

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-graduação em Química

Celso de Oliveira Rezende Júnior

Síntese de derivados do ácido quínico,
genisteína e cluvenona, potenciais agentes
antimicrobianos, antitumorais e contra a
esclerose múltipla

Juiz de Fora

2014

Celso de Oliveira Rezende Júnior

Síntese de derivados do ácido quínico,
genisteína e cluvenona, potenciais agentes
antimicrobianos, antitumorais e contra a
esclerose múltipla

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química, área de
concentração: Química Orgânica,
Universidade Federal de Juiz de Fora,
como requisito parcial para obtenção
do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida
Co-orientador: Prof. Dr. Emmanuel Theodorakis

Juiz de Fora
2014

Este trabalho é dedicado à minha querida avó e madrinha Firmina (in memoriam) que infelizmente nos deixou esse ano, mas que sempre estará na memória daqueles que tiveram a honra de poder conviver com ela.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente à Tallita pelo companheirismo, dedicação, amor e principalmente por ter se abdicado temporariamente de sua profissão para tornar possível nossa estadia nos EUA.

À minha família, pai, avós Nadir, Arlindo e Firmina (in memoriam), meus sogros Tida e Tavinho e cunhada Tainara pelo carinho e amor.

Ao meu irmão Guto pela parceria e companheirismo tanto profissionalmente quanto pessoalmente.

Ao Prof. Mauro por esses quase oito anos de convívio, onde toda minha formação científica foi construída. Agradeço especialmente pelos incentivos, respeito e dedicação.

Aos meus amigos Marcos, Letícia, Guto e Fabianna por dividirem diversos momentos de felicidades juntos e por poder contar com eles para tudo.

Ao Prof. Emmanuel Theodorakis por ter aceitado a realizar essa colaboração no estágio sanduíche e pelo respeito e consideração.

Aos meus amigos Vitão, Clara, Wassermam, Fernanda, Tama, Diego, Mezenga, Joanna, Malucas e Fábio pela amizade e consideração.

Aos alunos de iniciação científica Adriane, Larissa e Bruno que contribuíram diretamente na parte experimental dessa tese e merecem meus cumprimentos pela dedicação.

Aos professores Mara Rúbia, Giovanni e Mireille pelo convívio diário no mesmo laboratório e pelos esclarecimentos científicos.

Aos companheiros de laboratório da UFJF, João Vitor, Joana, Camila, Bianca, Balbino, Lígia, Tatiane, Rodrigo, Jaqueline, Amanda, Isabele, Fábio, Tayrine,

-

Eloah, Lara e Vanessa e da UCSD Alec Satman, Kristy, Ed, Henry, Jin, Kevin Cao, Kevin, Noel, Atsushi, Yok e Ora pela coletividade e contribuições diárias para a realização desse trabalho.

Aos amigos Brasileiros de San Diego, Bruno, Laila, Marina, Erich, Dario, Rafael, Kellen, Carla, Eduardo e Silvio pelos momentos felizes que dividimos longe de casa.

Aos professores da UFJF e à CAPES pela bolsa concedida.

Considerações gerais

Este trabalho descreve a síntese e avaliação biológica de diferentes classes de compostos orgânicos e está dividido em três capítulos: (i) síntese de derivados da genisteína, candidatos a novos agentes contra a esclerose múltipla, (ii) síntese de amidas derivadas do ácido quínico condensado com diaminas *N*-alquiladas, potenciais agentes antibacterianos, antiparasitários e anti-inflamatórios e (iii) síntese de derivados da cluvenona, potenciais agentes antitumorais.

Os dois primeiros capítulos foram realizados na Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) sob a orientação do Dr. Mauro Vieira de Almeida. O terceiro capítulo foi realizado na University of California, San Diego (UCSD) através do estágio de doutorado sanduíche sob a orientação do Dr. Emmanuel Theodorakis

RESUMO

Neste trabalho são descritas as sínteses e avaliações biológicas de diferentes classes de compostos orgânicos e está dividido em três capítulos. O primeiro deles descreve a síntese de derivados da genisteína com distintas propriedades físico-químicas, a fim de avaliar a influência dessas propriedades na atividade biológica contra a esclerose múltipla. Foram sintetizados compostos condensados a carboidratos derivados da D-glicose e D-galactose e derivados lipofílicos com cadeias alquila ou acila lineares de doze ou quatorze carbonos. Esses compostos foram submetidos a ensaios de citotoxicidade e anti-inflamatórios *in vitro* e os compostos mais ativos foram avaliados quanto a sua atividade na modulação da resposta imune *in vivo* no modelo de encefalomielite auto-imune experimental (EAE). Na síntese dos derivados éteres verificaram-se diferentes reatividades: os compostos com cadeias alquila lineares foram obtidos em rendimentos melhores, seguido dos derivados da D-glicose e D-galactose, respectivamente. A regioseletividade obtida na síntese dos derivados éteres foi sugerida por nOe, enquanto que nos derivados ésteres foi sugerida por RMN de ^1H . Os ensaios biológicos revelaram que todos os compostos apresentaram atividade *in vitro* e os derivados de carboidrato foram mais citotóxicos que os derivados com cadeias lipofílicas lineares. Após os ensaios *in vivo*, o composto **13** foi considerado um protótipo para o tratamento da esclerose múltipla. O segundo capítulo descreve a síntese e avaliação das propriedades antimicrobianas de surfactantes derivados do ácido quínico condensados a diaminas *N*-alquiladas, variando-se o tamanho da cadeia alquila (parte apolar) e a estrutura do ácido quínico (parte polar), estabelecendo-se uma relação estrutura e atividade. Foram sintetizados 32 compostos através de reações de amidação entre uma lactona derivada do ácido quínico com diaminas *N*-alquiladas em rendimentos satisfatórios. 17 compostos apresentaram atividades semelhantes ou melhores do que a droga de referência. Também estão sendo realizados alguns ensaios antiparasitários e anti-inflamatórios com esses compostos. O terceiro capítulo descreve a síntese e avaliação das propriedades antitumorais de derivados de xantonas *Garcinia*, especificamente de cluvenona. Foram sintetizados diversos compostos com

grupos retiradores e doadores de elétrons, hidrofílicos e contendo a unidade sal de trifenilfosfônio no anel A de hidroxiclavenonas, que auxiliarão no entendimento da relação estrutura e atividade para essa classe de compostos. Sintetizou-se também um composto derivado da 6-hidroxiclavenona condensada com o BODIPY com potencial atividade antitumoral e propriedades fluorescentes com o objetivo de realizar estudos de localização celular e mecanismo de ação. A etapa chave para a síntese desses compostos foi uma reação em cascata de Claisen/Diels-Alder.

Palavras-chave: Genisteína. Esclerose múltipla. Carboidrato. Lipofilicidade. Ácido quínico. Diaminas. Antimicrobianos. *Garcinia*. Clavenona. Anticancerígenos. Reação de Claisen/Diels-Alder.

ABSTRACT

In this work the synthesis and biological evaluation of different classes of organic compounds are described and it is divided into three chapters. The first chapter describes the synthesis of genistein derivatives with different physicochemical properties in order to assess the influence of these properties in biological activity against multiple sclerosis. Carbohydrate derivatives from D-glucose and D-galactose and compounds condensed with lipophilic alkyl or acyl linear chains of twelve or fourteen carbons were synthesized. Cytotoxicity and anti-inflammatory activities *in vitro* were performed and the most active compounds were evaluated in modulating the immune response *in vivo* model of experimental autoimmune encephalomyelitis. Reactivity of ethers derivatives was different: compounds with linear alkyl chains were obtained in higher yields, followed by the derivatives of D-glucose and D-galactose, respectively. The regioselectivity obtained in the synthesis of ether derivatives were suggested by nOe, while the ester derivatives were suggested by ¹H NMR. All compounds showed *in vitro* activity and carbohydrate derivatives were more cytotoxic than lipophilic derivatives. After *in vivo* tests, compound **13** was considered a prototype for the treatment of multiple sclerosis. The second chapter describes the synthesis and evaluation of the antimicrobial properties of surfactants derived from quinic acid (polar part) condensates with *N*-alkylated diamines (nonpolar part). The size of the alkyl chain and the structure of quinic acid were altered, settling a relationship structure and activity. 32 compounds were synthesized by amidation reactions between a lactone derivative of quinic acid with *N*-alkylated diamines in satisfactory yields. 17 of these compounds showed equal or better equal activities than the drug reference. Some antiparasitic and anti-inflammatory tests are also being conducted for these compounds.

The third chapter describes the synthesis and evaluation of antitumoral properties of derivatives of *Garcinia* xanthenes, specifically cluvenone. Several compounds were synthesized with electron withdrawing and donors groups, containing hydrophilic and the triphenylphosphonium salt unit in the A ring of hidroxicluvenonas. These compounds will help in understanding the structure and activity relationship for this class of compounds. A BODIPY-

Hydroxyluvenone conjugate compound with potential antitumor activity and fluorescent properties was synthesized with the aim of studying the cellular location and mechanism of action. The key step for the synthesis of these compounds was a reaction cascade Claisen / Diels-Alder reaction.

Keywords: Multiple sclerosis. Carbohydrate. Lipophilicity. Quinic acid. Diamines. Antimicrobial. *Garcinia*. Cluvenone. Anticancer. Claisen/Diels-Alder reaction.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACN: acetona

ATF: ácido trifluoroacético

Boc₂O: dicarbonato de di-*tert*-butila

CAN: nitrato de cério e amônio

CGX: caged *Garcinia xanthones* (xantonas *Garcinia* enjauladas)

d: duplete

dd: duplete duplo

DCC: *N-N'*-dicicloexilcarbodiimida

DCM: diclorometano

DIPEA: diisopropiletilamina

DMAP: 4-dimetilaminopiridina

DMF: dimetilformamida

DMSO: dimetilsulfóxido

EAE: encefalomielite autoimune experimental

EDC: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

EM: esclerose múltipla

EMAR: espectrometria de massas de alta resolução

ESI: eletrospray

FDA: food and drug administration (administração de alimentos e medicamentos)

FF: faixa de fusão

HATU: hexafluorofosfato de 2-(1-*H*-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio

HOBt: hidroxibenzotriazol

Hz: hertz

IC₅₀: concentração que inibe 50%

IFN-β: interferon beta

IFN-γ: interferon gama

IL-6: interleucina 6

IL-10: interleucina 10

IL-12: interleucina 12

IL-17: interleucina 17

IS: índice de seletividade
J: constante de acoplamento
L-NMMA: acetato de *N*-monometil-L-arginina
LPS: lipopolissacarídeo
m: múltiplo
MAPK: proteínas quinases ativadas por mitógenos
MIC: concentração inibitória mínima
MO: microondas
MOMCl: cloreto de metoximetila
MTT: brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NF-κB: fator nuclear kappa B
NO: óxido nítrico
nOe: nuclear overhauser enhancements (efeito nuclear overhauser)
NOEDIFF: nuclear overhauser enhancements difference (efeito nuclear overhauser diferencial)
OMS: organização mundial da saúde
PA: *Pseudomonas aeruginosa*
PIFA: bis(trifluoroacetato) de fenil-iodinano(III)
PP: primária progressiva
PR: progressiva recorrente
R_f: fator de retenção
RMN: ressonância magnética nuclear
RR: remitente recorrente
rTRTc: tripanotona redutase do *Trypanosoma cruzi*
rTRTb: tripanotona redutase do *Leishmania braziliensis*
s: simpleto
SA: *Staphylococcus aureus*
SCN: sistema nervoso central
SE: *Staphylococcus epidermis*
SFB: soro fetal bovino
S_N2: substituição nuclear de segunda ordem
SP: secundária progressiva
t.a.: temperatura ambiente
td: tripleto duplo

THF: tetraidrofurano

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

δ : deslocamento químico

SUMÁRIO

1 SÍNTESE DE DERIVADOS DA GENISTEÍNA, CANDIDATOS A NOVOS AGENTES CONTRA A ESCLEROSE MÚLTIPLA.....	16
1.1 INTRODUÇÃO.....	16
1.2 OBJETIVOS.....	21
1.3 RETROSSÍNTESE.....	22
1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
1.5 CONCLUSÕES.....	46
1.6 PARTE EXPERIMENTAL.....	48
2 SÍNTESE DE AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO QUÍNICO CONDENSADO COM DIAMINAS N-ALQUILADAS, POTENCIAIS AGENTES ANTIBACTERIANOS, ANTIPARASITÁRIOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS.....	59
2.1 INTRODUÇÃO.....	59
2.2 OBJETIVOS.....	69
2.3 RETROSSÍNTESE.....	71
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
2.5 CONCLUSÕES.....	82
2.6 PARTE EXPERIMENTAL	83
3 SÍNTESE DE DERIVADOS DE CLUVENONA, POTENCIAIS AGENTES ANTITUMORAIS	92
3.1 INTRODUÇÃO.....	92
3.2 OBJETIVOS.....	96
3.3 RETROSSÍNTESE.....	99
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	103
3.5 CONCLUSÕES.....	176
3.6 PARTE EXPERIMENTAL.....	177
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	212
ANEXO A Espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C dos compostos do capítulo 1 ...	225
ANEXO B Espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C dos compostos do capítulo 2....	239
ANEXO C Espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C dos compostos do capítulo 3...	263
ANEXO D Estruturas dos compostos sintetizados no capítulo 1.....	290
ANEXO E Estruturas dos compostos sintetizados no capítulo 2.....	291

1 SÍNTESE DE DERIVADOS DA GENISTEÍNA, CANDIDATOS A NOVOS AGENTES CONTRA A ESCLEROSE MÚLTIPLA

1.1 INTRODUÇÃO

A esclerose múltipla (EM) é uma desordem neurológica autoimune caracterizada por um processo inflamatório crônico desmielinizante do sistema nervoso central (SCN), sendo na maioria dos casos grave e incapacitante, afetando cerca de um milhão de pessoas entre 17 e 65 anos; atingindo duas vezes mais mulheres que homens (SOSPEDRA e MARTIN, 2005; GOVERMAN, 2009). Algumas pessoas com EM não vivenciam completa incapacidade durante sua vida, entretanto, cerca de 60% dos indivíduos com EM tornam-se incapacitados em aproximadamente 20 anos após o início da doença, o que influencia diretamente na qualidade de vida do paciente e ocasiona um elevado custo financeiro para a sociedade.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (2008), a estimativa mundial média da prevalência da EM é de 30 para cada 100.000 habitantes (Figura 1).

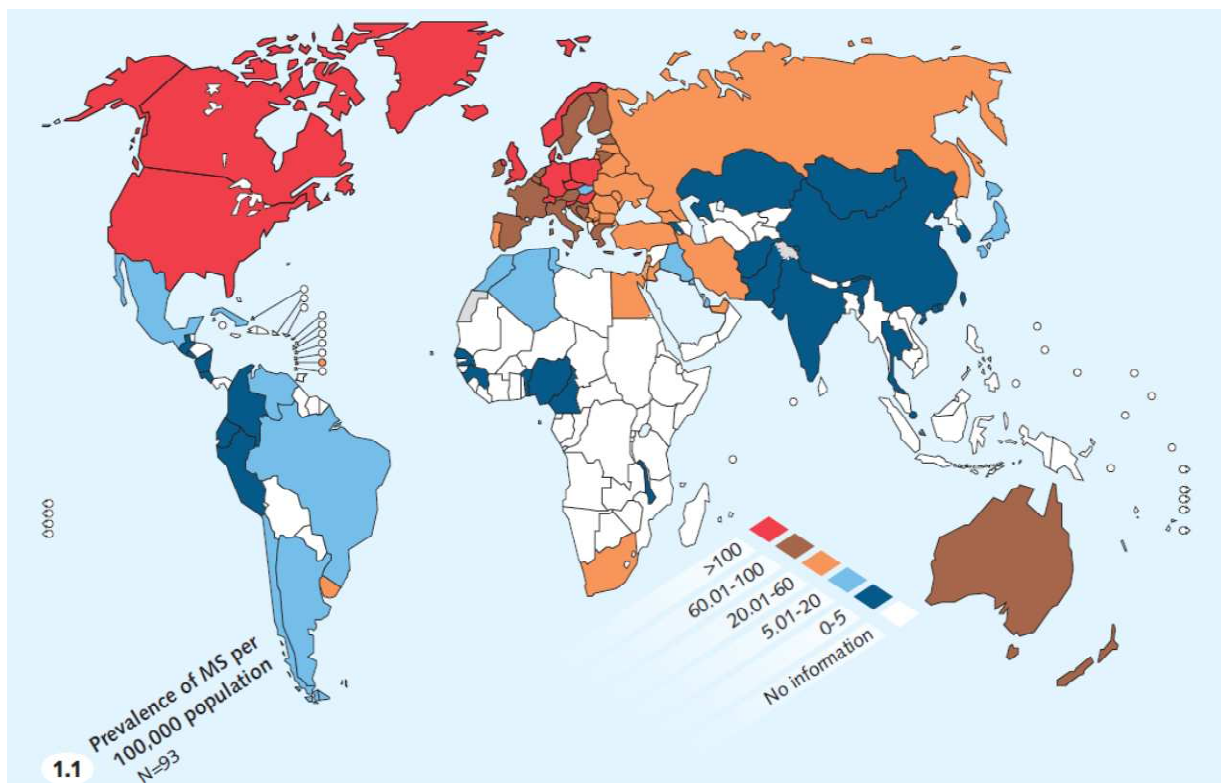


Figura 1 Distribuição geográfica mundial da prevalência de EM segundo Organização Mundial de Saúde (OMS, 2008).

É importante ressaltar que existe a relação entre a distribuição geográfica, prevalência e incidência da EM, sendo constatado que o afastamento da região equatorial para ambos os hemisférios é acompanhado de um aumento no número de casos de EM (OMS, 2008).

A EM é uma desordem com extensiva variabilidade no sítio de ação e na apresentação clínica (taxas de acúmulo e disfunção), sendo caracterizada por episódios que envolvem lesão de medula, nervo óptico, tronco encefálico e cerebelo (LUBLIN *et al.*, 2007).

As manifestações clínicas na EM incluem problemas sensoriais, motor e no sistema autônomo, sendo possível distinguir basicamente quatro formas clínicas da doença. No estágio inicial da doença 85% dos pacientes apresentam o tipo remitente-recorrente (RR), onde os surtos são de duração variável, seguidos de um período de remissão e com recuperação total ou parcial do indivíduo afetado; a maioria dos pacientes do tipo RR evolui para a forma secundária-progressiva (SP), onde após a remissão dos surtos, apresentam leve progressão da doença. Aproximadamente 10% dos pacientes apresentam a EM primária-progressiva (PP) que inicia de forma progressiva, com platôs ocasionais e com pequenas melhoras temporárias. Na apresentação progressiva-recorrente (PR) desde o início observa-se o agravamento da incapacidade com surtos claramente identificáveis com ou sem recuperação do paciente (SOSPEDRA e MARTIN, 2005; LUBLIN *et al.*, 2007; GOVERMAN, 2009).

A forma mais comum da EM é a RR que pode desenvolver para a forma SP em função da contínua incapacidade. De acordo com Lublin e colaboradores (2007) o elevado número de recaídas no primeiro ano da doença está associado a um prognóstico ruim da doença.

As variadas formas clínicas observadas no curso da EM podem ser explicadas pela desmielinização, graus de inflamação, remielinização e neurodegeneração (PETERSON, ROBERT e FUJINAMI, 2007). Na EM é observado a presença de infiltrados inflamatórios que estão associados à degradação da mielina, o que interfere diretamente na condução nervosa (BASSO *et al.*, 2008).

Os fatores que promovem a ativação periférica de células T virgens contra proteínas da mielina na EM são ainda desconhecidos, mas parece ser resultado de uma combinação de fatores ambientais e genéticos que desencadeiam uma resposta autoimune que tem como principal alvo a bainha de mielina que reveste o axônio dos neurônios (WUCHERPFENING e STROMINGER, 1995; BASSO *et al.*, 2008). Os fatores ambientais estão principalmente relacionados às infecções virais e bacterianas, onde a semelhança estrutural entre a mielina e proteínas associadas a patógenos desencadeariam a reação inflamatória no SNC (FUJINAMI e OLDSTONE, 1985; WUCHERPFENING e STROMINGER, 1995;).

O tratamento da EM envolve os chamados agentes modificadores da doença, aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) e são classificados em imunomoduladores ou imunossupressores, administrados de acordo com a fase e a progressão da doença (FOX, 2004).

Entre os agentes terapêuticos que estão sendo testados ou já aprovados pelo FDA para o tratamento da EM podemos citar: interferon beta (IFN- β), o acetato de glatirâmer, natalizumab, fingolimod, daclizumab, rituximab, alemtuzumab e cladribine (SORENSEN *et al.*, 1999; NEUHAUS *et al.*, 2006, JONES e COLES, 2010). Embora todos estes fármacos apresentem resultados promissores no tratamento da EM, eles são ineficazes na cura do paciente em fase evolutiva da doença. Além disso, estes fármacos apresentam um problema fundamental que é sua atuação não seletiva nas células do sistema imune, o que desencadeia efeitos colaterais graves como leucoencefalopatia multifocal progressiva, aumento das taxas de infecções, erupções cutâneas e úlceras (JONES e COLES, 2010).

O modelo animal de encefalomielite autoimune experimental (EAE) é utilizado para o estudo da esclerose múltipla, sendo importante para o esclarecimento dos fatores envolvidos na patogênese da doença e também para o desenvolvimento de novas terapêuticas para o tratamento da EAE e conseqüentemente da EM (CASTRO *et al.*, 2012). Várias razões contribuem para a utilização da EAE como um modelo de autoimunidade antígeno-induzida, tais como, o predomínio de inflamação com o envolvimento de células

mononucleares e a desmielinização, que são características que se assemelham às da EM (ERCOLINI e MILLER, 2006; YIN *et al.*, 2010).

De Paula e colaboradores (2008) mostraram o potencial terapêutico da genisteína (1, Figura1), um fitoestrógeno, no tratamento da EAE. Neste estudo foi demonstrado que a genisteína melhorou os sinais clínicos da EAE, através da redução de citocinas pró-inflamatórias no sistema nervoso central, além de ter induzido a redução do rolamento e adesão de células na microcirculação do sistema nervoso central. A genisteína (1) atua através de diferentes mecanismos celulares, tais como decréscimo de mediadores pró inflamatórios [NO (óxido nítrico), IL-12 (interleucina 12) e TNF- α (fator de necrose tumoral)], inibição da via do NF- κ B (fator nuclear kappa B), inibição do p38 MAPK (proteínas quinases ativadas por mitógenos), além de interagir com os receptores estrogênicos, sendo diversos estudos direcionados principalmente a sua aplicação em alterações fisiológicas de origem hormonal (AKIYAMA *et al.*, 1987; SETCHELL *et al.*, 2005; COMALADA *et al.*, 2006; DIJSSELBLOEM *et al.*, 2007).

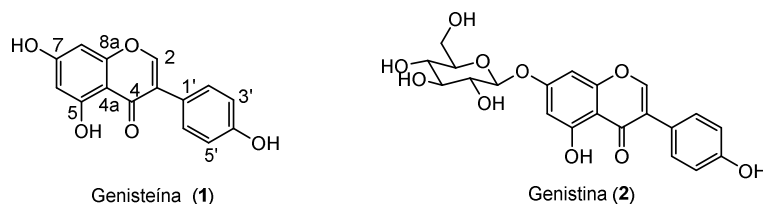


Figura 1 Estrutura da genisteína (1) e da genistina (2).

A genisteína (1) é um isoflavonoide encontrado em uma variedade de plantas, principalmente soja, que possui diversas propriedades biológicas, tais como, cardiovascular, antioxidante, estrogênica, neuroprotetora, inibitória da tirosina quinase e inibitória da carcinogênese (THAM *et al.*, 1998). Sabe-se que este isoflavonoide apresenta algumas desvantagens relacionadas à sua estrutura química, como rápida excreção e declínio dos níveis séricos após administração oral e biotransformações *in vivo* em metabólitos inativos, sendo estes fatores que limitam sua aplicação clínica. Modificações estruturais da molécula de genisteína buscam promover maior biodisponibilidade do composto (LEWIS *et al.*, 2000; POLKOWSKI *et al.*, 2004; CAVE *et al.*, 2007).

A genisteína, nos alimentos não fermentados ricos em isoflavonoides, é encontrada na sua forma glicosídica (condensada na hidroxila anomérica de carboidratos). A genistina (**2**) (Figura 1) é um exemplo de um glicosídeo de genisteína.

Estudos avaliando a biodisponibilidade de glicosídeos e agliconas de isoflavonóides descreveram resultados contraditórios. Alguns autores relataram uma melhor biodisponibilidade para os glicosídeos (SETCHELL *et al.*, 2001), outros relataram uma maior biodisponibilidade para as agliconas (IZUMI *et al.*, 2000), enquanto Richelle *et al.* (2002) e Zubik e Meydani (2003) relataram não haver diferença na biodisponibilidade.

A lipofilicidade é considerada uma característica química importante no processo de absorção intestinal devido a uma maior interação de moléculas lipofílicas com a camada lipídica de membranas de células intestinais contribuindo para a penetração da molécula por difusão passiva, porém existem outras maneiras das moléculas penetrarem nas células do intestino (SETCHELL *et al.*, 1998, 2003 e 2005).

A baixa lipofilicidade dos glicosídeos de genisteína faz com que estes sejam fracamente absorvidos no intestino humano por difusão passiva (SETCHELL *et al.*, 1998, 2003 e 2005), porém, esses podem ser absorvidos pelo intestino através de transportadores de glicose dependentes de sódio (GEE *et al.*, 1998; WALGREN *et al.*, 1998). Como exemplo, estudos mostram que parte da genistina (**2**) é metabolizada em sua forma aglicona por glicosidases intestinais (ALLFRED *et al.*, 2001; DAY *et al.*, 1978; PISKULA *et al.*, 1999) e parte dela é absorvida na forma não hidrolisada (ANDLAUER *et al.*, 2000).

De posse dessas informações, acredita-se que a preparação de derivados lipofílicos da genisteína poderia conduzir a substâncias com melhor difusão pela membrana plasmática das células do organismo, em especial, linfócitos T e macrófagos, além de poder apresentar uma atividade biológica mais elevada contra a esclerose múltipla, comparado com a genisteína.

A condensação da genisteína com carboidratos na posição C-6, diferentemente da ligação na posição anomérica (C-1), poderia contribuir para o aumento da atividade biológica da genisteína. É importante ressaltar que a ligação na posição C-6 conduziria a um carboidrato mais estável frente a hidrólises comparado com a ligação presente nos glicosídeos e, dessa forma, poderia aumentar a sua biodisponibilidade.

A ausência de agentes terapêuticos eficazes no tratamento da EM torna este trabalho relevante, uma vez que a avaliação dos derivados da genisteína poderá levar a novos compostos protótipos para o tratamento da EAE, já que as modificações estruturais poderão conduzir à formação de compostos mais ativos, mais biodisponíveis e menos tóxicos.

1.2 OBJETIVOS

Objetivou-se nesse trabalho a síntese de derivados da genisteína com distintas propriedades físico-químicas a fim de avaliar a influencia dessas propriedades na atividade biológica contra a esclerose múltipla (Figura 2).

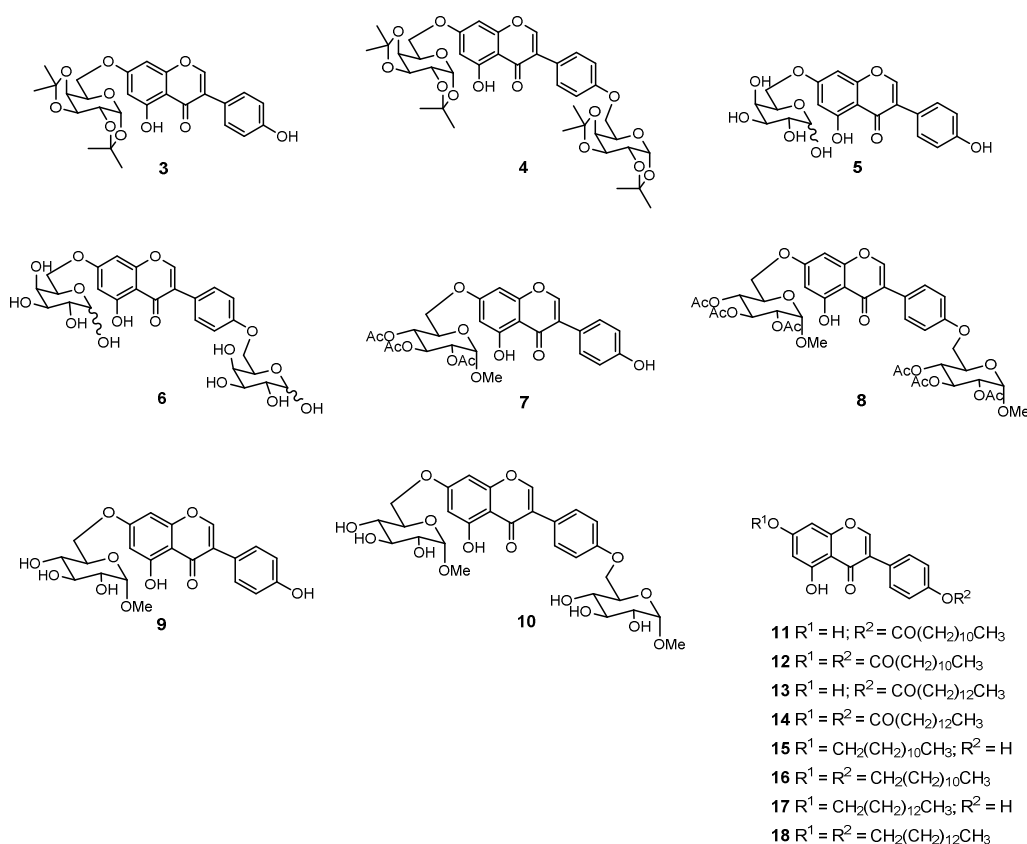


Figura 2 Estrutura dos compostos almejados neste trabalho.

Almejou-se os compostos **3-10**, mono e di-condensados a carboidrato (Figura 2), com o objetivo de se obter derivados da genisteína com propriedades físico-químicas semelhantes aos glicosídeos de genisteína, porém, mais estáveis frente a hidrólises ácida e, conseqüentemente, serem mais biodisponíveis. Estes compostos são derivados da genisteína condensada na posição C-6 de carboidratos derivados da D-glicose e da D-galactose.

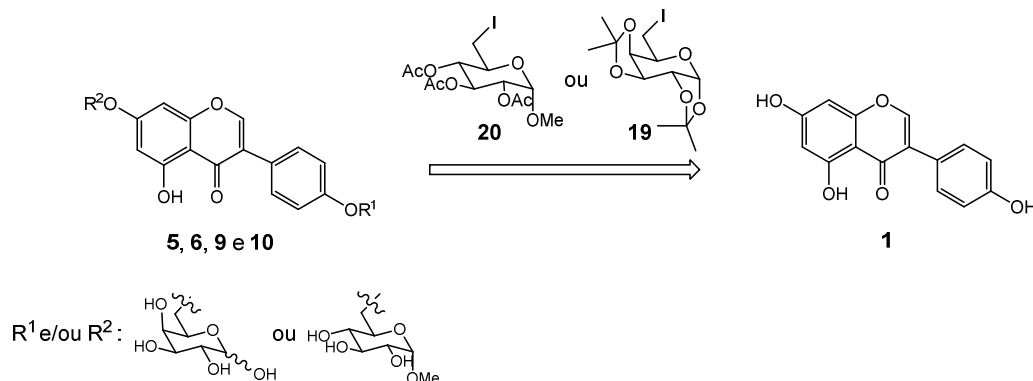
Os compostos **11-18** (Figura 2), mono e di-condensados com grupos lipofílicos, foram almejados com o intuito de avaliar a lipofilicidade na atividade biológica. A lipofilicidade poderia aumentar a difusão da genisteína pela membrana plasmática das células do organismo, podendo potencializar sua ação no combate à esclerose múltipla. Foram almejados derivados ésteres **11-14** e derivados éteres **15-18** devido as diferentes propriedades destes grupos. Os derivados ésteres, por ser uma classe facilmente hidrolisada em meio ácido ou básico, poderiam ser clivados após a difusão celular, dando origem à genisteína, enquanto que os derivados éteres são mais estáveis sob essas condições.

1.3 RETROSSÍNTESE

A genisteína (Ver Figura 1, página 14) apresenta em sua estrutura três hidroxilas fenólicas com distintas propriedades químicas. O hidrogênio da hidroxila em C-7 é cerca de cem vezes mais ácido que o hidrogênio da hidroxila em C-4' e os grupos 4'-fenolato ou 4'-OH são melhores nucleófilos que os grupos 7-fenolato ou 7-OH, respectivamente. A hidroxila em C-5 é a menos nucleofílica da genisteína, pois realiza forte interação de hidrogênio com a carbonila em C-4 (AL-MAHARIK E BOTTING, 2008; LEWIS *et al*, 2000). Devido a essa diferença de reatividade entre as hidroxilas da genisteína é possível realizar reações seletivas nas posições 4'-OH e/ou 7-OH. A seletividade está relacionada com a quantidade de base e substrato (por exemplo, um iodeto de alquila) a serem utilizados.

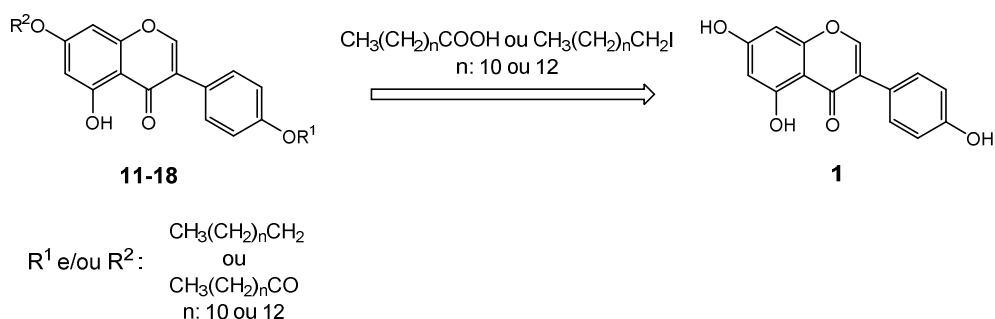
Dessa forma, os derivados da genisteína condensados a carboidrato (**3-10**) poderiam ser obtidos a partir de uma reação de substituição nucleofílica (S_N2) da genisteína com os iodetos derivados da D-galactose (**19**) e da D-

glicose (**20**), seguido por uma hidrólise ácida dos grupos protetores (Esquema 1).



Esquema 1 Retrossíntese para a formação dos compostos **5, 6, 9 e 10**.

Os derivados lipofílicos da genisteína poderiam ser obtidos a partir de reações de substituição nucleofílica com os respectivos iodetos de alquila e reações de esterificação com os respectivos ácidos graxos (Esquema 2).

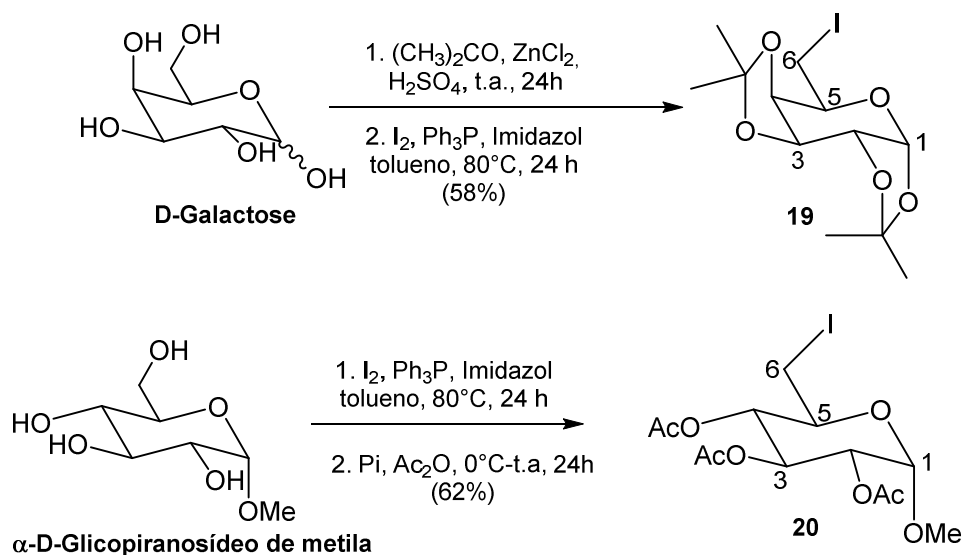


Esquema 2 Retrossíntese para a formação dos compostos **11-18**.

1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1 Síntese dos iodetos derivados da D-galactose (**19**) e da D-glicose (**20**)

Inicialmente foram sintetizados os iodetos derivados da D-galactose (**19**) e da D-glicose (**20**), representados no esquema 3, para futura condensação com a genisteína.



Esquema 3 Síntese dos iodetos derivados da D-galactose (**19**) e da D-glicose (**20**).

1.4.1.1 Síntese de 1,2:3,4-Di-O-isopropilideno-6-desoxi-6-iodo- α -D-galactopiranosose (**19**)

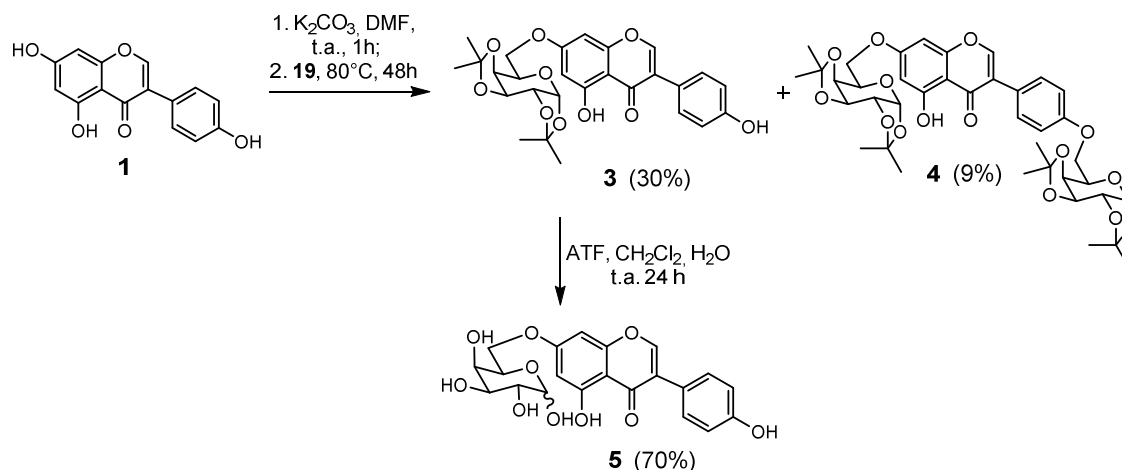
A partir da D-galactose foi realizada a proteção das hidroxilas em C-1, C-2, C-3 e C-4 com o grupo isopropilideno através de uma reação com acetona, cloreto de zinco e ácido sulfúrico a temperatura ambiente durante 24 horas. Após purificação do intermediário formado por coluna cromatográfica, realizou-se a iodação do carbono C-6 a partir de uma reação com iodo, trifetilfosfina e imidazol em tolueno a 80°C durante 24 horas conduzindo ao composto **19** em 58% de rendimento global para as duas etapas (Esquema 3) (RAYMOND E SCHROEDER, 1948).

1.4.1.2 Síntese de 2,3,4-Tri-O-acetil-6-desoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila (**20**)

A partir do α -D-glicopiranosídeo de metila realizou-se a iodação do carbono C-6 em uma reação com iodo, trifetilfosfina e imidazol em tolueno a 80°C durante 24 horas. Em seguida, sem prévia purificação, realizou-se a acetilação das hidroxilas em C-2, C-3 e C-4 pela adição de anidrido acético em piridina a 0°C conduzindo ao composto **20** em 62% de rendimento global para as duas etapas (ZIEF E HOCKETT, 1945) (Esquema 3).

1.4.2 Síntese dos derivados da genisteína condensados a derivados da D-galactose (3-5)

A síntese dos derivados da genisteína condensados a derivados da D-galactose (**3-5**) está representada no esquema 4.



Esquema 4 Síntese dos compostos **3-5**.

1.4.2.1 Síntese e caracterização de 7-O-(1'',2'':3'',4''-di-O-isopropilideno-6''-desoxi- α -D-galactopirano-6''-il)-genisteína (**3**) e 7,4'-di-O-(1'',2'':3'',4''-di-O-isopropilideno-6''-desoxi- α -D-galactopirano-6''-il)-genisteína (**4**)

Para a síntese dos compostos **3** e **4**, a genisteína (**1**) foi tratada com 1,5 mol/equivalente de carbonato de potássio em dimetilformamida (DMF) à temperatura ambiente durante 1 hora. Em seguida, adicionaram-se dois mols/equivalentes do iodeto **19** e a reação foi mantida a $80^\circ C$ durante 48 horas (Esquema 4).

Sob estas condições esperava-se a formação do composto monossustituído na hidroxila em C7 e o composto dissustituído nas posições C7 e C4', devido a diferença de acidez entre as hidroxilas e a quantidade de base utilizada. Para evidenciar a monossustituição em C7 foram realizadas várias análises, dentre elas experimentos de RMN usando a técnica de NOEDIFF.

Devido a semelhança estrutural entre **3** e **4**, será discutida apenas a caracterização do composto **3**. No espectro de RMN de 1H do composto **3** (Figura 3) observam-se quatro simpletos entre δ 1,37 e 1,57 correspondentes

aos 12 hidrogênios metílicos dos grupos isopropilideno, além de sinais entre δ 4,17 e 5,60 referentes aos 7 hidrogênios da porção carboidrato H1''-H7'', evidenciando que houve substituição em apenas uma hidroxila da genisteína. Observam-se também quatro dupletos em δ 6,40 ($J=2,2\text{Hz}$), 6,44 ($J=2,2\text{Hz}$), 6,86 ($J=8,6\text{Hz}$) e 7,35 ($J=8,6\text{Hz}$) correspondentes aos hidrogênios H6, H8, H3'-H5' e H2'-H6', respectivamente, além de dois simpletos em δ 7,83 e 12,77 correspondentes aos hidrogênios H2 e C5-OH. No espectro de RMN de ^{13}C de **3** (Figura 4) observam-se doze sinais entre δ 24,4 e 70,8 e entre δ 106,3 e 109,6 correspondentes aos doze carbonos da unidade carboidrato, evidenciando que houve substituição em apenas uma hidroxila da genisteína, além de sinais entre δ 93,4 e 99,1 e entre δ 115,9 e 181,2 referentes aos carbonos da unidade genisteína. No espectro de RMN usando a técnica NOEDIFF (Figura 5) do composto **3** foram observados sinais específicos nOe entre H6'' (δ 4,20) e H6 (δ 6,37) e H8 (δ 6,41), sugerindo que houve substituição na hidroxila em C7.

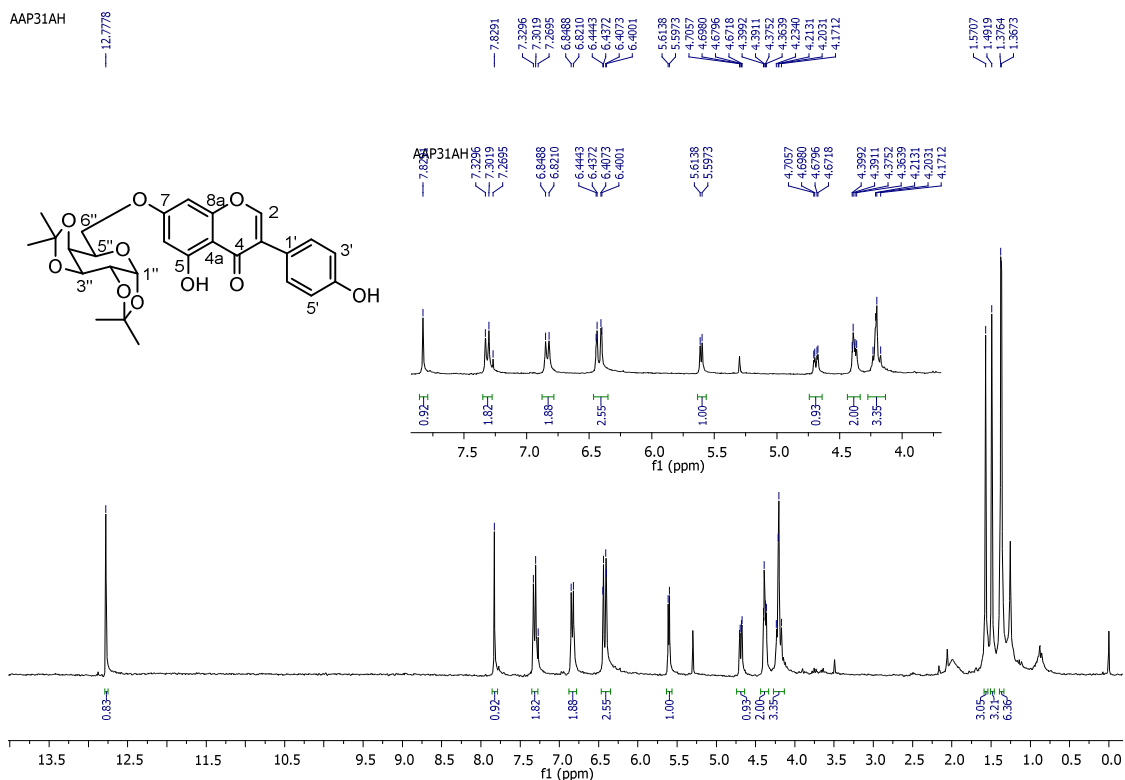


Figura 3 Espectro de RMN ^1H do compostos **3** (300 MHz, CDCl_3).

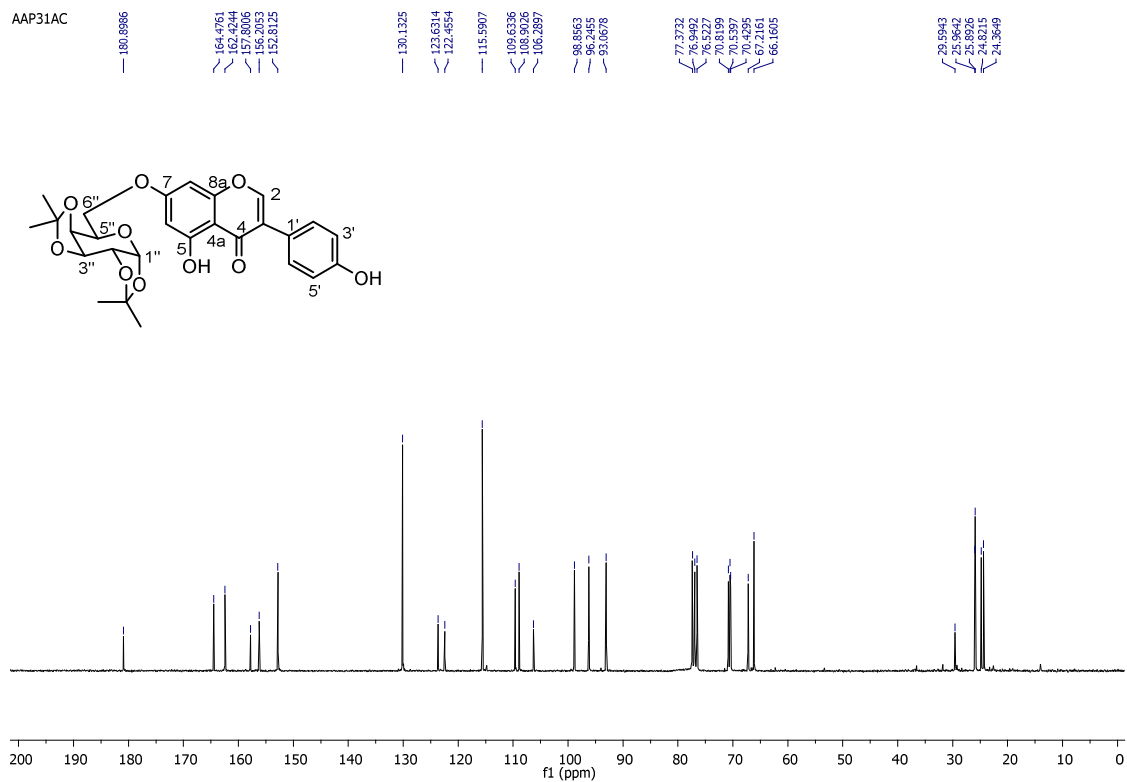


Figura 4 Espectro de RMN ^{13}C do compostos **3** (75 MHz, CDCl_3).

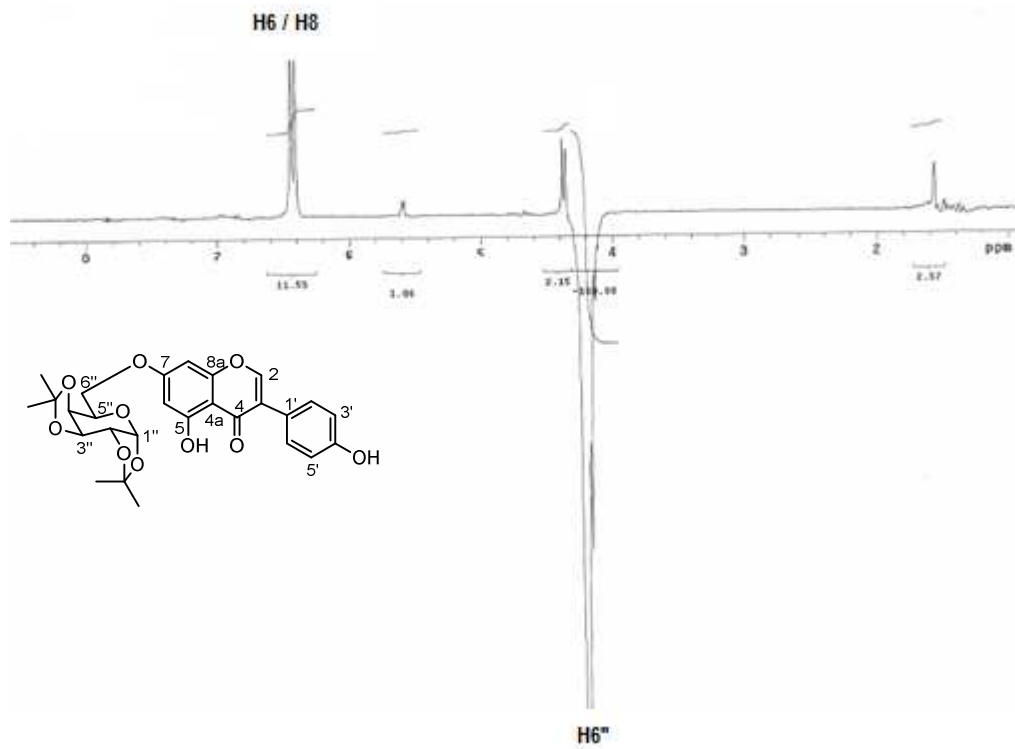
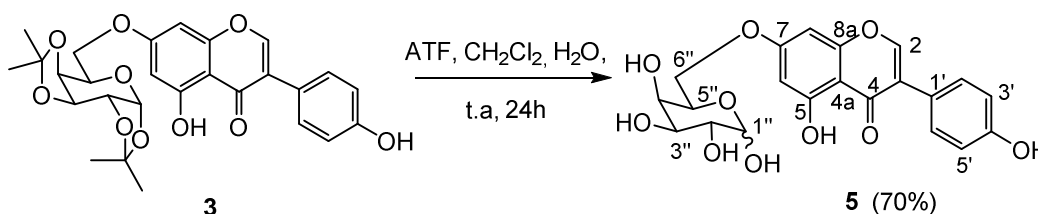


Figura 5 Espectro NOEDIFF de **3** com irradiação seletiva de H6'' (CDCl_3 , 300 MHz).

1.4.2.1 Síntese e caracterização de 7-O-(6''-desoxi- α : β -D-galactopirano-6''-il)-genisteína (**5**)



Esquema 5 Preparação do composto **5**.

O composto **5** foi obtido em um rendimento de 70% a partir de uma hidrólise ácida dos grupos isopropilideno do composto **3** em uma reação com ácido trifluoroacético (ATF), água destilada em diclorometano a temperatura ambiente durante 24 horas (Esquema 5). O composto **4** (Ver esquema 4) não foi submetido à reação de hidrólise para conduzir ao composto **6** devido a baixa quantidade de material obtido.

No espectro de RMN de ^1H de **5** (Figura 6) observam-se multipletos entre δ 4,38 e 4,88 referentes aos hidrogênios H2''-H6'' e um duplete em δ 5,34 ($J = 7,1$ Hz) referente a H1'' do anômero β , além de um sinal largo em δ 6,13 correspondente aos hidrogênios hidroxílicos da unidade carboidrato. Observam-se também dois simpletos em δ 6,74 e 6,69 correspondentes aos hidrogênios H6 e H8, respectivamente, dois dupletos em δ 7,30 ($J=8,0\text{Hz}$) e 7,72 ($J=8,0\text{Hz}$) referentes aos hidrogênios H3'-H5' e H2'-H6', respectivamente, além de dois simpletos em δ 8,18 e 13,54 correspondentes aos hidrogênios H2 e C5-OH, respectivamente. A clivagem dos grupos isopropilideno foi evidenciada pela ausência dos sinais referentes aos hidrogênios metílicos. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 7) observam-se sinais entre δ 182,6 e 85,2 correspondentes ao carbono anomérico e aqueles da unidade genisteína, além de sinais entre δ 76,5 e 56,3 referentes aos carbonos da unidade carboidrato. A clivagem dos grupos isopropilideno foi evidenciada pela ausência dos sinais referentes aos carbonos metílicos e cetálicos.

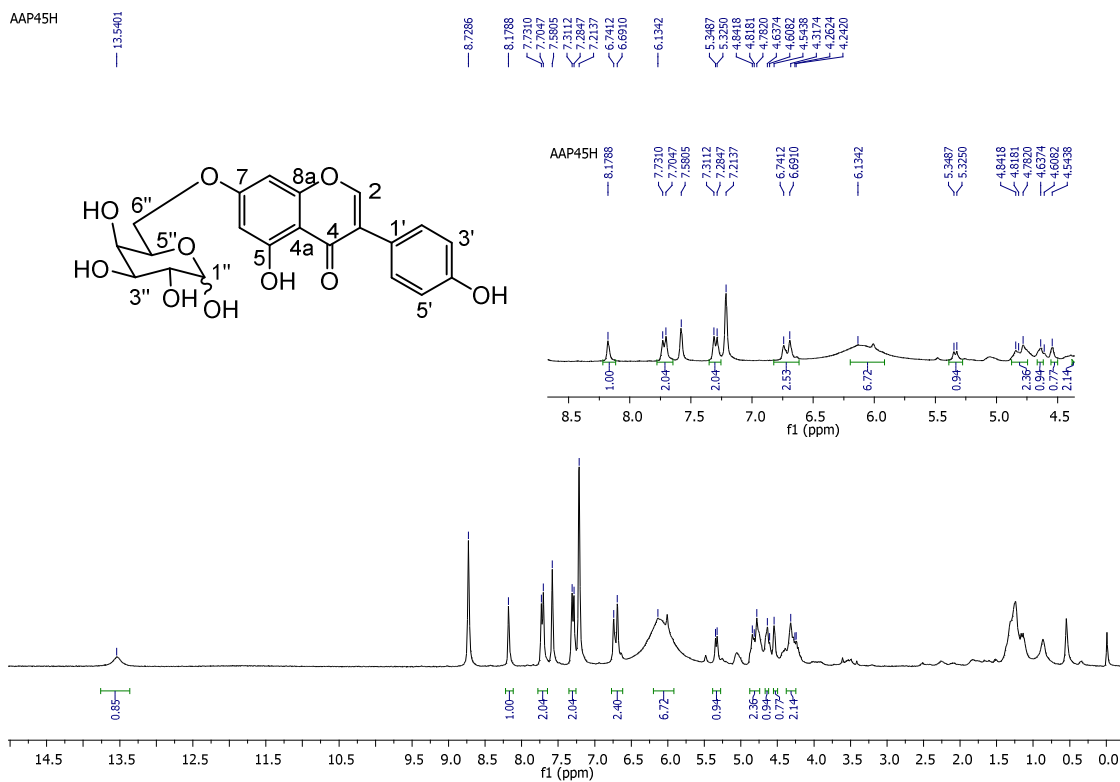


Figura 6 Espectro de RMN ^1H do composto **5** (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

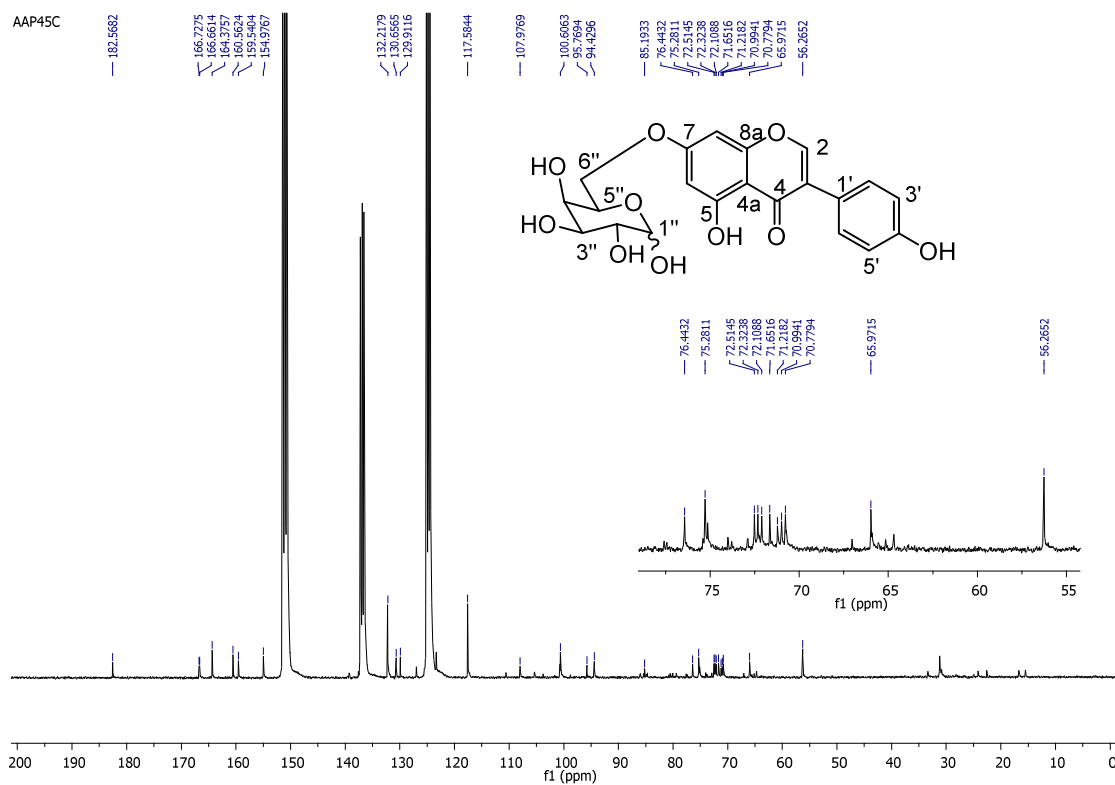
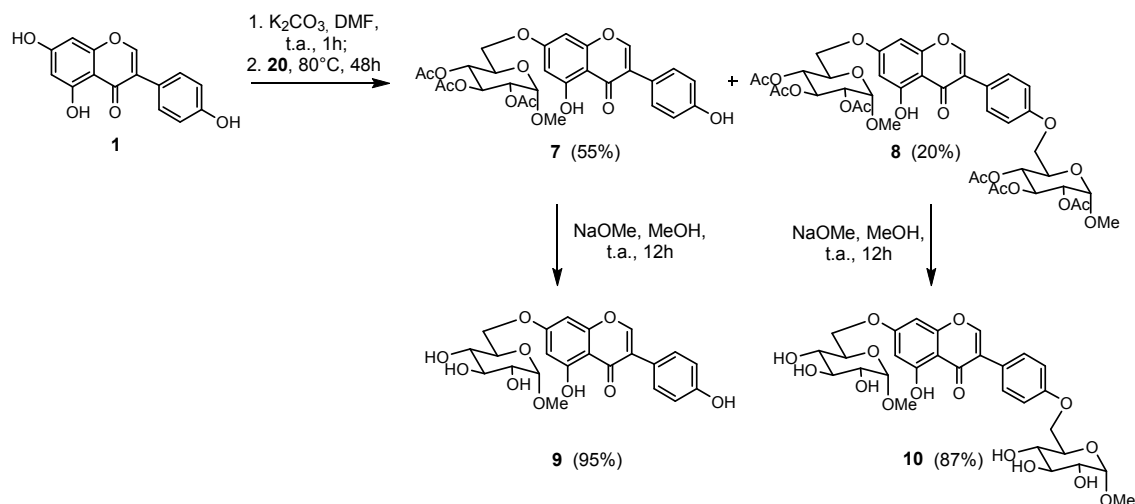


Figura 7 Espectro de RMN ^{13}C do composto **5** (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

1.4.3 Síntese dos derivados da genisteína condensados a derivados da D-glicose (7-10)

A síntese dos derivados da genisteína condensados a derivados da D-glicose (7-10) está representada no esquema 6.



Esquema 6 Síntese dos compostos 7-10.

1.4.3.1 Síntese e caracterização de 7-O-(1''-O-metil-2'',3'',4''-tri-O-acetil-6''-desoxi- α -D-glicopirano-6''-il)-genisteína (7) e 7,4'-di-O-(1''-O-metil-2'',3'',4''-tri-O-acetil-6''-desoxi- α -D-glicopirano-6''-il)-genisteína (8)

Para a síntese dos compostos **7** e **8** a genisteína (**1**) foi tratada com 1,5 mol/equivalentes de carbonato de potássio em DMF à temperatura ambiente durante 1 hora. Em seguida, adicionou-se dois mols/equivalentes do iodeto **20** e a reação foi mantida a $80^\circ C$ durante 48 horas fornecendo os compostos **7** e **8** em 55% e 20% de rendimento, respectivamente (Esquema 6).

Devido a semelhança estrutural entre **7** e **8**, será discutida apenas a caracterização do composto **7**. No espectro de RMN de 1H de **7** (Figura 8) observam-se quatro dupletos em δ 6,30 ($J=2,0Hz$), 6,35 ($J=2,0Hz$), 6,82 ($J=8,0Hz$) e 7,29 ($J=8,0Hz$) correspondentes aos hidrogênios H6, H8, H3'-H5' e H2'-H6', respectivamente, além de dois simpletos em δ 7,79 e 8,78 correspondentes aos hidrogênios H2 e C4'-OH, respectivamente. Observam-se também sinais entre δ 1,98 e 5,49 referentes aos 19 hidrogênios da unidade

açúcar, evidenciando que houve a substituição em apenas uma hidroxila da genisteína. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 9) observam-se sinais entre δ 181,1 e 93,3 correspondentes aos carbonos da unidade genisteína, carbonos carbonílicos dos grupos acetila e ao carbono anomérico, além de sinais entre δ 71,0 e 20,9 correspondentes aos outros carbonos da unidade açúcar. Nesse espectro, a condensação com apenas uma unidade de açúcar é evidenciada pela presença de apenas seis sinais compreendidos na região entre δ 55,8 e 71,0.

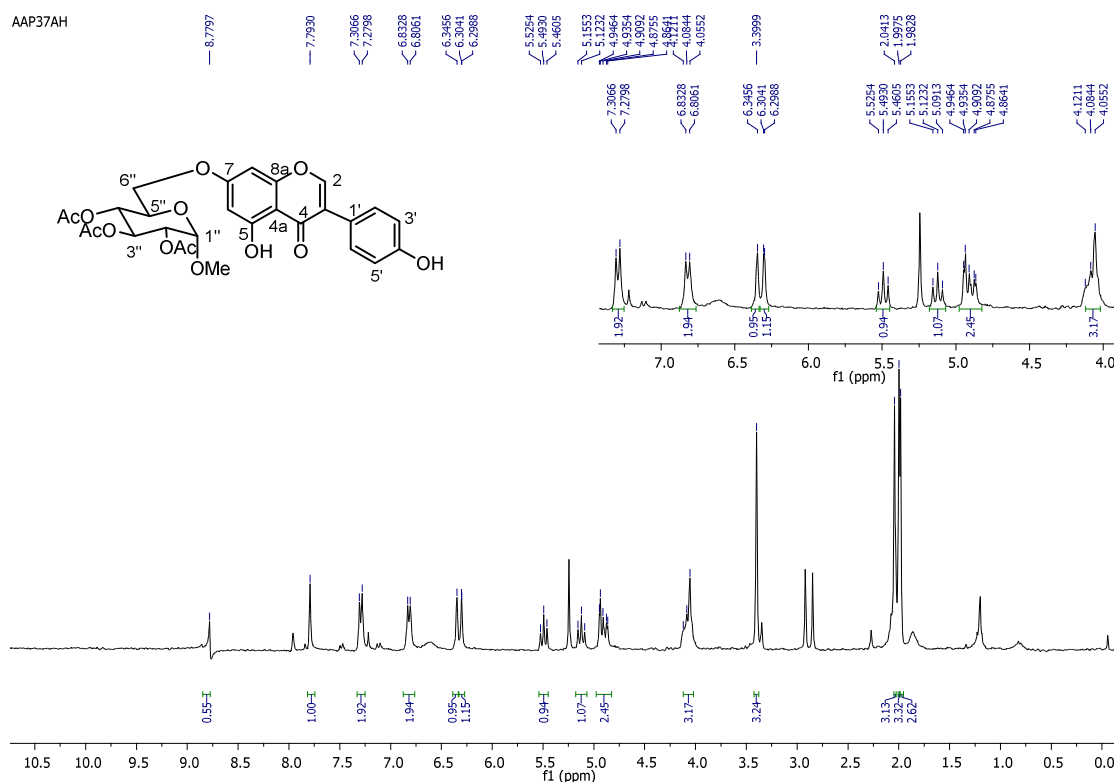


Figura 8 Espectro de RMN ^1H do composto **7** (300 MHz, CDCl_3).

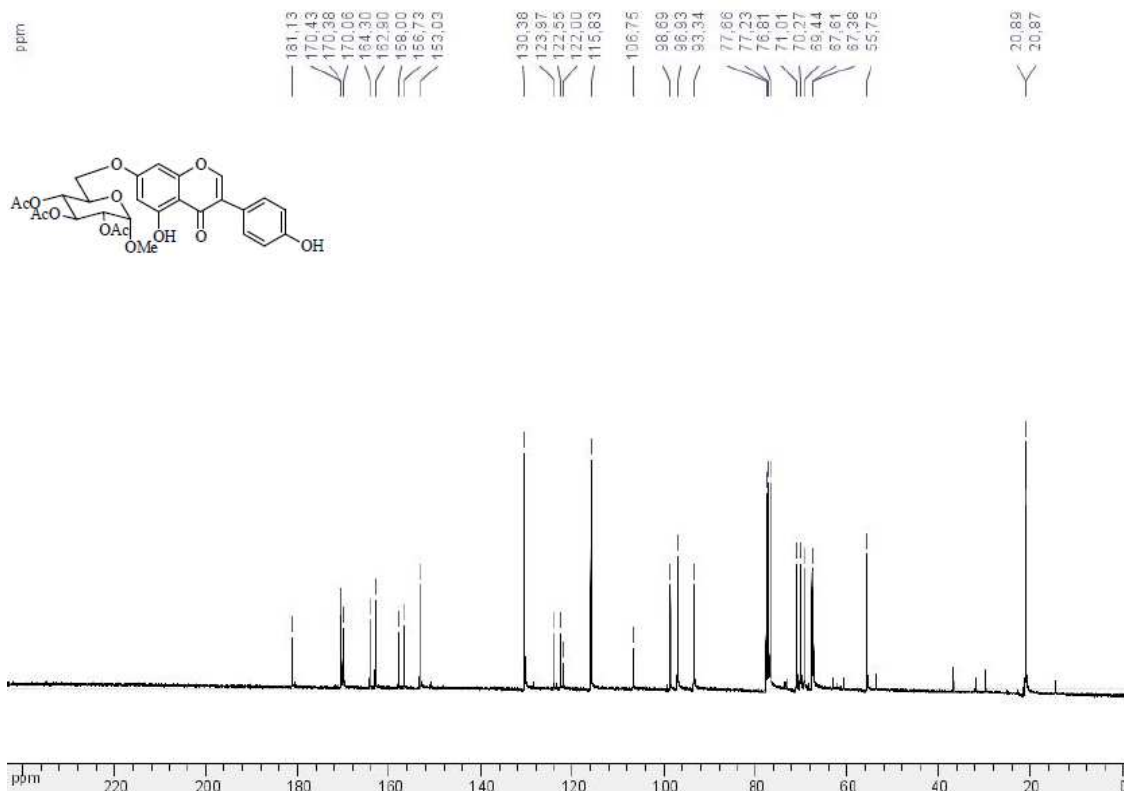
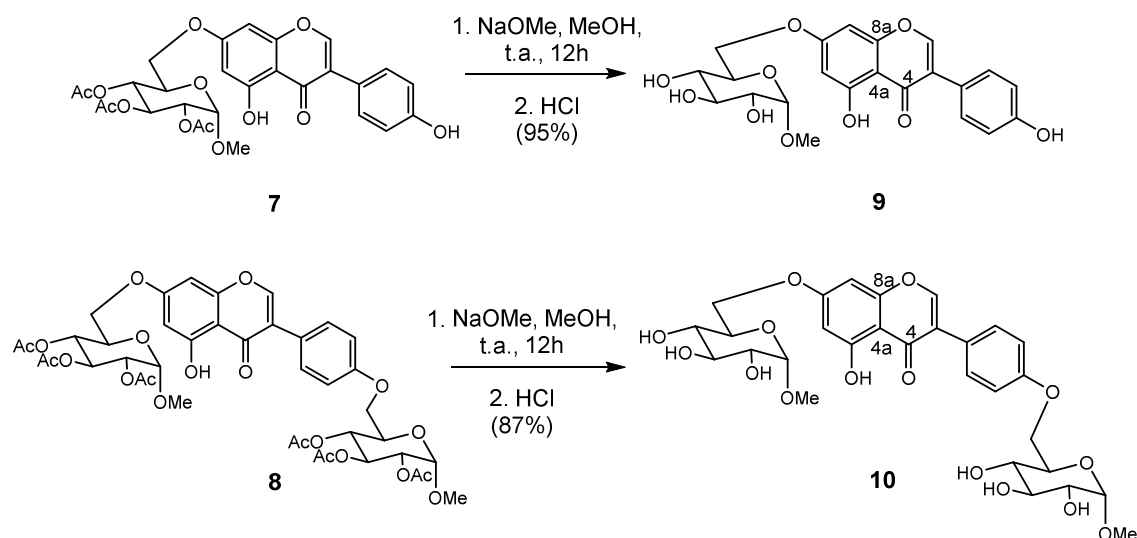


Figura 9 Espectro de RMN ^{13}C do compostos **7** (75 MHz, CDCl_3).

1.4.3.2 Síntese e caracterização de 7-O-(1''-O-metil-6''-desoxi- α -D-glicopirano-6''-íl)-genisteína (**9**) e 7,4'-di-O-(1''-O-metil-6''-desoxi- α -D-glicopirano-6''-íl)-genisteína (**10**)



Esquema 7 Síntese dos compostos **9-10**.

Os compostos **7** e **8** foram submetidos à uma reação de clivagem dos grupos acetila com metóxido de sódio em metanol a temperatura ambiente

durante 12 horas, conduzindo aos compostos **9** e **10**, respectivamente, com rendimentos de 95 e 87% (Esquema 7).

Devido a semelhança estrutural entre **9** e **10**, será discutida apenas a caracterização do composto **9**. No seu espectro de RMN de ^1H (Figura 10) observam-se um sinal em δ 3,48 correspondente aos hidrogênios metílicos, sinais entre δ 4,17 e 5,18 referentes aos hidrogênios da unidade açúcar, além de sinais entre δ 6,73 e 13,50 referente aos hidrogênios da unidade genisteína. A clivagem dos grupos acetila foi evidenciada pela ausência de sinais próximos de δ 2,00 referentes aos seus hidrogênios metílicos. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 11) observam-se 14 sinais entre δ 182,5 e 94,1 correspondentes aos carbonos da unidade genisteína e ao carbono anomérico, além de seis sinais entre δ 75,3 e 55,8 referentes aos carbonos da unidade açúcar e metílico.

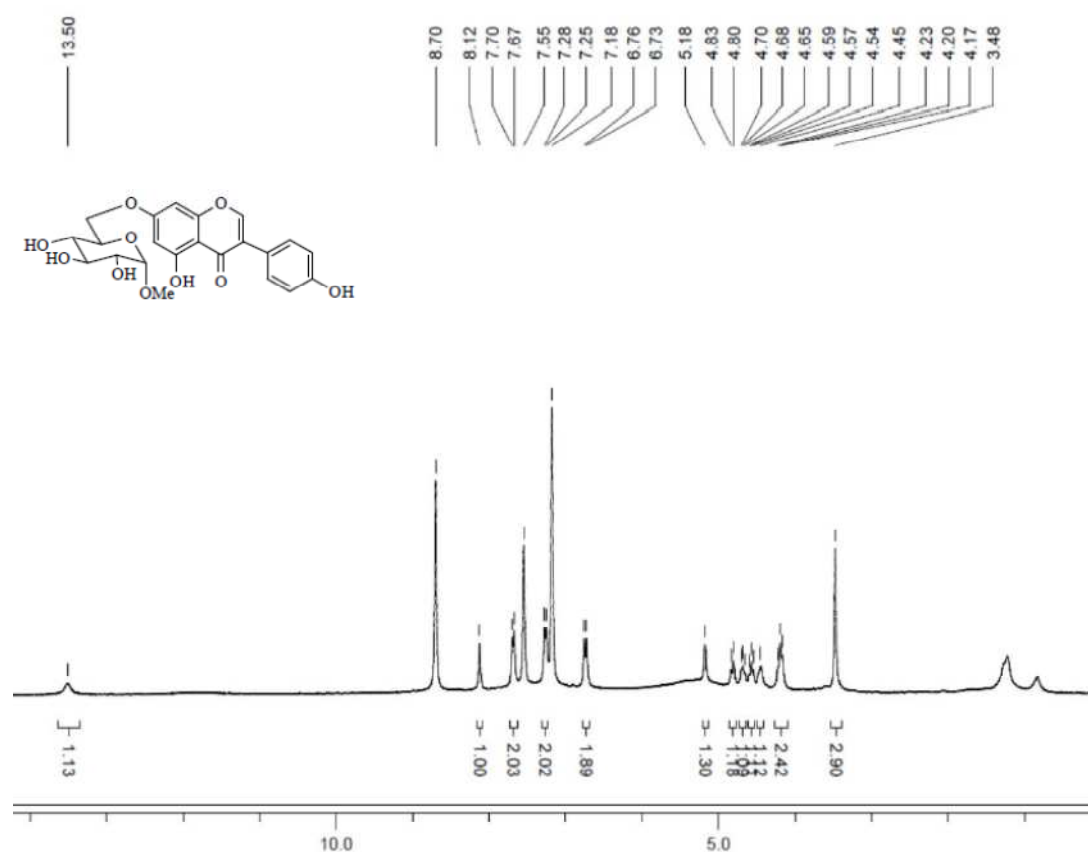


Figura 10 Espectro de RMN ^1H do composto **9** (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

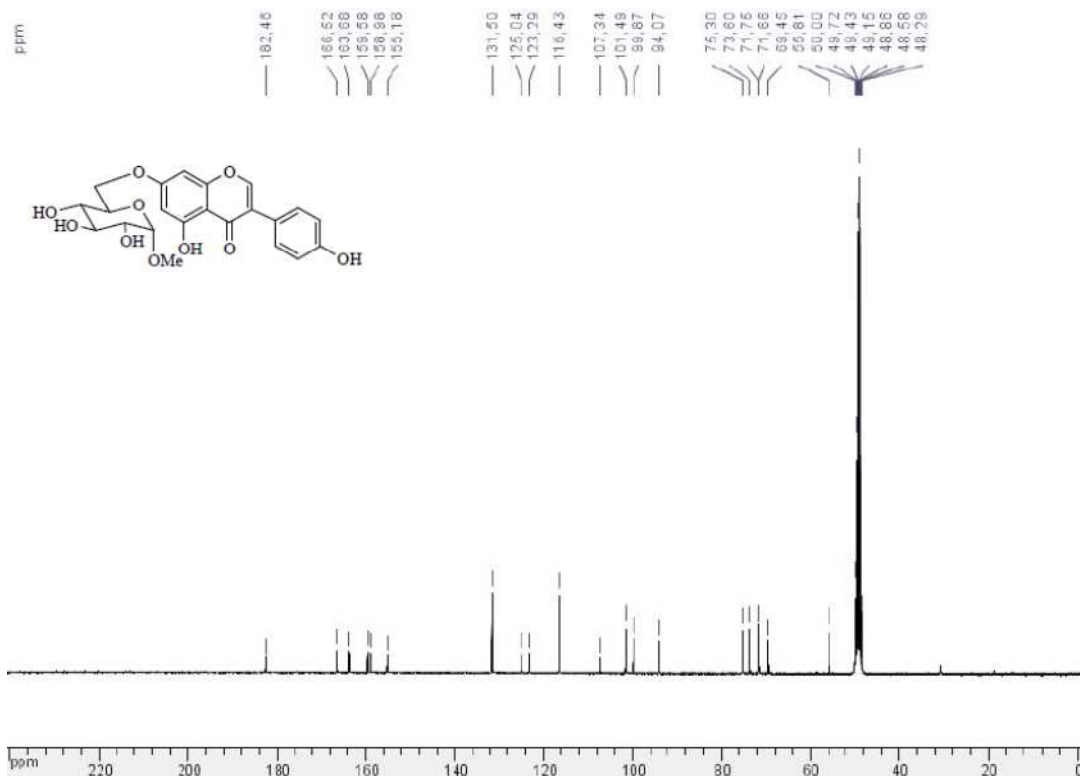
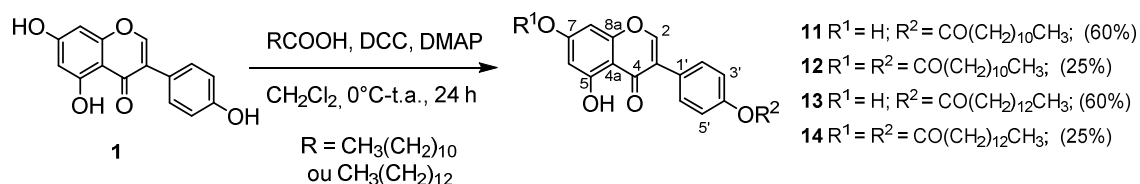


Figura 11 Espectro de RMN ^{13}C do compostos **9** (75 MHz, CD_3OD).

1.4.4 Síntese e caracterização de 4'-O-dodecanoilgenisteína (**11**); 7,4'-di-O-dodecanoilgenisteína (**12**); 4'-O-tetradecanoilgenisteína (**13**) e 7,4'-di-O-tetradecanoilgenisteína (**14**)

Os compostos **11-12** e **13-14** foram obtidos a partir da reação da genisteína (**1**) com os ácidos dodecanóico e tetradecanóico (1,5 mol/equivalentes), respectivamente, na presença de DCC (1,5 mol/equivalentes) e DMAP catalítico em diclorometano anidro durante 24 horas (Esquema 8).



Esquema 8 Síntese dos compostos **11-14**.

Sob estas condições esperava-se a formação do composto mono esterificado na hidroxila em C-4', pois este oxigênio é mais nucleofílico que o oxigênio da hidroxila em C-7. A posição em que houve esterificação na

genisteína pode ser evidenciada pelo espectro de RMN de ^1H do composto formado. Lewis e colaboradores (2000) realizaram diversas esterificações na genisteína e através de análises espectrais de RMN de ^1H verificaram que quando há esterificação na hidroxila em C-7, os sinais correspondentes aos hidrogênios H6 e H8 aparecem próximos de δ 6,6 e 6,8, respectivamente, enquanto que sem esterificação na hidroxila em C-7, esses sinais aparecem próximos de δ 6,2. Quando há esterificação na hidroxila em C-4', os sinais correspondentes aos hidrogênios H3' e H5' aparecem próximos de δ 7,2, enquanto que sem esterificação nessa hidroxila, esses sinais aparecem próximos de δ 6,9. Esses autores também fizeram difração de raio x desses ésteres confirmando suas estruturas. Tais observações foram consideradas em nossas análises, permitindo-nos concluir sobre as posições esterificadas e, conseqüentemente, sobre as estruturas dos produtos formados.

Devido à semelhança estrutural entre os compostos **11** a **14** será discutida apenas a caracterização do composto **11**. No seu espectro de RMN de ^1H (Figura 12) observam-se sinais entre δ 0,89 e 2,62 referentes aos 23 hidrogênios alifáticos da cadeia carbônica introduzida, evidenciando que houve esterificação em apenas uma hidroxila da genisteína. Observam-se também um multipletto em δ 6,19-6,25 correspondente aos hidrogênios H6 e H8, evidenciando que não houve reação em C7-OH, devido ao deslocamento químico desses hidrogênios, dois dupletos em δ 7,15 ($J=7,5\text{Hz}$) e 7,53 ($J=7,5\text{Hz}$) referentes aos hidrogênios H3'-H5' e H2'-H6', respectivamente, além de um simpleto em δ 7,81 correspondente ao hidrogênio H2. A substituição na hidroxila em C4' foi evidenciada pelo deslocamento químico dos sinais referentes aos hidrogênios H3' e H5' que apareceram em δ 7,15. No espectro de RMN de ^{13}C de **11** (Figura 13) observam-se sinais entre δ 14,3 e 34,6 correspondentes aos carbonos alifáticos da cadeia carbônica introduzida e sinais entre δ 94,5 e 180,6 referentes aos carbonos aromáticos e carbonílico.

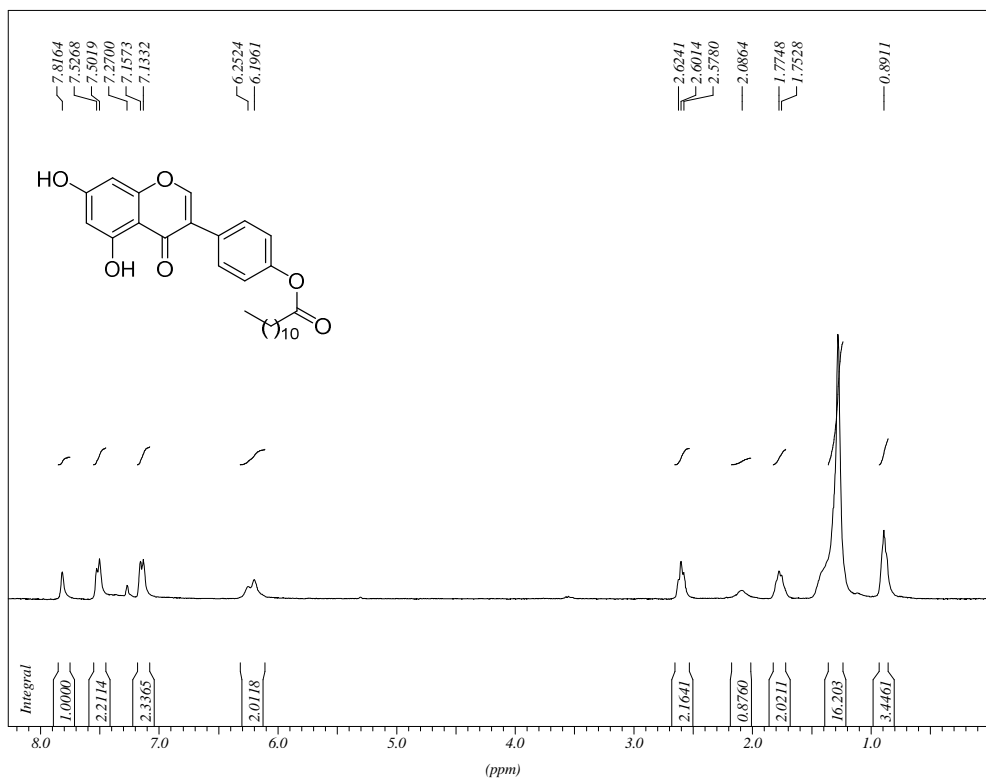


Figura 12 Espectro de RMN de ¹H do composto 11 (CDCl₃, 300 MHz).

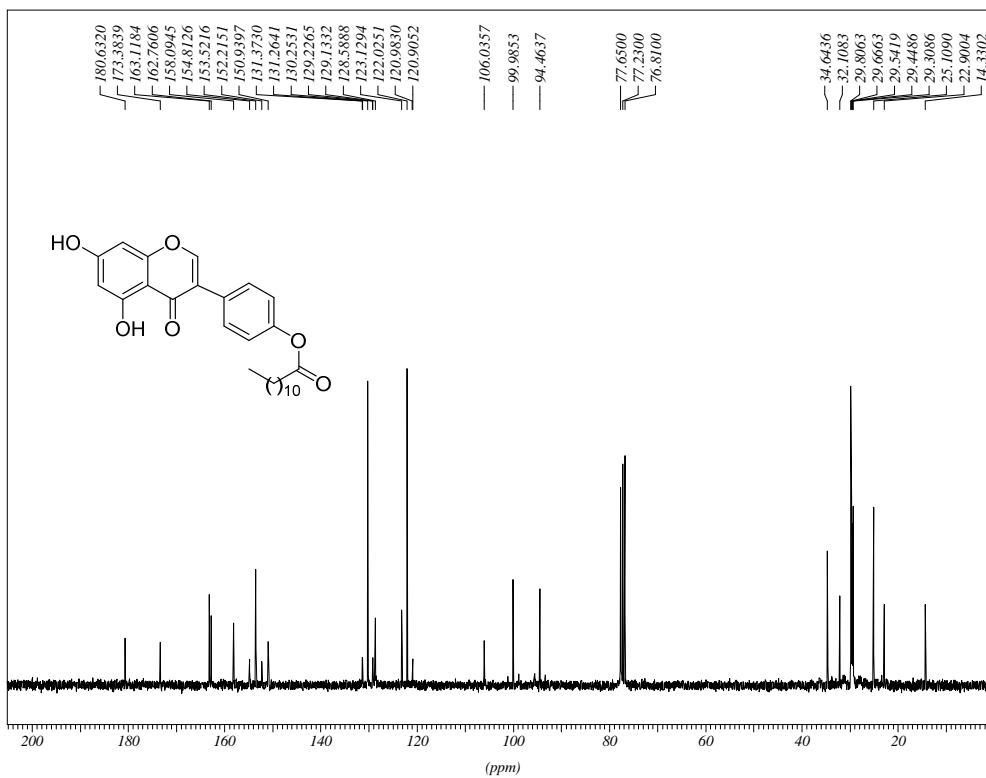
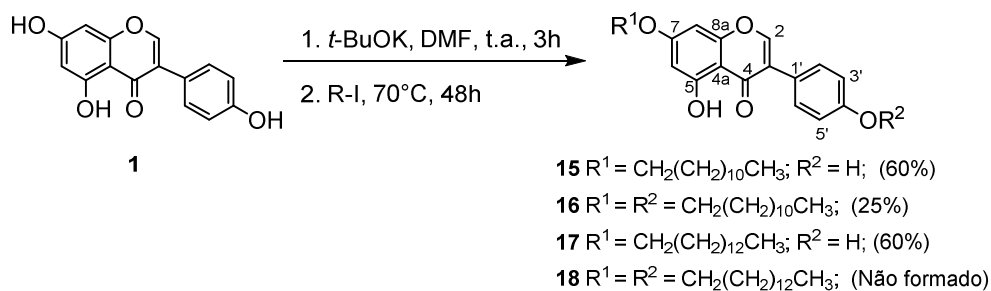


Figura 13 Espectro de RMN de ¹³C do composto 11 (CDCl₃, 75 MHz).

1.4.5 Tentativa de síntese dos derivados éteres lipofílicos da genisteína (15-18)

A síntese dos derivados ésteres lipofílicos da genisteína (15-17) está representada no esquema 9. Nessas condições não foi observada a formação do composto 18.



Esquema 9 Tentativa de síntese dos compostos 15-18.

1.4.5.1 Síntese e caracterização de 7-O-dodecilgenisteína (15); 7,4'-di-O-dodecilgenisteína (16) e 7-O-tetradecilgenisteína (17)

Para a síntese dos éteres 15-17 a genisteína foi tratada com 1,5 equivalentes de *tert*-butóxido de potássio em DMF à temperatura ambiente durante 3 horas. Em seguida, adicionou-se dois mols/equivalentes dos iodetos de dodecila ou tetradecila, e a reação foi mantida a 70°C durante 48 horas (Esquema 9). Interessantemente, o derivado di-eterificado (18) com cadeia de 14 carbonos não foi formado na reação com o iodeto de tetradecila.

Devido à semelhança estrutural entre os compostos 15 a 17 será discutida apenas a caracterização do composto 15. No seu espectro de RMN de ¹H (Figura 14) observam-se sinais entre δ 0,87 e 4,00 referentes aos 25 hidrogênios alifáticos da cadeia carbônica introduzida, evidenciando que houve reação em apenas uma hidroxila na genisteína, e dois dupletos em δ 6,38 (*J* = 2,3Hz) e 6,40 (*J* = 2,3Hz) correspondentes aos hidrogênios H6 e H8, respectivamente. Observam-se também dois dupletos em δ 6,90 (*J* = 8,2Hz) e 7,40 (*J* = 8,2Hz) referentes aos hidrogênios H2'-H6' e H3'-H5', respectivamente, além de um simpleto em 7,86 correspondente ao hidrogênio H2. A posição em que a cadeia carbônica foi introduzida não pôde ser

evidenciada por RMN de ^1H devido a pouca influência que os substituintes éteres exercem nos deslocamentos químicos dos hidrogênios orto ao grupo O -alquila. Para sugerir essa posição realizou-se RMN usando a técnica NOEDIFF para os compostos obtidos. No espectro de RMN de **15** usando essa técnica (Figura 14) foram observados sinais específicos nOe entre (CH_2O) (Figura 14) (δ 4,03) e H6 (δ 6,38) e H8 (δ 6,40), evidenciando a eterificação na hidroxila da posição C7. No espectro de RMN de ^{13}C de **15** (Figura 15) observam-se sinais entre δ 14,3 e 68,9 correspondentes aos carbonos alifáticos da cadeia carbônica introduzida e sinais entre δ 93,1 e 181,1 referentes aos carbonos do núcleo isoflavonóide.



Figura 14 (A) Espectro de RMN de ^1H do composto **15** (CDCl_3 , 300 MHz);
 (B) Espectro NOEDIFF do composto **15** com irradiação seletiva de (CH_2O) em 4,03 ppm (CDCl_3 , 300 MHz).

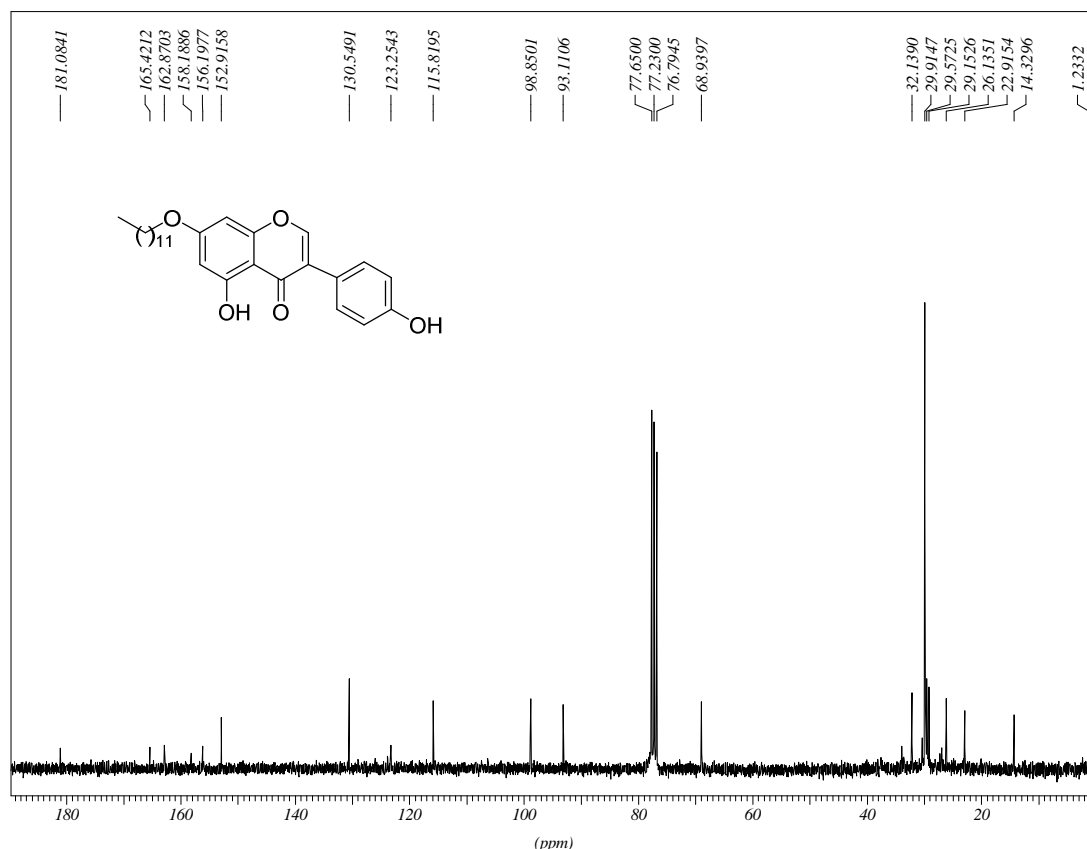


Figura 15 Espectro de RMN de ^{13}C do composto **15** (CDCl_3 , 75 MHz).

1.4.6 Ensaios biológicos

Os compostos lipofílicos (**11-17**) e condensados a carboidrato (**3-5** e **7-10**) (Ver figura 16) derivados da genisteína foram testados contra esclerose múltipla em parceria com o Laboratório de parasitologia, microbiologia e imunologia no Instituto de Ciências Biológicas da UFJF, sob coordenação da Profa. Dra. Ana Paula Ferreira.

Os ensaios biológicos foram realizados separadamente para os derivados lipofílicos e para os derivados de carboidrato. Inicialmente foram realizados ensaios *in vitro* em macrófagos J774A.1 e/ou RAW 264.7 com o intuito de avaliar a citotoxicidade e as propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras através da dosagem de óxido nítrico (NO) e dosagens de citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-12. Posteriormente, os compostos mais

ativos foram submetidos a ensaios *in vivo* na modulação da resposta imune no modelo de EAE.

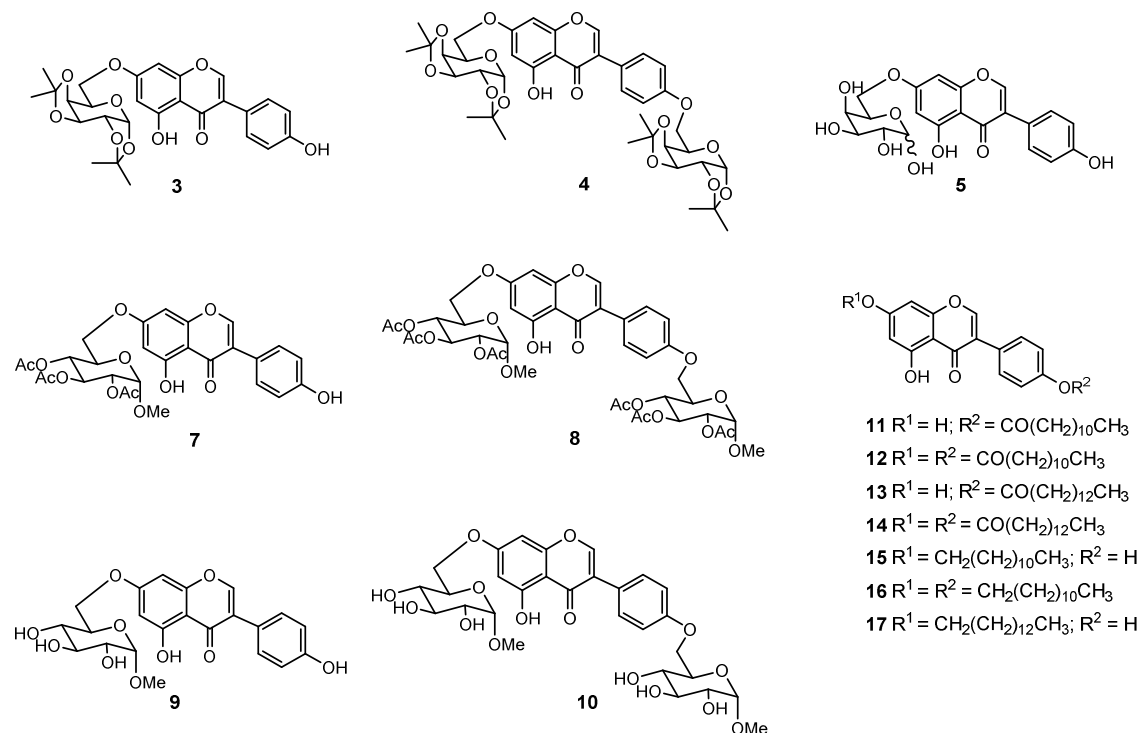


Figura 16 Estrutura dos derivados da genisteína enviados para os ensaios biológicos.

A produção de óxido nítrico (NO) tem sido relacionada a várias doenças inflamatórias como choque séptico, artrite reumatóide, agregação plaquetária, de forma que a inibição da sua produção pode ser um importante mecanismo para tratamento de doenças inflamatórias (COCRAN et al., 1996; PAESANO et al, 2005).

Os macrófagos desempenham um papel importante na iniciação da resposta imune através da habilidade em secretar uma variação de mediadores, incluindo as citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-12. A citocina TNF- α é um importante mediador da resposta inflamatória, sendo produzida por monócitos e macrófagos, em resposta a patógenos e processos inflamatórios e, assim como o NO, tem sido importante na patogênese de doenças inflamatórias como a artrite reumatóide e choque séptico (DENG et al., 2005). A citocina IL-12 está relacionada com desordens imunológicas como a

esclerose múltipla, doença de Crohn e artrite reumatóide por induzir a diferenciação de células Th1 (KUNINAKA S. *et al*, 2000).

1.4.6.1 Resultados biológicos para os derivados lipofílicos **11-17**.

Os resultados obtidos nos experimentos *in vitro* com os derivados lipofílicos representam três experimentos independentes. A verificação dos efeitos dos compostos na viabilidade celular foi determinada pelo método colorimétrico de MTT após cultivo dos macrófagos por 48 horas. Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que os compostos testados não foram citotóxicos, pois a viabilidade celular foi 100% para todos os compostos testados (CASTRO *et al.*, 2012).

A avaliação do efeito modulatório dos compostos **11-17** em NO, IL-12 e TNF- α produzidos por macrófagos J774.A1, estimulados com LPS e IFN- γ , mostram que os compostos **11** e **13-17** foram capazes de inibir a produção de IL-12 pelos macrófagos J774.A1 (Tabela 1). Entretanto, os compostos não foram eficientes na inibição de TNF- α , sendo que apenas o composto **11**, na concentração mais elevada (208 μ M), promoveu uma redução de 12,9% do TNF- α . A genisteína apresentou-se eficiente na redução de TNF- α em todas as concentrações testadas (Tabela 1) (CASTRO *et al.*, 2012).

Os compostos **11**, **13**, **15** e **17** inibiram a produção de NO de maneira dose-dependente nessas concentrações testadas. Os diésteres **12** e **14** se mostraram ineficientes na inibição de NO (Tabela 1) (CASTRO *et al.*, 2012).

Tabela 1 Inibição da produção de NO, IL-12 e TNF- α por derivados lipofílicos da genisteína em macrófagos J774A.1 ativados com LPS e IFN- γ .

Compostos ^a	NO ^c			IL-12 ^d			TNF- α ^d			Viabilidade celular
	208 ^b	104	52	208	104	52	208	104	52	
11	118,44% ($\pm 1,1$) ^e	102,16% ($\pm 2,4$)	50,35% ($\pm 1,0$)	83,08% ($\pm 1,5$)	86,44% ($\pm 2,6$)	84,39% ($\pm 2,9$)	12,9% ($\pm 1,3$)	10,75% ($\pm 3,5$)	3,87% ($\pm 15,6$)	100%
13	106,36% ($\pm 0,8$)	67,8% ($\pm 3,2$)	51,9% ($\pm 2,7$)	55,7% ($\pm 2,4$)	68,04% ($\pm 3,7$)	64,05% ($\pm 8,2$)	0%	0%	0%	100%
12	0%	0%	0%	18,91% ($\pm 1,5$)	48,32% ($\pm 1,6$)	29,59% ($\pm 0,2$)	0%	0%	0%	100%
14	0%	0%	0%	76,32% ($\pm 2,5$)	81,37% ($\pm 4,6$)	68,29% ($\pm 4,5$)	0%	0%	0%	100%
15	111,61% ($\pm 1,5$)	62,82% ^{ns} ($\pm 6,7$)	34,53% ^{ns} ($\pm 0,6$)	88,71% ($\pm 2,0$)	80,31% ($\pm 4,5$)	65,67% ($\pm 1,6$)	0%	0%	0%	100%
17	90,45% ($\pm 2,9$)	50,13% ^{ns} ($\pm 1,1$)	24,28% ^{ns} ($\pm 2,2$)	69,27% ($\pm 2,7$)	97,25% ($\pm 0,9$)	97,09% ($\pm 0,1$)	0%	0%	0%	100%
16	51,88% ^{ns} ($\pm 5,4$)	25,47% ^{ns} ($\pm 1,9$)	11,28% ^{ns} ($\pm 3,8$)	94,35% ($\pm 3,3$)	88,95% ($\pm 0,5$)	47,78% ($\pm 1,2$)	0%	0%	0%	100%
Genisteína	124,93% ($\pm 0,9$)	91,48% ($\pm 1,5$)	56,71% ($\pm 4,0$)	43,88% ($\pm 1,9$)	21,5% ^{ns} ($\pm 4,2$)	10,87% ^{ns} ($\pm 3,1$)	77,42% ($\pm 4,2$)	70,51% ($\pm 1,9$)	62,1% ($\pm 1,1$)	100%

^a Código dos compostos testados. ^b Concentração das substâncias (μM). ^c A porcentagem de inibição foi calculada em relação ao L-NMMA e as células estimuladas com LPS e IFN- γ . Os resultados foram calculados usando $100 - ((\bar{x}_1 - A) / (\bar{x}_2 - A)) * 100$, considerando \bar{x}_1 e \bar{x}_2 a média da concentração de NO (μM) nos poços contendo o análogo e com as células somente estimuladas, respectivamente. "A" corresponde a concentração de NO no sobrenadante das células tratadas com L-NMMA. ^d As porcentagens de inibição das citocinas foram calculadas usando a fórmula $100 - ((\bar{x}_1 / \bar{x}_2) * 100)$, considerando \bar{x}_1 e \bar{x}_2 a média da concentração de IL-12 ou TNF- α (pg/mL) nos poços contendo os derivados e células apenas, ambos estimulados. ^e Desvio padrão (resultados de três experimentos independentes). ^{ns} Inibição não significativa em relação às células não tratadas.

O composto **13** foi selecionado para os estudos *in vivo*, em função dos resultados interessantes obtidos na etapa *in vitro*, principalmente pela manutenção da capacidade de inibir os mediadores inflamatórios na menor concentração testada (52 μM), por suas características físico-químicas como o grau de solubilidade do composto e também pela quantidade disponível deste derivado para o uso nos testes *in vivo*. Na segunda etapa do estudo o modelo de EAE foi induzido e os animais foram tratados com o composto **13** ou com genisteína, utilizada neste estudo como um composto de referência em função dos estudos prévios que demonstraram sua capacidade em melhorar os sinais clínicos da EAE através da modulação da produção de citocinas (DE PAULA *et al.*, 2008).

Os resultados obtidos até então neste estudo mostraram que o tratamento com o composto **13** melhorou os sinais clínicos da EAE por promover a redução de células produtoras de IL-17, redução de citocinas IL-17, IL-6 e IFN- γ , aumento no número de células T Foxp3⁺CD4⁺ e aumento de IL-10 no sistema nervoso central dos animais que receberam este derivado lipofílico da genisteína (SANDRA *et al.*, 2012). Dessa forma, o composto **13** surge como um candidato protótipo para o tratamento da EAE e conseqüentemente esclerose múltipla (EM). Entretanto, estudos clínicos devem ser realizados para completar a avaliação desta substância e verificar o seu potencial terapêutico na EM (SANDRA *et al.*, 2012).

1.4.6.2 Resultados biológicos para os derivados condensados a carboidrato **3-5** e **7-10**.

Os derivados da genisteína condensados a carboidratos foram inicialmente avaliados com relação à capacidade em reduzir a produção de NO e TNF- α por macrófagos J774.A1 e RAW 264.7. Não foram realizados os experimentos de avaliação da inibição da produção de IL-12 devido a quantidades insuficientes de amostra para essa finalidade. A citotoxicidade desses compostos também foi avaliada (Tabelas 2 e 3). Entre os compostos testados nenhum apresentou efeito citotóxico em macrófagos RAW 264.7. Entretanto, o monoéter **9** foi tóxico contra J774A.1 em todas as concentrações testadas, e o monoéter **3** foi citotóxico a 26 μM . A maioria dos compostos

testados foram mais ativos que a genisteína na inibição da produção de NO em todas as concentrações testadas. Os compostos **5** e **10** foram mais eficientes na redução da produção de NO em células J774A.1 (61,5 e 49,8% a 26 µM, respectivamente) havendo uma relação entre dose e resposta. O composto **10** também foi o mais ativo na inibição da produção de NO nas células RAW264.7 (117,2% a 26 µM).

Tabela 2 Inibição de óxido nítrico (NO) e viabilidade celular de J774 A.1 estimuladas por LPS/IFN-γ e tratadas com **3-5** e **7-10**.

Compostos	Inibição de NO ^a (%)			Viabilidade celular (%)		
	6,5 ^b	13	26	6,5 ^b	13	26
3	0,0±14,2	23,2±4,1	*	102,1±4,3	85,5±1,4	-
4	42,1±9,6	29,6±5,8	26,3±4,5	89,7±2,1	87,3±0,9	83,6±8,1
5	46,3±4,5	56,7±3,2	61,4±7,2	93,6±1,9	95,2±1,6	88,9±2,1
7	23,7±9,3	21,4±5,2	38,1±12,8	94,7±2,8	92,7±1,1	87,4±1,5
8	31,6±2,2	27,5±1,2	30,3±1,2	82,1±8,3	86,7±5,8	87,9±2,0
9	*	*	*	-	-	-
10	48,9±3,7	46,3±1,4	49,8±1,8	99,9±0,4	96,6±2,1	94,8±0,4
Genisteína	10,6±2,4	7,4±3,8	2,8±4,4	111,7±17,7	103,9±2,9	110,1±1,4

^a A Porcentagem de inibição de NO foi calculada em comparação com as células estimuladas e não tratadas. Os resultados foram calculados usando a fórmula $100 - ((x - 1 - A) / (x - 2 - A)) * 100$, considerando x 1 e x 2 a média de NO (µM) nos poços tratados e não tratados, respectivamente. "A" representa a concentração de NO em poços não estimulados e não tratados.

^b Concentração dos compostos (µM).

⁽⁻⁾ Citotoxicidade.

^(*) Inibição relacionada com a citotoxicidade.

No presente estudo somente os compostos **5**, **7** e **8**, na concentração de 6,5 µM, inibiram mais que 40% da produção de TNF-α por J774A.1 em relação as células estimuladas não tratadas (dados não apresentados nas tabelas). A produção de TNF-α pelos compostos **5**, **7** e **8** foram respectivamente, 38,3±6,7pg/mL; 51,7±13,7pg/mL e 51,9±1,7pg/mL vs. células estimuladas não tratadas cuja produção foi de 89,2±17,1 pg/mL, respectivamente (p<0,05). A

genisteína não foi efetiva em inibir a produção de TNF- α nas concentrações testadas, assim como nenhum dos compostos testados foram capazes de inibir a produção de TNF- α produzido por macrófagos RAW 264.7.

Tabela 3 Inibição de óxido nítrico (NO) e viabilidade celular de RAW264.7 estimuladas por LPS/IFN- γ e tratadas com **3-5** e **7-10**.

Compostos	Inibição de NO ^a (%)			Viabilidade celular (%)		
	6,5 ^b	13	26	6,5 ^b	13	26
3	16,1±3,9	14,6±2,0	7,3±4,2	87,6±1,3	88,1±4,5	71,3±5,5
4	13,9±13,8	12,0±12,5	16,0±12,5	98,9±1,9	89,4±6,2	94,4±2,7
5	27,9±13,5	60,9±4,6	64,6±5,3	95,9±2,9	98,2±0,8	95,8±2,8
7	19,2±0,8	0,0±0,2	16,2±4,2	103,0±3,2	103,5±2,6	102,8±1,2
8	21,9±3,9	15,2±3,4	0,0±3,3	102,8±0,8	98,4±2,4	101,3±0,8
9	27,8±4,3	32,8±1,4	23,9±6,4	91,3±1,0	88,1±2,4	78,3±2,8
10	69,1±6,9	81,1±12,0	117,2±12,0	93,6±1,1	99,2±1,2	92,2±2,5
Genisteína	0,9±14,2	1,5±12,2	4,2±6,6	128,3±13,8	102,9±5,2	107,9±2,8

^a A Porcentagem de inibição de NO foi calculada em comparação com as células estimuladas e não tratadas. Os resultados foram calculados usando a fórmula $100 - ((x - 1 - A) / (x - 2 - A)) * 100$, considerando x 1 e x 2 a média de NO (μ M) nos poços tratados e não tratados, respectivamente. "A" representa a concentração de NO em poços não estimulados e não tratados.

^b Concentração dos compostos (μ M).

Diante dos ensaios *in vitro*, o composto **5** foi selecionado para os ensaios *in vivo* na modulação da resposta imune inata no modelo da EAE, entretanto, este não foi promissor em reduzir os sinais clínicos da doença, além disso foi possível constatar um infiltrado inflamatório com congestão vascular nos cortes histológicos de medula, semelhante ao observado nos animais com EAE que não receberam nenhum tratamento.

1.4.6.3 Comparação dos resultados biológicos *in vitro* entre os derivados de carboidratos e lipofílicos em macrófagos J744A.1

Inicialmente todos os compostos foram testados nas mesmas concentrações, onde se observou diferentes perfis para cada uma dessas séries. Os derivados lipofílicos apresentaram uma melhor relação dose e resposta e foram mais eficientes nas concentrações mais elevadas, enquanto que os derivados de carboidrato foram mais eficientes em baixas concentrações. Essa diferença pode estar relacionada com a citotoxicidade, onde os derivados lipofílicos não foram tóxicos na maior dose testada (208 μ M), enquanto que alguns derivados de carboidrato foram tóxicos na maior concentração testada (26 μ M).

1.5 CONCLUSÕES

Foram sintetizados 14 derivados inéditos da genisteína com diferentes propriedades físico-químicas. Destes, sete compostos são derivados de carboidratos, sendo mais hidrofílicos quando desprotegidos, enquanto que sete compostos são derivados ésteres ou éteres com cadeia lipofílica (Figura 17).

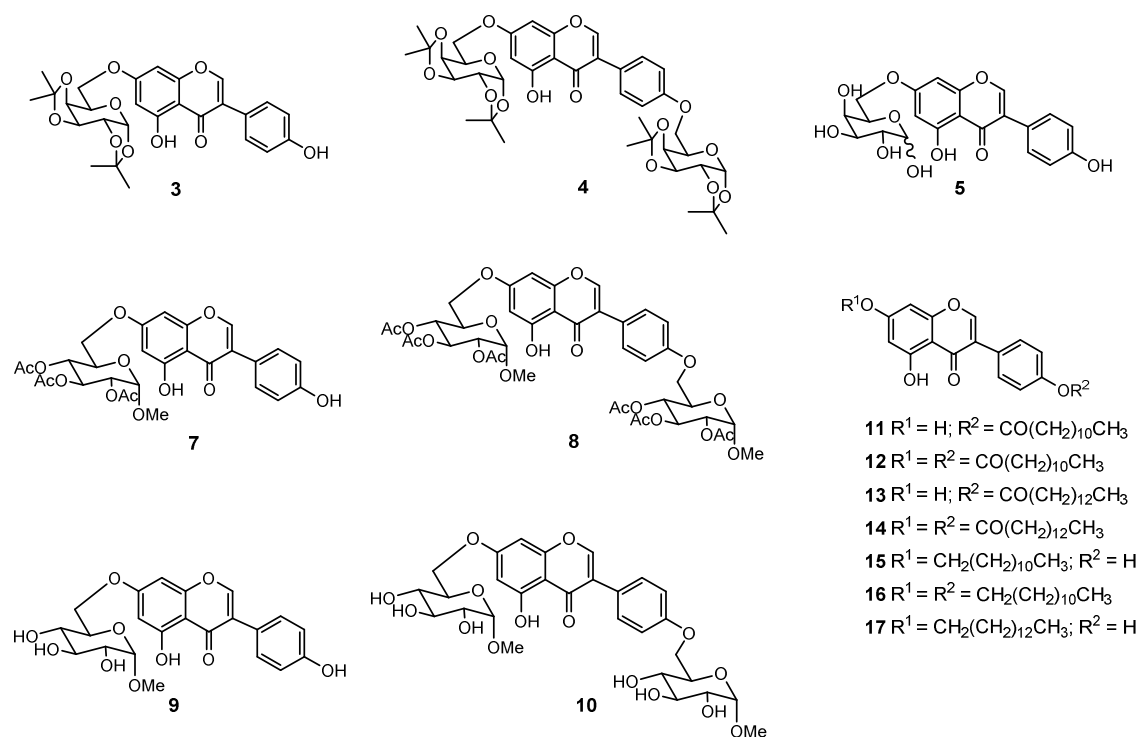


Figura 17 Estrutura dos derivados da genisteína sintetizados e testados contra a EM.

Verificou-se na síntese dos derivados eterificados **3**, **4**, **7**, **8** e **15-17** que os compostos com cadeias lipofílicas **15-17** foram obtidos em melhores rendimentos (25-60%), seguido dos derivados da glicose **7-8** (20-55%). Os compostos derivados da galactose **3-4** foram obtidos em rendimentos menos satisfatórios (9-30%). Essa diferença de reatividade pode ser explicada pela estrutura dos respectivos iodetos de alquila. Os iodetos de alquila lipofílicos possivelmente apresentam um menor impedimento estereo próximo ao carbono iodado, enquanto que nos iodetos **19** e **20** há um impedimento espacial maior nas proximidades dos carbonos iodados. O iodeto **19** é menos reativo do que o iodeto **20**, pois está conformacionalmente mais rígido devido à presença dos dois grupos isopropilideno, deixando a molécula menos flexível para uma aproximação do nucleófilo.

Para os derivados **11-14** as posições onde houveram esterificações foram evidenciadas por RMN de ^1H , devido à influência dos grupos acila aos hidrogênios orto às hidroxilas substituídas. Para os derivados éteres as posições onde houveram eterificação foram sugeridas por RMN usando a técnica NOEDIFF.

Os derivados lipofílicos da genisteína **11-17**, assim como a genisteína, não alteraram a viabilidade celular de macrófagos J774 A.1. Esses compostos inibiram a produção de NO e IL-12 *in vitro*, ambos mediadores pró-inflamatórios indicando um possível papel destes compostos no controle da inflamação.

Em relação aos ensaios *in vivo*, conclui-se que o composto **13** foi capaz de melhorar os sinais clínicos da EAE, provavelmente devido a redução no número de células CD4⁺ produtoras de IL-17 e aumento do número de células Foxp3⁺CD4⁺, IL10⁺CD4⁺, CTLA-4⁺CD3⁺ no cérebro dos animais que receberam tratamento. Estes resultados sugerem que o composto **13** possa ser um protótipo para o tratamento da EAE e conseqüentemente EM.

Os ensaios *in vitro* para os compostos derivados de carboidrato revelaram que o monoéter **9** foi tóxico contra J774A.1 em todas as concentrações testadas, e o monoéter **3** foi citotóxico a 26 μM . Os compostos **5** e **10** foram os mais eficientes na redução da produção de NO e os compostos **5**, **7** e **8** inibiram a produção de TNF- α por J774A.1 em relação as células

estimuladas não tratadas. A genisteína não foi efetiva em inibir a produção de TNF- α nas concentrações testadas, assim como nenhum dos compostos testados foram capazes de inibirem a produção de TNF- α produzido por macrófagos RAW 264.7. Em relação aos ensaios *in vivo* para o composto **5**, podemos concluir que este não foi promissor na redução dos sinais clínicos da EAE.

1.6 PARTE EXPERIMENTAL

1.6.1 Materiais e métodos

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram registrados nos espectrômetros BRUKER AVANCE DRX/300 no Departamento de Química da UFJF. Como referência interna foi utilizado o tetrametilsilano ou o sinal residual do solvente deuterado empregado. Os espectros nOe foram realizados na Universidade Federal de Viçosa, em colaboração com o Prof. Sérgio Fernandes.

Os espectros de infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro BOMEM-FTIR MB-120 no Departamento de Química da UFJF.

Os pontos de fusão foram obtidos em aparelho digital MQAPF-Microquímica no Departamento de Química da UFJF.

As leituras de rotações ópticas foram realizadas em polarímetro Bellingham + Stanley ADP 410 no Departamento de Química da UFJF.

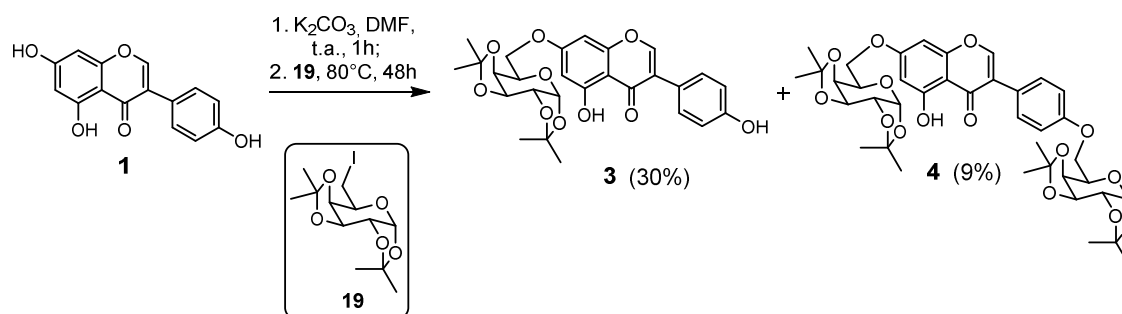
Os espectros de massas de alta resolução (EMAR) foram realizados na Fiocruz-Curitiba-PR.

Para cromatografia em coluna de sílica utilizou-se sílica-gel 60G 0,063-0,200 (70-230 mesh ASTM) e para cromatografia em camada delgada utilizou-se sílica gel 60G em lâminas de vidro.

Nos procedimentos de purificação por extração, recristalização ou coluna cromatográfica foram utilizados solventes P.A, sem prévia purificação.

1.6.2 Síntese e caracterização

1.6.2.1 Preparação dos compostos **3** e **4**.



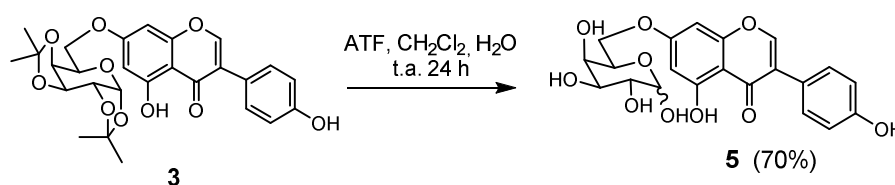
Em uma solução de genisteína (**1**) (0,75 mmol) em DMF (10 mL) foi adicionado carbonato de potássio (1,33 mmol) a temperatura ambiente. A mistura reacional ficou sob agitação magnética por 1 hora e em seguida foi adicionado 1,2:3,4-di-O-isopropilideno-6-desoxi-6-iodo- α -D-galactopiranosose (**19**, 2,25 mmol). A mistura reacional foi aquecida a $80^\circ C$ e ficou sob agitação magnética durante 48 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: hexano/acetato de etila 7:3 v/v; reveladores: U.V., Iodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento). Após o término da reação, o excesso de DMF foi evaporado sob pressão reduzida e em seguida foi adicionado éter etílico (20 mL). Posteriormente realizou-se uma extração com água destilada (2 x 10 mL), a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila) em gradiente de polaridade conduzindo à formação dos compostos **3** e **4**, em rendimentos de 30% e 9%, respectivamente.

3 (30%); FF: 48-50 $^\circ C$; $[\alpha]_D^{25} = -120^\circ$ (c 0,1; CH_2Cl_2); RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1,36 (s, 6H), 1,48 (s, 3H), 1,56 (s, 3H), 4,17-4,23 (m, 3H), 4,35-4,39 (m, 2H), 4,68 (dd, 1H, $J = 2,4$ e 7,8 Hz), 5,59 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz), 6,40 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz), 6,44 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz), 6,86 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,35 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,83 (s, 1H) e 12,77 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ 24,4, 24,9, 26,0, 26,1, 66,2, 67,3, 70,5, 70,6, 70,9, 93,1, 96,3, 98,9, 106,4, 108,9, 109,7, 115,6, 122,7, 123,7, 130,2, 152,3, 156,1, 157,9, 162,5, 164,5 e 180,9; IV (KBr): 3155-3427,

2854-2988, 1656 e 1071 cm^{-1} ; EMAR calculado para $[\text{M} + \text{H}]^+$: 513,1755; encontrado: 513,1745.

7 (9%); FF: 73-76°C; $[\alpha]_{\text{D}} = -80$ (c 0,1; CH_2Cl_2); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1,36 (s, 6H), 1,47 (s, 9H), 1,54 (s, 6H), 1,55 (s, 3H), 4,13-4,24 (m, 6H), 4,35-4,39 (m, 4H), 4,64-4,69 (m, 2H), 5,58 (d, 2H, $J = 4,9$ Hz), 6,44 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,48 (d, 2H, $J = 3,0$ Hz), 7,02 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,45 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,85 (s, 1H) e 12,82 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 24,5, 24,9, 26,0, 29,7, 66,2, 66,7, 67,3, 70,6, 70,7, 70,9, 93,1, 96,4, 98,9, 108,8, 108,9, 109,5, 109,6, 115,0, 130,0, 152,7, 157,9, 158,9, 162,7 e 180,9; IV (KBr): 3140-3413, 2853-2988, 1657 e 1072 cm^{-1} ; EMAR calculado para $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 777,2729; encontrado: 777,2717.

1.6.2.2 Preparação do composto **5**.

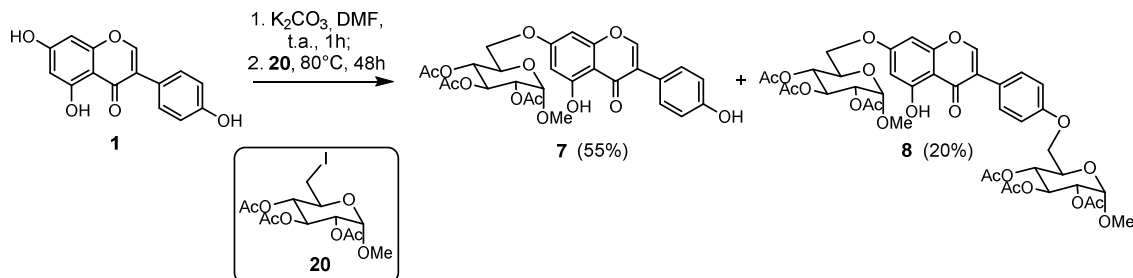


Em uma solução do éter **3** (0,2 mmol) em CH_2Cl_2 (2 mL) e água destilada (1 mL) foi adicionado ácido trifluoroacético (ATF, 1 mL) a temperatura ambiente. A mistura reacional ficou sob agitação magnética durante 24 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: diclorometano/metanol 9:1 v/v; reveladores: U.V., lodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento). Após o término da reação, os solventes foram evaporados sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (CH_2Cl_2 / MeOH em gradiente de polaridade) conduzindo a formação do composto **5** em 70% de rendimento.

5 (70%); FF: 175-178°C; RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ 13,54 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,72 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,30 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 6,74 (s, 1H), 6,69 (s, 1H), 6,13 (s, 5H), 5,34 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 4,88 – 4,74 (m, 2H), 4,64 (s, 1H), 4,54 (s, 1H), 4,38 – 4,25 (m, 2H); RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 56,3, 65,0, 70,8, 71,0, 71,2, 71,7, 72,1, 72,3, 72,5, 75,3, 76,5, 85,2, 94,4, 95,8, 100,6, 108,0, 117,6, 129,9, 130,7, 132,2, 155,0, 159,6, 160,6, 164,4, 166,7 e 182,6; IV (KBr): 3118-

3380, 2921-2986, 1669 e 1055 cm^{-1} ; EMAR calculado para $[\text{M} + \text{H}]^+$: 433,1129; encontrado: 433,1122.

1.6.2.3 Preparação dos compostos **7** e **8**.



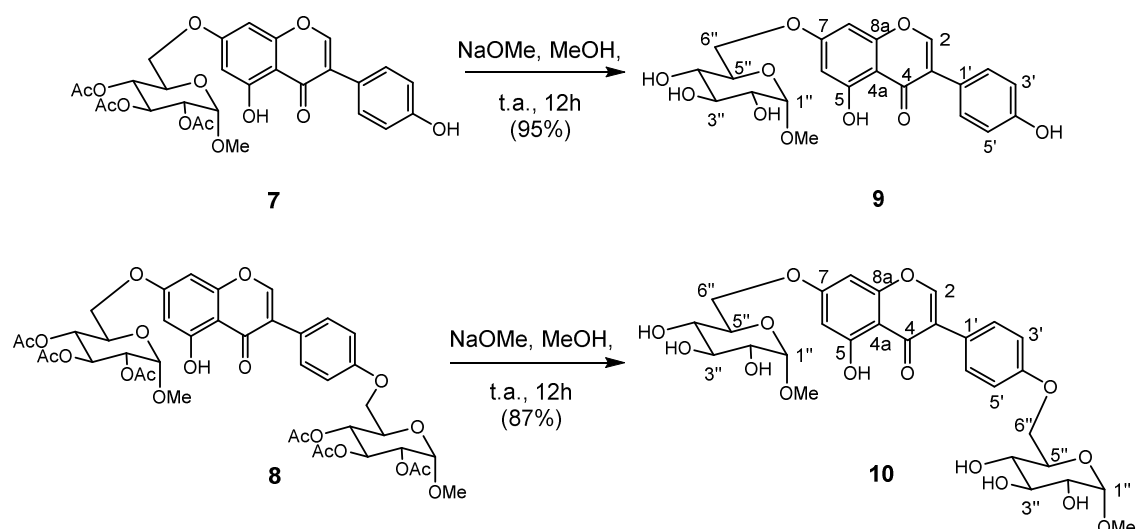
Em uma solução de genisteína (**1**, 0,75 mmol) em DMF (10 mL) foi adicionado carbonato de potássio (1,33 mmol) a temperatura ambiente. A mistura reacional ficou sob agitação magnética por 1 hora e em seguida foi adicionado 2,3,4-tri-O-acetil-6-desoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila (**20**, 2,25 mmol). A mistura reacional foi aquecida a 80°C e ficou sob agitação magnética durante 48 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: hexano/acetato de etila 6:4 v/v; reveladores: U.V., Iodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento). Após o término da reação, o excesso de DMF foi evaporado sob pressão reduzida e em seguida foi adicionado éter etílico (20 mL). Posteriormente realizou-se uma extração com água destilada (2 x 10 mL), a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila em gradiente de polaridade) conduzindo à formação dos compostos **7** e **8**, em rendimentos de 55 e 20%, respectivamente.

7 (55%); FF: $89\text{-}92^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}} = +108$ (c 0,1, CH_2Cl_2); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1,98 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 3,40 (s, 3H), 4,05-4,12 (m, 3H), 4,82-4,98 (m, 2H), 5,12 (t, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,49 (t, 1H, $J = 9,6$ Hz), 6,30 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 6,35 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 6,82 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,29 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,79 (s, 1H) e 8,78 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 20,9, 55,8, 67,4, 67,6, 69,4, 70,3, 71,0, 93,3, 96,9, 98,7, 106,8, 115,8, 122,0, 122,6, 124,0, 130,4, 153,0, 156,7, 158,0, 162,9, 164,3, 170,1, 170,4 e 181,1; IV (KBr): 3154-

3446, 2852-2956, 1751, 1656 e 1045 cm^{-1} ; EMAR calculado para $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 595,1430; encontrado 595,1409.

8 (20%); FF: 102-103°C; $[\alpha]_{\text{D}} = +28$ (c 0,1, CH_2Cl_2); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1,99 (s, 6H), 2,01 (s, 6H), 2,06 (s, 6H), 3,42 (s, 6H), 4,04-4,15 (m, 6H), 4,89-4,96 (m, 4H), 5,15 (m, 2H), 5,51 (t, 2H, $J = 9,0$ Hz), 6,33 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,38 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,94 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz), 7,41 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz), 7,84 (s, 1H) e 8,81 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 20,9, 55,7, 67,2, 67,4, 67,6, 67,9, 69,4, 69,5, 70,2, 70,4, 71,0, 71,1, 93,4, 96,9, 98,7, 106,8, 115,1, 123,7, 130,3, 153,0, 158,0, 158,9, 163,0, 164,3, 169,9, 170,3 e 181,0; IV (KBr): 3124-3430, 2850-3002, 1756, 1656 e 1049 cm^{-1} ; EMAR calculado para $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 897,2424; encontrado: 897,2407.

1.6.2.4 Preparação dos compostos **9** e **10**.



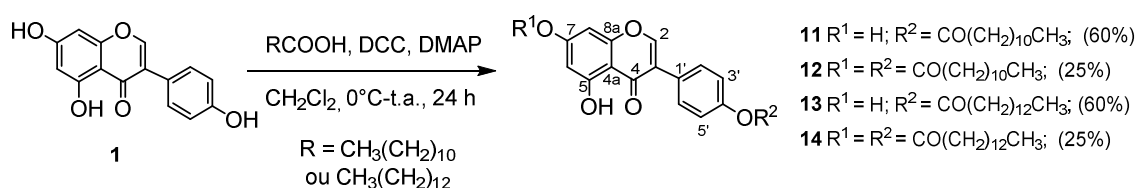
Em uma solução do éter **7** (0,18 mmol) ou **8** (0,05 mmol) em metanol (7 mL para **7** e 2 mL para **8**) foi adicionado uma solução de metóxido de sódio (1,6 mmol em 5 mL de metanol para **7** e 0,5 mmol em 1 mL de metanol para **8**) a temperatura ambiente. A mistura ficou sob agitação magnética durante 12 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: diclorometano/metanol 7:3 v/v; reveladores: U.V., Iodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento). Após o término da reação, a solução foi neutralizada com solução de ácido clorídrico (1 mol.L $^{-1}$) e em seguida foi

evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (CH_2Cl_2 / MeOH em gradiente de polaridade) conduzindo a formação de **9** em 95% de rendimento e do composto **10** em 87%.

9 (95%); FF: 116-119°C; $[\alpha]_D^{25} = +187,5$ (c: 0,1; metanol); RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 3,48 (s, 3H), 4,17-4,23 (m, 2H), 4,45 (s, 1H), 4,54-4,59 (m, 1H), 4,65-4,70 (m, 1H), 4,80-4,83 (m, 1H), 5,18 (s, 1H), 6,75 (d, 2H), 7,27 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,68 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 8,12 (s, 1H) e 13,50 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ 55,8, 69,5, 71,7, 71,8, 73,6, 75,3, 94,1, 99,9, 101,5, 107,3, 116,4, 123,3, 125,0, 131,5, 155,2, 159,0, 159,6, 163,7, 166,5 e 182,5; IV (KBr): 3149-3421, 2852-2922, 1657 e 1049; EMAR calculado para $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 469,1105; encontrado: 469,1095.

10 (87%); FF: 119-121°C; $[\alpha]_D^{25} = +120,0$ (c: 0,1; MeOH); RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 3,48 (d, 6H), 4,24-4,26 (m, 4H), 4,46 (s, 2H), 4,60-4,83 (m, 6H), 5,19 (s, 2H), 6,77 (s, OH alifático), 7,69 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz) e 8,17 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 51,3, 56,8, 66,1, 70,5, 71,2, 73,1, 73,4, 75,3, 77,0, 77,1, 95,1, 101,1, 103,1, 106,3, 116,8, 132,3, 155,6, 159,9, 161,5, 164,8, 167,3 e 182,7; IV (KBr): 3159-3422, 2853-2961, 1663 e 1049; EMAR calculado para $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 645,1790; encontrado: 645,1680.

1.6.2.4 Preparação dos ésteres lipofílicos **11**, **12**, **13** e **14**.



Em uma solução da genisteína (**1**, 0,1 mmol) em diclorometano (3 mL) foi adicionado o correspondente ácido graxo (0,14 mmol), DCC (0,21 mmol) e dimetilaminopiridina (DMAP) catalítico a 0°C. A mistura reacional ficou sob agitação magnética a temperatura ambiente durante 24 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: hexano/acetato de etila 5:5 v/v; reveladores: U.V., Iodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento). Após o término da reação, foram adicionados 10 mL de diclorometano e realizou-se uma extração com água destilada (10 mL). A fase

orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila em gradiente de polaridade) conduzindo à formação dos derivados mono e di-ésteres.

11 (60%): FF: 134-136 °C; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 0,87 (t, 3H, $J = 7,2\text{Hz}$), 1,11-1,26 (m, 16H), 1,73-1,80 (m, 2H), 2,59 (t, 2H, $J = 7,5\text{ Hz}$), 6,31-6,38 (m, 2H), 7,17 (d, 2H, $J = 7,5\text{ Hz}$), 7,55 (d, 2H, $J = 7,5\text{ Hz}$), 7,88 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 180,6, 173,4, 163,1, 162,8, 158,1, 153,5, 150,9, 130,2, 128,6, 123,1, 121,0, 106,0, 100,0, 94,5, 34,6, 32,1, 29,8-29,3, 25,1, 22,9, 14,3; IV (KBr) 3389, 3070, 2931-2859, 1756 e 1648 cm^{-1} . EMAR calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: 453,2277; encontrado: 453,2259.

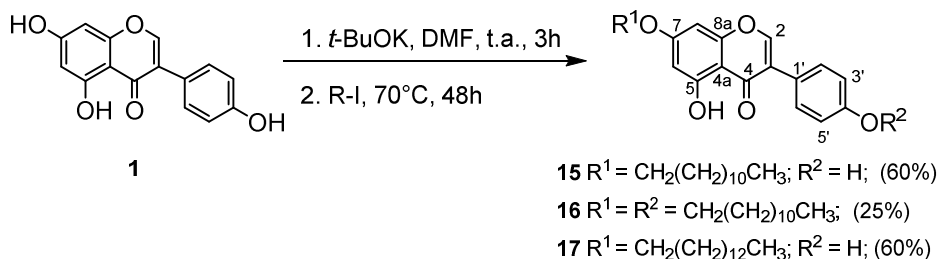
12 (25%): FF: 96-98 °C; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 0,84-0,91 (m, 6H), 1,11-1,42 (m, 32H), 2,05-2,17 (m, 4H), 2,58 (t, 4H, $J = 7,2\text{ Hz}$), 6,59 (d, 1H, $J = 2,1\text{ Hz}$), 6,77 (d, 1H, $J = 2,1$), 7,18 (d, 1H, $J = 6,9\text{ Hz}$), 7,19 (d, 1H, $J = 6,7\text{ Hz}$), 7,55 (d, 2H, $J = 6,7\text{ Hz}$), 7,56 (d, 2H, $J = 6,9\text{ Hz}$), 7,98 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 182,7, 172,3, 167,2, 162,6, 156,4, 154,1, 152,8, 130,2, 129,2, 124,2, 122,2, 113,2, 105,9, 101,2, 38,4, 34,6, 32,1, 31,4-29,3, 25,1, 22,9, 14,3; IV (KBr) 3420, 3065, 2920-2841, 1753 e 1653 cm^{-1} . EMAR calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: 635,3948; encontrado: 635,3951.

13 (60%): FF: 121-123 °C; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 0,87-0,91 (m, 3H), 1,12-1,53 (m, 20H), 1,69-1,80 (m, 2H), 2,58 (t, 2H, $J = 7,2\text{ Hz}$), 6,33 (d, 1H, $J = 2,1\text{ Hz}$), 6,38 (d, 1H, $J = 2,1\text{ Hz}$), 7,14 (d, 1H, $J = 6,5\text{ Hz}$), 7,15 (d, 1H, $J = 6,7\text{ Hz}$), 7,52 (d, 1H, $J = 6,5\text{Hz}$), 7,53 (d, 1H, $J = 6,7\text{Hz}$), 7,85 (s, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 180,6, 173,0, 163,0, 162,8, 158,2, 153,4, 151,0, 130,2, 128,5, 123,3, 122,0, 106,3, 100,0, 94,4, 34,7, 32,1, 29,9-29,3, 25,1, 22,9, 14,3; IV (KBr) 3425, 2932-2851, 1756 e 1675 cm^{-1} . EMAR calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: 481,2590; encontrado: 481,2576.

14 (25%): FF: 95-96 °C; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 0,89 (t, 6H, $J = 6,6\text{ Hz}$), 1,28-1,44 (m, 40H), 2,39-2,44 (m, 4H), 2,58 (t, 4H, $J = 7,2\text{ Hz}$), 6,59 (d, 1H, $J = 2,3\text{ Hz}$), 6,77 (d, 1H, $J = 2,3\text{ Hz}$), 7,18 (d, 1H, $J = 6,6\text{ Hz}$), 7,19 (d, 1H, $J = 6,6\text{ Hz}$), 7,55 (d, 2H, $J = 6,9\text{ Hz}$), 7,56 (d, 2H, $J = 6,6\text{ Hz}$), 7,98 (s, 1H); RMN ^{13}C

(75 MHz, CDCl_3): δ 181,2, 172,4, 171,4, 162,6, 157,1, 156,4, 154,0, 151,3, 130,2, 128,0, 123,9, 122,1, 109,6, 105,8, 101,1, 34,1, 31,6, 29,3-28,7, 24,6, 22,4, 13,8; IV (KBr) 3452, 3079, 2923-2851, 1752 e 1666 cm^{-1} .

1.6.2.5 Preparação dos éteres lipofílicos **15**, **16** e **17**.



Em uma solução de genisteína (**1**, 0,1 mmol) em DMF (3 mL) foi adicionado terc-butóxido de potássio (0,2 mmol) a temperatura ambiente. A mistura ficou sob agitação magnética por 3 horas, e em seguida, foi adicionado o correspondente iodeto de alquila (0,15 mmol). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética a 70°C durante 48 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: hexano/acetato de etila 5:5 v/v; reveladores: U.V., lodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento). Após o término da reação, o excesso de DMF foi evaporado sob pressão reduzida e em seguida foi adicionado éter etílico (10 mL). Posteriormente realizou-se uma extração com água destilada (2 x 10 mL), a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila em gradiente de polaridade) conduzindo à formação dos derivados mono e di-éteres.

15 (60%): FF: 130-132 $^\circ\text{C}$; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 0,89 (t, 3H, $J = 6,3$ Hz), 1,47-1,12 (m, 18H), 1,84-1,77 (m, 2H), 4,03 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz), 6,38 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz), 6,40 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz), 6,89 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz), 7,39 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,86 (s, 1H); RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 180,2, 165,4, 162,9, 158,3, 156,1, 152,9, 130,6, 123,8, 123,4, 115,8, 106,2, 98,9, 93,1, 68,9, 33,8, 32,1, 30,7, 29,9-28,8, 26,1, 22,9, 14,3; IV (KBr) 3451, 3138, 2905-2851 e 1666 cm^{-1} . EMAR calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: 439,2484; encontrado: 439,2463.

16 (25%): FF: 98-99 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,81-0,91 (m, 6H), 1,21-1,34 (m, 36H), 2,14-2,37 (m, 4H), 3,97-4,05 (m, 4H), 6,37 (d, 1H, *J* = 2,3 Hz), 6,39 (d, 1H, *J* = 2,3 Hz), 6,97 (d, 1H, *J* = 6,6 Hz), 6,98 (d, 1H, *J* = 6,9 Hz), 7,44 (d, 1H, *J* = 6,6 Hz), 7,45 (d, 1H, *J* = 6,9 Hz), 7,86 (s, 1H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 180,2, 165,4, 162,9, 158,2, 152,8, 130,3, 123,9, 123,0, 114,9, 106,2, 98,8, 93,1, 68,9, 68,3, 32,1, 29,9-26,3, 26,1, 22,9, 14,3; IV (KBr) 2923 e 1670 cm⁻¹.

17 (60%): FF: 120-122 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (t, 3H, *J* = 6,3 Hz), 1,25-1,70 (m, 22H), 1,85-1,92 (m, 2H), 4,16 (t, 2H, *J* = 6,6 Hz), 6,38 (d, 1H, *J* = 2,1 Hz), 7,40 (d, 2H, *J* = 6,3 Hz), 6,40 (d, 1H, *J* = 2,1 Hz), 6,90 (d, 2H, *J* = 6,3 Hz), 7,86 (s, 1H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 181,1, 165,4, 162,9, 158,2, 156,2, 152,9, 130,6, 123,9, 123,3, 115,8, 106,3, 98,9, 93,1, 68,9, 32,1, 30,7, 29,9-29,2, 26,1, 22,9, 14,3; IV (KBr) 3434, 2923 e 1666 cm⁻¹. EMAR calculado para [M+H]⁺: 467,2797; encontrado: 467,2786.

1.6.3 Ensaios biológicos

1.6.3.1 Linhagem celular e cultura

Macrófagos J774.A1 (2x10⁵ cell/mL) foram cultivados em placas de 96 poços em RPMI-1640 suplementado com 2mM L-glutamina, 100 µg/mL de antibiótico (estreptomicina e penicilina), 5% de soro fetal bovino (SFB), mantido a 37°C em 5% de CO₂. Os macrófagos foram cultivados por 12, 18 e 48 horas na presença ou ausência de genisteína ou seus derivados nas concentrações de 6,5, 13, 26, 52, 104 e 208 µM e estimulados ou não com LPS (1 µg/mL) e IFN-γ (0,9 ng/mL) em triplicata. Como controle negativo foram utilizados células apenas estimuladas com LPS e IFN-γ e não tratadas, células não estimuladas com LPS e IFN-γ, mas tratadas com genisteína ou derivados e células não estimuladas e tratadas apenas com DMSO 1% (dilúente utilizado na dissolução da genisteína e derivados).

1.6.3.2 Avaliação da citotoxicidade da genisteína e de seus derivados

A viabilidade dos macrófagos J774.A1 foi determinada pelo método colorimétrico do MTT (corante *Thiazol Blue Brometo de tetrazólio* - Sigma, St. Louis, MO, USA). Para o teste, após o tempo de cultura de 48 horas os sobrenadantes foram coletados para posterior dosagem de NO e a seguir 100 µL de RPMI foram adicionados em todos os poços contendo as células cultivadas por 48 horas, em seguida 10µL de MTT (5 mg/mL) também foram acrescentados a cada poço. A placa foi incubada a 37°C em estufa com 5% de CO₂. Transcorrido o período de 4 horas a reação foi finalizada com o acréscimo de 100 µL de álcool isopropílico acidificado com HCl 0,4%. A absorbância foi lida a 570 nm e a citotoxicidade (%) obtida pela fórmula $100 - ((\bar{x}_1 / \bar{x}_2) * 100)$, considerando \bar{x}_1 e \bar{x}_2 a media da OD (570nm) nos poços de células tratadas com os derivados e células não tratadas, respectivamente.

1.6.3.3 Determinação da produção de NO

A concentração de NO (indiretamente determinada pela dosagem de nitrito) foi medida pelo método de Griess, no sobrenadante de 48 horas de cultura. Para realização do teste 100 µL de sobrenadante de cada poço foram transferidos para placas de 96 poços, posteriormente foi acrescentado igual volume de reagente de Griess (1% de sulfanilamida, 0,1% de cloridrato de *N*-(1-naftil)-etileno diamina, 2,5% H₃PO₄, Sigma, St. Louis, MO, USA). A concentração de NO foi determinada por comparação com uma solução padrão de nitrito de sódio. A absorbância medida a 540 nm. O *N*^G-monometil-L-arginina (L-NMMA) foi utilizado como padrão positivo do controle da inibição. A porcentagem de inibição foi calculada em relação à inibição do L-NMMA e células apenas estimuladas.

1.6.3.4 Dosagem de citocinas

As citocinas IL-12 e TNF-α foram quantificadas pelo método de ELISA. As dosagens de IL-12 foram realizadas em sobrenadante após 18 horas de

cultura e o TNF- α avaliado em sobrenadante de 12 horas. A leitura da reação foi feita a 450 nm. Os resultados para obtenção da porcentagem de inibição foram calculados usando a fórmula $100 - ((\bar{x}_1 / \bar{x}_2) * 100)$, considerando \bar{x}_1 (a média da concentração de IL-12 ou TNF- α (pg/mL) nos poços contendo os compostos analisados) e \bar{x}_2 (a média da concentração IL-12 ou TNF- α (pg/mL) de células somente estimuladas não tratadas).

2 SÍNTESE DE AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO QUÍNICO CONDENSADO COM DIAMINAS N-ALQUILADAS, POTENCIAIS AGENTES ANTIBACTERIANOS, ANTIPARASITÁRIOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS

2.1 INTRODUÇÃO

2.1.1 Poliaminas

As poliaminas putrescina (1), espermidina (2) e espermina (3) (Figura 1) são biomoléculas constitutivas e essenciais para diversas funções de crescimento, divisão e diferenciação celular em todos os organismos vivos (BACCHI e YARLETT, 2002; HEBY *et al.*, 2003; WALLACE *et al.*, 2003). Sob condições fisiológicas o papel das poliaminas é atribuído à facilidade de protonação dos seus grupos amino que se tornam catiônicos no pH intracelular. Dessa maneira, as poliaminas interagem espontaneamente com macromoléculas aniônicas, como ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos, participando de muitos processos celulares (REGUERA *et al.*, 2005; RAMANI *et al.*, 2014).

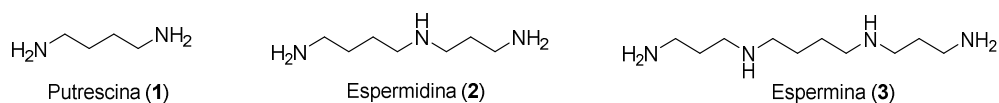


Figura 1 Estruturas das poliaminas presentes nos organismos vivos.

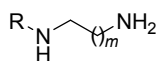
Devido à diferença metabólica entre células normais e células tumorais ou entre células do hospedeiro e células do parasita, o metabolismo de poliaminas é considerado um alvo em potencial na quimioterapia de diversas doenças. Todos os protozoários parasitos contêm poliaminas que, juntamente com suas enzimas associadas, estão atraindo a atenção como alvo para novas terapias antiparasitárias, uma vez que não há interferência com o metabolismo de poliaminas em células de mamíferos (MULLER *et al.*, 2001). Considerando que os parasitos têm vias ou necessidades de poliaminas distintas daquelas das células mamíferas, então modulando essa via central, esperam-se consequências mais graves para o parasito em relação ao hospedeiro.

A importância da putrescina (1) na sobrevivência de *Trichomonas foetus* foi investigada através do uso de 1,4 diamino-2-butanona (DAB), um análogo dessa poliamina: (REIS *et al.*, 1999). Esse estudo revelou que, em presença de

DAB (i) houve um atraso no ciclo celular do parasito, refletido pela inibição do crescimento *in vitro* do *T. foetus*; (ii) os níveis de putrescina, espermina e espermidina foram reduzidos, em comparação aos trofozoítos não tratados e (iii) os hidrogenossomos foram progressivamente degradados indicando que a presença de poliaminas estaria relacionada à proteção e estabilização da membrana hidrogenossomal. Alguns análogos de poliaminas demonstraram potencial de inibição da biossíntese de poliaminas em *Trichomonas vaginalis* (BREMNER *et al.*, 1987; REIS *et al.*, 1999; GARCIA *et al.*, 2005), mas o reflexo dessa inibição na virulência do parasito permanece indefinido. Derivados de poliaminas *N*-alquiladas inibem diferentes etapas do ciclo metabólico de poliaminas, podendo influenciar em várias etapas do metabolismo e nas funções dessas poliaminas (MULLER e WALTER, 2001; BACCHI e YARLETT, 2002).

2.1.2 Diaminas *N*-alquiladas com propriedades antiparasitárias

Nosso grupo de pesquisa sintetizou dezenas de diaminas *N*-alquiladas e avaliou as propriedades desses compostos contra diferentes parasitos. Na figura 2 está ilustrada a estrutura geral dessas diaminas *N*-alquiladas, onde se variou o tamanho da cadeia alifática linear entre octila e hexadecila, além de alguns grupos hidroxialquila lineares e se variou também a quantidade de grupos metilenos (espaçadores) entre os dois átomos de nitrogênios. A atividade biológica está diretamente relacionada com a lipofilicidade desses compostos, onde foi possível, em alguns casos, estabelecer uma relação da atividade com o tamanho da cadeia alifática. A lipofilicidade é importante no desenvolvimento de drogas com propriedades antiparasitárias devido à interação da porção hidrofóbica com a membrana lipídica do parasito, permitindo a penetração da droga no citoplasma, onde poderá atuar no metabolismo de poliaminas.



R: grupos alquila lineares (8, 10, 12, 14 ou 16 carbonos)
ou grupos hidroxialquila lineares

m: 1, 2, 3 ou 5

Figura 2 Estrutura geral das diaminas *N*-alquiladas biologicamente ativas, sintetizadas previamente pelo nosso grupo de pesquisa.

Em 2010 (REZENDE JUNIOR *et al.*, 2010) e 2014 (SALES JUNIOR *et al.*, 2014) nosso grupo de pesquisa reportou as atividades de alguns desses compostos contra diferentes formas do *Trypanosoma cruzi*, protozoário que é agente etiológico da doença de Chagas. Na figura 3 estão representados os compostos mais ativos com os respectivos IC₅₀ e índice de seletividade (IS). É possível verificar que os compostos apresentaram valores de IC₅₀ semelhantes ao do benznidazol (droga de referência utilizada no tratamento da doença de Chagas), porém os índices de seletividade são bastante inferiores a 50, não sendo ideais para dar continuidade com os ensaios *in vivo* (SALES JUNIOR *et al.*, 2014).

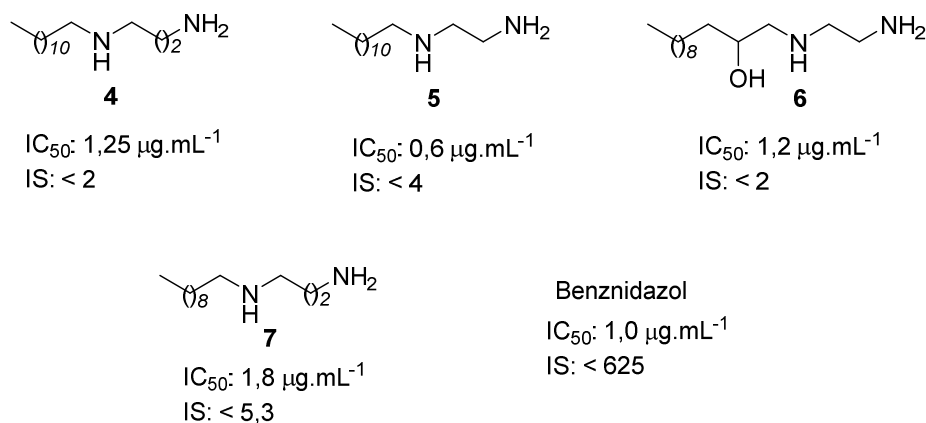


Figura 3 Compostos ativos contra diferentes formas do *Trypanosoma cruzi*.

Em 2013 (YAMANAKA *et al.*, 2013) reportaram as atividades de uma outra série de diaminas *N*-alquiladas contra a forma amastigota do *Trypanosoma cruzi*. Na figura 4 estão representadas as estruturas dos compostos ativos, sendo que o composto mais ativo **8** foi selecionado para alguns estudos de mecanismo de ação. Inicialmente verificou-se a influência desse composto na produção de TNF- α e NO em macrófagos (mecanismo de ação de alguns compostos anti-*Trypanosoma*), observando-se que não houve aumento do nível dessas substâncias nos macrófagos tratados com o composto **8**, sugerindo que seu mecanismo de ação não é por essa via. Posteriormente, avaliou-se o potencial desse composto em inibir a enzima tripanotiona redutase do *Trypanosoma cruzi* (rTRTc), uma enzima essencial na biossíntese de poliaminas nesse parasito, verificando que apenas 32% da

atividade dessa enzima foi inibida, sugerindo que o mecanismo de ação não é estritamente devido à inibição da rTRTc. Avaliou-se também a influência desse composto na integridade mitocondrial do parasita, verificando que houve despolarização da membrana mitocondrial, sugerindo que essa organela pode também ser um alvo no mecanismo de ação. A diamina **8** é um composto com potencial para a realização dos ensaios *in vivo*.

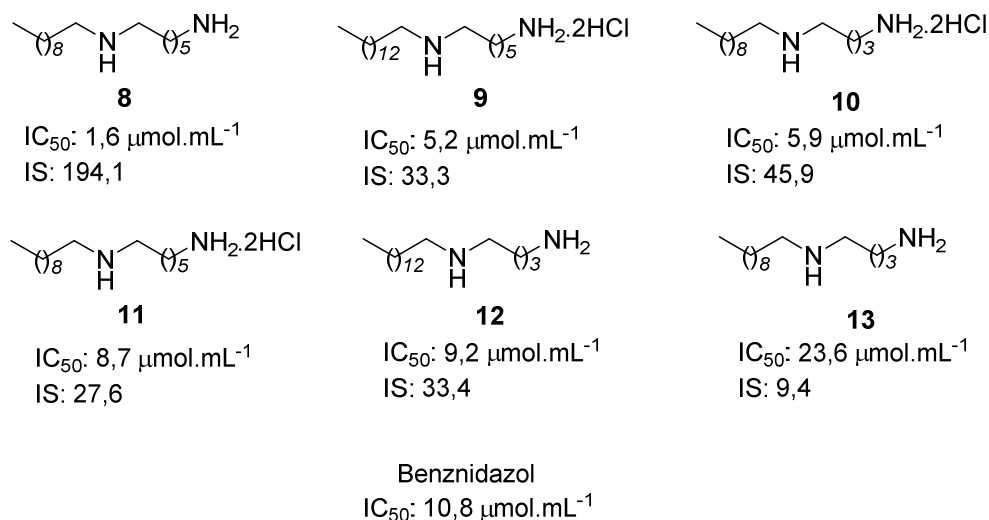


Figura 4 Compostos ativos contra a forma amastigota do *Trypanosoma cruzi*.

Foram avaliadas as propriedades de uma série dessas diaminas *N*-alquiladas contra a leishmaniose. Experimentos contra *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi* em suas formas promastigotas foram realizados (COSTA *et al.*, 2009; COIMBRA *et al.*, 2010). A figura 5 representa as estruturas dos compostos mais ativos, que apresentaram um potencial de inibição similar ou melhor do que a anfotericina B (droga de referência utilizada no tratamento da leishmaniose), destacando-se os compostos **5**, **7**, **18** e **19** que foram 7,3; 2,6; 3,6 e 1,5 vezes mais ativos que a anfotericina B contra *Leishmania chagasi*. O composto mais ativo, a diamina **5**, foi selecionado para alguns ensaios de toxicidade, morfologia e mecanismos de ação contra diferentes espécies de *Leishmania* (forma amastigota), verificando-se que (i) esse composto não foi tóxico em células de mamíferos nas concentrações em que foi ativo, (ii) houve atividade contra *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. chagasi* nas formas amastigotas e (iii) observou-se uma desorganização

intracelular nos parasitos tratados com esse composto, sugerindo que o mecanismo de ação parece prejudicar o metabolismo biossintético do parasito conduzindo à ruptura da membrana e morte do parasito (SILVA *et al.*, 2012).

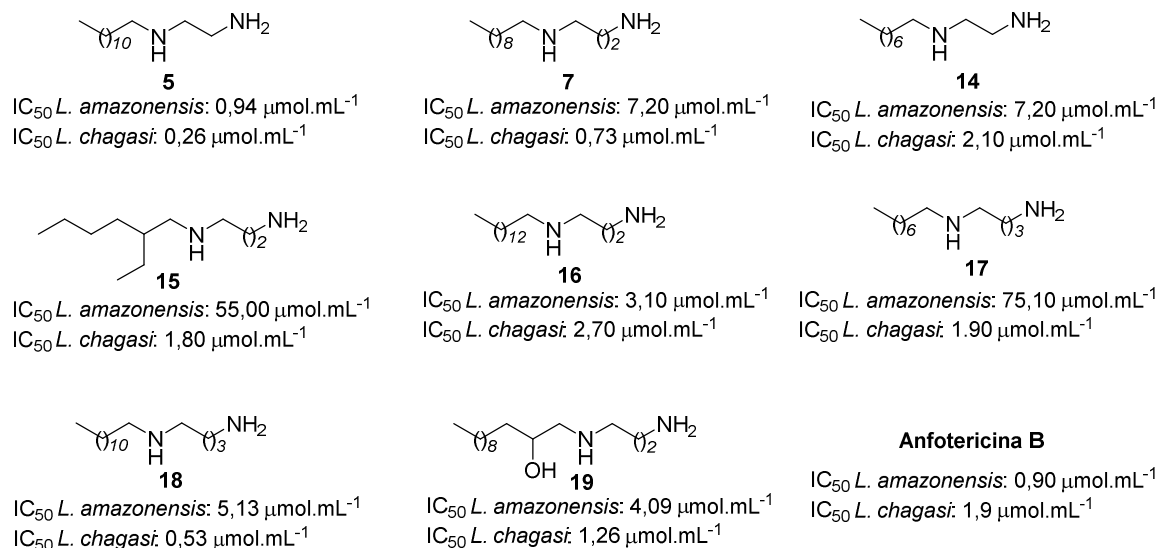


Figura 5 Diaminas ativas contra a leishmaniose.

Posteriormente, outra série de diaminas *N*-alquiladas foi avaliada contra *L. braziliensis* e *L. chagasi* em suas formas amastigotas, obtendo-se doze compostos ativos, sendo que o composto **12** (Figura 6), o mais ativo, foi selecionado para alguns estudos de mecanismo de ação. Inicialmente, verificou-se a influência desse composto na produção de TNF- α e NO em macrófagos (mecanismo de ação de alguns compostos anti-*Leishmania*), observando-se que não houve aumento do nível dessas substâncias nos macrófagos tratados com o composto **12**, indicando que o mecanismo de ação desse composto não é por essa via. Posteriormente, avaliou-se o potencial desse composto em inibir a enzima tripanotona redutase do *L. braziliensis* (rTRLb), uma enzima essencial na biossíntese de poliaminas nesse parasito, verificando que apenas 48% da atividade dessa enzima foi inibida, sugerindo que o mecanismo de ação não é estritamente devido à inibição da rTRLb. Avaliou-se também a influência desse composto na integridade mitocondrial do parasita, verificando que não houve despolarização da membrana mitocondrial, sugerindo que essa organela não é um alvo no mecanismo de ação. A diamina

12 é um composto com propriedades para que se realize os ensaios *in vivo* (YAMANAKA *et al.*, 2013).

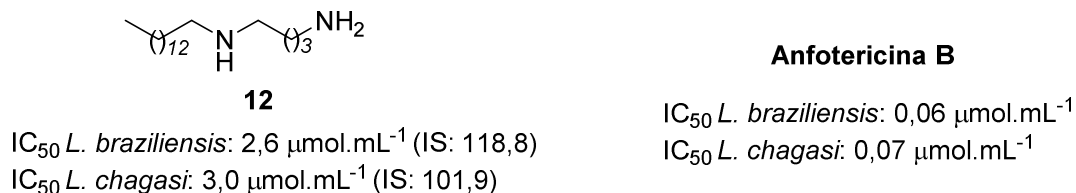


Figura 6 Composto mais ativo contra as formas amastigotas de *L. braziliensis* e *L. chagasi* (YAMANAKA *et al.*, 2013).

Foi avaliada uma série dessas diaminas *N*-alquiladas contra *Trichomonas vaginalis* e *Giardia lamblia*, parasitos causadores de tricomonose e giardiose, respectivamente (Giordani *et al.*, 2009; Giordani *et al.*, 2011). Verificou-se que, dos compostos testados, seis apresentaram o MIC inferior ao do metronidazol (droga de referência utilizada no combate de tricomonose e giardiose) contra *G. lamblia* e dois apresentaram o MIC igual ou inferior ao metronidazol contra *T. vaginalis* (Figura 7).

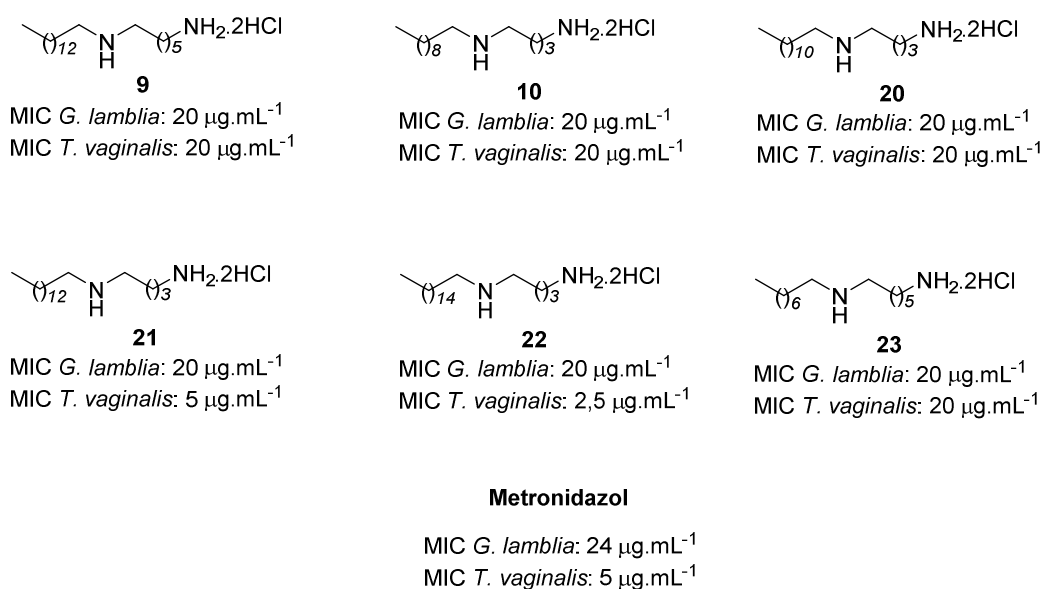


Figura 7 Compostos ativos contra *Trichomonas vaginalis* e *Giardia lamblia*.

Avaliou-se também uma série desses compostos contra a esquistossomose, analisando suas propriedades esquistossomicidas através de ensaios *in vitro* contra vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (parasito causador da esquistossomose) (FERNANDES *et al.*, 2013). Compostos com propriedades esquistossomicida podem atuar em três maneiras diferentes: (i) profilaticamente (causando a morte dos esquistossômulos), (ii) opressivamente (inibindo a oviposição) e (iii) curativa (causando a morte do verme adulto). Dessa maneira, avaliou-se as condições gerais de atividade motora, taxa de mortalidade, produção e desenvolvimento de ovos desse parasito, observando que os compostos **4** e **5** (Figura 8) foram os mais ativos. O composto **4**, em uma concentração de $12,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, causou 100% da morte de todos os vermes adultos (fêmeas e machos), enquanto que o composto **5**, nessa mesma concentração, causou 100% da morte dos vermes adultos machos, sendo que não houve percentual de mortalidade dos vermes fêmeas. Esses compostos também foram capazes de reduzir a viabilidade e diminuir a produção de ovos desse parasito, sendo candidatos potentes para a continuação dos ensaios biológicos e desenvolvimento de novos protótipos para drogas contra esquistossomose.

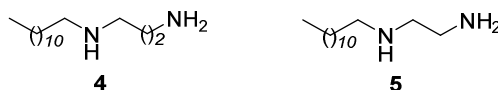


Figura 8 Compostos mais ativos contra a esquistossomose.

Esses resultados nos fornecem evidências que essas diaminas *N*-alquiladas são candidatos a protótipos para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas contra diversas doenças parasitárias. De uma maneira geral, os compostos com cadeia alquila linear de 10, 12 e 14 carbonos foram os mais ativos, sugerindo que esses grupos conduzem a uma lipofilicidade ideal.

2.1.3 Diaminas alquiladas com propriedades antibacterianas

O etambutol (Figura 9) é o princípio ativo de alguns medicamentos utilizados no tratamento da tuberculose, doença bacteriana causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*. Ele atua na inibição de enzimas que promovem a

biossíntese da parede celular do *Mycobacterium tuberculosis* (JANIN, 2007). Baseado na estrutura do etambutol, Protopova e colaboradores sintetizaram milhares de compostos possuindo como estrutura base dois grupos amino alquilados espaçados por grupos metileno e avaliaram suas propriedades contra a tuberculose. Tal estudo conduziu a obtenção dos compostos **24**, **25**, **26** e **27** (Figura 9) com atividades antituberculose semelhantes àquelas do etambutol, onde o composto **24**, denominado SQ 109, passou pelos testes clínicos de fase 1 (LEE *et al.*, 2003; PROTOPOVA *et al.*, 2005; JIA *et al.*, 2005; BOGATCHEVA *et al.*, 2006).

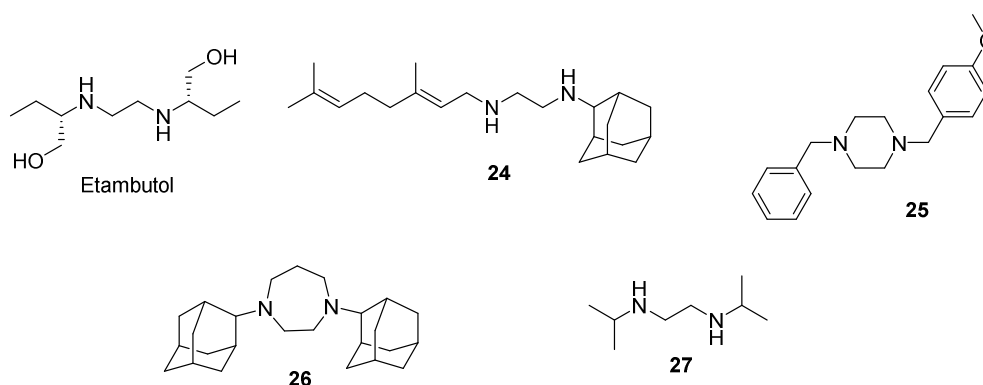


Figura 9 Estruturas do etambutol e de compostos ativos contra a tuberculose, preparados por Protopova e colaboradores.

Uma série de aminas *N*-alquiladas sintetizadas pelo nosso grupo de pesquisa foram submetidas a ensaios biológicos contra a tuberculose (TAVEIRA *et al.*, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2007; REZENDE JUNIOR *et al.*, 2009). Foram avaliados os potenciais desses compostos em inibir o crescimento do *M. tuberculosis*, onde os compostos mais ativos estão representados na figura 10. Verificou-se também que a condensação de algumas dessas aminas *N*-alquiladas com carboidratos derivados da D-galactose, compostos **31-33** (Figura 10), conduziu ao aumento da atividade contra o *M. tuberculosis*, sugerindo que o mecanismo de ação dos compostos condensados ao carboidrato poderia ser diferente daqueles não condensados. Os derivados de carboidrato podem atuar inibindo a biossíntese da parede celular do *M. tuberculosis*, que é constituída de polissacarídeos, enquanto que os compostos não condensados ao carboidrato podem atuar na membrana citoplasmática do *M. tuberculosis* (TAVEIRA *et al.*, 2007).

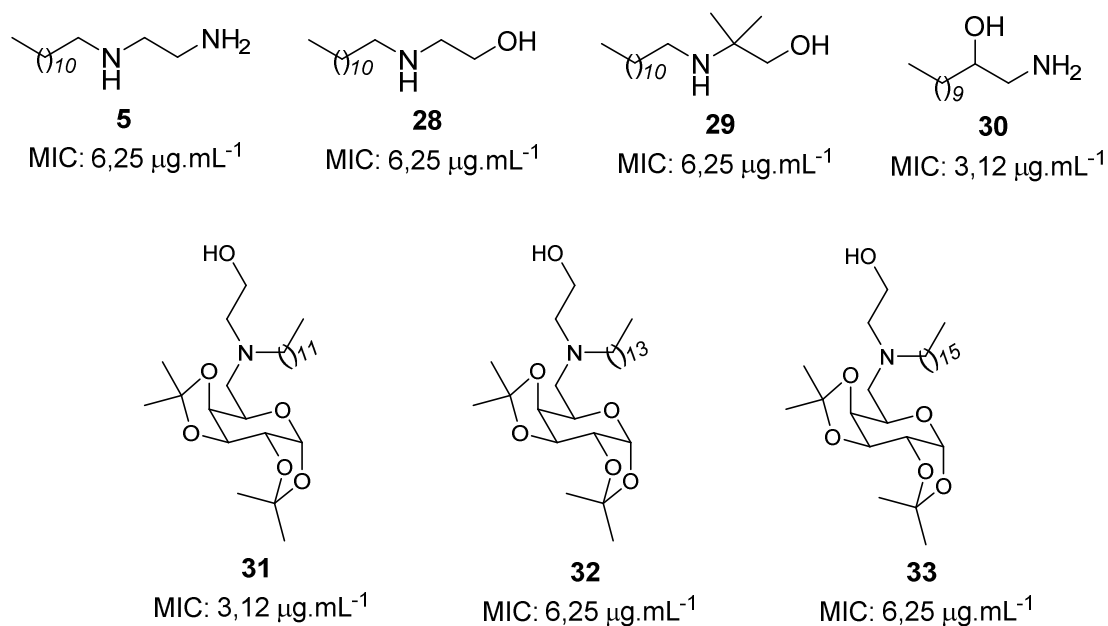


Figura 10 Compostos ativos contra a tuberculose, derivados de aminas ou amino-álcoois lipofílicos.

Posteriormente, uma série de *N*-acildiaminas foram sintetizadas e testadas contra seis bactérias Gram-positivas e onze Gram-negativas. Os compostos mais ativos estão representados na figura 11, onde a amida **34** apresentou baixos MIC contra duas diferentes espécies de bactéria e a amida **35** apresentou baixos MIC contra três diferentes espécies de bactéria (ALMEIDA *et al.*, 2010).

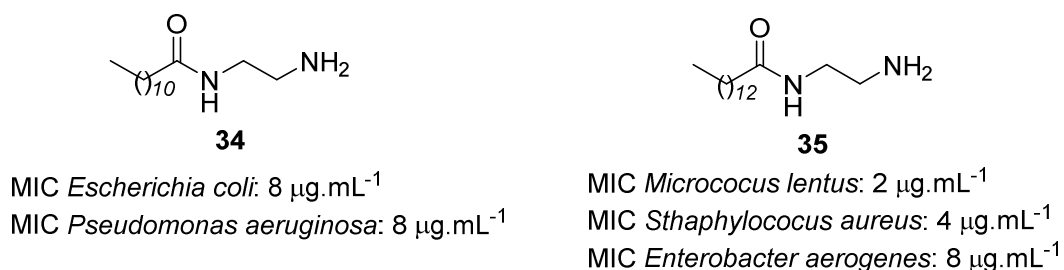
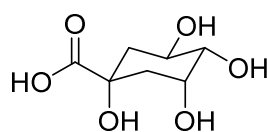


Figura 11 Amino-amidas lipofílicas ativas contra diferentes espécies de bactérias.

2.1.4 Ácido quínico

O ácido quínico (Figura 12) é um cicloexanopoliol (ciclitol) carboxilado que está amplamente distribuído no reino vegetal sob a forma livre ou esterificado em suas hidroxilas ou carboxila (CARNAT *et al*, 2000; MARIA *et al*, 1999; BARCO *et al*, 1997). Ele é obtido na natureza como metabólito primário da D-glicose, formado pela ação de algumas enzimas sobre esse açúcar. Devido a sua estrutura, o ácido quínico é largamente empregado como precursor em síntese orgânica, com a possibilidade de transformações químicas em todos os átomos de carbono (BARCO *et al*, 1997).



Ácido quínico

Figura 12 Estrutura do ácido quínico.

Diversos derivados desse ácido se caracterizam por apresentarem diferentes propriedades biológicas, dentre elas, antibacteriana, antimutagênica, antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória e antiviral (SEFKOW, KELLING e SCHILDE, 2001; HUYNH-BA, 1995). Uma das principais propriedades desses compostos é a inibição *in vitro* da enzima HIV integrase (REZENDE JUNIOR, *et al.*, 2013).

Extratos de *Uncaria tomentosa*, conhecido popularmente como unha de gato e nativa da Amazônia, apresentam propriedades anti-inflamatórias devido à presença de grande quantidade de ácido quínico e seus derivados. Esses extratos são utilizados contra várias doenças como: alergia, artrite, câncer, infecções de bactérias ou fungos, inflamação gastro intestinal e úlcera gástrica. Esses compostos atuam na inibição da transcrição pró-inflamatória do fator nuclear kappa de células B ativadas (NF-κB), proteína responsável pela produção de citocinas e sobrevivência das células (ZENG *et al.*, 2009).

Baseados nessas propriedades, Zeng e colaboradores sintetizaram e avaliaram as propriedades anti-inflamatórias de uma série de amidas derivadas do ácido quínico, com objetivo de obter compostos com atividades melhores ou

similares aos extratos naturais e mais eficientes na administração oral. Na figura 13 estão representadas as estruturas dessas amidas, onde os grupos ligados ao nitrogênio variaram-se entre alquilas lineares ou cíclicas, benzíla, arila e alquil-amina. Diversas amidas apresentaram atividade anti-inflamatória *in vitro* e *in vivo*, sendo adequadas para a administração oral, estáveis, solúveis em água e demonstraram uma significativa eficácia na inibição de NF-κB, inibindo a adesão de leucócitos e citocinas conhecidos por estarem envolvidos em doenças inflamatórias, sendo a amida **36** (Figura 13), o composto mais ativo. Esses compostos também não apresentaram propriedades anti-oxidantes e citotóxicas, excluindo essas vias de possíveis mecanismos e ação para a atividade anti-inflamatória. Essas propriedades tornam esses compostos protótipos promissores na busca por novos agentes anti-inflamatórios (ZENG *et al.*, 2009; ZENG *et al.*, 2011; YATES *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2013).

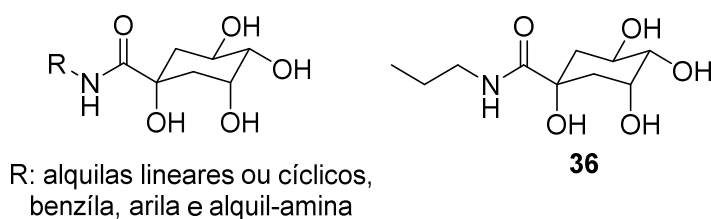


Figura 13 Amidas derivadas do ácido quínico com potentes atividades anti-inflamatórias.

Verificaram-se também as propriedades dessas amidas na proteção de animais expostos à irradiação ionizante (irradiação que diminui o número de leucócitos conduzindo a infecções oportunistas), sendo eficientes, quando introduzidas antes ou depois da exposição (YATES *et al.*, 2010).

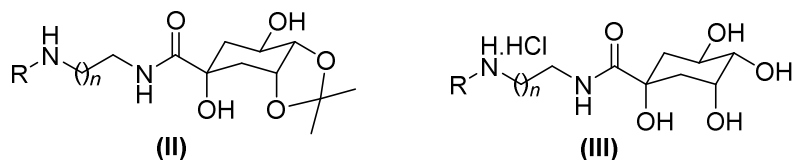
2.2 OBJETIVOS

Fundamentados nas propriedades antiparasitárias e antibacterianas das diaminas *N*-alquiladas reportadas na literatura e pelo nosso grupo de pesquisa e nas propriedades anti-inflamatórias e perfil farmacocinético de amidas derivadas do ácido quínico, objetivou-se nesse trabalho a síntese de amidas derivadas de uma série de diaminas *N*-alquiladas condensadas com o ácido

quínico. O principal objetivo é a obtenção, de forma rápida e simples, de compostos com potencial atividade biológica contra diferentes tipos de doenças.

Planejou-se a síntese dos compostos representados na figura 14. Almejou-se a síntese dos compostos das séries (II) e (III) com cadeias lipofílicas de dez ou doze carbonos, baseados nas atividades biológicas das diaminas *N*-alquiladas, nas quais os derivados com cadeias contendo entre dez e quatorze carbonos foram mais ativos. Planejou-se também a preparação de derivados sem a cadeia lipofílica, a fim de se avaliar a importância dessa cadeia na atividade desses novos compostos. A variação da quantidade de grupos metileno entre os dois átomos de nitrogênios (espaçador) podem influenciar na lipofilicidade e na forma com que esses compostos podem interagir no sítio ativo. As diferenças estruturais entre (II) e (III) estão relacionadas com a solubilidade desses compostos em água, que podem influenciar nos perfis farmacocinéticos desses compostos. Os compostos (II) são mais apolares, menos solúveis em água que os compostos (III), que são sais de amônio e apresentam quatro grupos hidroxila.

Esses compostos podem ser considerados surfactantes, pois são compostos anfífilos derivados de um carboidrato (parte polar) condensado a cadeias alquilas longas (parte apolar). Diversos surfactantes com essas características são conhecidos por serem não-tóxicos, biodegradáveis e por poderem atuar em diferentes áreas como: indústria alimentícia, biologia, glicobiologia e como detergentes (ALMEIDA *et al.*, 2007).



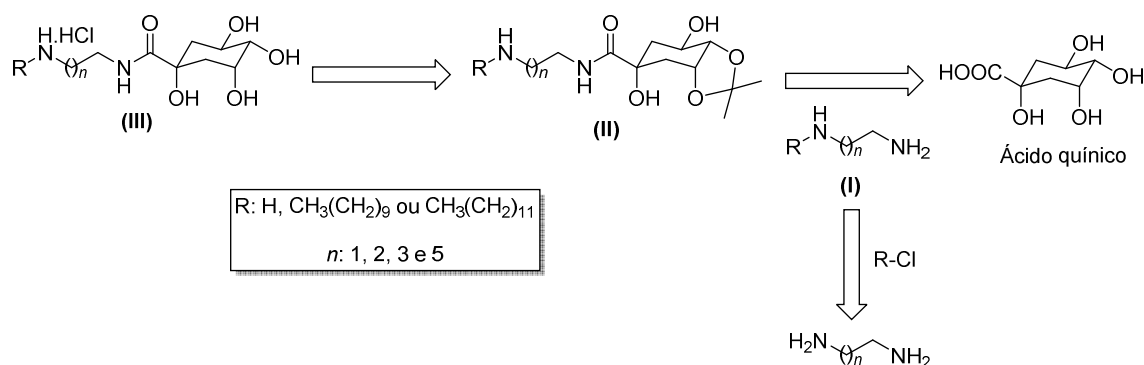
R: H, CH₃(CH₂)₉ ou CH₃(CH₂)₁₁

n: 1, 2, 3 e 5

Figura 14 Estruturas dos compostos almejados nesse capítulo do trabalho.

2.3 RETROSSÍNTESE

Os compostos da série (III) poderiam ser obtidos através da clivagem do grupo isopropilideno dos compostos da série (II) concomitantemente com a formação dos respectivos cloridrato. A síntese da série (II) foi planejada a partir da reação de amidação de diaminas *N*-alquiladas (série I) com uma lactona derivada do ácido quínico e essas diaminas *N*-alquiladas poderiam ser preparadas através da reação de alquilação de suas respectivas diaminas com haletos de alquila (Esquema 1).

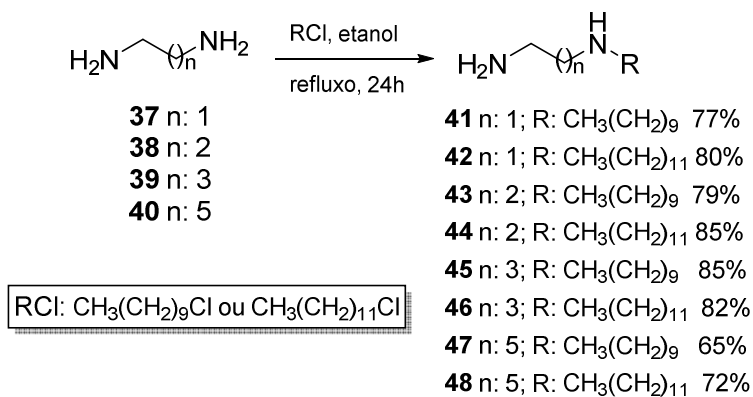


Esquema 1 Retrossíntese para a preparação dos compostos almeçados nesse capítulo do trabalho.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Síntese das diaminas *N*-alquiladas (41-48)

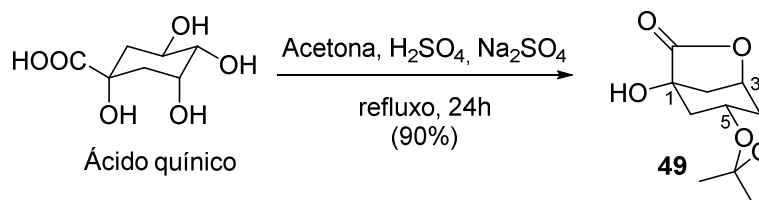
As diaminas *N*-alquiladas foram preparadas similarmente às metodologias previamente reportadas (REZENDE JUNIOR *et al.*, 2010; SALES JUNIOR *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2009; COIMBRA *et al.*, 2010). Através da alquilação das diaminas **37-40** com os cloretos de decila e dodecila em etanol sob refluxo durante 24 horas, obteve-se as diaminas *N*-alquiladas em rendimentos de 65 a 85% (Esquema 2). Utilizou-se um excesso de cinco equivalentes das diaminas **37-40** com o intuito de minimizar a formação de produtos de *N,N'*-dialquilação.



Esquema 2 Síntese das diaminas *N*-alquiladas.

2.4.2 Síntese e caracterização de (1*R*, 3*R*, 4*R*, 5*R*)-3,4-*O*-isopropilideno-1,3,4,5-tetraidroxícicloexano-1,5-carbolactona **49**

A lactona **49** foi preparada em 90% de rendimento através da reação do ácido quínico com acetona anidra, na presença de ácido sulfúrico catalítico e sulfato de sódio, sob refluxo durante 24 horas (Esquema 3).



Esquema 3 Síntese da lactona **49**.

No espectro de RMN de ^1H de **49** (Figura 15) observam-se dois simpletos em δ 1,38 e 1,55 correspondentes aos seis hidrogênios metílicos, multipletos entre δ 2,00 e 2,60 referentes aos quatro hidrogênios metilênicos, além de um multipletto entre δ 4,34-4,37 correspondente a H3, um triplo duplete em δ 4,58 ($J = 3,1$ e $6,2$ Hz) referente a H5 e um duplete duplo em δ 4,73 ($J = 2,6$ e $6,2$) referente a H4. No espectro de RMN de ^{13}C de **49** (Figura 16) observam-se quatro sinais entre δ 24,7 e 39,1 correspondentes aos carbonos metílicos e metilênicos, quatro sinais entre δ 72,4 e 76,7 referentes aos três carbonos metínicos e C1 e dois sinais em δ 110,9 e 180,1 correspondentes aos carbonos cetálico e carbonílico, respectivamente.

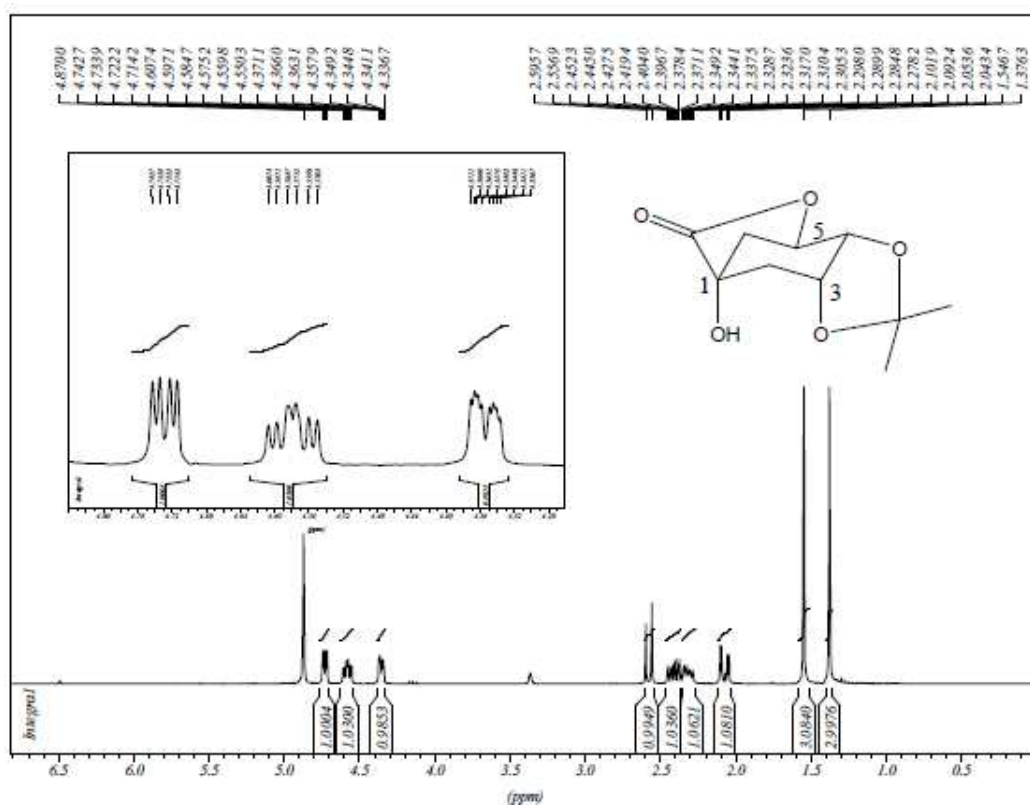


Figura 15 Espectro de RMN de ^1H do composto **49** (CD_3OD , 300MHz).

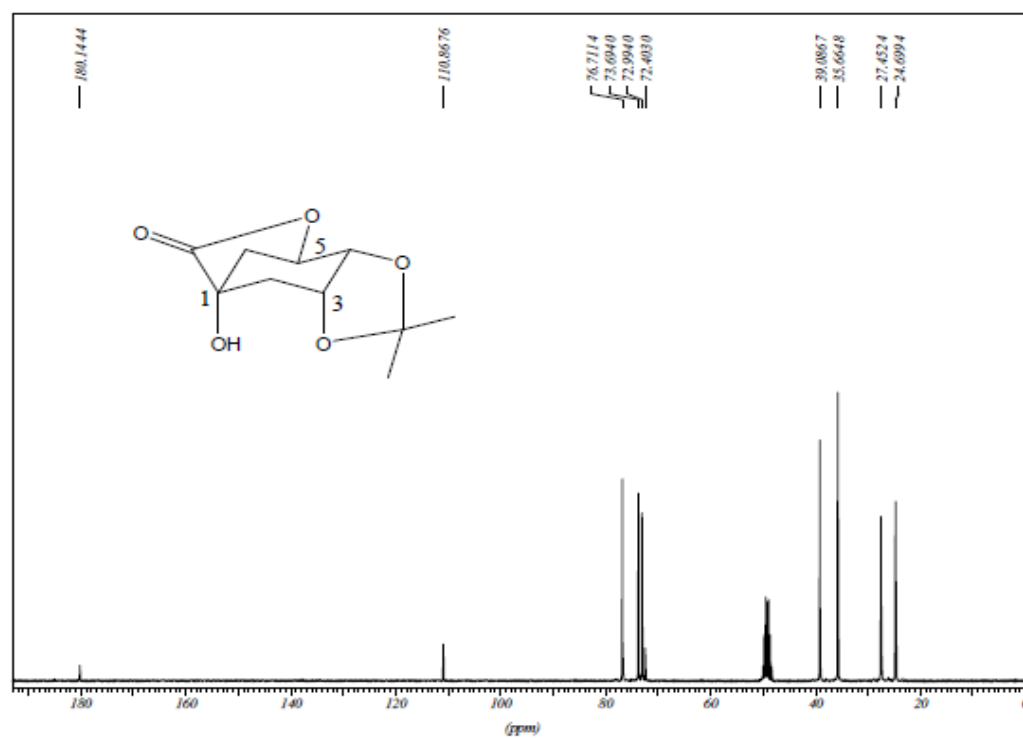
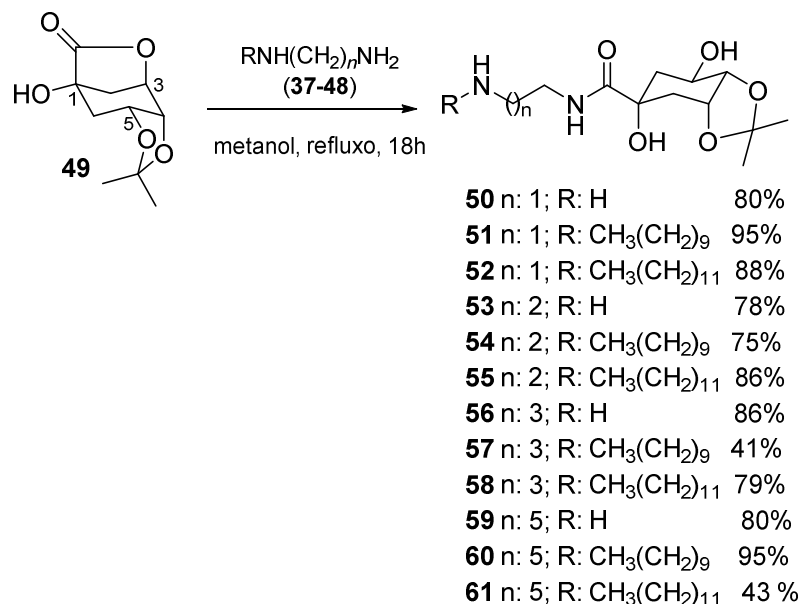


Figura 16 Espectro de RMN de ^{13}C do composto **49** (CD_3OD , 75MHz).

2.4.3 Síntese e caracterização das amidas 50-61

A partir da reação de amidação entre a lactona **49** com as diaminas **37-40** e diaminas *N*-alquiladas **41-48** em metanol sob refluxo durante 18 horas obteve-se as amidas **50-61** em rendimentos que variaram de 41 a 95% (Esquema 4). Nas reações com as diaminas **37-40** utilizou-se um excesso de 3 mol/equivalentes dessas diaminas para evitar a formação de diamidas.



Esquema 4 Síntese das amidas **50-61**.

Devido à semelhança estrutural entre esses compostos, será discutida apenas a caracterização da amida **51**. No espectro de RMN de ¹H de **51** (Figura 17) observam-se um tripleto (*J* = 6,6 Hz) em δ 0,87 e um sinal largo em δ 1,24 correspondentes aos três hidrogênios metílicos da cadeia lipofílica e a quatorze hidrogênios metilênicos dessa cadeia, respectivamente. Em δ 1,34 e 1,50 observam-se dois singletos referentes aos seis hidrogênios metílicos do grupo isopropilideno e a dois hidrogênios metilênicos do carbono β ao grupo amino da cadeia lipofílica. Observam-se também sinais entre δ 2,00 e 2,40 correspondentes aos quatro hidrogênios metilênicos do anel ciclitol, dois tripletos (*J* = 5,6 e 7,4 Hz) referentes aos quatro hidrogênios metilênicos dos carbonos ligados ao nitrogênio da função amina, além de um multipletto em δ 3,37-3,45 correspondentes aos dois hidrogênios metilênicos do carbono ligado ao nitrogênio da função amida. É possível observar sinais entre δ 4,09 e

4,56 referentes aos três hidrogênios metínicos do anel ciclitol e aos três hidrogênios das hidroxilas e amina, além de um tripleto em δ 7,67 ($J = 5,7$ Hz) correspondente ao hidrogênio N-H da função amida. A amidação da lactona foi evidenciada pela presença dos sinais correspondentes aos hidrogênios lipofílicos e a amidação no nitrogênio primário foi evidenciada pela presença do sinal em δ 7,67 referente ao hidrogênio N-H da função amida, caso a reação ocorresse pelo nitrogênio secundário, não haveria sinal de hidrogênio N-H de amida. No espectro de RMN de ^{13}C de **51** (Figura 18) observam-se treze sinais entre δ 14,1 e 37,1 correspondentes aos três carbonos metílicos e aos dez carbonos metilênicos não nitrogenados do anel ciclitol e do grupo alquila. Observam-se também três sinais em δ 38,4, 48,1 e 49,1 referentes aos três carbonos nitrogenados, quatro sinais entre δ 66,2 e 76,7 correspondentes aos quatro carbonos C-O do anel ciclitol, além de dois sinais em δ 108,6 e 177,1 referentes aos carbonos cetálico e carbonílico, respectivamente.

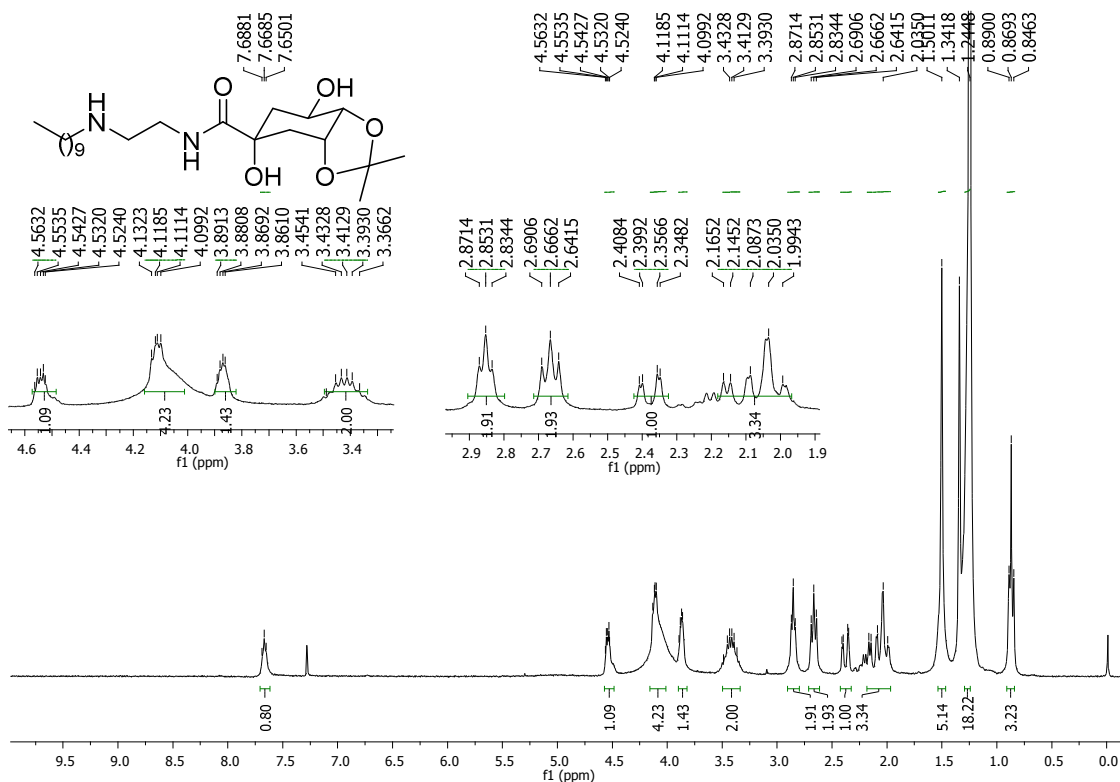


Figura 17 Espectro de RMN de ^1H do composto **51** (CDCl_3 , 300MHz).

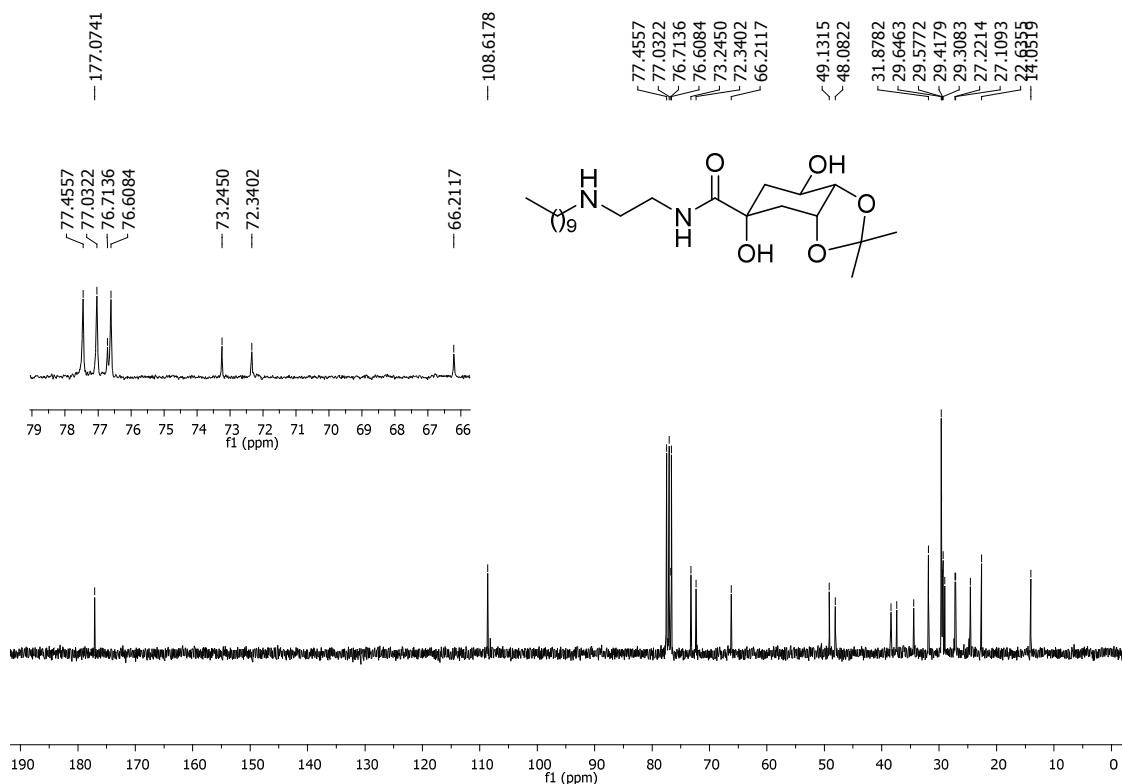
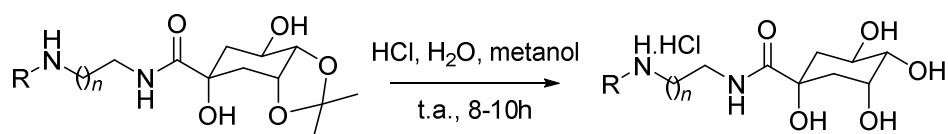


Figura 18 Espectro de RMN de ^{13}C do composto **51** (CDCl_3 , 75MHz).

2.4.4 Síntese e caracterização dos sais de amônio **62-73**

Os sais de amônio **62-73** foram preparados em 70-97% de rendimento a partir da reação das amidas **50-61** com ácido clorídrico (4 mol.L^{-1} em água) em metanol, a temperatura ambiente durante 8-10 horas (Esquema 5).



50 n: 1; R: H

51 n: 1; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$

52 n: 1; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$

53 n: 2; R: H

54 n: 2; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$

55 n: 2; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$

56 n: 3; R: H

57 n: 3; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$

58 n: 3; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$

59 n: 5; R: H

60 n: 5; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$

61 n: 5; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$

62 n: 1; R: H 85%

63 n: 1; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ 97%

64 n: 1; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ 85%

65 n: 2; R: H 95%

66 n: 2; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ 85%

67 n: 2; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ 86%

68 n: 3; R: H 95%

69 n: 3; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ 96%

70 n: 3; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ 70%

71 n: 5; R: H 87%

72 n: 5; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ 97%

73 n: 5; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ 75%

Esquema 5 Síntese dos sais de amônio **62-73**.

Devido à semelhança estrutural será discutida apenas a caracterização do composto **63**. No espectro de RMN de ^1H de **63** (Figura 19) observam-se um tripleto em δ 0,91 ($J = 6,3$ Hz) e dois singletos largos em δ 1,30 e 1,72 correspondentes aos hidrogênios metílicos e metilênicos da porção alquila. Observam-se também um multipletto em δ 1,93-2,02 e dois tripletos em δ 3,04 e 3,17 referentes aos hidrogênios metilênicos do anel ciclitol e dos carbonos presentes entre os dois nitrogênios, além de quatro multipletos entre δ 3,41-3,45 e 4,18-4,17 correspondentes aos três hidrogênios metínicos do anel ciclitol e aos dois hidrogênios metilênicos do carbono da cadeia alquila, que está diretamente ligado ao nitrogênio. A clivagem do grupo isopropilideno foi evidenciada pela ausência de sinais referentes aos seus hidrogênios metílicos e a formação do sal de amônio foi evidenciada por espectrometria de massas. No espectro de RMN de ^{13}C de **63** (Figura 20) observam-se treze sinais entre δ 13,1 e 41,0 correspondentes aos carbonos metilênicos e metílico, quatro sinais entre δ 66,7 e 76,6 referentes aos quatro carbonos C-O, além de um sinal em δ 177,3 correspondente ao carbono carbonílico.

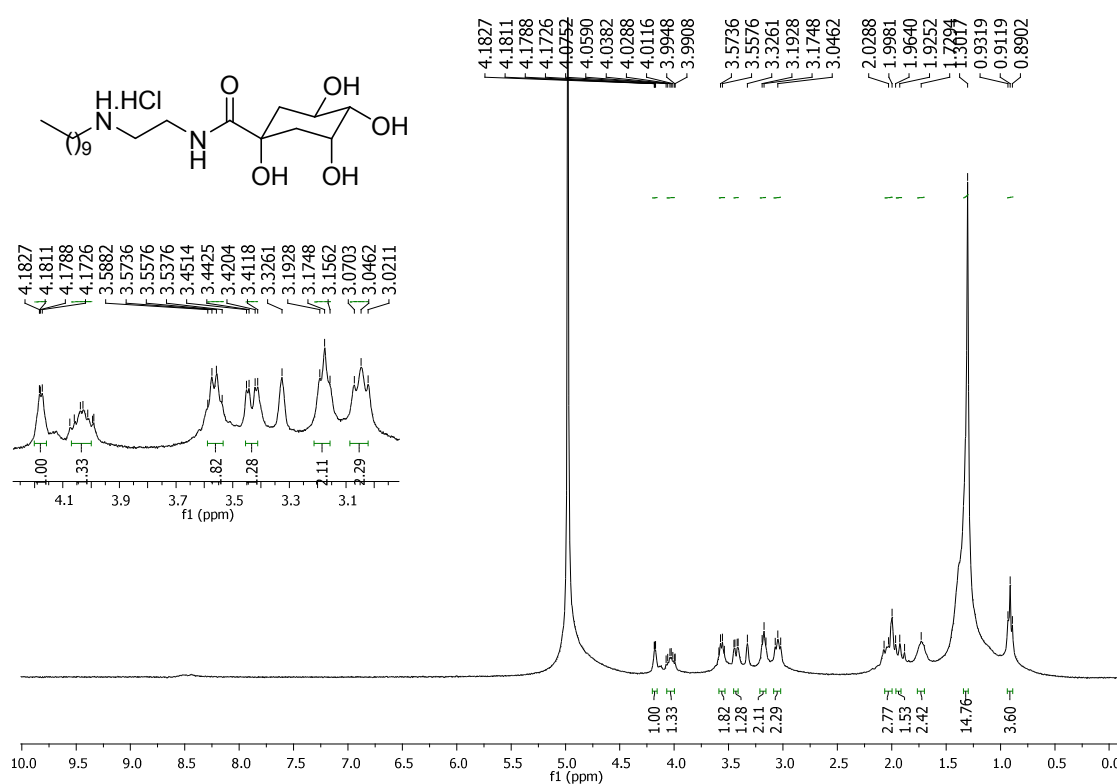


Figura 19 Espectro de RMN de ^1H do composto **63** (CD₃OD, 300MHz).

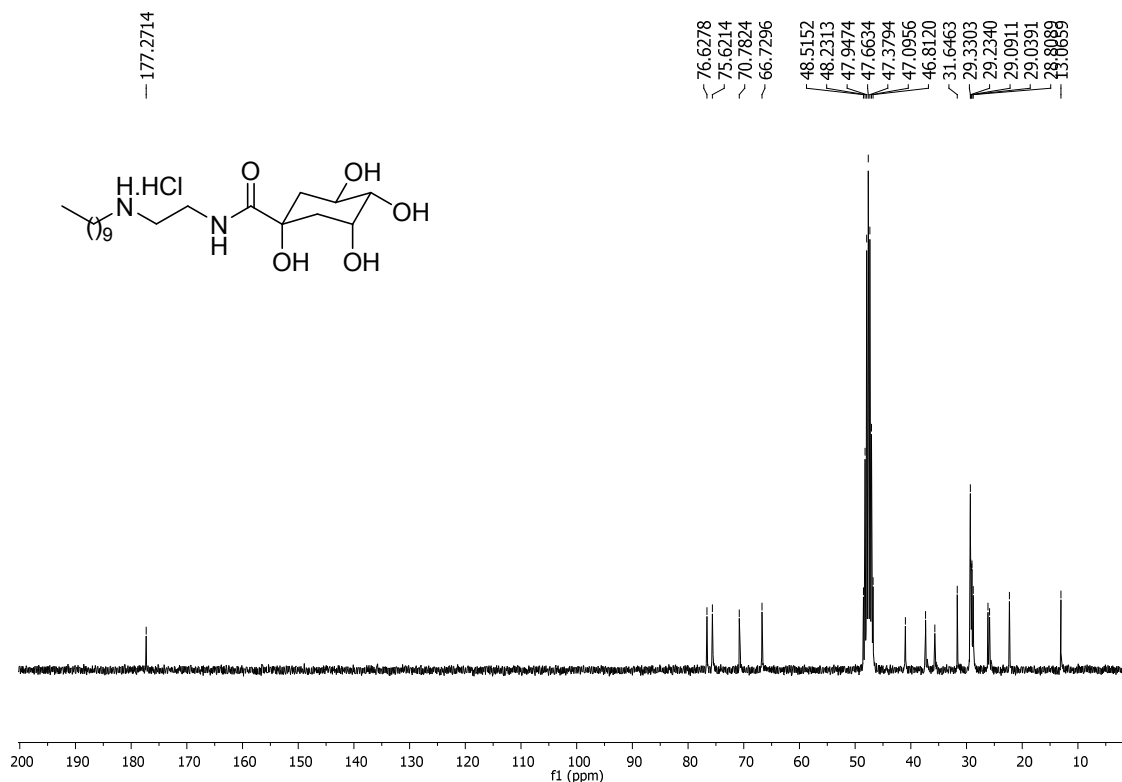
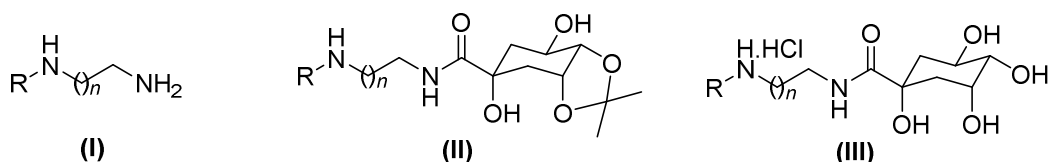


Figura 20 Espectro de RMN de ^{13}C do composto **63** (CD_3OD , 75MHz).

2.4.5 Ensaios biológicos

Os compostos **50-73** (séries I, II e III, Figura 21) foram enviados para diferentes ensaios biológicos em colaboração com diversos pesquisadores.



R: H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ ou $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$

n: 1, 2, 3 e 5

Figura 21 Estruturas dos compostos enviados para os ensaios biológicos.

Avaliaram-se as propriedades desses compostos contra diferentes espécies de bactérias. No laboratório de microbiologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, em colaboração com o pesquisador Cláudio Diniz, esses compostos foram testados contra as bactérias Gram positivas *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermis* e contra a bactéria Gram negativa

Pseudomonas aeruginosa. Na Fiocruz-RJ, em colaboração com a pesquisadora Maria Cristina S. Lourenço, esses compostos foram testados contra o *Mycobacterium tuberculosis*, onde os testes já foram realizados para uma parte dos compostos, estando em andamento para os demais.

Estão sendo realizados testes contra diferentes tipos de parasitos. No laboratório de Bioquímica e Imunologia da USP de Ribeirão Preto está sendo realizados os ensaios contra a esquistossomose. Na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul estão sendo realizados os ensaios contra tricomonose e giardiose.

Esses compostos também serão testados contra a leishmaniose, doença de Chagas e na avaliação de suas propriedades anti-inflamatórias.

2.4.5.1 Ensaios antibacterianos

Os resultados biológicos contra as bactérias *Staphylococcus aureus* (SA), *Staphylococcus epidermidis* (SE) e *Pseudomonas aeruginosa* (PA) estão representados na tabela 1, onde os valores de MIC (concentração inibitória mínima) estão em $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Observa-se que diversos compostos apresentaram resultados promissores, sendo que algumas conclusões puderam ser retiradas a partir da análise da relação estrutura e atividade.

2.4.5.1.1 Diaminas *N*-alquiladas (I)

Comparando as diaminas *N*-alquiladas (I) observou-se que, de uma maneira geral, os compostos com cadeia alquila de doze carbonos foram mais ativos que os compostos com cadeia de dez, destacando-se os compostos **44** [MICs ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 4 (SA), 1 (SE) e 8 (PA)] e **46** [MICs ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 1 (SA), 2 (SE)]. O composto **45**, derivado com cadeia alquila de dez carbonos, também apresentou excelentes atividades [MICs ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 4 (SA), 2 (SE) e 2 (PA)].

2.4.5.1.2 Derivados das séries (II) e (III) com ou sem cadeias alquilas

Observou-se que os compostos sem cadeia alquila (R = H) não apresentaram atividade ou o MIC foi muito alto, com exceção de **62**, que

apresentou MIC de $32 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para SA e $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para SE e PA. Esses dados sugerem que a cadeia lipofílica é extremamente importante para a atividade biológica.

2.4.5.1.3 Comparação entre as diaminas *N*-alquiladas (I) com os derivados de carboidrato (II) e (III)

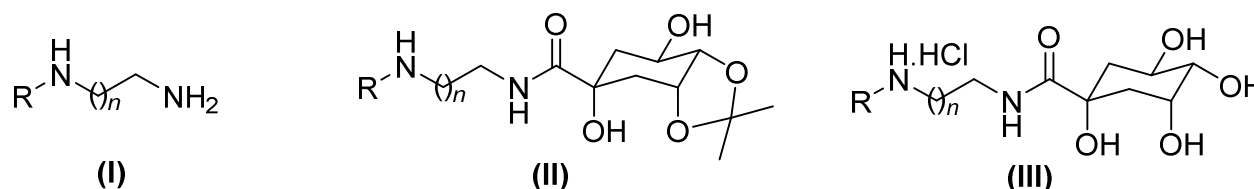
Verificou-se que as diaminas *N*-alquiladas (série I) foram mais ativas que seus respectivos derivados condensados aos carboidratos (I) e (II), com exceção da diamina alquilada **43**, que foi menos ativa ou similar aos seus derivados de carboidrato **54** e **66**.

2.4.5.1.4 Derivados das séries (II) e (III)

Comparando as atividades dos compostos das séries (II) e (III) observa-se que, de modo geral, os melhores resultados obtidos foram para os derivados da propanodiamina e da butanodiamina. Os compostos da série (II) apresentaram-se mais eficientes contra as bactérias SA e SE, ambas Gram positivas, enquanto que os compostos da série (III) foram mais promissores contra a bactéria PA (Gram negativa). Essa seletividade pode estar relacionada com as diferentes interações que os compostos das séries (II) e (III) possuem com as bactérias Gram positivas e Gram negativas, já que as paredes celulares dessas bactérias são diferentes. Nota-se ainda que os derivados da etilenodiamina e hexanodiamina não apresentaram atividade biológica relevante, exceto para **51** (MIC de $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para SA), sugerindo que a distância entre os dois átomos de nitrogênios (espaçador) influencia na atividade.

Os compostos que merecem destaque dessas séries são: **51** [MICs ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 2 (SA)], **52** [MICs ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 2 (SE) e 8 (PA)], **54** [MICs ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 1 (SA) e 4 (SE)], **66** [MICs ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 4 (PA) e 8 (SA)] e **69** [MICs ($\mu\text{g.mL}^{-1}$): 1 (PA)].

Tabela 1 Atividade dos compostos das séries (I), (II) e (III) contra as bactérias *S. aureus* (SA), *S. epidermidis* (SE) e *P. aeruginosa* (PA).



	<i>n</i> : 1 (MIC: $\mu\text{g.mL}^{-1}$)			<i>n</i> : 2 (MIC: $\mu\text{g.mL}^{-1}$)			<i>n</i> : 3 (MIC: $\mu\text{g.mL}^{-1}$)			<i>n</i> : 5 (MIC: $\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	(I) ^b	(II) ^b	(III) ^b	(I) ^b	(II) ^b	(III) ^b	(I) ^b	(II) ^b	(III) ^b	(I) ^b	(II) ^b	(III) ^b
R: CH₃(CH₂)₉	41^a SA: 32 SE: 32 PA: 16	51^a SA: 2 SE: 512 PA: 512	63^a SA: 512 SE: 512 PA: 512	43^a SA: 512 SE: 4 PA: 512	54^a SA: 1 SE: 4 PA: 512	66^a SA: 8 SE: 16 PA: 4	45^a SA: 4 SE: 2 PA: 2	57^a SA: 512 SE: 512 PA: 512	69^a SA: 64 SE: 128 PA: 1	47^a SA: 16 SE: 32 PA: 16	60^a SA: 64 SE: 256 PA: 256	72^a SA: 512 SE: 512 PA: 512
R: CH₃(CH₂)₁₁	42^a SA: 8 SE: 4 PA: 32	52^a SA: 32 SE: 2 PA: 8	64^a SA: 16 SE: 16 PA: 16	44^a SA: 4 SE: 1 PA: 8	55^a SA: 16 SE: 32 PA: 512	67^a SA: 512 SE: 512 PA: 16	46^a SA: 1 SE: 2 PA: 64	58^a SA: 512 SE: 512 PA: 512	70^a SA: 64 SE: 128 PA: 64	48^a SA: 32 SE: 4 PA: 8	61^a SA: 512 SE: 512 PA: 512	73^a SA: 128 SE: 32 PA: 128
R: H		50^a SA: >1024 SE: >1024 PA: 128	62^a SA: 32 SE: 1 PA: 1		53^a SA: >512 SE: >512 PA: >512	65^a SA: 512 SE: 512 PA: 512		56^a SA: >1024 SE: >1024 PA: >1024	68^a SA: > 512 SE: >512 PA: >512		59^a SA: 512 SE: 512 PA: 512	71^a SA: >512 SE: >512 PA: >512

^a Numeração do composto testado.

^b Especificação da série do composto testado.

Cloranfenicol (droga de referência): SA ($16 \mu\text{g.mL}^{-1}$), SE ($32 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e PA ($32 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

2.5 CONCLUSÕES

De forma rápida, simples e eficiente foram preparados 32 compostos em rendimentos de 41 a 97%, com potencial atividade biológica contra diferentes tipos de doenças. Na avaliação da ação desses compostos contra diferentes bactérias Gram positivas e Gram negativas, verificou-se que houve uma boa relação estrutura e atividade entre os compostos. Observou-se que a cadeia lipofílica está diretamente relacionada com a atividade e que os derivados da propanodiamina e da butanodiamina foram mais promissores. Os compostos da série (I), sem o carboidrato, se mostraram mais ativos, enquanto que os compostos da série (II) apresentaram-se mais eficientes contra as bactérias SA e SE (Gram positivas) e a série (III) foi mais promissora contra a bactéria PA (Gram negativa), havendo seletividade, provavelmente devido às diferenças estruturais entre essas duas séries.

Desses 32 compostos testados, 17 apresentaram-se mais ativos ou com atividades semelhantes ao Cloranfenicol (droga de referência). Esses resultados contribuem para o desenvolvimento das pesquisas realizadas pelo nosso grupo, que tem o objetivo de sintetizar compostos com potentes atividades antimicrobianas. Como perspectiva, faz-se necessário a realização de testes específicos para avaliar os possíveis mecanismos de ação desses compostos e citotoxicidade em células normais.

Os resultados da avaliação desses compostos contra tuberculose, leishmaniose, esquistossomose, giardiose, tricomose e doença de Chagas poderão também contribuir para o desenvolvimento das pesquisas do nosso grupo, na busca por novos compostos biologicamente ativos. As avaliações das propriedades anti-inflamatórias poderão também abrir um leque de possibilidades para o desenvolvimento de futuros projetos.

2.6 PARTE EXPERIMENTAL

2.6.1 Materiais e métodos

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram registrados nos espectrômetros BRUKER AVANCE DRX/300 no Departamento de Química da UFJF. Como referência interna foi utilizado o tetrametilsilano ou o sinal residual do solvente deuterado empregado.

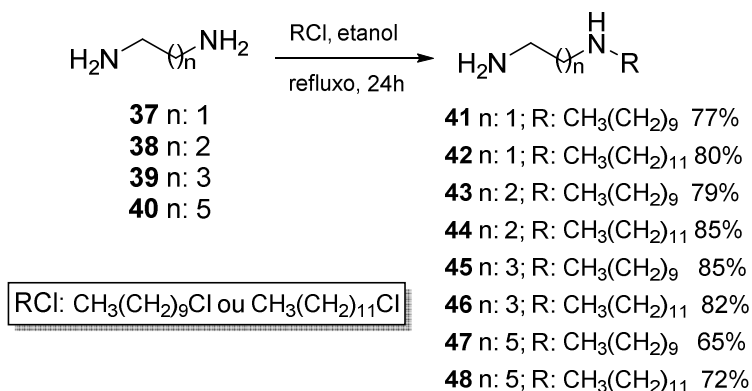
Os espectros de massas de alta resolução (EMAR) foram realizados na Fiocruz-Curitiba-PR.

Para cromatografia em coluna de sílica utilizou-se sílica-gel 60G 0,063-0,200 (70-230 mesh ASTM) e para cromatografia em camada delgada utilizou-se sílica gel 60G em lâminas de vidro.

Nos procedimentos de purificação por extração, recristalização ou coluna cromatográfica, foram utilizados solventes P.A. sem prévia purificação.

2.6.2 Síntese e caracterização

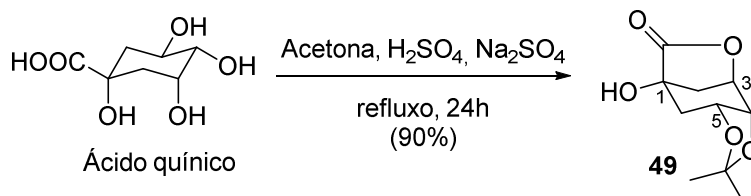
2.6.2.1 Preparação das diaminas N-alkiladas (41-48)



Em uma solução de 50 mmol das diaminas **37-40** em etanol (200 mL) sob refluxo foi adicionado lentamente, com o auxílio de um funil de adição, 10 mmol dos cloretos de decila ou dodecila. A reação permaneceu sob essas condições durante 24 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: CH_2Cl_2 /metanol 9:1 v/v e hexano; reveladores: Iodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento) Após o término reacional,

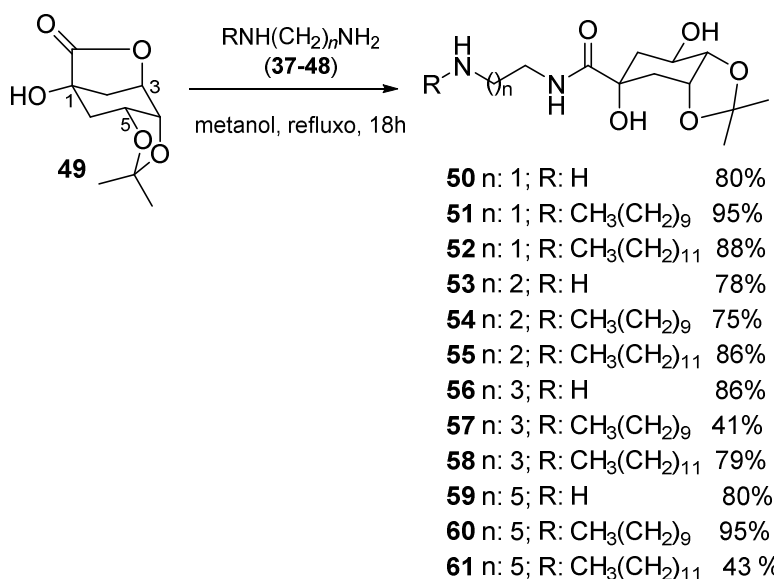
evaporou-se o etanol e adicionou-se diclorometano (100 mL). Essa solução foi extraída com água destilada (5 X 100 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por recristalização com hexano conduzindo à formação dos compostos **41-48**, em rendimentos de 65 a 85%.

2.6.2.2 Preparação da lactona **49**



Em uma solução de 26,6 mmol (5,12 g) do ácido quínico em 200 mL de acetona anidra adicionou-se 20 g de sulfato de sódio anidro e 0,2 mL de ácido sulfúrico concentrado. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo durante 24 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: diclorometano/metanol 9:1 v/v; reveladores: Iodo e solução etanólica de H₂SO₄ 20%, seguido de aquecimento). Após o término reacional, o sulfato de sódio foi filtrado e com a água-mãe foi realizada uma extração com água destilada e acetato de etila. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi recristalizado em hexano, conduzindo à lactona **49** em 90% de rendimento.

Sólido branco; RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,38 (s, 3H), 1,55 (s, 3H), 2,00-2,60 (m, 4H), 4,37-4,34 (m, 1H), 4,58 (td, *J* = 3,1, 6,2 e 9,7 Hz, 1H), 4,73 (dd, *J* = 2,6 e 6,2, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD): δ 24,7, 27,5, 35,7, 39,1, 72,4, 73,0, 73,7, 76,7, 110,9 e 180,1.

2.6.2.3 Preparação das amidas **50-61**

Em uma solução da lactona **49** (2 mmol) em metanol (20 mL) foram adicionados as diaminas **37-48** (4 mmol). A reação foi mantida sob refluxo por aproximadamente 18 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: diclorometano/metanol 9:1 v/v; reveladores: Iodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento). Após o término reacional evaporou-se o metanol e a mistura foi purificada por coluna cromatográfica (CH_2Cl_2 / MeOH em gradiente de polaridade) conduzindo a formação das amidas **50-61** em rendimentos de 41 a 95%.

50 (80%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 4,44 (td, $J = 5,1, 3,6$ Hz, 1H), 4,02 – 3,84 (m, 2H), 3,33 – 3,25 (m, 2H), 2,79 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,26 – 2,18 (m, 1H), 1,99 (dd, $J = 15,4, 3,4$ Hz, 1H), 1,81 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 1,46 (s, 3H), 1,30 (s, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 179,3, 110,0, 81,5, 76,0, 75,1, 69,2, 41,5, 41,1, 40,3, 36,0, 28,7, 26,1. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 275,1601; encontrado: 275,1559.

51 (95%); sólido branco; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,67 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,60 – 4,47 (m, 1H), 4,16 – 4,00 (m, 4H), 3,93 – 3,81 (m, 1H), 3,42 (m, 2H), 2,85 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 2,67 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,38 (dd, $J = 15,4, 2,6$ Hz, 1H), 2,25 – 1,94 (m, 3H), 1,50 (s, 5H), 1,24 (s, 17H), 0,87 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 177,1, 108,6, 77,4, 77,0, 76,7, 73,2, 72,3, 66,2, 49,1, 48,0, 38,4, 37,3, 34,4, 31,8, 29,6, 29,5, 29,4, 29,3, 29,0, 27,2, 27,1, 24,5,

22,6, 14,0. EMAR (ESI) calculado para $[M+H]^+$ 415,3166; encontrado: 415,3159.

52 (88%); sólido branco; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,53 (s, 1H), 4,62 – 4,53 (m, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,85 (s, 1H), 3,40 (s, 4H), 2,82 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 2,64 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,42 (d, $J = 15,4$ Hz, 1H), 2,24 (dd, $J = 14,8, 5,4$ Hz, 1H), 2,05 (t, $J = 13,9$ Hz, 2H), 1,51 (s, 5H), 1,35 (s, 3H), 1,26 (s, 18H), 0,88 (t, $J = 6,3$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 177,1, 108,9, 76,4, 73,1, 72,3, 66,1, 49,5, 48,4, 38,9, 37,3, 34,5, 32,0, 29,8, 29,7, 29,6, 29,5, 27,3, 27,2, 24,6, 22,8, 14,2. EMAR (ESI) calculado para $[M+H]^+$ 443,3479; encontrado: 443,3410.

53 (78%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, D_2O) δ 4,59 (s, 1H), 4,07 (s, 2H), 3,33 (dd, $J = 13,7, 6,7$ Hz, 2H), 3,07 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 2,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,01 – 1,75 (m, 4H), 1,56 (s, 3H), 1,42 (s, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, D_2O) δ 177,8, 109,4, 79,6, 75,1, 73,8, 67,6, 38,1, 37,4, 36,4, 33,6, 29,3, 28,6, 27,5, 25,0. EMAR (ESI) calculado para $[M+H]^+$ 289,1758; encontrado: 289,1752.

54 (75%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,76 (s, 1H), 4,54 (dd, $J = 6,4, 3,2$ Hz, 2H), 4,12 (dd, $J = 5,9, 3,9$ Hz, 2H), 3,89 – 3,78 (m, 1H), 3,46 – 3,24 (m, 2H), 2,81 – 2,56 (m, 4H), 2,38 (dd, $J = 15,6, 2,7$ Hz, 1H), 2,17 (dd, $J = 14,7, 5,8$ Hz, 1H), 2,03 (m, 3H), 1,83 – 1,71 (m, 2H), 1,50 (s, 5H), 1,29 (sl, 17H), 0,86 (t, $J = 6,4$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 177,0, 108,6, 76,5, 73,0, 72,2, 66,0, 49,3, 46,8, 37,5, 37,4, 34,4, 31,8, 29,5, 29,4, 29,2, 28,8, 28,3, 27,1, 27,1, 24,5, 22,6, 14,05. EMAR (ESI) calculado para $[M+H]^+$ 429,3323; encontrado: 429,3313.

55 (86%); óleo incolor; RMN de ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,83 (s, 1H), 4,69 (s, 3H), 4,43 (s, 1H), 3,99 (s, 1H), 3,83 (s, 1H), 3,25 (s, 2H), 2,60 (s, 4H), 2,25 (d, $J = 13,8$ Hz, 1H), 1,93 (s, 3H), 1,70 (s, 2H), 1,42 (s, 5H), 1,17 (s, 18H), 0,79 (s, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 176,9, 108,5, 73,5, 72,7, 72,3, 66,5, 49,1, 46,4, 37,8, 37,2, 34,5, 31,8, 29,5, 29,3, 29,2, 28,5, 27,4, 27,0, 24,8, 22,5, 14,0. EMAR (ESI) calculado para $[M+H]^+$ 457,3636; encontrado: 457,3630.

56 (86%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, D_2O) δ 4,42 (s, 1H), 3,99 – 3,83 (m, 2H), 3,10 (d, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,87 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H), 2,60 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H), 2,13 (dd, $J = 16,1, 4,9$ Hz, 1H), 1,96 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H), 1,74 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,39 (s, 7H), 1,25 (s, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, D_2O) δ 177,4, 109,4, 79,6, 75,1, 73,8, 67,6, 39,8, 38,9, 38,1, 33,5, 27,4, 25,8, 25,0. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ 303,1914; encontrado: 303.1906.

57 (41%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,35 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,59 – 4,52 (m, 1H), 4,14 (s, 1H), 3,88 (s, 1H), 3,41 – 3,17 (m, 2H), 2,87 – 2,64 (m, 4H), 2,40 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H), 2,30 – 2,15 (m, 1H), 2,13 – 1,91 (m, 4H), 1,70 – 1,45 (m, 9H), 1,26 (s, 19H), 0,88 (t, $J = 6,2$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 176,7, 108,6, 76,1, 72,8, 72,1, 65,8, 49,6, 48,9, 39,0, 37,1, 34,4, 31,8, 29,5, 29,4, 29,2, 27,2, 27,1, 27,0, 26,5, 24,3, 22,6, 14,0. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ 443,3479; encontrado: 443,3471.

58 (79%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,41 (s, 1H), 4,54 (s, 1H), 4,12 (s, 1H), 3,88 (s, 1H), 3,47 – 3,12 (m, 2H), 3,04 – 2,76 (m, 4H), 2,47 – 2,18 (m, 1H), 2,16 – 1,84 (m, 5H), 1,79 – 1,49 (m, 9H), 1,38 – 1,17 (m, 24H), 0,89 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 176,4, 108,5, 76,6, 72,9, 72,2, 65,9, 49,9, 49,3, 39,1, 37,2, 34,4, 31,8, 29,9, 29,5, 29,2, 27,3, 27,2, 27,1, 24,4, 22,6, 14,0. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ 471,3792; encontrado: 471,3785.

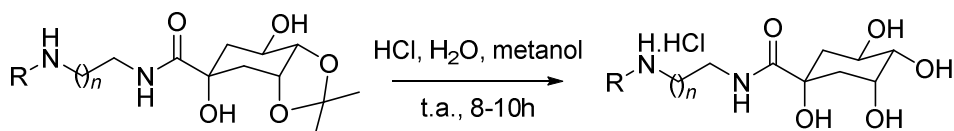
59 (80%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, D_2O) δ 4,55 (td, $J = 4,9, 2,4$ Hz, 1H), 4,08 – 3,98 (m, 2H), 3,21 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,97 (t, $J = 7,2$ Hz, 0,5H), 2,70 (t, $J = 7,2$ Hz, 1,5H), 2,26 (dd, $J = 16,0, 4,9$ Hz, 1H), 2,08 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 1,87 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 1,56 – 1,44 (m, 7H), 1,37 (s, 3H), 1,34 – 1,23 (m, 4H); RMN de ^{13}C (75 MHz, D_2O) δ 177,3, 109,4, 79,7, 75,1, 73,8, 67,6, 40,1, 39,2, 38,1, 33,6, 29,9, 28,3, 27,5, 25,6, 25,5, 25,0. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ 331,2227; encontrado: 331,2217.

60 (95%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,17 (s, 1H), 4,58 – 4,29 (m, 3H), 4,07 (s, 1H), 3,82 (s, 1H), 3,34 – 3,10 (m, 2H), 2,63 (s, 3H), 2,43 – 1,85 (m, 5H), 1,46 (s, 9H), 1,38 – 1,01 (m, 21H), 0,82 (t, $J = 6,4$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 176,5, 108,5, 76,7, 73,1, 72,3, 66,1, 49,0, 48,8, 39,0, 37,3, 34,4, 31,8, 29,4, 29,3, 29,2, 29,1, 28,4, 28,2, 27,2, 27,1, 26,5, 26,3, 24,5,

22,5, 14,0. EMAR (ESI) calculado para $[M+H]^+$ 471,3792; encontrado: 471,3788.

61 (43%); sólido branco; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,10 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,59 – 4,51 (m, 1H), 4,19 – 4,09 (m, 1H), 3,91 – 3,66 (m, 4H), 3,36 – 3,17 (m, 2H), 2,78 – 2,53 (m, 5H), 2,41 (dd, $J = 15,6, 2,5$ Hz, 1H), 2,21 (dd, $J = 14,8, 5,5$ Hz, 1H), 2,10 – 1,95 (m, 3H), 1,50 (s, 11H), 1,36 – 1,17 (m, 23H), 0,87 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 176,5, 108,6, 76,2, 72,9, 72,1, 65,9, 49,4, 49,1, 39,1, 37,1, 34,4, 31,8, 29,6, 29,5, 29,5, 29,4, 29,3, 29,2, 29,0, 28,8, 27,2, 27,0, 26,6, 26,4, 24,3, 22,6, 14,0. EMAR (ESI) calculado para $[M+H]^+$ 499,4105; encontrado: 499,4101.

2.6.2.4 Preparação dos sais de amônio **62-73**



50 n: 1; R: H
51 n: 1; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$
52 n: 1; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$
53 n: 2; R: H
54 n: 2; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$
55 n: 2; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$
56 n: 3; R: H
57 n: 3; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$
58 n: 3; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$
59 n: 5; R: H
60 n: 5; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$
61 n: 5; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$

62 n: 1; R: H 85%
63 n: 1; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ 97%
64 n: 1; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ 85%
65 n: 2; R: H 95%
66 n: 2; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ 85%
67 n: 2; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ 86%
68 n: 3; R: H 95%
69 n: 3; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ 96%
70 n: 3; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ 70%
71 n: 5; R: H 87%
72 n: 5; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$ 97%
73 n: 5; R: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ 75%

Em uma solução das amidas **50-61** (1 mmol) em metanol (10 mL) foi adicionado ácido clorídrico (4 mL, 4 mol.L $^{-1}$). A mistura permaneceu sob agitação magnética a temperatura ambiente durante 8-10 horas. Acompanhou-se o desenvolvimento da reação por CCDS (eluente: diclorometano/metanol 8:2 v/v; reveladores: Iodo e solução etanólica de H_2SO_4 20%, seguido de aquecimento). Após o término reacional evaporou-se o solvente conduzindo a formação dos sais de amônio **62-73** em rendimentos de 70 a 97%.

62 (85%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, D_2O) δ 8,44 (s, 1H), 4,12 (s, 1H), 3,96 (td, $J = 10,6, 4,7$ Hz, 1H), 3,54 – 3,36 (m, 3H), 3,06 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 2,07 – 1,75 (m, 4H); RMN de ^{13}C (75 MHz, D_2O -Dioxano) δ 177,9, 76,8, 75,0,

70,4, 66,3, 40,4, 39,1, 37,1, 36,9. EMAR (ESI) calculado para $[M-Cl]^+$ 235,1288; encontrado: 235.1283.

63 (97%); sólido branco; RMN de 1H (300 MHz, CD_3OD) δ 4,17 (s, 1H), 4,03 (s, 1H), 3,56 (dd, $J = 10,7, 5,4$ Hz, 2H), 3,43 (dd, $J = 9,1, 2,8$ Hz, 1H), 3,17 (s, 2H), 3,09 – 2,97 (m, 2H), 2,12 – 1,89 (m, 4H), 1,73 (s, 2H), 1,30 (s, 14H), 0,91 (t, $J = 6,1$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 177,2, 76,6, 75,6, 70,7, 66,7, 41,0, 37,3, 35,6, 31,6, 29,3, 29,2, 29,0, 29,0, 28,8, 26,1, 25,8, 22,3, 13,0. EMAR (ESI) calculado para $[M-Cl]^+$ 375,2853; encontrado: 375,2837.

64 (85%); sólido branco; RMN de 1H (300 MHz, CD_3OD) δ 3,99 (s, 1H), 3,83 (s, 1H), 3,44 – 3,21 (m, 3H), 2,95 (s, 2H), 2,81 (s, 2H), 1,97 – 1,65 (m, 4H), 1,51 (s, 2H), 1,06 (s, 16H), 0,67 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 178,4, 78,0, 76,9, 72,0, 67,9, 42,1, 38,4, 37,0, 32,9, 30,6, 30,5, 30,3, 30,1, 27,4, 27,1, 23,6, 14,4.

65 (95%); óleo incolor; RMN de 1H (300 MHz, D_2O) δ 4,10 (dd, $J = 6,3, 3,1$ Hz, 1H), 4,01 – 3,88 (m, 1H), 3,42 (dd, $J = 9,6, 3,2$ Hz, 1H), 3,21 (td, $J = 6,6, 1,5$ Hz, 2H), 2,98 (d, $J = 7,9$ Hz, 0,4H), 2,88 (t, $J = 7,9$ Hz, 1,6H), 2,01 – 1,72 (m, 6H); RMN de ^{13}C (75 MHz, D_2O -Dioxano) δ 177,4, 76,7, 75,0, 70,4, 66,3, 40,3, 37,1, 36,0, 26,7. EMAR (ESI) calculado para $[M-H]^-$ 283,1066; encontrado: 283,2627.

66 (85%); sólido branco; RMN de 1H (300 MHz, C_5D_5N) δ 8,96 (s, 1H), 5,60 (s, 6H), 4,83 (s, 1H), 4,68 (s, 1H), 4,03 (s, 1H), 3,63 (s, 2H), 3,21 (s, 2H), 3,05 (s, 2H), 2,68 – 2,35 (m, 5H), 1,97 (s, 2H), 1,11 (s, 14H), 0,81 (s, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, C_5D_5N) δ 177,1, 77,4, 76,9, 71,5, 67,7, 47,9, 45,1, 42,7, 38,8, 36,1, 31,7, 29,4, 29,2, 29,0, 26,8, 26,3, 22,6, 14,0.

67 (86%); sólido branco; RMN de 1H (300 MHz, CD_3OD) δ 8,37 (s, 1H), 4,16 (s, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,43 (s, 1H), 2,99 (s, 6H), 2,04 – 1,88 (m, 6H), 1,72 (s, 2H), 1,31 (s, 18H), 0,91 (t, $J = 6,3$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 177,1, 76,5, 75,6, 70,8, 66,7, 44,9, 41,1, 37,4, 35,3, 31,6, 29,3, 29,2, 29,0, 29,0, 28,8, 26,1, 25,9, 22,3, 13,0. EMAR (ESI) calculado para $[M-H]^-$ 451,2944; encontrado: 451,2932.

68 (95%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, D_2O) δ 4,08 (dd, $J = 6,1, 2,9$ Hz, 1H), 3,99 – 3,86 (m, 1H), 3,41 (dd, $J = 9,6, 3,2$ Hz, 1H), 3,20 – 3,07 (m, 2H), 2,88 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,99 – 1,72 (m, 4H), 1,65 – 1,41 (m, 4H); RMN de ^{13}C (75 MHz, D_2O) δ 176,9, 76,8, 75,1, 70,4, 66,4, 40,4, 39,2, 38,5, 37,1, 25,6, 24,2. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ 263,1601; encontrado: 263,1595.

69 (96%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 4,17 (s, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,46 (s, 1H), 3,27 (s, 2H), 3,01 (s, 4H), 2,11 – 1,88 (m, 4H), 1,71 (s, 6H), 1,31 (s, 14H), 0,90 (t, $J = 5,9$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 176,2, 76,6, 75,5, 70,8, 66,7, 41,1, 37,9, 37,4, 31,6, 29,1, 29,0, 28,9, 28,8, 26,2, 25,9, 23,1, 22,2, 13,0. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}-\text{H}]^-$ 437,2788; encontrado: 437,2774.

70 (70%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 4,14 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,43 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 3,26 (s, 2H), 3,02 (s, 4H), 2,15 – 1,91 (m, 6H), 1,70-1,63 (m, 4H), 1,45 – 1,24 (m, 18H), 0,90 (t, $J = 6,4$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 176,2, 76,5, 75,6, 70,8, 70,6, 66,7, 66,6, 41,1, 37,8, 37,5, 31,6, 29,2, 29,2, 29,0, 29,0, 28,8, 26,1, 25,8, 23,0, 22,2, 13,0. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}-\text{H}]^-$ 465,3101; encontrado: 465,3087.

71 (87%); óleo incolor; RMN de ^1H (300 MHz, D_2O) δ 4,11 (dd, $J = 6,0, 2,8$ Hz, 1H), 3,95 (td, $J = 11,1, 4,9$ Hz, 1H), 3,43 (dd, $J = 9,6, 3,2$ Hz, 1H), 3,11 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,88 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,00 – 1,76 (m, 4H), 1,56 (dd, $J = 14,1, 7,3$ Hz, 2H), 1,48 – 1,36 (m, 2H), 1,34 – 1,15 (m, 4H); RMN de ^{13}C (75 MHz, D_2O) δ 176,6, 76,7, 75,0, 70,3, 66,3, 40,2, 39,4, 39,0, 37,0, 28,1, 26,6, 25,3, 25,2. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ 291,1914; encontrado: 291,1903.

72 (97%); sólido branco; RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 4,18 – 4,11 (m, 1H), 4,05 – 3,96 (m, 1H), 3,41 (dd, $J = 9,0, 2,9$ Hz, 1H), 3,26 – 3,18 (m, 2H), 3,05 – 2,88 (m, 4H), 2,08 – 1,81 (m, 4H), 1,75 – 1,65 (m, 4H), 1,59 – 1,53 (m, 2H), 1,42 – 1,26 (m, 16H), 0,94 – 0,85 (m, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 175,9, 76,4, 75,6, 70,7, 66,7, 41,1, 38,4, 37,4, 31,6, 29,1, 29,0, 28,9, 28,8, 26,1, 25,8, 25,7, 25,6, 22,2, 13,0. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M}-\text{H}]^-$ 465,3101; encontrado: 465,3085.

73 (75%); sólido branco; RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 8,03 (s, 1H), 4,16 (s, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,44 (s, 1H), 3,22 (s, 2H), 3,00 (s, 4H), 2,06 – 1,88 (m, 4H), 1,72 (s, 4H), 1,56 (s, 2H), 1,30 (s, 16H), 0,91 (t, $J = 6,1$ Hz, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 175,9, 76,5, 75,6, 70,7, 66,8, 41,1, 38,4, 37,5, 31,6, 29,3, 29,2, 29,1, 29,0, 28,8, 28,7, 26,2, 25,8, 25,8, 25,7, 22,3, 13,0. EMAR (ESI) calculado para $[\text{M-H}]^-$ 493,3414; encontrado: 493,3395.

2.6.3 Ensaios antibacterianos

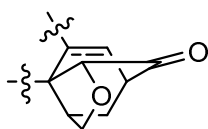
2.6.3.1 Concentração inibitória mínima (MIC)

A determinação da concentração inibitória mínima para os compostos deste trabalho foram avaliadas frente as bactérias *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, e foram realizadas em duplicatas. As células bacterianas foram cultivadas em Tryptic Soy Agar (TSA- Himedia Laboratories, Mumbai, Índia), incubadas em condição aeróbica a 37°C, por 24 horas. Os inóculos foram ajustados na escala de turbidez 0,5 Mc Farland (10^8 CFU/mL), em solução salina estéril (0,85% NaCl). Os compostos foram dissolvidos em EtOH ou DMSO (1 mL) e as soluções diluídas com Ágar Mueller Hinton (Difco) para obtenção de concentrações que variaram de 0,0625 a 1032 $\mu\text{g/mL}$, em volume final de 3,0 mL. Os tubos foram inoculados com 100 μL da cultura bacteriana e incubados em condições aeróbicas a 35,5°C por 24 horas. O MIC foi determinado como a menor concentração do composto testado que resultou na inibição do crescimento de 100% da cepa avaliada. O controle do experimento foi realizado utilizando o fármaco Cloranfenicol nas mesmas condições do experimento.

3 SÍNTESE DE DERIVADOS DE CLUVENONA, POTENCIAIS AGENTES ANTITUMORAIS

3.1 INTRODUÇÃO

Plantas tropicais do gênero *Garcinia*, encontradas principalmente em florestas da Índia, Indochina, Indonésia, África oeste e central e Brasil (SULTANBAWA, 1980) tem levado à identificação de uma intrigante família de produtos naturais derivados de xantonas que apresentam uma interessante estrutura química, bioatividade e um documentado valor na medicina oriental tradicional (OLLIS *et al.* 1980 e CHANTARASRIWONG *et al.* 2010). Essa família de produtos naturais isolados do gênero *Garcinia* é classificada como “xantonas *Garcinia* enjauladas”, do inglês “caged *Garcinia* xanthonés” (CGXs), baseada na arquitetura do anel 4-oxa-triciclo [4.3.1.0^{3,7}] dec-8-en-2-ona (Figura 1) presente na estrutura dos compostos dessa classe.



Anel 4-oxa-triciclo [4.3.1.0^{3,7}] dec-8-en-2-ona

Figura 1 Estrutura do anel tricíclico presente nas CGXs.

Diversas CGXs isoladas e com a estrutura já determinada apresentam uma potente atividade antibacteriana, antiparasitária e anticancerígena. O ácido gambógico (1) e a forbesiona (2) (Figura 2) são os mais abundantes e principais derivados do gênero *Garcinia* (CHANTARASRIWONG *et al.*, 2010). O ácido gambógico (1) foi isolado em 1934 e teve sua estrutura química determinada em 2001 a partir de dados de raios x do seu sal de piridina (WEAKLEY *et al.*, 2001). Esse produto natural é um potente agente antitumoral e que recentemente foram finalizados os ensaios clínicos de fase II na China (QUIN *et al.* 2007 e WANG *et al.* 2011).

Estudos biossintéticos realizados por Quillinan e Scheinmann (1971) relataram que as CGXs são obtidas a partir de xantonas e que o incomum anel tricíclico desses derivados naturais é obtido a partir de aliações dessas xantonas seguida de reações em cascata de Claisen e Diels-Alder

(CHANTARASRIWONG *et al.* 2010). O esquema 1 ilustra a proposta de Quillinan e Scheinmann na obtenção da CGX **6**.

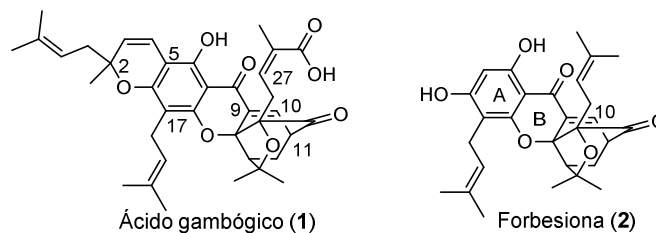
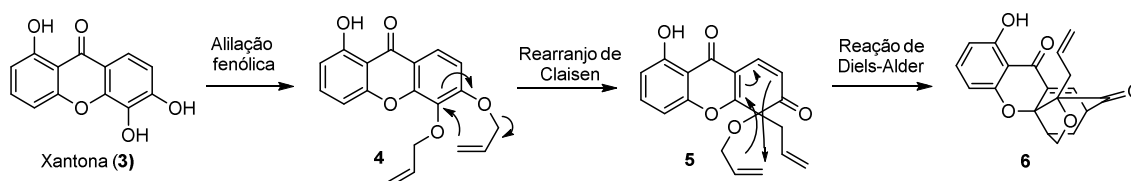
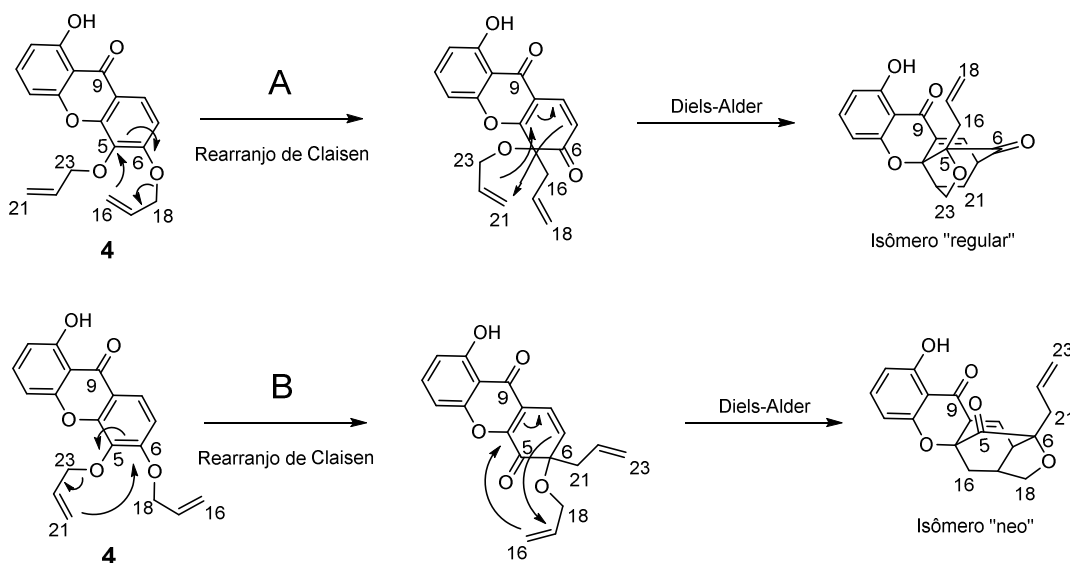


Figura 2 Estruturas do Ácido gambógico (1) e Forbesiona (2).



Esquema 1 Proposta de Quillinan e Scheinmann para a obtenção da CGX **6**.

Essas reações em cascata de Claisen e Diels-Alder podem conduzir a formação de dois isômeros, “regular” e “neo”, que estão representados no esquema 2. O isômero “regular” é obtido após migração inicial do éter alila em C6 para a posição C5 e o isômero “neo” é obtido após migração inicial do éter alila em C5 para a posição C6 (CHANTARASRIWONG *et al.* 2010).



Esquema 2 Mecanismo para obtenção dos isômeros “regular” e “neo”.

Intrigados com a estrutura química incomum e promessa terapêutica do ácido gambóxico (**1**) e relacionados CGXs como agentes antitumorais, nosso grupo de pesquisa iniciou um projeto de pesquisa com o objetivo de desenvolver uma estratégia sintética para preparação dessa classe de compostos, identificar o mecanismo de ação e compreender as relações estrutura e atividade. Foi desenvolvida uma eficiente abordagem sintética para a preparação de CGXs, tendo como etapa chave as reações em cascata de Claisen/Diels-Alder (TISDALE *et al.* 2003; BATOVA *et al.* 2007; CHANTARASRIWONG *et al.* 2009; BATOVA *et al.* 2010; GUIZZUNTI, *et al.* 2012; ELBEL *et al.*, 2013).

Para avaliar se todas as partes da estrutura base das CGXs são importantes na bioatividade, foram sintetizados diversos análogos simples das CGXs contendo pequenos fragmentos da estrutura base (BATOVA *et al.* 2007; CHANTARASRIWONG *et al.* 2009; BATOVA *et al.* 2010; ELBEL *et al.*, 2013). Comparações de suas citotoxicidades indicou que a cluvenona (**7**, figura 3), um CGX sintético que apresenta a estrutura central das CGXs sem os grupos prenilas no anel A, apresentou uma bioatividade semelhante a apresentada pelo ácido gambóxico (**1**).

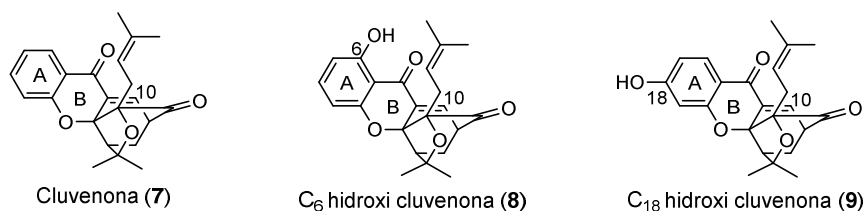


Figura 3 Estrutura da cluvenona (**7**) e hidroxiclufenonas **8** e **9**.

Esses estudos demonstraram que a cluvenona (**7**, figura 3) induziu o estresse e apoptose celular em várias linhas de células cancerígenas em concentrações micromolares, foi igualmente citotóxica em células resistentes e não foi citotóxica em células normais. Estudos de marcação fluorescente indicaram que tanto o ácido gambóxico (**1**), quanto a cluvenona (**7**) localizaram-se na mitocôndria e induziram significantes alterações na morfologia e estrutura dessa organela, conduzindo assim a apoptose celular (GUIZZUNTI, *et al.* 2012;

GIANNI *et al.* 2012). Alguns estudos relataram que o ácido gambóxico (1) induziu a degradação da proteína Hsp90, a qual tem um papel fundamental na proliferação de células cancerígenas (DAVENPORT *et al.* 2011). Esses estudos sugerem que esses compostos possuem um inexplorado mecanismo de ação que é diferente de outros agentes já conhecidos e possuem também um potencial farmacológico e clínico.

Posteriormente foram sintetizados as hidroxiclavenonas **8** e **9** (Figura 3), análogos da clavenona (7), hidroxiladas nas posições C₆ e C₁₈ do anel A (a numeração adotada na clavenona (7) e seus derivados é baseada na numeração adotada na estrutura do ácido gambóxico (1)), que também inibiram o crescimento celular em uma concentração micromolar e induziram a morte celular atuando na mitocôndria (ELBEL *et al.*, 2013).

Tem sido proposto que a função enona em C₉-C₁₀ desses compostos contribui para sua bioatividade, atuando como um eletrófilo conjugado e que a função β-hidroxi cetona presente na clavenona hidroxilada em C₆ pode atuar como um quelante de metais (ZHANG *et al.* 2004; KUEMMERLE *et al.* 2008; LI *et al.* 2007; WANG *et al.* 2009).

Em geral, os nossos estudos indicam que o anel A das CGXs é passível de funcionalização de um modo que não só modula o sítio de seletividade da reação em cascata de Claisen/Diels-Alder, mas também a sua potência biológica (ELBEL *et al.* 2013).

A figura 4 ilustra os estudos de relação estrutura e atividade com o ácido gambóxico. A estrutura farmacofórica mínima das CGXs inclui o esqueleto tricíclico ABC derivado de xantonas e o anel oxa-tricíclico em C. Funcionalizações na periferia dessa estrutura base não são essenciais para a bioatividade, mas podem ser utilizadas para melhorar algumas características, como solubilidade e seletividade dessas CGXs. Contudo, redução e/ou substituições no carbono C10 (enona) reduziram a atividade das CGXs (CHANTARASRIWONG *et al.* 2009).

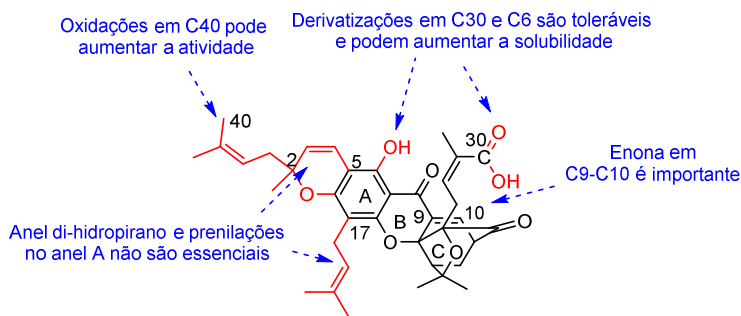


Figura 4 Representação do estudo da relação estrutura e atividade do ácido gambógico.

A continuidade nos estudos da relação estrutura e atividade para essa classe de compostos é importante para a obtenção de compostos mais ativos e auxílio no entendimento do seu mecanismo de ação.

3.2 OBJETIVOS

O objetivo geral desse trabalho foi continuar os estudos de relação estrutura e atividade iniciado pelo nosso grupo de pesquisa, sintetizando análogos da cluvenona (**7**) com modificações estruturais no anel A. Objetivou-se a síntese da di-hidroxicluvenona **10** (Figura 5), um candidato ideal para futuros estudos bioquímicos e biológicos, pois apresenta em sua estrutura uma hidroxila livre em C₁₈ que permite futuras derivatizações, uma função β-hidroxi cetona que atua como quelante de metais e a função enona em C₉-C₁₀ que atua como um potente eletrófilo conjugado.

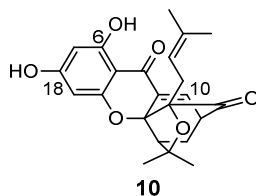


Figura 5 Estrutura da di-hidroxicluvenona **10**.

Foi também objetivo desse trabalho a síntese dos compostos **37**, **38**, **40**, **41**, **42**, **44**, **45**, **46** e **48** (Figura 6), derivados das hidroxi cluvenonas **8**, **9** e **10**. Os compostos **37**, **38**, **41**, **42**, **45** e **46** foram almejados por serem possivelmente mais solúveis em água, comparados com as hidroxi cluvenonas

de partida, devido à conjugação com derivados do trietileno glicol. Os compostos **40**, **44** e **48** foram almejados devido à constatação de que cátions lipofílicos, tais como os sais de trifetilfosfina, auxiliam a penetração de pequenas moléculas na mitocôndria (BIASUTTO *et al.* 2008; CHALMERS *et al.* 2012). Como esses compostos atuam na mitocôndria, aumentar a concentração deles nessa organela poderia promover o aumento de suas atividades biológicas. Outro objetivo desse trabalho foi sintetizar a CGX **57** (Figura 6), um derivado que se caracteriza por apresentar a função *p*-benzoquinona no anel A. Objetivou-se a síntese desse composto com o intuito de avaliar a influência de grupos retiradores de elétrons no anel A de CGXs. A conjugação entre o anel derivado da benzoquinona (A) e a cetona presente no anel B aumentaria ainda mais a eletrofilicidade da enona em C9-C10, que é extremamente importante na atividade biológica dessa classe de compostos.

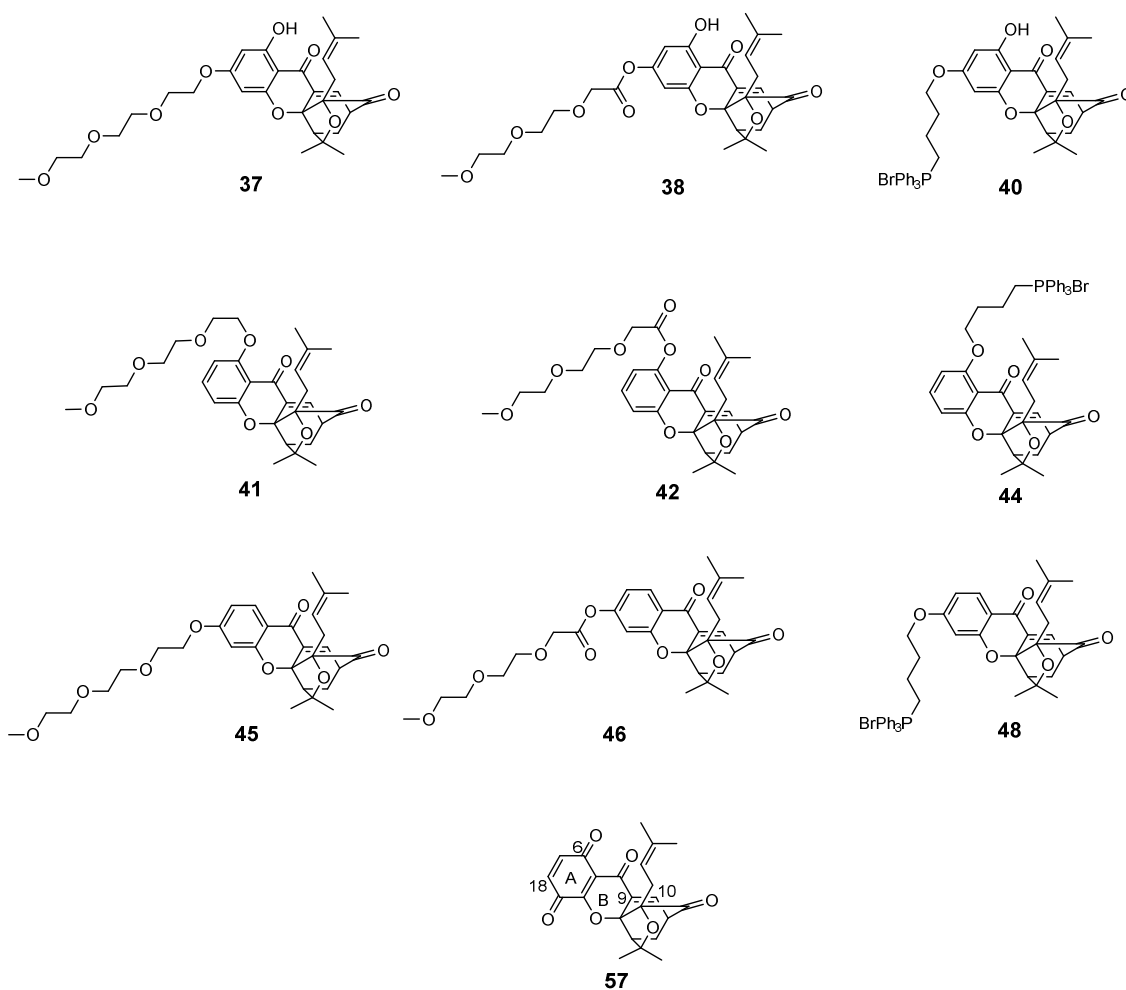


Figura 6 Estruturas dos compostos almejados neste trabalho.

O último objetivo desse trabalho foi a síntese de um derivado da 6-hidroxicluvenona (**8**) com propriedades fluorescentes, com o intuito de realizar estudos de mecanismo de ação pela interação desses compostos com receptores específicos e localização subcelular através de microscopia fluorescente. Planejou-se a síntese do composto **76** (Figura 7), um derivado contendo a porção 6-hidroxicluvenona (estrutura em azul na Figura 7), um espaçador (estrutura em preto na figura 7) e uma unidade derivada de dipirrometenoboro, o BODIPY FL EDA (estrutura vermelha na figura 7). O BODIPY FL EDA (Figura 7) é um composto comercial que possui propriedades espectrais similares em comprimento de onda e intensidade com a fluoresceína. No entanto, derivados do BODIPY apresentam larguras de bandas mais estreitas que a fluoresceína, não apresentam uma apreciável sensibilidade com o pH, possuem uma maior solubilidade em solventes não polares e apresentam uma maior fotoestabilidade (HAUGLAND *et al.* 1987).

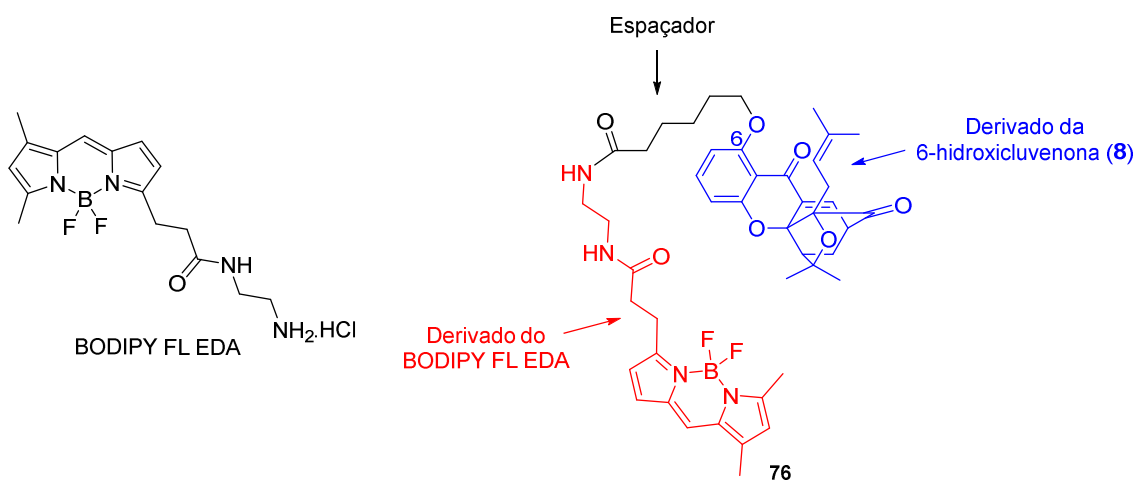
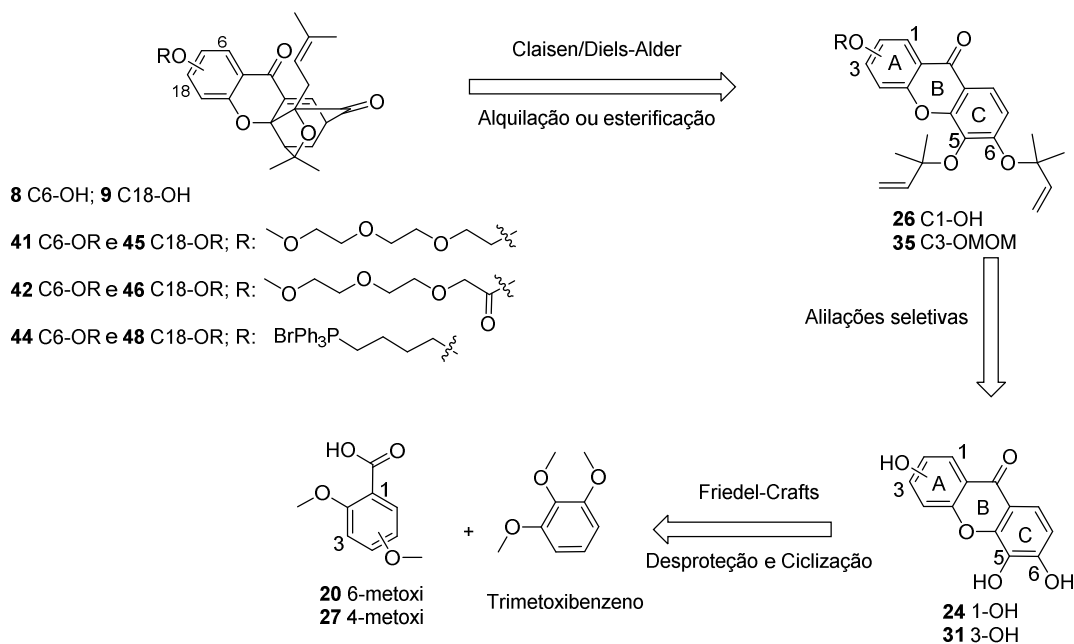


Figura 7 Estrutura do BODIPY FL EDA e do composto com propriedades fluorescentes **76**.

Optou-se pela utilização do BODIPY FL EDA devido à presença de um grupo amino nesse composto, permitindo realizar o acoplamento com um derivado ácido carboxílico da hidroxiclavenona (**8**) através de uma reação de amidação. O BODIPY FL EDA é um composto extremamente caro e não há relatos na literatura da síntese desse composto. Diante dessas informações planejou-se a síntese do BODIPY FL EDA e posterior acoplamento com o derivado da hidroxiclavenona (**8**). Inicialmente seriam avaliadas as

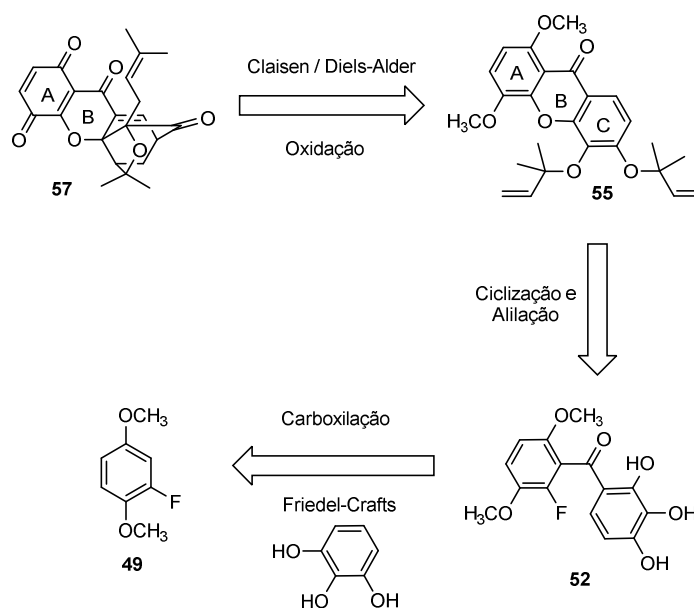
obtidos através de reações de alquilação ou esterificação da 6-hidroxiclavenona (**8**). A síntese dessa hidroxiclavenona foi planejada a partir de rearranjo de Claisen seguido de uma reação de Diels-Alder no anel C do intermediário **26**. Esse intermediário **26** poderia ser obtido através de reação de Friedel-Crafts entre o ácido 2,6-dimetoxibenzóico (**20**) e 1,2,3-trimetoxibenzeno, seguido de ciclização, clivagem dos grupos protetores e alilação seletiva das hidroxilas em C5 e C6 no intermediário **24** (Esquema 4).



Esquema 4 Esquema retrosintético para obtenção das hidroxiclavenonas **8** e **9** e seus derivados **41**, **42**, **44**, **45**, **46** e **48**.

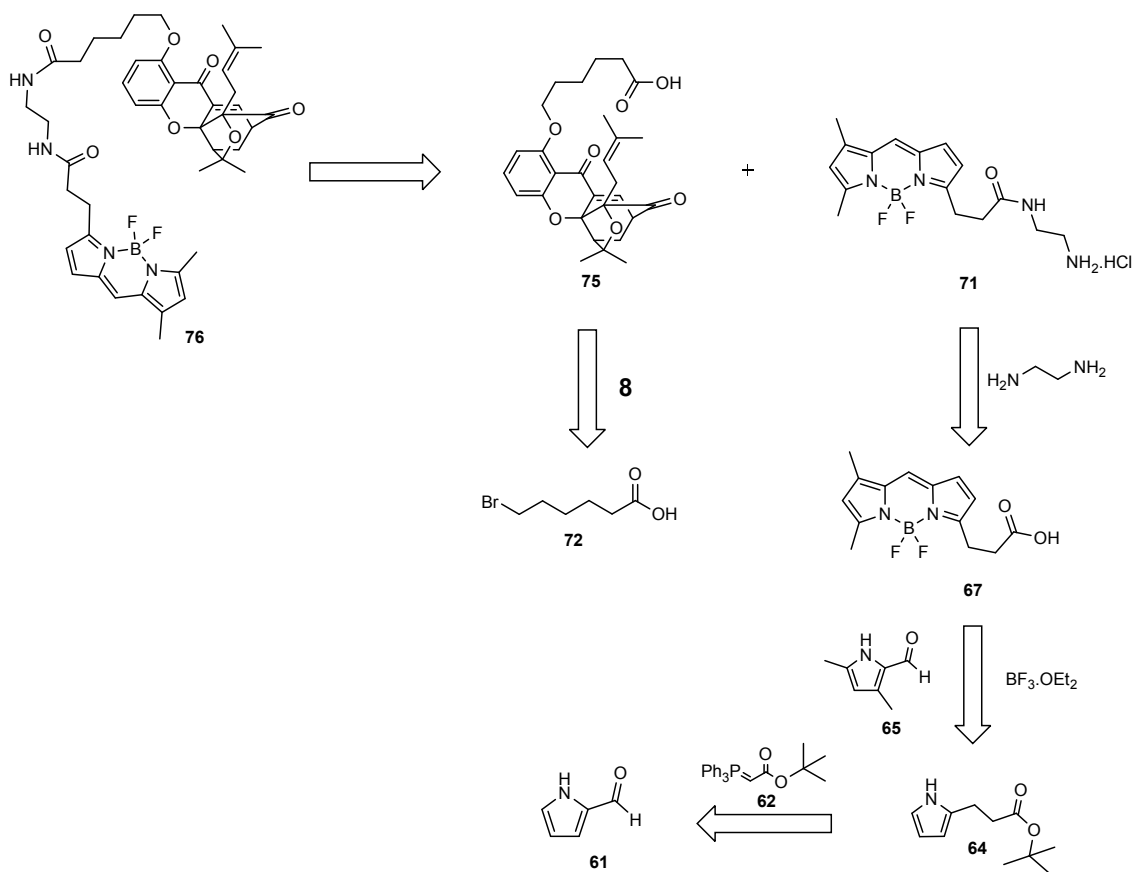
A síntese dos compostos **45**, **46** e **48** foi planejada de acordo com a retrosíntese representada no esquema 4. Esses compostos poderiam ser obtidos através de reações de alquilação ou esterificação da 18-hidroxiclavenona (**9**). A síntese dessa hidroxiclavenona foi planejada a partir de rearranjo de Claisen seguido de uma reação de Diels-Alder no anel C e desproteção da hidroxila em C3 do intermediário **35**. O intermediário **35** seria obtido através da proteção da hidroxila em C3 e alilação das hidroxilas em C5 e C6 da xantona **31**. Essa xantona poderia ser sintetizada a partir de reações de Friedel-Crafts entre o ácido 2,4-dimetoxibenzóico (**27**) e o 1,2,3-trimetoxibenzeno, seguido de ciclização e clivagem dos grupos protetores (Esquema 4).

O planejamento para a síntese da CGX **57** está representada no esquema 5. Essa CGX poderia ser obtida através de rearranjo de Claisen e reação de Diels-Alder no anel C do composto **55**, seguido de oxidação no anel A. A xantona **55** seria preparada a partir de reações de ciclização e alilação do intermediário **52**, o qual foi planejado via carboxilação de **49**, seguida de uma acilação de Friedel-Crafts com o 1,2,3-trihidroxibenzeno (Esquema 5).



Esquema 5 Esquema retrosintético para obtenção da CGX **57**.

Planejou-se a síntese do composto com propriedades fluorescentes **76** através da reação de amidação entre BODOPY FL EDA (**71**) e o ácido carboxílico **75** (Esquema 6). Esse ácido carboxílico poderia ser obtido pela reação de alquilação da 6-hidroxicluvenona (**8**) com o brometo de alquila **72**. O BODOPY FL EDA (**71**) foi planejado a partir de reação de amidação entre o ácido carboxílico **67** com a 1,2-etanodiamina. Esse ácido carboxílico poderia ser preparado através da reação de condensação entre o aldeído **65** e o pirrol **64**, seguido de complexação com $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ e clivagem do éster *tert*-butílico (KERSTIN *et al.* 2010). O pirrol **64** foi planejado pela reação de Wittig entre o aldeído **61** e o ílideo de fósforo **62** seguido de hidrogenação (Esquema 6).



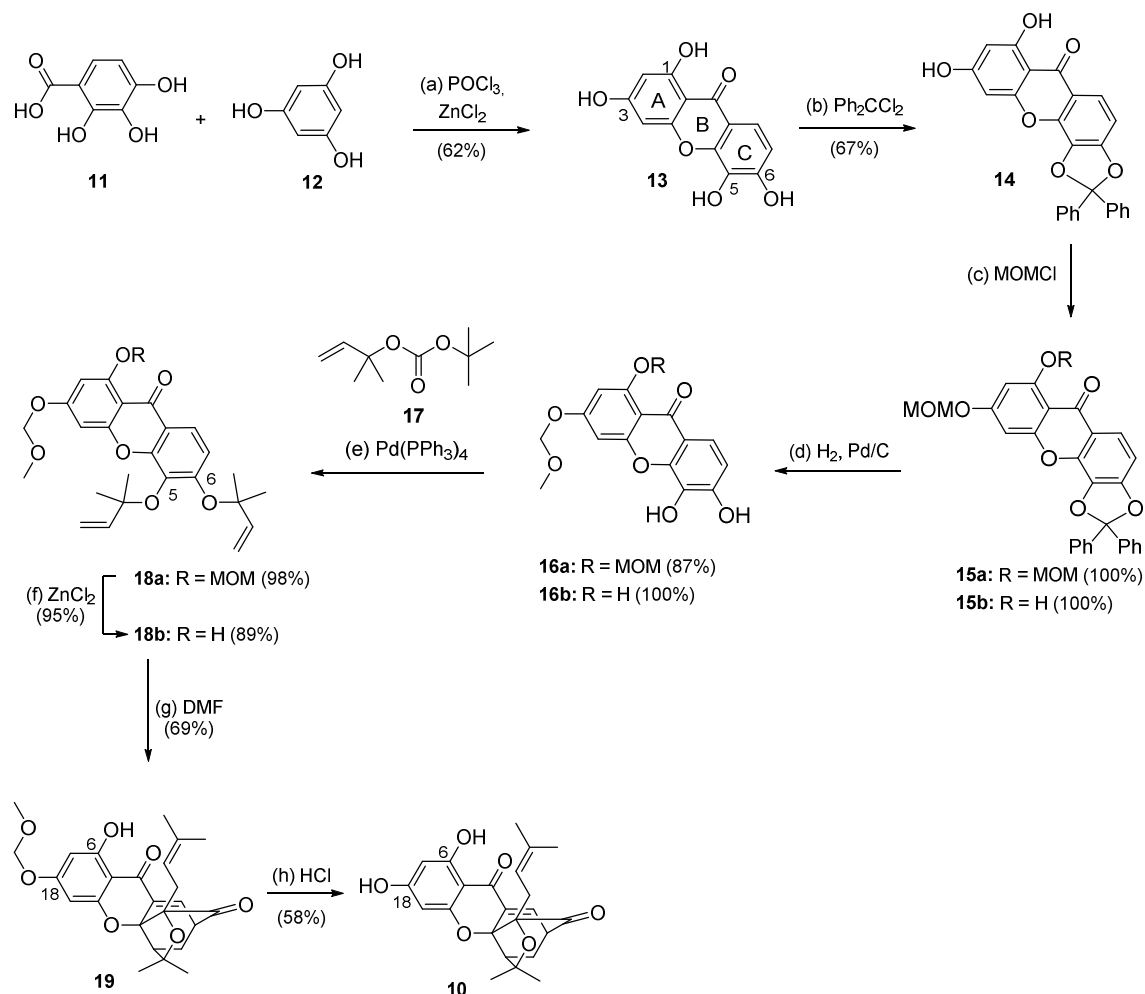
Esquema 6 Esquema retrosintético para obtenção do BODIPY FL EDA (**71**) e do composto com propriedades fluorescentes **76**.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente será discutida a síntese das hidroxiclavenonas **8**, **9** e **10** e posteriormente será discutida a síntese de seus derivados.

3.4.1 Síntese da 6,18-di-hidroxiclavenona (**10**)

A síntese da di-hidroxiclavenona **10** está representada no esquema 7.

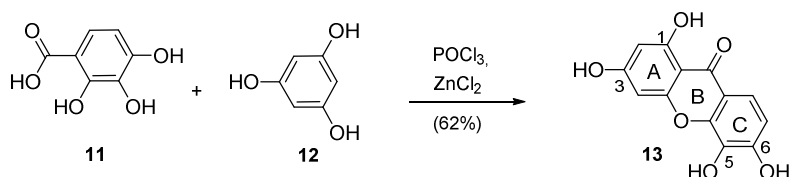


Esquema 7 Síntese do composto **10**. Reagentes e condições: (a) POCl_3 (27 equiv.), ZnCl_2 (10 equiv.), 4,5 h, 65 °C, 62%; (b) Ph_2CCl_2 (1,5 equiv.), ACN, irradiação de microondas, 12 min, 150 °C, 67%; (c) MOMCl (2 equiv.), DIPEA (3 equiv.), CH_2Cl_2 , t.a., 1 h, 100% para **15b** e MOMCl (6 equiv.), DIPEA (10 equiv.), CH_2Cl_2 , 60 °C, 1 h, 100% para **15a**; (d) H_2 , 10 mol% Pd/C, THF:MeOH (3:1), t.a., 18 h, 100% para **16b** e H_2 , 10 mol% Pd/C, Na_2CO_3 (3 equiv.), THF:MeOH (3:1), t.a., 18 h, 87% para **16a**; (e) Carbonato de *tert*-butil-2-

metilbut-3-en-2-il (**17**) (10 equiv.), 10 mol% Pd(PPh₃)₄, THF, 0 °C, 2 h, 89% para **18b** e carbonato de *tert*-butil-2-metilbut-3-en-2-il (**17**) (10 equiv.), 10 mol% Pd(PPh₃)₄, THF, 0 °C, 10 min, 98% para **18a**; (f) ZnCl₂ (0,5 mol.L⁻¹ em THF) (15 equiv.), 60°C, 4h, 95%; (g) DMF, 4 h, 120 °C, 69%; (h) 15% HCl, acetona, 8 h, 40 °C, 58%.

3.4.1.1 Síntese da 1,3,5,6-tetraidroxixantona (**13**)

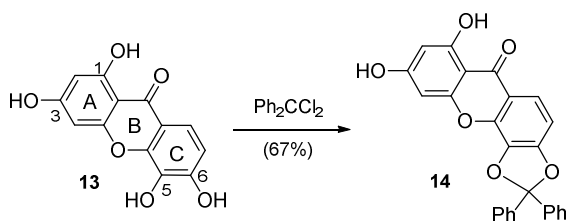
A xantona **13** foi preparada em um rendimento de 62% a partir da reação de acilação, seguido de ciclização entre o ácido carboxílico **11** e o fenol **12** em POCl₃ e ZnCl₂ a 65°C durante 4,5 h, como previamente reportado pelo nosso grupo de pesquisa (TISDALE *et al.* 2003) (Esquema 8).



Esquema 8 Preparação de **13**.

3.4.1.2 Síntese e caracterização de 1,3-diidroxí-5,6-di-(*O*)-difenilmetilendioxixantona (**14**)

O composto **14** foi obtido em 67% de rendimento através de uma reação de cetalização entre a xantona **13** e o diclorodifenilmetano em acetonitrila sob irradiação de microondas a 150°C durante 12 minutos (Esquema 9).



Esquema 9 Preparação de **14**.

No espectro de RMN de ^1H de **14** (Figura 8) observam-se dois multipletos em δ 7,41-7,43 e 7,62-7,65 referentes aos 10 hidrogênios da unidade cetálica, além de 4 dupletos correspondentes aos 4 hidrogênios da porção xantona.

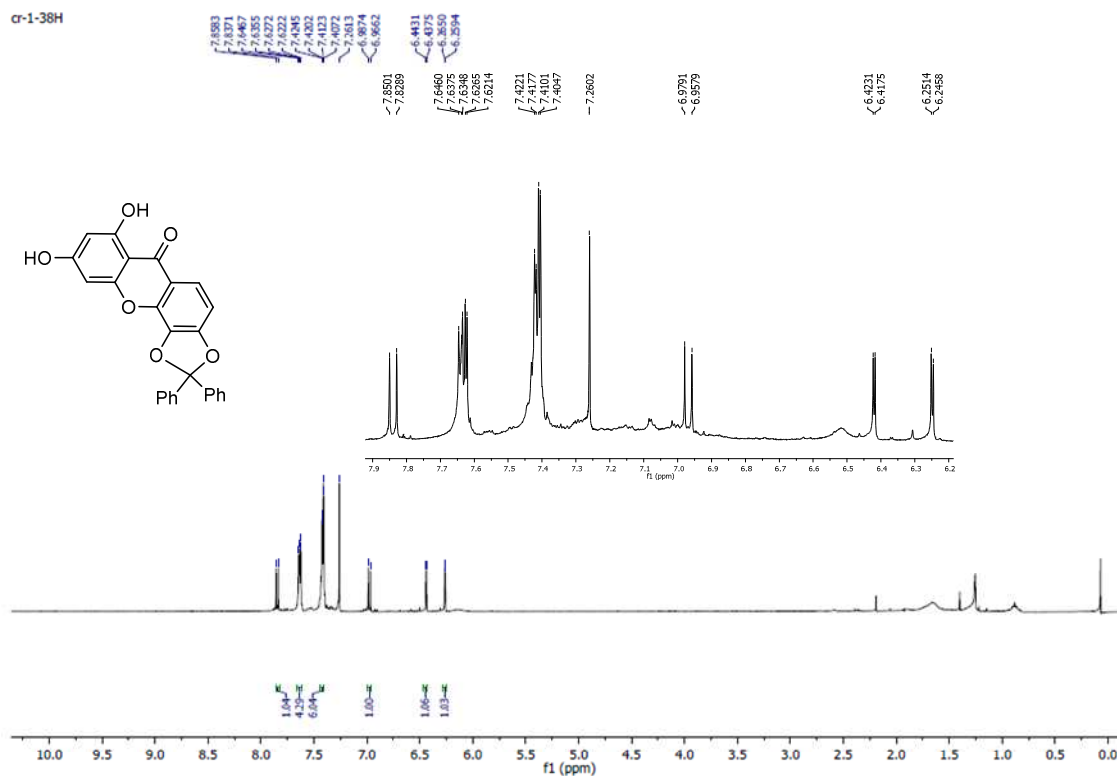


Figura 8 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **14**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **14** (Figura 9) observam-se 6 sinais entre δ 94,8 e 121,1 referentes aos 6 carbonos não ligados a oxigênio da unidade xantona e 5 sinais entre δ 153,1 e 164,1 correspondentes aos 6 carbonos ligados ao oxigênio da porção xantona. Observam-se também sinais entre δ 126,2 e 133,9 correspondentes aos carbonos aromáticos da unidade cetálica e ao carbono cetálico, além de um sinal em δ 180,2 referente ao carbono carbonílico.

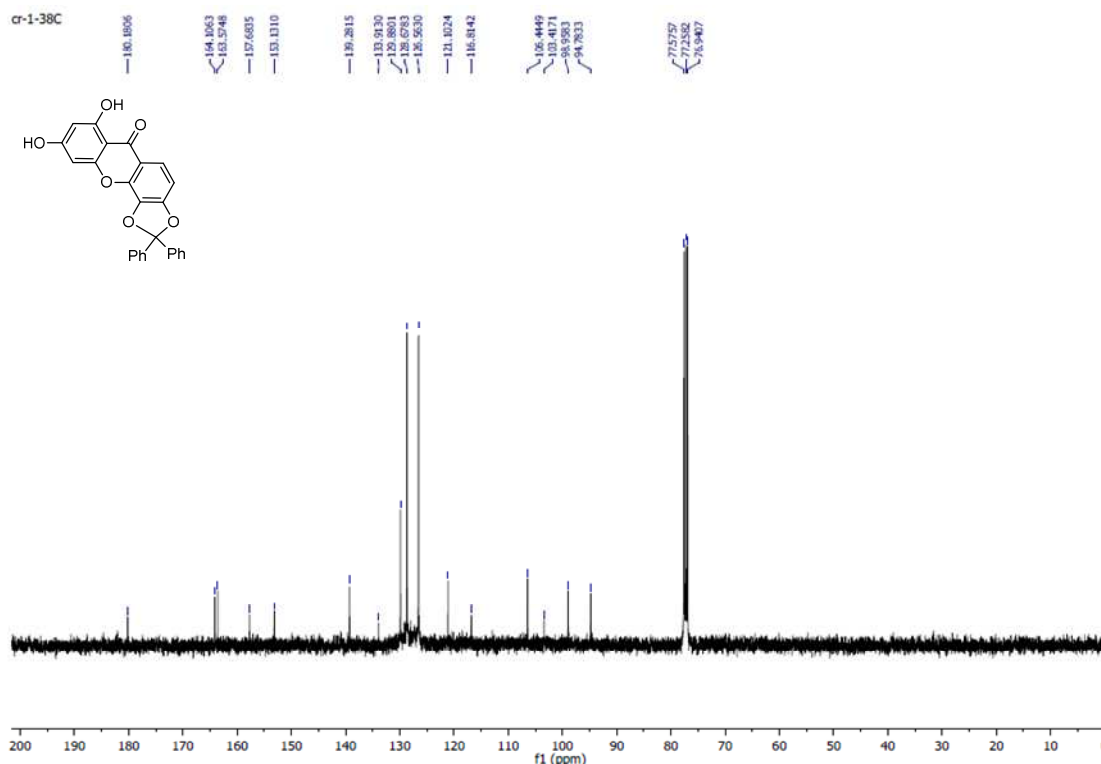
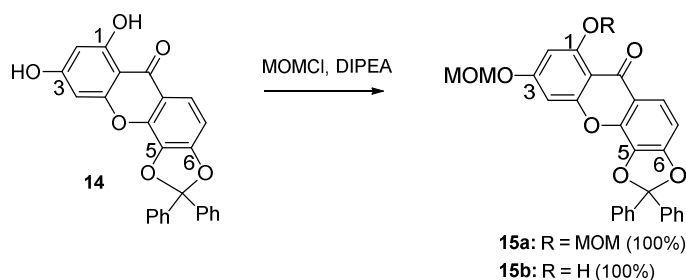


Figura 9 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **14**.

3.4.1.3 Síntese e caracterização de 1,3-bis(metoximetoxi)-5,6-di-(O)-difenilmetilenodioxo-xantona (**15a**) e 1-hidroxi-3-(metoximetoxi)-5,6-di-(O)-difenilmetilenodioxo-xantona (**15b**)

Os compostos **15a** e **15b** foram obtidos separadamente em diferentes condições reacionais. Utilizaram-se os mesmos reagentes na preparação desses compostos, porém em diferentes estequiometrias e diferentes temperaturas. O composto **15b** foi obtido em rendimento quantitativo, utilizando-se 2 mol/equiv. de cloreto de metoximetila (MOMCl) e 3 mol/equiv. de diisopropiletilamina (DIPEA) em diclorometano a temperatura ambiente durante 1 hora. O composto **15a** também foi obtido em rendimento quantitativo, utilizando-se 6 mol/equiv. de MOMCl e 10 mol/equiv. de DIPEA em diclorometano a 60°C durante 1 hora (Esquema 10). Essa diferença está relacionada com as diferentes reatividades entre as hidroxilas em C1 e C3. A hidroxila em C1 é menos reativa que a hidroxila em C3 devido a forte ligação de hidrogênio realizada com a carbonila. Essa interação, além de diminuir a reatividade da hidroxila em C1, diminui também a acidez de seu hidrogênio.



Esquema 10 Preparação de **15a** e **15b**.

Devido a semelhança estrutural, será discutido apenas a caracterização do composto **15a**. No seu espectro de RMN de ^1H (Figura 10) observam-se quatro singletos entre δ 3,51 e 5,35 referentes aos 10 hidrogênios das duas unidades metoximetila, quatro dupletos em δ 6,70, 6,85, 6,93 e 7,87 correspondentes aos 4 hidrogênios da unidade xantona, além de dois multipletos em δ 7,40-7,41 e 7,63-7,65 referentes aos 10 hidrogênios da unidade cetálica.

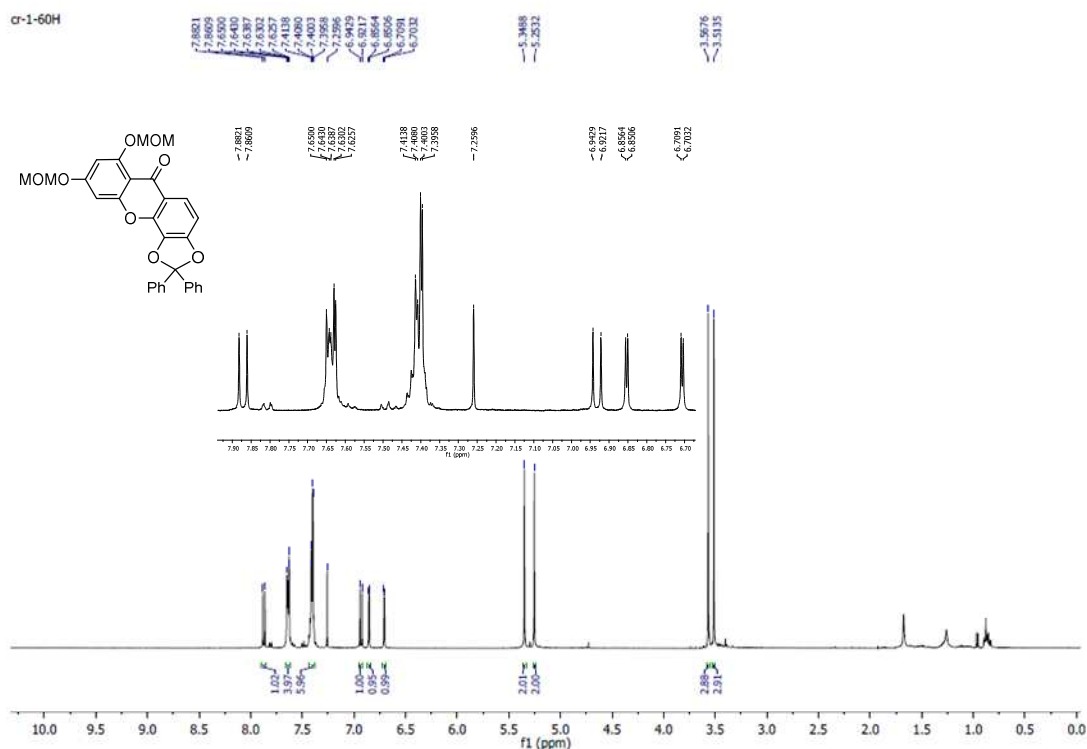


Figura 10 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **15a**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 11) observam-se 2 sinais em δ 56,8 e 56,9 referentes aos 2 carbonos metílicos, 3 sinais em δ 108,4, 119,4 e 133,5

correspondentes aos 3 carbonos cetálicos, 3 sinais em δ 126,6, 128,6 e 129,7 referentes aos carbonos aromáticos da unidade cetálica, além de outros 13 sinais correspondentes aos 13 carbonos da porção xantona.

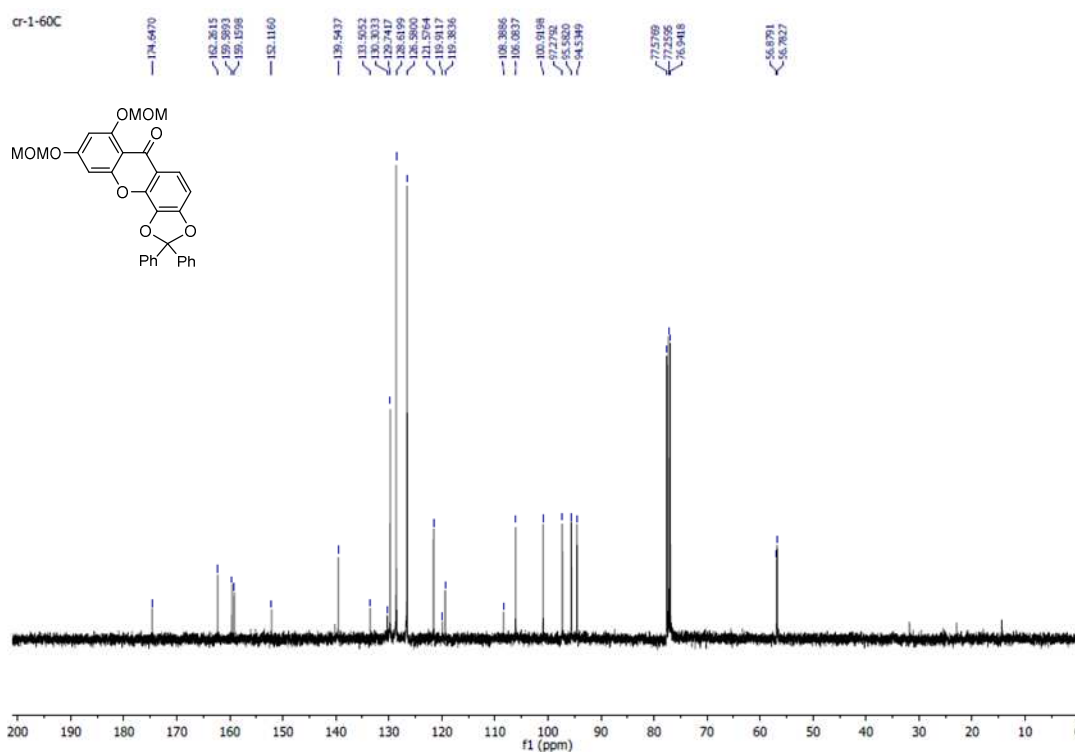
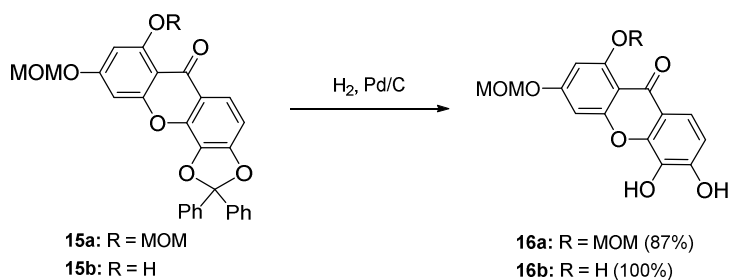


Figura 11 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **15a**.

3.4.1.4 Síntese e caracterização de 1,3-bis(metoximetoxi)-5,6-diidroxi-xantona (**16a**) e 1-hidroxi-3-(metoximetoxi)-5,6-diidroxi-xantona (**16b**)

A partir de uma reação de hidrogenólise dos cetais **15a** e **15b** utilizando Pd/C (10 mol%) e hidrogênio gasoso em THF e metanol (3 : 1) com o auxílio de um reator de alta pressão (300 bar) e a temperatura ambiente, foram obtidos os catecois **16a** e **16b** em rendimentos de 87 e 100%, respectivamente (Esquema 11).



Esquema 11 Preparação de **16a** e **16b**.

Devido a semelhança estrutural, será discutido apenas a caracterização do composto **16a**. No seu espectro de RMN de ^1H (Figura 12) observam-se quatro simpletos entre δ 3,41 e 5,31 referentes aos 10 hidrogênios das duas unidades metoximetila e quatro dupletos entre δ 6,61 e 7,41 correspondentes aos 4 hidrogênios da unidade xantona. A clivagem do grupo difenilcetal foi evidenciada pela ausência dos sinais referentes aos seus hidrogênios.

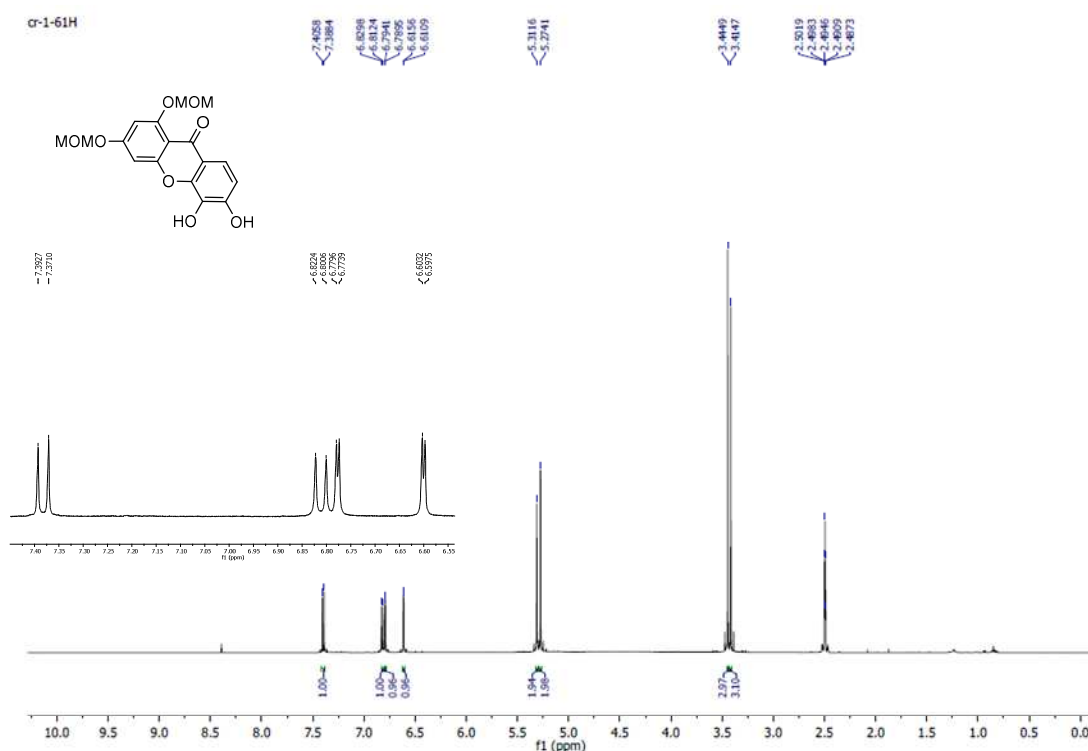


Figura 12 RMN ^1H (500 MHz, DMSO) de **16a**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 13) observam-se um sinal em δ 56,5 referente aos 2 carbonos metílicos, 13 sinais entre δ 94,5 e 161,5 correspondentes aos 2 carbonos cetálicos dos grupos metoximetila e aos

carbonos aromáticos da porção xantona, além de um sinal em δ 174,0 referente ao carbono carbonílico. A clivagem do grupo defenilcetal foi evidenciada pela ausência de três sinais intensos próximos de δ 126 e 130.

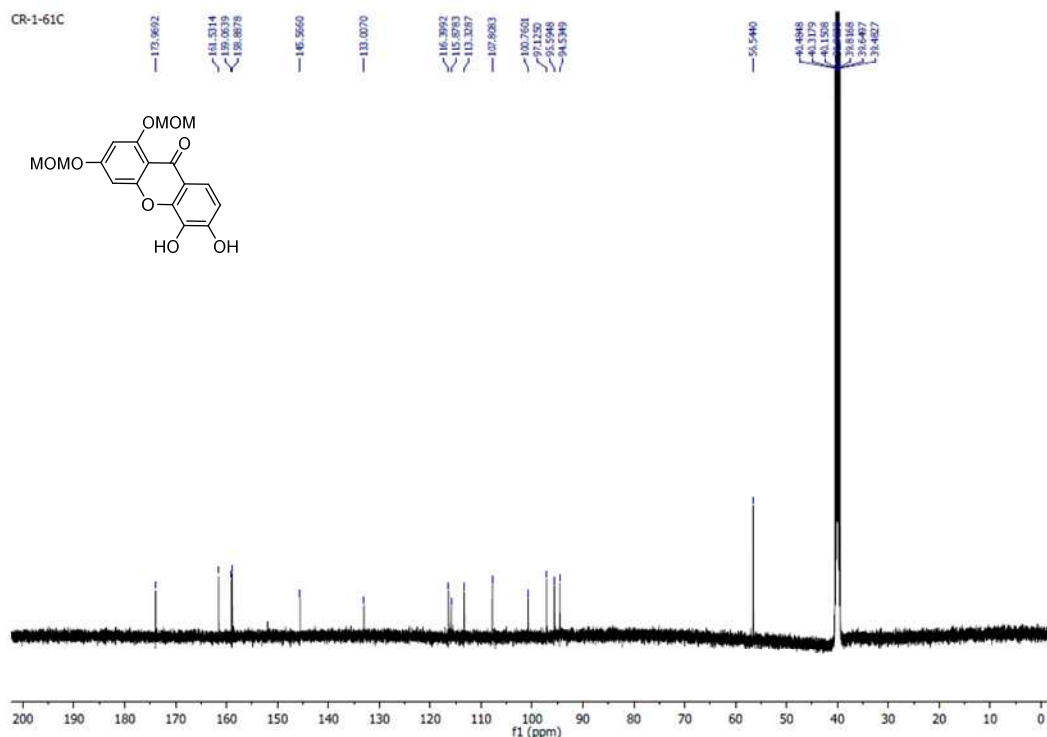


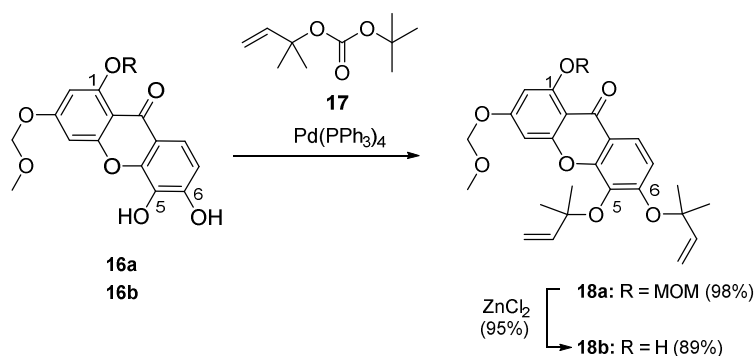
Figura 13 RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO) de **16a**.

3.4.1.5 Síntese e caracterização de 1,3-bis(metoximetoxi)-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi-xantona (**18a**) e 1-hidroxi-3-(metoximetoxi)-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi-xantona (**18b**)

Os compostos **18a** e **18b** foram obtidos a partir da reação de alilação entre os catecóis **16a** e **16b** com o carbonato **17** (10 mol/equiv.), previamente preparado (CHANTARASRIWONG *et al.* 2009), catalisada por tetrakis(trifenilfosfina)-paládio (0) (10 mol %) em THF (Esquema 12). O composto **18a** foi obtido após 10 minutos a 0°C em rendimento de 98%. Já o composto **18b** foi obtido após 2 horas a 0°C em rendimento de 89%. A menor reatividade de **16b** em relação à **16a** pode ser explicada pela ligação de hidrogênio entre a hidroxila em C1 com a carbonila, diminuindo significativamente a nucleofilia da hidroxila em C6. Utilizou-se um excesso de

carbonato (10 mol/equiv.) com o intuito de garantir a formação dos produtos desejados, considerando que essa reação é reversível.

O composto **18b** foi obtido também através da reação de clivagem seletiva do grupo metoximetila presente na posição C1 de **18a** usando uma solução de cloreto de zinco ($0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ em THF, 15 equiv.) a 60°C durante 4 horas em 95% de rendimento (Esquema 12). A clivagem foi seletiva devido a forte interação entre o oxigênio em C1 e a carbonila com o cloreto de zinco, facilitando a clivagem do grupo metoximetila nessa posição (Esquema 12).



Esquema 12 Preparação de **18a** e **18b**.

Devido a semelhança estrutural, será discutido apenas a caracterização do composto **18a**. No seu espectro de RMN de ^1H (Figura 14) observam-se dois simpletos em δ 1,55 e 1,56 referentes aos 12 hidrogênios metílicos dos grupos alila, além de um duplete ($J = 10,8 \text{ Hz}$) em δ 5,02 e um multiplete em δ 5,03-5,21 correspondentes aos quatro hidrogênios metilênicos das duas olefinas e um multiplete em δ 6,15-6,28 referente aos dois hidrogênios metínicos dessas duas olefinas, evidenciando que houve a alilação nas duas hidroxilas. Observam-se também os sinais correspondentes aos hidrogênios das unidades xantona e metoximetila. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 15) evidenciou-se a dialilação pela presença de dois sinais em δ 27,1 e 27,3, dois sinais em δ 82,3 e 83,7 e dois sinais em δ 143,8 e 143,9 referentes aos quatro carbonos metílicos, dois carbonos metínicos e dois carbonos não hidrogenados das porções alila, respectivamente. Observam-se também todos os sinais correspondentes aos outros carbonos da molécula.

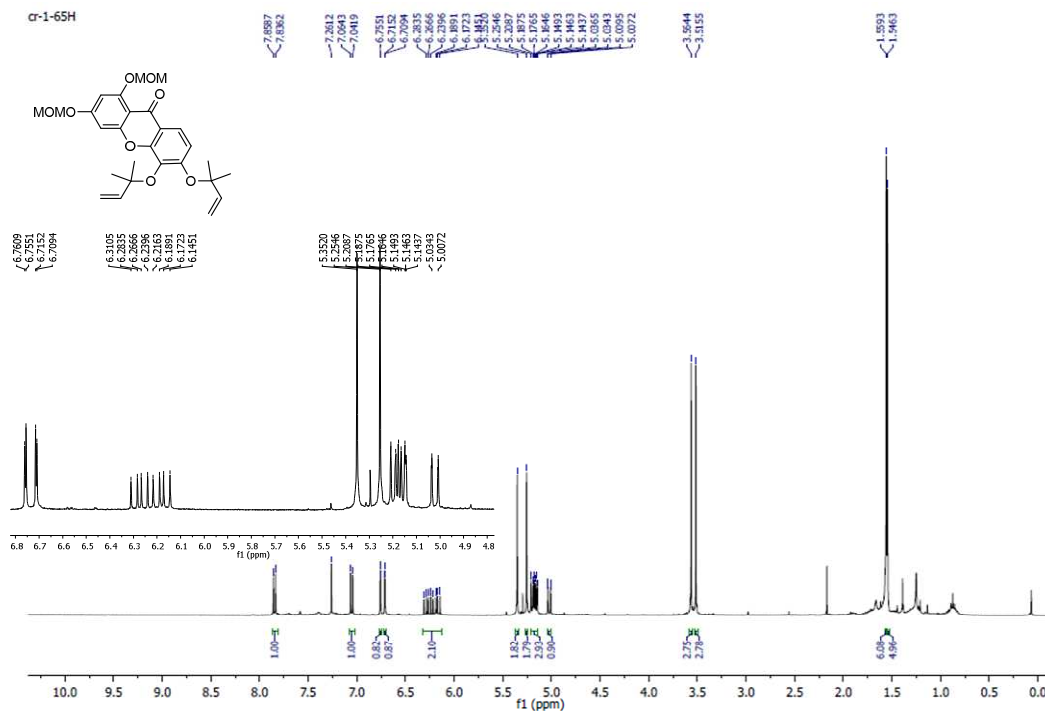


Figura 14 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 18a.

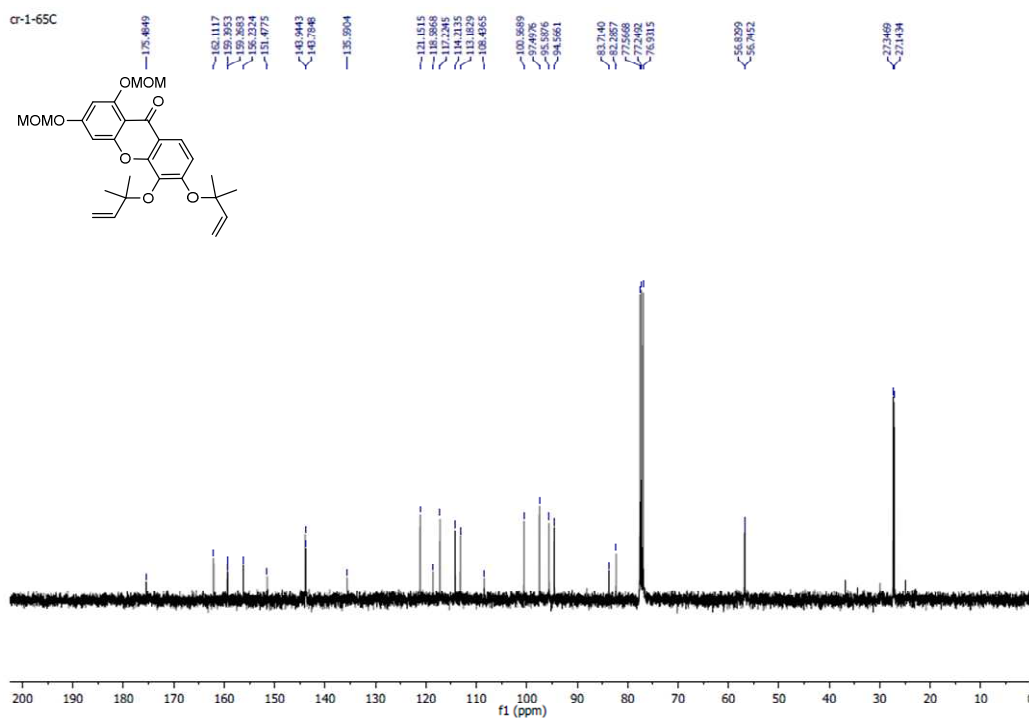
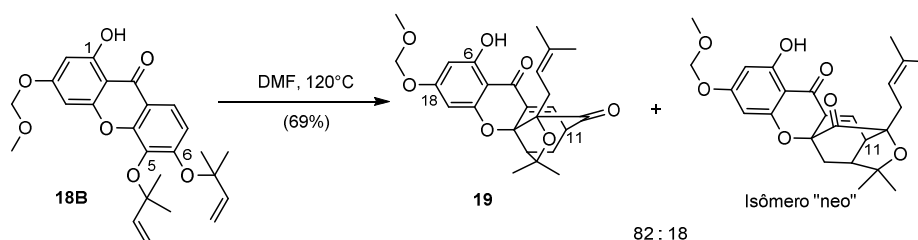


Figura 15 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 18a.

3.4.1.6 Síntese e caracterização de 6-hidroxi-18-metoximetoxi-cluvenona (**19**)

A hidroxiclavenona **19** foi obtida a partir da reação em cascata de Claisen/Diels-Alder realizada no intermediário **18b** em DMF a 120°C durante 4 horas (Esquema 13). Verificou-se a formação dos isômeros “regular” (**19**) e “neo” em uma proporção de 82 : 18 (proporção observada no espectro de RMN de ^1H do bruto reacional), respectivamente, tendo-se um rendimento de 69% nessa transformação. Os espectros de RMN de ^1H dos isômeros regular e neo apresentam significantes diferenças nos deslocamentos químicos de alguns hidrogênios, a principal diferença está relacionada com H11, que apresenta um deslocamento em δ 4,5 nos isômeros regular e δ 5,0 nos isômeros neo (CHANTARASRIWONG *et al.* 2009),



Esquema 13 Preparação de **19**.

No espectro de RMN de ^1H de **19** (Figura 16) observam-se quatro simpletos em δ 1,09, 1,28, 1,38 e 1,68 referentes aos 12 hidrogênios metílicos, um multiplete em δ 3,47-3,51 correspondente aos hidrogênios metílicos do grupo metóximetila e ao hidrogênio ligado ao carbono α -carbonílico, um tripleto em δ 4,43 ($J = 7,5$ Hz) referente ao hidrogênio olefínico da olefina dimetilada, além de quatro sinais em δ 1,35, 2,32, 2,43 e 2,60 correspondentes aos outros cinco hidrogênios da porção tricíclica dessa molécula. Observam-se também dois dupletos ($J = 2,2$ Hz) em δ 6,17 e 6,20 correspondentes aos hidrogênios aromáticos e um duplete ($J = 6,9$ Hz) referente ao hidrogênio da olefina conjugada à carbonila. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17) observam-se seis sinais entre δ 17,0 e 30,6 referentes aos seis carbonos metílicos e metilênicos da porção tricíclica, dois sinais em δ 47,0 e 49,0 correspondentes aos carbonos metínicos não olefínicos da porção tricíclica e um sinal em δ 56,7 referente ao carbono metílico de unidade metoximetila. Observam-se também

14 sinais entre δ 83,7 e 166,1 correspondentes aos 14 carbonos olefínicos, aromáticos e ligados diretamente ao oxigênio na forma de éter, além de dois sinais em δ 179,7 e 203,2 referentes aos dois carbonos carbonílicos.

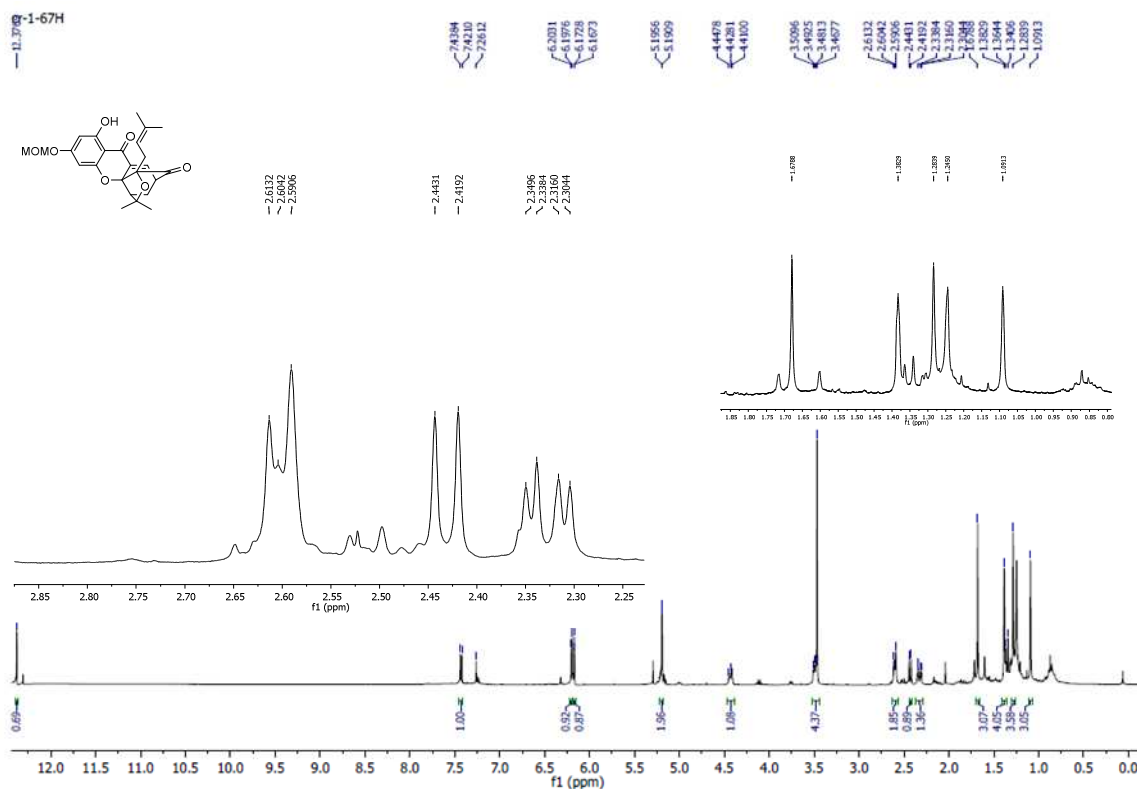


Figura 16 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 19.

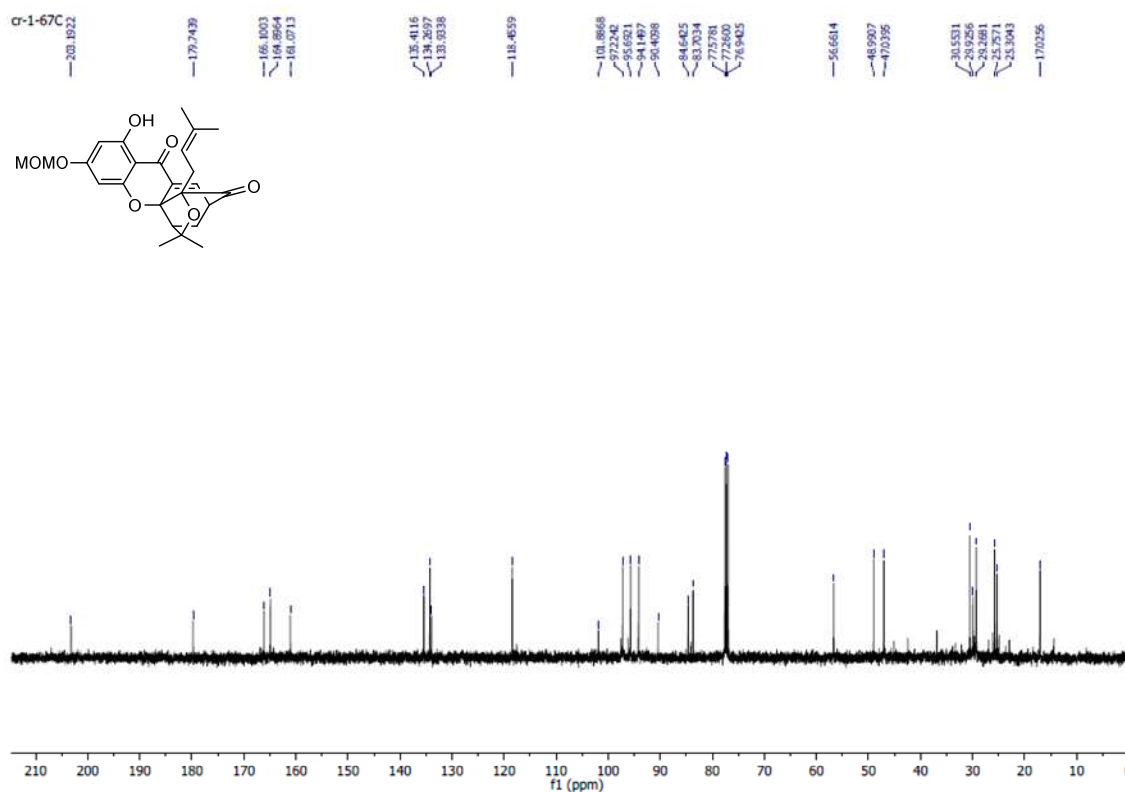
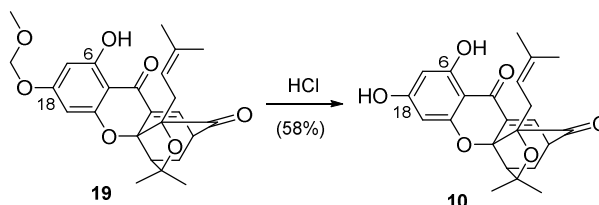


Figura 17 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **19**.

3.4.1.7 Síntese e caracterização de 6,18-diidroxiclavenona (**10**)

A 6,18-dihidroxiclavenona (**10**) foi obtida em 58% de rendimento a partir da reação de hidrólise da hidroxiclavenona (**19**) com ácido clorídrico (15%) em acetona a 40°C durante 4 horas (Esquema 14). A reação foi interrompida a partir do momento em que foi verificada, por CCD, a formação de outros compostos resultantes da decomposição dessas hidroxiclavenonas.



Esquema 14 Preparação de **10**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **10** (Figura 18) evidenciou-se a clivagem do grupo metoximetila através da ausência de simpletos próximos de

δ 3,50 e 5,20 correspondentes aos hidrogênios metílicos e metilênicos, respectivamente, desse grupo.

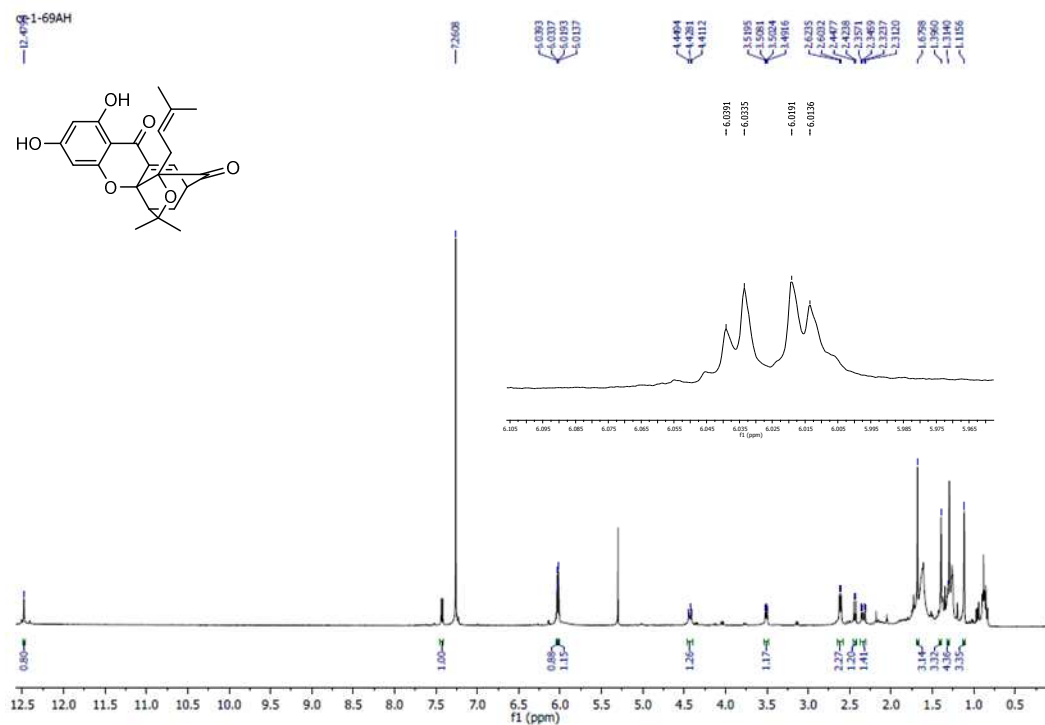


Figura 18 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **10**.

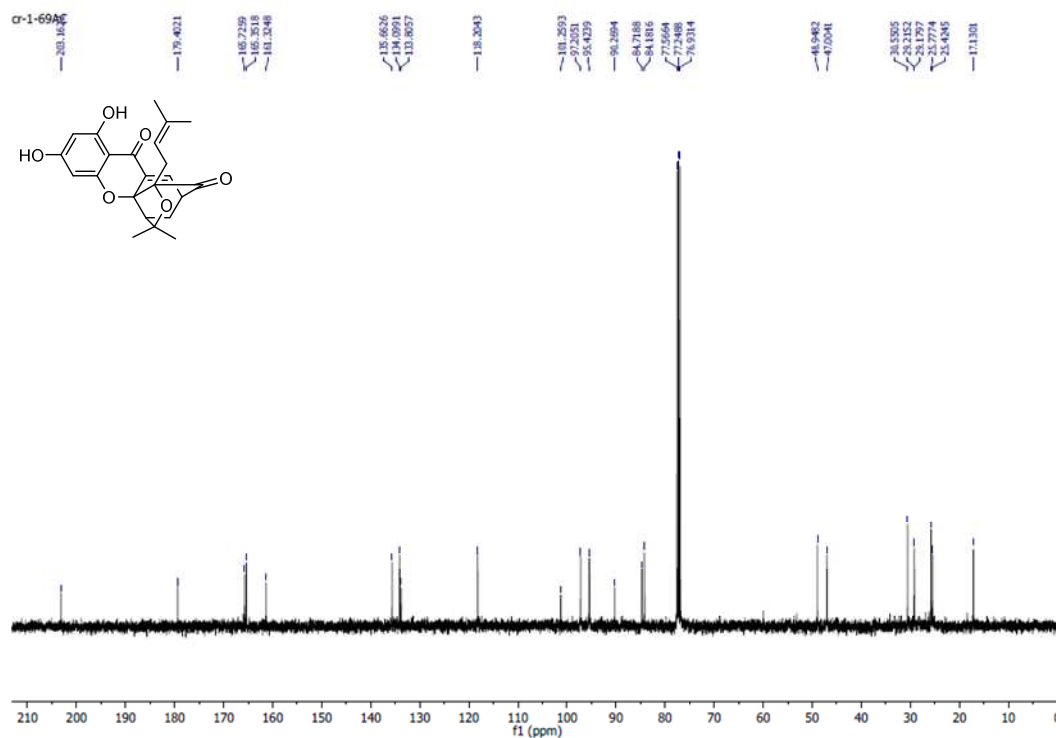
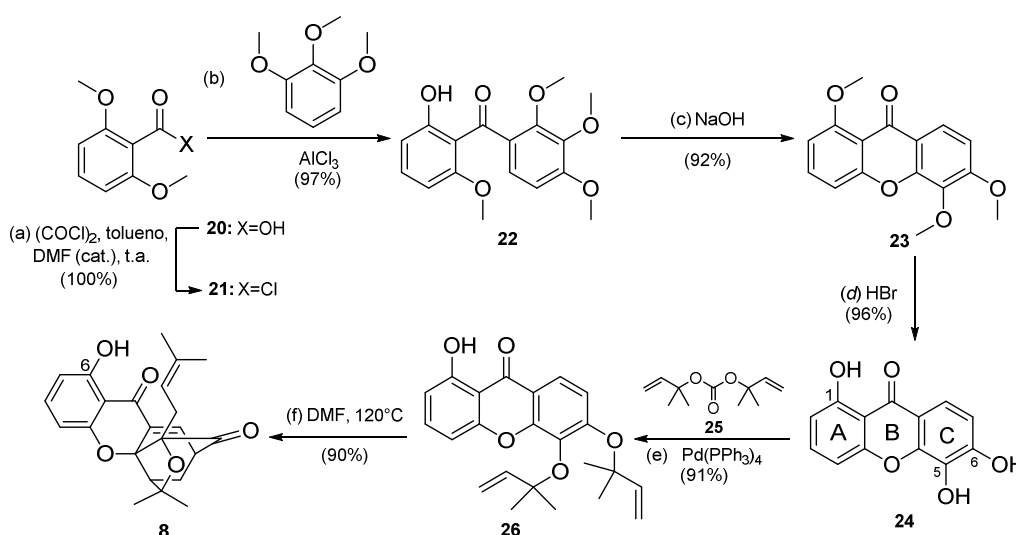


Figura 19 RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de **10**.

No seu espectro de RMN de ^{13}C (Figura 19) foi evidenciada a hidrólise pela ausência de sinais próximos de δ 56,6 e 82,0 referentes aos carbonos metilênicos e metínicos, respectivamente, do grupo metoximetila.

3.4.2 Síntese da 6-hidroxicluvenona (8)

A síntese da 6-hidroxicluvenona (8) está representada no esquema 15. Nosso grupo de pesquisa reportou previamente a síntese da 6-hidroxicluvenona (8) em uma estratégia de dez etapas e rendimento global de 26% (ELBEL *et al.* 2013). Nesse trabalho, a 6-hidroxicluvenona (8) foi preparada em seis etapas e em um rendimento global de 70% (Esquema 15).



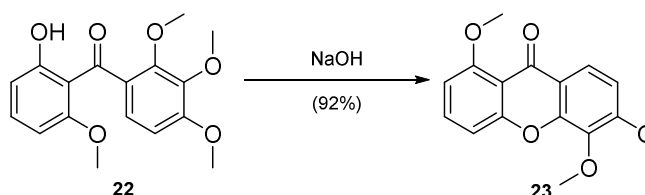
Esquema 15 Síntese da 6-hidroxicluvenona (8). Reagentes e condições: (a) $(\text{COCl})_2$ (7 equiv.), DMF (0,13 equiv.), tolueno, t.a., 30 min, 100%; (b) 1,2,3-Trimetoxibenzeno (1,2 equiv.), AlCl_3 (3 equiv.), Et_2O , 0°C -t.a., 3h, 97 %; (c) NaOH (9,4 equiv.), H_2O , MeOH, refluxo, 48h, 92 %; (d) HBr (48%), AcOH, refluxo, 18h, 96 %; (e) 25 (10 equiv.) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (10 mol%), THF, $0 - 4^\circ\text{C}$, 12 h, 91%; (f) DMF, 120°C , 2h, 90%.

3.4.2.1 Síntese da (2-hidroxi-6-metoxifenil)(2,3,4-trimetoxifenil)metanona (**22**)

A diarilcetona **22** foi preparada sob as mesmas condições publicadas previamente pelo nosso grupo de pesquisa (ELBEL *et al.* 2013). A única alteração está relacionada com as condições utilizadas em (a), na transformação do ácido carboxílico **20** no cloreto de acila **21** (Esquema 15). Na condição publicada previamente utilizou-se cloreto de oxalila (5 mol/equiv.) e DMF catalítico em diclorometano a temperatura ambiente durante 16 horas, obtendo-se o cloreto de acila **21** em rendimento quantitativo. Nesse trabalho esse cloreto de acila foi preparado utilizando cloreto de oxalila (7 mol/equiv.) e DMF catalítico em tolueno a temperatura ambiente durante 30 minutos em rendimento quantitativo (Esquema 15). Posteriormente o cloreto de acila **21** foi submetido a uma acilação de Friedel-Crafts com 1,2,3-trimetoxibenzene utilizando cloreto de alumínio em éter etílico a 0°C seguido de aquecimento espontâneo até a temperatura ambiente e agitação durante 3 horas, obtendo-se a diarilcetona **22** em 97% de rendimento (Esquema 15). Interessantemente, observou-se a clivagem de um grupo metoxi α -carbonílico. Acredita-se que houve a clivagem desse grupo devido a forte interação entre os grupos metoxila α -carbonílico e a carbonila com o cloreto de alumínio (formação de um anel de seis membros), diminuindo a força da ligação C-O desse grupo metoxila e facilitando a clivagem dessa ligação.

3.4.2.2 Síntese da 1,5,6-trimetoxi-xantona (**23**)

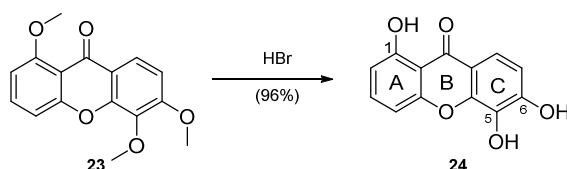
A xantona **23** foi preparada em 92% de rendimento a partir de uma reação de ciclização da diarilcetona **22** na presença de hidróxido de sódio em metanol e água destilada sob refluxo durante 48 horas (ELBEL *et al.* 2013) (Esquema 16).



Esquema 16 Preparação de **23**.

3.4.2.3 Síntese da 1,5,6-triidroxi-xantona (**24**)

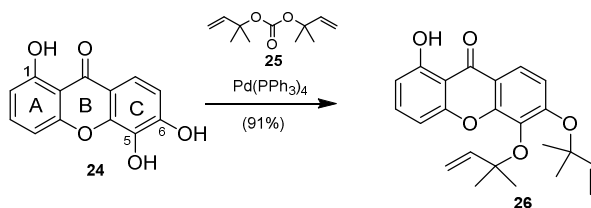
O composto **24** foi obtido em rendimento de 96% a partir da hidrólise ácida dos grupos metoxila da xantona **23** em ácido bromídrico (48%) e ácido acético sob refluxo durante 18 horas (ELBEL *et al.* 2013) (Esquema 17).



Esquema 17 Preparação de **24**.

3.4.2.4 Síntese e caracterização da 1-hidroxi-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi)xantona (**26**)

O dialil éter **26** foi obtido em um rendimento de 91% a partir da dialilação seletiva em C5-OH e C6-OH usando a prenilação reversiva catalisada por Pd(PPh₃)₄ (10 mol%) e o carbonato **25** (10 equiv.), previamente preparado (CHANTARASRIWONG *et al.* 2009), em THF de 0°C até 4°C durante 12 horas (Esquema 18).



Esquema 18 Preparação de **26**.

No espectro de RMN de ¹H de **26** (Figura 20) observam-se sinais entre δ 5,01 e 5,24 referentes aos quatro hidrogênios metilênicos olefínicos, um multipletto em δ 6,15-6,28 referente aos dois hidrogênios metínicos olefínicos, além de quatro dupletos (δ 6,76, 6,93, 7,13 e 7,86) e um tripleto (δ 7,55) correspondente aos cinco hidrogênios aromáticos. No espectro de RMN de ¹³C (Figura 21) observam-se a presença de dois sinais em δ 27,2 e 27,5 referentes aos quatro carbonos metílicos, dois sinais em δ 83,6 e 84,0 correspondentes aos dois carbonos ligados diretamente ao oxigênio nos grupos alila, além de 17

sinais entre δ 107,2 e 180,0 referentes aos 17 carbonos aromáticos, olefínicos e carbonílico.

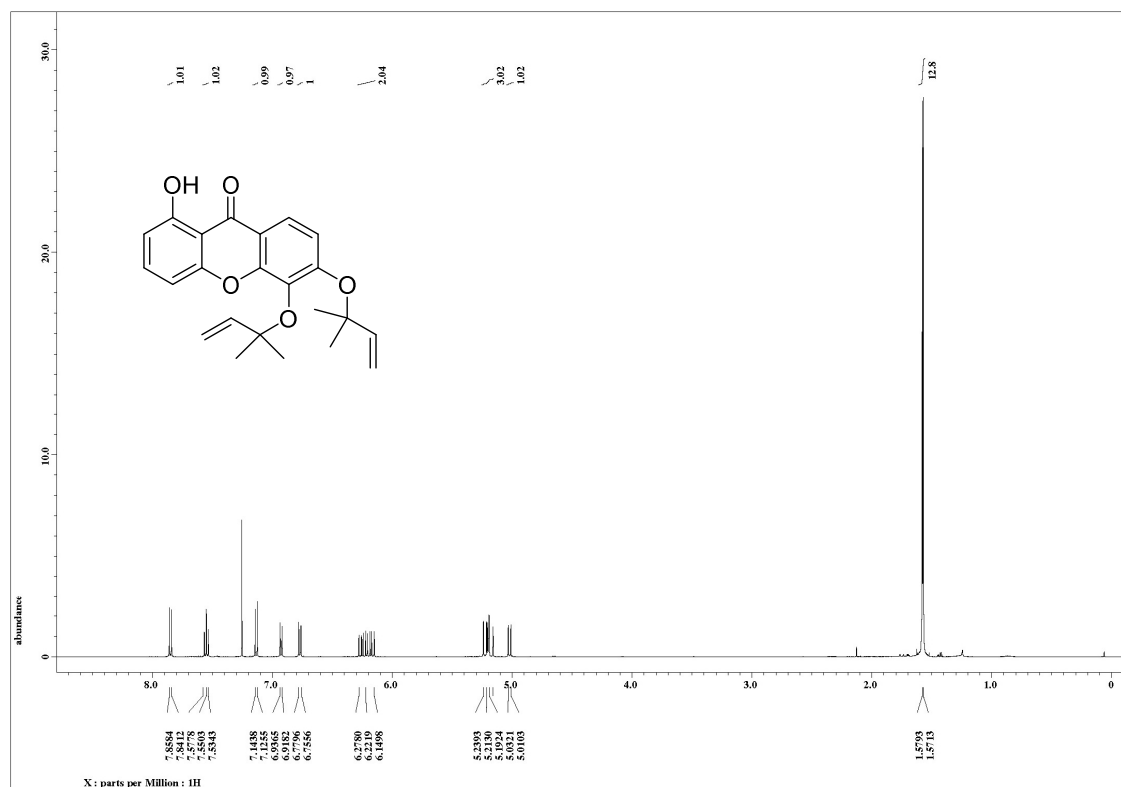


Figura 20 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 26.

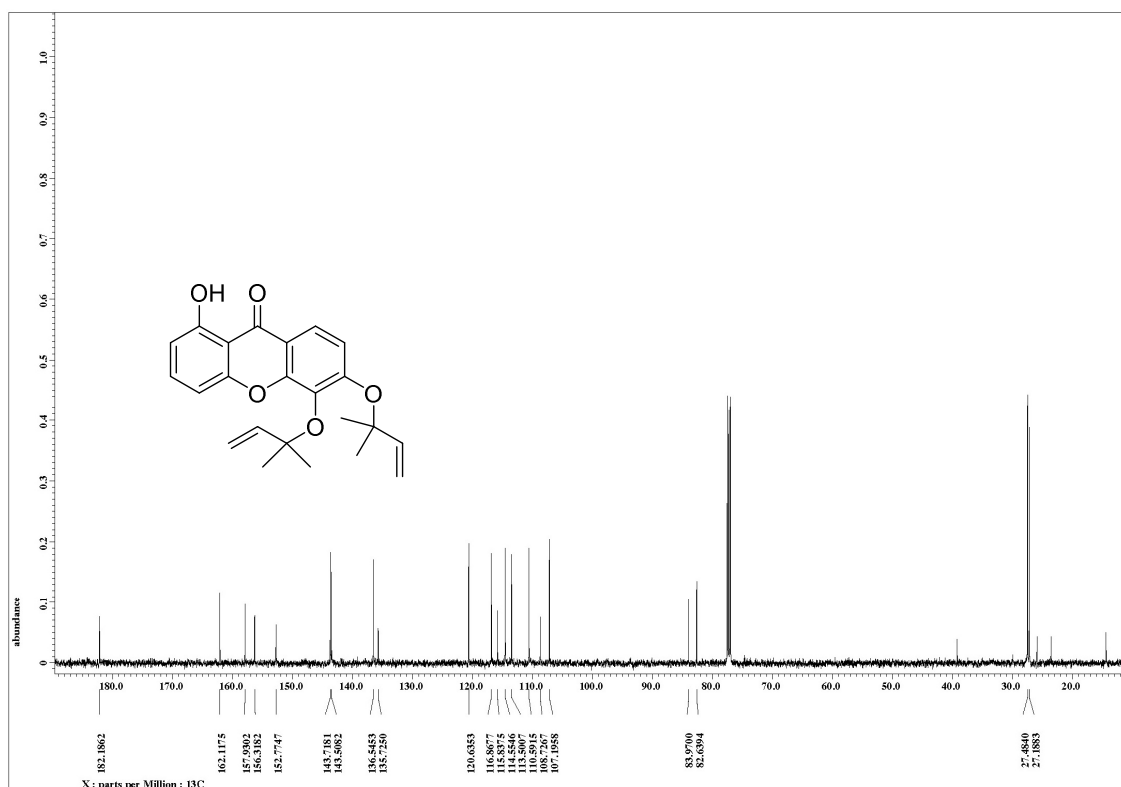
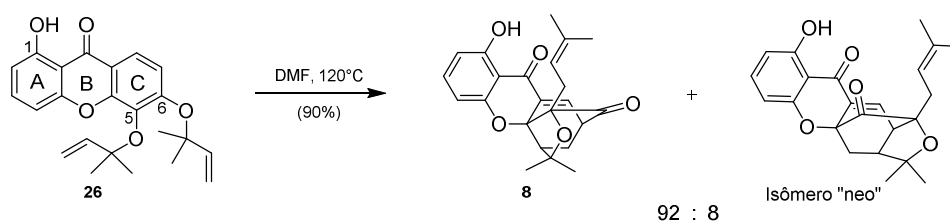


Figura 21 RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de 26.

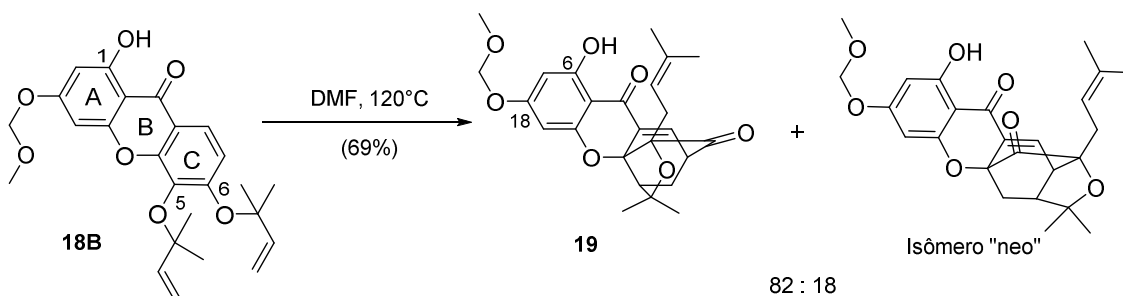
3.4.2.5 Síntese da 6-hidroxi-cluvenona (**8**)

A partir da reação em cascata de Claisen e Diels-Alder da xantona **26** em DMF a 120°C durante duas horas obteve-se a cluvenona **8** em um rendimento de 90% (Esquema 19). Verificou-se a formação dos isômeros “regular” (**8**) e “neo” em uma proporção de 92:8 (proporção observada no espectro de RMN de ^1H do bruto reacional), respectivamente (ELBEL *et al.* 2013).



Esquema 19 Preparação de **8**.

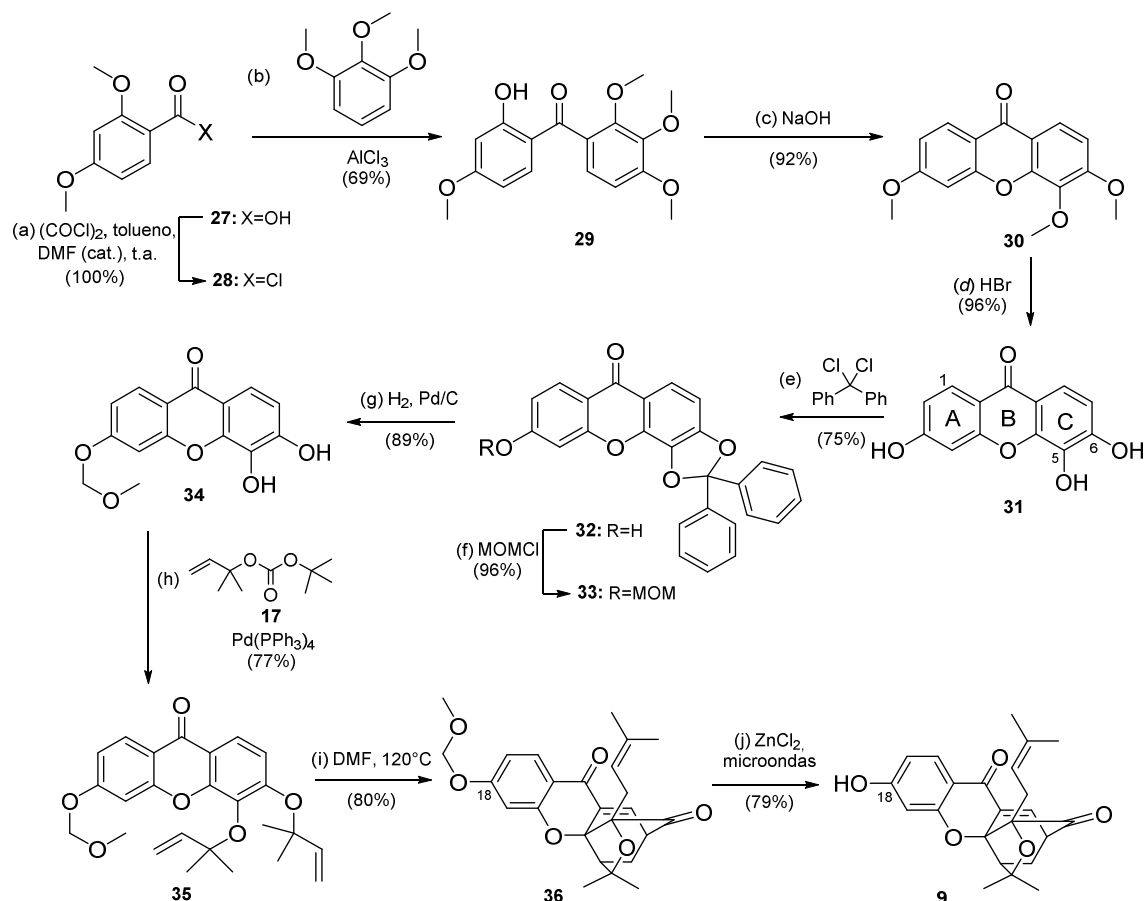
Interessantemente na reação em cascata de Claisen e Diels-Alder para a formação da hidroxiclúvenona **19**, representada no esquema 13 (página 157) e novamente representada no esquema 20, observou-se a formação dos isômeros “regular” (**19**) e “neo” em uma razão de 82:18, respectivamente. Essa diferença de proporção observada nos esquemas 19 e 20 pode ser explicada pela presença do grupo metoximetila em C18 na xantona **18b** (Esquema 20). Tal grupo desfavorece a seletividade para a formação do isômero “regular” por doar densidade eletrônica para a carbonila do anel B, dessa forma contribuindo negativamente para a ruptura seletiva do alil éter em C6.



Esquema 20 Preparação de **19**.

3.4.3 Síntese da 18-hidroxi-cluvenona (9)

A síntese da 18-hidroxi-cluvenona (9) está representada no esquema 21. Nosso grupo de pesquisa reportou previamente a síntese de 9 em dez etapas e rendimento global de 10% (ELBEL *et al.* 2013). Nesse trabalho, a 18-hidroxicluvenona (9) foi sintetizada utilizando o mesmo número de etapas, porém em condições diferentes e rendimento global de 19% (Esquema 21).



Esquema 21 Síntese da 18-hidroxicluvenona (9). Reagentes e condições: (a) (COCl)₂ (7 equiv.), DMF (0,13 equiv.), tolueno, t.a., 30 min, 100%; (b) 1,2,3-Trimetoxibenzeno (1,2 equiv.), AlCl₃ (3 equiv.), Et₂O, 0°C-t.a., 3h, 69 %; (c) NaOH (9,4 equiv.), H₂O, MeOH, refluxo, 48h, 92%; (d) HBr (48%), AcOH, refluxo, 18h, 96%; (e) Ph₂CCl₂ (1,2 equiv.), CH₃CN, irradiação de microondas, 20 min, 180 °C, 75%; (f) MOMCl (2 equiv.), DIPEA (3 equiv.), CH₂Cl₂, t.a., 15 min, 96%; (g) H₂, 10 mol% Pd/C, THF:MeOH (3:1), t.a., 12 h, 89%; (h) Carbonato de tert-butil 2-metilbut-3-en-2-ila (17) (10 equiv.), 10 mol%

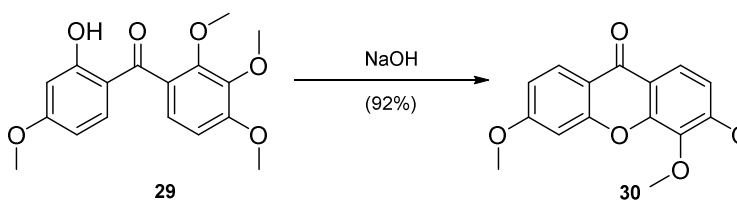
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, THF, 0 °C, 10 min, 77%; (i) DMF, 120°C, 1h, 80%; (j) ZnCl_2 (0,5 mol.L⁻¹ em THF), 110°C, irradiação de microondas, 7h, 79%.

3.4.3.1 Síntese da (2-hidroxi-4-metoxifenil)(2,3,4-trimetoxifenil)metanona (**29**)

A diarilcetona **29** foi preparada sob as mesmas condições publicadas previamente pelo nosso grupo de pesquisa (ELBEL *et al.* 2013). A única alteração está relacionada com as condições utilizadas em (a), na transformação do ácido carboxílico **27** no cloreto de acila **28** (Esquema 21). Na condição previamente publicada utilizou-se cloreto de oxalila (5 mol/equiv.) e DMF catalítico em diclorometano a temperatura ambiente durante 16 horas, obtendo-se o cloreto de acila **28** em rendimento quantitativo. Nesse trabalho esse cloreto de acila foi preparado utilizando cloreto de oxalila (7 mol/equiv.) e DMF catalítico em tolueno a temperatura ambiente durante 30 minutos em rendimento quantitativo (Esquema 21). Posteriormente o cloreto de acila **28** foi submetido a uma acilação de Friedel-Crafts com 1,2,3-trimetoxibenzeno utilizando cloreto de alumínio em éter etílico a 0°C seguido de aquecimento espontâneo até a temperatura ambiente e agitação durante 3 horas, obtendo-se a diarilcetona **29** em 69% de rendimento (Esquema 21).

3.4.3.2 Síntese da 3,5,6-trimetoxi-xantona (**30**)

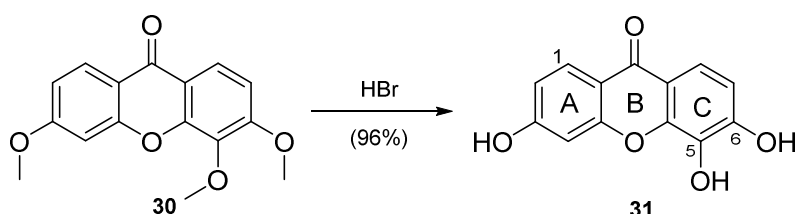
A xantona **30** foi preparada em 92% de rendimento a partir de uma reação de ciclização da diarilcetona **29** na presença de hidróxido de sódio em metanol e água destilada sob refluxo durante 48 horas, conforme previamente descrito (ELBEL *et al.* 2013) (Esquema 22).



Esquema 22 Preparação de **30**.

3.4.3.3 Síntese da 3,5,6-triidroxi-xantona (**31**)

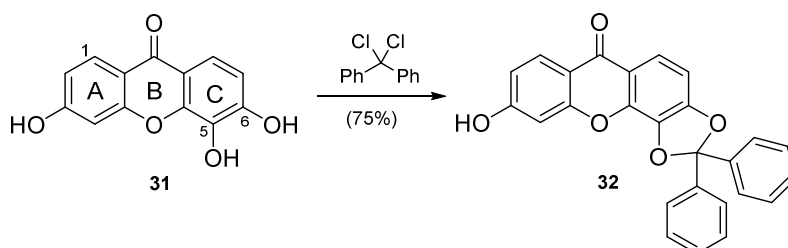
O composto **31** foi obtido em rendimento de 96% a partir da hidrólise ácida dos grupos metoxila da xantona **30** em ácido bromídrico (48%) e ácido acético sob refluxo durante 18 horas, conforme previamente descrito (ELBEL *et al.* 2013) (Esquema 23).



Esquema 23 Preparação de **31**.

3.4.3.4 Síntese da 3-hidroxi-5,6-di-(O)-difenilmetilenodioxixantona (**32**)

A proteção do catecol presente no anel C de **31** com α,α -diclorodifenilmetano em acetonitrila a 180°C sob irradiação de microondas durante 20 minutos conduziu à formação do cetal **32** em 75% de rendimento (Esquema 24). Esse composto foi obtido previamente utilizando α,α -diclorodifenilmetano em difenil éter a 175°C durante 4 horas (ELBEL *et al.* 2013).

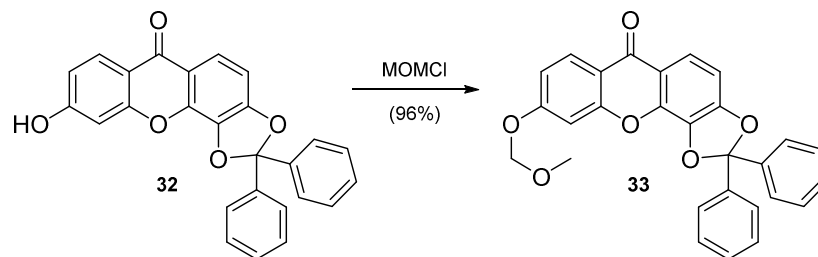


Esquema 24 Preparação de **32**.

3.4.3.5 Síntese da 3-metoximetil-5,6-di-(O)-difenilmetilenodioxixantona (**33**)

O cetal **33** foi obtido em 96% de rendimento a partir da reação do fenol **32** com MOMCl e DIPEA em diclorometano a temperatura ambiente durante 15 minutos (Esquema 25). Esse composto foi obtido previamente utilizando

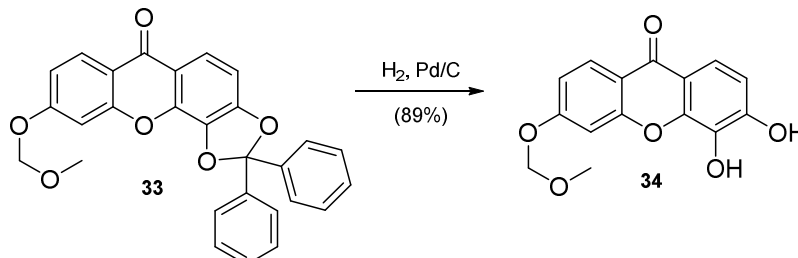
MOMCl e hidreto de sódio em acetona a temperatura ambiente durante 12 horas (ELBEL *et al.* 2013).



Esquema 25 Preparação de **33**.

3.4.3.6 Síntese da 3-metoximetil-5,6-diidroxi-xantona (**34**)

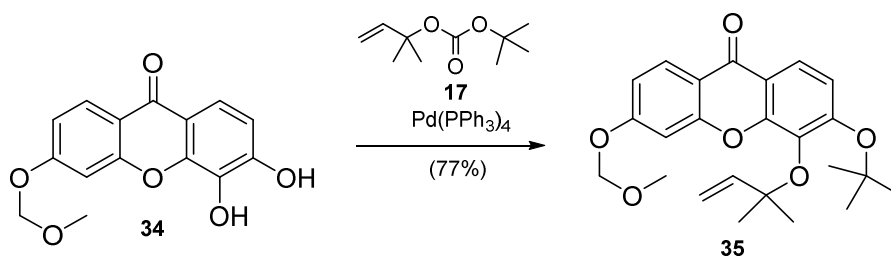
O catecol **34** foi obtido em 89% de rendimento através da hidrogenólise do cetal presente em **33** em uma reação com hidrogênio gasoso e 10 mol% Pd/C em THF:MeOH (3:1) a temperatura ambiente durante 12 horas em um reator de alta pressão (300 bar) (ELBEL *et al.* 2013) (Esquema 26).



Esquema 26 Preparação de **34**.

3.4.3.7 Síntese da 3-metoximetil-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi-xantona (**35**)

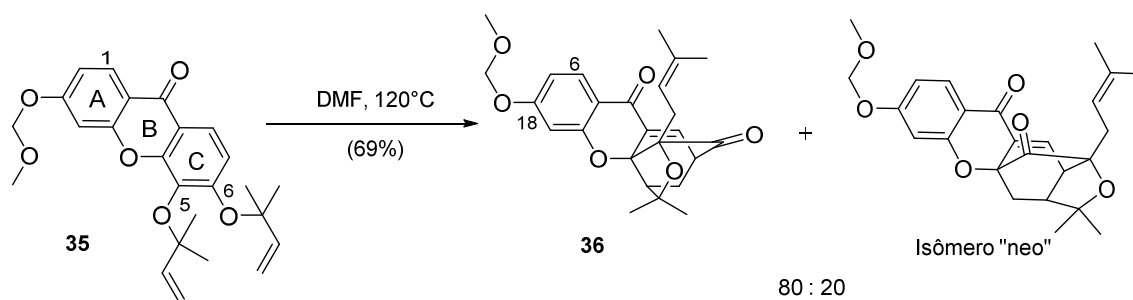
A prenilação reversa catalisada por Pd(0) do catecol **34** com o carbonato **17** em THF a 0 °C durante 10 minutos, conduziu à formação do dialil éter **35** em 77% de rendimento (ELBEL *et al.* 2013) (Esquema 27).



Esquema 27 Preparação de **35**.

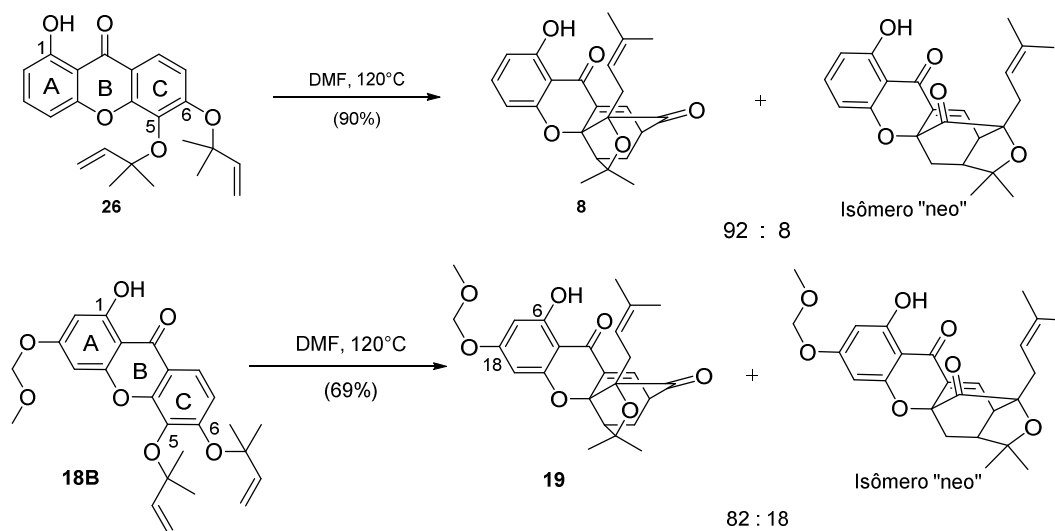
3.4.3.8 Síntese da 18-metoximetil-cluvenona (**36**)

A partir da reação em cascata de Claisen e Diels-Alder da xantona **35** em DMF a 120°C durante duas horas obteve-se a cluvenona **36** em um rendimento de 69% (Esquema 28). Verificou-se a formação dos isômeros “regular” (**36**) e “neo” em uma proporção de 80 : 20, respectivamente (ELBEL *et al.* 2013).



Esquema 28 Preparação de **36**.

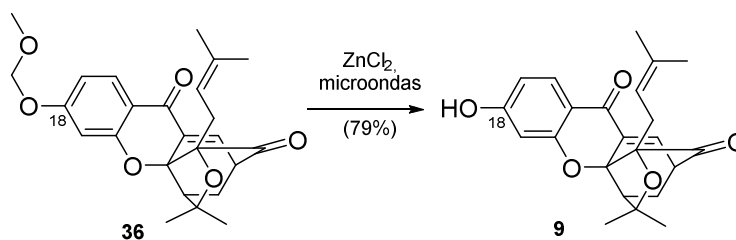
Observa-se uma maior formação do isômero “neo” nessa reação, quando comparada com a razão de isômeros obtida para os derivados da 6-hidroxicluvenona (**8**, esquema 19, página 165) e da 6-18-diidroxicluvenona (**10**, esquema 20, página 165), que estão novamente representados no esquema 29. Essa diferença pode ser explicada pela presença da hidroxila em C1 nas xantonas derivadas da 6-hidroxicluvenona e 6-18-diidroxicluvenona, que através de forte interação de hidrogênio com a carbonila do anel B favorece, no rearranjo de Claisen, a quebra da ligação no alil éter em C6 favorecendo assim a formação do isômero “regular”.



Esquema 29 Preparação de **8** e **19**.

3.4.3.9 Síntese da 18-hidroxi-cluvenona (**9**)

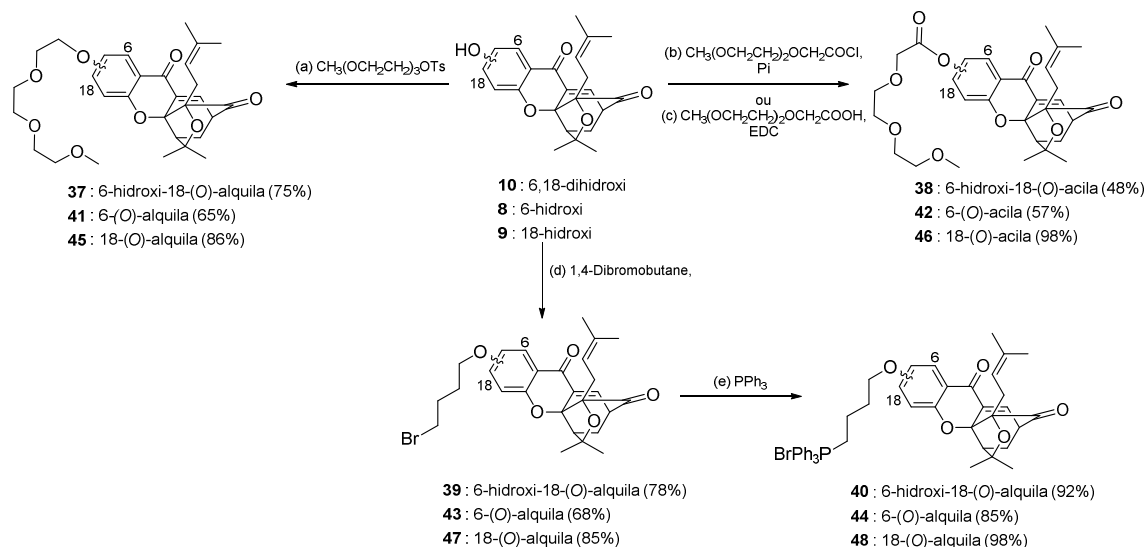
A 18-hidroxi-cluvenona (**9**) foi obtida em 79 % de rendimento a partir da clivagem ácida do grupo metoximetila de **36** em uma reação com cloreto de zinco ($0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ em THF) a 110°C sob irradiação de microondas durante 7 horas (Esquema 30). Em metodologia previamente publicada obteve-se esse composto em 75% de rendimento utilizando cloreto de zinco ($0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ em THF) a 40°C durante 24 horas (ELBEL *et al.* 2013).



Esquema 30 Preparação de **9**.

3.4.4 Síntese dos sais de trifetilfosfônio e compostos hidrofílicos derivados das hidroxiclavenonas **8**, **9** e **10**

O esquema 31 representa a síntese dos sais de trifetilfosfônio e compostos hidrofílicos derivados das hidroxiclavenonas **8**, **9** e **10**.



Esquema 31 Síntese dos derivados das hidroxiclavenonas **8**, **9** e **10**.

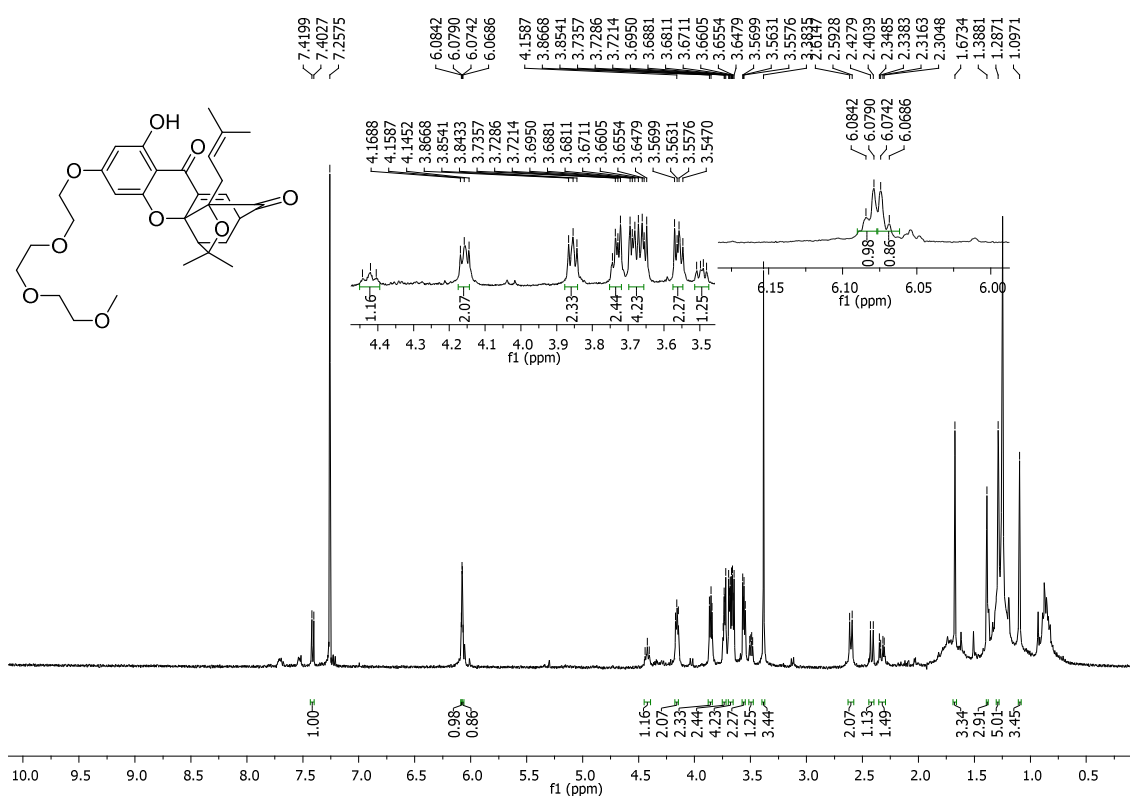
Reagentes e condições: (a) Tosilato de 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etila, K_2CO_3 , DMF, t.a. ou $60^\circ C$, 8-10h; (b) Cloreto de 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)acetila (3 equiv.), CH_2Cl_2 , piridina, t.a., 8 e 1h para **42** e **46**, respectivamente; (c) Ácido 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)acético (1,5 equiv.), EDC.HCl (1,1 equiv.), CH_2Cl_2 , t.a., 22h, 48% para **38**; (d) 1,4-Dibromobutano (5 equiv.), K_2CO_3 (1,5 ou 2 equiv.), DMF, t.a. ou $80^\circ C$, 8h-16h; (e) PPh_3 (5 equiv.), CH_3CN , $150^\circ C$, irradiação de microondas, 2h.

3.4.4.1 Síntese e caracterização de 6-hidroxi-18-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)-clavenona (**37**), 6-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)-clavenona (**41**) e 18-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)-clavenona (**45**)

Os éteres **37**, **41** e **45** foram obtidos em rendimentos de 75, 65 e 86%, respectivamente, a partir de reações de suas respectivas hidroxiclavenonas de partida com o tosilato de 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etila e carbonato de potássio em DMF a temperatura ambiente (para os compostos **37** e **45**) ou $60^\circ C$ (para o

compostos **41**) durante 8-10 horas (Esquema 31). Sob essas condições obteve-se uma seletiva alquilação na hidroxila em C18 na reação da di-hidroxicluvenona **10** devido à diferença de acidez entre os hidrogênios das hidroxilas. Devido à semelhança estrutural entre esses compostos, será discutida apenas a caracterização do éter **37**.

No espectro de RMN de ^1H de **37** (Figura 22) foi evidenciada a alquilação pela presença de um simpleto em δ 3,40 referente aos três hidrogênios metílicos do grupo trietilenoglicol, além de sinais entre δ 3,56 e 4,16 correspondentes aos doze hidrogênios metilênicos desse grupo. Observam-se também todos os sinais referentes aos hidrogênios da unidade cluvenona.



aos carbonos do grupo trietilenoglicol, além de todos os sinais referentes aos carbonos da unidade cluvenona.

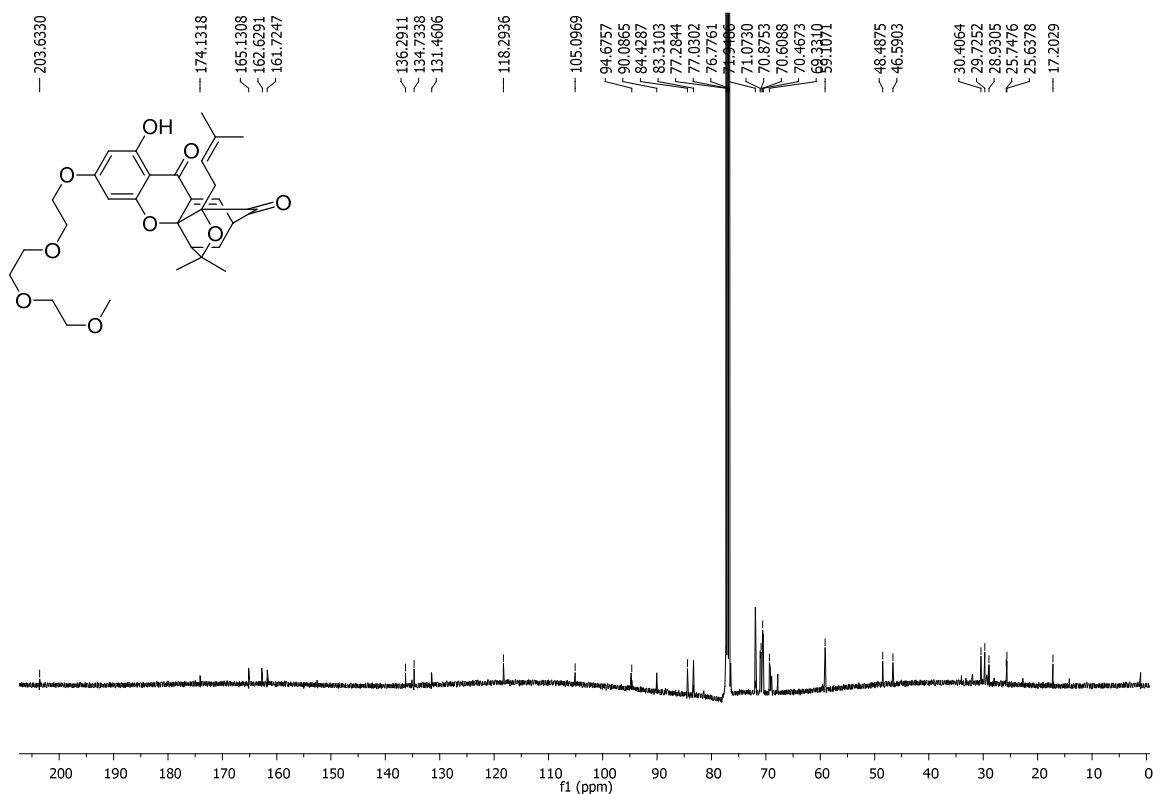
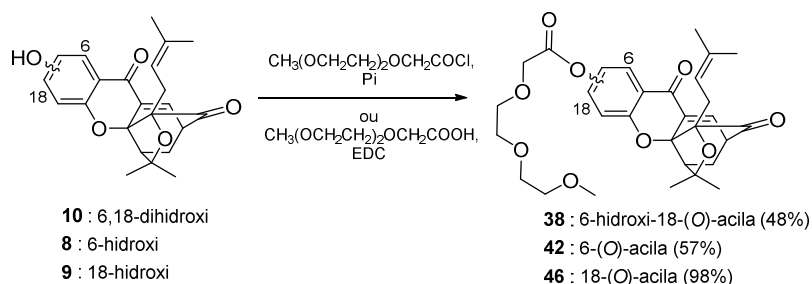


Figura 23 RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **37**.

3.4.4.2 Síntese e caracterização de 6-hidroxi-18-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)cluvenona (**38**), 6-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)cluvenona (**42**) e 18-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)cluvenona (**46**)

Os ésteres **42** e **46** foram obtidos em 57 e 98% de rendimento a partir da reação das suas hidroxiclúvenonas precursoras em uma reação com cloreto de 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)acetila e piridina em diclorometano durante 8 e 1 hora, respectivamente (Esquema 32). O éster **38** foi obtido em 48% através da reação de sua hidroxiclúvenona precursora com EDC em diclorometano a temperatura ambiente durante 22 horas (Esquema 32). Optou-se por utilizar essa metodologia de esterificação para essa hidroxiclúvenona, por ser uma metodologia que utiliza condições mais brandas e poder conduzir a uma maior regioseletividade.



Esquema 32 Preparação de **38**, **42** e **46**.

Devido à semelhança estrutural entre essas substâncias, será discutida apenas a caracterização do éster **38**. No espectro de RMN de ^1H de **38** (Figura 24) foi evidenciada a esterificação pela presença de dois simpletos em δ 3,39 e 4,41 referentes aos três hidrogênios metílicos e aos hidrogênios metilênicos ligados ao carbono α -carbonílico do grupo trietilenoglicol, além de sinais entre δ 3,55 e 3,83 correspondentes aos outros oito hidrogênios metilênicos desse grupo. Observam-se também todos os sinais referentes aos hidrogênios da unidade cluvenona. Evidenciou-se que a esterificação ocorreu na hidroxila em C18 devido à presença do hidrogênio de C6-OH em δ 12,28.

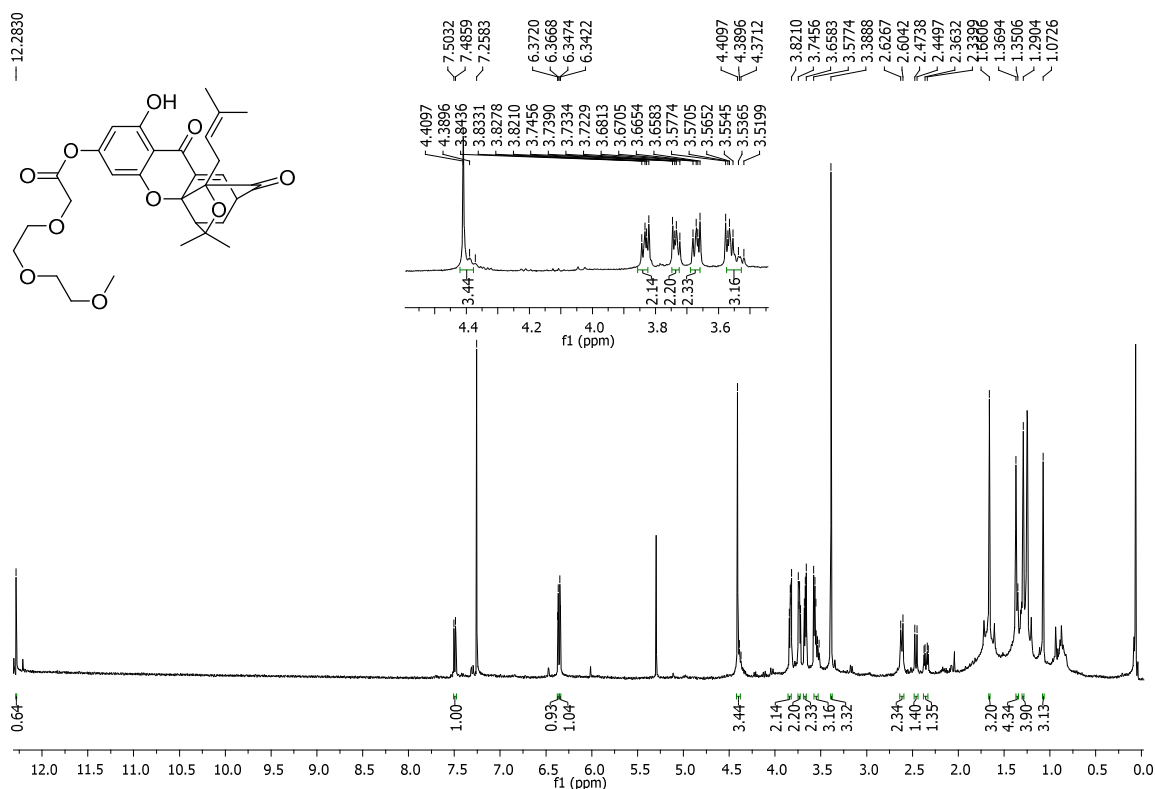


Figura 24 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **38**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **38** (Figura 25) foi evidenciada a esterificação pela presença de seis sinais entre δ 59,3 e 72,1 correspondentes aos carbonos metílicos e metilênicos do grupo trietilenoglicol, a presença de três sinais de carbonila em δ 168,2, 180,6 e 202,7, além de todos os outros sinais referentes aos carbonos da unidade cluvenona.

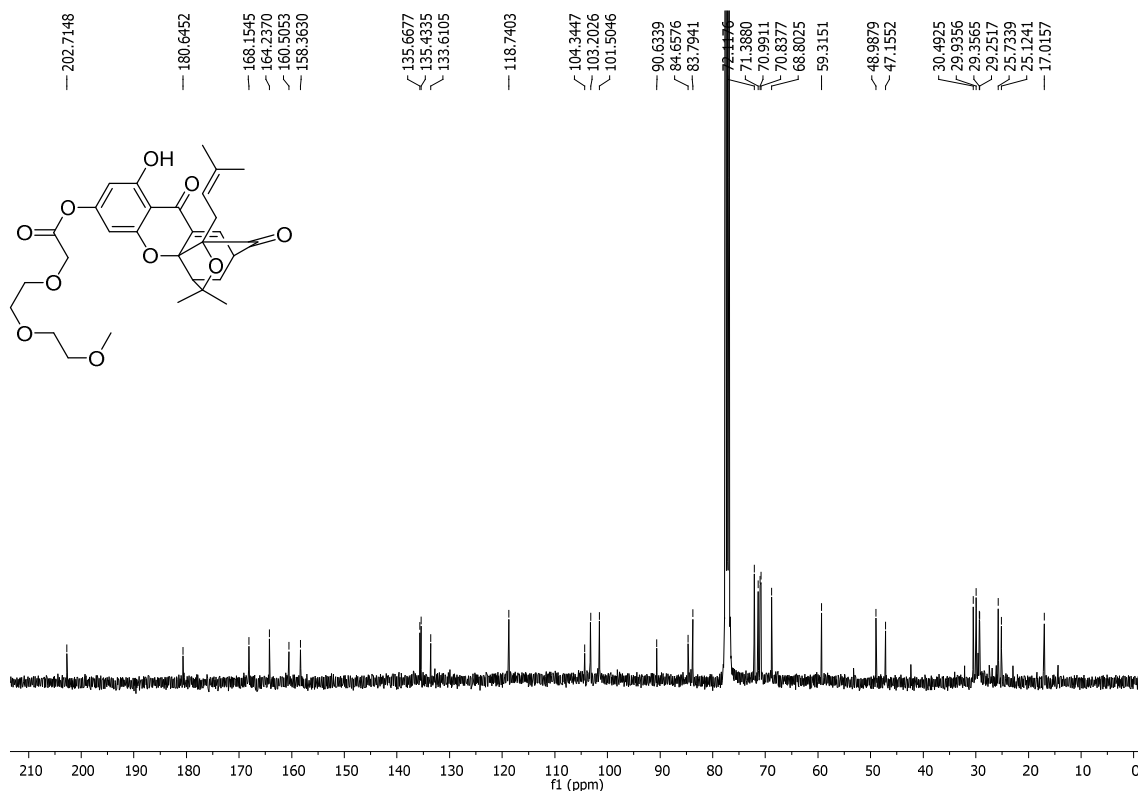
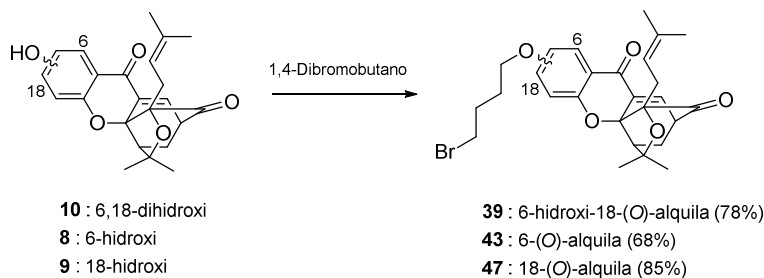


Figura 25 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **38**.

3.4.4.3 Síntese e caracterização de 6-hidroxi-18-(4-bromobutoxi)-cluvenona (**39**), 6-(4-bromobutoxi)-cluvenona (**43**) e 18-(4-bromobutoxi)-cluvenona (**47**)

Os brometos de alquila **39**, **43** e **47** foram obtidos em 78, 68 e 85% de rendimento, respectivamente, a partir da alquilação de suas respectivas hidroxiclúvenonas de partida utilizando excesso de 1,4-dibromobutano e carbonato de potássio em DMF a temperatura ambiente ou 80°C durante 8-16 horas (Esquema 33).



Esquema 33 Preparação de **39**, **43** e **47**.

Devido à semelhança estrutural desses éteres, será discutida apenas a caracterização do composto **39**. A alquilação desse composto foi evidenciada pelo espectro de RMN de ^1H (Figura 26) pela presença de dois multipletos em δ 1,97-2,00 e 2,05-2,08 e dois tripletos ($J = 6,0$ Hz) em δ 3,49 e 4,04 correspondentes aos oito hidrogênios metilênicos da porção alquila introduzida. No seu espectro de RMN de ^{13}C (Figura 27) foi evidenciada a alquilação pela presença de um sinal em δ 67,5 referente ao carbono oxigenado da cadeia alquila introduzida, além de três sinais adicionais, comparado com o espectro de **10**, na região próxima do TMS, correspondentes aos outros três carbonos da unidade alquila.

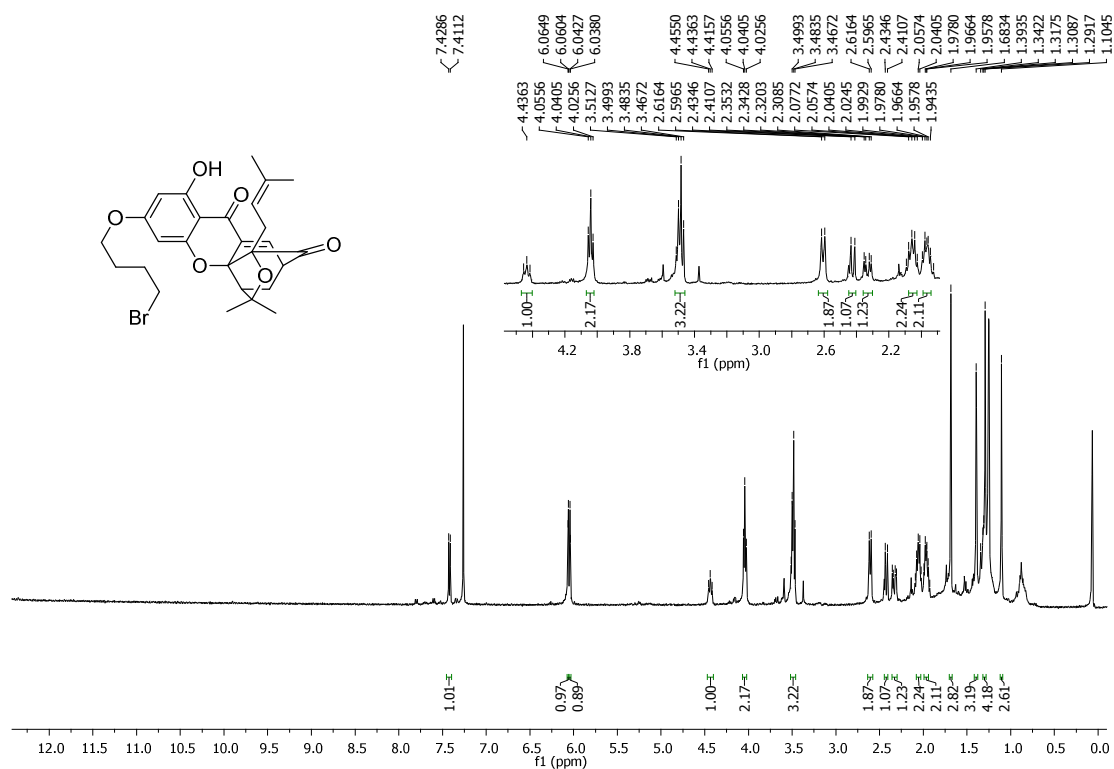


Figura 26 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **39**.

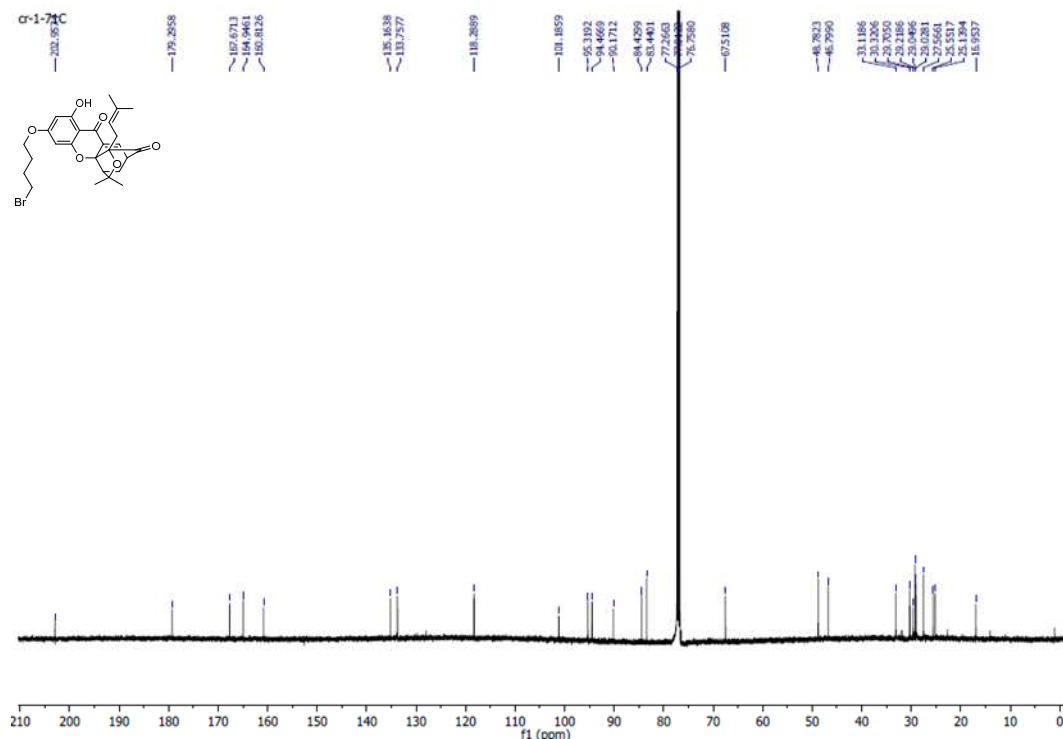
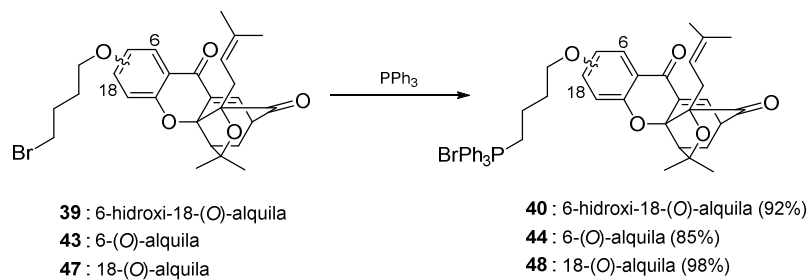


Figura 27 RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **39**.

3.4.4.4 Síntese e caracterização de 6-hidroxi-18-(4-(bromotrifeníl-fosfanil)butoxi-cluvenona (**40**), 6-(4-(bromotrifeníl-fosfanil)butoxi-cluvenona (**44**) e 18-(4-(bromotrifeníl-fosfanil)butoxi-cluvenona (**48**)

Os sais de trifenílfosfônio **40**, **44** e **48** foram sintetizados a partir da reação dos seus respectivos brometos de alquila de partida com trifenílfosfina em acetonitrila a 150°C sob irradiação de microondas durante 2 horas (Esquema 34).



Esquema 34 Preparação de **40**, **44** e **48**.

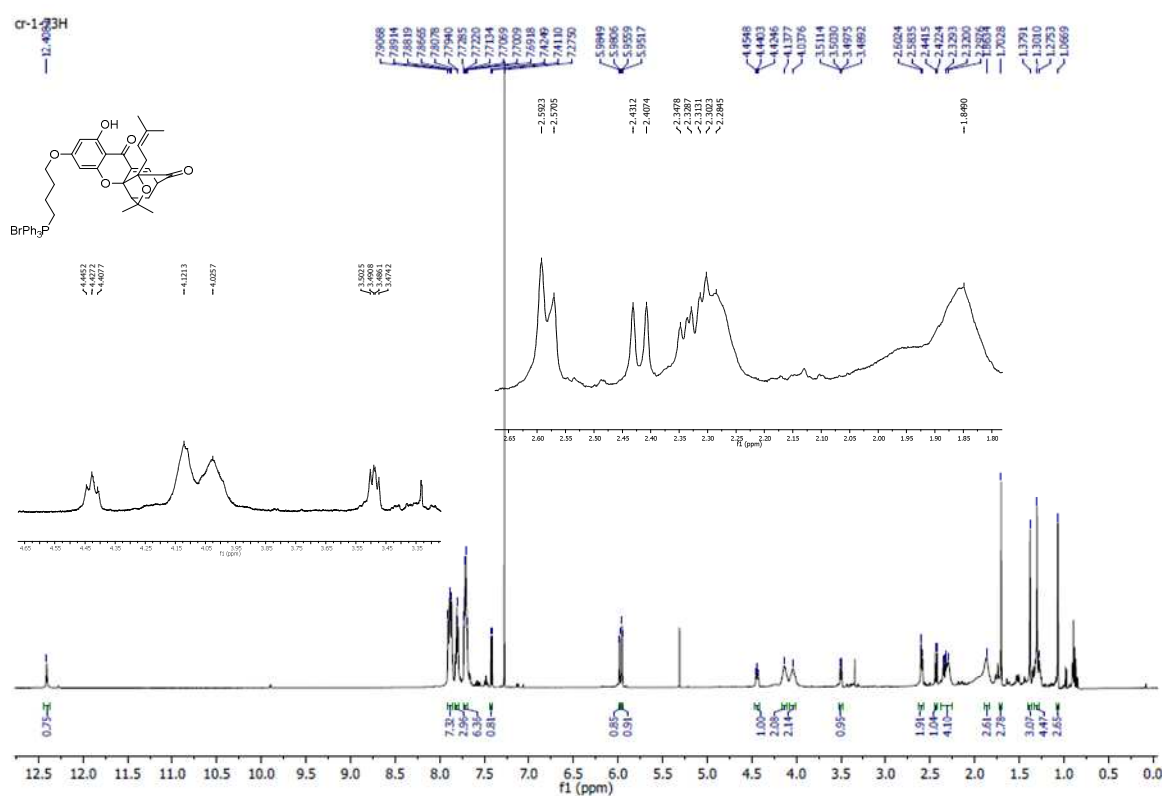


Figura 28 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **40**.

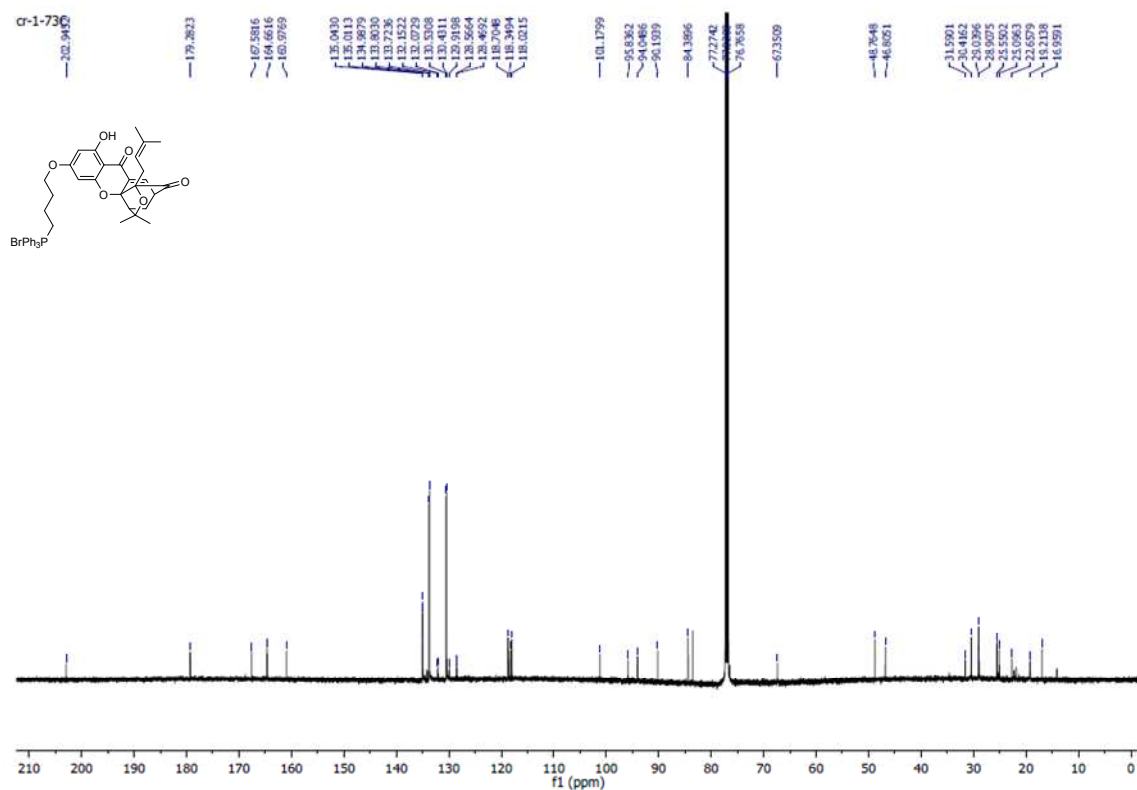
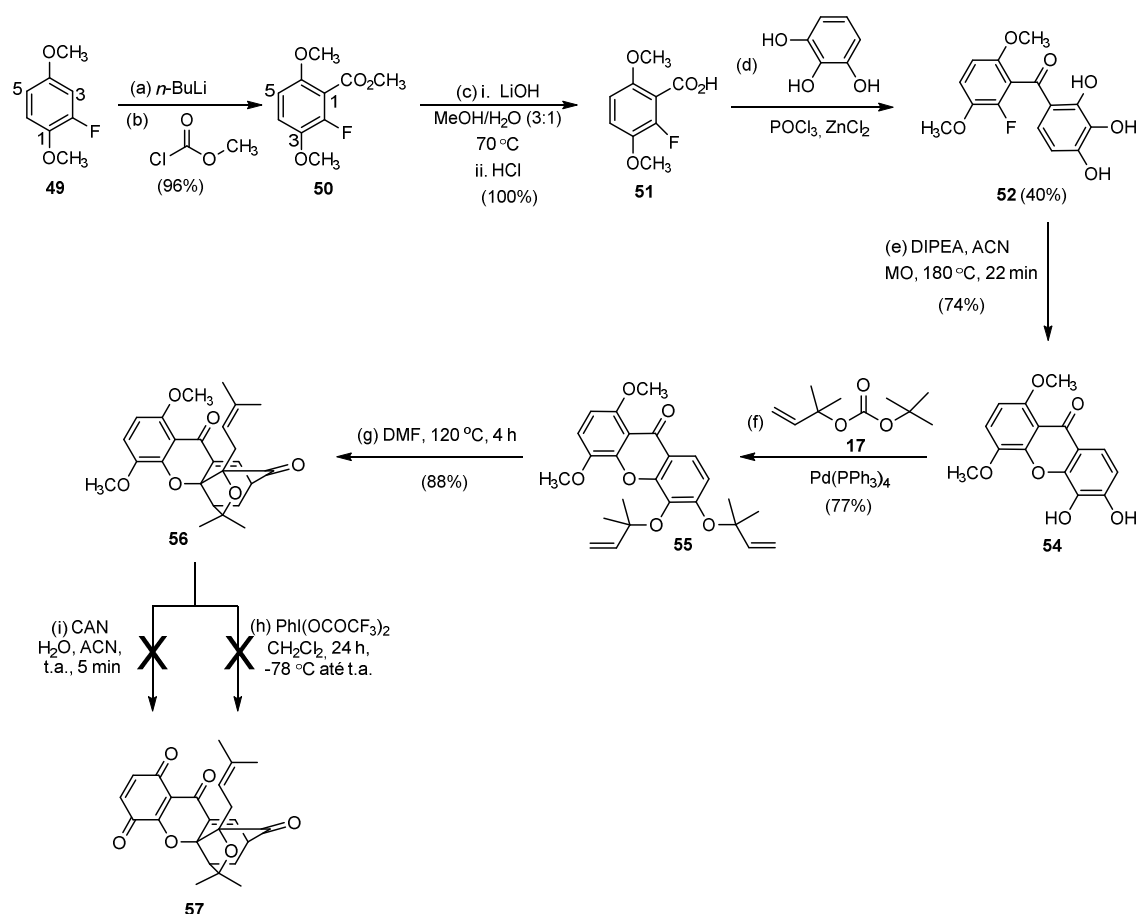


Figura 29 RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **40**.

Devido à semelhança estrutural entre esses compostos, será discutida apenas a caracterização do composto **40**. No espectro de RMN de ^1H de **40** (Figura 28) observam-se três multipletos entre δ 7,69 e 7,90 referentes aos quinze hidrogênios aromáticos do grupo trifenilfosfônio, evidenciando a formação do composto desejado. Observam-se também todos os demais sinais observados no intermediário **39**. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 29) observam-se a presença de seis sinais intensos entre δ 130,0 e 135,0 correspondentes aos carbonos aromáticos da unidade trifenilfosfônio, além de todos os sinais referentes aos carbonos presentes no intermediário **39**.

3.4.5 Síntese da *p*-benzoquinona **57**

O esquema 35 representa a primeira tentativa de obtenção da *p*-benzoquinona **57**.



Esquema 35 Tentativa de síntese da *p*-quinona **57**. Reagentes e condições: (a) 1,6 mol.L⁻¹ *n*-BuLi (1,2 mol/equiv.), THF, 1 h, -78 °C; (b) ClCO₂CH₃ (1,2 mol/equiv.), THF, 4 h, -78 °C, 96%; (c) LiOH (5 mol/equiv.), MeOH:H₂O (3:1), 1,5 h, 70 °C, 100%; (d) 1,2,3-triidroxibenzeno (1 mol/equiv.), POCl₃ (27

mol/equiv.), ZnCl₂ (10 mol/equiv.), 2,5 h, 65 °C, 40%; (e) DIPEA (5 mol/equiv.), CH₃CN, microondas, 22 min, 180 °C, 74%; (f) **17** (10 mol/equiv.), 10 mol% Pd(PPh₃)₄, THF, 24 h, 0 °C, 77%; (g) DMF, 4 h, 120 °C, 88%; (h) CAN (2 mol/equiv.), H₂O, CH₃CN, t.a., 5 min (decomposição); (i) PhI(OCOCF₃)₂ (1,2 mol/equiv.), CH₂Cl₂, 24 h, -78 °C até t.a. (não houve reação).

3.4.5.1 Síntese e caracterização do 2-fluoro-3,6-dimetoxibenzoato de metila (**50**)

O éster **50** foi obtido em 96% de rendimento através de uma reação de metoxicarbonilação no carbono orto ao flúor do composto **49**, inicialmente pela orto metalação com a adição de *n*-BuLi (1,6 mol.L⁻¹) em THF a -78°C durante 1 hora, seguido da adição de cloroformato de metila e agitação por 4 horas nessa mesma temperatura (Esquema 35).

Reações de orto metalação são influenciadas por vários fatores, dentre eles, a natureza do organolítio e substratos utilizados, solvente, temperatura e condições anidras (SNIECKUS, 1990). Os grupos substituintes dos aromáticos envolvidos em reações de orto metalação influenciam na regioseletividade através do efeito indutivo (aumentando a acidez do hidrogênio em orto) e através da capacidade de complexação com organolítio (aproximando o organolítio do hidrogênio a ser envolvido na reação). Efeitos estéreos desses grupos influenciam negativamente para a reação de orto metalação (SNIECKUS, 1990). Esperava-se na reação de orto metalação de **49**, a substituição no carbono 3 devido a presença do flúor em orto, influenciando positivamente com o efeito indutivo, e a presença da metoxila também em orto, influenciando positivamente com a capacidade de complexar com o *n*-BuLi.

No espectro de RMN de ¹H de **50** (Figura 30) observam-se um tripleto (*J* = 9,2 Hz) em δ 6,94 e um duplete duplo (*J* = 9,2 e 1,5 Hz) em δ 6,59 referentes a H4 e H5 respectivamente, além de três simpletos em δ 3,90, 3,81 e 3,77 correspondentes aos nove hidrogênios metílicos. No espectro de RMN de ¹³C (Figura 31) observam-se seis dupletos entre δ 150,9 e 106,1 correspondentes a C1 a C-6, um sinal em δ 164,0 referente ao carbono carbonílico, além de três sinais entre δ 57,0 e 52,6 correspondentes aos carbonos metílicos.

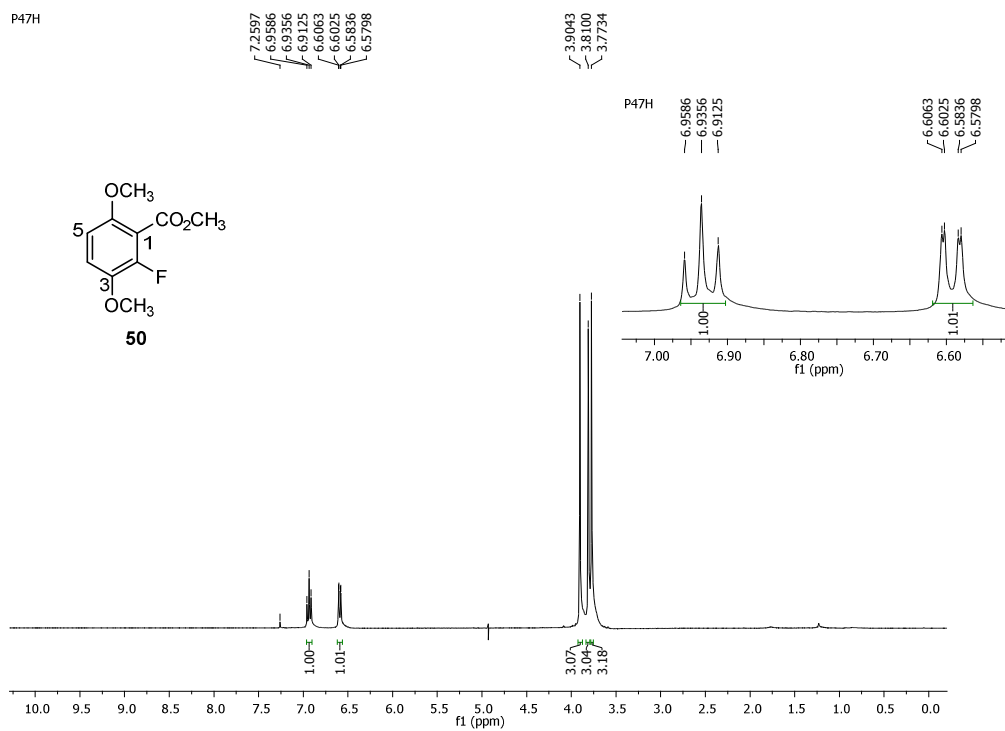


Figura 30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 50.

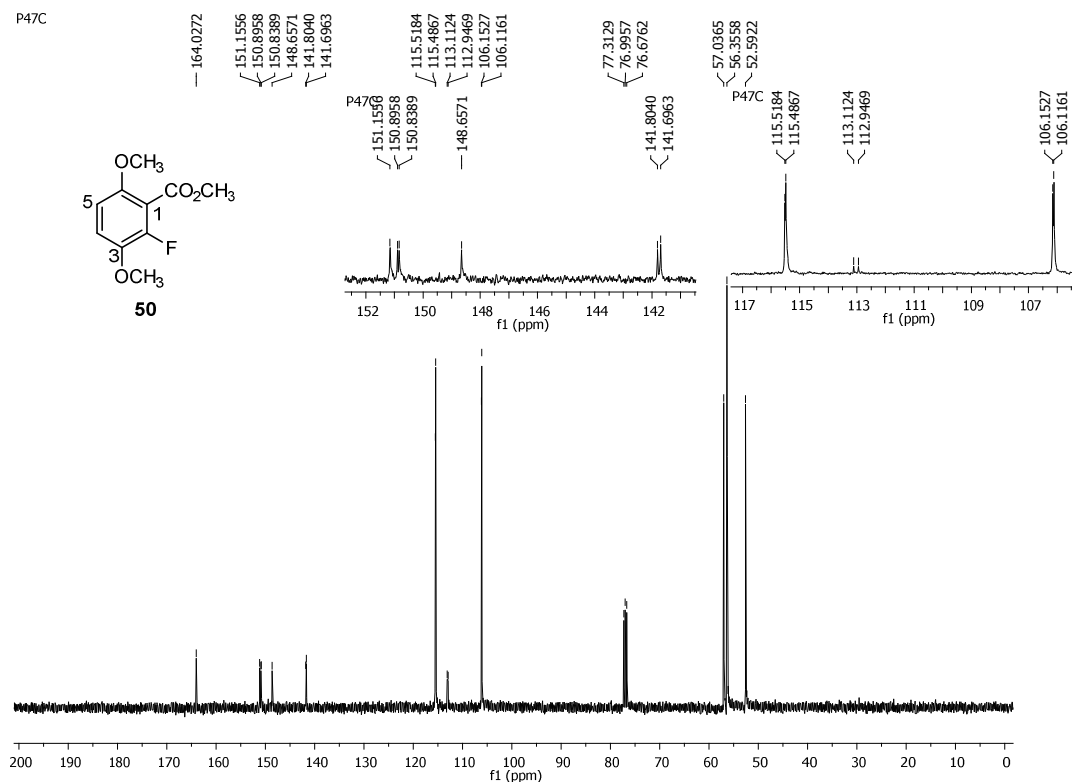
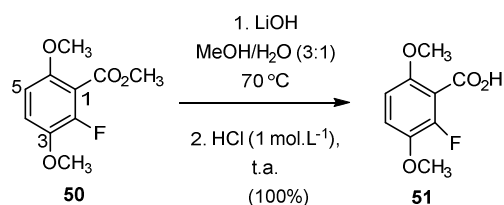


Figura 31 RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de 50.

3.4.5.2 Síntese e caracterização do ácido 2-fluoro-3,6-dimetoxibenzóico (**51**)

O ácido carboxílico **51** foi obtido em rendimento quantitativo através de uma hidrólise básica do éster **50** com hidróxido de lítio em metanol e água destilada a 70°C durante 1,5 horas, seguido de acidificação com ácido clorídrico 1 mol.L⁻¹ até pH=2 (Esquema 36).



Esquema 36 Preparação de **51**.

No espectro de RMN de ¹H de **51** (Figura 32) evidenciou-se a clivagem do éster metílico pela ausência de um smpgletto referente aos seus hidrogênios metílicos, além da presença de um sinal largo em δ 10,24 referente ao hidrogênio da carboxila. Observam-se também todos os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e metílicos desse composto.

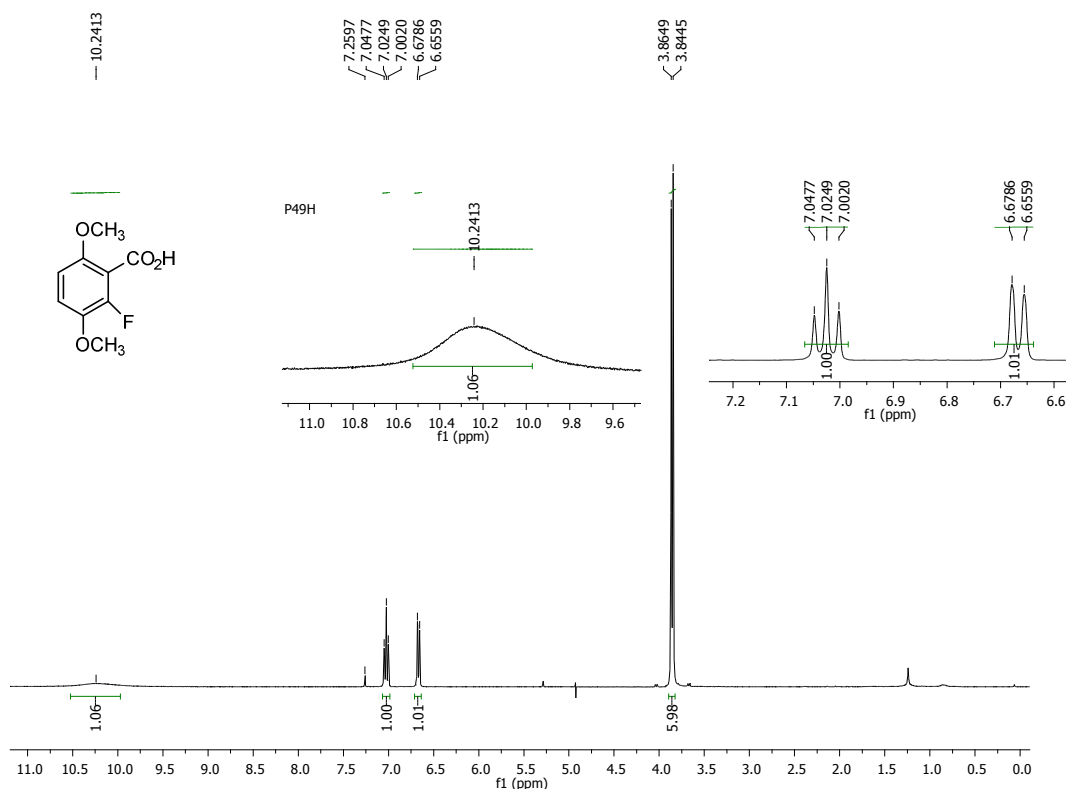


Figura 32 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de **51**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 33) evidenciou-se a clivagem devido à ausência de um sinal correspondente ao carbono metílico do éster metílico, além da desblindagem observada para o sinal da carbonila de δ 164,0 no éster, para δ 167,5 no ácido carboxílico. Observam-se também todos os demais sinais referentes aos carbonos aromáticos e metílicos desse composto.

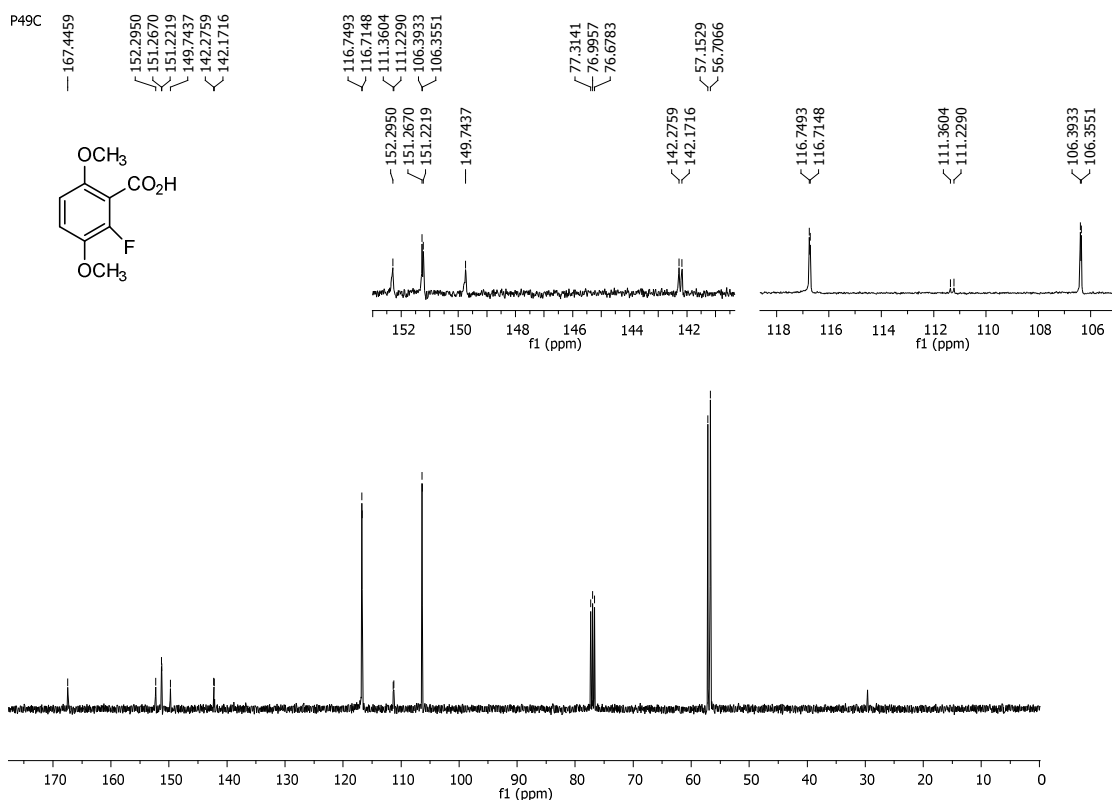
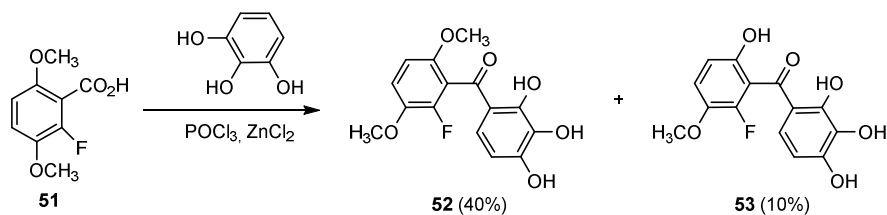


Figura 33 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **51**.

3.4.5.3 Síntese e caracterização do (2-fluoro-3,6-dimetoxifenil)(2,3,4-triidroxifenil)metanona (**52**)

A partir de uma reação de acilação do ácido carboxílico **51** com o 1,2,3-triidroxibenzeno e cloreto de zinco em tricloreto de fosforila a 65°C durante 2,5 horas obteve-se a diarilcetona desejada **52** em 40% de rendimento (Esquema 37). Observou-se nessa reação a formação da cetona **53** em 10% de rendimento, formada a partir da hidrólise ácida da metoxila orto à carbonila em **52**. Acredita-se que essa clivagem ocorreu devido à formação de ácido clorídrico e água durante a reação de acilação.



Esquema 37 Preparação de 52.

No espectro de RMN de ^1H de **52** (Figura 34) observam-se três simples em δ 12,3, 6,03 e 5,62 referentes aos hidrogênios das hidroxilas e um tripleto ($J = 9,2$ Hz) e um duplo duplo ($J = 9,2$ e $1,7$ Hz) correspondentes aos dois hidrogênios presentes no anel aromático fluorado. Observam-se também dois dupletos ($J = 8,7$ Hz) em δ 6,86 e 6,45 referentes aos dois hidrogênios aromáticos do outro anel e dois singletos em δ 3,73 e 3,88 correspondentes aos seis hidrogênios metílicos.

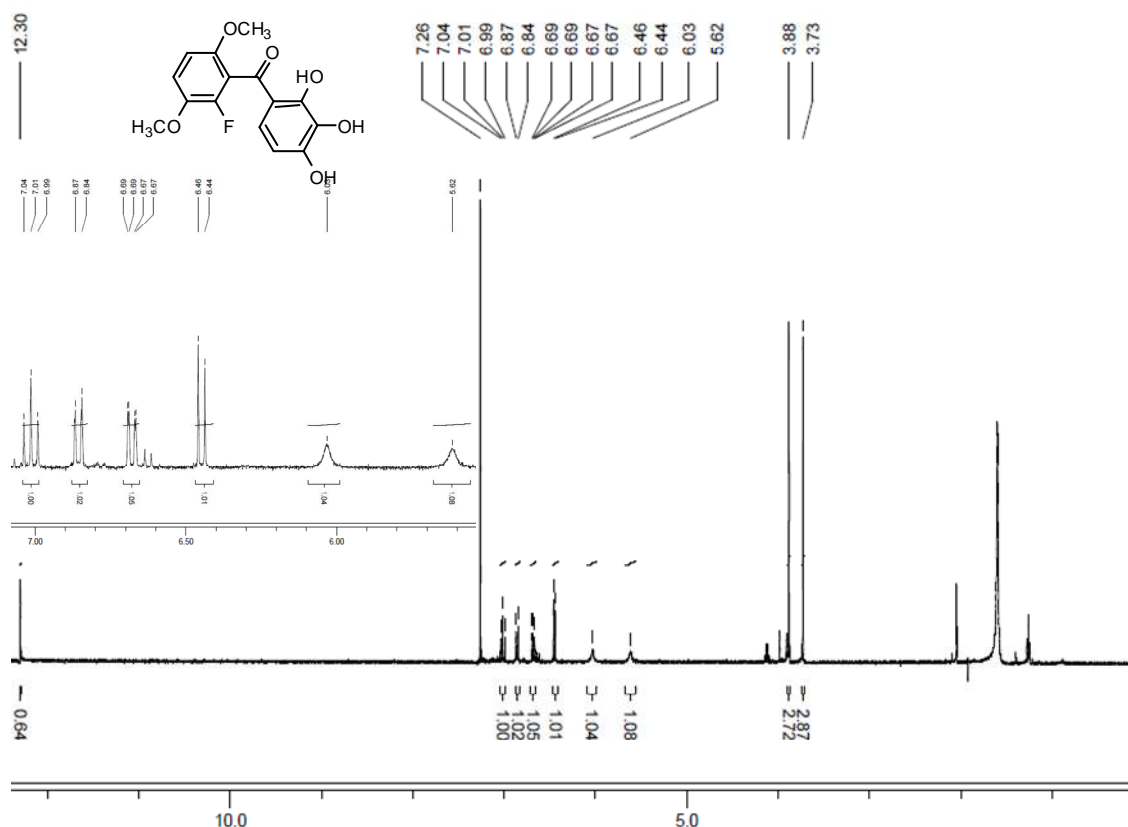


Figura 34 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **52**.

No espectro de RMN de ^{13}C de **52** (Figura 35) observam-se seis dupletos e seis singletos entre δ 154,7 e 108,6 correspondentes aos doze carbonos aromáticos, um sinal em δ 197,1 referente ao carbono carbonílico e dois sinais em δ 58,1 e 57,7 correspondentes aos dois carbonos metílicos.

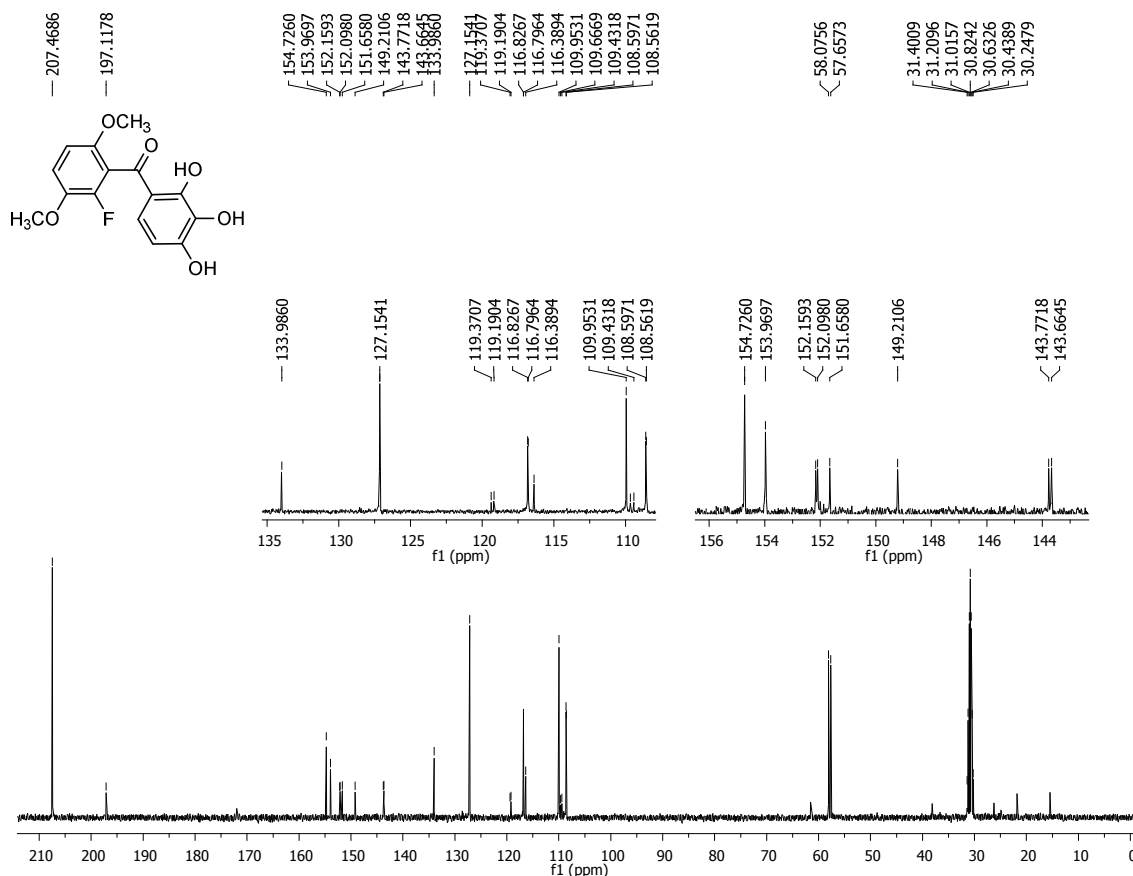
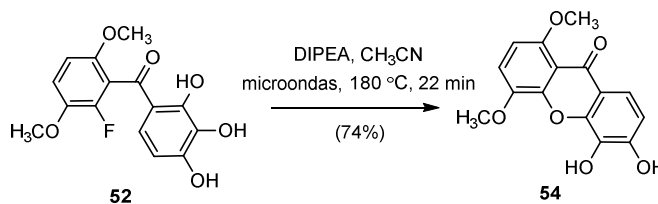


Figura 35 RMN ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6) de **52**.

3.4.5.4 Síntese e caracterização do 5,6-dihidroxi-1,4-dimetoxi-xantona (**54**)

A xantona **54** foi obtida em 74% de rendimento através da reação de ciclização da diarilcetona **52** com DIPEA em acetonitrila a 180°C sob irradiação de microondas durante 22 minutos (Esquema 38).



Esquema 38 Preparação de **54**.

No espectro de RMN de ^1H de **54** (Figura 36) observam-se quatro dupletos entre δ 7,44 e 6,82 referentes aos quatro hidrogênios aromáticos além de dois simples em δ 3,89 e 3,79 correspondentes aos seis hidrogênios metílicos.

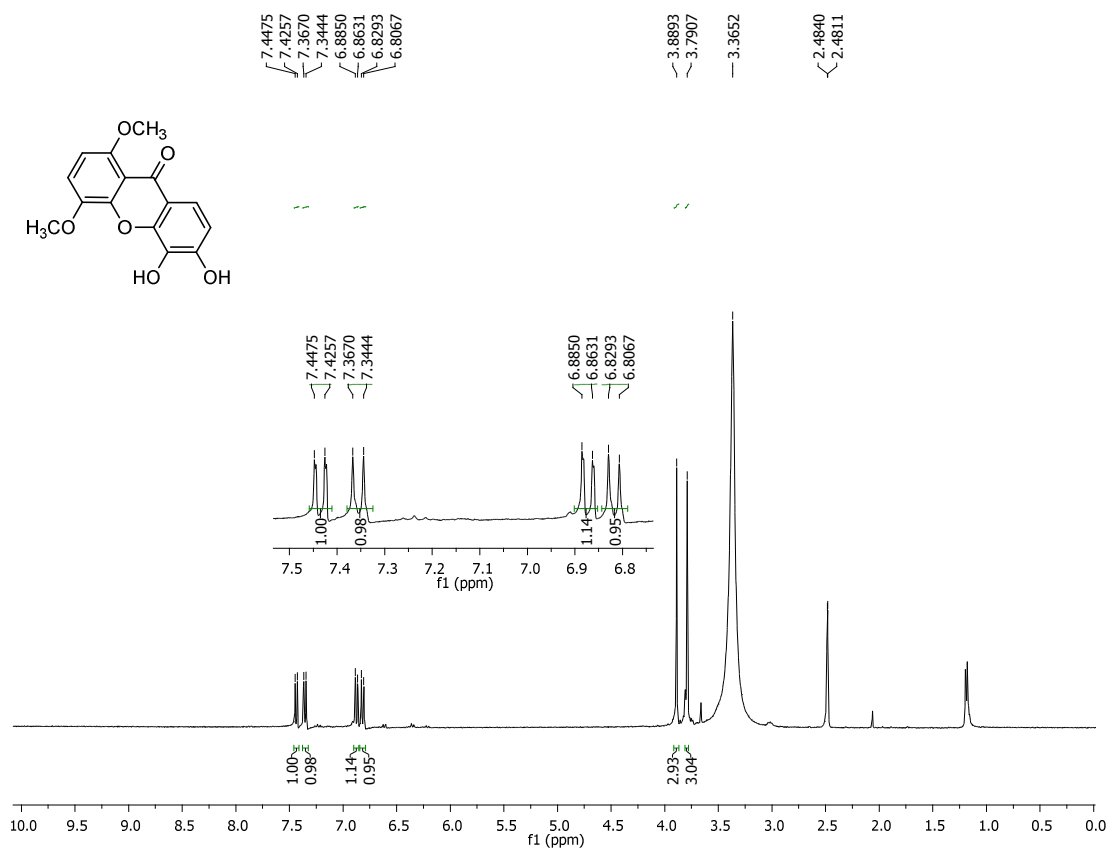


Figura 36 RMN ^1H (400 MHz, DMSO) de **54**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 37) observam-se um sinal em δ 175,0 referente ao carbono carbonílico, doze sinais entre δ 153,4 e 105,5 correspondentes aos doze carbonos aromáticos, além de dois sinais em δ 56,9 e 56,6 referentes aos dois carbonos metílicos.

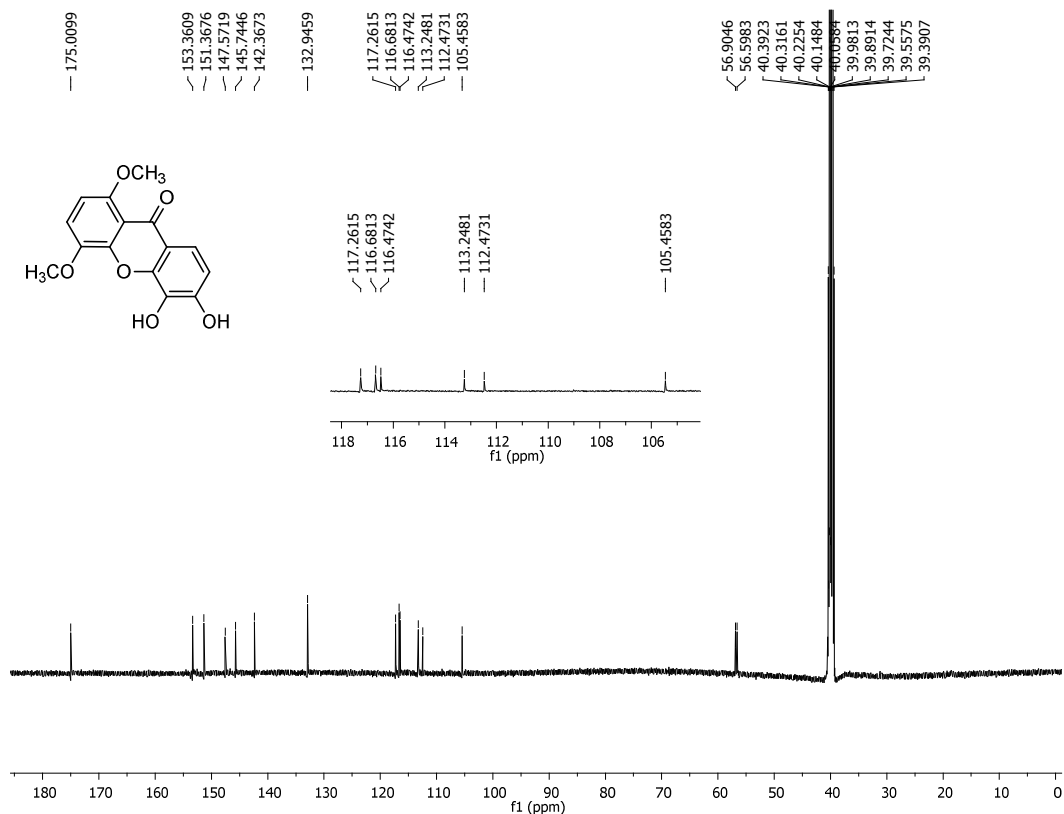
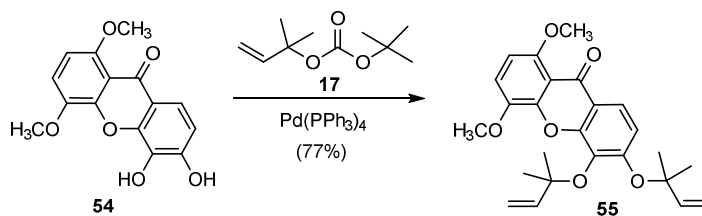


Figura 37 RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO) de **54**.

3.4.5.5 Síntese e caracterização do 1,4-dimetoxi-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi-xantona (**55**)

O dialiléter **55** foi obtido em 77% de rendimento a partir da prenilação das hidroxilas de **54** utilizando Pd(0) catalítico em THF a 0°C durante 24 horas (Esquema 39).



Esquema 39 Preparação de **55**.

A dialilação foi evidenciada no espectro de RMN de ^1H (Figura 38) pela presença de dois dupletos duplos ($J = 10,9$ e $17,6$ Hz) em δ 6,41 e 6,19 referentes aos dois hidrogênios metílicos das olefinas, dois simpletos em δ 1,55

e 1,61 referentes aos doze hidrogênios metílicos dos grupos alila, além de um duplete ($J = 10,9$ Hz) em $\delta 4,97$ e um multipeto em $\delta 5,13-5,21$ correspondentes aos quatro hidrogênios metilênicos dos dois grupos alila. Observam-se também todos os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos e aos demais hidrogênios metílicos desse composto.

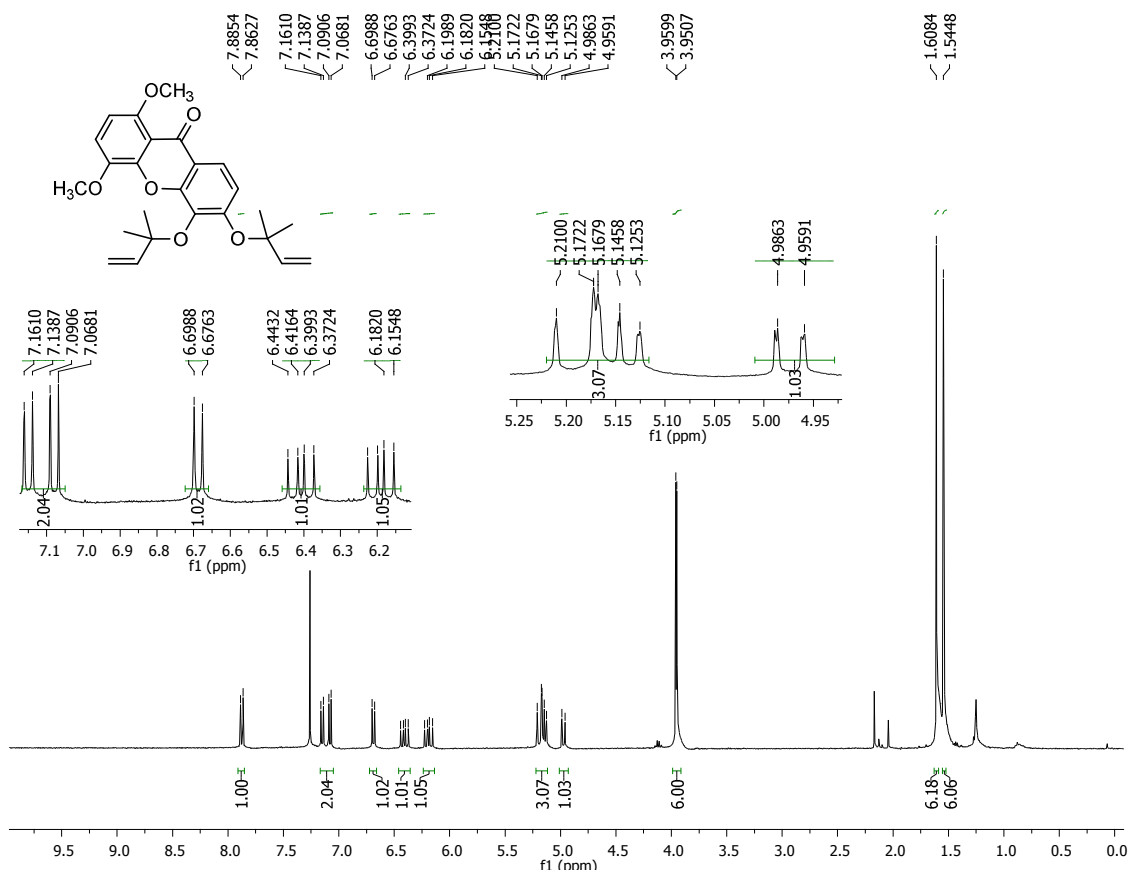


Figura 38 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **55**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 39) observam-se quatorze sinais entre $\delta 104,2$ e $156,2$ referentes aos dezesseis carbonos aromáticos e olefínicos. A dialilação foi evidenciada pela presença de dois sinais em $\delta 82,0$ e $83,9$ correspondentes aos dois carbonos diretamente ligados ao oxigênio dos grupos alila, além de dois sinais em $\delta 26,7$ e $27,1$ referentes aos carbonos metílicos desses grupos. Observam-se também todos os sinais correspondentes aos outro carbonos desse composto.

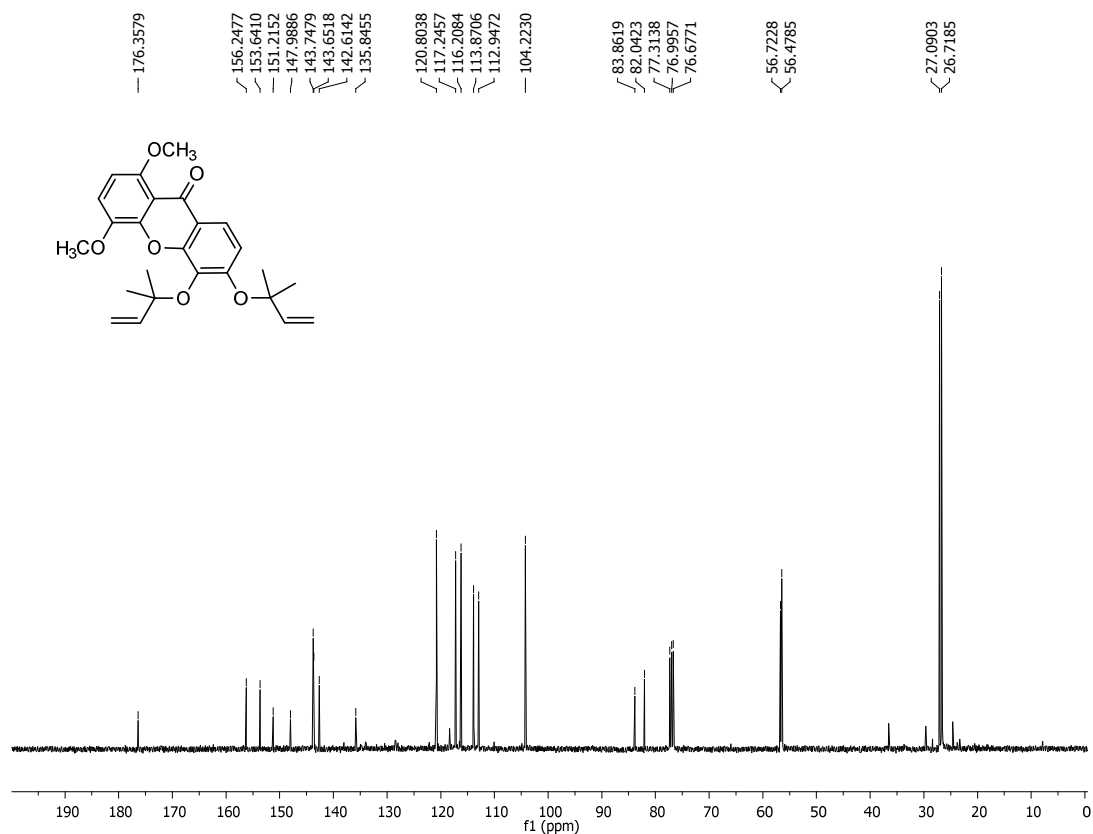
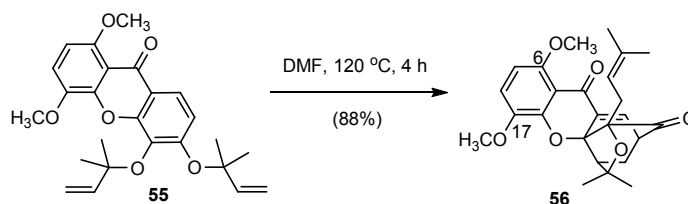


Figura 39 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **55**.

3.4.5.6 Síntese e caracterização do 6,17-dimetoxi-cluvenona (**56**)

A dimetoxicluvenona **56** foi obtida em 88% de rendimento através da reação em cascata de Claisen e Diels-Alder da xantona **55** em DMF a 120°C durante 4 horas (Esquema 40).



Esquema 40 Preparação de **56**.

No seu espectro de RMN de ^1H (Figura 40) observam-se quatro simples em δ 1,09, 1,30, 1,39 e 1,78 referentes aos 12 hidrogênios metílicos da porção tricíclica, um duplete em δ 7,31 correspondente ao hidrogênio olefínico da olefina conjugada com a carbonila, um triplo em δ 4,52 referente

ao hidrogênio da olefina dimetilada, um duplete duplo em δ 3,45 referente ao hidrogênio ligado ao carbono α -carbonílico, além de dois dupletos duplos, um duplete e um multiplete entre δ 2,60-2,62 e 1,27 correspondentes aos outros cinco hidrogênios da porção tricíclica. Observam-se também os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos e metílicos dos grupos metoxila.

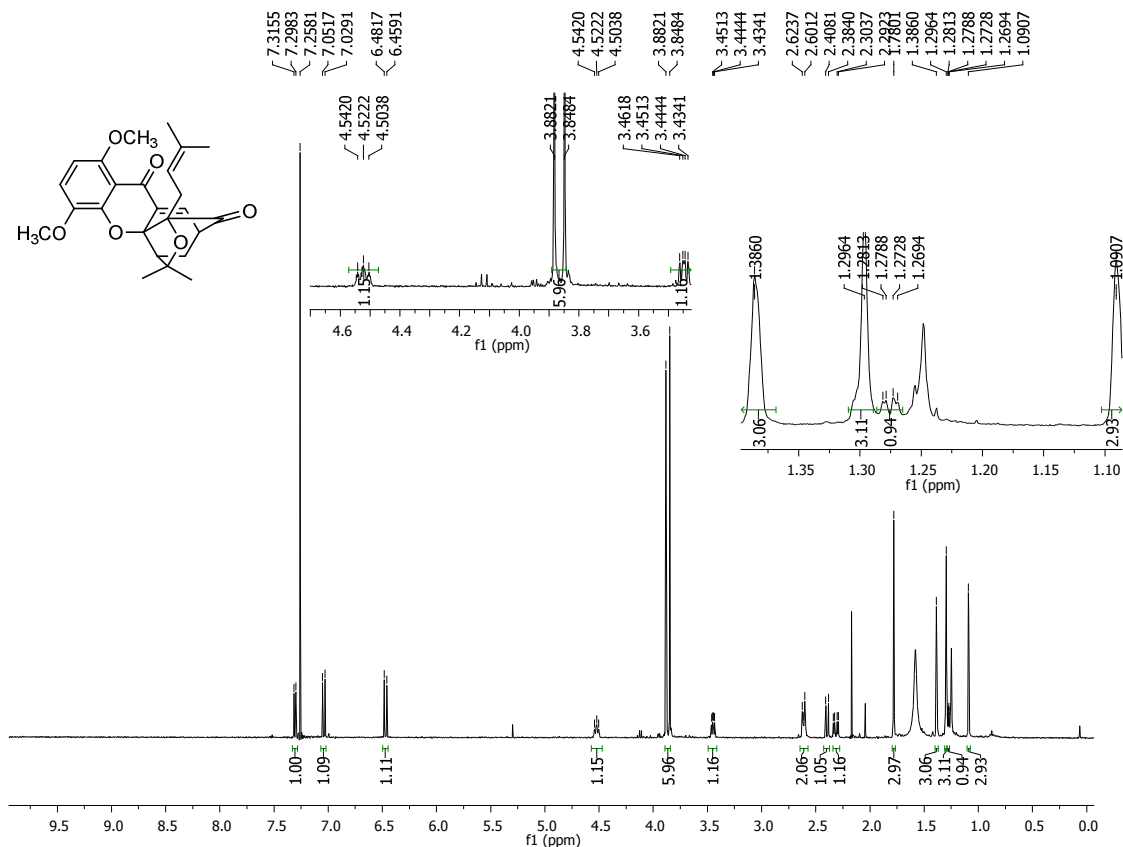


Figura 40 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 56.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 41) observam-se seis sinais entre δ 16,9 e 29,5 referentes aos seis carbonos metílicos e metilênicos da porção tricíclica, dois sinais em δ 46,7 e 48,5 correspondentes aos carbonos metínicos não olefínicos da porção tricíclica e dois sinais em δ 56,4 e 57,0 referentes aos carbonos metílicos dos grupos metoxila. Observam-se também 13 sinais entre δ 83,6 e 154,3 correspondentes a 13 carbonos (olefínicos, aromáticos e ligados diretamente ao oxigênio na forma de éter), além de dois sinais em δ 176,1 e 203,3 referentes aos dois carbonos carbonílicos.

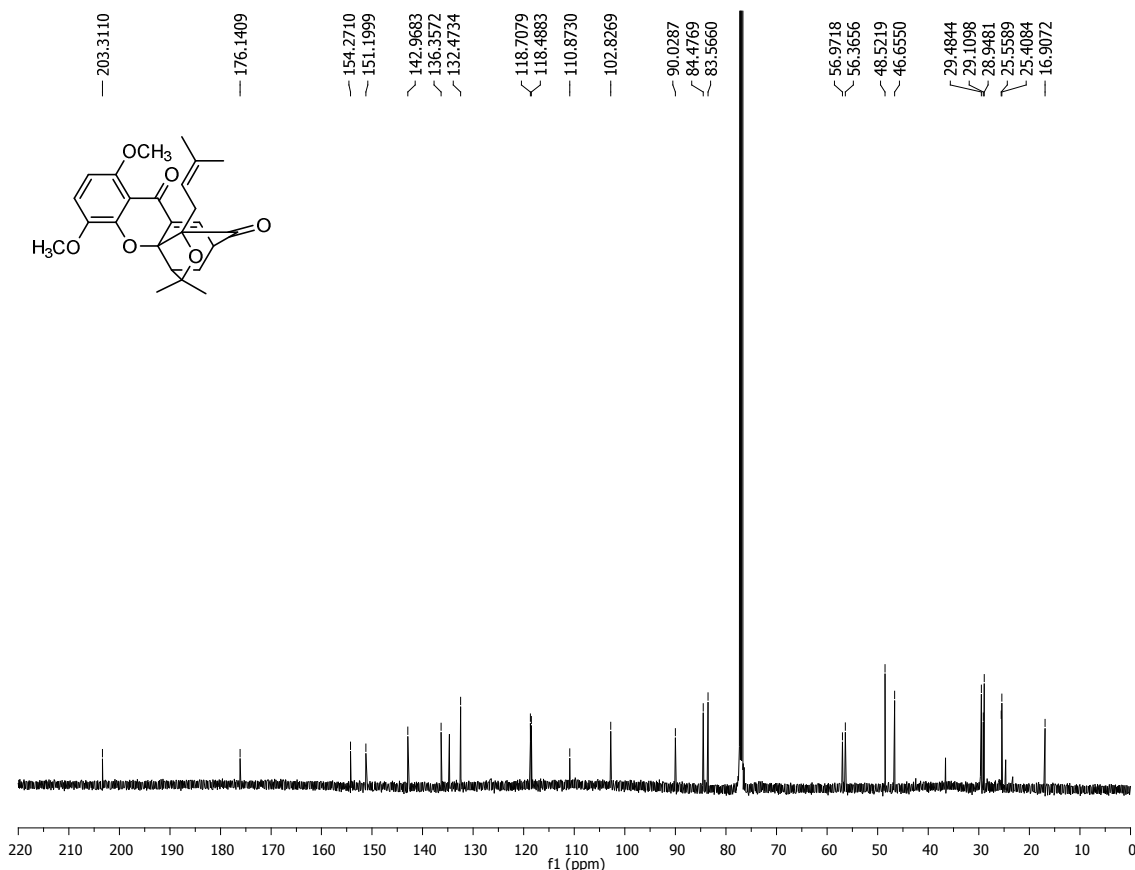


Figura 41 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **56**.

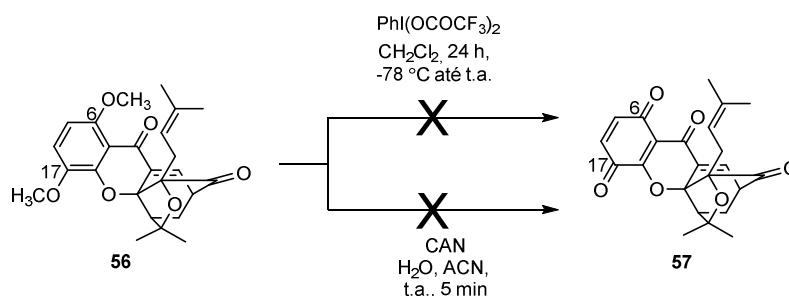
3.4.5.7 Tentativa de síntese do 6,17-diona-cluvenona (**57**)

Várias condições de preparação de *p*-quinonas são descritas na literatura ([AKAI](#) e KITA, 1998). Dentre elas, a preparação partindo de *p*-dimetoxibenzenos é uma das mais interessantes, pois os éteres metílicos derivados de fenóis são estáveis sob várias condições reacionais e por isso podem ser planejados para serem transformados em quinonas na última etapa de um esquema sintético. Os principais reagentes utilizados nesse tipo de oxidação são nitrato de cério e amônio (CAN), ácido nítrico, óxido de prata (II), diacetato de fenil-iodinano(III) (PIDA) e bis(trifluoroacetato) de fenil-iodinano(III) (PIFA) (THOMA *et al.* 2001).

Na tentativa de oxidação da dimetoxi-cluvenona **56** e obtenção da *p*-quinona **57** utilizou-se inicialmente PIFA em diclorometano de -78°C até a temperatura ambiente durante 24 horas e observou-se que nenhuma reação havia ocorrido, recuperando-se todo o material de partida (Esquema 41). Acredita-se que não houve nenhum tipo de reação devido ao efeito eletrônico

desativante promovido pela carbonila diretamente ligada ao anel A do composto **56**.

Outra tentativa realizada foi a reação com CAN e água destilada em acetonitrila a temperatura ambiente. Após 5 minutos observou-se, por CCD e espectrometria de massas, a decomposição do material de partida (Esquema 41). Acredita-se que houve decomposição do material de partida por esse apresentar a unidade cetona α,β -insaturada, que é extremamente eletrofílica e que em condições hidratadas pode sofrer adições. A presença de CAN pode também ter desencadeado reações de dimerização.



Esquema 41 Tentativas de obtenção de **57**.

Diante desses resultados, planejou-se outra rota sintética para a preparação da quinona **57**.

3.4.5.8 Nova tentativa de síntese da 6,17-diona-cluvenona (**57**)

Nicolaou e colaboradores (2004) sintetizaram uma *p*-quinona a partir da oxidação de um *p*-hidroximetoxibenzeno contendo em sua estrutura a porção tricíclica presente nas CGXs, utilizando PIFA em diclorometano.

Planejou-se a preparação da quinona **57** a partir da 6-hidroxi-17-metoxicluvenona (**60**) (Figura 42) utilizando as mesmas condições que Nicolau e colaboradores.

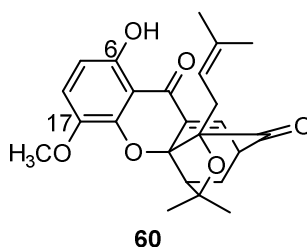
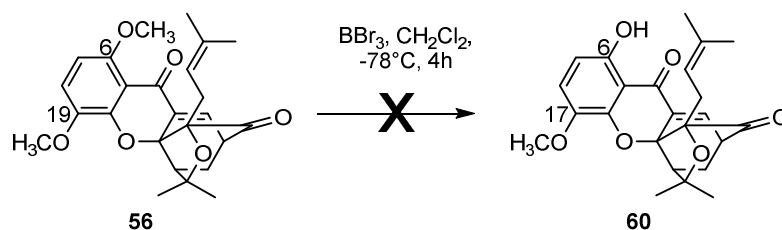


Figura 42 Estrutura do composto **60**.

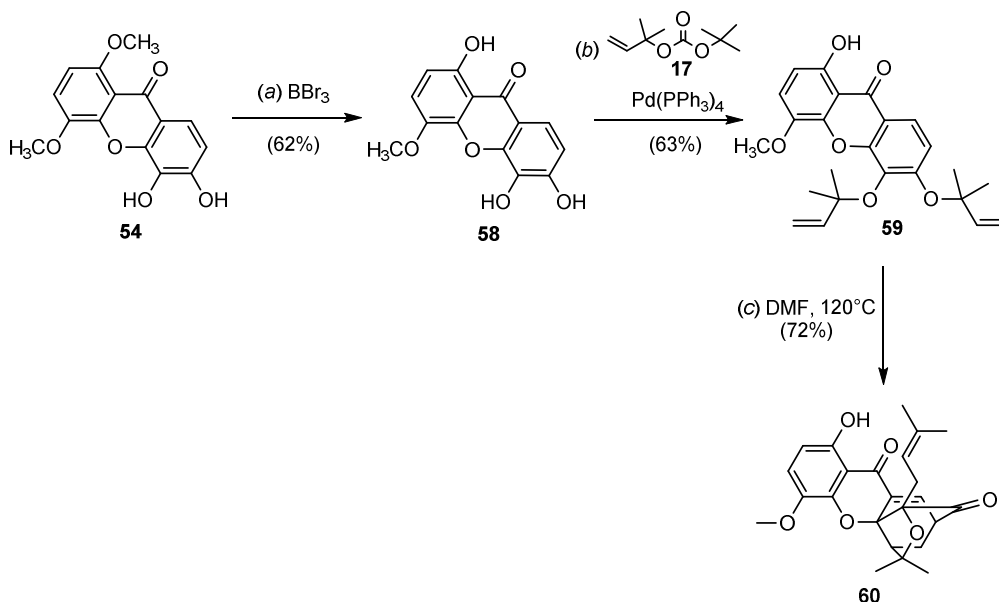
3.4.5.8.1 Preparação da 6-hidroxi-17-metoxi-cluvenona (**60**)

Na tentativa de preparação da 6-hidroxi-17-metoxiclúvenona (**60**) a partir da 6,17-dimetoxiclúvenona (**56**) (Esquema 42) utilizando BBr_3 (1 mol.L^{-1}) em diclorometano a -78°C até temperatura ambiente durante 4 horas, observou-se por CCD e espectrometria de massas a decomposição do material de partida.



Esquema 42 Tentativa de obtenção de **60**.

Dessa forma, planejou-se a síntese de **60** por outra rota sintética, representada no esquema 43. Essa hidroxiclúvenona foi sintetizada a partir da xantona **54**, previamente sintetizada (Esquema 35, página 180).



Esquema 43 Síntese de **60**. Reagentes e condições: (a) BBr_3 (1 mol/equiv. , 1 mol.L^{-1}), DCM , 0°C -t.a., 13h, 62%; (b) **17**, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ($10 \text{ mol}\%$), THF , 0°C , 18h, 63%; (c) DMF , 120°C , 4h, 72%.

3.4.5.8.1.1 Síntese e caracterização de 1,5,6-tri-hidroxi-4-metoxi-xantona (**58**)

A xantona **58** foi obtida em 62% de rendimento a partir da reação da metoxi-xantona **54** com BBr_3 em diclorometano de 0°C até a temperatura ambiente durante 13 horas (Esquema 43).

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 42) a clivagem de um grupo metila foi evidenciada pela presença de apenas um sinal em δ 3,95 referente aos três hidrogênios metílicos. Observam-se também a presença de todos os sinais correspondentes aos outros hidrogênios desse composto.

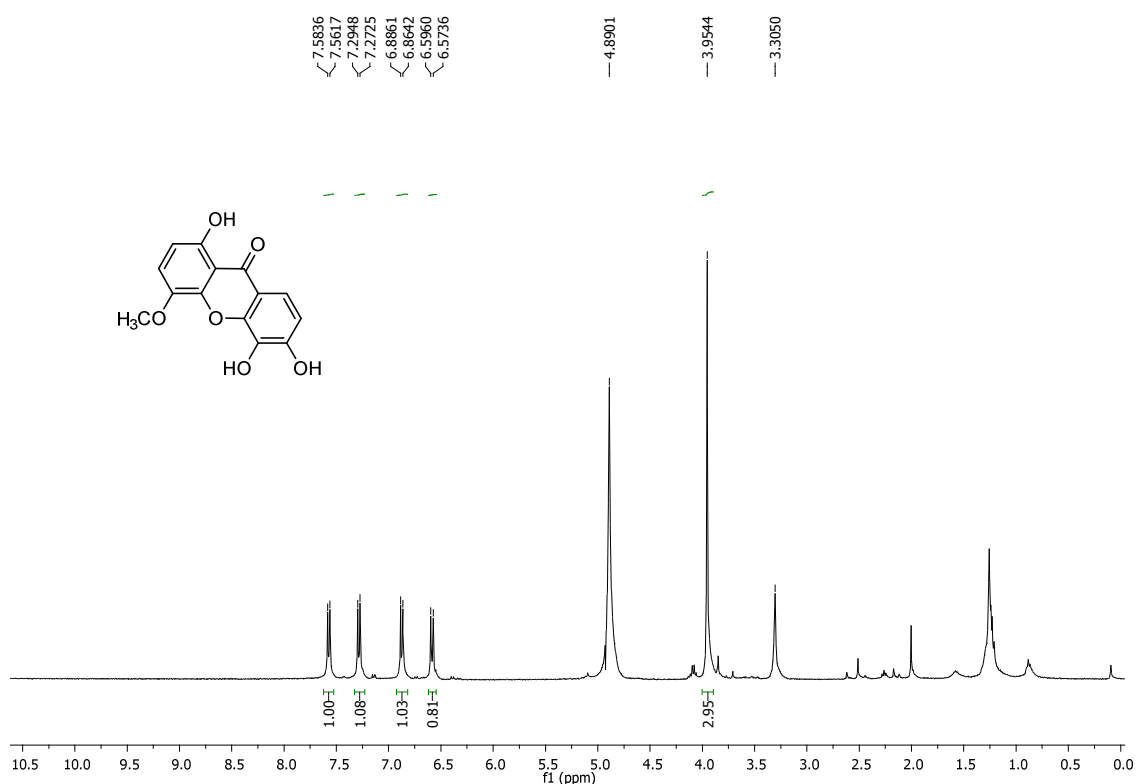


Figura 42 RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de **58**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 43) evidenciou-se a clivagem de um grupo metila pela presença de apenas um sinal em δ 57,1 referente a um carbono metílico. Observam-se a presença de todos os demais sinais correspondentes a todos os carbonos desse composto.

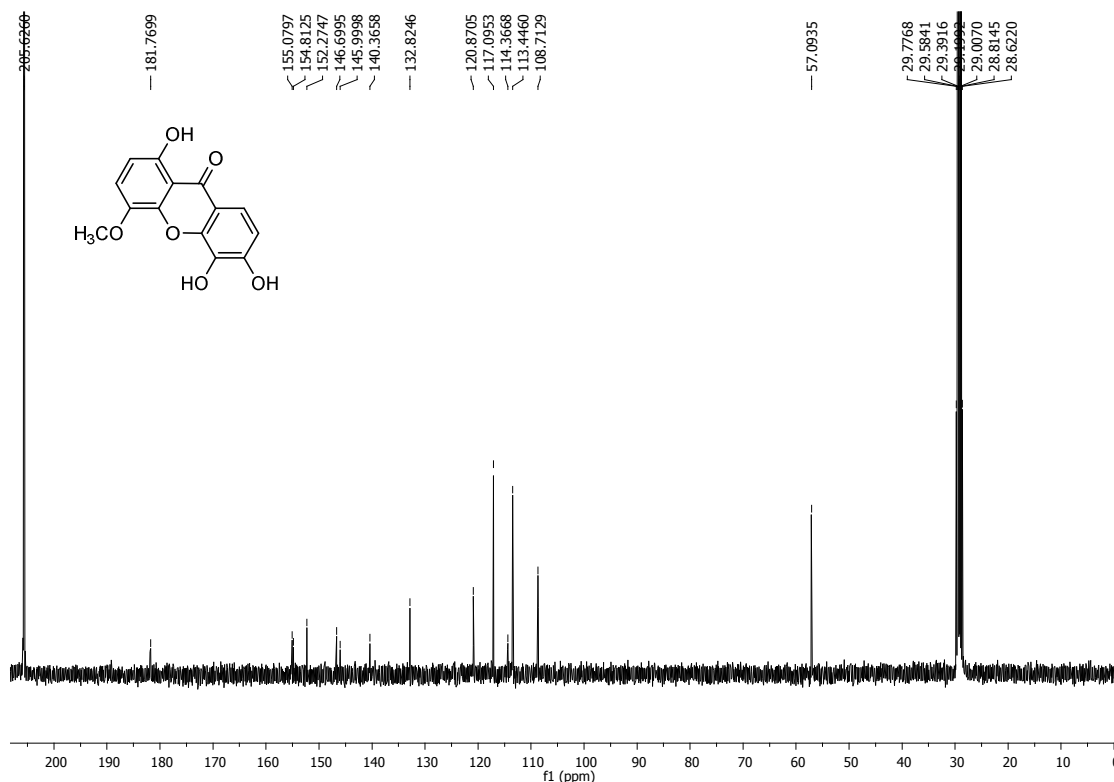
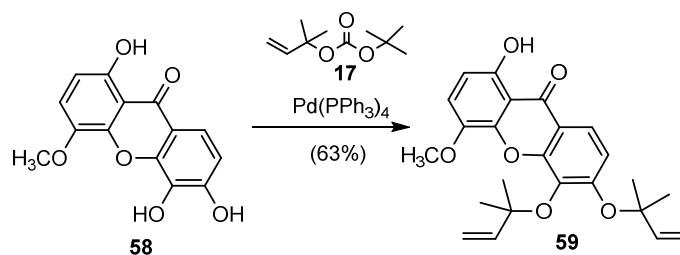


Figura 43 RMN ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6) de **58**.

3.4.5.8.1.2 Síntese da 1-hidroxi-4-metoxi-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi)xantona (**59**)

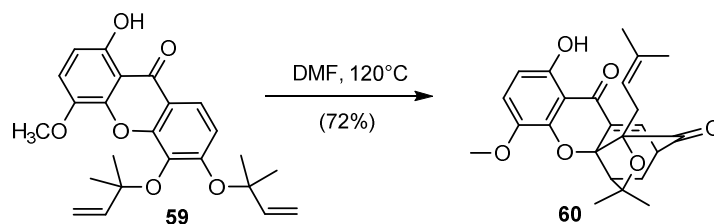
O dialil éter **59** foi obtido em 63% de rendimento a partir da dialilação seletiva da xantona **58** com o carbonato **17** e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ em THF a 0°C durante 18 horas (Esquema 44). Não será discutida a caracterização desse composto devido à semelhança estrutural com o dialil éter **55**, cuja caracterização foi discutida nas páginas 188-190.



Esquema 44 Preparação de **59**.

3.4.5.8.1.3 Síntese da 6-hidroxi-17-metoxi-cluvenona (**60**)

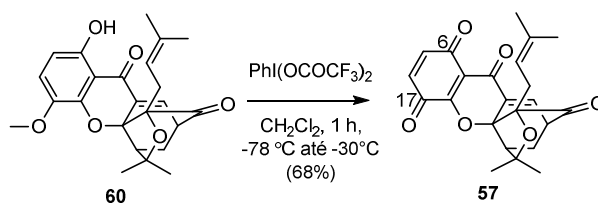
A hidroxiclúvenona **60** foi obtida em 72% de rendimento a partir da reação em cascata de Claisen e Diels-Alder do dialil éter **59** em DMF a 120°C durante 4 horas (Esquema 45). Não será discutida a caracterização desse composto devido à semelhança estrutural com a dimetoxi-clúvenona **56**, cuja caracterização está descrita nas páginas 190-192.



Esquema 45 Preparação de **60**.

4.5.9 Síntese e caracterização de 6,17-diona-clúvenona (**57**)

A quinona **57** foi obtida em 68% de rendimento a partir da oxidação da hidroxiclúvenona **60** com PIFA em diclorometano a -78°C até -30°C durante 1 hora (Esquema 46).



Esquema 46 Preparação de **57**.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 44) a oxidação foi evidenciada pela presença de dois dupletos ($J = 10,3$ Hz) em δ 6,88 e 6,79 referentes aos dois hidrogênios do anel quinônico e pela ausência dos sinais correspondentes aos três hidrogênios metílicos da metoxila do composto de partida **60**. Observam-se também a presença de todos os sinais correspondentes aos outros hidrogênios desse composto. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 45) evidenciou-se a oxidação pela presença de quatro sinais entre δ 174,1 e 201,2 correspondentes aos quatro carbonos carbonílicos.

Observam-se também a presença dos demais sinais correspondentes aos outros carbonos desse composto.

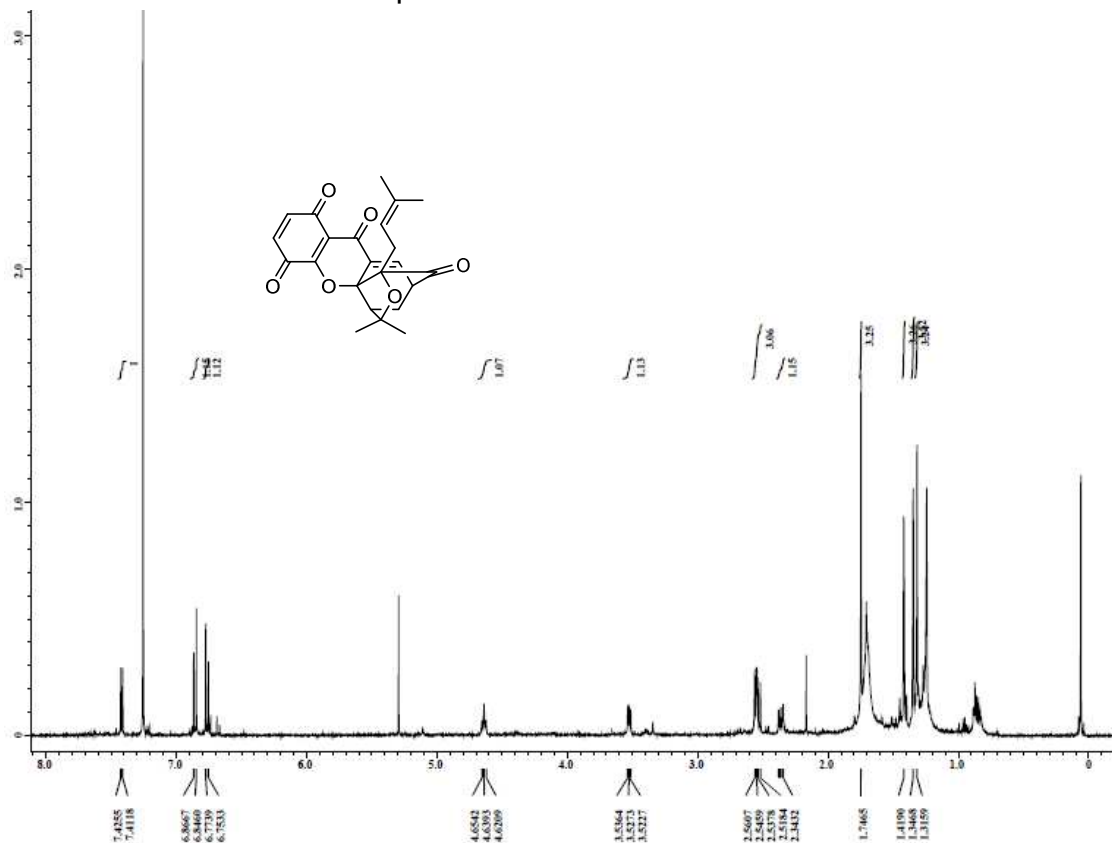


Figura 44 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **57**.

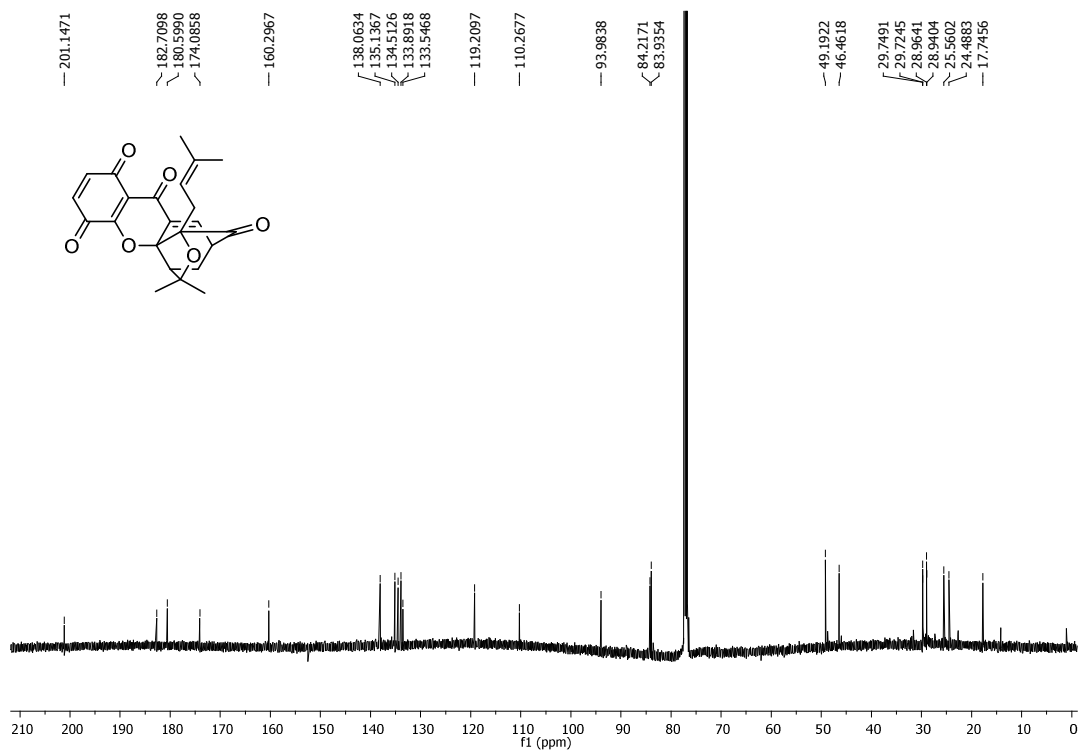
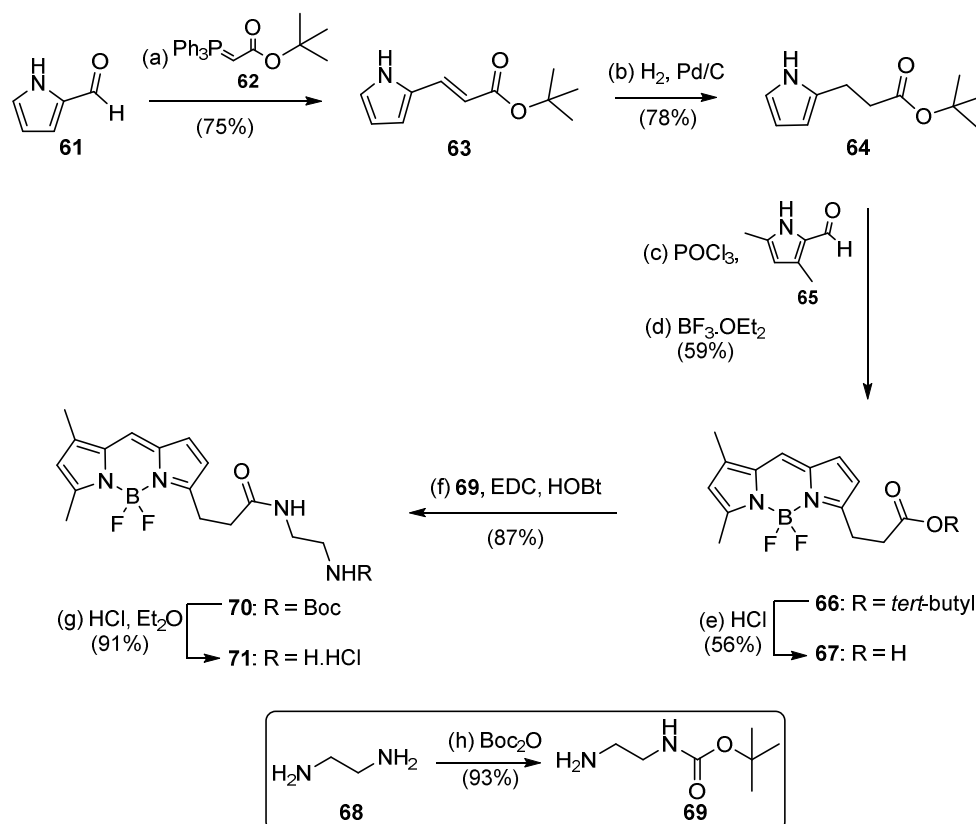


Figura 45 RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **57**.

3.4.6 Síntese do BODIPY FL EDA (71)

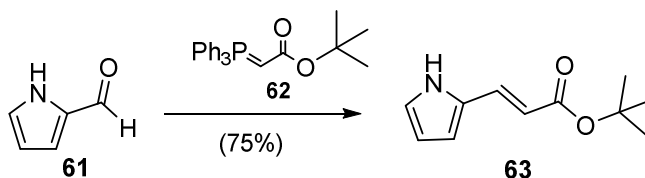
A síntese do BODIPY FL EDA (71) está representada no esquema 47.



Esquema 47 Síntese do BODIPY FL EDA (71). Reagentes e condições: (a) **62** (2 equiv.), DCM, t.a., 30h, 75%; (b) H₂ (300 bar), 10% Pd/C, MeOH, 2h, 78%, (c) **65** (1,1 equiv.), POCl₃ (1,1 equiv.), DCM, 0°C-t.a., 7h; (d) BF₃.OEt₂ (4 equiv.), DIPEA (4,2 equiv.), 0°C-t.a., 12h, 59% (etapas c e d); (e) HCl (37%), H₂O, THF, t.a., 28h, 56%; (f) **69** (1 equiv.), EDC (1,2 equiv.), HOBT (1,2 equiv.), DCM, t.a., 2 h, 87%; (g) HCl (1 mol.L⁻¹ em Et₂O), dioxano, t.a., 12h, 91%; (h) Boc₂O (0,1 equiv.), dioxano, t.a., 6h, 93%.

3.4.6.1 Síntese e caracterização de (E)-3-(1H-pirrol-2-il)acrilato de *tert*-butila (63)

O alceno **63** foi preparado em 75% de rendimento a partir da reação de Wittig entre o aldeído **61** e o ílideo de fósforo **62** em diclorometano a temperatura ambiente durante 30 horas (Esquema 48).



Esquema 48 Preparação de 63.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 46) observam-se dois dupletos ($J = 15,9$ Hz) em δ 7,47 e 6,00 referentes aos dois hidrogênios olefínicos, três sinais entre δ 6,89 e 6,26 correspondentes aos três hidrogênios aromáticos, além de um simpleto em δ 9,08 referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio e um simpleto em δ 1,53 referente aos nove hidrogênios metílicos. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 47) observam-se sinais entre δ 80,4 e 28,2 referentes aos carbonos diretamente ligados ao oxigênio e metílicos do grupo *tert*-butoxila, seis sinais entre δ 133,7 e 110,9 correspondentes aos carbonos aromáticos e olefínicos, além de um sinal em 167,6 referente ao carbono carbinílico.

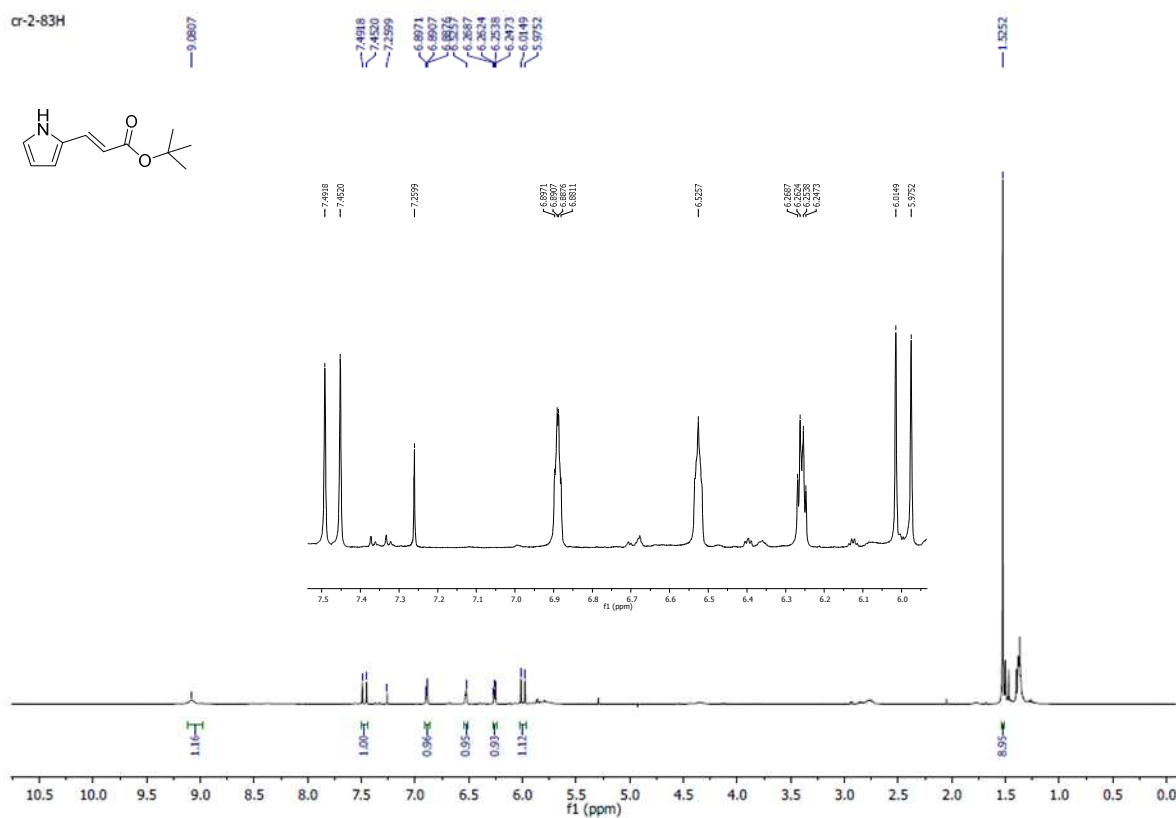


Figura 46 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 63.

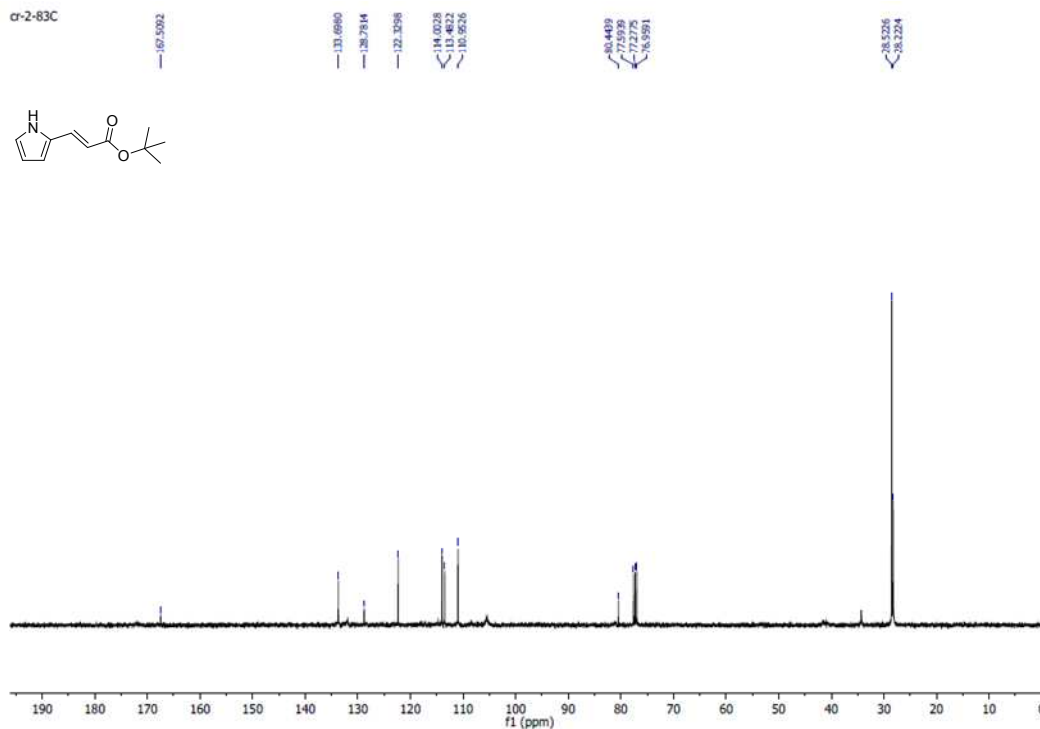
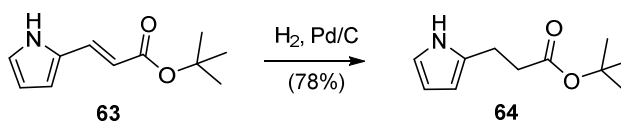


Figura 47 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **63**.

3.4.6.2 Síntese e caracterização de 3-(1H-pirrol-2-il)propanoato de *terc-butila* (**64**)

A partir da reação de hidrogenação do alceno **63** com hidrogênio gasoso (300 bar) e 10% Pd/C em metanol durante 2 horas, utilizando-se o reator de alta pressão, obteve-se o derivado hidrogenado **64** em 78% de rendimento (Esquema 49).



Esquema 49 Preparação de **64**.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 48) a hidrogenação da olefina foi evidenciada pela presença de dois dupletos ($J = 6,7$ Hz) em δ 2,87 e 2,55 referentes aos quatro hidrogênios metilênicos, além da ausência de dois dupletos correspondentes aos hidrogênios olefínicos. Observam-se também a presença dos demais sinais referentes aos outros hidrogênios desse composto.

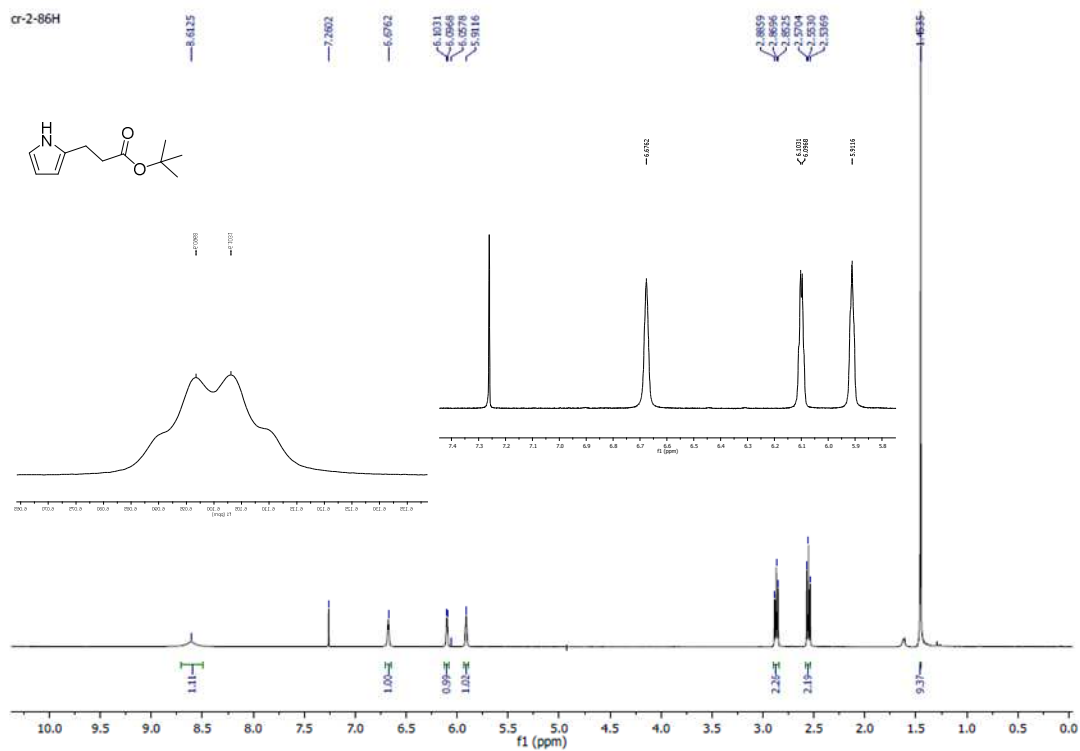


Figura 48 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **64**.

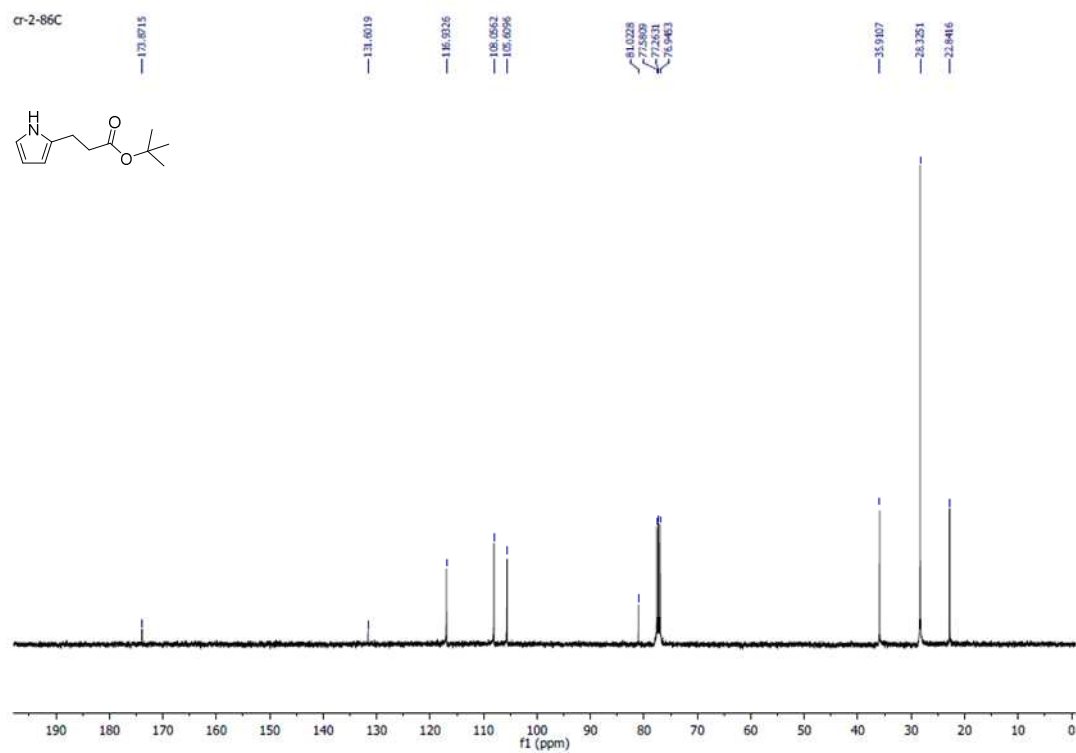
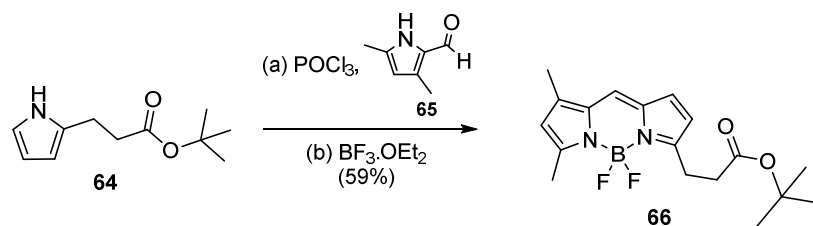


Figura 49 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **64**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 49) evidenciou-se a hidrogenação pela presença de dois sinais em δ 22,8 e 35,9 correspondentes aos dois carbonos metilênicos, além da ausência de dois sinais referentes aos carbonos olefínicos presentes no material de partida. Observam-se também a presença dos demais sinais correspondentes aos outros carbonos desse composto.

3.4.6.3 Síntese e caracterização de **66**

O composto **66** foi obtido em 59% a partir da reação do pirrol **64** com o aldeído **65** na presença de POCl_3 (1,1 equiv.) em diclorometano à 0°C seguido de aquecimento espontâneo até a temperatura ambiente durante 7 horas e posterior adição de $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (4 equiv.) e DIPEA (4,2 equiv.) à 0°C seguido de aquecimento espontâneo até a temperatura ambiente durante 12h (Esquema 50).



Esquema 50 Preparação de **66**.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 50) observam-se quatro sinais entre δ 7,07 e 6,10 referentes aos quatro hidrogênios aromáticos, dois tripletos ($J = 7,5$ Hz) em δ 3,25 e 2,66 correspondentes aos quatro hidrogênios metilênicos, além de três simpletos em δ 2,56, 2,24 e 1,44 referentes aos quinze hidrogênios metílicos. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 51) observam-se seis sinais entre δ 34,7 e 11,5 referentes aos carbonos metílicos e metilênicos, um sinal em δ 80,8 correspondente ao carbono diretamente ligado ao oxigênio do grupo *tert*-butoxi, além de nove sinais entre δ 160,3 e 117,0 referentes aos nove carbonos dos dois anéis pirrólicos e ao carbono ligado a esses dois anéis e um sinal em δ 172,1 correspondente ao carbono carbonílico. A presença do grupo BF_2 foi evidenciada pelo espectro de massas desse composto.

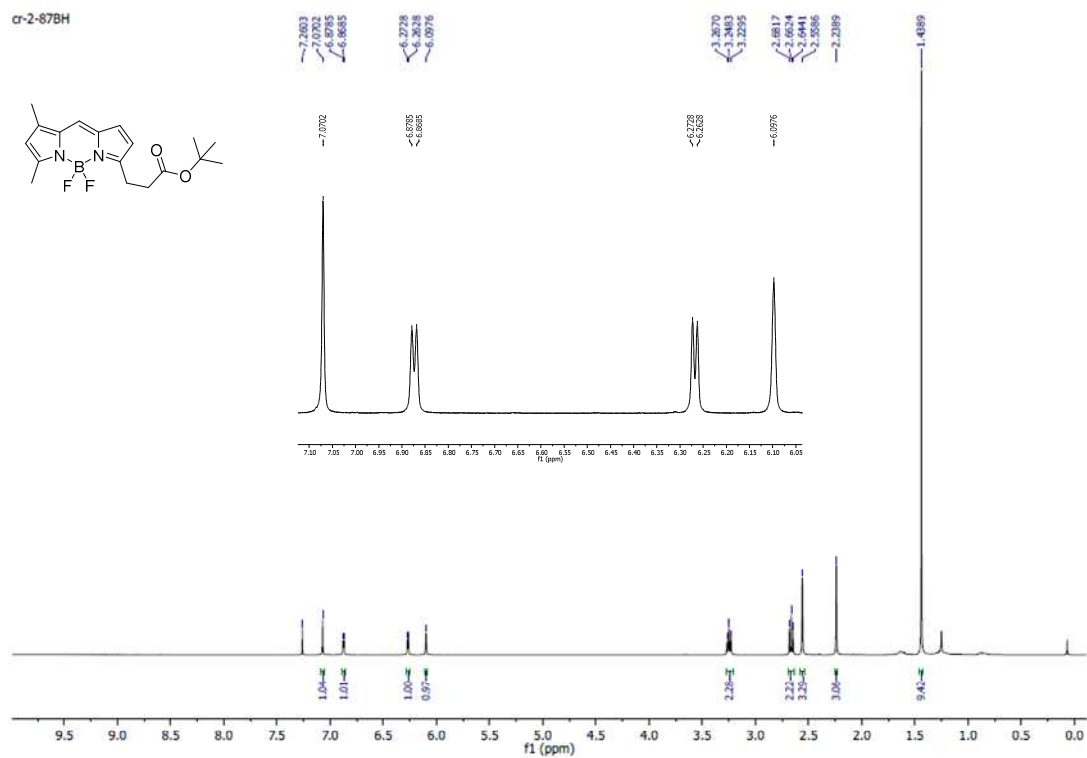


Figura 50 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 66.

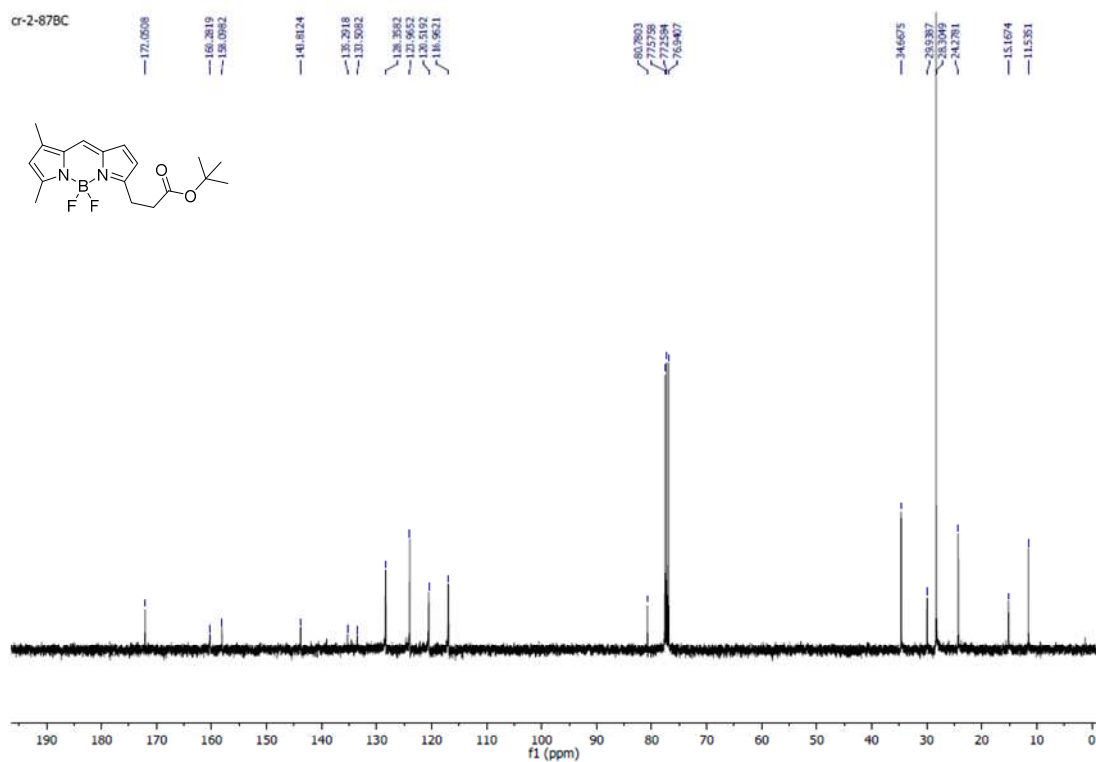
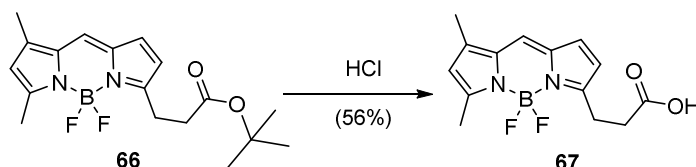


Figura 51 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 66.

3.4.6.4 Síntese e caracterização do ácido carboxílico **67**

O ácido carboxílico **67** foi obtido em 56% de rendimento através da hidrólise do éster **66** com HCl (37%) e água destilada em THF a temperatura ambiente durante 28 horas (Esquema 51).



Esquema 51 Preparação de **67**.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 52) a clivagem do éster *tert*-butílico foi evidenciada pela ausência de sinais correspondentes aos nove hidrogênios metílicos desse grupo, presentes no composto de partida. Observam-se a presença de todos os sinais correspondentes aos outros hidrogênios desse composto.

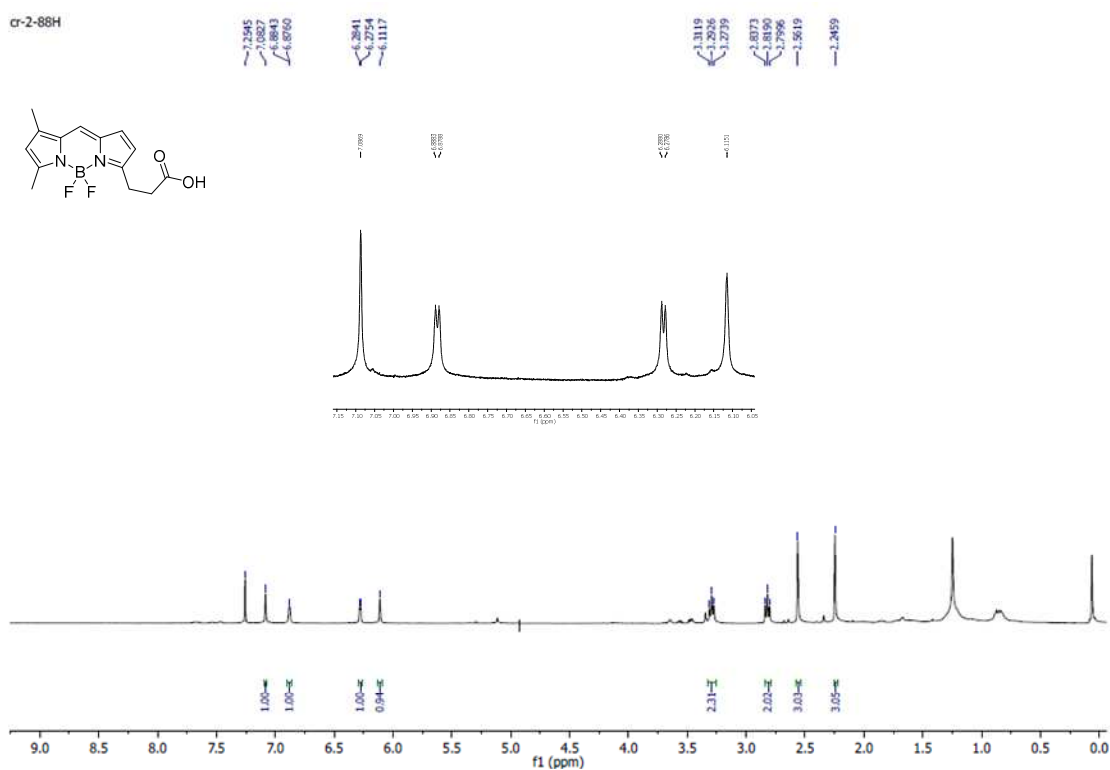


Figura 52 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **67**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 53) evidenciou-se a hidrólise do éster *terc*-butílico pela ausência de sinais correspondentes aos carbonos metílicos e ao carbono que faz uma ligação simples com o oxigênio desse grupo, além da desblindagem do carbono C=O de δ 172,1 no éster para δ 177,6 no ácido carboxílico. Observam-se também a presença de todos os sinais correspondentes aos outros carbonos desse composto.

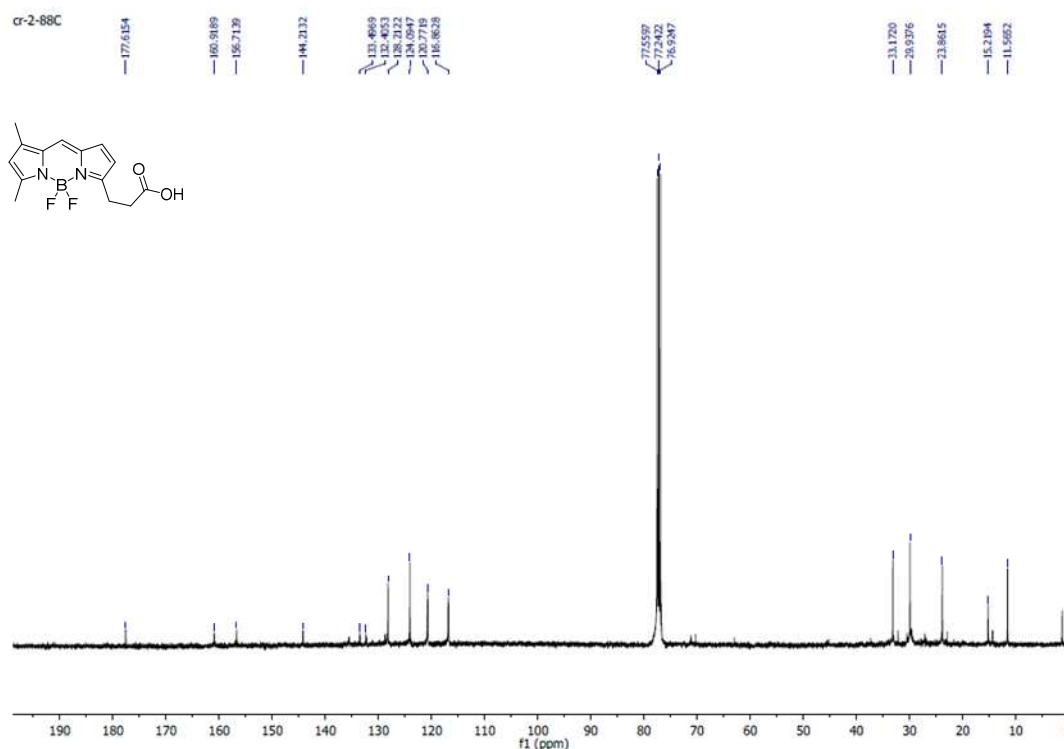
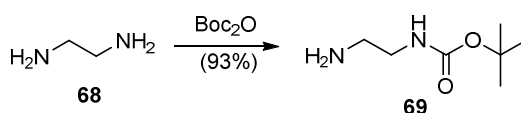


Figura 53 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **67**.

3.4.6.5 Síntese e caracterização de (2-aminoetil)carbamato de *terc*-butila (**69**)

A reação de mono proteção da 1,2-etilenodiamina (**68**) com Boc_2O (0,1 equiv.) em dioxano à temperatura ambiente durante 6 horas conduziu à formação do carbamato **69** em 93% de rendimento (Esquema 52).



Esquema 52 Preparação de **69**.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 54) observam-se a presença de dois simpletos em δ 4,92 e 1,61 referentes aos três hidrogênios ligados ao nitrogênio, um simpleto em δ 1,44 correspondente aos nove hidrogênios metílicos, além de um tripleto ($J = 5,9$ Hz) em δ 2,8 e um duplo duplo ($J = 11,3$ e $5,9$ Hz) em δ 3,17 referentes aos quatro hidrogênios metilênicos.

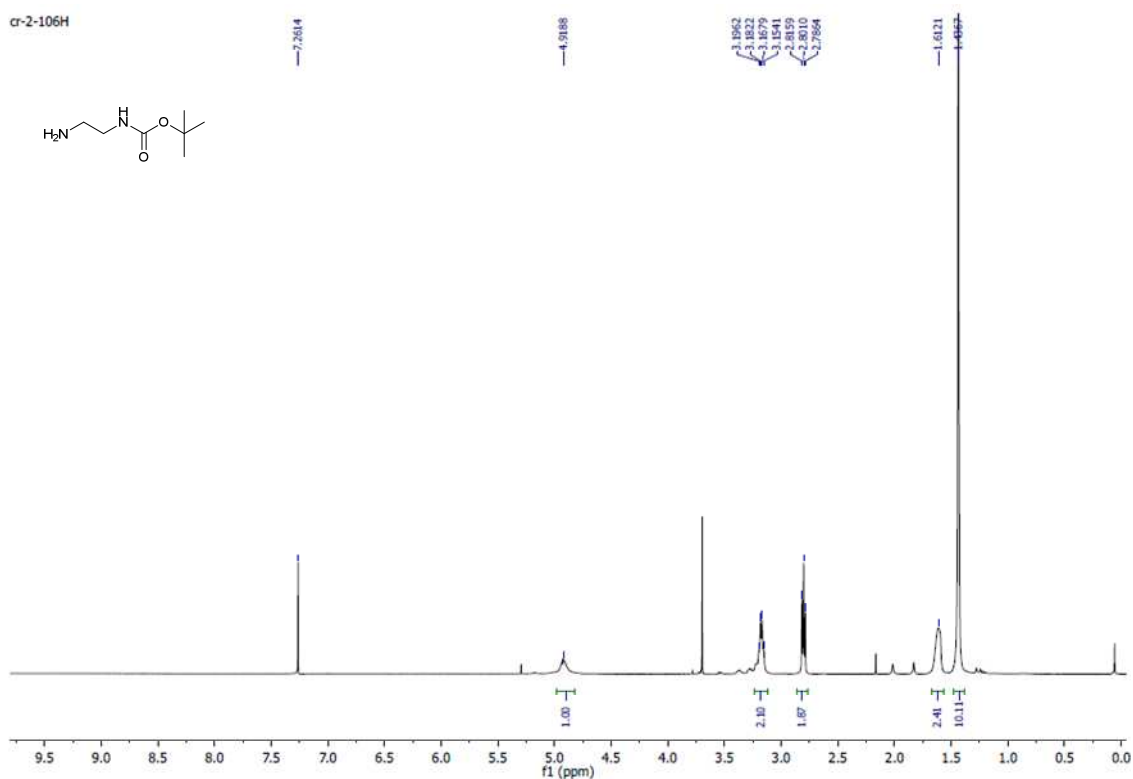


Figura 54 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **69**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 55) observam-se sinais entre δ 67,3 e 28,6 referentes aos carbonos ligados ao nitrogênio e metílicos, além de um sinal em δ 79,3 referente ao carbono ligado ao oxigênio do grupo *tert*-butoxi e um sinal em δ 156,4 correspondente ao carbono $\text{C}=\text{O}$ do grupo carbamato.

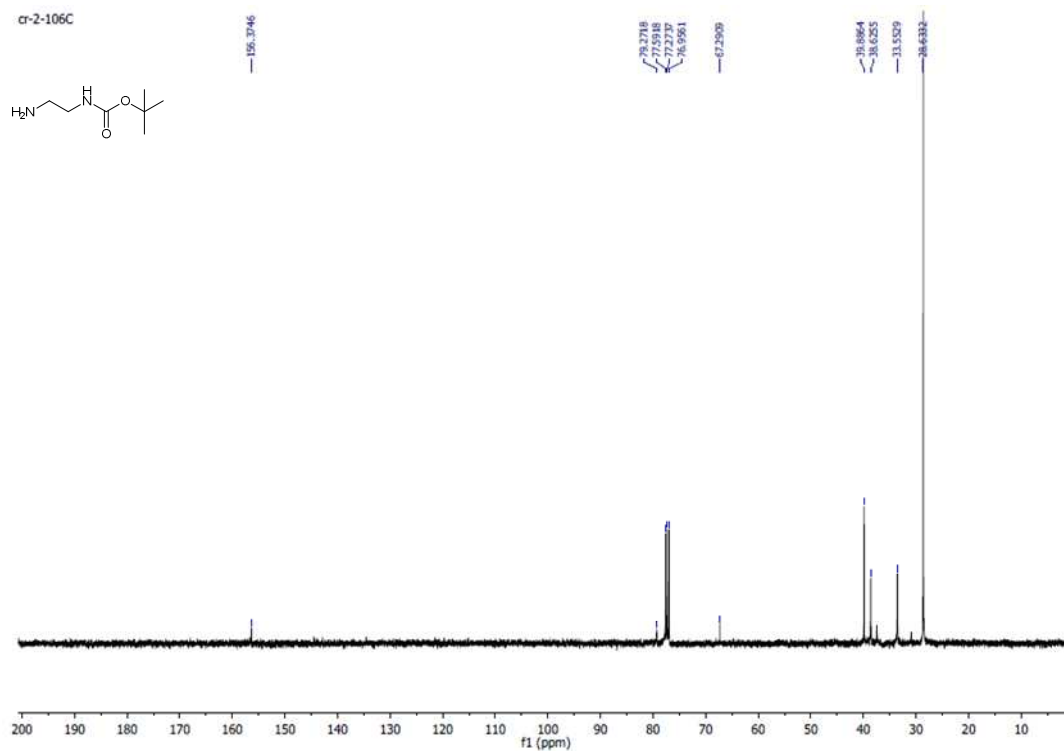
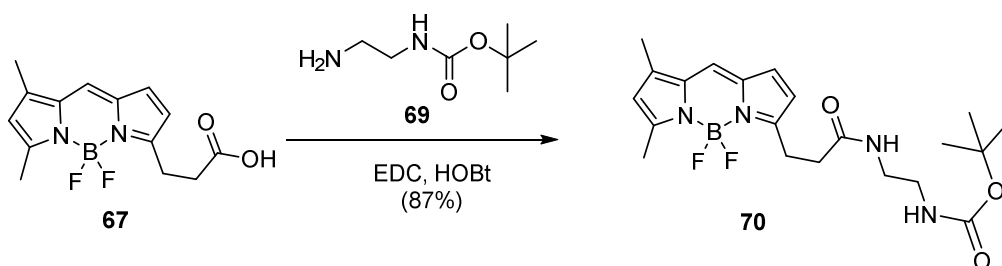


Figura 55 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **69**.

3.4.6.6 Síntese e caracterização da amida **70**

A amida **70** foi obtida em 87% de rendimento através da reação de acoplamento entre o ácido carboxílico **67** e a amina **69** na presença de EDC (1,2 equiv.) e HOBT (1,2 equiv.) em diclorometano à temperatura ambiente durante 2 horas (Esquema 53).



Esquema 53 Preparação de **70**.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 56) observam-se a presença de quatro sinais entre δ 7,09 e 6,12 referentes aos três hidrogênios dos anéis pirrólicos e ao hidrogênio do carbono ligado a esses dois anéis. Observam-se também dois simpletos em δ 6,16 e 4,90 correspondentes aos dois hidrogênios ligados aos nitrogênios, sinais entre δ 3,32-3,24 e 2,64 referentes aos oito hidrogênios metilênicos e sinais entre δ 2,56 e 1,41 correspondentes aos quinze hidrogênios metílicos.

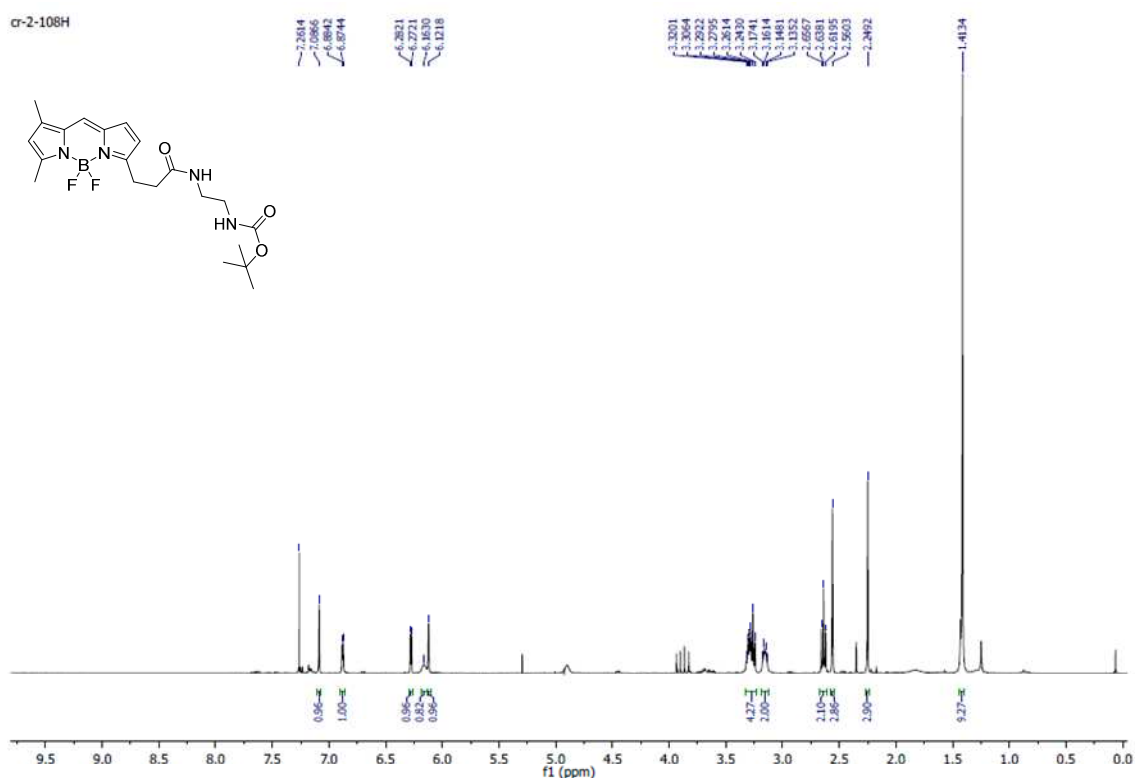


Figura 56 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **70**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 57) observam-se dois sinais em δ 172,7 e 156,7 referentes aos carbonos C=O da porção amida e da porção carbamato, respectivamente, e sinais entre δ 160,7 e 117,7 correspondentes aos carbonos dos anéis pirrólicos e ao carbono ligado a esses dois anéis. Observam-se também um sinal em δ 79,7 referente ao carbono ligado ao oxigênio do grupo *tert*-butoxi e sinais entre δ 40,8 e 11,6 correspondentes aos carbonos metílicos e metilênicos.

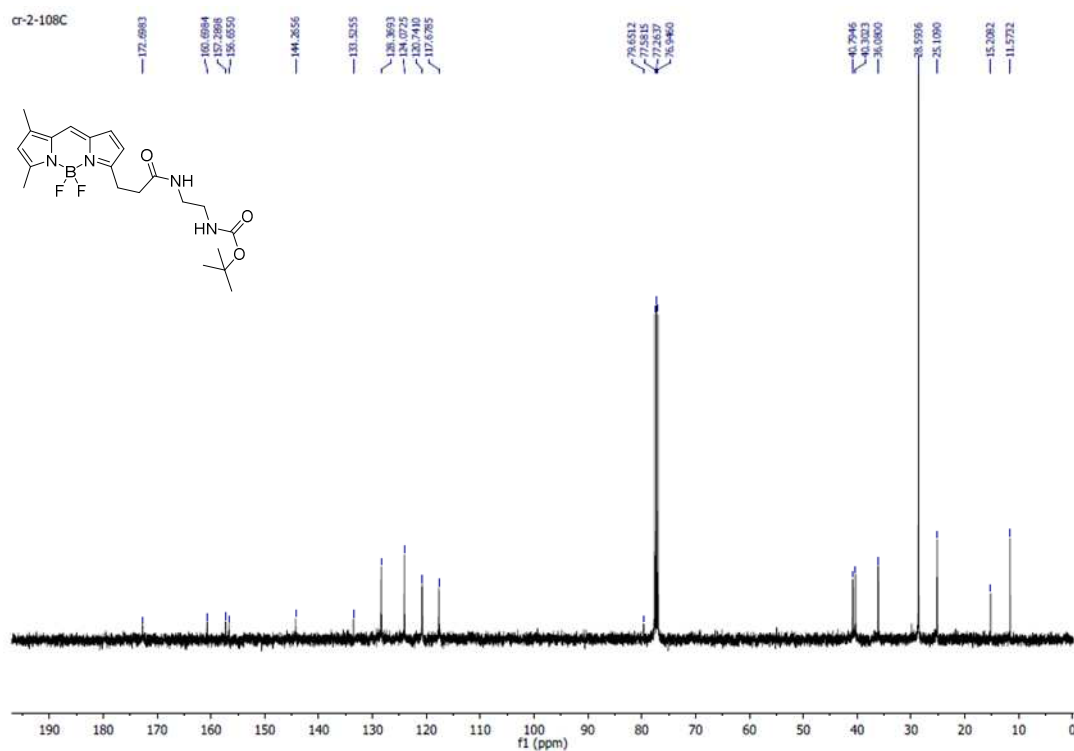
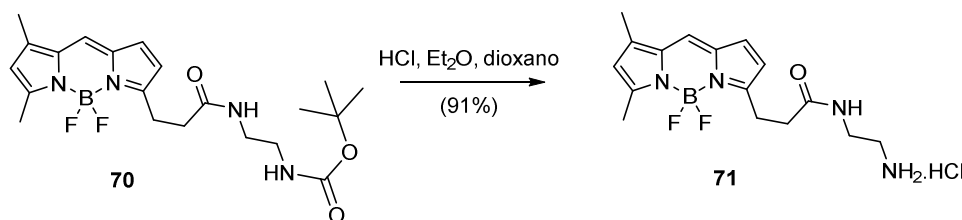


Figura 57 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **70**.

3.4.6.7 Síntese e caracterização do BODIPY FL EDA (**71**)

O BODIPY FL EDA (**71**) foi obtido em 91% de rendimento a partir da reação de clivagem do grupo Boc do composto **70** pelo tratamento com HCl (1 mol.L $^{-1}$ em Et_2O) em dioxano à temperatura ambiente durante 12 horas (Esquema 54).



Esquema 54 Preparação de **71**.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 58) evidenciou-se a clivagem pela ausência dos sinais referentes aos hidrogênios metílicos do grupo *tert*-butoxi. Observam-se todos os sinais referentes aos outros hidrogênios desse composto.

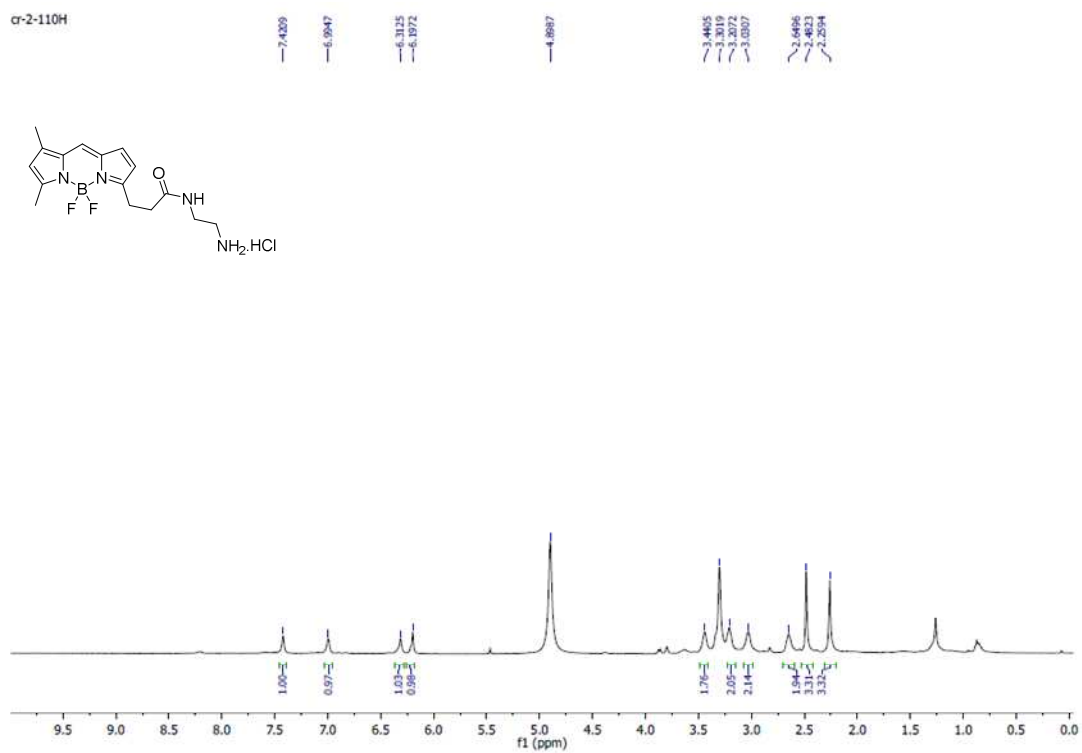


Figura 58 RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 71.

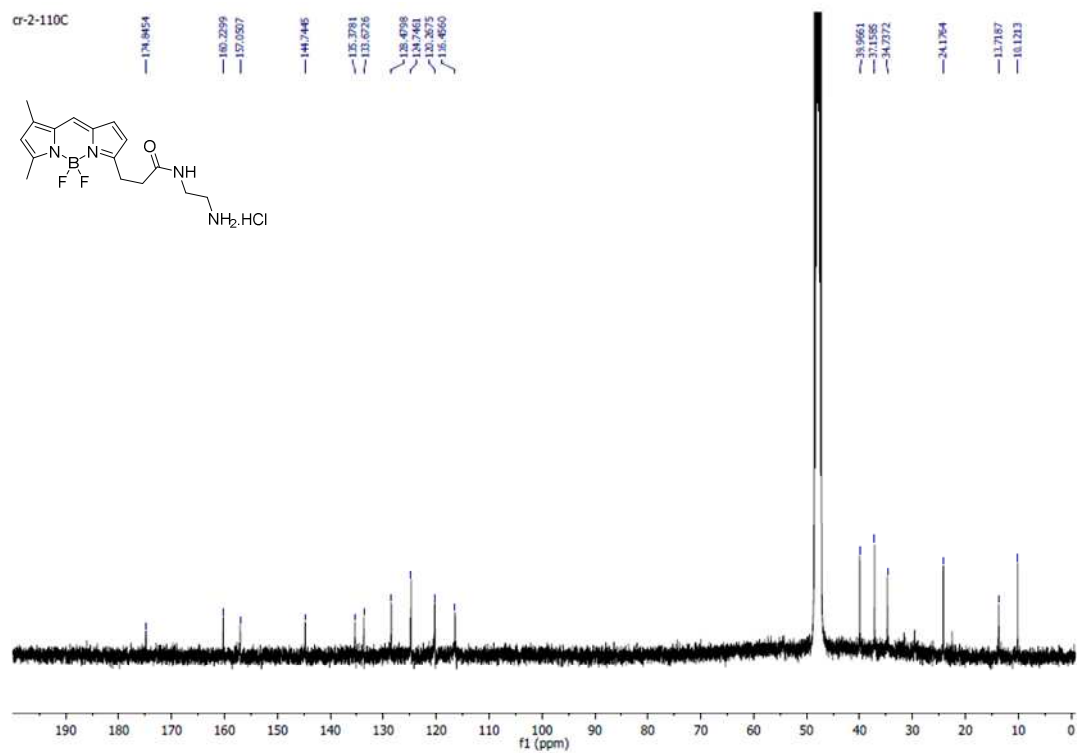
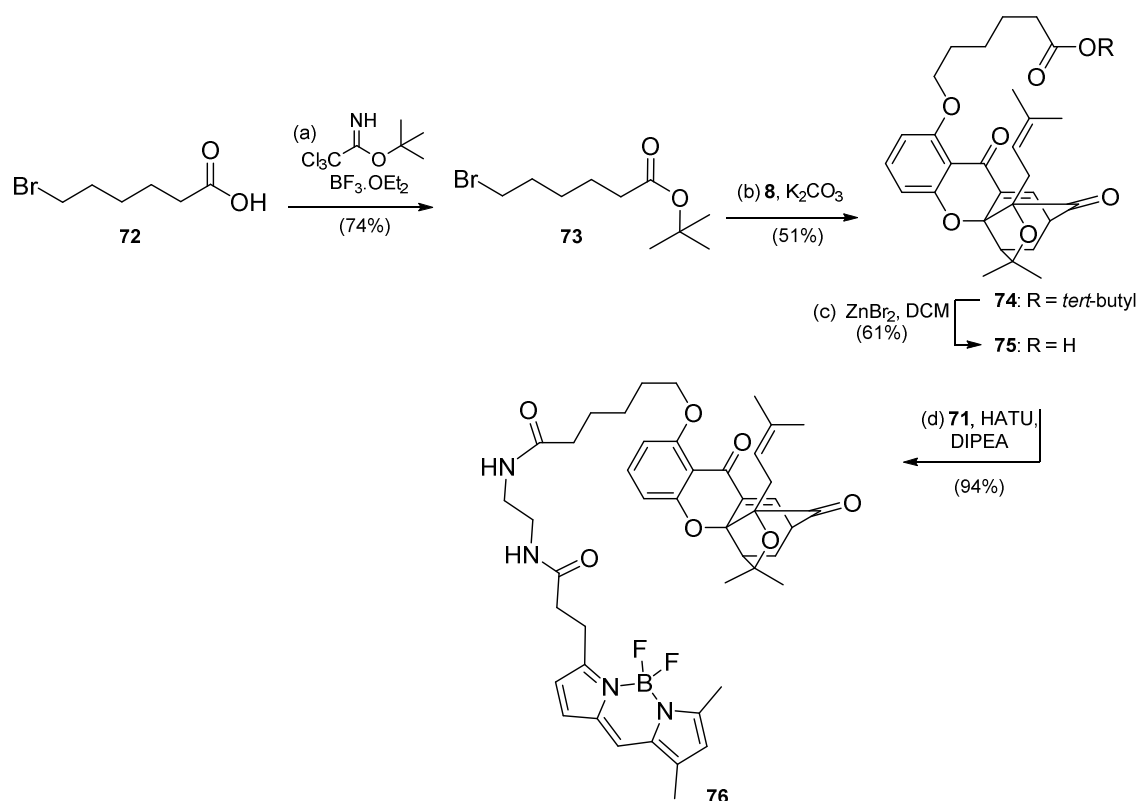


Figura 59 RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 71.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 59) evidenciou-se a clivagem do grupo Boc pela ausência dos sinais correspondentes aos carbonos do grupo *tert*-butoxi.

3.4.7 Síntese do composto com propriedades fluorescentes **76**, derivado da 6-hidroxicluvenona (**8**).

A síntese do composto **76** está representada no esquema **55**.

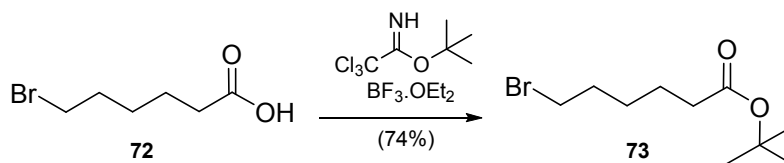


Esquema 55 Síntese de **71**. Reagentes e condições: (a) 2,2,2-tricloroacetimidato de *tert*-butila (2,5 equiv.), $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (15 mol %), DCM : ciclohexano (1:3), t.a., 22h, 74%; (b) **8** (0,5 equiv.), K_2CO_3 (3 equiv.), DMF, 60°C , 24h, 51%; (c) ZnBr_2 (5 equiv.), DCM, t.a., 8h, 61%; (d) **71** (1,2 equiv.) HATU (1,2 equiv.), DIPEA (2 equiv.), DCM, t.a., 2h, 94%.

3.4.7.1 Síntese e caracterização de 6-bromohexanoato de *tert*-butila (**73**)

O éster **73** foi obtido em 74% de rendimento através da reação do ácido carboxílico **72** com 2,2,2-tricloroacetimidato de *tert*-butila (2,5 equiv.) catalisado

com $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (15 mol %) em diclorometano e cicloexano (1:3) à temperatura ambiente durante 22 horas (Esquema 56).



Esquema 56 Preparação de **73**.

No espectro de RMN de ^1H desse composto (Figura 60) observam-se dois tripletos em δ 3,38 ($J = 6,8$ Hz) e 2,20 ($J = 7,4$ Hz) referentes aos hidrogênios metilênicos ligados aos carbonos ligados ao bromo e α -carbonílico, respectivamente, além de três multipletos entre δ 1,88-1,81 e 1,47 -1,40 correspondentes aos outros quinze hidrogênios metilênicos e metílicos. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 61) observam-se um sinal em δ 173,1 referente ao carbono $\text{C}=\text{O}$ da porção éster, um sinal em δ 80,3 referente ao carbono oxigenado do grupo *tert*-butoxi, além de seis sinais entre δ 35,5 e 24,4 correspondentes aos carbonos metílicos e metilênicos.

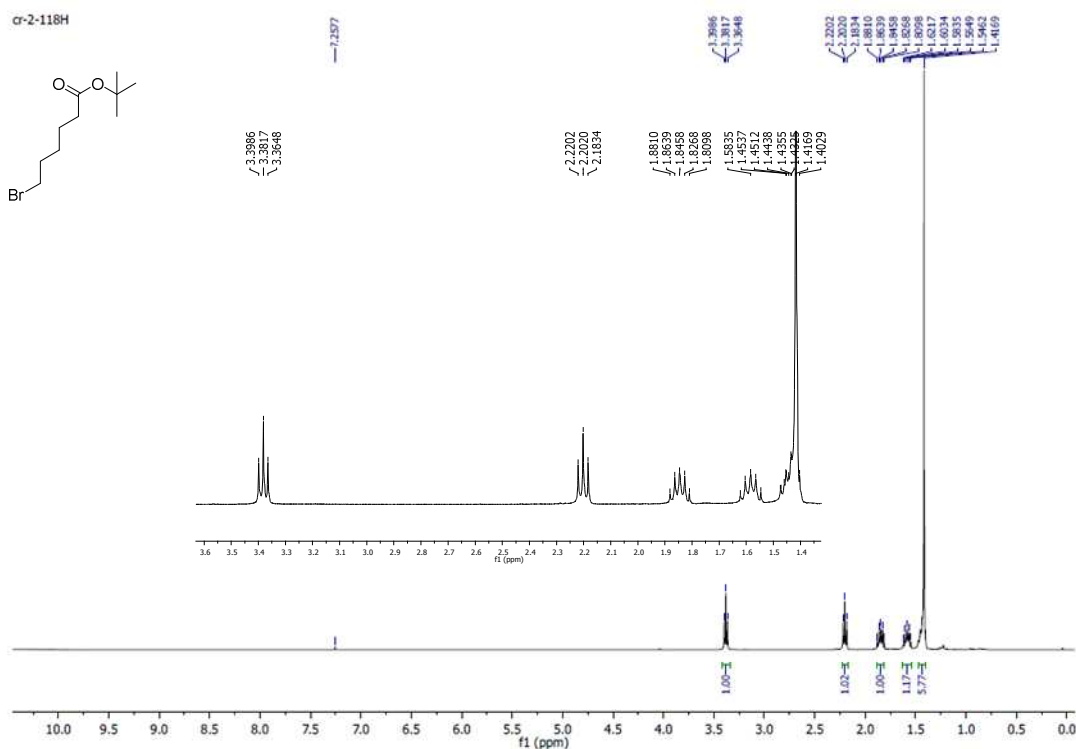


Figura 60 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **73**.

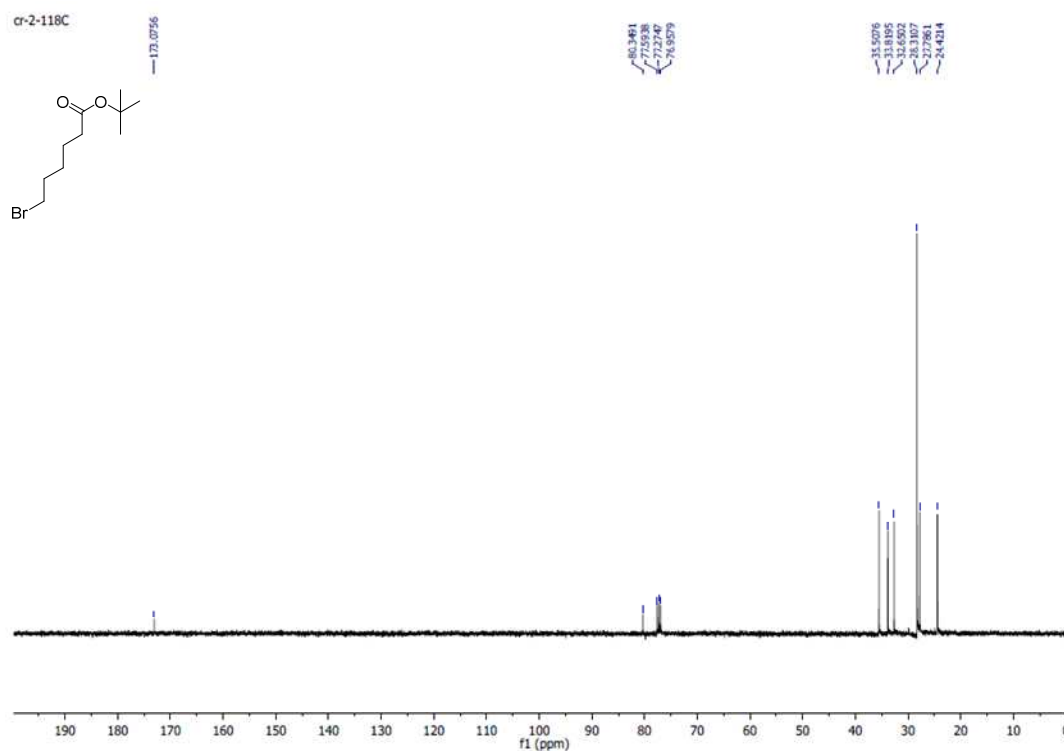
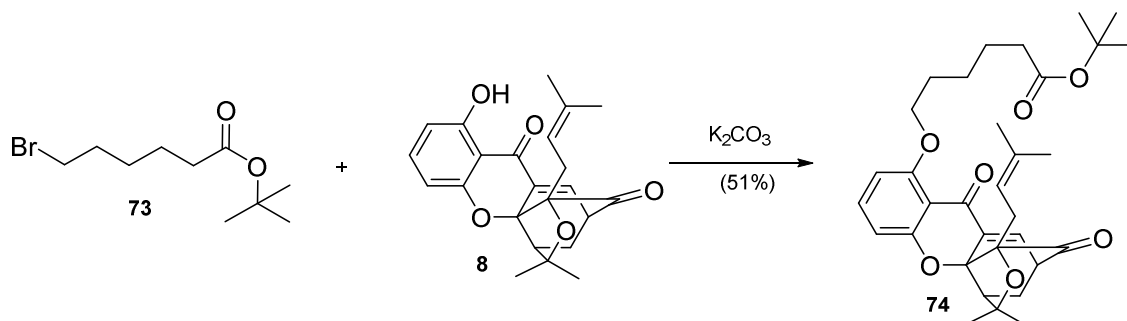


Figura 61 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **73**.

3.4.7.2 Síntese e caracterização de **74**

O composto **74** foi obtido em 51% de rendimento a partir da reação de substituição nucleofílica entre o brometo de alquila **73** e o fenol **8** (0,5 equiv.) na presença de carbonato de potássio (3 equiv.) em DMF à 60°C durante 24 horas (Esquema 57).



Esquema 57 Preparação de **74**.

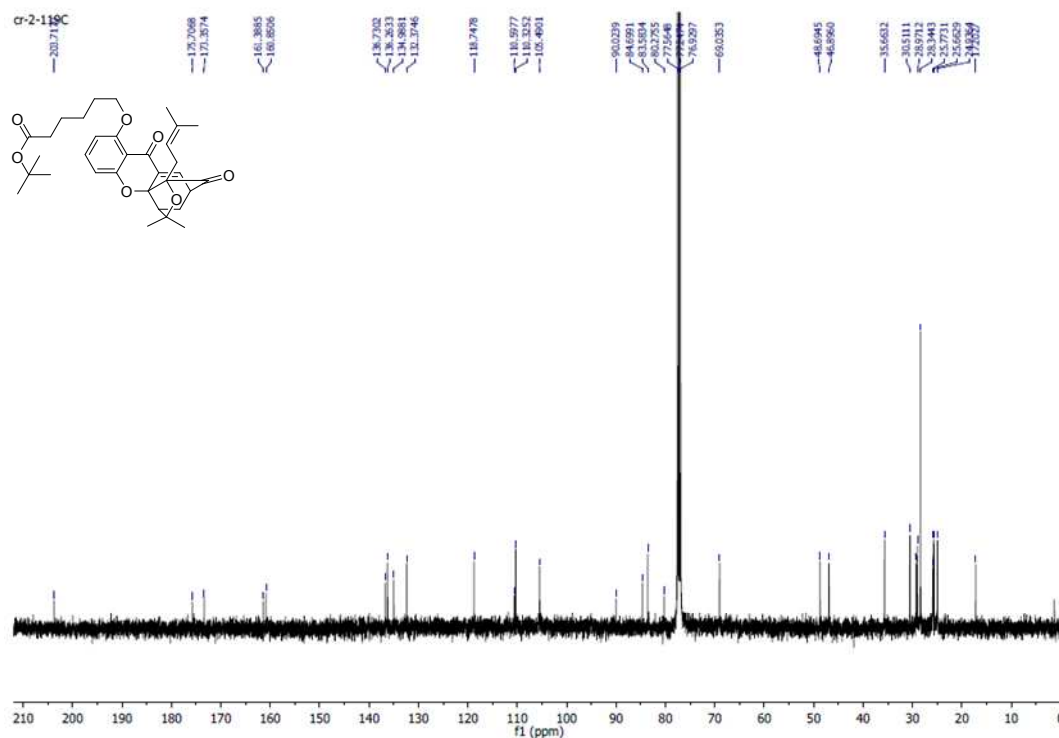
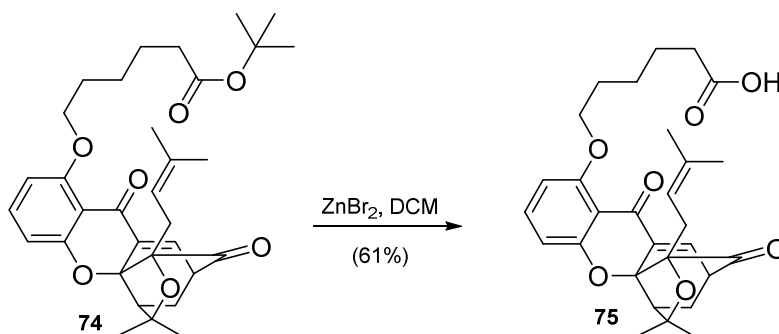


Figura 63 RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **74**.

3.4.7.3 Síntese e caracterização do ácido carboxílico (**75**)

O ácido carboxílico **75** foi obtido em 61% de rendimento através da reação de clivagem do grupo *tert*-butila do éster **74** em uma reação com brometo de zinco (5 equiv.) em diclorometano à temperatura ambiente durante 8 horas (Esquema 58).



Esquema 58 Preparação de **75**.

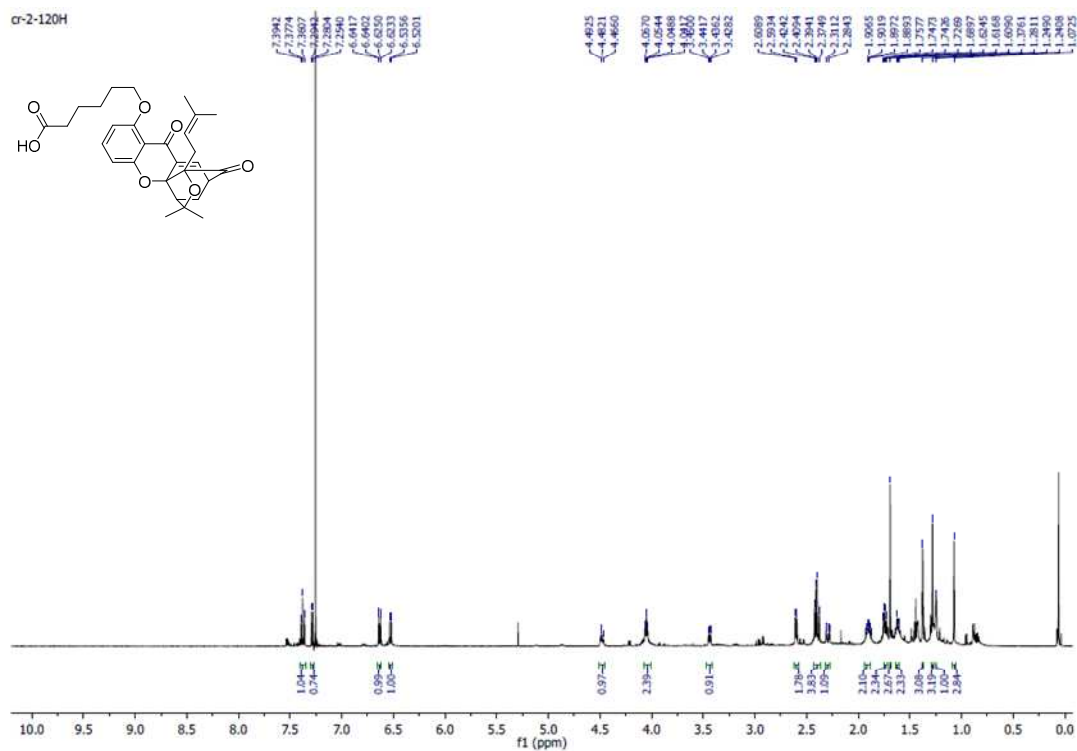


Figura 64 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 75.

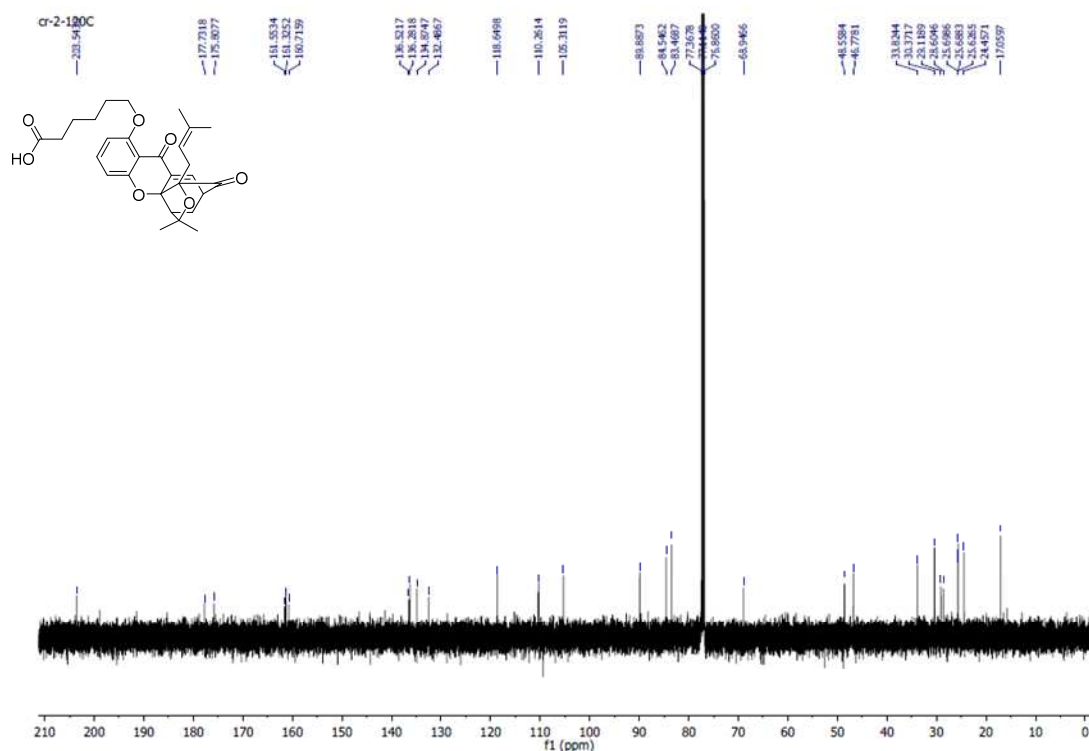
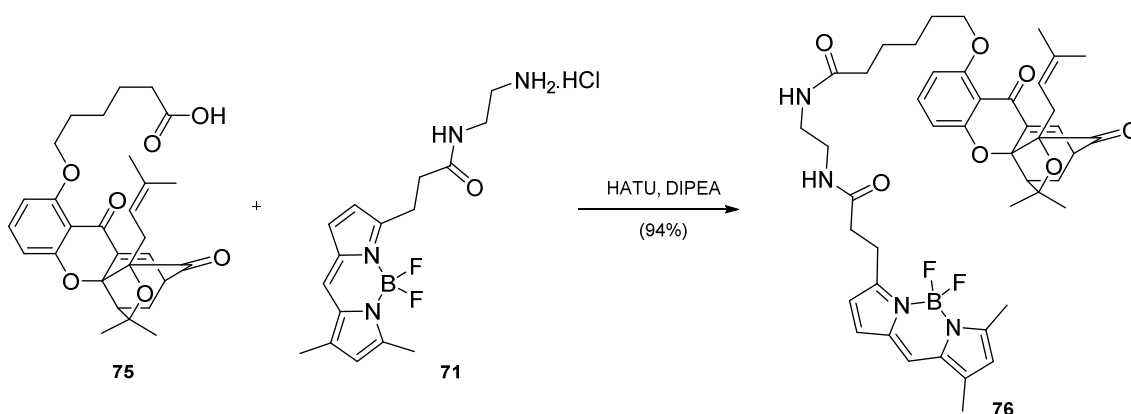


Figura 65 RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de 75.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 64) evidenciou-se a clivagem pela ausência dos sinais referentes aos hidrogênios metílicos do grupo *terc*-butila. Observam-se todos os demais sinais referentes aos hidrogênios dessa molécula. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 65) evidenciou-se a clivagem pela ausência de um sinal próximo à δ 80,0 referente ao carbono C-O do grupo *terc*-butila, além da ausência de sinais correspondentes aos carbonos metílicos desse grupo.

3.4.7.4 Síntese e caracterização de **76**

Através de uma reação de amidação entre o ácido carboxílico **75** e o cloridrato de amônio **71** na presença de HATU (122 equiv.) e DIPEA (2 equiv.) em diclorometano à temperatura ambiente durante 2 horas, ocorreu a formação da amida **76** em 94% de rendimento (Esquema 59).



Esquema 59 Preparação de **76**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 66) observam-se a presença de todos os sinais correspondentes aos hidrogênios desse composto, dentre eles, a presença de sete sinais entre δ 7,36 e 6,12 referentes aos sete hidrogênios aromáticos da unidade cluvenona, aos hidrogênios dos anéis pirrólicos e da olefina presente entre esses anéis. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 67) também observa-se os sinais referentes a todos os carbonos desse composto, dentre eles, quatro sinais em δ 203,3, 175,8, 173,8 e 172,9 correspondentes aos quatro carbonos C=O desse composto.

3.4.8 Ensaios Biológicos

Os ensaios biológicos estão sendo realizados por pesquisadores colaboradores da Universidade da Califórnia, San Diego (UCSD). Os compostos finais sintetizados neste trabalho (Figura 68) foram inicialmente enviados para os testes de citotoxicidade em diferentes tipos de células cancerígenas e células normais. Os compostos mais ativos serão submetidos a estudos de localização mitocondrial, mecanismos de ação e ensaios *in vivo*.

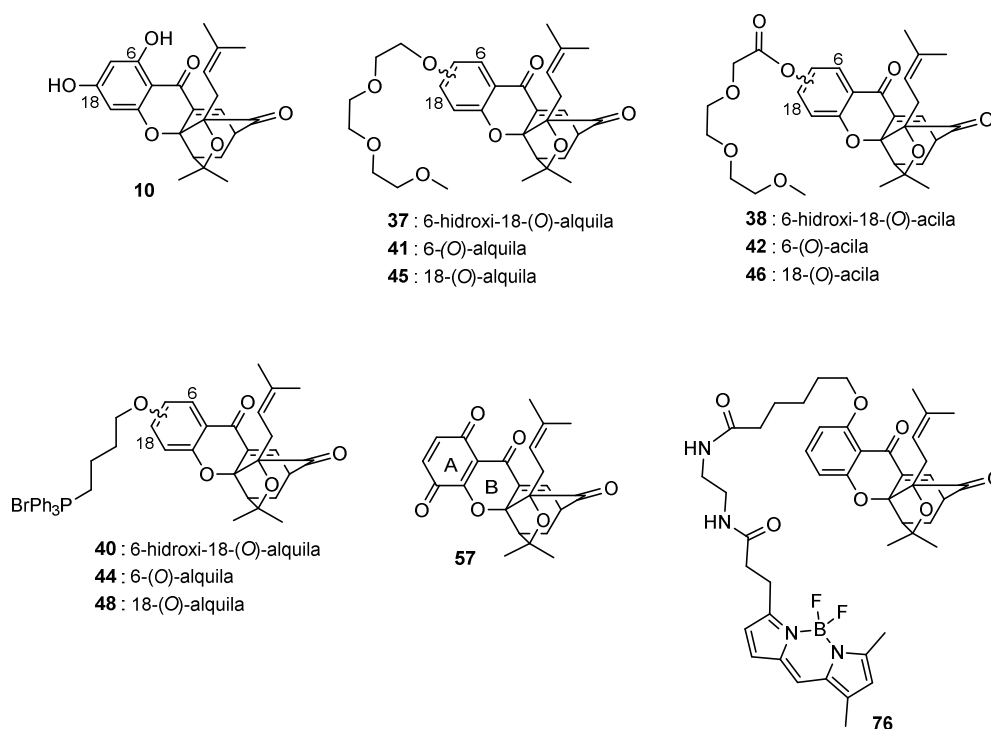


Figura 68 Estrutura dos compostos enviados para os ensaios biológicos.

3.5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi sintetizado a 6,18-diidroxicluvenona **10** (Figura 68), um candidato ideal para futuros estudos bioquímicos e biológicos. A 6-hidroxicluvenona **8** foi sintetizada em um menor número de etapas e em melhor rendimento global que previamente reportado pelo nosso grupo de pesquisa e a 18-hidroxicluvenona **9** foi sintetizada em um rendimento global quase duas vezes maior do que previamente reportado (ELBEL *et al.*, 2013).

Os derivados hidrofílicos e contendo a porção sal de trifetilfosfônio derivados das hidroxi-cluvenonas **8**, **9** e **10** (Figura 68) foram obtidos através

de metodologias simples e em rendimentos satisfatórios. Os ensaios biológicos para esses compostos estão sendo realizados por colaboradores da UCSD. Os dados biológicos para este grupo de compostos acrescentarão informações no estudo da relação estrutura e atividade realizado por nosso grupo de pesquisa.

O composto **57** (Figura 68) foi preparado através de uma rota sintética de nove etapas em rendimento global de 7,3%. Os ensaios biológicos pra esse composto acrescentarão informações importantes da influência de grupos retiradores de elétrons no anel A de cluvenonas na atividade biológica.

Sintetizou-se também o composto BODIPY FL EDA (**71**) de uma maneira eficiente em uma rota sintética de oito etapas e rendimento global de 14,2%. A partir desse composto e da 6-hidroxicluvenona **6** foi sintetizado o composto **76** (Figura 68), com propriedades fluorescentes. Os ensaios biológicos com **76** poderão auxiliar nos estudos de localização e mecanismos de ação desses compostos.

3.6 PARTE EXPERIMENTAL

3.6.1 Materiais e métodos

Os reagentes comercialmente disponíveis foram utilizados sem prévia purificação. Todas as reações não aquosas foram realizadas sob atmosfera de argônio. THF, DMF e éter etílico anidros foram obtidos através da utilização de coluna de alumina ativada. Colunas cromatográficas flash foram realizadas em sílica gel (Merck Kieselgel 60, 230-400 mesh) usando uma mistura de hexano-acetato de etila em gradiente de polaridade. O progresso de todas as reações foi monitorado por CCD utilizando placas de vidro pré-revestidas com sílica gel 60 F254 em uma espessura de 0,5 mm (Merck), e os compostos foram visualizados por irradiação de lâmpada UV e/ou tratamento com solução de CAN ou permanganato de potássio seguido de aquecimento.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram realizados em instrumentos Varian de 400 ou 500 MHz ou em um instrumento JOEL de 500 MHz. Os

deslocamentos químicos (δ) estão citados em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

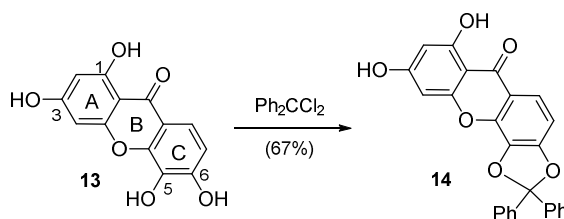
Os espectros de massa de alta resolução (EMAR, do inglês, HRMS) foram realizados em um espectrômetro WG AutoSpecQ.

As reações sob irradiação de microondas foram realizadas no aparelho Biotage initiator robot eight.

Os compostos **8**, **13**, **17**, **24**, **25**, **30** e **31** foram preparados de acordo com as referências citadas nos resultados e discussão.

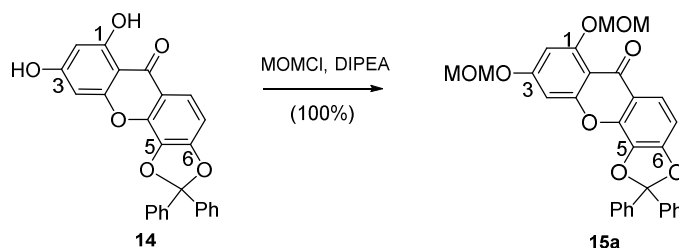
3.6.2 Síntese e caracterização

3.6.2.1 Síntese de 1,3-diidroxi-5,6-di-(O)-difenilcetal-xantona (**14**)



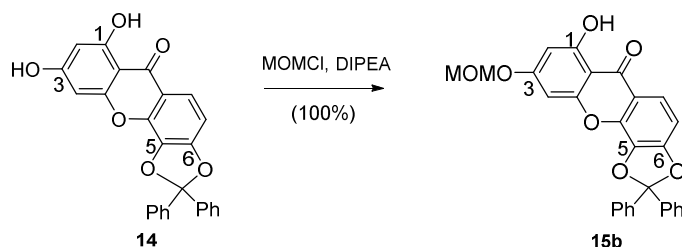
Em uma solução da xantona **13** (800 mg, 3,07 mmol) em acetonitrila (20 mL), α,α -diclorodifenilmetano (0,9 mL, 4,61 mmol) foi adicionado e a mistura foi agitada à 150°C durante 20 minutos sob irradiação de microondas. Após o término, a mistura reacional foi resfriada até a temperatura ambiente e o solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 25% EtOAc-hexano) conduzindo à formação do diol diprotetido **14** (873 mg, 2,06 mmol, 67%). Sólido branco; R_f = 0,28 (17 % EtOAc-hexane); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,64-7,62 (m, 4H), 7,42-7,40 (m, 6H), 6,98 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,44 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 6,26 (d, J = 2,2 Hz, 1H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 180,2, 164,1, 163,6, 157,7, 153,1, 139,3, 133,9, 129,9, 128,7, 126,6, 121,1, 116,8, 106,4, 103,4, 98,9, 94,8; EMAR (ESI) m/e 423,0874 [M-H]⁻ calcd. para $[\text{C}_{26}\text{H}_{15}\text{O}_6]$: 423,0873.

3.6.2.2 Síntese de 1,3-bis(metoximetoxi)-5,6-di-(O)-difenilcetal-xantona (**15a**)



Em uma solução de **14** (1,27 g, 3 mmol) e DIPEA (5,3 mL, 30 mmol) em diclorometano (30 mL) foi adicionado cloreto de metoximetil (MOMCl, 1,4 mL, 18 mmol) à temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. A solução foi agitada durante 1 hora a 60°C, em seguida foi tratada com solução saturada de cloreto de amônio (30 mL) e extraída com diclorometano (2 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida conduzindo à formação de **15a** (1,53 g, 2,99 mmol, 100%). Óleo incolor; $R_f = 0,5$ (50 % EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,66 – 7,61 (m, 4H), 7,43 – 7,38 (m, 6H), 6,93 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,71 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 5,35 (s, 2H), 5,25 (s, 2H), 3,57 (s, 3H), 3,51 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 174,6, 162,3, 159,6, 159,2, 152,1, 139,5, 133,5, 130,30, 129,7, 128,6, 126,5, 121,5, 119,9, 119,3, 108,3, 106,0, 100,9, 97,2, 95,5, 94,5, 77,5, 77,2, 76,9, 56,8, 56,7; EMAR (ESI) m/e 513,1544 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. para $[\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{O}_8]^+$: 513,1546.

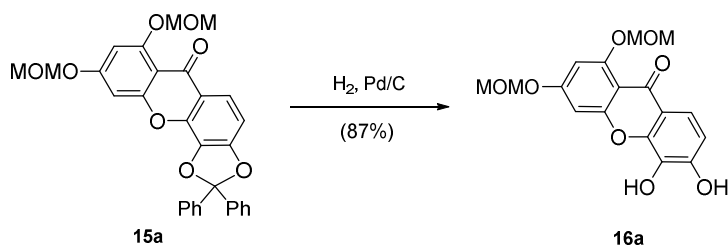
3.6.2.3 Síntese de 1-hidroxi-3-(metoximetoxi)-5,6-di-(O)-difenilcetal-xantona (**15b**)



Em uma solução de **14** (18,9 mg, 0,04 mmol) e DIPEA (0,02 mL, 0,12 mmol) em diclorometano (0,5 mL) foi adicionado cloreto de metoximetil (MOMCl, 6,10 μL , 0,08 mmol) à temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. A solução foi agitada durante 1 hora a temperatura ambiente, em

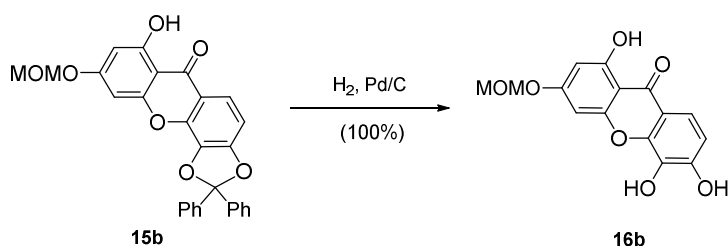
seguida foi tratada com solução saturada de cloreto de amônio (2 mL) e extraída com diclorometano (2 x 2 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida conduzindo à formação de **15b** (18,7 mg, 100%). Óleo incolor; $R_f = 0,74$ (50 % EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,86 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,66 – 7,60 (m, 4H), 7,43 – 7,39 (m, 6H), 6,98 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,66 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 6,45 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 5,24 (s, 2H), 3,50 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 180,2, 164,2, 163,7, 157,4, 153,1, 139,7, 139,3, 129,8, 128,7, 126,5, 121,1, 116,9, 106,4, 104,1, 99,4, 94,87, 94,4, 56,7; EMAR (ESI) m/e 469,1282 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. para $[\text{C}_{28} \text{H}_{21} \text{O}_7]^+$: 469,1283.

3.6.2.4 Síntese de 1,3-bis(metoximetoxi)-5,6-diidroxi-xantona (**16a**)



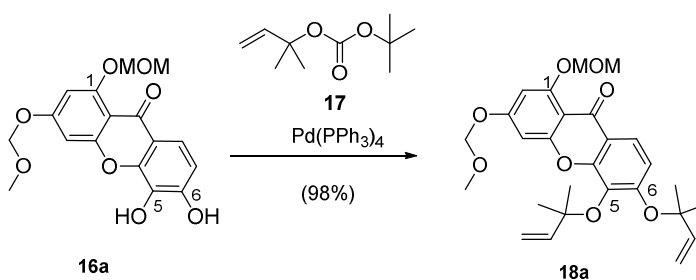
Em uma solução de **15a** (1,5 g, 2,93 mmol) em metanol/THF (1:3, 28 mL), 10% Pd/C (0,2 g) e bicarbonato de sódio (0,72 g, 8,7 mmol) foram adicionados e a mistura foi agitada durante 18 horas a temperatura ambiente sob atmosfera de hidrogênio com o auxílio de um reator de alta pressão. Após o término da reação, a mistura foi filtrada utilizando celite e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi lavado com hexano e seco sob vácuo, conduzindo à formação de **16a** (0,88 g, 2,53 mmol, 87%). Sólido branco; $R_f = 0,2$ (60% EtOAc -hexano); RMN de ^1H (500 MHz, DMSO) δ 7,40 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,82 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,79 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,61 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 5,31 (s, 2H), 5,27 (s, 2H), 3,44 (s, 3H), 3,41 (s, 3H); RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO) δ 173,9, 161,5, 159,0, 158,8, 145,5, 133,0, 116,4, 115,8, 113,3, 107,8, 100,7, 97,1, 95,5, 94,5, 56,5; EMAR (ESI) m/e 371,0737 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd. para $[\text{C}_{17} \text{H}_{16} \text{O}_8 \text{Na}]^+$: 371,0742.

3.6.2.5 Síntese de 1-hidroxi-3-(metoximetoxi)-5,6-diidroxi-xantona (**16b**)



Em uma solução de **15b** (25,8 mg, 0,06 mmol) em metanol/THF (1:3, 0,4 mL), foi adicionado 10% Pd/C (9,3 mg) e a mistura foi agitada durante 18 horas a temperatura ambiente sob atmosfera de hidrogênio com o auxílio de um reator de alta pressão (300 bar). Após o término da reação, a mistura foi filtrada utilizando celite e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi lavado com hexano e seco sob vácuo, conduzindo à formação de **16b** (18,2 mg, 100%). Sólido branco; $R_f = 0,17$ (50% EtOAc -hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 7,56 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,86 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,65 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 6,35 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 5,26 (s, 2H), 3,30 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ 176,2, 161,8, 158,9, 151,1, 116,9, 115,9, 112,7, 112,5, 107,1, 101,1, 99,7, 96,7, 94,9, 94,3, 55,6, 48,4, 48,2, 48,0, 47,8, 47,5, 47,3, 47,1; EMAR (ESI) m/e 303,0510 $[\text{M}-\text{H}]^-$ calcd. para $[\text{C}_{15} \text{H}_{11} \text{O}_7]$: 303,0511.

3.6.2.6 Síntese de 1,3-bis(metoximetoxi)-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi)xantona (**18a**)

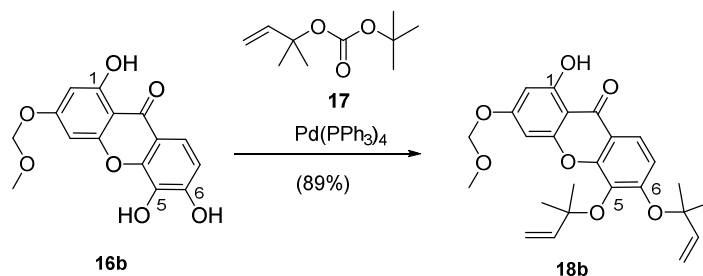


Em uma solução de **16a** (0,28 g, 0,81 mmol) em THF anidro (10 mL) foi adicionado o carbonato **17** (1,5 g, 8,1 mmol), *via* seringa, seguido por $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (94 mg, 0,08 mmol) a 0°C sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada nessa temperatura por 10 minutos. Após o término da reação foi adicionado água destilada (10 mL) e a solução foi extraída com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada

sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 10% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **18a** (385 mg, 0,79 mmol 98%). Óleo incolor; $R_f = 0,5$ (30% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,05 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,76 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,71 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,32 – 6,13 (m, 2H), 5,35 (s, 2H), 5,25 (s, 2H), 5,21 – 5,14 (m, 3H), 5,04 – 5,00 (m, 1H), 3,56 (s, 3H), 3,52 (s, 3H), 1,56 (s, 6H), 1,55 (s, 6H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 175,4, 162,1, 159,4, 159,2, 156,2, 151,4, 143,9, 143,7, 135,5, 121,1, 118,5, 117,2, 114,2, 113,1, 108,4, 100,5, 97,5, 95,5, 94,5, 83,7, 82,2, 56,8, 56,7, 27,3, 27,1; EMAR (ESI) m/e 507,1989 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. para $[\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{Na}]^+$: 507,1985.

3.6.2.7 Síntese de 1-hidroxi-3-(metoximetoxi)-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi)xantona (**18b**)

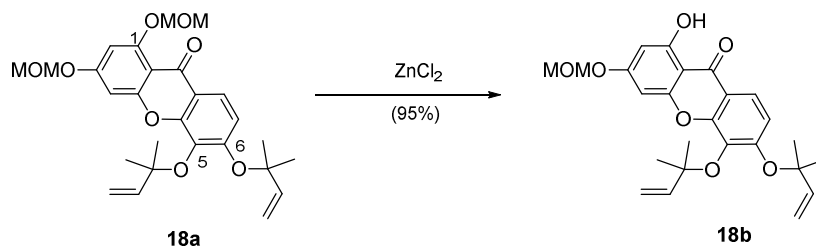
Reação a partir do catecol **16b**:



Em uma solução de **16b** (66,7 mg, 0,22 mmol) em THF anidro (4 mL) foi adicionado o carbonato **17** (0,36 mL, 1,70 mmol), seguido por $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (23,1 mg, 0,02 mmol) a 0°C sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada nessa temperatura por 2 horas, em seguida foi adicionado água destilada (5 mL) e a solução foi extraída com acetato de etila (2 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 7% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **18b** (86,2 mg, 89%). Óleo incolor; $R_f = 0,6$ (25% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,82 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,11 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,56 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 6,46 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 6,30 – 6,13 (m, 2H), 5,24 (s, 2H), 5,24 – 5,14 (m, 3H), 5,05 – 5,00 (m, 1H), 3,50 (s, 3H), 1,57 (s, 3H), 1,56 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 180,9, 164,0, 163,5, 157,5, 152,5, 143,7, 143,5, 120,4, 116,8, 114,4, 113,4, 98,8, 94,9, 94,4,

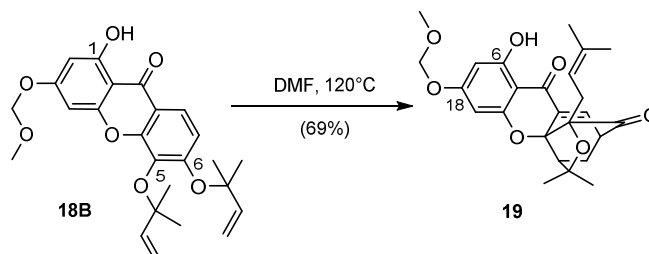
82,5, 56,7, 27,4, 27,1; EMAR (ESI) m/e 441,1908 $[M+H]^+$ calcd. para $[C_{25} H_{29} O_7]^+$: 441,1907.

Reação a partir do dialil éter **18a**:



Em uma solução de cloreto de zinco ($0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ em THF, 0,5 mL) foi adicionado **18a** (13 mg, 0,03 mmol). A solução foi agitada a 60°C durante 4 horas sob atmosfera de argônio, em seguida adicionou-se solução saturada de cloreto de sódio (1 mL) e a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 3 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida, conduzindo à formação de **18b** (11,3 mg, 0,26 mmol, 95%).

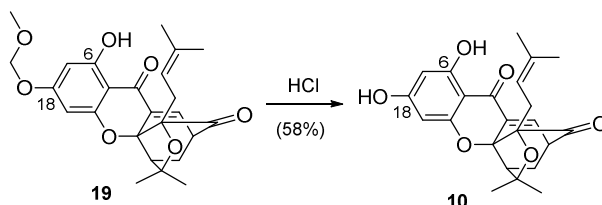
3.6.2.8 Síntese de 6-hidroxi-18-metoximetoxi-cluvenona (**19**)



Uma solução de **18b** (58,7 mg, 0,13 mmol) em DMF (2 mL) foi aquecida a 120°C durante 4 horas. Após o término da reação, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 25% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **19** (40,5 mg, 69%). Sólido amarelo; $R_f = 0,24$ (25% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 12,38 (s, 1H), 7,43 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,20 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 6,17 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 5,19 (d, $J = 1,9$ Hz, 2H), 4,43 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 3,53 – 3,44 (m, 4H), 2,63 – 2,57 (m, 2H), 2,43 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,33 (dd, $J = 13,5, 4,6$ Hz, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,40 – 1,35 (m, 4H), 1,28 (s, 3H), 1,09 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,1, 179,7, 166,1, 164,9, 161,0, 135,4, 134,2, 133,9, 118,4, 101,8, 97,2, 95,6, 94,1, 90,4, 84,6, 83,7, 56,6, 48,9, 47,0, 30,5, 29,9,

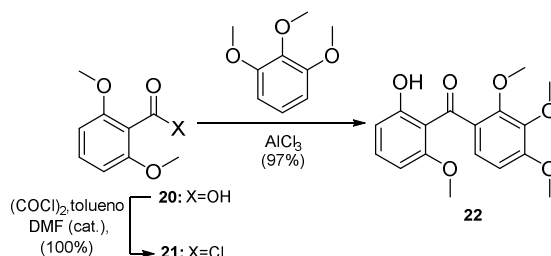
29,2, 25,7, 25,3, 17,0; EMAR (ESI) m/e 463,1727 $[M+Na]^+$ calcd. para $[C_{25} H_{28} O_7 Na]^+$: 463,1729.

3.6.2.9 Síntese da 6,18-dihidroxicluvenona (**10**)



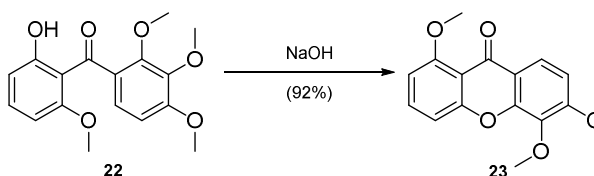
Em uma solução de **19** (64 mg, 0,15 mmol) em acetona (1,5 mL), foi adicionado HCl (15%, 0,8 mL) e a reação foi agitada à 40°C. Após 8 horas, adicionou-se acetato de etila (4 mL) e a solução foi extraída com solução de cloreto de sódio (2 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna flash (sílica, 40% EtOAc-hexano), conduzindo à formação do composto **10** (34,5 mg, 0,09 mmol, 58%). Sólido amarelo; $R_f = 0,32$ (50% EtOAc -hexano); RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 12,48 (s, 1H), 7,43 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 6,04 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 6,02 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 4,43 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 3,51 (dd, $J = 6,7, 4,4$ Hz, 1H), 2,61 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 2,44 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,33 (dd, $J = 13,5, 4,6$ Hz, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,31 (s, 4H), 1,12 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 203,1, 179,4, 165,7, 165,3, 161,3, 135,6, 134,1, 133,8, 118,2, 101,2, 97,2, 95,4, 90,2, 84,7, 84,1, 48,9, 47,0, 30,5, 29,2, 29,1, 25,7, 25,4, 17,13; EMAR (ESI) m/e 397,1646 $[M+H]^+$ calcd. para $[C_{23} H_{25} O_6]^+$: 397,1648.

3.6.2.10 Síntese da (2-hidroxi-6-metoxifenil)(2,3,4-trimetoxifenil)metanona (**22**)



Em uma solução do ácido carboxílico **20** (1,0 g, 5,5 mmol) em tolueno anidro (27 mL) foi adicionado cloreto de oxalila (3,4 mL, 38,4 mmol) e DMF (2 gotas) a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. Após 30 minutos sob agitação, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo mantido em alto vácuo por 1 hora, conduzindo ao cloreto de acila **21**. Em uma solução do cloreto de acila **21** e 1,2,3-trimetoxibenzeno (1,1 g, 6,6 mmol) em éter etílico anidro (15 mL), foi adicionado tricloreto de alumínio (2,2 g, 16,5 mmol) a 0°C sob atmosfera de argônio. Após 3 horas de agitação à temperatura ambiente adicionou-se solução de HCl (15%, 15 mL) e acetato de etila (15 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 40% EtOAc-hexano), conduzindo a formação de **22** (1,68 g, 5,3 mmol, 97%). Sólido branco; $R_f = 0,4$ (50% EtOAc -hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 12,42 (s, 1H), 7,35 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,04 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,62 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,38 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,93 – 3,90 (m, 3H), 3,89 (s, 6H), 3,73 (s, 6H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 200,0, 158,8, 157,4, 157,2, 136,3, 131,4, 129,7, 127,5, 116,8, 106,8, 104,1, 103,0, 56,2, 56,1.

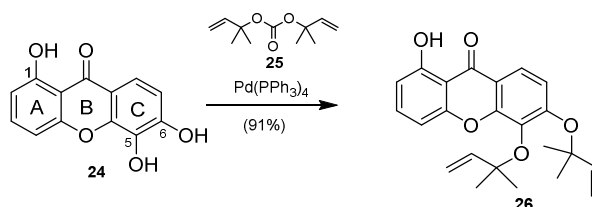
3.6.2.11 Síntese da 1,5,6-trimetoxi-xantona (**23**)



Em uma suspensão de **22** (1,5 g, 5,2 mmol) em metanol (10 mL) foi adicionado uma solução de hidróxido de sódio (1,9 g, 46,8 mmol) em água destilada (7 mL) a temperatura ambiente. A reação foi aquecida até o refluxo e permaneceu em agitação durante 48 horas. Após o término reacional, a solução foi acidificada com ácido clorídrico (15%) a 0°C até pH = 3. A solução foi extraída com acetato de etila (3 x 30 mL) e a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 50% EtOAc-hexano), conduzindo a formação de **23** (1,35 g, 4,8 mmol, 92%). Sólido branco; $R_f = 0,3$ (50% EtOAc -hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,03 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H),

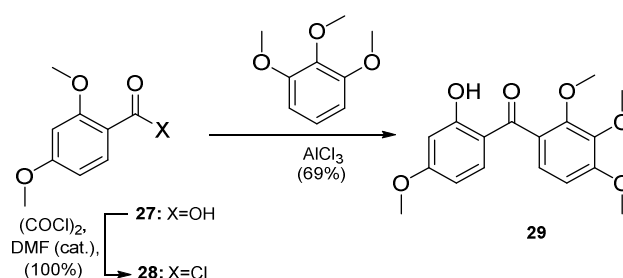
7,56 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,12 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,78 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,00 (s, 6H), 3,97 (s, 3H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 176,1, 160,8, 158,3, 157,1, 149,5, 136,0, 134,8, 122,5, 118,1, 112,2, 110,3, 108,6, 105,8, 61,7, 56,6.

3.6.2.12 Síntese da 1-hidroxi-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi-xantona (**26**)



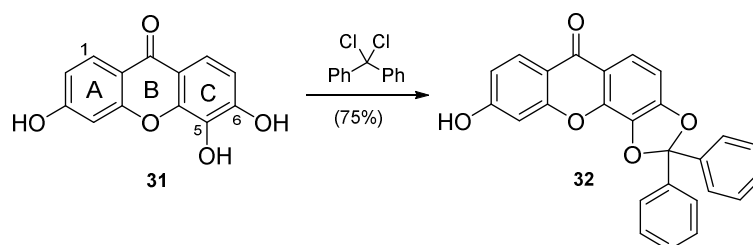
Em uma solução de **24** (1 g, 4,09 mmol) em THF anidro (41 mL) foi adicionado o carbonato **25** (8,1 g, 40,9 mmol) e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (473 mg, 0,41 mmol) a 0°C. A reação foi agitada a 4°C durante 12 horas. Após o término reacional, adicionou-se água destilada (30 mL) e extraiu-se essa solução com acetato de etila (2 x 30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 15% EtOAc-hexano), conduzindo à formação de **26** (1,42 g, 91%). Sólido amarelo; RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 7,55 (t, $J = 13,4$ Hz, 1H), 7,13 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,93 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,76 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 6,28-6,15 (m, 2H), 5,24-5,16 (m, 3H), 5,02 (d, $J = 10,9$ Hz, 1H), 1,58 (s, 6H), 1,57 (s, 6H); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 182.2, 162.1, 157.9, 156.3, 152.8, 143.7, 143.5, 136.5, 135.7, 120.6, 116.9, 115.8, 114.6, 113.5, 110.6, 108.7, 107.2, 84.0, 82.6, 27.5, 27.2; EMAR (ESI) m/e 381.1696 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. para $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_5^+$: 381,1697.

3.6.2.13 Síntese da (2-hidroxi-4-metoxifenil)(2,3,4-trimetoxifenil)metanona (**29**)



Em uma solução do ácido carboxílico **27** (1,0 g, 5,5 mmol) em tolueno anidro (27 mL) foi adicionado cloreto de oxalila (3,4 mL, 38,4 mmol) e DMF (2 gotas) a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. Após 30 minutos em agitação, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo mantido em alto vácuo por 1 hora, conduzindo ao cloreto de acila **28**. Em uma solução do cloreto de acila **28** e 1,2,3-trimetoxibenzeno (1,1 g, 6,6 mmol) em éter etílico anidro (15 mL), foi adicionado tricloreto de alumínio (2,2 g, 16,5 mmol) a 0°C sob atmosfera de argônio. Após 3 horas de agitação à temperatura ambiente adicionou-se solução de HCl (15%, 15 mL) e acetato de etila (15 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 50% EtOAc-hexano), conduzindo a formação de **29** (1,21 g, 3,8 mmol, 69%). Óleo incolor; $R_f = 0,3$ (50% EtOAc -hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,25 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,16 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 6,57 – 6,52 (m, 2H), 6,39 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,77 (s, 3H).

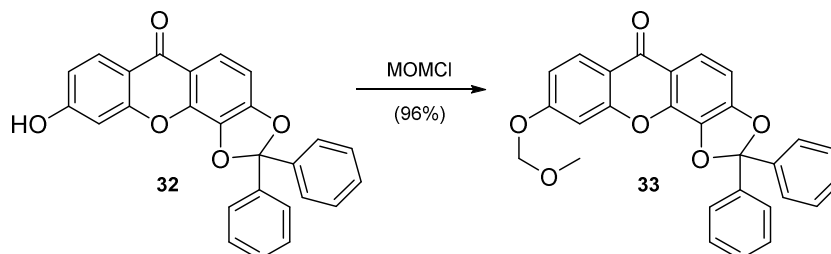
3.6.2.14 Síntese da 3-hidroxi-5,6-di-(O)-difenilmetilenodioxil-xantona (**32**)



Em uma solução de **31** (1g, 4,1 mmol) em acetonitrila (20 mL), adicionou-se α,α -diclorodifenilmetano (0,9 mL, 4,9 mmol). A mistura foi agitada a 150°C durante 15 minutos sob irradiação de microondas. Após o término reacional, evaporou-se o solvente e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 20% EtOAc-hexano) conduzindo a formação de **32** (1,26 g, 75%). Sólido marrom; $R_f = 0,5$ (20 % EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 8,09 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,86 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,65 – 7,61 (m, 4H), 7,47 – 7,40 (m, 6H), 7,08 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,92 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 6,88 (dd, $J = 8,8, 2,2$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) δ 174,2, 164,6, 157,7, 152,0, 140,9, 139,3, 133,7, 130,5, 129,4, 128,8, 126,6, 121,7, 119,8,

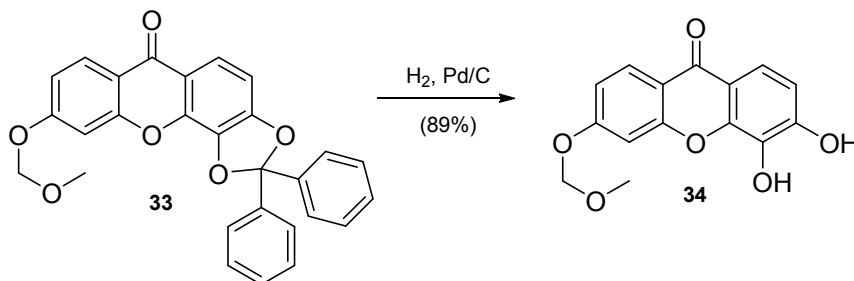
118,4, 114,8, 114,3, 106,8, 102,9; EMAR (ESI) m/e 409,1071 (M+H)⁺ calcd. para [C₂₆H₁₇O₅]⁺ : 409,1068.

3.6.2.15 Síntese da 3-metoximetil-5,6-di-(O)-difenilmetilenodioxixantona (**33**)



Em uma solução de **32** (1g, 2,45 mmol) e DIPEA (1,3 mL, 7,35 mmol) em diclorometano anidro (10 mL) foi adicionado cloreto de metoximetila (0,38 mL, 4,9 mmol) a temperatura ambiente. Após 15 minutos, a reação foi tratada com solução saturada de cloreto de amônio (20 mL) e extraída com diclorometano (2 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida, conduzindo à formação de **33** (1,06 g, 2,35 mmol, 96%). Sólido marrom; $R_f = 0,70$ (20 % EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,23 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,93 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,68 – 7,63 (m, 4H), 7,44 – 7,38 (m, 6H), 7,17 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,01 (dd, $J = 8,8, 2,3$ Hz, 1H), 6,98 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 5,28 (s, 2H), 3,51 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 175,4, 162,5, 157,5, 152,4, 141,3, 139,4, 134,0, 129,7, 128,6, 126,5, 121,7, 120,0, 118,3, 116,4, 114,4, 106,2, 103,2, 94,5, 56,7; EMAR (ESI) m/e 453,1333 (M+H)⁺ calcd. para [C₂₈H₂₁O₆]⁺ 453,1332.

3.6.2.16 Síntese da 3-metoximetil-5,6-diidroxi-xantona (**34**)

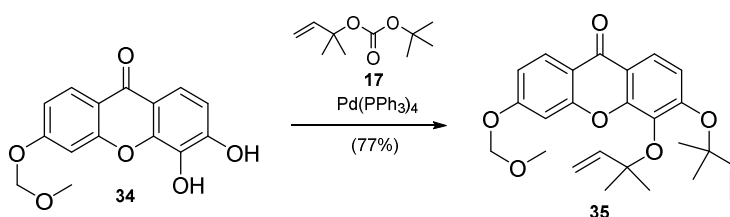


Em uma solução de **33** (1,58 g, 3,5 mmol) em metanol/THF (1:3, 28 mL) foi adicionado Pd/C 10% (0,4 g) e a mistura foi agitada sob atmosfera de hidrogênio durante 12 horas a temperatura ambiente com o auxílio de um

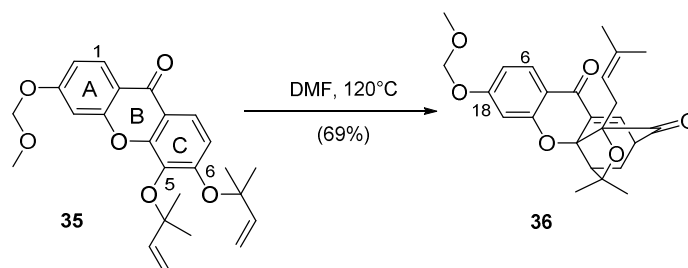
reator de alta pressão (300 bar). Após o término reacional, a mistura foi filtrada com celite e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi lavado com excesso de hexano e seco sob pressão reduzida, conduzindo à formação de **34** (0,9 g, 3,12 mmol, 89%). Sólido branco; $R_f = 0,1$ (50% EtOAc -hexano); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 10,41 (s, 1H), 9,38 (s, 1H), 8,05 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,50 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,17 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,05 (dd, $J = 8,8, 2,3$ Hz, 1H), 6,89 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 5,36 (s, 2H), 3,41 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) δ 175,1, 162,3, 157,6, 151,8, 147,0, 133,2, 128,2, 117,0, 116,0, 115,3, 114,6, 113,6, 103,5, 94,7, 56,7, 40,7, 40,5, 40,3, 40,1, 39,9, 39,7, 39,5; EMAR (ESI) m/e 409,1072 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. para $\text{C}_{26}\text{H}_{17}\text{O}_5^+$: 409,1071.

3.6.2.17 Síntese da 3-metoximetil-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi-xantona

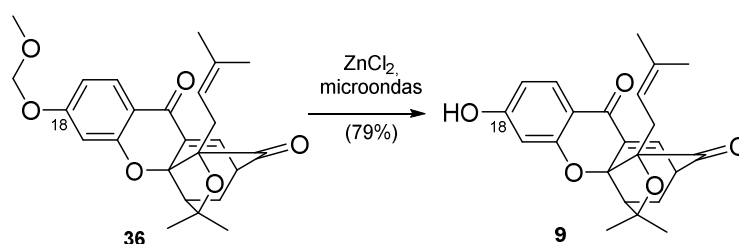
(**35**)



Em uma solução de **34** (0,62 g, 2,16 mmol) em THF anidro (20 mL) adicionou-se o carbonato **17** (4,3 g, 21,6 mmol), com o emprego de uma seringa, seguido de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,25 g, 0,22 mmol) a 0°C . A reação foi agitada nessa temperatura por 10 minutos, em seguida adicionou-se água destilada (10 mL) e realizou-se extração com acetato de etila (2 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (sílica, 20% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **35** (0,71 g, 1,66 mmol, 77%). Óleo incolor; $R_f = 0,6$ (20% EtOAc -hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,23 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,90 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,11-7,08 (m, 2H), 7,03 (dd, $J = 8,8, 2,1$ Hz, 1H), 6,32-6,15 (m, 2H), 5,29 (s, 2H), 5,23 – 5,15 (m, 3H), 5,03 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 3,52 (s, 3H), 1,61 – 1,53 (m, 12H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 176,3, 162,4, 157,6, 156,7, 143,8, 143,7, 128,4, 121,1, 117,4, 117,1, 116,4, 114,3, 113,9, 113,2, 103,4, 94,5, 83,8, 82,4, 56,6, 27,3, 27,1; EMAR (ESI) m/e 447,1776 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd. para $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{Na}^+$: 447,1778.

3.6.2.18 Síntese da 18-metoximetil-cluvenona (**36**)

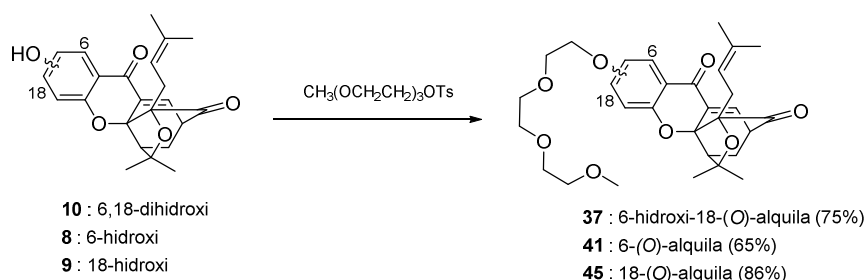
Uma solução de **35** (1,13 g, 2,66 mmol) em DMF (15 mL) foi agitada a 120°C durante 1 hora. Após o término da reação evaporou-se o solvente. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 20% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **36** (0,9 g, 2,13 mmol, 80%). Óleo incolor; R_f = 0,4 (20% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 6,71 (dd, J = 8,8, 2,2 Hz, 1H), 6,64 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 5,22 (s, 2H), 4,46 – 4,40 (m, 1H), 3,48-3,46 (m, 4H), 2,62-2,59 (m, 2H), 2,44 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 2,31 (dd, J = 13,5, 4,5 Hz, 1H), 1,69 (d, J = 5,8 Hz, 4H), 1,32 (s, 3H), 1,29 (s, 3H), 0,98 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,5, 175,5, 163,9, 161,6, 135,0, 134,9, 133,3, 129,0, 118,7, 114,0, 111,7, 103,6, 94,2, 90,9, 84,7, 83,6, 56,6, 49,0, 46,9, 30,6, 29,3, 29,2, 25,6, 25,4, 17,0; EMAR (ESI) m/e 447,1775 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd. para $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{Na}^+$: 447,1778.

3.6.2.19 Síntese da 18-hidroxi-cluvenona (**9**)

O composto **36** (58 mg, 0,14 mmol) foi dissolvido em uma solução anidra de cloreto de zinco (0,5 mol.L⁻¹ em THF, 3 mL). A mistura foi agitada a 110°C durante 7 horas sob irradiação de microondas. Após o término reacional, adicionou-se água destilada (5 mL) e extraiu-se a solução com acetato de etila (2 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 50% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **9** (42 mg, 0,11 mmol,

79%). Sólido branco; $R_f = 0,4$ (40% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,40 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,64 – 6,57 (m, 3H), 6,52 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 4,43 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 3,49 (dd, $J = 6,0, 5,1$ Hz, 1H), 2,62 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 2,46 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 2,33 (dd, $J = 13,7, 4,7$ Hz, 1H), 1,71 (s, 3H), 1,68 (s, 1H), 1,34 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,01 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,4, 175,9, 164,5, 162,1, 135,2, 134,9, 133,5, 129,6, 118,6, 112,8, 111,9, 103,4, 90,7, 84,8, 84,1, 48,9, 46,9, 30,5, 29,2, 29,2, 25,6, 25,45, 17,12; EMAR (ESI) m/e 381,1697 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. para $[\text{C}_{23} \text{H}_{25} \text{O}_5]^+$: 381,1696.

3.6.2.20 Síntese de 6-hidroxi-18-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)etoxi-cluvenona (**37**), 6-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)etoxi-cluvenona (**41**) e 18-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)etoxi-cluvenona (**45**)



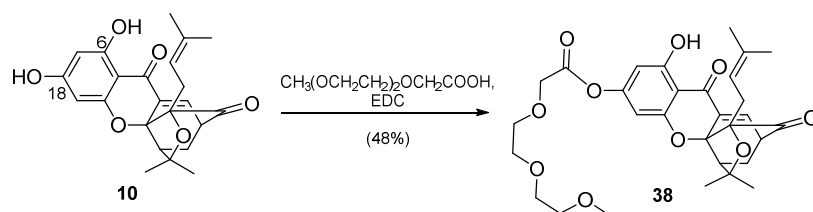
Em uma solução das hidroxiclúvenonas **8**, **9** ou **10** (13,0 μmol) em DMF (0,3 mL) foram adicionados carbonato de potássio (4 mg, 26,0 μmol) e tosilato de 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etila (12,4 mg, 39,0 μmol) sob atmosfera de argônio. As reações com as hidroxiclúvenonas **9** e **10** foram agitadas a temperatura ambiente durante 8 horas e a reação com **8** foi agitada a 60°C durante 10 horas. Após o término reacional foi adicionado solução saturada de cloreto de sódio (0,5 mL) e a solução foi extraída com éter etílico (3 x 1 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por placa preparativa (30% EtOAc – hexano) conduzindo aos compostos **37**, **41** e **45**, em rendimentos de 75, 65 e 86% de rendimento, respectivamente.

37; Sólido amarelo; $R_f = 0,6$ (40% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,41 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,08 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 6,07 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,42 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 4,18 – 4,14 (m, 2H), 3,88 – 3,84 (m, 2H), 3,75 –

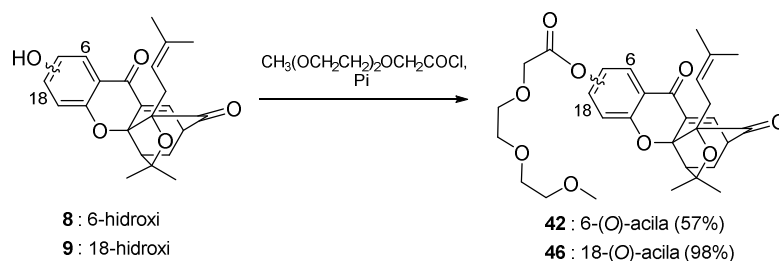
3,72 (m, 2H), 3,70 – 3,66 (m, 4H), 3,57 – 3,55 (m, 2H), 3,49 (dd, $J = 7,0, 3,8$ Hz, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,60 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 2,42 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,33 (dd, $J = 13,1, 4,4$ Hz, 1H), 1,67 (s, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,29 (s, 4H), 1,10 (s, 3H). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 203,6, 174,1, 165,1, 162,6, 161,7, 136,2, 134,7, 131,4, 118,2, 105,1, 94,8, 94,6, 90,0, 84,4, 83,3, 71,9, 71,0, 70,8, 70,6, 70,4, 69,3, 59,1, 48,4, 46,5, 30,4, 29,7, 28,9, 25,7, 25,6, 17,2; EMAR (ESI) m/e 565,2412 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd. para $[\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_9\text{Na}]^+$: 565,2411

41; Sólido amarelo; $R_f = 0,4$ (40% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,38 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,26 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,66 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,57 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 4,49 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 4,21 (td, $J = 10,4, 5,0$ Hz, 2H), 3,99 – 3,94 (m, 2H), 3,88 – 3,76 (m, 8H), 3,70 – 3,63 (m, 4H), 3,55 (dd, $J = 5,8, 3,5$ Hz, 2H), 3,44 (dd, $J = 6,7, 4,2$ Hz, 1H), 3,37 (s, 3H), 2,61 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 2,38 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,30 (dd, $J = 13,3, 4,5$ Hz, 1H), 1,69 (s, 3H), 1,43 (s, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,29 (s, 3H), 1,09 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,6, 175,7, 160,4, 136,8, 136,2, 135,0, 132,3, 118,7, 110,8, 106,0, 90,0, 84,6, 83,5, 72,1, 71,2, 70,9, 70,7, 69,5, 69,2, 59,2, 48,6, 46,9, 30,5, 29,2, 29,2, 25,9, 25,8, 17,2; EMAR (ESI) m/e 549,2461 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd. para $[\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_8\text{Na}]^+$: 549,2459.

45; Sólido branco; $R_f = 0,4$ (40% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,38 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,64 (dd, $J = 8,9, 1,9$ Hz, 1H), 6,47 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 4,43 (t, $J = 7,1$ Hz, 1H), 4,22 – 4,15 (m, 2H), 3,91 – 3,86 (m, 2H), 3,74 (dd, $J = 5,4, 3,2$ Hz, 2H), 3,70 – 3,64 (m, 4H), 3,56 (dd, $J = 11,2, 6,2$ Hz, 2H), 3,50 – 3,45 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 2,60 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 2,44 (s, 1H), 2,31 (dd, $J = 13,5, 4,1$ Hz, 1H), 1,70 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,29 (s, 3H), 0,99 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,5, 175,4, 165,7, 161,7, 135,0, 134,9, 133,1, 129,0, 118,8, 113,4, 111,1, 101,6, 90,9, 84,7, 83,6, 72,1, 71,1, 70,8, 70,8, 69,5, 68,1, 59,2, 49,0, 46,9, 30,6, 29,9, 29,3, 25,6, 25,4, 17,1; EMAR (ESI) m/e 527,2643 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. para $[\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{O}_8]^+$: 527,2639.

3.6.2.21 Síntese de 6-hidroxi-18-(2-(2-(2-metoxietoxy)etoxi)etoxi)etoxi-cluvenona (**38**)

Em uma solução de **10** (4,6 mg, 0,01 mmol) em diclorometano anidro (0,2 mL) foi adicionado EDC (2,3 mg, 0,01 mmol) a temperatura ambiente e sob atmosfera de argônio. Após 22 horas, adicionou-se água destilada (1 mL) e extraiu-se a solução com diclorometano (2 x 2 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por placa preparativa (50% EtOAc-hexano), conduzindo a formação de **38** (2,7 mg, 48%). Sólido amarelo; $R_f = 0,24$ (50% EtOAc – hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 12,28 (s, 1H), 7,49 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,37 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 6,34 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,42 – 4,38 (m, 3H), 3,86 – 3,82 (m, 2H), 3,75 – 3,72 (m, 2H), 3,69 – 3,66 (m, 2H), 3,57 – 3,53 (m, 4,7 Hz, 3H), 3,39 (s, 3H), 2,62 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 2,46 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,38 – 2,33 (m, 1H), 1,66 (s, 3H), 1,37 – 1,34 (m, 4H), 1,29 (s, 3H), 1,07 (s, 3H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 202,7, 180,6, 168,1, 164,2, 160,5, 158,3, 135,6, 135,4, 133,6, 118,7, 104,3, 103,2, 101,5, 90,6, 84,6, 83,7, 72,1, 71,3, 70,9, 70,8, 68,8, 59,3, 48,9, 47,1, 30,4, 29,9, 29,3, 29,2, 25,7, 25,1, 17,0. EMAR (ESI) m/e 579,2201 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ calc. para $(\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_{10}\text{Na})^+$: 579,2202.

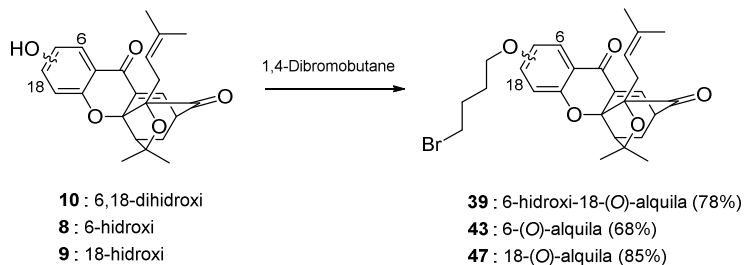
3.6.2.22 Síntese de 6-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)etoxi-cluvenona (**42**) e 18-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)etoxi-cluvenona (**46**)

Em uma solução de **8** ou **9** (5 mg, 13 μ mol) em diclorometano anidro (0,2 mL) e piridina anidra (0,2 mL) foi adicionado uma solução de cloreto de 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)acetila (8 mg, 39 μ mol) em diclorometano anidro (0,2 mL) a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. Após 8 hora em agitação para o composto **9** e 1 hora para o composto **8** foi adicionado água destilada (1 mL) e a solução foi extraída com diclorometano (2 x 2 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por placa preparativa (50% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **42** e **46** em rendimentos de 57 e 98%, respectivamente.

42; Sólido amarelo; $R_f = 0,5$ (40% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,50 (t, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,30 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,99 (dd, $J = 8,2, 1,0$ Hz, 1H), 6,73 (dd, $J = 7,9, 1,0$ Hz, 1H), 4,54 (m, 2H), 4,44 – 4,38 (m, 1H), 3,91 (dd, $J = 5,2, 3,7$ Hz, 2H), 3,77 – 3,71 (m, 2H), 3,67 (dd, $J = 5,5, 3,7$ Hz, 2H), 3,56 (dd, $J = 5,6, 3,7$ Hz, 2H), 3,47 (dd, $J = 6,7, 4,2$ Hz, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,61 (d, $J = 9,5$ Hz, 2H), 2,43 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 2,31 (dd, $J = 13,5, 4,6$ Hz, 1H), 1,69 (s, 3H), 1,36 (s, 4H), 1,29 (s, 3H), 1,05 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,0, 175,1, 169,5, 160,9, 150,2, 136,1, 135,4, 135,2, 133,9, 118,8, 116,8, 116,8, 112,4, 90,4, 84,6, 83,6, 72,1, 71,2, 70,8, 70,7, 68,9, 59,2, 48,8, 47,0, 30,5, 29,2, 25,6, 25,4, 17,1. EMAR (ESI) m/e 563,2252 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ calc. para $[\text{C}_{30} \text{H}_{36} \text{O}_9 \text{Na}]^+$: 563,2253.

46; Sólido branco; $R_f = 0,4$ (40% EtOAc –hexane); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,97 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 7,44 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,89 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 6,84 (dd, $J = 8,6, 2,1$ Hz, 1H), 4,43 (s, 2H), 4,42 – 4,35 (m, 1H), 3,87 – 3,82 (m, 2H), 3,74 (dd, $J = 5,5, 3,5$ Hz, 2H), 3,69 – 3,65 (m, 2H), 3,56 (dd, $J = 5,6, 3,6$ Hz, 2H), 3,50 (dd, $J = 6,7, 4,5$ Hz, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,62 (d, $J = 9,5$ Hz, 2H), 2,47 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 2,34 (dd, $J = 13,6, 4,5$ Hz, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,29 (s, 3H), 0,96 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,0, 175,7, 168,4, 160,6, 156,4, 135,1, 134,6, 134,3, 128,7, 119,1, 117,2, 115,9, 111,1, 91,2, 84,8, 83,7, 72,1, 71,3, 70,9, 70,8, 68,8, 59,3, 49,0, 47,0, 30,5, 29,9, 29,3, 25,5, 25,3, 17,0, 1,26; EMAR (ESI) m/e 563,2252 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ calc. para $[\text{C}_{30} \text{H}_{36} \text{O}_9 \text{Na}]^+$: 563,2253.

3.6.2.23 Síntese de 6-hidroxi-18-(4-bromobutoxi)-cluvenona (**39**), 6-(4-bromobutoxi)-cluvenona (**43**) e 18-(4-bromobutoxi)-cluvenona (**47**)



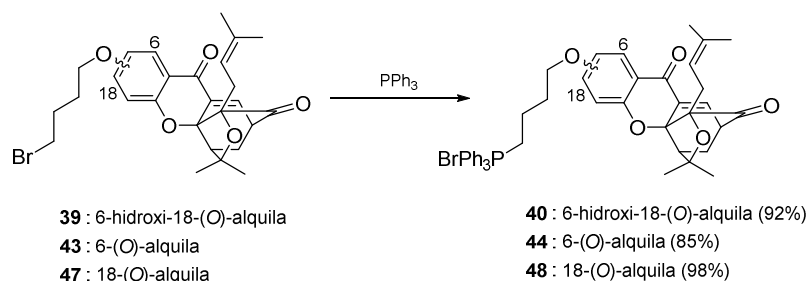
Em uma solução de **8**, **9** ou **10** (5 mg, 13,0 μmol) em DMF anidro (0,3 mL) foi adicionado carbonato de potássio (3 mg, 0,02 mmol) e 1,4-dibromobutano (14 mg, 65 μmol) a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. As reações com **10** e **9** permaneceram em agitação a temperatura ambiente durante 8 horas, enquanto a reação com **8** permaneceu em agitação a 80°C durante 16 horas. Após o término reacional foi adicionado água destilada (1 mL) e a solução foi extraída com éter etílico (3 x 2 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por placa preparativa (50% EtOAc-hexano), conduzindo à formação de **39**, **43** e **47** em 78, 68 e 85% de rendimento, respectivamente.

39; Óleo incolor; $R_f = 0,5$ (40% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 12,47 (s, 1H), 7,43 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,08 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,05 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 4,45 (dd, $J = 8,3, 7,0$ Hz, 1H), 4,06 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H), 3,52 – 3,49 (m, $J = 6,4$ Hz, 3H), 2,62 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 2,44 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,35 (dd, $J = 13,7, 4,8$ Hz, 1H), 2,08 – 2,05 (m, 2H), 2,00 – 1,97 (m, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,35 – 1,32 (m, 1H), 1,31 (s, 3H), 1,12 (s, 3H); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 202,9, 179,3, 167,6, 164,9, 160,8, 135,1, 133,7, 118,2, 101,1, 95,3, 94,4, 90,1, 84,4, 83,4, 67,5, 48,7, 46,8, 33,1, 30,3, 29,7, 29,2, 29,0, 29,0, 27,5, 25,5, 25,1, 16,9; EMAR (ESI) m/e 531,1377 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $[\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{BrO}_6]^+$: 531,1374.

43; Óleo incolor; $R_f = 0,5$ (50% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,38 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,27 (m, 1H), 6,65 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,54 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,48 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,09 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,54 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,46 – 3,41 (m, 1H), 2,60 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 2,39 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,32 – 2,27 (m, 1H), 2,20-2,14 (m, 2H), 2,07-2,00 (m, 2H), 1,69 (s, 3H), 1,66-1,64 (m, 1H), 1,37 (s, 3H), 1,28 (s, 3H), 1,07 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,6, 175,7, 161,4, 160,6, 136,6, 136,3, 134,9, 132,4, 118,8, 110,5, 110,5, 105,3, 90,0, 84,6, 83,6, 68,1, 48,7, 46,8, 34,0, 30,5, 29,9, 29,5, 29,2, 29,2, 27,7, 25,8, 25,7, 17,2; EMAR 515,1428 (M + H) $^+$ calc. para $[\text{C}_{27} \text{H}_{32} \text{O}_5 \text{Br}]^+$: 515,1426.

47; Óleo incolor; $R_f = 0,5$ (50% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,38 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 6,61 (dd, $J = 8,8, 2,1$ Hz, 1H), 6,45 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,44 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 4,06 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,52 – 3,45 (m, 3H), 2,60 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 2,43 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 2,32 (dd, $J = 13,5, 4,6$ Hz, 1H), 2,10 – 2,05 (m, 2H), 2,02 – 1,96 (m, 2H), 1,71 (s, 3H), 1,66 (s, 1H), 1,34 (s, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,00 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,5, 175,4, 165,8, 161,8, 135,0, 134,9, 133,1, 129,0, 118,8, 113,3, 111,0, 101,4, 90,9, 84,7, 83,6, 77,5, 77,2, 76,9, 67,6, 49,0, 46,9, 33,4, 32,1, 30,6, 29,9, 29,4, 29,3, 27,8, 25,6, 25,4, 22,9, 17,1, 14,3; EMAR (ESI) m/e 515,1428 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $[\text{C}_{27} \text{H}_{32} \text{Br O}_5]^+$: 515,1428.

3.6.2.24 Síntese de 6-hidroxi-18-(4-(bromotrifetil-fosfanil)butoxi-cluvenona (**40**), 6-(4-(bromotrifetil-fosfanil)butoxi-cluvenona (**44**) e 18-(4-(bromotrifetil-fosfanil)butoxi-cluvenona (**48**)



Em uma solução de **39**, **43** ou **47** (1 mol/equiv.) em acetonitrila anidra foi adicionado trifetilfosfina (5 mol/equiv.) a temperatura ambiente. A reação foi agitada a 150°C durante 2 horas sob irradiação de microondas. Após o término

reacional o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado em diclorometano e hexano, conduzindo à formação de **40**, **44** e **48** em 92, 85 e 98% de rendimento, respectivamente.

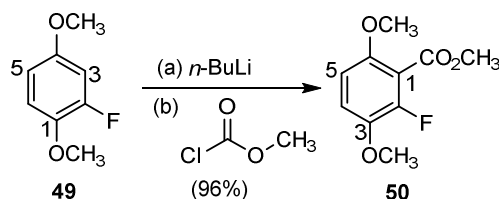
40; Sólido branco; $R_f = 0,2$ (30% MeOH-CH₂Cl₂); RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 12,41 (s, 1H), 7,91 – 7,85 (m, 7H), 7,82 – 7,79 (m, 3H), 7,73 – 7,69 (m, 5H), 7,42 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 5,98 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 5,95 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,47 – 4,41 (m, 1H), 4,14 (s, 2H), 4,04 (s, 2H), 3,50 (dd, $J = 6,9, 4,2$ Hz, 1H), 2,59 (d, $J = 9,4$ Hz, 2H), 2,43 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 2,37 – 2,26 (m, 4H), 1,86 (s, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,30 (s, 5H), 1,07 (s, 3H); RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 202,9, 179,2, 167,5, 164,6, 160,9, 135,0, 135,0, 134,9, 133,8, 133,7, 132,1, 132,0, 130,5, 130,4, 129,9, 128,5, 128,4, 118,7, 118,3, 118,0, 101,1, 95,8, 94,0, 90,1, 84,3, 77,2, 77,0, 76,7, 67,3, 48,7, 46,8, 31,5, 30,4, 29,0, 28,9, 25,5, 25,1, 22,6, 19,2, 16,9; EMAR (ESI) m/e 713,3032 [M-Br]⁻ calc. para [C₄₅ H₄₆ O₆ P]⁺: 713,3029.

44; Sólido branco; $R_f = 0,1$ (30% MeOH-CH₂Cl₂); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,88-7,66 (m, 15H), 7,42 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,02 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,39 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 4,21 (s, 2H), 4,11 – 4,00 (m, 2H), 3,42 (dd, $J = 6,5, 4,4$ Hz, 1H), 2,58 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 2,38 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 2,31 (dd, $J = 13,2, 4,4$ Hz, 1H), 2,25 (s, 2H), 1,85 (s, 2H), 1,68 (s, 4H), 1,28 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 1,05 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 203,5, 175,8, 161,1, 160,3, 136,8, 135,0, 134,1, 134,0, 131,6, 130,6, 130,5, 119,2, 118,9, 118,4, 110,6, 106,0, 89,9, 84,6, 83,7, 69,0, 48,5, 46,9, 30,4, 29,2, 29,1, 26,0, 25,7, 22,6, 22,1, 20,4, 17,2; EMAR 697,3077 calc. para [C₄₅ H₄₆ O₅ P]⁺ (M-Br)⁺: 697,3074.

48; Sólido branco; $R_f = 0,1$ (30% MeOH-CH₂Cl₂); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,89-7,77 (m, 10H), 7,71-7,67 (m, 5H), 7,37 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,17 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,51 (dd, $J = 8,8, 2,2$ Hz, 1H), 6,40 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 4,43 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,20 – 4,11 (m, 2H), 4,03 (dd, $J = 16,8, 12,9$ Hz, 2H), 3,46 (dd, $J = 6,5, 4,5$ Hz, 1H), 2,58 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 2,42 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 2,35 (s, 1H), 2,33-2,24 (m, 2H), 1,87 (s, 2H), 1,71 (s, 4H), 1,31 (s, 3H), 1,28 (s, 3H), 0,96 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 203,5, 175,4, 165,7, 161,8, 135,2, 135,0, 134,8, 134,0, 133,9, 133,1, 131,1, 130,7, 130,6, 128,9, 118,9, 118,0, 113,3,

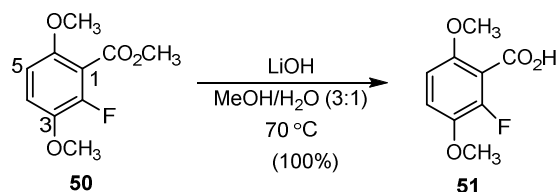
111,0, 101,7, 90,9, 84,7, 83,7, 68,3, 67,5, 48,9, 46,9, 38,9, 30,7, 30,5, 29,2, 29,1, 25,6, 25,4, 23,9, 23,2, 19,4, 17,1, 14,3, 11,1; EMAR (ESI) m/e 697,3077 [M-Br]⁺ calc. para [C₄₅ H₄₆ O₅ P]⁺: 697,3075.

3.6.2.25 Síntese do 2-fluor-3,6-dimetoxibenzoato de metila (**50**)



Em uma solução de **49** (3,9 g, 24,9 mmol) em THF anidro (150 mL) foi adicionado gota a gota com o emprego de uma seringa 1,6 mol.L⁻¹ *n*-BuLi em hexano (18,7 mL, 29,9 mmol) à -78°C. Após 1 hora sob agitação nessa temperatura foi adicionado cloroformato de metila (2,30 mL, 29,9 mmol) gota a gota com o emprego de uma seringa. A reação permaneceu sob agitação por 4 horas à -78°C. Após o término reacional a reação foi tratada com água destilada (10 mL) e extraída com acetato de etila (2 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 9% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **50** (5,2 g, 96%). Óleo incolor; *R_f* = 0,15 (25% EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,94 (t, *J* = 9,2 Hz, 1H), 6,59 (dd, *J* = 9,2, 1,5 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,77 (s, 3H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 164,0, 150,8 (d, *J* = 5,7 Hz), 150,3 (d, *J* = 252,3 Hz), 141,7 (d, *J* = 10,8 Hz), 115,5 (d, *J* = 3,2 Hz), 113,0 (d, *J* = 16,7 Hz), 106,1 (d, *J* = 3,7 Hz), 57,0, 56,3, 52,5. EMAR (ESI) m/e 237,0534 (M + Na)⁺ calc. para (C₁₀H₁₁FO₄Na)⁺ 237,0535.

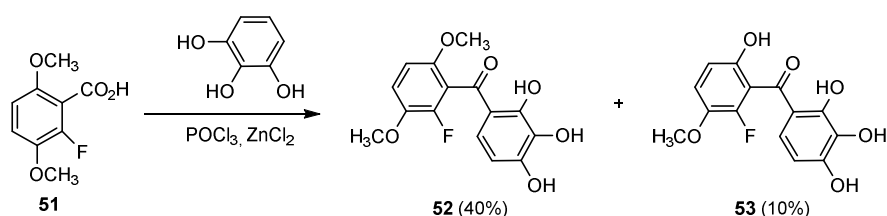
6.2.26 Síntese do ácido 2-fluoro-3,6-dimetoxibenzoico (**51**)



Em uma solução de **50** (3,10 g, 14,5 mmol) em metanol/água (3:1, 80 mL) foi adicionado hidróxido de lítio (1,74 g, 72,5 mmol). A reação foi agitada a

70°C durante 1,5 horas. Após o término reacional evaporou-se o excesso de metanol sob pressão reduzida. O resíduo foi acidificado com HCl (1 mol.L⁻¹) até pH 2 e a solução foi extraída com diclorometano (2 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida, conduzindo à formação de **51** (2,90 g, 100%). Sólido branco; $R_f = 0,24$ (50% EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 10,24 (s, 1H), 7,02 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,67 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,84 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 167,5, 151,2 (d, $J = 4,5$ Hz), 151,1 (d, $J = 257,7$ Hz), 142,2 (d, $J = 10,5$ Hz), 116,7 (d, $J = 3,5$ Hz), 111,2 (d, $J = 13,2$ Hz), 106,37 (d, $J = 3,8$ Hz), 57,2, 56,7. EMAR (ESI) m/e 223,0377 (M + Na)⁺ calc. para (C₉H₉FO₄Na)⁺, 223,0378.

3.6.2.27 Síntese do (2-fluor-3,6-dimetoxifenil)(2,3,4-trihidroxifenil)metanona (**52**)



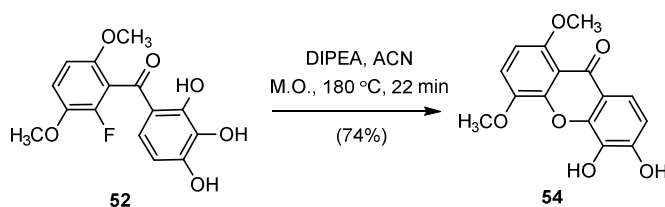
Em um balão de fundo redondo contendo **51** (1,10 g, 5,50 mmol), 1,2,3-trihidroxibenzeno (0,69 g, 5,50 mmol) e cloreto de zinco (6,81 g, 50,0 mmol) foi adicionado POCl₃ (12 mL) a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada a 65°C durante 2,5 horas. Após o término reacional, a reação foi resfriada até temperatura ambiente e foi adicionado gelo moído. A solução foi extraída com acetato de etila (3 x 25 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 25-33% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **52** (0,68 g, 40%) e **53** (0,13 g, 10%).

52: Sólido amarelo; $R_f = 0,42$ (50% EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 12,30 (bs, 1H), 7,01 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,68 (dd, $J = 9,2, 1,7$ Hz, 1H), 6,45 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,03 (bs, 1H), 5,62 (bs, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,73 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, acetona-d₆) δ 207,5, 197,1, 154,7, 154,0, 152,2 (d), 150,2 (d), 143,7 (d), 134,0, 127,2, 119,2 (d), 116,8 (d),

116,4, 110,0, 108,6 (*d*), 58,1, 57,7; EMAR 331,0588 calc. para C₁₅H₁₃FO₆Na (M + Na)⁺: 331,0586.

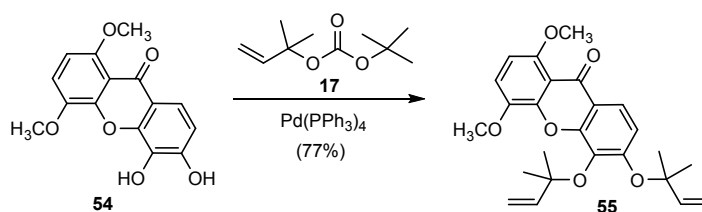
53: Sólido amarelo; *R_f* = 0,31 (50% EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, acetona-d₆) δ 7,10 (t, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,82 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 6,80 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 6,45 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 3,70 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, acetona-d₆) δ 197,4, 154,6, 153,9, 151,4, 150,8, 148,4, 140,7, 133,9, 127,2, 120,4, 116,4, 109,9, 109,3, 57,7; EMAR 317,0432 calc. para C₁₄H₁₁FO₆Na (M + Na)⁺: 317,0434.

3.6.2.28 Síntese do 5,6-dihidroxi-1,4-dimetoxi-xantona (**54**)



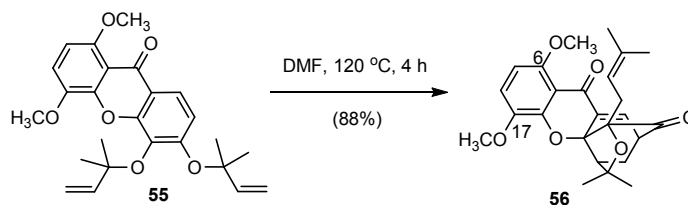
Em uma solução de **52** (130 mg, 0,42 mmol) em acetonitrila (13 mL) foi adicionado DIPEA (0,37 mL, 2,10 mmol) a temperatura ambiente. A reação foi agitada a 180°C durante 22 minutos sob irradiação de microondas. Após o término reacional a solução foi evaporada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (80% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **54** (89,5 mg, 74%). Sólido branco; *R_f* = 0,17 (67% EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO) δ 7,44 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,82 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,79 (s, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO) δ 175,0, 153,3, 151,3, 147,5, 145,7, 142,3, 132,9, 117,2, 116,6, 116,4, 113,2, 112,4, 105,4, 56,9, 56,6; EMAR 311,0526 calc. para C₁₅H₁₂O₆Na (M + Na)⁺: 311,0529.

3.6.2.29 Síntese do 1,4-dimetoxi-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi)-xantona (**55**)



Em uma solução de **54** (98,9 mg, 0,34 mmol) em THF anidro (17 mL) foi adicionado **17** (0,68 mL, 3,40 mmol), via seringa, e Pd(PPh₃)₄ (39,3 mg, 0,03 mmol) a 0°C sob atmosfera de argônio. A reação permaneceu sob agitação a 0°C durante 24 horas. Após o término reacional foi adicionado água destilada (10 mL) e a solução foi extraída com acetato de etila (2 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 25% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **55** (111 mg, 77%). Óleo incolor; *R_f* = 0.43 (50% EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,87 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,15 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,69 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,41 (dd, *J* = 17,6, 10,7 Hz, 1H), 6,19 (dd, *J* = 17,6, 10,9 Hz, 1H), 5,13-5,21 (m, 3H), 4,97 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,95 (s, 3H), 1,61 (s, 3H), 1,54 (s, 3H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 176,3, 156,2, 153,6, 151,2, 147,9, 143,7, 143,6, 142,6, 135,8, 120,8, 117,2, 116,2, 113,8, 112,9, 104,2, 83,8, 82,0, 56,7, 56,4, 27,0, 26,7. EMAR 447,1778 calc. para C₂₅H₂₈O₆Na (M + Na)⁺: 447,1777.

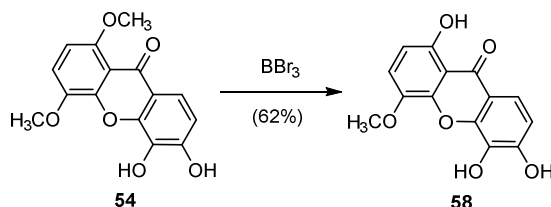
3.6.2.30 Síntese da 6,17-dimetoxi-cluvenona (**56**)



Uma solução contendo **55** (111 mg, 0,26 mmol) em DMF (7,5 mL) foi aquecida a 120°C durante 4 horas. Após o término reacional a solução foi evaporada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 25% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **56** (97,8 mg, 88%); Sólido amarelo; *R_f* = 0.40 (50% EtOAc -hexano); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,31 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,04 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,47 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,52 (t, *J* = 15,3 Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,45 (dd, *J* = 6,9, 4,2 Hz, 1H), 2,62-2,60 (m, 2H), 2,40 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 2,31 (dd, *J* = 13,4, 4,6 Hz, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,28 (dd, *J* = 3,6, 1,2 Hz, 1H), 1,09 (s, 3H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 203,3, 176,1, 154,3, 151,2, 143,0, 136,4, 132,5, 118,7, 118,5, 110,9, 102,8, 90,0, 84,5, 83,6, 57,0, 56,4,

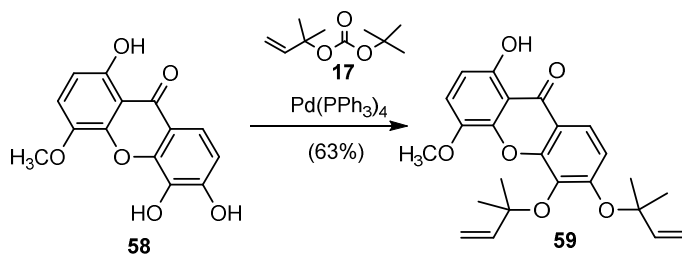
48,5, 46,7, 29,5, 29,1, 29,0, 25,6, 25,4, 16,9; EMAR 447,1778 calc. para $C_{25}H_{28}O_6Na$ (M + Na)⁺: 447,1776.

3.6.2.31 Síntese de 1,5,6-trihidroxi-4-metoxi-xantona (**58**)



Em uma solução de **54** (0,1 g, 0,35 mmol) em diclorometano anidro (3 mL) foi adicionado gota a gota, via seringa, uma solução de BBr_3 (1 mol.L⁻¹, 0,4 mL) a 0°C. A reação permaneceu sob agitação magnética a temperatura ambiente durante 13 horas. Após o término reacional foi adicionado água destilada (5 mL) e a solução foi extraída com acetato de etila (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (80% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **58** em 62% de rendimento. Sólido branco; R_f = 0,3 (60% EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 7,57 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,58 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, Acetona-d₆) δ 181,7, 155,0, 154,8, 152,2, 146,7, 146,0, 140,3, 132,8, 120,8, 117,1, 114,3, 113,4, 108,7, 57,0.

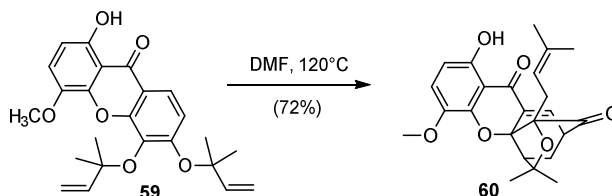
3.6.2.32 Síntese da 1-hidroxi-4-metoxi-5,6-bis((2-metilbut-3-en-2-il)oxi)-xantona (**59**)



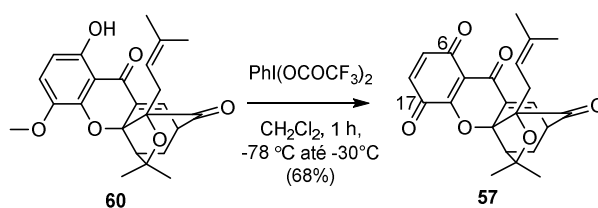
Em uma solução de **58** (60 mg, 0,22 mmol) em THF anidro (10 mL) foi adicionado **17** (0,44 mL, 3,40 mmol), via seringa, e $Pd(PPh_3)_4$ (28,8 mg, 0,03

mmol) a 0°C sob atmosfera de argônio. A reação perm aneceu sob agitação a 0°C durante 18 horas. Após o término reacional foi adicionado água destilada (5 mL) e a solução foi extraída com acetato de etila (2 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 10% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **59** em 63% de rendimento. Óleo incolor; $R_f = 0.7$ (20% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 12,17 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,22 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,14 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,70 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,36 (dd, $J = 17,5, 10,8$ Hz, 1H), 6,18 (dd, $J = 17,5, 10,8$ Hz, 1H), 5,29 – 5,12 (m, 4H), 4,98 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 1,62 (s, 6H), 1,57 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 182,1, 157,9, 154,8, 152,8, 146,1, 143,7, 143,6, 140,5, 136,2, 120,4, 117,2, 115,9, 114,4, 113,5, 109,2, 108,8, 84,4, 82,6, 76,5, 57,6, 27,4, 27,0; EMAR 433,1622 calc. para $[\text{C}_{24} \text{H}_{26} \text{O}_6 \text{Na}]^+$ (M + Na) $^{+}$: 433,1624.

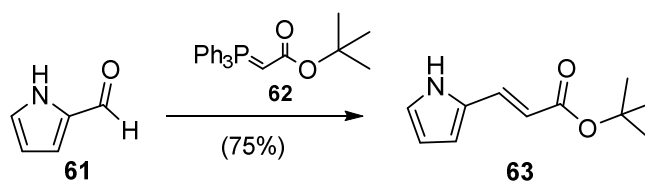
3.6.2.33 Síntese da 6-hidroxi-17-metoxi-cluvenona (**60**)



Uma solução contendo **59** (40 mg, 0,1 mmol) em DMF (7 mL) foi aquecida a 120°C durante 4 horas. Após o término reacional a solução foi evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 20% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **60** em 72% de rendimento. Sólido amarelo; $R_f = 0,50$ (50% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 11,55 (s, 1H), 7,49 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,12 (dd, $J = 8,9, 1,8$ Hz, 1H), 6,47 (dd, $J = 8,9, 1,8$ Hz, 1H), 4,45 – 4,38 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,57 – 3,51 (m, 1H), 2,64 (d, $J = 9,5$ Hz, 2H), 2,47 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,36 (dd, $J = 13,6, 4,2$ Hz, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,36 (s, 3H), 1,31 (s, 4H), 1,00 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 202,8, 181,6, 156,2, 149,5, 140,7, 135,4, 135,0, 134,0, 124,1, 119,0, 107,6, 106,5, 90,4, 84,7, 84,0, 57,9, 49,0, 47,1, 29,8, 29,3, 29,3, 25,7, 24,9, 16,8; EMAR 433,1622 calc. para $[\text{C}_{24} \text{H}_{26} \text{O}_6 \text{Na}]^+$ (M + Na) $^{+}$: 433,1623.

3.6.2.34 Síntese de 6,17-diona-cluvenona (**57**)

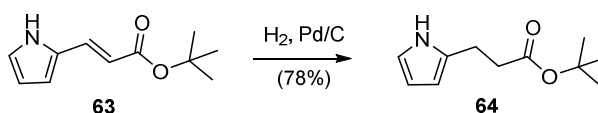
Em uma solução de **60** (20 mg, 0,05 mmol) em diclorometano anidro (1 mL) foi adicionado PIFA (24 mg, 0,06 mmol) a -78°C sob atmosfera de argônio. A reação foi aquecida espontaneamente até -30°C durante 1 hora. Após o término reacional, foi adicionado água destilada (1 mL) e a solução foi extraída com diclorometano (2 x 3 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por placa preparativa (sílica, 50% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **57** em 68% de rendimento. Sólido amarelo; $R_f = 0,20$ (50% EtOAc –hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,44 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J = 10,3$ Hz, 1H), 6,79 (d, $J = 10,3$ Hz, 1H), 4,66 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 3,55 (dd, $J = 7,0$ e 4,2 Hz, 1H), 2,56-2,52 (m, 3H), 2,36 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 1,75 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,35 (s, 4H), 1,32 (s, 3H). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 201,1, 182,7, 180,6, 174,0, 160,3, 138,0, 135,1, 134,5, 133,8, 133,5, 119,2, 110,2, 93,9, 84,2, 83,9, 49,1, 46,4, 29,7, 29,7, 28,9, 28,9, 25,5, 24,4, 17,75. EMAR 417,1309 calc. para $[\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{Na}]^+$ (M + Na) $^{+}$: 417.1308.

3.6.2.35 Síntese de (*E*)-3-(1*H*-pirrol-2-il)acrilato de *terc*-butila (**63**)

Em uma solução de **61** (1 g, 10,5 mmol) em diclorometano (20 mL) foi adicionado uma solução de **62** (7,92 g, 21,0 mmol) em diclorometano (30 mL) a temperatura ambiente. A reação permaneceu sob agitação magnética por 30 horas. Após o término reacional a solução foi evaporada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 40% EtOAc-hexano) conduzindo à formação de **63** (1,52 g, 7,9 mmol, 75%). Sólido branco;

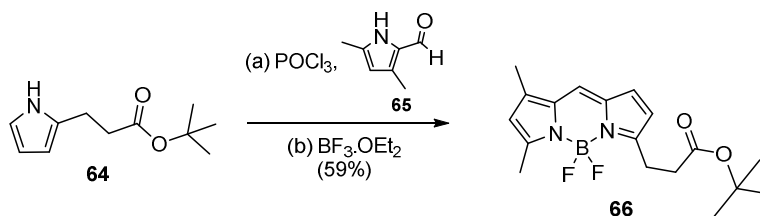
$R_f = 0,5$ (40% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 9,08 (s, 1H), 7,47 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 6,89 (dd, $J = 3,8, 2,6$ Hz, 1H), 6,53 (s, 1H), 6,26 (dd, $J = 6,0, 2,5$ Hz, 1H), 6,00 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 1,53 (s, 9H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 167,5, 133,7, 128,7, 122,3, 114,0, 113,4, 110,9, 80,4, 28,5, 28,2; EMAR (ESI) m/e 216,0995 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calc. para $[\text{C}_{11} \text{H}_{15} \text{N} \text{O}_2 \text{Na}]^+$: 216,0996.

3.6.2.36 Síntese de 3-(1H-pirrol-2-il)propanoato de *terc*-butila (**64**)



Em uma solução de **63** (1,37 g, 7,1 mmol) em metanol (30 mL) foi adicionado 10% Pd/C (0,15 g). A mistura foi agitada sob atmosfera de hidrogênio (300 bar) durante 2 horas a temperatura ambiente com auxílio de um reator de alta pressão. Após o término da reação a solução foi filtrada usando celite e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (sílica, 50% EtOAc-hexano) formando **64** (1,08 g, 5,5 mmol, 78%). Óleo amarelo; $R_f = 0,3$ (40% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,61 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,10 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 5,91 (s, 1H), 2,87 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,55 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 1,45 (s, 9H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 173,8, 131,6, 116,9, 108,0, 105,6, 81,0, 35,9, 28,3, 22,8; EMAR (ESI) m/e 218,1151 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calc. para $[\text{C}_{11} \text{H}_{17} \text{N} \text{O}_2 \text{Na}]^+$: 218,1146.

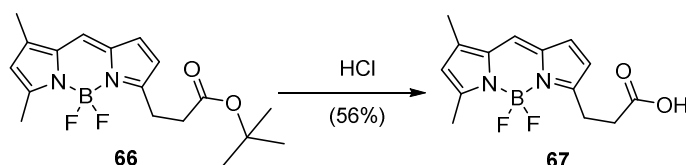
3.6.2.37 Síntese de **66**



Em uma solução de **64** (1,12 g, 5,7 mmol) em diclorometano (50 mL) foram adicionados **65** (0,78 g, 6,3 mmol) e POCl_3 (0,6 mL, 6,3 mmol, solubilizados em 4 mL de diclorometano) a 0°C . A reação foi agitada a temperatura ambiente durante 7 horas. A reação foi resfriada até 0°C e foram adicionados DIPEA (4,2 mL, 24 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (2,8 mL, 23 mmol). A solução

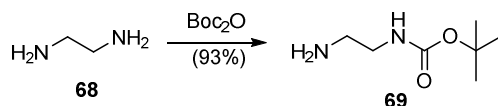
foi agitada a temperatura ambiente por 12 horas. Após o término da reação foi adicionado água destilada (40 mL) e a solução foi extraída com diclorometano (2 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 40% EtOAc-hexano) formando **66** (1,18 g, 3,4 mmol, 59%). Sólido verde; $R_f = 0,4$ (40% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,07 (s, 1H), 6,87 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,27 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,10 (s, 1H), 3,25 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,66 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 1,44 (s, 9H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 172,0, 160,2, 158,1, 143,8, 135,2, 133,5, 128,3, 123,9, 120,5, 116,9, 80,7, 34,6, 29,9, 28,3, 24,2, 15,1, 11,5; EMAR (ESI) m/e 371,1713 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calc. para $[\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{BF}_2\text{N}_2\text{NaO}_2]^+$: 371,1713.

3.6.2.38 Síntese de **67**



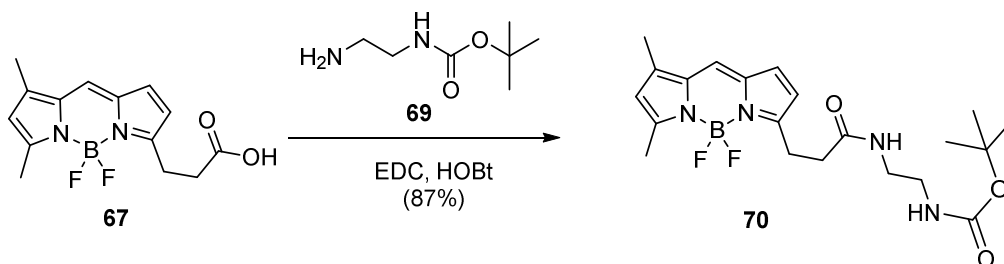
Em uma solução de **66** (44 mg, 0,15 mmol) em THF (6 mL) e água destilada (4 mL) foi adicionado gota a gota HCl (37%, 2,4 mL) a temperatura ambiente. A reação foi agitada durante 28 horas. Após o término da reação a solução foi extraída com acetato de etila (2 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 60% EtOAc-hexano) formando **67** (24,5 mg, 0,08 mmol, 56%). Sólido verde; $R_f = 0,5$ (60% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,08 (s, 1H), 6,88 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H), 6,28 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H), 6,11 (s, 1H), 3,29 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 2,82 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,25 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 177,6, 160,9, 156,7, 144,2, 133,5, 132,4, 128,2, 124,0, 120,7, 116,8, 33,1, 29,9, 23,8, 15,2, 11,5; EMAR (ESI) m/e 314,1123 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calc. para $[\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}]^+$: 314,1126.

3.6.2.39 Síntese de (2-aminoetil)carbamato de terc-butila (**69**)



Em uma solução da diamina **68** (2,75 g, 45,8 mmol) em dioxano (16 mL) foi adicionado gota a gota uma solução de dicarbonato de di-*tert*-butila (1 g, 4,58 mmol) a temperatura ambiente. Após 6 horas em agitação magnética, a solução foi tratada com água destilada (30 mL) e extraída com acetato de etila (2 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida, conduzindo à formação de **69** (0,68 g, 4,26 mmol, 93%). Sólido branco; $R_f = 0,6$ (10% MeOH-CH₂Cl₂); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 4,92 (s, 1H), 3,18 (dd, $J = 11,3, 5,9$ Hz, 2H), 2,80 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 1,61 (s, 2H), 1,44 (s, 9H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 156,3, 79,2, 67,2, 39,8, 38,6, 33,5, 28,6; EMAR (ESI) m/e 161,1285 [M+H]⁺ calc. para [C₇H₁₇N₂O₂]⁺: 161,1283.

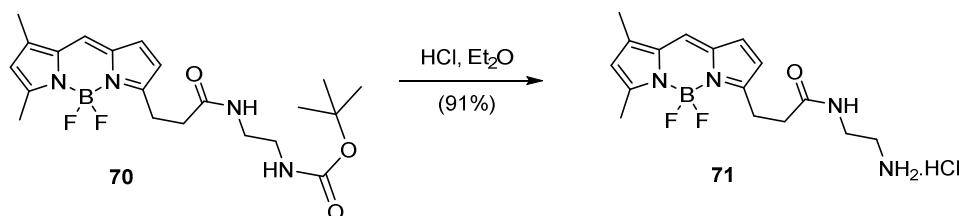
6.2.40 Síntese de **70**



Em uma solução de **67** (32 mg, 0,11 mmol) em diclorometano (1 mL) foram adicionados EDC (26 mg, 0,14 mmol) e HOBt (18,4 mg, 0,14 mmol) a temperatura ambiente. Após 2 horas sob agitação magnética, a solução foi tratada com água destilada (1 mL) e extraída com diclorometano (2 x 3 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 40% EtOAc-hexano) formando **70** (42 mg, 0,1 mmol, 87%). Sólido vermelho; $R_f = 0,4$ (40% EtOAc-hexano); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,09 (s, 1H), 6,88 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,28 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,16 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 3,33 – 3,23 (m, $J = 14,6, 6,4$ Hz, 4H), 3,15 (dd, $J = 10,4, 5,1$ Hz, 2H), 2,64 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 1,41 (s, 9H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 172,7, 160,7, 157,2, 156,6, 144,2, 133,5, 128,3, 124,0, 120,7,

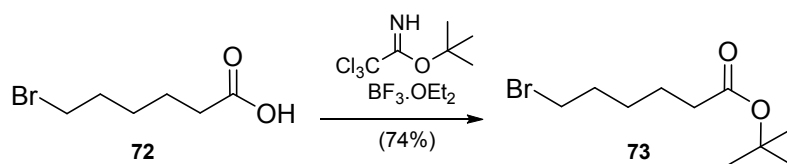
117,6, 79,6, 40,7, 40,3, 36,0, 28,5, 25,1, 15,2, 11,5; EMAR (ESI) m/e 456,2229 [M+Na]⁺ calc. para [C₂₁ H₂₉ B F₂ N₄ O₃ Na]⁺:456,2228.

3.6.2.41 Síntese do BODIPY FL EDA (**71**)



Em uma solução de **70** (15 mg, 35 μ mol) em dioxano (0,5 mL) foi adicionado uma solução de ácido clorídrico (1 mL, 1 mol.L⁻¹ em éter etílico anidro) a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. Após 2 horas sob agitação magnética, os solventes foram evaporados, conduzindo à formação de **71** (12 mg, 32 μ mol, 91 %). Sólido vermelho; *R_f* = 0,1 (20% MeOH-CH₂Cl₂); RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 7,42 (s, 1H), 6,99 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 6,20 (s, 1H), 3,44 (s, 2H), 3,21 (s, 2H), 3,03 (s, 2H), 2,65 (s, 2H), 2,48 (s, 3H), 2,26 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ 174,8, 160,2, 157,0, 144,7, 135,3, 133,6, 128,4, 124,7, 120,2, 116,4, 39,9, 37,1, 34,7, 24,1, 13,7, 10,1; EMAR (ESI) m/e 334,1886 [M-Cl]⁺ calc. para [C₁₆ H₂₂ B F₂ N₄ O]⁺: 334,1888.

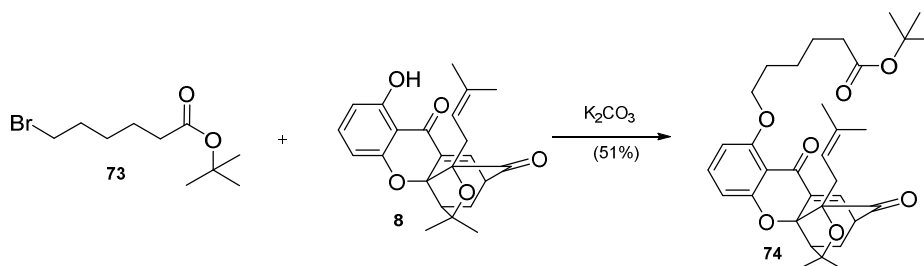
3.6.2.42 Síntese de 6-bromo-hexanoato de *tert*-butila (**73**)



Em uma solução de **72** (0,5 g, 2,56 mmol) em diclorometano (2,5 mL) foram adicionados uma solução de 2,2,2-tricloroacetimidato de *tert*-butila (1,4 g, 6,4 mmol) em cicloexano (7,5 mL) e BF₃.OEt₂ (55 mg, 0,38 mmol) a temperatura ambiente. Após 22 horas sob agitação magnética, a solução foi tratada com água destilada (10 mL) e extraída com acetato de etila (2 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 10% EtOAc-hexano) formando **73** (0,48 g, 1,89 mmol, 74%). Óleo

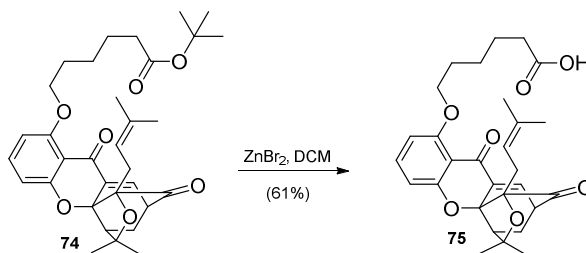
incolor; $R_f = 0,7$ (10% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 3,38 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,20 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,85 (dd, $J = 14,5, 7,2$ Hz, 2H), 1,58 (dt, $J = 14,9, 7,4$ Hz, 2H), 1,42 (s, 11H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 173,0, 80,3, 35,5, 33,8, 32,6, 28,3, 27,7, 24,4; EMAR (ESI) m/e 251,0641 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc. para $[\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{BrO}_2]^+$: 251,0637.

3.6.2.43 Síntese de **74**



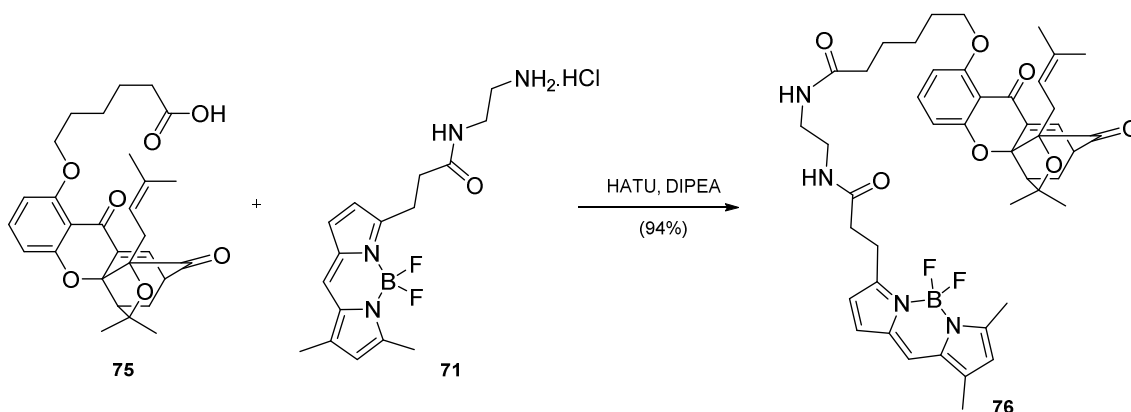
Em uma solução de **8** (27 mg, 0,07 mmol) em DMF anidro (1 mL) foram adicionados carbonato de potássio (29,3 mg, 0,21 mmol) e **73** (35,2 mg, 0,14 mmol) a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. A reação foi agitada durante 24 horas a 60°C. A mistura foi tratada com água destilada (1 mL) e extraída com éter etílico (2 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 40% EtOAc-hexano) formando **74** (19,7 mg, 0,04 mmol, 51%). Óleo incolor; $R_f = 0,7$ (40% EtOAc-hexano); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,37 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,28 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,49 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 4,05 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,44 (dd, $J = 6,7, 4,1$ Hz, 1H), 2,61 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 2,39 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 2,33 – 2,22 (m, 3H), 1,94 – 1,85 (m, $J = 11,1, 6,6$ Hz, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,62 – 1,55 (m, $J = 11,7, 4,8$ Hz, 4H), 1,43 (s, 9H), 1,29 (s, 4H), 1,08 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 203,7, 175,7, 173,3, 161,3, 160,8, 136,7, 136,2, 134,9, 132,3, 118,7, 110,6, 110,3, 105,4, 90,0, 84,7, 83,5, 80,2, 69,0, 48,6, 46,9, 35,6, 30,5, 29,2, 29,2, 28,9, 28,3, 25,8, 25,7, 25,6, 24,9, 17,2; EMAR (ESI) m/e 573,2823 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calc. para $[\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_7\text{Na}]^+$: 573,2825.

3.6.2.44 Síntese de **75**



Em uma solução de **74** (17 mg, 0,03 mmol) em diclorometano anidro (1 mL) foi adicionado brometo de zinco anidro (35 mg, 0,15 mmol) a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. Após 8 horas de agitação, a solução foi tratada com solução saturada de cloreto de sódio (1 mL) e extraída com diclorometano (2 x 3 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por coluna cromatográfica flash (sílica, 40% EtOAc-hexano) formando **75** (9,4 mg, 0,02 mmol, 61%). Sólido amarelo; $R_f = 0,30$ (50% EtOAc -hexano); RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7,38 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,29 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 6,63 (dd, $J = 8,4, 0,8$ Hz, 1H), 6,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,51 – 4,45 (m, 1H), 4,05 (td, $J = 6,3, 2,8$ Hz, 2H), 3,44 (dd, $J = 6,8, 4,1$ Hz, 1H), 2,60 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 2,44 – 2,37 (m, $J = 16,1, 8,5$ Hz, 3H), 2,32 – 2,28 (m, 1H), 1,94 – 1,89 (m, 2H), 1,75 – 1,72 (m, 2H), 1,69 (s, 3H), 1,64 – 1,60 (m, $J = 7,4, 3,4$ Hz, 2H), 1,38 (s, 3H), 1,28 (s, 3H), 1,25 (s, 1H), 1,07 (s, 3H); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 203,5, 177,7, 175,8, 161,5, 161,3, 160,7, 136,5, 136,2, 134,8, 132,4, 118,6, 110,2, 105,3, 89,8, 84,5, 83,4, 68,9, 48,5, 46,7, 33,8, 30,3, 29,1, 28,6, 25,7, 25,6, 25,6, 24,4, 17,0; EMAR (ESI) m/e 517,2197 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calc. para $[\text{C}_{29} \text{H}_{34} \text{O}_7 \text{Na}]^+$; encontrado: 517,2202.

3.6.2.45 Síntese de **76**



Em uma solução de **75** (4 mg, 7,8 μmol) em diclorometano anidro (0,5 mL) foram adicionados **71** (3,5 mg, 9,4 μmol), HATU (3,6 mg, 9,4 μmol) e DIPEA (3 μL , 16 μmol) a temperatura ambiente e sob atmosfera de argônio. Após 2 horas, a solução foi tratada com água destilada (1 mL) e extraída com diclorometano (2 x 2 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por placa preparativa (sílica, 60% acetona-tolueno) formando **76** (6 mg, 7,3 μmol , 94%). Sólido vermelho; $R_f = 0,4$ (60% acetona-tolueno); RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7,36 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,87 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 6,62 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,52 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,25 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 6,12 (s, 1H), 4,47 (dd, $J = 8,6, 6,7$ Hz, 1H), 4,07 – 3,98 (m, $J = 9,9, 6,0$ Hz, 2H), 3,46 – 3,40 (m, 1H), 3,34 – 3,20 (m, $J = 22,1, 14,9, 8,6$ Hz, 6H), 2,69 – 2,50 (m, 7H), 2,37 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,20 – 2,16 (m, $J = 10,4, 4,3$ Hz, 2H), 1,87 – 1,82 (m, 2H), 1,72 – 1,67 (m, 5H), 1,56 – 1,50 (m, 2H), 1,36 (s, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,06 (s, 3H); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 203,3, 175,6, 173,8, 172,8, 161,2, 160,6, 136,5, 136,1, 135,2, 134,6, 133,2, 132,3, 128,1, 123,8, 120,5, 120,4, 118,6, 117,2, 110,1, 105,3, 97,6, 95,2, 89,8, 86,1, 84,6, 83,3, 69,1, 68,1, 48,5, 46,7, 40,1, 39,6, 36,5, 35,6, 31,9, 30,2, 29,6, 29,3, 28,9, 28,5, 25,8, 25,5, 25,5, 25,1, 24,8, 22,6, 16,9, 14,9, 14,1, 11,3; EMAR (ESI) m/e 832,3904 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calc. para $[\text{C}_{45}\text{H}_{53}\text{B}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_7]^+$: 832,3905.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAI, S.; KITA, Y. Recent Progress In The Synthesis Of *P*-Quinones And *P*-Dihydro-Quinones Through Oxidation Of Phenol Derivatives. A Review. **Organic Preparations and Procedures International**, 1998, 30, 603.

AKIYAMA, T. *et al.* Genistein, A Specific Inhibitor Of Tyrosine-Specific Protein Kinases. **The Journal of Biological Chemistry**, 1987, 262, 12, 5592-5595.

ALLRED, C. D. *et al.* Dietary Genistin Stimulates Growth Of Estrogen-Dependent Breast Cancer Tumors Similar To That Observed With Genistein, **Carcinogenesis**, 2001, 22, 1667-1673.

AL-MAHARIK, N.; BOTTING, N.P. An Efficient Method For The Glycosylation Of Isoflavones, **European Journal of Organic Chemistry**, 2008, 33, 5622-5629.

ALMEIDA, C. G., GARBOIS, G. D., AMARAL, L. M., DINIZ, C. C., HYARIC, M. L. Relationship Between Structure And Antibacterial Activity Of Lipophilic *N*-Acyldiamines. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2010, 64, 287.

ALMEIDA, M. V., HYARIC, M. L., AMARANTE, G. W., LOURENÇO, M. C. S., BRANDÃO, M. L. L. Synthesis Of Amphiphilic Galactopyranosyl Diamines And Amino Alcohols As Antitubercular Agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2007, 42, 1076.

ANDLAUER, W., KOLB, J. e FURST, P. Absorption And Metabolism Of Genistein In The Isolated Rat Small Intestine, **FEBS Letters**, 2000, 475, 127-130.

BACCHI C.J., YARLETT N. Polyamine metabolism as chemotherapeutic target in protozoan parasites. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, 2002, 2, 553.

BARCO, A. *et al.* D-(-)-Quinic Acid: A Chiron Store For Natural Product Synthesis. **Tetrahedron: Asymmetry**, 1997, 8, 3515.

BASSO, A.S; FRENKEL, D.; QUINTANA, F.J.; PINTO, F.A.C.; STOJKOVIC, S.P.; PUCKETT, L.; MONSONEGO, A.; SHIR, A.B.; ENGEL, Y.; GOZIN, M.;

WEINER, H.L. Reversal Of Axonal Loss And Disability In A Mouse Model Of Progressive Multiple Sclerosis. **The Journal of Clinical Investigation**, 2008, 118, 4, 1532-1543.

BATOVA, A.; ALTOMARE, D.; CHANTARASRIWONG, O.; OHLSEN, K. L.; CREEK, K. E.; LIN, Y.; MESSERSMITH, A.; YU, A. L.; YU, J.; THEODORAKIS, E. A. The Synthetic Caged Garcinia Xanthone Cluvenone Induces Cell Stress and Apoptosis and Has Immune Modulatory Activity. **Molecular Cancer Therapeutics**, 2010, 9, 2869.

BATOVA, A.; LAM, T.; WASCHOLOWSKI, V.; YU, A. L.; GIANNIS, A.; THEODORAKIS, E. A. Synthesis And Evaluation Of Caged *Garcinia* Xanthones. **Organic and Biomolecular Chemistry**, 2007, 5, 494.

BIASUTTO, L.; MATTAREI, A.; MAROTTA, E.; BRADASCHIA, A.; SASSI, N. GARBISA, S.; ZORATTI, M.; PARADISI, C. Development of Mitochondria-target Derivatives of Resveratrol. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, 2008, 18, 5594.

BOGATCHEVA, E., HANRAHAN, C., NIKONENKO, B., SAMALA, R., CHEN, P., GEARHART, J., BARBOSA, F., EINCK, L., NACY, C. A., PROTOPOPOVA, M. Identification Of New Diamine Scaffolds With Activity Against *Mycobacterium Tuberculosis*. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2006, 49, 3045.

BREMNER, A. F., COOMBS, G. H., NORTH, M. J. Antitrichomonal Activity of Alpha-difluoromethylornithine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 1987, 20, 405.

CARNAT, A. *et al.* Major DicaFFEoylquinic Acids From *Artemisia Vulgaris*. **Fitoterapia**, 2000, 71, 587.

CASTRO B.R.S, *et al.* Immunomodulatory Effects And Improved Prognosis Of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis After O-Tetradecanoyl-Genistein Treatment. **International Immunopharmacology**, 2012, 465.

CAVE, N.J.; BACKUS, R.C.; MARKS, S.L.; KLASING, K.C. The Bioavailability And Disposition Kinetics Of Genistein In Cats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, 2007, 30, 4, 327-335.

CHALMERS, S.; CALDWELL, S. T.; QUIN, C.; PRIME, T. A.; JAMES, A. M.; CAIRNS, A. G.; MURPHY, M. P.; MCCARRON, J. G.; HARTLEY, R. C. Selective Uncoupling Of Individual Mitochondria Within A Cell Using A Mitochondria-Targeted Photoactivated Protonophore. **Journal of American Chemical Society**, 2012, 134, 758.

CHANTARASRIWONG, O.; CHO, W. C.; BATOVA, A.; CHAVASIRI, W.; MOORE, C.; RHEINGOLD, A. L.; THEODORAKIS, E. A. Evaluation Of The Pharmacophoric Motif Of The Caged *Garcinia* Xanthones. **Organic and Biomolecular Chemistry**, 2009, 7, 4886.

CHANTARASRIWONG, O.; BATOVA, A.; CHAVASIRI, W.; THEODORAKIS, E. A. Chemistry and Biology of the Caged *Garcinia* Xanthones. **Chemistry A European Journal**, 2010, 16, 9944.

COCHRAN, F.R., SELPH, J., SHERMAN, P. Insights Into The Role Of Nitric Oxide In Inflammatory Arthritis. **Medicinal Research Reviews**, 1996, 16, 547-563.

COIMBRA, E. S., ALMEIDA, M. V., REZENDE JUNIOR, C. O., TAVEIRA, A. F., COSTA, C. F., ALMEIDA, A. C., REIS, E. F. C., SILVA, A. D. Synthesis and Antileishmanial Activity of Lipidic Amino Alcohols. **Chemical and Biology Drug Design**, 2010, 75, 233.

COMALADA, M. *et al.* Inhibition Of Pro-Inflammatory Markers In Primary Bone Marrow-Derived Mouse Macrophages By Naturally Occurring Flavonoids: Analysis Of The Structure-Activity Relationship. **Biochemical Pharmacology**, 2006, 72, 8, 1010-1021.

COSTA, C. F., COIMBRA, E. S., BRAGA, F. G., REIS, R. C. N., SILVA, A. D., ALMEIDA, M. V. Preparation And Antileishmanial Activity Of Lipophilic N-Alkyl Diamines. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2009, 63, 40.

DAVENPORT, J.; MANJARREZ, J. R.; PETERSON, L.; KRUMM, B.; BLAGG, B. S.; MATTS, R. L. Gambogic Acid, a Natural Product Inhibitor of Hsp90. **Journal of Natural Products**, 2011, 74, 1085.

DAY, A.J. *et al.* Deglycosylation Of Flavonoid And Isoflavonoide Glycosides By Human Small Intestine And Liver B-Glucosidase Activity. **FEBS Letters**, 1978, 436, 71-75.

DENG, G. M., ZHENG, L., CHAN, F. K., LENARDO, M., Amelioration Of Inflammatory Arthritis By Targeting The Pre-Ligand Assembly Domain Of Tumor Necrosis Factor Receptors, **Nature Medicine**, 2005, 11, 1067-1072.

DE PAULA, M.L. *et al.* Genistein Down-Modulates Proinflammatory Cytokines And Reverses Clinical Signs Of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. **International Immunopharmacology**, 2008, 8, 1291-1297.

DIJSSELBLOEM, N. *et al.* Critical Role For P53 In The Control Of NF-Kb-Dependent Gene Expression In TLR-4-Stimulated Dendritic Cells Exposed To Genistein. **Journal of Immunology**, 2007, 178, 8, 5048-57.

ELBEL, K. M.; GUIZZUNTI, G.; THEODORAKI, M. A.; XU, J.; BATOVA, A.; DAKANALIA, M.; THEODORAKIS, E. A. A-Ring Oxygenation Modulates The Chemistry And Bioactivity Of Caged Garcinia Xanthones. **Organic and Biomolecular Chemistry**, 2013, 11, 3341.

ERCOLINI, A.M.; MILLER, S.D. Mechanisms Of Immunopathology In Murine Models Of Central Nervous System Demyelinating Disease. **Journal of Immunology**, 2006, 176, 6, 3293-3298.

FERNANDES, F. S., REZENDE JÚNIOR, C. O., FERNANDES, T. S., SILVEIRA, L. S., REZENDE, C. A. M., ALMEIDA, M. V., PAULA, R. G., RODRIGUES, V., SILVA FILHO, A. A., COURI, M. R. C. Anthelmintic Effects Of Alkylated Diamines And Amino Alcohols Against *Schistosoma Mansoni*. **BioMed Research International**. 2013, 1-9.

FOX, E. J. Mechanism Of Action Of Mitoxantrone. **Neurology**, 2004, 63, 12, 15-18.

FUJINAMI, R. S.; OLDSTONE, M. B. Amino Acid Homology Between The Encephalitogenic Site Of Myelin Basic Protein And Virus: Mechanism For Autoimmunity. **Science**, 1985, 230, 4729, 1043-45.

GARCIA, A. F., BENCHIMOL, M., ALDERETE, J. F. *Trichomonas Vaginalis* Polyamine Metabolism is Linked to Host Cell Adherence and Cytotoxicity. **Infection and Immunology**, 2005, 73, 2602.

GEE, J.M. *et al.* Quercetin Glucosides Interact With The Intestinal Glucose Transport Pathway. **Free Radical Biological Medicine**, 1998, 25, 19-25.

GIANNI, G.; BATOVA, A.; CHANTARASRIWONG, O.; DAKANALI, M.; THEODORAKIS, E. A. Subcellular Localization and Activity of Gambogic Acid. **ChemBioChem**, 2012, 13, 1191.

GIORDANI, R. B., ALMEIDA, M. V., FERNANDES, E., COSTA, C. F., CARLI, G. A., TASCA, T., ZUANAZZI, J. A. S. Anti-*Trichomonas Vaginalis* Activity Of Synthetic Lipophilic Diamine And Amino Alcohol Derivatives. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2009, 63, 613.

GIORDANI, R.B., ARAUJO, D. P., DUARTE, M., ZUANAZZI, J. A., TASCA, T., ALMEIDA, M. V. Anti-Protozoal Activity Of Diamine Derivatives. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2011, 65, 60.

GOVERMAN, J. Autoimmune T Cell Response In The Central Nervous System. **Nature Reviews Immunology**, 2009, 9, 6, 393-407.

GUIZZUNTI, G.; THEODORAKIS, E. A.; YU, A. L.; ZURZOLO, C.; BATOVA, A. Cluvenone Induces Apoptosis Via A Direct Target In Mitochondria: A Possible Mechanism To Circumvent Chemo-Resistance? **Investigational New Drugs**, 2012, 30, 1841.

HAUGLAND, R. P.; KANG, H. C.; EUGENE. Chemically Reactive Dipyrrometheneboron Difluoride Dyes. **United States Patent**, 1987, Número: 4774339.

HEBY, O., ROBERTS, S. C., ULLMAN, B. Polyamine Biosynthetic Enzymes as Drug Targets. **Biochemical Society Transactions**, 2003, 31, 415.

HUYNH-BA, T. Production Of Quinic Acid Derivatives. **Patente**, 1995, 5401858.

IZUMI, T. *et al.* Soy Isoflavone Aglycones Are Absorbed Faster And In Higher Amounts Than Their Glucosides In Humans. **Journal of Nutrition**, 2000, 130, 1695-1699.

JANIN, Y. L. Antituberculosis Drugs: Ten Years Of Research. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2007, 15, 2479.

JIA L.; TOMASZEWSKI, J. E.; HANRAHAN, C.; L. COWARD, L.; P. NOKER, P.; GORMAN, G.; NIKONENKO, B.; PROTOPOPOVA, M. Pharmacodynamics And Pharmacokinetics Of SQ109, A New Diamine-Based Antitubercular Drug. **British Journal of Pharmacology**, 2005, 144, 80.

JONES, J. L.; COLES, A. New Treatment Strategies In Multiple Sclerosis. **Experimental Neurology**, 2010, 225, 34-39.

KERSTIN, G.; HELMUT, G.; DANIELA, G.; THOMAS, S.; CLEMENS, R. Synthesis of 3'-BODIPY-Labeled Active Esters Nucleotides and a Chemical Primer Extension Assay on Beads. **European Journal of Organic chemistry**, 2010, 3611.

KUEMMERLE, J.; JIANG, S.; TSENG, B.; KASIBHATLA, S.; DREWE, J.; CAI, S. X. Synthesis Of Caged 2,3,3a,7a-Tetrahydro-3,6-Methanobenzofuran-7(6H)-Ones: Evaluating The Minimum Structure For Apoptosis Induction By Gambogic Acid. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 2008, 16, 4233.

KUNINAKA S. *et al.* Direct Influences Of Pro-Inflammatory Cytokines (IL-1beta, TNF-Alpha, IL-6) On The Proliferation And Cell-Surface Antigen Expression Of Cancer Cells. **Cytokine**, 2000, 12, 8-11.

LEE, R. E.; PROTOPOPOVA, M.; CROOKS, E.; SLAYDEN, R. A.; TERROT, M.; BARRY, C. E., III Combinatorial Lead Optimization Of [1, 2]-Diamines Based On Ethambutol As Potential Antituberculosis Preclinical Candidates. **Journal of Combinatorial Chemistry**, 2003, 5, 172.

LEWIS, P.T. *et al.* Synthesis Of Antioxidant Isoflavone Fatty Acid Esters. **Tetrahedron**, 2000, 56, 7805-7810.

Li, N. G.; You, Q. D.; Huang, X. F.; Wang, J. X.; Guo, Q. L.; Chen, X. G.; Li, Y.; Li, H. Y. Synthesis And Antitumor Activities Of Structure-Related Small Molecular Compounds Of Gambogic Acid. **Chinese Chemical Letters**, 2007, 18, 659.

LUBLIN, F. D. The Incomplete Nature Of Multiple Sclerosis Relapse Resolution. **Journal of the Neurological Sciences**, 2007, 256, 14-18.

MARIA, C. A. B. *et al.* The Content of Individual Caffeoylquinic Acids in Edible Vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, 1999, 12, 289.

MULLER, S., COOMBS, G. H., WALTER, R. D. Targeting Polyamines of Parasitic protozoa in Chemotherapy. **Trends in Parasitology**, 2001, 17, 242.

NEUHAUS, O.; ARCHELOS, J.J.; HARTUNG, H.P. Immunomodulation In Multiple Sclerosis: From Immunosuppression To Neuroprotection. **Trends in Pharmacological Science**, 2003, 24, 3, 131-138.

NICOLAOU, K. C.; SASMAL, P. K.; XU, H. Biomimetically Inspired Total Synthesis and Structure Activity Relationships of 1-O-Methylateriflorone. 6π Electrocyclizations in Organic Synthesis. **Journal of the American Chemical Society**, 2004, 126, 5493.

OLLIS, W. D. *et al.* The Constitution Of Bronianone. **Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications**, 1969, 879.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Atlas Multiples Sclerosis. Resources In The World. World Health Organization, 2008.

PAESANO, N. *et al.* Synthesis And Biological Evaluation Of 3-Benzyl-1-Methyl- And 1-Methyl-3-Phenyl-Isothioureas As Potential Inhibitors Of iNOS, **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, 2005, 15, 539-543.

PETERSON, L.K.; FUJINAMI, R.S. Inflammation, Demyelination, Neurodegeneration And Neuroprotection In The Pathogenesis Of Multiple Sclerosis. **Journal of Immunology**, 2007, 184, 37-44.

PISKULA, M.K., YAMAKOSHI, J. e IWAI, Y. Daidzein And Genistein But Not Their Glucosides Are Absorbed From The Rat Stomach. **FEBS Letters**, 1999, 447, 287-291.

POLKOWSKI, K.; POPIOLKIEWICZ, J.; KRZECZYNSKI, P.; RAMZA, J.; PUCKO, W; ZEGROCKA-STENDEL, O.; BORYSKI, J. ; SKIERSKI, J.S.; MAZUREK, A.P.; GRYNKIEWICZ, G. Cytostatic And Cytotoxic Activity Of Synthetic Genistein Glycosides Against Human Cancer Cell Lines. **Cancer Letters**, 2004, 203, 1, 59-69.

QUILLINAN, A. J., SCHEINMANN, F. Application Of The Claisen Rearrangement To The Synthesis Of Heterocyclic Bicyclo[2,2,2]Octenones: An Approach To The Morellins Based On New Biogenetic Suggestions. **Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications**, 1971, 966.

QIN, Y. *et al.* Gambogic Acid Inhibits The Catalytic Activity Of Human Topoisomerase II Alpha By Binding To Its Atpase Domain, **Molecular Cancer Therapeutics**, 2007, 6, 2429.

PROTOPOPOVA, M.; HANRAHAN, C.; NIKONENKO, B.; SAMALA, R.; CHEN, P.; GEARHART, J.; EINCK, L.; NACY, C. A. Identification Of A New Antitubercular Drug Candidate SQ109 From A Combinatorial Library Of 1,2-Ethylenediamines. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2005, 56, 968.

RAYMOND, A.L.; SCHROEDER, E. F. Synthesis Of Some Iodo-Sugar Derivatives. **Journal of the American Chemical Society**, 1948, 70, 2785.
RAMANI, D., DE BANDT, J. P., CYNOBER, L. Aliphatic polyamines in physiology and diseases. **Clinical Nutrition**, 2014, 33, 14.

REGUERA, R. M., TEKWANI, B. L., BALAÑA-FOUCE, R. Polyamine Transport in Parasites: A Potencial Target For New Antiparasitic Drug Development. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 2005, 140, 151.

REIS, I. A., MARTINEZ, M. P., YARLLET, N., JOHNSON, P. J., SILVA-FILHO, F. C., VANNIER-SANTOS, M. A. Inhibitions of Polyamine Synthesis Arrest Trichomonas Growth and Induces Destruction of Hydrogenosomes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 1999, 43, 1919.

REZENDE JUNIOR, C. O., HYARIC, M. L., COSTA, C. F., CORRÊA, T. A., TAVEIRA, A. F., ARAÚJO, D. P., REIS, E. F. C., LOURENÇO, M. C. S., VICENTE, F. R. C., ALMEIDA, M. V. Preparation And Antitubercular Activity Of Lipophilic Diamines And Amino Alcohols. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2009, 104, 703.

REZENDE JUNIOR, C. O., ALVES, R.O., REZENDE, C. A. M., COSTA, C.F. SILVA, H. LE HYARIC, M., FONTES, A. P. S., ALVES, R. J., ROMANHA, A. J., ALMEIDA, M. V. Trypanocidal Activity Of Lipophilic Diamines And Amino Alcohols. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2010, 64, 624.

REZENDE JUNIOR, C. O., VERDE, S. C., REZENDE, C. A. M., CANESCHI, W., COURI, M. R. C., MCDUGALL, B. R., ROBINSON JR, W. E., ALMEIDA, M. V. Synthesis and HIV-1 Inhibitory Activities of Dicaffeoyl and Digalloyl Esters of Quinic Acid Derivatives. **Current Medicinal Chemistry**, 2013, 20, 724.

RICHELLE, M. *et al.* Hydrolysis Of Isoflavone Glycosides To Aglycones By Beta-Glycosidase Does Not Alter Plasma And Urine Isoflavone Pharmacokinetics In Postmenopausal Women. **Journal of Nutrition**, 2002, 132, 2587-2592.

SALES JÚNIOR, P. A., REZENDE JÚNIOR, C. O. LE HYARIC, M., ALMEIDA, M. V., ROMANHA, A. J. In Vitro Activity Of Fatty Diamines And Amino Alcohols Against Mixed Amastigote And Trypomastigote Forms Of Trypanosoma Cruzi. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2014, 109, 362.

SANDRA B. R. CASTRO, *et al.* Synthesis Of Lipophilic Genistein Derivatives And Their Regulation Of IL-12 And TNF-A In Activated J774A.1 Cells. **Chemical Biology Drug Design**, 2012, 79, 347.

SEFKOW, M.; KELLING, A.; SCHILDE, U. First Efficient Syntheses of 1-, 4-, and 5- Caffeoylquinic Acid. **European Journal of Chemistry**, 2001, 2735.

SETCHELL, K.D.R. *et al.* Bioavailability Of Pure Isoflavones In Healthy Humans And Analysis Of Commercial Soy Isoflavone Supplements. **Journal of Nutrition**, 2001, 131, 1362S-1375S.

SETCHELL, K.D.; FAUGHNAN, M.S.; AVADES, T.; ZIMMER-NECHEMIAS, L.; BROWN, N.M.; WOLFE, B.E.; BRASHEAR, W.T.; DESAI, P.; OLDFIELD, M.F.; BOTTING, N.P.; CASSIDY, A. Comparing The Pharmacokinetics Of Daidzein And Genistein With The Use Of ¹³C-Labeled Tracers In Premenopausal Women. **The American Journal of Clinical**, 2003, 77, 2, 411–9.

SETCHELL, K.D.R. Phytoestrogens: The Biochemistry, Physiology, And Implications For Human Health Of Soy Isoflavones. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 1998, 68, 6, 1333S-1346S.

SETCHELL, K.D.R. *et al.* Pharmacokinetics Of A Slow-Release Formulation Of Soybean Isoflavones In Healthy Postmenopausal Women. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2005, 53, 6, 1938-44.

SILVA, A. L. N., ADADE, C. M., SHOYAMA, F. M., NETO, C. P. S., PADRO'N, T. S., ALMEIDA, M. V., REZENDE, C. A. M., SILVA, C. V., SOUZA, M. A. In Vitro Leishmanicidal Activity Of N-Dodecyl-1,2-Ethanediamine. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2012, 66, 180.

SNIECKUS, V. Directed Ortho Metalation. Tertiary Amide And O-Carbamate Directors In Synthetic Strategies For Polysubstituted Aromatics. **Chemical Reviews**, 1990, 879.

SOSPEDRA, M.; MARTIN, R. Immunology Of Multiple Sclerosis. **Annual Reviews of Immunology**, 2005, 23, 683-747.

SULTANBAWA, M. U. S. Xanthonoids of Tropical Plants. **Tetrahedron**, 1980, 36, 1465.

TAVEIRA, A. F., HYARIC, M. L., REIS, E. F. C., ARAUJO, D. P., FERREIRA, A. P., SOUZA, M. A., ALVES, L. L., LOURENÇO, M. C. S., VICENTE, F. R. C., ALMEIDA, M. V. Preparation And Antitubercular Activities Of Alkylated Amino Alcohols And Their Glycosylated Derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2007, 15, 7789.

THAM, D.M.; GARDNER, C.D.; HASKELL, W.L. Potential Health Benefits Of Dietary Phytoestrogens: A Review Of The Clinical, Epidemiological, And Mechanistic Evidence. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 1998, 83, 7, 2223-2235.

TISDALE, E. J.; SLOBODOV, I; THEODORAKIS, E. A. Biomimetic Total Synthesis of Forbesione and Deoxymorellin Utilizing a Tandem Claisen/Diels-Alder/Claisen Rearrangement. **Organic and Biomolecular Chemistry**, 2003, 1, 4418.

TOHMA, H.; MORIOKA, H.; HARAYAMA, Y.; HASHIZUME, M.; KITA, Y. Novel And Efficient Synthesis Of *P*-Quinones In Water Via Oxidative Demethylation Of Phenol Ethers Using Hypervalent Iodine(III) Reagents. **Tetrahedron Letters**, 2001, 42, 6899.

YIN, J.X. *et al.* Centrally Administered Pertussis Toxin Inhibits Microglia Migration To The Spinal Cord And Prevents Dissemination Of Disease In And EAE Mouse Model. **PLoS ONE**, 2010, 5, 8, 1-14.

WALLACE, H. M., FRASER, A. V., HUGHES, A. A Perspective of Polyamine Metabolism. **Biochemistry**, 2003, 376, 1.

WALGREN, R.A. *et al.* Transport Of Quercetin And Its Glucosides Across Human Intestinal Epithelial Caco-2 Cells. **Biochemical Pharmacology**, 1998, 55, 1721-1727.

WANG, J.; ZHAO, L.; HU, Y.; GUO, Q.; ZHANG, L.; WANG, X.; LI, N.; YOU, Q. Studies On Chemical Structure Modification And Biology Of A Natural Product, Gambogic Acid (I): Synthesis And Biological Evaluation Of Oxidized Analogues Of Gambogic Acid. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2009, 44, 2611.

WANG *et al.* Studies On Chemical Modification And Biology Of A Natural Product, Gambogic Acid (III): Determination Of The Essential Pharmacophore For Biological Activity, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2011, 46, 1280.

WEAKLEY, T. J. R. CAI, S. X. ZHANG, H., KEANA, J. F. W. Crystal Structure Of The Pyridine Salt Of Gambogic Acid, **Journal of Chemical Crystallography**, 2001, 31, 501.

WUCHERPFENNIG, K. W.; STROMINGER, J. L. Molecular Mimicry In T Cell-Mediated Autoimmunity: Viral Peptides Activate Human T Cell Clones Specific For Myelin Basic Protein. **Cell**, 1995, 80, 5, 695–705.

YAMANAKA, C. N., GIORDANI, R. B., REZENDE JR, C. O., EGER, I., KESSLER, R. L., TONINI, M. L., MORAES, M. H., ARAUJO, D. P., ZUANAZZI, J. A., ALMEIDA, M. V., STEINDEL, M. Assessment of Leishmanicidal and Trypanocidal Activities of Aliphatic Diamine Derivatives. **Chemical and Biology Drug Design**, 2013, 82, 697.

YATES, C., ZENG, K., MILLER, D., THOMPSON, K. Anti-inflammatory Quinic Acid Derivatives For Oral Administration. **Patente** WO2009/062200A1, 2009.

YATES, C., MILLER, D., GABER, W., THOMPSON, K., WILSON, C., ZENG, K. Anti-inflammatory Quinic Acid Derivatives For Radioprotection/Radiomitigation. **Patente** WO 2010/132504A1, 2010.

ZHANG, H. Z.; KASIBHATLA, S.; WANG, Y.; HERICH, J.; GUASTELLA, J.; TSENG, B.; DREWE, J.; CAI, S. X. Discovery, Characterization And SAR Of Gambogic Acid As A Potent Apoptosis Inducer By A HTS Assay. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 2004, 12, 309.

ZHANG, Q., JIANG, Y., TOUTOUNCHIAN, J., WILSON, M. W., TIRADO, V. M., MILLER, D. D., YATES, C. R., STEINLE, J. J. Novel Quinic Acid Derivative KZ-41 Prevents Retinal Endothelial Cell Apoptosis Without Inhibiting Retinoblastoma Cell Death Through p38 Signaling. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, 2013, 54, 9, 5938.

ZENG, K., THOMPSON, K. E., YATES, C. R., MILLER, D. D. Synthesis And Biological Evaluation Of Quinic Acid Derivatives As Anti-Inflammatory Agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2009, 19, 5458.

ZENG, K., THOMPSON, K. E., PRESLEY, C. S., MILLER, D. D., YATES, C. R. Preclinical Pharmacokinetics Of The Radiomitigator KZ-41 In Rats. **Xenobiotica**, 2011, 41, 1006.

ZIEF, M.; HOCKETT, R.C. Methyl 6-Iodo-6-desoxy- α -D-glucopyranoside. **Journal of the American Chemical Society**, 1945, 67, 1267.

ZUBIK, L. e MEYDANI, M. Bioavailability Of Soybean Isoflavones From Aglycone And Glucoside Forms In American Women. **American Journal of Clinical Nutrition**, 2003, 77, 1459-1465.