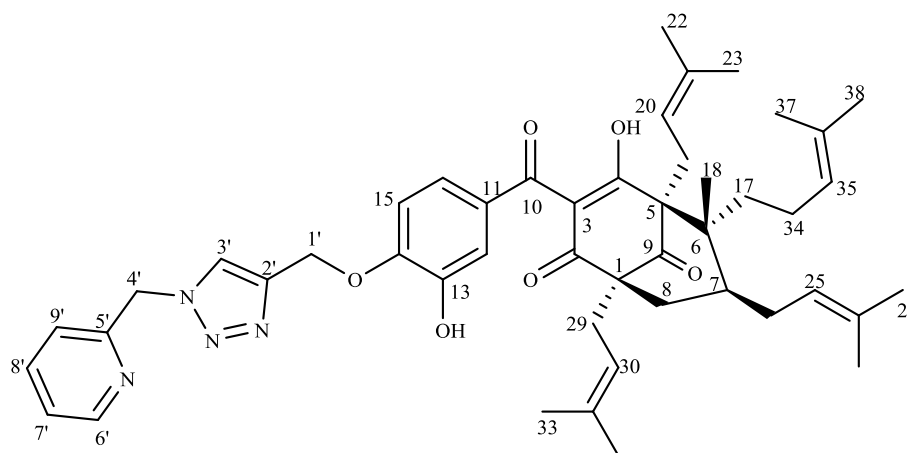
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3345, 2964, 2914, 2853, 1727, 1659, 1607, 1547, 1435, 1378, 1274, 1201, 1129, 1010, 825, 777, 648, 440.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 18,03 (s, OH-4); 7,52-7,49 (m, 3H, H-7'/H-9'/H-3'); 7,16-7,09 (m, 4H, H-6'/H-10'/H-12/H-16); 5,47 (s, 2H, H-4'); 5,24 (s, 2H, H-1'); 5,21-4,77 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 2,72-1,94 (m, 10H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,79-1,14 (m, 30H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-18/H-7/H-17).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,2 (C-9); 197,9 (C-10); 194,9 (C-2); 193,9 (C-4); 149,3 (C-14); 145,3 (C-2'); 143,4 (C-13); 134,7 (C-21/C-31); 133,2 (C-5'); 132,8 (C-26/C-36); 132,4 (C-7'/C-9'); 129,8 (C-6'/C-10'); 124,2 (C-11); 123,8 (C-35/C-25); 123,2 (C-3'); 122,7 (C-16); 122,8 (C-8'); 120-118,7 (C-20/C-30); 116,4 (C-12); 115,6 (C-3); 111,5 (C-15); 69,5-66,5 (C-5); 63,0-58,7 (C-1); 63,0 (C-1'), 53,6 (C-4'); 50,8 (C-6); 40,0 (C-7); 38,3 (C-8); 35,6 (C-17); 29,7 (C-24); 28,5 (C-29); 26,9-24,7 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 21,2 (C-19); 20,7-17,6 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[M+H]^+$: Calculado para $C_{48}H_{58}BrN_3O_6$: 852,3581; encontrado 852,3562.

Síntese do 14-O-(1-piridinil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona A (7)



O composto **7** (0,112 g; 0,144 mmol) foi obtido como óleo com 84,8% de rendimento a partir do composto **2** (0,110 g; 0,171 mmol), a azida **A5** (0,029 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,015 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f : 0,40 (Hexano/acetato de etila com 0,5% de ácido acético 3:1 v/v)

IV (ART) ν_{max}/cm^{-1} : 3382, 2968, 2925, 2856, 1706, 1667, 1608, 1509, 1439, 1377, 1279, 1206, 1133, 997, 833, 760, 638, 535, 444.

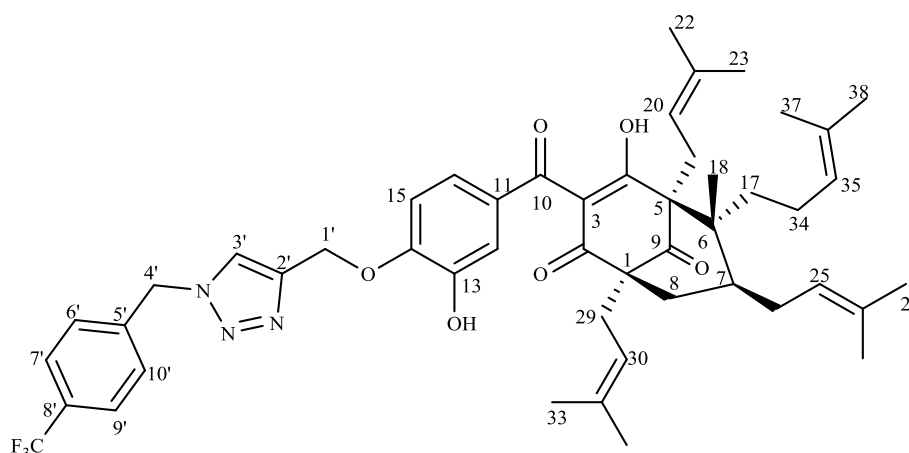
RMN de 1H (300 Hz, $CDCl_3$) δ : 18,04 (s, OH-4); 8,54 (m, 1H, H-6'); 7,83 (s, 1H, H-3'); 7,72-7,70 (m, 1H, H-7'); 7,27-7,26 (m, 4H, H-8'/H-9'/H-12/H-16); 6,95 (d, 1H, $J = 9,00$ Hz, H-15); 5,64 (s, 2H, H-4'); 5,25 (s, 2H, H-1'); 5,20-4,78 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/ H-35); 2,73-1,89 (m, 10H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,81-1,12 (m, 30H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-18/H-17/H-7).

RMN de ^{13}C (75 Hz, $CDCl_3$) δ : 208,2 (C-9); 197,9 (C-10); 194,9 (C-2); 193,9 (C-4); 153,8 (C-5'); 149,6 (C-14/C-6'); 145,4 (C-2'); 143,0 (C-13); 137,8 (C-7'); 135,1 (C-21/C-31); 132,8 (C-26/C-36);); 123,8 (C-8'/C-9'/C-11/C-35/C-25); 122,8 (C-3'); 122,6 (C-16); 120-118,7 (C-20/C-30); 116,6 (C-12); 115,8 (C-3); 111,4 (C-15); 71,1 (C-5);

62,7 (C-1'/C-1); 55,5 (C-4'); 50,8 (C-6); 41,2 (C-7); 39,5 (C-8); 36,6 (C-17); 29,7 (C-24); 28,5 (C-29); 26,0-23,4 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 22,6 (C-19); 19,5-17,5 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[M+H]^+$: Calculado para $C_{47}H_{58}N_4O_6$: 775,4429; encontrado 775,4413.

Síntese do 14-O-(1-(4-trifluorometilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona A (8)



O composto **8** (0,068 g; 0,081 mmol) foi obtido como óleo com **52,2%** de rendimento a partir do composto **2** (0,100 g; 0,156 mmol), a azida **A6** (0,043 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,015 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f : 0,31 (Hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

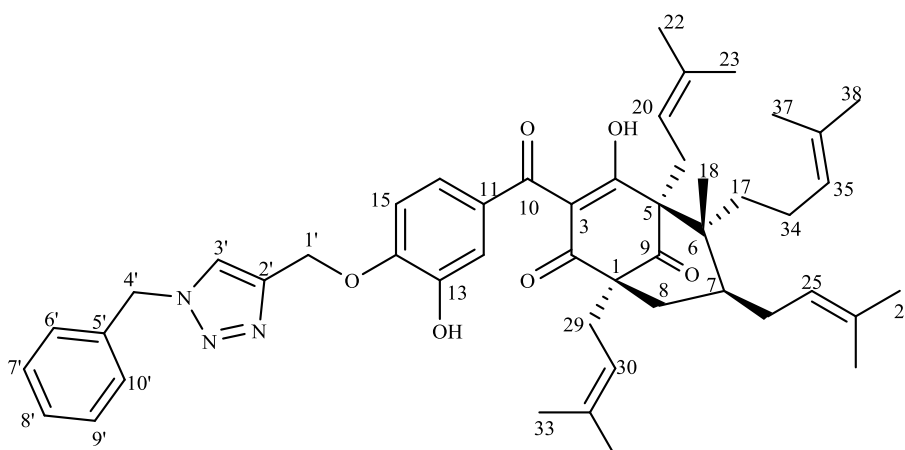
IV (ART) ν_{max}/cm^{-1} : 3321, 2964, 2915, 2857, 1711, 1663, 1606, 1510, 1439, 1276, 1220, 1126, 1063, 1131, 825, 776, 529, 440.

RMN de 1H (300 Hz, $CDCl_3$) δ : 18,02 (s, OH-4); 7,63 (m, 3H, H-3'/H-7'/H-9'); 7,38 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, H-6'/H-10'); 7,13 (m, 2H, H-12/H-16); 6,95 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, H-15); 5,57 (s, 2H, H-4'); 5,26 (s, 2H, H-1'); 5,19-4,78 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 2,78-1,78 (m, 10H, H-19/H-17/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,77-1,13 (m, 30H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-18/H-7).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,2 (C-9); 197,9 (C-10); 195,0 (C-2); 194,0 (C-4); 149,3 (C-14); 145,3 (C-2'); 143,5 (C-13); 138,2 (C-5'); 134,7 (C-21/C-31); 132,8 (C-26/C-36); 130,5 (C-8'); 128,3 (C-6'/C-10'); 126,2 (*q*, $J_1 = 3,75$ Hz, $J_2 = 7,12$, C-7'/C-9'); 124,2 (CF_3); 124,2 (C-11); 123,8 (C-25/C-35); 123,1 (C-3'); 122,7 (C-16); 120-118,7 (C-20/C-30); 116,4 (C-12); 115,6 (C-3); 111,5 (C-15); 69,5-66,4 (C-5); 63,0-58,7 (C-1); 62,7 (C-1'); 53,6 (C-4'); 50,8 (C-6); 40,0 (C-7); 38,3 (C-8); 35,6 (C-17); 29,7 (C-24); 28,5 (C-29); 26,0-22,5 (C-37/C-27/C-22/C-32/ C-34); 21,2 (C-19); 19,5-17,5 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{49}\text{H}_{58}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_6$: 842,4350; encontrado 842,4322.

Síntese do 14-O-(1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona A (9)



O composto **9** (0,100 g; 0,156 mmol) foi obtido como óleo com **71,7%** de rendimento a partir do composto **2** (0,150 g; 0,234 mmol), a azida **A7** (0,029 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,015 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: 0,46 (Hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3358, 2963, 2923, 2855, 1727, 1663, 1610, 1510, 1437, 1378, 1276, 1203, 1131, 988, 824, 735, 448.

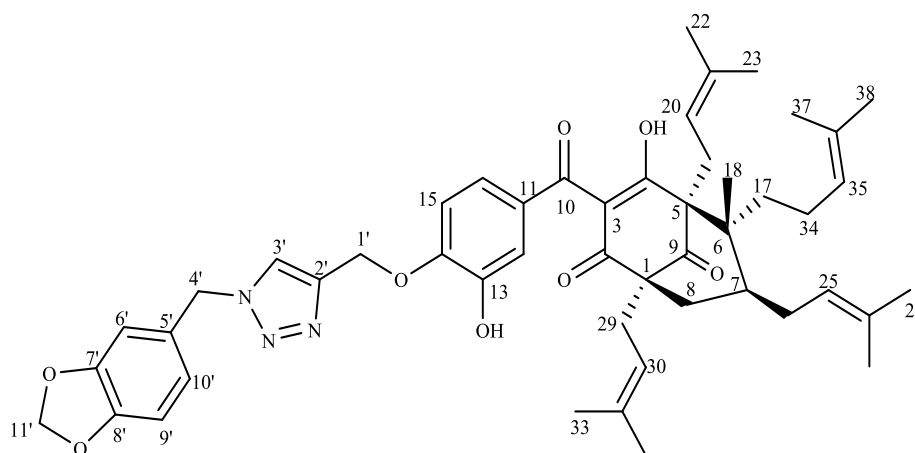
RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 7,51 (*s*, 1H, H-3'); 7,38-7,36 (*m*, 3H, H-7'/H-8'/H-9'); 7,28-7,26 (*m*, 2H, H-6''/H-10'); 7,13 (*m*, 2H, H-12/H-16); 6,95 (*d*, 1H, $J = 9,6$ Hz, H-

15); 5,51 (s, 2H, H-4'); 5,25 (s, 2H, H-1'); 5,16-4,86 (m, 4H, H-20/H25/H-30/H-35); 2,72-1,94 (m, 10H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,78-1,14 (m, 30H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-18/H-17/H-7).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,2 (C-9); 197,9 (C-10); 194,9 (C-2); 193,8 (C-4); 149,4 (C-14); 145,4 (C-2'); 143,17 (C-13); 135,1 (C-21/C-31); 134,6 (C-5'); 134,2 (C-26/C-36); 129,2 (C-7'/C-9'); 128,9 (C-8'); 128,2 (C-6'/C-10'); 124,3 (C-11); 123,8 (C-25/C-35); 122,8 (C-3'), 122,7 (C-16); 116,4 (C-12); 115,62 (C-3); 69,5 (C-5); 63,0 (C-1); 62,8 (C-1'); 54,4 (C-4'); 50,8 (C-6); 39,9 (C-7); 38,3 (C-8); 35,8 (C-17); 30,4 (C-24); 28,5 (C-29); 26,1-25,4 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 22,5 (C-19); 19,5-17,6 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{59}\text{O}_6$: 774,4476; encontrado 774.4443.

Síntese do 14-O-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (10)



O composto **10** (0,176 g; 0,215 mmol) foi obtido como óleo com **92,1%** de rendimento a partir do composto **2** (0,150 g; 0,234 mmol), a azida **A8** (0,038 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,015 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f : 0,40 (Hexano/acetato de etila/ ácido acético 1,5:1:0,5% v/v)

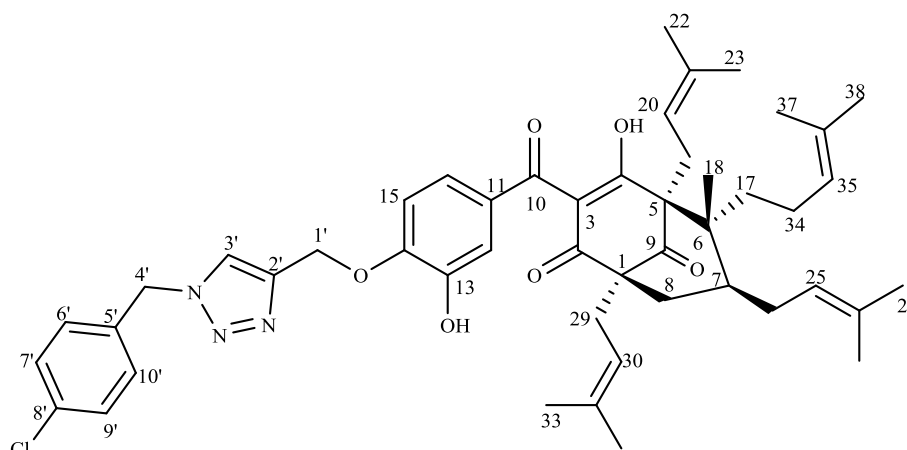
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3373, 2966, 2914, 2857, 1726, 1666, 1609, 1504, 1444, 1378, 1277, 1248, 1219, 1131, 1037, 927, 826, 774, 644, 529, 439.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 7,51 (s, 1H, H-3'); 7,16-7,09 (m, 2H, H-12/H-16); 6,91 (d, 1H, $J = 10,0$ Hz, H-15); 6,78-6,74 (m, 3H, H-6'/H-9'/H-10'); 5,95 (s, 2H, H-11'); 5,40 (s, 2H, H-4'); 5,24 (s, 2H, H-1'); 5,17-4,77 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 2,78-1,75 (m, 11H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8/ H-7); 1,74-1,35 (m, 24H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-7); 1,29-1,13 (m, 5H, H-18/H-17).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,2 (C-9); 197,9 (C-10); 194,9 (C-2); 193,9 (C-4); 149,5 (C-14); 148,4 (C-7'/C-8'); 145,3 (C-2'); 143,1(C-13); 135,1 (C-21/C-31); 132,8 (C-26/C-36);); 130,5(C-5'); 127,7 (C-11); 123,8 (C-35/C-25); 122,7 (C-10'); 122,1 (C-3'/C-16); 120,0-118,7 (C-20/C-25); 116,4 (C-12); 115,6 (C-3); 111,6 (C-15); 108,7 (C-6'/C-9'); 101,5 (C-11'); 69,5 (C-5); 63,0 (C-1); 62,8 (C-1'), 54,2 (C-4'); 50,8 (C-6); 40,0 (C-7); 38,3 (C-8); 35,8 (C-17); 30,9 (C-24); 28,5 (C-29); 26,0-25,7 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 22,7 (C-19); 19,5-17,6 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{49}\text{H}_{59}\text{N}_3\text{O}_8$: 818,4374; encontrado 818,4366.

Síntese do 14-O-(1-(4-clorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (11)



O composto **11** (0,101 g; 0,125 mmol) foi obtido como óleo com **80,15%** de rendimento a partir do composto **2** (0,110 g; 0,171 mmol), a azida **A9** (0,036 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,015 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f: 0,24 (Hexano/acetato de etila com 0,5% de ácido acético 1,5:1: 0,5 v/v/v)

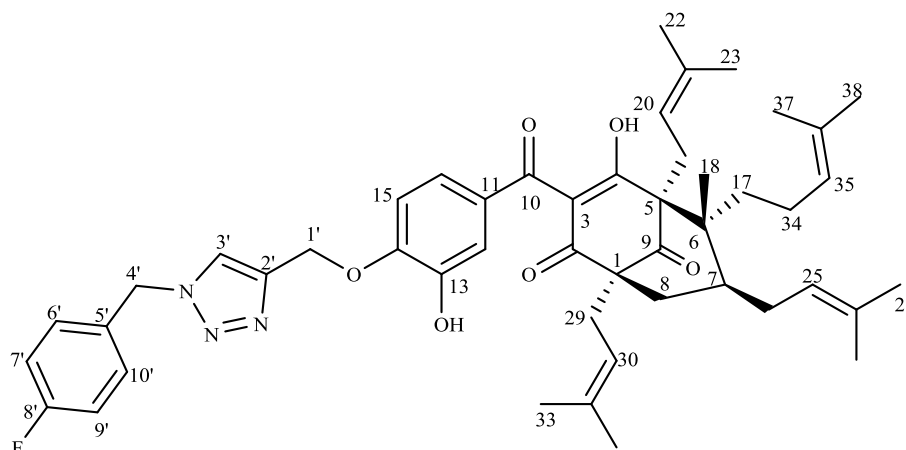
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3409, 2966, 2916, 2855, 1710, 1663, 1608, 1509, 1436, 1360, 1277, 1217, 1130, 1007, 825, 781, 650, 531, 440.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 17,89 (s, OH-4); 7,40 (s, 1H, H-3'); 7,72 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-7'/H-9'); 7,09 (d, 2H, $J = 8,44$ Hz, H-6'/H-10'); 7,00- 6,96 (m, 2H, H-12/H-16); 6,82 (d, 1H, $J = 10,30$ Hz, H-15); 5,35 (s, 2H, H-4'); 5,13 (s, 2H, H-1'); 5,10-4,64 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 2,58-1,62 (m, 10H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,61-1,00 (m, 28H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-18/H-7/H-17).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,2 (C-9); 197,9 (C-10); 195,0 (C-2); 193,9 (C-4); 149,3 (C-14); 145,4 (C-2'); 143,4 (C-13); 135,0 (C-21/C-31); 134,7(C-5'); 132,8 (C-26/C-36); 130,5 (C-8'); 129,5 (C-6'/C-10'); 129,4 (C-7'/C-9'); 124,2 (C-11); 123,8 (C-25/35); 122,8 (C-3'); 122,7 (C-16'); 120-118,6 (C-20/C-30); 116,4 (C-12); 115,6 (C-3); 111,4 (C-15); 69,5-66,4 (C-5); 63,0-58,7 (C-1); 62,8 (C-1'); 53,6 (C-4'); 50,8 (C-6); 39,6 (C-7); 38,3 (C-8); 35,6 (C-17); 30,9 (C-24); 28,5 (C-29); 30,0-25,4 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 22,5 (C-19); 19,5-17,5 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{N}_3\text{ClO}_6$: 808,4086; encontrado 808,4063.

Síntese do 14-O-(1-(4-fluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (12)



O composto **12** (0,111 g; 0,140 mmol) foi obtido como óleo com **90,2%** de rendimento a partir do composto **2** (0,100 g; 0,156 mmol), a azida **A10** (0,033 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,015 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

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

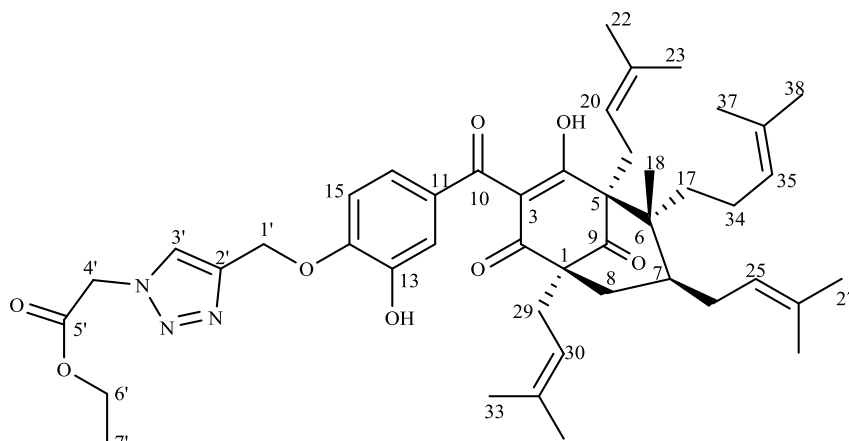
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3321, 2966, 2915, 2857, 1711, 1663, 1606, 1510, 1435, 1364, 1276, 1220, 1131, 997, 825, 776, 643, 529, 444.

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 18,02 (s, OH-4); 7,52 (s, 1H, H-3'); 7,28-7,24 (m, 2H, H-6'/H-10'); 7,16-7,02 (m, 4H, H-7'/H-9'/ H-12/ H-16); 6,95 (d, 1H, $J = 9,09$ Hz, H-15); 5,48 (s, 2H, H-4'); 5,26 (s, 2H, H-1'); 5,20-4,78 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/ H-35); 2,78-1,83 (m, 10H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,81-1,00 (m, 30H, H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38/H-18/H-17/H-7).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 208,2 (C-9); 197,9 (C-10); 194,9 (C-2); 193,9 (C-4); 164,6 (d, $J = 247,5$ Hz, C-8'); 149,4 (C-14); 145,3 (C-2'/C-13); 135,0 (C-21/C-31); 134,6 (C-5'); 132,8 (C-26/C-36);); 130,1 (d, $J = 8,4$ Hz, C-6'/C-10'); 124,2 (C-11); 123,8-123,8 (C-25/C-35); 122,6 (C-16/ C-3'); 120-118,6, (C-20/C-30/C-3); 116,4 (C-12); 116,1 (d, $J = 22,5$ Hz, C-7'/C-9'); 111,4 (C-15); 69,5-66,4 (C-5); 63,0-58,7 (C-1); 62,9 (C-1'); 53,6 (C-4'); 50,8 (C-6); 39,5 (C-7); 38,3 (C-8); 35,6 (C-17); 30,9 (C-24); 28,5 (C-29); 30,0-25,4 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 22,5 (C-19); 19,5-17,5 (C-33/C-18/C-28/C-38/C-23).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{FN}_3\text{O}_6$: 792,4382; encontrado 792,4368.

Síntese do 14-O-(4-acetato de etila)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilguttiferona-A (13)



O composto **13** (0,082 g; 0,106 mmol) foi obtido como óleo com **68,3%** de rendimento a partir do composto **2** (0,100 g; 0,156 mmol), a azida **A11** (0,028 g; 0,218 mmol), ascorbato de sódio (0,025 g; 0,125 mmol) e sulfato de cobre (0,015 g; 0,062 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f: 0,42 (Hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ: 7,70 (s, 1H, H-3'); 7,19-7,03 (m, 2H, H-12/H-16); 6,90 (d, 1H, J = 8,34 Hz, H-15); 5,31 (s, 2H, H-4'); 5,16 (s, 2H, H-1'); 5,22-4,72 (m, 4H, H-20/H-25/H-30/H-35); 4,23 (q, 2H, H-6', J = 7,1 Hz); 2,77-1,70 (m, 10H, H-19/H-24/H-29/H-34/H-8); 1,60-1,34 (m, 25H, H-7/H-22/H-23/H-27/H-28/H-32/H-33/H-37/H-38); 1,32-1,07 (m, 8H, H-18/H-17/H-7').

RMN de ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ: 208,2 (C-9); 198,0 (C-10); 194,6 (C-2); 194,0 (C-4); 166,2 (5'); 149,4 (C-14); 145,3 (C-2'); 143,2 (C-13); 135,2 (C-21/C-31); 132,9 (C-26/C-36); 124,5 (C-11); 124,3 (C-3'); 123,7 (C-25/C-35); 122,7 (C-16); 120-118,7 (C-20/C-30); 116,4 (C-12); 115,6 (C-3); 111,3 (C-15); 69,5 (C-5); 63,0 (C-1); 62,7 (C-1'/ C-4'); 50,9 (C-6/C-6'); 39,6 (C-7); 38,4 (C-8); 35,8 (C-17); 39,7 (C-24); 28,5 (C-29); 33,4-25,7 (C-37/C-27/C-22/C-32/C-34); 22,5 (C-19); 19,6-17,6 (C-33/C-18/C-28/ C-38/C-23); 14,1 (C-7').

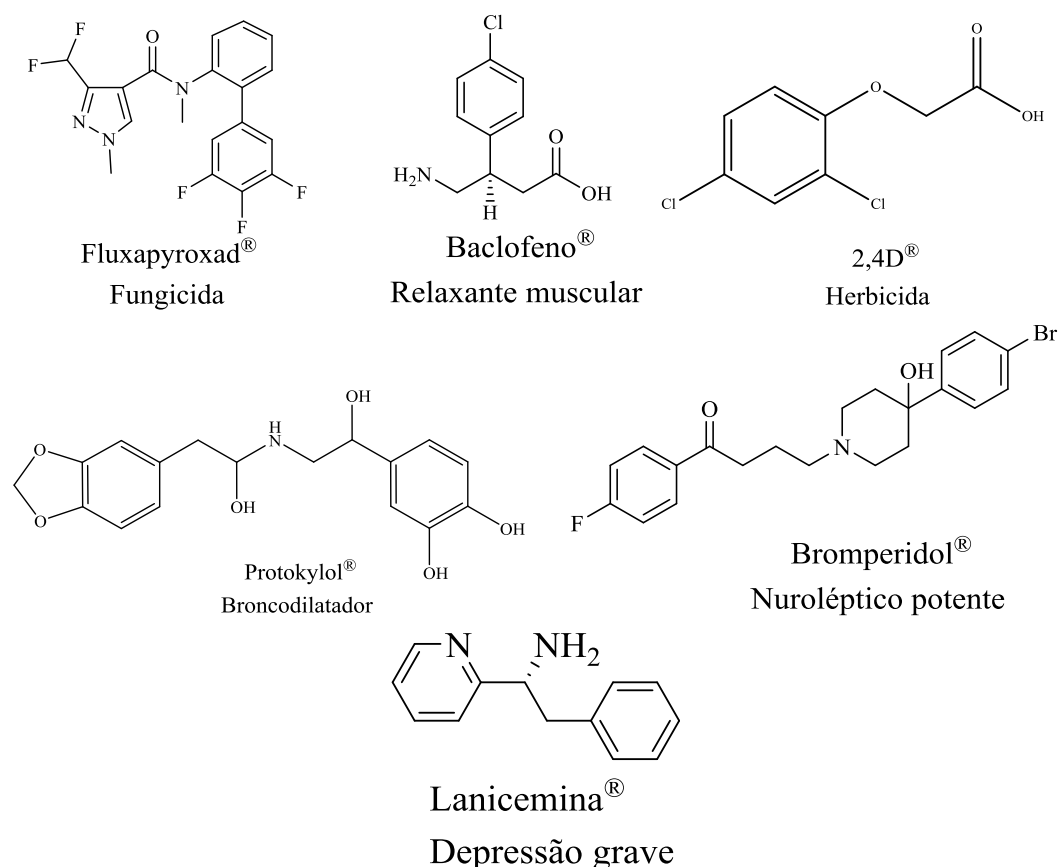
ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₄₅H₅₉N₃O₈: 770,4374; encontrado 770,4371.

3. Resultados e Discussão

Os derivados etéreos benzílicos e o derivado etérico contendo o alcino terminal da guttiferona-A foram obtidos a partir de uma reação do tipo S_N2 entre a benzofenona guttiferona-A e o brometo benzílico e o brometo propargílico de interesse em meio básico.

As azidas orgânicas benzílicas foram selecionadas de acordo com a similaridade estrutural de alguns fármacos e agroquímicos já comercializados, fluxapyroxad[®] (fungicida), Baclofeno[®] (relaxante muscular), 2,4D[®] (herbicida), protokylol[®] (Broncodilatador) e o bromperidol[®] (Neuroléptico potente), lanicemina[®] (Depressão grave) (Figura 40).

Figura 40: Estrutura de fármacos e agroquímicos.

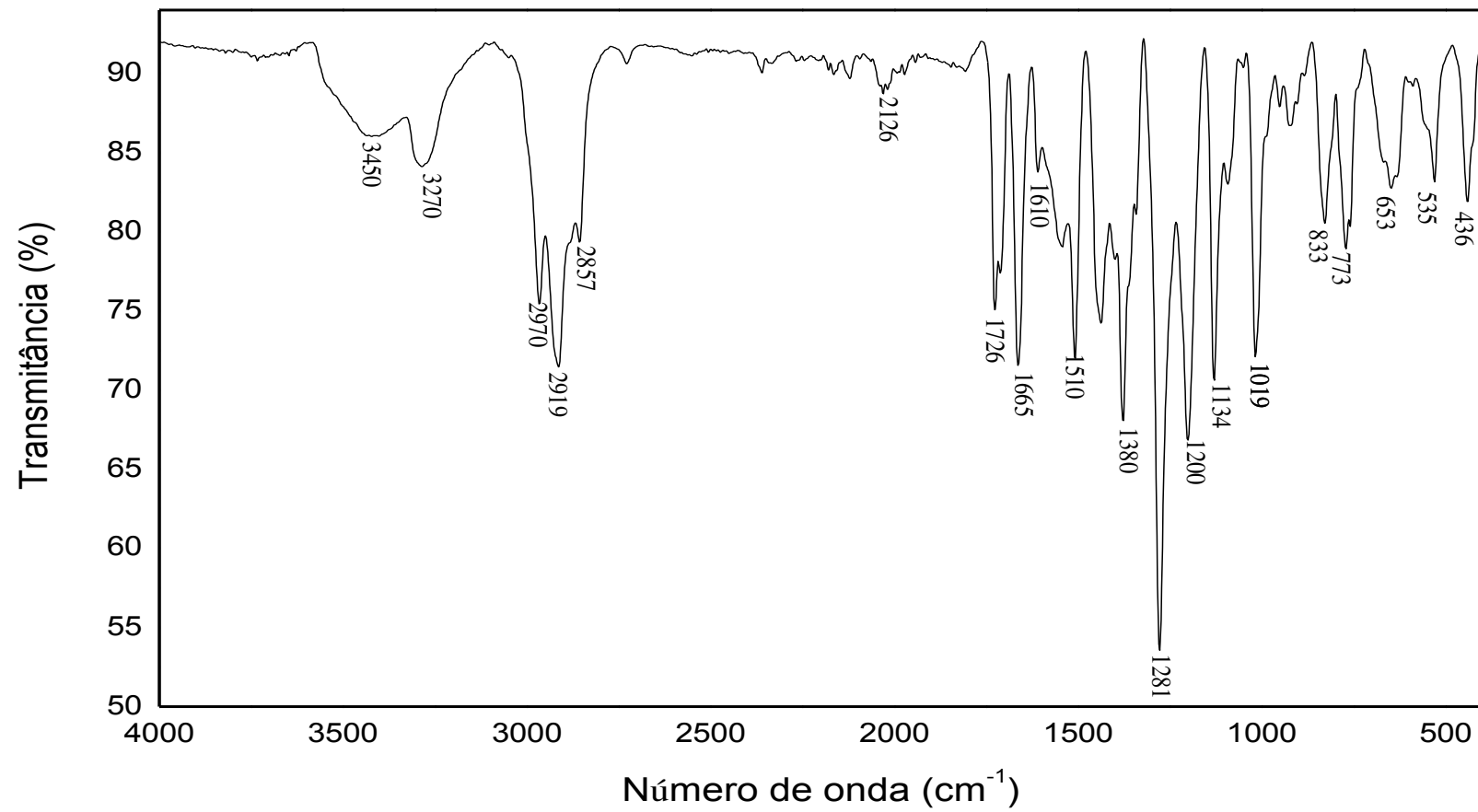


As azidas orgânicas foram sintetizadas a partir da reação de substituição nucleofílica bimolecular do brometo orgânico benzílico *p*-substituído com azida de sódio em dimetilsufóxido (DMSO).

As azidas orgânicas sintetizadas a partir de álcoois (piperolínico e pirídnio) fez-se necessária uma etapa de mesilação para tornar o grupo hidroxila um bom grupo abandonador, para ser usado como substrato passível de sofrer um ataque nucleofílico em uma reação do tipo S_N2. Os ésteres sulfonatos formados, com um bom grupo abandonador (mesila), foram então substituídos em uma próxima etapa pelo nucleófilo N₃⁻, resultando na azida orgânica de interesse.

No espectro de infravermelho do composto 2 (Figura 41) foi observado uma banda em 3270 cm⁻¹ referente ao estiramento C-H de alcinos, juntamente com a banda em 2126 cm⁻¹ referente ao estiramento carbono-carbono de ligações triplas, confirmando a presença de um grupo alcino terminal na estrutura da guttiferona-A. Além desses sinais foi observado o desaparecimento da banda aguda em 3521 cm⁻¹ referente ao estiramento de OH fenólico com ligação intramolecular e o aparecimento de uma banda larga em 3450 cm⁻¹ referente ao estiramento de OH fenólico sem ligação intramolecular, indicando a permanência de uma hidroxila fenólica. As bandas em 1510 cm⁻¹, 1380 cm⁻¹ são referentes ao estiramento da ligação C-C de aromáticos e em 1281 cm⁻¹ são devidas ao estiramento da ligação C-O de éter. Já as bandas em 1200 cm⁻¹, 1134 cm⁻¹ e 1019 cm⁻¹ são referentes a deformação angular de C-H de aromáticos.

Figura 41: Espectro no IV (ATR) do composto 2.



No espectro de RMN de ^1H do composto 2 (Figura 42) foi observado um sinal δ_H 2,58 na forma de um tripleto, integrado para um hidrogênio correspondente ao átomo de hidrogênio ligado ao carbono sp (H-3') com constante de acoplamento $J = 2,31$ Hz. Este tripleto é resultado do acoplamento a longa distância típico de alcinos terminais.

Em δ_H 4,79 foi observado um duplete integrado para dois hidrogênios referente aos hidrogênios metilênicos H-1' com constante de acoplamento de 2,31 Hz evidenciando assim o acoplamento entre os hidrogênios H-1' com H-3'. O sinal largo em 5,66 ppm foi atribuído ao hidrogênio da hidroxila OH-13 remanescente. O duplete com deslocamento químico em 6,93 ppm corresponde ao hidrogênio aromático H-15 integrado para um hidrogênio e com $J = 8,25$ Hz. O multiplete na região de 7,19-7,11 ppm integrado para dois hidrogênios referem-se aos hidrogênios H-12 e H-16. Para confirmar a propargilação na hidroxila OH-14 e a identificação do carbono C-1' foi realizado o mapa de contornos NOESY (Figura 43 e Figura 44), podemos perceber a correlação entre o H-1' com o hidrogênio H-15 (Figura 45) e o mapa de contornos HSQC (Figura 46) que nos possibilitou atribuir o sinal δ_H 56,75 ao C-1'.

Figura 42: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 2.

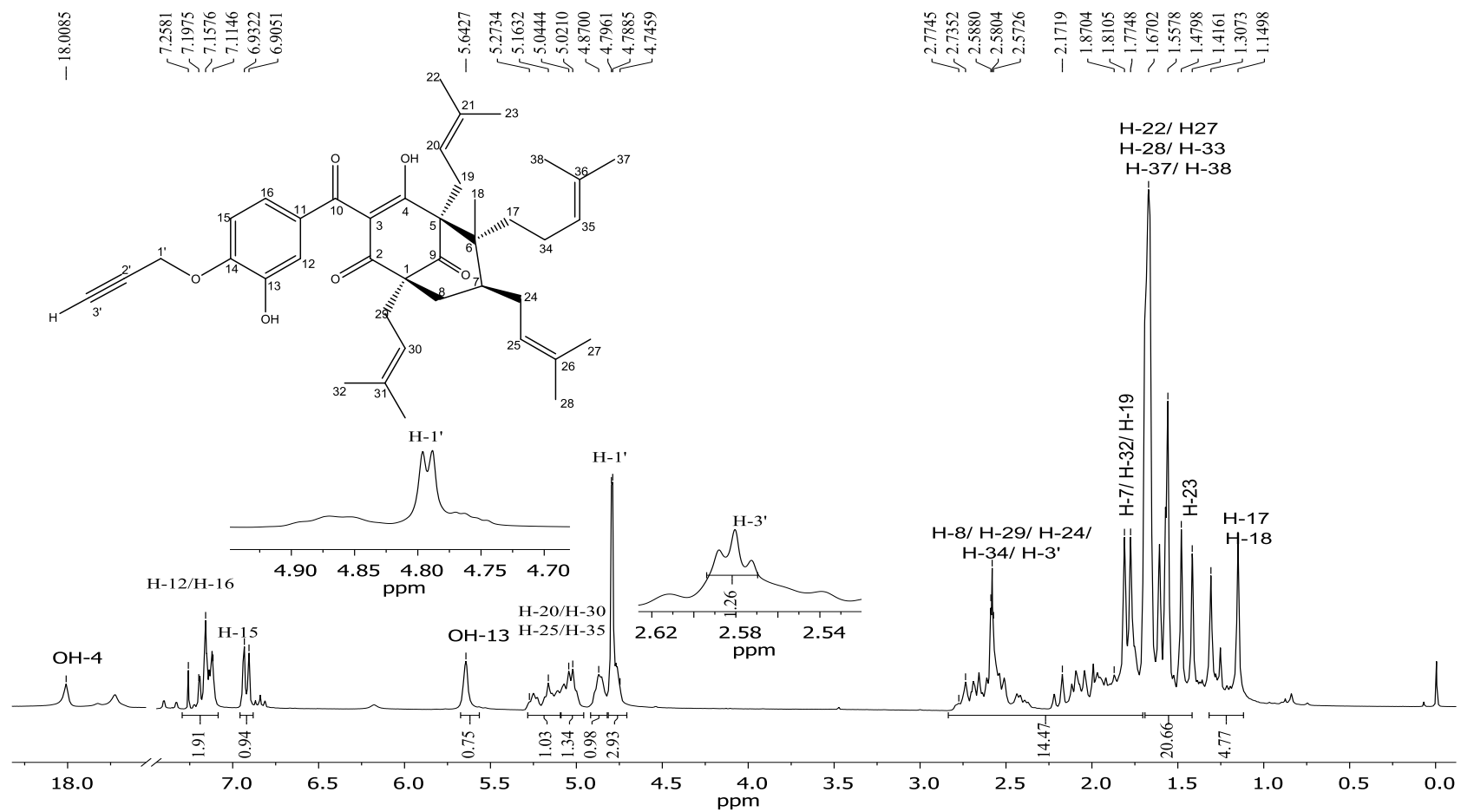


Figura 43: Mapa de contornos NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 2.

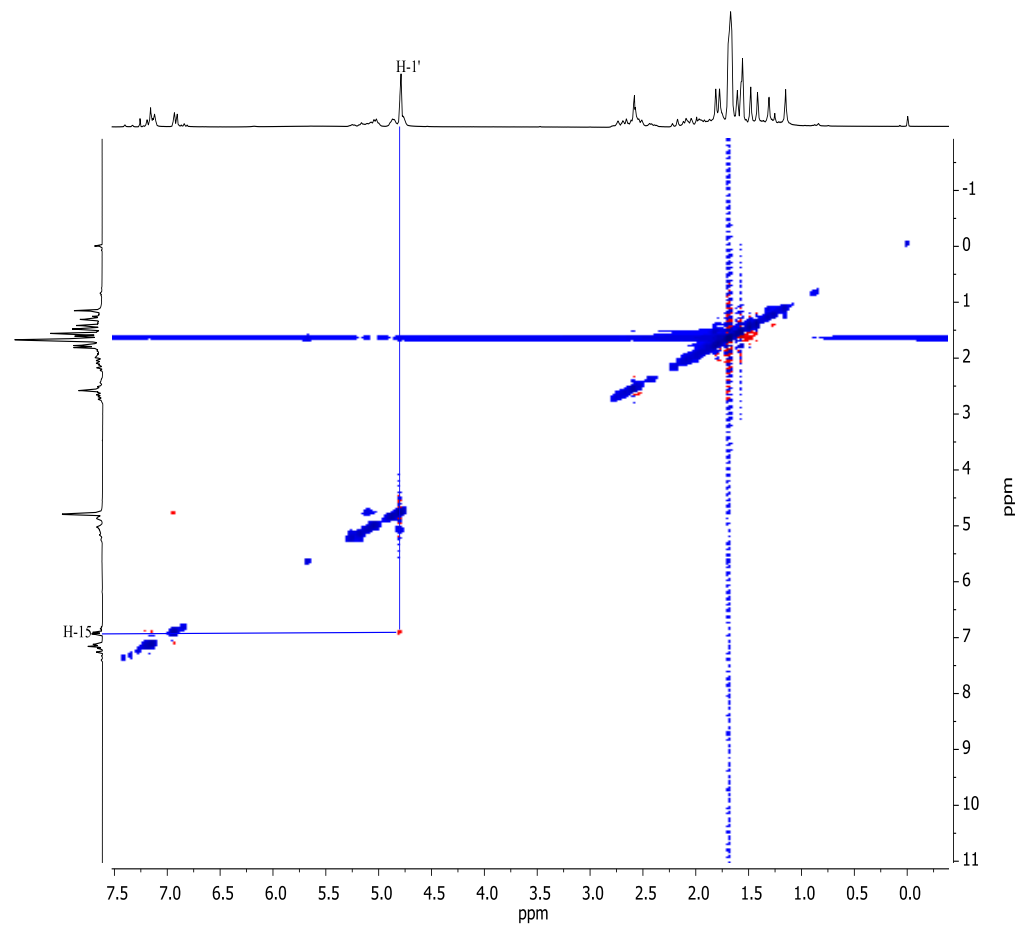


Figura 44: Mapa de contornos (expandido) NOESY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 2.

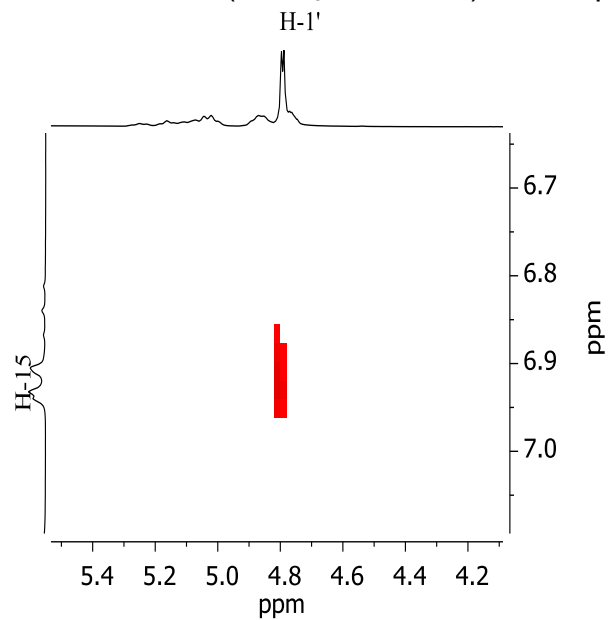


Figura 45: Correlação existente entre os hidrogênios do composto 2.

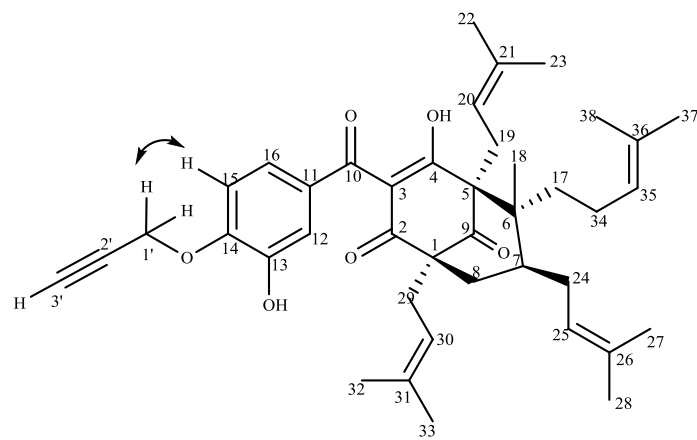
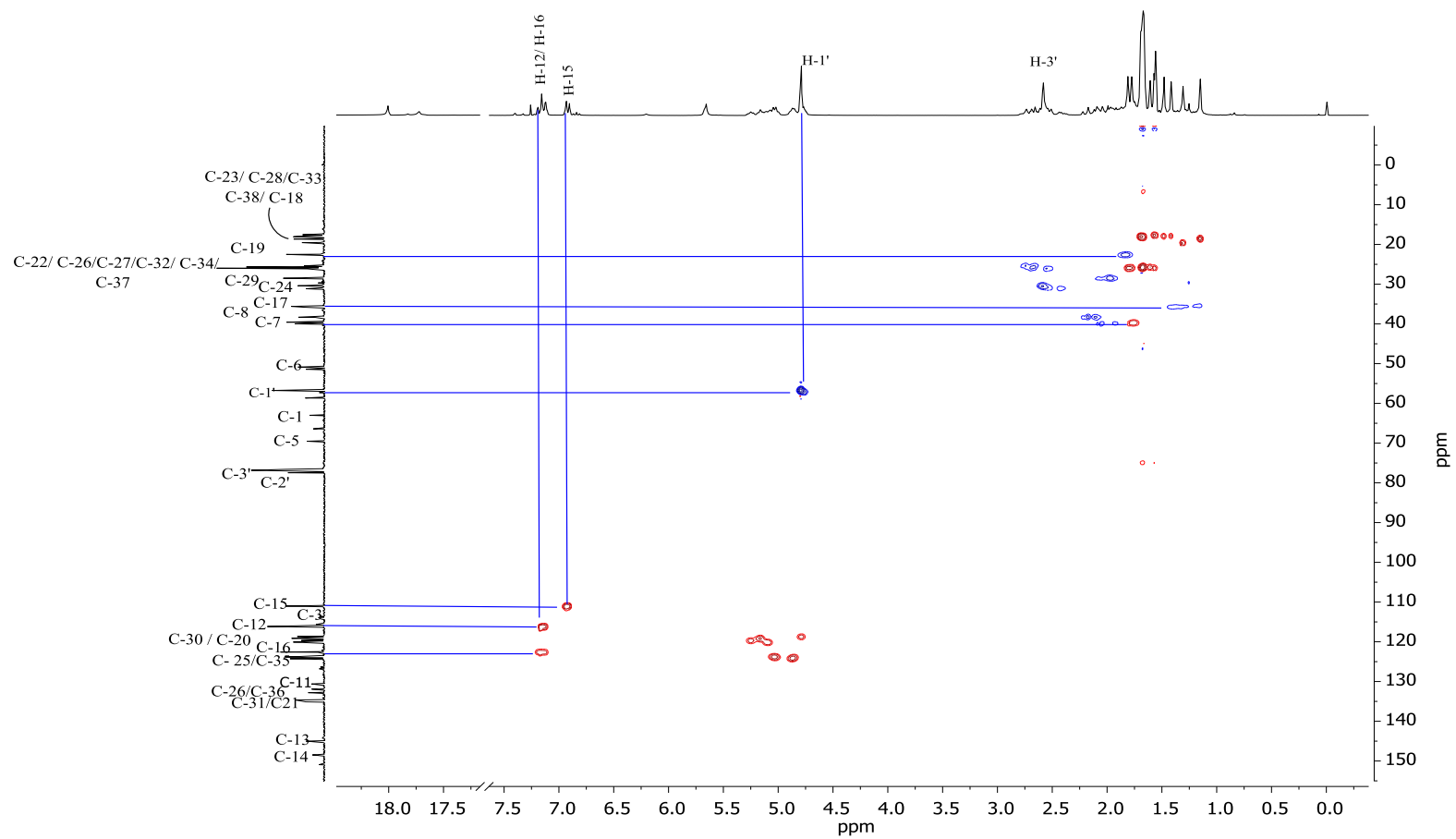
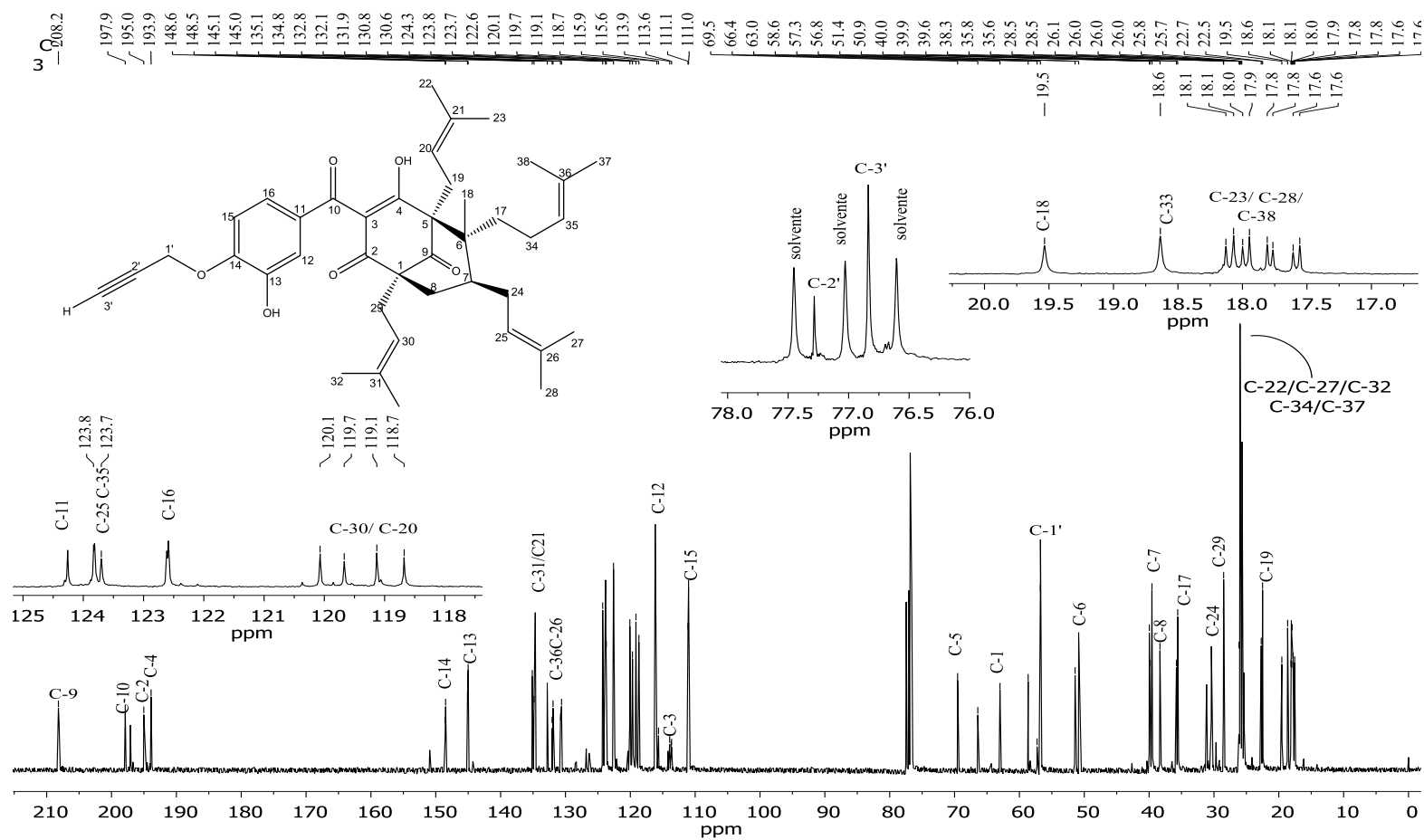


Figura 46: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 300 MHz) para o composto 2.



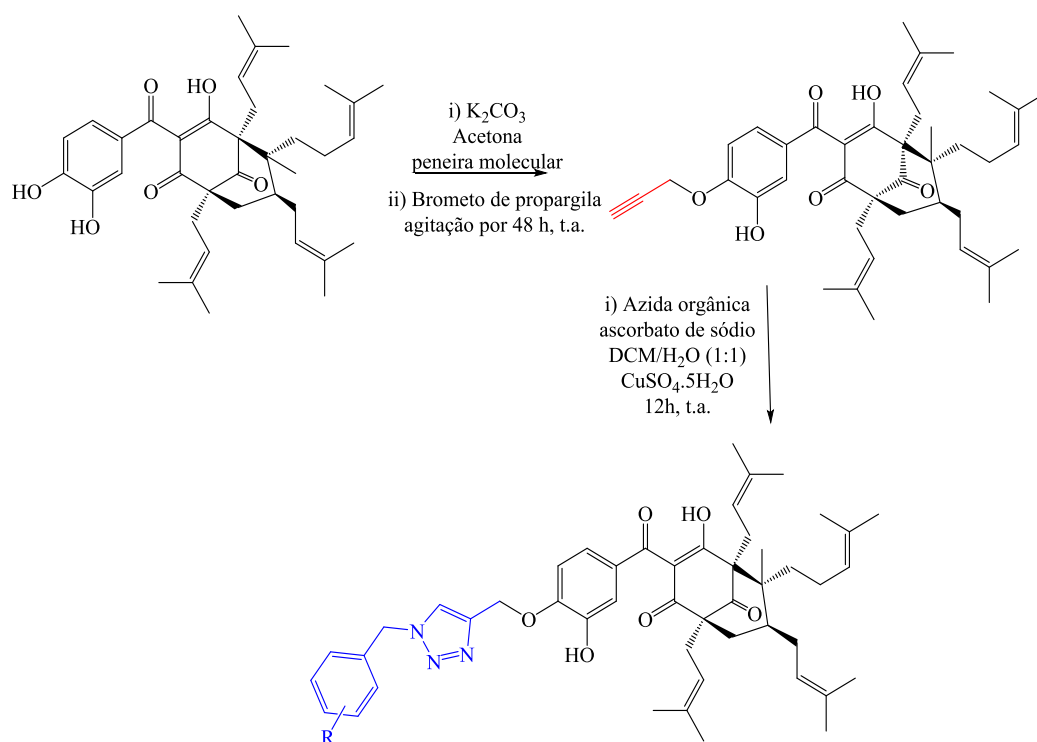
No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 47) o sinal observado com deslocamento químico igual a δ_{C} 76,83 refere-se ao carbono sp C-3' e o sinal em δ_{H} 77,3 refere-se ao carbono sp C-2'. O deslocamento químico em δ_{H} 56,7 foi atribuído ao carbono metilênico C-1'.

Figura 47: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto 2.



Os derivados triazólicos foram obtidos a partir da reação “click” entre o alcino terminal (composto 2) com a respectiva azida orgânica sintetizada anteriormente, catalisada por Cu (Figura 48).

Figura 48: Etapas para obtenção dos derivados triazólicos a partir da guttiferona-A.

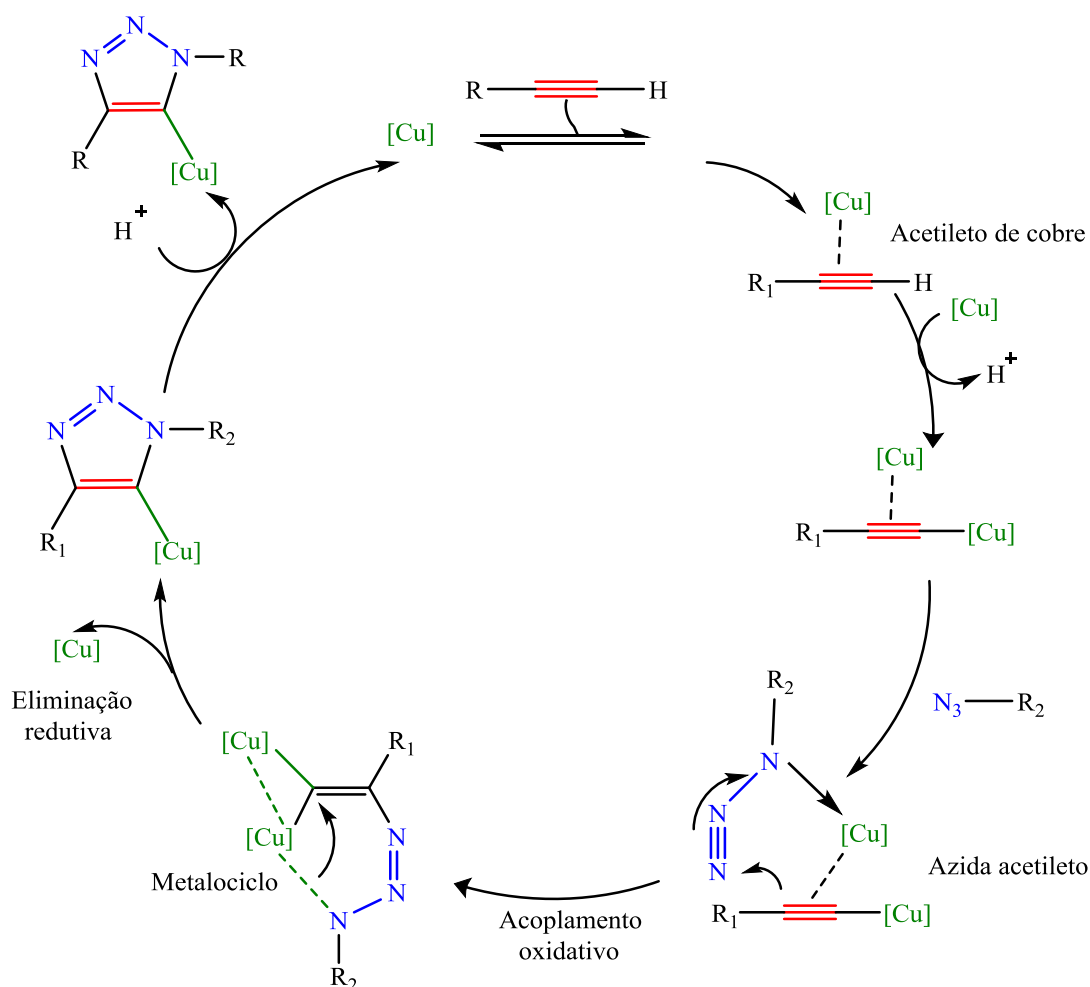


O ciclo catalítico (Figura 49) evidencia a formação do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído entre o alcino terminal e a azida orgânica catalisada por cobre.

A primeira etapa do ciclo catalítico consiste na formação do acetileto de cobre, a partir da complexação do Cu (I) com o orbital π do alcino terminal. Essa complexação resulta na redução do pKa de 25 para 9,8 do hidrogênio terminal do carbono hibridizado sp. A redução do pKa favorece a desprotonação do complexo acetileto de cobre em meio aquoso sem a necessidade de adicionar base. Em seguida, tem-se a coordenação do átomo de Cu (I) com a azida orgânica formando um intermediário azida-acetileto. Neste intermediário, o cobre tem um efeito sinérgico nos sítios reativos, tornando o nitrogênio do alcino terminal mais eletrofílico e o carbono do tipo β -vinilidênico mais nucleofílico, favorecendo o ataque para a formação do metalociclo. A etapa de formação do metalociclo é

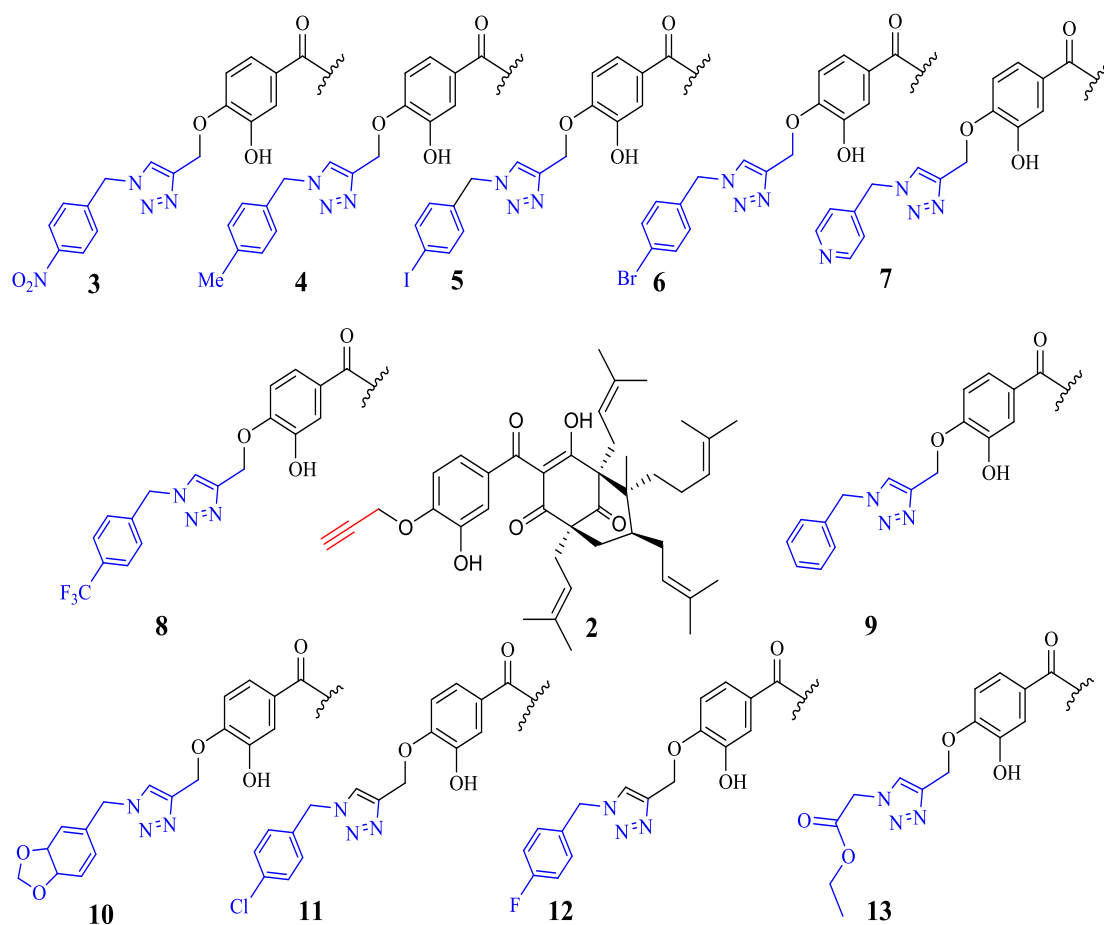
regioespecífica e endotérmica. A presença do catalisador de cobre reduz a energia de ativação (E_a) para aproximadamente 15 kcal mol^{-1} em relação a E_a (aproximadamente 26 kcal mol^{-1}) de sistemas térmicos sem a presença do metal. Posteriormente, em uma etapa de eliminação redutiva, ocorre a contração do metalociclo resultando na saída de um átomo de Cu (I) seguida pela formação do 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído e a regeneração do catalisador.

Figura 49: Proposta do ciclo catalítico para catálise de cobre e formação do triazol. Adaptado de SCHULZE e SCHUBERT, 2014.



A partir do ciclo catalítico exposto acima foi possível sintetizar os diferentes triazóis derivados da guttiferona-A (Figura 50).

Figura 50: Estrutura dos derivados triazólicos sintetizados a partir da propargila da guttiferona-A.

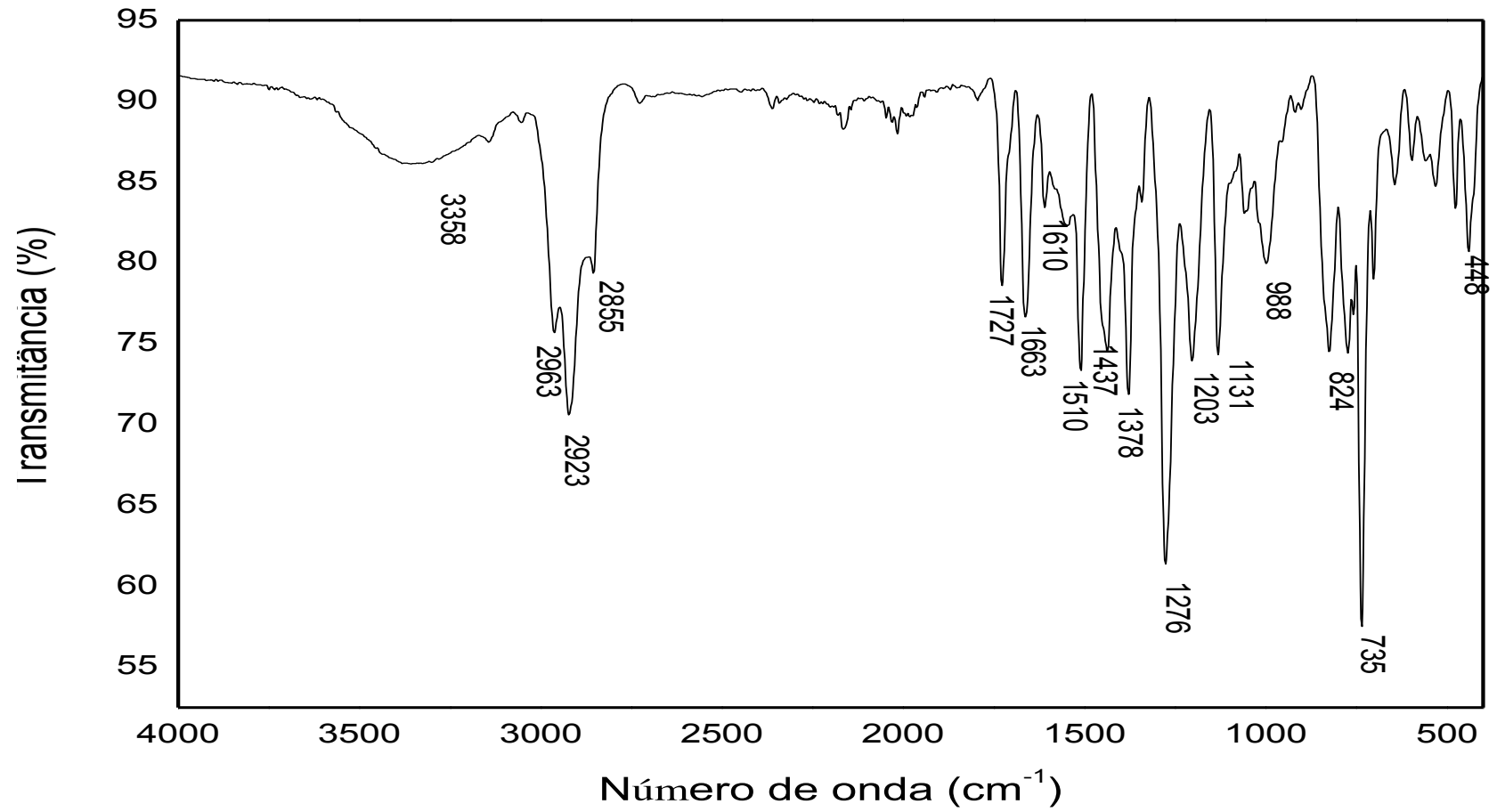


As estruturas dos derivados triazólicos 3-13 foram elucidados utilizando as técnicas: RMN de ^1H e de ^{13}C , HSQC, IV e ESI-MS.

A seguir, será discutida a caracterização de dois compostos 1,2,3-triazóis sintetizados. Os demais triazóis possuem caracterização semelhante e seus espectros são apresentados em anexo.

No espectro de IV do composto 9 (Figura 51) foram observadas as bandas 2855 e 2963 cm^{-1} característico de deformação axial C-H e em 1437 cm^{-1} referente a deformação angular de C-H e banda larga em 3358 cm^{-1} típica de fenóis junto com a banda em 1203 cm^{-1} referente ao estiramento de ligação C-O de fenóis. Também foram observadas bandas de deformação axial C=C de anel aromático em 1610 cm^{-1} , 1510, 1437 cm^{-1} e bandas de deformação axial assimétrica de C-O em 1131 cm^{-1} além de banda de absorção em 1727 cm^{-1} atribuída a carbonila não conjugada C-9 e em 1663 cm^{-1} atribuída a carbonila conjugada C-10.

Figura 51: Espectro no IV (ATR) do composto 9.



No espectro de RMN de ^1H do composto 9 (Figura 52) foi observado um duplete (*d*) em δ_{H} 6,95 ($J= 10,26$ Hz) integrado para 1 hidrogênio referente ao hidrogênio H-15 acoplado com o hidrogênio H-16. O sinal multiplete na região δ_{H} 7,38 a δ_{H} 7,36 integrado para três hidrogênios refere-se aos hidrogênios H-7'/H-9'/H-8' e o sinal de multiplete entre δ_{H} 7,28 a δ_{H} 7,26 integrado para dois hidrogênios refere-se aos hidrogênios H-6'/H-10' respectivamente. O multiplete na região de 7,16-7,08 ppm integrado para dois hidrogênios refere-se aos hidrogênios H-16 e H-12. O sinal (*simpleto*) com maior deslocamento químico observado em δ_{H} 7,51 corresponde ao H-3' decorrente ao efeito retirador de elétrons por efeito indutivo do átomo de nitrogênio. Além dos sinais aromáticos, foi observado a presença de sinais multipletos (*m*) característicos a prótons vinílicos na região de 4,86 a 5,16 ppm integrados para 4 hidrogênios atribuídos aos hidrogênios ligados aos carbonos sp^2 dos grupos prenilas, H-30, H-35, H-25 e H-20. Os dois *simpletos* em δ_{H} 5,25 e δ_{H} 5,51 integrados para dois hidrogênios cada um, correspondem aos hidrogênios metilênicos H-1' e H-4' respectivamente.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto 9 (Figura 53) os sinais observados em δ_{C} 62,8 e δ_{C} 54,4 foram atribuídos aos carbonos C-1' e C-4' respectivamente. O sinal aromático com deslocamento químico em δ_{C} 129,2 é referente aos carbonos C-7' e C-9', o sinal em δ_{C} 128,2 refere-se aos carbonos C-6'/C-10' e os sinais em δ_{C} 134,6 e 128,9 referem-se ao C-5' e C-8' respectivamente. Os carbonos do anel triazólico C-2' e C-3' foram observados em δ_{C} 145,4 e δ_{C} 122,8 respectivamente. Os demais sinais dos carbonos foram atribuídos a partir da análise mais detalhada do mapa de contornos HSQC (Figura 54).

Figura 52: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 9.

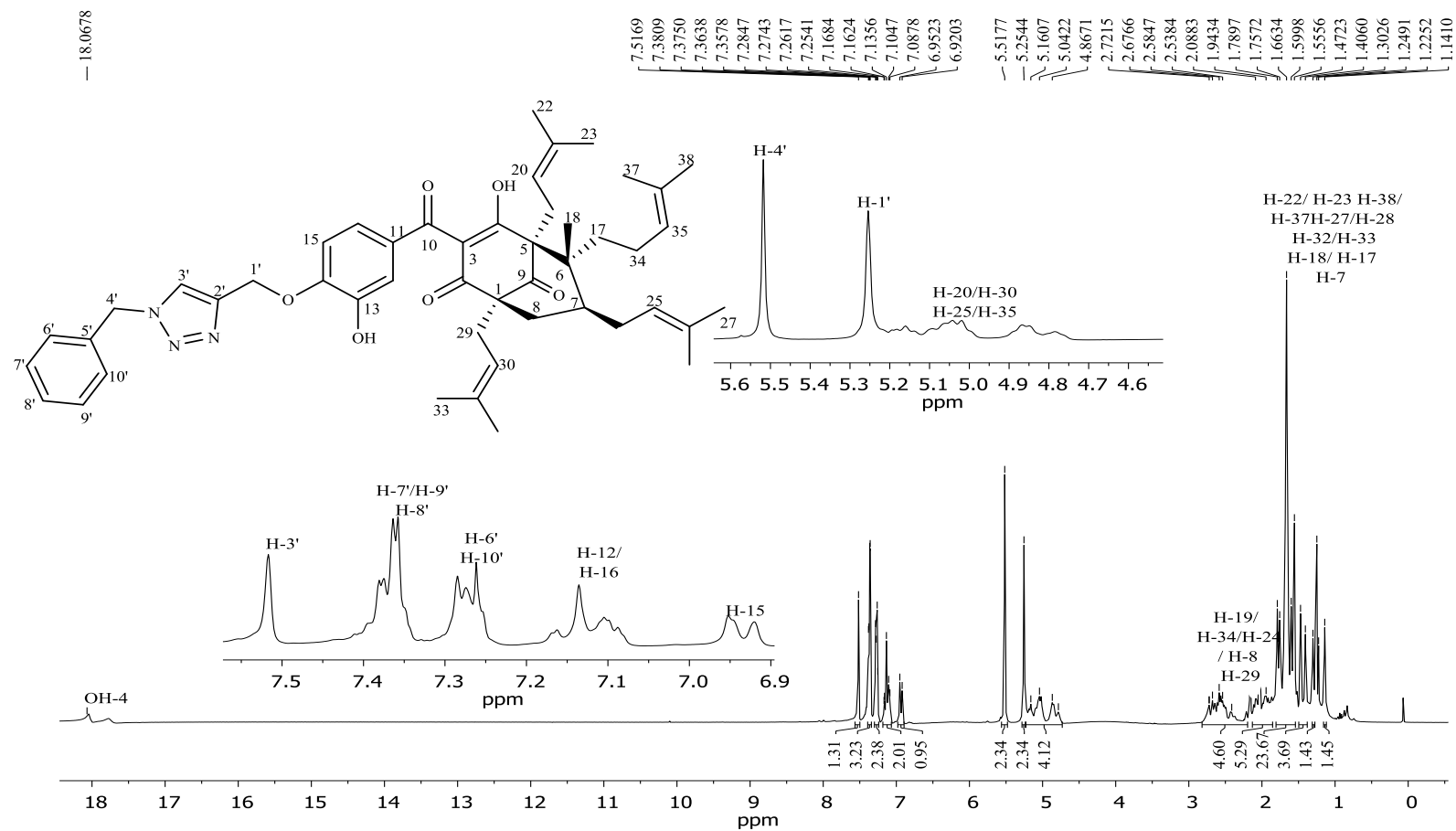


Figura 53: Espectro de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto 9.

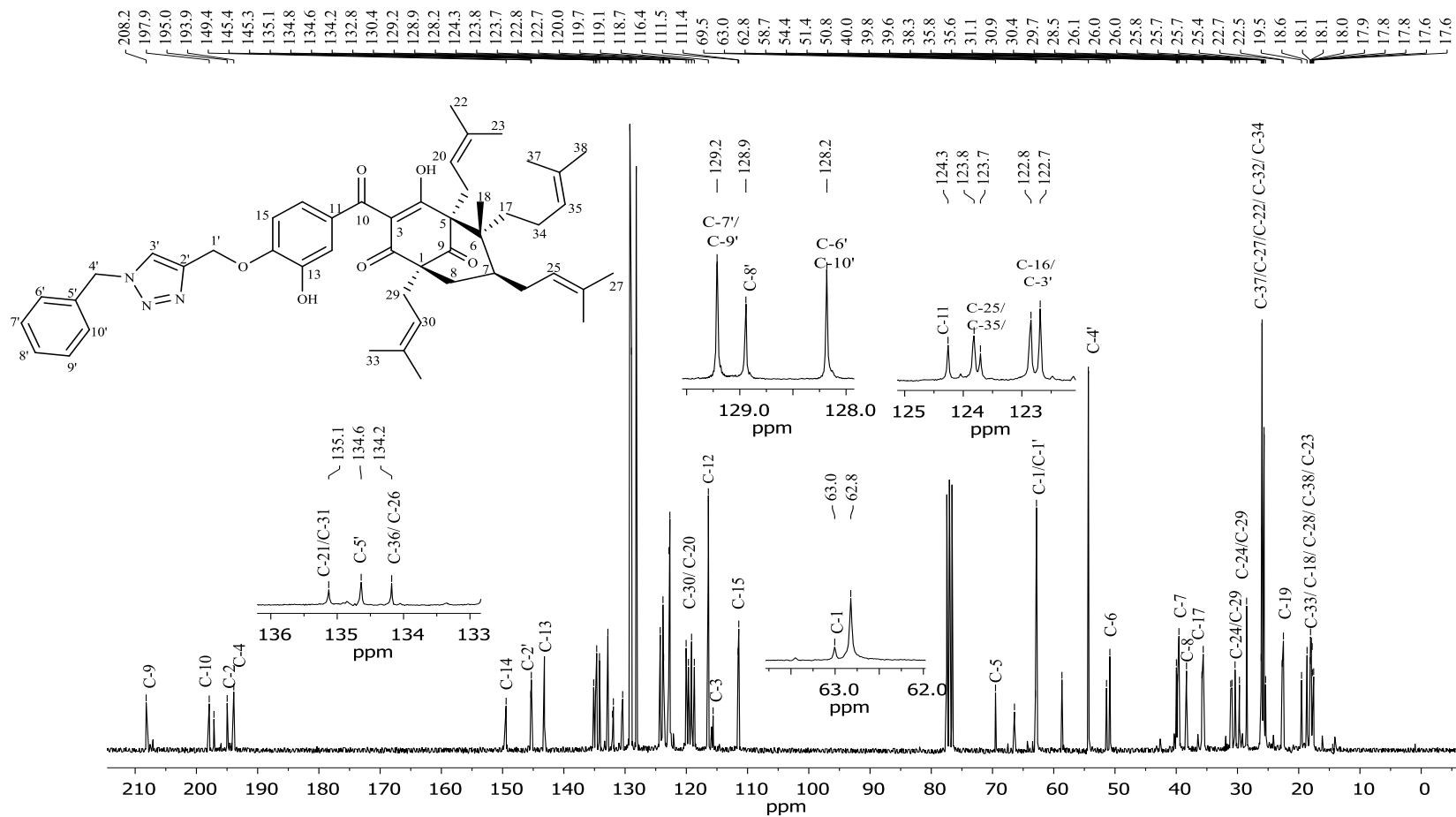
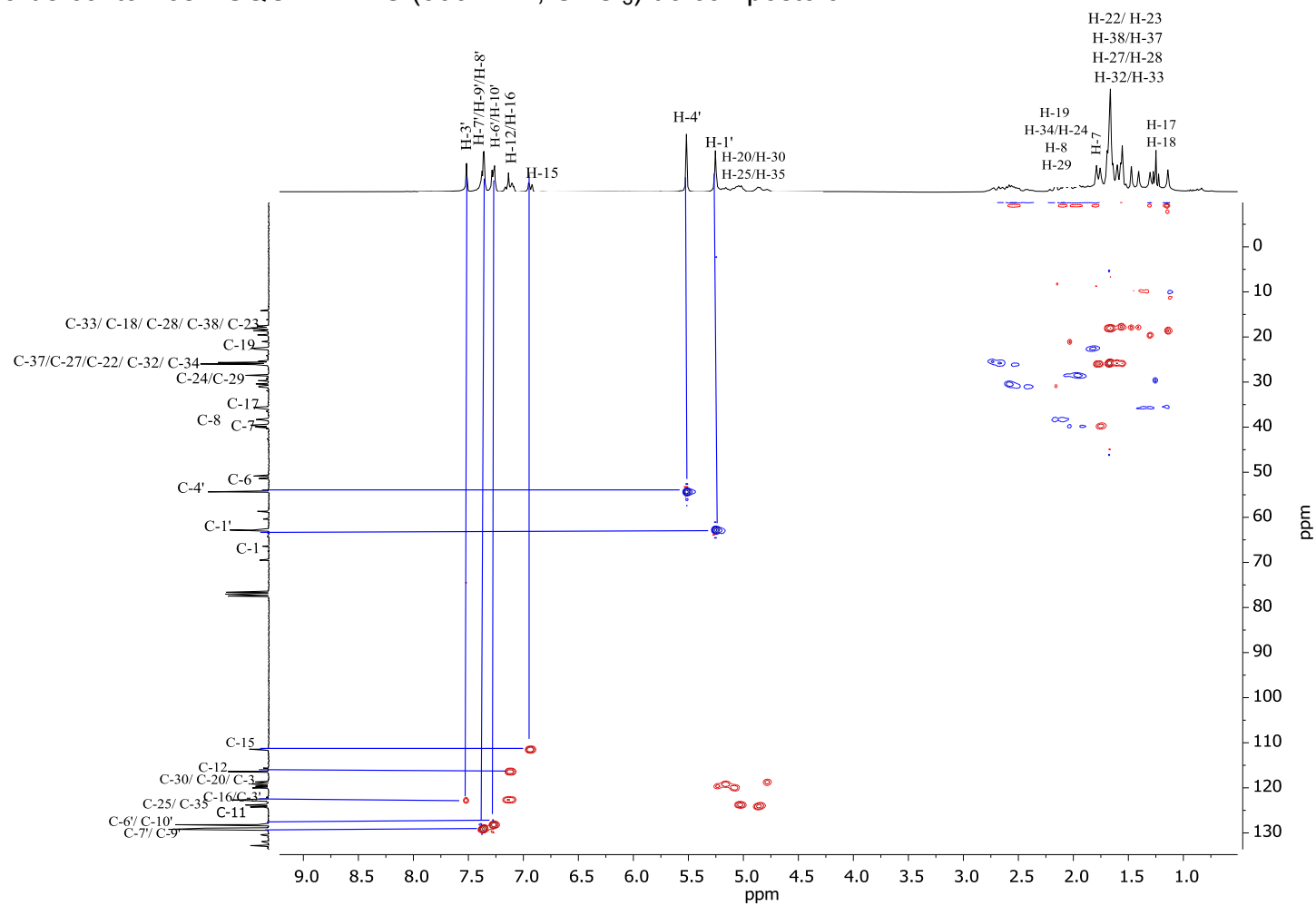
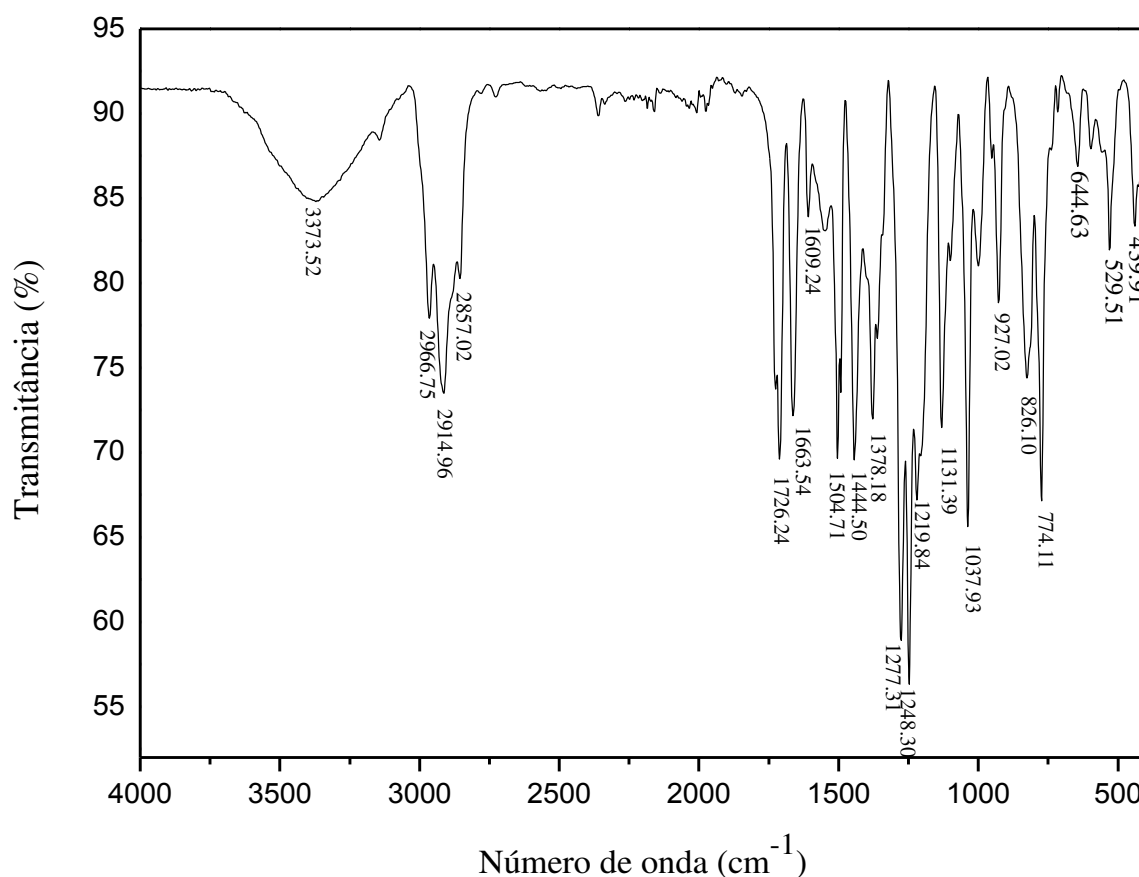


Figura 54: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 9.



No espectro de infravermelho do composto 10 (Figura 55) apresenta bandas intensas em 2857 e 2966 cm^{-1} característico de deformação axial C-H e em 1444 cm^{-1} referente a deformação angular de C-H e banda larga em 3373 cm^{-1} típica de fenóis. Também foram observadas bandas de deformação axial C=C de anel aromático em 1609 cm^{-1} , 1504 cm^{-1} , 1444 cm^{-1} , bandas de deformação axial assimétrica de C-O em 1131 cm^{-1} além de banda de absorção em 1726 cm^{-1} atribuída a carbonila de cetona não conjugada C-9 e em 1663 cm^{-1} atribuída a carbonila conjugada C-10.

Figura 55: Espectro no IV (ATR) do composto 10.



No espectro de RMN de ^1H do composto 10 (Figura 56) foi observado um duplete (*d*) em δ_{H} 6,91 ($J = 10$ Hz) integrado para 1 hidrogênio referente ao hidrogênio H-15. Já o multiplete com deslocamento químico entre δ_{H} 6,74-6,68 na região correspondente a aromáticos, integrado para 3 hidrogênios referem-se aos hidrogênios H-6'/H-9' e H-10'. O sinal (*simpleto*) com maior deslocamento químico observado em δ_{H} 7,51 corresponde ao H-3' decorrente do efeito de anisotropia do

anel triazólico e ao efeito retirador de elétrons por efeito indutivo do átomo de nitrogênio. Além dos sinais aromáticos, foi observado um *simpleto* em δ_{H} 5,94 integrado para dois hidrogênios com maior deslocamento químico, referente aos H-11' ligados ao carbono C-11' localizado entre dois átomos de oxigênios (-O-CH₂-O-) tornando-os bastante desblindados quando comparado aos outros dois sinais de *simpletos* com deslocamento químico em δ_{H} 5,40 e δ_{H} 5,24 ambos integrados para dois hidrogênios referentes aos hidrogênios H-11'/H-4' e H-1' respectivamente.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 57) em conjunto com a análise do mapa de contornos HSQC (Figura 58) pode-se atribuir os deslocamentos dos carbonos. Os sinais observados em δ_{C} 62,8 foi atribuído ao C-1' e δ_{C} 54,2 ao C-4'. Os sinais referentes aos carbonos aromáticos δ_{C} 108,7 referem-se aos carbonos C-6' e C-10' e o sinal δ_{C} 148,2 foram atribuídos aos carbonos C-7'/C-8'. Os carbonos do anel triazólico C-2' e C-3' foram observados em δ_{C} 145,3 e δ_{C} 122,1, respectivamente.

Figura 56: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) para o composto 10.

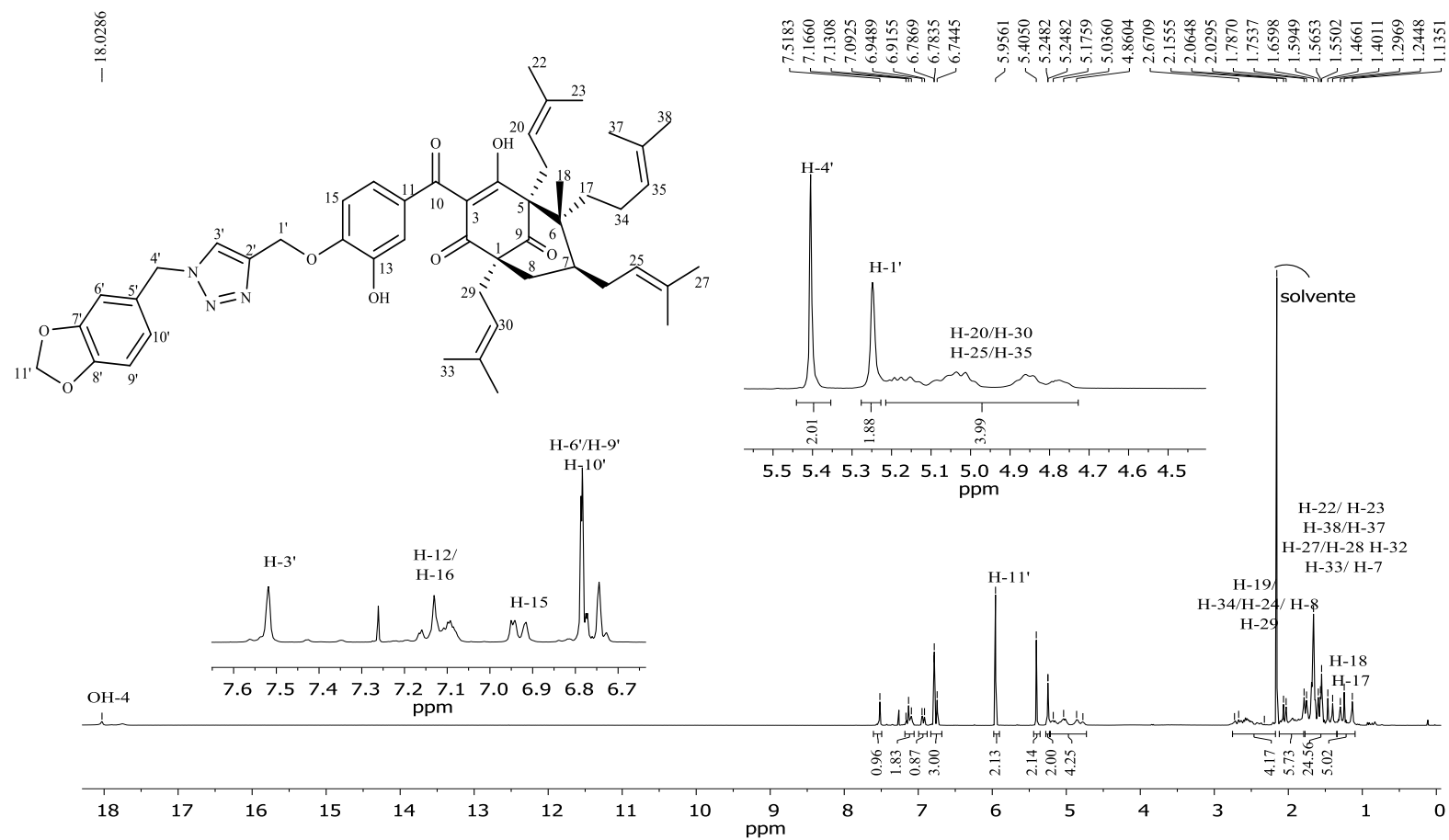


Figura 57: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 10.

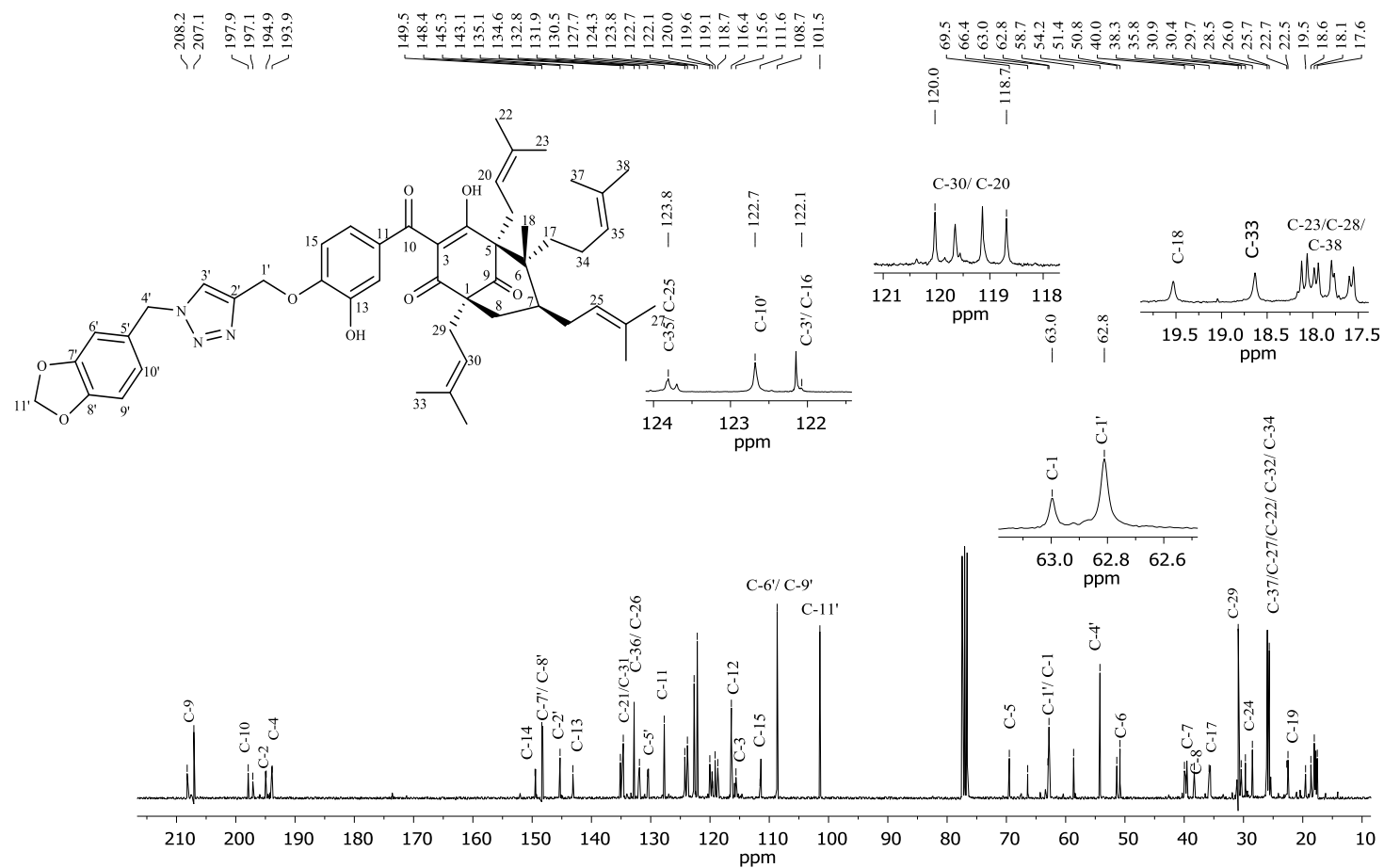
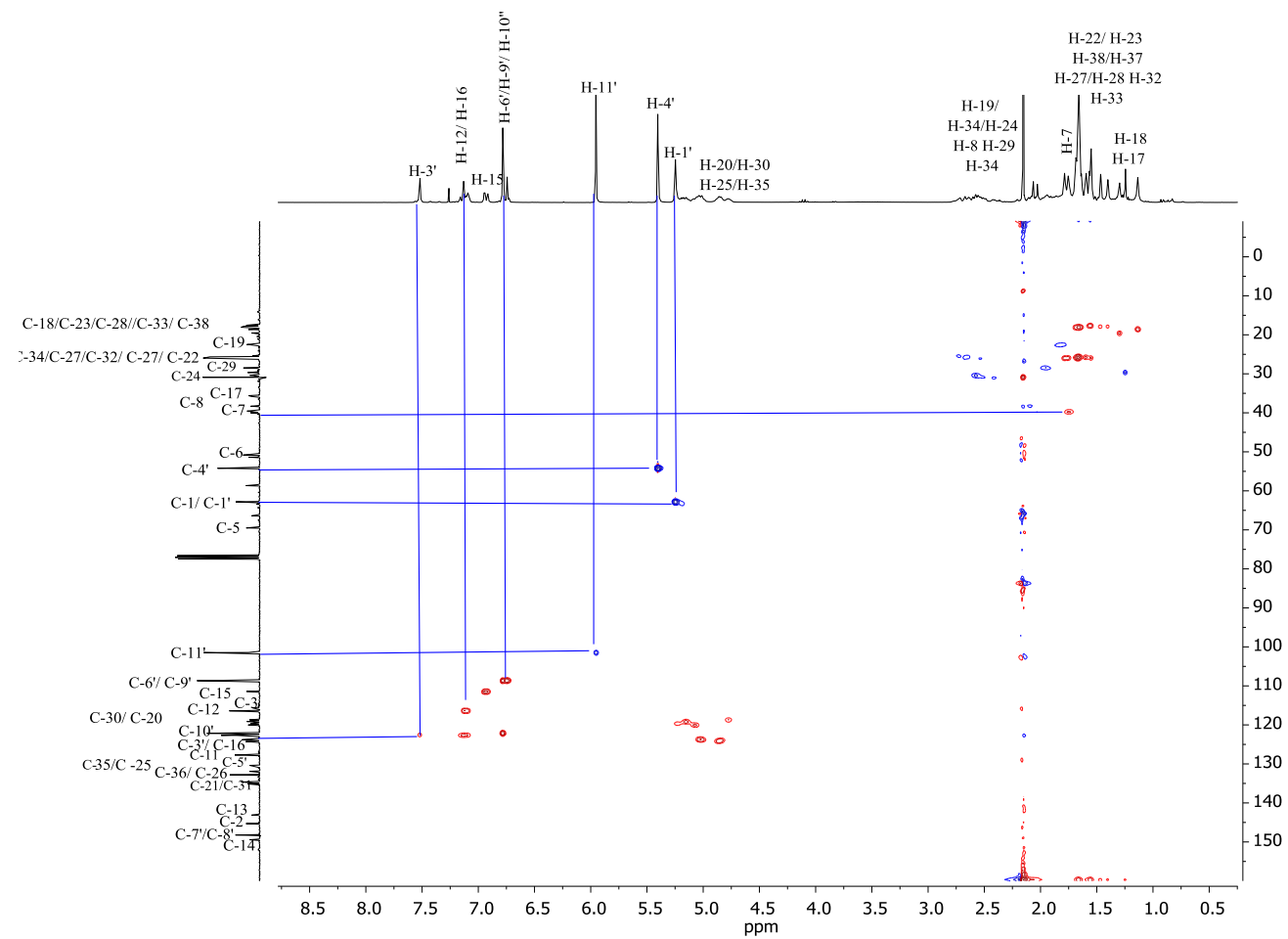


Figura 58: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 10.



4. Conclusão

A partir do isolamento e identificação da guttiferona-A realizado no capítulo 1 foi possível sintetizar quatro derivados etéreos, sendo dois derivados inéditos.

A partir do alcino terminal da guttiferona-A utilizando a abordagem sintética “click” foi possível sintetizar uma série de derivados triazólicos, sendo sintetizados 11 compostos inéditos com rendimentos que variaram de 52% a 92%.

5. Referências bibliográficas

AHAER, N. G.; PORE, V. S.; MISHRA, N. N.; KUMAR, A.; SHUKLA, P. K.; SHARMA, A.; BHAT, M. K. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, p. 759–763, 2009.

ALNAJJAR, A. O.; EL-ZARIA, M. E. Synthesis and characterization of novel azo-morphine derivatives for possible use in abused drugs analysis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 357-363, 2008.

ANJOS, J. V.; NEVES-FILHO, R. A. W.; NASCIMENTO, S. C.; SRIVASTAVA, R. M.; MELO, S. J.; SINOUE, D. Synthesis and cytotoxic profile of glycosyl- triazole linked to 1,2,4-oxadiazole moiety at C-5 through a straight-chain carbon and oxygen atoms. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 3571-3576, 2009.

ARAÚJO, C. R. M.; LEITE FILHO, C. A.; SANTOS, V. L. DOS A.; MAIA, G. L. A. M.; GONSALVES, A. A. Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual scifinder®. **Química Nova**, v. 38, p. 868-873, 2015.

BOKOR, E.; DOCSA, T.; GERGELY, P.; SOMSÁK, L. Synthesis of 1-(D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazoles and their evaluation as glycogen phosphorylase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 1171–1180, 2010.

CHEN, Z.; LU, D.; WEBER, S. G. High-Throughput Phase-Distribution Method to Determine Drug Cyclodextrin Binding Constants. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, p. 229-238, 2009.

CHU, X. M.; WANG, C.; WANG C, W. L.; LIANG, L. L.; LIU, W.; GONG, K. K.; SUN, K. L. Triazole derivatives and their antiplasmodial and antimalarial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 166, p. 206 -223, 2019.

COLOMBANO, G.; TRAVELI, C.; GALLI, U.; CALDARELLI, A.; CHINI, M. G.; CONONICO, P. L.; SORBA, G.; BIFULCO, G.; TRON, G. C.; GENAZANNI, A. A. A novel potente nicotinamide phosphoribosyltransferase inhibitor synthesized via click chemistry. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 616-623, 2010.

DUARTE, D. F. Uma Breve História do Ópio e dos Opióides. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, p. 135-146, 2005.

GALLARDO, H.; GILMAR, C.; BRYK, F.; LOURENÇO, M. C. S.; COSTA, M. S.; FERREIRA, V. F. Synthesis and Evaluation of 1-Alkyl-4-phenyl[1,2,3]triazole Derivatives as Antimycobacterial Agent. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 1285-1291, 2007.

GILL, C.; JADHAV, G.; SHAIKH, M.; KALE, R.; GHAWALKAR, A.; NAGARGOJE, D.; SHIRADKAR, M. Clubbed [1,2,3] triazoles by fluorine benzimidazole: A novel approach to H37Rv inhibitors as a potential treatment for tuberculosis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p. 6244–6247, 2008.

HOLLA, B. S.; MAHALINGA, M.; KARTHIKEYAN, M. S.; POOJARY, B.; AKBERALI, P. M.; KUMARI, N. S. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some substituted 1,2,3-triazoles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 1173–1178, 2005.

KOTHAREA, S.; KLUGER, G.; SACHDEO, R.; WILLIAM, B.; OLHAYE, O.; PERDOMO, C.; BIBBIANI, F. Dosing considerations for rufinamide in patients with Lennox–Gastaut syndrome: Phase III trial results and real-world clinical data. **Seizure**, v. 47, p. 25–33, 2017.

LINDSAY-SCOTT, P. J.; GALLAGHER, P. T. Synthesis of heterocycles from arylacetonitriles: Powerful tools for medicinal chemists. **Tetrahedron Letters**, v. 58, p. 2629–2635, 2017.

LIU, G.; LI, L.; HUANG, X.; ZHENG, S.; XU D.; XU, X.; ZHANG, Y.; LIN, H. Determination of triazole pesticides in aqueous solution based on magnetic graphene

oxide functionalized MOF-199 as solid phase extraction sorbents. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 270, p. 258–264, 2018.

MELO, J. O. F.; DONNIC, C. L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; DE SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, M. L. G.; CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, p. 569-579, 2006.

PUTTASWAMY, N.; MALOJIAO, V. H.; MOHAMMED, Y. H. E.; SHERAPURA, A.; PRABHAKAR, B. T.; KHANUM, S. A. Synthesis and amelioration of inflammatory paw edema by novel benzophenone appended oxadiazole derivatives by exhibiting cyclooxygenase-2 antagonist activity. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p. 1446–1455, 2018.

ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B. A Stepwise Huisgen cycloaddition Process: copper(I)- Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and terminal alkynes. **Angewandte Chemie**, v. 41, p. 2596-2598, 2002.

SCHULZE, B.; SCHUBERT, U. S. Beyond click chemistry – supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles. **Chemical Society Reviews**, v. 43, p. 2522, 2014.

TORNOE, C. W.; CHRISTENSEN, C.; MELDAL, M. Peptidotriazoles on solid fase: [1,2,3]-triazoles by regioespecific copper catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. **Journal of Organic Chemistry**, v. 67, p. 3057-3064, 2002.

SUMANGALA, V.; POOJARY, B.; FERNANDES, J.; KUMARI, N. S. Synthesis and antimicrobial activity of 1,2,3-triazoles containing quinoline moiety. **Archives of Pharmacal Research**, v. 33, p. 1911-1918, 2010.

THOMAS, K. D.; ADHIKARI, A. V.; SHETTY, N. S.; Desing, synthesis antimicrobial activities of some new quinolone derivatives carrying 1,2,3-triazole moiety. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 3803-3810, 2010.

VÁRADI, A.; GERGELYA, A.; BÉNI, S.; JANKOVICS, P.; NOSZÁL, B.; HOSZTAFI, S. Sulfate esters of morphine derivatives: Synthesis and characterization. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, p. 65–72, 2011.

ZHAO, X. L.; QIAN, H. F.; HUANG, W. Construction of benzothiazole/pyridone based bi-heterocyclic dyes and their Ni^{II} and Cu^{II} complexes. **Dyes and Pigments**, v. 149, p. 796–803, 2018.

**CAPÍTULO 3: Atividade agroquímica do extrato
bruto das sementes de *Garcinia gardneriana* e dos
compostos isolados**

1. Introdução

As pesquisas envolvendo novas moléculas orgânicas biologicamente ativas têm crescido nos últimos anos. Esta busca tem aumentado principalmente pela necessidade hoje de compostos mais eficientes que possam controlar diversas doenças e pragas em que os biótipos adquiriram resistência aos princípios ativos tradicionalmente utilizados.

O número de pesquisas utilizando moléculas orgânicas extraídas das fontes naturais, como plantas e microrganismo, envolvendo o controle de diversas enfermidades tem crescido consideravelmente. AMARAL et al. (2017) fizeram um levantamento da importância da evolução da química medicinal sobre a diversificação das principais doenças investigadas pelos grupos de Química Medicinal no Brasil no período de 1969-2017 (Tabela 4). Na tabela 4 pode-se perceber que no período de 2011-2017 houve aumento significativo dos estudos com produtos naturais no controle da malária, leishmania e câncer.

Tabela 4: Principais doenças e desordens investigadas por grupos de pesquisa brasileiros e publicadas nos principais periódicos em Química Medicinal.

	1969-2000		2001-2005		2006-2010		2011-2017		% total
	Absol. ^b	% ^b	Absol. ^b	% ^b	Absol. ^b	% ^b	Absol. ^b	% ^b	
Câncer	3	10	13	13	71	25	196	27	19
Doença de chagas	7	24	17	17	45	16	103	14	18
Malária	1	3	4	4	11	4	48	7	4
Leishmaniose	1	3	10	10	26	9	72	10	8
Infecções bacterianas e fúngicas	2	7	10	10	45	16	114	16	12
Víroses	3	10	3	3	22	8	36	5	7
Diabetes	0	0	4	4	3	1	16	2	2
Inflamação e dor	9	31	18	18	37	13	73	10	18
Cardiovascular	2	7	12	12	11	4	31	4	7
SNC		1	3	7	7	12	4	46	6
Total	29		98		283		735		

^aPara cada doença foi realizada uma busca parametrizada por trabalhos brasileiros na base de dados Scopus (05/03/2017), utilizando as revistas previamente citadas e as seguintes palavras-chave (câncer e tumor); Chagas (cruzi ou chagas ou trypanossoma); Malária (malária ou plasmodium); Leishmaniose(leishmania ou leishmaniasis); Antimicrobianos (antimicrobiano ou bactéria ou antifúngico ou antibiótico); Víroses (vírus ou antiviral); Diabetes (diabetes); Inflamação e dor (inflammation ou pain ou analgesic ou inflammatory ou anticonceptivo); cardiovascular (cardiovascular ou heart ou platelet ou cardiac ou angine ou cholesterol); SNC (central nervous system ou CNS ou neuro), ^bquantitativo absoluto dentro do período, ^c% relativo dentro os alvos ou classes quantificados no período. ^d% relativo ao total do período 1969-2017. Fonte: AMARAL et al. (2017).

Atualmente, as principais pesquisas utilizando produtos naturais são de substâncias extraídas de plantas, porque estas espécies sintetizam diferentes classes de compostos denominados metabólitos secundários, associadas a diversas funções ecológicas como, proteção contra o ataque de herbívoros e patógenos, ou servem como atrativos (aroma, cor, sabor) para polinizadores e também podem funcionar como agentes de competição entre plantas (alelopatia) e de simbiose entre plantas e microrganismos. Com isto, tais compostos, apresentam uma variada diversidade química que podem apresentar alta atividade biológica, sendo excelentes pistas para o desenvolvimento de novos fármacos e pesticidas.

A *G. gardneriana* é uma espécie de planta comprovadamente rica em metabólitos secundários farmacologicamente ativos (CASTARDO *et al.*, 2008; CECHINEL-FILHO *et al.*, 2000; LUZZI *et al.*, 1997), associado à presença de compostos fenólicos, xantonas, benzofenonas, triterpenos e esteroides.

As benzofenonas e compostos fenólicos possuem atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (BELLUTI *et al.*, 2011 e 2009; SHARIKURKCU *et al.*, 2018), atuando no sistema nervoso central, sendo muito importante para as indústrias farmacêuticas e agroquímicas. Para as indústrias farmacêuticas os compostos inibidores da enzima acetilcolinesterase podem ser excelentes promissores no tratamento da doença de Alzheimer. Já nas indústrias agroquímicas podem atuar como inseticidas e nematicidas, tendo como mecanismo de ação o modo sistêmico, em que os inibidores da acetilcolinesterase atuam nas neuroenzimas no sistema nervoso impedindo que passem os impulsos elétricos paralisando ou matando o indivíduo (inseto ou nematoide) (KANG *et al.*, 2013; RATTAN, 2010).

GUIMARAES *et al.* (1996a e b) comprovaram a atividade dos extratos hidroalcoólicos da *G. gardneriana* como vasodilatadora de artéria aorta isolada e seu efeito anti-inflamatório em ratos. Em 2004 estes mesmos autores comprovaram que o extrato hidroalcoólico das folhas apresentou inibição da melogênese sobre a linhagem de melanoma murino B16F10 sem diminuir a viabilidade celular desta linhagem nas concentrações utilizadas.

LUZZI *et al.* (1997) relataram que as folhas da espécie *G. gardneriana* é a parte mais utilizada na medicina popular devido seu efeito analgésico associado aos biflavonoides presentes na espécie.

Conhecendo a importância dos produtos naturais e dos relatos sobre o potencial biológico das benzofenonas e compostos fenólicos, este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade inseticida e herbicida do extrato bruto e compostos isolados da *G. gardneriana*.

2. Material e Métodos

2.1 Avaliação da atividade fitotóxica do extrato e compostos isolados da *Garcinia gardneriana*

O ensaio foi conduzido para comprovar a hipótese de que extrato de acetato de etila da espécie *G. gardneriana* possam apresentar atividade herbicida. Para isto, o experimento foi conduzido em ambiente protegido com condições controladas de temperatura e umidade no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

A espécie utilizada para indicar a ação herbicida dos compostos foi o sorgo (*Sorghum bicolor*), por ser considerada uma espécie altamente sensível a herbicidas, sendo comumente utilizada em bioensaios por ser também de fácil condução. O substrato inerte utilizado para o ensaio foi a areia lavada.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em triplicada, em esquema fatorial 4x4+2, sendo o primeiro fator composto pelos extrato de acetato de etila da espécie *G. gardneriana* (extrato bruto, 7-epiclusianona, guttiferona-A e fukugetina) e o segundo por quatro doses de cada composto, mais o tratamento com o herbicida glyphosate (Produto comercial Roundup original® na concentração 1,3 mM) e o tratamento controle (sem aplicação de compostos ou herbicidas), Na Tabela 5 estão apresentados os compostos com as respectivas doses testadas.

Tabela 5: Doses dos compostos e herbicida utilizados no ensaio de teste fitotóxico.

Extrato	7-epiclusianona	guttiferona-A	Fukugetina	¹ Glyphosate
ppm	mM			
125	0,25	0,25	0,25	1,30
250	0,50	0,50	0,50	-
500	1,00	1,00	1,00	-
1000	1,30	1,30	1,30	-

¹/ Produto comercial Roundup original®, contendo 360 g L⁻¹ do equivalente ácido de glyphosate.

2.1.2 Preparo das soluções estoques dos compostos testados.

Inicialmente foi preparado uma solução estoque de 1000 ppm do extrato de *G. gardneriana* em água destilada contendo 10% de Tween e 1% de pent-3-ona. A solução foi sonicada em aparelho ultra-som por 1 hora. A partir da solução estoque foram preparadas quatro concentrações do extrato (1000; 500; 250 e 125 ppm).

Para cada composto isolado (7-epiclusianona, guttiferona-A e fukugetina) foi preparada uma solução estoque de 2 mmol L⁻¹ em água, contendo 10% de Tween e 1% de pent-3-ona. A solução foi sonicada em aparelho ultra-som por 1 hora. A partir da solução estoque foram preparadas quatro concentrações (1,3; 1,0; 0,5 e 0,25 mmol L⁻¹).

No tratamento controle foi utilizada água contendo 10% de Tween e 1% de pent-3-ona. O preparo do tratamento herbicida foi realizado utilizando o produto comercial Roundup original®, contendo 360 g L⁻¹ do equivalente ácido de glyphosate, sendo preparada uma solução na concentração de 1,3 mmol L⁻¹ do equivalente ácido.

2.1.3. Preparo do material inerte

A areia foi peneirada em malha de 2 mm e, em seguida, tratada durante 36 horas com ácido clorídrico PA, diluído em água, numa proporção de 600 mL de ácido para cada 10 L de água, mantendo-se uma lâmina de 10 cm da solução ácida acima do nível do substrato, em baldes de polietileno. Após esse período, a areia foi lavada com água corrente, até que fosse retirado o excesso de ácido, alcançando pH próximo de 7,0 em água deionizada.

2.1.4. Montagem do ensaio fitotóxico

As parcelas experimentais foram compostas de potes de polietileno com fundos vedados, com capacidade para 300 cm³ que foram preenchidos com substrato. Em seguida, foram incorporados no material inerte 30 mL de solução de cada composto previamente homogeneizado. Após isto foram semeadas seis sementes de sorgo, a uma profundidade de 1 cm.

Após a semeadura, os vasos foram irrigados diariamente de acordo com a necessidade diária e a cada sete dias os vasos foram irrigados com solução de Hogland e ARNO (1950) contendo macro e micronutrientes.

Aos 7, 14 e 21 dias após aplicação (DAA) foi avaliado a porcentagem de intoxicação das plantas por meio de notas de 0 (ausência de intoxicação) a 100 (morte da planta) (SBCPD 1995).

Aos 21 dias após a semeadura foi realizada a colheita do experimento, que consistiu no corte da parte aérea das plantas rente à superfície do substrato e retirada das raízes que foram lavadas em água corrente. Posteriormente, todo esse material foi seco em estufa de circulação forçada de ar (70 ± 2 °C) até atingir massa constante que foi determinada utilizando uma balança de precisão de 0,001 g e, codificadas como MSF (matéria seca da parte aérea) e MSR (matéria seca da raiz) das plantas.

Os dados de acúmulo de matéria seca foram convertidos em porcentagem (proporção relativa às testemunhas, que receberam valor de 100%). Em seguida, os dados foram submetidos à análise descritiva e as médias foram representadas na forma de gráficos de barra com seus respectivos desvios padrão, utilizando o software Sigmaplot® 12.5.

2.3 Avaliação da atividade inseticida

Os bioensaios de atividade inseticida foram realizados no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, localizado no Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa. Os insetos utilizados nos bioensaios de atividade inseticida foram provenientes de criações deste mesmo laboratório.

Para avaliação da toxicidade das substâncias foram utilizadas lagartas do segundo ínstar das espécies *Plutella xylostella* e *Ascia monuste*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado contendo seis repetições. Cada parcela experimental foi constituída de 10 lagartas.

Para a determinação da quantidade de substância utilizada no preparo de cada solução, foi estimada previamente a massa média de 10 lagartas da mesma espécie. Após esta pesagem, as soluções foram preparadas a partir da diluição dos compostos no volume de acetona estimado conforme a fórmula abaixo:

$$V_{sol} = \frac{m_p \times v_{ap}}{D_t \times m_l}$$

Sendo:

V_{sol} = volume de acetona utilizado para o preparo das soluções (μL);

m_p = massa de substância pesada (mg);

v_a = volume de solução aplicado em cada inseto (fixo = 0,5 μL);

D_t = dose testada (mg de substância/g de lagarta) (fixo = 30 mg/g);

m_l = massa média de dez lagartas da mesma espécie (mg).

Neste sentido, as soluções preparadas foram aplicadas topicamente (0,5 μL) no dorso de cada lagarta com auxílio de uma microsseringa 10 μL (Hamilton 76620). Para o controle (testemunha), os insetos foram tratados com igual volume da acetona. Após a aplicação dos tratamentos, as lagartas foram acondicionadas em potes plásticos com tampa (250 mL) contendo um disco de folha de couve (3,0 cm de diâmetro) o qual foi fornecido como alimento.

As mortalidades das lagartas foram avaliadas após 48 horas da aplicação dos tratamentos. Os dados de mortalidade, por sua vez, foram corrigidos em relação à mortalidade do controle (testemunha) usando a fórmula de ABBOTT (1925). As mortalidades corrigidas foram submetidas à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey a $P < 0,05$. Para todos os dados foram verificados a homogeneidade de variância e normalidade dos erros (SAS Institute 2013) os quais indicaram que transformações não seriam necessárias.

3. Resultados e discussão

3.1. Avaliação da atividade fitotóxica

Os compostos e o glyphosate não provocaram intoxicações nas plantas até os 7 DAA (Dias Após Aplicação). Os primeiros sintomas foram observados a partir dos 14 DAA (Figura 59; A; B; C; D). O uso de extrato no solo causou intoxicações nas plantas de sorgo com mesma intensidade em todas as doses avaliadas, com valores médios de 3,27 e 2,33% nas avaliações aos 14 e 21 DAA, respectivamente (Figura 59; A). Valores estes, muito inferiores aos observados as 14 e 21 DAA para o uso do herbicida glyphosate, que foram de 83,33 e 35,00%, respectivamente.

As intoxicações causadas pelos compostos 7-epiclusianona e fukugetina foram semelhantes (Figura 59; B e C). Observou-se que houve aumento dos sintomas com o aumento das doses dos compostos, com valores médios de 10,55 e 18,33% na maior dose aplicada, para 7-epiclusianona e fukugetina, respectivamente, aos 21 DAA. Assim como o observado para o extrato, estes valores são muito abaixo dos observados quando se utilizou o glyphosate.

A aplicação de guttiferona-A causou intoxicações nas plantas de sorgo que foram mais intensas com o aumento das doses do composto. Foi observado também que houve evolução dos sintomas da avaliação aos 14 DAA para a realizada aos 21 DAA, resultado contrário ao observado para o glyphosate, onde observou-se redução de intoxicação na última avaliação em relação aos 14 DAA. Os valores médios observados na maior dose foram de 65,55 e 68,88% aos 14 e 21 DAA, respectivamente. O uso do guttiferona-A a partir da dose 0,5 mM causou intoxicações com mesma intensidade do que observado para um herbicida comercial (glyphosate) aos 21 DAA, sendo observado nas duas maiores doses intoxicações mais pronunciada do que as observadas na aplicação do herbicida.

Os principais sintomas observados nas plantas foram clorose foliar que com o passar dos dias evoluíram para necrose de tecidos (Figura 60). A maioria dos mecanismos de ação de herbicidas provoca clorose foliar das folhas com posterior necrose (SILVA *et al.*, 2013).

Figura 59: Intoxicação de plantas de sorgo submetidas a doses crescentes de extrato bruto (A), 7-epiclusianona (B), fukugetina (C) e guttiferona-A (D), comparados com o uso do herbicida glyphosate, aos 21 DAA.

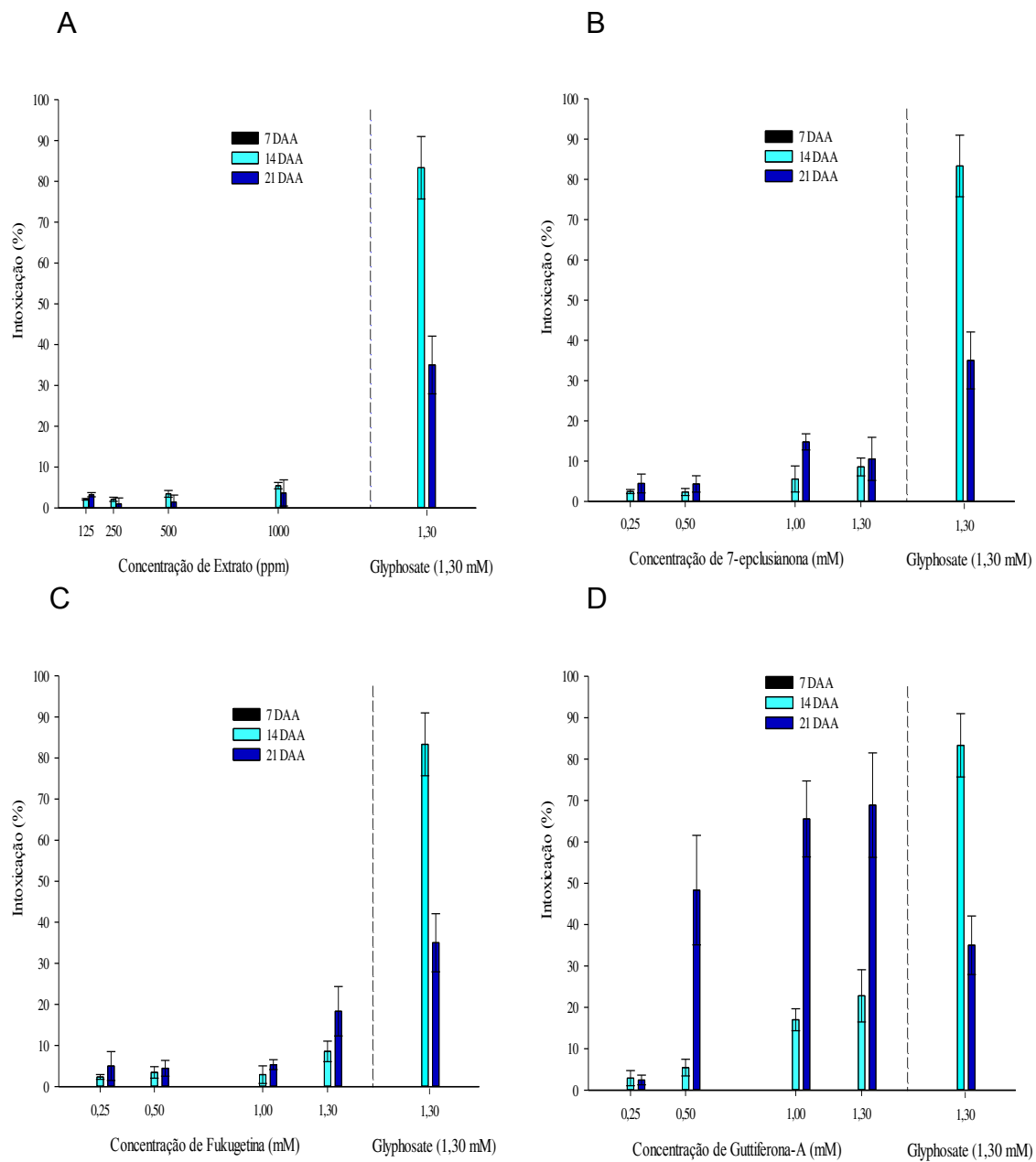
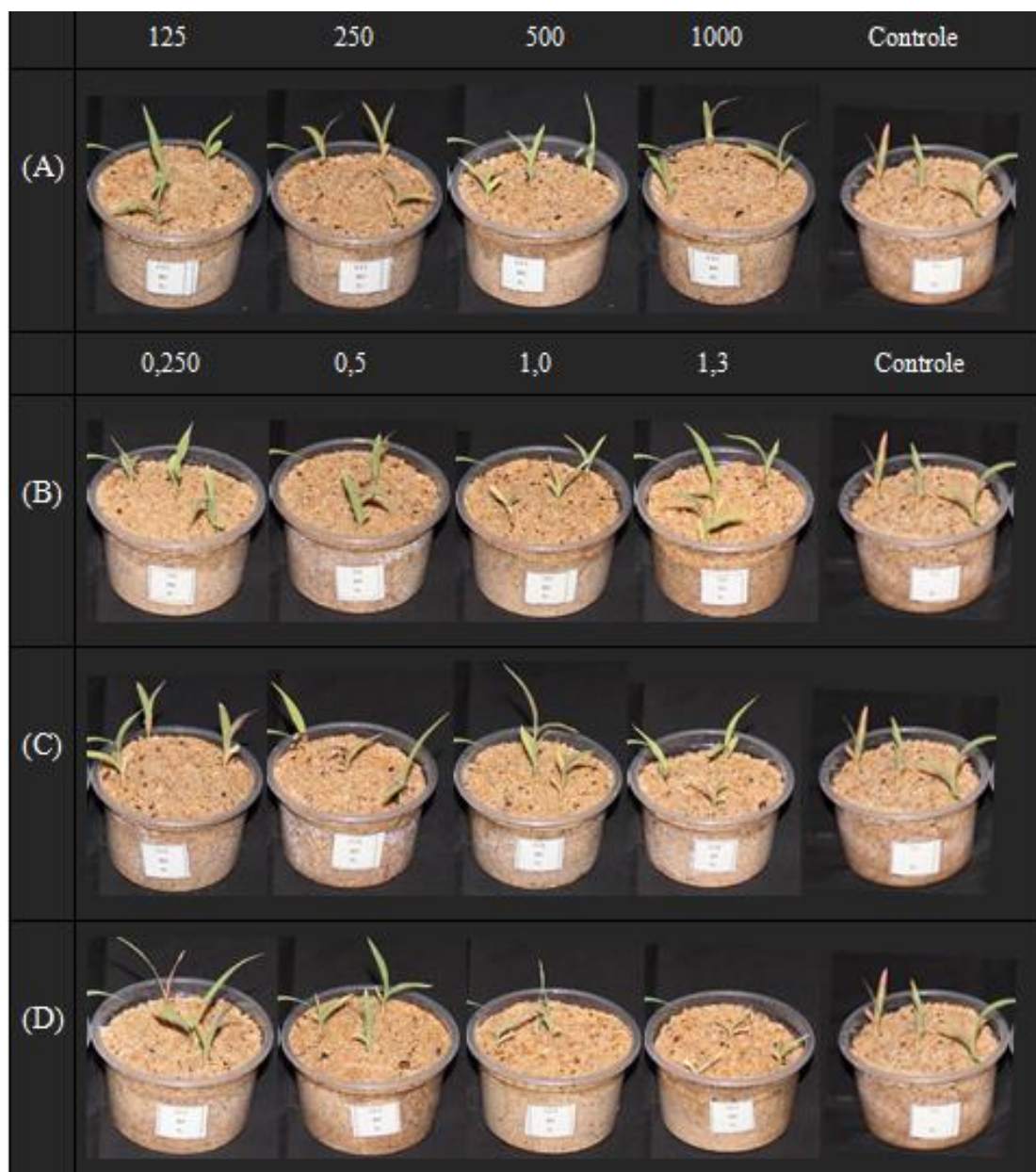


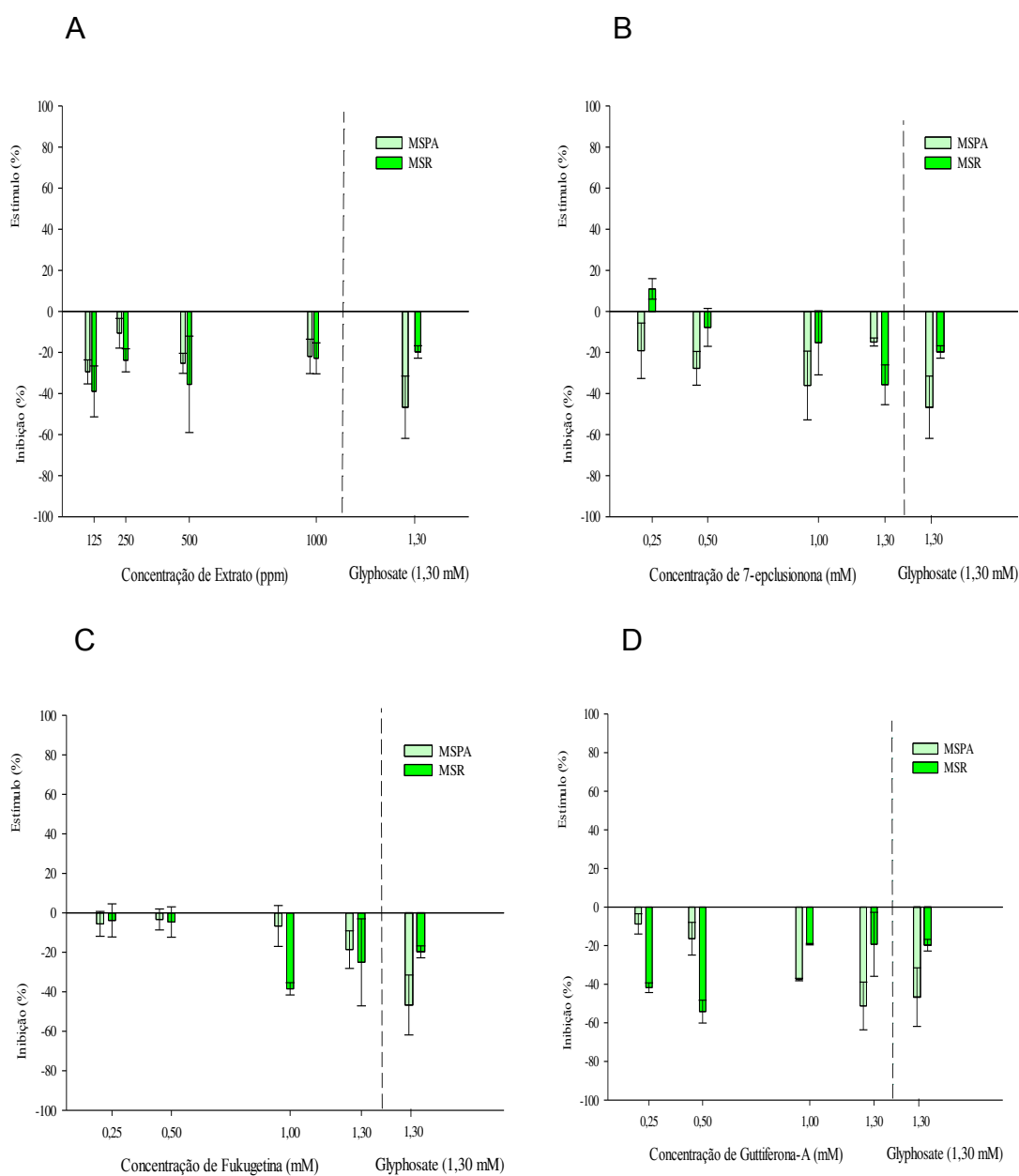
Figura 60: Plantas de sorgo submetidas a doses crescentes de extrato bruto (A), 7-epiclusianona (B), fukugetina (C) e guttiferona-A (D) aos 21 DAA.



A matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas de sorgo ficaram alteradas após a exposição a todos os compostos e doses testadas (Figura 61; A, B, C e D). O uso do extrato, de modo geral, causou redução da matéria seca de parte aérea e raiz de forma semelhante, sem diferenças entre as doses (Figura 61; A). Em média houve redução de 21,84% e 30,30% da matéria seca de parte aérea e raiz, respectivamente. Estas reduções estão próximas das observadas na aplicação de glyphosate, onde houve redução de 46,77% na matéria seca de parte aérea e 19,78% na matéria seca de raiz. A diferença

notória entre o extrato e o herbicida é, que o extrato teve mais ação sobre o sistema radicular, enquanto que o herbicida atuou mais sobre a parte aérea das plantas.

Figura 61: Porcentagem de inibição ou estímulo de Matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) de plantas de sorgo submetidas a doses crescentes de extrato bruto (A), 7-epiclusianona(B), fukugetina (C) e guttiferona-A (D), comparados com o uso do herbicida glyphosate, aos 21 DAA.



A ação da 7-epiclusianona e da fukugetina sobre as plantas, assim como já observado na avaliação de intoxicação, foram semelhantes, sendo

mais intensa nas duas maiores doses (1,0 e 1,3 mM) com valores próximos aos observados no uso do glyphosate.

A aplicação de guttiferona-A reduziu a matéria seca das plantas com valores próximos a ação do herbicida desde a dose mais baixa com valores médios de 31,02 e 32,03% para a redução de matéria seca de parte aérea e raiz, respectivamente.

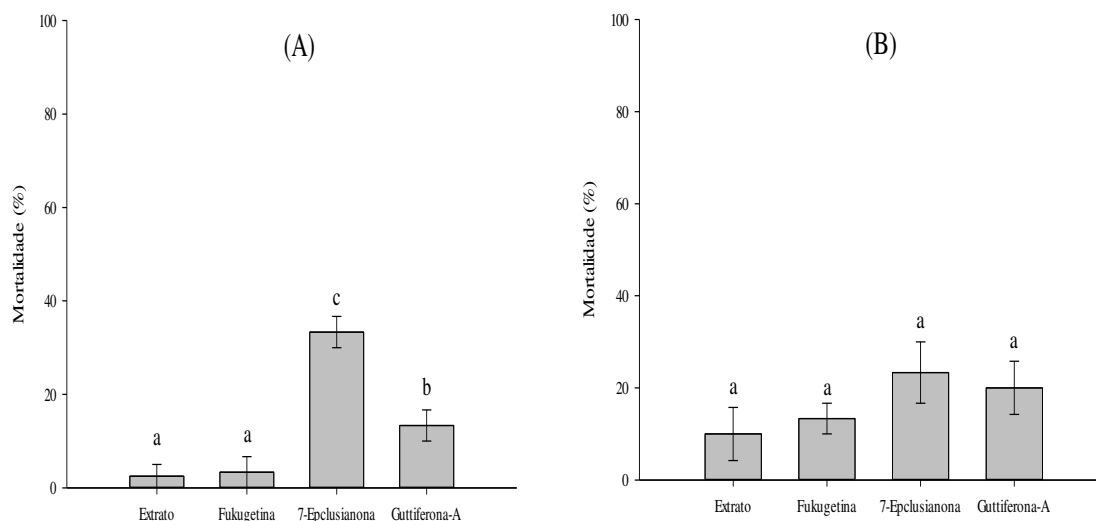
CUSATI *et al.* (2014) avaliaram a eficiência de tetraoxanos sobre o controle de plantas de sorgo e assim como o ocorrido nos compostos testados no presente estudo, alguns compostos foram altamente eficazes, reduzindo a matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas. Os autores afirmam que os compostos apresentaram atividade comparável com a do glifosato e imazetapyr, assim como também observado no presente trabalho.

3.2. Avaliação da atividade Inseticida

No teste inseticida foi verificada diferenças significativas na mortalidade das lagartas de *P. xylostella* em função dos tratamentos ($F_{3,20} = 20,79$; $P < 0.001$) (Figura 62, A). As substâncias estudadas puderam ser divididas em três grupos de acordo com a mortalidade causada às lagartas de *P. xylostella*. No primeiro grupo estão o extrato bruto da espécie *G. gardneriana* e fukugetina que causaram mortalidades de 2,50% e 3,33%, respectivamente. No segundo grupo está a 7-epiclusianona que causou mortalidade de 33,33%. Por fim, no terceiro grupo está a guttiferona-A que causou mortalidade de 13,33% a *P. xylostella*.

Para as mortalidades da lagarta *A. monuste*, não foram verificadas diferenças significativas em função dos tratamentos ($F_{3,20} = 1,21$; $P = 0,37$) (Figura 62; A; B). As mortalidades de *A. monuste* variam de 10,00 a 23,33% em função da aplicação dos tratamentos.

Figura 62: Mortalidade (média + erro padrão) das lagartas *Plutella xylostella* (A) e *Ascia monuste* (B) em função da aplicação das substâncias sintetizadas. Os histogramas seguidos pela mesma letra possuem médias que não diferem, entre si, pelo teste Tukey a $P < 0,05$.



As substâncias testadas nas lagartas *P. xylostella* e *A. monuste* não foram consideradas eficientes para controlar estes organismos. No Brasil, uma substância é considerada eficiente quando ocasiona mortalidade $\geq 80\%$ (ARAÚJO *et al.*, 2017). Portanto, o extrato bruto e as substâncias isoladas não possuem potencial inseticida contra as espécies de lagarta testadas. Todavia, é importante destacar o potencial do composto 7-epclusianona e reforçar a necessidade de novos estudos priorizando a modificação estrutural deste composto, por exemplo, a partir das estratégias de sinergismo com moléculas já comercializadas e também a hibridização molecular, que é a junção de duas moléculas biologicamente ativas em uma única molécula no intuito de potencializar a atividade biológica ou até mesmo atribuir uma atividade ainda não comprovada.

4. Conclusão

Os compostos isolados 7-epiclusianona, fukugetina tem moderada ação sobre a matéria seca de plantas de sorgo. A guttiferona-A possui potencial atividade herbicida, pois reduz a matéria seca de plantas de sorgo e causa severas intoxicações que podem resultar na morte das plantas.

Para a avaliação inseticida os compostos testados apresentaram atividade moderada sobre as lagartas, com destaque para o uso de 7-epiclusianona sobre *P. xylostella*. Todavia, estas substâncias não podem ser consideradas eficientes para controlar estes organismos. Entretanto, novos derivados semissintéticos poderão potencializar a atividade inseticida.

5. Referências Bibliográficas

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

AMARAL, A. T.; ANDRADE, C. H.; KÜMMERLE, A. E.; GUIDOD, R. V. C. A evolução da química medicinal no brasil: avanços nos 40 anos da sociedade brasileira de química. **Química Nova**. v. 40, p. 694-700, 2017.

ARAÚJO, T. A; PIKANÇO, M. C.; FERREIRA D.D.; CAMPOS, J.N.; ARCANJO. L.D.; SILVA, G. A. Toxicity and residual effects of insecticides on *Ascia monuste* and predator *Solenopsis saevissima*. **Pest Management Science**, v.1, p. 2259-2266, 2017.

BELLUTI, F.; BARTOLINI, M.; BOTTEGONI, G.; BISI, A.; CAVALLI, A.; ANDRISANO, V.; RAMPA. Benzophenone-based derivatives: A novel series of potent and selective dual inhibitors of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced beta-amyloid aggregation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 1682-1693, 2011.

BELLUTI, F.; PIAZZI, L.; BISI, A.; GOBBI, S.; BARTOLINI, M.; CAVALLI, A.; VALENTI, P.; RAMPA, A. Design, synthesis, and evaluation of benzophenone derivatives as novel acetylcholinesterase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p.1341-1348, 2009.

CASTARDO, J.C.; PRUDENTE, A.S.; FERREIRA, J.; GUIMARÃES, C.L.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V.; OTUKI, M.F.; CABRINI, D.A. Anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and two biflavonoids from *Garcinia gardneriana* leaves in mouse paw oedema. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 405-411, 2008.

CECHINEL FILHO, V. et al. I3-naringenin-II8-4'-OMe-eriodictyol - a new potential analgesic agent isolated from *Rheedia gardneriana* leaves. Zeitschrift fuer Naturforschung, **C: Journal of Biosciences**, v. 55, p. 820-823, 2000.

CUSATI, R. C.; BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; DEMUNER, A. J.; BASTIDAS, A. O.; SILVA, A. A. Tetraoxanes as a new class of efficient herbicides comparable with commercial products. **Pest Management Science**, v.71, p.1037-1048, 2015.

GUIMARÃES, C. L.; LUZZI, R.; SIMIONATTO, E. L. Atividade vasodilatadora induzida pelo extrato hidroalcoólico de *Rheedia gardneriana* na aorta isolada de rato. **XI Reunião Anual da FESBE**, Caxambu, MG, p. 10075, 1996a.

GUIMARÃES, C. L.; OTUKI, M. F.; BEIRITH, A.; CABRINI, D. A. Uma revisão sobre o potencial terapêutico da *Garcinia gardneriana* – NA. **Dynamis Revista Tecno Científica**, v. 12, p. 6-12, 2004.

GUIMARÃES, C. L.; SILVA FILHO, H. F.; TONELLO, J. F.; SIMIONATTO, E. L.; VERDI, L. G. Efeito antiinflamatório induzido pelo extrato hidroalcoólico de *Rheedia gardneriana* em modelos de pleurisia em ratos. **XI Reunião Anual da FESBE**, Caxambu, MG, p. 10067, 1996b.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D.I. The waterculture method for growing plants without soil. Berkeley, CA: Agric. Exp. Stn., Univ. of California. (Circ. 347). 1950.

KANG, J. S.; KIM, E.; LEE, S. H.; PARK, K. Inhibition of acetylcholinesterases of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, by phytochemicals from plant essential oils. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 105, p. 50-56, 2013.

LUZZI, R.; GUIMARÃES, C. L.; VERDI, L. G.; SIMIONATTO, E. L.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, R. A.; FLORIANI, A. E. O.; CECHINEL FILHO, V. Isolation of biflavonoids with analgesic activity from *Rheedia gardneriana* leaves. **Phytomedicine**, v. 4, p. 139–142, 1997.

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

SHARIKURKCU, C.; ESKICI, M.; KARANFIL, A.; TEPE, B. Phenolic profile, enzyme inhibitory and antioxidant activities of two endemic *Nepeta* species: *Nepeta nuda* subsp. *glandulifera* and *N. cadmea*. **South African Journal of Botany**, v. 120, p. 298-301, 2018.

SILVA, A. A. FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R. Herbicidas: classificação e mecanismos de ação. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Ed.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2013. p. 58-117.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina - PR: S.B.C.P.D., v. 42, 1995.

**CAPÍTULO 4: Atividade citotóxica do
extrato, metabólitos isolados e derivados da
guttiferona-A**

1. Introdução

Câncer segundo o INCA (Instituto Nacional de Câncer) refere-se a um conjunto de mais de 100 doenças, que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos. Esta doença pode ser de vários tipos, sendo definido a partir do tipo de órgão em que se inicia esse crescimento desordenado de células, por exemplo, quando começam em tecidos epiteliais são denominados carcinomas, já a origem iniciada nos tecidos conjuntivos são denominados sarcomas (INCA, 2014).

O câncer é a segunda maior causa de mortes no mundo (OPAS, 2018). Além do sofrimento causado ao indivíduo, com o aumento dos casos de câncer, o país aumenta seus gastos com medicamentos, tratamentos médicos e investimentos em pesquisa, sendo este último, dependente de políticas governamentais. As pesquisas nesta área apresentam diferentes vertentes de estudos, como por exemplo, a introdução de novas tecnologias, novos tratamentos e pesquisas que busquem novos medicamentos. Diante desse cenário, a busca por composto orgânicos ativos é uma importante alternativa para suprir a demanda por novas moléculas ativas sobre células cancerígenas (CRUZ *et al.*, 2014, UNNATI *et al.*, 2013).

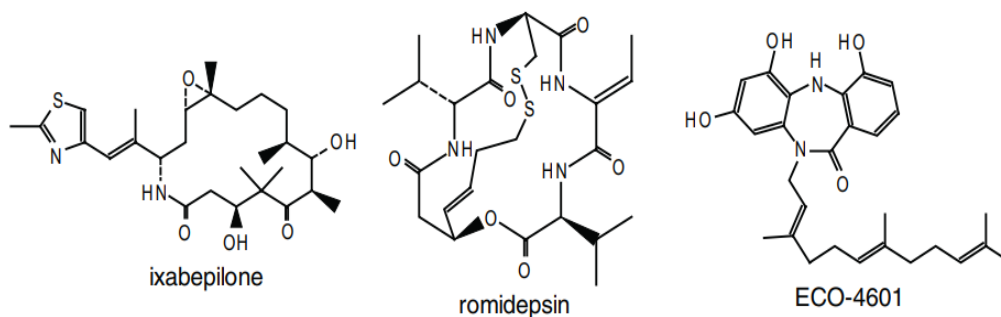
Dentre as principais fontes de moléculas farmacologicamente ativas, às oriundas de fontes naturais, como os microrganismos, fungos e plantas, que possuem novas estruturas químicas ou esqueletos incomuns, que dificilmente o homem conseguiu reproduzir sinteticamente. As plantas, certamente são a fonte que possui a parcela mais significativa no fornecimento de estruturas modelos (SOUZA *et al.*, 2007).

A maioria dos medicamentos quimioterápicos em uso clínico produzidos nas últimas décadas ou são de origem natural ou são planejados sinteticamente a partir de produtos naturais (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010; GORDALIZA 2007; BARREIRO e BOLZANI, 2009).

Atualmente mais de 30 compostos de origem natural utilizados no tratamento de diferentes tipos de câncer estão em fase clínica, destacando os compostos ixabepilona (*Soragium cellulorum*), romedepsina (*Chromobacterium violaceum*) e dibenzodiazepina (*Micromonospora* sp.) (Figura 63). Além do fornecimento de estruturas químicas diferenciadas na sua forma *in natura*, estas estruturas podem ser utilizadas como condutoras de novas moléculas a

partir da semissíntese, tornando-as farmacologicamente mais ativas, seletivas e menos tóxicas (GORDALIZA 2007).

Figura 63: Estrutura química de compostos naturais em diferentes fases clínicas.



Conforme apresentado nos capítulos anteriores, o gênero *Garcinia* é rico em compostos biologicamente ativos, destacando a benzofenona fenólica de padrão catecol denominada guttiferona-A.

Neste contexto, o objetivo deste ensaio foi comprovar o efeito citotóxico do extrato (EAE), metabólitos isolados da *Garcinia gardneriana* (7-epclusianona, guttiferona-A e fukugetina) e dos derivados triazólico da guttiferona-A.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Linhagens celulares

No presente estudo foram utilizadas as linhagens MCF-7 (derivada de câncer de carcinoma de mama), A549 (derivada de adenocarcinoma pulmonar), HepG2 (derivada de carcinoma hepatocelular) e HaCaT (queratinócitos derivado de pele humana), as quais foram obtidas no Banco de Células do Rio de Janeiro. Os testes foram realizados em parceria com a Profa. Dra. Marisa Ionta na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL).

2.2 Condições de cultura

As linhagens foram cultivadas em DMEM (Meio Mínimo de Eagle modificado por Dulbecco, Sigma, CA, USA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS, Cultilab, SP, Brasil). As culturas foram mantidas em estufa a 37 °C com atmosfera controlada (95% de ar e 5% de CO₂) e subculturas foram feitas regularmente a cada 2 ou 3 dias.

2.3 Ensaio de Viabilidade Celular (MTS) e determinação do IC₅₀

As células foram semeadas em placas de 96 poços uma densidade de 2x10⁴ (HepG2 e Hacat), 1x10⁴ (MCF-7) e 5x10³ (A549) células/poço. As substâncias foram utilizadas na concentração de 40 µM por 48 horas nas três linhagens celulares e, na sequência, curvas dose-respostas foram obtidas para a determinação dos valores de CI₅₀ (concentração capaz de inibir 50% do crescimento) na linhagem HepG2 considerando as substâncias mais ativas.

A viabilidade celular foi avaliada por MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio) usando o Kit *Kit CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay* (Promega Corporation, Madison, WI, USA).

Este ensaio é baseado na conversão enzimática (desidrogenase) do sal tetrazólio em formazano em células metabolicamente ativas (CORI *et al.*, 1991). O formazano absorve luz a 490 nanômetros (nm) e a taxa de absorbância é diretamente proporcional à viabilidade celular presente na amostra.

A taxa de viabilidade foi calculada de acordo com a equação 1:

$$\% \text{ viabilidade celular} = \frac{(Ab_{amostra} \times 100)}{Ab_{controle}}$$

Os valores de CI_{50} (concentração capaz de inibir 50% do crescimento) foram determinados a partir de curvas de regressão não linear usando o programa GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). Os experimentos foram realizados em quadruplicata e os dados apresentados representam a média \pm o desvio padrão (DP) de 3 experimentos independentes.

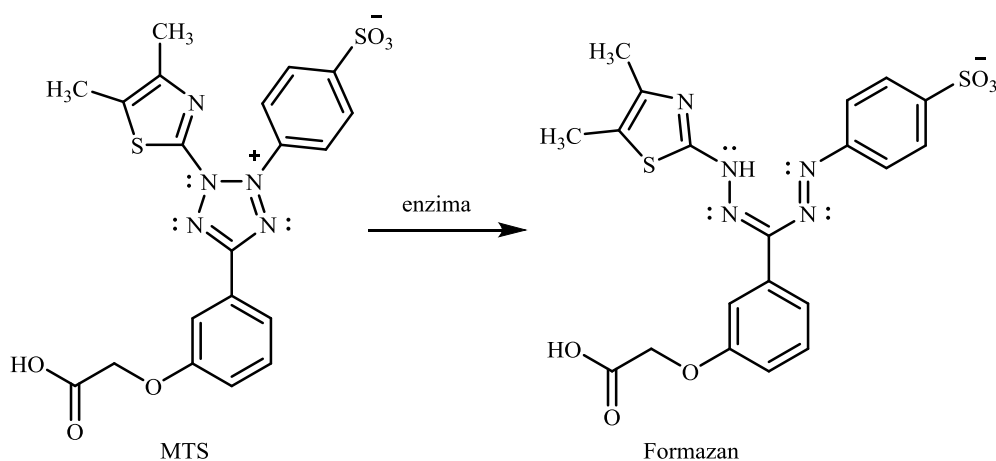
2.5 Análise estatística

Os dados foram expressos como a média \pm desvio padrão (DP). Foi utilizada a análise de variância (ANOVA), seguido pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. O software usado foi o GraphPad Prism® 5.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de viabilidade celular foi determinado adotando o ensaio colorimétrico, a partir da redução do sal tetrazólio MTS (Figura 64) em formazan, pela atividade enzimática presente na mitocôndria e no citoplasma da célula viável, permitindo quantificar a porcentagem de células metabolicamente ativas (BERNAS E DOBRUCKI, 2002).

Figura 64: Estrutura do sal tetrazólio MTS.



A vantagem da utilização dos ensaios colorimétricos na detecção de moléculas orgânicas biologicamente ativas, por permitir a quantificação rápida e fácil da resposta celular (RISS *et al.*, 2013).

Inicialmente para avaliar a citotoxicidade foi adotada uma concentração de 40 μM de cada substância, extrato em acetato de etila (EAE), dos metabólitos isolados guttiferona-A (G-A), 7-epiclusianona (7-ep), fukugetina (Fuk) e dos derivados da guttiferona-A (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12).

Os compostos foram avaliados sobre três linhagens celulares derivadas de cânceres humanos (MCF-7, carcinoma de mama; A549, adenocarcinoma pulmonar e HepG2, carcinoma hepatocelular). Pode-se observar que o extrato EAE e as duas benzofenonas polipreniladas 7-epiclusianona e guttiferona-A foram os que mais reduziram a viabilidade celular para as três linhagens (Figuras 65, 66 e 67).

Figura 65: Viabilidade celular determinada por MTS após 48 horas de tratamento com as diferentes substâncias na linhagem A549.

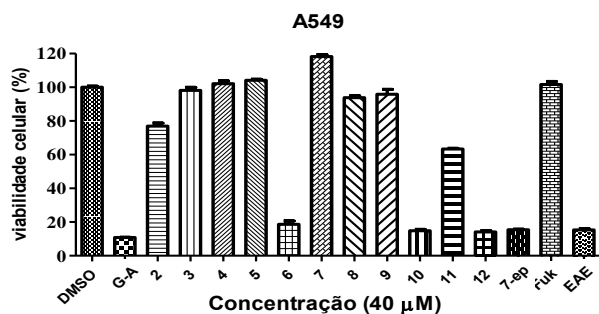


Figura 66: Viabilidade celular determinada por MTS após 48 horas de tratamento com as diferentes substâncias na linhagem MCF-7.

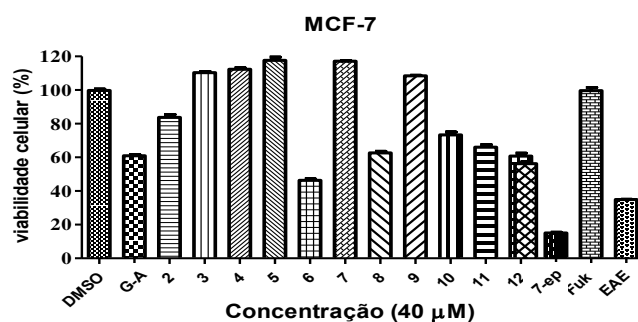
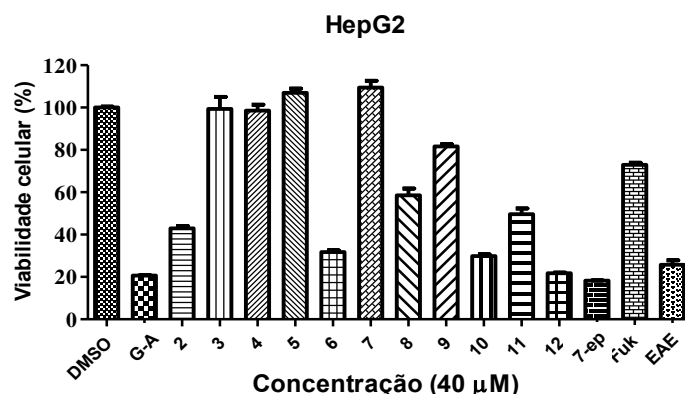


Figura 67: Viabilidade celular determinada por MTS após 48 horas de tratamento com as diferentes substâncias na linhagem HepG2.



WANG e colaboradores (2018) comprovaram que benzofenonas naturais polipreniladas apresentaram atividade citotóxica moderada contra

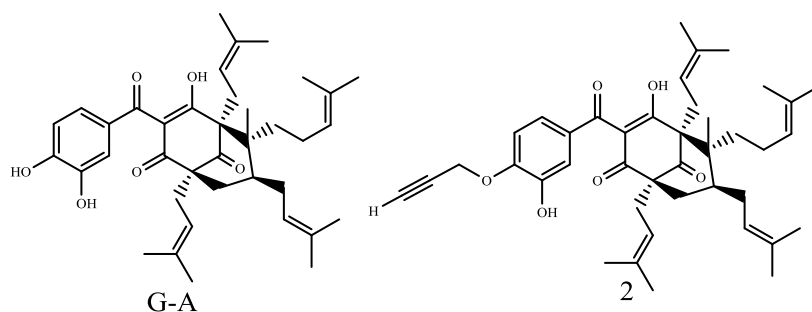
cinco linhagens celulares de câncer humano (HL-60, A59, SMMC-7721, MCF-7 e SW480).

GHORBANI *et al.* (2017 e 2016), em estudo sobre análogos de benzofenonas comprovaram a eficiência da atividade citotóxica e antiproliferativa de derivados de benzofenonas.

RANGANATHA e colaboradores (2013) comprovaram a atividade citotóxica e antiproliferativa de benzofenonas hibridizadas a núcleos benzimidazol. AL-GHORBANI e colaboradores (2017) comprovaram a atividade citotóxica de uma série de derivados de benzofenonas contendo o núcleo morfolina, para as linhagens MCF-7 e A549 sintetizaram.

Ao compararmos os resultados da atividade citotóxica da G-A com seus derivados, pode-se perceber uma menor atividade dos derivados para as três linhagens, exceto o derivado 6 para a linhagem MCF-7 apresentou uma melhor atividade citotóxica frente a G-A. Quando comparamos estruturalmente a molécula G-A com o derivado 2 (Figura 68) houve uma troca da uma hidroxila fenólica por um grupo propargílico interferindo na redução da atividade.

Figura 68: Estrutura química da benzofenonas G-A e seu derivado 2.

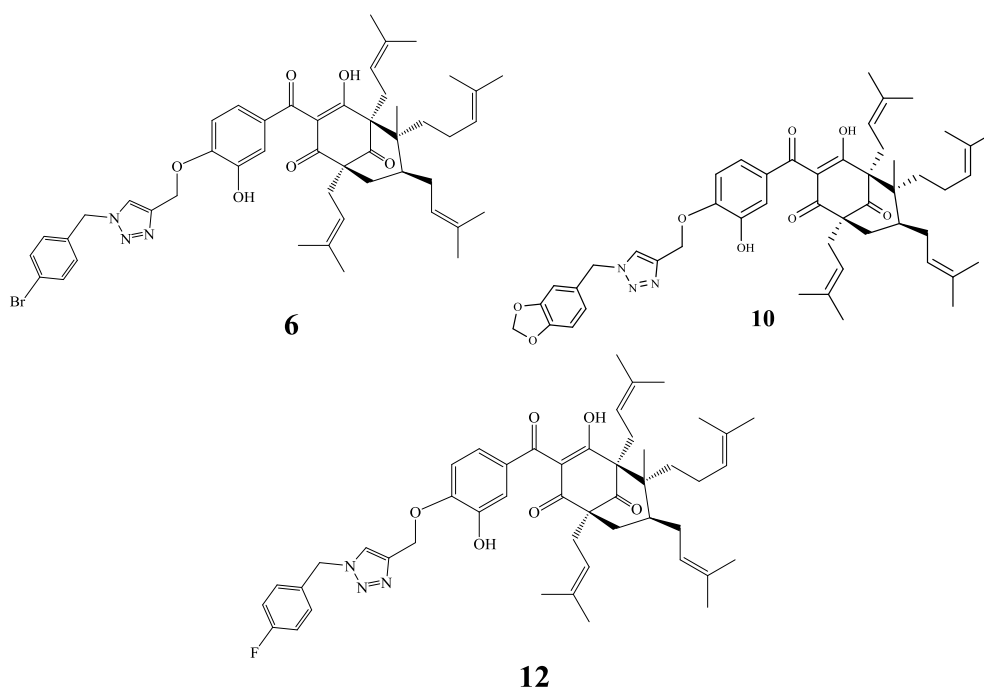


A presença das duas hidroxilas fenólicas da G-A é determinante na eficiência da atividade citotóxica para as linhagens de células estudadas. Em estudo realizado por PEREIRA (2007), foi afirmado que fármacos que apresentam hidroxila fenólica estericamente desprotegida, pode sofrer rápida inativação por conjugação, principalmente com sulfato, ácido glicurônico ou por metilação na parede intestinal ou no fígado. Uma estratégia de mascarar o grupo metabolizável é converter o grupo fenólico em um pró-fármaco.

Diante disso, a estratégia de troca de uma hidroxila fenólica por um núcleo farmacofórico mais estável é vantajosa, quando pensamos na estabilidade metabólica de um possível fármaco. Seguindo esta linha de raciocínio, foi adotada a estratégia de hibridização molecular entre a benzofenona G-A e núcleo triazólico 1,4-dissubstituídos discutidos no capítulo 2 deste trabalho. Já é comprovado cientificamente que compostos contendo núcleos triazólicos possuem uma gama de atividades biológicas dentre elas, atividades citotóxica (ANJOS *et al.*, 2009) e antitumoral (CAFICI *et al.*, 2008; KAMAL *et al.*, 2008).

Portanto, os derivados (6, 10 e 12) (Figura 69) foram os mais promissores dentre os derivados e, apresentaram atividade citotóxica similar ao composto de origem.

Figura 69: Estrutura química dos derivados triazólico mais ativos.



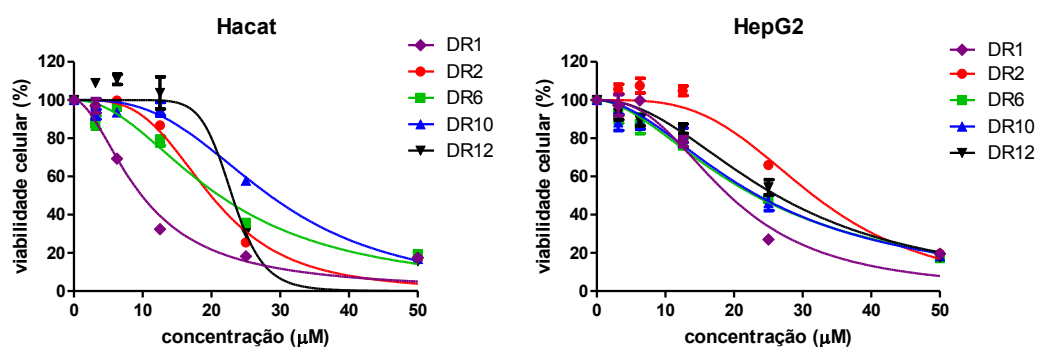
Na sequência, os compostos mais promissores (G-A, 2, 6, 10, 12) foram selecionados para determinação da CI_{50} empregando a seguinte faixa de concentração: 3, 12; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 μ M, utilizando a linhagem HepG2 (Figura 70).

A linhagem celular HepG2 foi selecionada por ser fácil de manusear, e expressam uma grande variedade de funções metabólicas do fígado. Além

disso, a linhagem HepG2 possuem diferentes enzimas envolvidas na ativação e detoxificação de drogas, e outros compostos, sendo, portanto, muito úteis em estudos de genotoxicidade, uma vez que o fígado é o principal sítio de metabolização de xenobióticos a partir do mecanismo de biotransformação (VALENTIN-SEVERIN *et al.*, 2003).

A partir da análise do gráfico de viabilidade celular versus concentração (Figura 70), podemos perceber que todos os compostos inibiram o crescimento celular de uma forma concentração-dependente.

Figura 70: Viabilidade celular determinada por MTS após 48 horas de tratamento com as amostras em diferentes concentrações (3, 12; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 μM).



Ao analisarmos os valores de CI_{50} (Tabela 6) percebemos que a G-A é mais potente em reduzir a viabilidade em relação aos seus derivados, contudo, ela também é extremamente citotóxica para a linhagem normal (HacaT). Apesar dos valores de CI_{50} encontrados para os derivados terem sido superiores ao encontrado para a guttiferona-A, eles mostram-se menos citotóxicos à linhagem normal.

Tabela 6: Valores de $IC_{50} \pm DP$ (μM) determinados a partir dos resultados obtidos no ensaio de viabilidade (MTS).

	HepG2	HacaT
G-A	19,30 \pm 0,97	9,87 \pm 0,62
2	30,99 \pm 1,57	19,92 \pm 0,82
6	24,02 \pm 1,06	21,16 \pm 1,02
10	27,60 \pm 1,13	28,51 \pm 1,02
12	23,97 \pm 1,16	23,01 \pm 1,37

4. Conclusão

Os ensaios de avaliação da citotoxicidade demonstraram que o EAE e as benzofenonas, 7-epiclusionona e guttiferona-A, foram promissoras nas três linhagens de células MCF-7; A549 e HepG2.

Dos onze derivados da guttiferona-A testados, o derivado propargílico (2) e os derivados triazólicos (6, 10 e 12) apresentaram efeito significativo na redução da viabilidade celular. Embora os derivados da G-A tenham sido menos ativos que a própria G-A, os mesmos apresentaram uma citotoxicidade menor que a molécula de partida para as células normais.

5. Referências bibliográficas

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

BERNAS, T.; DOBRUCKI, J. Mitochondrial and nonmitochondrial reduction of MTT: interaction MTT with TMRE, JC-1, and NAO mitochondrial fluorescent probes. **Cytometry**, v. 47, p. 236-242, 2002.

CRUZ, E. H. G.; HUSSENE, C. M. B.; DIAS, G.G.; DIOGO, E. B. T.; DE MELO, I. M. M.; RODRIGUES, B. L.; DA SILVA, M. G.; VALENÇA, W. O.; CAMARA, C. A.; DE OLIVEIRA, R. N. DE PAIVA, Y. G. GOULART, M. O.; CAVALCANTI, B. C.; PESSOAS.; JÚNIOR, E. N. S. 1,2,3-Triazole, arylamino and two substituted 1,4-naphthoquinones: Potent antitumor activity, electrochemical aspects, and bioisosteric replacement of C-ring-modified lapachones. **Biorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 1608-16019, 2014.

GHORBANI, M. AL.; THIRUSANGU, P.; GURUPADASWAMY, H. D.; GIRISH, V.; NERALAGUNDI, H. G. S.; PRABHAAR, B. T.; KHANUM, S. A. Synthesis and antiproliferative activity of benzophenone tagged pyridine analogues towards activation of caspase activated DNase mediated nuclear fragmentation in Dalton's lymphoma. **Bioorganic Chemistry**, v. 65, p. 73-81, 2016.

GHORBANI, M. AL.; THIRUSANGU, P.; GURUPADASWAMY, H. D.; VIGNESHWARAN, V.; MOHAMMED, Y. H. E.; PRABHAKAR, B. T.; KHANUM, S. A. Synthesis of novel morpholine conjugated benzophenone analogues and evaluation of antagonistic role against neoplastic development. **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 55-66, 2017.

GORDALIZA, M. Natural products as leads to anticancer drugs. **Clinical and Translational Oncology**, v. 9, p. 767-776, 2007.

Instituto Nacional de Cancer; Ministério da saúde. Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014.

OPAS (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE). Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=1094/ Acesso em: 10 de junho de 2019.

PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no desenvolvimento de fármacos. **Química Nova**, v. 30, p. 171-177, 2007.

RANGANATHA, V. L.; AVIN, B. R. V.; THIRUSANGU, P.; PRASHANTH, T.; PRABHAKAR, B. T.; KHANUM, S. A. Synthesis, angiopreventive activity, and in vivo tumor inhibition of novel benzophenone–benzimidazole analogs. **Life Sciences**, v. 93, p. 904–911, 2013.

RISS, T. L.; MORAVEC, R. A.; NILES, A. L.; DUELLMAN, S.; BENINK, H. A.; WORZELLA, T. J.; MINOR, L. Cell Viability Assays. **Assay Guidance Manual [Internet]**. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/#mttassays.Introduction>. Acesso em: 10 de Junho de 2019.

SOUZA, M. V. N.; PINHEIRO, A. C.; FERREIRA, M. L.; GONÇALVES, R. S. B.; LIMA, CAMILO H. DA C. Natural Products in Advance Clinical Trials Applied to Cancer. **Estado da Arte/State of the Art**, 2007.

UNNATI, S.; SHAH, R.; ACHARYA, S.; ACHARYA, N. Novel anticancer agents from plant sources. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, p. 16-23, 2013.

VALENTIN-SEVERIN, I.; HEGARAT, L. L.; LHUGUENOL, J. C.; BON, A. M. L.; CHAGNON, M. C. Use of HepG2 cell line for direct or indirect mutagens screening: comparative investigation between comet and micronucleus assays. **Mutation Research**, v. 536, p.79-90, 2003.

WANG, Z. Q.; Li, X.Y.; HU, D. B.; LONG, C. L. Cytotoxic garcimultiflorones K e Q, lavandulyl benzophenones from *Garcinia multiflora* branches. **Phytochemistry**, v. 152, p. 82-90, 2018.

CONCLUSÃO GERAL

Os principais objetivos desse trabalho foram isolar os constituintes majoritários das sementes da espécie *G. gardneriana*, identificar, quantificar e elucidar as estruturas destes compostos por técnicas de RMN uni e bidimensionais, IV, CLAE/UV-vis e avaliar a atividade biológica do extrato e compostos isolados.

A partir do isolamento e identificação da guttiferona-A foi possível sintetizar quatro derivados etéreos, sendo dois derivados inéditos.

A partir do alcino terminal da guttierona-A utilizando a abordagem sintética “click” foi possível sintetizar uma série de derivados triazólicos, sendo sintetizados 11 compostos inéditos com rendimentos que variaram de 52% a 92%.

Os compostos isolados 7-epiclusianona, fukugetina tem moderada ação sobre a matéria seca de plantas de sorgo. A guttiferona-A possui potencial atividade herbicida, pois reduz a matéria seca de plantas de sorgo e causa severas intoxicações que podem resultar na morte das plantas.

Para a avaliação inseticida os compostos testados apresentaram atividade moderada sobre as lagartas, com destaque para o uso de 7-epiclusianona sobre *P. xylostella*. Todavia, estas substâncias não podem ser consideradas eficientes para controlar estes organismos. Entretanto, novos derivados semissintéticos poderão potencializar a atividade inseticida.

Os ensaios de avaliação da citotoxicidade demonstraram que o EAE e as benzofenonas, 7-epiclusianona e guttiferona-A, foram promissoras nas três linhagens de células MCF-7; A549 e HepG2.

Dos onze derivados da guttiferona-A testados, o derivado propargílico (2) e os derivados triazólicos (6, 10 e 12) apresentaram efeito significativo na redução da viabilidade celular. Embora os derivados da G-A tenham sido menos ativos que a própria G-A, os mesmos apresentaram uma citotoxicidade menor que a molécula de partida para as células normais.

APÊNDICES

Figura 71: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 3.

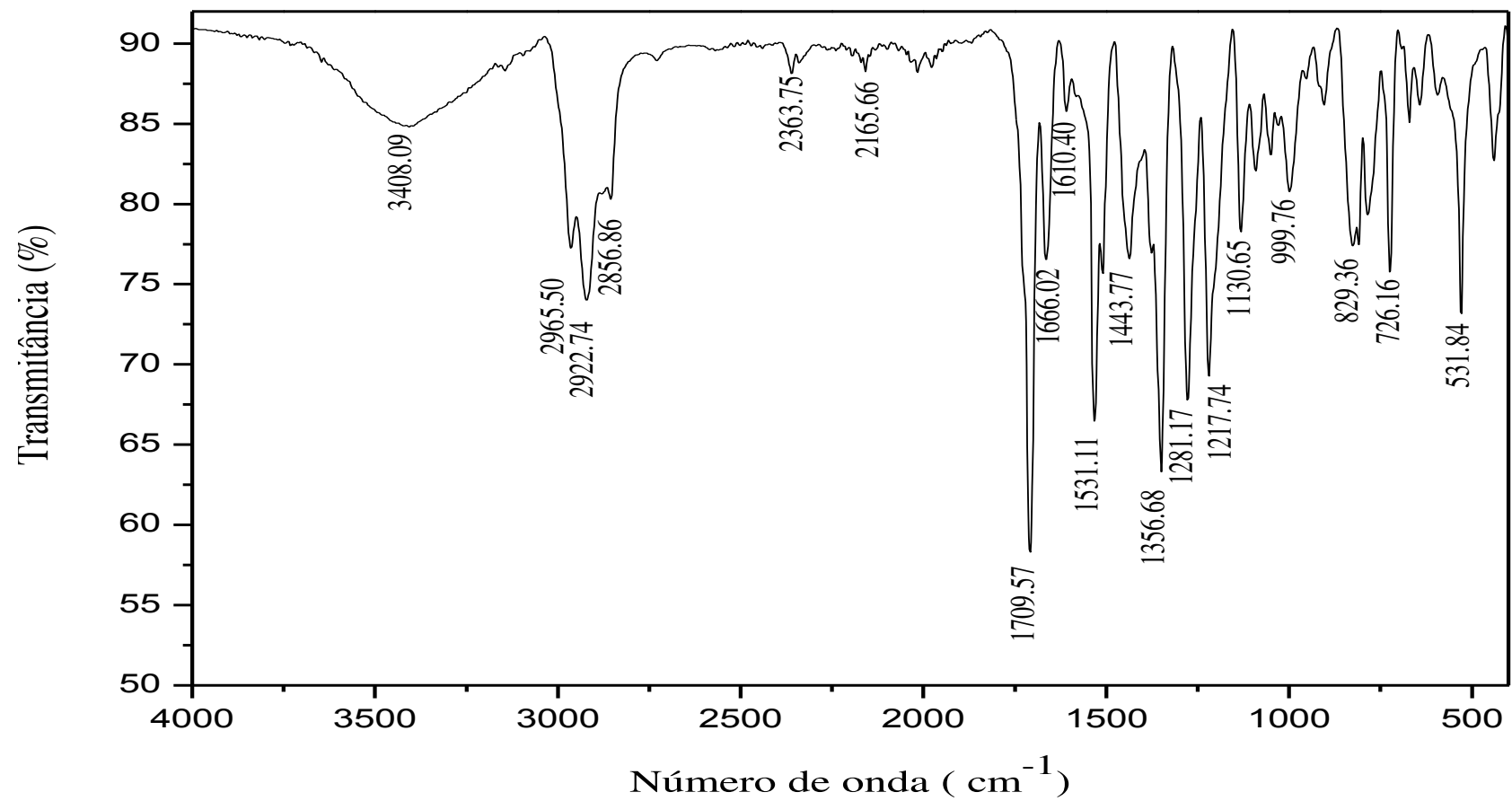


Figura 72: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 3.

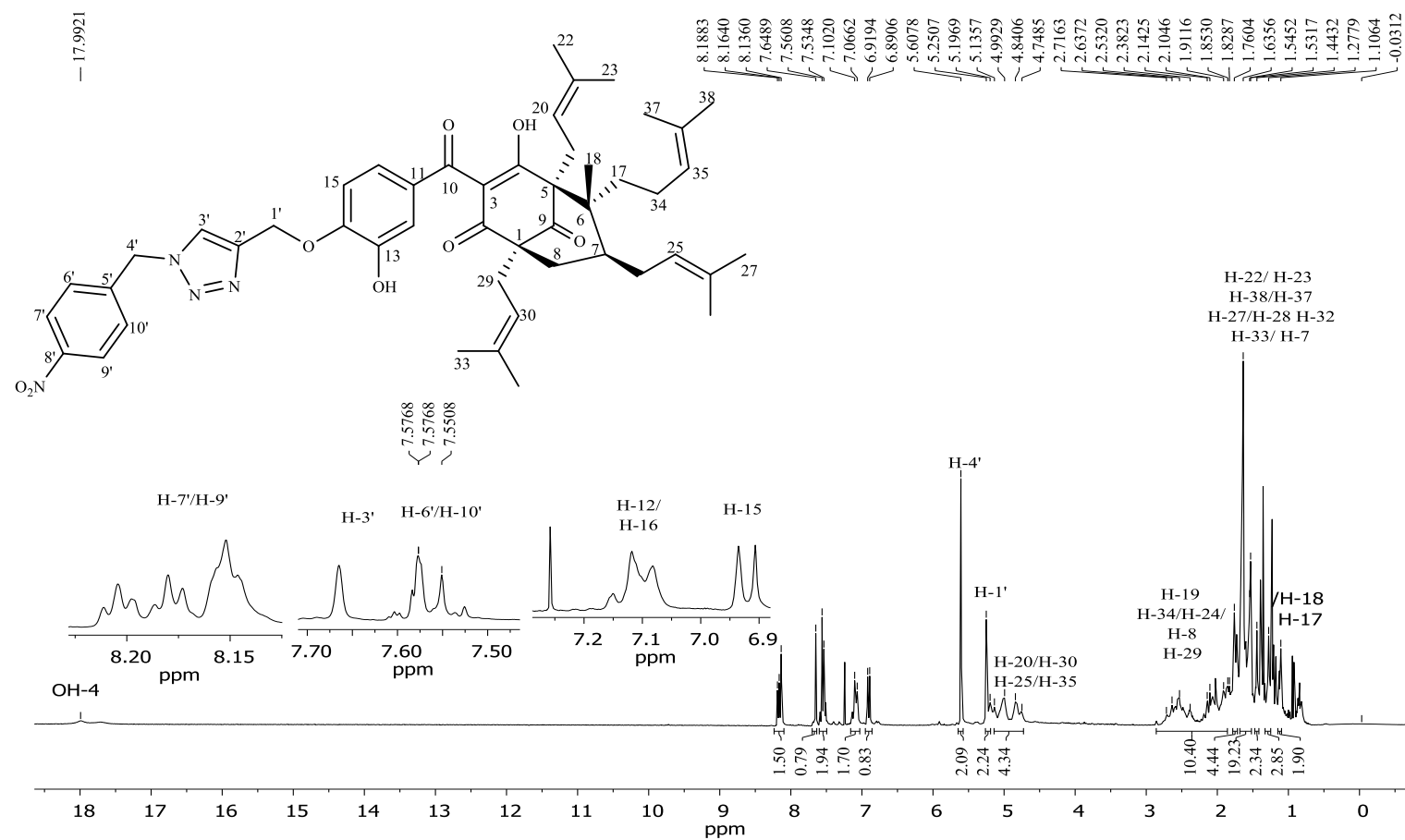


Figura 74: Mapa de contornos HSQC ^1H – ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto 3.

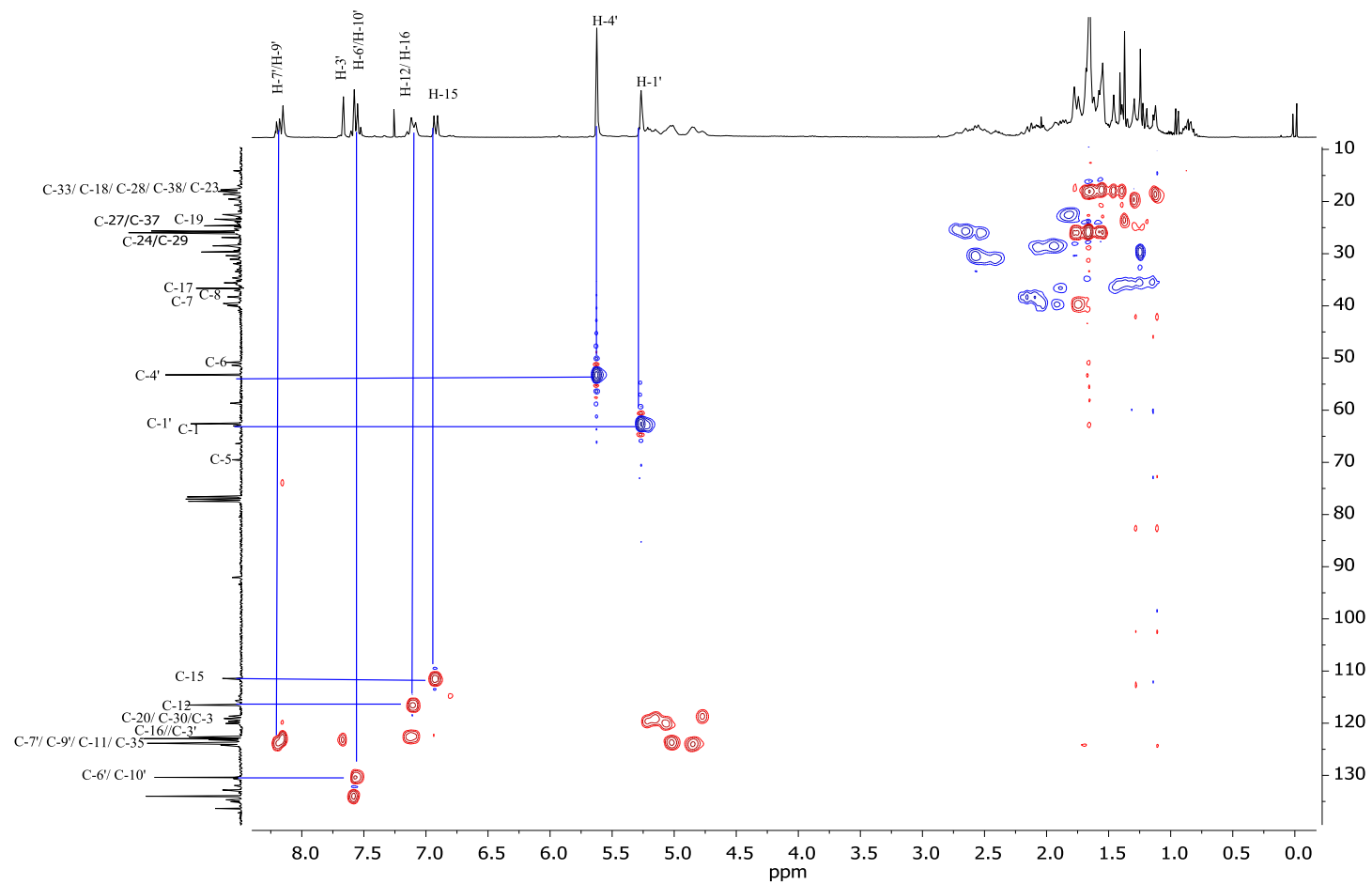


Figura 75: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 4.

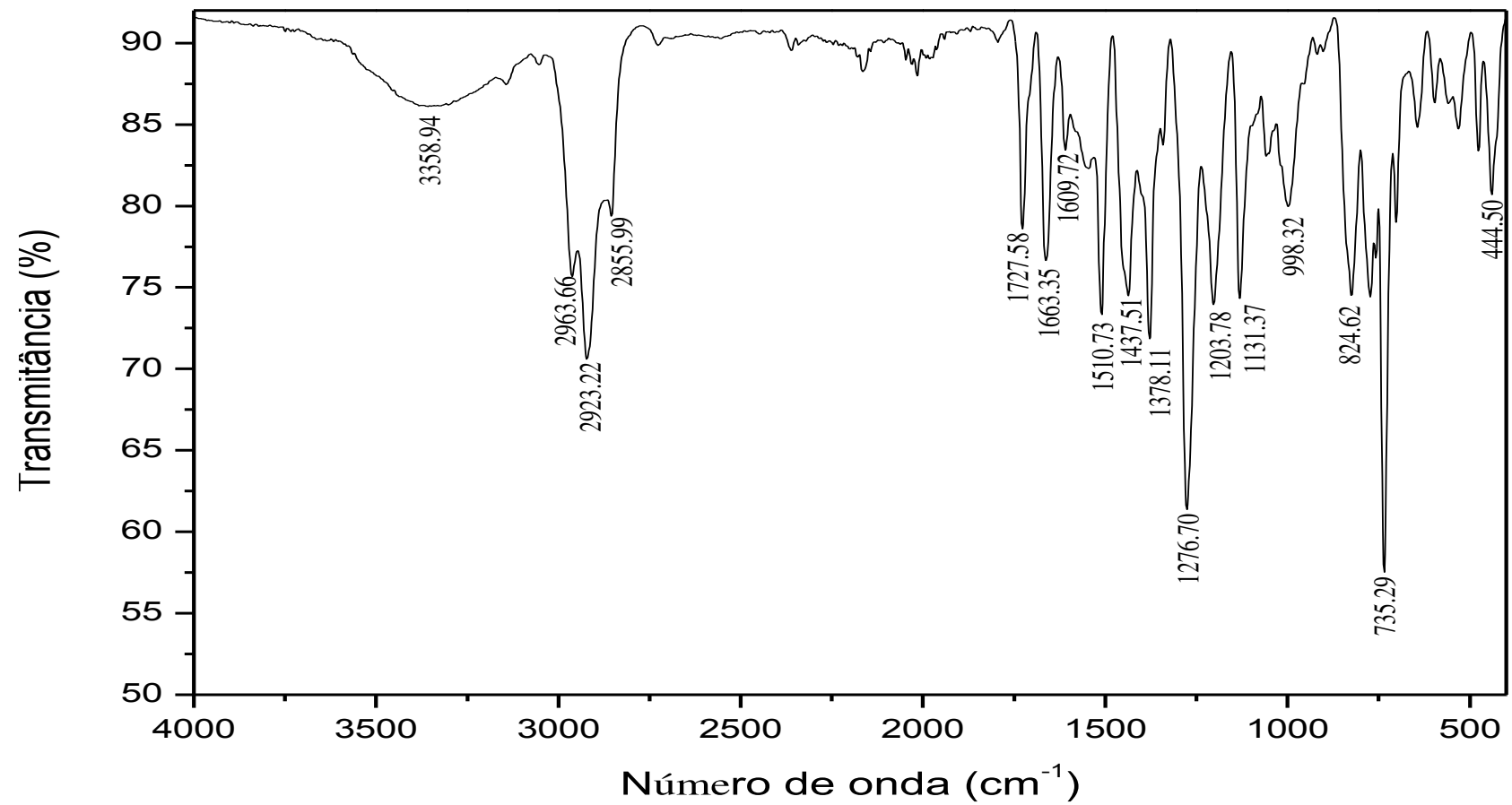


Figura 76: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 4.

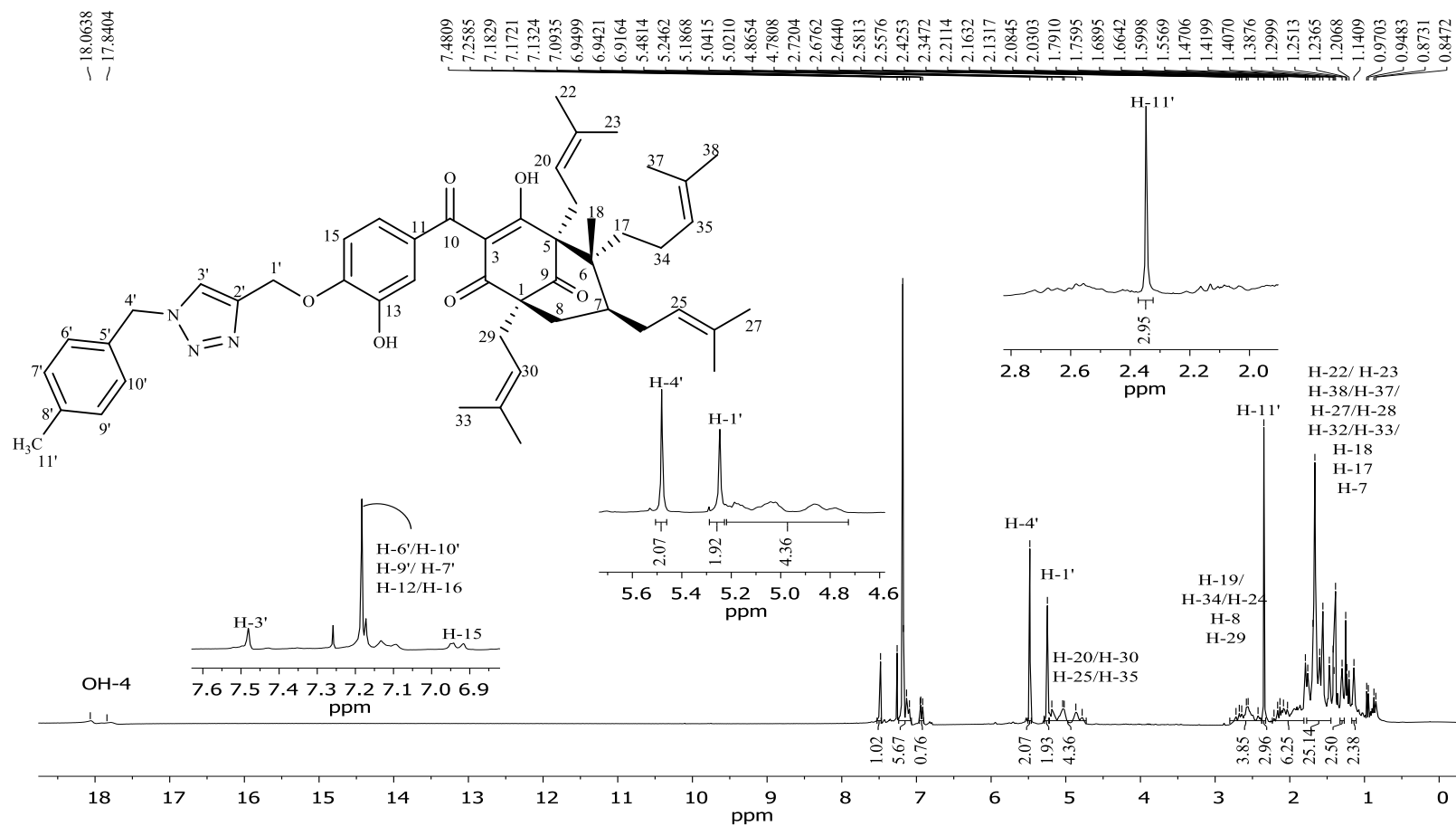


Figura 77: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 4.

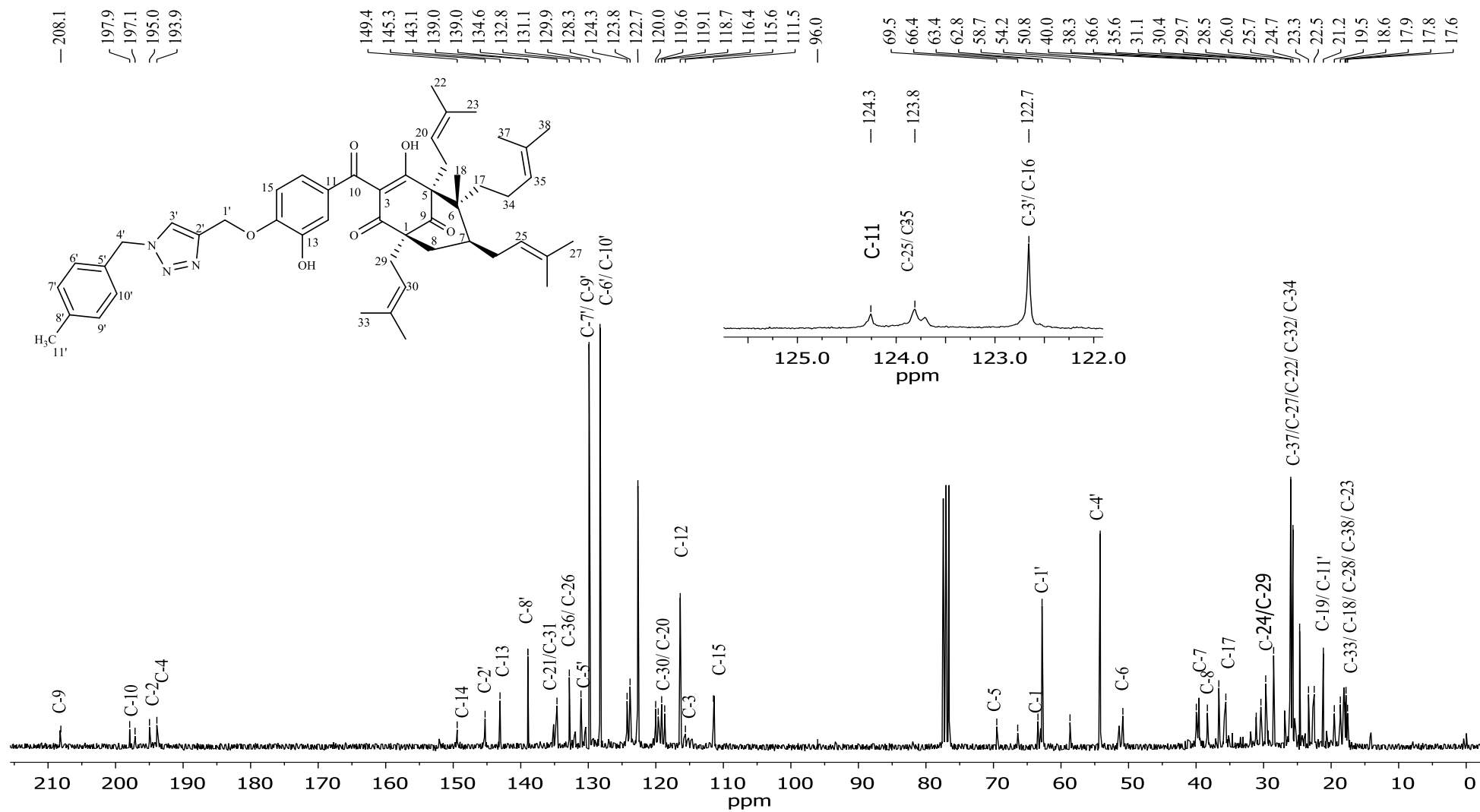


Figura 78: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 5.

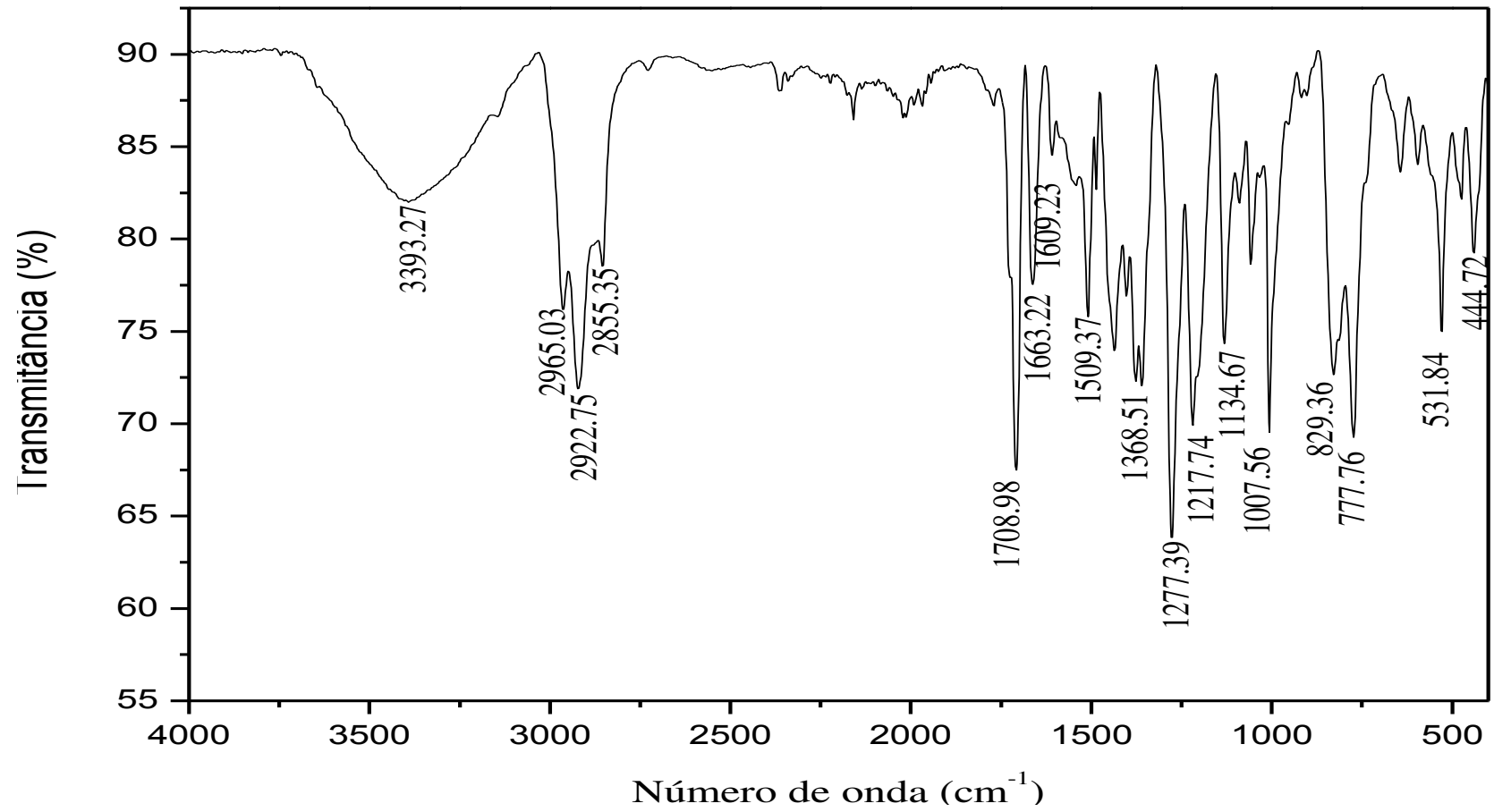


Figura 79: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 5.

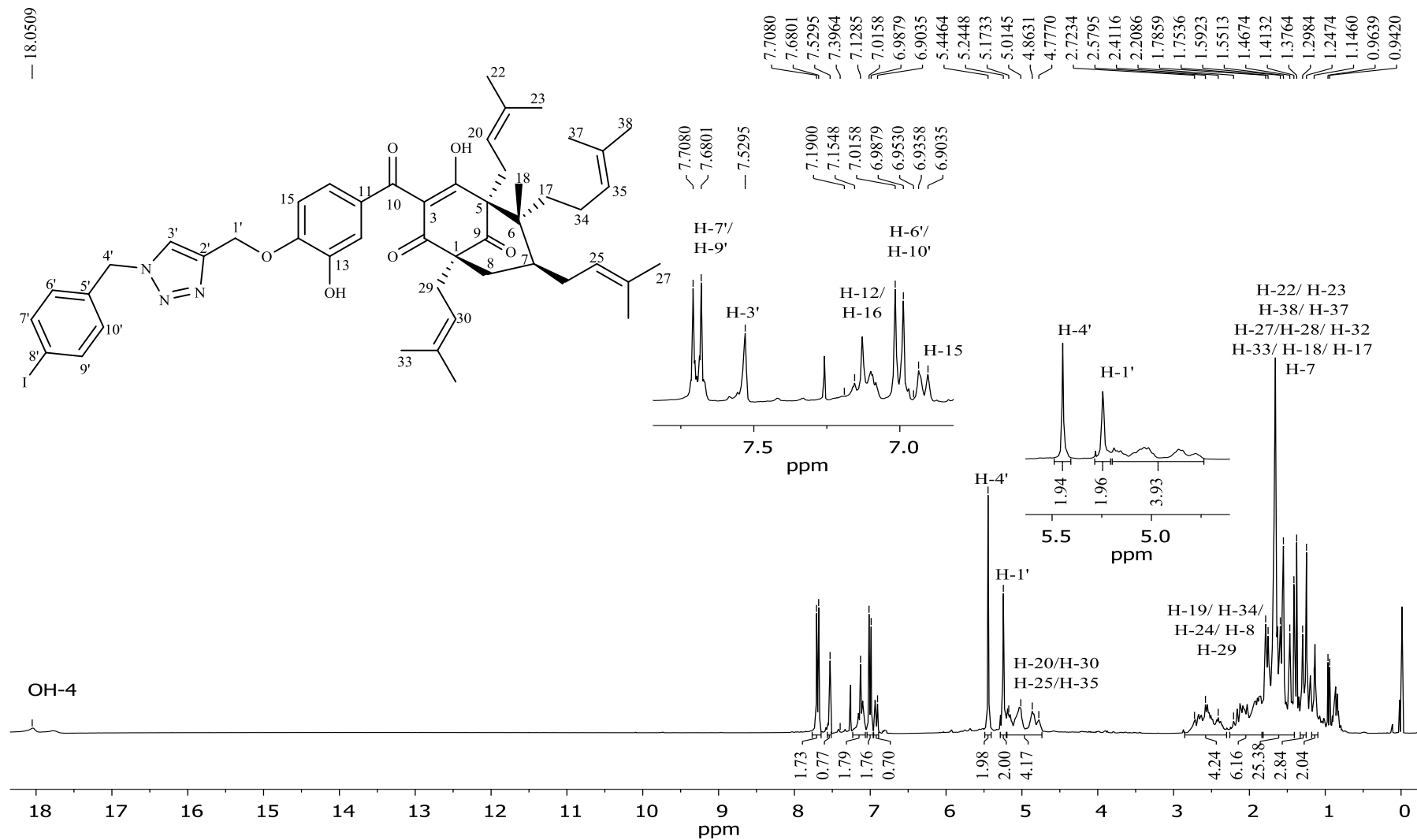


Figura 80: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 5.

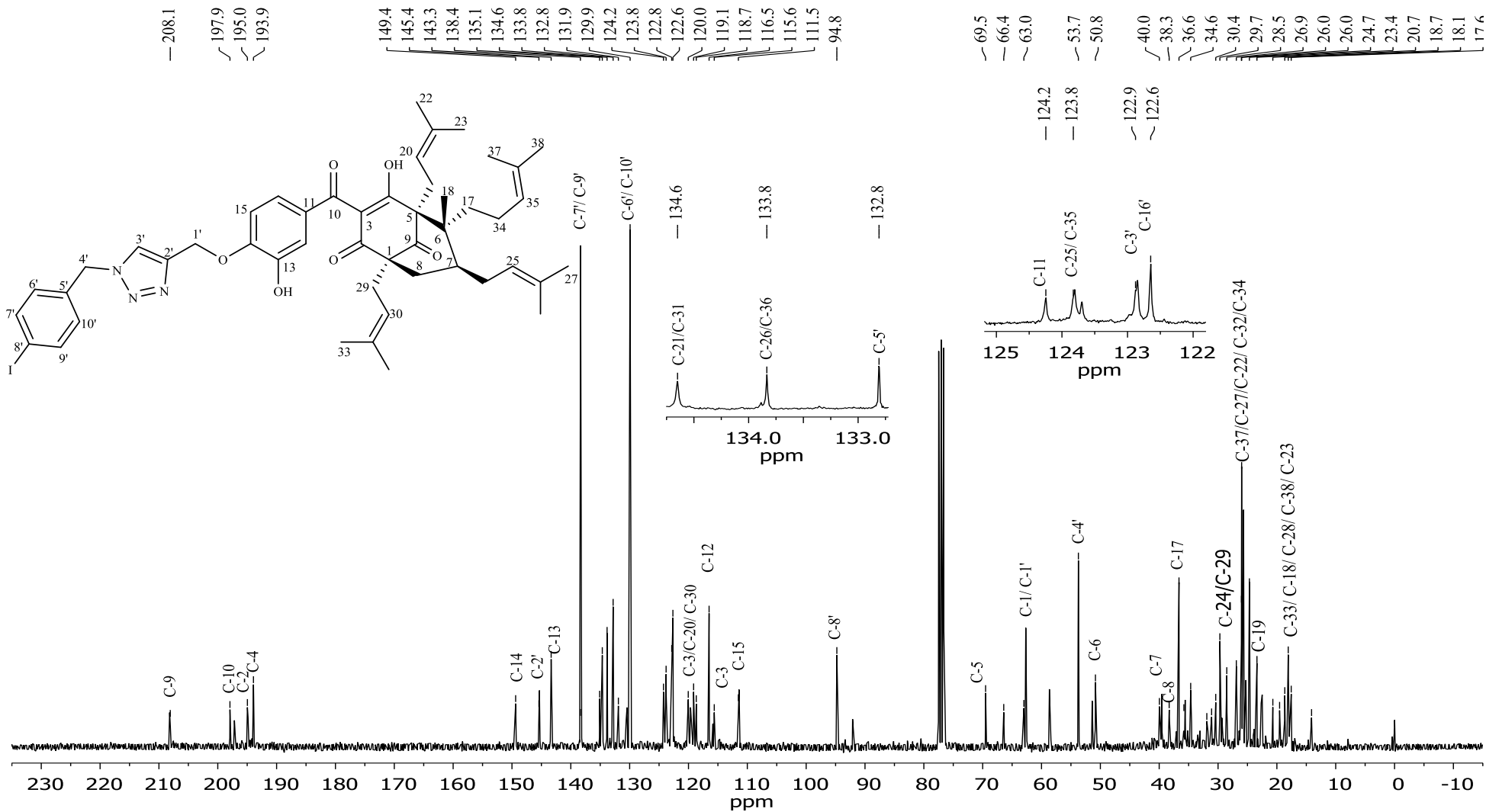


Figura 81: Mapa de contornos HSQC ^1H - ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto 5.

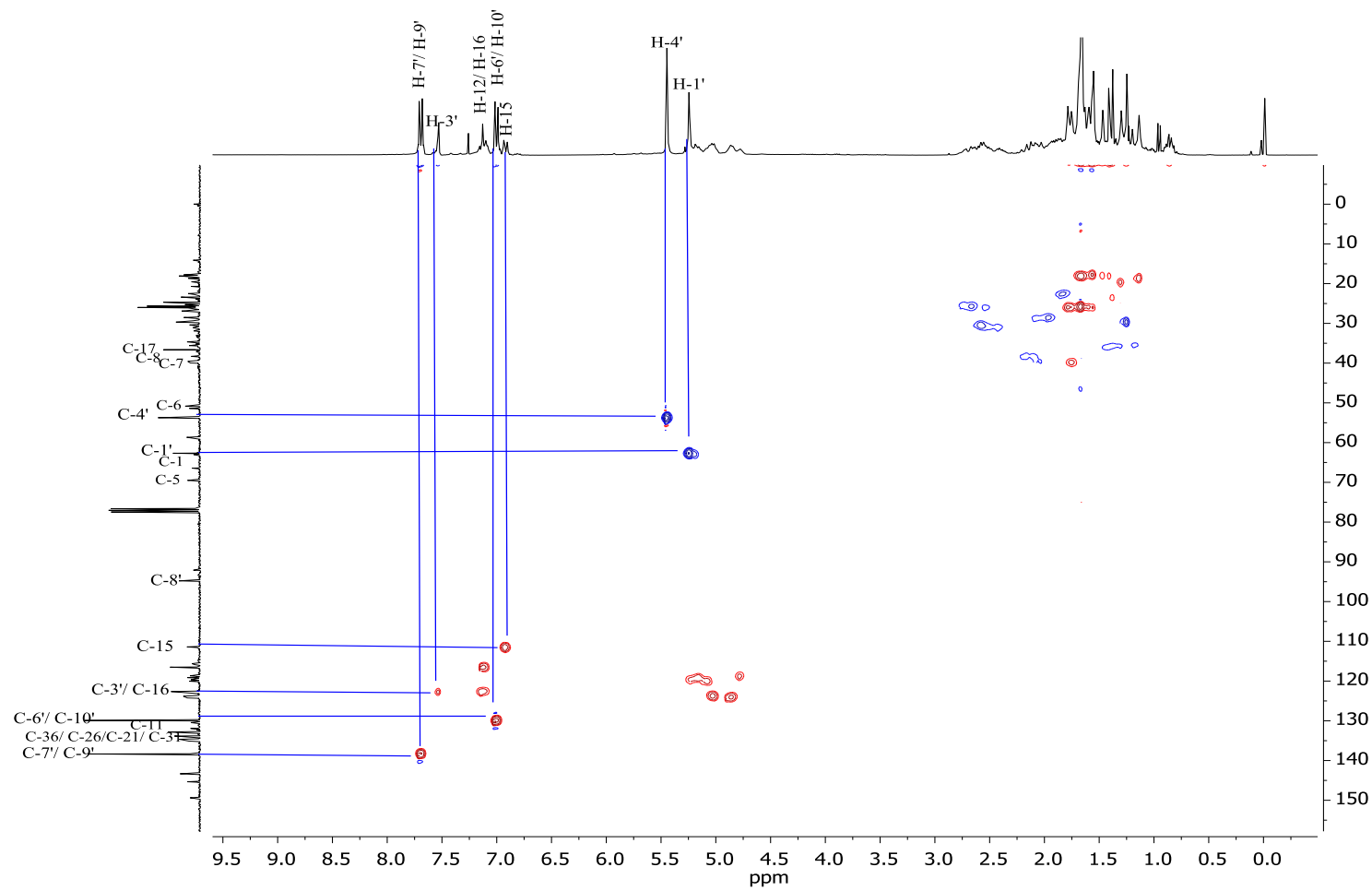


Figura 82: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 6.

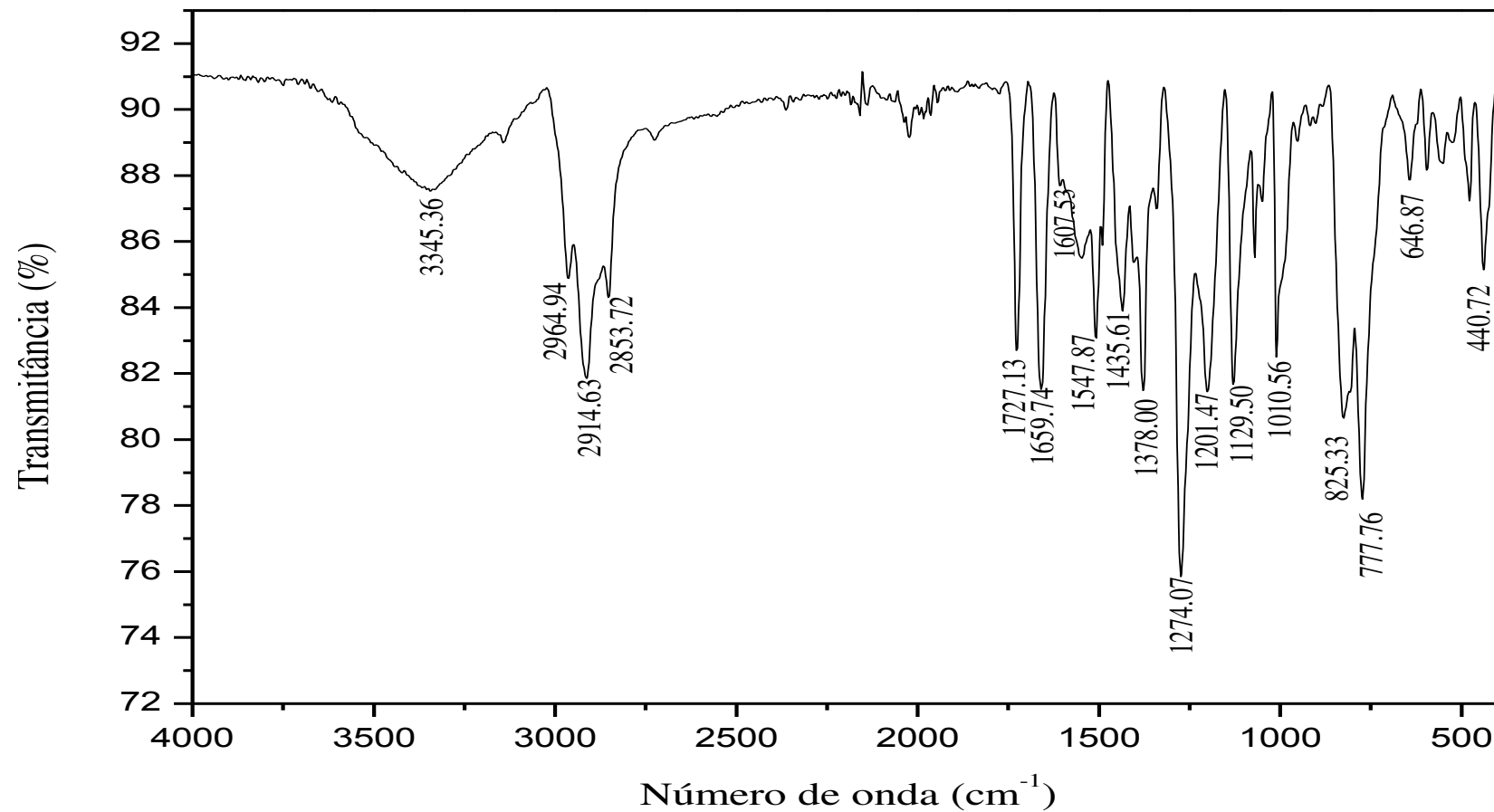


Figura 83: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 6.

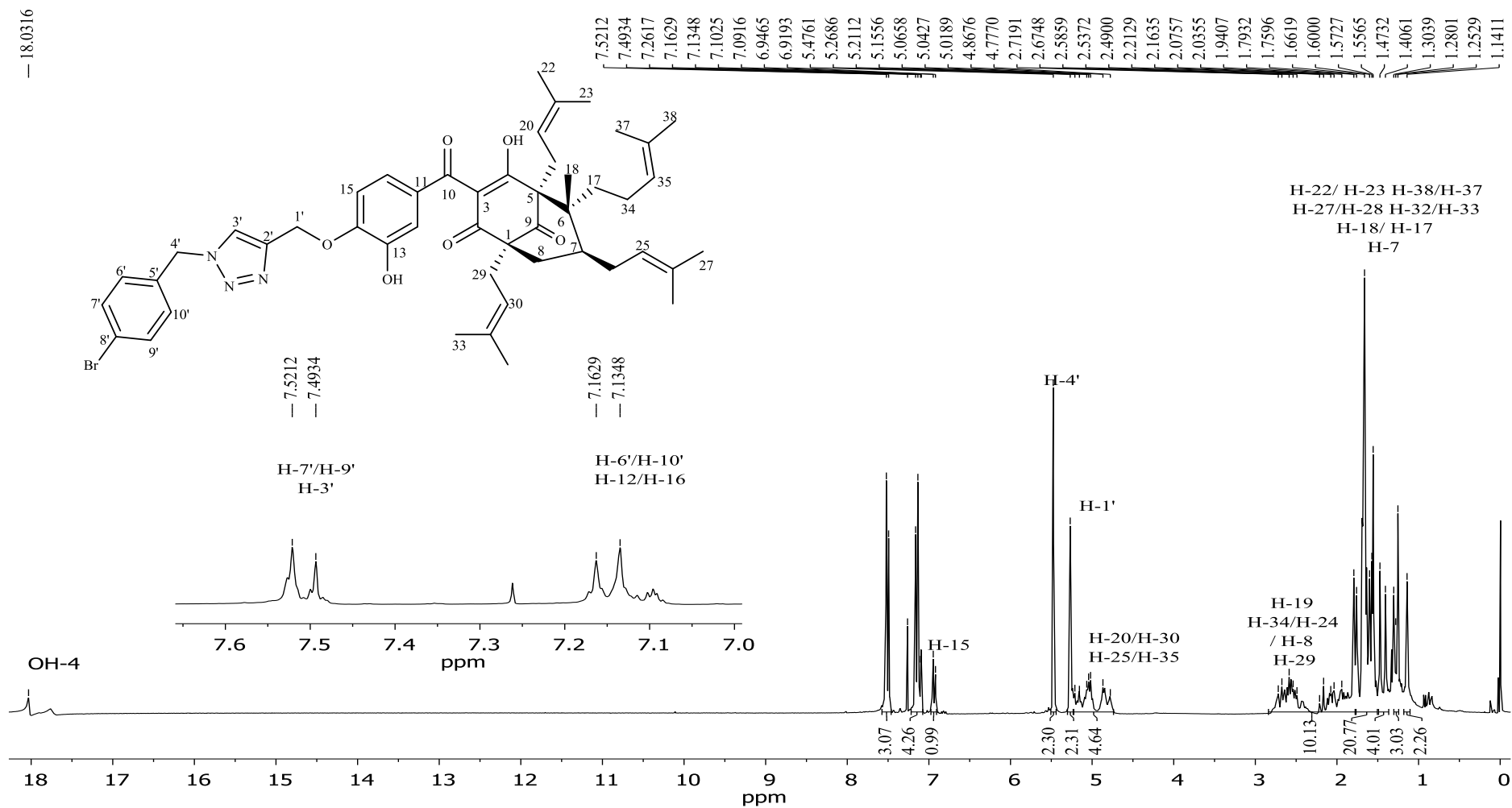


Figura 84: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 6.

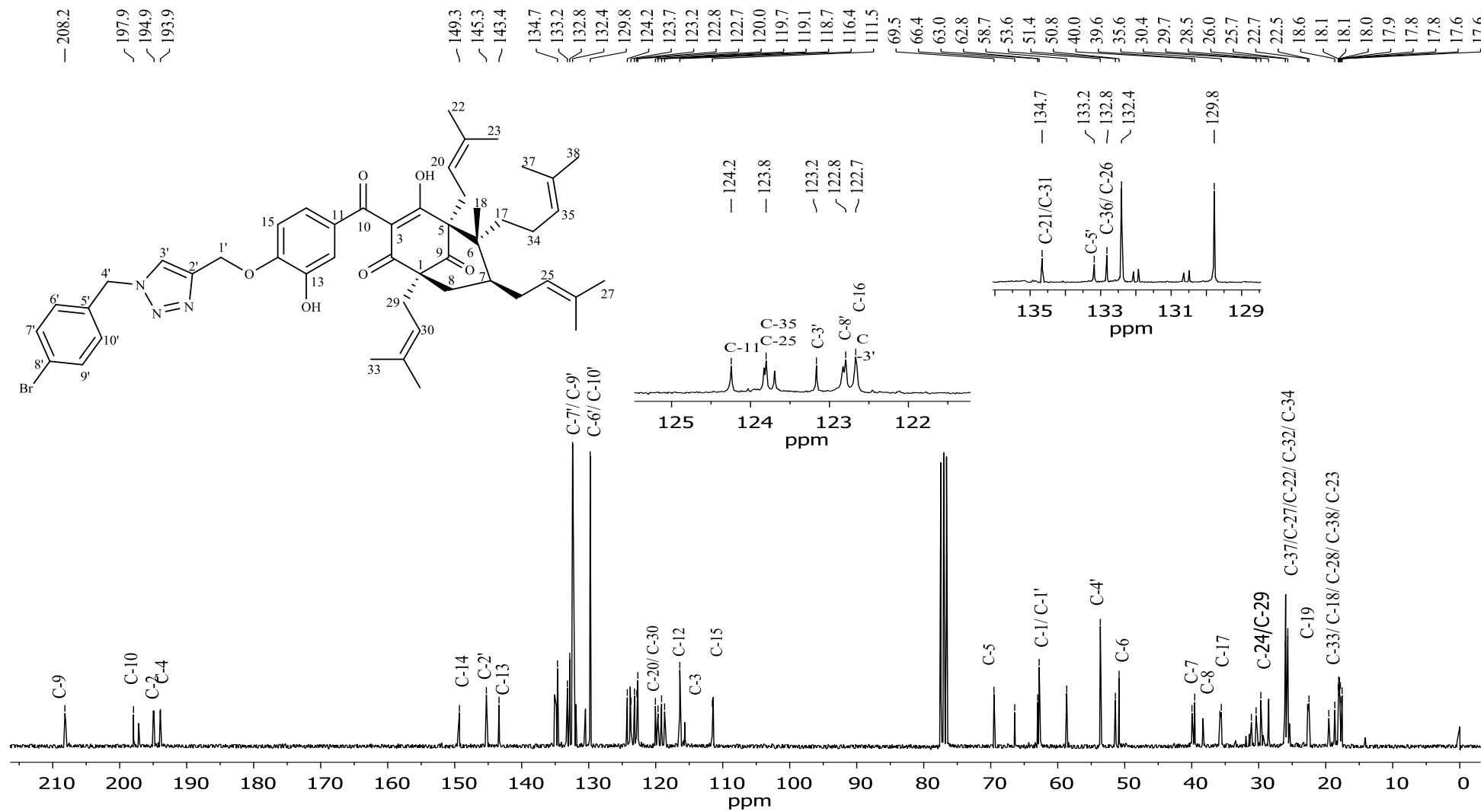


Figura 85: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 7.

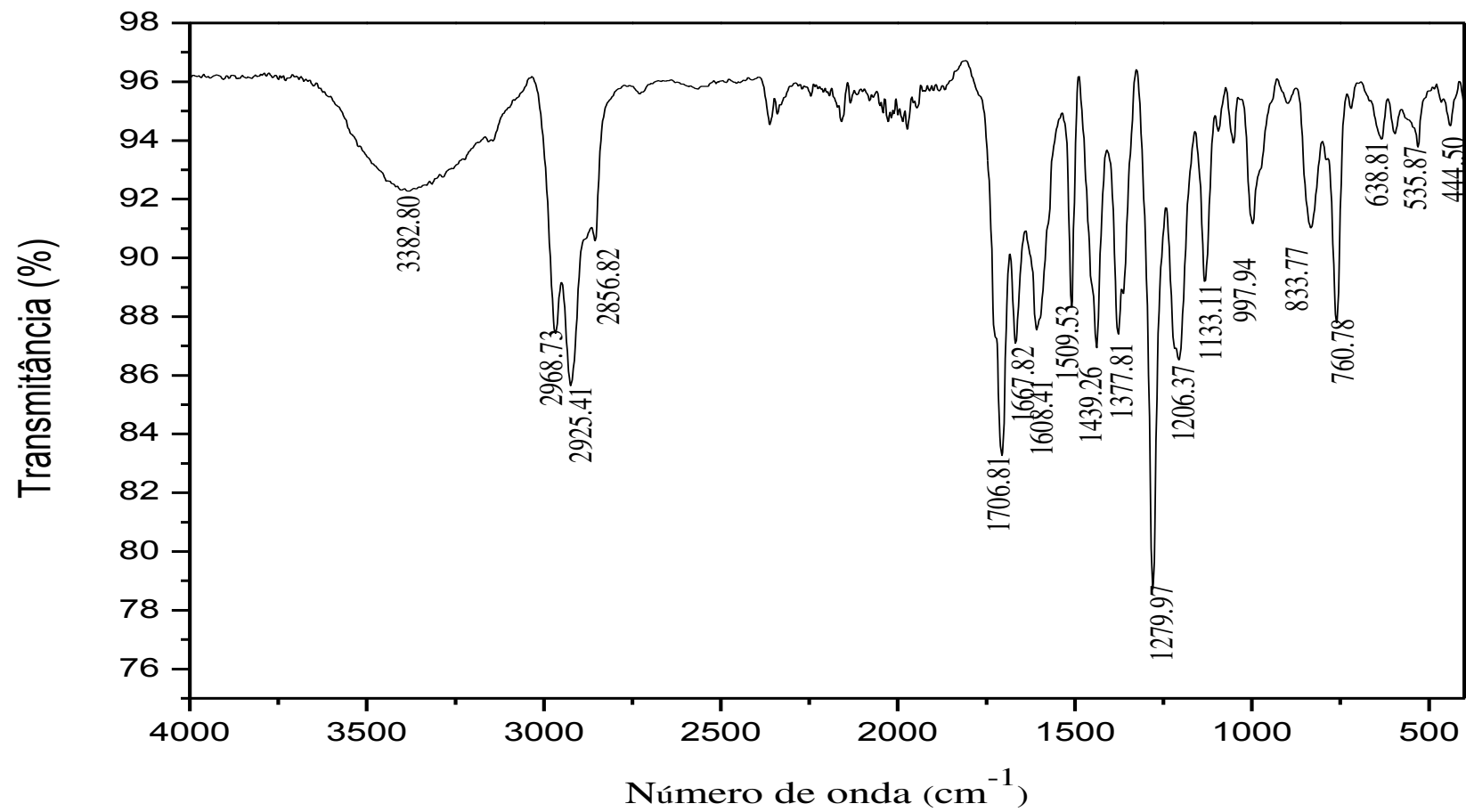


Figura 86: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 7.

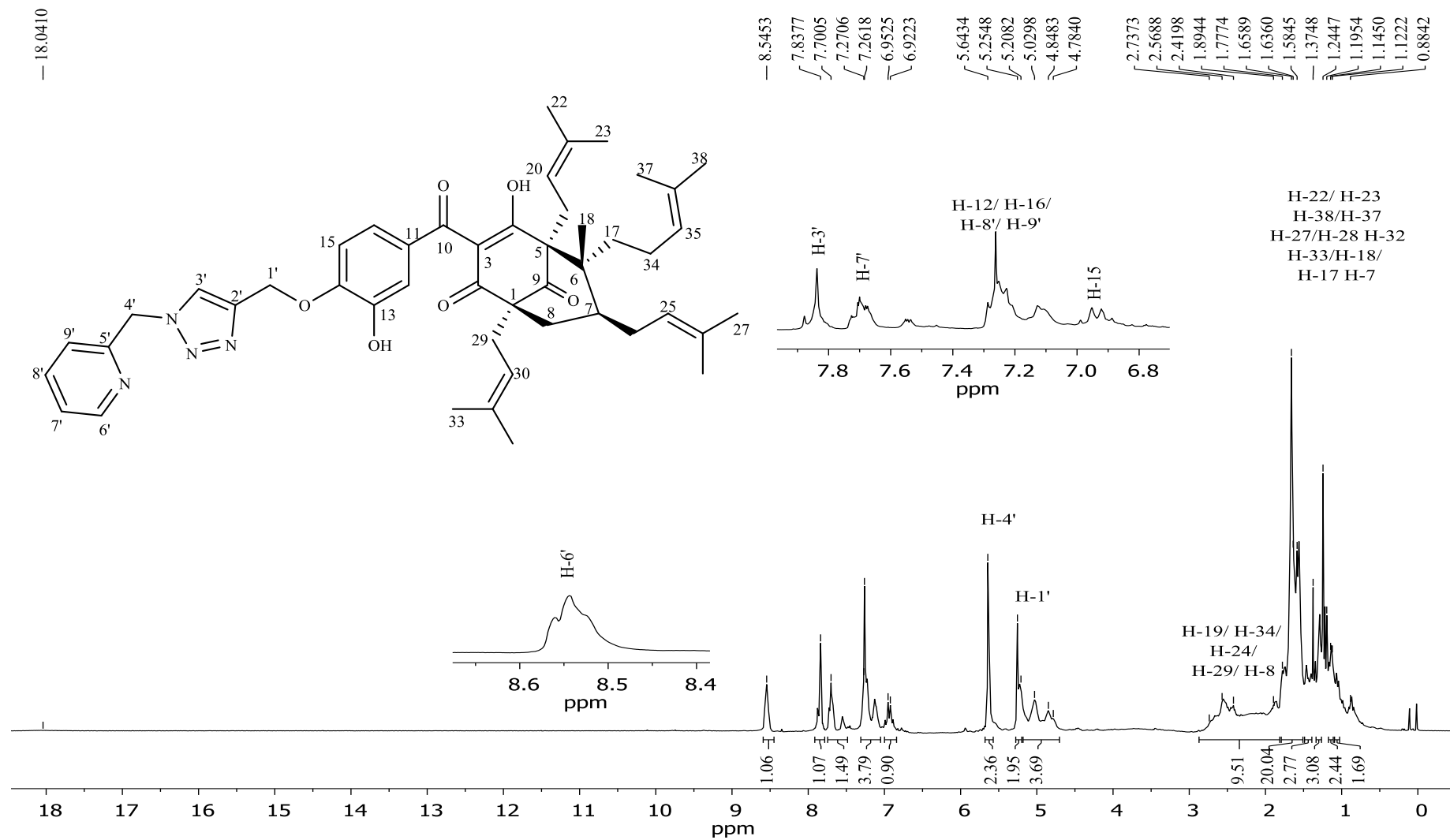


Figura 87: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 7.

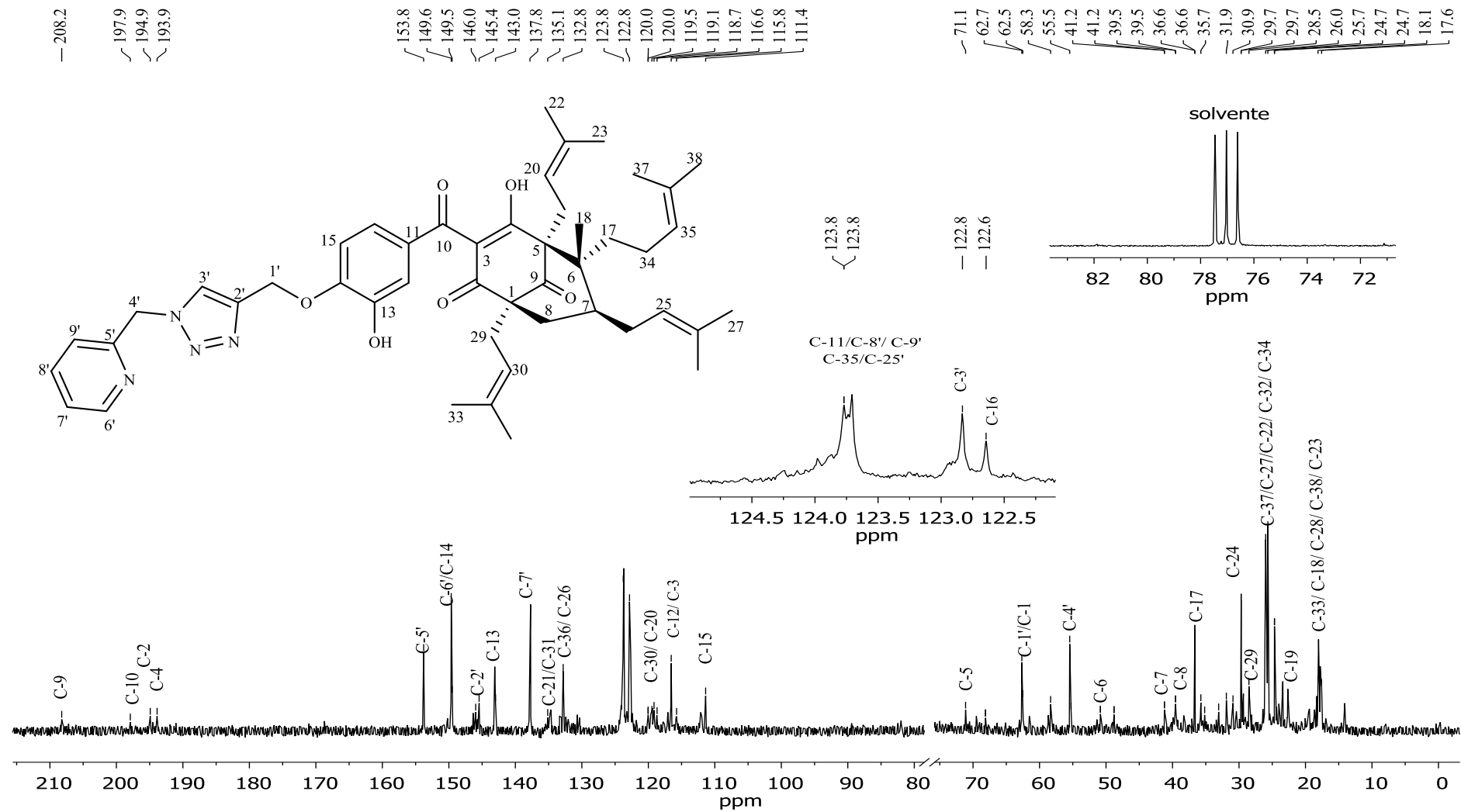


Figura 88: Mapa de contornos HSQC ^1H – ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto 7.

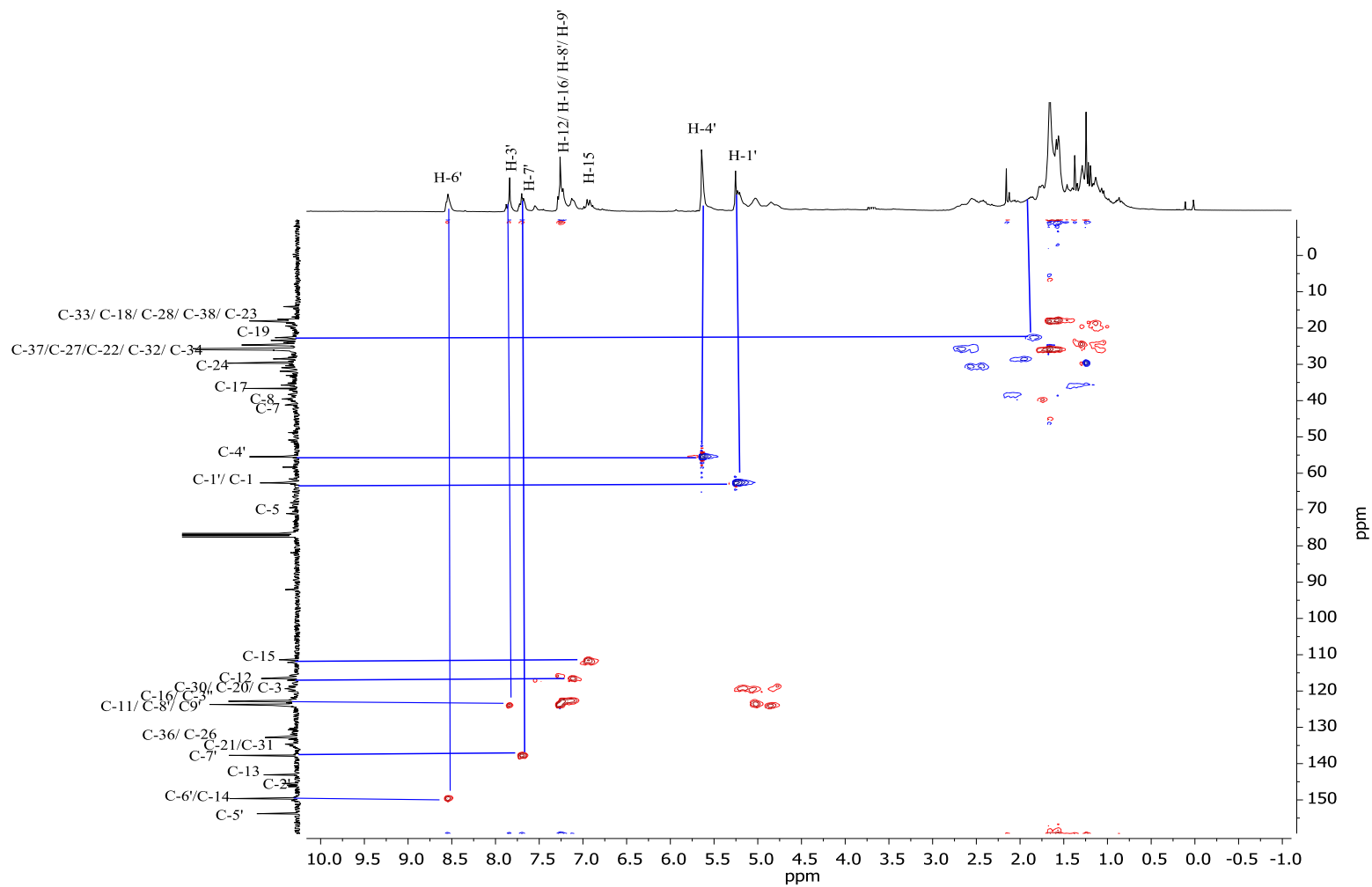


Figura 89: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 8.

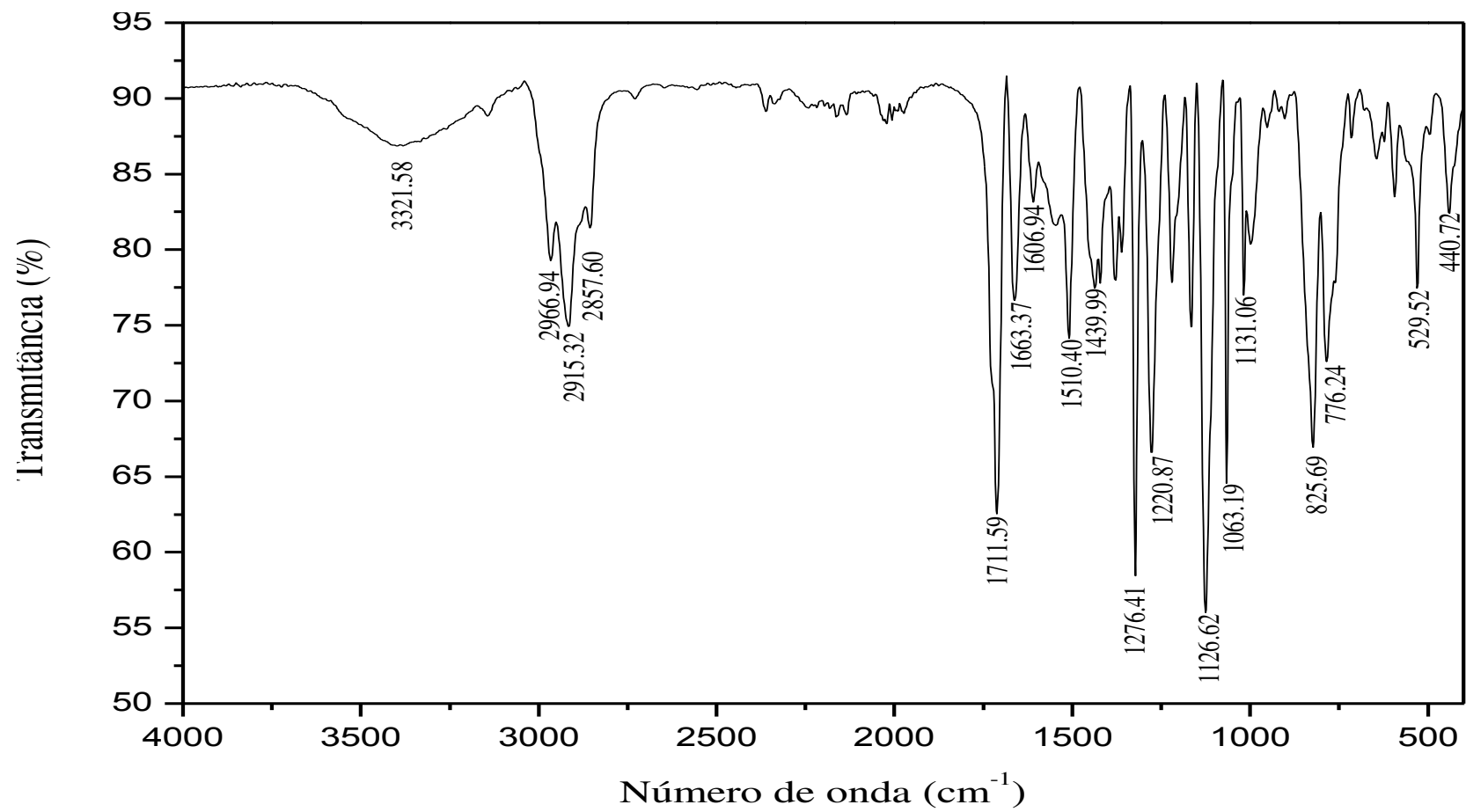


Figura 90: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 8.

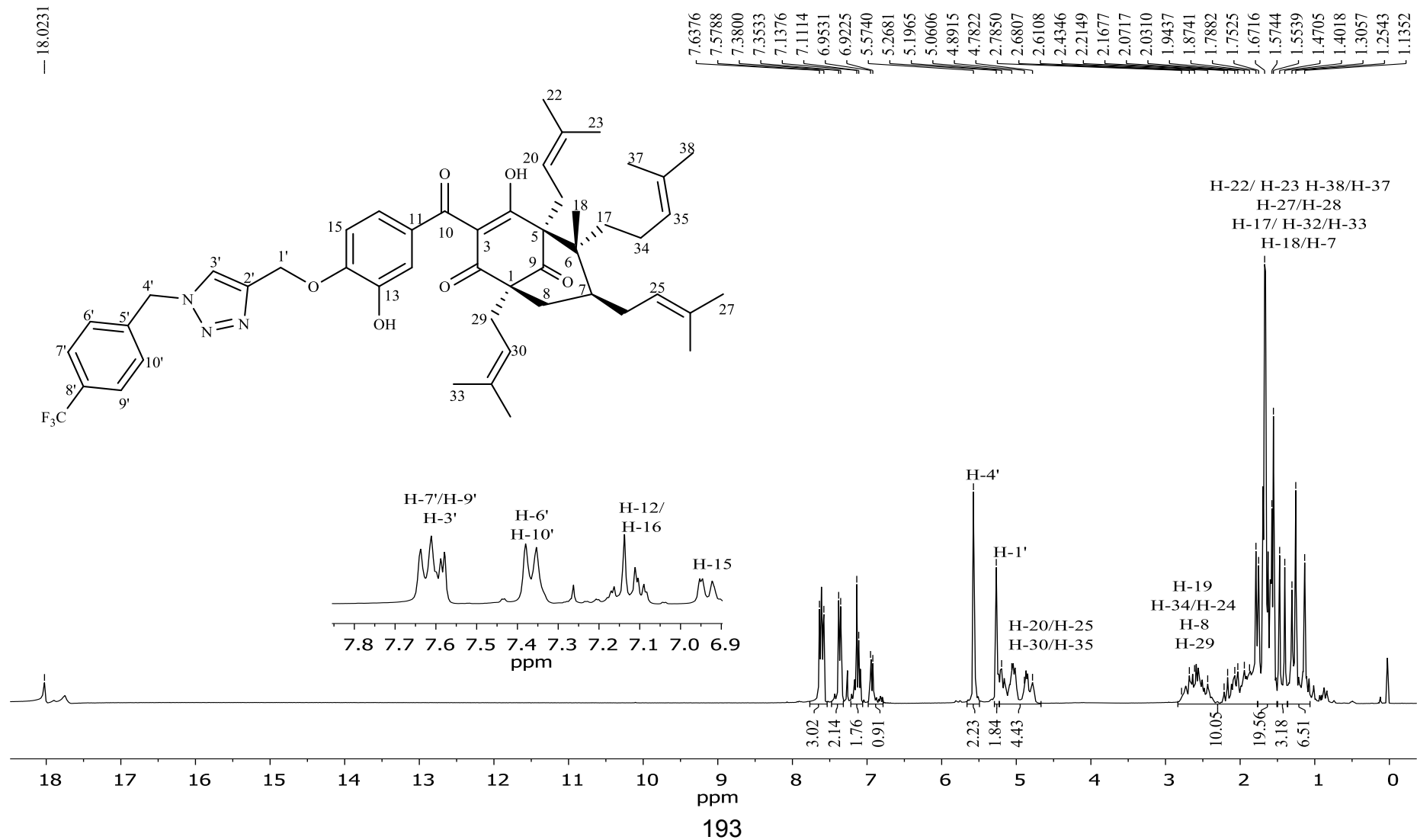


Figura 91: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 8.

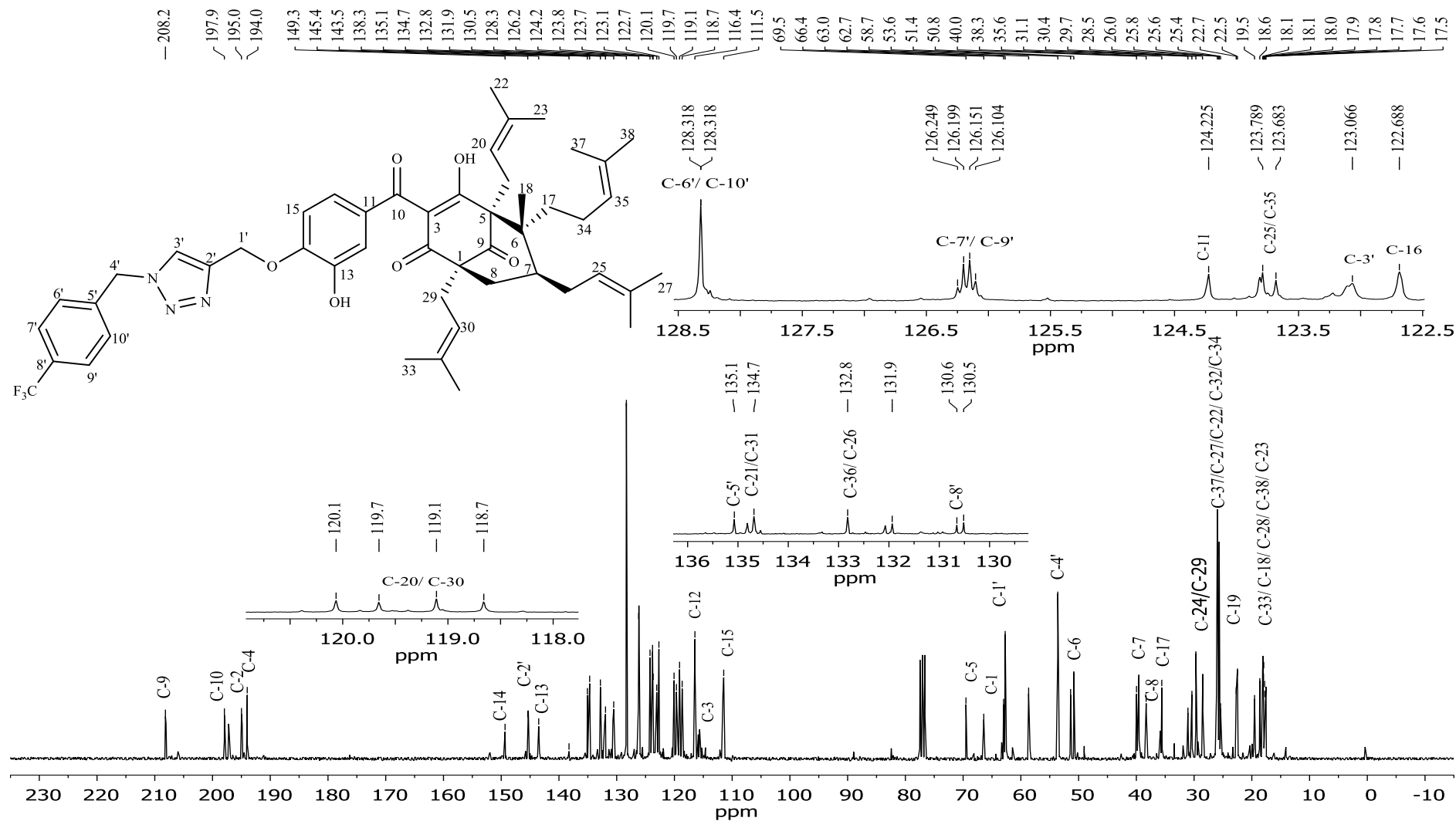


Figura 92: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 11.

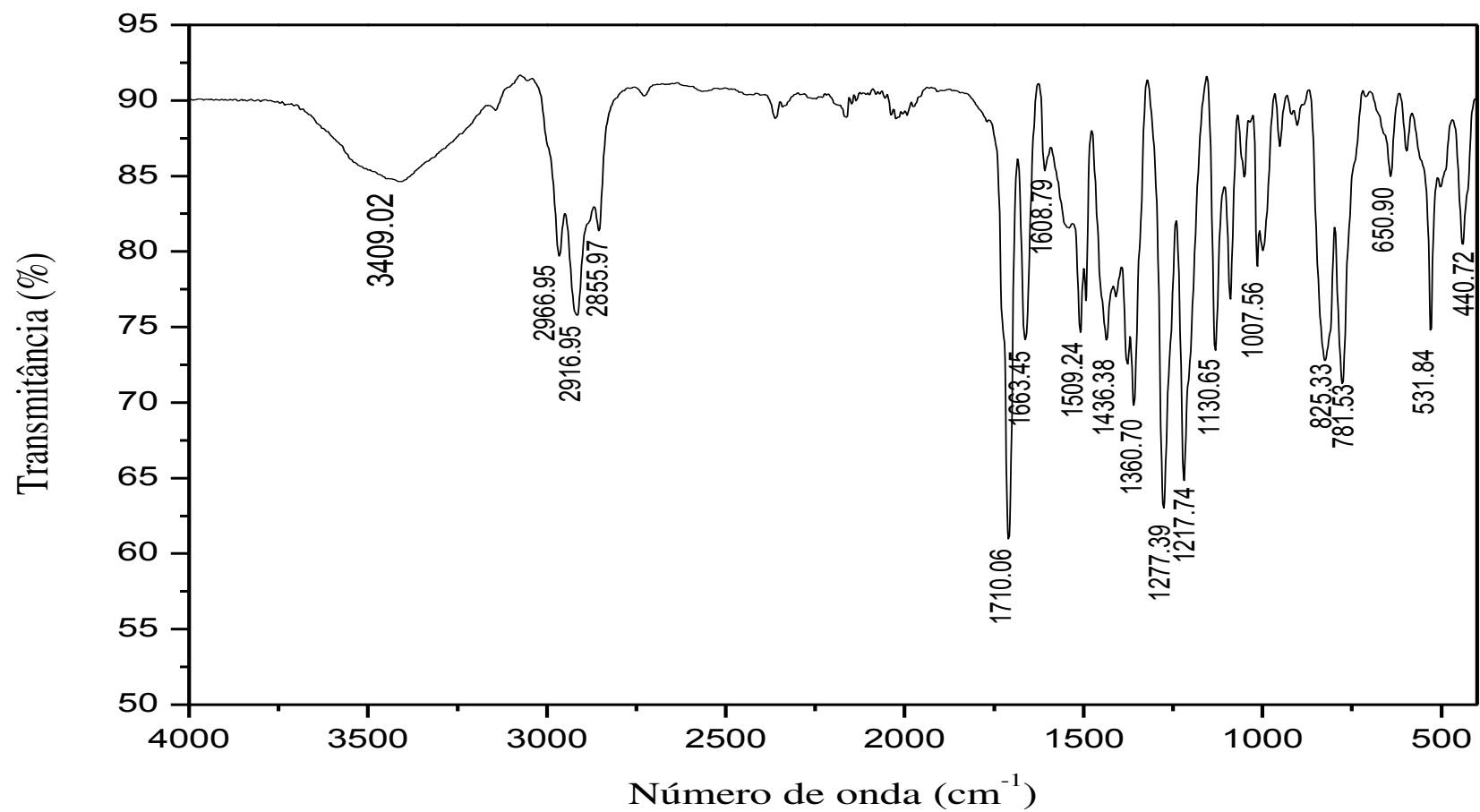


Figura 93: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 11.

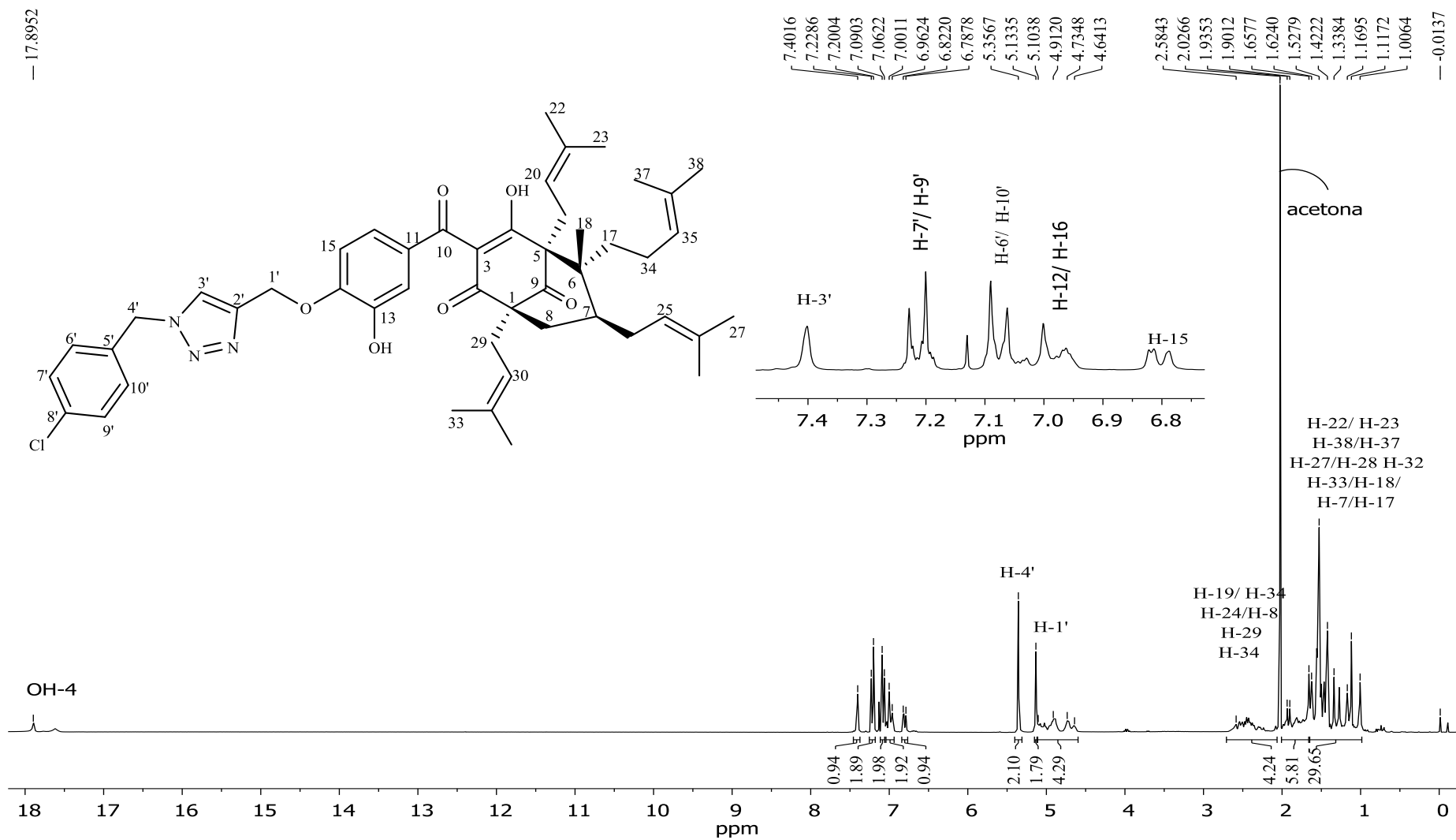


Figura 94: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 11.

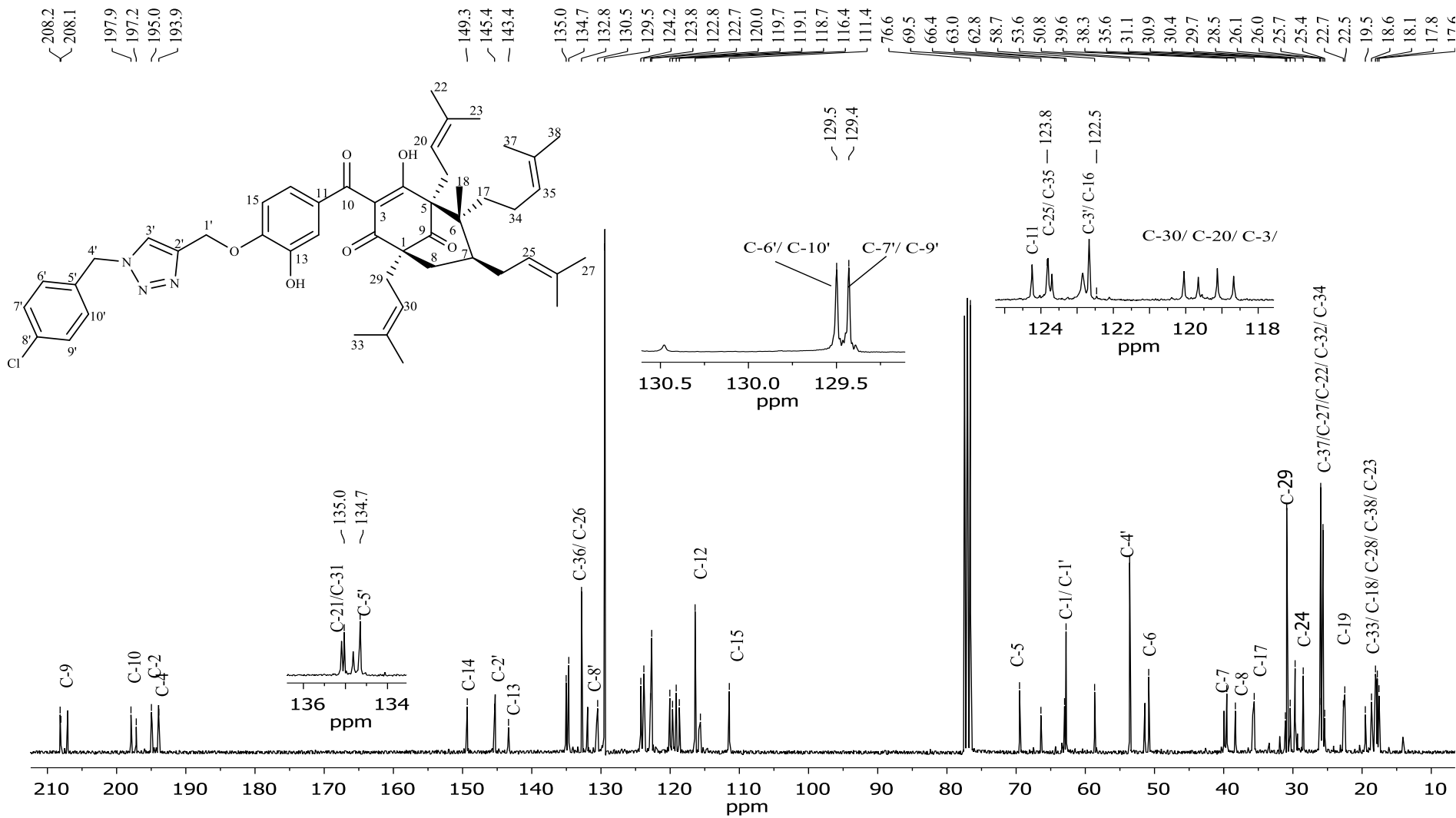


Figura 95: Mapa de contornos HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, CDCl_3) do composto 11.

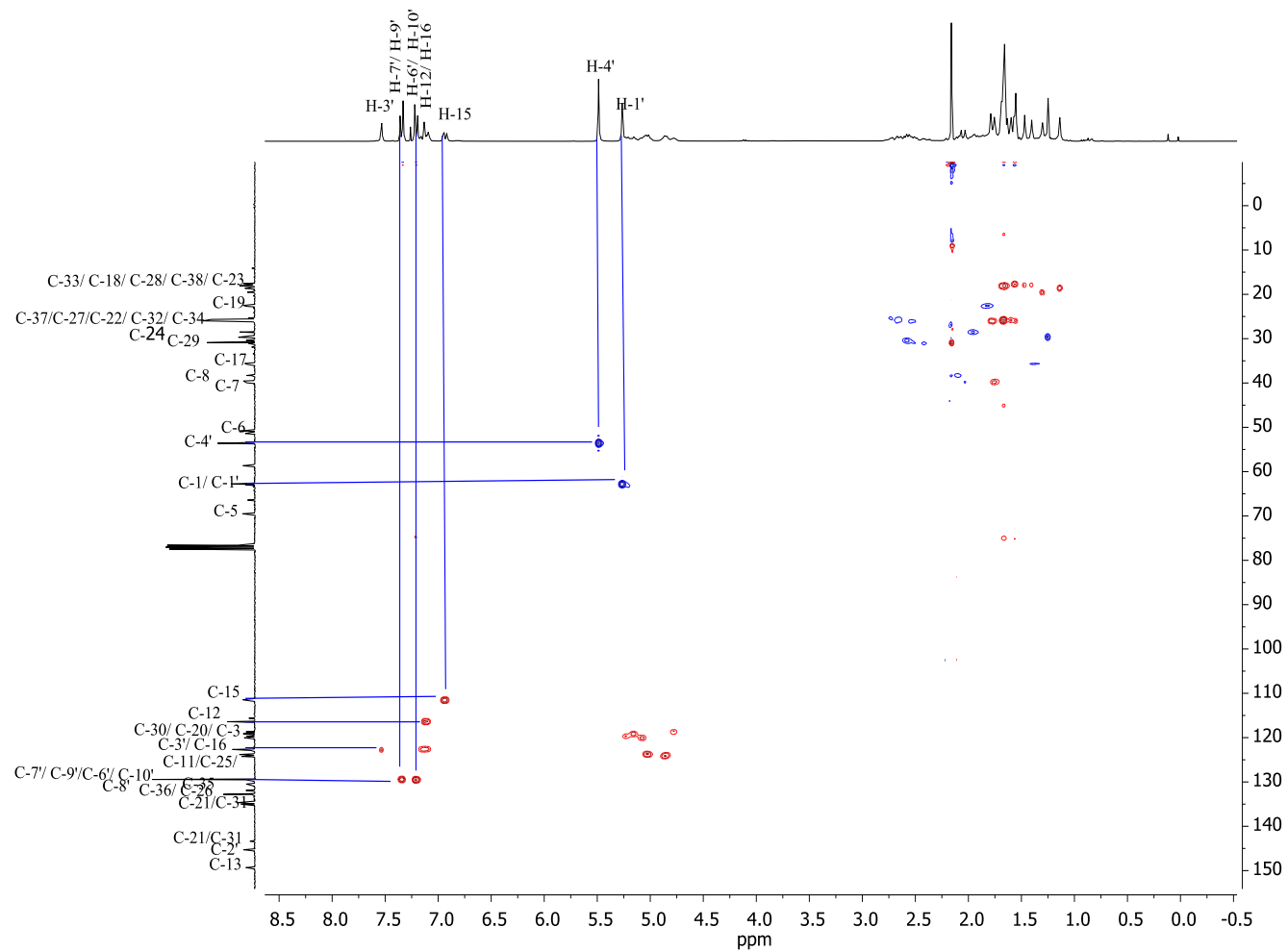


Figura 96: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 12.

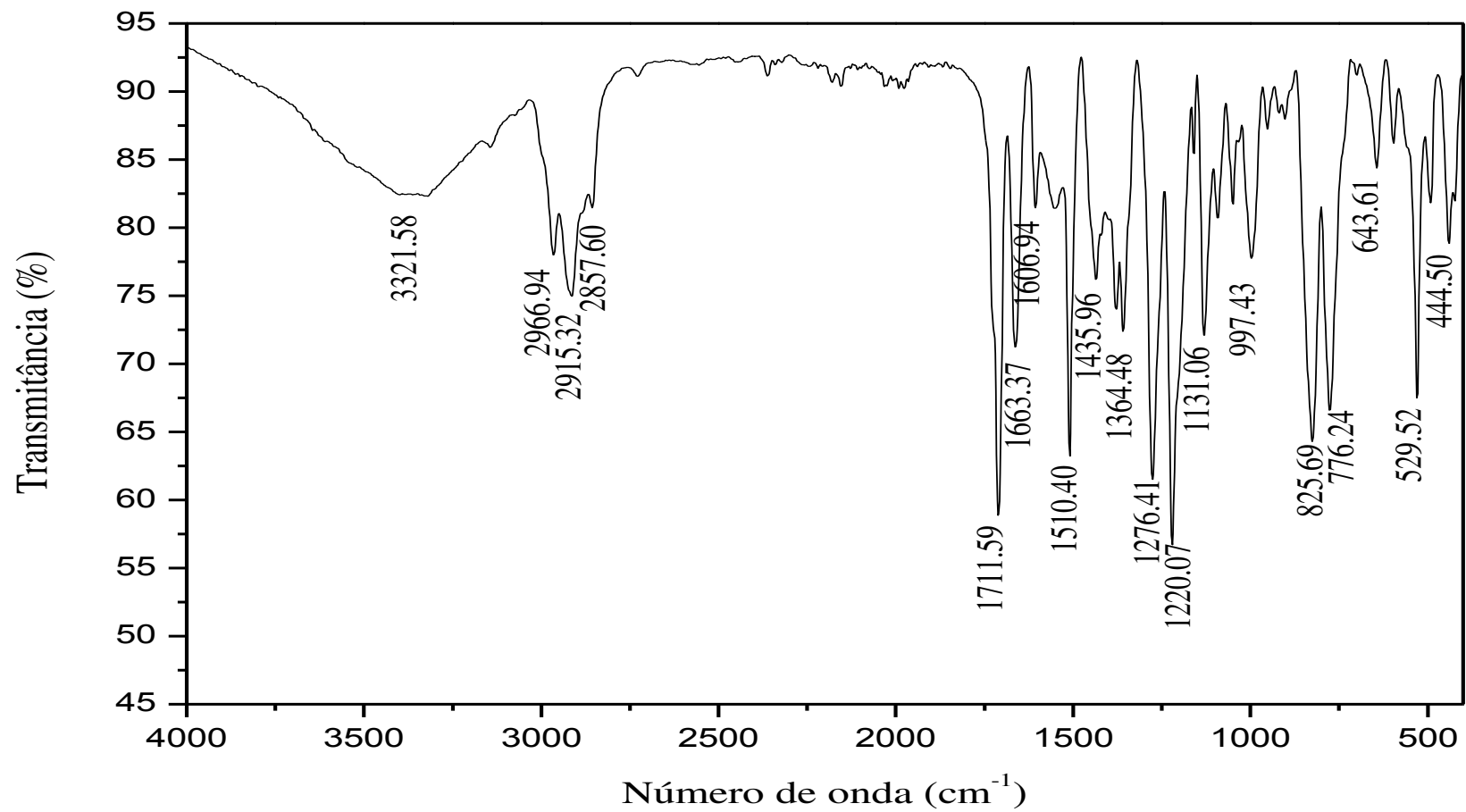


Figura 97: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 12.

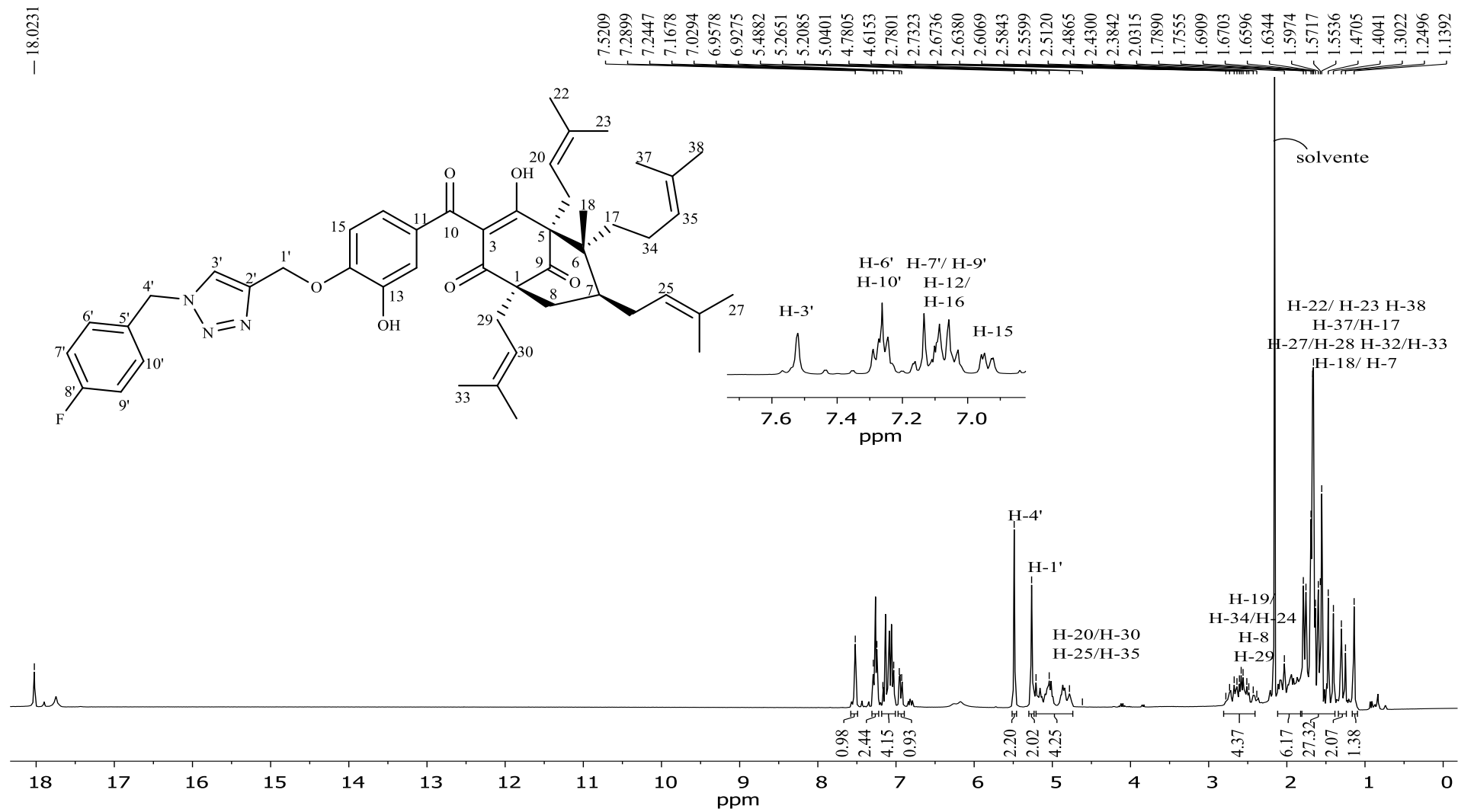


Figura 98: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 12.

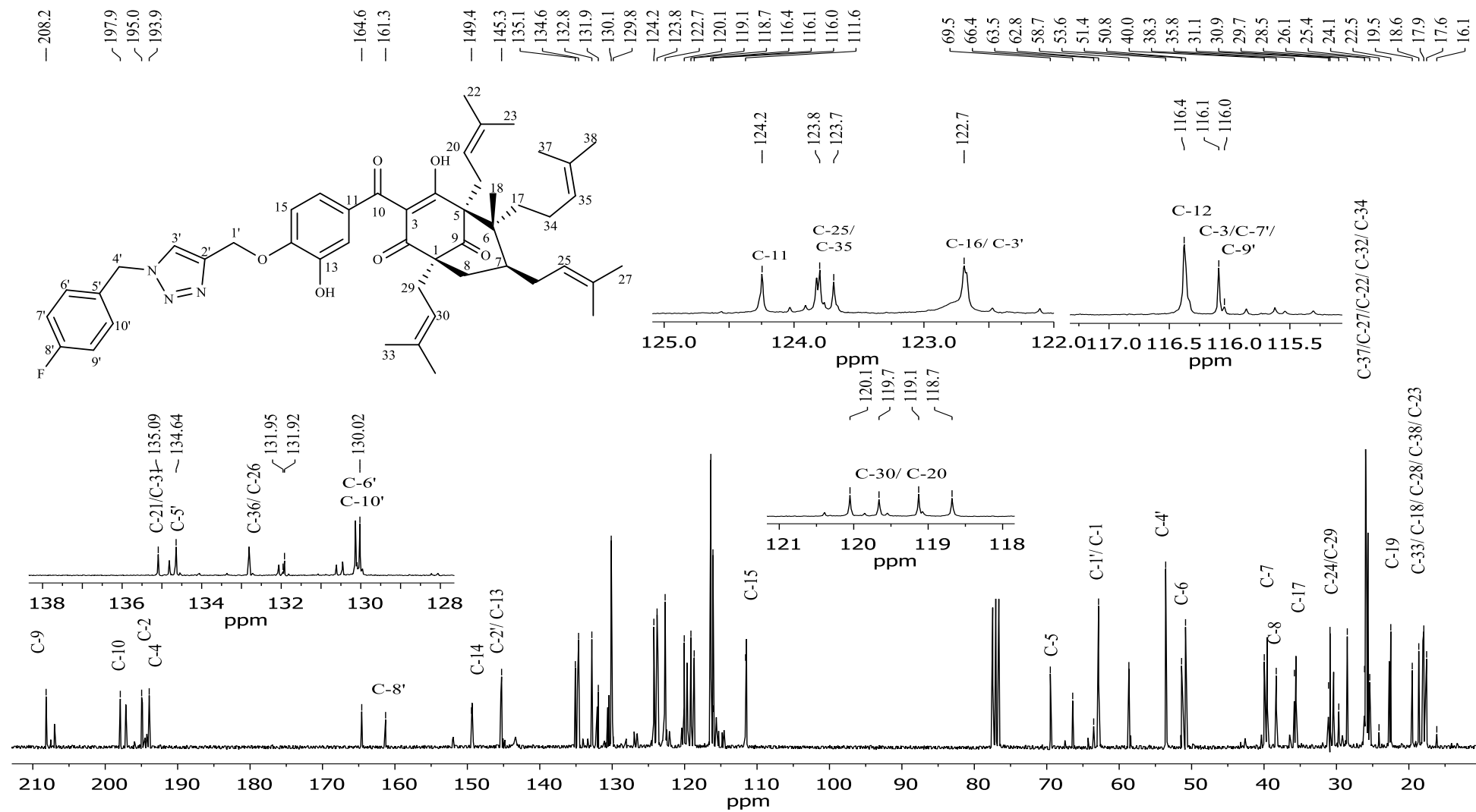


Figura 99: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 13.

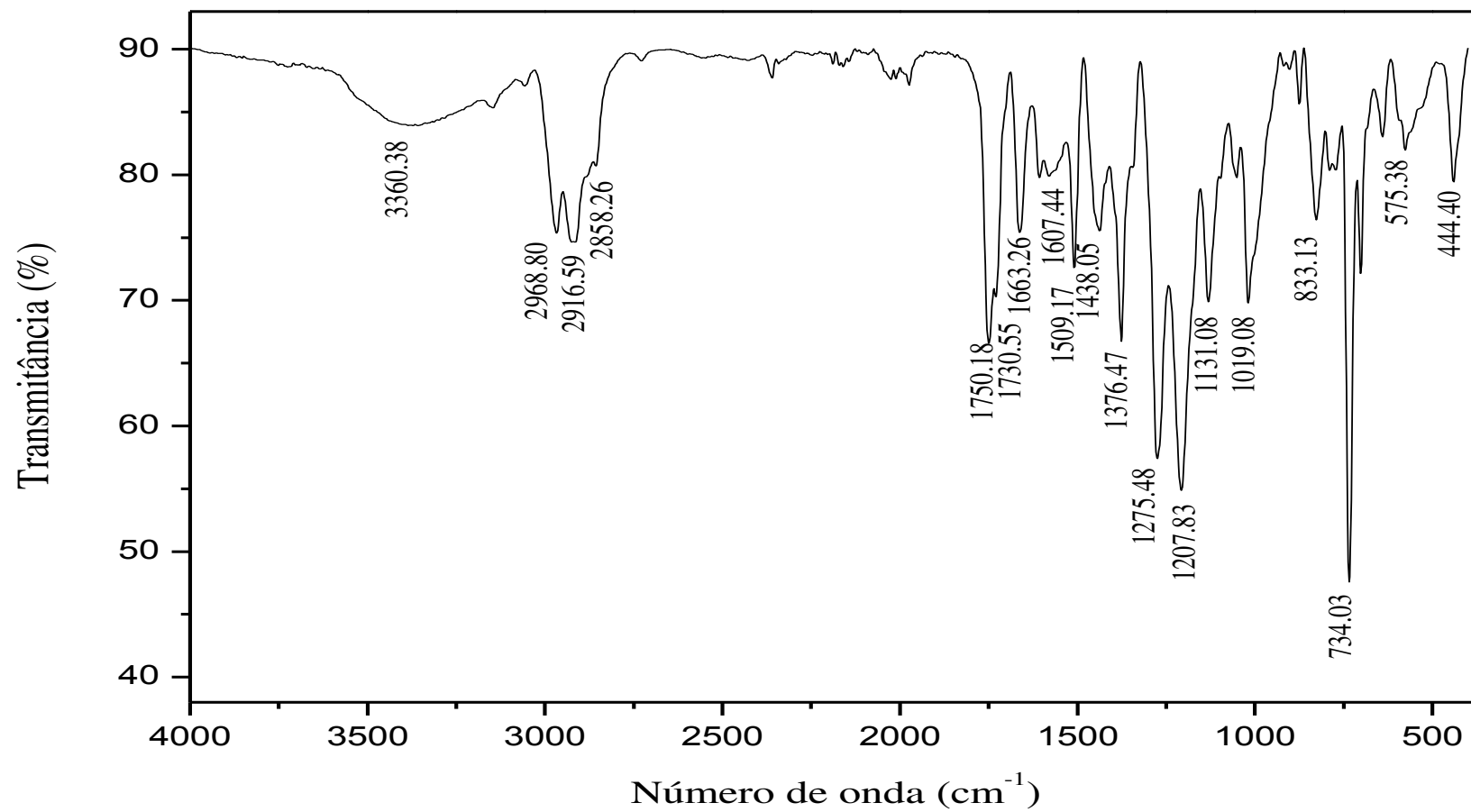


Figura 100: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 13.

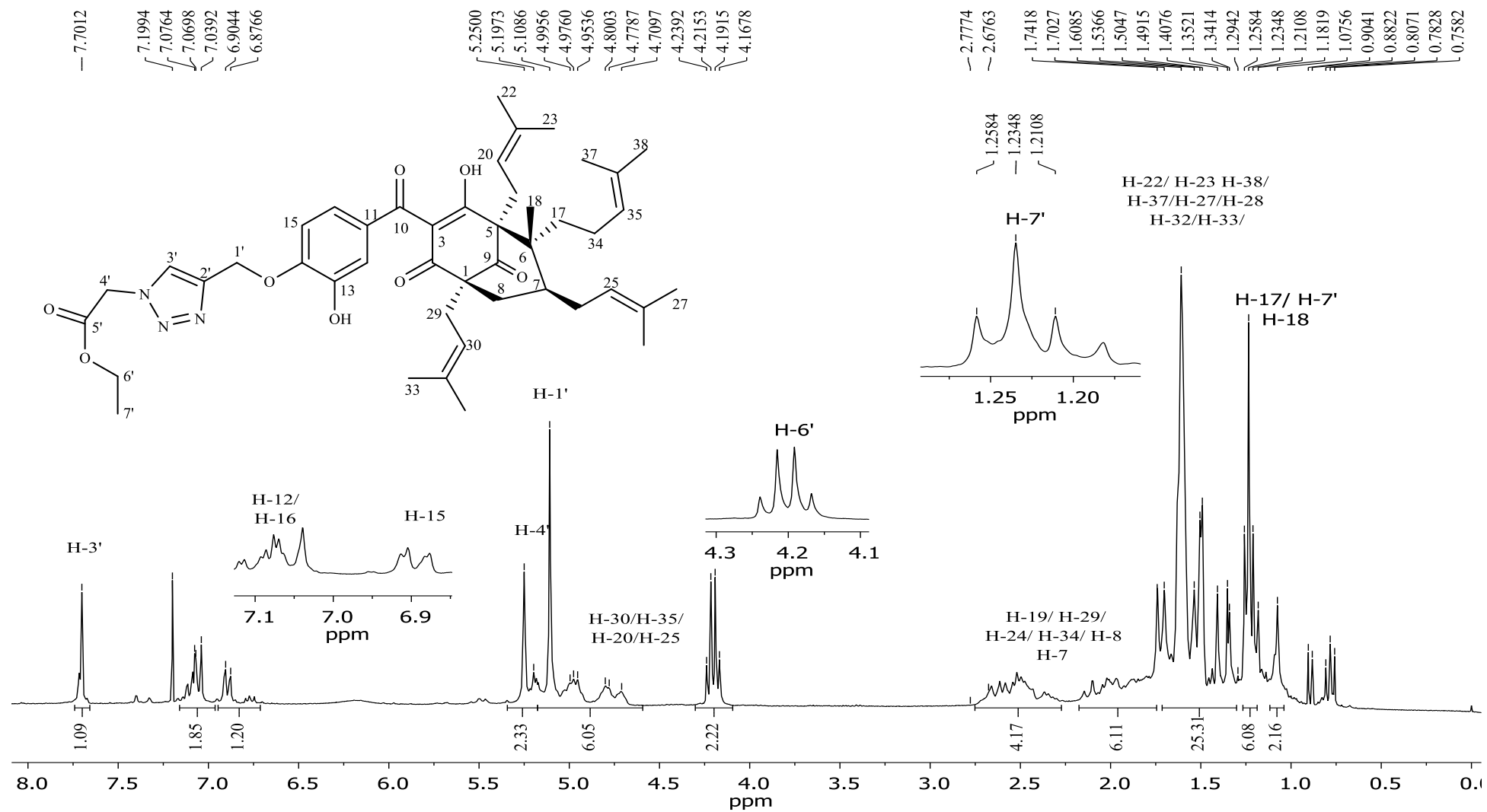


Figura 101: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 13.

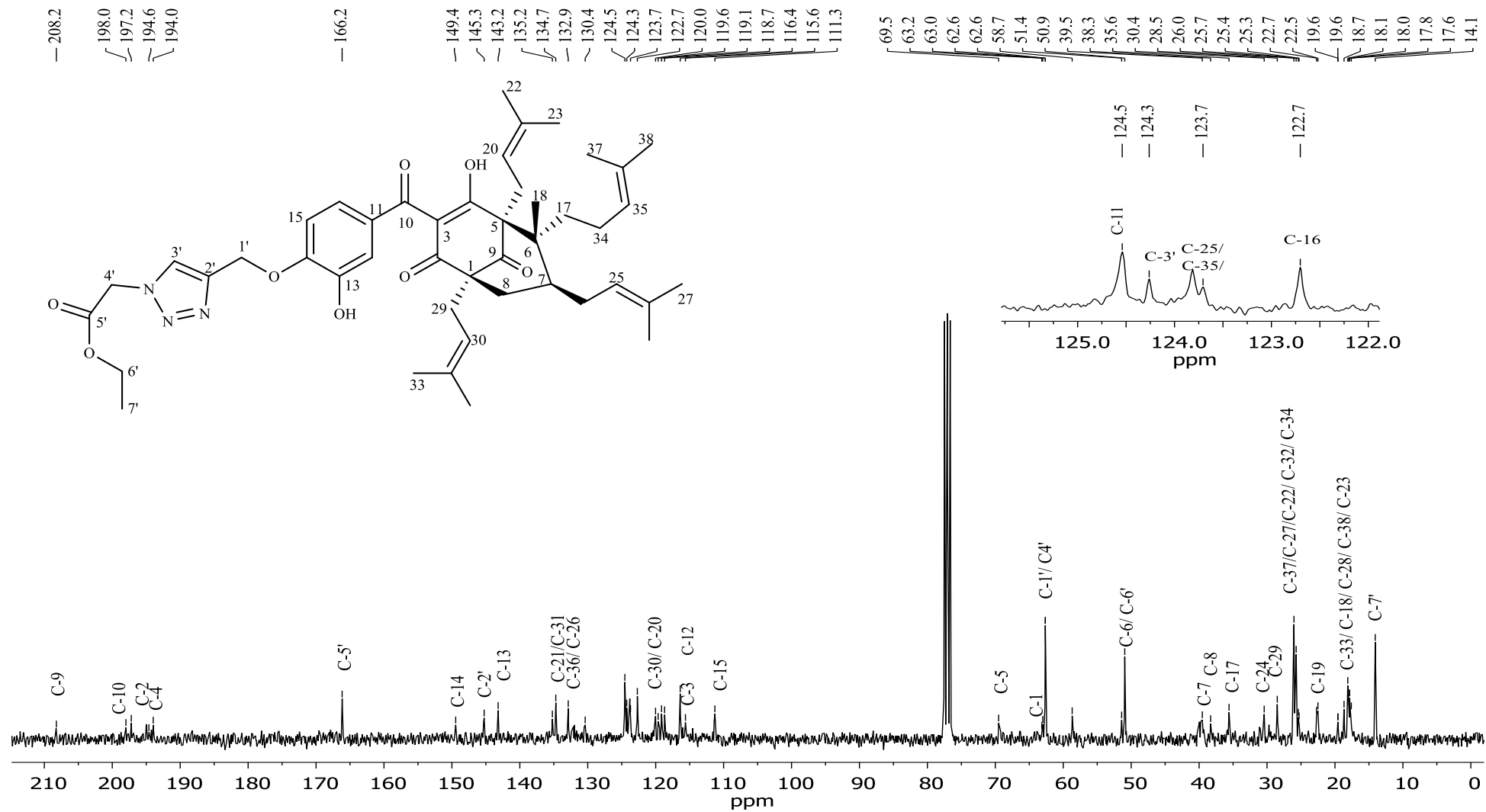


Figura 102: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 1E1.

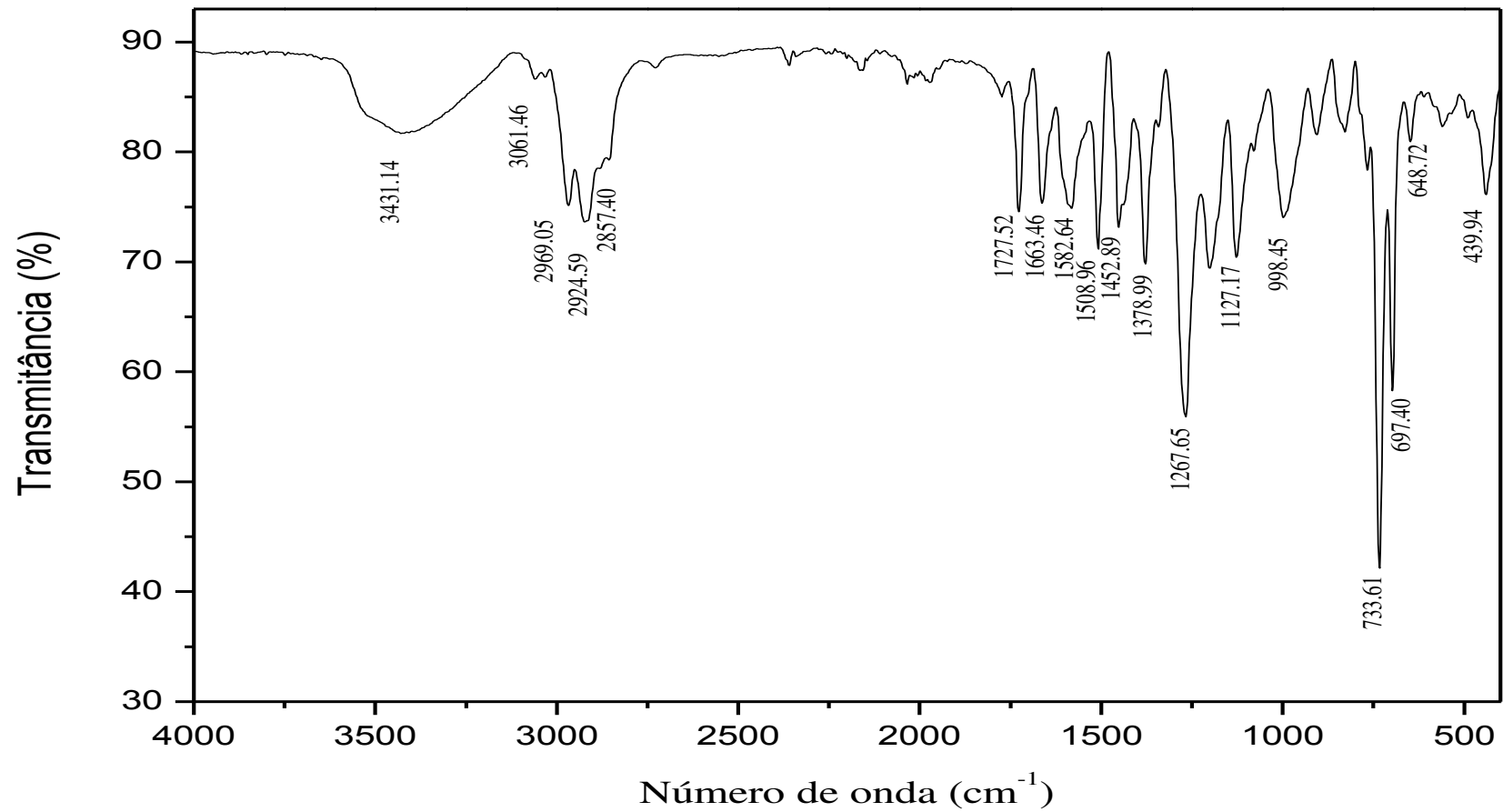


Figura 103: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 1E1.

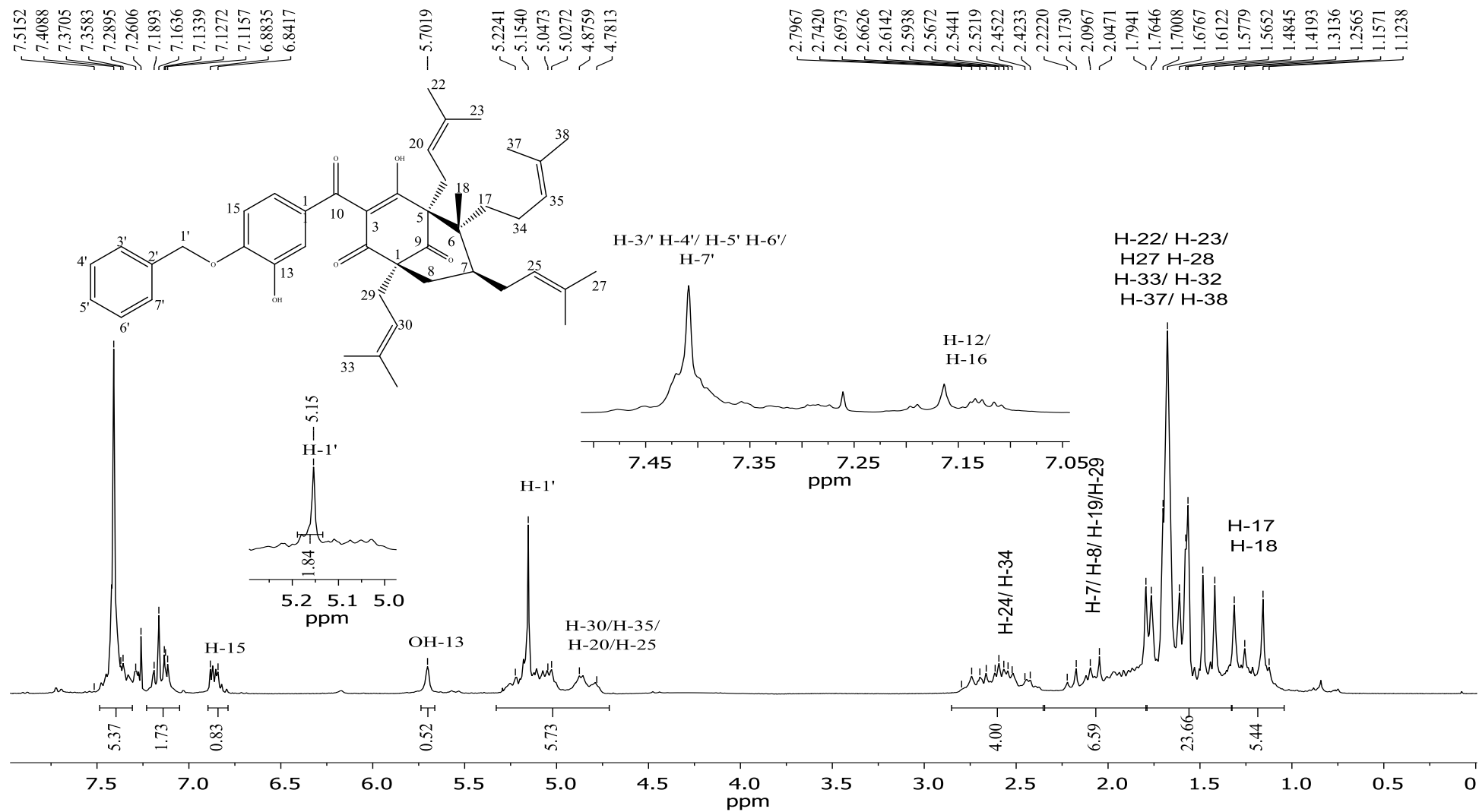


Figura 104: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 1E1.

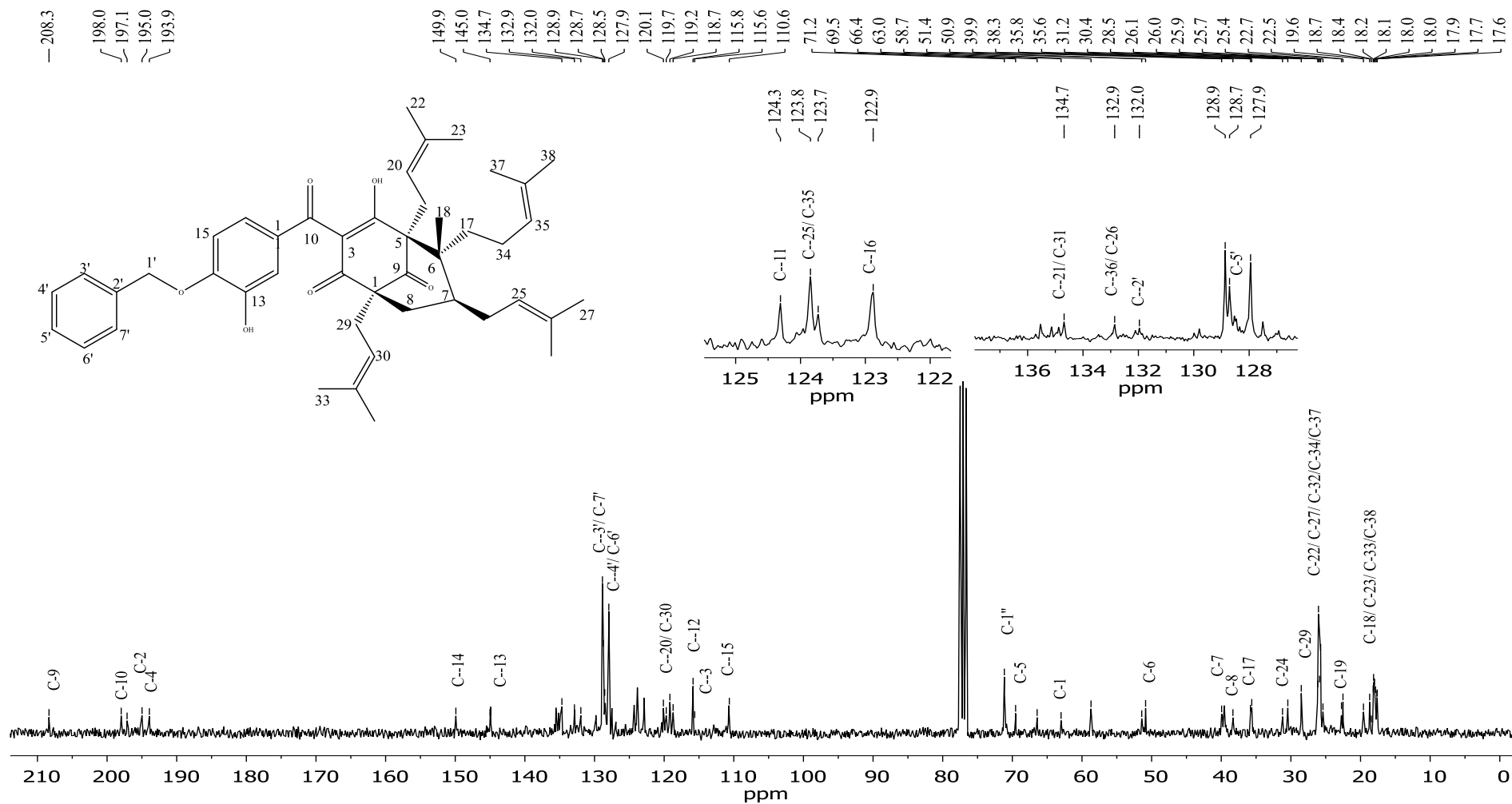


Figura 105: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 1E2.

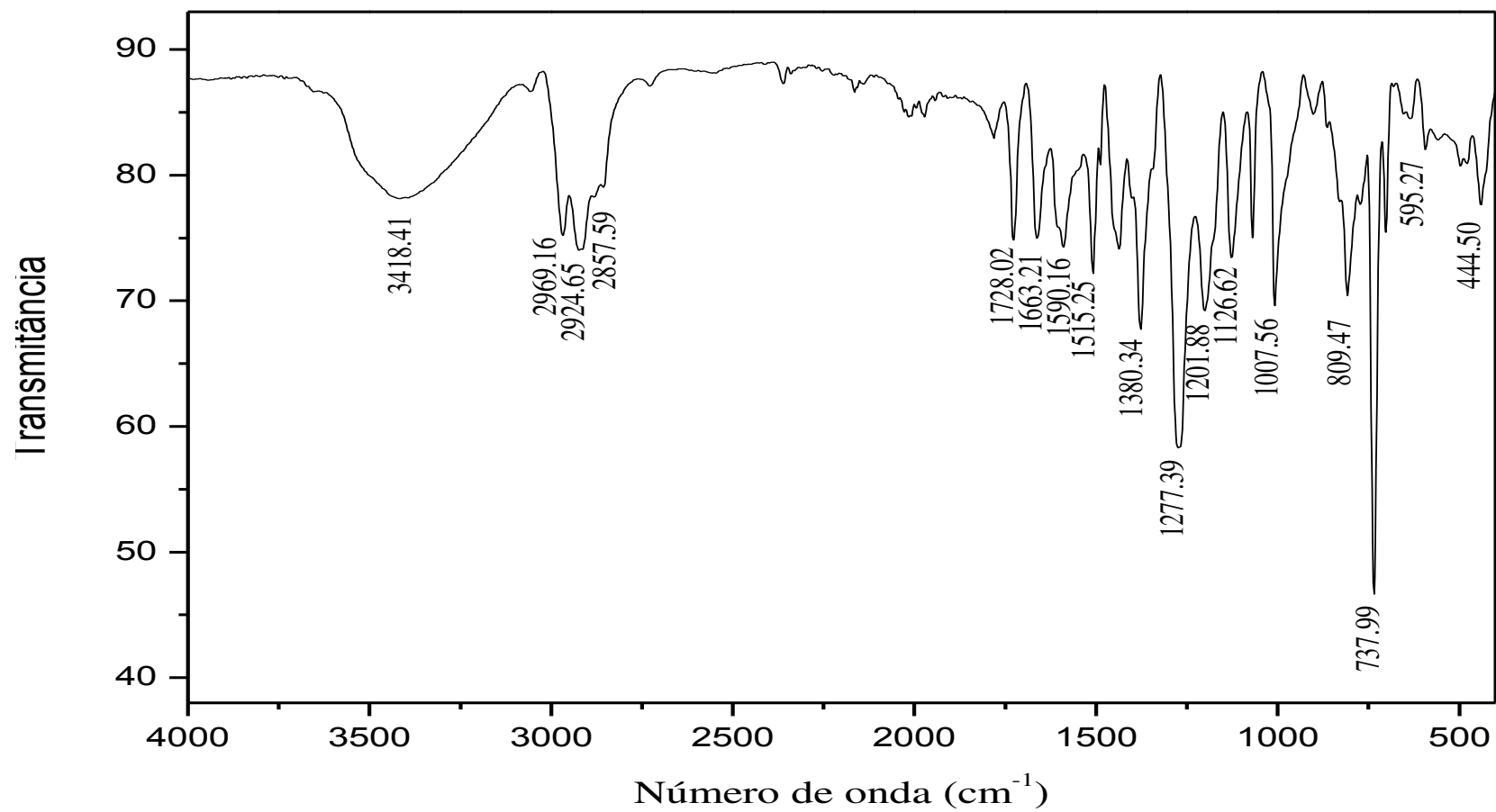


Figura 106: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 1E2.

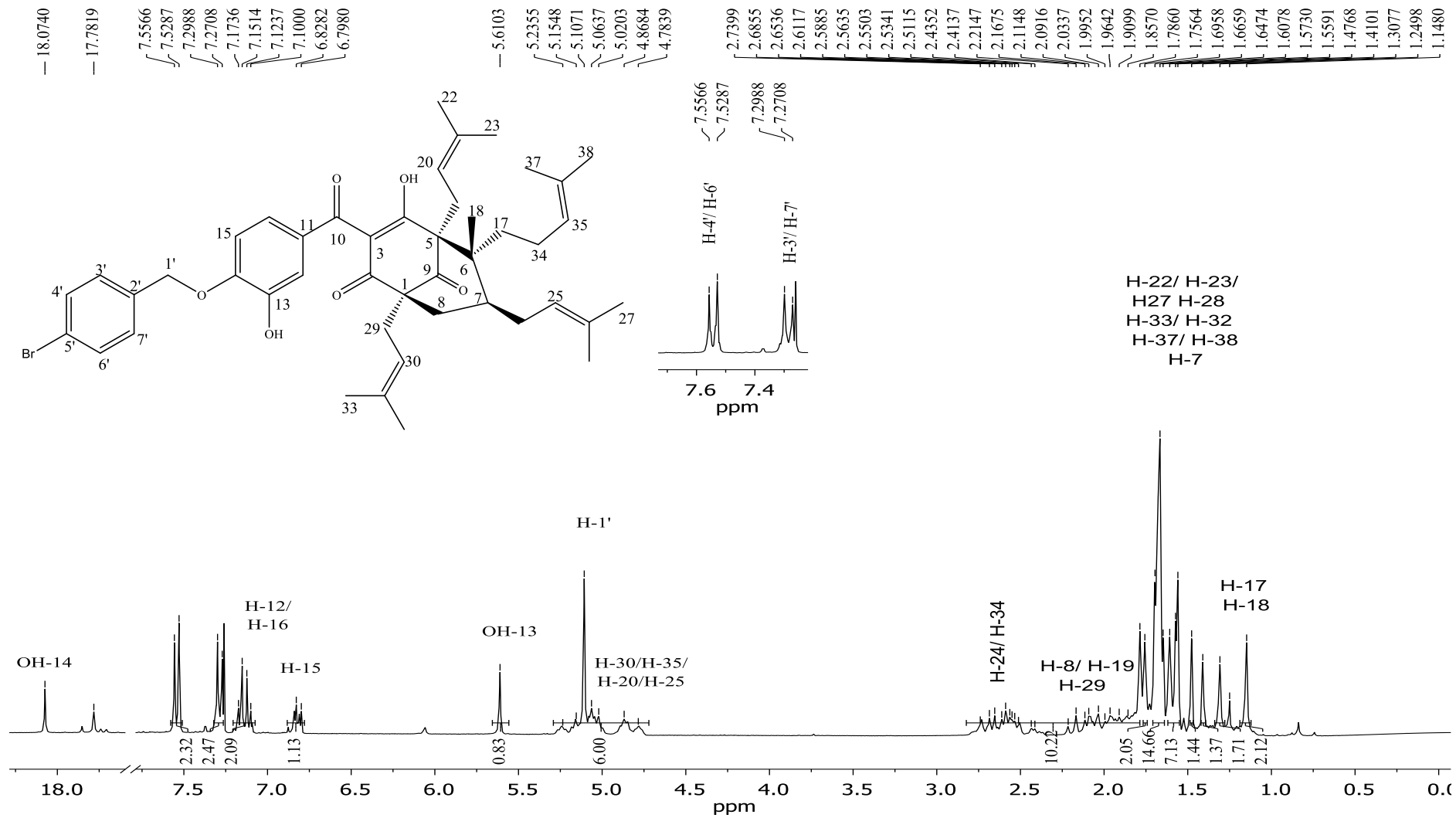


Figura 107: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 1E2.

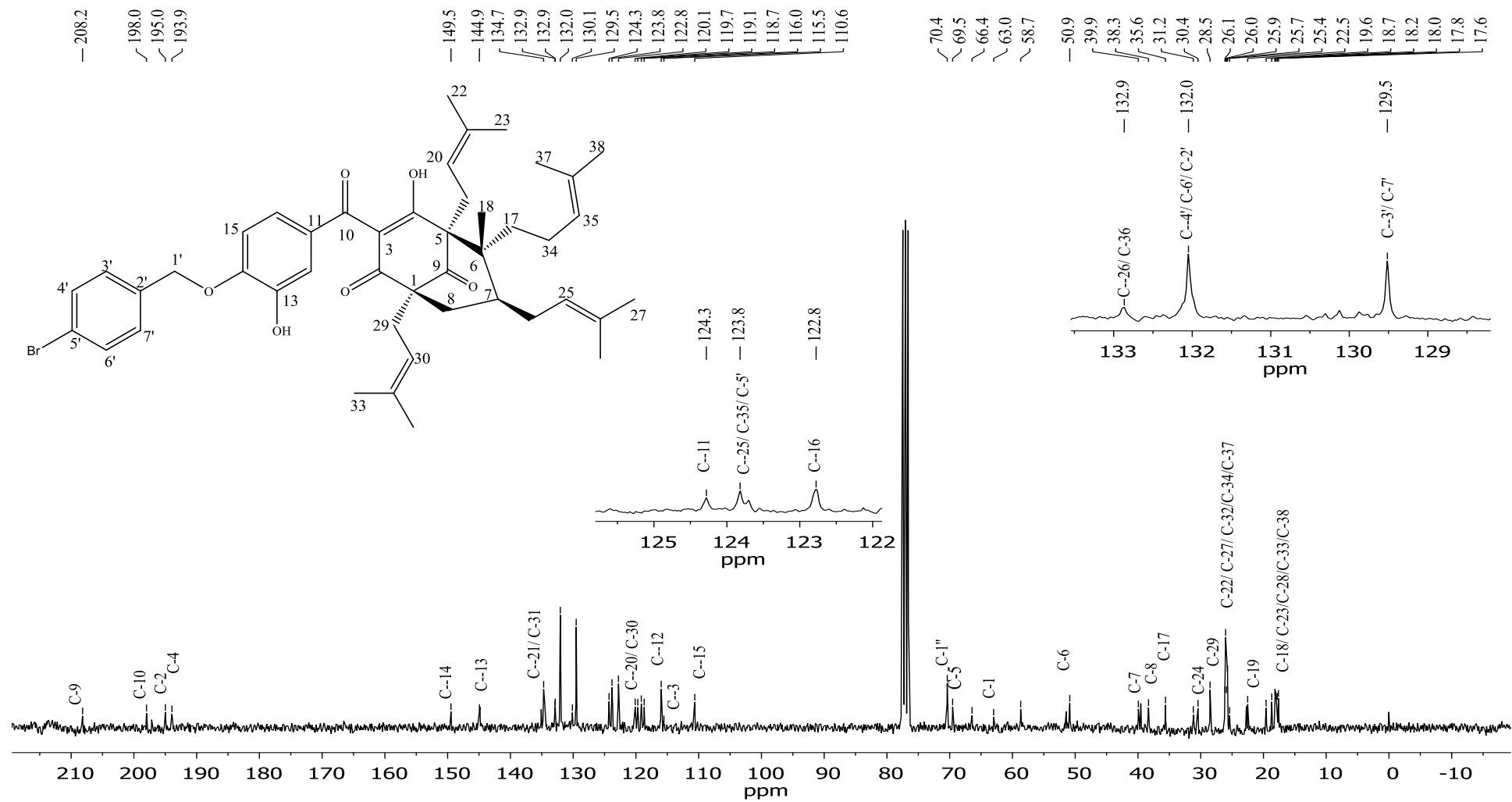


Figura 108: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 1E3.

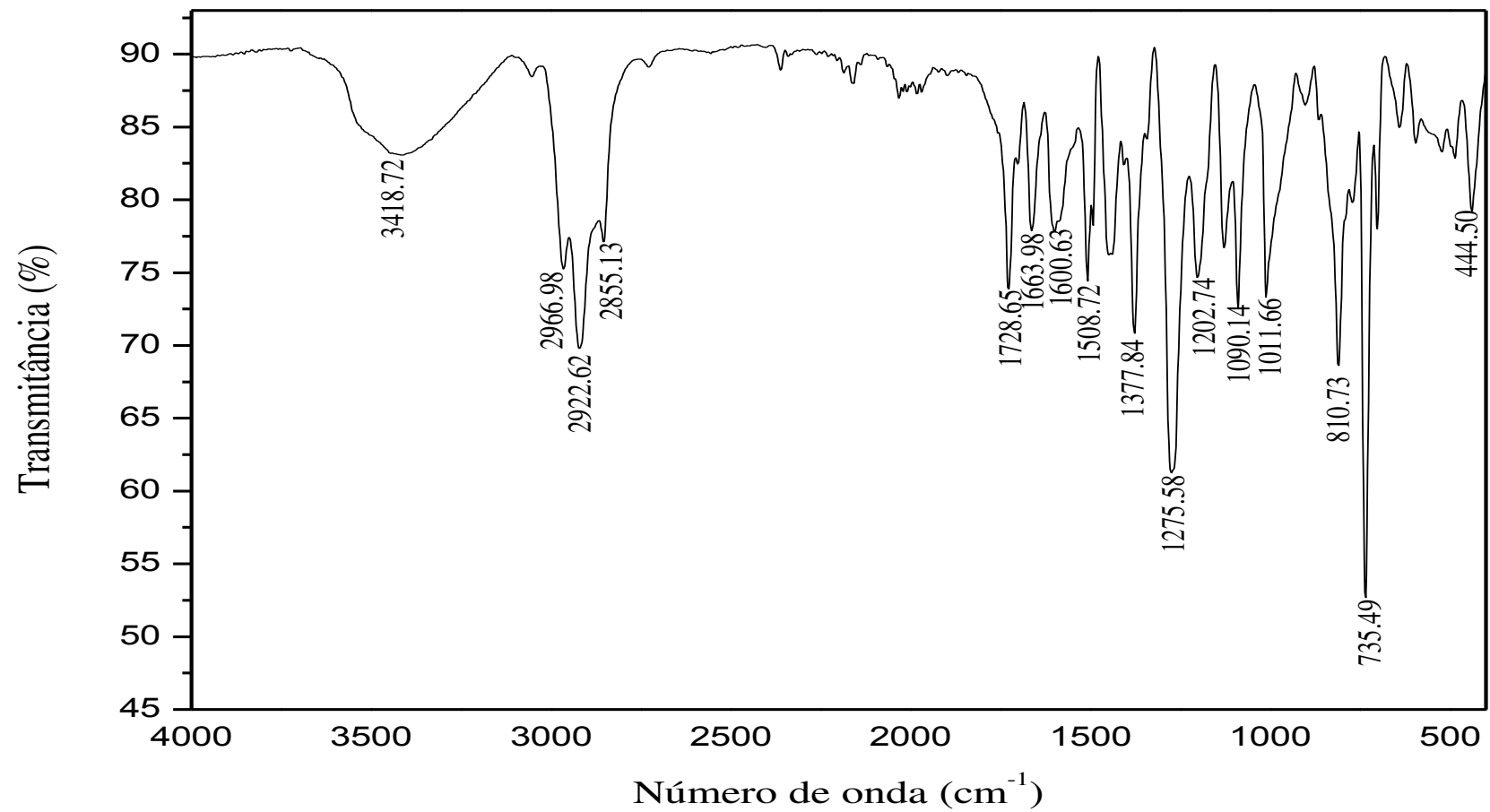


Figura 109: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 1E3.

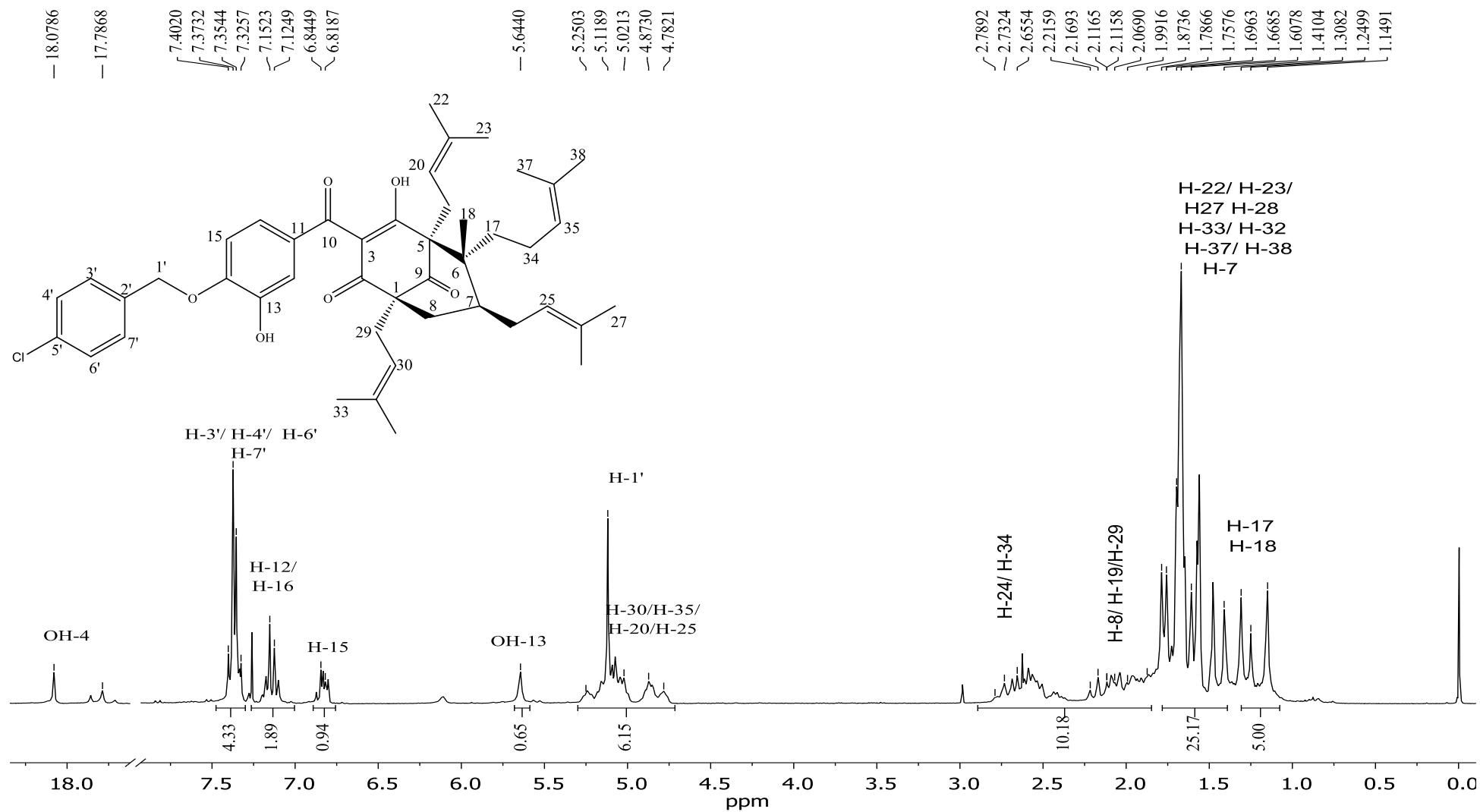


Figura 110: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 1E3.

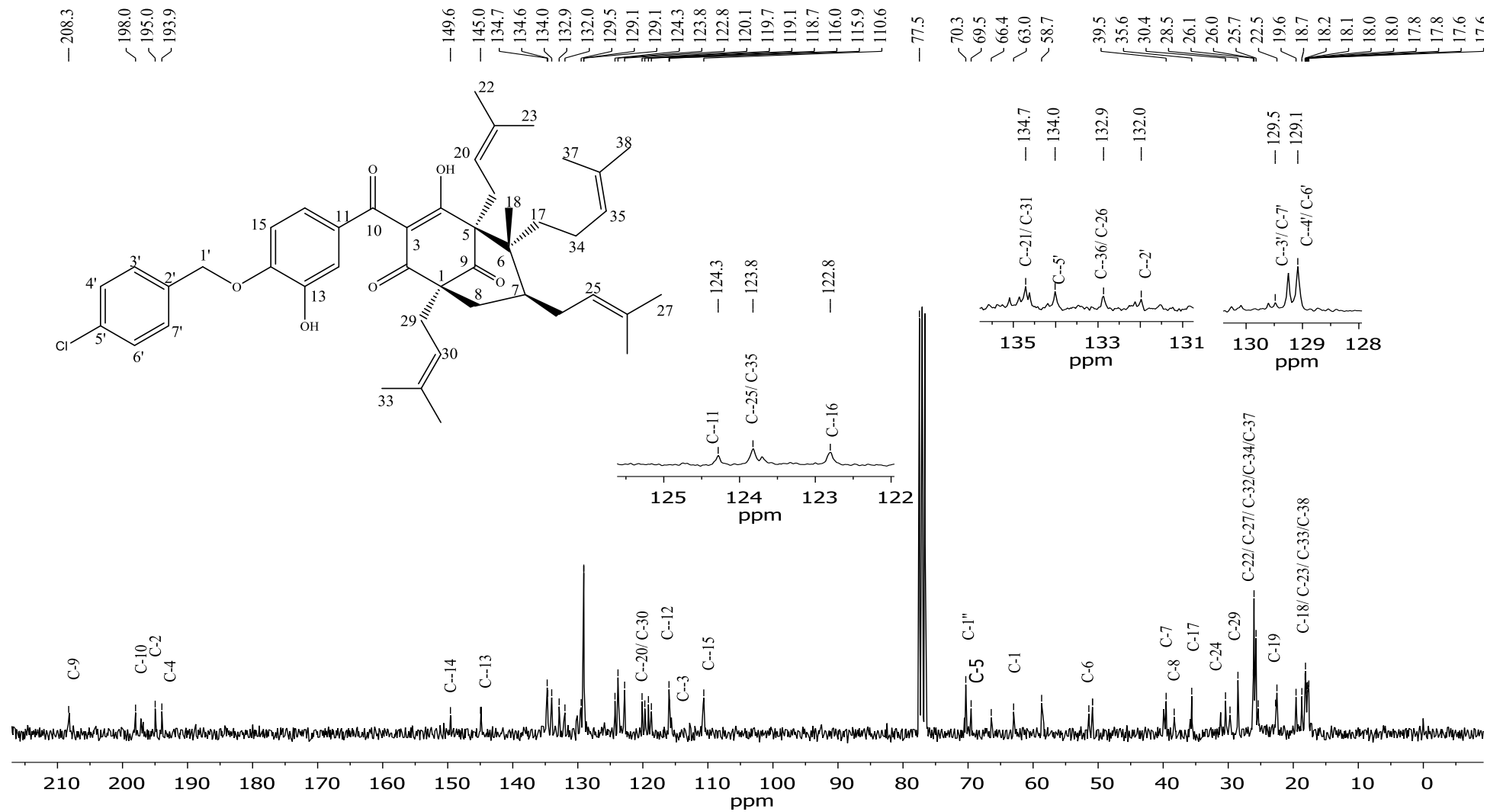


Figura 111: Espectro no Infravermelho (ATR) da fukugetina.

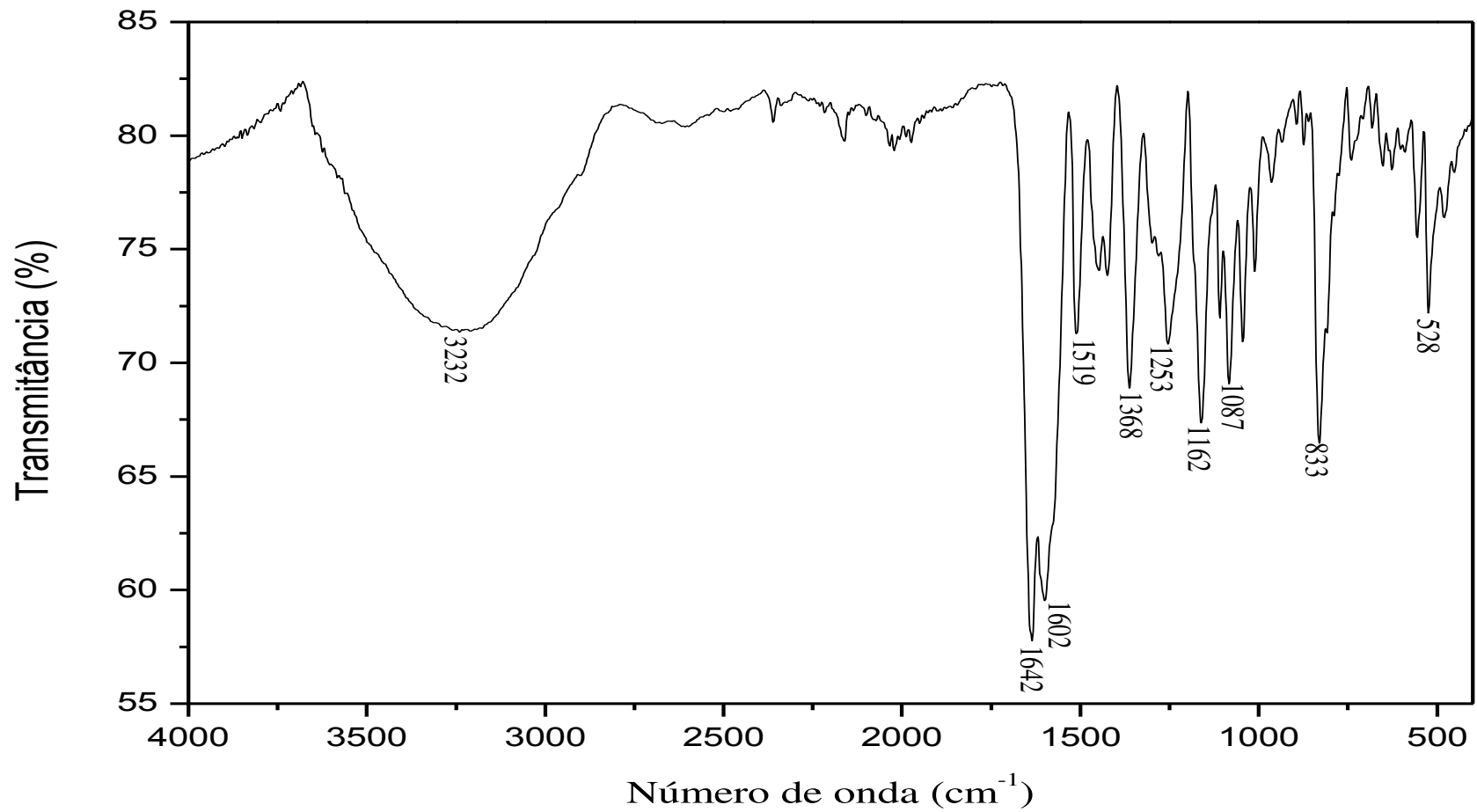


Figura 112: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da fukugetina.

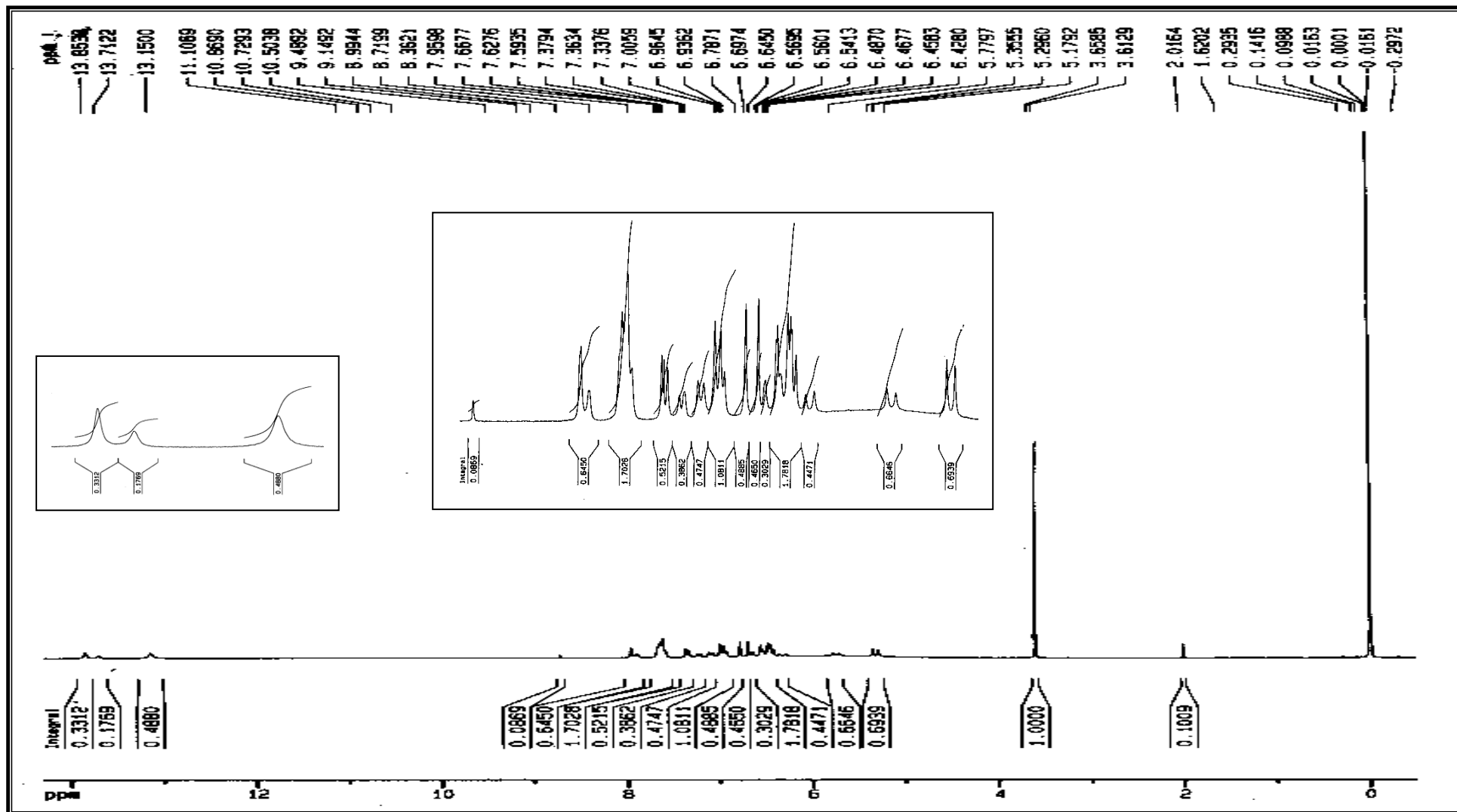


Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) da fukugetina.

