LUIS GUSTAVO DE SOUZA FILHO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE POTENCIAIS INIBIDORES DE COX-2, A PARTIR DE ADUTOS DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN

CAMPINAS
2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

LUIS GUSTAVO DE SOUZA FILHO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE POTENCIAIS INIBIDORES DE COX-2, A PARTIR DE ADUTOS DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN

ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO ANTONIO SANTOS COELHO
COORIENTADOR: PROF. DR. EDSON ANTUNES

TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM CIÊNCIAS.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA POR LUIS GUSTAVO DE SOUZA FILHO, E ORIENTADA PELO PROF.DR. FERNANDO ANTONIO SANTOS COELHO.

_____
Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2014

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Química
Simone Lucas Gonçalves de Oliveira - CRB 8/8144

Souza Filho, Luis Gustavo, 1974-
So89s Síntese e avaliação biológica de potenciais inibidores de COX-2, a partir de adutos de Morita-Baylis-Hillman / Luis Gustavo de Souza Filho. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Fernando Antonio Santos Coelho.
Coorientador: Edson Antunes.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Morita-Baylis-Hillman. 2. Adição 1,4 catalisada por ródio. 3. Ciclopentenona. 4. Inflamação. 5. COX-2. I. Coelho, Fernando Antonio Santos. II. Antunes, Edson. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Synthesis and biological evaluation of potential inhibitors of COX-2, from Morita-Baylis-Hillman adducts
Palavras-chave em inglês:
Morita-Baylis-Hillman
Rhodium-catalysed 1,4-addition
Cyclopentenone
Inflammation
COX-2
Área de concentração: Química Orgânica
Titulação: Doutor em Ciências
Banca examinadora:
Fernando Antonio Santos Coelho [Orientador]
Letícia Veras Costa Lotufo
Marco Edilson Freire de Lima
Sisi Marcondes Paschoal
Luciana Gonzaga de Oliveira
Data de defesa: 28-03-2014
Programa de Pós-Graduação: Química

O valor fundamental da vida depende da percepção e do poder de contemplação ao invés da mera sobrevivência.
O ignorante afirma, o sabio duvida, o sensato reflete.
Nos somos aquilo que fazemos repetidamente. Excelência, então, não é um modo de agir, mas um hábito.

Aristóteles

Dedico esta tese aos meus pais Beatriz Silva de Souza e Luis José de Souza Filho (saudades) que investiram, incentivaram e apoiaram a minha formação, a meus filhos amados Flávio Rafael de Castro Souza e Otávio Miguel de Castro Souza, aos meus irmãos Flávia Silva de Souza Santos, Graziela Silva de Souza Brito, Bruno Silva de Souza, Lorena Silva de Souza e Vanuza Silva de Souza pela ajuda nos momentos mais difíceis e pelos momentos de felicidade e de alegria que sempre me proporcionaram.

Pegadas na Areia

Sonhei que estava caminhando na praia
juntamente com Deus.
E revi, espelhado no céu,
todos os dias da minha vida.
E em cada dia vivido,
apareciam na areia, duas pegadas :
as minhas e as d'Ele.
No entanto, de quando em quando,
vi que havia apenas as minhas pegadas,
e isso precisamente
nos dias mais difíceis da minha vida.

Então perguntei a Deus:
"Senhor, eu quis seguir-Te,
e Tu prometeste ficar sempre comigo.
Porque deixaste-me sozinho,
logo nos momentos mais difíceis?

Ao que Ele respondeu:
"Meu filho, Eu te amo e nunca te abandonei.
Os dias em que viste só um par de pegadas na areia
são precisamente aqueles
em que Eu te levei nos meus braços."

Margaret Fishback Powers

Custou-me acreditar que nos momentos mais turbulentos pelos quais passei estava só... Agora (e sempre) sei que não.

Combati o bom combate, *terminei a minha carreira, guardei a fé. Desde já me está reservada a coroa da justiça, que me dará o Senhor, justo juiz, naquele dia; e não somente a mim, mas a todos os que tiverem esperado com amor sua aparição.*

(2Timóteo 4,6-8)

Agradecimentos

Sempre grato a Deus pelo dom da vida;

Ao Prof. Fernando Coelho, pela oportunidade, confiança, apoio, incentivo, discussões sobre esse trabalho de Tese. O responsável pelo meu crescimento e amadurecimento como profissional. Agradeço pelos conselhos que, certamente, auxiliaram-me no crescimento como pessoa;

Ao professor e coorientador Edson Antunes, aos colaboradores: Drª Gláucia Coelho de Mello e Lineu Baldissera Jr. pela seriedade, pelos trabalhos desenvolvidos e, sobretudo, pela amizade;

Aos amigos: Kristerson, Nathalia, Patrícia, Nilton, José Tiago, André, Danilo e Nathan;

Aos demais colegas do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais e Fármacos da UNICAMP;

Aos professores Luciana Gonzaga de Oliveira, Sisi Marcondes Paschoal e Carlos Henrique Inacio Ramos pelas contribuições no exame de qualificação deste trabalho;

Ao amigo Edson G. Avansini e aos demais técnicos e funcionários do IQ-UNICAMP;

À estrutura do IQ-UNICAMP;

À FAPESP pela bolsa de doutorado (Processo: 2008/09230-0).

Luis Gustavo de Souza Filho

FORMAÇÃO:

Doutorado em Química – UNICAMP
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil
Título: Síntese e avaliação biológica de potenciais inibidores de COX-2, a partir de adutos de Morita-Baylis-Hillman.
Orientador: Prof. Dr. Fernando Antônio Santos Coelho
Coorientador: Prof. Dr. Edson Antunes
Bolsista: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)
Data de defesa: 28/03/2014

Mestrado em Farmacologia
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil
Título: Efeito da Administração Aguda e Crônica de Inibidores das Óxido Nítrico Sintases na Infiltração de Eosinófilos para as Vias Aéreas de Camundongos Alérgicos.
Orientador: Prof. Dr. Edson Antunes
Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes)
Data de defesa: 06/08/2008

Graduação em Farmácia - Habilitação Indústria
Universidade Federal de Ouro Preto, UFOP, Minas Gerais, Brasil
Ano de obtenção: 2003

ESTÁGIO SUPERVISIONADO:

Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE
- Desenvolvimento técnico, Controle físico-químico, Produção e Garantia de qualidade (2003)

Farmácia Central – Machado e Cia Ltda (João Monlevade – MG)
- Manipulação, Assistência e Dispensação farmacêuticas (2002)

PRODUÇÃO CIENTÍFICA:

Ferreira, B.R.V.; Pirovani, R.V.; Souza-Filho, L.G.; Coelho, F. Nájera oxime-derived palladacycles catalyze intermolecular Heck reaction with Morita-Baylis-Hillman adducts. An improved and highly efficient synthesis of α-benzyl-β-ketoesteres. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7712-7717.

Lintomen, L.; Souza-Filho, L.G.; Ferreira, T.; Camargo, E.A.; Teixeira, S.A.; Muscará, M.N.; Landgraf, R.G.; Jancar, S.; Mendes, G.D.; De Nucci, G.; Antunes, E. Different mechanism underlie the effects of acute and long-term inhibition of nitric oxide synthases in antigen-induced pulmonary eosinophil recruitment in BALB/C mice. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutcs* **2009**, *22*, 1-8.

Resumo

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE POTENCIAIS INIBIDORES DE COX-2, A PARTIR DE ADUTOS DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN

As ciclopentenonas desempenham diversas e importantes atividades biológicas, tais como: anti-inflamatória, antineoplásicas e antivirais. Descrevemos neste trabalho uma nova abordagem para a síntese de ciclopentenonas substituídas, com potencial atividade anti-inflamatória, a partir de adutos de Morita-Baylis-Hillman. A sequência foi baseada na utilização de uma reação de adição 1,4 mediada por catalisador de ródio com adutos de Morita-Baylis-Hillman. Esta reação origina cinamatos substituídos em bons rendimentos e elevada estereosseletividade *E*. A sequência de transformações químicas levou estes cinamatos a várias ciclopentenonas tendo diferentes padrões de substituição, em 7 etapas, e rendimentos globais variando de 10 a 30%. A propriedade anti-inflamatória das ciclopentenonas sintetizadas foi avaliada tanto *in vivo* (edema da pata e peritonite avaliadas em modelos experimentais de inflamação não-alérgica) quanto *in vitro* (agregação plaquetária). Estes experimentos demonstraram a alta eficácia destas ciclopentenonas no controle do processo inflamatório uma vez que o edema de pata foi significativamente reduzido, bem como a migração celular para a cavidade abdominal. A atividade anti-inflamatória destas ciclopentenonas não é resultante da inibição da COX-1, mas acredita-se que seja, apenas parcialmente, resultante da inibição da COX-2. Esse é o primeiro trabalho descrevendo a síntese de ciclopentenonas substituídas a partir de adutos de Morita-Baylis-Hillman.

Abstract

SYNTHESYS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF POTENTIAL INHIBITORS OF COX-2, FROM MORITA-BAYLIS-HILLMAN ADDUCTS

The cyclopentenones play important and diverse biological activities, such as, anti-inflammatory, anti-cancer and anti-viral. We described in this work a new approach to the synthesis of substituted cyclopentenones, with potential anti-inflammatoy activity, from Morita-Baylis-Hillman adducts. The sequence was based on the use of a 1,4-addition reaction mediated by rhodium catalyst, with Morita-Baylis-Hillman adducts. This reaction forms substituted cinnamates in good yield and high *E* stereoselectivity. A sequence of chemical transformations led these cinnamates to several cyclopentenones having different substitution patterns, in 7 steps and overall yield varying from 10 to 30%. The anti-inflammatory property of the synthesized cyclopentenones was evaluated, both *in vivo* (peritonitis assessed in experimental models of non-allergic inflammation and paw edema) and *in vitro* (platetet aggregation). These experiments demonstrated the high efficacy of these cyclopentenones in controlling the inflammatory process, since the paw edema was significantly reduced, as well as the cell migration into abdominal cavity. The anti-inflammatory activity of these cyclopentenones is not due to inhibition of COX-1 but is believed to be only partially due to inhibition of COX-2. This work is the first report describing the synthesis of substituted cyclopentenones from Morita-Baylis-Hillman adducts.

ÍNDICE

Lista de figuras.....xxvii
Lista de esquemas.....xxxix
Lista de tabelas.....xli
Lista de abreviaturas.....xliii

1. Introdução 1
1.1. Mecanismo de Ação dos Agentes Anti-inflamatórios não-Esteroidais 6
2. Métodos para Síntese de Ciclopentenonas Dissubstituídas 15
3. Objetivo.....25
4. Análise Retrossintética.....25
5. Metodologia sintética 27
5.1. Reação de Morita-Baylis-Hillman 27
5.2. Mecanismo da Reação de Morita-Baylis-Hillman.....30
6. Resultados e discussão.....33
6.1. Preparação dos derivados cinâmicos.....36
6.1.1. Considerações gerais.....36
6.1.2. Mecanismo da Reação de Adição 1,4 Catalisada por Ródio.....40
6.2. Racionalização e determinação da configuração da dupla ligação dos cinamatos α-substituídos.....65
6.3. Confirmação da estereoquímica *E* 67
6.4. Homologação dos dois átomos de carbono. Alquilação de derivados malonato para a etapa de ciclização intramolecular.....69
6.5. Reação de Redução de Ésteres α,β-Insaturados a Álcoois Alílicos 71

6.5.1. Mecanismo da Reação de Redução de Ésteres α,β-Insaturados a Álcoois Alílicos.....76
6.6. Mecanismo da Reação de Bromação a Álcoois Primários 80
6.7. Reação de Alquilação a Brometo Primário.....81
6.7.1. Mecanismo da Reação de Alquilação a Brometo Primário.....82
6.8. Reação de Descarboxilação (Reação de Krapcho) 87
6.8.1. Mecanismo da Reação de Descarboxilação (Reação de Krapcho) 88
6.9. Reação de Hidrólise de Ésteres a Ácidos Carboxílicos 92
6.9.1. Mecanismo da Reação de Hidrólise de Ésteres a Ácidos Carboxílicos 93
6.10. Reação de Acilação Intramolecular de Friedel-Crafts 96
6.10.1. Mecanismo da Reação de Acilação Intramolecular de Friedel-Crafts 97
7. Conclusões 106
8. Parte experimental 107
8.1. Considerações gerais 107
8.2. Procedimentos Experimentais 110
8.2.1. Metodologia geral: preparação dos adutos de MBH **12**, **12a** e **12b** 110
8.2.2. Preparação do aduto de Heck **15** 119
8.2.3. Preparação do aduto β-hidróxi-α-benzilado **16** 122
8.2.4. Preparação dos cinamatos α-substituídos **11**, **11a**, **11b** e **11c** (reação de adição 1,4 catalisada por ródio: metodologia geral) 125
8.2.5. Preparação dos álcoois alílicos **10**, **10a**, **10b** e **10c**: Metodologia geral 137

8.2.6. Procedimento geral: preparação dos brometos alílicos **9**, **9a**, **9b** e **9c** 150
8.2.7. Procedimento geral: preparação dos diésteres **8**, **8a**, **8b** e **8c** 163
8.2.8. Procedimento geral: preparação dos monoésteres **7**, **7a**, **7b** e **7c** 176
8.2.9. Procedimento geral: preparação dos ácidos carboxílicos **6**, **6a**, **6b** e **6c** 190
8.2.10. Procedimento geral: preparação das cilcopentenonas **2**, **3**, **4** e **5** 204
9. Ensaios Biológicos 218
9.1. Considerações farmacológicas da inflamação 218
10. Materiais e Métodos 223
10.1. Animais 223
10.2. Edema de pata induzido pelo agente edematogênico carragenina 223
10.3. Peritonite induzida pelo agente edematogênico carragenina 225
10.4. Agregação plaquetária *in vitro* induzida por colágeno e ácido araquidônico 227
10.5. Aspectos Éticos da Pesquisa 229
10.6. Obtenção de Macrófagos Peritoneais para Dosagem de PGE_2 *in vitro* 230
10.6.1. Cultura de Macrófagos e Estimulação com LPS 231
11. Análise estatística dos resultados 232
12. Resultados 232
12.1. Efeito das Ciclopentenonas **2**, **3**, **4** e **5** no edema de pata induzido por carragenina 232
12.2. Efeito das Ciclopentenonas **2**, **3**, **4** e **5** na peritonite induzida por carragenina 240

12.3. Efeito das Ciclopentenonas **2**, **3**, **4** e **5** na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico e colágeno 248
12.4. Efeito das Ciclopentenonas, Indometacina e Celecoxibe sobre a produção de PGE_2 em Macrófagos Peritoneais Estimulados com LPS 253
13. Análise dos Resultados e Discussão 255
14. Conclusões biológicas 268
15. Conclusões 269
16. Anexos 271
16.1. Aprovação pelo comitê de ética para experimentação *in vivo* 271
16.2. Aprovação pelo comitê de ética para experimentação *in vivo* 272
16.3. Aprovação pelo comitê de ética para experimentação *in vitro* 273

Lista de Figuras

Figura 1: Exemplos de inflamações.....2

Figura 2: Salgueiro branco (Salix Alba), sua casca (salicina) e o ácido salicílico.....3

Figura 3: Alguns exemplos de agentes anti-inflamatórios esteroidais.....4

Figura 4: Alguns exemplos de agentes anti-inflamatórios não- esteroidais.....5

Figura 5: A cascata do ácido araquidônico.....8

Figura 6: Estrutura espacial das COX 1 e 2.....10

Figura 7: Exemplos de anti-inflamatórios inibidores seletivos da COX-2.....11

Figura 8: Agentes anti-inflamatórios de 1^a e 2^a geração.....12

Figura 9: Novos anti-inflamatórios desenvolvidos pela Merck.....13

Figura 10: Ciclopentenonas: moléculas-alvo do projeto.....14

Figura 11: Jasmona.....16

Figura 12: Aflatoxina.....16

Figura 13: As principais estratégias de construção de anéis 2-ciclopentenonas e métodos de ciclização.....17

Figura 14: Aplicações recentes dos Adutos de Morita-Baylis-Hillman em síntese.....29

*Figura 15: Comprovação da prioridade estereoquímica **E** da dupla.....67*

*Figura 16: Espectro de NOE diferencial do produto da reação de Adição **(11)**.....68*

*Figura 17: Espectro na região do infravermelho do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12)** 111*

Figura 18: Espectro de RMN de ^{1}H do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12)*** *.....112*
Figura 19: Espectro de RMN de ^{13}C do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12)*** *.....112*
Figura 20: Espectro de massas de alta resolução do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12)*** *.....113*
Figura 21: Espectro na região do infravermelho do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12a)*** *.....114*
Figura 22: Espectro de RMN de ^{1}H do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12a)*** *.....115*
Figura 23: Espectro de RMN de ^{13}C do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12a)*** *.....115*
Figura 24: Espectro de massas de alta resolução do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12a)*** *.....116*
*Figura 25: Espectro na região do infravermelho do aduto de Morita-Baylis-Hillman (****12b****) 117*
Figura 26: Espectro de RMN de ^{1}H do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12b)*** *.....118*
Figura 27: Espectro de RMN de ^{13}C do aduto de Morita-Baylis-Hillman ***(12b)*** *.....118*
Figura 28: Espectro na região do infravermelho do aduto de Heck ***(15)*** *.....120*
Figura 29: Espectro de RMN de ^{1}H do aduto de Heck ***(15)*** *.....121*
Figura 30: Espectro de RMN de ^{13}C do aduto de Heck ***(15)*** *.....121*
Figura 31: Espectro na região do infravermelho do aduto β-hidróxi-α-benzilado ***(16)*** *.....123*

Figura 32: Espectro de RMN de ^{1}H do aduto β-hidróxi-α-benzilado ***(16)*** *.....124*
Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C do aduto β-hidróxi-α-benzilado ***(16)*** *.....124*
Figura 34: Espectro na região do infravermelho do cinamato α-substituído ***(11)*** *.....127*
Figura 35: Espectro de RMN de ^{1}H do cinamato α-substituído ***(11)*** *.....127*
Figura 36: Espectro de RMN de ^{13}C do cinamato α-substituído ***(11)*** *.....128*
Figura 37: Espectro de massas de alta resolução do cinamato α-substituído ***(11)*** *.....128*
Figura 38: Espectro na região do infravermelho do cinamato α-substituído ***(11a)*** *.....130*
Figura 39: Espectro de RMN de ^{1}H do cinamato α-substituído ***(11a)*** *.....130*
Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C do cinamato α-substituído ***(11a)*** *.....131*
Figura 41: Espectro de massas de alta resolução do cinamato α-substituído ***(11a)*** *.....131*
Figura 42: Espectro na região do infravermelho do cinamato α-substituído ***(11b)*** *.....133*
Figura 43: Espectro de RMN de ^{1}H do cinamato α-substituído ***(11b)*** *.....133*
Figura 44: Espectro de RMN de ^{13}C do cinamato α-substituído ***(11b)*** *.....134*
Figura 45: Espectro de massas de alta resolução do cinamato α-substituído ***(11b)*** *.....134*
Figura 46: Espectro na região do infravermelho do cinamato α-substituído ***(11c)*** *.....135*
Figura 47: Espectro de RMN de ^{1}H do cinamato α-substituído ***(11c)*** *.....136*
Figura 48: Espectro de RMN de ^{13}C do cinamato α-substituído ***(11c)*** *.....136*

Figura 49: Espectro de massas de alta resolução do cinamato α-substituído ***(11c)*****.....137**

Figura 50: Espectro na região do infravermelho do álcool alílico ***(10)*****.....139**

Figura 51: Espectro de RMN de ^{1}H do álcool alílico ***(10)*****.....140**

Figura 52: Espectro de RMN de ^{13}C do álcool alílico ***(10)*****.....140**

Figura 53: Espectro de massas de alta resolução do álcool alílico ***(10)*****.....141**

Figura 54: Espectro na região do infravermelho do álcool alílico ***(10a)*****.....142**

Figura 55: Espectro de RMN de ^{1}H do álcool alílico ***(10a)*****.....143**

Figura 56: Espectro de RMN de ^{13}C do álcool alílico ***(10a)*****.....143**

Figura 57: Espectro de massas de alta resolução do álcool alílico ***(10a)*****.....144**

Figura 58: Espectro na região de infravermelho do álcool alílico ***(10b)*****.....145**

Figura 59: Espectro de RMN de ^{1}H do Álcool Alílico ***(10b)*****.....146**

Figura 60: Espectro de RMN de ^{13}C do Álcool Alílico ***(10b)*****.....146**

Figura 61: Espectro de massas de alta resolução do álcool alílico ***(10b)*****.....147**

Figura 62: Espectro de na região do infravermelho do álcool alílico ***(10c)*****.....148**

Figura 63: Espectro de RMN de ^{1}H do álcool alílico ***(10c)*****.....149**

Figura 64: Espectro de RMN de ^{13}C do álcool alílico ***(10c)*****.....149**

Figura 65: Espectro de massas de alta resolução do álcool alílico ***(10c)*****.....150**

Figura 66: Espectro na região do infravermelho do brometo alílico ***(9)****.....152*
Figura 67: Espectro de RMN de ^{1}*H do brometo alílico* ***(9)****.....152*
Figura 68: Espectro de RMN de ^{13}*C do brometo alílico* ***(9)****.....153*
Figura 69: Espectro de massas de alta resolução do brometo alílico ***(9)****.....153*
Figura 70: Espectro na região do infravermelho do brometo alílico ***(9a)****.....154*
Figura 71: Espectro de RMN de ^{1}*H do brometo alílico* ***(9a)****.....155*
Figura 72: Espectro de RMN de ^{13}*C do brometo álílico* ***(9a)****.....155*
Figura 73: Espectro de massas de alta resolução do brometo alílico ***(9a)****.....156*
Figura 74: Espectro na região do infravermelho do brometo alílico ***(9b)****.....157*
Figura 75: Espectro de RMN de ^{1}*H do brometo Alílico* ***(9b)****.....158*
Figura 76: Espectro de RMN de ^{13}*C do brometo Alílico* ***(9b)****.....159*
Figura 77: Espectro de massas de alta resolução do brometo alílico ***(9b)****.....159*
Figura 78: Espectro na região do infravermelho do brometo alílico ***(9c)****.....160*
Figura 79: Espectro de RMN de ^{1}*H do brometo alílico* ***(9c)****.....161*
Figura 80: Espectro de RMN de ^{13}*C do brometo alílico* ***(9c)****.....162*
Figura 81: Espectro de massas de alta resolução do brometo alílico ***(9c)****.....162*
Figura 82: Espectro na região do infravermelho do diéster ***(8)****.....164*
Figura 83: Espectro de RMN de ^{1}*H do diéster* ***(8)****.....165*
Figura 84: Espectro de RMN de ^{13}*C do diéster* ***(8)****.....165*

Figura 85: Espectro de massas de alta resolução do diéster ***(8)****.....166*
Figura 86: Espectro na região do infravermelho do diéster ***(8a)****.....167*
Figura 87: Espectro de RMN de ^{1}*H do diéster* ***(8a)****.....168*
Figura 88: Espectro de RMN de ^{13}*C do diéster* ***(8a)****.....168*
Figura 89: Espectro de massas de alta resolução do diéster ***(8a)****.....169*
Figura 90: Espectro na região do infravermelho do diéster ***(8b)****.....170*
Figura 91: Espectro de RMN de ^{1}*H do diéster* ***(8b)****.....171*
Figura 92: Espectro de RMN de ^{13}*C do diéster* ***(8b)****.....172*
Figura 93: Espectro de massas de alta resolução do diéster ***(8b)****.....172*
Figura 94: Espectro na região do infravermelho do diéster ***(8c)****.....174*
Figura 95: Espectro de RMN de ^{1}*H do diéster* ***(8c)****.....174*
Figura 96: Espectro de RMN de ^{13}*C do diéster* ***(8c)****.....175*
Figura 97: Espectro de massas de alta resolução do diéster ***(8c)****.....175*
Figura 98: Espectro na região do infravermelho do éster γ-insaturado ***(7)****.....177*
Figura 99: Espectro de RMN de ^{1}*H do éster γ-insaturado* ***(7)****.....178*
Figura 100: Espectro de RMN de ^{13}*C do éster γ-insaturado* ***(7)****.....179*
Figura 101: Espectro de massas do éster γ-insaturado ***(7)****.....180*
Figura 102: Espectro na região do infravermelho do éster γ-insaturado ***(7a)****.....181*
Figura 103: Espectro de RMN de ^{1}*H do éster γ-insaturado* ***(7a)****.....182*
Figura 104: Espectro de RMN de ^{13}*C do éster γ-insaturado* ***(7a)****.....182*
Figura 105: Espectro de massas de alta resolução do éster γ-insaturado ***(7a)****.....183*
Figura 106: Espectro na região do infravermelho do éster γ-insaturado ***(7b)****.....184*
Figura 107: Espectro de RMN de ^{1}*H do éster γ-insaturado* ***(7b)****.....185*

Figura 108: Espectro de RMN de ^{13}C do éster γ-insaturado ***(7b)*** *.....185*
Figura 109: Espectro de massas de alta resolução do éster γ-insaturado ***(7b)*** *.....186*
Figura 110: Espectro na região do infravermelho do éster γ-insaturado ***(7c)*** *.....187*
Figura 111: Espectro de RMN de ^{1}H do éster γ-insaturado ***(7c)*** *.....188*
Figura 112: Espectro de RMN de ^{13}C do éster γ-insaturado ***(7c)*** *.....189*
Figura 113: Espectro de massas de alta resolução do éster γ-insaturado ***(7c)*** *.....189*
Figura 114: Espectro na região do infravermelho do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6)*** *.....191*
Figura 115: Espectro de RMN de ^{1}H do acido carboxílico γ-insaturado ***(6)*** *.....192*
Figura 116: Espectro de RMN de ^{13}C do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6)*** *.....193*
Figura 117: Espectro de massas de alta resolução do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6)*** *.....194*
Figura 118: Espectro na região do infravermelho do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6a)*** *.....195*
Figura 119: Espectro de RMN de ^{1}H do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6a)*** *.....196*
Figura 120: Espectro de RMN de ^{13}C do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6a)*** *.....196*
Figura 121: Espectro de massas de alta resolução do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6a)*** *.....197*
Figura 122: Espectro na região do infravermelho do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6b)*** *.....198*

Figura 123: Espectro de RMN de ^{1}H do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6b)*****.....199**
Figura 124: Espectro de RMN de ^{13}C do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6b)*****.....199**
Figura 125: Espectro de massas de alta resolução do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6b)*****.....200**
Figura 126: Espectro na região do infravermelho do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6c)*****.....201**
Figura 127: Espectro de RMN de ^{1}H do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6c)*****.....202**
Figura 128: Espectro de RMN de ^{13}C do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6c)*****.....203**
Figura 129: Espectro de massas de alta resolução do ácido carboxílico γ-insaturado ***(6c)*****.....204**
Figura 130: Espectro na região do infravermelho da ciclopentenona dissubstituída ***(2)*****.....206**
Figura 131: Espectro de RMN de ^{1}H da ciclopentenona dissubstituída ***(2)*****.....207**
Figura 132: Espectro de RMN de ^{13}C da ciclopentenona dissubstituída ***(2)*****.....207**
Figura 133: Espectro de massas de alta resolução da ciclopentenona dissubstituída ***(2)*****.....208**
Figura 134: Espectro na região do infravermelho da ciclopentenona dissubstituída ***(3)*****.....209**
Figura 135: Espectro de RMN de ^{1}H da ciclopentenona dissubstituída ***(3)*****.....210**

Figura 136: Espectro de RMN de ^{1}H da ciclopentenona dissubstituída ***(3)*****.....210**
Figura 137: Espectro de RMN de ^{13}C da ciclopentenona dissubstituída ***(3)*****.....211**
Figura 138: Espectro de massas de alta resolução da ciclopentenona dissubstituída ***(3)*****.....211**
Figura 139: Espectro na região do infravermelho da ciclopentenona dissubstituída ***(4)*****.....213**
Figura 140: Espectro de RMN de ^{1}H da ciclopentenona dissubstituída ***(4)*****.....214**
Figura 141: Espectro de RMN de ^{13}C da ciclopentenona dissubstituída ***(4)*****.....214**
Figura 142: Espectro de massas de alta resolução da ciclopentenona dissubstituída ***(4)*****.....215**
Figura 143: Espectro na região do infravermelho da ciclopentenona dissubstituída ***(5)*****.....216**
Figura 144: Espectro de RMN de da ciclopentenona dissubstituída ***(5)*****.....217**
Figura 145: Espectro de RMN de ^{13}C da ciclopentenona dissubstituída ***(5)*****.....217**
Figura 146: Espectro de massas de alta resolução da ciclopentenona dissubstituída ***(5)*****.....218**
Figura 147: Leucócitos polimorfonucleares e mononucleares 219
Figura 148: Dinâmica vascular no edema.....221
Figura 149: Medida do volume da pata.....224
Figura 150: Tratamento e injeção subplantar para indução do edema.....225

Figura 151: Tratamento e injeção intraperitoneal para indução da peritonite.....227
Figura 152: Plasma rico e pobre em plaquetas.....228
Figura 153: Plaquetas ativadas.....229
*Figura 154: Efeito da ciclopentenona **2**, indometacina e celecoxibe no edema de pata induzido pela carragenina.....233*
*Figura 155: Efeito da ciclopentenona **3**, indometacina e celecoxibe no edema de pata induzido pela carragenina.....235*
*Figura 156: Efeito da ciclopentenona **4**, indometacina e celecoxibe no edema de pata induzido pela carragenina.....237*
*Figura 157: Efeito da ciclopentenona **5**, indometacina e celecoxibe no edema de pata induzido pela carragenina.....239*
*Figura 158: Efeito da ciclopentenona **2**, dexametasona, indometacina e celecoxibe na peritonite induzida pela carragenina.....241*
*Figura 159: Efeito da ciclopentenona **3**, dexametasona, indometacina e celecoxibe na peritonite induzida pela carragenina.....243*
*Figura 160: Efeito da ciclopentenona **4**, dexametasona, indometacina e celecoxibe na peritonite induzida pela carragenina.....245*
*Figura 161: Efeito da ciclopentenona **5**, dexametasona, indometacina e celecoxibe na peritonite induzida pela carragenina.....247*
*Figura 162: Efeito da indometacina, celecoxibe e da ciclopentenona **2** na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico ou colágeno 249*
*Figura 163: Efeito da indometacina, celecoxibe e da ciclopentenona **3** na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico ou colágeno 250*

*Figura 164: Efeito da indometacina, celecoxibe e da ciclopentenona **4** na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico ou colágeno 251*

*Figura 165: Efeito da indometacina, celecoxibe e da ciclopentenona **5** na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico ou colágeno 252*

Figura 166: Efeito da indometacina, celecoxibe e das ciclopentenonas sobre a produção de PGE_2 em macrófagos peritoneais estimulados com LPS.....254

Lista de Esquemas

Esquema 1: Reação de ciclização de Nazarov.....18
Esquema 2: Reação de condensação aldólica intramolecular 19
Esquema 3: Reação de Shapiro, rearranjo de Claisen e reação de Friedel-Crafts intramolecular 20
Esquema 4: Reação de alquilação do malonato de dimetil.....21
Esquema 5: Reação envolvendo zirconaciclopenteno e hexino 22
Esquema 6: Método de acoplamento de três componentes.....23
Esquema 7: Rearranjo de Rautenstrauch.....24
Esquema 8: Reação de cicloadição de ésteres fenílicos α,β-insaturados.....24
Esquema 9: Retrossíntese 26
Esquema 10: Reação de Morita-Baylis-Hillman 28
Esquema 11: Mecanismo geral da reação de Morita-Baylis-Hillman.....30
Esquema 12: Nova versão para o mecanismo da reação de MBH 32
Esquema 13: Reação de adição conjugada 39
Esquema 14: Mecanismo da reação de Adição 1,4 catalisada por Ródio.....40
Esquema 15: Síntese de cinamatos α-substituidos, via reação de Heck 41
Esquema 16: Reação de Heck 42
Esquema 17: Reação de Heck 43
Esquema 18: Reação de redução 44
Esquema 19: Reação de eliminação 45
Esquema 20: Homologação de dois átomos de carbono 69
Esquema 21: Reação de Redução de Ésteres α,β-Insaturados a Alcoois Alílicos 71
Esquema 22: Reação de Redução de Ésteres α,β-Insaturados a Alcoois Alílicos 72

Esquema 23: Mecanismo da Reação de Redução de Ésteres α,β-insaturados a Álcoois Alílicos 77
Esquema 24: Reação de Bromação 78
Esquema 25: Reação de Bromação 78
Esquema 26: Mecanismo para a Reação de Bromação a Álcoois Primários 81
Esquema 27: Mecanismo da Reação de Alquilação a Brometo Primário 82
Esquema 28: Reação de Alquilação 83
Esquema 29: Reação de Alquilação 83
Esquema 30: Mecanismo da Reação de Descarboxilação (Reação de Krapcho) 88
Esquema 31: Reação de Descarboxilação 89
Esquema 32: Reação de Descarboxilação 90
Esquema 33: Mecanismo da Reação de Hidrólise de Ésteres a Ácidos Carboxílicos 93
Esquema 34: Reação de Hidrólise 93
Esquema 35: Reação de Hidrólise 94
Esquema 36: Mecanismo da Reação de Acilação Intramolecular de Friedel-Crafts 98
Esquema 37: Reação de Ciclização 99
Esquema 38: Reação de Ciclização 100

Lista de Tabelas

Tabela 1: Preparação dos adutos de Morita-Baylis-Hillman 34

Tabela 2: Otimização das condições reacionais da reação de adição 1,4 catalisada por ródio: Reação com o aduto de MBH ***12*** *e o ácido 4-fluor fenilborônico 49*

Tabela 3: Otimização das condições reacionais da reação de adição 1,4 catalisada por ródio: Reação com o aduto de MBH ***12*** *e o ácido 4-metilsulfonil borônico 51*

Tabela 4: Otimização das condições reacionais da reação de adição 1,4 catalisada por ródio: Reação com o aduto de MBH ***12*** *e o ácido 4-aminosulfonil borônico 54*

Tabela 5: Otimização das condições reacionais da reação de adição 1,4 Catalisada por ródio: Reação com o aduto de MBH ***12a*** *e o ácido 4-fluor fenilborônico 57*

Tabela 6: Exemplo de alguns mediadores químicos 222

Lista de abreviaturas

1,2-diacilglicerol (DAG)

1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO)

1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU)

3-(Ethyliminomethyleneamino)-*N*,*N*-dimethylpropan-1-amine (EDC)

4-dimetilaminopiridina (DMAP)

5-hidroxitriptamina (5-HT)

Ácido acetil-salicilico (AAS)

Ácido p-toluenossulfônico (TsOH)

Ácido ribonucleico ($RNA_{mensageiro}$)

Adenosina difosfato (ADP)

Análise de variância (ANOVA)

Angström (Å)

Anti-inflamatórios não-esteroidais (NSAID)

Área sob a curva (ASC)

Brometo de tetrabutilamônio (TBAB)

Carga (*z*)

Catalisador (cat)

Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE)

Ciclooctadieno (cod)

Ciclooxigenase (COX)

Ciclopentenona (CPN)

Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)

Complexo glicoproteico VI-FcRγ (GPVI-FcRγ)

Constante de acoplamento (*J*)

Cromatografia de camada delgada (CCD)

Deslocamentos químicos (δ)

Deutério (D)

Dimetilsulfóxido (DMSO)

Dupleto (d)

Duplo dupleto (dd)

Efeito nuclear Overhauser (NOE)

Equivalente (eq)

Erro padrão das médias (E.P.M)

Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR)

Fator de ativação plaquetári (PAF)

Fator de Necrose Tumoral (TNF)

Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP_2)

Fosfolipase A_2 (PLA_2)

Fosfolipase Cγ2 (PLCγ2)

Grama (g)

Gravidade (*g*)

Grupo retirador de elétrons (GRE - EWG)

Hertz (Hz)

Hidreto de diisobutilalumínio (DIBAL-H)

Hora (h)

Infravermelho (IV)

Inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3)

Interleucina (IL)

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

Intraperitoneal (i.p.)

Ionização por elétrons (EI)

Ionização por *spray* de elétrons (ESI)

Kilograma (Kg)

Leucotrieno (LT)

Lipopolissacarídeo (LPS)

Massa (*m*)

Mega-hertz (MHz)

Meio de cultura celular (Roswell Park Memorial Institute – RPMI)

Metanol (MeOH)

Metátese de fechamento de anel (RCM)

Micrograma (μg)

Micromolar (μM)

Miligrama (mg)

Mililitro (mL)

Milimol (mmol)

Milimolar (mM)

Molécula adaptadora de interação (RIAM)

Molécula de adesão celular vascular (VCAM-1)

Molécula de adesão intercelular (ICAM-1)

Morita-Baylis-Hillman (MBH)

Multipleto (m)

N,*N*-Dimetilformamida (DMF)

Normalidade (N)

Número de onda (ν)

Orbital molecular não ocupado de menor energia (LUMO)

Orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO)

Óxido nítrico (NO)

para-toluenossulfonato de piridina (PPTS)

Partes por milhão (ppm)

Picograma (pg)

Plasma pobre em plaquetas (PPP)

Plasma rico em plaquetas (PRP)

Ponto de fusão (P.F.)

Prostaglandina (PG)

Proteína quimiotática para monócitos (MCP-1)

Quarteto (q)

Quilo-hertz (KHz)

Reação de Pauson-Khand (PKR)

Reagente organometálico (RM)

Rendimento (Rdt)

Ressonância nuclear magnética (RMN)

Ródio (Rh)

Rotações por minuto (r.p.m)

Serina/treonina proteína quinase C (ser-thr PCK)

Singleto (s)

Sistema tubular denso (DTS)

Solução salina estéril (SAL)

Subcutânea (s.c.)

Substituição nucleofílica de segunda ordem (S_N2)

Tampão fosfato-salina (PBS)

Temperatura ambiente (t.a.)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Tetraidrofurano (THF)

Tetrametilsilano (TMS)

Tirosina quinase (Tyr-Kinase)

Trifenilfosfina (PPh_3)

Tripleto (t)

Triplo tripleto (tt)

Tromboxano (TX)

Ultravioleta (UV)

Unidade internacional (UI)

Volume (v)

Watt (W)

1. Introdução

A inflamação é uma resposta biológica normal do organismo animal a uma agressão externa e normalmente é mediada por uma série de substâncias químicas, que desempenham o papel fisiológico de circunscrever e combater essa agressão. Sendo assim ela é caracterizada por reação de vasos sanguíneos, levando ao acúmulo de fluidos e leucócitos com objetivos de destruir, diluir e isolar os agentes lesivos. Os participantes são parede vascular (células endoteliais), células do vaso sanguíneo (leucócitos ou células inflamatórias), mastócitos, fibroblastos e macrófagos residentes no tecido conjuntivo, proteoglicana, fibras colágenas e elásticas e membrana basal. As alterações inflamatórias se dão por mediadores químicos.[1]

A manifestação clínica da inflamação se dá por intermédio de cinco sinais, intitulados sinais cardinais, que caracterizam a agudização do processo inflamatório. São eles tumor, calor, rubor, dor e perda da função (figura 1)[2]. O tumor é causado principalmente pela fase exsudativa e produtiva-reparativa, representadas pelo aumento de líquido (edema inflamatório) e de células. O calor é oriundo da fase vascular, em que se tem hiperemia arterial e, conseqüentemente, aumento da temperatura local. O rubor ou vermelhidão também é decorrente desse mesmo fenômeno. A dor, por sua vez, é originada de mecanismos mais complexos que incluem compressão das fibras nervosas locais, devido ao acúmulo de líquidos e de células, agressão direta às fibras nervosas e ações farmacológicas sobre as terminações nervosas. A perda de função, por fim, é decorrente do tumor (principalmente em articulações,

[1] a) Goldsby, R. A.; Kindt, T. J.; Osborne, B. J. *Kuby Imunologia* **2002**, 4.ed. Revinter; b) Kumar, V.; Abbas, A. K.; Fausto, N. *Robbins e Cotran: Patologia: Bases Patológicas das Doenças* **2005**, 7.ed. Elsevier.

[2] a)http://143.107.240.24/lido/patoartegeral/patoarteex2.htm;
b)http://leianoticias.com.br/noticias/index.php/noticias/estilovida/26526-causa-do-tercol-pode-estar-relacionada-a-pele-oleosa.

impedindo a movimentação) e da própria dor, dificultando as atividades locais.[1]

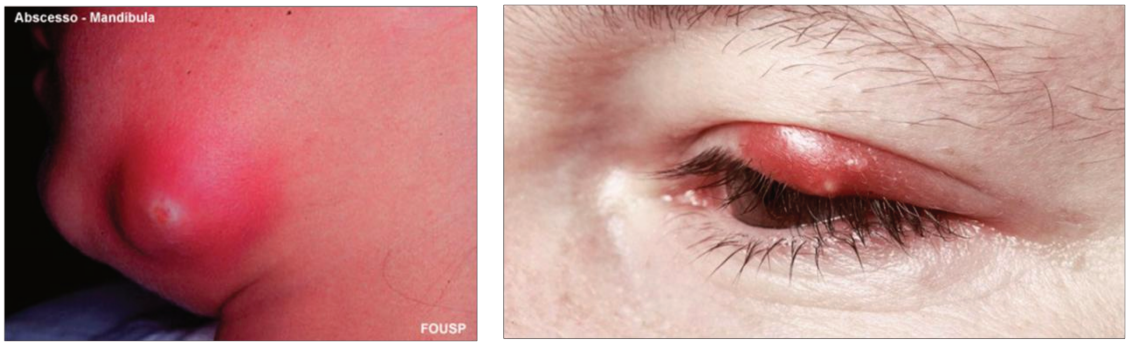


Figura 1: Exemplos de inflamações

Esse processo biológico é conhecido e relatado em vários documentos da antiguidade. A medicina egípcia já conhecia os sintomas do processo e prescrevia o ácido salicílico, extraído da casca dos salgueiros (figura 2)[3], no tratamento da inflamação, principalmente nos processos degenerativos em que ela ocorria (bursite e outras inflamações das articulações).[4] Outro relato diz respeito ao início do século V a.C., onde Hipócrates, filósofo e médico grego, prescrevia preparações que incluíam a casca e as folhas do salgueiro para o tratamento de febres e as dores do parto.[5] O princípio ativo do salgueiro branco, a salicilina que se encontra em varias espécies dos gêneros *Salix* e *Populus*, é um glicosídeo que no organismo humano sofre hidrólise seguida de uma oxidação para dar origem ao ácido salicílico.[5]

---

[3]a)http://portuguese.alibaba.com/product-gs/natural-white-willow-bark-extract-salicin-15-50--557461686.html;
b) http://ervanariadorestelo.blogspot.com.br/.

[4] Brunton, L. L.; Lazo, J. S.; Parker, K. L. In Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeuthics*, **2006**, 11ª Edição, McGraw-Hill, New York.

[5] Kiefer, D. M.; *Today's Chemistry at Work* **1997**, 38.

Figura 2: Salgueiro branco (Salix Alba), sua casca (salicina) e o ácido salicílico

A inflamação e as doenças a ela relacionadas atingem indiscriminadamente as pessoas em todo o mundo, sendo difícil estabelecer de maneira exata uma proporção. Durante muito tempo, principalmente até o inicio dos anos 50, os processos inflamatórios e as dores a eles associados, eram tratados com substâncias da classe dos esteróides, conhecidas sob a designação geral de anti-inflamatórios esteroidais (tais anti-inflamatórios continuam sendo empregados mas, não são considerados de primeira escolha, principalmente, quando o uso clínico se refere a: 1) analgesia - dores de cabeça, dismenorreia primária e menorragia (ambos oriundos do aumento de prostaglandinas), dores das costas, pós-cirurgica; 2) ação anti-inflamatória - artrite reumatoide, gota, qualquer outra condição inflamatória dolorosa, onde se empregam os anti-inflamatórios não-esteroidais).* Apesar de sua eficiência clínica comprovada, esses anti-inflamatórios causavam uma grande quantidade de efeitos colaterais, alguns deles muito graves.[4]

Estruturalmente esses anti-inflamatórios esteroidais estavam relacionados aos hormônios produzidos pelas glândulas suprarrenais e as

* As substâncias da classe dos esteroides também são utilizadas em doenças reumáticas, rejeição a transplantes, neoplasias (terapia adjuvante), doenças autoimunes, manifestações alérgicas imediatas e outras emergências (por ex.: choque séptico) mas, aqui a ênfase é sobre sua atividade anti-inflamatória.

características hormonais eram ainda mantidas no medicamento, explicando os efeitos colaterais que eles apresentavam, tais como, retenção hídrica, crescimento exagerado de pelos em regiões incomuns do corpo, osteoporose, miopatia, alterações oculares, ganho de peso dentre outros.[4] Na figura 3, apresentamos alguns exemplos desses agentes anti-inflamatórios.[6] Apesar dos esforços realizados, não foi possível desenvolver um exemplo dessa classe de medicamento completamente seguro, ou seja, livre dos efeitos adversos que mimetizavam aqueles das glândulas supra-renais, principalmente para o uso no tratamento de processos inflamatórios crônicos.

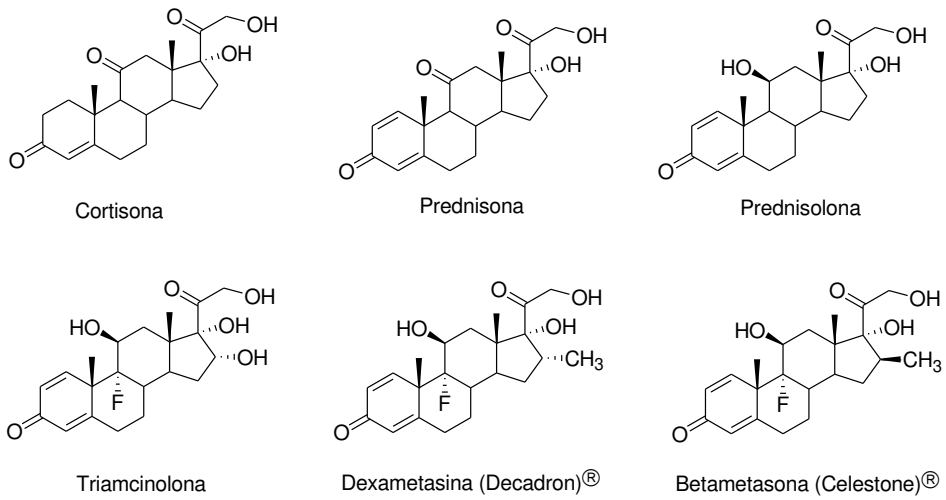


Figura 3: Alguns exemplos de agentes anti-inflamatórios esteroidais

Esse cenário motivou a procura por novos agentes anti-inflamatórios utilizando, a molécula do ácido acetil-salicilico (AAS), como protótipo, visto que se tratava de uma forma mais palatável do salicilato e que havia sido desenvolvida por Felix Hoffman, funcionário da Bayer Company, em 1897 e distribuída pela mesma companhia tanto em comprimido quanto em pó com a

[6] Gringauz, A., In *Introduction to Medicinal Chemistry*, New York, **1997**, Wiley-VCH, Capítulo 5, página 141 e Capítulo 14, página 655.

denominação de "aspirina"®, em 1899.[7] Essas pesquisas inauguraram a era dos anti-inflamatórios não esteroidais (NSAID) e causaram um grande impacto no tratamento das doenças inflamatórias. Na figura 4, mostramos alguns exemplos dos agentes anti-inflamatórios não-esteroidais mais conhecidos.[6]

O uso disseminado desses novos agentes anti-inflamatórios evidenciou a ocorrência de dois efeitos colaterais, principalmente quando se fazia uso contínuo desses fármacos. Primeiramente, os pacientes eram acometidos de dores abdominais intensas que podiam evoluir, inicialmente, para sangramento gástrico e finalmente para o desenvolvimento de uma úlcera gástrica, se o tratamento não fosse interrompido. Além disso, o uso contínuo podia conduzir a um sério comprometimento renal. Esses efeitos colaterais intrigaram a comunidade médica por muito tempo e várias sugestões foram dadas para explicar essas observações clínicas.

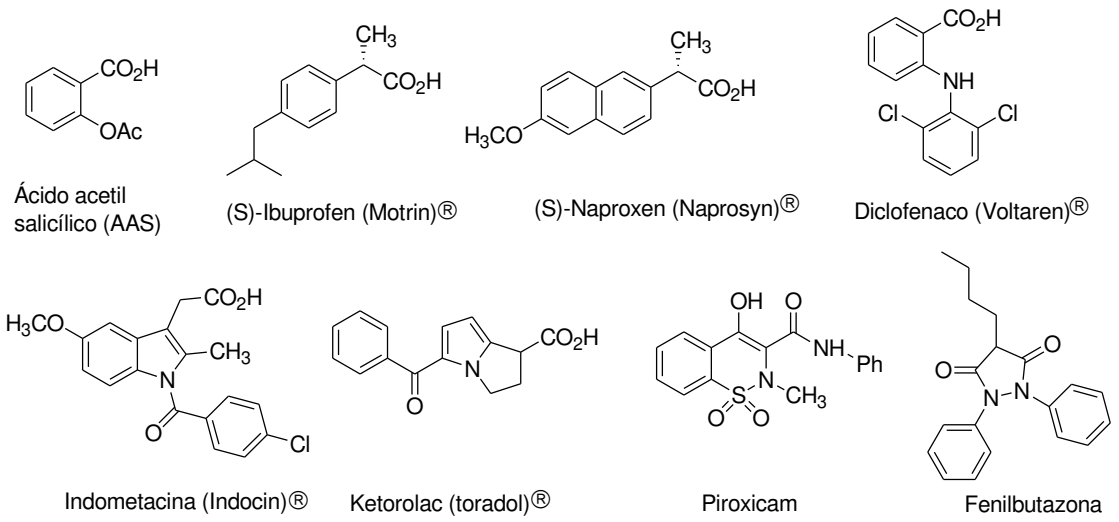


Figura 4: Alguns exemplos de agentes anti-inflamatórios não esteroidais

Entre 1979-1980, John R. Vane e cols. dos Laboratórios Wellcome (Wellcome Research Laboratories – Reino Unido) elucidaram o mecanismo de

[7] Blobaum, A. L.; Marnett, L. J. *Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, *50*, 1425-1441.

ação biológica do ácido acetil salicílico (AAS).[8] Esse resultado serviu de base para explicar os efeitos colaterais apresentados pelos agentes anti-inflamatórios não-esteroidais de primeira geração, principalmente aqueles relacionados à mucosa gástrica. A importância e o impacto desses resultados deram ao Dr. John R. Vane o Prêmio Nobel de Medicina de 1982.[8]

1.1. Mecanismo de Ação dos Agentes Anti-inflamatórios não-Esteroidais

Os agentes anti-inflamatórios não-esteroidais exercem a sua atividade através da inibição de uma proteína de membrana, chamada ciclooxigenase ou prostaglandina sintase. Essa enzima bifuncional catalisa os eventos iniciais do metabolismo do ácido araquidônico, que levam à síntese dos eicosanóides (moléculas de vinte átomos de carbono – eicosa), tais como as prostaglandinas, a prostaciclina, o tromboxano e os leucotrienos. Esse processo metabólico é conhecido como a cascata do ácido araquidônico. Esse nome está ligado ao fato de que essa ativação enzimática, uma vez iniciada, desencadeia a síntese de uma enorme variedade de substâncias endógenas de grande importância biológica.[7,8,9]

A enzima ciclooxigenase é codificada por dois diferentes genes.[10] A forma de ocorrência geral, conhecida como COX-1, é a responsável pela produção fisiológica, ou constitutiva de prostanóides, que são substâncias endógenas que regulam uma grande quantidade de processos biológicos como:

---

[8] a) Higgs, G.A.; Moncada, S.;Vane, J.R. *Clin. Rheum. Dis.* **1980**, *6*, 675-693; b) Higgs, G.A.; Salmon, J.A.; Henderson, B.; Vane, J.R. *P. Natl. Acad, Sci. U.S.A* **1987**, *84*, 1417-1420; c) Vane, J.R. *FASEB J.* **1987**, *46*, 89-96; d) Mais informação a respeito do trabalho de Vane, veja: http://www.nobel.se/medicine/laureates/1982/index.html.

[9] Khanapure, S. P.; Garvey, D. S.; Janero, D. R.; Letts, L.G. *Current Topic in Medicinal Chemistry* **2007**, *7*, 311-40.

[10] a) Hla, T.; Nielson, K. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1992**, *89*, 7384-7388; b) Holtzman, M.J.; Turk, J.; Shornick, L.P. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 21438-21445; c) Herschman, H.R. *Cancer Metastasis Rev.* **1994**, *13*, 241-245; d) para uma revisão sobre o assunto veja: Griswold, D.E.; Adams, J.L. *Med. Res. Rev.* **1996**, *16*, 181-206.

citoproteção da mucosa gástrica, regulação do fluxo sanguíneo renal e agregação plaquetária, além de estar implicada na resposta inflamatória. A isoforma dessa enzima, conhecida como COX-2, é dita induzível por ser responsável pela elevada produção de prostaglandinas no sítio onde está ocorrendo o processo inflamatório, sendo esse deflagrado por inúmeros estímulos como: citocinas pró-inflamatórias (interleucina (IL-1β), fator de necrose tumoral (TNFα)), lipopolissacarídeos, mitógenos, fatores de crescimento (do fibroblasto, derivado da plaqueta, epidermal), dentre outros.[7] Há uma terceira isoforma da ciclooxigenase, denominada COX-3, que foi descoberta por Simmons e colaboradores[11] em 2002, em seus estudos em cérebro canino. Descobriu-se que a COX-3 codifica proteínas com sequencia de amino ácidos completamente diferentes daquelas das COX-1 e COX-2, em roedores e humanos, portanto, a relevância clínica da COX-3 como um alvo terapêutico é questionável.[12] Na figura 5, apresentou-se de forma resumida a cascata do ácido araquidônico.

[11] a) Chandrasekharam, N. V.; Dai, H.; Roos, K. L.; Evanson, N. K.; Tomsik, J.; Elton, T. S.; Simmons, D. L. *Proc Natl Acad Sci USA* **2002**, *99*, 13926-13931. b) Rao, P. N. P.; Knaus, E. E. *J Pharm Pharmaceut Sci* **2008**, *11*, 81s-110s. c) Zarghi, A.; Arfaei, S. *Iran journal of Pharmaceutical Research* **2011**, *10*, 655-683.
[12] Kis, B.; Snipes, J. A.; Busija, D. W. *J Pharmacol Exp Ther* **2005**, *315*, 1-7.

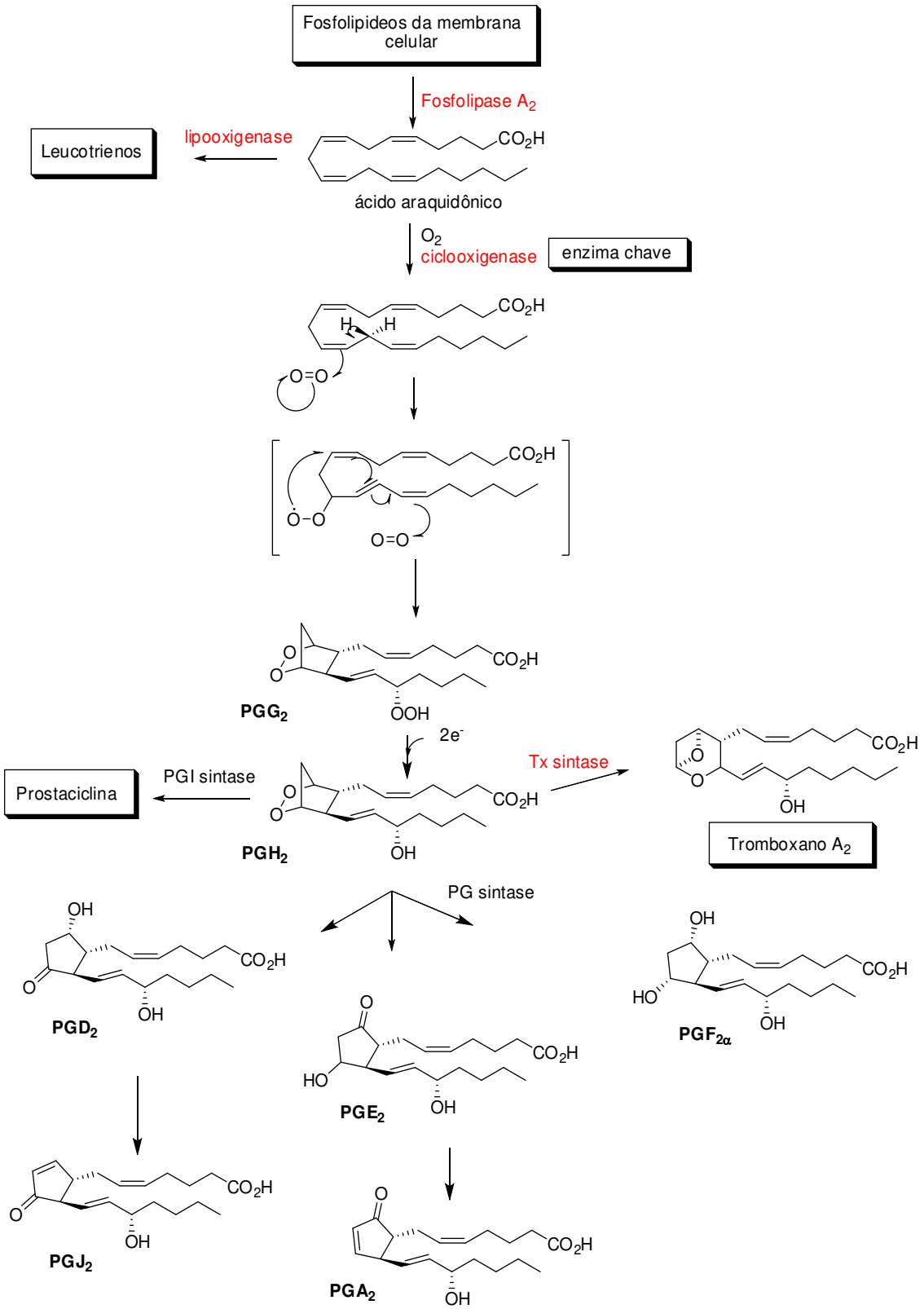


Figura 5: A cascata do ácido araquidônico

O reconhecimento do papel desempenhado por essas duas isoformas da ciclooxigenase na cascata do ácido araquidônico e, por conseguinte, no processo inflamatório, motivou uma intensa atividade de pesquisa, que visava notadamente conhecer mais detalhadamente as configurações espaciais dessas ciclooxigenases (figura 6),[13] então a COX é constituída por homodímeros e a dimerização é necessária para que haja integridade estrutural e atividade catalítica[14]. Cada monômero da COX consiste de três domínios estruturais: um pequeno domínio chamado fator de crescimento epidermal (N-terminal), um domínio de ligação e um domínio catalítico amplo e globular (C-terminal), além do sítio ativo da peroxidase que está localizado no lado oposto ao sítio do domínio catalítico[15]. Os sítios ativos das COX-1 e COX-2 são muito parecidos, mas diferem na presença de um bolsão lateral na COX-2, localizado acima do canal estreito comum às COX, formado pelos aminoácidos arginina-120/tirosina-355/glutamato-524. Este bolsão lateral é limitado pela valina-523 (isoleucina na COX-1), arginina-513 (histidina na COX-1) e valina-434 (isoleucina na COX-1).[15] Na verdade, a COX-2 foi imediatamente identificada como um importante alvo para a descoberta de novos agentes terapêuticos utilizados no combate à inflamação. Essa escolha foi motivada pelo fato de que essa enzima tem um mecanismo do tipo "liga-desliga" no sítio onde está ocorrendo o processo inflamatório.

[13]http://mulla.pri.ee/Kelley's%20Textbook%20of%20Rheumatology,%208th%20ed./HTML/379.htm.
[14] Xiao, G.; Chen, W.; Kulmacz, R. J. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 6801-6811.
[15] a) Picot, D.; Loll, P. J.; Garavito, R. M.; *Nature* **1994**, *367*, 243-249. b) Luong, C.; Miller, A.; Barnett, J.; Chow, J.; Ramesha, C.; Browner, M. F. *Nat. Struct. Biol.* **1996**, *3*, 927-933. c) Kurumbail, R. G.; Stevens, A. M.; Gierse, J. K.; McDonald, J. J.; Stegeman, R. A.; Pak, J. Y.; Gildehaus, D.; Myiashiro, J. M.; Stallings, W. C. *Nature* **1996**, *384*, 644-648.

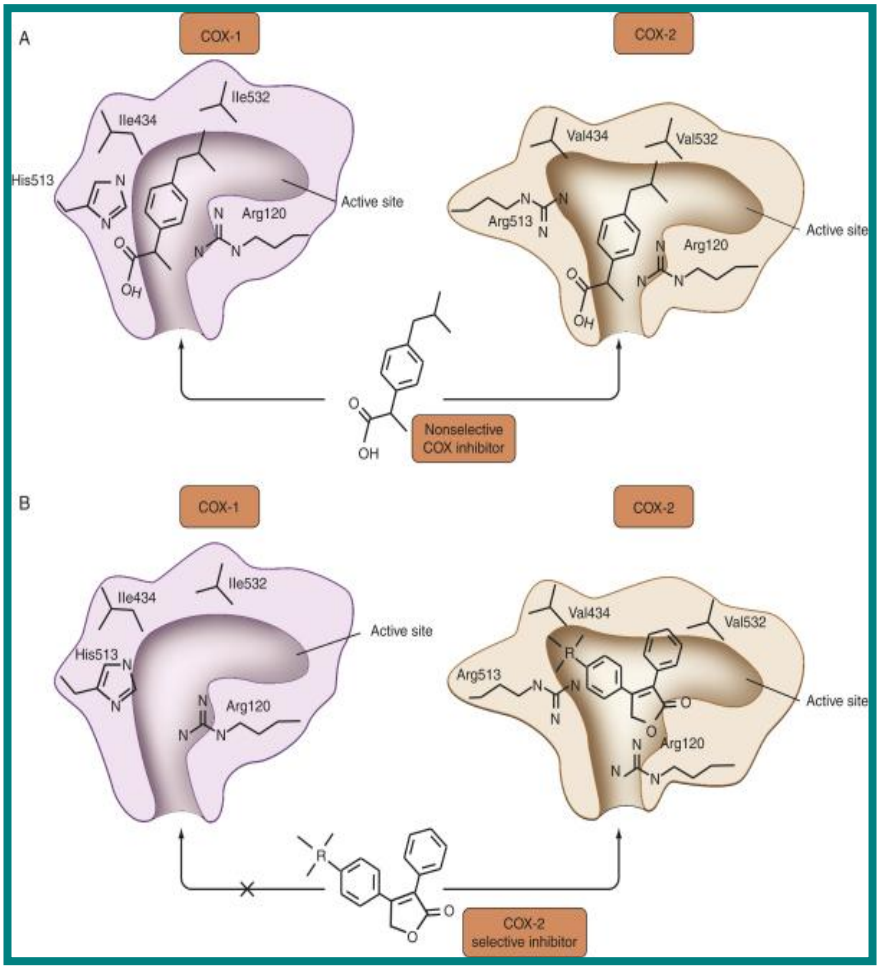


Figura 6: Estrutura espacial das COX-1 e 2

As pesquisas centradas na inibição seletiva da COX-2 levaram ao desenvolvimento de uma nova classe de agentes anti-inflamatórios. Esses novos fármacos exercem a sua atividade através da inibição seletiva da COX-2, logo são desprovidos dos efeitos colaterais ao nível da mucosa gástrica, tão comum entre os anti-inflamatórios não-esteroidais de primeira geração. Essa importante descoberta inaugurou a segunda geração de agentes anti-inflamatórios não-esteroidais, que são todos inibidores seletivos da COX-2. Não existe mais o interesse em se desenvolver agentes anti-inflamatórios que não tenham essa característica no seu mecanismo de ação. Na figura 7,

apresentamos alguns exemplos de agentes anti-inflamatórios que são inibidores seletivos da COX-2.[16]

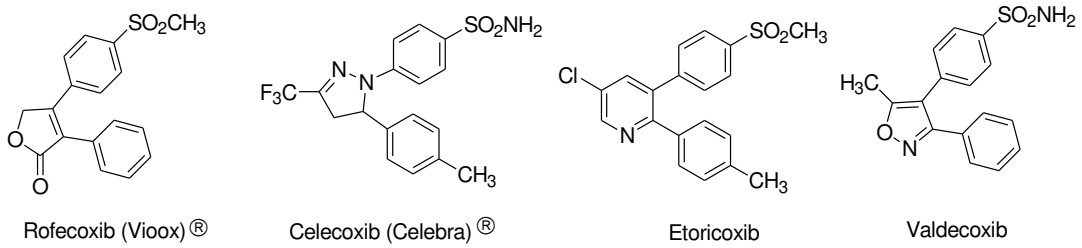


Figura 7: Exemplos de anti-inflamatórios inibidores seletivos da COX-2

Na figura 8 apresentamos, de forma resumida, os pontos importantes referentes aos novos anti-inflamatórios não-esteroidais, inibidores seletivos da COX-2, e os comparamos com os de 1ª geração (não seletivos).

[16] a) Para a preparação do Rofecoxib (Vioox)® veja: Prasit, P.; Wang, Z.; Brideau, C.; Chan, C.-C.; Charleson, S.; Cromlish, W.; Ethier, D.; Evans, J.F.; Ford-Hutchinson, A.W.; Gauthier, J.Y.; Gordon, R.; Guay, J.; Gresser, M.; Kargman, S.; Kennedy, B.; Leblanc, Y.; Léger, S.; Mancini, J.; O'Neill, G.P.; Ouellet, M.; Percival, M.D.; Perrier, H.; Riendeau, D.; Rodger, I.; Tagari, P.; Thérien, M.; Vickers, P.; Wong, E.; Xu, L.-J.; Young, R.N.; Zamboni, R.; Boyce, S.; Rupniak, N.; Forrest, M.; Visco, D.; Patrick, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1773-1778; b) Para a preparação do Celecoxib (Celebra)® veja: Penning, T.D.; Talley, J.J.; Bertenshaw, S,R.; Carter, J.S.; Collins, P.W.; Docter, S.; Graneto, M.J.; Lee, L.F.; Malecha, J.W.; Miyashiro, J.M.; Rogers, R.S.; Rogier, D.J.; Yu, S.S.; Anderson, G.D.; Burton, E.G.; Cogburn, J.N.; Gregory, S.A.; Kobolt, C.M.; Perkins, W.E.; Seibert, K.; Veenhuizen, A.W.; Zhang, Y.Y.; Isakson, P.C. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1347-1365; c) Para a preparação do Etoricoxib veja: Dubé, D.; Brideau, C.; Deschênes, D.; Fortin, R.; Friesen, R.W.; Gordon, R.; Girard, Y.; Riendeau, D.; Savoie, C.; Chan, C.-C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1715-1720; Para a preparação do Valdecoxib, veja: d) Sorbera, L. A.; Leeson, P. A.; Castaner, J.; Castaner,R. M. *Drugs Future* **2001**, *26*, 133-140. e) Talley, J. J.; Brown,D. L.; Carter, J. S.; Graneto, M. J.; Koboldt, C. M.; Masferrer,J. L.; Perkins, W. E.; Rogers, R. S.; Sha.er, A. F.; Zhang,Y. Y.; Zweifel, B. S.; Seibert, K. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 775-777. f) Goldman, M.; Schutzer, S. *Formulary* **2002**, *37*, 68 71, 76; Para a preparação de outros agentes anti-inflamatórios inibidores seletivos da Cox-2 veja: g) Prasit, P.; Black, W. C.; Chan, C. C.; Ford-Hutchinson, A. W.; Gauthier, J. Y.; Gordon, R.; Guay, D.; Kargman, S.; Lau, C. K.; Li, C.-S.; Mancini, J.; Ouimet, N.; Roy, P.; Tagari, P.; Vickers, P.; Wong, E.; Young, R. N.; Zamboni, R. *Med. Chem. Res.* **1995**, *5*, 364-374; h) Li, C.-S.; Black, W. C.; Chan, C. C.; Ford-Hutchinson, A. W.; Gauthier, J. Y.; Gordon, R.; Guay, D.; Kargman, S.; Lau, C. K.; Mancini, J.; Ouimet, N.; Roy, P.; Vickers, P.; Wong, E.; Young, R. N.; Zamboni, R.; Prasit, P. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4897-4905; i) Chan, C. C.; Boyce, S.; Brideau, C.; Ford-Hutchinson, A. W.; Gordon, R.; Guay, D.; Hill, R. G.; Li, C.-S.; Mancini, J.; Penneton, M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1995**, *274*, 1531-1537; j) Masaki, M.; Matsushita, M.; Wakitani, K. *Inflammation Res.* **1998**, *47*, 187-192.

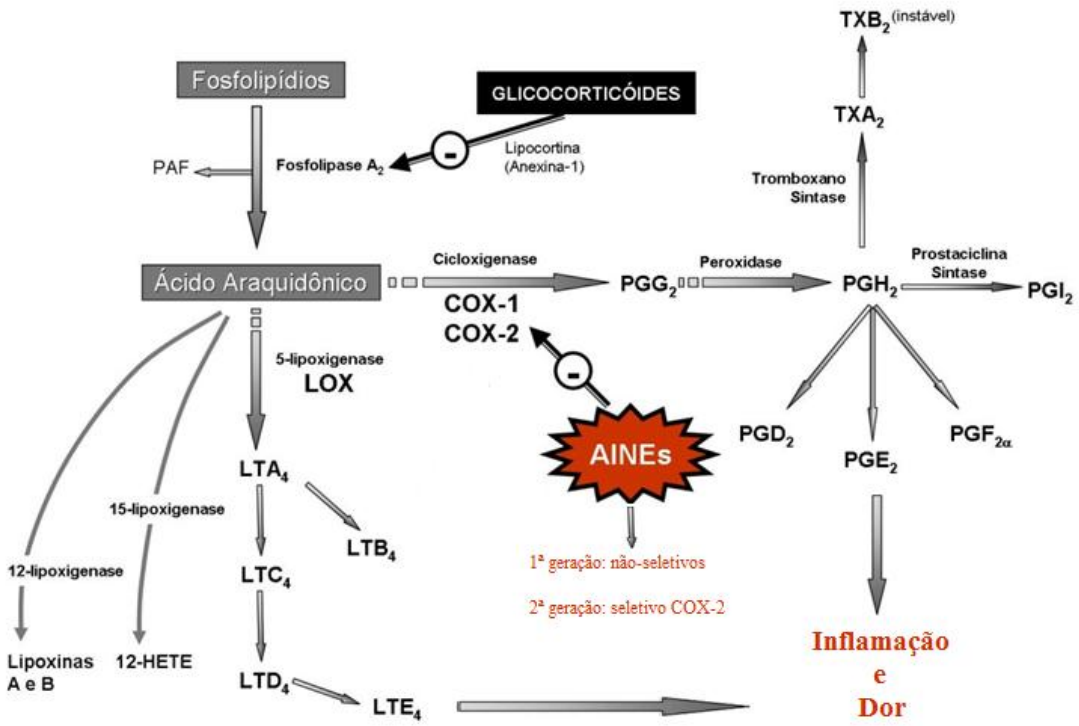


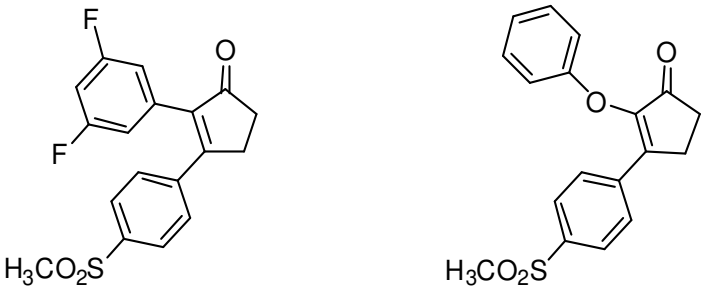
Figura 8: Agentes anti-inflamatórios de 1ª e 2ª gerações.[17]

Apesar de não apresentarem efeitos colaterais ao nível da mucosa gástrica, os primeiros anti-inflamatórios inibidores seletivos da COX-2, disponibilizados no mercado, apresentavam alguns problemas na velocidade de metabolização biológica e podiam causar danos graves no sistema cardiovascular como: infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral.[18] O mecanismo básico, que explicaria os efeitos adversos cardiovasculares, estaria associado ao uso de inibidores seletivos da COX-2 que reduziriam a prostaciclina (PGI_2), reconhecidamente atero- e vasoprotetora, sem nenhuma interferência sobre o tromboxano A_2 (TXA_2), pró-agregante e vasoconstritor, oriundo da COX-1 plaquetária.[19] Estudos sugerem que a toxicidade associada

[17] http://corticoides.wordpress.com/2012/06/01/influencia-do-cortisol-na-coagulacao-sanguinea/; (figura modificada).
[18] Ray, W.A.; Stein, M.C.; Daugherty, J.R.; Hall, K.; Arbogast, P.G.; Griffen, M.R. *Lancet* **2002**, *360*, 1071-1073.
[19] a) Gaetano, G.; Donati, M. B.; Cerletti, C. *Trends. Pharmacol. Sci.* **2003**, *24*, 245-252. b) FitzGerald. G. A. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *351*, 1709-1711.

com o uso de inibidores seletivos da COX-2 dependeriam da dose, bem como da duração de tratamento.[20]

Os problemas supracitados vêm estimulando a busca de novos agentes anti-inflamatórios. No final da década de 90, pesquisadores do Laboratório Merck relataram que ciclopentenonas substituídas apresentavam uma elevada atividade inibitória sobre a enzima COX-2, dando a essa classe estrutural um grande destaque como alvo farmacofórico.[21] Eles descreveram que a ciclopentenona dissubstituída **1a** (figura 9) apresenta uma elevada seletividade e potência inibitória sobre a COX-2. Outras variações estruturais foram sugeridas para essas ciclopentenonas, tais como, a inclusão de um espaçador, por exemplo, um átomo de oxigênio, entre o anel da ciclopentenona e o substituinte aromático **1b** (figura 9).[21a]



1a 1b

Figura 9: Novos anti-inflamatórios desenvolvidos pela Merck

A ciclopentenona dissubstituída **1a** apresentou um excelente perfil como anti-inflamatório, sendo mais potente do que o Vioox® (ver figura 7). Por

[20] Chackrborti, A. K.; Garg, S. K.; Kumar, R.; Motiwala, H. F.; Jadhavar, P. S. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 1563-1593.

[21] a) Black, W. C.; Brideau, C.; Chan, C. –C.; Charleson, S.; Chauret, N.; Claveau, D.; Ethier, D.; Gordon, R.; Greig, G.; Guay, J.; Hughes, G.; Jolicoeur, P.; Leblanc, Y.; Nicoll-Griffith, D.; Ouimet, N.; Riendeau, D.; Visco, D.; Wang, Z.; Xu, L.; Prasit, P. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1274-1281; b) Zhao, D.; Xu, F.; Chen, C.-Y.; Tillyer, R.D.; Grabowski, E.J.J.; Reider, P.J.; Black, C.; Ouimet, N.; Prasit, P. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6001-6018.

outro lado, a inclusão de um espaçador, no caso um átomo de oxigênio, em posição α à carbonila, diminuiu a atividade anti-inflamatória de **1b**. Essa diminuição de atividade pode estar relacionada à modificação estrutural e eletrônica ocorrida na molécula quando da inclusão do átomo de oxigênio. Na molécula **1b**, os substituintes aromáticos podem se arranjar de maneira a diminuir o efeito estéreo encontrado em **1a** (ver figura 9). Aparentemente, esse efeito estéreo é importante para a interação com o sítio ativo da enzima COX-2.

Os resultados obtidos para a substância **1a** nos serviram de estímulo para propor esse projeto de Doutorado, que teve por objetivo sintetizar novas ciclopentenonas di-substituídas utilizando espaçadores que não causassem alterações eletrônicas significativas na estrutura, mas modificações estruturais (figura 10).

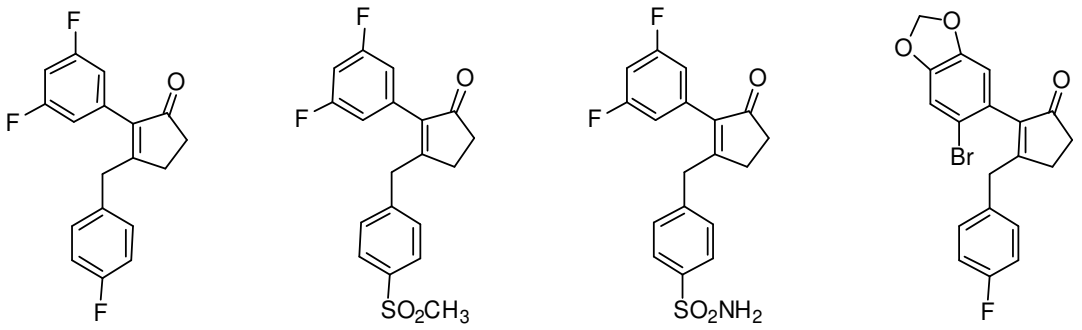


Figura 10: Ciclopentenonas: moléculas-alvo do projeto

Para as ciclopentenonas **2**, **3** e **4** alteramos o padrão de substituição e o local onde ela ocorre, ou seja, colocamos um espaçador metileno (–CH_2-) em posição β à carbonila e substituição do grupamento metilsulfona (-SO_2CH_3) pelo átomo de flúor em **2**, inclusão apenas do espaçador metilênico originando

3, houve substituição do grupamento metila (-CH_3) da sulfona por um grupamento amina (-NH_2), gerando a sulfonamida **4**. No caso da ciclopentenona **5**, introduzimos o grupamento metilenodioxi (-O-CH_2-O-) nas posições 3 e 4, além de um átomo de bromo na posição 6 do anel aromático, anteriormente 1,3-difluorado, e agora 6-bromopiperonal. O objetivo das modificações mais radicais desta última ciclopentenona estava relacionado à determinação do papel do flúor (em diferentes posições do anel) na formação de ligações de hidrogênio. O flúor é um átomo pequeno, mas de alta polaridade, assim estávamos interessados em comparar essas substituições àquelas dos átomos de oxigênio. Tínhamos também o interesse em avaliar o efeito do espaçamento entre os átomos de oxigênio, e possibilidade de uma nova interação pelo grupo metileno, além do impedimento estéreo causado pelo átomo de bromo, em posição 6 do anel aromático, o que poderia dificultar a livre rotação do grupamento *para*-flúorfenila.

O espaçador metileno em C_β, nas ciclopentenonas alvo, constituir-se-ia, então, num bioisóstero clássico ao átomo de oxigênio C_α, molécula protótipo **1a**. Já o posicionamento do espaçador metileno em C_β, seria sensato devido ao exposto acima e se tornaria estratégico pelo fato de posicionar o substituinte fenila parassubstituído no bolsão da COX-2, referido como sítio de ligação seletivo, como pode ser visto na figura 6.

2. Métodos para Síntese de Ciclopentenonas Dissubstituídas

As ciclopentenonas são encontradas em um grande número de produtos naturais incluindo a jasmona (extraída da porção volátil do óleo das flores de jasmim[22] - figura 11)[23], as aflatoxinas (que são micotoxinas produzidas pelas

[22] Koch, T.; Bandemer, K.; Boland, W. *Helvetica Chimica Acta* **1997**, *80 (3)*, 838–850.
[23] http://www.mundoeducacao.com/quimica/a-origem-dos-perfumes.htm.

espécies de fungos: *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*.[24] As aflatoxinas são tóxicas e estão classificadas entre as substâncias de maior poder carcinogênico[25] - figura 12)[26] e várias prostaglandinas (que são eicosanóides ciclopentenonas eletrofílicos originários ou da peroxidação do ácido araquidônico ou de seus metabólitos induzida por radicais livres. Desempenham funções importantes em processos patofisiológicos associados com a inflamação e o estresse oxidativo, possuindo também ações antiproliferativa e antiviral – figura 5).[27] Devido a sua importância, advém o grande interesse na síntese de tais moléculas.

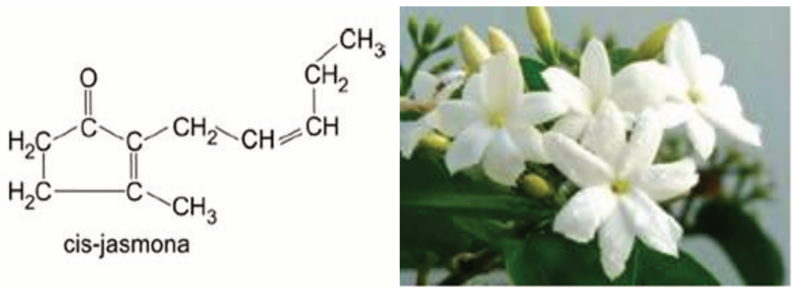


Figura 11: Jasmona

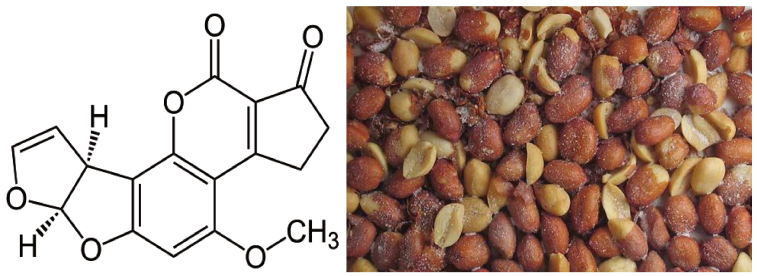


Figura 12: Aflatoxina

[24] Wannop, C. C. *Avian Diseases* **1961**, *5 (4)*, 371–381.
[25] Hudler, G. W. *Magical Mushrooms, Mischievous Molds: The Remarkable Story of the Fungus Kingdom and Its Impact on Human Affairs*. **1998**, Princeton University Press, United Kingdom.
[26] http://www.probioticonline.net/Secondary-metabolites-and-mycotoxins-of-aspergillus-species/Aflatoxin-B1/; http://dudesmodernos.com/wpcontent/uploads/2013/11/amendoim.jpg.
[27] Díez-Dacal, B.; Pérez-Sala, D. *The Scientific World Journal* **2010**, *10*, 655-675.

Há na literatura várias estratégias para a preparação sintética das ciclopentenonas dissubstituídas, sendo algumas delas exemplificadas a seguir. Numa revisão atual Aitken e colaboradores[28] relataram os principais métodos sintéticos para a preparação de núcleos 2-ciclopentenonas através de precursores acíclicos tanto de forma intermolecular quanto de forma intramolecular utilizando estratégias de desmembramento de tais núcleos (figura 13).

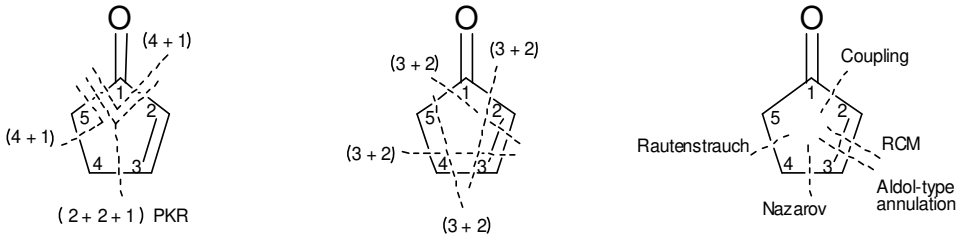
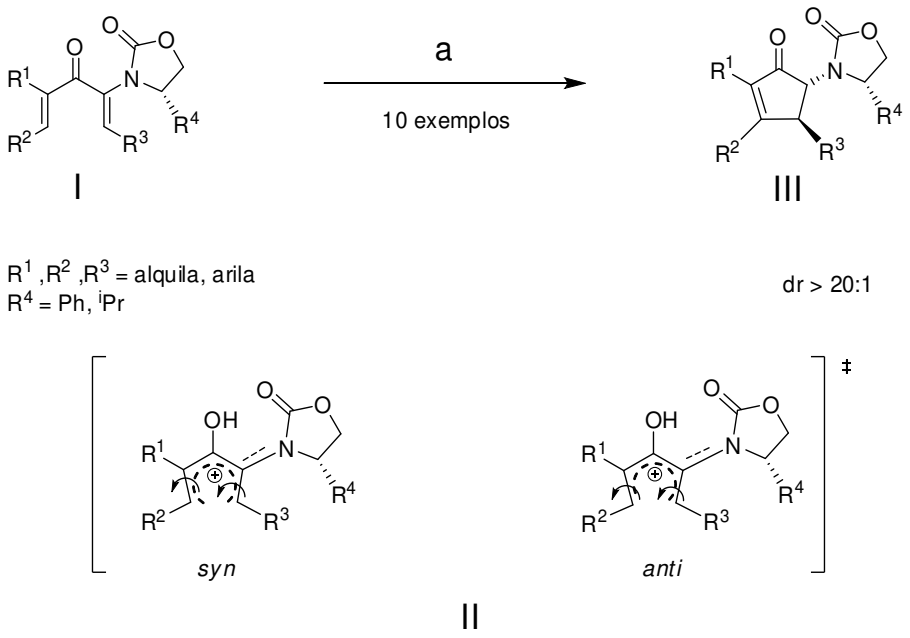


Figura 13: As principais estratégias de construção de anéis 2-ciclopentenonas, mostrando as conectividades atômicas realizadas durante a formação do anel (esquerda e centro) e métodos de ciclização (direita).

A reação de ciclização de Nazarov, que é uma ciclização de cetonas divinílicas catalisada por ácido, foi utilizada por Flynn e colaboradores[29] para produzir as ciclopentenonas (III) a partir das cetonas divinílicas derivadas das oxazolidinonas quirais (I) utilizando o ácido metanosulfônico, passando pelos estados de transição (*syn* e *anti*) II, sempre obtendo excelentes diasterosseletividades (esquema 1).

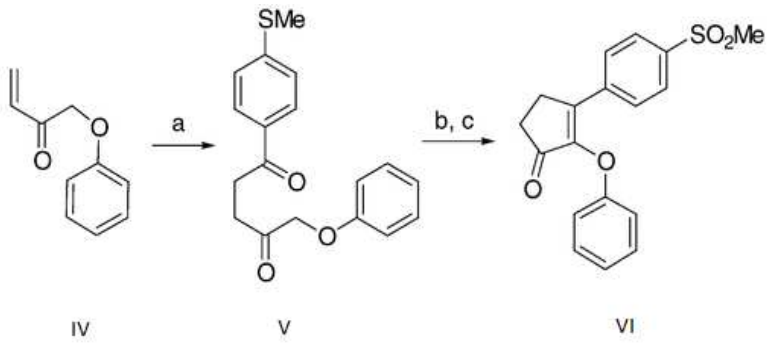
[28] Aitken, D. J.; Eijsberg, H.; Frongia, A.; Ollivier, J.; Piras, P. P. *Synthesis* **2014**, *46*, 1-24.
[29] Flynn, B. L.; Manchala, N.; Krenske, E. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 9156.



Reagentes e condições: a) Ácido metanosulfônico, CH_2Cl_2, 0 ºC, 75 – 99%.

Esquema 1: Reação de ciclização de Nazarov

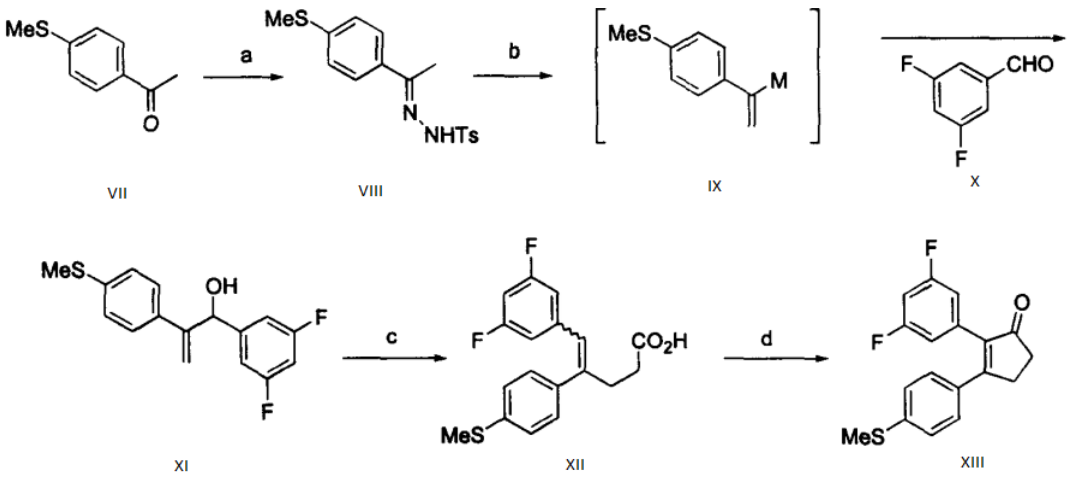
Black e colaboradores[21a] numa reação de condensação aldólica intramolecular produziu a ciclopentenona (VI). O sal de lítio do ácido fenoxiacético foi tratado com brometo de vinil magnésio, preparado imediatamente antes do uso, para originar a vinil cetona (IV), essa serviu de substrato para a adição do 4-(metilmercapto)benzaldeído, catalisada por um sal de tiazol fornecendo a dicetona (V), que ciclizou na presença de DBU (esquema 2).



Reagentes e condições: a) 4-(metilmercapto)benzaldeído, cloreto de 3-benzil-5(2-hidroxietil)-4-metiltiazol, Et_3N, Dioxano, 7%; b) DBU, MeOH, 90%; c) Oxone®, acetona/H_2O, 76%.

Esquema 2: Reação de condensação aldólica intramolecular

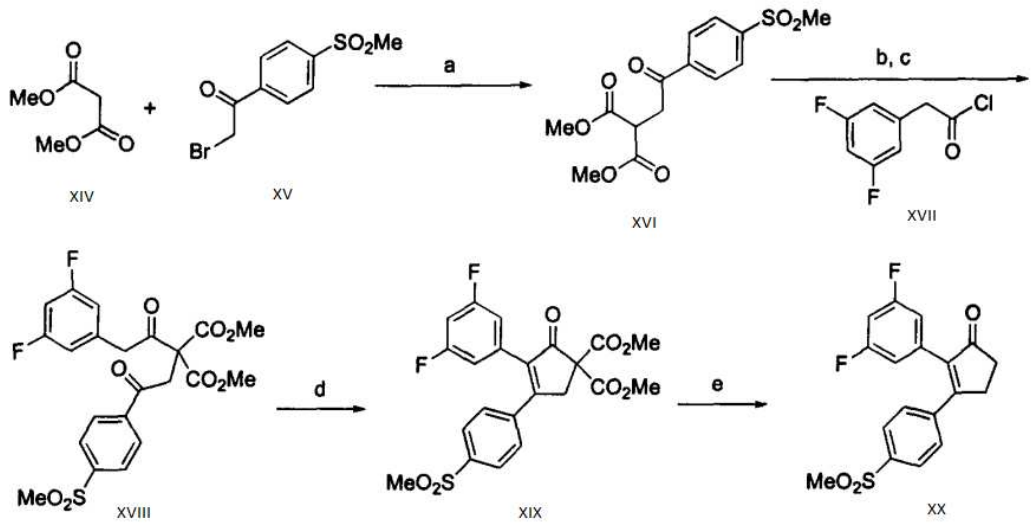
Zhao e colaboradores[86] empregaram uma rota sintética que utilizou a reação de Shapiro, o rearranjo de Claisen e a reação de Friedel-Crafts intramolecular para obter a ciclopentenona (XIII). A solução da 4-metilmercaptoacetofenona (VII) foi tratada com sulfonil hidrazina ($TsNHNH_2$), na presença de *para*-toluenossulfonato de piridina (PPTS) catalítico, que forneceu a tosil hidrazona (VIII). Essa foi tratada com reagente de Grignard e base originando um intermediário (IX). A subsequente reação deste último com 3,5-difluorobenzaldeido (X) forneceu o álcool alílico (XI). O rearranjo de Claisen do álcool alílico forneceu o éster que, logo após, foi hidrolizado na presença de NaOH aquoso. O ácido carboxílico formado (XII) foi transformado em seu cloreto de ácido correspondente e, posteriormente, submetido à reação de Friedel-Crafts intramolecular para fechamento do anel (esquema 3).



Reagentes e condições: a) $TsNHNH_2$, $PPTS_{(cat.)}$, CH_3CN, o-diclorobenzeno, 92%; b) i-PrMgCl, THF/tolueno, 96%; c) 1. $CH_3C(OEt)_3$, 10 mol% $(CH_3)_3CCO_2H$, tolueno, refluxo; 2. NaOH, THF, refluxo, 67%; d) $AlCl_3$, $(COCl)_2$, CH_2Cl_2, 90%.

Esquema 3: Reação de Shapiro, rearranjo de Claisen e reação de Friedel-Crafts intramolecular

Outra estratégia abordada, pelo mesmo grupo do pesquisador Zhao, empregou a alquilação do malonato de dimetil (XIV) com a bromosulfona (XV) para produzir o diéster (XVI). O diéster foi usado como substrato para a uma reação de acilação com o cloreto de 3,5-difluorofenilacetil (XVII), originando o intermediário (XVIII) que, logo em seguida, foi convertido no produto ciclizado (XIX). Esse último, sob condições ácidas, foi transformado na ciclopentenona (XX) (esquema 4).



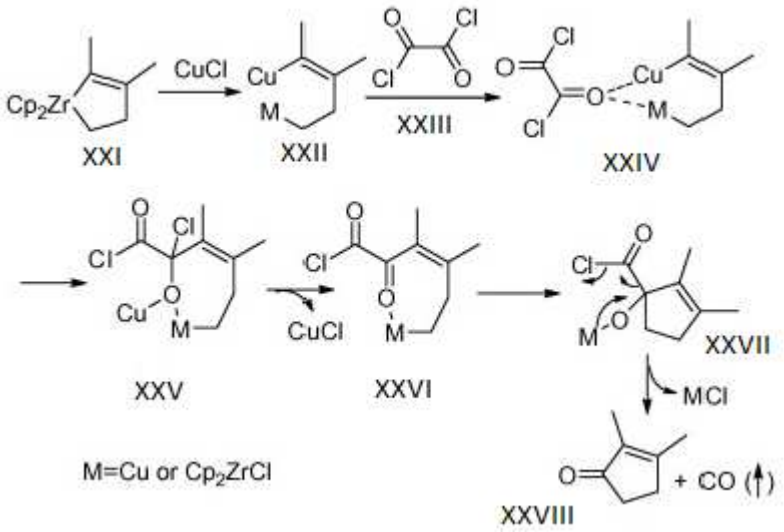
Reagentes e condições: a) K_2CO_3, acetona, 45 ºC, 80%; b) $MgBrOEt_2$, piridina, MeCN/THF, 0 ºC, ; -35 a -25 ºC, 1h; c) 0.2 eq. Et_3N, RT, 2h, 80% (dois passos); d) H_2SO_4 (3M), HOAc, 90 ºC, 10h, 95%.

Esquema 4: Reação de alquilação do malonato de dimetil

Chen e colaboradores[30] chegaram as ciclopentenonas através de uma reação entre a zirconaciclopenteno, advinda da reação de 3-hexino e dicloreto de zirconoceno, e cloreto de oxalila. A zirconaciclopenteno (XXI) sofreu, primeiramente, uma transmetalação com o cloreto de cobre formando o intermediário (XXII) que, logo após, se coordenou a uma das carbonílas do cloreto de oxalila (XXIII) originando um composto (XXIV) com anel de sete membros. A porção alquenilcobre reagiu com a carboníla chelada formando (XXV). Após eliminação do cloreto de cobre a carbonila foi recostituída formando (XXVI) que imediatamente sofreu um ataque nucleofílico intramolecular pela porção alquilzircônio dando origem ao carbociclo de cinco membros (XXVII), que após subsequente eliminação do cloreto de

[30] Chen, C.; Liu, Y.; Xi, C. *Tetrahedron Letters* **2009**, *50*, 5434-5436.

zirconoceno, acompanhada de descarboxilação, gerou a ciclopentenona (XXVIII) (esquema 5).



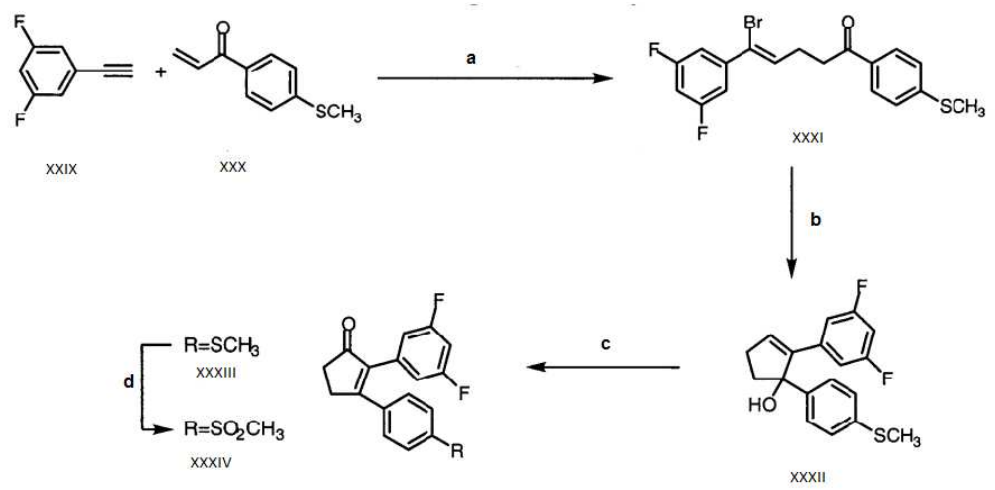
Reagentes e condições: 10 mol% CuCl, cloreto de oxalila, -30°C a RT, 1h, 85%.

Esquema 5: Reação envolvendo zirconaciclopenteno e hexino

Um método de acoplamento de três componentes, foi desenvolvido por Trost e Pinkerton[31], para gerar ciclopentenonas dissubstituídas. A síntese das ciclopentenonas (XXXIII e XXXIV) se iniciou após o acesso aos precursores alcino (XXIX) e enona (XXX), sendo o primeiro advindo de um acoplamento de Sonogashira seguido de desidratação[32] de 3,5-difluorofenilacetileno e o segundo, por via *one-pot*, após obtenção do cloreto de ácido do ácido 4-metilmercaptobenzóico seguida por acoplamento cruzado tipo Stille. Primeiramente houve a formação do brometo de vinila (XXXI), através de um acoplamento de três componentes catalisada por rutênio. Após o protocolo de

[31] Trost, B. M.; Pinkerton, A. B. *J. Org. Chem.* 2001, *66 (23)*, 7714–7722.
[32] Crisp, G. T.; Flynn, B. L. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6614.

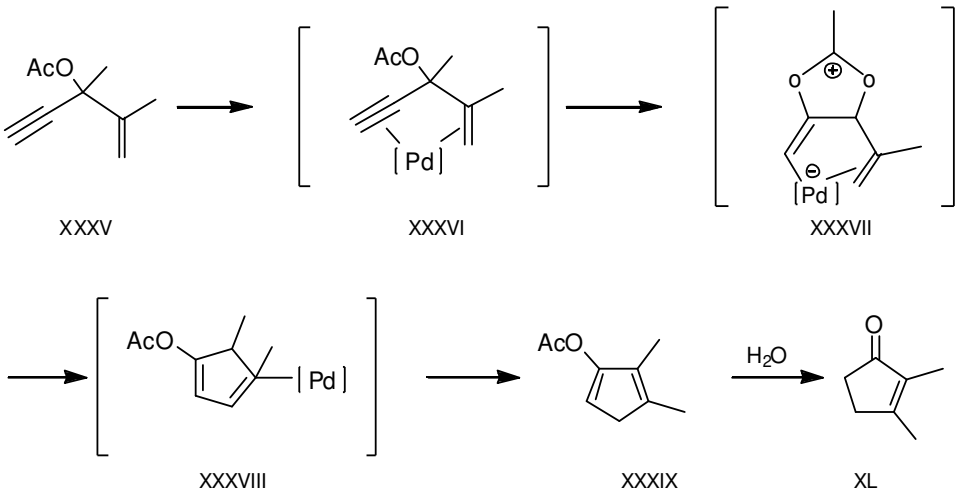
Nozaki-Kishi o brometo de vinila foi ciclizado originando o ciclopentenol (XXXII) que, subsequentemente, foi oxidado originando a ciclopentenona (XXXIII). Após uma segunda oxidação, originou-se a ciclopentenona (XXXIV) (esquema 6).



Reagentes e condições: a) $[CpRu(CH_3CN)_3]PF_6$, $SnBr_4$, 1,5 eq. LiBr, acetona, 60 ºC, 64%; b) $CrCl_2/NiCl_2$, DMF, RT; c)PDC, CH_2Cl_2, 0 ºC, 60%; d) Oxone®, acetona, 45 ºC, 80%.

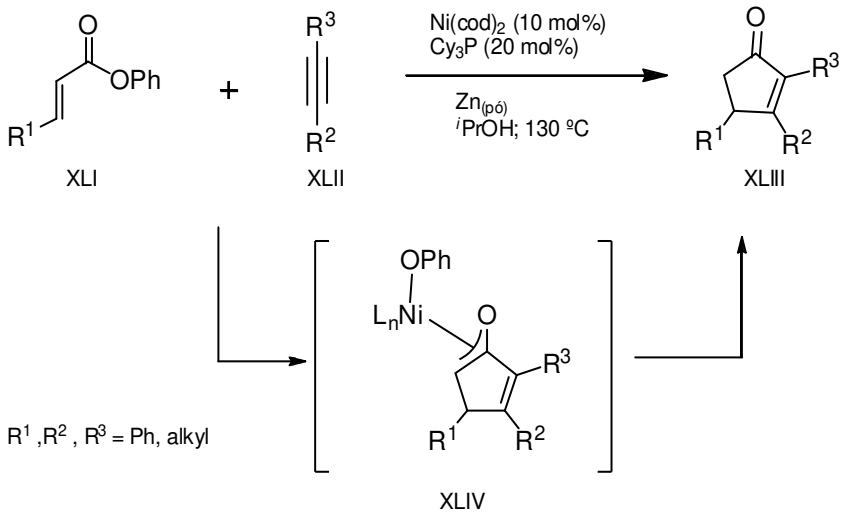
Esquema 6: Método de acoplamento de três componentes

Um exemplo, relatado pelo grupo de Aitken, é o rearranjo de Rautenstrauch cuja isomerização de acetatos de 1-etinil-2-alquenil (XXXV), catalisada por paládio (II), origina as 2-ciclopentenonas 2,3-dissubstituídas (XL). O mecanismo proposto envolve adições metálicas consecutivas ao sistema π e migração do acetato (esquema 7).



Esquema 7: Rearranjo de Rautenstrauch

Outro exemplo, do mesmo grupo supracitado, foi a cicloadição de ésteres fenílicos α,β-insaturados (XLI), catalisada por níquel, com alquinos (XLII), não terminais, para fornecer as 2-ciclopentenonas trisubstituídas (XLIII). O mecanismo proposto implicou num intermediário η^3-oxalilfenoxiníquel (XLIV) (esquema 8).



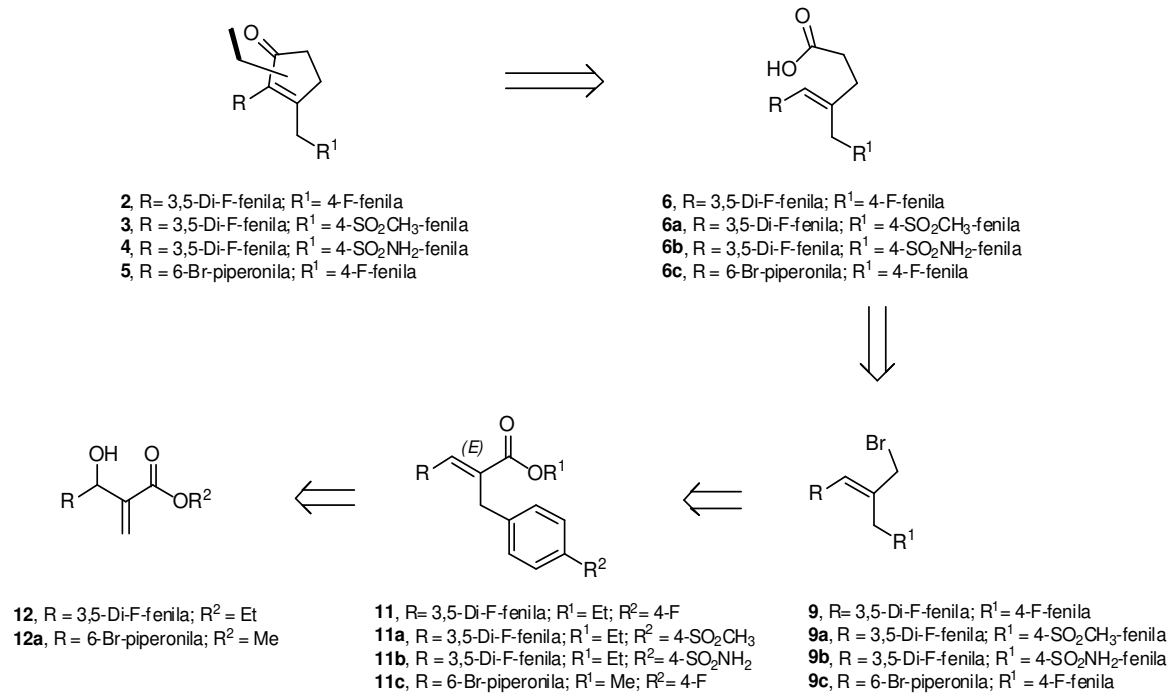
Esquema 8: Reação de cicloadição de ésteres fenílicos α,β-insaturados

3. Objetivo

O objetivo desse trabalho foi sintetizar as ciclopentenonas **2**, **3**, **4** e **5**, utilizando uma abordagem inovadora a partir de adutos de MBH, propondo modificações estruturais, acréscimo de grupamentos químicos e alterações de grupos farmacofóricos, além de eletrônicas através do bioisosterismo clássico e avaliar a propriedade anti-inflamatória dessas novas ciclopentenonas, para inibição seletiva da COX-2, em ensaios *in vivo* (modelos de inflamação não alérgica em animais, tais como, edema de pata e peritonite) e ensaios *in vitro* (ensaio de agregação plaquetária em sangue periférico humano e dosagem de PGE_2 em macrófagos peritoneais).

4. Análise Retrossintética

Para a síntese total das ciclopentenonas-alvo admitimos que seria possível atingir o nosso objetivo, utilizando a sequência de retrossíntese mostrada no esquema 9. Em nosso ponto de vista, essa sequência, realizada com um número reduzido de etapas e com reagentes, na sua maioria, de baixo custo, poderia ser utilizada na preparação de maiores quantidades das ciclopentenonas, alvo do trabalho, com um aumento de escala de baixa complexidade experimental.



Esquema 9: Retrossíntese

Assim, as ciclopentenonas-alvo podem ser obtidas através de uma reação de alquilação tipo Friedel-Crafts intramolecular com o ácido **6**. Esse por sua vez por ser obtido do brometo alílico **9**, através de uma reação de homologação de dois átomos de carbono. O brometo **9** pode ser obtido do derivado cinâmico **11** através de uma reação de redução seguida de substituição. Finalmente, o derivado cinâmico α-arilado **11** pode ser obtido utilizando uma reação de adição catalisada por metal, diretamente de um aduto de Morita-Baylis-Hillman **12**, adequadamente funcionalizado no anel aromático. A estereoquímica da dupla ligação do derivado cinâmico deve ser *E* e poderia, em principio, ser controlada na etapa de adição catalisada por metal. Só a olefina com essa estereoquímica poderia ser utilizada na etapa de ciclização intramolecular.

5. Metodologia sintética

5.1. Reação de Morita-Baylis-Hillman

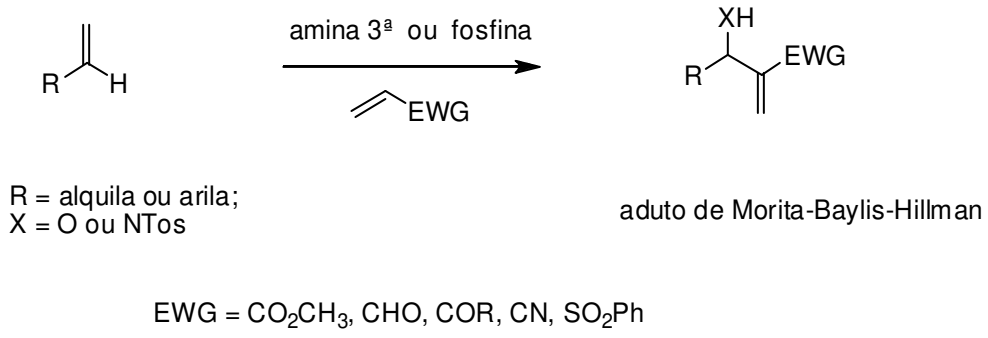
Essa reação pode ser definida como uma reação de condensação entre um aldeído ou uma imina ativada e uma olefina ativada com um grupo retirador de elétrons (EWG – *electron withdrawing group*), na presença de uma amina terciária ou fosfina.[33] Essa reação conduz a formação de compostos do tipo α-metileno-β-hidróxi carbonilados, que apresentam uma grande versatilidade sintética. Além dessas vantagens, essa reação pode ser considerada uma transformação de "química verde", já que apresenta uma elevada economia de átomos, utiliza reagentes de baixo custo e reduzido impacto ambiental e gera um volume de resíduos químicos reduzido, pois o DABCO e o acrilato podem ser totalmente recuperados no final da reação (esquema 10).[34,35]

[33] Para revisões recentes sobre a reação, veja: a) Almeida, W. P.; Coelho, F. *Quim. Nova* **2000**, *23*, 98–101; b) Basavaiah, D. ; Rao, P. D.; Hyma, R. S. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 811-859; c) Basavaiah, D.; Rao, K. V.; Reddy, R. J. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1581-1588; d) Singh, V.; Batra, S. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4511-4574.

[34] a) Trost, B.M. *Acc. Chem. Res.* **2002,** *35*, 695-705; b) Rosa, J. N.; Afonso, C. A. M.; Santos, A. G. *Tetrahedron* **2001,** *57*, 4189–4193.

[35] Para discussões recentes sobre o mecanismo dessa reação, veja: a) Santos, L.S.; Pavam, C.H. Almeida, W.P.; Coelho, F.; Eberlin, M.N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4330-4333. (b) Price, K. E.; Broadwater, S. J.; Walker, B. J.; McQuade, D. T. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3980-3987. (c) Aggarwal, V. K.; Fulford, S. Y.; Llyod-Jones, G. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1706-1708. (d) Krafft, M. E.; Haxell, T. F. N.; Seibert, K. A.; Abboud, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4174-4175.

Esquema geral da Reação de Morita-Baylis-Hillman



Esquema 10: Reação de Morita-Baylis-Hillman

Nos últimos anos, o nosso laboratório vem utilizando essa reação de forma sistemática para a síntese de produtos biologicamente ativos.[36] Alguns exemplos são: a síntese do (+) Efaroxan[37], Cloranfenicol e derivados[38], Captopril[39], Bupropion[40] e outros[41] (figura 14).

[36] a) Mateus, C. R.; Feltrin, M. P.; Costa, A. M.; Almeida, W. P.; Coelho, F. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6901–6908; b) Masunare, A.; Ishida, E.; Trazzi, G.; Almeida, W. P.; Coelho, F. *Synth. Commun.* **2001**, *31*, 2127–2136; c) Silveira, G. P. C; Coelho, F. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6477-6481; d) Mateus, C. R.; Coelho, F. *J. Braz. Chem. Soc*. **2005**, *16*, 386-396; e) Lopes, E. C. S.; Coelho, F. *J. Braz. Chim. Soc.* **2007**, *18*, 1415-1438; f) Amarante, G. W.; Resende, P.; Cavallaro, M.; Coelho, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3744-3748.

[37] Silveira, G. P. C.; Coelho, F. *Tetrahedron Lett*. **2005**, *46*, 6477-6481.

[38] a) Coelho, F.; Rossi, R. *Tetrahedron Lett*. **2002**, *43*, 2797-2800. b) Mateus, C. R.; Coelho, F. *J. Braz. Chem. Soc*. **2005**, *16*, 386-396.

[39] Feltrin M. P.; Almeida, W.P. *Synth. Commun*. **2003**, *33 (7)*, 1141-1146.

[40] Amarante, G. W.; Rezende, P.; Cavallaro, M.; Coelho, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3744-3748.

[41] a) Amarante, G. W.; Cavallaro, M.; Coelho, F. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2597-2599; b) Amarante, G. W.; Benassi, M.; Pascoal, R. N.; Eberlin, M. N.; Coelho, F. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 4370-4376; c) Trazzi, G.; André, M. F.; Coelho, F. *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 2327; d) Pirovani, R. V.; Ferreira, B. R. V.; Coelho, F. *Synlett* **2009**, 2333-2337. e) Almeida, W. P.; Coelho, F. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 937-940.

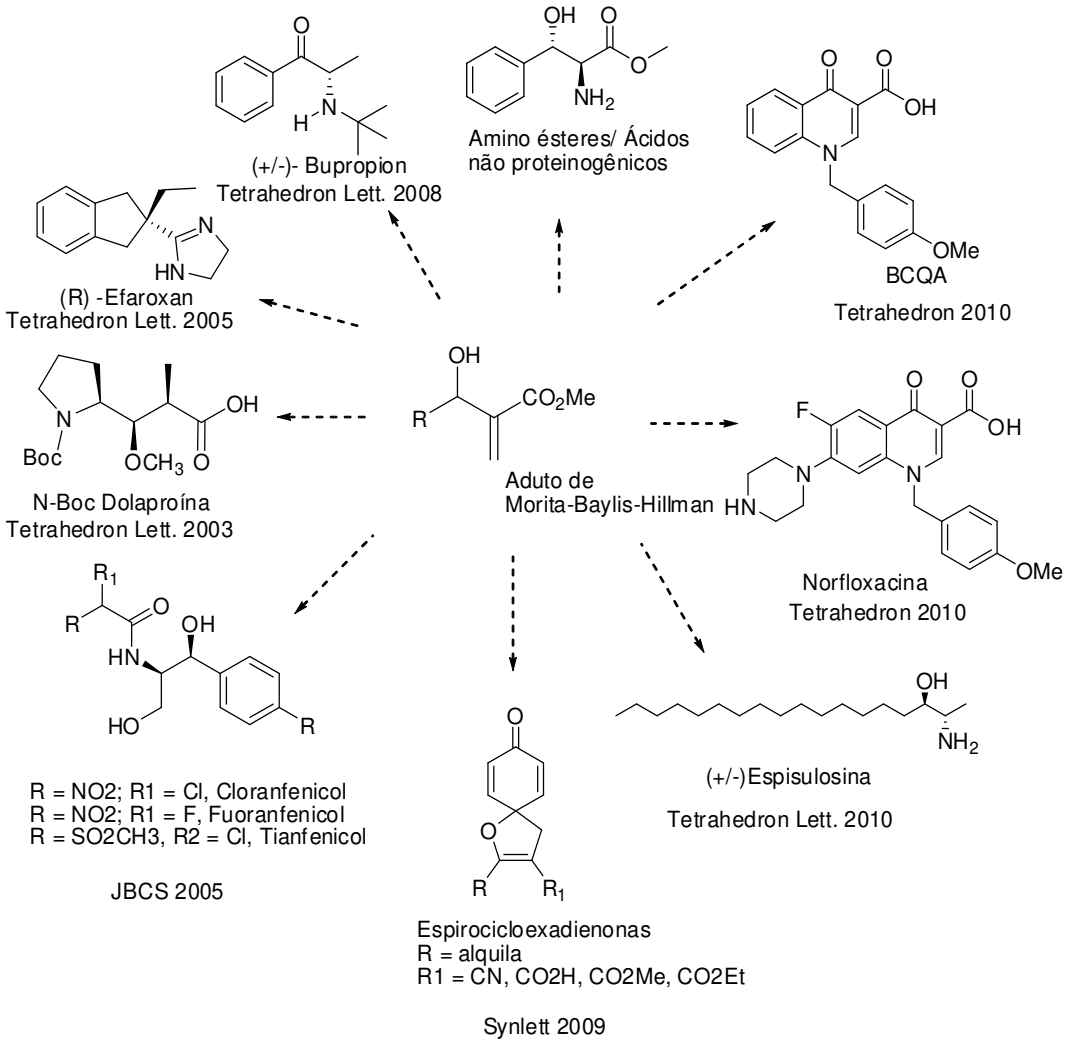
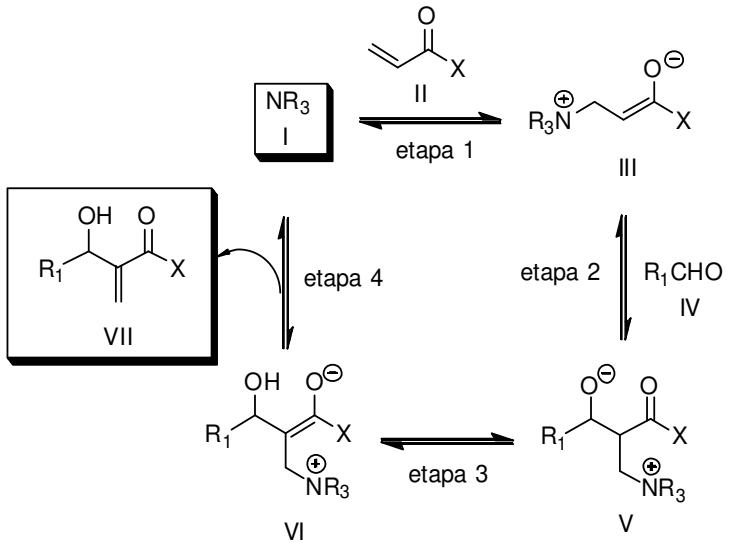


Figura 14: Aplicações recentes dos Adutos de Morita-Baylis-Hillman em síntese

Apesar da grande versatilidade sintética dessa reação, ela apresenta como um dos seus principais problemas o prolongado tempo de conversão. Esse problema é ainda mais exacerbado quando utilizamos, como eletrófilos, aldeídos aromáticos, substituídos no anel, com grupos doadores de elétrons. Realizamos uma modificação no protocolo da reação de Morita-Baylis-

Hillman (MBH) que nos permitiu diminuir, consideravelmente, o tempo de reação com aldeídos aromáticos, através do uso de ultra-som. [42]

5.2. Mecanismo da Reação de Morita-Baylis-Hillman



Esquema 11: Mecanismo geral da reação de Morita-Baylis-Hillman

O mecanismo mais aceito para as reações de MBH envolve quatro etapas (esquema 11).[43] Na primeira etapa, ocorre uma adição de Michael do catalisador (amina terciária **I** ou fosfina) ao sistema α,β-insaturado (**II**), gerando o *zwitterion* (**III**). A condensação aldólica entre (**III**) e o aldeído (**IV**) gera o alcóxido (**V**), que sofre uma transferência de próton, fornecendo o enolato (**VI**). Neste estágio, a decomposição deste intermediário gera o produto α-metileno-β-hidroxi carbonilado (**VII**), e o catalisador retorna para o ciclo de reação (**I**). Esse mecanismo foi comprovado, há alguns anos atrás, por

[42] a) Almeida, W. P.; Coelho, F. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8609–8612; b) Coelho, F.; Almeida, W. P.; Veronese, D.; Mateus, C. R.; Lopes, E. C. S.; Rossi, R. C.; Silveira, G. P.C.; Pavam, C. H. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7437-7447.
[43] Hill, J. S.; Isaacs, N. S. *J. Phys. Org. Chem.* **1990**, *3*, 285-290.

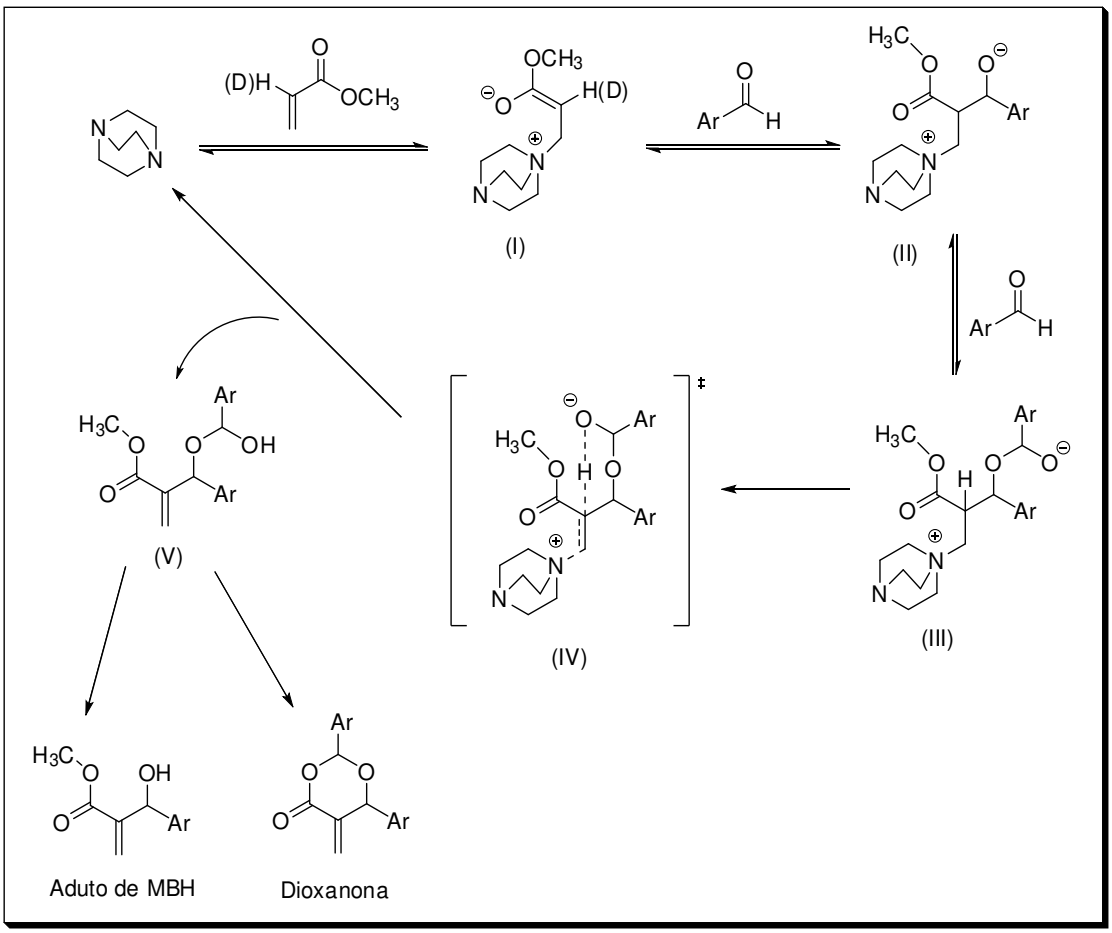
nosso grupo de pesquisa[44] utilizando espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS/MS). Nesse trabalho, todos os intermediários propostos no ciclo da reação de MBH foram interceptados e caracterizados através da espectrometria de massas tandem.

Por não justificar certas ocorrências experimentais, o mecanismo inicialmente proposto para a reação de MBH tem sido revisitado e contestado por alguns pesquisadores. As ocorrências experimentais não explicadas estavam relacionadas com as versões assimétricas da reação de MBH, tais como, a formação de dioxanonas, estereosseletividade da reação MBH, a etapa de transferência do próton e a cinética da reação. Trabalhos realizados por Aggarwal e colaboradores,[45] e pelo grupo de McQuade[46] tiveram como objetivo revisitar essa reação. Cálculos teóricos mais completos associados com estudos cinéticos mais rigorosos permitiram a esses autores propor uma nova versão para o mecanismo dessa reação (esquema 12).

Nessa nova proposta, a primeira etapa consiste em uma adição de DABCO, similar ao que ocorre com o primeiro mecanismo proposto, seguida do ataque eletrofílico ao aldeído para fornecer o *zwitterion* (**II**) que por sua vez realiza um novo ataque a uma segunda molécula de aldeído, formando o enolato (**III**). Este pode sofrer um rearranjo para formar o estado de transição (**IV**). Neste estado de transição (**IV**) podemos observar que a transferência do próton se dá por uma trajetória mais estável, envolvendo um ciclo de seis membros, que aquele proposto anteriormente, que ocorreria através um ciclo de quatro membros de alta energia. Além dessa evidência, esse estado de

[44] a) Silva, L. S.; Pavam, C. H.; Almeida, W. P.; Coelho, F.; Eberlin, M. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4330. b) Silva, L. S.; Silveira-Neto, B. A.; Consorti, C. S.; Pavam, C. H.; Almeida, W. P.; Coelho, F.; Dupont, J.; Eberlin, M. N. *J. Phys. Org. Chem.*, **2006**, *19*, 731.
[45] Aggarwal, V.K.; Dean, D. K.; Mereu, A.; Williams R. *J Org Chem.* **2002**, *67*, 510-514.
[46] a) Price K. E.; Broadwater S. J.; Walker, B. J.; McQuade, D. T. *J Org Chem.* **2005**, *70*, 3980-3987. b) Price K.E.; Broadwater, S. J.; Jung, H. M.; McQuade D. T. *Org Lett.* **2005**, *71*, 47-50.

transição conduz ao respectivo hemicetal (**V**) que sofre decomposição para gerar o aduto de MBH e a respectiva dioxanona, não justificada pelo mecanismo proposto por Issac e Hills (esquema 12).



Esquema 12: Nova versão para o mecanismo da reação de MBH

O nosso grupo de pesquisa também revisitou a reação de MBH utilizando espectrometria de massas. Através de algumas alterações realizadas no experimento, foi possível isolar e caracterizar as estruturas dos novos intermediários propostos para essa reação.[47] Recentemente, Kappe e Cantillo[48]

[47] Amarante, G. W.; Milagre, H. M. S.; Vaz, B. G.; Ferreira, B. R. V.; Marcos N. Eberlin, M. N.; Coelho, F. *J. Org. Chem.* **2009**, *74 (8)*, 3031–3037.

realizaram um novo estudo utilizando ferramentas computacionais e cinéticas mais robustas. Esses estudos confirmaram a alternância do mecanismo da reação de MBH durante o curso da reação, e que tanto a proposta de McQuade quanto a de Aggarwal podem ocorrer simultaneamente. Essas observações aumentaram ainda mais a complexidade do mecanismo dessa reação e tornou a tarefa de desenvolver uma versão geral assimétrica para essa reação um grande desafio.

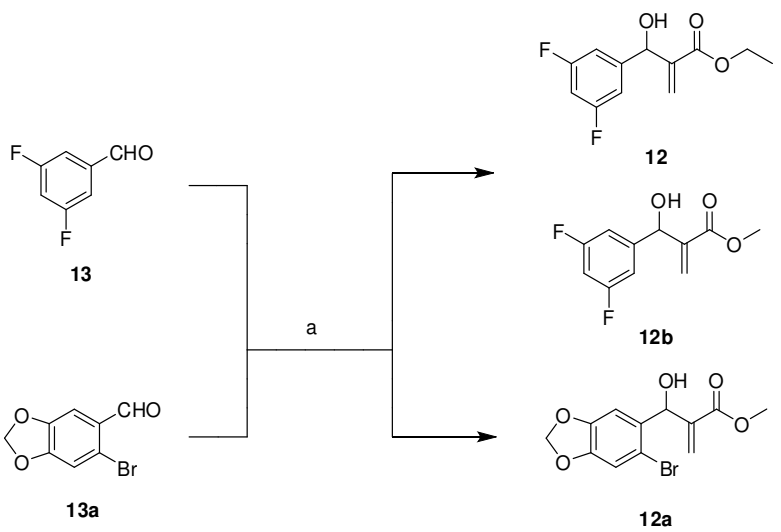
6. Resultados e discussão

A síntese para a obtenção das ciclopentenonas se iniciou seguindo a sequência retrossintética proposta e discutida nos objetivos do trabalho.

Assim iniciamos o trabalho preparando os adutos de Morita-Baylis-Hillman. Optamos por utilizar uma metodologia previamente descrita pelo nosso grupo de pesquisa.[49] Os aldeídos comerciais, 3,5-difluorobenzaldeído **13** e 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeido **13a**, foram tratados com acrilato de etila e metila, respectivamente, na presença de DABCO. A solução resultante foi colocada em um banho de ultrassom por um período de tempo variável (2,5 – 120 horas), para fornecer, após isolamento e purificação cromatográfica, os adutos de MBH **12**, **12a** e **12b** com rendimentos de 97, 82% e 89%, respectivamente. Os resultados obtidos estão sumarizados na tabela 1.

[48] David Cantillo, D.; Kappe, C. O. *J. Org. Chem.* **2010**, *75 (24)*, 8615–8626.
[49] a) Almeida, W. P.; Coelho, F. *Quim. Nova* **2000**, *23*, 98–101; b) Basavaiah, D. ; Rao, P. D.; Hyma, R. S. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 811-859; c) Basavaiah, D.; Rao, K. V.; Reddy, R. J. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1581-1588; d) Singh, V.; Batra, S. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4511-4574.

Tabela 1: *Preparação dos adutos de Morita-Baylis-Hillman*



Reagentes e condições: a) acrilato de etila, 13, DABCO, 6h, ultrassom ou acrilato de metila, 13a, DABCO, 120 h, ultrassom ou acrilato de metila, 13, DABCO, 2,5 h, ultrassom.

Entrada	Aldeído	Aduto de MBH	%
1	**13**	**12**	97
2	**13a**	**12a**	82
3	**13**	**12b**	89

Após purificação cromatográfica, os adutos de MBH **12**, **12a** e **12b** foram devidamente caracterizados pelas análises dos seus espectros no IV, de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e massa de alta resolução. Tipicamente, a análise dos espectros na região do infravermelho apresentou uma banda de absorção em torno de 3453 cm^{-1}, que foi atribuída ao estiramento do grupamento O-H. Observamos também bandas intensas em 1710- 1720 cm^{-1}, atribuídas ao estiramento C=O dos adutos **12**, **12a** e **12b**, além de bandas de menor

intensidade em torno de 1620-1630 cm^{-1}, atribuídas ao estiramento de ligação C=C, dos adutos **12**, **12a** e **12b**.

A presença dos átomos de flúor, na estrutura dos aduto de MBH **12** e **12b**, causa algumas alterações, tanto nos espectros de RMN de hidrogênio, quanto no de carbono. Por esse motivo vamos dar uma maior atenção à discussão dos dados espectrais de um desses adutos (**12**).

Particularmente para esse aduto, observamos ainda no espectro na região do infravermelho, uma banda en 1119 cm^{-1}, que foi atribuída ao estiramento da ligação Ar-F.

No espectro de RMN de ^{1}H do aduto **12** observamos um tripleto, com integração para três hidrogênios em 1,26 ppm, referente aos hidrogênios do grupo metila, um dupleto, com integração para um hidrogênio em 3,36 ppm, referente ao hidrogênio carbinólico, um quarteto, com integração para dois hidrogênios em 4,19 ppm, referente aos hidrogênios do grupo metilênico, um dupleto, com integração para um hidrogênio em 5,48 ppm, referente ao hidrogênio do grupo hidroxila, um tripleto, com integração para um hidrogênio em 5,82 ppm e um singleto, com integração para um hidrogênio em 6,37 ppm, os dois últimos sinais foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos, além do triplo tripleto característico com integração para um hidrogênio, devido ao acoplamento do mesmo com os átomos de flúor no sistema aromático, em 6,71 ppm. Há também dois multipletos com integração para dois hidrogênios cada, sendo um em 6,91-6,87 ppm e outro em 6,96-6,91 ppm, que foram atribuídos aos hidrogênios situados nas posições 2 e 6 do anel aromático.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C do aduto fluorado **12** mostra constantes de acoplamento características para os carbonos do sistema aromático em relação aos átomos de flúor, em 72,4 ppm (t, ^{4}J = 2,0 Hz, C-F,

acoplamento em "W" com o carbono carbinólico), 102,9 ppm (t, ^{2}J = 25,4 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático), 109,2 ppm (d, ^{2}J = 8,6 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático), 109,4 pm (d, ^{2}J =8,6 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático), 145,7 ppm (t, ^{3}J =8,4 Hz, C-F, carbono ocupando posição 1 no anel aromático), 162,8 ppm (dd, ^{1}J = 248,6 Hz e ^{3}J = 12,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 5 no anel aromático), e 163,0 ppm (dd, ^{1}J = 248,6 Hz e ^{3}J = 12,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 3 no anel aromático), além do carbono carbonílico em 166,0 ppm.

Os dados do espectro de massa de alta resolução por ionização por impacto de *elétrons* são compatíveis para a estrutura proposta para o aduto **12**.

Os dados espectroscópicos para os adutos **12a** e **12b** também são compatíveis com as estruturas propostas e estão disponíveis na parte experimental desse trabalho.

6.1. Preparação dos derivados cinâmicos

6.1.1. Considerações gerais

Dando continuidade a nossa proposta retrossintética precisávamos, nessa etapa do trabalho, preparar os derivados cinâmicos. Nesses derivados incorporaríamos o segundo substituinte presente nas nossas ciclopentenonas alvo e também controlaríamos a estereoquímica da dupla ligação, que é de fundamental importância para a etapa de formação do anel de cinco membros.

Olefinas trissubstituídas são importantes porque podem ser encontradas em vários produtos naturais e servem como bloco de construção na síntese de

várias classes de produtos naturais e substâncias biologicamente ativas.[50] Assim, a construção estereosseletiva de olefinas trissubstituídas é um dos problemas mais desafiadores da síntese orgânica.[51] De maneira geral, olefinas trissubstituídas que apresentam grupamento retiradores de elétrons em geometria *E* são termodinamicamente mais estáveis do que as de geometria *Z* e são, por conseguinte, mais fáceis de serem preparados.

Existem várias estratégias para a preparação de olefinas trissubstituídas.[52] Por exemplo, O'Shea e colaboradores[53] descreveram uma reação de ativação C-H mediada por paládio como método para a preparação de olefinas trissubsttuídas, incluindo cinamatos substituídos em posição α. Essa metodologia, entretanto, só permite a incorporação de substituintes arilícos em posição α à carbonila.

Um método direto para a preparação de cinamatos substituídos em posição α à carbonila é a eliminação estereosseletiva de água em ésteres β-hidroxi-α-substituídos. Recentemente, Sai e colaboradores[54] descreveram uma metodologia simples e direta para a preparação estereosseletiva de (*E*)-cinamatos α-substituídos baseado no emprego de EDC e cloreto de cobre (II) como agentes de desidratação.

Uma reação de eliminação mediada por iodeto de samário (SmI_2) foi descrita por Li e colaboradores[55] como uma alternativa para a preparação estereosseletiva de cinamatos com geometria da dupla ligação *E*, a partir de

---

[50] a) Faulkner, D. J. *Synthesis* **1971**, 175-189; b) Kantam, M. L.; Kumar, K. B. S.; Sreedhar, B. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 320.

[51] S.E. Kelly, In: B.M. Trost, I. Fleming (Eds.), Comprehensive Organic Synthesis, Vol. 1, Pergamon, Oxford, UK (**1991**), pp. 730–817.

[52] a) Gürtler, C.; Buchwald, S. F. *J. Chem. Eur.* **1999**, *5*, 3107-3112; b) Huang, X.; Zhao, C-Q. *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 231-241; c) O'Brien, C. J.; Nixon, Z. S.; Holohan, A. J.; Kunkel, S. R.; Tellez, J. R.; Doonan, B. J.; Coyle, E. E.; Lavigne, F.; Kang, L. J.; Przeworski, K. C. *J. Chem. Eur.* **2013**, *19*, 15281-15289.

[53] a) Jones, R. C.; Galezowski, M.; O'Shea, D. F. *J. Org. Chem*. **2013**, *78*, 8044-8053.

[54] a) Sai, H.; Ogiku, T.; Ohmizu, H. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 10345-10353; b) Sai, H.; Ohmizu, H. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 5019-5022.

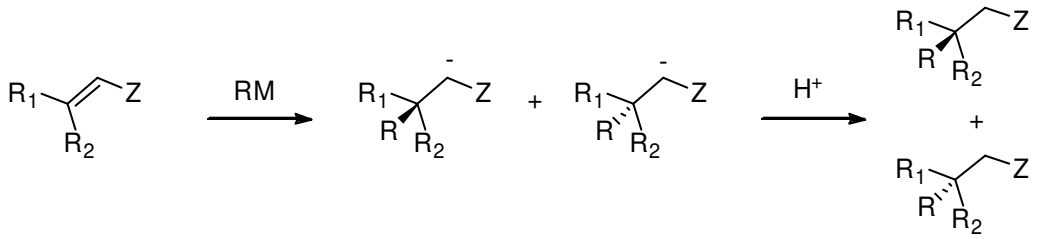
[55] Li, J.; Qian, W.; Zhang, Y. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5793-5798;

adutos de Morita-Baylis-Hillman. Há alguns anos atrás, o nosso grupo de pesquisa descreveu uma metodologia para a preparação de cinamatos substituídos em posição α, utilizando uma reação de adição conjugada mediada por um organocuprato, como forma de incorporação de substituintes na ligação dupla do aduto de Morita-Baylis-Hillman.[56]

A adição conjugada de reagentes organometálicos a substratos orgânicos α,β-insaturados é um método importante e bem conhecido de criação de moléculas orgânicas estruturalmente complexas.[57] Nestas reações, a porção orgânica do reagente organometálico se adiciona ao carbono β de um alceno eletrodeficiente, gerando primeiro um carbânion estabilizado e, posteriormente, o produto β-substituído. Os substratos α,β-insaturados comumente usados nesta reação são cetonas, aldeídos, ésteres, amidas, sulfóxidos ou nitro-compostos. Reações envolvendo reagentes organometálicos são geralmente executadas em condições anidras e atmosfera inerte. Essas reações podem empregar uma variedade de reagentes organometálicos, a saber: organolítio, organomagnésio (reagentes de Grignard) e organocupratos. A vantagem destas reações é que elas permitem a introdução direta de grupos orgânicos instáveis na estrutura orgânica dos substratos, que são normalmente disponíveis, inclusive comercialmente, com alta quimio- e regiosseletividades (esquema 13).[58]

[56] Silveira, G. P. C.; Coelho, F. *Tetrahedron Lett*. **2005**, *46*, 6477-6481.
[57] a) Rossiter, B. E.; Swingle, N. M. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 771; b) Krause, N.; Hoffmann-Röder, A. *Synthesis* **2001**, 171; c) Escher, I. H.; Pfaltz, A. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2879; d) Chataigner, I.; Gennari, C.; Piarulli, U.; Ceccarelli, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 916; e) Kim, Y. S.; Matsunaga, S.; Das, J.; Sekine, A.; OhShima, T.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6506.
[58] a) Rossiter, B.E.; Swingle, N.M. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 771-806. b) Hayashi, T. *Synlett* **2001**, 879-887.

Esquema geral da Reação de Adição Conjugada



Z = COR, CHO, COOR, $CONR_2$, CN, SOR, SO_2R, etc
RM = Reagente organometálico

Esquema 13: Reação de adição conjugada

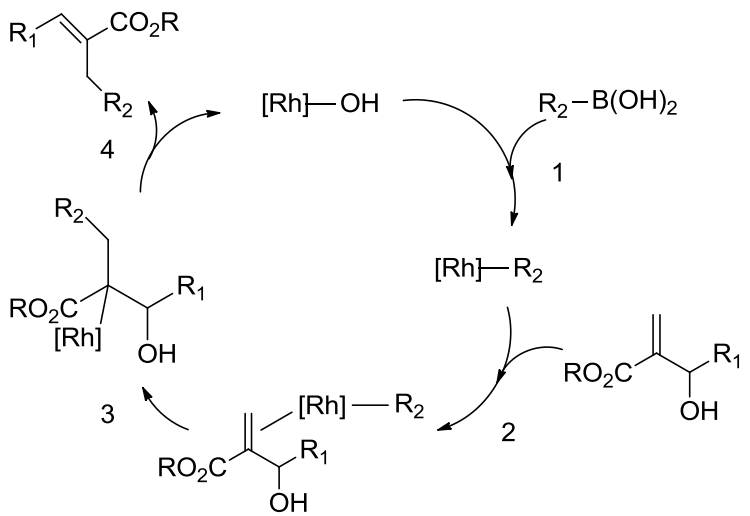
Em 1997, Miyaura reportou a primeira reação de adição 1,4 não assimétrica de ácidos aril- e alquenil-borônicos a cetonas α,β-insaturadas, usando um complexo de ródio-fosfina, como sistema catalítico.[59] A partir de então, tem-se dado maior atenção aos catalisadores de ródio na formação de ligações C-C. Do ponto de vista sintético estas reações podem unir reagentes comuns de forma mais eficiente do que aquele demostrado, anteriormente, com outros catalisadores metálicos. Muitas das reações que são catalisadas pelos complexos de ródio são promissoras, visto que a enantiosseletividade é muito alta, usualmente acima de 95%, água pode ser usada como co-solvente ou solvente único, a temperatura reacional é branda, normalmente varia entre 60 – 100 °C, e permitem a introdução de uma grande variedade de grupos

[59] Hayashi, T.; Yamasaki, K. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2829-2844.

carbônicos sp^2 (grupos aril e alquil) e a adição assimétrica pode ser conduzida com tipos variados de olefinas eletro-deficientes, como citado anteriormente.[60]

6.1.2. Mecanismo da Reação de Adição 1,4 Catalisada por Ródio

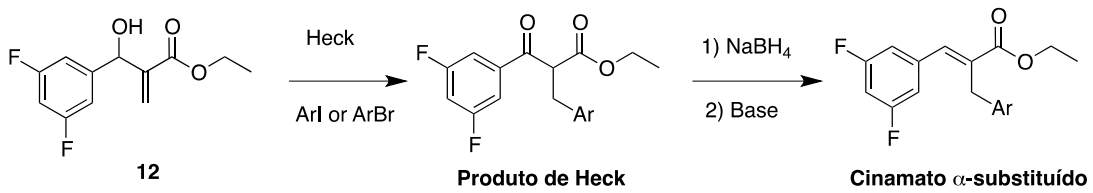
O ciclo catalítico da adição 1,4 de ácidos arilborônicos catalisada por ródio envolve uma transmetalação do grupo aril do boro ao ródio (1), coordenação da olefina do aduto de MBH (2), uma inserção 1,4 do substituinte orgânico R^2 (3), que origina um intermediário de ródio comportando uma hidroxila na posição β, e posteriormente uma eliminação β-hidróxi-*syn* da espécie [Rh]–OH (4), levando à formação do produto de adição. Devido à facilidade da transmetalação entre os ácidos arilborônicos e o complexo hidroxoródio, o ciclo catalítico pode ser reiniciado (esquema 14).[60b]



Esquema 14: Mecanismo da reação de Adição 1,4 catalisada por Ródio

[60] a) Fagnou, K.; Lautens, M. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 169-196. b) Hayashi, T.; Takahashi, M.; Takaya, Y.; Ogasawara, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *124*, 5052-5058.

Apesar das várias alternativas disponíveis na literatura para a preparação da olefina trissbubstituída que precisávamos, decidimos investigar a possibilidade de utilizarmos uma experiência prévia do laboratório como abordagem para a preparação dos derivados cinâmicos. Recentemente, nós descrevemos uma metodologia simples e direta de preparação de β-cetoésteres, a partir de adutos de Morita-Baylis-Hillman.[61] Esses cetoésteres foram obtidos a partir do uso de uma reação de Heck com adutos como substratos. A redução quimiosseletiva da carbonila cetônica, seguida de eliminação estereosseletiva nos permitiria acessar os derivados cinâmicos α-substituídos de maneira simples e direta (esquema 15).

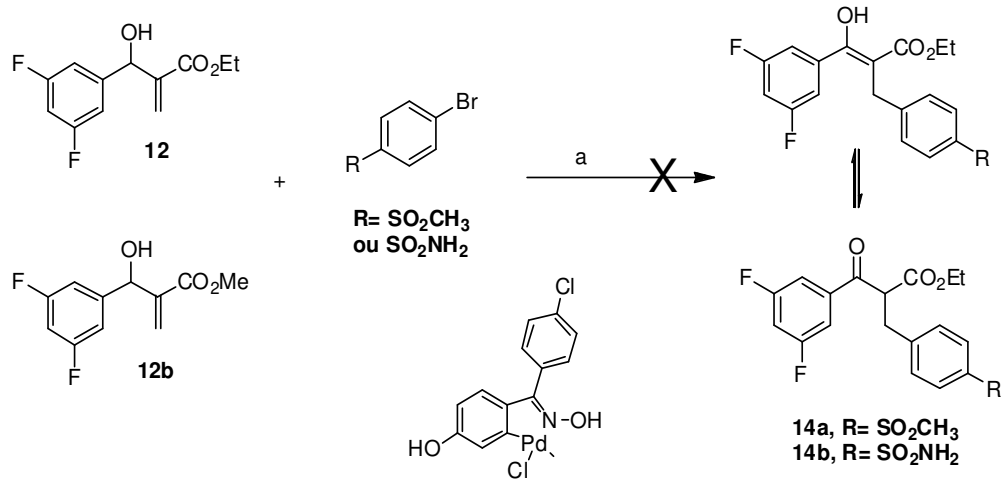


Esquema 15: Síntese de cinamatos α-substituidos, via reação de Heck

Para testarmos essa estratégia, os adutos de Morita-Baylis-Hillman **12** e **12b** foram escolhidos como modelos. Existem vários precedentes na literatura que utilizam a reação de Heck como método eficiente para a incorporação de grupos arila na porção terminal de olefinas.[62] Para realizarmos essa transformação empregamos o paladaciclo derivado de uma oxima, desenvolvido por Nájera (geração 2).[63] Esse foi o único catalisador de paládio

[61] Ferreira, B.R.V.; Pirovani, R.V.; Souza-Filho, L.G.; Coelho, F. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7712-7717.
[62] (a) Catellani, M.; Motti, E.; Della Ca, N. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1512-1552; (b) Marion, N.; Nolan, S.P. . *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1440-1449; (c) Phan, N.T.S.; Van Der Sluys, M.; Jones, C.W. *Adv. Syn*th. *Catal.* **2006**, *348*, 606-679; (d) Dupont, J.; Consorti, C.S.; Spencer, J. *Chemical Reviews* **2005**, *105 (6)*, 2527-2572.
[63] Najera, C.; Gil-Molto, J.; Karlstroem, S.; Falvello, L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1451-1454; b) Cao, X. P.; Barth, D.; Kuck, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *16*, 3482-3488; c) Alonso, D. A.; Nájera, C.; Pacheco, M. C. *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 172-179.

testado que funcionou adequadamente com os adutos de Morita-Baylis-Hillman, embora na literatura possamos encontrar outras alternativas (esquema 16).[64]



Reagentes e condições: a) K_2CO_3, TBAB, catalisador de Nájera (2), DMF, 130 °C, 3h

Esquema 16: Reação de Heck

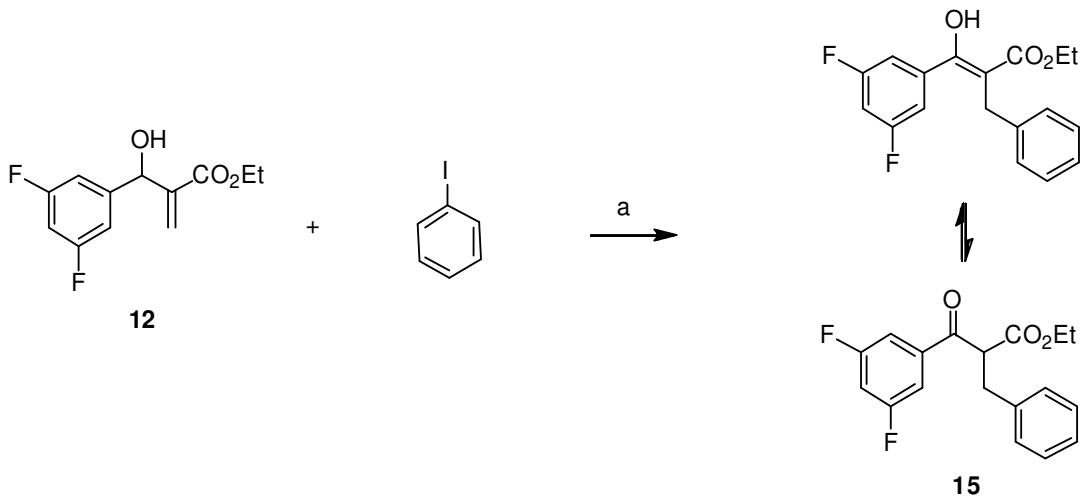
A reação de Heck não funcionou e o único produto obtido foi aquele oriundo da descarboxilação do aduto **12b**. Acreditamos que essa descarboxilação tenha ocorrido devido às condições de reação, que deve ter favorecido a hidrólise do éster metílico no meio reacional.

Tentando contornar esse problema, reiniciamos a sequência utilizando o aduto **12**. O insucesso dessa reação de Heck poderia estar relacionado à presença dos grupamentos metilsulfona e sulfonamida, ocupando posição *para* em relação ao átomo de bromo. Talvez esses grupamentos possam favorecer a

[64] a) Basavaiah, D.; Muthukumaran, K. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4943-4948; b) Kulkarni, B. A.; Ganesan, A. *J. Comb. Chem.* **1999**, *1*, 373-378; c) Calò, V.; Nacci, A.; Lopez, L.; Napola, A. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4701-4703; d) Perez, R.; Veronese, D.; Coelho, F.; Antunes, O. A. C. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1325-1328; e) Kim, J. M.; Kim, K. H.; Kim, J. N. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3248-3251.

formação de complexos estáveis com o paládio, impedindo que a reação ocorra.

Ainda tentando esgotar as possibilidades com essa estratégia e devido às dificuldades encontradas com os derivados bromados, decidimos modificar o haleto de arila utilizado. Assim, realizamos uma reação de Heck com iodobenzeno. As condições mais brandas de reação e alto rendimento (81%), já descritas em publicação de nosso grupo,[61] são devido à mudança pelo átomo de iodo, mais volumoso originando, portanto, uma ligação mais fraca, o que facilita a inserção arílica. A reação de Heck se processou bem, conduzindo ao β-cetoéster **(15)**, em 94% de rendimento (esquema 17).



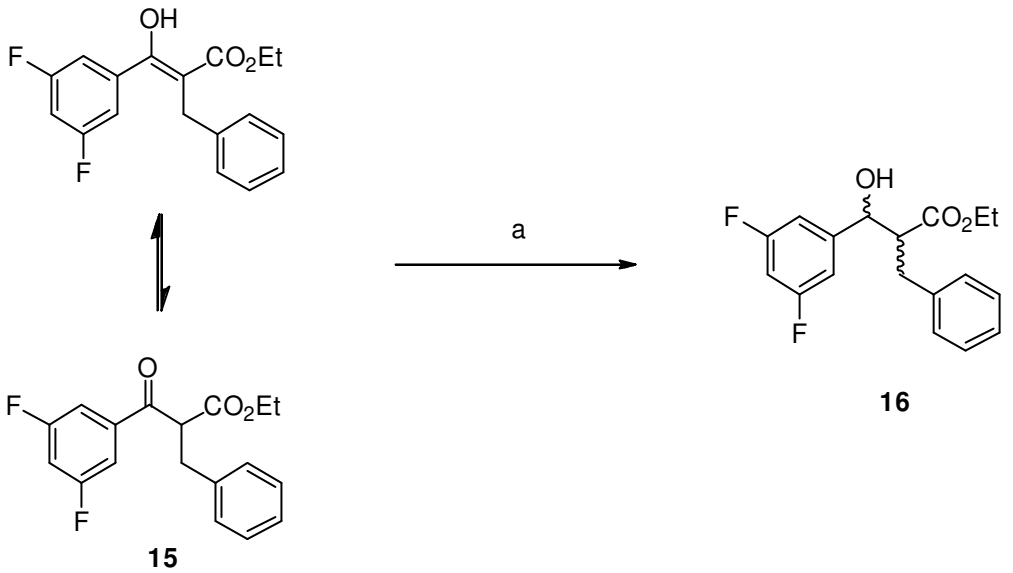
Reagentes e condições: a) Et_3N, Catalisador de Nájera (2), DMF, 110 °C, 3h, 94%

Esquema 17: Reação de Heck

A análise do espectro de **15**, na região do infravermelho, mostra uma absorção larga em 1710 cm^{-1}, atribuída às carbonilas. O espectro de RMN ^1H mostra o desaparecimento dos sinais atribuídos a ligação dupla do substrato e o aparecimento de um sinal na forma de um tripleto, centrado em 4,49 ppm,

atribuído ao CH entre as carbonilas e um segundo sinal na forma de um dupleto, centrado em 3,32 ppm, atribuído ao CH_2 benzílico. Na região dos hidrogênios aromáticos observamos, além dos sinais característicos do anel difluorado, um multipleto entre 7,30-7,16 ppm, que foram atribuídos aos hidrogênios do anel benzênico incorporado na estrutura de **15**. O espectro de RMN ^{13}C mostra uma absorção em 192 ppm, atribuída a nova carbonila cetônica, além de uma outra em 168 ppm, atribuída a carbonila do grupamento éster. Esses dados confirmam a identidade estrutural de **15**.

De posse do intermediário de Heck **(15)** a etapa seguinte consistiu na realização de uma reação de redução que originou uma mistura de diasteroisomeros representada pelo intermediário (**16**), em 81% de rendimento (esquema 18).

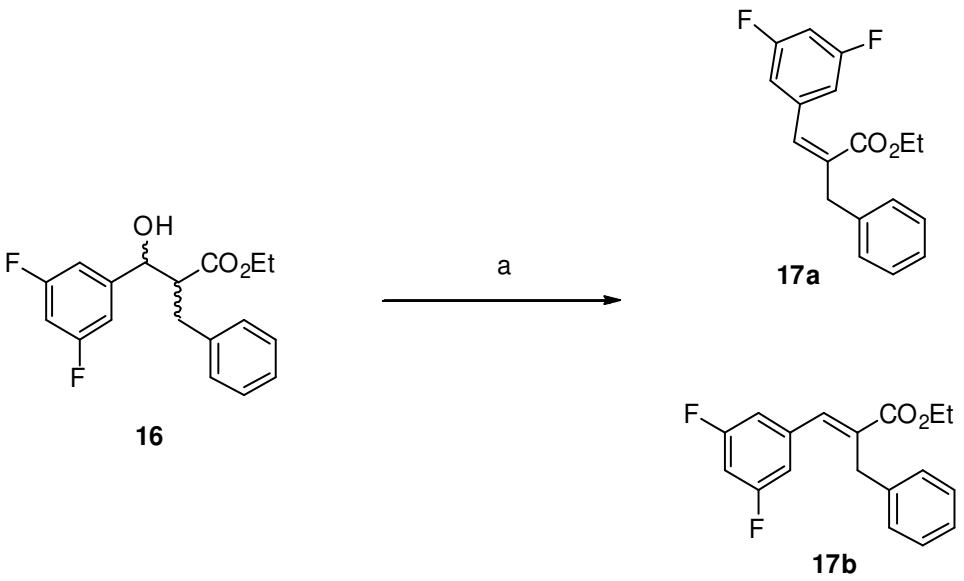


Reagentes e condições: a) $NaBH_4$, MeOH, 0 °C, 1,5h, 81%

Esquema 18: Reação de redução

A mistura diastereoisomérica obtida não pode ser separada por cromatografia em coluna e foi levada diretamente na próxima etapa. Os dados espectroscópicos (RMN ^{1}H e ^{13}C) são compatíveis para a estrutura proposta, embora demonstrem a presença de uma mistura de produtos em uma proporção próxima de 9:1, determinada por RMN ^{1}H.

Essa mistura diasteroisomérica foi submetida à reação de eliminação da hidroxila benzílica levando à produção de uma mistura *E/Z* dos cinamatos **17a** e **17b** (esquema 19). Tal reação foi realizada de acordo com a literatura[65,66] e embora tenhamos conseguido obter as olefinas trissubstituídas desejadas, o rendimento dessa reação foi baixo (40%) e os produtos obtidos são de difícil separação cromatográfica.



Reagentes e condições: a) $KHSO_4$, tolueno (refluxo), 8h

Esquema 19: Reação de eliminação

[65] Hattori, K.; Tanaka, A.; Okitsu, O.; Tabuchi, S.; Taniguchi, K.; Nishio, M.; Koyama, S.; Higaki, M.; Seki, J.; Sakane, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3091-3095.
[66] Yamauchi, S.; Hayashi, Y.; Kirikihira, T.; Masuda, T. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, *69 (1)*, 113-122.

Frente a esses resultados decidimos testar uma outra alternativa para a obtenção das olefinas trissubstituídas necessárias ao nosso planejamento sintético.

Sabe-se que em uma proposta de síntese total, semelhante a que estamos estudando, a redução de etapas, quando possível, é desejável e necessária. A busca na literatura identificou uma alternativa que poderia se revelar mais promissora do que aquela testada anteriormente. Kabalka[67] e Gowrisankar[68] demonstram, em trabalhos anteriores, que o acoplamento de organotrifluoroboratos de potássio, catalisado por paládio, em adutos de MBH acetilados era possível. Essa metodologia poderia economizar duas etapas sintéticas, a saber, a redução da carbonila cetônica do aduto de Heck, e a eliminação. Trabalhos publicados por Wallace e colaboradores[69] (deposito de patente) demonstraram, também, que alguns catalisadores de ródio poderiam ser empregados, com sucesso, em reações de adição de Michael em cetonas α,β-insaturadas. Genet e colaboradores[70] demonstraram que alguns complexos de ródio poderiam ser utilizados em reação de adição 1,4 com adutos de Morita-Baylis-Hillman. Essas reações conduzem diretamente a uma olefina trissubstituída, com alta estereosseletividade e não exigem proteção do grupamento hidroxila do aduto de Morira-Baylis-Hillman utilizado como substrato. No nosso entender, essa metodologia reuniria todos os critérios que buscávamos, ou seja, diminuição do número de etapas do processo (acetilação do aduto, redução da cetona e eliminação não seriam mais necessárias),

[67] Kabalka, G.W.; Venkataiah, B.; Dong, G. *Organic Letters* **2003**, *5 (21)*, 3803-3805
[68] Gowrisankar, S.; Lee, H.S.; Kim, S.H.; Lee, K.Y.; Kim, J.N. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 8769-8780.
[69] (a) Wallace, Grier A.; Breinlinger, Eric C.; Cusack, Kevin P.; Fix-Stenzel, Shannon R.; Gordon, Thomas D.; Hobson, Adrian D.; Hayes, Martin E.; Ansell, Graham K.; Grongsaard, Pintipa. *U.S. Pat. Appl. Publ.* **(2009)**, 134 pp., Cont.-in-part of U.S. Ser. No. 4,583, abandoned. CODEN: USXXCO US 20090029947 A1 20090129 CAN 150:191142 AN 2009:116896. (b) Navarre, L.; Darses, S.; Genet, J.-P. *Adv. Synth.Catal.* **2006**, *348*, 317-322.
[70] Navarre, L.; Darses, S.; Genet, J.-P. *Chem. Commun.* **2004**, 1108-1109.

somado ao fato de essa reação requer uma condição reacional branda, fornece a olefina desejada em alto rendimento e excelente razão diastereoisomérica em favor do isomero de interesse, ou seja, isômero *E*.

Embora os modelos testados por Gênet fossem diferentes daqueles que nos interessavam, decidimos testar essa metodologia.

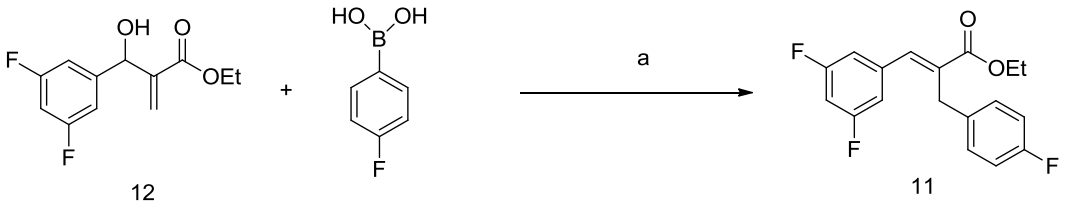
A reação de adição 1,4 catalisada por ródio, baseada no uso de $[Rh(cod)Cl]_2$, que é disponível comercialmente, foi primeiramente realizada utilizando o ácido 4-fluor fenil borônico.

Reproduzimos inicialmente as condições descritas na literatura.[70] Assim, uma solução do aduto **12**, em metanol, foi tratada com $[Rh(cod)Cl]_2$, a 55 °C, por 3 horas (entrada 1, tabela 2). Ao término desse tempo, não fomos capazes de isolar o produto de adição, mas observamos uma extensa decomposição do material de partida. Realizamos experimentos aumentando a quantidade de catalisador, entretanto não obtivemos sucesso (entradas 2 e 3, tabela 2). Decidimos então, aumentar ainda mais a quantidade catalisador para 2 mol% e a temperatura da reação, que passou a ser realizada em refluxo de metanol. Nessa condição conseguimos obter o produto de adição **11**, em apenas 12% (entrada 4, tabela 2). Embora baixo, esse rendimento demonstrava que a reação era possível. O tolueno é utilizado, como solvente de escolha, em várias reações de adição 1,4 mediadas por ródio.[71] Fizemos, assim, um novo experimento trocando somente o solvente da reação de metanol para tolueno, sem alterar os demais parâmetros (quantidade de catalisador, temperatura, tempo de reação). A reação não funcionou (entrada 5, tabela 2). Muito provavelmente, a baixa solubilidade do ácido fenil borônico em tolueno possa explicar esse resultado. Alteramos mais uma vez o experimental e decidimos

[71] a) Pucheault, M.; Darses, S.; Genet, J.-P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6155. b) Pucheault, M.; Darses, S.; Genet, J.-P. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3552. C) Navarre, L.; Darses, S.; Genet, J.-P. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 69.

dissolver o ácido fenil borônico, incialmente em metanol e em seguida adicionamos o mesmo volume de tolueno. Nessas condições o ácido fenil borônico se mantem em solução. Mantivemos os demais parâmetros e nessas condições obtivemos o cinamato **11**, em 71% de rendimento (entrada 6, tabela 2). Aumentamos ainda mais a quantidade de catalisador, mas não obtivemos alteração no rendimento da reação. Finalmente, mantivemos a concentração do catalisador em 2,5mol% e aumentamos o tempo de reação, entretanto não obtivemos nenhuma alteração significativa (entrada 8, tabela 2).

***Tabela 2**: Otimização das condições reacionais da reação de adição 1,4 catalisada por ródio: Reação com o aduto de MBH **12** e o ácido 4-fluor fenilborônico.*



Entrada	12 (mmol)	Boronato[a]	$[Rh(cod)Cl]_2$ (mol%)	Solvente	Tempo (h) e temperatura (°C)	Rdt (%)
1	0,5	1,0	0,5	Metanol	3; 50 - 55	-
2	0,5	1,0	1,0	Metanol	3; 50 - 55	-
3	0,5	1,0	1,5	Metanol	3; refluxo	-
4	0,5	1,0	2,0	Metanol	3; refluxo	12
5	0,5	1,0	2,0	Tolueno	3; refluxo	-
6	0,5	1,0	2,0	Metanol/ tolueno[b]	3; refluxo	71
7	0,5	1,0	2,5	Metanol/ Tolueno[b]	3; refluxo	71
8	0,5	1,0	2,5	Metanol/ Tolueno[b]	4; refluxo	69

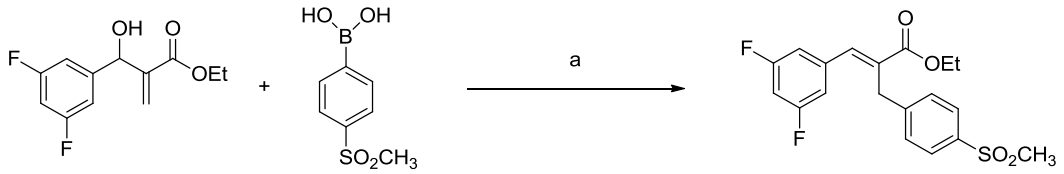
[a] O ácido 4-fluor-fenilborônico foi utilizado em todas as reações; [b] Proporção metanol/tolueno (1:1).

Como já havíamos estabelecido uma condição bastante satisfatória (bom rendimento, pequena quantidade de catalisador e baixo tempo de reação), repetimos a reação utilizando agora um novo boronato, ou seja, o ácido 4-metilsufonil borônico e as condições descritas na entrada 6 (tabela 2), entretanto, para nossa surpresa, a reação não funcionou. Aumentamos a

quantidade de catalisador de 2,0 para 2,5 mol% (entrada 7, tabela 2) e obtivemos o cinamato **11a** com um rendimento de apenas 26%.

Esse resultado apontou para a necessidade de realizarmos novos ajustes nas condições reacionais. Aumentamos o tempo de reação de 3 para 8 horas e observamos um modesto aumento no rendimento da reação (26% para 32%, entrada 2, tabela 3). Decidimos, então, fixar o tempo de reação em 8 horas e alteramos a quantidade de catalisador. Quando utilizamos 3,0 mol% obtivemos o produto de adição **11a**, com um aumento bastante significativo de rendimento (36% para 60%, entrada 3, tabela 3). Quando aumentamos o tempo de reação de 8 para 12 horas, não alteramos praticamente o rendimento obtido na reação.

***Tabela 3**: Otimização das condições reacionais da reação de adição 1,4 catalisada por ródio: Reação com o aduto de MBH **12** e o ácido 4-metilsulfonil borônico.*



12 11a

Entrada	12 (mmol)	Boronato[a]	$[Rh(cod)Cl]_2$ (mol%)	Solvente	Tempo (h) e temperatura (°C)	Rdt (%)
1	0,5	1,0	2,5	Metanol/ tolueno[b]	3; refluxo	26
2	0,5	1,0	2,5	Metanol/ tolueno[b]	8; refluxo	32
3	0,5	1,0	3,0	Metanol/ tolueno[b]	8; refluxo	60
4	0,5	1,0	3,0	Metanol/ tolueno[b]	12; refluxo	61

[a] Ácido 4-metilsulfonil borônico; [b] Mistura de metanol:tolueno 1:1

Mudamos o boronato com o objetivo de obtermos um derivado com um outro substituinte em posição *para*. Assim, passamos a utilizar o ácido 4-sulfonilamida borônico em uma reação empregando 3,0 mol% do catalisador, o aduto de MBH **12**, em uma mistura de metanol:tolueno (1:1), sob refluxo durante 8h (mesma condição descrita na entrada 3, tabela 3). Novamente a reação não funcionou. Aparentemente, para cada boronato essa reação requer uma condição experimental diferente. Começamos essa nova otimização,

alterando a concentração do catalisador, que passou de 3,0 para 4,0 mol%. Entretanto, a reação não funcionou (entrada 2, tabela4).

Como as reações catalisadas por ródio toleram a água como solvente e como estávamos utilizando um boronato ainda mais polar, decidimos, baseados em dados da literatura, utilizar uma mistura de dioxano:água como solvente dessa reação,[73] em duas concentrações diferentes de catalisador (3 e 4 mol%), após 8h de refluxo não obtivemos o produto desejado, em ambas as reações. Aumentamos a quantidade de catalisador para 5mol%, e mantivemos os demais parâmetros constantes. Dessa vez a reação forneceu o produto desejado, mas apenas com 16% de rendimento (entrada 5, tabela 4). O uso de aditivos é bastante comum em reações catalisadas por metais de transição.[72,74b,d,e] Segundo os dados de literatura[73] as fosfina atuam como ligantes, em reações de adição 1,4 de ácidos aril borônicos a compostos carbonílicos α,β-insaturados catalisadas por ródio. Esses ligantes aceleram os passos de transmetalação e inserção, através da habilidade que eles apresentam de transferir densidade eletrônica para o metal por meio do par de elétrons não ligantes do fósforo, característica doadora σ, e receber densidade eletrônica do metal por meio dos elétrons do orbital *d*, característica aceptora π.[74] Como a retrodoação π é mais eficiente o metal se torna mais ácido e susceptível a

[72] a) Tolman, C. A. Chemical Reviews **1977**, *77*, 313-348; b) Feng, C-G.; Xu, M-H.; Lin, G-Q. Synlett **2011**, *10*, 1345-1356.

[73] a) Takaya, Y.; Ogasawara, M.; Hayashi, T.; Sakai, M.; Myiaura, N. *Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5579. b) Hayashi, T.; Takahashi, M.; Takaya, Y.; Ogasawara, M.; *Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5052. c) Clarke, M. L.; Heydt, M. *Organometallics* **2005**, *24*, 6475. d) Chen, Q.; Lin, B.-L.; Fu, Y.; Liu, L.; Guo, Q.-X. *Res. Chem. Intermed.* **2005**, *31*, 759.

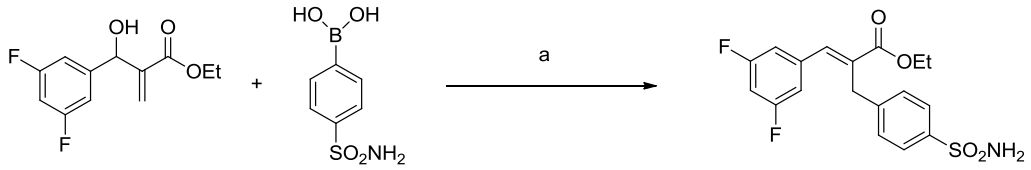
[74] a) Allen, D. W.; Taylor, B. F. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1982**, 51. b) Jeulin, S.; Duprat de Paule, S.; Ratovelomanana-Vidal, V.; Genet, J.-P.; Champion, N.; Dellis, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 320-325. c) Yoshida, K.; Hayashi, T. In *Rhodium-Catalysed Additions of Boronic Acids to Alkenes and Carbonyl Componds*; Dennis, G. H., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH & KGaA, Weinheim, **2005**; Charper 4. d) Korenaga, T.; Osaki, K.; Maenishi, R.; Sakai, T. *Organic Letters* **2009**, *11*, 2325-2328. e) Korenaga, T.; Maenishi, R.; Hayashi, K.; Sakai, T. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 3247-3254. f) Berhal, F.; Esseiva, O.; Martin, C.-H.; Tone, H.; Genet, J.-P.; Ayad, T.; Ratovelomanana-Vidal, V. *Organic Letters* **2011**, *13*, 2806-2809.

receber elétrons do carbânion arila na etapa de transmetalação. Já na etapa de inserção o metal deficiente de elétrons recebe densidade eletrônica da olefina tornando o carbono olefínico, β carbonílico, mais eletrofílico e, portanto, exposto ao ataque nucleofílico do grupamento arila *para*-substituído.

Assim, fizemos uma nova reação utilizando trifenilfosfina como ligante. Utilizamos nesse novo experimento 5mol% do catalisador e 10 mol% de PPh_3, como aditivo. Após 3 horas a 50 ºC, obtivemos o produto desejado em 26% de rendimento (entrada 6, tabela 4). Um outro experimento foi feito, no qual o tempo de reação variou de 3 para 8 horas e os demais parâmetros foram mantidos constantes. Nessa nova situação, obtivemos o produto de adição com um rendimento de 55% (entrada 7, tabela 4) O aumento do tempo de reação para 12 h não causou modificação significativa no rendimento (entrada 8, tabela 4).

O conjunto de resultados dessa otimização estão resumidos na tabela 4.

***Tabela 4**: Otimização das condições reacionais da reação de adição 1,4 catalisada por ródio: Reação com o aduto de MBH **12** e o ácido 4-aminosulfonil borônico.*



12 11b

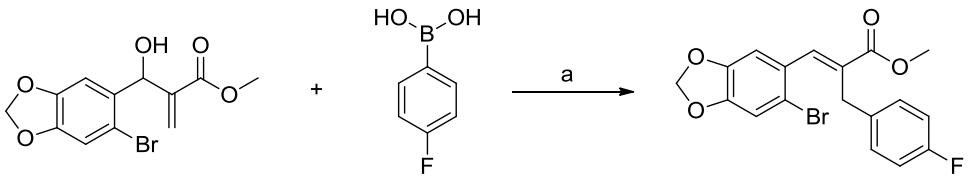
Entrada	12 (mmol)	Boronato[a]	$[Rh(cod)Cl]_2$ (mol%)	Solvente /aditivo	Tempo (h) e temperatura (^oC)	Rdt (%)
1	0,5	1,0	3,0	Metanol/ tolueno[b] s/ aditivo	8; refluxo	-
2	0,5	1,0	4,0	Metanol/ tolueno[b]/ s/aditivo	8; refluxo	-
3	0,5	1,0	3,0	Dioxano/ H_2O[c]/ s/ aditivo	8; refluxo	-
4	0,5	1,0	4,0	Dioxano/ H_2O[c]/ s/aditivo	8; refluxo	-
5	0,5	1,0	5,0	Dioxano/ H_2O[c] s/aditivo	8; refluxo	16
6	0,5	1,0	5,0	Dioxano/ H_2O/[c] PPh_3[d]	3; 50	26
7	0,5	1,0	5,0	Dioxano/ H_2O/[c] PPh_3[d]	8; 50	55
8	0,5	1,0	5,0	Dioxano/ H_2O/[c] PPh_3[d]	12; 50	53

[a] Ácido 4-metilsulfonil borônico; [b] Mistura de metanol:tolueno na proporção de 1:1; [c] Mistura dioxano:H_20, na proporção de 10:1; [d] Trifenilfosfina foi utilizada na concentração de 10mol%.

Para finalizar a etapa de preparação dos cinamatos α-substituídos, alteramos agora o aduto de Morita-Baylis-Hillman utilizado na reação. Assim, o aduto derivado do 6-bromopiperonal (**12a**) foi utilizado como substrato em uma reação de adição com o ácido 4-fluor borônico. Retomamos a condição reacional que utiliza a mistura de metanol e tolueno como solventes dessa reação para iniciarmos o processo de otimização. Nas primeiras reações utilizamos 3,0 e 4,0 mol% do catalisador. As reações foram executadas sob refluxo durante 8 horas. Nos dois casos não logramos sucesso, pois a reação não funcionou (entradas 1 e 2, tabela 5). Aumentamos então a quantidade de catalisador para 5,0 mol% e obtivemos, agora, o produto de adição com 33% de rendimento (entrada 3, tabela 5). Repetimos um outro experimento, mas mesmas condições, mas diminuímos a temperatura para 50 ºC e o tempo de aquecimento para 3h. Para nossa surpresa, a reação também funcionou, mas agora com um rendimento de 64% (entrada 4, tabela 5). Talvez a alta temperatura por longos períodos estivesse contribuindo com a degradação do produto de adição. Fizemos um outro experimento no qual a temperatura foi mantida a 50 ºC e aumentamos o tempo de aquecimento de 3 para 8h. Nessa condição observamos um discreto aumento do rendimento da reação, que saltou de 64 para 67% (entrada 5, tabela 5). Como esse aumento era muito discreto, decidimos finalizar a reação em um menor tempo possível e a condição empregando 3h de aquecimento a 50 ºC foi considerada como padrão.

Com esse resultado em mãos, decidimos testar a influência do uso de aditivos no rendimento dessa reação (ver discussão acima). Assim, adicionamos 1mol% de PPh_3 ao meio reacional (5mol% de catalisador, mistura metanol/tolueno, 3h a 50 ºC) (entrada 6, tabela 5). Obtivemos o produto de adição com 69% de rendimento. Aumentamos a quantidade de aditivo para 3, 5 e 10% e obtivemos o produto de adição em 72, 71 e 69% de rendimento, respectivamente (entradas 7, 8 e 9, respectivamente).

Tabela 5: *Otimização das condições reacionais da reação de adição 1,4 Catalisada por ródio: Reação com o aduto de MBH* ***12a*** *e o ácido 4-fluor fenilborônico*.



12a 11c

Entrada	12a (mmol)	Boronato[a]	$[Rh(cod)Cl]_2$ (mol%)	Solvente /aditivo	Tempo (h) e temperatura (^oC)	Rdt (%)
1	0,5	1,0	3,0	Metanol/ tolueno[b] s/ aditivo	8; refluxo	-
2	0,5	1,0	4,0	Metanol/ tolueno[b]/ s/aditivo	8; refluxo	-
3	0,5	1,0	5,0	Metanol/ Tolueno[b]/ s/aditivo	8; refluxo	33
4	0,5	1,0	5,0	Metanol/ Tolueno[b]/ s/aditivo	3; 50	64
5	0,5	1,0	5,0	Metanol/ Tolueno[b]/ s/aditivo	8; 50	67
6	0,5	1,0	5,0	Metanol/ Tolueno[b]/ PPh_3[c]	3; 50	69
7	0,5	1,0	5,0	Metanol/ Tolueno[b]/ PPh_3[d]	3; 50	71
8	0,5	1,0	5,0	Metanol/ Tolueno[b]/ PPh_3[e]	3; 50	72
9	0,5	1,0	5,0	Metanol/ Tolueno[b]/ PPh_3[f]	3; 50	69

[a] Ácido 4-fluor borônico; [b] Mistura de metanol:tolueno na proporção de 1:1; [c] Trifenilfosfina foi utilizada na concentração de 1mol%; [d] Trifenilfosfina foi utilizada na concentração de 3mol%; [e] Trifenilfosfina foi utilizada na concentração de 5mol%; [f] Trifenilfosfina foi utilizada na concentração de 10mol%.

Os cinamatos α-substituídos **11, 11a, 11b** e **11c** foram devidamente caracterizados através da análise dos seus espectros no IV, de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e massa de alta resolução. Devido a importância desses cinamatos na nossa estratégia sintética faremos algumas considerações dos dados espectroscópicos e espectrométricos para cada um deles.

Análise espectroscópica do cinamato α-substituído 11

No espectro na região do infravermelho (IV) observamos o desaparecimento da absorção em 3453 cm^{-1} referente ao álcool secundário. Observamos ainda o deslocamento do estiramento C=O de 1721 cm^{-1} para 1713 cm^{-1}, típico de uma carbonila em uma sistema α,β-insaturado. Observamos ainda um estiramento em 1619 cm^{-1}, atribuído a ligação dupla do cinamato. Finalmente, observamos também um estiramento C-F (Ar-F) em 1120 cm^{-1}.

No espectro de RMN de ^{1}H notamos um tripleto, com integração para três hidrogênios em 1,24 ppm, referente aos hidrogênios do grupo metila presente no éster etílico. Observamos ainda um singleto em 3,87 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, que foi atribuído ao CH_2 benzílico. Um quarteto em 4,21 ppm, também com integração para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios do grupo metilênico do ester etílico. Em 6,76 ppm, observamos um triplo tripleto com integração para um hidrogênio, atribuído ao acoplamento com os átomos de flúor no sistema

aromático. Observamos ainda um multipleto com integração para dois hidrogênios em 6,89-6,80 ppm, atribuído aos hidrogênios situados nas posições 2 e 6 do anel aromático dissubstituído. Na região dos hidrogênios aromáticos desse espectro, também observamos dois outros multipletos, com integração para dois hidrogênios cada um, sendo um na região entre 7,01-6,91 ppm e outro na região entre 7,16-7,07 ppm. Esses multipletos foram atribuídos aos acoplamentos do átomo de flúor presente do anel monossubstituído. Finalmente, observamos um singleto, em 7,77 ppm, com integração para um hidrogênio, atribuído ao hidrogênio olefínico. Esse sinal, na região onde aparece é uma forte evidência, segundo dados de literatura, para a estereoquímica de dupla ligação *E*.[75]

No espectro de RMN de ^{13}C observamos constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, em relação aos átomos de flúor, em 103,9 ppm (t, ^{2}J = 25,3 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,6 ppm (d, ^{2}J = 9,1 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,9 ppm (d, ^{2}J = 9,1 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 137,8 ppm (t, ^{4}J = 2,3 Hz, C-F, acoplamento em "W" com o carbono benzílico e olefínico), 138,4 ppm (t, ^{3}J = 9,5 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 162,8 ppm (dd, ^{1}J = 249,3 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,0 ppm (dd, ^{1}J = 249,3 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como constantes de acoplamento característica para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, em relação ao átomo de flúor, em 134,3 ppm (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F, carbono ocupando posição 1 no anel aromático monofluorado), 161,5

ppm (d, ^1J = 244,4 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático monofluorado), além do carbono carbonílico em 167,2 ppm.

No espectro de massas de alta resolução, utilizando a técnica de ionização por *electrospray*, o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{18}H_{16}F_3O_2$ é 321,1102 e o encontrado foi 321,1186.

Análise espectroscópica do cinamato α-substituído 11a

No espectro na região do infravermelho (IV) observamos absorção em 1708 cm^{-1} atribuída ao estiramento C=O da carbonila de um éster α,β-insaturado e uma outra em 1619 cm^{-1}, atribuída a ligação dupla. Há também absorções, em 1307 e 1150 cm^{-1}, atribuídas ao estiramento O=S=O e a absorção em 1120 cm^{-1} atribuída ao estiramento C-F (Ar-F). Observamos também o desaparecimento da absorção em 3453 cm^{-1}, atribuída ao estiramento do grupamento O-H do aduto de MBH.

No espectro de RMN de ^1H observamos um tripleto em 1,23 ppm, com integração proporcional para três hidrogênios, que foi atribuído ao grupo metila da função éster etílico. Observamos, ainda, um singleto em 3,03 ppm, com integração proporcional para três hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios do grupo metila ligado ao átomo de enxofre (grupamento sulfonilmetila). Notamos também um singleto, em 3,96 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, atribuído aos hidrogênios do grupo metilênico benzílico, adjacente ao sistema aromático monossubstituído. O espectro mostra também um absorção, na forma de um quarteto, centrado em 4,20 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios do grupo metilênico da função éster. Na região dos hidrogênios aromáticos, observamos um multipleto, com integração proporcional para três hidrogênios, na região entre 6,87-6,73 ppm. A

complexidade desses sinais é atribuída ao acoplamento desses hidrogênios com o átomo de flúor do anel dissubstituído. Ainda na região dos hidrogênios aromáticos, observamos a presença de um dupleto em 7,33 ppm, com constante de acoplamento (J=8,2Hz), com integração proporcional para dois hidrogênios. Esse padrão é característico de sistemas aromáticos 1,4-substituídos referente ao anel monossubstituído. Observamos ainda um multipleto na região entre 7,92-7,79 ppm, com integração para proporcional para três hidrogênios. Esse sinal foi atribuído aos outros hidrogênios do anel aromático 1,4-substituído, que se sobrepõem com o hidrogênio olefinico.

No espectro de RMN de ^{13}C observamos as constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, que acoplam com os átomos de flúor. Assim, observamos os seguintes sinais: 104,3 ppm (t, ^{2}J= 25,2 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,5 ppm (d, ^{2}J= 8,8 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,8 ppm (d, ^{2}J= 8,8 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 138,0 ppm (t, ^{3}J= 9,5 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 139,0 ppm (t, ^{4}J= 2,5 Hz, C-F, acoplamento em "W" com o carbono benzílico e olefínico), 162,9 ppm (dd, ^{1}J= 250,0 Hz e ^{3}J= 13,3 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,1 ppm (dd, ^{1}J= 249,5 Hz e ^{3}J= 12,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como um singleto referente ao carbono carbonílico em 166,8 ppm.

No espectro massas de alta resolução utilizando a ionização por impacto de *electrons* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{19}H_{18}F_2O_4S$ é 380,0894 e o encontrado é 380,0895. Esses dados são consistentes para a estrutura proposta para o cinamato **11a**.

Análise espectroscópica do cinamato α-substituído 11b

No espectro na região do infravermelho (IV) observamos absorções em 3373 cm^{-1} e 3264 cm^{-1}, atribuídas aos estiramentos NH_2 da função sulfonamida. Em 1707 cm^{-1} e 1619 cm^{-1} observamos bandas atribuídas aos estiramentos C=O e C=C, respectivamente. Observamos também as absorções em 1331 e 1156 cm^{-1}, que foram atribuídas ao estiramento O=S=O e uma a absorção em 1118 cm^{-1}, que foi atribuída ao estiramento C-F (Ar-F).

No espectro de RMN de ^{1}H notamos um tripleto em 1,22 ppm, com integração proporcional para três hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios do grupo metila da função éster; um singleto em 3,97 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios do grupo metilênico benzílico adjacente ao sistema aromático monossubstituído; um quarteto em 4,19 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, atribuído aos hidrogênios do grupo metilênico da função éster. Na região dos hidrogênios aromáticos, observamos um multipleto na região entre 7,03-6,87 ppm, com integração proporcional para três hidrogênios, que acoplam com os átomos de flúor do anel 1,3-dissubstituído. Observamos, ainda, nessa mesma região dois dupletos característicos de anéis aromáticos 1,4-substituídos. Um dos dupletos está centrado em 7,31 ppm, com constante de acoplamento (J= 8,3Hz) e o outro está centrado em 7,85 ppm, e apresenta constante de acoplamento (J= 6,4Hz). Os dois sinais foram atribuídos ao anel aromático monossubstituído. Finalmente, observamos um singleto em 7,81 ppm, com integração proporcional a um hidrogênio, referente a um hidrogênio olefínico, em uma ligação dupla com geometria *E*.

No espectro de RMN de ^{13}C observamos constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, que

interagem com os átomos de flúor: em 103,6 ppm (t, ^{2}J = 25,7 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,3 ppm (d, ^{2}J = 8,9 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,6 ppm (d, ^{2}J = 9,2 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 138,4 ppm (t, ^{4}J = 2,4 Hz, C-F, acoplamento em "W" com o carbono benzílico e olefínico), 162,9 ppm (dd, J = 248,0 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,1 ppm (dd, J = 248,1 Hz e ^{3}J = 12,9 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como um singleto referente ao carbono carbonílico em 167,2 ppm.

No espectro de massas de alta resolução, utilizando a técnica de ionização por *electrospray*, o íon molecular esperado correspondente à fórmula molecular $C_{18}H_{18}F_2NO_4S$ é 382,0925, o encontrado foi 382,0992.

Análise espectroscópica do cinamato α-substituído 11c

No espectro na região do infravermelho (IV) observamos o desaparecimento da absorção em 3427 cm^{-1}, atribuída ao estiramento do grupamento O-H do álcool secundário. Observamos também: uma absorção em 1713 cm^{-1} atribuída ao estiramento C=O da carbonila de um éster α,β-insaturado; uma outra absorção em 1631 cm^{-1} atribuída ao estiramento C=C; uma absorção em 1478 cm^{-1} atribuída ao estiramento $-CH_2-$ do grupo metilenodióxi e, finalmente, absorções em 1265 e 1039 cm^{-1} atribuídas aos estiramentos $-O-CH_2-O-$ (éter fenil alila).

No espectro de RMN de ^{1}H notamos um singleto, em 3,75 ppm, com integração proporcional para cinco hidrogênios, atribuídos aos três hidrogênios do grupo metila e aos dois hidrogênios benzílicos do anel monossubstituído; um singleto em 5,96 ppm, com integração proporcional

para dois hidrogênios, atribuído aos hidrogênios do grupo metilenodióxi; um singleto em 6,70 ppm, com integração proporcional para um hidrogênio, e que foi atribuído ao hidrogênio na posição 2 do anel benzênico do grupamento piperonila. Observamos também um multipleto na região entre 7,00-6,90 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios em posição *orto* ao átomo de flúor no sistema aromático. Ainda na região dos hidrogênios aromáticos observamos um outro multipleto, na região entre 7,13-7,04 ppm, com integração proporcional para três hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios em posição *meta* ao átomo de flúor do anel monossubstituído e ao hidrogênio na posição 5 do anel benzênico do grupamento piperonila. Ainda nessa região, encontramos um singleto, que foi atribuído ao hidrogênio olefínico.

No espectro de RMN de ^{13}C observamos um singleto em 32,3 ppm, referente ao carbono benzílico do sistema aromático monossubstituído, um singleto em 102,0 ppm, referente ao carbono metilenodióxi, um singleto em 115,6 ppm, referente ao carbono benzênico ligado ao átomo de bromo. Observam-se também constantes de acoplamento características para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, referentes ao átomo de flúor, em 134,7 ppm (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático fluorado), 159,4 ppm (d, ^{1}J = 243,9 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático fluorado), além do carbono carbonílico em 167,2 ppm.

No espectro de massa de alta resolução utilizando a ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{18}H_{15}BrFO_4$ é 393,0138 e o encontrado foi 393,0175.

Todos os dados espectroscópicos são compatíveis com as estruturas propostas. De maneira geral, os cinamatos α-substituídos foram obtidos com

bons rendimentos, com exceção da reação para inserção do resíduo 4-sulfonilaminofenila. Para esse caso particular não conseguimos ultrapassar o rendimento de 53%. As condições reacionais utilizadas em nossas reações são menos brandas do que aquelas relatadas por Navarre e colaboradores.[70]

6.2. Racionalização e determinação da configuração da dupla ligação dos cinamatos α-substituídos

Um fato importante observado nos espectros de *RMN ^1H* dos derivados cinâmicos foi surgimento de um sinal, na forma de um singleto, variando de 6,8 a 7,1 ppm. Essa região é característica para prótons olefínicos em duplas ligações conjugdas com geometria *E*. Para todos os casos, não observamos nenhum outro sinal na região entre 6,6-6,8 ppm que poderia ser atribuído a um hidrogênio olefínico em dupla ligação com configuração *Z*. Aparentemente, baseado nos dados de RMN de ^{1}H, a estereosseletividade da reação de adição 1,4-mediada por ródio foi muito elevada ($\geq$ 98).[76] Concomitante a essa geometria da dupla *E*, foi o surgimento de um singleto característico com integração para um hidrogênio, atribuído ao hidrogênio olefínico, em deslocamentos acima de 6,66 ppm para tais compostos. Tal fato pode ser justificado através de cálculos teóricos, de acordo com a fórmula que consta no apêndice D "Deslocamentos Químicos em Sistemas Insaturados e Aromáticos" Tabela D.1.[75] Essa informação foi confirmada em um estudo realizado por Genet e colaboradores,[70] e outros[76], utilizando adutos de Morita-Baylis-Hillman como substrato para reações de adição 1,4 catalisadas por

[75] a) Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle, D.J. *SPECTROMETRIC IDENTIFICATION OF ORGANIC COMPOUNDS*. 7ªEd. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. **2005**. b) Pavia, D.L.; Lampman, G.M.; Kriz, G.S. *INTRODUCTION TO SPECTROSCOPY*. 3ªEd. Kentucky: Thomson Learning™, **2001**.

[76] a)Kabalka, G. W.; Venkataiah, B.; Dong, G. *Organic Letters* **2003**, *21*, 3803-3805. b) Basavaiah, D.; Sarma, P. K. S.; Bhavani, A. K. D.; *Chem. Commun.* **1994**, 1091. c) Basavaiah, D.; Pandiaraju, S.; Padmaja, K. *Synlett* **1996**, 393. d) Basavaiah, D.; Krishnamacharyulu, M.; Suguna, H. R.; Pandiaraju, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2141.

ródio. Esses descrevem, sempre, uma relação superior a 95 em favor da estereoquimica de dupla ligação *E*, o que nos nossos casos foi confirmado pelos deslocamentos químicos dos hidrogênios olefínicos.

Em relação à razão isomérica *E/Z*, com formação predominante do alqueno trissubstituído com estereoquímica *E*, uma racionalização proposta por Gendrineau e colaboradores[77] demonstrou que fatores eletrônicos não interferem na seletividade mas, os fatores estéreos são extremamente relevantes. Utilizando o aduto **12**, como exemplo, poderíamos, então, observar que a estereosseletividade seria independente da configuração do grupo hidroxila, já que uma mistura racêmica para o estereocentro seria usada, sendo assim, uma vez ocorrida a transmetalação, quatro complexos poderiam ser formados (figura 15). Assumindo que a hidroxila toma parte na complexação, observaríamos um impedimento estéreo entre R^2 e GRE tornando os complexos *Re,R* e *Si,S* improváveis de ocorrerem, inviabilizando, desta forma, a formação com estereoquímica *Z*. Por outro lado, os complexos *Re,S* e *Si,R* seriam favorecidos e gerariam os alquenos trissubstituídos com estereoquímica *E*, com elevada preferência.

[77] Gendrineau, T.; Demoulin, N.; Navarre, L.; Genet, J-P.; Darses, S. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 4710-4715.

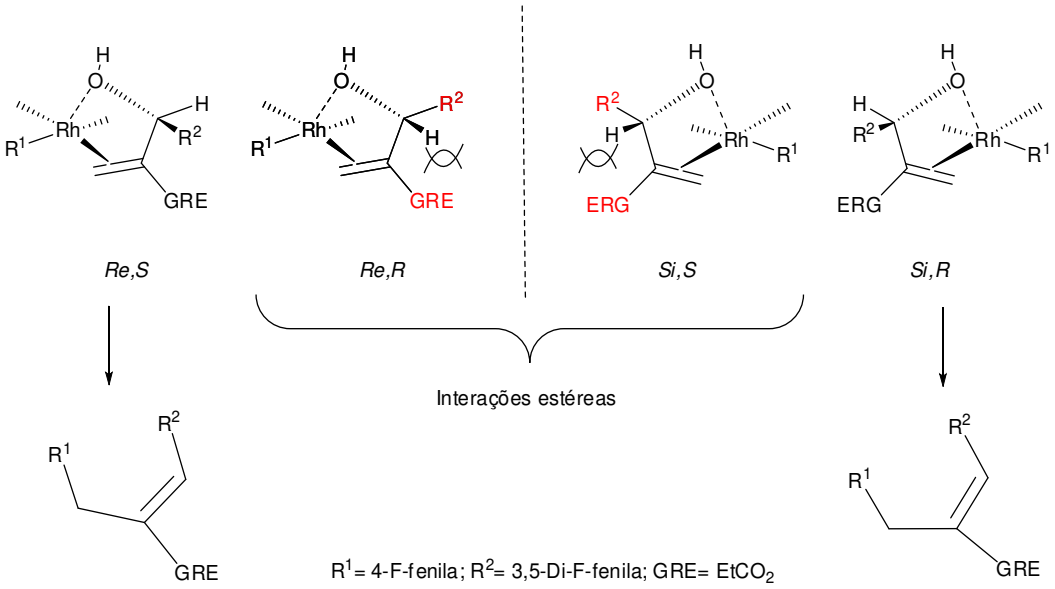


*Figura 15: Comprovação da prioridade estereoquímica **E** da dupla*

6.3. Confirmação da estereoquímica *E*

Como dito na etapa de discussão da estratégia retrossintética desse trabalho, a configuração da dupla ligação dos cinamatos é importante para a etapa de ciclização intramolecular, que vai levar às ciclopentenonas. A metodologia de adição mediada por ródio forneceu, aparentemente, um excelente controle da estereoquímica da dupla ligação. Com a intenção de confirmar esse controle, os cinamatos foram submetidos a um estudo de NOE diferencial. Apresentamos aqui os dados obtidos com o cinamato **11**, que é representativo para todos os demais cinamatos α-substituídos sintetizados (figura 16). Nestes estudos, o hidrogênio olefínico do cinamato **11**, que aparece em 7,77ppm, foi irradiado. Essa irradiação transfere polarização para os hidrogênios próximos que estão do mesmo lado do hidrogênio irradiado. Na configuração *Z,* o CH_2 benzílico deveria ficar do mesmo lado do hidrogênio olefínico. Assim, a irradiação desse último hidrogênio deveria mostrar um incremento na absorção dos prótons benzílicos. Ao contrário, se a

configuração da dupla for *E*, a irradiação do hidrogênio olefínico não deve causar nenhum incremento nos hidrogênios benzílicos, pois esses se encontram em lados opostos.[75,67,76] No experimento realizado com o cinamato **11**, não detectamos qualquer alteração nos demais hidrogênios da molécula, o que comprova, sem ambuiguidades, que o CH_2 benzilico está do lado contrário ao hidrogênio olefínico, arranjo possível somente com a geometria *E* (figura 16).[75]

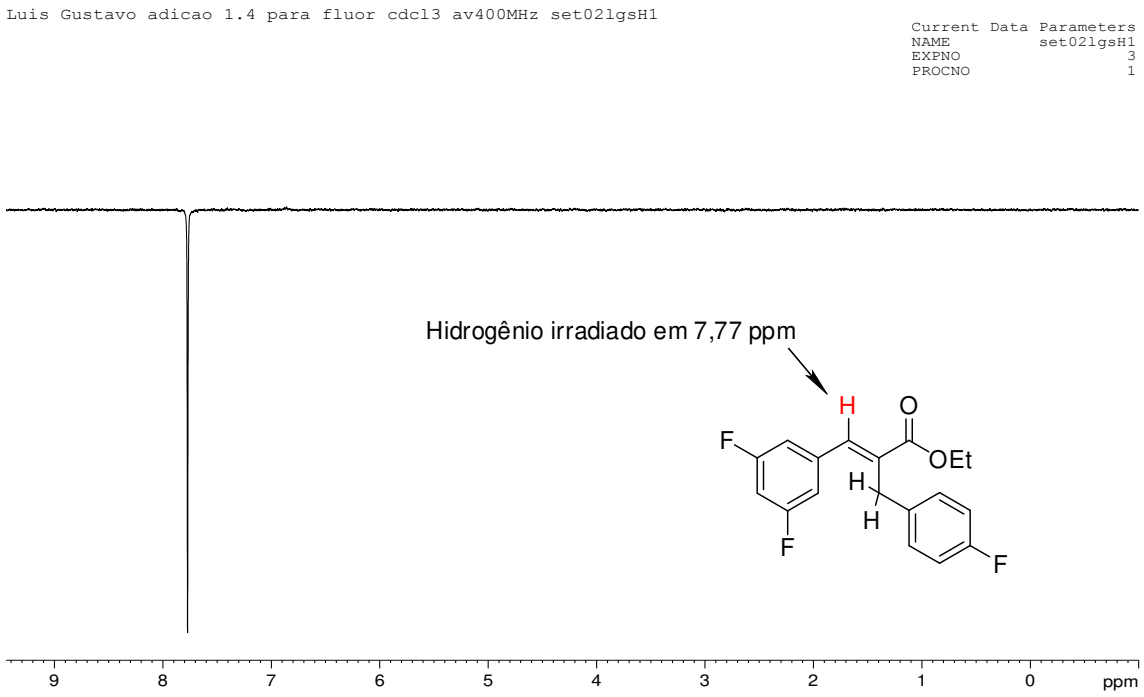
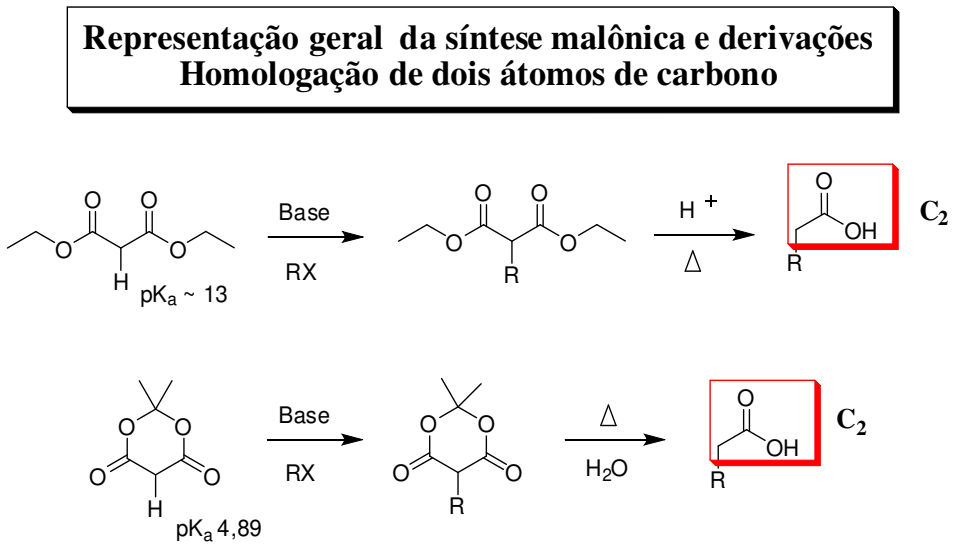


Figura 16: Espectro de NOE diferencial do produto da reação de Adição ***(11)***

6.4. Homologação dos dois átomos de carbono. Alquilação de derivados malonato para a etapa de ciclização intramolecular

Para a próxima etapa do trabalho era necessário homologar os dois átomos de carbono que faltavam para completar o anel de cinco membros presente nas nossas moléculas-alvo.

Para fazermos essa etapa, pensamos lançar mão das metodologias clássicas de homologação de dois átomos de carbono, baseadas na alquilação e descarboxilação de malonatos.[78,86,92] Essas metodologias nos permitem inserir dois átomos de carbono e como utilizamos um malonato, um desses átomos é funcionalizado (esquema 20).



Esquema 20: Homologação de dois átomos de carbono

[78] a) Fukuyama, Y.; Hirono, M.; Komada, M. Chem. Lett. **1992**, 167-170; b) Takaya, Y.; Kikuchi, H.; Terui, Y.; Komiya, J.; Furukawa, K. –I.; Seya, K.; Motomura, S.; Ito, A.; Oshima, Y. J. Org. Chem. **2000**, *65*, 985-989. c) Wu, Z.; Minhas, G. S.; Wen, D.; Jiang, H.; Chen, K.; Zimniak, P.; Zheng, J. J. Chem. Med. **2004**, *47*, 3282-3294.

No nosso caso em particular, isso seria muito conveniente, já que um ácido terminal, oriundo da hidrólise do malonato, poderia ser utilizado na etapa de alquilação de Friedel-Crafts intramolecular.

Para utilizar essa metodologia seria necessário transformar os nossos cinamatos α-substituídos em bons agentes de alquilacão (haletos ou tosilatos/mesilatos alílicos). Embora essa metodologia apresente algumas desvantagens, tais como, possibilidade de di-alquilação, obtenção de ácidos carboxílicos, ela é muito simples de ser executada.

Uma alternativa a síntese malônica clássica é o uso de ácido de Meldrum.[79] Esse ácido cíclico, preparado em uma reação ácido catalisada entre o ácido malônico e acetona, permite um bom controle na etapa de mono-alquilação. Esse intermediário também sofre descarboxilação térmica conduzindo ao mesmo produto de homologação obtido quando o uso do malonato. O ácido de Meldrum tem é um valor de pka (4,89) que é menor do quer o do malonato (pka~13) em oito unidades. Essa elevada acidez está relacionada, segundo Ohwada,[79b] ao fato de que na conformação mais estável do ácido de Meldrum, os orbitais dos prótons α C-Hσ tem uma geometria adequada para alinhar com o orbital anti-ligante da carbonila ($\pi^*_{C=O}$). Isso contribui para que no estado fundamental ocorra uma forte e incomum desestabilização da ligação C-H. Adicionalmente, a uso do ácido de Meldrum poderia contribuir para facilitar a etapa de descarboxilação.

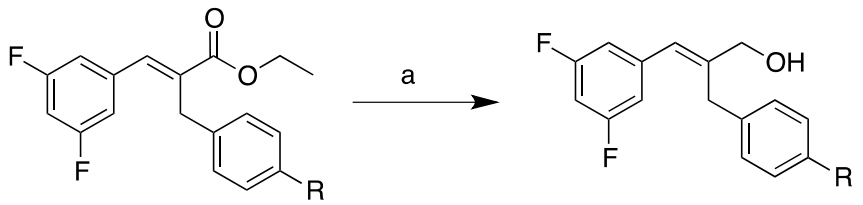
Apesar das vantagens do uso do ácido de Meldrum, decidimos iniciar os nossos testes, com a síntese malônica clássica.

[79] a) Meldum, A. N. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1908**, *93*, 598-601; b) Nakamura, S.; Hirao, H.; Ohwada, T. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4309-4316; c) Dumas, A. M.; Fillion, E. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *43*, 440-454; d) Lipson, V. V.; Gorobets, N. Y. *Mol. Divers.* **2009**, *13*, 399-419; Oikawa, Y.; Sugano, K.; Yonemitsu, O. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2087-2088.

Inicialmente, os cinamatos α-substituídos foram transformados nos correspondentes álcoois alílicos através de uma reação de redução quimiosseletiva da carbonila do éster α,β-insaturado.

6.5. Reação de Redução de Ésteres α,β-Insaturados a Álcoois Alílicos

Assim, os cinamatos foram tratados com excesso de DIBAL-H (hidreto de diisobutilalumínio). Tal redutor também pode fornecer o produto de redução parcial de ésteres, ou seja, o aldeído correspondente. Para a nossa reação, utilizamos um excesso do redutor já que pretendíamos preparar o álcool alílico. Após o término das reações, adicionou-se ao meio reacional, uma solução saturada de NaOAc para eliminar os traços de DIBAL-H que poderiam estar presentes no meio reacional e, posteriormente, foi adicionada solução saturada de NH_4Cl a fim de acidificar o meio e garantir a protonação do alcóxido, levando ao produto final (esquema 21).



11, R = F;
11a, R= SO_2CH_3
11b, R= SO_2NH_2

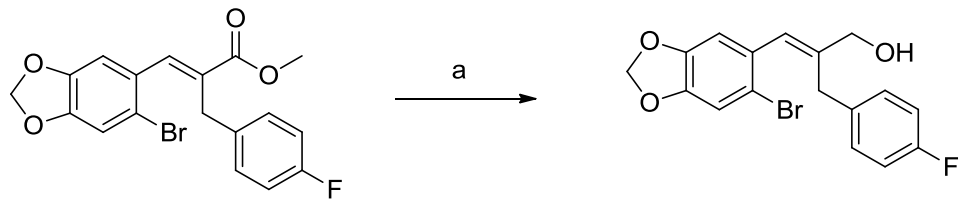
10, R = F;
10a, R= SO_2CH_3
10b, R= SO_2NH_2

Reagentes e condições: a) DIBAL-H; CH_2Cl_2; -78 °C; 1h, R = F, 90%; 1,5h, R = SO_2CH_3, 67%; 5h, R= SO_2NH_2, 70%.

Esquema 21: Reação de Redução de Ésteres α,β-Insaturados a Alcoois Alílicos

Para todos os casos obtivemos os álcoois alílicos com bons rendimentos e em tempos reacionais curtos.

Para finalizar, essa sequência, o cinamato α-substituído **11c** foi tratado nas mesmas condições para fornecer o álcool alílico **10c**, em 87% de rendimento (esquema 22).



11c 10c

Reagentes e condições: a) DIBAL-H; CH_2Cl_2; -78 °C; 1,5h; 87%.

Esquema 22: Reação de Redução de Ésteres α,β-Insaturados a Alcoois Alílicos

Os alcoóis alílicos **10, 10a, 10b** e **10c** foram devidamente caracterizados pelas análises dos seus espectros na região do infravermelho (IV), de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e massa de alta resolução.

Vamos discutir brevemente os dados espectroscópicos de apenas 2 dos quatro álcoois alílicos sintetizados nesse trabalho, ou seja, os álcoois alílicos **10** e **10c**.

No espectro na região do infravermelho do álcool alílico **10** observamos o aparecimento da absorção em 3406 cm^{-1}, atribuída ao estiramento do grupamento O-H do álcool alílico, bem como o desaparecimento da absorção intensa em 1713 cm^{-1}, atribuída ao grupamento carbonila do éster. Em 1620 cm^{-1} temos uma outra absorção que foi atribuída ao estiramento C=C da

ligação dupla. Observamos também uma absorção em 1117 cm^{-1}, que foi atribuída ao estiramento C-F (Ar-F).

No espectro de RMN de ^{1}H de **10** podemos observar um singleto em 3,61 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios benzílicos adjacentes ao sistema aromático monossubstituído; um dupleto em 4,10 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, atribuído aos hidrogênios carbinólicos. Na região dos hidrogênios aromáticos, observamos dois multipletos, um na região entre 6,76-6,62 ppm e outro na região 6,85-6,77 ppm, ambos proporcionais a dois hidrogênios cada. O primeiro dupleto foi atribuído ao hidrogênio em posição 4 do sistema aromático dissubstituído e ao hidrogênio olefínico e o segundo foi atribuído aos hidrogênio nas posições 2 e 6 do sistema aromático dissubstituído. Observamos também dois multipletos, um na região entre 7,04-6,90 ppm e outro na região entre 7,17-7,04 ppm, ambos com integração proporcional para dois hidrogênios cada um, sendo devidos ao acoplamento com o átomo de flúor do anel *para* substituído.

No espectro de RMN de ^{13}C do álcool alílico **10** observamos o desaparecimento das absorções em 14,0 ppm e em 61,2 ppm, referentes aos carbonos da função éster etílico ($\underline{C}H_3$ e $CH_3\underline{C}H_2OCO$, respectivamente) e da absorção em 167,2 ppm, referente ao carbono carbonílico e surgimento de um singleto em 65,2 ppm, referente ao carbono carbinólico. Há constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, relativas aos átomos de flúor, em 102,3 ppm (t, ^{2}J = 25,6 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,1 ppm (d, ^{2}J = 8,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,4 ppm (d, ^{2}J = 8,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 124,8 ppm (t, ^{4}J = 2,5 Hz, C-F, acoplamento em

"W" com o carbono benzílico e olefínico), 140,2 ppm (t, ^{3}J = 9,6 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 162,8 ppm (dd, ^{1}J = 248,2 Hz e ^{3}J = 13,0 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,0 ppm (dd, ^{1}J = 248,2 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como constantes de acoplamento características para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, referentes ao átomo de flúor, em 133,8 ppm (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F, carbono ocupando posição 1 no anel aromático monofluorado), 161,5 ppm (d, ^{1}J = 244,7 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático monofluorado).

No espectro de massas de alta resolução utilizando ionização por *electrospray* o íon esperado para a fómula molecular $C_{16}H_{12}F_3$ é 261,0891 e o encontrado foi 261,0865.

A análise do espectro na região do infravermelho do álcool alílico **10c** mostrou o aparecimento de uma absorção intensa em 3397 cm^{-1}, atribuída ao estiramento do grupamento O-H do álcool alílico. Observamos a absorção em 1601 cm^{-1} atribuída ao estiramento C=C da ligação dupla e uma absorção em 1475 cm^{-1} atribuída ao estiramento $-CH_2-$ do grupamento metilenodióxi e absorções em 1265 e 1038 cm^{-1} atribuídas aos estiramentos $-O-CH_2-O-$ (éter fenil alil). Finalmente, observamos o desaparecimento da absorção em 1713 cm^{-1}, atribuída ao estiramento C=O do grupamento carbonila da função éster.

A análise do espectro de RMN de ^{1}H de **10c** mostrou um singleto em 3,50 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, atribuído aos hidrogênios benzílicos adjacentes ao sistema aromático monossubstituído, observamos também um outro singleto em 4,10 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios carbinólicos. A presença do grupamento metilenodioxi foi caracterizado pelo

singleto em 5,95 ppm apresentando uma integração proporcional para dois hidrogênios. Na região dos hidrogênios aromáticos observamos um singleto em 6,59 ppm, com integração proporcional para um hidrogênio e outro singleto em 6,73 ppm, também com integração proporcional para um hidrogênio, que foram atribuídos aos hidrogênios nas posições 2 e 5 do anel benzênico do grupamento piperonila, respectivamente. Existe ainda um multipleto na região entre 7,00-6,90 ppm, com integração para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios *orto* ao átomo de flúor no sistema aromático. Um outro multipleto na região entre 7,12-7,04 ppm, com integração proporcional para três hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios em posição *meta* ao átomo de flúor do anel monossubstituído e ao hidrogênio olefínico.

No espectro de RMN de ^{13}C de **10c** observamos um singleto em 33,6 ppm, que foi atribuído ao carbono benzílico do sistema aromático monossubstituído, um singleto em 65,5 ppm, referente ao carbono carbinólico, um singleto em 101,7 ppm, referente ao carbono metilenodióxi, um singleto em 114,9 ppm, referente ao carbono benzênico ligado ao átomo de bromo. Há constantes de acoplamento características para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, com o átomo de flúor, em 134,3 ppm (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático fluorado), 159,5 ppm (d, ^{1}J = 244,3 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático fluorado). Observamos também o desaparecimento do carbono carbonílico em 167,2 ppm.

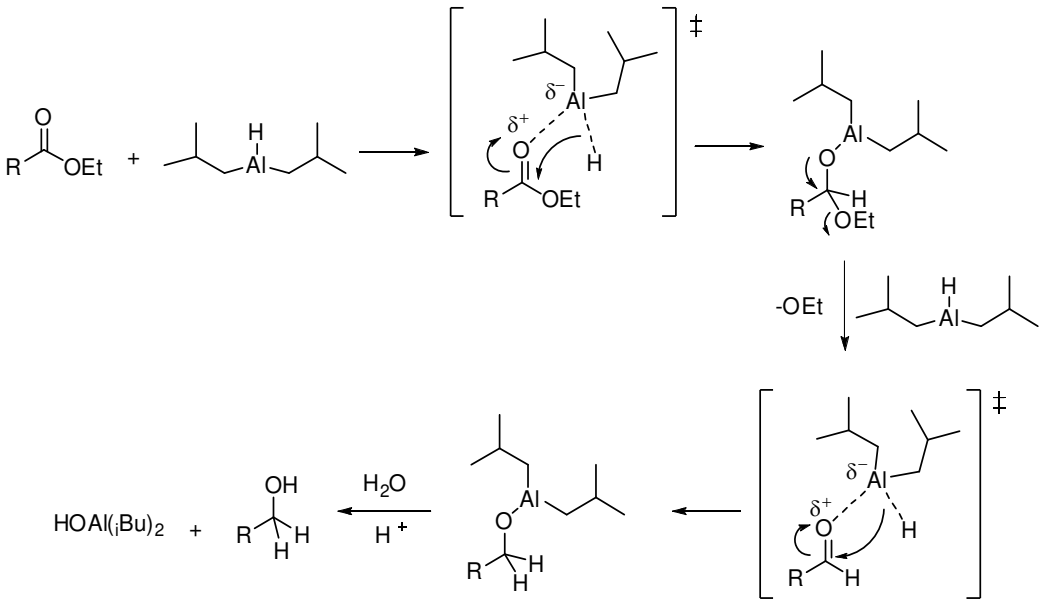
No espectro de massas de alta resolução de **10c** utilizando a técnica de ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{17}H_{14}BrFO_3$ é 364,0110 e o encontrado foi 364,0125.

A análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos demais álcoois alílicos confirma a identidade de cada um deles, que está de acordo com o esperado.

6.5.1. Mecanismo da Reação de Redução de Ésteres α,β-Insaturados a Álcoois Alílicos

O mecanismo mais aceito para essa reação prevê primeiramente uma complexação do tipo ácido-base do metal (alumínio) com o oxigênio da carbonila, de forma a diminuir a energia do orbital π^* (LUMO) da carbonila, aproximando-o em energia ao orbital HOMO do reagente doador de hidreto e promovendo a redução. Essa complexação não só aproxima a ligação Al-H do carbono carbonílico eletrofílico, mas também torna a própria ligação mais susceptível a realizar um ataque nucleofílico, favorecendo o ataque do par de elétrons dessa ligação ao carbono carbonílico.[80] Algumas discussões na literatura mostram que esse ataque acontece com o par de életrons da ligação σAl-H segundo um ângulo de 105° ± 5°, proposto por Bürgi-Dunitz,[81] e não com a espécie hidreto efetivamente carregada. A discussão é baseada no fato de que esses ângulos obtusos são ótimos para promover a sobreposição do orbital σ (HOMO) do nucleófilo com os orbitais π^* da carbonila, além de minimizar a repulsão estérea entre os mesmos orbitais do nucleófilo e os orbitais preenchidos com elétrons π (HOMO) da carbonila (esquema 23).

[80] a) Brzezinski, L.; Levy, D.; Leahy, J. W. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7601; b) Scheuplein, S.; Kusche, A.; Brückner, R.; Harms, K. *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 917; c) Byun, H.; Reddy, K.; Bittman, R. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1371; d) Maguire, R.; Mulzer, J.; Bats, J.; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6936; e) Maguire, R.; Mulzer, J.; Bats, J.; *Tetrahedron Lett.,* **1996**, *37*, 5487; f) Winterfeldt, E. *Synthesis* **1975**, 617.
[81] Bürgi, H.; Dunitz, J.; Lehn, J.; Wipff , G.; *Tetrahedron*; **1974**, *30(12)*, 1563–1572.

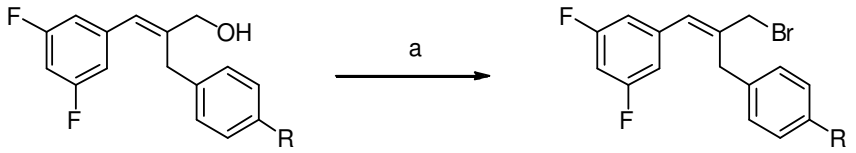


Esquema 23: Mecanismo da Reação de Redução de Ésteres α,β-insaturados a Álcoois Alílicos

Em posse dos álcoois alílicos, a próxima etapa seria uma reação para preparar o agente alquilante. Optamos por preparar os brometos correspondentes, a partir de uma reação de nucleofílica substituição direta sobre os álcoois alílicos. O brometo alílico pôde ser obtido através de uma reação de substituição nucleofílica de 2ª ordem (S_N2), utilizando a mistura PPh_3 e CBr_4 (esquema 24).[82]

Assim, uma solução de um determinado álcool alílico foi tratada com a mistura CBr_4/PPh_3, a 0 ºC, por um período que variou de 2 a 4,5 horas, para fornecer os brometos alílicos em elevados rendimentos. Durante o desenvolvimento da reação a temperatura foi elevada até a temperatura ambiente. Nenhuma outra reação paralela foi observada com o uso dessa metodologia.

[82] Appel, R. *Angew. Chem. Int. Ed*. **1975**, *14*, 801-811.



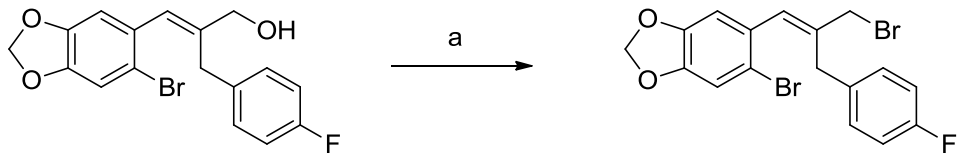
10, R = F;
10a, R = SO_2CH_3;
10b, R = SO_2NH_2

9, R = F;
9a, R = SO_2CH_3;
9b, R = SO_2NH_2

Reagentes e condições: a) CBr_4; PPh_3; CH_2Cl_2; 0°C - t.a.; R = F, 2h, 97%; R= SO_2CH_3, 2h, 90%; R = SO_2NH_2, 4,5h, 96%.

Esquema 24: Reação de Bromação

O mesmo procedimento experimental foi repetido tendo o álcool alílico **10c** como substrato. Essa reação forneceu o brometo alílico **9c**, com excelente rendimento, após 3 horas de reação.



10c 9c

Reagentes e condições: a) CBr_4; PPh_3; CH_2Cl_2; 0°C - t.a.; 3h; 81%.

Esquema 25: Reação de Bromação

Os brometos alílicos **9, 9a, 9b** e **9c** foram devidamente caracterizados pelas análises dos seus espectros no IV, de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e massas de alta resolução. As análises de todos os álcoois alílicos são compatíveis com a estrutura esperada para cada um deles.

Por exemplo, em um espectro típico na região do infravermelho de um desses brometos alílicos (**9**), observamos uma absorção em 1626 cm^{-1}, atribuída ao estiramento da dupla ligação conjugada com o anel aromático. Observamos ainda sinais entre 3100-2859 cm^{-1} atribuídos aos estiramentos de ligações simples (Csp^3 e Csp^3-Csp^2). Observamos ainda o estiramento de C-F (Ar-F) em 1117 cm^{-1} e o desaparecimento da absorção em 3406 cm^{-1}, atribuída ao estiramento O-H, referente ao álcool alílico.

No espectro de RMN de ^1H de **9** observamos um singleto em 3,78 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênio do metileno ligado ao átomo de bromo. Observamos, ainda, um outro singleto em 3,96 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios benzílicos (que também são alílicos). Na reagião dos hidrogênios aromáticos observamos um multipleto em 6,90-6,66 ppm, com integração proporcional para quatro hidrogênios, referente aos três hidrogênios do sistema aromático dissubstituído e ao hidrogênio olefínico e observam-se dois multipletos, com integração para dois hidrogênios cada um, sendo um em 7,07-6,93 ppm e outro em 7,20-7,07 ppm, devido ao acoplamento dos mesmos com o átomo de flúor do anel monossubstituído.

No espectro de RMN de ^{13}C do produto **9** observamos constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, concernentes aos átomos de flúor, em 103,0 ppm (t, ^2J = 25,4 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,3 ppm (d, ^2J = 8,6 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,6 ppm (d, ^2J = 8,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 129,4 ppm (t, ^4J = 2,5 Hz, C-F, acoplamento em "W" com o carbono benzílico e olefínico), 139,3 ppm (t, ^3J = 9,6 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 162,8 ppm (dd, ^1J

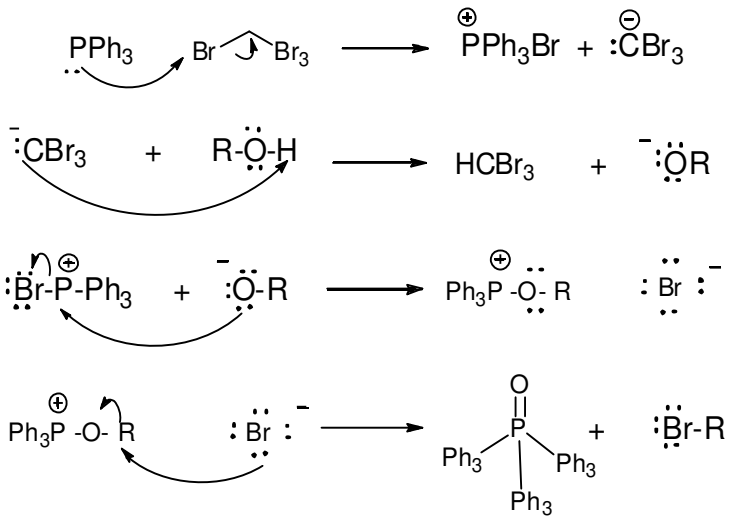
= 249,1 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,0 ppm (dd, ^{1}J = 248,4 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como constantes de acoplamento característica para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, concernente ao átomo de flúor, em 133,2 ppm (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F, carbono ocupando posição 1 no anel aromático monofluorado), 161,7 ppm (d, ^{1}J = 245,0 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático monofluorado).

No espectro de massa de alta resolução utilização a ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{16}H_{12}F_3BrLi$ é 347,0234 e o encontrado foi 347,0095.

Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos ds demais brometos alílicos preparados utilizando a mesma reação é compatível com as estruturas propostas. Os detalhes para cada um dos brometos sintetizados são apresentados na parte experimental desse trabalho.

6.6. Mecanismo da Reação de Bromação a Álcoois Primários

No esquema 26, apresentamos o mecanismo proposto para a reação de substituição. Forma-se primeiramente um par iônico. O ânion CBr_3^- captura um próton do álcool alílico originando o alcóxido e o bromofórmio. O ataque nucleofílico desse alcóxido sobre o fósforo, pertencente ao par iônico, propicia a formação de uma espécie na qual a hidroxila foi ativada, se transformando, por conseguinte, em um bom grupo de saída, liberando brometo. Este último, através de uma reação de substituição nucleofílica de segunda ordem (S_N2) leva à formação do brometo alílico.[82]



Esquema 26: Mecanismo para a Reação de Bromação a Álcoois Primários

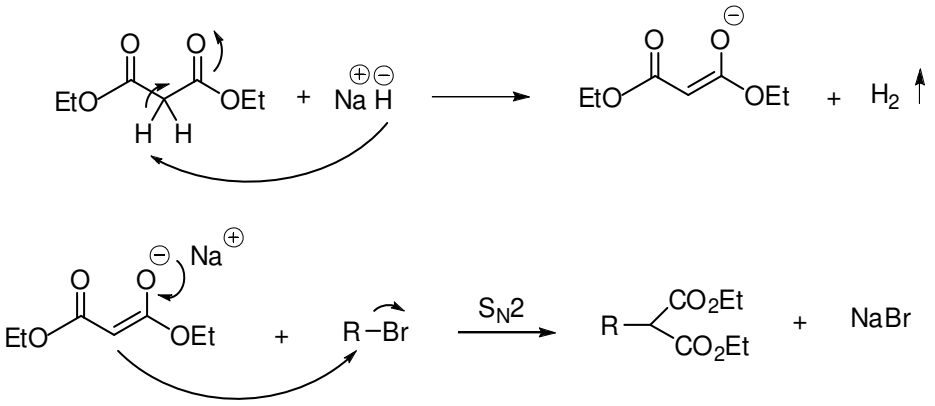
6.7. Reação de Alquilação a Brometo Primário

Geuther, em 1863, foi o primeiro investigador a realizar a C-alquilação de um enolato derivado de um composto metilênico ativo (metileno com dois grupos retiradores de elétrons unidos a ele). No seu experimento original, ele desprotonou o aceto acetato de etila e reagiu o enolato de sódio resultante com iodeto de etila, isolando, posteriormente, o α-etil aceto acetato de etila.[83] Passado mais de uma década, J. Wislicenus investigou a reação entre os enolatos sódicos dos ésteres de malonato e haletos de alquila primários e secundários, observando que os haletos de alquila primários reagiam mais rápido que os secundários.[84] As características gerais desta reação são: 1) O pK_a do grupo metilênico está entre 9-13, assim bases relativamente fracas são suficientes para gerar o enolato reativo; 2) o solvente utilizado pode ser tanto prótico quanto aprótico, podendo este último ser polar ou apolar; 3) a reação é

[83] Geuther. Jahresber. Schweiz. *Akad. Med. Wiss.* **1863**, *16*, 324.
[84] a) Wislicenus, J. *Liebgs Ann. Chem.* **1877**, *186*, 161-228. b) Wislicenus, J. *Liebgs Ann. Chem.* **1882**, *212*, 239-250.

bimolecular (S_N2) tanto para haletos primários quanto para secundários.[85] No esquema 27, a seguir, mostramos um resumo da proposta mecanistica aceita para essa reação.

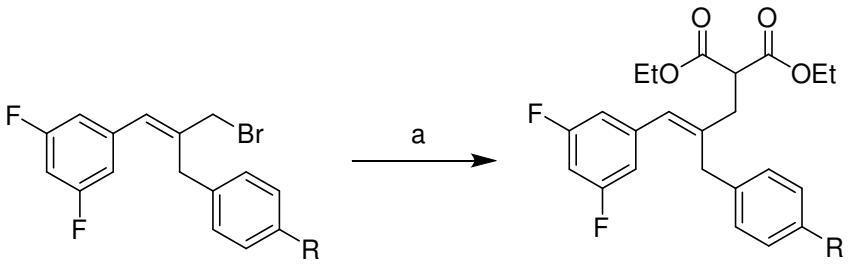
6.7.1. Mecanismo da Reação de Alquilação a Brometo Primário



Esquema 27: Mecanismo da Reação de Alquilação a Brometo Primário

Como dito anteriormente, iniciamos os nossos ensaios visando a homologação dos dois átomos de carbono, utilizando a síntese malônica clássica. Assim, adicionamos a uma suspensão de NaH em THF anidro, a 0 °C, o malonato de etila. Após alguns minutos, adicionamos o brometo. Após 1h foi possível obter o produto alquilado com bons rendimentos. Nas primeiras reações observamos ainda a presença de uma quantidade de malonato (utilizado em excesso). Esse problema foi contornado diminuindo consideravelmente (1,1 equivalentes) a quantidade de malonato no meio reacional (esquema 28).

[85] Cope, A. C.; Holmes, H. L.; House, H. O. *Org. React.* **1957**, 107-331.



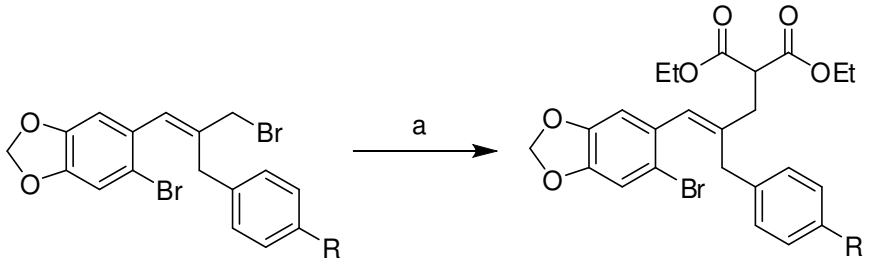
9, R = F;
9a, R= SO_2CH_3
9b, R= SO_2NH_2

8, R = F;
8a, R= SO_2CH_3
8b, R= SO_2NH_2

Reagentes e condições: a) NaH; THF; malonato de etila; 0 °C – t.a.; 1h, R = F, 76%; 2h, R = SO_2CH_3, 70%; 3h, R = SO_2NH_2, 72%.

Esquema 28: Reação de Alquilação

Além os brometos **9**, **9a** e **9b**, também fizemos essa reação com o brometo **9c**. A reação de alquilação com esse último forneceu o produto de alquilação, com um rendimento de 83%, após 3,5 h de reação.



9c, R = F

8c, R = F

Reagentes e condições: a) NaH; THF; malonato de etila; 0°C – t.a.; 3,5h, 83%.

Esquema 29: Reação de Alquilação

Os diésteres **8, 8a, 8b** e **8c** foram devidamente caracterizados pelas análises dos seus espectros no IV, de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e massa de alta resolução.

Tipicamente, esses ésteres mostram no espectro na região do infravermelho (IV) observamos absorções em 1732 e 1749 cm^{-1}, atribuídas aos estiramentos de C=O correspondentes às carbonílas do diéster, bem como o estiramento de C=C em 1619 cm^{-1} correspondente á ligação dupla, além dos estiramentos de C-O em 1223 e 1095 cm^{-1} correspondentes aos carbonos da função éster e o estiramento de C-F (Ar-F) em 1118 cm^{-1}.

Os espectros de RMN ^{1}H apresentam várias características semelhantes. Assim, vamos discutir somente aquele do diéster **8**. No espectro de RMN de ^{1}H desse diéster notamos um tripleto em 1,24 ppm, com integração proporcional para seis hidrogênios, referente aos hidrogênios do grupo metila do grupamento éster etílico; um dupleto em 2,66 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios em posição β à carbonila do grupamento éster; um singleto em 3,57 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios benzílicos; um tripleto em 3,57 ppm, com integração proporcional para um hidrogênio, referente ao hidrogênio α carbonílico; um quarteto em 4,18 ppm, com integração para quatro hidrogênios, referente aos hidrogênios dos grupos metilênicos da função éster étilico; um singleto em 6,46 ppm, com integração proporcional para um hidrogênio, referente ao hidrogênio olefínico. Na região dos hidrogênios aromáticos, observamos um multipleto na região entre 6,74-6,62 ppm, com integração para três hidrogênios, referente aos três hidrogênios do sistema aromático dissubstituído. Observamos ainda dois multipletos, com integração proporcional para dois hidrogênios cada um, sendo um na região

entre 7,03-6,93 ppm e outro na região entre 7,12-7,05 ppm, devido ao acoplamento dos hidrogênios com o átomo de flúor do anel monossubstituído.

No espectro de RMN de ^{13}C do produto **8** observamos os aparecimentos do singleto em 13,7 ppm, referente aos carbonos da metila, de um singleto em 50,3 ppm, referente ao carbono α-carbonílico e do singleto em 61,2 ppm, referente aos carbonos metilênicos da função éster. Há constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, alusivo aos átomos de flúor, em 102,2 ppm (t, ^{2}J = 25,7 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,1 ppm (d, ^{2}J = 8,7 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,3 ppm (d, ^{2}J = 8,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 127,5 ppm (t, ^{4}J = 2,2 Hz, C-F, acoplamento em "W" com o carbono benzílico e olefínico), 140,3 ppm (t, ^{3}J = 9,4 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 162,7 ppm (dd, ^{1}J = 248,3 Hz e ^{3}J = 13,0 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,0 ppm (dd, ^{1}J = 248,2 Hz e ^{3}J = 13,2 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como há constantes de acoplamento características para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, atribuído ao átomo de flúor, em 133,6 ppm (d, ^{4}J= 3,2 Hz, C-F, carbono ocupando posição 1 no anel aromático monofluorado), 161,6 ppm (d, ^{1}J= 244,7 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático monofluorado). Nota-se um singleto em 168,6 ppm, referente aos carbonos carbonílicos.

No espectro de massa de alta resolução onde se utilizou a técnica de ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{23}H_{24}F_3O_4$ é 421,1627 e o encontrado é 421,1610.

Após a reação de alquilação o que se distinguiu claramente no espectro de IV, para os diésteres **8**, **8a**, **8b** e **8c**, foram as duplas carbonilas destes últimos. Observação oportuna foi a mudança de prioridade, para os intermediários sintéticos das funções orgânicas: diésteres, monoésteres e ácidos carboxílicos, que levou a formação do diasteroisomero com geometria de dupla *Z* e, consequente, mudança do sinal do hidrogênio benzílico e olefínico, de cada função orgânica supracitada, para deslocamentos sempre abaixo de 6,56 ppm como previsto para essa geometria de dupla, como descrito no trabalho de Zhao e colaboradores[86], que obtiveram os valores de deslocamentos químicos de 6,39 e 6,41 ppm para dupla ligação *Z* em composto estruturalmente semelhantes, quando da comparação envolvendo deslocamentos químicos de hidrogênios olefínicos e benzílicos, além dos estudos explicitados previamente.[75,76] A estereoquímica da ligação dupla foi preservada em todos os casos. Excessão á regra, em relação apenas ao deslocamento químico, notou-se para o intermediário **6a** onde o singleto que caracteriza o hidrogênio olefínico se situou em campo mais baixo, ou seja, mais desprotegido, em 7,84 ppm, fato esse que pode ser devido à configuração estérea da molécula. Ressalto que a rigidez conformacional da ligação dupla, característica intrínseca deste tipo de ligação e que nos propiciou convenientemente os diasteroisomeros *E* e *Z*, é um elemento preponderante para resguardar e favorecer a formação do anel de cinco membros na última etapa.

[86] Zhao, D.; Xu, F.; Chen, C.-Y.; Tillyer, R.D.; Grabowski, E.J.J.; Reider, P.J. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6001-6018.

6.8. Reação de Descarboxilação (Reação de Krapcho)

Em 1967, A. P. Krapcho relatou que, sob aquecimento, compostos dicarbetoxi geminais reagem com cianeto de sódio em dimetil sulfóxido, para fornecer os ésteres etílicos correspondentes em altos rendimentos.[87] A desalcoxicarbonilação de β-ceto ésteres, α-ciano ésteres, malonatos e α-alquil- ou arilsulfonil ésteres gerando, respectivamente, cetonas, nitrilas, ésteres e alquil- ou arilsulfonas são conhecidas como descarboxilação de Krapcho. As características dessa reação são as seguintes:

1) é um processo de descarboxilação nucleofílica que é geral para ésteres metílicos e etílicos, que possuem um grupo retirador de elétrons (CO_2 - alquil, CN, CO-alquil, SO_2-alquil, etc.) em posição α;

2) essa descarboxilação de diésteres geminias ocorre de forma *one-pot*, para originar os respectivos monoésteres, acontece em múltiplos passos, a saber: ocorre uma hidrólise básica (ou ácida) do éster seguida pela descarboxilação do diácido resultante e posterior esterificação do ácido carboxílico final para se obter o monoéster desejado;

3) as condições reacionais são essencialmente neutras, assim ambos os substratos sensíveis tanto a ácidos quanto a bases podem ser usados e os freqüentes rearranjos catalisados por ácidos são evitados;

4) a quimiosseletividade e a tolerância de grupos funcionais são grandes;

5) duplas ligações não são isomerizadas e na maioria dos casos os estereocentros lábeis não são racemizados;

6) a presença de um sal tende a acelerar a taxa de descarboxilação da maioria dos substratos, devido à formação de um intermediário mais reativo, pois apresenta um grupo abandonador melhor do que o do substrato;

---

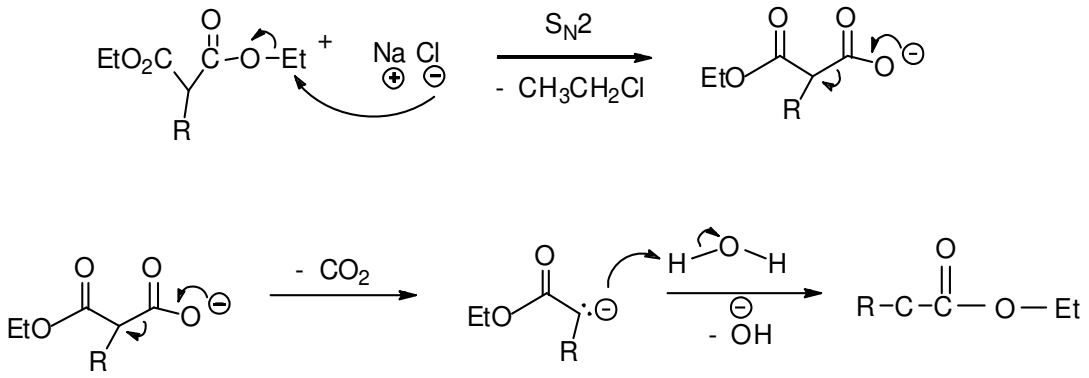
[87] House, H. O. *Moderm Synthetic Reactions (The Organic Chemistry Monograph Series).* 2nd ed (**1972**), 856 pp.

7) além de DMSO, outros solventes apróticos polares podem ser usados;

8) ésteres metílicos são descarboxilados mais rapidamente que ésteres etílicos.[88,89]

6.8.1. Mecanismo da Reação de Descarboxilação (Reação de Krapcho)

O mecanismo da descarboxilação de Krapcho é dependente da estrutura do substrato éster e do tipo de ânion usado. No caso do esquema 30, onde temos um diéster α,α-dissubstituído o cloreto, ânion do sal, ataca o grupo alquila do éster, numa reação do tipo S_N2, e a descarboxilação resulta na formação de um intermediário carbaniônico. Esse último, após ataque nucleofílico a uma molécula de água, origina o produto.[90,83,91,92]

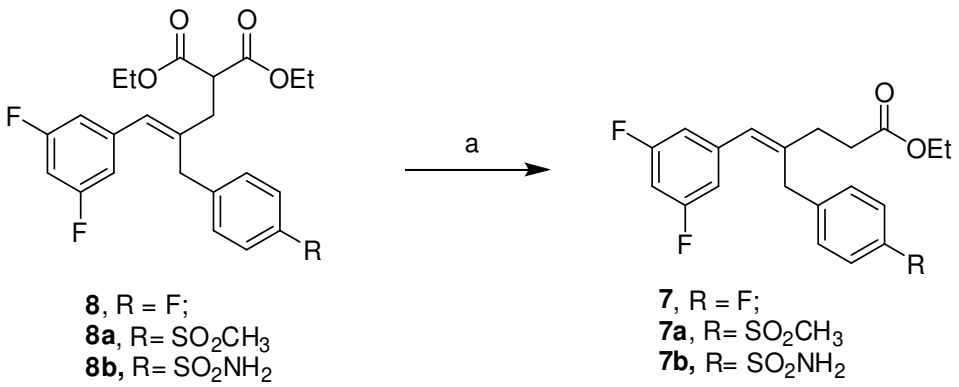


Esquema 30: Mecanismo da Reação de Descarboxilação (Reação de Krapcho)

Baseados nessas características, inciamos a penúltima etapa de nossa sequência. Assim, uma solução dos diésteres **8**, **8a**, **8b** e **8c** em DMSO/água

[88] Mizuno, Y.; Adachi, K.; Ikeda, K. *Pharmaceutical Bulletin* **1954**, *2*, 225-234.
[89] Sommer, L. H..; Goldberg, G. M.; Barnes, G. H.; Stones, L. S. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 1609-1612.
[90] Sato, T.; Otera, J. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2627-2629.
[91] Grigsby, W. E.; Hind, J.; Chanley, J.; Westheimer, F. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64*, 2606-2610.
[92] Baker, R.; Castro, J. L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, 47-65.

(20:1) foram tratados com NaCl e a mistura resultante foi submetida sob refluxo durante um determinado período para fornecer os ésteres γ-insaturados em bons rendimentos (esquema 31).



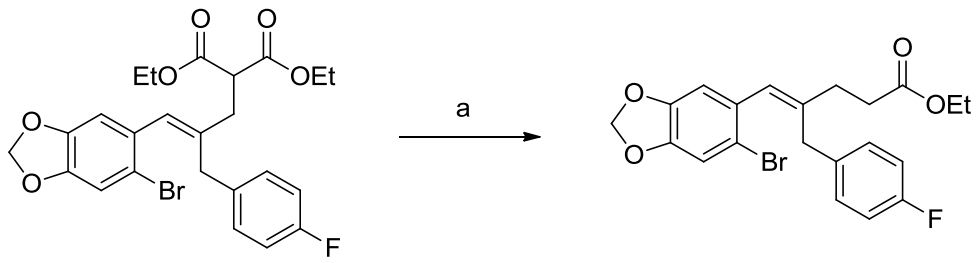
8, R = F;
8a, R= SO_2CH_3
8b, R= SO_2NH_2

7, R = F;
7a, R= SO_2CH_3
7b, R= SO_2NH_2

Reagentes e condições: a) NaCl; H_2O; DMSO; refluxo; R = F, 18h, 79%; R = SO_2CH_3, 20h, 82%; R = SO_2NH_2, 24h, 69%.

Esquema 31: Reação de Descarboxilação

Para finalizar essa sequência, o diéster **8c** foi submetido as mesmas condições experimentais para fornecer o éster γ-insaturados **7c**, com 78% de rendimento (esquema 32).



8c 7c

Reagentes e condições: a) NaCl; H_2O; DMSO; refluxo 16h; 78%.

Esquema 32: Reação de Descarboxilação

Os ésteres γ-insaturados **7, 7a, 7b** e **7c** foram devidamente caracterizados pelas análises dos seus espectros no IV, de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e massas de alta resolução. Vamos discutir apenas os dados espectrais de um desses ésteres.

Análise do éster γ-insaturado 7

No espectro na região do infravermelho (IV) do ácido γ-insaturado **7** observamos absorções em 1734 cm^{-1} e 1619 cm^{-1}, que foram atribuídas aos estiramentos C=O dos grupamentos carbonila do éster e dupla ligação, respectivamente. Observamos também os estiramentos de C-O em 1223 e 1094 cm^{-1} referentes ao carbono da função éster e em 1117 cm^{-1} o estiramento de C-F (Ar-F).

A análise do espectro de RMN de ^{1}H de **9** apresenta um tripleto em 1,24 ppm, com integração proporcional para três hidrogênios, referente aos hidrogênios do grupo metila da função éster etílico; um multipleto na região entre 2,55-2,35 ppm, com integração proporcional para quatro hidrogênios, referente aos hidrogênios dos metilênicos em posição α e β da carbonila do

éster; um singleto em 3,57 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios benzílicos adjacentes ao sistema aromático monossubstituído; um quarteto em 4,12 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios do grupo metilênico da função éster; um singleto em 6,44 ppm, com integração proporcional para um hidrogênio referente ao hidrogênio olefínico. Na região do infravermelho, observamos um multipleto na região entre 6,82-6,59 ppm, com integração proporcional para três hidrogênios, referente aos hidrogênios do sistema aromático dissubstituído; dois multipletos, uma na região entre 7,03-6,90 ppm e outro na região entre 7,15-7,03 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios cada um, sendo ambos devidos ao acoplamentos desses hidrogênios com o átomo de flúor do anel monossubstituído.

No espectro de RMN de ^{13}C do éster γ-insaturado **8** observamos um singleto em 14,1 ppm, refente ao carbono da metila, dois singletos sendo um em 31,7 ppm e outro em 32,7 ppm, referentes aos carbonos α e β carbonílicos, um singleto em 35,8 ppm, referente ao carbono benzílico não olefínico, existem constantes de acoplamento características para os carbonos do sistema aromático dissubstituído, correspondentes aos átomos de flúor, em 102,0 ppm (t, ^{2}J = 25,4 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,1 ppm (d, ^{2}J = 8,2 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,3 ppm (d, ^{2}J = 8,4 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 125,7 ppm (t, ^{4}J = 2,4 Hz, C-F, acoplamento em "W" com o carbono benzílico e olefínico), 140,7 ppm (t, ^{3}J = 9,7 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 162,8 ppm (dd, ^{1}J = 248,2 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F, carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,0 ppm (dd, ^{1}J = 247,9 Hz e ^{3}J = 12,7 Hz, C-F,

carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como existem constantes de acoplamento características para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, correspondentes ao átomo de flúor, em 134,0 ppm (d, ^{4}J = 3,1 Hz, C-F, carbono ocupando posição 1 no anel aromático monofluorado), 161,5 ppm (d, ^{1}J = 244,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático monofluorado), além do carbono carbonílico em 172,6 ppm.

No espectro de massa de alta resolução utilizando a ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{20}H_{20}F_3O_2$ é 349,1415 e o encontrado foi 349,1397.

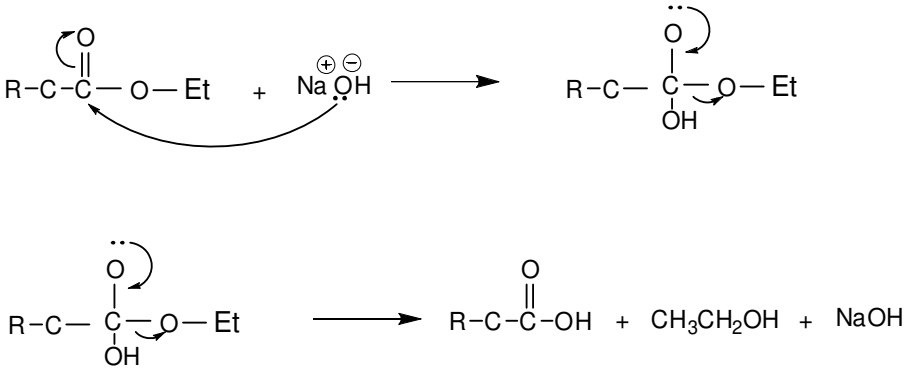
6.9. Reação de Hidrólise de Ésteres a Ácidos Carboxílicos

A hidrólise, como diz o nome, é um processo químico no qual uma molécula de água é adicionada a uma substância, com a perda simultânea de uma parte da estrutura original.

No entanto, em condições normais, apenas algumas reações entre a água e os compostos orgânicos ocorrem. Em geral, para a ocorrência de tais reações um ácido forte ou uma base forte deve ser adicionada para catalisar a hidrólise.

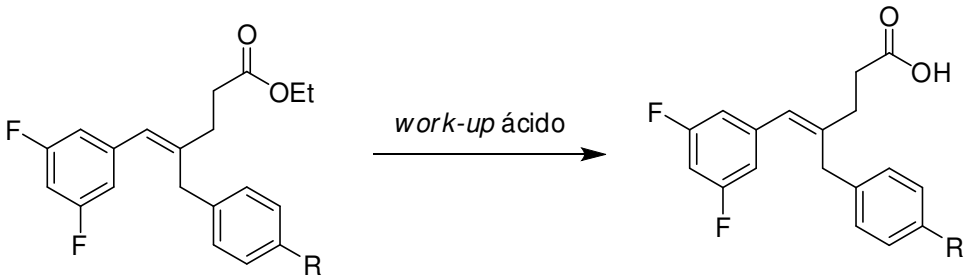
A hidrólise de ácido- ou base-catalisadas são muito comuns; um exemplo é a hidrólise de ésteres. Essa reação ocorre quando o nucleófilo ataca o carbono do grupo carbonila do éster, como demonstrado no esquema 33. Em uma solução aquosa alcalina, os íons hidroxila são nucleófilos melhores do que as moléculas polares, tais como água. Em ácidos, o grupo carbonila se torna protonado, e isto leva a um ataque nucleofílico muito mais fácil.

6.9.1. Mecanismo da Reação de Hidrólise de Ésteres a Ácidos Carboxílicos



Esquema 33: Mecanismo da Reação de Hidrólise de Ésteres a Ácidos Carboxílicos

As soluções dos ésteres γ-insaturados **7**, **7a** e **7b**, em etanol, foram tratadas com uma solução de NaOH (2 mol/L) e postas em refluxo, por um determinado tempo, que variou de caso para caso, para fornecer os ácidos correspondentes em excelentes rendimentos (esquema 34).



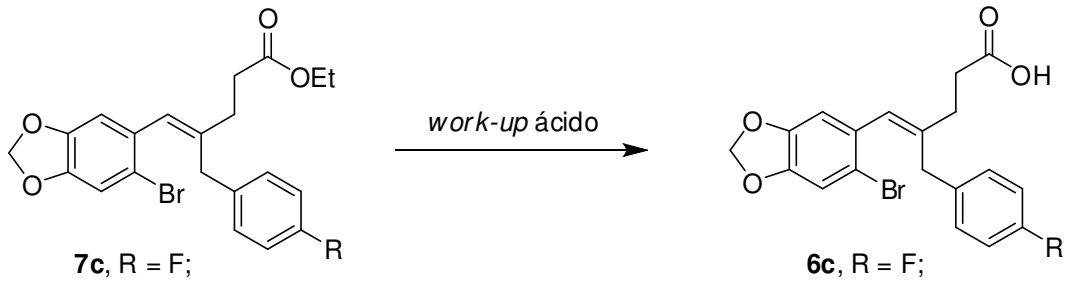
7, R = F;
7a, R= SO_2CH_3
7b, R= SO_2NH_2

6, R = F;
6a, R= SO_2CH_3
6b, R= SO_2NH_2

Reagentes e condições: a) Etanol; NaOH 2 mol/L; refluxo; R = F, 3h, 91%; R= SO_2CH_3, 5h, 90%; R = SO_2NH_2, 5h, 73%.

Esquema 34: Reação de Hidrólise

O éster γ-insaturado **7c** também foi submetido às mesmas condições de hidrólise para fornecer o ácido γ-insaturado **6c**, com um rendimento 88%, após 6,5 horas de refluxo em etanol (esquema 35).



Reagentes e condições: a) Etanol; NaOH 2 mol/L; refluxo 6,5h; 88%.

Esquema 35: Reação de Hidrólise

Os ácidos carboxílicos **6, 6a, 6b** e **6c** foram devidamente caracterizados pelas análises dos seus espectros no IV, de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e massas de alta resolução. De forma análoga ao que foi feito para os outros intermediários, vamos discutir os dados espectroscópicos de apenas um dos ácidos γ-insaturados sintetizados, pois os espectros tem grande similaridade. De qualquer forma, os dados detalhados dos demais são apresentados na parte experimental.

Análise do ácido carboxílico γ-insaturado 6

No espectro na região do infravermelho (IV) observamos uma absorção larga entre 3200 – 2800 cm^{-1}, que foi atribuída ao estiramento O-H referente ao ácido carboxílico; absorções em 1710 cm^{-1} e 1619 cm^{-1}, que foram atribuídas aos estiramentos C=O referente à carbonila do ácido carboxílico e referente à ligação dupla, respectivamente. Observamos também uma

absorção em 1222 cm^{-1} refrente ao estiramento C-OH do carbono da função ácido carboxílico e uma absorção em 1117 cm^{-1} referente ao stiramento C-F (Ar-F).

No espectro de RMN de ^{1}H notamos dois multipletos um na região entre 2,43-2,37 ppm e outro na região entre 2,56-2,50 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios cada, referentes aos hidrogênios metilênicos em posição α e β ao grupamento carbonila do ácido; um singleto em 3,57 ppm, com integração proporcional para dois hidrogênios referente aos hidrogênios benzílicos adjacentes ao sistema aromático monossubstituído; um singleto, em 6,43 ppm, com integração proporcional para um hidrogênio referente ao hidrogênio olefínico. Há um multipleto, com integração para três hidrogênios em 6,74-6,64 ppm, referente aos hidrogênios do sistema aromático dissubstituído e a existência de dois multipletos, com integração para dois hidrogênios cada um, sendo um em 7,01-6,94 ppm e outro em 7,11-7,06 ppm, devido ao acoplamento dos mesmos com o átomo de flúor do anel monossubstituído.

No espectro de RMN de ^{13}C observamos a supressão dos singletos em 14,1 ppm, referente ao carbono da metila e em 60,4 ppm, refente ao carbono metilênico da função éster. Nota-se dois singletos sendo um em 31,3 ppm e outro em 32,4 ppm, referentes aos carbonos α e β carbonílico, um singleto 35,9 ppm, referente ao carbono benzílico não olefínico, notam-se constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, em relação aos átomos de flúor, em 102,1 ppm (t, ^{2}J = 25,3 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,1 ppm (d, ^{2}J = 8,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,4 ppm (d, ^{2}J = 8,3 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 125,9 ppm (t, ^{4}J = 2,3 Hz, C-F, acoplamento em

"W" com o carbono benzílico e olefínico), 140,6 ppm (t, ^{3}J = 9,7 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 162,8 ppm (dd, ^{1}J = 248,0 Hz e ^{3}J = 13,2 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,0 ppm (dd, ^{1}J = 248,2 Hz e ^{3}J = 13,2 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como notam-se constantes de acoplamento características para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, em relação ao átomo de flúor, em 133,9 ppm (d, ^{4}J = 3,1 Hz, C-F, carbono ocupando posição 1 no anel aromático monofluorado), 161,6 ppm (d, ^{1}J = 244,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático monofluorado), além do carbono carbonílico em 179,1 ppm.

No espectro de massa de alta resolução onde se utilizou a técnica de ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{18}H_{14}F_3O_2$ é 319,0946 e o encontrado foi 319,0982.

6.10. Reação de Acilação Intramolecular de Friedel-Crafts

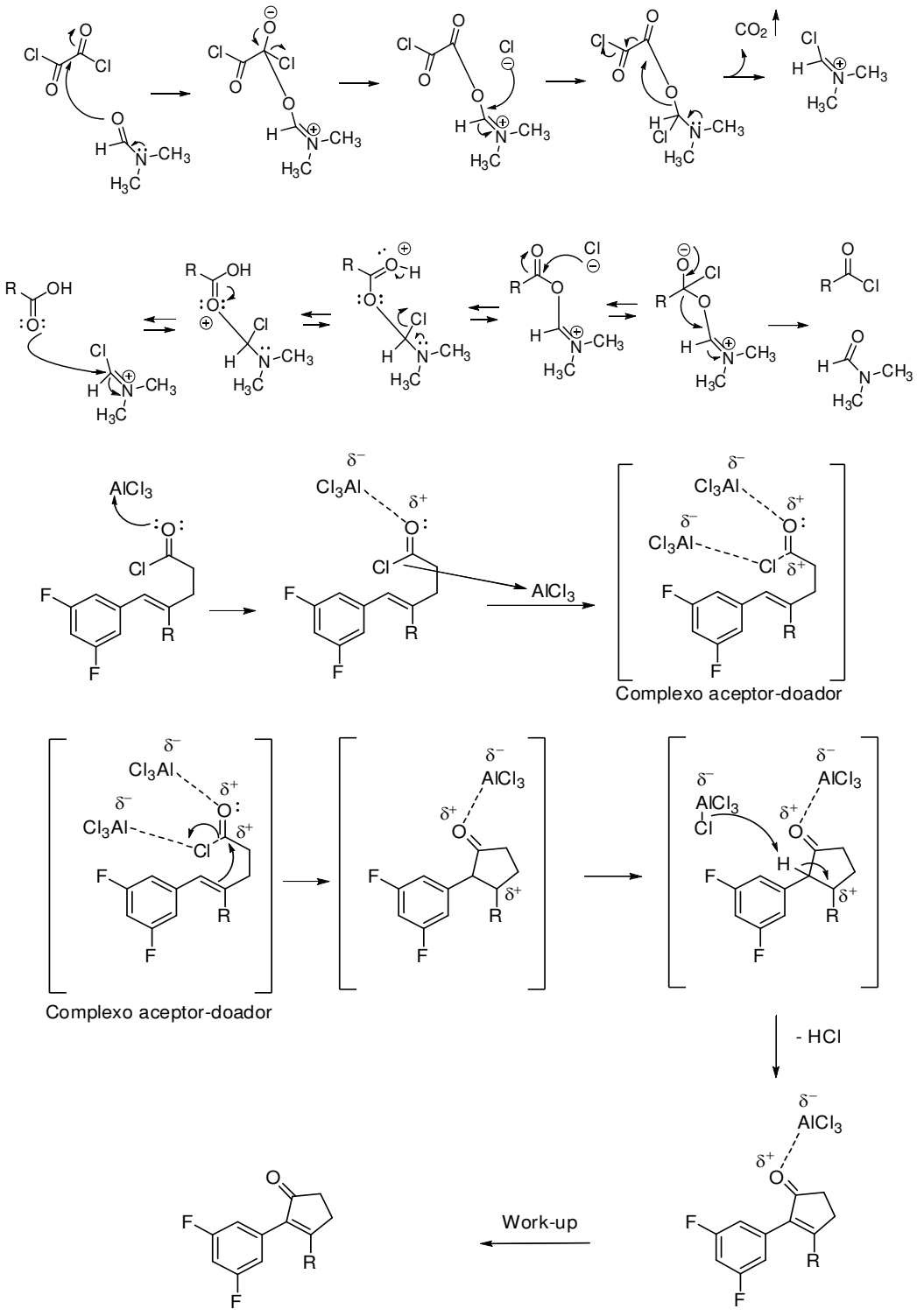
A introdução de um grupo acila em um sistema aromático ou alifático pela utilização de um haleto de ácido, ou anidrido, na presença de ácido de Lewis como catalisador é denominada de reação de acilação de Friedel-Crafts. A acilação intramolecular de Friedel-Crafts é adequada para o fechamento de anéis de 5-, 6-, e 7 membros com uma tendência preferencial para a formação de anéis de 6 membros. Uma desvantagem dessa reação é que os catalisadores de ácido de Lewis não podem ser recuperados ao final do processo, visto que são destruídos no *work-up*. Ademais, essa reação está intimamente relacionada à alquilação de Friedel-Crafts, que introduz grupos alquil em substratos aromáticos e alifáticos.[93]

[93] Claiden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P. *Organic Chemistry*. 1nd ed (**2001**) 296 pp.

6.10.1. Mecanismo da Reação de Acilação Intramolecular de Friedel-Crafts

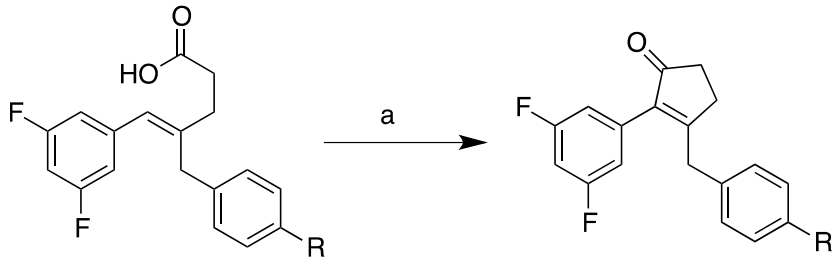
No esquema 36 é esboçado a formação do anel de cinco membros a partir da reação supracitada, onde, primeiramente, forma-se um intermediário reativo a partir do cloreto de oxalila e dimetil formamida (DMF) catalítico. Os passos iniciais são simplesmente uma substituição nucleofílica de um átomo de cloro do cloreto de oxalila via formação de um intermediário tetraédrico. O íon cloreto, nucleófilo, promove um ataque ao carbono sp^2 ligado ao nitrogênio originando o intermediário reativo, além dos subprodutos mono- e dióxido de carbono. A partir de então o intermediário reativo, altamente eletrofílico, reage com o ácido carboxílico propiciando outro intermediário que intercepta o íon cloreto originando o cloreto de ácido e regenerando o DMF. Logo após a formação do cloreto de ácido, inicia-se a segunda parte do mecanismo, onde se tem a coordenação do primeiro equivalente do ácido de Lewis ao grupo carbonílico e em seguida o segundo equivalente do ácido de Lewis ioniza o complexo inicial formando um complexo aceptor-doador. Uma reação de Friedel-Crafts intramolecular se realiza para dar origem ao anel de cinco membros.[93,94]

[94] Kürti, L.; Czakó, B. *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis.* 1nd ed (**2005**), 176 pp.



Esquema 36: Mecanismo da Reação de Acilação Intramolecular de Friedel-Crafts

As soluções dos ácidos γ-insaurados **6**, **6a** e **6b** em diclorometano, a 0 °C, foram então tratadas com uma quantidade catalítica de DMF e cloreto de oxalila para formar os correspondentes cloretos de ácido *in situ*, em seguida esses cloretos de ácido foram tratados com cloreto de alumínio ($AlCl_3$) anidro para fornecer os ciclopentenonas com rendimentos variando de 78 a 92% (esquema 37).



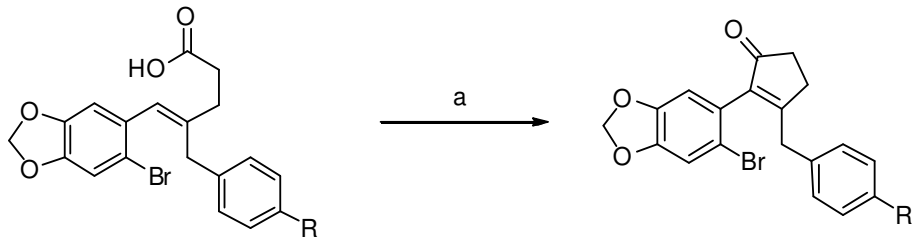
6, R = F;
6a, R= SO_2CH_3
6b, R= SO_2NH_2

2, R = F;
3, R= SO_2CH_3
4, R= SO_2NH_2

Reagentes e condições: a) i. DMF; CH_2Cl_2; $(COCl)_2$; 0 °C - t.a.; 1h; ii. $AlCl_3$; HCl 1N; 0°C - t.a.; R = F, 2h, 92%; R = SO_2CH_3, 3h, 79%; R = SO_2NH_2, 4,5h, 78%.

Esquema 37: Reação de Ciclização

A mesma sequência foi utilizada com o ácido γ-insaturado **6c** para formar a ciclopentenona dissubstituída **5**, com 90% de rendimento (esquema 38).



6c, R = F 5, R = F

Reagentes e condições: a) i. DMF; CH_2Cl_2; $(COCl)_2$; 0 °C - t.a.; 1h; ii. $AlCl_3$; HCl 1N; 0°C - t.a.; 4h; 90%.

Esquema 38: Reação de Ciclização

As ciclopentenonas **2, 3, 4** e **5** foram devidamente caracterizadas pelas análises dos seus espectros no IV, de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e massa de alta resolução.

Análise da ciclopentenona dissubstituída 2

No espectro na região do infravermelho (IV) observamos absorções em 1703 cm^{-1} e 1617 cm^{-1}, que foram atribuídas aos estiramentos C=O referente à carbonila de cetona e C=C da dupla ligação, respectivamente. Observamos também um estiramento da ligação C-F (Ar-F) em 1118 cm^{-1}. Observa-se a ausência da absorção larga entre 3200 – 2800 cm^{-1} atribuída ao estiramento O-H referente ao ácido carboxílico.

No espectro de RMN de ^{1}H notamos dois multipletos, com integração para dois hidrogênios cada, um em 1,69-1,58 ppm e outro em 1,96-1,86 ppm, referentes aos hidrogênios metilênicos α e β carbonílicos, um singleto, com integração para dois hidrogênios em 3,11 ppm, referente aos hidrogênios benzílicos adjacentes ao sistema aromático monossubstituído. Há um multipleto, com integração para três hidrogênios em 6,58-6,40 ppm, referente

aos hidrogênios do sistema aromático dissubstituído e a existência de dois multipletos, com integração para dois hidrogênios cada um, sendo um em 6,75-6,67 ppm e outro em 6,93-6,84 ppm, devido ao acoplamento dos mesmos com o átomo de flúor do anel monossubstituído.

No espectro de RMN de ^{13}C observamos dois singletos sendo um em 29,1 ppm e outro em 34,6 ppm, referentes aos carbonos α e β carbonílico, um singleto 37,0 ppm, referente ao carbono benzílico não olefínico, observaram-se, também, constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, alusivas aos átomos de flúor, em 103,4 ppm (t, ^{2}J= 24,9 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 112,1 ppm (d, ^{2}J= 6,2 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 112,3 ppm (d, ^{2}J= 6,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 134,7 ppm (t, ^{3}J= 9,6 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 162,9 ppm (dd, ^{1}J= 248,4 Hz e ^{3}J= 12,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,0 ppm (dd, ^{1}J= 248,7 Hz e ^{3}J= 13,2 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como observa-se constante de acoplamento característica para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, alusiva ao átomo de flúor, em 161,8 ppm (d, ^{1}J= 245,3 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático monofluorado), além do carbono α carbonílico e olefínico em 139,3 ppm, do carbono β carbonílico e olefínico em 174,0 ppm e do carbono carbonílico em 206,6 ppm.

No espectro de massas de alta resolução utilizando ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{18}H_{14}F_3O$ é 303,0997 e o encontrado foi 303,0966.

O rendimento global para a síntese total da ciclopentenona **2** foi de 30% em oito etapas.

Análise da ciclopentenona dissubstituída 3

No espectro de IV observamos absorções, em 1700 cm^{-1} e 1623 cm^{-1}, atribuídas aos estiramentos C=O correspondente à carbonila de cetona e C=C correspondente à olefina benzílica, respectivamente, além das absorções em 1310 e 1151 cm^{-1} atribuídas ao estiramento O=S=O e a absorção em 1117 cm^{-1} atribuída ao estiramento C-F (Ar-F). Há desaparecimento do estiramento O-H característico de ácido carboxílico em 3418 cm^{-1}.

No espectro de RMN de ^{1}H notamos dois multipletos, com integração para dois hidrogênios cada, um em 1,75-1,65 ppm e outro em 2,06-1,95 ppm, referentes aos hidrogênios metilênicos α e β carbonílicos, um singleto, com integração para três hidrogênios em 2,37 ppm, referente aos hidrogênios da metila ligada ao átomo de enxofre, um singleto, com integração para dois hidrogênios em 3,09 ppm, referente aos hidrogênios benzílicos adjacentes ao sistema aromático monossubstituído. Há dois multipleto, com integração para um hidrogênio cada, sendo um em 6,31-6,27 ppm e o outro em 6,35-6,31 ppm, referente aos hidrogênios, ocupando as posições 2 e 6, do sistema aromático dissubstituído, um triplo tripleto característico, com integração para um hidrogênio em 6,48 ppm, devido ao acoplamento do mesmo com os átomos de flúor no sistema aromático dissubstituído, e a existência de dois dupletos característicos do sistema *para*, com integração para dois hidrogênios cada um, sendo um em 7,24 ppm e outro em 7,89 ppm, referentes aos hidrogênios do anel benzênico monossubstituído (esquema 36).[*]

No espectro de RMN de ^{13}C observamos dois singletos sendo um em 29,3 ppm e outro em 34,6 ppm, referentes aos carbonos (sp^3) β e α

[*] O sinal em 7,24 ppm, dupleto característico do sistema *para*, está oculto pelo sinal do solvente (C_6D_6), portanto, mudou-se o solvente ($CDCl_3$) para que o sinal se tornasse visível. Veja os espectros no item "anexo".

carbonílicos respectivamente, um singleto 37,3 ppm, referente ao carbono benzílico não olefínico, um singleto 44,4 ppm, referente ao carbono da metila ligada ao átomo de enxofre e constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, relativas aos átomos de flúor, em 102,8 ppm (t, ^{2}J = 25,3 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,5 ppm (d, ^{2}J = 8,4 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,8 ppm (d, ^{2}J = 8,4 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 140,2 ppm (t, ^{3}J = 8,9 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 163,1 ppm (dd, ^{1}J= 250,0 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,3 ppm (dd, ^{1}J = 250,0 Hz e ^{3}J = 12,9 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como um singleto refente ao carbono carbono α carbonílico e olefínico em 137 ppm, um singleto refente ao carbono carbono β carbonílico e olefínico em 172,3 ppm e um singleto refente ao carbono carbonílico em 206,4 ppm.

No espectro de massas de alta resolução utilizando ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{19}H_{17}F_2O_3S$ é 363,0866 e o encontrado foi 363,0828.

O rendimento global para a síntese total da ciclopentenona **3,** após as oito etapas necessárias para a conclusão da rota sintetica, foi de 14%.

Análise da ciclopentenona dissubstituída 4

No espectro de IV observamos os estiramentos característicos do grupamento NH_2 da sulfonamida em 3200 e 3292 cm^{-1}, o estiramento C=O alusivo à carbonila do ácido carboxílico em 1684 cm^{-1}, o estiramento de C=C em 1621 cm^{-1} concernente à olefina benzílica. Observa-se também as

absorções em 1339 e 1160 cm^{-1} atribuídas ao estiramento O=S=O e a absorção em 1117 cm^{-1} atribuída ao estiramento C-F (Ar-F).

No espectro de RMN de ^{1}H notamos dois multipletos, com integração para dois hidrogênios cada um, sendo um em 2,60-2,51 ppm e o outro em 2,68-2,60 ppm, referentes aos hidrogênios metilênicos α e β carbonílicos, um singleto, com integração para dois hidrogênios em 3,92 ppm, referente aos hidrogênios benzílicos. Há um multipleto, com integração para três hidrogênios em 6,89-6,72 ppm, referente aos hidrogênios do sistema aromático dissubstituído e observam-se dois dupletos característicos do sistema *para*, com integração para dois hidrogênios cada sendo um em 7,46 ppm e outro em 7,96 ppm, referentes aos hidrogênios do anel benzênico monossubstituído.

No espectro de RMN de ^{13}C observamos dois singletos sendo um em 28,9 ppm e outro em 34,2 ppm, referentes aos carbonos (sp^3) β e α carbonílico respectivamente, um singleto 36,6 ppm, referente ao carbono benzílico não olefínico e, também, as constantes de acoplamento características para os carbonos, do sistema aromático dissubstituído, alusivas aos átomos de flúor, em 101,7 ppm (t, ^{2}J = 25,7 Hz, C-F, carbono ocupando posição 4 no anel aromático difluorado), 111,3 ppm (d, ^{2}J = 8,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 6 no anel aromático difluorado), 111,6 ppm (d, ^{2}J = 8,5 Hz, C-F, carbono ocupando posição 2 no anel aromático difluorado), 141,3 ppm (t, ^{3}J = 8,9 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático difluorado), 163,1 ppm (dd, J = 247,6 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F carbono ocupando posição 5 no anel aromático difluorado), 163,3 ppm (dd, J = 247,9 Hz e ^{3}J = 13,2 Hz, C-F carbono ocupando posição 3 no anel aromático difluorado), bem como um singleto refente ao carbono α carbonílico e olefínico 135,5 ppm, um singleto

refente ao carbono β carbonílico e olefínico em 174 ppm e um singleto refente ao carbono carbonílico em 208,2 ppm.

No espectro de massas de alta resolução utilizando ionização por *electrospray* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{18}H_{16}F_2NO_3S$ é 364,0819 e o encontrado foi 364,0823.

O rendimento global para a síntese total desta ciclopentenona **4**, após as oito etapas necessárias para a conclusão da rota sintetica, foi de 10%.

Análise da ciclopentenona dissubstituída 5

No espectro de IV observamos absorção em 1659 cm^{-1} atribuída à carbonila de cetona α,β-insaturada e observamos também uma absorção em 1617 cm^{-1} atribuída ao estiramento C=C correspondente à olefina benzílica, absorção em 1479 cm^{-1} atribuída ao estiramento $–CH_2-$ correspondente ao grupo metilenodióxi e absorções em 1265 e 1040 cm^{-1} atribuídas aos estiramentos $-O-CH_2-O-$ (éter fenil alila). Observa-se o desaparecimento da banda larga entre 3100 – 3300 cm^{-1} atribuída ao estiramento O-H característica de ácido carboxílico.

No espectro de RMN de ^1H notamos dois multipletos, com integração para dois hidrogênios cada, um em 2,31-2,26 ppm e outro em 2,77-2,72 ppm, referentes aos hidrogênios metilênicos α e β carbonílicos, um singleto, com integração para dois hidrogênios em 3,53 ppm, referente aos hidrogênios benzílicos adjacentes ao sistema aromático monossubstituído. Há um singleto, com integração para dois hidrogênios em 6,00 ppm, referente aos hidrogênios do grupo metilenodióxi, dois singletos, com integração para um hidrogênio cada em 6,22 ppm e em 6,61 ppm, referentes aos hidrogênios nas posições 2 e 5 do anel benzênico do grupamento piperonila, respectivamente. A existência de dois multipletos, com integração para dois hidrogênios cada um, sendo um

em 7,03-6,96 ppm e outro em 7,26-7,16 ppm, devido ao acoplamento dos mesmos com o átomo de flúor do anel monossubstituído.

No espectro de RMN de ^{13}C observamos dois singletos sendo um em 26,1 ppm e outro em 42,6 ppm, referentes aos carbonos (sp^3) α e β carbonílico, um singleto em 45,3 ppm, referente ao carbono benzílico não olefínico, um singleto em 101,7 ppm, referente ao carbono metilenodióxi, um singleto em 114,8 ppm, referente ao carbono benzênico ligado ao átomo de bromo, bem como constantes de acoplamento características para o carbono, do sistema aromático monossubstituído, relativas ao átomo de flúor, em 134,3 ppm (d, ^4J= 3,2 Hz, C-F carbono ocupando posição 1 no anel aromático fluorado), 161,7 ppm (d, J= 244,9 Hz, C-F carbono ocupando posição 4 no anel aromático fluorado), além do carbono carbonílico em 199,8 ppm.

No espectro de massa de alta resolução onde se utilizou a técnica de ionização por *electrons* o pico do íon molecular esperado para a fórmula molecular $C_{19}H_{14}BrFO_4$ é 388,0110 e o encontrado foi 388,0124.

O rendimento global para a síntese total da ciclopentenona **5** foi de 21% em oito etapas.

7. Conclusões

A seqüência de síntese para a obtenção das ciclopentenonas **2**, **3**, **4** e **5** foi realizada de forma direta e simples, com altos rendimentos obtidos para cada uma das etapas executadas, salvo a etapa de adição 1,4 catalisada por ródio envolvendo os ácidos borônicos *para*-substituídos 4-(metil sulfonil)fenila e 4-(amino sulfonil)fenila, que forneceram rendimentos moderados, apesar de todos os esforços feitos para otimizá-los.

As sínteses totais das ciclopentenonas-alvo foram executadas, com sucesso. Cada uma, envolvendo oito etapas, utilização de reagentes de baixo

custo e de fácil manipulação. Nenhum grupo de proteção foi utilizado na sequência sintética. Os rendimentos globais obtidos foram de **10%**, **14%**, **21%** e **30%** para as ciclopentenonas **4**, **3**, **2** e **5**, respectivamente.

Até onde vai o nosso conhecimento essa é a primeira abordagem sintética para obtenção de ciclopentenonas dissubstituídas, a partir de adutos de Morita-Baylis-Hillman.

8. Parte experimental

8.1. Considerações gerais

As reações envolvendo reagentes sensíveis à umidade foram realizadas sob atmosfera inerte de argônio ou nitrogênio em balão previamente flambado.

Os solventes comerciais utilizados foram previamente tratados e destilados.

Todos os solventes anidros utilizados nas reações foram tratados previamente, seguindo procedimentos específicos para cada tipo de solvente, imediatamente antes do uso. O diclorometano anidro utilizado foi destilado sob hidreto de cálcio, já o THF (tetrahidrofurano) foi destilado sob sódio metálico, tendo recebido tratamento prévio com hidreto de cálcio. A *N*,*N*-Dimetilformamida (DMF) foi seca por tratamento com hidreto de cálcio sob aquecimento por 14 h e após destilação sob pressão reduzida, foi armazenada sob atmosfera de argônio e peneira molecular 4 Å ativada. Todos os tratamenos realizados seguiram os procedimentos descritos na literatura.[95]

Os demais solventes e reagentes foram obtidos de fornecedores especializados e possuíam pureza analítica e não tiveram purificação prévia.

[95] Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R. *Purification of Laboratory Chemicals,* 2ª Ed., Pergamon Press, **1987**.

O aldeído, 3,5-difluoro benzaldeído é comercial, bem como os ácidos borônicos: 4-fluoro borônico e o 4-(metilsulfonil)fenil borônico e foram adquiridos da Aldrich Chemical Company, já o ácido 4-(amino sulfonil)fenil borônico, também comercial, foi adquirido da Combi-Blocks, Inc. Todos os reagentes comerciais foram utilizados sem purificação prévia. Os demais reagentes foram obtidos de fornecedores especializados e possuem pureza analítica, sendo assim, foram usados sem tratamento prévio, salvo menção contrária.

A reação de Baylis-Hillman foi realizada em sistema de ultrassom de 1000 W e 25 KHz, sendo que as demais reações foram realizadas sempre sob agitação magnética e, quando necessário, com aquecimento ou resfriamento.

As purificações dos produtos foram realizadas por cromatografia rápida ("flash") em coluna de gel de silica (70-230 mesh), e o acompanhamento das reações foi realizado por cromatografia de camada delgada (CCD) em cromatoplacas Merck®, utilizando solução reveladora de fosfomolibdato de amônio 5% em etanol ou vanilina sulfúrica e com revelação utilizando lâmpada de UV em 254 nm.

As caracterizações por espectroscopia de RMN de ^{1}H e RMN de ^{13}C foram realizadas nos espectrometros Bruker (250 MHz para ^{1}H e 62,5 MHz para ^{13}C) e Varian Inova 500 (500 MHz para ^{1}H e 125 MHz para ^{13}C). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm utilizando como padrão interno: clorofórmio deuterado ($CDCl_3$) com $\delta = 7,27$ ppm para ^{1}H e $\delta = 77,23$ ppm para ^{13}C, acetona deuterada (acetona-D_6) com $\delta = 2,05$ ppm para ^{1}H e $\delta = 29,92$ ppm para ^{13}C, metanol deuterado (metanol-D_4) com $\delta = 3,31$ e 4,78 ppm para ^{1}H e $\delta = 49,15$ ppm para ^{13}C e benzeno deuterado (benzeno-D_6), com $\delta =$

7,16 ppm para ^{1}H e δ = 128,39 ppm para ^{13}C. Os valores das constantes de acoplamento (*J*) foram expressos em Hertz (Hz).

Os espectros de absorção no infravermelho (IV) expressos em cm^{-1} foram obtidos em espectrofotômetro de FT-IR Nicolet Impact 410. As amostras foram aplicadas em um filme numa cela de NaCl.

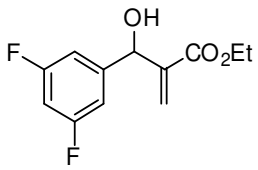
Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos em um aparelho Micromass (Manchester-UK) instrumento Q-Tof de configuração ESI-QqTof com resolução de 5.000 e 50.0 ppm de precisão no analisador de massas TOF.

Os pontos de fusão foram realizados em um aparelho denominado Ponto de Fusão PF 1000 – GEHAKA de Potência Fixa. A potência foi fixada em 2, pelo termostato que podia atingir a potência máxima de 20, para melhor se acompanhar a progressão da temperatura e examinar com exatidão o ponto de fusão da amostra. Para tal foram inseridos, nos respectivos orifícios, três capilares contendo sempre a amostra a ser analisada e o termômetro para a tomada de temperatura.

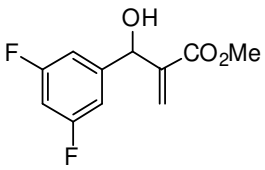
A nomenclatura dos compostos foi dada segundo a nomenclatura oficial da IUPAC fornecida pelo programa chemaxon.com/Marvin.

8.2. Procedimentos Experimentais

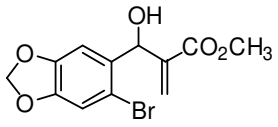
8.2.1. Metodologia geral: preparação dos adutos de MBH 12, 12a e 12b



12



12b



12a

A uma solução dos aldeídos **13** e **13a** (2,0 mmol - 3,7 mmol) em acrilato de etila ou metila (20 equivalentes), a temperatura ambiente, e sob agitação magnética, foi adicionado DABCO (0,65 equivalentes). A mistura resultante foi imersa em um banho de ultrassom (1000W) e a evolução da reação foi acompanhada por CCD. Após o término da reação, o excesso de acrilato foi removido sob pressão reduzida (**ATENÇÃO: Essa operação deve ser executada em uma capela com um sistema de exaustão eficiente**). O resíduo de evaporação foi dissolvido em acetato de etila (50 mL) e as soluções orgânicas foram lavadas com solução saturada de NaCl (3 x 15 mL), seca sobre Na_2SO_4 anidro, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os brutos de evaporação foram purificados por cromatografia em coluna de gel de silica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (80/20).

Nome IUPAC: 2-[(3,5-Difluorofenyl)(hidroxi)metil]prop-2-enoato de etila (**12**)

Característica: Óleo amarelo claro

Rendimento: 97%

IV (Filme, ν_{max}): 3453, 2985, 1710, 1624, 1597, 1461, 1312, 1119, 1055 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 6,96-6,91 (m, 1H), 6,91-6,87 (m, 1H), 6,71 (tt, ^{5}J = 2,3 Hz e ^{3}J = 8,9 Hz, 1H), 6,37 (s, 1H), 5,82 (s, 1H), 5,48 (d, ^{3}J = 5,6 Hz, OH - 1H), 4,19 (q, ^{3}J = 7,1 Hz, 2H), 3,36 (d, ^{3}J = 5,8 Hz, 1H - OH), 1,26 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 166,0, 163,0 (dd, ^{1}J = 248,6 Hz e ^{3}J = 12,5 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J = 248,6 Hz e ^{3}J = 12,5 Hz, C-F), 145,7 (t, ^{3}J = 8,4 Hz, C-F), 141,2, 126,7, 109,4 (d, ^{2}J = 8,6 Hz, C-F), 109,2 (d, ^{2}J = 8,6 Hz, C-F), 102,9 (t, ^{2}J = 25,4 Hz, C-F), 72,4 (t, ^{4}J = 2,0 Hz, C-F), 61,2, 13,9.

EMAR (EI, m/z): calculado para $C_{12}H_{12}F_2O_3$ - 242,0755; encontrado 242,0748.

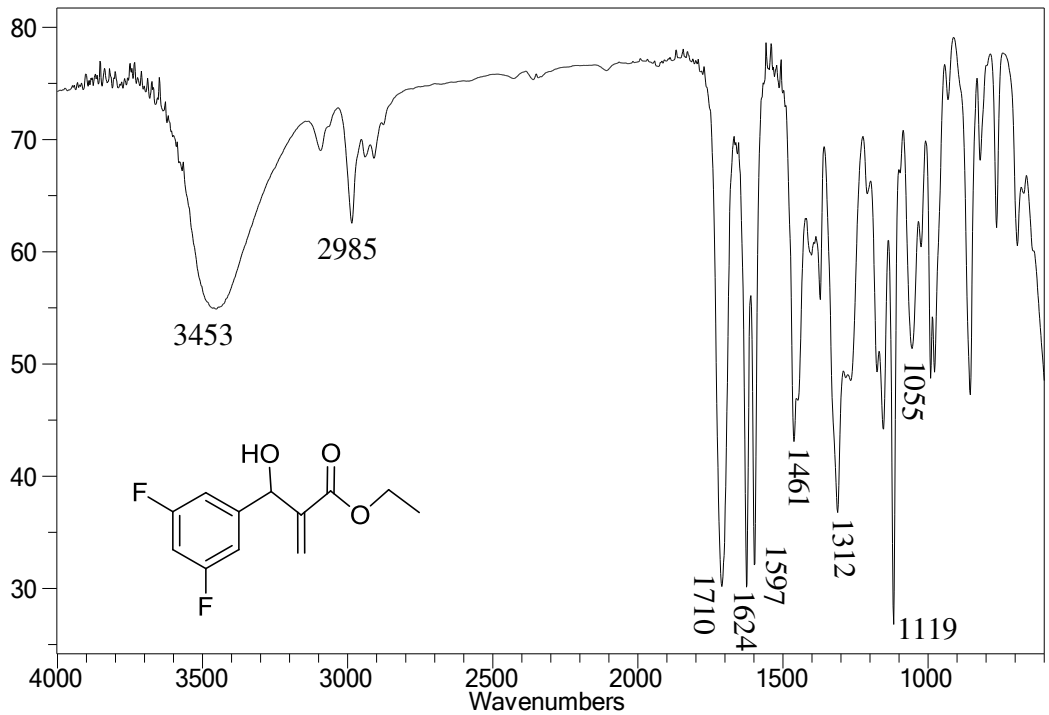


Figura 17: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12)**.

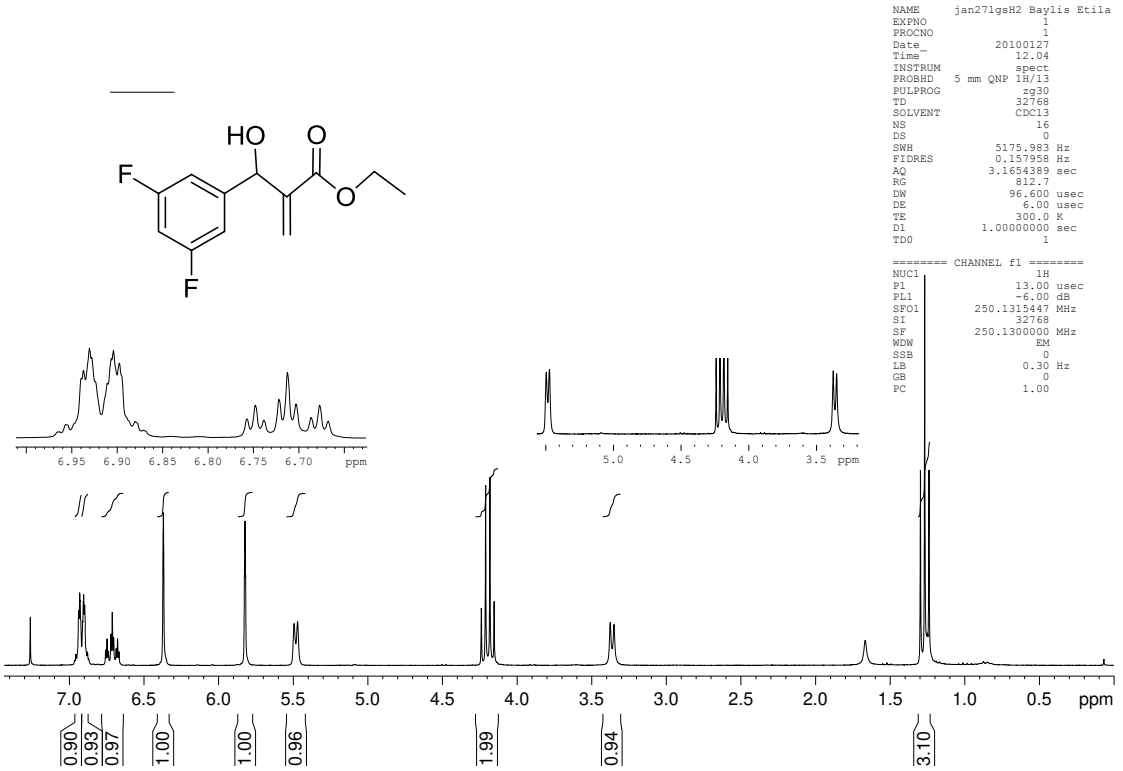


Figura 18: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12)**.

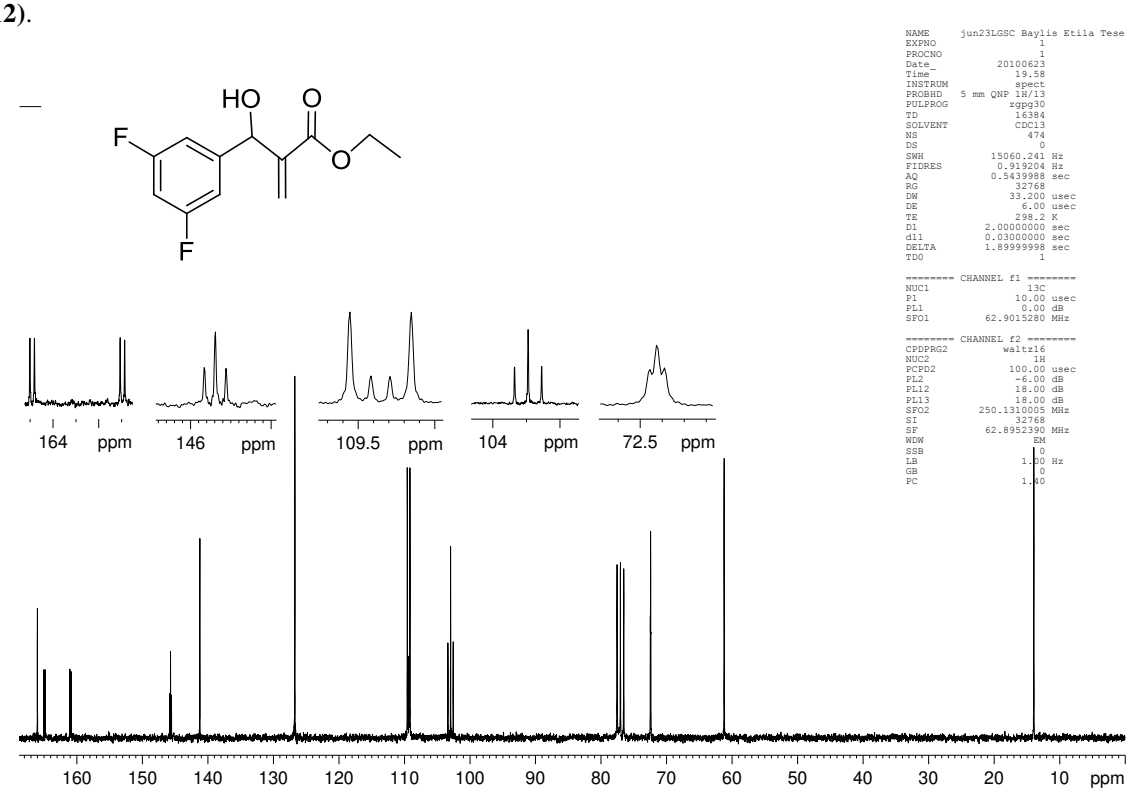


Figura 19: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12)**.

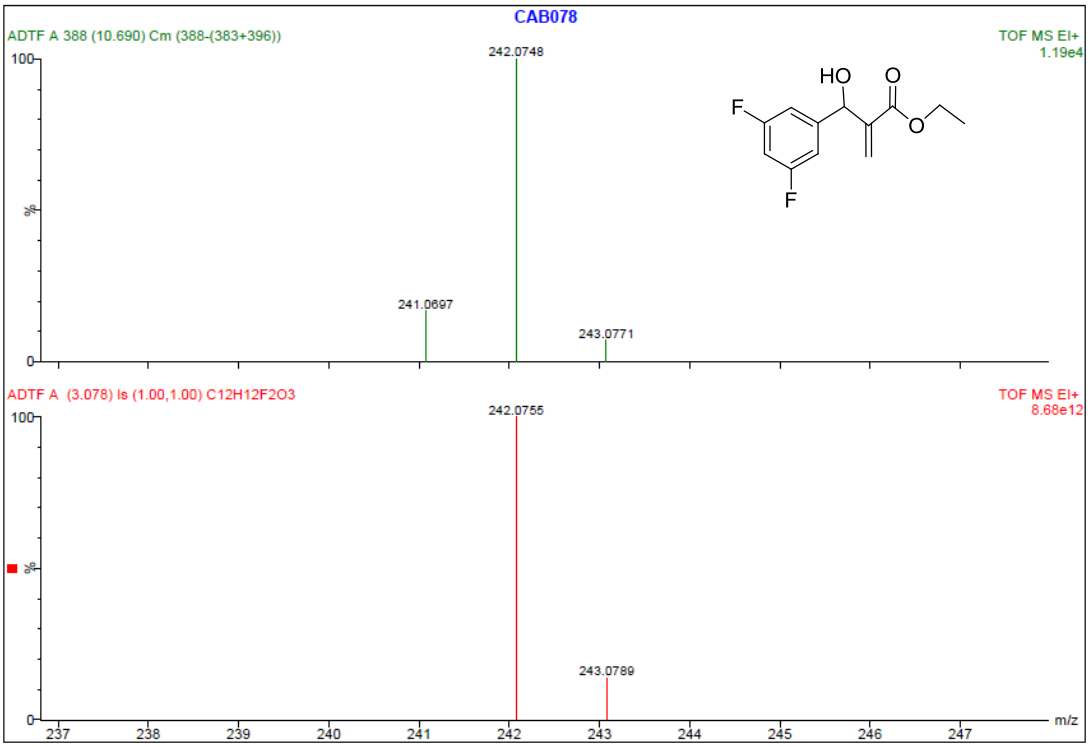


Figura 20: Espectro de massas de alta resolução (EI, *m/z*) do aduto de Morita-Baylis-Hillman (**12**).

Nome IUPAC: 2-[(6-Bromo-2*H*-1,3-benzodioxol-5-il)(hidroxi)metil]prop-2-enoato de metila **(12a)**

Característica: Sólido branco amorfo

Ponto de fusão: 83 – 84°C

Rendimento: 82%

IV (Filme, ν_{max}): 3427, 1721, 1631, 1503, 1478, 1438, 1264, 1196, 1038 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,02 (s, 1H), 6,99 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 5,98 (s, 2H), 5,86 (d, ^{3}J = 4,1 Hz, OH - 1H), 5,61 (s, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,14 (d, ^{3}J = 4,2 Hz, 1H - OH).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 166,9, 147,9, 147,6, 140,6, 133,1, 126,8, 113,6, 112,6, 108,2, 101,8, 71,4, 52,1.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{12}H_{11}BrO_5Na$ - 336,9688; encontrado 336,9691.

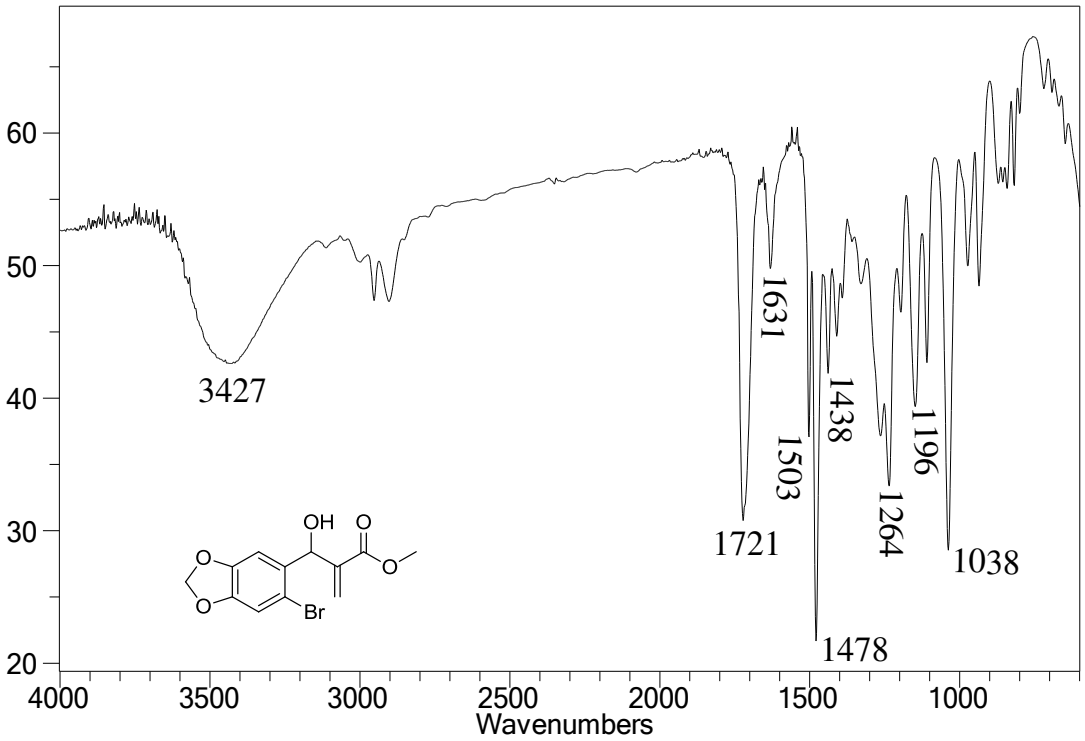


Figura 21: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12a)**.

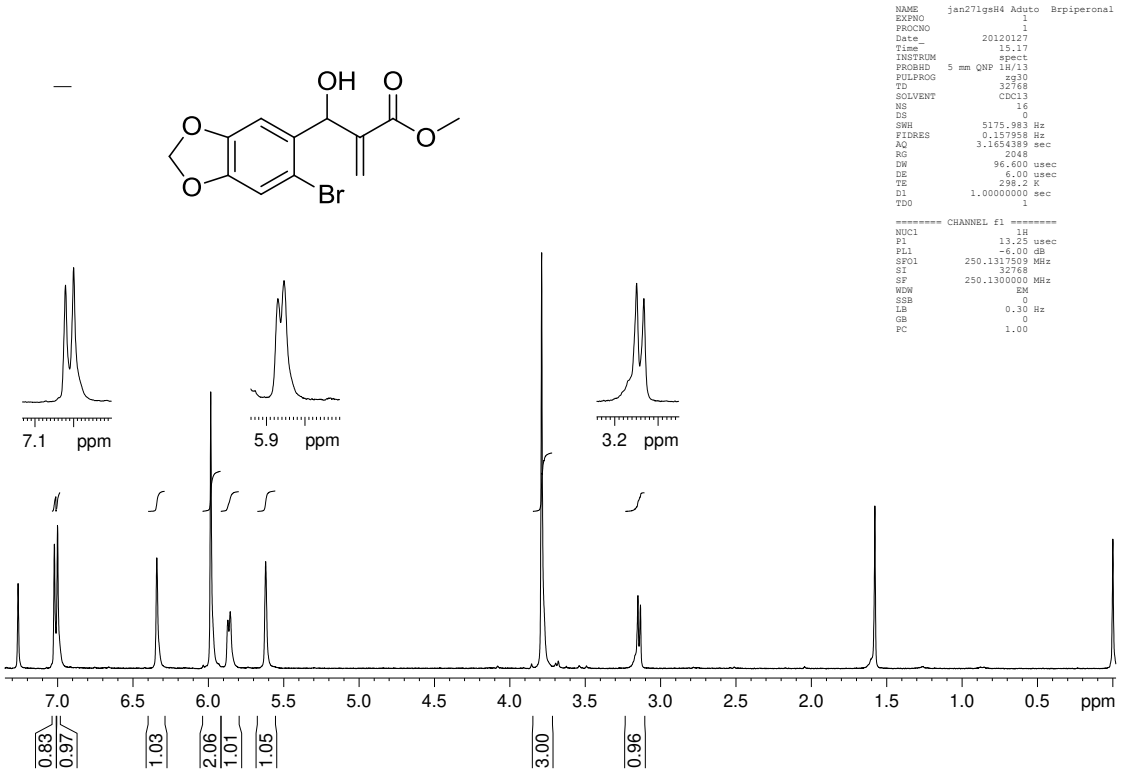


Figura 22: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$com 0,05% TMS) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12a)**.

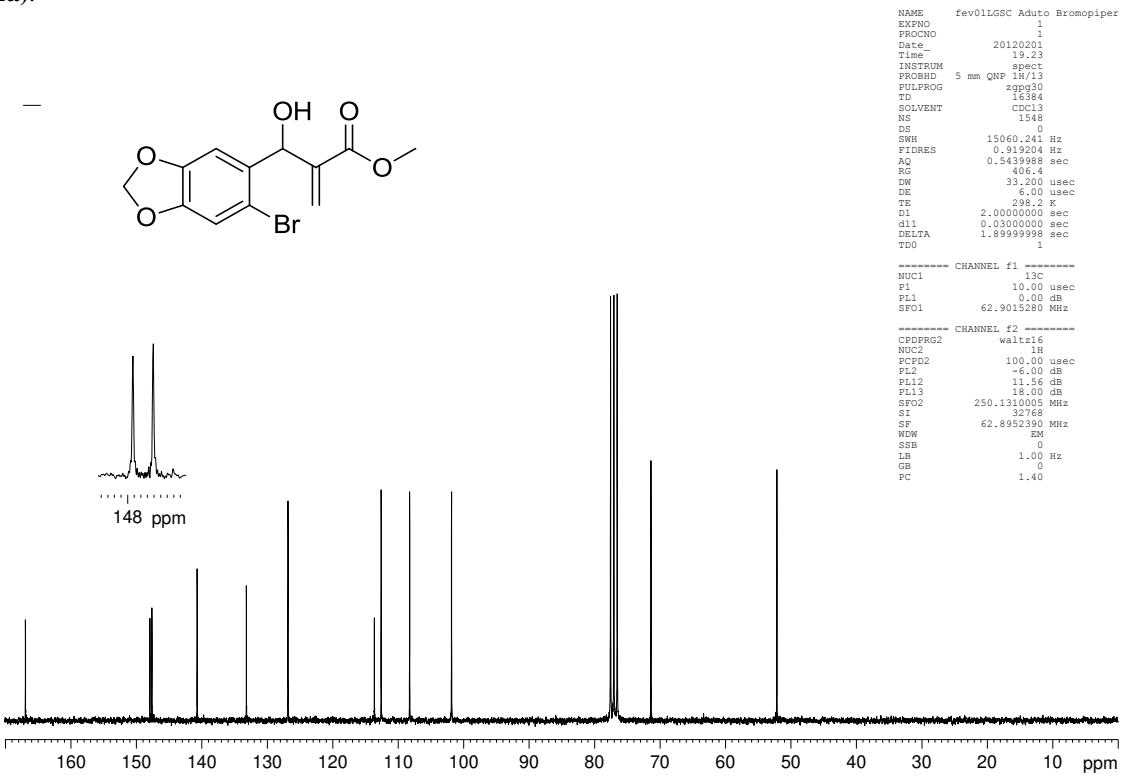


Figura 23: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12a)**.

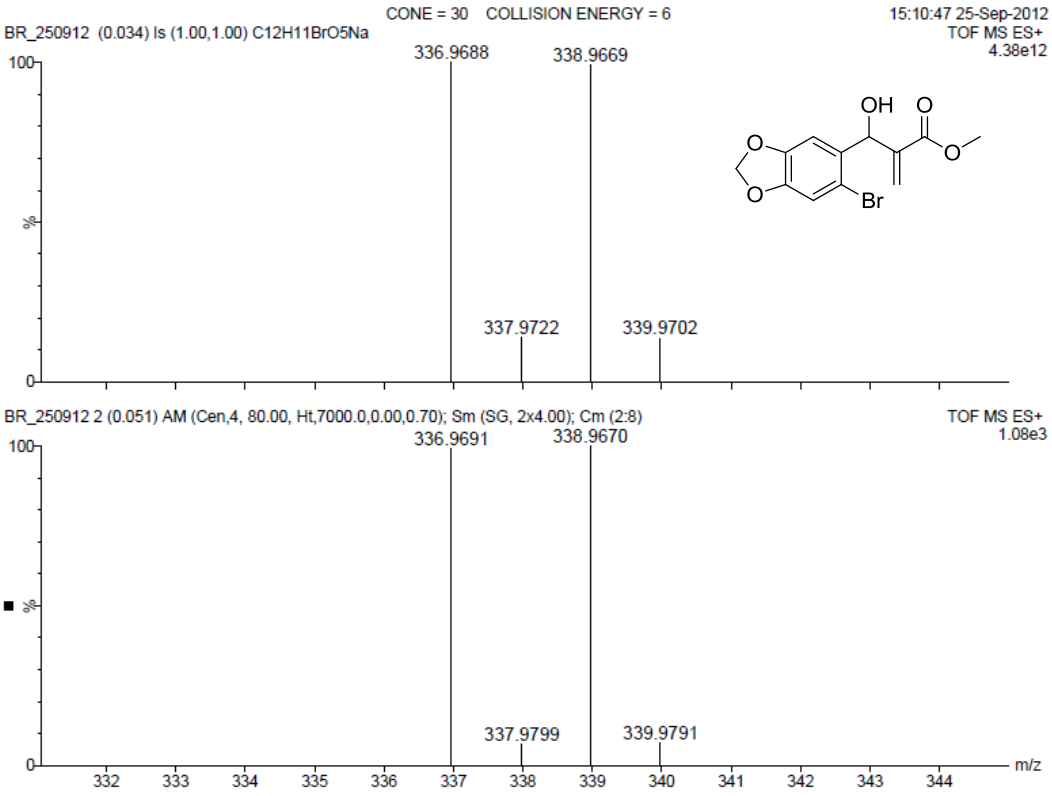


Figura 24: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12a)**.

Nome IUPAC: 2-[(3,5-difluorofenil)(hidroxi)metil]prop-2-enoato de metila

(12b)

Característica: Óleo incolor

Rendimento: 89%

IV (Filme, ν_{max}): 3476, 2984, 2930, 1709, 1624, 1596, 1444, 1314, 1150, 1118 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 6,91 (dd, *J*= 1,6 Hz e *J*= 8,3 Hz, 2H), 6,71 (tt, *J*= 2,3 Hz e *J*= 8,7 Hz, 1H), 6,36 (s, 1H), 5,84 (t, *J*= 1 Hz, 1H), 5,48 (s, 1H), 3,74(s, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 166,4, 164,9 (d, *J*= 12,7 Hz, C-F aromático), 161,0 (d, *J*= 12,5 Hz, C-F aromático), 145,5 (t, *J*= 8,6 Hz), 140,9 ,

127,0 , 109,4 (d, *J*= 9,0 Hz), 109,2 (d, *J*= 8,9 Hz), 103,0 (t, *J*= 25,8 Hz), 72,5 (t, *J*= 1,7 Hz), 52,1.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{11}H_{10}F_2O_3Na$- 251,0496; encontrado 251.0408.

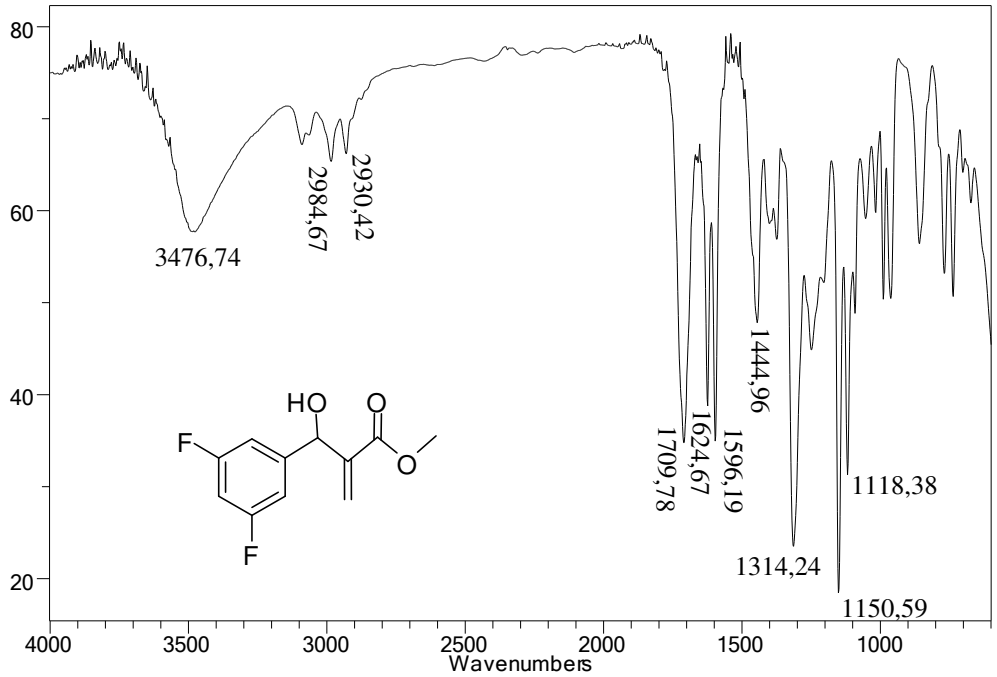


Figura 25: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do aduto de Morita-Baylis-Hillman (**12b**).

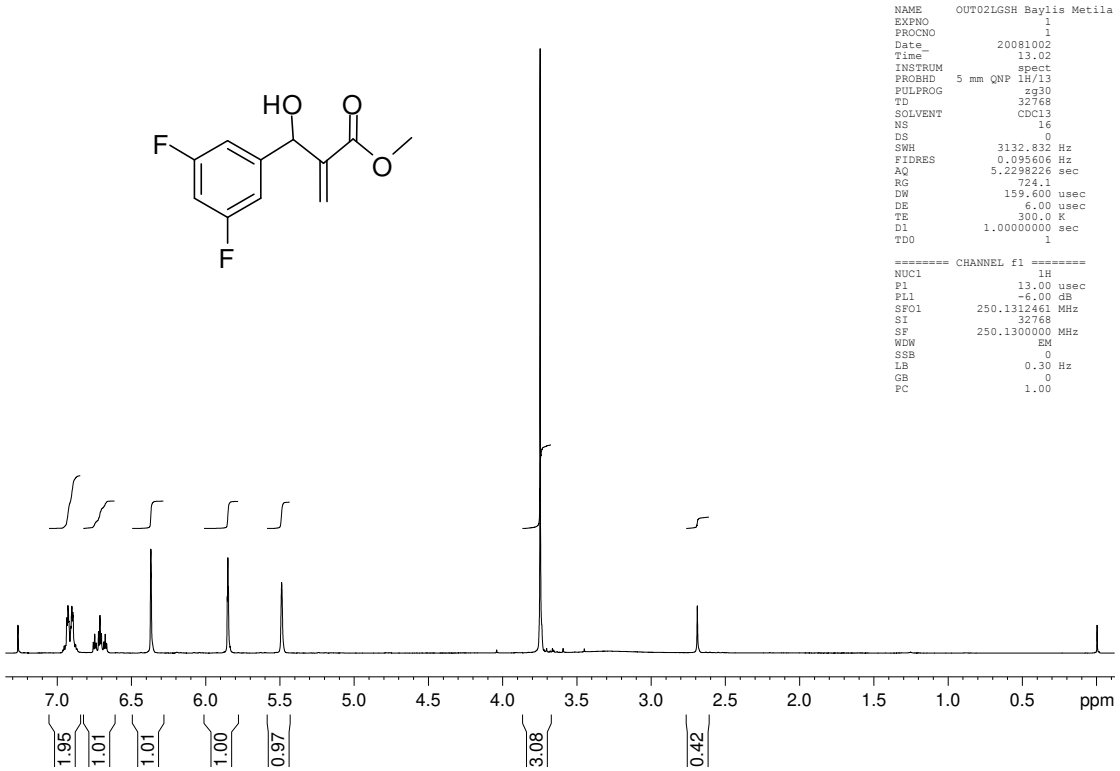


Figura 26: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$com 0,05% TMS) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12b)**.

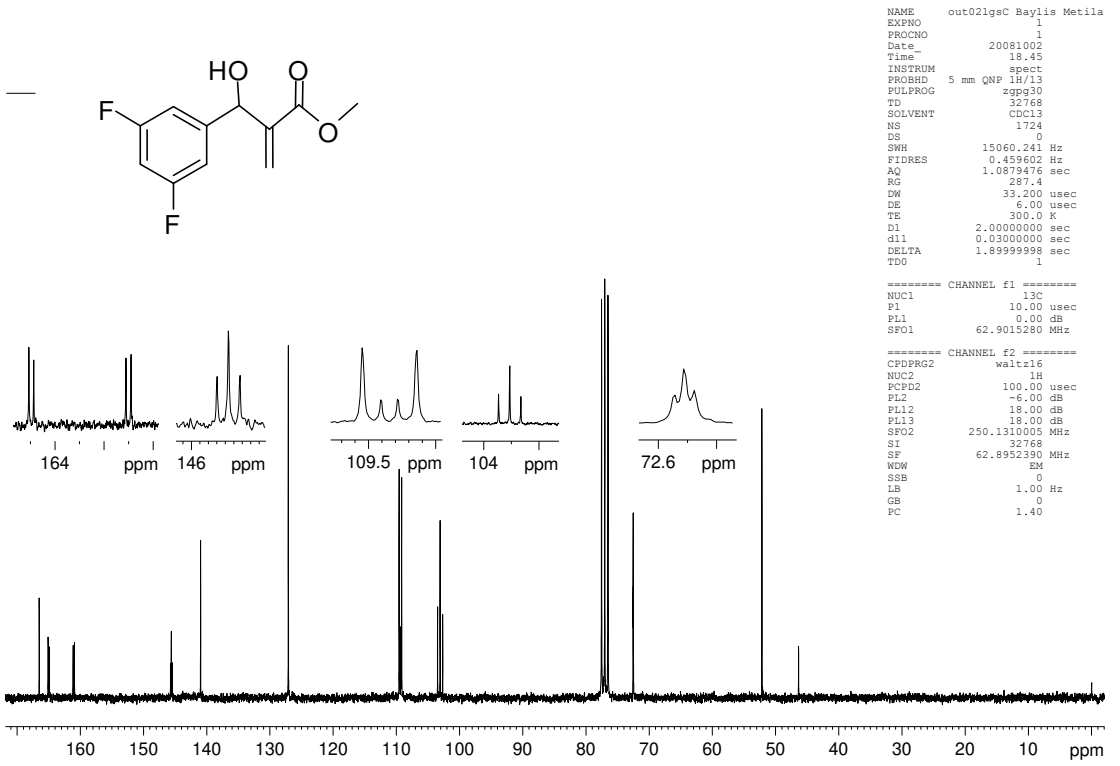
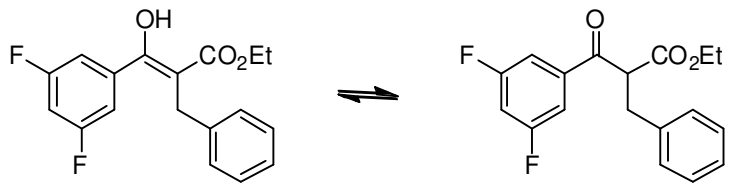


Figura 27: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do aduto de Morita-Baylis-Hillman **(12b)**.

8.2.2. Preparação do aduto de Heck 15



15

À solução do aduto de MBH **12** (1 mmol) em DMF a temperatura ambiente, e sob agitação magnética, foram adicionados o iodobenzeno (1,2 mmol), a trietilamina (1,5 mmol) e o catalisador paladaciclo (2 mol%). A mistura foi aquecida a 110 °C por 3 horas e a evolução da reação foi acompanhada por CCD. Após o término da reação, o excesso de solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo da evaporação foi dissolvido em acetato de etila (50 mL). A solução orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (3 x 15 mL), seca sobre Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O bruto de evaporação foi purificado por cromatografia em coluna de gel de silica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (88/12).

Nome IUPAC: (2*Z*) 2-benzil-3-(3,5-difluorofenil)-3-hidroxiprop-2-enoato de etila (**15**)

Característica: Óleo amarelado

Rendimento: 94%

IV (Filme, ν_{max}): 3435, 2987, 2923, 1710, 1624, 1597, 1118 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,47-7,40 (m, 2H), 7,30-7,16 (m, 5H), 7.05-6,96 (m, 1H), 4,49 (t, *J*= 7,4 Hz, 1H), 4,12 (dq, 2H), 3,32 (d, *J*= 7,3 Hz, 2H), 1,38 (t, *J*= 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 192,1, 168,6, 165,1 (d, *J*= 11,7 Hz, C-F aromático), 160,8 (d, *J*= 11,8 Hz, C-F aromático), 139,2 (t, *J*= 7,6 Hz) , 137,8, 128,9, 128,6, 126,9, 111,7 (d, *J*= 26.0 Hz), 111,3 (d, *J*= 7,3 Hz), 108,7 (t, *J*= 25,4 Hz), 62,0, 56,3, 34,7, 13,8.

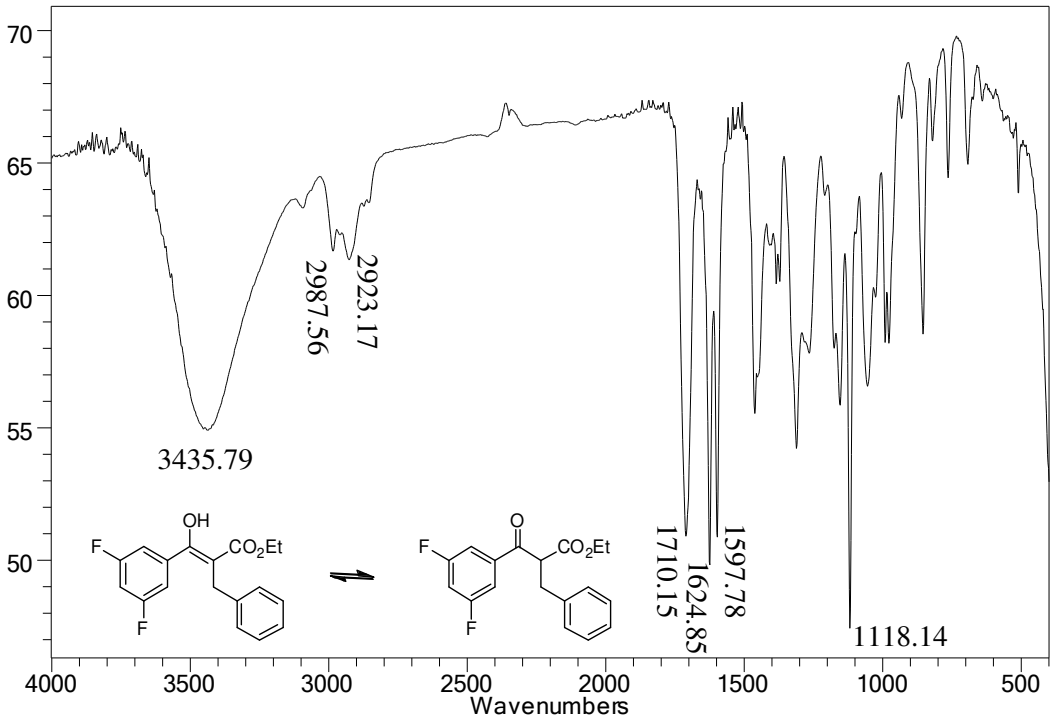


Figura 28: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do aduto de Heck (**15**).

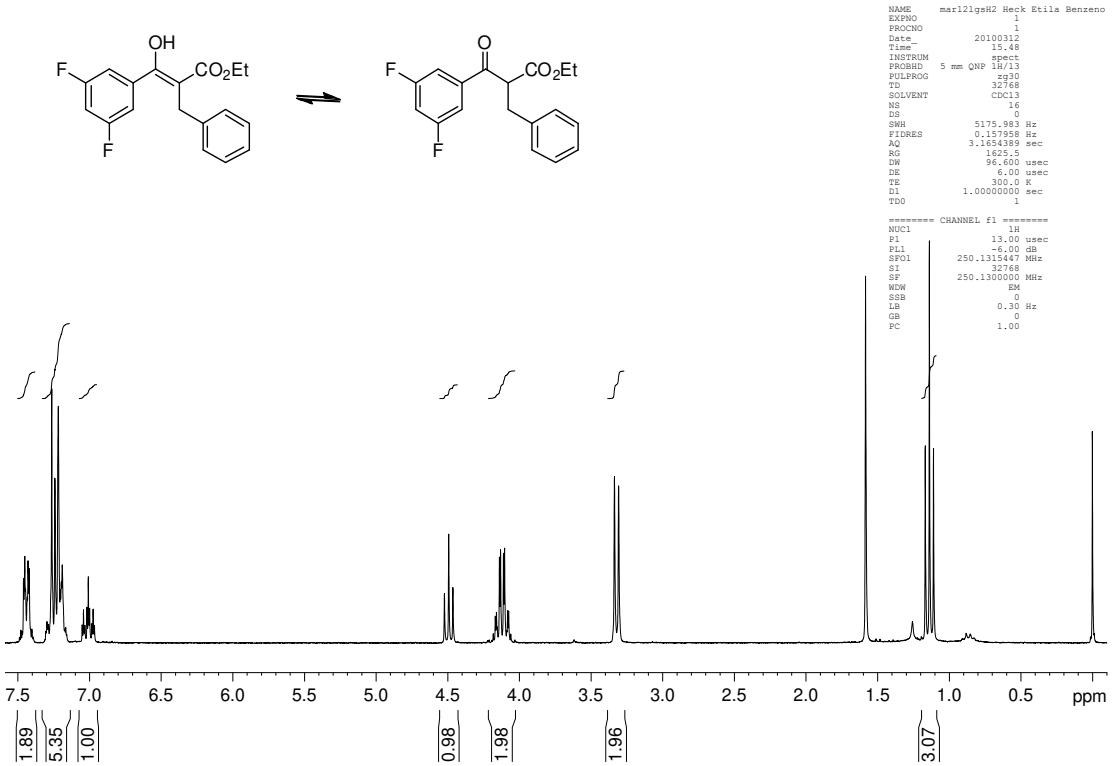


Figura 29: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do aduto de Heck **(15)**.

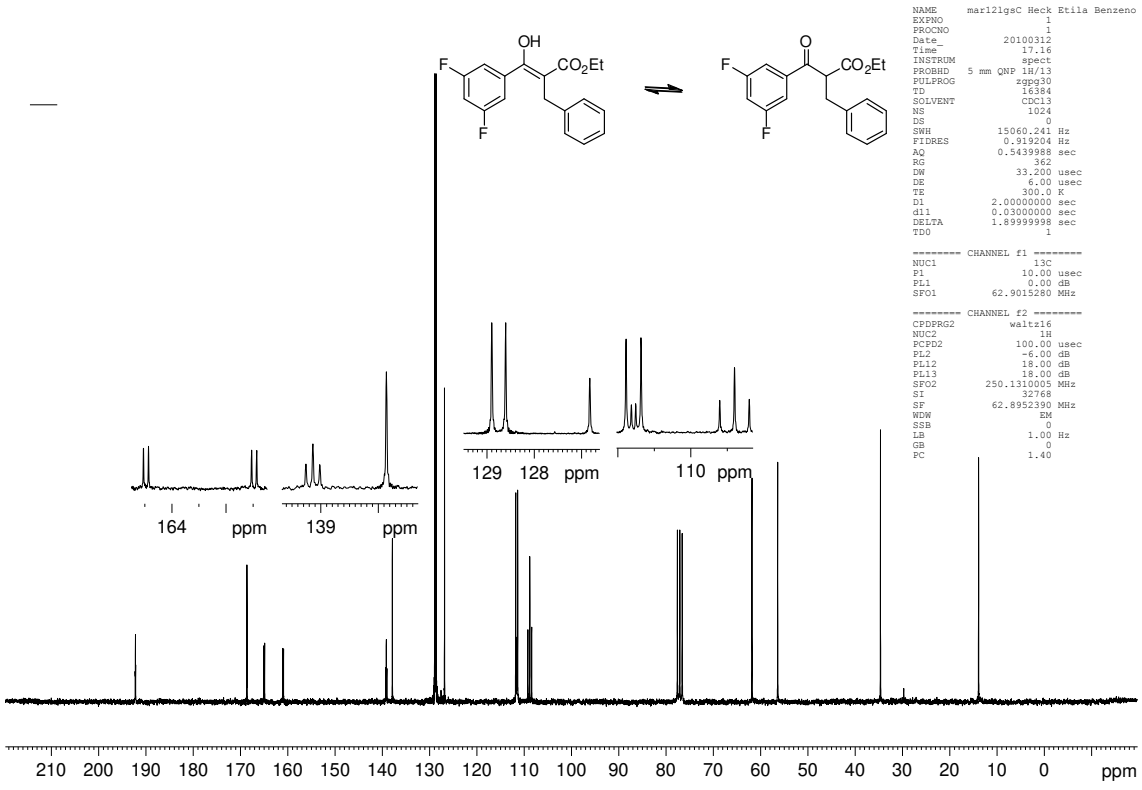
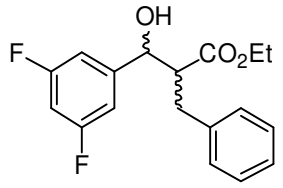


Figura 30: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do aduto de Heck **(15)**.

8.2.3. Preparação do aduto β-hidróxi-α-benzilado 16



16

A uma solução do aduto β-hidroxi-α-benzilado **(16)** (0,93 mmol) em metanol foi adicionado $NaBH_4$ (2,80 mmol). A reação foi mantida sob agitação mecânica vigorosa e a 0°C por 1,5 h. A evolução da reação foi acompanhada por CCD. Adicionou-se à mistura excesso de uma solução saturada de bicarbonato de sódio e deixou-se em agitação até a formação de um gel branco. A mistura foi então filtrada, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo da evaporação foi dissolvido em acetato de etila (50 mL). A solução orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (3 x 15 mL), seca sobre Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O bruto de evaporação foi purificado por cromatografia em coluna de gel de silica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (80/20).

Nome IUPAC: 2-benzil-3-(3,5-difluorofenil)-3-hidroxipropanoato de etila (**16**)

Característica: Sólido branco amorfo

Ponto de fusão: 70 - 72 ºC

Rendimento: 81%

IV (Filme, ν_{max}): 3433, 2923, 1712, 1694, 1599, 1455, 1118 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,33-7,17 (m, 5H), 6,89-6,81 (m, 2H), 6,75-6,66 (m, 1H), 4,74 (dd, *J*= 4,5 e 4,78 Hz, 1H), 3,97 (q, *J*= 7,1 Hz, 2H), 3,60 (d, *J*= 7,9 Hz, 1H), 2,95 (m, 2H), 1,00 (t, *J*= 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 174,5, 164,2 (d, *J*= 12,2 Hz, C-F aromático), 162,2 (d, *J*= 12,2 Hz, C-F aromático), 146,9 (t, *J*= 7,9 Hz), 138,0, 129,1 (d, *J*= 10,6 Hz), 128,8 (d, *J*= 26,9 Hz), 109.2 (d, *J*= 6,3 Hz), 109.0 (d, *J*= 6,3 Hz), 103,3 (t, *J*= 25,4 Hz), 73,1, 61,2, 54,2, 36,0, 14,1.

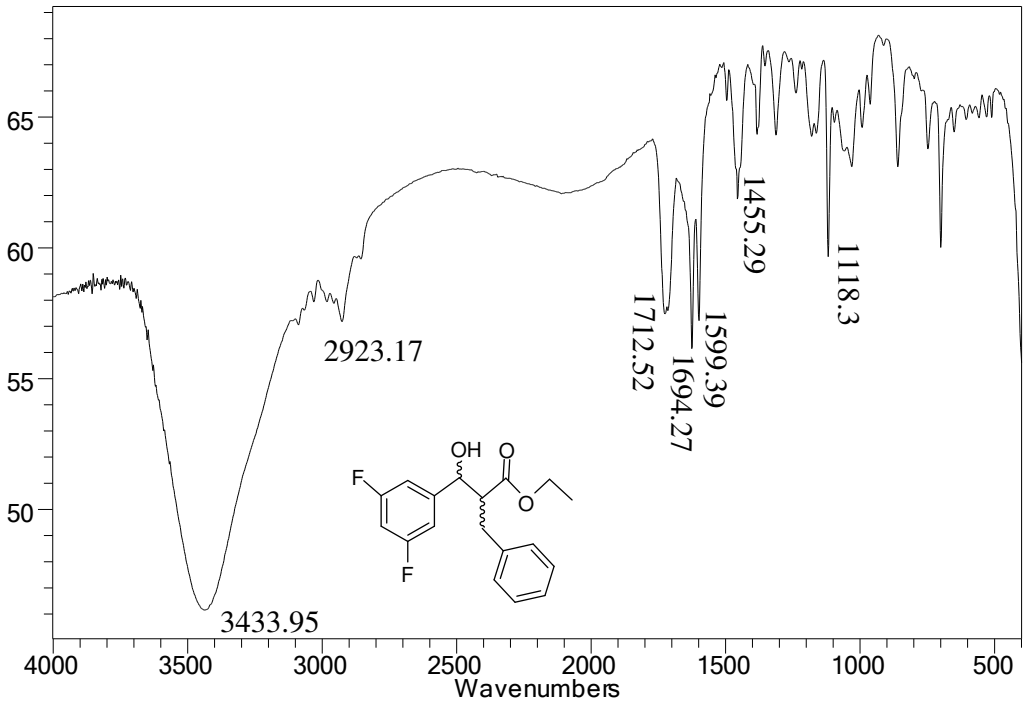


Figura 31: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do aduto β-hidroxi-α-benzilado **(16)**.

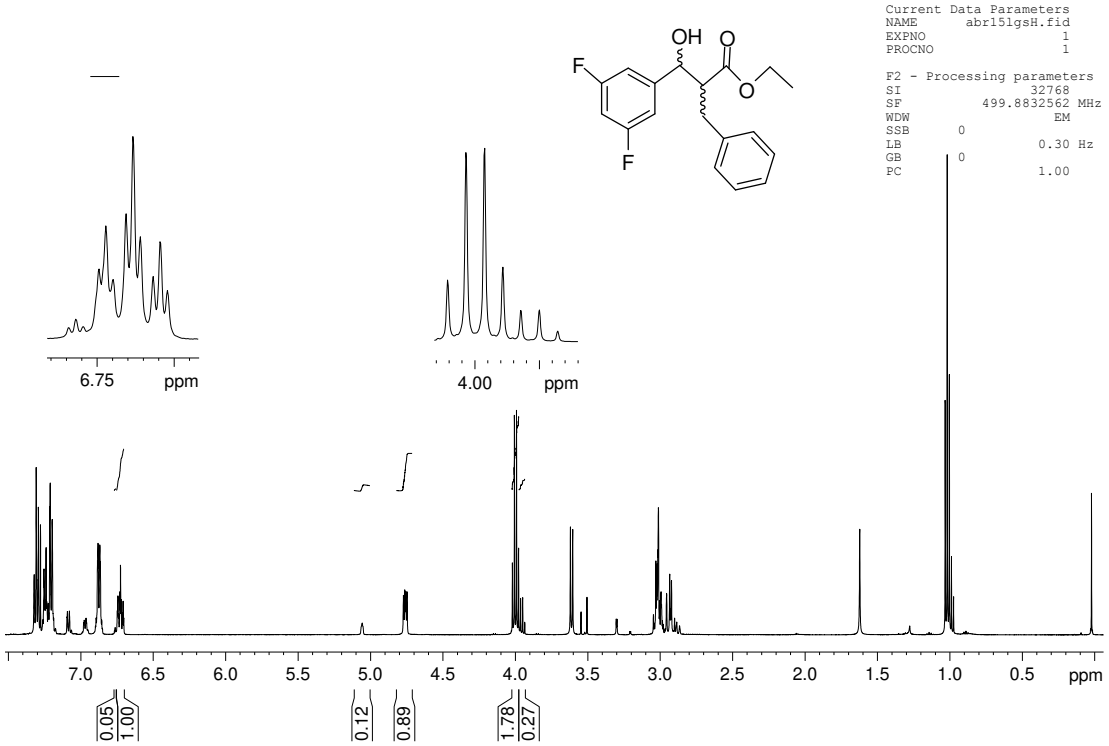


Figura 32: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do aduto β-hidroxi-α-benzilado **(16)**.

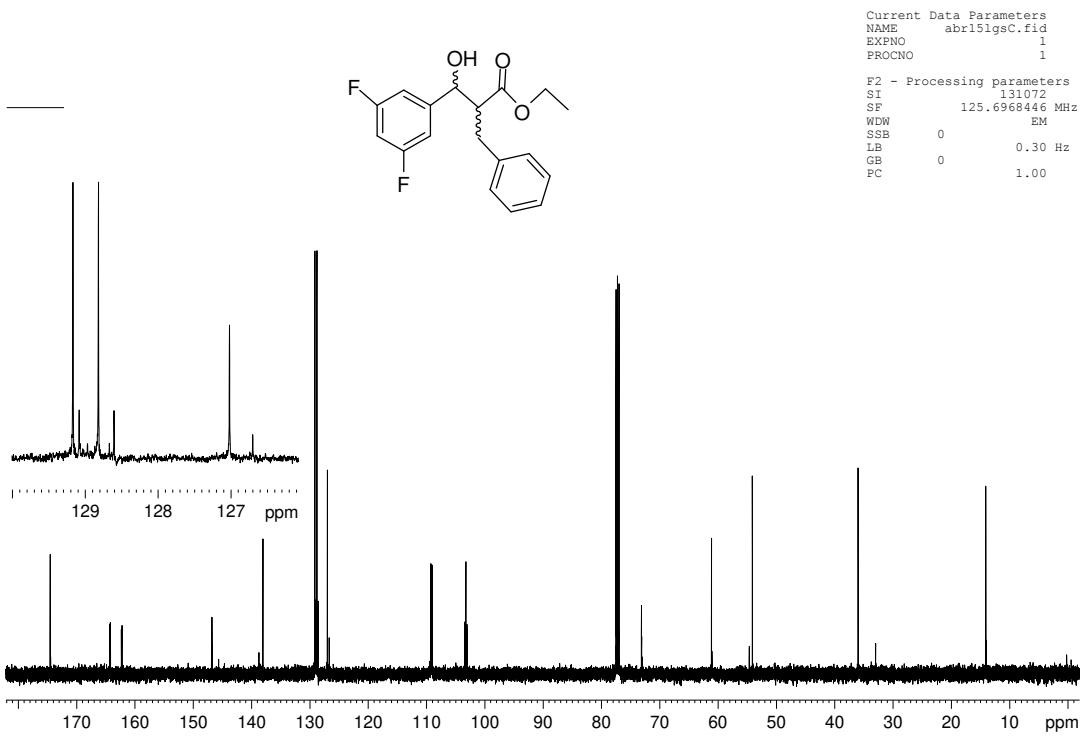
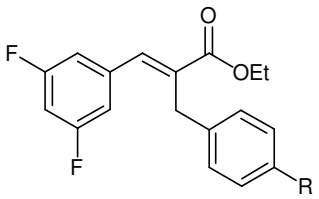
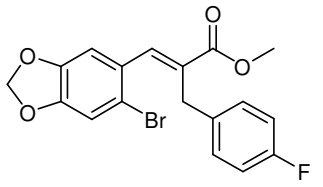


Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do aduto β-hidroxi-α-benzilado **(16)**.

8.2.4. Preparação dos cinamatos α-substituídos 11, 11a, 11b e 11c (reação de adição 1,4 catalisada por ródio: metodologia geral)



11, R =F; **11a**, R = SO_2CH_3; **11b**, R = SO_2NH_2



11c

Às soluções dos adutos de MBH **11**, **11a**, **11b** e **11c** (1,06 – 2,05 mmol) no sistema de solventes apropriado, tolueno/metanol ou dioxano/água (**11b**), a temperatura ambiente, e sob agitação magnética, foram adicionados os ácidos borônicos (2,12 – 4,10 mmol) e o catalisador de ródio (2 – 5 mol%). Para os adutos **11b** e **11c** foi acrescentado trifenilfosfina (1,06 – 2,05 mmol). Cada uma das misturas resultantes foram aquecidas a 50 ºC (**11b** e **11c)** ou refluxadas e a evolução das reações foram acompanhadas por CCD. Após o término das reações, o excesso de solvente foi removido sob pressão reduzida. Os resíduos de evaporação foram dissolvidos em acetato de etila (50 mL) e as soluções orgânicas foram lavadas com solução saturada de NaCl (3 x 15 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os brutos de evaporação foram purificados por cromatografia em coluna de gel de silica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (88/12).

Nome IUPAC: (2*E*)-3-(3,5-difluorofenil)-2-[(4-fluorofenil)metil]prop-2-enoato de etila (**11**)

Característica: Óleo amarelado

Rendimento: 71%

IV (Filme, ν_{max}): 3086, 2983, 2928, 1713, 1619, 1590, 1508, 1258, 1120, 1096 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,77 (s, 1H), 7,16-7,07 (m, 2H), 7,01-6,91 (m, 2H), 6,89-6,80 (m, 2H), 6,76 (tt, ^{5}J = 2,4 Hz e ^{3}J = 8,9 Hz, 1H), 4,21 (q, ^{3}J = 7,1 Hz, 2H), 3,87 (s, 2H), 1,24 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 167,2, 163,0 (dd, ^{1}J= 249,3 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J = 249,3 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F), 161,5 (d, ^{1}J = 244,4 Hz, C-F), 138,4 (t, ^{3}J = 9,5 Hz, C-F), 137,8 (t, ^{4}J = 2,3 Hz, C-F), 134,3 (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F), 133,5, 129,4, 129,2, 115,5, 115,2, 111,9 (d, ^{2}J = 9,1 Hz, C-F), 111,6 (d, ^{2}J = 9,1 Hz, C-F), 103,9 (t, ^{2}J = 25,3 Hz, C-F), 61,2, 32,2, 14,0.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{18}H_{16}F_3O_2$ - 321,1102; encontrado 321,1186.

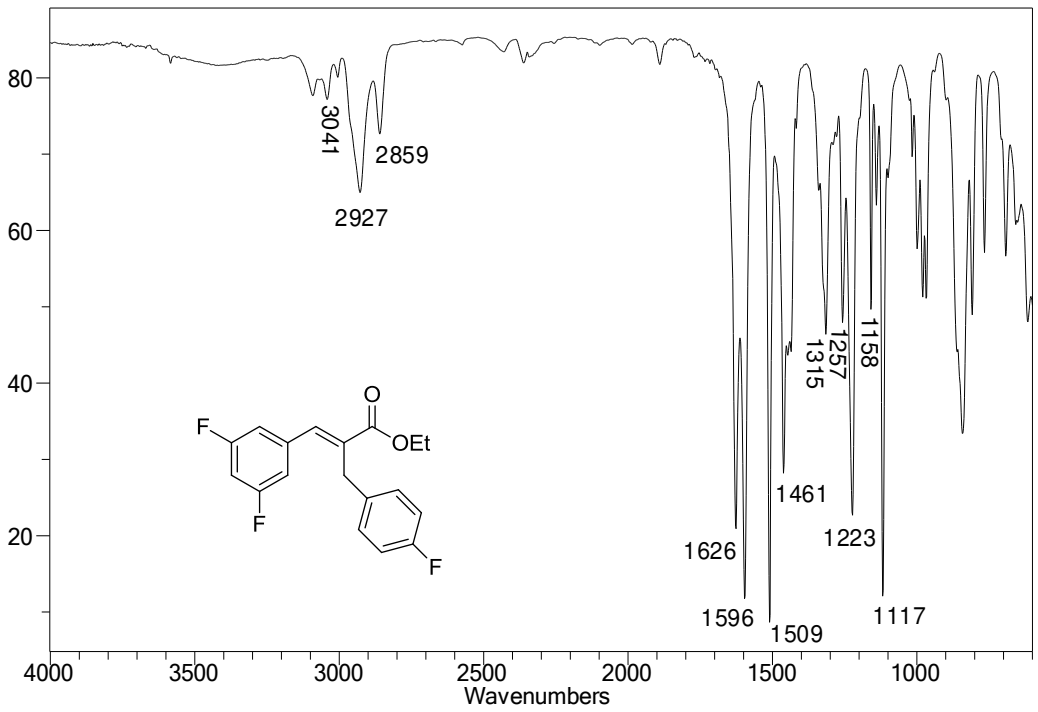


Figura 34: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do cinamato α-substituído **(11)**.

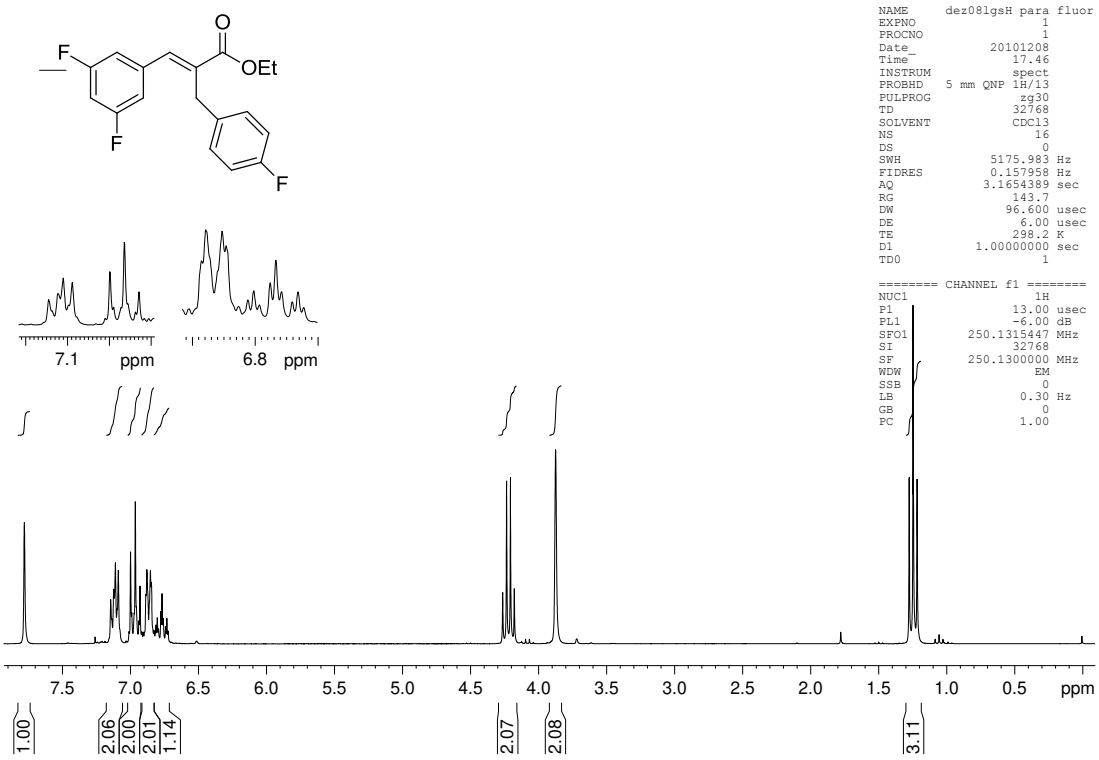


Figura 35: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do cinamato α-substituído **(11)**.

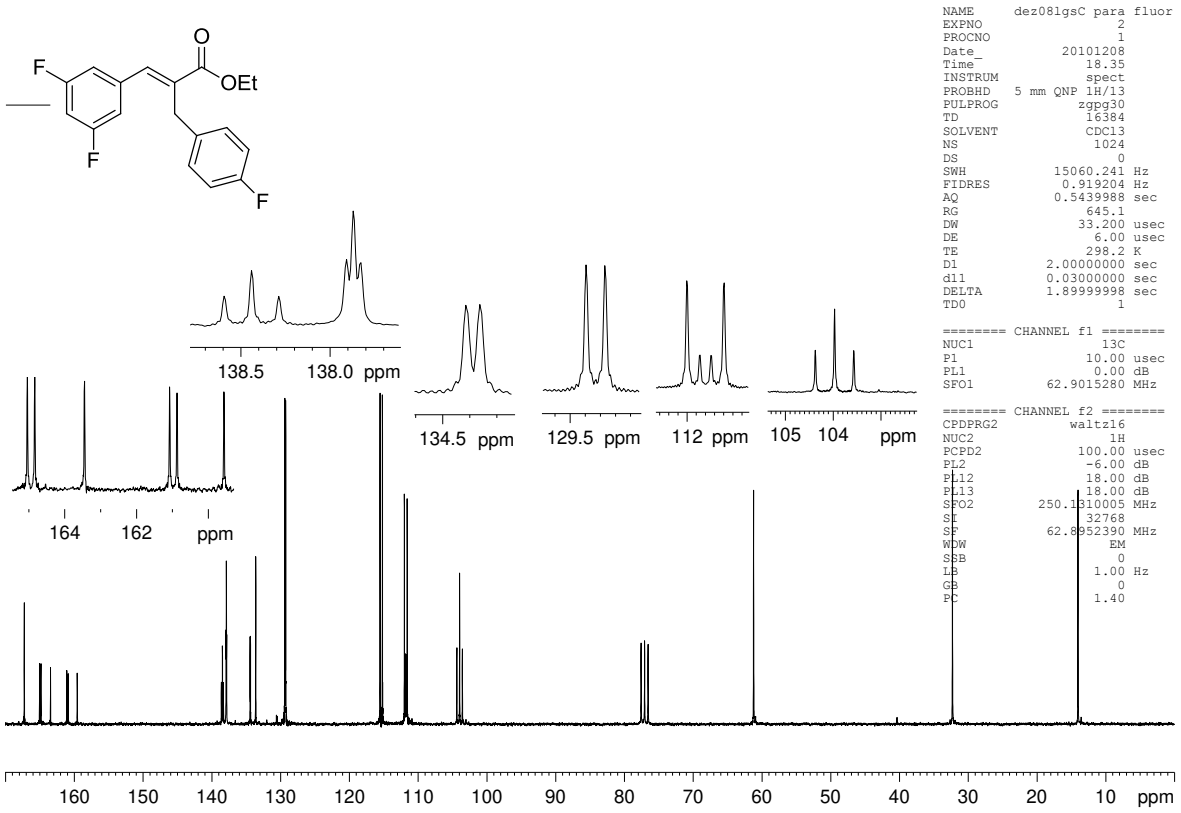


Figura 36: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do cinamato α-substituído (**11**).

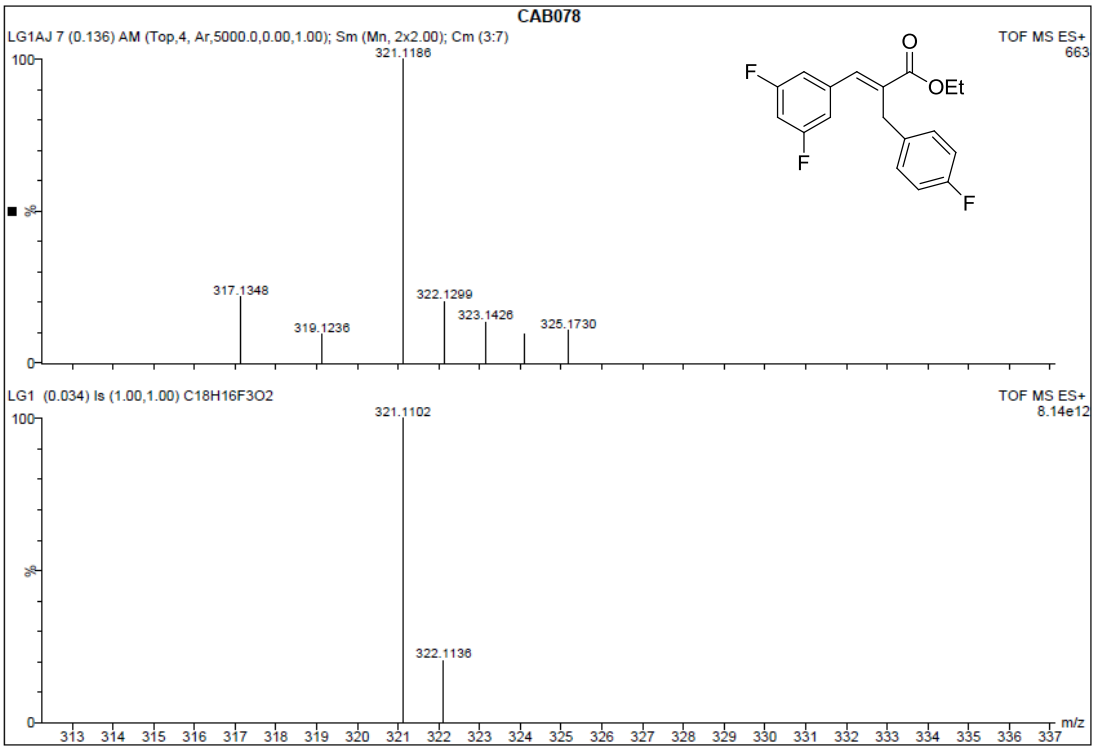


Figura 37: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do cinamato α-substituído (**11**).

Nome IUPAC: (2*E*)-3-(3,5-difluorofenil)-2-[(4-metanosulfonilfenil)metil] prop-2-enoato de etila (**11a**)

Característica: Óleo amarelado

Rendimento: 61%

IV (Filme, ν_{max}): 3422, 1708, 1619, 1591, 1307, 1262, 1120, 1150, 1091 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,92-7,79 (m, 3H), 7,33 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,87-6,73 (m, 3H), 4,20 (q, ^{3}J = 7,1 Hz, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,03 (s, 3H), 1,23 (t, ^{3}J = 7,0 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 166,8, 163,1 (dd, ^{1}J = 249,5 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F), 162,9 (dd, ^{1}J = 250,0 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F), 145,4, 139,0 (t, ^{4}J = 2,5 Hz, C-F), 138,6, 138,0 (t, ^{3}J = 9,5 Hz, C-F), 132,1, 128,8, 127,7, 111,8 (d, ^{2}J = 8,8 Hz, C-F), 111,5 (d, ^{2}J = 8,8 Hz, C-F), 104,3 (t, ^{2}J = 25,2 Hz, C-F), 61,4, 44,5, 33,1, 14,0.

EMAR (EI, m/z): calculado para $C_{19}H_{18}F_2O_4S$ - 380,0894; encontrado 380,0895.

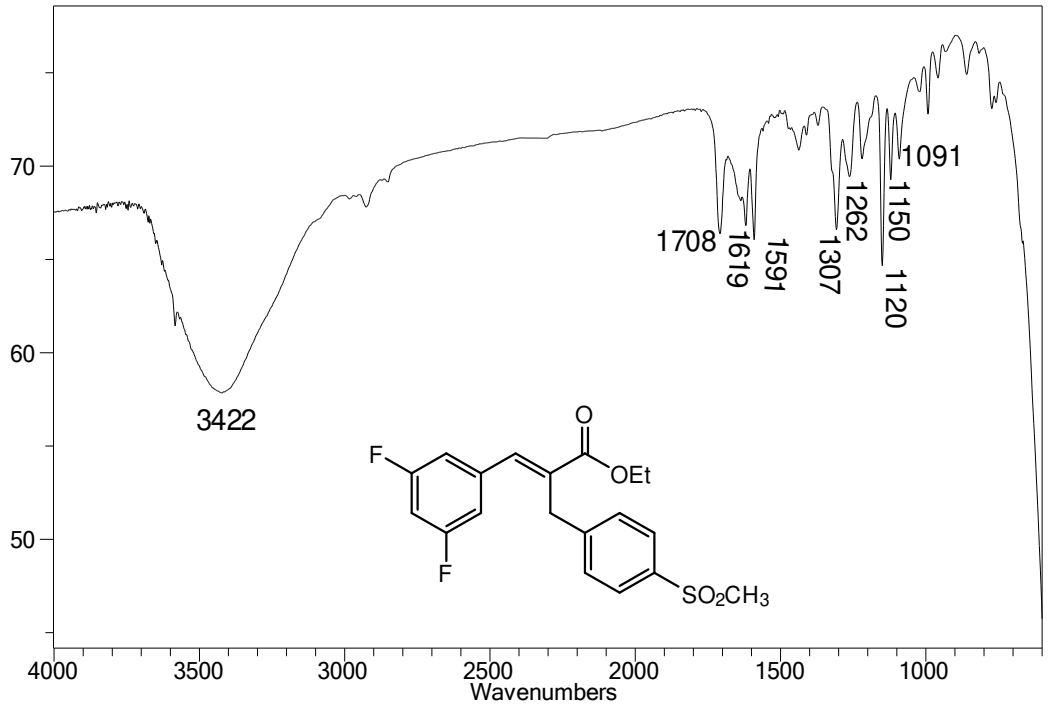


Figura 38: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do cinamato α-substituído **(11a)**.

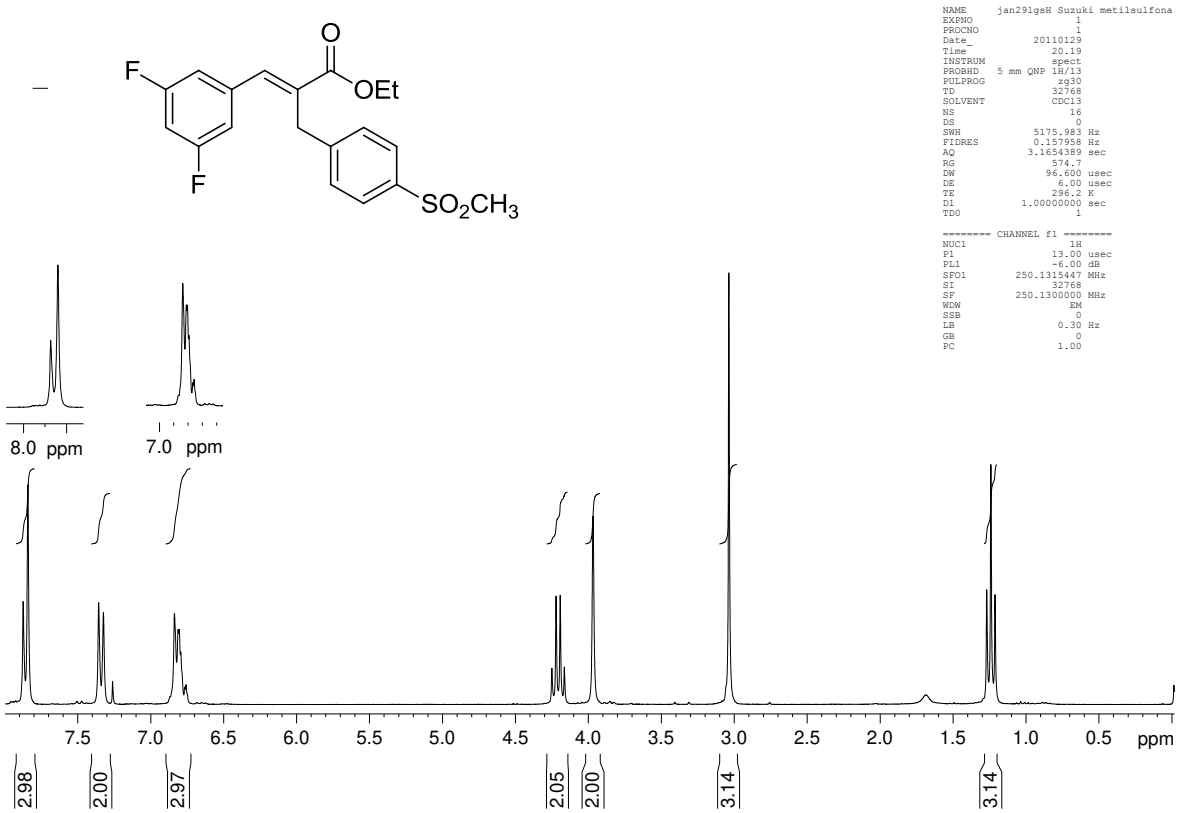


Figura 39: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do cinamato α-substituído **(11a)**.

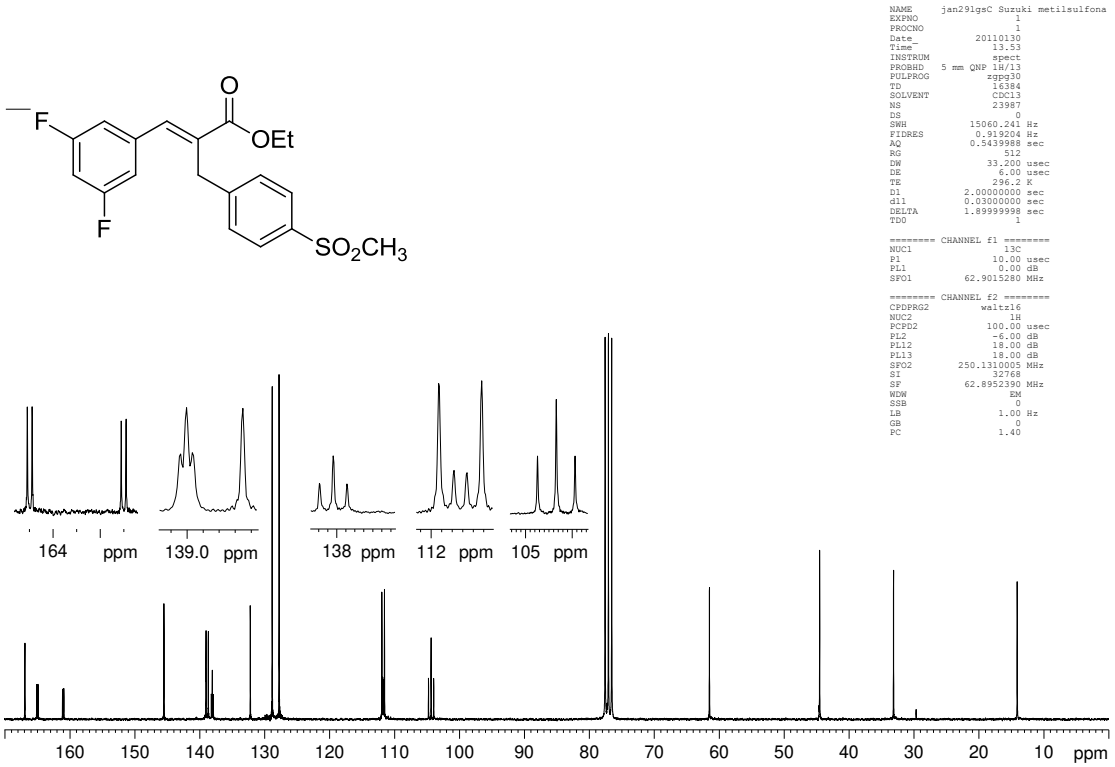


Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do cinamato α-substituído **(11a)**.

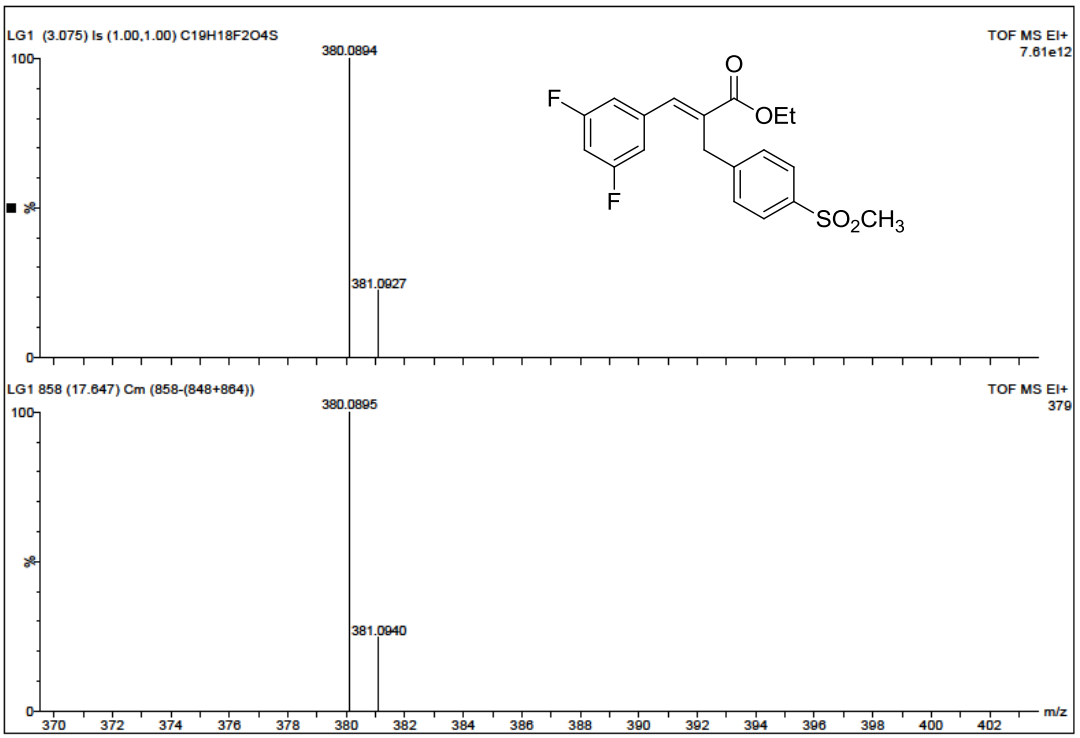


Figura 41: Espectro de massas de alta resolução (EI, *m/z*) do cinamato α-substituído **(11a)**.

Nome IUPAC: (2*E*)-3-(3,5-difluorofenil)-2-[(4-sulfamoilfenil)metil]prop-2-enoato de etila (**11b**)

Característica: óleo incolor

Rendimento: 55%

IV (Filme, ν_{max}): 3373, 3264, 3079, 2992, 2900, 1707, 1619, 1331, 1276, 1156, 1118 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, MeOD), δ ppm: 7,85 (d, ^{3}J= 6,4 Hz, 2H), 7,81 (s, 1H), 7,31 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 2H), 7,03-6,87 (m, 3H), 4,19 (q, ^{3}J = 7,1 Hz, 2H), 3,97 (s, 2H), 1,22 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, MeOD), δ ppm: 167,2, 163,1 (dd, J = 248,1 Hz e ^{3}J = 12,9 Hz, C-F), 162,9 (dd, J = 248,0 Hz e ^{3}J = 12,8 Hz, C-F), 143,7, 141,6, 138,4 (t, ^{3}J = 10,0 Hz, C-F), 138,4 (t, ^{4}J = 2,4 Hz, C-F), 132,6, 128,1, 126,1, 111,6 (d, ^{2}J = 9,2 Hz, C-F), 111,3 (d, ^{2}J = 8,9 Hz, C-F), 103,6 (t, ^{2}J = 25,7 Hz, C-F), 61,1, 32,4, 13,0.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{18}H_{18}F_2NO_4S$ - 382,0925; encontrado 382,0992.

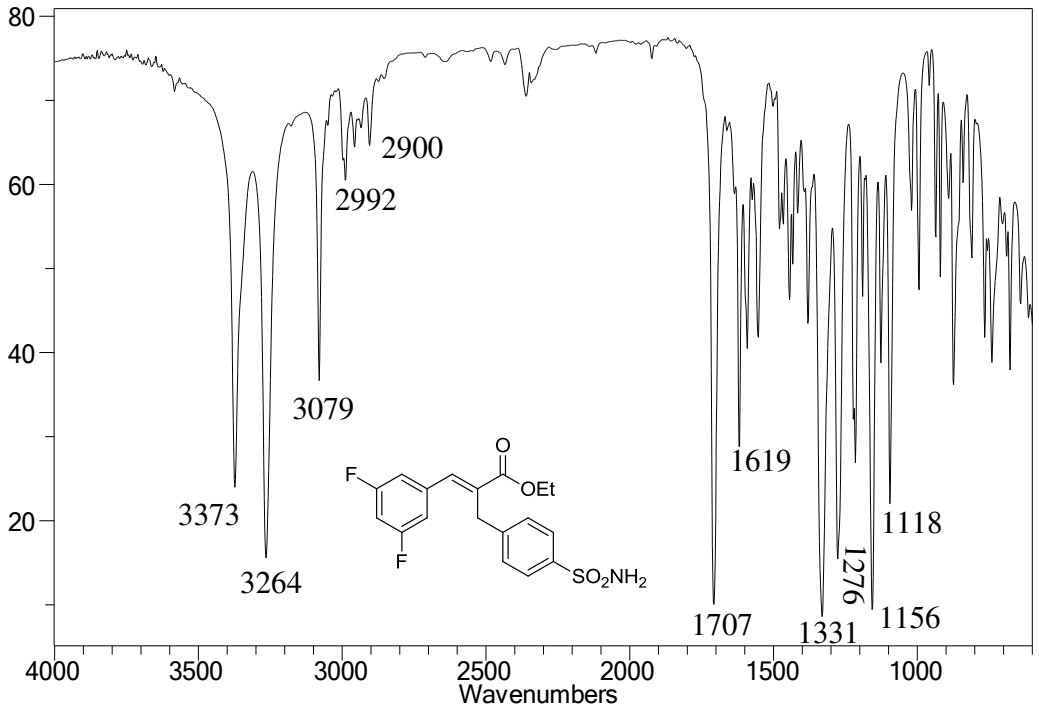


Figura 42: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do cinamato α-substituído **(11b)**.

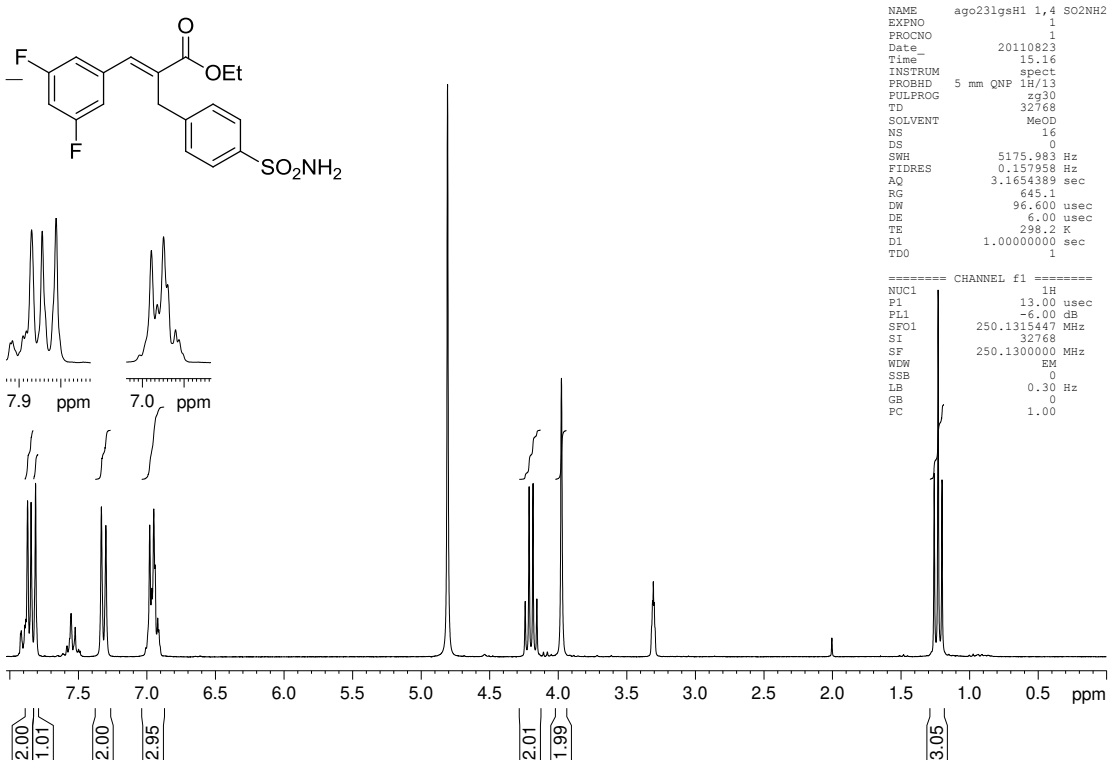


Figura 43: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, MeOD com 0,05% TMS) do cinamato α-substituído **(11b)**.

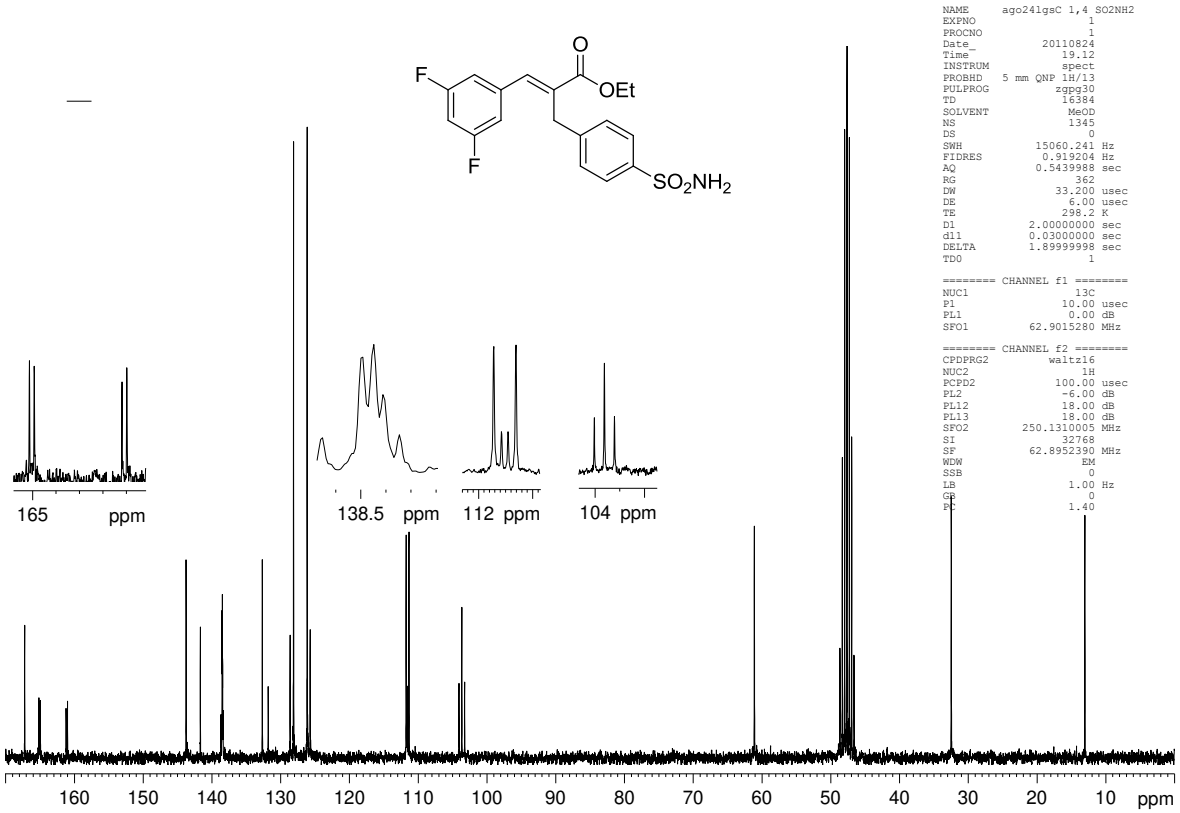


Figura 44: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, MeOD com 0,05% TMS) do cinamato α-substituído **(11b)**.

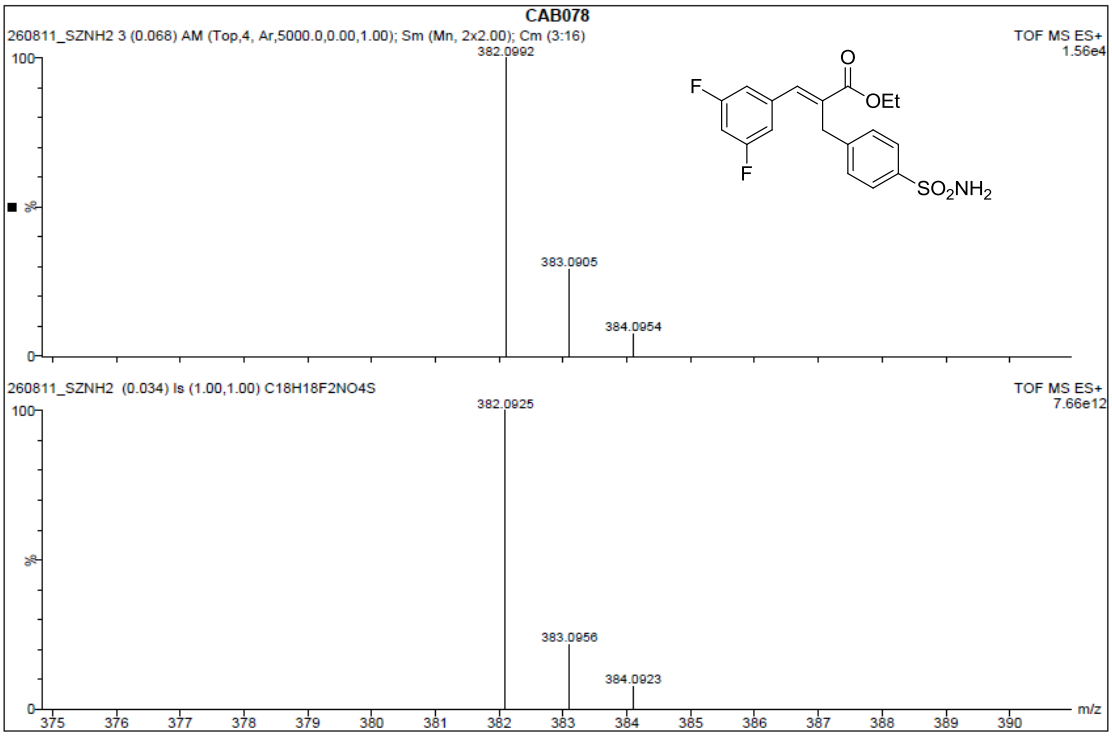


Figura 45: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do cinamato α-substituído **(11b)**.

Nome IUPAC: (2*E*)-3-(6-bromo-2*H*-1,3-benzodioxol-5-il)-2-[(4-fluorofenil)metil]prop-2-enoato de metila (**11c**)

Característica: Óleo esverdeado

Rendimento: 72%

IV (Filme, ν_{max}): 3054, 2986, 1713, 1600, 1505, 1478, 1265, 1039 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,80 (s, 1H), 7,13-7,04 (m, 3H), 7,00-6,90 (m, 2H), 6,70 (s, 1H), 5,96 (s, 2H), 3,75 (s, 5H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 167,8, 159,4 (d, *J*= 243,9 Hz, C-F), 148,7, 147,2, 140,0, 134,7 (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F), 131,8, 129,4, 129,3, 128,5, 115,6 (C-Br), 115,4, 115,0, 112,9, 109,2, 102,0, 52,2, 32,3.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{18}H_{15}BrFO_4$ - 393,0138; encontrado 393,0175.

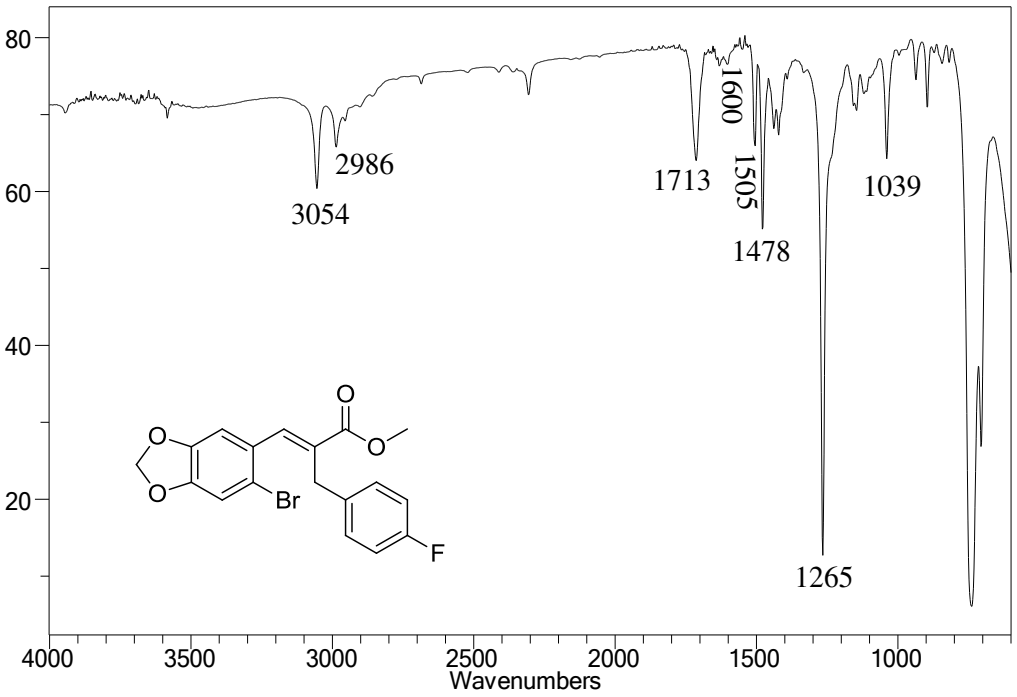


Figura 46: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do cinamato α-substituído **(11c)**.

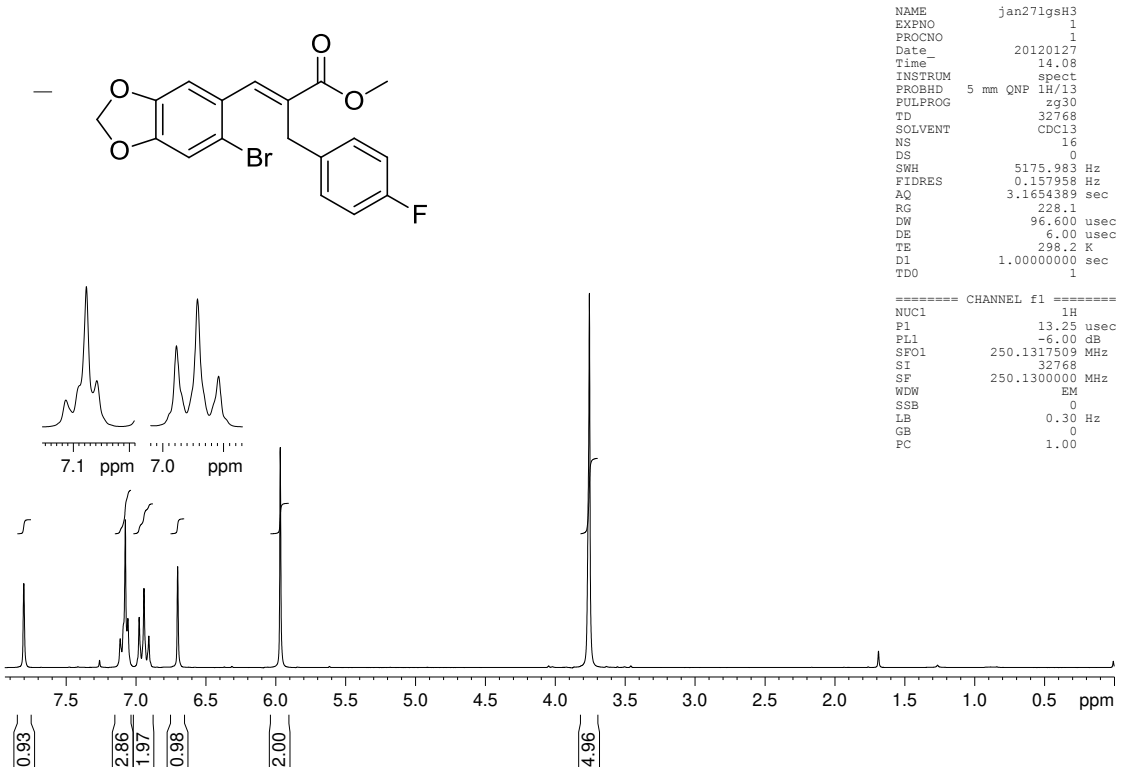


Figura 47: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do cinamato α-substituído **(11c)**.

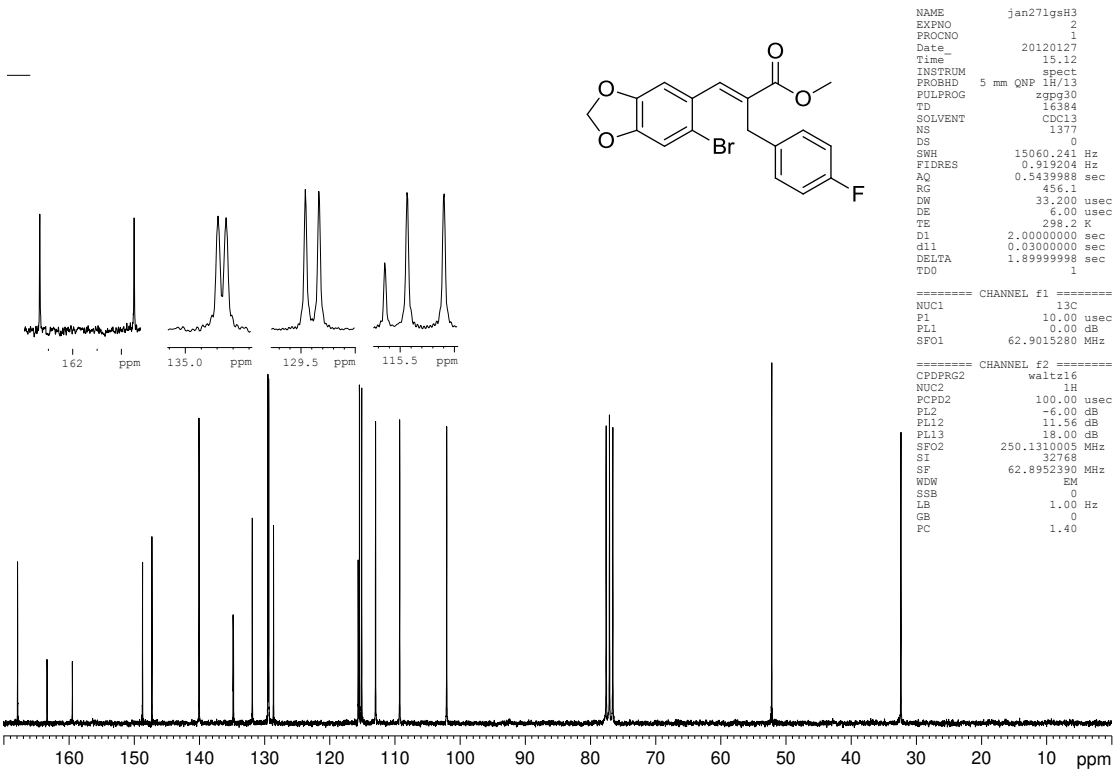


Figura 48: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do cinamato α-substituído **(11c)**.

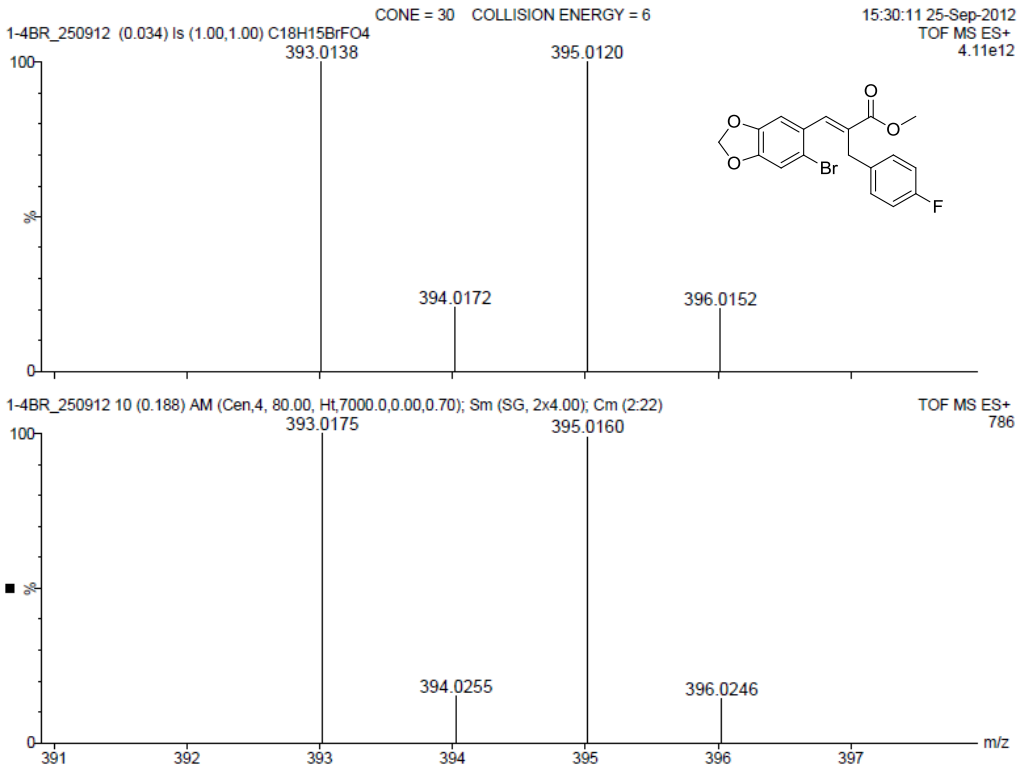
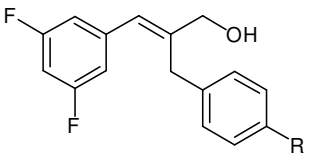
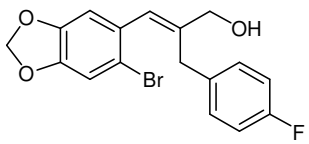


Figura 49: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do cinamato α-substituído **(11c)**.

8.2.5. Preparação dos álcoois alílicos 10, 10a, 10b e 10c: Metodologia geral



10, R =F; **10a**, R = SO_2CH_3; **10b**, R = SO_2NH_2



10c

Às soluções cinamatos **11, 11a, 11b** e **11c** (0,64 – 1,44 mmol), sob agitação magnética e atmosfera de argônio foram resfriadas à -78°C. Após, adicionou-se, lentamente, DIBAL-H (solução 1 mol/L em tolueno, 2,5 – 5,0

equivalentes). A evolução das reações foi acompanhada por CCD. Após o término da reação, adicionou-se lentamente, às misturas reacionais, 2,0 mL de solução saturada de acetato de sódio. Em seguida, adicionou-se 2,0 mL de solução saturada de NH_4Cl. A mistura resultante foi mantida sob vigorosa agitação por 1 hora. Após esse tempo as misturas foram filtradas, sob vácuo, em funil de Büchner com placa porosa contendo celite. As soluções homogêneas obtidas foram transferidas para um funil de separação e lavadas com 20,0 mL de água destilada e, logo após, com mais 20,0 mL de solução saturada de NaCl e o solvente foi evaporado. Os resíduos de evaporação foram dissolvidos em acetato de etila (50 mL) e as soluções orgânicas foram lavadas com solução saturada de NaCl (3 x 15 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os brutos de evaporação foram purificados por cromatografia em coluna de gel de silica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (64/36).

Nome IUPAC: (2*E*)-3-(3,5-difluorofenil)-2-[(4-fluorofenil)metil]prop-2-en-1-ol (**10**)

Característica: Óleo incolor

Rendimento: 90%

IV (Filme, ν_{max}): 3406, 1620, 1588, 1508, 1117, 1048 cm^{-1}.

RMN ^1H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,17-7,04 (m, 2H), 7,04-6,90 (m, 2H), 6,85-6,77 (m, 2H), 6,76-6,62 (m, 2H), 4,10 (d, ^2J = 2,9 Hz, 2H), 3,61 (s, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 163,0 (dd, ^1J = 248,2 Hz e ^3J = 13,3 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^1J = 248,2 Hz e ^3J = 13,0 Hz, C-F), 161,5 (d, ^1J = 244,7 Hz, C-F), 141,8, 140,2 (t, ^3J = 9,6 Hz, C-F), 133,8 (d, ^4J = 3,2 Hz, C-F), 129,7, 129,6, 124,8 (t, ^4J = 2,5 Hz, C-F), 115,6, 115,3, 111,4 (d, ^2J = 8,5 Hz, C-F), 111,1 (d, ^2J = 8,5 Hz, C-F), 102,3 (t, ^2J = 25,6 Hz, C-F), 65,7, 33,5.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{16}H_{12}F_3$ - 261,0891; encontrado 261,0865.

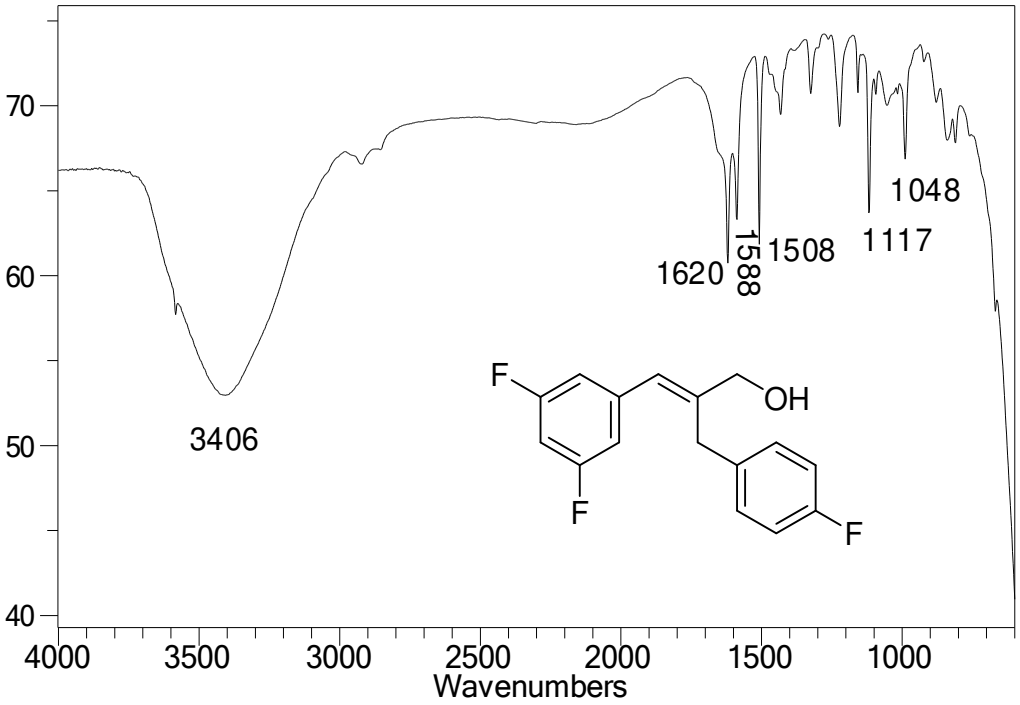
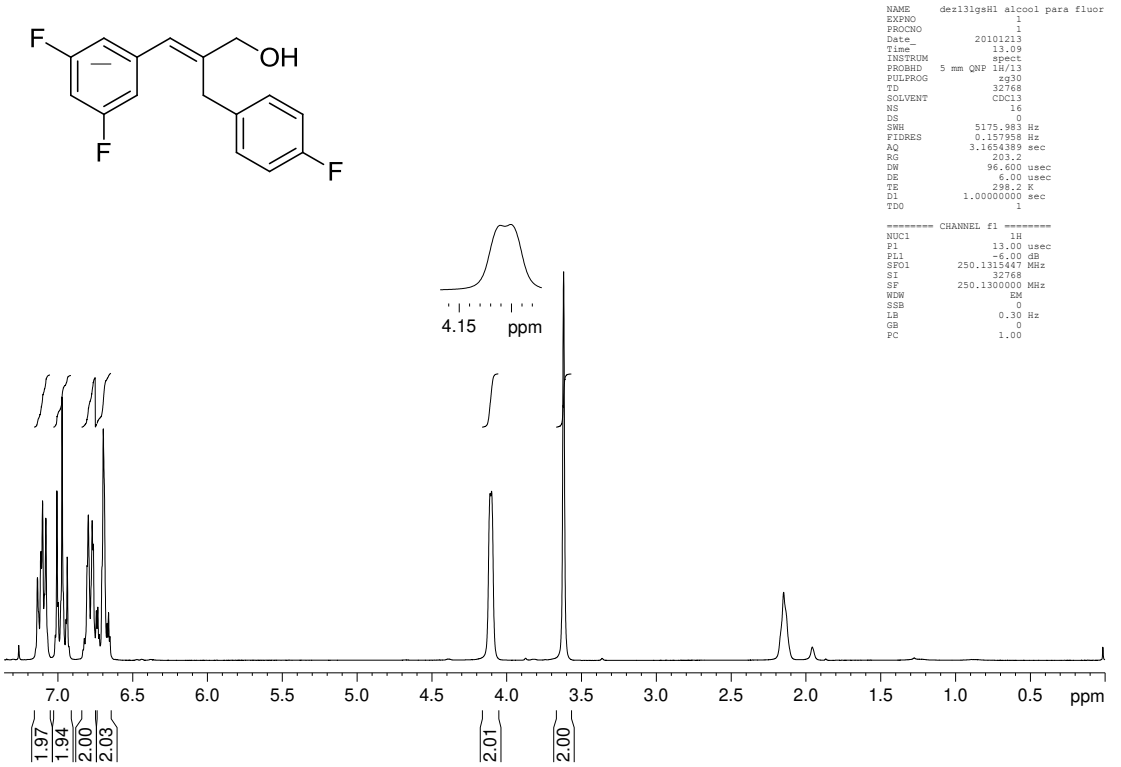


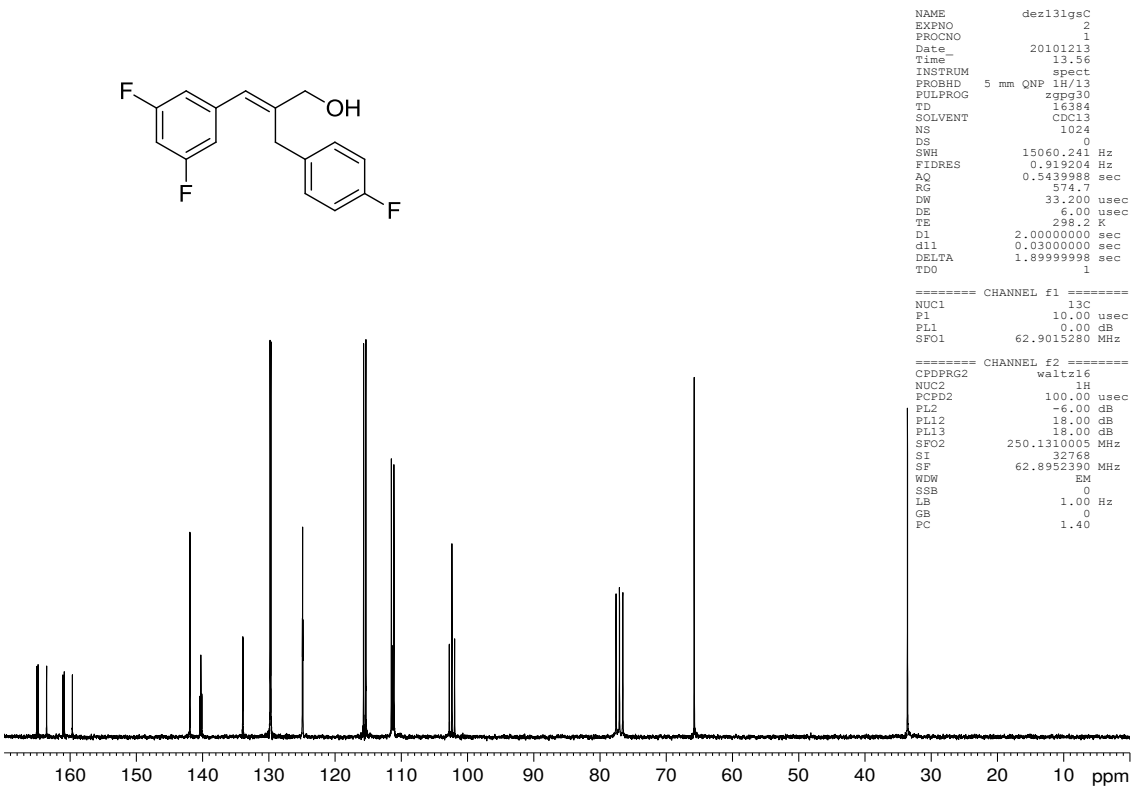
Figura 50: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do álcool alílico (**10**).




```
NAME      dez13lgsH1 alcool para fluor
EXPNO                1
PROCNO               1
Date_         20101213
Time              13.09
INSTRUM           spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG           zg30
TD               32768
SOLVENT          CDCl3
NS                  16
DS                   0
SWH           5175.983 Hz
FIDRES        0.157958 Hz
AQ            3.1654389 sec
RG                203.2
DW             96.600 usec
DE              6.00 usec
TE              298.2 K
D1          1.00000000 sec
TD0                  1

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                1H
P1             13.00 usec
PL1            -6.00 dB
SFO1      250.1315447 MHz
SI               32768
SF        250.1300000 MHz
WDW                 EM
SSB                  0
LB              0.30 Hz
GB                   0
PC                1.00
```

Figura 51: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do álcool alílico **(10)**.




```
NAME           dez13lgsC
EXPNO                  2
PROCNO                 1
Date_           20101213
Time               13.56
INSTRUM            spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG         zgpg30
TD               16384
SOLVENT          CDCl3
NS                1024
DS                   0
SWH           15060.241 Hz
FIDRES        0.919204 Hz
AQ            0.5439988 sec
RG                574.7
DW             33.200 usec
DE              6.00 usec
TE              298.2 K
D1          2.00000000 sec
d11         0.03000000 sec
DELTA       1.89999998 sec
TD0                  1

======== CHANNEL f1 ========
NUC1               13C
P1             10.00 usec
PL1             0.00 dB
SFO1      62.9015280 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2         waltz16
NUC2                1H
PCPD2          100.00 usec
PL2             -6.00 dB
PL12            18.00 dB
PL13            18.00 dB
SFO2      250.1310005 MHz
SI               32768
SF        62.8952390 MHz
WDW                 EM
SSB                  0
LB              1.00 Hz
GB                   0
PC                1.40
```

Figura 52: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do álcool alílico **(10)**.

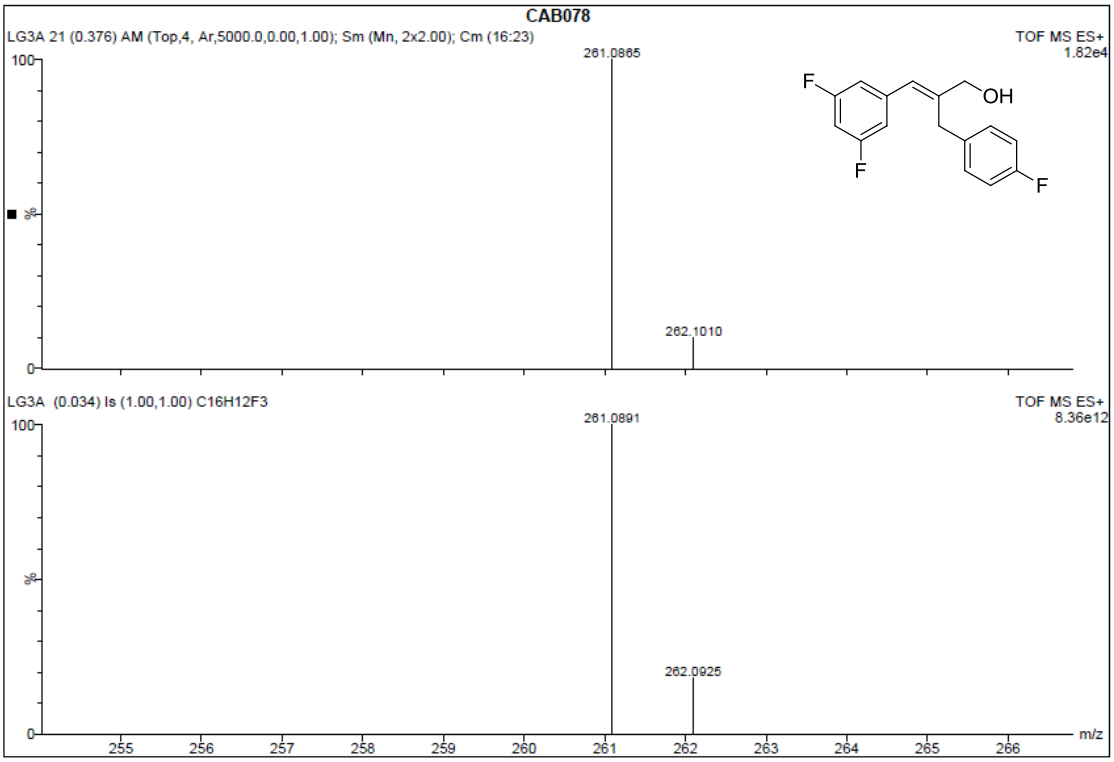


Figura 53: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do álcool alílico **(10)**.

Nome IUPAC: (2*E*)-3-(3,5-difluorofenil)-[(4-metanosulfonilfenil)metil]prop-2-en-1-ol (**10a**)

Característica: Óleo amarelado

Rendimento: 67%

IV (Filme, ν_{max}): 3431, 2922, 1619, 1588, 1301, 1148, 1117 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,80 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 2H), 7,32 (d, ^{3}J = 8,4 Hz, 2H), 6,79-6,59 (m, 4H), 4,07 (s, 2H), 3,70 (s, 2H), 3,01 (s, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 163,0 (dd, ^{1}J = 248,2 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J = 248,2 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F), 145,3, 140,6, 140,0 (t, ^{3}J = 9,4 Hz, C-F), 138,4, 129,3, 127,6, 125,7 (t, ^{4}J = 2,3 Hz, C-F), 111,3 (d, ^{2}J = 8,5 Hz, C-F), 111,1 (d, ^{2}J = 8,4 Hz, C-F), 102,4 (t, ^{2}J = 25,6 Hz, C-F), 65,5, 44,4, 34,2.

EMAR (EI, m/z): calculado para $C_{17}H_{16}F_2O_3S$ - 338,0788, encontrado 338,0800.

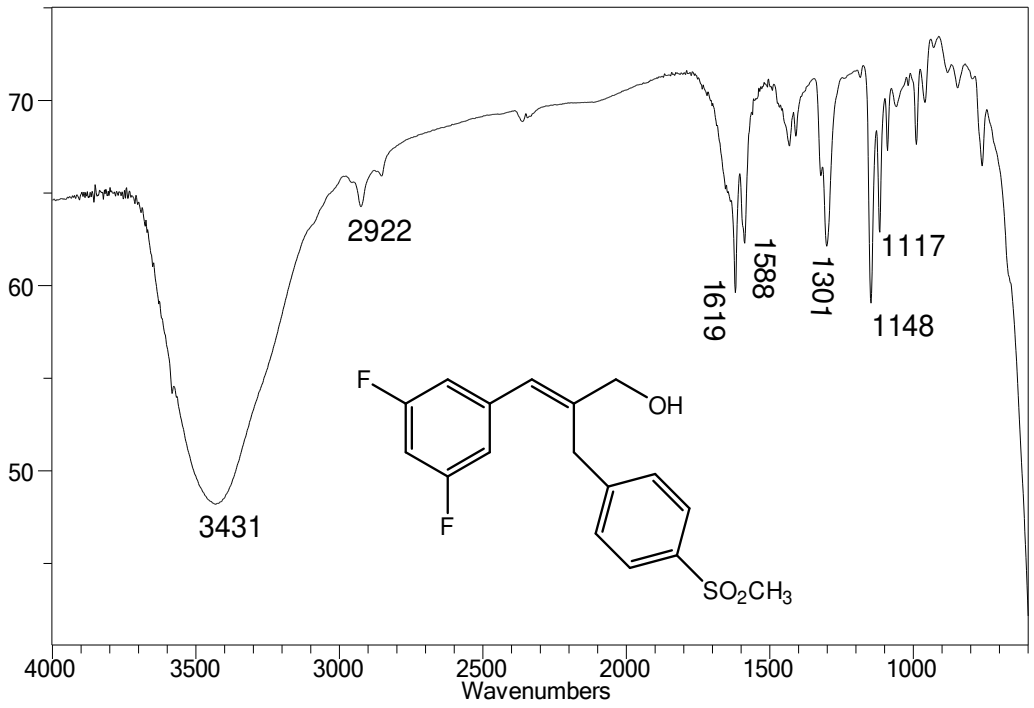


Figura 54: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do álcool alílico **(10a)**.

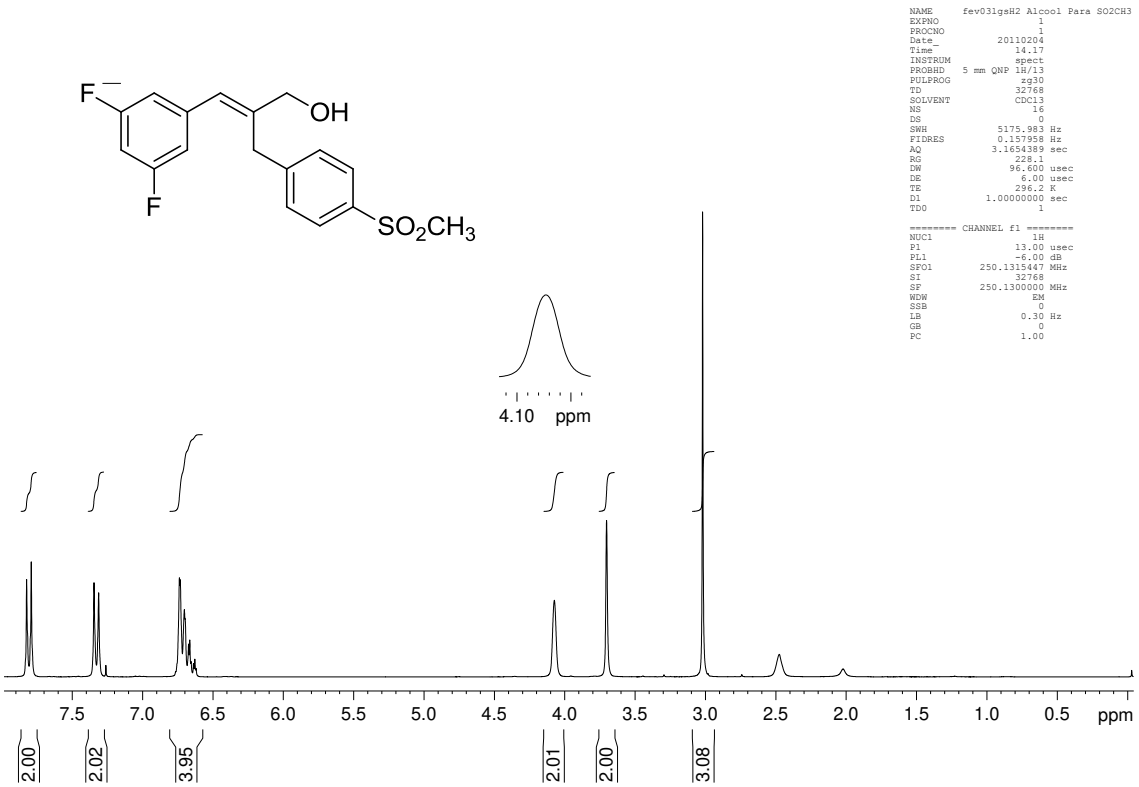


Figura 55: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do álcool alílico **(10a)**.

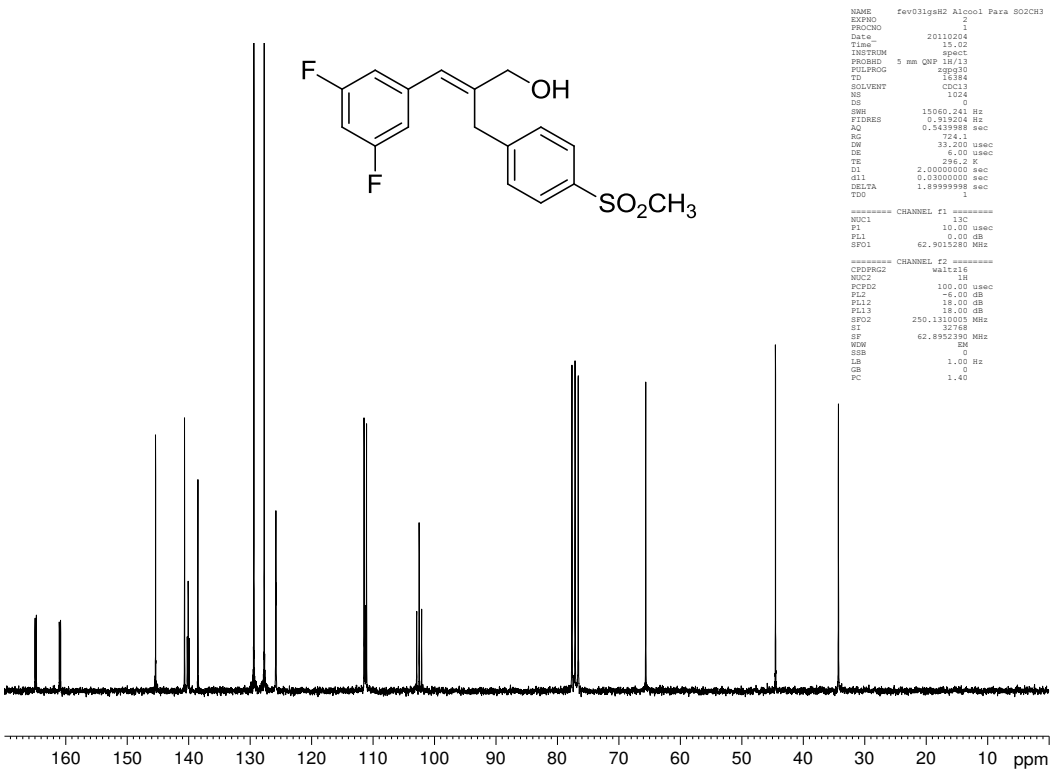


Figura 56: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do álcool alílico **(10a)**.

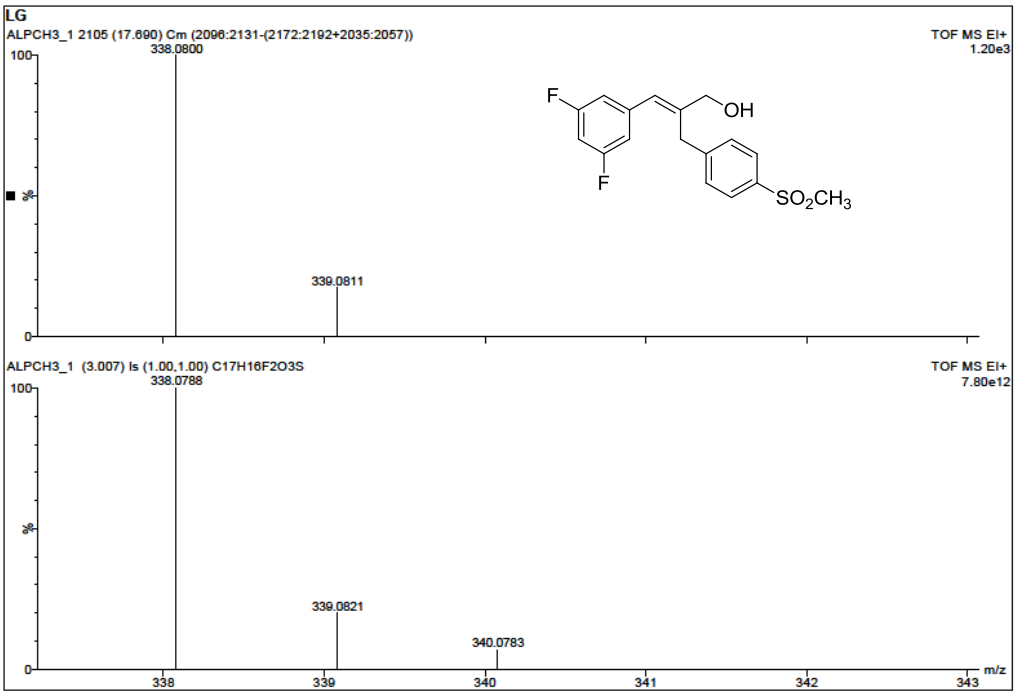


Figura 57: Espectro de massas de alta resolução (EI, *m/z*) do álcool alílico **(10a)**.

Nome IUPAC: 4-[(2*E*)-2-[(3,5-difluorofenil)metilideno]-3-hidroxipropil]benzeno-1-sulfonamida **(10b)**

Característica: Óleo pardo turvo

Rendimento: 70%

IV (Filme, ν_{max}): 3375, 3269, 3089, 2924, 1620, 1588, 1324, 1160, 1117 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, MeOD), δ ppm: 7,83 (d, ^{3}J = 8,4 Hz, 2H), 7,33 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 2H), 6,89-6,72 (m, 4H), 4,05 (d, ^{2}J = 1,1 Hz, 2H), 3,71 (s, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, MeOD), δ ppm: 163,3 (dd, J = 246,7 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F), 163,1 (dd, J = 246,8 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F), 143,5, 141,7, 141,6, 140,8 (t, ^{3}J = 9,8 Hz, C-F), 128,5, 126,1, 124,6 (t, ^{4}J = 2,3 Hz, C-F), 111,0 (d, ^{2}J = 8,6 Hz, C-F), 110,7 (d, ^{2}J = 8,7 Hz, C-F), 101,5 (t, ^{2}J = 25,7 Hz, C-F), 64,6, 33,5.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{16}H_{14}F_2NO_2S$ - 322,0713; encontrado 322,0738.

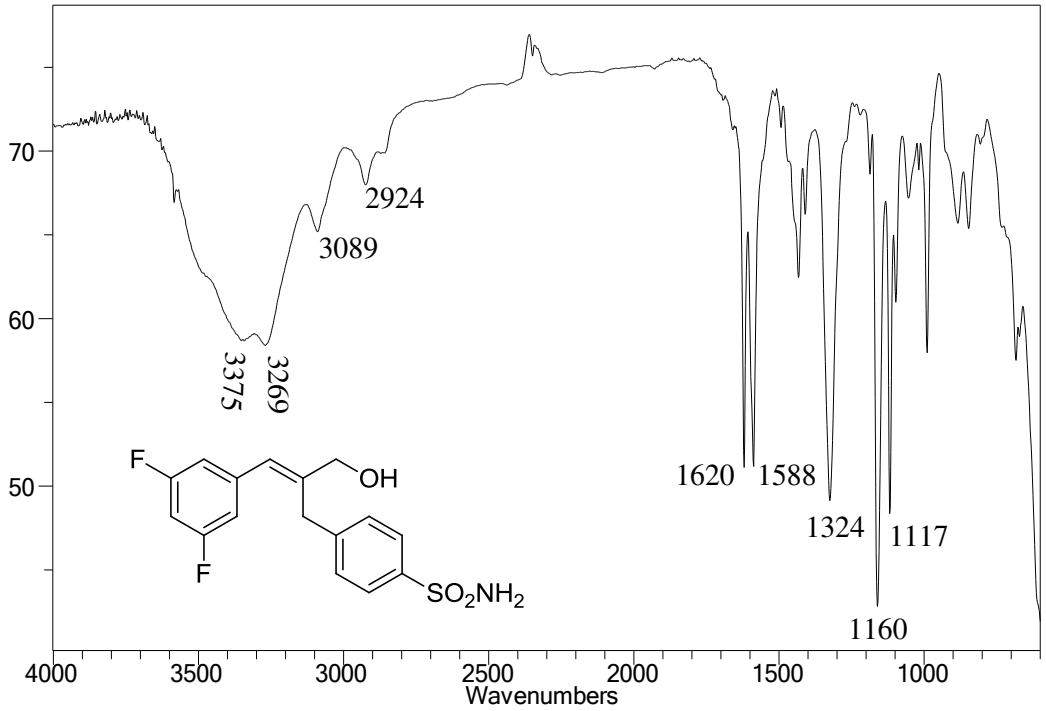
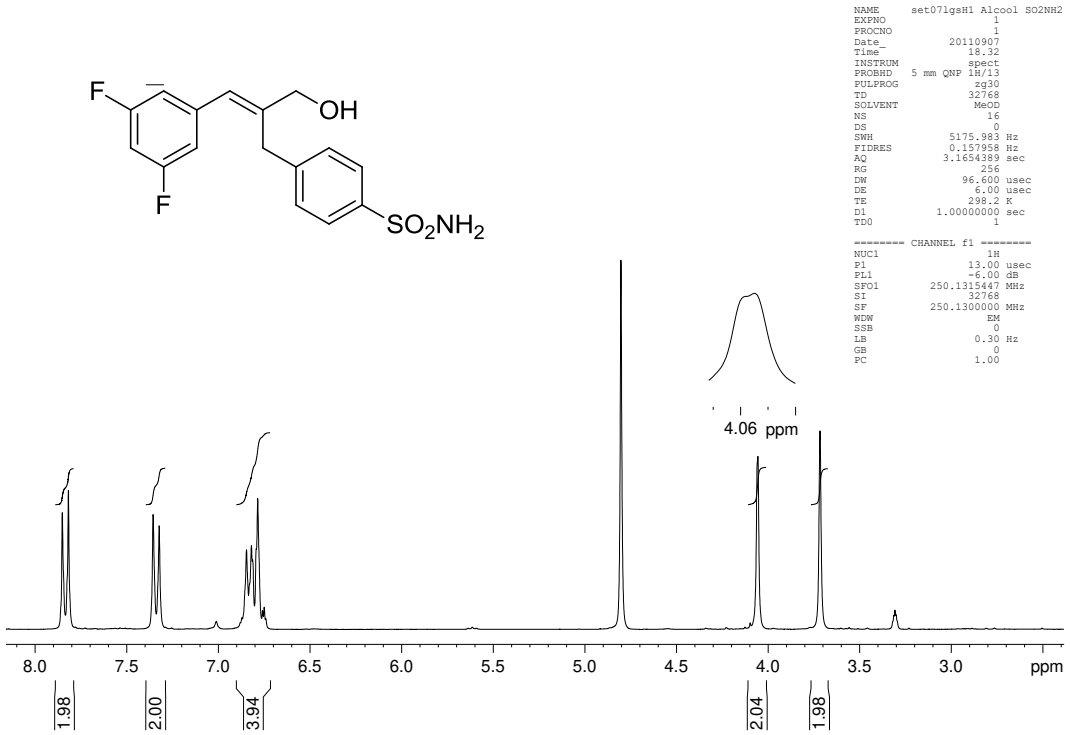


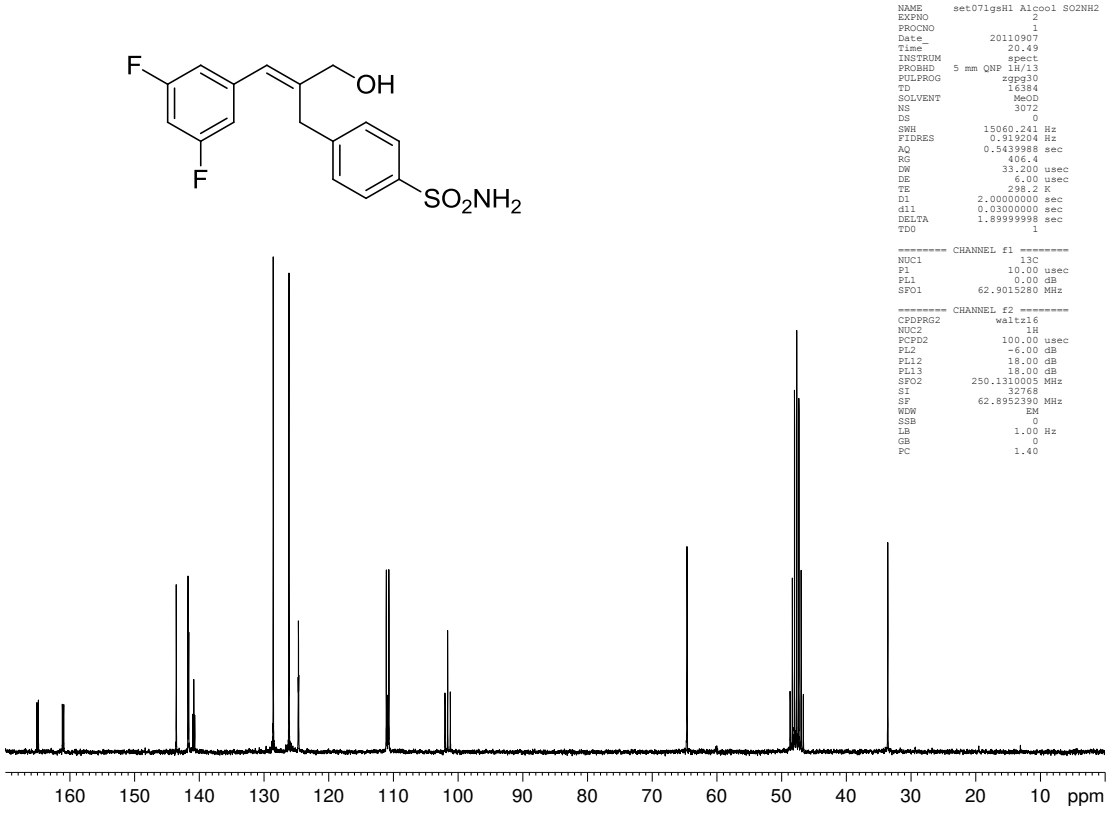
Figura 58: Espectro na região de infravermelho (filme, ν_{max}) do álcool alílico **(10b)**.




```
NAME      set071gsH1 Alcool SO2NH2
EXPNO                1
PROCNO               1
Date_         20110907
Time_            18.32
INSTRUM          spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG          zg30
TD              32768
SOLVENT          MeOD
NS                 16
DS                  0
SWH          5175.983 Hz
FIDRES       0.157958 Hz
AQ           3.1654389 sec
RG                256
DW             96.600 usec
DE              6.00 usec
TE             298.2 K
D1          1.00000000 sec
TD0                 1

======== CHANNEL f1 ========
NUC1               1H
P1              13.00 usec
PL1             -6.00 dB
SFO1       250.1315447 MHz
SI              32768
SF         250.1300000 MHz
WDW                EM
SSB                 0
LB               0.30 Hz
GB                  0
PC               1.00
```

Figura 59: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, MeOD com 0,05% TMS) do Álcool Alílico **(10b)**.




```
NAME      set071gsH1 Alcool SO2NH2
EXPNO                2
PROCNO               1
Date_         20110907
Time              20.49
INSTRUM          spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG        zgpg30
TD              16384
SOLVENT          MeOD
NS               3072
DS                  0
SWH          15060.241 Hz
FIDRES       0.919204 Hz
AQ           0.5439988 sec
RG               406.4
DW             33.200 usec
DE              6.00 usec
TE             298.2 K
D1          2.00000000 sec
d11         0.03000000 sec
DELTA       1.89999998 sec
TD0                 1

======== CHANNEL f1 ========
NUC1               13C
P1              10.00 usec
PL1              0.00 dB
SFO1       62.9015280 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2         waltz16
NUC2               1H
PCPD2          100.00 usec
PL2             -6.00 dB
PL12            18.00 dB
PL13            18.00 dB
SFO2       250.1310005 MHz
SI              32768
SF         62.8952390 MHz
WDW                EM
SSB                 0
LB               1.00 Hz
GB                  0
PC               1.40
```

Figura 60: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, MeOD com 0,05% TMS) do Álcool Alílico **(10b)**.

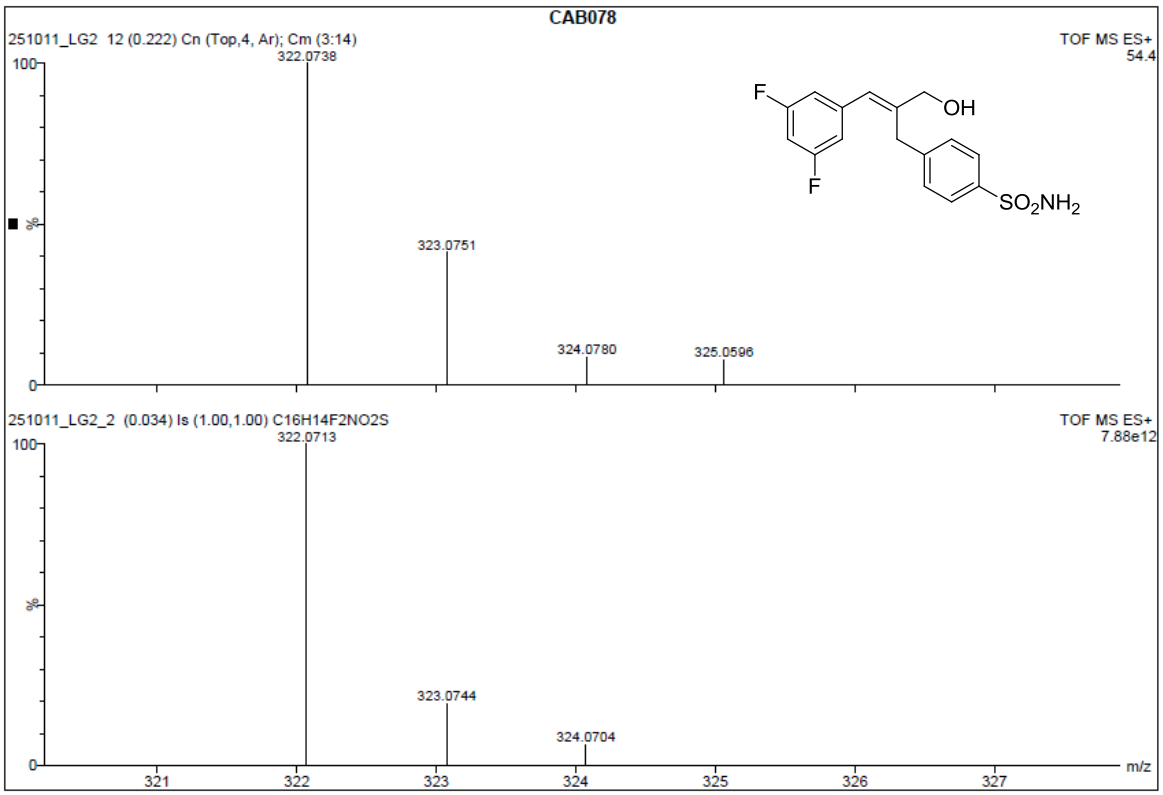


Figura 61: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do álcool alílico **(10b)**.

Nome IUPAC: (2*E*)-3-(6-bromo-2H-1,3-benzodioxol-5-il)-2-[(4-fluorofenil)metil]prop-2-en-1-ol (**10c**)

Característica: Óleo amarelo claro

Rendimento: 87%

IV (Filme, ν_{max}): 3397, 1601, 1507, 1475, 1411, 1265, 1223, 1157, 1114, 1038 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,12-7,04 (m, 3H), 7,00-6,90 (m, 2H), 6,73 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 5,95 (s, 2H), 4,10 (d, ^{2}J = 1,1 Hz, 2H), 3,50 (s, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 159,5 (d, J = 244,3 Hz, C-F), 147,4, 147,0, 140,7, 134,3 (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F), 130,2, 129,9, 129,8, 126,6, 115,4, 115,1, 114,9 (C-Br), 112,6, 109,9, 101,7, 65,5, 33,6.

EMAR (EI, m/z): calculado para $C_{17}H_{14}BrFO_3$ - 364,0110, encontrado 364,0125.

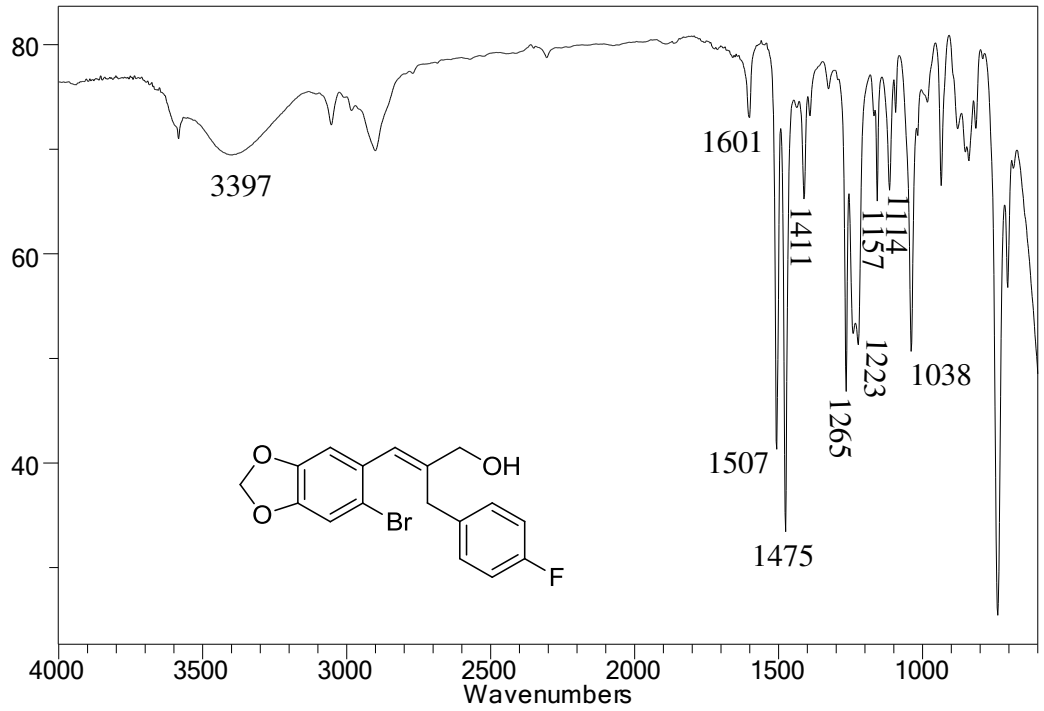
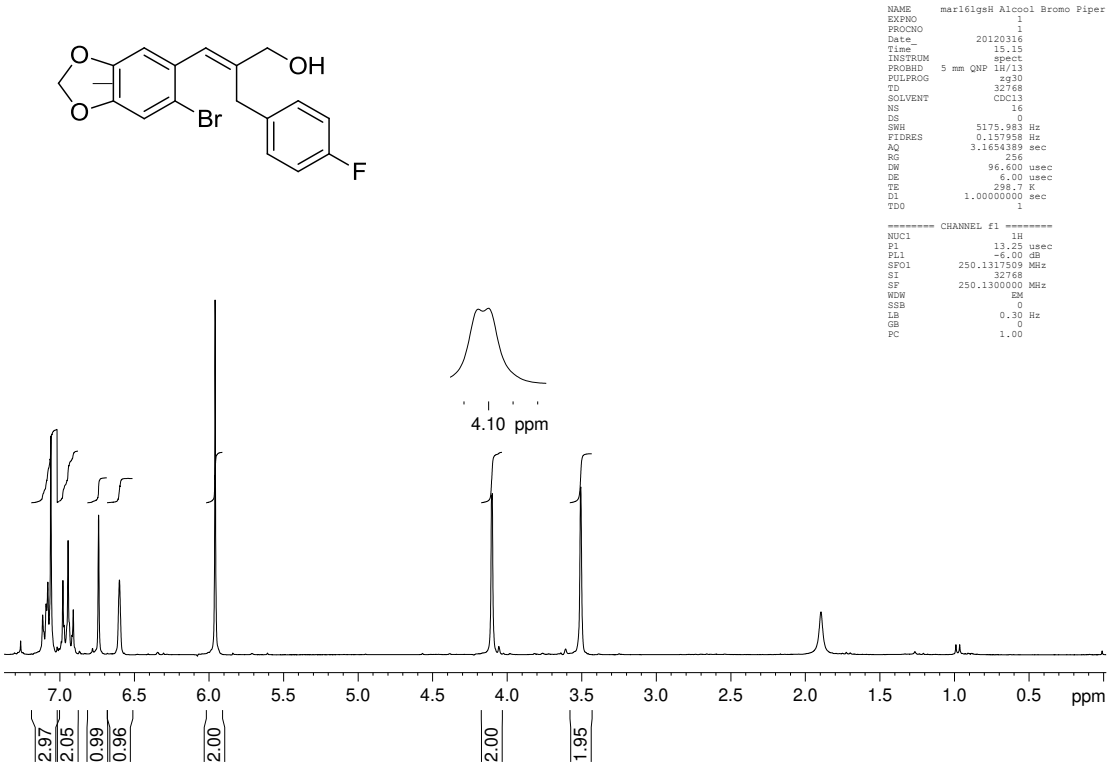


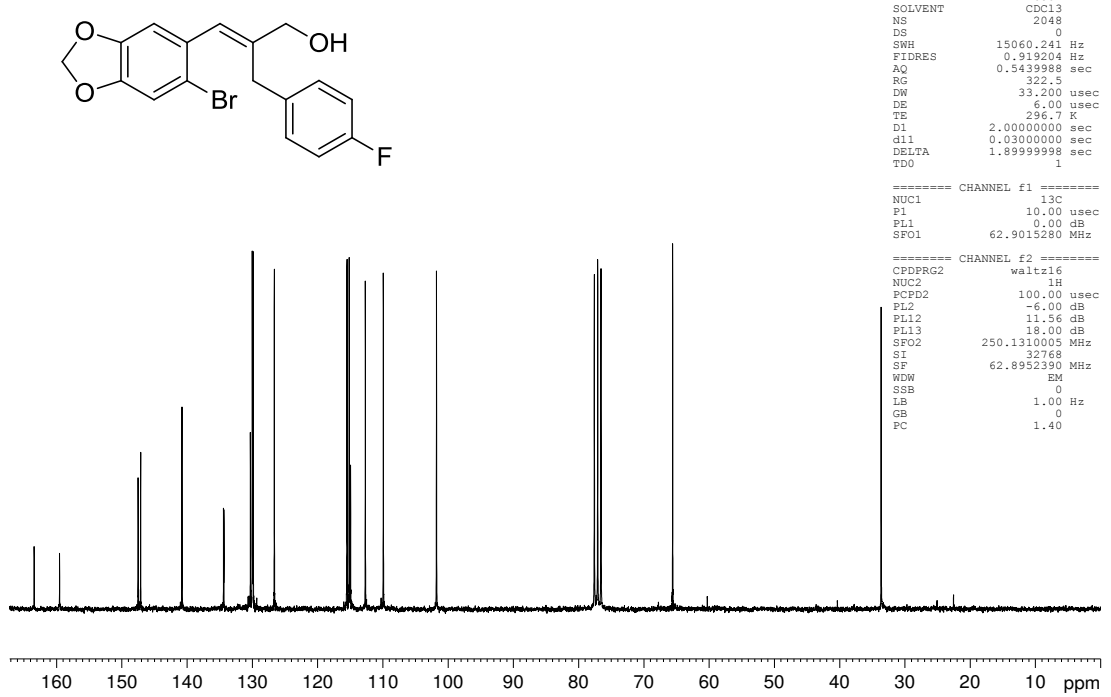
Figura 62: Espectro de na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do álcool alílico **(10c)**.




```
NAME      mar16lgsH Alcool Bromo Piper
EXPNO                1
PROCNO               1
Date_         20120316
Time              15.15
INSTRUM           spect
PROBHD  5 mm QNP 1H/13
PULPROG           zg30
TD               32768
SOLVENT          CDCl3
NS                  16
DS                   0
SWH           5175.983 Hz
FIDRES        0.157958 Hz
AQ            3.1654389 sec
RG                 256
DW              96.600 usec
DE               6.00 usec
TE              298.7 K
D1           1.00000000 sec
TD0                  1

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                1H
P1               13.25 usec
PL1              -6.00 dB
SFO1        250.1317509 MHz
SI               32768
SF          250.1300000 MHz
WDW                 EM
SSB                  0
LB                0.30 Hz
GB                   0
PC                1.00
```

Figura 63: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do álcool alílico **(10c)**.




```
NAME           mar16lgsH
EXPNO                  2
PROCNO                 1
Date_           20120316
Time               16.46
INSTRUM            spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG          zgpg30
TD                16384
SOLVENT           CDCl3
NS                 2048
DS                    0
SWH           15060.241 Hz
FIDRES         0.919204 Hz
AQ             0.5439988 sec
RG                322.5
DW               33.200 usec
DE                6.00 usec
TE               296.7 K
D1            2.00000000 sec
d11           0.03000000 sec
DELTA         1.89999998 sec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  13C
P1                 10.00 usec
PL1                 0.00 dB
SFO1          62.9015280 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2           waltz16
NUC2                   1H
PCPD2             100.00 usec
PL2                -6.00 dB
PL12               11.56 dB
PL13               18.00 dB
SFO2          250.1310005 MHz
SI                 32768
SF             62.8952390 MHz
WDW                   EM
SSB                    0
LB                1.00 Hz
GB                     0
PC                 1.40
```

Figura 64: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do álcool alílico **(10c)**.

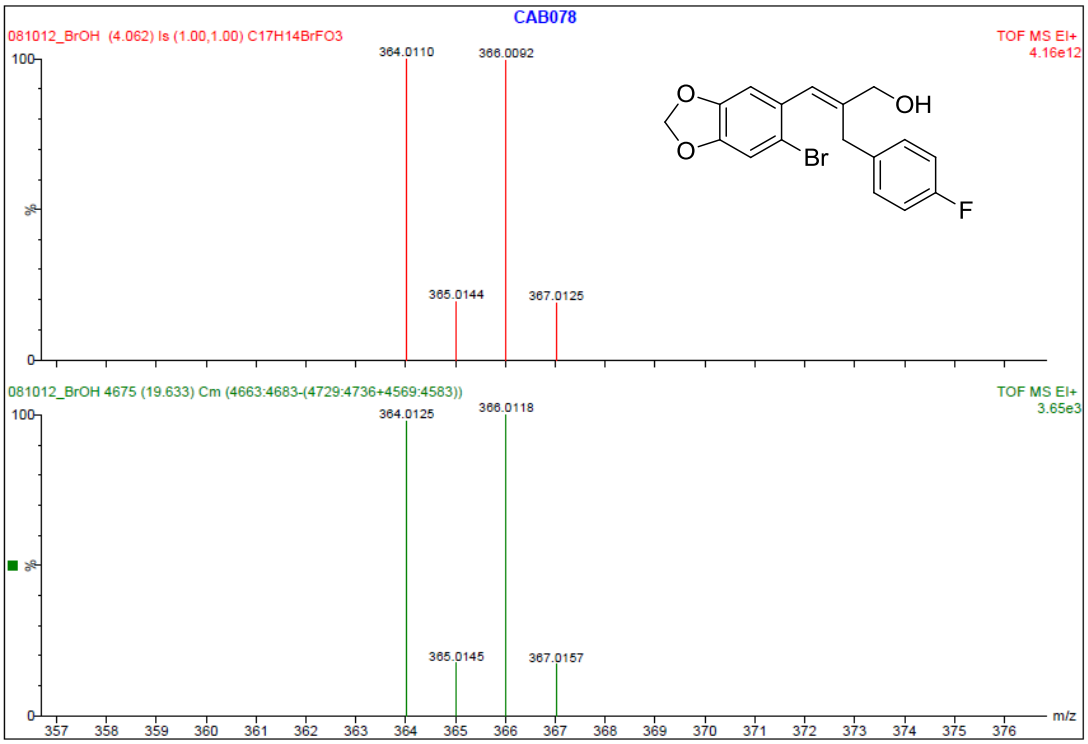
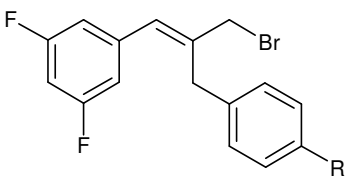
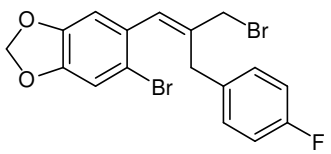


Figura 65: Espectro de massas de alta resolução (EI, *m/z*) do álcool alílico **(10c)**.

8.2.6. Procedimento geral: preparação dos brometos alílicos 9, 9a, 9b e 9c



9, R =F; **9a**, R = SO_2CH_3; **9b**, R = SO_2NH_2



9c

Às soluções dos álcoois alílicos **10, 10a, 10b** e **10c** (0,43 – 1,26 mmol), sob atmosfera de argônio, a 0 °C, foram adicionados tetrabrometo de carbono (0,65 – 1,89 mmol) e trifenilfosfina (0,56 – 1,64 mmol). As misturas resultantes foram mantidas sob agitação magnética e monitoradas por CCD.

Ao término das reações, o solvente foi evaporado até ficar com um volume correspondente a 30% do volume inicial. Em seguida, adicionou-se hexano para precipitação do óxido de trifenilfosfina. Após filtração, as soluções foram extraídas com acetato de etila e as respectivas fases orgânicas foram lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (3 x 30,0 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os brutos de evaporação foram purificados por cromatografia em coluna de gel de silica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (85/15).

Nome IUPAC: 1-[(1*E*)-3-bromo-2-[(4-fluorofenil)metil]prop-1-en-1-il]-3,5-difluorobenzeno **(9)**

Característica: Óleo incolor

Rendimento: 97%

IV (Filme, ν_{max}): 3041, 2927, 2859, 1626, 1596, 1509, 1461, 1315, 1257, 1223, 1158, 1117 cm^{-1}.

RMN ^1H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,20-7,07 (m, 2H), 7,07-6,93 (m, 2H), 6,90-6,66 (m, 4H), 3,96 (s, 2H), 3,78 (s, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 163,0 (dd, ^1J= 248,4 Hz e ^3J= 12,8 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^1J= 249,1 Hz e ^3J= 13,3 Hz, C-F), 161,7 (d, ^1J= 245,0 Hz, C-F), 139,3 (t, ^3J = 9,6 Hz, C-F), 139,2, 133,2 (d, ^4J = 3,2 Hz, C-F), 130,1, 129,9, 129,4 (t, ^4J = 2,5 Hz, C-F), 115,8, 115,4, 111,6 (d, ^2J = 8,5 Hz, C-F), 111,3 (d, ^2J = 8,6 Hz, C-F), 103,0 (t, ^2J = 25,4 Hz, C-F), 37,3, 33,6.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{16}H_{12}F_3BrLi$ - 347,0234; encontrado 347,0095.

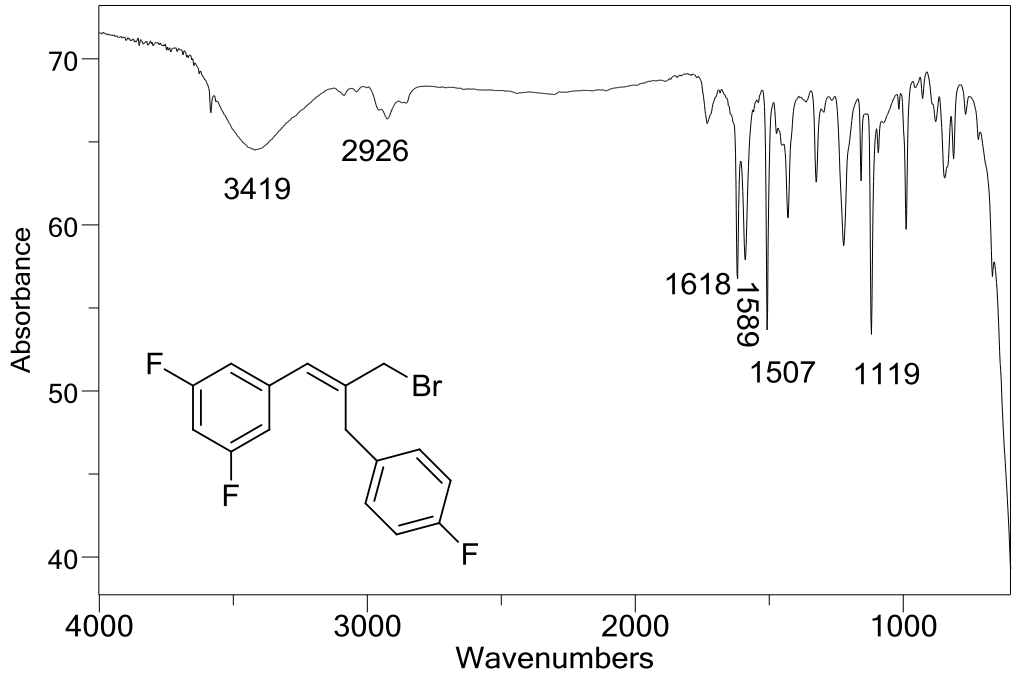


Figura 66: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do brometo alílico **(9)**.

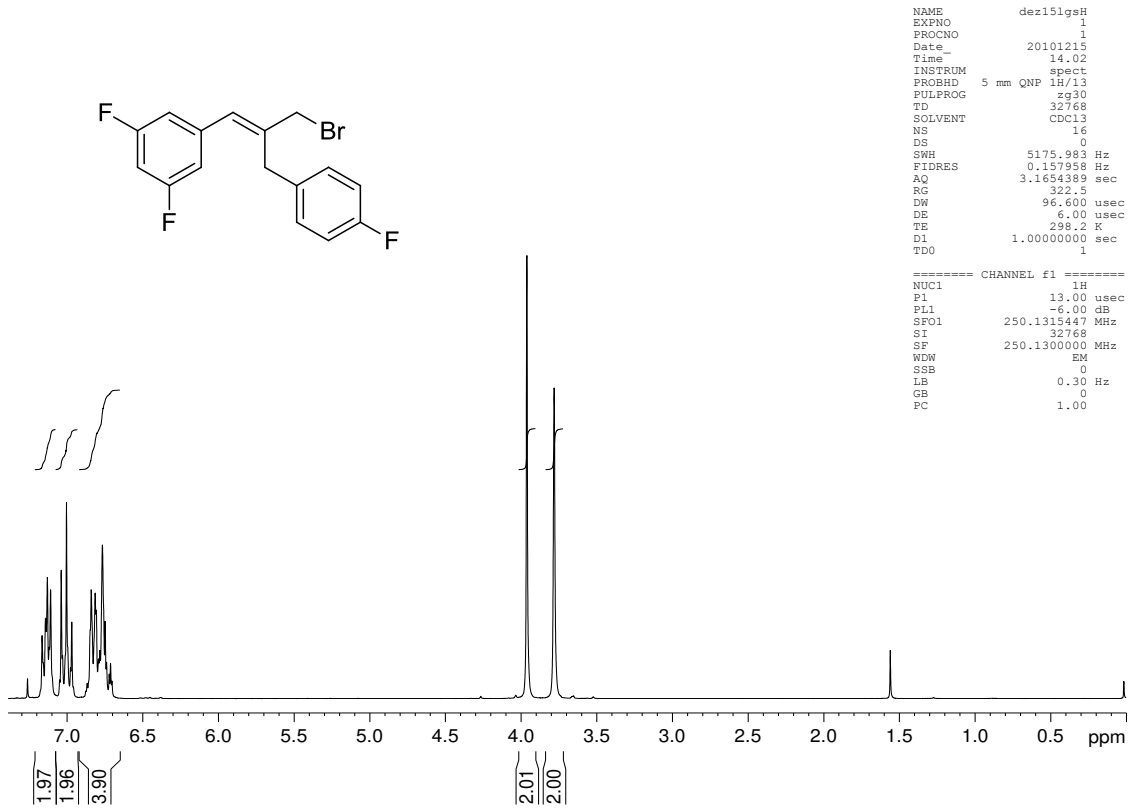


Figura 67: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do brometo alílico **(9)**.

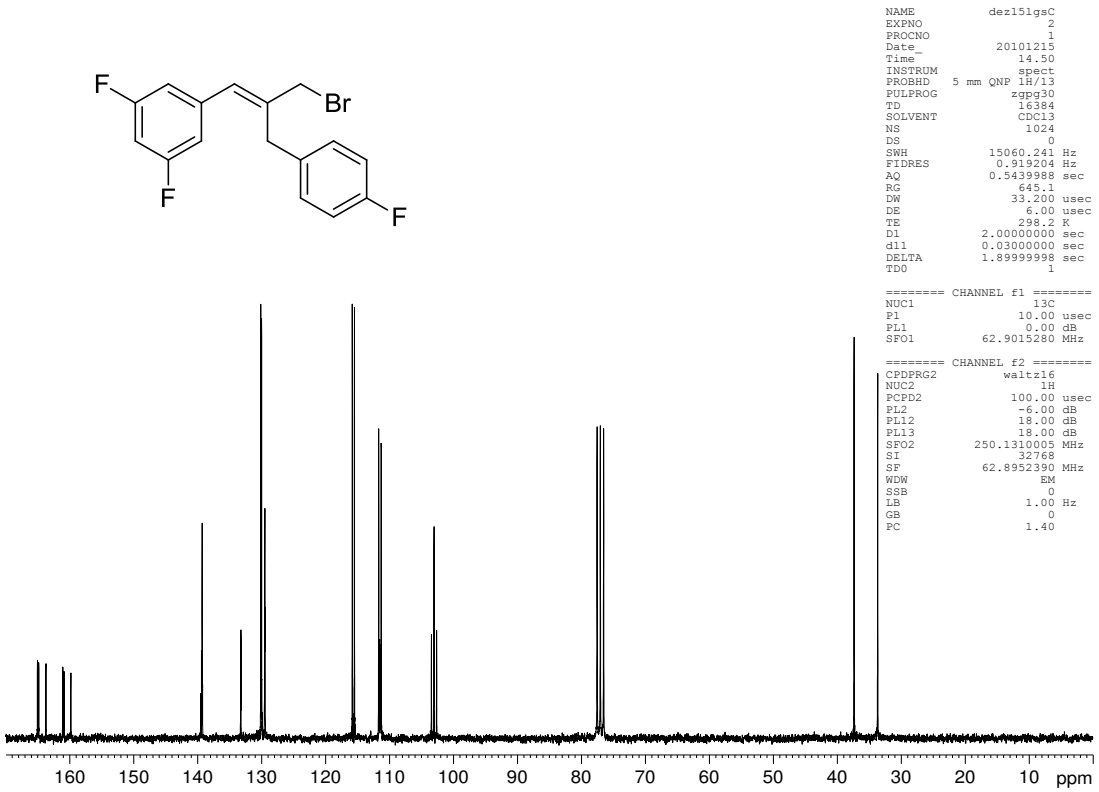


Figura 68: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do brometo alílico **(9)**.

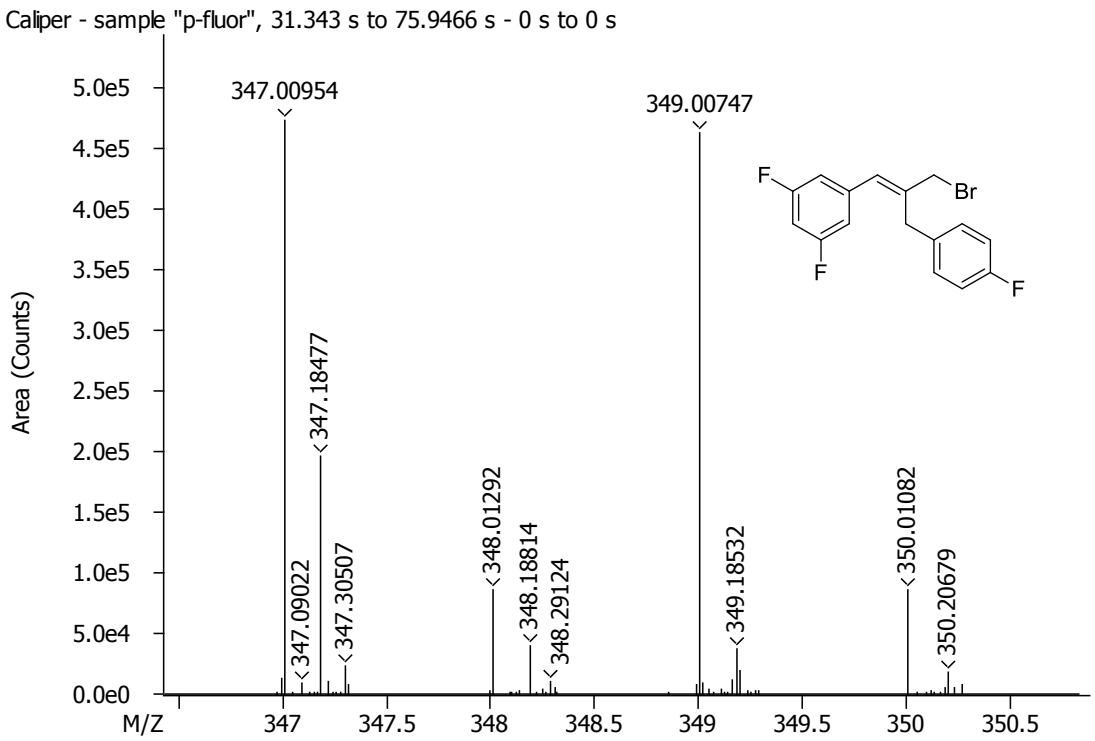


Figura 69: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do brometo alílico **(9)**.

Nome IUPAC: 1-[(1*E*)-3-bromo-2-[(4-metanosulfonilfenil)metil]prop-1-en-1-il]-3,5-difluorobenzeno **(9a)**

Característica: Óleo amarelado

Rendimento: 90%

IV (Filme, ν_{max}): 3423, 2928, 1618, 1588, 1430, 1304, 1149, 1118 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,87 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 2H), 7,36 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 2H), 6,87-6,66 (m, 4H), 3,93 (s, 2H), 3,87 (s, 2H), 3,04 (s, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 163,1 (dd, ^{1}J = 249,2 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J = 249,1 Hz e ^{3}J = 13,0 Hz, C-F), 144,2, 139,1, 139,0 (t, ^{3}J = 9,6 Hz, C-F), 137,8, 130,5 (t, ^{4}J = 2,5 Hz, C-F), 129,5, 127,8, 111,5 (d, ^{2}J = 8,6 Hz, C-F), 111,3 (d, ^{2}J= 8,7 Hz, C-F), 103,2 (t, ^{2}J = 25,2 Hz, C-F), 44,4, 37,1, 34,4.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{17}H_{16}F_2O_2SBr$ - 401,0023; encontrado 401,0111.

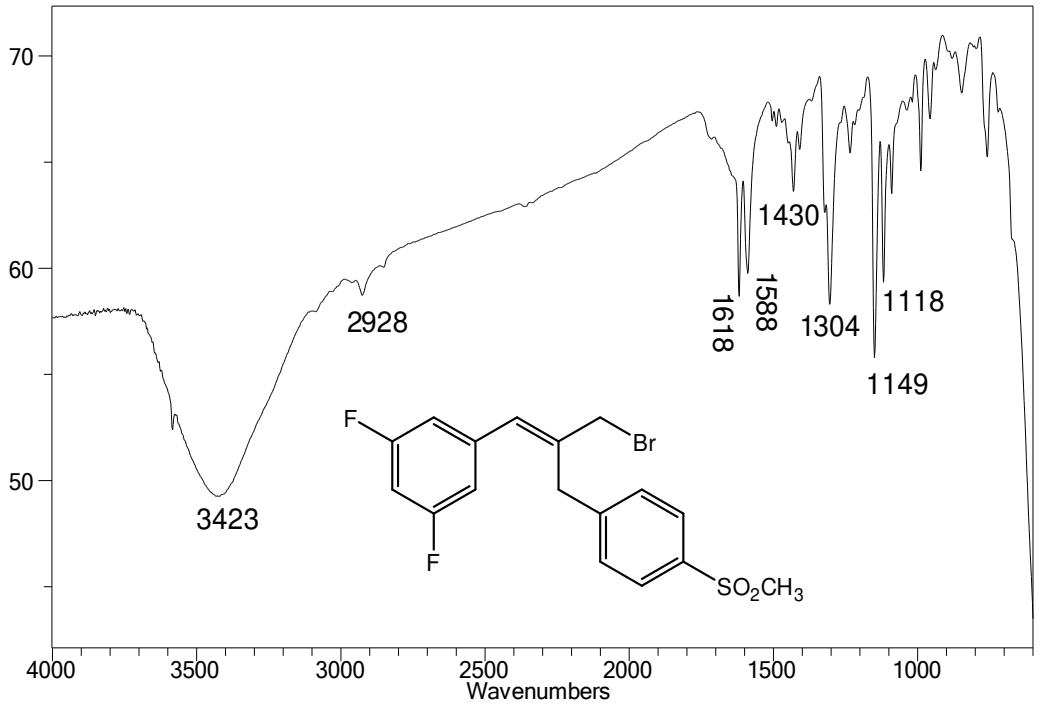


Figura 70: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do brometo alílico **(9a)**.

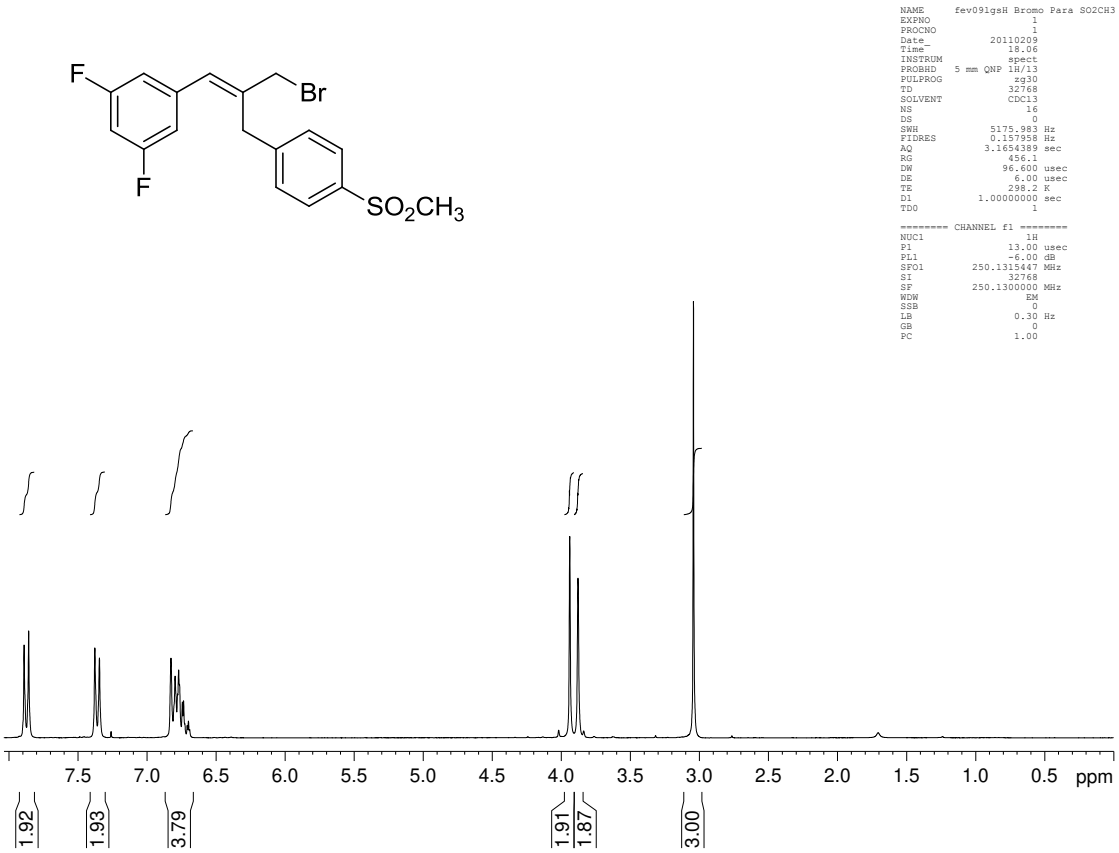


Figura 71: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do brometo alílico **(9a)**.

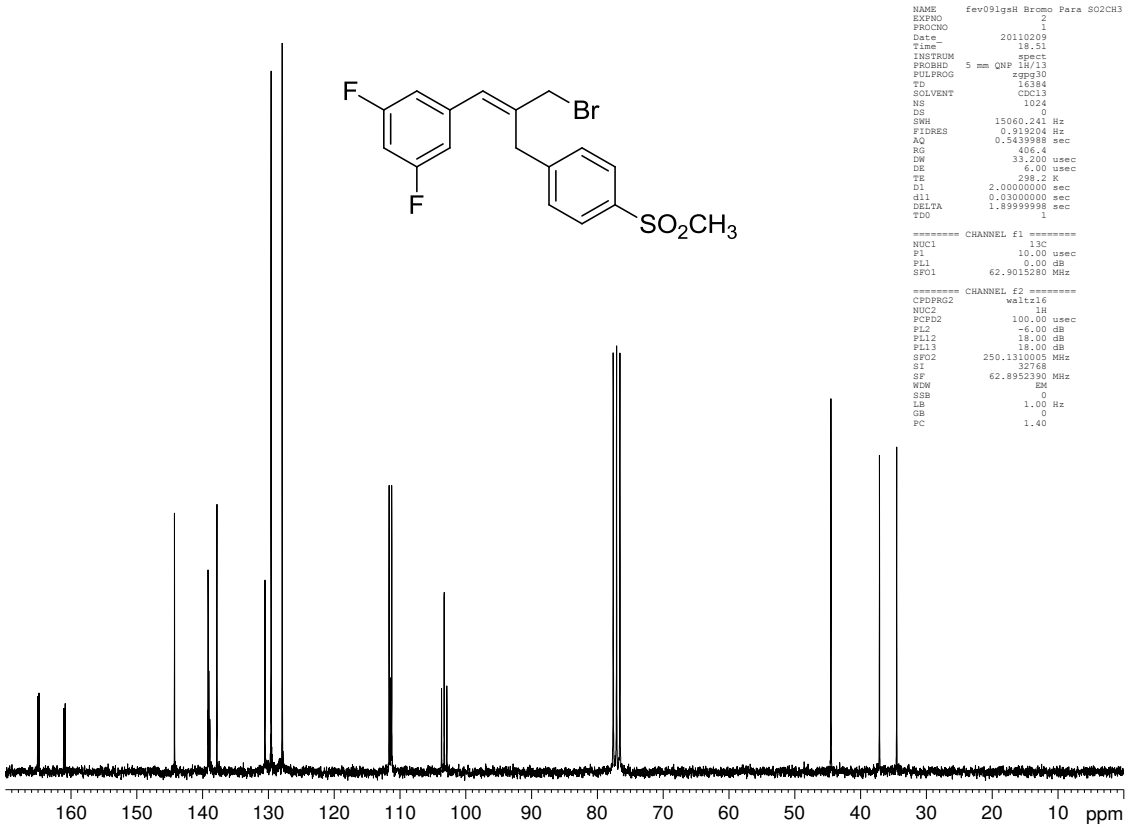


Figura 72: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do brometo álílico **(9a)**.

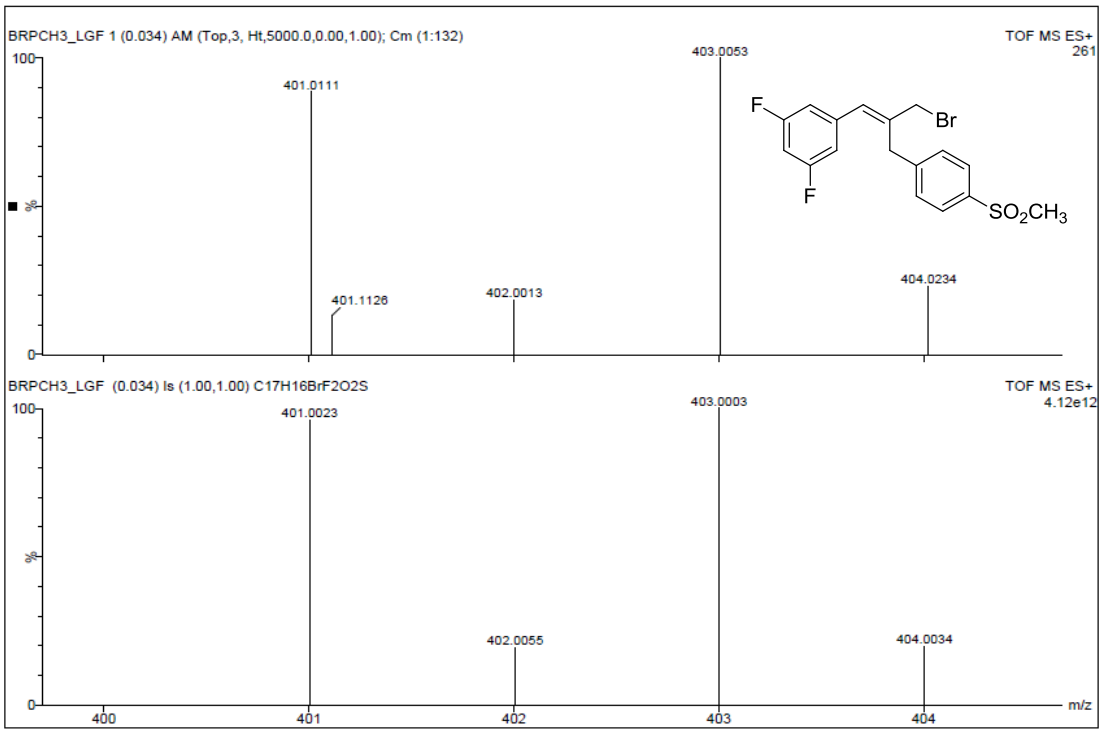


Figura 73: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do brometo alílico **(9a)**.

Nome IUPAC: 4-[(2*E*)-2-(bromometil)-3-(3,5-difluorofenil)prop-2-en-1-il]benzeno-1-sulfonamida **(9b)**

Característica: Óleo marrom claro

Rendimento: 96%

IV (Filme, ν_{max}): 3381, 3272, 1620, 1590, 1325, 1162, 1119 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,86 (d, ^{3}J = 8,5 Hz, 2H), 7,30 (d, ^{3}J = 8,5 Hz, 2H), 6,85-6,67 (m, 4H), 5,27 (s, 2H – NH_2) 3,93 (s, 2H), 3,85 (s, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 163,0 (dd, *J*= 249,1 Hz e ^{3}J= 13,3 Hz, C-F), 162,8 (dd, *J*= 249,1 Hz e ^{3}J= 13,3 Hz, C-F), 143,1, 140,5, 139,0 (t, ^{3}J= 9,6 Hz, C-F), 137,9, 130,3 (t, ^{4}J= 2,5 Hz, C-F), 129,3, 126,9, 111,5 (d, ^{2}J= 8,7 Hz, C-F), 111,3 (d, ^{2}J= 8,6 Hz, C-F), 103,2 (t, ^{2}J= 25,3 Hz, C-F), 37,1, 34,4.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{16}H_{14}BrF_2NO_2SNa$ é 423,9794; encontrado 423,9818.

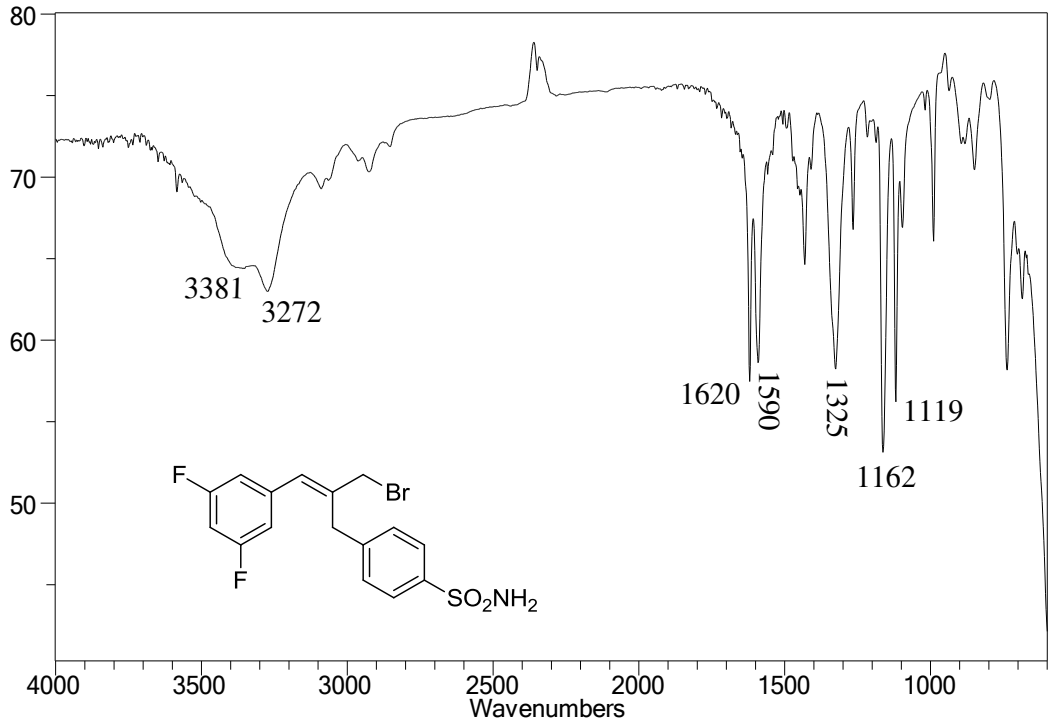


Figura 74: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do brometo alílico **(9b)**.

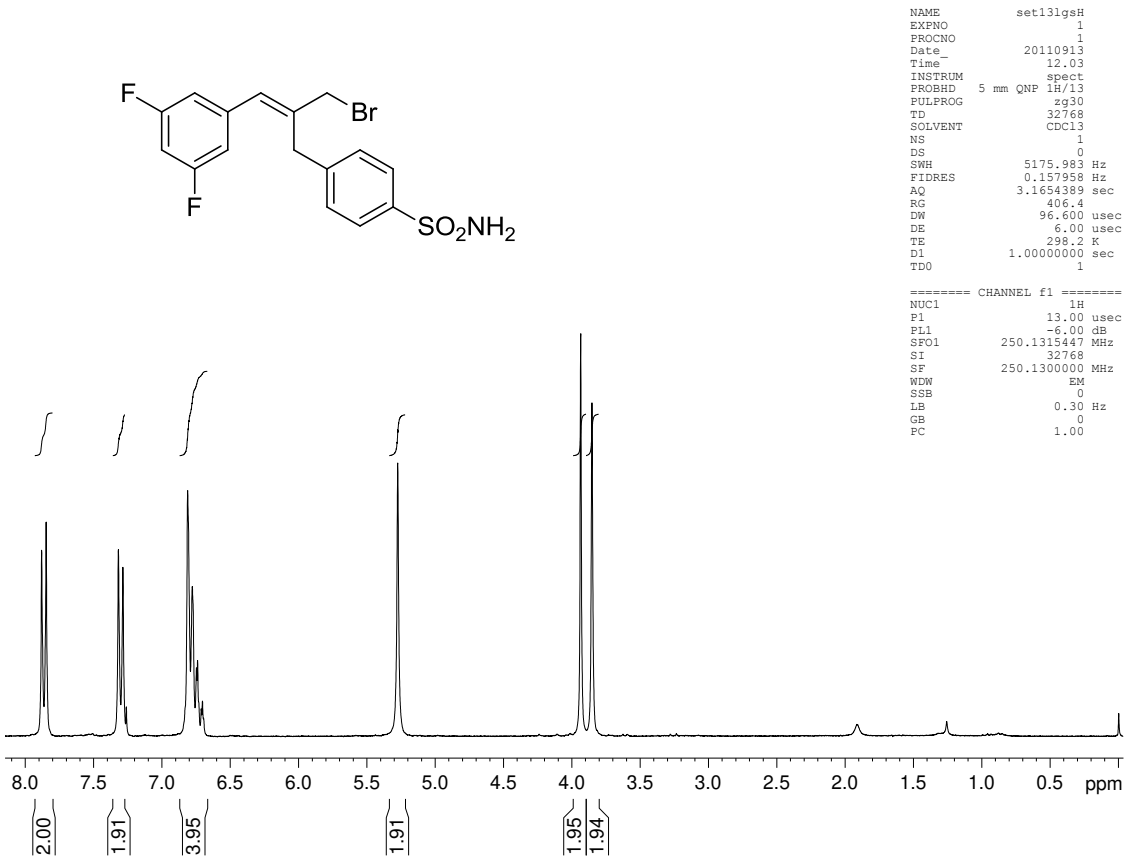


Figura 75: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do brometo Alílico **(9b)**.

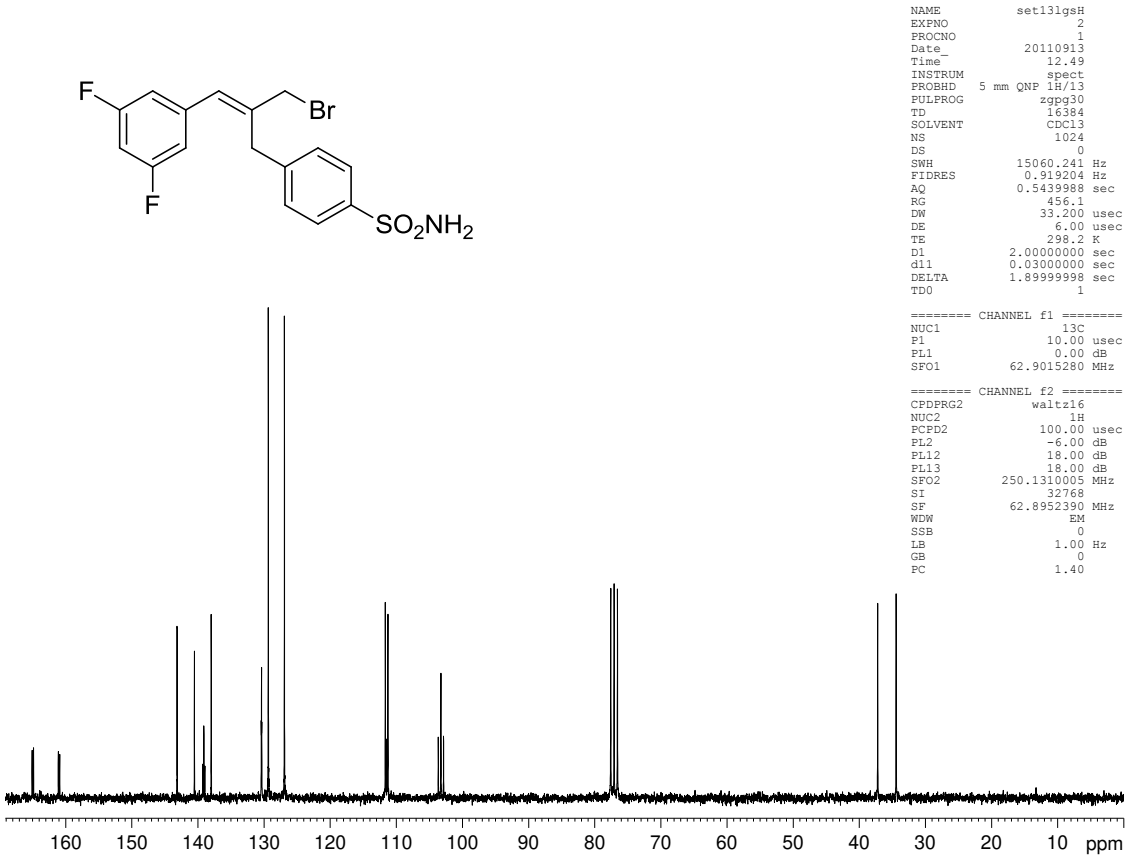


Figura 76: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do brometo Alílico **(9b)**.

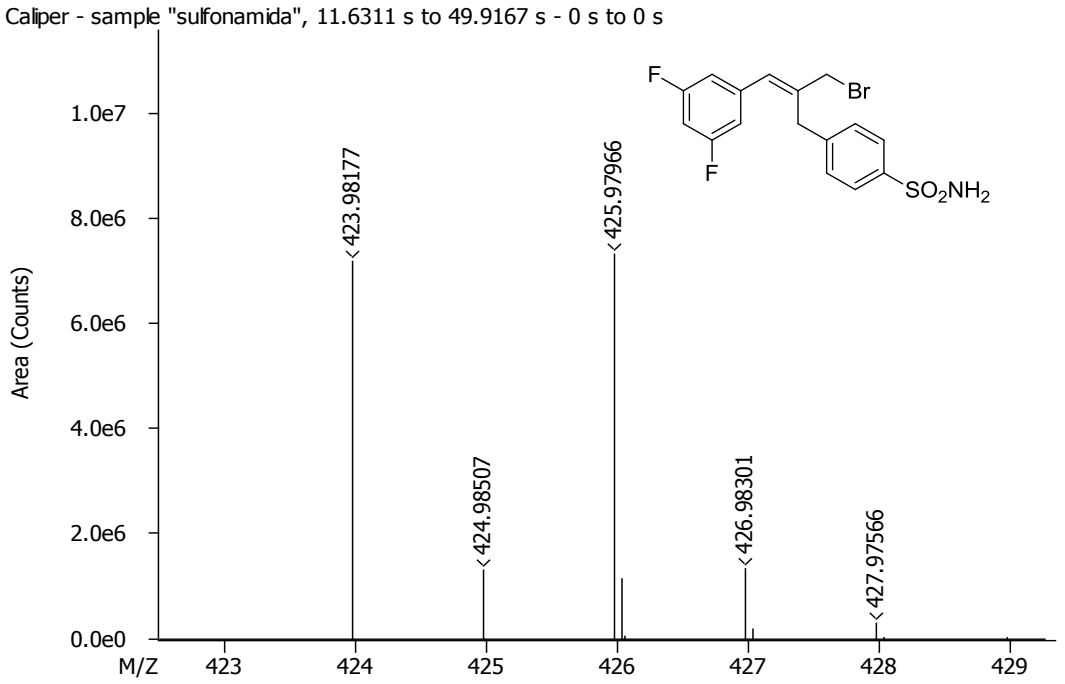


Figura 77: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do brometo alílico **(9b)**.

Nome IUPAC: 5-bromo-6-[(1*E*)-3-bromo-2-[(4-fluorofenil)metil]prop-1-en-1-il]-2H-1,3-benzodioxola **(9c)**

Característica: Óleo incolor

Rendimento: 81%

IV (Filme, ν_{max}): 1713, 1601, 1507, 1477, 1436, 1412, 1265, 1038 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,79 (s, 1H), 7,12-7,04 (m, 3H), 7,00-6,90 (m, 2H), 6,70 (s, 1H), 5,97 (s, 2H), 3,75 (s, 4H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 159,4 (d, J = 244,1 Hz, C-F), 148,6, 147,2, 140,0, 134,7 (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F), 131,8, 129,4, 129,3, 128,6, 115,6 (C-Br), 115,4, 115,0, 112,9, 109,2, 102,0, 52,1, 32,3.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{17}H_{13}Br_2FO_2Li$- 432,9426; encontrado 432,9352.

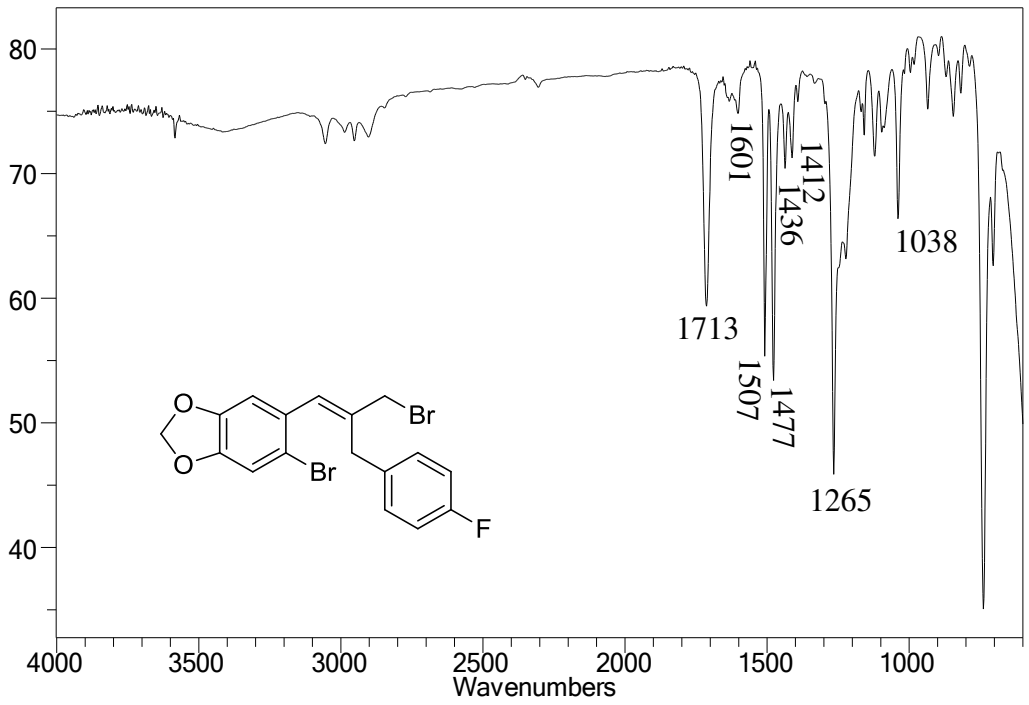


Figura 78: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do brometo alílico **(9c)**.

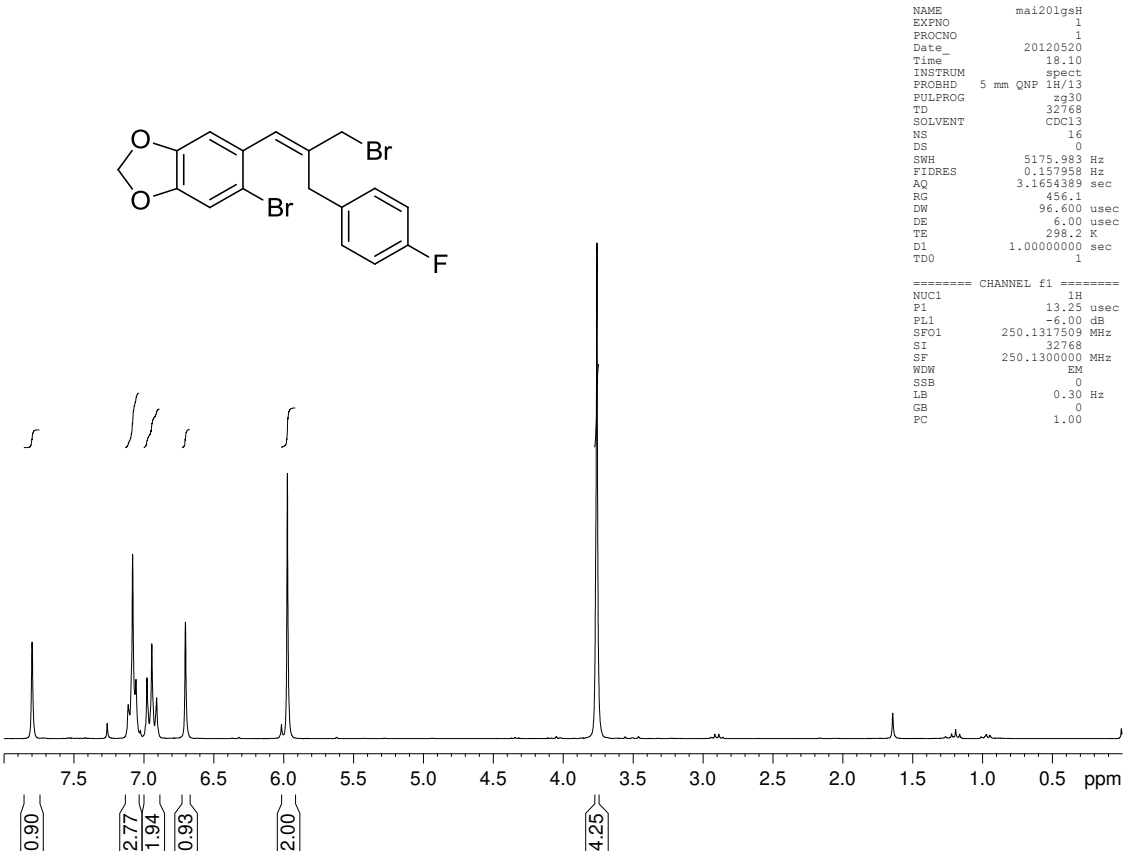


Figura 79: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do brometo alílico **(9c)**.

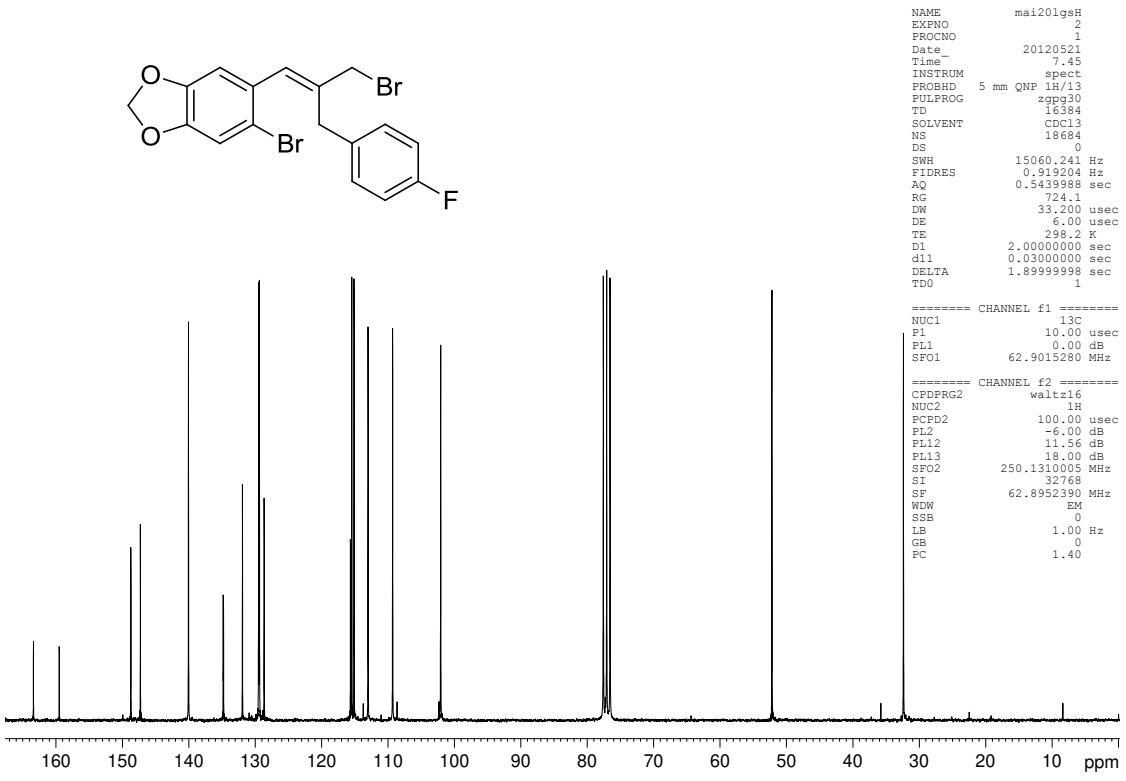


Figura 80: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do brometo alílico **(9c)**.

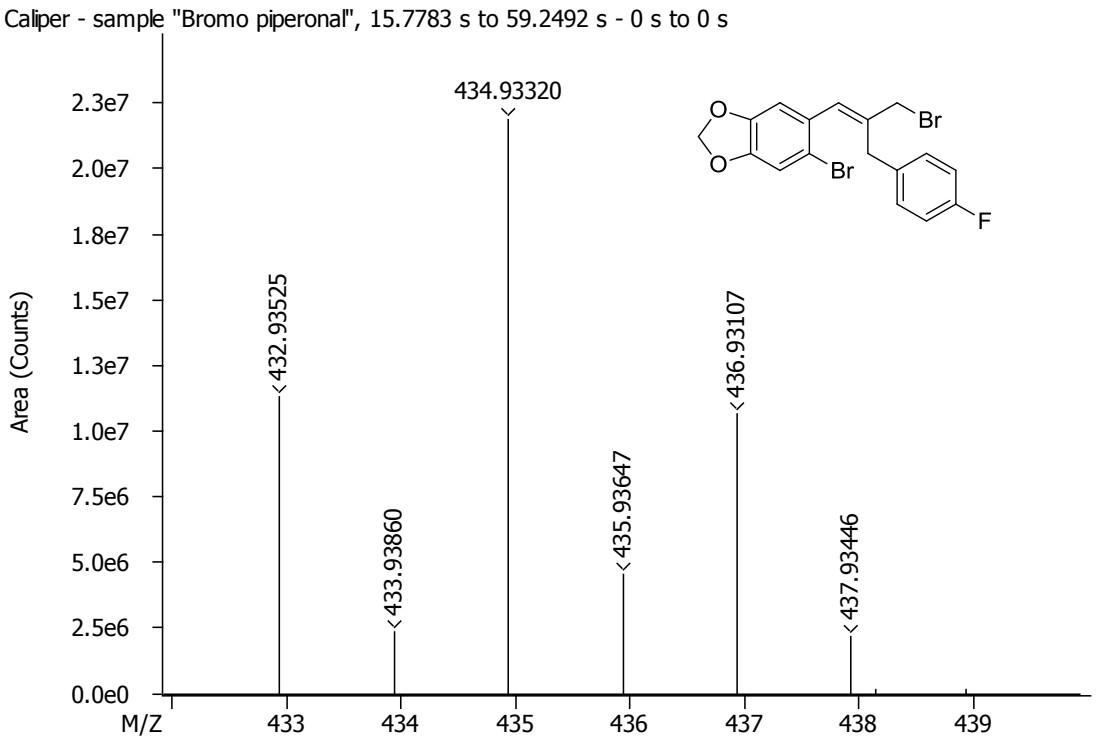
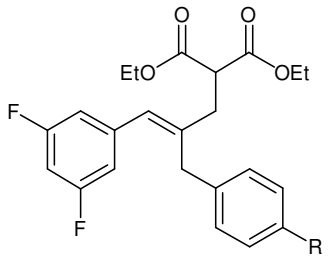
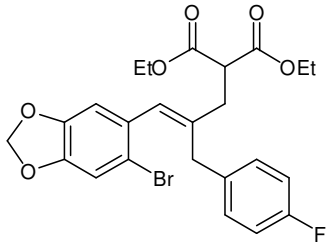


Figura 81: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do brometo alílico **(9c)**.

8.2.7. Procedimento geral: preparação dos diésteres 8, 8a, 8b e 8c



8, R =F; **8a**, R = SO_2CH_3; **8b**, R = SO_2NH_2



8c

Às soluções dos brometos alílicos **9, 9a, 9b** e **9c** (0,39 – 1,23 mmol), sob agitação magnética e sob atmosfera de argônio, foram adicionados, a 0 °C, uma suspensão contendo malonato de dietila (1,1 equivalentes) e hidreto de sódio (0,47 – 1,48 mmol) em tetraidrofurano anidro (2,0 mL). As reações foram mantidas sob vigorosa agitação magnética e a evolução foi acompanhada por CCD. Após o término das reações, o solvente foi evaporado e no resíduo, adicionou-se, lentamente, água destilada. As soluções foram extraídas com éter dietílico (3 x 30,0 mL). As soluções orgânica foram lavadas com solução saturada de NaCl (3 x 15 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os resíduos de evaporação foram purificados por cromatografia em coluna de gel de silica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (88/12).

Nome IUPAC: 2-[(2*Z*)-3-(3,5-difluorofenil)-2-[(4-fluorofenil)metil]prop-2-en-1-il] propanodioato de 1,3-dietila **(8)**

Característica: Óleo incolor

Rendimento: 76%

IV (Filme, ν_{max}): 3457, 2983, 1749, 1732, 1619, 1588, 1508, 1223, 1118,1095 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,12-7,05 (m, 2H), 7,03-6,93 (m, 2H), 6,74-6,62 (m, 3H), 6,46 (s, 1H), 4,18 (q, ^{3}J = 7,1 Hz, 4H), 3,57 (t, ^{3}J = 8,0 Hz, 1H), 3,57 (s, 2H), 2,66 (d, ^{3}J = 7,8 Hz, 2H), 1,24 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 6H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 168,6, 163,0 (dd, ^{1}J = 248,2 Hz e ^{3}J= 13,2 Hz, C-F), 162,7 (dd, ^{1}J= 248,3 Hz e ^{3}J= 13,0 Hz, C-F), 161,6 (d, ^{1}J= 244,7 Hz, C-F), 140,3 (t, ^{3}J= 9,4 Hz, C-F), 139,1, 133,6 (d, ^{4}J= 3,2 Hz, C-F), 129,8, 129,7, 127,5 (t, ^{4}J= 2,2 Hz, C-F), 115,7, 115,3, 111,3 (d, ^{2}J= 8,5 Hz, C-F), 111,1 (d, ^{2}J= 8,7 Hz, C-F), 102,2 (t, ^{2}J= 25,7 Hz, C-F), 61,5, 50,5, 35,6, 35,3, 14,0.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{23}H_{24}F_3O_4$ - 421,1627; encontrado 421,1610.

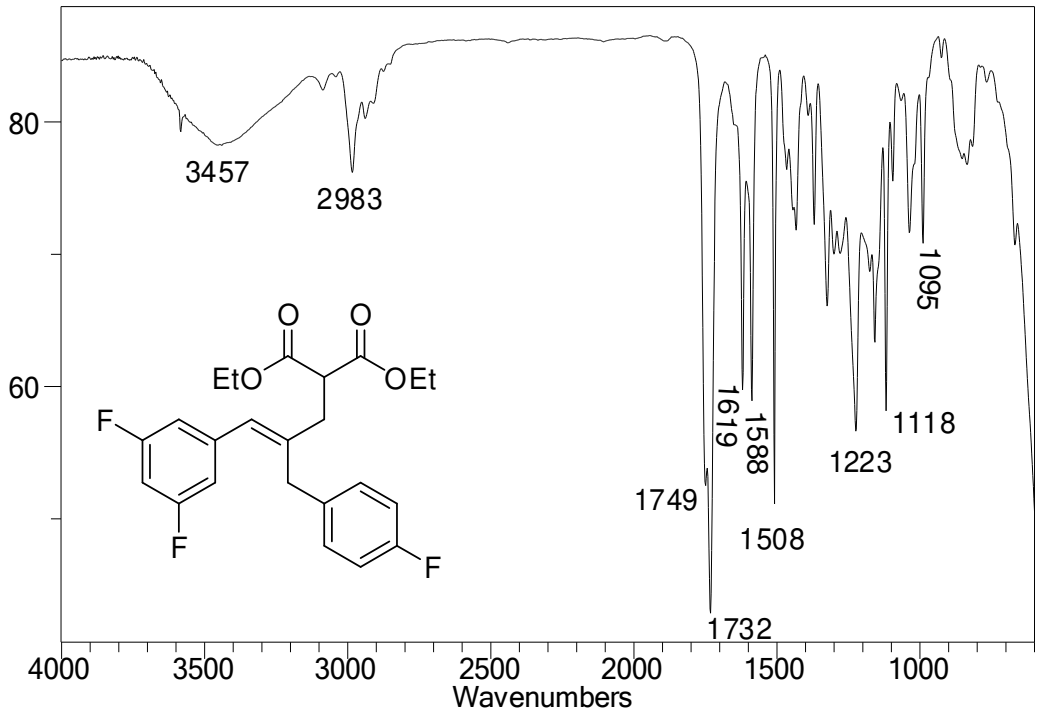


Figura 82: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do diéster **(8)**.

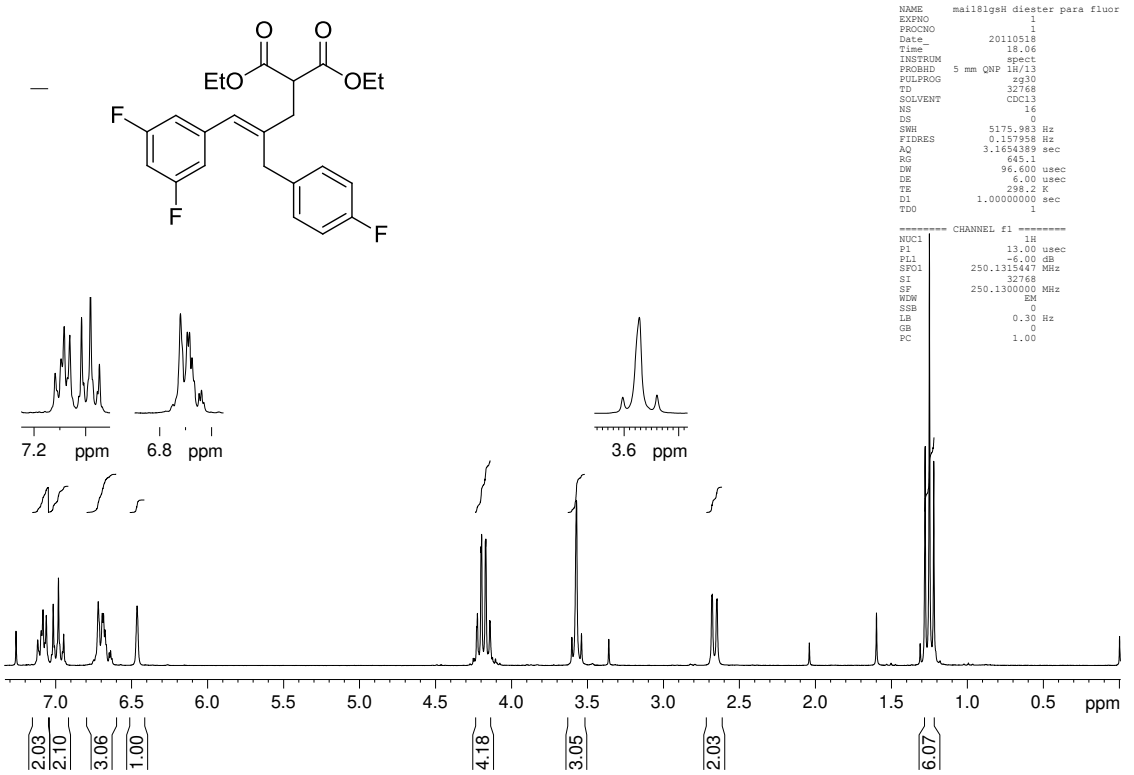


Figura 83: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do diéster **(8)**.

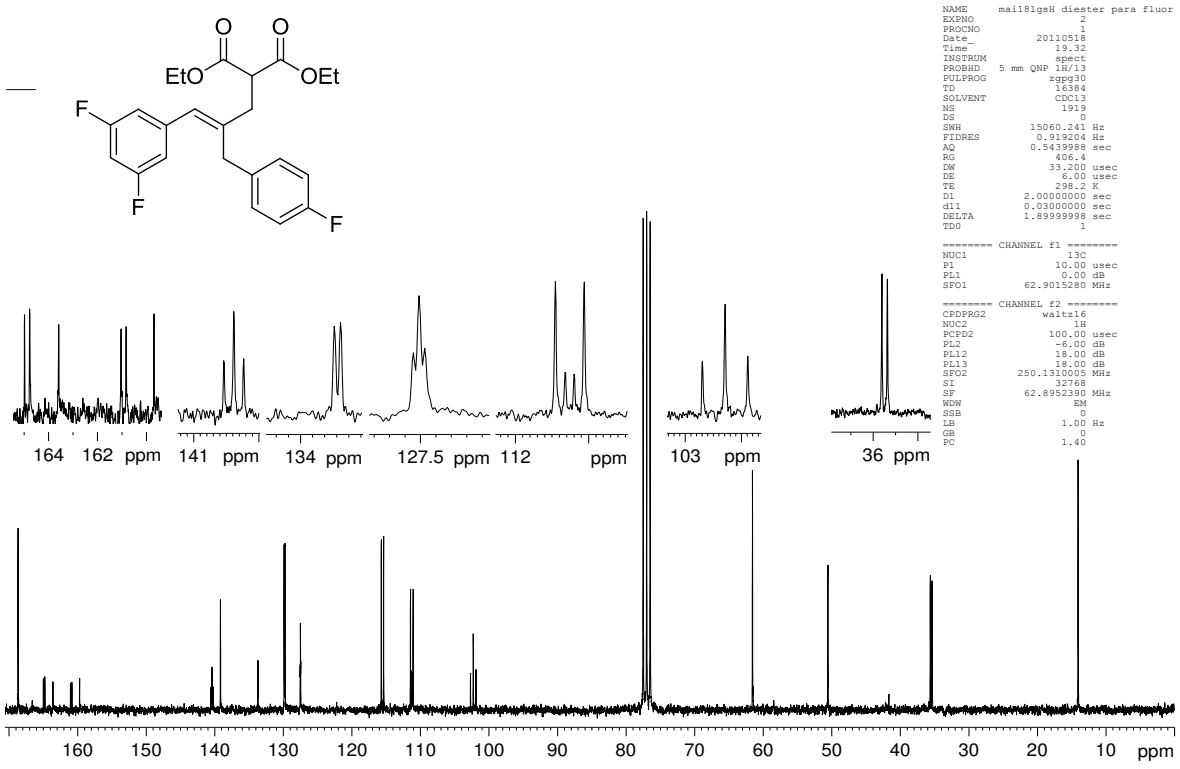


Figura 84: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do diéster **(8)**.

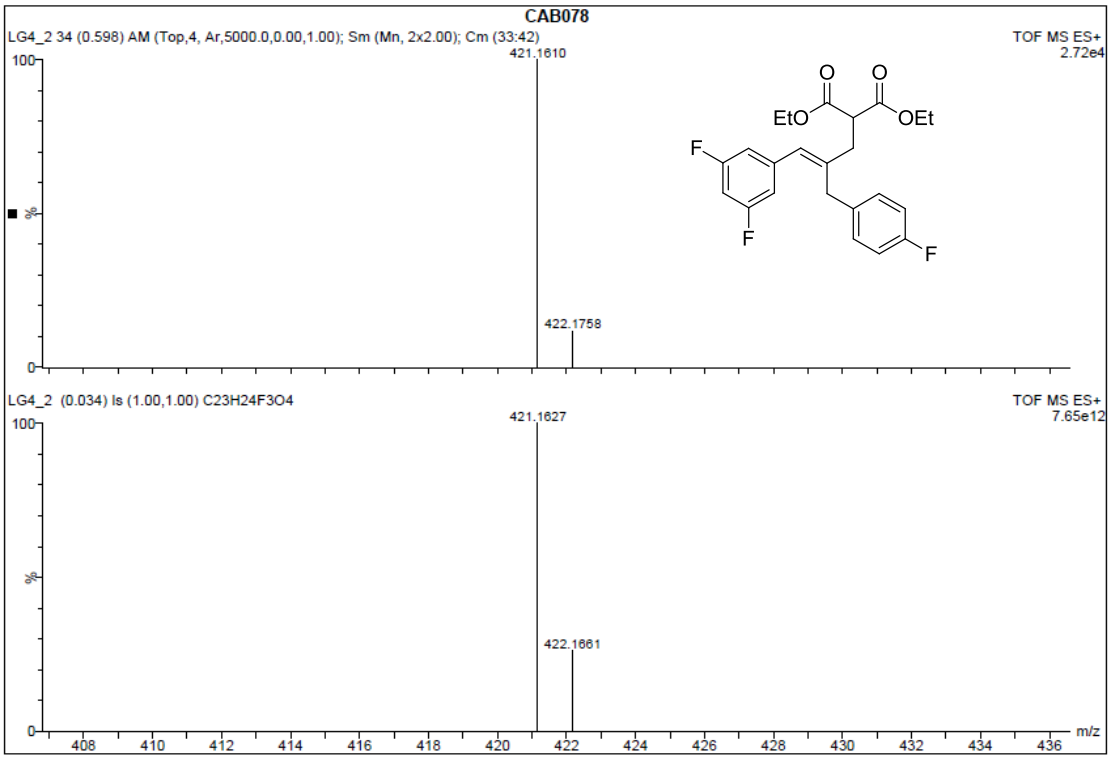


Figura 85: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do diéster **(8)**.

Nome IUPAC: 2-[(2*Z*)-3-(3,5-difluorofenil)-2-[(4-metanosulfonilfenyl)metil]prop-2-en-1-il] propanodioato de 1,3-dietila **(8a)**

Característica: Óleo amarelado

Rendimento: 70%

IV (Filme, ν_{max}): 3410, 2981, 2928, 1743, 1729, 1619, 1587, 1306, 1150, 1117 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,85 (d, ^{3}J = 8,2 Hz, 2H), 7,32 (d, ^{3}J = 8,2 Hz, 2H), 6,75-6,57 (m, 3H), 6,51 (s, 1H), 4,17 (q, ^{3}J = 7,0 Hz, 4H), 3,68 (s, 2H), 3,58 (t, ^{3}J = 8,0 Hz, 1H), 3,03 (s, 3H), 2,64 (d, ^{3}J = 7,8 Hz, 2H), 1,23 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 6H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 168,5, 163,0 (dd, ^{1}J= 248,6 Hz e ^{3}J= 13,2 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J= 248,6 Hz e ^{3}J= 13,2 Hz, C-F), 144,8, 140,0 (t,

^{3}J= 9,6 Hz, C-F), 138,9, 137,8, 129,3, 128,3 (t, ^{4}J= 2,3 Hz, C-F), 127,8, 111,3 (d, ^{2}J= 8,4 Hz, C-F), 111,0 (d, ^{2}J= 8,5 Hz, C-F), 102,5 (t, ^{2}J= 25,3 Hz, C-F), 61,6, 50,5, 44,4, 36,4, 35,2, 14,0.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{24}H_{27}F_2O_6S$ - 481,1496; encontrado 481,1477.

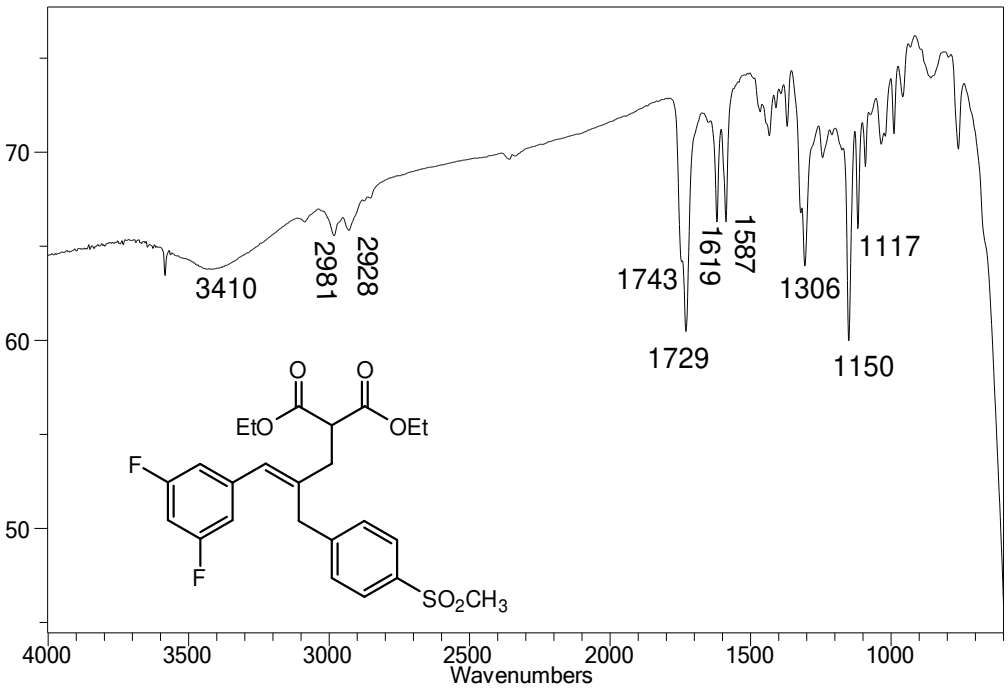


Figura 86: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do diéster **(8a)**.

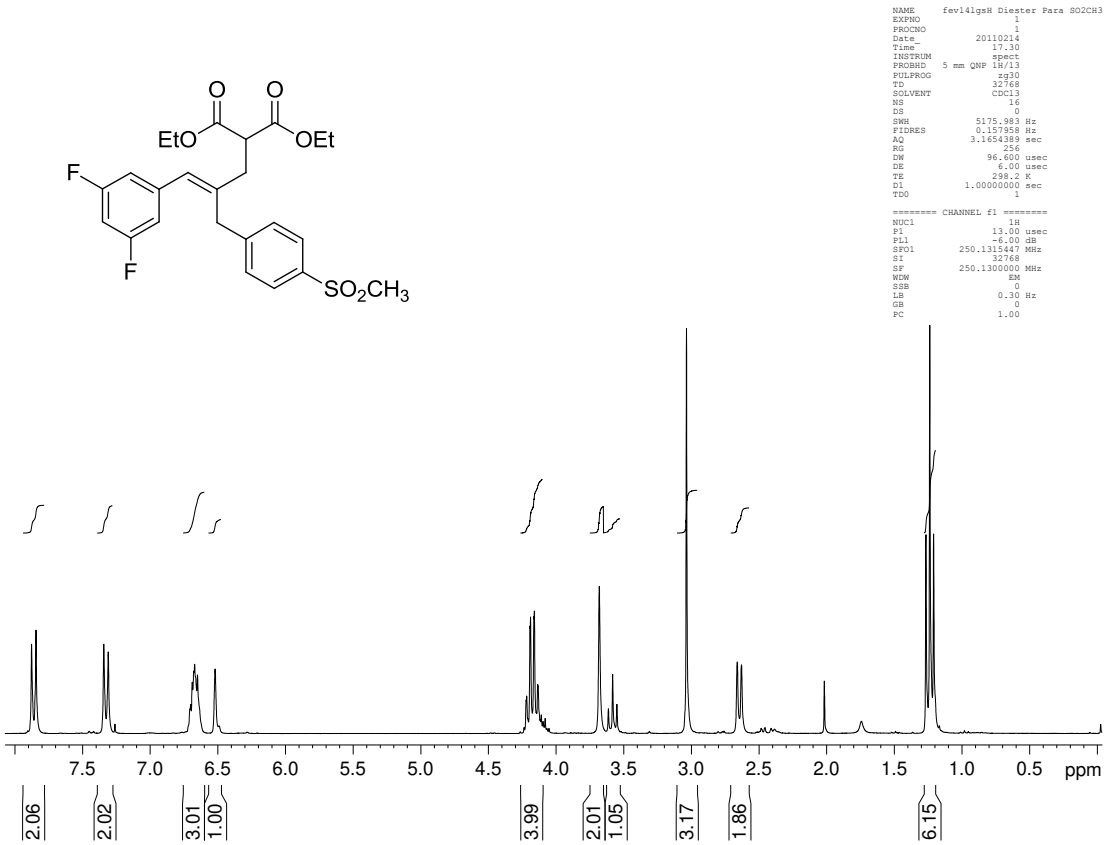


Figura 87: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do diéster **(8a)**.

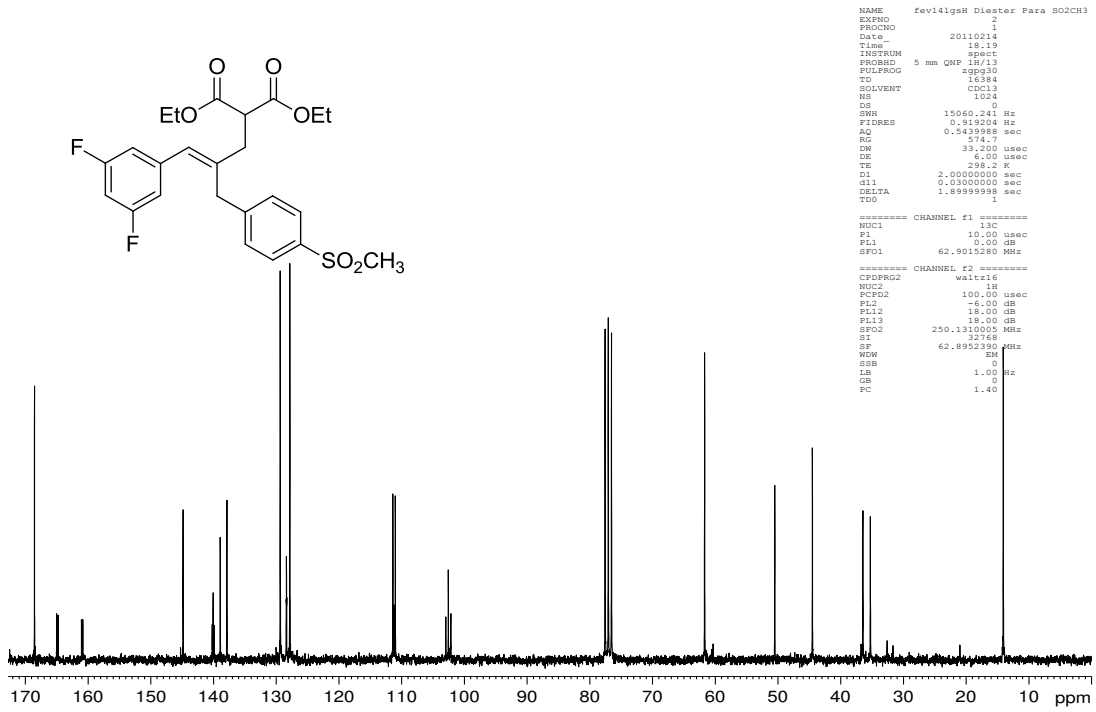


Figura 88: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do diéster **(8a)**.

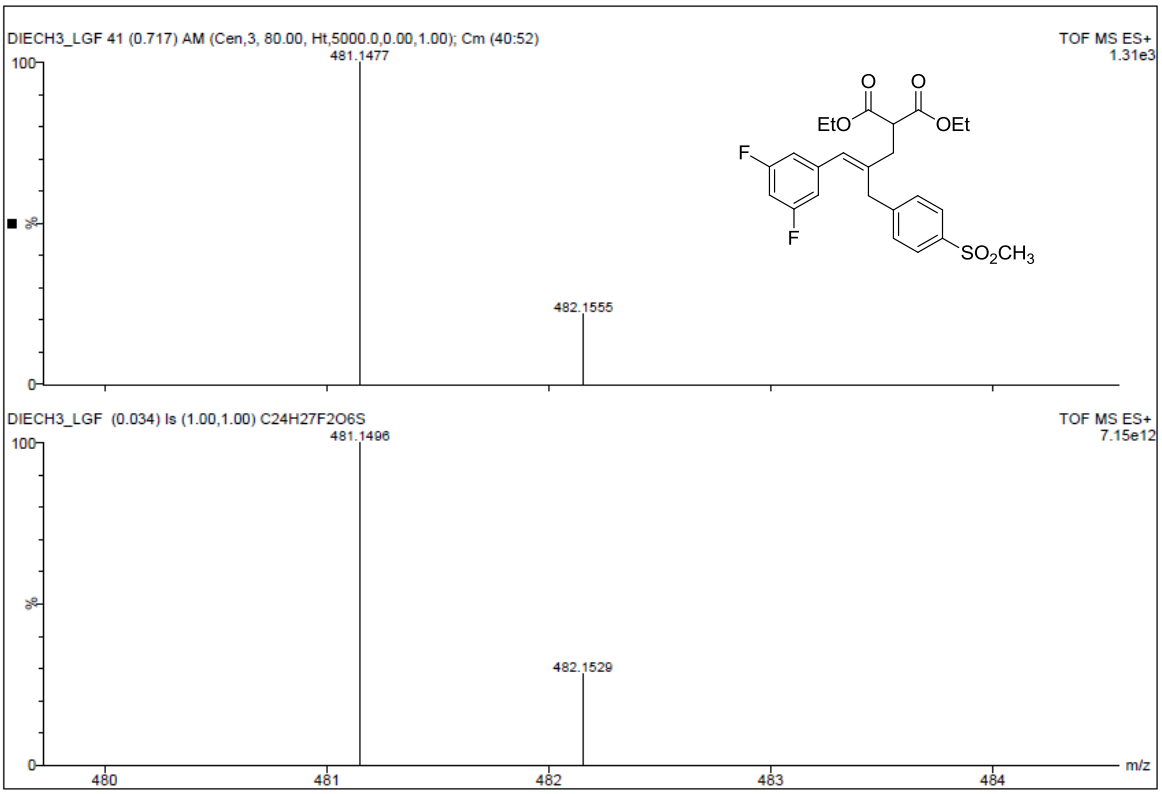


Figura 89: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do diéster **(8a)**.

Nome IUPAC: 2-[(2*Z*)-3-(3,5-difluorofenil)-2-[(4-sulfamoilfenil)metil]prop-2-en-1-il] propanodioato de 1,3-dietila **(8b)**

Característica: óleo incolor

Rendimento: 72%

IV (Filme, ν_{max}): 3372, 3262, 2985, 1742, 1728, 1619, 1587, 1332, 1266, 1162, 1118 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, MeOD), δ ppm: 7,84 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 1H), 7,33 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 1H), 6,83-6,73 (m, 3H), 6,56 (s, 1H), 4,17 (q, ^{3}J = 7,1 Hz, 4H), 3,74 (t, ^{3}J = 7,8 Hz, 1H), 3,70 (s, 2H), 2,64 (d, ^{3}J = 7,8 Hz, 2H), 1,21 (t, ^{3}J = 7,0 Hz, 6H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, MeOD), δ ppm: 168,9, 163,1 (dd, J = 247,2 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F), 162,8 (dd, J = 247,2 Hz e ^{3}J = 13,3 Hz, C-F), 143,1, 140,6 (t, ^{3}J

= 9,6 Hz, C-F), 138,5, 131,8, 128,7, 127,7 (t, ^{4}J = 2,2 Hz, C-F), 126,2, 111,0 (d, ^{2}J = 8,7 Hz, C-F), 110,8 (d, ^{2}J = 8,3 Hz, C-F), 101,8 (t, ^{2}J = 25,7 Hz, C-F), 61,3, 50,2, 35,7, 35,2, 13,0.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{23}H_{26}F_2NO_6S$ - 482,1449; encontrado 482,1541.

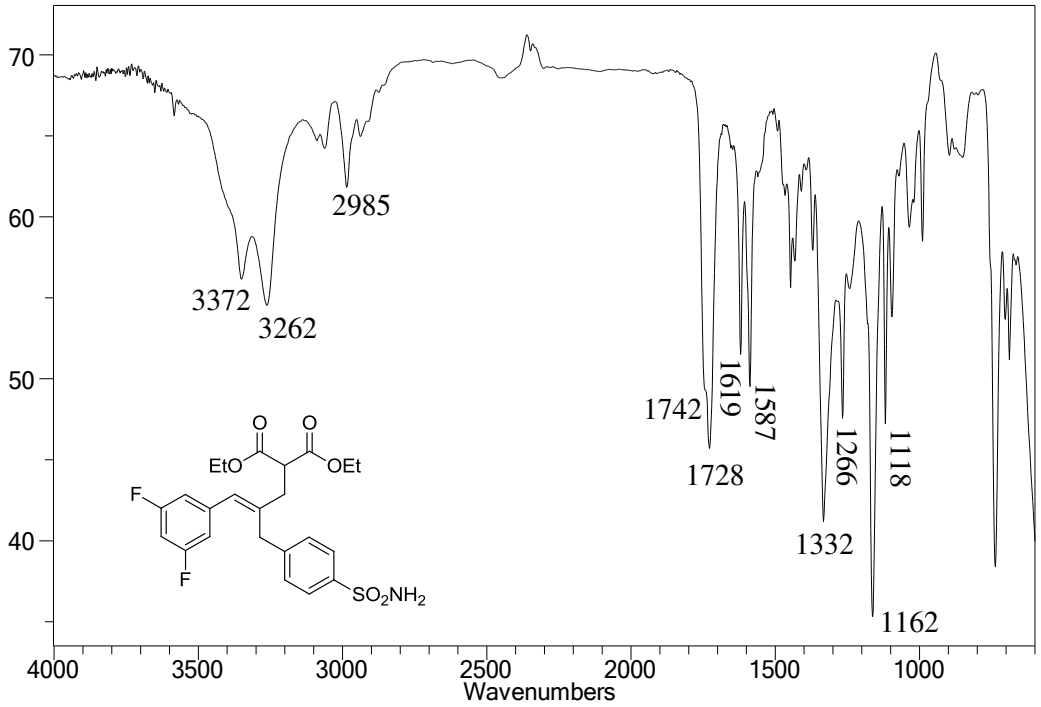


Figura 90: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do diéster **(8b)**.

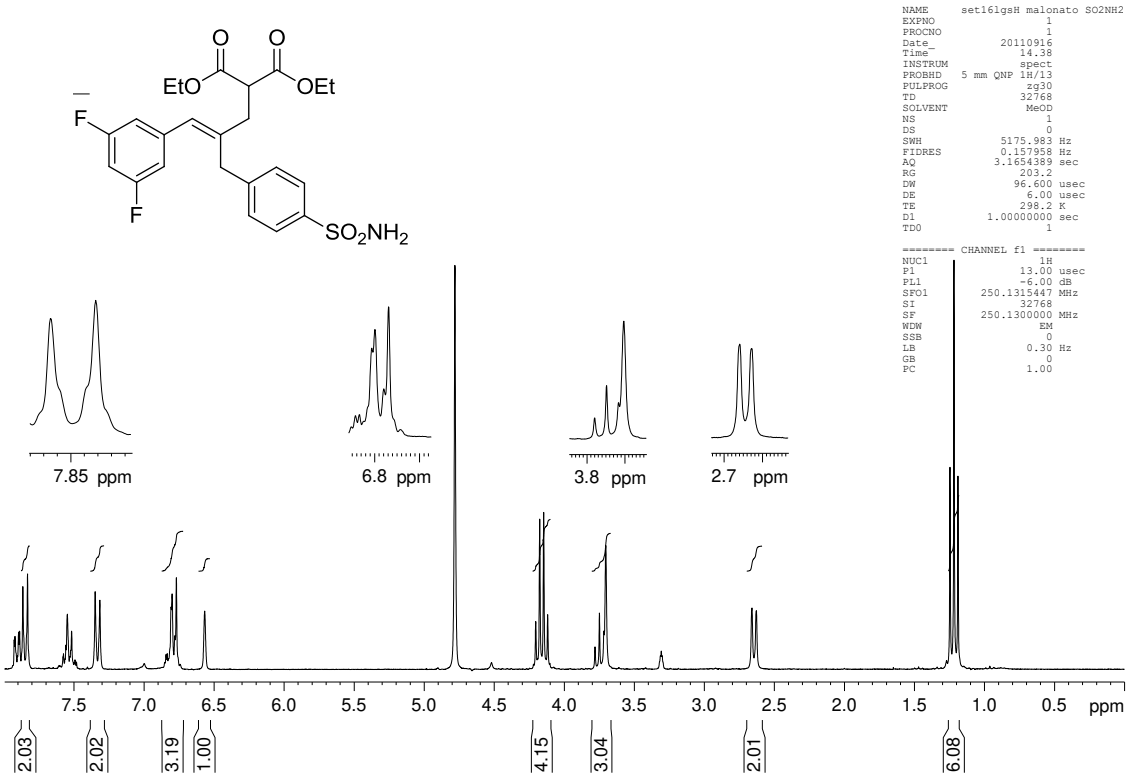


Figura 91: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, MeOD com 0,05% TMS) do diéster **(8b)**.

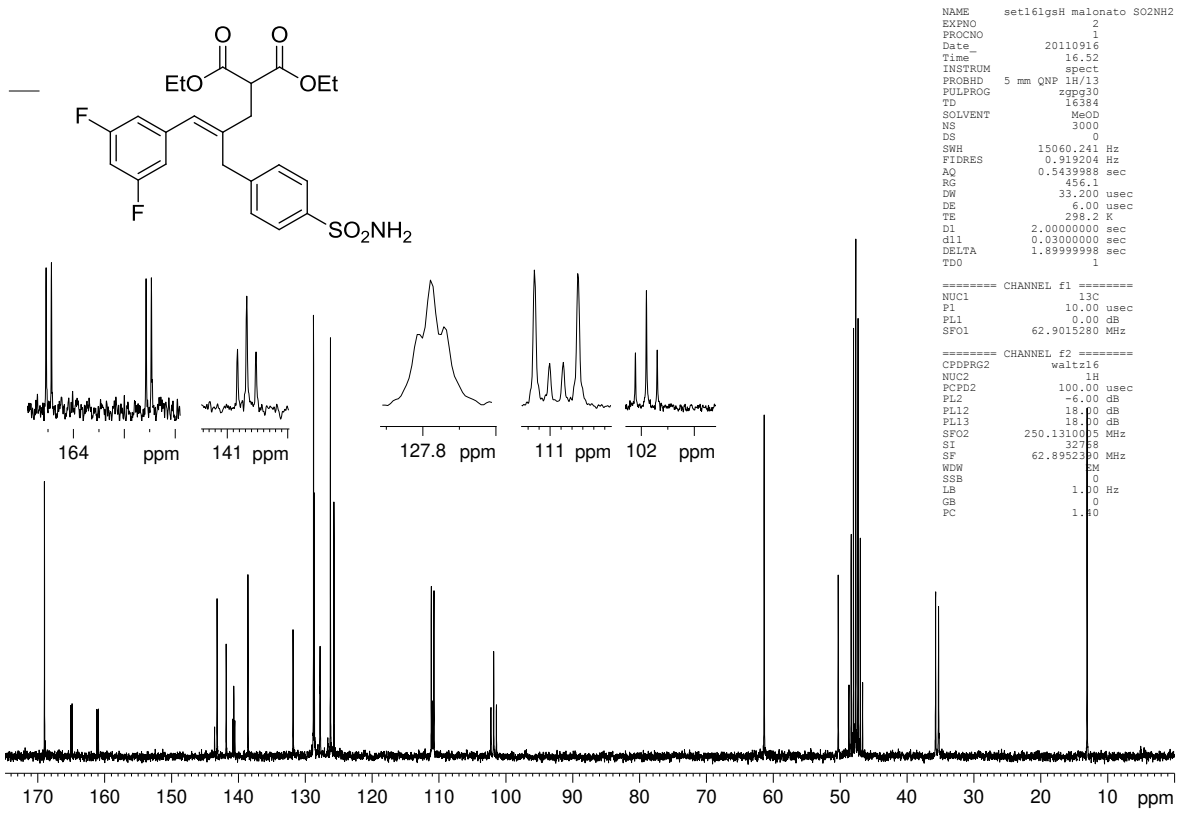


Figura 92: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, MeOD com 0,05% TMS) do diéster **(8b)**.

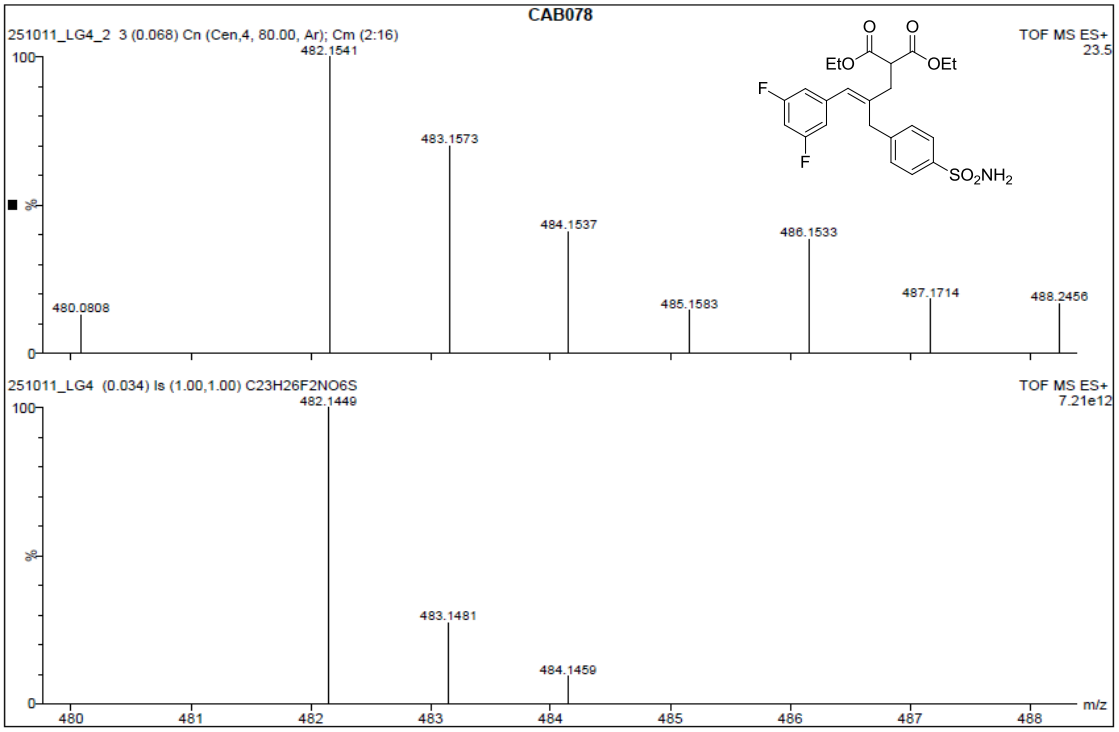


Figura 93: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do diéster **(8b)**.

Nome IUPAC: 2-[(2*Z*)-3-(6-Bromo-2*H*-1,3-benzodioxol-5-il)-2-[(4-fluorofenil)metil]

prop-2-en-1-il]propanodioato de 1,3-dietila **(8c)**

Característica: Óleo amarelo claro

Rendimento: 83%

IV (Filme, ν_{max}): 2982, 2917, 1747, 1731, 1601, 1507, 1475, 1411, 1369, 1266, 1156, 1037 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,12-7,01 (m, 3H), 7,01-6,90 (m, 2H), 6,65 (s, 1H) 6,36 (s, 1H) 5,95 (s, 2H), 4,13 (q, ^{3}J = 7,1 Hz, 4H), 3,60 (t, ^{3}J = 7,7 Hz, 1H), 3,45 (s, 2H), 2,64 (d, ^{3}J = 7,7 Hz, 2H), 1,25 (t, ^{3}J = 7,0 Hz, 6H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 168,8, 160,7 (d, *J*= 244,4 Hz, C-F), 147,4, 147,0, 137,8, 134,1 (d, ^{4}J= 3,3 Hz, C-F), 130,6, 130,0, 129,9, 128,6, 115,4, 115,2, 114,8 (C-Br), 112,6, 110,0, 101,7, 61,5, 50,6, 35,8, 34,4, 14,0.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{24}H_{25}BrFO_6$ - 507,0818; encontrado 507,0891.

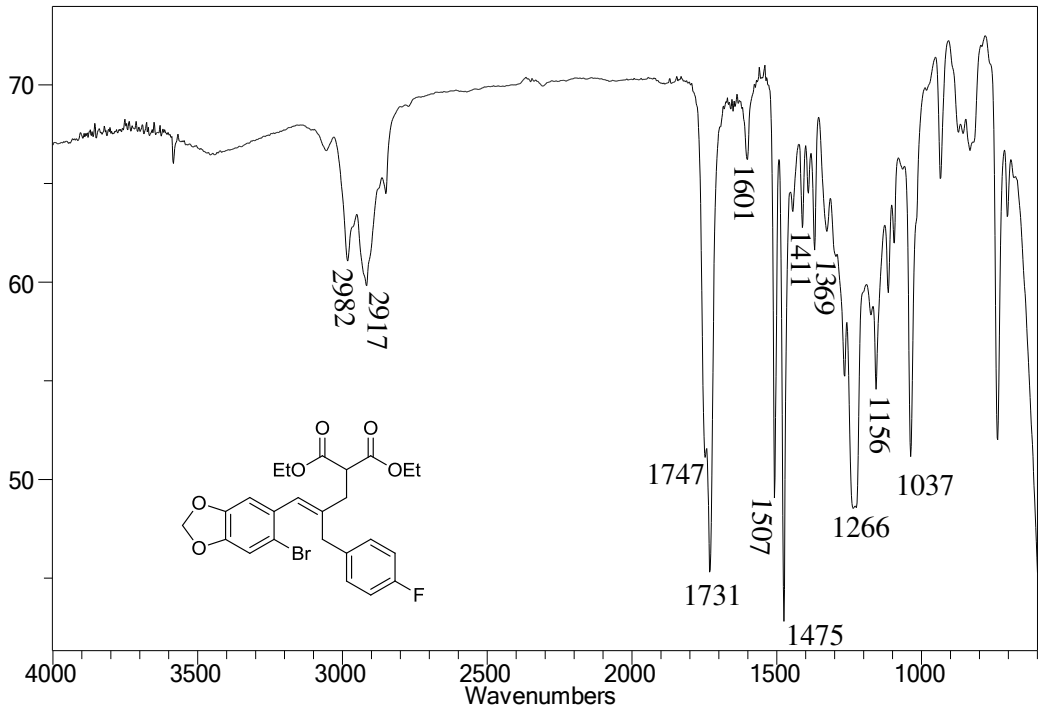


Figura 94: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do diéster **(8c)**.

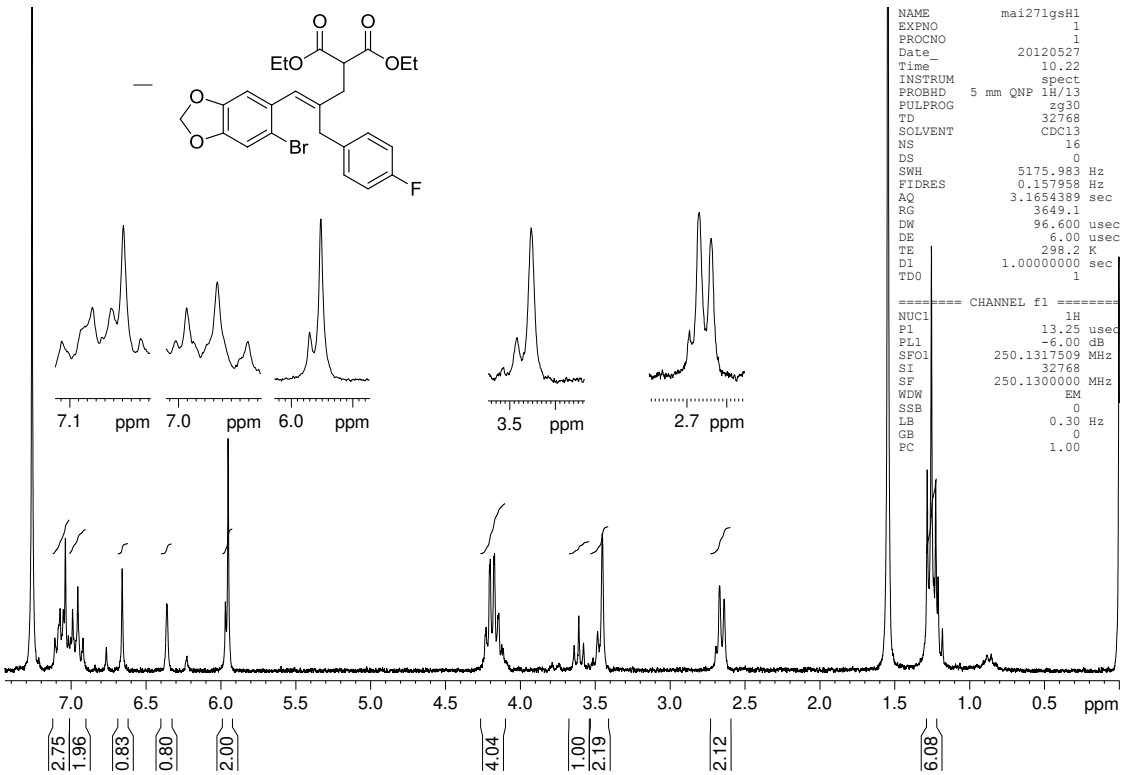


Figura 95: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do diéster **(8c)**.

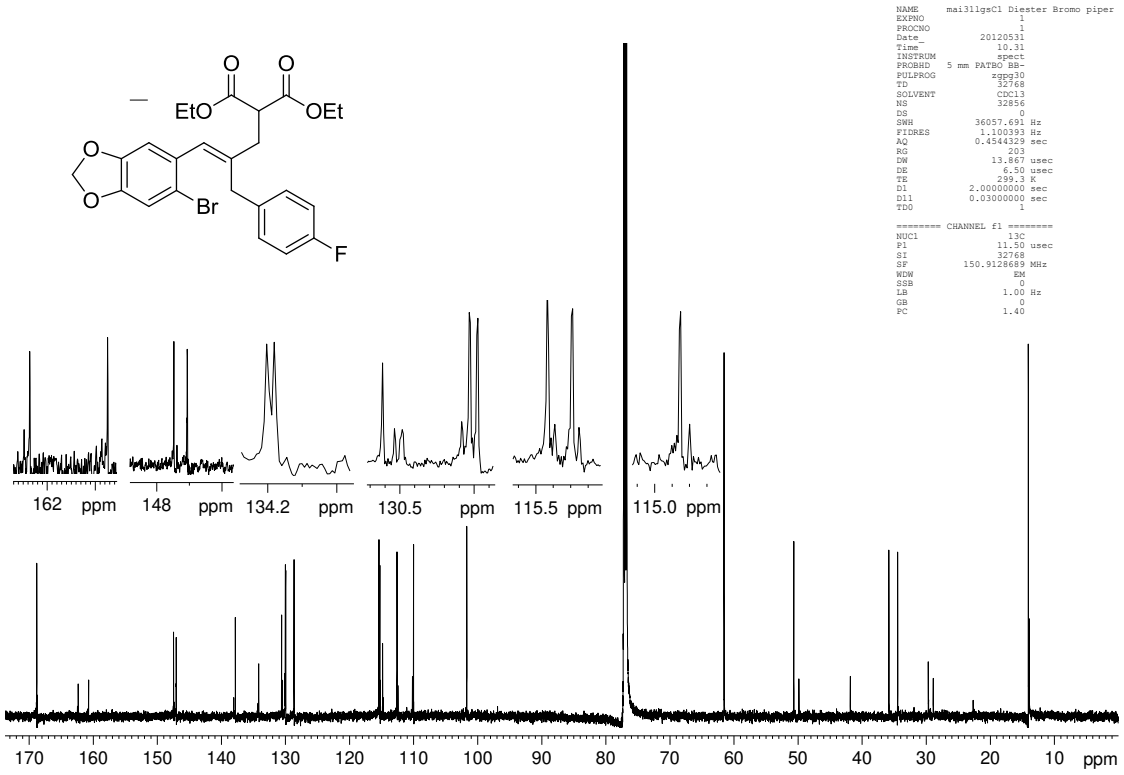


Figura 96: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do diéster **(8c)**.

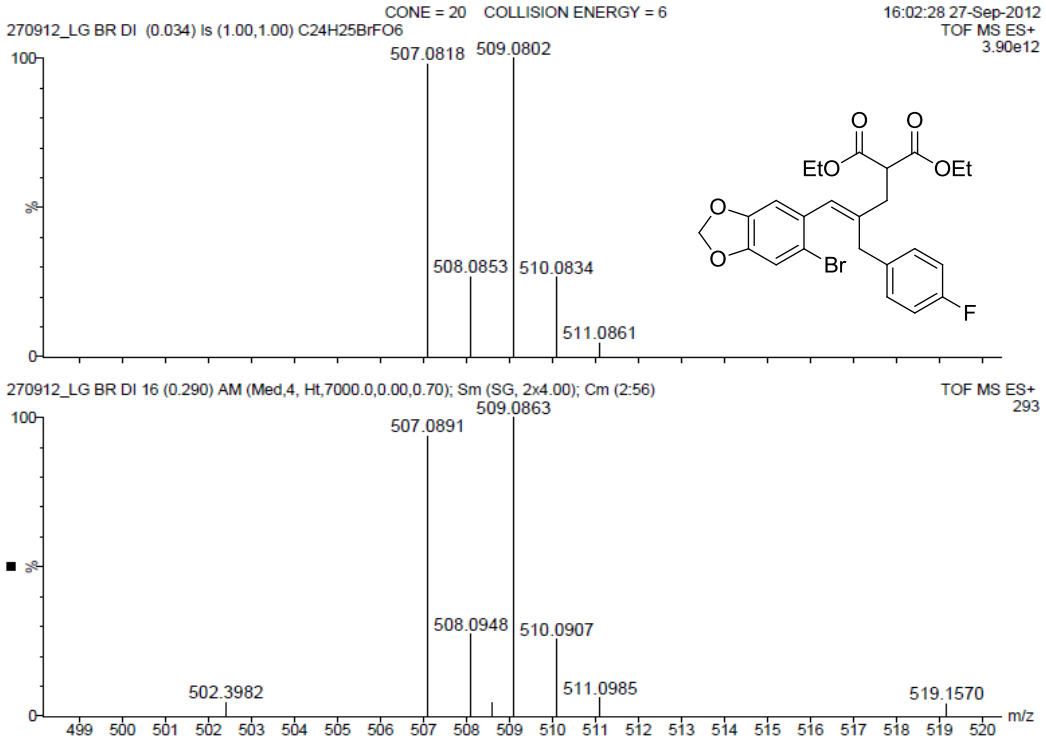
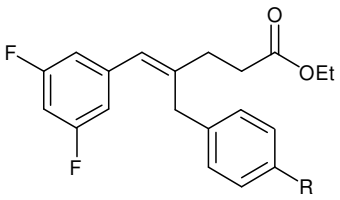
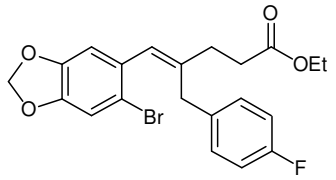


Figura 97: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do diéster **(8c)**.

8.2.8. Procedimento geral: preparação dos monoésteres 7, 7a, 7b e 7c



7, R =F; **7a**, R = SO_2CH_3; **7b**, R = SO_2NH_2



7c

Aos diésteres **8, 8a, 8b** e **8c** (0,27 – 0,94 mmol) adicionamos DMSO, H_2O e NaCl (0,34 – 1,16 mmol), sob agitação magnética. As misturas resultantes foram aquecidas sob refluxo, aproximadamente 190°C. A evolução das reações foram acompanhada por CCD. Ao término, as misturas foram vertidas em um funil de separação contendo 30,0 mL de água e extraídas com éter dietílico (6 x 30,0 mL). As soluções orgânicas foram lavadas com solução saturada de NaCl (3 x 15 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O bruto de evaporação foi purificado por cromatografia em coluna de gel de silica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (80/20).

Nome IUPAC: (4*Z*)-5-(3,5-difluorofenil)-4-[(4-fluorofenil)metil]pent-4-enoato de etila **(7)**

Característica: Óleo amarelo claro

Rendimento: 79%

IV (Filme, ν_{max}): 3439, 2976, 2927, 1734, 1619, 1587, 1508, 1223, 1117, 1094 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,15-7,03 (m, 2H), 7,03-6,90 (m, 2H), 6,82-6,59 (m, 3H), 6,44 (s, 1H), 4,12 (q, ^{3}J = 7,2 Hz, 2H), 3,57 (s, 2H), 2,55-2,35 (m, 4H), 1,24 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 172,6, 163,0 (dd, ^{1}J= 247,9 Hz e ^{3}J= 12,7 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J= 248,2 Hz e ^{3}J= 13,3 Hz, C-F), 161,5 (d, ^{1}J= 244,5 Hz, C-F), 141,5, 140,7 (t, ^{3}J= 9,7 Hz, C-F), 134,0 (d, ^{4}J= 3,1 Hz, C-F), 129,8, 129,7, 125,7 (t, ^{4}J= 2,4 Hz, C-F), 115,6, 115,2, 111,3 (d, ^{2}J= 8,4 Hz, C-F), 111,1 (d, ^{2}J= 8,2 Hz, C-F), 102,0 (t, ^{2}J= 25,4 Hz, C-F), 60,4, 35,8, 32,7, 31,7, 14,1.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{20}H_{20}F_3O_2$ - 349,1415; encontrado 349,1397.

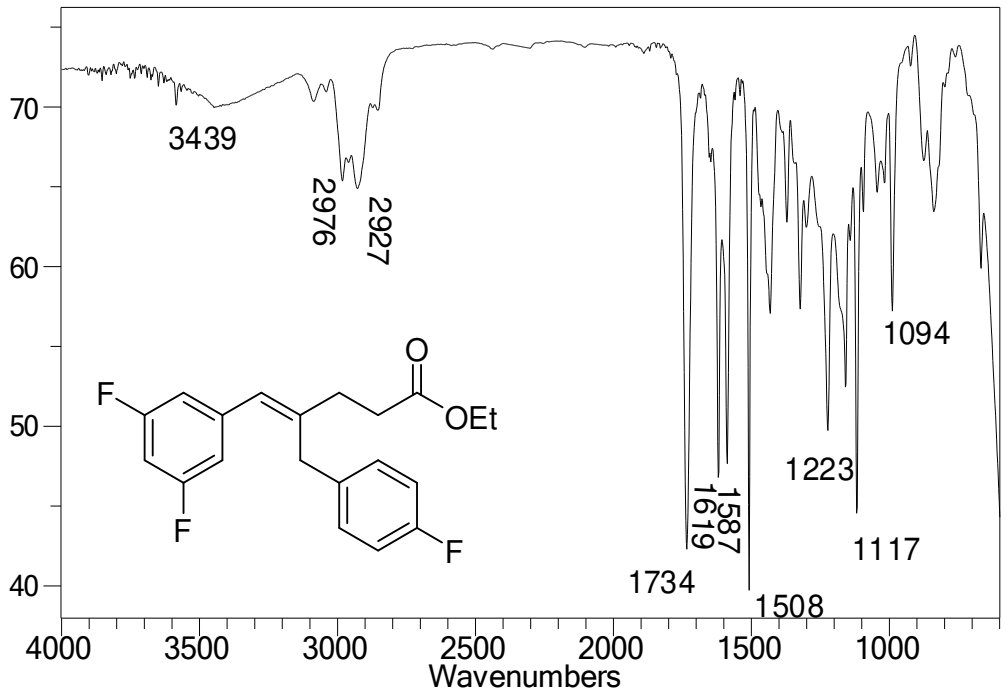


Figura 98: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do éster γ-insaturado **(7)**.

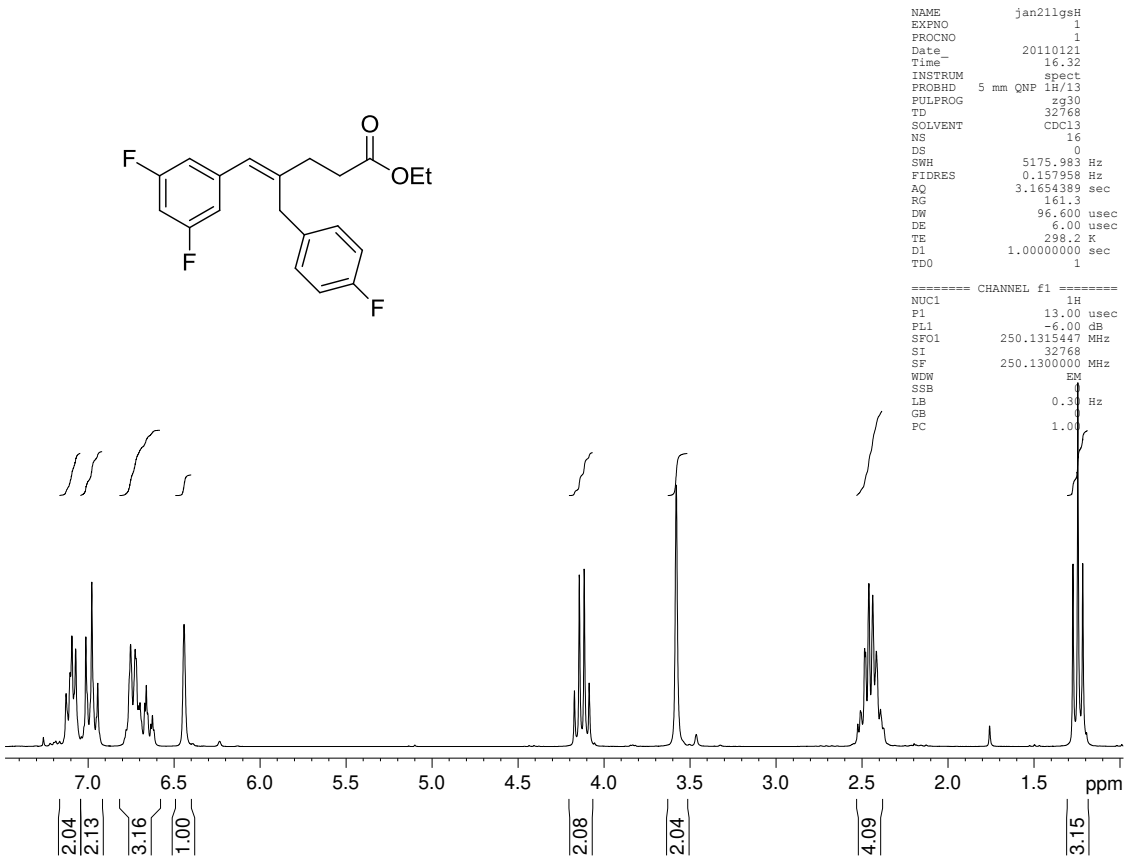


Figura 99: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do éster γ-insaturado (**7**).

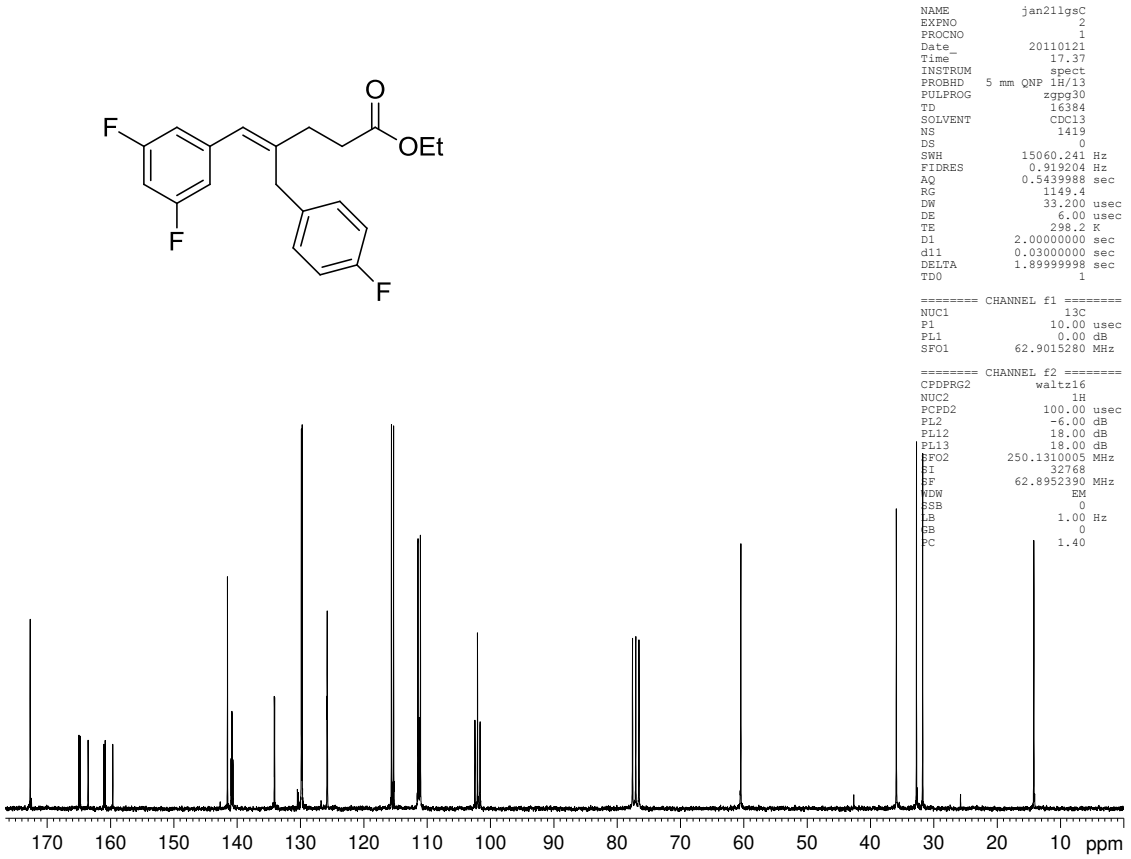


Figura 100: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do éster γ-insaturado **(7)**.

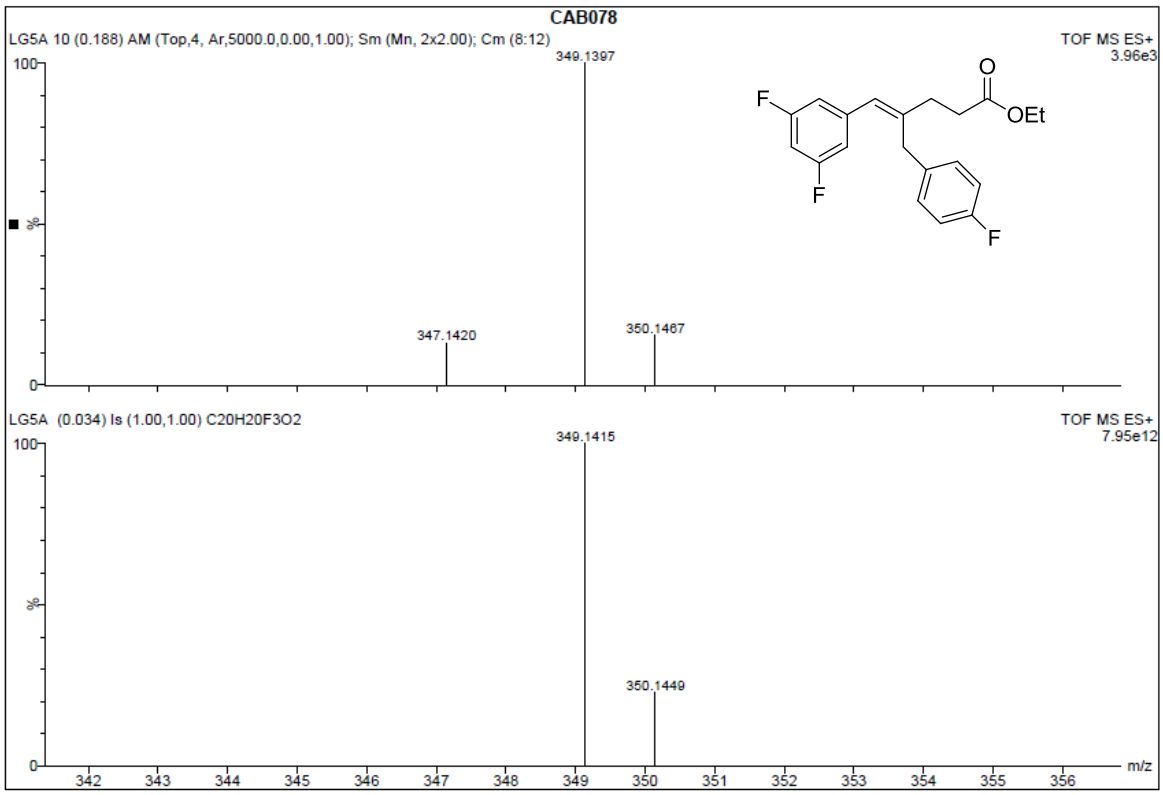


Figura 101: Espectro de massas (ESI, *m/z*) do éster γ-insaturado (**7**).

Nome IUPAC: (*4Z*)-5-(3,5-Difluorofenil)-4-[(4-metanosulfonilfenil)methyl]pent-4-enoato de etila (**7a**)

Característica: Óleo amarelado

Rendimento: 82%

IV (Filme, ν_{max}): 3410, 2923, 1727, 1619, 1586, 1432, 1305, 1148, 1116 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,86 (d, *J*= 8,2 Hz, 2H), 7,33 (d, *J*= 8,2 Hz, 2H), 6,75-6,60 (m, 3H), 6,49 (s, 1H), 4,11 (q, ^{3}J = 7,0 Hz, 2H), 3,68 (s, 2H), 3,04 (s, 3H), 2,55-2,44 (m, 2H), 2,44-2,32 (m, 2H), 1,23 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 172,5, 163,0 (dd, ^{1}J= 248,4 Hz e ^{3}J= 13,1 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J= 248,4 Hz e ^{3}J= 13,1 Hz, C-F), 145,2, 140,4 (t, ^{3}J= 9,5 Hz, C-F), 140,0, 138,8, 129,3, 127,7, 126,6 (t, ^{4}J= 2,2 Hz, C-F), 111,3

(d, ^{2}J= 8,3 Hz, C-F), 111,0 (d, ^{2}J= 8,4 Hz, C-F), 102,3 (t, ^{2}J= 25,4 Hz, C-F), 60,5, 44,5, 36,7, 32,5, 31,6, 14,2.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{21}H_{23}F_2O_4S$ - 409,1285; encontrado 409,1227.

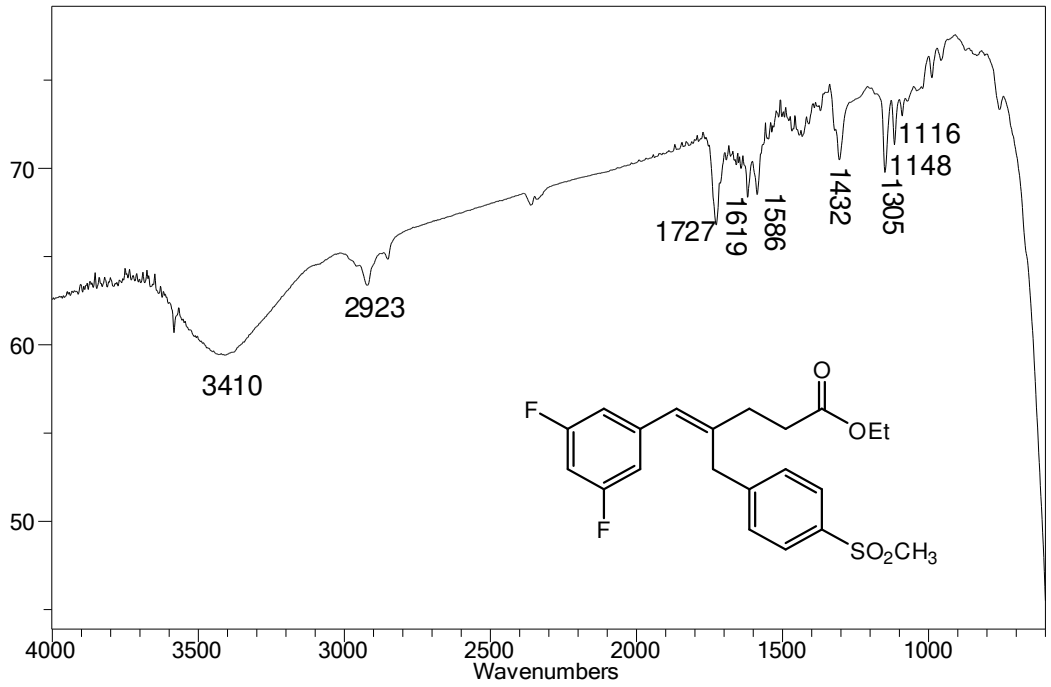


Figura 102: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do éster γ-insaturado **(7a)**.

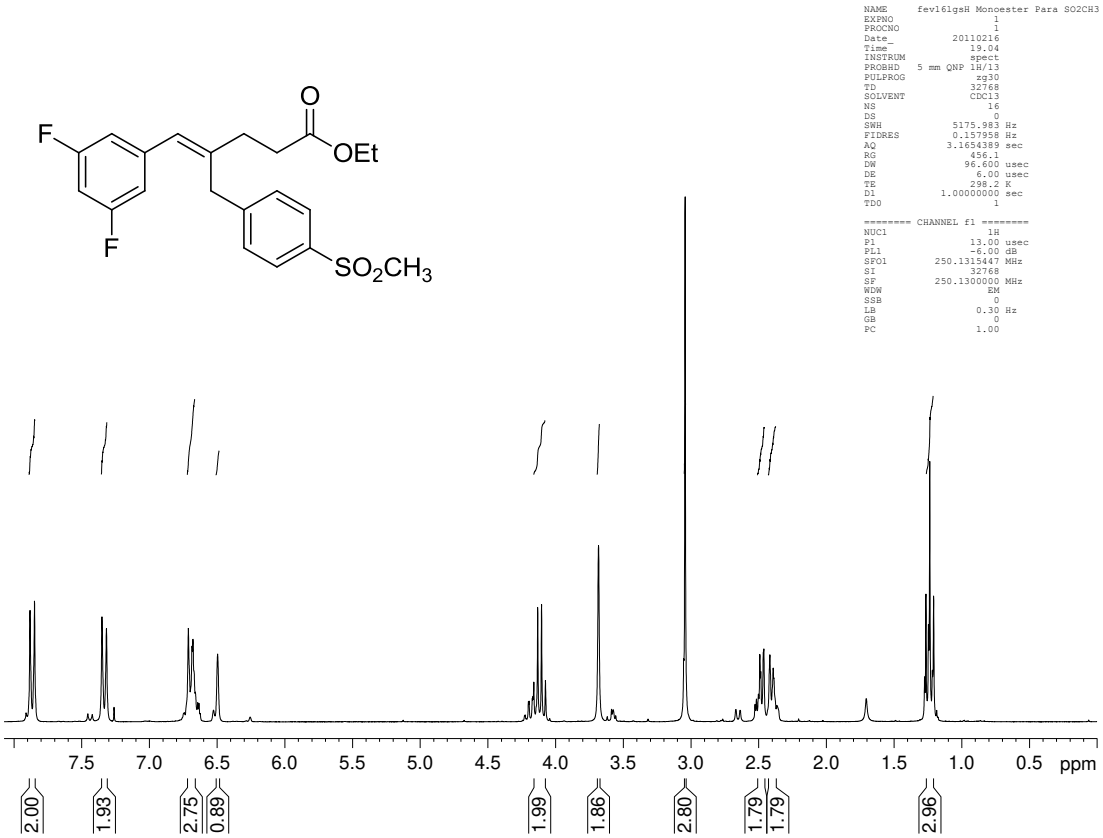


Figura 103: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do éster γ-insaturado **(7a)**.

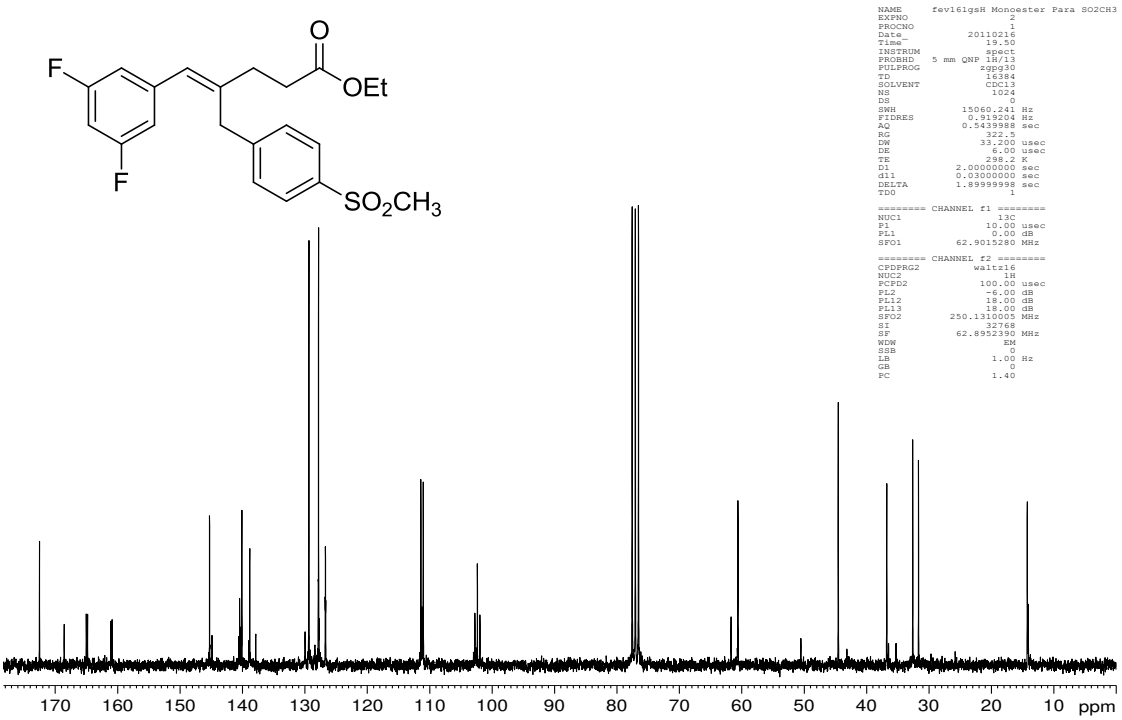


Figura 104: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do éster γ-insaturado **(7a)**.

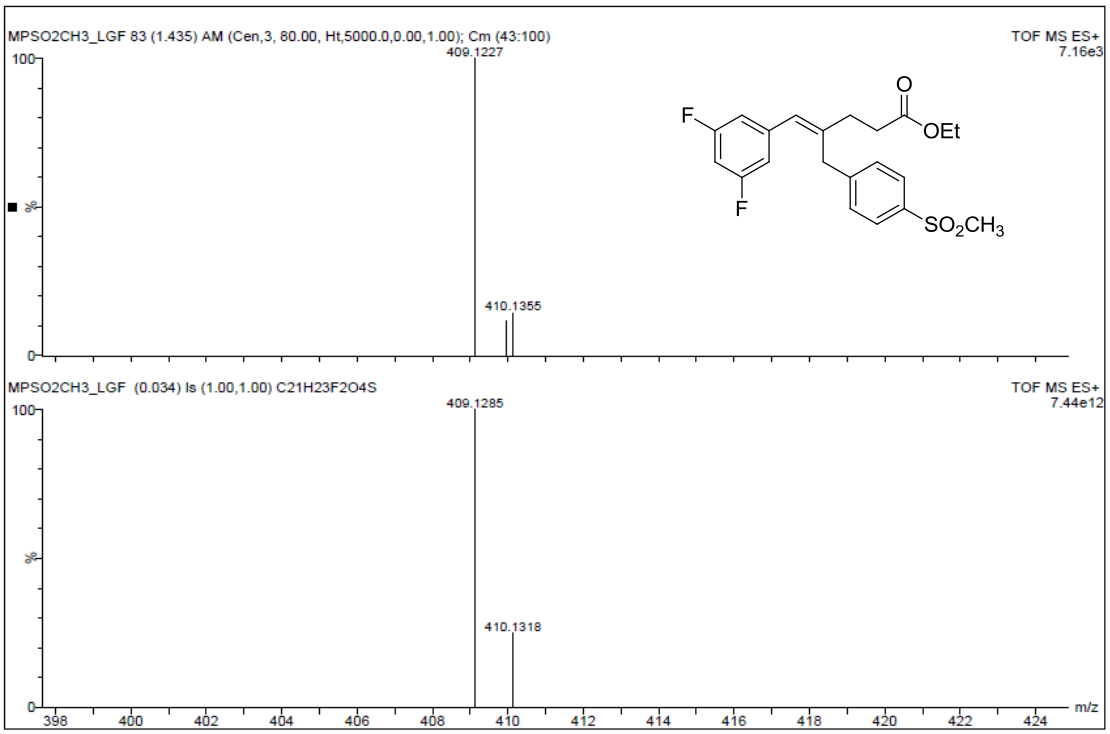


Figura 105: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do éster γ-insaturado (**7a**).

Nome IUPAC: (4*Z*)-5-(3,5-difluorofenil)-4-[(4-sulfamoilfenil)metil]pent-4-enoato de etila (**7b**)

Característica: Óleo incolor

Rendimento: 69%

IV (Filme, ν_{max}): 3378, 3271, 3057, 2985, 1728, 1620, 1588, 1325, 1266, 1164, 1117 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,85 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 2H), 7,27 (d, ^{3}J = 8,7 Hz, 2H), 6,77-6,61 (m, 3H), 6,48 (s, 1H), 5,11 (s, 2H – NH_2), 4,11 (q, ^{3}J = 7,1 Hz, 2H), 3,66 (s, 2H), 2,54-2,44 (m, 2H), 2,44-2,33 (m, 2H), 1,23 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 172,7, 163,0 (dd, *J*= 247,9 Hz e ^{3}J= 13,1 Hz, C-F), 162,9 (dd, *J*= 248,0 Hz e ^{3}J= 13,2 Hz, C-F), 144,1, 140,5 (t, ^{3}J= 9,5 Hz, C-F), 140,2, 129,1, 126,8, 126,5 (t, ^{4}J= 2,1 Hz, C-F), 111,3 (d, ^{2}J= 7,2 Hz,

C-F), 111,1 (d, ^{2}J= 7,0 Hz, C-F), 102,3 (t, ^{2}J= 24,9 Hz, C-F), 60,6, 36,6, 32,6, 31,6, 14,2.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{20}H_{22}F_2NO_4S$ - 410,1237; encontrado 410,1240.

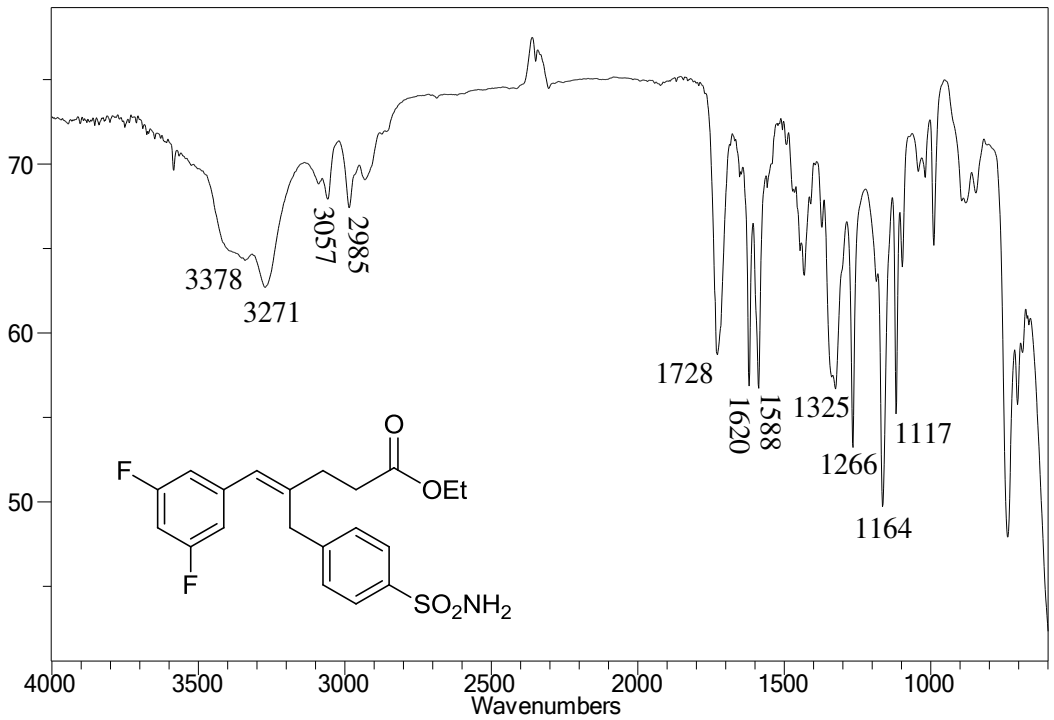


Figura 106: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do éster γ-insaturado **(7b)**.

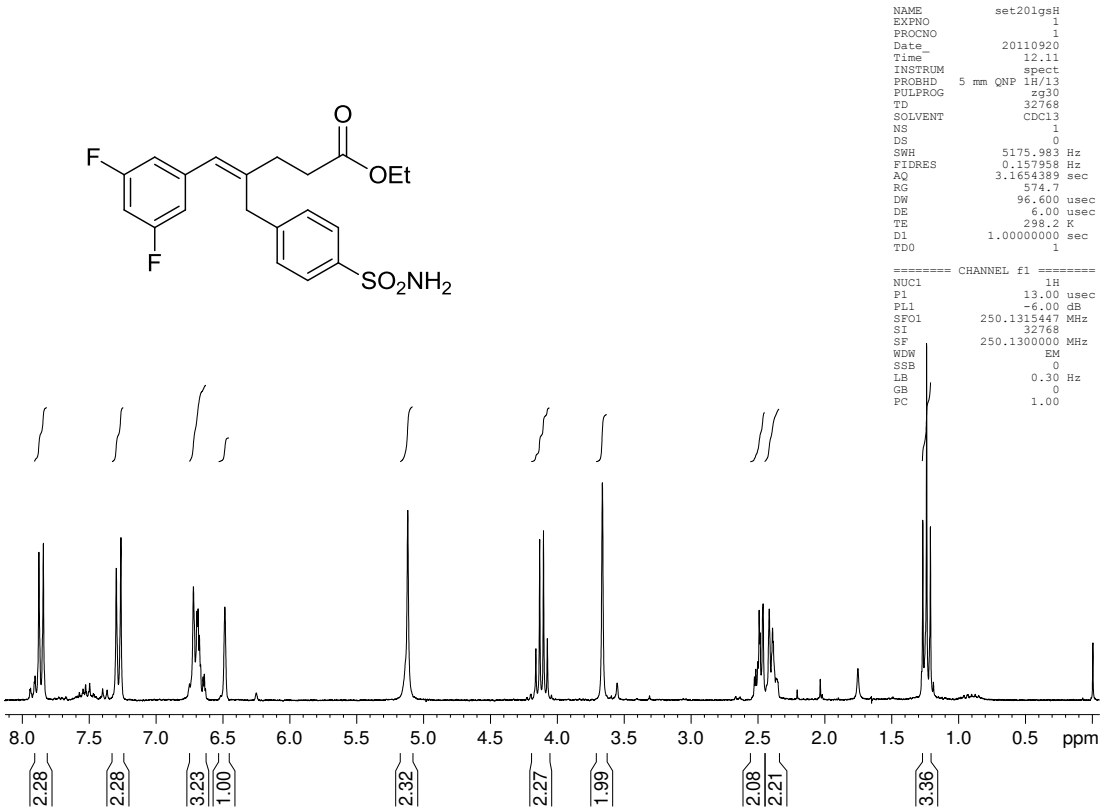


Figura 107: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do éster γ-insaturado **(7b)**.

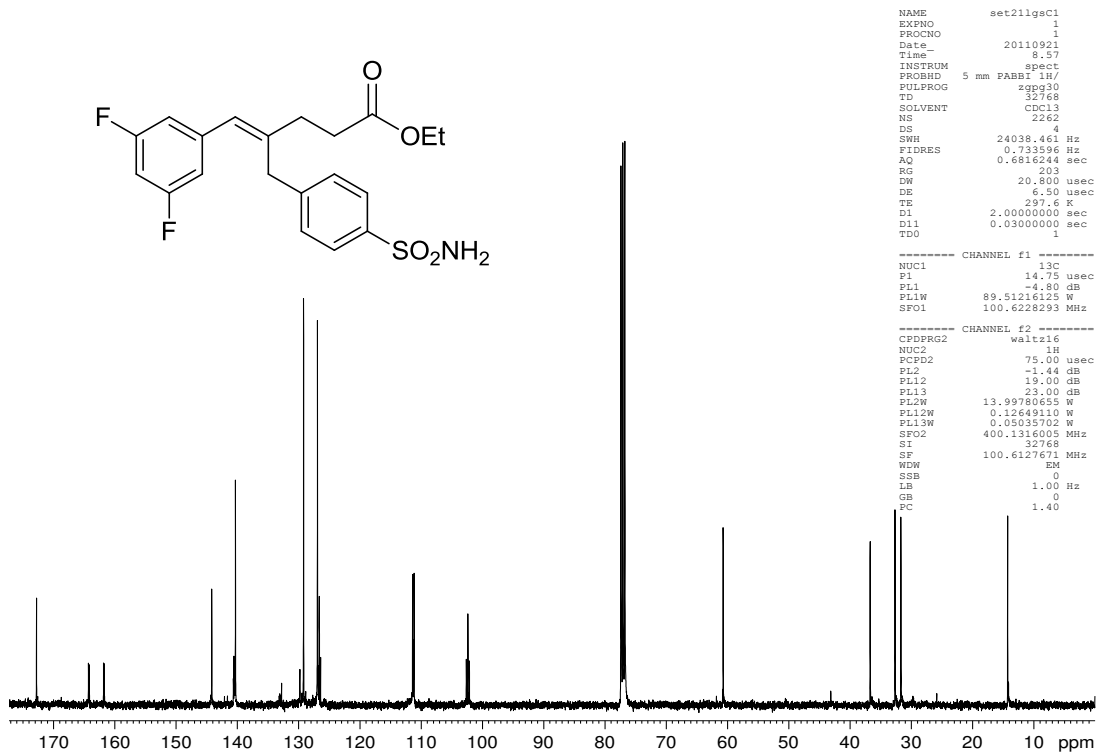


Figura 108: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do éster γ-insaturado **(7b)**.

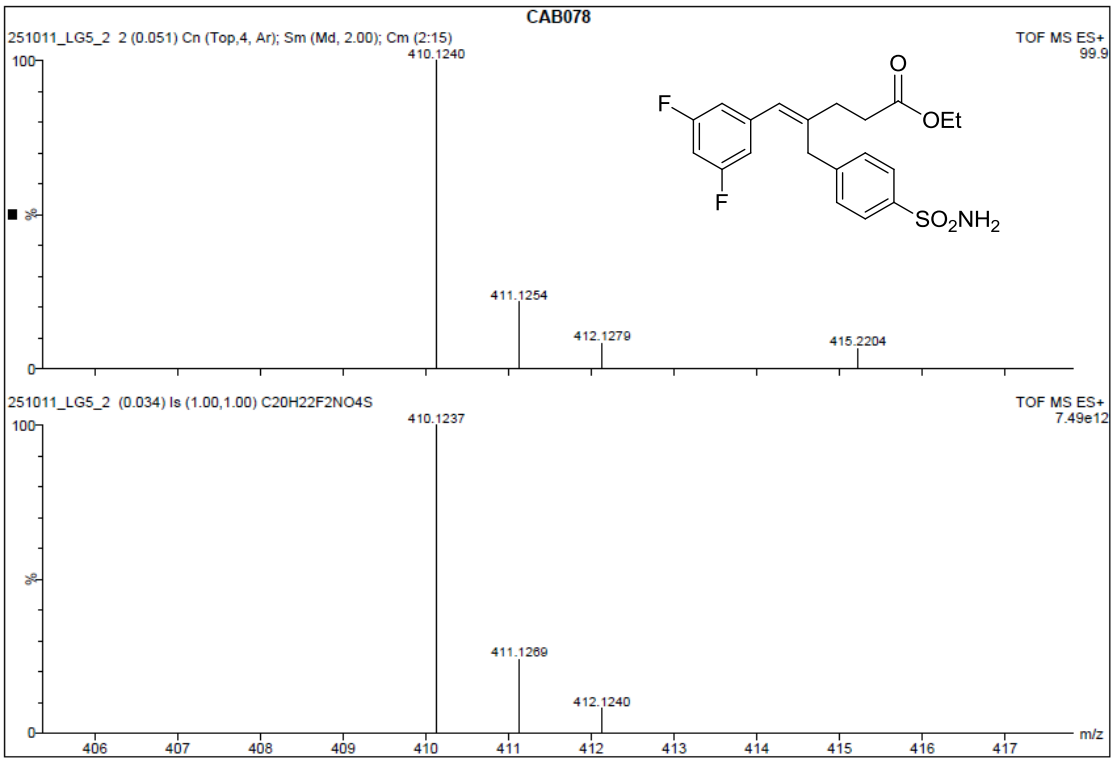


Figura 109: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do éster γ-insaturado **(7b)**.

Nome IUPAC: (4*Z*)-5-(6-Bromo-2*H*-1,3-benzodioxol-5-il)-4-[(4-fluorofenil)metil]pent-4-enoato de etila **(7c)**

Característica: Óleo amarelo claro

Rendimento: 78%

IV (Filme, ν_{max}): 3055, 2916, 2849, 1729, 1601, 1507, 1475, 1411, 1370, 1265, 1038 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,10-7,04 (m, 3H), 6,99-6,92 (m, 2H), 6,69 (s, 1H), 6,32 (s, 1H), 5,95 (s, 2H), 4,12 (q, ^{3}J = 7,2 Hz, 2H), 3,44 (s, 2H), 2,53-2,47 (m, 5H), 2,40-2,34 (m, 2H), 1,24 (t, ^{3}J = 7,1 Hz, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 172,8, 161,4 (d, *J*= 244,0 Hz, C-F), 147,3, 147,0, 140,0, 134,5 (d, ^{4}J = 3,2 Hz, C-F), 130,8, 129,9, 129,8, 126,9, 115,4, 115,1, 114,9 (C-Br), 112,5, 110,0, 101,6, 60,4, 36,0, 32,8, 30,7, 14,2.

EMAR (EI, m/z): calculado para $C_{21}H_{20}BrFO_4$ - 434,0529; encontrado 434,0481.

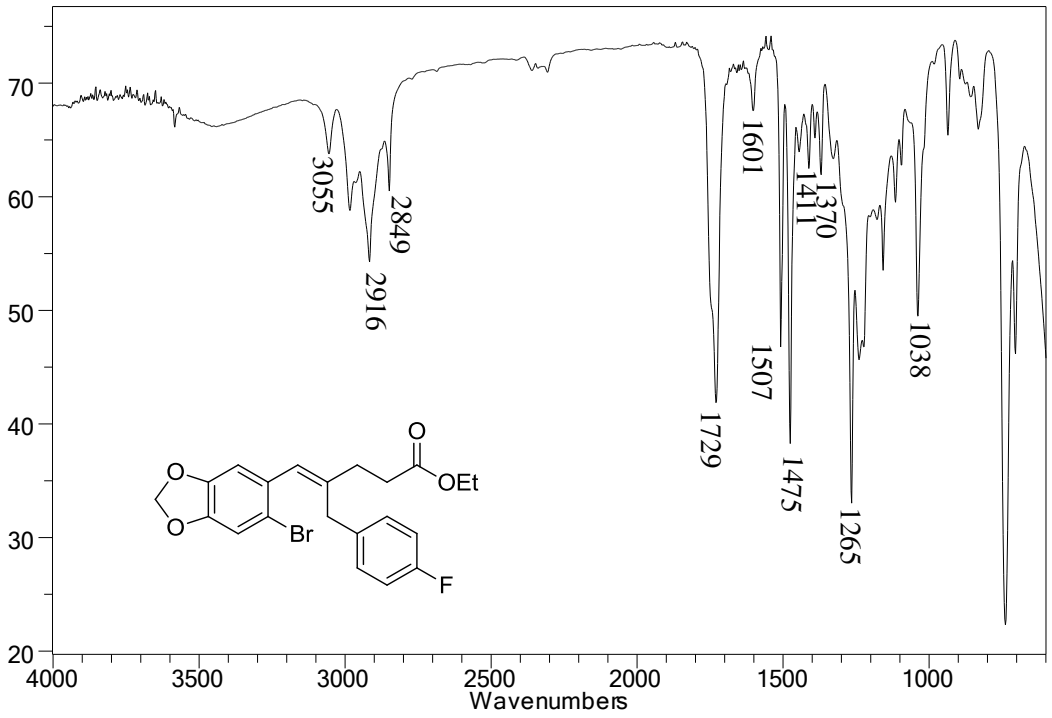


Figura 110: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do éster γ-insaturado (**7c**).

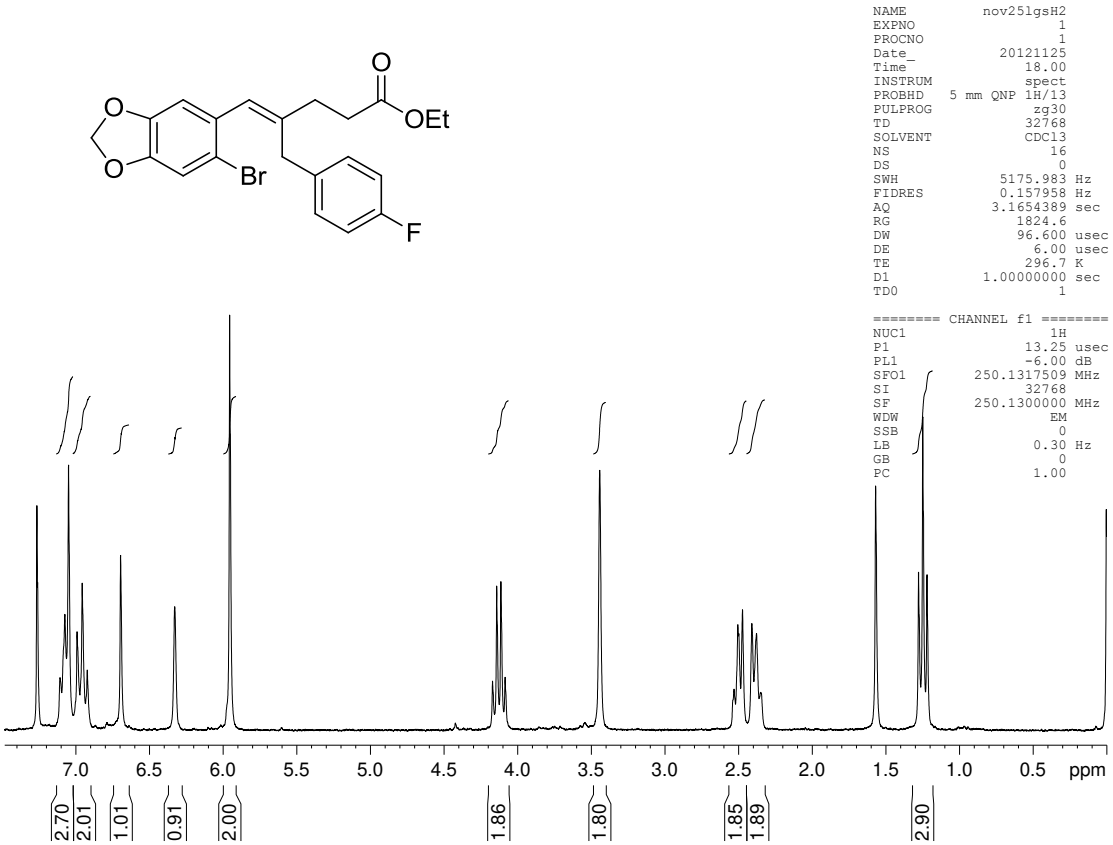


Figura 111: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do éster γ-insaturado (**7c**).

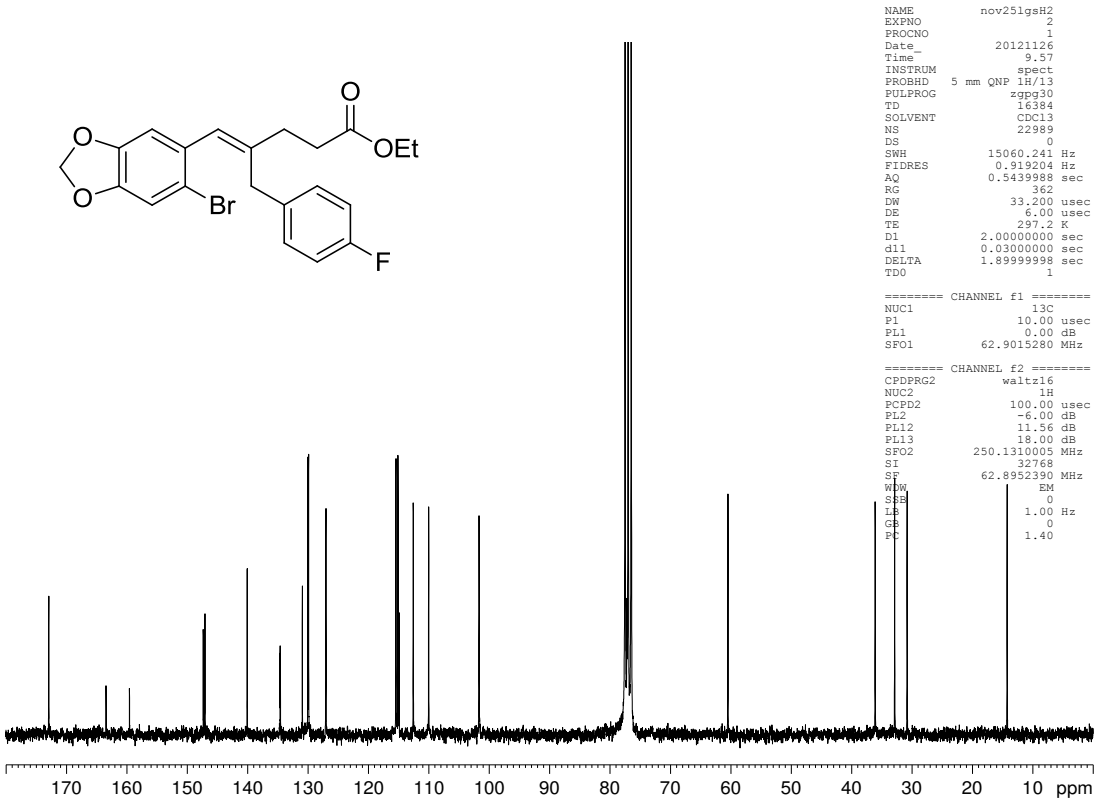


Figura 112: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do éster γ-insaturado (**7c**).

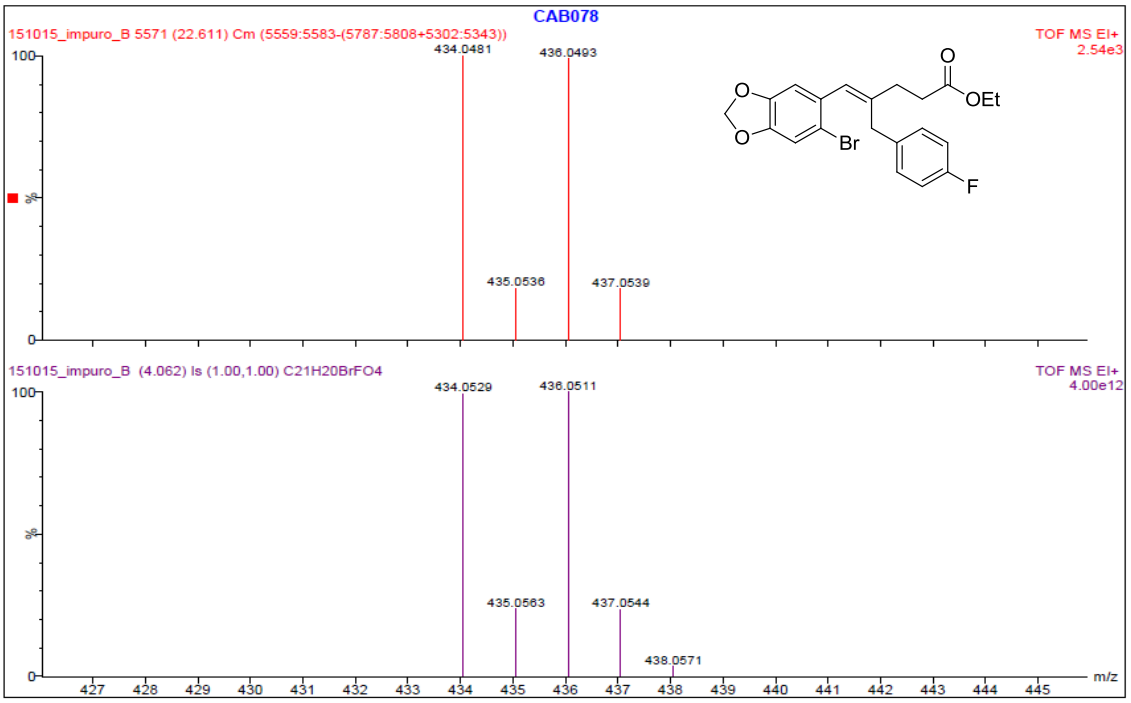
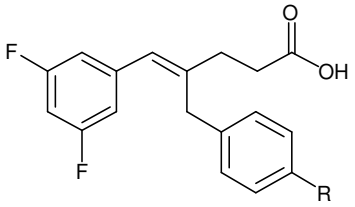
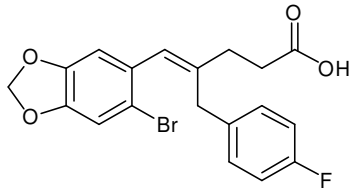


Figura 113: Espectro de massas de alta resolução (EI, *m/z*) do éster γ-insaturado (**7c**).

8.2.9. Procedimento geral: preparação dos ácidos carboxílicos 6, 6a, 6b e 6c



6, R =F; **6a**, R = SO_2CH_3; **6b**, R = SO_2NH_2



6c

Aos ésteres **7, 7a, 7b** e **7c** (0,22 – 0,75 mmol) dissolvidos em etanol (5,0 mL) adicionou-se NaOH (2 mol/L, 5,0 mL). Sob agitação magnética, as misturas foram aquecidas até refluxo. A evolução das reações foi acompanhada por CCD. Após o resfriamento das reações até a temperatura ambiente. O etanol foi evaporado sob pressão reduzida. Os resíduos aquosos resultantes da evaporação foram lavados com clorofórmio (50 mL). As soluções aquosas foram acidificadas a pH 2 com ácido clorídrico resfriado (0 a -5 ºC) e extraídas com clorofórmio (3 x 30,0 mL). As soluções orgânicas foram secas sob sulfato de sódio anidro. Após as filtragens e concentração do solvente, os resíduos de evaporação foram submetidos à purificação por cromatografia em coluna de gel de selica, utilizando-se gradiente de eluição hexano/acetato de etila (80/20).

Nome IUPAC: (4*Z*)-5-(3,5-Difluorofenil)-4-[(4-fluorofenil)metil]pent-4-enoato de etila **(6)**

Característica: Sólido branco amorfo

Ponto de fusão: 90 – 91 ºC;

Rendimento: 91%

IV (Filme, ν_{max}): 3086, 3037, 2925, 2861, 1710, 1619, 1588, 1508, 1431, 1322, 1222, 1117 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,11-7,06 (m, 2H), 7,01-6,94 (m, 2H), 6,74-6,64 (m, 3H), 6,43 (s, 1H), 3,57 (s, 2H), 2,56-2,50 (m, 2H), 2,43-2,37 (m, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 178,7, 163,0 (dd, ^{1}J= 248,2 Hz e ^{3}J= 13,2 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J= 248,0 Hz e ^{3}J= 13,2 Hz, C-F), 161,6 (d, ^{1}J= 244,8 Hz, C-F), 141,0, 140,6 (t, ^{3}J= 9,7 Hz, C-F), 133,9 (d, ^{4}J= 3,1 Hz, C-F), 129,8, 129,7, 125,9 (t, ^{4}J= 2,3 Hz, C-F), 115,6, 115,3, 111,4 (d, ^{2}J= 8,3 Hz, C-F), 111,1 (d, ^{2}J= 8,5 Hz, C-F), 102,1 (t, ^{2}J= 25,3 Hz, C-F), 35,9, 32,4, 31,2.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{18}H_{14}F_3O_2$ - 319,0946; encontrado 319,0982.

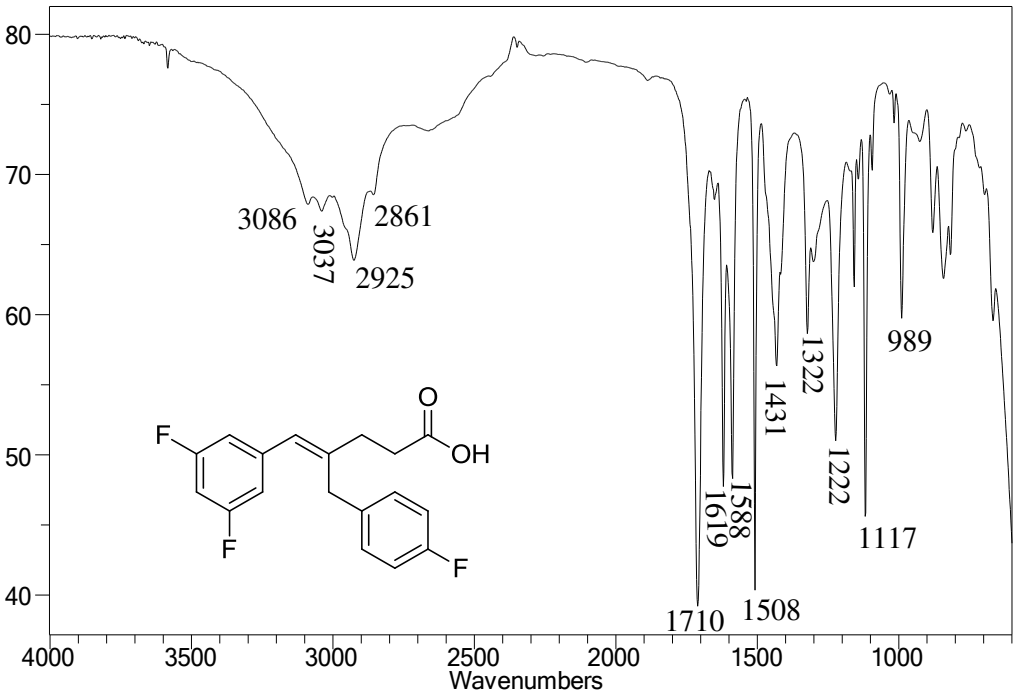


Figura 114: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6)**.

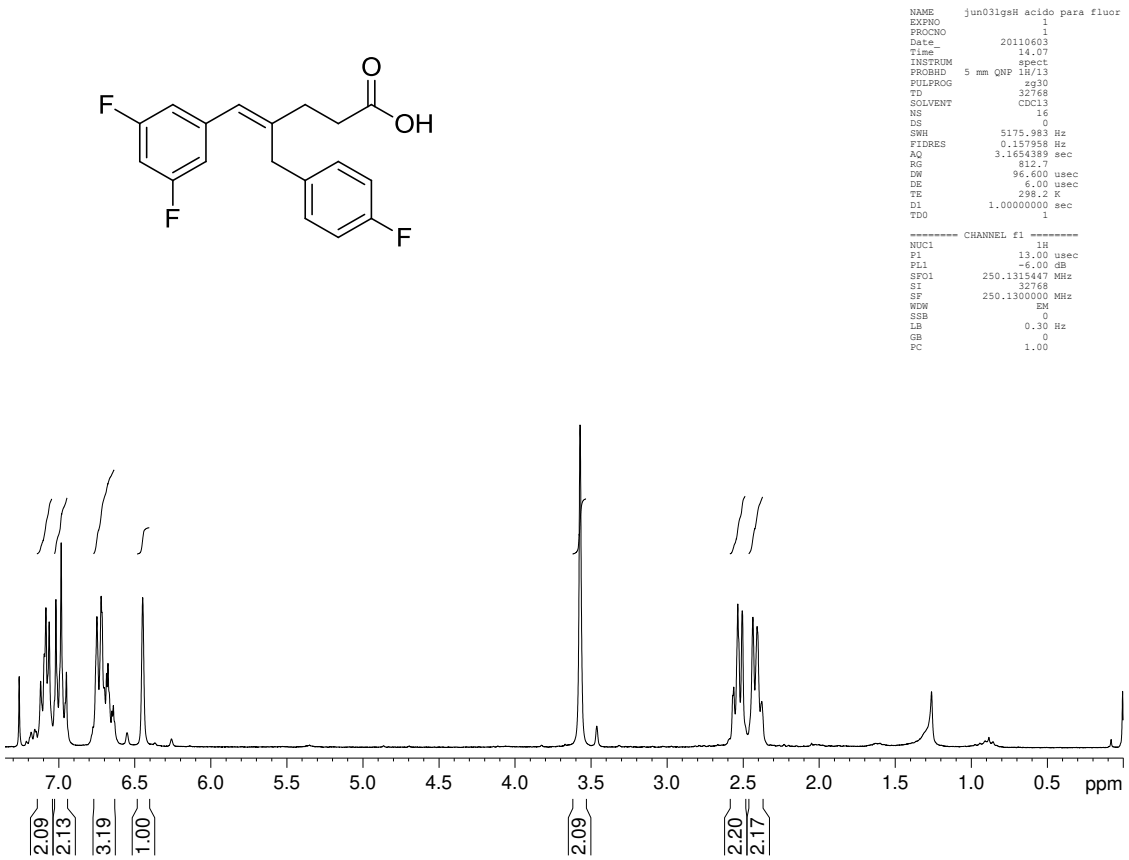


Figura 115: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do acido carboxílico γ-insaturado **(6)**.

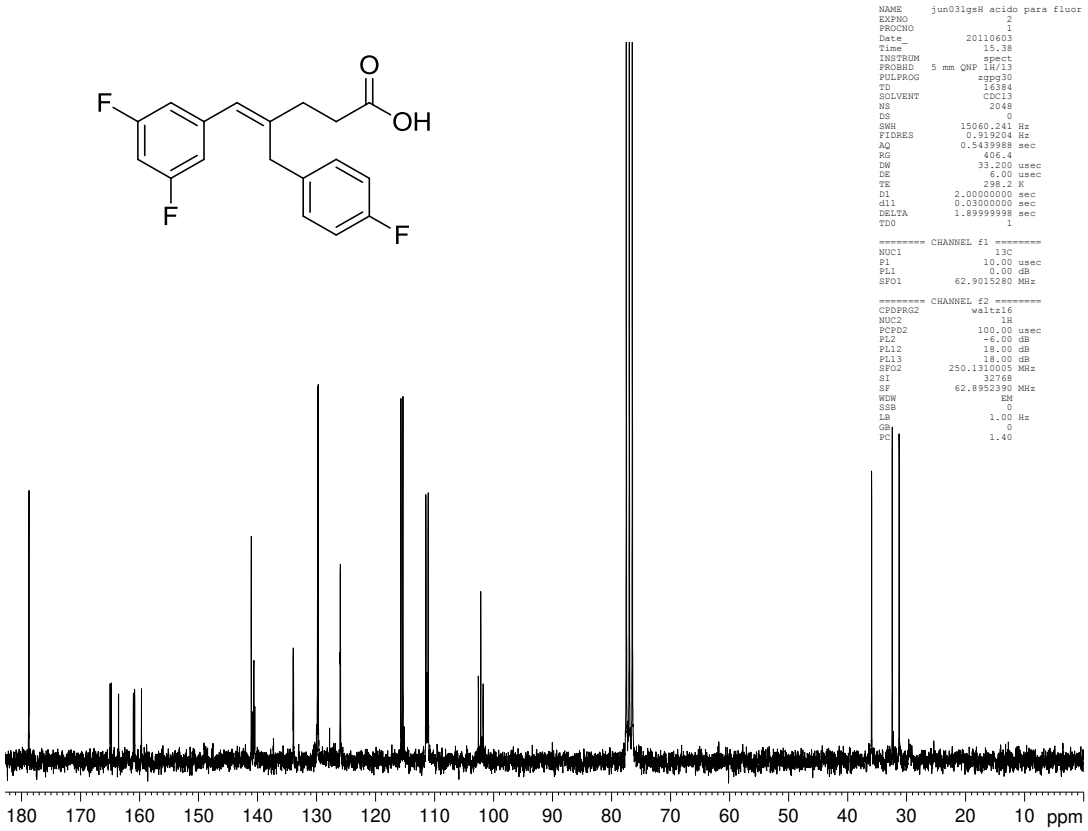


Figura 116: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6)**.

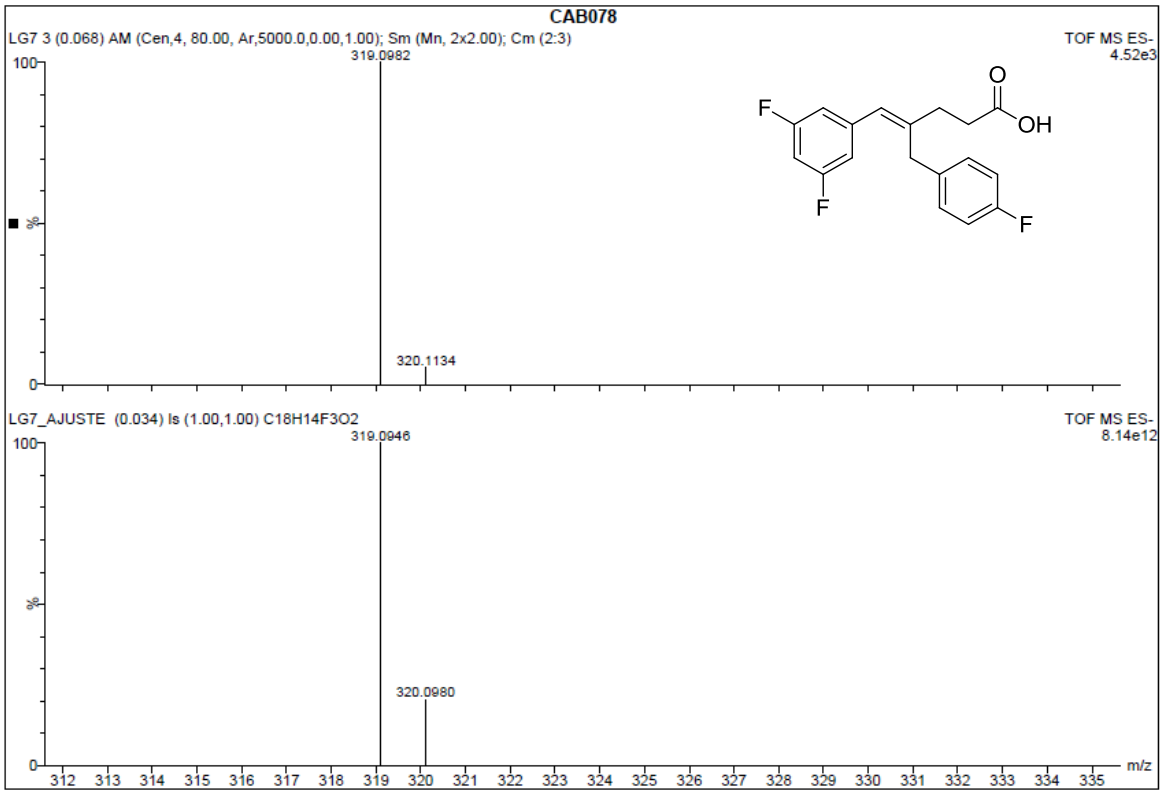


Figura 117: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6)**.

Nome IUPAC: (4*Z*)-5-(3,5-Difluorofenil)-4-[(4-methanosulfonilfenil)metil]pent-4-enoato de etila (**6a**)

Característica: Óleo amarelo claro

Rendimento: 90%

IV (Filme, ν_{max}): 3415, 2922, 1705, 1620, 1438, 1303, 1148, 1116 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,96-7,84 (m, 3H), 7,51 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 2H), 7,22-7,19 (m, 1H), 7,18-7,15 (m, 1H), 7,00 (tt, ^{5}J = 2,1 Hz e ^{3}J = 9,1 Hz, 1H), 3,11 (s, 4H), 3,09-3,05 (m, 2H), 3,00 (s, 3H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 176,1, 163,0 (dd, ^{1}J= 249,9 Hz e ^{3}J= 12,4 Hz, C-F), 162,8 (dd, ^{1}J= 249,9 Hz e ^{3}J= 12,7 Hz, C-F), 142,2 (t, ^{3}J= 8,6 Hz, C-F), 141,1, 139,6,131,7, 131,7, 127,6, 127,5 (t, ^{4}J= 2,2 Hz, C-F), 110,8

(d, ^{2}J= 8,7 Hz, C-F), 110,5 (d, ^{2}J= 8,7 Hz, C-F), 104,1 (t, ^{2}J= 25,2 Hz, C-F), 44,4, 41,0, 28,8, 25,2.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{19}H_{19}F_2O_4S$ - 381,0972; encontrado 381,0995.

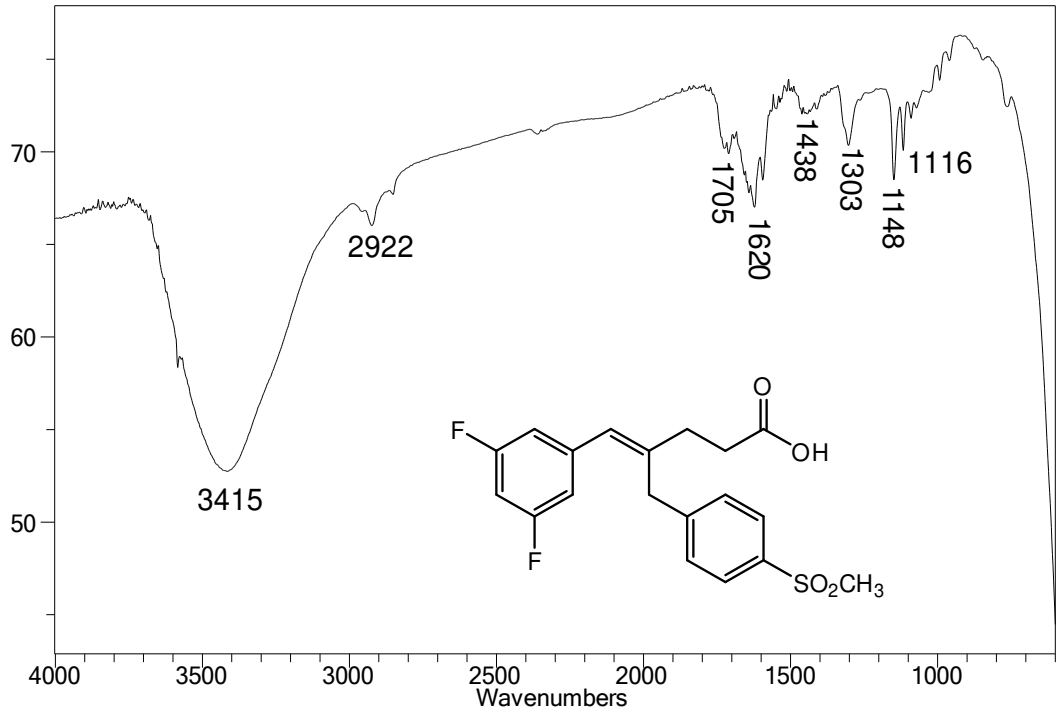


Figura 118: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6a)**.

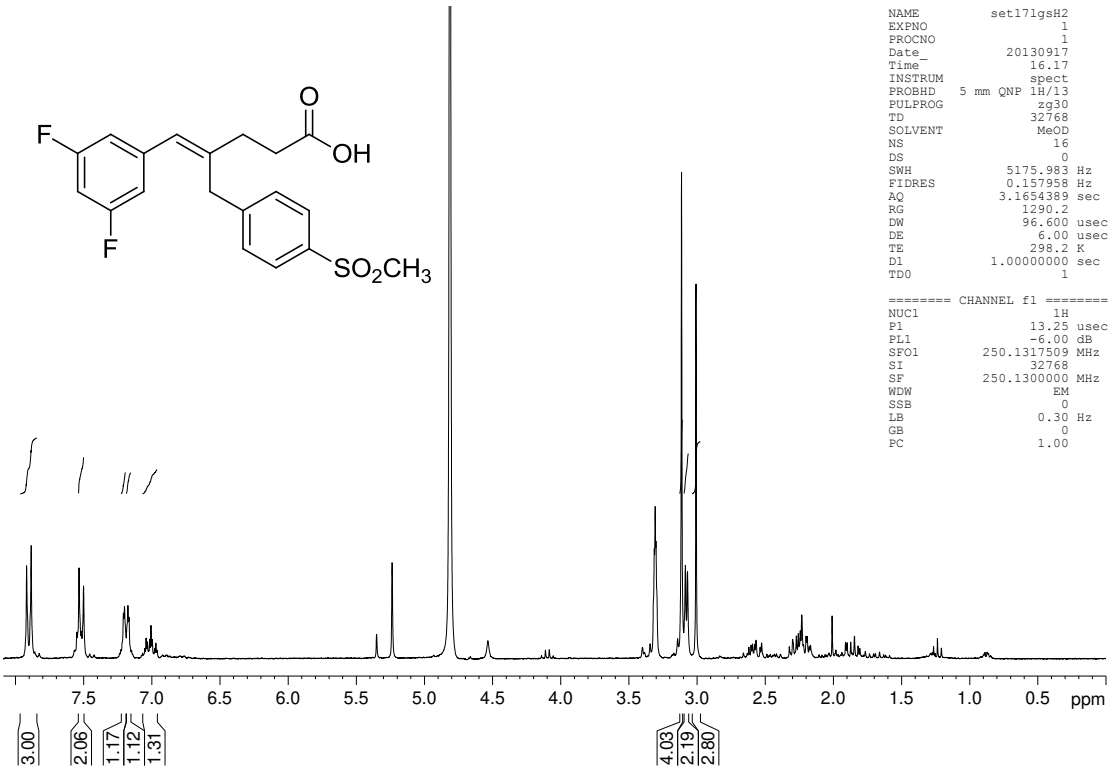


Figura 119: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, MeOD com 0,05% TMS) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6a)**.

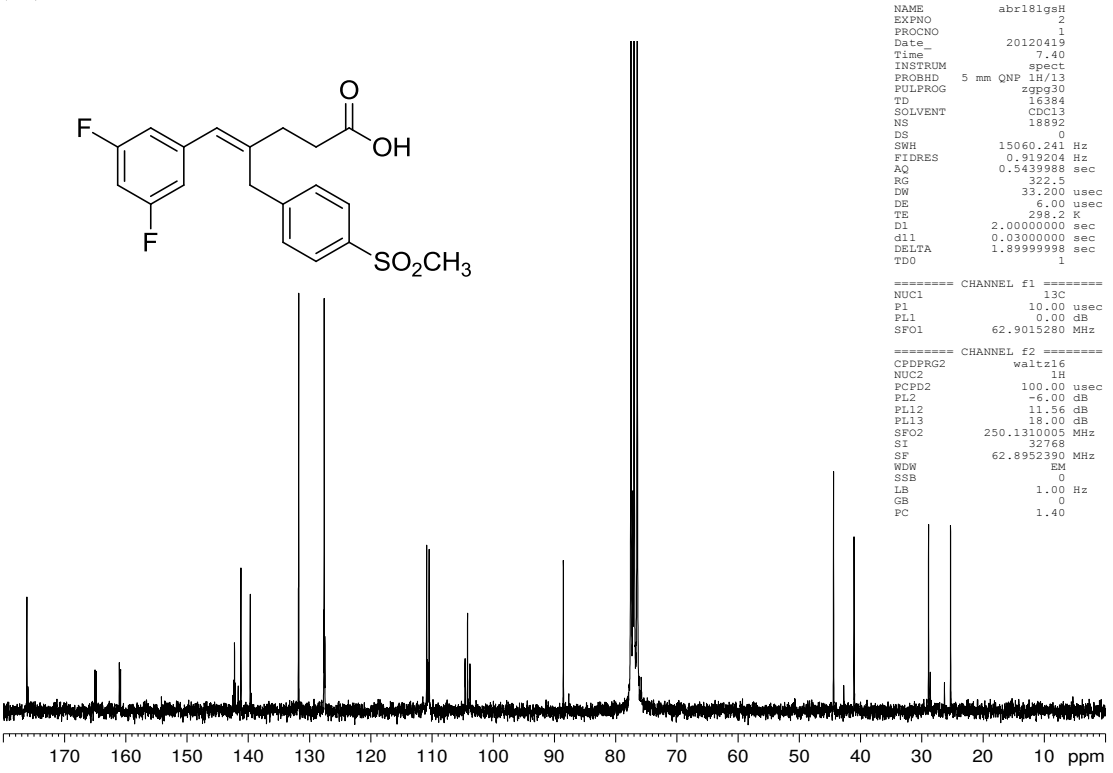


Figura 120: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6a)**.

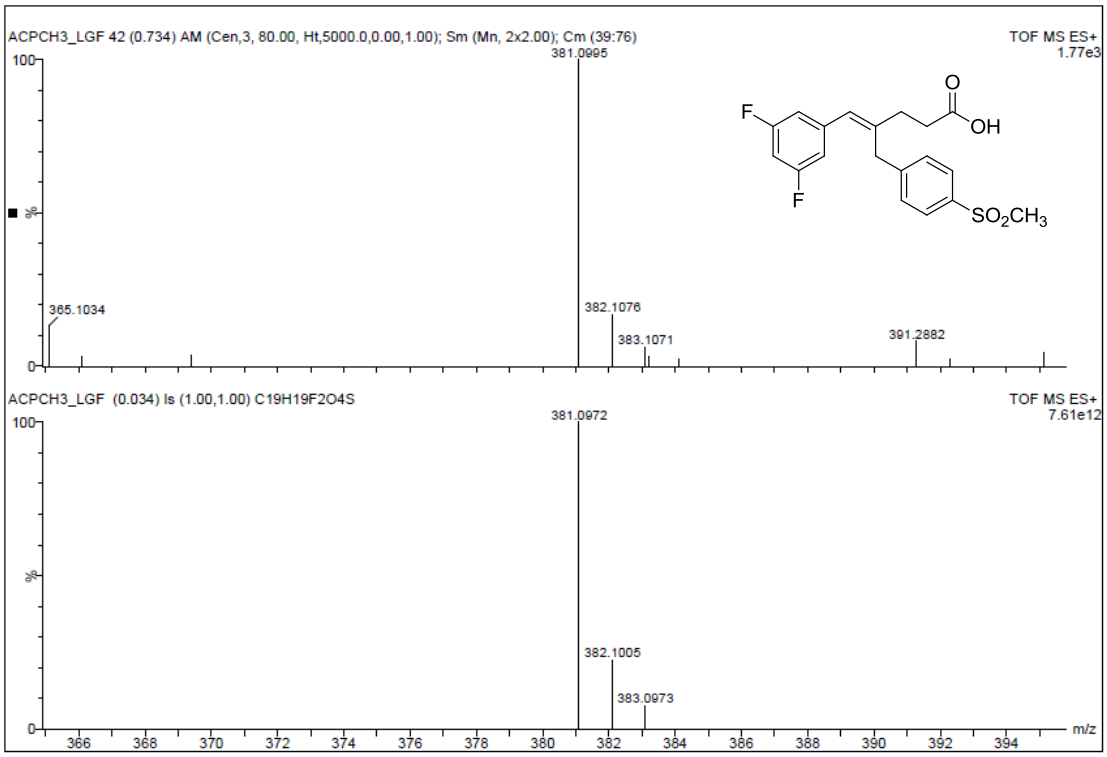


Figura 121: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do ácido carboxílico γ-insaturado (**6a**).

Nome IUPAC: (4*Z*)-5-(3,5-Difluorofenil)-4-[(4-sulfamoilfenil)metil]pent-4-enoato de etila (**6b**)

Característica: Óleo amarelo claro

Rendimento: 73%

IV (Filme, ν_{max}): 3386, 3279, 2924, 2852, 1717, 1622, 1594, 1438, 1322, 1266, 1161, 1117 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (500 MHz, Metanol-D_4), δ ppm: 7,86 (d, *J*= 8,4 Hz, 2H), 7,38 (d, *J*= 8,5 Hz, 2H), 6,91-6,87 (m, 2H), 6,85 (tt, 1H), 6,82 (s, 1H), 4,09 (s, 2H), 3,76 (s, 2H), 2,13-2,07 (m, 1H), 1,39-1,34 (m, 1H).

RMN ^{13}C (125 MHz, Metanol-D_4), δ ppm: 196,7, 164,6 (dd, *J*= 247,2 Hz e ^{3}J= 13,6 Hz, C-F), 164,5 (dd, *J*= 246,7 Hz e ^{3}J= 13,4 Hz, C-F), 145,0, 143,4, 143,3, 142,4 (t, ^{3}J= 9,4 Hz, C-F), 130,0, 127,6, 126,1 (t, ^{4}J= 2,3 Hz, C-F),

112,5 (d, ^{2}J= 6,0 Hz, C-F), 112,3 (d, ^{2}J= 6,1 Hz, C-F), 103,1 (t, ^{2}J= 25,6 Hz, C-F), 66,1, 49,7, 35,1.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{18}H_{16}F_2NO_4S$ - 380,0768; encontrado 380,0761.

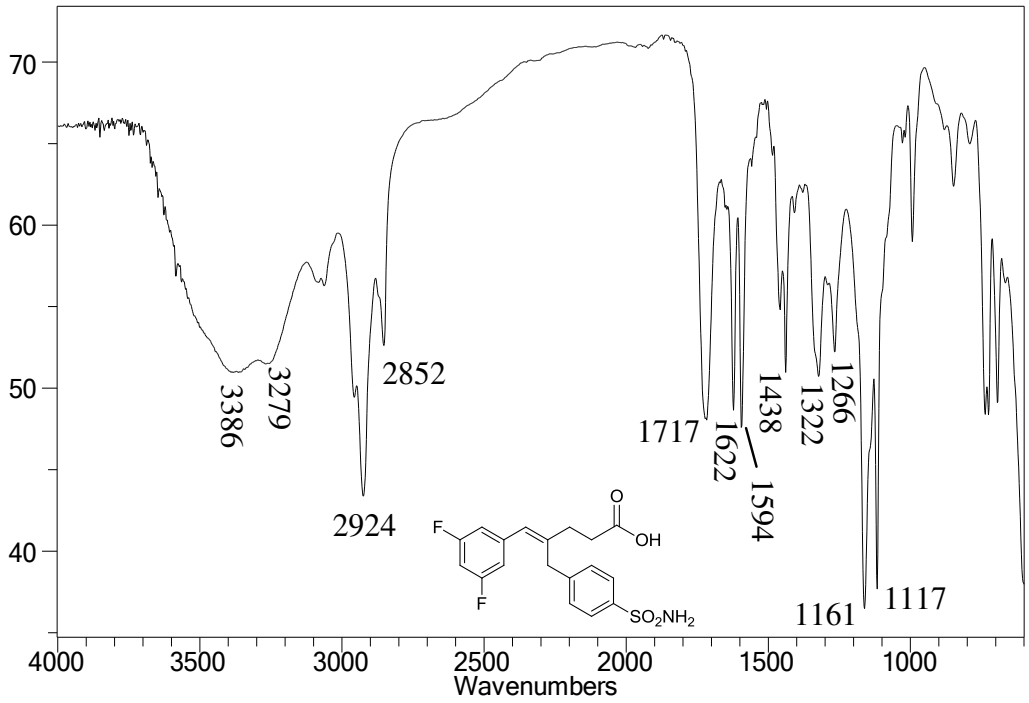


Figura 122: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do ácido carboxílico γ-insaturado (**6b**).

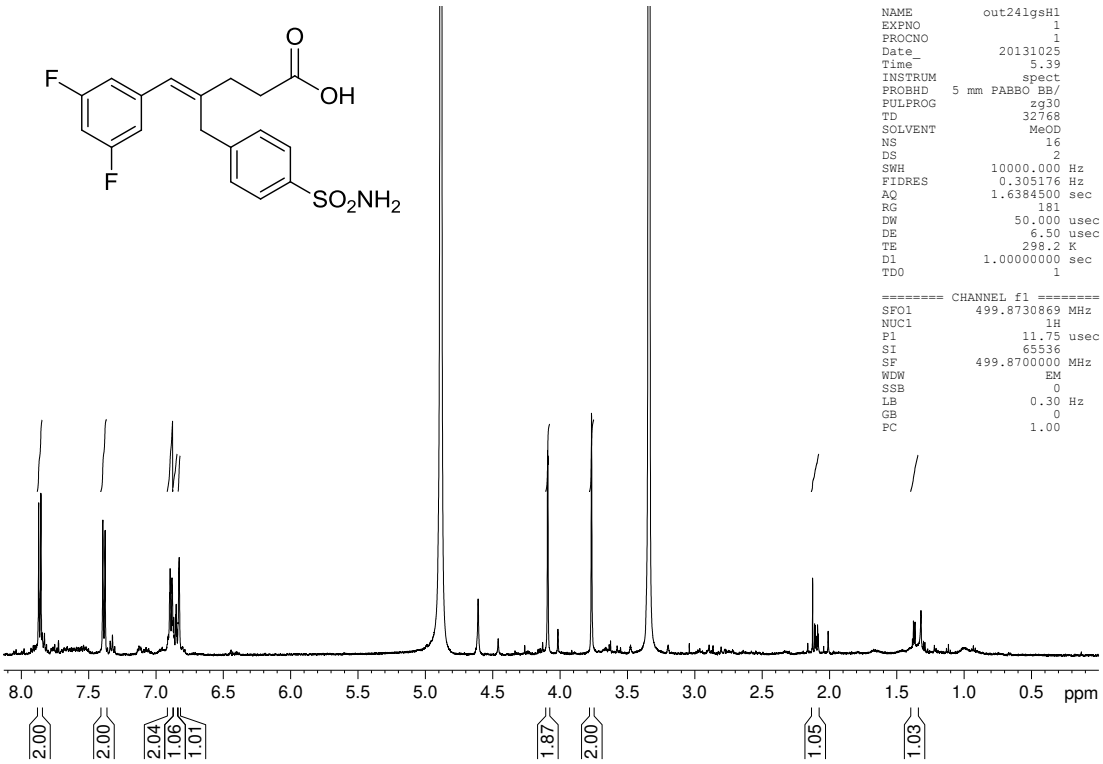


Figura 123: Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, Metanol-D_4) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6b)**.

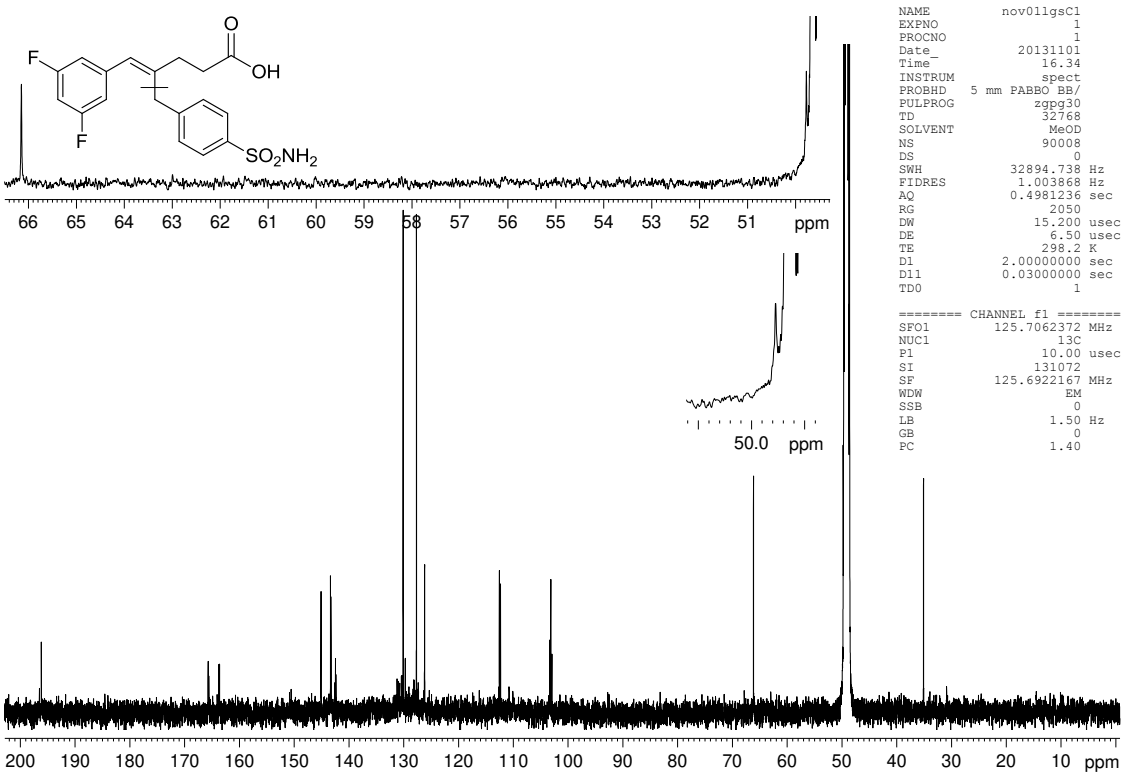


Figura 124: Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, Metanol-D_4) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6b)**.

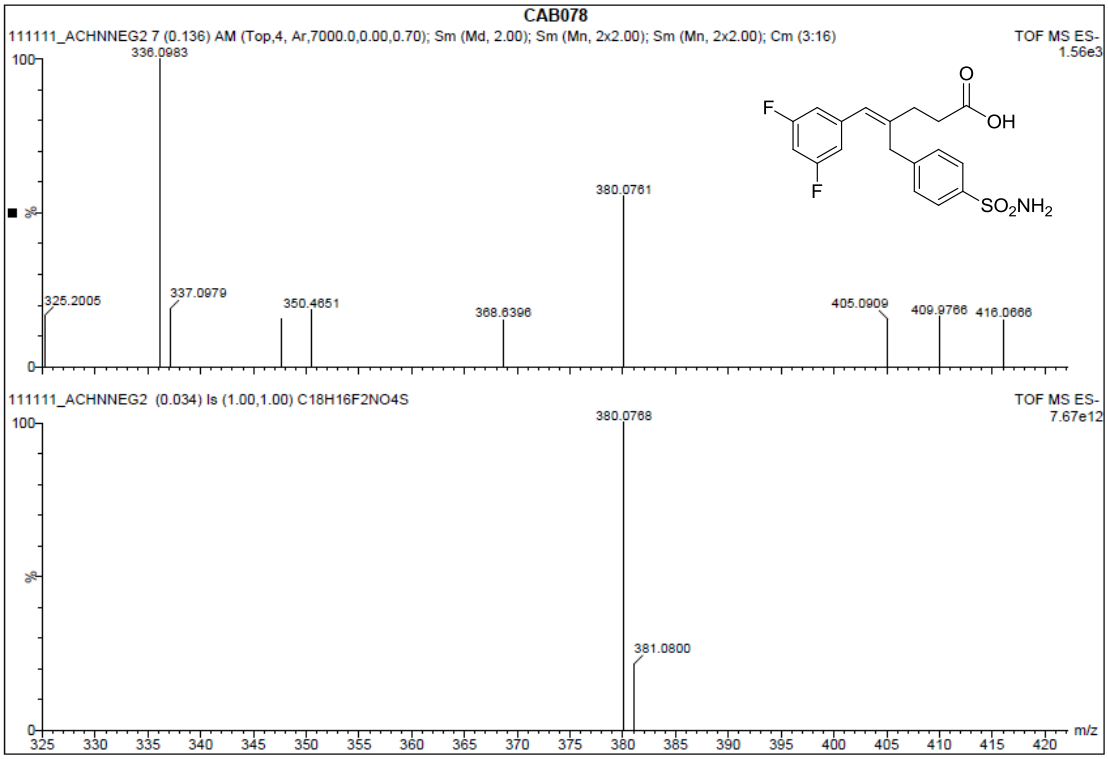


Figura 125: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6b)**.

Nome IUPAC: (4*Z*)-5-(6-Bromo-2H-1,3-benzodioxol-5-il)-4-[(4-fluorofenil)metil]pent-4-enoato de etila (**6c**)

Característica: Óleo marrom claro

Rendimento: 88%

IV (Filme, ν_{max}): 3056, 2907, 1709, 1603, 1507, 1475, 1411, 1306, 1266, 1222, 1146, 1038 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 7,10-7,04 (m, 3H), 6,99-6,92 (m, 2H), 6,69 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 5,95 (s, 2H), 3,44 (s, 2H), 2,58-2,52 (m, 2H), 2,42-2,36 (m, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 177,1, 161,5 (d, *J*= 245,7 Hz, C-F), 147,3, 147,0, 139,6, 134,4 (d, ^{4}J= 3,2 Hz, C-F), 130,7, 129,9, 129,8, 127,3, 115,4, 115,2, 114,9 (C-Br), 112,6, 110,0, 101,7, 36,0, 32,2, 30,5.

EMAR (ESI, m/z); calculado para $C_{19}H_{15}BrFO_4$ - 405,0138; encontrado 405,0120.

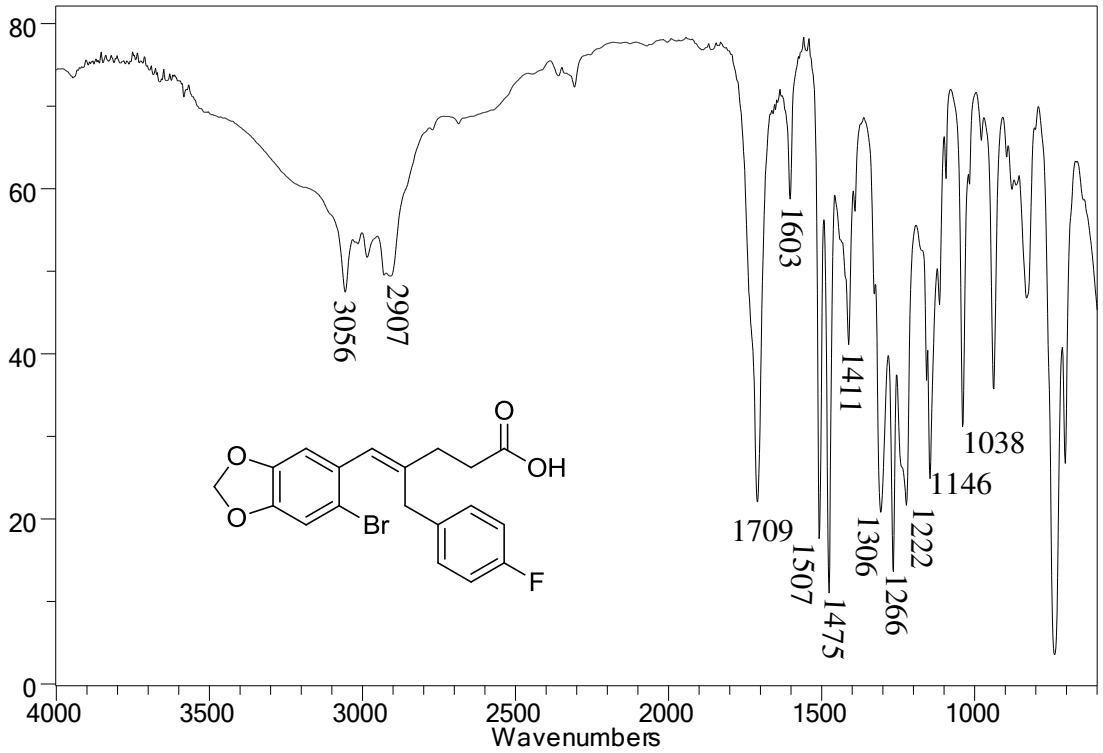


Figura 126: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) do ácido carboxílico γ-insaturado (**6c**).

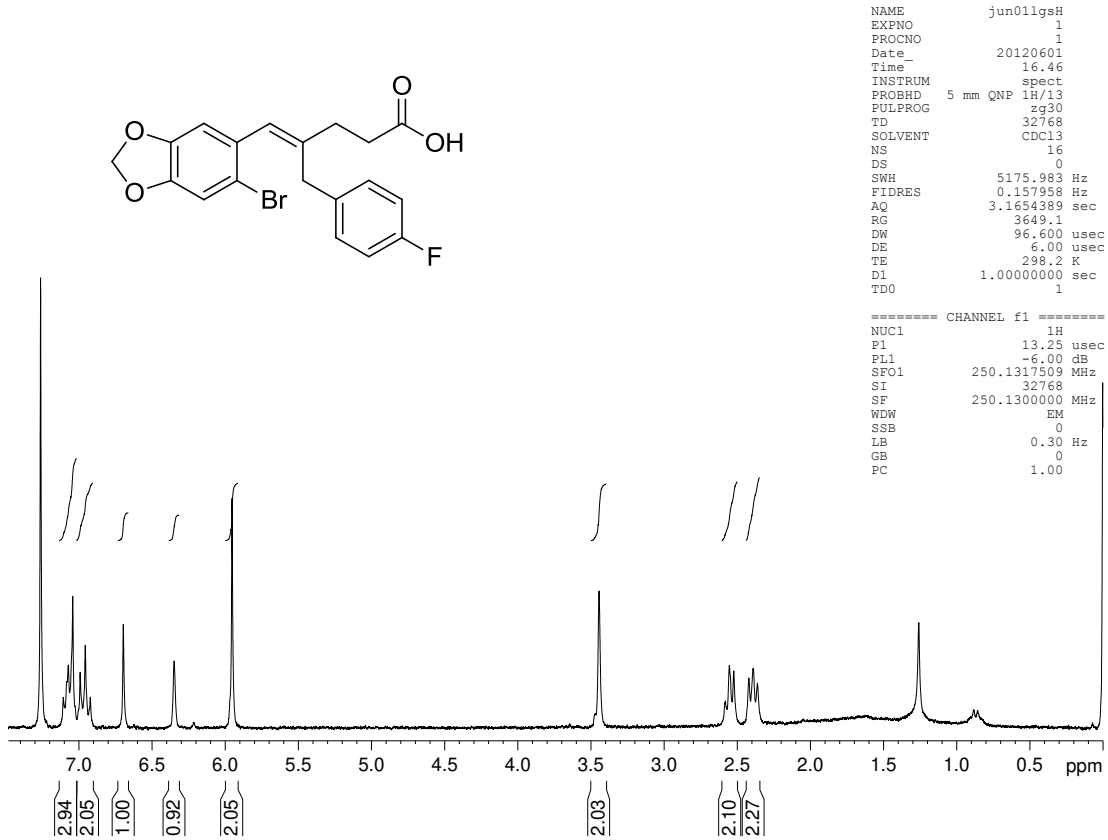


Figura 127: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6c)**.

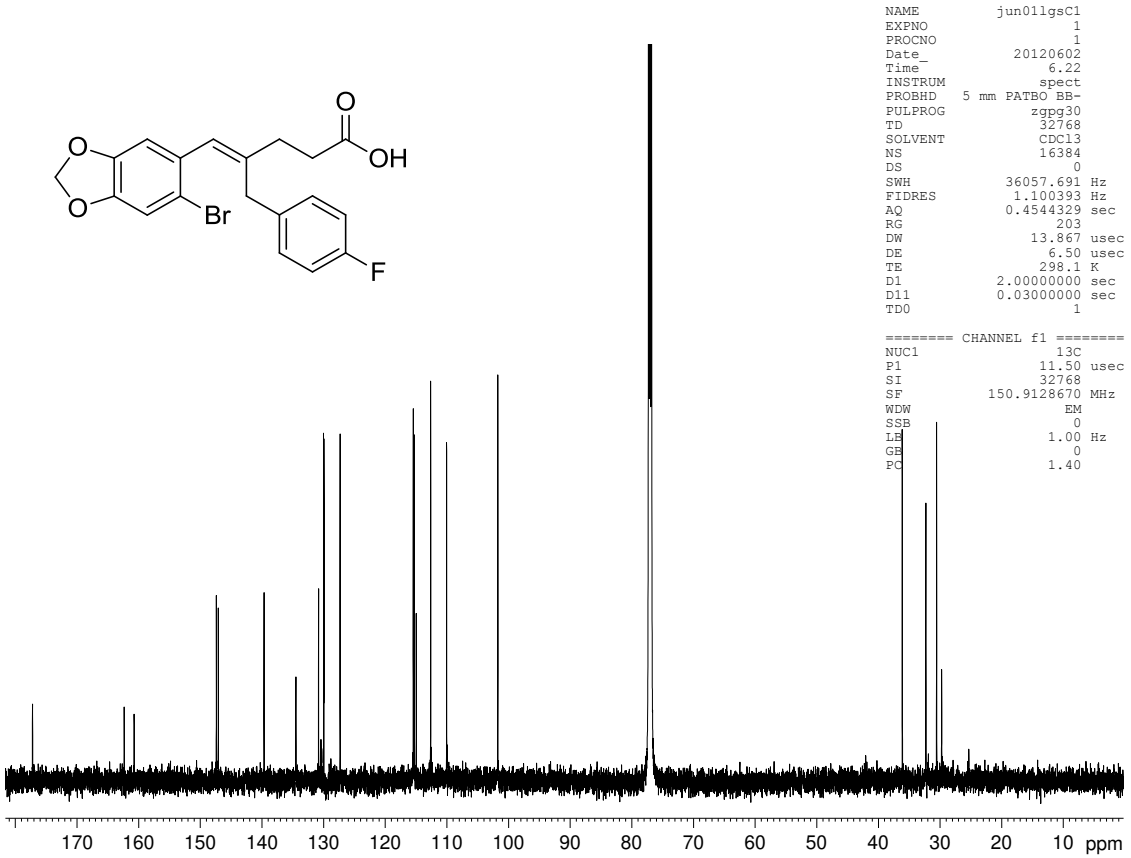


Figura 128: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6c)**.

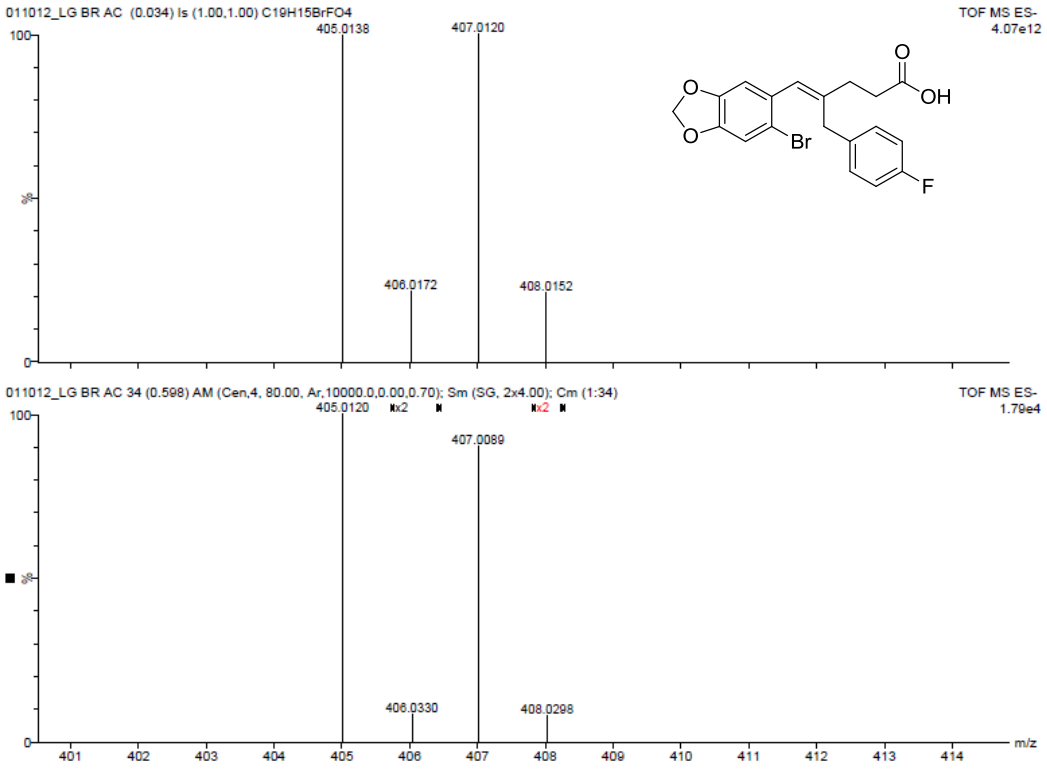
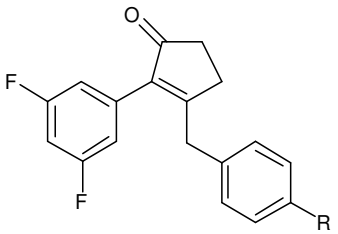
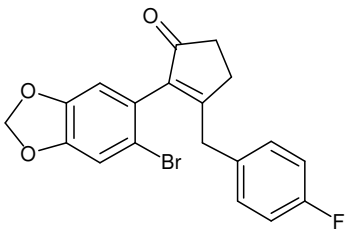


Figura 129: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) do ácido carboxílico γ-insaturado **(6c)**.

8.2.10. Procedimento geral: preparação das ciclopentenonas 2, 3, 4 e 5



2, R =F; **3** R = SO_2CH_3; **4**, R = SO_2NH_2



5

As soluções dos ácidos carboxílicos **6, 6a, 6b** e **6c** (0,16 – 0,69 mmol) em diclorometano anidro (10,0 mL), sob agitação magnética e a 0 °C,

adicionou-se em cada uma delas *N*,*N*-dimetilformamida (DMF) catalítico. Em seguida, acrescentou-se, lentamente, o cloreto de oxalila (0,02 – 0,07 mL, 0,2 – 0,7 mmol), por 15 minutos. As reações foram mantidas sob agitação vigorosa magnética por 1 hora. Após esse tempo, as temperaturas das reações foram aumentadas até a temperatura ambiente, e adicionou-se às soluções, através de uma cânula, uma suspensão de $AlCl_3$ em diclorometano anidro que estava, previamente, sob agitação magnética e sob atmosfera de argônio. Tal procedimeto foi realizado por um tempo de 10 minutos a -5°C até - 0°C. Após, 30,0 mL de HCl 1N foi adicionado a cada uma das reações. Durante esse procedimento a temperatura foi controlada para que não ultrapassasse 5°C. As soluções orgânicas foram lavadas com água (3 x 50,0 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os resíduos de evaporação de cada reação foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel sob gradiente de eluição hexano/acetato de etila (64/36).

Nome IUPAC: 2-(3,5-Difluorofenyl)-3-[(4-fluorofenil)metil]ciclopent-2-en-1-ona (**2**)

Característica: Óleo marrom claro

Rendimento: 92%

IV (Filme, ν_{max}): 3410, 2924, 1703, 1617, 1590, 1508, 1358, 1272, 1118cm^{-1}.

RMN ^1H (250 MHz, C_6D_6), δ ppm: 6,93-6,84 (m, 2H), 6,75-6,67 (m, 2H), 6,58-6,40 (m, 3H), 3,11 (s, 2H), 1,96-1,86 (m, 2H), 1,69-1,58 (m, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 206,6, 174,0, 163,0 (dd, ^1J= 248,7 Hz e ^3J= 13,2 Hz, C-F), 162,9 (dd, ^1J= 248,4 Hz e ^3J= 12,8 Hz, C-F), 161,8 (d, ^1J= 245,3 Hz, C-F), 139,3 (carbono α carbonílico), 134,7 (t, ^3J= 9,6 Hz, C-F),

132,4, 130,3, 130,2, 115,9, 115,7, 112,3 (d, ^2J= 6,5 Hz, C-F), 112,1 (d, ^2J= 6,2 Hz, C-F), 103,4 (t, ^2J= 24,9 Hz, C-F), 37,0, 34,6, 29,1.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{18}H_{14}F_3O$ - 303,0997; encontrado 303,0966.

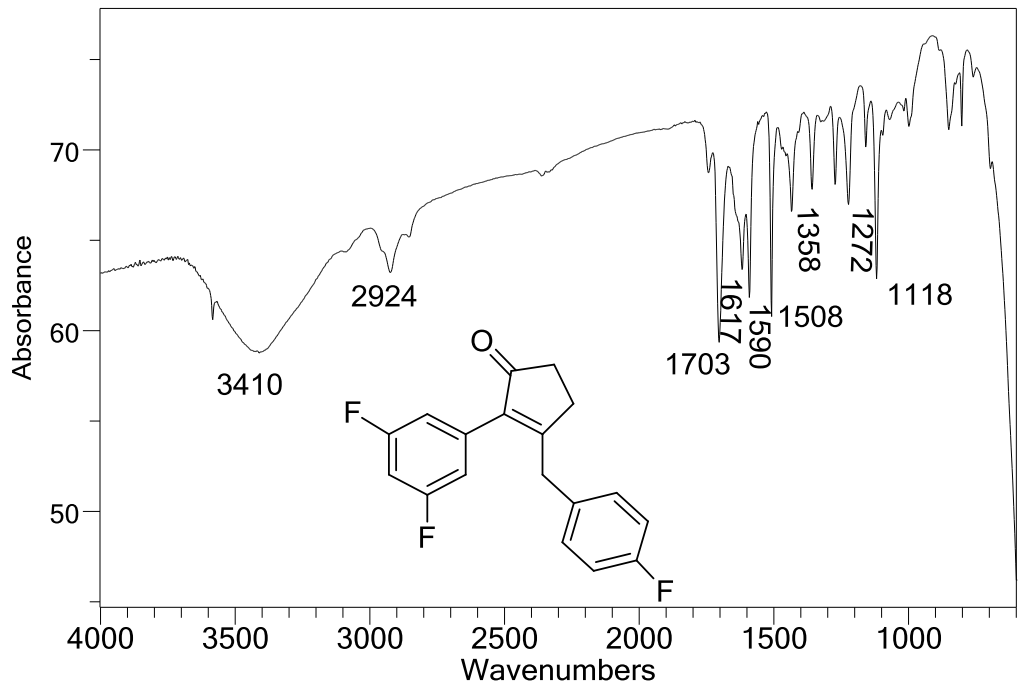


Figura 130: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) da ciclopentenona dissubstituída **(2)**.

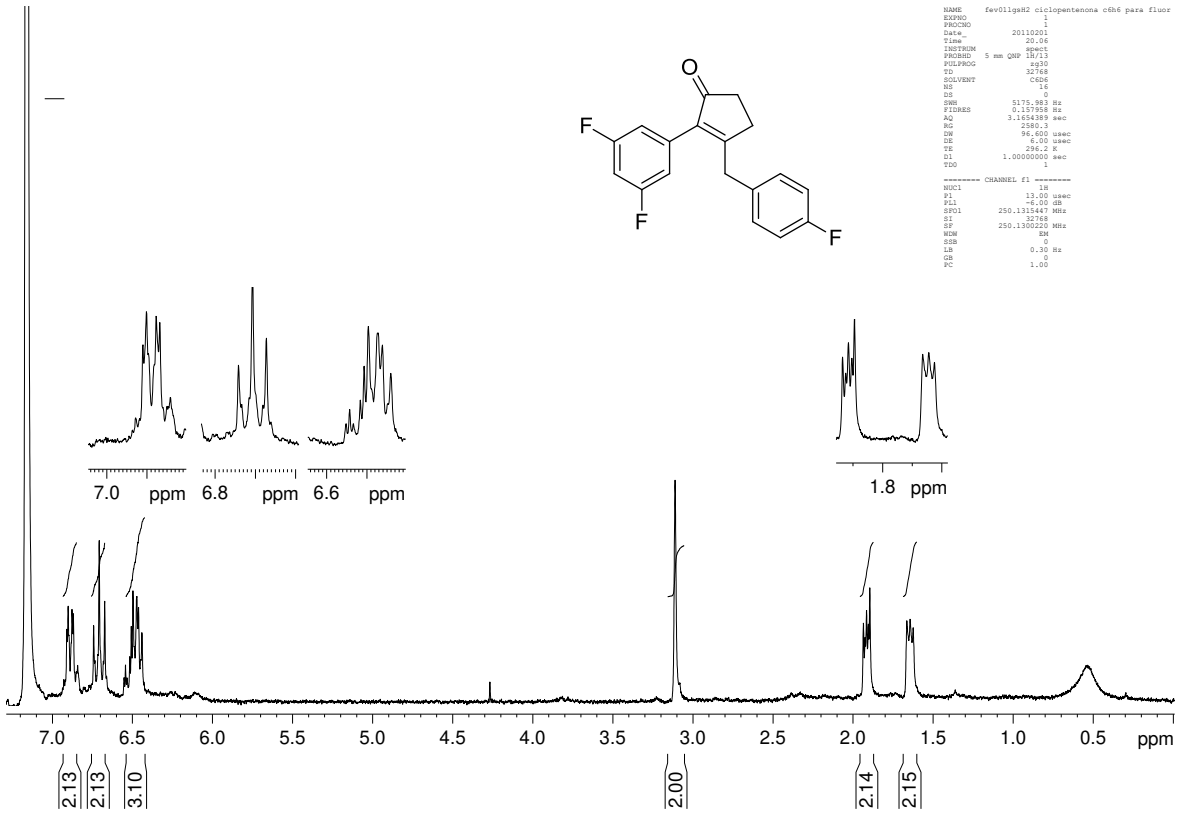


Figura 131: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, C_6D_6) da ciclopentenona dissubstituída **(2)**.

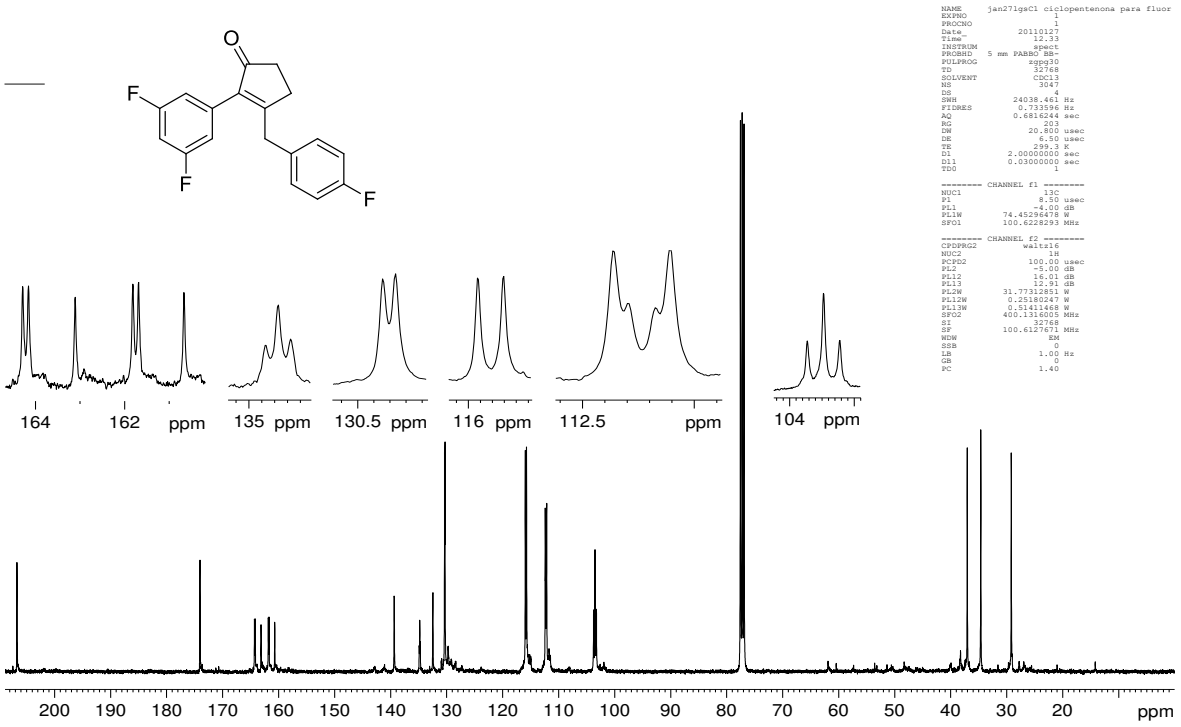


Figura 132: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) da ciclopentenona dissubstituída **(2)**.

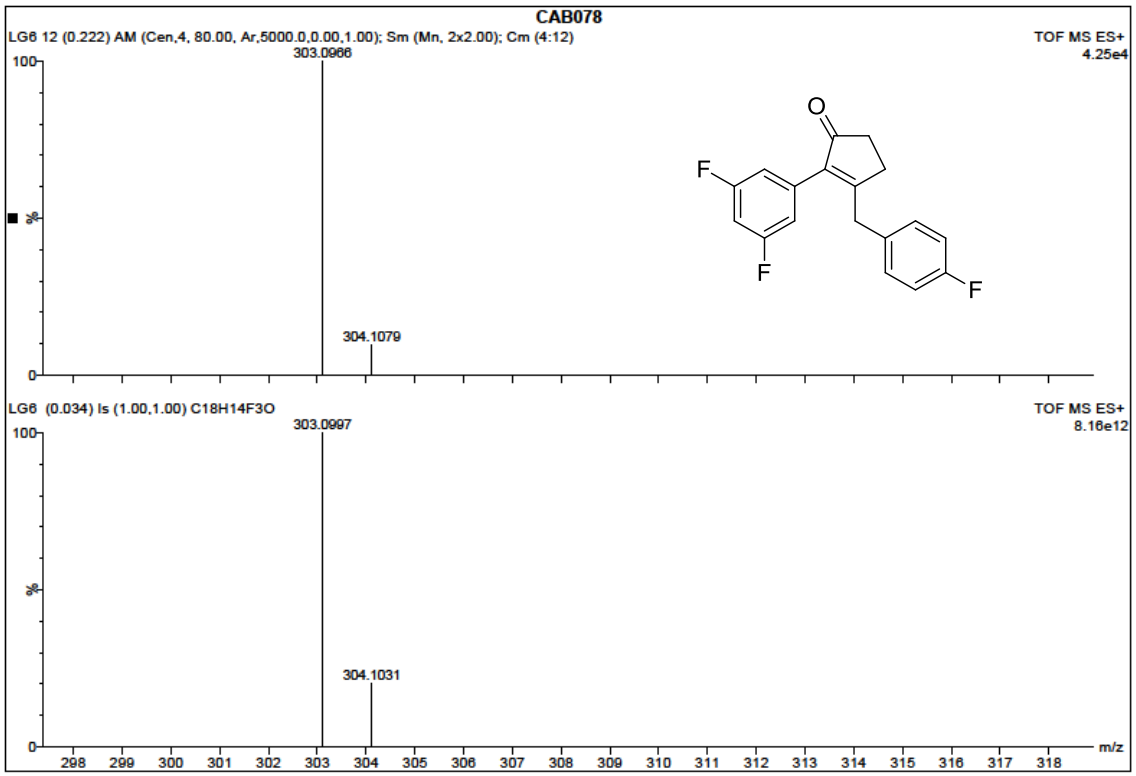


Figura 133: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) da ciclopentenona dissubstituída (**2**).

Nome IUPAC: 2-(3,5-Difluorofenil)-3-[(4-metanosulfonilfenil)metil]ciclopent-2-en-1-ona (**3**)

Característica: Óleo amarelo escuro

Rendimento: 79%

IV (Filme, ν_{max}): 3418, 2922, 1700, 1623, 1559, 1310, 1151, 1117 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, C_6D_6), δ ppm: 7,89 (d, ^{3}J = 8,3 Hz, 2H), 6,48 (tt, ^{5}J = 2,2 Hz e ^{3}J = 9,3 Hz, 1H), 6,35-6,31 (m, 1H) 6,31-6,27 (m, 1H), 3,09 (s, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,06-1,95 (m, 2H), 1,75-1,65 (m, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 206,4, 172,3, 163,3 (dd, ^{1}J= 250,0 Hz e ^{3}J= 12,9 Hz, C-F), 163,1 (dd, ^{1}J= 250,0 Hz e ^{3}J= 12,8 Hz, C-F), 140,5, 140,2

(t, ^{3}J= 8,9 Hz, C-F), 140,0, 137,0, 130,0, 127,6, 111,8 (d, ^{2}J= 8,4 Hz, C-F), 111,5 (d, ^{2}J= 8,4 Hz, C-F), 102,8 (t, ^{2}J= 25,3 Hz, C-F), 44,4, 37,3, 34,6, 29,3. *EMAR (ESI, m/z)*: calculado para $C_{19}H_{17}F_2O_3S$ - 363,0866; encontrado 363,0828.

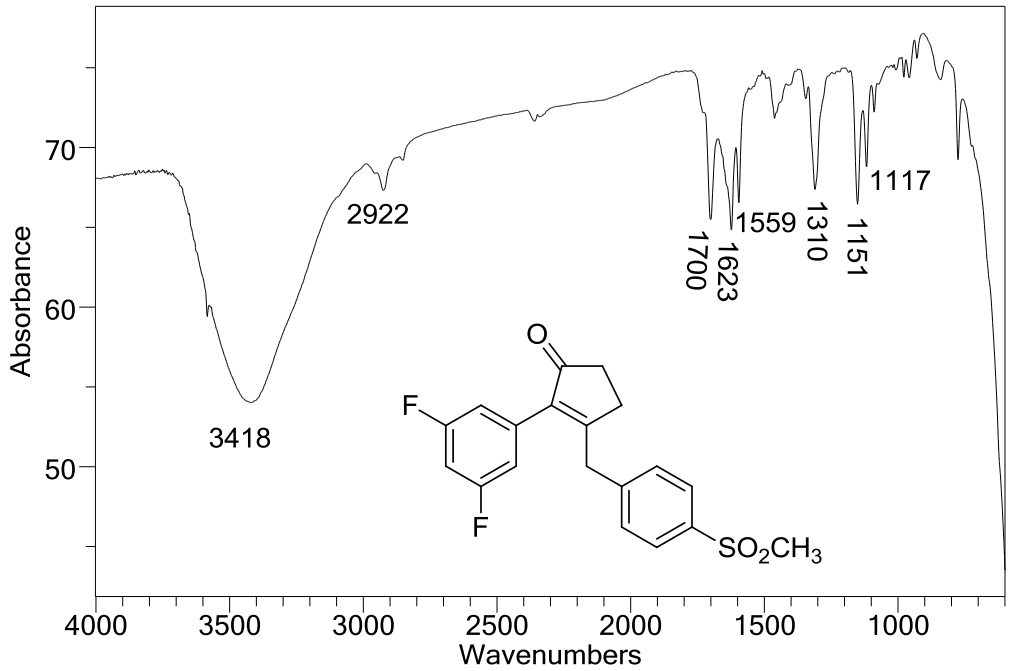


Figura 134: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) da ciclopentenona dissubstituída **(3)**.

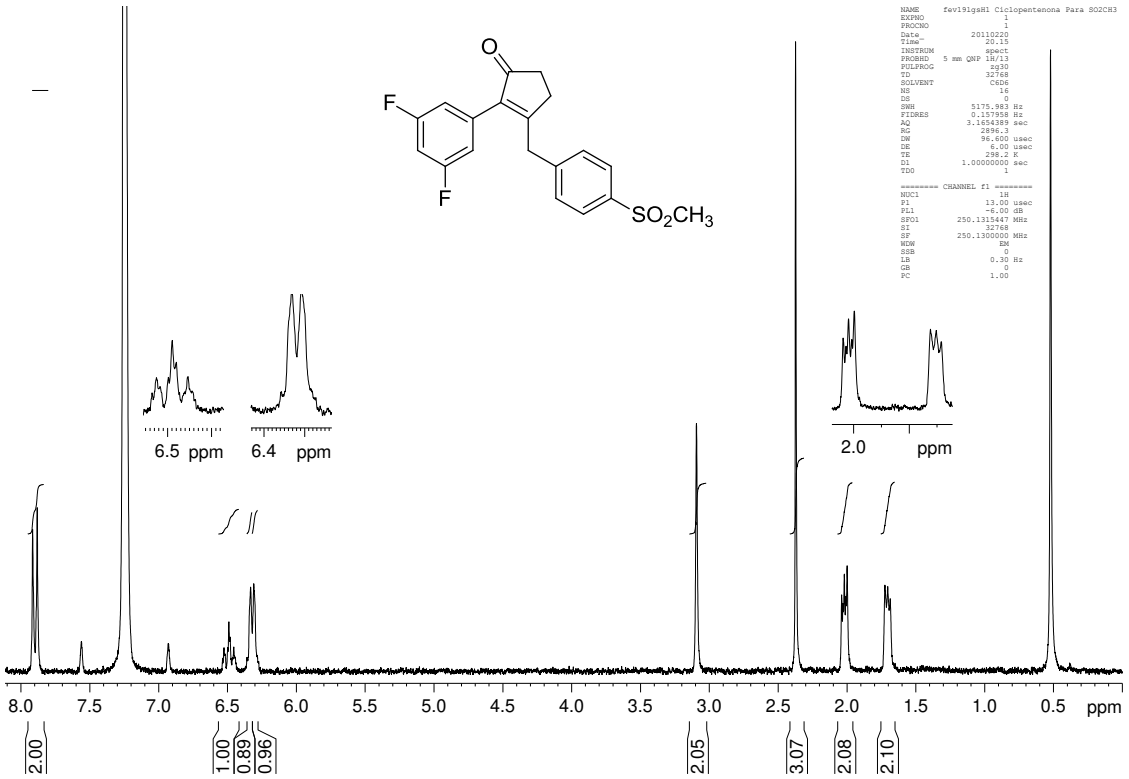


Figura 135: Espectro de RMN de ^{1}H (250MHz, C_6D_6 com 0,05% TMS) da ciclopentenona dissubstituída **(3)**.

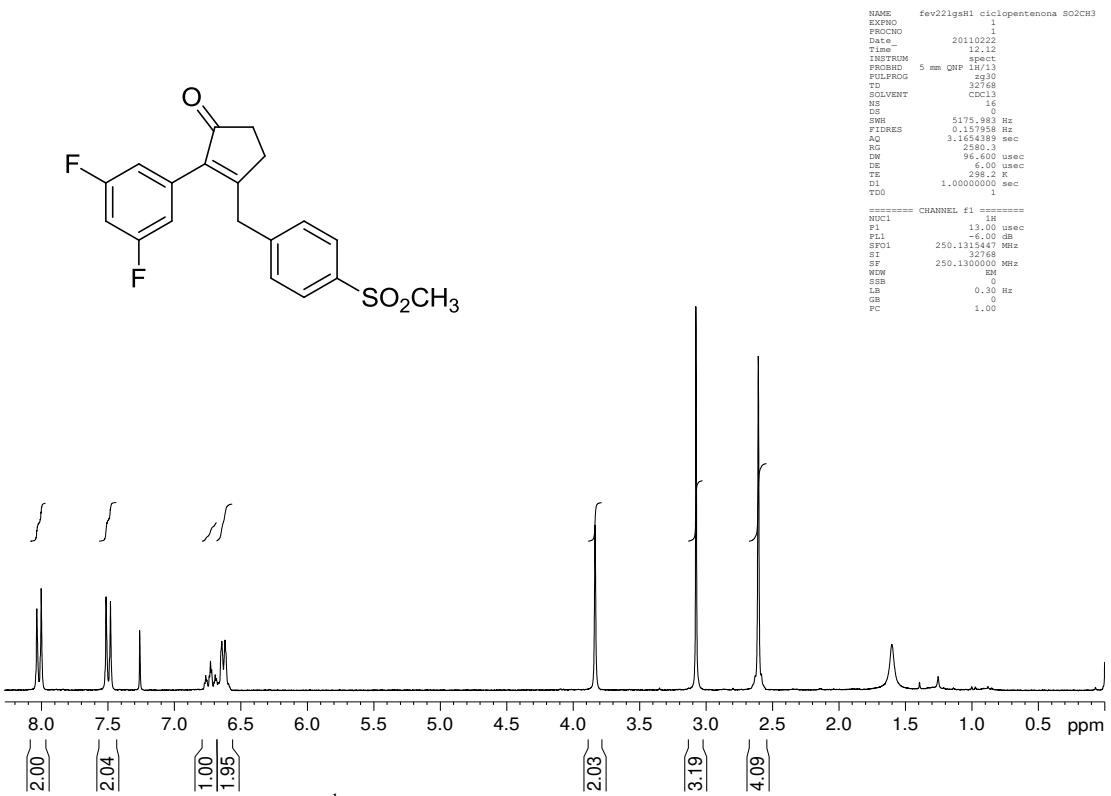


Figura 136: Espectro de RMN de ^{1}H (250MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) da ciclopentenona dissubstituída **(3)**.

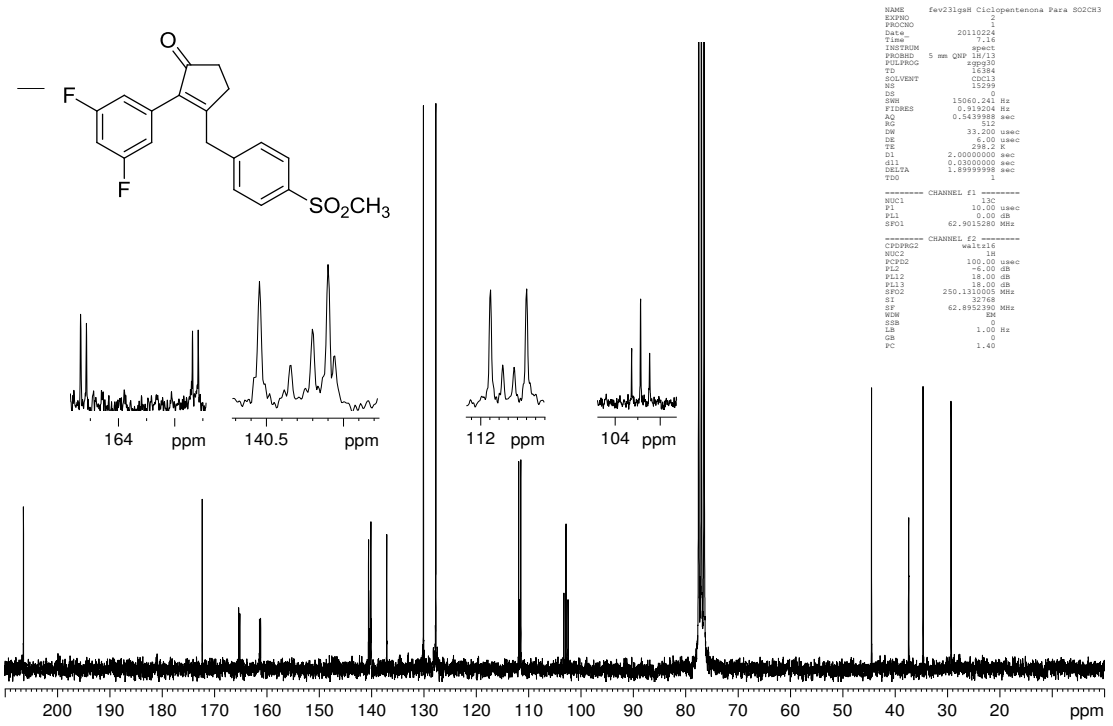


Figura 137: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) da ciclopentenona dissubstituída **(3)**.

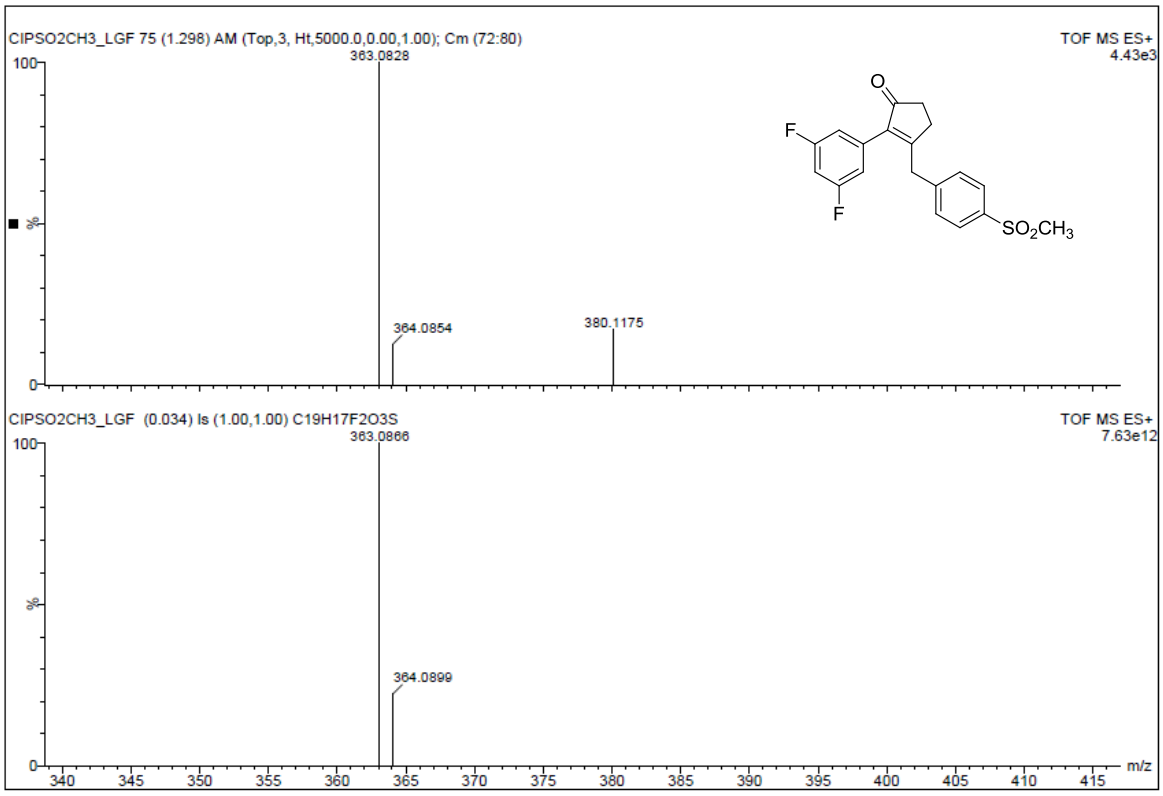


Figura 138: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) da ciclopentenona dissubstituída **(3)**.

Nome IUPAC: 4-{[2-(3,5-Difluorofenil)-3-oxociclopent-1-en-1-il]metil}benzeno-1-sulfonamida (**4**)

Característica: Sólido branco amorfo

Ponto de fusão: 181 – 182°C

Rendimento: 78%

IV (Filme, ν_{max}): 3292, 3200, 1684, 1621, 1593, 1339, 1160, 1117 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, MeOD), δ ppm: 7,96 (d, ^{3}J = 8,5 Hz, 2H), 7,46 (d, ^{3}J = 8,5 Hz, 2H), 6,89-6,72 (m, 3H), 3,92 (s, 2H), 2,68-2,60 (m, 2H), 2,60-2,51 (m, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, MeOD), δ ppm: 208,2, 174,0, 163,3 (dd, *J*= 247,9 Hz e ^{3}J= 13,2 Hz, C-F), 163,1 (dd, *J*= 247,6 Hz e ^{3}J= 12,8 Hz, C-F), 143,0, 141,3 (t, ^{3}J= 8,9 Hz, C-F), 140,0, 135,5, 129,5, 125,8, 111,6 (d, ^{2}J= 8,5 Hz, C-F), 111,3 (d, ^{2}J= 8,5 Hz, C-F), 101,7 (t, ^{2}J= 25,7 Hz, C-F), 36,6, 34,2, 28,9.

EMAR (ESI, m/z): calculado para $C_{18}H_{16}F_2NO_3S$ - 364,0819; encontrado 364,0823.

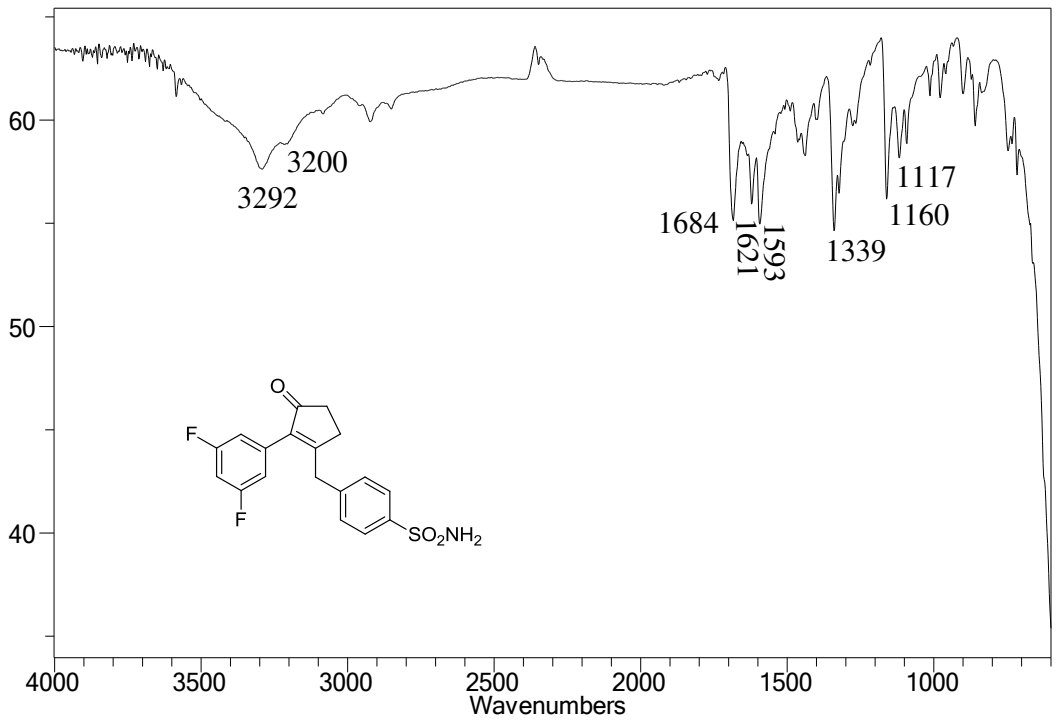


Figura 139: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) da ciclopentenona dissubstituída **(4)**.

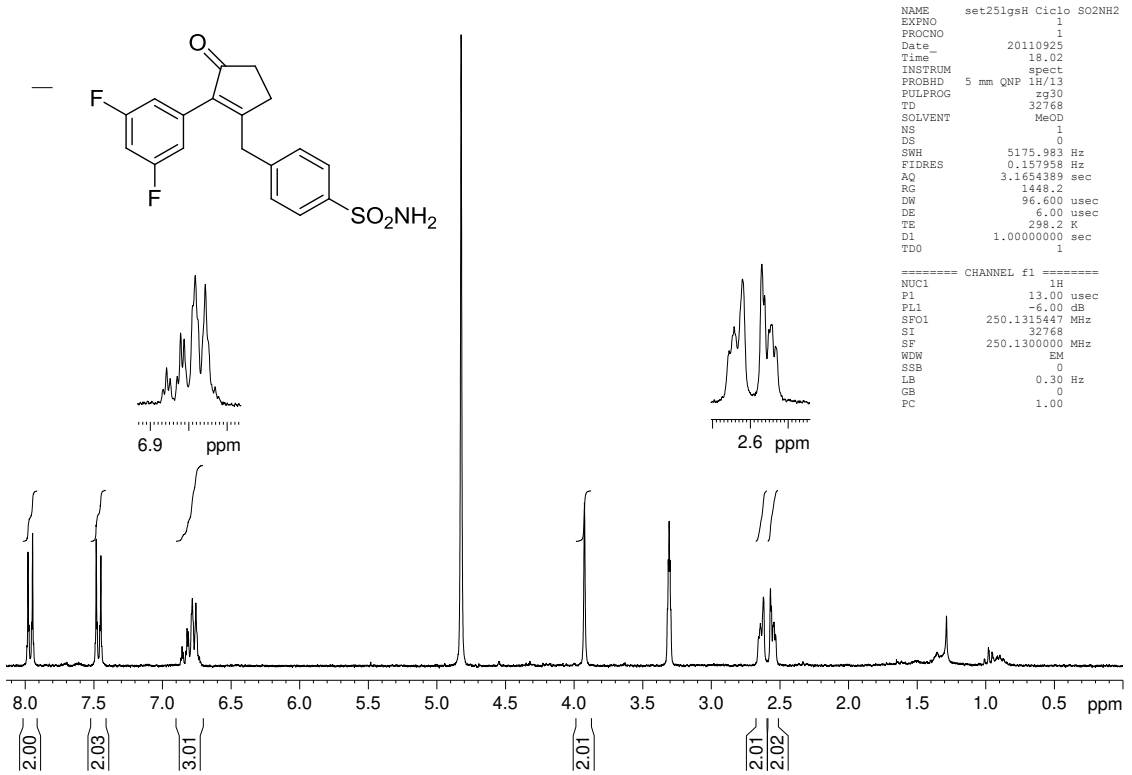


Figura 140: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, MeOD com 0,05% TMS) da ciclopentenona dissubstituída **(4)**.

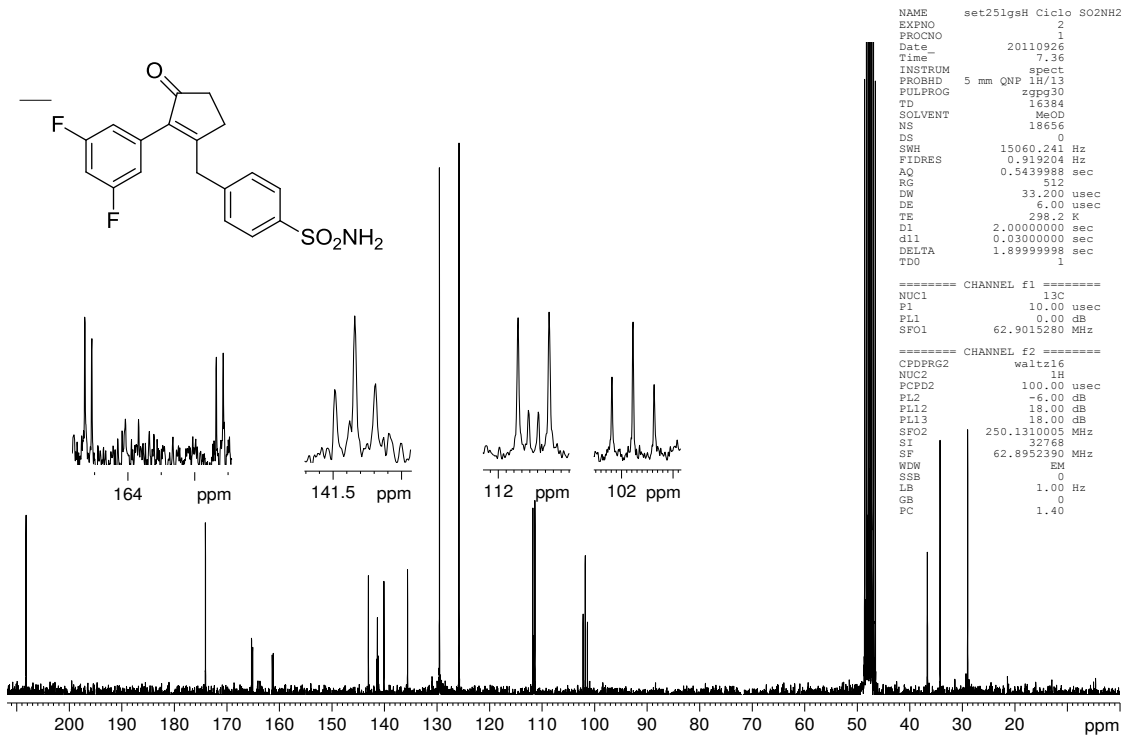


Figura 141: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, MeOD com 0,05% TMS) da ciclopentenona dissubstituída **(4)**.

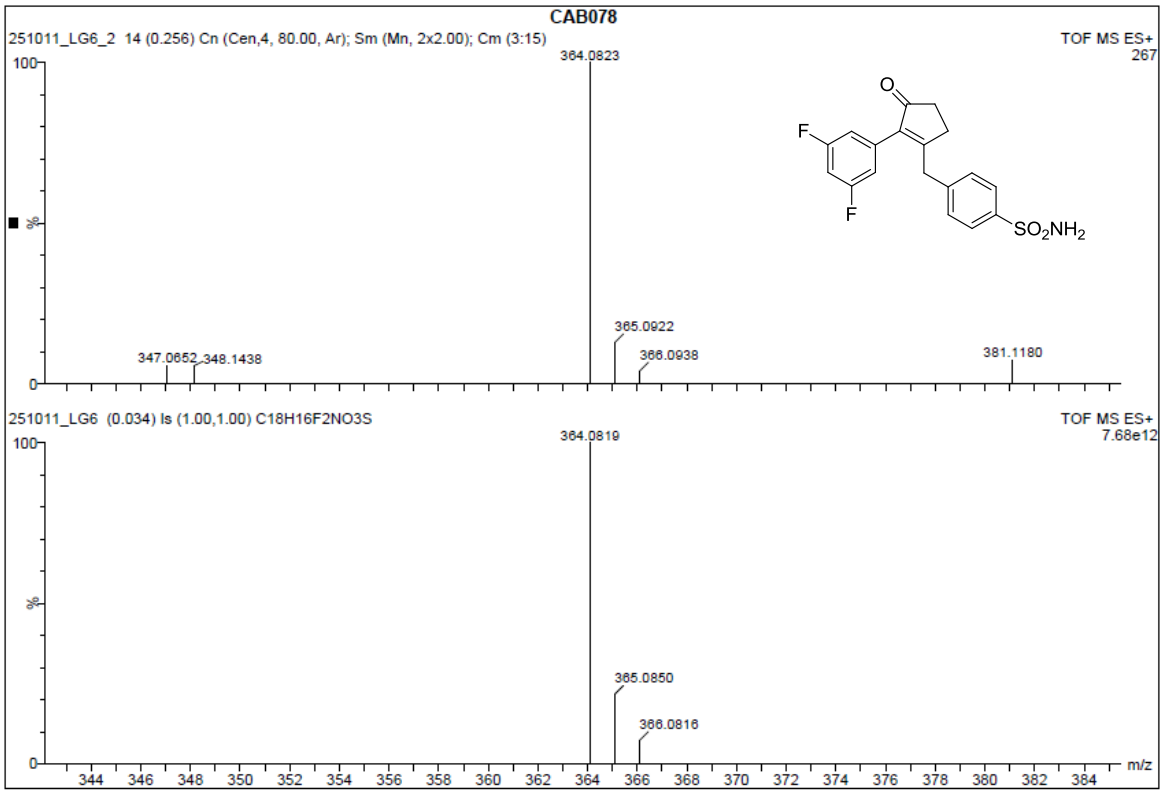


Figura 142: Espectro de massas de alta resolução (ESI, *m/z*) da ciclopentenona dissubstituída (**4**).

Nome IUPAC: 2-(6-Bromo-2H-1,3-benzodioxol-5-il)-3-[(4-fluorofenil)metil]ciclopent-2-en-1-ona **(5)**

Característica: Óleo marrom escuro viscoso

Rendimento: 90%

IV (Filme, ν_{max}): 3054, 2905, 1659, 1617, 1506, 1479, 1375, 1265, 1242, 1040 cm^{-1}.

RMN ^{1}H (250 MHz, C_6D_6*), δ ppm:* 7,26-7,16 (m, 2H), 7,03-6,96 (m, 2H), 6,61 (s, 1H), 6,22 (s, 1H), 6,00 (s, 2H), 3,53 (s, 2H), 2,77-2,72 (m, 2H), 2,31-2,26 (m, 2H).

RMN ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$), δ ppm: 199,8, 161,7 (d, *J*= 244,9 Hz, C-F), 151,3, 146,6, 144,8, 134,3 (d, ^{4}J= 3,2 Hz, C-F), 133,8, 130,4, 130,3, 127,7, 115,5, 115,2, 114,8 (C-Br), 110,3, 109,3, 101,7, 45,3, 42,6, 26,1.

EMAR (EI, m/z): calculado para $C_{19}H_{14}BrFO_3$ - 388,0110; encontrado 388,0124.

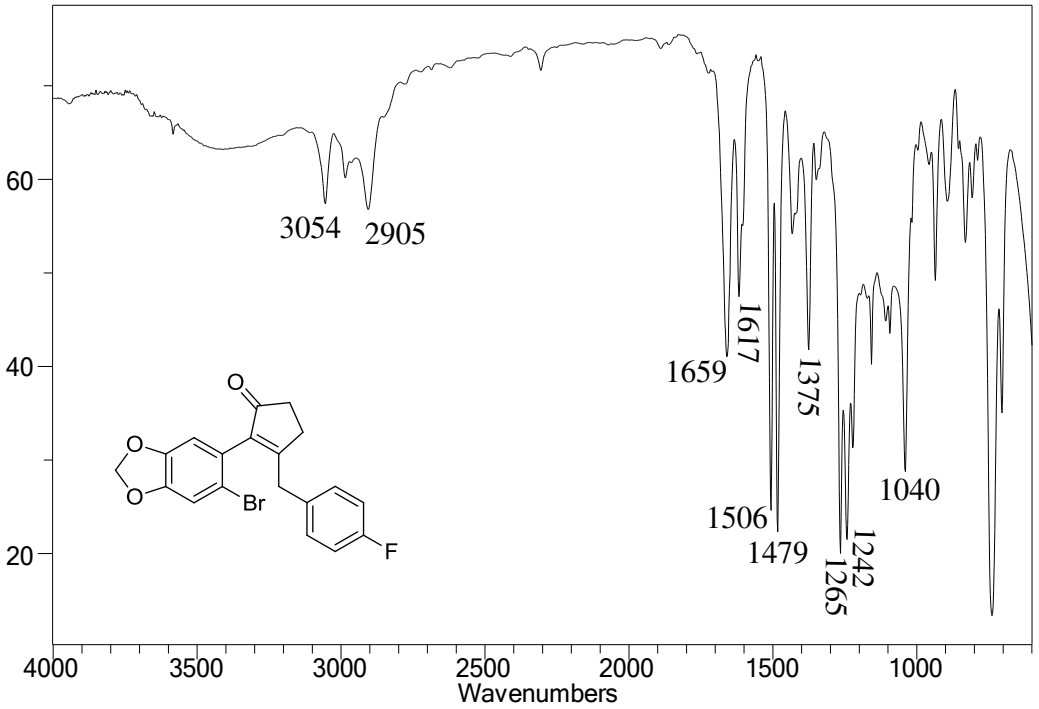


Figura 143: Espectro na região do infravermelho (filme, ν_{max}) da ciclopentenona dissubstituída **(5)**.

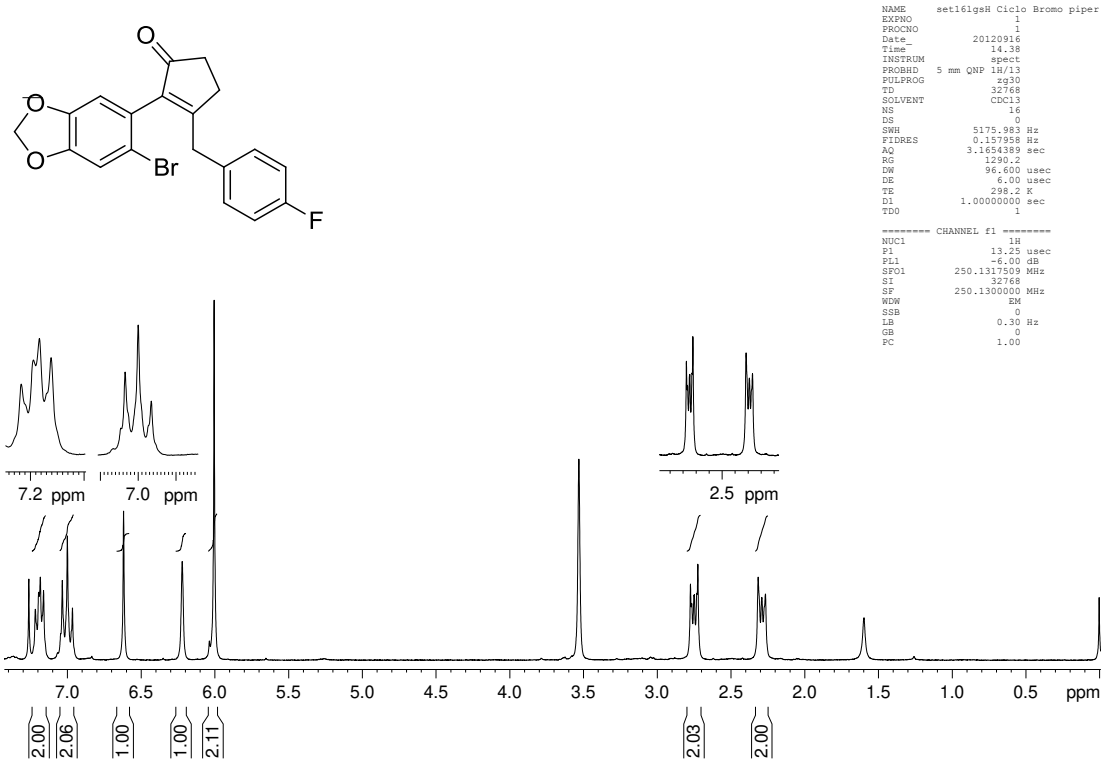


Figura 144: Espectro de RMN de ^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$) da ciclopentenona dissubstituída **(5)**.

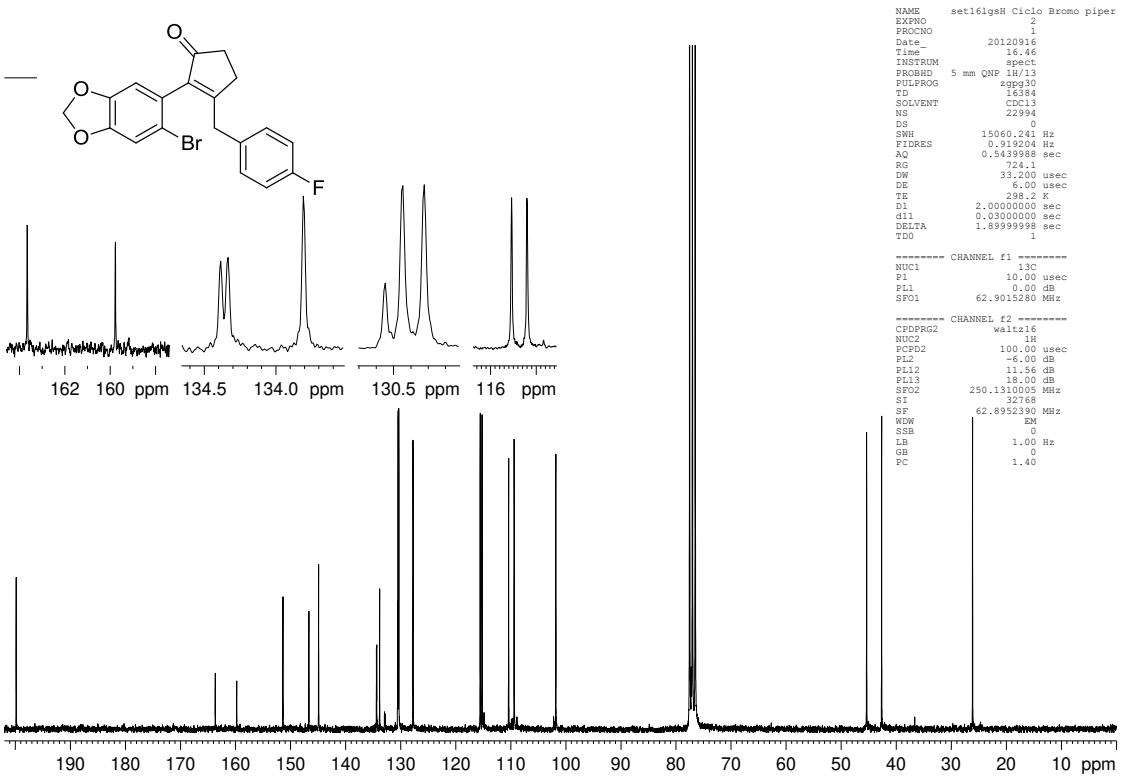


Figura 145: Espectro de RMN de ^{13}C (62,5 MHz, $CDCl_3$ com 0,05% TMS) da ciclopentenona dissubstituída **(5)**.

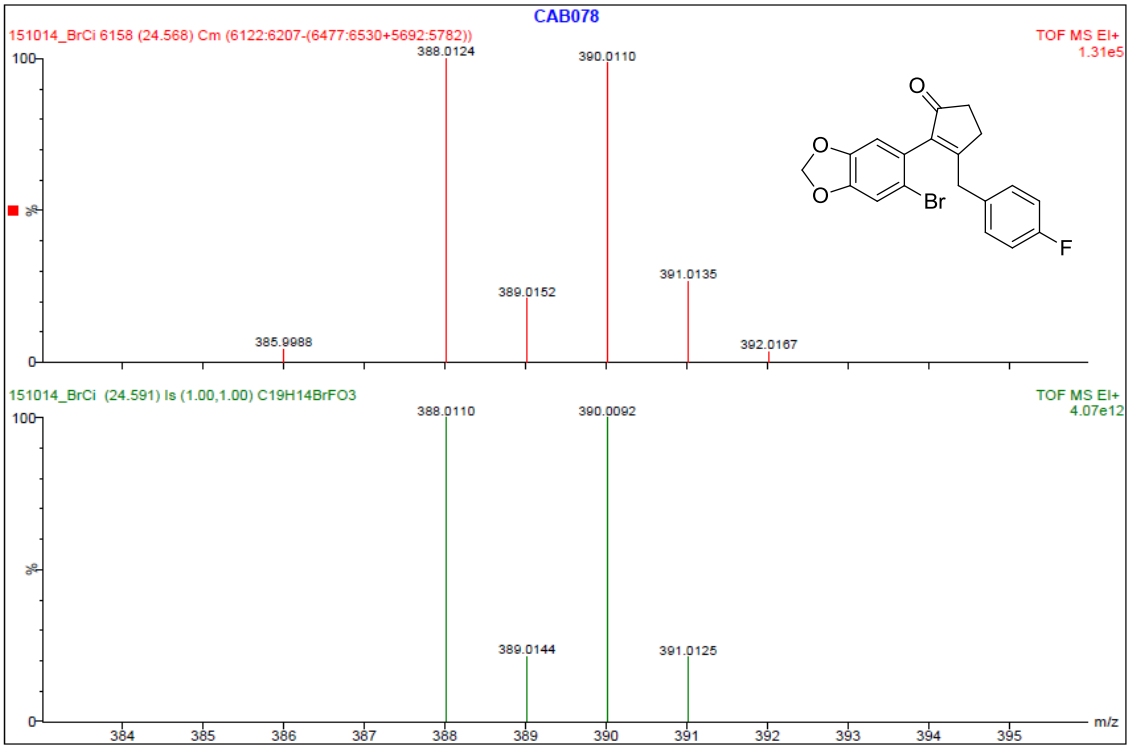


Figura 146: Espectro de massas de alta resolução (EI, *m/z*) da ciclopentenona dissubstituída **(5)**.

9. Ensaios Biológicos

9.1. Considerações farmacológicas da inflamação

A reação inflamatória é uma resposta de defesa do organismo contra a invasão por agentes infecciosos, por danos físicos, químicos ou traumáticos. É caracterizada pela saída de líquidos e de células do sangue para o interstício e é um fenômeno essencialmente dinâmico, razão pela qual seu aspecto morfológico se modifica com o tempo. Essa resposta pode ser autolimitada e resolvida pelo organismo ou pode se tornar crônica levando à perda da função do tecido inflamado (Sherwood e Toliver-Kinsky).[96]

No processo inflamatório vários eventos ocorrem para reconstituir o tecido lesado tais como: (a) vasodilatação local e aumento do fluxo sanguíneo;

[96] Sherwood, E. D.; Toliver-KinsKy, T. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* **2004**, *18(3)*, 385-405.

(b) aumento da permeabilidade dos capilares com extravasamento de líquido para os espaços intersticiais; (c) coagulação do líquido extravasado, devido a quantidades excessivas de fibrinogênio e de outras proteínas que também extravasam através dos capilares e (d) edema inflamatório. Além do edema inflamatório, o recrutamento de leucócitos para o foco inflamatório é outro evento importante. Muitas células envolvidas na resposta inflamatória já estão presentes nos tecidos, tais como as células endoteliais, mastócitos e células mononucleares residentes, enquanto que outras chegam ao foco inflamatório provenientes do sangue, como é o caso de leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e os mononucleares (monócitos e linfócitos) de acordo com Dale e colaboradores[97] (figura 147).

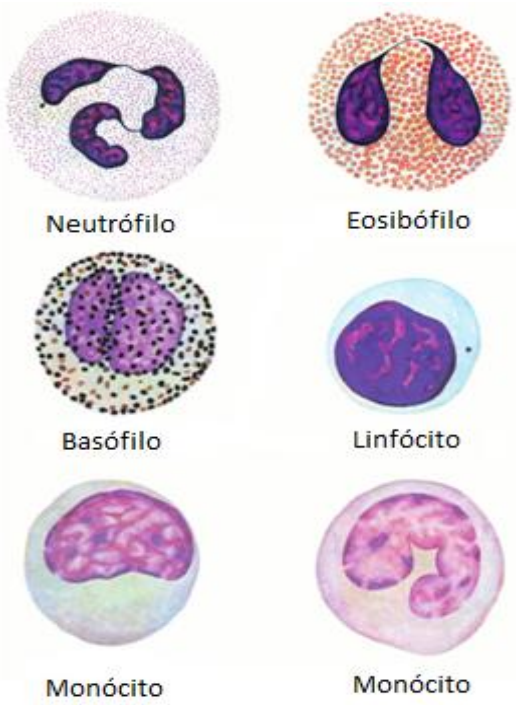


Figura 147: Leucócitos polimorfonucleares e mononucleares[98]

[97] Bahl, A. K.; Dale, M. M.; Foreman, J. C. *Br J Pharmacol.* **1994**, *113(3)*, 809-14.
[98] http://dc222.4shared.com/doc/XgP_2dM3/preview.html

O edema inflamatório é decorrente do aumento da permeabilidade vascular, somado ao aumento da pressão de filtração, devido à vasodilatação (figura 148). Isto se deve à ação de mediadores sobre as células endoteliais venulares, entre os quais se destacam histamina, bradicinina, leucotrienos, fator de ativação plaquetária (PAF), o componente do sistema complemento (C5a), taquicininas e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina segundo Brain e Williams,[99] e, Hua e Lundberg[100] (tabela 6). O recrutamento e adesão de leucócitos é um processo complexo e multimediado cuja realização se dá na presença de agentes quimiotáticos, através de interações moleculares entre as moléculas de adesão presentes nos leucócitos, nas células endoteliais e ligantes da matriz extracelular como reportado por Sherwood e Toliver-Kinsky,[96] e, Vesteweber e Blanks[101]. Além dos mediadores citados anteriormente, o óxido nítrico (NO) atua principalmente como vasodilatador, mas também, em condições basais regula a expressão de moléculas de adesão no endotélio vascular e nos leucócitos como reportado por Furchgott e Vanhoutte,[102] e, Moncada e Higgs[103], sendo assim um importante mediador da resposta inflamatória.

[99] Brain, S. D.; Williams, T. J. *Br J Pharmacol.* **1995**, *86(4)*, 855-60.
[100] Hua, X. Y.; Kinn, A. C.; Lundberg, J. M. *Acta Pyisiol Scand.* **1986**, *128(2)*, 317-8.
[101] Vestweber, D.; Blanks, J. E. *Physiol Rev.* **1999**, *79(1)*, 181-213.
[102] Furchgott, R. F.; Vanhoutte, P. M. *FASEB J. Rev.* **1989**, *3(9)*, 2007-18.
[103] Moncada, S.; Higgs, E. A. *Br J Pharmacol.* **2006**, *147 Suppl:1*, 193-201.

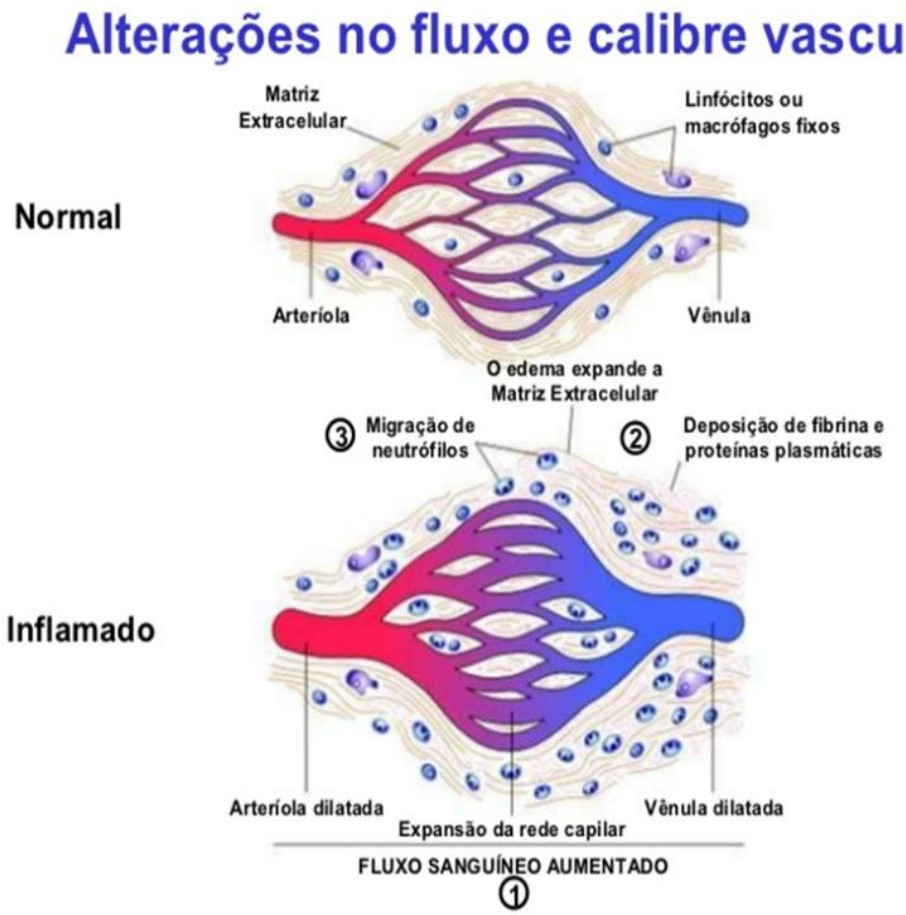
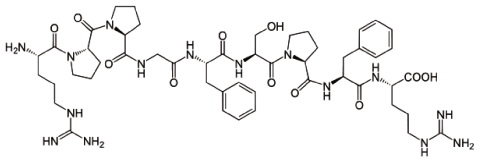
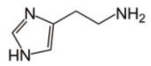
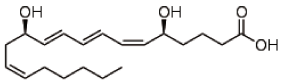
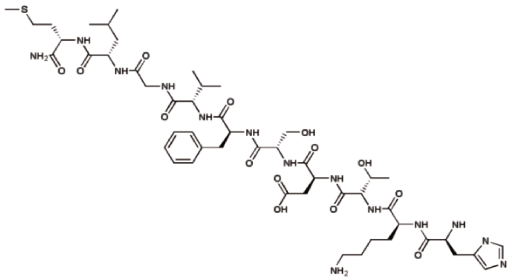
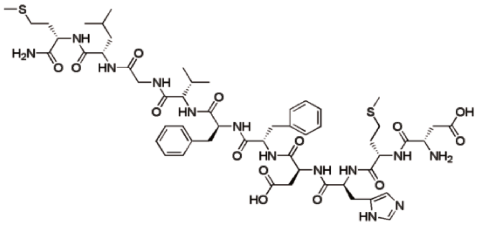
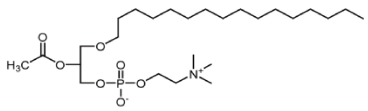


Figura 148: Dinâmica vascular no edema[104]

[104]http://2.bp.blogspot.com/29doG_aS_98/UWQ7EPYsASI/AAAAAAAAAq0/eOPnSIQWbK8/s1600/altera%C3%.

***Tabela 6**: Exemplo de alguns mediadores químicos*

Mediador químico	Fórmula estrutural
Bradicinina[105]	
Histamina[106]	
Leucotrieno B_4 [107]	
Neurocinina A[108]	
Neurocinina B[109]	
Fator ativador plaquetário[110]	
Óxido nítrico	N=O

[105] http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB2141633.htm.
[106] http://www.infoescola.com/wp-content/uploads/2010/03/histamina.png.
[107] http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/N/Nettle(Stinging)/Nettle(Stinging).htm.
[108] http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_CN_CB3675223.htm.
[109] http://www.scbt.com/datasheet-201173-neurokinin-b.html.
[110] http://lipidlibrary.aocs.org/Lipids/paf/index.htm.

10. Materiais e Métodos

10.1. Animais

Foram utilizados ratos machos adultos, da espécie Wistar (150-200 g), provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB/UNICAMP). Os animais foram mantidos com água e ração *ad libitum* e, dependendo do protocolo experimental, os mesmos foram mantidos conscientes ou anestesiados de forma apropriada com isoflurano. Os protocolos experimentais foram analisados e aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA - IB/UNICAMP) sob os protocolos de números 1876-1 e 1877-1.

10.2. Edema de pata induzido pelo agente edematogênico carragenina

A técnica de edema de pata foi realizada semelhante ao procedimento descrito por Winter *et al* e Salveminutosi *et al.*[111] Ratos Wistar machos (150 ± 200 g) foram anestesiados superficialmente com isoflurano e o edema de pata foi induzido por carragenina (500µg/pata) através da injeção subcutânea na região subplantar, dissolvida em PBS estéril, num volume final de 0,1 mL (figura 150). O volume da pata foi medido através de um hidropletismômetro (modelo 7150, Ugo Basile, Itália), imediatamente antes da injeção (basal) e em intervalos de 0,5, 1, 2, 3 e 4 horas após a indução do edema (figura 149). A injeção subplantar de solução salina estéril (SAL), acrescida de uma gota de DMSO, foi realizada em grupos de animais controle.

[111] a) Winter, C. A.; Risley, E. A.; Nuss, G. W. *Proc Soc Exp Biol Med.* **1962**, *111*, 544-7. b) Salveminutosi, D.; Wang, Z-Q.; Wyatt, P. S.; Bourdon, D. M.; Marino, M. H.; Manning, P. T.; Currie, M. G. *Br. J. Pharmacol.* **1996**, *118*, 829-838.

Figura 149: Medida do volume da pata[112]

Para avaliar o efeito das ciclopentenonas como anti-inflamatório, grupos de animais (N= 5-7) foram pré-tratados, via intraperitoneal, 1 h antes da indução do edema com carragenina (figura 150). Outras drogas de efeito já estabelecido foram administradas. Os grupos de animais pré-tratados receberam os seguintes agentes anti-inflamatórios: ciclopentenonas (5 mg/kg) dissolvidas, cada qual, em uma gota de DMSO e diluídas para um volume final de 0,3 mL com PBS; Indometacina (5 mg/kg) dissolvida em solução de bicarbonato de sódio 5% para um volume final de 0,3 mL, inibidor das ciclooxigenases; celecoxibe (5 mg/kg) dissolvido em DMSO e diluído para um volume final de 0,3 mL com PBS, inibidor seletivo da ciclooxigenase-2 (COX-2). Os resultados foram expressos como variação do volume da pata (mL) em relação ao valor basal, sendo que os valores de área sob a curva (ASC) foram calculados para cada grupo experimental.

[112]http://www.najms.org/articles/2011/3/11/images/NorthAmJMedSci_2011_3_11_513_87327_u5.jpg; http://www.kuoyang.com.tw/LS/Download/PorductImage/7140.JPG.

Figura 150: Tratamento e injeção subplantar para indução do edema[113]

10.3. Peritonite induzida pelo agente edematogênico carragenina

A técnica de peritonite foi realizada semelhante ao procedimento descrito por De Souza e Ferreira.[114] Os animais, ratos Wistar machos (150 ± 200 g), designados para modelo de peritonite foram divididos em grupos (N= 5-8), sendo que os grupos controles (PBS e carragenina) receberam, cada qual, uma injeção subcutânea na região dorso-cervical de 0,3 mL de solução fisiológica tamponada estéril (PBS) acrescida de uma gota de DMSO (figura 151), 1 h antes da indução da peritonite com carragenina (500 µg/ 0,3 mL, via intraperitoneal - controle positivo) ou PBS (0,3 mL/i.p. - controle negativo) (figura 151). Os grupos pré-tratados receberam, via subcutânea na região dorso-cervical, 1 h antes da indução da peritonite, a injeção de 0,3 mL das soluções de: ciclopentenonas (5 mg/kg) dissolvidas, cada qual, em uma gota de DMSO e diluídas em PBS; indometacina (5 mg/kg) dissolvida em solução de bicarbonato de sódio 5%; celecoxibe (5 mg/kg) dissolvido em DMSO e diluído em PBS, e dexametasona (1 mg/animal – ampola 4mg/mL

[113]http://www.procedureswithcare.org.uk/wp-content/uploads/2010/07/DSC_2824.jpg; http://www.scielo.br/img/revistas/pvb/v30n9/a11fig01.gif
[114] De Souza, G. E. P.; Ferreira, S. H. *Agents Actions* **1985**, *17*, 97-103.

Decadron®). Os lavados peritoneais foram obtidos 3 h após a injeção intraperitoneal de carragenina, conforme descrito a seguir. Os animais foram anestesiados com isoflurano, via inalação, e decapitados para exsanguinação. Em seguida, receberam uma injeção intraperitoneal de 7 ml de PBS contendo 20 UI/ml de heparina, à temperatura ambiente; e após leve massagem no abdômen, o líquido foi com auxílio de pipeta Pauster e coletados em tubos de plásticos de centrifugação. O material recolhido foi centrifugado a 300 g, por 10 minutos a 4^{o}C, e o pellet celular ressuspenso em PBS. A contagem do número total de leucócitos foi realizada em câmara de Neubauer e a contagem diferencial de leucócitos realizada em lâminas confeccionadas em citocentrífuga e coradas com o corante Panótico Rápido®. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico com aumento de 1000 vezes (objetiva de imersão em óleo). Em cada lâmina, foram contadas 300 células, diferenciando 4 tipos celulares: neutrófilos, eosinófilos, mononucleares e mastócitos. O número de cada tipo celular foi calculado a partir da porcentagem encontrada, em relação ao número total de células. Os resultados das contagens total e diferencial dos leucócitos foram expressos como número de célula por ml de lavado peritoneal.

Figura 151: Tratamento e injeção intraperitoneal para indução da peritonite[115]

10.4. Agregação plaquetária *in vitro* induzida por colágeno e ácido araquidônico

A técnica foi realizada semelhante ao procedimento descrito por Rhee *et al*.[116] O plasma rico em plaquetas foi obtido a partir do sangue total humano, coletado de indivíduos sadios e livres de medicação, por punção venosa periférica. O sangue total foi transferido para um tubo de polietileno contendo anticoagulante citrato de sódio 3,8% (1:9 de sangue, v/v), levemente homogeneizado, e, em seguida, foi submetido a uma centrifugação de 300 *g*, por 12 minutos, a 20°C. O plasma rico em plaquetas (PRP – figura 152) obtido foi separado e o volume restante no tubo foi, então, submetido a uma segunda centrifugação a 2000 *g*, por 10 minutos a 20°C, para a obtenção do plasma pobre em plaquetas (PPP – figura 152).

[115] http://www.procedureswithcare.org.uk/wp-content/uploads/2010/07/mousescmain1b.jpg; http://www.procedureswithcare.org.uk/wp-content/uploads/2010/07/DSC_2824.jpg
[116] Rhee, B. G.; Hall, E. R.; McIntire, L. V. *Blood* **1986**, *67(1)*, 240-246.

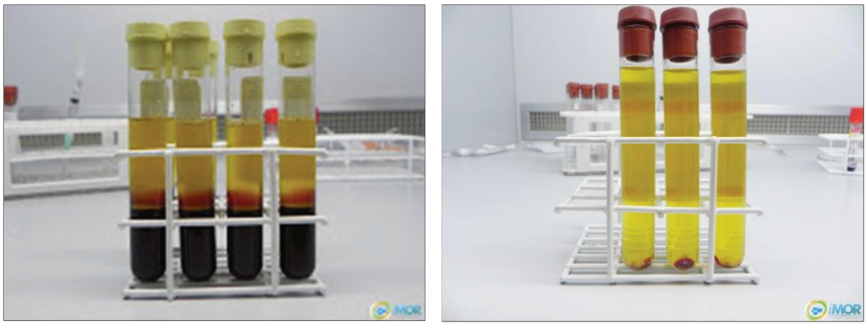


Figura 152: Plasma rico e pobre em plaquetas[117]

O estudo da agregação plaquetária foi realizado utilizando ensaio turbidimétrico, segundo Born[118], em agregômetro óptico de 2 canais (Chrono-log Lumi-Aggregometer model 560-Ca, Havertown, PA, EUA). Após a obtenção do PRP, a suspensão plaquetária foi ajustada para a concentração de 3 x 10^8 plaquetas/mL, utilizando-se PPP. Alíquotas de 400 µL de PRP, na presença de 1 mM de $CaCl_2$, foram então transferidas para cuvetas de agregação, providas de dispositivo agitador, mantendo-se a suspensão em constante agitação (600 *r.p.m*), à 37°C, permitindo estabilização por 2 minutos. Após o período de estabilização, foram adicionadas as ciclopentenonas (1 - 30 µM) ou celecoxibe (10 µM) ao PRP enriquecido, incubados por 3 minutos, e seguida, realizou-se o estímulo agregante com adição de 500 µM de ácido araquidônico (AA) e/ou 2,5 µg/mL de colágeno. O bloqueio da COX-1 foi realizado paralelamente, por pré-incubação com indometacina (10 µM), por 3 minutos, seguido do estímulo com ácido araquidônico (AA) e/ou 2,5 µg/mL de colágeno. A agregação plaquetária (figura 153) foi monitorada até que a curva atingisse um *plateau*. A resposta

[117]http://3.bp.blogspot.com/VXjcg0URbOQ/T6QgZ3IxkKI/AAAAAAAAAsM/DiadKvb2nG4/s1600/DSCN5686.JPG; http://3.bp.blogspot.com/-vVMJxz8hwh4/T6QgLQFJUoI/AAAAAAAAArk/kd00JDOvG-g/s200/DSCN5677.JPG

[118] Born, G. V. *Nature* **1962**, *194*, 927-9.

ao estímulo agonista foi expressa como % de agregação, calculada pela diferença da transmissão de luz do PPP (100% de transmitância) pela transmissão de luz do PRP. Como controle, a resposta agregante foi monitorada na presença dos veículos na concentração final máxima de 0,428% de etanol (ciclopentenonas) e $3x10^{-6}$ % de bicarbonato de sódio (Indometacina) na cuveta de agregação.

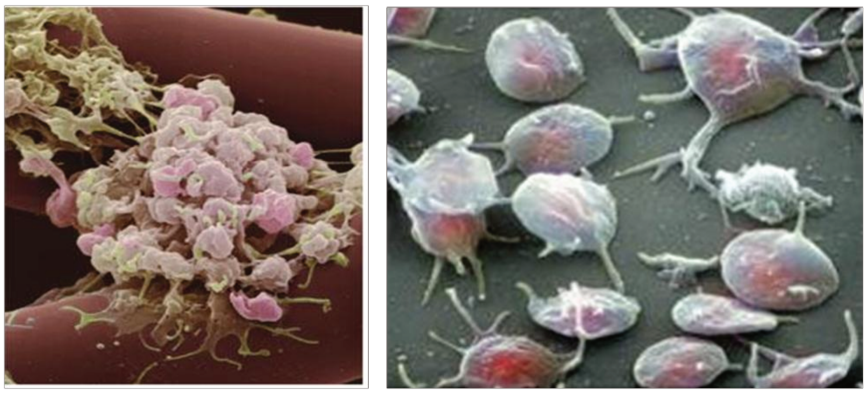


Figura 153: Plaquetas ativadas[119]

10.5. Aspectos Éticos da Pesquisa[120]

A participação neste estudo foi voluntária. Os voluntários foram convidados a participar do estudo mediante apresentação / esclarecimento do projeto. Embora indivíduos fora do ambiente acadêmico da UNICAMP pudessem participar do estudo, grande parte pertenceu à comunidade local da FCM / HC e/ou IQ UNICAMP (alunos, funcionários e docentes). O próprio pesquisador ficou encarregado pela aplicação e esclarecimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE.

[119] http://www.ufrgs.br/laprotox/sites/default/files/pesquisa/plaquetas-ativadas.jpg; http://bio1151b.nicerweb.net/Locked/src/Locked/media/ch45/45_05PlateletAggregation.jpg.
[120] http://www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa/comite-de-etica-em-pesquisa/projeto-de-pesquisa.

Realizou-se a coleta por punção venosa de 20 mL de sangue periférico de indivíduos sadios, coletados do antebraço direito ou esquerdo, conforme escolha do voluntário. A coleta se realizou no Departamento de Farmacologia, FCM/UNICAMP e foi feita por profissional treinado e todo material utilizado era estéril e descartável. Os riscos foram mínimos mas, caso houvesse algum problema, esse seria atendido pelo médico responsável e encaminhado ao serviço de Pronto Socorro da Unidade Hospitalar da Unicamp, se necessário.

O sangue coletado foi imediatamente processado para a separação de plasma e, no mesmo dia, os ensaios experimentais foram realizados. Somente o plasma foi utilizado; o material restante, bem como o plasma, após utilizados nos ensaios, foram tratado com hipoclorito de sódio antes do descarte em local específico para material biológico. Cumpriram-se as exigências da Resolução 196, de 10 de outubro de 1996 (Conselho Nacional de Saúde). O protocolo experimental, para agregação plaquetária utilizando sangue humano, foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP – FCM/UNICAMP) filiado à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob o Cetificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 16277313.2.0000.5404 e sob o número de parecer: 320.984.

10.6. Obtenção de Macrófagos Peritoneais para Dosagem de PGE_2 *in vitro*

Para obtenção de macrófagos peritoneais elicitados, ratos Wistar machos (150 ± 200 g), receberam 3 mL de uma solução de tioglicolato 4%, autoclavada a 121 ºC por 15 minutos, através de injeção intraperitoneal. Após 4 dias, os animais foram anestesiados com isoflurano e exsanguinados por decapitação, evitando que o lavado peritoneal fosse contaminado com sangue

de vênulas e capilares da região abdominal, conforme o protocolo.[121] Em seguida, a pele da região abdominal foi removida e injetado 7 mL de solução de RPMI a pH 7,4 nesta mesma cavidade. Após suaves e breves massagens, durante 30s, a cavidade foi aberta e o fluido contendo as células foi recolhido e acondicionando em frascos plásticos imersos no gelo.

Para obtenção do *pellet* de células, uma centrifugação foi realizada a 250xg por 10 minutos, o sobrenadante foi desprezado e o pellet ressuspenso em 2 mL de RPMI. A contagem do número total de células foi feita em câmara de Neubauer, e uma alíquota foi diluída com azul de trypam a 0,25% para observar a viabilidade celular.

10.6.1. Cultura de Macrófagos e Estimulação com LPS[122,121]

A metodologia para separação e cultura de macrófagos em placas foi adaptada de Pere & Curi[121] e, Molinaro e colaboradores.[122] Placas de 6 poços foram utilizadas, onde em cada poço, foi adicionado 1 mL da suspensão celular (2 x 10^6 células/mL), logo após, foram incubadas em estufa de CO_2 (5%) com atmosfera úmida, a 37 ºC, por 1 hora, para aderência dos macrófagos no fundo do poço. Após a incubação, cada poço foi lavado delicadamente 2 vezes com RPMI, para eliminar as células não aderidas.

Após a aderência, os macrófagos foram pré-tratados com as ciclopentenonas **2**, **3**, **4** e **5**, indometacina e celecoxibe, na concentração de 10 µM, em seguida incubados por 30 minutos, a 37 ºC, em estufa de CO_2 (5%). Após este período os poços foram lavados, delicadamente, 2 vezes com RPMI. Em seguida cada poço foi incubado com LPS (1µg/mL), por 30 minutos a 37

[121] Peres, M. P.; Curi, R. *Como Cultivar Células* Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, **2005**.
[122] Molinaro, E. M.; Caputo, L. F. G.; Amendoeira, M. R. R. *Conceitos e Métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde* vol. 2, Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, **2010**.

ºC em estufa CO_2 (5%), para estimular as células. Os sobrenadantes foram então recolhidos e fracionados para posterior quantificação de prostaglandina E_2 (PGE_2) através do Kit comercial proveniente da Cayman®.

11. Análise estatística dos resultados

Os resultados obtidos foram expressos como média ± erro padrão das médias (E.P.M). As diferenças estatísticas foram determinadas utilizando-se análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Bonferroni para comparações múltiplas. Valores de $P<0,05$ foram considerados significativos.

12. Resultados

12.1. Efeito das Ciclopentenonas 2, 3, 4 e 5 no edema de pata induzido por carragenina

A figura 154 (painel A) mostra a curva temporal do edema de pata de rato induzida por carragenina em animais pré-tratados com ciclopentenona **2**, celecoxibe e indometacina.

O pico de formação do edema ocorre 2 horas após o estímulo com o agente flogístico. Observamos que neste período todos os pré-tratamentos foram capazes de reduzir o volume da pata.

Quando analisamos o parâmetro área sob a curva (ASC) (fig. 154B), a ação da ciclopentenona **2** (5 mg/Kg) destacou-se por inibir cerca de 42% o edema enquanto que a indometacina e o celecoxibe inibiram, respectivamente, 38% e 28%. Diante destes resultados, escolhemos a dose de 5 mg/Kg para o pré-tratamento com as demais ciclopentenonas **3**, **4** e **5**.

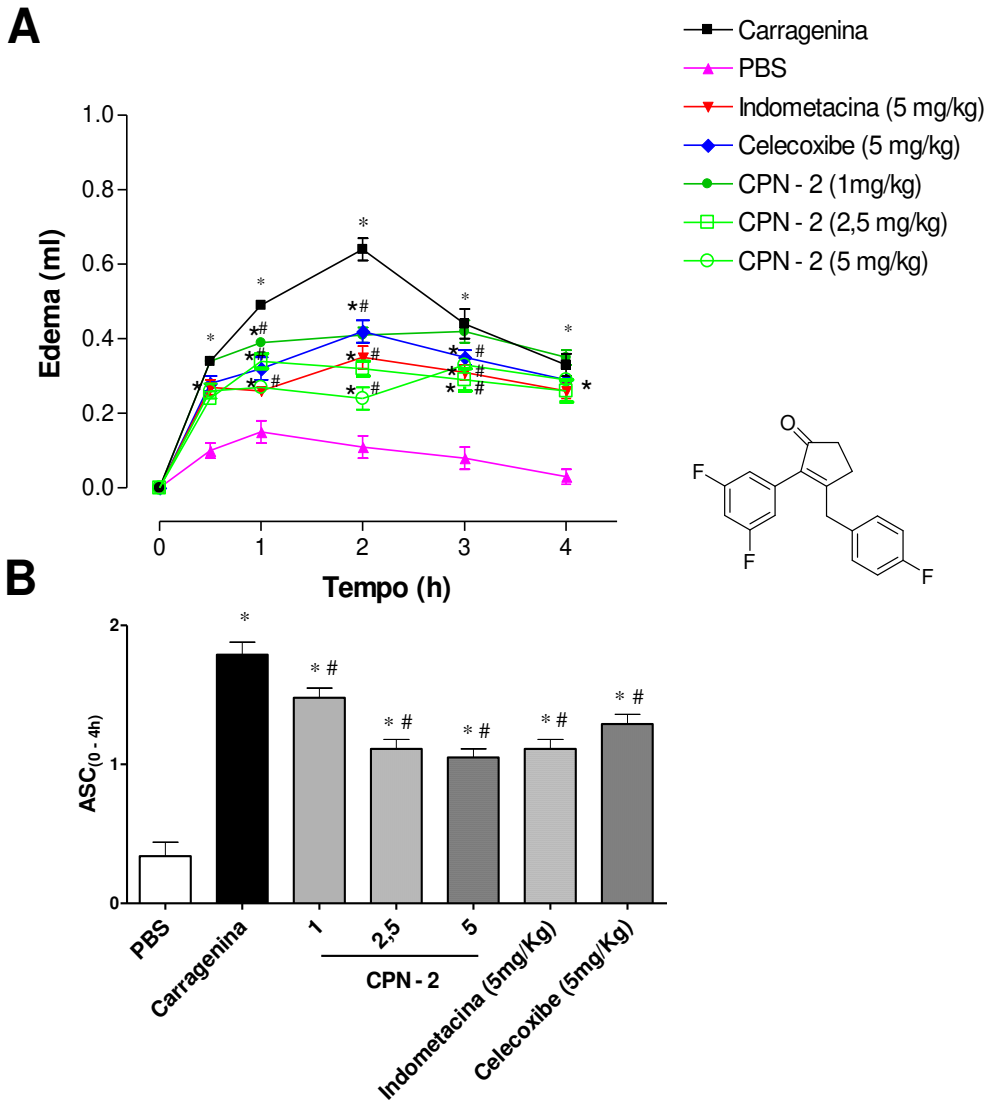


Figura 154: Efeito da ciclopentenona ***2****, indometacina e celecoxibe no edema de pata induzido pela carragenina. O edema foi medido de 30 minutos a 4 h após a injeção subcutânea dos anti-inflamatórios e droga-teste na região subplantar. Animais controles foram injetados com carragenina e PBS. Os valores foram expressos como média ± E.P.M. da variação do volume das patas em mL (painel A) ou valores de área sob a curva (ASC em mL.h; painel B) para n=6-7 animais. * P< 0,05 comparado com o grupo PBS. # P< 0,05 comparado com o grupo Carragenina.*

Quando realizamos o protocolo para testar a atuação da ciclopentenona **3**, comparando-a com os anti-inflamatórios clássicos, observamos que todos os pré-tratamentos reduziram o volume do edema no período de 2 horas após o estímulo com carragenina (figura 155A).

A ciclopentenona **3** inibiu cerca de 14% (fig. 155B), enquanto que a indometacina e celecoxibe inibiram o edema em cerca de 46% e 32%, respectivamente.

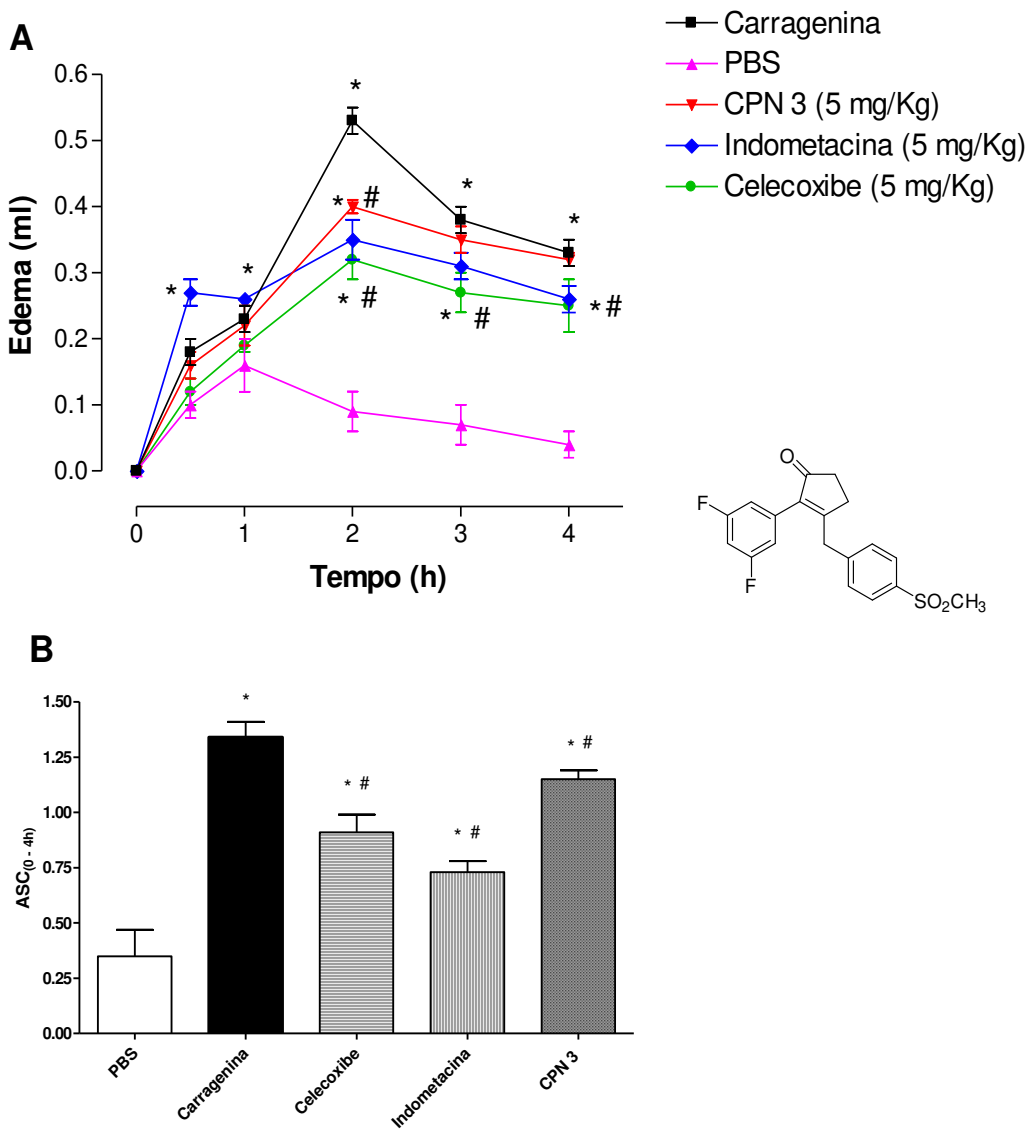


Figura 155: Efeito da ciclopentenona ***3****, indometacina e celecoxibe no edema de pata induzido pela carragenina. O edema foi medido de 30 minutos a 4 h após a injeção subcutânea dos anti-inflamatórios e droga-teste na região subplantar. Animais controles foram injetados com carragenina e PBS. Os valores foram expressos como média ± E.P.M. da variação do volume das patas em mL (painel A) ou valores de área sob a curva (ASC em mL.h; painel B) para n=6-7 animais. * P< 0,05 comparado com o grupo PBS. # P< 0,05 comparado com o grupo Carragenina.*

Observamos que 2 horas após o estímulo com carragenina, todos os pré-tratamentos foram capazes de reduzir o volume da pata (figura 156A). O pré-tratamento com a ciclopentenona **4** se mostrou eficaz na redução do edema, inibindo cerca de 18% (painel B), enquanto os anti-inflamatórios de referência indometacina e celecoxibe inibiram o edema em cerca de 24% e 14%, respectivamente.

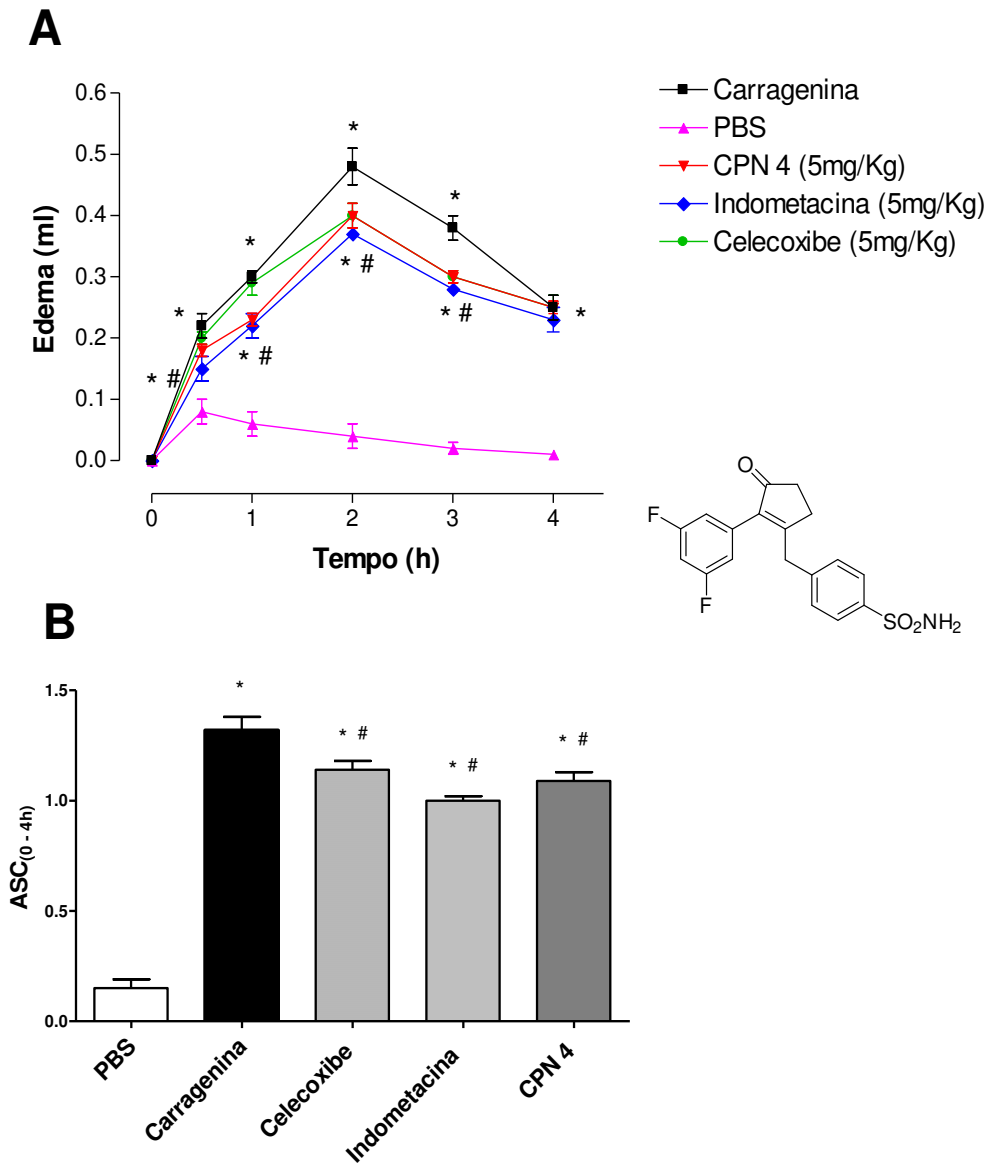


Figura 156: Efeito da ciclopentenona ***4****, indometacina e celecoxibe no edema de pata induzido pela carragenina. O edema foi medido de 30 minutos a 4 h após a injeção subcutânea dos anti-inflamatórios e droga-teste na região subplantar. Animais controles foram injetados com carragenina e PBS. Os valores foram expressos como média ± E.P.M. da variação do volume das patas em mL (painel A) ou valores de área sob a curva (ASC em mL.h; painel B) para n=6-7 animais. * P< 0,05 comparado com o grupo PBS. # P< 0,05 comparado com o grupo Carragenina.*

O pré-tratamento com a ciclopentenona **5** inibiu cerca de 12% o volume do edema (figura 157B), enquanto os anti-inflamatórios de referência indometacina e celecoxibe inibiram o edema em cerca de 11% e 17%, respectivamente.

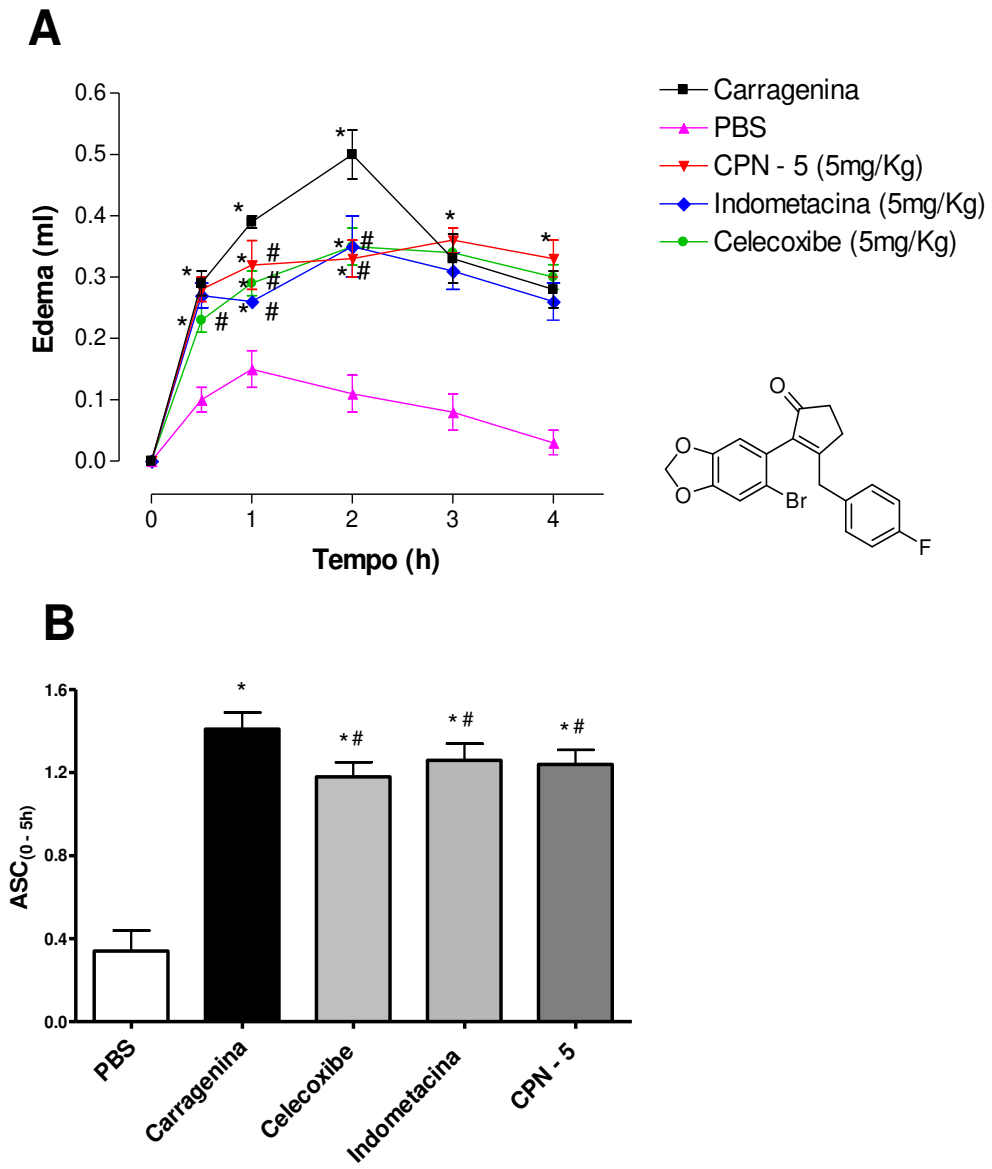


Figura 157: Efeito da ciclopentenona ***5****, indometacina e celecoxibe no edema de pata induzido pela carragenina. O edema foi medido de 30 minutos a 4 h após a injeção subcutânea dos anti-inflamatórios e droga-teste na região subplantar. Animais controles foram injetados com carragenina e PBS. Os valores foram expressos como média ± E.P.M. da variação do volume das patas em mL (painel A) ou valores de área sob a curva (ASC em mL.h; painel B) para n=6-7 animais. * P< 0,05 comparado com o grupo PBS. # P< 0,05 comparado com o grupo Carragenina.*

12.2. Efeito das Ciclopentenonas 2, 3, 4 e 5 na peritonite induzida por carragenina

A figura 158A mostra o infiltrado de leucócitos totais obtido de animais controle (PBS) e pré-tratados com dexametasona, celecoxibe, indometacina e ciclopentenona **2** , e que receberam posteriormente, exceto o grupo controle, a injeção intraperitoneal de carragenina para provocar a inflamação não alérgica na cavidade peritoneal. O infiltrado neutrofílico, característico da inflamação induzida por carragenina (13,98 ± 0,88 x 10^6 células/mL), foi reduzido pelos pré-tratamentos com ciclopentenona **2** (0,72 ± 0,05 x 10^6 células/mL), dexametasona (1,01 ± 0,76 x 10^6 células/mL), celecoxibe (2,82 ± 1,76 x 10^6 células/mL) e indometacina (3,22 ± 0,22 x 10^6 células/mL) (figura 158B). O infiltrado de eosinófilos também sofreu redução com os pré-tratamentos, com exceção do pré-tratamento com indometacina (figura 158C). Em relação às células mononucleares, apenas dexametasona (4,95 ± 0,77 x 10^6 células/mL) e indometacina (4,75 ± 0,25 x 10^6 células/mL) foram capazes de diminuir o número deste tipo celular em comparação grupo PBS (7,93 ± 0,12 x 10^6 células/mL) (figura 158D).

Ao comparar os efeitos das ciclopentenonas **3**, **4** e **5**, observamos uma ação semelhante àquela da ciclopentenona **2**. As figuras 159, 160 e 161, a seguir, ilustram, respectivamente, as contagens total e diferencial do lavado peritoneal obtido após estes pré-tratamentos.

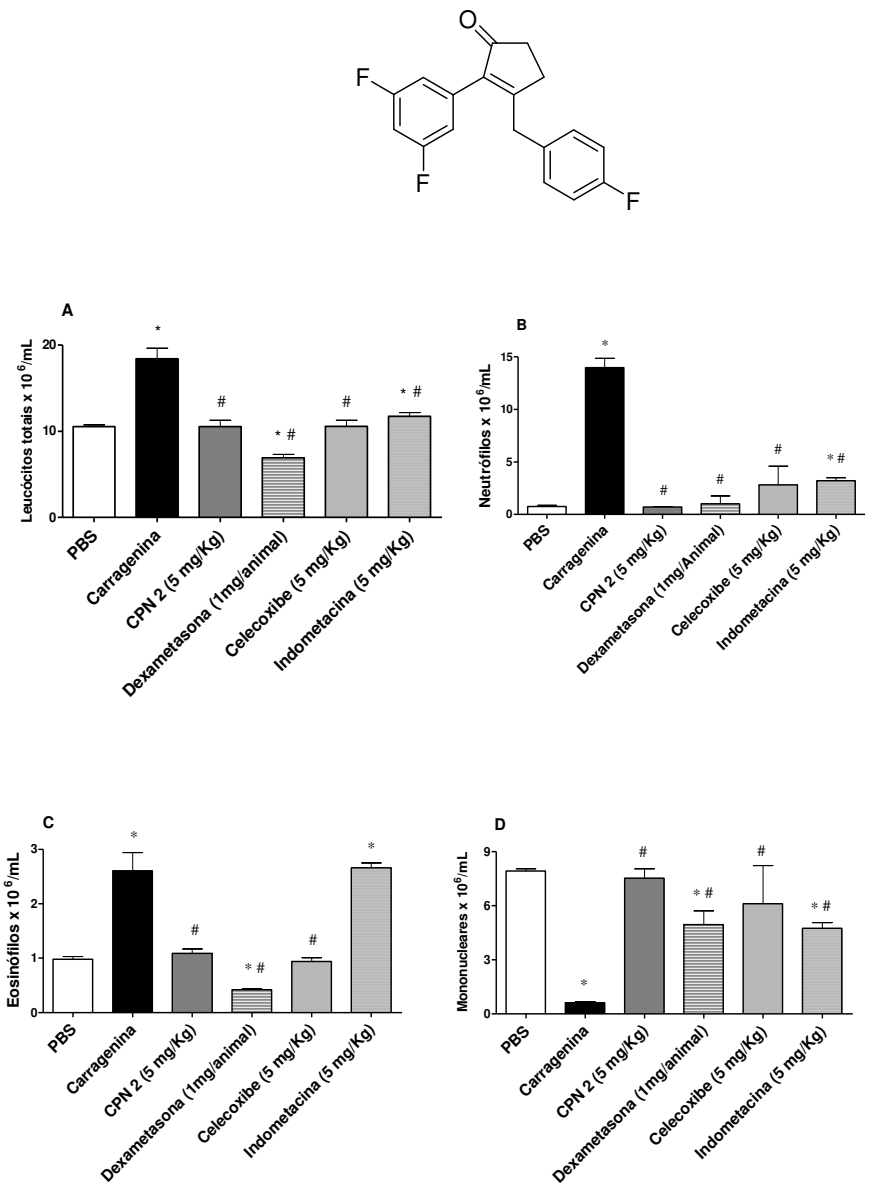
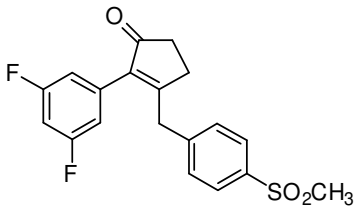


Figura 158: Efeito da ciclopentenona ***2****, dexametasona, indometacina e celecoxibe na peritonite induzida pela carragenina. A contagem de leucócitos (total e diferencial) foi realizada 4 h após a injeção subcutânea dos anti-inflamatórios e droga-teste na região dorso-cervical. Animais controles foram injetados com carragenina e PBS. Cada coluna representa a média ± E.P.M (n=5-8). * P< 0,05 comparado com o grupo PBS.* $^{\#}$ *P< 0,05 comparado com o grupo Carragenina.*

A figura 159A mostra o infiltrado de leucócitos totais na cavidade peritoneal obtido de animais controle – PBS e pré-tratados com dexametasona, celecoxibe, indometacina e ciclopentenona **3**. O infiltrado neutrofílico (figura 159B), característico da inflamação induzida por carragenina (31,16 ± 1,98 x 10^6 células/mL), foi reduzido pelos pré-tratamentos com ciclopentenona **3** (3,29 ± 0,66 x 10^6 células/mL), dexametasona (0,62 ± 0,05 x 10^6 células/mL), celecoxibe (8,08 ± 0,55 x 10^6 células/mL) e indometacina (3,92 ± 0,62 x 10^6 células/mL). O infiltrado de eosinófilos também sofreu redução com os pré-tratamentos, com menor extensão aquele pré-tratado com celecoxibe (figura 159C). Em relação às células mononucleares, apenas os pré-tratamentos com a ciclopentenona **3** (7,84 ± 0,92 x 10^6 células/mL) e dexametasona (3,64 ± 0,18 x 10^6 células/mL) foram capazes de reduzir o número de células em comparação grupo PBS (10,61 ± 0,53 x 10^6 células/mL) (figura 159D).



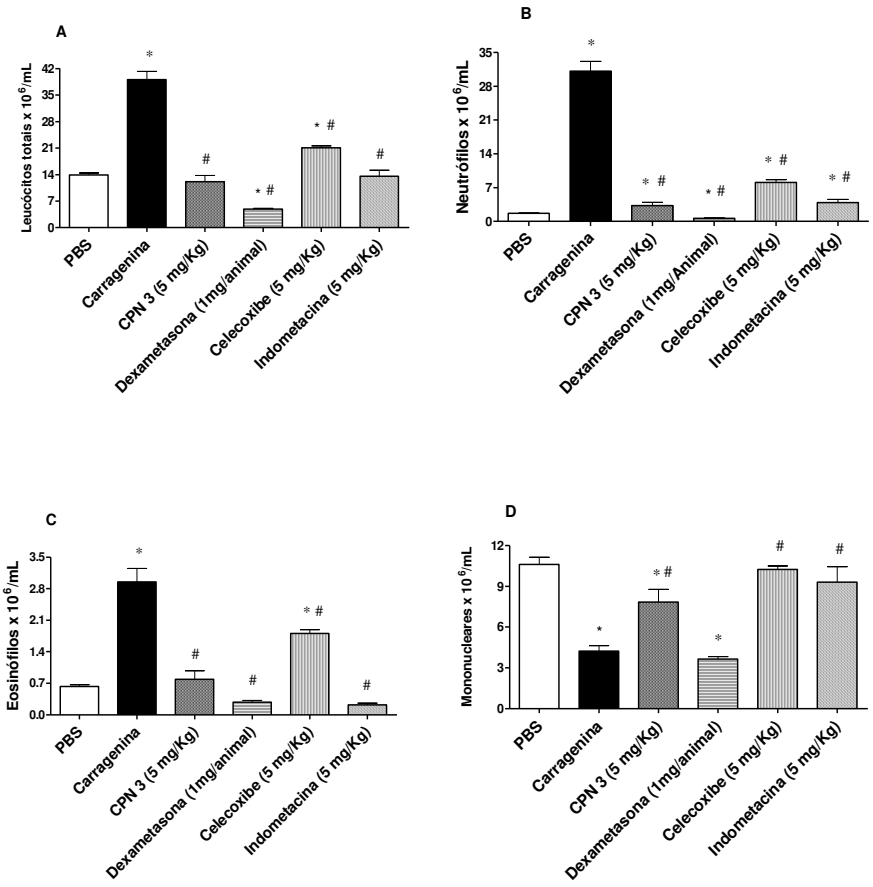


*Figura 159: Efeito da ciclopentenona **3**, dexametasona, indometacina e celecoxibe na peritonite induzida pela carragenina. A contagem de leucócitos (total e diferencial) foi realizada 4 h após a injeção subcutânea dos anti-inflamatórios e droga-teste na região dorso-cervical. Animais controles foram injetados com carragenina e PBS. Cada coluna representa a média ± E.P.M (n=5-8). * P< 0,05 comparado com o grupo PBS. # P< 0,05 comparado com o grupo Carragenina.*

O número de neutrófilos aumentou com a injeção de carragenina (16,00 ± 0,29 x 10^6 células/mL) na cavidade peritoneal (figura 160B). Os pré-tratamentos com ciclopentenona **4** (5,70 ± 0,22 x 10^6 células/mL), dexametasona (1,18 ± 0,06 x 10^6 células/mL), celecoxibe (6,22 ± 0,34 x 10^6 células/mL) e indometacina (4,31 ± 0,08 x 10^6 células/mL) foram capazes de reduzir este infiltrado. Quanto aos eosinófilos, os pré-tratamentos também foram eficientes na redução do número destas células (figura 160C). Quando analisamos o número de células mononucleares, observamos que apenas dexametasona (5,25 ± 0,11 x 10^6 células/mL) foi capaz de diminuir o número quando comparado ao grupo controle - PBS (4,77 ± 0,24 x 10^6 células/mL) (figura 160D).

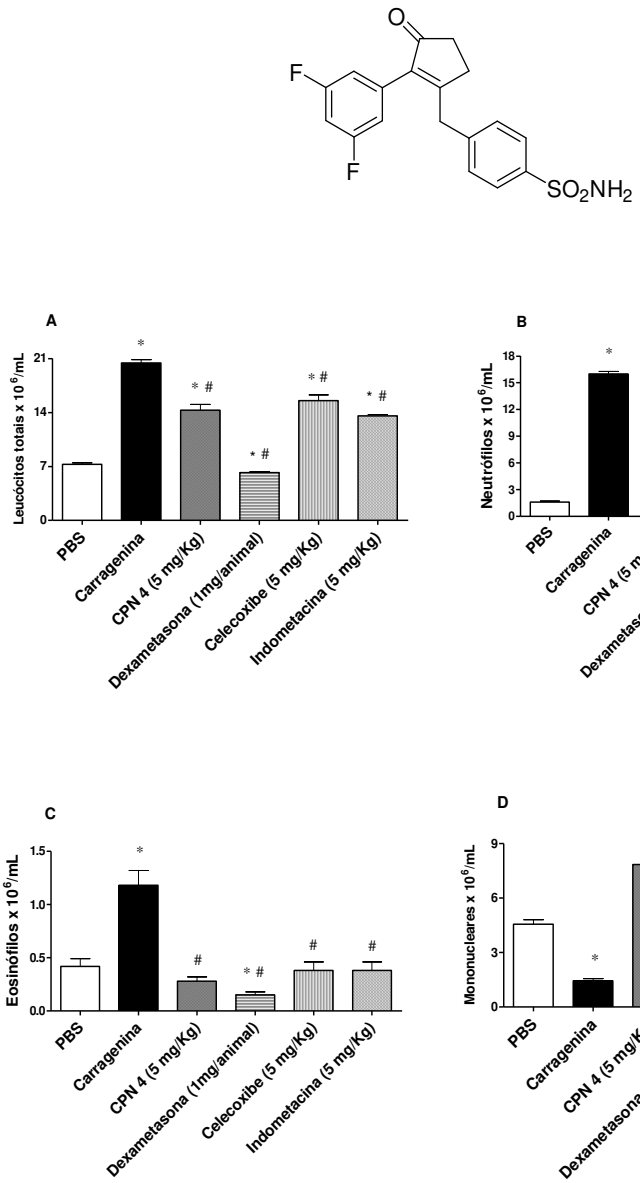


*Figura 160: Efeito da ciclopentenona **4**, dexametasona, indometacina e celecoxibe na peritonite induzida pela carragenina. A contagem de leucócitos (total e diferencial) foi realizada 4 h após a injeção subcutânea dos anti-inflamatórios e droga-teste na região dorso-cervical. Animais controles foram injetados com carragenina e PBS. Cada coluna representa a média ± E.P.M (n=5-8). * P< 0,05 comparado com o grupo PBS. # P< 0,05 comparado com o grupo Carragenina.*

O número de neutrófilos na peritonite induzida por carragenina (13,43 ± 0,42 x 10^6 células/mL) sofreu redução quando tratados com ciclopentenona **5** (3,63 ± 0,11 x 10^6 células/mL), dexametasona (0,27 ± 0,02 x 10^6 células/mL), celecoxibe (1,06 ± 0,06 x 10^6 células/mL) e indometacina (2,95 ± 0,06 x 10^6 células/mL) (figura 161B). O infiltrado de eosinófilos também sofreu redução com os pré-tratamentos, com exceção do pré-tratamento com indometacina (figura 161C). Em relação às células mononucleares, apenas dexametasona (5,53 ± 0,11 x 10^6 células/mL) e indometacina (5,02 ± 0,07 x 10^6 células/mL) foram capazes de diminuir o número deste tipo celular em comparação grupo PBS (8,19 ± 0,15 x 10^6 células/mL) (figura 161D).

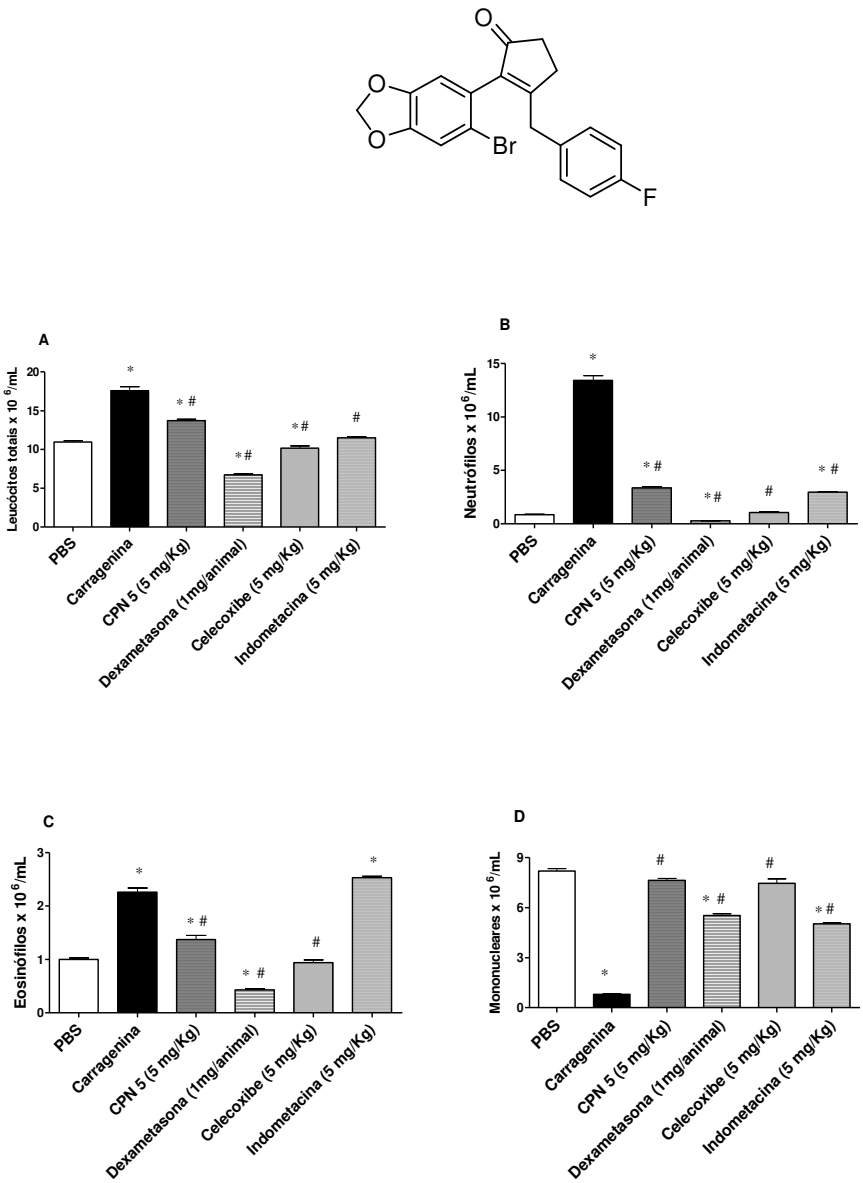


Figura 161: Efeito da ciclopentenona ***5****, dexametasona, indometacina e celecoxibe na peritonite induzida pela carragenina. A contagem de leucócitos (total e diferencial) foi realizada 4 h após a injeção subcutânea dos anti-inflamatórios e droga-teste na região dorso-cervical. Animais controles foram injetados com carragenina e PBS. Cada coluna representa a média ± E.P.M (n=5-8). * P< 0,05 comparado com o grupo PBS.* $^{\#}$ *P< 0,05 comparado com o grupo Carragenina.*

12.3. Efeito das Ciclopentenonas 2, 3, 4 e 5 na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico e colágeno

A agregação plaquetária estimulada pelos agentes agregantes, ácido araquidônico (500 µM) ou colágeno (2,5 µg/mL), não foi afetada pela adição das ciclopentenonas **2**, **3**, **4** e **5**, respectivamente mostradas nas figuras 162, 163, 164 e 165. Além disso, somente a indometacina foi capaz de alterar a atividade agonista dos agentes agregantes causando a inibição.

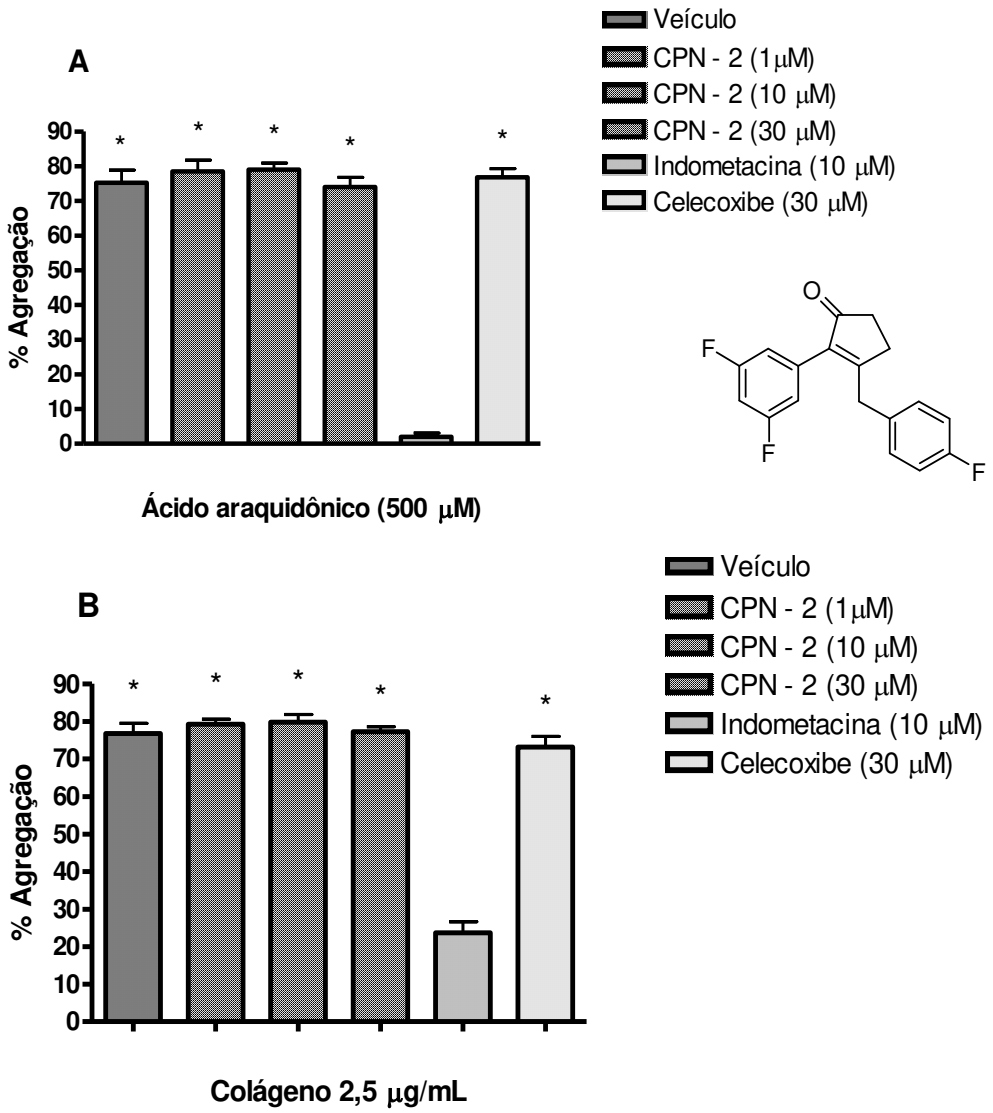


Figura 162: Efeito da indometacina, celecoxibe e da ciclopentenona ***2*** *na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico (AA) (painel A) ou colágeno (painel B). O estímulo agregante, ácido araquidônico (500 μM) ou colágeno (2,5 μg/mL), foi acrescentado ao PRP já incubado ou com indometacina ou com ciclopentenona* ***2*** *e foram comparadas quanto à inibição da COX-1. Cada coluna representa a média ± EPM (n=4 - experimentos). * P< 0,05 comparado com o grupo indometacina.*

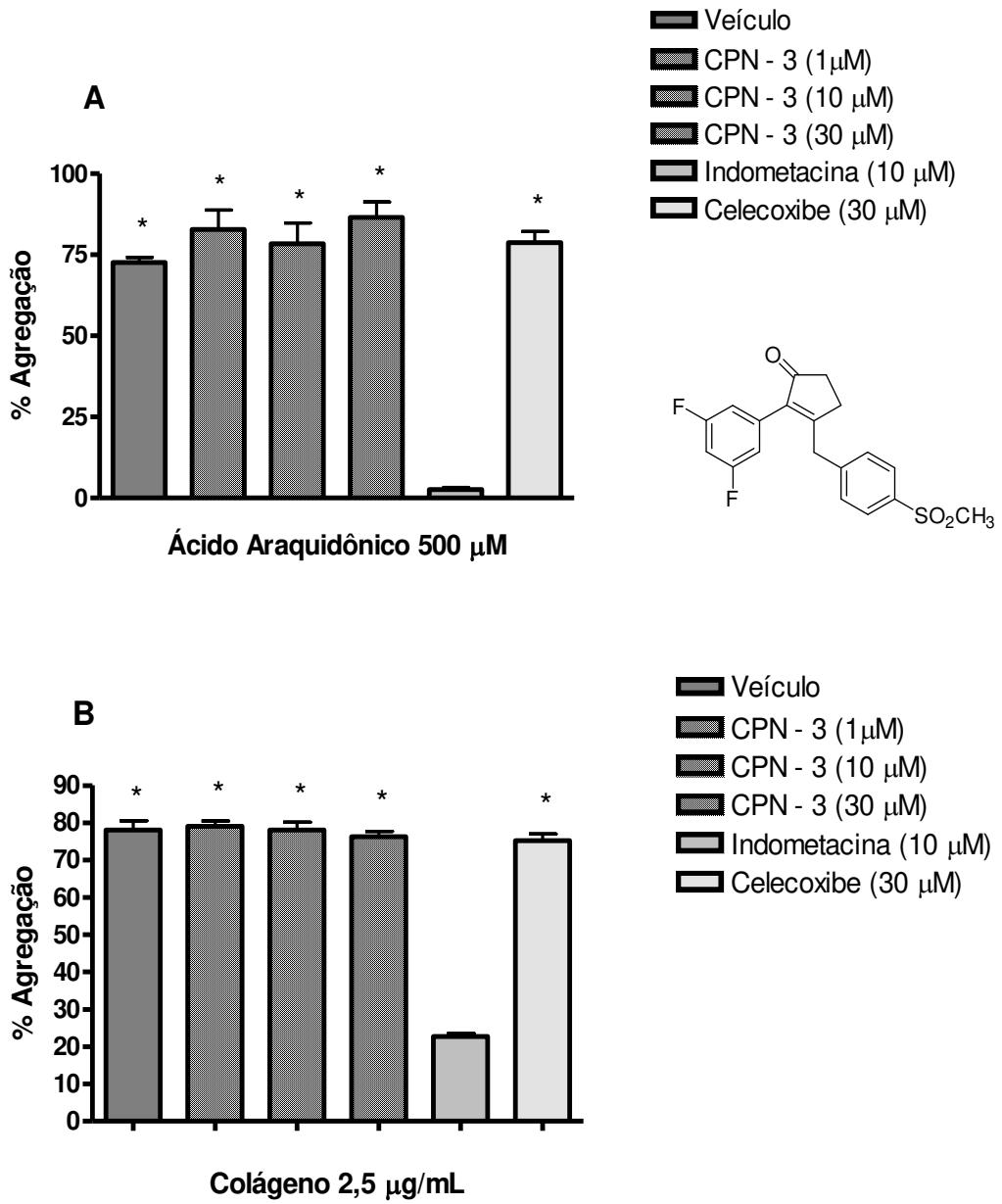


Figura 163: Efeito da indometacina, celecoxibe e da ciclopentenona ***3*** *na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico (AA) (painel A) ou colágeno (painel B). O estímulo agregante, ácido araquidônico (500 μM) ou colágeno (2,5 μg/mL), foi acrescentado ao PRP já incubado ou com indometacina ou com ciclopentenona* ***3*** *e foram comparadas quanto à inibição da COX-1. Cada coluna representa a média ± E.P.M (n=4 - experimentos). * P< 0,05 comparado com o grupo indometacina.*

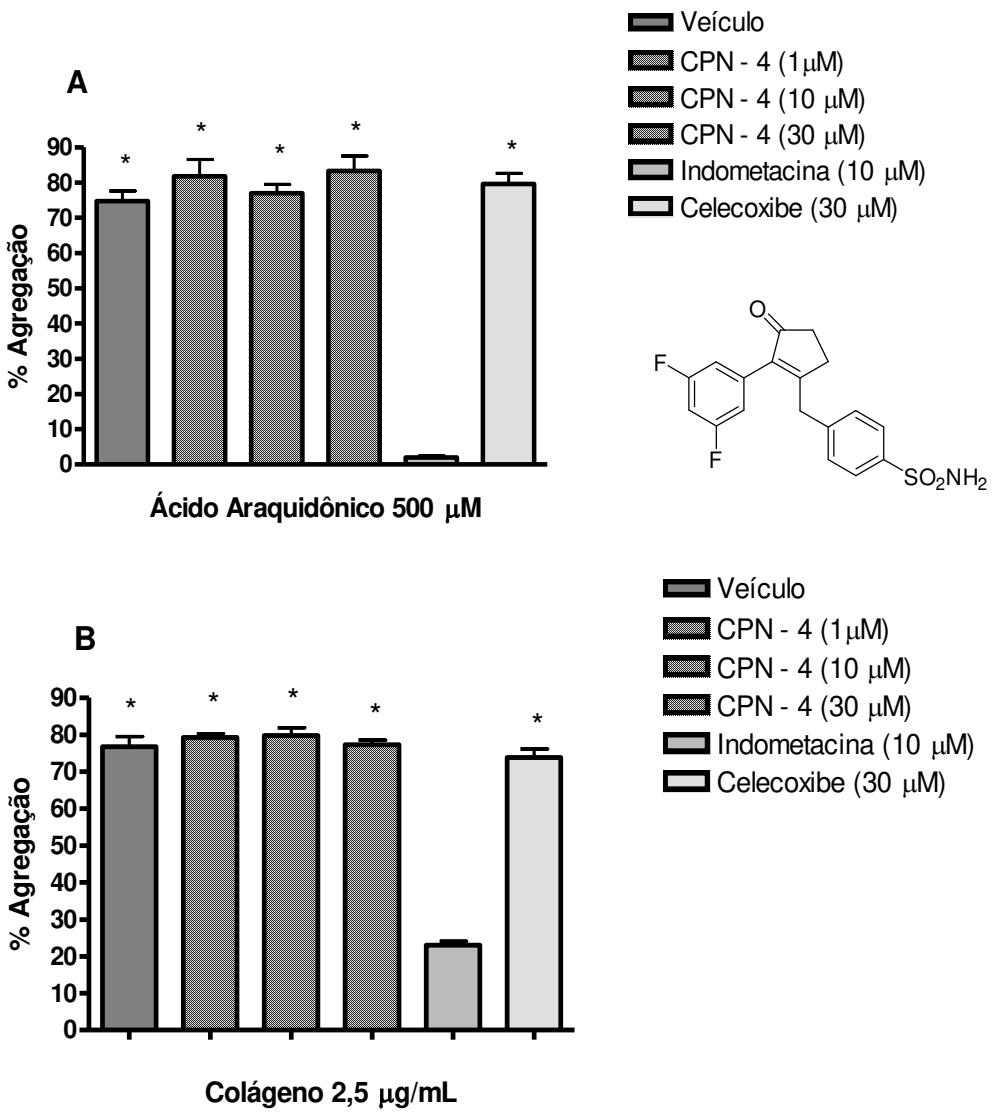


Figura 164: Efeito da indometacina, celecoxibe e da ciclopentenona ***4*** *na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico (AA) (painel A) ou colágeno (painel B). O estímulo agregante, ácido araquidônico (500 μM) ou colágeno (2,5 μg/mL), foi acrescentado ao PRP já incubado ou com indometacina ou com ciclopentenona* ***4*** *e foram comparadas quanto à inibição da COX-1. Cada coluna representa a média ± E.P.M (n=4 - experimentos). * P< 0,05 comparado com o grupo indometacina.*

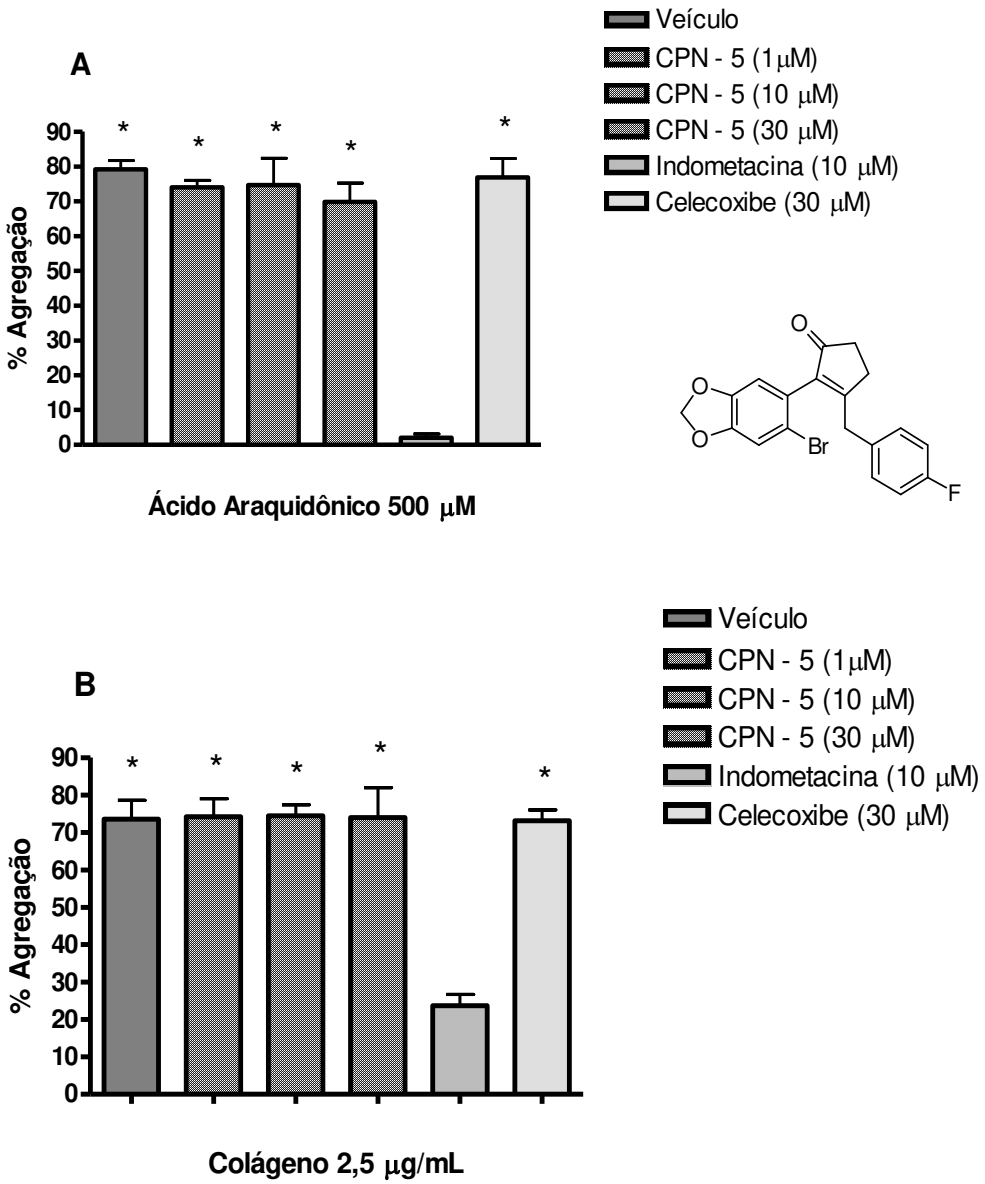


Figura 165: Efeito da indometacina, celecoxibe e da ciclopentenona ***5*** *na agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico (AA) (painel A) ou colágeno (painel B). O estímulo agregante, ácido araquidônico (500 μM) ou colágeno (2,5 μg/mL), foi acrescentado ao PRP já incubado ou com indometacina ou com ciclopentenona* ***5*** *e foram comparadas quanto à inibição da COX-1. Cada coluna representa a média ± E.P.M (n=4 - experimentos). * P< 0,05 comparado com o grupo indometacina.*

12.4. Efeito das Ciclopentenonas, Indometacina e Celecoxibe sobre a produção de PGE_2 em Macrófagos Peritoneais Estimulados com LPS

O estímulo *in vitro* de macrófagos peritoneais com LPS (1 µg/mL) elevou em 38% a produção de PGE_2 quando comparado com grupo controle DMSO, veículo utilizado para solubilizar as ciclopentenonas. A pré-incubação destas células com indometacina e celecoxibe promoveram o decréscimo na quantidade de PGE_2 produzida de 52% e 80%, respectivamente. Observamos ainda que as ciclopentenonas **2**, **3** e **5**, foram capazes de reduzir a produção de PGE_2 em 24%, 38% e 36%, respectivamente, quando comparadas ao grupo LPS (figura 166). Já a ciclopentenona **4** reduziu a produção de PGE_2 em apenas 16%. O DMSO na concentração de 0,5 % foi utilizado em todos os grupos.

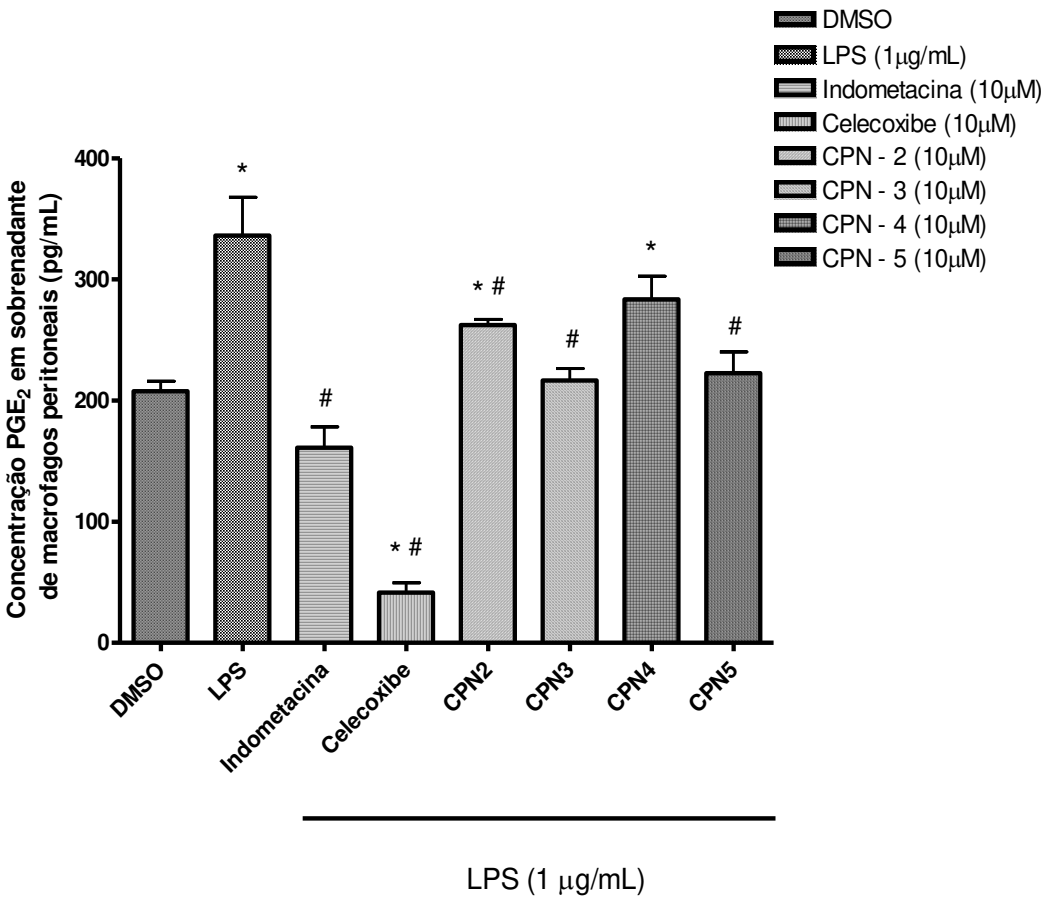


*Figura 166: Efeito da indometacina, celecoxibe e das ciclopentenonas sobre a produção de PGE_2 em macrófagos peritoneais estimulados com LPS. O estímulo com LPS (1 μg/mL) foi dado à cultura de macrófagos em RPMI, pré-incubados com veículo (DMSO – 0,5%), anti-inflamatórios indometacina e celecoxibe (10 μM) e ciclopentenonas (10 μM). Cada coluna representa a média ± E.P.M (n=3 - experimentos). * P< 0,05 comparado com o grupo DMSO e # P< 0,05 comparado com o grupo LPS.*

13. Análise dos Resultados e Discussão

Diversos são os métodos utilizados para avaliar as propriedades anti-inflamatórias de novas drogas. Dentre elas destaca-se a desenvolvida por Winter,[111] cuja técnica é baseada na capacidade de um composto reduzir o edema induzido em pata de ratos através da injeção subplantar de um agente pró-inflamatório.

O edema de pata é um modelo útil para avaliar a contribuição de mediadores envolvidos nas mudanças vasculares associadas com a inflamação aguda. O desenvolvimento do edema na pata do rato após a injeção de carragenina foi descrita como um evento bifásico no qual vários mediadores operam em conjunto para produção da resposta inflamatória, de acordo com Vinegar[123]. A fase inicial do edema (0 – 1h), que não é inibida por drogas anti-inflamatórias não-esteroidais, como indometacina ou aspirina, foi atribuída à liberação de histamina, 5-hidroxitriptamina (5-HT) e bradicinina, como indicado por estudos de Di Rosa[124]. Contrariamente, a segunda fase de turgescência (1 – 6h), foi correlacionada com a elevada produção de prostaglandinas, como reportado por Di Rosa[124] e Di Rosa & Willoughby[125], e mais recentemente foi atribuído à indução da ciclooxigenase induzível (COX-2) na pata edemaciada, de acordo com Seibert[126]. Ativação e infiltração neutrofílicas local também contribuem para essa resposta inflamatória, segundo Di Rosa & Sorrentino[127], Vinegar[123] e Boughton-Smith[128], bem como

[123] Vinegar, R.; Schreiber, W.; Hugo, R. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1969**, *166*, 96-103.
[124] Di Rosa, M.; Giroud, J. P.; Willoughby, D. A. *J. Pathol.* **1971**, *104*, 15-29.
[125] Di Rosa, M.; Willoughby, D. A. *J. Pharm. Pharmacol.* **1971**, *23*, 297-300.
[126] Seibert, K.; Zhang, Y.; Leahy, K.; Hauser, S.; Masferrer, J.; Perkins, w.; Lee, L.; Isakson, P. *Proc. Natl.Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, *91*, 12013-12017.
[127] Di Rosa, M.; Sorrentino, L. *Eur. J. Pharmacol.* **1968**, *4*, 340-343.
[128] Boughton-Smith, N. K.; Deakin, A. M.; Follenfant, R. L.; Whittle, B. J. R.; Garland, L. G. *Br. J. Pharmacol.* **1993**, *110*, 896-902.

pela produção, dentre outros mediadores, de radicais livres de oxigênio como o ânion superóxido e radicais hidroxila, segundo Fantone & Ward.[129]

O mecanismo de formação do edema induzido pela carragenina é iniciado pela indução da liberação local de IL-6 e TNF-α, bem como da expressão da COX-2 e subsequente produção de prostaglandinas[130] e, logo após, influxo leucocitário, eventos próprios da inflamação observados por Masferrer[131], Seibert[126] e Hayashi[132] em modelos experimentais de edema. O primeiro autor, Masferrer, observou em seu estudo um aumento da expressão e produção da COX-2 em macrófagos residentes e fibroblastos com consequente aumento de prostaglandinas no sito inflamado. Quando se utilizou a dexametasona, anti-inflamatório esteroidal conhecido por inibir a síntese de prostaglandinas pela supressão de expressão da COX-2, e indometacina, inibidor não seletivo da COX, observou-se redução significativa da produção de prostaglandinas e do infiltrado celular. Já o segundo autor, Seibert, notou que o edema na pata dos ratos fora provocado por tromboxano B_2, substância advinda da ativação da cascata do ácido araquidônico, cujos níveis estavam elevados à semelhança do RNA_m para COX-2 e da produção da mesma, sendo assim, estreita relação foi encontrada entre as elevadas taxas de expressão e produção da COX-2, produção de prostaglandinas e tromboxanos, e edema. Tal correlação inexiste quando do uso de indometacina, evidenciado neste estudo, pois houve significativa redução do edema e concomitante abolição da

[129] Fantone, J. C.; Ward, P. A. *Am. J. Pathol.* **1982**, *107*, 397-418.
[130] a) Funk CD. *Science* **2001**, *294*, 1871-5. b) Simmons, D. L.; Botting, R. M.; Hla, T. *Pharmacol Rev* **2004**, *56*, 387-437. c) Zeilhofer, H. U. *Biochem Pharmacol* **2007**, *73*, 165-74. d) Sugimoto, Y.; Narumiya, S.; Ichikawa, A. *Prog Lipid Res* **2000**, *39*, 289-314. e) Padi, S. S. V.; Jain, N. K.; Singh, S.; Kulkarni, S. K. *Eur j Pharmacol* **2004**, *491*, 69-76. f) Posadas, I.; Bucci, M.; Roviezzo, F.; Rossi, A.; Parente, L.; Sautebin, L.; *et al. Br J Pharmacol* **2004**, *142*, 331-8. g)Claudino, R. F.; Kassuya, C. A. L.; Ferreira, J.; Calixto, J. B. *Br J Pharmacol* **2006**, *318*, 611-618.
[131] Masferrer, J. L.; Zweifel, B. S.; Manning, P. T.; Hauser, S. D.; Leavy, K. M.; Smith, W. G.; Isakson, P. C.; Seibert, K. *Proc. Natl.Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, *91*, 3228-3232.
[132] Hayashi, S.; Summi, Y.; Ueno, N.; Murase, A.; Takada, J. *Biochemical Pharmacology* **2011**, *82*, 755-768.

produção de tromboxano B_2. O último autor, Hayashi, assim como os outros, em seus estudos, observou aumentos da expressão e produção de COX-2 após indução da inflamação, com consequente produção de prostaglandinas e formação de edema, eventos esses que foram inibidos quando se aboliu a atividade da COX-2 pelo uso de inibidores seletivos desta enzima.

No nosso trabalho, nós observamos o aumento do volume da pata do rato 30 min após a injeção de carragenina, sendo o pico do edema obtido 120 min após o estímulo em todos os protocolos realizados (figuras 154 a 157, painel A). Os grupos pré-tratados com os anti-inflamatórios indometacina e celecoxibe, mostraram perfis semelhantes na redução da resposta inflamatória quando analisamos sua atuação através do parâmetro ASC (figura 154 a 157, painel B), corroborando com os estudos de Di Rosa,[124] sobre a fase inicial do edema. O tratamento com a ciclopentenona **2** foi eficaz na redução do edema, inibindo cerca de 17%, 38% e 42% nas doses de 1,0, 2,5 e 5,0 mg/Kg, respectivamente (figura 154), ao passo que as ciclopentenonas **3**, **4** e **5**, na dose que propiciou a maior taxa percentual de redução do edema comparado ao grupo carragenina, ou seja 5,0 mg/Kg, como ressaltado acima, inibiram o edema cerca de 14%, 18% e 12%, respectivamente (figuras 155 a 157). A significativa redução do edema provocado pelas ciclopentenonas, principalmente, pela ciclopentenona 2, corroborou, parcialmente, com os resultados encontrados pelos autores supracitados, onde os mesmos afirmaram que a ativação da COX-2 não só promovia mas, mantinha o edema, pela atuação efetiva dos mediadores inflamatórios advindos da via do ácido araquidônico, dentre eles prostaglandinas e tromboxanos, como demonstraram que a inibição de tal via suprimia o edema. A variação de inibição do edema de pata demostrado pelas ciclopentenonas pode ser devido aos diferentes grupos farmacofóricos, à biodisponibilidade e mesmo à potência dessas

drogas-teste o que dificulta uma comparação dentre essas e, entre essas e aquela **1a**, desenvolvida pela Merck® e que nos serviu de protótipo, visto que Black e colaboradores[21a] em estudos mais completos, envolvendo: biodisponibilidade, bioequivalência e toxicidade, com a molécula **1a**, demostraram o quão ela foi eficaz, por exemplo, na inibição do edema de pata. A parcialidade, referida acima em relação à inibição da COX-2, consistiu-se no fato da reduzida atuação das ciclopentenonas sobre a concentração de PGE_2 no sobrenadante de macrófagos estimulados com LPS – explicação abaixo no ensaio de quantificação de PGE_2. Já os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com aqueles mencionados no texto acima, quando da utilização dos inibidores seletivo e não seletivo, celecoxibe e indometacina, respectivamente, pelo fato de inibirem significativamente o edema de pata induzido pelo agente flogístico através da ação sobre a via da COX. Ressaltam-se também as variações da inibição do edema de pata destes agentes anti-inflamatórios que, possilvelmente, devaram-se: aos diferentes lotes de animais, aos diferentes dias e ambiente em que foram realizados os experimentos.

A peritonite experimental é um modelo inflamatório frequentemente usado para avaliar o recrutamento de leucócitos. Por características intrínsecas da cavidade abdominal, as várias populações de células residentes têm um papel a desempenhar na iniciação, na modulação e na resolução da inflamação peritoneal.[133] A cavidade peritoneal se constitui numa barreira protetora contra injúrias diversas e cuja função mecânica é abrandar a fricção entre o intestino e os tecidos adjacentes. O peritônio é a membrana serosa que reveste toda a cavidade sendo constituído de células mesoteliais, leucócitos residentes e fibroblastos que estão situados entre o revestimento de células mesoteliais e os

[133] Broche, F.; Tellado, J. M. *Current Opinion in Critical Cara* **2001**, *7*, 105-116.

capilares. Todas essas células são importantes visto que elas são metabolicamente ativas e agem como barreira contra a invasão de patógenos pela geração das respostas imunes, inata e adaptativa, conforme cinética leucocitária. Os leucócitos residentes são compreendidos principalmente por macrófagos. Nos seres humanos, a população leucocitária residente peritoneal é composta de 45-90 % de macrófagos, 10-47 % de linfócitos, 8 % de células *natural killer*, 2-6 % de células dendríticas e menos de 5 % de polimorfonucleares como neutrófilos, eosinófilos e basófilos.[134] Baseado no que foi dito acima, a resposta imune contra organismos agressores pode adotar diferentes perfis, dependendo do tipo de agente agressor.[135]

Como mediadores primários e principais desta resposta inflamatória aguda, os neutrófilos representam um componente essencial do sistema imune. Os neutrófilos originam-se na medula óssea, que contem um grande compartimento de granulócitos maduros facilmente mobilizáveis. Após liberados na corrente sanguínea, apresentam uma meia-vida relativamente curta (4 a 10 horas em humanos); e coexistem em equilíbrio dinâmico entre uma população com transito livre e uma população que margeia o endotélio interagindo reversivelmente com este. Em resposta ao estímulo inflamatório, os neutrófilos se aderem fortemente ao endotélio vascular, migram através da parede do vaso e subsequentemente movem-se ao longo de um gradiente quimiotático em direção ao estímulo inflamatório.[136] Os demais leucócitos têm similares: origem, mobilização e transito, tanto para a corrente sanguínea quanto desta para o tecido e/ou cavidade inflamada. Esta dinâmica é devido à atuação de mediadores pró-inflamatórios produzidos inicialmente pelas células

[134] a) Laurin, L. –P.; Brissette, M. –J.; Lepage, S.; Cailhier, J. F. *Nephron Exp Nephrol* **2012**, *120*, 41-46. b) Kubicka, U.; Olszewski, W. L.; Tarnowski, W.; Bielecki, K.; Ziolkowska, A.; Wierzbicki, Z. *Scand J Immunol* **1996**, *44*, 157-163.
[135] McCully, M. L.; Chau, T. A.; Luke, P.; Blake, P. G.; Madrenas, J. *Clin Exp Immunol* **2005**, *139*, 513-525.
[136] Lewinsohn, D. M.; Bargatze, R. F.; Butcher, E. C. *J. Immunol.* **1987**, *138*, 4313-4321.

mesoteliais, como: citocinas (interleucina-1β, fator de necrose tumoral (TNF-α), IL-6); quimiocinas (interleucina-8, proteína quimiotática para monócitos (MCP-1) e moléculas de adesão (molécula de adesão intercelular-ICAM-1 e molécula de adesão celular vascular-VCAM-1), além de prostaglandinas e ainda os macrófagos que produzem: IL-1, IL-6, IL-8, proteína quimiotática para monócitos (MCP-1), além de prostaglandinas e leucotrienos.[133,134a,137] Após instaurado o processo inflamatório, os leucócitos recrutados intensificam a inflamação produzindo citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão.

No modelo de peritonite induzida pela carragenina, nós observamos a eficiência deste agente flogístico em induzir uma resposta inflamatória não alérgica, caracterizado principalmente pelo aumento do infiltrado neutrofílico observado em todos os experimentos (figuras 158 a 161). Os resultados foram semelhantes aos encontrados por De Souza & Ferreira[114] em modelo similar, bem como, por Martineau *et al*[138] em modelo de peritonite bacteriana e Mortier *et al*[139] em modelo de peritonite por diálise. De acordo com nossos dados, o influxo de neutrófilos para a cavidade foi reduzido pelo tratamento com as ciclopentenonas **2**, **3**, **4**, e **5** (figuras 158B a 161B), que exerceram sua função, provavelmente por inibirem, mesmo de forma parcial, a enzima ciclooxigenase-2 (COX-2), isoforma induzível da ciclooxigenase, presente apenas no sítio da inflamação; fato respaldado pelos estudos de Topley[140] que indicaram, sob condições inflamatórias semelhantes, um aumento significante na expressão gênica para a enzima COX-2. Observam-se nestas mesmas figuras que as quantidades de neutrófilos nos grupos PBS estão todas próximas a zero, ou seja, denotando que os animais estão livres de

[137] Topley, N.; Mackenzie, R K.; Williams, J. D. *Immunology* **1996**, *195*, 563-573.
[138] Martineau, L.; Shek, P. N. *Crit Care Méd* **2000**, *28*, 788-794.
[139] Mortier, S.; Faict, D.; Gericke, M.; Lameire, N.; De Vriese, A. *Nephron Exp Nephrol* **2005**, *101*, 139-145.
[140] Topley, N.; Petersen, M. M.; Mackenzie, R K. *Kidney Int* **1994**, *46*, 900-909.

contaminação, desta forma o exacerbado influxo de leucócitos, dentre eles o neutrófilo (figura 159B), deve-se, possivelmente, a uma variação do lote de animais.

Há também um aumento significativo do número de eosinófilos para o grupo carragenina, recrutados em resposta aos mediadores pró-inflamatórios, já que os eosinófilos também se constituem leucócitos, ou seja, células de defesa do organismo, mas de ínfima importância neste tipo de inflamação (seria observado elevado número de tais células e relevância acentuada num quadro de resposta alérgica, mas não com o uso de carragenina, pois essa não apresenta propriedades de um alérgeno). Além disso, o aumento deste tipo celular foi reduzido pelos pré-tratamentos com as ciclopetenonas e celecoxibe (figuras 158C a 161C), mas não pela indometacina (figuras 158C e 161C), fato inusitado e de difícil compreensão. A população de células mononucleares, que inclui os linfócitos e monócitos, mostrou-se oscilante entre os grupos pré-tratados e o grupo controle negativo mas, em quantidade aparentemente maior àquela do grupo carragenina. Essa suposta quantidade diminuta de mononucleares observada nos grupos carragenina (figuras 158D a 161D), deve-se à exacerbada infiltração neutrofílica verificada em quadros de inflamação aguda. Observando as figuras de 158 a 161 (painéis A e B), notou-se semelhança entre a ação anti-inflamatória de todas as ciclopentenonas e aquelas dos anti-inflamatórios de referência indometacina, inibidor não seletivo das COX, e celecoxibe, inibidor seletivo da COX-2, comprovando a eficácia das moléculas sintéticas neste modelo experimental da resposta inflamatória.

A agregação plaquetária é definida como um fenômeno no qual uma plaqueta se liga à outra plaqueta, sendo necessária para uma hemostasia efetiva, seguido da adesão inicial da plaqueta ao sítio vascular danificado.

Após a adesão, as plaquetas são ativadas por agonistas como colágeno e adenosina difosfato (ADP), presentes no sítio vascular danificado. Estes agonistas ativam receptores específicos na superfície plaquetária. A ocupação desses receptores leva a uma série de eventos sinalizadores culminando com o aumento de cálcio citoplasmático, segundo Broos.[141] O colágeno é considerado um dos componentes mais potentes na inicialização da adesão e agregação plaquetária e atua sobre seu receptor, o complexo glicoproteico VI-FcRγ (GPVI-FcRγ), como reportado por Watson.[142] A ocupação do complexo GPVI-FcRγ pelo colágeno desencadeia a cascata de sinalização via tirosina quinase (Tyr-Kinase) pela fosforilação de resíduos de tirosina no domínio SH2, que resulta na ativação da fosfolipase Cγ2 (PLCγ2). A PLCγ2 hidrolisa o fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP_2) em inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3) e 1,2-diacilglicerol (DAG). O segundo mensageiro IP_3 liga-se ao receptor IP_3R no sistema tubular denso (DTS) plaquetário. O IP_3R, canal de cátion Ca^{2+}-seletivo, permite o efluxo de Ca^{2+} do DTS, resultando no aumento citosólico de Ca^{2+}, segundo Broos.[141] Concomitantemente, o DAG na presença de Ca^{2+}, ligado a fosfatidilserina, atua como receptor interno para a serina/treonina proteína quinase C (ser-thr PCK), e como consequência é translocada do citosol para a membrana plasmática tornando-se ativada. O aumento dos níveis citosólicos de Ca^{2+} e DAG levam a ativação de eventos sinalizadores, incluindo a ativação da fosfolipase A_2 (PLA_2), mudança da forma plaquetária (*shape change*), secreção granular e agregação plaquetária. A PLA_2 cliva moléculas de ácidos graxos na posição sn-2 de fosfolipídeos, liberando o ácido eicosatetraenóico (ácido araquidônico). O ácido araquidônico (AA) consiste em um substrato para determinadas enzimas, incluindo a ciclooxigenase

[141] Broos, K.; Feys, H. B.; De Meyer, S.F.; Vanhoorelbeke, K.; Deckmyn, H. *Blood Rev.* **2011**; *25(4)*,155-67.
[142] Watson, S. P.; Herbert, J. M.; Pollitt, A. Y. *J Thromb Haemost.* **2010**; *8*, 1456–67.

(COX), e especificamente presente em plaquetas a COX-1. A COX-1 converte o ácido araquidônico em endoperóxidos cíclicos altamente instáveis, o PGG_2 e PGH_2. Nas plaquetas, o PGH_2 é rapidamente convertido pela tromboxano sintetase em tromboxano A_2 (TXA_2), um potente ativador plaquetário, com meia-vida de aproximadamente 30 segundos, sendo posteriormente degradado a TXB_2, produto inerte. O TXA_2, produzido e liberado pela plaqueta ativada, atua sobre receptores do tipo TP, amplificando a ativação plaquetária, atuando de forma autócrina e parácrina, potencializando a agregação, de acordo com Broos.[141]

O aumento dos níveis de Ca^{2+} citoplasmáticos, como resultado da ativação induzida pelo colágeno, também resulta na ativação da via PKC/PI3K e do complexo Ca^{2+}DAG-fator I de troca de nucleotídeo guanina (CalDAG-GEFI), que por sua vez, ativa a Rap1b, molécula reguladora da ativação de integrina e função plaquetária, de acordo com Bergmeier[143] e Crittenden[144]. A formação do "complexo de ativação" Rap1, RIAM (molécula adaptadora de interação) e talina, promovem a reorganização do citoesqueleto plaquetário, acompanhado por mudanças conformacionais na molécula da integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$, levando a integrina da sua forma inativa (curva) para sua forma ativada (estendida), permitindo sua ligação com o fibrinogênio, como reportado por Luo[145] e Takagi[146]. Devido à natureza simétrica do fibrinogênio, as plaquetas são ligadas e os agregados plaquetários são formados, segundo Broos.[141]

De acordo com essas informações, uma estimativa para a especificidade da COX-2 é definida do ponto de vista clínico: espera-se que os inibidores de

[143] Bergmeier, W.; Goerge, T.; Wang, H. W.; Crittenden, J. R.; Baldwin, A. C.; Cifuni, S. M.; *et al. J Clin Invest* **2007**; *117*, 1699–1707.
[144] Crittenden, J. R.; Bergmeier, W.; Zhang, Y.; Piffath, C. L.; Liang, Y.; Wagner, D. D.; *et al. Nat. Med.* **2004**; *10*, 982–6.
[145] Luo, B. H.; Carman, C. V.; Springer, T. A. *Annu Rev Immunol.* **2007**; *25*, 619–47.
[146] Takagi, J.; Petre, B. M.; Walz, T.; Springer, T. A. *Cell.* **2002**; *110*, 599–611.

COX-2 exerçam efeitos anti-inflamatórios e analgésicos sem causar danos na mucosa gástrica e disfunção plaquetária, em concordância com estudos realizados por Hinz[147]. Por definição, uma substância pode ser considerada um inibidor seletivo de COX-2 se esta não causar inibição, clinicamente significativa, da COX-1, como por exemplo, não suprimir a produção de TXA_2 em plaquetas e a síntese de prostaglandinas gástricas, segundo Hinz.[147]

É sabido que o ensaio de agregação plaquetária fornece indicação direta da habilidade da substância teste em inibir a atividade da COX-1, conferindo especificidade ao ensaio. Sendo assim, realizou-se tal ensaio objetivando, inequivocamente, obter informações sobre o caráter inibitório ou inócuo das drogas teste, ciclopentenonas **2**, **3**, **4** e **5**, na agregação plaquetária induzida pelos agentes agregantes ácido araquidônico e colágeno em PRP, usando como controle negativo a indometacina.

Quando do ensaio de agregação utilizando o PRP em conjunto com o veículo, observou-se de forma inequívoca a agregação plaquetária – em torno de 80% para os estímulos agregantes - visto que os agentes empregados, ácido araquidônico e colágeno, são potentes indutores da agregação, tanto pela via de ativação da COX-1 quanto pela via fosfatidilinositol/diacilglicerol, obtendo-se, assim os respectivos controles positivos (figuras 162 a 165 - paineis A e B). Observamos que houve inibição da agregação quando utilizamos indometacina na concentração de 10 μM (figuras de 162 a 165 - paineis A e B), provavelmente porque ocorreu a inibição da COX-1, que levou à supressão da via do ácido araquidônico. Diante da agregação plaquetária residual, cerca de 20% quando usamos o colágeno como agente agregante, na presença de indometacina como estimulo inibitório, pudemos inferir que não

[147] Hinz, B.; Dorn, C. P.; Shen, T. Y.; Brune, K. **Anti-inflammatory—Antirheumatic Drugs**, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* Sixth Edition, **2000** Electronic Release, Wiley-VCH, Weinheim.

só a via do fosfatidilinositol/diacilglicerol estava ativada promovendo a parcela de agregação observada mas, que a principal via de agregação plaquetária foi aquela oriunda da atuação da COX-1. Nenhuma alteração foi observada na porcentagem de agregação plaquetária para as ciclopentenonas (10 - 30 μM), quando comparadas ao perfil do veículo ou do PRP tratado com celecoxibe (figuras de 162 a 165, painéis A e B). Sendo assim, sugerimos que estas drogas-teste podem vir a ser inibidoras parciais da COX-2, cujo mecanismo está ausente em plaquetas. Além disso, podemos afirmar convictos, diante da especificidade do ensaio de agregação plaquetária para COX-1, quando do uso do agente agregante ácido araquidônico, que a ciclopentenonas em estudo não exerceram sua atividade anti-inflamatória sobre esta enzima.

Um ensaio, no qual se empregou as ciclopentenonas, indomentacina e celecoxibe com o objetivo de determinar a inibição seletiva da COX-2, de forma indireta, foi detectar a redução da produção de PGE_2 em sobrenadante de cultura de macrófagos peritoneais, estimulados com LPS (figura 166). Neste protocolo, o estímulo de macrófagos isolados da cavidade peritoneal pelo agente LPS elevou a produção de PGE_2 no grupo denominado LPS quando comparado com o grupo controle (DMSO). É importante esclarecer que o grupo controle apresentou cerca de 200 pg/mL de PGE_2 provavelmente devido à etapa inicial do protocolo de obtenção de macrófagos através do estímulo com tioglicolato 4%, bem descrito e utilizado segundo a literatura. As ciclopentenonas **2**, **3** e **5** reduziram, significativamente, os níveis de PGE_2, sendo que as duas últimas mostraram maior caráter inibitório que a primeira. A ciclopentenona **4** mostrou uma tendência à inibição, embora os testes estatísticos não terem encontrado uma diferença significante quando comparado ao grupo LPS. Quanto à diferença entre as ciclopentenonas **3** e **4**,

pela substituição em posição *para*-fenil do grupamento SO_2CH_3 pelo SO_2NH_2 com redução da eficácia e, portanto, redução da seletividade para COX-2, algo semelhante já havia sido relatado.[148] Esse teste possibilitou avaliar o quanto a droga anti-inflamatória de referência e seletiva para COX-2, celecoxibe, é eficaz em relação à indometacina, droga anti-inflamatória de referência e não seletiva para COX, pois enquanto esta última reduziu os níveis da prostaglandina E_2 ao nível do grupo controle, ou nível basal, como o fizeram as ciclopentenonas **3** e **5**, o celecoxibe reduziu a concentração de PGE_2 a um patamar aproximadamente 80% abaixo daquele do grupo controle. Essa seletividade para inibição da COX-2 se deveu não somente a fatores estruturais e eletrônicos, comum a cada classe de inibidores como: a dos ácidos fenilpropiônicos, a dos metanosulfonanilidas, a dos diaril-heterocíclicos com anéis centrais de 5 ou 6 membros[149] mas, principalmente ao fator cinético, que pertence a cada inibidor em particular.[150] O parâmetro que determina a inibição da COX-2, pelo celecoxibe, ser seletiva é a constituição de uma ligação tempo-dependente, ou lenta, e de alta afinidade, não obstante ser reversível, o que caracteriza a interação celecoxibe/COX-2 como uma ligação funcionalmente irreversível. Isso se baseia na forte ligação entre o par enzima/inibidor que torna o passo inverso, ou seja, a dissociação do complexo binário estável formado ser o determinante da potência e seletividade da inibição da COX.[150] Não podemos afirmar, mas apenas expecular, pelos resultados obtidos com ensaio, para se determinar a habilidade das ciclopentenonas-teste em inibir seletivamente a COX-2, que as ciclopentenonas **2**, **3** e **5** exerceram suas inibições sobre a COX-2 seguindo um

[148] Rao, P. N. P.; Knaus, E. E. *J Pharm Pharmaceut Sci* **2008**, *11*, 81s-110s.
[149] a) Garavito, R. M.; Mulichak, A. M. Annu. Ver. Biophys. Biomol. Struc. **2003**, *32*, 183-206. b) Zarghi, A.; Arfaei, S. Iranian Journal of Pharmaceutical Research **2011**, *10*, 655-683.
[150] Blobaum, A. L.; Marnett, L. J. Journal of Medicinal Chemistry **2007**, *50*, 1425-1441.

comportamento cinético semelhante ao da indometacina[7] ou da molécula **1a**, em estudos cinéticos detalhados realizados por Black e colaboradores,[21a] qual seja, uma inibição competitiva onde acontece uma ligação rápida do inibidor à enzima, com a formação de um complexo que torna-se de maneira imediata, lento ou tempo-dependente, o par ligado enzima/inibidor. Este complexo, enzima/inibidor, mostraria certa estabilidade onde a taxa de dissociação seria muito mais rápida do que aquela do complexo celecoxibe/enzima, funcionalmente irreversível, denotando, por sua vez menor seletividade, ou seletividade parcial, como esperado também para ciclopentenonas, em relação ao celecoxibe.

Em relação aos parâmetros estruturais das ciclopentenonas, anteriormente mencionados, há trabalhos[151] extensivos correlacionando estrutura-atividade demonstrando que a presença do grupamento SO_2CH_3 ou do grupamento SO_2NH_2 em posição *para* no anel fenil presente, principalmente, em inibidores tricíclicos, com anel central carbo- ou heterocíclico, propiciaria seletividade contra a COX-2 mas, que nenhum outro substituinte seria tolerado, pois bem, a substituição de tais grupamentos, nas ciclopentenonas **3** e **4**, pelo substituinte flúor, originando a ciclopentenona **2**, foi bem aceito demonstrando uma menor mas, significativa, redução da concentração de PGE_2 em relação ao grupo LPS quando comparada à ciclopentenona **3** e eficácia extremamente superior à ciclopentenona **4**, que como supracitado apenas demonstrou tendência inibitória, sendo assim, uma seletividade pronunciada seria atribuída à ciclopentenona **2**. Ainda no que se

[151] a) Leblanc, Y.; Gauthier, J. Y.; Ethier, D.; Guay, J. Mancini, J. A.; Riendeau, D.; Tagari, P.; Vickers, P. J.; Wong, E.; Prasit, P. Bioorg. Med. Chem. Lett. **1995**, *5*, 2123-2128. b) Bertenshaw, S.R.; Talley, J. J.; Rogier, D. J.; Graneto, M. J.; Rogers, R. S.; Kramer, S. W.; Penning, T. D.; Koboldt, C. M.; Veenhuizen, A. W. Bioorg. Med. Chem. Lett. **1995**, *5*, 2919-2922.

refere à estrutura há trabalhos[152] baseados em análises, também, de estrutura-atividade que afirmaram claramente que os fatores fundamentais responsáveis para uma inibição potente e seletiva da COX-2 incluiriam a presença de dois anéis aromáticos em posições adjacentes a um esqueleto carbônico central, preferencialmente, carbo- ou heterocíclico mas, tal exigência não se confirmou visto que um espaçador, grupo metileno, em posição β-carbonila no ciclo central, foi acrescentado às estruturas de todas as ciclopentenonas, que mesmo assim, com excessão da ciclopentenona **4**, apresentaram inibição seletiva parcial da COX-2.

Fato inusitado e surpreendente foi a sobrepujante atividade anti-inflamatória da ciclopentenona **2** que, possuindo um espaçador metileno, em posição β-carbonila no ciclo central, além de um átomo de flúor como substituinte *para* no anel benzênico, ou seja, contendo características diferentes das consideradas padrão para exercer intensa atividade anti-inflamatória, reduziu de forma extremamente eficaz o edema de pata, em relação às demais ciclopentenonas e até mesmo ao celecoxibe.

14. Conclusões biológicas

O papel anti-inflamatório das ciclopentenonas foi comprovado pelo teste realizado, *in vivo*, no modelo de inflamação não alérgico – edema de pata – onde a ciclopentenona **2** mostrou eficácia semelhante ao celecoxibe mesmo na dose de 1 mg/Kg e superior aos anti-inflamatórios de referência, indometacina e celecoxibe, e demais ciclopentenonas na dose de 5 mg/Kg.

[152] a) Marett, L. J.; Kalgutkar, A. S. In *COX-2 inhibitors*; Birkhauser-Verlag: Boston, MA, **2004**; pp15-40. b) Dannhardt, G.; Laufer, S. *Current Medicinal Chemistry* **2000**, *7*, 1101-1112.

O papel anti-inflamatório das ciclopentenonas foi comprovado pelo teste realizado, *in vivo*, no modelo de inflamação não alérgico – peritonite – onde as mesmas se mostraram tão eficazes quanto aos anti-inflamatórios de referência, indometacina e celecoxibe.

Os ensaios de agregação plaquetária realizados, *in vitro*, utilizando componente do sangue humano, dada sua especificidade, excluiram a possibilidade de ação anti-inflamatória das ciclopentenonas serem exercidas sobre a COX-1.

15. Conclusões

Os resultados sugerem que as ciclopentenonas **2**, **3** e **5** exercem uma inibição, sobre a COX-2, competitiva e com o fator tempo-dependência, ou lentidão de dissociação da ligação inibidor/enzima, moderado, caracterizando, destarte, uma seletividade parcial em relação ao celecoxibe, cuja inibição é competitiva e funcionalmente irreversível.

Os parâmetros estruturais modificados que foram: acréscimo do espaçador, grupamento metilênico, entre o carbono β-carbonílico e um substituinte *para*-flúor-fenil, ao invés dos grupamentos SO_2CH_3 ou SO_2NH_2 em posição *para*, provaram que as exigências estabelecidas para inibição seletiva da COX-2, anteriormente citadas, não seriam integralmente rígidas.

Em relação aos estudos biológicos realizados, observamos que o mecanismo pelo qual as ciclopentenonas exerceram suas ações anti-inflamátorias, tão proeminentemente observadas, nos experimentos *in vivo*, poderiam ser complementares ou mesmo diferentes daqueles da inibição seletiva da enzima ciclooxigenase tipo 2. Fato observado, principalmente, para a ciclopentenona **2**, devido esta inibir de forma eficiente o edema de pata e

inibir fracamente a produção de PGE_2, credenciando essa a estudos estruturais, cinéticos e mecanísticos mais detalhados.

16. Anexos

16.1. Aprovação pelo comitê de ética para experimentação *in vivo*

UNICAMP

CEEA/Unicamp

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA/Unicamp

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº **1876-1**, sobre **"Síntese de potenciais inibidores seletivos de COX-2"**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Fernando Antonio Santos Coelho / Luís Gustavo de Souza Filho**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEA/Unicamp em **1°. de junho de 2009**.

C E R T I F I C A T E

We certify that the protocol nº **1876-1**, entitled **"Synthesis of potential selective inhibitors of COX-2"**, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on **June 1, 2009**.

Campinas, 1°. de junho de 2009.

Prof. Dr. Stephen Hyslop
Presidente em exercício

Fátima Alonso
Secretária Executiva

16.2. Aprovação pelo comitê de ética para experimentação *in vivo*

UNICAMP

CEEA/Unicamp

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA/Unicamp

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº **1877-1**, sobre **"Síntese de potenciais inibidores seletivos de COX-2 (modelo de inflamação não alérgico)"**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Fernando Antonio Santos Coelho / Luís Gustavo de Souza Filho**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEA/Unicamp em **1º. de junho de 2009**.

C E R T I F I C A T E

We certify that the protocol nº **1877-1**, entitled **"Synthesis of potential selective inhibitors of COX-2 (Non-allergic inflammation model)"** is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on **June 1, 2009**.

Campinas, 08 de junho de 2009.

Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente

Fátima Alonso
Secretária Executiva

16.3. Aprovação pelo comitê de ética para experimentação *in vitro*

FACULDADE DE CIENCIAS MEDICAS - UNICAMP (CAMPUS CAMPINAS)

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SÍNTESE DE POTENCIAIS INIBIDORES SELETIVOS DA COX-2 A PARTIR DE ADUTOS DE MORIT-BAYLIS-HILLMAN.

Pesquisador: Luis Gustavo de Souza filho

Área Temática: Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.

Versão: 2

CAAE: 16277313.2.0000.5404

Instituição Proponente: Instituto de Química

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo ((FAPESP))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 320.984

Data da Relatoria: 20/06/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto que visa a análise dos efeitos de quatro drogas-teste, com potencial de inibição antiinflamatória sobre a enzima ciclooxigenáse tipo 2, denominadas ciclopentenonas 2, 3, 4 e 5 (sintetizadas no laboratório de química orgânica do Instituto de Química - UNICAMP),sobre plaquetas de sangue humano, in vitro, de indivíduos sadios. Os grupos a serem comparados serão: Grupo (1) veículo; Grupo (2) indometacina e estimulado com ácido araquidônico ; Grupo (3) Celecoxibe e estimulados com ácido araquidônico; Grupo (4) Ciclopentenonas (2, 3, 4 e 5) e estimulados com ácido araquidônico; Um outro protocolo com o estímulo colágeno será feito. Todos estes grupos serão avaliados nos seguintes ensaios in vitro: agregação plaquetária com os estímulos agregantes supracitados: ácido araquidônico e colágeno, para verificar a habilidade das drogas teste, Ciclopentenonas (2, 3, 4 e 5), em inibir a agregação plaquetária.

Objetivo da Pesquisa:

Sintetizar as ciclopentenonas 2, 3, 4 e 5, nas quais serão alterados o padrão de substituição e o local onde ela ocorre, ou seja, espaçador CH2- em posição "beta" à carbonila além da substituição do grupamento metila (-CH3) por um grupamento amina (-NH2).

Observar o efeito dessas alterações na propriedade antiinflamatória dessas novas ciclopentenonas, para inibição seletiva da COX-2.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Trata-se de projeto empregará animais de experimentação. Será utilizado sangue humano (indivíduos sadios) para separação de plaquetas e teste de agregação plaquetária in vitro. Deste modo os riscos são mínimos, mas caso haja algum problema, será atendido pelo médico da Instituição, como esclarecido no TCLE.

Não haverá benefícios diretos aos sujeitos participantes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

No estudo (tese de Doutorado) será utilizado o plasma rico em plaquetas, obtido a partir do sangue total humano, coletado de indivíduos sadios e livres de medicação, por punção venosa periférica. Constam no TCLE as seguintes informações: a) O sangue será coletado da veia do braço e o volume será 20 mL ; b) A coleta será realizada por profissional treinado e todo material utilizado será estéril e descartável: c) Os riscos são mínimos, mas caso haja algum problema, será atendido pelo médico da Instituição Proponente (Unicamp).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados: Folha de rosto com assinaturas, Projeto de pesquisa original,projeto gerado pela Plataforma Brasil e TCLE destinado aos sujeitos da pesquisa (voluntários sadios), além de declaração do orientador sobre condução do estudo.

Recomendações:

1.Lembramos que o TCLE deve ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa ou por seu representante legal e uma arquivada pelo pesquisador.

2.Se o TCLE tiver mais de uma página, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas desse documento, apondo suas assinaturas na última página do referido termo.

3.O pesquisador deverá desenvolver o projeto conforme delineado no protocolo de pesquisa, elaborar e apresentar os relatórios do estudo (parcial e final), bem como encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Esta relatoria considera que todas as recomendações foram adicionadas/respondidas de modo adequando, tanto no Projeto quanto no TCLE, garantindo aos sujeitos os princípios de voluntariedade de participação na pesquisa, informação sobre potenciais riscos e benefícios resultantes do estudo, garantia do sigilo das informações e esclarecimento sobre o estudo, a qualquer momento.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Trata-se de estudo em fase pré-clínica, com emprego de plasma humano para ensaios in vitro, apenas. Este CEP considerou que não há necessidade de enviar projeto à apreciação da CONEP.

CAMPINAS, 01 de Julho de 2013

Assinador por:
Fátima Aparecida Bottcher Luiz
(Coordenador)