

ULISSES ALVES PEREIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBIOFILME BACTERIANO E
FITOTÓXICA DE γ -ALQUILIDENO- γ -LACTONAS ANÁLOGAS AOS
RUBROLÍDEOS E DE SEUS DERIVADOS γ -HIDROXI- γ -LACTAMAS, γ -
ALQUILIDENO- γ -LACTAMAS E PIRIDAZIN-3(2H)-ONAS**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014**

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

T

P436s
2014

Pereira, Ulisses Alves, 1983-
Síntese e avaliação da atividade antibiofilme bacteriano e fitotóxica de gama-alquilideno-gama-lactonas análogas aos rubrolídeos e de seus derivados gama-hidroxi-gama-lactamas, gama-alquilideno-gama-lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas / Ulisses Alves Pereira. – Viçosa, MG, 2014.
xvii, 228f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Rubrolídeos - Síntese. 2. Fitotoxinas. 3. Herbicidas.
4. Análise espectral. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 547.6

ULISSES ALVES PEREIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBIOFILME BACTERIANO E
FITOTÓXICA DE γ -ALQUILIDENO- γ -LACTONAS ANÁLOGAS AOS
RUBROLÍDEOS E DE SEUS DERIVADOS γ -HIDROXI- γ -LACTAMAS, γ -
ALQUILIDENO- γ -LACTAMAS E PIRIDAZIN-3(2H)-ONAS**

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

APROVADA: 10 de fevereiro de 2014.

Prof. Antônio Jacinto Demuner
(Coorientador)

Prof. Elson Santiago de Alvarenga

Prof. Silvio do Desterro Cunha

Prof^a. Andréa de Lima Pimenta

Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por guiar meus passos.

Aos meus pais Luiz Alves Pereira e Helenice Alves Pereira e a minha irmã Narjara Alves Pereira, pelo amor, carinho e apoio incondicional.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade concedida.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pela orientação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

Aos professores Célia Regina Álvares Maltha e Antônio Jacinto Demuner pela atenção no desenvolvimento deste trabalho.

À professora Andréa Pimenta pela realização dos ensaios de inibição do biofilme bacteriano e pela atenção.

Ao professor Giuseppe Forlani pela realização dos ensaios de inibição da síntese de ATP.

Ao professor Elson Santiago pela atenção.

À Betina Pires, Eder Tavares, Luciana Moreno e Perácio Rafael pelo constante apoio, incentivo e grandes momentos vividos juntos.

A todos meus amigos e colegas de laboratório e de pós-graduação, Ruth Marques, Katalin Geöcze, Juliana Simões, Maria do Socorro Silva, Simone Mairink, Adalberto Manoel, Jodieh Oliveira, Fernanda Bottega, Alexandre Almeida, Rodrigo Castro, Pâmela Rocha, Emiliana Wetler, Francisco Arantes, Michelle Rodrigues, Izabel Miranda, Ricardo Montanari, Lilian Berlini, Diego Costa, Camila Garcia, Fernanda Moraes, Carlos Henrique, Gabriela Resende, Milena Teixeira, Alex Aguiar, Eva de Souza, Silvana Pereira, Fabrício Marques, Juliana Diniz, Paula Salino, Mayara Modenesi e Nathália Albuini pelo apoio.

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

BIOGRAFIA

ULISSES ALVES PEREIRA, filho de Luiz Alves Pereira e Helenice Alves Pereira, nasceu em Ubá, Minas Gerais, em 3 de abril de 1983.

Em 2001, ingressou no Curso de Licenciatura e Bacharelado em Química da Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se em maio de 2006.

Durante esse período, foi bolsista de Iniciação Científica por dois anos do programa de bolsas do CNPq, onde desenvolveu pesquisas na área de Síntese Orgânica.

Em maio de 2006, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química Orgânica, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, MG, tornando-se mestre em abril de 2008.

Em março de 2010, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química Orgânica, em nível de Doutorado, na Universidade Federal de Viçosa, MG.

Em fevereiro de 2014, submeteu-se à defesa de tese para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xvi
CAPÍTULO 1	1
SÍNTESE DE γ -ALQUILIDENO- γ -LACTONAS ANÁLOGAS AOS RUBROLÍDEOS E DE SEUS DERIVADOS γ -HIDROXI- γ - LACTAMAS, γ -ALQUILIDENO- γ -LACTAMAS E PIRIDAZIN- 3(2 <i>H</i>)-ONAS	
1. Introdução	2
1.1. Butenolídeos	2
1.2. γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas	6
1.3. Estudos sintéticos envolvendo as γ -hidroxi- γ -lactamas e γ - alquilideno- γ -lactamas	7
1.4. Piridazin-3(2 <i>H</i>)-onas	10
2. Justificativa do trabalho	13
3. Material e métodos	16
3.1. Técnicas experimentais	16
3.2. Técnicas espectroscópicas	16
3.3. Purificação e preparo de reagentes e solventes	17
3.3.1. Purificação do tetraidrofurano (THF)	17
3.3.2. Secagem do diclorometano (DCM)	17
3.3.3. Purificação da diisopropiletilamina (DIPEA)	17
3.4. Procedimentos sintéticos	17
3.4.1. Síntese da lactona 3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona	17
3.4.2. Síntese da 3-bromo-4-(2-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (2a) pelo acoplamento de Suzuki-Miyaura	19
3.4.2.1. Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(2- metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (2a)	21
3.4.2.2. Dados referentes ao composto 2,2'-dimetoxibifenila (3a)	21
3.4.2.3. Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-bromo-2- metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (2b)	22

3.4.2.4.	Dados referentes ao composto 5,5'-dibromo-2,2'-dimetoxibifenila (3b)	23
3.4.2.5.	Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-metil-2-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (2c)	24
3.4.3.6.	Dados referentes ao composto 5,5'-dimetil-2,2'-dimetoxibifenila (3c)	25
3.4.2.7.	Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (2d)	25
3.4.2.8.	Dados referentes ao composto 5,5'-dicloro-2,2'-dimetoxibifenila (3d)	26
3.4.3.	Síntese da (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4a) análoga aos rubrolídeos pela reação de alquilidenação	28
3.4.3.1.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4a)	35
3.4.3.2.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-clorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4b)	36
3.4.3.3.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-bromobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4c)	37
3.4.3.4.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-5-(3-clorobenzilideno)-4-(5-metil-2-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4d)	38
3.4.3.5.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-5-(2-clorobenzilideno)-4-(5-metil-2-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4e)	39
3.4.3.6.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-5-(2-bromobenzilideno)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4f)	40
3.4.3.7.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(3-metoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4g)	41
3.4.3.8.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-fluorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4h)	42
3.4.3.9.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4i)	42

3.4.3.10.	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C ao composto (<i>E</i>)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4i')	43
3.4.3.11.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4j)	44
3.4.3.12.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(3-nitrobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4k)	45
3.4.3.13.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4l)	46
3.4.3.14.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(2-bromobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4m)	46
3.4.3.15.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-fluorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4n)	47
3.4.3.16.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4o)	48
3.4.3.17.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-metoxibenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4p)	49
3.4.3.18.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-fluorobenzilideno)furan-2(5 <i>H</i>)-ona (4q)	50
3.4.4.	Síntese da 3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (5a)	52
3.4.4.1.	Dados referentes ao composto 3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (5a)	55
3.4.4.2.	Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-clorobenzil)-5-hidroxi-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (5b)	56
3.4.4.3.	Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-bromobenzil)-5-hidroxi-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (5c)	57
3.4.4.4.	Dados referentes ao composto 3-bromo-5-(3-clorobenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (5d)	58
3.4.4.5.	Dados referentes ao composto 3-bromo-5-(2-clorobenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (5e)	59

3.4.4.6.	Dados referentes ao composto 3-bromo-5-(2-bromobenzil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-hidroxi-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (5f)	60
3.4.4.7.	Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-hidroxi-1-isobutil-5-(3-metoxibenzil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (5g)	61
3.4.5.	Síntese da (<i>Z</i>)-3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzilideno)-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (6a) e (<i>E</i>)-3-bromo-5-(4-trifluorometil-benzilideno)-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (7a)	62
3.4.5.1.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzilideno)-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (6a)	66
3.4.5.2.	Dados referentes ao composto (<i>E</i>)-3-bromo-5-(4-trifluorometilbrnzilideno)-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (7a)	67
3.4.5.3.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-clorobenzilideno)-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (6b)	68
3.4.5.4.	Dados referentes ao composto (<i>E</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-clorobenzilideno)-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (7b)	69
3.4.5.5.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-bromobenzilideno)-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (6c)	70
3.4.5.6.	Dados referentes ao composto (<i>E</i>)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-bromobenzilideno)-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (7c)	71
3.4.5.7.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-5-(3-clorobenzilideno)-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)-pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (6d)	72
3.4.5.8.	Dados referentes ao composto (<i>E</i>)-3-bromo-5-(3-clorobenzilideno)-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (7d)	73
3.4.5.9.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-5-(2-clorobenzilideno)-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (6e)	74
3.4.5.10.	Dados referentes ao composto (<i>E</i>)-3-bromo-5-(2-clorobenzilideno)-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (7e)	75
3.4.5.11.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-5-(2-bromobenzilideno)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (6f)	76

3.4.5.12.	Dados referentes ao composto (<i>E</i>)-3-bromo-5-(2-bromobenzilideno)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1-isobutilpirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (7f)	77
3.4.5.13.	Dados referentes ao composto (<i>Z</i>)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1-isobutil-5-(3-metoxibenzilideno)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (6g)	78
3.4.5.14.	Dados referentes ao composto (<i>E</i>)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1-isobutil-5-(3-metoxibenzilideno)pirrol-2(5 <i>H</i>)-ona (7g)	79
3.4.6.	Síntese da 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(4-fluorobenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8h)	80
3.4.6.1.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(4-fluorobenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8h) ..	84
3.4.6.2.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(4-nitrobenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8i)	84
3.4.6.3.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(4-trifluorometilbenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8j)	85
3.4.6.4.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(3-nitrobenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8k)	86
3.4.6.5.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(4-trifluorometilbenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8l)	87
3.4.6.6.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(2-bromobenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8m) ..	88
3.4.6.7.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(4-fluorobenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8n) ..	89
3.4.6.8.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(2-clorobenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8o) ...	90
3.4.6.9.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(3-metoxibenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8p) ..	91
3.4.6.10.	Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(3-fluorobenzil)piridazin-3(2 <i>H</i>)-ona (8q) ..	92
4.	Resultados e discussão	94
4.1.	Síntese da lactona 3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona	94
4.2.	Síntese das 4-aryl-3-bromofuran-2(5 <i>H</i>)-onas pelo acoplamento cruzado de Suzuki-Miyaura	99
4.3.	Síntese dos análogos aos rubrolídeos pela reação de alquilidenação	113
4.4.	Síntese das γ -hidroxipirrol-2(5 <i>H</i>)-onas	126
4.5.	Síntese das γ -alquilidenopirrol-2(5 <i>H</i>)-onas	135
4.6.	Síntese das piridazin-3(2 <i>H</i>)-onas	148
5.	Conclusão	155

6. Referências bibliográficas	156
 CAPÍTULO 2	 166
 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBIOFILME BACTERIANO DAS γ -ALQUILIDENO- γ -LACTONAS ANÁLOGAS AOS RUBROLÍDEOS E DE SEUS DERIVADOS γ -HIDROXI- γ - LACTAMAS E γ -ALQUILIDENO- γ -LACTAMAS	
1. Introdução	167
1.1. Biofilmes bacterianos	167
1.2. Formação de biofilme bacteriano	167
1.3. Resistência dos biofilmes bacterianos e suas implicações	169
1.4. “Quorum sensing” e estratégias utilizadas para controle dos biofilmes	170
1.5. Busca por inibidores do biofilme bacteriano	172
2. Justificativa	175
3. Material e métodos	176
3.1. Preparo de soluções utilizadas no ensaio biológico	176
3.2. Material biológico e meio de cultura	176
3.3. Ensaio de inibição de aderência e formação de biofilmes.....	176
4. Resultados e discussão	178
4.1. Efeito dos compostos sobre o crescimento planctônico	178
4.2. Inibição da formação do biofilme bacteriano	186
5. Conclusão	195
6. Referências	196
 CAPÍTULO 3	 200
 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOTÓXICA DAS γ - ALQUILIDENO- γ -LACTONAS ANÁLOGAS AOS RUBROLÍDEOS E DE SEUS DERIVADOS γ -HIDROXI- γ -LACTAMAS, γ - ALQUILIDENO- γ -LACTAMAS E PIRIDAZIN-3(2 <i>H</i>)-ONAS	
1. Introdução	201
1.1. Fotossíntese	201
1.2. Reação de Hill	202
1.3. Herbicidas bloqueadores do fluxo de elétrons.....	203
1.4. Produtos naturais e a síntese orgânica na descoberta de novos herbicidas	205
2. Justificativa	208
3. Material e métodos	209
3.1. Ensaio de inibição da síntese de ATP	209
3.1.1. Isolamento de cloroplastos	209

3.1.2.	Avaliação da atividade fitotóxica dos compostos 4a-4q , 5a-5g , 6a-6g , 7a-7g e 8h-8q sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de <i>Spinacia oleracea</i>	210
3.2.	Ensaio biológico para avaliação da atividade dos compostos 4a-4q , 5a-5g , 6a-6g , 7a-7g , 8h e 8j-8q sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de pepino (<i>Cucumis sativus</i>) e sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>)	210
3.2.1.	Preparo das soluções utilizadas no ensaio biológico	210
3.2.2.	Avaliação da atividade dos compostos 4a-4q , 5a-5g , 6a-6g , 7a-7g , 8h e 8j-8q sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de pepino (<i>Cucumis sativus</i>) e sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>)	211
3.2.3.	Avaliação da atividade herbicida dos compostos 4k , 4n , 4p , 8l , 8p e 8q sobre a biomassa de raiz e parte aérea das plantas daninhas Corda-de-viola (<i>Ipomoea grandifolia</i>) e Brachiaria (<i>Brachiaria decumbens</i>)	211
4.	Resultados e discussão	213
4.1.	Ensaio de inibição da síntese de ATP	213
4.2.	Ensaio para avaliação da atividade fitotóxica sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de pepino e sorgo	216
4.3.	Avaliação da atividade herbicida sobre a biomassa de raiz e parte aérea das plantas daninhas Corda-de-viola (<i>Ipomoea grandifolia</i>) e Brachiaria (<i>Brachiaria decumbens</i>)	221
5.	Conclusão	225
6.	Referências	226

LISTA DE ABREVIATURAS

CCD	Cromatografia em camada delgada
CG/EM	Cromatografia gasosa/Espectrometria de massas
COSY	Correlated Spectroscopy
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
ddd	Duplo dupleto duplo
d compl	Dupleto complexo
dd compl	Dupleto duplo complexo
ddd compl	Duplo dupleto duplo complexo
δ	Deslocamento químico
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
DIPEA	Diisopropiletilamina
HETCOR	Heteronuclear Correlation
Hz	Hertz
IES	Ionização por “electrospray”
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento escalar
m	Multiplete
MHz	Megahertz
NOEDIF	<i>Nuclear Overhauser Effect Difference</i>
m/z	Relação massa/carga dos fragmentos do EM
ppm	Partes por milhão
PTSA	Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
R_f	Fator de retenção
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

s	Simpleto
TMS	Tetrametilsilano
TBDMSOTf	<i>Tert</i> -butildimetilsililtrifluorometanossulfonato
T _f	Temperatura de fusão
THF	Tetrahidrofurano
v/v	Volume/volume

RESUMO

PEREIRA, Ulisses Alves, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2014. **Síntese e avaliação da atividade antibiofilme bacteriano e fitotóxica de γ -alquilideno- γ -lactonas análogas aos rubrolídeos e de seus derivados γ -hidroxi- γ -lactamas, γ -alquilideo- γ -lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas.** Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Coorientadores: Célia Regina Álvares Maltha e Antônio Jacinto Demuner.

γ -alquilidenobutenolídeos estão presentes na estrutura de um grande número de produtos naturais e apresentam uma variedade de atividades biológicas, tais como fungicida, bactericida, anti-inflamatória, citotóxica e reguladora de germinação de sementes. Essas atividades também são descritas para as γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas que estão presentes em vários produtos naturais biologicamente ativos. Piridazin-3(2*H*)-onas apresentam vários tipos de atividades biológicas na área agroquímica e farmacêutica. No presente trabalho uma série de γ -alquilidenobutenolídeos análogos aos rubrolídeos foram sintetizados e convertidos nas γ -hidroxi- γ -lactamas, γ -alquilideno- γ -lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas correspondentes. Na rota sintética escolhida, o ácido mucobrômico, utilizado como material de partida foi inicialmente reduzido a 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona que posteriormente reagiu com diferentes ácidos arilborônicos por meio do acoplamento de Suzuki, para a formação de quatro 4-aril-3-bromofuran-2(5*H*)-onas. A reação de alquilidação entre esses compostos e aldeídos aromáticos resultou no preparo de dezessete diferentes γ -alquilidenobutenolídeos análogos aos rubrolídeos. Sete desses análogos foram convertidos nas γ -hidroxi- γ -lactamas correspondentes pela reação de conversão lactona-lactama com a isobutilamina e a subsequente desidratação das γ -hidroxi- γ -lactamas resultou na formação das (*Z*) e (*E*)- γ -alquilideno- γ -lactamas. Os outros dez análogos aos rubrolídeos foram convertidos nas piridazin-3(2*H*)-onas correspondentes pela reação com hidrazina. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia no IV, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , técnicas bidimensionais COSY e HETCOR e espectrometria de massas, além de experimentos de NOEDIF para determinar a geometria da ligação dupla das

unidades γ -alquilideno. As γ -alquilideno- γ -lactonas, γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas foram submetidas a ensaios de inibição da formação de biofilme bacteriano de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados mostraram que esses compostos são mais ativos contra a formação de biofilme *E. faecalis*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* podendo em alguns casos inibir em 50% a formação do biofilme de *P. aeruginosa* na concentração de 0,6 $\mu\text{g/mL}$ e 0,7 $\mu\text{g/mL}$, no caso dos compostos **6d** e **6f**, respectivamente. Também foi observado que entre as classes de compostos avaliadas, as γ -alquilideno- γ -lactamas são mais ativas que as outras classes, na maioria dos casos. Todos os compostos sintetizados também foram avaliados quanto à capacidade de inibição do transporte de elétrons fotossintéticos em cloroplastos isolados de espinafre (*Spinacia oleracea*). Nesse ensaio ficou evidente que a classe das γ -alquilideno- γ -lactonas é a mais ativa e que os compostos que contêm grupos retiradores de elétrons como nitro, trifluorometil ou flúor na posição *para* do grupo benzilidênico levaram a uma inibição mais pronunciada do transporte de elétrons fotossintéticos. A mistura de isômeros **4i/4i'** possui o grupo nitro na posição *para* do grupo benzilidênico e foi a mais ativa, inibindo a taxa de redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de espinafre em 62,2% na concentração de 10 μM . Em outro ensaio fitotóxico os compostos foram avaliados quanto à capacidade de inibição do crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de sorgo (*Sorghum bicolor*) e pepino (*Cucumis sativus*). Os resultados mostraram que alguns desses compostos são capazes de influenciar o crescimento dessas plântulas na concentração de 100 ppm, além de apresentarem seletividade, como obtido para algumas γ -hidroxi- γ -lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas. É o caso dos compostos **8o** e **8q**, que inibiram o crescimento radicular de plântulas de sorgo em 14,2% e 51,5%, respectivamente, mas induziram o mesmo crescimento em plântulas de pepino. Os compostos mais ativos nesse ensaio foram submetidos à avaliação da atividade herbicida pré-emergente na concentração de 100 ppm sobre *Ipomoea grandifolia* e *Brachiaria decumbens* em casa de vegetação. Essa avaliação mostrou que as piridazin-3(2*H*)-onas **8l**, **8p** e **8q** foram os compostos mais

ativos, sendo que **8q** foi capaz de inibir a biomassa da raiz de *I. grandifolia* em 76,0%, reforçando o uso dessa classe de compostos na busca de novos herbicidas.

ABSTRACT

PEREIRA, Ulisses Alves, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2014. **Synthesis and evaluation of bacterial antibiofilm and phytotoxic activity of γ -alkylidene- γ -lactones analogues to rubrolides and their derivatives γ -hydroxy- γ -lactams, γ -alkylidene- γ -lactams and pyridazin-3(2*H*)-ones.** Adviser: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Co-Advisers: Célia Regina Álvares Maltha and Antônio Jacinto Demuner.

γ -alkylidenebutenolides are present on the structure of a variety of natural products that bear different biological activities like fungicide, bactericide, anti-inflammatory, cytotoxic and regulation of seed germination. The same is true for γ -hydroxy- γ -lactams and γ -alkylidene- γ -lactams that are present in different natural product scaffold. The pyridazin-3(2*H*)-ones show a range of biological activities in agrochemical and pharmaceutical fields. In the present work a series of γ -alkylidenebutenolides analogues to rubrolides were synthesized and converted into their corresponding γ -hydroxy- γ -lactams, γ -alkylidene- γ -lactams and pyridazin-3(2*H*)-ones. In the synthetic route chosen, the mucobromic acid, used as a starting material, was reduced to 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-one that in a later stage reacted with different arylboronic acids by Suzuki cross-coupling to form four 4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-ones. The alkylidene reaction between these compounds and aromatic aldehydes resulted in seventeen γ -alkylidenebutenolides analogues to rubrolides. Seven of these compounds were converted through a lactamization with isobutylamine into their corresponding γ -hydroxy- γ -lactams that were posteriorly dehydrated leading to (*Z*) and (*E*)- γ -alkylidene- γ -lactams. The others ten analogues to rubrolides were converted into their corresponding pyridazin-3(2*H*)-ones by reaction with hydrazine. All the compounds prepared were fully characterized by IR, NMR (^1H and ^{13}C), COSY and HETCOR bidimensional experiments, and NOE difference spectroscopy experiments when necessary. The γ -alkylidene- γ -lactones, γ -hydroxy- γ -lactams and γ -alkylidene- γ -lactams were evaluated against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. The results showed that these compounds are more active against *E. faecalis*, *S. epidermidis* and *P.*

aeruginosa biofilm formation and in some cases they can inhibit by 50% the biofilm formation of *P. aeruginosa* at 0.6 $\mu\text{g/mL}$ and 0.7 $\mu\text{g/mL}$, as for **6d** and **6f**, respectively. It was also observed that between these classes of compounds prepared, the γ -alkylidene- γ -lactams are the most active in most cases. All the compounds synthesized were also evaluated for their ability to inhibit the photosynthetic electron transport chain in isolated spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The results of this assay showed that the γ -alkylidene- γ -lactones class is the most active and that the compounds that possess electron withdrawing groups like nitro, trifluoromethyl or fluor at the *para* position of benzylidene group led to a more effective inhibition of photosynthetic electron transport. The mixture of isomers **4i/4i'** that possesses the nitro group on the benzylidene moiety was the most active, inhibiting the rate of ferricyanide reduction by isolated spinach chloroplasts by 62.2% at 10 μM . On another phytotoxic assay the compounds were evaluated for their capacity to inhibit the radicle and the aerial part growth of *Sorghum bicolor* and *Cucumis sativus* seedlings. The results showed that some of these compounds are capable of influencing the growth of these seedlings at 100 ppm, besides presenting selectivity, as obtained for some γ -hydroxy- γ -lactams and pyridazin-3(2*H*)-ones. It occurs for the compounds **8o** and **8q** that inhibit the root growth of *S. bicolor* seedlings by 14.2% and 51.5%, respectively, but induce root growth on *C. sativus* seedlings. The most active compounds in this assay were submitted to the evaluation of their pre-emergence herbicide activity at 100 ppm over *Ipomoea grandifolia* and *Brachiaria decumbens* under green house conditions. This assay showed that the pyridazin-3(2*H*)-ones **8l**, **8p** and **8q** were the most active compounds and that **8q** was able to inhibit the root biomass of *I. grandifolia* by 76.0%, enhancing the use of this class of compounds in the search for new herbicides.

CAPÍTULO 1

SÍNTESE DE γ -ALQUILIDENO- γ -LACTONAS ANÁLOGAS AOS RUBROLÍDEOS E DE SEUS DERIVADOS γ -HIDROXI- γ - LACTAMAS, γ -ALQUILIDENO- γ -LACTAMAS E PIRIDAZIN-3(2*H*)- ONAS

1. Introdução

1.1. Butenolídeos

Butenolídeos estão presentes na estrutura de um grande número de produtos naturais isolados de esponjas, algas, plantas, borboletas e outros insetos (DE SOUZA, 2005; KUANG *et al.*, 2008) e podem ser representados por anéis γ -lactonas do tipo I e II (Figura 1) (BARBOSA *et al.*, 2010).

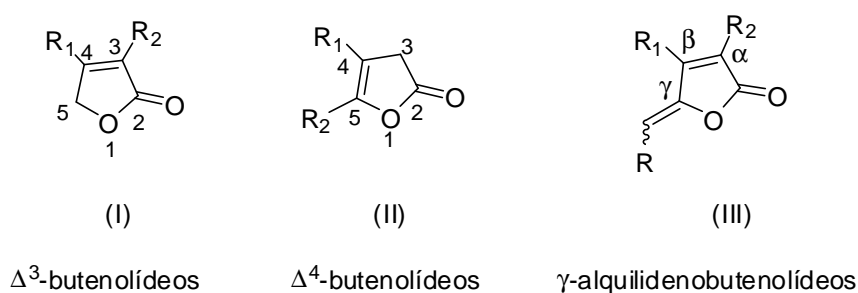


Figura 1 - Estrutura geral dos anéis presentes em butenolídeos.

Esses butenolídeos apresentam uma variedade de atividades biológicas, tais como fungicida, bactericida, anti-inflamatória, citotóxica e reguladora de germinação de sementes (EI-TOMBARY *et al.*, 2011; FLEMATTI *et al.*, 2004; LIGHT *et al.*, 2009; WEBER *et al.*, 2002) e por isso têm atraído atenção como alvo sintético (BELLINA *et al.*, 2001a; HAN *et al.*, 2008; UGURCHIEVA e VESELOVSKY, 2009).

Quando um grupo alquilideno está presente na posição γ de Δ^3 -butenolídeos, têm-se os γ -alquilidenobutenolídeos (Figura 1), que também têm sido isolados de diferentes fontes naturais (NEGISHI e KOTORA, 1997; BARBOSA *et al.*, 2010).

Os fimbrolídeos (Figura 2) foram isolados da alga vermelha *Delisea pulchra* e possuem o núcleo 4-halo-3-butil-5-halometilenofuran-2(5H)-ona em comum e apresentaram atividade inibitória contra a formação de biofilme e expressão da virulência de bactérias (GIVSKOV *et al.*, 1996). A

protoanemonina e o lissoclinolídeo possuem atividade antibiótica (DIDRY *et al.*, 1993; DAVIDSON e IRELAND, 1990).

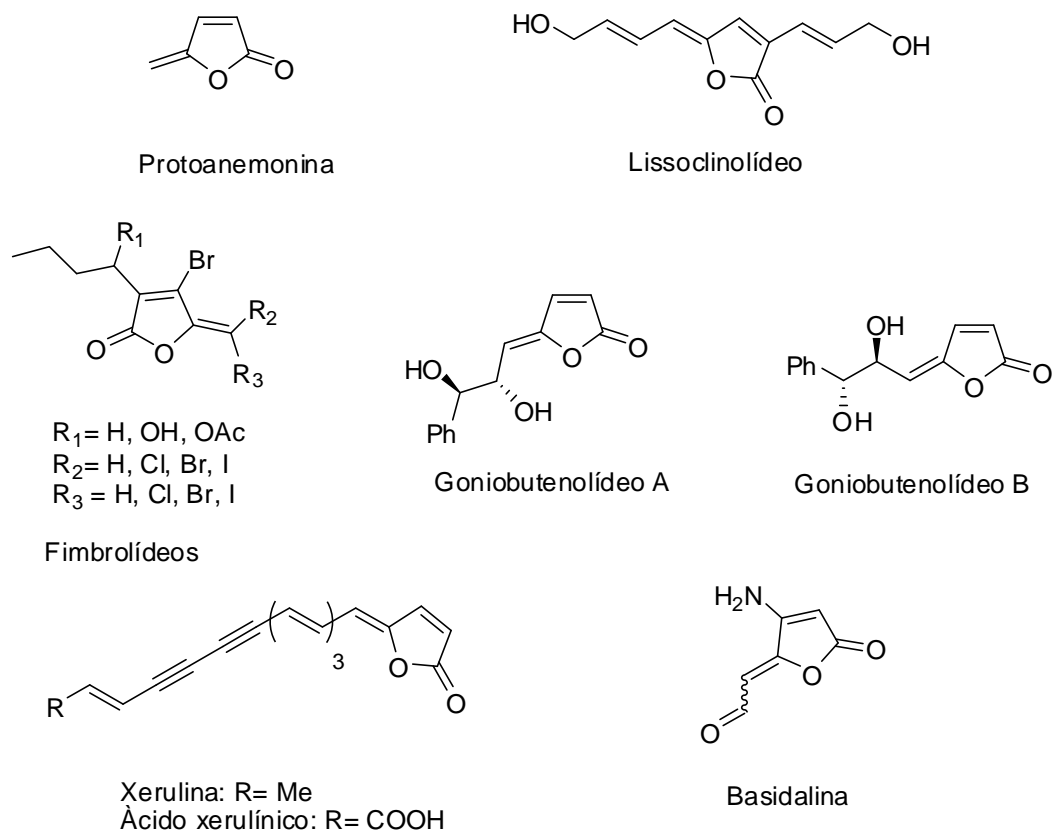


Figura 2 - Exemplos de γ -alquilidenobutenolídeos isolados de fontes naturais.

A inibição da biossíntese do colesterol é observada com os compostos xerulina e ácido xerulínico (KUHNT *et al.*, 1990). A basidalina e os goniobutenolídeos A e B exibem atividade citotóxica (FANG *et al.*, 1991; HIYAMA *et al.*, 1987).

Deve ser notado que a maioria desses compostos mostrados na Figura 2, assim como a maioria dos γ -alquilidenobutenolídeos que ocorrem na natureza contém a unidade (*Z*)- γ -alquilideno. Poucos desses compostos apresentam a configuração *E* (NEGISHI e KOTORA, 1997).

Como essas substâncias têm despertado interesse pelas atividades biológicas que apresentam e pela diversidade estrutural, diferentes metodologias sintéticas foram desenvolvidas para preparar γ -

alquilidenobutenolídeos (BARBOSA *et al.*, 2010; NEGISHI e KOTORA, 1997; BRÜCKNER *et al.*, 2004).

Outra classe de butenolídeos conhecidos corresponde aos rubrolídeos. Os primeiros metabólitos dessa família, rubrolídeos A-H, foram isolados por MIAO e ANDERSEN em 1991 a partir da ascídia marinha *Ritterella rubra* e correspondem a butirolactonas com ou sem átomos de halogênios (Figura 3). Esses compostos demonstraram elevada atividade antibiótica contra *Staphylococcus aureus*.

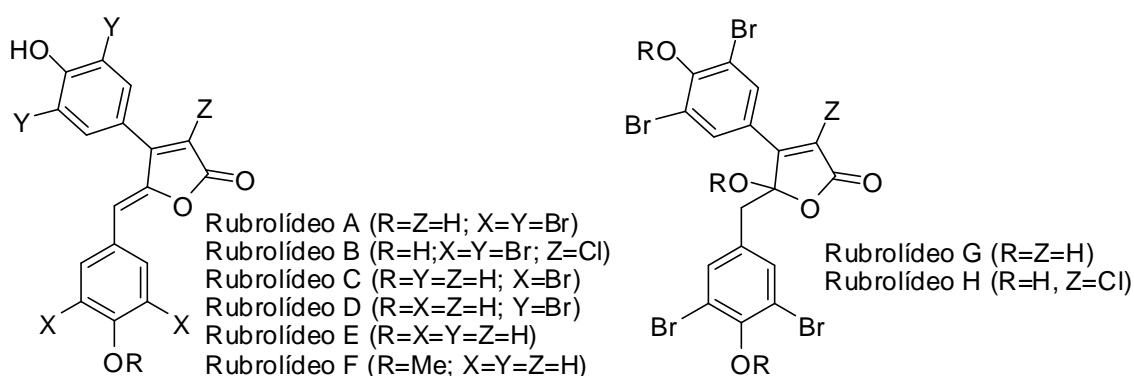


Figura 3 - Estruturas dos rubrolídeos A-H.

Posteriormente, o rubrolídeo A também foi isolado da ascídia *Syonicum prunum* por CARROLL e colaboradores (1999) e da ascídia do gênero *Botryllus* por SMITH e colaboradores (1998). Nesse último trabalho o rubrolídeo A foi encontrado como mistura de isômeros *E/Z* na proporção 3:1.

Em 2000, ORTEGA e colaboradores, investigando a ascídia marinha *Syonicum blochmanni*, em um projeto direcionado para a busca por produtos naturais marinhos farmacologicamente ativos encontraram seis novos membros da família dos rubrolídeos, que foram caracterizados como rubrolídeos I-N (Figura 4). Essas substâncias mostraram significativa citotoxicidade contra algumas linhagens de células tumorais.

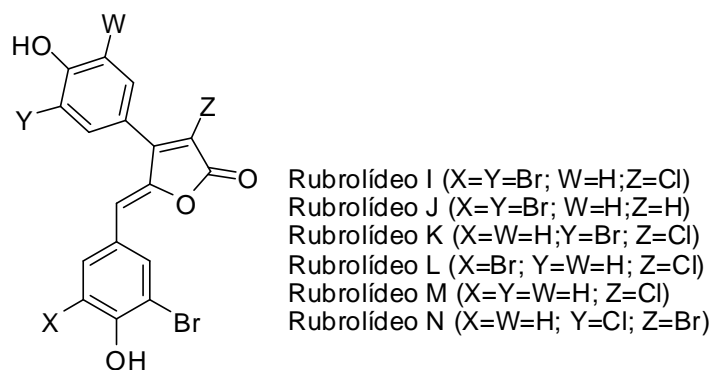


Figura 4 - Estruturas dos rubrolídeos I-N.

Já rubrolídeo O (Figura 5) foi encontrado na ascídia *Synoicum* n. sp. da Nova Zelândia (PEARCE *et al.*, 2007) e apresentou atividade anti-inflamatória, o que não era precedente nesse grupo de metabólitos ativos. Os rubrolídeos P e Q foram isolados em 2012 do tunicato *Pseudodistoma antiboja* (Figura 5) (WANG *et al.*, 2012). No mesmo ano o rubrolídeo Q foi isolado por outro grupo de pesquisa (SIKORSKA *et al.*, 2012) juntamente com os rubrolídeos 3''-bromorubrolídeo F, 3'-bromorubrolídeo E e 3',3''-dibromorubrolídeo E (Figura 5).

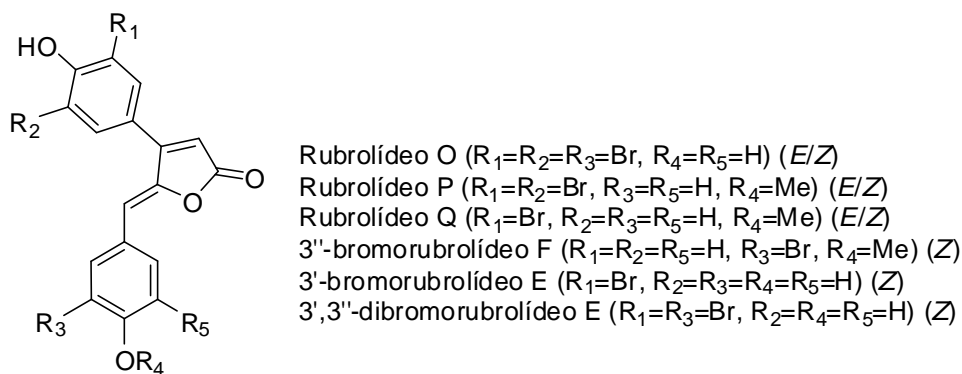


Figura 5 - Estrutura dos rubrolídeos O-Q, 3''-bromorubrolídeo F, 3'-bromorubrolídeo E e 3',3''-dibromorubrolídeo E.

1.2. γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas

As γ -hidroxi- γ -lactamas e as γ -alquilideno- γ -lactamas (Figura 6), também conhecidas como 5-hidroxi-3-pirrolin-2-onas e 5-alquilideno-3-pirrolin-2-onas, são frequentemente encontradas como metabólitos de fungos. Entretanto algumas plantas e animais marinhos também as produzem. Estas estão presentes em vários produtos naturais biologicamente ativos (NAY *et al.*, 2009).



Figura 6 - Estrutura geral das γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas.

Suas estruturas podem ser simples heterociclos ou sistemas mais complexos incluindo longas cadeias ou esqueletos policíclicos fundidos (Figura 7). As mais simples γ -substituídas- γ -lactamas consistem de compostos monocíclicos com substituintes alquil. A pulchellalactama foi isolada do fungo marinho *Corollospora pulchella* (ALVI *et al.*, 1998). Já a axinellamida, que possui um grupo hidróxi na posição γ foi isolada da esponja marinha *Axinella damicornis* (MILLER *et al.*, 1995).

A ampulicina e a isoampulicina foram isoladas do fungo *Ampulliferina* sp. obtido a partir de pinheiros mortos. Esses compostos isolados foram avaliados quanto à capacidade de influenciar no crescimento de raízes de alface e os dados obtidos mostram que esses compostos são capazes de estimular o crescimento dessas raízes, sendo que o isômero *Z* é mais ativo que o *E*, já que necessitou de uma solução dez vezes mais diluída para causar o estímulo de 200% do crescimento dessas raízes (KIMURA *et al.*, 1990).

Outras lactamas com estrutura bastante complexa apresentam atividade antibiótica. Isso tem sido observado para o composto antifúngico talaroconvolutina A isolado de *Talaromyces convolutus* (SUZUKI *et al.*, 2000) e para a pirrocidina A isolada do fungo *Cyclindrocarpon* sp. (HE *et al.*, 2002).

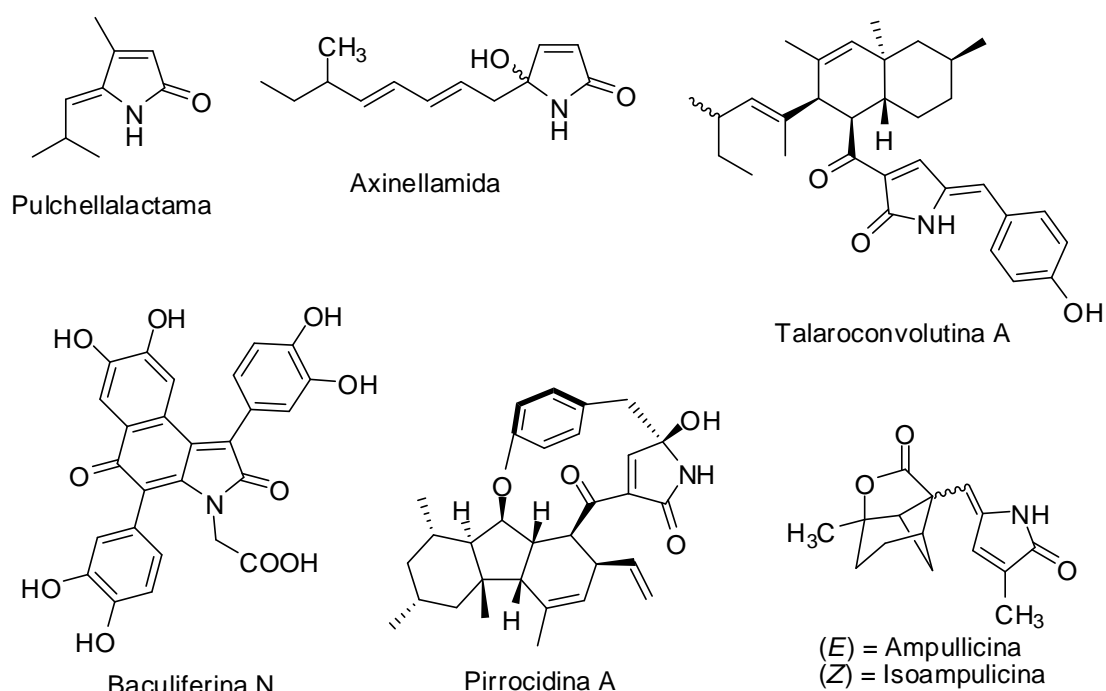


Figura 7 - Exemplos de γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas isoladas de fontes naturais.

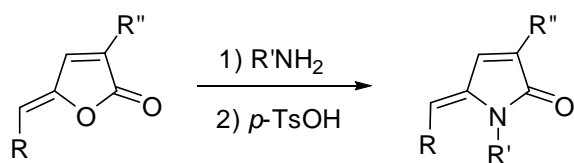
A baculiferina N é um membro de quinze compostos isolados da esponja marinha chinesa *Iotrochota baculifera*. Este composto e muitos de seus membros se mostraram potentes inibidores do vírus HIV-1 (FAN *et al.*, 2010).

1.3. Estudos sintéticos envolvendo as γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas

Devido as suas estruturas únicas e propriedades biológicas, produtos naturais contendo as unidades γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas têm se tornado de grande interesse. Muitas abordagens sintéticas têm sido utilizadas para o preparo dessas classes de compostos e seus derivados. Algumas delas, mas nem todas, têm sido aplicadas para a síntese de compostos de ocorrência natural. Essas diferentes estratégias foram revisadas e estão resumidas no trabalho de NAY *et al.* (2009).

De maneira geral a maioria dessas abordagens se caracteriza pela etapa chave de ciclização para construção do anel γ -lactama. Entretanto, há

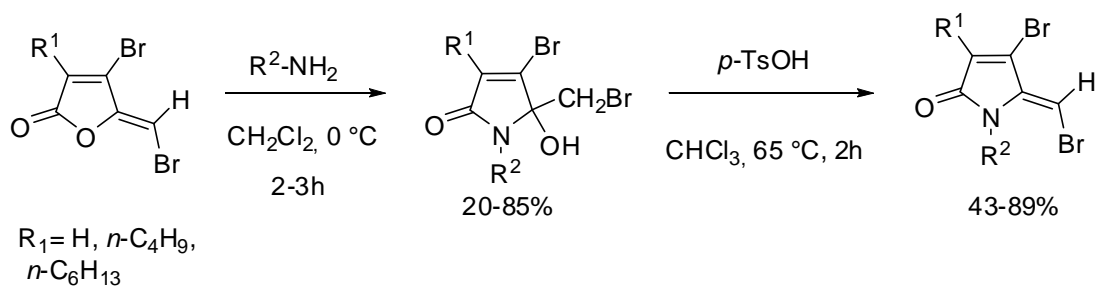
também a metodologia em que uma lactona é inicialmente preparada e posteriormente convertida em lactama (Esquema 1).



Esquema 1 - Conversão de lactonas em lactamas.

Nesse caso, o tratamento da γ -lactona com aminas primárias ou com amônia permite a troca do oxigênio da lactona pelo nitrogênio para a formação da γ -lactama. Esse método tem sido utilizado para a síntese de análogos nitrogenados de algumas classes de compostos, bem como para a síntese de compostos naturais mais complexos.

Essa metodologia foi utilizada por GOH e colaboradores (2007) que desenvolveram um protocolo eficiente de lactamização para conversão de γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas em γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas (Esquema 2).

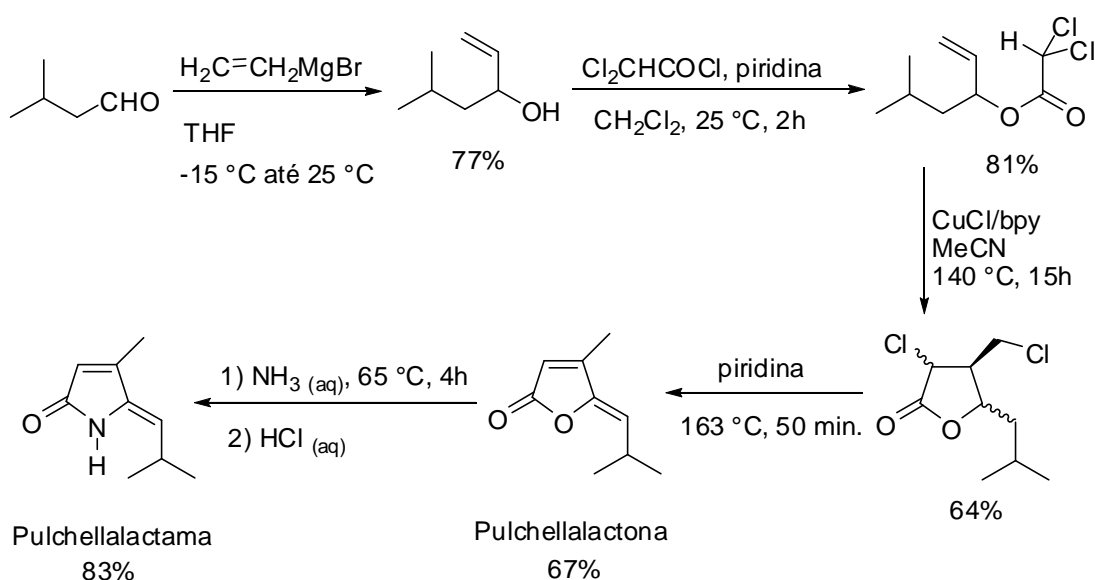


Esquema 2 - Reações de conversão lactona-lactama dos fimbrolídeos.

Nesse trabalho as γ -hidroxi- γ -lactamas foram sintetizados pela dissolução dos fimbrolídeos em diclorometano a 0 °C e tratados com excesso de aminas primárias alifáticas ou aromáticas. Posteriormente foi feita a desidratação das hidroxilactamas com ácido *p*-toluenossulfônico para obtenção das (*Z*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas (Esquema 2).

A mesma metodologia de conversão direta de γ -lactona em γ -lactama, mas dessa vez utilizando amônia, foi utilizada por FELLUGA e colaboradores (2007) em uma nova abordagem para a síntese da (*Z*)-pulchellalactama (Esquema 3).

Inicialmente uma adição nucleofílica do brometo de vinilmagnésio ao isovaleraldeído resultou no preparo do 5-metilex-1-en-3-ol que posteriormente foi acetilado com cloreto de dicloroacetila para formar o éster correspondente. Em seguida a ciclização radicalar com transferência de átomo resultou no diclorobutanólídeo que sofre uma dupla desidrocloreção para geração da pulchellalactona. Finalmente a pulchellalactama foi isolada depois da reação da pulchellalactona com solução de amônia concentrada seguida de elaboração em meio ácido.



Esquema 3 - Síntese da (*Z*)-pulchellalactama utilizando a metodologia de conversão lactona-lactama.

1.4. Piridazin-3(2H)-onas

Diazinas são compostos aromáticos de seis membros com dois átomos de nitrogênio e pertencem a um dos mais importantes heterociclos contendo nitrogênio. Três estruturas diferentes podem ser distinguidas de acordo com a posição relativa dos átomos de nitrogênio: piridazina (1,2-diazina), pirimidina (1,3-diazina) e pirazina (1,4-diazina) (Figura 8) (ASIF e SINGH, 2010; ACHELLE *et al.*, 2011).



Figura 8 - Estrutura geral das diazinas.

Apenas um pequeno número de compostos naturais contendo a ligação N-N em piridazinas é descrito na literatura. Todos eles têm sido isolados de culturas de *Streptomyces* (WERMUTH, 2011).

De acordo com WERMUTH (2011) a piridazomicina, um antifúngico e antibiótico isolado de *Streptomyces violaceoniger* sp. *griseofucus*, representa o primeiro exemplo de piridazina natural completamente insaturada (Figura 9) (GROTE *et al.*, 1988). Além da piridazomicina, a azamerona, é o segundo produto natural conhecido que contém o anel piridazina (Figura 9). Esse terpenóide foi isolado de *Streptomyces* sp. (CHO *et al.*, 2006).

Entretanto, o trabalho de BOUAICHA *et al.* (1994) descreve o isolamento da zarzissina, uma piridazina isolada da esponja *Anchinoe paupertae* encontrada no Mediterrâneo, que exibiu citotoxicidade contra três linhagens de células tumorais humanas.

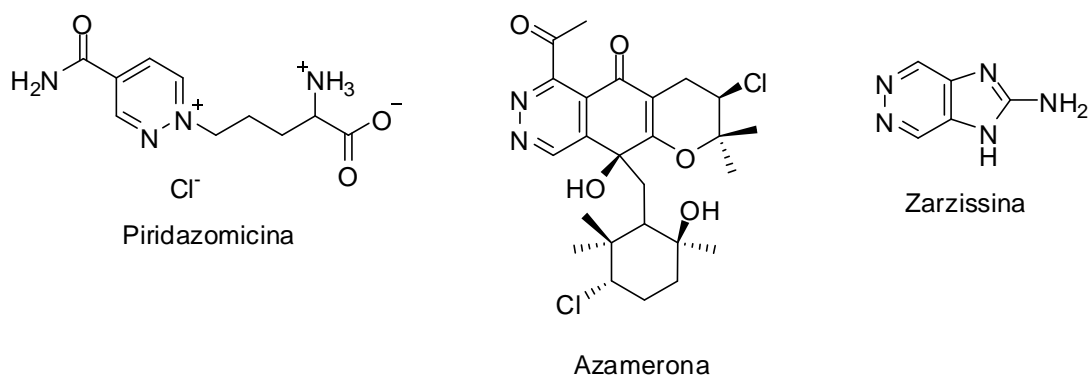


Figura 9 - Piridazinas e diidropirazinas naturais.

Enquanto poucos produtos naturais derivados das 1,2-diazinas são conhecidos, o núcleo piridazina pode ser encontrado em uma grande variedade de estruturas sintéticas biologicamente ativas. Esse é o caso das piridazin-3(2*H*)-onas, um importante grupo de compostos heterocíclicos derivados da piridazina (Figura 10) (ASIF e SINGH, 2010; MAES, 2007).

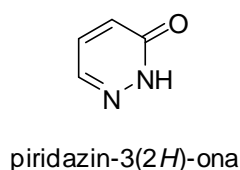


Figura 10 - Estrutura da piridazin-3(2*H*)-ona.

Muitas pesquisas têm sido feitas a respeito dessa classe de compostos, pois apresentam vários tipos de atividades biológicas na área agroquímica e farmacêutica (ASIF e SINGH, 2010).

Como exemplo a 5-amino-4-cloro-2-fenilpiridazin-3(2*H*)-ona (chloridazon) que é um herbicida comercial para controle de plantas daninhas na cultura de beterraba (SUWALSKY *et al.*, 1998). Já o norflurazon, que apresenta estrutura semelhante ao chloridazon, é utilizado no cultivo de algodão e também é um herbicida de pré-emergência no cultivo de cítricos (MAES, 2007; LEBARON *et al.*, 2008). O pyridaben é um inseticida e acaricida (SHI e FENG, 2006) e o pyridaphenthion é registrado no Brasil para o controle de dicotiledôneas na cultura do algodão (SILVA e SILVA, 2007) (Figura 11).

Além das aplicações agroquímicas das piridazin-3(2H)-onas há também interesse farmacêutico para esses heterociclos, como o emorfazone que é conhecido por suas propriedades analgésicas e anti-inflamatórias (GÖKÇE *et al.*, 2009) (Figura 11).

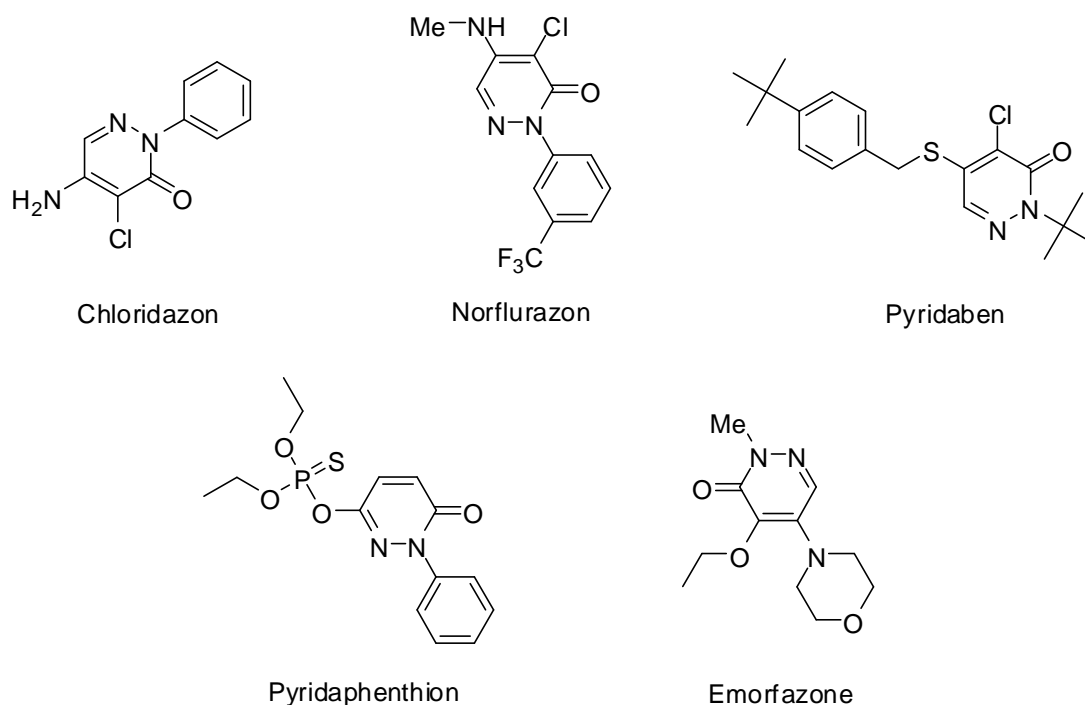
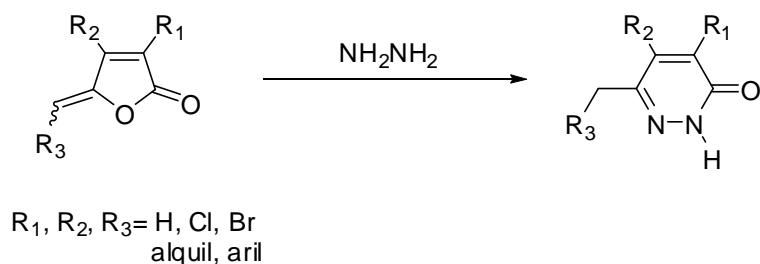


Figura 11 - Exemplos de piridazin-3(2H)-onas bioativas.

Portanto, as piridazin-3(2H)-onas representam uma classe de compostos de especial interesse devido principalmente as suas atividades biológicas, o que tem resultado na síntese de novos compostos contendo essa unidade estrutural (LEE *et al.*, 2004).

Para o preparo dessas substâncias, vários métodos de síntese são descritos na literatura (LEE *et al.*, 2004). Entre eles destaca-se a adição de hidrazina a um γ -alquilidenobutenolídeo, conforme representado no Esquema 4.

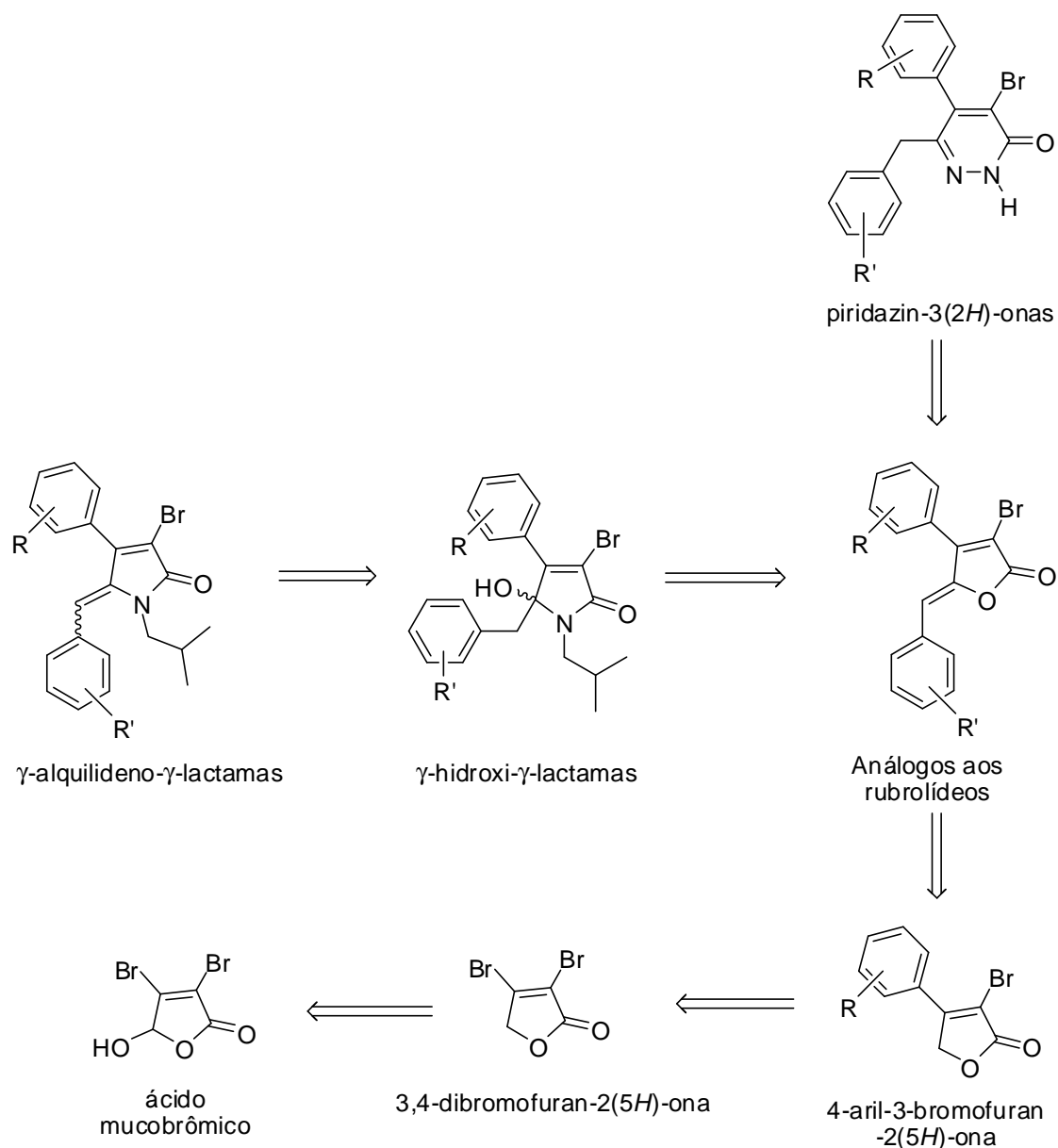


Esquema 4 - Síntese de piridazin-3(2*H*)-onas a partir de γ -alquilidenobutenólídeos.

2. Justificativa do trabalho

Diante da facilidade de obtenção das γ -hidroxi- γ -lactamas, γ -alquilideno- γ -lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas a partir dos γ -alquilidenobutenólídeos; das atividades biológicas apresentadas por diversos produtos naturais contendo as unidades γ -hidroxi- γ -lactamas, γ -alquilideno- γ -lactamas e γ -alquilidenobutenólídeos e das atividades biológicas apresentadas por piridazin-3(2*H*)-onas sintéticas, objetivou-se nesse trabalho sintetizar novas moléculas com essas unidades estruturais.

No plano sintético escolhido para o preparo das γ -hidroxi- γ -lactamas, γ -alquilideno- γ -lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas, compostos análogos aos rubrolídeos foram utilizados como γ -alquilidenobutenólídeos precursores. A análise retróssintética desse plano foi baseada nos trabalhos de BELLINA *et al.* (2001b), GOH *et al.* (2007) e LEE *et al.* (2004) e é apresentada no Esquema 5.



Esquema 5 - Análise retróssintética para preparação das γ -hidroxi- γ -lactamas, γ -alquilideno- γ -lactamas e piridazin-3(2H)-onas derivadas de análogos aos rubrolídeos.

De acordo com a análise retróssintética as γ -alquilideno- γ -lactamas serão obtidas a partir da desidratação das γ -hidroxi- γ -lactamas correspondentes. Essas por sua vez serão preparadas pela reação dos compostos análogos aos rubrolídeos com aminas alifáticas, tendo-se nesse caso escolhido a isobutilamina. A reação de alquilidenação entre as 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-onas e diferentes aldeídos aromáticos resultará no preparo

dos análogos aos rubrolídeos. A reação de substituição regioseletiva de preparo das 4-*aryl*-3-bromofuran-2(5*H*)-onas ocorrerá através do acoplamento de Suzuki entre diferentes ácidos fenilborônicos substituídos e a 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona, que será obtida inicialmente pela redução do ácido mucobrômico.

Já as piridazin-3(2*H*)-onas serão preparadas pela reação dos compostos análogos aos rubrolídeos com hidrazina.

3. Material e métodos

3.1. Técnicas experimentais

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

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

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

3.2. Técnicas espectroscópicas

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

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

Os espectros de massas foram obtidos em um equipamento Shimadzu GC/MS-QP5050A. Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em um equipamento Bruker MicroTof (resolução = 10000 FWHM) (Oxford University - Inglaterra) sob ionização por “electrospray” (IES).

3.3. Purificação e preparo de reagentes e solventes

3.3.1. Purificação do tetraidrofurano (THF)

A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de THF e 12 g de hidreto de cálcio. Deixou-se o sistema sob refluxo durante 20 horas. Em seguida, destilou-se o THF, transferindo-o para outro balão de 500 mL, contendo sódio metálico. Deixou-se a mistura sob refluxo, durante uma hora. A seguir, adicionou-se benzofenona ao balão contendo o THF, deixando o sistema sob refluxo até que a mistura reacional adquirisse a coloração azul. Após a mudança na coloração, destilou-se o THF anidro, que foi armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de nitrogênio (PERRIN e ARMAREGO, 2003).

3.3.2. Secagem do diclorometano (DCM)

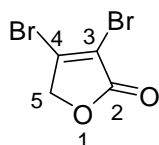
A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de diclorometano e 3 g de hidreto de cálcio. Deixou-se o sistema sob refluxo durante três horas. Em seguida, destilou-se o diclorometano anidro, que foi armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de nitrogênio (PERRIN e ARMAREGO, 2003).

3.3.3. Purificação da diisopropiletilamina (DIPEA)

A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de diisopropiletilamina sobre lentilhas de hidróxido de potássio. A mistura foi refluxada por duas horas. Após este período, a diisopropiletilamina foi destilada e armazenada sobre lentilhas de hidróxido de potássio (PERRIN e ARMAREGO, 2003).

3.4. Procedimentos sintéticos

3.4.1. Síntese da lactona 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona



O procedimento a seguir foi baseado no trabalho de BELLINA *et al.* (2001b).

Em um balão bitubulado de fundo redondo (250 mL), contendo ácido mucobromico (21,510 g; 83,42 mmol) e metanol (120 mL), sob agitação magnética e a 0 °C, foi adicionado NaBH₄ (4,735 g; 125,13 mmol) em pequenas porções. A mistura resultante foi mantida sob agitação por 15 minutos a 0 °C. A seguir, adicionou-se uma solução de ácido sulfúrico concentrado (4,5 mL) em metanol (42 mL) a 0 °C, mantendo-se a mistura resultante sob agitação por 15 minutos. Decorrido esse período, a mistura foi diluída em éter dietílico (1125 mL) e lavada com solução saturada de NaCl (4 x 150 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio (MgSO₄) anidro e concentrada sob pressão reduzida. O sólido formado foi recristalizado em uma mistura de hexano:éter dietílico 1:1 (v/v), levando à formação da lactona **1** como cristais brancos (16,674 g, 83% de rendimento).

Característica: cristais brancos

T_f: 89,6-90,3 °C.

CCD: R_f = 0,36 (hexano:diclorometano, 1:2 v/v)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 2925; 2853; 1758; 1605; 1431; 1339; 1217; 1023; 992; 869; 749; 718.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 4,86 (s, 2H, H-5).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 74,4 (C-5); 114,9 (C-3); 143,7 (C-4); 166,8 (C-2).

EM, m/z (%): 244 ([M+4]⁺, 15); 242 ([M+2]⁺, 30); 240 ([M]⁺, C₄H₂Br₂O₂, 11); 215 (8); 213 (17); 211 (9); 163 (99); 161 (100); 133 (22); 131 (19); 119 (25); 117 (27); 107 (16); 105 (22); 81 (14); 79 (14); 53 (29); 38 (78); 37 (63); 36 (15).

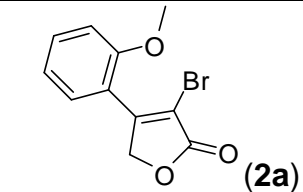
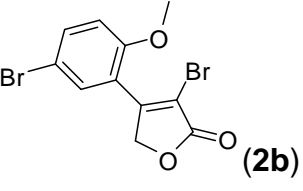
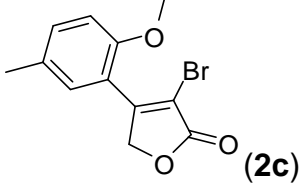
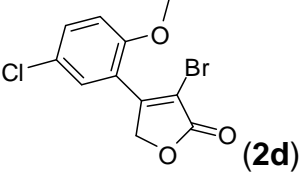
3.4.2. Síntese da 3-bromo-4-(2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona (**2a**) pelo acoplamento de Suzuki-Miyaura

Em um balão bitubulado de fundo redondo (250 mL), adicionaram-se a lactona 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**1**) (1,000 g; 4,13 mmol), ácido 2-metoxifenilborônico (0,690 g; 4,54 mmol), bisacetoneitriladicloropáldio(II) ($\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2$) (0,054 g; 0,21 mmol), trifenilarsina (AsPh_3) (0,254 g; 0,83 mmol) e óxido de prata (Ag_2O) (2,871 g; 12,39 mmol). Sob atmosfera de nitrogênio adicionou-se THF anidro (18 mL). Esse sistema foi mantido sob agitação magnética a 65 °C por 24 horas.

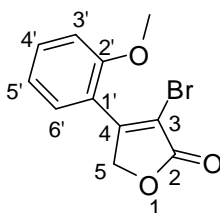
A mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente, diluída com acetato de etila (100 mL) e filtrada a vácuo sobre celite. O filtrado foi concentrado em evaporador rotatório, para obtenção do material bruto da reação, que foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se gradiente de eluição com as misturas de solventes hexano:diclorometano 3:1, 2:1, 1:1 e 1:2 v/v. Esse procedimento resultou no isolamento da 3-bromo-4-(2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona (**2a**) com rendimento de 39% (0,436 g; 1,62 mmol), e da 2,2'-dimetoxibifenila (**3a**) (14% de rendimento; 0,070 g; 0,33 mmol) resultante do homoacoplamento. A porcentagem de recuperação da lactona **1** correspondeu a 16% (162 mg).

Os compostos **2b-2d** foram preparados utilizando-se procedimento experimental similar ao descrito para a síntese do composto **2a**. A Tabela 1 apresenta as quantidades de reagentes e solventes utilizadas nessas reações.

Tabela 1 - Dados referentes ao preparo das 4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-onas **2a-2d**

3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona (g; mmol)	Ácido arilborônico (g; mmol)	PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂ (g; mmol)	AsPh ₃ (g; mmol)	Ag ₂ O (g; mmol) (THF)	4-aryl-3-bromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona	Rendimento (g; %)
1,00; 4,13	0,690; 4,54	0,054; 0,21	0,254; 0,83	2,871; 12,39 (18 mL)	 (2a)	0,436; 39
4,50; 18,61	4,725; 20,47	0,241; 0,93	1,139; 3,72	12,938; 55,83 (75 mL)	 (2b)	1,888; 29
4,37; 18,07	3,300; 19,88	0,234; 0,90	1,105; 3,61	12,563; 54,21 (73 mL)	 (2c)	1,888; 37
5,50; 22,74	4,662; 25,01	0,295; 1,14	1,393; 4,55	15,809; 68,22 (87 mL)	 (2d)	1,816; 26

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



Característica: cristais amarelo claro

Rendimento: 39% (0,436 g; 1,62 mmol). Recuperação de 162 mg (16%) do material de partida.

T_f: 169,2-171,5 °C.

CCD: R_f = 0,28 (hexano:diclorometano, 1:1,5, v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3072; 2958; 1769; 1614; 1598; 1486; 1264; 1248; 1178; 1012; 978; 744; 721.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,87 (s, 3H, -OCH₃); 5,26 (s, 2H, H-5); 6,99 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, $J_{3',5'} = 0,9$, H-3'); 7,09 (ddd, 1H, $J_{5',3'} = 0,9$, $J_{5',4'} = 7,5$, $J_{5',6'} = 7,5$, H-5'); 7,48 (ddd, 1H, $J_{4',3'} = 8,4$, $J_{4',5'} = 7,5$, $J_{4',6'} = 1,5$, H-4'); 7,80 (dd, 1H, $J_{6',4'} = 1,5$, $J_{6',5'} = 7,5$, H-6').

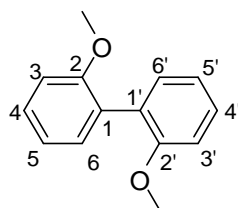
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 55,8 (-OCH₃); 73,8 (C-5); 108,2 (C-3), 111,6 (C-3'); 118,9 (C-1'); 121,1 (C-5'); 130,3 (C-6'); 132,8 (C-4'); 157,4 (C-2')*; 157,7 (C-4)*, 170,0 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%): 270 ([M+2]⁺, 35); 268 ([M]⁺, C₁₁H₉BrO₃, 36); 241 (32); 239 (33); 189 (100); 161 (19); 145 (27); 133 (38); 132 (18); 131 (52); 118 (17); 115 (24); 105 (87); 103 (21); 102 (39); 89 (39); 88 (28); 77 (49); 76 (19); 75 (28); 74 (25); 63 (37); 62 (30); 51 (39); 50 (28); 39 (43); 38 (18).

IES-EM C₁₁H₉BrNaO₃ [M+Na]⁺: 290,9627, encontrado: 290,9628.

3.4.2.2. Dados referentes ao composto 2,2'-dimetoxibifenila (3a)



Característica: sólido branco

Rendimento: 14% (0,070 g; 0,33 mmol)

T_f: 127,0-128,0 °C.

CCD: R_f = 0,33 (hexano:diclorometano, 2:1 v/v).

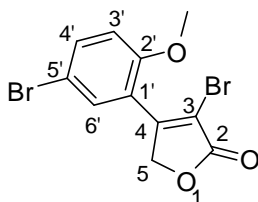
IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3025; 2960; 2927; 1589; 1480; 1455; 1428; 1283; 1226; 1164; 1019; 999; 762; 739; 693; 546.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,79 (s, 6H, 2-OCH₃ e 2'-OCH₃); 6,99 (dd, 2H, $J_{3,4} = J_{3',4'} = 8,4$, $J_{3,5} = J_{3',5'} = 0,9$, H-3 e H-3'); 7,03 (ddd, 2H, $J_{5,3} = J_{5',3'} = 0,9$, $J_{5,4} = J_{5',4'} = 7,5$, $J_{5,6} = J_{5',6'} = 7,5$, H-5 e H-5'); 7,27 (dd, 2H, $J_{6,4} = J_{6',4'} = 1,8$, $J_{6,5} = J_{6',5'} = 7,5$, H-6 e H-6'); 7,35 (ddd, 2H, $J_{4,3} = J_{4',3'} = 8,4$, $J_{4,5} = J_{4',5'} = 7,5$, $J_{4,6} = J_{4',6'} = 1,8$, H-4 e H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 55,9 (2-OCH₃ e 2'-OCH₃); 111,3 (C-3 e C-3'); 120,6 (C-5 e C-5'); 128,1 (C-1 e C-1'); 128,8 (C-4 e C-4'); 131,7 (C-6 e C-6'); 157,3 (C-2 e C-2').

EM, m/z (%) 214 ([M]⁺, C₁₄H₁₄O₂, 100); 199 (17); 184 (35); 183 (11); 181 (13); 168 (21); 139 (14); 128 (17); 115 (12); 63 (12); 51 (11); 39 (13).

3.4.2.3. Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (2b)



Característica: sólido branco

Rendimento: 29% (1,888 g; 5,43 mmol). Recuperação de 1,016 g (23%) do material de partida.

T_f: 169,2-171,5 °C.

CCD: $R_f = 0,28$ (hexano:diclorometano, 1:1,5 v/v)

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2997; 2964; 1769; 1618; 1591; 1482; 1470; 1401; 1266; 1245; 1181; 1139; 1062; 1012; 983; 880; 805; 749; 621.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 3,86 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 5,21 (s, 2H, H-5); 6,88 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,8$, H-3'); 7,56 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,8$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4'); 7,88 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6').

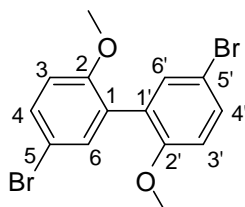
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 56,1 ($-\text{OCH}_3$); 73,5 (C-5); 109,5 (C-3); 113,3 (C-5'); 113,4 (C-3'); 120,7 (C-1'); 132,6 (C-6'); 135,2 (C-4'); 156,0 (C-2')*; 156,5 (C-4)*; 169,5 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 350 ($[\text{M}+4]^+$, 3); 348 ($[\text{M}+2]^+$, 9); 346 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{Br}_2\text{O}_3$, 2); 269 (21); 267 (19); 132 (100); 131 (32); 102 (27); 101 (15); 99 (11); 89 (14); 88 (14); 87 (33); 77 (11); 75 (26); 74 (20); 63 (24); 62 (14); 51 (33); 50 (34); 44 (22); 38 (14).

IES-EM $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{Br}_2\text{NaO}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 368,8732, encontrado: 368,8731.

3.4.2.4. Dados referentes ao composto 5,5'-dibromo-2,2'-dimetoxibifenila (3b)



Característica: cristais brancos

Rendimento: 20% (0,755 g; 2,03 mmol)

T_f: 127,9-128,0 °C.

CCD: $R_f = 0,33$ (hexano:diclorometano, 2:1 v/v)

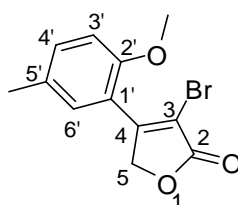
IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3073; 3017; 2955; 2960; 2834; 1478; 1457; 1288; 1259; 1241; 1220; 1179; 1137; 1028; 805; 741; 615; 583; 520.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 3,76 (s, 6H, 2- OCH_3 e 2'- OCH_3); 6,84 (d, 2H, $J_{3,4} = J_{3',4'} = 8,7$, H-3 e H-3'); 7,33 (d, 2H, $J_{6,4} = J_{6',4'} = 2,4$, H-6 e H-6'); 7,43 (dd, 2H, $J_{4,3} = J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4,6} = J_{4',6'} = 2,4$, H-4 e H-4').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 56,2 (2-O $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ e 2'-O $\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 112,7 (C-5 e C-5'); 113,0 (C-3 e C-3'); 128,6 (C-1 e C-1'); 131,8 (C-4 e C-4'); 134,0 (C-6 e C-6'); 156,3 (C-2 e C-2').

EM, m/z (%) 374 ($[\text{M}+4]^+$, 49); 372 ($[\text{M}+2]^+$, 100); 370 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{O}_3$, 54); 278 (63); 276 (66); 263 (41); 261 (52); 235 (26); 233 (29); 212 (41); 139 (54); 138 (34); 126 (85); 87 (25); 76 (26); 75 (35); 74 (33); 70 (32); 69 (57); 63 (78); 62 (43); 51 (33); 50 (35).

3.4.2.5. Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-metil-2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (2c)



Característica: sólido branco

Rendimento: 37% (1,888 g; 6,67 mmol). Recuperação de 1,113 g (25%) do material de partida.

T_f: 97,9-99,5 °C.

CCD: R_f = 0,20 (hexano:diclorometano, 1:1 v/v).

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3026; 2989; 2955; 2912; 2854; 1749; 1610; 1575; 1494; 1444; 1346; 1260; 1190; 989; 822; 752; 726; 660; 560.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 2,35 (s, 3H, 5'- $\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 3,83 (s, 3H, -O $\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 5,24 (s, 2H, H-5); 6,90 (d, 1H, $J_{3'4'} = 8,4$, H-3'); 7,26 (dd compl, 1H, $J_{4',3'} = 8,4$, $J_{4',6'} = 2,0$, H-4'); 7,60 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,0$, H-6').

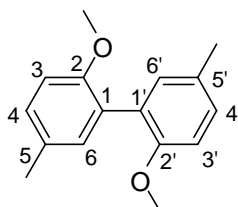
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 20,6 (5'- $\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 55,8 (-O $\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 73,8 (C-5); 107,9 (C-3); 111,6 (C-3'); 118,5 (C-1'); 130,4 (C-5'); 130,5 (C-6'); 133,3 (C-4'); 155,4 (C-2')*; 157,8 (C-4)*; 170,1 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 284 ($[\text{M}+2]^+$, 46); 282 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{BrO}_3$, 45); 255 (27); 253 (29); 203 (87); 175 (25); 159 (42); 147 (84); 146 (23); 145 (60); 131 (33); 119 (90); 116 (42); 115 (100); 103 (33); 102 (57); 91 (77); 89 (32); 76 (29); 75 (34); 74 (31); 63 (56); 62 (24); 52 (32); 51 (91); 50 (48).

IES-EM C₁₂H₁₂BrO₃ [M+H]⁺: 282,9964, encontrado: 282,9882.

3.4.2.6. Dados referentes ao composto 5,5'-dimetil-2,2'-dimetoxibifenila (3c)



Característica: cristais brancos

Rendimento: 23% (0,550 g; 2,27 mmol)

T_f: 51,8-52,8 °C.

CCD: R_f = 0,46 (hexano:diclorometano, 2:1 v/v).

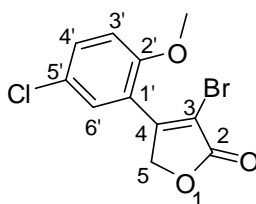
IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3025; 2994; 2952; 2899; 1486; 1459; 1269; 1229; 1137; 1049; 1024; 881; 755; 721; 486.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 2,34 (s, 6H, 5-CH₃ e 5'-CH₃); 3,77 (s, 6H, 2-OCH₃ e 2'-OCH₃); 6,89 (d, 2H, J_{3,4} = J_{3',4'} = 8,4, H-3 e H-3'); 7,06 (d, 2H, J_{6,4} = J_{6',4'} = 2,4, H-6 e H-6'); 7,14 (dd, 2H, J_{4,3} = J_{4',3'} = 8,4, J_{4,6} = J_{4',6'} = 2,4, H-4 e H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,8 (5-CH₃ e 5'-CH₃); 56,2 (2-OCH₃ e 2'-OCH₃); 111,3 (C-3 e C-3'); 128,0 (C-1 e C-1'); 129,2 (C-4 e C-4'); 129,8 (C-5 e C-5'); 132,2 (C-6 e C-6'); 155,2 (C-2 e C-2').

EM, m/z (%) 242 ([M]⁺, C₁₆H₁₈O₂, 100); 227 (22); 212 (39); 211 (13); 197 (12); 196 (14); 195 (17); 121 (9); 77 (7).

3.4.2.7. Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (2d)



Característica: sólido branco

Rendimento: 26% (1,816 g; 5,98 mmol). Recuperação de 1,107 g (20%) do material de partida.

T_f: 159,4-160,6 °C.

CCD: R_f = 0,23 (hexano:diclorometano, 1:1 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 2997; 2961; 2855; 1769; 1615; 1596; 1485; 1471; 1441; 1407; 1266; 1245; 1182; 1012; 982; 880; 808; 749; 679; 640.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,87 (s, 3H, -OCH₃); 5,23 (s, 2H, H-5); 6,95 (d, 1H, J_{3',4'} = 9,0, H-3'); 7,43 (dd, 1H, J_{4',3'} = 9,0, J_{4',6'} = 2,7, H-4'); 7,77 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,7, H-6').

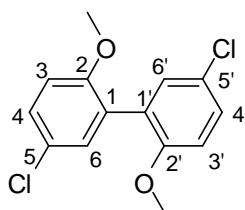
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 73,5 (C-5); 109,4 (C-3); 113,0 (C-3'); 120,2 (C-1'); 126,2 (C-5'); 129,8 (C-6'); 132,3 (C-4'); 156,0 (C-2')*; 156,1 (C-4)*; 169,6 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 306 ([M+4]⁺, 21); 304 ([M+2]⁺, 85); 302 ([M]⁺, C₁₁H₈BrClO₃, 64); 275 (71); 273 (54); 260 (30); 225 (35); 223 (100); 179 (42); 167 (57); 165 (62); 139 (48); 136 (35); 132 (49); 101 (54); 87 (46); 75 (53).

IES-EM C₁₁H₉BrClO₃ [M+H]⁺: 302,9418, encontrado: 302,9367.

3.4.2.8. Dados referentes ao composto 5,5'-dicloro-2,2'-dimetoxibifenila (3d)



Característica: cristais brancos

Rendimento: 18% (0,602 g; 2,13 mmol)

T_f: 113,8-114,5 °C.

CCD: R_f = 0,60 (hexano:diclorometano, 1:1 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3003; 2963; 2935; 2904; 2835; 1590; 1489; 1463; 1397; 1241; 1181; 1133; 1020; 809; 641; 528.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 3,75 (s, 6H, 2-OCH₃ e 2'-OCH₃); 6,87 (d, 2H, $J_{3,4} = J_{3',4'} = 8,7$, H-3 e H-3'); 7,19 (d, 2H, $J_{6,4} = J_{6',4'} = 2,7$, H-6 e H-6'); 7,28 (dd, 2H, $J_{4,3} = J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4,6} = J_{4',6'} = 2,7$, H-4 e H-4').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 56,2 (2-OCH₃ e 2'-OCH₃); 112,5 (C-3 e C-3'); 125,4 (C-1 e C-1'); 128,1 (C-5 e C-5'); 128,9 (C-4 e C-4'); 131,3 (C-6 e C-6'); 155,8 (C-2 e C-2').

EM, m/z (%) 286 ($[\text{M}+4]^+$, 12); 284 ($[\text{M}+2]^+$, 70); 282 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}_2$, 100); 234 (26); 233 (13); 232 (78); 217 (33); 189 (20); 139 (11); 126 (19); 87 (14).

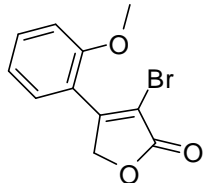
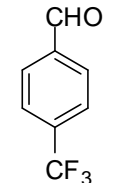
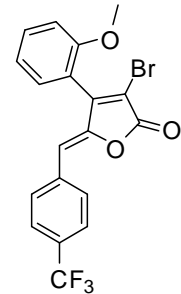
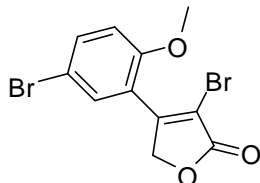
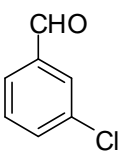
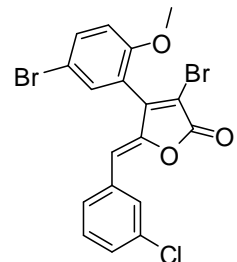
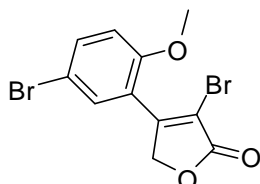
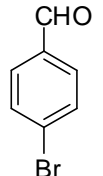
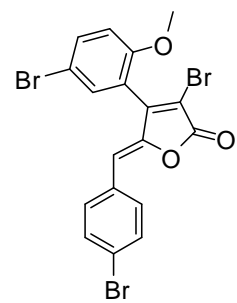
3.4.3. Síntese da (Z)-3-bromo-4-(2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5H)-ona (4a) análoga aos rubrolídeos pela reação de alquilidação

A um balão bitubulado de fundo redondo (50 mL), adicionaram-se a 3-bromo-4-(2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (**2a**) (0,900 g; 3,34 mmol), diclorometano anidro (20 mL), TBDMSOTf (1,688 mL; 7,35 mmol), DIPEA (1,745 mL; 10,02 mmol) e *p*-trifluorometilbenzaldeído (0,651 g; 3,74 mmol), sob atmosfera de nitrogênio. A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente por uma hora. Decorrido esse período, a mistura reacional foi refluxada e posteriormente adicionou-se DBU (1,099 mL; 7,35 mmol) mantendo-se o refluxo por uma hora.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação empregando-se 70 mL de DCM. A fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de HCl 3 mol L⁻¹ (2 x 40 mL) e solução saturada de NaCl (3 x 40 mL). Em seguida, a mesma foi seca com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida para obtenção do material bruto da reação, que foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se a mistura de solvente hexano:DCM 3:2 v/v para obtenção da (Z)-3-bromo-4-(2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5H)-ona (**4a**) em 63% de rendimento (896 mg; 2,11 mmol).

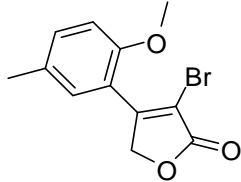
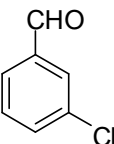
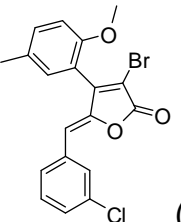
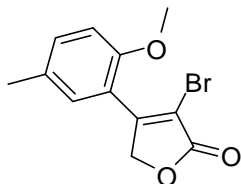
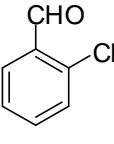
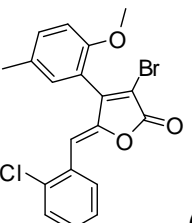
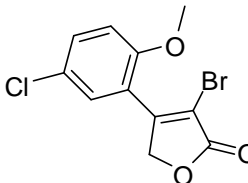
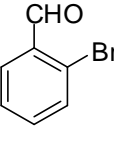
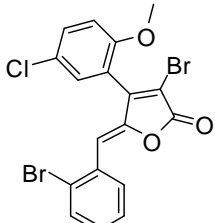
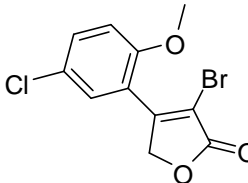
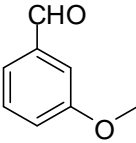
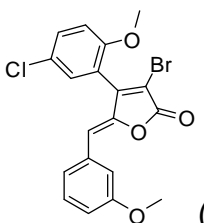
Os compostos **4b-4q** foram preparados utilizando-se procedimento experimental similar ao descrito para a síntese do composto **4a**. A Tabela 2 apresenta as quantidades de reagentes e solventes utilizadas nessas reações.

Tabela 2 - Dados referentes ao preparo dos análogos aos rubrolídeos **4a-4q**

Lactona (g; mmol)	Aldeído (g; mmol)	TBDMSOTf (mL; mmol)	DIPEA (mL; mmol) (DCM anidro)	DBU (mL; mmol)	Análogo aos rubrolídeos	Rendimento (mg; %)
 (0,900; 3,34)	 (0,651; 3,74)	1,688; 7,35	1,745; 10,02 (20 mL)	1,099; 7,35	 (4a)	896; 63
 (0,880; 2,53)	 (0,391; 2,78)	1,279; 5,57	1,322; 7,59 (15 mL)	0,833; 5,57	 (4b)	523; 44
 (0,880; 2,53)	 (0,514; 2,78)	1,279; 5,57	1,322; 7,59 (15 mL)	0,833; 5,57	 (4c)	585; 45

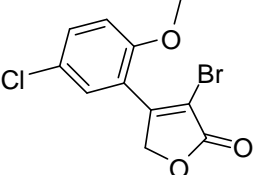
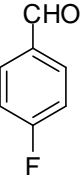
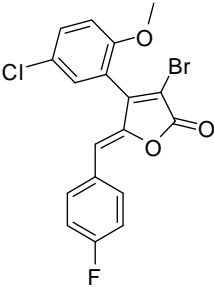
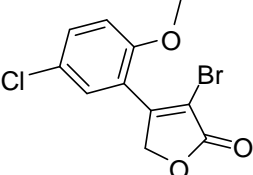
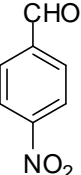
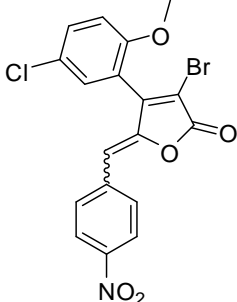
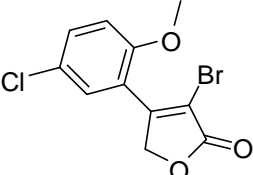
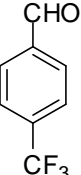
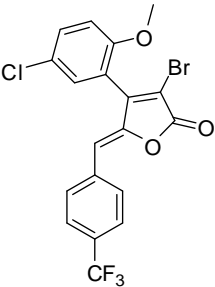
Continua...

Tabela 2 - Cont.

Lactona (g; mmol)	Aldeído (g; mmol)	TBDMSOTf (mL; mmol)	DIPEA (mL; mmol) (DCM anidro)	DBU (mL; mmol)	Análogo aos rubrolídeos	Rendimento (mg; %)
 (0,770; 2,72)	 (0,420; 2,99)	1,372; 5,98	1,422; 8,16 (16 mL)	0,895; 5,98	 (4d)	700; 63
 (0,770; 2,72)	 (0,420; 2,99)	1,372; 5,98	1,422; 8,16 (16 mL)	0,895; 5,98	 (4e)	744; 68
 (0,900; 2,97)	 (0,605; 3,27)	1,500; 6,53	1,553; 8,91 (18 mL)	0,976; 6,53	 (4f)	804; 58
 (0,900; 2,97)	 (0,445; 3,27)	1,500; 6,53	1,553; 8,91 (18 mL)	0,976; 6,53	 (4g)	822; 65

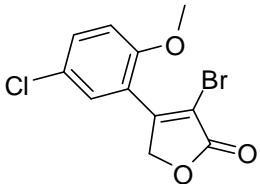
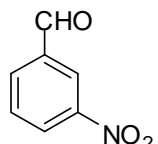
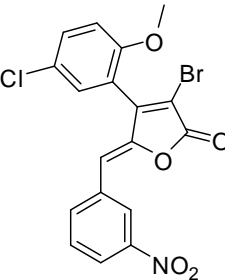
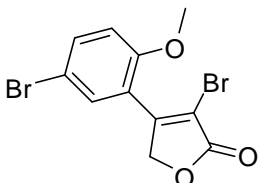
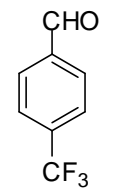
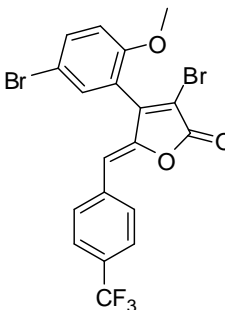
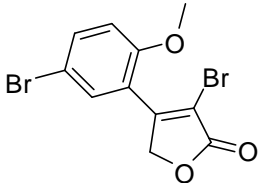
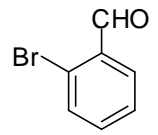
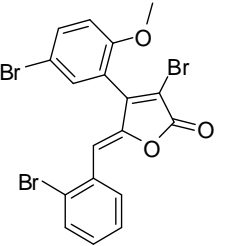
Continua...

Tabela 2 - Cont.

Lactona (g; mmol)	Aldeído (g; mmol)	TBDMSOTf (mL; mmol)	DIPEA (mL; mmol) (DCM anidro)	DBU (mL; mmol)	Análogo aos rubrolídeos	Rendimento (mg; %)
 (0,400; 1,32)	 (0,180; 1,45)	0,666; 2,90	0,690; 3,96 (11 mL)	0,434; 2,90	 (4h)	293; 54
 (0,400; 1,32)	 (0,219; 1,45)	0,666; 2,90	0,690; 3,96 (11 mL)	0,434; 2,90	 (4i+4i')	65; 11
 (0,350; 1,15)	 (0,221; 1,27)	0,581; 2,53	0,601; 3,45 (10 mL)	0,378; 2,53	 (4j)	200; 39

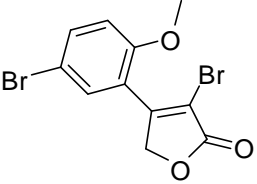
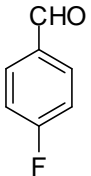
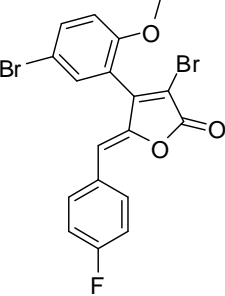
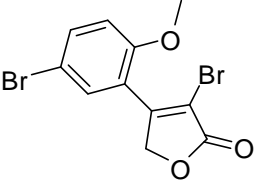
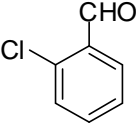
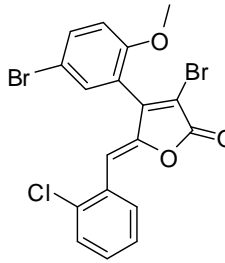
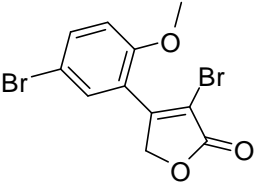
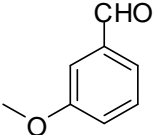
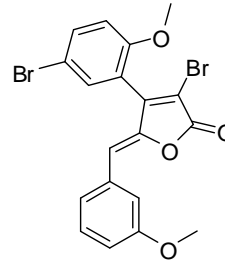
Continua...

Tabela 2 - Cont.

Lactona (g; mmol)	Aldeído (g; mmol)	TBDMSOTf (mL; mmol)	DIPEA (mL; mmol) (DCM anidro)	DBU (mL; mmol)	Análogo aos rubrolídeos	Rendimento (mg; %)
 (0,400; 1,32)	 (0,219; 1,45)	0,666; 2,90	0,690; 3,96 (11 mL)	0,434; 2,90	 (4k)	201; 35
 (0,400; 1,15)	 (0,221; 1,27)	0,581; 2,53	0,601; 3,45 (11 mL)	0,380; 2,53	 (4l)	229; 40
 (0,400; 1,15)	 (0,235; 1,27)	0,581; 2,53	0,601; 3,45 (11 mL)	0,380; 2,53	 (4m)	355; 60

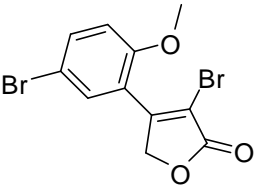
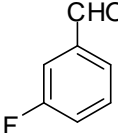
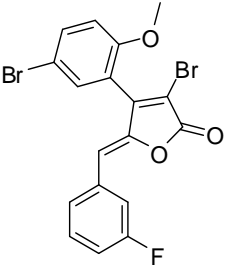
Continua...

Tabela 2 - Cont.

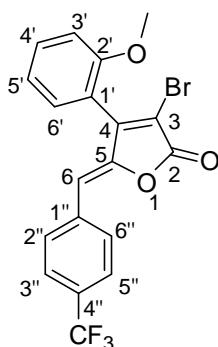
Lactona (g; mmol)	Aldeído (g; mmol)	TBDMSOTf (mL; mmol)	DIPEA (mL; mmol) (DCM anidro)	DBU (mL; mmol)	Análogo aos rubrolídeos	Rendimento (mg; %)
 (0,300; 0,86)	 (0,118; 0,95)	0,436; 1,90	0,451; 2,59 (8 mL)	0,283; 1,90	 (4n)	239; 61
 (0,250; 0,82)	 (0,127; 0,91)	0,415; 1,81	0,430; 2,47 (8 mL)	0,271; 1,81	 (4o)	193; 63
 (0,400; 1,15)	 (0,171; 1,26)	0,581; 2,53	0,601; 3,45 (11 mL)	0,387; 2,53	 (4p)	333; 62

Continua...

Tabela 2 - Cont.

Lactona (g; mmol)	Aldeído (g; mmol)	TBDMSOTf (mL; mmol)	DIPEA (mL; mmol) (DCM anidro)	DBU (mL; mmol)	Análogo aos rubrolídeos	Rendimento (mg; %)
 (0,400; 1,15)	 (0,156; 1,26)	0,581; 2,53	0,601; 3,45 (11 mL)	0,387; 2,53	 (4q)	236; 45

3.4.3.1. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5H)-ona (4a)



Característica: sólido laranja pálido

T_f: 147,6-149,3 °C.

CCD: R_f = 0,32 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3006; 1779; 1608; 1492; 1322; 1249; 1164; 1066; 1020; 975; 872; 840; 597.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,86 (s, 3H, -OCH₃); 5,94 (s, 1H, H-6); 7,09 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, $J_{3',5'} = 0,9$, H-3'); 7,12 (ddd, 1H, $J_{5',3'} = 0,9$, $J_{5',4'} = 7,5$, $J_{5',6'} = 7,5$, H-5'); 7,27 (dd, 1H, $J_{6',4'} = 1,8$, $J_{6',5'} = 7,5$, H-6'); 7,54 (ddd, 1H, $J_{4',3'} = 8,4$, $J_{4',5'} = 7,5$, $J_{4',6'} = 1,8$, H-4'); 7,61 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$, H-3'' e H-5''); 7,85 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$, H-2'' e H-6'').

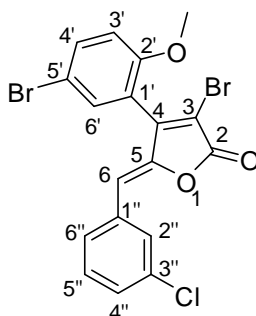
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 55,9 (-OCH₃); 111,6 (C-6); 111,9 (C-3'); 112,2 (C-3); 117,7 (C-1'); 121,0 (C-5'); 124,1 (q, $J_{C-F} = 270,6$, -CF₃); 125,9 (q, $J_{C-F} = 3,8$, C-3'' e C-5''); 130,5 (C-6'); 130,5 (q, $J_{C-F} = 32,2$, C-4''); 130,9 (C-2'' e C-6''); 132,4 (C-4'); 136,3 (C-1''); 149,3 (C-5); 152,5 (C-4)*; 156,8 (C-2)*; 165,0 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 426 ([M+2]⁺, 68); 424 ([M]⁺, C₁₉H₁₂BrF₃O₃, 66); 345 (41); 317 (33); 167 (22); 163 (37); 159 (31); 158 (43); 135 (18); 131 (81); 119 (54); 115 (45); 103 (30); 102 (25); 101 (17); 91 (27); 89 (53); 77 (100); 63 (24); 62 (24); 39 (35).

IES-EM C₁₉H₁₂BrF₃NaO₃ [M+Na]⁺: 446,9814, encontrado: 446,9816.

3.4.3.2. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-clorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (4b)



Característica: sólido verde pálido (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 149,5-150,6 °C.

CCD: R_f = 0,31 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max 3057; 2963; 2937; 1764; 1600; 1488; 1459; 1260; 1226; 1119; 1019; 984; 960; 883; 780; 679.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (s, 3H, -OCH₃); 5,84 (s, 1H, H-6); 6,95 (d, 1H, J_{3',4'} = 9,0, H-3'); 7,30-7,32 (m, 2H, H-4'' e H-5''); 7,37 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 7,63 (dd, 1H, J_{4',3'} = 9,0, J_{4',6'} = 2,4, H-4'); 7,66-7,67 (m, 1H, H-6''); 7,72-7,71 (m, 1H, H-2'').

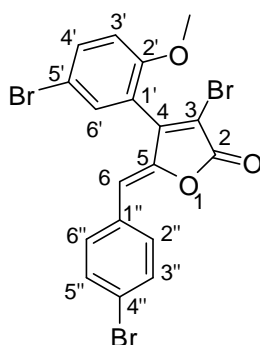
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 112,2 (C-6); 112,3 (C-3); 113,0 (C-5'); 113,6 (C-3'); 119,6 (C-1'); 129,0 (C-6''), 129,7 (C-5'')*; 130,3 (C-4'')*; 130,6 (C-2''); 132,8 (C-6'); 134,4 (C-1'')**, 134,9 (C-4'); 135,0 (C-3'')**, 148,2 (C-5); 151,0 (C-4); 156,0 (C-2'), 164,8 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas. ** As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 474 ([M+6]⁺, 1); 472 ([M+4]⁺, 7); 470 ([M+2]⁺, 11); 468 ([M]⁺, C₁₈H₁₁Br₂ClO₃, 4); 310 (16); 211 (11); 209 (14); 176 (12); 152 (18); 130 (25); 124 (21); 118 (28); 102 (61); 89 (100); 88 (26); 87 (47); 75 (21); 63 (35); 39 (28); 36 (15).

IES-EM C₁₈H₁₂Br₂ClO₃ [M+H]⁺: 468,8836, encontrado: 468,8686.

3.4.3.3. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-bromobenzilideno)furan-2(5H)-ona (4c)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 157,5-158,6 °C.

CCD: R_f = 0,32 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3022; 2941; 2843; 1773; 1644; 1575; 1481; 1403; 1266; 1250; 1178; 1121; 1008; 978; 874; 836; 800; 693; 750; 622.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,83 (s, 3H, -OCH₃); 5,85 (s, 1H, H-6); 6,96 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,37 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6'); 7,50 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$, H-3'' e H-5''); 7,62 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$, H-2'' e H-6''); 7,63 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4').

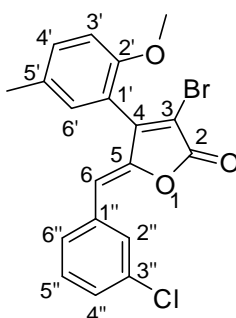
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 111,9 (C-3); 112,6 (C-6); 112,9 (C-5'); 113,6 (C-3'); 119,7 (C-1')*; 124,2 (C-4''); 131,7 (C-1''); 132,3 (C-2'', C-3'', C-5'' e C-6''); 132,8 (C-6'); 134,9 (C-4'); 147,9 (C-5); 150,9 (C-4); 156,0 (C-2''); 164,9 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 518 (M+6]⁺, 4); 516 ([M+4]⁺, 11); 514 ([M+2]⁺, 12); 512 ([M]⁺, C₁₈H₁₁Br₃O₃, 4); 197 (11); 196 (15); 168 (12); 130 (13); 118 (13); 102 (30); 89 (100); 87 (26); 63 (32); 39 (22).

IES-EM C₁₈H₁₂Br₃O₃ [M+H]⁺: 512,8331, encontrado: 512,8810.

3.4.3.4. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-5-(3-clorobenzilideno)-4-(5-metil-2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (4d)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 138,2-139,6 °C.

CCD: R_f = 0,25 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3008; 2929; 1769; 1644; 1497; 1457; 1248; 1230; 986; 928; 882; 810; 780; 697; 679.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 2,37 (s, 3H, Ar-CH₃); 3,81 (s, 3H, -OCH₃); 5,87 (s, 1H, H-6); 6,95 (d, 1H, J_{3',4'} = 8,4, H-3'); 7,04 (d compl, 1H, J_{6',4'} = 1,8, H-6'); 7,28-7,31 (m, 2H, H-4'' e H-5''), 7,30-7,33 (m, 1H, H-4'); 7,63-7,67 (m, 1H, H-6''); 7,71 (m, 1H, H-2'').

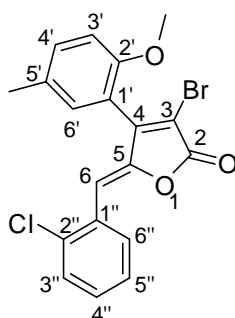
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,7 (Ar-CH₃); 55,9 (-OCH₃); 111,5 (C-3); 111,8 (C-3'); 112,1 (C-6); 117,4 (C-1'); 128,9 (C-6''); 129,4 (C-4'')*; 130,2 (C-5'')*; 130,3 (C-5'); 130,5 (C-2''); 130,7 (C-6'); 132,7 (C-4'); 134,7 (C-1''); 135,0 (C-3''); 148,7 (C-5); 152,7 (C-4); 154,6 (C-2'); 165,3 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 408 ([M+4]⁺, 20); 406 ([M+2]⁺, 76); 404 ([M]⁺, C₁₉H₁₄BrClO₃, 58); 325 (26); 297 (29); 279 (17); 219 (21); 177 (67); 165 (17); 149 (42); 145 (76); 133 (64); 129 (29); 116 (35); 115 (75); 105 (31); 102 (86); 111 (49); 91 (48); 89 (100); 63 (43); 51 (23).

IES-EM C₁₉H₁₅BrClO₃ [M+H]⁺: 404,9888, encontrado: 404,9779.

3.4.3.5. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-5-(2-clorobenzilideno)-4-(5-metil-2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (4e)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 121,3-122,6 °C.

CCD: R_f = 0,27 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3063; 2998; 2964; 2832; 1766; 1613; 1584; 1499; 1436; 1250; 1109; 996; 979; 814; 737.

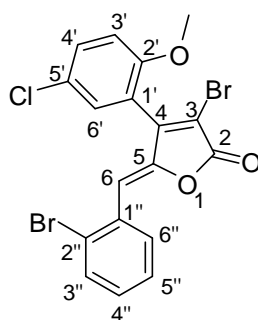
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 2,37 (s, 3H, Ar-CH₃); 3,83 (s, 3H, -OCH₃); 6,49 (s, 1H, H-6); 6,97 (d, 1H, J_{3',4'} = 8,4, H-3'); 7,11 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 7,25 (ddd, 1H, J_{5'',3''} = 1,8, J_{5'',4''} = 7,5, J_{5'',6''} = 7,8, H-5''); 7,32 (ddd, 1H, J_{4'',3''} = 7,8, J_{4'',5''} = 7,5, J_{4'',6''} = 1,8, H-4''); 7,32 (dd, 1H, J_{4',3'} = 8,4, J_{4',6'} = 2,4, H-4'); 7,37 (dd, 1H, J_{3'',4''} = 7,8, J_{3'',5''} = 1,8, H-3''); 8,24 (dd, 1H, J_{6'',4''} = 1,8, J_{6'',5''} = 7,8, H-6'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,7 (Ar-CH₃); 55,9 (-OCH₃); 109,2 (C-6); 111,3 (C-3); 111,8 (C-3'); 117,4 (C-1'); 127,5 (C-4''); 129,9 (C-3''); 130,3 (C-5'); 130,4 (C-5''); 130,9 (C-1''); 131,0 (C-6'); 132,1 (C-6''); 132,8 (C-4'); 134,9 (C-2''); 148,7 (C-5); 153,0 (C-4); 154,7 (C-2'); 165,5 (C-2).

EM, m/z (%) 408 ([M+4]⁺, 26); 406 ([M+2]⁺, 100); 404 ([M]⁺, C₁₉H₁₄BrClO₃, 77); 325 (31); 297 (30); 279 (15); 253 (20); 251 (19); 189 (17); 177 (48); 173 (16); 149 (35); 145 (61); 133 (39); 129 (23); 116 (26); 115 (54); 102 (65); 95 (40); 89 (73); 63 (27).

IES-EM C₁₉H₁₅BrClO₃ [M+H]⁺: 404,9888, encontrado: 404,9878.

3.4.3.6. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-5-(2-bromobenzilideno)4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (4f)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 154,3-155,7 °C.

CCD: R_f = 0,25 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3097; 3061; 3010; 2968; 2845; 1768; 1645; 1487; 1462; 1249; 1184; 1025; 981; 825; 751; 671.

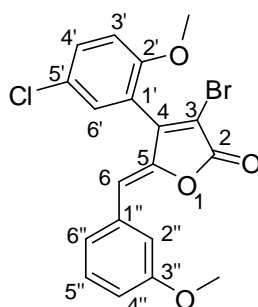
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,87 (s, 3H, -OCH₃); 6,44 (s, 1H, H-6); 7,02 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,18 (ddd, 1H, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,8$, $J_{4'',6''} = 1,8$, H-4''); 7,32 (dd, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,37 (ddd compl, 1H, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8$, $J_{5'',3''} = 1,2$, H-5''); 7,49 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,58 (dd, 1H, $J_{3'',4''} = 7,8$, $J_{3'',5''} = 1,2$, H-3''); 8,20 (dd, 1H, $J_{6'',5''} = 7,8$, $J_{6'',4''} = 1,8$, H-6'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 112,0 (C-3); 112,1 (C-6); 113,1 (C-3'); 119,1 (C-1'); 125,8 (C-2''); 126,0 (C-5'); 128,1 (C-5''); 130,3 (C-6'); 130,8 (C-4''); 132,0 (C-4'); 132,3 (C-6''); 132,3 (C-1''); 133,3 (C-3''); 148,1 (C-5); 151,3 (C-4); 155,4 (C-2'); 165,1 (C-2).

EM, m/z (%) 474 ([M+6]⁺, 8); 472 ([M+4]⁺, 38); 470 ([M+2]⁺, 48); 468 ([M]⁺, C₁₈H₁₁Br₂ClO₃, 23); 391 (20); 273 (19); 198 (16); 197 (18); 196 (21); 176 (17); 169 (17); 165 (27); 102 (32); 101(29); 94 (18); 89 (100); 88 (24); 87 (25); 63 (28).

IES-EM C₁₈H₁₂Br₂ClO₃ [M+H]⁺: 468,8836, encontrado: 468,8822.

3.4.3.7. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(3-metoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (4g)



Característica: sólido verde claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:2 v/v).

T_f: 137,8-139,4 °C.

CCD: R_f = 0,44 (hexano:diclorometano, 1:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3049; 3009; 2831; 1767; 1756; 1640; 1598; 1487; 1459; 1250; 1161; 1123; 989; 869; 822; 789; 686; 641.

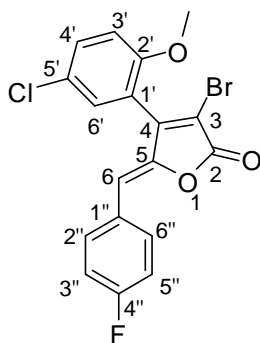
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (s, 6H, 2 x -OCH₃); 5,90 (s, 1H, H-6); 6,89-6,93 (m, 1H, H-4''); 7,01 (d, 1H, J_{3',4'} = 9,0, H-3'); 7,25 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 7,26-7,35 (m, 3H, H-2'', H-5'' e H-6''); 7,48 (dd, J_{4',3'} = 9,0, J_{4',6'} = 2,7, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 55,6 (-OCH₃); 56,6 (-OCH₃); 111,6 (C-3); 113,2 (C-3'); 113,9 (C-6); 115,6 (C-2''); 116,1 (C-4''); 119,4 (C-1'); 123,8 (C-6''); 125,9 (C-5'); 130,0 (C-5''); 130,1 (C-6'); 131,8 (C-4'); 133,9 (C-1''); 147,6 (C-5)*; 151,1 (C-4); 155,5 (C-2'); 160,0 (C-3''); 165,1 (C-2).

EM, m/z (%) 424 ([M+4]⁺, 26); 422 ([M+2]⁺, 100); 420 ([M]⁺, C₁₉H₁₄BrClO₄, 75); 341 (24); 278 (38); 250 (14); 225 (22); 223 (23); 189 (16); 165 (22); 161 (29); 149 (24); 148 (67); 121 (26); 102 (26); 101 (24); 91 (58); 89 (25); 77 (34); 51 (41).

IES-EM C₁₉H₁₄BrClNaO₄ [M+Na]⁺: 442,9656, encontrado: 442,9661.

3.4.3.8. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-fluorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (4h)



Característica: sólido alaranjado (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 123,1-124,6 °C.

CCD: R_f = 0,29 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3068; 2941; 2848; 1766; 1599; 1508; 1486; 1234; 1160; 984; 855; 643; 526.

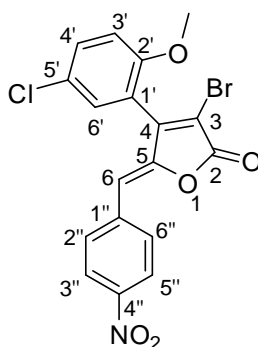
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (s, 3H, -OCH₃); 5,89 (s, 1H, H-6); 7,01 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,07 (dd, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 9,0$, $J_{3'',F} = J_{5'',F} = 8,4$, H-3'' e H-5''); 7,23 (d, 1H, $J_{4',6'} = 2,7$, H-6'); 7,48 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,76 (dd, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 9,0$, $J_{2'',F} = J_{6'',F} = 5,4$, H-2'' e H-6'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 111,4 (C-3); 112,7 (C-6); 113,2 (C-3'); 116,3 (d, $J_{C-F} = 21,7$, C-3'' e C-5''); 119,3 (C-1'); 125,9 (C-5'); 129,0 (d, $J_{C-F} = 3,5$, C-1''); 130,0 (C-6'); 131,9 (C-4'); 133,1 (d, $J_{C-F} = 8,3$, C-2'' e C-6''); 147,1 (C-5); 151,1 (C-2'); 155,5 (C-4); 163,4 (d, $J_{C-F} = 250,7$, C-4''); 165,1 (C-2).

EM, m/z (%) 412 ([M+4]⁺, 8); 410 ([M+2]⁺, 31); 408 ([M]⁺, C₁₈H₁₁BrClFO₃, 22); 329 (9); 165 (20); 136 (43); 133 (11); 122 (10); 109 (24); 108 (100); 107 (59); 102 (30); 101 (28); 99 (11); 97 (12); 87 (24).

IES-EM C₁₈H₁₂BrClFO₃ [M+H]⁺: 408,9637, encontrado: 408,9641.

3.4.3.9. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5H)-ona (4i)



Característica (mistura de isômeros): sólido amarelo (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:2 v/v).

CCD (mistura de isômeros): $R_f = 0,49$ (hexano:diclorometano, 1:2 v/v).

IV (mistura de isômeros) (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2953; 2929; 1761; 1517; 1484; 1344; 1265; 1007; 832; 812; 753; 643.

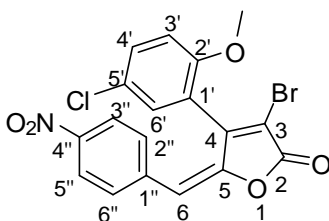
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 3,85 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 5,96 (s, 1H, H-6); 7,03 (s, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 7,25 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,51 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,90 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7$, H-2'' e H-6''); 8,22 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,7$, H-3'' e H-5'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 56,3 ($-\text{OCH}_3$); 110,6 (C-6); 113,3 (C-3'); 113,7 (C-3); 118,7 (C-1'); 124,2 (C-3'' e C-5''); 126,1 (C-5'); 129,9 (C-6'); 131,4 (C-2'' e C-6''); 132,2 (C-4'); 139,0 (C-1''); 147,6 (C-4''); 149,9 (C-5); 150,9 (C-4); 155,5 (C-2'); 164,4 (C-2).

EM (mistura de isômeros), m/z (%) 439 ($[\text{M}+4]^+$, 24); 437 ($[\text{M}+2]^+$, 100); 435 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{BrClNO}_5$, 70); 356 (60); 239 (24); 218 (24); 203 (24); 197 (27); 176 (35); 165 (83); 153 (38); 102 (78); 101 (77); 89 (81); 87 (47); 77 (27); 63 (80).

IES-EM $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{BrClNO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 435,9582, encontrado: 435,9580.

3.4.3.10. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C ao composto (*E*)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (4i')

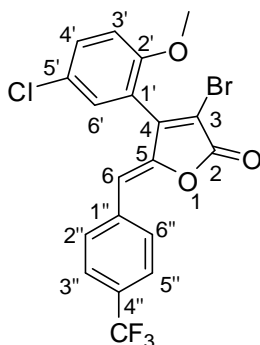


RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 3,53 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 6,51 (s, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 6,92 (s, 1H, H-6); 6,95 (s, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,05-7,07 (m, 2H, H-3'' e H-5''); 7,20 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,84 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7$, H-2'' e H-6'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 55,9 ($-\text{OCH}_3$); 112,2 (C-3'); 114,4 (C-6'); 118,0 (C-3); 120,3 (C-1'); 122,7 (C-2'' e C-6''); 125,9 (C-5'); 129,7 (C-6); 130,1 (C-3'' e C-5''); 131,6 (C-4'); 138,8 (C-1''); 147,2 (C-4''); 149,3 (C-5); 150,9 (C-4); 154,7 (C-2'); 163,9 (C-2).

IES-EM $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{BrClINO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 435,9582, encontrado: 435,9582.

3.4.3.11. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5H)-ona (4j)



Característica: sólido rosa claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 173,0-174,9 °C.

CCD: R_f = 0,26 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3068; 2941; 2848; 1777; 1616; 1486; 1322; 1253; 1124; 1068; 1017; 980; 871; 813; 643; 601.

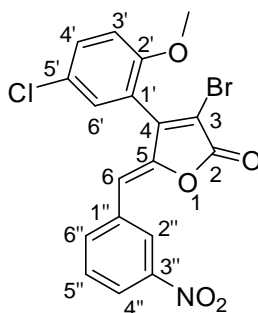
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 3,85 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 5,94 (s, 1H, H-6); 7,02 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,26 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,50 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,63 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$, H-3'' e H-5''); 7,86 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$, H-2'' e H-6'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 56,3 ($-\text{OCH}_3$); 111,8 (C-6); 112,8 (C-3); 113,2 (C-3'); 119,0 (C-1'); 124,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 272,7$, $-\text{CF}_3$); 125,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,4$, C-3'' e C-5''); 126,0 (C-5'); 130,0 (C-6'); 130,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,2$, C-4''); 131,0 (C-2'' e C-6''); 132,1 (C-4'); 136,1 (C-1''); 148,9 (C-5); 151,0 (C-4); 155,5 (C-2'); 164,7 (C-2).

EM, m/z (%) 462 ($[M+4]^+$, 19); 460 ($[M+2]^+$, 77); 458 ($[M]^+$, $C_{19}H_{11}BrClF_3O_3$, 55); 379 (30); 351 (18); 316 (19); 203 (26); 201 (21); 199 (20); 186 (28); 167 (47); 165 (84); 159 (24); 158 (100); 153 (36); 122 (40); 102 (87); 101 (83); 89 (54); 87 (61); 75 (42); 63 (57); 51 (30).

IES-EM $C_{19}H_{12}BrClF_3O_3$ $[M+H]^+$: 458,9605, encontrado: 458,9604.

3.4.3.12. Dados referentes ao composto (**Z**)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(3-nitrobenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (**4k**)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:2 v/v).

T_f: 195,2-196,3 °C.

CCD: $R_f = 0,37$ (hexano:diclorometano, 1:2 v/v).

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$ 3084; 2943; 2850; 1774; 1528; 1486; 1350; 1254; 1125; 980; 812; 735; 673.

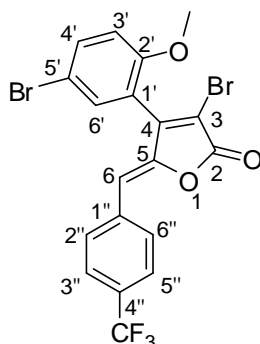
RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3,85 (s, 3H, $-OCH_3$); 5,96 (s, 1H, H-6); 7,03 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,25 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,51 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,59 (dd, 1H, $J_{5',4''} = 8,1$, $J_{5',6''} = 8,1$, H-5''); 8,20 (m, 2H, H-4'' e H-6''); 8,42 (m, 1H, H-2'').

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 56,3 ($-OCH_3$); 110,7 (C-6); 113,2 (C-3); 113,3 (C-3'); 118,8 (C-1'); 123,9 (C-6''); 125,4 (C-2''); 126,1 (C-5'); 130,0 (C-6'); 130,2 (C-5''); 132,2 (C-4'); 134,4 (C-1''); 136,1 (C-4''); 148,7 (C-5)**; 149,2 (C-3''); 150,9 (C-4); 155,5 (C-2'); 164,4 (C-2).

EM, m/z (%) 439 ($[M+4]^+$, 9); 437 ($[M+2]^+$, 33); 435 ($[M]^+$, $C_{18}H_{11}BrClNO_5$, 27); 356 (12); 218 (14); 203 (16); 176 (21); 165 (49); 153 (18); 150 (23); 102 (56); 101 (54); 89 (97); 88 (31); 87 (41); 75 (29); 63 (100); 62 (24); 51 (32); 39 (68).

IES-EM $C_{18}H_{12}BrClNO_5$ $[M+H]^+$: 435,9582, encontrado: 435,9585.

3.4.3.13. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5H)-ona (4l)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 178,9-179,5 °C.

CCD: R_f = 0,30 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3043; 3016; 2946; 2846; 1780; 1487; 1321; 1281; 1253; 1164; 1106; 1065; 1016; 977; 960; 869; 810.

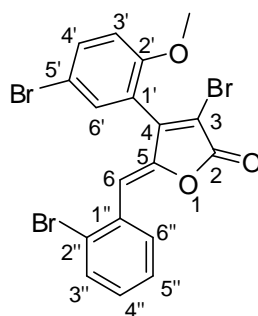
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (s, 3H, -OCH₃); 5,93 (s, 1H, H-6); 6,98 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,39 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6'); 7,63 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$, H-3'' e H-5''); 7,64 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4'); 7,86 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$, H-2'' e H-6'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 111,8 (C-6); 112,9 (C-3); 113,0 (C-5'); 113,7 (C-3'); 119,5 (C-1'); 124,5 (q, $J_{C-F} = 270,5$, -CF₃); 126,0 (q, $J_{C-F} = 3,7$, C-3'' e C-5''); 131,0 ($J_{C-F} = 32,4$, C-4''); 131,0 (C-2'' e C-6''); 132,8 (C-6'); 135,0 (C-4'); 136,0 (C-1''); 148,9 (C-5); 150,9 (C-4); 156,0 (C-2'); 164,7 (C-2).

EM, m/z (%) 506 ([M+4]⁺, 30); 504 ([M+2]⁺, 100); 502 ([M]⁺, C₁₉H₁₁Br₂F₃O₃, 50); 425 (21); 423 (24); 344 (79); 316 (36); 288 (29); 243 (26); 211 (31); 209 (33); 158 (72); 130 (48); 118 (62); 102 (96); 87 (42).

IES-EM C₁₉H₁₂Br₂F₃O₃ [M+H]⁺: 502,9100, encontrado: 502,9102.

3.4.3.14. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(2-bromobenzilideno)furan-2(5H)-ona (4m)



Característica: sólido alaranjado (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 149,8-152,7 °C.

CCD: R_f = 0,29 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3066; 2957; 2926; 2842; 1769; 1603; 1485; 1463; 1280; 1257; 1021; 981; 822; 750; 723; 668.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,86 (s, 3H, -OCH₃); 6,44 (s, 1H, H-6); 6,97 (d, 1H, J_{3',4'} = 9,0, H-3'); 7,19 (ddd, 1H, J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 8,1, J_{4'',6''} = 1,5, H-4''); 7,34-7,40 (m, 1H, H-5''); 7,46 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 7,58 (dd, 1H, J_{3'',4''} = 8,1, J_{3'',5''} = 1,2, H-3''); 7,63 (dd, 1H, J_{4',3'} = 9,0, J_{4',6'} = 2,4, H-4'); 8,20 (dd, 1H, J_{6'',4''} = 1,5, J_{6'',5''} = 7,8, H-6'').

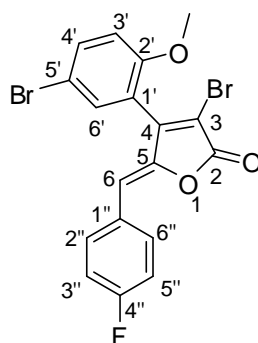
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 112,0 (C-3)*; 112,1 (C-6); 113,0 (C-5)*; 113,6 (C-3'); 119,5 (C-1'); 125,8 (C-2''); 128,1 (C-5''); 130,8 (C-4''); 132,2 (C-6''); 132,3 (C-1''); 133,1 (C-6'); 133,3 (C-3''); 135,0 (C-4'); 148,1 (C-5); 151,1 (C-4); 156,0 (C-2'); 165,1 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 518 ([M+6]⁺, 9); 516 ([M+4]⁺, 30); 514 ([M+2]⁺, 30); 512 ([M]⁺, C₁₈H₁₁Br₃O₃, 10); 435 (14); 433 (14); 356 (19); 354 (20); 247 (16); 176 (18); 130 (19); 102 (44); 89 (100); 63 (32).

IES-EM C₁₈H₁₂Br₃O₃ [M+H]⁺: 512,8331, encontrado: 512,8328.

3.4.3.15. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-fluorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (4n)



Característica: sólido amarelo (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2 v/v).

T_f: 117,1-118,0 °C.

CCD: R_f = 0,34 (hexano:diclorometano, 3:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 2922; 2849; 1766; 1598; 1505; 1484; 1253; 1230; 1159; 986; 851; 828; 805; 620.

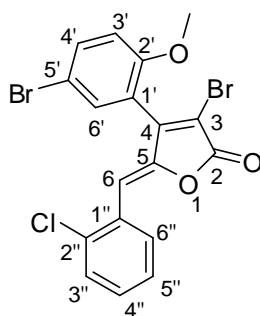
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (s, 3H, -OCH₃); 5,89 (s, 1H, H-6); 6,90 (d, 1H, J_{3',4'} = 9,0, H-3'); 7,07 (dd, 2H, J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,7, J_{3'',F} = J_{5'',F} = 8,7, H-3'' e H-5''); 7,37 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 6,63 (dd, 1H, J_{4',3'} = 9,0, J_{4',6'} = 2,4, H-4'); 7,86 (dd, 1H, J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7, J_{2'',F} = J_{6'',F} = 5,7, H-2'' e H-6'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 111,4 (C-3); 112,7 (C-6); 112,9 (C-5'); 113,6 (C-3'); 116,3 (d, J_{C-F} = 21,7, C-3'' e C-5''); 119,8 (C-1'); 129,0 (d, J_{C-F} = 3,4, C-1''); 132,8 (C-6'); 133,0 (d, J_{C-F} = 8,3, C-2'' e C-6''); 134,8 (C-4'); 147,1 (C-5); 151,0 (C-4); 156,0 (C-2'); 163,4 (d, J_{C,F} = 251,3, C-4''); 165,1 (C-2).

EM, m/z (%) 456 ([M+4]⁺, 40); 454 ([M+2]⁺, 84); 452 ([M]⁺, C₁₈H₁₁Br₂FO₃, 40); 294 (51); 266 (28); 238 (21); 237 (28); 211 (36); 209 (27); 207 (14); 136 (51); 118 (31); 109 (29); 108 (100); 107 (48); 102 (50); 87 (28).

IES-EM C₁₈H₁₂Br₂FO₃ [M+H]⁺: 452,9132, encontrado: 452,9126.

3.4.3.16. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(2-clorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (4o)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:1,8 v/v).

T_f: 132,2-133,3 °C.

CCD: R_f = 0,30 (hexano:diclorometano, 3:1,8 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3056; 2962; 2968; 2929; 2846; 1768; 1644; 1613; 1461; 1249; 1115; 980; 870; 821; 751; 723.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,85 (s, 3H, -OCH₃); 6,45 (s, 1H, H-6); 6,97 (d, 1H, J_{3',4'} = 9,0, H-3'); 7,27-7,40 (m, 3H, H-3'', H-4'' e H-5''); 7,44 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 7,63 (dd, 1H, J_{4',3'} = 9,0, J_{4',6'} = 2,4, H-4'); 8,22 (dd, 1H, J_{6'',5''} = 7,5, J_{6'',4''} = 2,1, H-6'').

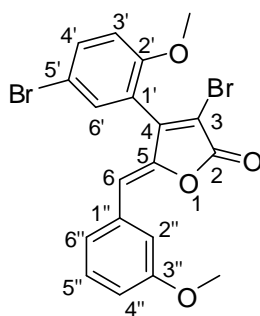
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,1 (-OCH₃); 109,3 (C-6); 112,1 (C-3); 113,0 (C-5'); 113,6 (C-3'); 119,6 (C-1'); 127,5 (C-5'')*; 130,0 (C-4'')*; 130,6 (C-3'')*; 130,7 (C-1''); 132,1 (C-6''); 133,1 (C-6'); 134,9 (C-2''); 135,0 (C-4'); 148,2 (C-5); 151,2 (C-4); 156,0 (C-2'); 165,0 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 474 ([M+6]⁺, 9); 472 ([M+4]⁺, 43); 470 ([M+2]⁺, 62); 468 ([M]⁺, C₁₈H₁₁Br₂ClO₃, 26); 391 (21); 389 (15); 310 (37); 247 (20); 211 (18); 209 (18); 152 (30); 125 (23); 124 (40); 102 (64); 89 (100); 87 (38).

IES-EM C₁₈H₁₂Br₂ClO₃ [M+H]⁺: 468,8836, encontrado: 468,8827.

3.4.3.17. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-metoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (4p)



Característica: sólido marrom claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:1,5 v/v).

T_f: 146,5-147,2 °C.

CCD: R_f = 0,33 (hexano:diclorometano, 1:1,5 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3051; 3004; 2938; 2837; 1766; 1646; 1574; 1483; 1253; 1120; 984; 872.

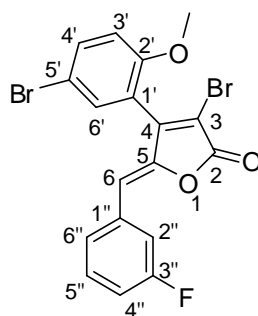
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (s, 6H, 2 x -OCH₃); 5,89 (s, 1H, H-6); 6,89-6,93 (m, 1H, H-4''); 6,96 (d, 1H, J_{3',4'} = 8,7, H-3'); 7,29-7,35 (m, 3H, H-2'', H-5'' e H-6''); 7,38 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 7,62 (dd, 1H, J_{4',3'} = 8,7, J_{4',6'} = 2,4, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 55,6 (-OCH₃); 56,2 (-OCH₃); 111,6 (C-3); 112,9 (C-5'); 113,6 (C-3'); 113,9 (C-6); 115,6 (C-2''); 116,1 (C-4''); 119,9 (C-1'); 123,8 (C-6''); 130,0 (C-5''); 132,8 (C-6'); 133,9 (C-1''); 134,8 (C-4'); 147,6 (C-5); 151,0 (C-4); 156,0 (C-2''); 160,0 (C-3''); 165,1 (C-2).

EM, m/z (%) 468 ([M+4]⁺, 48); 466 ([M+2]⁺, 100); 464 ([M]⁺, C₁₉H₁₄Br₂O₄, 47); 306 (26); 278 (40); 250 (16); 235 (16); 225 (18); 223 (18); 161 (21); 148 (50); 120 (14); 118 (18); 102 (36); 91 (62); 89 (26); 87 (19); 77 (39); 51 (40).

IES-EM C₁₉H₁₅Br₂O₄ [M+H]⁺: 464,9332, encontrado: 464,9327.

3.4.3.18. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-fluorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (4q)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 3:2,7 v/v).

T_f: 147,2-148,3 °C.

CCD: R_f = 0,33 (hexano:diclorometano, 3:2,7 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3064; 2937; 2845; 1766; 1578; 1482; 1440; 1280; 1248; 1119; 1021; 974; 880; 776; 662.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (s, 3H, -OCH₃); 5,88 (s, 1H, H-6); 6,96 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,01-7,08 (m, 1H, H-4''); 7,32-7,35 (m, 1H, H-5''); 7,37 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6'); 7,46-7,49 (m, 1H, H-6''); 7,50-7,55 (m, 1H, H-2''); 7,62 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 2,4$, $J_{4',6'} = 9,0$, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 56,2 (-OCH₃); 112,3 (C-3); 112,4 (d, $J_{C,F} = 2,9$, C-6); 112,9 (C-5'); 113,7 (C-3'); 116,7 (d, $J_{C,F} = 21,3$, C-4''); 117,3 (d, $J_{C,F} = 22,7$, C-2''); 119,6 (C-1'); 126,8 (d, $J_{C,F} = 2,8$, C-6''); 130,5 (d, $J_{C,F} = 8,3$, C-5''); 132,8 (C-6'); 134,7 (d, $J_{C,F} = 8,4$, C-1''); 134,9 (C-4'); 148,2 (C-5); 150,9 (C-4); 156,0 (C-2'); 163,1 (d, $J_{C,F} = 244,7$, C-3''); 164,8 (C-2).

EM, m/z (%) 456 ([M+4]⁺, 45); 454 ([M+2]⁺, 94); 452 ([M]⁺, C₁₈H₁₁Br₂O₃, 44); 375 (22); 373 (22); 294 (62); 266 (40); 249 (22); 238 (30); 237 (36); 211 (36); 209 (41); 207 (21); 194 (23); 168 (17); 136 (41); 130 (37); 118 (100); 107 (69); 102 (81); 97 (26); 87 (49).

IES-EM C₁₈H₁₂Br₂FO₃ [M+H]⁺: 452,9132, encontrado: 452,9136.

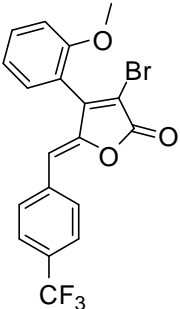
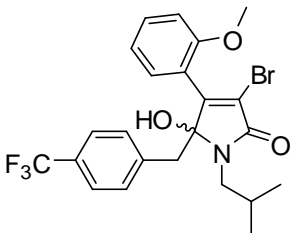
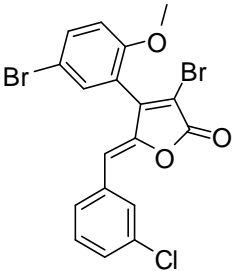
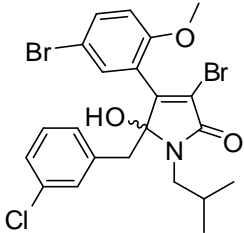
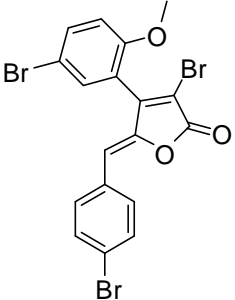
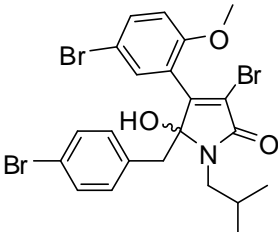
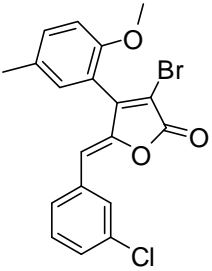
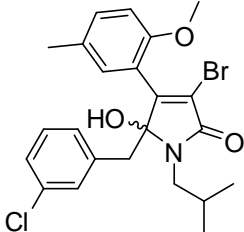
3.4.4. Síntese da 3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5*H*)-ona (5a)

Em um balão de fundo redondo (25 mL) a (*Z*)-3-bromo-4-(2-metoxifenil)-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (**4a**) (0,650 g; 1,53 mmol) foi solubilizada em diclorometano (8 mL) e a solução foi resfriada a 0 °C. A seguir a isobutilamina (0,560 g; 7,65 mmol) solubilizada em diclorometano (8 mL) foi adicionada gota à gota ao sistema. A mistura reacional foi mantida a 0 °C por 3h.

À mistura reacional adicionou-se 100 mL de DCM. A seguir a mesma foi lavada com HCl 2 mol/L (2 x 55 mL), seguida de solução saturada de NaHCO₃ (2 x 55 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 55 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida para obtenção do material bruto da reação, que foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se a mistura de solvente hexano:DCM (1:7 v/v) para obtenção da 3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5*H*)-ona (**5a**) em 85% de rendimento (646 mg; 1,30 mmol).

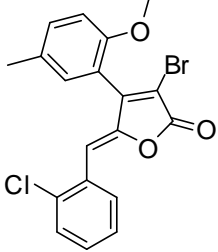
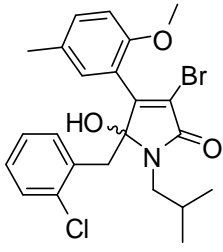
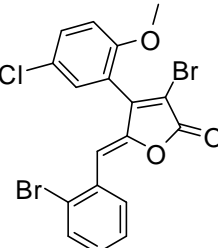
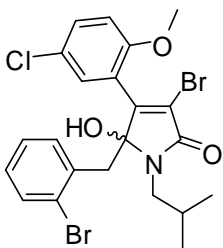
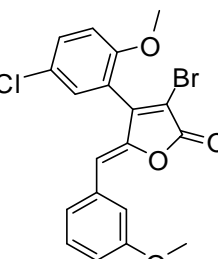
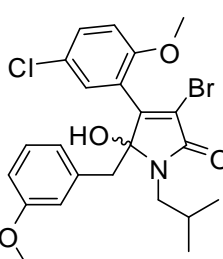
Os compostos **5b-5g** foram preparados utilizando-se procedimento experimental similar ao descrito para a síntese do composto **5a**. A Tabela 3 apresenta as quantidades de reagentes e solventes utilizadas nessas reações.

Tabela 3 - Dados referentes ao preparo das γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas **5a-5g**

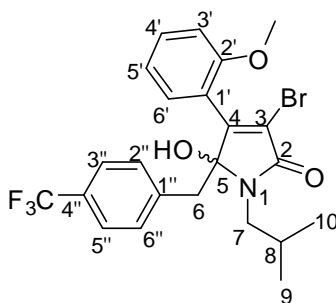
Análogo aos rubrolídeos (g; mmol)/ DCM	Isobutilamina (g; mmol) (DCM)	γ -hidroxipirrol-2(5H)- ona	Rendimento (mg; %)
 (0,650; 1,53)/ 8 mL	0,560; 7,65 (8 mL)	 (5a)	646; 85
 (0,330; 0,701)/ 4 mL	0,256; 3,50 (4 mL)	 (5b)	299; 78
 (0,380; 0,738)/ 4 mL	0,270; 3,69 (4 mL)	 (5c)	369; 85
 (0,550; 1,36)/ 7 mL	0,498; 6,80 (7 mL)	 (5d)	549; 84

Continua...

Tabela 3 - Cont.

Análogo aos rubrolídeos (g; mmol)/ DCM	Isobutilamina (g; mmol) (DCM)	γ -hidroxipirrol- 2(5 <i>H</i>)-ona	Rendimento (mg; %)
 (0,540; 1,33)/ 7 mL	0,486; 6,65 (7 mL)	 (5e)	536; 84
 (0,615; 1,31)/ 7 mL	0,478; 6,54 (7 mL)	 (5f)	544; 76
 (0,630; 1,49)/ 8 mL	0,545; 7,45 (8 mL)	 (5g)	559; 76

3.4.4.1. Dados referentes ao composto 3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (5a)



Característica: sólido branco

T_f: 160,4-161,2 °C.

CCD: R_f = 0,20 (hexano:diclorometano, 1:5 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3450-3180; 2963; 2873; 1695; 1682; 1492; 1418; 1324; 1250; 1158; 1115; 1067; 1019; 927; 862; 753; 642; 618; 500.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,96 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,6$, H-9); 0,98 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,6$, H-10); 2,25-2,39 (m, 1H, H-8); 3,12 (d, 1H, $J_{6a,6b} = 14,4$, H-6a); 3,13 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 13,8$, $J_{7a,8} = 7,8$, H-7a); 3,20 (d, 1H, $J_{6b,6a} = 14,4$, H-6b); 3,53 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 13,8$, $J_{7b,8} = 8,1$, H-7b); 3,76 (s, 3H, -OCH₃); 5,13 (s, 1H, -OH); 6,83 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, $J_{3',5'} = 0,9$, H-3'); 6,98 (ddd, 1H, $J_{5',3'} = 0,9$, $J_{5',4'} = 7,5$, $J_{5',6'} = 7,5$, H-5'); 7,05 (dd, 1H, $J_{6',4'} = 1,8$, $J_{6',5'} = 7,5$, H-6'); 7,07 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,1$, H-2'' e H-6''); 7,34 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,1$, H-3'' e H-5''); 7,36-7,31 (m, 1H, H-4').

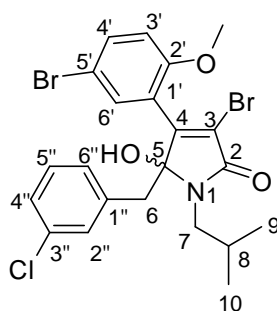
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,7 (C-9); 20,9 (C-10); 27,9 (C-8); 42,9 (C-6); 48,3 (C-7); 56,2 (-OCH₃); 93,3 (C-5); 111,7 (C-3'); 120,7 (C-3)**; 121,7 (C-5'); 122,1 (C-1')**; 124,3 (q, $J_{C-F} = 270,5$, -CF₃); 124,9 (q, $J_{C-F} = 3,7$, C-3'' e C-5''); 129,2 (q, $J_{C-F} = 32,3$, C4''); 130,4 (C-2'' e C-6''); 131,4 (C-6'); 131,5 (C-4'); 138,5 (C-1''); 153,3 (C-2')*; 155,8 (C-4)*; 164,0 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas. ** As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 481 (7); 479 (6); 356 (9); 341 (17); 340 (100); 339 (19); 338 (99); 284 (25); 282 (25); 241 (11); 239 (11); 159 (43); 132 (13); 131 (26); 115 (14); 109 (12); 89 (11); 77 (19); 57 (23); 55 (12); 43 (21); 41 (61); 39 (18); 30 (17).

IES-EM C₂₃H₂₃BrF₃NNaO₃ [M+Na]⁺: 520,0706, encontrado: 520,0705.

3.4.4.2. Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-clorobenzil)-5-hidroxi-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (5b)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:9 v/v).

T_f: 171,4-173,0 °C.

CCD: R_f = 0,17 (hexano:diclorometano, 1:9 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3385-3205; 3007; 2960; 2928; 2868; 2843; 1693; 1680; 1485; 1415; 1386; 1245; 1183; 1083; 1025; 780; 701; 682; 650; 621.

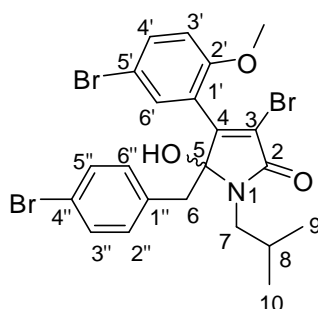
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,95 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,9$, H-9); 0,97 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,9$, H-10); 2,22-2,36 (m, 1H, H-8); 2,97 (d, 1H, $J_{6a,6b} = 14,4$, H-6a); 3,15 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, $J_{7a,8} = 7,5$, H-7a); 3,16 (d, 1H, $J_{6b,6a} = 14,4$, H-6b); 3,52 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, $J_{7b,8} = 7,8$, H-7b); 3,77 (s, 3H, -OCH₃); 6,73 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 6,86 (ddd, 1H, $J_{6'',2''} = J_{6'',4''} = 1,6$, $J_{6'',5''} = 7,8$, H-6''); 6,96-6,98 (m, 1H, H-2''); 7,05 (dd, 1H, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8$, H-5''); 7,09 (ddd, 1H, $J_{4'',2''} = J_{4'',6''} = 1,6$, $J_{4'',5''} = 7,8$, H-4''); 7,18 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6'); 7,40 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,8 (C-9); 20,9 (C-10); 28,0 (C-8); 42,7 (C-6); 48,2 (C-7); 56,4 (-OCH₃); 93,4 (C-5); 113,1 (C-3'); 113,6 (C-5'); 122,6 (C-3 e C-1'); 127,4 (C-4''); 128,1 (C-6''); 129,3 (C-5''); 130,4 (C-2''); 133,4 (C-6'); 133,9 (C-4' e C-3''); 136,1 (C-1''); 151,6 (C-2'); 155,0 (C-4); 164,5 (C-2).

EM, m/z (%) 420 (48); 418 (100); 416 (50); 362 (25); 360 (13); 283 (15); 281 (15); 202 (13); 127 (15); 125 (41); 89 (14); 57 (55); 56 (17); 55 (18).

IES-EM C₂₂H₂₃Br₂ClNO₃ [M+H]⁺: 541,9728, encontrado: 541,9752.

3.4.4.3. Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-bromobenzil)-5-hidroxi-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (5c)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:7 v/v).

T_f: 172,5-173,5 °C.

CCD: R_f = 0,22 (hexano:diclorometano, 1:7 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3399-3154; 2957; 2869; 2844; 1676; 1645; 1486; 1385; 1247; 1050; 1026; 809; 653; 620; 506.

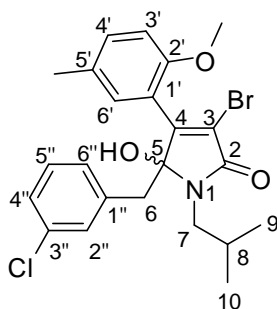
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,96 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,6$, H-9); 0,98 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,6$, H-10); 2,23-2,37 (m, 1H, H-8); 3,02 (d, 1H, $J_{6a,6b} = 14,7$, H-6a); 3,11 (d, 1H, $J_{6b,6a} = 14,7$, H-6b); 3,13 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, $J_{7a,8} = 7,2$, H-7a); 3,53 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, $J_{7b,8} = 8,1$, H-7b); 3,73 (s, 3H, -OCH₃); 6,74 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 6,83 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$, H-2'' e H-6''); 7,10 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,25 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$, H-3'' e H-5''); 7,45 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,7 (C-9); 21,0 (C-10); 28,0 (C-8); 42,3 (C-6); 48,3 (C-7); 56,5 (-OCH₃); 93,5 (C-5); 113,2 (C-3'); 113,6 (C-5'); 121,4 (C-4''); 122,6 (C-1' e C-3); 131,2 (C-3'' e C-5''); 131,6 (C-2'' e C-6''); 133,0 (C-1''); 133,6 (C-6'); 133,7 (C-4'); 151,7 (C-2'); 155,0 (C-4); 164,4 (C-2).

EM, m/z (%) 420 (47); 418 (100); 416 (50); 364 (10); 362 (20); 360 (10); 283 (13); 281 (13); 171 (12); 169 (16); 90 (15); 89 (12); 57 (26).

IES-EM C₂₂H₂₂Br₃NNaO₃ [M+Na]⁺: 607,9042, encontrado: 607,9052.

3.4.4.4. Dados referentes ao composto 3-bromo-5-(3-clorobenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (5d)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:8 v/v).

T_f: 140,0-140,5 °C.

CCD: R_f = 0,30 (hexano:diclorometano, 1:8 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3376-3226; 2957; 2928; 2869; 1691; 1678; 1638; 1500; 1434; 1414; 1248; 1064; 1017; 882; 801; 785; 686; 656.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,96 (d, 3H, $J_{10,8}$ = 6,9, H-10); 0,99 (d, 3H, $J_{9,8}$ = 6,9, H-9); 2,30 (s, 3H, Ar-CH₃); 2,26-2,38 (m, 1H, H-8); 3,05 (s, 2H, H-6); 3,14 (dd, 1H, $J_{7a,7b}$ = 13,8, $J_{7a,8}$ = 7,2, H-7a); 3,55 (dd, 1H, $J_{7b,7a}$ = 13,8, $J_{7b,8}$ = 8,1, H-7b); 3,78 (s, 3H, -OCH₃); 5,37 (s, 1H, -OH); 6,75-6,77 (m, 1H, H-2''); 6,78 (d, 1H, $J_{3',4'}$ = 9,0, H-3'); 6,85 (ddd, 1H, $J_{6'',2''}$ = $J_{6'',4''}$ = 1,5, $J_{6'',5''}$ = 8,1, H-6''); 6,91 (d compl, 1H, $J_{6',4'}$ = 2,1, H-6'); 7,05 (dd, 1H, $J_{5'',4''}$ = $J_{5'',6''}$ = 8,1, H-5''); 7,10 (ddd, 1H, $J_{4'',2''}$ = $J_{4'',6''}$ = 1,5, $J_{4'',5''}$ = 8,1, H-4''); 7,14 (dd compl, $J_{4',3'}$ = 9,0, $J_{4',6'}$ = 2,1, H-4').

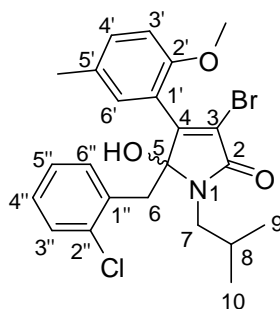
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,6 (C-8); 20,7 (C-9); 20,9 (C-10); 28,0 (Ar-CH₃); 42,9 (C-6); 48,3 (C-7); 56,5 (-OCH₃); 93,4 (C-5); 111,7 (C-3'); 120,4 (C-3)**; 121,7 (C-1')**; 127,3 (C-4''); 127,8 (C-6''); 129,3 (C-5''); 130,8 (C-6'); 131,3 (C-5'); 131,9 (C-4'); 132,0 (C-2''); 133,7 (C-3''); 136,3 (C-1''); 153,4 (C-2')*; 153,7 (C-4)*; 164,6 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas. ** As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 354 (99); 352 (100); 298 (18); 296 (19); 146 (11); 145 (17); 125 (21); 115 (13); 57 (27).

IES-EM C₂₃H₂₆BrClNO₃ [M+H]⁺: 478,0779, encontrado: 478,0798.

3.4.4.5. Dados referentes ao composto 3-bromo-5-(2-clorobenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (5e)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:8 v/v).

T_f: 128,3-129,8 °C.

CCD: R_f = 0,28 (hexano:diclorometano, 1:8 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3401-3174; 2959; 2928; 2668; 1689; 1675; 1411; 1385; 1244; 1056; 806; 730; 686; 656; 620.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,93 (d, 3H, J_{9,8} = 6,9, H-9); 0,95 (d, 3H, J_{10,8} = 6,9, H-10); 2,21 (s, 3H, Ar-CH₃); 2,25-2,35 (m, 1H, H-8); 3,05 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 14,1, J_{7a,8} = 7,2, H-7a); 3,26 (d, 1H, J_{6a,6b} = 15,0, H-6a); 3,35 (d, 1H, J_{6b,6a} = 15,0, H-6b); 3,50 (dd, 1H, J_{7b,7a} = 14,1, J_{7b,8} = 7,8, H-7b); 3,77 (s, 3H, -OCH₃); 5,22 (s, 1H, -OH); 6,71-6,72 (m, 1H, H-6'); 6,73 (d, 1H, J_{3',4'} = 8,7, H-3'); 7,01-7,04 (m, 2H, H-4'' e H-5''); 7,08 (dd compl, 1H, J_{4',3'} = 8,7, J_{4',6'} = 2,1, H-4'); 7,17 (dd, 1H, J_{3'',4''} = 6,6, J_{3'',5''} = 2,7, H-3''); 7,25 (dd, 1H, J_{6'',5''} = 6,9, J_{6'',4''} = 2,7, H-6'').

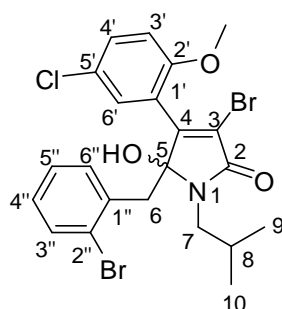
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,5 (Ar-CH₃); 20,7 (C-9); 20,8 (C-10); 27,8 (C-8); 38,7 (C-6); 48,2 (C-7); 56,5 (-OCH₃); 93,4 (C-5); 111,5 (C-3'); 120,3 (C-3)**; 121,7 (C-1')**; 126,6 (C-5''); 128,3 (C-4''); 129,3 (C-3''); 130,4 (C-6''); 131,5 (C-6'); 131,5 (C-4'); 131,2 (C-5'); 132,8 (C-2''); 135,2 (C-1''); 153,6 (C-2')*; 154,1 (C-4)*; 164,7 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas. ** As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 354 (98); 352 (100); 298 (19); 296 (19); 145 (17); 127 (11); 125 (27); 115 (12); 57 (19).

IES-EM C₂₃H₂₆BrClNO₃ [M+H]⁺: 478,0779, encontrado: 478,0804.

3.4.4.6. Dados referentes ao composto 3-bromo-5-(2-bromobenzil)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-hidroxi-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (5f)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:DCM 1:9 v/v).

T_f: 159,3-160,5 °C.

CCD: R_f = 0,31 (hexano:diclorometano, 1:9 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3221-3397; 3068; 2936; 2864; 2842; 1688; 1673; 1486; 1411; 1390; 1239; 1137; 1046; 890; 806; 751.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,94 (d, 3H, J_{9,8} = 6,6, H-9); 0,95 (d, 3H, J_{10,8} = 6,6, H-10); 2,19-2,36 (m, 1H, H-8); 3,07 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 13,8, J_{7a,8} = 7,8, H-7a); 3,30 (d, 1H, J_{6a,6b} = 15, H-6a); 3,41 (d, 1H, J_{6b,6a} = 15, H-6b); 3,50 (dd, 1H, J_{7b,7a} = 13,8, J_{7b,8} = 7,8, H-7b); 3,76 (s, 3H, -OCH₃); 4,86 (s, 1H, -OH); 6,75 (d, 1H, J_{3',4'} = 9,0, H-3'); 6,96 (ddd, 1H, J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,8, J_{4'',6''} = 1,8, H-4''); 6,99 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 7,06 (ddd, 1H, J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8, J_{5'',3''} = 1,5, H-5''); 7,23 (dd, 1H, J_{4',3'} = 9,0, J_{4',6'} = 2,4, H-4'); 7,25 (dd, 1H, J_{6'',4''} = 1,8, J_{6'',5''} = 7,8, H-6''); 7,41 (dd, 1H, J_{3'',4''} = 7,8, J_{3'',5''} = 1,5, H-3'').

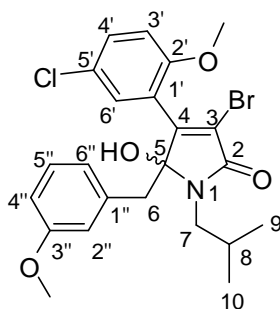
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,7 (C-9); 20,9 (C-10); 27,8 (C-8); 41,5 (C-6); 48,2 (C-7); 56,6 (-OCH₃); 93,6 (C-5); 112,6 (C-3'); 122,0 (C-3)*; 122,6 (C-1')*; 126,4 (C-2''); 126,5 (C-5'); 127,3 (C-5''); 128,8 (C-4''); 130,3 (C-6''); 130,6 (C-6'); 130,7 (C-4'); 132,8 (C-3''); 134,1 (C-1''); 152,2 (C-2'); 154,4 (C-4); 164,6 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 529 ([M+6]⁺ - H₂O, 3); 527 ([M+4]⁺ - H₂O, 16); 525 ([M+2]⁺ - H₂O, 24); 523 ([M]⁺ - H₂O, 10); 376 (17); 375 (16); 374 (100); 372 (73); 317 (22); 316 (16); 171 (10); 169 (14); 165 (12); 57 (18); 41 (41).

IES-EM C₂₂H₂₃Br₂CINO₃ [M+H]⁺: 541,9728, encontrado: 541,9700.

3.4.4.7. Dados referentes ao composto 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-hidroxi-1-isobutil-5-(3-metoxibenzil)pirrol-2(5H)-ona (5g)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se diclorometano como eluente).

T_f: 152,0-153,3 °C.

CCD: R_f = 0,20 (diclorometano)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3187-3416; 3069; 3003; 2960; 2931; 2868; 2837; 1685; 1671; 1592; 1490; 1434; 1412; 1253; 1104; 701; 655; 640.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,97 (d, 3H, J_{9,8} = 6,6, H-9); 0,98 (d, 3H, J_{10,8} = 6,6, H-10); 2,25-2,39 (m, 1H, H-8); 3,07 (d, 1H, J_{6a,6b} = 14,7, H-6a); 3,14 (d, 1H, J_{6b,6a} = 14,7, H-6b); 3,14 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 13,8, J_{7a,8} = 7,2, H-7a); 3,56 (dd, 1H, J_{7b,7a} = 13,8, J_{7b,8} = 8,1, H-7b); 3,73 (s, 3H, -OCH₃); 3,80 (s, 3H, -OCH₃); 4,63 (s, 1H, -OH); 6,50 (s, 1H, H-2''); 6,56 (d, 1H, J_{4'',5''} = 7,8, H-4''); 6,71 (m, 1H, H-6''); 6,84 (d, 1H, J_{3',4'} = 8,7, H-3'); 6,94 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,4, H-6'); 7,09 (dd, 1H, J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8, H-5''); 7,30 (dd, 1H, J_{4',3'} = 8,7, J_{4',6'} = 2,4, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,7 (C-9); 20,9 (C-10); 27,9 (C-8); 42,5 (C-6); 48,4 (C-7); 55,4 (-OCH₃); 56,7 (-OCH₃); 93,8 (C-5); 112,9 (C-3'); 113,3 (C-6''); 115,1 (C-2''); 122,2 (C-4''); 122,3 (C-3)*; 122,7 (C-1)*; 126,5 (C-5'); 129,3 (C-5''); 130,8 (C-4'); 131,0 (C-6'); 135,5 (C-1''); 151,9 (C-2'); 154,6 (C-3''); 159,5 (C-4); 164,3 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 479 ([M+4]⁺ - H₂O, 10); 477 ([M+2]⁺ - H₂O, 37); 475 ([M]⁺ - H₂O, 29); 396 (15); 375 (17); 374 (100); 373 (11); 372 (76); 340 (29); 318 (25); 316 (18); 122 (25); 121 (25); 91 (15); 57 (26); 41 (44).

IES-EM C₂₃H₂₆BrClNO₄ [M+H]⁺: 494,0728, encontrado: 494,0837.

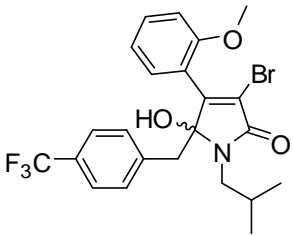
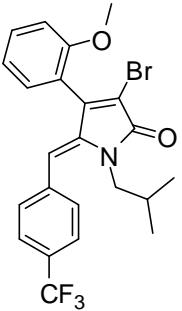
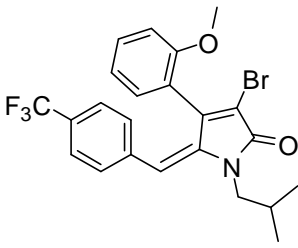
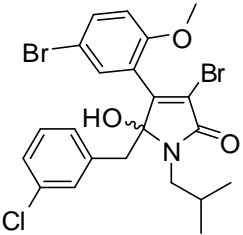
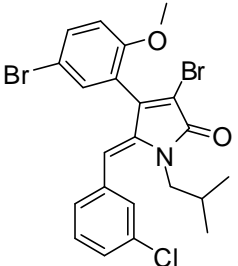
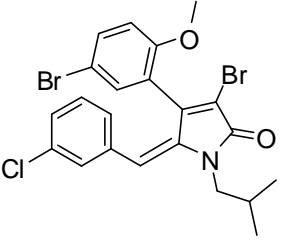
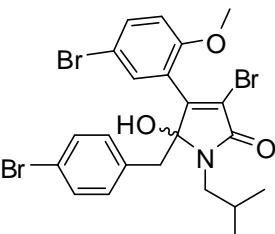
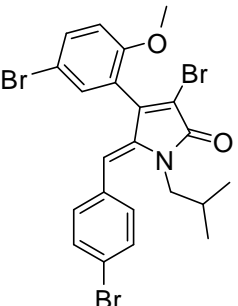
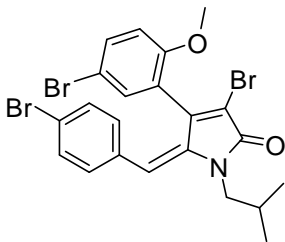
3.4.5. Síntese da (*Z*)-3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzilideno)-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5*H*)-ona (**6a**) e (*E*)-3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzilideno)-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5*H*)-ona (**7a**)

A um balão de fundo redondo (25 mL) adicionaram-se a 3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzil)-5-hidroxi-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5*H*)-ona (**5a**) (0,250 g; 0,502 mmol), clorofórmio (13 mL) e ácido *p*-toluenossulfônico (PTSA) (14 mg; 0,075 mmol). A mistura foi refluxada por duas horas.

A seguir adicionou-se clorofórmio (20 mL) à mistura reacional que foi lavada com solução saturada de bicarbonato (3 x 20 mL) e solução saturada de NaCl (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida para obtenção do material bruto da reação, que foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando a mistura de solvente hexano:DCM 1:2,5 v/v para obtenção dos compostos **6a** (36% de rendimento; 87 mg; 0,18 mmol) e **7a** (39% de rendimento; 95 mg; 0,20 mmol).

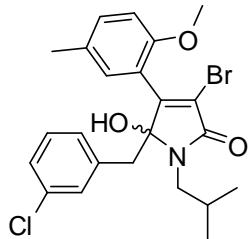
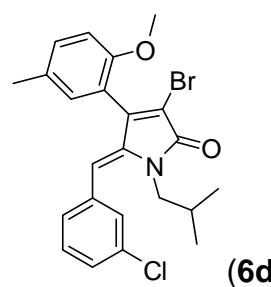
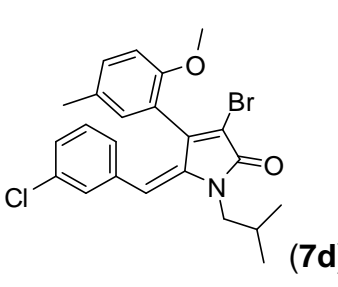
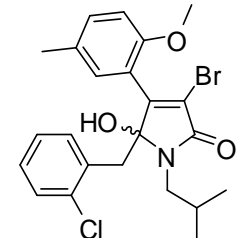
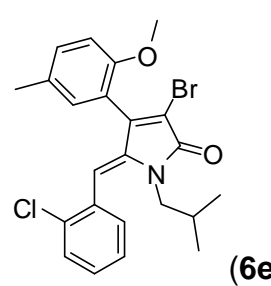
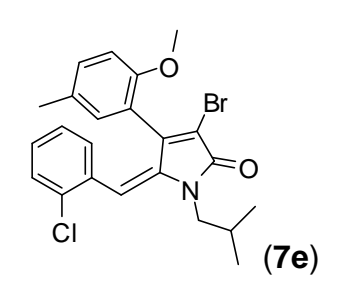
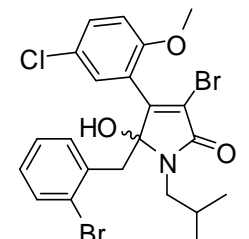
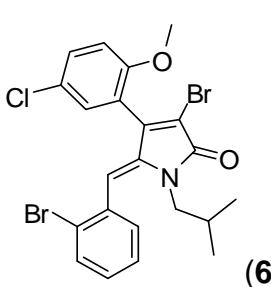
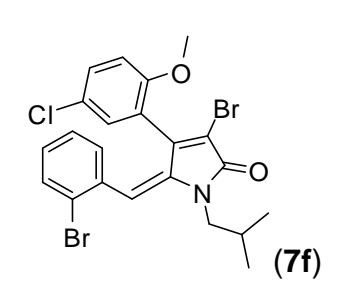
Os compostos **6b-6g** e **7b-7g** foram preparados utilizando-se procedimento experimental similar ao descrito para a síntese dos compostos **6a** e **7a**. A Tabela 4 apresenta as quantidades de reagentes e solventes utilizadas nessas reações.

Tabela 4 - Dados referentes ao preparo das γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas **6a-6g** e **7a-7g**

γ -hidroxipirrol-2(5H)-ona (g; mmol)	PTSA (mg; mmol) (clorofórmio)	(Z)- γ -alquilidenopirrol-2(5H)-ona	Rendimento (mg, %)	(E)- γ -alquilidenopirrol-2(5H)-ona	Rendimento (mg, %)
 (0,250; 0,50)	14; 0,075 (13 mL)	 (6a)	87; 36	 (7a)	95; 39
 (0,180; 0,33)	9; 0,049 (13 mL)	 (6b)	49; 28	 (7b)	55; 31
 (0,240; 0,41)	12; 0,061 (11 mL)	 (6c)	54; 23	 (7c)	77; 33

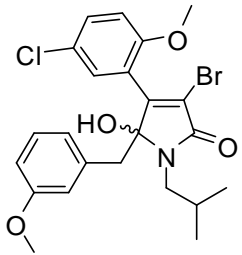
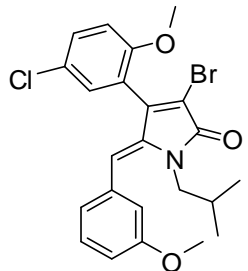
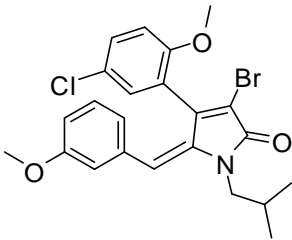
Continua...

Tabela 4 - Cont.

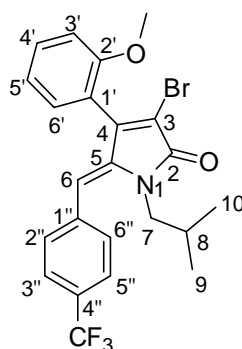
γ -hidroxipirrol-2(5 <i>H</i>)- ona (g; mmol)	PTSA (mg; mmol) (clorofórmio)	(<i>Z</i>)- γ - alquilidenopirrol- 2(5 <i>H</i>)-ona	Rendimento (mg, %)	(<i>E</i>)- γ -alquilidenopirrol-2(5 <i>H</i>)- ona	Rendimento (mg, %)
 (0,350; 0,731)	21; 0,11 (19 mL)	 (6d)	118; 35	 (7d)	151; 45
 (0,360; 0,752)	21; 0,11 (19 mL)	 (6e)	102; 29	 (7e)	136; 39
 (0,360; 0,662)	19; 0,10 (17 mL)	 (6f)	99; 29	 (7f)	149; 43

Continua...

Tabela 4 - Cont.

γ -hidroxipirrol-2(5 <i>H</i>)- ona (g; mmol)	PTSA (mg; mmol) (clorofórmio)	(<i>Z</i>)- γ -alquilidenopirrol- 2(5 <i>H</i>)-ona	Rendimento (mg, %)	(<i>E</i>)- γ -alquilidenopirrol- 2(5 <i>H</i>)-ona	Rendimento (mg, %)
 (0,360; 0,727)	21; 0,11 (19 mL)	 (6g)	142; 41	 (7g)	123; 35

3.4.5.1. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzilideno)-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (6a)



Característica: sólido amarelo pálido

T_f: 100,3-101,3 °C.

CCD: R_f = 0,38 (hexano:diclorometano, 1:3 v/v)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3050; 2958; 2921; 2850; 1698; 1615; 1491; 1455; 1407; 1322; 1254; 1161; 1120; 1065; 908; 843; 751; 655.

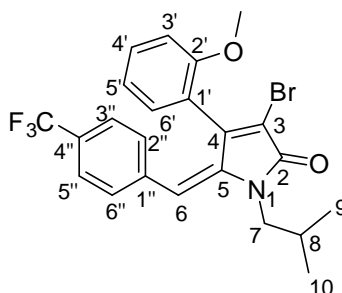
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,53 (d, 6H, $J_{9,8} = J_{10,8} = 6,9$, H-9 e H-10); 1,33-1,45 (m, 1H, H-8); 3,42 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, $J_{7a,8} = 7,5$, H-7a); 3,47 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, $J_{7b,8} = 7,5$, H-7b); 3,84 (s, 3H, -OCH₃); 6,07 (s, 1H, H-6); 7,04 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, $J_{3',5'} = 0,9$, H-3'); 7,07 (ddd, 1H, $J_{5',3'} = 0,9$, $J_{5',4'} = J_{5',6'} = 7,5$, H-5'); 7,25 (dd, 1H, $J_{6',4'} = 1,8$, $J_{6',5'} = 7,5$, H-6'); 7,37 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{5'',6''} = 8,1$, H-2'' e H-6''); 7,47 (ddd, 1H, $J_{4',3'} = 8,4$, $J_{4',5'} = 7,5$, $J_{4',6'} = 1,8$, H-4'); 7,61 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,1$, H-3'' e H-5'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 19,5 (C-9); 19,6 (C-10); 27,9 (C-8); 49,6 (C-7); 55,9 (-OCH₃); 111,8 (C-3'); 113,0 (C-6); 116,6 (C-3); 119,7 (C-1'); 120,7 (C-5'); 124,1 (q, $J_{C-F} = 270$, -CF₃); 125,2 (q, $J_{C-F} = 3,7$, C-3'' e C-5''); 129,9 (C-2'' e C-6''); 130,1 (q, $J_{C-F} = 32,5$, C-4''); 131,2 (C-6''); 131,3 (C-4'); 138,8 (C-1''); 140,1 (C-5); 146,9 (C-4); 157,2 (C-2'); 167,1 (C-2).

EM, m/z (%) 481 ([M+2]⁺, 74); 479 ([M]⁺, C₂₃H₂₁BrF₃NO₂, 74); 401 (14); 400 (51); 358 (15); 357 (57); 356 (100); 354 (24); 345 (17); 344 (80); 342 (15); 322 (23); 320 (23); 314 (19); 313 (24); 286 (14); 272 (15); 241 (15); 207 (42); 189 (16); 159 (51); 131 (28); 115 (31); 77 (38); 57 (20); 55 (21); 41 (97); 39 (40).

IES-EM C₂₃H₂₂BrF₃NO₂ [M+H]⁺: 480,0781, encontrado: 480,0834.

3.4.5.2. Dados referentes ao composto (E)-3-bromo-5-(4-trifluorometilbenzilideno)-1-isobutil-4-(2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (7a)



Característica: sólido amorfo verde

CCD: $R_f = 0,27$ (hexano:diclorometano, 1:3 v/v)

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2960; 2929; 2873; 1704; 1614; 1490; 1463; 1322; 1163; 1122; 1089; 1066; 1018; 753.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,02 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,9$, H-9); 1,03 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,9$, H-10); 2,10-2,23 (m, 1H, H-8); 3,50 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 3,63 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,4$, $J_{7a,8} = 7,5$, H-7a); 3,69 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,4$, $J_{7b,8} = 7,8$, H-7b); 6,41 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, $J_{3',5'} = 0,9$, H-3'); 6,51 (s, 1H, H-6); 6,74 (ddd, 1H, $J_{5',3'} = 0,9$, $J_{5',4'} = 7,5$, $J_{5',6'} = 7,5$, H-5'); 6,93-6,96 (m, 3H, H-2'', H-6' e H-6''); 7,07-7,13 (m, 3H, H-3'', H-4' e H-5'').

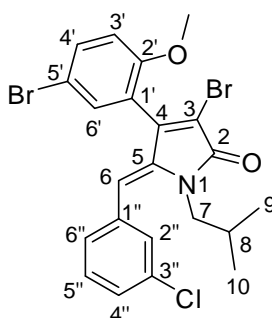
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 20,2 (C-9 e C-10); 28,2 (C-8); 47,6 (C-7); 54,9 ($-\text{OCH}_3$); 110,1 (C-3'); 113,1 (C-6); 120,1 (C-5'); 120,6 (C-3)*; 121,3 (C-1')*; 123,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$, C-3'' e C-5''); 123,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,6$, $-\text{CF}_3$); 129,0 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,3$, C-4''); 129,4 (C-2'' e C-6''); 130,4 (C-6'); 130,5 (C-4'); 137,3 (C-1''); 139,5 (C-5); 142,3 (C-4); 155,8 (C-2'); 164,5 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 481 ($[\text{M}+2]^+$, 43); 479 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{BrF}_3\text{NO}_2$, 44); 400 (23); 357 (26); 356 (50); 344 (38); 159 (28); 77 (22); 57 (31); 55 (29); 41 (33); 41 (100).

IES-EM $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{BrF}_3\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 480,0781, encontrado: 480,0833.

3.4.5.3. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-clorobenzilideno)-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (6b)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:3 v/v como eluente).

T_f: 120,2-122,0 °C.

CCD: R_f = 0,41 (hexano:diclorometano, 1:3 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3060; 2957; 2927; 2870; 1702; 1632; 1484; 1250; 1080; 1049; 1024; 914; 810; 736; 688; 621.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,54 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,9$, H-9); 0,56 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,9$, H-10); 1,36-1,49 (m, 1H, H-8); 3,47 (d, 2H, $J_{7,8} = 7,0$, H-7); 3,82 (s, 3H, -OCH₃); 5,99 (s, 1H, H-6); 6,90 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,13-7,16 (m, 1H, H-6''); 7,26-7,27 (m, 1H, H-2''); 7,29-7,31 (m, 2H, H-4'' e H-5''); 7,35 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,55 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4').

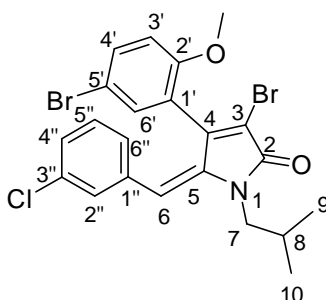
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 19,6 (C-9); 19,7 (C-10); 28,0 (C-8); 49,6 (C-7); 56,2 (-OCH₃); 112,7 (C-5'); 113,4 (C-6); 113,5 (C-3'); 117,0 (C-3); 121,8 (C-1'); 127,7 (C-6''); 128,3 (C-2'')*; 129,5 (C-4'')*; 129,6 (C-5'')*; 133,5 (C-6'); 134,0 (C-4'); 134,3 (C-3''); 136,5 (C-1''); 139,4 (C-5); 145,3 (C-4); 156,4 (C-2'); 166,8 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 529 ([M+6]⁺, 6); 527 ([M+4]⁺, 32); 525 ([M+2]⁺, 42); 523 ([M]⁺, C₂₂H₂₀Br₂ClNO₂, 19); 446 (29); 444 (16); 403 (14); 402 (27); 401 (13); 400 (30); 390 (31); 388 (29); 125 (20); 114 (20); 102 (33); 101 (29); 100 (15); 94 (17); 57 (33).

IES-EM C₂₂H₂₁Br₂ClNO₂ [M+H]⁺: 523,9622, encontrado: 523,9589.

3.4.5.4. Dados referentes ao composto (E)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(3-clorobenzilideno)-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (7b)



Característica: sólido amorfo verde (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:3 v/v como eluente).

CCD: $R_f = 0,31$ (hexano:diclorometano, 1:3 v/v).

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2958; 2929; 2871; 1702; 1484; 1462; 1370; 1254; 1136; 1074; 1048; 1025; 915; 809; 740; 688; 621.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,01 (d, 3H, $J_{9,10} = 6,6$, H-9); 1,02 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,6$, H-10); 2,07-2,21 (m, 1H, H-8); 3,59 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,4$, $J_{7a,8} = 7,2$, H-7a); 3,64 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 3,67 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,4$, $J_{7b,8} = 8,1$, H-7b); 6,48 (s, 1H, H-6); 6,49 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 6,81-6,84 (m, 2H, H-2'' e H-6''); 6,95-6,98 (m, 3H, H-6', H-4'' e H-5''); 7,20 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4').

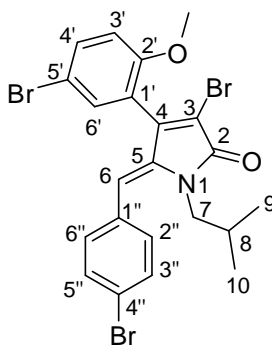
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 20,4 (C-9); 20,5 (C-10); 28,4 (C-8); 47,9 (C-7); 55,6 ($-\text{OCH}_3$); 112,2 (C-3'); 112,4 (C-5'); 113,6 (C-6); 121,6 (C-3); 123,4 (C-1'); 127,5 (C-6'')**; 127,6 (C-4'')*; 128,6 (C-5'')*; 129,6 (C-2'')**; 132,6 (C-6'')*; 133,1 (C-4'); 133,4 (C-3''); 135,5 (C-1''); 139,3 (C-5); 141,0 (C-4); 155,4 (C-2'); 164,4 (C-2).

* As atribuições podem estar trocadas. ** As atribuições podem estar trocadas.

EM, m/z (%) 529 ($[\text{M}+6]^+$, 6); 527 ($[\text{M}+4]^+$, 29); 525 ($[\text{M}+2]^+$, 40); 523 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{Br}_2\text{ClNO}_2$, 17); 446 (27); 444 (13); 434 (15); 403 (14); 402 (27); 401 (12); 400 (28); 390 (29); 388 (26); 202 (13); 189 (15); 187 (14); 125 (18); 115 (14); 114 (18); 102 (34); 101 (26); 100 (15); 57 (36); 41 (100).

IES-EM $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{Br}_2\text{ClNO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 523,9622, encontrado: 523,9589.

3.4.5.5. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-bromobenzilideno)-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (6c)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:3 v/v como eluente).

T_f: 191,6-192,4 °C.

CCD: R_f = 0,37 (hexano:diclorometano, 1:3 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3059; 2958; 2932; 2871; 1701; 1483; 1386; 1278; 1250; 1070; 1010; 913; 808; 736; 664; 620.

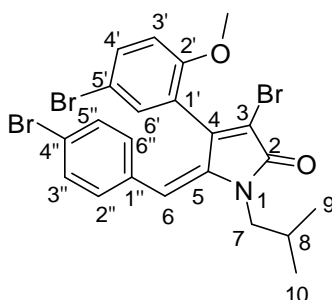
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,54 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,6$, H-9); 0,55 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,6$, H-10); 1,36-1,50 (m, 1H, H-8); 3,47 (d, 2H, $J_{7,8} = 7,5$, H-7); 3,81 (s, 3H, -OCH₃); 5,96 (s, 1H, H-6); 6,91 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 7,13 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7$, H-2'' e H-6''); 7,33 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6'); 7,50 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,7$, H-3'' e H-5''); 7,54 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 19,6 (C-9); 19,7 (C-10); 27,9 (C-8); 49,7 (C-7); 56,2 (-OCH₃); 112,7 (C-5'); 113,5 (C-3'); 113,8 (C-6); 116,9 (C-3); 121,9 (C-1'); 122,4 (C-4''); 131,2 (C-2'' e C-6''); 131,5 (C-3'' e C-5''); 133,5 (C-6'); 133,6 (C-1''); 133,9 (C-4'); 139,1 (C-5); 145,3 (C-4); 156,4 (C-2'); 166,9 (C-2).

EM, m/z (%) 573 ([M+6]⁺, 10); 571 ([M+4]⁺, 29); 569 ([M+2]⁺, 28); 567 ([M]⁺, C₂₂H₂₀Br₃NO₂, 9); 448 (19); 447 (19); 446 (32); 444 (15); 436 (18); 434 (38); 432 (22); 355 (25); 353 (31); 352 (27); 350 (23); 189 (17); 187 (15); 102 (37); 101 (26); 94 (21); 57 (32).

IES-EM C₂₂H₂₁Br₃NO₂ [M+H]⁺: 567,9117, encontrado: 567,9079.

3.4.5.6. Dados referentes ao composto (E)-3-bromo-4-(5-bromo-2-metoxifenil)-5-(4-bromobenzilideno)-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (7c)



Característica: sólido amorfo verde (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:3 v/v como eluente).

CCD: $R_f = 0,26$ (hexano:diclorometano, 1:3 v/v).

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2958; 2928; 2871; 1700; 1484; 1461; 1389; 1262; 1070; 1010; 912; 848; 801; 743; 663.

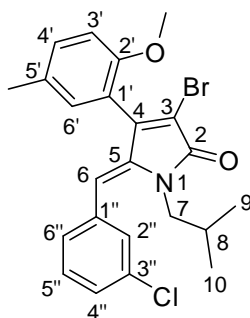
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 0,99 (d, 3H, $J_{9,10} = 6,6$, H-9); 1,01 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,6$, H-10); 2,07-2,21 (m, 1H, H-8); 3,56 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 3,60 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, $J_{7a,8} = 7,8$, H-7a); 3,67 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, $J_{7b,8} = 7,8$, H-7b); 6,42 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 6,47 (s, 1H, H-6); 6,73 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,1$, H-2'' e H-6''); 6,98 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,05 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,1$, H-3'' e H-5''); 7,26 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 20,4 (C-9); 20,5 (C-10); 28,4 (C-8); 47,9 (C-7); 55,7 ($-\text{OCH}_3$); 112,3 (C-3'); 112,4 (C-5'); 114,1 (C-6); 121,3 (C-3); 121,9 (C-1'); 123,5 (C-4''); 130,4 (C-3'' e C-5''); 130,8 (C-2'' e C-6''); 132,6 (C-1''); 132,8 (C-4'); 133,2 (C-6'); 138,8 (C-5); 140,8 (C-4); 155,4 (C-2'); 164,4 (C-2).

EM, m/z (%) 573 ($[\text{M}+6]^+$, 9); 571 ($[\text{M}+4]^+$, 28); 569 ($[\text{M}+2]^+$, 28); 567 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{Br}_3\text{NO}_2$, 9); 447 (20); 446 (32); 444 (15); 436 (17); 434 (37); 432 (21); 400 (15); 355 (24); 353 (29); 352 (27); 350 (22); 202 (15); 189 (16); 115 (18); 114 (19); 102 (36); 101 (25); 100 (15); 89 (20); 57 (35); 41 (100).

IES-EM $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{Br}_3\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 567,9117, encontrado: 567,9085.

3.4.5.7. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-5-(3-clorobenzilideno)-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (6d)



Característica: sólido amorfo amarelo (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:4 v/v como eluente).

T_f: 150,7-151,7 °C.

CCD: R_f = 0,35 (hexano:diclorometano, 1:4 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3056; 2957; 2926; 2870; 2836; 1701; 1632; 1498; 1462; 1249; 1084; 1050; 1029; 809; 736; 689.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,56 (d, 6H, $J_{9,8} = J_{10,8} = 6,9$, H-9 e H-10); 1,37-1,50 (m, 1H, H-8); 2,35 (s, 3H, Ar-CH₃); 3,45 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, $J_{7a,8} = 7,5$, H-7a); 3,50 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, $J_{7b,8} = 7,5$, H-7b); 3,80 (s, 3H, -OCH₃); 6,02 (s, 1H, H-6); 6,92 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, H-3'); 7,01 (d compl, 1H, $J_{6',4'} = 1,8$, H-6'); 7,12-7,16 (m, 1H, H-6''); 7,22-7,30 (m, 4H, H-4', H-2'', H-4'' e H-5'').

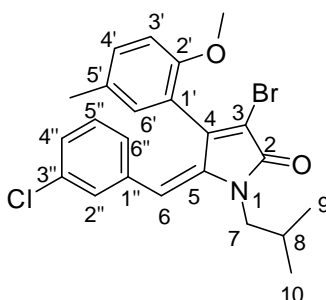
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 19,6 (C-9), 19,7 (C-10); 20,7 (Ar-CH₃); 28,0 (C-8); 49,6 (C-7); 56,1 (-OCH₃); 111,8 (C-3'); 113,3 (C-6); 116,2 (C-3); 119,6 (C-1'); 127,7 (C-6''); 128,1 (C-4'')*, 129,5 (C-2'')*; 129,5 (C-4')*; 130,0 (C-5'); 131,5 (C-6'); 131,7 (C-5'')*; 134,3 (C-3''); 136,8 (C-1''); 139,7 (C-5); 147,1 (C-4); 155,1 (C-2'); 167,2 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 463 ([M+4]⁺, 27); 461 ([M+2]⁺, 100); 459 ([M]⁺, C₂₃H₂₃BrClNO₂, 74); 382 (39); 381 (27); 380 (72); 337 (39); 336 (71); 334 (29); 326 (28); 324 (87); 293 (21); 286 (31); 173 (34); 145 (25); 116 (20); 115 (42); 102 (24); 101 (24); 57 (31).

IES-EM C₂₃H₂₄BrClNO₂ [M+H]⁺: 460,0673, encontrado: 460,0740.

3.4.5.8. Dados referentes ao composto (E)-3-bromo-5-(3-clorobenzilideno)-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (7d)



Característica: sólido amorfo verde (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:4 v/v como eluente).

CCD: $R_f = 0,26$ (hexano:diclorometano, 1:4 v/v).

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2958; 2926; 2872; 1706; 1631; 1500; 1464; 1251; 1087; 1051; 1030; 810; 690.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 1,00 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,6$, H-9); 1,02 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,6$, H-10); 2,11 (s, 3H, Ar- CH_3); 2,14 (m, 1H, H-8); 3,59 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 3,59 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, $J_{7a,8} = 7,2$, H-7a); 3,67 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, $J_{7b,8} = 7,8$, H-7b); 6,45 (s, 1H, H-6); 6,47 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, H-3'); 6,69-6,94 (m, 6H, H-4', H-6', H-2'', H-4'', H-5'' e H-6'').

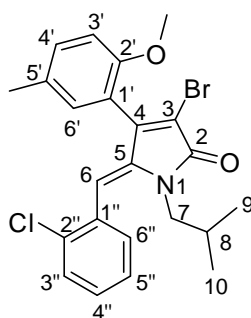
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 20,4 (Ar- CH_3); 20,5 (C-9 e C-10); 28,5 (C-8); 47,8 (C-7); 55,4 ($-\text{OCH}_3$); 110,4 (C-3'); 113,6 (C-6); 120,6 (C-3); 121,0 (C-1'); 127,2 (C-6')*; 127,4 (C-6'')*; 128,3 (C-4'')*; 129,6 (C-5'); 129,7 (C-2'')*; 130,6 (C-4')*; 131,0 (C-5'')*; 133,1 (C-3''); 135,7 (C-1''); 139,5 (C-5); 142,7 (C-4); 154,1 (C-2'); 164,7 (C-2).

* As atribuições podem estar trocadas.

EM, m/z (%) 463 ($[\text{M}+4]^+$, 27); 461 ($[\text{M}+2]^+$, 100); 459 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{BrClNO}_2$, 74); 430 (18); 383 (18); 382 (39); 381 (27); 380 (72); 370 (22); 368 (23); 338 (25); 337 (39); 336 (71); 334 (29); 326 (28); 324 (87); 286 (31); 202 (20); 173 (34); 145 (25); 115 (42); 57 (31); 41 (99).

IES-EM $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{BrClNO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 460,0673, encontrado: 460,0745.

3.4.5.9. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-5-(2-clorobenzilideno)-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (6e)



Característica: sólido amorfo amarelo (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:3,5 v/v como eluente).

CCD: $R_f = 0,34$ (hexano:diclorometano, 1:3,5 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3056; 2957; 2927; 2870; 1702; 1498; 1249; 1087; 1048; 1030; 938; 902; 809; 753; 735.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,52 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,9$, H-9); 0,54 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,9$, H-10); 1,37-1,51 (m, 1H, H-8); 2,34 (s, 3H, Ar-CH₃); 3,36 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, $J_{7a,8} = 7,5$, H-7a); 3,43 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, $J_{7b,8} = 7,5$, H-7b); 6,04 (s, 1H, H-6); 6,91 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, H-3'); 7,08 (d compl, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6'); 7,22 (dd compl, $J_{4',3'} = 8,4$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4'); 7,26-7,28 (m, 3H, H-4'', H-5'' e H-6''); 7,39 (m, 1H, H-3'').

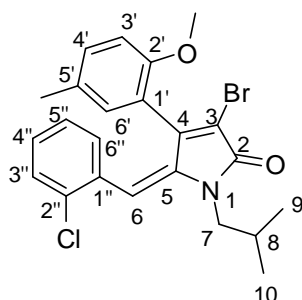
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 19,7 (C-9); 19,8 (C-10); 20,7 (Ar-CH₃); 27,9 (C-8); 49,4 (C-7); 56,0 (-OCH₃); 111,7 (C-3'); 112,2 (C-6); 116,0 (C-3); 119,5 (C-1'); 126,3 (C-6''); 129,5 (C-3''); 129,6 (C-5''); 130,0 (C-1''); 131,7 (C-6''); 131,8 (C-4''); 131,8 (C-4''); 133,7 (C-5'); 134,2 (C-2''); 139,5 (C-5); 146,9 (C-4); 155,2 (C-2'); 167,1 (C-2).

* As atribuições podem estar trocadas.

EM, m/z (%) 463 ([M+4]⁺, 26); 461 ([M+2]⁺, 100); 459 ([M]⁺, C₂₃H₂₃BrClNO₂, 83); 383 (31); 382 (63); 381 (45); 380 (93); 370 (61); 368 (58); 337 (37); 336 (56); 324 (34); 289 (44); 287 (16); 286 (53); 173 (27); 116 (16); 115 (37); 102 (21); 101 (19); 57 (31).

IES-EM C₂₃H₂₄BrClNO₂ [M+H]⁺: 460,0673, encontrado: 460,0604.

3.4.5.10. Dados referentes ao composto (E)-3-bromo-5-(2-clorobenzilideno)-1-isobutil-4-(5-metil-2-metoxifenil)pirrol-2(5H)-ona (7e)



Característica: sólido verde (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:3,5 v/v como eluente).

T_f: 123,0-124,2 °C.

CCD: R_f = 0,26 (hexano:diclorometano, 1:3,5 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3054; 2959; 2927; 2871; 2835; 1702; 1499; 1402; 1264; 1246; 1090; 1048; 1013; 806; 747; 737; 689.

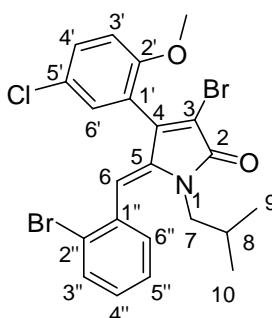
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,03 (d, 6H, $J_{9,8} = J_{10,8} = 6,6$, H-9 e H-10); 2,11 (s, 3H, Ar-CH₃); 2,14-2,27 (m, 1H, H-8); 3,56 (s, 3H, -OCH₃); 3,63 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,4$, $J_{7a,8} = 7,5$, H-7a); 3,69 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, $J_{7b,8} = 7,5$, H-7b); 6,35 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,4$, H-3'); 6,48 (s, 1H, H-6); 6,52 (ddd, 1H, $J_{5'',3''} = 1,2$, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8$, H-5''); 6,66 (dd, 1H, $J_{6'',4''} = 1,5$, $J_{6'',5''} = 7,8$, H-6''); 6,74 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,1$, H-6'); 6,84 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,4$, $J_{4',6'} = 2,1$, H-4'); 6,89 (ddd, 1H, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,8$, $J_{4'',6''} = 1,5$, H-4''); 7,19 (dd, 1H, $J_{3'',4''} = 7,8$, $J_{3'',5''} = 1,2$, H-3'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,3 (Ar-CH₃); 20,5 (C-9 e C-10); 28,5 (C-8); 47,8 (C-7); 55,3 (-OCH₃); 110,1 (C-3'); 112,8 (C-6); 120,4 (C-3); 121,0 (C-1'); 125,2 (C-5''); 128,1 (C-3''); 128,8 (C-4''); 129,3 (C-1''); 130,8 (C-4'); 130,9 (C-6'); 131,9 (C-6''); 132,7 (C-5'); 133,8 (C-2''); 139,2 (C-5); 142,7 (C-4); 154,2 (C-2'); 164,7 (C-2).

EM, m/z (%) 463 ([M+4]⁺, 16); 461 ([M+2]⁺, 72); 459 ([M]⁺, C₂₃H₂₃BrClNO₂, 56); 383 (27); 382 (52); 381 (40); 380 (71); 370 (50); 368 (48); 338 (18); 336 (43); 324 (29); 287 (15); 286 (51); 202 (30); 115 (53); 102 (29); 101 (29); 57 (36); 41 (100).

IES-EM C₂₃H₂₄BrClNO₂ [M+H]⁺: 460,0673, encontrado: 460,0629.

3.4.5.11. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-5-(2-bromobenzilideno)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (6f)



Característica: cristais amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:2 v/v como eluente).

T_f: 162,7-164,2 °C.

CCD: R_f = 0,22 (hexano:diclorometano, 1:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3058; 2959; 2871; 1706; 1643; 1486; 1463; 1281; 1251; 1026; 919; 811; 755; 670.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,52 (d, 3H, J_{9,8} = 6,9, H-9); 0,54 (d, 3H, J_{10,8} = 6,9, H-10); 1,36-1,50 (m, 1H, H-8); 3,35 (dd, 1H, J_{7a,7b} = 14,1, J_{7a,8} = 7,5, H-7a); 3,42 (dd, 1H, J_{7b,7a} = 14,1, J_{7b,8} = 7,5, H-7b); 3,83 (s, 3H, -OCH₃); 5,98 (s, 1H, H-6); 6,96 (d, 1H, J_{3',4'} = 8,7, H-3'); 7,20 (ddd, 1H, J_{5'',3''} = 2,4, J_{5'',4''} = 6,9, J_{5'',6''} = 8,1, H-5''); 7,29 (d, 1H, J_{6',4'} = 2,7, H-6'); 7,27-7,36 (m, 2H, H-3'' e H-4''); 7,41 (dd, 1H, J_{3',4'} = 8,7, J_{3',6'} = 2,7, H-4'); 7,59 (dd, 1H, J_{6'',4''} = 1,2, J_{6'',5''} = 8,1, H-6'').

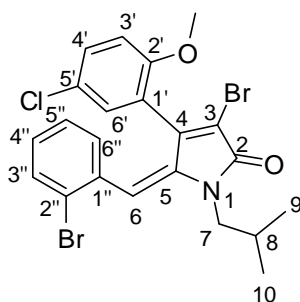
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 19,7 (C-9); 19,9 (C-10); 28,0 (C-8); 49,5 (C-7); 56,3 (-OCH₃); 113,0 (C-3'); 114,4 (C-6); 116,8 (C-3); 121,2 (C-1'); 124,5 (C-2''); 125,6 (C-5'); 127,0 (C-4'')*; 129,9 (C-5''); 131,0 (C-4'); 131,0 (C-6')*; 131,7 (C-3'')*; 132,7 (C-6''); 135,3 (C-1''); 138,8 (C-5); 145,2 (C-4); 155,9 (C-2'); 166,7 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 529 ([M+6]⁺, 9); 527 ([M+4]⁺, 53); 525 ([M+2]⁺, 70); 523 ([M]⁺, C₂₂H₂₀Br₂CINO₂, 31); 446 (27); 404 (23); 403 (36); 402 (59); 401 (30); 400 (42); 390 (54); 388 (42); 309 (42); 306 (47); 189 (15); 102 (21); 101 (19); 57 (24); 55 (23).

IES-EM C₂₂H₂₁Br₂CINO₂ [M+H]⁺: 523,9622, encontrado: 523,9599.

3.4.5.12. Dados referentes ao composto (E)-3-bromo-5-(2-bromobenzilideno)-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1-isobutilpirrol-2(5H)-ona (7f)



Característica: sólido verde (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:2 v/v como eluente).

T_f: 140,7-142,4 °C.

CCD: R_f = 0,16 (hexano:diclorometano, 1:2 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3061; 2959; 2929; 2872; 1699; 1628; 1485; 1462; 1399; 1261; 1245; 1088; 1024; 912; 742; 710; 668.

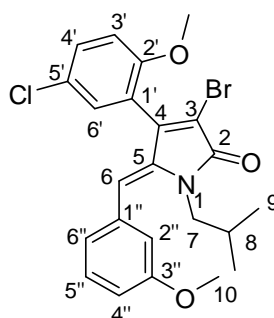
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,03 (d, 6H, $J_{9,8} = J_{10,8} = 6,6$, H-9 e H-10); 2,22 (m, 1H, H-8); 3,58 (s, 3H, -OCH₃); 3,67 (d, 2H, $J_{7,8} = 7,5$, H-7); 6,36 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 6,46 (s, 1H, H-6); 6,63-6,73 (m, 2H, H-5'' e H-6''); 6,84-6,89 (m, 1H, H-4''); 6,98 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,02 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,42 (dd, 1H, $J_{3'',4''} = 7,5$, $J_{3'',5''} = 1,2$, H-3'').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,6 (C-9 e C-10); 28,5 (C-8); 47,9 (C-7); 55,8 (-OCH₃); 111,4 (C-3'); 115,1 (C-6); 121,2 (C-3); 122,9 (C-1'); 124,4 (C-2''); 125,1 (C-5'); 125,9 (C-6''); 129,3 (C-4''); 130,0 (C-4'); 130,2 (C-6'); 131,6 (C-3''); 131,9 (C-5''); 134,2 (C-1''); 138,7 (C-5); 141,2 (C-4); 154,8 (C-2'); 164,4 (C-2).

EM, m/z (%) 529 ([M+6]⁺, 15); 527 ([M+4]⁺, 70); 525 ([M+2]⁺, 99); 523 ([M]⁺, C₂₂H₂₀Br₂ClNO₂, 43); 446 (36); 404 (28); 403 (52); 402 (76); 400 (54); 392 (19); 391 (16); 390 (71); 389 (16); 388 (57); 356 (25); 354 (20); 309 (58); 306 (58); 102 (23); 101 (26); 57 (25); 41 (100).

IES-EM C₂₂H₂₁Br₂ClNO₂ [M+H]⁺: 523,9622, encontrado: 523,9576.

3.4.5.13. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1-isobutil-5-(3-metoxibenzilideno)pirrol-2(5H)-ona (6g)



Característica: sólido amorfo verde claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:6 v/v como eluente).

CCD: $R_f = 0,22$ (hexano:diclorometano, 1:6 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3066; 3002; 2957; 2871; 2838; 1702; 1595; 1485; 1459; 1272; 1250; 1158; 1046; 920; 812; 700; 643.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,53 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,6$, H-9); 0,55 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,6$, H-10); 1,41-1,55 (m, 1H, H-8); 3,52 (d, 2H, $J_{7,8} = 7,5$, H-7); 3,81 (s, 3H, -OCH₃); 3,82 (s, 3H, -OCH₃); 6,01 (s, 1H, H-6); 6,77-6,78 (m, 1H, H-2''); 6,83-6,88 (m, 2H, H-4'' e H-6''); 6,96 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,23 (d, 1H, $J_{6',4'} = 3,0$, H-6'); 7,27 (dd, 1H, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 8,0$, H-5''); 7,40 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 3,0$, H-4').

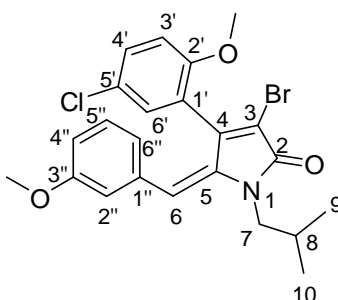
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 16,7 (C-9); 19,7 (C-10); 28,0 (C-8); 49,7 (C-7); 55,6 (-OCH₃); 56,3 (-OCH₃); 113,0 (C-3'); 114,0 (C-4''); 115,0 (C-2''); 115,3 (C-6); 116,6 (C-3); 121,6 (C-1'); 122,1 (C-6''); 125,6 (C-5'); 129,4 (C-5''); 130,8 (C-4'); 130,8 (C-6'); 135,9 (C-1''); 138,7 (C-5); 145,4 (C-4); 155,9 (C-2'); 159,5 (C-3''); 166,9 (C-2).

* As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 479 ([M+4]⁺, 26); 477 ([M+2]⁺, 100); 475 ([M]⁺, C₂₃H₂₃BrClNO₃, 78); 398 (16); 396 (43); 356 (17); 355 (16); 354 (37); 353 (36); 352 (50); 342 (24); 341 (21); 340 (88); 338 (24); 309 (25); 149 (14); 148 (15); 121 (23); 102 (18); 57 (24); 55 (21).

IES-EM C₂₃H₂₄BrClNO₃ [M+H]⁺: 476,0623, encontrado: 476,0547.

3.4.5.14. Dados referentes ao composto (Z)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1-isobutil-5-(3-metoxibenzilideno)pirrol-2(5H)-ona (7g)



Característica: sólido verde fluorescente (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se hexano:DCM 1:6 v/v como eluente).

T_f: 92,4-94,7 °C.

CCD: R_f = 0,15 (hexano:diclorometano, 1:6 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3002; 2958; 2933; 2872; 2835; 1698; 1576; 1486; 1462; 1399; 1325; 1268; 1158; 1088; 863; 733.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,00 (d, 3H, $J_{9,8} = 6,6$, H-9); 1,01 (d, 3H, $J_{10,8} = 6,6$, H-10); 2,08-2,22 (m, 1H, H-8); 3,56 (s, 3H, -OCH₃); 3,60 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 14,0$, $J_{7a,8} = 7,0$, H-7a); 3,61 (s, 3H, -OCH₃); 3,68 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 14,0$, $J_{7b,8} = 7,0$, H-7b); 6,38 (m, 1H, H-2''); 6,44 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 6,50-6,56 (m, 2H, H-4' e H-6''); 6,56 (s, 1H, H-6); 6,90 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 6,91 (dd, 1H, $J_{5',4''} = J_{5',6''} = 8,0$, H-5''); 7,03 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,4 (C-9); 20,5 (C-10); 28,5 (C-8); 47,8 (C-7); 55,2 (-OCH₃); 55,7 (-OCH₃); 111,6 (C-3'); 113,6 (C-4''); 114,9 (C-2''); 115,7 (C-6); 121,0 (C-3); 121,9 (C-6''); 123,4 (C-5'); 125,1 (C-1'); 128,4 (C-6''); 129,8 (C-4'); 130,1 (C-5''); 135,0 (C-1''); 138,4 (C-5); 141,2 (C-4); 155,0 (C-2''); 158,8 (C-3''); 164,4 (C-2). * As atribuições podem estar invertidas. ** As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 479 ([M+4]⁺, 26); 477 ([M+2]⁺, 100); 475 ([M]⁺, C₂₃H₂₃BrClNO₃, 76); 434 (16); 421 (16); 398 (15); 396 (40); 354 (35); 353 (34); 352 (49); 341 (20); 340 (85); 338 (25); 309 (26); 57 (23); 43 (25); 41 (88).

IES-EM C₂₃H₂₄BrClNO₃ [M+H]⁺: 476,0623, encontrado: 476,0583.

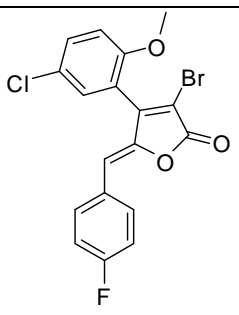
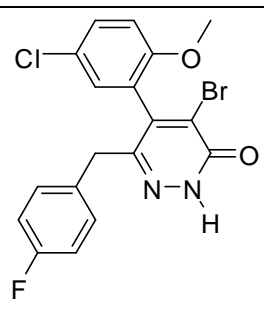
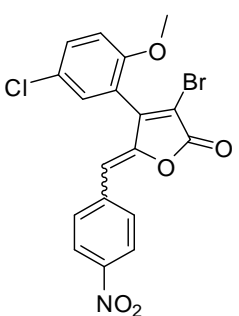
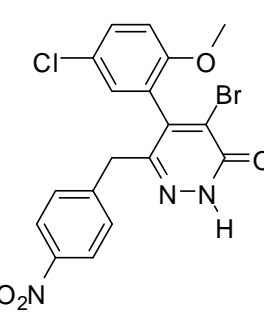
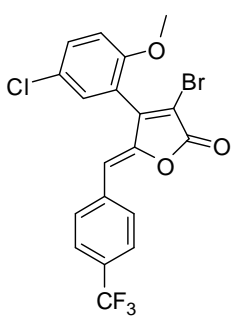
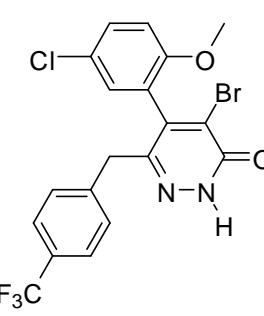
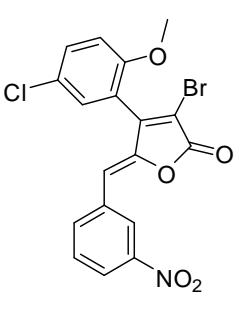
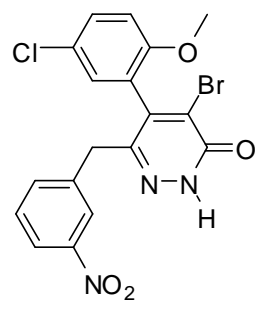
3.4.6. Síntese da 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(4-fluorobenzil) piridazin-3(2H)-ona (8h)

Em um balão bitubulado de fundo redondo (25 mL) conectado a um condensador, a (*Z*)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-fluorobenzilideno) furan-2(5*H*)-ona (**4h**) (0,223 g; 5,44 mmol) foi solubilizada na mistura de solventes diclorometano:etanol 1:1 v/v (13 mL). A seguir a hidrazina monoidratada (0,109 mg; 2,18 mmol) solubilizada em diclorometano:etanol 1:1 v/v (2 mL) foi adicionada gota à gota ao sistema. A mistura reacional foi mantida a 60 °C por 3 horas.

À mistura reacional adicionou-se 50 mL de DCM e a seguir a mesma foi lavada com água (2 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida para obtenção do material bruto da reação, que foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando a mistura de solvente hexano:acetato de etila 1:1 v/v para obtenção do composto **8h** (82% de rendimento; 191 mg; 0,45 mmol).

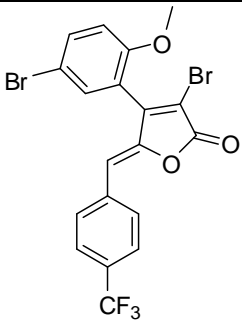
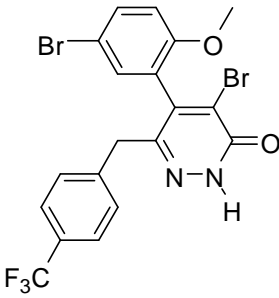
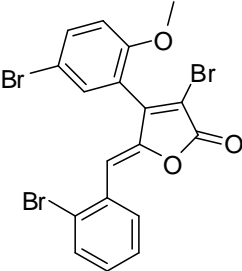
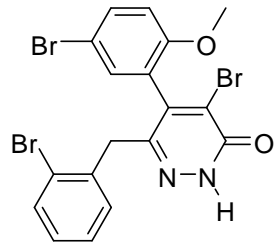
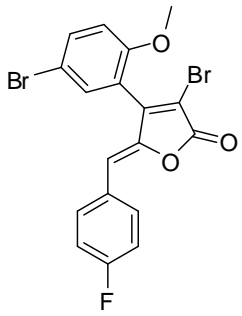
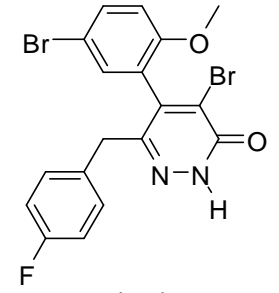
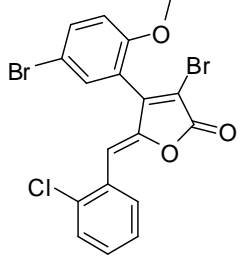
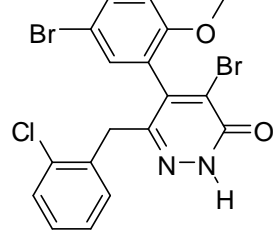
Os compostos **8i-8q** foram preparados, a partir dos análogos aos rubrolídeos **4i-4q**, utilizando-se procedimento experimental similar ao descrito para a síntese do composto **8h**. A Tabela 5 apresenta as quantidades de reagentes e solventes utilizadas nessas reações.

Tabela 5 - Dados referentes ao preparo das piridazin-3(2H)-onas **8h-8q**

Análogo aos rubrolídeos (g; mmol)/ DCM:MeOH	Hidrazina monoidratada (g; mmol)/ DCM:MeOH	Piridazin-3(2H)-ona	Rendimento (mg; %)
 (0,223; 0,54)/ 13 mL	0,109; 2,18 (2 mL)	 (8h)	191; 82
 (0,085; 0,19)/ 5 mL	0,039; 0,78 (1,0 mL)	 (8i)	39; 44
 (0,130; 0,28)/ 7 mL	0,057; 1,13 (1,5 mL)	 (8j)	100; 75
 (0,120; 0,27)/ 7 mL	0,055; 1,10 (1,5 mL)	 (8k)	83; 67

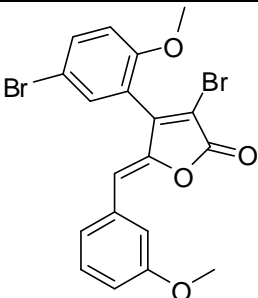
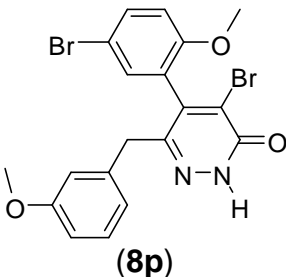
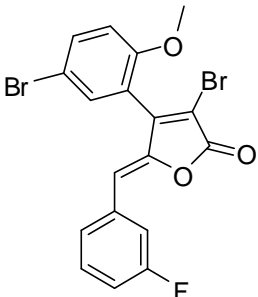
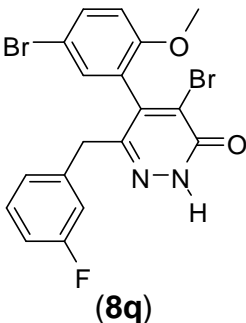
Continua...

Tabela 5 - Cont.

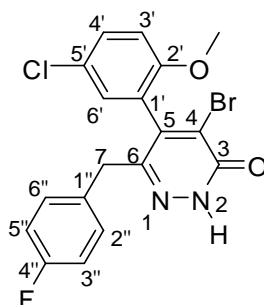
Análogo aos rubrolídeos (g; mmol)/ DCM:MeOH	Hidrazina monoidratada (g; mmol)/ DCM:MeOH	Piridazin-3(2H)-ona	Rendimento (mg; %)
 (0,150; 0,30)/ 8 mL	0,060; 1,19 (1,0 mL)	 (8l)	153; 70
 (0,265; 0,51)/ 13 mL	0,102; 2,06 (3,0 mL)	 (8m)	190; 70
 (0,185; 0,41)/ 10 mL	0,081; 1,63 (2,5 mL)	 (8n)	118; 63
 (0,185; 0,39)/ 10 mL	0,079; 1,57 (2,5 mL)	 (8o)	145; 76

Continua...

Tabela 5 - Cont.

Análogo aos rubrolídeos (g; mmol)/ DCM:MeOH	Hidrazina monoidratada (g; mmol)/ DCM:MeOH	Piridazin-3(2H)-ona	Rendimento (mg; %)
 (0,188; 0,40)/ 10 mL	0,081; 1,61	 (8p)	157; 81
 (0,156; 0,34)/ 8,5 mL	0,068; 1,37	 (8q)	141; 88

3.4.6.1. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(4-fluorobenzil)piridazin-3(2H)-ona (8h)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1 v/v).

T_f: 83,8-85,4 °C.

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

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3380-3120 (N-H); 2937; 2840; 1693; 1604; 1508; 1487; 1390; 1253; 1218; 1019; 836; 653; 813; 735; 497.

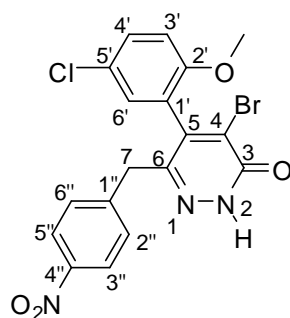
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,01 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, H-7a); 3,19 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, H-7b); 3,76 (s, 3H, -OCH₃); 4,95 (s largo, 1H, NH); 6,81-6,95 (m, 5H, H-3', H-2'', H-3'', H-5'' e H-6''); 7,36 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6''} = 2,7$, H-4'); 7,43 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 40,8 (C-7); 56,1 (-OCH₃); 93,3 (C-4); 112,7 (C-3'); 115,2 (d, $J_{C-F} = 21,0$, C-3'' e C-5''); 120,2 (C-1'); 121,6 (C-6); 126,0 (C-5'); 129,8 (d, $J_{C-F} = 3,3$, C-1''); 130,1 (C-6'); 131,2 (C-4'); 131,7 (d, $J_{C-F} = 7,9$, C-2'' e C-6''); 151,3 (C-5); 154,9 (C-2'); 162,2 (d, $J_{C-F} = 244,3$, C-4''); 165,2 (C-3).

EM, m/z (%) 426 ([M+4]⁺, 9); 424 ([M+2]⁺, 36); 422 ([M]⁺, C₁₈H₁₃BrClFN₂O₂, 27); 393 (22); 391 (20); 343 (44); 297 (19); 207 (26); 110 (22); 109 (100); 107 (14); 101 (17); 96 (17); 83 (45); 75 (31); 63 (29); 57 (19); 51 (23).

IES-EM C₁₈H₁₄BrClFN₂O₂ [M+H]⁺: 422,9906, encontrado: 422,9911.

3.4.6.2. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(4-nitrobenzil)piridazin-3(2H)-ona (8i)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:diclorometano 1:1,5 v/v).

T_f: 173,8-175,7 °C.

CCD: R_f = 0,21 (hexano:diclorometano, 1:1,5 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3197; 3110; 3073; 2923; 2850; 1650; 1517; 1489; 1345; 1253; 1022; 860; 813; 738.

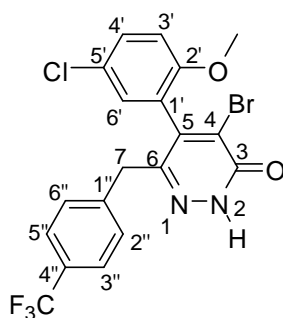
RMN de ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO) δ 3,34 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, H-7a); 3,53 (d, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, H-7b); 3,79 (s, 3H, -OCH₃); 6,15 (s, 1H, NH); 7,11 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,36 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$, H-2'' e H-6''); 7,46 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,67 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 8,01 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$, H-3'' e H-5'').

RMN de ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂CO) δ 41,6 (C-7); 55,2 (-OCH₃); 93,8 (C-4); 113,2 (C-3'); 120,6 (C-1'); 121,5 (C-6); 122,6 (C-3'' e C-5''); 124,5 (C-5'); 128,9 (C-6'); 130,8 (C-4'); 131,7 (C-2'' e C-6''); 143,1 (C-1''); 147,1 (C-4''); 149,6 (C-5); 155,4 (C-2'); 158,1 (C-3).

EM, m/z (%) 453 ([M+4]⁺, 14); 451 ([M+2]⁺, 57); 449 ([M]⁺, C₁₈H₁₃BrClN₃O₄, 41); 421 (12); 420 (26); 419 (11); 418 (17); 372 (40); 370 (100); 326 (10); 189 (20); 106 (22); 89 (17).

IES-EM C₁₈H₁₄BrClN₃O₄ [M+H]⁺: 449,9851, encontrado: 449,9852.

3.4.6.3. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(4-trifluorometilbenzil)piridazin-3(2H)-ona (8j)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1 v/v).

T_f: 129,1-130,7 °C.

CCD: R_f = 0,27 (hexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3321; 2937; 2850; 1706; 1622; 1488; 1325; 1252; 1163; 1115; 1066; 1020; 835; 812; 656.

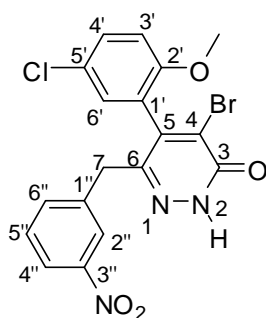
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,15 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, H-7a); 3,23 (d, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, H-7b); 3,71 (s, 3H, -OCH₃); 4,94 (s, 1H, NH); 6,81 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 7,08 (d, 1H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 7,8$, H-2'' e H-6''); 7,34 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,39 (d, 1H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 7,8$, H-3'' e H-5''); 7,43 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 41,4 (C-7); 55,9 (-OCH₃); 93,0 (C-4); 112,6 (C-3'); 120,3 (C-1'); 121,4 (C-6); 124,3 (q, $J_{C-F} = 270,9$, -CF₃); 125,0 (q, $J_{C-F} = 3,7$, C-3'' e C-5''); 126,0 (C-5'); 129,5 (q, $J_{C-F} = 32,1$, C-4''); 130,0 (C-6'); 131,0 (C-2'' e C-6''); 131,3 (C-4'); 138,2 (C-1''); 151,2 (C-5); 154,8 (C-2'); 155,2 (C-3).

EM, m/z (%) 476 ([M+4]⁺, 11); 474 ([M+2]⁺, 66); 472 ([M]⁺, C₁₉H₁₃BrClF₃N₂O₂, 49); 443 (40); 441 (34); 395 (30); 394 (23); 393 (100); 189 (19); 159 (59); 127 (19); 125 (20); 119 (15); 114 (20); 109 (49); 102 (21); 89 (23); 69 (51); 63 (28); 51 (31).

IES-EM C₁₉H₁₄BrClF₃N₂O₂ [M+H]⁺: 472,9874, encontrado: 472,9878.

3.4.6.4. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-cloro-2-metoxifenil)-6-(3-nitrobenzil)piridazin-3(2H)-ona (8k)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1,5 v/v).

T_f: 214,2-215,8 °C.

CCD: R_f = 0,21 (hexano:acetato de etila, 1:1,5 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3342 (N-H); 2922; 2850; 1699; 1523; 1485; 1394; 1347; 1245; 1093; 1018; 895; 817; 698; 653; 639.

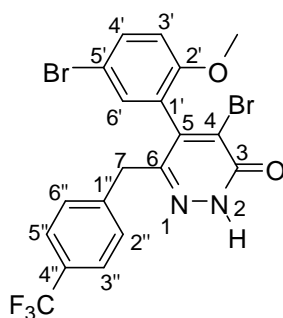
RMN de ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO) δ 3,39 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, H-7a); 3,49 (d, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, H-7b); 3,77 (s, 3H, -OCH₃); 6,18 (s, 1H, NH); 7,08 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 7,40 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,44 (dd, 1H, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 8,1$, H-5''); 7,57-7,60 (m, 1H, H-6''); 7,68 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'); 7,93-7,94 (m, 1H, H-2''); 7,98-8,01 (m, 1H, H-4'').

RMN de ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂CO) δ 41,5 (C-7); 55,3 (-OCH₃); 93,7 (C-4); 113,2 (C-3'); 120,6 (C-1'); 121,7 (C-6); 121,8 (C-4''); 124,6 (C-5'); 125,5 (C-2''); 128,8 (C-6'); 128,9 (C-5''); 130,8 (C-4'); 137,1 (C-1''); 137,2 (C-6''); 147,8 (C-3''); 149,6 (C-5); 155,3 (C-2'); 158,1 (C-3).

EM, m/z (%) 453 ([M+4]⁺, 23); 451 ([M+2]⁺, 94); 449 ([M]⁺, C₁₈H₁₃BrClN₃O₄, 69); 434 (16); 420 (37); 418 (29); 416 (19); 414 (20); 404 (42); 402 (32); 377 (24); 375 (19); 372 (40); 371 (23); 370 (100); 324 (40); 189 (35); 136 (24); 90 (30); 89 (30).

IES-EM C₁₈H₁₄BrClN₃O₄ [M+H]⁺: 449,9851, encontrado: 449,9843.

3.4.6.5. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(4-trifluorometilbenzil)piridazin-3(2H)-ona (8I)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1 v/v).

T_f: 129,4-130,4 °C.

CCD: R_f = 0,26 (hexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3329 (N-H); 2936; 2844; 1702; 1485; 1323; 1161; 1112; 1064; 1019; 834; 809; 737; 650; 621.

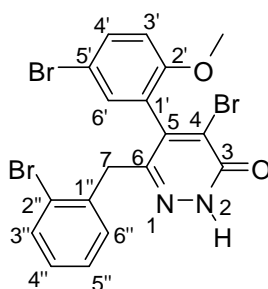
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,15 (d, 1H, $J_{7a,7b}$ = 14,1, H-7a); 3,22 (d, 1H, $J_{7b,7a}$ = 14,1, H-7b); 3,72 (s, 3H, -OCH₃); 4,82 (s, 1H, NH); 6,76 (d, 1H, $J_{3',4'}$ = 9,0, H-3'); 7,09 (d, 2H, $J_{2'',3''}$ = $J_{6'',5''}$ = 8,1, H-2'' e H-6''); 7,40 (d, 2H, $J_{3'',2''}$ = $J_{5'',6''}$ = 8,1, H-3'' e H-5''); 7,47 (dd, 1H, $J_{4',3'}$ = 9,0, $J_{4',6'}$ = 2,4, H-4'); 7,51 (d, 1H, $J_{6',4'}$ = 2,4, H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 41,6 (C-7); 56,0 (-OCH₃); 92,9 (C-4); 113,1 (C-3'); 113,3 (C-5'); 120,5 (C-1'); 121,9 (C-6); 124,3 (q, $J_{C,F}$ = 270,3, -CF₃); 125,1 (q, $J_{C,F}$ = 3,7, C-3'' e C-5''); 129,6 ($J_{C,F}$ = 32,3, C-4''); 130,5 (C-2'' e C-6''); 132,9 (C-6'); 134,2 (C-4'); 138,3 (C-1''); 151,1 (C-5); 155,3 (C-2'); 165,0 (C-3).

EM, m/z (%) 520 ([M+4]⁺, 37); 518 ([M+2]⁺, 88); 516 ([M]⁺, C₁₉H₁₃Br₂F₃N₂O₂, 45); 489 (20); 487 (47); 485 (23); 439 (100); 437 (94); 286 (19); 189 (24); 159 (54); 109 (39); 63 (22).

IES-EM C₁₉H₁₄Br₂F₃N₂O₂ [M+H]⁺: 516,9369, encontrado: 516,9369.

3.4.6.6. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(2-bromobenzil)piridazin-3(2H)-ona (8m)



Característica: sólido amarelo (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1 v/v).

T_f: 278,5d

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

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3331 (N-H); 3069; 2935; 2840; 1699; 1484; 1388; 1264; 1135; 1055; 1023; 748; 723; 617.

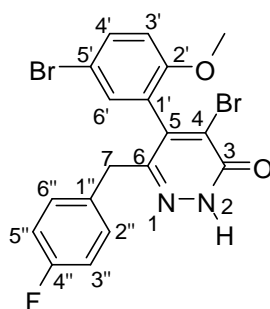
RMN de ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO) δ 3,41 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,7$, H-7a); 3,48 (d, 1H, $J_{7b,7a} = 14,7$, H-7b); 3,59 (s, 3H, -OCH₃); 5,79 (s, 1H, NH); 6,96 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 7,06 (ddd, 1H, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,8$, $J_{4'',6''} = 1,5$, H-4''); 7,16 (ddd, 1H, $J_{5'',3''} = 1,5$, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8$, H-5''); 7,23 (dd, 1H, $J_{6'',4''} = 1,5$, $J_{6'',5''} = 7,8$, H-6''); 7,43 (dd, 1H, $J_{3'',4''} = 7,8$, $J_{3'',5''} = 1,5$, H-3''); 7,52 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4'); 7,79 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂CO) δ 39,0 (C-7); 55,2 (-OCH₃); 93,2 (C-4); 111,6 (C-5'); 113,4 (C-3'); 120,1 (C-1'); 122,5 (C-6); 125,7 (C-2''); 127,3 (C-5''); 128,5 (C-4''); 131,1 (C-6''); 131,7 (C-6'); 132,6 (C-3''); 133,5 (C-4'); 134,7 (C-1''); 150,3 (C-5); 156,2 (C-2'); 163,8 (C-3).

EM, m/z (%) 532 ([M+6]⁺, 2); 530 ([M+4]⁺, 6); 528 ([M+2]⁺, 6); 526 ([M]⁺, C₁₈H₁₃Br₃N₂O₂, 2); 451 (49); 449 (100); 447 (48); 355 (24); 353 (25); 189 (22); 177 (17); 94 (19); 90 (21); 89 (22).

IES-EM C₁₈H₁₄Br₃N₂O₂ [M+H]⁺: 526,8600, encontrado: 526,8603.

3.4.6.7. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(4-fluorobenzil)piridazin-3(2H)-ona (8n)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1 v/v).

T_f: 85,3-86,9 °C.

CCD: R_f = 0,24 (hexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3323; 3205; 2937; 2840; 1696; 1509; 1486; 1385; 1254; 1220; 1023; 835; 736; 647; 621.

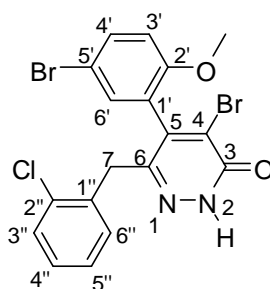
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,01 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, H-7a); 3,19 (d, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, H-7b); 3,71 (s, 3H, -OCH₃); 4,96 (s, 1H, -NH); 6,81 (d, 1H, $J_{3',4'} = 9,0$, H-3'); 6,85-6,96 (m, 4H, H-2'', H-3'', H-5'' e H-6''); 7,50 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 9,0$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4'); 7,54 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 40,8 (C-7); 56,0 (-OCH₃); 93,3 (C-4); 113,2 (C-3' e C-5'); 115,1 (d, $J_{C,F} = 21,0$, C-3'' e C-5''); 120,2 (C-1'); 122,0 (C-6); 129,8 (d, $J_{C,F} = 3,3$, C-1''); 131,7 (d, $J_{C,F} = 7,9$, C-2'' e C-6''); 132,9 (C-6'); 134,1 (C-4'); 151,3 (C-5); 155,4 (C-2'); 162,2 (d, $J_{C,F} = 244,4$, C-4''); 165,1 (C-3).

EM, m/z (%) 470 ([M+4]⁺, 18); 468 ([M+2]⁺, 44); 466 ([M]⁺, C₁₈H₁₃Br₂FN₂O₂, 20); 437 (23); 389 (36); 387 (33); 340 (20); 207 (30); 109 (100); 83 (31); 63 (23).

IES-EM C₁₈H₁₄Br₂FN₂O₂ [M+H]⁺: 466,9401, encontrado: 466,9407.

3.4.6.8. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(2-clorobenzil)piridazin-3(2H)-ona (8o)



Característica: sólido amarelo claro (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1 v/v).

T_f: 266,6d

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

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3457; 3337; 3280; 3071; 2936; 2840; 1699; 1484; 1389; 1266; 1236; 1057; 1021; 803; 755; 749.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,22 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,4$, H-7a); 3,38 (d, 1H, $J_{7b,7a} = 14,4$, H-7b); 3,77 (s, 3H, -OCH₃); 4,86 (s largo, 1H, NH); 6,79 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 7,07-7,18 (m, 3H, H-4'', H-5'' e H-6''); 7,24-7,27 (m, 1H, H-3''); 7,46 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,4$, H-4'); 7,51 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,4$, H-6').

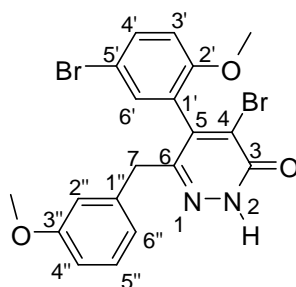
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 38,4 (C-7); 56,1 (-OCH₃); 92,5 (C-4); 113,0 (C-3'); 113,2 (C-5'); 120,4 (C-1'); 122,0 (C-6); 126,8 (C-6'')*; 128,7 (C-5'')*; 129,6 (C-4''); 131,9 (C-3'')*; 132,3 (C-2'')**; 132,9 (C-6'); 134,1 (C-4'); 135,0 (C-1'')**; 151,7 (C-5); 155,4 (C-2'); 165,2 (C-3). * As atribuições podem estar invertidas.

** As atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%) 488 ([M+6]⁺, 1); 486 ([M+4]⁺, 7); 484 ([M+2]⁺, 9); 482 ([M]⁺, C₁₈H₁₃Br₂ClN₂O₂); 451 (45); 449 (100); 447 (53); 353 (22); 189 (25); 178 (20); 125 (30); 102 (23); 101 (25); 99 (18); 94 (24); 89 (34); 77 (13); 75 (22); 63 (28).

IES-EM C₁₈H₁₄Br₂ClN₂O₂ [M+H]⁺: 482,9105, encontrado: 482,9106.

3.4.6.9. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(3-metoxibenzil)piridazin-3(2H)-ona (8p)



Característica: sólido amorfo amarelo (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1 v/v).

CCD: R_f = 0,24 (hexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$ 3327 (N-H); 3003; 2933; 2841; 1704; 1589; 1486; 1385; 1260; 1154; 1028; 818; 736; 700.

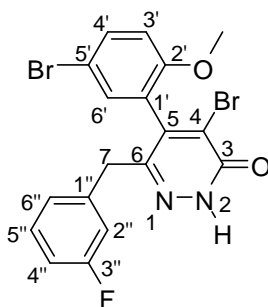
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 2,99 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, H-7a); 3,19 (d, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, H-7b); 3,73 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 3,78 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 4,77 (s, 1H, NH); 6,52-6,54 (m, 1H, H-2''); 6,57-6,59 (m, 1H, H-6'')*; 6,71-6,74 (m, 1H, H-4'')*; 6,81-6,84 (m, 1H, H-3'); 7,10 (dd, 1H, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8$, H-5''); 7,49 (dd, 1H, $J_{4',6'} = 7,8$, $J_{4',3'} = 2,7$, H-4'); 7,51 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6'). * As atribuições podem estar invertidas.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 41,9 (C-7); 55,4 ($-\text{OCH}_3$); 56,2 ($-\text{OCH}_3$); 93,2 (C-4); 112,8 (C-4''); 113,1 (C-3' e C-5'); 115,9 (C-2''); 120,1 (C-1'); 122,1 (C-6); 122,4 (C-6''); 129,4 (C-5''); 132,9 (C-6'); 134,0 (C-4'); 135,6 (C-1''); 151,4 (C-5); 155,4 (C-2'); 159,6 (C-3''); 164,9 (C-3).

EM, m/z (%) 482 ($[\text{M}+4]^+$, 50); 480 ($[\text{M}+2]^+$, 91); 478 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3$, 53); 451 (31); 449 (58); 447 (34); 401 (37); 399 (38); 343 (48); 341 (100); 339 (49); 212 (38); 205 (34); 153 (38); 122 (33); 121 (64); 103 (24); 102 (46); 91 (72); 89 (44); 88 (42); 78 (59); 77 (70); 65 (51); 63 (54).

IES-EM $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 478,9600, encontrado: 478,9602.

3.4.6.10. Dados referentes ao composto 4-bromo-5-(5-bromo-2-metoxifenil)-6-(3-fluorobenzil)piridazin-3(2H)-ona (8q)



Característica: sólido branco (purificado por cromatografia em coluna de sílica gel empregando-se como eluente hexano:acetato de etila 1:1 v/v).

T_f: 75,6-76,6 °C.

CCD: R_f = 0,25 (hexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3311; 3274; 3189; 2961; 2937; 1704; 1587; 1485; 1450; 1382; 1250; 1138; 1021; 820; 736; 695; 620.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 3,05 (d, 1H, $J_{7a,7b} = 14,1$, H-7a); 3,18 (d, 1H, $J_{7b,7a} = 14,1$, H-7b); 3,78 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 4,79 (s, 1H, NH); 6,66-6,90 (m, 3H, H-

2'', H-4'' e H-6''); 6,83 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,7$, H-3'); 7,10-7,17 (m, 1H, H-5''); 7,50 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 8,7$, $J_{4',6'} = 2,7$, H-4'); 7,58 (d, 1H, $J_{6',4'} = 2,7$, H-6').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 41,5 (C-7); 56,0 ($-\text{OCH}_3$); 93,1 (C-4); 113,1 (C-3' e C-5'); 114,3 (d, $J_{\text{C,F}} = 20,8$, C-4'')*; 117,2 (d, $J_{\text{C,F}} = 21,4$, C-2'')*; 120,4 (C-1'); 122,0 (C-6); 125,8 (d, $J_{\text{C,F}} = 2,8$, C-6''); 129,8 (d, $J_{\text{C,F}} = 8,1$, C-5''); 132,8 (C-6'); 134,2 (C-4'); 136,5 (d, $J_{\text{C,F}} = 7,4$, C-1''); 151,0 (C-5); 155,4 (C-2'); 162,6 (d, $J_{\text{C,F}} = 244,4$, C-3''); 165,1 (C-3). * As atribuições podem estar invertidas.

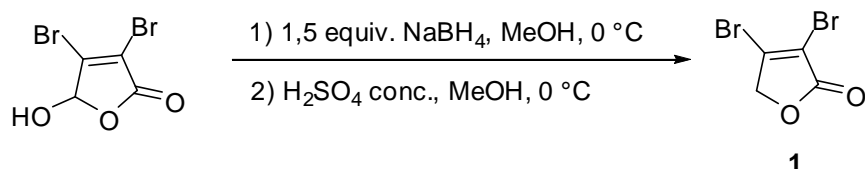
EM, m/z (%) 470 ($[\text{M}+4]^+$, 35); 468 ($[\text{M}+2]^+$, 76); 466 ($[\text{M}]^+$, $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{Br}_2\text{FN}_2\text{O}_2$, 34); 439 (45); 437 (88); 435 (43); 389 (52); 387 (50); 341 (23); 236 (31); 207 (39); 147 (32); 118 (25); 110 (22); 109 (100); 104 (21); 102 (22); 83 (32); 75 (26); 63 (28).

IES-EM $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{FN}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 466,9401, encontrado: 466,9404.

4. Resultados e discussão

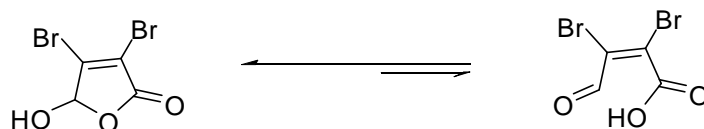
4.1. Síntese da lactona 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona

A primeira etapa do desenvolvimento deste trabalho consistiu na síntese da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona pela redução do ácido mucobrômico, disponível comercialmente. A solução metanólica de ácido mucobrômico foi tratada a 0 °C com 1,5 equivalente de NaBH₄ e a seguir com ácido sulfúrico concentrado em metanol. O produto bruto dessa reação foi recristalizado com hexano e éter obtendo-se a lactona **1** em 83% de rendimento (Esquema 6) (BELLINA *et al.*, 2001b).



Esquema 6 - Preparo da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona.

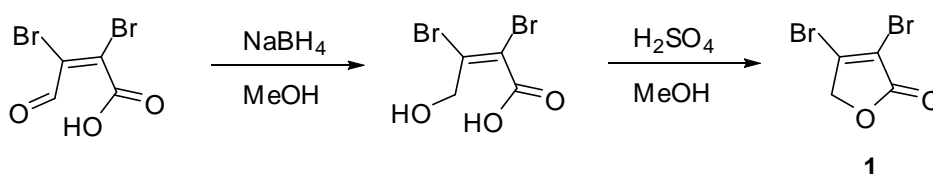
O ácido mucobrômico, que é uma molécula altamente funcionalizada, pode ser visto como um aldeído α,β -insaturado em equilíbrio com a forma γ -lactona (Esquema 7). Embora ele exista predominantemente na forma cíclica, o padrão de reatividade é mais bem explicitado na sua forma acíclica (CUNHA e OLIVEIRA, 2011; BELLINA e ROSSI, 2004b; VALENTE *et al.*, 1998; MOORE e KATON, 1978).



Esquema 7 - Equilíbrio entre a forma cíclica e acíclica do ácido mucobrômico.

A função aldeído da forma acíclica do ácido mucobrômico é seletivamente reduzida com boroidreto de sódio (CLAYDEN *et al.*, 2001). Após a acidificação do meio com ácido sulfúrico concentrado, o álcool anteriormente

gerado *in situ* participa da reação de ciclização intramolecular juntamente com o ácido carboxílico da mesma molécula (Esquema 8).



Esquema 8 - Redução do ácido mucobromico com NaBH₄ e H₂SO₄.

A confirmação da estrutura 1 foi feita por meio da análise dos espectros no IV, RMN de ¹H e de ¹³C e espectrometria de massas. O espectro no IV da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona apresentou uma banda de absorção forte em 1758 cm⁻¹ referente ao estiramento da ligação C=O (Figura 12). Também é possível observar uma banda em 1605 cm⁻¹ evidenciando a presença da ligação C=C.

No espectro de RMN de ¹H da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (Figura 13) é possível observar somente a presença de um simpleto em $\delta = 4,87$ referente aos hidrogênios metilênicos H-5.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 14) observam-se apenas quatro sinais que foram facilmente atribuídos. O sinal da carbonila é observado em $\delta = 166,8$. Os sinais de C-4 e C-3 são observados em $\delta = 143,7$ e 114,8, respectivamente, sendo o deslocamento químico de C-4 maior que o de C-3 por este carbono suportar uma carga positiva maior que C-3 devido à ressonância com a carbonila da lactona. Já o carbono C-5 é o mais blindado e encontra-se em $\delta = 74,4$.

No espectro de massas (Esquema 9) observa-se a presença dos íons [M]⁺ em $m/z = 240$, [M+2]⁺ em $m/z = 242$ e [M+4]⁺ em $m/z = 244$, com intensidades relativas de 11%, 30% e 15%, respectivamente. Esses sinais estão de acordo com a presença de dois átomos de bromo na molécula, devido às abundâncias relativas dos isótopos de ⁷⁹Br e ⁸¹Br. Além disso, é possível observar o sinal referente ao pico base em $m/z = 161$, que corresponde à perda do radical ⁷⁹Br do íon molecular, conforme representado no Esquema 9.

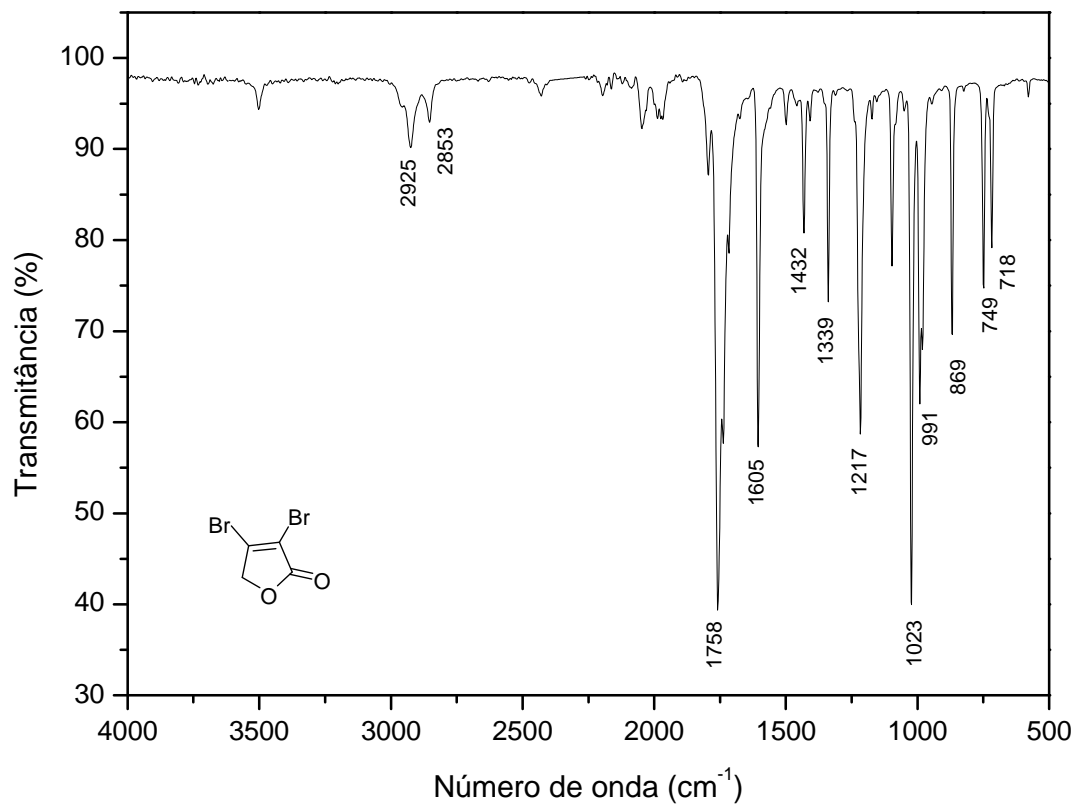


Figura 12 - Espectro no infravermelho (IV) da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona **1**.

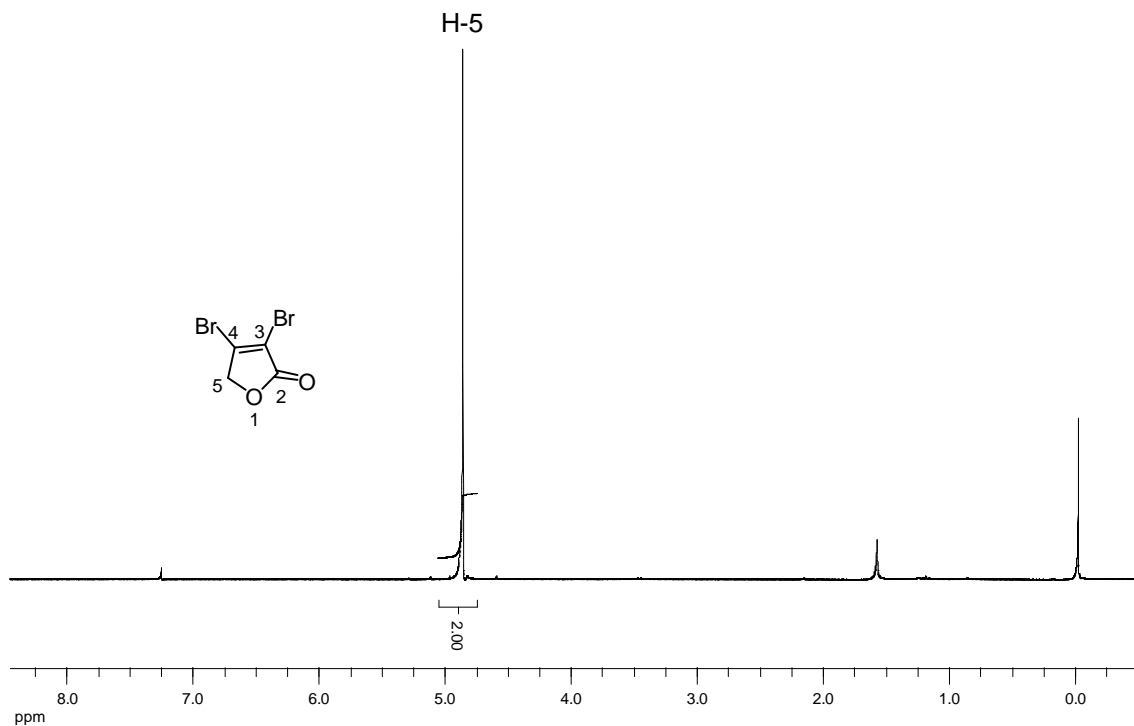


Figura 13 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto 1.

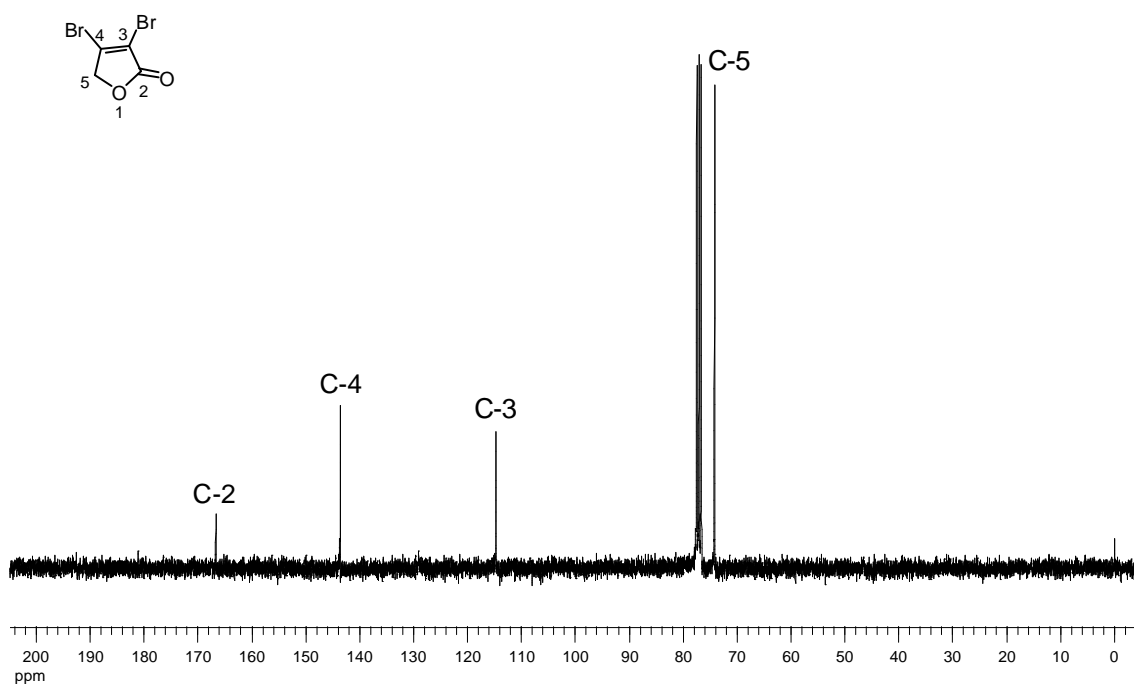
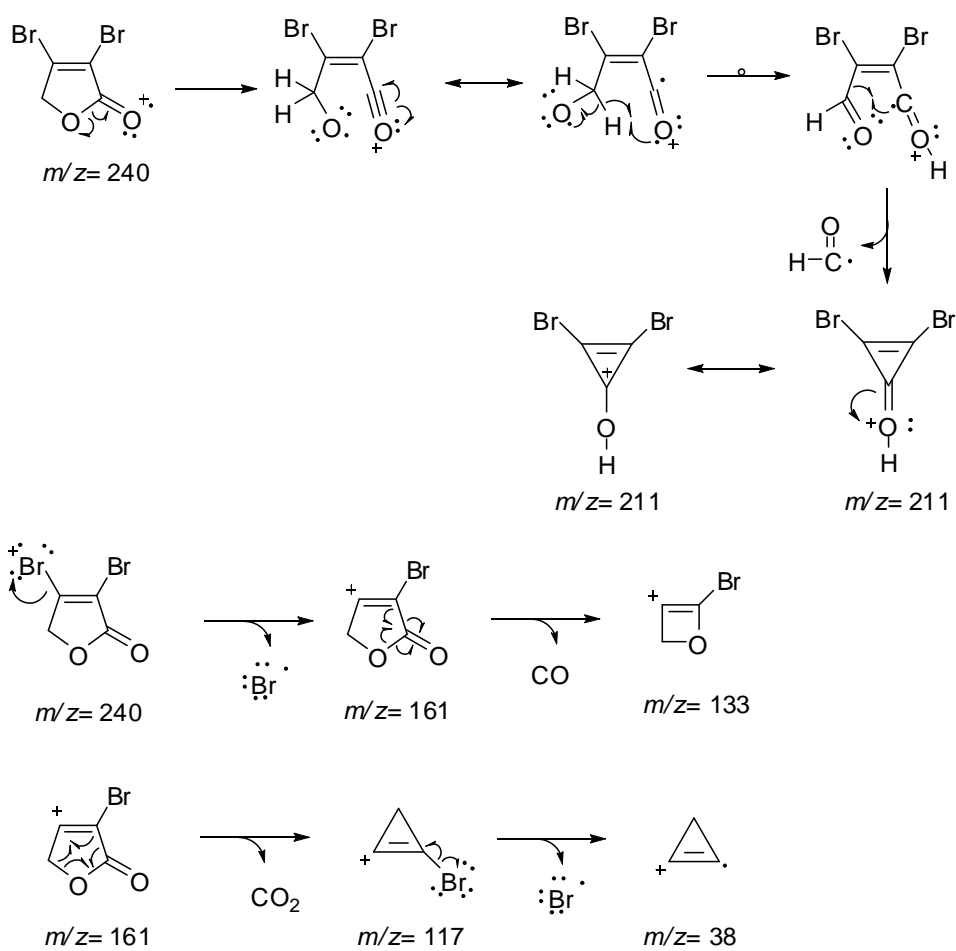
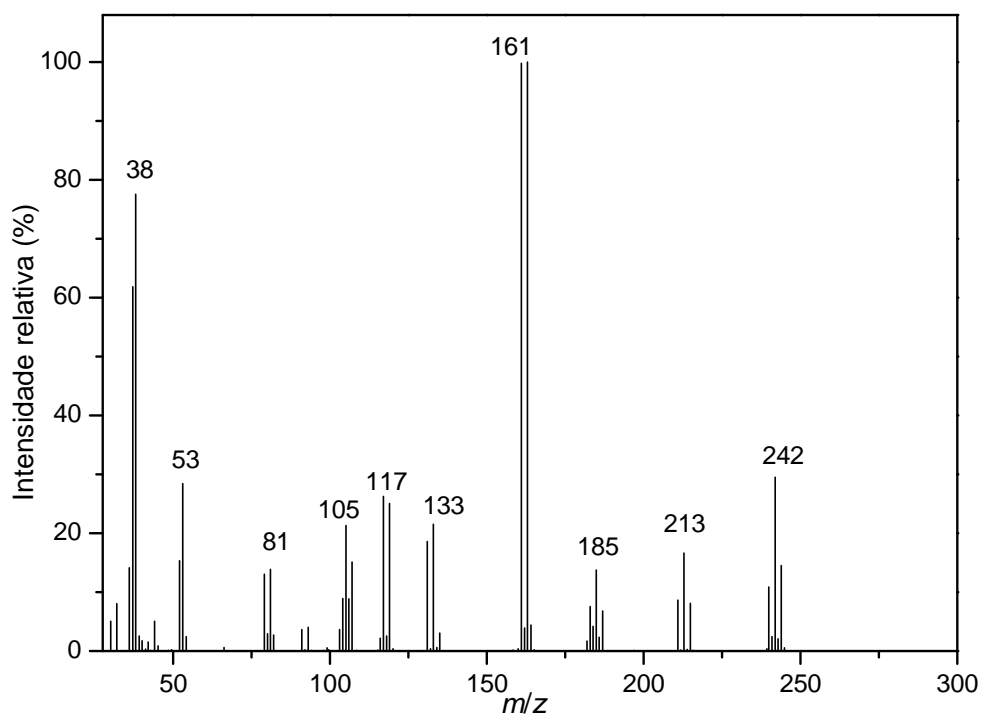


Figura 14 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto 1.



Esquema 9 - Espectro de massas e propostas de fragmentações da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona 1.

4.2. Síntese das 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-onas pelo acoplamento cruzado de Suzuki-Miyaura

Na síntese das 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-onas preparadas nesse trabalho utilizou-se a reação de acoplamento cruzado de Suzuki-Miyaura entre a 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona e diferentes ácidos arilborônicos adquiridos comercialmente, na presença de Ag_2O , AsPh_3 e quantidades catalíticas de $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$, conforme descrito por BELLINA *et al.* (2001b).

Como produtos dessa reação foram obtidos as 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-onas **2a-2d** de interesse assim como as biarilas **3a-3d** resultantes do homoacoplamento dos ácidos borônicos utilizados. A Tabela 6 apresenta esses produtos sintetizados e os rendimentos em que foram obtidos.

Tabela 6 - Síntese das 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-onas

The reaction scheme shows the synthesis of 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-ones (**2a-2d**) and biarilas (**3a-3d**) from 3,4-dibromofuran-2(5H)-one (**1**) and arylboronic acids. The reaction conditions are $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$, AsPh_3 , Ag_2O , THF, 65 °C, 24h.

R_1	4-Arilmfuranona	Rendimento (%)	Biarila	Rendimento (%)
H	2a	39	3a	14
Br	2b	29	3b	20
CH_3	2c	37	3c	23
Cl	2d	26	3d	20

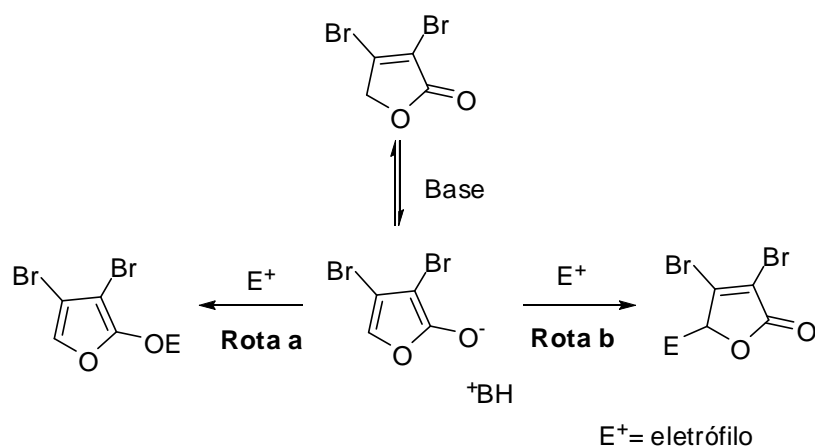
Para a realização da reação de preparo das 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-onas escolheu-se o acoplamento cruzado de Suzuki-Miyaura já que este pode ser considerado como um dos métodos de catálise por metais de transição mais úteis para formação de ligação carbono-carbono (ROSSI *et al.*, 2011). Essa escolha se deve a vários fatores que incluem: (i) tolerância a diversos grupos funcionais; (ii) os ácidos organoborônicos são estáveis ao aquecimento,

água e ar, além de disponíveis comercialmente; (iii) subprodutos contendo boro são facilmente separados da mistura reacional; (iv) os compostos organoboranos são degradados em produtos ambientalmente seguros (KOTHA *et al.*, 2002; SUZUKI, 2005; SUZUKI, 2011).

As condições ideais para o preparo das 4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-onas foram inicialmente descritas por YAO e DENG (2000) e posteriormente utilizadas por BELLINA e colaboradores (2001b).

No acoplamento de Suzuki-Miyaura, a base exerce um papel importante, aumentando a nucleofilicidade do grupo orgânico ligado ao átomo de boro (MIYAURA e SUZUKI, 1995).

Normalmente, as bases mais utilizadas são Na₂CO₃, Ba(OH)₂, K₃PO₄, Cs₂CO₃, K₂CO₃, KF e NaOH (KOTHA *et al.*, 2002) e sua escolha é empírica. Entretanto em meio básico forte juntamente com um eletrófilo a 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona pode reagir via ataques nucleofílicos (rota a e b), ou sofrer decomposição (Esquema 10) (CUNHA e OLIVEIRA, 2011).



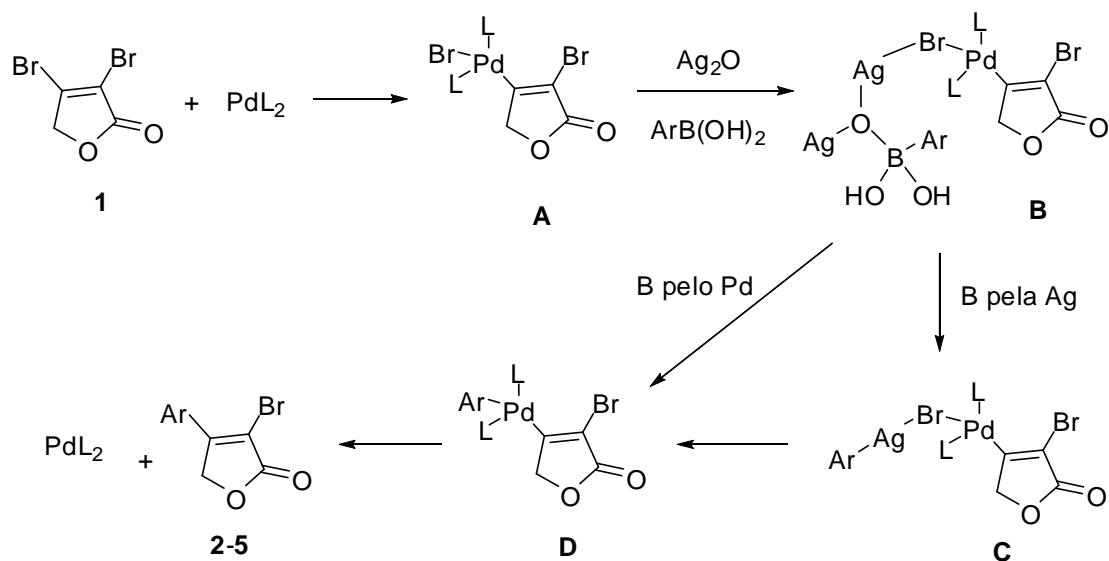
Esquema 10 - Comportamento da 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona em meio básico (CUNHA e OLIVEIRA, 2011).

Portanto, para contornar a sensibilidade da lactona dibromada a bases fortes, a reação de acoplamento cruzado foi realizada em THF na presença da base fraca Ag₂O (YAO e DENG, 2000; BELLINA *et al.*, 2004a).

O sistema catalítico $\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2/\text{AsPh}_3$ em THF também provou ser o mais eficiente quando comparados com outros catalisadores em outros solventes (BELLINA *et al.*, 2001b).

Um mecanismo plausível para este processo foi proposto por BELLINA e colaboradores (2001b) e é apresentado no Esquema 11. A primeira etapa do ciclo catalítico da reação de acoplamento envolve adição oxidativa em que a espécie de paládio(0) quebra a ligação covalente do haleto de vinila com formação do brometo de organopaládio(II) **A**.

A próxima etapa corresponde à transmetalção. Em particular é proposto que o intermediário **A** interage com o óxido de prata e o ácido borônico resultando na formação do intermediário **B**. Nesse caso a transmetalção do boro pelo paládio que produz **D**, poderia ocorrer antes da transmetalção do boro pela prata, via **C** ou diretamente do complexo **B**.



Esquema 11 - Mecanismo plausível para a reação catalisada por paládio mediada por Ag_2O entre **1** e ácidos arilborônicos (BELLINA *et al.*, 2001b).

A função da base é aumentar a nucleofilicidade do grupo orgânico ligado ao ácido borônico já que a transmetalção entre o haleto de organopaládio (II) e o organoborano não ocorre facilmente devido à baixa nucleofilicidade desse grupo (MIYAURA e SUZUKI, 1995).

Apesar de o mecanismo da adição oxidativa e da eliminação redutiva serem razoavelmente bem entendidos, pouco se sabe sobre a transmetalização, pois o mecanismo é dependente das condições reacionais ou do organometálico usado no acoplamento (MIYAURA e SUZUKI, 1995).

Finalmente tem-se a eliminação redutiva. Nessa etapa ocorre a formação da nova ligação carbono-carbono resultando no preparo das 4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-onas **2a-2d** e regeneração do catalisador de paládio (0) (Esquema 11).

Para todas as reações realizadas nesse trabalho (Tabela 6) não se observou a formação da 3,4-diarilfuran-2(5*H*)-ona derivada do acoplamento cruzado em ambos os átomos de carbono C-3 e C-4 que suportam átomos de bromo, nem a formação da 3-aryl-4-bromofuran-2(5*H*)-ona.

Em compostos que apresentam átomos de halogênio diferentes na forma de haletos de arila é possível determinar a seletividade em que as reações de Suzuki-Miyaura ocorrem. Para esses acoplamentos cruzados, a ordem relativa de reatividade dos haletos de arila $ArI > ArBr > ArCl > ArF$ tem sido observada. Esta ordem está relacionada à força da ligação Ar-X que aumenta com a eletronegatividade do halogênio e torna a adição oxidativa mais difícil (ROSSI *et al.*, 2011). Tudo isso porque a adição oxidativa de haletos de arila a espécies de paládio (0) é geralmente considerada ser o passo determinante da seletividade para as reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura.

Entretanto no caso da 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona tem-se dois halogênios iguais presentes na mesma molécula. Nesse caso tem-se a necessidade da realização da reação de acoplamento cruzado “seletivo de posição”, ou seja, quando a molécula do reagente tem mais do que um substituinte do mesmo átomo de halogênio e somente um reagirá preferencialmente.

Tais reações com heterociclos polialogenados são relatadas na literatura como abordagens eficientes para a síntese derivados substituídos mais complexos (WANG e MANABE, 2009). Nesse caso outros parâmetros também irão determinar a seletividade da reação, além da força da ligação, como fatores eletrônicos e estéricos (ROSSI *et al.*, 2011; SCHRÖTER *et al.*, 2005).

No caso da reação de acoplamento com a 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona **1** é possível prever a ordem e a região das reações catalisadas por paládio levando em conta que: (i) em muitas dessas reações o estágio do ciclo catalítico responsável pela “seletividade de posição” é a adição oxidativa; (ii) o centro mais deficiente em elétrons, local onde a adição oxidativa ocorre, corresponde ao sítio inicial das reações catalisadas por paládio, (iii) a posição 4 da 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona é mais deficiente em elétrons que a posição 3. Isso pode ser evidenciado pelo fato que C-4 ($\delta = 143,7$) nesse composto tem um maior deslocamento químico de ^{13}C que C-3 ($\delta = 114,9$) (BELLINA e ROSSI, 2007; HUSSAIN *et al.*, 2011).

Tem-se então uma possível explicação da reação de acoplamento cruzado “seletivo de posição” para a 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona.

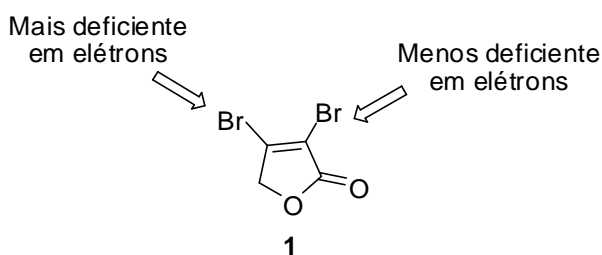


Figura 15 - Possível explicação da reação de acoplamento cruzado “seletivo de posição”.

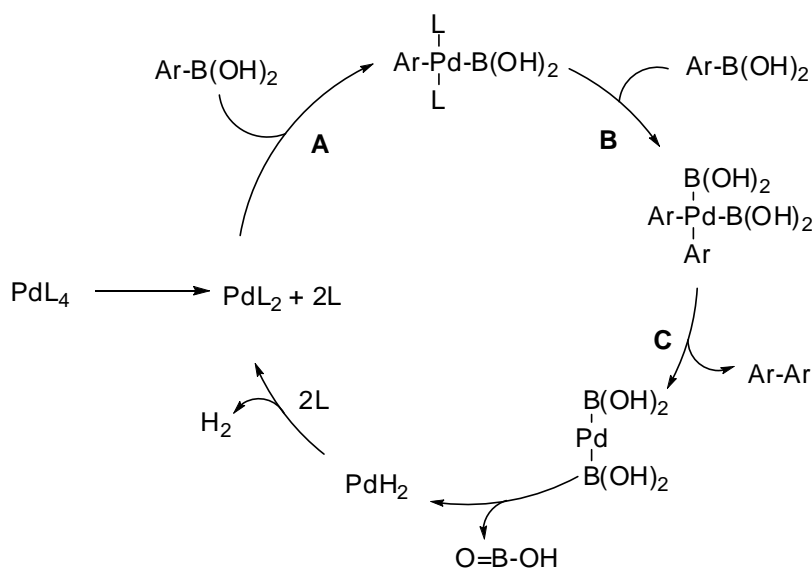
As 4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-onas foram formadas em rendimento variando de 26% a 39%. A presença dos diferentes grupos na estrutura dos ácidos borônicos sugere uma explicação para os rendimentos obtidos. Como se observa todos os ácidos borônicos utilizados apresentam o grupo metoxila no carbono C-2 e se diferenciam somente quanto ao grupo ligado ao carbono C-5. O ácido 5-bromo-2-metoxiborônico e 5-cloro-2-metoxiborônico que possuem grupos retiradores de elétrons em C-5 resultaram em menores rendimentos, 29% e 26%, respectivamente. Usualmente ácidos arilborônicos deficientes em elétrons são menos nucleofílicos e transmetalam a uma taxa mais lenta do que ácidos arilborônicos ricos elétrons (BARDER *et al.*, 2005).

Apesar de não ter sido detectada a formação de 3,4-diarilfuran-2(5*H*)-onas, quantidades significativas de biarilas (**3a-3d**) que são derivadas do homoacoplamento dos ácidos borônicos foram isoladas a partir da mistura

reacional, conforme mencionado anteriormente. Embora nesse trabalho as biarilas sejam relatadas como produtos indesejáveis, as mesmas têm sido descritas na literatura como uma importante classe de compostos para a química farmacêutica e agrícola (MARTIN e BUCHWALD, 2008; SAIKIA *et al.*, 2012).

Biarilas simétricas geradas a partir de ácidos borônicos ArB(OH)_2 são frequentemente observadas na reação de Suzuki-Miyaura. MORENO-MAÑAS e colaboradores (1996) propuseram um mecanismo para sua formação.

O ciclo catalítico proposto por esses autores é apresentado no Esquema 12. Na etapa A ocorre a adição oxidativa entre o ácido borônico e o complexo de paládio PdL_2 . O mesmo se aplica ao passo B. Em seguida na etapa C a eliminação redutiva é requerida para formar a biarila final. A eliminação de tetraidroxidiborano ($(\text{HO})_2\text{B-B(OH)}_2$) é muito improvável e é mais razoável aceitar que o boro termina na forma de ácido metabórico (MORENO-MAÑAS *et al.*, 1996; HASSAN *et al.*, 2002).



Esquema 12 - Ciclo catalítico proposto para o homoacoplamento de ácidos borônicos catalisado por paládio (MORENO-MAÑAS *et al.*, 1996).

De acordo com observações experimentais dos mesmos autores, a presença de grupos doadores de elétrons no ácido borônico como metoxila favorecem o homoacoplamento. Essas observações ajudam a justificar a

formação de biarilas no presente trabalho. Essas foram formadas em rendimentos variando de 14% a 23%, conforme já apresentado na Tabela 6.

No mesmo trabalho, MORENO-MAÑAS e colaboradores (1996) ainda revelaram que a presença de oxigênio aumenta a quantidade de biarila formada. Por isso a importância da realização dessas reações em atmosfera inerte.

Em todas as reações de acoplamento de Suzuki, as 4-aril-3-bromofuran-2(5*H*)-onas foram preparadas segundo uma mesma metodologia sintética, sendo posteriormente isoladas da mistura reacional e purificadas por cromatografia em coluna de sílica gel e caracterizadas por espectroscopia no infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C , experimentos bidimensionais em RMN (COSY e HETCOR) e espectrometria de massas e espectrometria de massas de alta resolução. As biarilas **3a-3d** foram caracterizadas da mesma forma, exceto pela análise de massa exata. Os dados espectroscópicos de todas as biarilas estavam de acordo com aqueles encontrados na literatura (KOENIG *et al.*, 1979; CHEN, *et al.*, 2011; KAR *et al.*, 2009).

Os espectros obtidos para as 4-aril-3-bromofuran-2(5*H*)-onas sintetizadas (**2a-2d**) apresentaram grande semelhança; as únicas variações observadas se referem aos substituintes no anel aromático proveniente do ácido borônico inicialmente utilizado nas reações de acoplamento cruzado. Portanto, a discussão feita a seguir é baseada nos dados do composto **2d**, mas pode ser estendida às demais 4-aril-3-bromofuran-2(5*H*)-onas sintetizadas.

A confirmação estrutural do composto **2d** foi feita inicialmente, pela análise de seu espectro no infravermelho (Figura 16), onde foi possível observar uma banda em 1769 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação da carbonila (C=O) de uma lactona α,β -insaturada.

O espectro de RMN de ^1H de **2d** (Figura 17) apresentou dois simpetos: um em $\delta = 3,87$ referentes aos hidrogênios das metoxila e outro em $\delta = 5,23$, referentes aos dois hidrogênios metilênicos do anel lactônico. Este espectro apresentou também um duplete em $\delta = 6,95$ ($J_{3',4'} = 9,0\text{ Hz}$) referente ao hidrogênio H-3'. No mapa de contornos COSY para este composto (Figura 18) é possível visualizar o acoplamento desse sinal com um duplete duplo em $\delta = 7,43$ ($J_{4',3'} = 9,0\text{ Hz}$, $J_{4',6'} = 2,7\text{ Hz}$) referente a H-4', o que já era esperado pela

análise das constantes de acoplamento. Outro duplete presente no espectro encontra-se em $\delta = 7,77$ referente a H-6' com constante de acoplamento $J_{6',4'} = 2,7$ Hz.

No espectro de RMN de ^{13}C de **2d** (Figura 19) os sinais para os átomos de carbono C-5, C-3', C-4' e C-6' foram facilmente atribuídos pela análise do mapa de contornos HETCOR para o mesmo composto (Figura 20) devido às correlações entre esses carbonos e os átomos de hidrogênios imediatamente ligados a eles. As atribuições para C-3 ($\delta = 109,4$) e C-2 ($\delta = 169,6$) foram auxiliadas pela análise dos deslocamentos dos mesmos sinais atribuídos previamente para a 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona.

No espectro de massas de **2d** (Esquema 13) foram observados os picos referentes ao íon molecular em $m/z = 302$, $[\text{M}+2]^+$ em $m/z = 304$ e $[\text{M}+4]^+$ em $m/z = 306$ com intensidades relativas de 64%, 85% e 21%, respectivamente, o que está de acordo com a presença de um átomo de bromo e um de átomo de cloro na molécula. O pico base em $m/z = 223$ foi atribuído pela perda de um radical Br^\cdot do íon molecular. A proposta mecanística para a fragmentação do íon anteriormente citado, assim como as propostas para a formação de outros fragmentos razoavelmente estáveis em $m/z = 273$, 258, 195, 179 e 165 são apresentadas no Esquema 13.

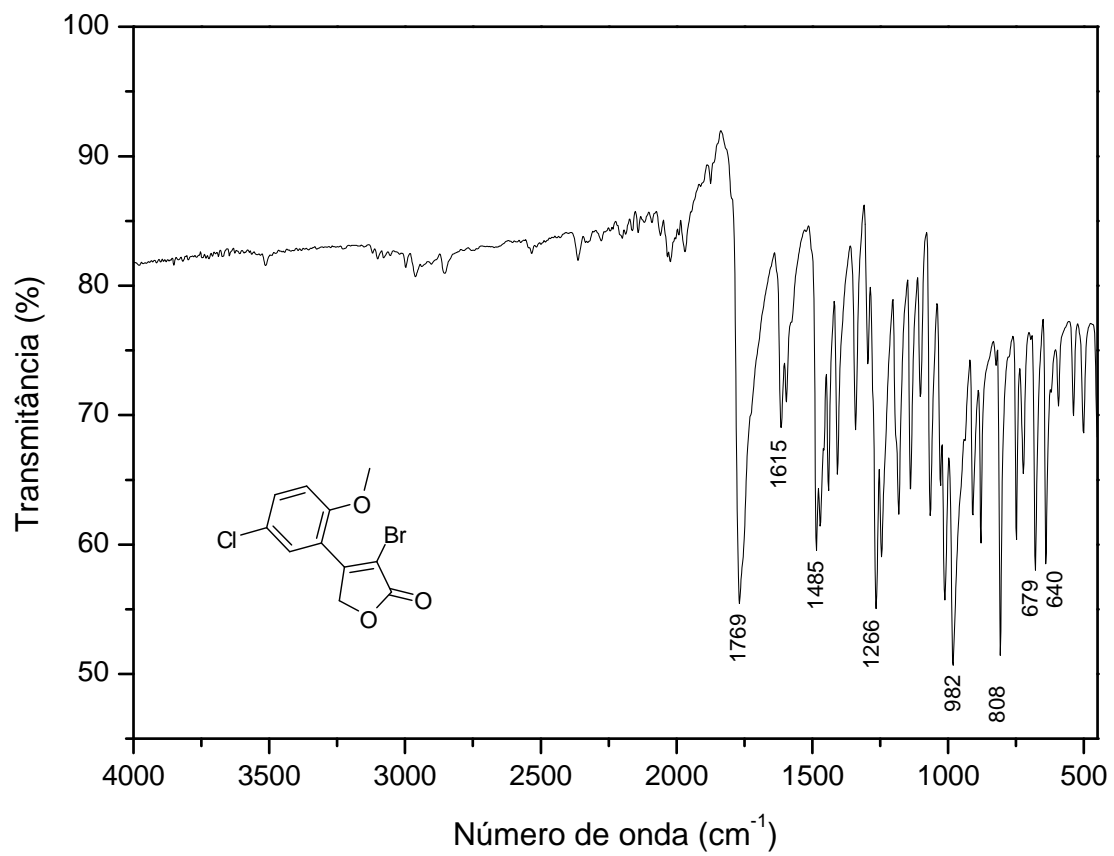


Figura 16 - Espectro no infravermelho (IV) do composto **2d**.

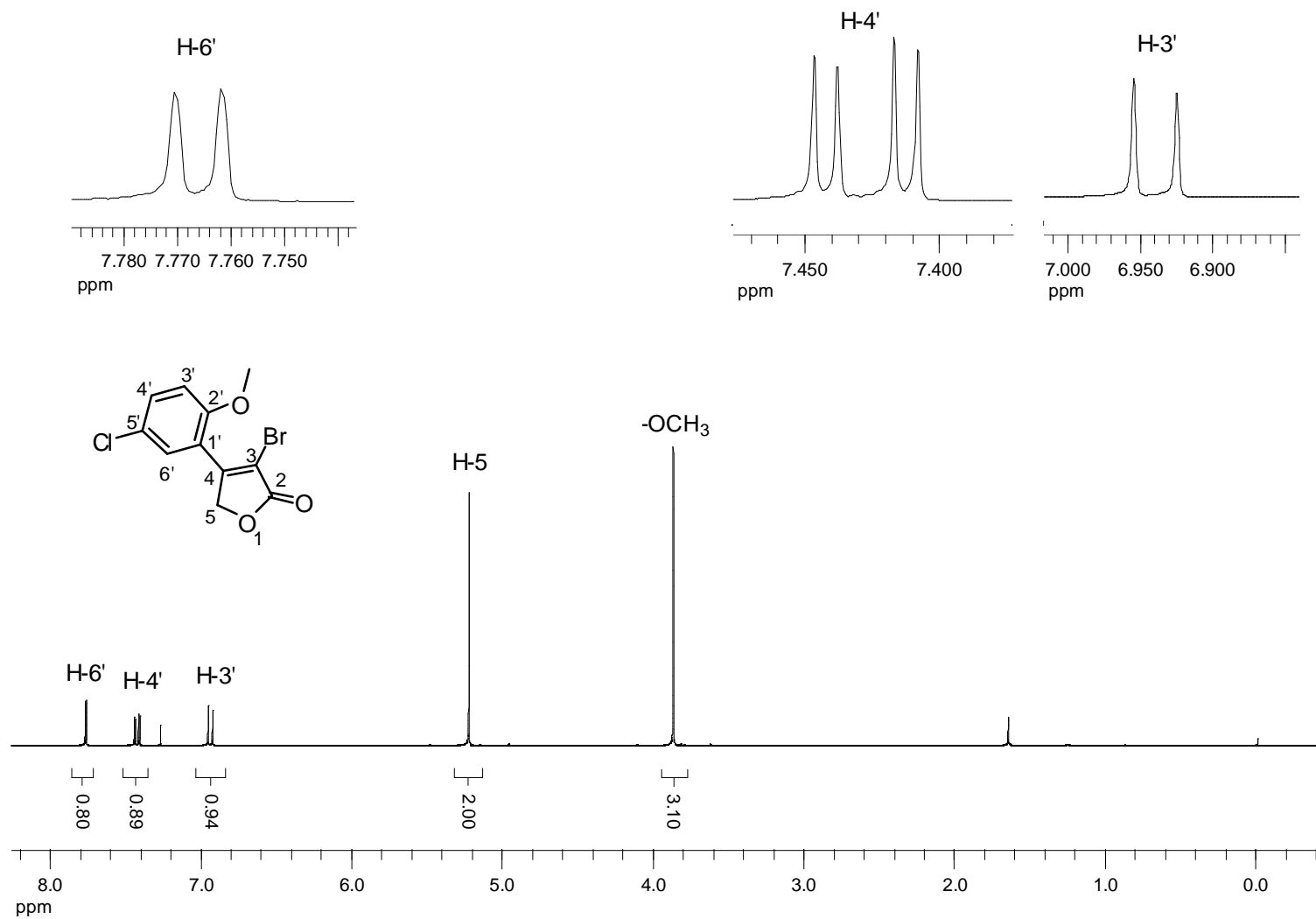


Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2d**.

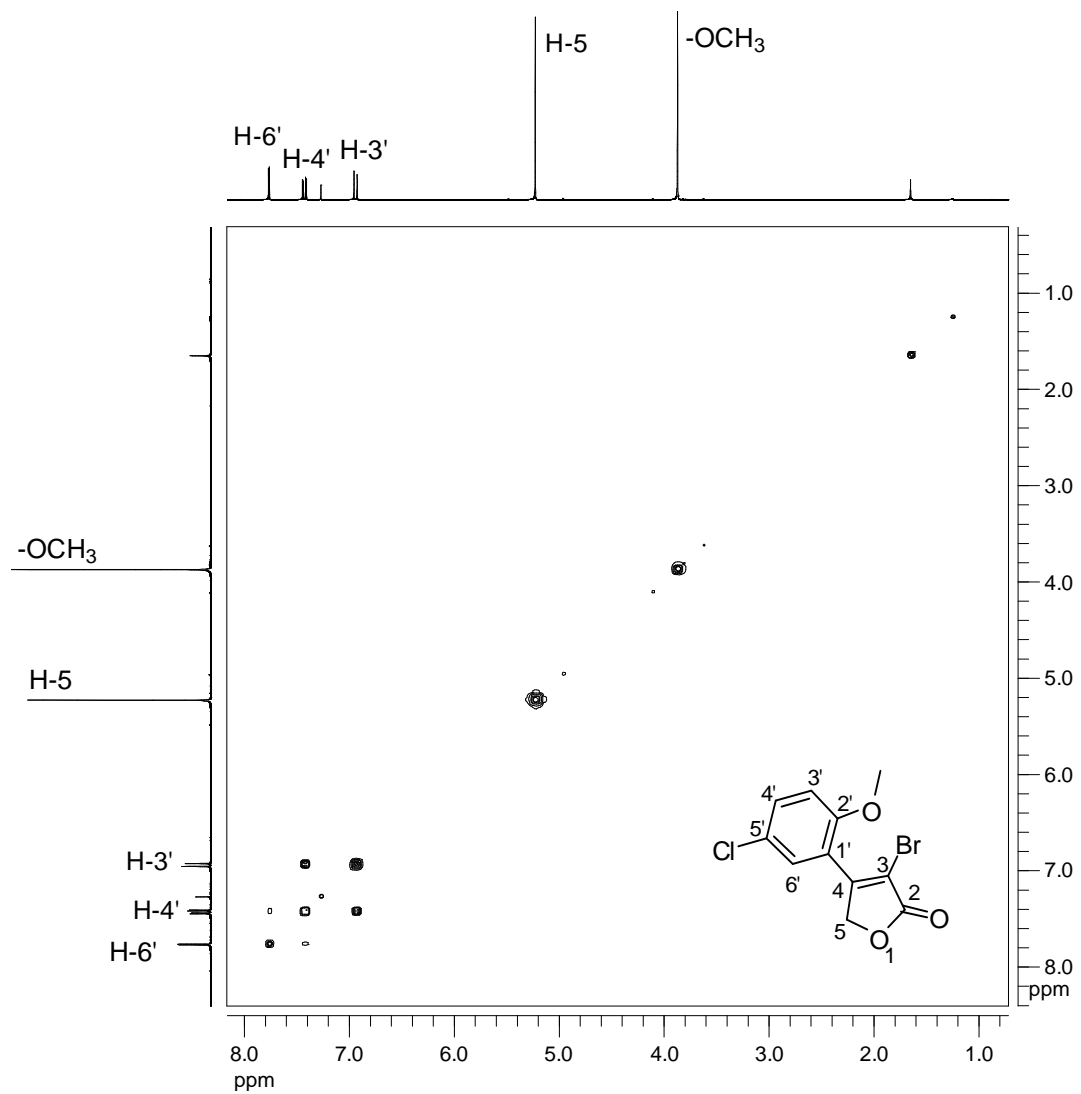


Figura 18 - Mapa de contornos COSY do composto **2d**.

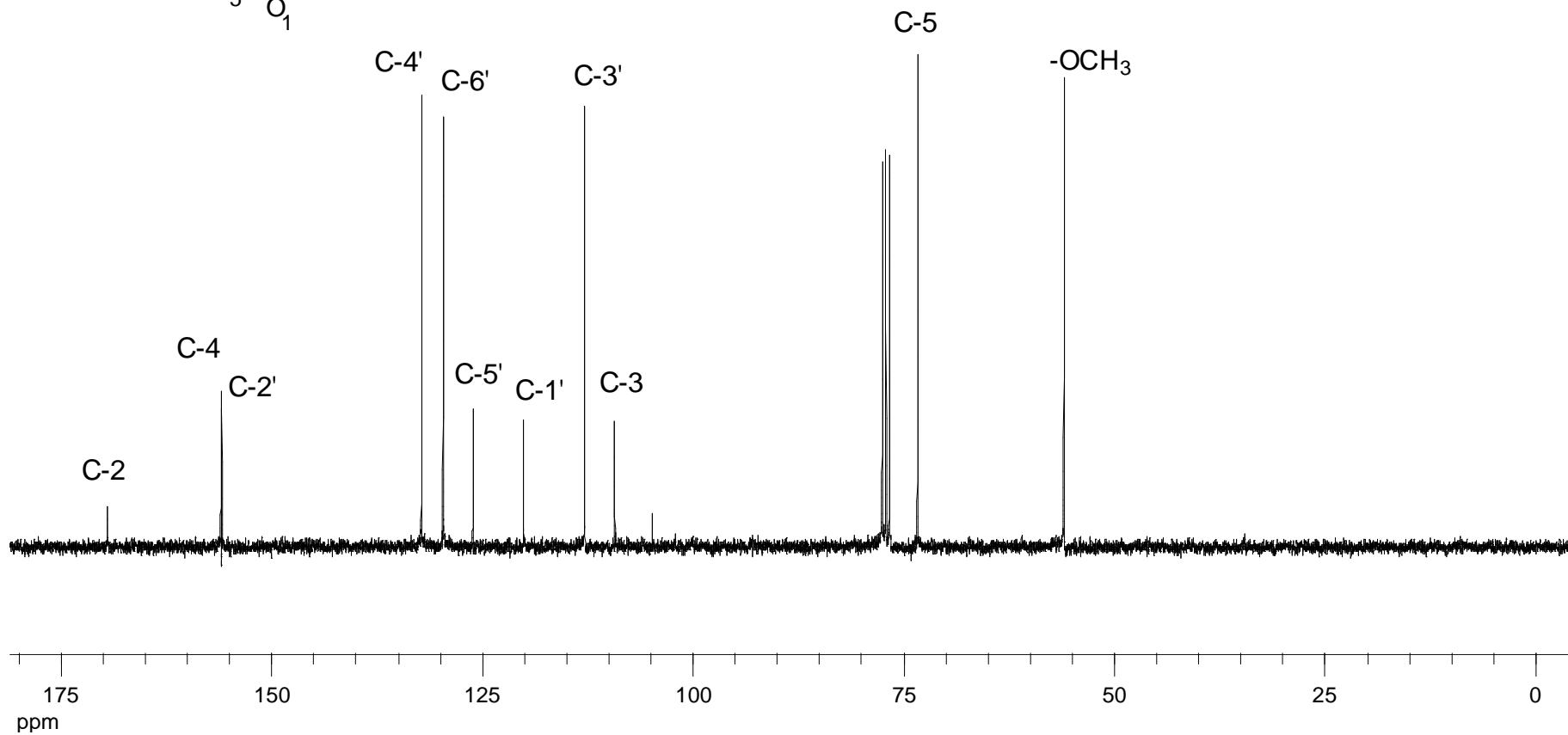
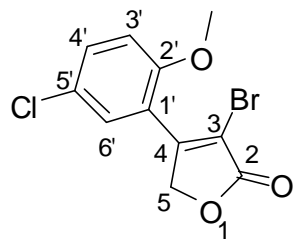


Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2d**.

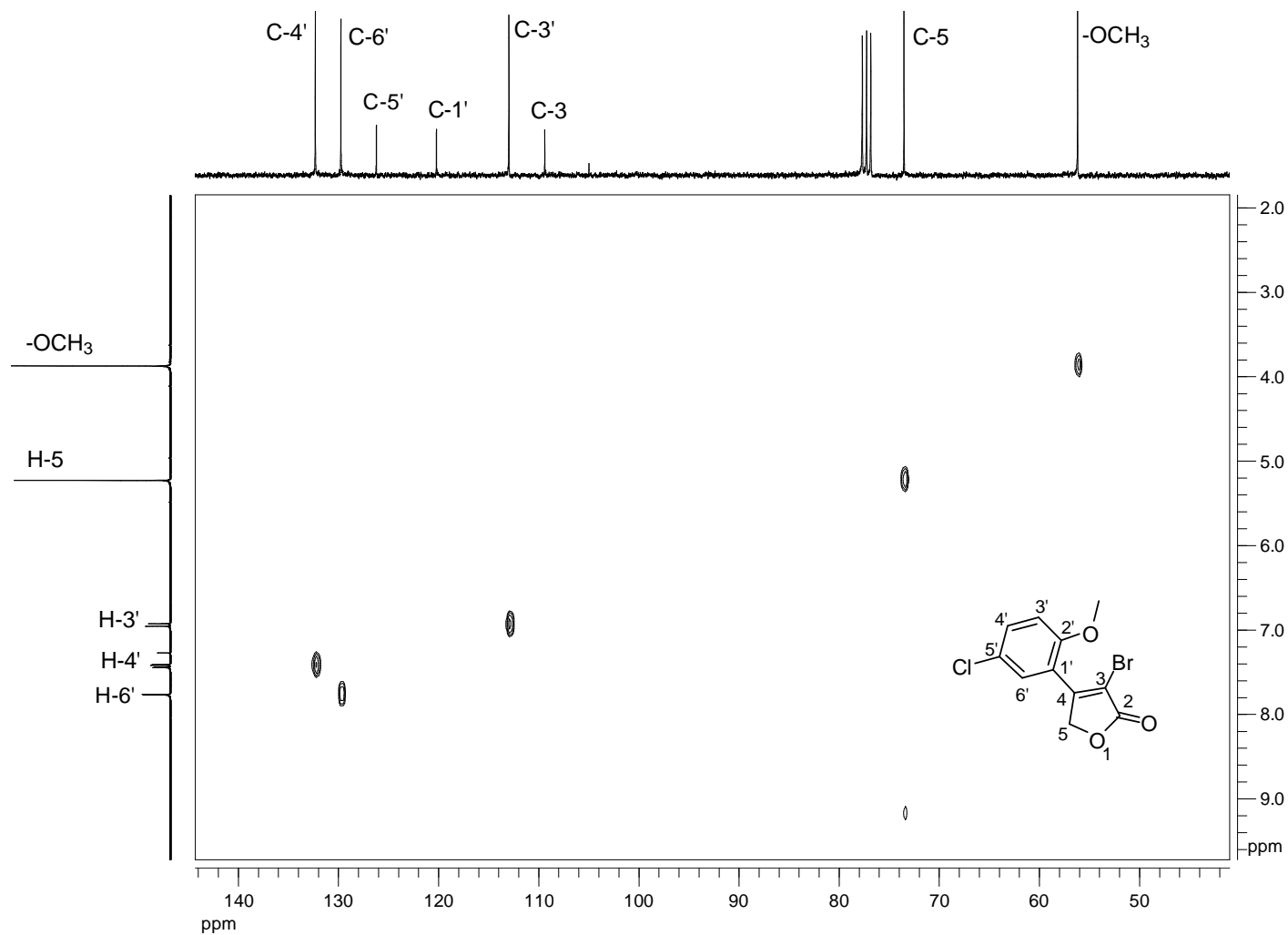
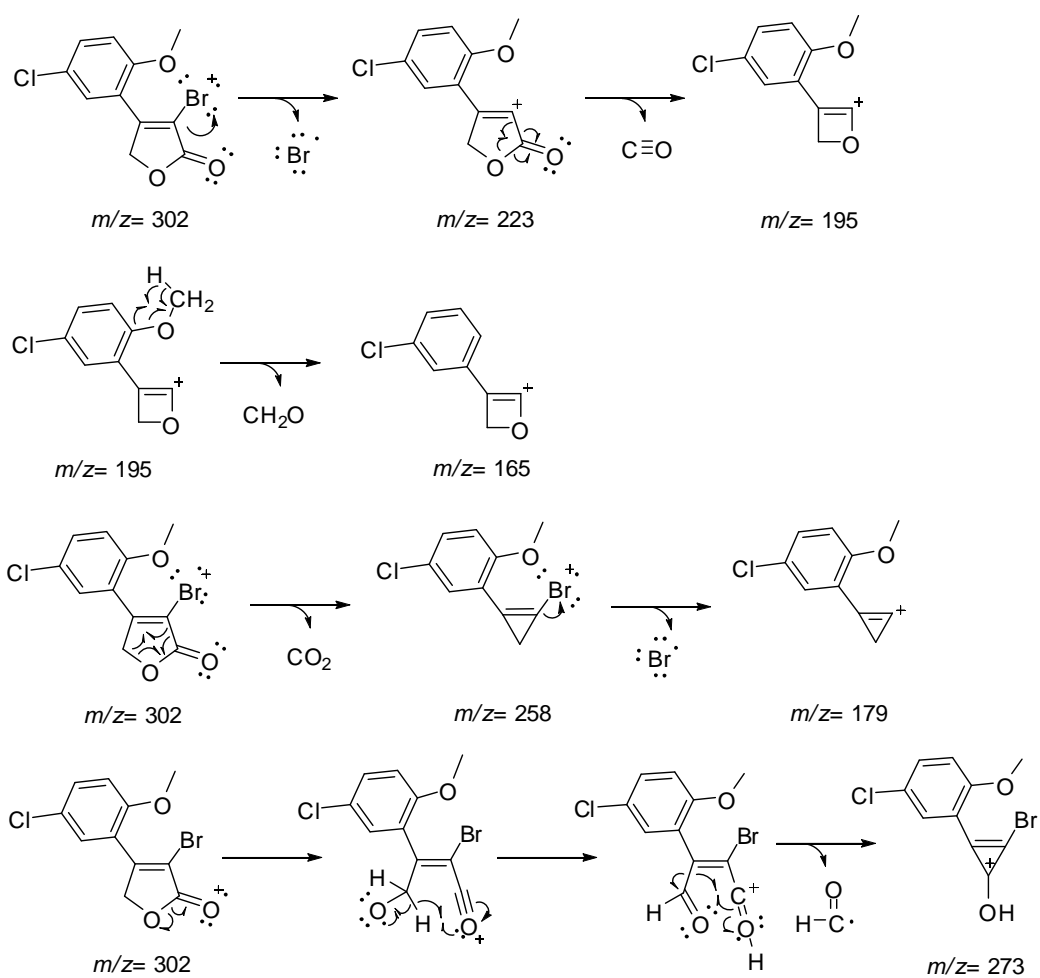
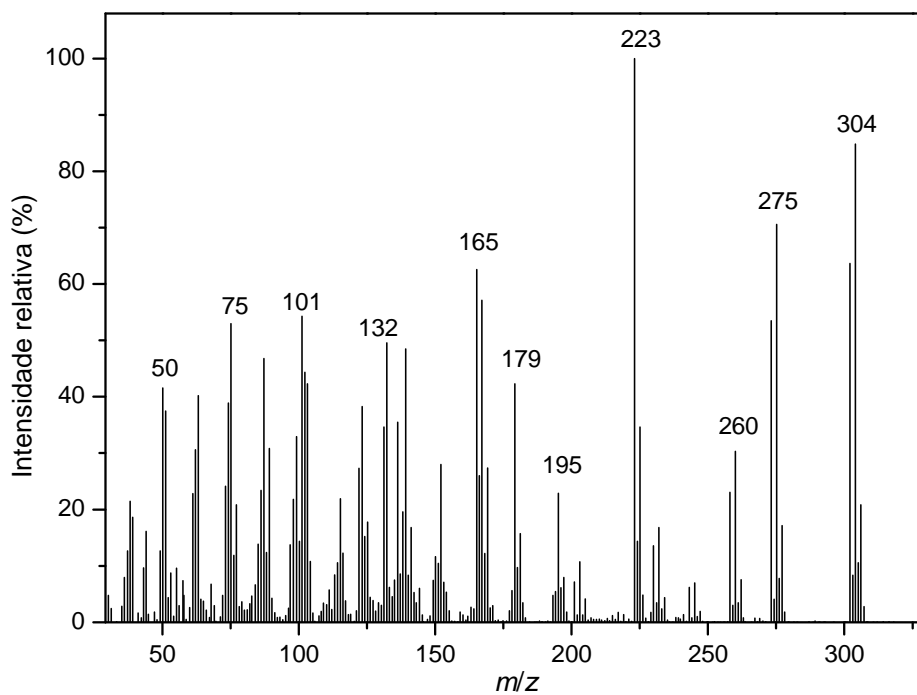


Figura 20 - Mapa de contornos HETCOR do composto **2d**.



Esquema 13 - Espectro de massas e proposta de fragmentações da lactona **2d**.

4.3. Síntese dos análogos aos rubrolídeos pela reação de alquilidenação

Para a síntese dos análogos aos rubrolídeos, as 4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-onas **2a-2d** previamente preparadas foram submetidas a uma reação de alquilidenação utilizando-se diferentes aldeídos aromáticos. A metodologia utilizada foi semelhante àquela de TEIXEIRA e colaboradores (2008a).

Os análogos aos rubrolídeos **4a-4q**, também chamados genericamente de 5-alkylideno-4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-onas ou γ -alkylidenofuran-2(5*H*)-onas, preparados nesse trabalho e os rendimentos em que foram obtidos são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Síntese dos análogos aos rubrolídeos

Composto	R ₁	R ₂	Rendimento (%)
4a	H	<i>p</i> -CF ₃	63 (Z)
4b	Br	<i>m</i> -Cl	44 (Z)
4c	Br	<i>p</i> -Br	45 (Z)
4d	CH ₃	<i>m</i> -Cl	63 (Z)
4e	CH ₃	<i>o</i> -Cl	68 (Z)
4f	Cl	<i>o</i> -Br	58 (Z)
4g	Cl	<i>m</i> -OCH ₃	65 (Z)
4h	Cl	<i>p</i> -F	54 (Z)
4i+4i'	Cl	<i>p</i> -NO ₂	11 (Z+E)
4j	Cl	<i>p</i> -CF ₃	39 (Z)
4k	Cl	<i>m</i> -NO ₂	35 (Z)
4l	Br	<i>p</i> -CF ₃	40 (Z)
4m	Br	<i>o</i> -Br	60 (Z)
4n	Br	<i>p</i> -F	61 (Z)
4o	Br	<i>o</i> -Cl	63 (Z)
4p	Br	<i>m</i> -OCH ₃	62 (Z)
4q	Br	<i>m</i> -F	45 (Z)

No preparo dessas substâncias, uma solução de diclorometano anidro de uma das 4-aryl-3-bromofuran-2(5H)-onas foi tratada com 2,2 equivalentes de *tert*-butildimetilsililtrifluorometanossulfonato (TBDMSOTf), 3,0 equivalentes de diisopropilamina (DIPEA) e 1,1 equivalente de um aldeído aromático. Depois

de agitação por uma hora a temperatura ambiente a mistura reacional foi tratada com 2,2 equivalentes de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) sob refluxo por três horas e então com solução 3 mol L⁻¹ de HCl para preparar as 5-alquilideno-4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-onas **4a-4q** análogas aos rubrolídeos.

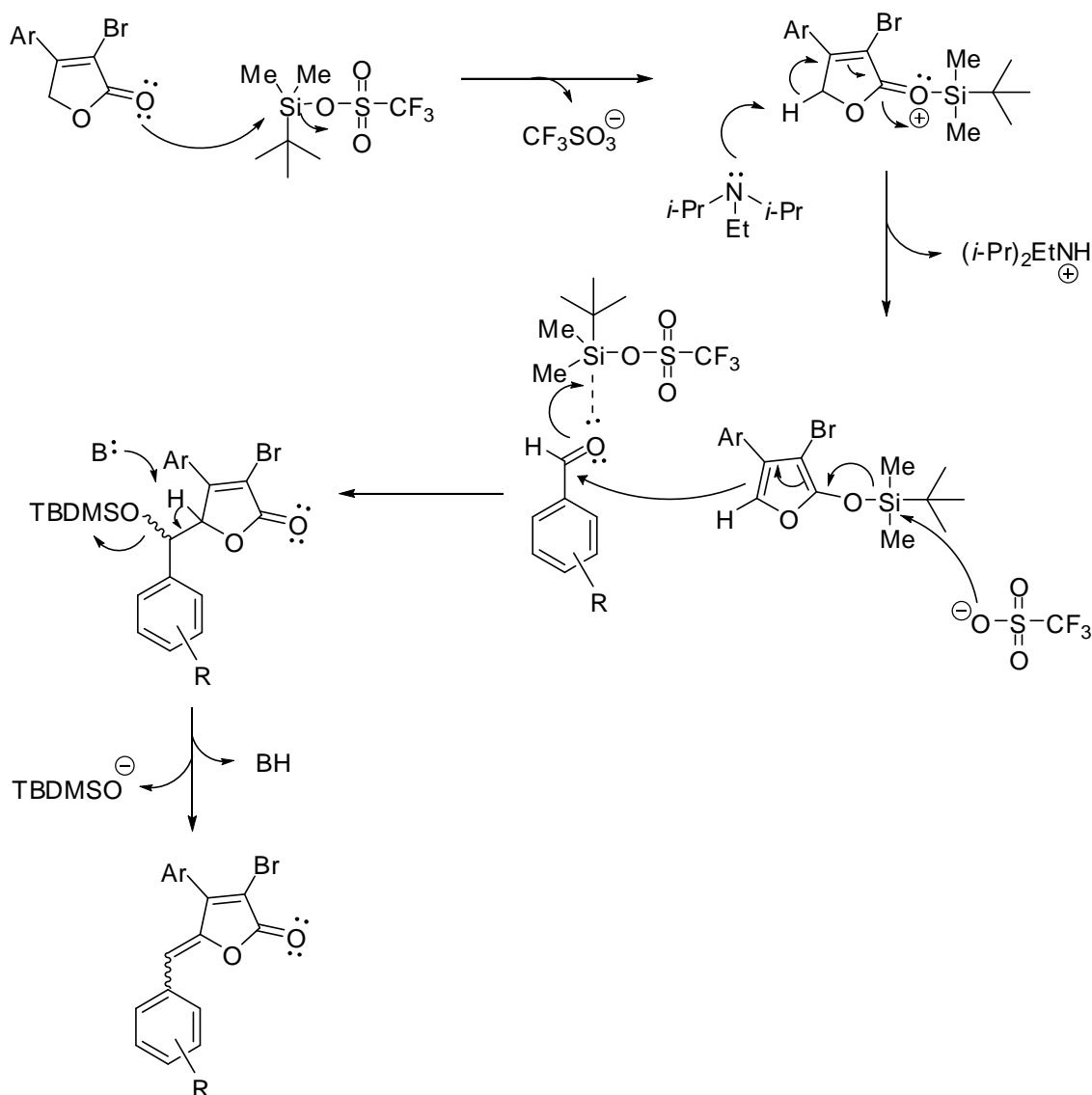
Uma proposta mecanística para a reação de alquilidenação utilizada no preparo dos compostos **4a-4q** foi elaborada por TEIXEIRA (2008b) e é mostrada no Esquema 14. Inicialmente ocorre um ataque nucleofílico da 4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-ona ao TBDMSOTf, com eliminação do bom grupo abandonador triflato. A seguir a DIPEA captura um dos hidrogênios ácidos H-5 do intermediário anterior para a formação do intermediário 2-oxofurano siliado, que na próxima etapa ataca a carbonila do aldeído, formando uma mistura de diastereoisômeros. Essa etapa ocorre pela regeneração do ácido de Lewis TBDMSOTf, já que o silício sofre ataque nucleofílico do íon triflato (CLAYDEN *et al.*, 2001). Na etapa final, a base DBU captura o segundo hidrogênio ácido H-5 do anel lactônico com formação da dupla exocíclica.

A β-eliminação do grupo *tert*-butildimetilsililoxila a partir desses diastereoisômeros é estereosseletiva. Na formação dos compostos **4a-4h** e **4j-4q** somente os estereoisômeros com configuração *Z* foram obtidos. Já na reação utilizando-se a 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona e 4-nitrobenzaldeído foi formada a mistura de isômeros (*Z*)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (**4i**) e (*E*)-3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (**4i'**) na proporção de 3,3:1 e que não pôde ser separada por cromatografia em coluna de sílica gel.

O fato de a maioria dos análogos aos rubrolídeos ter sido formado com geometria *Z*, pode ser atribuído à presença do grupo aromático na posição β da lactona. Entretanto esse não deve ser o único fator que justifica essa formação já que no trabalho de XU e colaboradores (2007) vários γ-alquilidenobutenolídeos foram sintetizados exclusivamente como estereoisômero *Z* a partir de furan-2(5*H*)-onas desprovidas de substituintes na posição β.

Todos os compostos foram caracterizados pelas espectroscopias no IV, RMN de ¹H e de ¹³C, experimentos bidimensionais (COSY e HETCOR) e espectrometria de massas. Além disso, a estereoquímica das γ-

alquilidenofuran-2(5*H*)-onas **4a-4q** foi atribuída com base no experimento de NOEDIF.



Esquema 14 - Proposta mecanística para a reação de alquilidação utilizada na síntese das 5-alquilideno-4-aryl-3-bromofuran-2(5*H*)-onas **4a-4q** análogos aos rubrolídeos (TEIXEIRA, 2008b).

Os espectros obtidos para as γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas sintetizadas apresentaram grande semelhança; as únicas variações observadas referem-se aos substituintes presentes nos anéis aromáticos provenientes do ácido borônico inicialmente utilizado na reação de Suzuki, e do aldeído aromático utilizado nas reações de alquilidação. Portanto, a discussão feita a seguir é

baseada nos dados do composto **4f**, mas pode ser estendida aos demais compostos sintetizados.

O espectro no IV de **4f** (Figura 21) apresentou uma banda de absorção intensa em 1768 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo carbonila de lactona α,β -insaturada.

A interpretação do espectro de RMN de ^1H de **4f** (Figura 22) foi iniciada pela atribuição do sinal referente ao hidrogênio H-3' que apresenta um duplete em $\delta = 7,02$ ($J_{3',4'} = 9,0\text{ Hz}$), acoplado com H-4' que apresenta um duplete duplo em $\delta = 7,18$ ($J_{4',3'} = 9,0\text{ Hz}$; $J_{4',6'} = 2,7\text{ Hz}$). Também é possível observar um duplete referente ao hidrogênio H-6' ($J_{6',4'} = 2,7\text{ Hz}$) que está acoplado com H-4'. A multiplicidade destes sinais e os deslocamentos químicos dos mesmos estão de acordo com o precursor de **4f**, a 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona **2d**.

Ainda no espectro de RMN de ^1H de **4f**, os sinais referentes aos hidrogênios provenientes do aldeído aromático foram facilmente atribuídos. O sinal referente ao hidrogênio H-3'' apresentou um duplete duplo em $\delta = 7,58$ ($J_{3'',4''} = 7,8\text{ Hz}$, $J_{3'',5''} = 1,2\text{ Hz}$) e está acoplado com H-4'' (duplo duplete duplo, $J_{4'',3''} = J_{4'',5''} = 7,8\text{ Hz}$, $J_{4'',6''} = 1,8\text{ Hz}$) e H-5'' (duplo duplete duplo complexo, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8\text{ Hz}$, $J_{5'',3''} = 1,2\text{ Hz}$). As correlações entre os hidrogênios que acoplam entre si também foram facilmente visualizadas pelo mapa de contornos COSY para o mesmo composto (Figura 23).

No espectro de RMN de ^{13}C de **4f** (Figura 24) os sinais referentes aos carbonos do anel lactônico e do grupo aril ligado ao carbono C-4 também apresentaram deslocamentos químicos próximos aos sinais de carbono da 3-bromo-4-(5-cloro-2-metoxifenil)furan-2(5*H*)-ona **2d**. O sinal referente ao carbono C-6 encontra-se em $\delta = 112,1$ e os sinais referentes aos carbonos C-3'', C-4'', C-5'' e C-6'' apresentaram deslocamento químico em $\delta = 133,3$, $130,8$, $128,1$ e $132,3$, respectivamente. Todos esses sinais foram atribuídos pela análise de mapa de contornos HETCOR (Figura 25) para o mesmo composto.

A estereoquímica da ligação dupla C(5)=C(6) foi definida pelo experimento de NOE diferencial (NOEDIF) (Figura 26). A irradiação do hidrogênio H-6 em $\delta = 6,44$ produziu uma intensificação do sinal do hidrogênio

aromático H-6' mostrando que ambos estão próximos no espaço. Além disso, também foi observado um aumento pouco significativo no sinal do hidrogênio H-6'' do anel aromático proveniente do aldeído aromático. Este resultado mostra que o composto **4f** apresenta geometria Z. O mesmo tipo de experimento foi feito para os demais compostos que também revelaram apresentar geometria Z, comprovando a estereosseletividade da reação.

Aqui, com esses resultados é possível verificar que a reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura realizada anteriormente entre a 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona e os ácidos borônicos aconteceu em C-4 conforme já havia sido comentado. Caso o acoplamento tivesse ocorrido em C-3, não haveria a intensificação do sinal do hidrogênio aromático H-6' quando H-6 fosse irradiado, devido à distância espacial em que esses hidrogênios estariam nessa situação.

No espectro de massas de **4f** (Figura 27), foi observado o pico referente ao íon molecular em $m/z = 468$ e os sinais em $m/z = 470$, 472 e 474 referentes aos íons $[M+2]^+$, $[M+4]^+$ e $[M+6]^+$, o que está de acordo com a presença de dois átomos de bromo e um de cloro na mesma molécula. As propostas mecanísticas para a formação de alguns fragmentos razoavelmente estáveis da γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas **4f** são apresentadas no Esquema 15.

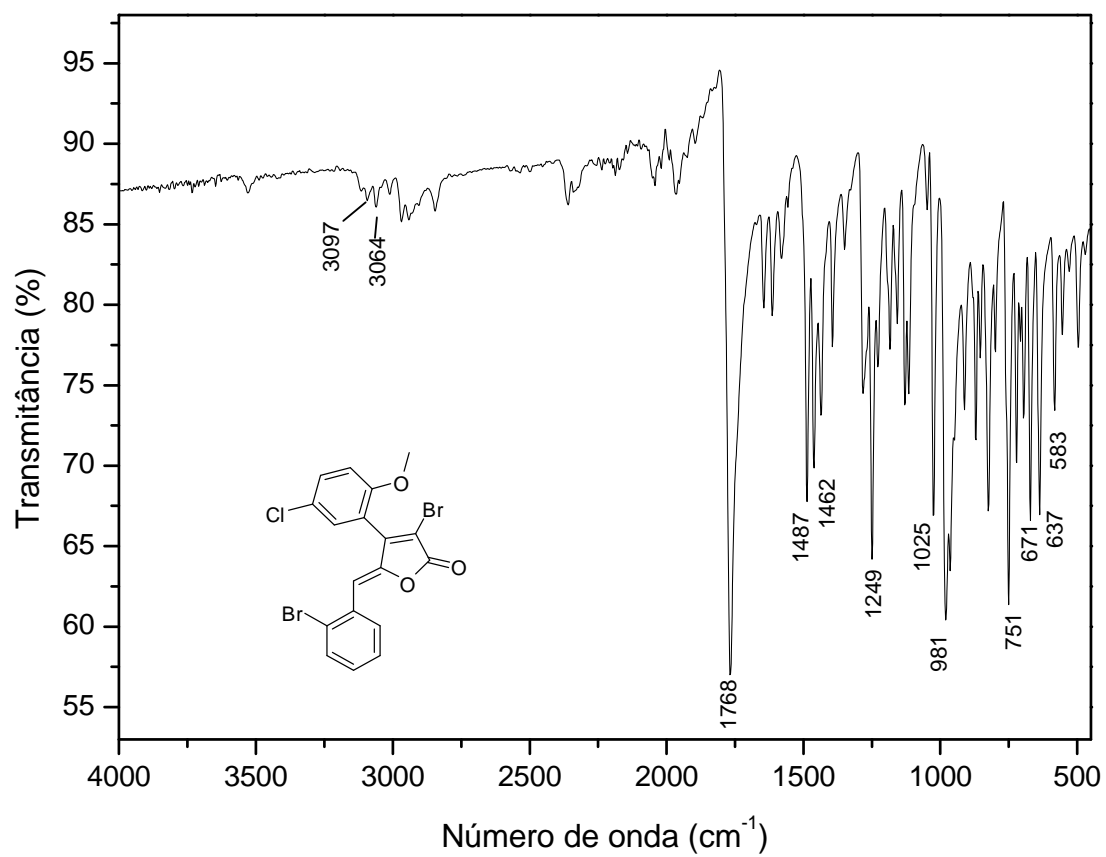


Figura 21 - Espectro no infravermelho (IV) do composto **4f**.

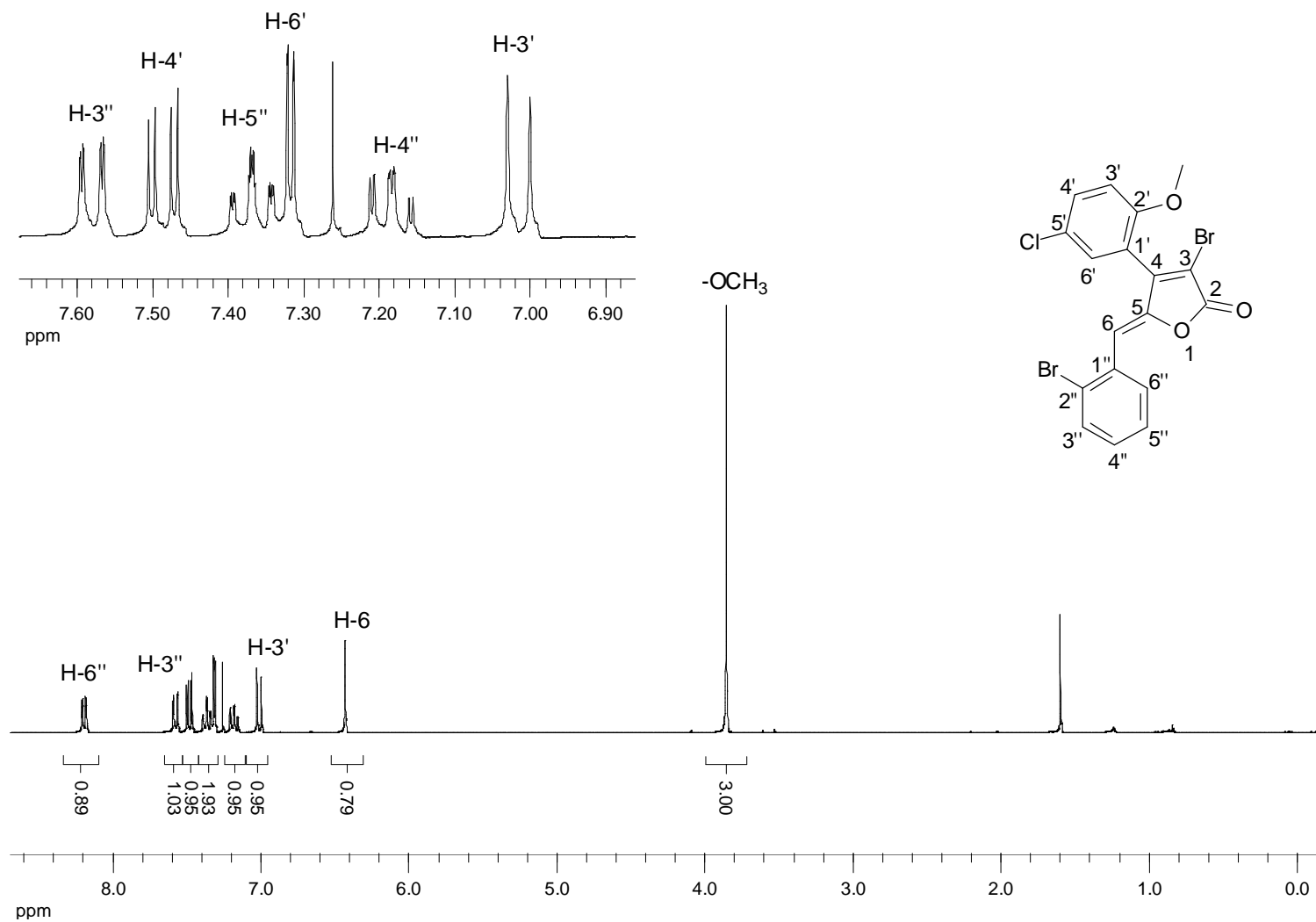


Figura 22 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **4f**.

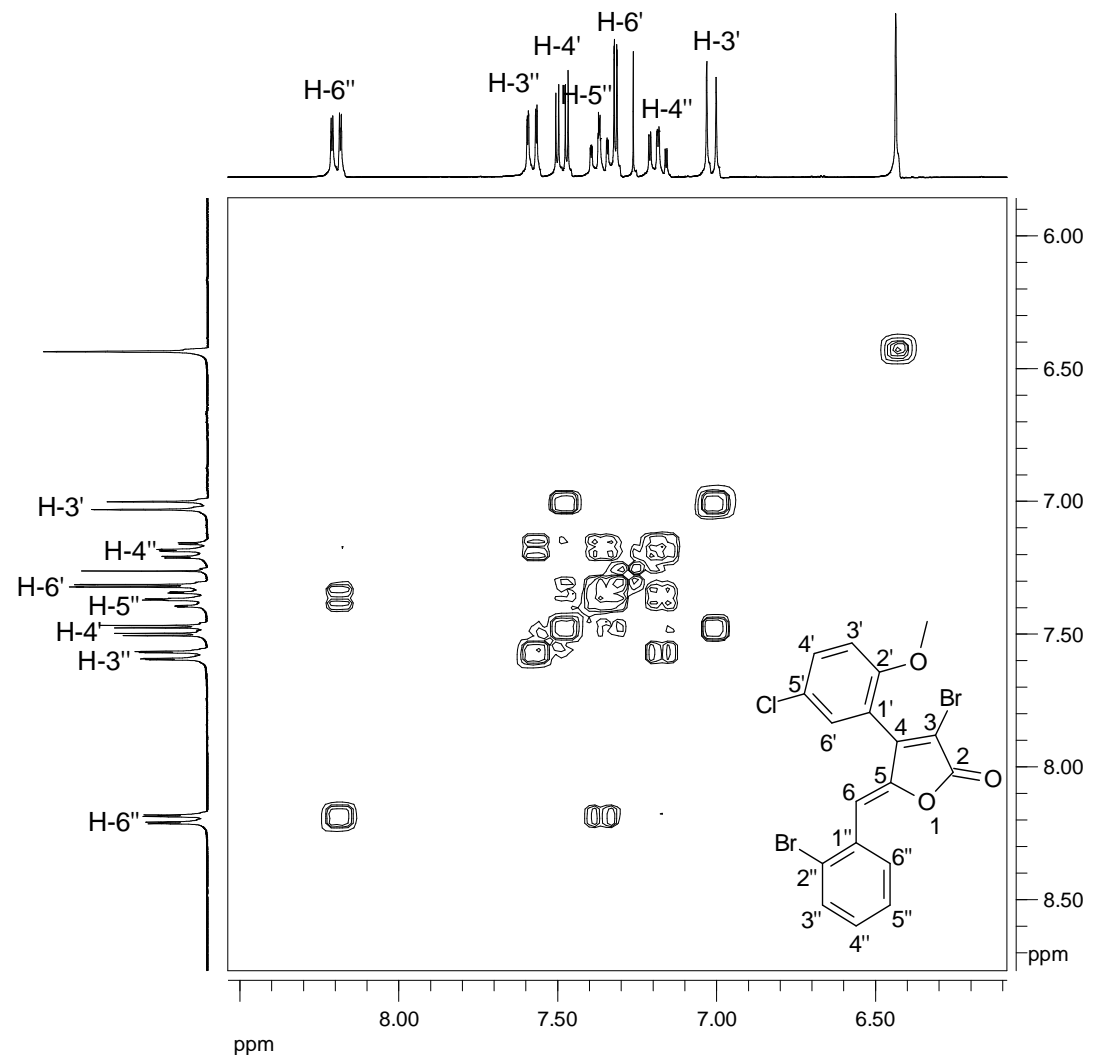


Figura 23 - Mapa de contornos COSY do composto **4f**.

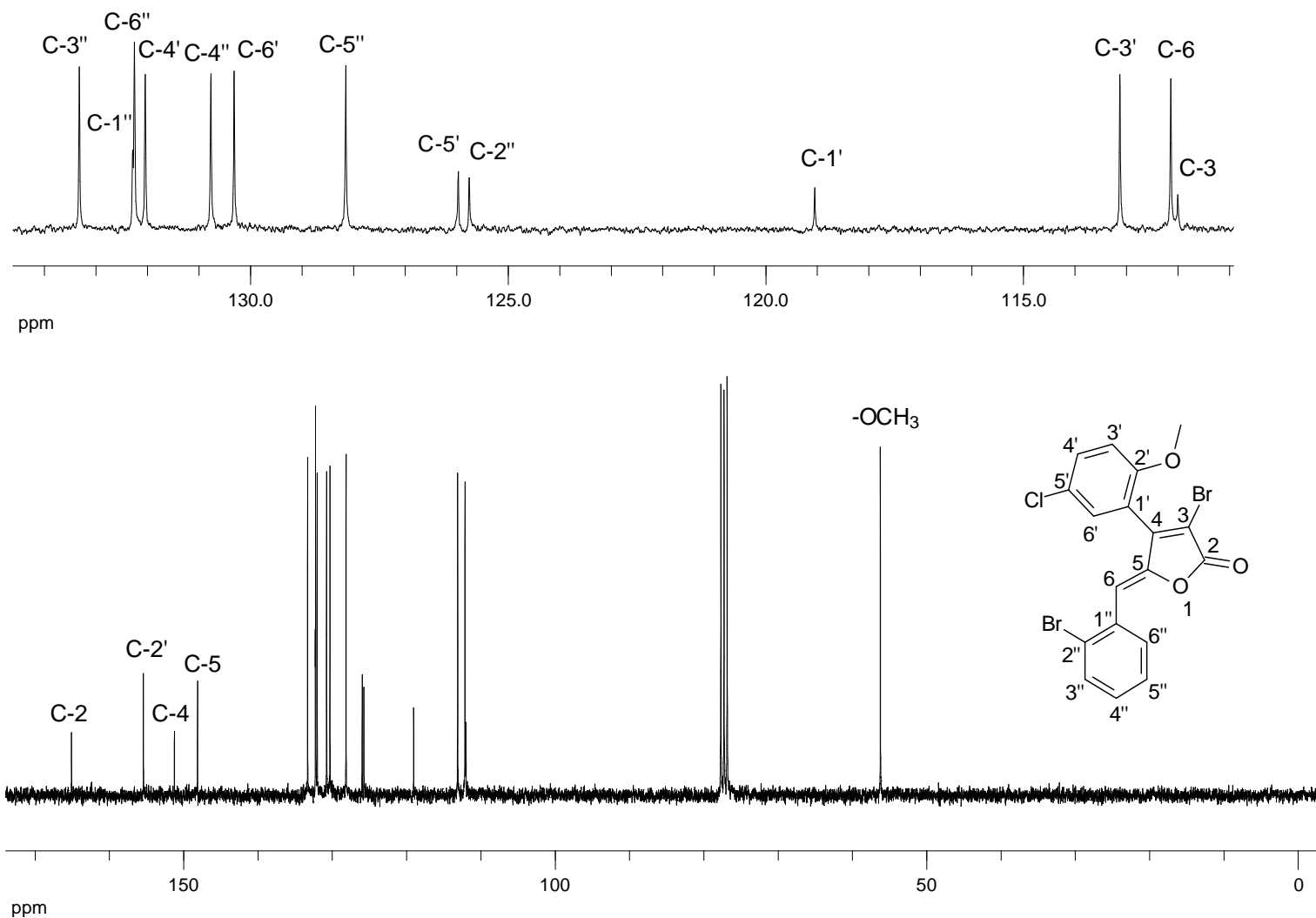


Figura 24 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **4f**.

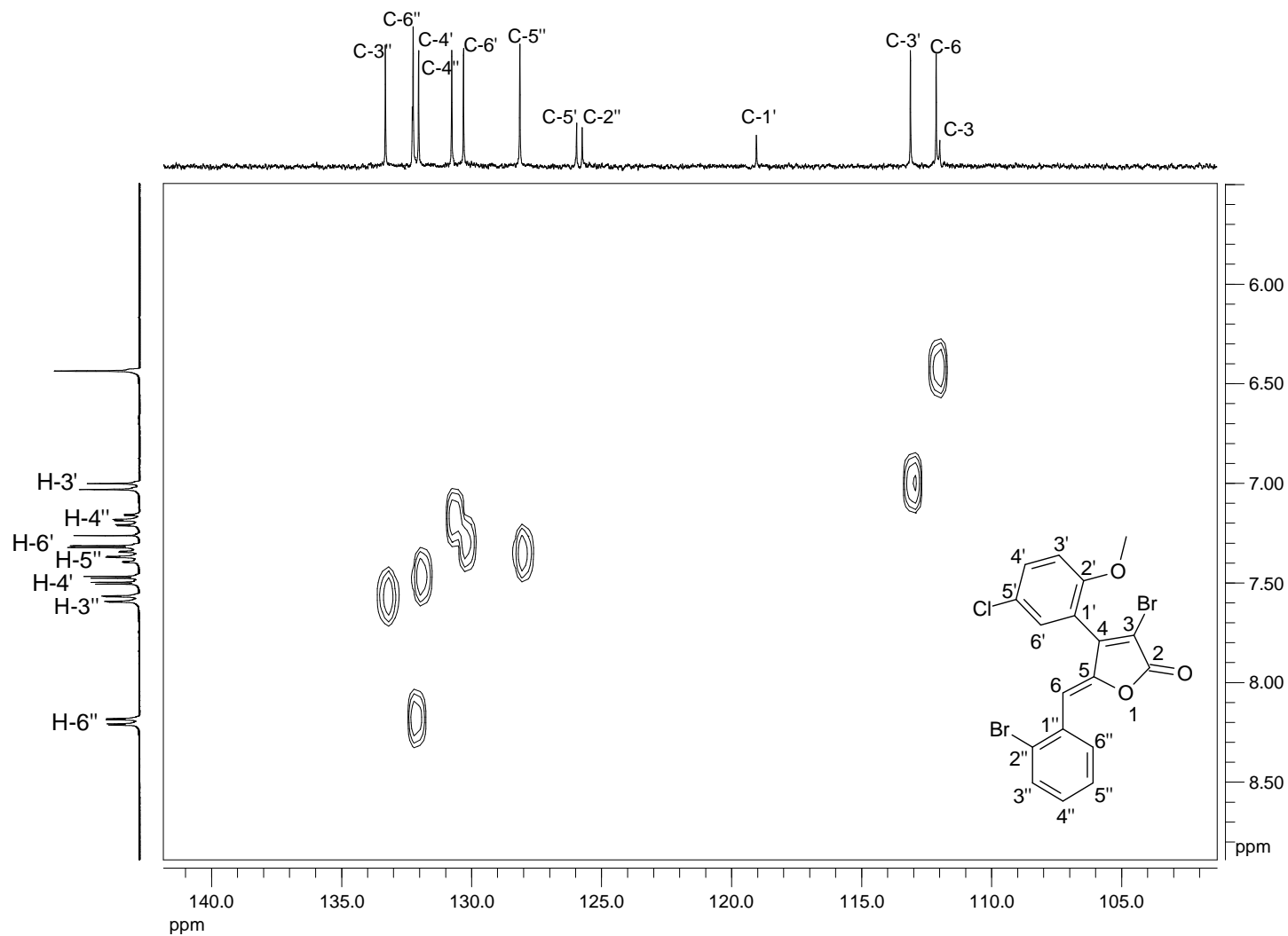


Figura 25 - Mapa de contornos HETCOR do composto **4f**.

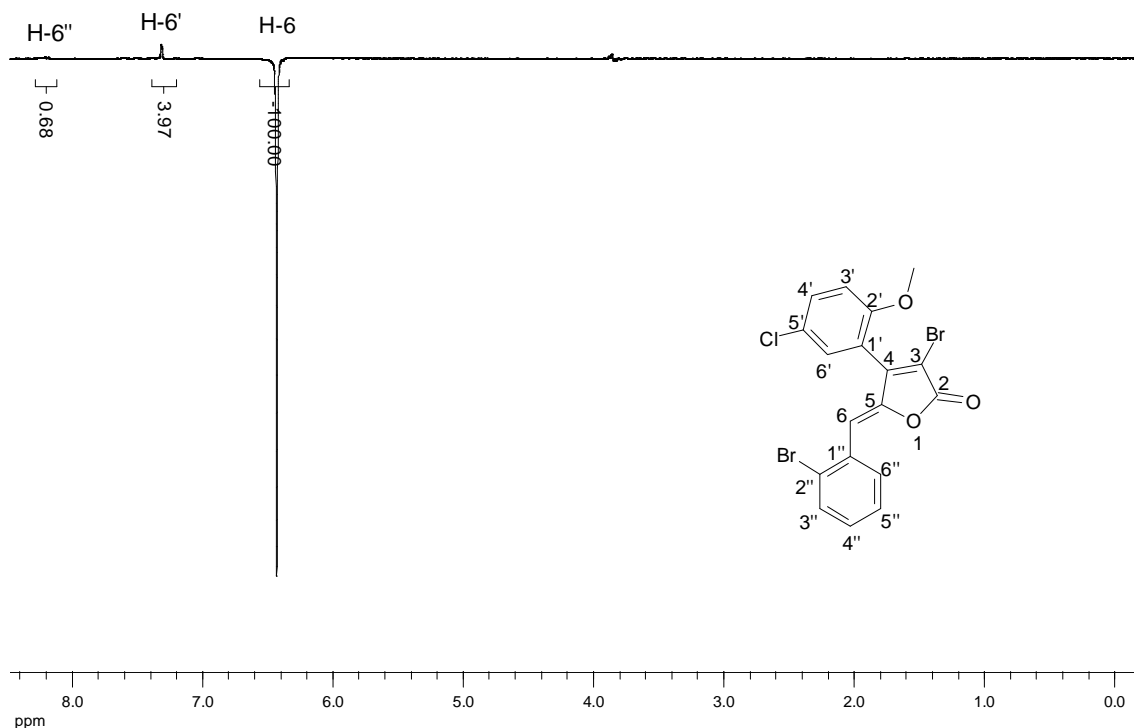


Figura 26 - Espectro de NOEDIF (CDCl₃) para o composto **4f**.

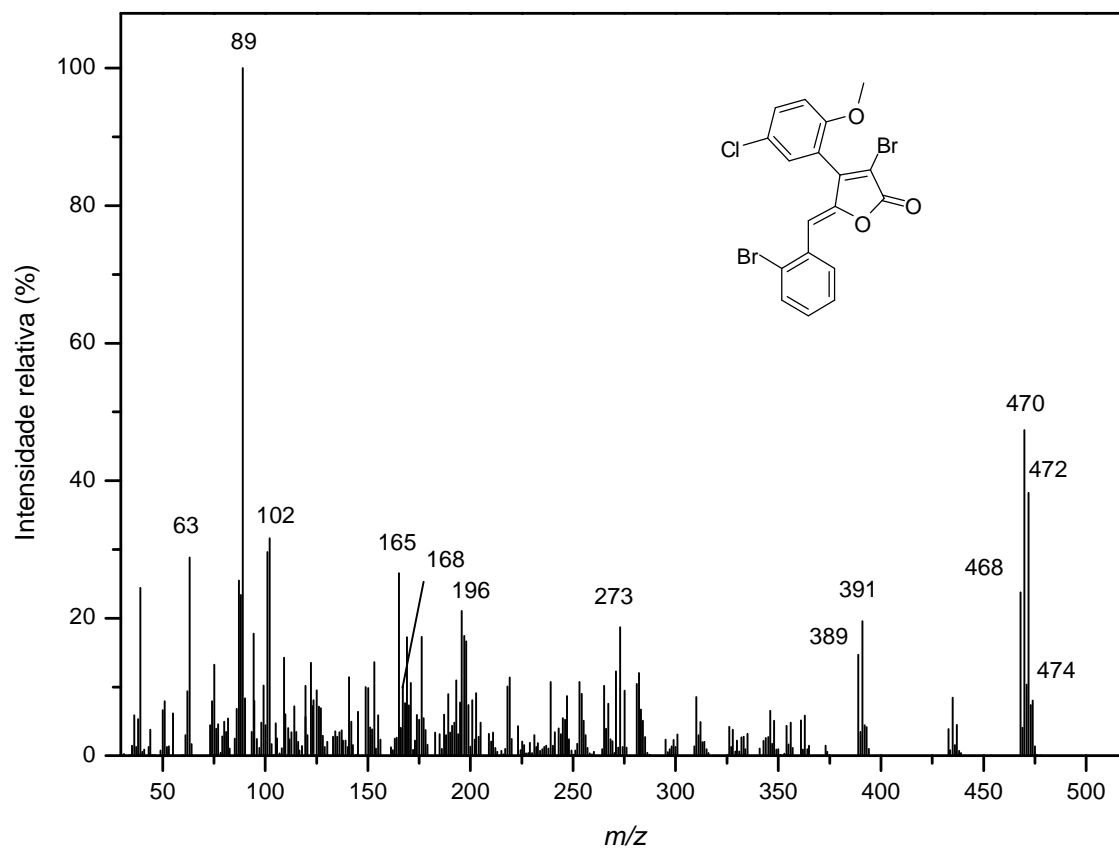
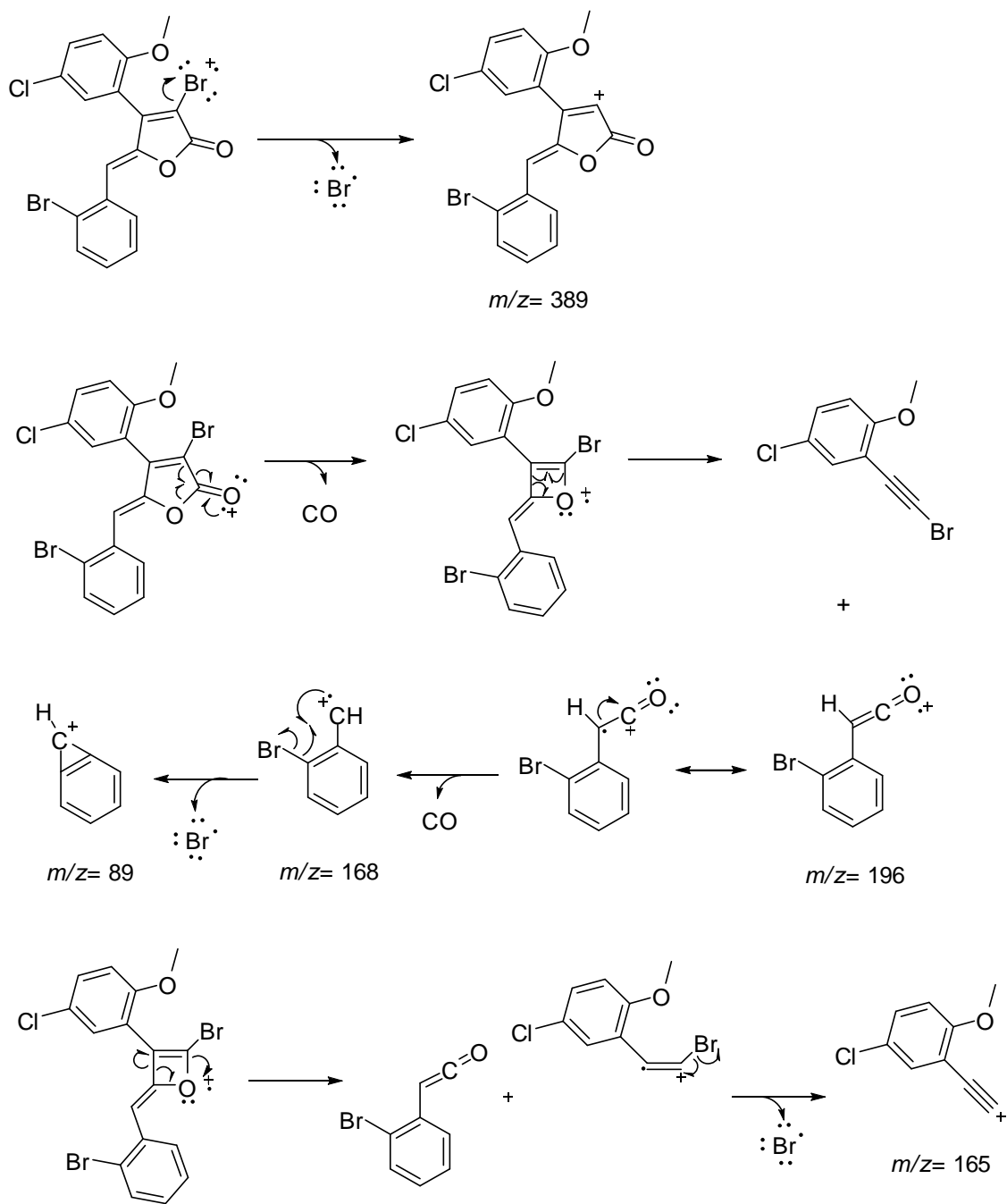


Figura 27 - Espectro de massas para o composto **4f**.



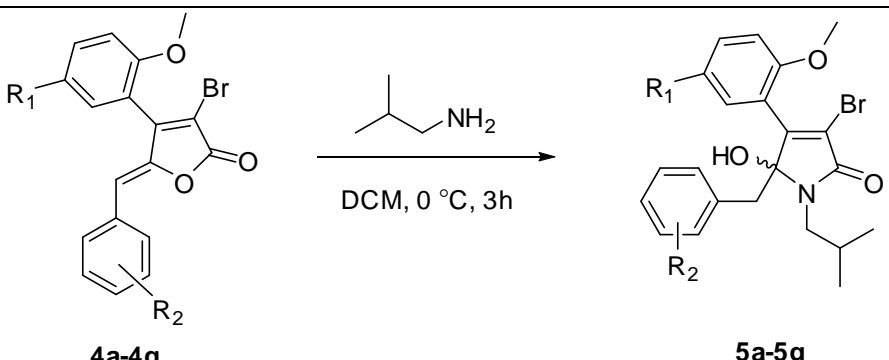
Esquema 15 - Proposta de fragmentações da γ -alquilidenofuran-2(5H)-ona **4f**.

4.4. Síntese das γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas

Para o preparo das γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas a partir das γ -alquilidenofuran-2(5H)-onas utilizou-se a reação de conversão lactona-lactama também conhecida como reação de lactamização (GOH *et al.*, 2007).

Nesse processo, as γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas **5a-5g** foram sintetizadas pela dissolução das γ -alquilidenofuran-2(5H)-onas **4a-4g** em diclorometano a 0 °C e tratadas com excesso de isobutilamina. A escolha da isobutilamina foi feita por essa estar disponível em maior quantidade no laboratório. A Tabela 8 a seguir apresenta as γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas preparadas e os rendimentos em que foram obtidas.

Tabela 8 - Reação de conversão lactona-lactama das γ -alquilidenofuran-2(5H)-onas



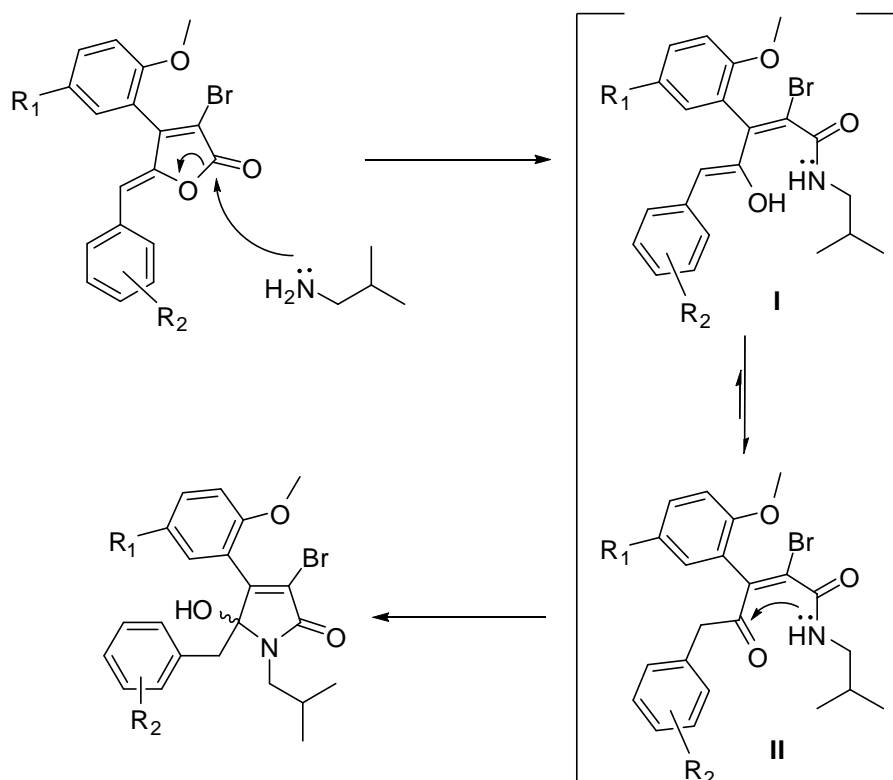
Composto	R ₁	R ₂	Rendimento (%)
5a	H	<i>p</i> -CF ₃	85
5b	Br	<i>m</i> -Cl	78
5c	Br	<i>p</i> -Br	85
5d	CH ₃	<i>m</i> -Cl	84
5e	CH ₃	<i>o</i> -Cl	84
5f	Cl	<i>o</i> -Br	76
5g	Cl	<i>m</i> -OCH ₃	76

Por causa dos potenciais sítios reativos nas γ -alquilidenofuran-2(5H)-onas, a temperatura da reação deve ser mantida a 0 °C para controlar a

regioquímica da reação no átomo de carbono da carbonila (C-2), já que temperaturas mais baixas permitem o controle cinético o que favorece a ocorrência da adição direta, ou adição-1,2, em relação à adição conjugada.

Todas as reações foram completadas em três horas, monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) e purificadas por cromatografia em coluna de sílica gel. Os rendimentos obtidos foram satisfatórios em todos os casos e variaram de 76% a 85%.

A formação das γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas pode ser explicada pela sequência de reações apresentada no Esquema 16. Uma molécula de amina ataca a carbonila da lactona seguida pela abertura do anel para formar uma amida como intermediário **I**. A seguir o equilíbrio ceto-enólico permite a formação do isômero mais estável na forma ceto (**II**) que por sua vez cicliza para formação do anel lactâmico. Na etapa de ciclização o ataque nucleofílico do nitrogênio à carbonila pode ocorrer por duas faces distintas da carbonila, por isso os produtos foram obtidos como mistura de enantiômeros.



Esquema 16 - Mecanismo proposto de formação das γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas (GOH *et al.*, 2007).

Todos os produtos reportados foram caracterizados por espectroscopia no IV, RMN de ^1H e de ^{13}C , experimentos bidimensionais (COSY e HETCOR) e espectrometria de massas.

A discussão feita a seguir é baseada nos dados da γ -hidroxipirrol-2(5H)-ona **5f**, mas pode ser estendida às demais γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas sintetizadas já que as estruturas das mesmas diferem apenas nos substituintes ligados em cada anel aromático.

O espectro no IV de **5f** (Figura 28) apresentou uma banda de intensidade média um pouco alargada em $3221\text{-}3397\text{ cm}^{-1}$ referente ao estiramento da hidroxila. Também foi possível observar a banda intensa referente ao estiramento da carbonila em 1688 cm^{-1} .

Pelo espectro de RMN de ^1H de **5f** (Figura 29) foi possível confirmar a estrutura do produto desejado. O simpleto em $\delta = 4,86$ é referente ao hidrogênio da hidroxila. Para os hidrogênios geminais H-6 foram observados dois dupletos: um em $\delta = 3,30$ ($J_{6a,6b} = 15,0\text{ Hz}$) e outro em $\delta = 3,41$ ($J_{6b,6a} = 15,0\text{ Hz}$) devido à presença do centro assimétrico no carbono C-5.

Os sinais referentes aos hidrogênios do grupo alquil da isobutilamina utilizada na reação de lactamização também foram identificados no espectro do produto. Os dois hidrogênios H-7 também apresentaram diferentes deslocamentos químicos devido à presença do centro assimétrico na molécula. Dessa vez, além do acoplamento geminal entre os hidrogênios H-7a com H-7b, também foi possível observar o acoplamento desses hidrogênios com H-8, portanto para H-7a foi observado um duplete duplo em $\delta = 3,07$ ($J_{7a,7b} = 13,8\text{ Hz}$, $J_{7a,8} = 7,8\text{ Hz}$) e para H-7b outro duplete duplo em $\delta = 3,50$ ($J_{7b,7a} = 13,8\text{ Hz}$, $J_{7b,8} = 7,8\text{ Hz}$). O multipletto em $\delta = 2,19\text{-}2,36$ foi atribuído para H-8 e os dois dupletos blindados foram atribuídos para H-9 ($\delta = 0,94$, $J_{9,8} = 6,6\text{ Hz}$) e H-10 ($\delta = 0,95$, $J_{10,8} = 6,6\text{ Hz}$). A análise do mapa de contornos COSY de **5f** (Figura 30) permite visualizar todos esses acoplamentos entre os átomos de hidrogênio vicinais e geminais.

As atribuições dos sinais dos hidrogênios aromáticos de **5f** foram auxiliadas pela análise das constantes de acoplamento entre esses hidrogênios, pelo mapa de contornos COSY (Figura 30) e por comparação com o espectro de RMN de ^1H do precursor da γ -hidroxipirrol-2(5H)-ona **5f**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **5f** (Figura 31) foram observados dois sinais próximos, um em $\delta = 20,7$ e outro em $\delta = 20,9$ atribuídos aos carbonos C-9 e C-10, respectivamente. O sinal em $\delta = 41,5$ é referente ao carbono C-6 e foi distinguido do sinal em $\delta = 48,2$ referente ao carbono C-7 pela análise do mapa de contornos HETCOR (Figura 32) onde é possível observar a correlação entre os átomos H-7a e H-7b com C-7. O mesmo foi feito para C-8 em $\delta = 27,8$. A atribuição dos sinais referentes aos átomos de carbono dos anéis aromáticos também foi auxiliada pela análise do mapa de contornos HETCOR, o que ainda não permitiu a atribuição precisa para todos os sinais devido à proximidade dos mesmos.

No espectro de massas de **5f** (Esquema 17), não foi possível observar o sinal do pico do íon molecular, entretanto foram observados picos em $m/z = 523$ referente ao íon $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ e em $m/z = 372$ referente à perda do fragmento benzil ligado ao anel lactâmico. As propostas mecanísticas para as fragmentações dos íons anteriormente citados, assim como a proposta para a formação dos íons em $m/z = 444$ e 316, são apresentadas no Esquema 17.

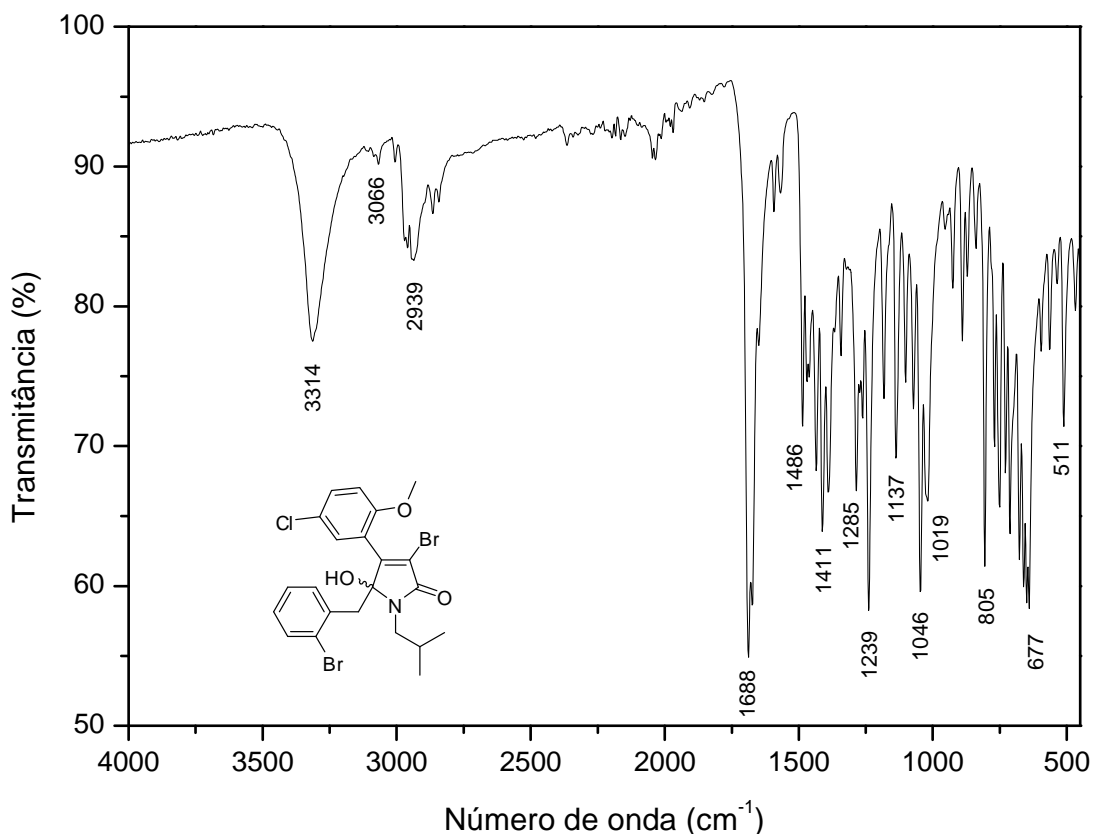


Figura 28 - Espectro no infravermelho (IV) do composto **5f**.

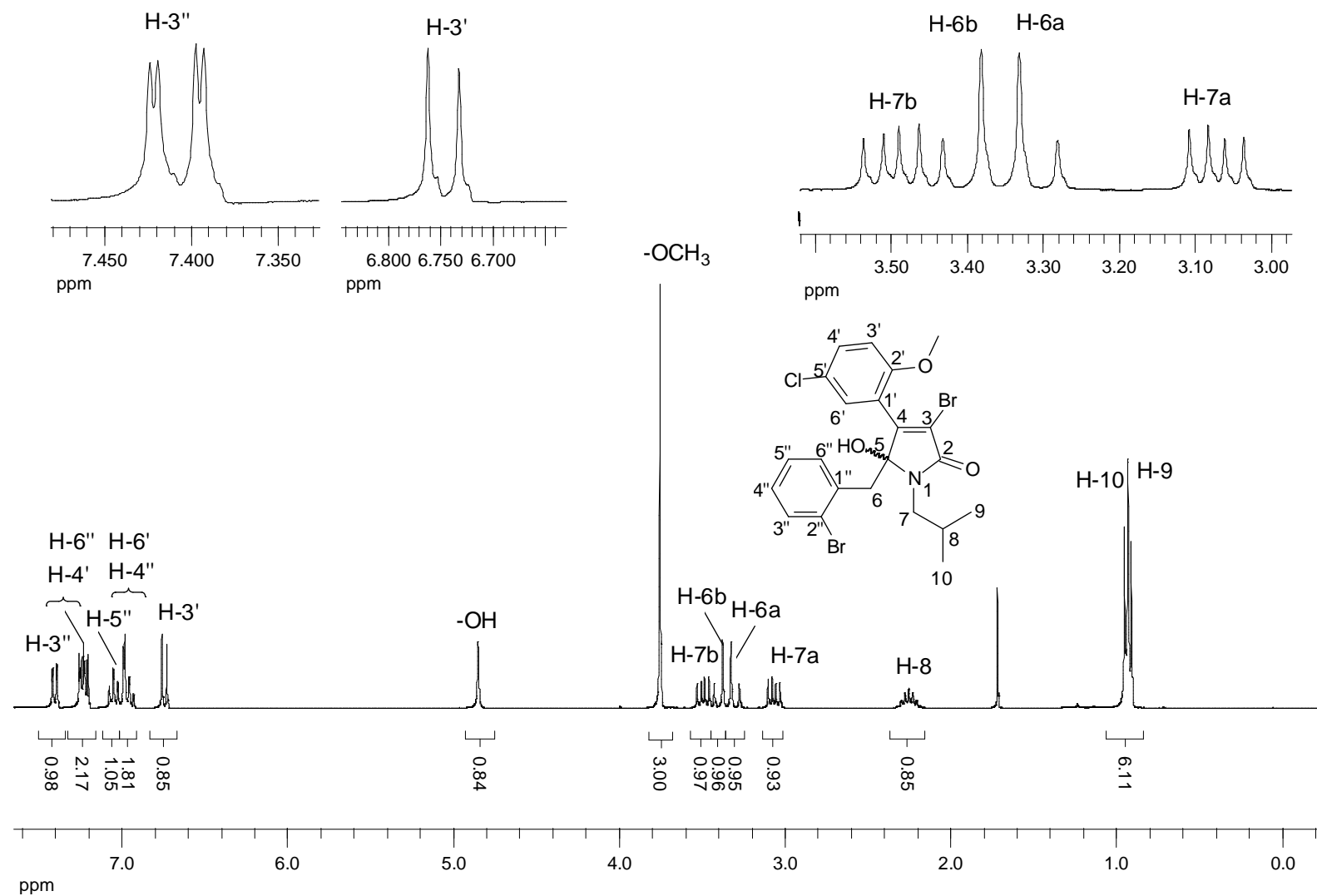


Figura 29 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **5f**.

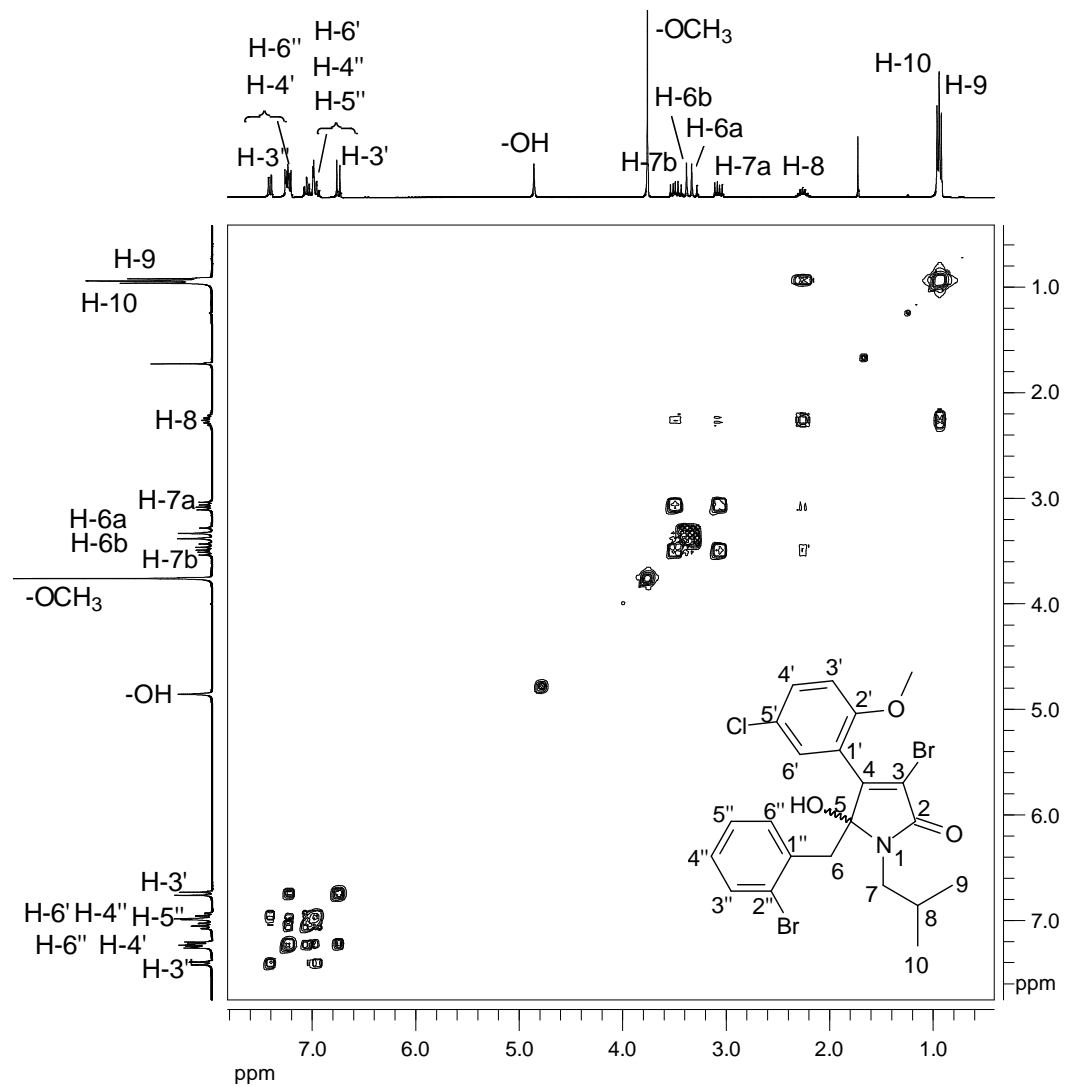


Figura 30 - Mapa de contornos COSY do composto **5f**.

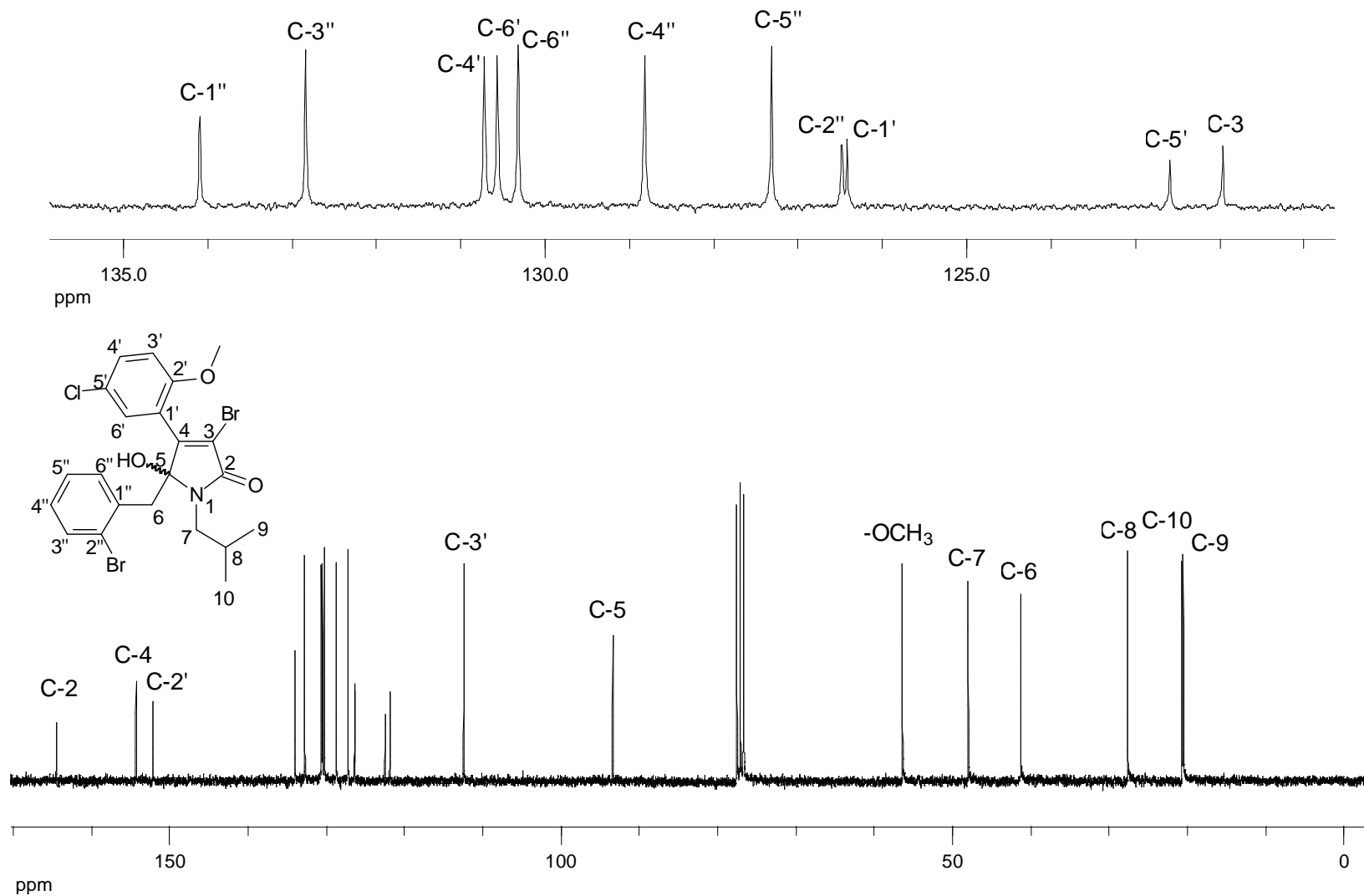


Figura 31 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **5f**.

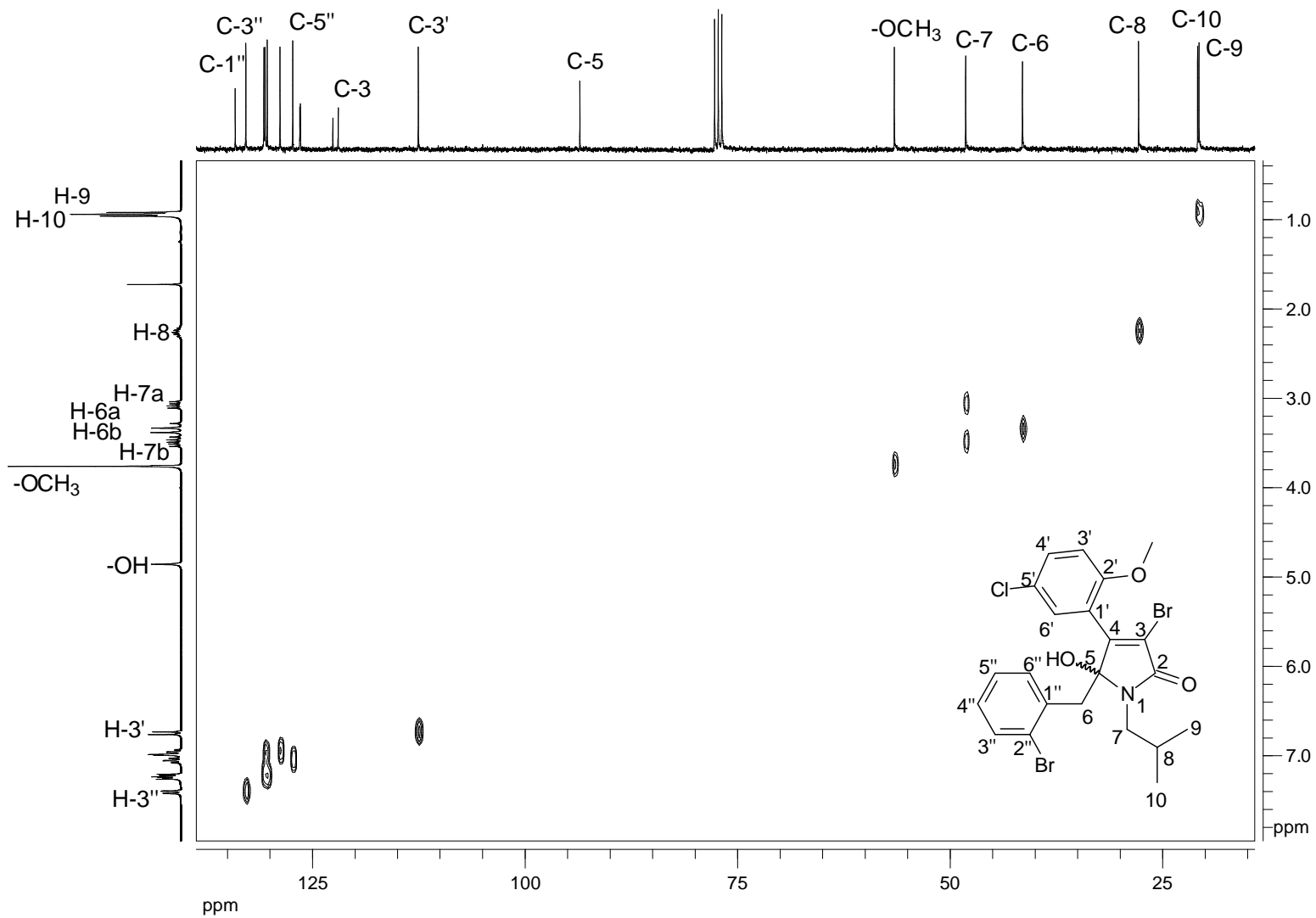
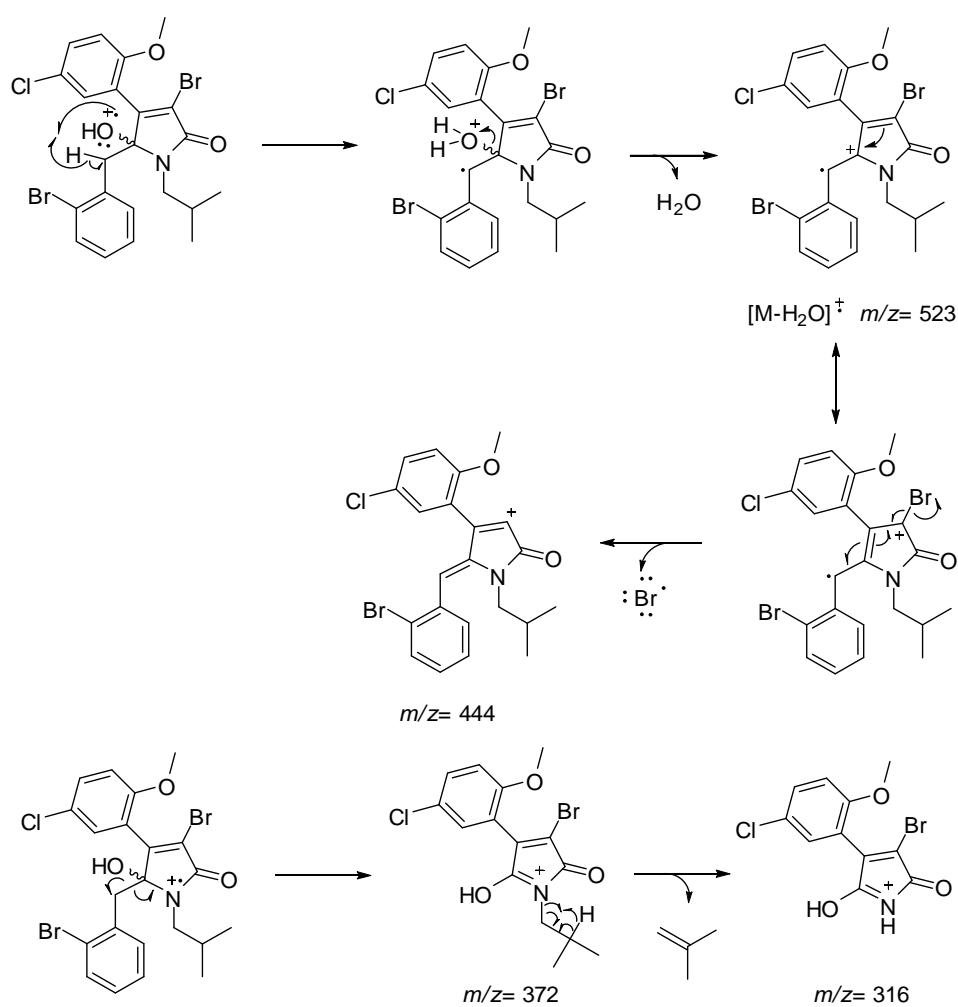
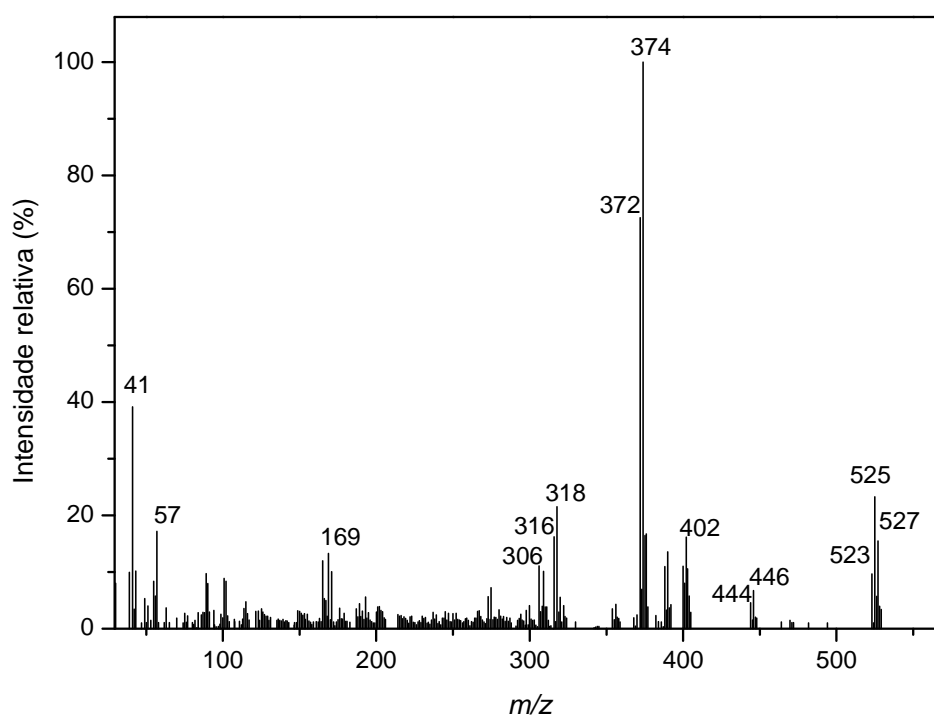


Figura 32 - Mapa de contornos HETCOR do composto **5f**.



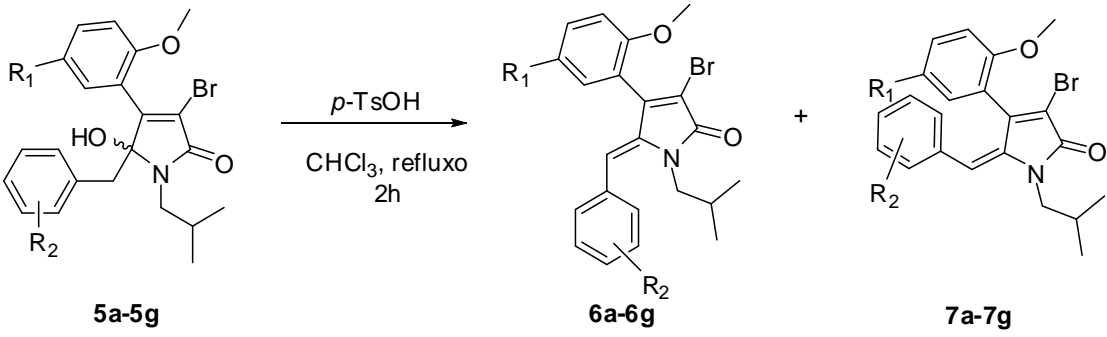
Esquema 17 - Espectro de massas e proposta de fragmentações de **5f**.

4.5. Síntese das γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas

A última etapa para obtenção das γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas consistiu na desidratação das γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas de acordo com metodologia desenvolvida por GOH e colaboradores (2007).

De acordo com esse protocolo, as γ -hidroxipirrol-2(5H)-onas **5a-5g** foram solubilizadas em clorofórmio anidro, tratadas com ácido *p*-toluenossulfônico (PTSA) em quantidade catalítica (0,3 mmol equivalente) e mantidas em refluxo por duas horas. A Tabela 9 a seguir apresenta as γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas sintetizadas **6a-6g** e **7a-7g** e os respectivos rendimentos em que foram obtidas.

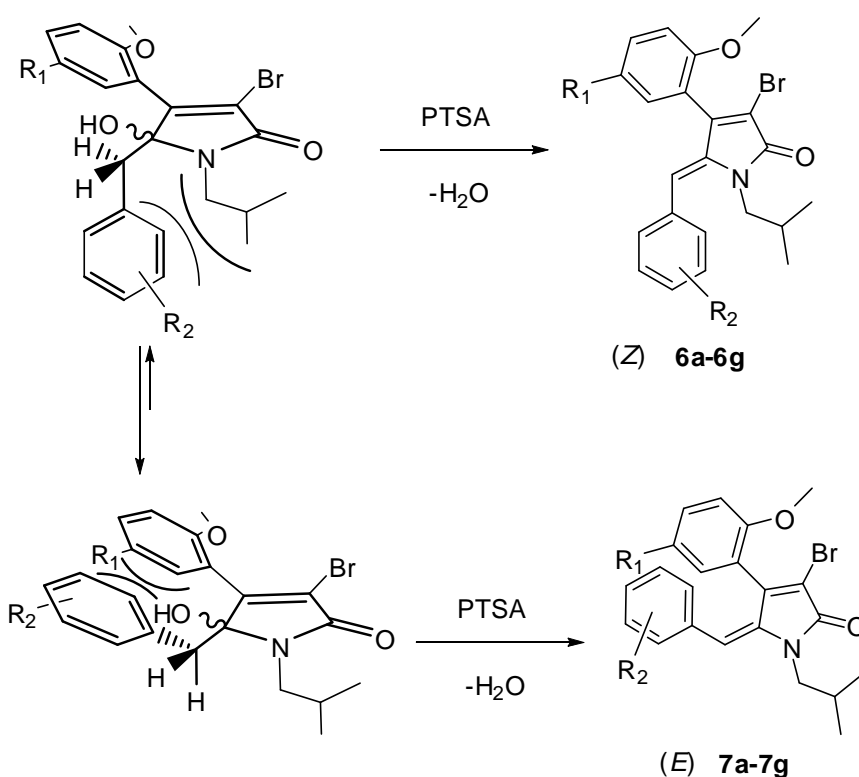
Tabela 9 - Síntese das (*Z*) e (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas

					
R ₁	R ₂	Composto/ Rendimento (%)	Composto/ Rendimento (%)	Rendimento total (%)	Relação (<i>Z</i> : <i>E</i>)
H	<i>p</i> -CF ₃	6a (36)	7a (39)	75	1:1,08
Br	<i>m</i> -Cl	6b (28)	7b (31)	59	1:1,11
Br	<i>p</i> -Br	6c (23)	7c (33)	56	1:1,43
CH ₃	<i>m</i> -Cl	6d (35)	7d (45)	80	1:1,29
CH ₃	<i>o</i> -Cl	6e (29)	7e (39)	68	1:1,34
Cl	<i>o</i> -Br	6f (29)	7f (43)	72	1:1,48
Cl	<i>m</i> -OCH ₃	6g (41)	7g (35)	76	1,18:1

Como se pode observar, as γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas foram obtidas nas geometrias *Z* e *E*, e na maioria dos casos os rendimentos foram superiores

para as (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas **7a-7g** em relação aos seus isômeros *Z*. O único caso em que o isômero *Z* foi obtido em rendimento maior que *E* foi para **6g**.

O fato de a maioria das γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas ter sido obtida na geometria *E* parece estar relacionado à natureza volumosa do grupo isobutil ligado ao nitrogênio das pirrolonas. Provavelmente durante o processo de formação das γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas, o grupo isobutil confere maior impedimento espacial que o grupo aril ligado no carbono C-4, conforme pode ser visto no Esquema 18.



Esquema 18 - Formação das (*Z*) e (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas.

As estruturas das (*Z*) e (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas foram definidas mediante análises espectroscópicas no IV, RMN de 1H e ^{13}C , experimentos bidimensionais (COSY e HETCOR) e espectrometria de massas, cujos resultados confirmaram as estruturas propostas e fórmulas moleculares em todos os casos.

Como exemplo, será feita uma discussão dos dados espectroscópicos obtidos para o composto **6f** e apresentação de seus espectros. Em alguns pontos também será feita uma comparação dos dados espectroscópicos de **6f** com os de seu isômero **7f**.

A confirmação inicial da estrutura de **6f** se deu pela análise de seu espectro no IV (Figura 33) onde é possível observar uma banda intensa referente ao estiramento da carbonila em 1706 cm^{-1} . Por sua vez, seu isômero **7f** absorveu em 1699 cm^{-1} (Figura 34).

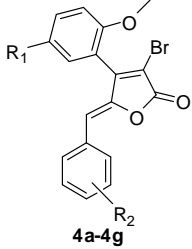
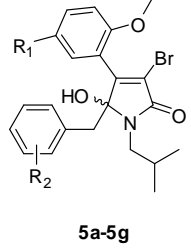
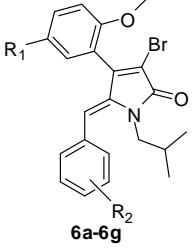
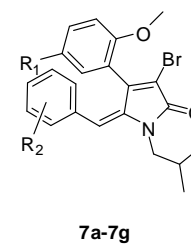
Ao se comparar o número de onda das absorções das carbonilas das (*Z*) e (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas com o das γ -hidroxipirrol-2(5*H*)-onas **5a-5g** e γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas **4a-4g** se observa um determinado padrão já esperado (Tabela 10).

O efeito indutivo retirador de elétrons do oxigênio é maior que o doador de elétrons por ressonância, o que fortalece a ligação C=O das γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas fazendo com que as carbonilas das mesmas absorvam em número de onda maior em relação às das carbonilas das γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas que apresentam o nitrogênio ligado à carbonila, cujo efeito doador de elétrons é mais significativo que o efeito indutivo retirador de elétrons.

Já as carbonilas das γ -hidroxipirrol-2(5*H*)-onas absorvem em números de onda menores que as das γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas. Esse fato ocorre devido à presença da insaturação exocíclica adjacente ao nitrogênio das γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas, que permite uma maior deslocalização dos elétrons não ligantes do nitrogênio e aumenta a constante de força da ligação C=O nas γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas. Isso eleva o número de onda de absorção das carbonilas desses compostos em relação ao das γ -hidroxipirrol-2(5*H*)-onas.

Em relação aos isômeros (*Z*) e (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas, não há correlação entre a geometria da dupla desses isômeros e número de onda das absorções das carbonilas conforme pode ser visto na Tabela 10.

Tabela 10 - Número de onda ($\bar{\nu}$) referente à vibração de estiramento das carbonilas (ν C=O) das (*Z*)- γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas **4a-4g**, γ -hidroxipirrol-2(5*H*)-onas **5a-5g** e das (*Z*) e (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas **6a-6g** e **7a-7g**

					
R ₁	R ₂	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)
H	<i>p</i> -CF ₃	1779 (4a)	1682 (5a)	1698 (6a)	1704 (7a)
Br	<i>m</i> -Cl	1764 (4b)	1691 (5b)	1702 (6b)	1702 (7b)
Br	<i>p</i> -Br	1773 (4c)	1693 (5c)	1701 (6c)	1700 (7c)
CH ₃	<i>m</i> -Cl	1769 (4d)	1675 (5d)	1701 (6d)	1706 (7d)
CH ₃	<i>o</i> -Cl	1766 (4e)	1689 (5e)	1702 (6e)	1702 (7e)
Cl	<i>o</i> -Br	1768 (4f)	1688 (5f)	1706 (6f)	1699 (7f)
Cl	<i>m</i> -OCH ₃	1767 (4g)	1685 (5g)	1702 (6g)	1698 (7g)

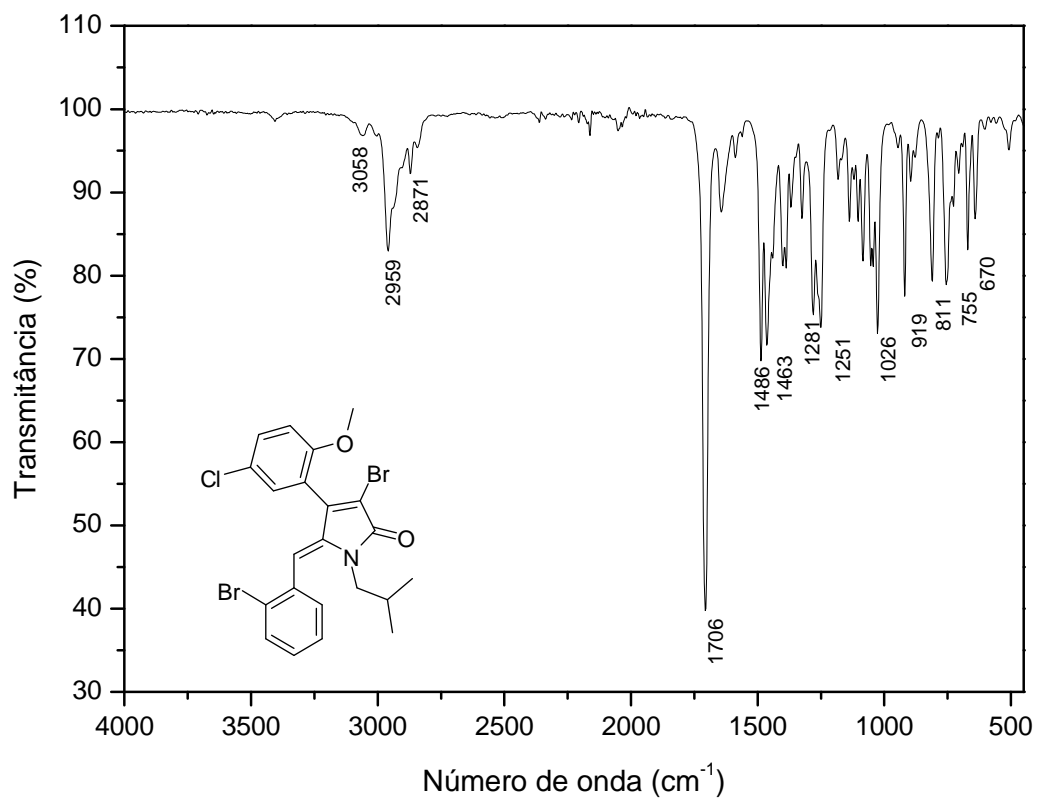


Figura 33 - Espectro no infravermelho (IV) do composto **6f**.

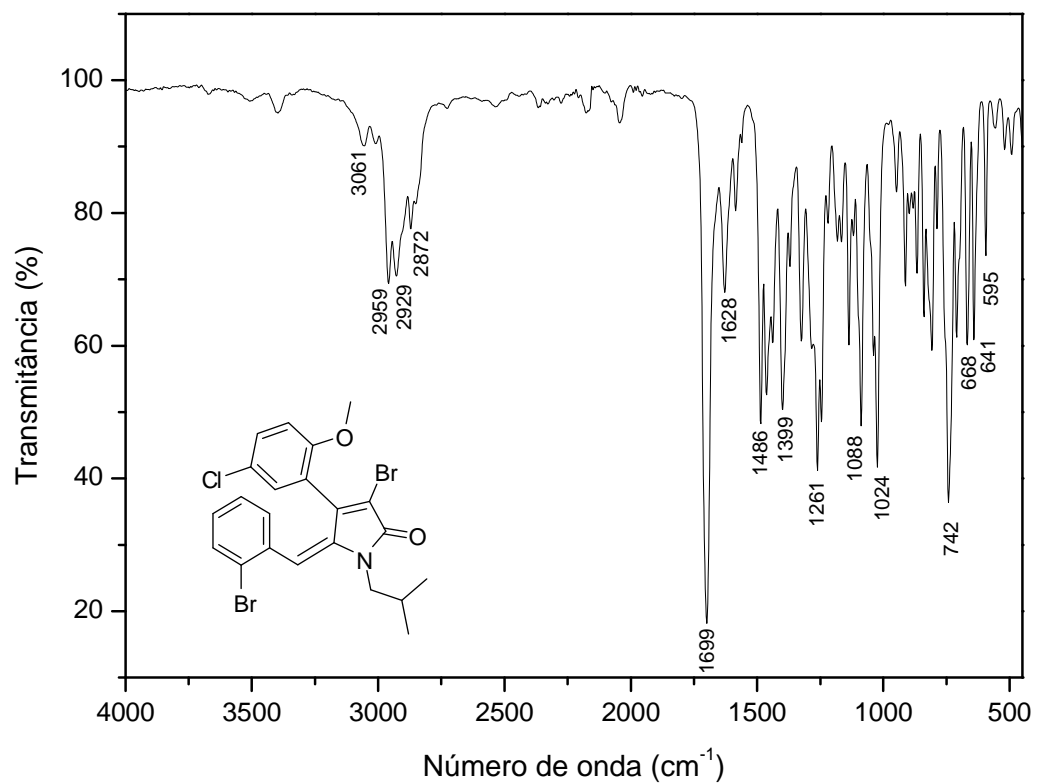


Figura 34 - Espectro no infravermelho (IV) do composto **7f**.

Na Figura 35 é possível observar os espectros de RMN de ^1H dos isômeros **6f** e **7f**. No espectro de RMN de ^1H de **6f** é possível observar dois dupletos duplos próximos, um em $\delta = 3,35$ referente ao hidrogênio H-7a ($J_{7a,7b} = 14,1$ Hz, $J_{7a,8} = 7,5$ Hz) e outro em $\delta = 3,42$ referente ao hidrogênio H-7b ($J_{7b,7a} = 14,1$ Hz, $J_{7b,8} = 7,5$ Hz). Também foi possível observar um multipletto para H-8 em $\delta = 1,36-1,50$ e dois dupletos referentes aos hidrogênios H-9 e H-10 em $\delta = 0,52$ ($J_{9,8} = 6,9$ Hz) e $\delta = 0,54$ ($J_{10,8} = 6,9$ Hz), respectivamente. Em relação aos hidrogênios ligados aos anéis aromáticos foi possível atribuir com precisão o dupletto em $\delta = 6,96$ ($J_{3',4'} = 8,7$ Hz) referente ao hidrogênio H-3' e os dupletos duplos em $\delta = 7,41$ referente ao hidrogênio H-4' ($J_{3',4'} = 8,7$ Hz, $J_{3',6'} = 2,7$ Hz) e $\delta = 7,59$ ($J_{6'',4''} = 1,2$ Hz, $J_{6'',5''} = 8,1$ Hz) referente ao hidrogênio H-6''. A atribuição desses sinais foi auxiliada pela análise do mapa de contornos COSY para esse composto (Figura 36).

Para confirmar a estereoquímica da dupla ligação exocíclica das γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas sintetizadas foram realizados experimentos de NOEDIF com todos os isômeros.

No caso do isômero **6f** é possível observar na Figura 37 que quando H-6 ($\delta = 5,98$) é irradiado observa-se uma intensificação do sinal do hidrogênio aromático H-6' evidenciando que esses hidrogênios estão próximos no espaço e, portanto se trata do isômero *Z*. No caso do isômero *E* (**7f**), a irradiação de H-6 produz uma intensificação dos sinais H-7 e H-8 mostrando a proximidade no espaço entre H-6 e esses dois hidrogênios.

Outra diferença entre os isômeros (*Z*) e (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas pode ser obtida pela comparação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios H-6 desses compostos. Como se pode observar na Tabela 11 os hidrogênios H-6 dos isômeros *Z* apresentam deslocamentos químicos na faixa de $\delta = 5,96-6,07$ e, portanto são mais blindados que os mesmos hidrogênios H-6 dos isômeros *E* que apresentam deslocamento químico na faixa de $\delta = 6,45-6,56$. Provavelmente, a maior desblindagem de H-6 dos isômeros *E* deve ocorrer pela maior proximidade desses hidrogênios em relação átomo de nitrogênio nesses isômeros.

Tabela 11 - Deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio H-6 das (*Z*) e (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas **6a-6g** e **7a-7g**

R ₁	R ₂	(<i>Z</i>)- γ -alquilidenopirrol-2(5 <i>H</i>)-ona		(<i>E</i>)- γ -alquilidenopirrol-2(5 <i>H</i>)-ona	
		Composto	δ H-6	Composto	δ H-6
H	<i>p</i> -CF ₃	6a	6,07	7a	6,51
Br	<i>m</i> -Cl	6b	5,99	7b	6,48
Br	<i>p</i> -Br	6c	5,96	7c	6,47
CH ₃	<i>m</i> -Cl	6d	6,02	7d	6,45
CH ₃	<i>o</i> -Cl	6e	6,04	7e	6,48
Cl	<i>o</i> -Br	6f	5,96	7f	6,46
Cl	<i>m</i> -OCH ₃	6g	6,01	7g	6,56

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 38) de **6f** é possível observar o sinal referente à carbonila em $\delta = 166,7$. O sinal referente à metoxila foi observado em $\delta = 56,3$. Como já se esperava o carbono C-7 ($\delta = 49,5$) é mais desblindado que C-8 ($\delta = 28,0$) pela maior proximidade de C-7 em relação ao nitrogênio. Para os carbonos C-9 e C-10 foram observados dois sinais diferentes ($\delta = 19,7$ e $\delta = 19,9$) provavelmente devido à rigidez da molécula que não permite livre rotação do grupo isobutila. Os sinais referentes aos carbonos aromáticos só puderam ser atribuídos com precisão pela análise do mapa de contornos HETCOR para a mesma molécula (Figura 39).

No espectro de massas de **6f** (Esquema 19) é possível observar o sinal do íon molecular em $m/z = 523$. Também é possível observar o pico base em $m/z = 41$ que é proveniente da fragmentação do grupo isobutil. O fragmento responsável pelo sinal em $m/z = 444$ é referente à perda de um radical bromo Br do íon molecular. Esse mesmo fragmento perde uma molécula de isobutileno com formação do fragmento em $m/z = 388$. As propostas mecanísticas para as fragmentações dos íons anteriormente citados, assim como a proposta para a fragmentação do íon em $m/z = 400$, são apresentadas no Esquema 19.

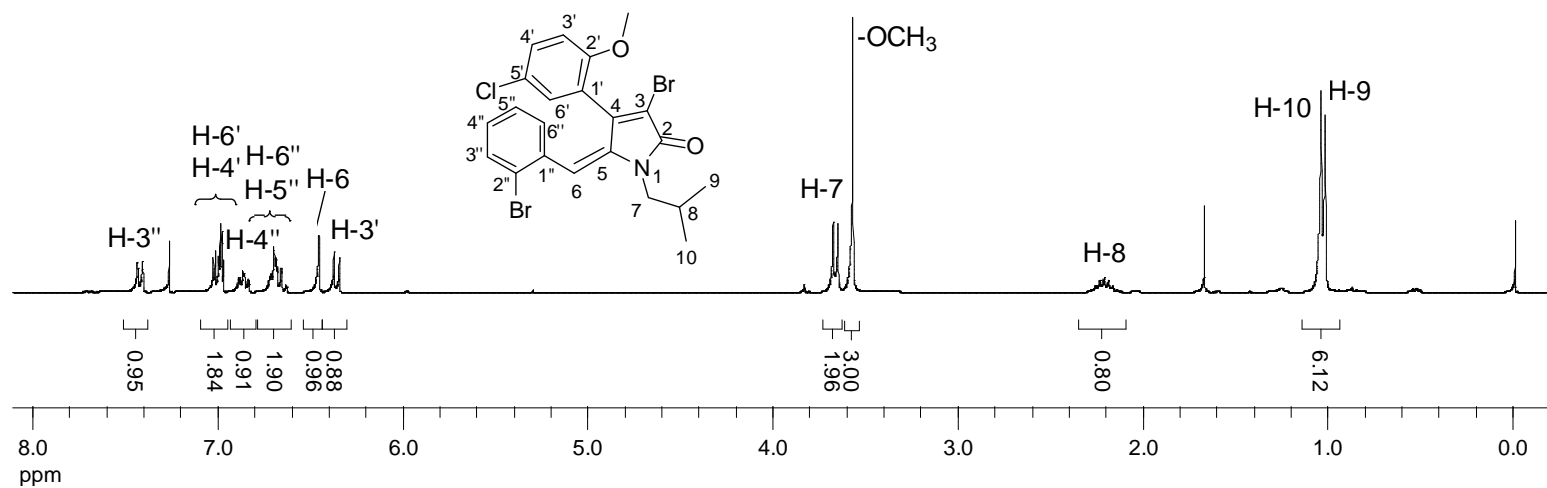
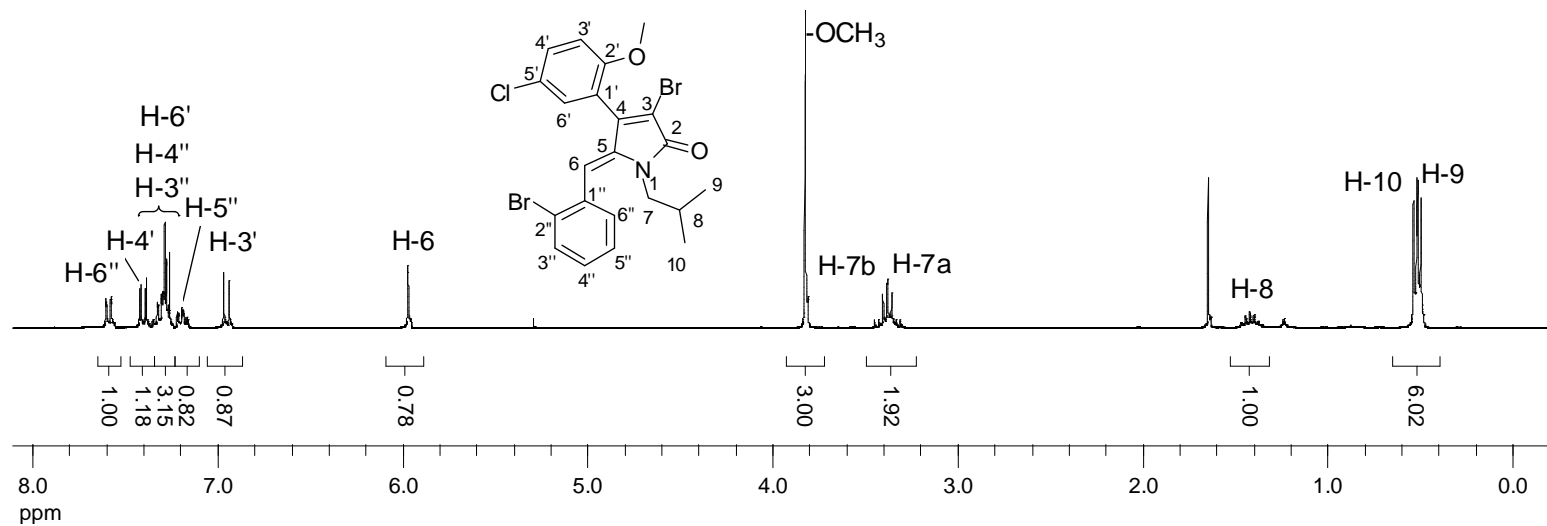


Figura 35 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) dos compostos **6f** e **7f**.

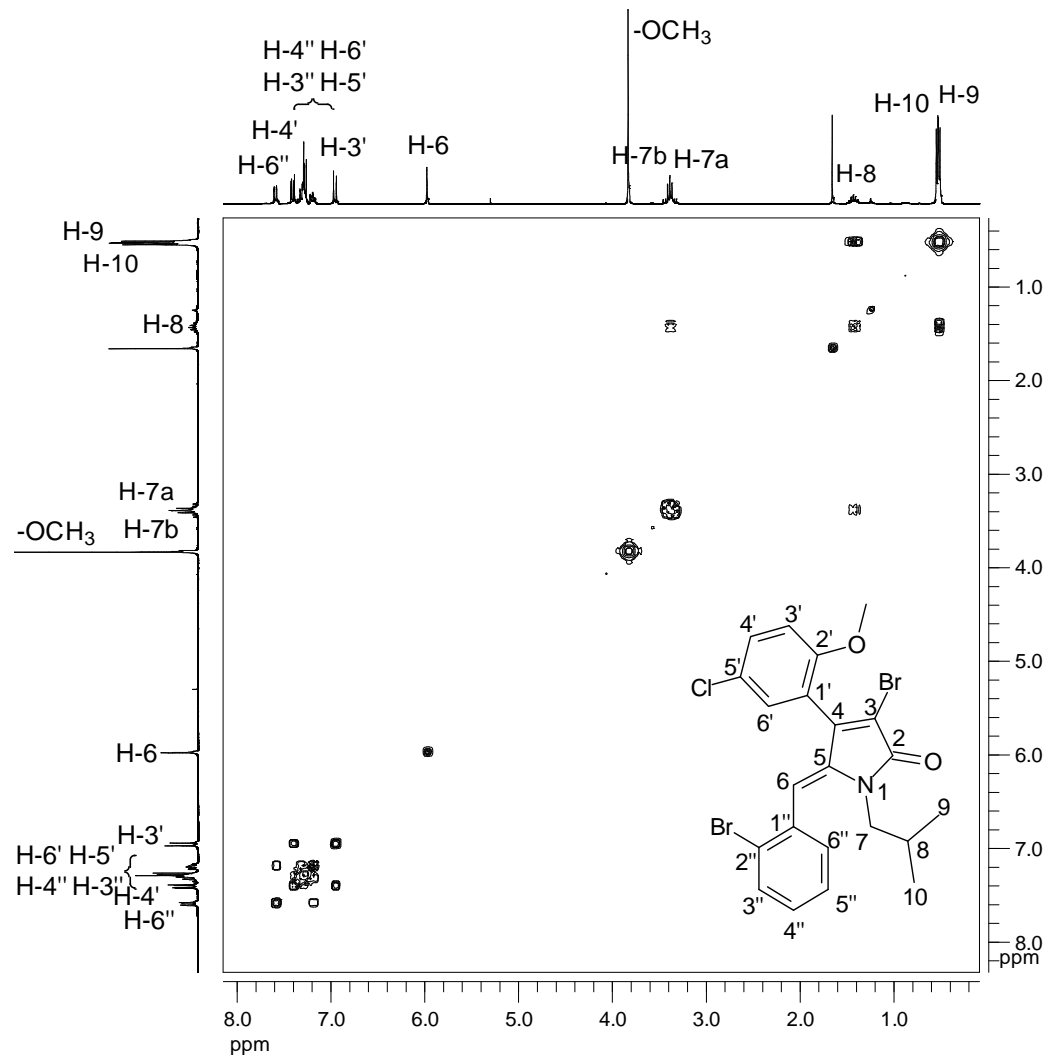


Figura 36 - Mapa de contornos COSY do composto **6f**.

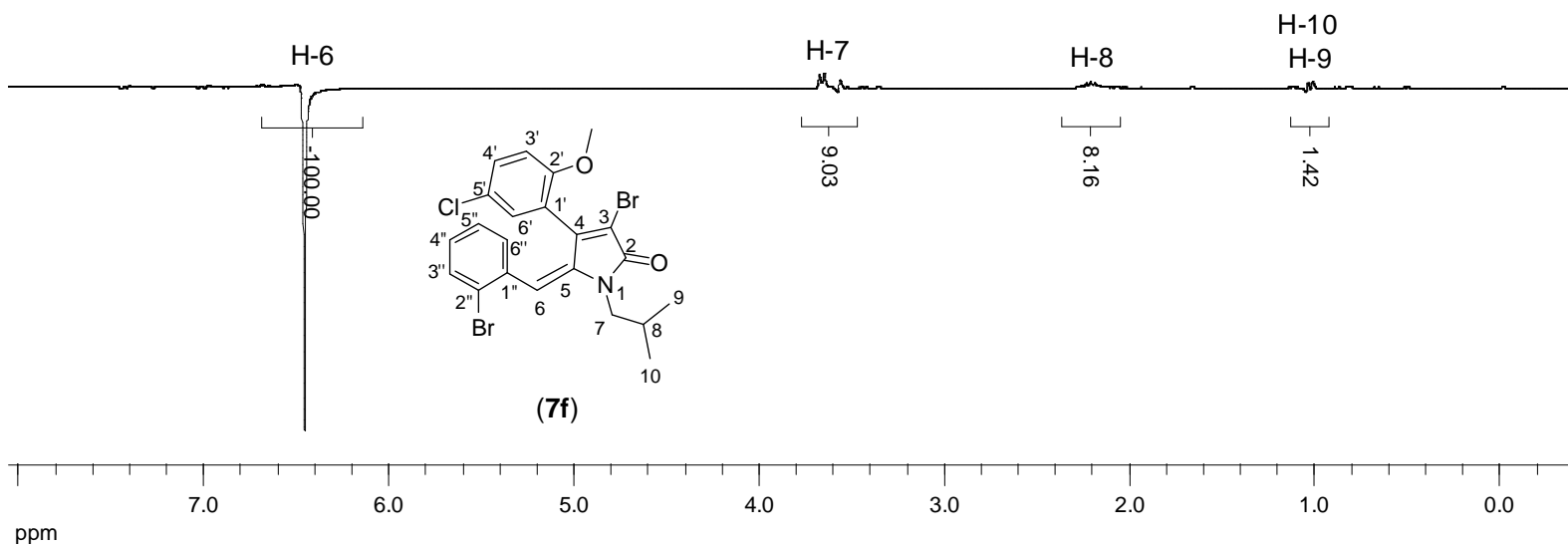
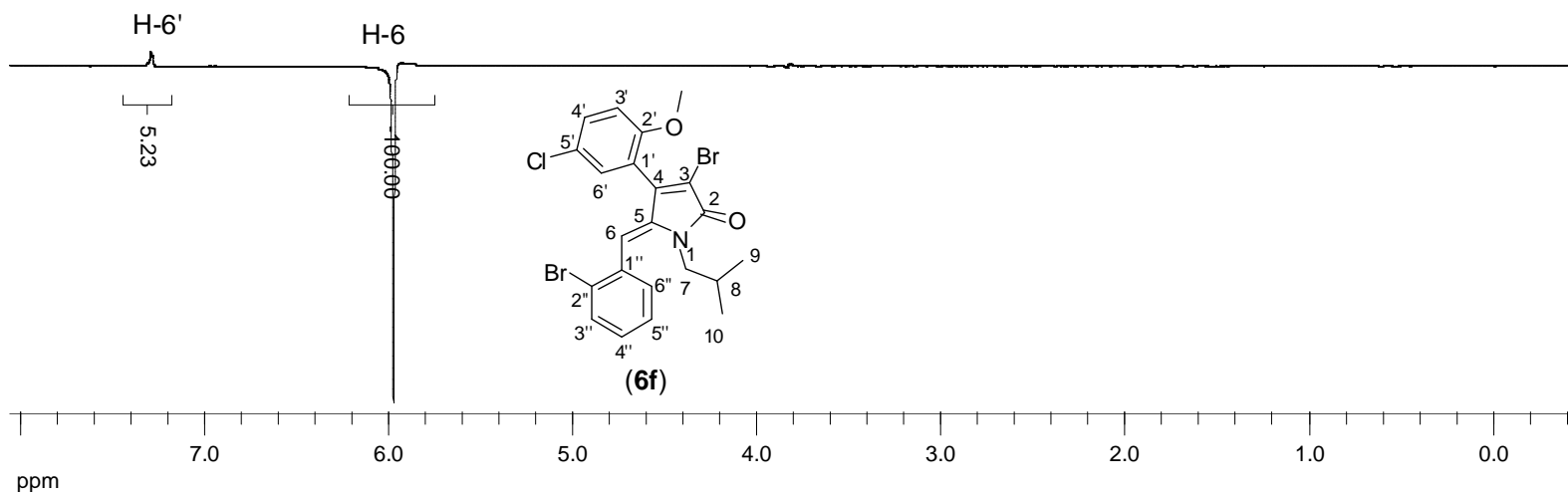


Figura 37 - Espectro de NOEDIF (CDCl₃) para os compostos **6f** e **7f**.

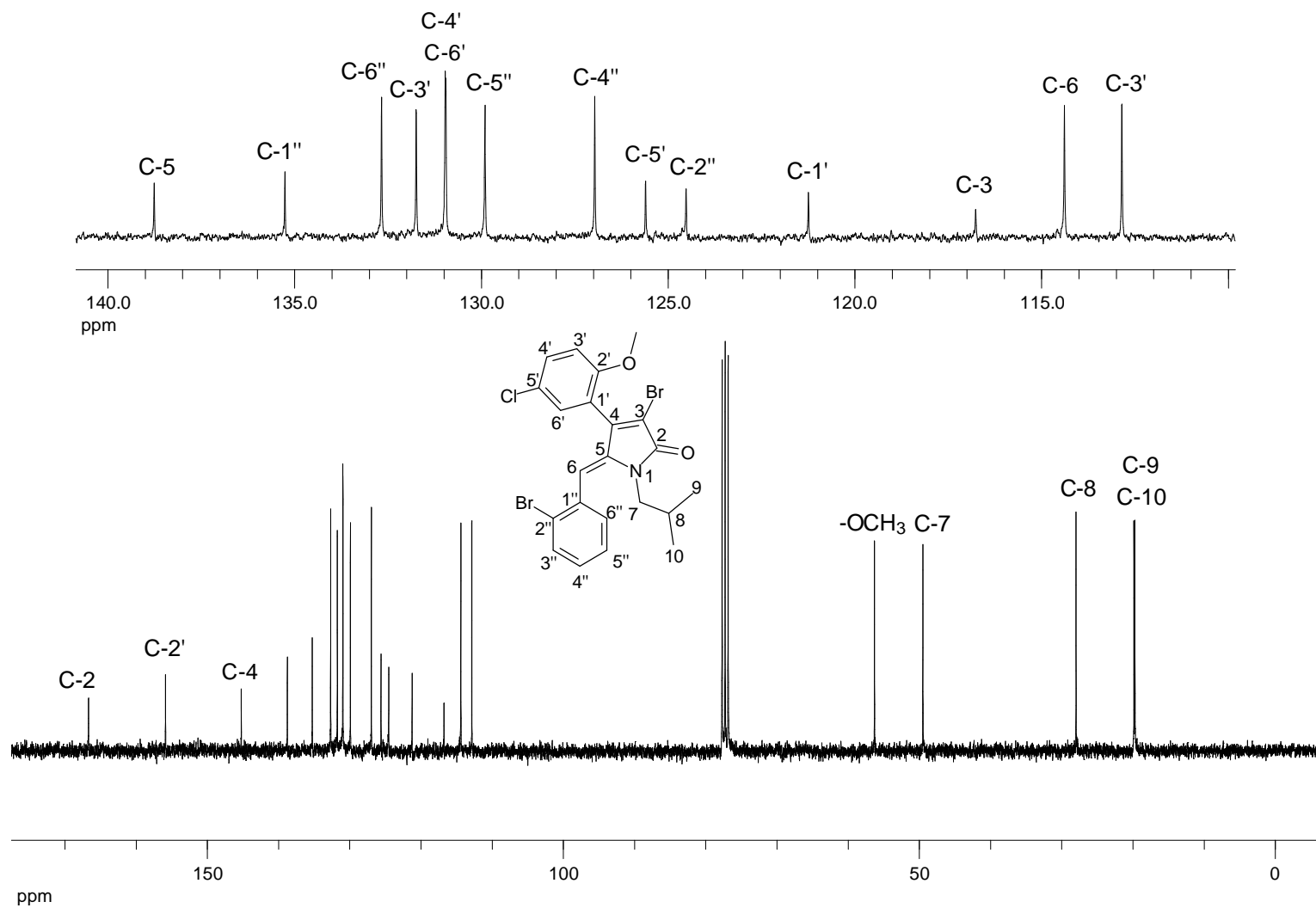


Figura 38 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6f**.

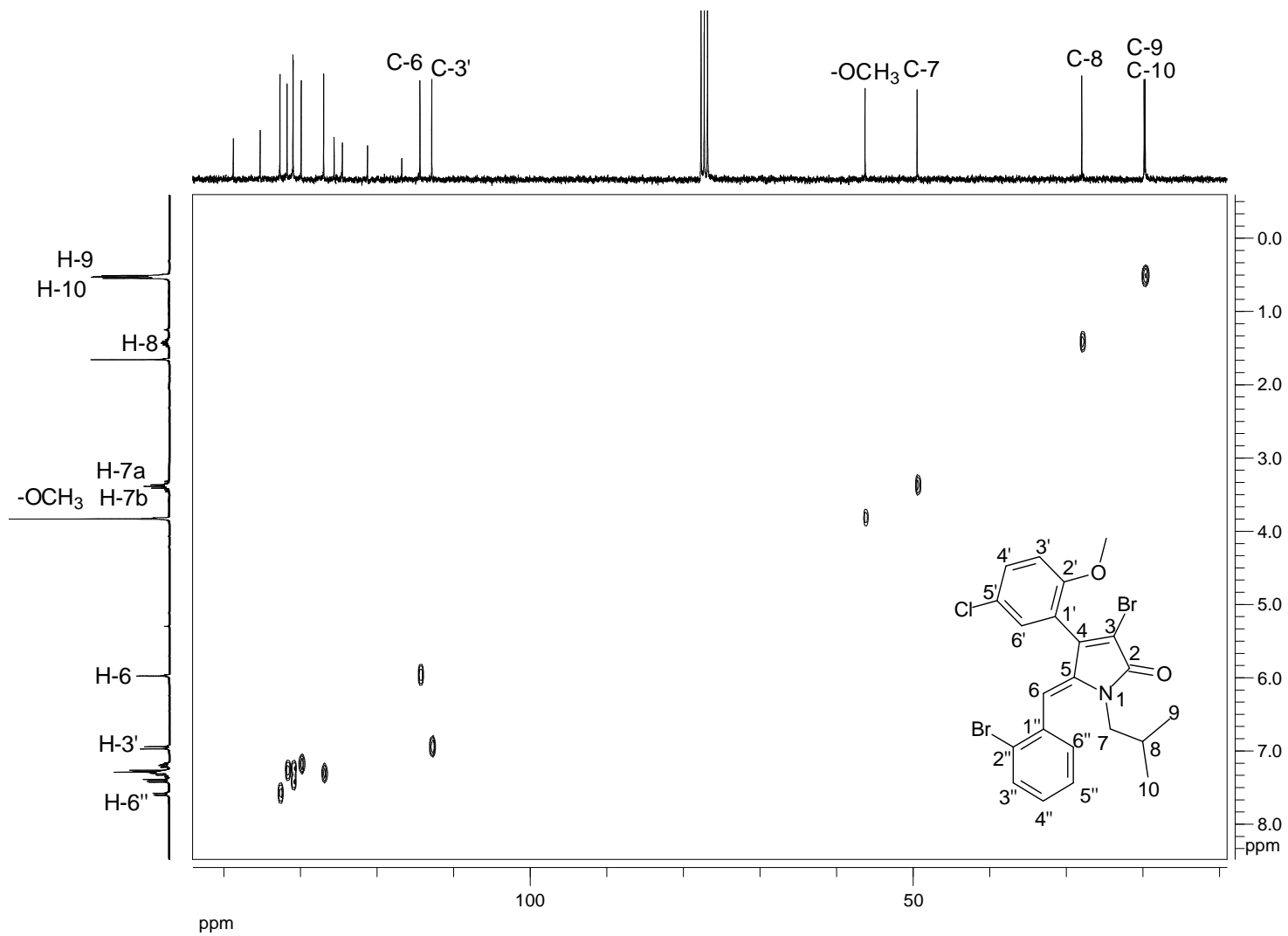
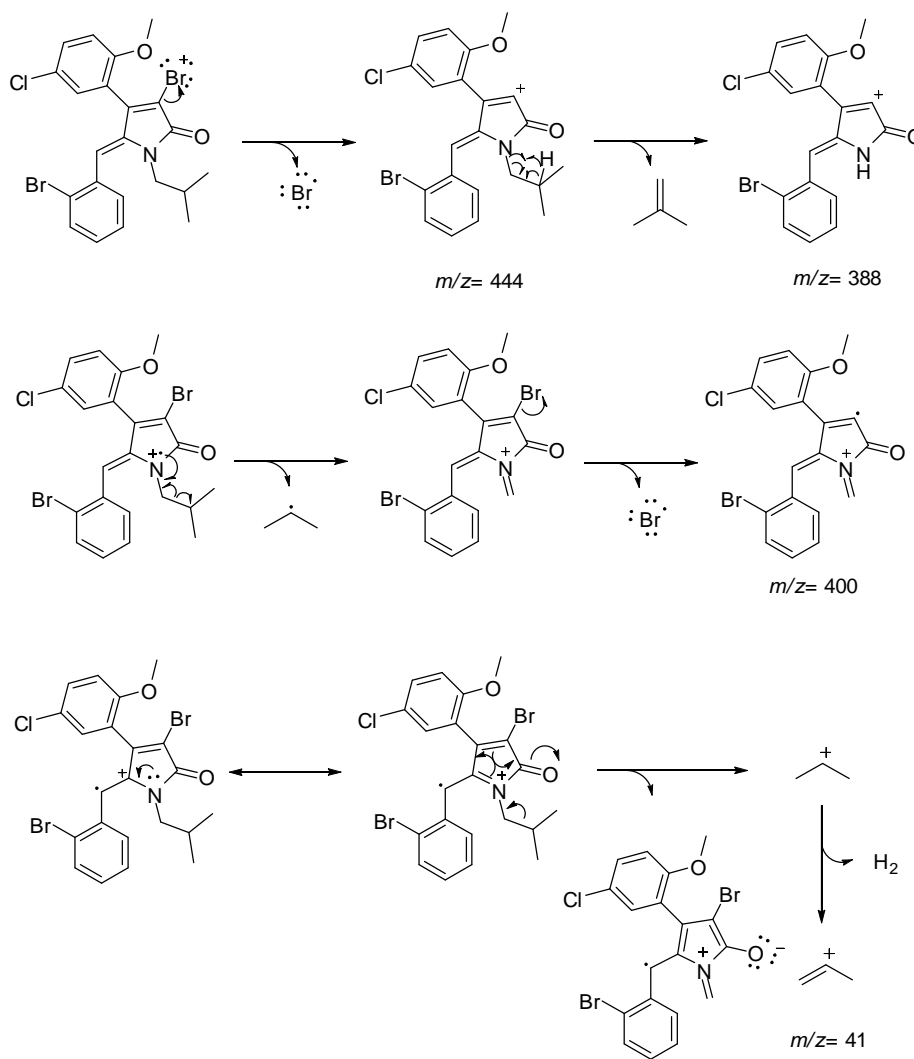
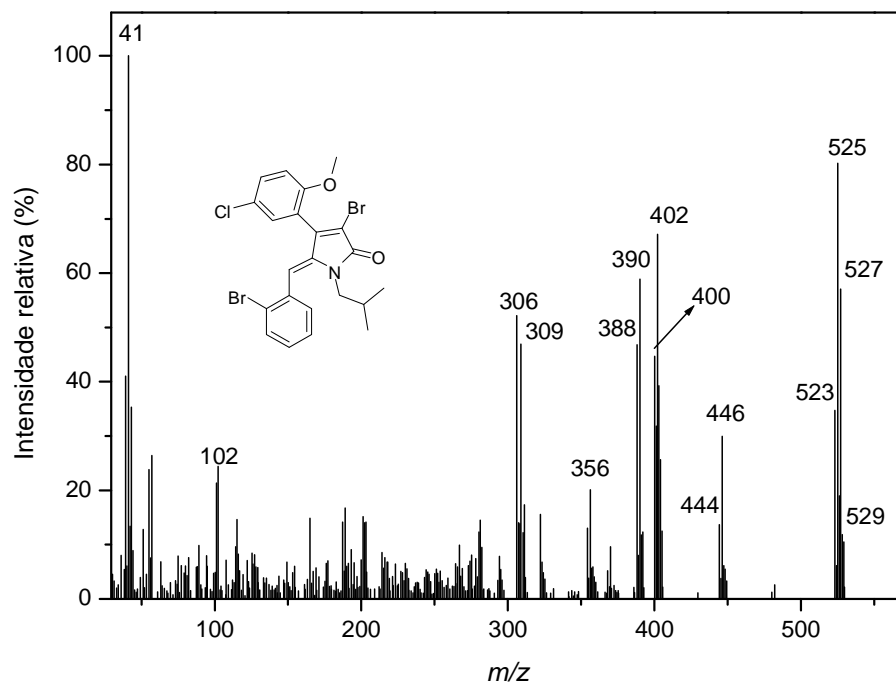


Figura 39 - Mapa de contornos HETCOR do composto **6f**.



Esquema 19 - Espectro de massas e proposta de fragmentações de **6f**.

4.6. Síntese das piridazin-3(2H)-onas

No preparo das piridazin-3(2H)-onas, as γ -alquilidenofuran-2(5H)-onas foram solubilizadas em diclorometano:etanol 1:1 v/v e reagidas com hidrazina a 60 °C por 3h.

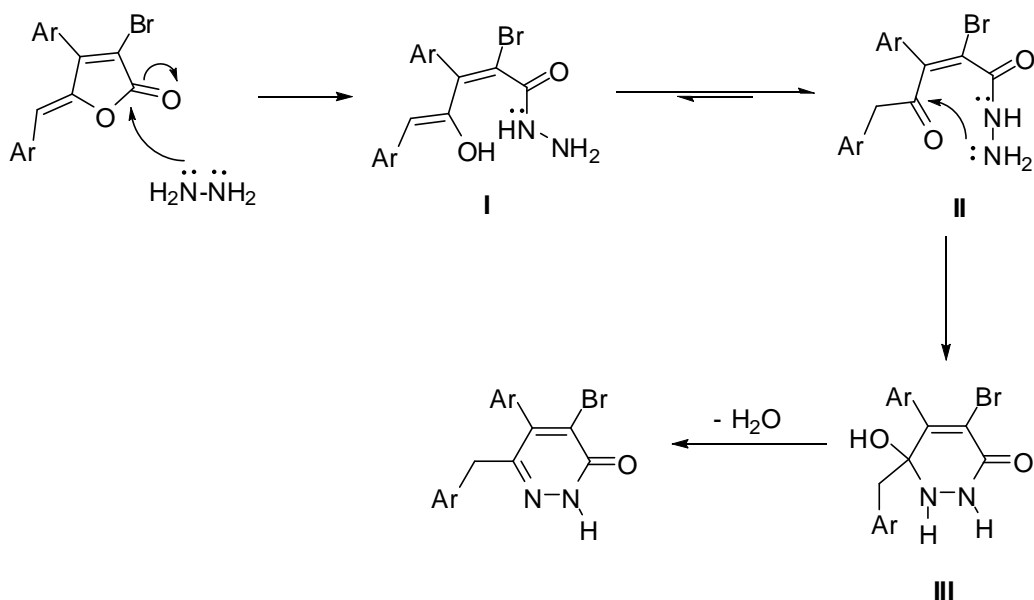
Nesse caso, somente os análogos aos rubrolídeos **4h-4q** foram reagidos com hidrazina, resultando nas respectivas piridazin-3(2H)-onas **8h-8q**. A Tabela 12 a seguir apresenta as piridazin-3(2H)-onas preparadas e os rendimentos em que foram obtidas.

Tabela 12 - Síntese das piridazin-3(2H)-onas

Composto	R ₁	R ₂	Rendimento (%)
8h	Cl	<i>p</i> -F	82
8i	Cl	<i>p</i> -NO ₂	44
8j	Cl	<i>p</i> -CF ₃	75
8k	Cl	<i>m</i> -NO ₂	67
8l	Br	<i>p</i> -CF ₃	70
8m	Br	<i>o</i> -Br	70
8n	Br	<i>p</i> -F	63
8o	Br	<i>o</i> -Cl	76
8p	Br	<i>m</i> -OCH ₃	81
8q	Br	<i>m</i> -F	88

A formação das piridazin-3(2H)-onas pode ser explicada pelo mecanismo proposto no Esquema 20. Uma molécula de hidrazina ataca a carbonila da lactona ocasionando a abertura do anel com consequente

formação do intermediário **I**. A seguir o equilíbrio ceto-enólico permite a formação do isômero mais estável na forma ceto (**II**) que por sua vez cicliza para a formação do intermediário **III**. Em seguida esse intermediário sofre uma desidratação para a formação das piridazin-3(2*H*)-onas.



Esquema 20 - Mecanismo proposto para a formação das piridazin-3(2*H*)-onas.

As reações foram completadas em três horas, monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) e purificadas por cromatografia em coluna de sílica gel. Os rendimentos variaram de 44% a 88%.

Todas as piridazin-3(2*H*)-onas obtidas foram caracterizadas por espectroscopia no infravermelho, RMN de ¹H e de ¹³C, experimentos bidimensionais em RMN (COSY e HETCOR), espectrometria de massas e espectrometria de massas de alta resolução.

A discussão feita a seguir é baseada nos dados da piridazin-3(2*H*)-ona **8q**, mas pode ser estendida às demais piridazin-3(2*H*)-onas sintetizadas já que as estruturas das mesmas diferem apenas nos substituintes dos anéis aromáticos.

No espectro no IV de **8q** (Figura 40), podem-se observar bandas em 3311, 3275 e 3189 cm⁻¹ que provavelmente se referem ao estiramento da ligação N-H da piridazin-3(2*H*)-ona. No mesmo espectro pode-se observar uma banda intensa em 1704 cm⁻¹ referente ao estiramento da carbonila.

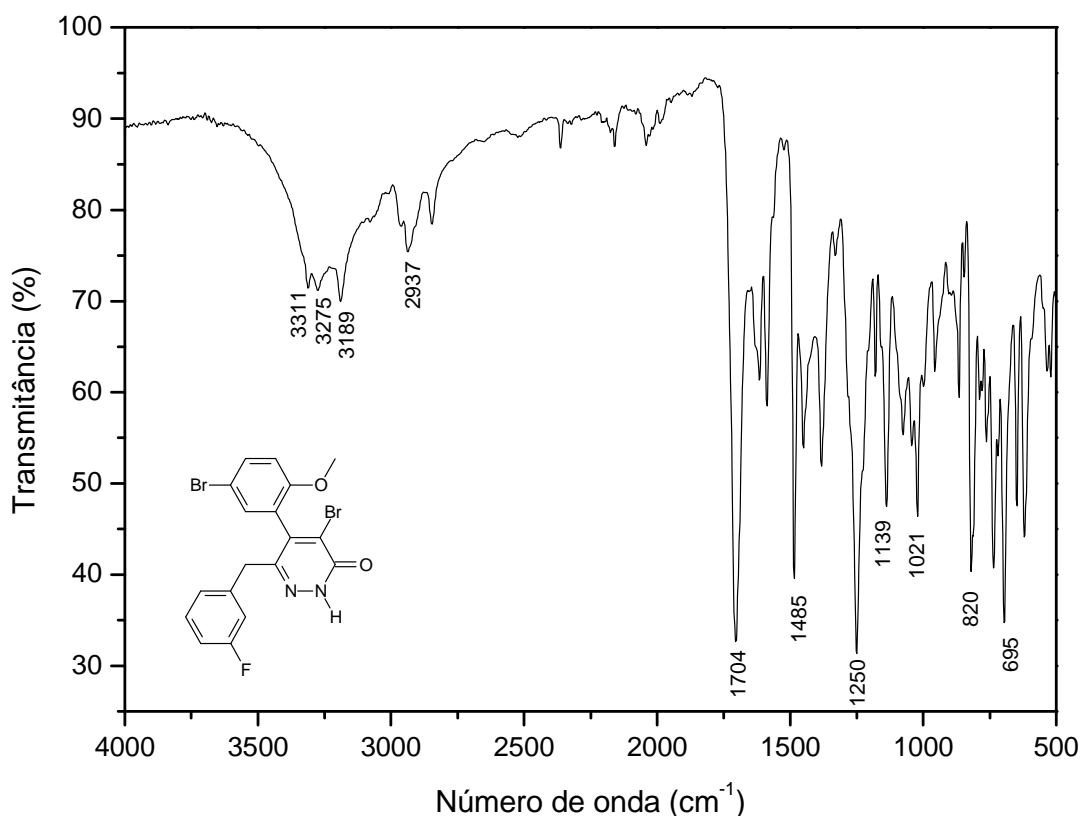


Figura 40 - Espectro no infravermelho (IV) do composto **8q**.

No espectro de RMN de ^1H de **8q** (Figura 41) pode-se observar um duplete para H-6' em $\delta = 7,58$ ($J_{6',4'} = 2,7$ Hz), um duplete duplo em $\delta = 7,50$ referente ao hidrogênio H-4' ($J_{4',3'} = 8,7$ Hz, $J_{4',6'} = 2,7$ Hz) e um duplete em $\delta = 6,83$ referente ao hidrogênio H-3' ($J_{3',4'} = 8,7$ Hz) que puderam ser confirmados pela análise do mapa de contornos COSY (Figura 42) dessa mesma substância. Também se observou um simpleto em $\delta = 4,79$ para o hidrogênio do grupo NH, além de dois dupletos, um em $\delta = 3,05$ e outro em $\delta = 3,18$ referentes aos hidrogênios H-7a ($J_{7a,7b} = 14,1$ Hz) e H-7b ($J_{7b,7a} = 14,1$ Hz), respectivamente.

No espectro de RMN de ^{13}C de **8q** (Figura 43) podem-se observar todos os sinais referentes aos carbonos que acoplam com o átomo de flúor, como o duplete em $\delta = 162,6$ ($J_{\text{C},\text{F}} = 244,4$ Hz) referente ao carbono C-3'' e os dupletos em $136,5$ ($J_{\text{C},\text{F}} = 7,4$ Hz), $129,8$ ($J_{\text{C},\text{F}} = 8,1$ Hz), $125,8$ ($J_{\text{C},\text{F}} = 2,8$ Hz), $117,2$ ($J_{\text{C},\text{F}} = 21,4$ Hz) e $114,3$ ($J_{\text{C},\text{F}} = 20,8$ Hz) referentes aos carbonos C-1'', C-5'', C-6'', C-2'' e C-4'', respectivamente. As atribuições para esses átomos de carbonos

foram auxiliadas pela análise das constantes de acoplamento entre os átomos de carbono e flúor e pelo mapa de contornos HETCOR (Figura 44). Ainda assim, as atribuições para C-2'' e C-4'' podem estar invertidas, já que apresentam valores próximos de deslocamento químico e de constante de acoplamento com o átomo de flúor.

No espectro de massas de **8q** (Esquema 21) observou-se o sinal do íon molecular em $m/z = 466$, $[M+2]^+$ em $m/z = 468$ e $[M+4]^+$ em $m/z = 470$ com intensidades relativas de 35%, 76% e 34%, respectivamente, o que está de acordo com a presença de dois átomos de bromo na molécula. O pico em $m/z = 387$ foi atribuído pela perda de um radical Br^\cdot do íon molecular e o pico base em $m/z = 109$ é referente ao cátion 3-fluorobenzílico. As propostas para a formação desses fragmentos são apresentadas no Esquema 21.

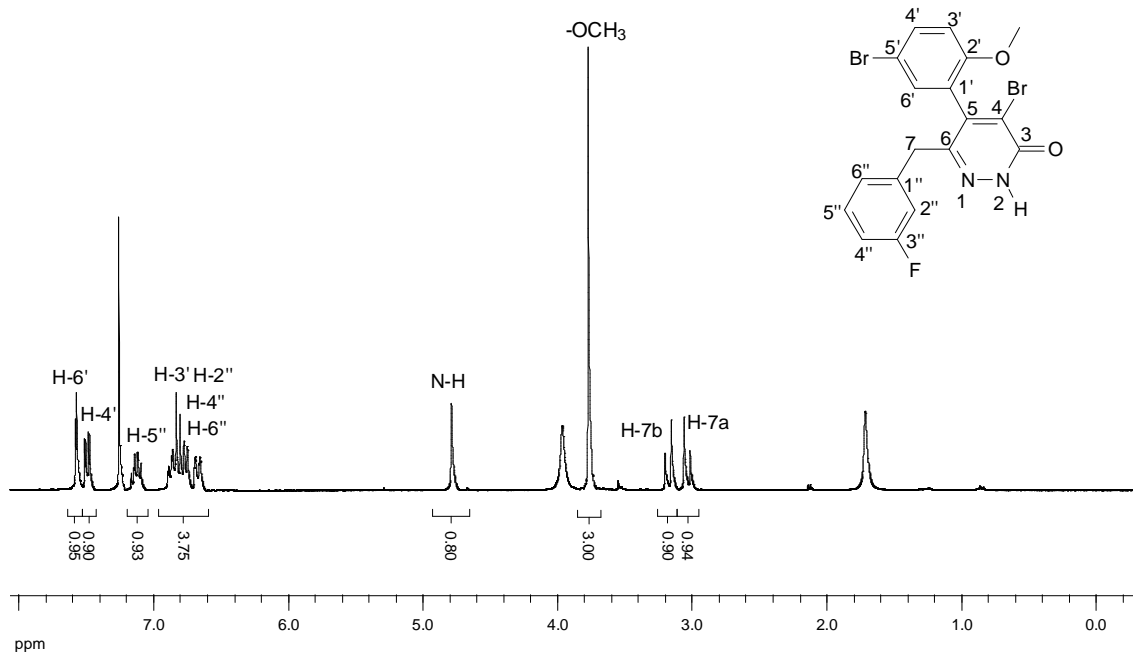


Figura 41 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **8q**.

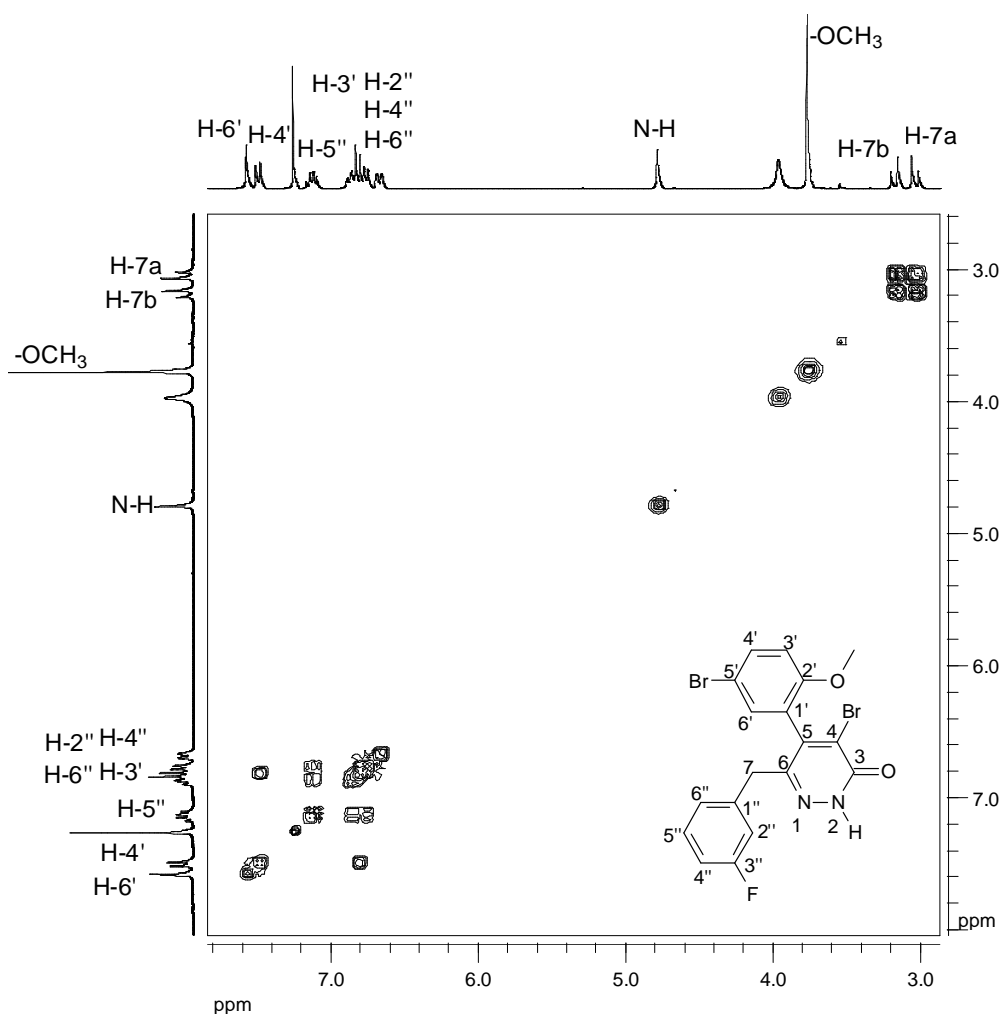


Figura 42 - Mapa de contornos COSY do composto **8q**.

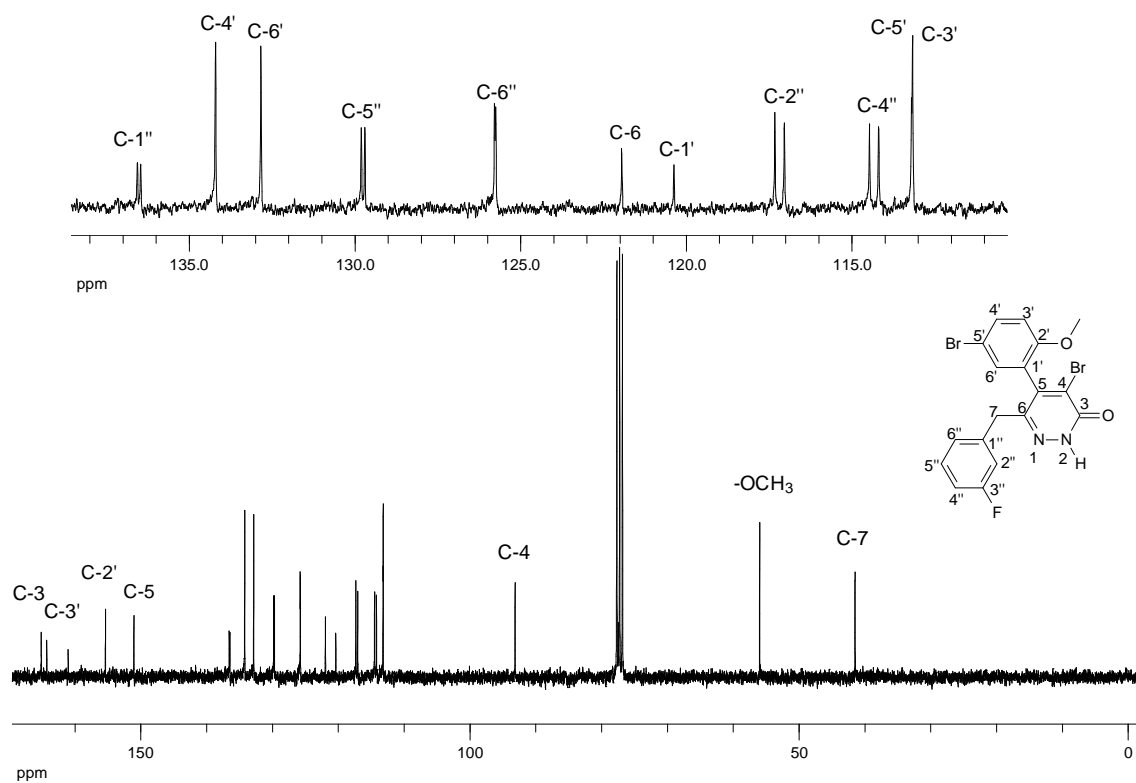


Figura 43 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8q**.

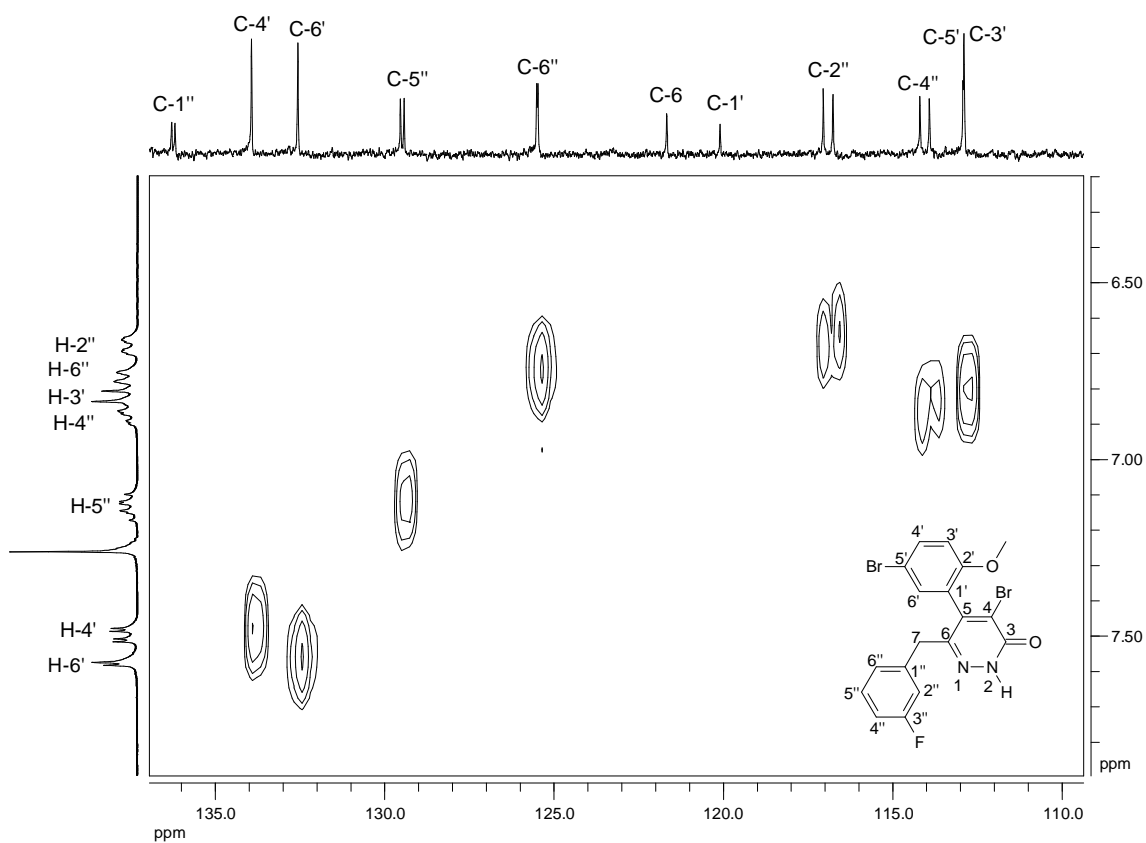
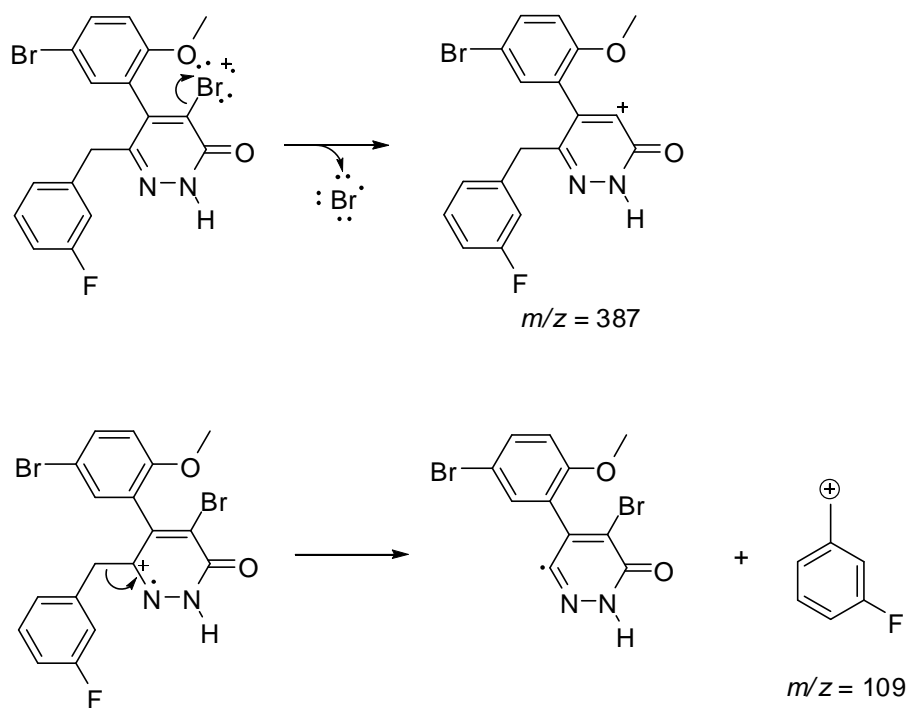
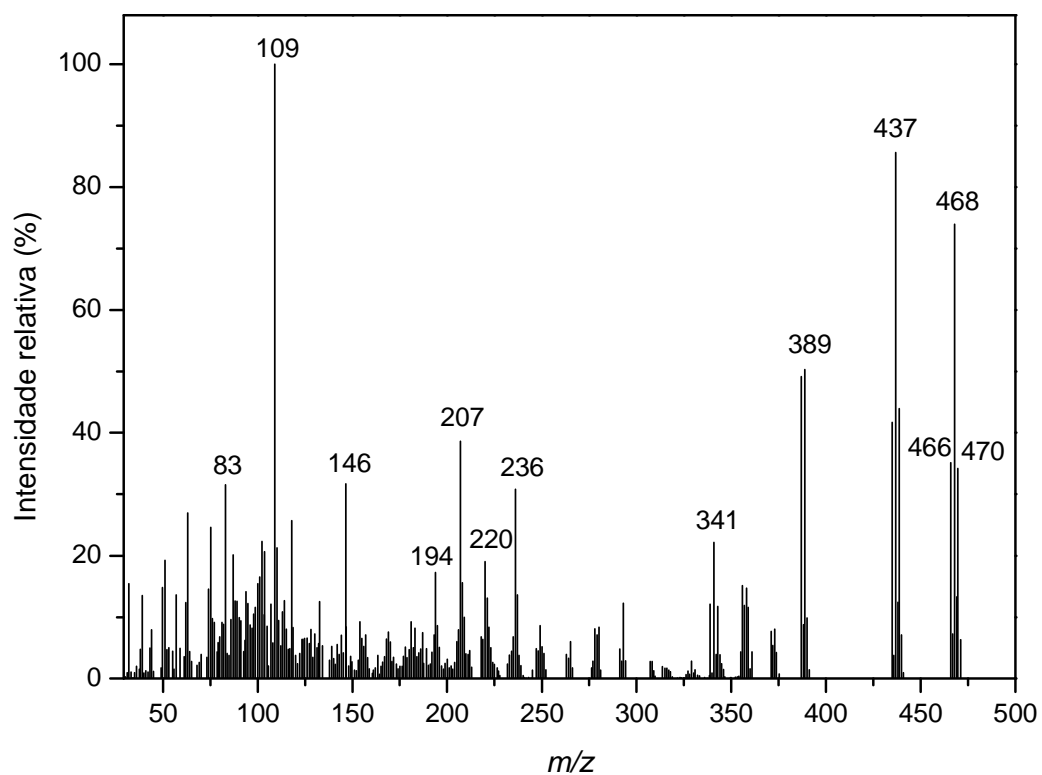


Figura 44 - Mapa de contornos HETCOR do composto **8q**.



Esquema 21 - Espectro de massas e proposta de fragmentações de **8q**.

5. Conclusão

Foi descrita uma sequência de reações que consistiu no preparo de γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas análogas aos rubrolídeos. A lactamização de algumas dessas γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas permitiu a síntese de γ -hidroxipirrol-2(5*H*)-onas e γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas. Já a reação das γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas com hidrazina resultou no preparo das piridazin-3(2*H*)-onas, o que ainda não havia sido descrito na literatura.

No total, quarenta e oito moléculas foram sintetizadas, das quais: dezessete γ -alquilidenofuran-2(5*H*)-onas, sete γ -hidroxipirrol-2(5*H*)-onas, sete (*Z*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas, sete (*E*)- γ -alquilidenopirrol-2(5*H*)-onas e dez piridazin-3(2*H*)-onas, que foram caracterizadas pelas espectroscopias no IV, RMN de ^1H e ^{13}C , experimentos bidimensionais (COSY e HETCOR) e espectrometria de massas. Experimentos de NOEDIF determinaram a configuração da ligação dupla exocíclica sempre que necessário.

6. Referências bibliográficas

ACHELLE, S.; PLÉ, N.; TURCK, A. Incorporation of pyridazine rings in the structure of functionalized π -conjugated materials. **RSC Adv.**, v. 1, n. 3, p. 364-388, 2011.

ALVI, K. A.; CASEY, A.; NAIR, B. G. Pulchellalactam: a CD45 protein tyrosine phosphatase inhibitor from the marine fungus *Corollospora pulchella*. **J. Antibiot.**, v. 51, n. 5, p. 515-517, 1998.

ASIF, M.; SINGH, A. Exploring potential, synthetic methods and general chemistry of pyridazine and pyridazinone: a brief introduction. **Int. J. ChemTech Res.**, v. 2, n. 2, p. 1112-1128, 2010.

BARBOSA, L. C. A.; TEIXEIRA, R. R.; PINHEIRO, P. F.; MALTHA, C. R. A.; DEMUNER, A. J. Estratégias para a síntese de γ -alquilidenobutenolídeos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 5, p. 1163-1174, 2010.

BARDER, T. E.; WALKER, S. D.; MARTINELLI, J. R.; BUCHWALD, S. L. Catalysts for Suzuki-Miyaura coupling processes: scope and studies of the effect of ligand structure. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 127, n. 13, p. 4685-4696, 2005.

BELLINA, F.; ANSELMINI, C.; ROSSI, R. Synthesis of 4-alkyl-3-bromo-2(5*H*)-furanones and unsymmetrically disubstituted 3,4-dialkyl-2(5*H*)-furanones by palladium-catalyzed cross-coupling reactions. **Tetrahedron Lett.**, v. 42, n. 23, p. 3851-3854, 2001a.

BELLINA, F.; ANSELMINI, C.; VIEL, S.; MANNINA, L.; ROSSI, R. Selective synthesis of (*Z*)-4-aryl-5-[1-(aryl)methylidene]-3-bromo-2(5*H*)-furanones. **Tetrahedron**, v. 57, n. 50, p. 9997-10007, 2001b.

BELLINA, F.; CARPITA, A.; ROSSI, R. Palladium catalysts for the Suzuki cross-coupling reaction: an overview of recent advances. **Synthesis**, v. 15, n. 15, p. 2419-2440, 2004a.

BELLINA, F.; ROSSI, R. An efficient and inexpensive multigram synthesis of 3,4-dibromo- and 3,4-dichlorofuran-2(5*H*)-one. **Synthesis**, n. 12, p. 1887-1889, 2007.

BELLINA, F.; ROSSI, R. Mucochloric and mucobromic acids: inexpensive, highly functionalized starting materials for the selective synthesis of variously substituted 2(5*H*)-furanone derivatives, sulfur- or nitrogen-containing heterocycles and stereodefined acyclic unsaturated dihalogenated compounds. **Curr. Org. Chem.**, v. 8, n. 12, p. 1089-1103, 2004b.

BOUAICHA, N.; AMADE, P.; PUEL, D.; ROUSSAKIS, C. Zarzissine, a new cytotoxic guanidine alkaloid from the mediterranean sponge *Anchinoe paupertas*. **J. Nat. Prod.**, v. 57, n. 10, p. 1455-1457, 1994.

BRÜCKNER, R.; SIEGEL, K.; SORG, A. Stereoselective synthesis of polyunsaturated γ -alkylidenebutenolides: the total synthesis of the xerulins. IN: HARMATA, M. **Strategies and tactics in organic synthesis**. vol. 5. Amsterdam: Ed. Elsevier, 2004, Cap. 14, p. 437-473.

CARROLL, A. R.; HEALY, P. C.; QUINN, R. J.; TRANTER, C. J. Prunolides A, B, and C: novel tetraphenolic bis-spiroketal from the australian ascidian *Synoicum prunum*. **J. Org. Chem.**, v. 64, n. 8, p. 2680-2682, 1999.

CHEN, W.; LI, P.; WANG, L. Silica supported palladium-phosphine complex: recyclable catalyst for Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions at ambient temperature. **Tetrahedron**, v. 67, n. 2, p. 318-325, 2011.

CHO, J. Y.; KWON, H. C.; WILLIAMS, P. G.; JENSEN, P. R.; FENICAL, W. Azamerone, a terpenoid phthalazinone, from a marine-derived bacterium

related to the genus *Streptomyces* (Actinomycetales). **Org. Lett.**, v. 8, n. 12, p. 2471-2474, 2006.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**. New York: Oxford University Press, 2001. 1512p.

CUNHA, S.; OLIVEIRA, C. C. Aplicações sintéticas do ácido mucobrômico e da 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona. **Quim. Nova**, v. 34, n. 8, p. 1425-1438, 2011.

DAVIDSON, B. S.; IRELAND, C. M. Lissoclinolide, the first non-nitrogenous metabolite from a *Lissoclinum* tunicate. **J. Nat. Prod.**, v. 53, n. 4, p. 1036-1038, 1990.

DE SOUZA, M. V. N. The furan-2(5*H*)-ones: Recent synthetic methodologies and its application in total synthesis of natural products. **Mini-Rev. Org. Chem.**, v. 2, n. 2, p. 139-145, 2005.

DIDRY, N.; DUBREUIL, L.; PINKAS, M. Microbiological properties of protoanemonin isolated from *Ranunculus bulbosus*. **Phytotherapy Res.**, v. 7, n. 1, p. 21-24, 1993.

EL-TOMBARY, A. A.; ABDEL-GHANY, Y. S.; BELAL, A. S. F.; EL-DINE, S. A. S.; SOLIMAN, F. S. G. Synthesis of some substituted furan-2(5*H*)-ones and derived quinoxalinones as potential anti-microbial and anti-cancer agents. **Med. Chem. Res.** v. 20, n. 7, p. 865-876, 2011.

FAN, G.; LI, Z.; SHEN, S.; ZENG, Y.; YANG, Y.; XU, M.; BRUHN, T.; BRUHN, H.; MORSCHHÄUSER, J.; BRINGMANN, G.; LIN, W. Baculiferins A-O, O-sulfated pyrrole alkaloids with anti-HIV-1 activity, from the Chinese marine sponge *Lotrochota baculifera*. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 18, n. 15, p. 5466-5474, 2010.

FANG, X.; ANDERSON, J. E.; CHANG, C.; McLAUGHLIN, J. L. Three new bioactive styryllactones from *Goniothalamus giganteus* (Annonaceae). **Tetrahedron**, v. 47, n. 47, p. 9751-9758, 1991.

FELLUGA, F.; GHELFI, F.; PAGNONI, U. M.; PARSONS, A. F.; PATTAROZZI, M.; RONCAGLIA, F.; VALENTIN, E. A novel short approach to (Z)-pulchellalactam through transition-metal-catalyzed atom-transfer radical cyclization of 1-isopropylprop-2-enyl dichloroacetate. **Synthesis**, n. 12, p. 1882-1886, 2007.

FLEMATTI, G. R.; GHISALBERTI, E. L.; DIXON, K. W.; TRENGOVE, R. D. A compound from smoke that promotes seed germination. **Science**, v. 305, n. 5686, p. 977, 2004.

GIVSKOV, M.; NYS, R.; MANEFIELD, M.; GRAM, L.; MAXIMILIEN, R.; EBERL, L.; MOLIN, S.; STEINBERG, P. D.; KJELLEBERG, S. Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. **J. Bacteriol.**, v. 178, n. 22, p. 6618-6622, 1996.

GOH, W. K.; ISKANDER, G.; BLACK, D. S.; KUMAR, N. An efficient lactamization of fimbrolides to novel 1,5-dihydropyrrol-2-ones. **Tetrahedron Lett.**, v. 48, n. 13, p. 2287-2290, 2007.

GÖKÇE, M.; UTKU, S.; KÜPELİ, E. Synthesis and analgesic and anti-inflammatory activities 6-substituted-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(p-substituted/nonsubstituted benzal)hydrazone derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 44, n. 9, p. 3760-3764, 2009.

GROTE, R.; CHEN, Y.; ZEECK, A.; CHEN, Z.; ZÄHNER, H.; MISCHNICK-LÜBBECKE, P.; KÖNIG, W. A. Pyridazomycin, a new antifungal antibiotic produced by *Streptomyces violaceoniger*. **J. Antibiol.**, v. 41, n. 5, p. 595-601, 1988.

HAN, Y.; HOU, S.; SIMON, K. A.; REN, D.; LUK, Y. Identifying the important structural elements of brominated furanones for inhibiting biofilm formation by *Escherichia coli*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 18, n. 3, p. 1006-1010, 2008.

HASSAN, J.; SÉVIGNON, M.; GOZZI, C.; SCHULZ, E.; LEMAIRE, M. Aryl-aryl bond formation one century after the discovery of the Ullmann reaction. **Chem. Rev.**, v. 102, n. 5, p. 1359-1469, 2002.

HE, H.; YANG, H. Y.; BIGELIS, R.; SOLUM, E. H.; GREENSTEIN, M.; CARTER, G. T. Pyrrocidines A and B, new antibiotics produced by a filamentous fungus. **Tetrahedron Lett.**, v. 43, n. 9, p.1633-1636, 2002.

HIYAMA, T.; OISHI, H.; SUETSUGU, Y.; NISHIDE, K.; SAIMOTO, H. Synthesis of 4-amino-2(5*H*)-furanones through intra- and intermolecular nitrile addition of ester enolates. Construction of carbon framework of an antitumor antibiotic basidalin. **Bull. Chem. Soc. Jpn.**, v. 60, n. 6, p. 2139-2150, 1987.

HUSSAIN, M.; HUNG, N. T.; KHERA, R. A.; VILLINGER, A.; LANGER, P. Site-selective Suzuki-Miyaura reactions of 2,3-dibromo-1*H*-inden-1-one. **Tetrahedron Lett.**, v. 52, n. 2, p. 184-187, 2011.

KAR, A.; MANGU, N.; KAISER, H. M.; TSE, M. K. Gold-catalyzed direct oxidative coupling reactions of non-activated arenes. **J. Organomet. Chem.**, v. 694, n. 4, p. 524-537, 2009.

KIMURA, Y.; NAKAJIMA, H.; HAMASAKI, T.; MATSUMOTO, T.; MATSUDA, Y.; TSUNEDA, A. Ampullicin and isoampullicin, new metabolites from an *Ampulliferina*-like fungus sp. no. 27. **Agric. Biol. Chem.**, v. 54, n. 3, p. 813-814, 1990.

KOENIG, K. E.; LEIN, G. M.; STUCKLER P.; KANEDA, T.; CRAM, D. J. Host-guest complexation. 16. Synthesis and cation binding characteristics of macrocyclic polyethers containing convergent methoxyaryl groups. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 101, n. 13, p. 3553-3566, 1979.

KOTHA, S.; LAHIRI, K.; KASHINATH, D. Recent applications of the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction in organic synthesis. **Tetrahedron**, v. 58, n. 48, p. 9633-9695, 2002.

KUANG, H.; YANG, B.; XIA, Y.; FENG, W. Chemical constituents from the flower of *Datura metel* L. **Arch. Pharm. Res.**, v. 31, n. 9, p. 1094-1097, 2008.

KUNHT, D.; ANKE, T.; BESL, H.; BROSS, M.; HERRMANN, R.; MOCEK, U.; STEFFAN, B.; STEGLISH, W. Antibiotics from basidiomycetes. New inhibitors of cholesterol biosynthesis from cultures of *Xerula melanotricha* dörfelt. **J. Antibiot.**, v. 43, n. 11, p. 1413-1420, 1990.

LEBARON, H. M.; MCFARLAND, J. E.; BURNSIDE, O. C. **The triazine herbicides**. Amsterdam: Elsevier Ltd, 2008. 584p.

LEE, S-G.; KIM, J-J.; KIM, H-K.; KWEON, D-H.; KANG, Y-J.; CHO, S-D.; KIM, S-K.; YOON, Y-J. Recent progress in pyridazin-3(2*H*)-ones chemistry. **Curr. Org. Chem.**, v. 8, n. 15, p. 1463-1480, 2004.

LIGHT, M. E.; DAWS, M. I.; STADEN, J. V. Smoke-derived butenolide: towards understanding its biological effects. **S. Afr. J. Bot.**, v. 75, n. 1, p. 1-7, 2009.

MAES, B. U. W. Pyridazines. In: LI, J. J.; GRIBBLE, G. W. **Palladium in heterocyclic chemistry: a guide for the synthetic chemist**. Amsterdam: Elsevier Ltd, 2007. Cap. 13, p. 541-585.

MARTIN, R.; BUCHWALD, S. L. Palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions employing dialkylbiaryl phosphine ligands. **Acc. Chem. Res.**, v. 41, n. 11, p. 1461-1473, 2008.

MIAO, S.; ANDERSEN, R. J. Rubrolides A-H, metabolites of the colonial tunicate *Ritterella rubra*. **J. Org. Chem.**, v. 56, n. 22, p. 6275-6280, 1991.

MILLER, S. L.; TINTO, W. F.; YANG, J.; McLEAN, S.; REYNOLDS, W. F. Axinellamide, a new alkaloid from the marine sponge *Axinella* sp. **Tetrahedron Lett.**, v. 36, n. 33, p. 5851-5852, 1995.

MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. **Chem Rev.**, v. 95, n. 7, p. 2457-2483, 1995.

MOORE, R. D.; KATON, J. E. The vibrational spectra and structure of mucochloric and mucobromic acids. **Appl. Spectrosc.**, v. 32, n. 2, p. 145-151, 1978.

MORENO-MAÑAS, M.; PÉREZ, M.; PLEIXATS, R. Palladium-catalyzed Suzuki-type self-coupling of arylboronic acids. A mechanistic study. **J. Org. Chem.**, v. 61, n. 7, p. 2346-2351, 1996.

NAY, B.; RIACHE, N.; EVANNO, L. Chemistry and biology of non-tetramic γ -hydroxy- γ -lactams and γ -alkylidene- γ -lactams from natural sources. **Nat. Prod. Rep.**, v. 26, n. 8, p. 1044-1062, 2009.

NEGISHI, E.; KOTORA, M. Regio- and stereoselective synthesis of γ -alkylidenebutenolides and related compounds. **Tetrahedron**, v. 53, n. 20, p. 6707-6738, 1997.

ORTEGA, M. J.; ZUBÍA, E.; OCAÑA, J. M.; NARANJO, S.; SALVÁ, J. New rubrolides from the Ascidian *Synoicum blochmanni*. **Tetrahedron**, v. 56, n. 4, p. 3963-3967, 2000.

PEARCE, A. N.; CHIA, E. W.; BERRIDGE, M. V.; MAAS, E. W.; PAGE, M. J.; WEBB, V. L.; HARPER, J. L.; COPP, B. R. *E/Z*-Rubrolide O, an anti-inflammatory halogenated furanone from the New Zealand ascidian *Synoicum* n. sp. **J. Nat. Prod.**, v. 70, n. 1, p. 111-113, 2007.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 5.ed Bodmin: Butterworth-Heinemann Ltd., 2003. 609p.

ROSSI, R.; BELLINA, F.; LESSI, M. Highly selective palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura monocoupling reactions of ethene and arene derivatives bearing two or more electrophilic sites. **Tetrahedron**, v. 67, n. 37, p. 6969-7025, 2011.

SAIKIA, K.; DEB, B.; BORAH, B. J.; SARMAH, P. P.; DUTTA, D. K. Palladium complexes of P,P and P,S type bidentate ligands: implication in Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction. **J. Organomet. Chem.**, v. 696, n. 26, p. 4293-4297, 2012.

SCHRÖTER, S.; STOCK, C.; BACH, T. Regioselective cross-coupling reactions of multiple halogenated nitrogen-, oxygen-, and sulfur-containing heterocycles. **Tetrahedron**, v. 61, n. 9, p. 2245-2267, 2005.

SHI, W. B.; FENG, M. G. Field efficacy of application of *Beauveria bassiana* formulation and low rate pyridaben for sustainable control of citrus red mite *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) in orchards. **Biol. Control**, v. 39, n. 2, p. 210-217, 2006.

SIKORSKA, J.; PARKER-NANCE, S.; DAVIES-COLEMAN, M. T.; VINING, O. B.; SIKORA, A. E.; McPHAIL, K. L. Antimicrobial rubrolides from a south African species of *Synoicum tunicate*. **J. Nat. Prod.**, v. 75, n. 10, p. 1824-1827, 2012.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 365p.

SMITH, C. J.; HETTICH, R. L.; JOMPA, J.; TAHIR, A.; BUCHANAN, M. V.; IRELAND, C. M. Cadiolides A and B, new metabolites from an ascidian of the genus *Botryllus*. **J. Org. Chem.**, v. 63, n. 12, p. 4147-4150, 1998.

SUWALSKY, M.; BENITES, M.; VILLENA, F.; NORRIS, B.; QUEVEDO, L. The organochlorine herbicide chloridazon interacts with cell membranes. **Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.**, v. 120, n. 1, p. 29-35, 1998.

SUZUKI, A. Carbon-carbon bonding made easy. **Chem. Commun.**, n. 38, p. 4759-4763, 2005.

SUZUKI, A. Cross-coupling reactions of organoboranes: an easy way to construct C-C bonds (Nobel Lecture). **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 50, n. 30, p. 6722-6737, 2011.

SUZUKI, S.; HOSOE, T.; NOZAWA, K.; KAWAI, K.; YAGUCHI, T.; UDAGAWA, S. Antifungal substances against pathogenic fungi, talaroconvolutins, from *Talaromyces convolutus*. **J. Nat. Prod.**, v. 63, n. 6, p. 768-772, 2000.

TEIXEIRA, R. R.; BARBOSA, L. C. A.; FORLANI, G.; PILÓ-VELOSO, D.; WALKIMAR, J.; CARNEIRO, M. Synthesis of photosynthesis-inhibiting nostoclíde analogues. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, n. 7, p. 2321-2329, 2008a.

TEIXEIRA, R. R. **Síntese e avaliação das atividades fitotóxicas de compostos análogos aos nostoclídeos**. 2008b. 222p. Tese (Doutorado em Ciências - Química) – Universidade Federal de Minas Gerais.

UGURCHIEVA, T. M.; VESELOVSKY, V. V. Advances in the synthesis of natural butano- and butenolides. **Russ. Chem. Rev.**, v. 78, n. 4, p. 337-373, 2009.

VALENTE, E. J.; FULLER, J. F.; BALL, J. D. Pseudoacids. I. 4- and 5-oxoacids. **Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.**, v. B54, p. 162-173, 1998.

WANG, J. -R.; MANABE, K. Transition-metal-catalyzed site-selective cross-coupling of di- and polyhalogenated compounds. **Synthesis**, n. 9, p. 1405-1427, 2009.

WANG, W.; KIM, H.; NAM, S.-J.; RHO, B. J.; KANG, H. Antibacterial butenolides from the Korean tunicate *Pseudodistoma antinboja*. **J. Nat. Prod.**, v. 75, n. 12, p. 2049-2054, 2012.

WEBER, V.; COUDERT, P.; RUBAT, C.; DUROUX, E.; VALLÉE-GOYET, D.; GARDETTE, D.; BRIA, M.; ALBUISSON, E.; LEAL, F.; GRAMAIN, J.; COUQUELET, J.; MADESCLAIRE, M. Novel 4,5-diaryl-3-hydroxy-2(5*H*)-furanones as anti-oxidants and anti-inflammatory agents. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 10, n. 6, p. 1647-1658, 2002.

WERMUTH, C. G. Are pyridazines privileged structures? **Med. Chem. Commun.**, v. 2, n. 10, p. 935-941, 2011.

XU, H. -W.; WANG, J. -F.; LIU, G. -Z.; HONG, G. -F.; LIU, H. -M. Facile synthesis of γ -alkylidenebutenolides. **Org. Biomol. Chem.**, v. 5, n. 8, p. 1247-1250, 2007.

YAO, M. -L.; DENG, M. -Z. Facile approach to 4-substituted 2(5*H*)-furanones. **J. Org. Chem.**, v. 65, n. 16, p. 5034-5036, 2000.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBIOFILME BACTERIANO DAS γ -ALQUILIDENO- γ -LACTONAS ANÁLOGAS AOS RUBROLÍDEOS E DE SEUS DERIVADOS γ -HIDROXI- γ - LACTAMAS E γ -ALQUILIDENO- γ -LACTAMAS

1. Introdução

1.1. Biofilmes bacterianos

O biofilme bacteriano pode ser descrito como uma população bacteriana vivendo em uma estrutura organizada, complexa e dinâmica, associada a uma superfície em presença de umidade. Essa população bacteriana é encapsulada em uma matriz de substâncias exopoliméricas, produzidas e secretadas pelas próprias bactérias e constituída de exopolissacarídeos, proteínas e em alguns casos DNA, que confere estabilidade, permite a estruturação e protege as células bacterianas (DAVIES, 2003; HALL-STOODLEY *et al.*, 2004).

Em ambientes naturais biofilmes podem ser formados cada vez que uma superfície entra em contato com água. Eles estão presentes em praticamente todos os ambientes: na placa dentária, nas pedras escorregadias dos rios, nos filmes gelatinosos de vasos de plantas, sobre lentes de contato, no interior de canos, na superfície de águas estagnantes, no interior de esponjas de limpeza e de catéteres médicos, no interior de organismos vivos, sejam animais ou vegetais, sobre tecidos vivos e em infecções persistentes.

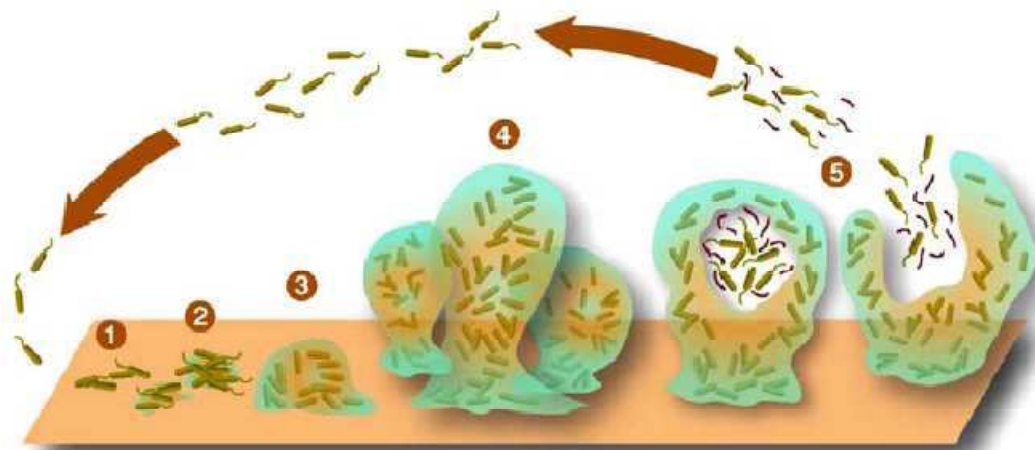
Devido a esta ubiquidade, grande parte dos biofilmes microbianos causa enormes prejuízos ao homem, em equipamentos danificados, contaminação de produtos, infecções e contaminações de dispositivos implantáveis, por exemplo (MUSK e HERGENROTHER, 2006).

Embora a maior parte do conhecimento sobre o metabolismo bacteriano tenha sido obtido através do estudo de bactérias em estado planctônico (de vida livre ou não aderida), estima-se que 80% da biomassa bacteriana mundial exista na forma de biofilme (DAVIES, 2003), o que justifica o interesse na descoberta de mecanismos que possam controlar o desenvolvimento destas comunidades bacterianas.

1.2. Formação do biofilme bacteriano

Ainda que cada tipo de bactéria possa necessitar condições específicas para produção de um biofilme, existem muitas similaridades entre biofilmes

produzidos por espécies bacterianas distintas. De uma forma geral, o ciclo de vida de um biofilme pode ser dividido em cinco estágios diferentes (Figura 1) (MUSK e HERGENROTHER, 2006).



Fonte: MUSK e HERGENROTHER (2006).

Figura 1 - Ciclo de vida do biofilme. 1) fixação reversível a uma superfície; 2) secreção de substâncias exopoliméricas e adesão irreversível das bactérias sobre a superfície; 3) o biofilme adota uma forma tridimensional, crescendo tanto pela multiplicação da população originalmente aderida quanto pelo recrutamento de bactérias planctônicas; 4) maturação do biofilme que atinge o limite populacional; 5) dispersão.

O primeiro estágio consiste na fixação reversível de bactérias planctônicas a uma superfície. Os inibidores do biofilme que atuam nessa etapa previnem a aderência da bactéria à superfície (RICHARDS e MELANDER, 2009).

No próximo estágio a fixação das bactérias à superfície torna-se irreversível. Inicia-se também aqui a etapa de secreção da matriz extracelular que vai estruturar o biofilme. Essas substâncias são de extrema importância para o biofilme, conferindo às bactérias maior resistência aos antimicrobianos, proteção contra desidratação, radiação UV e resposta imune do hospedeiro (RICHARDS e MELANDER, 2009).

Depois da fixação irreversível e do agrupamento de microcolônias inicia-se a etapa de maturação da comunidade bacteriana, que coincide com a secreção continuada de substâncias exopoliméricas e no recrutamento de bactérias planctônicas para integrarem o biofilme maduro e com a diferenciação metabólica das bactérias aderidas (MUSK e HERGENROTHER, 2006).

Na próxima fase, o biofilme matura completamente e assume uma forma tridimensional. Essa estrutura não é aleatória. Ela é fruto da organização otimizada de células a fim de facilitar ao máximo a difusão de nutrientes e permitir o estabelecimento de uma comunidade microbiana. Frequentemente essas comunidades de bactérias apresentam formas de pilares apresentando cavidades que servem como canais de transporte de água e bactérias planctônicas por todo biofilme, além de ajudar na eliminação de resíduos (MUSK e HERGENROTHER, 2006).

Esse tipo de organização confere ao biofilme maduro uma grande heterogeneidade estrutural, com a presença de diferentes microambientes que diferem entre si quanto à disponibilidade de O₂ e nutrientes. Por sua vez, essa diversidade estrutural induz a diferenciação das bactérias no interior do biofilme (DAVIES, 2003).

No último estágio ocorre a dispersão do biofilme. Bactérias que compõem a periferia do biofilme, ou ainda indivíduos localizados no interior do mesmo, têm sua diferenciação do estado sésil ao estado flagelar móvel induzida por sinais químicos produzidos pela comunidade microbiana, e desligam-se da matriz do biofilme quer individualmente, passando novamente ao estado planctônico, quer sob a forma de agregados, de forma a colonizar um novo ambiente.

1.3. Resistência dos biofilmes bacterianos e suas implicações

Devido à natureza compacta da estrutura do biofilme, às taxas reduzidas de crescimento das bactérias no biofilme, à proteção conferida pela matriz polimérica e à possível existência de subpopulações resistentes nos biofilmes, agentes naturais e artificiais, como a exposição aos raios UV, exposição a ácidos, alvejantes, desidratação e salinidade, fagocitose e agentes antibióticos

são incapazes de atacar adequadamente as populações de bactéria do biofilme (HALL-STOODLEY *et al.*, 2004; ROMERO *et al.*, 2011).

Por esses motivos as bactérias do biofilme podem ser de 10 a 1.000 vezes mais resistente a vários agentes antimicrobianos do que a mesma bactéria no estado livre (DAVIES, 2003; RASMUSSEN e GIVSKOV, 2006). Por exemplo, a concentração de hipoclorito de sódio necessária para eliminar biofilmes de *Staphylococcus aureus* é 600 vezes maior do que aquela capaz de eliminar organismos planctônicos da mesma cepa (LUPPENS *et al.*, 2002).

Deve-se destacar também que as células do biofilme são fisiologicamente distintas daquelas planctônicas e possuem proteção específica, tais como um maior número de bombas de efluxo de multidrogas, que são capazes de transportar substâncias para fora da célula (DAVIES, 2003). Devido a essa resistência, os biofilmes têm sido reconhecidos como uma séria ameaça à sociedade nos últimos vinte anos. Eles podem estar presentes em dutos industriais, tubulações de distribuição de água, sistemas de ar condicionado e hospitais, por exemplo (HALL-STOODLEY *et al.*, 2004).

Nesse último caso, a correlação entre biofilmes e doenças infecciosas está bem documentada na comunidade médica. O Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos estima que 80% de todas as infecções ocorrendo no corpo humano estão relacionadas a biofilmes (DAVIES, 2003). Exemplos comuns de patologias relacionadas aos biofilmes microbianos estão bem documentados na literatura, e incluem: infecções em cateteres e implantes, cárie dentária, doença gengival, infecção crônica de feridas, além de contaminações de instrumentos médicos etc. (HALL-STOODLEY *et al.*, 2004; STEWART e FRANKLIN, 2008).

Portanto, como a maioria das bactérias patogênicas existe como comunidades de biofilmes, o que reduz a eficácia dos antibióticos e facilita a evolução de variedades resistentes, considera-se que a descoberta de compostos capazes de inibir a formação de biofilme tenha um profundo impacto na medicina e saúde pública.

1.4. “Quorum sensing” e estratégias utilizadas para controle dos biofilmes

“Quorum sensing” (QS) é um mecanismo de controle da expressão gênica que permite às populações bacterianas monitorar o tamanho da comunidade em que vivem através da concentração de moléculas sinalizadoras denominadas autoindutores (AIs), que são produzidas e liberadas por cada membro da população e acumulam à medida que o tamanho dessa população aumenta. Quando as moléculas autoindutoras atingem uma concentração limite, os genes controlados pelo QS são ativados ou desativados simultaneamente em todos os membros da comunidade. (KELLER e SURETTE, 2006).

Em bactérias Gram-negativas, a principal classe de AIs é representada por compostos tipo acil-homoserina lactonas (AHLs), cujas diferenças estruturais em suas cadeias alifáticas determinam a especificidade de reconhecimento e da resposta ao sinal do AI. Em bactérias Gram-positivas, as moléculas do “quorum sensing” são usualmente pequenos peptídeos modificados ou aminoácidos (JAYARAMAN e WOOD, 2008; ROMERO *et al.*, 2011).

O QS regula a expressão de uma série de genes que controlam um grande espectro de fenótipos, como bioluminescência, produção de fatores de virulência (tais como enzimas e toxinas), esporulação, produção de polissacarídeos extracelulares, fixação de nitrogênio e muitos outros (HØIBY *et al.*, 2010; NADELL *et al.*, 2008; PAN e REN, 2009). Um exemplo importante de comportamento em grupo controlado por QS é a formação de biofilme bacteriano (NADELL *et al.*, 2008).

Tendo em vista o controle exercido via “quorum sensing” sobre fenótipos tais como virulência e formação de biofilme, e como a maioria das bactérias patogênicas existe como comunidades de biofilme, a descoberta e o desenvolvimento de compostos moduladores antibiofilme pela inibição do “quorum sensing” pode fornecer um novo tratamento de infecções microbianas.

De acordo com MUSK e HERGENROTHER (2006), a grande maioria dos compostos inibidores de biofilme exerce suas propriedades através da interferência no QS. Normalmente estes inibidores incluem agentes naturais e sintéticos e podem ser organizados em três classes: moléculas pequenas não peptídicas, peptídeos e proteínas (PAN e REN, 2009).

Esses inibidores interrompem o QS pela repressão da geração do sinal, bloqueio dos receptores de sinais ou degradação desses sinais. Diferente dos antibióticos, os inibidores do QS não matam os patógenos, o que implica em uma redução da pressão de seleção e menor probabilidade de desenvolvimento de resistência pelas bactérias. Apesar dessas vantagens, as informações sobre o QS são limitadas e a maioria dos inibidores do QS está em estágio pré-clínico (PAN e REN, 2009; HENTZER e GIVSKOV, 2003).

Além da estratégia de interferência no QS, que leva à inibição do desenvolvimento da estrutura do biofilme e de sua diferenciação, outras estratégias de combate aos biofilmes também existem, como: inibição da aderência bacteriana às superfícies, inativação das células do biofilme e indução da dispersão precoce do biofilme (YANG *et al.*, 2012).

1.5. Busca por inibidores do biofilme bacteriano

Devido ao pequeno número de moléculas conhecidas que inibem a formação de biofilmes bacterianos, vários trabalhos têm buscado novos compostos com atividade antibiofilme pela avaliação de coleções de substâncias com diferentes estruturas e de diferentes origens (WORTHINGTON *et al.*, 2012).

No trabalho de SAMBANTHAMOORTHY *et al.* (2011) aproximadamente 66000 compostos incluindo produtos naturais e sintéticos foram avaliados quanto à capacidade de inibir o biofilme de diferentes espécies de bactérias, o que levou à descoberta do benzimidazol **9** (Figura 2) denominado de ABC-1. Esse composto foi capaz de prevenir a formação do biofilme bacteriano de várias bactérias patogênicas, sem afetar o crescimento das mesmas. O valor de IC₅₀ (concentração necessária para inibir a formação do biofilme em 50%) desse composto para *Pseudomonas aeruginosa* foi 45,9 nM.

Além desse trabalho, outras triagens em amplas bibliotecas de compostos, além de outros produtos naturais isolados de vários organismos e compostos sintéticos capazes de interferir na formação de biofilme podem ser encontrados principalmente na revisão publicada por WORTHINGTON *et al.* (2012). Outro trabalho, que merece ser citado, embora menos abrangente, é o de PEACH e colaboradores (2011).

Dentre as diferentes classes de compostos listadas nesses trabalhos, é dado destaque ao grupo das furanonas halogenadas naturais. Os fimbrolídeos, que pertencem a essa classe, (Figura 2) foram isolados da alga vermelha *Delisea pulchra* e possuem o núcleo 4-halo-3-butil-5-halometilenofuran-2(5H)-ona em comum e apresentaram atividade inibitória contra a formação de biofilme em *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* (GIVSKOV *et al.*, 1996; REN *et al.*, 2001; REN *et al.*, 2002).

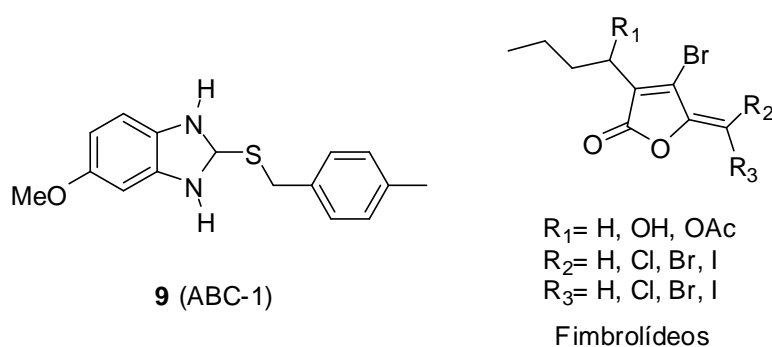


Figura 2 - Benzimidazol (**9**) e fimbrolídeos.

Esse trabalho de busca por furanonas naturais com atividade antibiofilme têm direcionado outras pesquisas no intuito de preparar estruturas similares desses compostos na busca por melhorias nas atividades biológicas, como as apresentadas a seguir (Figura 3) (RICHARDS e MELANDER, 2009).

No trabalho de HAN *et al.* (2008) foram sintetizadas um grupo de furanonas com algumas variações estruturais (**10-14**) com o intuito de estudar seus efeitos na formação de biofilme bacteriano de *Escherichia coli*. Os resultados obtidos indicam que existe relação entre a estrutura e a atividade dessa classe de compostos. Os compostos **10**, **11** e **12** na concentração de 60 µg/mL inibiram a formação desse biofilme em 75%, 63% e 80%, respectivamente enquanto **13** e **14** inibiram pouco ou não inibiram esse biofilme. A análise das estruturas mostra que os compostos ativos apresentam um brometo vinílico exocíclico conjugado com um grupo carbonílico.

A síntese de outras lactonas semelhantes (**15a-15c**, **16a-16c**, **17**, **18** e **19**) (STEENACKERS *et al.*, 2010) e a avaliação contra a formação de biofilme da *Salmonella typhimurium* revelou que a variação do grupo etil, butil e hexil

exerce pouco efeito sobre a atividade biológica. O maior impacto é causado pelo padrão de bromação, já que os compostos **15a-15c** (IC_{50} = 10,74-23,12 μ M) que apresentam o átomo de bromo na posição 4, são mais ativos que **16a-16c** (IC_{50} = 148,0-199,9 μ M). O composto **19**, que possui o átomo de bromo na posição 4 apresentou atividade similar ao grupo **15a-15c**, enquanto o composto **18** não foi ativo. Já o composto **17**, que possui o padrão de bromação relacionado à maior atividade antibiofilme apresentou IC_{50} = 57,46 μ M.

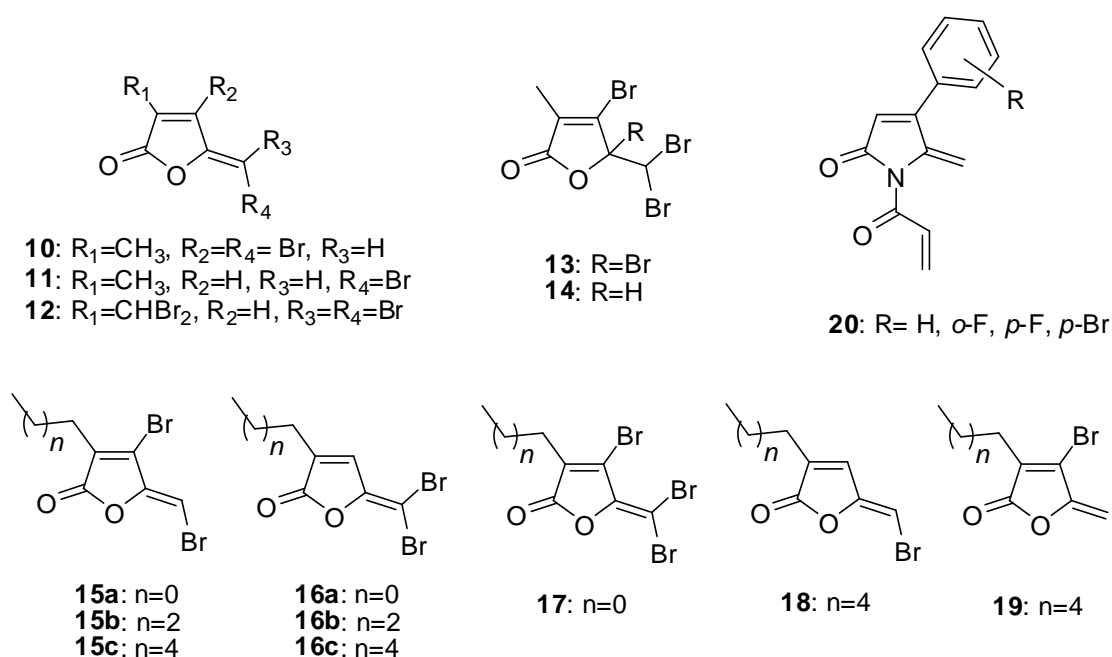


Figura 3 - Furanonas halogenadas e diidropirrol-2-onas que possuem atividade antibiofilme.

Semelhante à estrutura e atividade biológica dessas lactonas, o grupo das diidropirrol-2-onas (**20**) foi capaz de reduzir a adesão do biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* quando essas substâncias foram imobilizadas na superfície de APTS (3-aminopropiltrióxido-silano) (HO *et al.*, 2010). O desenvolvimento desse tipo de trabalho envolvendo o tratamento de superfícies com agentes antibiofilme tem ganhado destaque, pois a prevenção da formação desses biofilmes em instrumentos médicos é importante já que os mesmos estão associados a diversos tipos infecções.

2. Justificativa

A maioria das bactérias patogênicas existe como comunidade de biofilmes, logo, a descoberta e o desenvolvimento de agentes com a habilidade de limitar a formação desses biofilmes, ou mesmo de erradicá-los quando já estabelecidos, terá o potencial para aumentar a eficácia de antibióticos que são pouco efetivos contra essas estruturas.

Como previamente mencionado, algumas furanonas halogenadas naturais e sintéticas são capazes de inibir a formação de biofilme bacteriano de diversos micro-organismos patogênicos.

Assim, considerando a similaridade estrutural entre essas lactonas halogenadas e os rubrolídeos que são lactonas bromadas, avaliou-se o potencial inibidor da formação de biofilme bacteriano das 4-aril-5-benzilideno-3-bromofuran-2(5*H*)-onas análogas aos rubrolídeos (**4a-4g**) e de seus derivados γ -hidroxi- γ -lactamas (**5a-5g**) e γ -alquilideno- γ -lactamas (**6a-6g** e **7a-7g**) sintetizados nesse trabalho.

3. Material e métodos

As 4-aryl-5-benzilideno-3-bromofuran-2(5*H*)-onas análogas aos rubrolídeos (**4a-4g**) e seus derivados γ -hidroxi- γ -lactamas (**5a-5g**) e γ -alquilideno- γ -lactamas (**6a-6g** e **7a-7g**) sintetizadas conforme apresentado no Capítulo 1 foram submetidas a ensaios de inibição da formação de biofilme bacteriano conforme apresentado a seguir.

3.1. Preparo de soluções utilizadas no ensaio biológico

As soluções aquosas de DMSO (dimetilsulfóxido) e sacarose foram preparadas em água destilada e autoclavadas a 120 °C por 20 minutos antes de serem adicionadas ao meio de cultura.

Os compostos a serem testados foram solubilizados em DMSO 100% e posteriormente diluídos em meio Tryptic Soy Broth (TSB) na concentração inicial de 175 $\mu\text{g/mL}$, utilizada para realização dos testes de inibição de biofilme. A concentração de DMSO em todos os ensaios foi mantida constante a 3,5%.

3.2. Material biológico e meio de cultura

As linhagens bacterianas foram cultivadas em TSB (Tryptic Soy Broth, Acumedia), e durante os ensaios de inibição de biofilme, quando necessário, foi acrescentado ao meio sacarose (4% m/v) e DMSO (3,5% v/v) (dimetilsulfóxido). As bactérias utilizadas nesse estudo foram: *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 35547) e *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Resultados prévios mostraram que nessa concentração, DMSO não interfere no crescimento bacteriano e na formação do biofilme.

3.3. Ensaios de inibição de aderência e formação de biofilmes

As cepas-teste foram cultivadas por 24 h em meio TSB a 37 °C sem agitação e após as primeiras 8 h de incubação foram plaqueadas em meio ágar-sangue para verificação da pureza. As culturas puras foram diluídas a 10^8 UFC/mL e 100 µL destas suspensões foram depositados nos poços das microplacas de poliestireno. Foram em seguida adicionados ao primeiro poço de cada série 100 µL de solução de cada composto a ser testado, resultando em uma concentração inicial de 87,5 µg/mL, e realizadas diluições sucessivas, em razão de 2 para o preparo das soluções a 43,8, 21,9, 10,9, 5,5, 2,73, 1,37, 0,68, 0,34 e 0,17 µg/mL destes compostos (**4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g**). O experimento controle foi realizado da mesma forma, mas sem a presença de algum composto. As microplacas foram então incubadas em câmara úmida a 37 °C pelo tempo necessário à formação do biofilme de cada linhagem. No caso da linhagem de *S. mutans* os testes foram realizados em ambiente de microaerofilia. Ao final da incubação, o crescimento bacteriano foi quantificado por absorbância a 630 nm usando um leitor de microplacas, para avaliar os efeitos dos compostos testados sobre o crescimento bacteriano antes da quantificação do biofilme. As suspensões bacterianas foram então descartadas e os poços foram repetidamente lavados com água destilada a fim de eliminar as bactérias não aderidas.

Após lavagens sucessivas com água para retirada do excesso de corante, as bactérias aderentes (biofilme) foram coradas com 120 µL de uma solução de cristal violeta 0,1% (m/v). Em seguida solubilizou-se o cristal violeta fixado nas bactérias aderidas com uma solução 1% (m/v) de dodecil sulfato de sódio (SDS) para permitir a quantificação da coloração pelo leitor de microplacas a 595 nm. Cada ensaio foi realizado em triplicata. Os resultados obtidos foram calculados em relação ao tratamento controle. Os dados foram tratados e os valores de IC₅₀ (concentração necessária para inibir 50% da formação do biofilme bacteriano) foram determinados.

4. Resultados e discussão

4.1. Efeito dos compostos sobre o crescimento planctônico

Antes da quantificação da inibição da formação do biofilme pelas γ -alquilideno- γ -lactonas (**4a-4g**), γ -hidroxi- γ -lactamas (**5a-5g**) e γ -alquilideno- γ -lactamas (**6a-6g** e **7a-7g**) (Figura 4), o efeito desses compostos no crescimento de *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. mutans* foi avaliado. Essa análise é importante para estabelecer se eventuais efeitos na formação do biofilme ocorreram especificamente devido à inibição da aderência bacteriana ou poderia ser atribuída também a um efeito indireto dos compostos na viabilidade bacteriana. Para isso, o crescimento bacteriano foi quantificado na presença de cada composto nas concentrações de 87,5, 43,8, 21,9, 10,9, 5,5, 2,73, 1,37, 0,68, 0,34 e 0,17 $\mu\text{g/mL}$ pela absorbância a 630 nm usando um leitor de microplacas. Esses dados são apresentados nas Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5.

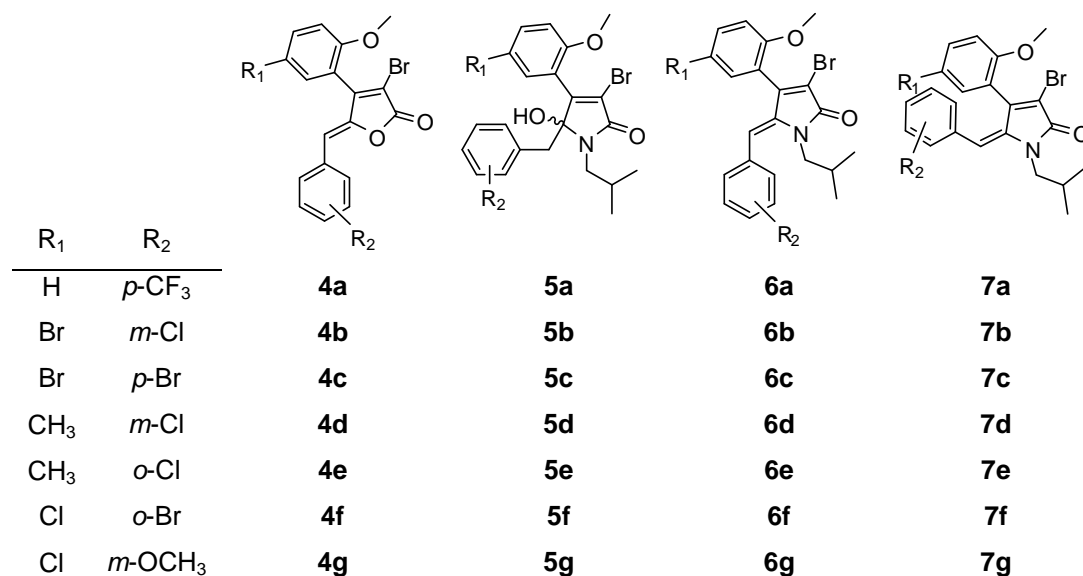


Figura 4 - Estrutura dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g**.

Os resultados da Tabela 1 mostram que apenas a γ -hidroxi- γ -lactama **5a** na concentração de 87,5 $\mu\text{g/mL}$ inibiu o crescimento planctônico de *E. faecalis*

acima de 20%, enquanto outras lactamas e lactonas não mostraram nenhum efeito inibitório significativo no crescimento de *E. faecalis*.

O efeito dos compostos sobre o crescimento bacteriano de *S. epidermidis* (Tabela 2) mostra que o composto **5d** inibiu o crescimento bacteriano em 28,5% na concentração de 43,8 µg/mL e o composto **6d** inibiu esse crescimento em aproximadamente 39% nas concentrações de 43,8 µg/mL e 21,9 µg/mL. Já o composto **6a** inibiu o crescimento desse micro-organismo em 21% e 22% nas concentrações de 2,73 µg/mL e 0,17 µg/mL, respectivamente.

Em relação aos ensaios feitos com *P. aeruginosa*, nenhum composto inibiu significativamente o crescimento bacteriano dessa espécie, conforme Tabela 3. *P. aeruginosa* é a única bactéria Gram-negativa avaliada nesse trabalho e esse resultado mostra uma atividade seletiva para esses compostos avaliados, desde que eles não inibem o crescimento dessa bactéria, o que é importante para uma menor pressão de seleção.

Na Tabela 4, pode-se observar que o composto **6a** inibiu o crescimento de *S. aureus* de 29% a 36% na faixa de concentração de 21,9 µg/mL a 1,37 µg/mL, e que o composto **7a** inibiu o crescimento da mesma espécie em 21,7% na concentração de 2,73 µg/mL. Já a Tabela 5 mostra que os compostos **5a**, **6d**, **7a** e **7d** foram capazes de interferir no crescimento planctônico de *S. mutans* em mais de 20% em diferentes concentrações. Em geral pode ser observado que apenas as lactamas **5a**, **6a** e **7a** (série **a**) e **5d**, **6d** e **7d** (série **d**) mostram alguma atividade contra o crescimento planctônico dos micro-organismos previamente mencionados.

Conforme mencionado, a análise prévia da atividade dos compostos sobre o crescimento bacteriano é importante para estabelecer se os efeitos na formação do biofilme ocorreram especificamente devido a uma inibição da aderência bacteriana ou se também é influenciado pela inibição do crescimento planctônico. Portanto, considerou-se que a atividade do composto sobre a inibição do biofilme bacteriano não é exclusiva quando o mesmo é capaz de inibir o crescimento planctônico em mais de 20%.

Por esse motivo a concentração máxima de trabalho escolhida para a avaliação do efeito do composto especificamente na formação do biofilme foi

aquela que inibiu menos do que 20% do crescimento planctônico. Esse limite arbitrário foi escolhido baseado em nossa experiência prévia, considerando que não existe nenhuma recomendação padrão para esse tipo de estudo.

Tabela 1 - Efeito dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** nas concentrações de 87,5, 43,8, 21,9, 10,9, 5,5, 2,73, 1,37, 0,68, 0,34 e 0,17 µg/mL sobre o crescimento planctônico de *E. faecalis*

Composto	Efeito sobre o crescimento planctônico (%)*									
	Concentração (µg/mL)									
	87,5	43,8	21,9	10,9	5,5	2,73	1,37	0,68	0,34	0,17
4a	66,5	46,3	26,0	15,2	7,1	-4,8	-7,6	-9,1	-6,7	-4,5
4b	72,1	38,8	34,8	18,4	14,9	16,0	14,4	4,8	0,8	7,2
4c	35,9	22,3	9,6	19,9	9,6	1,1	8,8	10,4	-0,3	0,8
4d	55,8	39,6	19,4	17,7	17,4	9,8	9,1	-4,7	-7,9	-6,4
4e	63,8	28,8	18,2	5,1	19,1	19,9	27,1	33,9	29,9	21,0
4f	68,7	47,0	47,5	33,2	36,3	23,8	-0,8	-3,4	-4,7	0,8
4g	40,5	24,1	19,7	9,2	9,7	11,8	0,3	-5,6	-4,1	-1,5
5a	-24,6	-1,2	-7,0	22,7	18,1	8,4	3,4	11,3	1,7	1,9
5b	48,7	30,3	9,3	6,5	-2,1	-4,4	1,3	-0,8	-4,7	1,3
5c	42,4	28,1	15,8	10,4	8,4	8,9	3,2	6,3	10,0	-8,0
5d	53,1	36,8	24,9	5,8	4,2	4,8	2,1	3,3	0,7	-2,5
5e	86,4	63,4	46,0	43,8	41,6	35,4	19,1	-12,4	-15,6	-3,7
5f	78,0	53,9	38,4	36,7	32,4	30,2	19,3	-10,6	-1,9	-5,1
5g	60,6	38,2	21,6	19,8	-8,0	9,5	3,0	4,0	1,0	-4,0
6a	45,0	11,2	4,0	-4,2	-8,0	-6,6	-5,2	-10,2	-10,4	-2,4
6b	94,2	26,3	20,4	20,0	21,8	27,0	25,1	17,9	12,1	9,3
6c	82,8	59,7	58,1	55,9	43,0	33,9	17,5	-1,3	0,3	-2,2
6d	64,5	61,8	46,8	34,4	31,1	14,5	11,9	11,6	6,9	6,0
6e	95,3	62,1	52,2	45,1	41,9	33,0	24,6	6,9	-7,4	-4,2
6f	100,8	70,0	61,5	53,3	35,1	44,9	45,1	19,2	0,0	-4,1
6g	94,6	55,6	45,7	39,3	42,5	29,1	21,0	5,9	2,5	0,2
7a	-18,9	17,5	15,8	11,1	9,2	10,9	1,6	2,3	0,4	3,3
7b	98,2	75,5	67,3	57,3	48,8	42,5	33,0	23,5	20,1	16,1
7c	57,1	22,5	18,1	10,6	9,6	20,2	15,8	1,8	-4,4	0,8
7d	81,4	38,4	31,8	19,4	10,5	5,0	1,4	1,4	6,8	0,4
7e	82,0	58,8	46,9	36,1	36,6	27,8	15,7	-1,0	-1,8	-1,5
7f	60,9	43,4	32,4	42,7	43,4	33,3	19,2	9,1	7,4	0,5
7g	56,3	33,5	30,1	20,8	33,7	8,1	-4,8	-6,0	-6,4	-9,4

* Valores positivos referem-se à indução do crescimento planctônico

Tabela 2 - Efeito dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** nas concentrações de 87,5, 43,8, 21,9, 10,9, 5,5, 2,73, 1,37, 0,68, 0,34 e 0,17 µg/mL, sobre o crescimento planctônico de *S. epidermidis*

Efeito sobre o crescimento planctônico (%)*										
Composto	Concentração (µg/mL)									
	87,5	43,8	21,9	10,9	5,5	2,73	1,37	0,68	0,34	0,17
4a	14,7	30,7	18,7	10,3	-9,1	12,9	2,9	-16,5	-14,8	-12,1
4b	28,4	20,6	8,8	8,6	1,6	0,1	-2,4	-1,6	-6,1	-1,7
4c	31,9	22,1	3,9	-1,5	1,0	4,5	-2,2	-0,2	0,6	8,1
4d	33,8	12,7	8,9	-3,1	4,0	-4,0	4,9	11,9	10,3	13,2
4e	70,5	36,5	15,8	13,5	3,7	-0,7	8,5	0,9	-0,1	-1,6
4f	74,6	42,5	27,3	12,1	3,9	2,9	2,5	11,1	51,8	9,5
4g	10,6	5,6	-1,3	-5,5	-4,6	-2,4	-4,7	-1,5	0,1	3,7
5a	0,5	16,3	13,8	16,4	10,7	3,5	0,1	1,4	1,9	6,3
5b	38,2	35,9	30,2	25,8	24,3	20,9	22,8	23,2	34,1	17,5
5c	29,8	43,6	55,8	11,2	-2,4	4,8	8,0	-5,4	4,3	2,1
5d	-7,8	-28,5	-7,3	-17,2	12,0	1,9	0,9	1,2	2,4	3,5
5e	60,7	48,3	34,6	22,6	16,5	2,8	6,4	2,7	24,8	6,0
5f	17,6	28,8	13,2	4,2	6,4	21,5	7,8	9,4	2,6	9,4
5g	14,5	15,7	6,9	-0,3	6,4	3,4	4,7	5,1	3,3	10,0
6a	-6,3	37,8	38,7	6,6	-14,8	-21,2	-17,9	-13,2	-17,0	-22,1
6b	72,2	84,7	57,9	23,2	2,1	6,8	9,8	5,6	6,4	2,2
6c	88,4	78,7	32,6	12,3	0,9	11,2	5,7	10,0	14,1	3,3
6d	-12,6	-38,8	-38,6	-19,8	1,1	11,4	6,4	-4,2	2,4	5,6
6e	65,8	46,4	31,7	13,1	3,3	-5,5	-4,4	3,4	17,8	4,0
6f	6,9	13,5	2,1	-3,2	-5,7	-6,0	-3,8	-5,2	-0,2	-2,5
6g	35,5	24,6	11,3	0,9	-2,3	-3,8	-2,6	5,5	-0,7	5,8
7a	-5,5	40,1	88,5	36,6	1,0	-6,4	1,1	-10,2	-2,2	-16,7
7b	70,2	56,1	27,7	10,8	21,1	11,4	1,0	4,8	4,9	2,1
7c	11,4	7,7	-1,0	1,0	2,7	-5,7	-1,2	-2,1	0,4	-3,3
7d	39,2	33,5	16,6	14,3	8,4	18,1	4,2	6,3	16,2	13,9
7e	23,5	26,9	5,9	6,0	-1,0	0,4	-2,3	-6,1	3,6	-2,9
7f	31,5	21,8	10,6	-0,4	2,7	-3,7	-0,4	-2,2	5,5	1,9
7g	45,3	44,9	25,4	12,7	4,1	1,5	4,2	0,3	0,4	0,7

* Valores positivos referem-se à indução do crescimento planctônico

Tabela 3 - Efeito dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** nas concentrações de 87,5, 43,8, 21,9, 10,9, 5,5, 2,73, 1,37, 0,68, 0,34 e 0,17 µg/mL, sobre o crescimento planctônico de *P. aeruginosa*

Efeito sobre o crescimento planctônico (%)*										
Composto	Concentração (µg/mL)									
	87,5	43,8	21,9	10,9	5,5	2,73	1,37	0,68	0,34	0,17
4a	15,1	34,3	58,0	49,9	7,9	-7,0	-5,7	-1,3	-0,4	-1,3
4b	-7,3	-9,5	-15,0	-16,9	-19,8	-21,1	-13,2	-3,1	0,3	1,4
4c	-12,9	-12,1	-15,1	-17,6	-22,0	-19,2	-8,6	-1,8	-1,9	-1,8
4d	7,8	-8,5	-12,1	-14,0	-8,9	-4,8	0,8	-0,1	-4,8	-3,0
4e	11,1	-2,0	-6,8	-10,2	-5,3	-4,1	-7,5	-7,8	-8,6	-3,8
4f	-8,2	-9,1	-13,4	-5,2	-8,1	-7,7	-7,0	-5,1	-5,3	-3,8
4g	-9,5	-8,7	-11,6	-14,8	-19,4	-16,0	-7,3	0,7	0,5	-1,2
5a	-10,8	-7,8	-12,2	-16,2	-17,2	-18,4	-19,3	-6,5	3,7	4,7
5b	3,3	4,3	1,4	3,2	-3,1	0,1	-6,6	-9,0	-5,4	-7,3
5c	39,4	63,9	58,3	64,1	58,3	0,8	-4,5	-7,0	-5,7	-4,0
5d	-11,6	-10,6	-7,9	-9,6	-8,6	-7,0	-3,4	-2,6	-1,3	-1,6
5e	32,5	17,1	-5,6	-17,5	-17,6	-20,3	-7,4	-4,7	-4,5	-2,5
5f	24,8	5,7	-9,2	-14,9	-13,5	-13,8	-5,6	-6,4	-9,6	-7,2
5g	-3,6	-2,3	-3,7	-3,3	-5,5	-18,9	-4,2	-6,7	-5,8	-4,0
6a	35,2	44,0	53,2	35,6	-1,7	-9,2	-5,9	0,1	-1,7	-2,1
6b	14,6	-5,6	-4,8	-9,0	-3,1	0,1	3,0	-0,3	-4,4	0,6
6c	12,6	3,4	-1,3	-2,6	0,6	0,8	1,0	-0,2	0,3	4,1
6d	35,3	25,6	21,3	13,5	8,8	3,0	0,0	0,8	0,8	0,9
6e	0,8	-11,1	-13,3	-13,8	-13,8	-6,0	-10,6	-7,7	-5,5	-1,9
6f	10,0	-6,6	-9,6	-11,5	-5,5	-3,1	0,4	-0,1	-4,0	-2,5
6g	-2,1	-8,9	-10,0	-15,5	-9,1	0,2	0,8	1,0	2,8	3,2
7a	30,6	34,8	9,1	-4,1	-15,8	-13,1	-10,4	-4,0	-5,2	-2,3
7b	15,5	-3,2	-4,5	-7,0	-4,0	4,7	5,0	3,4	-3,3	1,8
7c	-8,2	-6,2	-11,7	-15,5	-16,1	-17,1	-19,3	-5,5	2,6	0,9
7d	29,8	10,5	7,8	1,8	1,5	0,3	-0,9	-1,3	-2,2	-2,3
7e	-4,3	-7,7	-13,2	-15,0	-17,8	-18,8	-10,0	-2,7	0,6	1,2
7f	-9,1	-14,6	-14,6	-18,1	-5,1	-5,8	-5,8	-7,5	-3,9	-1,8
7g	9,6	24,2	19,6	8,8	2,8	-5,3	-6,6	0,3	2,9	18,0

* Valores positivos referem-se à indução do crescimento planctônico

Tabela 4 - Efeito dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** nas concentrações de 87,5, 43,8, 21,9, 10,9, 5,5, 2,73, 1,37, 0,68, 0,34 e 0,17 µg/mL, sobre o crescimento planctônico de *S. aureus*

Efeito sobre o crescimento planctônico (%)*										
Composto	Concentração (µg/mL)									
	87,5	43,8	21,9	10,9	5,5	2,73	1,37	0,68	0,34	0,17
4a	81,2	47,3	26,7	9,7	9,9	6,6	-0,5	-2,3	-2,0	-3,6
4b	121,6	75,8	43,1	43,6	36,6	30,1	27,0	20,0	14,5	13,8
4c	9,4	13,1	23,1	15,8	8,3	5,6	6,7	0,8	0,5	-1,6
4d	131,0	66,1	39,3	34,9	35,4	46,8	50,6	52,2	47,5	23,0
4e	37,0	25,3	7,3	10,9	8,3	16,9	16,9	10,9	8,3	6,0
4f	14,6	-2,9	-8,3	-16,9	-16,7	-14,4	-14,0	-10,6	-10,0	-7,9
4g	134,6	80,5	47,2	43,1	34,4	39,5	52,1	47,2	30,5	10,3
5a	-15,4	-17,0	-17,0	-5,8	-4,1	0,5	2,5	-5,6	-2,8	-4,8
5b	35,1	30,3	23,8	4,2	16,6	0,6	-2,0	3,1	6,1	-4,6
5c	7,4	-13,7	-15,6	-11,3	-9,0	-17,9	-14,8	-10,8	-3,4	1,1
5d	-12,1	-5,0	3,4	4,3	5,4	12,8	9,7	10,8	11,4	6,7
5e	16,5	2,3	-10,8	-6,8	5,0	0,5	-3	-2,5	-0,5	-1,3
5f	14,3	12,8	4,2	-2,4	-9,0	-1,3	5,9	3,7	6,2	8,4
5g	22,1	0,7	-15,1	-9,9	-8,1	2,3	6,8	-5,0	0,7	2,0
6a	1,8	-15,4	-29,3	-33,8	-33,5	-35,6	-30,9	-18,1	-14,7	-5,8
6b	18,4	16,3	5,1	2,4	0,5	-2,7	-7,2	1,1	-1,1	-3,5
6c	6,0	5,5	0,8	1,0	-2,1	-2,4	-0,5	-0,5	0,3	-3,9
6d	4,8	6,6	4,0	13,2	18,4	12,6	12,0	9,2	11,8	10,8
6e	33,8	8,9	-6,3	-13,4	-12,0	-6,6	-13,4	-4,9	-3,3	-4,2
6f	48,0	23,6	7,5	-1,2	2,5	2,7	12,4	12,2	17,2	11,2
6g	13,0	-11,3	7,2	-7,2	-3,5	-13,7	-5,7	-9,6	-3,0	-2,6
7a	91,0	59,8	4,9	-3,8	-18,5	-21,7	-14,9	-5,2	-1,6	0,0
7b	12,8	-5,2	-13,1	-11,9	-16,0	-14,0	-17,8	-19,6	-17,1	-18,7
7c	68,6	36,6	27,8	16,8	14,9	15,4	9,4	18,5	6,3	2,2
7d	-3,2	1,8	0,6	0,0	4,6	9,2	12,5	5,8	2,9	4,1
7e	20,1	4,6	-13,2	-11,2	-9,4	-10,4	-4,6	-3,6	-6,6	-6,6
7f	3,6	-4,3	-6,2	-4,6	0,2	7,5	-2,5	3,0	-0,7	2,7
7g	9,8	20,4	14,0	11,5	92,3	34,0	36,2	39,1	49,8	45,5

* Valores positivos referem-se à indução do crescimento planctônico

Tabela 5 - Efeito dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** nas concentrações de 87,5, 43,8, 21,9, 10,9, 5,5, 2,73, 1,37, 0,68, 0,34 e 0,17 µg/mL, sobre o crescimento planctônico de *S. mutans*

Efeito sobre o crescimento planctônico (%)*										
Composto	Concentração (µg/mL)									
	87,5	43,8	21,9	10,9	5,5	2,73	1,37	0,68	0,34	0,17
4a	58,9	21,5	0,6	-9,3	-4,8	-4,0	-6,5	-1,7	1,1	-3,1
4b	14,9	0,5	-5,8	13,4	12,4	16,2	8,9	8,4	7,6	-1,0
4c	-13,5	-11,3	4,0	7,2	10,3	15,0	12,3	7,0	3,8	4,5
4d	34,9	19,8	12,1	-2,7	5,2	8,2	0,0	-5,8	9,9	10,2
4e	18,9	7,4	-3,3	-13,6	0,8	-4,1	1,5	5,6	6,4	1,5
4f	57,5	26,9	22,8	8,2	8,6	4,1	4,5	5,6	5,6	19,0
4g	49,0	22,7	14,0	18,8	19,7	37,3	34,3	23,9	25,7	26,9
5a	-36,3	-29,9	-26,9	-23,9	-18,7	1,7	12,4	10,9	6,2	0,7
5b	26,1	16,9	15,4	6,6	9,6	7,0	12,1	10,3	5,5	1,1
5c	0,2	-17,9	-13,7	-8,0	-3,0	-6,0	4,0	-8,0	-7,0	-13,2
5d	-31,2	-21,0	-12,5	-7,6	-11,0	-2,9	-4,8	1,1	2,4	3,0
5e	15,3	27,2	39,8	28,7	35,6	30,7	12,6	13,0	11,1	7,3
5f	24,4	24,4	15,4	9,0	9,0	1,6	3,5	-7,7	-13,8	-16,1
5g	9,0	6,5	-0,6	-3,7	1,6	0,3	-8,7	-12,5	-12,5	-14,0
6a	3,6	-13,5	-11,6	-12,9	-3,0	14,0	10,7	5,5	0,6	0,3
6b	-4,0	-15,3	-10,1	-19,1	1,5	-6,2	2,7	11,4	6,7	-1,2
6c	-15,8	-31,4	-14,6	-5,0	-3,3	-5,3	8,3	5,8	-0,3	6,0
6d	-46,7	-42,5	-33,6	-32,3	-26,3	-18,8	-14,9	-6,0	-4,1	-4,4
6e	49,5	19,2	14,6	7,8	8,9	3,9	-0,4	-2,1	-1,4	-4,6
6f	23,4	7,4	10,4	-3,3	-1,6	9,6	8,5	11,0	10,4	12,4
6g	30,8	12,3	6,2	1,2	2,6	-6,5	-4,4	-17,3	-18,2	-19,6
7a	-46,9	-55,3	-12,0	-19,3	-15,8	-0,8	10,6	6,0	-5,4	7,9
7b	-7,3	2,5	-7,5	8,3	2,8	12,6	15,3	-6,5	7,0	6,0
7c	22,8	9,0	6,0	7,6	10,1	12,0	-3,3	14,4	12,0	13,9
7d	-32,5	-28,3	-22,7	-12,4	-6,4	-6,8	-4,9	-2,3	-2,3	-1,7
7e	20,1	20,1	13,8	18,6	25,4	24,3	20,6	9,0	18,1	11,9
7f	6,4	1,5	7,0	-4,3	1,8	-3,3	-8,2	-13,4	-18,8	-19,5
7g	76,4	44,1	14,8	17,0	8,3	3,5	-3,9	-1,7	6,1	2,2

* Valores positivos referem-se à indução do crescimento planctônico

4.2. Inibição da formação do biofilme bacteriano

O efeito inibitório dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** sobre a formação do biofilme bacteriano de *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. mutans* foi avaliado utilizando o ensaio de coloração com cristal violeta.

Nos experimentos utilizando as espécies *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* houve uma boa correlação entre a inibição da formação do biofilme e a concentração dos compostos avaliados, indicando que o efeito observado foi dependente da dose. Assim, nos ensaios com esses micro-organismos foi possível calcular para uma boa parte dos compostos os valores de IC_{50} (concentração dos compostos necessária para inibir em 50% a formação do biofilme bacteriano), conforme apresentado na Tabela 6.

Todos os valores de IC_{50} foram obtidos a partir do experimento realizado em triplicata. As curvas dose-resposta sigmoidais $\log[\text{substância}]$ versus porcentagem de inibição da formação do biofilme foram inicialmente construídas e os valores de IC_{50} calculados, como ilustrado para **5c** que inibe a formação do biofilme de *S. epidermidis* (Figura 5).

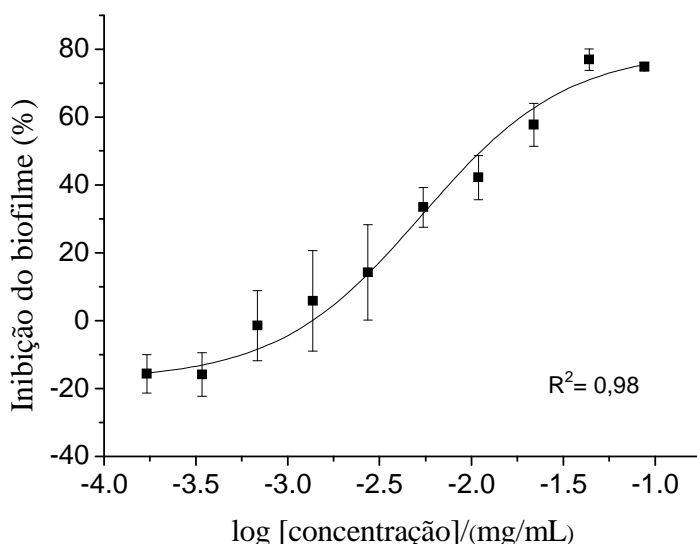


Figura 5 - Inibição do biofilme de *S. epidermidis* por **5c**. A curva dose-resposta $\log[5c]$ versus inibição do biofilme foi obtida a partir de experimento realizado em triplicata. $IC_{50} = 13,3 \pm 3,6 \mu\text{g/mL}$ para **5c** contra *S. epidermidis*.

Os ensaios de inibição do biofilme bacteriano de *S. aureus* e *S. mutans* revelaram que para a maioria dos compostos avaliados não foi possível calcular o valor de IC₅₀, já que não houve uma correlação direta entre a inibição do biofilme e as concentrações dos compostos testados, indicando que o efeito observado não foi dependente da dose utilizada. Além disso, em alguns casos o valor de IC₅₀ é superior à maior concentração testada. Portanto para esses micro-organismos, optou-se por apresentar os dados de inibição da formação desses biofilmes em que os compostos foram avaliados na concentração de 44 µg/mL, conforme Figuras 6 e 7.

Como a atividade desses compostos não foi estudada completamente considerando seus efeitos nas bactérias em estudo, não é sabido se, além de afetar a formação do biofilme, eles também interferem em outros caminhos metabólicos. Apesar de os compostos não afetarem a viabilidade bacteriana, o que é importante para a caracterização específica da atividade antibiofilme, não pode ser excluído que outros caminhos metabólicos possam também ser afetados. Então se tem a hipótese de que a falta de correlação direta dose-resposta da inibição do biofilme obtida para vários compostos contra a formação de biofilme de *S. aureus* e *S. mutans* pode ser devido a diferentes atividades desses compostos sobre esses micro-organismos e que poderiam indiretamente afetar a formação desses biofilmes.

No ensaio de inibição do biofilme bacteriano de *E. faecalis*, para as lactonas testadas, **4d** foi o composto mais ativo (IC₅₀= 1,5 µg/mL), seguido por **4b** (IC₅₀= 6,9 µg/mL) e **4c** (IC₅₀= 18,7 µg/mL). Para as γ-hidroxi-γ-lactamas, **5b**, **5c**, **5d** e **5g** não foram observadas inibições expressivas da formação do biofilme de *E. faecalis* (IC₅₀> 33 µg/mL). Ao contrário, os compostos **5e** (IC₅₀= 1,1 µg/mL) e **5f** (IC₅₀= 1,3 µg/mL) foram bastante ativos. A característica estrutural que diferencia as lactamas **5e** e **5f** das demais é a presença de um substituinte na posição *orto* do anel do grupo alquilideno.

Ainda para os ensaios com *E. faecalis*, em geral as γ-alquilideno-γ-lactamas **6a-6g** e **7a-7g** foram mais ativas em relação aos análogos hidroxilados correspondentes **5a-5g**, com a maioria dos compostos apresentando IC₅₀< 3,5 µg/mL. Por comparação, apenas três dos 14

compostos das séries previamente discutidas **4a-4g** e **5a-5g** apresentaram $IC_{50} < 3,5 \mu\text{g/mL}$.

A comparação entre a bioatividade de (*Z*) e (*E*)- γ -alquilideno- γ -lactamas indicam que os isômeros *E* foram ligeiramente mais ativos do que os isômeros *Z*, exceto para **6b** ($IC_{50} = 3,3 \mu\text{g/mL}$) que foi mais ativo que **7b** ($IC_{50} = 3,5 \mu\text{g/mL}$) e **6g** ($IC_{50} = 1,5 \mu\text{g/mL}$) que foi mais ativo que **7g** ($IC_{50} = 3,3 \mu\text{g/mL}$).

Nos ensaios de inibição da formação do biofilme de *S. epidermidis* (Tabela 6) pode-se observar que a maioria dos compostos foi menos ativa contra a formação do biofilme desse micro-organismo do que contra o de *E. faecalis*. Dentre todos os compostos avaliados, os mais ativos são a (*E*)- γ -alquilideno- γ -lactama **7a** com $IC_{50} = 12,2 \mu\text{g/mL}$ ($25,4 \mu\text{M}$) e a γ -hidroxi- γ -lactama **5c** com $IC_{50} = 13,3 \mu\text{g/mL}$ ($22,6 \mu\text{M}$).

Entre os três grupos de lactamas, é possível observar que as (*Z*) e (*E*)- γ -alquilideno- γ -lactamas são mais ativas contra a formação do biofilme de *S. epidermidis* que as correspondentes γ -hidroxi- γ -lactamas, exceto para **5c** ($IC_{50} = 13,3 \mu\text{g/mL}$) que é mais ativa que **6c** ($IC_{50} = 67,5 \mu\text{g/mL}$) e **7c** ($IC_{50} > 87,5 \mu\text{g/mL}$).

Os resultados apresentados na Tabela 6 também indicam que os compostos **5a** e **5g** foram capazes de induzir a formação do biofilme de *S. epidermidis*. Na concentração de $87,5 \mu\text{g/mL}$ **5a** e **5g** induziram a formação desse biofilme em $143,6 \pm 56,6\%$ e $46,9 \pm 16,7\%$, respectivamente, enquanto **5b-5f** inibiram sua formação. O mesmo resultado de indução do biofilme desse micro-organismo foi obtido para a lactona dibromada **15b** (Figura 3, p. 174) na faixa de concentração de $1,25\text{-}20 \mu\text{M}$ (KUEHL *et al.*, 2009). Esses resultados para as compostos **5a-5g** sugerem que mudanças nos grupos ligados aos anéis aromáticos dessas lactamas promovem uma resposta diversa na formação do biofilme dessa bactéria.

Nos ensaios realizados com *P. aeruginosa* foi observado que dentro da classe das γ -hidroxi- γ -lactamas (**5a-5g**) o composto **5g** foi bastante ativo com $IC_{50} = 2,2 \mu\text{g/mL}$ ($4,4 \mu\text{M}$), enquanto os outros compostos dessa classe não mostraram nenhum efeito mensurável. Ainda nos ensaios com esse micro-organismo, as lactonas **4f** e **4g** foram bastante ativas inibindo a formação desse biofilme ($IC_{50} = 3,9 \mu\text{g/mL}$ e $1,7 \mu\text{g/mL}$, respectivamente). Em geral, entre

todas as substâncias testadas contra *P. aeruginosa*, as mais ativas foram as (*Z*)- γ -alquilideno- γ -lactamas **6d** e **6f** com valores de IC₅₀ de 0,6 μ g/mL (1,3 μ M) e 0,7 μ g/mL (1,3 μ M), respectivamente.

Encontrar substâncias que são capazes de inibir o biofilme de *P. aeruginosa* têm atraído muita atenção uma vez que a formação do biofilme desse patógeno está associado a infecções pulmonares e contaminação de implantes (SIMÕES, 2011; MATTMANN e BLACKWELL *et al.*, 2011).

Na busca por moléculas capazes de prevenir o biofilme bacteriano, foi reportada a atividade para a substância ABC-1 (**9**) (Figura 2, p. 173) em uma triagem feita com 66000 moléculas (SAMBANTHAMOORTHY *et al.*, 2011). Essa substância foi capaz de inibir a formação de *P. aeruginosa* apresentando IC₅₀= 45,9 nM. No presente estudo, os melhores resultados obtidos foram para **6d** (IC₅₀= 1,3 μ M) e **6f** (IC₅₀= 1,3 μ M). Apesar dos resultados obtidos para essas lactamas estarem em uma escala de atividade diferente daquela obtida com ABC-1 (**9**), esses dois compostos foram encontrados a partir de uma triagem feita com poucas moléculas. Assim, pode-se sugerir que outras modificações na estrutura dessas lactamas possam levar a novas substâncias com maior atividade do que as apresentadas.

Tabela 6 - Concentração dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** capazes de inibir em 50% (IC₅₀) a formação do biofilme bacteriano de *E. faecalis*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*

Composto	IC ₅₀ (µg/mL)		
	<i>E. faecalis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
4a	*	> 87,5	> 87,5
4b	6,9 ± 1,7	40,0 ± 8,0	> 87,5
4c	18,7 ± 5,1	41,3 ± 5,8	> 87,5
4d	1,5 ± 0,1	> 87,5	> 87,5
4e	*	*	*
4f	> 87,5	48,0 ± 2,0	3,9 ± 0,2
4g	53,1 ± 16,7	> 87,5	1,7 ± 0,6
5a	*	**	> 87,5
5b	> 87,5	> 87,5	*
5c	33,4 ± 17,0	13,3 ± 3,6	*
5d	> 87,5	> 87,5	*
5e	1,1 ± 0,1	> 87,5	> 87,5
5f	1,3 ± 0,2	83,4 ± 3,6	> 87,5
5g	> 87,5	**	2,2 ± 0,6
6a	12,0 ± 4,6	23,0 ± 8,8	*
6b	3,3 ± 1,3	31,1 ± 4,1	> 87,5
6c	6,6 ± 0,4	67,5 ± 30,4	> 87,5
6d	62,6 ± 9,7	67,4 ± 16,6	0,6 ± 0,04
6e	1,1 ± 0,3	> 87,5	5,7 ± 4,0
6f	1,5 ± 0,1	> 87,5	0,7 ± 0,04
6g	1,5 ± 0,3	41,0 ± 11,1	> 87,5
7a	3,0 ± 0,7	12,2 ± 0,7	25,2 ± 0,7
7b	3,5 ± 0,2	46,7 ± 5,3	> 87,5
7c	3,4 ± 0,4	> 87,5	2,5 ± 0,6
7d	59,3 ± 11,1	81,4 ± 21,0	2,4 ± 0,4
7e	1,0 ± 0,2	> 87,5	1,4 ± 0,9
7f	0,8 ± 0,2	33,2 ± 13,6	> 87,5
7g	3,3 ± 1,5	> 87,5	**

* Não foi possível calcular o IC₅₀ devido à resposta irregular de inibição do biofilme em função da concentração da solução do composto testado.

** Observou-se indução da formação do biofilme. Na concentração de 87,5 µg/mL **5a** e **5g** induziram a formação do biofilme de *S. epidermidis* em 143,6±56,6% e 46,9±16,7%, respectivamente, e **7g** induziu a formação do biofilme de *P. aeruginosa* em 84,6±17,7%.

Avaliando-se os dados de inibição da formação do biofilme de *S. aureus* (Figura 6), pode-se observar em todos os casos que pelo menos uma das γ -alquilideno- γ -lactamas, seja *Z* ou *E*, é mais ativa que a correspondente lactona, exceto para o caso em que **4d** é mais ativa que os compostos correspondentes. Ainda é possível observar que ocorrem diferenças significativas na atividade biológica quando comparadas as γ -alquilideno- γ -lactamas que diferem apenas na estereoquímica *Z* e *E*, como é o caso de **6e** que induz esse biofilme em 3,6% e **7e** que inibe esse biofilme em 34%. Como também se observa, não há uma estereoquímica específica das γ -alquilideno- γ -lactamas que seja mais ativa que a outra.

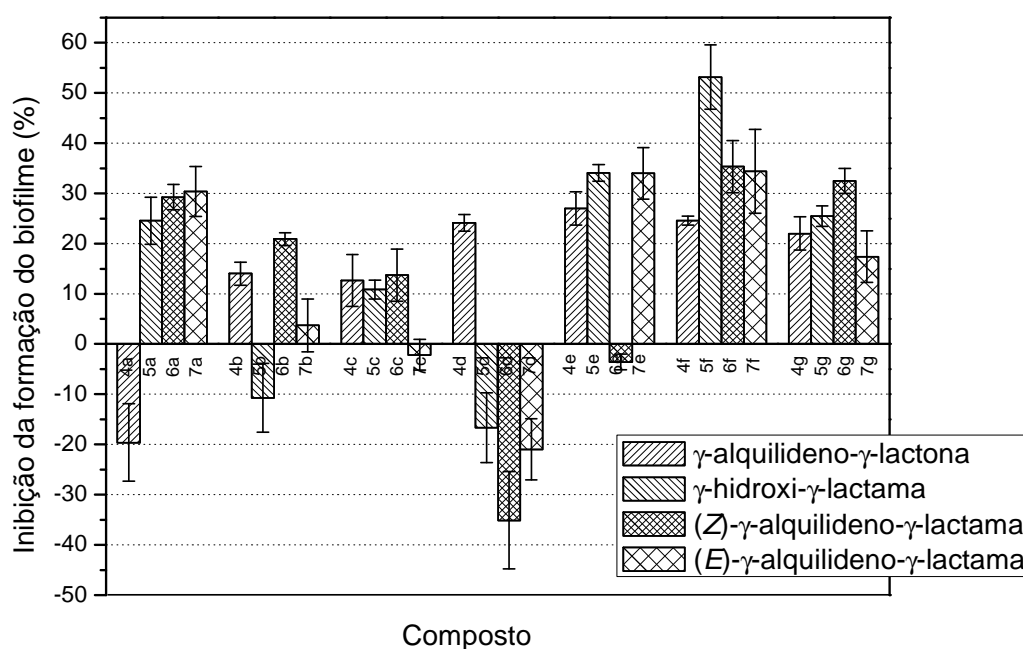


Figura 6 - Efeito dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** na concentração de 44 $\mu\text{g/mL}$ sobre a formação do biofilme de *S. aureus*. *Os compostos **7a** e **5f** apresentam $\text{IC}_{50} = 45,7 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$ e $3,7 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Ainda avaliando os dados de inibição da formação do biofilme de *S. aureus*, o composto mais ativo na concentração de 44 $\mu\text{g/mL}$ foi a γ -hidroxi- γ -lactama **5f** (80,9 μM) que foi capaz de inibir esse biofilme em 53,1%, sendo mais ativo que a lactona correspondente. Além disso, somente para os compostos **5f** e **7a** foi possível calcular o valor de concentração capaz de inibir

a formação do biofilme em 50% (IC₅₀), que foram de 3,7±0,04 µg/mL (6,8 µM) e 45,7±0,4 µg/mL (95,1 µM), respectivamente.

Novamente, o composto ABC-1 (**9**) (Figura 2, p. 173) foi testado contra *S. aureus* USA 300 em placas de poliestireno (SAMBANTHAMOORTHY *et al.*, 2011). Esse composto inibiu esse biofilme em aproximadamente 36% a 25 µM enquanto **5f** foi mais ativo inibindo 50% da formação do biofilme de *S. aureus* a 6,8 µM.

Teoricamente, um composto identificado como capaz de prevenir a formação de biofilme sobre poliestireno poderia também inibir a formação deste biofilme em diferentes superfícies. Desta forma, a imobilização dos compostos avaliados nesse trabalho poderia potencialmente evitar a adesão de biofilme em diferentes materiais. Um estudo deste tipo foi realizado com as diidropirrol-2-onas (**20**) (Figura 3, p. 174), estruturas similares às lactamas (séries **6** e **7**), que foram imobilizadas na superfície de APTS e foram capazes de reduzir a adesão de biofilme de *P. aeruginosa* e *S. aureus* (HO *et al.*, 2010) que são responsáveis por algumas infecções associadas a cateteres (TRAUTNER e DAROUICHE, 2004).

O estudo da inibição do biofilme de *S. mutans* apresentado na Figura 7 mostrou que os compostos mais ativos foram **7a**, **6d** e **7d** sendo capazes de inibi-lo em 88,8%, 34,0% e 31,7%, respectivamente. Os demais compostos foram menos ativos, mas ainda assim é possível observar que em todos os casos, pelo menos uma lactama é mais ativa que lactona correspondente, o que justifica o preparo das lactamas partindo da lactona correspondente na busca por moléculas capazes de inibir esse biofilme bacteriano.

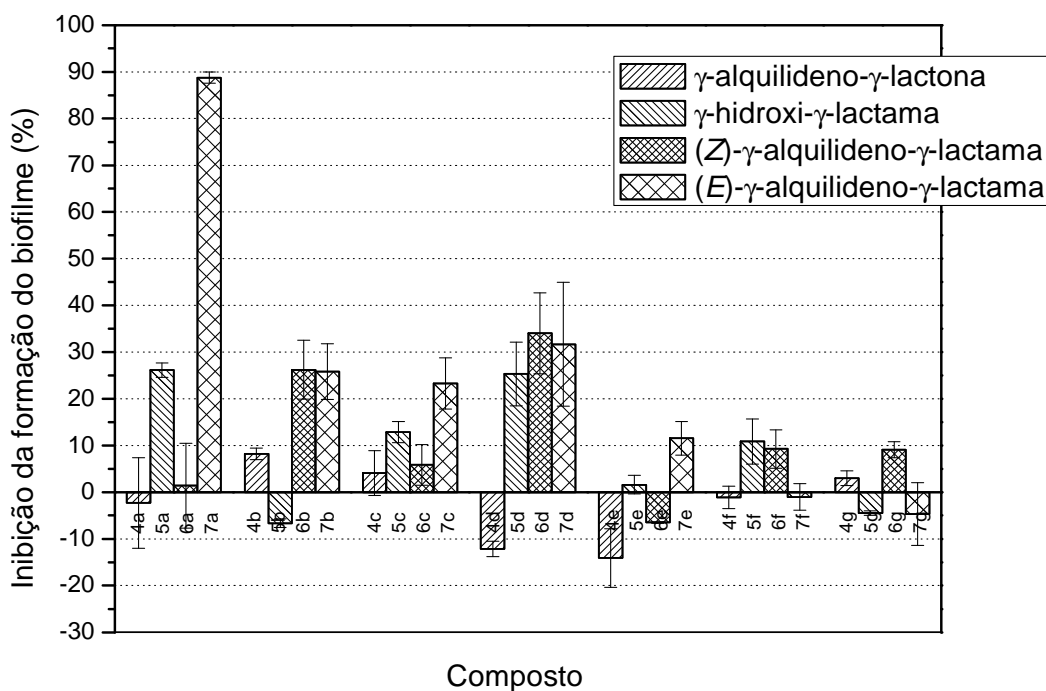


Figura 7 - Efeito dos compostos **4a-4g**, **5a-5g**, **6a-6g** e **7a-7g** na concentração de 44 $\mu\text{g/mL}$ sobre a formação do biofilme bacteriano de *S. mutans*.

*O composto **7a** apresenta $\text{IC}_{50} = 28,3 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$.

Apesar de o composto **7a** ser bastante ativo contra este biofilme, a furanona bromada **21** (Figura 8) é capaz de inibir o biofilme de *S. mutans* OMZ175 em 26% a 6 μM (LÖNN-STENSRUD *et al.*, 2007).

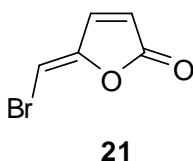


Figura 8 - Estrutura da (*Z*)-5-bromometileno-2(5*H*)-furanona **21**.

Uma comparação entre a inibição do biofilme de *S. aureus* e *S. mutans* mostra que o grupo de compostos da série **d** (**4d**, **5d**, **6d** e **7d**) atua em caminhos opostos promovendo a formação ou inibição dos mesmos (Figuras 6 e 7). Até o momento não se tem uma explicação clara para essa diferença, nem para qualquer promoção da formação de biofilme dessas espécies.

Além disso, entre todos os compostos avaliados nesse ensaio contra *S. mutans*, somente foi possível calcular o valor de IC₅₀ para **7a** na faixa de concentração testada, que foi de 28,3±0,04 µg/mL (58,9 µM).

Como pode ser visto os compostos avaliados são em geral muito ativos contra a formação do biofilme dos micro-organismos testados, apesar de que cada um desses biofilmes sejam diferentemente afetados por esses compostos. Pode-se também notar que não há seletividade na atividade biológica contra as bactérias Gram-positivas *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* e *S. mutans* comparada à Gram-negativa *P. aeruginosa*.

Ainda considerando a atividade específica para cada micro-organismo pode-se notar que nenhuma relação estrutura-atividade pode ser obtida visto que as modificações estruturais de cada classe de compostos foram limitadas a poucas variações.

Os resultados obtidos nesse trabalho abrem a possibilidade de usar essas substâncias na produção de materiais resistentes à formação de biofilmes, devido à diversidade de bactérias testadas. O trabalho nessa área já está em curso em nosso laboratório.

5. Conclusão

Os ensaios de inibição da formação de biofilme bacteriano de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* e *S. mutans* pelos análogos dos rubrolídeos γ -alquilideno- γ -lactonas e seus derivados γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas mostraram pela primeira vez que essas classes de compostos influenciam o crescimento desses biofilmes, com pouca ou nenhuma inibição do crescimento planctônico dessas espécies para a maioria dos compostos utilizados.

De maneira geral pode-se observar que os compostos avaliados são mais ativos contra a formação de biofilme de *E. faecalis*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* podendo em alguns casos inibir a formação do biofilme de *P. aeruginosa* em 50% na concentração de 0,6 $\mu\text{g/mL}$ e 0,7 $\mu\text{g/mL}$, como é o caso de **6d** e **6f**, respectivamente.

Também foi observado que a transformação das γ -alquilideno- γ -lactonas nas respectivas γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas é importante já que pelo menos uma dessas lactamas é mais ativa que a lactona precursora, na maioria dos casos. É evidente também que entre as lactamas, as γ -alquilideno- γ -lactamas são mais ativas que as outras na maioria dos casos, o que sugere a importância da presença da ligação dupla exocíclica na estrutura dessas moléculas para a melhoria de suas atividades biológicas.

Essa investigação enfatiza a utilidade da reação de lactamização de lactonas para a descoberta de novas moléculas que previnam a formação de biofilme bacteriano, o que pode ser estendido para as lactonas isoladas da alga marinha vermelha *Delisea pulchra*, já conhecidas por inibir alguns biofilmes bacterianos.

6. Referências

DAVIES, D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 2, n. 2, p. 114-122, 2003.

GIVSKOV, M.; NYS, R.; MANEFIELD, M.; GRAM, L.; MAXIMILIEN, R.; EBERL, L.; MOLIN, S.; STEINBERG, P. D.; KJELLEBERG, S. Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. **J. Bacteriol.**, v. 178, n. 22, p. 6618-6622, 1996.

HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J. W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 2, n. 2, p. 95-108, 2004.

HAN, Y.; HOU, S.; SIMON, K. A.; REN, D.; LUK, Y-Y. Identifying the important structural elements of brominated furanones for inhibiting biofilm formation by *Escherichia coli*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 18, n. 3, p. 1006-1010, 2008.

HENTZER, M.; GIVSKOV, M. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. **J. Clin. Invest.**, v. 112, n. 9, p. 1300-1307, 2003.

HO, K. K. K.; COLE, N.; CHEN, R.; WILLCOX, M. D. P.; RICE, S. A.; KUMAR, N. Characterization and *in vitro* activities of surface attached dihydropyrrol-2-ones against Gram-negative and Gram-positive bacteria. **Biofouling**, v. 26, n. 8, p. 913-921, 2010.

HØIBY, N.; BJARNSHOLT, T.; GIVSKOV, M.; MOLIN, S.; CIOFU, O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 35, n. 4, p. 322-332, 2010.

JAYARAMAN, A.; WOOD, T. K. Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease. **Annu. Rev. Biomed. Eng.**, v. 10, p. 145-167, 2008.

KELLER, L.; SURETTE, M. G. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 4, n. 4, p. 249-258, 2006.

KUEHL, R.; AL-BATAINEH, S.; GORDON, O.; LUGINBUEHL, R.; OTTO, M.; TEXTOR, M.; LANDMANN, R. Furanone at subinhibitory concentrations enhances staphylococcal biofilm formation by *luxS* repression. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 53, n. 10, p. 4159-4166, 2009.

LÖNN-STENSRUD, J.; PETERSEN, F. C.; BENNECHE, T.; SCHEIE, A. A. Synthetic bromated furanone inhibits autoinducer-2-mediated communication and biofilm formation in oral streptococci. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 22, n. 5, p. 340-346, 2007.

LUPPENS, S. B. I.; REIJ, M. W.; HEIJDEN, R. W. van der; ROMBOUTS, F. M.; ABEE, T. Development of a standard test to assess the resistance of *Staphylococcus aureus* biofilm cells to disinfectants. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 9, p. 4194-4200, 2002.

MATTMANN, M. E.; BLACKWELL, H. E. Small molecules that modulate quorum sensing and control virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. **J. Org. Chem.**, v. 75, n. 20, p. 6737-6746, 2010.

MUSK, D. J.; HERGENROTHER, P. J. Chemical countermeasures for the control of bacterial biofilms: effective compounds and promising targets. **Curr. Med. Chem.**, v. 13, n. 18, p. 2163-2177, 2006.

NADELL, C. D.; XAVIER, J. B.; LEVIN, S. A.; FOSTER, K. R. The evolution of quorum sensing in bacterial biofilms. **PLoS Biol.**, v. 6, n. 1, p. 171-179, 2008.

PAN, J.; REN, D. Quorum sensing inhibitors: a patent overview. **Expert Opin. Ther. Pat.**, v. 19, n. 11, p. 1-21, 2009.

PEACH, K. C.; BRAY, W. M.; SHIKUMA, N. J.; GASSNER, N. C.; LOKEY, R. S.; YILDIZ, F. H.; LININGTON, R. G. An image-based 384-well high-throughput screening method for the discovery of biofilm inhibitors in *Vibrio cholerae*. **Mol. BioSyst.**, v. 7, n. 4, p. 1176-1184, 2011.

RASMUSSEN, T. B.; GIVSKOV, M. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. **Int. J. Med. Microbiol.**, v. 296, n. 2-3, p. 149-161, 2006.

REN, D.; SIMS, J. J.; WOOD, T. K. Inhibition of biofilm formation and swarming of *Bacillus subtilis* by (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(5H)-furanone. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 34, n. 4, p. 293-299, 2002.

REN, D.; SIMS, J. J.; WOOD, T. K. Inhibition of biofilm formation and swarming of *Escherichia coli* by (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(5H)-furanone. **Environ. Microbiol.**, v. 3, n. 11, p. 731-736, 2001.

RICHARDS, J.; MELANDER, C. Small molecule approaches toward the non-microbicidal modulation of bacterial growth and maintenance. **Anti-Infect. Agents Med. Chem.**, v. 8, n. 4, p. 295-314, 2009.

ROMERO, D.; TRAXLER, M. F.; LÓPEZ, D.; KOLTER, R. Antibiotics as signal molecules. **Chemical reviews**, v. 111, n. 9, p. 5492-5505, 2011.

SAMBANTHAMOORTHY, K.; GOKHALE, A. A.; LAO, W.; PARASHAR, V.; NEIDITCH, M. B.; SEMMELHACK, M. F.; LEE, I.; WATERS, C. M. Identification of a novel benzimidazole that inhibits bacterial biofilm formation in a broad-spectrum manner. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 55, n. 9, p. 4369-4378, 2011.

SIMÕES, M. Antimicrobial strategies effective against infectious bacterial biofilms. **Curr. Med. Chem.**, v. 18, n. 14, p. 2129-2145, 2011.

STEENACKERS, H. P.; LEVIN, J.; JANSSENS, J. C.; WEERDT, A. D.; BALZARINI, J.; VANDERLEYDEN, J.; VOS, D. E. D.; KEERSMAECKER, S. C. D. Structure-activity relationship of brominated 3-alkyl-5-methylene-2(5*H*)-furanones and alkylmaleic anhydrides as inhibitors of *Salmonella biofilm* formation and quorum sensing regulated bioluminescence in *Vibrio harveyi*. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 18, n. 14, p. 5224-5233, 2010.

STEWART, P. S.; FRANKLIN, M. J. Physiological heterogeneity in biofilms. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 6, n. 3, p. 199-210, 2008.

TRAUTNER, B. W.; DAROUICHE, R. O. Catheter-associated infections: pathogenesis affects prevention. **Arch. Intern. Med.**, v. 164, n. 8, p. 842-850, 2004.

WORTHINGTON, R. J.; RICHARDS, J. J.; MELANDER, C. Small molecule control of bacterial biofilms. **Org. Biomol. Chem.**, v. 10, n. 37, p. 7457-7474, 2012.

YANG, L.; LIU, Y.; WU, H.; SONG, Z.; HØIBY, N.; MOLIN, S.; GIVSKOV, M. Combating biofilms. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v. 65, n. 2, p. 146-157, 2012.

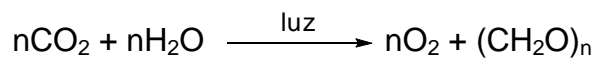
CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOTÓXICA DAS γ -ALQUILIDENO- γ -LACTONAS ANÁLOGAS AOS RUBROLÍDEOS E DE SEUS DERIVADOS γ -HIDROXI- γ -LACTAMAS, γ -ALQUILIDENO- γ -LACTAMAS E PIRIDAZIN-3(2*H*)-ONAS

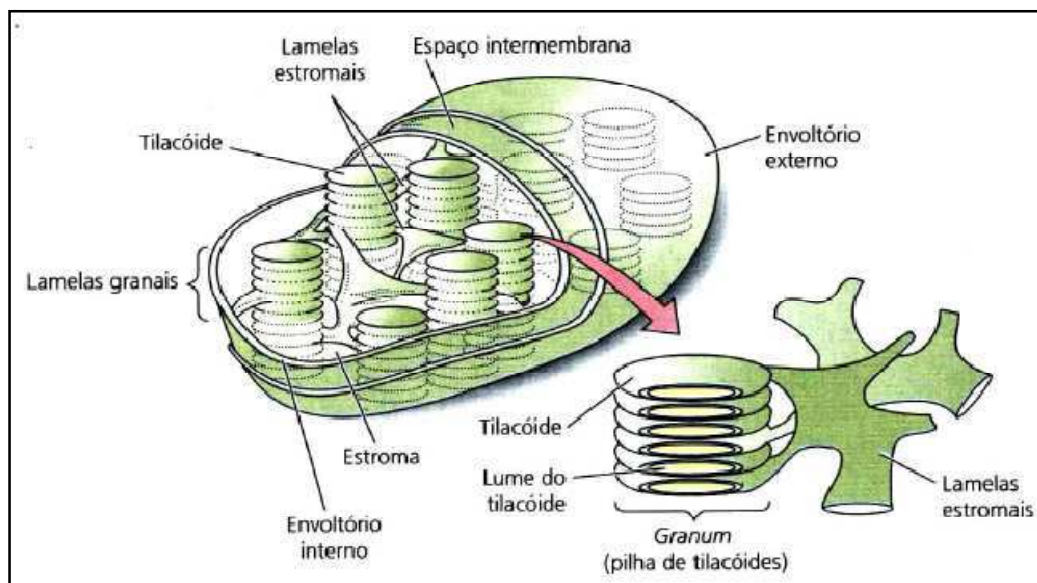
1. Introdução

1.1. Fotossíntese

O termo fotossíntese significa “síntese utilizando a luz”. Nesse processo os organismos fotossintéticos captam a luz solar e convertem CO₂ em carboidrato com a liberação de oxigênio (TAIZ e ZEIGER, 2013). A equação a seguir descreve esse processo.



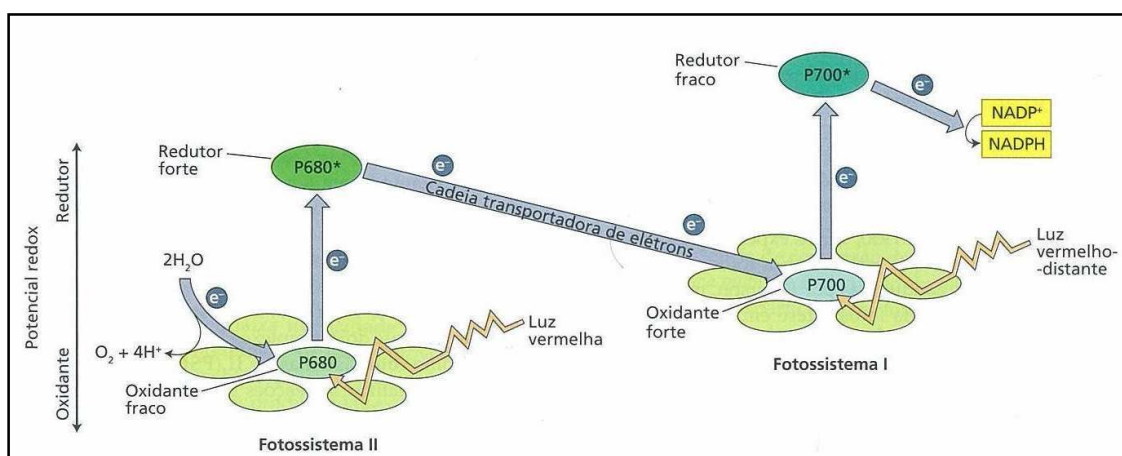
A fotossíntese ocorre no interior do cloroplasto (Figura 1) e pode ser dividida em duas etapas. A primeira etapa corresponde às reações luminosas, que ocorrem pela absorção da energia luminosa por pigmentos (clorofila *a* e *b*), que são encontrados nos tilacóides, dentro dos cloroplastos. Essa energia é utilizada para a síntese de ATP e NADPH, utilizados na próxima etapa em que ocorrem as reações de fixação de carbono, resultando na síntese de amido e sacarose, trioses fosfato e outros produtos no estroma do cloroplasto (TAIZ e ZEIGER, 2013).



Fonte: TAIZ e ZEIGER (2013).

Figura 1 - Estrutura dos cloroplastos.

O esquema fotossintético mostrado na Figura 2, chamado de esquema Z, representa mais detalhadamente a conversão da energia luminosa em energia química pelas unidades denominadas fotossistemas II e I ligados por uma cadeia transportadora de elétrons. As clorofilas especializadas do centro de reação (P680 e P700) são excitadas pelos prótons e um elétron é ejetado e transferido por uma série de compostos que atuam como doadores e aceptores de elétrons (LEHNINGER, 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013).

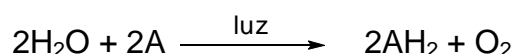


Fonte: TAIZ e ZEIGER (2013).

Figura 2 - Esquema Z da fotossíntese.

1.2. Reação de Hill

A reação de Hill, descoberta em 1937, ocorre quando cloroplastos isolados são iluminados na presença de um aceptor de elétrons 'A' não biológico. O aceptor é reduzido para AH₂ e ocorre produção de oxigênio molecular (WALKER, 2002).



'A' é o receptor artificial de hidrogênio, ou reagente de Hill. Um exemplo é o corante 2,6-diclorofenolindofenol, que é azul quando oxidado (A) e incolor quando reduzido (AH₂) (Figura 3), o que permite acompanhar a reação. Hill percebeu que, quando o extrato de folha na presença do corante foi iluminado,

o corante azul tornou-se incolor e O₂ foi liberado. Entretanto, no escuro não ocorria a redução do corante nem a liberação de O₂ (TAIZ e ZEIGER, 2013).

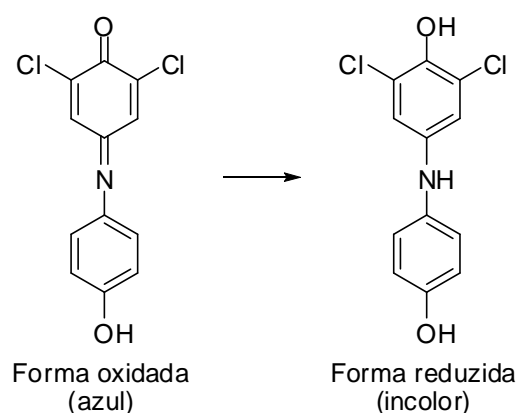
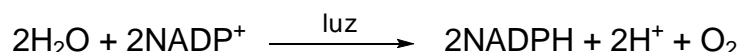


Figura 3 - Estrutura com corante na forma oxidada e reduzida.

Esta foi a primeira constatação que a absorção da energia luminosa promove um fluxo de elétrons da água para um receptor de elétrons. Hill também observou que, nessas condições, o CO₂ não era necessário nem reduzido a uma forma estável, e que assim, a produção do O₂ pode ser dissociada da redução do CO₂. Somente mais tarde mostrou-se que o NADP⁺ é o receptor biológico de elétrons nos cloroplastos, de acordo com a equação:



A partir de então tem sido demonstrado que muitas substâncias atuam como receptores de elétrons. Tal processo ficou conhecido como reação de Hill (WALKER, 2002).

1.3. Herbicidas bloqueadores do fluxo de elétrons

O uso de herbicidas para eliminar plantas indesejáveis é largamente adotado na agricultura moderna. Muitas classes diferentes de herbicidas foram desenvolvidas e eles agem bloqueando a biossíntese de aminoácidos, carotenóides ou lipídeos, ou perturbando a divisão celular, além de outros diferentes mecanismos de ação (VENCILL *et al.*, 2012). Outros herbicidas,

como o paraquat, diquat, chloridazon, atrazina e metribuzin atuam como inibidores fotossintéticos por meio do bloqueio do fluxo de elétrons da fotossíntese (Figura 4) (TEIXEIRA *et al.*, 2012; CASIDA, 2009).

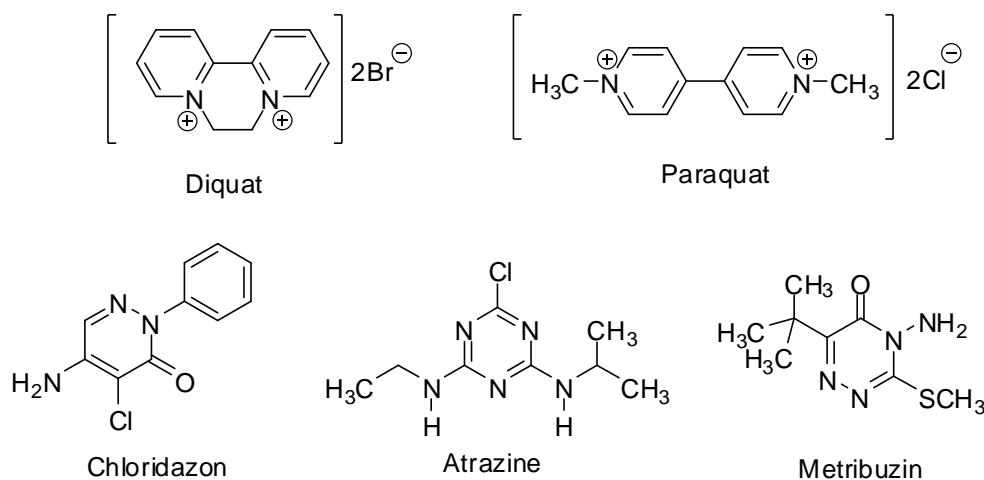


Figura 4 - Alguns herbicidas comerciais inibidores da fotossíntese.

O paraquat e o diquat agem recebendo elétrons dos aceptores primários do fotossistema I, resultando na forma radicalar do herbicida, que reduz o oxigênio molecular para formar radicais superóxidos (O_2^-). Esses radicais levam à formação de peróxido de hidrogênio e de radicais hidróxi que destroem a clorofila e a membrana lipídica, ocasionando a morte da planta (VENCILL *et al.*, 2012).

Outros herbicidas como o chloridazon, metribuzin e atrazina atuam bloqueando o fluxo de elétrons nos aceptores quinona do fotossistema II. Especificamente a atrazina e outras triazinas inibem a fotossíntese ligando-se ao sítio de ligação da plastoquinona Q_B . O chloridazon também atua nesse fotossistema (CASIDA, 2009; VENCILL *et al.*, 2012).

Apesar de existir uma variedade de herbicidas que controlam um grande espectro de plantas daninhas, existe uma demanda crescente por novos produtos, que sejam mais específicos, utilizados em doses menores e mais seguros para o homem e para o meio ambiente (BARBOSA, 2004; SILVA e SILVA, 2007). Além disso, as plantas daninhas desenvolvem resistência a tais compostos após certo tempo de contato com eles. Com isso, eles passam a

ser menos efetivos e muitas vezes perdem totalmente a atividade (BARBOSA, 2004; BURGOS *et al.*, 2013).

Portanto, muitos trabalhos têm sido feitos para descobrir novos compostos que sejam mais seguros, menos tóxicos e que controlem seletivamente as plantas daninhas por meio da inibição do sistema fotossintético (TEIXEIRA *et al.*, 2012).

1.4. Produtos naturais e a síntese orgânica na descoberta de novos herbicidas

Na busca por esses novos compostos potencialmente fitotóxicos, produtos naturais têm sido utilizados como modelo (WALTER, 2002). De acordo com DUKE *et al.* (2002) e DAYAN *et al.* (2009), o isolamento de compostos naturais a partir de plantas e micro-organismos é talvez a melhor abordagem para a descoberta de fitotoxinas naturais e novos sítios de ação herbicida. Assim, é importante o estudo do metabolismo secundário dessas espécies, já que podem fornecer compostos com potencial uso como herbicida e que sejam menos agressivos ao homem e ao meio ambiente.

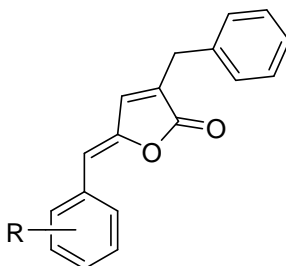
Seguindo a identificação da substância química natural e fitotóxica, intensa pesquisa e testes são feitos para aperfeiçoar a estrutura e entender sua ação. Dependendo da natureza dos grupos funcionais presentes na molécula, diferentes transformações químicas podem ser realizadas, como a introdução de grupos que alterem o comportamento lipofílico do composto em estudo. Também são avaliados os efeitos na atividade biológica decorrentes da presença de grupos doadores e receptores de elétrons (LEIN *et al.*, 2004; HÜTER, 2011).

Vários trabalhos científicos têm sido publicados nos últimos anos a respeito de novos inibidores fotossintéticos, como é apresentado por TEIXEIRA *et al.* (2012), que destaca por exemplo, os análogos sintéticos dos nostoclídeos.

Vários desses derivados com diferentes grupos benzilideno foram preparados e avaliados quanto à capacidade de interferir na redução do ferricianeto de potássio promovida pela luz, junto a cloroplastos isolados de espinafres (Tabela 1). Como tendência geral, os derivados com forte grupo

retirador de elétrons na posição *para*, exibiram a maior porcentagem de inibição, como é o caso dos compostos **21b** e **21d** (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

Tabela 1 - Efeito dos análogos sintéticos dos nostoclídeos na redução de ferricianeto de potássio promovida pela luz, junto a cloroplastos isolados de espinafres

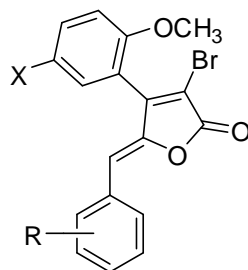


Composto	R	10 μ M*
21a	<i>m</i> -NO ₂	39,5 \pm 0,8**
21b	<i>p</i> -NO ₂	57,8 \pm 1,0
21c	<i>m</i> -CF ₃	49,9 \pm 1,7
21d	<i>p</i> -CF ₃	55,5 \pm 1,7
21e	<i>o</i> -Br	21,8 \pm 2,2

*Concentração dos análogos aos nostoclídeos utilizada no ensaio. **Os valores foram expressos como porcentagem de inibição da taxa de redução de ferricianeto de potássio.

Em outro trabalho do mesmo grupo de pesquisa (BARBOSA *et al.*, 2012), compostos derivados dos rubrolídeos foram sintetizados e avaliados da mesma forma que os análogos aos nostoclídeos previamente mencionados. Os derivados mais ativos **22a-22d** e seus respectivos valores de IC₅₀ (concentração necessária para inibir em 50% a redução de ferricianeto de potássio) são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Efeito dos análogos sintéticos dos rubrolídeos na redução de ferricianeto de potássio promovida pela luz, junto a cloroplastos isolados de espinafres



Composto	X	Grupo benzilideno	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)
22a	H	4-nitrobenzilideno	1,1 ± 0,2
22b	H	4-trifluorometilbenzilideno	3,5 ± 0,4
22c	F	4-nitrobenzilideno	1,3 ± 0,3
22d	F	4-trifluorometilbenzilideno	8,1 ± 2,1

2. Justificativa

Como previamente mencionado os compostos análogos aos rubrolídeos **22a-22d** e outros sintetizados no trabalho de BARBOSA *et al.* (2012) são capazes de interferir na redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos de espinafre.

Desse modo, os novos análogos aos rubrolídeos sintetizados no presente trabalho (**4a-4q**) e seus derivados γ -hidroxi- γ -lactamas (**5a-5g**) e γ -alquilideno- γ -lactamas (**6a-6g** e **7a-7g**) e piridazin-3(2*H*)-onas (**8h-8q**) tiveram suas fitotoxicidades avaliadas pela capacidade de interferir na redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos de espinafre (reação de Hill).

Além disso, também foi avaliada a atividade fitotóxica desses compostos (**4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g**, **8h** e **8j-8q**) sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de sorgo e pepino em experimentos realizados em placa de Petri. O composto **8i** não foi avaliado devido à pequena quantidade desse material disponível para a realização desse ensaio. Para os compostos mais ativos nos ensaios com sorgo e pepino, também foi avaliada a atividade herbicida pré-emergente sobre as plantas daninhas corda-de-viola e brachiaria em experimentos conduzidos em casa de vegetação.

3. Material e métodos

As substâncias **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g** e **8h-8q** sintetizadas conforme apresentado no Capítulo 1, foram submetidas a ensaios para avaliação de suas atividades fitotóxicas conforme apresentado a seguir.

3.1. Ensaio de inibição da síntese de ATP

3.1.1. Isolamento de cloroplastos

Cloroplastos fotossinteticamente ativos foram extraídos de folhas de espinafre (*Spinacea oleracea* L.), obtidas em supermercados ou feiras livres. Para o processo de extração, folhas livres da nervura central e das extremidades basal e apical foram misturadas com uma solução-tampão 20 mmol L⁻¹ de *N*-tris(hidroximetil)metilglicina (tricina)-NaOH (pH = 8,0; 5 mL de solução/g de material vegetal), previamente resfriada em banho de gelo e contendo 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂ e 0,4 mol L⁻¹ de sacarose. Esse material foi homogeneizado em um liquidificador doméstico por 30 segundos, empregando-se velocidade máxima. O material macerado foi filtrado através de gaze cirúrgica, e o filtrado, centrifugado a 4 °C (1 minuto, 500 g). O sobrenadante foi submetido a nova centrifugação (10 minutos, 1.500 g). Os cloroplastos, contidos no precipitado, foram então ressuspensos em uma solução não-tamponada de sacarose. A suspensão foi imediatamente diluída (proporção de 1:1) com uma solução tamponada de sacarose. A nova suspensão assim obtida foi mantida em banho de gelo e abrigada da luz, sendo utilizada logo após sua preparação. Para determinação do teor de clorofila, alíquotas dessa suspensão foram pipetadas e convenientemente diluídas com acetona 80% (v/v). Após diluição, medidas de absorvância foram feitas nos comprimentos de onda de 645 e 663 nm. O conteúdo de clorofila foi calculado com base na fórmula de Arnon (HALL, 1980):

$$\text{Clorofila } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663})$$

3.1.2. Avaliação da atividade fitotóxica dos compostos 4a-4q, 5a-5g, 6a-6g, 7a-7g e 8h-8q sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacia oleracea*

Alíquotas da suspensão de cloroplastos com 20 µg de clorofila foram incubadas a 24 °C em cubetas de 1 mL contendo solução tamponada de tricina-NaOH (pH = 8,0), 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂, 0,2 mol L⁻¹ de sacarose e 1 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]. A avaliação foi efetuada expondo-se a cubeta a uma luz saturante (800 µmol m⁻² s⁻¹). A taxa de redução do ferricianeto foi medida a 420 nm a cada 30 segundos durante 10 minutos e contra um branco. A atividade foi calculada sobre a porção linear da curva, a partir de coeficiente de extinção molar de 1.000 M⁻¹ cm⁻¹. Nas condições adotadas, o valor para controles não-tratados foi 59,3 ± 2,0 nmol de ferricianeto reduzido s⁻¹ (mg de clorofila)⁻¹ em 36 preparações independentes de suspensões de cloroplastos.

Os compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g** e **8h-8q** foram dissolvidos em DMSO, de modo a obter soluções cujos valores de concentração foram de 25 mmol L⁻¹ ou 50 mmol L⁻¹. Em seguida, essas soluções foram convenientemente diluídas com água. A avaliação do efeito desses compostos, nas concentrações de 10 µmol L⁻¹, sobre a reação de Hill foi conduzida via adição desses compostos às suspensões de cloroplastos preparadas como descrito previamente neste capítulo. Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como porcentagem dos controles não-tratados.

3.2. Ensaio biológico para avaliação da atividade dos compostos 4a-4q, 5a-5g, 6a-6g, 7a-7g, 8h e 8j-8q sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*)

3.2.1. Preparo das soluções utilizadas no ensaio biológico

Para o preparo das soluções, 1,5 mg de determinado composto foi dissolvido numa mistura de tween 80 (15 µL) e pentan-3-ona (3 µL). A

suspensão resultante foi agitada por 1 minuto e transferida para um balão volumétrico de 15 mL. O volume foi completado com água destilada para obter uma concentração final de 100 ppm dos compostos, e a solução resultante foi sonicada por 5 minutos.

3.2.2. Avaliação da atividade dos compostos 4a-4q, 5a-5g, 6a-6g, 7a-7g, 8h e 8j-8q sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) e sorgo (*Sorghum bicolor*)

O experimento foi conduzido com 50 tratamentos (compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g**, **8h**, **8j-8q**, água, controle negativo e herbicida) e em triplicata. O composto **8i** não foi avaliado devido à pequena quantidade desse material disponível para a realização desse ensaio. O tratamento controle negativo correspondeu à solução contendo apenas tween 80 e pentan-3-ona na mesma concentração em que foram utilizados no preparo das soluções. O herbicida comercial utilizado foi Dual.

Cada tratamento foi composto por três placas de Petri (8,0 cm de diâmetro por 1,0 cm de altura), às quais inicialmente foram adicionados um papel de germinação, 20 sementes de sorgo (Dow AgroSciences) ou pepino (Topseed Garden) e posteriormente 5,0 mL da solução a 100 ppm de determinado composto. No experimento controle negativo foi realizado o mesmo processo, mas sem a presença de algum composto.

As placas de Petri foram seladas e levadas à câmara para germinação a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde permaneceram por sete dias. Após esse período, mediu-se o crescimento radicular e da parte aérea das plântulas utilizando-se o programa Photomed 1.0. Foi calculada a média do crescimento radicular e da parte aérea e suas porcentagens de inibição em relação ao tratamento controle. Para comparação das médias, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2.3. Avaliação da atividade herbicida dos compostos 4k, 4n, 4p, 8l, 8p e 8q sobre a biomassa de raiz e parte aérea das plantas daninhas Corda-de-violão (*Ipomoea grandifolia*) e Brachiaria (*Brachiaria decumbens*)

Os ensaios fitotóxicos preliminares com *Sorghum bicolor* e *Cucumis sativus* indicaram que os compostos **4k**, **4n**, **4p**, **8l**, **8p** e **8q** apresentaram os melhores resultados de inibição do crescimento da raiz e da parte aérea dessas plântulas inibindo em mais de 30% o crescimento de uma dessas partes. Desse modo esses compostos foram escolhidos para o ensaio fitotóxico com plantas daninhas em casa de vegetação. Esses ensaios foram realizados no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa e foram utilizadas duas plantas daninhas: Corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*) e Brachiaria (*Brachiaria decumbens*), disponíveis na época dos testes.

O experimento foi conduzido com nove tratamentos (compostos **4k**, **4n**, **4p**, **8l**, **8p**, **8q**, água, controle negativo e herbicida Dual) e em quatro repetições. Os compostos foram avaliados a 100 ppm e as soluções foram preparadas da mesma forma que aquelas utilizadas nos ensaios fitotóxicos com sorgo e pepino.

Cada tratamento foi composto por quatro potes de plásticos (50 mL) preenchidos com areia lavada (70 gramas) isenta de matéria orgânica. A cada um desses potes foram adicionadas duas sementes de *Ipomoea grandifolia* ou quatro sementes de *Brachiaria decumbens* previamente germinadas que foram acondicionadas a aproximadamente um centímetro de profundidade. Em seguida a areia de cada pote foi saturada pela adição de 5,0 mL da solução a 100 ppm com o composto a ser testado. No experimento controle negativo foi realizado o mesmo processo, mas sem a presença de algum composto. O herbicida Dual foi utilizado como controle positivo.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação e agudadas sempre que requerido para manter a umidade da areia. Além disso, foi adicionada solução de Hoagland à meia força em cada pote, três vezes por semana (BARBOSA *et al.*, 2008).

Vinte e um dias após a semeadura as plantas foram colhidas e as raízes e parte aéreas foram separadas e secadas em estufa de ventilação forçada a 70 °C até peso constante. As massas secas foram determinadas e as porcentagens de inibição da raiz e parte aérea foram calculadas em relação à massa seca do respectivo controle. Para comparação das médias, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. Resultados e discussão

4.1. Ensaio de inibição da síntese de ATP

Os compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g** e **8h-8q** (Figura 5) foram avaliados *in vitro* junto a cloroplastos isolados de espinafre quanto à capacidade de interferir no transporte de elétrons fotossintéticos (reação de Hill).

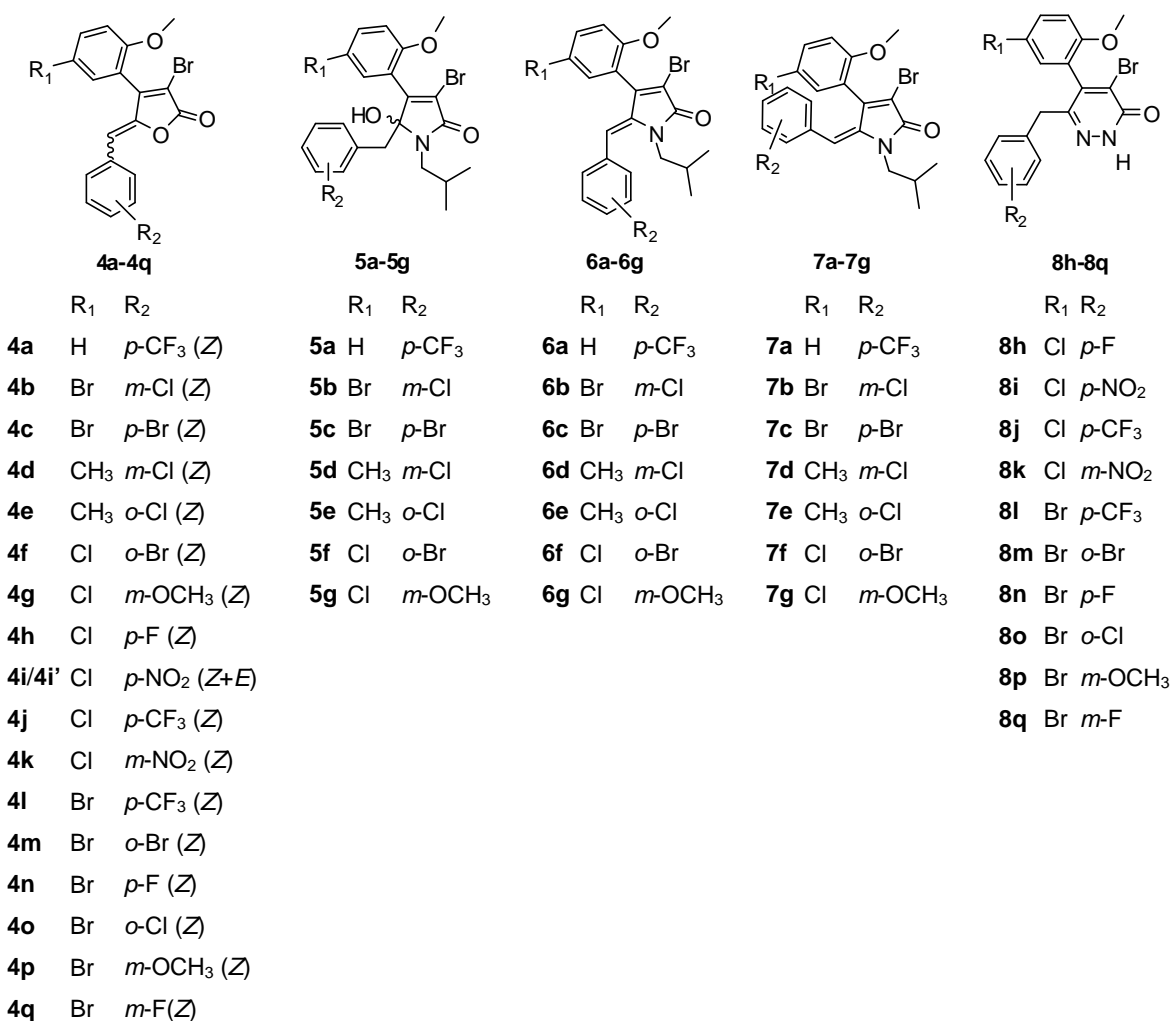


Figura 5 - Estrutura dos compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g** e **8h-8q**.

A Tabela 3 apresenta a atividade medida na presença desses compostos na concentração de 10 µM. Os valores foram expressos como

porcentagem de inibição da taxa de redução de ferricianeto de potássio em relação ao controle.

Dos 48 compostos avaliados, dez são capazes de inibir a taxa de redução de ferricianeto de potássio em mais de 20%, que correspondem às substâncias **4a**, **4b**, **4i/4i'**, **4j**, **4l**, **4n**, **5c**, **5e**, **5f** e **8o**, sendo o tratamento mais ativo a mistura de isômeros **4i/4i'** que casou inibição de 62,2% dessa taxa. Seis desses compostos correspondem aos análogos dos rubrolídeos γ -alquilideno- γ -lactonas (**4a**, **4b**, **4i/4i'**, **4j**, **4l** e **4n**), três são γ -hidroxi- γ -lactamas (**5c**, **5e** e **5f**) e uma piridazin-3(2*H*)-ona (**8o**).

Como se observa, é possível fazer uma breve relação da estrutura dos compostos do grupo das γ -alquilideno- γ -lactonas com suas atividades nesse ensaio. Os análogos aos rubrolídeos **4a**, **4h**, **4i/4i'**, **4j**, **4l** e **4n** que contêm grupos retiradores de elétrons como nitro, trifluorometil ou flúor na posição *para* do anel do grupo benzilideno, levaram a uma inibição mais pronunciada do transporte de elétrons fotossintéticos que os demais análogos que contêm esses grupos na posição *meta* desse anel, como é o caso de **4k** e **4q**.

BARBOSA *et al.* (2012) avaliaram os mesmos efeitos de γ -alquilideno- γ -lactonas análogas aos rubrolídeos e concluíram que os compostos mais efetivos foram aqueles com grupo eletronegativo em suas estruturas, também na posição *para* do anel do grupo benzilideno, o que está de acordo com observado no presente trabalho. No trabalho de BARBOSA *et al.* (2012) não foram sintetizados e avaliados análogos com fortes grupos retiradores de elétrons na posição *meta* do anel do grupo benzilideno, o que não permitiu a comparação com o presente trabalho.

Além disso, observa-se que a presença das unidades γ -alquilideno e γ -lactonas nos compostos mais ativos **4a**, **4b**, **4h**, **4i/4i'**, **4j**, **4l** e **4n** são importantes para a manutenção dessa atividade biológica, uma vez que as suas lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas correspondentes apresentaram atividade biológica reduzida.

Tabela 3 - Avaliação *in vitro* da atividade fitotóxica dos compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g** e **8h-8q** na concentração de 10 µM sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacia oleracea*

Composto	Atividade	Composto	Atividade	Composto	Atividade
4a	29,8 ± 1,8	5a	0,7 ± 1,7	7d	8,3 ± 1,4
4b	20,8 ± 1,2	5b	6,1 ± 1,7	7e	12,9 ± 0,9
4c	12,5 ± 1,2	5c	25,8 ± 2,1	7f	N
4d	12,6 ± 5,6	5d	0,7 ± 2,0	7g	N
4e	11,4 ± 1,5	5e	20,2 ± 2,0	8h	N
4f	17,7 ± 2,2	5f	28,1 ± 1,5	8i	19,2 ± 1,4
4g	13,3 ± 1,3	5g	N*	8j	18,8 ± 0,8
4h	19,0 ± 0,8	6a	7,0 ± 1,6	8k	1,5 ± 1,3
4i/4i'	62,2 ± 2,9	6b	10,7 ± 0,9	8l	18,2 ± 1,0
4j	23,0 ± 3,1	6c	6,9 ± 2,1	8m	16,5 ± 2,3
4k	8,4 ± 4,5	6d	5,9 ± 1,4	8n	12,6 ± 1,0
4l	24,8 ± 5,9	6e	6,3 ± 2,1	8o	21,9 ± 1,5
4m	7,6 ± 6,3	6f	N	8p	11,0 ± 2,1
4n	25,3 ± 1,5	6g	7,3 ± 1,0	8q	6,3 ± 1,2
4o	7,7 ± 11,2	7a	10,8 ± 0,6	Diuron	95,1 ± 0,7**
4p	6,3 ± 0,7	7b	N		
4q	16,3 ± 3,6	7c	10,6 ± 1,2		

*N= nenhum efeito. **Valor obtido no trabalho de Teixeira *et al.* (2008).

Conforme se observa, os compostos **4a** do presente trabalho e **22b**, relatado previamente e obtido por nosso grupo de pesquisa (BARBOSA *et al.*, 2012) correspondem à mesma molécula. Entretanto os resultados de inibição do transporte de elétrons fotossintéticos para esses compostos são diferentes, já que **22b** foi mais ativo e apresentou IC₅₀ de 3,5 ± 0,4 µmol L⁻¹ (Tabela 2, p. 207). Até o presente momento não se tem uma explicação clara para o ocorrido, embora tenha sido observado que na realização dos ensaios biológicos aqui apresentados, houve a formação de precipitado quando a solução estoque em DMSO desses compostos foi diluída em água, o que não havia ocorrido no ensaio com **22b**. Portanto, essa diferença de solubilidade durante a realização dos ensaios deve ser responsável pela diferença nas atividades biológicas em questão.

4.2. Ensaio para avaliação da atividade fitotóxica sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de pepino e sorgo

Os efeitos dos compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g**, **8h** e **8j-8q** sobre o crescimento radicular e da parte aérea de sorgo (*Sorghum bicolor*) e pepino (*Cucumis sativus*) realizados em placas de Petri na concentração de 100 ppm são apresentados na Tabela 4 e nas Figuras 6 e 7.

Inicialmente é importante mencionar que devido à baixa solubilidade em água desses compostos, mesmo utilizando-se diferentes formulações, os mesmos não foram avaliados em concentrações maiores que 100 ppm.

Para as lactonas estudadas pode ser observado que na maioria dos casos elas são mais ativas contra *Sorghum bicolor* do que contra *Cucumis sativus* e que apenas os compostos **4k**, **4n** e **4p** foram capazes de inibir o crescimento radicular de *S. bicolor* (Figuras 6 e 7) em mais de 30%. Apesar de uma grande quantidade de lactonas terem sido avaliadas, não foi possível encontrar uma relação entre as atividades fitotóxicas e suas correspondentes estruturas.

Uma boa seletividade contra as espécies testadas foi obtida para as γ -hidroxi- γ -lactamas **5a-5g** desde que esses compostos na maioria dos casos exibem efeitos opostos contra o crescimento radicular dessas espécies, já que **5b-5g** inibem o crescimento da raiz de *S. bicolor* (Tabela 4 e Figura 6) enquanto **5c-5g** induzem o crescimento da raiz de *C. sativus*. Esses resultados revelam que os análogos aos rubrolídeos representam uma boa plataforma estrutural para a descoberta de novos compostos seletivos com propriedades fitotóxicas.

Os resultados obtidos para as (*Z*)- γ -alquilideno- γ -lactamas (**6a-6g**) e (*E*)- γ -alquilideno- γ -lactamas (**7a-7g**) revelam que ambas as classes de compostos fracamente inibem essas espécies avaliadas nesses ensaios. A maioria desses compostos induz o comprimento da raiz e a parte aérea de *S. bicolor* e *C. sativus* (Tabela 4 e Figuras 6 e 7). As induções mais expressivas foram obtidas para as lactamas **6f**, **6g**, **7e** e **7f** que induzem até 53,8% da parte aérea de *S. bicolor* na concentração de 100 ppm.

Os resultados obtidos com as piridazin-3(2*H*)-onas a 100 ppm mostram que os compostos **8h**, **8n**, **8p** e **8q** são os mais ativos sobre o crescimento da raiz de sorgo, inibindo-a em mais de 20%, não apresentando resultados que diferissem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dentre esses compostos mencionados o mais ativo é **8q**, pois inibiu em 51,5% o crescimento dessa raiz, valor próximo daquele observado para o herbicida (Dual) utilizado como controle positivo, que foi de 60,6%. Esse mesmo composto também foi o mais ativo contra o crescimento da parte aérea dessa plântula, inibindo-a em 25,6%, ao contrário de **8j**, **8k** e **8n** que a induziram na faixa de 20,3% a 24,9%.

Tabela 4 - Efeito dos compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g**, **8h** e **8j-8q** na concentração de 100 ppm sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de pepino e sorgo

Comp.	<i>Sorghum bicolor</i>				<i>Cucumis sativus</i>			
	Compr. Raiz (mm) ^a	Inib. (%)	Compr. Parte aérea (mm) ^a	Inib. (%)	Compr. Raiz (mm) ^a	Inib. (%)	Compr. Parte aérea (mm) ^a	Inib. (%)
Água	42,0 abcd	-	62,3 ab	-	38,5 abc	-	42,3 abc	-
Controle	41,7 abcd	-	51,6 ab	-	39,9 abc	-	38,6 abcd	-
4a	36,5 abcd	12,4	58,0 ab	-12,5	46,1 abc	-15,6	38,3 abcd	0,8
4b	36,4 abcd	12,8	53,8 ab	-4,3	38,9 abc	2,5	40,8 abc	-5,7
4c	46,0 abcd	-10,3	60,7 ab	-17,8	33,9 abc	15,0	36,3 abcd	6,0
4d	35,2 abcd	15,5	53,3 ab	-3,4	39,9 abc	0,1	37,7 abcd	2,3
4e	35,3 abcd	15,3	53,2 ab	-3,2	38,7 abc	3,1	38,6 abcd	0,0
4f	41,8 abcd	-0,3	61,1 ab	-18,5	39,2 abc	1,7	40,4 abc	-4,6
4g	30,5 abcd	27,0	44,8 ab	13,1	34,5 abc	13,4	33,0 abcd	14,5
4h	30,9 abcd	25,9	44,6 ab	13,4	38,6 abc	3,4	42,0 abc	-8,7
4i/4i'	32,3 abcd	22,6	42,8 ab	17,1	35,4 abc	11,4	35,0 abcd	9,4
4j	34,7 abcd	16,8	52,6 ab	-2,0	35,1 abc	12,1	33,9 abcd	12,1
4k	27,7 bcd	33,5	36,9 b	28,4	34,2 abc	14,3	37,4 abcd	3,2
4l	39,1 abcd	6,3	54,7 ab	-6,1	36,9 abc	7,4	37,3 abcd	3,3
4m	38,6 abcd	7,4	56,4 ab	-9,3	38,6 abc	3,2	34,7 abcd	10,2
4n	28,9 bcd	30,7	42,0 ab	18,6	35,4 abc	11,4	36,0 abcd	6,7
4o	33,2 abcd	20,3	45,7 ab	11,3	33,2 bc	16,8	31,0 abcd	19,7
4p	27,2 bcd	34,8	42,8 ab	17,0	37,4 abc	6,2	39,8 abc	-3,2
4q	33,2 abcd	20,3	47,1 ab	8,6	42,8 abc	-7,2	40,8 abc	-5,7
5a	47,3 abcd	-13,3	64,9 ab	-25,8	39,2 abc	1,7	36,0 abcd	6,7
5b	34,2 abcd	18,1	52,0 ab	-0,9	33,1 bc	16,9	37,7 abcd	2,2
5c	36,9 abcd	11,6	54,5 ab	-5,6	42,8 abc	-7,3	44,9 ab	-16,4
5d	31,7 abcd	24,1	57,6 ab	-11,8	46,2 abc	-15,8	42,2 abc	-9,4
5e	32,4 abcd	22,3	53,1 ab	-3,0	46,8 abc	-17,4	45,7 ab	-18,4
5f	37,3 abcd	10,6	46,1 ab	10,6	42,9 abc	-7,5	42,2 abc	-9,3
5g	29,9 bcd	28,4	59,2 ab	-14,9	43,6 abc	-9,2	43,7 ab	-13,3
6a	36,9 abcd	11,5	54,9 ab	-6,5	38,0 abc	4,7	35,6 abcd	7,9
6b	41,8 abcd	-0,2	51,2 ab	0,8	40,6 abc	-1,7	41,3 abc	-6,9
6c	38,3 abcd	8,1	55,6 ab	-7,8	48,8 ab	-22,3	41,4 abc	-7,3
6d	35,1 abcd	15,8	56,0 ab	-8,6	39,3 abc	1,6	41,8 abc	-8,3
6e	33,7 abcd	19,3	48,0 ab	6,8	50,0 ab	-25,2	46,2 ab	-19,6

Continua...

Tabela 4 - Cont.

6f	53,3 ab	-27,7	65,6 ab	-27,1	50,8 ab	-27,4	47,9 a	-24,2
6g	52,4 abc	-25,9	63,4 ab	-22,9	45,5 abc	-14,0	47,1 ab	-22,0
7a	41,2 abcd	1,4	63,7 ab	-23,6	43,6 abc	-9,6	34,5 abcd	10,6
7b	36,9 abcd	11,5	55,2 ab	-7,1	42,6 abc	-6,8	48,6 a	-25,8
7c	48,6 abcd	-16,6	59,9 ab	-16,2	54,2 a	-35,8	47,1 ab	-22,0
7d	32,6 abcd	21,9	45,7 ab	11,3	42,5 abc	-6,6	42,0 abc	-8,8
7e	62,3 a	-49,4	79,3 a	-53,8	45,4 abc	-13,8	41,4 abc	-7,2
7f	47,4 abcd	-13,7	67,5 ab	-30,9	50,2 ab	-25,9	45,2 ab	-17,2
7g	45,5 abcd	-9,0	57,2 ab	-10,9	45,4 abc	-13,9	39,7 abcd	-2,7
8h	31,6 abcd	24,2	47,9 ab	7,1	39,6 abc	0,6	40,0 abc	-3,8
8j	41,5 abcd	0,6	62,0 ab	-20,3	34,0 abc	14,9	28,2 bcd	26,9
8k	41,2 abcd	1,1	63,7 ab	-23,5	35,1 abc	12,1	30,7 abcd	20,5
8l	38,7 abcd	7,3	53,2 ab	-3,1	27,3 cd	31,6	24,5 cd	36,6
8m	38,7 abcd	7,1	44,6 ab	13,5	41,5 abc	-3,9	35,5 abcd	8,0
8n	32,2 abcd	22,8	64,4 ab	-24,9	36,7 abc	8,0	33,7 abcd	12,0
8o	35,8 abcd	14,2	47,4 ab	8,0	45,1 abc	-13,0	41,6 abc	-7,8
8p	28,1 bcd	32,6	46,2 ab	10,3	39,5 abc	1,1	35,2 abcd	8,8
8q	20,2 cd	51,5	38,4 ab	25,6	43,5 abc	-9,0	39,5 abcd	-2,4
Herbicida	16,4 d	60,6	29,9 b	42,1	12,5 d	68,7	20,8 d	46,1

^aMédias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Comp.= composto, compr.= comprimento, inib.= inibição.

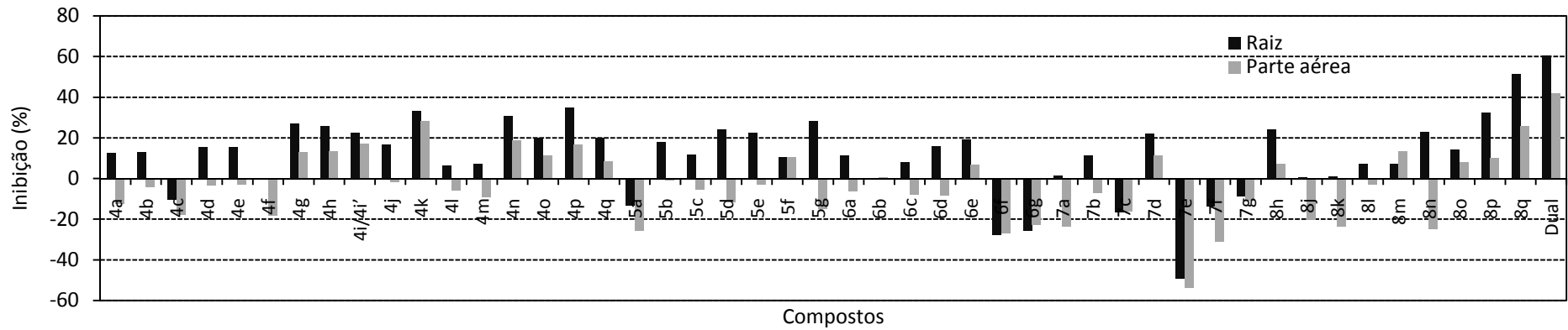


Figura 6 - Efeito dos compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g**, **8h** e **8j-8q** na concentração de 100 ppm sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de *Sorghum bicolor*, sete dias após a semeadura.

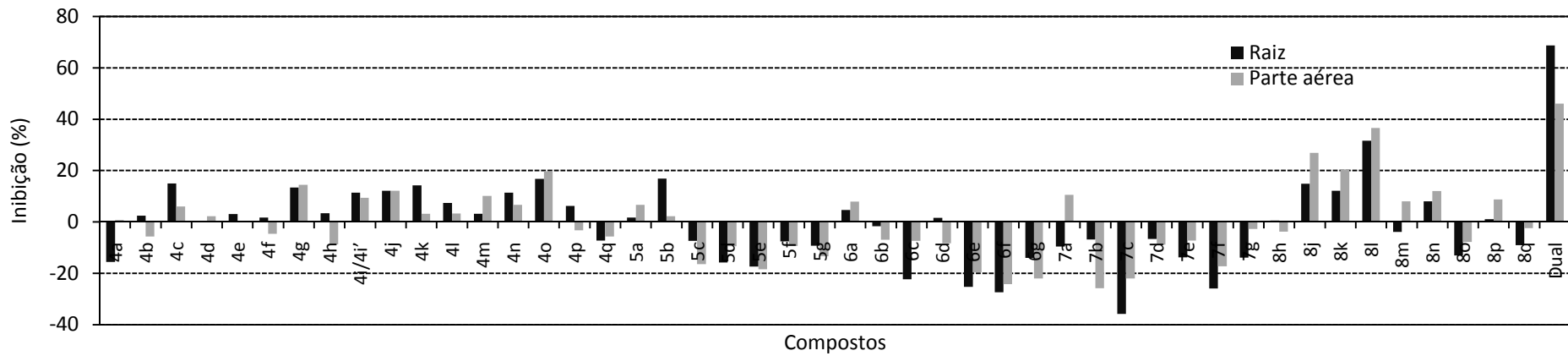


Figura 7 - Efeito dos compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g**, **8h** e **8j-8q** na concentração de 100 ppm sobre o crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de *Cucumis sativus*, sete dias após a semeadura.

A análise dos ensaios das piridazin-3(2*H*)-onas com pepino mostra que alguns compostos tiveram as atividades biológicas invertidas em relação às obtidas com sorgo, o que mostra a seletividade dessas moléculas. Como ocorre com os compostos **8o** e **8q** que inibem o crescimento radicular de sorgo, mas estimulam esse crescimento nas plântulas de pepino em 13,0% e 9,0%, respectivamente.

Já os compostos **8j**, **8k** e **8l** que pouco inibem o crescimento radicular de sorgo e estimulam o crescimento de sua parte aérea, atuam como os inibidores mais ativos de pepino, já que inibem o crescimento radicular dessa espécie em 14,9%, 12,1% e 31,6%, respectivamente e o crescimento da parte aérea da mesma espécie em 26,9%, 20,5% e 36,6%, respectivamente.

Uma característica comum a esses compostos é que eles são os únicos dentre os compostos avaliados que possuem em comum os grupos retiradores de elétrons nitro e trifluorometil na unidade benzilideno. Novamente, assim como no ensaio de redução da taxa de transporte de elétrons dirigido pela luz em cloroplastos utilizando-se as γ -alquilideno- γ -lactonas, esses grupos também são responsáveis pela maior atividade biológica das piridazin-3(2*H*)-onas sobre a inibição do crescimento da raiz e parte aérea de plântulas de pepino.

4.3. Avaliação da atividade herbicida sobre a biomassa de raiz e parte aérea das plantas daninhas Corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*) e Brachiaria (*Brachiaria decumbens*)

Considerando que as melhores atividades fitotóxicas sobre o crescimento radicular e da parte aérea de *Sorghum bicolor* e *Cucumis sativus* foram obtidas para os compostos **4k**, **4n**, **4p**, **8l**, **8p** e **8q**, esses compostos foram escolhidos para os ensaios com plantas daninhas corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*) e brachiaria (*Brachiaria decumbens*) em casa de vegetação.

Os resultados da avaliação da atividade fitotóxica desses compostos na concentração de 100 ppm mostrou que as lactonas **4k**, **4n** e **4p** foram menos ativas contra *Brachiaria decumbens* em relação às piridazin-3(2*H*)-onas **8l**, **8p** e **8q** (Tabela 5). O melhor resultado contra *B. decumbens* foi obtido para **8q** que inibiu a biomassa da raiz dessa espécie em 41,7% e da parte aérea em

28,6%. A Figura 8 mostra os resultados obtidos para **8q** no ensaio com *B. decumbens*. Na mesma figura é também apresentado o efeito do herbicida Dual utilizado nesse ensaio como controle positivo. A escolha desse herbicida foi feita pelo fato de que ele é utilizado na pré-emergência de plantas daninhas (SILVA e SILVA, 2007). Sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 9.

Tabela 5 - Efeito dos compostos **4k**, **4n**, **4p**, **8l**, **8p** e **8q** sobre o crescimento de *Ipomoea grandifolia* e *Brachiaria decumbens* em casa de vegetação durante 21 dias

Comp.	<i>Brachiaria decumbens</i>				<i>Ipomoea grandifolia</i>			
	Massa raiz (mg)*	Inib. (%)	Massa parte aérea (mg) ^a	Inib. (%)	Massa raiz (mg)*	Inib. (%)	Massa parte aérea (mg) ^a	Inib. (%)
Água	92,8 bc	-	94,1 ab	-	19,0 abc	-	75,4 abc	-
Controle	127,0 ab	-	88,5 ab	-	25,0 abc	-	83,0 ab	-
4k	184,6 a	-45,3	92,8 ab	-4,8	46,1 a	-84,5	97,0 a	-16,8
4n	104,7 abc	17,5	83,9 ab	5,2	24,8 abc	1,0	67,0 abc	19,3
4p	161,5 ab	-27,1	103,5 a	-16,9	17,8 abc	28,8	54,7 bcd	34,1
8l	103,0 abc	18,9	95,0 a	-7,3	36,1 ab	-44,3	80,5 abc	3,0
8p	94,5 abc	25,6	79,7 ab	9,9	14,7 bc	41,3	73,7 abc	11,3
8q	74,1 bc	41,7	63,2 b	28,6	6,0 c	76,0	43,2 cd	48,0
Dual	28,7 c	77,4	2,0 c	98	1,9 c	92,4	27,6 d	66,7

*Médias seguidas por uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

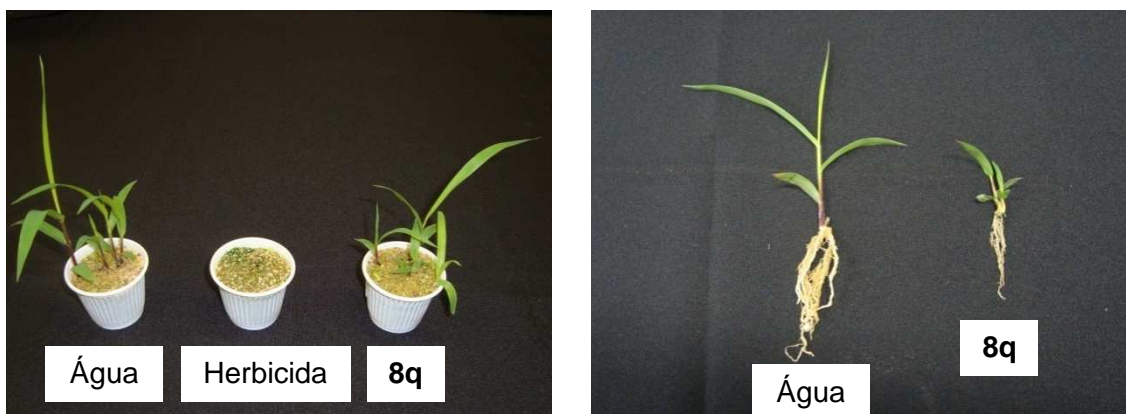


Figura 8 - Efeito fitotóxico de **8q** na concentração de 100 ppm contra *B. decumbens* em casa de vegetação por 21 dias.

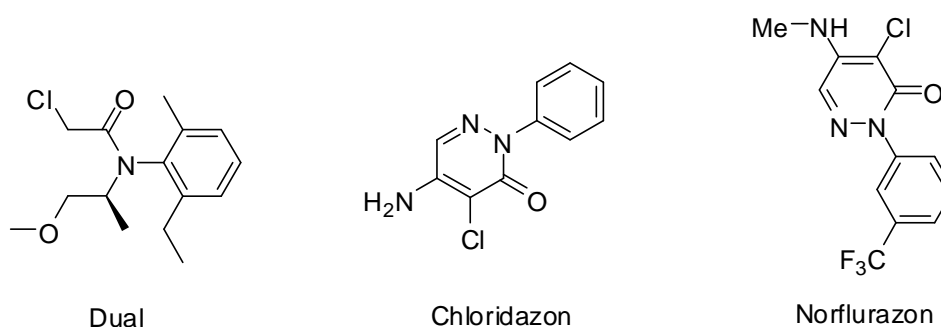


Figura 9 - Estrutura dos herbicidas comerciais Dual, Chloridazon e Norflurazon.

Nos ensaios realizados com *I. grandifolia* foi possível perceber que a lactona **4k** também estimula o crescimento dessa espécie assim como o de *B. decumbens*. Entre os análogos aos rubrolídeos testados contra *B. decumbens* o composto mais ativo foi **4p**, capaz de inibir o desenvolvimento da parte aérea dessa espécie em 34,1%. A Figura 10 mostra que as plantas de *B. decumbens* utilizadas no ensaio com **4p** apresentaram as folhas levemente amareladas, indicando que esse composto causa clorose nessas folhas.

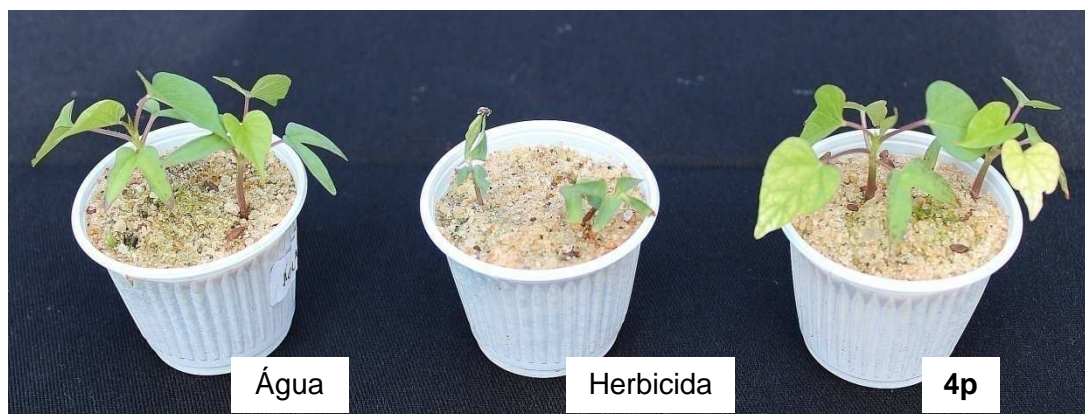


Figura 10 - Efeito fitotóxico de **4p** na concentração de 100 ppm sobre *I. grandifolia* em casa de vegetação por 21 dias.

Entre as piridazin-3(2H)-onas avaliadas **8l** promoveu indução de biomassa da raiz de *I. grandifolia* em 44,3%. Novamente, dentre todos os compostos avaliados nesse ensaio, **8q** também foi o mais ativo inibindo a produção de biomassa da raiz e da parte aérea de *I. grandifolia* em 76,0% e 48,0%, respectivamente, conforme pode ser visto na Figura 11.

Os resultados obtidos nesse bioensaio reforçam o uso das piridazin-3(2H)-onas na busca por novos agentes fitotóxicos, como é o caso dos herbicidas comerciais Chloridazon e Norflurazon (Figura 9) que são utilizados como herbicidas pré-emergentes nas culturas de beterraba e cítricos, respectivamente (SUWALSKY *et al.*, 1998; MAES, 2007; LEBARON *et al.*, 2008).



Figura 11 - Efeito fitotóxico de **8q** na concentração de 100 ppm sobre *I. grandifolia* em casa de vegetação por 21 dias.

5. Conclusão

Os resultados dos ensaios de avaliação da atividade fitotóxica dos compostos **4a-4q**, **5a-5g**, **6a-6g**, **7a-7g** e **8h-8q** sobre a inibição do transporte de elétrons fotossintéticos mostraram que as γ -alquilideno- γ -lactonas análogas aos rubrolídeos correspondem à classe de compostos, dentre as avaliadas, que mais são capazes de interferir nesse processo.

Os resultados mostraram que os análogos aos rubrolídeos **4a**, **4h**, **4i/4i'**, **4j**, **4l** e **4n** que contêm grupos retiradores de elétrons como nitro, trifluorometil ou flúor na posição *para* do anel do grupo benzilideno levaram a uma inibição mais pronunciada do transporte de elétrons fotossintéticos que os demais análogos que contêm esses grupos na posição *meta* desse anel. Além disso, ficou evidente que a presença das unidades γ -alquilideno e γ -lactonas nesses compostos é essencial para a manutenção dessa atividade biológica, uma vez que houve perda da atividade biológica das lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas correspondentes.

Já os resultados sobre o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular de plântulas de sorgo e de pepino com esses compostos mostraram que alguns deles são ativos, além de apresentarem seletividade, como obtido para algumas γ -hidroxi- γ -lactamas e piridazin-3(2*H*)-onas. Como exemplo os compostos **8o** e **8q** que inibiram o crescimento radicular de plântulas de sorgo, mas o induziram em pepino, e os compostos **8j** e **8k** que inibiram o crescimento da parte aérea de plântulas de pepino, mas a induziram em sorgo.

O bioensaio de avaliação da atividade herbicida pré-emergente sobre *Ipomoea grandifolia* e *Brachiaria decumbens* mostrou que as piridazin-3(2*H*)-onas **8l**, **8p** e **8q** foram as mais ativas reforçando o uso dessa classe de compostos na busca de novos herbicidas.

6. Referências

BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; LAGE, M. R.; BARCELOS, R. C.; DONÀ, A.; CARNEIRO, J. W. M.; FORLANI, G. Synthesis of rubrolide analogues as new inhibitors of the photosynthetic electron transport chain. **J. Agric. Food Chem.**, v. 60, n. 42, p. 10555-10563, 2012.

BARBOSA, L. C. A. **Os pesticidas o homem e o meio ambiente**. Viçosa: Editora UFV, 2004. 215p.

BARBOSA, L. C. A.; PEREIRA, U. A.; TEIXEIRA, R. R.; MALTHA, C. R. A.; FERNANDES, S. A.; FORLANI, G. Synthesis and phytotoxic activity of ozonides. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, n. 20, p. 9434-9440, 2008.

BURGOS, N. R.; TRANEL, P. J.; STREIBIG, J. C.; DAVIS, V. M.; SHANER, D.; NORSWORTHY, J. K.; RITZ, C. Review: confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. **Weed Sci.**, v. 61, n. 1, p. 4-20, 2013.

CASIDA, J. E. Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. **Chem. Res. Toxicol.**, v. 22, n. 4, p. 609-619, 2009.

DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 17, n. 12, p. 4022-4034, 2009.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; SCHARADER, K. K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J. G. Chemicals from nature for weed management. **Weed Sci.**, v. 50, n. 2, p. 138-151, 2002.

HALL, D. O. **Fotossíntese**. São Paulo: EPU, 1980. 89p.

HÜTER, O. F. Use of natural products in the crop protection industry. **Phytochem Rev.**, v. 10, n. 2, p. 185-194, 2011.

LEBARON, H. M.; MCFARLAND, J. E.; BURNSIDE, O. C. **The triazine herbicides**. Amsterdam: Elsevier Ltd, 2008. 584p.

LEHNINGER, A. P. **Lehninger, princípios básicos de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006. 1202p.

LEIN, W.; BÖRNKE, F.; REINDL, A.; EHRHARDT, T.; STITT, M.; SONNEEWALD, U. Target-based discovery of novel herbicides. **Curr. Opin. Plant Biol.**, v. 7, n. 2, p. 219-225, 2004.

MAES, B. U. W. Pyridazines. In: LI, J. J.; GRIBBLE, G. W. **Palladium in heterocyclic chemistry: a guide for the synthetic chemist**. Amsterdam: Elsevier Ltd, 2007. Cap. 13, p. 541- 585.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 365p.

SUWALSKY, M.; BENITES, M.; VILLENA, F.; NORRIS, B.; QUEVEDO, L. The organochlorine herbicide chloridazon interacts with cell membranes. **Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.**, v. 120, n. 1, p. 29-35, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

TEIXEIRA, R. R.; BARBOSA, L. C. A.; FORLANI, G.; PILÓ-VELOSO, D.; CARNEIRO, J. W. M. Synthesis of photosynthesis-inhibiting nostoclide analogues. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, n. 7, p. 2321-2329, 2008.

TEIXEIRA, R. R.; PEREIRA, J. L.; PEREIRA, W. L. Photosynthetic inhibitors. IN: NAJAFPOUR, M. M. (Org.). **Applied Photosynthesis**. 1. ed. Rijeka - Croatia: InTech - Open Access Publisher, 2012. Cap. 1, p. 3-22.

VENCILL, W. K.; NICHOLS, R. L.; WEBSTER, T. M.; SOTERES, J. K.; MALLORY-SMITH, C.; BURGOS, N. R.; JOHNSON, W. G.; McCLELLAND, M. R. Herbicide resistance: Toward an understanding of resistance development and the impact of herbicide-resistant crops. **Weed Sci.**, Special Issue, p. 20-30, 2012.

WALKER, D. A. 'And whose bright presence' – an appreciation of Robert Hill and his reaction. **Photosynth. Res.**, v. 73, n. 1-3, p. 51-54, 2002.

WALTER, M. W. Structure-based design of agrochemicals. **Nat. Prod. Rep.**, v. 19, n. 3, p. 278-291, 2002.