

ANGÉLICA FALEIROS DA SILVA MAIA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS POTENCIAIS ATIVIDADES
FITOTÓXICA E CITOTÓXICA DE 3-(2-ARIL-2-OXOETIL)-
ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONAS**

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

VIÇOSA

MINAS GERAIS – BRASIL

2014

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

T

Maia, Angélica Faleiros da Silva, 1989-
M217s Síntese e avaliação das potenciais atividades fitotóxica e
2014 citotóxica de 3-(2-aryl-2-oxoetil) isobenzofuran-1(3h)-onas /
Angélica Faleiros da Silva Maia. – Viçosa, MG, 2014.
xiv, 137f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Robson Ricardo Teixeira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Química orgânica. 2. Síntese orgânica. 3. Fitotóxina.
4. Citotóxina. 5. Isobenzofuranona. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Química. Programa de Pós-graduação
em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 547

ANGÉLICA FALEIROS DA SILVA MAIA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS POTENCIAIS ATIVIDADES
FITOTÓXICA E CITOTÓXICA DE 3-(2-ARIL-2-OXOETIL)-
ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONAS**

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

APROVADA: 25 de Fevereiro de 2014.

Antônio Jacinto Demuner

Elson Santiago de Alvarenga

Joana Gasperazzo Ferreira

Sérgio Oliveira de Paula

Róbson Ricardo Teixeira

***Dedico aos meus pais, José de Fátima Maia e Lucivane Vieira da Silva
Maia, por zelarem de todas as formas por mim.***

***Ao meu irmão, Aurélio Faleiros, pela amizade e
companheirismo.***

***Dedico aos meus avós, maternos e paternos, por me
apoiarem sempre que precisei.***

***Ao meu grande amigo Foffys (Wagner Luiz Pereira) e
também ao meu orientador e amigo, Professor Róbson Ricardo
Teixeira.***

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa.

Ao professor Róbson Ricardo Teixeira (Departamento de Química – UFV), por toda dedicação, boa vontade e incentivo na orientação desse trabalho.

Ao meu namorado, João Vitor de Assis, pelo companheirismo e amizade.

Aos amigos (as) de laboratórios Silma Francielle da Silva, Ângela Maria, Eugênia Sanchez e Clarice Caiuby, pela colaboração coletiva e grande amizade.

Ao professor Sergio Antônio e todo seu grupo de pesquisa, pela amizade e disponibilidade em ajudar sempre que solicitado.

Aos amigos do Curso de Química e Pós-graduação em Agroquímica da UFV.

Ao professor Giuseppe Forlani (Universidade de Ferrara - Itália) e ao seu grupo de pesquisa pelos ensaios de avaliação do efeito dos compostos sintetizados sobre o transporte de elétrons fotossintético.

Aos professores Gustavo Costa Bressan (Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Viçosa - Viçosa) e Sérgio Oliveira de Paula (Departamento de Biologia Celular e Estrutural), à estudante de graduação Silma Francielle da Silva e à pós-doutoranda Joana Ferreira Gasperazzo (Departamento de Biologia Celular e Estrutural) pela realização dos ensaios de citotoxicidade.

À professora Silvana Guilardi (Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia) pelas discussões a respeito dos dados cristalográficos e ao professor Javier Ellena (Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos) pela aquisição dos dados de difração de raios-X.

BIOGRAFIA

Angélica Faleiros da Silva Maia, filha de José de Fátima Maia e Lucivane Vieira da Silva Maia, nasceu em Passos, Minas Gerais, em 20 de abril de 1989.

Em 2007 ingressou na Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde concluiu o curso de Bacharelado e de Licenciatura Plena em Química em janeiro de 2012.

Em março de 2012, na Universidade Federal de Viçosa, ingressou para o Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Agroquímica, tendo como área de concentração Síntese de Agroquímicos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ESQUEMAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO 1	1
1.1 INTRODUÇÃO.....	1
1.2 ISOBENZOFURAN-1(3 <i>H</i>)-ONAS COMO POSSÍVEIS MODELOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS E AGROQUÍMICOS.....	6
1.3 JUSTIFICATIVA E OBJETIVO DO TRABALHO.....	9
1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
CAPÍTULO 2	14
2.1 OXICLORETO DE ZIRCÔNIO(IV) OCTAIDRATADO ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$): UM CATALISADOR VERSÁTIL	14
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
2.2.1 Generalidades Metodológicas.....	20
2.2.2 SÍNTESES.....	22
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
2.4 CONCLUSÕES	57
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
CAPÍTULO 3	61
3.1 INTRODUÇÃO.....	61
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	64
3.2.1.Avaliação do efeito dos compostos 1-19 sobre o transporte de elétrons da fotossíntese.....	66
3.2.1.1 Isolamento de cloroplastos.....	64
3.2.1.2 Avaliação do efeito dos compostos 1-19 sobre o transporte de elétrons basal da fotossíntese.....	65
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
3.4 CONCLUSÕES.....	69
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

CAPÍTULO 4	72
4.1 INTRODUÇÃO.....	72
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	77
4.2.1 Avaliação da atividade citotóxica.....	77
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
4.4 CONCLUSÕES.....	84
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1

1	Produtos naturais que apresentam atividade terapêutica.....	2
2	Estruturas do bialafos e leptospermona.....	3
3	Estrutura da blasticidina-S.....	3
4	Estrutura da natamicina, ingrediente ativo do fungicida NATAMICYN®.....	4
5	Estrutura da abamectina.....	4
6	Estrutura da azadiractina.....	5
7	Estruturas isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas I-XII.....	8
8	Estrutura geral das 3-(2-aril-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas, objeto de estudo deste trabalho.....	9

CAPÍTULO 2

1	Estruturas das 3-(2-aril-2-oxoetil)-1-isobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-onas sintetizadas neste trabalho utilizando a metodologia proposta por SANGSHETTI e colaboradores (2011).....	19
2	Espectro no infravermelho (ATR) do composto 1	46
3	Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) do composto 1	47
4	Espectro de RMN de ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) do composto 1	48
5	Representação ORTEP da fitalida 1	49
6	Empacotamento da estrutura cristalina do composto 1	51
7	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto 11	54
8	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto 5	55
9	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do composto 8	56

CAPÍTULO 3

1	Visão geral do transporte de elétrons na fotossíntese oxigênica e estrutura do cloroplasto (NELSON E COX, 2004).....	62
2	Exemplos de herbicidas que atuam inibindo a fotossíntese.....	63

CAPÍTULO 4

1	Estruturas da nitisona, e do 1,4-cineol, ambos apresentando aplicações como fármaco e agroquímico.....	73
2	Estrutura da cimetila, análogo sintético do 1,4-cineol.....	74
3	Estrutura da mesotriona, herbicida comercializado com o nome	

	de MIKADO®	74
4	Exemplos de semelhanças na estrutura química de fármacos e agroquímicos.....	74
5	Perfil dose-resposta do tratamento das linhagens K562 e na HL60 com os compostos 1-10 . Todos os ensaios foram realizados em quadruplicata ou triplicata e os resultados foram normalizados considerando as culturas tratadas somente com o veículo (0,4% de DMSO).....	80
6	Perfil dose-resposta do tratamento das linhagens K562 e na HL60 com os compostos 11-18 . Todos os ensaios foram realizados em quadruplicata ou triplicata e os resultados foram normalizados considerando as culturas tratadas somente com o veículo (0,4% de DMSO).....	81
7	Estruturas dos compostos 4, 7, 19	82
8	Estruturas dos compostos 10 e 18	83

LISTA DE ESQUEMAS

		Página
CAPÍTULO 2		
1	Síntese de enamionas catalisada por $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$	15
2	Metodologia empregada na síntese de imidazóis descrita por SANGSHETTI e colaboradores (2008).....	16
3	Síntese de quinoxalinas e pirazinas descrita por BARDAJEE e colaboradores (2013).....	16
4	Síntese de cumarinas a partir da reação de fenóis e β -ceto ésteres.....	17
5	Síntese de 2-oxazolinias via reação catalisada por $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$	17
6	Preparação de xantenodionas catalisadas por $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$	18
7	Síntese das 3-(2-aryl-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-onas.....	44
8	Proposta mecanística para a formação de 1	52

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 1

- 1 Exemplos de isobenzofuran-1(3*H*)-onas bioativas..... 6

CAPÍTULO 2

- 1 Dados relativos às sínteses dos compostos **2-19**..... 24
2 Dados Cristalográficos do composto **1**..... 49
3 Interações intermoleculares na rede cristalina de **1**..... 50

CAPÍTULO 3

- 1 Avaliação *in vitro* do efeito das isobenzofuran-1(3*H*)-onas **1-19** sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacea oleracea*..... 66
2 Avaliação *in vitro* do efeito de isobenzofuranonas sintetizadas por PEREIRA (2013), sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacea oleracea*..... 68

CAPÍTULO 4

- 1 Relação de IC₅₀ (%) dos compostos **1-19** e do ácido sobre a viabilidade de células HL60 e K562..... 79

ANEXO

- 1 ESPECTROS..... 88

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etila
ATP	Trifosfato de adenosina
ATR	Reflectância Total Atenuada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CCD	Cromatografia em camada delgada
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CG/EM	Cromatografia gasosa/Espectrometria de massas
DMSO	Dimetil sulfóxido
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
δ	Deslocamento químico
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetil sulfóxido deuterado
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
MHz	Megahertz
m	Multiplete
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
P.A.	Para análise
ppm	Partes por milhão
R _f	Fator de retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
s	Simpleto
t	Triplete
T _f	Temperatura de fusão
NTBC	2-(2-nitro-4-trifluorometilbenzoil)-1,3-cicloexanodiona

RESUMO

MAIA, Angélica Faleiros da Silva, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2014. **Síntese e avaliação das potenciais atividades fitotóxica e citotóxica de 3-(3-aryl-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-onas.** Orientador: Róbson Ricardo Teixeira. Co-Orientadores: Gustavo Costa Bressan e Marcelo Henrique dos Santos.

O presente trabalho teve por meta a síntese e a avaliação da atividade fitotóxica e citotóxica de dezenove 3-(2-aryl-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-onas. A metodologia escolhida para a síntese dos compostos envolveu reações de condensação, catalisadas por oxiclreto de zircônio(IV) octaidratado ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$), entre o ácido ftalaldeídico e diferentes acetofenonas. Os compostos sintetizados foram obtidos com rendimentos que variam de 80 a 91% e foram completamente caracterizados utilizando-se as espectroscopias no IV e de RMN de 1H e ^{13}C (1D). A 3-(2-fenil-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-ona teve sua estrutura cristalina investigada por difração de raios-X. As isobenzofuran-1(3H)-onas (ftalidas) foram avaliadas *in vitro* no tocante à habilidade em interferirem ou não no transporte de elétrons, dirigido pela luz, da água para o oxidante não-biológico ferricianeto de potássio. Na maior concentração avaliada ($200 \mu mol L^{-1}$), os compostos mais ativos foram capazes de inibir cerca de 40% do transporte de elétrons fotossintético. Considerando-se a existência de exemplos descritos na literatura de isobenzofuran-1(3H)-onas C-3 funcionalizadas que apresentam efeitos citotóxicos contra diferentes linhagens de células tumorais, realizou-se uma avaliação das atividades citotóxicas das ftalidas sintetizadas contra as linhagens de células tumorais K562 (leucemia mielóide) e HL60 (leucemia). Os resultados encontrados qualificam as 3-(2-aryl-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-onas como possíveis estruturas-modelo para o

desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos contra o câncer provocado por essas linhagens de células.

ABSTRACT

MAIA, Angélica Faleiros da Silva, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2014. **Synthesis, cytotoxicity and phytotoxicity evaluation of 3-(2-aryl-2-oxoethyl)-isobenzofuran-1(3H)-ones.** Advisor: Róbson Ricardo Teixeira. Co-Advisers: Gustavo Costa Bressan and Marcelo Henrique dos Santos.

The present investigation aimed to synthesize a series of 3-(2-aryl-2-oxoethyl)-isobenzofuran-1(3H)-ones and evaluate their cytotoxicity and phytotoxicity. Nineteen 3-(2-aryl-2-oxoethyl)-isobenzofuran-1(3H)-ones were synthesized via condensation reactions between phthalaldehyde acid and acetophenones. The reactions were catalyzed by $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ and the isobenzofuranones (phthalides) were obtained with high yields. The identity of the synthesized compounds was confirmed based on IR, 1H and ^{13}C NMR (1D). The structure of 3-(2-phenyl-2-oxoethyl)-isobenzofuran-1(3H)-one was also investigated by X-ray analysis. The isobenzofuran-1(3H)-ones was evaluated *in vitro* as the ability to interfere with light-driven reduction of potassium ferricyanide by isolated spinach chloroplasts. At the highest concentration ($200 \mu\text{mol L}^{-1}$), the most active compounds inhibited about 40% of basal electron transport. Considering the existence of examples described in the literature of isobenzofuran-1(3H)-ones C-3 functionalized showing cytotoxic effects against different tumor cell lines, the cytotoxic activity of the 3-(2-aryl-2-oxoethyl)-isobenzofuran-1(3H)-ones were evaluated against the cell lines K562 (myeloid leukemia) and HL60 (leukemia). The results of this last evaluation qualify the 3-(2-aryl-2-oxoethyl)-isobenzofuran-1(3H)-ones as promising candidates for future studies concerning the development of new chemotherapeutic agents against cancer.

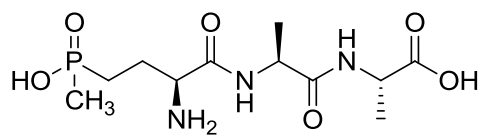
CAPÍTULO 1

PROSPECÇÃO NA NATUREZA POR NOVOS COMPOSTOS LÍDERES PARA O DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS E AGROQUÍMICOS

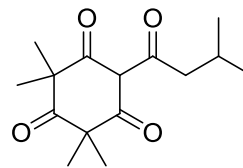
1.1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais, por milhares de anos, têm exercido papel importante no tratamento e prevenção de doenças que acometem o homem. Evidências para esse fato foram encontradas juntamente com o corpo de um homem de Neanderthal enterrado a mais de 60.000 anos (KONG *et al.*, 2003). Os Sumérios há 4.000 anos atrás utilizavam plantas para remediar diversas doenças (KONG *et al.*, 2003). Documentos escritos das antigas civilizações da China, Índia e Norte da África atestam a utilização de plantas para a mesma finalidade (PHILIPSON, 2001). Entretanto, somente a partir do século XIX é que o homem começou a isolar substâncias de fontes naturais, começando assim a explorar o fantástico reservatório de substâncias produzidas pela natureza como uma extensa fonte de novos agentes terapêuticos (CRAGG *et al.*, 1997; BUTLER, 2004; KOEHN e CARTER, 2005; NEWMAN e CRAGG, 2007; NEWMAN e CRAGG, 2012). Dentre esses agentes terapêuticos, três importantes exemplos são o taxol, a vincristina e a quinina.

O taxol (Figura 1, p.2) é uma droga antineoplásica, obtida a partir a casca do teixo do pacífico (*Taxus brevifolia*), e que possui pronunciada atividade contra vários tipos de câncer, dentre eles, o câncer de ovário, leucemia e o câncer de mama (PELTIER *et al.*, 2006).



Bialafos



Leptospermona

Figura 2 – Estruturas do bialafos e leptospermona.

A blasticidina-S (Figura 3) é um metabólito secundário que foi isolado a partir da *Streptomyces griseochromogenes*, primeiramente isolada por FUKUNAGA (1955), e mais tarde por TAKEUCHI e colaboradores (1958). Suas propriedades fungicidas foram descritas pela primeira vez por MISATO e colaboradores em 1959. A blasticidina-S é um fungicida de contato apresentando ainda atividade inibitória sobre o crescimento de bactérias (DUKE, 2007).

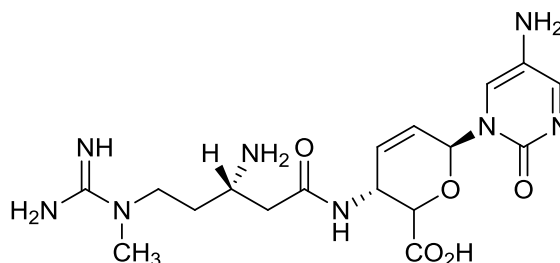


Figura 3 – Estrutura da blasticidina-S.

A natamicina (Figura 4, p.4) também conhecida como miprozina, pimarcina e tennectina, é uma substância natural isolada a partir da fermentação microbiana da *Streptomyces natalensis*. A sua estrutura foi elucidada por GOLDING e colaboradores (1966) e é atualmente comercializada como fungicida denominado NATAMYCIN®. A natamicina

A azadiractina (Figura 6) é um metabólito secundário extraído da árvore *Azadirachta indica*. Por apresentar grande resistência a insetos, essa espécie de árvore atraiu a atenção de pesquisadores resultando na descoberta de que o extrato da semente dessa planta possuía significativa atividade inseticida. Agora, essa espécie é cultivada em zonas tropicais do sudeste da Ásia e África (DUKE, 2007). A azadiractina também pode ser obtida das sementes da espécie vegetal *Melia azedarach*. *A. indica* e *M. azedarach* já foram introduzidas no Brasil (INSETIPÉDIA, 2013).

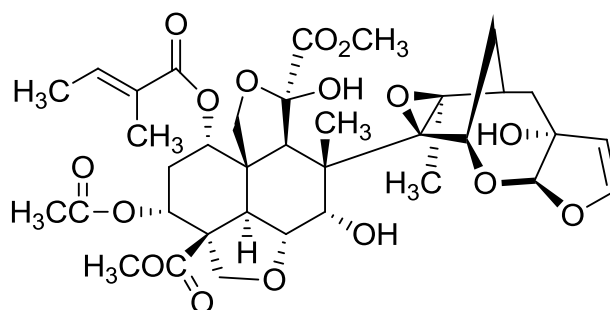
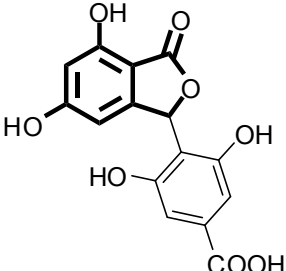
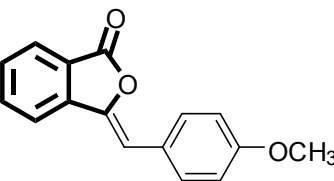
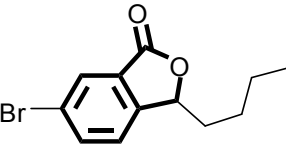
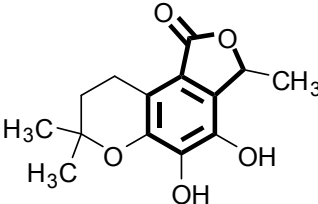


Figura 6 – Estrutura da azadiractina.

1.2 ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONAS COMO MODELOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS E AGROQUÍMICOS

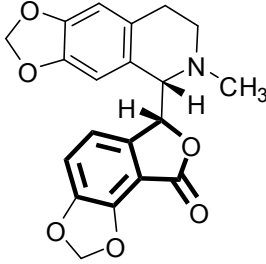
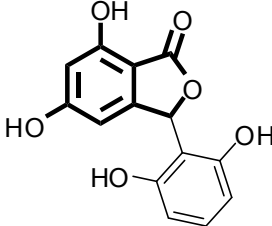
Os compostos heterocíclicos contendo um anel de benzeno fundido a um anel γ -lactônico são denominados de isobenzofuran-1(3H)-onas ou fitalidas. Nos últimos anos, um número crescente desses compostos foram isolados da natureza e apresentaram importantes atividades biológicas. Alguns membros pertencentes a esta classe de substâncias, juntamente com suas bioatividades, são apresentadas na Tabela 1. Nas estruturas, o núcleo isobenzofuranona encontra-se destacado em negrito.

Tabela 1 - Exemplos de isobenzofuran-1(3H)-onas bioativas

Estrutura	Bioatividade	Referência
 <p>Ácido Crifonétrico</p>	metabólito secundário que apresenta atividade fitotóxica	ARNONE <i>et al.</i> , 2002
	ação ansiolítica*	ZAMILPA <i>et al.</i> , 2005
	atividade antiplaquetária	MA <i>et al.</i> , 2012
	atividade contra o vírus HIV, causador da SIDA**	YONAGATHAN <i>et al.</i> , 2003

* Ansiolítico é um tipo de fármaco utilizado no combate a sintomas da ansiedade.

Tabela 1 – Cont.

	atividade anticonvulsivante	HUNG <i>et al.</i> , 1981
	atividade antifúngica	STROBEL <i>et al.</i> , 2002

** SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

O ácido crifonétrico (Tabela 1, p.6) é uma isobenzofuranona de origem natural isolada do extrato bruto AcOEt, obtido do cultivo em MPGA produzido pelo fungo *Endothia parasitica* (Murr.). O referido ácido foi isolado como o componente majoritário (mais de 20%) do extrato bruto (ARNONE *et al.* 2002). A atividade fitotóxica do ácido crifonétrico foi brevemente avaliada sobre o desenvolvimento de sementes de tomate, em diferentes concentrações. Observou-se que ele não provoca necrose sobre as folhas da referida espécie vegetal. No entanto, o crescimento das sementes de tomate foi completamente inibido na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Inspirado no efeito fitotóxico descrito para o ácido crifonétrico, diferentes fitalidas **I-XII** (Figura 7, p.8), estruturalmente análogas ao ácido crifonétrico, foram preparadas e tiveram seus efeitos avaliados, no tocante à habilidade de interferirem com o transporte de elétrons fotossintético, dirigido pela luz, da água para o acceptor não biológico ferricianeto de potássio (PEREIRA, 2013; TEIXEIRA *et al.*, 2013a). Foi observado que: i) os compostos **I, II, III, XII** são substancialmente inativos; ii) as substâncias **IV, IX, X, XI** apresentam

efeitos inibitórios sobre o transporte de elétrons fotossintético; iii) já as fitalidas **V**, **VI**, **VII**, **VIII** estimulam o transporte de elétrons fotossintético atuando como desacopladores (Figura 7). Salienta-se que compostos que interferem no transporte de elétrons da fotossíntese são atrativos como possíveis compostos líderes para o desenvolvimento de novos herbicidas.

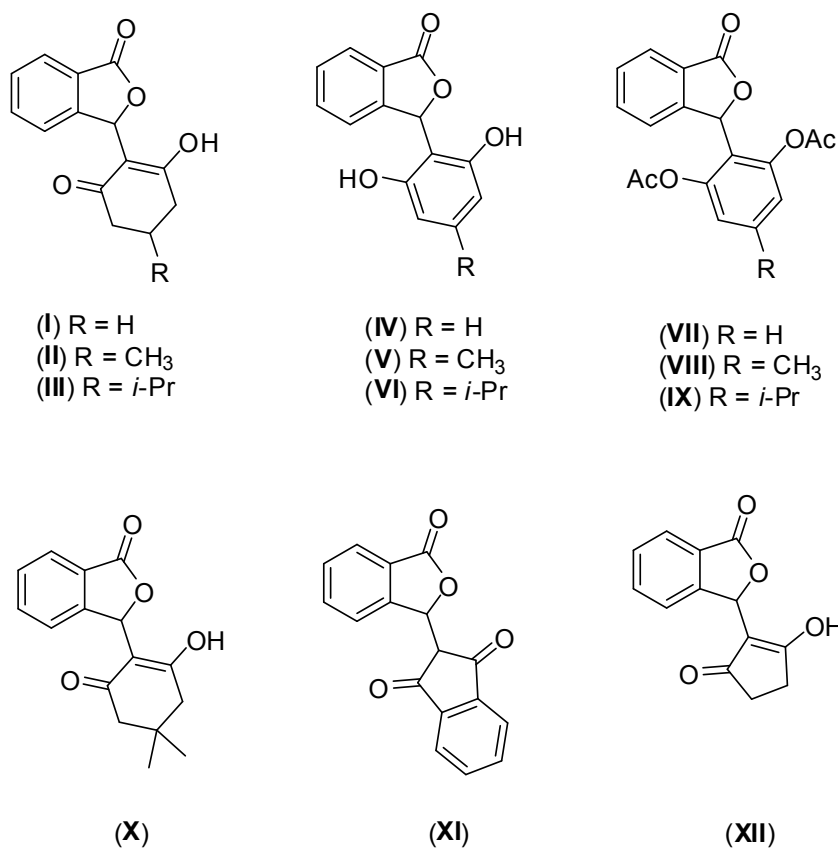


Figura 7 – Estruturas isobenzofuran-1(3*H*)-onas I-XII.

As isobenzofuranonas I-XII tiveram ainda suas atividades citotóxicas testadas contra as linhagens de células de leucemia K562 e U937 (PEREIRA, 2013; TEIXEIRA *et al.*, 2013b). Essa investigação revelou que as substâncias **VI** (IC₅₀ = 2,79 μmol L⁻¹ contra a linhagem K562) e **VIII** (IC₅₀ = 1,71 μmol L⁻¹ contra a linhagem K562) foram mais efetivas em termos de citotoxicidade do que o Etoposídeo (IC₅₀ = 7,06 μmol L⁻¹), uma droga antineoplásica empregada em tratamentos de pacientes com leucemia.

1.3 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO TRABALHO

O trabalho desenvolvido por PEREIRA (2013) mostrou que substâncias contendo o núcleo isobenzofuranona e funcionalizadas na posição C-3 apresentam bioatividades que são úteis tanto do ponto de vista de desenvolvimento de novos fármacos, quanto do ponto de vista de obtenção de novos agroquímicos. Dentro desse contexto, o presente trabalho objetivou ampliar os conhecimentos sobre bioatividades de isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas, realizando-se a síntese e a avaliação das atividades citotóxicas e dos efeitos sobre o transporte de elétrons fotossintético de 3-(2-*aril*-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3*H*)-onas, Figura 8.

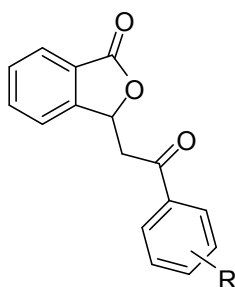


Figura 8 – Estrutura geral das 3-(2-*aril*-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3*H*)-onas, objeto de estudo deste trabalho.

A síntese dos compostos foi planejada de modo a avaliar o impacto do padrão de substituição do grupo arila da porção 2-*aril*etil-2-oxo. Nesse sentido, compostos contendo grupos retiradores e doadores de elétrons bem como diferentes padrões de substituição foram preparados. Salienta-se que o desenvolvimento do trabalho objetivou a busca por novos princípios ativos que possam ser utilizados tanto na terapêutica do câncer bem como para o desenvolvimento de novos agroquímicos.

1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNONE, A.; ASSANTE, G.; NASINI, G.; STRADA, S.; VERCESI, A. Cryphonectric acid and other minor metabolites from a hypovirulent strain of *Cryphonectria parasitica*. *Journal of Natural Products*, v. 65, p. 48-50, 2002.
- BUTLER, M. S. The role of natural products chemistry in drug discovery. *Journal of Natural Products*, v. 67, p. 2141-2153, 2004.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*, v. 60, p. 52-60, 1997.
- DREW, S. W. Effect of primary metabolites on secondary metabolism. *Annual Review of Microbiology*, v. 31, p. 343-356, 1977.
- DUKE, S. O.; COPPING L. G. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, v. 63, p. 524–554, 2007.
- FUKUNAGA, K. Blasticidin, a new anti-phytopathogenic fungal substance. Part I. *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*, v. 19, p. 181–188, 1955.
- GOLDING, B. T.; RICKARDS, R. W.; MEYER, W. E.; PATRICK, J. B.; BARBER, M. The structure of the macrolide antibiotic pimaricin. *Tetrahedron Letters*, V.7; p. 3551–3557, 1966.
- HUNG, T. V.; MOONEY, B. A.; PRAGER, R. H.; TIPPETT, J. M. Central nervous system active compounds. VII. Phthalide synthesis by lithiation of alkoxyaromatics. *Australian Journal of Chemistry*, v. 34, p. 383-386, 1981.

- HÜTER, O. F. Use of natural products in the crop protection industry. *Phytochemistry Review*, v. 10, p. 185-194, 2011.
- INSETIPÉDIA. Disponível em www.insetimax.com.br/insetipedia/. Acesso em: 10 jan. 2014.
- KOEHN F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 4, p. 206-220, 2005.
- KONG, I. -M.; GOH, N. -K.; CHIA L. -S.; CHIA, T. -F. Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 24, p. 7-21, 2003.
- MA, M.; GAO, Y.; QIAO, H.; HU, X.; CHANG, J. Antiplatelet activity of 3-butyl-6-bromo-1(3H)-isobenzofuranone on rat platelet aggregation. *J. Thrombolysis*, v. 33, p. 64-73, 2012.
- MISATO, T.; ISHII, I.; ASAKAWA, M.; OKIMOTO, Y.; FUKUNAGA, K. Antibiotics as protectant fungicides against rice blast. II, the therapeutic action of blasticidin-S. *Annals of the Phytopathological Society*; v. 24, p. 302-303, 1959.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. Natural products as source of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, v. 70, p. 461-477, 2007.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as source of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, v. 75, p. 311-335, 2012.
- PELTIER, S.; OGER, J. M.; LAGARCE, F. R.; COUET, W.; ENHANCED, J. P. B. Oral paclitaxel bioavailability after administration of paclitaxel-loaded lipid nanocapsules. *Pharmaceutical Research*, v. 23, 2006, p. 127-130.

- PEREIRA, W. L. Síntese e avaliação das atividades fitotóxica e antiproliferativa de isobenzofuran-1(3H)-onas C-3 funcionalizadas. 2013. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, 2013.
- PHILLIPSON, J. D. Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry*, v. 56, p. 237-243, 2001.
- SANTOS, N. P.; PINTO, A. C. “A Mata é sua Farmácia” – A pesquisa de plantas brasileiras para o combate de doenças tropicais no século XIX. *Revista Virtual de Química*, v. 4, p. 162-172, 2012.
- STROBEL, G.; FORD, E.; WORAPONG, J.; HARPER, J. K.; ARIF, A. M.; GRANT, D. M.; FUNG, P. C. W.; CHAU, R. M. W. Isopestacin, an isobenzofuranone from *Pestalotiosis microspora*, possessing antifungal and antioxidant activities. *Phytochemistry*, v. 60, p. 170-183, 2002.
- TAKEUCHI, S.; HIRAYAMA, K.; UEDA, K.; SASAKI, H.; YONEHARA H. Blastocidin-S, a new antibiotic. *Journal of Antibiotics A*, v. 11, p. 1–5, 1958.
- TEIXEIRA, R. R.; PEREIRA, W. L.; TOMAZ, D. C.; de OLIVEIRA, F. M.; GIBERTI, S.; FORLANI, G. Synthetic analogues of the natural compound cryphonectric acid interfere with photosynthetic machinery through two different mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; v. 61, p. 5540-5549, 2013a.
- TEIXEIRA, R. R.; BRESSAN, G. C.; PEREIRA, W. L.; FERREIRA, J. G.; de OLIVEIRA, F. M.; TOMAZ, D. C. Synthesis and antiproliferativa activity of C-3 functionalized isobenzofuran-1(3H)-ones. *Molecules*, v. 18, p. 1881-1896, 2013b.

YOGANATHAN, K.; ROSSANT, C.; NG, S.; HUANG, Y.; BUTLER, M. S.;
BUSS, A. D. 10-methoxydihydrofusicin, fuscinarin, and fusicin, novel
antagonists of the human CCR5 receptor from *Oidiodendron griseum*.
Journal of Natural Products, v. 66, p. 1116-1117, 2003.

ZAMILPA, A.; RUIZ, M. H.; OLMO, E.; PÉREZ, J. L. L.; TORTORIELLO, J.;
FELICIANO, A.S. Anxiolytic effects of benzalphthalides. *Bioorganic &
Medicinal Chemistry Letters*, v. 15, p. 3483-3486, 2005.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS 3-(2-ARIL-2-OXOETIL)- ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONAS

2.1 OXICLORETO DE ZIRCÔNIO(IV) OCTAIDRATADO ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$): UM CATALISADOR VERSÁTIL

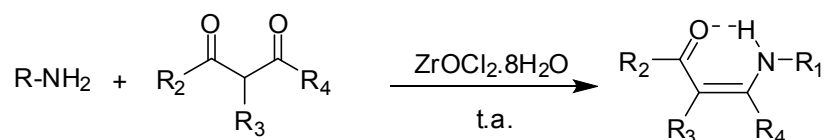
O zircônio (Zr) é um metal cinza prateado, que pode ocorrer na tonalidade azul escura e cujo estado físico é sólido. Este metal é dúctil, refratário, apresenta elevada resistência à tração, alta dureza e resistente à corrosão. A principal fonte de zircônio é o mineral zirconita ($ZrSiO_4$), também conhecido como zircão. Na crosta terrestre o zircônio ocorre principalmente associado ao háfnio, na proporção de 50:1, sendo difícil a separação desses elementos (DA SILVA, 2001).

Várias metodologias sintéticas vêm sendo desenvolvidas utilizando o elemento zircônio seja como reagente seja como catalisador (MARECK, 2002). Os fármacos e agroquímicos modernamente utilizados são, na sua grande maioria, de origem sintética. Seja em escala laboratorial, seja em escala industrial, é cada vez maior a demanda por transformações químicas ambientalmente benignas e que apresentem elevados rendimentos para a preparação de princípios ativos. Dentro desse contexto, complexos de zircônio são cada vez mais utilizados como ácido de Lewis em reações para síntese de substâncias biologicamente relevantes. Esses complexos, na maioria das vezes, podem ser reciclados, ou seja, utilizados em mais de um procedimento sintético. Dentre os complexos de zircônio mais utilizados

recentemente, pode-se destacar o oxiclreto de zircônio(IV) octaidratado ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$).

O oxiclreto de zircônio(IV) octaidratado é altamente tolerante à presença de água, possui baixa toxicidade ($LD=2950$ mg/Kg) e é de fácil obtenção, sendo preparado via hidratação do complexo de cloreto de zircônio(IV), $ZrCl_4$. Comparativamente ao $ZrCl_4$, que também vem sendo utilizado como ácido de Lewis em diversos processos químicos (MOLAZARI, 2007), o oxiclreto de zircônio(IV) octaidratado é menos sensível à umidade e, conseqüentemente, de mais fácil manipulação.

Um levantamento da literatura revela que o oxiclreto de zircônio(IV) é capaz de catalisar um número variado de reações. LI e colaboradores (2007) descreveram a síntese de enaminonas a partir da reação entre aminas primárias e compostos 1,3-dicarbonilados (Esquema 1).

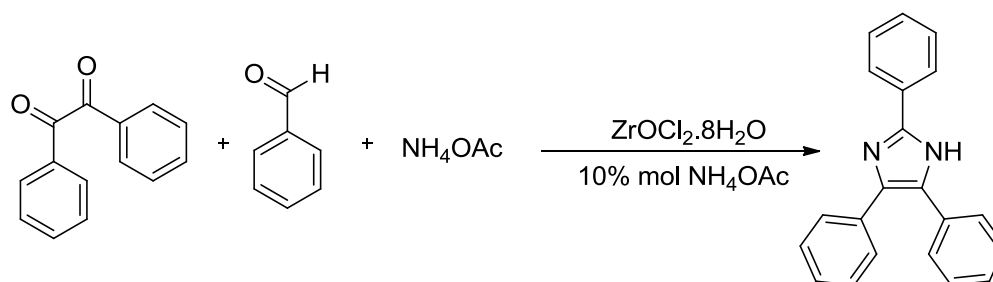


Esquema 1 – Síntese de enaminonas catalisada por $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$.

As enaminonas são uma importante classe de intermediários sintéticos, sendo empregados para a preparação de várias estruturas heterocíclicas e substâncias biologicamente ativas (CUNHA *et al.*, 2007).

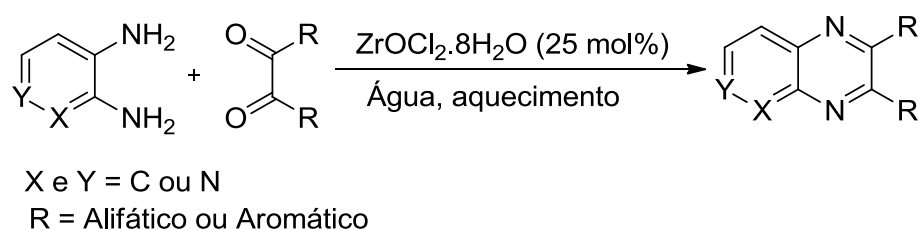
O núcleo imidazólico corresponde a uma unidade estrutural presente em um grande número de produtos naturais apresentando importantes atividades farmacológicas. O estudo de SANGSHETTI e colaboradores (2008) demonstrou que o oxiclreto de zircônio(IV) octaidratado catalisa a conversão de dicetonas (ou hidroxicetonas) e aldeídos em imidazóis. A

preparação dos imidazóis utilizando essa metodologia é realizada na ausência de solventes (Esquema 2).



Esquema 2 – Metodologia empregada na síntese de imidazóis descrita por SANGSHETTI e colaboradores (2008).

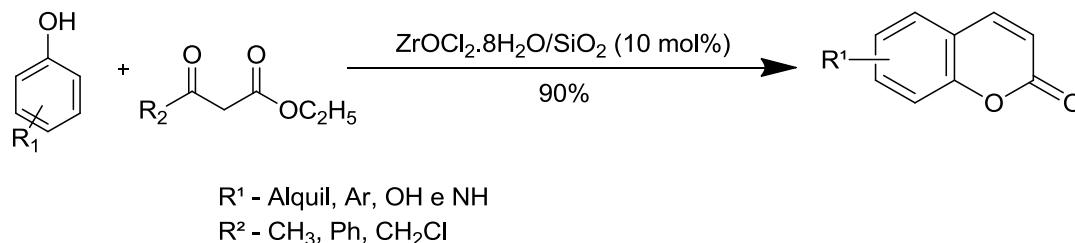
Quinoxalinas e pirazinas são duas classes de compostos nitrogenados apresentando uma gama de atividades biológicas tais como antiviral, antibacteriana, anti-inflamatória, antifúngica e inseticida (BARDAJEE, 2013). BARDAJEE e colaboradores (2013) demonstraram que $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ é um catalisador útil para o preparo desses compostos nitrogenados, conforme apresentado no Esquema 3.



Esquema 3 – Síntese de quinoxalinas e pirazinas descrita por BARDAJEE e colaboradores (2013).

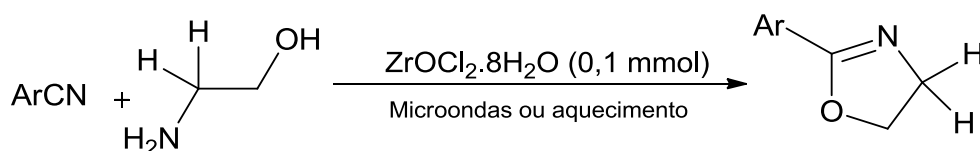
Cumarinas e seus derivados são relevantes compostos. Vários produtos naturais biologicamente ativos possuem esse tipo de unidade estrutural tais como compostos com atividades antimicrobiana e

antineoplásica. Cumarinas podem ser preparadas, na presença de $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$, via reação entre fenóis e β -ceto ésteres (KIANI e KARAMI, 2011), Esquema 4.



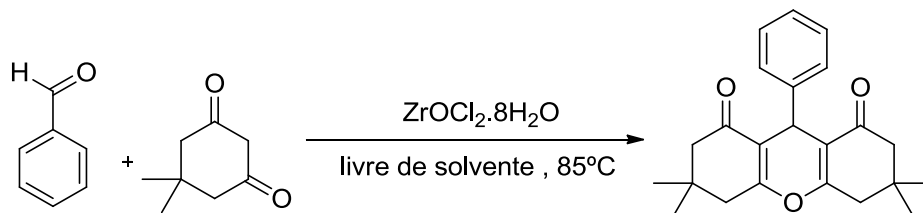
Esquema 4 – Síntese de cumarinas a partir da reação de fenóis e β -ceto ésteres.

As 2-oxazolininas são versáteis intermediários em síntese orgânica, além de apresentarem uma variedade de atividades biológicas. O Esquema 5 mostra que 2-oxazolininas podem ser sintetizadas a partir da reação catalisada por $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ entre nitrilas aromáticas e aminas hidroxiladas (MOHAMMADPOOR-BALTORK *et al.*, 2007).



Esquema 5 – Síntese de 2-oxazolininas via reação catalisada por $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$.

Outra classe de substâncias que pode ser obtida por meio de reação catalisada por $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ são as xantenodionas. Conforme apresentado no Esquema 6, xantenodionas foram preparadas por MOSADDEGH e colaboradores (2012) a partir da reação entre 5,5-dimetilcicloexano-1,3-diona (dimedona) e o benzaldeído.



Esquema 6 – Preparação de uma xantenodiona catalisadas por $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.

Conforme pode ser depreendido dos exemplos anteriores, a versatilidade do catalisador $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ é uma característica que merece destaque. Outro aspecto importante relacionado às reações envolvendo esse catalisador merece comentário neste ponto: os procedimentos metodológicos sintéticos são, quase, sempre isentos de solventes, o que os torna ambientalmente benignos e mais atrativos do ponto de vista econômico.

Conforme será descrito nesse capítulo, lançou-se mão de uma reação promovida pelo catalisador $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (SANGSHETTI *et al.*, 2011) para a preparação de dezenove 3-(2-aryl-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-onas (Figura 1, p.19). Alguns dos compostos preparados foram escolhidos para a descrição de características estruturais dos compostos sintetizados.

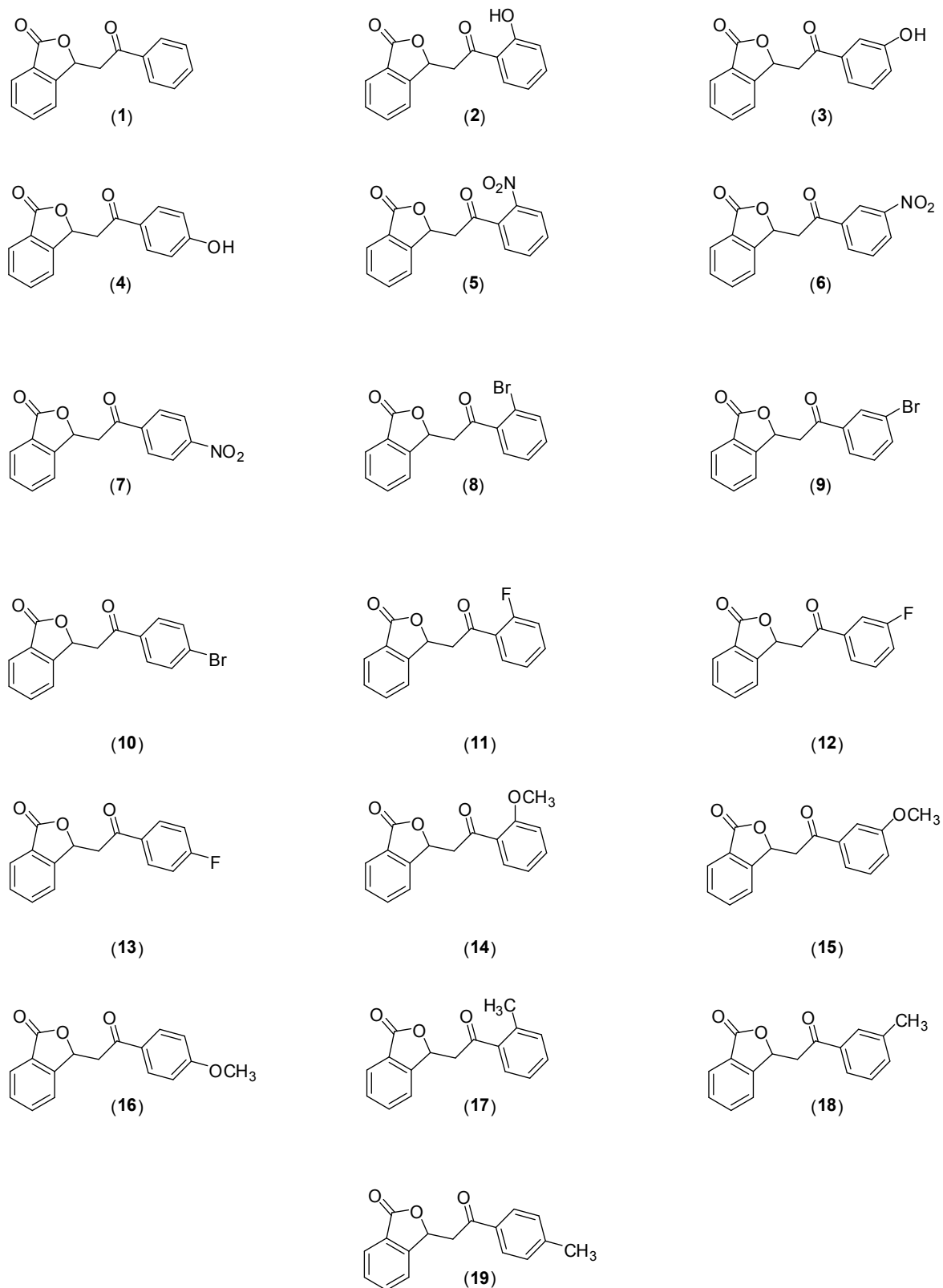


Figura 1 – Estruturas das 3-(2-*aril*-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3*H*)-onas sintetizadas neste trabalho utilizando a metodologia proposta por SANGSHETTI e colaboradores (2011).

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Generalidades Metodológicas

Na síntese dos compostos foram utilizados reagentes de grau P.A. As substâncias ácido 2-formil benzóico (ácido ftalaldeídico), acetofenona, 2-hidroxiacetofenona, 3-hidroxiacetofenona, 4-hidroxiacetofenona, 2-nitroacetofenona, 3-nitroacetofenona, 4-nitroacetofenona, 2-fluoracetofenona, 3-fluoracetofenona, 4-fluoracetofenona, 2-bromoacetofenona, 3-bromoacetofenona, 4-bromoacetofenona, 2-metoxiacetofenona, 3-metoxiacetofenona, 4-metoxiacetofenona, 2-metilacetofenona, 3-metilacetofenona, 4-metilacetofenona e oxicloreto de zircônio(IV) octaidratado foram adquiridas comercialmente (St. Louis, MO, Estados Unidos). Estes compostos foram utilizados sem qualquer purificação prévia.

As separações em coluna cromatográfica foram realizadas usando-se sílica-gel (70-230 mesh), como fase estacionária. Os solventes utilizados como eluentes foram usados sem prévia purificação e adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil).

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

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

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

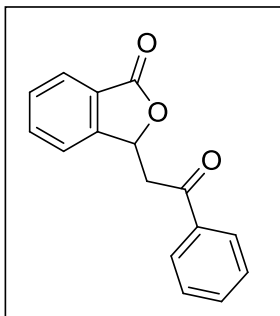
acessório GladiATr ou por meio de pastilhas de KBr, em espectrofotômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000 (Departamento de Química-UFV).

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

Para as atribuições dos sinais obtidos nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram utilizadas as informações descritas no trabalho desenvolvido por PEREIRA (2013) bem como comparação dos espectros obtidos experimentalmente com aqueles simulados pelo programa de análise espectral MestreNova. Alguns sinais dos carbonos dos compostos sintetizados podem estar com as atribuições invertidas, o que não invalida as estruturas propostas para as isobenzofuranonas sintetizadas.

2.2.2 SÍNTESES

Síntese da 3-(3-fenil-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-ona (1)



(1)

O procedimento descrito a seguir foi baseado no trabalho publicado por SANGSHETTI e colaboradores (2011).

Em um tubo selado (35 ml) foram adicionados acetofenona (144 μ l; 1,20 mmol), ácido ftalaldeídico (150 mg; 1,00 mmol) e $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ (32,0 mg, 0,100 mmol). A mistura foi aquecida a 140 °C e mantido sob agitação por 3 horas. A substância 1, assim sintetizada, foi purificada por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano/acetato de etila (3:1 v/v), seguida de recristalização em etanol/água (2:1 v/v). O composto 1 foi obtido como um sólido branco em 91% de rendimento (230 mg, 0,910 mmol).

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,63$ (hexano/acetato de etila; 2:1v/v).

$T_f = 143,7-144,8$ °C (T_f literatura: 145 °C, SANGSHETTI *et al.*, 2011; 146,5-147,5 °C, GONÇALVES *et al.*, 2012).

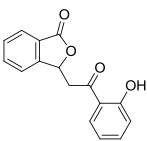

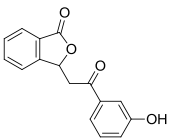
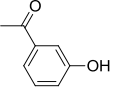
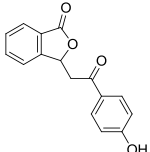
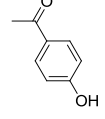
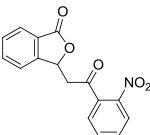
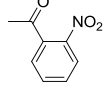
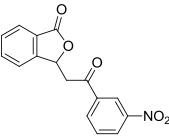
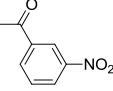
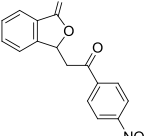
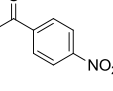
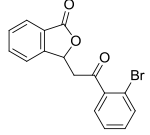

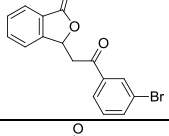
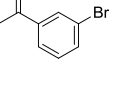
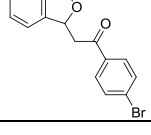
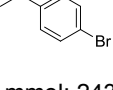
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3066, 2936, 2908, 1768, 1680, 1596, 1463, 1290, 1211, 1080, 755, 690 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,36-3,44 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=7,2$ Hz, H-1'a); 3,75-3,83 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=5,4$ Hz, H-1'b); 6,17-6,21 (dd, 1H; $^3J_{1'a}=7,0$ Hz, $^3J_{1'b}=5,4$ Hz, H-3); 7,47-7,69 (m, 6H; H-6 / H-4 / H-7' / H-5' / H-5 / H-6'); 7,91-7,98 (m, 3H, H-4' / H-8' / H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 43,9 (C-1'); 77,4 (C-3); 123,0 (C-4); 126,0 (C-6); 126,0 (C-8); 128,4 (C-5'/C-7'); 129,0 (C-4'/C-8'); 129,6 (C-7); 134,1 (C-6'); 134,5 (C-5); 136,3 (C-3'); 149,9 (C-9); 170,4 (C-1); 196,2 (C-2').

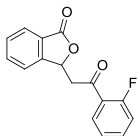

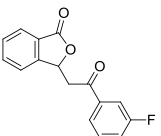
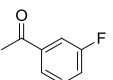
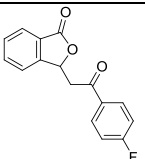
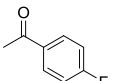
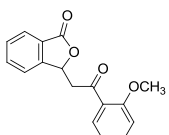
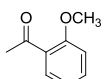
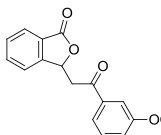
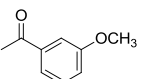
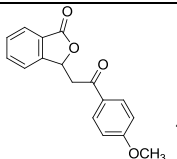
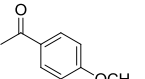
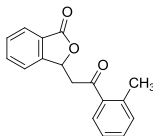

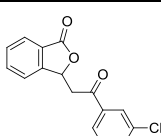
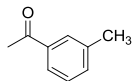
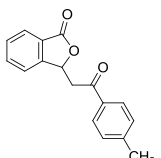
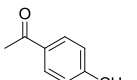
As substâncias **2-19** foram sintetizadas utilizando-se a mesma metodologia descrita para a preparação da substância **1**. A Tabela 1 (p.24) resume as informações sobre as reações realizadas para síntese desses compostos.

Tabela 1. Dados relativos às sínteses dos compostos 2-19

Composto	Estrutura	Acetofenona/ Quantidade utilizada	Tempo de reação (h)	Eluente*	Rendimento (%)
2		 1,20 mmol; 141 µL	4h	hexano/acetato (3:1 v/v)	80
3		 1,20 mmol; 163 mg	4h	hexano/acetato (3:1 v/v)	89
4		 1,20 mmol; 163 mg	4h	hexano/acetato (4:1 v/v)	81
5		 1,20 mmol; 198 mg	3,5h	hexano/acetato (2:1 v/v)	88
6		 1,20 mmol; 198 mg	3h	hexano/acetato (2:1 v/v)	89
7		 1,20 mmol; 198 mg	2h	hexano/acetato (2:1 v/v)	89
8		 1,20 mmol; 143 µL	3h	hexano/acetato (3:1 v/v)	90
9		 1,20 mmol; 158 µL	3h	hexano/acetato (3:1 v/v)	91
10		 1,20 mmol; 243 mg	3h	hexano/acetato (4:1 v/v)	91

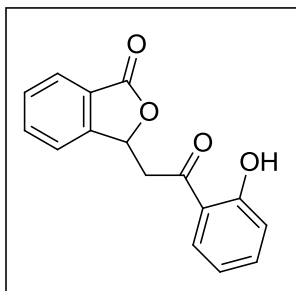
*Todos os compostos foram recristalizados em etanol/água (2:1 v/v), após a purificação por cromatografia em coluna de sílica-gel.

Tabela 1. Cont.

Composto	Estrutura	Acetofenona/ Quantidade utilizada	Tempo de reação (h)	Eluente *	Rendimento (%)
11		 1,20 mmol; 150 μ L	3h	hexano/acetato (2:1 v/v)	89
12		 1,20 mmol; 147 μ L	3h	hexano/acetato (2:1 v/v)	92
13		 1,20 mmol; 125 μ L	3h	hexano/acetato (2:1 v/v)	90
14		 1,20 mmol; 180 μ L	3,5h	hexano/acetato (3:1 v/v)	80
15		 1,20 mmol; 180 μ L	3h	hexano/acetato (2:1 v/v)	92
16		 1,20 mmol; 180 mg	2h	hexano/acetato (2:1 v/v)	89
17		 1,20 mmol; 160 μ L	3h	hexano/acetato (3:1 v/v)	90
18		 1,20 mmol; 160 μ L	3h	hexano/acetato (3:1 v/v)	91
19		 1,20 mmol; 160 μ L	3h	hexano/acetato (4:1 v/v)	90

*Todos os compostos foram recristalizados em etanol/água (2:1 v/v), após a purificação por cromatografia em coluna de sílica-gel.

Síntese da 3-[2-(2-hidroxifenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3*H*)-ona (2)



(2)

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,50$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

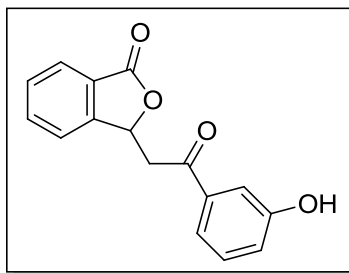
$T_f = 146,6 - 147,0$ °C (T_f literatura: 144–146 °C para a substância 2 recristalizada em etanol; PINTO *et al.*, 2003).

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$: 3452 (banda larga) , 3058, 3038, 2932, 2912, 1769, 1638, 1610, 1445, 1297, 1077, 978, 760 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3Cl) δ : 3,41-3,49 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,6$ Hz, H-1'a'); 3,73-3,81 (dd, 1H, $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,3$ Hz, H-1b'); 6,14-6,18 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,6$ Hz; $^3J_{1'b}=6,3$ Hz, H-3); 6,87-6,92 (dt, $^3J=7,5$ Hz, $^4J= 1,2$ Hz 1H, H-7'); 7,02 (dd, $^3J=7,5$ Hz, $^4J= 1,2$ Hz, 1H, H-5'); 7,47-7,71 (m, 6H, H-5 / H-7 / H-4' / H-6 / H-4 / H-6'); 7,92 (d, 1H, $^3J=8,1$ Hz, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3Cl) δ : 43,2 (C-1'); 76,5 (C-3); 118,7 (C-5'); 119,0 (C-3'); 119,3 (C-7'); 122,6 (C-4); 125,8 (C-8); 125,8 (C-6); 129,6 (C-8'); 129,8 (C-7); 134,4 (C-5); 137,2 (C-6'); 149,2 (C-9); 162,6 (C-4'); 169,9 (C-1); 201,6 (C-2').

Síntese da 3-[2-(3-hidroxifenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**3**)



(3)

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,26$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

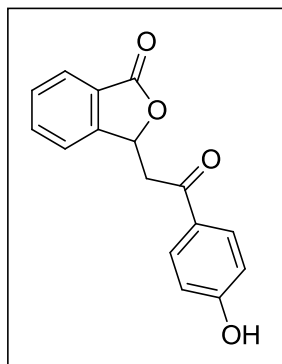
$T_f = 190 - 191,6$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{max}$: 3368 (banda larga), 3082, 1759, 1680, 1602, 1448, 1360, 1298, 1092, 975, 761.

RMN de 1H (300 MHz, CD_3Cl) δ : 3,42-3,50 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,3$ Hz, H-1a'); 3,62-3,71 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,6$ Hz, H-1b'); 6,12-6,16 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,3$ Hz; $^3J_{1'b}=6,6$ Hz, H-3); 7,03 (m, 1H, H-6'); 7,25-7,30 (m, 1H, H-7'); 7,36-7,42 (m, 2H, H-8' / H-4'); 7,48-7,57 (m, 2H, H-6 / H-4); 7,66-7,71 (m, 1H, H-5); 7,86 (d, $^3J=7,5$ Hz, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3Cl) δ : 43,5 (C-1'); 77,9 (C-3); 114,6 (C-4'); 119,8 (C-6'); 121,3 (C-8'); 122,8 (C-4); 125,7 (C-8); 127,3 (C-6); 129,7 (C-7'); 130,0 (C-7); 134,8 (C-5); 137,6 (C-3'); 150,0 (C-9); 157,7 (C-5'); 171,4 (C-1); 196,7 (C-2').

Síntese da 3-[2-(4-hidroxifenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3*H*)-ona (4)



(4)

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,20$ (hexano/acetato de etila 2:1 v/v).

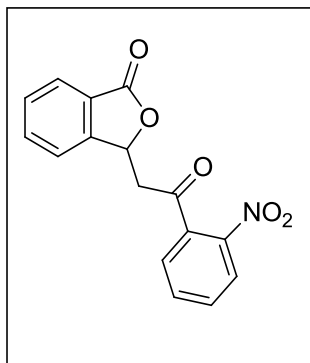
$T_f = 170 - 171,8$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3228 (banda larga), 2950, 2916, 1785, 1762, 1647, 1588, 1440, 1287, 1219, 1165, 978, 765 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ : 3,37-3,45 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,3$ Hz, H-1'a); 3,59-3,67 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,9$ Hz, H-1'b); 6,12-6,16 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,3$ Hz; $^3J_{1'b}=6,9$ Hz, H-3); 6,83 (d, 2H, $^3J=8,7$ Hz, H-5' / H-7'); 7,52-7,58 (m, 1H, H-6 / H-4); 7,66-7,68 (m, 1H, H-5); 7,82-7,87 (m, 3H, H-8' / H-4' / H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ : 41,5 (C-1'); 77,1 (C-3); 114,0 (C-5'/C-7'); 121,6 (C-4); 124,0 (C-6); 124,7 (C-8); 127,4 (C-5); 128,2 (C-7); 129,7 (C-4'/C-8'); 133,3 (C-3'); 149,4 (C-9); 162,0 (C-6'); 170,2 (C-1); 194,2 (C-2').

Síntese da 3-[2-(2-nitrofenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3*H*)-ona (5)



(5)

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,33$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

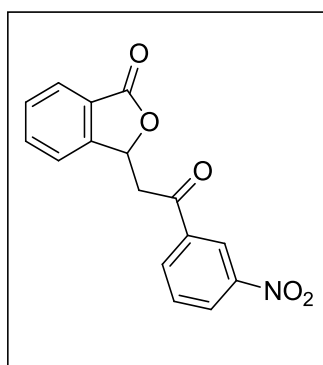
$T_f = 69,8 - 71,3$ °C.

IV (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$: 3090, 3066, 2948, 2908, 1746, 1708, 1536, 1355, 1079, 994, 794, 744 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,34-3,41 (dd, 1H; $^2J=17,4$ Hz, $^3J=6,6$ Hz H-1'a); 3,42-3,49 (dd, 1H; $^2J=17,4$ Hz, $^3J=6,0$ Hz H-1'b); 6,07-6,11 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,6$ Hz; $^3J_{1'b}=6,0$ Hz, H-3); 7,51-7,88 (m, 6H; H-4 / H-5 / H-7 / H-7' / H-6 / H-6'); 7,85 (dt, $^3J=7,5$ Hz, $^4J=0,9$ Hz, 1H; H-8'); 8,13 (dd, $^3J=8,1$ Hz, $^4J=1,2$ Hz, 1H, H-5').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 47,3 (C-1'); 77,4 (C-3); 122,6 (C-4); 124,4 (C-5'); 125,7 (C-6); 127,7 (C-8); 129,6 (C-7); 131,0 (C-7'); 134,0 (C-6'); 134,7 (C-5); 137,0 (C-3'); 145,8 (C-9); 148,8 (C-4'); 170,0 (C-1); 198,4 (C-2').

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



(6)

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,34$ (hexano/acetato de etila; 2:1v/v).

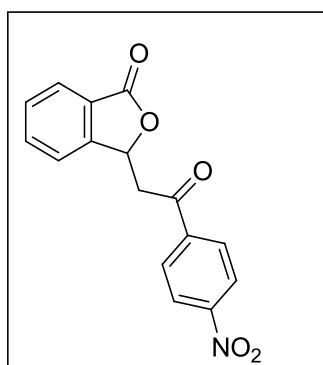
$T_f = 129,4 - 130,2^\circ \text{C}$.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3086, 3038, 2948, 2916, 1754, 1695, 1612, 1536, 1384, 1211, 1061, 992 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,44-3,53 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,6$ Hz, H-1a'); 3,74-3,80 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,3$ Hz, H-1b'); 6,15-6,19 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,6$ Hz; $^3J_{1'b}=6,6$ Hz, H-3); 7,54-7,61 (m, 2H; H-6 / H-4); 7,67-7,75 (m, 2H; H-5 / H-7'); 7,91-7,94 (m, 1H, H-7); 8,28-8,31 (m, 1H, H-8'); 8,44-8,47 (m, 1H, H-6'); 8,76-8,79 (m, 1H, H-4').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 43,8 (C-1'); 76,5 (C-3); 122,5 (C-4'); 123,0 (C-4); 125,8 (C-8); 125,9 (C-6); 128,0 (C-7'); 129,6 (C-7); 130,2 (C-6'); 133,6 (C-8'); 134,5 (C-5); 137,3 (C-3'); 148,4 (C-5'); 149,1 (C-9); 169,7 (C-1'); 193,8 (C-2').

Síntese da 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3*H*)-ona (7)



(7)

Característica: sólido amarelo.

CCD: $R_f = 0,33$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

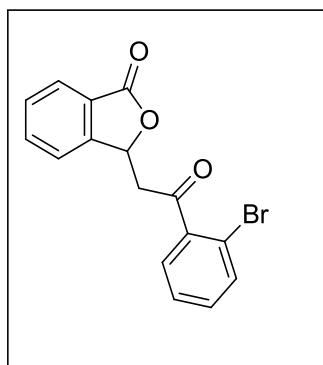
$T_f = 69,3-71,3$ °C.

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

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,42-3,50 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J= 6,3$ Hz, H-1'a); 3,73-3,81 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J= 6,3$ Hz, H-1'b); 6,16 (t, 1H; $^3J=6,3$ Hz, H-3); 7,54-7,60 (m, 2H; H-6 / H-4); 7,66-7,72 (m, 1H; H-5); 7,91-7,96 (m, 1H, H-7); 8,12 (d, 2H, $^3J=9,0$ Hz, H-8' / H-4'); 8,34 (d, 2H, $^3J= 9,0$ Hz H-5' / H-7').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 44,1 (C-1'); 76,5 (C-3); 122,3 (C-4); 124,0 (C-5'/C-7'); 125,8 (C-8); 125,9 (C-6); 129,2 (C-4'/C-8'); 129,7 (C-7); 134,4 (C-5); 140,38 (C-3'); 149,0 (C-9); 150,7 (C-6'); 169,8 (C-1); 194,5 (C-2').

Síntese da 3-[2-(2-bromofenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (8)



(8)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,56$ (hexano/acetato de etila; 2:1v/v).

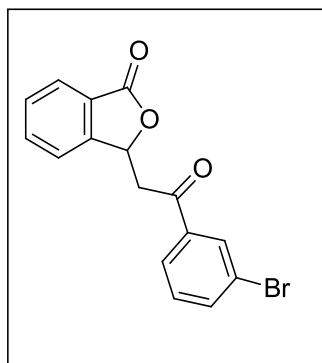
$T_f = 100,7-101,3$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3066, 3038, 2950, 2908, 1770, 1687, 1586, 1468, 1352, 1291, 1213, 1083, 974, 768 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ : 3,58-3,66 (dd, 1H, $^2J=18,0$ Hz, $^3J=7,8$ Hz, H-1a'); 3,76-3,83 (dd, 1H; $^2J=18,0$ Hz, $^3J=4,5$ Hz, H-1b'); 6,13-6,17 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=7,8$ Hz; $^3J_{1'b}=4,5$ Hz, H-3); 7,47-7,56 (m, 2H; H-6 / H-7'); 7,64-7,85 (m, 5H; H-6' / H-7' / H-5' / H-8'); 7,91 (d, 1H, $^3J=7,5$ Hz, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ : 46,5 (C-1'); 77,4 (C-3); 118,7 (C-4'); 122,9 (C-4); 125,3 (C-6); 126,1 (C-8); 128,1 (C-5'); 129,5 (C-7); 129,6 (C-7'); 132,7 (C-8'); 134,1 (C-6'); 134,6 (C-5); 140,7 (C-3'); 150,0 (C-9); 170,1 (C-1); 199,8 (C-2').

Síntese da 3-[2-(3-bromofenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (9)



(9)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,40$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

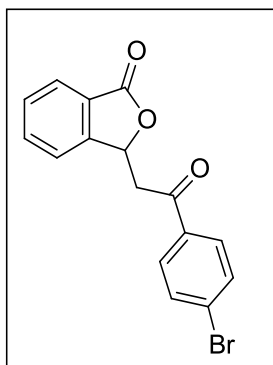
$T_f = 124,6$ a $125,6$ °C (T_f literatura = $124 - 127$ °C; BOUSQUET *et al.*, 1975).

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3056, 2948, 2944, 2932, 1752, 1691, 1565, 1463, 1374, 1213, 1067, 994, 760, 706 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,33-3,42 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=6,9$ Hz, H-1a'); 3,69-3,77 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=5,7$ Hz, H-1b'); 6,13-6,17 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,9$ Hz; $^3J_{1'b}=5,7$ Hz, H-3); 7,37 (t, 1H; $J_1=7,8$ Hz, H-7'); 7,52-7,58 (m, 2H; H-6' / H-6), 7,64-7,74 (m, 2H, H-4 / H-5); 7,85-7,94 (m, 1H, H-5' / H-8'); 8,09 (t, 1H, $^3J=1,8$ Hz; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 43,7 (C-1'); 76,8 (C-3), 122,6 (C-4); 123,5 (C-5'); 125,8 (C-6); 125,8 (C-8); 126,6 (C-7'); 129,5 (C-7); 130,4 (C-4'); 131,1 (C-8'); 134,3 (C-5); 136,7 (C-6'); 137,8 (C-3'); 149,5 (C-9); 170,0 (C-1); 194,7 (C-2').

Síntese da 3-[2-(4-bromofenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (**10**)



(**10**)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,64$ (hexano/acetato de etila; 2:1v/v).

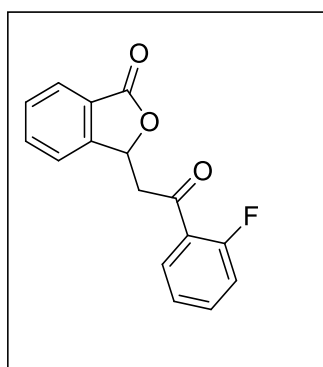
$T_f = 145,3 - 146,8$ °C (T_f literatura = 147,0 – 149,9 °C; GONÇALVES *et al.*, 2012).

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3086, 3062, 2962, 2908, 1746, 1682, 1583, 1287, 1215, 1082, 984 e 743 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,32-3,40 (dd, 1H; $^2J=17,4\text{Hz}$, $^3J=7,2$ Hz, H-1'a); 3,68-3,76 (dd, 1H; $^2J=17,7\text{Hz}$, $^3J=6,0$ Hz, H-1'b); 6,13-6,17 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=7,2$ Hz; $^3J_{1'b}=6,0$ Hz, H-3); 7,52-7,57 (m, 2H; H-4 / H-6); 7,62 (d, 2H, $^3J=8,7$ Hz, H-5' / H-7'); 7,67-7,70 (m, 1H, H-5); 7,82 (d, 2H, $^3J=8,7$ Hz, H-4' / H-8'); 7,92 (d, 1H, $^3J=7,8$ Hz, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3Cl) δ : 43,7 (C-1'); 77,2 (C-3); 122,9 (C-4); 126,0 (C-6 / C-8); 129,4 (C-6'); 129,7 (C-7); 129,8 (C-4'/C-8'); 132,3 (C-5'/C-7'); 134,5 (C-5); 135,0 (C-3'); 149,7 (C-9); 170,3 (C-1); 195,2 (C-2').

Síntese da 3-[2-(2-fluorofenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (11)



(11)

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,57$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

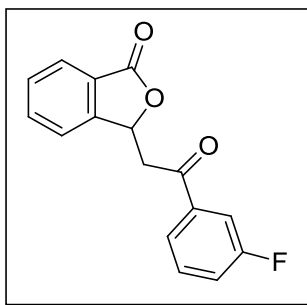
$T_f = 115,4 - 115,6$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3102, 3070, 2950, 2920, 1746, 1685, 1612, 1478, 1452, 1262, 1154, 1102, 1068, 766 e 698 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,41-3,50 (ddd, 1H; $^2J=18,3\text{Hz}$, $^3J=6,3\text{Hz}$, $^5J=3,3\text{Hz}$, H-1a'); 3,65-3,74 (ddd, 1H; $^2J=18,6\text{Hz}$, $^3J=6,6\text{Hz}$, $^5J=3,3\text{Hz}$, H-1b'); 6,13-6,18 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,3\text{Hz}$; $^3J_{1'b}=6,6\text{Hz}$, H-3); 7,13 (dd, 1H; $^3J=11,1\text{Hz}$, $^4J=8,4\text{Hz}$, H-5'); 7,24-7,29 (m, 1H; H-7'); 7,52-7,70 (m, 3H, H-6 / H-6' / H-4); 7,65-7,70 (m, 1H, H-5); 7,90 (d, 1H, $^3J=7,5\text{Hz}$, H-7); 7,96 (dt, 1H, $^3J=7,8\text{Hz}$, $^4J=1,8\text{Hz}$, H-8').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 49,6 (d, $J_{\text{C-F}}=8,5\text{Hz}$, C-1'); 77,0 (d, $J_{\text{C-F}}=2,5\text{Hz}$, C-3); 117,0 (d, $J_{\text{C-F}}=23,6\text{Hz}$, C-5'); 122,8 (C-4); 124,9 (d, $J_{\text{C-F}}=6,7\text{Hz}$, C-8'); 124,9 (d, $J_{\text{C-F}}=18\text{Hz}$, C-3'); 126,0 (C-6); 126,1 (C-8); 129,6 (C-7); 130,9 (d, $J_{\text{C-F}}=2,3\text{Hz}$, C-7'); 134,5 (C-5); 135,8 (d, $J_{\text{C-F}}=9,2\text{Hz}$, C-6'); 149,6 (C-9); 166,5 (d, C-4', $J_{\text{C-F}}=253,6\text{Hz}$); 170,4 (C-1'); 194,1 (d, $J_{\text{C-F}}=3,8\text{Hz}$, C-2').

Síntese da 3-[2-(3-fluorofenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (**12**)



(**12**)

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,56$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

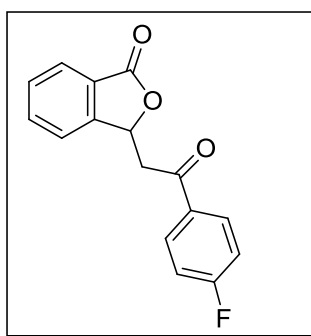
$T_f = 114,5 - 115,2$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3078, 3050, 2936, 2912, 1767, 1720, 1683, 1589, 1444, 1294, 1296, 1081, 985, 764, 764, 682 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,34-3,42 (dd, 1H; $^2J=18,0\text{Hz}$, $^3J=7,2$ Hz, H-1a'); 3,68-3,76 (dd, 1H; $^2J=18,0\text{Hz}$, $^3J=6,3\text{Hz}$, H-1b'); 6,13-6,17 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=7,2$ Hz; $^3J_{1'b}=6,3$ Hz, H-3); 7,26-7,33 (m, 1H; H-6'); 7,43-7,73 (m, 6H; H-6 / H-4 / H-5 / H-7' / H-4' / H-8'); 7,89-7,92 (m, 1H; H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 44,0 (C-1'); 77,1 (C-3); 114,0 (d, $J_{\text{C-F}}=22,5$ Hz, C-4'); 121,2 (d, $J_{\text{C-F}}=21,3$ Hz, C-6'); 122,9 (C-4); 124,9 (d, $J_{\text{C-F}}=3,0$ Hz, C-8'); 126,0 (C-6/C-8); 129,7 (C-7); 130,8 (d, $J_{\text{C-F}}=7,7$ Hz, C-7'); 134,5 (C-5); 138,3 (d, C-3', $J_{\text{C-F}} = 6,0$ Hz); 149,6 (C-9); 166,3 (d, $J_{\text{C-F}}=247,2$ Hz, C-5'); 170,2 (C-1'); 195,0 (C-2').

Síntese da 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (**13**)



(13)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,60$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

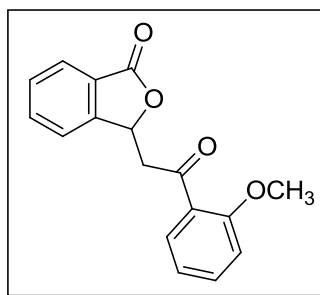
$T_f = 135,4 - 136,2$ °C (T_f literatura : 130 – 133 °C para a substância recristalizada em benzeno; BOSQUET *et al.*, 1975).

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3114, 3082, 2974, 2944, 2912, 1755, 1680, 1600, 1505, 1297, 1214, 972, 687 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,33-3,41 (dd, 1H; $^2J=17,4$ Hz, $^3J=6,9$ Hz, H-1'a); 3,69-3,77 (dd, 1H; $^2J=17,4$ Hz, $^3J=6,0$ Hz, H-1b'); 6,13-6,17 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,0$ Hz; $^3J_{1'b}=6,9$ Hz, H-3); 7,12-7,17 (m, 2H; H-6 / H-4); 7,54 (d, 2H; $^3J=7,8$ Hz, H-5' / H-7'); 7,64-7,69 (m, 1H, H-5); 7,90 (d, 1H; $J_7=7,8$ Hz; H-8' / H-4'); 7,96-8,01 (m, 1H, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 43,8 (C-1'); 77,3 (C-3); 116,2 (d, C-5'/C-7', $J_{\text{C-F}} = 22,5$ Hz); 122,9 (C-4); 126,0 (C-6); 126,1 (C-8) 129,7 (C-7); 131,1 (d, C-4'/C-8', $J_{\text{C-F}} = 9,8$ Hz); 132,8 (d, C-3', $J_{\text{C-F}} = 1,5$ Hz); 134,5 (C-5); 149,8 (C-9); 166,4 (d, C-6', $J_{\text{C-F}} = 258,0$ Hz); 170,3 (C-1'); 195,2 (C-2').

Síntese da 3-[2-(2-metoxifenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3*H*)-ona (14)



(14)

Característica: sólido amarelo.

CCD: $R_f = 0,47$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

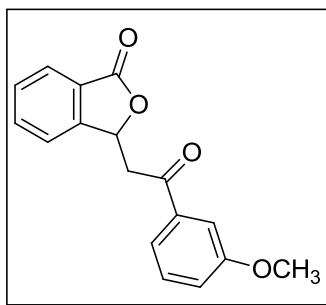
$T_f = 130,9 - 131,5$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3106, 3070, 3014, 2948, 2836, 1764, 1667, 1594, 1428, 1209, 1057, 1016, 684 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,39-3,47 (dd, 1H; $^2J=18,0\text{Hz}$, $^3J=7,5\text{Hz}$, H-1'a), 3,76-3,84 (dd, 1H; $^2J=18,0\text{Hz}$, $^3J=5,7\text{Hz}$, H-1'b); 3,87 (s, 3H, H-1''); 6,13-6,18 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=7,5$ Hz; $^3J_{1'b}=5,7$ Hz, H-3); 6,96 (d, 1H; $^3J=9,0\text{Hz}$, H-7'); 7,04 (dt, 1H; $^3J=7,5\text{Hz}$, $^4J=1,2\text{Hz}$, H-5'); 7,49-7,59 (m, 3H, H-4 / H-6' / H-6); 7,63-7,68 (m, 1H, H-5); 7,86-7,91 (m, 2H, H-7 / H-8').

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 48,7 (C-1'); 55,2 (C-1''); 77,5 (C-3); 111,7 (C-5'); 120,8 (C-7'); 122,8 (C-4); 125,5 (C-6); 126,0 (C-8); 127,0 (C-3'); 129,0 (C-8'); 130,5 (C-7); 133,9 (C-6'); 134,4 (C-5); 150,1 (C-9); 159,0 (C-4'); 170,1 (C-1); 197,1 (C-2').

Síntese da 3-[2-(3-metoxifenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (**15**)



(15)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,64$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

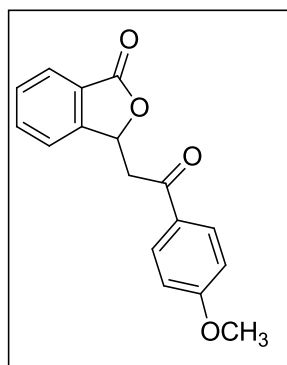
$T_f = 110,9 - 111,5$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3010, 2970, 2940, 2836, 1764, 1724, 1681, 1582, 1292, 1254, 1081, 1051, 976, 763 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,34-3,43 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=7,2$ Hz, H-1a'); 3,71-3,78 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=5,7$ Hz, H-1b'); 3,85 (s, 3H, H-1''); 6,14-6,18 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=7,2$ Hz; $^3J_{1'b}=5,7$ Hz, H-3); 7,12-7,15 (m, 1H; H-6'); 7,35-7,40 (m, 1H; H-5'); 7,48-7,51 (m, 2H, H-4 / H-7'); 7,54-7,58 (m, 2H, H-4' / H-7); 7,63-7,69 (m, 1H, H-5'); 7,90 (d, 1H, $^3J=7,5$ Hz, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 44,2 (C-1'); 55,3 (C-1''); 77,5 (C-3); 112,4 (C-4'); 120,6 (C-6); 121,0 (C-8'); 123,0 (C-4); 125,9 (C-6); 126,0 (C-8); 129,6 (C-7'); 130,0 (C-7); 137,6 (C-5); 149,9 (C-9); 160,1 (C-5'); 170,4 (C-1); 196,0 (C-2').

Síntese da 3-[2-(4-metoxifenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (**16**)



(**16**)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,47$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

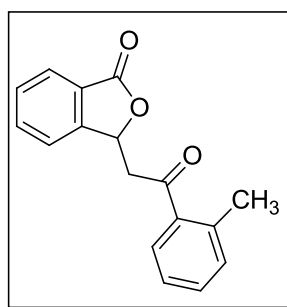
$T_f = 119,6-120,2$ °C (T_f literatura = 121-122,5 °C; GONÇALVES *et al.*, 2012).

IV (ART) $\bar{\nu}_{max}$: 3098, 3058, 3006, 2920, 1756, 1666, 1594, 1511, 1359, 1260, 1221, 1034, 843 e 587 cm^{-1} .

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 3,29-3,37 (dd, 1H; $^2J=17,4$ Hz, $^3J=7,5$ Hz, H-1'a); 3,69-3,77 (dd, 1H; $^2J=17,4$ Hz, $^3J=5,7$ Hz, H-1'b); 3,88 (s, 3H, H-1'"); 6,15-6,19 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=7,5$ Hz; $^3J_{1'b}=5,7$ Hz, H-3); 6,94 (d, 2H; $^3J=9,0$ Hz, H-5/ H-7); 7,51-7,58 (m, 2H; H-5 / H-4); 7,63-7,68 (m, 1H, H-5); 7,90-7,95 (m, 3H, H-7 / H-4 / H-8).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 43,5 (C-1'); 55,8 (C-1'"); 77,6 (C-3); 114,2 (C-5'/C-7'); 123,1 (C-4); 125,9 (C-6); 126,0 (C-8); 129,4 (C-5); 129,6 (C-7); 130,7 (C-8'/C-4'); 134,9 (C-3'); 150,1 (C-9); 164,2 (C-6"); 170,5 (C-1); 194,7 (C-2').

Síntese da 3-[(2-(2-metilfenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (17)



(17)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,59$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

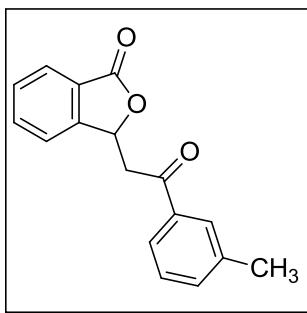
$T_f = 96,3 - 97,4$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3062, 3022, 2932, 1760, 1671, 1468, 1355, 1283, 1213, 1079, 970, 759 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,58 (s, 3H, H-1''); 3,32-3,40 (dd, 1H; $^2J=17,4$ Hz, $^3J=6,6$ Hz, H-1a'); 3,61-3,69 (dd, 1H; $^2J=17,4$ Hz, $^3J=6,3$ Hz, H-1b'); 6,13-6,17 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=6,6$ Hz; $^3J_{1'b}=6,3$ Hz, H-3); 6,95-6,98 (m, 1H; H-7'); 7,23-7,29 (m, 2H; H-5' / H-7'); 7,38-7,43 (m, 1H, H-6); 7,52-7,58 (m, 2H, H-6' / H-4); 7,62-7,70 (m, 2H, H-5 / H-8'); 7,91 (d, 1H, $^3J=6,9$ Hz, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 21,6 (C-1''); 46,1 (C-1'); 77,3 (C-3); 122,5 (C-4); 125,7 (C-5'); 125,8 (C-6); 125,9 (C-8); 129,9 (C-7); 129,4 (C-4'); 132,2 (C-6'); 132,3 (C-8'); 134,2 (C-5); 136,4 (C-4'); 138,9 (C-3'); 149,7 (C-9); 170,1 (C-1); 199,2 (C-2').

Síntese da 3-[2(3-metilfenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (**18**)



(**18**)

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,60$ (hexano/acetato de etila; 2:1v/v).

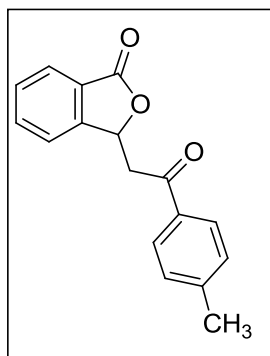
$T_f = 103,8-105,3$ °C.

IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3086, 3054, 2916, 1769, 1676, 1602, 1356, 1159, 1081, 979, 763, 690 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,40 (s, 3H, H-1''); 3,33-3,42 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=7,2$ Hz, H-1a'); 3,72-3,80 (dd, 1H; $^2J=17,7$ Hz, $^3J=5,7$ Hz, H-1b'); 6,17 (dd, 1H, $^3J_{1'a}=7,2$ Hz; $^3J_{1'b}=5,7$ Hz, H-3); 7,33-7,42 (m, 2H; H-7' / H-6'); 7,53-7,57 (m, 2H; H-6 / H-4); 7,63-7,65 (m, 1H, H-5); 7,72-7,76 (m, 2H, H-8' / H-4'); 7,90 (d, 1H, $^3J=7,5$ Hz, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 31,0 (C-1''); 43,7 (C-1'), 77,4 (C-3); 123,0 (C-4); 125,6 (C-8'); 125,9 (C-6); 126,0 (C-8); 128,9 (C-7'); 129,6 (C-7); 134,5 (C-6'); 134,8 (C-5); 136,4 (C-5'); 138,9 (C-3'); 150,0 (C-9); 170,5 (C-1); 196,4 (C-2').

Síntese da 3-[2(4metilfenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3H)-ona (**19**)



(19)

Característica: sólido branco cristalino.

CCD: $R_f = 0,63$ (hexano/acetato de etila; 2:1 v/v).

$T_f = 145,2-146,6$ °C (T_f literatura: 149 °C, SANGSHETTI *et al.*, 2011; 149,1-150,1 °C, GONÇALVES *et al.*, 2012; 147 – 148 °C, YAREMENKO *et al.*, 2013).

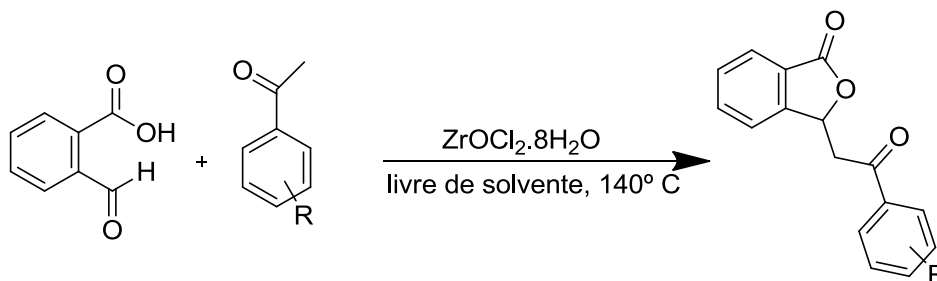
IV (ART) $\bar{\nu}_{\max}$: 3086, 3050, 2928, 2900, 1760, 1673, 1603, 1464, 1222, 1082, 975, 760 cm^{-1} .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,40 (s, 3H, H-1''); 3,32-3,40 (dd, 1H; $^2J=17,7\text{Hz}$, $^3J=7,5\text{Hz}$, H-1'a); 3,70-3,77 (dd, 1H; $^2J=17,7\text{Hz}$, $^3J=6,0\text{Hz}$, H-1'b); 6,14-6,18 (dd, 1H; $^3J=6,0\text{Hz}$, $^3J=7,5\text{Hz}$, H-3); 7,26 (d, 2H; $^3J=8,1\text{Hz}$, H-5' / H-7'); 7,51-7,58 (m, 2H, H-6 / H-4); 7,63-7,68 (m, 1H, H-5); 7,84 (d, 2H, $^3J=8,1\text{Hz}$, H-4' / H-8'); 7,90 (d, $^3J=7,8\text{Hz}$, 1H, H-7).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 21,7 (C-1''); 43,5 (C-1'); 77,3 (C-3), 122,8 (C-4); 125,6 (C-8); 125,8 (C-6); 128,2 (C-8'/C-4'); 129,4 (C-7); 129,5 (C-5'/C-7'); 133,6 (C-6'); 134,2 (C-5); 144,8 (C-3'); 149,8 (C-9); 170,1 (C-1); 195,6 (C-2').

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 3-(2-aryl-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-onas foram preparadas de acordo com a reação apresentada no Esquema 7.



Esquema 7 – Síntese das 3-(2-aryl-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-onas.

A reação de condensação entre o ácido ftalaldeídico e diferentes acetofenonas (SANGSHETTI *et al.*, 2011) resultou na obtenção de dezenove 3-(2-aryl-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-onas (Figura 1, p.19), com rendimentos elevados. As reações foram realizadas isentas de solvente, em um procedimento no qual o catalisador (ZrOCl₂·8H₂O), após filtrado, poderia ser reutilizado em outros procedimentos sintéticos.

A primeira substância sintetizada durante o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa foi a 3-(2-fenil-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3H)-ona (**1**), que foi obtido como um sólido branco ($T_f = 143,7-144,8^\circ\text{C}$) com 91% de rendimento. Em relação ao espectro no infravermelho do composto **1** (Figura 2, p.46) pode-se observar as bandas em 2936 e 2908 cm^{-1} atribuídas aos estiramentos de ligação C-H para carbonos com hibridização sp^3 . A banda em 1769 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento do grupo carbonila da função éster, enquanto que aquela observada em 1680 cm^{-1} é devida ao estiramento da carbonila da função cetona conjugada com o anel aromático.

No espectro de RMN de ^1H do composto **1** (Figura 3, p.47), os dois duplos dupletos em δ_{H} 3,36-3,44 e δ_{H} 3,75-3,83, cada um integrado para 1 átomo de hidrogênio, são referentes aos hidrogênios diastereotópicos (H-1'). Em δ_{H} 6,19 há um duplo duplo (1 hidrogênio) correspondente ao hidrogênio H-3. Os hidrogênios aromáticos aparecem no espectro como multipletos (δ_{H} 7,47-7,69 e δ_{H} 7,91-7,98).

No espectro de RMN de ^{13}C da isobenzofuranona **1** (Figura 4, p.48) o sinal para o átomo C-3 (δ_{C} 77,4) está sobreposto ao sinal do solvente deuterado (CDCl_3) utilizado para aquisição do espectro. Em relação aos grupos carbonila presentes na estrutura de **1**, o sinal para a carbonila da função éster (anel lactônico, C-1) foi observado em δ_{C} 170,4, um deslocamento químico menor do que aquele referente à carbonila do grupo cetona C-2' cujo sinal foi observado em δ_{C} 196,2. Essa diferença de deslocamento químico está relacionada com a deslocalização de elétrons existente entre os pares de elétrons não ligantes do oxigênio pertencente ao grupo éster e o grupo carbonila desta função, fazendo com que o carbono carbonílico da função éster esteja mais blindado. O sinal para os carbonos aromáticos foram atribuídos como se segue: 123,0 (C-4); 126,0 (C-6); 126,0 (C-8); 128,4 (C-5'/C-7'); 129,0 (C-4'/C-8'); 129,6 (C-7); 134,1 (C-6'); 134,5 (C-5); 136,3 (C-3'); 149,9 (C-9). Os dados da espectroscopia de RMN estão de acordo com os dados descritos por GONÇALVES e colaboradores (2012) para o mesmo composto.

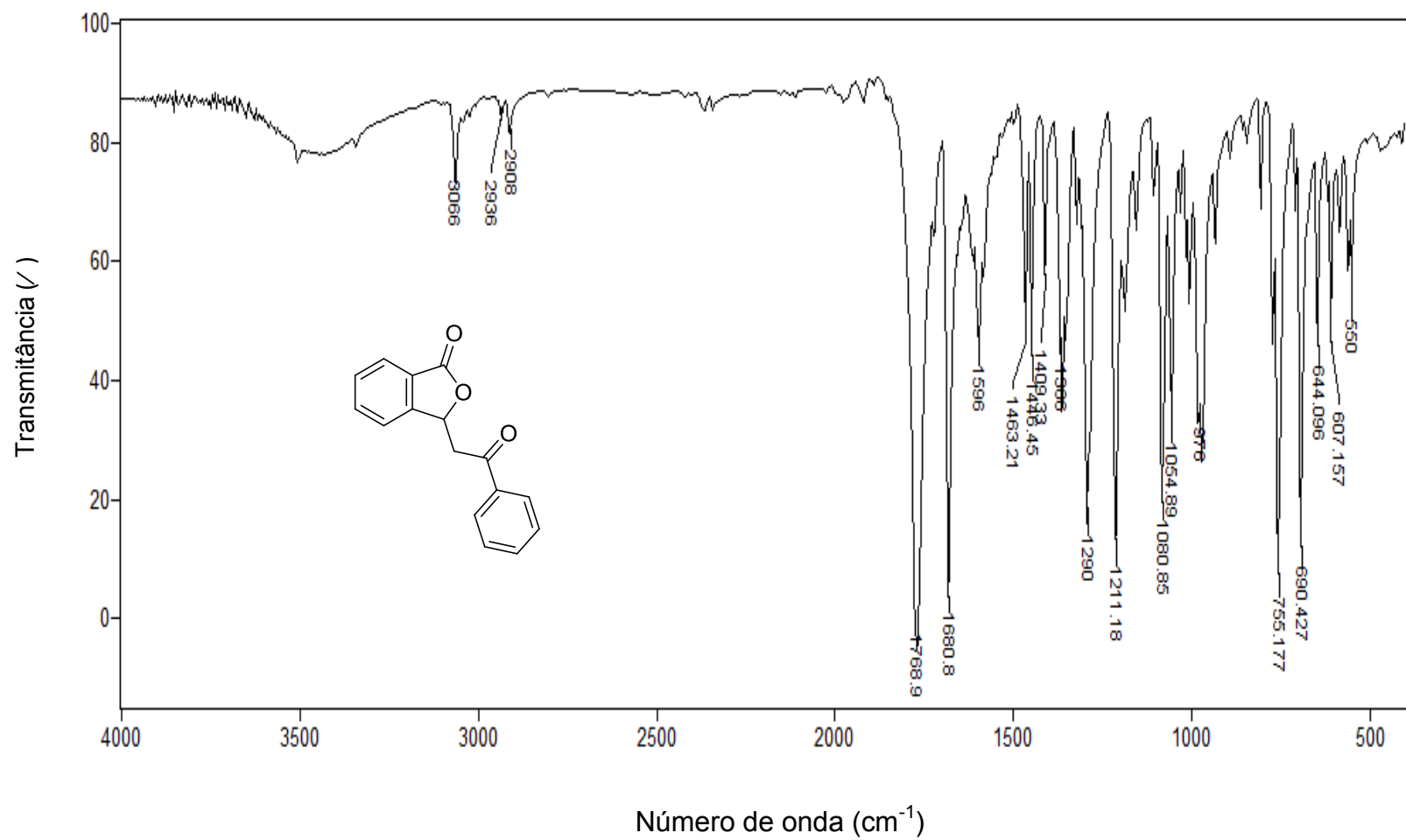


Figura 2 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 1.

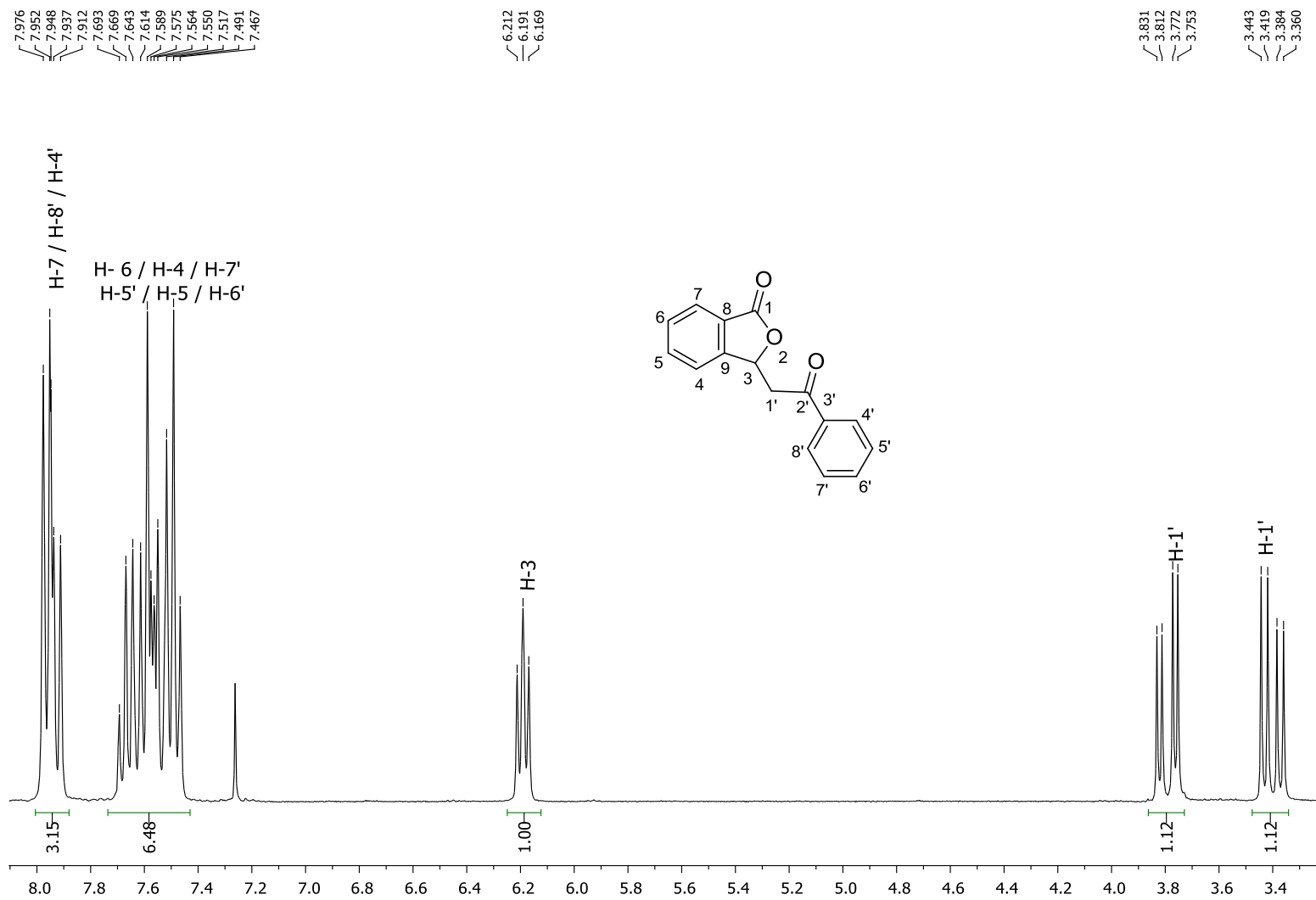


Figura 3 – Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 1.

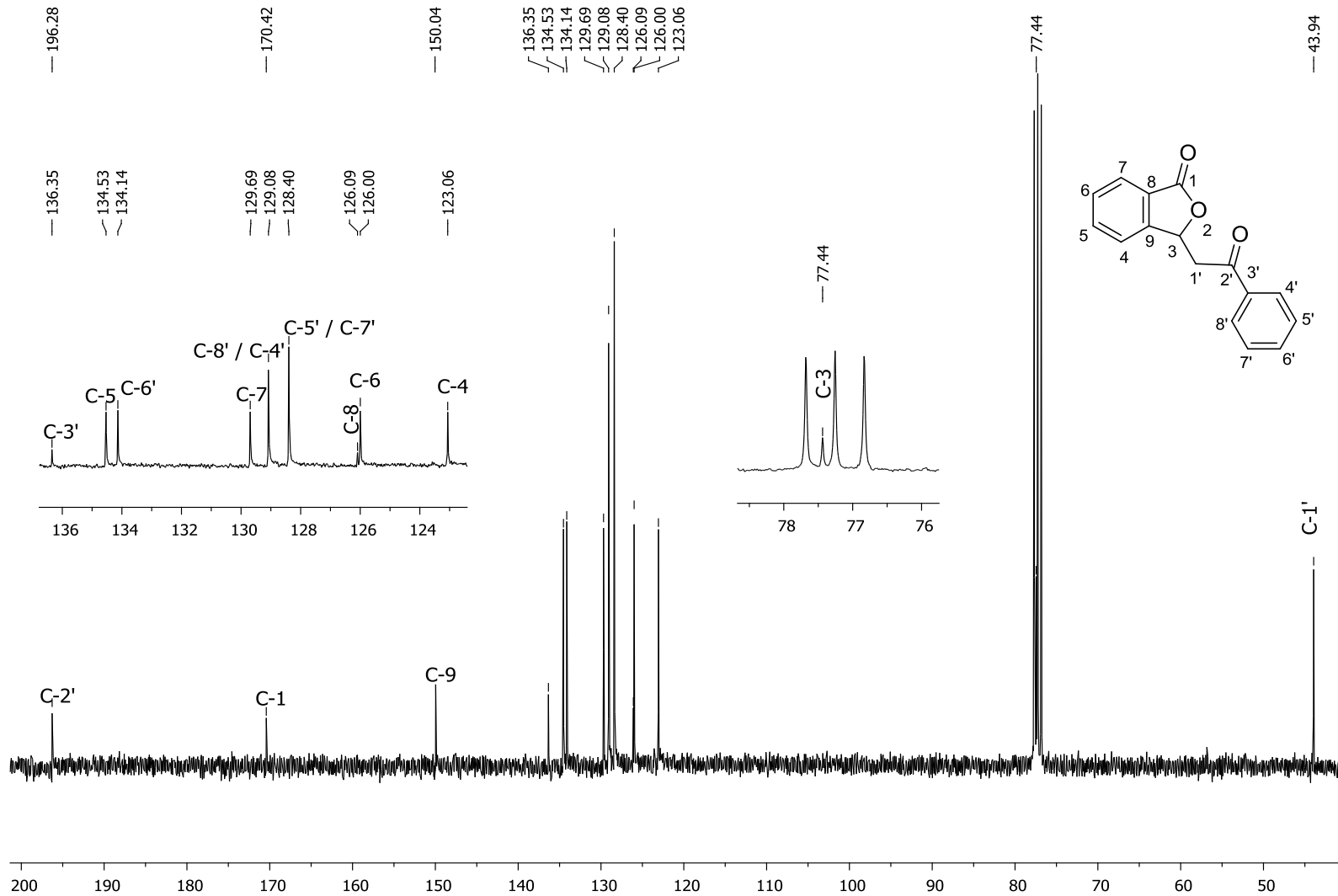


Figura 4 – Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 1.

A estrutura da fitalida **1** também foi investigada por difração de raios-X. A representação ORTEP do composto é mostrada na Figura 5.

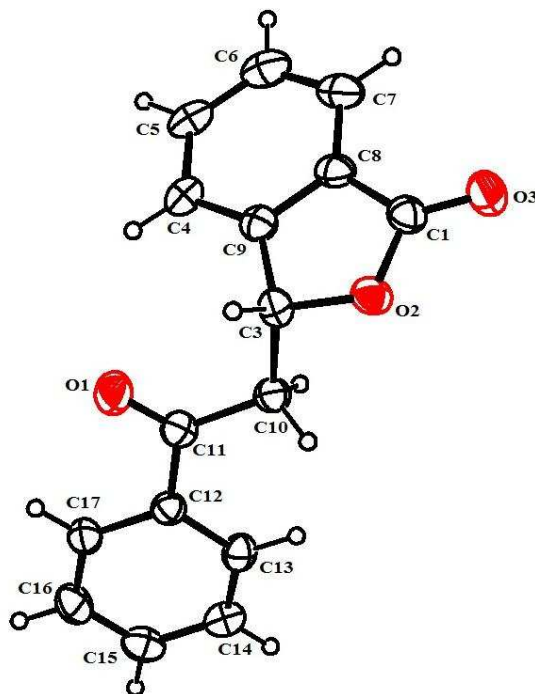


Figura 5 – Representação ORTEP da fitalida **1**.

Os dados cristalográficos para a substância **1** são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Dados Cristalográficos do composto **1**

Fórmula	C ₁₆ H ₁₂ O ₃
Massa Molar (g/mol)	252,26
Temperatura de coleta (K)	293(2)
Sistema Cristalino	Ortorrômbico
Grupo Espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Parâmetros da cela unitária (Å)	a = 5,1576(3) b = 11,2224(5) c = 21,3032(14)
Volume da cela (Å ³)	1233,04(12)
Z	4
Densidade Calculada (mg/m ³)	1.359

Tabela 2 - Cont.

Coeficiente de absorção (mm ⁻¹)	0,094
F(000)	528
Intervalo de <i>hkl</i>	<i>h</i> = -6 ⇒ 6 <i>k</i> = -13 ⇒ 13 <i>l</i> = -25 ⇒ 25
Reflexões únicas	2246
Reflexões observadas [<i>I</i> >2σ(<i>I</i>)]	1374
Parâmetros Refinados	172
S	1,12
R[<i>I</i> >2σ(<i>I</i>)]; <i>wR</i>	R = 0,0592; <i>wR</i> = 0,1796
R (todos os dados); <i>wR</i>	R = 0,0908; <i>wR</i> = 0,2129
Δρ _{máx} ; Δρ _{min} (e Å ⁻³)	0,256 ; -0,282

O composto **1** cristaliza no sistema cristalino ortorrômbico, grupo espacial P2₁2₁2₁. Na estrutura cristalina de **1** há uma interação intermolecular do tipo C-H[⋯]O, formando redes bidimensionais ao longo do eixo cristalográfico *b* e uma interação C10–H10B[⋯]π ligando as redes (Tabela 3; Figura 6, p.51).

As interações C–H[⋯]π são contatos nos quais o acceptor é um centróide (C_g) gerado pela nuvem eletrônica π do anel aromático envolvido na interação. No caso, o anel aromático é o que envolve os átomos C12 a C17.

Tabela 3 – Interações intermoleculares na rede cristalina de 1

Interação D-H [⋯] A	Distância (D-H) (Å)	Distância (H [⋯] A) (Å)	Distância (D [⋯] A) (Å)	Ângulo (DHA) (°)
C13-H13 [⋯] O3 ⁱ	0,93	2,48	3,291(5)	145
C10-H10B [⋯] C _g ⁱⁱ	0,97	2,76	3,570(4)	142

i = 1-*x*, 1/2+*y*, 1/2-*z*; *ii* = 1+*x*, *y*, *z*

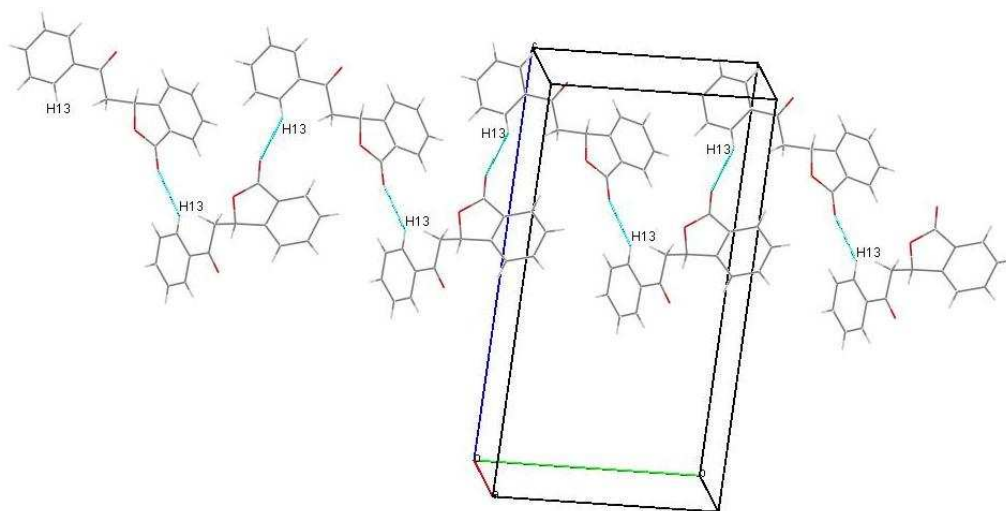
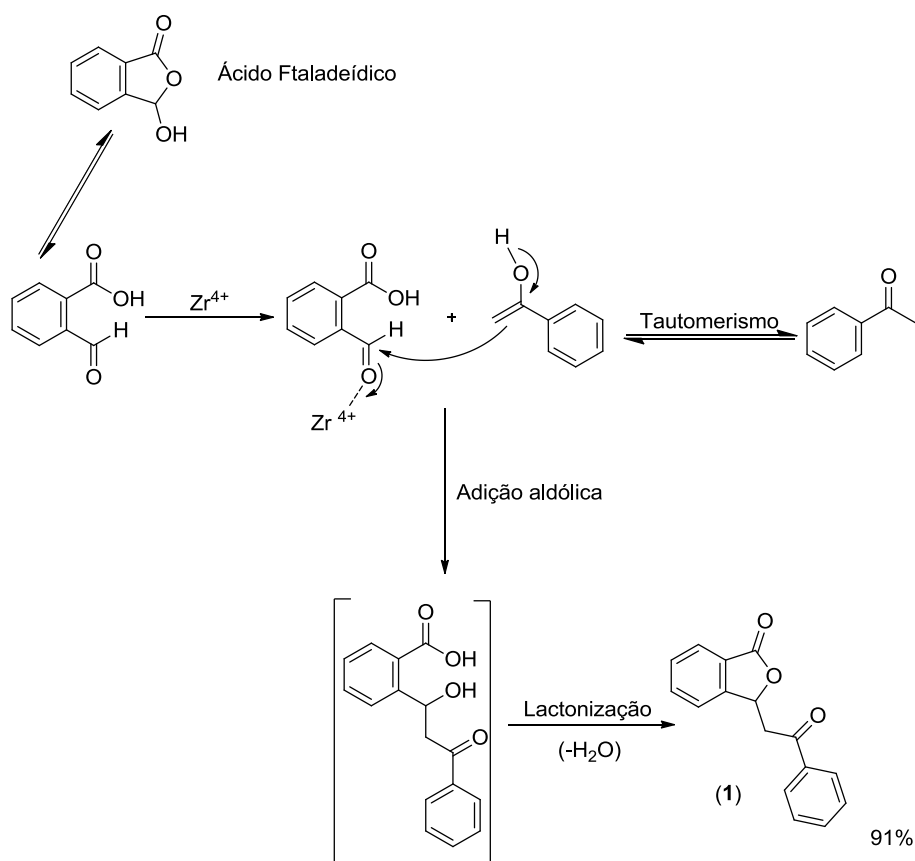


Figura 6 – Empacotamento da estrutura cristalina do composto **1**.

Com respeito aos anéis presentes na estrutura de **1**, no biciclo I (formado pelos átomos **C1 C8 C7 C6 C5 C4 C9 C3 O2**) o desvio quadrático médio dos átomos ao plano é de 0,007 Å. O átomo **O3** está praticamente no plano do anel (desvio de -0,029(5) Å do plano) e o átomo **C10** está -1,233(6) Å acima do plano do anel. No anel II (formado pelos átomos **C12 C13 C14 C15 C16 C17**) o desvio quadrático médio dos átomos ao plano é de 0,005 Å. Os átomos **C11** (desvio de -0,035(6) Å) e **O1** (desvio de +0,017(7) Å) estão praticamente no plano do anel. O átomo **C10** está a -0,113 (7) Å do plano. O ângulo entre os planos dos anéis I e II é igual a 68,9(1)°.

No Esquema 8 (p.52) é apresentada uma proposta mecanística para a formação da substância **1** a partir da acetofenona e do ácido ftalaldeídico.



Esquema 8 – Proposta mecanística para a formação de **1**.

De acordo com esta proposta, a coordenação do grupo carbonila da função aldeído do ácido ftalaldeído com o ácido de Lewis (oxicloreto de zircônio(IV)) deixa o carbono carbonílico mais eletrofílico (ativação do grupo carbonila para o ataque nucleofílico). Em seguida, a forma enólica da acetofenona ataca o grupo carbonila ativado (adição aldólica) resultando na formação de um intermediário aldólico. Este intermediário, por sua vez, sofre lactonização resultando na formação de **1**.

A comparação dos espectros RMN de ¹H da substância **1** (Figura 3, p.47) com o espectro de RMN de ¹H dos outros compostos mostrou algumas diferenças interessantes. Por exemplo, no espectro de RMN de ¹H de **11** (Figura 7, p.54) mostra uma diferença entre os sinais relacionados aos

hidrogênios diastereotópicos H-1'. Enquanto no espectro de **1** os hidrogênios aparecem como dupletos duplos, no espectro de **11** eles aparecem como dupletos duplos duplos. Esse fato pode ser racionalizado considerando o acoplamento 5J dos hidrogênios H-1' do composto **11** com o átomo de flúor localizado na posição 4'.

Comparando-se ainda os espectros de RMN de ^1H dos compostos **1** (Figura 3, p.48) e **5** (Figura 8, p.55), verifica-se que a presença do grupo nitro ligado ao carbono C-4' também resultou numa modificação na aparência dos dupletos duplos relacionados aos hidrogênios diastereotópicos H-1'. Os dois sinais interiores aumentaram de intensidade e os dois sinais exteriores perderam intensidade. Esse fato está relacionado à alteração da razão $\Delta\nu/J$, onde $\Delta\nu$ corresponde à diferença de deslocamentos químicos e J a constante de acoplamento (SILVERSTEIN *et al.*, 2006). Esse fenômeno acarretou acoplamentos de ordem superior.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 9, p.56) do composto **8**, são observados dois dupletos duplos integrado para 2 átomos de hidrogênios, referentes aos hidrogênios diastereotópicos H-1'. O sinal para H-3, no entanto, foi observado como um duplete duplo e não um tripleto, como para a maioria dos compostos sintetizados.

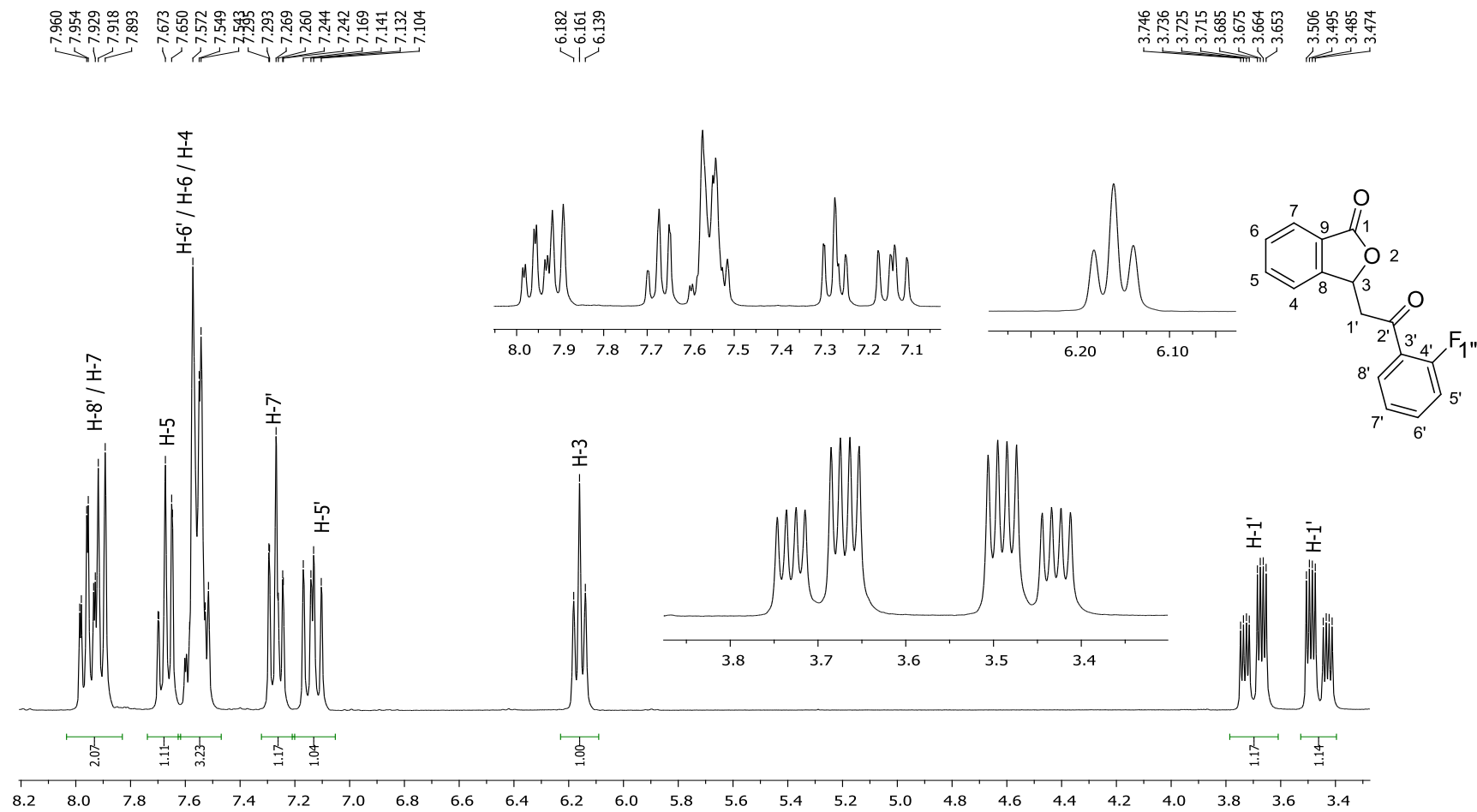


Figura 7 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **11**.

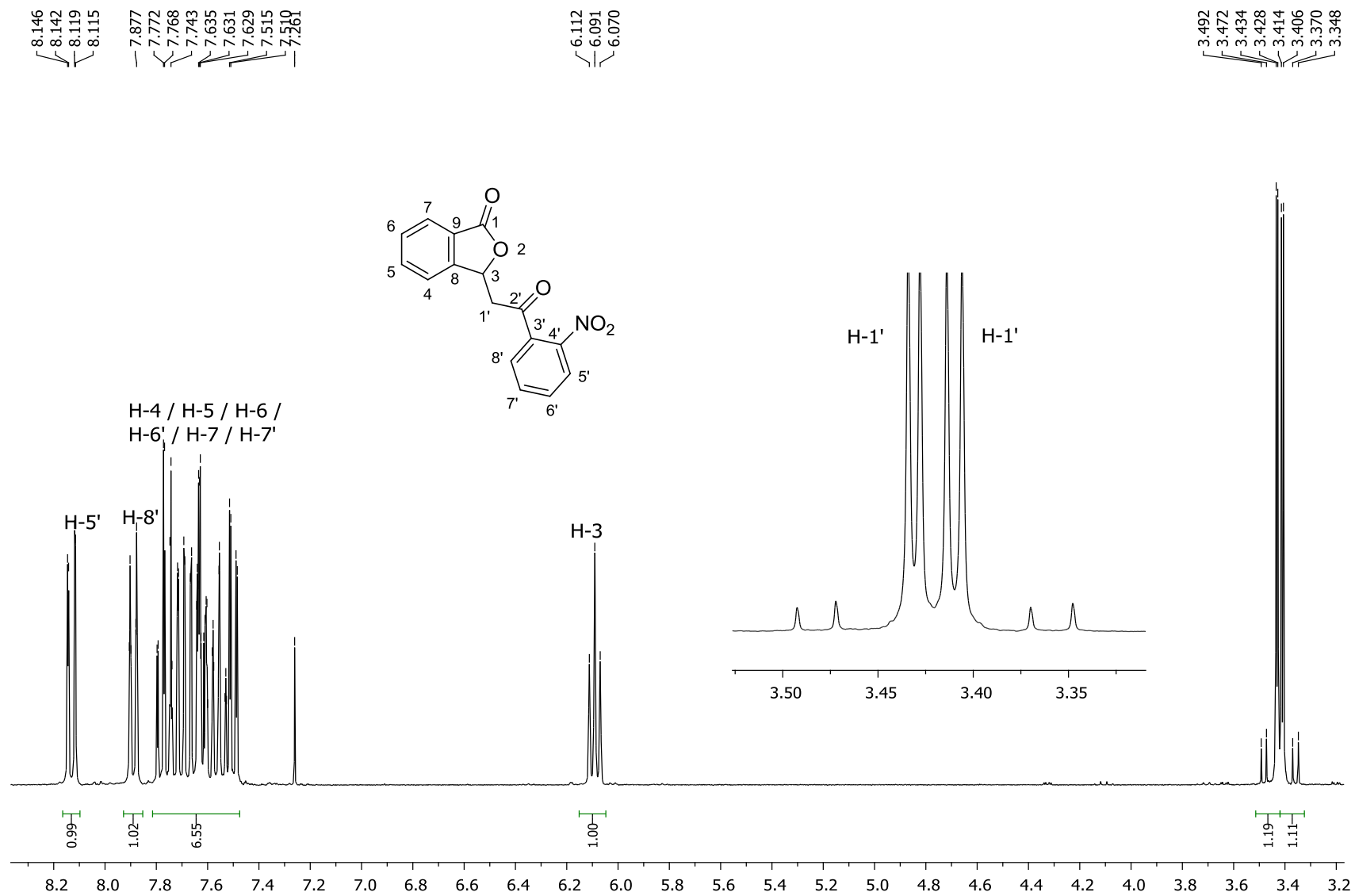


Figura 8 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **5**.

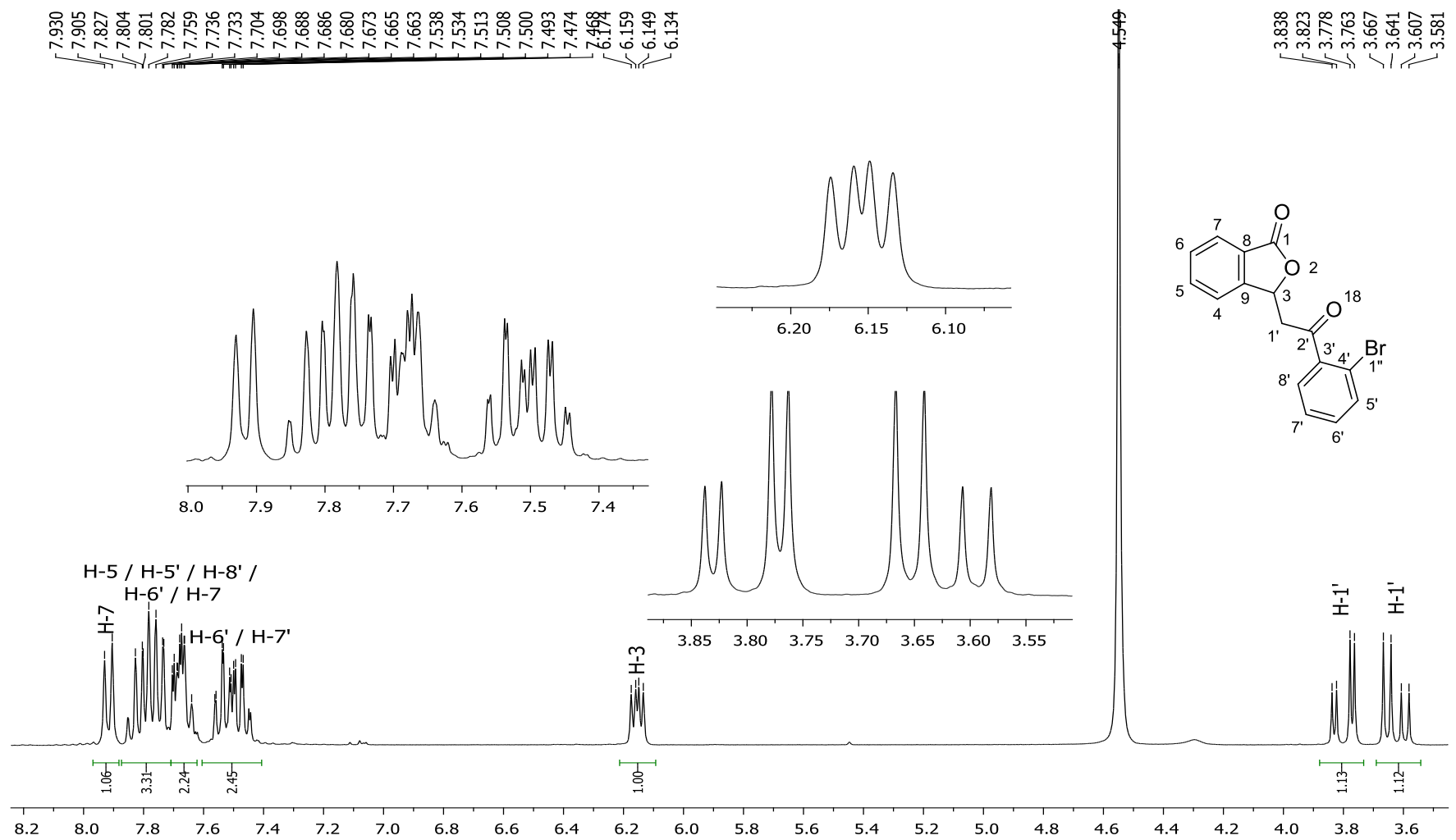


Figura 9 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) do composto **8**.

2.4 CONCLUSÕES

Descreveu-se neste capítulo a preparação de dezenove 3-(2-*aril*-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3*H*)-onas. Esses compostos foram sintetizados por um processo de condensação catalisado por oxicloreto de zircônio(IV) entre o ácido ftalaldeídico e diferentes acetofenonas contendo grupos retiradores e doadores de elétrons em posições *orto*, *meta* e *para* do anel aromático. As reações foram realizadas em curto espaço de tempo (2 a 4 horas) e com rendimentos de 80 a 91%. As condições de reação empregadas são tolerantes à presença de diferentes grupos funcionais, uma importante característica para uma reação em síntese orgânica. Além disso, trata-se de um processo de fácil execução e ambientalmente benigno, não requerendo a utilização de solvente.

Portanto, trata-se de um método bastante atrativo no que diz respeito ao preparo de 3-(2-*aril*-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3*H*)-onas. A escolha de acetofenonas contendo diferentes grupos retiradores e doadores de elétrons bem como diferentes padrões de substituição desses grupos no anel aromático foi feita de modo intencional para que fosse possível determinar o efeito dos grupos 2-*aril*-2oxoetila, presentes nas estruturas das isobenzofuranonas, sobre as atividades biológicas que foram investigadas nesse trabalho. Nos Capítulos seguintes serão descritos os resultados encontrados no que tange à avaliação de duas bioatividades dos compostos sintetizados.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARDAJEE, G. R.; ISMAILI, H. $ZrOCl_2 \cdot H_2O$ in water: an efficient catalyst for rapid one-pot synthesis of pyridopyrazines, pyrazines, and 2,3-disubstituted quinoxalines. *Comptes Rendus Chimie*, v. 16, p. 872-877, 2013.
- BOUSQUET, E. W.; MORAN, M. D.; HARMON, J.; JOHNSON, A. L.; SUMMERS, J. C. Synthesis of 3,3a-dihydro-8H-pyrazolo[5,1-a]isoindol-8-ones and 8H-pyrazolo[5,1-a]isoindol-8-ones. *Journal of Organic Chemistry*, v. 40, p. 2208-2211.
- DA SILVA, M. B. Zircônio. *Balanço Mineiral Brasileiro – 2001*. Disponível em <http://www.dnrm.gov.br/assets/galeriadocumento/balancomineral2001/zirconio.pdf>. Acesso em: janeiro 2014.
- CUNHA S.; DAMASCENO, F.; FERRARI, J. New alkaloid-like heterocycles via formal aza-[3+2] cycloaddition reaction of cyclic enaminones with cyclopropenones. *Tetrahedron Letters*, v. 48, p.5795-5798, 2007.
- GONÇALVES, C. J.; LENOIR, A. S.; PADRATZ, P.; CORRÊA, R.; NIERO, R.; CECHINE-FILHO, V.; BUZZI, F. C. Benzofuranones as potencial antinociceptive agents: structure-activity relationships. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 56, p. 120-126, 2012.
- KIANI, M.; KARAMI, B. $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O/SiO_2$: An efficient and recyclable catalyst for the preparation of coumarin derivatives by *Pechmann* condensation reaction. *Catalysis Communication*, v. 14, p. 62-67, 2011.
- LI, J. J.; LI, S.; ZHANG, Z. H. Synthesis of enaminones and enamino esters catalyzed by $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$. *Catalysis Communication*, v. 8, p. 1615-1620, 2007.

- MARECK, I (Ed.). Titanium and zirconium in organic synthesis. Wiley-VCH Verlag: Weinheim, Germany, 2002, 500p.
- MOHAMMADPOOR-BALTORK, I.; KHOSROPUR, A. R.; HOJATI, F. S. ZrOCl₂·8H₂O as an environmentally friendly and recyclable catalyst for the chemoselective synthesis of 2-aryloxazolines and bis-oxazolines under thermal conditions and microwave irradiation; *Catalysis Communication*, v. 8, p. 200-204, 2007.
- MOLAZARI, E.; SHIRINI, F.; Efficient trimethylsilylation of alcohols and phenols in the presence of ZrCl₄ as a reusable catalyst. *Catalysis Communication*, v. 8, p. 1393–1396, 2007.
- MOSADDEGH, E.; ISLAMI, M.R.; HASSANKHANI, A. ZrOCl₂·8H₂O as an efficient and recyclable catalyst for the clean synthesis of xanthenedione derivatives under solvent-free conditions. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 5, p. 77-80, 2012.
- PINTO, C. G. A.; SILVA, S. A. M.; CAVALEIRO, J. A. S.; ELGUERO, J. New bis(chalcones) and their transformation into Bis(pyrazoline) and bis(pyrazole) derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, p. 747-755, 2003.
- PEREIRA, J. L. Síntese e Avaliação das Atividades Fitotóxica e Antiproliferativa de Isobenzofuran-1(3H)-onas C-3 funcionalizadas. DISSERTAÇÃO, Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 2013.
- SANGHSETTI, J. N.; ANSARI, S. A. M. K.; SHINDE, D. B. ZrOCl₂·8H₂O catalyzed solvent free synthesis of isobenzofuran-1(3H)-ones. *Chinese Chemical Letters*, v. 22, p. 163-166, 2011.

SANGSHETTI, J. N.; KOKARE, N. D.; KOTHARKAR, S. A.; SHINDE, D. B.

ZrOCl₂·8H₂O catalyzed one-pot synthesis of 2,4,5,-triaryl-1*H*-imidazoles and substituted 1,4-di(4,5-diphenylimidazol-yl)benzene. *Chinese Chemical Letters*, v. 19, p. 762-766, 2008.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação

Espectrométrica de Compostos Orgânicos – Sétima Edição. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A.: Rio de Janeiro, 2006, Capítulo 3.

YAREMENKO, A. G.; SHELYAKIN, V. V.; VOLOCHNYUK, D. M.;

RUSANOV, E. B.; GRYGORENKO, O. O. An approach to dihydroisoindolobenzodiazepinones – three-dimensional molecular frameworks. *Tetrahedron Letters*, v. 54, p. 1195-1197, 2013.

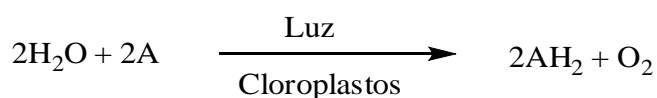
CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DOS EFEITOS DAS 3-(2-ARIL-2-OXOETIL)- ISOBENZOFURAN-1(3H)-ONAS SOBRE O TRANSPORTE DE ELÉTRONS FOTOSSINTÉTICO

3.1 INTRODUÇÃO

A vida no Planeta Terra é altamente dependente da fotossíntese. Neste importante processo, as plantas, algas e certas bactérias são capazes de utilizar a energia do sol para produzir carboidratos e outros compostos orgânicos. O processo fotossintético envolve uma série de reações químicas de transferência de elétrons (RUTHERFORD e FALLER, 2001; NELSON e YOCUM, 2006).

Em 1937 Robert Hill, na Universidade de Cambridge, realizou experimentos que foram de fundamental importância para o entendimento do processo fotossintético (DICKS, 1974). Ao isolar cloroplastos de plantas e irradiá-los com luz na presença de água, Hill obteve oxigênio conforme mostrado pela seguinte equação, conhecida como equação de Hill



onde A é um receptor não natural de elétrons como por exemplo íons férricos, benzoquinona e corantes como o 2,6-diclorofenolindofenol (DCFIF).

A fotossíntese oxigênica nos sistemas biológicos envolve a transferência de elétrons da água para o aceptor biológico NADP^+ que é, então, convertido em NADPH (NELSON e BEN-SHEM, 2004; FEYZIYEV, 2010). A série de reações envolvidas na fotossíntese oxigênica é

comumente representada pelo conhecido Esquema Z da fotossíntese, como representado na Figura 1.

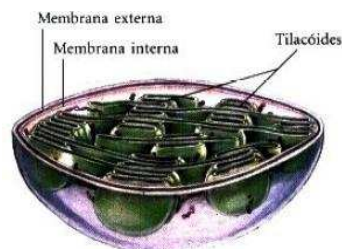
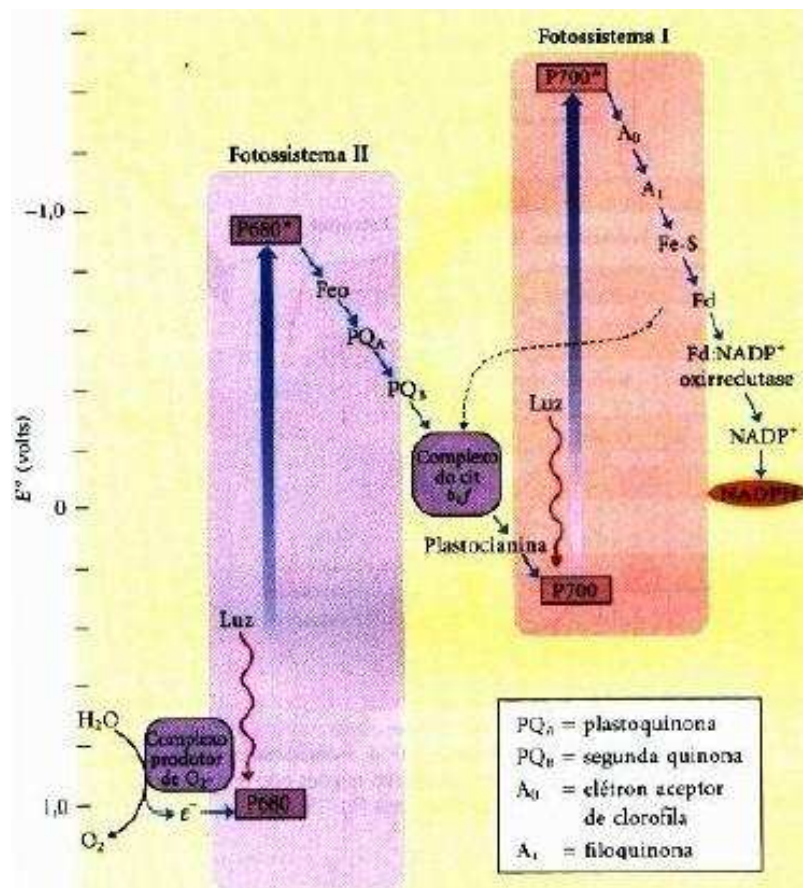


Figura 1 – Visão geral do transporte de elétrons na fotossíntese oxigênica e estrutura do cloroplasto (NELSON E COX, 2004).

Nas plantas, todo o processo fotossintético ocorre no interior da organela conhecida como cloroplasto (Figura 1). O NADPH, por sua vez, será utilizado para a redução de CO_2 durante a síntese de carboidratos e outros compostos orgânicos.

Com respeito à reação de Hill, um aspecto merece comentário: geralmente as substâncias que inibem a reação de Hill inibem a fotossíntese em plantas e podem ser consideradas atrativas como estruturas-modelo para o desenvolvimento de novos compostos para o controle de plantas daninhas (HANSCH e LEO, 1995). Esse fato foi explorado pela indústria agroquímica resultando no desenvolvimento de vários princípios ativos para o controle de plantas daninhas (DRABER *et al.*, 1991), alguns deles mostrados na Figura 2.

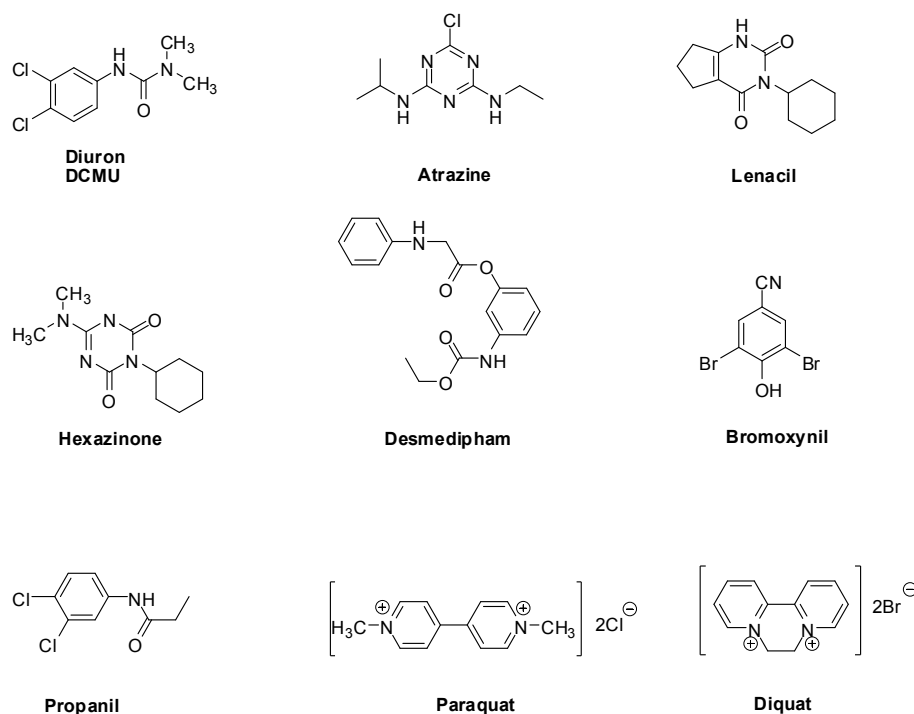


Figura 2 – Exemplos de herbicidas que atuam inibindo a fotossíntese.

Conforme comentado no Capítulo 1 desta dissertação, isobenzofuranonas apresentam diversas atividades biológicas, dentre elas a capacidade de interferir com o transporte de elétrons fotossintético (PEREIRA, 2013; TEIXEIRA *et al.*, 2013; DEMUNER *et al.*, 2006). Baseado nesse precedente da literatura buscou-se avaliar os efeitos das isobenzofuran-1(3H)-onas **1-19** (Figura 1, p.19) sobre o transporte de

elétrons fotossintético. Neste capítulo são descritos os resultados dessa investigação.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Avaliação do efeito dos compostos 1-19 sobre o transporte de elétrons basal da fotossíntese

3.2.1.1 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. 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 suspensos 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 absorbância foram feitas nos

comprimento de onda de 645 e 663 nm. O conteúdo de clorofila foi calculado com base na fórmula de Arnon:

$$\text{Clorofila } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663})$$

3.2.1.2 Avaliação do efeito dos compostos 1-19 sobre o transporte de elétrons basal da fotossíntese

Alíquotas da suspensão de cloroplastos com 20 μg de clorofila foram incubadas a 24 °C em cubetas de 1 mL contendo solução tampão 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 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A taxa de redução do ferricianeto foi medida a 420 nm a cada 30 segundos durante 10 minutos e contra um branco. Atividade foi calculada sobre a porção linear da curva, a partir de coeficiente de extinção molar de 1.000 M⁻¹ cm⁻¹.

As substâncias 1 a 19 (Figura 1, p.19) foram dissolvidas em DMSO e diluídas com água, de modo a obter soluções cujos valores de concentração foram de 100 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A avaliação do efeito desses compostos, nas concentrações mencionadas sobre a reação de Hill, foi conduzida via adição desses compostos às suspensões de cloroplastos preparadas como descrito no item 3.2.1.1. Para cada valor de concentração utilizado, os experimentos foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos como porcentagem dos controles não-tratados.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tendo assegurada a síntese dos compostos **1** a **19** (Figura 1, p.19) conforme discutido no Capítulo 2, procedeu-se à avaliação dos seus efeitos sobre o transporte de elétrons da fotossíntese, dirigido pela luz, da água para o acceptor não biológico ferricianeto de potássio, $K_3[Fe(CN)_6]$. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Avaliação *in vitro* do efeito das isobenzofuran-1(3*H*)-onas **1-19** sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacea oleracea*^a

Composto	100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	200 $\mu\text{mol L}^{-1}$
1	92,6 ± 3,0	92,8 ± 1,3
2	86,3 ± 1,3	80,5 ± 2,6
3	79,8 ± 4,2	66,5 ± 2,1
4	79,3 ± 1,3	64,3 ± 0,4
5	93,6 ± 0,9	85,3 ± 1,1
6	92,5 ± 1,2	90,2 ± 1,4
7	92,5 ± 1,2	90,2 ± 1,4
8	85,6 ± 2,6	73,9 ± 1,7
9	81,7 ± 2,5	74,0 ± 1,4
10	89,1 ± 1,4	75,6 ± 1,5
11	93,2 ± 2,4	81,3 ± 2,0
12	83,8 ± 2,3	78,7 ± 2,0
13	84,3 ± 2,1	80,9 ± 2,8
14	77,0 ± 2,8	63,0 ± 0,6
15	84,0 ± 0,6	72,7 ± 2,0
16	85,6 ± 1,1	67,5 ± 1,3
17	86,3 ± 1,8	73,8 ± 0,7
18	81,2 ± 3,9	72,6 ± 3,1
19	87,2 ± 1,1	78,1 ± 1,3
Ácido Ftalaldeídico	108,4±1,5	100,2±0,7

^a Atividade determinada conforme metodologia descrita na Seção 3.2.1.2 (Material e Métodos, p.65).

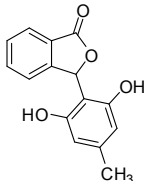
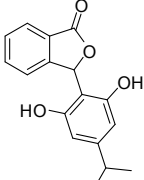
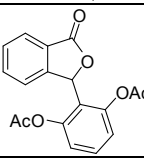
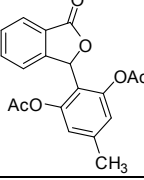
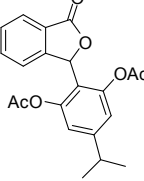
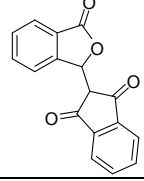
Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que, dentre os dezenove compostos avaliados, todos foram capazes, em maior ou menor

extensão, de reduzirem a taxa de transporte de elétrons basal, dirigida pela luz, na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Dente os compostos avaliados, as isobenzofuran-1(3*H*)-onas hidroxiladas **3** (33,5% de inibição) e **4** (35,7% de inibição) e o derivado metoxilado **14** (37% de inibição) foram aqueles que apresentarem os melhores efeitos inibitórios sobre o transporte de elétrons na reação de Hill.

O ácido fitaladeídico, disponível comercialmente e que foi o precursor dos derivados sintéticos **1-19** também foi avaliado e não apresentou efeito sobre transporte de elétrons fotossintético.

Conforme apresentado na Tabela 1 (p.66), as fitalidas **1-19** apresentaram efeitos inibitórios *in vitro* sobre o transporte de elétrons fotossintéticos. Esse comportamento contrasta com aquele apresentado pelas isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas descritas por PEREIRA (2013) (Figura 7, p.8), algumas delas apresentadas na Tabela 2, p.68.

Tabela 2 – Avaliação *in vitro* do efeito de isobenzofuranonas sintetizadas por PEREIRA (2013), sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacea oleracea*^b

Composto	Estrutura	50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	200 $\mu\text{mol L}^{-1}$
V		133,5±2,0	125,6±0,8	116,1±4,5
VI		185,7±2,4	156,7±4,9	87,1±2,5
VII		218,3±4,0	225±1,1	189,9±0,9
VIII		201,9±3,7	192,4±5,9	161,1±6,5
IX		92,0±1,5	83,1±1,3	75,9±1,6
XII		86,1±0,0	68,0±1,4	44,2±0,2

^a Atividade determinada utilizando metodologia similar àquela descrita na Seção 3.2.1.2 (Material e Métodos, p.65).

Enquanto os compostos **IX** e **XII** apresentaram efeitos inibitórios mais pronunciados, os compostos **V**, **VI**, **VII** e **VIII** estimularam o transporte de elétrons fotossintético atuando como desacopladores.

3.4. CONCLUSÕES

A funcionalização do núcleo isobenzofuranona na posição C-3 com grupos 2-aril-2-oxoetila resultou em substâncias que embora sejam capazes de inibir o transporte de elétrons fotossintético, apresentam efeitos modestos. O composto mais ativo, a 3-[2-(4-metoxifenil)-2-oxoetil]-isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**14**), inibe cerca de 40% do transporte de elétrons fotossintético na maior concentração avaliada (200 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Apesar dos baixos valores de inibição observados, é plausível dizer que estes compostos podem ser submetidos a processos de otimização visando uma melhoria da atividade biológica.

A literatura possui exemplos interessantes de otimização de estruturas que resultaram em agroquímicos de sucesso. Um bom exemplo são os chamados neonicotinóides (JESCHKE e NAUEN, 2008). No que tange aos compostos avaliados nesse trabalho, a melhoria da atividade poderia ser alcançada, por exemplo, sintetizando-se novos compostos com diferentes grupos funcionais e padrões de substituição do anel aromático da unidade estrutural 2-aril-2-oxoetila. Outra possibilidade seria investigar o efeito de diferentes formulações dos compostos sintetizados sobre a atividade biológica.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; VEIGA, T. A. M.; BARRETO, R. W.; KING-DIAZ, B.; LOTINA-HENNSEN, B. Phytotoxic constituents from *Nimbya alternantherae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 34, p. 790-795, 2006.
- DICKS, J. W. An experiment on herbicides: inhibition of the Hill reaction. *Biochemical Education*, v. 2, p. 69-71, 1974.
- DRABER, W.; TIETJEN, K.; KLUTH, J. F.; TREBST, A. Herbicides in photosynthesis research. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 30, p. 1621-1633, 1991.
- FEYZIYEV, Y. M. Oxygenic photosynthesis: an introduction. *Proceedings of ANAS (Biological Sciences)*, v. 65, p. 71-82, 2010.
- HANSCH, C.; LEO, A. *Exploring QSAR- Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*. Washington, DC: ACS Professional Reference Book, Chapter 12, p. 462, 1995.
- JESCHKE, P.; NAUEN, R. Neonicotinoids – from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science*, v. 64, p. 1084-1098, 2008.
- NELSON, N.; BEN-SHEM, A. The complex architecture of oxygenic photosynthesis. *Nature Reviews*, v. 5, p. 1-12, 2004.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger - Princípios de Bioquímica*. São Paulo Sarvier, Capítulo: 19, 2004.
- NELSON, N.; YOCUM, C. F. Structure and function of photosystems I and II. *Annual Review of Plant Biology*, v. 57, p. 521-526, 2006.

- PEREIRA, W. L. Síntese e avaliação das atividades fitotóxica e antiproliferativa de isobenzofuran-1(3*H*)-onas C-3 funcionalizadas. 2013. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, 2013.
- RUTHERFORD, A. W.; FALLER, P. The heart of photosynthesis in glorious 3D. *TRENDS in Biochemical Sciences*, v. 26, p. 341-344, 2001.
- TEIXEIRA, R. R.; PEREIRA, W. L.; TOMAZ, D. C.; de OLIVEIRA, F. M.; GIBERTI, S.; FORLANI, G. Synthetic analogues of the natural compound cryphonectric acid interfere with photosynthetic machinery through two different mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 5540-5549, 2013.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA CITOTOXICIDADE DAS 3-(2-ARIL-2-OXOETIL)- ISOBENZOFURAN-1(3*H*)-ONAS

4.1 INTRODUÇÃO

Pesquisas voltadas para o desenvolvimento de novos fármacos e agroquímicos apresentam diversas semelhanças, dentre elas os parâmetros físico-químicos utilizados na avaliação da possibilidade de um fármaco vir a se tornar um bom agroquímico e vice-versa (LIPINSKI *et al.*, 1997; TICE, 2001). Existe também uma similaridade no que tange ao fato de que os químicos envolvidos na descoberta de agroquímicos e fármacos adquirem reagentes dos mesmos fornecedores, lançam mão de reações químicas similares para a síntese de substâncias de interesse e consultam literaturas comparáveis. Quando as estruturas moleculares de fármacos e agroquímicos são analisadas, percebe-se que os 20 tipos de substituintes e cadeias laterais mais comumente encontrados nos fármacos são também encontrados nos agroquímicos e com a mesma frequência (DELANEY *et al.*, 2006). Salienta-se ainda que os agroquímicos e fármacos atuam sobre alvos moleculares que são idênticos ou bastante similares (SWANTON *et al.*, 2011).

Considerando as similaridades descritas anteriormente, não é incomum que uma substância que é utilizada como um agroquímico possa vir a apresentar aplicações como fármaco e vice-versa. Dentro desse contexto, podem-se citar como exemplos o 1,4-cineol e a nitisona (Figura 1, p.73).

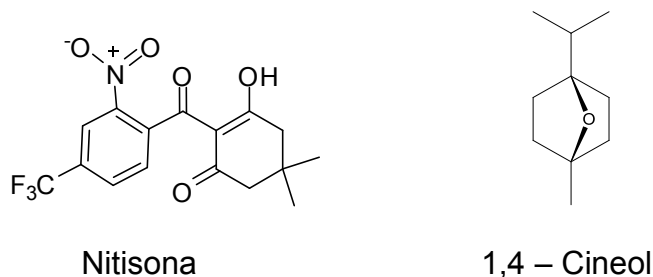


Figura 1 - Estruturas da nitisona e do 1,4-cineol, ambos apresentando aplicações como fármaco e agroquímico.

O 1,4-cineol (Figura 1) é um monoterpene extraído como componente principal de vários óleos essenciais de diferentes espécies de plantas, e é utilizado diretamente como herbicida (DUKE e OLIVA, 2004). No entanto, esse monoterpene apresenta elevada volatilidade, o que limita sua utilidade como herbicida. Para contornar esse problema, foi incorporado à estrutura do 1,8- cineol o grupo benziloxi, dando origem a outro composto com atividade herbicida, mas com menor volatilidade, a cinmetilina (Figura 2).

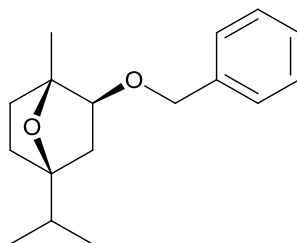


Figura 2 – Estrutura da cinmetilina, análogo sintético do 1,4-cineol.

Quanto às suas propriedades terapêuticas, o 1,4-cineol é utilizado como medicamento com ação analgésica, antitérmica e expectorante. É ainda empregado no tratamento de doenças do trato respiratório, como a faringite e a amigdalite (EUCALIPTOL, 2013).

A nitisona (Figura 1) é utilizada no tratamento de uma doença genética e hereditária chamada de tirosinemia hepatorrálica tipo I (TH-I) (LAROCHELLEA *et al.*, 2012) e ainda vêm apresentando importantes

resultados no tratamento do Mal de Parkinson (DOE *et al.*, 2006). A nitisona possui um análogo estrutural chamado mesotriona (Figura 3), que é comercializado como o herbicida MIKADO[®] (HÜTER, 2011). Observando as estruturas da nitisona (Figura 1, p.73) e a mesotriona (Figura 3) é possível perceber que elas diferem somente na substituição do grupo **-CF₃** por um grupo **-SO₂CH₃**, respectivamente.

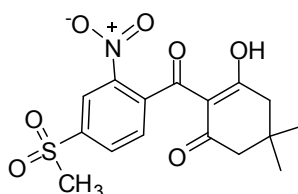


Figura 3 – Estrutura da mesotriona, herbicida comercializado com o nome de MIKADO[®].

A Figura 4 contém outros exemplos de compostos estruturalmente semelhantes que são empregados como fármacos e agroquímicos.

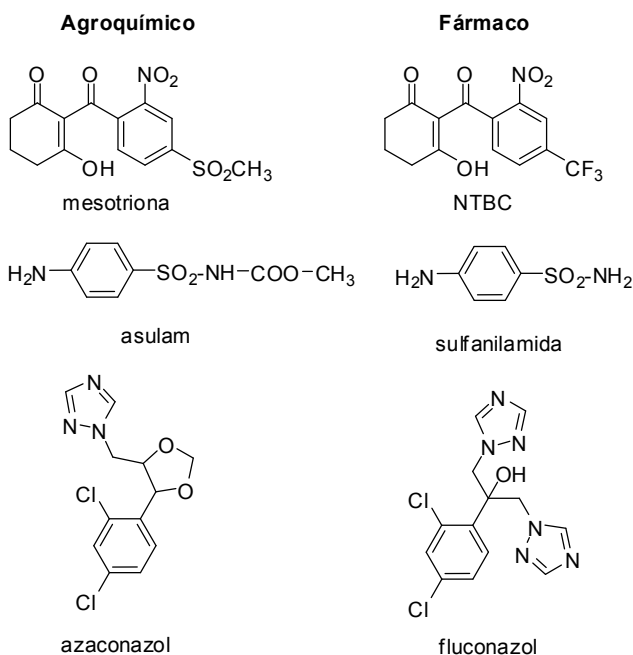


Figura 4 - Exemplos de semelhanças na estrutura química de fármacos e agroquímicos.

Considerando as similaridades existentes entre a descoberta e desenvolvimento de fármacos e agroquímicos, pode-se dizer que a pesquisa voltada para a busca de novos agroquímicos oferece também a oportunidade para a descoberta de novos fármacos que podem ser úteis no tratamento de várias patologias como, por exemplo, o câncer, uma das doenças que mais atinge a população mundial.

De acordo com projeções da Organização Mundial da Saúde (OMS), no período compreendido entre 2005 e 2015, 84 milhões de pessoas deverão morrer em decorrência desta doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007). No Brasil, estimativas para o ano de 2012 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011) apontavam para o surgimento de 518.510 novos casos de câncer, sendo mais comum os casos de câncer de pele não-melanoma, próstata e mama. Dentre os tratamentos disponíveis para essa enfermidade, os mais comuns são aqueles que aliam sessões de radioterapia, cirurgias (quando possível) e quimioterapia.

A quimioterapia é um tratamento que se baseia em administração de diferentes fármacos no indivíduo enfermo, com a finalidade de interromper o crescimento das células tumorais ou células doentes (causadoras do câncer), que são cientificamente chamadas de células neoplásicas. Esses fármacos precisam apresentar certa especificidade no modo de ação, ou seja, é necessário que eles preservem as células normais e matem as células neoplásicas. Dentre exemplos de quimioterápicos atualmente em uso mencionam-se a cisplatina (comercialmente Platinil[®] ou Platinol[®]) e a mitoxantrona (Novantrone[®]).

As isobenzofuran-(3*H*)-onas são estruturas que apresentam uma gama de atividades biológicas, em particular a atividade citotóxica de isobenzofuranonas C-3 funcionalizadas (TEIXEIRA *et al.*, 2013; LOGRADO *et al.*, 2013). Dessa forma, descrevem-se neste capítulo os resultados obtidos da avaliação do efeito citotóxico das 3-(2-*aril*-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3*H*)-onas **1-19** (Capítulo 2, Figura 1, p.19) sobre a linhagem de leucemia mielóide aguda (HL60) e uma linhagem de leucemia mielóide crônica (K562).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Avaliação da atividade citotóxica

As linhagens de leucemia (K562 e HL60) foram mantidas em meio RPMI 1640 (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) suplementadas com 10% de soro fetal bovino (SFB) (LGC, Campinas, Brasil), penicilina 100 U/mL e estreptomicina 100 $\mu\text{g/mL}$. Todas as linhagens celulares foram mantidas a 37 °C sob tensão de 5% de CO_2 . O subcultivo foi realizado semanalmente para a manutenção dos estoques celulares.

Para os ensaios de viabilidade celular, as células HL60 e K562 em suspensão, foram removidas da garrafa de cultivo, centrifugadas e suspensas em meio RPMI; pH 7,4; acrescido de 10% de SFB. Em seguida, as células foram contadas em câmara de Neubauer e semeadas em placas de 96 poços (TPP, Trasadingen, Suíça) na concentração de 2×10^4 células/100 μL /poço em meio RPMI com adição de 10% de SFB, por 24 horas. Os compostos **1-19** (Capítulo 2, Figura 1, p.19) foram adicionados às placas de 96 poços, em diferentes concentrações (200; 100; 50; 10; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e incubados a 37 °C sob tensão de 5% de CO_2 por um período de 48 horas. Ao final do período de incubação, foram adicionados 10 μL de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (5 mg/mL) em cada poço, e as células incubadas por 2 horas a 37 °C. Subsequentemente, o meio foi removido e adicionado 100 μL de DMSO (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) para solubilização dos cristais de formazan e incubado por 20 minutos a 37 °C.

Finalmente, a absorbância foi medida em comprimento de onda de 540 nm no espectrofotômetro UV-Visível (Thermo, Multiscan GO). Cada

análise foi realizada em quadruplicata e os resultados foram normalizados considerando as culturas tratadas sem adição dos compostos (0,4 % de DMSO). Foram determinadas as médias das repetições e determinados os desvios-padrão. Os valores de IC₅₀ foram calculados usando o software GraphPad Prism versão 5.0.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As atividades citotóxicas das isobenzofuran-1(3*H*)-onas **1-19** foram avaliadas segundo o método MTT. O ensaio consiste em uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal amarelo brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) para o produto de cor azul formazan, pela atividade da enzima succinil desidrogenase presente na mitocôndria e no citoplasma da célula viável, permitindo dessa maneira quantificar a porcentagem de células metabolicamente ativas (MOSMANN, 1983; BERNAS E DOBRUCKI, 2002).

As linhagens celulares K562 e HL60 foram tratadas com diferentes concentrações dos compostos **1-19** por 48 horas, e o IC₅₀ foi determinado, conforme apresentado na Tabela 1 e nas Figura 5 e 6.

Tabela 1 – Valores de IC₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) dos compostos **1-19** sobre a viabilidade de células HL60 e K562

Composto	K562 - IC₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	HL60 - IC₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
1	93,03	15,69
2	31,78	45,66
3	55,3	28,22
4	>200	Não Inibe
5	100,7	105,9
6	48,04	49,68
7	Não inibe	>200
8	57,38	11,96
9	24,33	21,27
10	48,23	5,01
11	23,43	15,95
12	32,87	15,05
13	30,88	12,13
14	46,25	20,14
15	12,34	62,71
16	87,89	57,95
17	38,21	40,21
18	8,828	13,47
19	Não inibe	Não Inibe

^a IC₅₀: concentração dos compostos requerida para inibir 50% da viabilidade celular, determinada após 48h de tratamento contínuo.

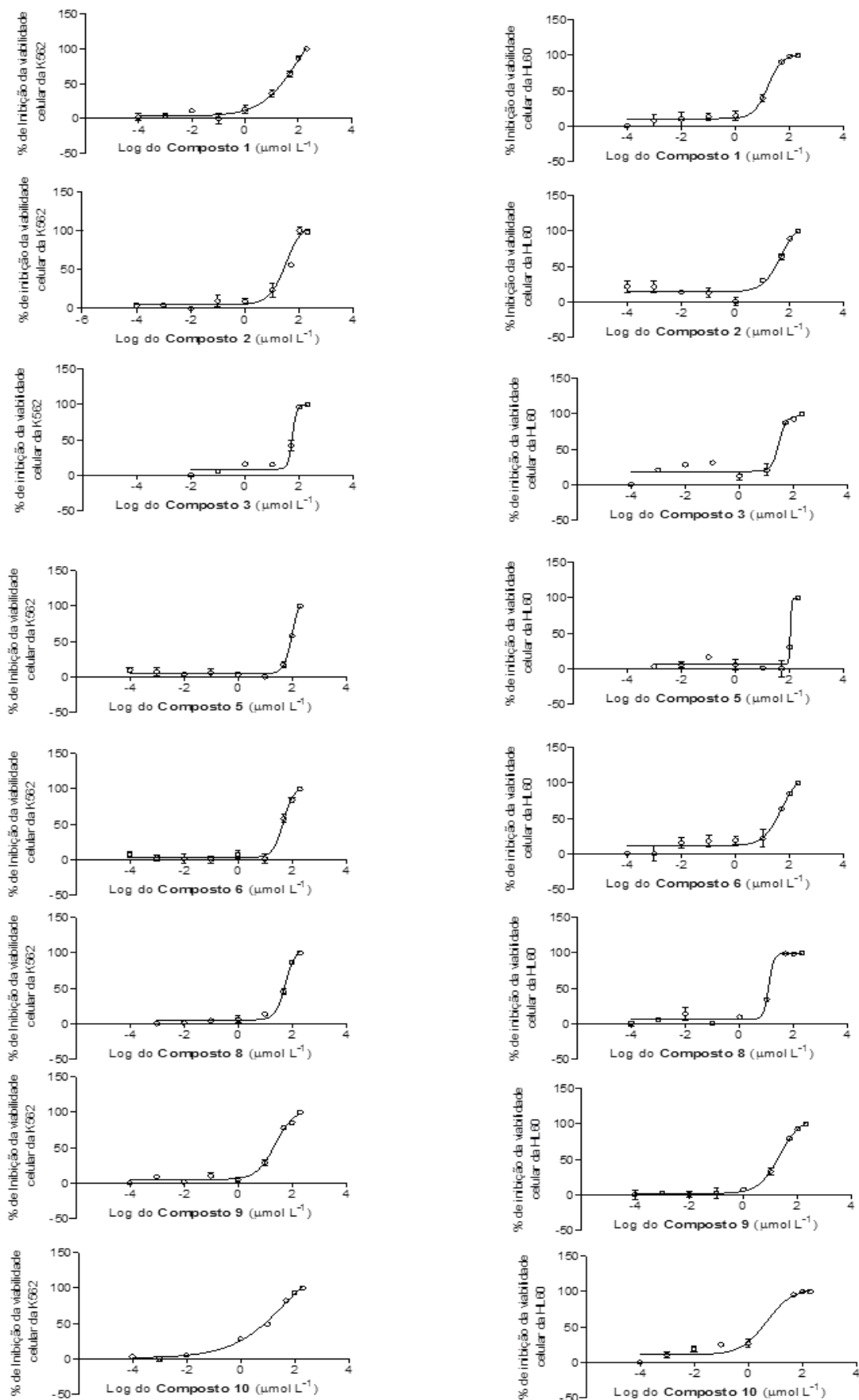


Figura 5 - Perfil dose-resposta do tratamento das linhagens K562 e na HL60 com os **compostos 1-10**. Todos os ensaios foram realizados em quadruplicata ou triplicata e os resultados foram normalizados considerando as culturas tratadas somente com o veículo (0,4% de DMSO).

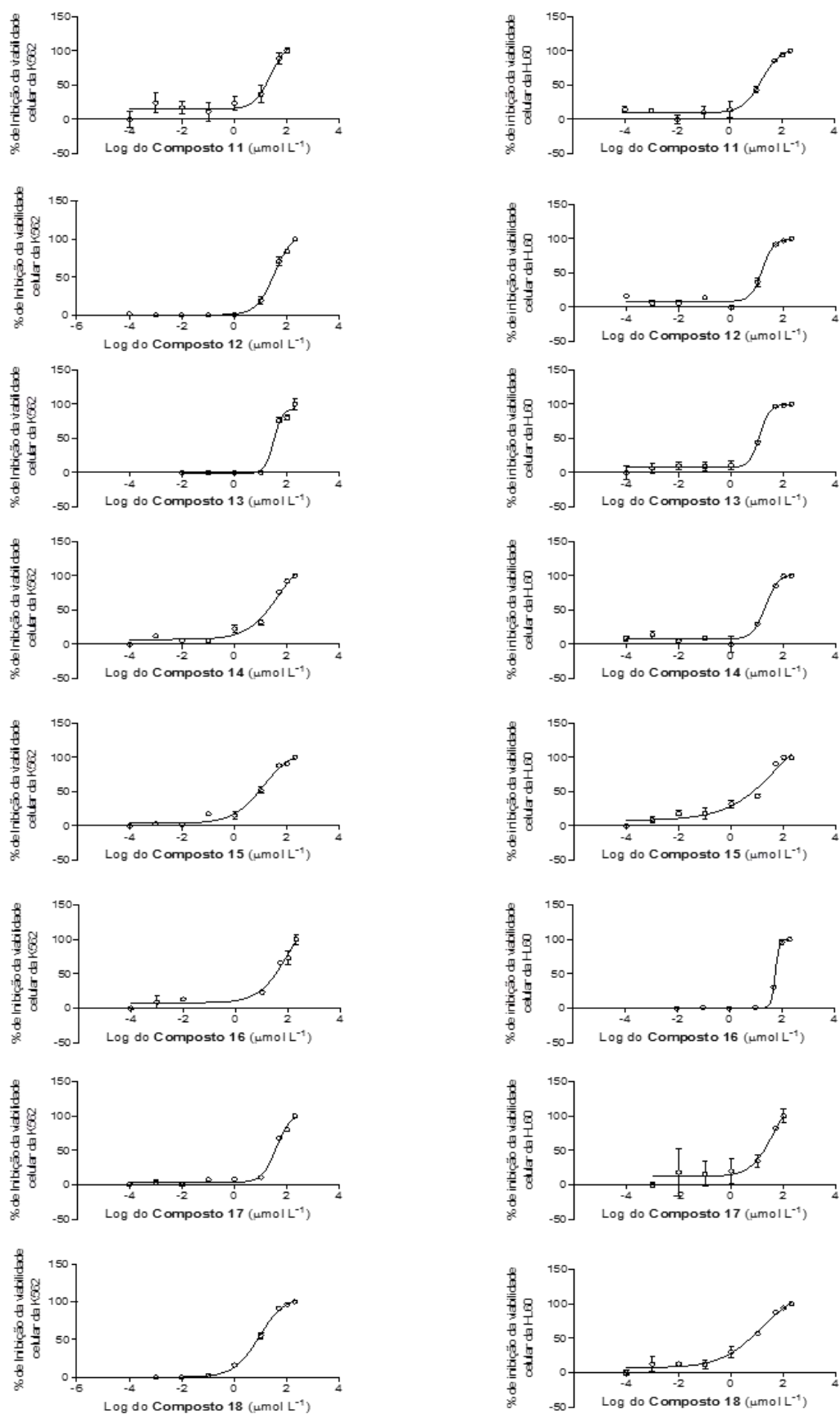


Figura 6 - Perfil dose-resposta do tratamento das linhagens K562 e na HL60 com os **compostos 11-18**. Todos os ensaios foram realizados em quadruplicata ou triplicata e os resultados foram normalizados considerando as culturas tratadas somente com o veículo (0,4% de DMSO).

Conforme apresentado na Tabela 1 (p.79), três compostos (**4**, **7** e **19**, estruturas reproduzidas na Figura 7) não apresentaram efeito citotóxico contra as linhagens de células avaliadas.

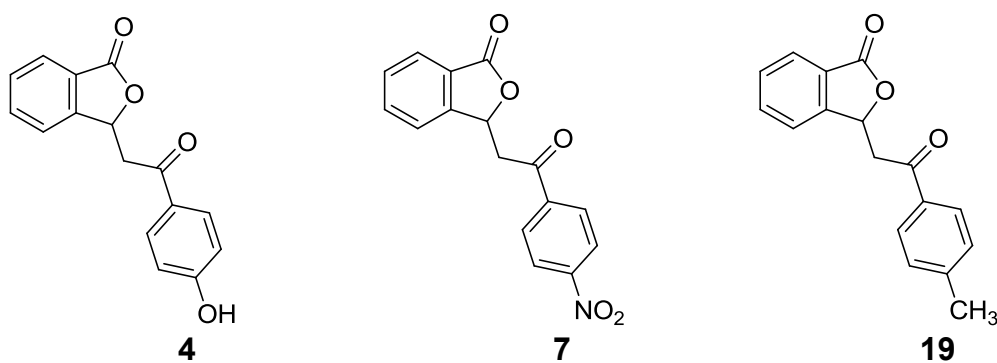


Figura 7 – Estruturas dos compostos **4**, **7**, **19**.

Em comum, estes compostos apresentam os grupos hidroxila (composto **4**), nitro (composto **7**) e metila (composto **19**) em posição *para* no anel de benzeno do grupo 2-*aryl*-2-oxoetila.

Como uma tendência geral, os compostos **1-19** apresentaram maior atividade contra a linhagem HL-60. Além disso, percebe-se que para um mesmo substituinte presente no anel aromático do grupo 2-*aryl*-2-oxo etila a atividade depende da posição do substituinte. Um bom exemplo que corrobora esse fato são os derivados metoxilados **14**, **15** e **16**. Entretanto, a partir da inspeção dos resultados apresentando na Tabela 1 não é possível obter uma correlação geral (por exemplo, compostos com substituintes em posição *orto* são mais ativos) entre padrão de substituição do anel de benzeno e atividade biológica.

Dentre os compostos avaliados, aqueles que apresentaram os melhores valores de citotoxicidade contra as linhagens avaliadas foram a substância **10** ($IC_{50}=5,01\mu\text{mol.L}^{-1}$ contra a linhagem HL-60) e o composto **18**

($IC_{50}=8.828 \mu\text{mol.L}^{-1}$ contra a linhagem K562). As estruturas desses compostos são reproduzidas na Figura 8.

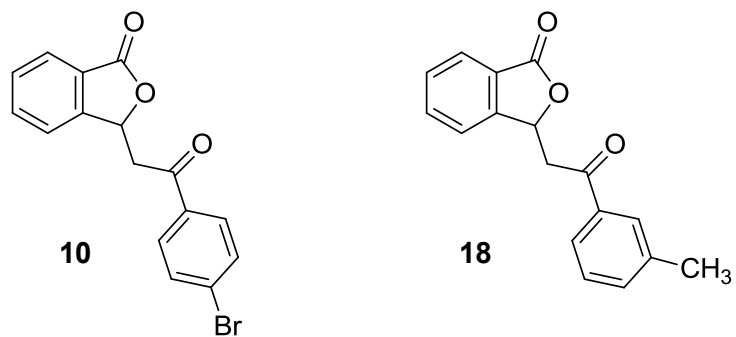


Figura 8 - Estruturas dos compostos **10** e **18**.

4.4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com respeito à citotoxicidade das 3-(2-aril-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3*H*)-onas foram mais promissores do que aqueles obtidos com respeito aos ensaios de avaliação de fitotoxicidade. Dentre os dezenove compostos avaliados do ponto de vista de citotoxicidade, apenas três não apresentaram atividade contra as linhagens de células HL60 e K562.

Vários compostos apresentaram atividades citotóxicas pronunciadas, com destaque para os compostos **10** e **18** (Figura 8, p.83) que foram os mais ativos. Como perspectivas futuras, sugere-se a realização de um estudo de correlação estrutura química-atividade biológica. Em estudos desta natureza, diferentes parâmetros físico-químicos (tais como lipofilicidade) e até mesmo parâmetros quanto-mecânicos, tais como diferença de energia entre HOMO (em inglês, Highest Occupied Molecular Orbital) e LUMO (em inglês, Lowest Unoccupied Molecular Orbital) podem ser determinadas, para cada um dos compostos avaliados. Em seguida, tenta-se encontrar correlações entre os parâmetros determinados e a atividade biológica observada. Um estudo dessa natureza seria importante uma vez que permitiria um planejamento racional de novos compostos com melhoria da atividade biológica. Além disso, pode-se também recorrer à investigação dos impactos na atividade de diferentes formulações dos compostos avaliados. Importante também seria avaliar a citotoxicidade dos compostos em células normais sendo possível, então, determinar a seletividade. Por fim, sugere-se ainda a realização de estudos *in vivo* das 3-(2-aril-2-oxoetil)-isobenzofuran-1(3*H*)-onas.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERNAS, T.; DOBRUCKI, J. Mitochondrial and nonmitochondrial reduction of MTT: interaction of MTT with TMRE, JC-1, and NAO mitochondrial fluorescent probes. *Cytometry*, v.47, p. 236-242.
- DELANEY, J.; CLARKE, E.; HUGHES, D.; RICE, M. Modern agrochemical research: a missed opportunity for drug discovery? *Drug Discovery Today*, v.11, p. 839-845, 2006.
- DOE, J. E.; STURGESS, N. C.; TRAVIS, K. Z. Use of 2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzyl)-1,3-cyclohexanedione in the treatment of Parkinson's disease. Syngenta AG, WO2006090177, 2006.
- DUKE, S. O. Herbicide and pharmaceutical relationships. *Weed Science*, v. 58, p. 334-339, 2010.
- DUKE, S. O.; OLIVA, A. *Mode of action of phytotoxic terpenoids*. In: MACÍAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G.; CUTLER, H. G. (Ed.). *Allelopathy – Chemistry and mode of action of allelochemicals*. Boca Raton: CRC Press, 2004. p. 201-216.
- EUCALIPTOL. Bula disponível em: <http://www.bulas.med.br/bula/5998/eucaliptol.htm>. Acesso em: dezembro de 2013.
- HÜTER, O. F. Use of natural products in the crop protection industry. *Phytochemistry Review*, v. 10, p. 185-194, 2011.
- LAROCHELLEA, J.; ALVAREZB, F.; BUSSIÈRESB, J. F.; CHEVALIERB, I.; DALLAIREB, L.; DUBOISB, J.; FAUCHERB, F.; FENYVESC, D.; GOODYERD, P.; GRENIERE, A.; HOLMEF, E.; LAFRAMBOISEE, R.; LAMBERTB, M.; LINDSTEDTF, S.; MARANDAG, B.; MELANÇOND, S.;

- MEROUANIB, A.; MITCHELLD, J.; PARIZEAULTA, G.; PELLETIERH, L.; PHANB, V.; RINALDOH, P.; SCOTTT, C.R.; SCRIVERD, C.; MITCHELL, G.A. Effect of nitisinone (NTBC) treatment on the clinical course of hepatorenal tyrosinemia in Québec. *Molecular Genetics and Metabolism*, v. 107, p. 49-54, 2012.
- LOGRADO, L. P. L.; SANTOS, C. O.; ROMEIRO, L. A. S.; COSTA, A. M.; FERREIRA, J. R. O.; CAVALCANTI, B. C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; DOS SANTOS, M. L. Synthesis and cytotoxicity screening of substituted isobenzofuranones designed from anacardic acids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 3480-3489, 2010.
- LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. S. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Review*, v. 23, p. 3-25, 1997.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (2011). Estimativa 2012: Incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>>. Acesso em: dezembro de 2013.
- MOSMANN, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v.65 (1-2), p.55-63, 1983.
- SWANTON, C. J.; MASHHADI, H. R.; SOLOMON, K. R.; AFIFI, M. M.; DUKE, S. O. Similarities between the discovery and regulation of pharmaceuticals and pesticides: in support of a better understanding of

the risks and benefits of each. *Pest Management Science*, v. 67, p. 790-797, 2011.

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

TICE, C. M. Selecting the right compounds for screening: does Lipinski's rule of 5 for pharmaceuticals apply to agrochemicals? *Pest Management Science*, v. 57, p. 3-16, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cancer, 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/cancer/en/>>. Acesso em: dezembro de 2013.

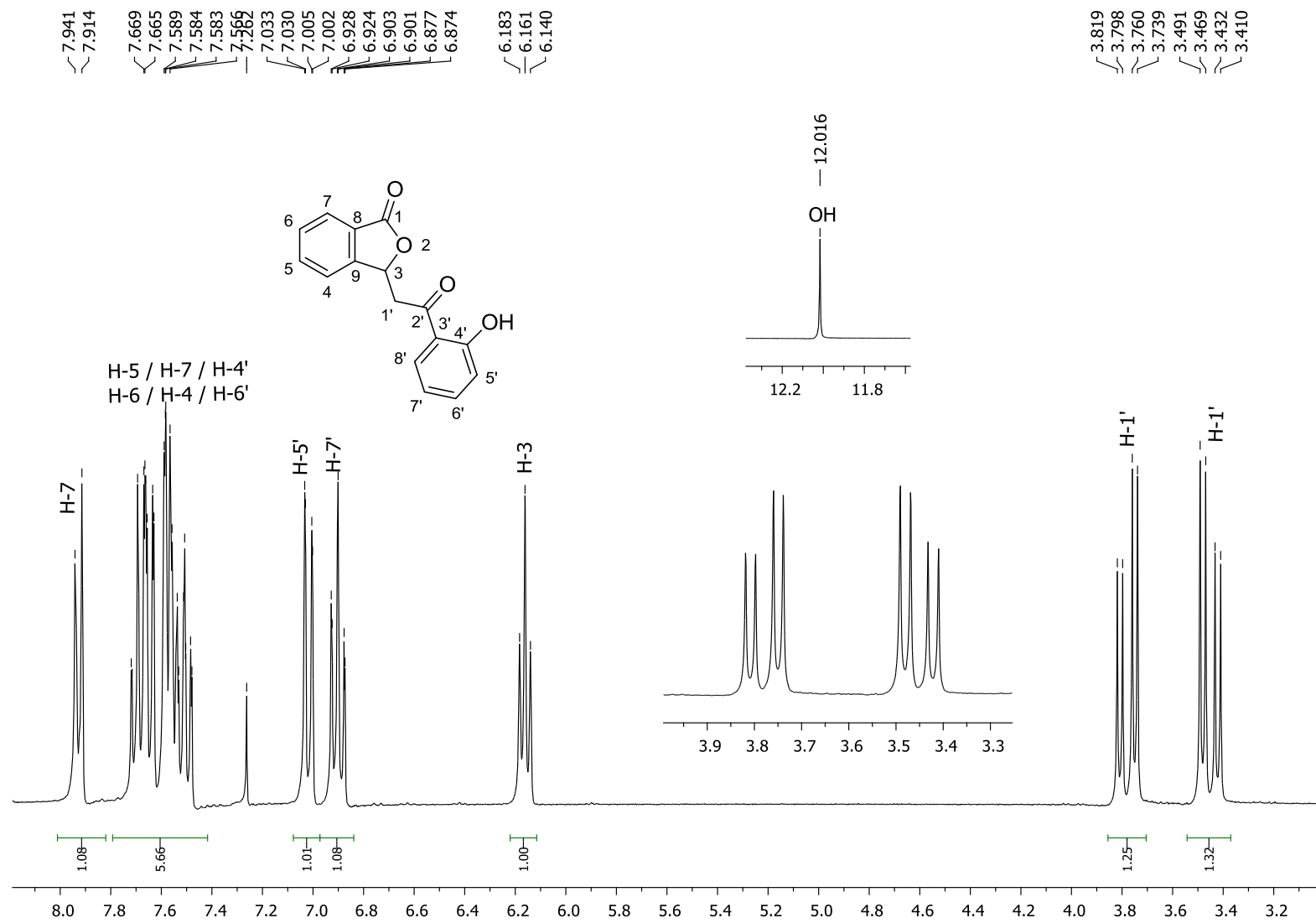


Figura 1 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3Cl) da 3-[2-(2-hidroxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (2)

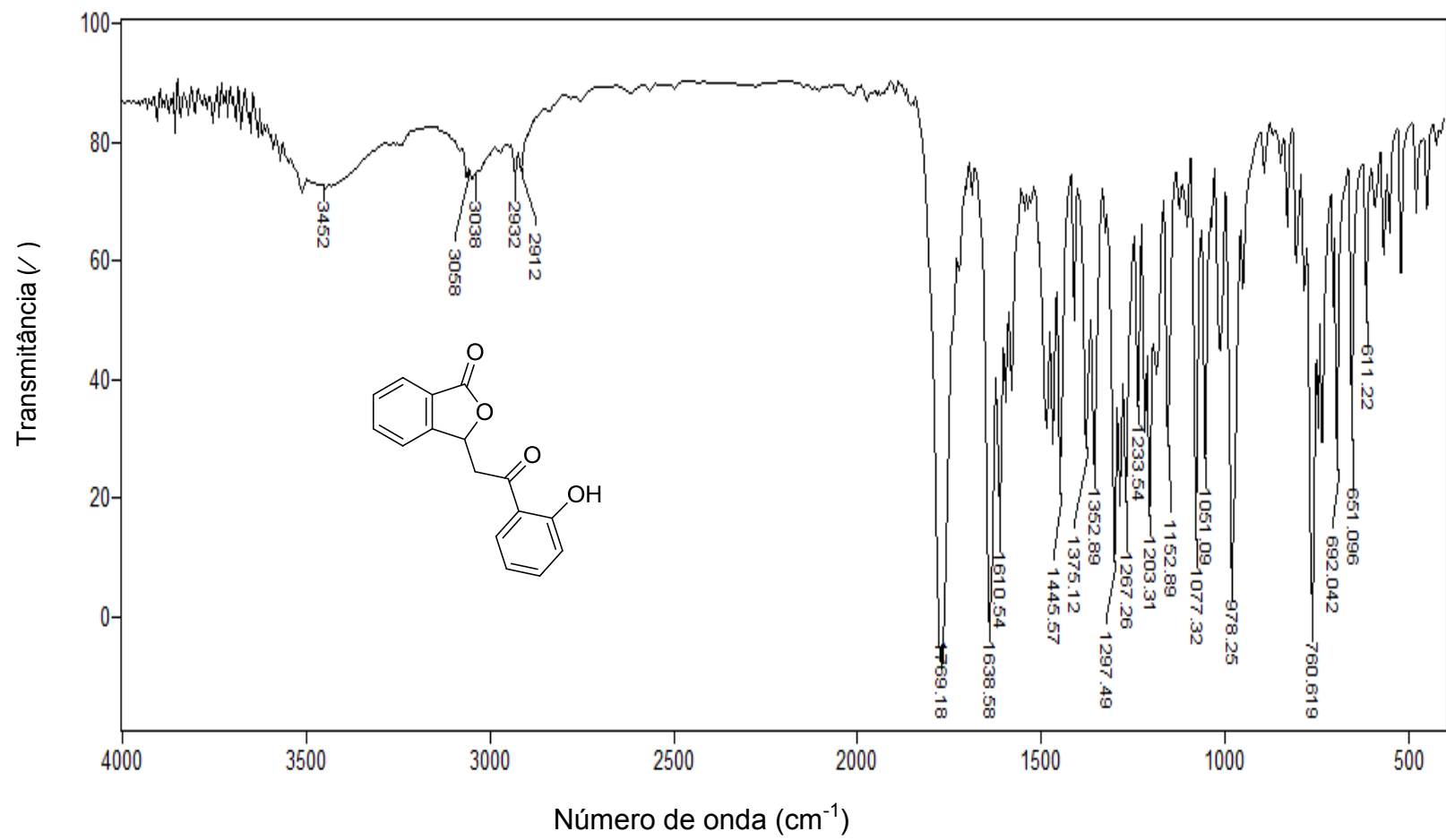


Figura 03 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(2-hidroxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (2)

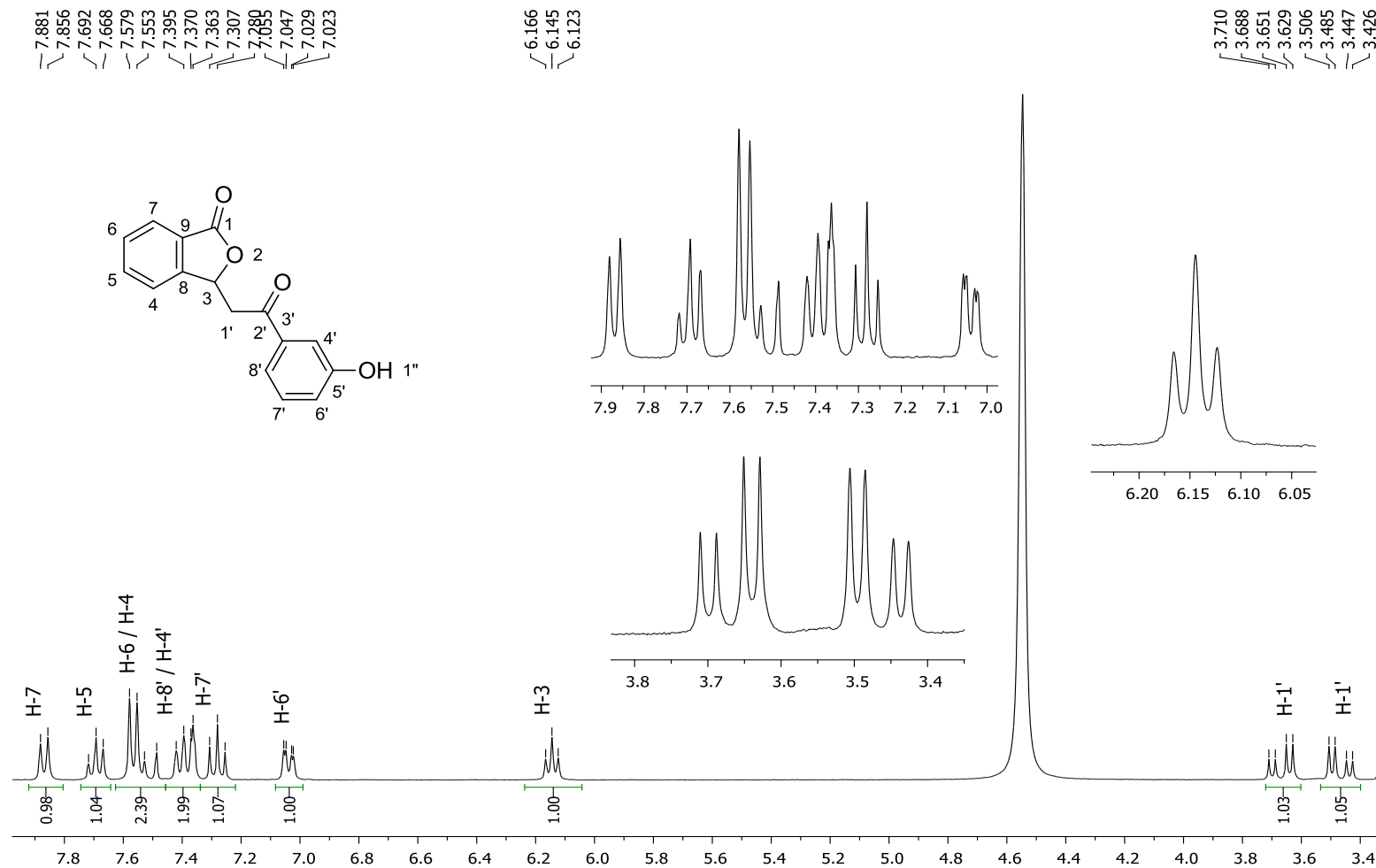


Figura 04 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OI) da 3-[2-(3-hidroxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (3)

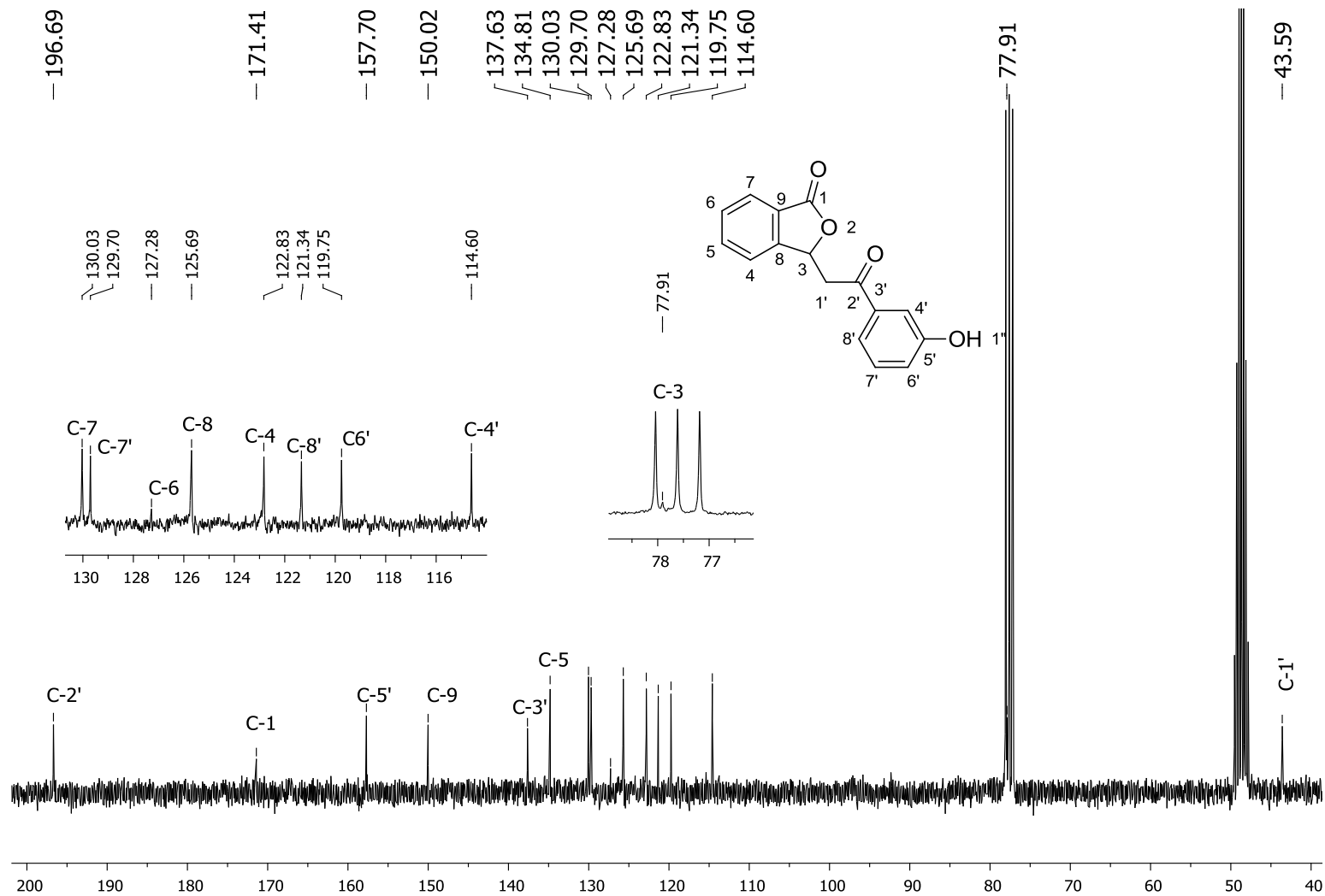


Figura 05 – Espectro de RMN de ^{13}C (CD₃Cl e DMSO-d₆, 75 MHz) da 3-[2-(3-hidroxifenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona

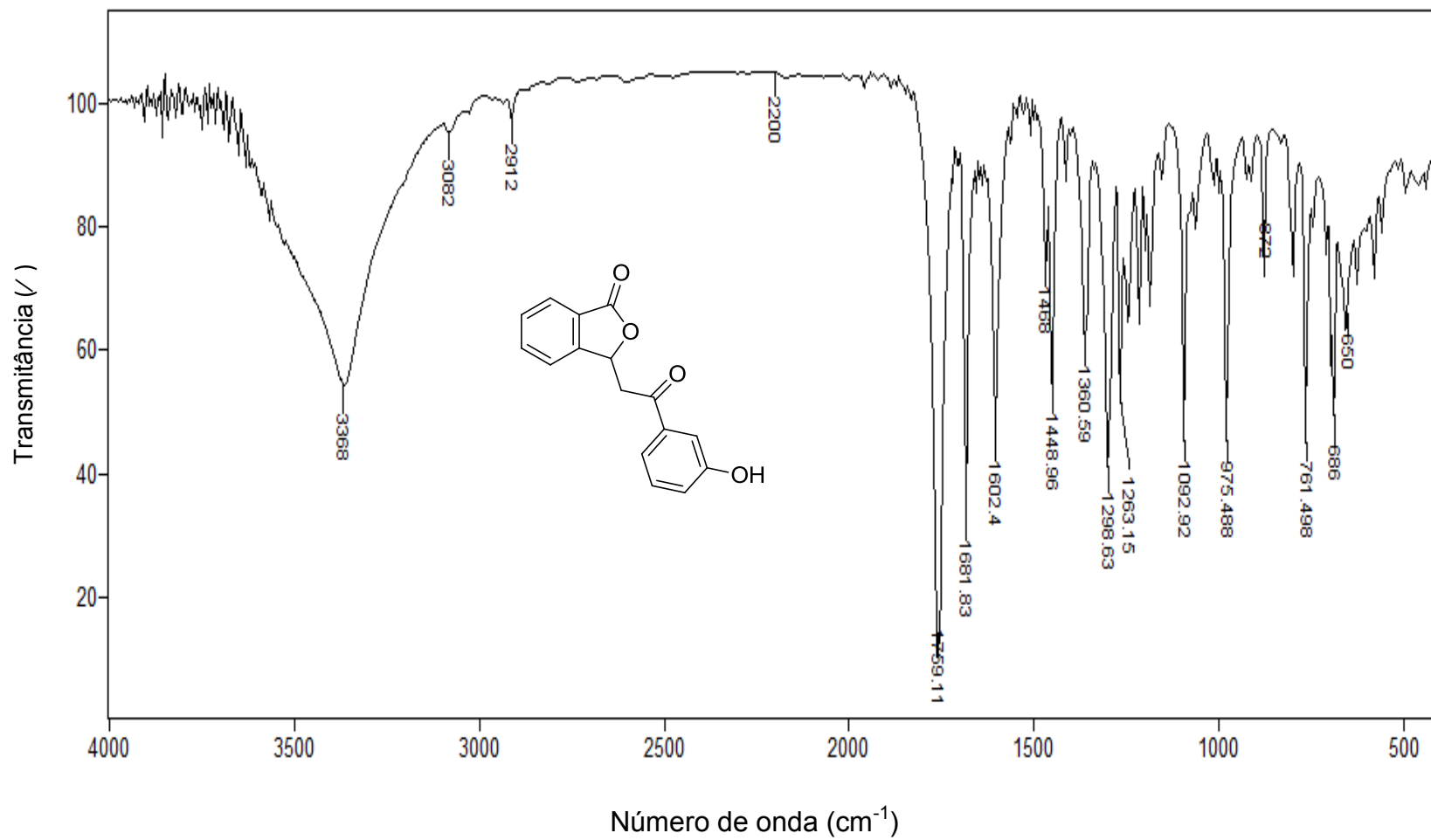


Figura 06 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(3-hidroxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (3)

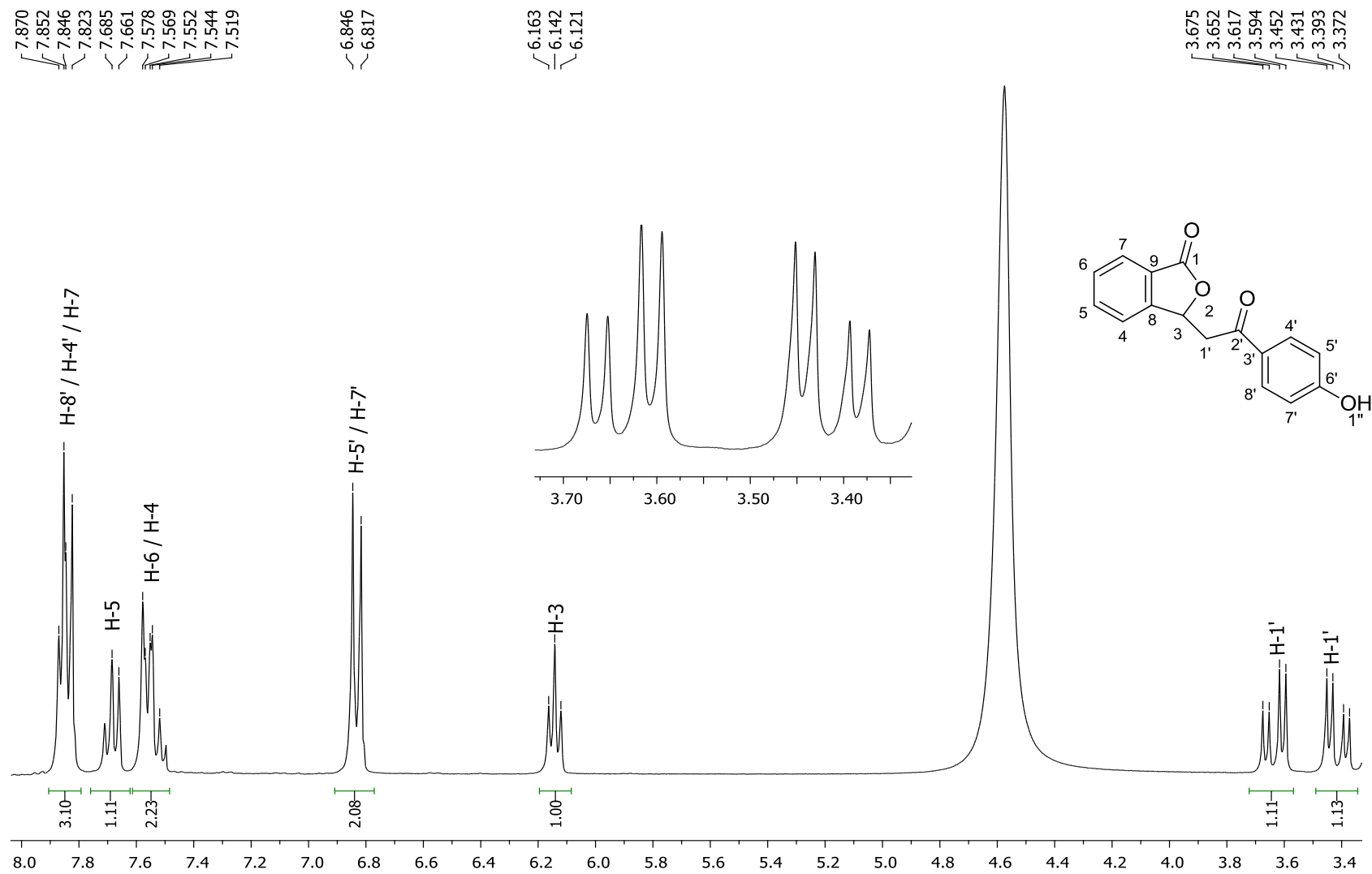


Figura 07 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) da 3-[2-(4-hidroxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (**4**)

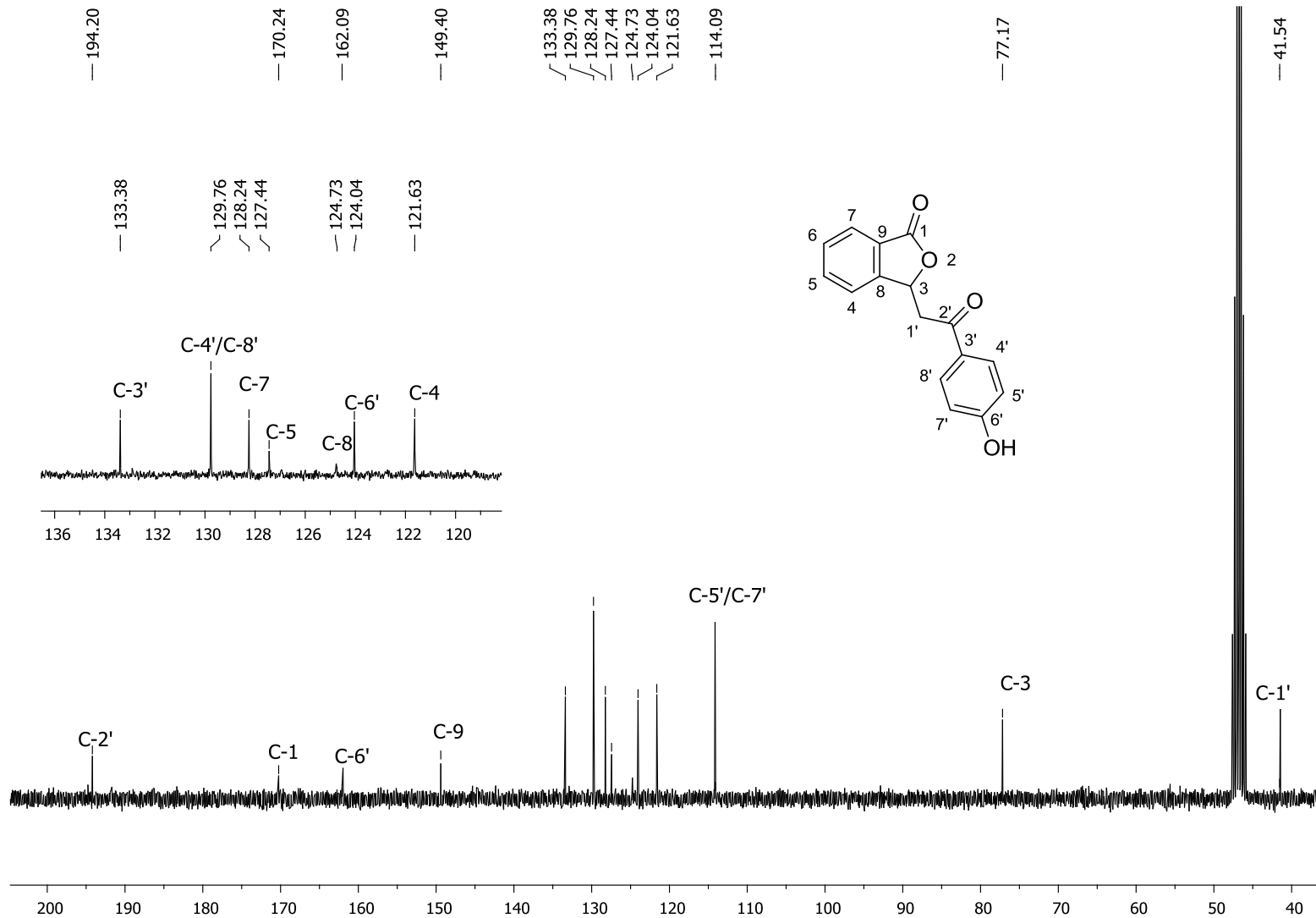


Figura 08 – Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 75 MHz) da 3-[2-(4-hidroxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (**4**)

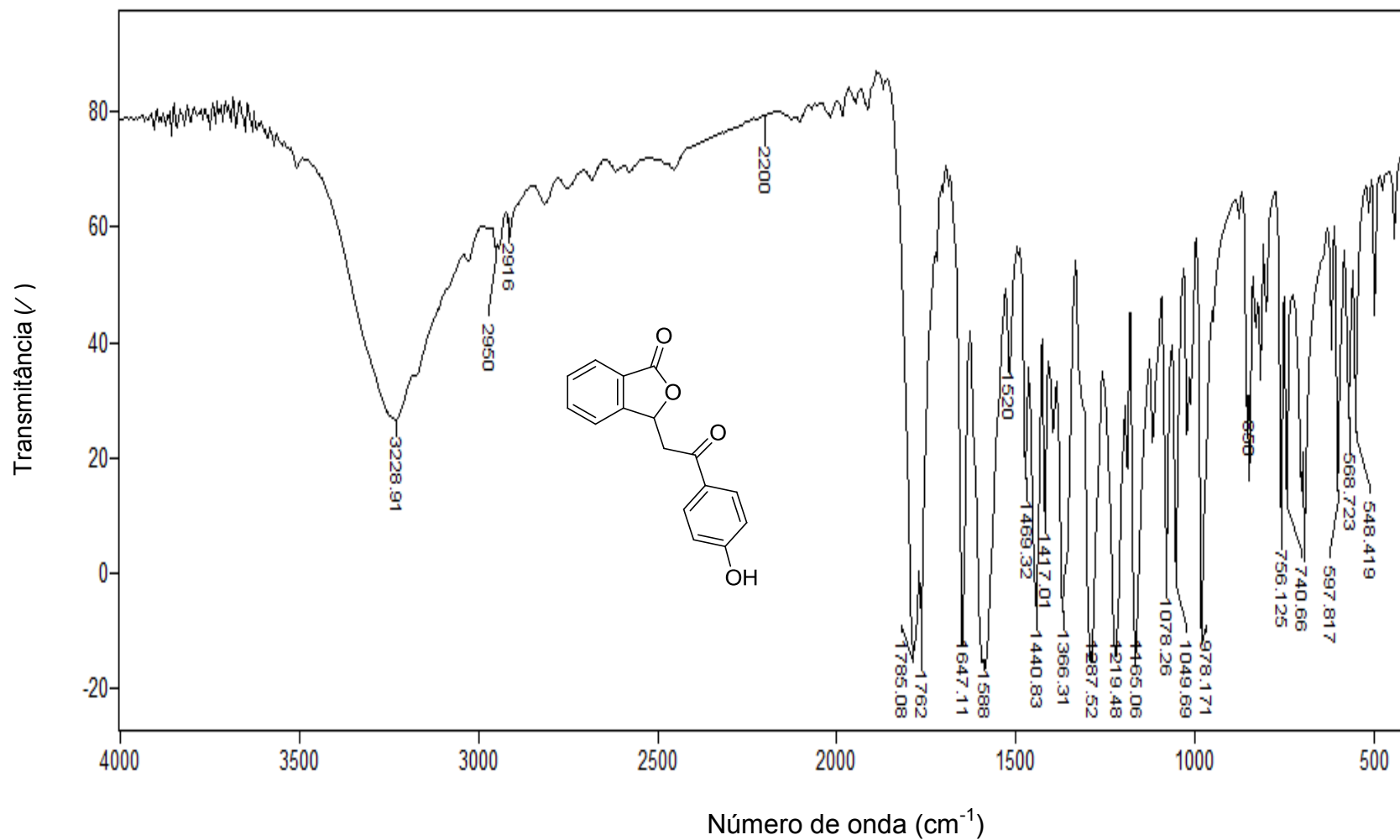


Figura 09 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(4-hidroxifenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (4)

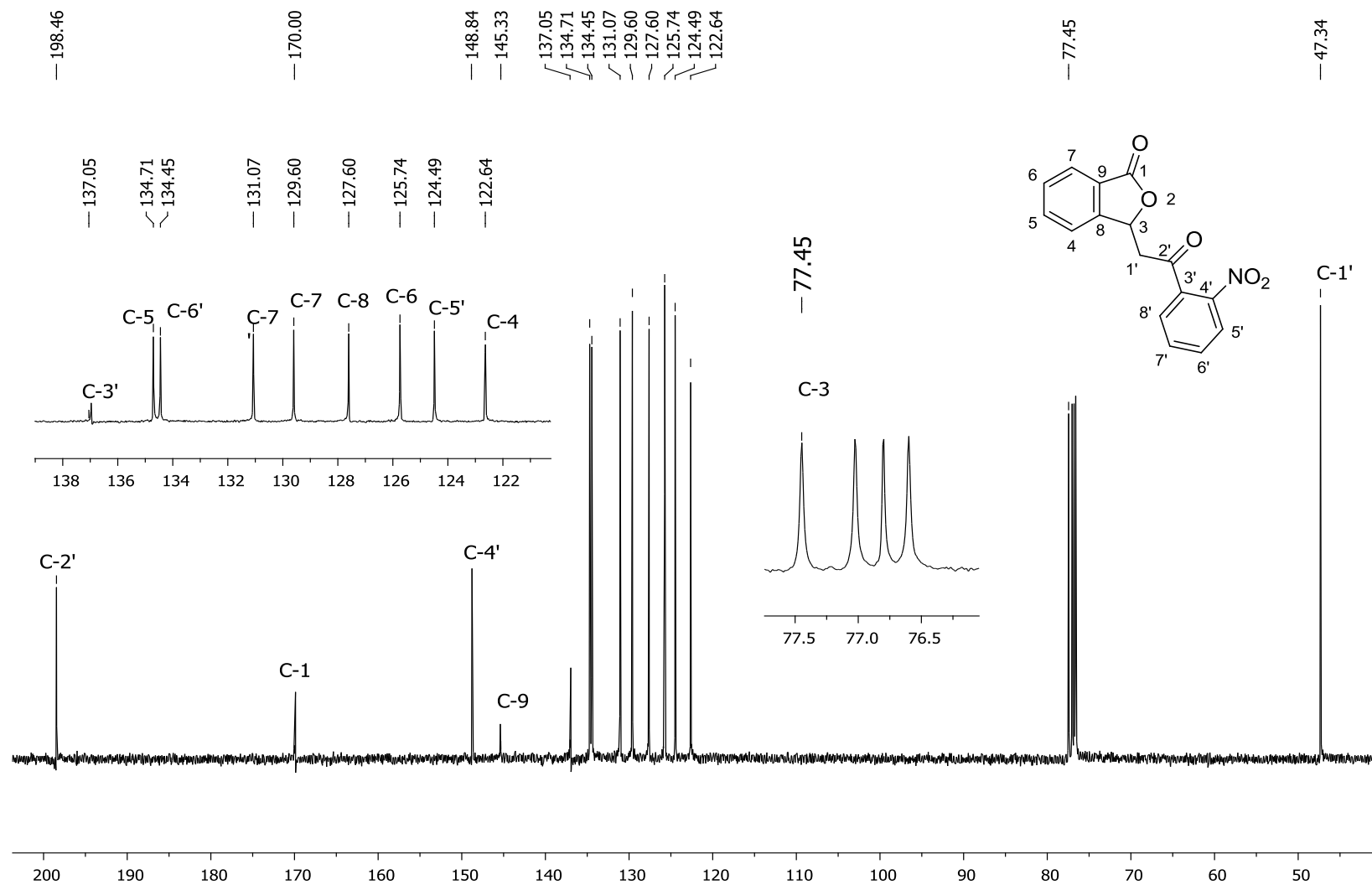


Figura 10 – Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) da 3-[2-(2-nitrofenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (5)

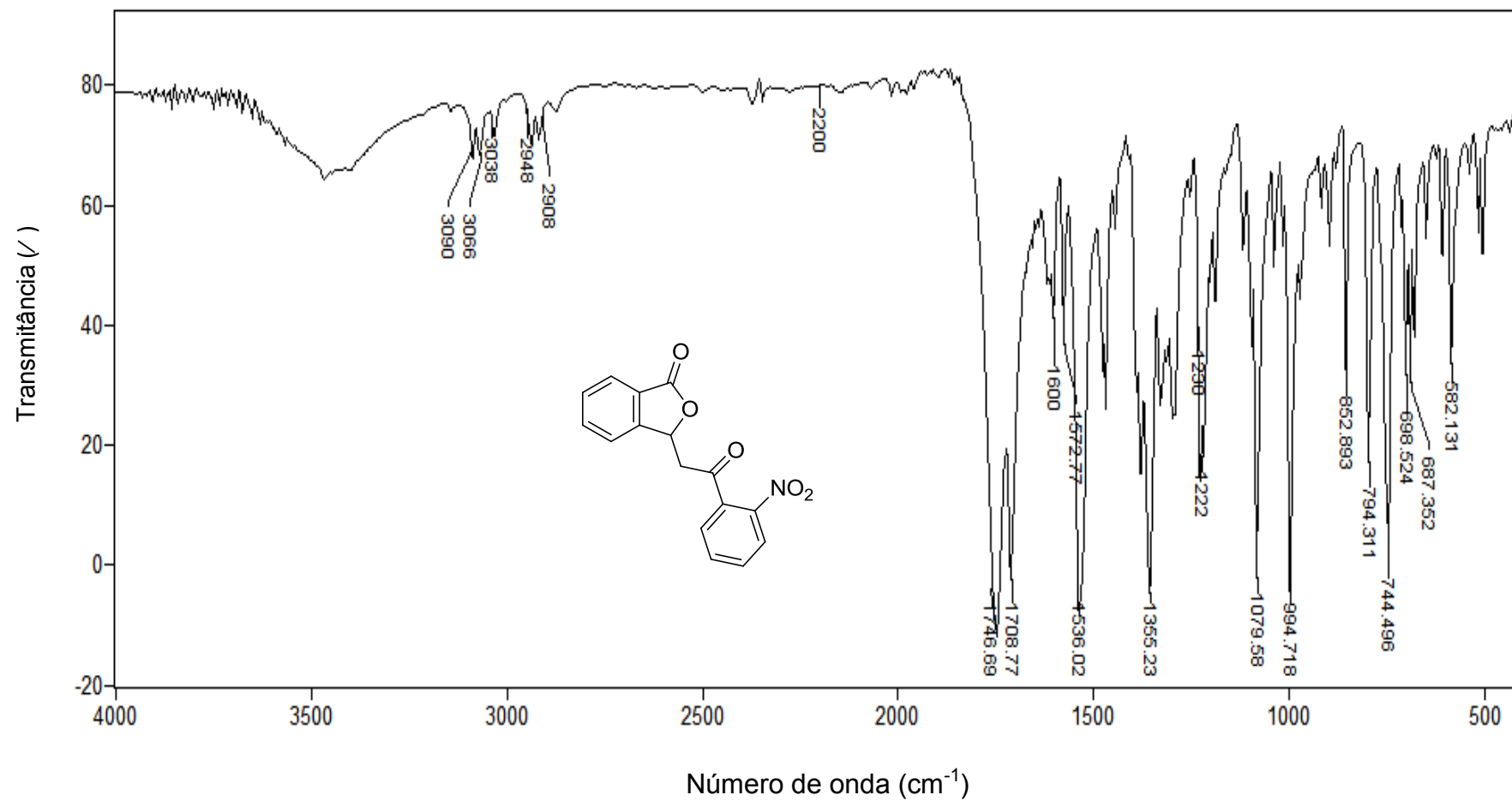


Figura 11 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(2-nitrofenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (**5**)

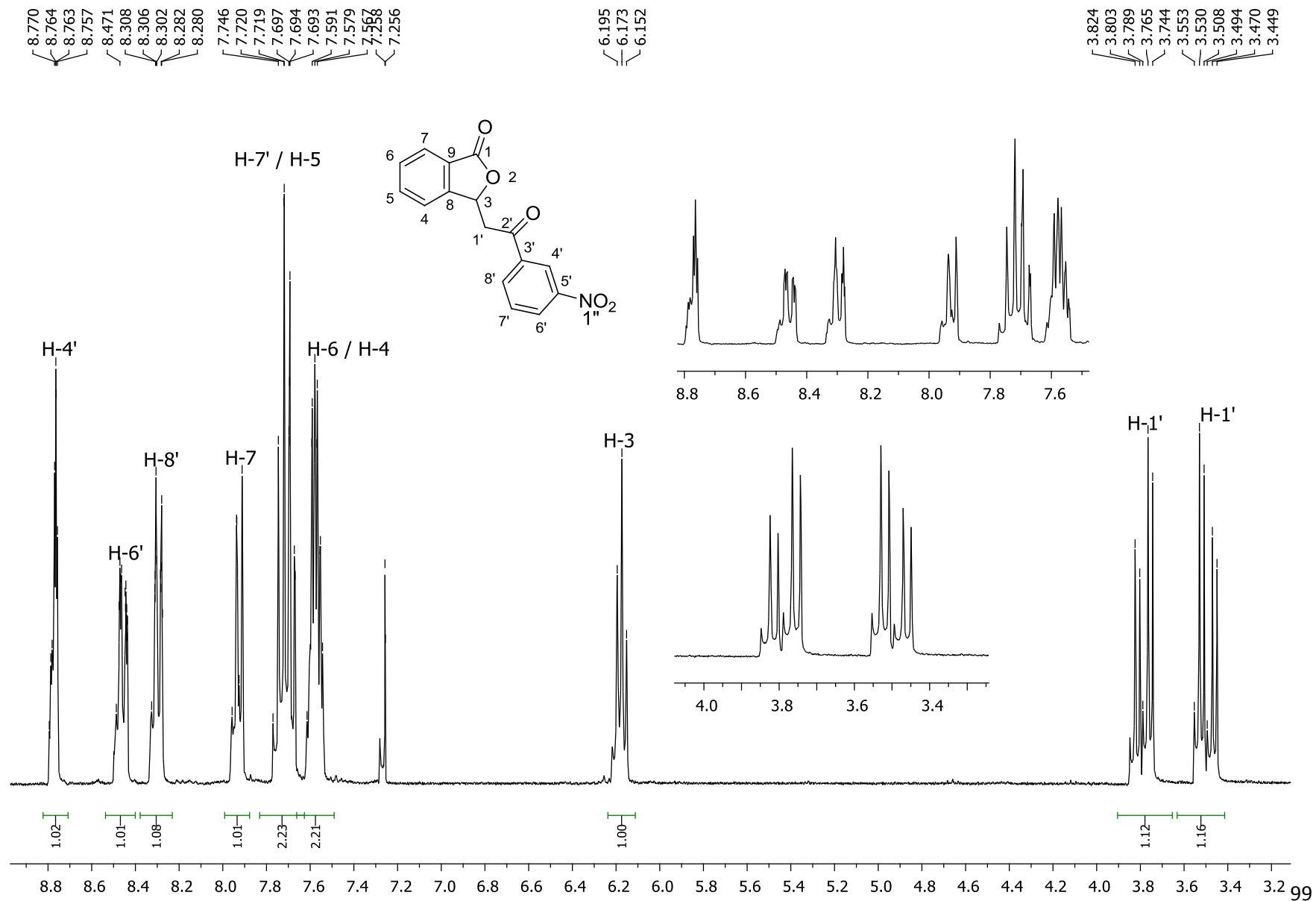


Figura 12 – Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) da 3-[2-(3-nitrofenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (**6**)

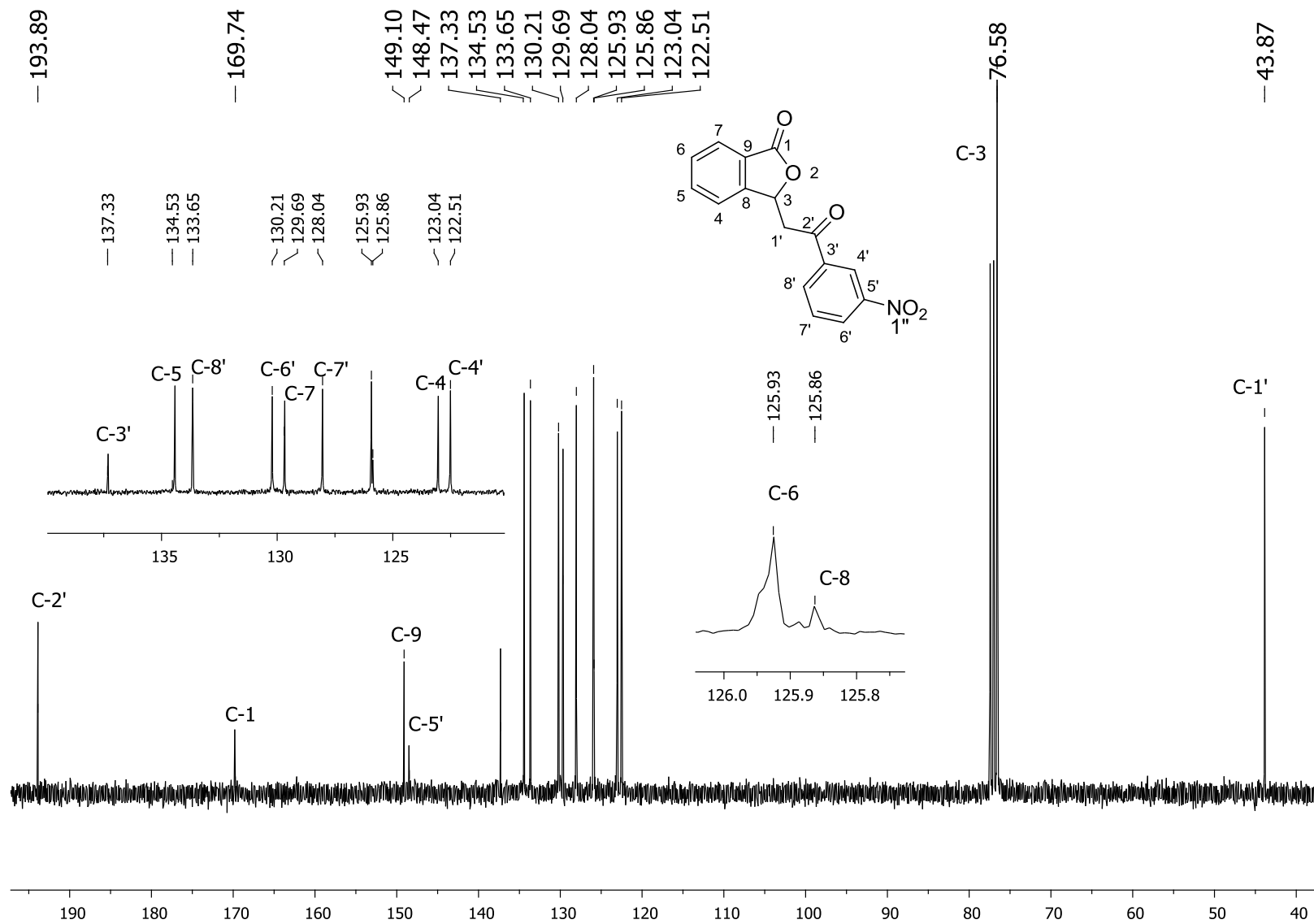


Figura 13 – Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) da 3-[2-(3-nitrofenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (6)

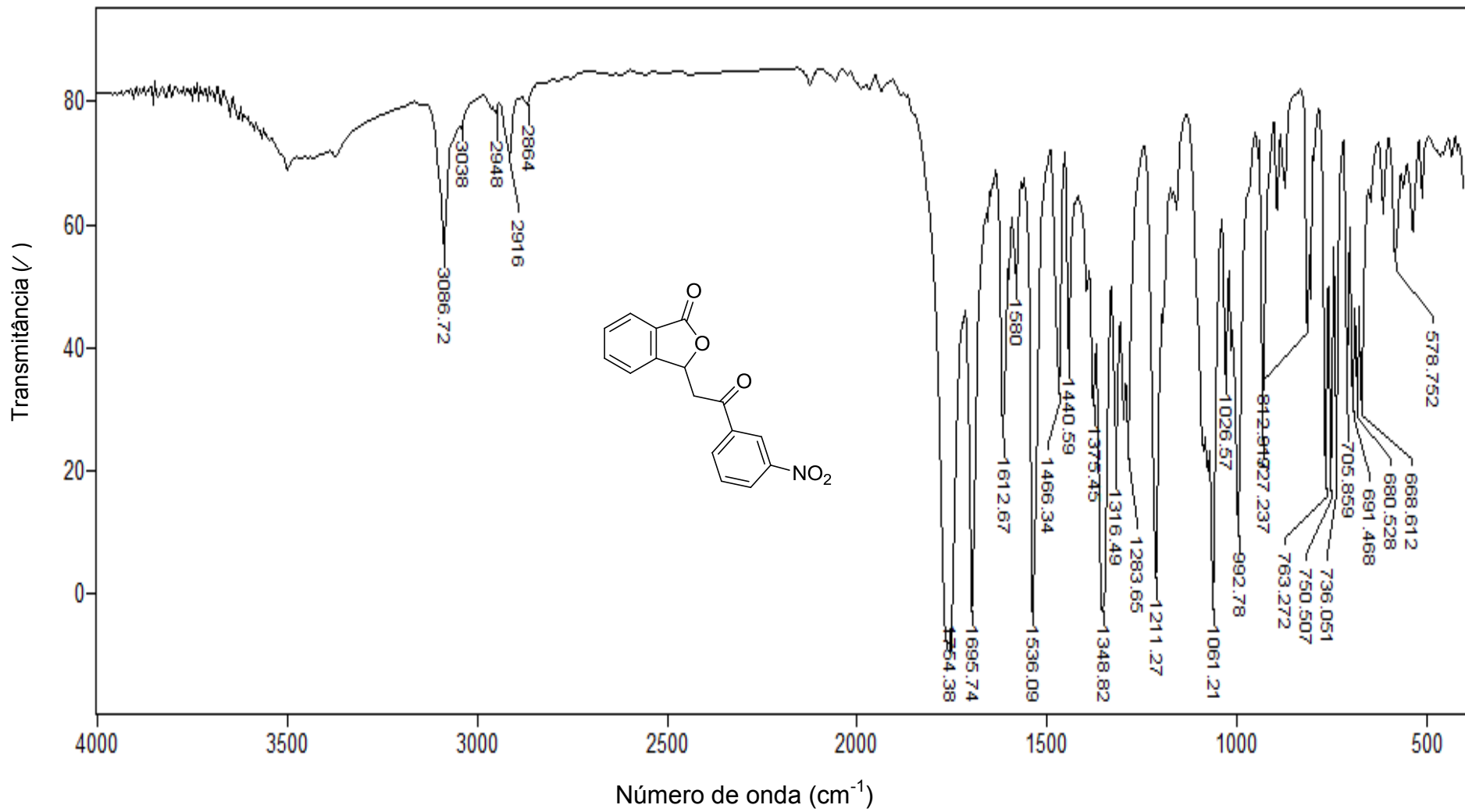


Figura 14 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(3-nitrofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (6)

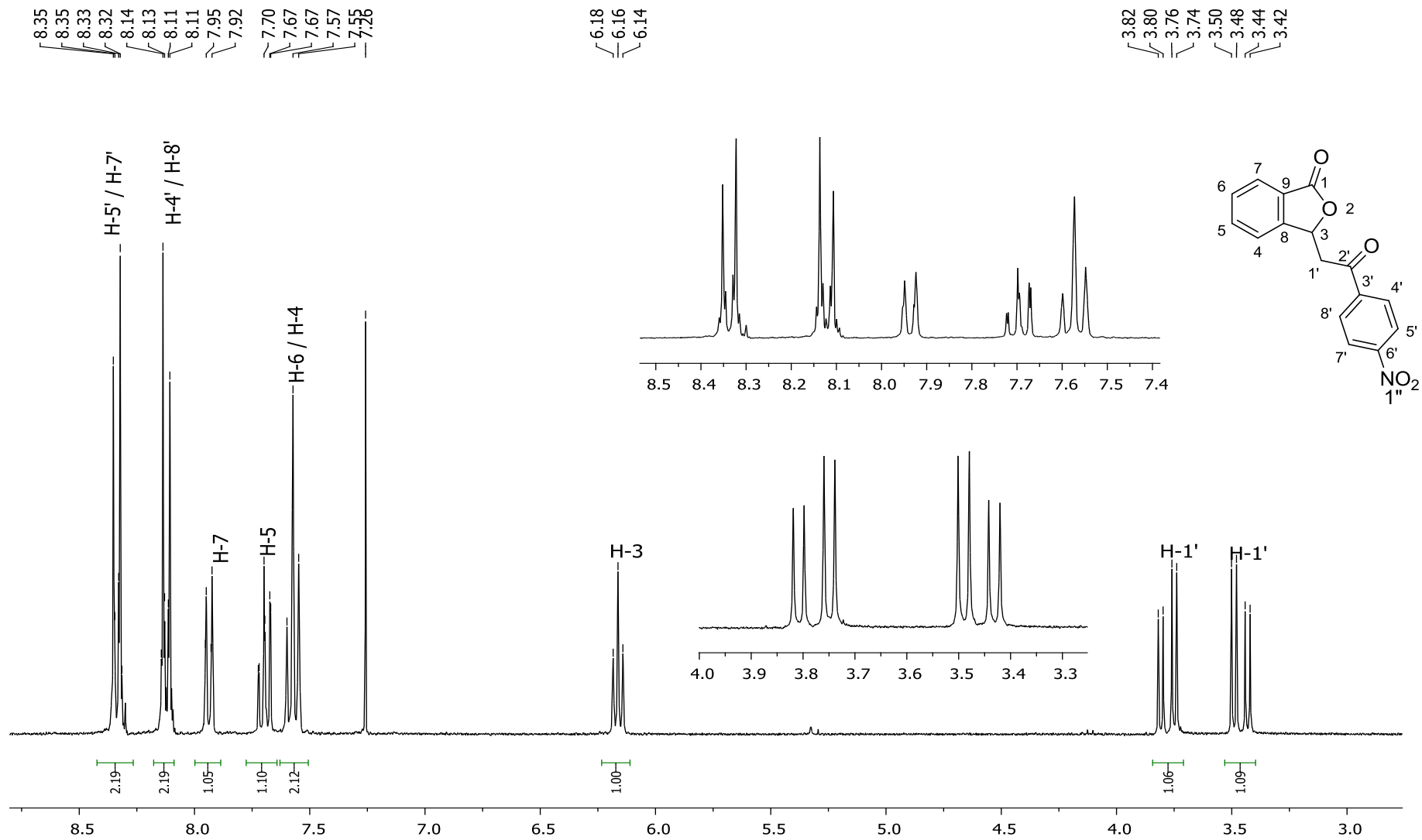


Figura 15 – Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) da 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3*H*)-ona (7)

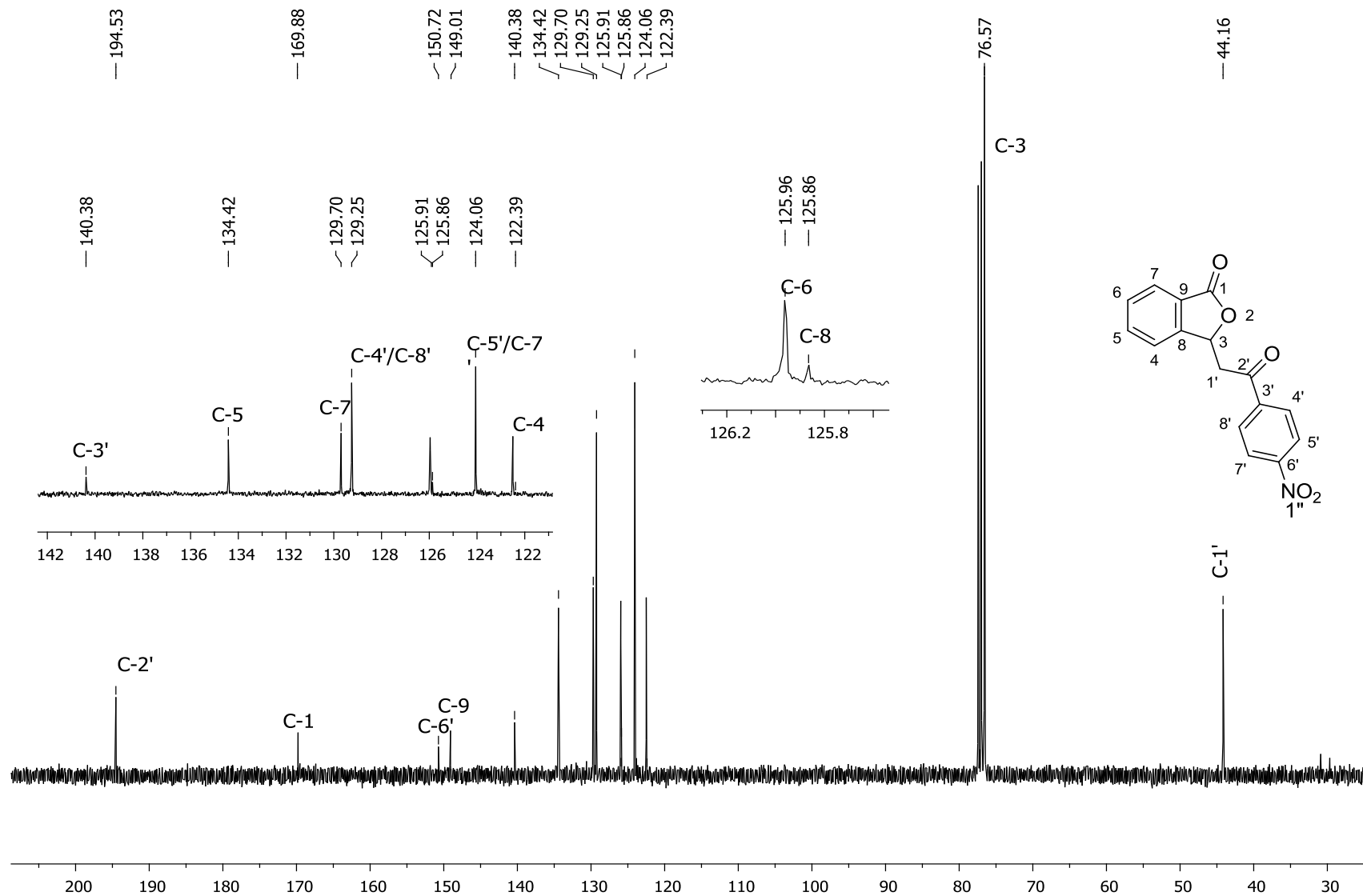


Figura 16 – Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) da 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (7)

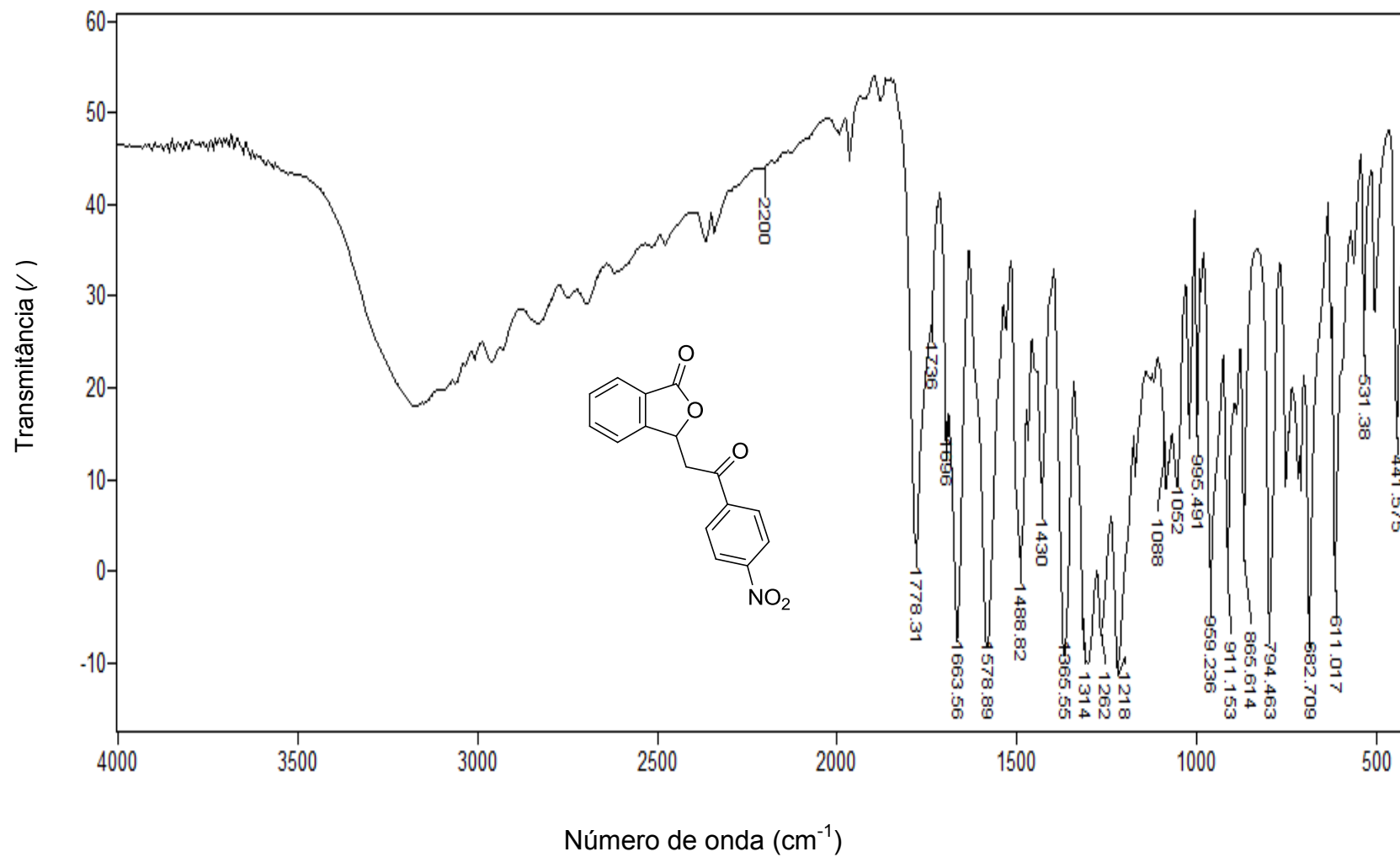


Figura 17 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (7)

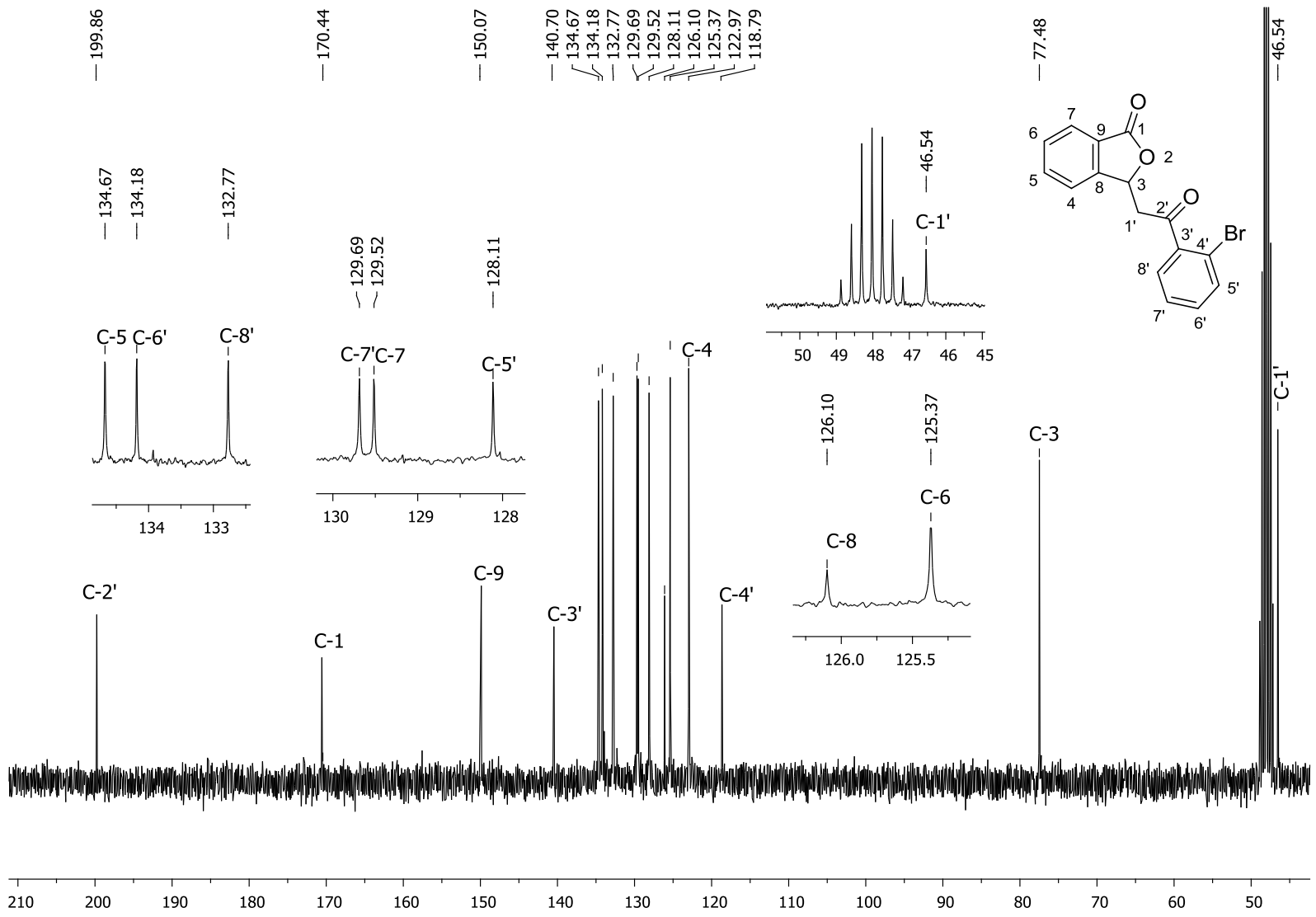


Figura 18 – Espectro de RMN de ¹³C (DMSO-d₆, 75 MHz) da 3-[2-(2-bromofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (8)

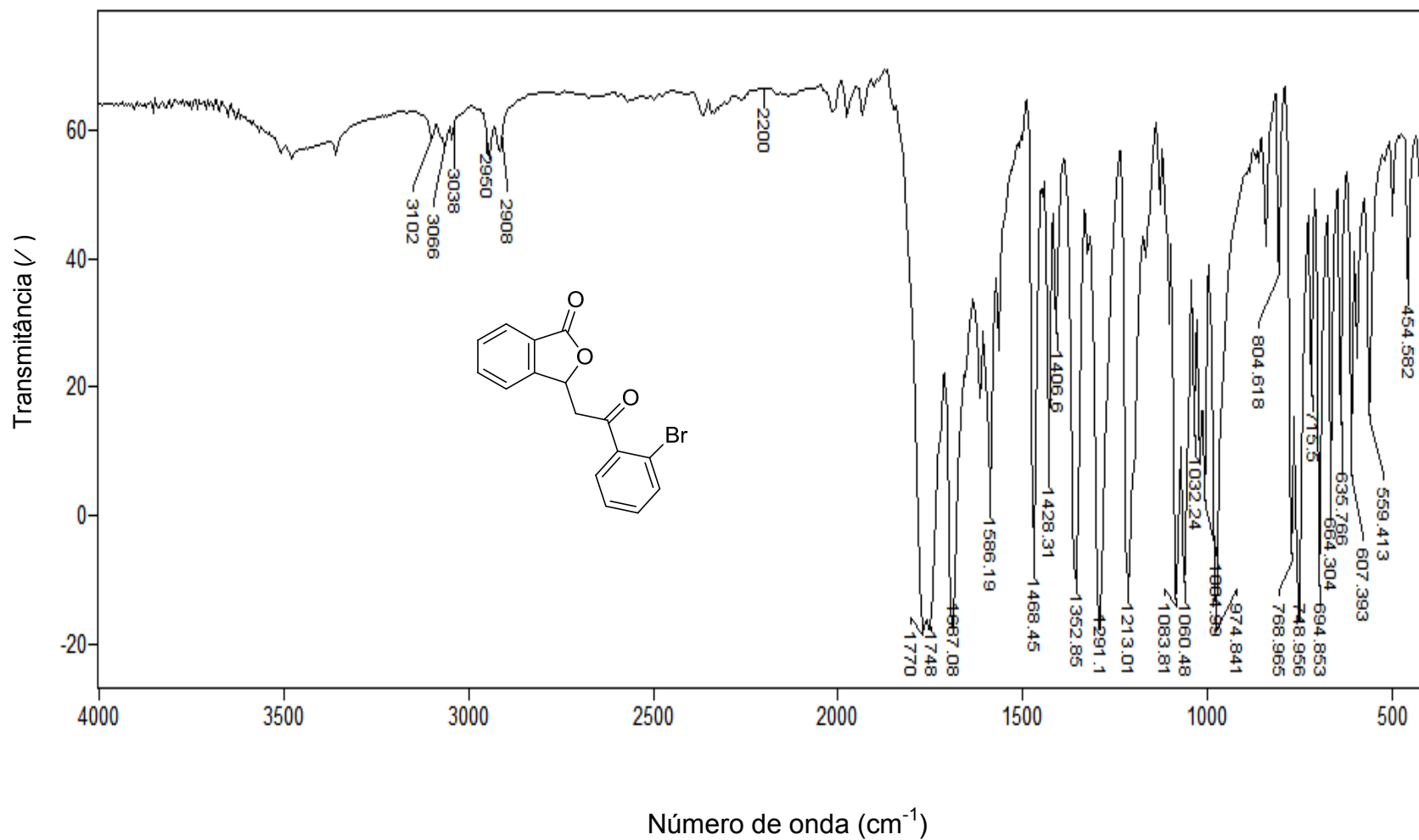


Figura 19 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(2-bromofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**8**)

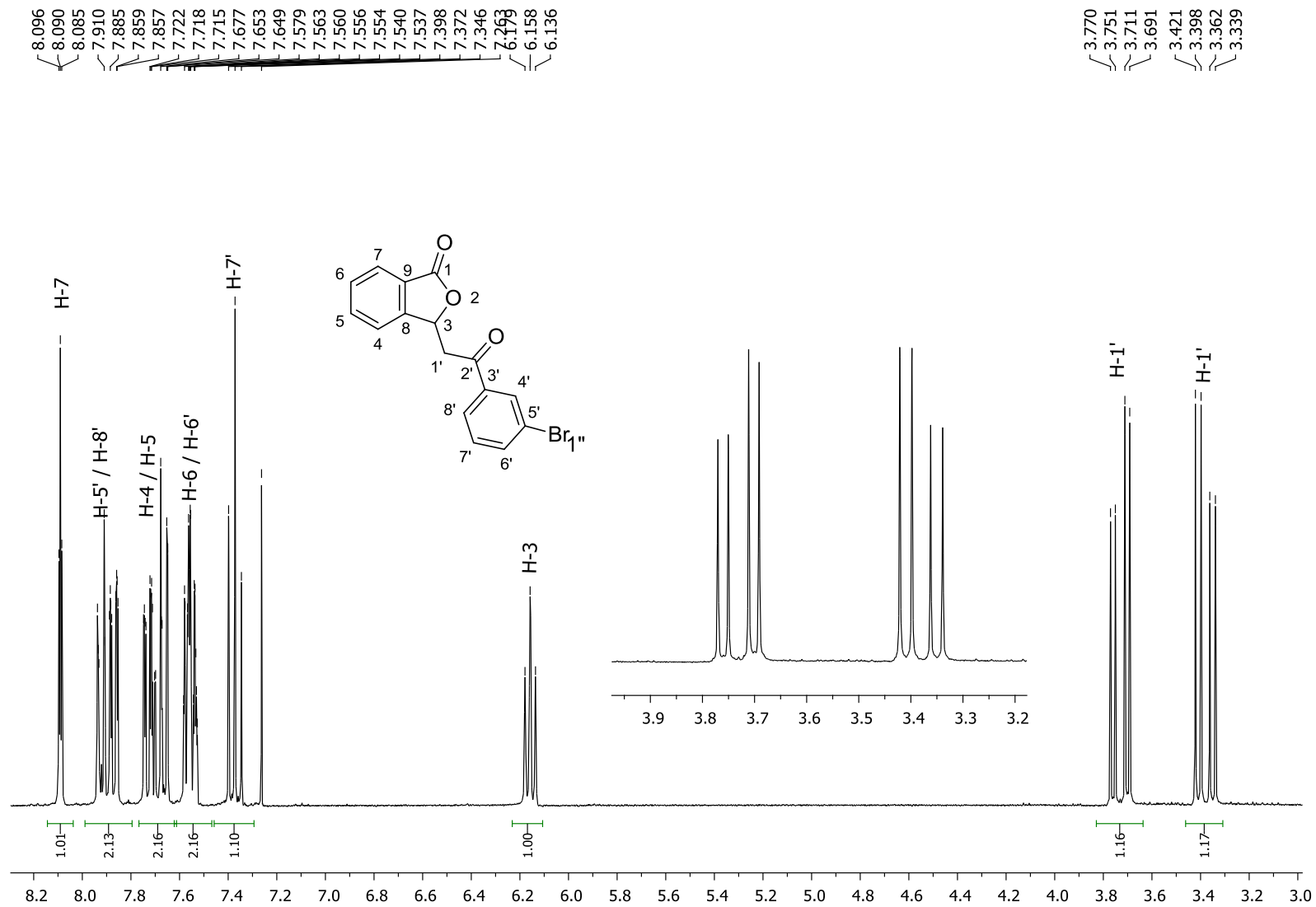


Figura 20 – Espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 300MHz) da 3-[2-(3-bromofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**9**)

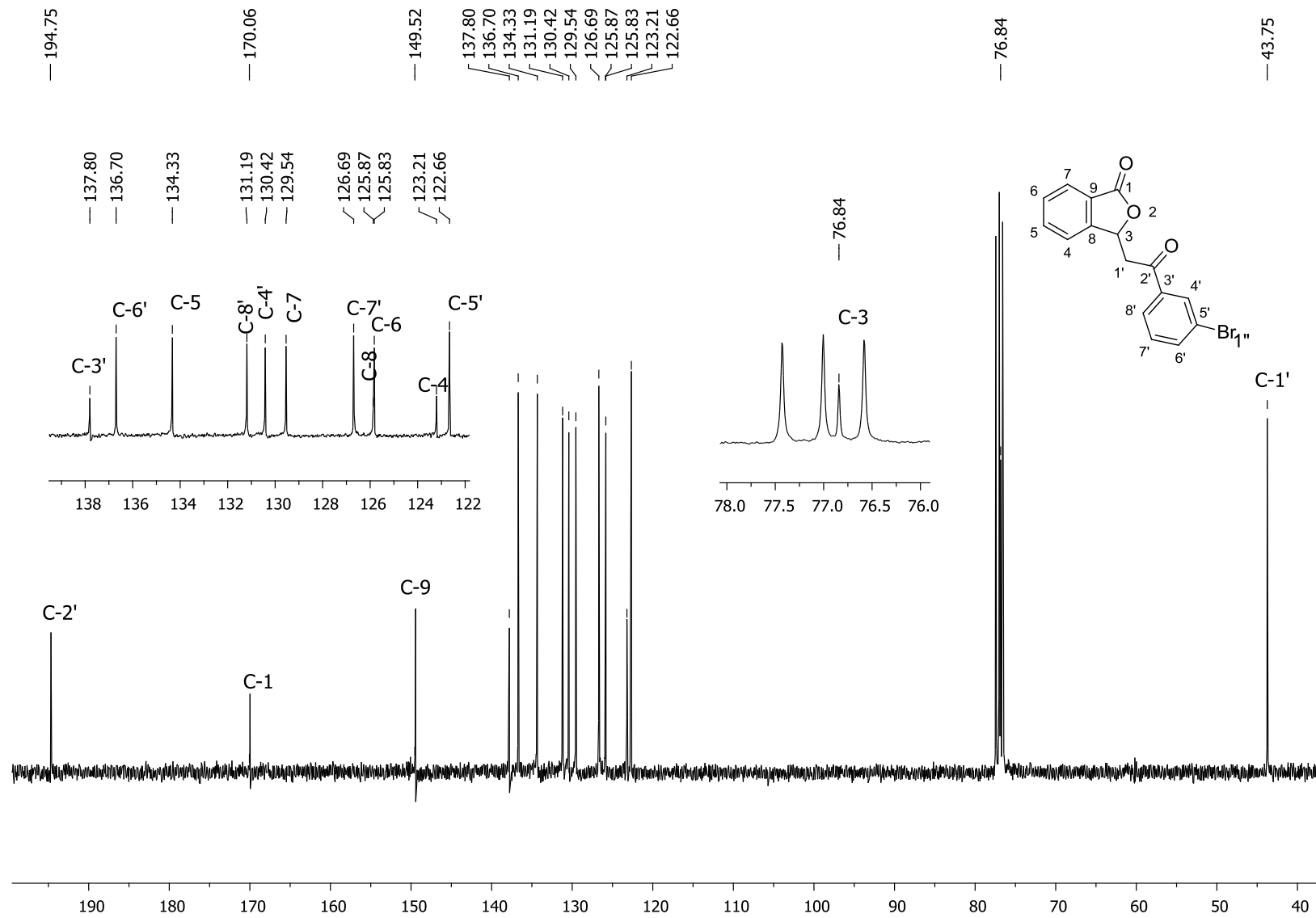


Figura 21 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl₃, 75MHz) da 3-[2-(3-bromofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (9)

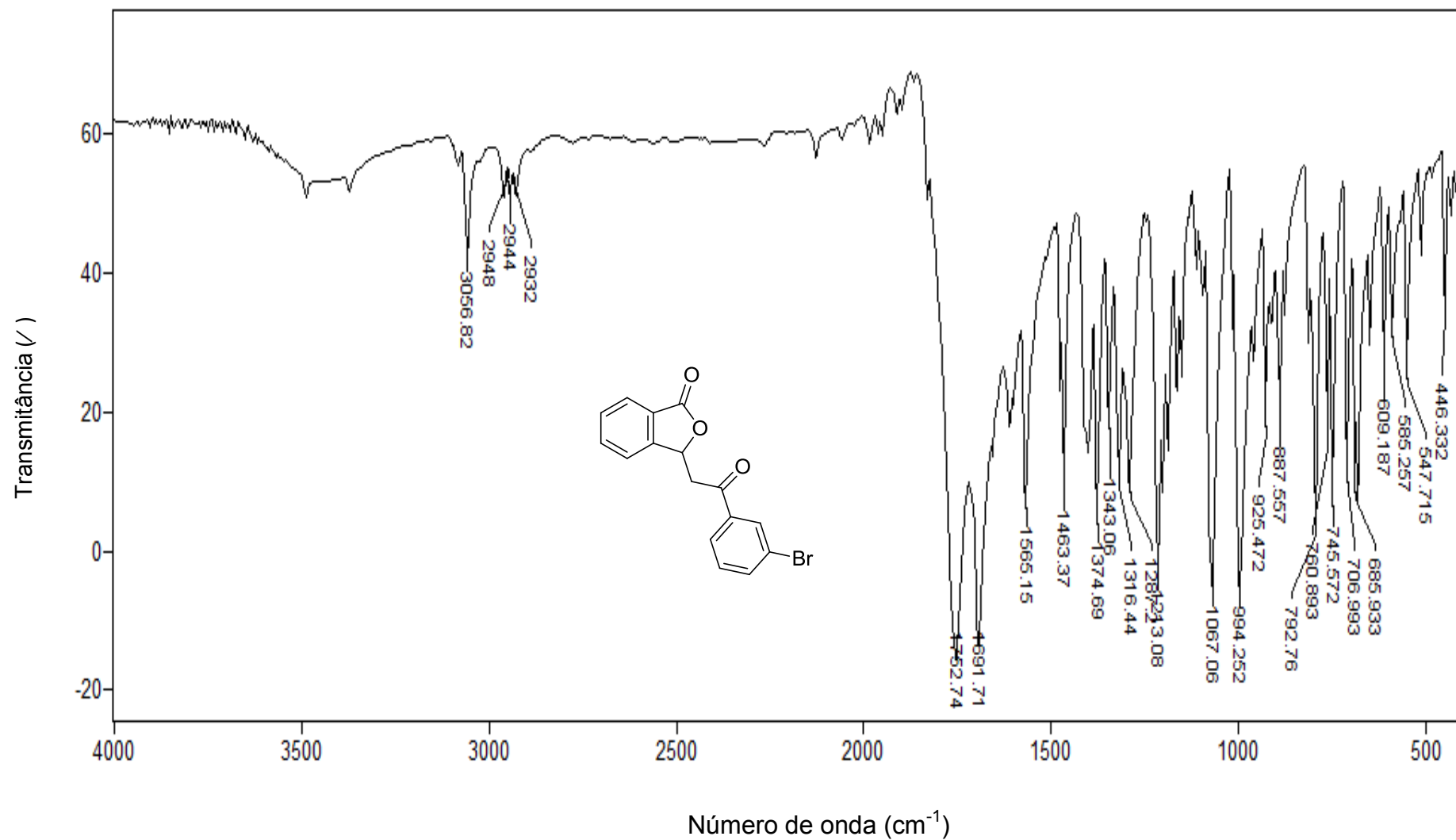


Figura 22 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(3-bromofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**9**)

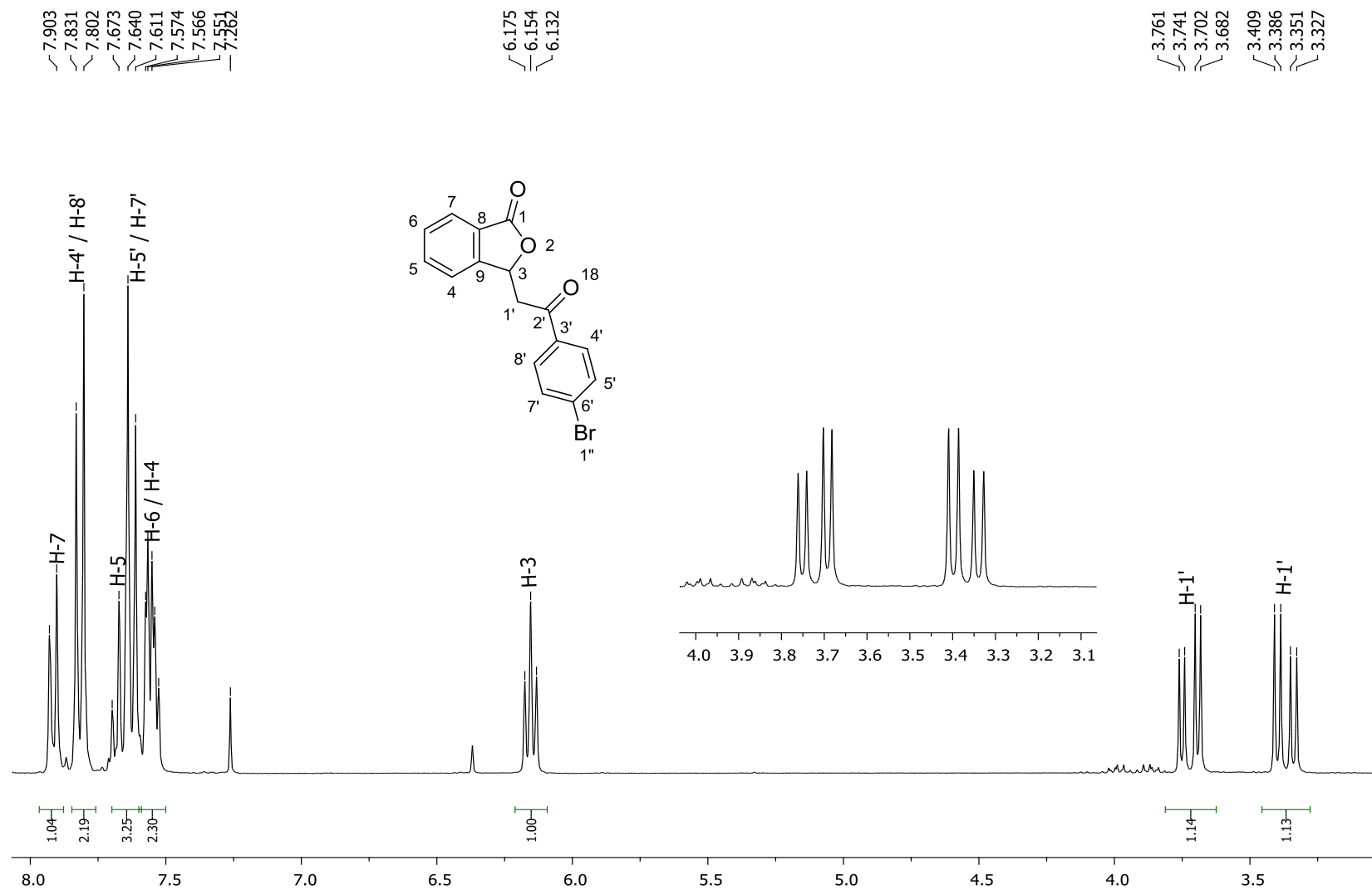


Figura 23 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz) da 3-[2-(4-bromofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**10**)

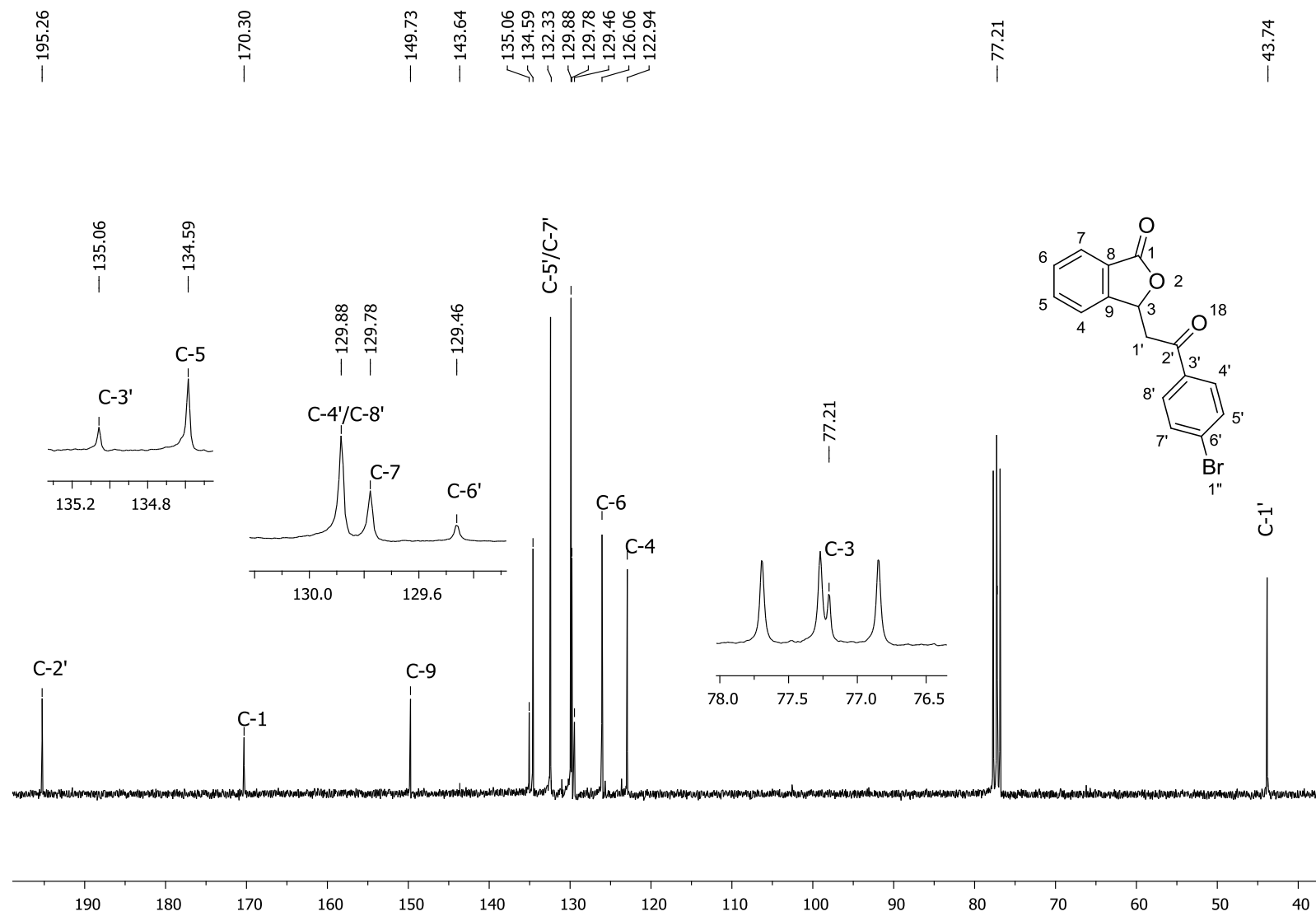


Figura 24 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl₃, 75MHz) da 3-[2-(4-bromofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**10**)

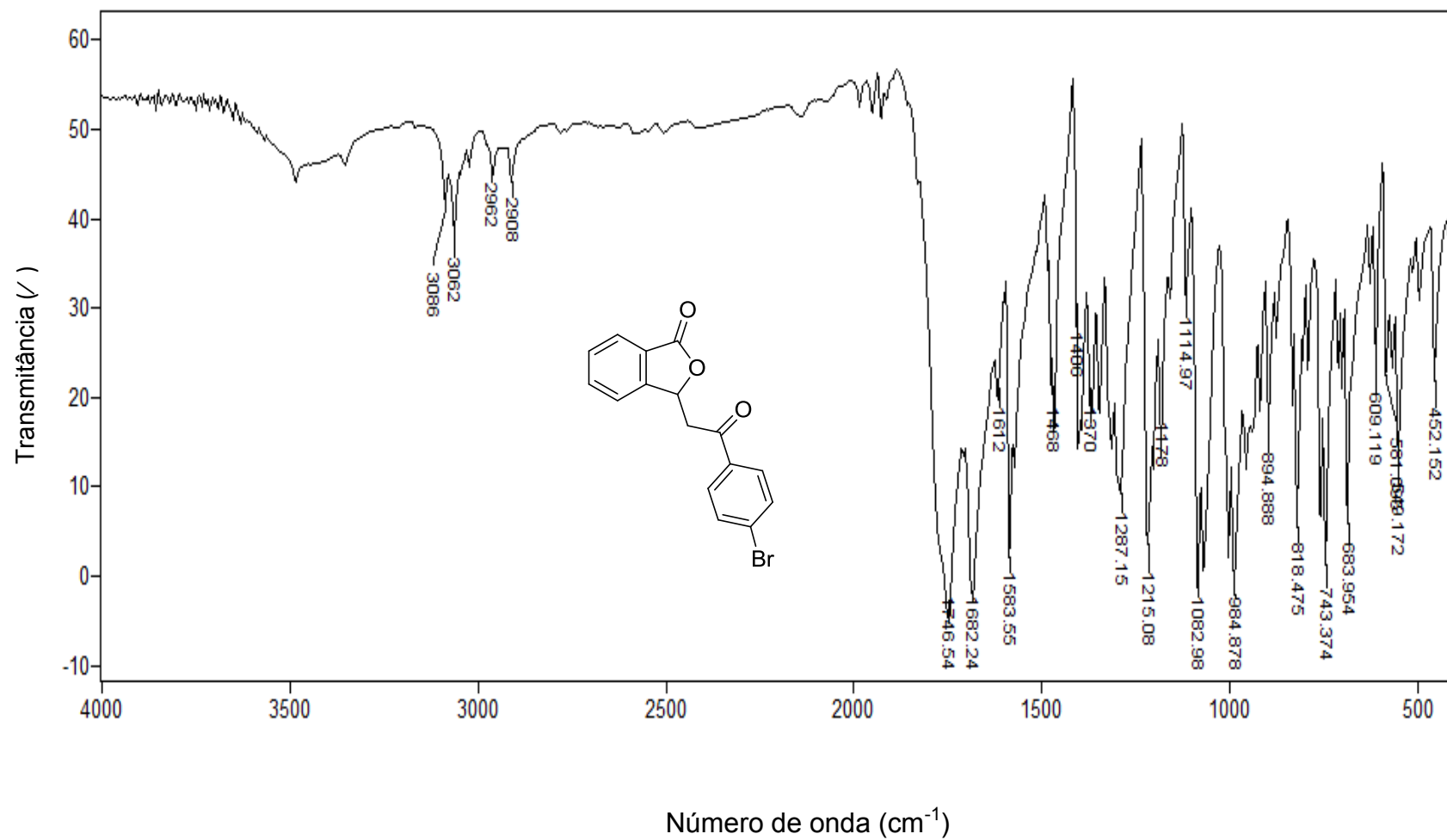


Figura 25 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(4-bromofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**10**)

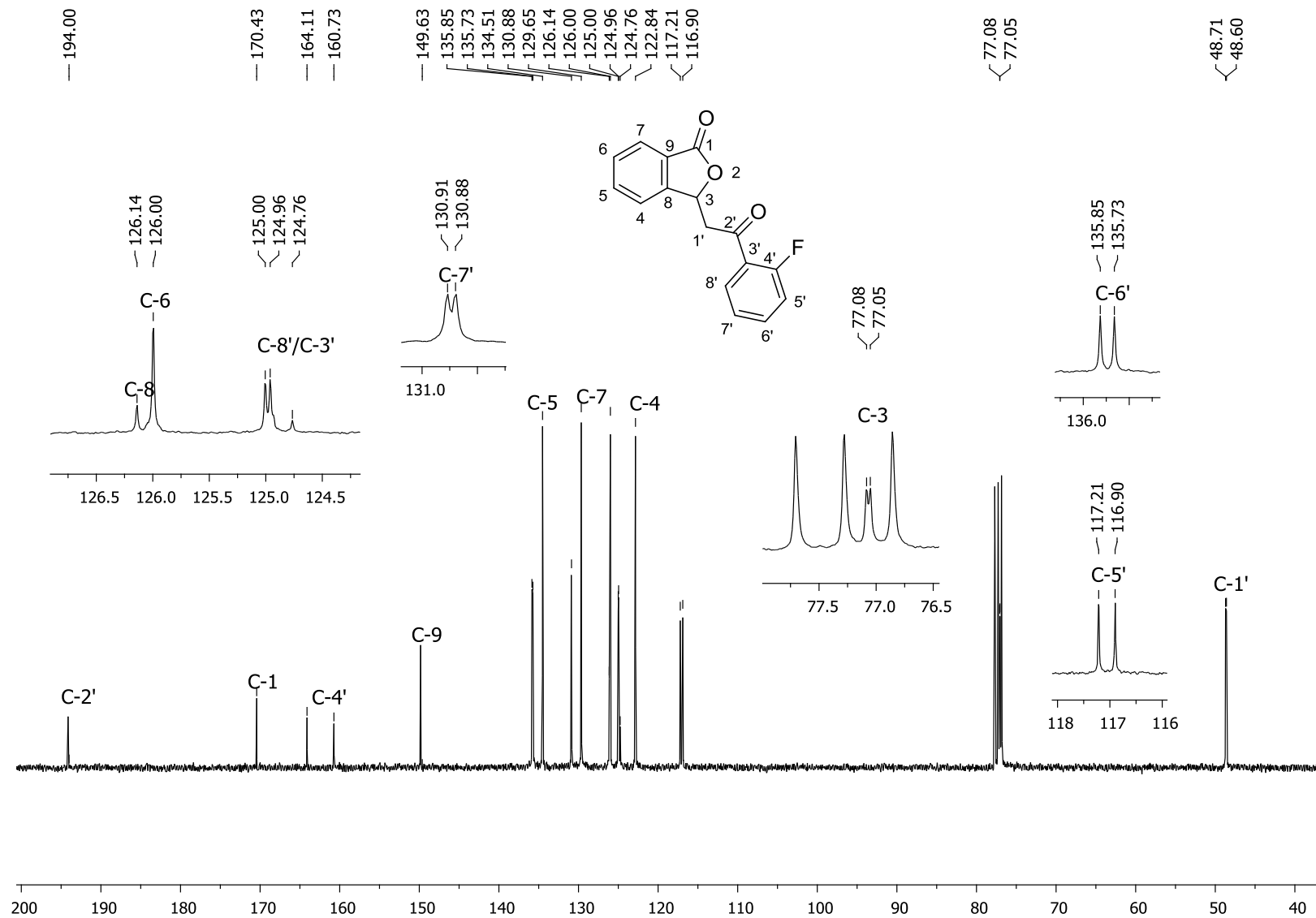


Figura 26 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl₃, 75MHz) da 3-[2-(2-fluorofenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (11)

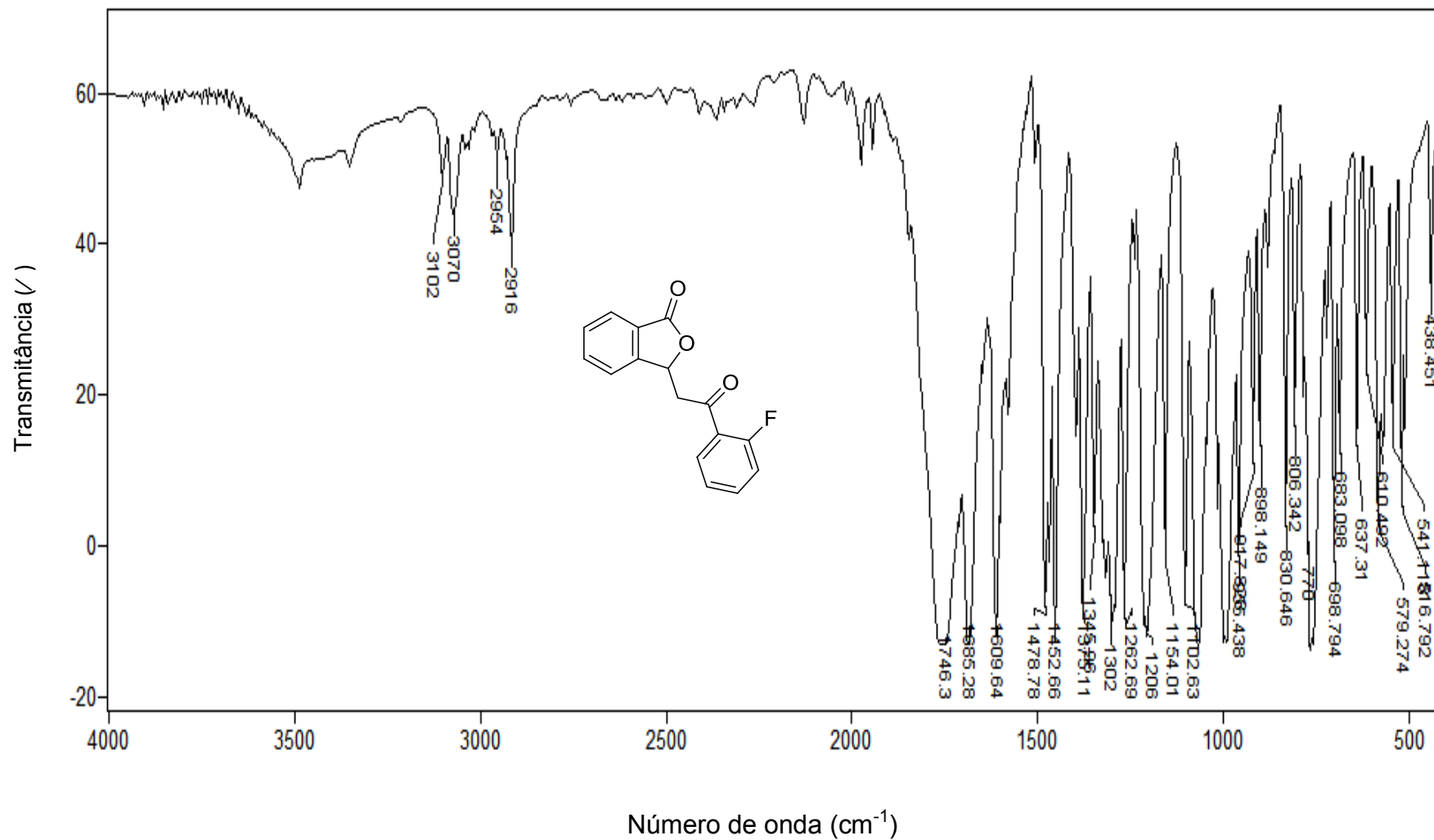


Figura 27 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(2-fluorofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (11)

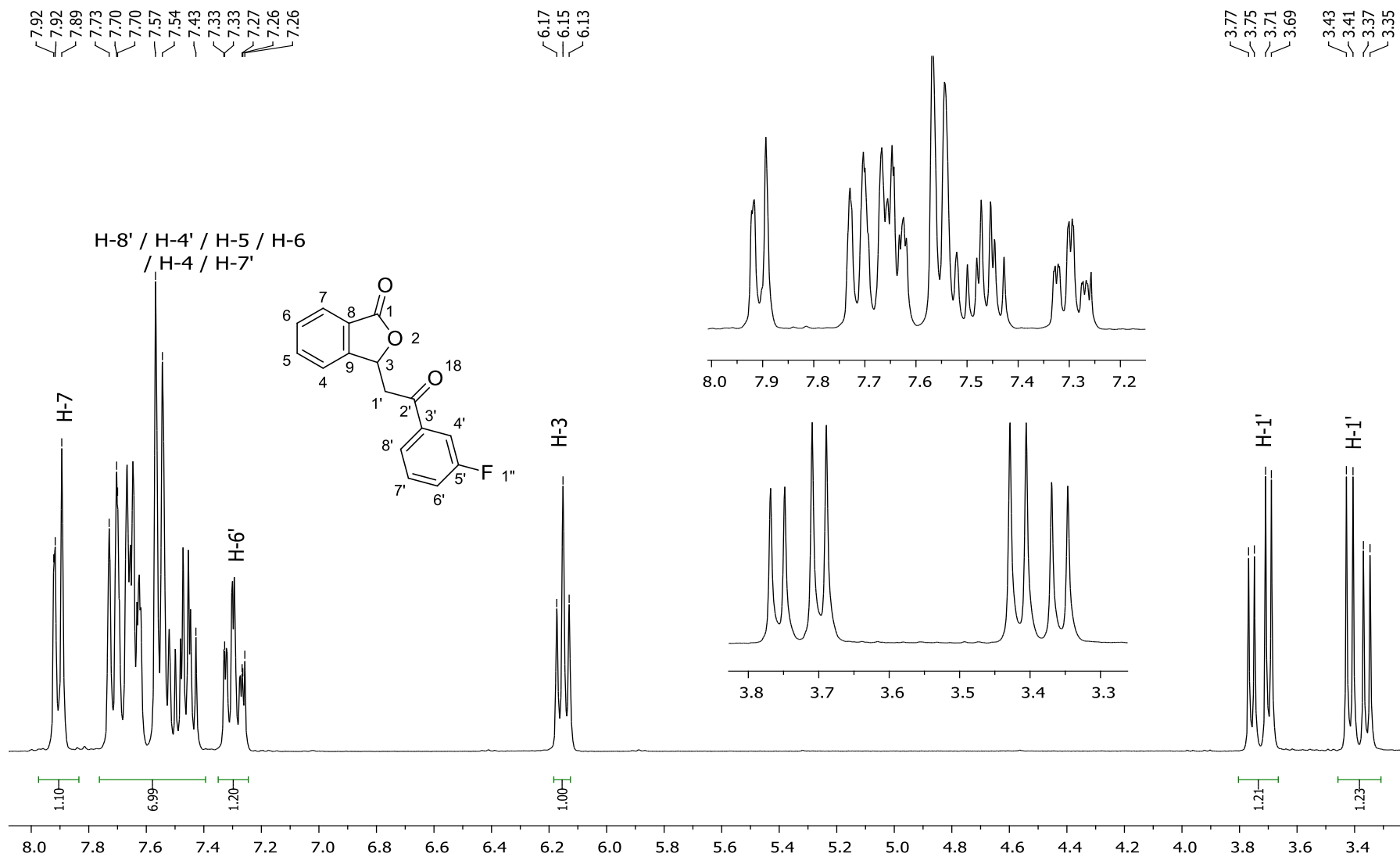


Figura 28 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz) da 3-[2-(3-fluorofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (12)

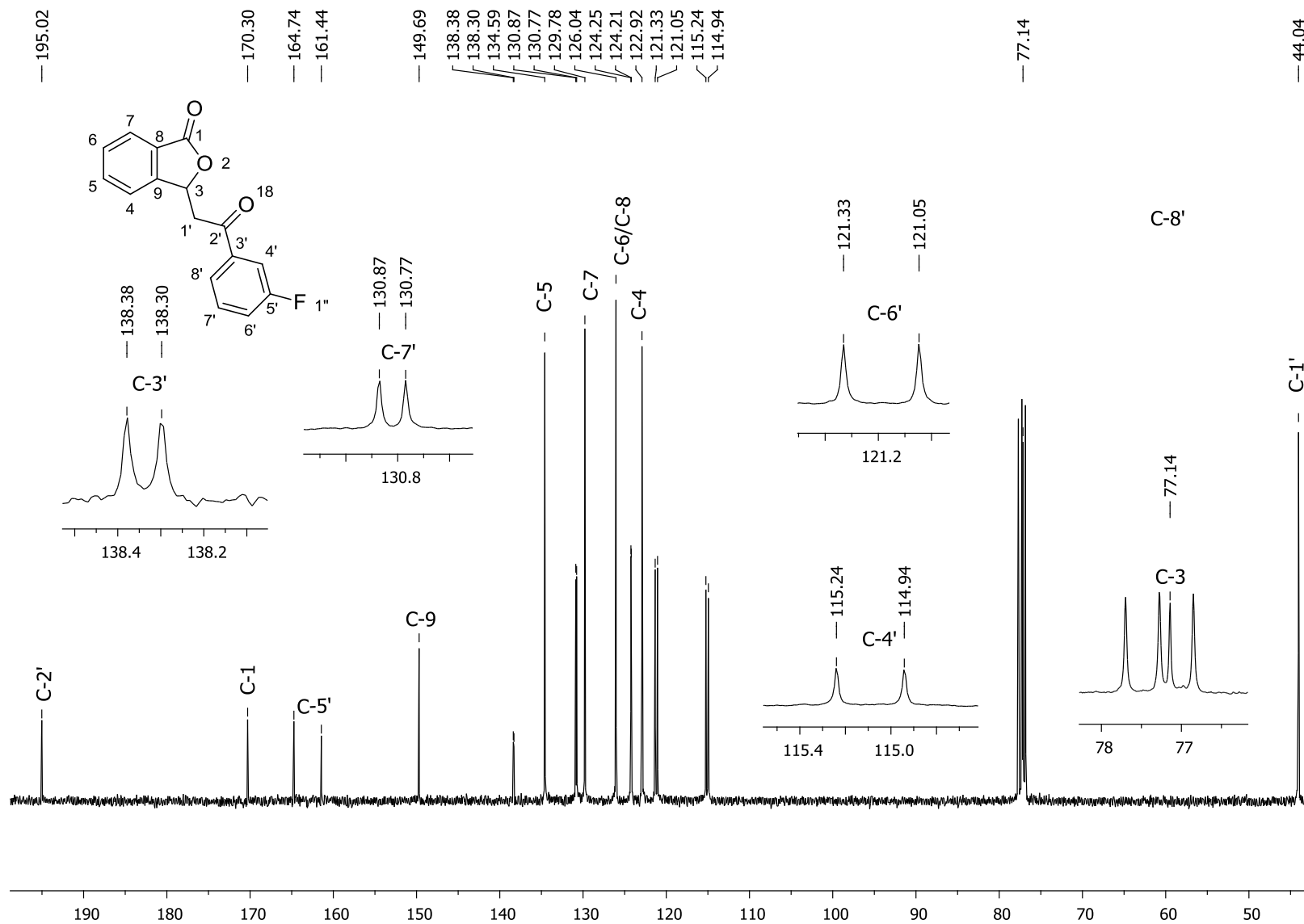


Figura 29 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl₃, 75MHz) da 3-[2-(3-fluorofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (12)

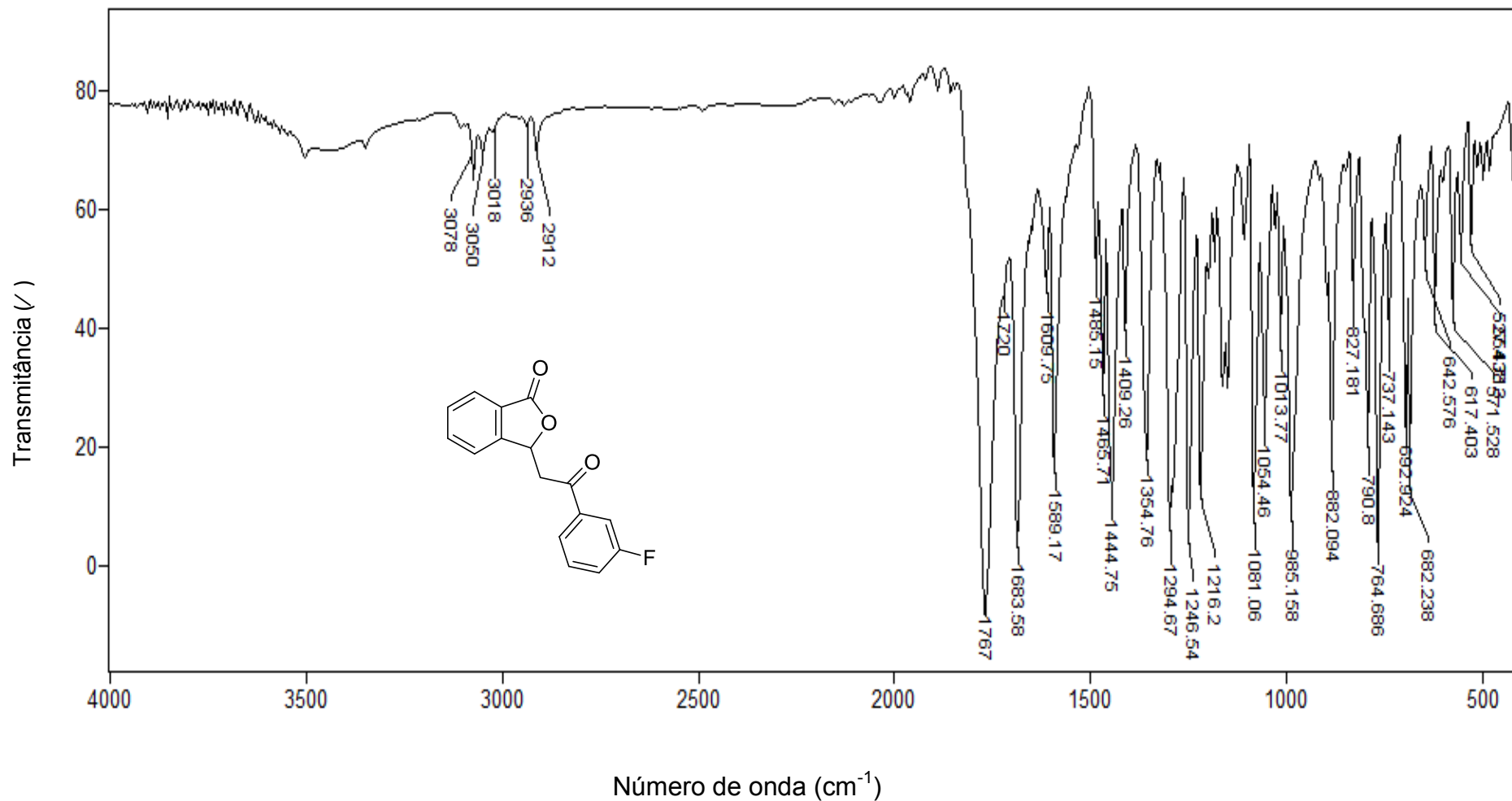


Figura 30 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(3-fluorofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (12)

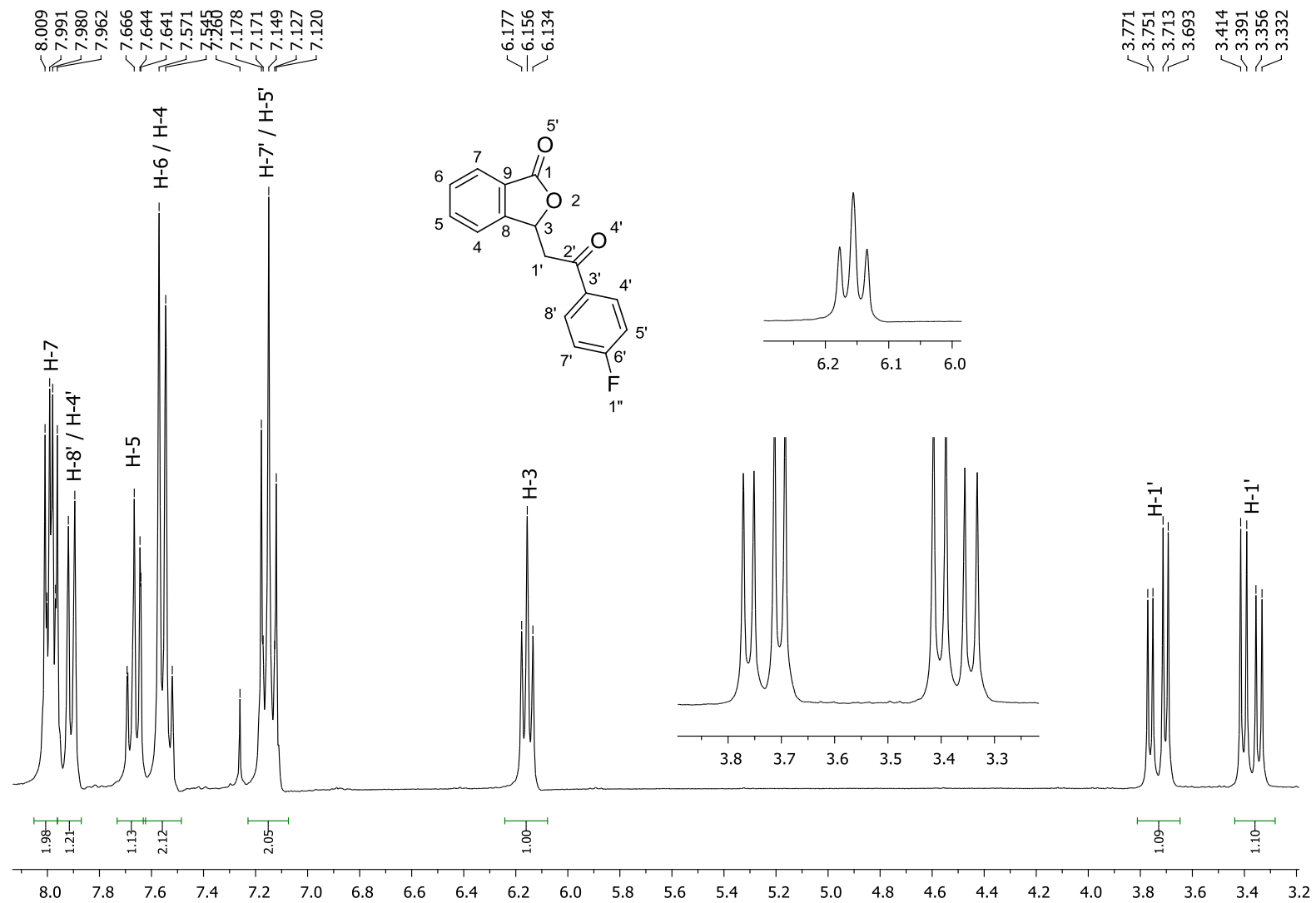


Figura 31 – Espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 300MHz) da 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**13**)

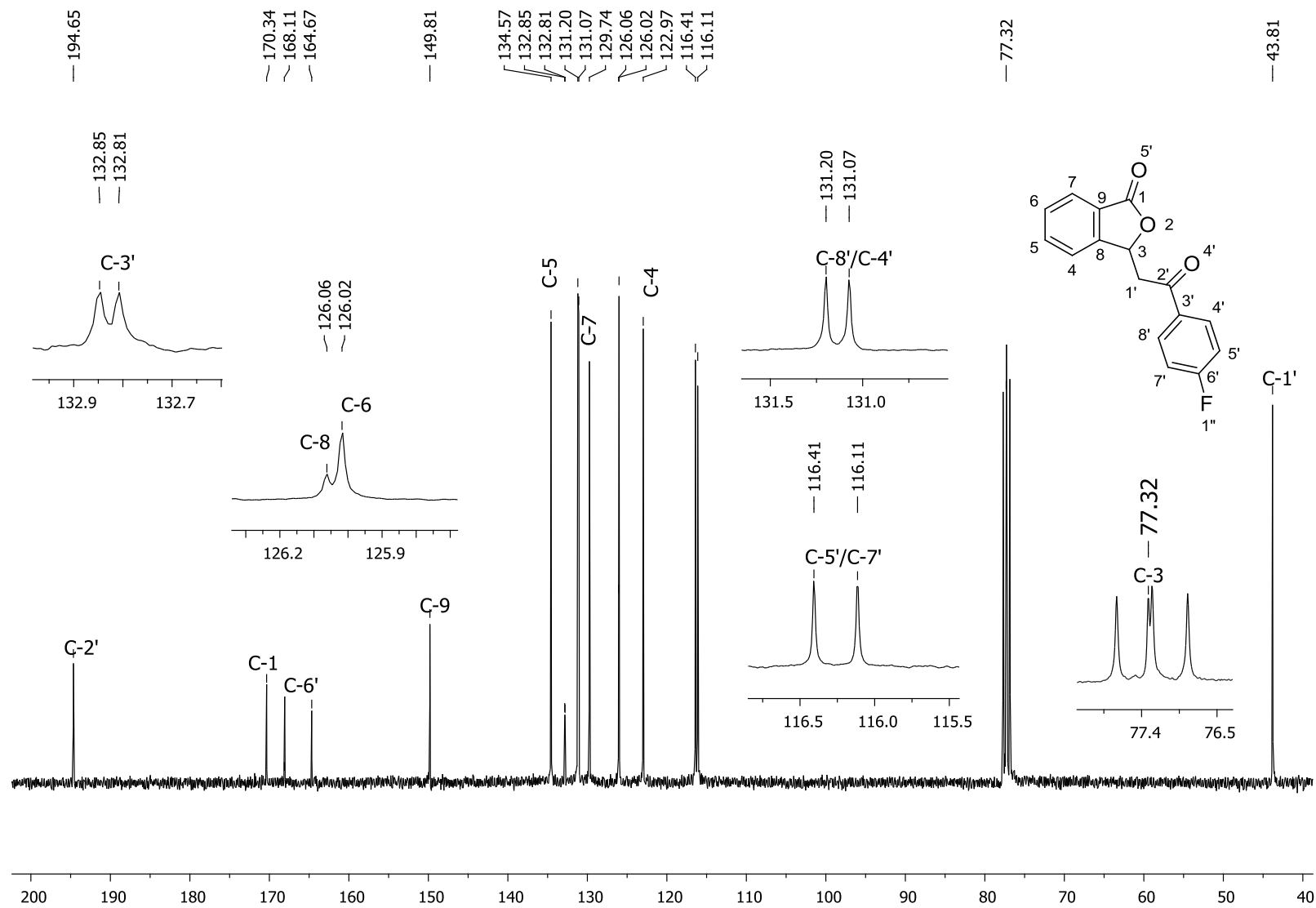


Figura 32 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 75MHz) da 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**13**)

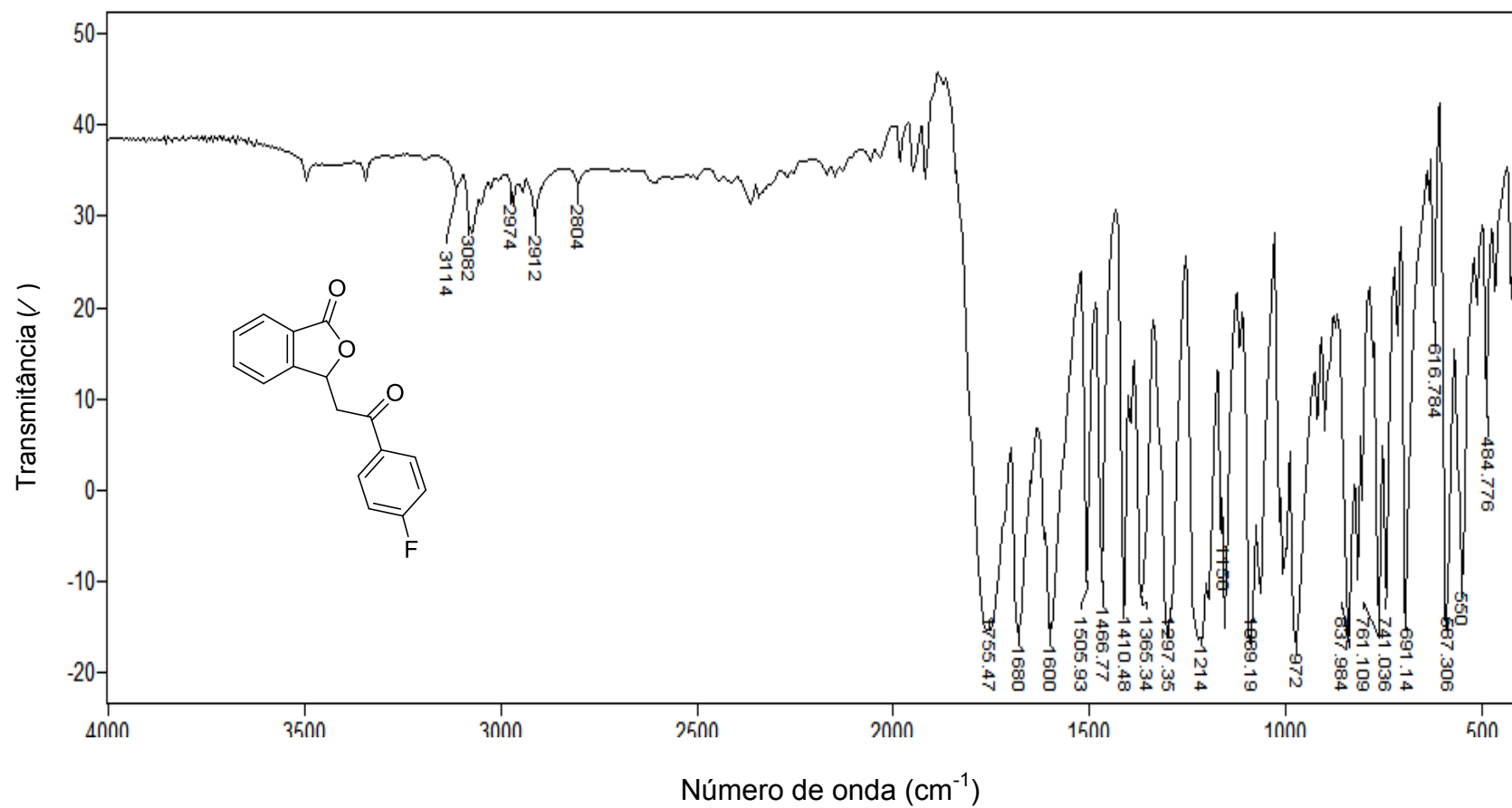


Figura 33 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(4-fluorofenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (13)

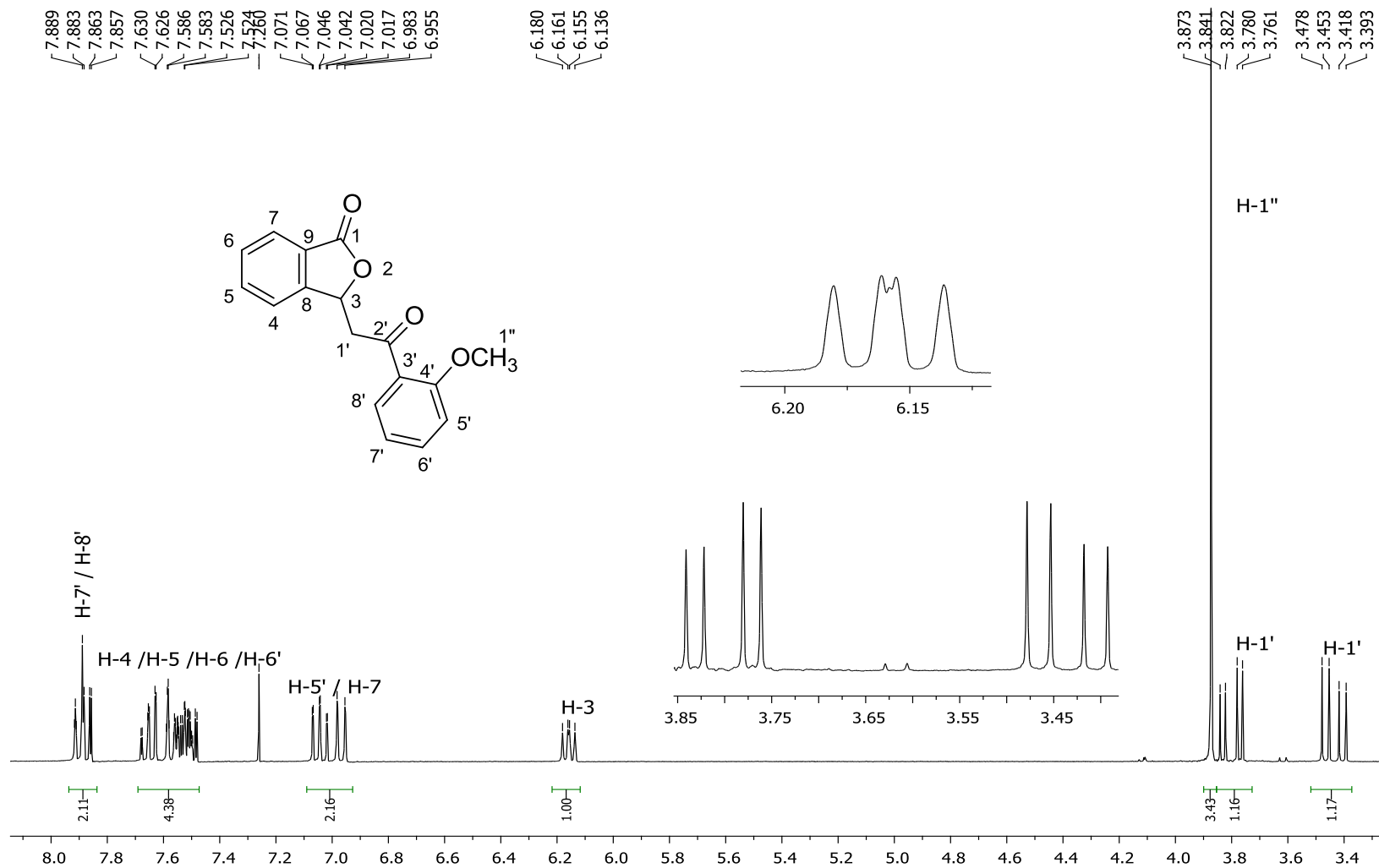


Figura 34 – Espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 300MHz) da 3-[2-(2-metoxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (**14**)

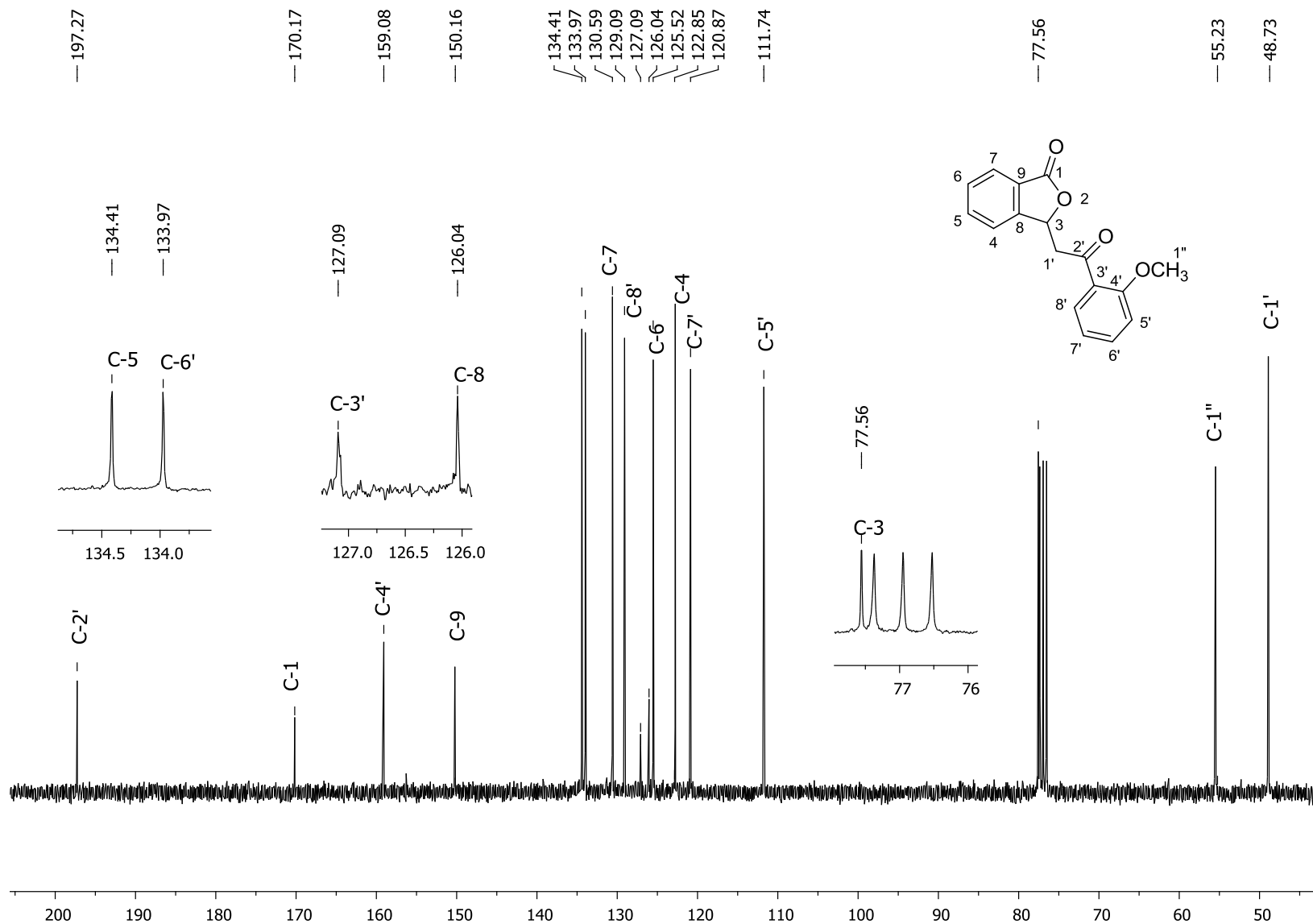


Figura 35 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 75MHz) da 3-[2-(2-metoxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (**14**)

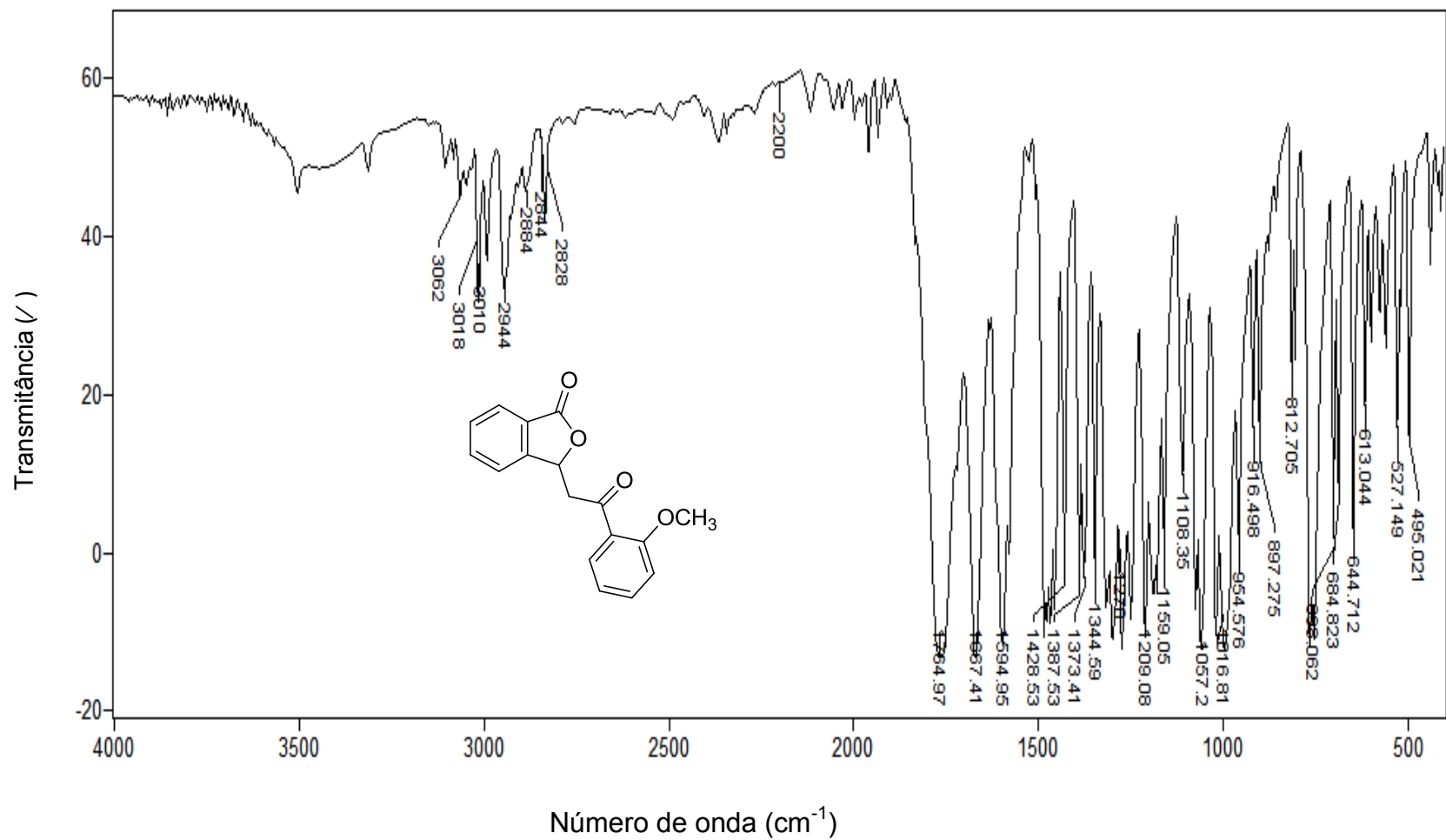


Figura 36 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(2-metoxifenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**14**)

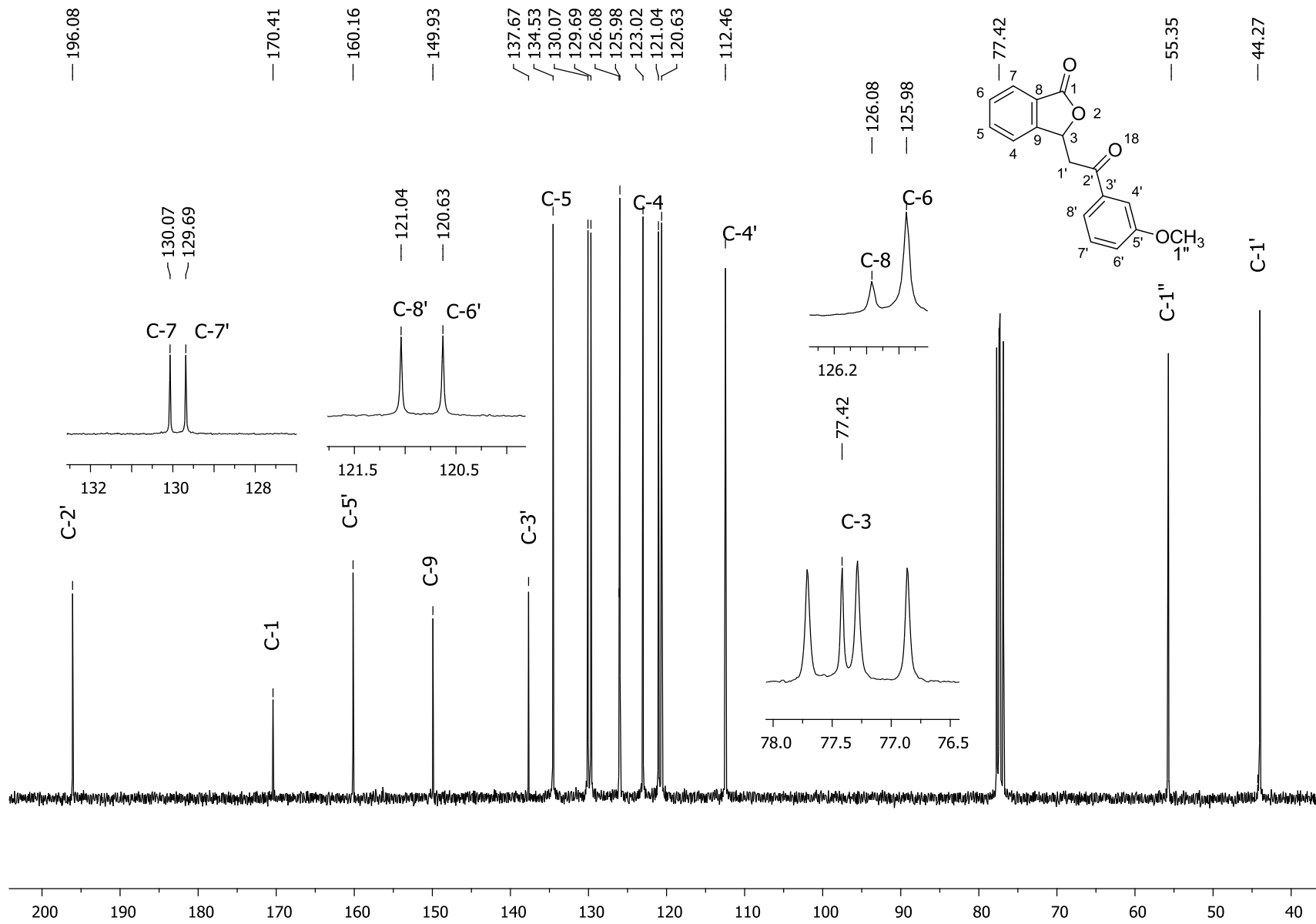


Figura 38 – Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 75MHz) da 3-[2-(3-metoxifenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**15**)

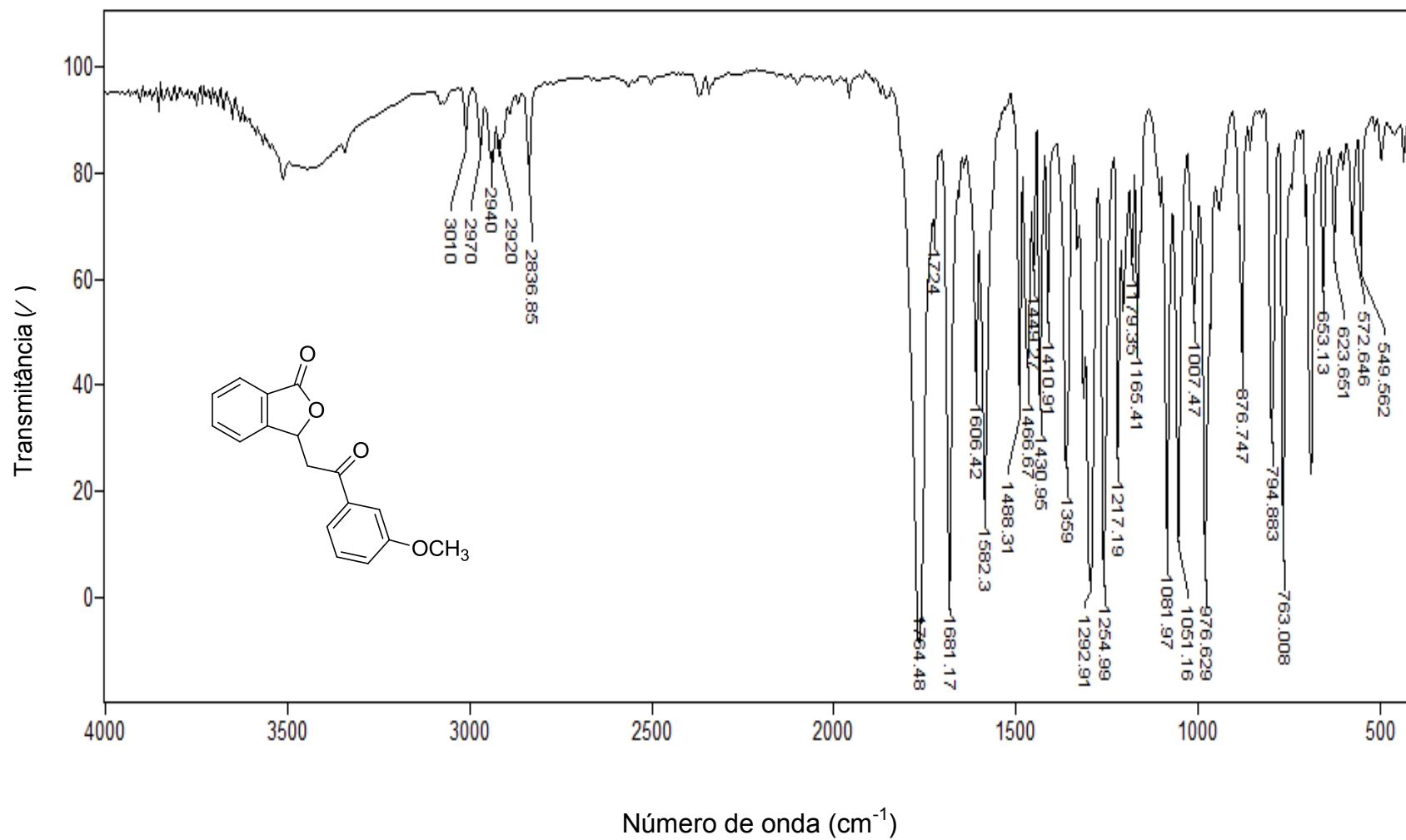


Figura 39 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(3-metoxifenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**15**)

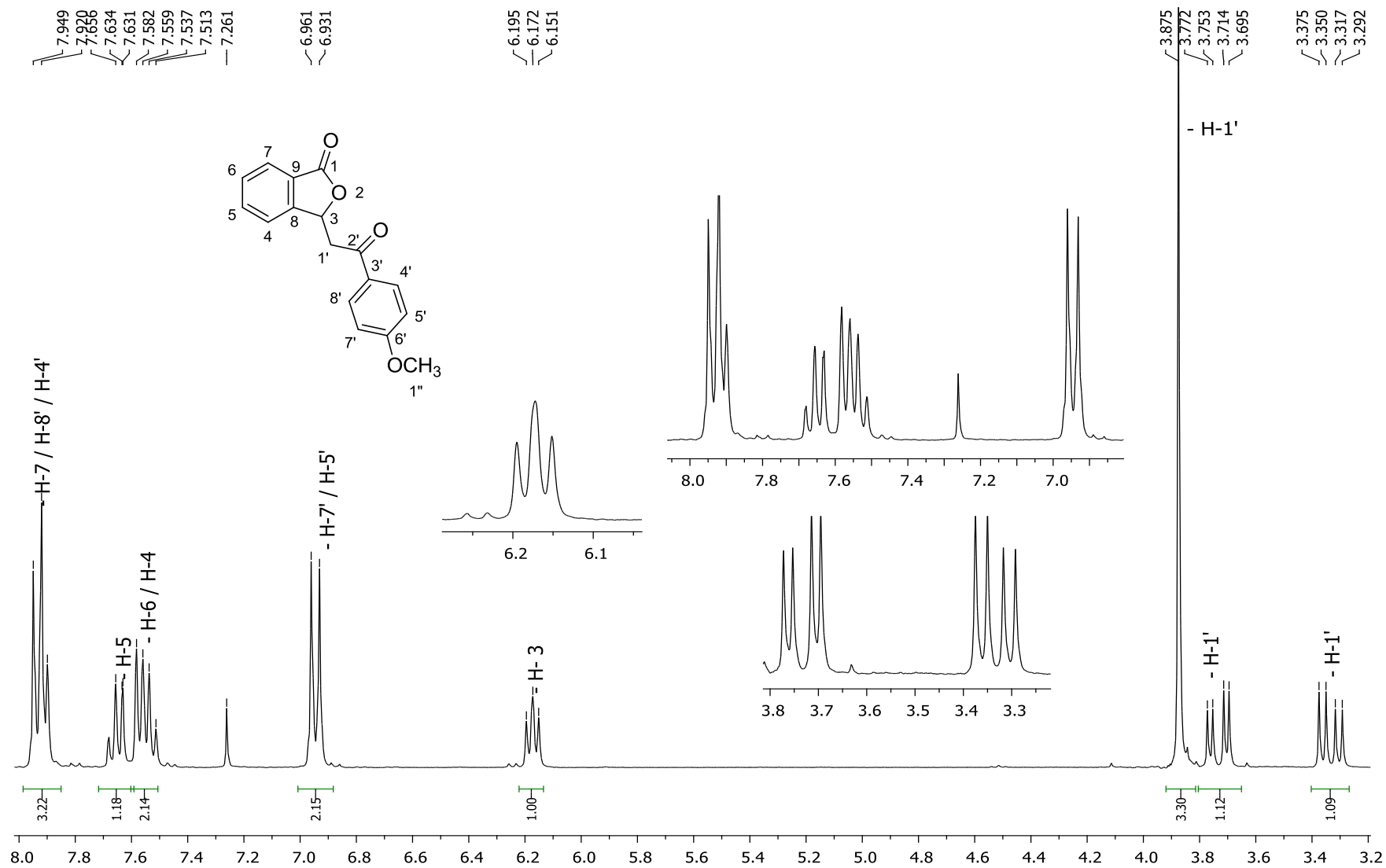


Figura 38 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz) da 3-[2-(4-metoxifenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (16)

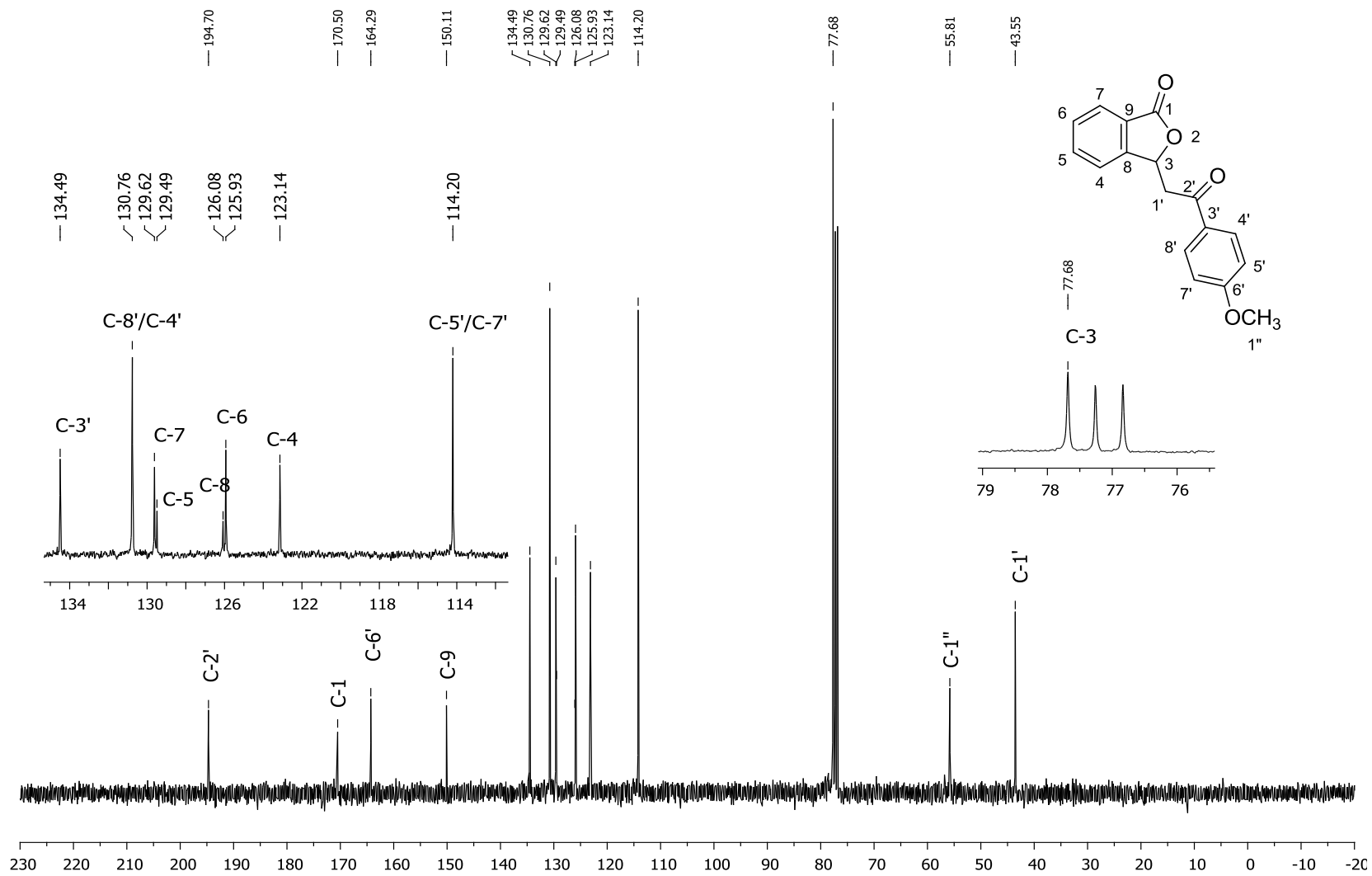


Figura 39 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz) da 3-[2-(4-metoxifenil)-2-oxoetil]isobenzofuran-1(3H)-ona (**16**)

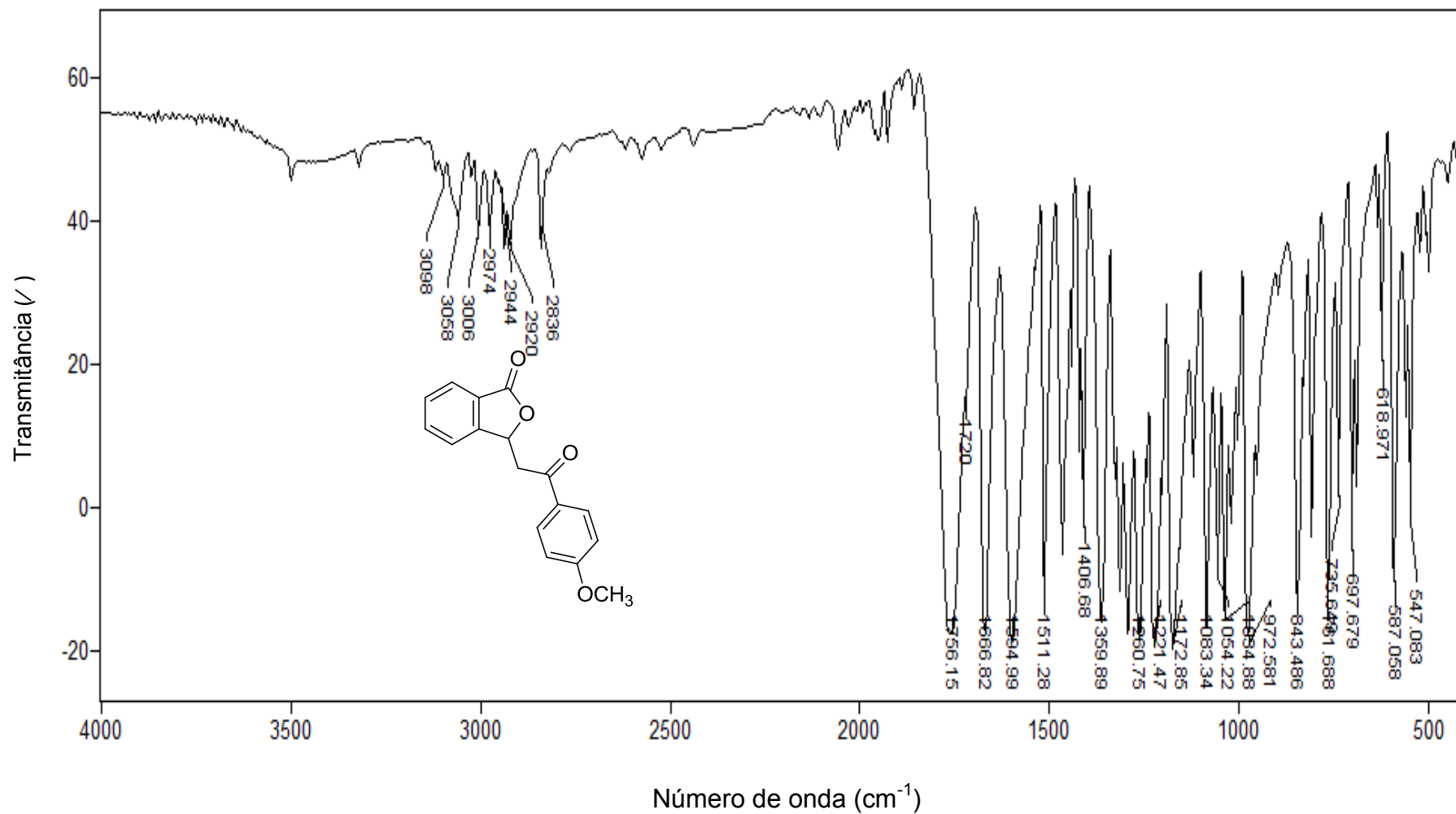


Figura 40 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-[2-(4-metoxifenil)-2-oxoetil] isobenzofuran-1(3H)-ona (**16**)

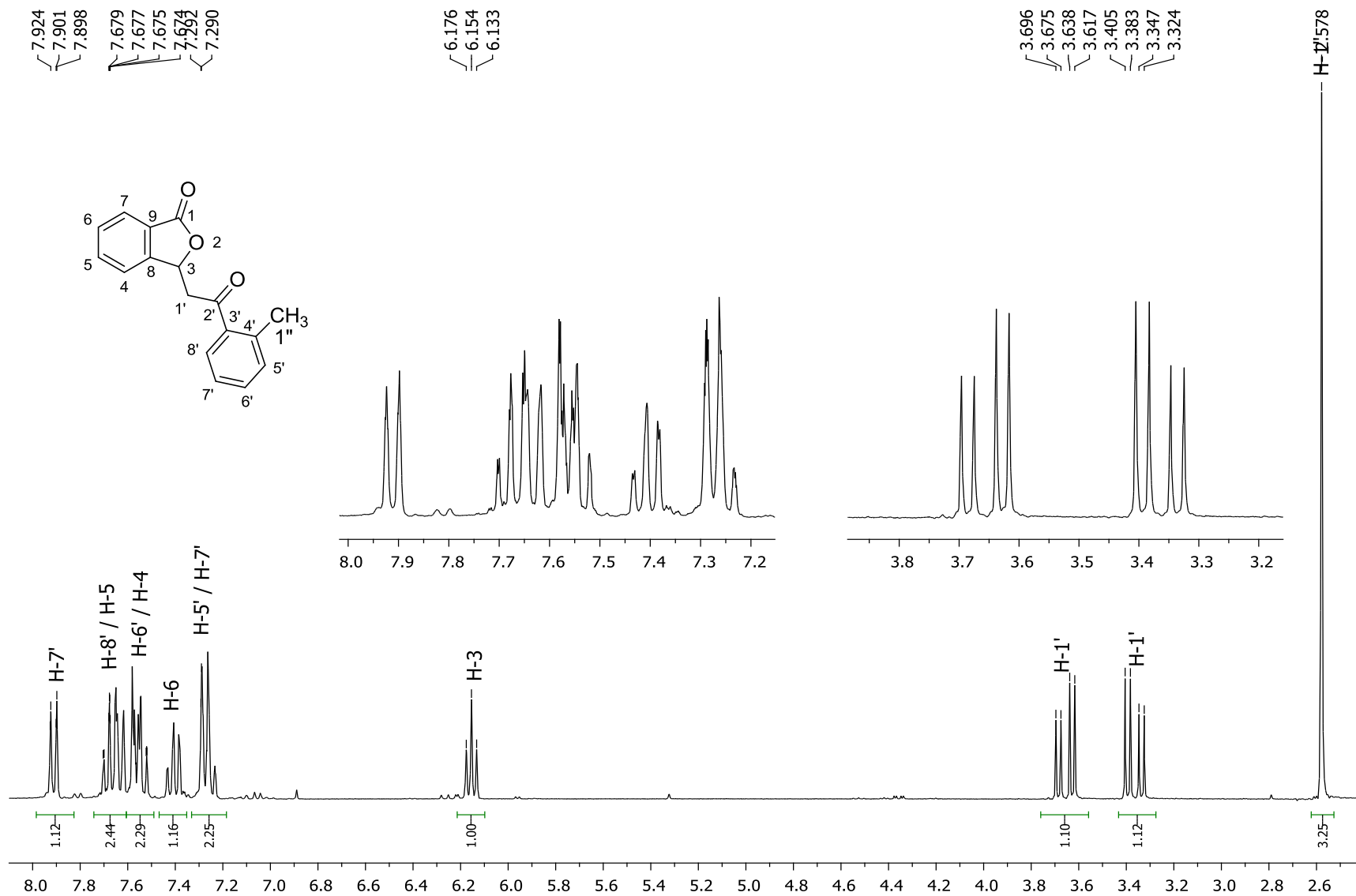


Figura 41 – Espectro de RMN ¹H(CDCl₃, 300MHz) da 3-(2-oxo-2-o-toliletil)isobenzofuran-1(3H)-ona (17)

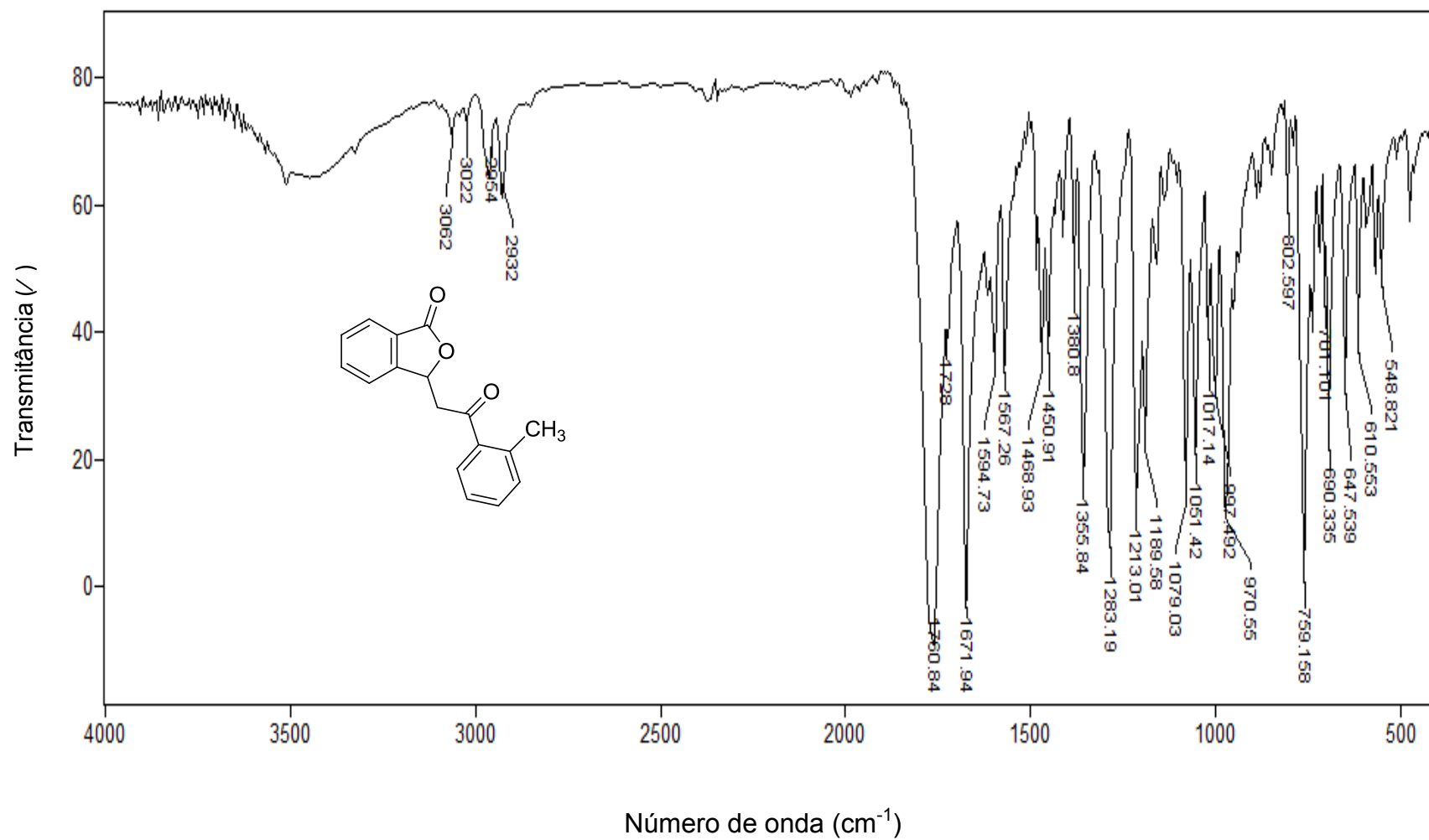


Figura 43 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-(2-oxo-2-o-toliletil)isobenzofuran-1(3H)-ona (17)

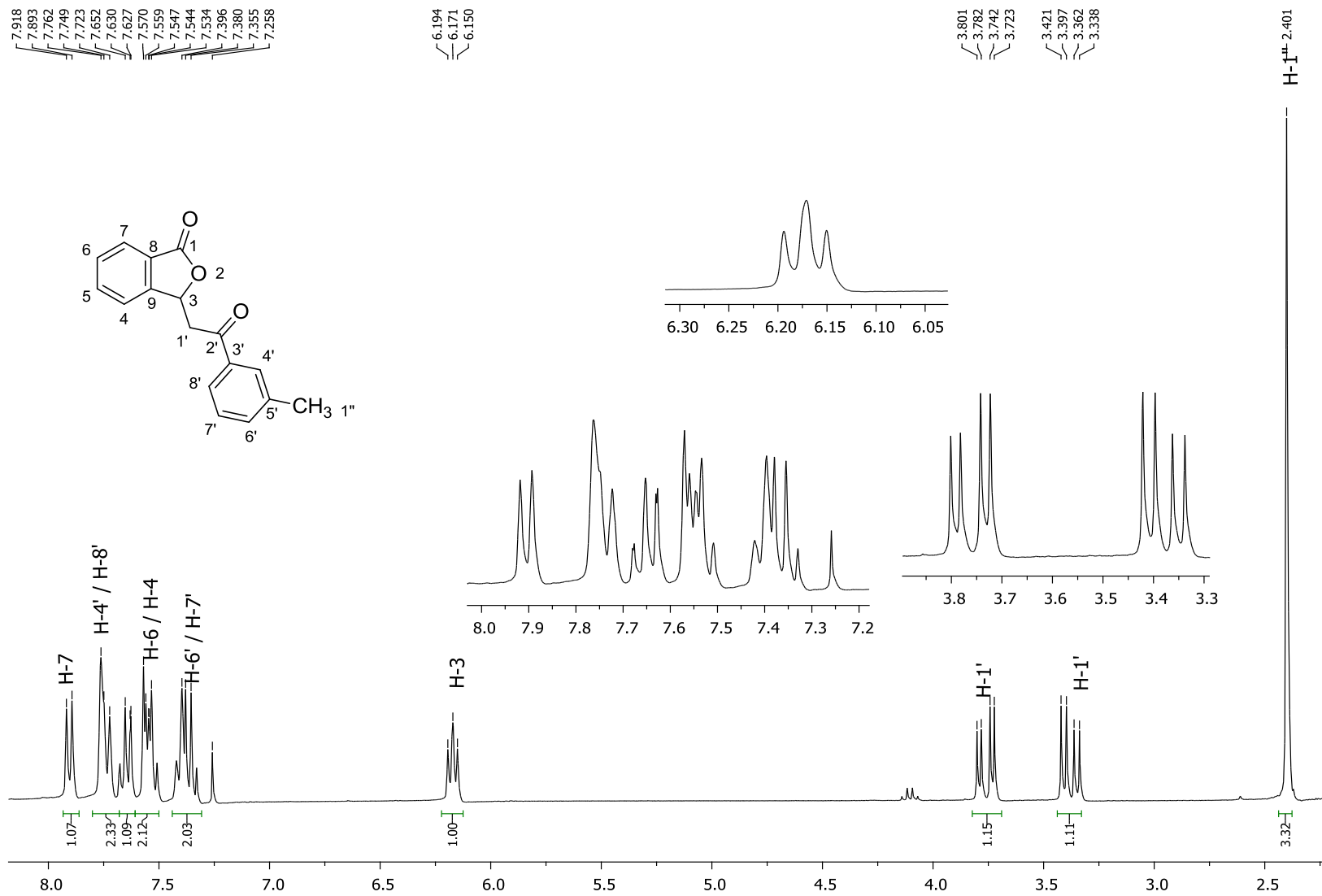


Figura 44 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 75MHz) da 3-(2-oxo-2-m-toliletil)isobenzofuran-1(3H)-ona (18)

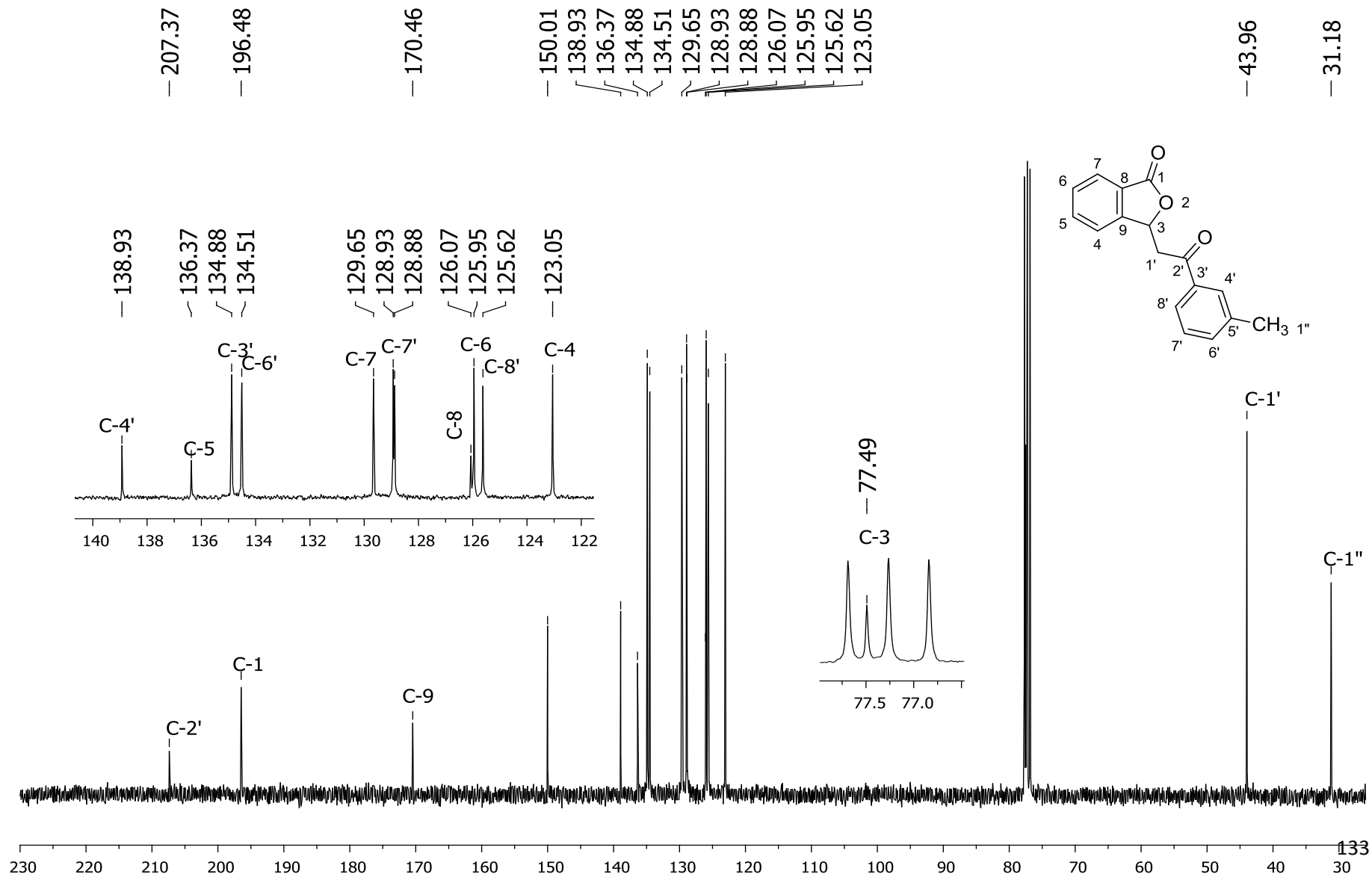


Figura 45 – Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 75MHz) da 3-(2-oxo-2-m-toliletil)isobenzofuran-1(3H)-ona (18)

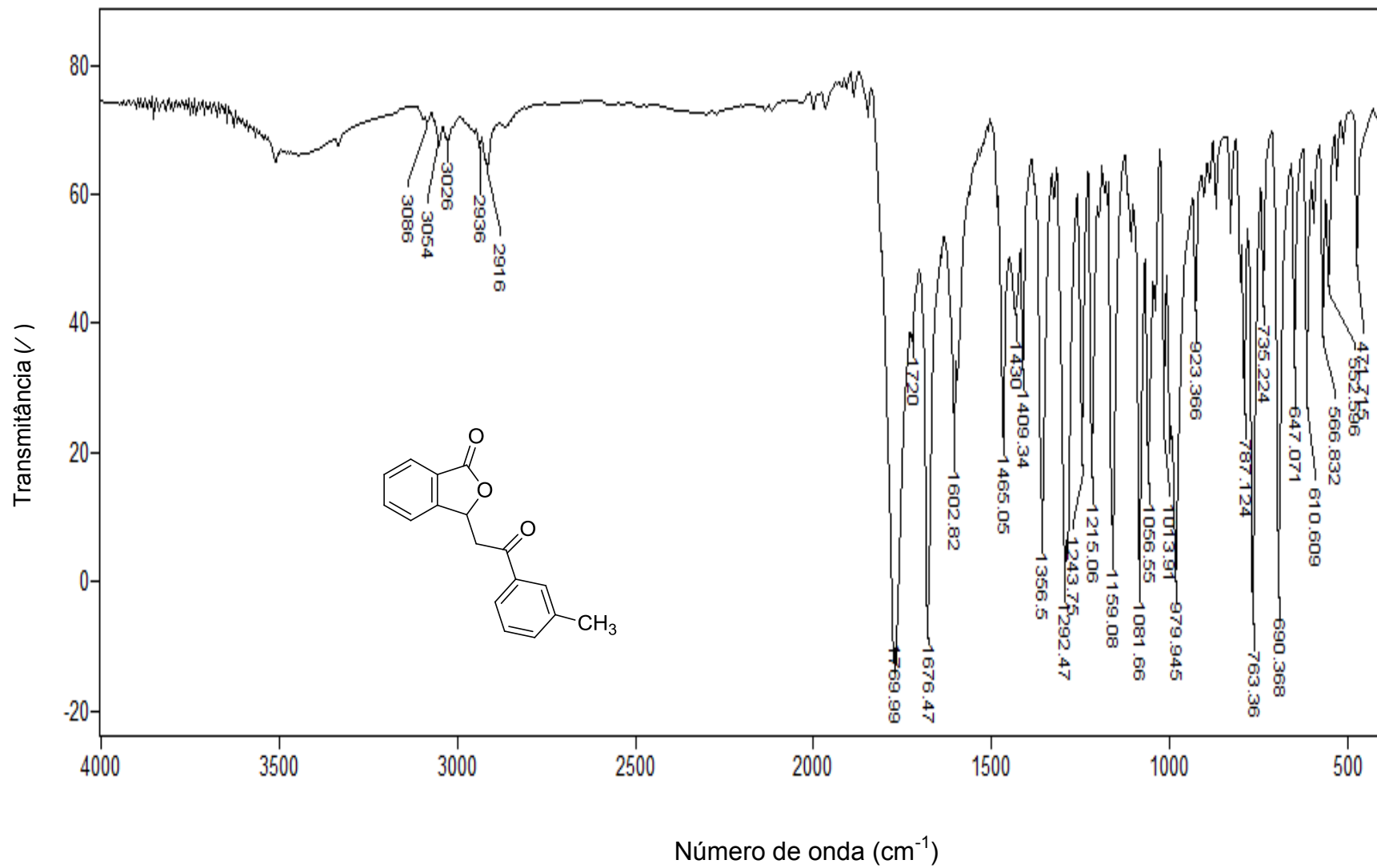


Figura 46 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-(2-oxo-2-m-toliletil)isobenzofuran-1(3H)-ona (18)

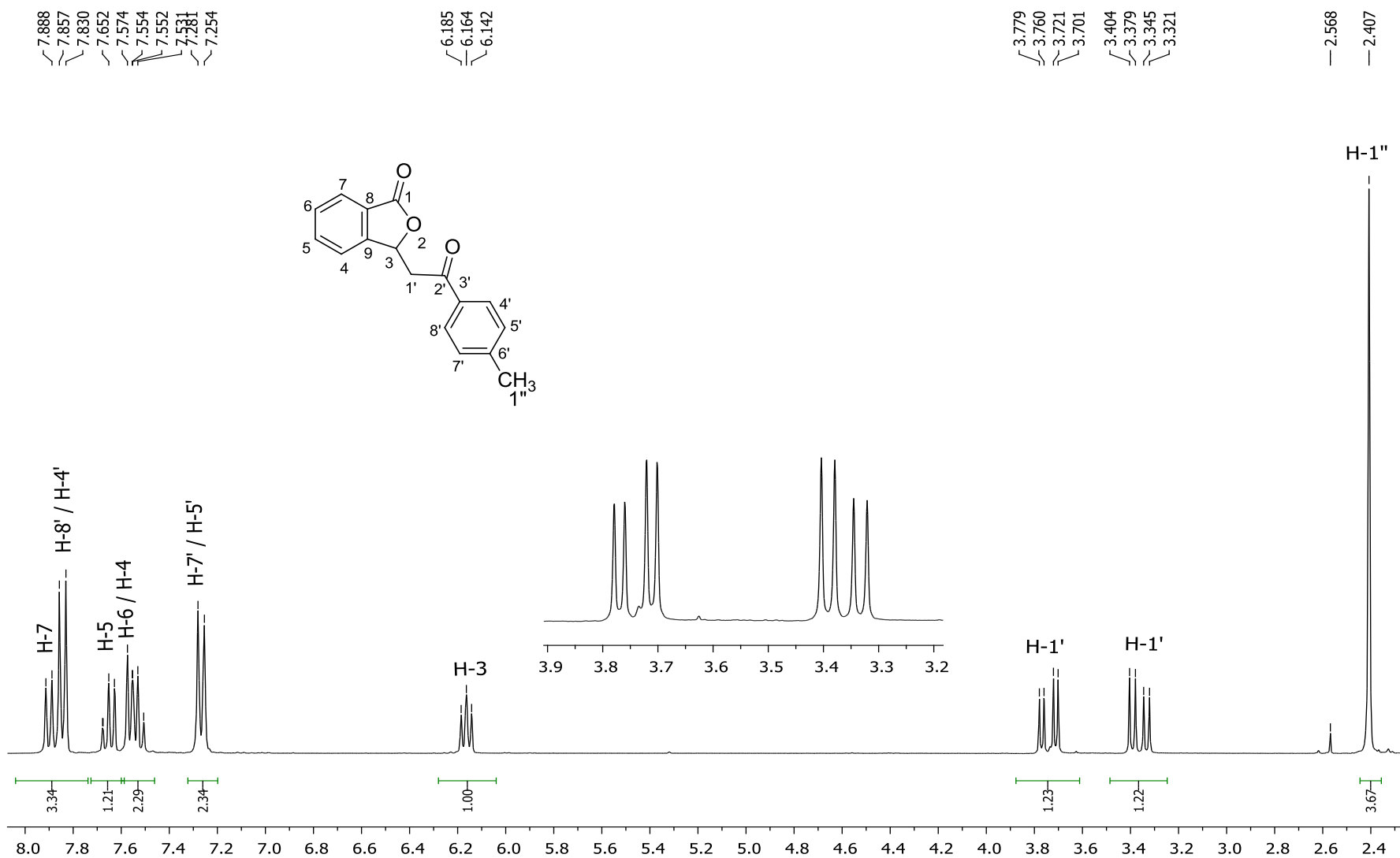


Figura 47 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 75MHz) da 3-(2-oxo-2-*p*-toliletil)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (19)

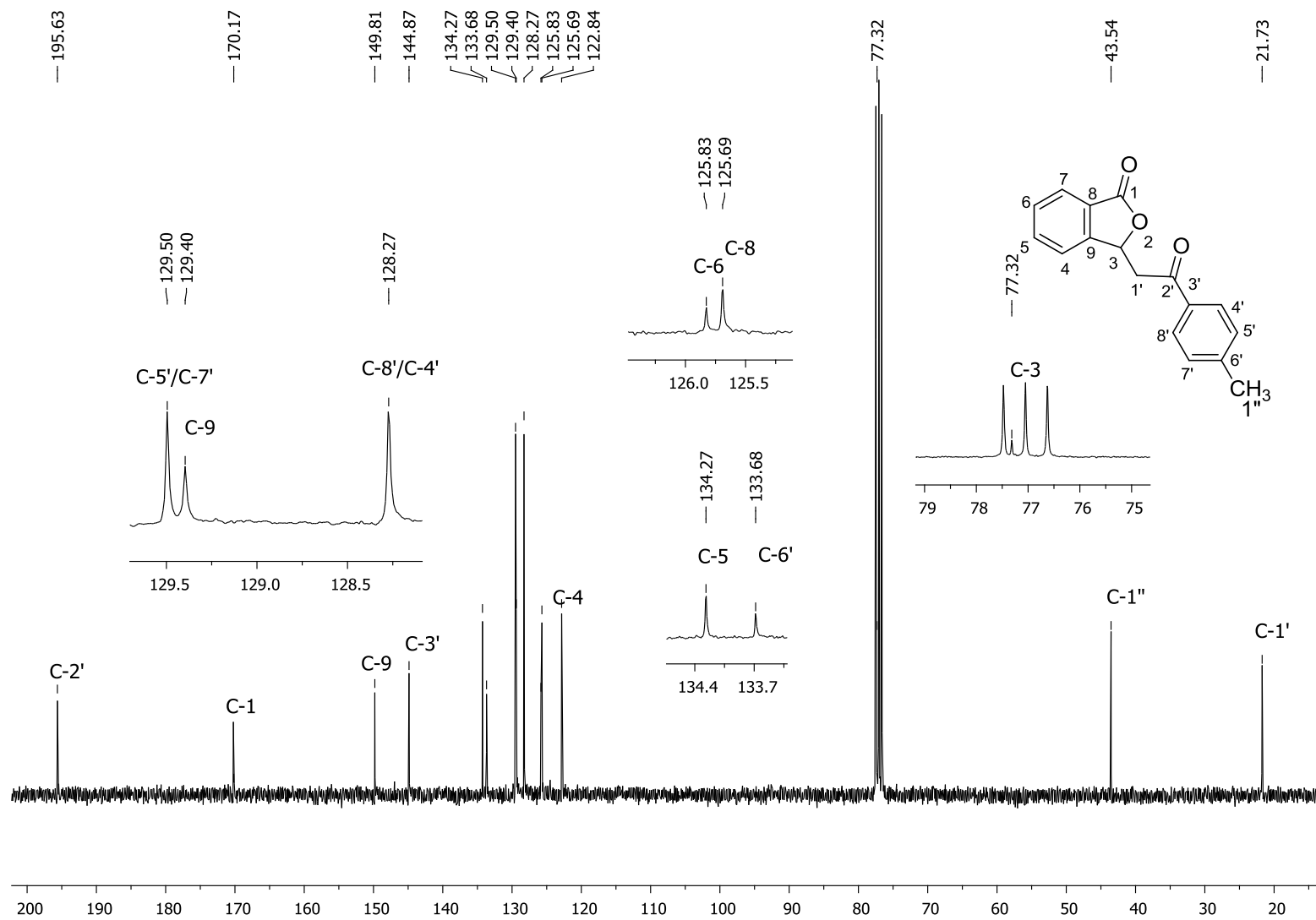


Figura 48 – Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz) da 3-(2-oxo-2-p-toliletil)isobenzofuran-1(3H)-ona (19)

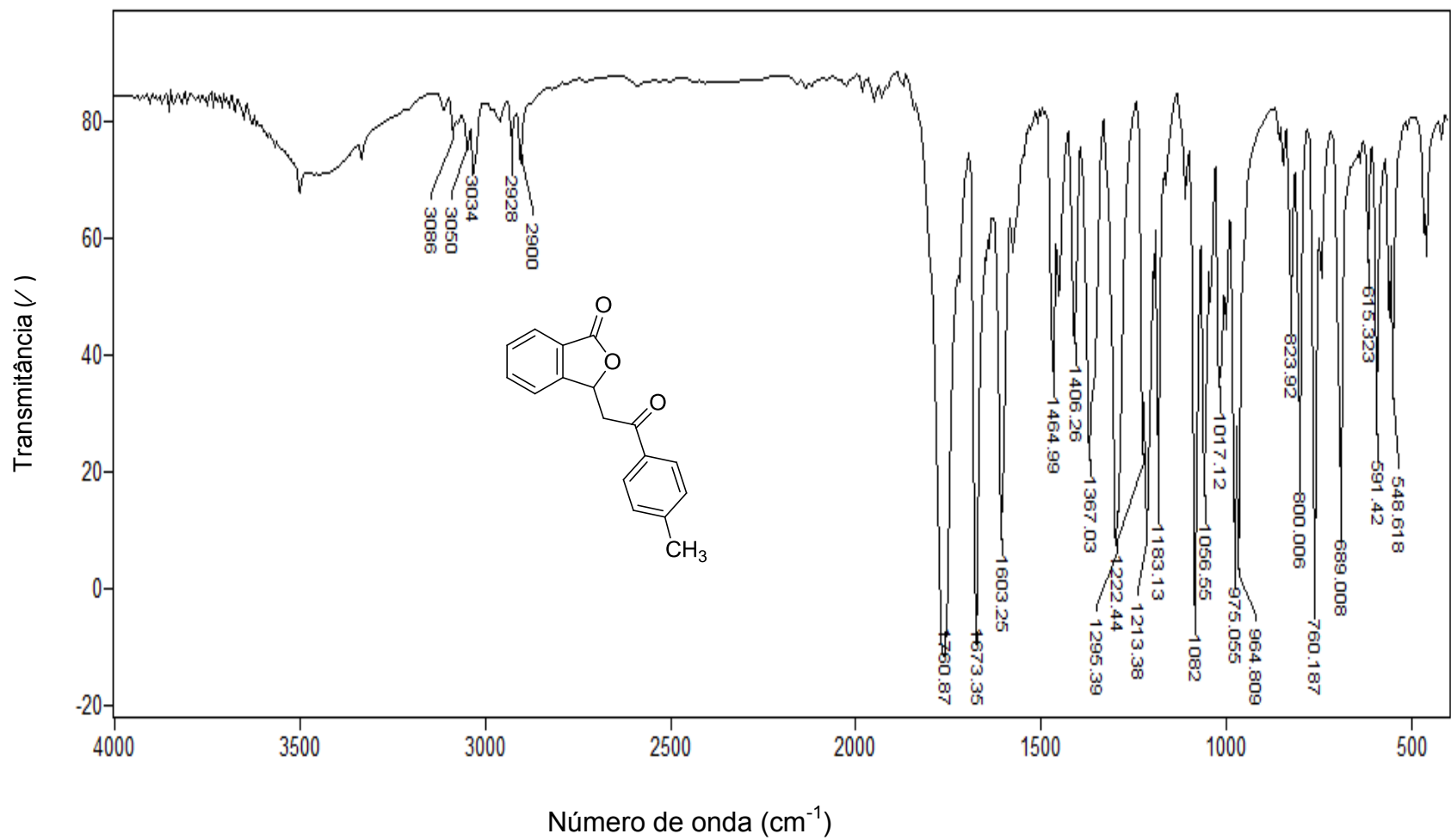


Figura 49 – Espectro no infravermelho (KBr) da 3-(2-oxo-2-*p*-toliletil)isobenzofuran-1(3*H*)-ona (**19**)