

EUGENIA DE LOS ÁNGELES SÁNCHEZ-JIMÉNEZ

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÁXICA DE
ISOBENZOFURAN-1(3H)- ONAS VIA CATÁLISE HOMOGÊNEA COM
HETEROPOLIÁCIDOS**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2014**

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

T

S211s
2014 Sánchez-Jiménez, Eugenia de Los Angeles, 1988-
Síntese e avaliação da atividade citotóxica de isobenzofuran-
1(3H)-onas via catálise homogênea com heteropoliácidos / Eugenia de
Los Angeles Sánchez-Jiménez. - Viçosa, MG, 2014.
xvii, 104f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Robson Ricardo Teixeira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Química orgânica. 2. Síntese orgânica. 3. Compostos orgânicos.
4. Isobenzofuranonas. 5. Citotóxica. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em
Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 547

EUGENIA DE LOS ÁNGELES SÁNCHEZ-JIMÉNEZ

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÁXICA DE
ISOBENZOFURAN-1(3H)- ONAS VIA CATÁLISE HOMOGÊNEA COM
HETEROPOLIÁCIDOS**

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

APROVADA: 24 de fevereiro de 2014.

Mariana Machado Neves

Márcio José da Silva
(Coorientador)

Elson Santiago de Alvarenga

Adalberto Manoel da Silva

Róbson Ricardo Teixeira
(Orientador)

Dedico esta dissertação a todos os estudantes de pós-graduação que com respeito, dedicação e boa orientação conseguiram se superar após serem subestimados.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a Deus por me permitir chegar até aqui.

À toda a minha família pelo apoio recebido, principalmente aos meus pais, por apoiarem sempre minhas ideias malucas e precipitadas e me motivar a completar minhas metas mesmo que isto signifique estar bem longe de vocês.

Aos meus tios, primos e avós por se preocuparem comigo e me desejarem sempre o melhor. **Papi** muito obrigada por todos os conselhos. Nunca imaginei que a distância iria fortalecer tanto o nosso relacionamento. Estou muito feliz e orgulhosa de ser a sua filha. Obrigada por simplesmente me amar. Eu também amo muito você. **Ma** obrigada por fazer uso da tecnologia só para ficar em contato comigo, por me ouvir muitas vezes sem entender direito nada do que eu falava. Amo você!

Mari obrigada pelo apoio.

Neenee agradeço pelos bate-papos ocasionais, sempre no momento certo para dar uma risadinha bem sutil.

Cero, minha parceira, ainda não sei qual de nós é o adulto (a madrinha pedindo conselhos à afilhada). Adoro ter você na minha vida. Não imagino como seriam as coisas sem você.

Sisi, não sei como resumir 23 anos de amizade, tanta história vivida e por viver sempre ao meu lado nos bons momentos e nos ruins também. Você sempre esteve disposta a me escutar e me motivar quando é necessário. *Til death til us apart 'lil sis!!!!*

Papi Javi e Mami Pecas os melhores pais postiços que alguém pode ter. Agradeço a Deus por ter colocado vocês três no caminho da minha família.

Ao professor **Róbson**, por ser corajoso em me aceitar no seu grupo de pesquisa, por acreditar em mim, quando eu já tinha toda esperança perdida. Obrigada por me levar *from zero to be my own hero*.

Amiii dos anos de chocoaventuras!!! Obrigada pelos conselhos e por me animar sempre que fico chateada, por me tirar fora do MMD, por me motivar a continuar durante todas as minhas tentativas de desistir. Sem dúvida você vai ter sempre um lugar importante no meu coração. Acho que esta experiência não teria sido a mesma sem você. TKM!

Gaby!!! *Mi maesilla boliviana*, minha parceira de corrida; quantas lembranças e gargalhadas. Mesmo que não possamos estar sempre juntas, cada vez que nós encontramos dividimos ótimos momentos. Sem dúvida você faz parte do meu fio vermelho do destino.

Piter, você é o único TPM que gosto. É engraçado como ótimas amizades surgem de maneira inesperada. Obrigada por ser o meu *sensei*, escutar meus dramas e me aconselhar. Mesmo que ainda tenhamos coisas para riscar da lista, vamos ajudar ao peixe para sempre!

Angelicus, minha cunhada bonita, muito obrigada por tudo: por escutar minhas besteiras antes do meio dia, aguentar os meus dramas e ser uma das poucas pessoas no Brasil que se interessou em conhecer realmente quem sou. Obrigada por consegui-lo e não desistir da amizade. Pessoas como você infelizmente estão em processo de extinção. Adorei conhecer você!

Angie, princhi, obrigada por me escutar e ser sempre a minha companhia, por me motivar quando o caminho se complicava. Minha vida sem os seus comentários não teria sido a mesma. Adoro conhecer pessoas que possuem um jeito totalmente oposto ao meu e que oferecem e aceitam uma amizade verdadeira.

Juju, obrigada por me ajudar sempre no *lab*, por sempre me escutar, por me consolar quando sentia que não dava para continuar.

Tiago, meu primeiro amigo no lab. Obrigada por sempre me ajudar e por escutar minhas histórias malucas e engraçadas. Adoro ter perto de mim pessoas como você que têm a capacidade de reconhecer que erram e se desculpem.

Guapita, Mi companheira de festas! Faltou tempo para curtirmos mais festas em Viçosa. Obrigada por fazer do *lab* um lugar um pouco mais placentário.

Aos meus colegas de república: **Pao** obrigada por aguentar as minhas risadas na madrugada, meus choros, meus dilemas amorosos e por tomar conta de mim. **Alex**, obrigada por ser uma das poucas pessoas que tem coragem de assistir a um jogo comigo e por sempre me fazer rir.

Aos meus colegas de laboratório: Adalberto, Fran, Michelle, Poli, Deborah, Marcos, Fabiola, Wagner, Livia e o resto do pessoal do Laboratorio 428 pela ajuda oferecida.

A UFV e a pela bolsa concedida CAPES

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ESQUEMAS.....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIII
CAPÍTULO 1	1
1.1. INTRODUÇÃO.....	1
1.2. ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONAS (FITALIDAS).....	5
1.3. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO	9
1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
AFOULOUS, S.; FERHOUT, H.; RAOELISON E. G.; VALENTIN, A.; MOUKARZEL, B.; COUDERC, F.; BOUAJILA, J. Chemical composition and anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of <i>Cedrelopsis grevei</i> . <i>Food and Chemical Toxicology</i> , v. 56, p. 352-362, 2013.	10
ARNONE, A.; ASSANTE, G.; NASINI, G.; STRADA, S.; VERCESI, A. Cryphonectric acid and other minor metabolites from a hypovirulent strain of <i>Cryphonectria parasitica</i> . <i>Journal of Natural Products</i> , v. 65, p. 48-50, 2002.	10
CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. <i>Organic Chemistry</i> . New York: Oxford University Press Inc. 2001. Chap. 52, p.1468.....	10
DUA, R.; SHRIVASTAVA, S.; SONWANE, S. K.; SRIVASTAVA, S. K. Pharmacological significance of synthetic heterocycles scaffold: a review. <i>Advances in Biological Research</i> , v. 5, p. 120-144, 2011.	10
JOHNSTON, G. A. R. Advantages of an antagonist: bicuculline and other GABA antagonists. <i>British Journal of Pharmacology</i> ,v. 169, p. 328-336, 2013.	10
HUANG, X. Z.; ZHU, Y.; GUAN, X. L.; TIAN, K.; GUO, J. M.; WANG, H. B.; FU, <i>Cephalosporium</i> sp. <i>Molecules</i> , v. 17, p. 4219-4224, 2012.....	10
KHAN, M. T. H.; ATHER, A. Potentials of phenolic molecules of natural origin and their derivatives as anti-HIV agents. <i>Biotechnology Annual Review</i> , v. 13, p. 223-264, 2007G. M. A novel antioxidant isobenzofuranone derivative from fungus	10
.....	11
CAPÍTULO 2	14
2.1. INTRODUÇÃO.....	14

2.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.4.1. Generalidades Metodológicas.....	23
2.5. Conclusões.....	68
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ARANTES, A. C. C.; BIANCHI, M. L. Heteropoliácidos: utilização na produção de biodiesel e bioetanol e reaproveitamento do glicerol. <i>Revista virtual de química</i> , v. 5, p. 959-972, 2013.	69
BARBOSA, L. C. A. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa: Editora UFV, 2007, p. 81.	69
DA PENHA, E. T.; FORNI, J. A.; BIAJOLI, A. F. P.; CORREIA, R. D. Expeditious synthesis of 3,4-dihydroisocoumarins and phthalides using the Heck-Matsuda reaction. <i>Tetrahedron Letters</i> , v. 52, p. 6342-6345, 2011. ...	69
DI MOLA, A.; PALOMBI, L.; MASSA, A. Active methylene compounds in the synthesis of 3-substituted isobenzofuranones, isoindolinones and related compounds. <i>Current Organic Chemistry</i> , v. 16, p. 2302-2320, 2012a.	69
DI MOLA, A.; GOCE, G.; MORE, V.; De CAPRARIIS, P.; FILOSA, R.; MASSA, A. Active methylene compounds in a very effective approach to 3-substituted isobenzofuranones tandem aldol/lactonization reactions. <i>Tetrahedron</i> , v. 68, p. 6146-6151, 2012.....	69
GONÇALVES, C. J.; LENOIR, A. S.; PADARATZ, P.; CORRÊA, R.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V.; BUZZI, F. C. Benzofuranones as potential antinociceptive agents: structure-activity relationships. <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i> , v. 56, p. 120-126, 2012.	69
KANSAWA, C; TERADA, M. Organic-base-catalyzed synthesis of phthalides via highly regioselective intramolecular cyclization reaction. <i>Tetrahedron letters</i> , v. 48, p. 933-935, 2007.	70
KZHEVNIKOV, I. V. Sustainable heterogeneous acid catalysis by heteropoly acids. <i>Journal of Molecular Catalysis A: Chemical</i> , v. 262, p.86-92. 2007. .	70
KZHEVNIKOV, I. V. Catalysts for fine chemicals, vol 2: catalysis by polyoxometalates. Chichester: Wiley.2002	70
KOZHEVNIKOV, I. V. Catalysis by heteropoly acids and multicomponents polyoxometalates in liquid phase reaction. <i>Chemical Reviews</i> , v. 98, p. 171-198.....	70
LANDGE, S; BERRYMAN, M; TOROK, B. Microwave-assisted solid acid-catalyzed one-pot synthesis of isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ones. <i>Tetrahedron Letters</i> , v. 49, p. 4505-4508, 2008.....	70
LIMAYE, R.A; KUMBHAR, V.B; NATU, A.D; PARADKAR, M.V; HONMORE, V.S; CHAUHAN, R.R; GAMBLE, S.P; SARKAR,D. One pot solvent free	

synthesis and in vitro antitubercular screening of 3-Aracylphthalides against <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . <i>Bioorganic and Medicinal chemistry letters</i> , v. 23, p.711-714, 2013.....	70
MAL, D; PAHARI, P; RANJAN DE, S. Regiospecific synthesis of 3-(2,6-dihydroxyphenyl)phthalides: application to the synthesis of isopestacin and cryphonectric acid. <i>Tetrahedron</i> , v. 63, p. 11781-11792, 2007.	70
MIRABDOLBAGHI, R; DUDDING, T. A synthetic route to chiral C ₍₃₎ -functionalized phthalides via a Ag (I)-catalyzed allylation/transesterification sequence. <i>Tetrahedron</i> , v. 69, p. 3287-3292, 2013.	71
PINTO, G. C. A.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; ELGURO, J. <i>European Journal of Organic Chemistry</i> , p. 747-755, 2003	71
POPE, M. T. Heteropoly and Isopoly oxometalates. Berlin, New York and Tokio: Editorial Springer-Verlag, 1983.....	71
RAMBABU, D; KUMAR, P. G; KUMAR, B. D.; KAPAVARAPU, R; RAO, M. V. B.; PAL, M. Pd/C mediated synthesis of (Z)-3-alkylidenephthalides of potencial pharmacological interest. <i>Tetrahedron Letters</i> , v. 54, p. 2989-2995, 2013.	71
TEIXEIRA, R. R.; PEREIRA, W. L.; TOMAZ, D. C.; de OLIVEIRA, F. M.; GIBERTI, S.; FORLANI, G. Synthetic analogues of the natural compound cryphonectric acid interfere with photosynthetic machinery through two different mechanisms. <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> , v. 61, p. 5540-5549, 2013a.....	71
TEIXEIRA, R. R.; BRESSAN, G. C.; PEREIRA, W. L.; FERREIRA, J. G.; de OLIVEIRA, F. M.; TOMAZ, D. C. Synthesis and antiproliferative activity of C-3 functionalized isobenzofuran-1(3H)-ones. <i>Molecules</i> , v. 18, p. 1881-1896, 2013b.	71
ULLYOT, G. E.; STEHLE, J. J.; ZIRKLE, C. L.; SHRINER, R. L.; WOLF, F. J. Analgesics. I. Aminophthalidylalkanes. <i>Journal of Organic Chemistry</i> , v. 10, p. 429-440, 1945.	71
3.1. Introdução.....	72
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	77
3.2.1. Avaliação da atividade citotóxica.....	77
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
3.4. CONCLUSÕES.....	80
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
5. ANEXO	85

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 – Exemplos de fármacos e agroquímicos contendo porções heterocíclicas.....	2
Figura 1.2 - Reação de condensação envolvida na formação do polímero constituinte da Formica®	2
Figura 1.3 - Materiais fotolumiscentes heterocíclicos.....	3
Figura 1.4 – Exemplos de produtos naturais heterocíclicos com diversas atividades biológicas.....	4
Figura 1.5 – Estruturas do núcleo isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-ona e do alcalóide bicuculina.....	5
Figura 1.6 – Exemplos de isobenzofuranonas em acordo com a classificação proposta por LIN e colaboradores (2005).....	6
Figura 1.7 – Estruturas de isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas biologicamente ativas.....	7

CAPITULO 2

Figura 2.1 – Estruturas primária (1a), secundária (1b) e terciária (1c) de Keggin.....	22
Figura 2.2 – Espectro no infravermelho (KBr) do composto 1.....	45
Figura 2.3 – Espectro de RMN de ¹ H (CD ₃ OD, 300 MHz) do composto 1....	46
Figura 2.4 – Espectro de RMN de ¹³ C (CD ₃ OD, 75 MHz) do composto 1.....	47
Figura 2.5 – Espectro no infravermelho (KBr) do composto 7.....	53
Figura 2.6– Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) do composto 7.....	54
Figura 2.7– Espectro de RMN de ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) do composto 7	55
Figura 2.8- Espectro no infravermelho (KBr) do composto 10.....	58
Figura 2.9 – Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) do composto 10.....	59
Figura 2.10 – Espectro de RMN de ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) do composto 10.....	62
Figura 2.11 – Espectro de massas do composto 10.....	63
Figura 2.12 – Espectro no IV (KBr) do composto 11.....	65
Figura 2.13 – Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) do composto 11....	66
Figura 2.14 - Espectro de RMN de ¹³ C (CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆ , 75 MHz)do composto 11.....	67

CAPITULO 3

Figura 3.1 - Estruturas das isobenzofuranonas 13 e 14 derivadas dos ácidos anarcádicos.....	76
Figura 3.2 - Isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas que apresentam atividade citotóxica.....	77

5. ANEXO

Página

Figura 5.1- Espectro no infravermelho (KBr) do composto 2.....	87
Figura 5.2 – Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) do composto 2. .	88
Figura 5.3 – Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) do composto 2. .	89
Figura 5.4 – Espectro no infravermelho (KBr) do composto 3	90
Figura 5.5 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz) do composto 3.	91
Figura 5.6 – Espectro de RMN de ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz) do composto 3	92
Figura 5.7 – Espectro no infravermelho (KBr) do composto 4	93
Figura 5.8 – Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) do composto 4. .	94
Figura 5.9 – Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) do composto 4. .	95
Figura 5.10 – Espectro no infravermelho (KBr) do composto 5.	96
Figura 5.11 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz) do composto 5	97
Figura 5.12 – Espectro de RMN de ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz) do composto 5.....	98
Figura 5.13 – Espectro no infravermelho (KBr) do composto 6.	99
Figura 5.14– Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 6.....	100
Figura 5.15 – Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 6.....	101
Figura 5.16 – Espectro no infravermelho (KBr) do composto 8.	102
Figura 5. 17 – Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) do composto 8.	103
Figura 5.18 – Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) do composto 8	104
Figura 5.19 – Espectro de massas do composto 9	105

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 – Dados relativos às sínteses dos compostos 2-7.....27

CAPITULO 3

Tabela 3.1 – Porcentagem de inibição obtidos nos ensaios de citotoxicidade dos compostos 7-11.....80

Tabela 3.2 - Resultados obtidos (IC_{50}) nos ensaios de citotoxicidade dos compostos 7-11.....81

LISTA DE ESQUEMAS

Página

CAPÍTULO 1

Esquema 1.1- Síntese de um derivado da rugulosina descrita por Nicolau e colaboradores.....	8
---	---

CAPÍTULO 2

Esquema 2.1- Síntese de (<i>Z</i>)-3-alkilideno isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas utilizando Pd/C como catalisador.	16
Esquema 2.2- Síntese de fitalidas quirais.	16
Esquema 2.3- Síntese de isobenzofuranonas a partir de um sal de diazônio.	17
Esquema 2.4- Síntese de isobenzofuranonas a partir do ácido 2-formil benzoico.	18
Esquema 2.5 - Síntese de isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas via condensação/lactonização em meio básico.	18
Esquema 2.6 - Síntese de alquilnitro isobenzofuranonas.	19
Esquema 2.7 - Síntese de isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas segunda metodologia descrita por KANAZAWA e TERADA (2007).....	19
Esquema 2.8- Reação do ácido 2-formil benzoico e 5,5-dimetilcicloexano-1,3-diona (dimedona) promovida por DBU (MAL <i>et al.</i> , 2007).	20
Esquema 2.9- Síntese de isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas segundo metodologia descrita por LANDGE <i>et al</i> (2008).	20
Esquema 2.10- Síntese de 3-arylitalidas (LIMAYE <i>et al.</i> , 2013).	21
Esquema 2.11- Reação entre ácido 2-formil benzoico e dimedona.	38
Esquema 2.12- Proposta mecanística para a formação do composto 1.	48
Esquema 2.13- Energias relativas do LUMO do grupo carbonila (protonado e não protonado) e HOMO do nucleófilo.	49
Esquema 2.14- Síntese dos compostos 2-7.	49
Esquema 2.15- Síntese dos derivados metoxilados 8, 9 e 10.	56
Esquema 2.16- Síntese do composto 11.	63

LISTA DE ABREVIATURAS

δ Deslocamento químico

^{13}C RMN Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

d Duplete

dd Duplo duplete

DBU Diazobicycloundeceno

DMSO Dimetil sulfóxido

heptHepteto

^1H RMN Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

Hz Hertz

IV Infravermelho

J Constante de acoplamento escalar

LHMDS Hexametildisilazida de lítio

m Multiplete

MAS Ácido metanosulfônico

MHz Megahertz

m/m massa/massa

m/v massa/volume

OMOM Metoximetil éter

P.A. Para análise

ppm Partes por milhão

PTSA Ácido *p*-toluenosulfônico

s simpleto

sl simpleto largo

t tripleto

td

tripleto duplo

t.a. Temperatura ambiente

T_f Temperatura de Fusão

THF Tetraidrofurano

v/v volume/volume.

RESUMO

SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, Eugenia de Los Ángeles, M.Sc., Universidade Federal de Vicosa, fevereiro de 2014. **Síntese e avaliação da atividade citotóxica de Isobenzofuran-1(3H)-onas via catálisis homogênea com heteropoliácidos.** Orientador: Róbson Ricardo Teixeira. Co-Orientadores: Márcio José da Silva e Gustavo Costa Bressan.

Os heterociclos desempenham papel importante na química orgânica. As isobenzofuranonas ou fitalidas são heterociclos que possuem como característica estrutural a presença de um anel benzênico fundido a um anel γ -lactônico. Estes compostos possuem uma ampla gama de atividades biológicas. Em particular, isobenzofuran-1(3H)-onas C-3 funcionalizadas apresentam atrativas bioatividades importantes para a terapêutica de diversas patologias. Devido, em parte, às suas atividades biológicas, essa classe de substâncias vem atraindo a atenção de diversos grupos de pesquisa, resultando no desenvolvimento de diversas metodologias para sua preparação. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia de síntese de isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas empregando-se catalisadores homogêneos. Os compostos foram preparados via reação de condensação entre o ácido 2-formil benzoico e diferentes compostos carbonilados. Os processos foram catalisados por um heteropoliácido de tungstênio $H_3PW_{12}O_{40}$ (ácido dodecatungstofosfórico). As reações foram realizadas em acetonitrila e os compostos foram obtidos com rendimentos entre 55 e 92%. Os compostos sintetizados foram caracterizados via espectroscopia no IV, espectroscopia de RMN de 1H de ^{13}C e espectroscopia de massa estrutura de vários fármacos e agroquímicos conhecidos comercialmente. Considerando-se exemplos descritos na literatura de isobenzofuranonas que apresentam efeitos citotóxicos contra diferentes linhagens de células tumorais, Foi avaliada a atividade citotóxica de alguns dos compostos sintetizados contra a linhagem de célula tumoral melanoma (B16). Dentre os compostos

avaliados, um dos derivados foi capaz de reduzir a viabilidade celular da linhagem melanoma (B16), em nível moderado.

ABSTRACT

SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, Eugenia de Los Ángeles, M.Sc., Universidade Federal de Vicosa, February 2014. **Synthesis and evaluation of cytotoxicity of isobenzofuran-1(3*H*)-ones using homogeneous catalysis with heteropoliacids.** Advisor: Róbson Ricardo Teixeira. Co-Advisors: Márcio José da Silva and Gustavo Costa Bressan.

Heterocycles play an important role in several areas of scientific knowledge. The isobenzofuran-1(3*H*)-ones (phthalides) are heterocyclic compounds possessing a γ -lactone fused to an aromatic ring. These compounds present a variety of biological properties. In particular, C-3 functionalized isobenzofuranones present several bioactivities important from the pharmaceutical standpoint. The compounds have attracted the attention of several research groups resulting in the development of several synthetic methodologies for the preparation. The present investigation was aimed to develop a homogeneous catalyzed process to prepare isobenzofuranones. A series of C-3 functionalized isobenzofuranones were synthesized via condensation reactions between 2-formyl benzoic acid and different carbonylated compounds. The reactions were run in acetonitrile, catalyzed by $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ (dodecatungstophosphoric acid), and the products were obtained with 55-92% synthetic yields. The identity of the synthesized compounds was confirmed upon IR, one-dimensional NMR (^1H and ^{13}C) as well as mass spectrometry analyses. Considering previous reports in the literature about cytotoxicity of isobenzofuranones, some derivatives had their cytotoxicity evaluated against melanoma (B16) cancer cell line. One derivative was capable of interfering with cell viability, albeit its effect was only moderate.

CAPÍTULO 1

APRESENTAÇÃO

1.1. INTRODUÇÃO

As substâncias heterocíclicas (ou heterociclos) possuem como característica estrutural a presença de ciclos contendo um ou mais heteroátomos. Uma grande variedade de átomos, como N, O, S, Se, P, Si, B e As pode ser incorporada à estrutura dos anéis. Os heteroátomos mais comumente encontrados nessas substâncias são N, O e S.

Os heterociclos são uma classe de substâncias de grande importância, abrangendo mais da metade das substâncias orgânicas conhecidas. Eles desempenham papel importante em química orgânica (DUA *et al.*, 2011). Um grande número de fármacos e agroquímicos possui anéis heterocíclicos em sua estrutura, alguns deles mostrados na Figura 1.1 (p.2). Na indústria farmacêutica mais de 60% dos fármacos disponíveis correspondem a substâncias heterocíclicas (MENEGATTI *et al.*, 2001).

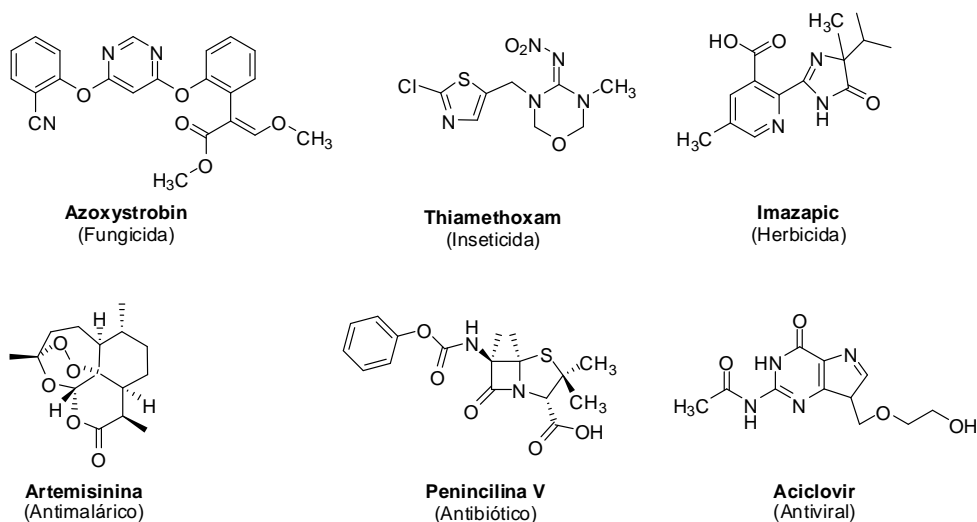
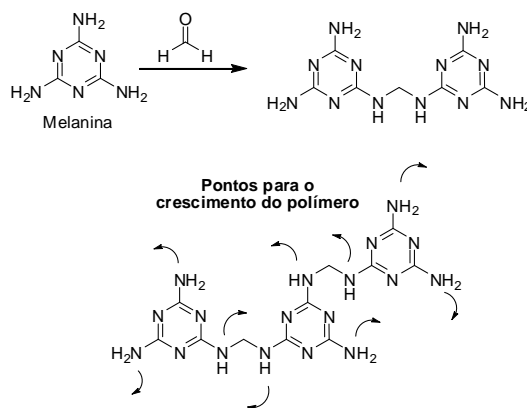


Figura 1.1– Exemplos de fármacos e agroquímicos contendo porções heterocíclicas.

Na química de materiais os heterociclos possuem relevância. Por exemplo, a resina melamínica, utilizada na fabricação de laminados como a conhecida Formica[®], corresponde a um polímero resultante da reação de condensação entre a triazina melanina e formaldeído (CLAYDEN *et al.*, 2001), Figura 1.2.



Fonte: CLAYDEN *et al.*, 2001, p.1468.

Figura 1.2- Reação de condensação envolvida na formação do polímero constituinte da Formica[®].

O 2,5-diariltiofeno e 2,5-diariltiazol, cujas sínteses e estruturas estão apresentadas na Figura 1.3, são exemplos de materiais fotoluminescentes de natureza heterocíclica (MASUI *et al.*, 2004).

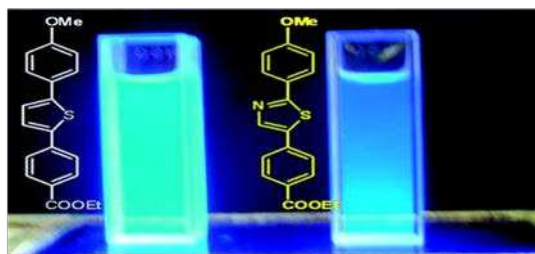
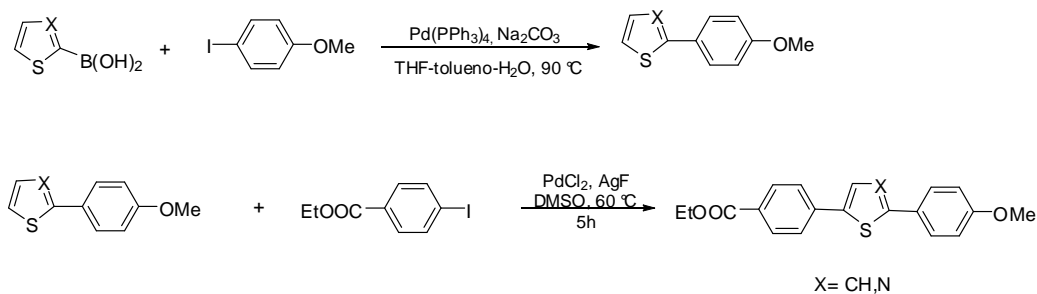


Figura 1.3- Materiais fotoluminescentes heterocíclicos.

Diversos corantes, como a malveína, possuem porções heterocíclicas. Vários aditivos e modificadores empregados na indústria química possuem natureza heterocíclica. Os heterociclos também são parte integrante de vários produtos naturais com diversas atividades biológicas, tais como antibacteriana (TALONTSI *et al.*,2013), antifúngica (WANG *et al.*, 2013b), tripanomicida (SULSENA *et al.*, 2011), leishmanicida (KYRIAZIS, 2013), anti-inflamatória (AFOULOUS,*et al.*,2013), antitumoral (MARCOS,*et al.*, 2012), anti-HIV(KHAN e AHTER, 2007), inseticida(WANG *et al.*, 2013a), entre outras (Figura 1.4,p. 4).

Cabe ainda destacar que várias biomoléculas como os carboidratos, aminoácidos, ácidos nucleicos e diversas substâncias envolvidas na miríade de processos da maquinaria celular correspondem a compostos heterocíclicos (NELSON e COX, 2004).

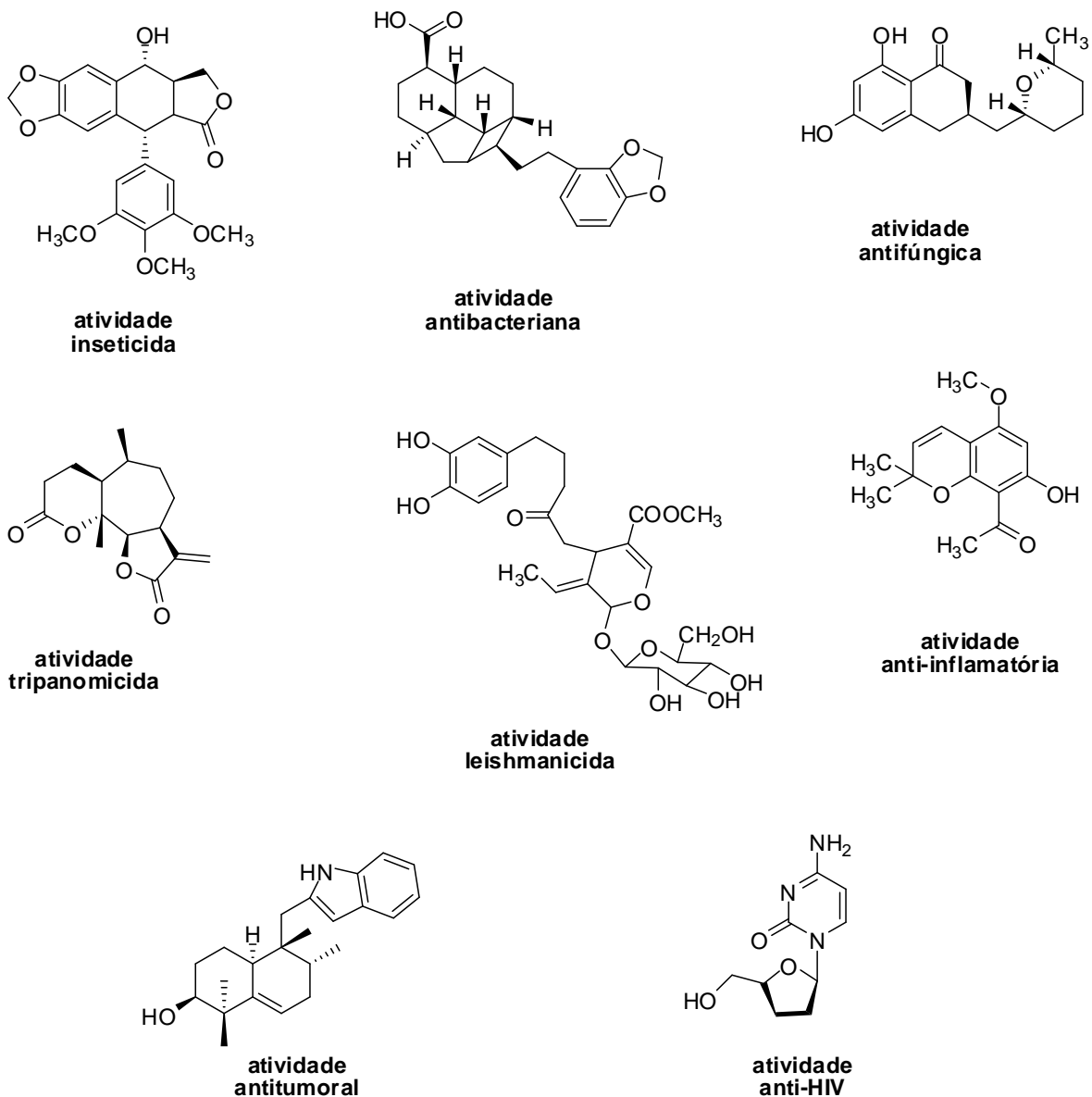


Figura 1.4– Exemplos de produtos naturais heterocíclicos com diversas atividades biológicas.

1.2. ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONAS (FITALIDAS)

Dentre as diferentes classes de heterociclos, as isobenzofuran-1(3H)-onas ou fitalidas possuem como característica estrutural a presença de um anel benzênico fundido a um anel γ -lactônico (Figura 1.5). Esse tipo de unidade é parte integrante da estrutura de vários compostos de origem natural ou sintética, como o alcalóide convulsivante bicuculina, uma substância que vem sendo investigada desde o primeiro relato de sua atividade biológica como antagonista dos receptores GABA (JOHNSTON, 2013).

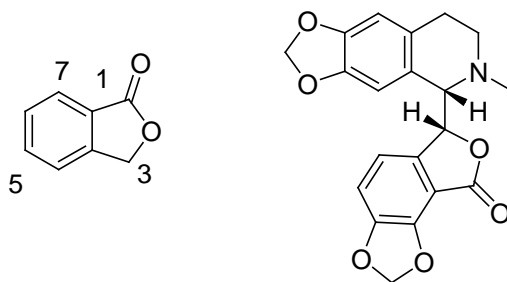
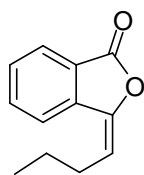


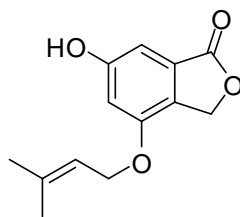
Figura 1.5 – Estruturas do núcleo isobenzofuran-1(3H)-ona e do alcalóide bicuculina.

As fitalidas de origem natural têm sido isoladas de plantas, fungos e bactérias. São conhecidos mais de 180 compostos pertencentes a esta classe, sendo que mais de 140 foram isolados de 200 tipos diferentes de plantas (LIN *et al*, 2005). Segundo LIN e colaboradores (2005), as fitalidas oriundas de espécies de plantas podem ser divididas em quatro tipos de acordo com a estrutura química: isobenzofuranonas substituídas no carbono 3 (I); sem a presença de substituintes em C-3 (II); fitalidas

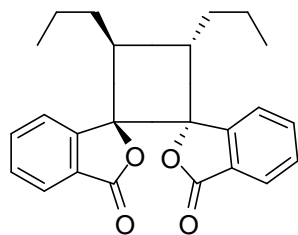
diméricas (III); e fitalidas contendo grupos isoquinolina (IV), Figura 1.6 (p.6).



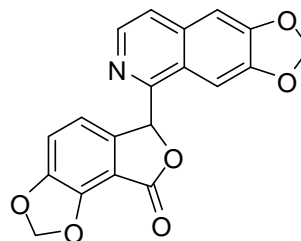
Exemplo de fitalida do tipo I



Exemplo de fitalida do tipo II



Exemplo de fitalida do tipo III



Exemplo de fitalida do tipo IV

Figura 1.6 – Exemplos de isobenzofuranonas em acordo com a classificação proposta por LIN e colaboradores (2005).

As isobenzofuran-1(3*H*)-onas apresentam um amplo espectro de atividades biológicas, tais como antianginosa, anticonvulsivante, antiplaquetária, relaxante muscular (LIN *et al.*, 2005), fitotóxica (ARNONE *et al.*, 2012), antioxidante (HUANG *et al.*, 2012), antiproliferativa (LOGRADO *et al.*, 2010) (Figura 1.7, p. 7).

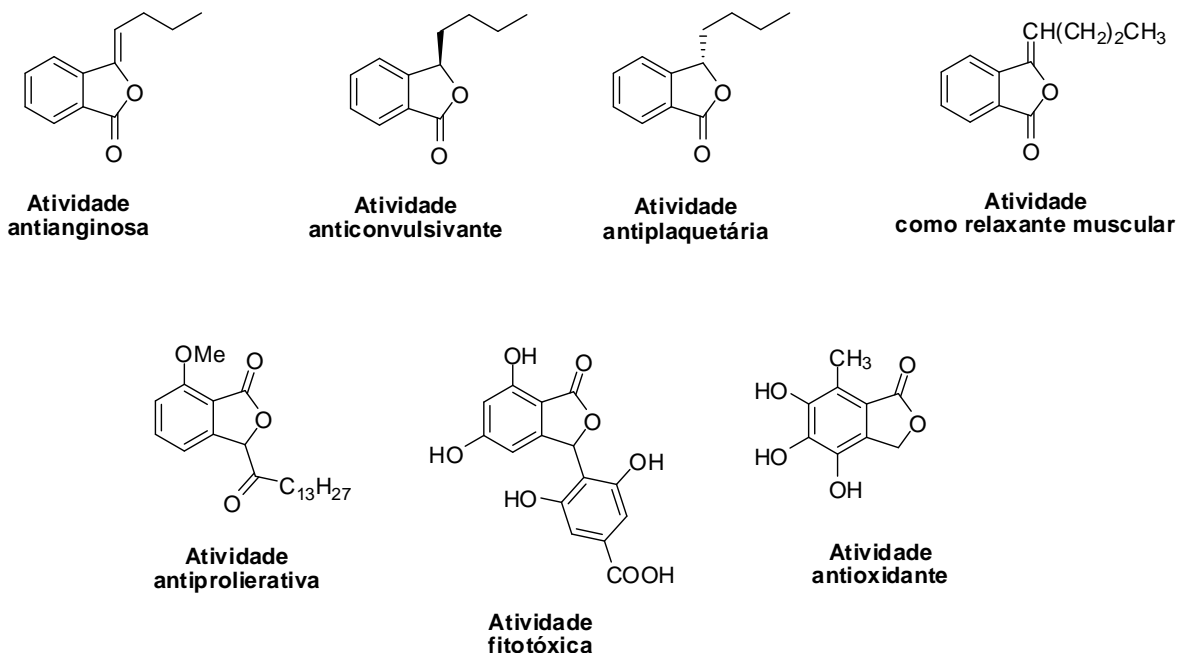
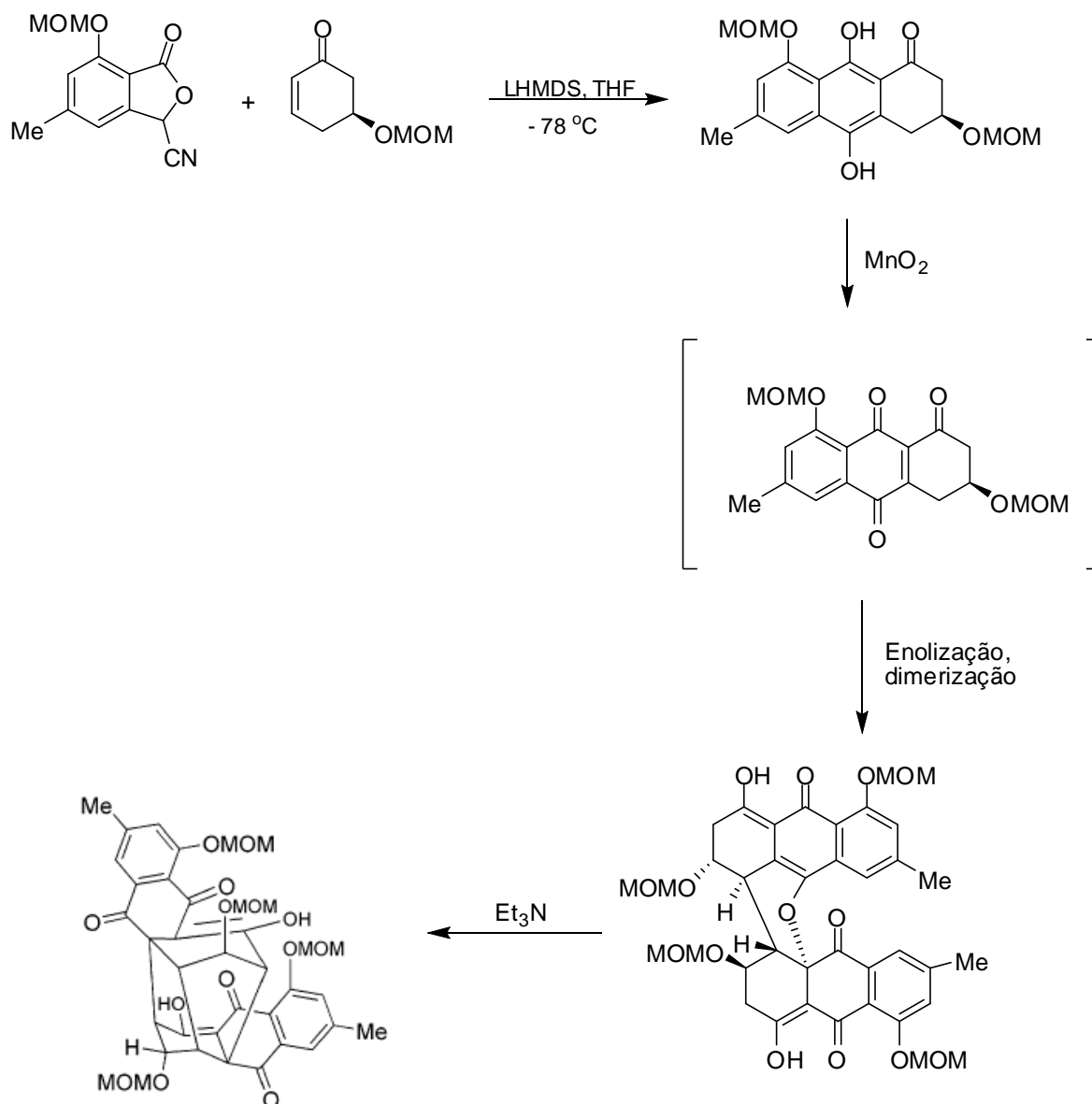


Figura 1.7 – Estruturas de isobenzofuran-1(3H)-onas biologicamente ativas.

Além de apresentarem diversas atividades biológicas, as isobenzofuranonas são importantes intermediários em processos de síntese (MAL e PAHARI, 2007). Por exemplo, na síntese de um derivado da rugulosina Nicolaou e colaboradores demonstraram que reação entre a cetona α,β -insaturada e a 3-ciano isobenzofuranona (Esquema 1.1, p.8) na presença de LHDMS resulta na formação de uma diidroquinona. Sem ser purificada, esta diidroquinona foi submetida a um processo de oxidação-dimerização na presença de MnO_2 . O produto dimerizado foi, então, tratado com Et_3N para fornecer o derivado da rugulosina (NICOLAU *et al.*, 2005; NICOLAU *et al.*, 2007).



Esquema 1.1 - Síntese de um derivado da rugulosina descrita por Nicolau e colaboradores.

1.3. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

As diferentes atividades biológicas descritas para as isobenzofuran-1(3*H*)-onas têm despertado o interesse de químicos orgânicos com respeito a essa classe de compostos. Como consequência desse fato, diversas metodologias têm sido desenvolvidas, conforme será descrito no Capítulo 2, para a preparação de fitalidas. Entretanto, um rigoroso levantamento bibliográfico mostrou que não há ainda descrita uma metodologia que use heteropoliácidos como catalisadores homogêneos para a preparação de isobenzofuran-1(3*H*)-onas. Assim, descreve-se neste trabalho o desenvolvimento de um processo para a síntese de fitalidas C-3 funcionalizadas, utilizando-se catalisadores heteropoliácidos em fase homogênea. Devido ao interesse do grupo de pesquisa na atividade antiproliferativa de fitalidas C-3 funcionalizadas (TEIXEIRA *et al.*, 2013), realizou-se ainda uma avaliação da atividade biológica de algumas das isobenzofuranonas sintetizadas.

1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFOULOUS, S.; FERHOUT, H.; RAOELISON E.G.; VALENTIN, A.; MOUKARZEL, B.; COUDERC, F.; BOUJILA, J. Chemical composition and anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of *Cedrelopsis grevei*. *Food and Chemical Toxicology*, v.56, p.352-362, 2013.
- ARNONE, A.; ASSANTE, G.; NASINI, G.; STRADA, S.; VERCESI, A. Cryphonectric acid and other minor metabolites from a hypovirulent strain of *Cryphonectria parasitica*. *Journal of Natural Products*, v. 65, p. 48-50, 2002.
- CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. *Organic Chemistry*. New York: Oxford University Press Inc. 2001. Chap. 52, p.1468.
- DUA, R.; SHRIVASTAVA, S.; SONWANE, S.K.; SRIVASTAVA, S.K. Pharmacological significance of synthetic heterocycles scaffold: a review. *Advances in Biological Research*, v.5, p. 120-144, 2011.
- JOHNSTON, G.A.R. Advantages of an antagonist: bicuculline and other GABA antagonists. *British Journal of Pharmacology*, v.169, p. 328-336, 2013.
- HUANG, X.Z.; ZHU, Y.; GUAN, X.L.; TIAN, K.; GUO, J.M.; WANG, H.B.; FU, *Cephalosporium* sp. *Molecules*, v. 17, p. 4219-4224, 2012.
- KHAN, M. T. H.; ATHER, A. Potentials of phenolic molecules of natural origin and their derivatives as anti-HIV agents. *Biotechnology Annual Review*, v. 13, p. 223-264, 2007. G.M.A novel antioxidant isobenzofuranone derivative from fungus

KYRIAZISA, J.D.; ALIGIANNISB, N; POLYCHRONOPOULOSB,P.; SKALTSOUNISB, A.; DOTSIKAA, E. Leishmanicidal activity assessment of olive tree extracts. *Phytomedicine*,v. 20, p.275-281, 2013.

LIN, G.;CHAN,S. S. K.; CHUNG,H.; LI,S.*Chemistry and biological activities of naturally occouring phthalides*. In: RAHMAN, Attar-ur. (Ed.). *Studies in natural products chemistry*. Elsevier: Amsterdam, v. 32,p. 611–669, 2005.

LOGRADO, L.P. L.; SANTOS, C.O.; ROMEIRO, L.A.S.; COSTAC, A.M.; FERREIRA, J.R.O.; CAVALCANTI, B.C.; MORAES,M.; COSTA-LOTUFO, L.V.; PESSOA, C.; DOS SANTOS, M.L. Synthesis and cytotoxicity screening of substituted isobenzofuranones designed from anacardic acids. *European Journal of Medicinal Chemistry*,v.45, p.3480-3489, 2010.

MAL, D.; PAHARI, P. Recent advances in the Hauser Annulation. *Chemical Reviews*, v. 107, p. 1892-1918,2007.

MASUI, K.; MORI, A.; OKANO, K.; TAKAMURA, K.; KINOSHITA, M.; IKEDA,T. Synthesis and properties of donor-acceptor-type 2,5-diarylthiophene and 2,5-diarythiazole. *Organic Letters*, v. 6, p.2011-2014, 2004.

MARCOS, I.S.; MOROA, R.F.; COSTALES, I.; BASABEA, P.; DIEZ, D.; MOLLINEDO, F; URONES, J.G. Synthesis of 12-epi-ent-polyalthenol

- an antitumour indole sesquiterpene alkaloid. *Tetrahedron*, v. 68, p. 7932-7940. 2012.
- MENEGATTI,R; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO,E. A importância da síntese de fármacos. *Química Nova*, v.3, p.16-22, 2001.
- NICOLAOU, K.C.; LIM, Y.H.; PAPAGEORGIOU, C.D.; PIPER, J.L. Total synthesis of (+) rugulosin and (+) -2,2'-epi-cytoskyrinsA through cascade reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 117, p.8131-8135, 2005.
- NICOLAOU, K.C.; LIM, Y.H.; PIPER, J.L.; PAPAGEORGIOU, C. D. Total syntheses of 2,2'-epi-cytoskyrin A, rugulosin, and the alleged structure of rugulosin. *Journal of the American Chemical Society*. v. 129, p. 4001-4013, 2007.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger - Princípios de Bioquímica*. São Paulo Sarvier, Capítulo: 19, 2004.
- STROBEL, G.; FORD, E.; VORAPONG, J.; HAPPER, J.K.; ARIF, A.M.; GRANT, D.M.; FUNG, P.C.V.; CHAU, R.M.V. Isopestacin, an isobenzofuranone from *Pestalotiosis* microspore, possessing antifungal and antioxidant activities. *Phytochemistry*, v.60, p. 170-183, 2002.
- SULSENA, V.; FRANKB, F.M.; CAZORLAB, S.I.; BARRERAC, P; FREIXAD, B; VILAD, R; SOSAC, M.A.; MALCHIODIB, E.L.; MUSCHIETTIA, L.V.; MARTINOVA, V.S. Psilostachyin C: a natural compound with trypanocidal activity. *Internacional Journal of Antimicrobial Agents*,v. 37 p.536-543, 2011.

- TALONTSI, F.M.; LAMSHOFT, M; BAUER, J.O.; RAZAKARIVONY, A.A.; ANDRIAMIHAJA, B.; STROHMANN, C.; SPITELLER, M. Antibacterial and Antiplasmodial Constituents of *Beilschmiedia cryptocaryoides*. *Journal of Natural Products*, v. 76, p. 97-102, 2013.
- TEIXEIRA, R.R.; BRESSAN, G.C.; PEREIRA, W.L.; FERREIRA, J.G.; MARQUES DE OLIVEIRA, F.; THOMAZ, D.C. Synthesis and antiproliferative activity of C-3 functionalized Isobenzofuran-1(3H)-ones. *Molecules*, v. 18 p. 1881-1896, 2013.
- WANG, J.; ZHI, X.; XU, H. Synthesis and insecticidal activity of new deoxypodophyllotoxin-based phenazine analogues against *Mythimma separata* Walker. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 6336-6343, 2013a.
- WANG, X.; RADWANG, M.; TARAWNEH, A.H.; GAO, J.; WEDGE, D.E.; ROSA, L.H.; CUTLER, H.G.; CUTLER, S.J. Antifungal activity against plant pathogens of metabolites from the endophytic fungus *Cladosporium cladosporioides*. *Journal of Natural Products*, v. 61, p. 4551-4555, 2013b.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE DE ISOBENZOFURAN-1(3*H*)-ONAS VIA CATÁLISE HOMOGÊNEA COM HETEROPOLIÁCIDO

2.1. INTRODUÇÃO

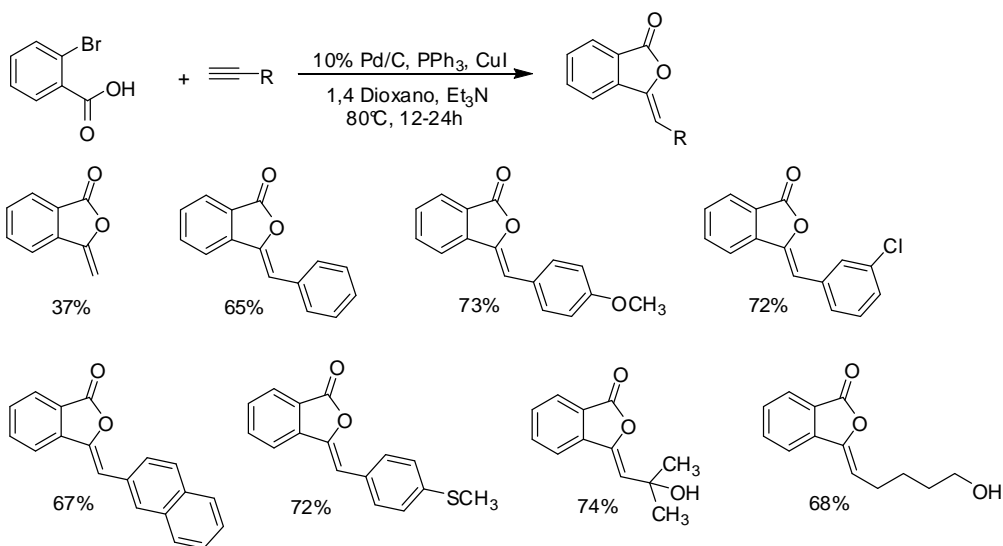
Conforme já previamente mencionado (p.6), as isobenzofuran-1(3*H*)-onas são uma classe de substâncias estruturalmente diversa que apresenta diferentes atividades biológicas. Em particular, isobenzofuran-1(3*H*)-onas C-3 funcionalizadas vêm atraindo a atenção de diversos grupos de pesquisa ao redor do mundo devido às diversas bioatividades apresentadas por estes compostos. À medida que o interesse dos pesquisadores nesta classe de substâncias foi aumentando, diferentes metodologias para realizar suas sínteses foram desenvolvidas. Neste capítulo serão abordadas algumas dessas metodologias. Além disso,

serão apresentados os resultados relativos ao desenvolvimento de uma metodologia para a síntese de isobenzofuran-1(3*H*)-onas C-3 funcionalizadas. Esta metodologia consistiu de um processo onde o ácido dodecatungstofosfórico ($H_3PW_{12}O_{24}$) foi usado como catalisador em condições homogêneas.

2.2. DESCRIÇÕES DE ALGUMAS METODOLOGIAS PARA A SÍNTESE DE ISOBENZOFURAN-1(3*H*)-ONAS C-3 FUNCIONALIZADAS

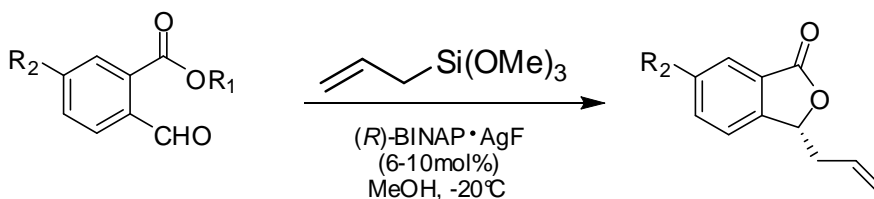
2.2.1. Metodologias que utilizam metais de transição como catalisadores

Diversas metodologias empregando metais de transição como catalisadores têm sido descritas para a síntese de isobenzofuran-1(3*H*)-onas C-3 funcionalizadas. RAMBABU e colaboradores (2013) demonstraram que o ácido *o*-bromo benzoico pode ser acoplado a alcinos terminais para produzir (*Z*)-3-alkilideno ftalidas, usando Pd/C como catalisador. Os rendimentos obtidos para as diferentes ftalidas variaram de 37%-74%(Esquema 2.1). Observou-se ainda a formação de 10%-20% de isocoumarina.



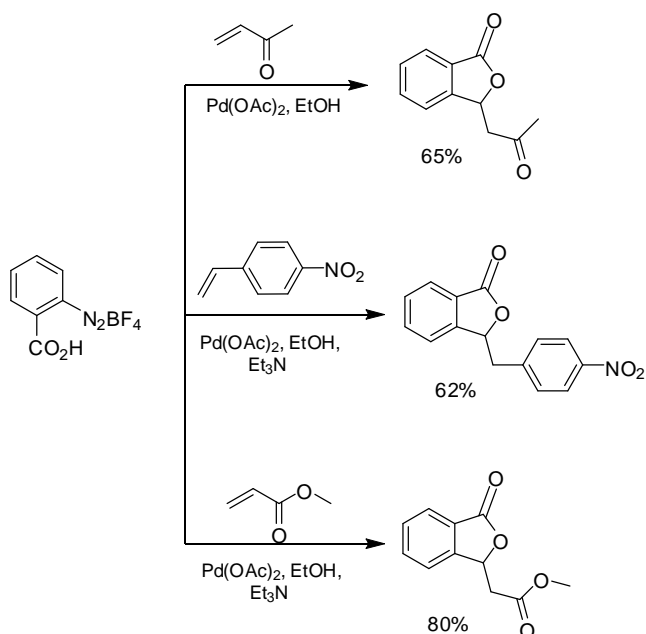
Esquema 2.1- Síntese de (Z)-3-alkilideno isobenzofuran-1(3H)-onas utilizando Pd/C como catalisador.

MIRABDOLBAGHI e DUDDING (2013) usaram aldeídos *orto*-substituídos como material de partida para a preparação de fitalidas. Os autores descreveram a síntese de isobenzofuranonas quirais por meio de uma sequência envolvendo um processo de alquilação seguido de uma transesterificação. A indução da assimetria foi conseguida utilizando-se o catalisador (*R*)-BINAP·AgF. As fitalidas foram obtidas com bons rendimentos e consideráveis excessos enantioméricos (ee ≤86%), Esquema 2.2.



Esquema 2.2- Síntese de fitalidas quirais.

DA PENHA e colaboradores (2011) demonstraram que sais de diazônio são materiais de partida sinteticamente úteis para a preparação de isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas. Assim, a reação de Heck-Matsuda entre o sal de diazônio mostrado no Esquema 2.3 e três diferentes estirenos, na presença de acetato de paládio(II), resultou na obtenção de diferentes isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas com rendimentos superiores a 60% (Esquema 2.3, p. 17).

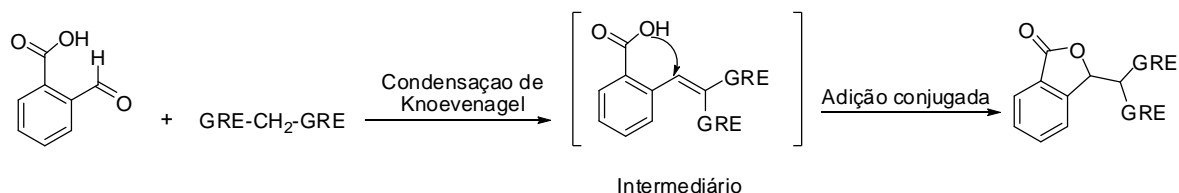


Esquema 2.3– Síntese de isobenzofuranonas a partir de um sal de diazônio.

2.2.2. Metodologias que utilizam compostos com grupos metileno ativos

Diferentes metodologias são descritas na literatura para a síntese de isobenzofuranonas, que empregam compostos com grupos metileno

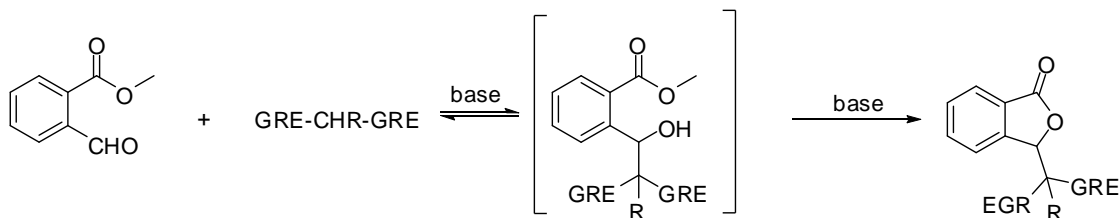
ativados. Por exemplo, o ácido 2-formil benzoico sofre condensação de Knoevenagel com compostos contendo grupos metileno ativos originando um intermediário que, após adição conjugada, origina isobenzofuranonas (DI MOLA *et al.*, 2012a), Esquema 2.4.



GRE = grupo retirador de elétrons

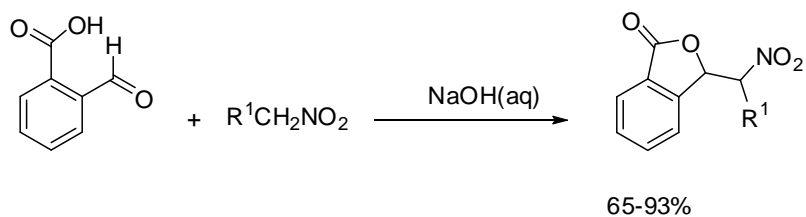
Esquema 2.4– Síntese de isobenzofuranonas a partir do ácido 2-formil benzoico.

DI MOLA e colaboradores (2012b) demonstraram que ésteres aromáticos contendo o grupo formila em posição *orto* também são substratos sinteticamente úteis para o preparo de fitalidas C-3 funcionalizadas (Esquema 2.5).



Esquema 2.5 - Síntese de isobenzofuran-1(3H)-onas via condensação/ lactonização em meio básico.

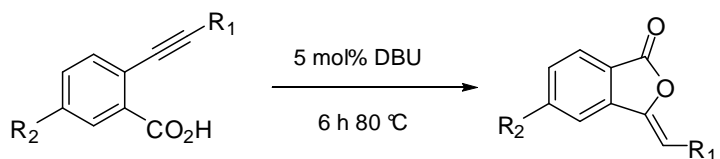
O ácido 2-formil benzoico também é o material de partida para a obtenção de isobenzofuranonas contendo grupos nitro (-NO₂). Nesse caso, a reação de Henry entre o referido ácido e nitrocompostos em meio básico resulta na obtenção das isobenzofuranonas nitradas, Esquema 2.6 (ULLYOT *et al.*,1945).



Esquema 2.6– Síntese de alquilnitro isobenzofuranonas.

2.2.3. Metodologias empregando condições básicas

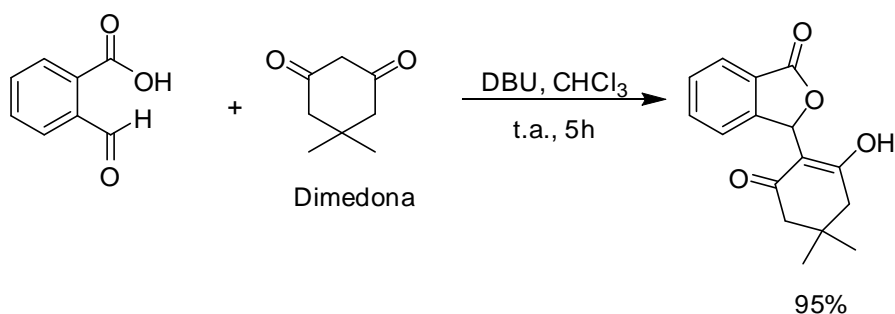
Em 2007 KANAZAWA e TERADA sintetizaram diferentes isobenzofuranonas a partir de ácidos alquinil benzoicos utilizando um processo de ciclização intramolecular catalisado por 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), (Esquema 2.7, p.19).



Esquema 2.7 - Síntese de isobenzofuran-1(3H)-onas segunda metodologia descrita por KANAZAWA e TERADA (2007).

Nesse mesmo ano, MAL e colaboradores descrevem os resultados obtidos utilizando 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) para catalisar a condensação do ácido 2-formil benzoico e 1,3-dicetonas para obter isobenzofuranonas funcionalizadas em C-3 com bons

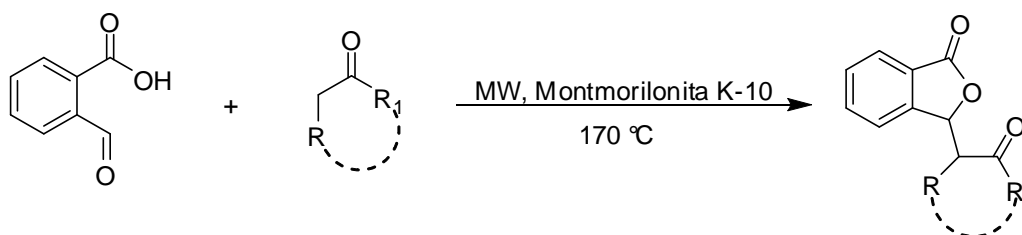
rendimentos. Um exemplo de aplicação dessa metodologia é apresentado no Esquema 2.8.



Esquema 2.8- Reação do ácido 2-formil benzoico e 5,5-dimetilcicloexano-1,3-diona (dimedona) promovida por DBU (MAL et al., 2007).

2.2.4. Metodologias empregando condições ácidas

A condensação/lactonização entre ácido fitalaldeídico e diferentes cetonas em condições ácidas, é uma metodologia que fornece isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas com excelentes rendimentos (90-98%). Esta metodologia reportada por LANDGE e colaboradores (2008) utiliza montmorilonita K-10 como catalisador (Esquema 2.9, p.20).

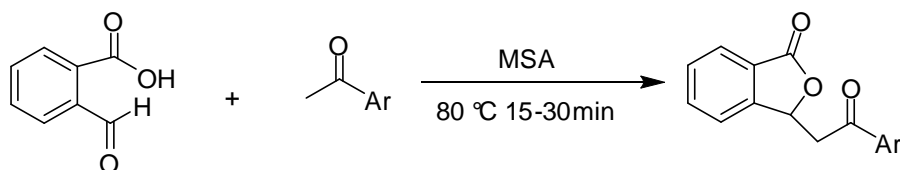


R= H, CO(CH₃)₂, (CH₂)₄

R₁= -C₆H₅, 4-Cl-C₆H₄, 4-F-C₆H₄, 4-OMe-C₆H₄, 4-NO₂-C₆H₄, 4-CH₃-C₆H₄, 4-CN-C₆H₄, 2,4-di-CH₃-Cl-C₆H₄

Esquema 2.9- Síntese de isobenzofuran-1(3H)-onas segundo metodologia descrita por LANDGE et al (2008).

LIMAYE e colaboradores (2013) sintetizaram 3-arilfitalidas com ótimos rendimentos ao reagir o ácido 2-formil benzoico com várias aril metil cetonas na presença de ácido metil sulfônico (Esquema 2.10).



Esquema 2.10- Síntese de 3-arilfitalidas (LIMAYE *et al.*, 2013).

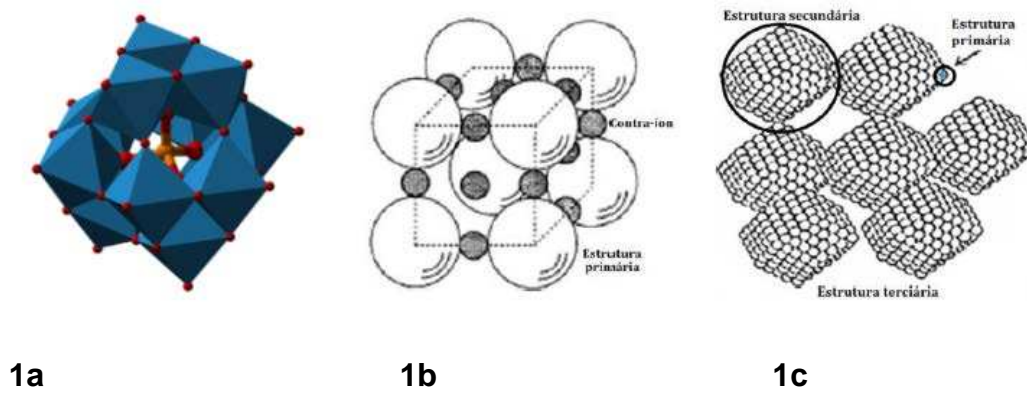
2.3. HETEROPOLIÁCIDOS

De acordo com ARANTES e BIANCHI (2013), os heteropolicompostos (também denominados de polioxometalatos) foram descritos pela primeira vez por Berzelius, em 1826. Este pesquisador sintetizou um heteropolissal, observado como um sólido amarelo.

Os heteropolicompostos podem ser definidos como *clusters* iônicos de óxidos metálicos de forma geral $[M_mO_y]^{p-}$ ou $[X_nM_mO_y]^{q-}$. M corresponde a um metal de transição apresentando o seu mais elevado estado de oxidação (sendo, geralmente, vanádio, molibdênio ou tungstênio) e X é geralmente silício, boro, fósforo, ou arsênio. Quando os heteropoliânions estão na sua forma protonada são chamados de heteropoliácidos.

O primeiro heteropoliânion caracterizado tem uma estrutura denominada de Kegging, representado pela fórmula $XM_{12}O_{40} X^{-8}$, onde X é o átomo central e M^{+6} é o íon metálico. Em sua estrutura primária (Figura

2.1-1a, p.22), o ânion de Kegging é composto de um tetraedro central (XO_4) rodeado por 12 lados e vértices compartilhando um octaedro metal-oxigênio MO_6 . Já a estrutura secundária (Figura 2.1-1b, p.22) está relacionada ao arranjo tridimensional dos polilânion e contra-íons. Com relação à estrutura terciária (Figura 2.1-1c, p.22), a mesma corresponde ao modo pelo qual a estrutura secundária se agrupa em partículas sólidas e está relacionada ao volume de poros, à área superficial e ao tamanho das partículas (ARANTES E BIANCHI, 2013). Os Keggings são os complexos de heteropoliácidos (HPAs) mais estáveis e importantes para utilização em processos catalíticos (POPE, 1983).



Fonte: ARANTES E BIANCHI, 2013

Figura 2.1 – Estruturas primária (1a), secundária (1b) e terciária (1c) de Keggin

HPAs são catalisadores de baixo custo e ambientalmente benignos. São catalisadores ácidos, próximos a região superácida (KOZHEVNIKOV,1987). Apresentam alta solubilidade em solventes

polares e grande estabilidade térmica. Estas características tornam os HPAs potenciais catalisadores ácidos tanto em sistemas homogêneos como em heterogêneos. Os HPAs são utilizados em pesquisa desde 1970 e nas últimas duas décadas têm sido muito utilizados em várias transformações envolvendo substâncias orgânicas (ARANTES E BIANCHI, 2013). Entretanto, não há descrito na literatura a utilização de heteropoliácidos para a preparação de isobenzofuran-1(3*H*)-onas via catálise homogênea. Dentro desse contexto, descrevem-se nesse capítulo os resultados referentes à investigação conduzida para utilização do heteropoliácidos $H_3PW_{12}O_{40}$ e $H_3PMo_{12}O_{40}$ como catalisadores homogêneos para síntese de isobenzofuran-1(3*H*)-onas funcionalizadas no átomo de carbono-3 do núcleo isobenzofuranona.

2.4. MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1. Generalidades Metodológicas

Os reagentes utilizados para a síntese dos compostos foram de grau P.A.

As substâncias 5,5-dimetilcicloexano-1,3-diona (dimedona), cicloexano-1,3-diona, 5-metil-cicloexano-1,3-diona, 1*H*-indano-1,3(2*H*)-diona, ciclopentano-1,3-diona, ciclopentanona, cicloexanona, 4-nitroacetofenona, 1-fenilbutano-1,3-diona, 4-hidroxicumarina, ácido 2-formil benzoico (ácido fitalaldeídico), diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) e os heteropoliácidos $H_3PW_{12}O_{40}$ e $H_3PMo_{12}O_{40}$ foram adquiridas

da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos). Estes compostos foram utilizados sem qualquer purificação prévia.

Acetonitrila, acetato de etila, hexano, diclorometano e metanol foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil).

Para as análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram empregadas placas cromatográficas de sílica gel impregnadas sobre alumínio (250 μm de espessura). Depois da eluição, as placas CCD foram reveladas utilizando luz ultra-violeta.

As análises por CCD foram realizadas empregando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio (espessura de 250 μm). As placas de CCD após eluição foram observadas em uma câmara contendo luz ultra-violeta.

As separações cromatográficas em coluna foram feitas utilizando-se sílica-gel (70-230 mesh), como fase estacionária. Os solventes utilizados como eluentes foram usados sem prévia purificação.

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302 e não foram corrigidas.

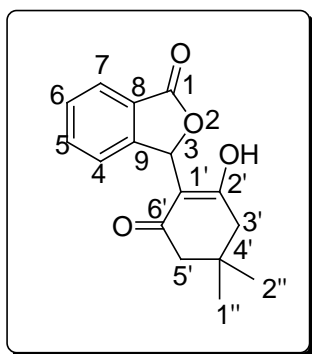
Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos empregando-se a técnica reflectância total atenuada (ATR) em equipamento Varian 660 com acessório GladiATR ou por meio de pastilhas de KBr, em espectrofotômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000 (Departamento de Química-UFV).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , 300 MHz) e de carbono (RMN de ^{13}C , 75 MHz) foram obtidos em espectrofotômetros VARIAN MERCURY 300 (Departamento de Química – UFV). Foram utilizados como solventes deuterados clorofórmio (CDCl_3), metanol (CD_3OD) e dimetilsulfóxido ($\text{DMSO-}d_6$). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A de baixa resolução e empregando-se a técnica de inserção direta, sendo os compostos submetidos à ionização por impacto de elétrons 70 eV

2.4.2. Procedimentos Sintéticos

Síntese da 3-(2-hidroxi-4,4-dimetil-6-oxo-cicloex-1-enil)isobenzofuran-1(3H)ona (1)



(1)

A um balão de 25 mL foram adicionados 1,33 mmol (0,186 g) de 5,5-dimetilcicloexano-1,3-diona (dimedona), 1,35 mmol (0,203 g) de ácido 2-formil benzoico, 0,133 mmol (0,383g) de heteropoliácido (HPA) de tungstênio em 5mL acetonitrila sob agitação magnética a 80°C por 5

horas. Posteriormente foram adicionados 10mL de água destilada à mistura reagente. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3x20mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado em acetato de etila e a isobenzofuran-1(3*H*)-ona **1** foi obtida como um sólido branco com 92% de rendimento.

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,10 (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

T_f=215,5-217,3 °C (T_f literatura=212,1-213,0°C; TEIXEIRA *et al.*, 2013a,b).

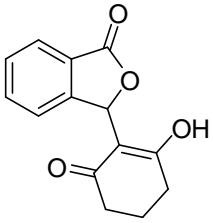
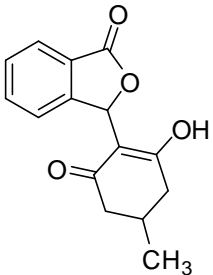
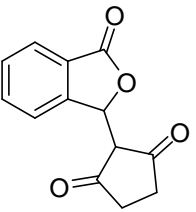
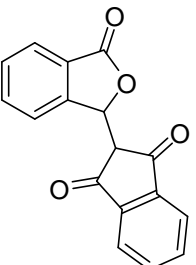
IV (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 2962, 2933, 2883, 2535 (banda larga), 1767, 1574, 1323 cm⁻¹.

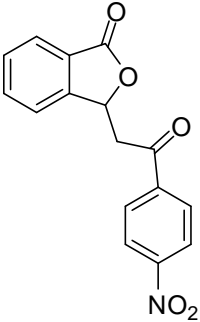
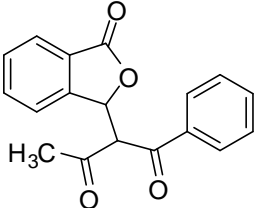
RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ: 1,09 (sl, 6H; -CH₃); 2,35 (sl, 4H; H-3' e H-5'); 6,69 (s, H-3); 7,32 (d, 1H; J=7,8 Hz; H-4); 7,52 (t, 1H; J=7,5 Hz; H-5); 7,67 (t, 1H, J=7,5 Hz; H-6); 7,82 (d, 1H, J=7,8 Hz; H-7).

RMN de ¹³C (75MHz, CD₃OD) δ: 27,2 (-CH₃); 31,8 (C-3'/C-5'); 46,6 (C-3'/C-5'); 75,0 (C-3); 108,7 (C-1'); 121,3 (C-4); 124,5 (C-6); 126,9 (C-8); 128,3 (C-7); 133,9 (C-5); 151,1 (C-9); 172,3 (C-1).

As substâncias **2-7** foram sintetizadas usando uma metodologia igual àquela descrita para o preparo do composto **1**. A Tabela 1 resume as informações sobre as reações realizadas para síntese desses compostos.

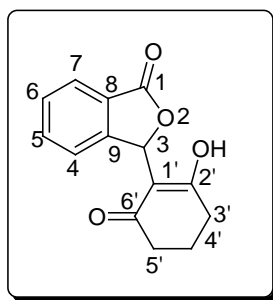
Tabela 2.1 – Dados relativos às sínteses dos compostos 2-7

Substância	Estrutura	Quantidade de matéria (n) de produto obtida	Massa do produto (grama)	Rendimento (%)	Tempo de reação (h)
2		1,13	0,139	85	4
3		1,08	0,280	81	6
4		0,52	0,278	78	6
5		1,13	0,314	84	10

6		1,04	0,322	55	4
7		1,00	0,337	75	7

As estruturas dos compostos **2-7** estão de acordo com os seguintes dados.

3-(2-hidroxi-6-oxocicloex-1-enil)isobenzofuran-1-(3*H*)-ona (**2**)



(2)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,20$ (acetato de etila).

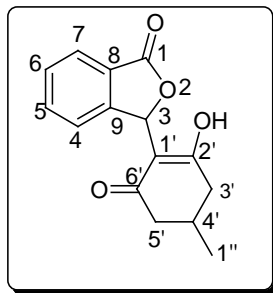
$T_f = 218,0-219,5^\circ\text{C}$ (T_f literatura = $217,5-218,0^\circ\text{C}$; TEIXEIRA *et al.*, 2013a,b).

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 2945, 2880, 2598 (banda larga), 1754, 1556, 1309, 1098, 955 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,80-1,89 (m, 2H; H-4'), 2,35-2,48 (m, 4H; H-3'/H-5'), 6,57 (s, 1H; H-3), 7,28 (d, 1H, $J=7,5$ Hz; H-4); 7,48 (t, 1H, $J=7,2$ Hz; H-5); 7,63 (t, 1H, $J=7,5$ Hz; H-6); 7,72 (d, 1H, $J=7,5$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 20,5 (C-4'); 36,7 (C-3'/C-5'); 74,7 (C-3); 109,6 (C-1'); 121,8 (C-4); 124,6 (C-6); 126,9 (C-8); 128,5 (C-7); 134,1 (C-5); 151,1 (C-9); 171,2 (C-1).

3-(2-hidroxi-4-metil-6-oxocicloex-1-enil)isobenzofuran-1-(3H)-ona (**3**)



(3)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,50$ (acetato de etila).

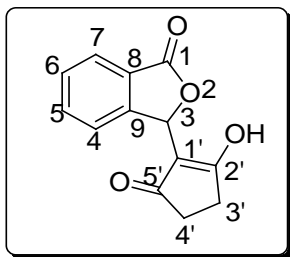
$T_f = 120,0-121,8$ °C (T_f literatura = 119,0-120 °C, MAL *et al.*, 2007).

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$: 2960, 2915, 2885, 2570 (banda larga), 1760, 1570, 1388, 1259, 1062, 947, 743 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$) δ : 0,95 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz; CH_3); 1,92-2,09 (m, 5H; H-3'/H4'/H5'); 6,64 (s, 1H; H-3); 7,18 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz; H-4); 7,34 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz; H-5); 7,48 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz; H-6); 7,72 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$) δ : 20,6 (CH_3); 27,8 (C-3'/C-5'); 74,5 (C-3); 109,7 (C-1'); 121,3 (C-4); 124,2 (C-6); 126,9 (C-8); 127,7 (C-7); 133,2 (C-5); 150,6 (C-9); 170,6 (C-1).

3-(2-hidroxi-6-oxociclopent-1-enil)isobenzofuran-1-(3H)-ona (4)



(4)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,10$ (Hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

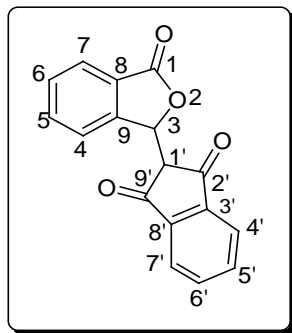
$T_f = 202,3-203,0^\circ\text{C}$ (T_f literatura = $203,6-205,2^\circ\text{C}$; TEIXEIRA *et al.*, 2013a,b).

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 2978,2930,2543(banda larga), 1765, 1660, 1562, 1378, 1289, 1051, 965, 778 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300MHz, DMSO- d_6) δ : 2,41 (sl, 4H; H-3'/H-4'); 6,23 (s, 1H; H-3); 7,35 (d, 1H, $J=7,5$ Hz; H-4); 7,53 (t, 1H, $J=7,5$ Hz; H-5); 7,67 (t, 1H, $J=7,5$ Hz; H-6); 7,79 (d, 1H, $J=7,5$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75MHz, DMSO- d_6) δ : 31,8 (C-3'/C-4'); 73,7 (C-3); 111,06 (C-1'); 122,9 (C-4); 125,1 (C-6); 126,5 (C-8); 129,4 (C-7); 134,7 (C-5); 149,7 (C-9); 171,0 (C-1).

2-(1,3-diidro-3-oxo-1-isobenzofuranil)1H-indano-1,3(2H)-diona (5)



(5)

Característica: sólido marrom.

CCD: $R_f = 0,10$ (Hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

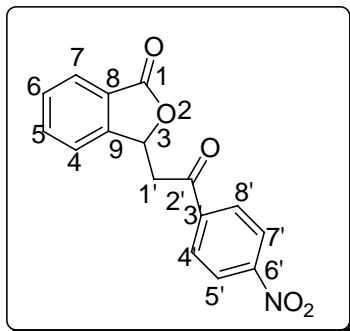
$T_f = 215,5-216,0$ °C (T_f literatura = 214,0-215,3 °C; TEIXEIRA *et al.*, 2013a,b)

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$: 3064, 2921, 1773, 1742, 1704, 1586, 1268, 1054, 773, 747, 717.

RMN de ^1H (300MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$) δ : 3,97 (sl, 1H; H-1'); 6,20 (sl, 1H; H-3); 7,57-8,12 (m, 8H; H-4/H-5/H-6/H-7/H-3'/H-4'/H-5'/H-6').

RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$) δ : 55,0 (C-1'); 77,3 (C-3); 123,1(C-3'); 123,6 (C-6'); 124,2 (C-4); 125,3 (C-7); 125,8 (C-6); 129,5 (C-8); 134,4 (C-4'/C-5'); 136,1 (C-5); 142,1 (C-8'); 142,5 (C-9'); 147,4(C-9); 169,4 (C-1); 194,9 (C-2'); 196,3 (C-7').

3-[2-(4-nitrofenil)2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (6)



(6)

Característica: sólido amarelado.

CCD: R_f: 0,58 (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

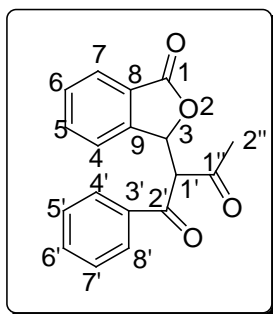
T_f= 82,0-82,9°C.

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 1778, 1736, 1696, 1664, 1578, 1488, 1365, 1314, 1262, 1218, 959, 794, 682 cm⁻¹.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3,42-3,50 (dd, 1H; ²J=17,7Hz, ³J=6,3Hz, H-1'a); 3,73-3,81 (dd, 1H; ²J=17,7Hz, ³J=6,3Hz, H-1'b); 6,16 (t, 1H; ³J=6,3Hz, H-3); 7,54-7,60 (m, 2H; H-6 / H-4); 7,66-7,72 (m, 1H; H-5); 7,91-7,94 (m, 1H, H-7); 8,12 (d, 2H, ³J=9,0Hz, H-8' / H-4'); 8,34 (d, 2H, ³J=9,0Hz H-5' / H-7').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 44,1 (C-1'); 76,5 (C-3); 122,3 (C-4); 124,0 (C-5'/C-7'); 125,8 (C-8); 125,9 (C-6); 129,2 (C-4'/C-8'); 129,7 (C-7); 134,4 (C-5); 140,38 (C-3'); 149,0 (C-9); 150,7 (C-6'); 169,8 (C-1); 194,5 (C-2').

3-(1,3-dioxo-1-fenilbutan-2-il)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (7)



(7)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,55$ (Hexano- acetato 1:1 v/v).

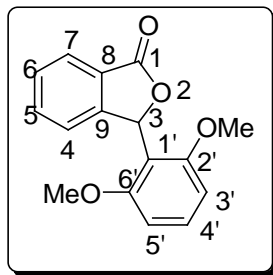
$T_f = 136,5-138,1$ °C .

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$: 3067, 2984, 1759, 1721, 1663, 1595, 1222, 1016, 778, 506.

RMN de¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,40 (s,3H;H-2''); 4,81 (d,1H, $J=9,6$ Hz;H-1'); 6,44 (d,1H, $J=9,3$ HZ; H-3); 7,32 (d,1H, $J=7,5$ Hz; H-4); 7,48-7,62 (m,6H; H-5/H-6/H-3''/H-4''/H-5''); 7,86 (d,1H, $J=7,2$ Hz; H-7); 7,96 (d,2H, $J=7,8$ Hz;H-2''/H-6'').

RMN de¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 29,1(C-2''); 67,6(C-1'); 79,6 (C-3);123,5(C-6);126,1(C-8); 129,3 (C-4/C-2''/C-3''/C-5''/C-6''); 130,1 (C-5/C-4''); 134,7 (C-1''); 135,9 (C-7); 147,6(C-9); 169,6 (C-1); 193,1(C-2''); 199,5 (C-2''').

Síntese da 3-(2,6-dimetoxi)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (8)



(8)

A um balão de fundo redondo (50 mL) contendo uma barra de agitação magnética, adicionaram-se 0,100 g (0,45mmol) do composto **2**, 0,190g (0,75 mmol) de I₂ e 25 mL metanol. Esta mistura foi mantida sob refluxo por 6 horas . Após este período, o metanol foi removido sob pressão reduzida. Em seguida, adicionaram-se 20 mL de solução saturada de tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃) e 50 mL de acetato de etila. As fases foram separadas e a fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20mL) e solução saturada de NaCl (10 mL), seca com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano: acetato de etila(1:1v/v). O composto **8** obtido foi um sólido branco com rendimento 65%.

Característica: sólido branco.

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

T_f=195,2-196,1°C.

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$: 3060, 2963, 2841, 1754, 1607,1584, 1462, 1121, 972, 592.

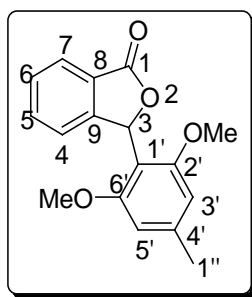
RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ:2,56 (s, 6H; -OCH₃); 6,53 (d,2H; J=7,8; H-3'/H-5'); 7,02 (s,1H; H-3); 7,21 (t, 1H; J=8,1 Hz; H-4'); 7,33 (d, 1H;

$J=7,5$; H-4); 7,60 (t, 1H, $J=7,5$; H-6); 7,71 (t, 1H; $J=7,5$; H-5); 7,89 (d, 1H, $J=7,5$; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 56,1 (-OCH₃); 75,1 (C-3); 109,1 (C-3'/C-5'); 122,07 (C-1'); 124,7 (C-6); 127,0 (C-8); 128,7 (C-4/C-4'); 131,2 (C-7); 134,2 (C-5); 151,0 (C-9); 157,6 (C-2'/C-6'); 171,2 (C-1).

As substâncias **9** e **10** foram sintetizadas utilizando-se o mesmo procedimento usado para a síntese de **8**. Os seguintes dados experimentais suportam as estruturas dos compostos **9** e **10**.

3-(2,6-dimetoxi-4-metilfenil)isobenzofuran-1(3H)-ona (**9**)



(**9**)

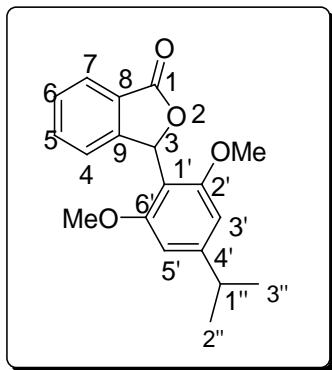
Característica: sólido amarelado.

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

$T_f = 210,2-211,1$ °C .

O pico em m/z 284 está em acordo com a massa molecular do composto (C₁₇H₁₆O₄).

3-(2,6-dimetoxi-4-isopropilfenil)isobenzofuran-1(3H)-ona (**10**)



(10)

Característica: Sólido amarelado.

CCD: $R_f = 0.54$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

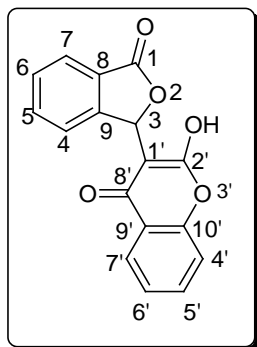
$T_f = 114,3-115,1^\circ\text{C}$.

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 2958, 1757, 1237, 1119, 1057, 971, 730.

RMN de¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,23 (d, 6H, $J = 6,9$; H-2''/H-3''); 2,85 (hept, 1H $J = 6,9$; H-1''); 3,64 (s, 6H; 2x-OCH₃); 6,38 (s, 2H; H-3'/H-5'); 7,03 (s, 1H; H-3); 7,24 (dd, 1H, $J = 7,5$, $J = 0,9$; H-4); 7,45 (t, 1H, $J = 7,5$; H-6); 7,55 (td, 1H, $J = 7,5$, $J = 1,2$; H-5); 7,90 (d, 1H, $J = 7,5$; H-7).

RMN de¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 24,1 (C-2''/C-3''); 35,1 (C-1''); 56,0 (-OCH₃); 75,5 (C-3); 102,8 (C-1'); 121,8 (C-4); 124,9 (C-6); 127,3 (C-8); 128,2 (C-7); 133,5 (C-5); 151,2 (C-9); 152,8 (C-4'); 159,5 (C-2'/C-6'); 172,1 (C-1).

Síntese da 2-hidroxi-3-(3-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-1-Il)-4*H*-cromen-4-one (11)



(11)

A um balão de fundo redondo (50 mL) contendo uma barra de agitação magnética, adicionaram-se 0,191 g (1,33mmol) de 4-hidroxycoumarina, 223µL (1,5 mmol) de de DBU e 5 mL acetonitrila. Esta mistura foi a temperatura ambiente por 4 horas. Após este período, se adicionaram 10 mL de uma solução de HCl 10% v/vda. Em seguida, adicionaram-se 100 mL de acetato de etila. As fases foram separadas e a fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20mL) e solução saturada de NaCl (10 mL), seca com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia por recristalização em acetato de etila. O composto **14** obtido foi um sólido branco com rendimento 66%.

Característica: Sólido branco.

CCD: R_f 0,48 (acetato de etila).

T_f = 238,8-240,0°C.

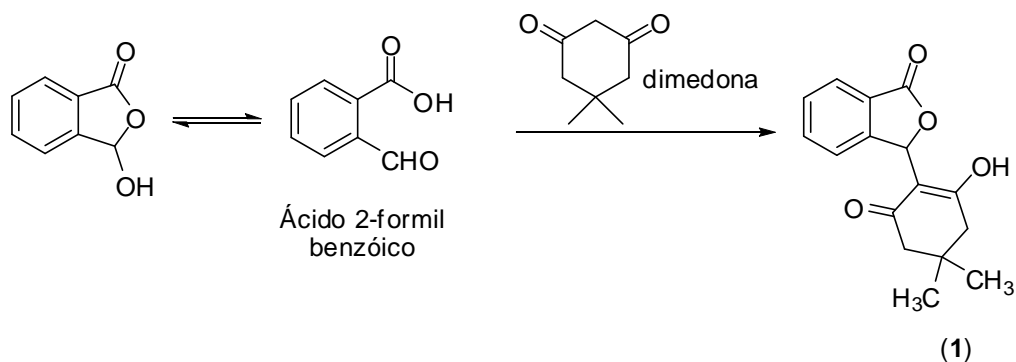
IV (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 1766, 1730, 1678, 1562, 1408, 1280, 1206, 904, 784, 682, 522.

RMN ^1H (300Hz, DMSO) δ (J/Hz): 6,92 (sl, 1H,; H-3); 7,19-7,26 (m, 2H; H-4'/H-6'); 7,36 (d, 1H; $J=7,5$; H-4); 7,4-7,60 (m, 3H; H-5/H-6/H-5'); 7,86 (d, 1H; $J=7,8$; H-7'); 7,94 (d, 1H; $J=8,1$; H-7).

RMN ^{13}C (75Hz, DMSO) δ (J/Hz): 75,60 (C-3'); 99,93 (C-1'); 115,87 (C-4'); 116,75 (C-6'); 121,79 (C-8); 123,62 (C-9'); 124,77 (C-6); 126,67 (C-7); 128,55 (C-7)'; 132,78 (C-5'); 133,79 (C-5); 149,27 (C-9); 153,14 (C-10'); 161,97 (C-1); 164,70 (C-8'); 171,23 (C-2').

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento do projeto de pesquisa vinculado a esta dissertação teve início com a otimização das condições de reação para obtenção de isobenzofuran-1(3*H*)-onas, funcionalizadas na posição C-3, via reações de condensação catalisadas por heteropoliácidos (HPAs), entre o ácido 2-formil benzoico e diferentes compostos carbonilados. Para o processo de otimização, escolheu-se investigar a reação de formação da 3-(2-hidroxi-4,4-dimetil-6-oxo-cicloex-1-enil)isobenzofuran-1(3*H*)ona (**1**) a partir do ácido 2-formil benzoico e a 5,5-dimetilcicloexano-1,3-diona (dimedona), Esquema 2.11.



Esquema 2.11– Reação entre ácido 2-formil benzoico e dimedona.

Buscou-se avaliar como os seguintes parâmetros influenciavam no tempo e na velocidade da reação: i) a natureza do catalisador heteropoliácido; ii) a quantidade de catalisador heteropoliácido empregada; iii) a temperatura. Os resultados encontrados são apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Resultados do processo de otimização das condições de reação para obtenção da isobenzofuran-1(3H)-ona 1

Quantidade de catalisador	Temperatura da reação	Tempo de reação	Rendimento (%)
Sem adição de catalisador	Temperatura ambiente	6 dias	Não foi detectada formação de produto
H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀ (10 mol%)	Temperatura ambiente	48 h	63%

H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ (10 mol%)	Temperatura ambiente	36 h	75%
H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀ (10 mol%)	60 °C	18 h	74%
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ (10 mol%)	60 °C	8 h	90%
H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀ (10 mol%)	80 °C	5 h	86%
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ (10 mol%)	80 °C	5 h	92%
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ (5 mol%)	80 °C	11 h	88%

Todas as reações foram realizadas empregando-se 1,35 mmol do ácido 2-formil benzoico e 1,33 mmol de dimedona. O solvente utilizado foi acetonitrila e os rendimentos foram determinados a partir das quantidades isoladas do produto **1**.

Todas as reações foram monitoradas utilizando-se a cromatografia em camada delgada (CCD). As reações foram interrompidas quando não era mais observada a presença de dimedona no meio de reação.

Para reações conduzidas à temperatura ambiente utilizou-se 10 mol% de catalisador heteropoliácido, resultando na obtenção da fitalida **1** com rendimentos de 63% (reação com heteropoliácido de molibdênio) e 75% (heteropoliácido de tungstênio), respectivamente. Embora o produto **1** tenha sido obtido com rendimentos satisfatórios, os tempos de reação foram consideravelmente longos (48 horas para a reação efetuada com o catalisador ácido de molibdênio e 36 horas para o catalisador ácido de tungstênio).

Buscando processar a reação de obtenção de **1** com um tempo mais curto, experimentos em temperaturas mais elevadas foram realizados (Tabela 2.2, p.39). Ainda utilizando-se 10 mol% de catalisador

heteropoliácido em cada experimento realizado, alcançou-se o melhor resultado, em termos de tempo de reação bem como rendimento do produto obtido, quando a transformação foi realizada a 80 °C utilizando-se o $H_3PW_{12}O_{40}$. O produto foi obtido com 92% de rendimento após 5 horas de reação.

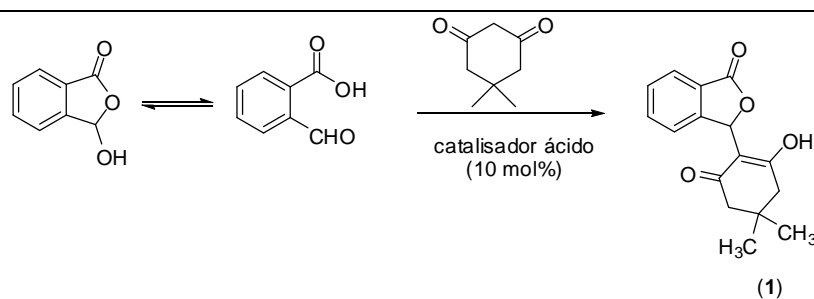
Quando a reação mostrada no Esquema 2.11 (p.38) foi realizada a 80 °C mas com uma menor quantidade de catalisador (5 mol% $H_3PW_{12}O_{40}$, Tabela 2.1, p.39), foi possível obter o produto **1** com bom rendimento porém com um tempo mais longo de reação (11h). Deste modo, após a realização de todos esses experimentos, determinou-se que as melhores condições para realização da reação são: acetonitrila (solvente), temperatura de 80 °C, 10 mol% de catalisador heteropoliácido $H_3PW_{12}O_{40}$.

Um experimento foi realizado para demonstrar a necessidade de utilização do catalisador heteropoliácido na reação. Não foi observada a formação do produto **1** quando a reação foi realizada na ausência de catalisador mesmo após 6 dias de monitoramento da reação (Tabela 2.2, p.39).

Considerando as reações realizadas em diferentes temperaturas e na presença de catalisador heteropoliácido (10 mol%), observou-se em todos os experimentos realizados a maior eficiência do catalisador $H_3PW_{12}O_{40}$ comparado a $H_3PMo_{12}O_{40}$. Esse fato foi atribuído à maior acidez do heteropoliácido $H_3PW_{12}O_{40}$ comparado ao heteropoliácido de molibidênio, (KOZHEVNIKOV, 2002).

Uma vez estabelecida as condições otimizadas de reação para a síntese de **1** via catálise ácido com heteropoliácido de tungstênio, foram realizados experimentos para comparar a eficiência desse catalisador com outros ácidos, a saber, ácido trifluoroacético e ácido *p*-toluenosulfônico (PTSA). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 2.3 e mostram que para o mesmo tempo de reação (5 horas) o maior rendimento foi alcançado na presença do catalisador heteropoliácido $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$.

Tabela 2.3 – Resultados da preparação de **1 na presença de diferentes catalisadores ácidos**



Catalisador ácido	Rendimento %
Acido trifluoroacético	32%
PTSA	42%
$\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$	92%

Todas as reações foram realizadas empregando-se 1,35 mmol do ácido 2-formil benzoico, 1,33 mmol de dimedona, 10 mol% de catalisador e temperatura de 80 °C. O solvente utilizado foi acetonitrila e os rendimentos foram determinados a partir das quantidades isoladas do produto **1** após 5 horas de reação.

O produto **1** foi caracterizado utilizando as espectroscopias no IV e de RMN de ^1H de ^{13}C bem como a espectrometria de massas.

No espectro de IV (Figura 2.2, p.44) podem ser observadas bandas em 2962,2933 e 2883 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos de ligação C-H para carbonos com hibridização sp^3 . A banda em 1767 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento do grupo carbonila. A banda observada em 1574 cm^{-1} foi relacionada ao estiramento da ligação C=C. Já a banda larga centrada em 2535 cm^{-1} corresponde ao estiramento OH enólico de β -dicetonas (BARBOSA, 2007).

No espectro de RMN de ^1H (Figura 2.3, p.45) pode se observar um simpleto em δ_{H} 1,09 (integrado para 6 hidrogênios), que foi atribuído aos grupos metila presentes na estrutura de **1**. O simpleto largo em δ_{H} 2,35 (4 átomos de hidrogênio) corresponde aos átomos de hidrogênio H-3' e H-5'. Outro simpleto em δ_{H} 6,69, integrado para um átomo de hidrogênio, foi atribuído a H-3. Os hidrogênios aromáticos aparecem entre δ_{H} 7,32-7,82; sendo um duplete em δ_{H} 7,32 correspondente a H-4; um tripleto em δ_{H} 7,52 atribuído a H-5; um tripleto em δ_{H} 7,67 correspondente a H-6; e um duplete em δ_{H} 7,82 atribuído a H-7.

Em relação ao espectro RMN de ^{13}C (Figura 2.4, p.46), o sinal em δ_{C} 172,3 corresponde a C-1. Em δ_{C} 151,1 aparece o sinal correspondente a C-9. O sinal em δ_{C} 108,7 foi atribuído a C-1'. O sinal em δ_{C} 75,0 foi atribuído a C-3. Os sinais para C-4, C-6, C-5 e C-7 foram observados, respectivamente, em δ_{C} 121,3; δ_{C} 124,5; δ_{C} 133,9 e δ_{C} 128,3.

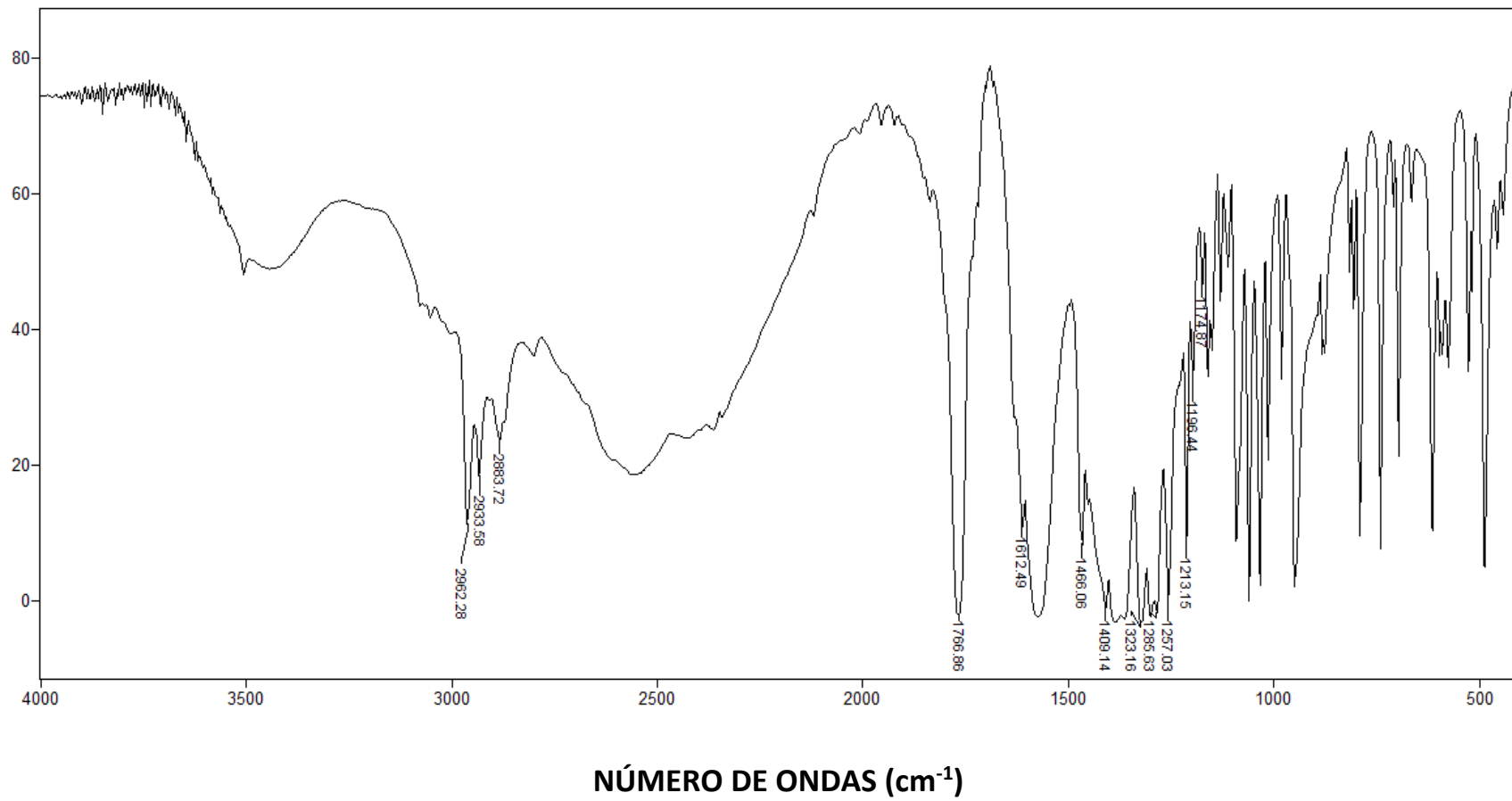


Figura 2.2– Espectro no infravermelho (KBr) do composto 1.

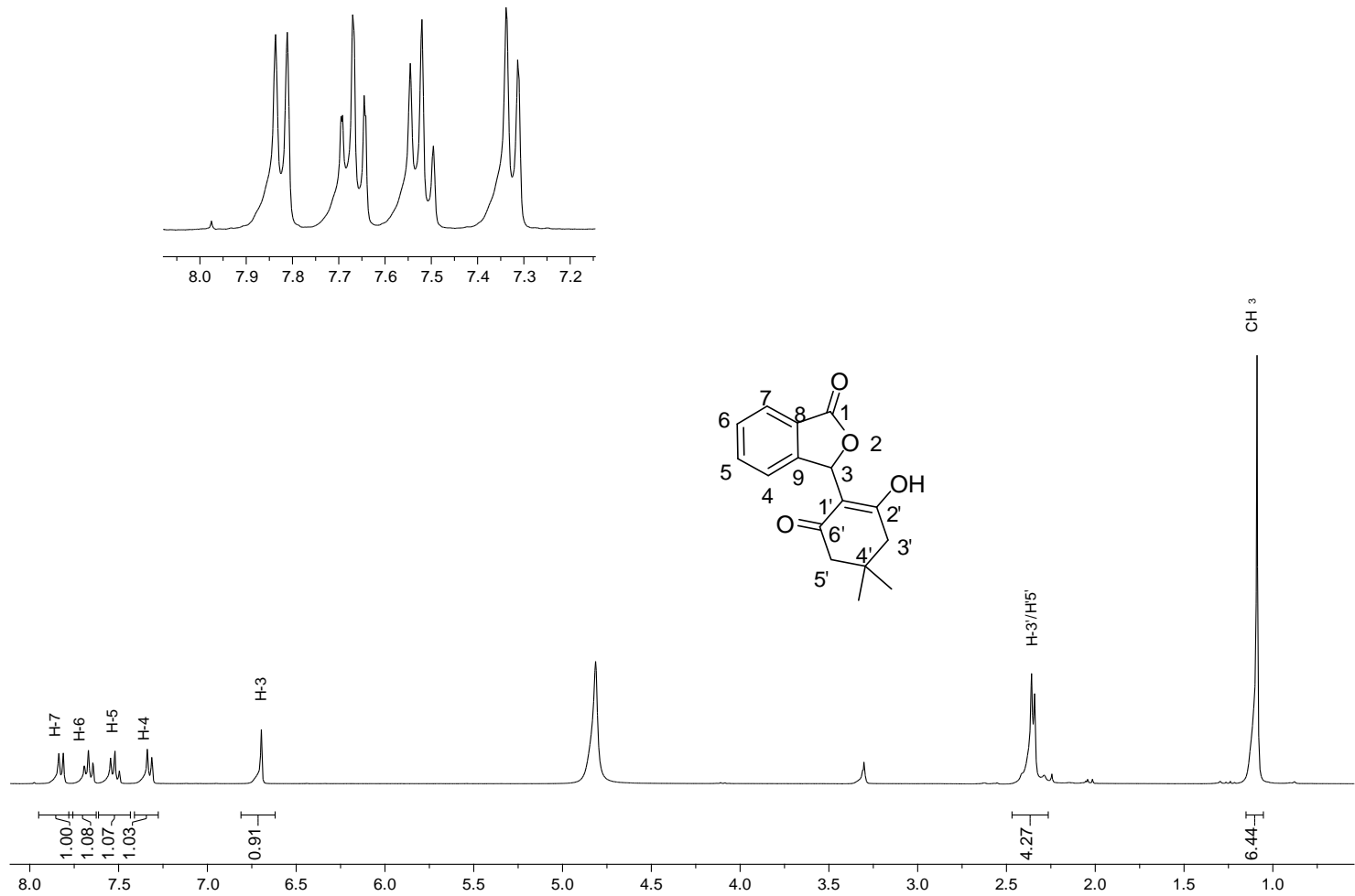


Figura 2.3 – Espectro de RMN de ¹H (CD₃OD, 300 MHz) do composto 1.

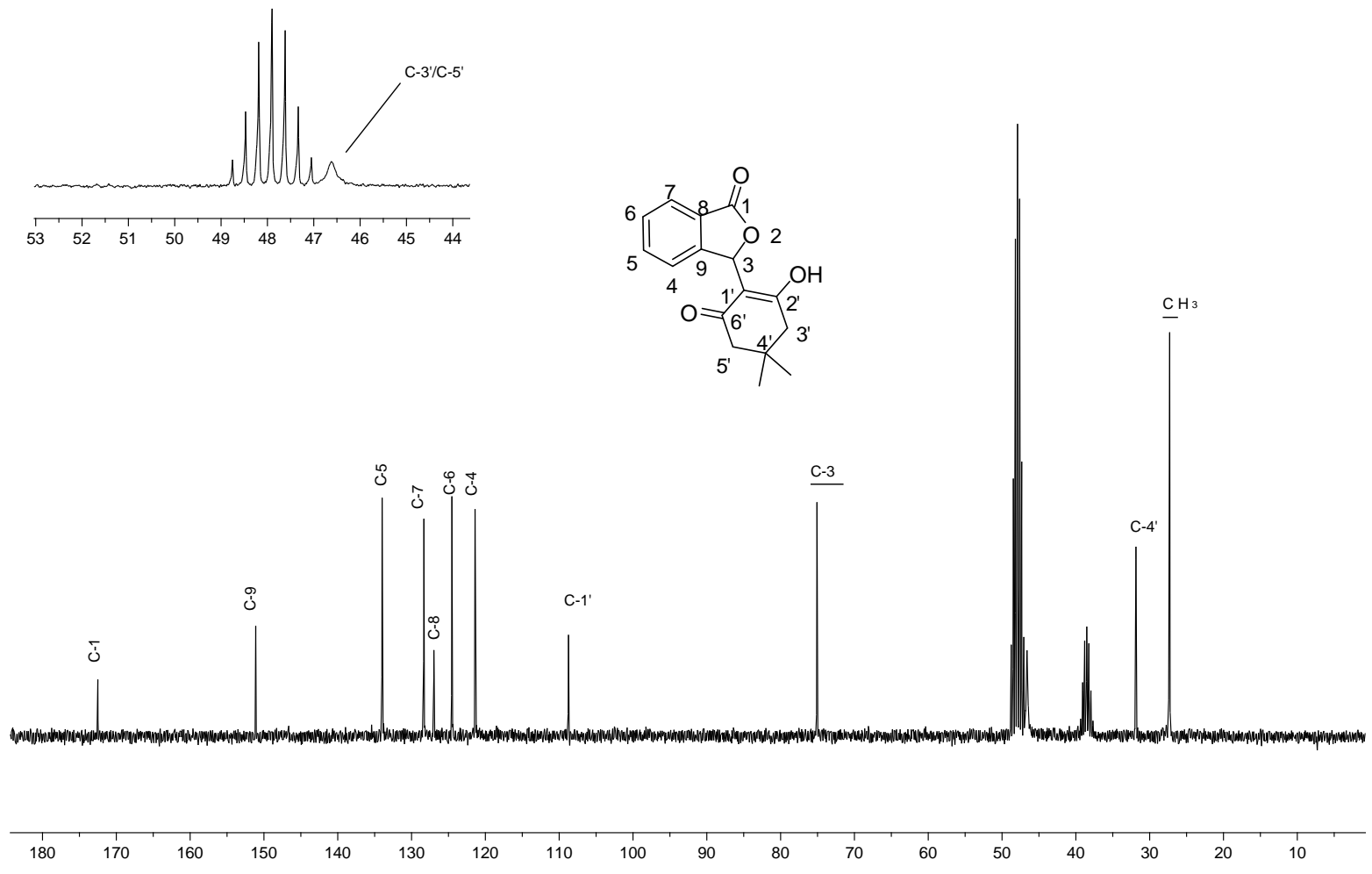
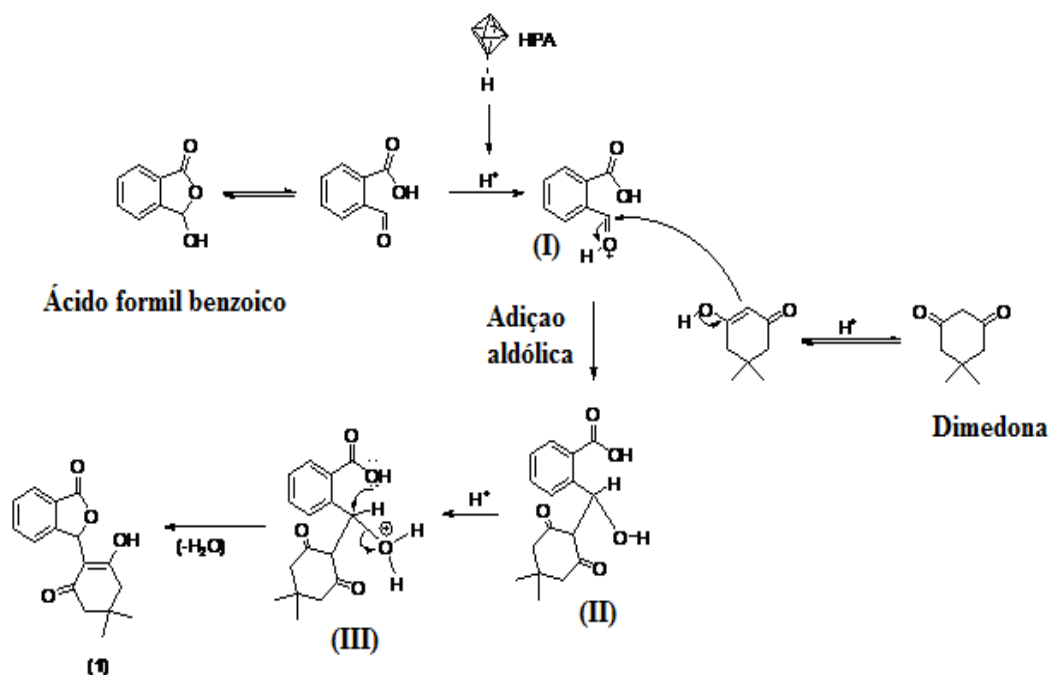


Figura 2.4– Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 75 MHz) do composto 1.

O Esquema 2.12 contém uma proposta que procura racionalizar a formação de **1** a partir da reação entre o ácido 2-formil benzoico e a dimedona.



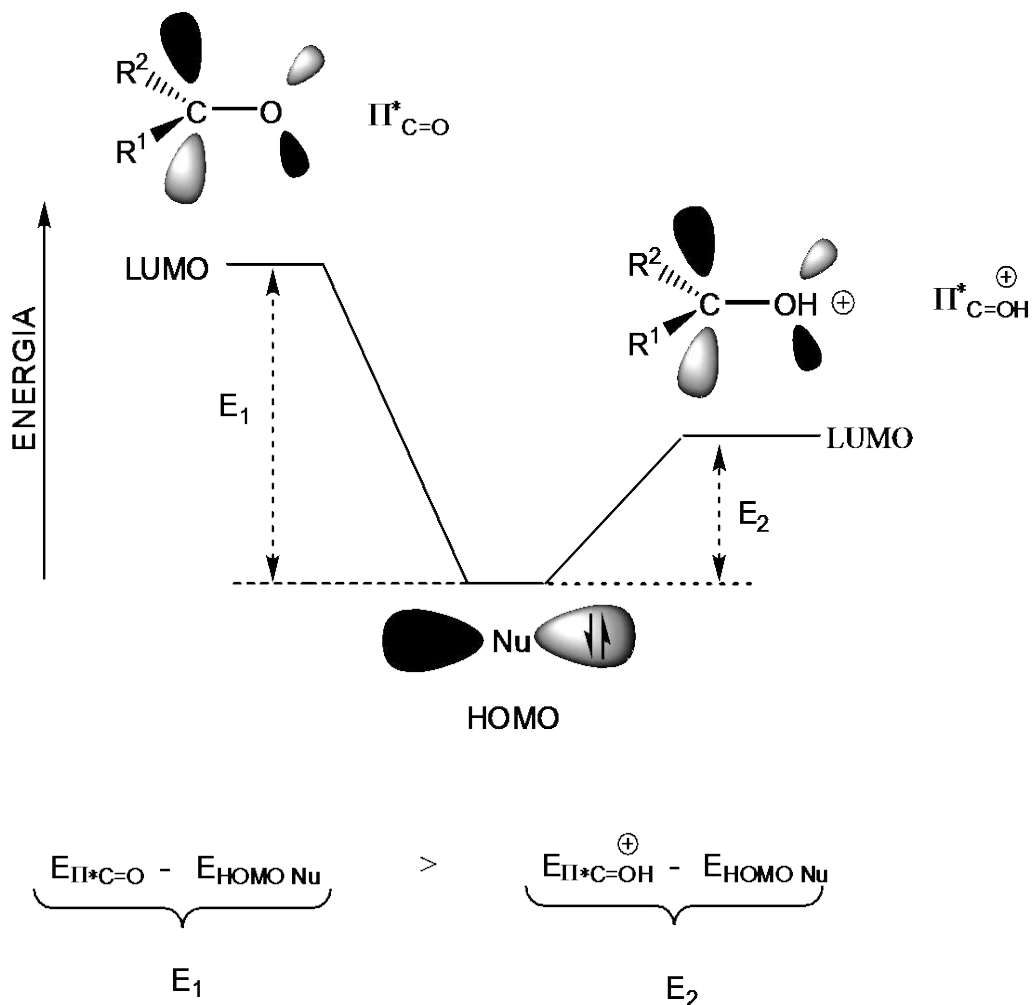
HPA = Heteropoliácido de tungstênio ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$).

Esquema 2.12– Proposta mecanística para a formação do composto **1**.

De acordo com a proposta, o carbono da função aldeído do ácido 2-formil benzoico é protonado pelo heteropoliácido, produzindo a espécie reativa (I). A reação de adição nucleofílica entre o enol da dimedona e a espécie (I) resulta na formação da espécie (II). O grupo hidroxila de (II) é, subsequentemente, protonado sendo convertido em um melhor grupo abandonador. Na última etapa, o grupo hidroxila da função ácido carboxílico de (III) ataca o carbono contendo o grupo abandonador,

resultando na formação do composto **1**, havendo liberação de água e formação da isobenzofuran-1(3*H*)-ona **1**.

O efeito catalítico do heteropoliácido na reação de formação de **1** pode ser racionalizado em termos da Teoria do Orbital Molecular (Esquema 2.13).

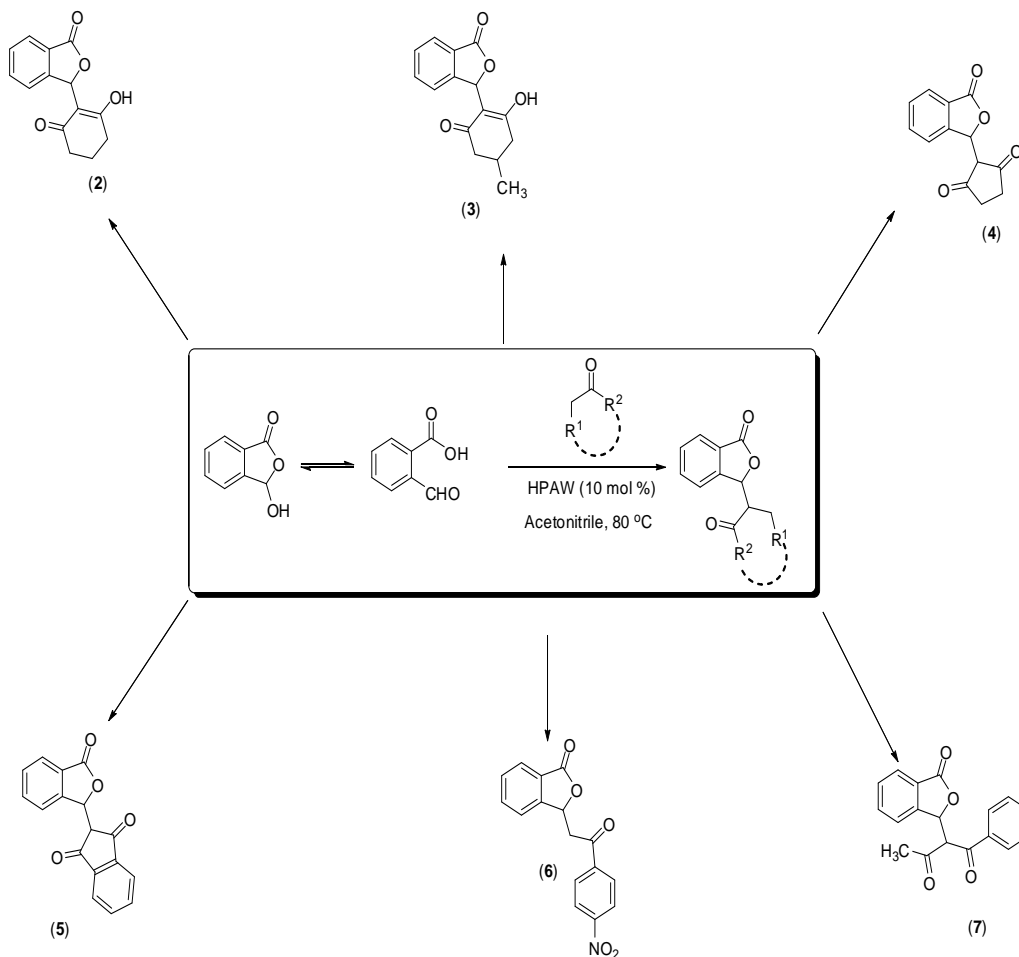


Esquema 2.13– Energias relativas do LUMO do grupo carbonila (protonado e não protonado) e HOMO do nucleófilo.

A protonação do oxigênio do carbono carbonílico diminui a energia do LUMO do eletrófilo, com aumento do coeficiente desse orbital sobre o átomo de carbono. Como o HOMO do nucleófilo (Nu) não é afetado

(essa espécie não está protonada), a diferença de energia entre o HOMO do nucleófilo e o LUMO do eletrófilo diminui em meio ácido, facilitando a adição nucleofílica (conversão de **Iem II** no Esquema 2.12, p.47).

Utilizando as condições de reação otimizadas, as substâncias **2-7** foram preparadas, Esquema 2.14.



Esquema 2.14– Síntese dos compostos 2-7.

Os rendimentos obtidos, os tempos de reação e as quantidades de reagentes utilizadas para o preparo dos compostos **2-5** estão descritos na Tabela 2.1 (p.26). Os dados espectroscópicos e

espectrométricos descritos para os compostos **2-5** estão em acordo com dados previamente descritos na literatura (PEREIRA, 2013; TEIXEIRA *et al.*, 2013a; TEIXEIRA *et al.*, 2013b).

A isobenzofuran-1(3*H*)-ona **7** (Esquema 2.14, p.49) corresponde a uma substância ainda não descrita na literatura. Ao observar o espectro no IV do composto **7** (Figura 2.5p.51) atribuiu-se as bandas em 2984 cm⁻¹ e 3067 cm⁻¹, respectivamente, aos estiramentos das ligações *sp*³C-He *sp*²C-H. As absorções em 1759 cm⁻¹ e em 1721 cm⁻¹ foram relacionadas à presença dos grupos carbonila na estrutura de **7**. A banda em 1595 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento das ligações C=C do anel aromático ao passo que a banda que aparece em 1222 cm⁻¹ corresponde ao estiramento da ligação C-O.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 2.6, p.52) observou-se que os hidrogênios aromáticos estão compreendidos entre δ_H 7,29-7,97 e foram atribuídos da seguinte forma: δ_H 7,31 (d, 1H, *J*=7,5 Hz; H-4); o multipletto observado em δ_H 7,47-7,61 corresponde aos sinais dos hidrogênios 5, 6, 3'', 4'' e 5''; o dupletto em 7,86 (d, 1H, *J*=7,2 Hz; H-7); 7,96 (d, 2H, *J*=7,8 Hz ; H-6''/H-2''). O dupletto em δ_H 6,44 foi atribuído ao hidrogênio 3, em quanto que o dupletto em δ_H 4,81 corresponde a H-3. Em δ_H 2,40 aparece um simpleto que integra pra três hidrogênios que correspondentes aos hidrogênios do grupo metila presentes na estrutura.

O sinal do grupo carbonila do anel lactônico de **7** foi observado no espectro de RMN de ¹³C (Figura 2.7, p.53) em δ_C 169,6 em quanto que

os sinais das carbonilas de 2' e 2'' aparecem em δ_c 193,1 e δ_c 199,5 respectivamente. O sinal do grupo CH_3 é observada em δ_c 29,1.

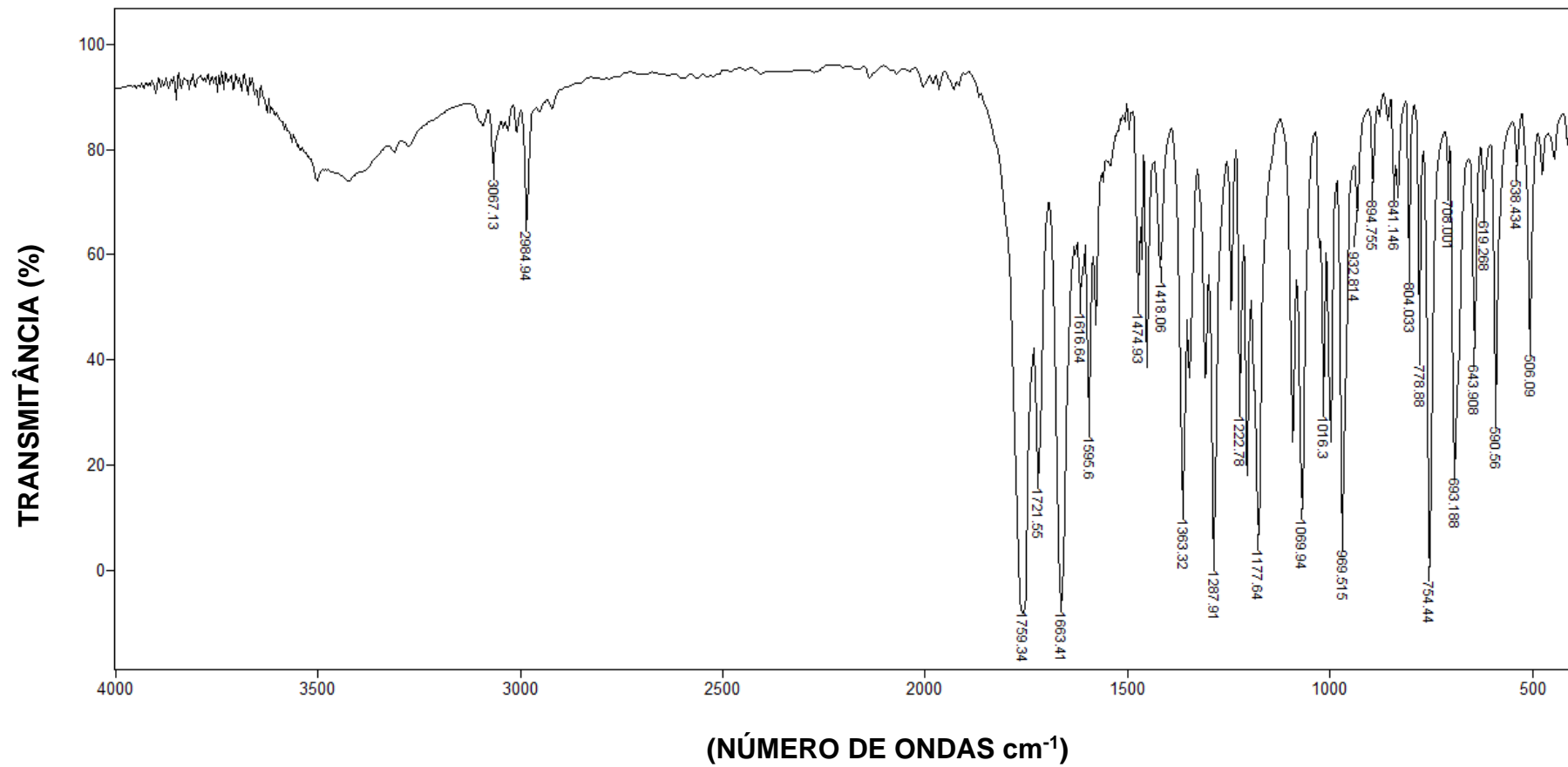


Figura 2.5– Espectro no infravermelho (KBr) do composto 7.

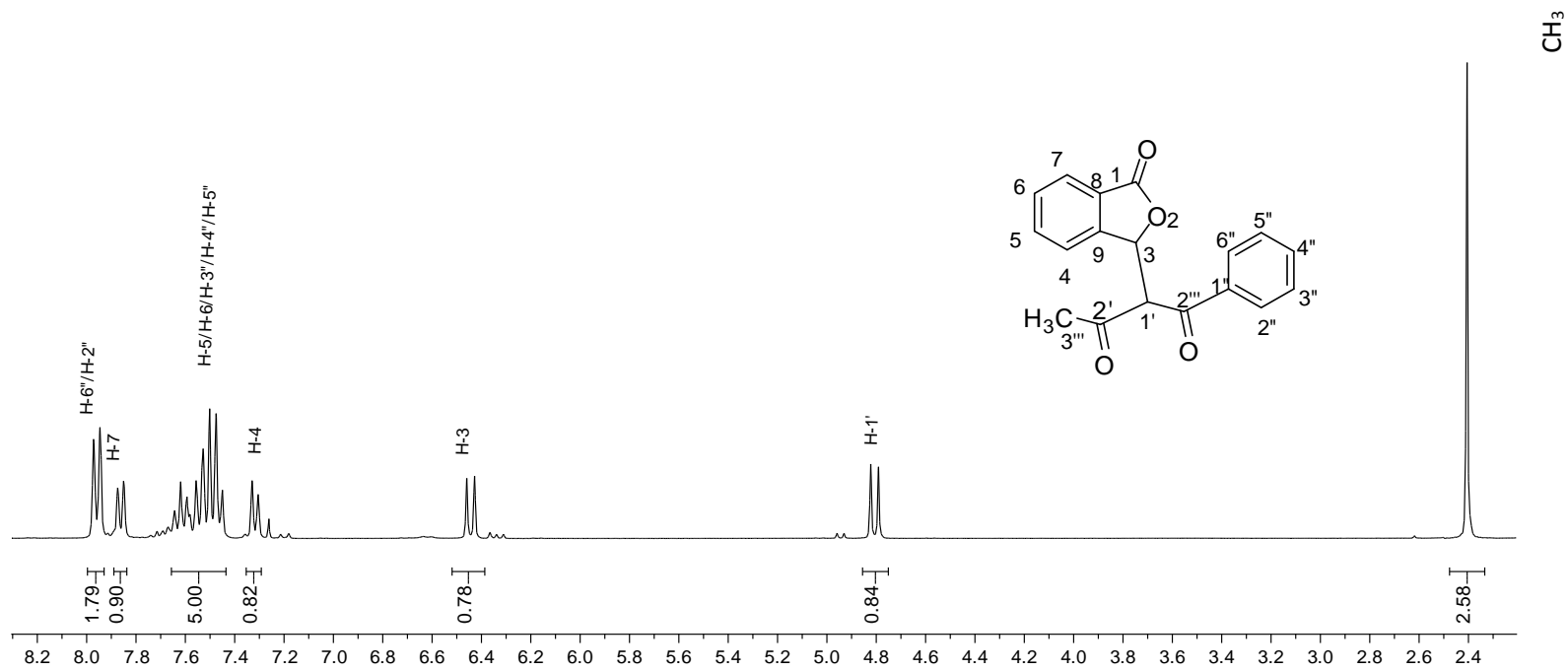


Figura 2.6– Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 7.

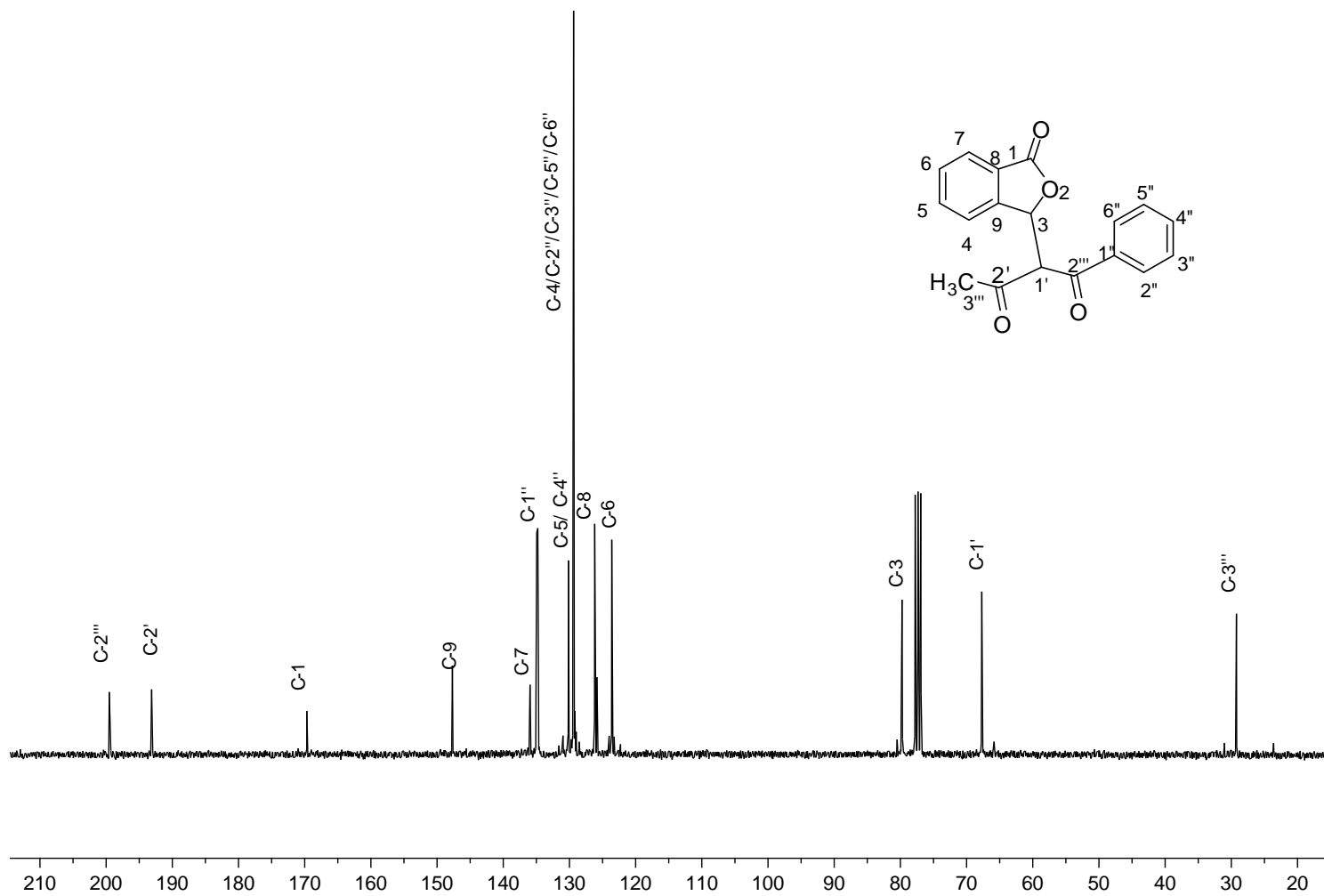
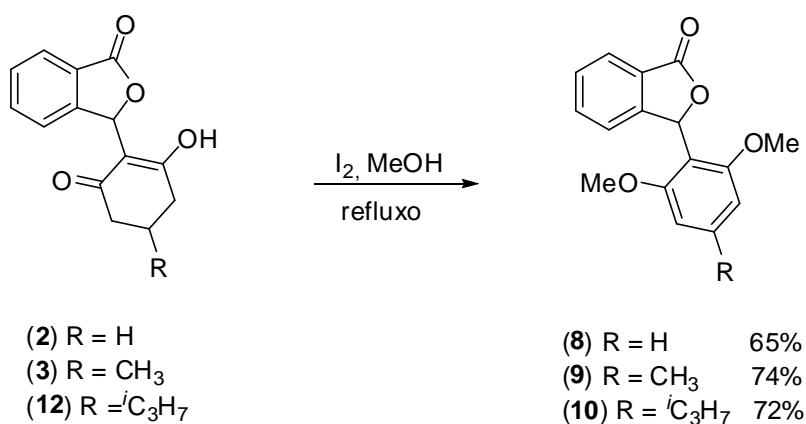


Figura 2.7– Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 7.

Para demonstrar a utilidade sintética de alguns dos compostos sintetizados via catálise homogênea com heteropoliácido, foram realizadas as reações apresentadas no Esquema 2.15. Assim, a exposição das isobenzofuranonas **2**, **3** e **12** a uma mistura de I₂ e metanol resultou na formação dos compostos metoxilados **8**, **9** e **10** com bons rendimentos.



Esquema 2-15– Síntese dos derivados metoxilados **8**, **9** e **10**.

A substância **10** ainda não foi descrita na literatura. Ela foi obtida como um sólido branco com 72% de rendimento. Nas Figuras 2.8 a 2.11 estão apresentados os espectros utilizados para a caracterização de **10**.

No espectro IV do composto **10**(Figura 2.8, p.56), observa-se uma banda intensa em 1757 cm⁻¹ correspondente ao estiramento C=O do grupo carbonila presente na estrutura. As bandas em 2958 e 2836cm⁻¹ são devidos ao estiramento das ligações C_{sp3}-H. A banda em 1606 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento C=C de anel aromático.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 2.9, p.57) observou-se que os sinais dos hidrogênios compreendidos entre δ_{H} 7,24-7,90 correspondem aos hidrogênios aromáticos e foram atribuídos como segue: 7,24 (dd, 1H, $J=7,5$ Hz, $J=0,9$ Hz; H-4); 7,45 (t, 1H, $J=7,5$ Hz; H-6); 7,55 (td, 1H, $J=7,5$ Hz; $J=1,2$ Hz; H-5); 7,90 (d, 1H, $J=7,5$ Hz; H-7). O simpleto em δ_{H} 7,03 foi atribuído ao átomo H-3. O simpleto em δ_{H} 6,38, que integra para dois hidrogênios, corresponde aos átomos H-3'/H-5'. Em δ_{H} 3,64 aparece o sinal correspondente ao grupo metoxila. O multiplete em δ_{H} 2,92-2,74, que integra para um hidrogênio, corresponde ao sinal H-1". O duplete em δ_{H} 1,23 foi atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo isopropila.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.10, p.58) observa-se o sinal do carbono carbonílico do anel lactônico em δ_{C} 172,1. Em δ_{C} 56,0 observa-se o sinal correspondente ao grupo metoxila. No espectro de massas (Figura 2.11, p.59) há um pico em m/z 312 que está de acordo com a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$ da substância **10**.

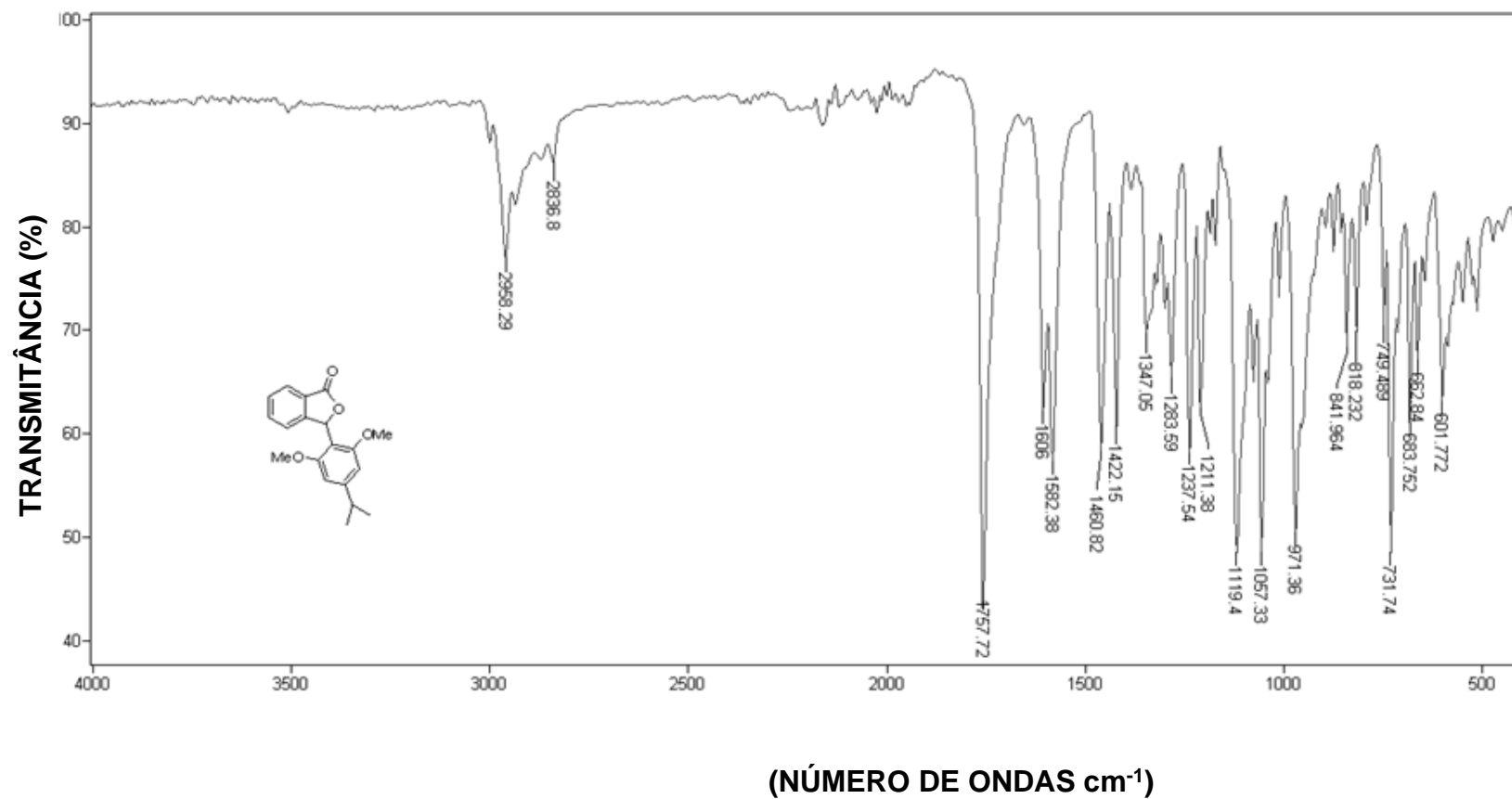


Figura 2.8- Espectro no infravermelho (ATR) do composto 10.

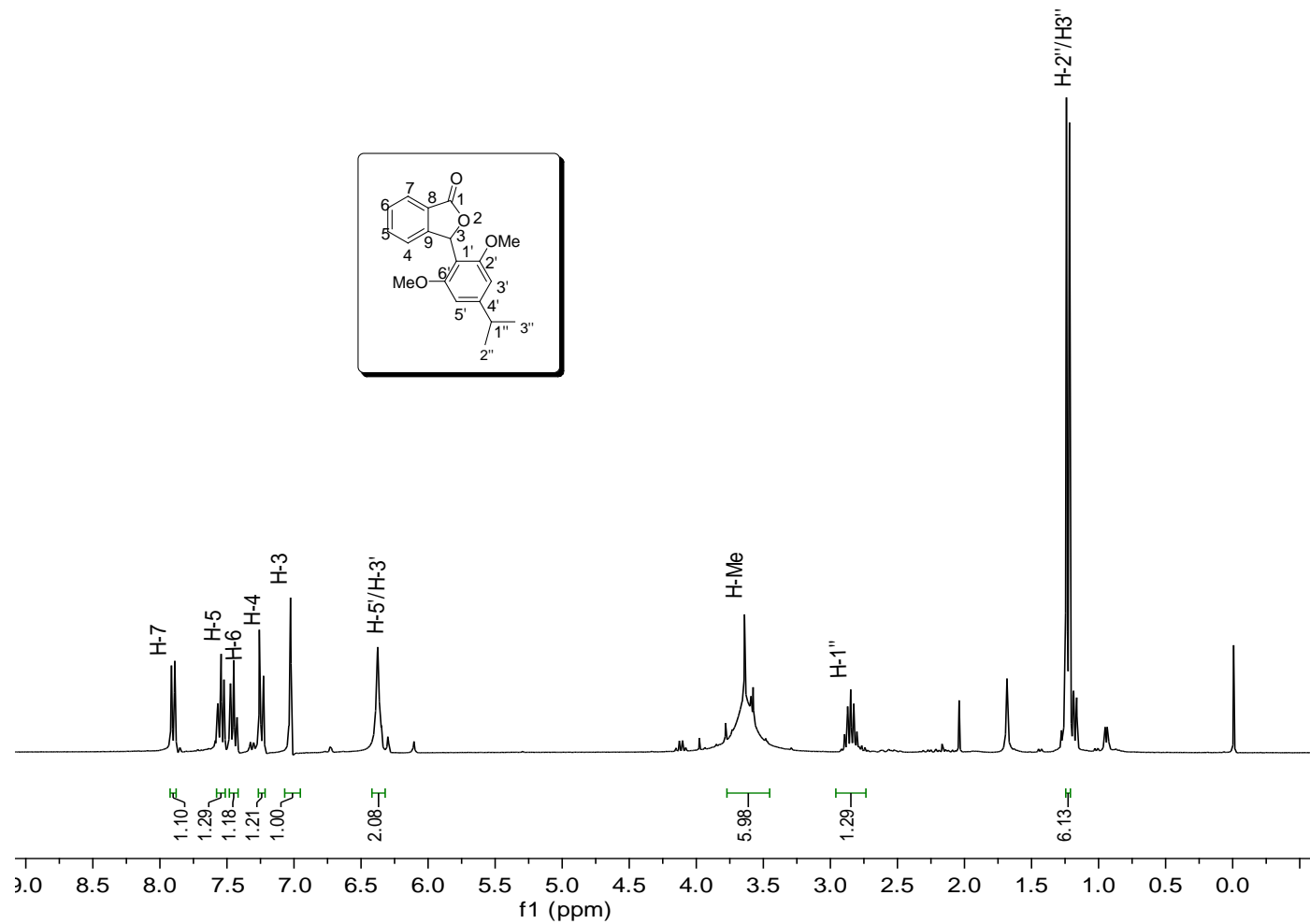


Figura 2.9– Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 10.

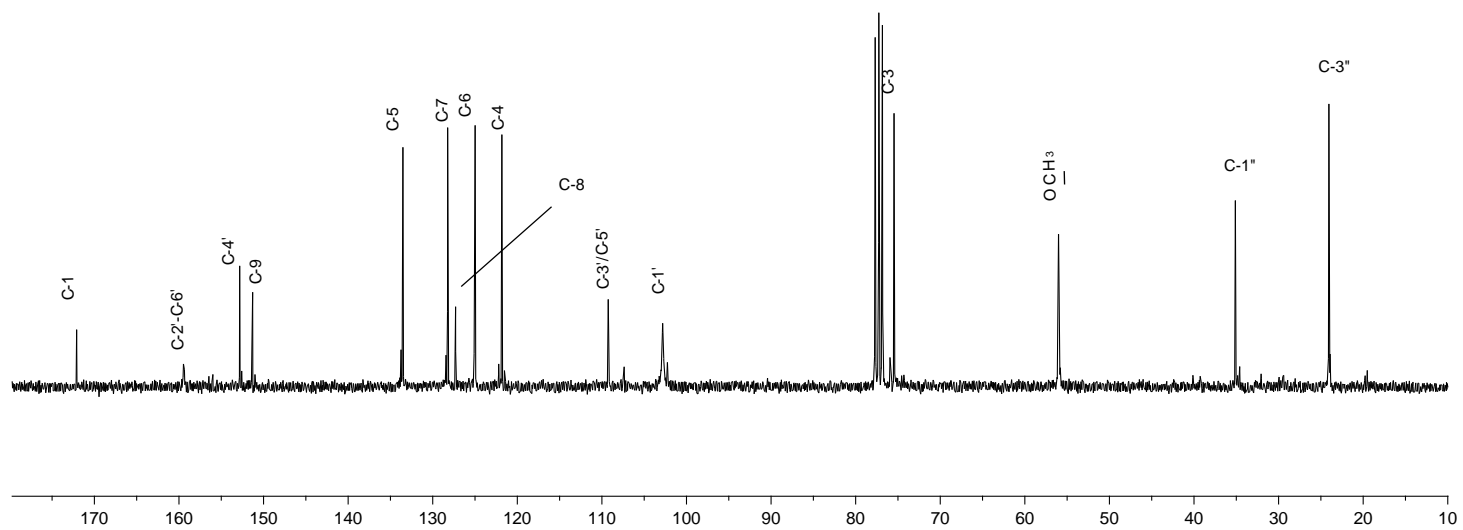
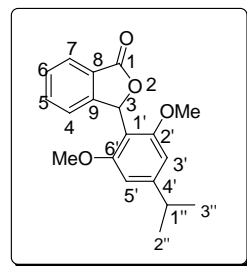


Figura 2.10 – Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 10.

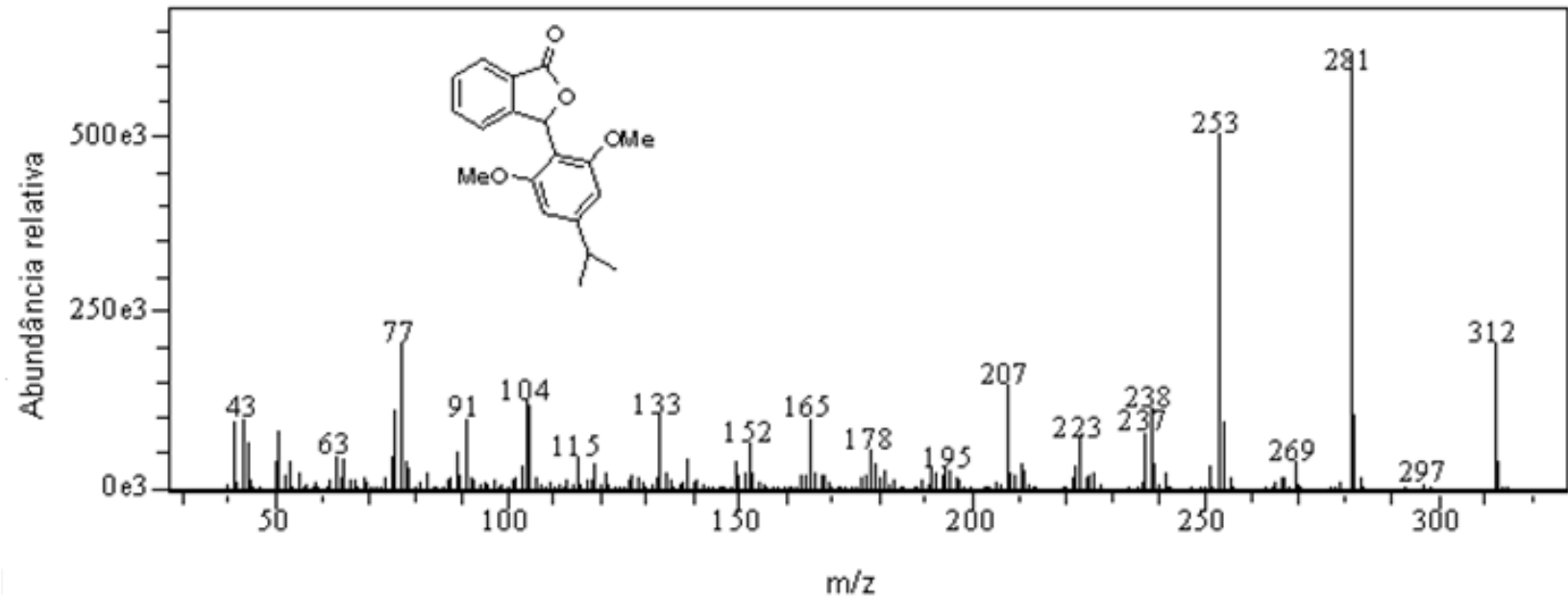


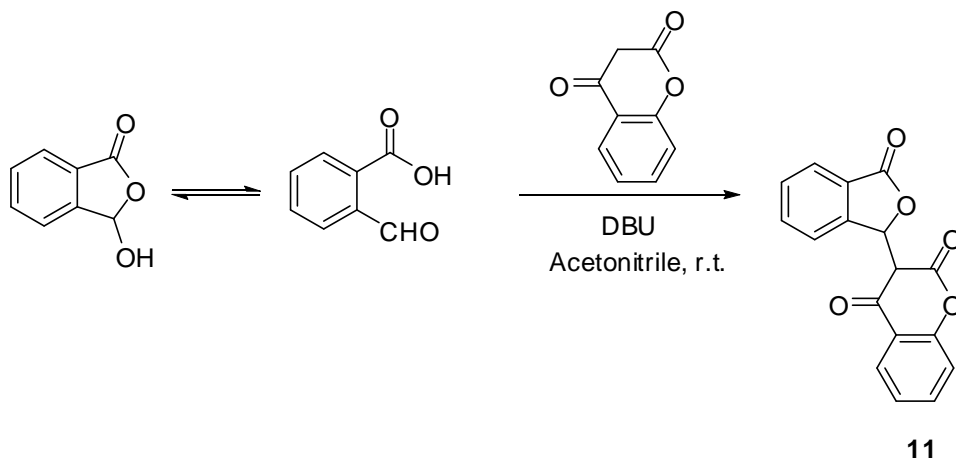
Figura 2.11 - Espectro de massas do composto 10.

Os dados espectroscópicos do composto **8** são descritos na seção **2.4.2** (p.34). Os espectros que foram adquiridos para a caracterização dos compostos são apresentados no Anexo. A estrutura de **8** está em completo acordo com os dados espectroscópicos obtidos. Salienta-se que devido a falta de solubilidade do composto **9** nos solventes deuterados CDCl₃, CD₃OD e DMSO-*d*₆, não foi possível obter seus espectros de RMN. No momento que esta dissertação está sendo escrita, o espectro do composto está sendo adquirido na UnB (colaboração) uma vez que o composto é solúvel em acetonitrila deuterada. No entanto, os dados da espectrometria de massas (vide Anexo) suportam a estrutura de **9**.

A metodologia desenvolvida também permitiu a obtenção da 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxo] isobenzofuran-1-(3*H*)-ona (**6**). Compostos pertencentes a esta classe [2-aril-2-oxo isobenzofuran-1(3*H*)-onas] possuem importantes propriedades biológicas (LIMAYE *et al.*, 2013; GONÇALVES *et al.*, 2012) bem como são intermediários úteis em síntese (PINTO *et al.*, 2003). A estrutura de **6** está em completo acordo com os dados espectroscópicos descritos na seção **2.4.2**. (p.32). Os espectros que foram utilizados na caracterização do composto **6** são apresentados no Anexo.

Quando se tentou realizar a síntese do composto **11** utilizando-se as condições que foram empregadas para o preparo dos compostos **2-7** foi obtida uma mistura complexa de produtos de difícil separação. Decidiu-se tentar a preparação de **11** utilizando uma

metodologia empregando condições básicas conforme descrito na seção 2.4.2 (p.37). Assim, reagindo-se o ácido 2-formilbenzoico e a cumarina mostrado no Esquema 2.16 (p.61), na presença de DBU, de acordo com metodologia descrita por MA e colaboradores (2007), resultou na obtenção de **11** com rendimento de 88%.



Esquema 2.16– Síntese do composto 11.

No espectro no infravermelho do composto **11** (Figura 2.12, p.63) há a presença de duas bandas intensas em 1766 cm^{-1} e em 1736 cm^{-1} que foram atribuídas aos grupos carbonila presentes na estrutura da substância. A banda em 1561 cm^{-1} foi associada ao estiramento das ligações C=C do anelo aromático. A banda que aparece em torno de 1221 cm^{-1} corresponde ao estiramento do grupo C-O.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 2.13, p.64) do composto **11** observa-se um simpleto em $\delta_{\text{H}} 6,91$, integrado pra um hidrogênio, referente a H-3. O multipeto que aparece em $\delta_{\text{H}} 7,20-7,26$ integrado para dois hidrogênios, correspondente aos átomos H4'/H-6'. O dupeto que

aparece em $\delta_{\text{H}}7,36$ que integra para um hidrogênio. corresponde a H-4. Ente $\delta_{\text{H}} 7,43-7,60$ aparece um multiplete que integra para 4 hidrogênios, sinal correspondente a H-5/H-6/H-5'. Em $\delta_{\text{H}} 7,85$ se observa um duplete atribuído a H-7' e o duplete em $\delta_{\text{H}}7,94$ relaciona-se a H-7.

No RMN ^{13}C (Figura 2-14, p.65) é evidenciada a presença dos grupos carbonilas. A carbonila do anel lactônico forneceu um sinal em δ_{C} 161,9 enquanto que o C-8' foi observado em 164,7. O sinal δ_{C} 75,6 corresponde ao carbono sp^3 e foi atribuído ao átomo C-3.

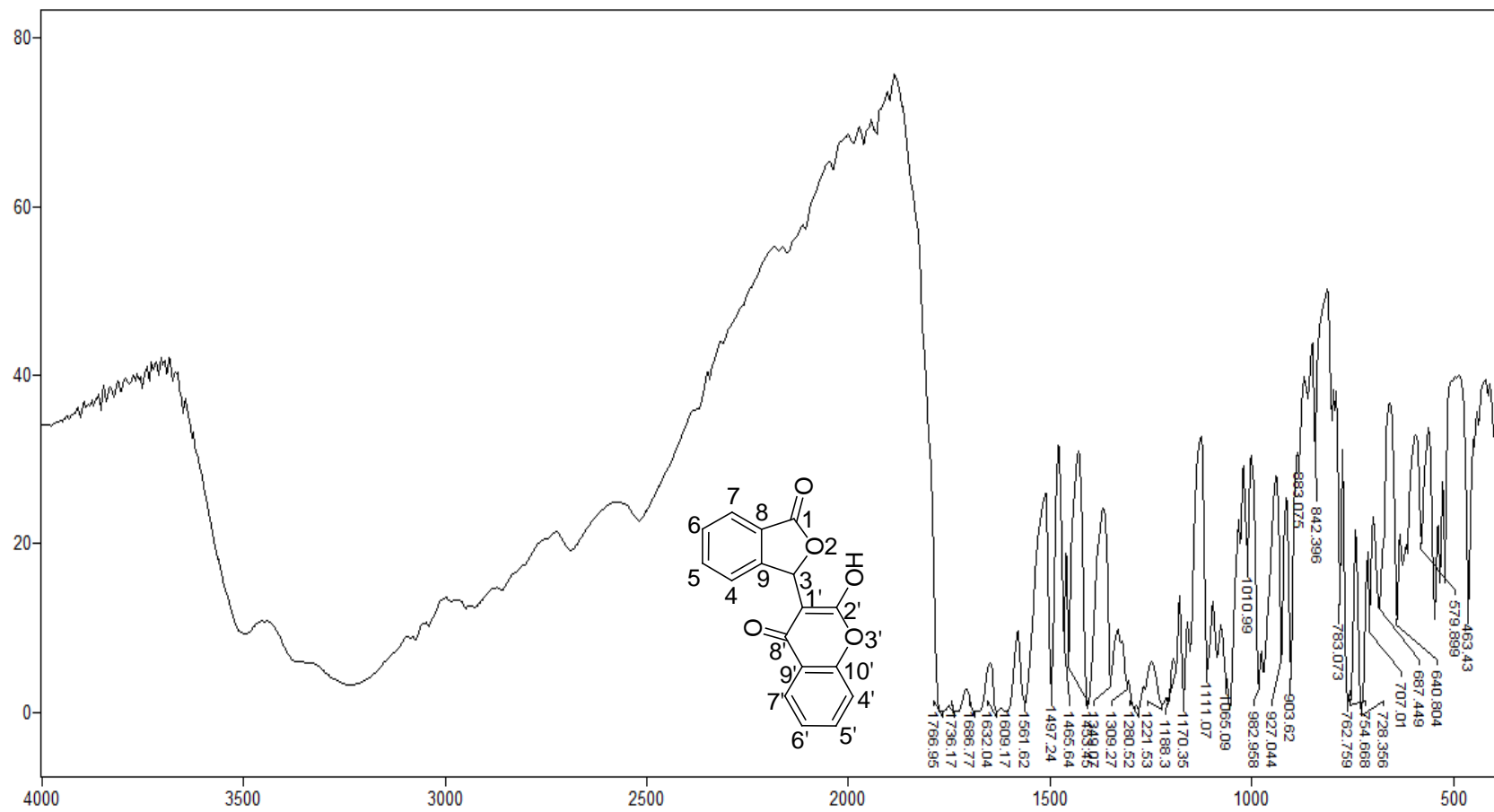


Figura 2.12- Espectro no IV (KBr) do composto 11.

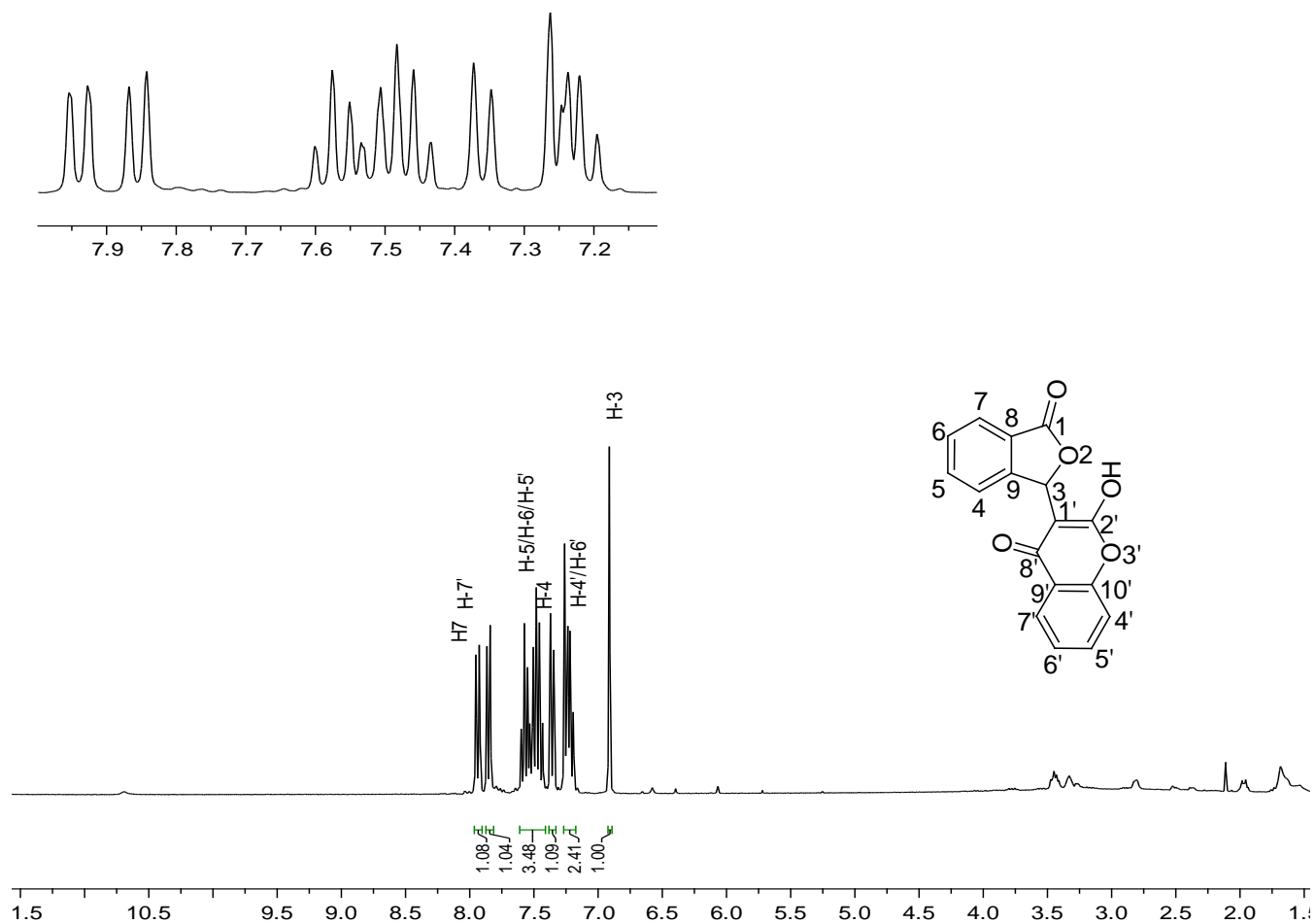


Figura 2.13-Espectro de RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) do composto 11.

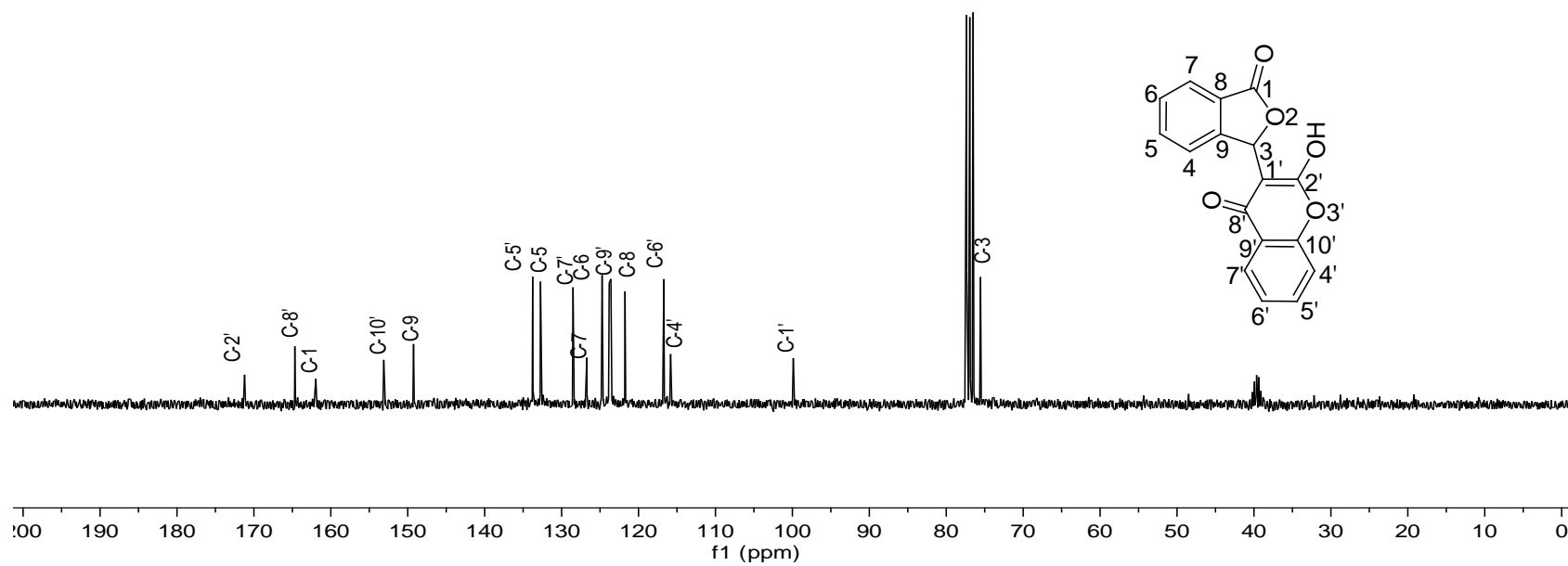


Figura 2.14 - Espectro de RMN de ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz) do composto 11.

2.5. Conclusões

Neste capítulo descreveu-se um processo de preparação de isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas via catálise homogênea com um heteropoliácido de tungstênio. As substâncias **7**, **10** e **11** não haviam sido descritas na literatura. O processo de otimização resultou em uma condição de reação (acetonitrila/80°C/10 mol% de catalisador heteropoliácido) que levou à preparação dos produtos com rendimentos sinteticamente úteis. Os compostos foram preparados utilizando reações de condensação entre o ácido 2-formil benzoico e diferentes compostos carbonilados. As isobenzofuran-1(3*H*)-onas foram completamente caracterizadas via espectroscopia no IV, RMN e espectrometria de massas. Esta é a primeira vez que se descreve um processo de catálise homogênea com heteropoliácido para o preparo desta classe de substâncias. Além disso, mostrou-se a utilidade sintética dos compostos preparados para a síntese de isobenzofuranonas contendo núcleos aromático ligados à posição C-3 do núcleo isobenzofuranona. A metodologia também é útil para a preparação de substâncias biologicamente ativas, como exemplificado para o preparo da 3-[2(-*para*-nitrofenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**6**). Considerando a facilidade de execução da reação bem como a igual facilidade de isolamento dos compostos sintetizados, acredita-se que esta metodologia possa ser utilizada pela comunidade científica em trabalhos de síntese orgânica.

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANTES, A.C.C.; BIANCHI, M.L. Heteropoliácidos: utilização na produção de biodiesel e bioetanol e reaproveitamento do glicerol. *Revista virtual de química*, v.5, p.959-972, 2013.
- BARBOSA, L. C. A. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa: Editora UFV, 2007, p. 81.
- DA PENHA, E.T.; FORNI, J.A.; BIAJOLI, A.F.P.; CORREIA, R.D. Expedient synthesis of 3,4-dihydroisocoumarins and phthalides using the Heck-Matsuda reaction. *Tetrahedron Letters*, v.52, p.6342-6345, 2011.
- DI MOLA, A.; PALOMBI, L.; MASSA, A. Active methylene compounds in the synthesis of 3-substituted isobenzofuranones, isoindolinones and related compounds. *Current Organic Chemistry*, v. 16, p. 2302-2320, 2012a.
- DI MOLA, A.; GOCE, G.; MORE, V.; De CAPRARIIS, P.; FILOSA, R.; MASSA, A. Active methylene compounds in a very effective approach to 3-substituted isobenzofuranones tandem aldol/lactonization reactions. *Tetrahedron*, v.68, p.6146-6151, 2012.
- GONÇALVES, C. J.; LENOIR, A. S.; PADARATZ, P.; CORRÊA, R.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V.; BUZZI, F. C. Benzofuranones as potential antinociceptive agents: structure-activity relationships. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 56, p. 120-126, 2012.

- KANSAWA,C; TERADA, M. Organic-base-catalyzed synthesis of phthalides via highly regioselective intramolecular cyclization reaction. *Tetrahedron letters*, v.48, p. 933-935, 2007.
- KZHEVNIKOV, I.V. Sustainable heterogeneous acid catalysis by heteropoly acids. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, v.262, p.86-92. 2007.
- KZHEVNIKOV, I.V. Catalysts for fine chemicals, vol 2: catalysis by polyoxometalates. Chichester: Wiley.2002
- KOZHEVNIKOV, I. V. Catalysis by heteropoly acids and multicomponents polyoxometalates in liquid phase reaction. *Chemical Reviews*, v.98, p.171-198.
- LANDGE, S; BERRYMAN, M; TOROK, B. Microwave-assisted solid acid-catalyzed one-pot synthesis of isobenzofuran-1(3H)-ones. *Tetrahedron Letters*, v.49, p.4505-4508,2008.
- LIMAYE, R.A; KUMBHAR, V.B; NATU, A.D; PARADKAR, M.V; HONMORE, V.S; CHAUHAN, R.R; GAMBLE, S.P; SARKAR,D. One pot solvent free synthesis and in vitro antitubercular screening of 3-Aracylphthalides against *Mycobacterium tuberculosis*. *Bioorganic and Medicinal chemistry letters*, v.23, p.711-714,2013.
- MAL, D; PAHARI, P; RANJAN DE, S. Regiospecific synthesis of 3-(2,6-dihydroxyphenyl)phthalides: application to the synthesis of isopestacin and cryphonectric acid. *Tetrahedron*,v.63, p. 11781-11792, 2007.

- MIRABDOLBAGHI, R; DUDDING, T. A synthetic route to chiral C₍₃₎ – functionalized phthalides via a Ag (I)-catalyzed allylation/transesterification sequence. *Tetrahedron*, v.69, p. 3287-3292, 2013.
- PINTO, G. C. A.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; ELGURO, J. *European Journal of Organic Chemistry*, p. 747-755, 2003
- POPE, M. T. Heteropoly and Isopoly oxometalates. Berlin, New York and Tokio: Editorial Springer-Verlag, 1983.
- RAMBABU, D; KUMAR, P.G; KUMAR, B.D.; KAPAVARAPU, R; RAO, M.V.B.; PAL, M. Pd/C mediated synthesis of (Z)-3-alkylidenephthalides of potencial pharmacological interest. *Tetrahedron Letters*, v.54, p.2989-2995, 2013.
- TEIXEIRA, R. R.; PEREIRA, W. L.; TOMAZ, D. C.; de OLIVEIRA, F. M.; GIBERTI, S.; FORLANI, G. Synthetic analogues of the natural compound cryphonectric acid interfere with photosynthetic machinery through two different mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 5540-5549, 2013a.
- TEIXEIRA, R. R.; BRESSAN, G. C.; PEREIRA, W. L.; FERREIRA, J. G.; de OLIVEIRA, F. M.; TOMAZ, D. C. Synthesis and antiproliferative activity of C-3 functionalized isobenzofuran-1(3H)-ones. *Molecules*, v. 18, p. 1881-1896, 2013b.
- ULLYOT, G. E.; STEHLE, J. J.; ZIRKLE, C. L.; SHRINER, R. L.; WOLF, F. J. Analgesics. I. Aminophthalidylalkanes. *Journal of Organic Chemistry*, v. 10, p. 429-440, 1945.

CAPÍTULO 3

AVALIACAO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS ISOBENZOFURANONAS C-3 FUNCIONALIZADAS

3.1. Introdução

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (**maligno**) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (**metástase**) para outras regiões do corpo” (INCA, 2014a).

A rápida e incontrolável divisão celular e a perda de caracterização tornando se células atípicas resultam no aparecimento de tumores malignos ou neoplasias malignas. Esses tumores são resultantes do

acúmulo de células cancerosas. Porém, existem tumores benignos que são resultantes simplesmente de uma massa localizada de células que se multiplicam vagarosamente e se assemelham ao tecido original.(EVAN e VOUSDEN, 2001)

O câncer representa um importante problema de saúde pública ao redor do mundo. De acordo com informações divulgadas recentemente pela Agência Internacional para a Pesquisa em Câncer (IARC, na sigla em inglês), um órgão vinculado à Organização Mundial de saúde, o número anual de casos de câncer deverá aumentar 50% nas duas próximas décadas. Ainda segundo a agência, no ano de 2012 14 milhões de casos de câncer foram registrados ao redor do mundo. Esse número passará para 22 milhões de registros anuais daqui a 20 anos (IARC, 2014).

No Brasil, segundo as estimativas relatadas pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA), estão previstas para 2014 o surgimento de aproximadamente 580.000 novos casos de câncer. Dentre esses novos casos, os que mais atingem a população masculina são os cânceres de próstata, pulmão, cólon e reto e esôfago enquanto que na população feminina os mais frequentes são os cânceres de pele, mama, colo do útero, cólon e reto, pulmão e estômago.(INCA, 2014b).

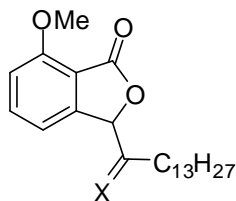
Os três principais tipos de tratamento do câncer são a radioterapia, a cirurgia e a quimioterapia. No que tange à quimioterapia, a questão crítica é identificar como as células tumorais diferem das células normais

e como essas diferenças podem ser exploradas terapeuticamente (EVAN e VOUSDEN, 2001).

Embora vários quimioterápicos já tenham sido descobertos e continuam sendo usados na terapêutica do câncer, existem diversos problemas relacionados aos seus usos, dentre os quais se destacam os efeitos colaterais como diarreia, vômito, fraqueza, queda de cabelo, tonturas. Outro problema associado ao uso desses quimioterápicos consiste na sua não especificidade para células tumorais, além de serem considerados tóxicos para células normais. Além disso, à ineficiência dos fármacos em relação aos diferentes tipos de câncer, bem como o aumento do aparecimento de linhagens resistentes a estes medicamentos são também bastante preocupantes (CHABNER e ROBERTS, 2005). Dentro desse contexto, a busca por novos princípios ativos mais eficientes para serem empregados na terapêutica do câncer é uma área de intensa pesquisa científica.

Dentro das diferentes bioatividades apresentadas pelas isobenzofuranonas, encontra-se a citotoxicidade contra diferentes linhagens de células cancerígenas. LOGRADO e colaboradores (2010) sintetizaram isobenzofuranonas a partir de ácidos anacárdicos (Figura 3.1). As isobenzofuranonas **13** e **14** apresentaram significativa atividade citotóxica contra três linhagens celulares de câncer humano. Em particular, a substância **14** mostrou efeito significativo contra células HL-60 (leucemia, IC_{50} 3,24 μ g mL⁻¹) e atividade moderada contra as

linhagens celulares SF-295 (glioblastoma, IC_{50} 10,09 μ g mL⁻¹) e MDA-MB-435 (melanoma, IC_{50} 8,70 μ g mL⁻¹).



- (13) X=OH, H
(14) X = O

Figura 3.1- Estruturas das isobenzofuranonas 13 e 14 derivadas dos ácidos anarcádicos.

Mais recentemente, TEIXEIRA e colaboradores (2013) sintetizaram e avaliaram o efeito citotóxico de uma série de isobenzofuranonas funcionalizadas no carbono 3 com grupos alicíclicos ou aromáticos (Figura 3.2).

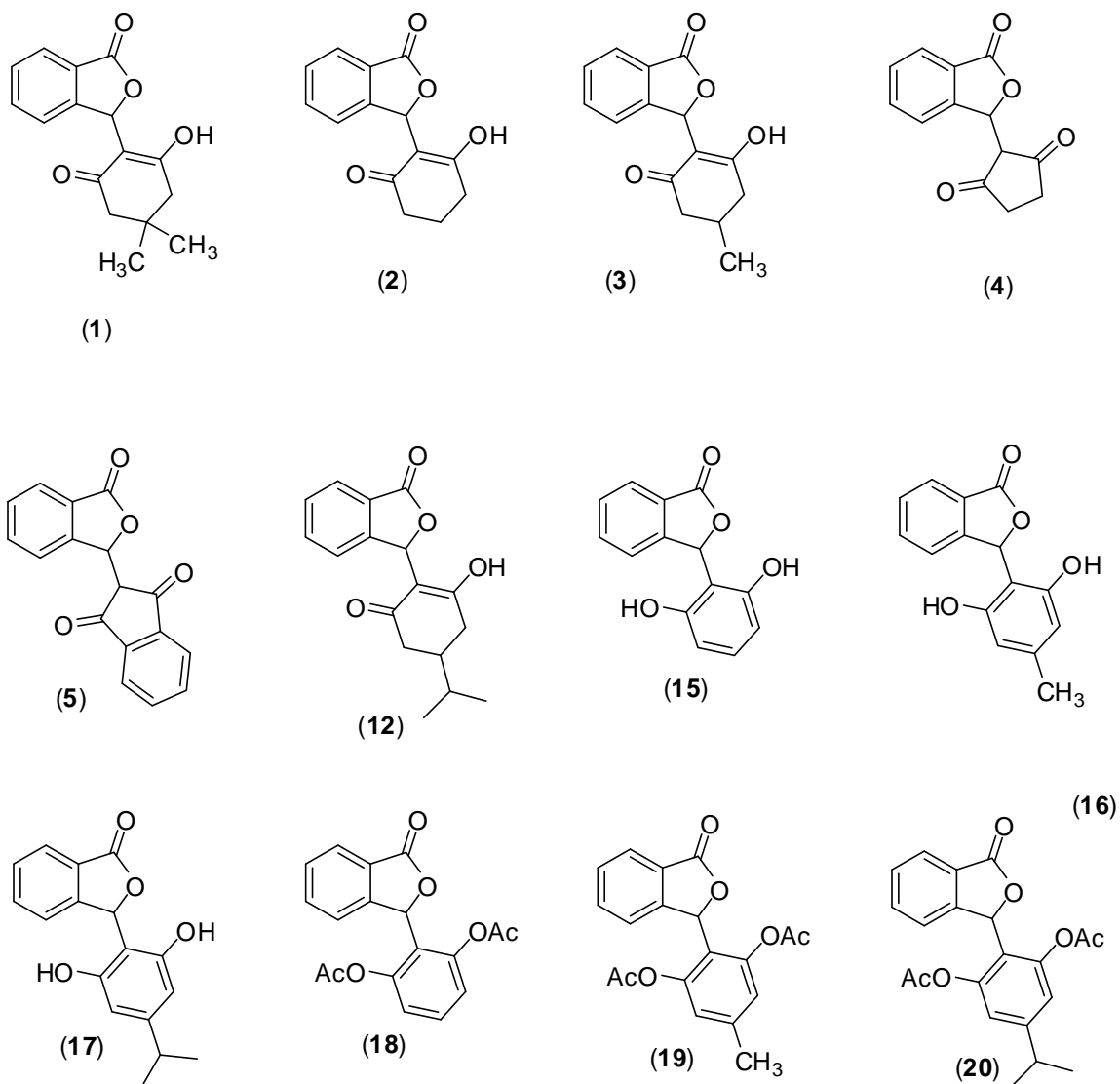


Figura 3.2 - Isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas que apresentam atividade citotóxica.

Os compostos foram biologicamente testados contra as linhagens de células U937 (linfoma) e K562 (leucemia mielóide). Dentre os compostos avaliados, as isobenzofuranonas **17** e **19** foram as mais efetivas em termos de inibição de viabilidade celular, apresentando valores de IC₅₀ respectivamente iguais a 2,79 e 1,71 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para linhagem U937. Estes valores de inibição foram melhores que o valor

encontrado para a droga comercial etoposídeo ($IC_{50} = 7,06 \mu\text{mol L}^{-1}$) que é comumente utilizada em tratamentos de leucemia.

Considerando estas informações descritas na literatura, buscou-se avaliar a citotoxicidade das isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas **7-11** (Esquemas 2-14, 2-15 e 2-16 páginas 49,54 e 61 respectivamente) sintetizadas neste trabalho, contra a linhagem celular B16 (melanoma). Neste capítulo são descritos os resultados obtidos.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Avaliação da atividade citotóxica

A linhagem de melanoma (B16) foi mantida em meio RPMI 1640 (Gibco, Invitrogen, CA, USA) suplementada com 10% de soro fetal bovino (SFB) (LGC, Campinas, Brasil), penicilina 100 U/mL e estreptomicina 100 $\mu\text{g/mL}$. As células foram mantidas a 37 °C sob tensão de 5% de CO_2 . O subcultivo foi realizado semanalmente para a manutenção dos estoques celulares. Inicialmente o meio foi removido da placa de células confluentes e lavadas com tampão fosfato de sódio 10 mmol L^{-1} contendo NaCl 140 mmol L^{-1} , KH_2PO_4 1,7 mmol L^{-1} e KCl 2,7 mmol L^{-1} , pH 7,4 (PBS 1X). Em seguida, as células foram incubadas com uma solução de tripsina-EDTA (Cultilab, Campinas, Brasil), 1 mL em cada placa de 60 x 10 mm. A seguir, as células foram ressuspensas em meio e transferidas (aproximadamente 1×10^5 células) para uma nova placa contendo meio RPMI enriquecido com 10% SFB, previamente equilibrado a 37 °C. O

meio foi substituído no dia seguinte ao subcultivo, e também a cada 3 dias. Para os ensaios de viabilidade celular, inicialmente as células B16 foram removidas da garrafa de cultivo utilizando solução de tripsina-EDTA (Cultilab, Campinas, Brasil), lavadas com PBS 1X pH 7,4 estéril, centrifugadas e ressuspensas em meio RPMI, pH 7,4 acrescido de 10% de SFB. Em seguida, as células foram contadas em câmara de Neubauer e semeadas em placas de 96 poços (TPP, Trasadingen, Suíça) na concentração de 5×10^3 células/100 mL/poço em meio RPMI com adição de 10% de SFB, por 24 horas para completa aderência à placa. Em seguida, os compostos foram adicionados as placas de 96 poços, em diferentes concentrações (200; 100; 50; 10; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e incubados a 37 °C sob tensão de 5% de CO_2 por um período de 48 horas. Ao final do período de incubação, foi adicionado 10 ml de MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (5 mg mL^{-1}) em cada poço, e as células incubadas por 2 horas a 37 °C. Subsequentemente, o meio foi removido e adicionado 100 μL de DMSO (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) para solubilização dos cristais de formazan e incubado por 20 minutos a 37 °C. Finalmente, a absorbância foi detectada em A540 no espectrofotômetro (Thermo, Multiscan GO). Cada análise foi realizada em quadruplicata e os resultados foram normalizados considerando as culturas tratadas (0,4 % de DMSO), porém sem adição dos compostos. Foram determinadas as médias das repetições e determinados os desvios-padrão. Os valores de IC_{50} foram calculados usando o software GraphPad Prism versão 5.0.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Descrição dos resultados dos ensaios de avaliação da atividade citotóxica

Os compostos **7-11** (Esquemas 2-14, 2-15 e 2-16 páginas 49,54 e 61 respectivamente) foram submetidos a um ensaio biológico para a avaliação de suas atividades citotóxicas contra a linhagem celular melanoma (B16). Os ensaios foram feitos em quadruplicata e os resultados de porcentagem de inibição e de IC₅₀ para os compostos que apresentaram atividade, são apresentados nas Tabelas 3.1 e 3.2, respectivamente.

Tabela 3.1 – Porcentagem de inibição obtidos nos ensaios de citotoxicidade dos compostos 7-11

Concentração	200 µM	100 µM	50 µM	10µM
Composto				
7	72,16 ± 1,74	67,93 ± 1,12	59,63 ± 1,36	43,99 ± 2,96
8		Baixa Solubilidade em DMSO		
9		Baixa Solubilidade em DMSO		
10		Baixa Solubilidade em DMSO		
11	41,70 ± 22,45	47,40 ± 17,28	13,95 ± 13,45	24,76 ± 8,09

Tabela 3.2-Resultados obtidos (IC₅₀) nos ensaios de citotoxicidade dos compostos 7-11

Composto	IC₅₀ µM
7	52,73
8	Baixa solubilidade em DMSO

9	Baixa solubilidade em DMSO
10	Baixa solubilidade em DMSO
11	(-)

IC₅₀: concentração dos compostos requerida para inibir 50% da viabilidade celular.
 (-) Composto não apresentou efeito citotóxico contra a linhagem estudada.

Devido à baixa solubilidade dos compostos **8-10** em DMSO, suas atividades citotóxicas não puderam ser determinadas.

Conforme pode ser percebido, após 48 horas de tratamento, o composto **9** apresentou inibição sobre a viabilidade das células B16(Tabela 3.1, pagina 76), embora apresente valor de IC₅₀ relativamente elevado (Tabela 3.2 pagina 76). Este fato poderia levar as células cancerosas a desenvolverem mecanismos de resistência, levando a diminuição da efetividade da substância avaliada.

3.4. CONCLUSÕES

Os ensaios de avaliação da citotoxicidade dos compostos **7-11** mostraram que somente uma substância **9** foi capaz de inibir a viabilidade celular. No entanto, o efeito observado é apenas moderado. A isobenzofuranona **11** não apresentou atividade citotóxica contra a linhagem de célula investigada. Devido à baixa solubilidade dos derivados aromáticos **8-10** em DMSO, não foi possível fazer uma avaliação dos efeitos desses compostos sobre a viabilidade celular de melanoma (B16). Como perspectiva futura, seria necessário o desenvolvimento de um protocolo para avaliação da atividade desses compostos empregando um solvente no qual eles sejam solúveis, mas

que apresente baixa toxicidade para as células. Isso seria interessante uma vez que os derivados C-3 funcionalizados mais ativos descritos por Teixeira e colaboradores (2013) apresentavam grupos aromáticos ligados ao átomo C-3 do núcleo isobenzofuranona. Alternativamente, podem-se buscar formulações que deixem esses compostos biodisponíveis nas condições utilizadas para realização dos ensaios citotóxicos. Salienta-se que para o composto **9** estudos envolvendo diferentes formulações poderiam ser realizados visando uma melhoria da atividade biológica.

3.5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHABNER, B. A.; ROBERTS JR, T. G. Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews*, v. 5, p. 65-72, 2005.

EVAN, G.; VOUSDEN, K. H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*, v. 411, p. 342-348. 2001.

IARC (International Agency for Research on Cancer), 2014. Latest world cancer statistics. Global cancer burden rises to 14.1 million new cases in 2012: Marked increase in breast cancers must be addressed. Disponível em: <<http://www.iarc.fr/>>. Acesso em: 01 Fev. 2014.

INCA (Instituto Nacional de Câncer), 2014a. Câncer. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. Acesso em: 01 Fev. 2014.

INCA (Instituto Nacional de Câncer), 2014b. Estimativas 2014. Disponível em
http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site+/home+/noticias/2013/inca_ministerio_saude_apresentam_estimativas_cancer_2014. Acesso em: 01 Fev. 2014.

LOGRADO, L. P. L.; SANTOS, C. O.; ROMEIRO, L. A. S.; COSTA, A. M.; FERREIRA, J. R. O.; CAVALCANTI, B. C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; DOS SANTOS, M. L. Synthesis and cytotoxicity screening of substituted isobenzofuranones designed from anacardic acids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 3480-3489, 2010.

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

TEIXEIRA, R. R.; BRESSAN, G. C.; PEREIRA, W. L.; FERREIRA, J. G.; DE OLIVEIRA, F. M.; THOMAZ, D. C. Synthesis and antiproliferative activity of C-3 functionalized isobenzofuran-1(3*H*)-ones. *Molecules*, v. 18, p. 1881-1896, 2013.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um sistema catalítico homogêneo que utiliza o heteropolíacido $H_3PW_{12}O_{40}$ foi desenvolvido. Empregando este sistema, uma série de isobenzofuran-1(3*H*)-onas pôde ser sintetizada em rendimentos sinteticamente úteis. Foram preparadas três isobenzofuranonas que não haviam ainda sido descritas na literatura. Além disso, mostrou-se a utilidade sintética dos compostos preparados para a síntese de isobenzofuranonas contendo núcleos aromáticos ligados à posição C-3 do núcleo isobenzofuranona. Um teste de avaliação da citotoxicidade das substâncias **7-10** revelou que a substância **9** possui um efeito citotóxico moderado contra a linha celular melanona B-16.

5. ANEXO

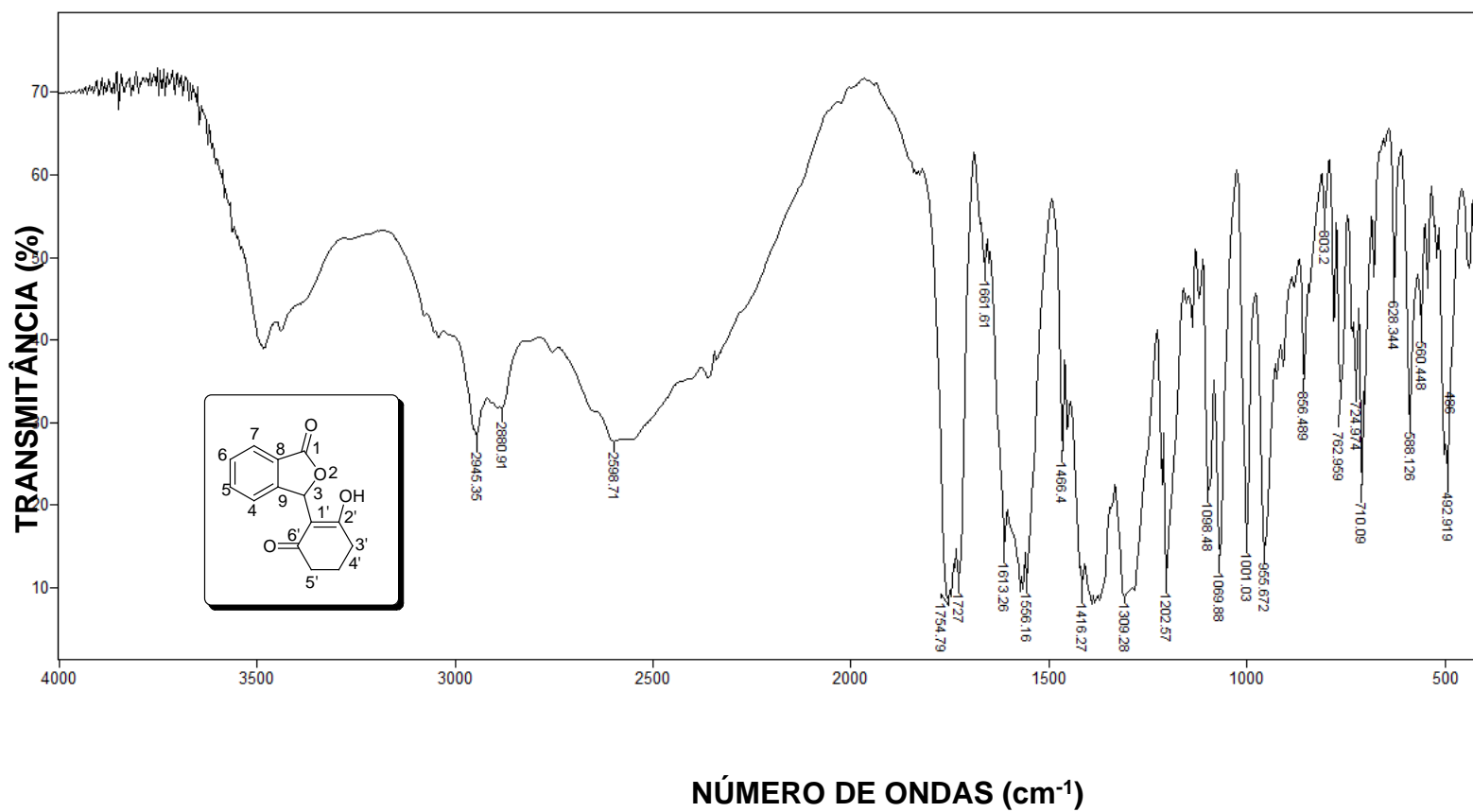


Figura 5.1 - Espectro no infravermelho (KBr) do composto 2.

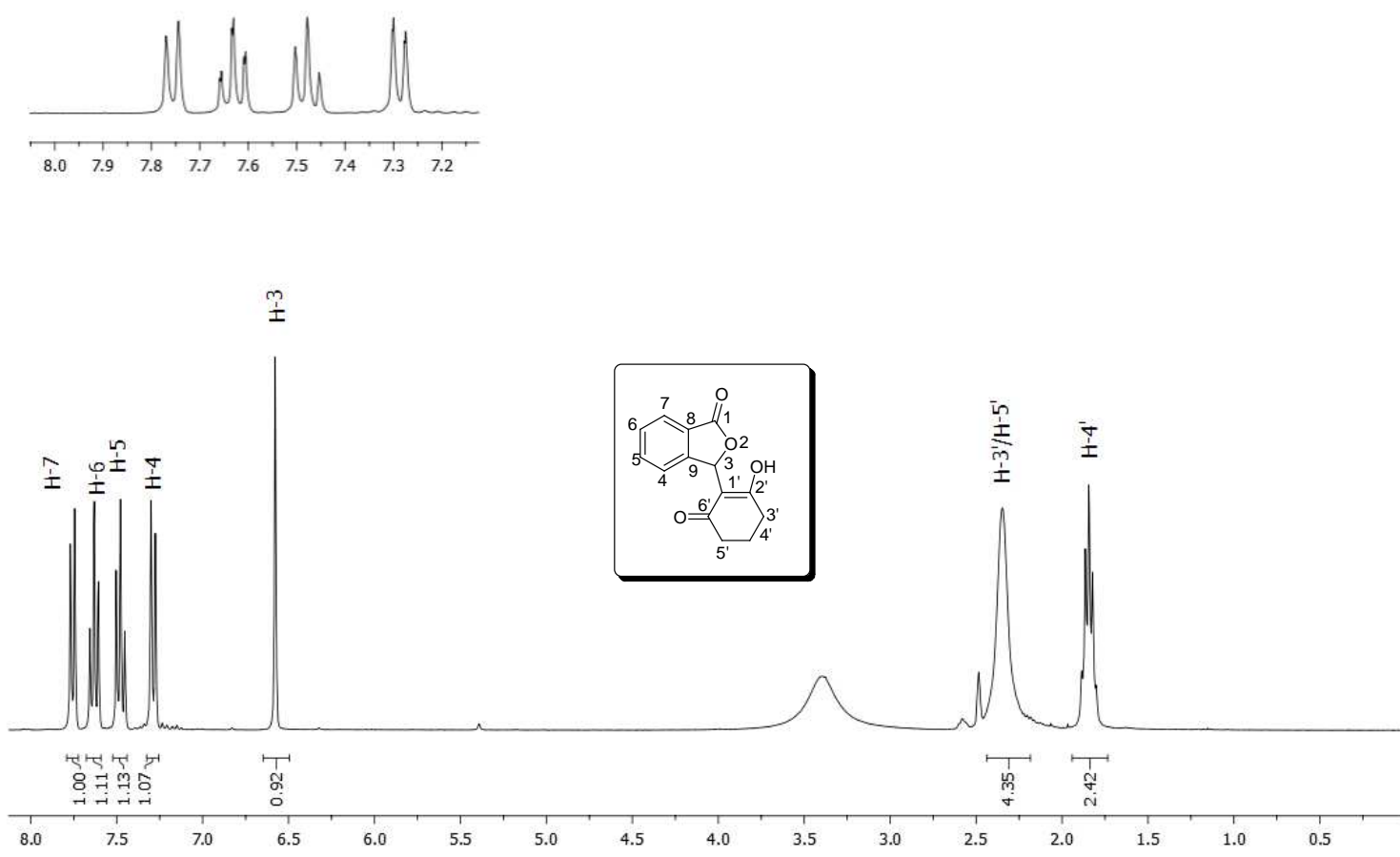


Figura 5.2 - Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 300MHz) do composto 2.

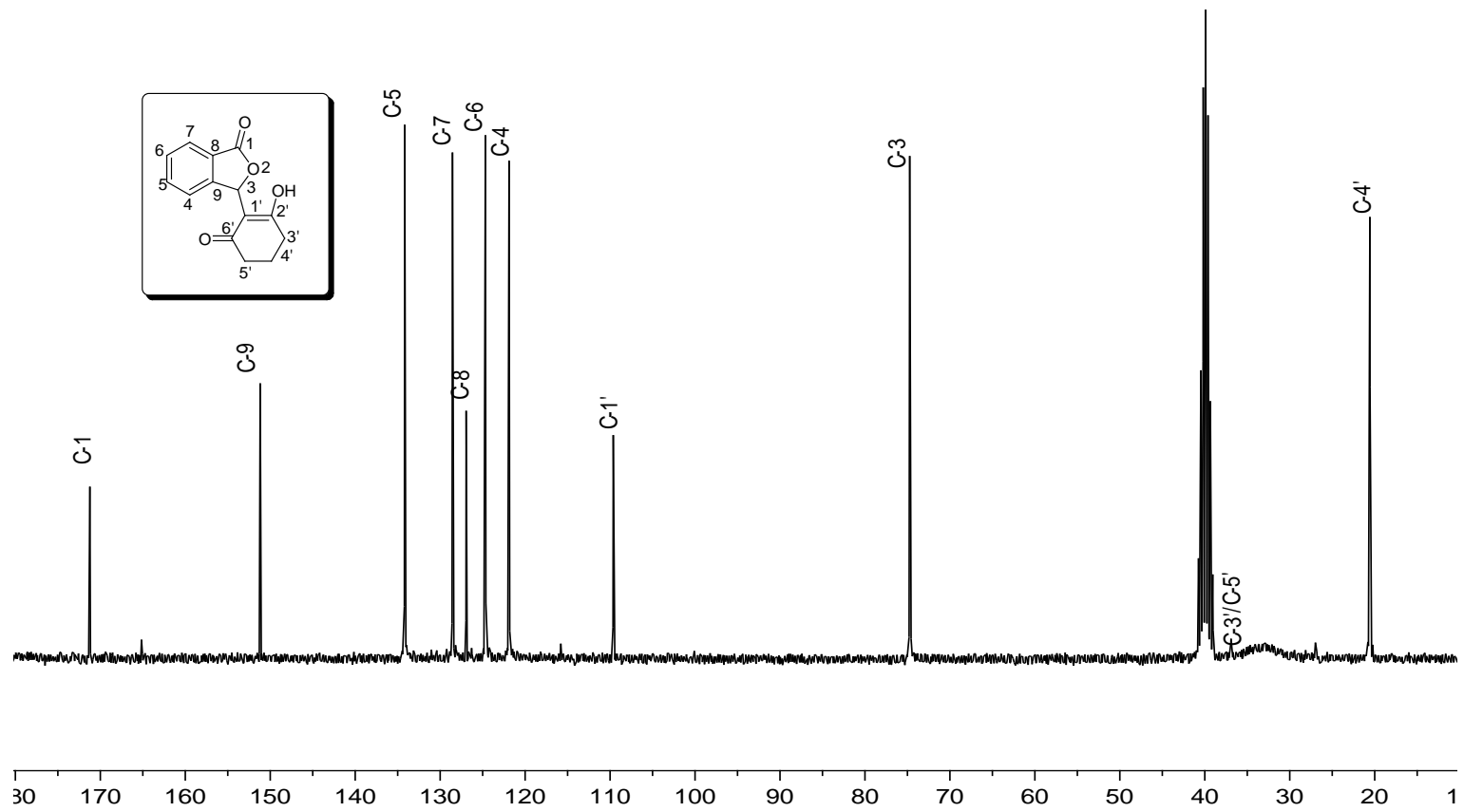


Figura 5.3 - Espectro de RMN de ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6, 75\text{MHz}$) do composto 2.

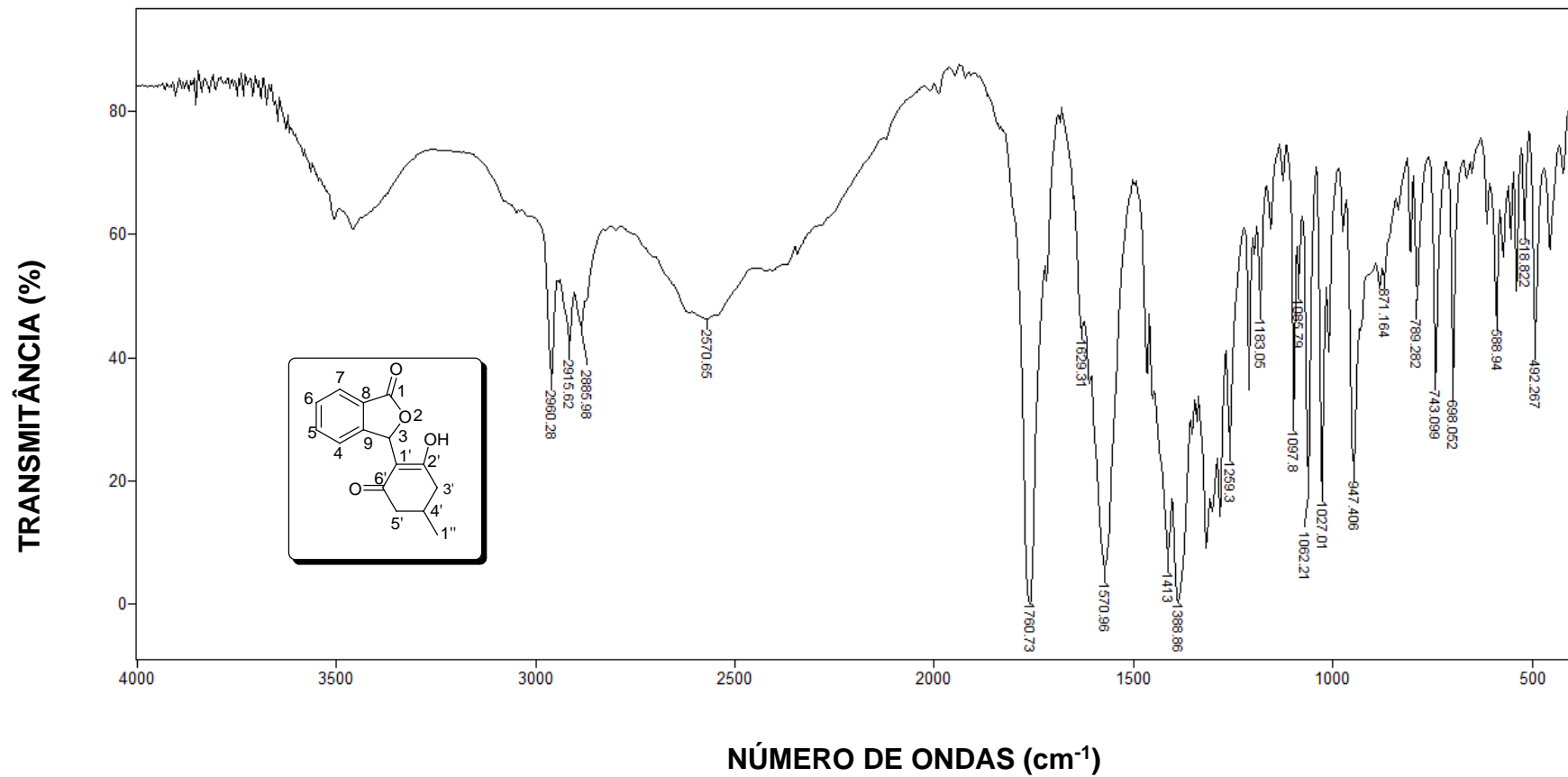


Figura 5.4 - Espectro no infravermelho (KBr) do composto 3.

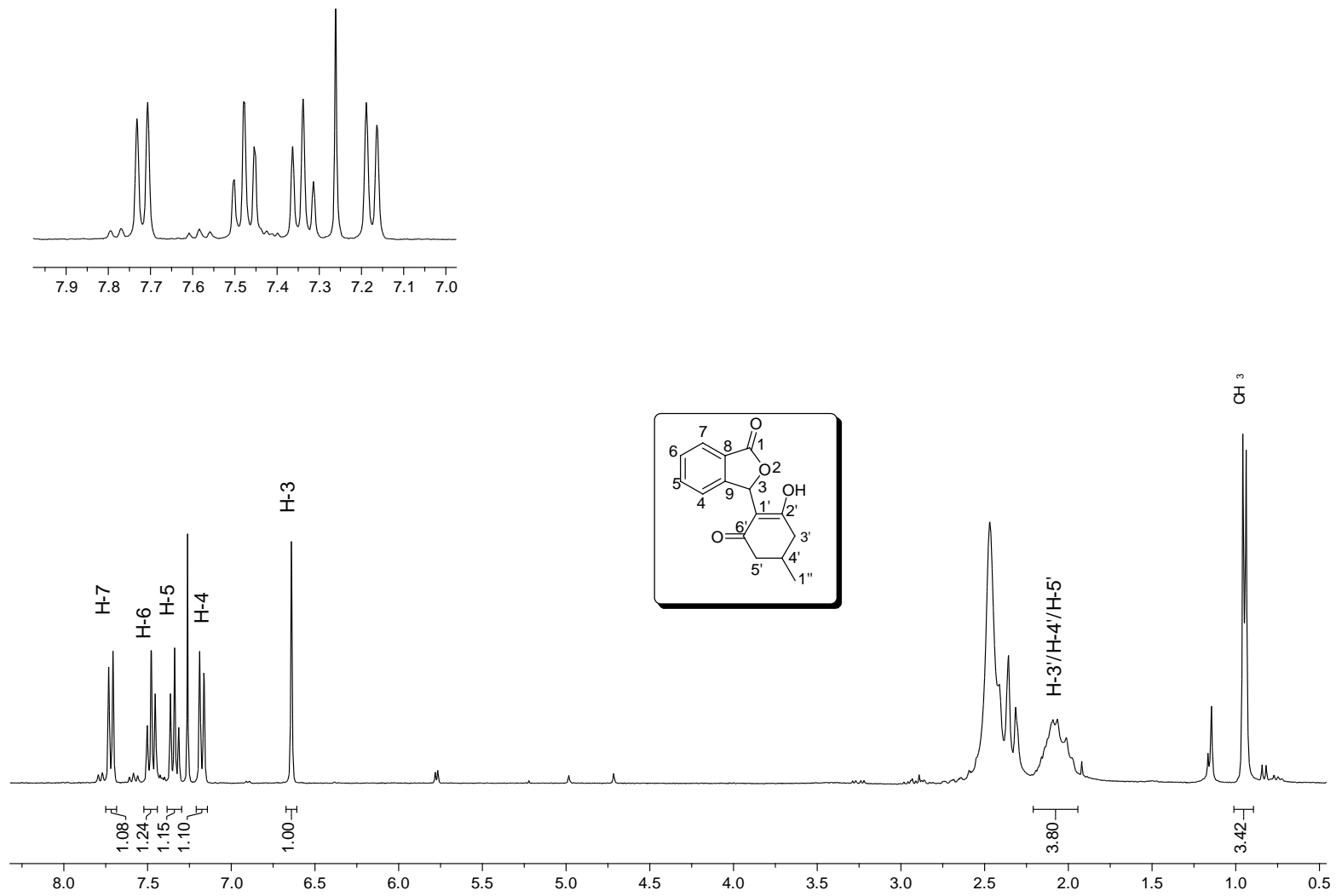


Figura 5.5 - Espectro de RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6, 300\text{MHz}$) do composto 3.

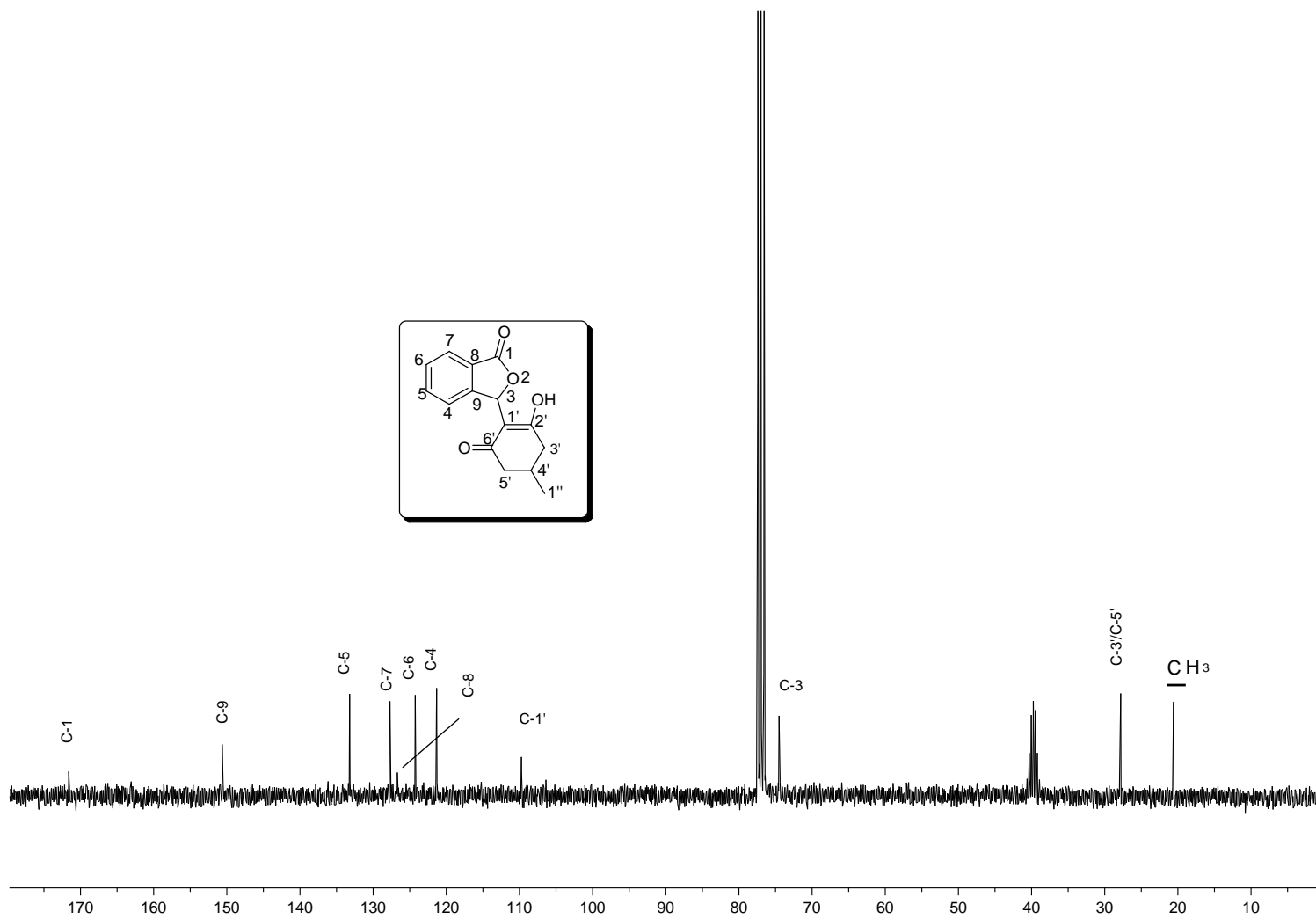


Figura 5.6 - Espectro de RMN de ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6, 75\text{MHz}$) do composto 3.

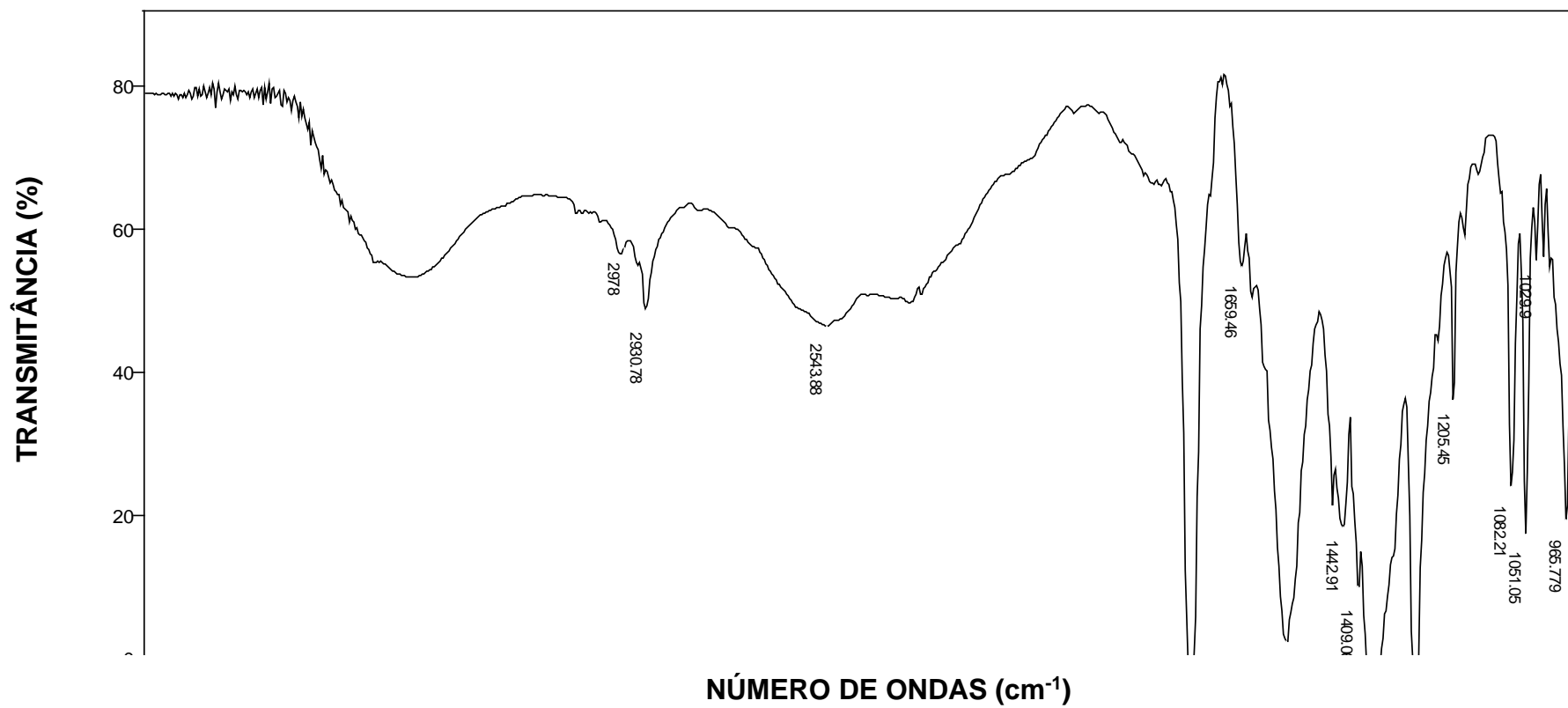


Figura 5.7 - Espectro no infravermelho (KBr) do composto 4.

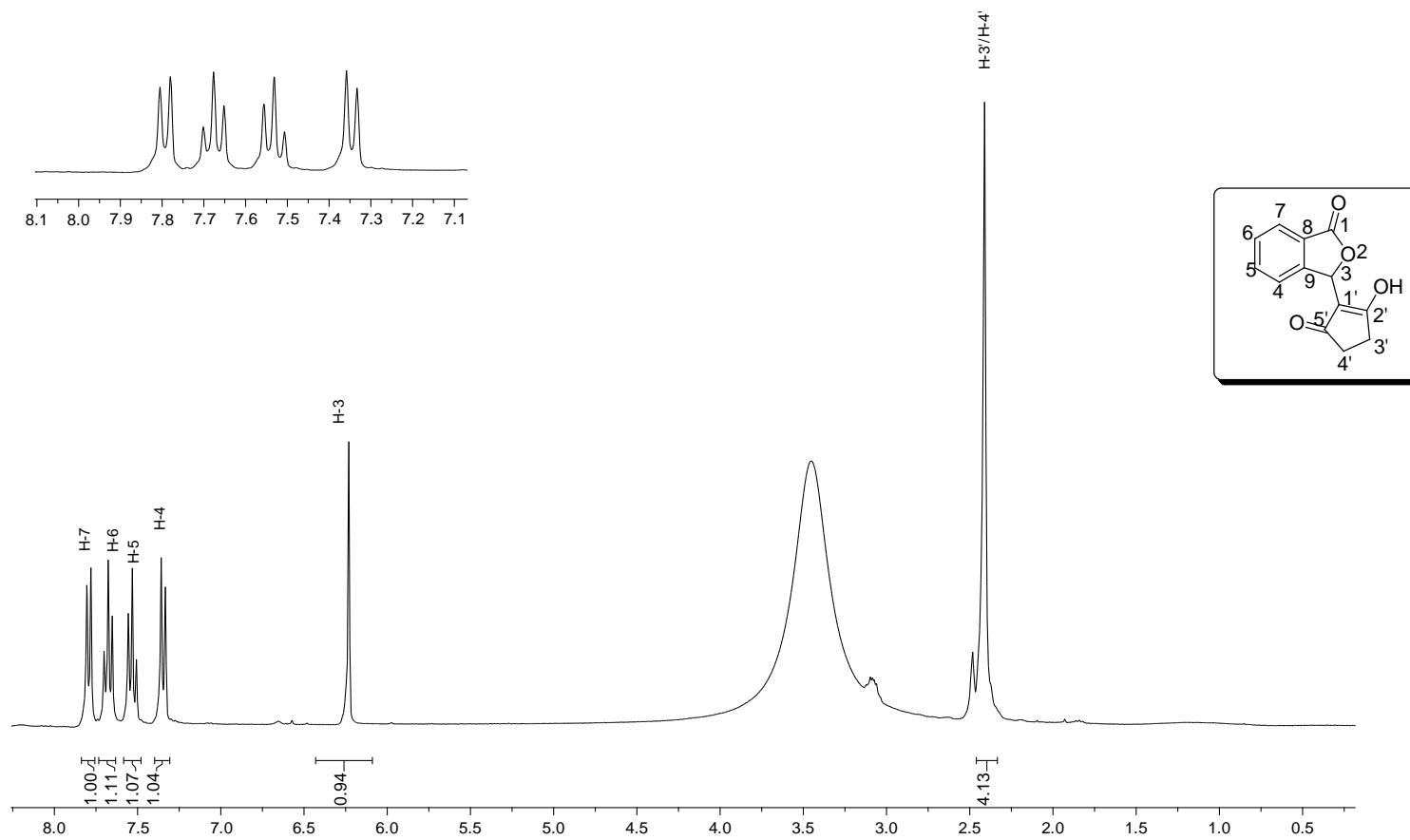


Figura 5.8 - Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6, 300\text{MHz}$) do composto 4.

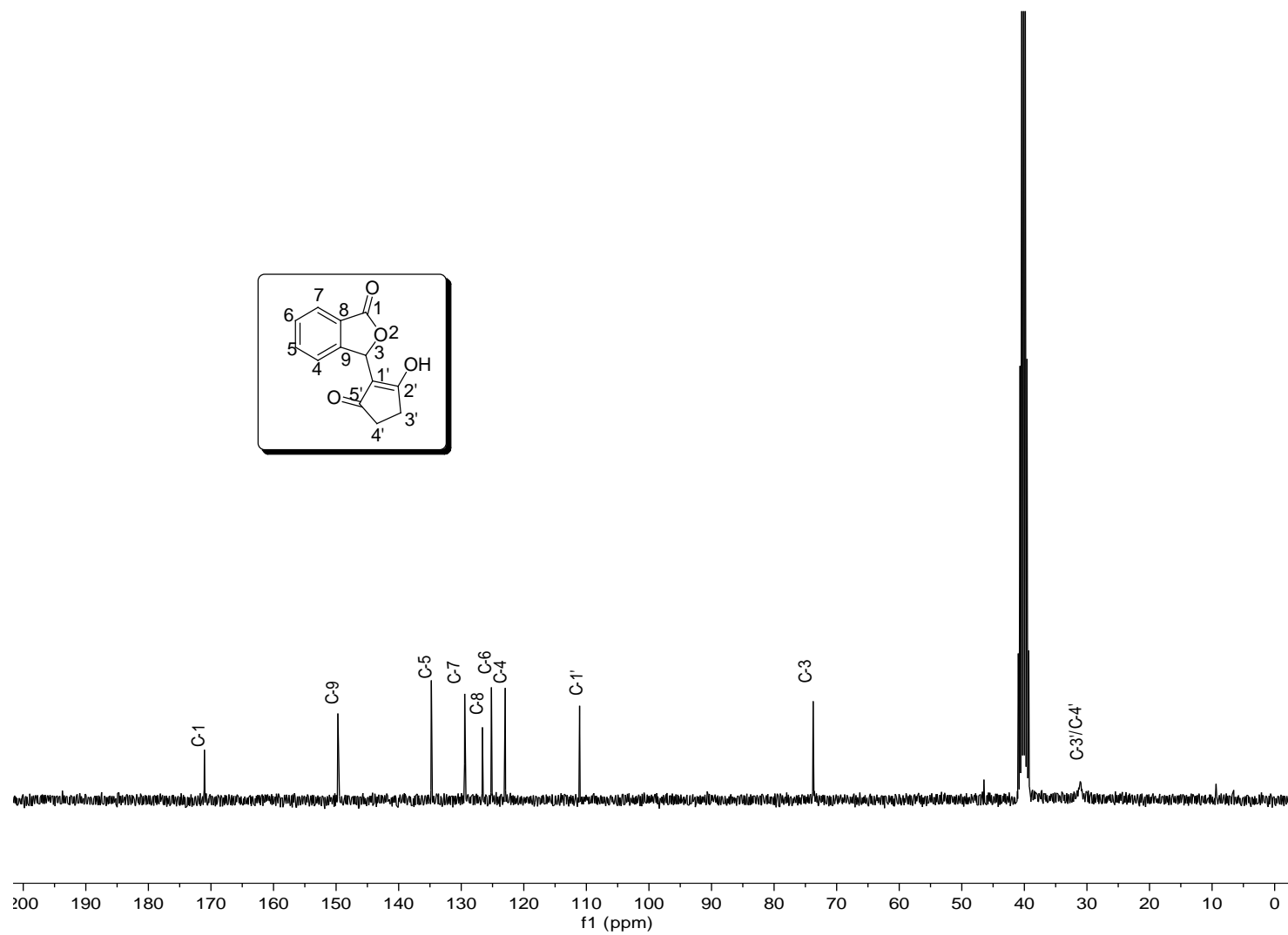


Figura 5.9 - Espectro de RMN de ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6, 75\text{MHz}$) do composto 4.

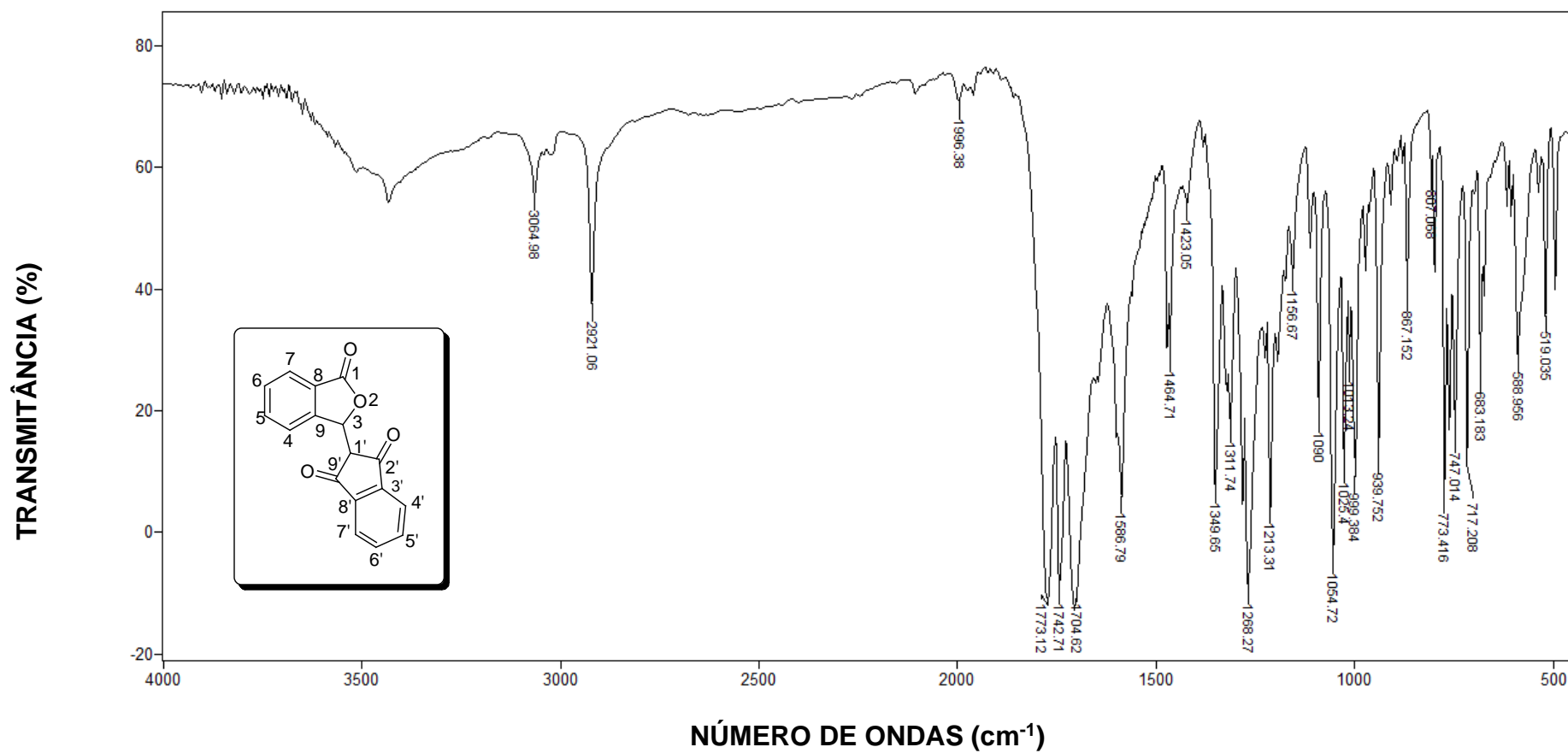


Figura 5.10 - Espectro no infravermelho (KBr) do composto 5.

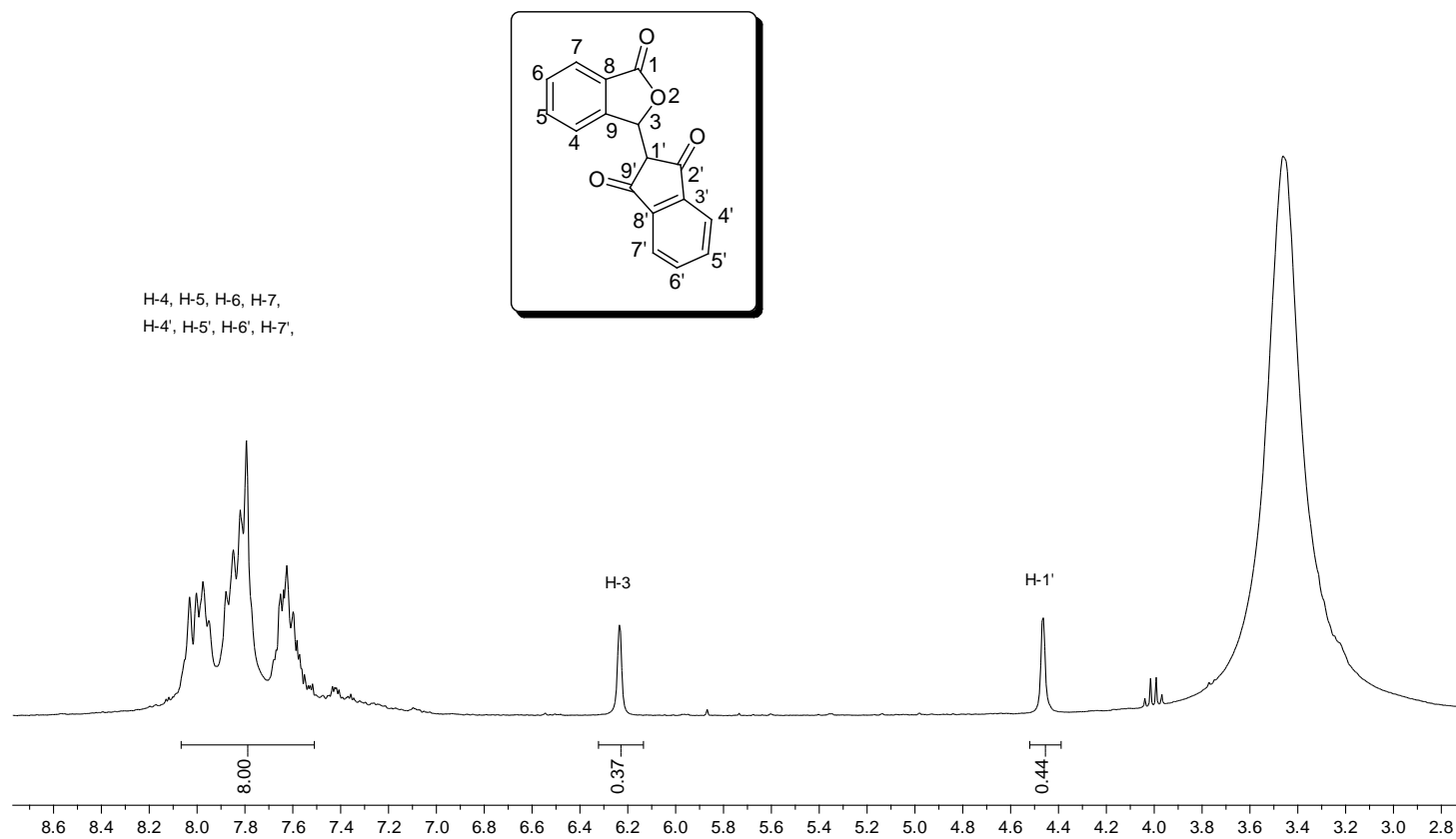


Figura 5.11 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃/ DMSO-d₆,300MHz) do composto 5.

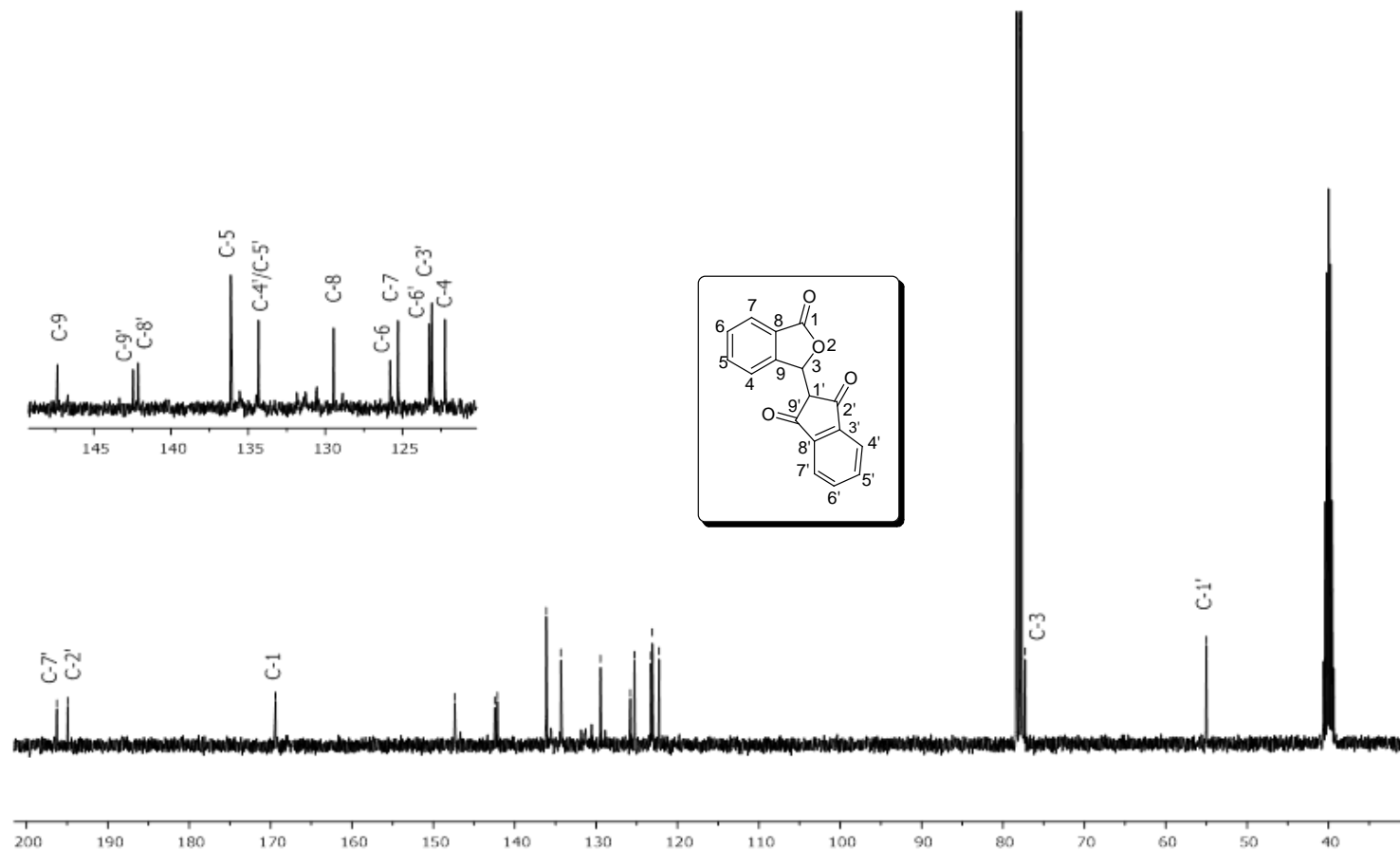


Figura 5.12 - Espectro de RMN de ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6, 300\text{MHz}$) do composto 5.

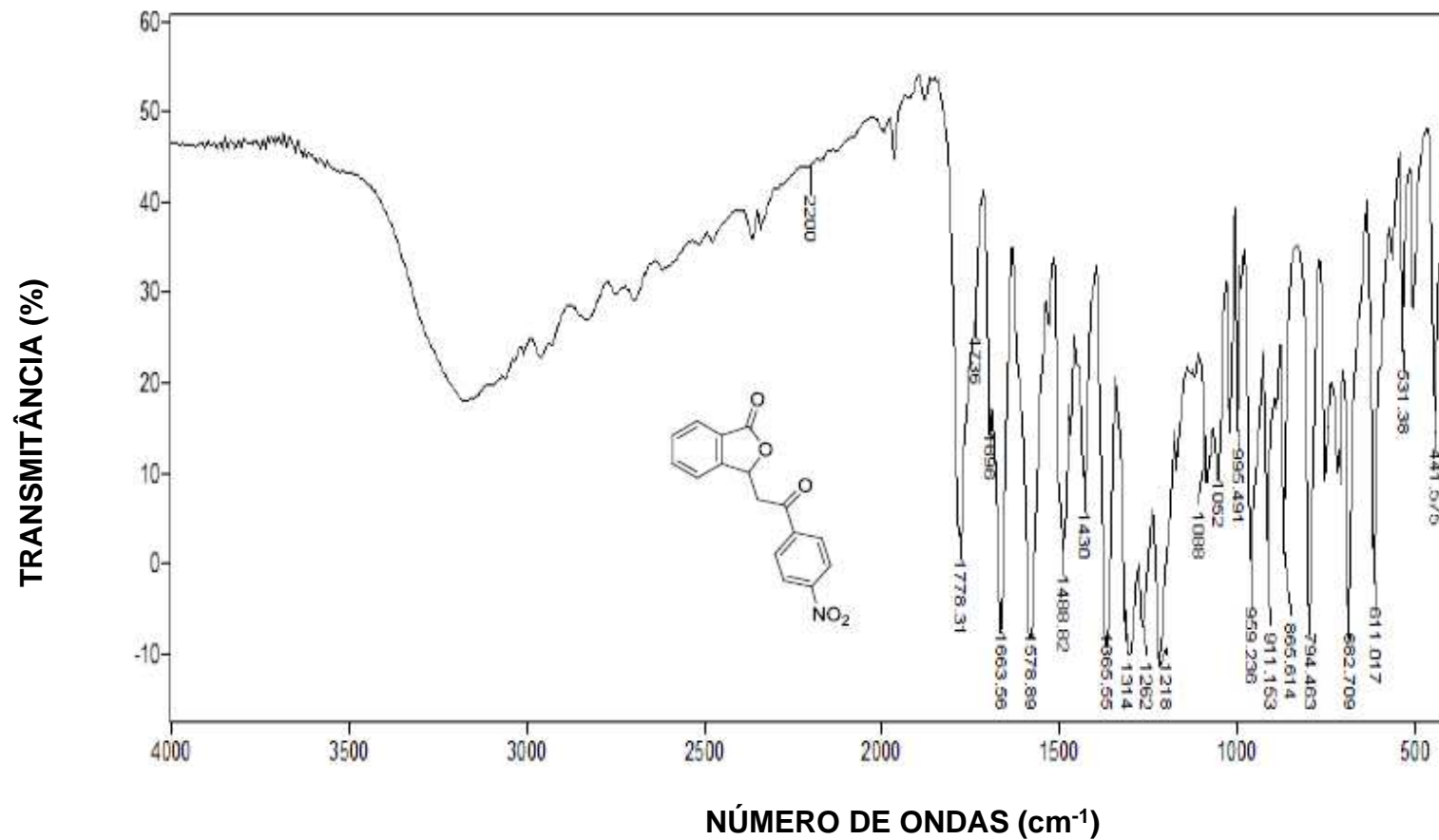


Figura 5.13 - Espectro no infravermelho (KBr) do composto 6

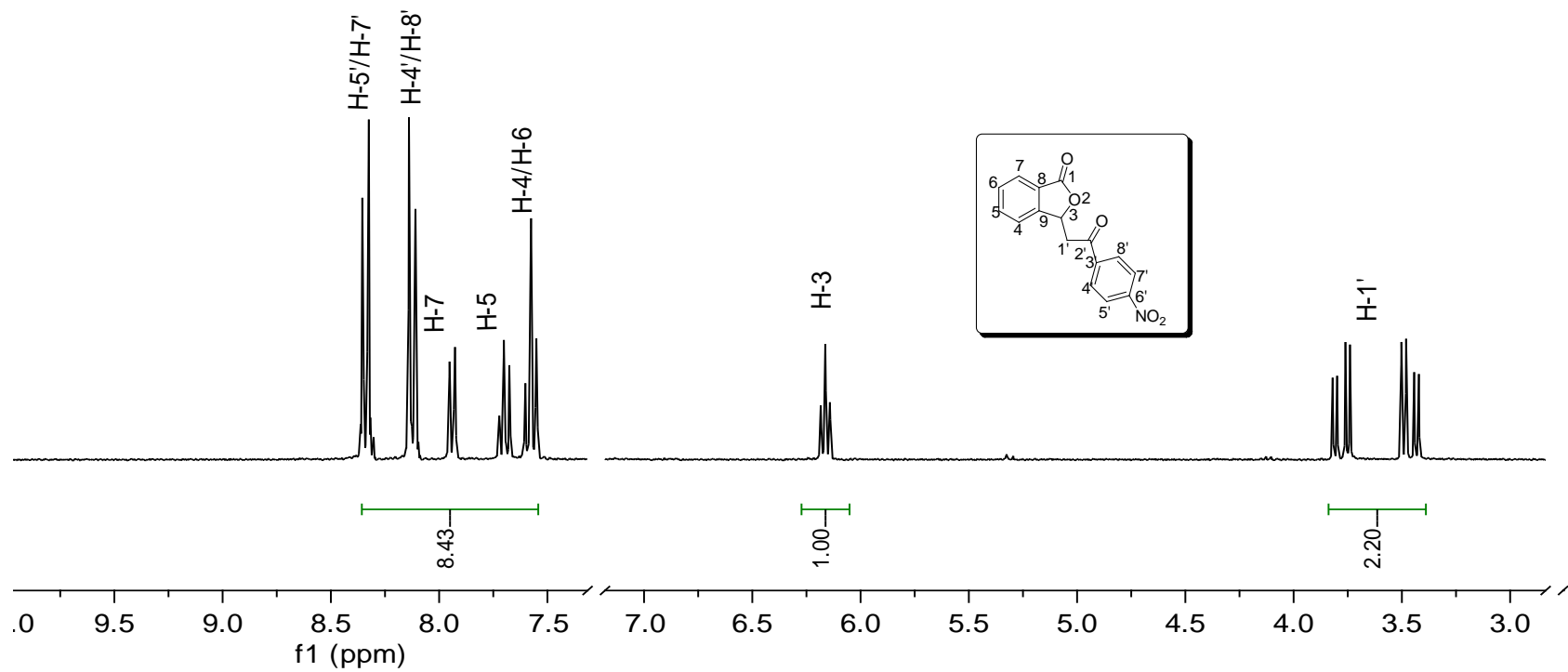


Figura 5.14 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300MHz) do composto 6.

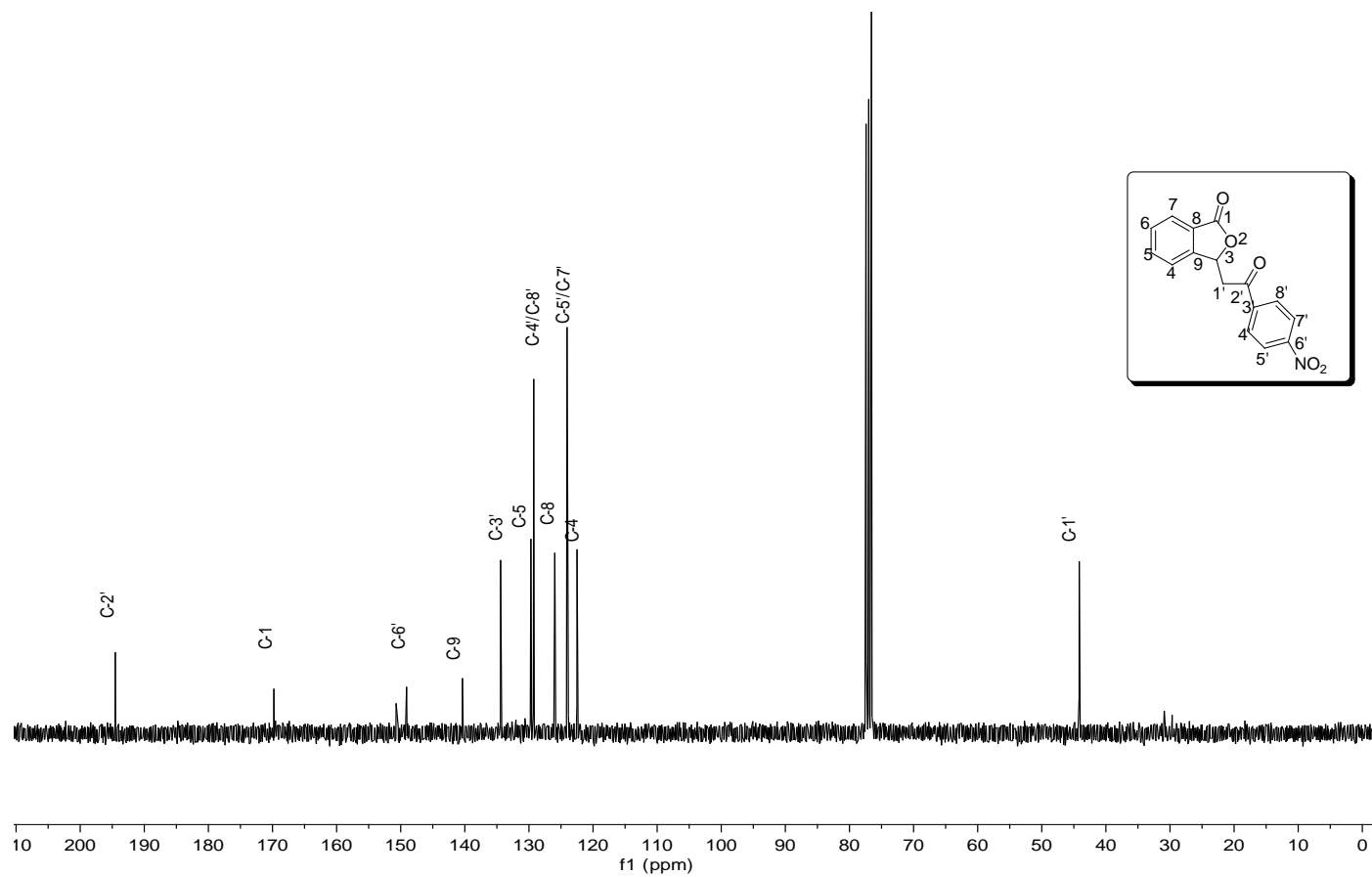


Figura 5.15 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz) do composto 6.

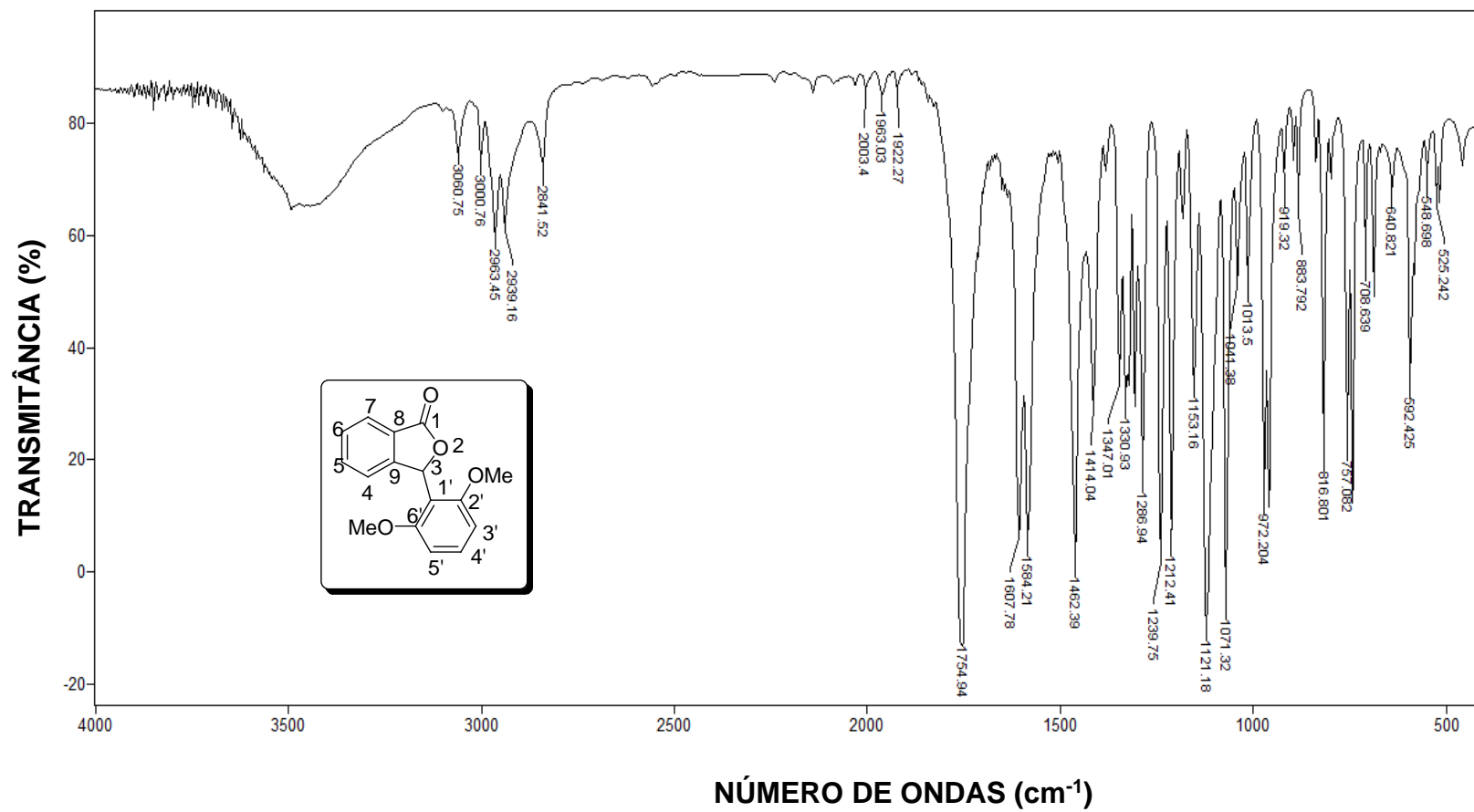


Figura 5.16 - Espectro no infravermelho (KBr) composto 8.

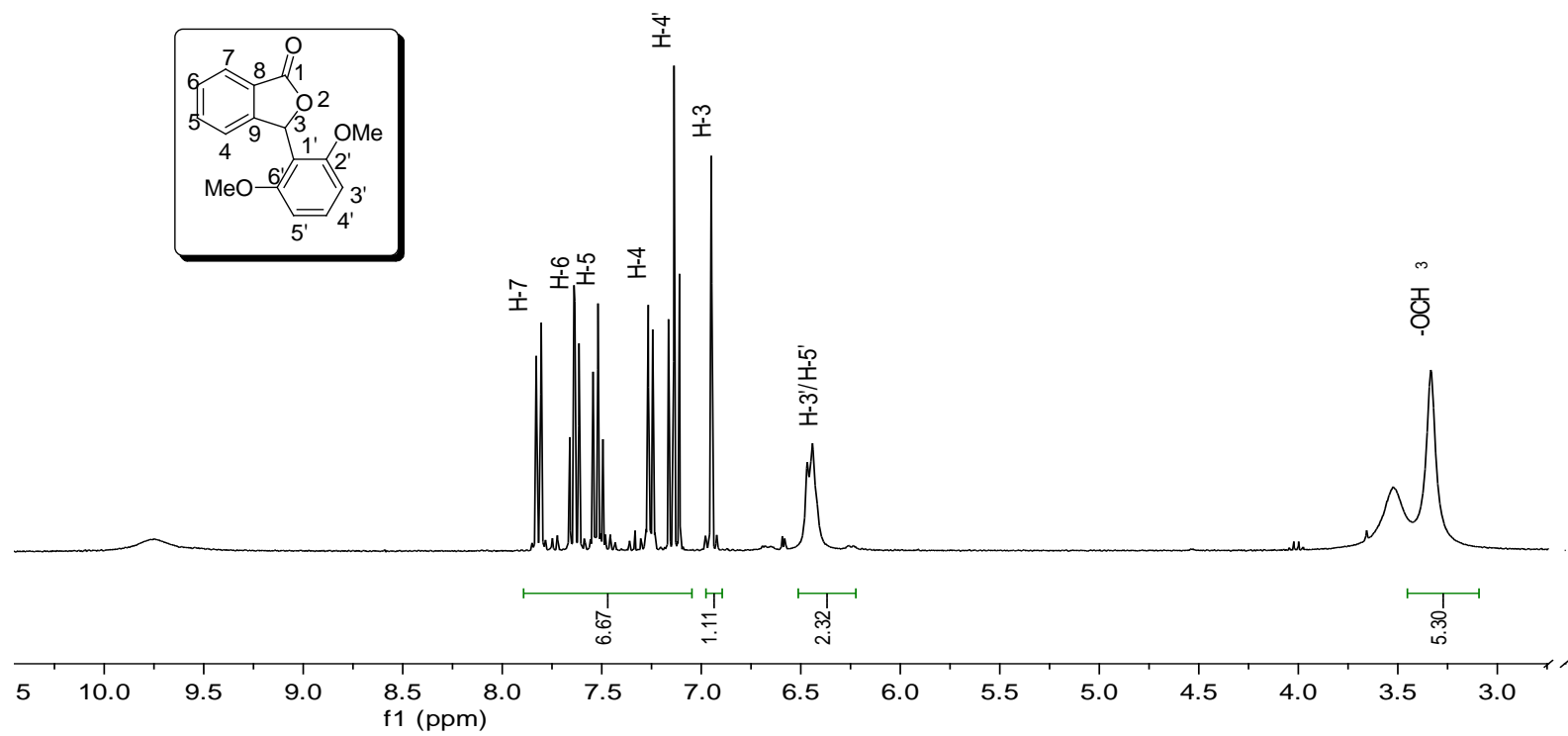


Figura 5.17 - Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6, 300\text{MHz}$) do composto 8.

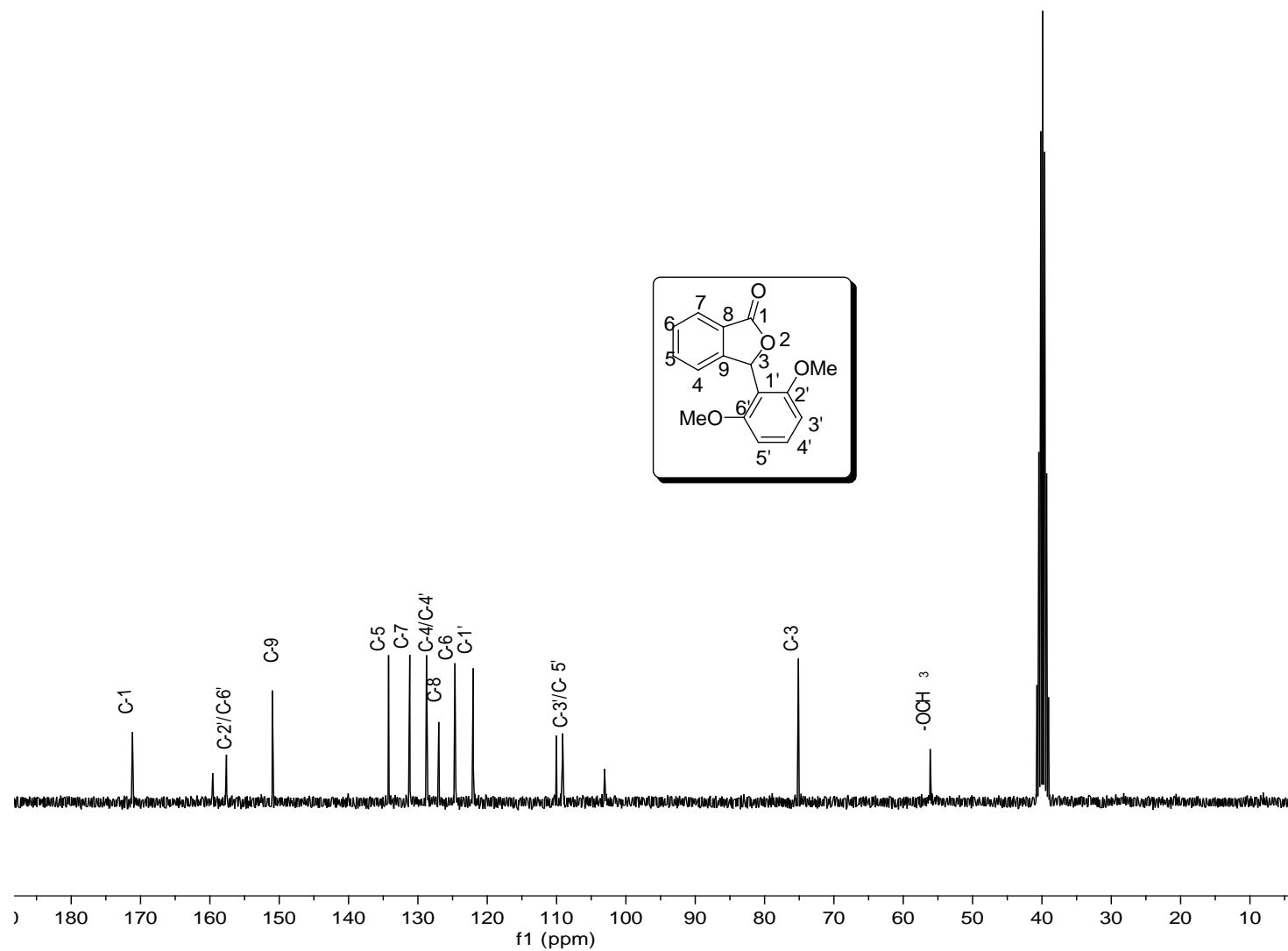


Figura 5.18 - Espectro de RMN de ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$, 75MHz) do composto 8.

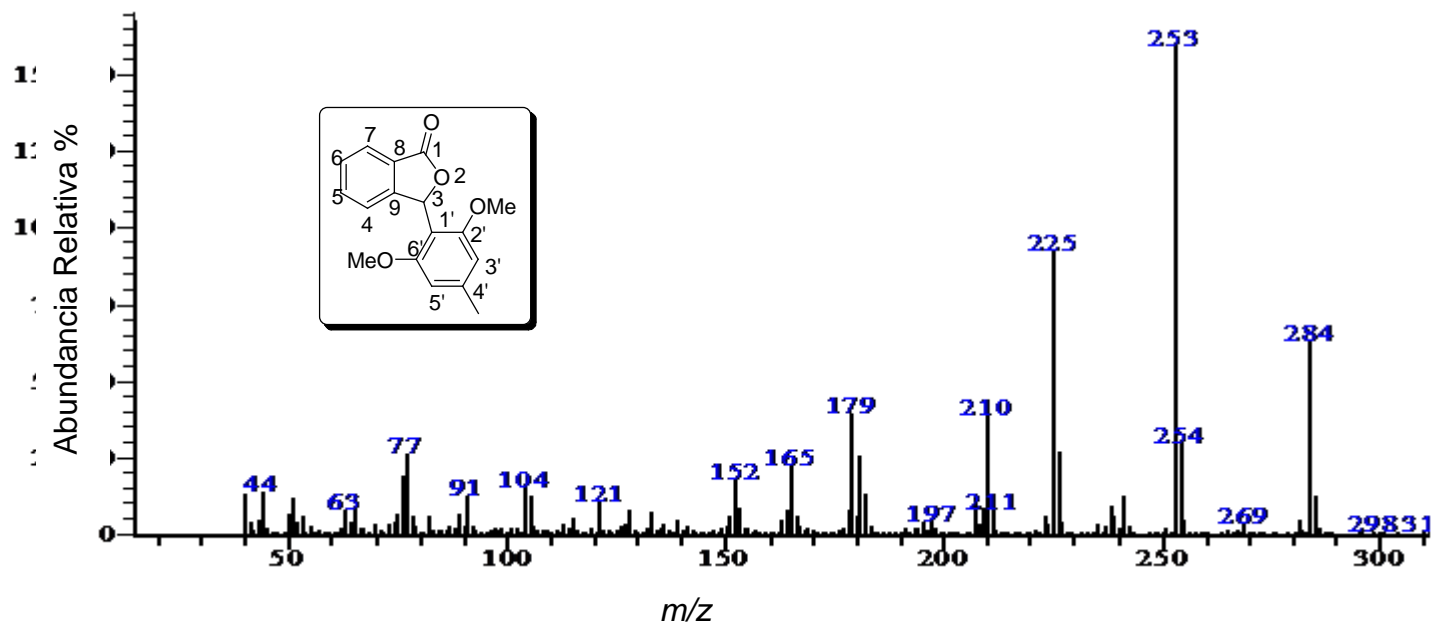


Figura 5.19 - Espectro de massas do composto 9.