



Universidade Estadual de Campinas  
Instituto de Química  
Departamento de Química Orgânica



Dissertação de Mestrado

***“Síntese e Avaliação Biológica de Derivados  
da Goniotalamina”***

**Vanessa Caixeta Pereira**

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli

Campinas, 2011.

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE  
QUÍMICA DA UNICAMP**

P414s      Pereira, Vanessa Caixeta.  
             Síntese e avaliação biológica de derivados da  
             goniotalamina / Vanessa Caixeta Pereira. -- Campinas,  
             SP: [s.n], 2011.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli.

Mestrado - Universidade Estadual de Campinas,  
Instituto de Química.

1. Goniotalamina. 2. Atividade antiproliferativa .  
3. Derivados nitrogenados. 4. Kavalactona. I. Pilli,  
Ronaldo Aloise. II. Universidade Estadual de Campinas.  
Instituto de Química. III. Título.

**Título em inglês:** Synthesis and biological activity of goniotalamin derivatives

**Palavras-chaves em inglês:** Goniotalamin, Antiproliferative assay, Nitrogen derivative, Kavalactone

**Área de concentração:** Química Orgânica

**Titulação:** Mestre em Química na área de Química Orgânica

**Banca examinadora:** Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli (orientador), Carlos Alberto Montanari (IQSC-USP), Wanda Pereira de Almeida (IQ-UNICAMP),

**Data de defesa:** 12 /08/2011



**“– Os homens esquecerem essa verdade,  
disse a raposa. Mas tu não a deves  
esquecer. Tu te tornas eternamente  
responsável por aquilo que cativas. Tu és  
responsável pela rosa...”**

**Antoine de Saint-Exupéry**

**“– As pessoas têm estrelas que não são as  
mesmas. Para uns, que viajam, as estrelas são  
guias. Para outros, elas não passam de  
pequenas luzes. (...) Mas todas essas estrelas  
se calam. Tu, porém, terás estrelas como  
ninguém...”**

**Antoine de Saint-Exupéry**



## Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Ele por todas as oportunidades que apareceram no meu caminho.

Agradeço também a minha família pelo apoio, mesmo que distante.

Ao Lu, pela companhia durante todos os momentos, sejam eles felizes ou tristes, seja durante as madrugadas no laboratório ou nos almoços. Meu porto seguro.

Ao meu orientador, Pilli, por me guiar não só pelos caminhos da ciência, como também pelos caminhos da ética e competência. Muito obrigada por confiar no meu trabalho.

Aos meus amigos, por sempre torcerem para que tudo desse certo, pelas conversas e pelas companhias.

Aos meus amigos do laboratório, seja o pessoal “das antigas” ou o pessoal “de agora”, pela paciência, cumplicidade e companhia. Também pelas piadas, cafés, risadas... Rosi, Gilmar, Rodrigo, Pedro, Lucas, Carol, Bruno, Marjorie, Letícia, Júlio, Vânia e Valquírio, o meu muito obrigado por todo esse tempo juntos. Em especial ao Ilton Fraude, que me adotou e me ajuda até hoje a crescer não apenas profissionalmente. Wal, também muito obrigada por toda a sua ajuda e o seu jeitim... vc é indispensável! Débora, Cicreide, Manolo, Léo, Tiago, Van Fraude, Alexandre e Caio muito, muito obrigada por vocês terem me ajudado seja direta ou indiretamente nesse caminho.

Aos “vizinhos”, pelos cafés, reagentes, horários no RMN... Companhias para almoçar e rir...

Aos meus amigos da Casa das Bonecas, de todas as gerações, por me compreender e me apoiar desde 2004.

Aos funcionários do IQ, em especial ao Bel, Anderson, Paula, Soninha e Márcia, que sempre se disponibilizaram a nos ajudar nas horas mais complicadas.

Ao Prof. Dr. João Ernesto de Carvalho e Débora Vendramini pela colaboração nos testes de atividade antiproliferativa e pela paciência em explicar os resultados.

Aos membros da banca, pelos comentários e sugestões.

Ao Instituto de Química, pela infra-estrutura para a realização deste trabalho.

À FAPESP, pela bolsa concedida, e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

À você que tiver paciência e disposição para ler esse trabalho.

# Vanessa Caixeta Pereira

## Formação Acadêmica

### Mestrado em Química

Ago/2009 – Ago/2011

*Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP*

Mestrado em Química Orgânica.

Título da Dissertação: Síntese e Avaliação Biológica de Derivados da Goniotalamina.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli.

Apoio financeiro: FAPESP, Processo número: 2009/04627-2

### Bacharelado em Química

Mar/2004 – Jun/2009

*Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP*

## Experiência Profissional

### Estagiária

Ago/2007 - Jul/2008

*Rhodia - Paulínia – SP*

Centro de Pesquisas de Paulínia, Departamento de Solventes.

## Trabalhos em eventos

**1.** PEREIRA, V. C.; DE CASTRO, I. B. D.; PILLI, R. A. “*Asymmetric and Catalytic Synthesis of (R)-Noradrenaline*”, 12<sup>th</sup> Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2007, Itapema-SC, Brasil.

**2.** CAIXETA, V.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; PILLI, R. A.; CARVALHO, J. E. “*Synthesis and Antiproliferative Evaluation of Novel Kavalactone Derivatives*”, 21<sup>st</sup> International Symposium on Medicinal Chemistry, 2010, Bruxelas, Bélgica.

**3.** CAIXETA, V.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; PILLI, R. A.; CARVALHO, J. E. “*Synthesis of Lactam Derivatives of Goniotalamin*”, 14<sup>th</sup> Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2011, Brasília-DF, Brasil.

## Atividades Extras

*Programa de Estágio Didático - PED* Ago/2010 - Dez/2010  
Instituto de Química – UNICAMP  
Disciplinas: QO551 – Bioquímica I  
Supervisão: Prof. Dr. Carlos Henrique Inacio Ramos

*Programa de Auxiliar Didático - PAD* Mar/2009 - Jul/2009  
Instituto de Química – UNICAMP  
Disciplinas: QG100 – Química Geral  
Supervisão: Prof. Dr. Adalberto Bono Maurício Sacchi Bassi

*Intercâmbio Acadêmico* Ago/2008 - Dez/2008  
UNAM - Universidade Nacional Autônoma do México  
Campus Cidade do México

*Iniciação Científica* Jan/2007 - Jul/2007  
Título do Projeto: Síntese Catalítica e Assimétrica da (R)-Noradrenalina.  
Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli  
Apoio financeiro: FAPESP, Processo número 2006/06575-1

## Resumo

A goniotalamina (**9**), produto natural isolado de diversas plantas do gênero *Goniothalamus*, vem se destacando por sua potência em teste de triagem *in vitro* contra linhagens de células tumorais, bem como pelos resultados positivos em modelos tumorais *in vivo*. Isso faz com que a goniotalamina sirva como modelo para a síntese e avaliação de novos compostos.

Com base nisso, propomos sintetizar e avaliar a atividade citotóxica de duas classes de derivados de **9**. A primeira classe são os derivados com substituintes oxigenados na posição 4 da 5,6-di-hidropiran-2-ona. Os derivados alquil e acil (**17,24-28**) foram obtidos a partir da kavalactona (**23**) através de reações clássicas de alquilação e acilação em rendimentos que variaram de baixo a excelente. Por sua vez, a kavalactona (**23**) foi obtida através de uma reação de aldol seguida de lactonização *in situ* entre o cinamaldeído (**10**) e acetoacetato de etila (**29**) em 15% de rendimento. O ensaio de atividade antiproliferativa *in vitro* mostrou que nenhum dos derivados avaliados foi mais citotóxico que a goniotalamina (**9**) e que nenhum dos compostos apresentou seletividade para as linhagens avaliadas.

Outra classe de compostos avaliada foram os derivados nitrogenados da goniotalamina (**9**) que apresentam a substituição do anel lactônico por um anel lactâmico. Os derivados lactâmicos **46** a **51** foram sintetizados em 3 etapas e rendimentos globais que variaram de 18 a 60%. A primeira etapa consistiu na formação da imina a partir do respectivo aldeído (**10,52-56**) seguida de alilação com brometo de alilmagnésio para a formação da amina primária **57**. Esta foi convertida em uma amida **58** através da reação com cloreto de acrilóila ou crotonóila. E por fim, a lactama foi obtida após o tratamento da amida **58** com 6 mol% do catalisador de Grubbs de segunda geração. A avaliação da atividade antiproliferativa *in vitro* desses derivados mostrou que nenhum deles apresentou citotoxicidade maior que **9**. Entretanto, o derivado **49** apresentou seletividade para duas linhagens de células tumorais PC-03 (próstata) e K562 (leucemia).



## Abstract

Goniothalamine (**9**), a natural product isolated from several plants of the *Goniothalamus* genus, has been highlighted in the literature for presenting good potency against human tumor cell lines in *in vitro* assays, as well as good results in *in vivo* models. This makes goniothalamine a promising model for designing new compounds.

Herein, we propose the synthesis and the cytotoxic evaluation of two classes of goniothalamine derivatives. The first class comprises derivatives with substituents at position 4 of the 5,6-dihydropyran-2-one moiety. Alkyl and acyl derivatives (**17,24-28**) were obtained from kavalactone (**23**) after well-known alkylation and acylation reaction in bad to good yields. Kavalactone (**23**) was obtained from cinnamaldehyde (**10**) and ethyl acetoacetate (**29**) via an aldol reaction followed by *in situ* lactonization, in 15% yield. The antiproliferative assay showed that none of these derivatives was more cytotoxic than goniothalamine and none presented selectivity for tumor cell lines.

The second class of compounds presents the substitution of the lactone by a lactam moiety. Lactam derivatives **46 - 51** were synthesized in 3 steps and overall yields ranging from 18 to 60%. The first step was the imine formation from the respective aldehyde (**10,52-56**) followed by allylmagnesium bromide addition to form primary amine **57**. This was reacted with acryloyl or crotonoyl chloride to generate amide **58**. Finally, the desired lactam was obtained by treating amide **58** with 6 mol% of Grubbs' second generation catalyst. The *in vitro* antiproliferative evaluation showed that **9** was more cytotoxic than the derivatives. However, derivative **49** presented selectivity for two tumor cell lines PC-03 (prostate) and K562 (leukemia).



## Sumário

Lista de Figuras .....	xvii
Lista de Tabelas .....	xix
Lista de Esquemas .....	xx
Lista de Espectros .....	xxi
Capítulo 1: Introdução .....	1
Capítulo 2: Síntese e Atividade Biológica de Derivados da Kavaína .....	13
2.1. Considerações Gerais .....	15
2.2. Objetivos .....	17
2.3. Resultados e Discussão .....	18
2.3.1. Síntese .....	18
2.3.1. Atividade Antiproliferativa .....	25
2.4. Conclusões .....	31
Capítulo 3: Síntese e Atividade Biológica da Azagoniotalamina e seus Derivados .....	33
3.1. Considerações Gerais .....	35
3.2. Objetivos .....	38
3.3. Resultados e Discussão .....	39
3.3.1. Síntese .....	39
3.3.1. Atividade Antiproliferativa .....	46
Capítulo 4: Procedimento Experimental .....	57
4.1. Reagentes e solventes .....	59
4.2. Métodos cromatográficos .....	59
4.3. Métodos espectroscópicos .....	59
4.4. Preparação dos compostos .....	60
4.4.1. Síntese e Atividade Biológica de Derivados da Kavaína .....	60
4.4.1.1. Preparação da di-hidropiranona ( <b>23</b> ) .....	60
4.4.1.2. Preparação da kavaína ( <b>17</b> ) .....	62
4.4.1.3. Preparação da 4-butoxi-6-estiril-5,6-di-hidropiran-2-ona ( <b>24</b> ) .....	63
4.4.1.4. Preparação da 4-octiloxi-6-estiril-5,6-di-hidropiran-2-ona ( <b>25</b> ) .....	64

4.4.1.5. Preparação do acetato de 6-oxo-2-estiril-3,6-di-hidropiran-4-ila ( <b>26</b> ) .....	64
4.4.1.6. Preparação do 3-metilbutanoato de 6-oxo-2-estiril-3,6-di-hidropiran-4-ila ( <b>27</b> ).....	65
4.4.1.7. Preparação do octanoato de 6-oxo-2-estiril-3,6-di-hidropiran-4-ila ( <b>28</b> ) .....	66
4.4.2. Síntese e Atividade Biológica da Azagoniotalamina e seus Derivados.	67
4.4.2.1. Procedimento geral para o preparo dos aldeídos homologados.....	67
4.4.2.2. Procedimento geral para o preparo das amidas .....	67
4.4.2.3. Procedimento geral para o preparo das lactamas .....	68
4.4.2.4. Caracterização dos compostos.....	68
4.5. Ensaio de Atividade Antiproliferativa .....	76
Anexos.....	83
A.1. Síntese e Atividade Biológica de Derivados da Kavaína .....	85
A.2. Síntese e Atividade Biológica da Azagoniotalamina e seus Derivados.....	99

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Tipos de câncer mais incidentes estimados para 2010, exceto melanoma, na população brasileira.....	3
<b>Figura 2.</b> Estrutura da Leptomicina B (1).....	4
<b>Figura 3.</b> Estrutura da calistatina A (2).....	5
<b>Figura 4.</b> Estruturas das anguinomicinas A a D.....	6
<b>Figura 5.</b> Estrutura da fostriecina (8).....	6
<b>Figura 6.</b> Estrutura da goniotalamina (9).....	8
<b>Figura 7.</b> Representação dos grupos farmacofóricos de 9 de acordo com Pilli e colaboradores.....	10
<b>Figura 8.</b> Estruturas dos derivados de Çağır e colaboradores e seus respectivos valores de IC <sub>50</sub> comparados com a goniotalamina 9.....	11
<b>Figura 9.</b> Compostos presentes no extrato de kava.....	15
<b>Figura 10.</b> Estruturas da kavalactona (23), kavaína (17) e derivados (24-28).....	17
<b>Figura 11.</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H da di-hidropiranonona 23 em CDCl <sub>3</sub> .....	21
<b>Figura 12.</b> Gráfico concentração-efeito para a kavalactona (23).....	26
<b>Figura 13.</b> Gráfico concentração-efeito para a kavaína (17).....	26
<b>Figura 14.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 24.....	27
<b>Figura 15.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 25.....	27
<b>Figura 16.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 26.....	28
<b>Figura 17.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 27.....	28
<b>Figura 18.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 28.....	29
<b>Figura 19.</b> Estruturas das epotilona A e B (41a e b), paclitaxel (42) e Ixabepilona (43).....	36
<b>Figura 20.</b> Estrutura da brefeldina A (44) e seu análogo lactama 45.....	37
<b>Figura 21.</b> Estruturas da azagoniotalamina (46) e derivados (47-51).....	38
<b>Figura 22.</b> Estruturas dos aldeídos comerciais 59, 55 e do reagente 60.....	40
<b>Figura 23.</b> Estrutura dos catalisadores de Grubbs de primeira e segunda geração.....	44
<b>Figura 24.</b> Gráfico concentração-efeito para a azagoniotalamina 46.....	47
<b>Figura 25.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 47.....	47
<b>Figura 26.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 48.....	48
<b>Figura 27.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 49.....	48
<b>Figura 28.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 50.....	49
<b>Figura 29.</b> Gráfico concentração-efeito para o derivado 51.....	49
<b>Figura 30.</b> Goniotalamina (9) e derivado 62 e seus respectivos valores de IC <sub>50</sub> para linhagem tumoral de rim 786-0.....	52
<b>Figura 31.</b> Confômeros de mínimo de energia dos compostos 9 (A) e 46 (B).....	53

**Figura 32.** Mapas de LUMO dos compostos goniotalamina (**A**) e aza-goniotalamina (**B**) obtidos por DFT/B3LYP/6-31G\* utilizando o programa Spartan'10. .... 54

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Valores de TGI ( $\mu\text{M}$ ) para a kavalactona ( <b>23</b> ), kavaína ( <b>17</b> ) e derivados <b>24 a 28</b> .....	30
<b>Tabela 2.</b> Condições experimentais e rendimentos para a síntese dos derivados <b>46-51</b> . ....	45
<b>Tabela 3.</b> Valores de TGI, em $\mu\text{M}$ , para a azagoniotalamina <b>46</b> e derivados <b>47</b> ao <b>51</b> .....	50
<b>Tabela 4.</b> Linhagens celulares utilizadas nos ensaios antiproliferativo. ....	79

## Lista de Esquemas

<b>Esquema 1.</b> Síntese da ( <i>R</i> )-goniotalamina ( <b>9</b> ).....	8
<b>Esquema 2.</b> Reação de aldol seguida de lactonização para a síntese da dihidropirano <b>23</b> .....	18
<b>Esquema 3.</b> Proposta para a formação do diânion e mecanismo da reação de aldol.....	19
<b>Esquema 4.</b> Hidrólise do grupo estér do aduto de aldol. ....	19
<b>Esquema 5.</b> Condições experimentais relatada por Andersh e colaboradores.....	20
<b>Esquema 6.</b> Reação de formação da piranona por Tummatorn e Dudley. ....	20
<b>Esquema 7.</b> Estrutura da kavaína <b>17</b> e derivados <b>24-28</b> avaliados quanto a atividade antiproliferativa.....	23
<b>Esquema 8.</b> Reação de eterificação de Landry e colaboradores.....	23
<b>Esquema 9.</b> Formação do derivado éter <b>24</b> .....	24
<b>Esquema 10.</b> Formação do derivado éter <b>25</b> .....	24
<b>Esquema 11.</b> Preparo dos derivados <b>11-13</b> .....	25
<b>Esquema 12.</b> Rota sintética geral para os derivados <b>46-51</b> da goniotalamina. ....	39
<b>Esquema 13.</b> Reação de homologação de aldeídos não-comerciais. ....	40
<b>Esquema 14.</b> Síntese de amins primárias descrita por Hart e colaboradores. ...	41
<b>Esquema 15.</b> Reação de formação da amida.....	41
<b>Esquema 16.</b> Reação de metátese de fechamento de oleninas.....	42
<b>Esquema 17.</b> Mecanismo geral para a reação de metátese de olefinas para fechamento de anel (RCM).....	43
<b>Esquema 18.</b> Rota sintética para a síntese das lactamas <b>46-51</b> . ....	45

## Lista de Espectros

Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>23</b> .....	87
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>23</b> .....	87
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>17</b> .....	88
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>17</b> .....	88
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>24</b> .....	89
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>24</b> .....	89
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>25</b> .....	90
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>25</b> .....	90
Espectro de DEPT-135 (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>25</b> .....	91
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>26</b> .....	92
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>26</b> .....	92
Espectro de DEPT-135 (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>26</b> .....	93
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>27</b> .....	94
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>27</b> .....	94
Espectro de DEPT-135 (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>27</b> .....	95
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>28</b> .....	96
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>28</b> .....	96
Espectro de DEPT-135 (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>28</b> .....	97
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>53</b> .....	101
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>53</b> .....	101
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>54</b> .....	102
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>54</b> .....	102
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>58a</b> .....	103
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>58a</b> .....	103
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>58b</b> .....	104
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>58b</b> .....	104
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>58e</b> .....	105
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>58e</b> .....	105

Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>58f</b> .....	106
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>58f</b> .....	106
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>46</b> .....	107
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>46</b> .....	107
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>47</b> .....	108
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>47</b> .....	108
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>48</b> .....	109
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>48</b> .....	109
Espectro de $^{19}\text{F}$ -RMN (235MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>48</b> .....	110
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>49</b> .....	111
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>49</b> .....	111
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>50</b> .....	112
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>50</b> .....	112
Espectro de $^1\text{H}$ -RMN (250MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>51</b> .....	113
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN (62,5MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>51</b> .....	113

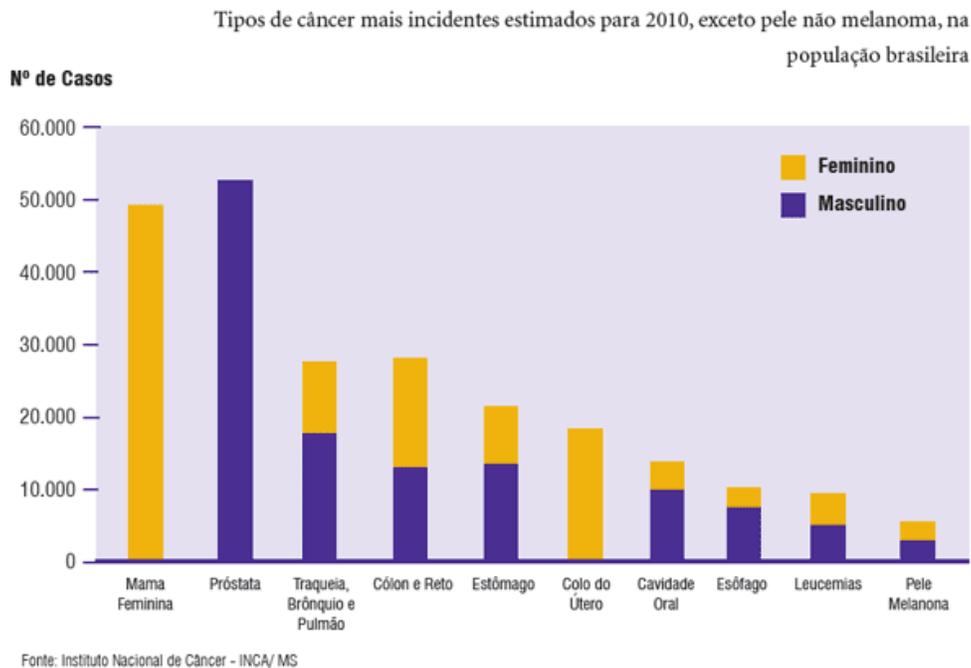
# **Capítulo 1:**

## **Introdução**

---



O câncer corresponde a segunda principal causa de morte na população dos países desenvolvidos, sendo superado apenas pelas doenças do sistema cardiovascular. Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), surgem a cada ano mais de 9 milhões de novos casos e cerca de 7 milhões de pessoas vão a óbito em decorrência do câncer. No ano de 2008, 7,6 milhões de mortes foram atribuídas ao câncer, aproximadamente 13% dentre todos os tipos de mortes. No Brasil, as estimativas para o ano de 2010, válidas também para 2011, de acordo com o Instituto Nacional do Câncer ([www.inca.gov.br](http://www.inca.gov.br)), apontam para 489.270 novos casos. A Figura 1 representa a estimativa da distribuição de casos de câncer na população brasileira.



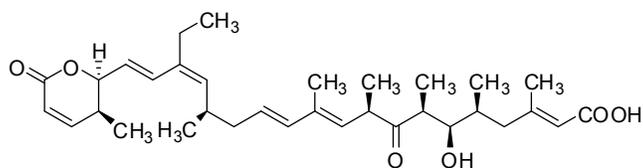
**Figura 1.** Tipos de câncer mais incidentes estimados para 2010, exceto melanoma, na população brasileira.

A célula cancerígena caracteriza-se pela perda de função em consequência da ausência de diferenciação, proliferação incontrolada, invasividade dos tecidos adjacentes e metástase, cuja origem é consequência de alterações genéticas. Estas podem ser produzidas por diversos mecanismos, tais como a inativação de

genes supressores de tumor, ativação de oncogenes, inativação de genes responsáveis pela apoptose e mutações produzidas por agentes químicos, físicos e biológicos.<sup>1</sup>

Lactonas, em especial as 5,6-di-hidropiran-2-onas, são estruturas presentes em diversos produtos naturais, originárias de plantas, animais, fungos ou organismos marinhos.<sup>2</sup> Esse grupo é responsável por uma série de ações, tais como vasodilatador, inibidor de fator de transcrição NF-KB, inibidor de ribonucleotídeo redutase, anti-inflamatório e citotoxicidade.<sup>3</sup> Dessa forma, essa classe de compostos é bastante relatada na literatura e vem sendo intensamente estudada, visando compostos antineoplásicos, uma vez que hoje existem grandes esforços na busca por tratamentos seguros e eficientes contra o câncer.

A leptomicina B (**1**) foi descoberta no início da década de 80 por Hamamoto e colaboradores, em um programa que visava a busca por novos antibióticos em cepas de *Streptomyces*. Durante esses estudos, constatou-se que **1** apresentou boa atividade inibitória contra *Schizosacchoromyces* e *Mucor*.<sup>4</sup>



Leptomicina B

**Figura 2.** Estrutura da Leptomicina B (**1**).

Alguns anos mais tarde, reportou-se que a leptomicina apresentava uma atividade citotóxica para leucemia L 1210 ( $IC_{50} = 0,3 \text{ nM}$ ), além de apresentar atividade *in vivo* em testes com camundongos.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> a) Neckers, L. *J. Biosci.* **2007**, 32, 517; b) Solit, D. B.; Chiosis, G. *Drug Disc. Today* **2008**, 13, 38.

<sup>2</sup> Dickinson, J. M. *Nat. Prod. Rep.* **1993**, 10, 71.

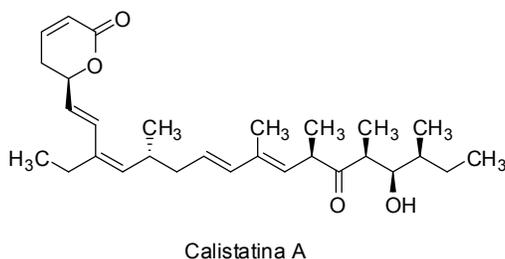
<sup>3</sup> Marco, J. A.; Carda, M.; Murga, J.; Falomir, E. *Tetrahedron* **2007**, 63, 2929.

<sup>4</sup> Hamamoto, T.; Gunji, S.; Tsuji, H.; Beppu, T. *J. Antibiot.* **1983**, 36, 639.

<sup>5</sup> a) Schaumberg, J. P.; Hokanson, G. C.; French, J. C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1450; b) Hurley, T. R.; Bunge, R. H.; Willmer, N. E.; Hokanson, G. C.; French, J. C. *J. Antibiot.* **1986**, 39, 1651.

O modelo para a proposta de mecanismo de ação da leptomicina B envolve uma adição de Michael entre a lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada de **1** e a cisteína 528 da CRM-1. A ligação covalente impede a formação do complexo proteína-proteína que é essencial para o ciclo do transporte nucleocitoplasmático. A sua seletividade e eficácia a tornou alvo de inúmeras publicações. Entretanto, a sua toxicidade a impediu o avanço dos estudos clínicos.<sup>6</sup>

Outra molécula que também foi identificada como potente agente anticâncer é a calistatina A (**2**). Ela foi isolada por Kobayashi e colaboradores de uma esponja marinha *Callyspongia truncata* das ilhas Goto no Japão. Esse composto mostrou-se muito potente em teste de citotoxicidade contra células KB (IC<sub>50</sub> 0,01 ng/mL). Em estudos posteriores, assim como para a leptomicina B, observou-se a inibição do sinal de exportação nuclear (NES) pela ação da calistatina A.<sup>7</sup>



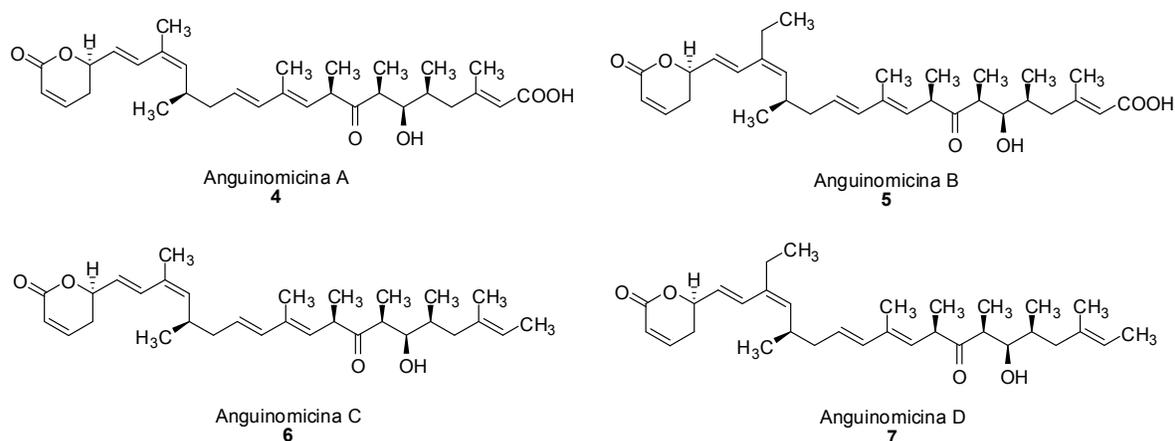
**Figura 3.** Estrutura da calistatina A (**2**).

As anguinomicinas A e B (Figura 4) foram descobertas em um programa de busca por novos antibióticos na década de 80. Esses compostos foram isolados de cepas de *Streptomyces*. Ambos os compostos apresentaram elevada citotoxicidade contra linhagem de leucemia P 388 e também potente atividade em camundongos em testes *in vivo*.<sup>8</sup> Na década seguinte, outros membros dessa família, anguinomicinas C e D, foram descobertos a partir das mesmas cepas.

<sup>6</sup> Bonazzi, S.; Eidam, O.; Güttinger, S.; Wach, J.-Y.; Zemp, I.; Kutay, U.; Gademann, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1432.

<sup>7</sup> a) Kobayashi, M.; Higuchi, K.; Murakami, N.; Tajima, H.; Aoki, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2859; b) Murakami, N.; Wang, W.; Aoki, S.; Kobayashi, M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5533.

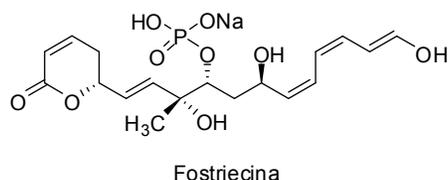
<sup>8</sup> Hayakawa, Y.; Adachi, K.; Komeshima, N. *J. Antibiot.* **1987**, *40*, 1349.



**Figura 4.** Estruturas das anguinomicinas A a D.

Observou-se que esses compostos induziam apoptose em células tumorais pRB-inativadas, enquanto que em células normais apenas causavam parada de crescimento.<sup>9</sup> A seletividade desses compostos, visto a pequena variação estrutural em comparação com a calistatina A e leptomicina B, chamou a atenção para estudos de inibição do transporte nucleocitoplasmático. Gademann e colaboradores observaram que a anguinomicina C e D também inibem o transporte entre o núcleo e o citoplasma em concentrações bem próximas às da leptomicina B.<sup>6</sup>

Outra lactona natural que apresentou atividade antitumoral é a fostriecina (**8**), isolada em 1983 por pesquisadores de uma empresa farmacêutica americana a partir de uma subespécie de *Streptomyces pulveraceus*.<sup>10</sup>



**Figura 5.** Estrutura da fostriecina (**8**).

<sup>9</sup> Hayakawa, Y.; Sohda, K. Y.; Shin-Ya, K.; Hidaka, T.; Seto, H. *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 954.

<sup>10</sup> a) Tunac, J. B.; Graham, B. D.; Dobson, W. E. *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 1595; b) Stampwala, S. S.; Bunge, R. H.; Hurley, T. R.; Willmer, N. E.; Brankiewicz, A. J.; Steinman, C. E.; Smitka, T. A.; French, J. C. *J. Antibiot.* **1983**, *36*, 1601.

A fostriecina apresentou atividade antitumoral *in vitro* contra linhagens de câncer de pulmão, mama, leucemia e ovário. *In vivo*, apresentou atividade contra leucemia (L 1210 e P 388).<sup>11</sup> As atividades *in vitro* e *in vivo* estão diretamente relacionadas com a capacidade de **8** em inibir a serina/treonina fosfatase PP2A com uma seletividade de 30 000 vezes em relação a PP1.<sup>12</sup>

Foram feitos estudos de fase clínica I com a fostriecina, porém estes foram suspensos devido à sua instabilidade. Pesquisas estão sendo feitas a fim de se obter compostos mais estáveis, além de identificar grupos farmacofóricos. Sugawara e colaboradores verificaram a interação entre a lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada com a cisteína 269 de uma subunidade catalítica da PP2A.<sup>13</sup>

Pode-se observar que todas as moléculas citadas anteriormente apresentam certa complexidade estrutural. Embora apresentem o sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado, todas possuem uma grande quantidade de centros estereogênicos e sistemas poliênicos passíveis de degradação, o que faz com que a síntese e a armazenagem para testes em fase clínica sejam inviáveis. Uma das alternativas que a Química Medicinal vem buscando é o emprego de moléculas simples, fáceis de sintetizar, estáveis e que apresentam atividade contra alvos específicos.

Um composto que vem ganhando atenção nesse cenário é a estiril lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada (*R*)-goniotalamina (**9**). O composto é um metabólito secundário de plantas do gênero *Goniothalamus*, primeiramente isolado em 1961 a partir de folhas secas da *Cryptocarya caloneura*.<sup>14</sup> Posteriormente, ela também foi encontrada na *Cryptocarya moschata*<sup>15</sup>, *Bryonopsis laciniosa*<sup>16</sup> e em outras espécies<sup>17</sup>.

---

<sup>11</sup> Lewy, D. S.; Gauss, C. -M.; Soenen, D. R.; Boger, D. L. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 2005.

<sup>12</sup> Cheng, A.; Balczon, R.; Zuo, Z.; Koons, J. S.; Walsh, A. H.; Honkanen, R. E. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 3611.

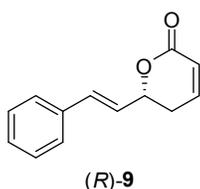
<sup>13</sup> a) Swingle, M. S.; Amable, L.; Lawhorn, B. G.; Buck, S. B.; Burke, C. P.; Ratti, P.; Fischer, K. L.; Boger, D. L.; Honkanen, R. E. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *331*, 45; b) Takeuchi, T.; Takahashi, N.; Ishi, K.; Kusayanagi, T.; Kuramochi, K.; Sugawara, F. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 8113.

<sup>14</sup> Hlubucek, J. R.; Robertson, A. V. *Aust. J. Chem.* **1967**, *20*, 2199.

<sup>15</sup> Cavaleiro, A. J.; Yoshida, M. *Phytochemistry* **2000**, *53*, 811.

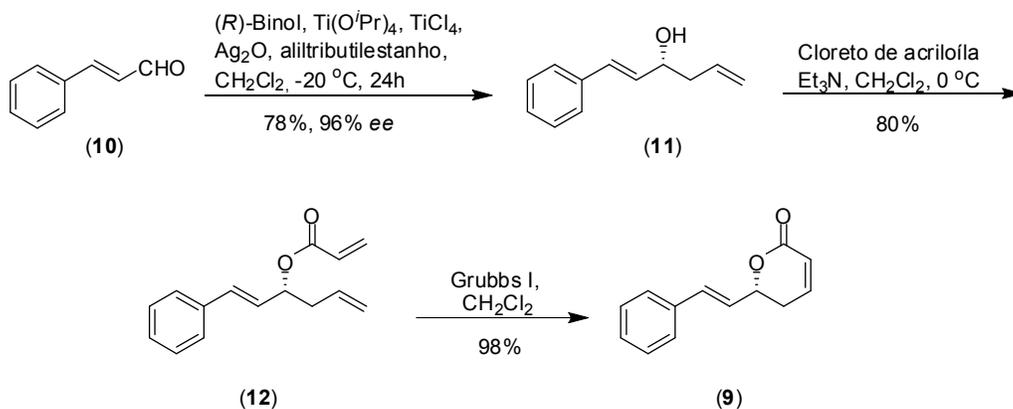
<sup>16</sup> Kabir, K. E.; Khan, A. R.; Mosaddik, M. A. *J. Appl. Ent.* **2003**, *127*, 112.

<sup>17</sup> a) Blázquez, M. A.; Bermejo, A.; Zafra-Polo, M. C.; Cortes, D. *Phytochem. Anal.* **1999**, *10*, 161; b) Ahmad, F. B.; Tukol, W. A.; Omar, S.; Sharif, A. M. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 2430; c) El-Zayat, A. E.; Ferrigni, N. R.; McCloud, T. G.; McKenzie, A. T.; Byrn, S. R.; Cassady, J. M.; Chang, C.; McLaughlin, J. L. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 955; d) Jewers, K.; Blunden, G.; Wetchapinan, S.;



**Figura 6.** Estrutura da goniotalamina (9).

Nosso grupo de pesquisa desenvolveu a síntese total e assimétrica da (*R*)-goniotalamina.<sup>18</sup> A metodologia emprega a alilação assimétrica catalítica desenvolvida por Maruoka e colaboradores<sup>19</sup> e a reação de metátese de olefinas para fechamento de anel<sup>20</sup> como etapas-chave. Esta abordagem de síntese permitiu obter a (*R*)-goniotalamina após 3 etapas, em 73% de rendimento global e 95-98% de excesso enantiomérico a partir do *trans*-cinamaldeído (Esquema 1). Este composto também foi sintetizado em sua forma racêmica por meio de alilação usando-se brometo de alilmagnésio.



**Esquema 1.** Síntese da (*R*)-goniotalamina (9).

Dougan, J.; Manchada, A. H.; Davis, J. B.; Kyi, A. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 2025; e) Goh, S. H.; Ee, G. C. L.; Chuah, C. H.; Wei, C. *Aust. J. Chem.* **1995**, *48*, 199.

<sup>18</sup> de Fátima, A.; Pilli, R. A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8721.

<sup>19</sup> a) Hanawa, H.; Hashimoto, T.; Maruoka, R. D.; Zhang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1708; b) Londershausen, M.; Leicht, W.; Lieb, F.; Moeschler, H.; Weiss, H. *Pest. Sci.* **1991**, *33*, 427.

<sup>20</sup> Grubbs, R. H.; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413.

Dentre as principais atividades biológicas da goniotalamina, podemos citar antiproliferativa<sup>21</sup>, fungicida<sup>22</sup>, tripanocida<sup>23</sup>, antimicrobiana<sup>24</sup>, inseticida<sup>25</sup> e larvicida<sup>26</sup>. O enantiômero natural apresentou atividade antiproliferativa frente uma série de linhagens tumorais, tais como cervical (HeLa), rim (786-0), leucemia (HL-60, Jurkat e CEM-SS), dentre outras. O enantiômero não-natural também apresentou atividade antiproliferativa frente à linhagem de rim (786-0) e frente ovário resistente a adriamicina (NCI-ADR/RES).<sup>21a,27</sup> Estudos apontam que **9** pode atuar na atividade apoptótica de células tumorais por diversos mecanismos, dentre eles aumento da expressão das caspases 3, 7 e 9, aumento da expressão da proteína pró-apoptótica Bax, inibição da expressão e atividade da NO sintase (NOS), além da inibição do transporte núcleo-citoplasma mediado pelo CRM-1.<sup>21a,28</sup>

Pilli e colaboradores<sup>27</sup> identificaram, em 2006, os grupos farmacofóricos da goniotalamina para a citotoxicidade contra linhagem tumoral de rim (768-0). A lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada apresenta-se essencial para a atividade, uma vez que atua como um aceptor de Michael. Nesse mesmo trabalho, a configuração S também é apresentada como importante. Também sugere-se que a ligação dupla atue como um espaçador, aspecto crítico para a atividade, assim como o anel aromático como uma cauda hidrofóbica na interação com o receptor (Figura 7).

<sup>21</sup> a) de Fatima, A.; Zambuzzi, W. F.; Modolo, L. V.; Tarsitano, C. A. B.; Gadelha, F. R.; Hyslop, S.; de Carvalho, J. E.; Salgado, I.; Ferreira, C. V.; Pilli, R. A. *Chem. Biol. Interact.* **2008**, *176*, 143; b) Inayat-Hussain, S.; Chan, K.; Rajab, N.; Din, L.; Chow, S.; Kizilors, A.; Farzaneh, F.; Williams, G. *Toxicol. Lett.* **2010**, *193*, 108; c) Kasaplar, P.; Yilmazer, O.; Çağır, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 311.

<sup>22</sup> Martins, C. V. B.; de Resende, M. A.; Magalhães, T. F. F.; Lima, B. H. S.; Watanabe, G. A.; Ruiz, A. L. T. G.; de Carvalho, J. E.; Pilli, R. A.; de Fátima, A. *Lett. Drug Des. Discovery* **2008**, *5*, 74.

<sup>23</sup> de Fátima, A.; Marquissolo, C.; de Albuquerque, S.; Carraro-Abrahamo, A. A.; Pilli, R. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 1210.

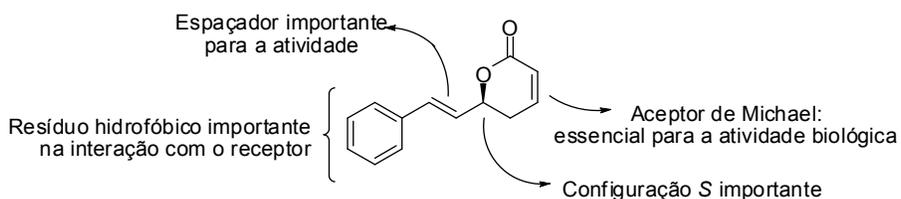
<sup>24</sup> a) Khan, M. R.; Komine, K.; Omoloso, A. D. *Phar. Biol.* **1999**, *37*, 340; b) Mosaddik, M. A.; Haque, M. E. *Phytother. Res.* **2003**, *17*, 1157.

<sup>25</sup> a) Senthil-Nathan, S.; Choi, M.; Paik, C.; Kalaivani, K. *Chemosphere.* **2008**, *72*, 1393; b) Rajab, N. F.; Hamid, Z. A.; Hassan, H.; Ali, A. M.; Din, L. B.; Inayat-Hussain, S. H. *Environ. Mutagen Res.* **2005**, *27*, 161; c) Lan, Y.; Chang, F.; Yu, J.; Yang, Y.; Chang, Y.; Lee, S.; Wu, Y. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 487.

<sup>26</sup> Kabir, K. E.; Khan, A. R.; Mosaddik, M. A. *JEN.* **2003**, 112.

<sup>27</sup> de Fátima, A.; Kohn, L. K.; de Carvalho, J. E.; Pilli, R. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 622.

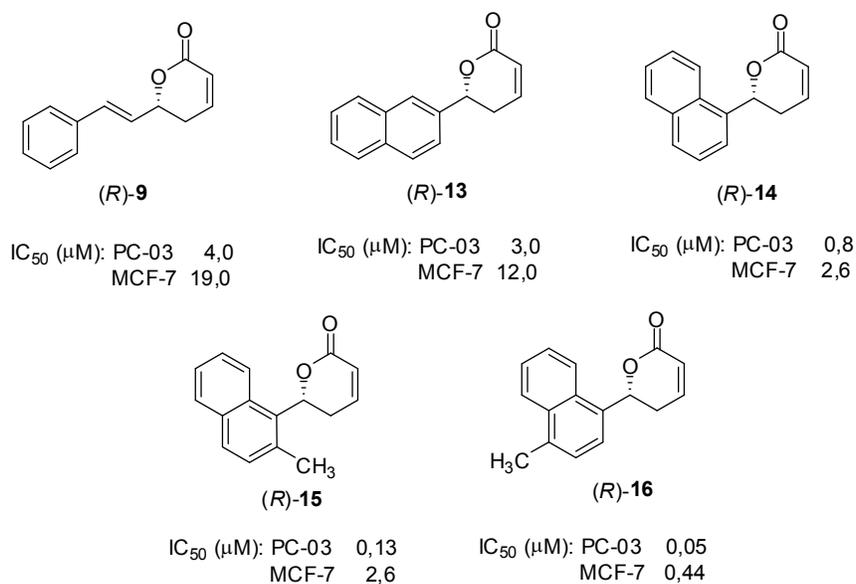
<sup>28</sup> a) Inayat-Hussain, S. H.; Osman, A. B.; Din, L. B.; Ali, A. M.; Snowden, R. T.; MacFarlane, M.; Cain, K. *FEBS Lett.* **1999**, *456*, 379; b) Inayat-Hussain, S. H.; Annuar, B. O.; Din, L. B.; Ali, A. M.; Ross, D. *Toxicol. In Vitro* **2003**, *17*, 433; c) Wach, J.-Y.; Güttinger, S.; Kutay, U.; Gademann, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 2843.



**Figura 7.** Representação dos grupos farmacofóricos de **9** de acordo com Pilli e colaboradores<sup>27</sup>.

Entretanto, Çaçır e colaboradores<sup>21c</sup> observaram que di-hidropiranonas com substituintes 1-naftílicos possuíam uma citotoxicidade bem mais acentuada que a goniotalamina para as linhages de próstata (PC-03) e mama (MCF-7). Os efeitos apresentaram-se mais acentuados quando havia metila como grupo substituinte nas posições 2 e 4 do grupo naftílico (Figura 8). Além disso, Pilli e colaboradores também descreveram atividade antiproliferativa de ambos enantiômeros e racemato de **9**. Foi observado também que a goniotalamina racêmica apresentou perfil de atividade citotóxica similar às formas enantiomericamente puras contra as linhagens tumorais de ovário resistente a adriamicina (NCI-ADR/RES), rim (768-0), pulmão (NCI-460), próstata (PC-03) e glioma (U251).<sup>29</sup>

<sup>29</sup> Vendramini-Costa, D. B.; de Castro, I. B. D.; Ruiz, A. L. T. G.; Marquissolo, C.; Pilli, R. A.; de Carvalho, J. E. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6742.



**Figura 8.** Estruturas dos derivados de Çaçir e colaboradores e seus respectivos valores de IC<sub>50</sub> comparados com a goniotalamina **9**.

Assim sendo, este trabalho tem por objetivo avaliar derivados da goniotalamina com substituintes na posição β da lactona α,β-insaturada, os quais atuam como fracos aceptores de Michael. Outro objetivo desse trabalho é avaliar a influência da substituição da lactona α,β-insaturada por uma lactama α,β-insaturada em testes de avaliação antiproliferativa. Ambos os objetivos visam aumentar a seletividade de derivados da goniotalamina por linhagens de células tumorais.



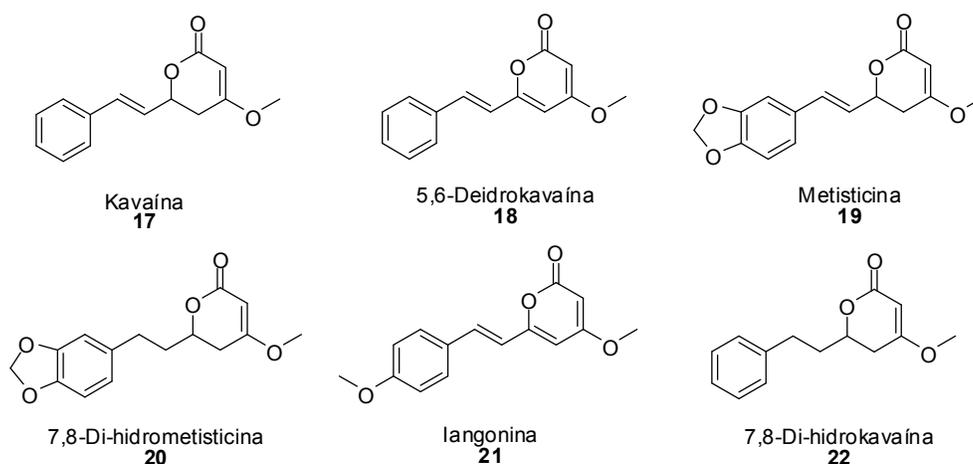
**Capítulo 2:**  
**Síntese e Atividade Biológica de**  
**Derivados da Kavaína**

---



## 2.1. Considerações Gerais

Kava-kava é uma bebida tradicional nas ilhas do Pacífico Sul preparada a partir da raiz da planta kava *Piper methysticum*.<sup>30</sup> A esta bebida é atribuída propriedades ansiolítica, antifúngica e relaxante muscular, dentre outras. Compostos pertencentes à família das kavalactonas, incluindo a kavaína (Figura 9), são amplamente encontrados no caldo da raiz da kava.<sup>31</sup> Os principais constituintes são (+)-kavaína (1,8%), (+)-metisticina (1,2%), (+)-iangonina (1%) e (+)-di-hidro-kavaína (0,6%).<sup>32</sup>



**Figura 9.** Compostos presentes no extrato de kava.<sup>31b</sup>

A baixa incidência de câncer nos nativos dessa região<sup>33</sup> e evidências de adição de Michael entre kavaína e glutathione<sup>30</sup>, reportadas na literatura, sugerem uma atividade anticâncer para a família das kavalactonas.

Vários estudos demonstraram que células de câncer apresentam níveis elevados de glutathione (GSH), o que confere resistência a vários quimioterápicos e

<sup>30</sup> Whitton, P. A.; *et al. Phytochemistry* **2003**, *64*, 673.

<sup>31</sup> a) Smith, T. E.; *et al. Org. Lett.* **2004**, *6*, 2317 e referências relacionadas, b) Mathews, J. M.; Etheridge, A. S.; Valentine, J. L.; Black, S. R.; Coleman, D. P.; Patel, P.; So, J.; Burka, L. T. *Drug Metab. Dispos.* **2005**, *33*, 1555.

<sup>32</sup> Bilia, A. R.; Gallori, S.; Vincieri, F. F. *Life Science* **2002**, *70*, 2581.

<sup>33</sup> Pollastri, M. P.; *et al. Chem. Biol. Drug Des.* **2009**, *74*, 121.

também interfere no processo de apoptose. Uma das estratégias para o tratamento do câncer consiste, portanto, em reduzir os níveis de GSH de modo a tornar as células alteradas mais vulneráveis à ação de quimioterápicos e também acelerar o processo de morte celular programada.<sup>34</sup>

Por outro lado, Eifler-Lima e colaboradores<sup>35</sup> avaliaram a atividade citotóxica *in vitro* de vários derivados da kavaína contra duas linhagens de melanoma (A375M e B16), pelo método de MTT. Nesse teste foi avaliada a influência da substituição no anel aromático, bem como a presença da dupla ligação do grupo estirênico. Porém, nenhum dos derivados apresentou atividade notória.

Apesar de vários casos de hepatotoxicidade severa devido ao uso do chá e extratos de kava<sup>36</sup>, Ramzan e colaboradores realizaram um estudo sobre a toxicidade *in vitro* da kavaína (**17**), metisticina (**19**) e iangonina (**21**) em hepatócitos humanos (HepG2). Foi observado que a kavaína apresenta citotoxicidade mínima, metisticina apresenta uma citotoxicidade moderada dependente de concentração e que a iangonina é a mais citotóxica, reduzindo a viabilidade celular em aproximadamente 40% em ensaio usando brometo de etídio. Nesse mesmo trabalho, eles investigaram o mecanismo de morte celular e observaram que a apoptose se sobressaía à necrose.<sup>37</sup>

Assim sendo, este capítulo tem como objetivo a síntese de novos derivados da kavaína (**17**), a partir de uma kavalactona, variando os substituintes na posição  $\beta$  da lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada, bem como a avaliação da sua atividade antiproliferativa.

---

<sup>34</sup> a) Balendiran, G. K.; Dabur, R.; Fraser, D. *Cell Biochem. Function* **2004**, *22*, 343; b) Huber, P. C.; Almeida, W. P.; de Fátima, A. *Quím. Nova*, **2008**, *31*, 1170.

<sup>35</sup> Amaral, P. A.; Petriguet, J.; Gouault, N.; Agustini, T.; Lohézic-Ledévêhat, F.; Cariou, A.; Grée, R.; Eifer-Lima, V. L.; David, M. *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 1687.

<sup>36</sup> a) Clouadre, D. L. *Toxicol. Lett.* **2004**, *150*, 85; b) Lude, S.; Torok, M.; Dieterle, S.; Jaggi, R.; Buter, K. B.; Krahenbuhl, S. *Phytotherapy Res.* **2008**, *15*, 120.

<sup>37</sup> Tang, J.; Dunlop, R. A.; Rowe, A.; Rodgers, K. J.; Ramzan, I. *Phytotherapy Res.* **2011**, *25*, 417.

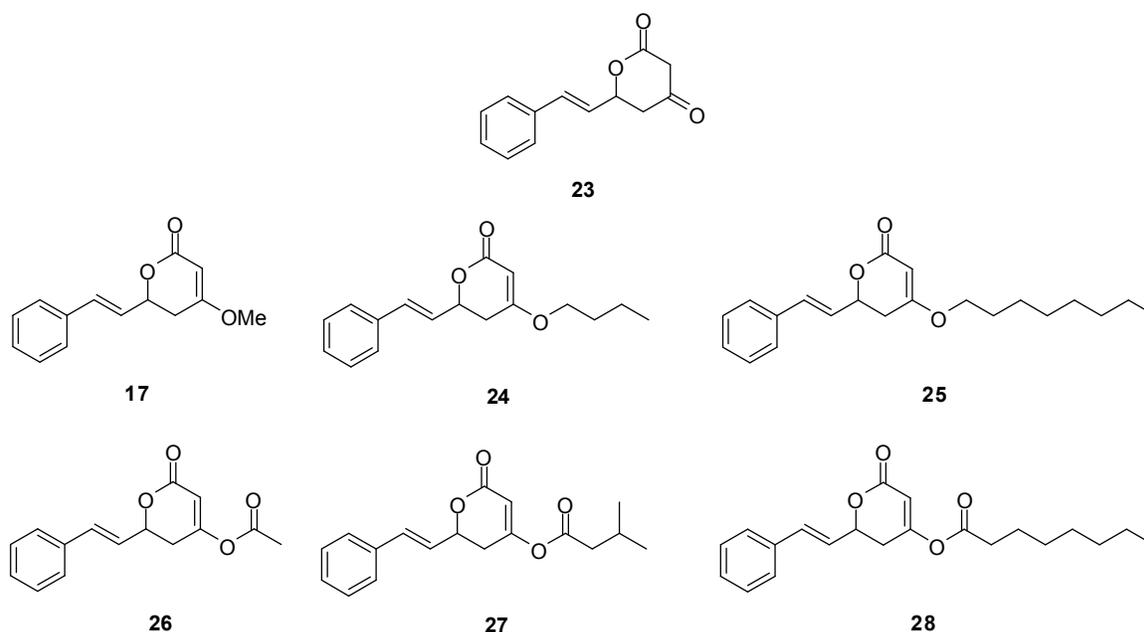
## 2.2. Objetivos

Dessa forma, com o intuito de aumentar a citotoxicidade e a seletividade em relação às linhagens de células tumorais, este capítulo tem os seguintes objetivos:

3.2.1 – realizar a síntese da kavaína (**17**) e análogos (**24-28**) na sua forma racêmica a partir da kavalactona (**23**);

3.2.2 – avaliar a atividade citotóxica contra as linhagens de células tumorais humanas em colaboração com o Dr. João Ernesto de Carvalho (CPQBA, UNICAMP);

3.2.3 – avaliar a influência da lipofilicidade da cadeia lateral nos testes de atividade citotóxica.



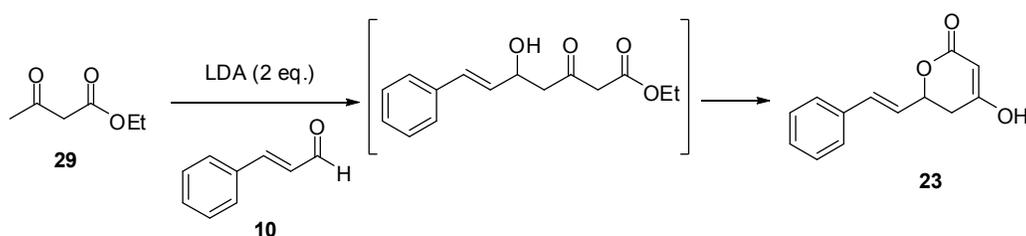
**Figura 10.** Estruturas da kavalactona (**23**), kavaína (**17**) e derivados (**24-28**).

## 2.3. Resultados e Discussão

### 2.3.1. Síntese

A etapa inicial do trabalho consiste no preparo da di-hidropiranona **23** racêmica, que será utilizada no preparo de todos os derivados que propusemos sintetizar. Optamos por avaliar a viabilidade das metodologias para a obtenção da kavalactona nas quais o produto é obtido em uma ou duas etapas.

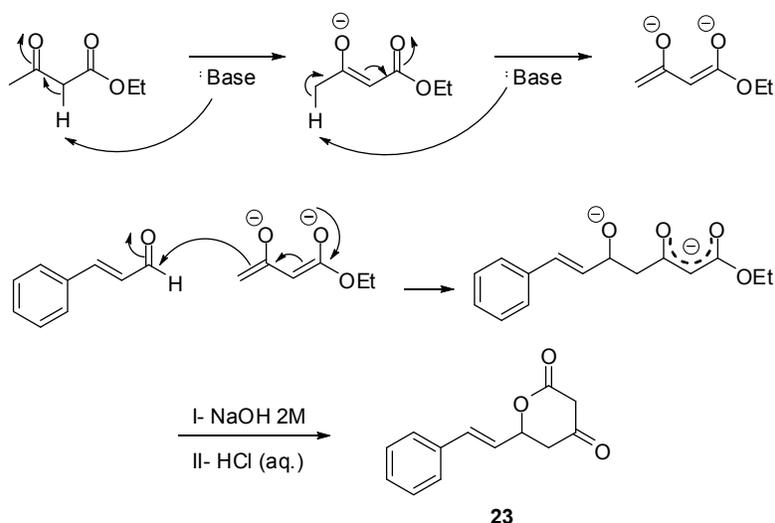
Primeiramente, foi testado o procedimento de Eifler-Lima e colaboradores<sup>38</sup> que consiste na reação de aldol entre acetoacetato de etila (**29**) e cinamaldeído (**10**), na presença de dois equivalentes de LDA, a 0°C, para a obtenção do aduto de aldol intermediário (Esquema 2). Durante o tratamento da reação com água e meio fortemente ácido (pH 1), o intermediário aldol levaria à di-hidropiranona **23**.



**Esquema 2.** Reação de aldol seguida de lactonização para a síntese da di-hidropiranona **23**.

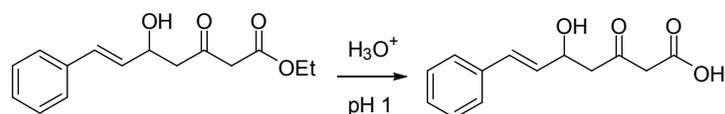
É necessária a utilização de, no mínimo, dois equivalentes de base para que haja a formação de um diânion. O primeiro equivalente resultará na saída do hidrogênio mais ácido, localizado entre as carbonilas. Para a geração do diânion é preciso adicionar um segundo equivalente de base ou uma base mais forte, já que o pKa desse hidrogênio é maior. O aduto de aldol será formado com o ataque do diânion na posição menos impedida que também é a mais reativa (Esquema 3).

<sup>38</sup> Amaral, P. A.; Bergold, A. M.; Eifler-Lima, V. L. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **2005**, *8*, 69.



**Esquema 3.** Proposta para a formação do diânion e mecanismo da reação de aldol.

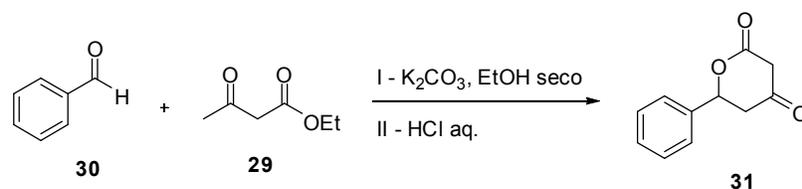
No primeiro momento, essa reação não levou ao produto desejado, obtendo-se apenas uma mistura complexa de produtos não separáveis frente às condições cromatográficas testadas. Em outra tentativa, obteve-se um sólido amarelo claro que se acreditava ser a di-hidropiranona **23**. Entretanto, após análise de RMN-<sup>13</sup>C e IV, observou-se que o sólido obtido foi o produto da hidrólise do éster do aduto de aldol, levando ao ácido carboxílico correspondente (Esquema 4).



**Esquema 4.** Hidrólise do grupo estér do aduto de aldol.

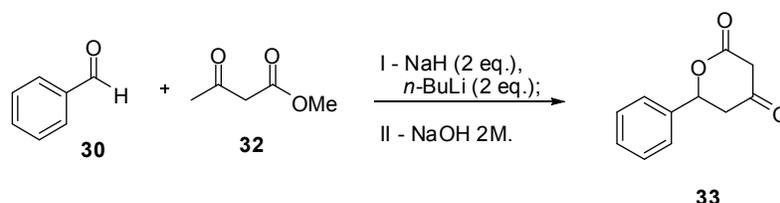
Outra metodologia testada foi a de Andersh e colaboradores<sup>39</sup>, na qual a reação de aldólica é realizada com K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> como base, em etanol seco, sob aquecimento de 45°C por 12 horas. Isolou-se um produto por cromatografia em coluna de sílica flash, mas por análise espectroscópica concluiu-se que não era o produto desejado.

<sup>39</sup> Andersh, B.; Gereg, J.; Amanuel, M.; Stanley, C. *Synth. Comm.* **2008**, *38*, 482.



**Esquema 5.** Condições experimentais relatada por Andersh e colaboradores.<sup>39</sup>

Em 2008, Tummatorn e Dudley<sup>40</sup> publicaram uma metodologia para o preparo de di-hidropiranonas, usando como base NaH e *n*-butil-lítio, a 0°C (Esquema 6). Nesta tentativa foram utilizados dois equivalentes de cada base e um equivalente dos nossos substratos **10** e **29**, de acordo com a metodologia descrita. O produto desejado foi recristalizado em clorofórmio/hexano com rendimento de 6%. Foram feitas análises de RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C e IV.

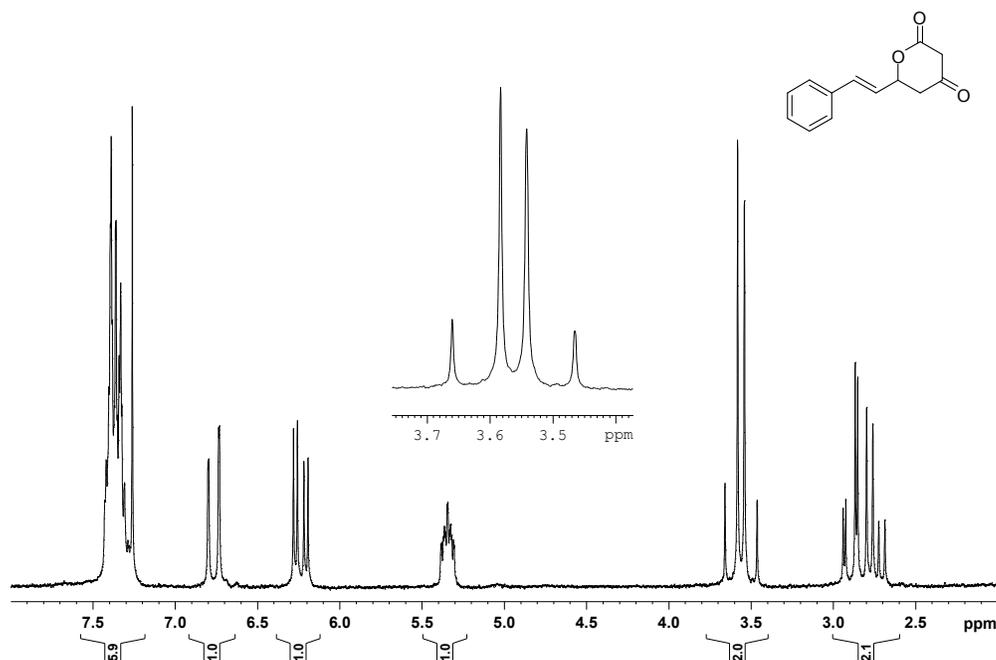


**Esquema 6.** Reação de formação da piranona por Tummatorn e Dudley.<sup>40</sup>

A partir do espectro de RMN-<sup>1</sup>H observamos que a di-hidropiranona **23** encontrava-se na forma tautomérica ceto, como se conhece para compostos análogos. Caso **23** estivesse na forma enólica, seriam esperados 3 sinais integrando para 1 hidrogênio cada, na região entre 5-6 ppm, que corresponde a região de hidrogênios olefínicos. Além disso, deveria também observar um sinal de hidrogênio característico de enóis, integrando para 1 hidrogênio. No entanto, esses sinais não foram observados, havendo apenas dois sinais na região de hidrogênios olefínicos, relativos aos hidrogênios do grupo estiril e um duplo dubleto na região de 3,5 ppm com uma constante de acoplamento de 19,2 Hz ( **Figura 11**). Este último sinal apresenta deslocamento químico típico de hidrogênios localizados entre duas carbonilas, além de sua constante de

<sup>40</sup> Tummatorn, J.; Dudley, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5050.

acoplamento ser típica de hidrogênios diasterotópicos geminais. A análise de infravermelho mostra duas bandas, uma em  $1744\text{ cm}^{-1}$  e outra em  $1714\text{ cm}^{-1}$ , na região de estiramento de carbonila, sendo a primeira correspondente à carbonila cetônica e a última correspondente à carbonila da lactona.



**Figura 11.** Espectro de RMN- $^1\text{H}$  da di-hidropiranona **23** em  $\text{CDCl}_3$ .

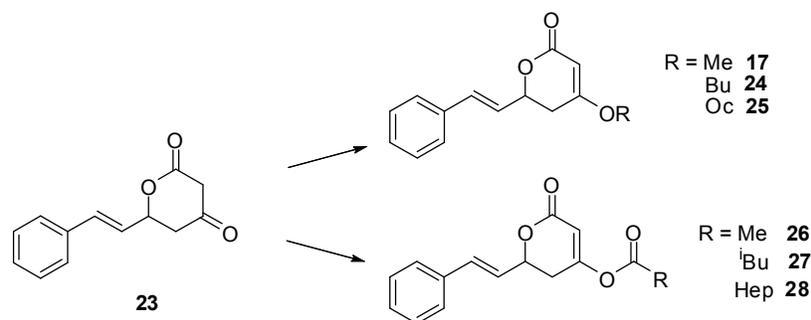
Ao repetir o procedimento, verificou-se que o rendimento estava bem abaixo daquele relatado em literatura (58%)<sup>40</sup>, estando o rendimento do produto bruto em torno de 10-20%. Analisando todas as fases, tanto aquosa quanto orgânica, que resultaram das consecutivas extrações, verificou-se que havia ainda produto na fase ácida (ver procedimento experimental). Ainda foi observado que o pH desta fase não se encontrava mais em 6 e sim em 9 e ao acidificar a pH 6, novamente era possível extrair uma quantidade maior de **23**. Dessa forma, foi possível obter rendimentos brutos de 46-58%. Ao dobrar a escala, para a citada no procedimento experimental, os rendimentos atingiram uma faixa de 54-58%. Porém, após realizarmos a purificação do produto por recristalização, o maior rendimento obtido foi de 15%.

Foram testadas inúmeras combinações binárias e ternárias de solventes, como hexano, acetato de etila, clorofórmio, diclorometano, metanol, éter etílico e acetona em sílica e em alumina neutra para tentar purificar a kavalactona por coluna cromatográfica. Entretanto, nenhuma alternativa funcionou para o nosso substrato.

A fim de obter melhores rendimentos foram feitas algumas tentativas fazendo alterações no procedimento. A primeira delas foi diminuir a quantidade de equivalentes de cada uma das bases para 1:1:1 NaH/*n*-butil-lítio/**29**. Porém, a reação não forneceu o produto desejado, fornecendo apenas uma mistura similar às descritas anteriormente. Outra alteração corresponde à mudança na proporção de **29/10** de 1:1 para 1:2, uma vez que existe um excesso grande de *n*-butil-lítio no meio reacional. Essa base pode adicionar na carbonila do cinamaldeído (**10**), em uma reação lateral de adição do ânion butílico à carbonila de **10**. Entretanto, tal modificação não alterou o rendimento da reação (15% após recristalização).

Depois de todas tentativas, observamos que a melhor condição experimental foi a relatada por Dudley e Tummatorn<sup>40</sup> e o melhor rendimento obtido para o produto foi 15% após purificação por recristalização usando o sistema de solvente clorofórmio/hexano. De posse do produto puro, partimos para a síntese dos derivados alquilados e acilados.

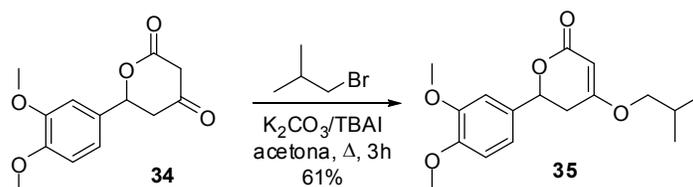
Após revisão bibliográfica, foi verificado que não há trabalhos averiguando a influência da substituição na posição R (Esquema **7**) na atividade antiproliferativa. Eifler-Lima e colaboradores<sup>35</sup> avaliaram a atividade citotóxica de derivados da kavaína substituindo o grupo estiril. A partir disso e de evidências da adição de Michael entre a glutatona e a kavaína<sup>30</sup>, propusermos sintetizar e avaliar a atividade antiproliferativa da kavaína **17** e derivados **24-28**, bem como avaliar a influência da lipofilicidade da cadeia lateral na atividade citotóxica.



**Esquema 7.** Estrutura da kavaína **17** e derivados **24-28** avaliados quanto a atividade antiproliferativa.

Kavaína **17** foi obtida em 64% de rendimento a partir da di-hidropiridona **23** após uma reação de metilação com dimetilsulfato ( $\text{Me}_2\text{SO}_4$ ) em presença de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , segundo Smith e colaboradores<sup>41</sup>.

Landry e colaboradores publicaram em 2008 uma série de di-hidropiridonas que atuam no controle da diabetes.<sup>42</sup> Ainda nesse trabalho, eles prepararam di-hidropiridonas e realizaram a reação de eterificação conforme desejamos, em rendimentos razoáveis.



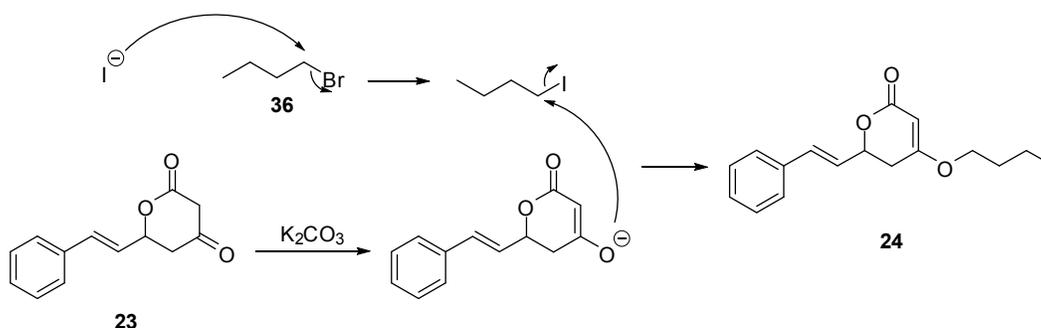
**Esquema 8.** Reação de eterificação de Landry e colaboradores.<sup>42</sup>

Baseado nesse trabalho, conseguimos sintetizar o derivado **24** a partir da di-hidropiridona **23** e bromobutano (**36**), em presença de  $\text{NaI}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e acetona em refluxo, com rendimento de 7%. Primeiramente, ocorre uma troca de halogênios, em equilíbrio (reação de Finkelstein), entre o brometo de alquila e  $\text{NaI}$ . Essa troca é necessária, tendo em vista que iodetos de alquila são mais reativos

<sup>41</sup> Smith, T. E.; Djang, M.; Velandar, A. J.; Downey, C. W.; Carroll, K. A.; van Alphen, S. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2317.

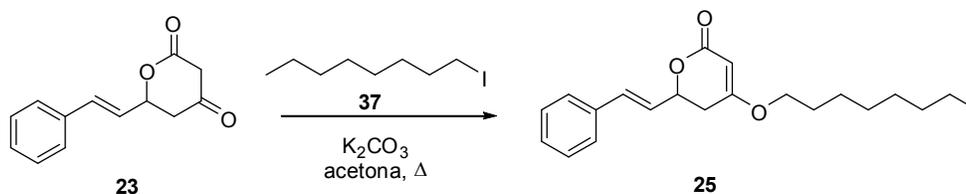
<sup>42</sup> Xie, Y.; Raffo, A.; Ichise, M.; Deng, S.; Harris, P. E.; Landry, D. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5111.

que brometos de alquila em reações de substituição nucleofílica tipo  $S_N2$ . Os hidrogênios localizados entre as carbonilas da di-hidropiranona **23** são ácidos o suficientes (com pKa em torno de 11) para formar o enolato intermediário em presença de  $K_2CO_3$ . O enolato ataca o iodeto de alquila gerado *in situ* em uma reação de substituição nucleofílica bimolecular ( $S_N2$ ), gerando o éter desejado **24** (Esquema 9).



**Esquema 9.** Formação do derivado éter **24**.

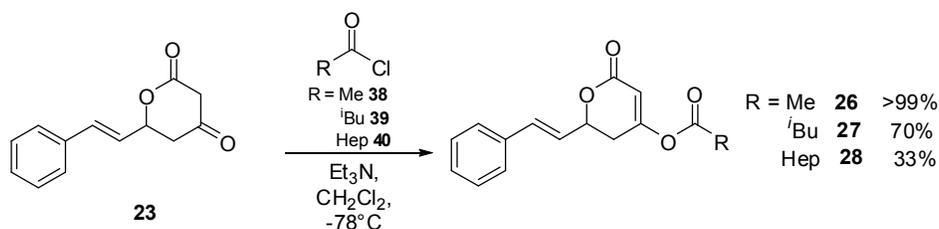
O derivado **25** foi sintetizado de forma análoga ao derivado **24**. Apenas não foi necessária a troca dos halogênios, já que foi utilizado o iodeto de octila **37**, em presença de  $K_2CO_3$  e acetona, em refluxo. O rendimento foi de 4% (Esquema 10). Os baixos rendimentos para as reações devem ser oriundos do tratamento aquoso da reação que não foi otimizado. Já que a otimização seria feita após a obtenção de bons resultados da atividade antiproliferativa.



**Esquema 10.** Formação do derivado éter **25**.

Os derivados **26-28**, O-acil substituídos, foram sintetizados todos da mesma forma, a partir dos cloretos de ácido correspondentes e  $Et_3N$  como base, em diclorometano a  $-78^\circ C$ . O cloreto de acetila e o cloreto de isopentenoíla foram

utilizados conforme comercializados e o cloreto de octanoíla foi preparado a partir do ácido octanóico e cloreto de tionila (Esquema 11).



**Esquema 11.** Preparo dos derivados **11-13**.

### 2.3.1. Atividade Antiproliferativa

A atividade antiproliferativa é uma forma de se fazer uma primeira triagem de compostos a fim de selecionar moléculas para prosseguir com ensaios pré-clínicos. Como existem precedentes da adição de Michael entre a glutathiona e a kavaína **17**, decidimos avaliar a influência da cadeia lipofílica e a influência desses grupos funcionais.<sup>30</sup>

Este ensaio é um trabalho feito em colaboração com o Dr. João Ernesto de Carvalho, do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP. Este teste visa avaliar a atividade citotóxica para 6 linhagens tumorais: MCF-7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário resistente a adriamicina), 786-0 (rim), NCI-460 (pulmão – células “*non-small*”), PC-03 (próstata) e HT-29 (cólon). A proliferação celular é determinada em um ensaio *in vitro* e colorimétrico com sulforrodamina B. A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo, assim como a goniotalamina. Foram empregadas concentrações variando de 0,25-250  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  e a porcentagem do crescimento celular foi determinada após 48 horas do tratamento das células.

As figuras a seguir (Figura **12** a **Figura 18**) representam os gráficos concentração-efeito dos compostos avaliados de maneira simplificada frente às

células tumorais humanas citadas anteriormente. Os valores positivos do eixo y, que varia de 0 a 100%, correspondem à inibição de crescimento celular, enquanto que os valores negativos representam a morte celular.

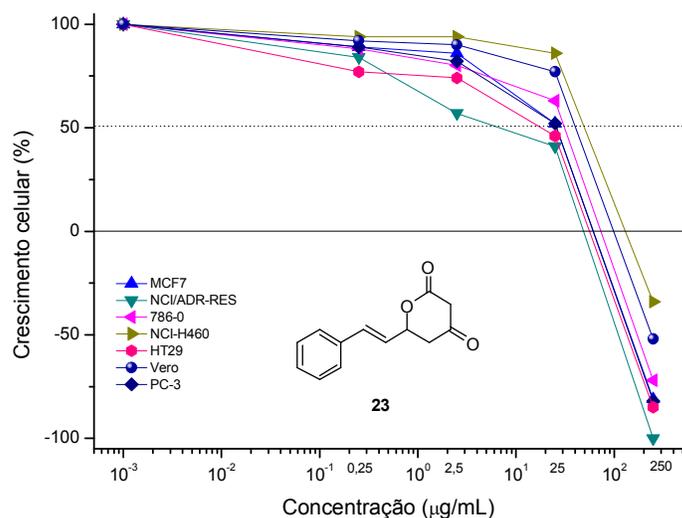


Figura 12. Gráfico concentração-efeito para a kavalactona (23).

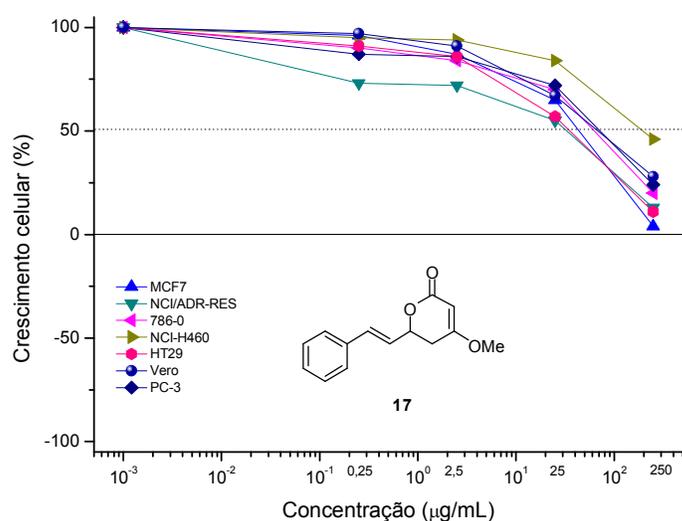


Figura 13. Gráfico concentração-efeito para a kavaína (17).

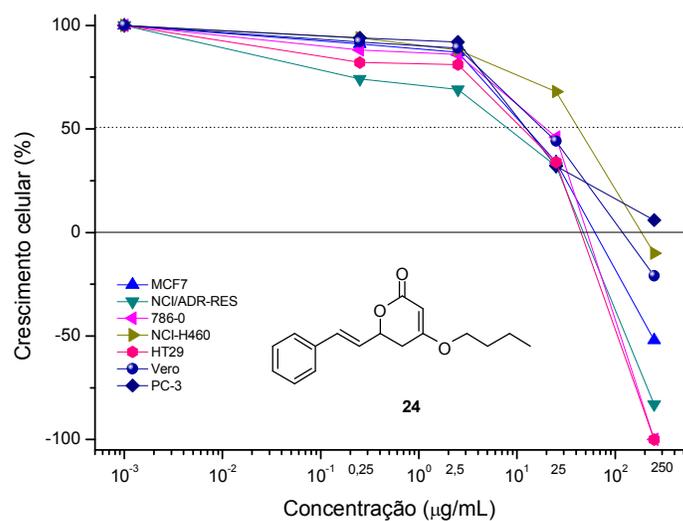


Figura 14. Gráfico concentração-efeito para o derivado 24.

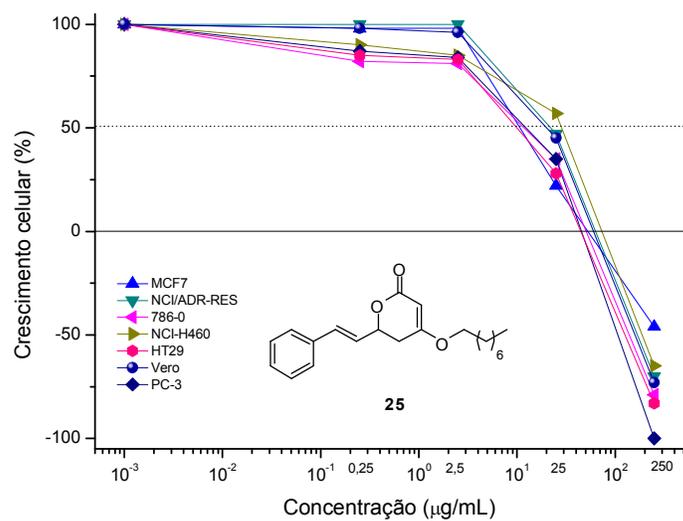


Figura 15. Gráfico concentração-efeito para o derivado 25.

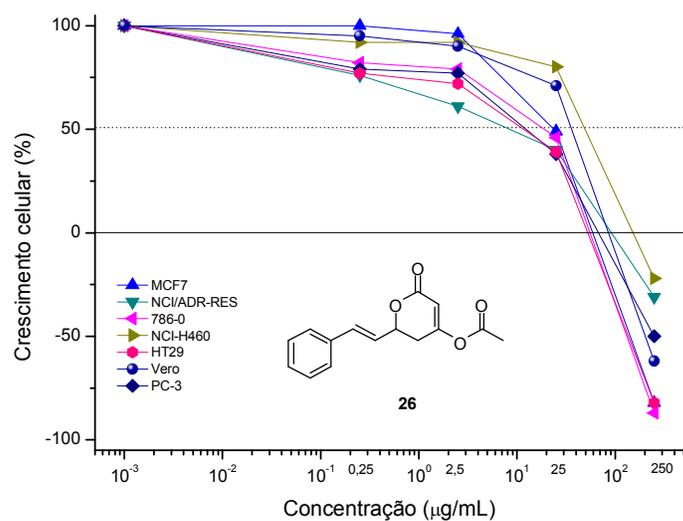


Figura 16. Gráfico concentração-efeito para o derivado 26.

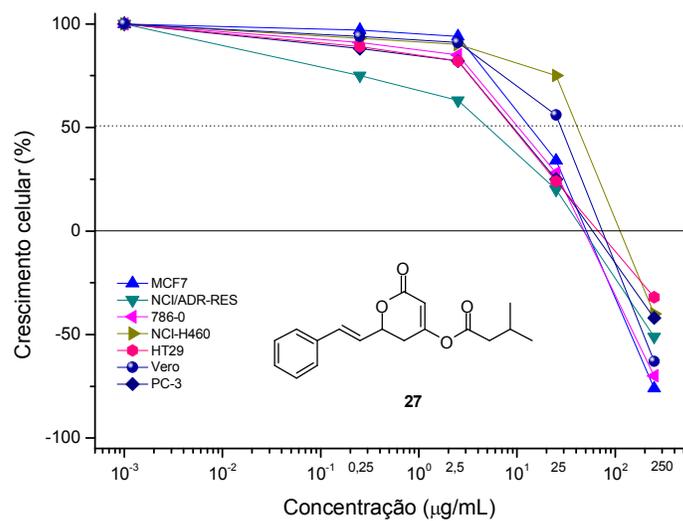
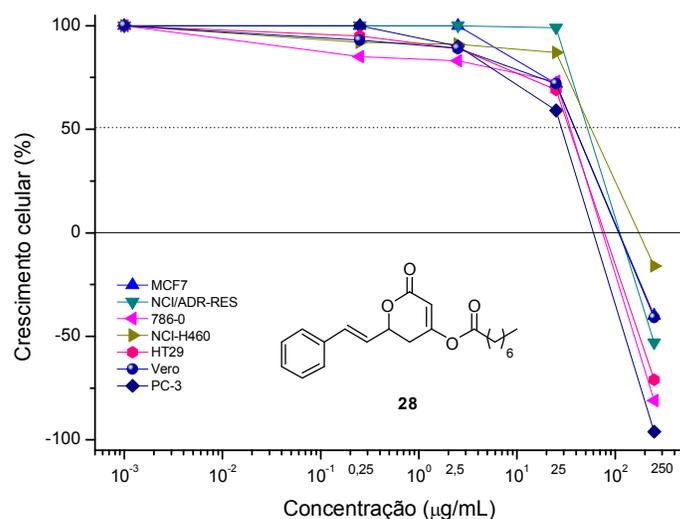


Figura 17. Gráfico concentração-efeito para o derivado 27.



**Figura 18.** Gráfico concentração-efeito para o derivado **28**.

O valor do TGI (inibição total de crescimento, em inglês) é o valor que representa a concentração mínima que leva à morte total das linhagens celulares. Esse parâmetro é atualmente utilizado pelo NCI (Nacional Cancer Institute – Estados Unidos) e é obtido a partir dos gráficos acima. Sua vantagem é que pode ser obtido diretamente dos gráficos de curva dose-resposta, além de representar o menor erro para estudos de estrutura-atividade.

Os valores de TGI, em  $\mu\text{M}$ , para a kavalactona (**23**), kavaína (**17**) e derivados **24-28** encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores de TGI ( $\mu\text{M}$ ) para a kavalactona (**23**), kavaína (**17**) e derivados **24** a **28**.

	<b>MCF-7</b>	<b>NCI-ADR</b>	<b>786-0</b>	<b>NCI-460</b>	<b>PC-03</b>	<b>HT-29</b>	<b>VERO</b>
DOX	5,02	4,54	3,15	3,92	4,58	3,33	5,23
<b>9</b>	56,39	38,76	11,19	46,20	10,34	63,58	48,54
<b>23</b>	>1085,73	>1085,73	>1085,73	>1085,73	>1085,73	>1085,73	>1085,73
<b>17</b>	116,40	127,97	133,77	917,97	111,04	122,82	125,76
<b>24</b>	83,33	81,60	102,97	127,81	99,98	94,44	96,00
<b>25</b>	123,09	155,69	151,97	>967,98	139,47	392,57	184,96
<b>26</b>	99,78	101,12	101,08	181,72	100,08	99,02	125,89
<b>27</b>	83,87	>730,08	>730,08	>730,08	109,04	136,17	150,05
<b>28</b>	180,50	184,76	233,09	>1156,18	185,87	192,25	275,31

Controles positivos: doxorubicina (DOX) e goniotalamina (**9**); VERO: células de rim de macaco verde – linhagem não-tumoral.

Observamos que nenhum dos derivados sintetizados foi mais ativo que a goniotalamina, como também nenhum deles apresentou seletividade para as linhagens avaliadas. Também não foi possível fazer nenhuma correlação entre o tamanho da cadeia lipofílica e os valores de TGI observados.

É válido ressaltar que a kavaína (**17**) não apresentou atividade citotóxica neste ensaio. Isso pode ser um indício que a sua atividade anticâncer reportada pode não ser pelo mecanismo de morte celular.

O bloqueio da posição  $\beta$  da lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada pode ser uma racionalização da não atividade para os compostos sintetizados quando comparados a goniotalamina.

## 2.4. Conclusões

Depois de várias tentativas, a síntese da kavalactona foi obtida em uma única etapa experimental, a partir do cinamaldeído e acetoacetato de etila, em 15% de rendimento. Embora essa reação seja bem conhecida e bem discutida na literatura, houve bastante dificuldade na reprodução dos procedimentos experimentais, tanto para se obter o produto quanto para a obtenção de valores similares de rendimento. Seria importante haver uma discussão maior na literatura sobre a síntese desse núcleo  $\beta$ -cetolactona, devido à dificuldade de reprodução dos procedimentos experimentais relatados em literatura.

Foi possível obter a kavaína **17** em 64% de rendimento a partir da kavalactona e os outros derivados **24** a **28**, em rendimentos que variam de insatisfatórios a excelentes.

A kavaína apresentou a menor atividade citotóxica dentre todos os compostos avaliados. Os outros derivados não apresentaram maior atividade citotóxica que a goniotalamina e nem apresentaram seletividade para as linhagens estudadas. Uma possível racionalização para os resultados de ausência de atividade para os compostos sintetizados deve estar na posição  $\beta$  da lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada, substituída com grupos doadores de densidade eletrônica, em comparação com a goniotalamina, que deve diminuir a sua capacidade de atuar como acceptor de Michael, não apenas em razão do impedimento estérico, mas pelo aumento da energia dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO) do sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado.



**Capítulo 3:**  
**Síntese e Atividade Biológica da**  
**Azagoniotalamina e seus Derivados**

---



### 3.1. Considerações Gerais

Isosterismo é um conceito criado em 1919 por Langmuir. A Teoria do Octeto de Valência indica que se compostos apresentam o mesmo número de átomos, têm também o mesmo número de elétrons, os quais podem se arranjar da mesma forma. Nesse caso, os compostos ou grupo de átomos são chamados de isósteros<sup>43</sup>. Anos mais tarde, Erlenmeyer propôs uma expansão do termo, definindo como isósteros elementos, moléculas ou íons que apresentam o mesmo número de elétrons na camada de valência. Ele também criou o conceito de anéis eletronicamente equivalentes, que mais tarde, foi expandido para o conceito de bioisosterismo.<sup>44</sup>

O termo bioisosterismo foi criado quando Friedman aplicou o conceito de isosterismo para desenvolver moléculas biologicamente ativas e usou o termo para descrever os compostos que se encaixam na definição de isosterismo e apresentam atividade biológica, seja ela semelhante ou antagonista. Mais tarde, Thornber ampliou o conceito de bioisosterismo para o conjunto de grupos ou moléculas que possuem propriedades químicas e físicas semelhantes e que produzem o mesmo efeito biológico.<sup>44,45</sup>

Em 1970, Alfred Burger ampliou ainda mais o conceito de bioisosterismo que o separou em duas categorias. Bioisosterismo clássico é aquele descrito primeiramente por Friedman e depois por Thornber, enquanto que bioisosterismo não-clássico são aqueles grupos ou compostos que apresentam propriedades físico-químicas aproximadamente semelhantes e o efeito biológico desejável.<sup>44</sup> A partir daí, a Química Medicinal utilizou esses conceitos no desenvolvimento de várias moléculas biologicamente ativas. Além disso, esse conceito foi aplicado para a otimização de candidatos a fármacos, evitando biotransformações que levam a metabólitos sem atividade.<sup>44,46</sup>

---

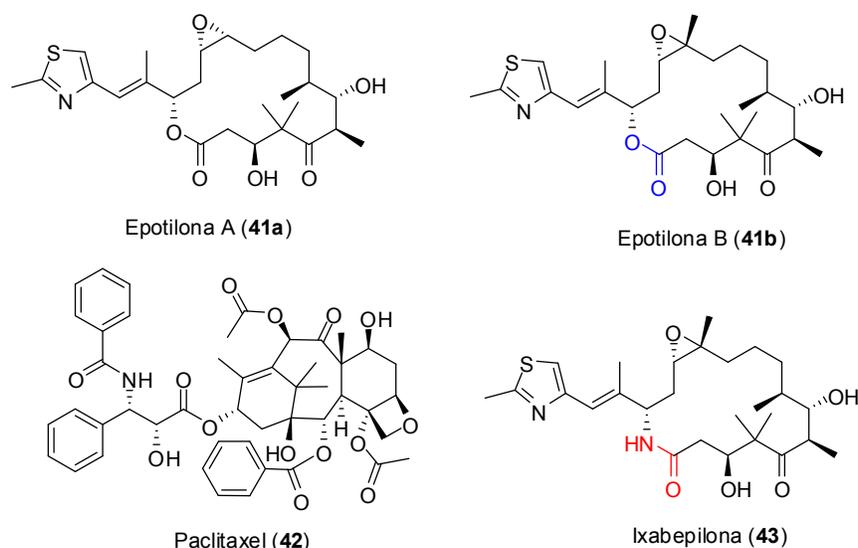
<sup>43</sup> Langmuir, I. *J. Am. Chem. Soc.* **1919**, *41*, 1543.

<sup>44</sup> Lima, L. M.; Barreiro, E. J. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 23.

<sup>45</sup> Thornber, C. W. *Chem. Soc. Rev.* **1979**, *8*, 563.

<sup>46</sup> Patani, G. A.; LaVoie, E. J. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3147.

A substituição isostérica do átomo de oxigênio (O) pelo átomo de nitrogênio ligado a um hidrogênio (NH) é relatada na literatura para derivados de epotilona e brefeldina. As epotilonas A e B (**41a** e **41b**) foram os primeiros membros de uma família de macrolídeos citotóxicos e antifúngicos isolados via fermentação da bactéria *Sorangium cellulosum*.<sup>47</sup> Em um “screening” na busca de novos compostos naturais com atividade anticâncer verificou-se que a epotilona B era aproximadamente 10 vezes mais ativa que a epotilona A e mais ativa ainda que o paclitaxel (**42**) em ensaio de polimerização de tubulina.<sup>48</sup> Devido à sua potência, vários análogos das epotilonas foram sintetizados em um esforço visando aumentar a sua atividade. Entretanto, estudos com murinas indicaram que **41b** era rapidamente inativado, resultado da hidrólise da macrolactona. A substituição isostérica da lactona pela lactama aumentou significativamente a estabilidade em relação à **41b**. Esse derivado é hoje chamado de Ixabepilona (**43**) e recebeu a aprovação do FDA em 16 de outubro de 2007 para seu uso no tratamento de câncer de mama em estágios avançados e de metástase.<sup>48,49</sup>



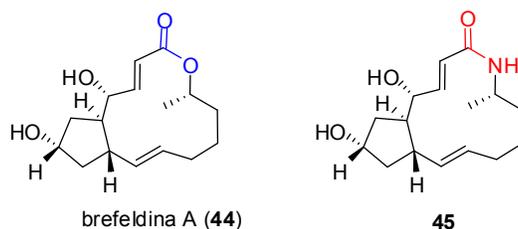
**Figura 19.** Estruturas das epotilona A e B (**41a** e **b**), paclitaxel (**42**) e Ixabepilona (**43**).

<sup>47</sup> a) Patente DE 91-4138042; b) Höfle, G.; Bedorf, N.; Gerth, K.; Reichenbach, H. *Chem. Abstr.* **1993**, *120*, 52841.

<sup>48</sup> Mulzer, J.; Altmann, K.-H.; Höfle, G.; Müller, R.; Prantz, K. *C. R. Chim.* **2008**, *11*, 1336.

<sup>49</sup> <http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/fda-ixabepilone> (acessado em 19/04/2011).

Outro exemplo da aplicação dessa substituição é o derivado da brefeldina A (**44**). Esse composto é um metabólito secundário de vários fungos do filo *Ascomycetes* e exibe atividade antifúngica, antiviral e citotóxica. Sua citotoxicidade é devida a indução da apoptose, embora todo o mecanismo de ação ainda não tenha sido elucidado. Por possuir alta citotoxicidade e baixa toxicidade frente células não-tumorais, trata-se de um composto importante no desenvolvimento de novos protótipos. Entretanto, **44** não pode ser utilizado como um agente anticâncer devido a sua baixa biodisponibilidade e farmacocinética não desejada. Förster e colaboradores recentemente sintetizaram, dentre outros análogos, a lactama **45**. Esta foi ativa ao teste de rompimento do sistema de Golgi.<sup>50</sup>



**Figura 20.** Estrutura da brefeldina A (**44**) e seu análogo lactama **45**.

Assim sendo, este capítulo visa sintetizar novos derivados da goniotalamina (**9**), substituindo a função lactônica por uma lactama, bem como avaliar a sua atividade antiproliferativa.

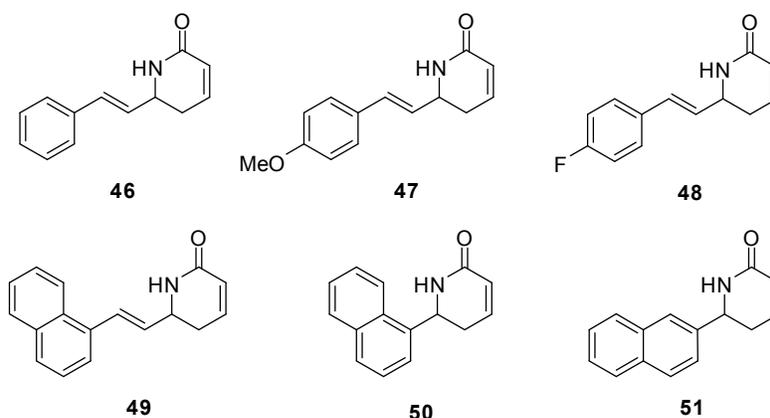
<sup>50</sup> Förster, S.; Persch, E.; Tverskoy, O.; Rominger, F.; Helmchen, G.; Klein, C.; Gönen, B.; Brügger, B. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 5, 878.

## 3.2. Objetivos

Dessa forma, com o intuito de aumentar a citotoxicidade e a seletividade em relação às linhagens de células tumorais, e melhorar a solubilidade, dentro do conceito de bioisosterismo, este capítulo tem os seguintes objetivos:

3.2.1 – realizar a síntese da azagoniotalamina (**46**) e análogos (**47-51**) na sua forma racêmica;

3.2.2 – avaliar a atividade citotóxica frente as linhagens de células tumorais humanas em colaboração com o Dr. João Ernesto de Carvalho (CPQBA, UNICAMP).

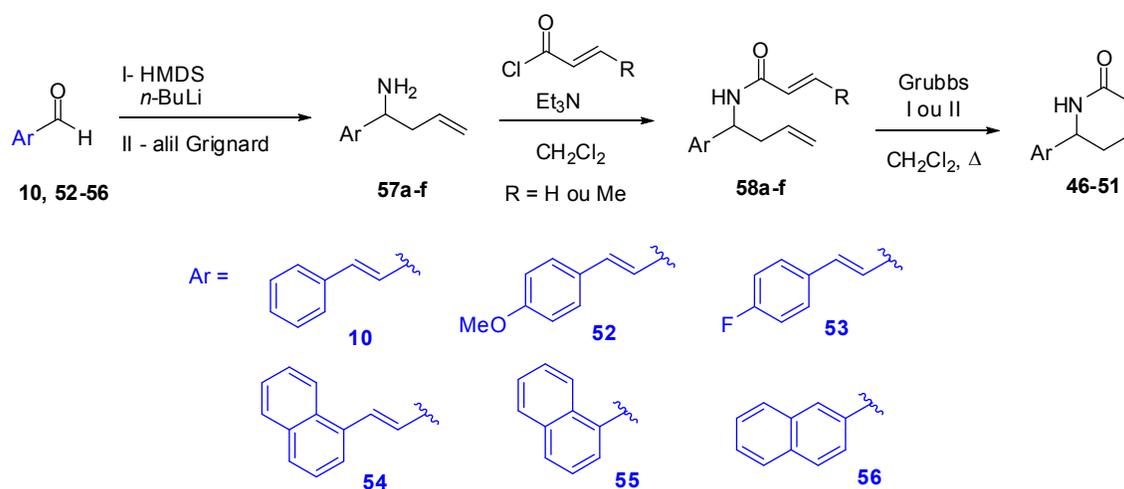


**Figura 21.** Estruturas da azagoniotalamina (**46**) e derivados (**47-51**).

### 3.3. Resultados e Discussão

#### 3.3.1. Síntese

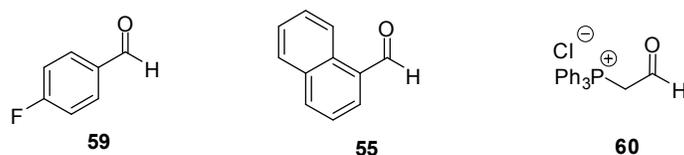
A síntese dos análogos da goniotalamina é bem similar à síntese descrita por Pilli e colaboradores<sup>51</sup>. As estruturas da azagoniotalamina **46** e derivados **47-51** são baseadas no produto natural **9**, no qual tem-se a substituição da lactona por uma lactama e varia-se também o grupo aromático e estirênico da estrutura original. O Esquema **12** apresenta a rota sintética geral para os compostos desejados.



**Esquema 12.** Rota sintética geral para os derivados **46-51** da goniotalamina.

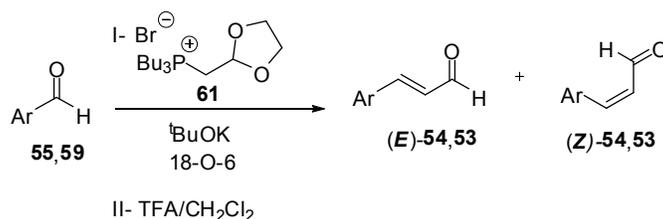
Para os aldeídos não-comerciais **53** e **54**, antes da reação de alilação da imina, foi feita a reação de homologação para a obtenção dos aldeídos desejados, a partir dos respectivos aldeídos comerciais **59** e **55**. Em um primeiro momento, foi testada a reação de homologação de Wittig com o reagente comercial **60**, porém houve o consumo parcial do material de partida com a formação de produtos, em rendimentos muito baixos, e subprodutos.

<sup>51</sup> de Fátima, A.; Pilli, R. A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8721.



**Figura 22.** Estruturas dos aldeídos comerciais **59**, **55** e do reagente **60**.

Em uma tentativa de contornar o problema da reação de homologação, decidimos aplicar a metodologia descrita por Mladenova e colaboradores<sup>52</sup> para a preparação do aldeído homologado em duas etapas (Esquema **13**), utilizando o sal de fosfônio **61**, cujo preparo encontra-se descrito na literatura.<sup>53</sup>



**Esquema 13.** Reação de homologação de aldeídos não-comerciais.

O rendimento para a homologação pode ser considerado razoável para os aldeídos, uma vez que **53** foi obtido com 64% de rendimento e razão diastereoisomérica >95:5, e **54** foi obtido com 59% de rendimento e razão diastereoisomérica 16:1. As razões diastereoisoméricas foram determinadas por <sup>1</sup>H-RMN.

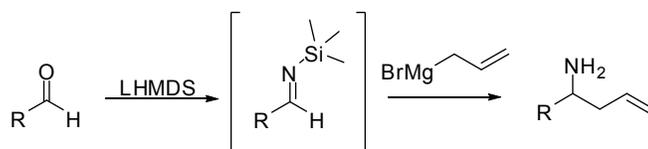
Há evidências que o produto formado seja o produto desejado com o apoio da análise de <sup>1</sup>H-RMN. O sinal correspondente ao CHO aparece como um duplete, na região de 9,8 ppm, apresentado uma constante de acoplamento de 7,7 Hz, com um hidrogênio de deslocamento químico 6,7 ppm, característico de hidrogênio ligado a carbono sp<sup>2</sup>. O aparecimento desse sinal característico de alceno, descrito anteriormente, e outro hidrogênio com deslocamento químico em 7,5-8,0 ppm, ambos integrando para 1, são outras evidências da homologação do

<sup>52</sup> Mladenova, M.; Ventelon, L.; Blanchard-Desce, M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6923.

<sup>53</sup> Spangler, C. W.; McCoy, R. K. *Synth. Commun.* **1988**, *18*, 51.

aldeído. Podemos afirmar com segurança que a geometria da ligação dupla é *trans* devido à constante de acoplamento obtida da análise desses dois sinais descritos anteriormente. Foi observada uma constante de aproximadamente 16 Hz, o que é característico de compostos com geometria *trans* de ligações duplas.

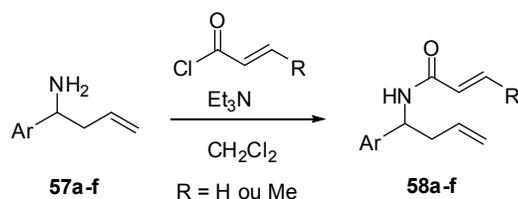
De posse dos aldeídos não-comerciais homologados, a síntese das lactamas iniciou com a alilação de uma imina gerada *in situ* a partir do aldeído (**10**, **52-56**) correspondente, levando à formação de uma amina primária (**57a-f**), conforme Hart e colaboradores<sup>54</sup>. Esta metodologia está descrita para a síntese de aminas primárias a partir de *N*-trimetilsililiminas (Esquema **14**). Trata-se de uma metodologia clássica para a formação de iminas, usando hexametildissilazida de lítio. A novidade relatada pelos autores consiste na adição de reagentes organometálicos a *N*-trimetilsililiminas. A reação foi primeiramente citada e aplicada na síntese da vertalina.<sup>55</sup>



**Esquema 14.** Síntese de aminas primárias descrita por Hart e colaboradores.<sup>54</sup>

A análise do bruto reacional por <sup>1</sup>H-RMN permitiu seguir com a rota sem prévia purificação.

A próxima etapa da rota é o tratamento da amina primária (**57a-f**), gerada anteriormente, com cloreto de acrilóila ou cloreto de crotonóila, em presença de trietilamina e diclorometano, de 0°C a temperatura ambiente, (Esquema **15**) para a formação da amida correspondente (**58a-f**).



**Esquema 15.** Reação de formação da amida.

<sup>54</sup> Hart, D. J.; Kanai, K.; Thomas, D. G.; Yang, T.-K. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 289.

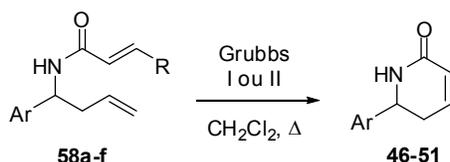
<sup>55</sup> Hart, D. J.; Kanai, K. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1555.

Existem evidências da formação do produto devido ao aparecimento de um sinal no espectro de  $^1\text{H-RMN}$  na região de deslocamento químico 5,00-4,80 ppm, correspondente ao hidrogênio  $\text{CHN}$  formado na reação de alilação da imina. O aparecimento de um carbono em  $^{13}\text{C-RMN}$  de deslocamento químico na região de 50 ppm também corrobora com a formação de uma ligação C-C, sendo um desses carbonos ligado a um átomo de nitrogênio.

As evidências para a formação da amida podem ser encontradas no espectro de  $^{13}\text{C-RMN}$ , onde aparece um sinal na região de deslocamento químico 165 ppm, o qual é relativo à carbonila da amida. Isto é confirmado pelo espectro de IV com uma banda na região de  $1650\text{ cm}^{-1}$ , também correspondente a carbonila de amidas. Banda larga na região de  $3400\text{ cm}^{-1}$  é relativo ao estiramento N-H de aminas primárias, sendo assim outra evidência da formação do nosso produto.

Não foi possível realizar a completa caracterização das amidas **58c** e **d** devido à quantidade de impurezas presentes no espectro de  $^1\text{H-RMN}$ , porém como haviam todos os sinais descritos nas regiões acima, concluímos que houve a formação do produto e prosseguimos a síntese das respectivas lactamas.

Por fim, as lactamas **46-51** foram obtidas a partir das respectivas amidas (**58a-f**), através de uma reação de metátese de olefinas para fechamento de anel (RCM).

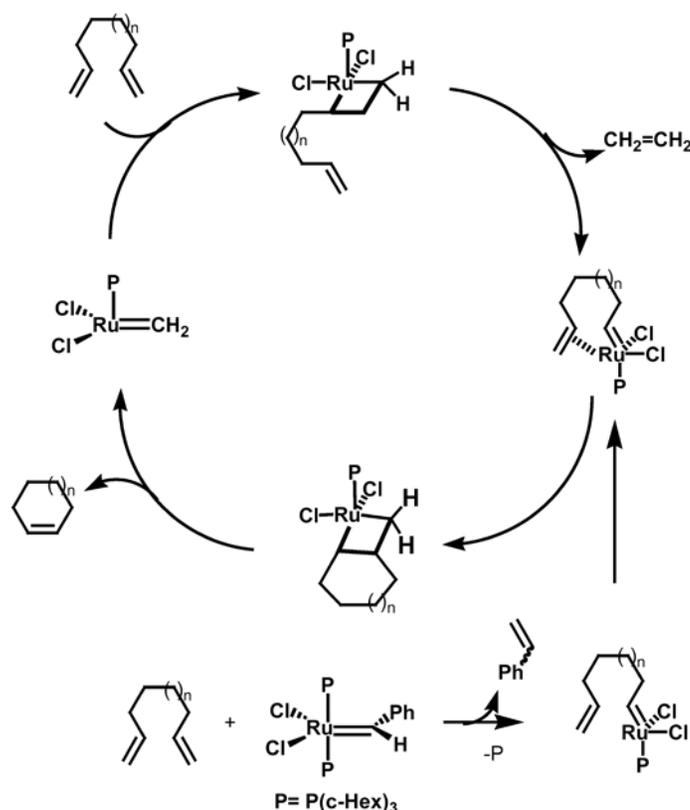


**Esquema 16.** Reação de metátese de fechamento de oleninas.

Na síntese de análogos da passifloricina reportada por Cardona *et. al.*<sup>56</sup>, os autores relatam um fechamento de uma piridona bastante similar ao que propusemos fazer, utilizando 10 mol% de catalisador de Grubbs de primeira geração. Para essa conversão é reportado um rendimento de 82%.

<sup>56</sup> Cardona, W. *et. al. Tetrahedron* **2006**, 62, 4086.

Sendo assim, para a amida **58a**, a metátese foi conduzida com 10 mol% do catalisador de Grubbs de primeira geração. Entretanto, a reação demorou três dias para ocorrer e não houve consumo de todo material de partida, por análise de CCD. A azagoniotalamina **46** foi obtida em 41% de rendimento. O mecanismo para a metátese de fechamento simplificado encontra-se no Esquema 17.

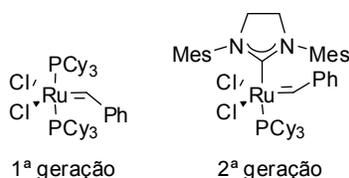


**Esquema 17.** Mecanismo geral para a reação de metátese de olefinas para fechamento de anel (RCM).

Sabe-se que a estrutura do substrato é determinante nas reações de RCM. Olefinas terminais monossustituídas são mais reativas e a presença de grupos polares e efeitos conformacionais podem dificultar e até impedir a reação.<sup>57</sup> Quando as reações com o catalisador de primeira geração não ocorrem bem, geralmente utiliza-se Grubbs de segunda geração, já que este é mais reativo quando comparado ao de primeira geração (Figura 23). A maior reatividade está

<sup>57</sup> Frederico, D.; Brocksom, U.; Brocksom, T. J. *Quim. Nova* **2005**, *28*, 692.

relacionada com a presença de ligantes  $\sigma$ -doadores, como os carbenos *N*-heterocíclicos, que estabilizam a espécie reativa.<sup>58</sup>



**Figura 23.** Estrutura dos catalisadores de Grubbs de primeira e segunda geração.

Fiorelli e Savoia reportaram a síntese assimétrica de  $\delta$ -lactamas  $\alpha,\beta$ -insaturadas por metátese de olefinas de fechamento de anel. Os autores relataram dificuldades experimentais com a reação utilizando o catalisador de Grubbs de primeira geração. Um estudo metodológico foi realizado pelos mesmos e observou-se que a reação prosseguia bem com o catalisador de Grubbs de segunda geração.<sup>59</sup> Recentemente, Vankar e colaboradores relataram modificações no procedimento experimental da metodologia de RCM em presença de aminas. Nesse trabalho, eles observaram que quando o catalisador de Grubbs de segunda geração era adicionado em três porções e em intervalos de tempo iguais, os rendimentos da metátese foram melhorados.<sup>60</sup>

Dessa forma, decidimos aplicar o novo procedimento experimental e observamos que para a amida **58a** houve o consumo de todo material de partida por CCD, com adição de duas porções de 3 mol% de catalisador, em apenas 4 horas de reação. Foi verificado um aumento do rendimento para **46** que passou de 41% na primeira reação utilizando catalisador de Grubbs de primeira geração (10 mol%) para 82% com o catalisador de Grubbs de segunda geração em 6 mol% (2x 3 mol%). Deste modo, os demais derivados foram obtidos apenas com a adição de duas porções de 3 mol% de catalisador de segunda geração.

Vankar e colaboradores<sup>60</sup> explicam que, com o passar do tempo, o átomo de nitrogênio pode se ligar ao rutênio e envenenar o catalisador. Enquanto que ao

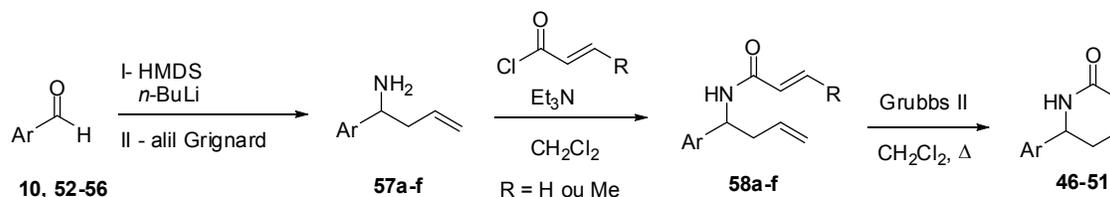
<sup>58</sup> a) Deshmukh, P. H.; Blechert, S. *Dalton Trans.* **2007**, 2479; b) Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18.

<sup>59</sup> Fiorelli, C.; Savoia, D. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6022.

<sup>60</sup> Lahiri, R.; Kokatla, H. P.; Vankar, Y. D. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 781.

adicionar o catalisador em porções, a concentração da espécie que participa do ciclo catalítico se mantém constante e não afeta a conversão da amida em questão para a lactama.

Os rendimentos para as duas etapas e para cada uma das amidas obtidas (Esquema 18), bem como os rendimentos da RCM e globais encontram-se na Tabela 2.



**Esquema 18.** Rota sintética para a síntese das lactamas **46-51**.

**Tabela 2.** Condições experimentais e rendimentos para a síntese dos derivados **46-51**.

Aldeído	Amida	R	Rendimento (2 etapas)	Rendimento (RCM)	Derivado	Rendimento global
<b>10</b>	<b>58<sup>a</sup></b>	H	66%	82%	<b>46</b>	54%
<b>52</b>	<b>58b</b>	H	79%	76%	<b>47</b>	60%
<b>53</b>	<b>58c</b>	Me	*	*	<b>48</b>	18%
<b>54</b>	<b>58d</b>	Me	*	*	<b>49</b>	30%
<b>55</b>	<b>58e</b>	Me	55%	84%	<b>50</b>	45%
<b>56</b>	<b>58f</b>	Me	54%	80%	<b>51</b>	42%

\* Não foi possível calcular os rendimentos para as amidas **58c** e **d**.

As evidências da formação da lactama são observadas nos espectros de  $^1\text{H}$ -RMN pela diminuição das integrais correspondentes a quantidade de hidrogênios presentes na molécula, na região dos mesmos ligados a carbonos  $\text{sp}^2$ . No espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN também observamos uma diminuição do número de carbonos na região de carbonos  $\text{sp}^2$ , bem como o desblindagem de alguns sinais, como o do carbono da carbonila. No espectro da lactama, este encontra-se na região de 167 ppm, 3-4 ppm acima do sinal da carbonila da amida, que apresenta-se em 164ppm. No espectro de IV é observado que o sinal da carbonila da lactama encontra-se em uma região de  $1675\text{ cm}^{-1}$ , aproximadamente  $50\text{ cm}^{-1}$  acima da carbonila da amida, que apresenta-se em  $1630\text{ cm}^{-1}$ .

### 3.3.1. Atividade Antiproliferativa

A atividade antiproliferativa dos compostos nitrogenados foi testada da mesma forma que os compostos do capítulo anterior. Nesse ensaio, os 6 derivados foram avaliados contra 9 linhagens de células tumorais: U251(glioma de sistema nervoso central), UACC-62 (melanoma), NCI-ADR/RES (ovário resistente a adriamicina), 786-0 (rim), NCI-H490 (pulmão – células “*non-small*”), PC-03 (próstata), OVCAR-03 (ovário) e HT-29 (cólon). As curvas dose-resposta obtida do ensaio são apresentadas nas Figura 24 a Figura 29 a seguir.

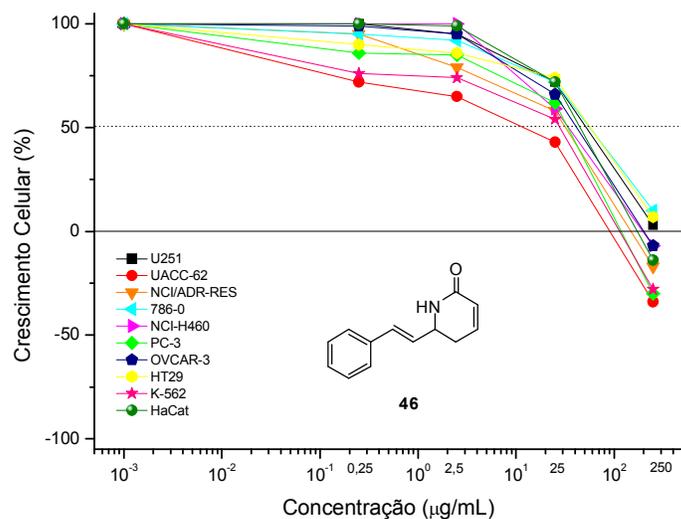


Figura 24. Gráfico concentração-efeito para a azagoniotalamina **46**.

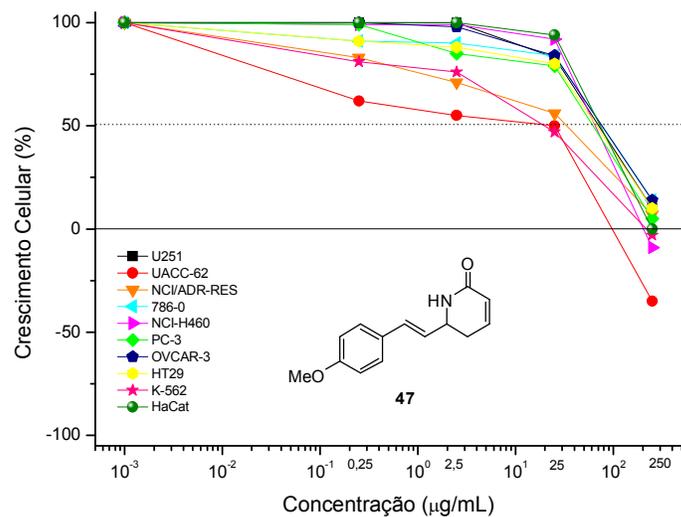


Figura 25. Gráfico concentração-efeito para o derivado **47**.

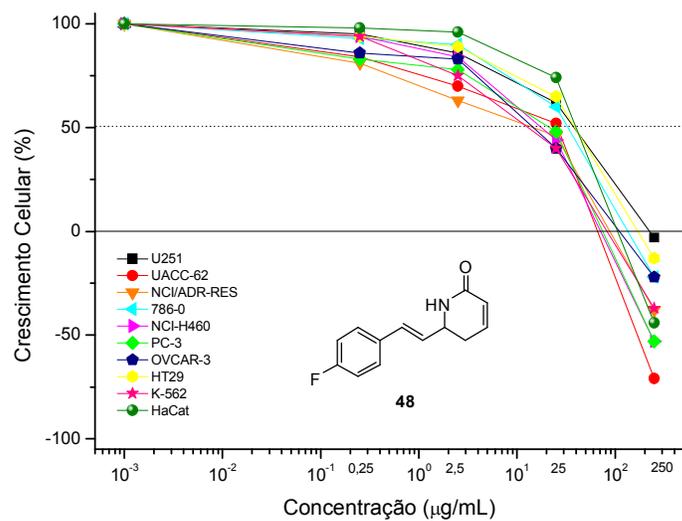


Figura 26. Gráfico concentração-efeito para o derivado 48.

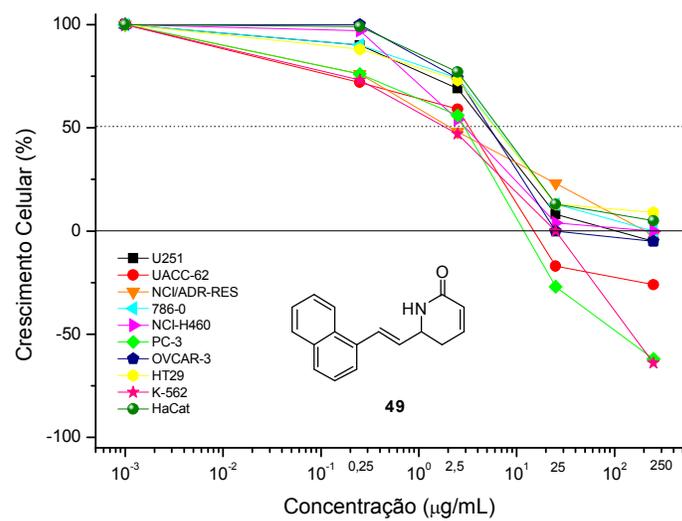


Figura 27. Gráfico concentração-efeito para o derivado 49.

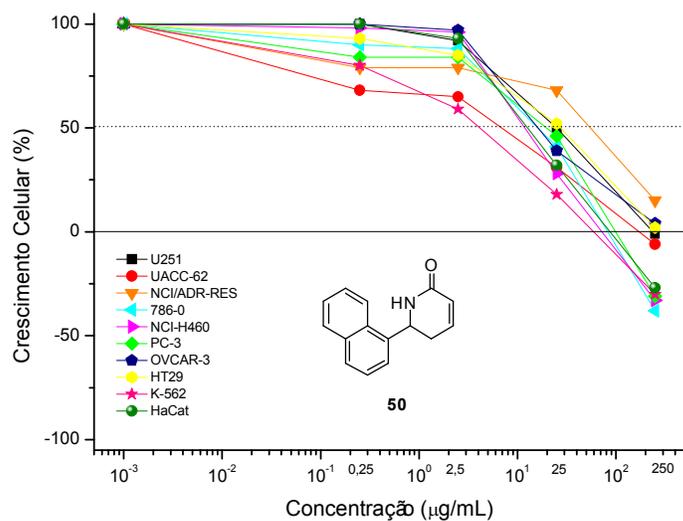


Figura 28. Gráfico concentração-efeito para o derivado 50.

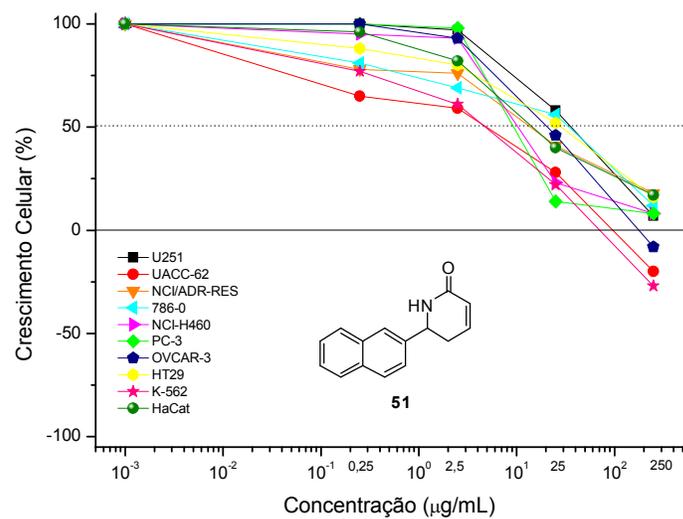


Figura 29. Gráfico concentração-efeito para o derivado 51.

A partir dessas curvas foi obtido o valor de TGI, em  $\mu\text{M}$ , de cada um dos derivados para as linhagens de células tumorais (Tabela 3).

**Tabela 3.** Valores de TGI, em  $\mu\text{M}$ , para a azagoniotalamina **46** e derivados **47** ao **51**.

	<b>U251</b>	<b>UACC-62</b>	<b>NCI-ADR/RES</b>	<b>786-0</b>	<b>HaCaT</b>
DOX	>459,96	0,66	31,65	1,84	1,80
<b>9</b>	18,73	10,49	12,99	12,49	10,49
<b>46</b>	>1254,71	427,60	782,94	>1254,71	921,96
<b>47</b>	>1090,42	396,48	>1090,42	>1090,42	1090,42
<b>48</b>	1071,17	275,27	371,48	654,58	534,43
<b>49</b>	438,41	124,42	711,56	596,05	702,34
<b>50</b>	1002,82	870,25	>1119,72	373,99	418,33
<b>51</b>	>1119,72	445,65	>1119,72	>1119,72	>1119,72

Controles positivos: doxorubicina (DOX) e goniotalamina (**9**); HaCaT: células de queratinócito humano imortal – linhagem não-tumoral.

**Tabela 3.** Valores de TGI, em  $\mu\text{M}$ , para a azagoniotalamina **46** e derivados **47** ao **51**.

(Continuação)

	<b>NCI-H460</b>	<b>PC-03</b>	<b>OVCAR-03</b>	<b>HT-29</b>	<b>K562</b>	<b>HaCaT</b>
DOX	6,18	1,67	7,23	29,86	8,63	1,80
<b>9</b>	10,04	8,49	10,99	20,98	6,49	10,49
<b>46</b>	994,73	618,82	1036,89	>1254,71	585,70	921,96
<b>47</b>	960,00	>1090,42	>1090,42	>1090,42	1049,85	1090,42
<b>48</b>	313,02	322,87	526,15	828,12	369,18	534,43
<b>49</b>	442,02	<b>54,95</b>	375,04	899,68	<b>75,81</b>	702,34
<b>50</b>	352,49	450,13	1064,18	1190,49	262,46	418,33
<b>51</b>	1056,12	900,70	786,49	>1119,72	310,83	>1119,72

Controles positivos: doxorubicina (DOX) e goniotalamina (**9**); HaCaT: células de queratinócito humano imortal – linhagem não-tumoral.

Pelos valores de TGI observamos que nenhum dos compostos foi mais citotóxica que a goniotalamina. Entretanto, verificamos certa seletividade do derivado **49** pelas células tumorais de próstata e leucemia, quando comparamos seus valores de TGI com os das outras linhagens, especialmente com a linhagem de célula não-tumoral HaCaT. É interessante ressaltar que a mesma seletividade

não é observada pela goniotalamina (**9**), já que a concentração de inibição de crescimento da HaCaT e das outras linhagens apresentam a mesma ordem, aproximadamente. Por outro lado, para o derivado **49** observamos uma seletividade maior que 9 vezes quando comparado os valores de TGI para K562 e HaCaT e 13 vezes maior comparando os valores de TGI entre PC-03 e HaCaT.

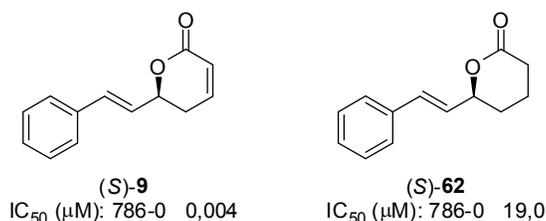
Analisando os resultados, podemos sugerir que a densidade eletrônica no carbono  $\beta$  do anel é importante para a potência do composto na atividade citocida. Ao substituir a lactona por uma lactama, a carbonila será mais rica em densidade eletrônica devido à ressonância com par eletrônico do átomo de nitrogênio. Dessa forma, na lactona, o carbono  $\beta$  do grupo  $\alpha,\beta$ -insaturado está mais deficiente em elétrons que na lactama, sendo mais suscetível a sofrer uma adição de Michael.

Relatos descritos na literatura sugerem que a atividade das dihidropiranonas seja devido à interação covalente (adição de Michael) entre a piranona e o receptor. Gademann e colaboradores<sup>6</sup> propõem esse modelo para explicar a interação entre a leptomicina (**1**) e a CRM-1, justificando assim, a atividade de inibição do transporte nucleocitoplasmático de **1**. Além disso, os autores fazem o uso do mesmo modelo para explicar a mesma atividade das anguinomicinas C e D (**6** e **7**) e da goniotalamina (**9**).<sup>28c</sup>

Estudos de mutagênese da PP2A desenvolvidos por Evans e Simon indicaram a importância do resíduo da cisteína 269 na interação entre a PP2A e a fostriecina (**8**). Ao trocar esse resíduo de cisteína por um resíduo de fenilalanina, observou-se uma afinidade na ordem de 40 000 vezes menor.<sup>61</sup> Resultados anteriores do nosso grupo mostraram que quando a dupla do anel lactônico era suprimida, havia um aumento de aproximadamente 5000 vezes no valor de  $CI_{50}$ , o que indica perda de atividade em relação à goniotalamina para linhagens de células de rim 786-0 (Figura **30**).<sup>27</sup> Esses estudos citados corroboram com a idéia de adição de Michael entre a piranona e o receptor.

---

<sup>61</sup> Evans, D. R. H.; Simon, J. A. *FEBS Lett.*, **2001**, 498, 110.



**Figura 30.** Goniotalamina (**9**) e derivado **62** e seus respectivos valores de IC<sub>50</sub> para linhagem tumoral de rim 786-0.<sup>27</sup>

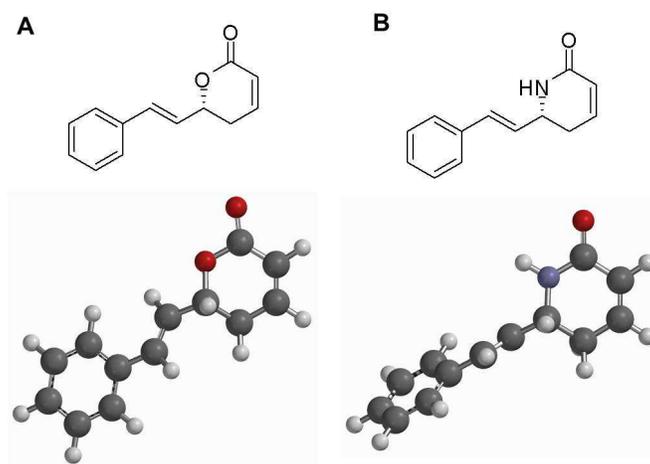
Com a finalidade de avaliar a justificativa proposta anteriormente para a não atividade da azagoniotalamina (**46**), decidimos fazer cálculos teóricos para confirmarmos nossa hipótese. Sendo assim, foi feito o cálculo quântico para a goniotalamina (**9**) e a azagoniotalamina (**46**).

Inicialmente, fez-se uma busca conformacional utilizando nível de teoria semi-empírico AM1.<sup>62</sup> O confômero de mínimo de energia de cada molécula foi selecionado para os cálculos posteriores. Após, calculou-se as energias dos confômeros e dos orbitais moleculares usando nível de teoria DFT/B3LYP/6-31G\* e água como solvente implícito. O coeficiente no carbono β no LUMO foi calculado somando o quadrado das contribuições de cada orbital. O módulo QSAR foi escolhido para a obtenção dos valores de LogP preditos para os compostos. Os cálculos foram realizados no programa Spartan '10 versão 1.0.1 para Windows (Wavefunction) (Número da licença: 325-61) e apenas o enantiômero *R* foi considerado.

A energia obtida para o confômero de mínimo de energia em água de **9** foi de -409793,41 kcal.mol<sup>-1</sup> e para **46** foi de -397321,33 kcal.mol<sup>-1</sup>. As conformações de mínimo de energia estão ilustradas na Figura 31. Pode-se observar que as conformações mínimas para as duas moléculas são diferentes. É bem provável que o átomo de hidrogênio faça com que o grupo estiril fique praticamente ortogonal, em **46**, em relação ao anel lactâmico. Enquanto que em **9** apresenta, na sua conformação mínima de energia, os grupos estiril e anel lactônico praticamente planar. Os valores de mínimo de energia indicam que a conformação

<sup>62</sup> Dewar, M. J. S.; Zoebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3902.

mínima da goniotalamina (**9**) é mais estável que a conformação mínima da azagoniotalamina (**14**).



**Figura 31.** Confômeros de mínimo de energia dos compostos **9** (A) e **46** (B).

O LogP é um parâmetro útil em Química Medicinal, pois permite a análise da lipofilicidade dos compostos comparativamente, podendo indicar a sua habilidade em atravessar membranas celulares. É interessante observarmos os valores de LogP, especialmente para ensaios *in vitro*, uma vez que a maioria dos compostos atingem o seu alvo através de difusão passiva. Quanto maior o valor de Log P, mais lipofílico é o composto em questão e, portanto, ele irá atravessar a membrana celular com mais facilidade.

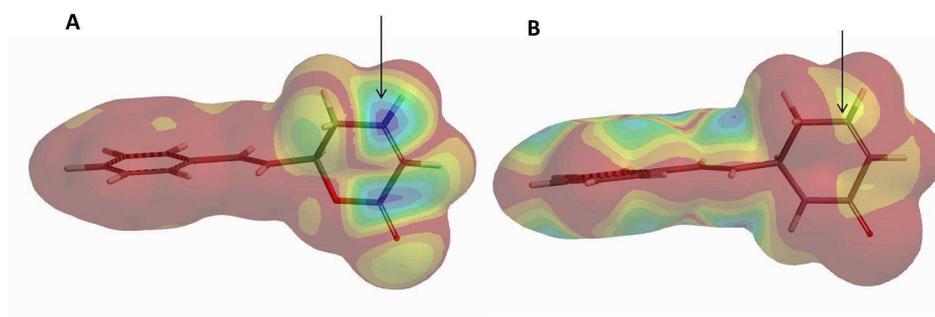
Os valores de LogP preditos através desses cálculos foram 2,90 para a goniotalamina (**9**) e 2,22 para a azagoniotalamina (**46**). A partir desse resultado é possível inferir que **9** é ligeiramente mais lipofílico que **46** o que pode estar relacionado com a diferença de atividade observada entre esses dois compostos.

Ainda com o objetivo de tentar justificar o porquê de a troca do anel lactônico por um lactâmico resultar na diminuição da atividade citotóxica, decidimos avaliar a energia de LUMO de **9** e **46**, bem como os coeficientes nos carbonos  $\beta$  do grupo  $\alpha,\beta$ -insaturado presente nestas estruturas.

A energia de LUMO obtida para a goniotalamina (**9**) é de -1,35 eV e para a azagoniotalamina (**46**) é de -1,16 eV. Os coeficientes no carbono  $\beta$  para **9** é

0,356 e para **46** é 0,035. Dessa forma, esses valores confirmam a baixa reatividade do carbono  $\beta$  na azagoniotalamina, como também a nossa hipótese de aumento da densidade eletrônica no carbono  $\beta$  da azagoniotalamina.

A análise dos orbitais de fronteira sugere que o carbono  $\beta$  presente na estrutura da goniotalamina **9** (assinalado na Figura **32a**) é uma das posições mais reativas deste composto. O mesmo não foi observado para o seu análogo **46**. O resultado sugere que a perda da atividade da azagoniotalamina se deve a baixa reatividade do carbono  $\beta$  de **46** (assinalado na Figura **32b**) para a reação de adição de Michael. A importância do sítio aceptor de Michael na atividade de análogos de goniotalamina, já verificada em trabalhos anteriores do grupo, é confirmada por esses resultados.<sup>27</sup>



**Figura 32.** Mapas de LUMO dos compostos goniotalamina (**A**) e aza-goniotalamina (**B**) obtidos por DFT/B3LYP/6-31G\* utilizando o programa Spartan'10. No mapa, cores vermelhas indicam alta densidade eletrônica enquanto que cores azuis indicam baixa densidade eletrônica.

### 3.4. Conclusões

Foi possível a obtenção dos derivados **46-51** a partir dos aldeídos desejados (**10**, **52-56**), em rendimentos que variaram de 18 a 60%, por uma metodologia racêmica e simples em apenas 3 etapas.

Embora nenhum dos compostos tenha apresentado maior potência que a goniotalamina, o derivado **49** apresentou certa seletividade para as linhagens de câncer de próstata e leucemia, quando comparado com a linhagem de célula sadia (HaCaT), fato que não foi observado com a goniotalamina. A menor deficiência eletrônica no carbono  $\beta$  da insaturação do ciclo pode ser uma racionalização da diminuição da atividade dos compostos sintetizados frente à goniotalamina.

Cálculos teóricos foram realizados a fim de confirmar a racionalização. Os mapas de LUMO da goniotalamina (**9**) e azagoniotalamina (**46**), assim como os valores de LogP preditos, corroboraram com a hipótese proposta e os valores de atividade citotóxica.



## **Capítulo 4:**

# **Procedimiento Experimental**



#### 4.1. Reagentes e solventes

As reações envolvendo condição anidra foram realizadas sob atmosfera de N<sub>2</sub>, em balão previamente flambado. Trietilamina, di-isopropilamina e diclorometano foram previamente destilados sob hidreto de cálcio e destilados antes do uso. Tetraidrofurano foi previamente tratado com sódio metálico e benzofenona e destilado imediatamente antes do uso. Cinamaldeído foi destilado imediatamente antes do uso. O brometo de ((1,3-dioxolan-2il)metil)tributilfosfônio foi preparado conforme descrito na literatura.<sup>52</sup> Os demais reagentes foram utilizados sem prévio tratamento.<sup>63</sup>

#### 4.2. Métodos cromatográficos

As cromatografias de adsorção em coluna foram realizadas utilizando-se sílica-gel Acros (70 - 230 mesh (*flash*) e 230 - 400 mesh). Os eluentes empregados estão descritos nas respectivas preparações.

As análises por cromatografia em camada delgada foram realizadas utilizando-se placas obtidas a partir de cromatofolhas de alumínio impregnadas com sílica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) e reveladas em luz UV<sub>254nm</sub> e/ou por imersão em solução de permanganato de potássio, ácido fosfomolibidínico ou *p*-anisaldeído seguida de aquecimento.

#### 4.3. Métodos espectroscópicos

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de <sup>1</sup>H) e de carbono (RMN de <sup>13</sup>C) foram obtidos no aparelho Bruker 250. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados pelo sinal de clorofórmio deuterado em 7,26 ppm para RMN de <sup>1</sup>H e 77,0 para o RMN de <sup>13</sup>C. A multiplicidade dos sinais dos hidrogênios nos espectros de RMN de <sup>1</sup>H foi indicada segundo a convenção: s (singleto), sl (sinal

---

<sup>63</sup> Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals* **1988**, Pergamon Press, 3<sup>rd</sup> Ed.

largo), d (duplete), t (triplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplo duplete), dddd (duplo duplo duplo dublete), dt (duplo triplete), qt (quinteto), st (sexteto), n (noneto) e m (multiplete).

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos em um aparelho Perkin-Elmer 1600 FTIR entre janelas de KBr (pastilha) e cela de NaCl (filme) com as frequências de absorção sendo expressas em  $\text{cm}^{-1}$ .

Os espectros de massa foram determinados em um CG/EM TOF GCT-Waters, com ionização por EI: 70 eV.

Os pontos de fusão foram obtidos em um aparelho Perkin Elmer 341, utilizando uma lâmpada de sódio. Os valores não foram corrigidos.

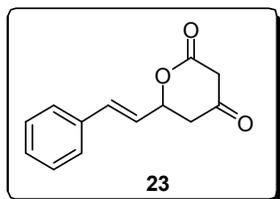
A nomenclatura dos compostos foi feita utilizando o programa ChemDraw Ultra 10.0.

A seguir, serão detalhados somente os procedimentos experimentais que efetivamente conduziram a intermediários utilizados em etapas posteriores ou que puderam ser indubitavelmente caracterizados segundo espectroscopias apropriadas.

## 4.4. Preparação dos compostos

### 4.4.1. Síntese e Atividade Biológica de Derivados da Kavaína

#### 4.4.1.1. Preparação da di-hidropiranona (23)



Pesou-se 0,640 g de NaH a 60% em óleo mineral (16,0 mmol) em um balão de 250 mL, previamente flambado, e o mesmo foi lavado 3 vezes com hexano. Adicionou-se 40 mL de THF sob atmosfera inerte e essa suspensão foi levada a 0°C. Em seguida, 0,85 mL de acetoacetato de etila **29** (8,0 mmol) foi adicionado gota-a-gota. Depois de 30 minutos, adicionou-se 10,4 mL (16,0 mmol)

de *n*-butil-lítio (solução 1,53 M em hexano) e deixou-se a mistura por 15 minutos nessas condições. Por fim, adicionou-se 1,0 mL de cinamaldeído **10** (8,0 mmol). A mistura reacional permaneceu sob agitação por 30 minutos, ainda a 0°C. Após esse tempo, a mistura foi aquecida a temperatura ambiente e esta foi transferida para um erlenmeyer contendo 25 mL de solução de NaOH 2 M e a mistura foi mantida por 12 horas nessas condições. As fases orgânica e aquosa foram separadas e a fase aquosa foi extraída com Et<sub>2</sub>O (2x25 mL). A fase aquosa foi resfriada a 0°C e acidificada até pH 6 com solução de HCl 6 M. Extraiu-se a solução aquosa com acetato de etila (25 mL), tendo o cuidado para que o pH ficasse sempre na faixa de 6. A cada 3 porções de acetato de etila, as fases orgânicas foram lavadas com água destilada (2x50 mL) e solução de NaCl saturada (2x25 mL). Combinou-se as fases orgânicas, secou sob MgSO<sub>4</sub>. Filtrou-se e evaporou-se o solvente e recristalizou o sólido obtido com CHCl<sub>3</sub>/hexano. Foi obtido um sólido de cor amarelo claro de massa 0,26 g, após a recristalização.

**Rendimento:** 15%.

**Aspecto físico:** sólido amarelo claro.

**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)** δ (ppm): 7,42-7,29 (m, 5H); 6,77 (dd, *J* = 16,0 e 1,1 Hz, 1H); 6,23 (dd, *J* = 16,0 e 6,0 Hz, 1H); 5,39-5,31 (m, 1H); 3,62 (d, *J* = 19,2 Hz, 1H); 3,50 (d, *J* = 19,2 Hz, 1H); 2,90 (dd, *J* = 18,2 e 3,8 Hz, 1H); 2,75 (dd, *J* = 18,2 e 9,4 Hz, 1H).

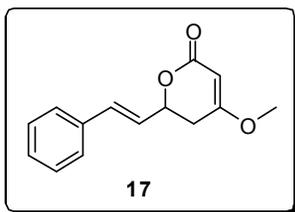
**RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 62,5 MHz)** δ (ppm): 199,4; 166,8; 135,0; 134,2; 128,9; 128,8; 126,8; 123,7; 75,4; 47,1; 43,5.

**IV (pastilha KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3026, 2897, 1744, 1714, 1578, 1286.

**EMAR (ESI/+):** *m/z* calculado para C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub> [MH<sup>+</sup>]: 217,0865; Obtido: [MH<sup>+</sup>]: 217,0851; Erro: 6 ppm.

**P.F.:** 130,3-133,0°C.

## 4.4.1.2. Preparação da kavaína (17)



Foram pesados 70 mg (0,32 mmol) de **23** e 90 mg (0,49 mmol) de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em um balão. Adicionou-se 1,6 mL de acetona, sob agitação magnética e atmosfera de N<sub>2</sub>. Em seguida, adicionou-se 62 µL (0,65 mmol) de Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à suspensão e deixou-se por 12 horas. A mistura reacional foi diluída com 10 mL de acetato de etila e lavada com 10 mL de solução aquosa de HCl 0,5 M. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (2x2 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas sob MgSO<sub>4</sub>. Foi feita uma coluna em sílica flash hexano/acetato de etila 1:1 para a purificação do bruto. O produto obtido foi um sólido amarelo levemente claro com massa de 47 mg.

**Rendimento:** 64%.

**Aspecto físico:** sólido amarelo levemente claro.

**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)** δ (ppm): 7,41-7,23 (m, 5H); 6,73 (dd, *J* = 16,0 e 0,8 Hz, 1H); 6,25 (dd, *J* = 16,0 e 6,2 Hz, 1H); 5,18 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H); 5,09-5,00 (m, 1H); 3,75 (s, 3H); 2,66 (ddd, *J* = 17,1; 11,0 e 1,2 Hz, 1H); 2,53 (dd, *J* = 17,1 e 4,7 Hz, 1H).

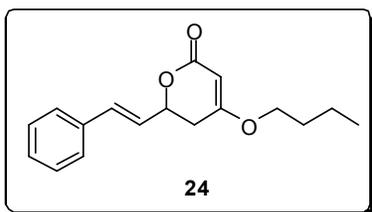
**RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 62,5 MHz)** δ (ppm): 172,4; 166,8; 135,7; 133,1; 128,7; 128,3; 126,7; 125,5; 90,5; 75,9; 56,1; 33,3.

**IV (pastilha KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3076, 2983, 2853, 1703, 1625, 1387, 1230, 1023, 863.

**EMAR (ESI/+):** *m/z* calculado para C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub> [MH<sup>+</sup>]: 231,1021; Obtido: [MH<sup>+</sup>]: 231,0951; Erro: 30 ppm.

**P.F.:** 111,4-113,0°C.

#### 4.4.1.3. Preparação da 4-butoxi-6-estiril-5,6-di-hidropiran-2-ona (24)



Preparou-se uma solução com 101  $\mu\text{L}$  de 1-bromobutano **36** (0,92 mmol), 0,7 mg de NaI (4,63 mmol) e 70,3 mg de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0,51 mmol) em 10 mL de acetona. A essa solução foi adicionada outra solução contendo 100 mg de **23** (0,46 mmol) em 4 mL de acetona. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética, refluxo e atmosfera de nitrogênio por 3 horas. Depois a solução foi resfriada a temperatura ambiente e adicionou-se 45 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com  $\text{Et}_2\text{O}$  (3x45 mL). Em seguida, a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl, seca sob  $\text{MgSO}_4$  e concentrada. O bruto foi purificado em placa preparativa de sílica com diclorometano como eluente, fornecendo 9 mg do produto.

**Rendimento:** 7%.

**Aspecto físico:** óleo amarelo.

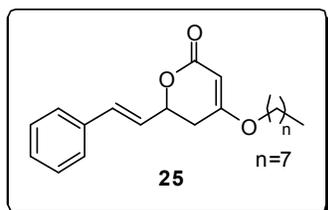
**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 7,42-7,25 (m, 5H); 6,74 (dd,  $J = 16,0$  e 1,0 Hz, 1H); 6,26 (dd,  $J = 16,0$  e 6,0 Hz, 1H); 5,17 (d,  $J = 1,0$  Hz, 1H); 5,11-5,02 (m, 1H); 3,91 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H); 2,67 (ddd,  $J = 17,1$ ; 10,7 e 1,3 Hz, 1H); 2,54 (dd,  $J = 17,1$  e 4,3 Hz, 1H); 1,74 (qt,  $J = 6,7$  Hz, 2H); 1,44 (st,  $J = 7,3$  Hz, 2H); 0,96 (t,  $J = 7,3$  Hz, 3H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)**  $\delta$  (ppm): 171,7; 167,0; 135,8; 133,0; 128,7; 128,3; 126,7; 125,6; 90,7; 75,8; 68,9; 33,5; 30,4; 19,1; 13,7.

**IV (filme NaCl,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3084, 2958, 2873, 1708, 1620, 1220, 1020, 822.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_3$  [ $\text{MH}^+$ ]: 273,1491; Obtido: [ $\text{MH}^+$ ]: 273,1508; Erro: 6 ppm.

#### 4.4.1.4. Preparação da 4-octiloxi-6-estiril-5,6-di-hidropiran-2-ona (25)



A uma solução contendo 150 mg de **23** (0,69 mmol) e 105 mg de  $K_2CO_3$  (0,76 mmol) em 21 mL de acetona foi adicionado 375  $\mu$ L de 1-iodo-octano (**37**) (2,08 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação, refluxo e atmosfera inerte por 12 horas. Em seguida, a solução foi resfriada a temperatura ambiente e adicionou-se 67 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com  $Et_2O$  (3x45 mL). A fase orgânica foi, em seguida, lavada com solução saturada de NaCl, seca sob  $MgSO_4$  e concentrada. O bruto foi purificado em placa preparativa de sílica com diclorometano como eluente, fornecendo 8,6 mg de produto.

**Rendimento:** 4%.

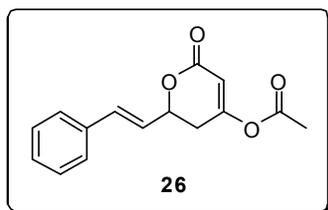
**Aspecto físico:** óleo amarelo claro.

**RMN de  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 7,42-7,26 (m, 7H); 6,73 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H); 6,26 (dd,  $J = 16,0$  e 6,1 Hz, 1H); 5,16 (d,  $J = 1,0$ , 1H); 5,10-5,02 (m, 1H); 3,90 (t,  $J = 6,3$  Hz, 2H); 2,67 (dd,  $J = 17,1$  e 10,5 Hz, 1H); 2,54 (dd,  $J = 17,1$  e 4,3 Hz, 1H); 1,80-1,66 (m, 2H); 1,34-1,23 (m, 13H); 0,91-0,86 (m, 4H).

**RMN de  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 62,5 MHz)**  $\delta$  (ppm): 171,6; 167,0; 135,8; 133,0; 128,7; 128,3; 126,7; 125,6; 90,7; 75,8; 69,2; 33,5; 31,7; 29,2; 29,1; 28,4; 25,8; 22,6; 14,0.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $C_{21}H_{29}O_3$   $[MH^+]$ : 329,2117; Obtido:  $[MH^+]$ : 329,2143; Erro: 8 ppm.

#### 4.4.1.5. Preparação do acetato de 6-oxo-2-estiril-3,6-di-hidropiran-4-ila (26)



A uma solução contendo 70 mg de **7** (0,32 mmol) e 49  $\mu$ L de  $Et_3N$  (0,35 mmol) em 1,9 mL de  $CH_2Cl_2$  em atmosfera inerte e a  $-78^\circ C$  foi adicionado 34  $\mu$ L de cloreto de acetila **38** (0,49 mmol). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética por 30 minutos. Em

seguida, adicionou-se 1,5 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x2 mL). A fase orgânica foi seca sob MgSO<sub>4</sub> e evaporou-se o solvente. O produto puro **26** foi obtido, sem posterior purificação, em 84 mg.

**Rendimento:** quantitativo.

**Aspecto físico:** sólido amarelo.

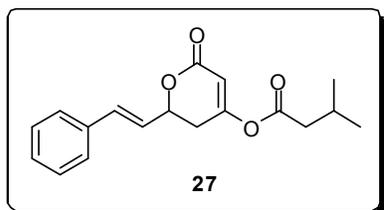
**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz)** δ (ppm): 7,41-7,26 (m, 5H); 6,75 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H); 6,26 (dd, *J* = 16,0 e 6,4 Hz, 1H); 5,99 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); 5,19-5,09 (m, 1H); 2,83 (ddd, *J* = 17,6; 10,6 e 1,9 Hz, 1H); 2,66 (dd, *J* = 17,6 e 4,5 Hz, 1H); 2,24 (s, 3H).

**RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 62,5 MHz)** δ (ppm): 167,1; 165,0; 163,4; 135,5; 133,8; 128,7; 128,5; 126,7; 124,8; 107,0; 76,6; 32,8; 21,2.

**EMAR (ESI/+):** *m/z* calculado para C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>O<sub>4</sub> [MH<sup>+</sup>]: 259,0970; Obtido: [MH<sup>+</sup>]: 259,0877; Erro: 35 ppm.

**P.F.:** 66,4-69,0°C

#### 4.4.1.6. Preparação do 3-metilbutanoato de 6-oxo-2-estiril-3,6-di-hidropiran-4-ila (**27**)



A uma solução contendo 124 mg de **7** (0,57 mmol) e 86 µL de Et<sub>3</sub>N (0,62 mmol) em 3,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> em atmosfera inerte e a -78°C foi adicionado 105 µL de cloreto de isopentenila **39** (0,86 mmol). A mistura reacional ficou sob agitação nessas condições por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 3,0 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x3 mL). A fase orgânica foi seca sob MgSO<sub>4</sub> e evaporou-se o solvente. O produto bruto foi purificado em sílica flash e hexano/acetato de etila 1:3 e **27** foi obtido em 121 mg.

**Rendimento:** 70%.

**Aspecto físico:** óleo amarelo.

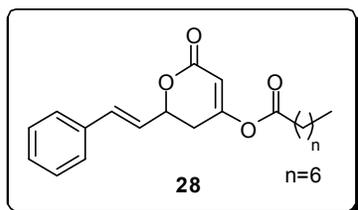
**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)  $\delta$  (ppm):** 7,46-7,25 (m, 6H); 6,75 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H); 6,26 (dd,  $J = 16,0$  e  $6,4$  Hz, 1H); 5,97 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H); 5,19-5,11 (m, 1H); 2,84 (ddd,  $J = 17,6$ ;  $10,7$  e  $1,9$  Hz, 1H); 2,65 (dd,  $J = 17,6$  e  $4,3$  Hz, 1H); 2,37 (d,  $J = 6,7$  Hz, 2H); 2,16 (n,  $J = 6,7$  Hz, 1H); 1,01 (d,  $J = 6,7$  Hz, 6H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 169,3; 165,0; 163,6; 135,6; 133,8; 128,7; 128,5; 126,7; 124,8; 106,9; 76,6; 43,2; 32,9; 25,6; 22,2.

**IV (filme NaCl,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3027, 2961, 2873, 1769, 1722, 1370, 1142, 1077.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_4$  [ $\text{MH}^+$ ]: 301,1440; Obtido: [ $\text{MH}^+$ ]: 301,1492; Erro: 17 ppm.

#### 4.4.1.7. Preparação do octanoato de 6-oxo-2-estiril-3,6-di-hidropiran-4-ila (**28**)



Em um balão foi adicionado 176  $\mu\text{L}$  de ácido octílico (1,11 mmol) e 0,8 mL de cloreto de tionila (11,10 mmol). A mistura foi deixada sob refluxo durante 3 horas. O excesso de cloreto de tionila foi evaporado. Em outro balão foi preparado uma solução contendo 120 mg de **7** (0,55 mmol) e 86  $\mu\text{L}$  de  $\text{Et}_3\text{N}$  (0,62 mmol) em 3,0 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  em atmosfera inerte e a  $-78^\circ\text{C}$ . A essa solução, transferiu-se via cânula o cloreto de octila **40** preparado anteriormente. A mistura reacional ficou sob agitação nessas condições por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 3,0 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x3 mL). A fase orgânica foi seca sob  $\text{MgSO}_4$  e evaporou-se o solvente. O produto bruto foi purificado em sílica flash e diclorometano e **28** foi obtido em 62 mg.

**Rendimento:** 33%.

**Aspecto físico:** óleo amarelo claro.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)  $\delta$  (ppm):** 7,41-7,25 (m, 6H); 6,74 (d,  $J = 15,9$  Hz, 1H); 6,26 (dd,  $J = 15,9$  e  $6,4$  Hz, 1H); 5,98 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H); 5,18-5,10 (m, 1H); 2,83 (ddd,  $J = 17,6$ ;  $10,7$  e  $1,8$  Hz, 1H); 2,65 (dd,  $J = 17,6$  e  $4,4$  Hz, 1H); 2,49 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H); 1,71-1,65 (m, 2H); 1,30-1,28 (m, 9H); 0,88-0,85 (m, 4H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 170,1; 165,1; 163,6; 135,6; 133,7; 128,7; 128,5; 126,7; 124,9; 106,8; 76,6; 34,3; 32,9; 31,6; 28,9; 28,8; 24,5; 22,5; 14,0.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_4$   $[\text{MH}^+]$ : 343,1909; Obtido:  $[\text{MH}^+]$ : 343,1941; Erro: 9 ppm.

#### **4.4.2. Síntese e Atividade Biológica da Azagoniotalamina e seus Derivados**

##### **4.4.2.1. Procedimento geral para o preparo dos aldeídos homologados**

Em um balão com atmosfera de  $\text{N}_2$ , preparou-se uma solução contendo 1 mmol do aldeído, 2 mmol do brometo de ((1,3-dioxolan-2il)metil)tributilfosfônio, 2,4 mmol de *tert*-butóxido de potássio em 3,0 mL de diclorometano. Em outro balão, preparou-se uma solução de 0,1 mmol do éter coroa 18-O-6 em 0,4 mL de diclorometano. A última solução foi adicionada à primeira via cânula. A mistura reacional foi mantida 18 horas à temperatura ambiente sob agitação.

Filtrou-se a mistura reacional em celite e evaporou-se o solvente. Adicionou-se 6,7 mL de mistura de TFA/diclorometano 1:3. Ao fim da reação acompanhada por CCD, foram adicionados 14 mL de água e extrau-se com diclorometano. A fase orgânica foi seca sob  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e evaporada. O produto foi purificado em coluna de sílica flash e hexano/acetato de etila 9:1.

##### **4.4.2.2. Procedimento geral para o preparo das amidas**

Em um balão, sob atmosfera inerte, foram adicionados 1,2 mmol de hexametildisilazida em 0,4 mL de THF. Essa solução foi resfriada a  $0^\circ\text{C}$ . Foi adicionado, logo em seguida, 1,3 mmol de solução de *n*-butil-lítio (1,6 M em hexano). Em outro balão, foi preparada uma solução de 1 mmol do aldeído em 0,4 mL de THF. Essa solução foi transferida com o auxílio de uma cânula à primeira e 1,2 mmol de brometo de alilmagnésio foram adicionados à mistura reacional. Essa mistura permaneceu sob agitação magnética por 30 minutos e a temperatura ambiente. Após o término da reação, acompanhada por CCD, foram adicionados

6,8 mL de solução de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ainda sob agitação magnética. Assim que as fases orgânica e aquosa foram separadas, foi feita a extração com 2x1,2 mL de diclorometano. A fase orgânica foi seca sob  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e evaporada.

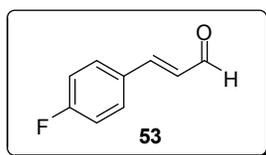
Ao composto obtido foram adicionados 20 mL de diclorometano seco e 1,5 mmol trietilamina e essa solução foi resfrada a  $0^\circ\text{C}$ . Em seguida, 2,0 mmol de cloreto de acrilóila ou cloreto de crotonóila foram adicionados. A mistura reacional foi mantida por 1 hora sob agitação magnética a temperatura ambiente. Após o término da reação, também acompanhada por CCD, o solvente foi evaporado e o produto foi purificado em coluna de sílica flash e hexano/acetato de etila 2:1.

#### 4.4.2.3. Procedimento geral para o preparo das lactamas

A uma solução de 1 mmol da amida em 100 mL de diclorometano sob refluxo, foi adicionado uma solução de 0,03 mmol de catalisador de Grubbs II em 7,5 mL de diclorometano. Após 2 horas, adicionou-se novamente 0,03 mmol de catalisador de Grubbs II em 7,5 mL de diclorometano. Depois de mais 2 horas, o refluxo foi desligado e foram adicionados 0,04 mL de DMSO. A mistura reacional permaneceu sob agitação por 18 horas. O solvente foi evaporado e o produto foi purificado em coluna de sílica flash e gradiente de solventes hexano/acetato de etila 1:1 e hexano/acetato de etila 1:2.

#### 4.4.2.4. Caracterização dos compostos

##### 4.4.2.4.1. (*E*)-3-(4-fluorfenil)acrilaldeído (53)



**Rendimento:** 64%.

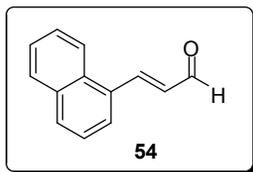
**Aspecto físico:** óleo incolor.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 9,70 (d,  $J = 7,7$ , 1H); 7,57 (dd,  $^4J_{F-H} = 5,4$  Hz,  $^3J_{H-H} = 8,7$  Hz, 2H); 7,45 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H), 7,13 (dd,  $^3J_{F-H} = 8,6$  Hz,  $^3J_{H-H} = 8,6$  Hz, 2H); 6,65 (dd,  $J = 16,0$  e  $7,7$  Hz, 1H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)**  $\delta$  (ppm): 193,4; 164,4 (d,  $J = 250,6$  Hz); 151,3; 130,5 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2C); 130,2 (d,  $J = 3,3$  Hz); 128,3 (d,  $J = 2,1$  Hz); 116,3 (d,  $J = 22,3$  Hz, 2C).

**RMN de  $^1\text{H}$  {lit.<sup>64</sup>}**  $\delta$  (ppm): 9,69 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H); 7,59-7,56 (m, 2H); 7,45 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H); 7,15-7,11 (m, 2H); 6,65 (dd,  $J = 16,0$  e  $7,6$  Hz, 1H).

#### 4.4.2.4.2. (E)-3-(naftalen-1-il)acrilaldeído (54)



**Rendimento:** 59%.

**Aspecto físico:** óleo amarelo viscoso.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 9,86 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H); 8,34 (d,  $J = 15,7$  Hz, 1H); 8,19 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H); 7,98-7,81 (m, 3H); 7,66-7,50 (m, 3H); 6,85 (dd,  $J = 15,7$  e  $7,7$  Hz, 1H).

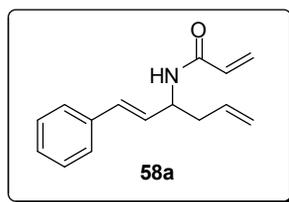
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)**  $\delta$  (ppm): 193,7; 149,3; 133,8; 131,6; 131,2; 131,0; 130,9; 129,0; 127,3; 126,4; 125,7; 125,5; 122,8.

**RMN de  $^1\text{H}$  {lit.<sup>65</sup>}**  $\delta$  (ppm): 9,78 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 8,22 (d,  $J = 15,8$  Hz, 1H); 8,11 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 7,90-7,84 (m, 2H); 7,72 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H); 7,60-7,42 (m, 3H); 6,67 (dd,  $J = 15,8$  e  $7,8$  Hz, 1H).

<sup>64</sup> de Fátima, A. *Goniotalamina, Epoxigoniotalamina, Argentilactona e Derivados: Sínteses Totais e Atividades Antiproliferativas contra Células Tumerais Humanas*, Tese de Doutorado, **2005**, Instituto de Química Unicamp.

<sup>65</sup> Náreja, C.; Botella, L. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 9688.

4.4.2.4.3. (*E*)-*N*-(1-fenilexa-1,5-dien-3-il)acrilamida (58a)



**Rendimento:** 66%.

**Aspecto físico:** sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)  $\delta$  (ppm):** 7,36-7,22 (m, 5H); 6,53 (d,  $J = 15,7$  Hz, 1H); 6,31 (d,  $J = 17,1$  Hz, 1H); 6,20-6,08 (m, 2H); 5,89-5,76 (m, 2H); 5,65 (d,  $J = 10,6$  Hz, 1H); 5,16 (d,  $J = 7,0$  Hz, 1H); 5,11 (s, 1H); 4,86-4,81 (m, 1H); 2,48-2,43 (m, 2H).

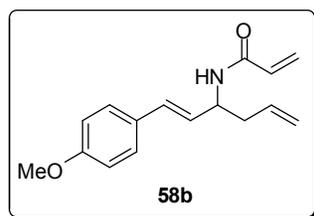
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 164,8; 136,5; 133,7; 130,9; 130,8; 128,9; 128,5; 127,7; 126,6; 126,4; 118,5; 50,1; 39,4.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3429, 3276, 2978, 2903, 1657, 1627, 1552, 1406, 966.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NO}$  [ $\text{MH}^+$ ]: 228,1388; Obtido: [ $\text{MH}^+$ ]: 228,1422; Erro: 15 ppm.

**P.F.:** 94,2-96,0°C.

4.4.2.4.4. (*E*)-*N*-(1-(4-metoxifenil)hexa-1,5-dien-3-il)acrilamida (58b)



**Rendimento:** 79%.

**Aspecto físico:** sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)  $\delta$  (ppm):** 7,27 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H); 6,82 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H); 6,47 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H); 6,30 (dd,  $J = 16,9$  e 1,6 Hz, 1H); 6,12 (dd,  $J = 16,9$  e 10,0 Hz, 1H); 6,01 (dd,  $J = 16,0$  e 6,3 Hz, 1H); 5,89-5,72 (m, 2H); 5,64 (dd,  $J = 10,0$  e 1,6 Hz, 1H); 5,15 (d,  $J = 6,3$  Hz, 1H); 5,09 (sl, 1H); 4,82-4,77 (m, 1H); 3,79 (s, 3H); 2,46-2,41 (m, 2H).

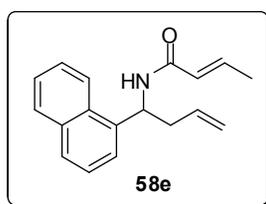
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 164,8, 159,2; 133,8; 130,9; 130,3; 129,3; 127,6; 126,7; 126,5; 118,3; 113,9; 55,3; 50,2; 39,5.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3438, 3275, 2954, 2831, 1657, 1511, 1247, 971.

**EMAR:** Calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_2$  [ $\text{MH}^+$ ]: 258,1494; Obtido: [ $\text{MH}^+$ ]: 258,1436; Erro: 26 ppm.

**P.F.:** 128,6-130,0°C.

#### 4.4.2.4.5. (*E*)-*N*-(1-(naftalen-1-il)but-3-enil)but-2-enamida (58e)



**Rendimento:** 55%.

**Aspecto físico:** sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)  $\delta$  (ppm):** 8,15 (d,  $J = 8,04$  Hz, 1H); 7,87-7,74 (m, 2H); 7,57-7,39 (m, 4H); 6,91-6,77 (m, 1H); 6,03-5,71 (m, 4H); 5,16 (dd,  $J = 17,2$  e 1,5 Hz, 1H); 5,08 (d,  $J = 10,2$  Hz, 1H); 2,80-2,74 (m, 2H); 1,80 (dd,  $J = 6,95$  e 1,50 Hz, 3H).

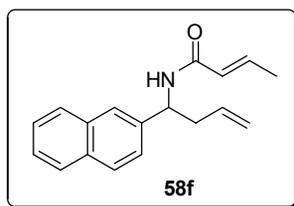
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 165,0; 140,3; 137,1; 134,3; 134,0; 131,1; 128,8; 128,2; 126,5; 125,8; 125,1; 124,9; 123,3; 122,9; 118,0; 48,1; 39,5; 17,7.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3439, 3289, 2961, 2852, 1630, 1553, 1345, 1232, 774.

**EMAR (ESI+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}$  [ $\text{MH}^+$ ]: 266,1545; Obtido: [ $\text{MH}^+$ ]: 266,1570; Erro: 9 ppm.

**P.F.:** 126,0-128,0°C.

4.4.2.4.6. (*E*)-*N*-(1-(naftalen-2-il)but-3-enil)but-2-enamida (58f)



**Rendimento:** 54%.

**Aspecto físico:** sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 7,82-7,72 (m, 4H); 7,49-7,39 (m, 3H); 6,92-6,78 (m, 1H); 5,99 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 5,85 (dd,  $J = 15,2$  e 1,6 Hz, 1H); 5,78-5,64 (m, 1H); 5,32 (dd,  $J = 14,3$  e 6,8 Hz, 1H); 5,14 (dd,  $J = 17,4$  Hz, 1H); 5,06 (sl, 1H); 2,70-2,65 (m, 2H); 1,82 (dd,  $J = 6,8$  e 1,6 Hz, 3H).

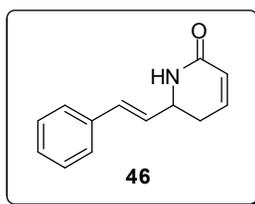
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)**  $\delta$  (ppm): 165,3; 140,3; 139,1; 134,0; 133,3; 132,7; 128,4; 127,9; 127,6; 126,1; 125,8; 125,1; 125,0; 124,8; 118,2; 52,4; 40,3; 17,7.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3268, 3075, 2975, 2916, 1629, 1563, 1348, 1235, 916.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}$   $[\text{MH}^+]$ : 266,1545; Obtido:  $[\text{MH}^+]$ : 266,1570; Erro: 9 ppm.

**P.F.:** 108,8-110,3°C.

4.4.2.4.7. (*E*)-6-estiril-5,6-di-hidropiridin-2(1*H*)-ona (46)



**Rendimento:** 82%.

**Aspecto físico:** sólido bege claro.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 7,39-7,22 (m, 5H); 6,63-6,55 (m, 2H); 6,18 (dd,  $J = 15,8$  e 7,3 Hz, 1H); 6,03 (sl, 1H); 5,95 (dd,  $J = 9,8$  e 2,0 Hz, 1H); 4,34-4,22 (m, 1H); 2,54 (dt,  $J = 17,8$  e 5,2 Hz, 1H); 2,35 (dddd,  $J = 17,8$ ; 9,4; 3,4 e 2,0 Hz, 1H).

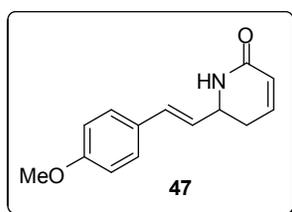
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 166,1; 140,1; 135,8; 132,2; 128,7; 128,3; 128,2; 126,5; 124,6; 53,7; 30,6.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3425, 3192, 2916, 2878, 1675, 1609, 1329, 1127, 964.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{NO}$   $[\text{MH}^+]$ : 200,1075; Obtido:  $[\text{MH}^+]$ : 200,1077; Erro: 0,9 ppm.

**P.F.:** 153,0-154,2°C.

#### 4.4.2.4.8. (*E*)-6-(4-metoxiestiril)-5,6-di-hidropiridin-2(1*H*)-ona (47)



**Rendimento:** 76%.

**Aspecto físico:** sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)  $\delta$  (ppm):** 7,30 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H); 6,85 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H); 6,60 (ddd,  $J = 9,9$ ; 5,2 e 3,3 Hz, 1H); 6,52 (d,  $J = 15,8$  Hz, 1H); 6,04 (dd,  $J = 15,8$  e 7,5 Hz, 1H); 5,95 (dd,  $J = 9,9$  e 2,0 Hz, 1H); 5,74 (sl, 1H); 4,31-4,22 (m, 1H); 3,80 (s, 3H); 2,52 (dt,  $J = 17,7$  e 5,2 Hz, 1H); 2,34 (dddd,  $J = 17,7$ ; 9,8; 3,3 e 2,0 Hz, 1H).

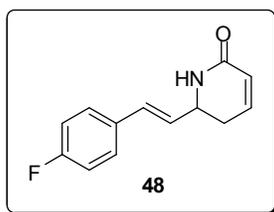
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 166,2; 159,6; 140,2; 131,8; 128,6; 127,8; 126,1; 124,5; 114,1; 55,3; 53,7; 30,7.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3448, 3189, 2955, 2834, 1672, 1654, 1608, 1241, 969.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{NO}_2$   $[\text{MH}^+]$ : 230,1181; Obtido:  $[\text{MH}^+]$ : 230,1148; Erro: 14 ppm.

**P.F.:** 157,1-158,0°C.

4.4.2.4.9. (E)-6-(4-fluoroestiril)-5,6-di-hidropiridin-2(1H)-ona (48)



**Rendimento:** 50%.

**Aspecto físico:** sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 7,33 (dd,  $^4J_{F-H} = 5,6$  Hz,  $^3J_{H-H} = 8,6$  Hz, 2H); 7,01 (dd,  $^3J_{F-H} = 8,6$  Hz,  $^3J_{H-H} = 8,6$  Hz, 2H); 6,65-6,60 (m, 1H); 6,55 (d,  $J = 15,8$  Hz, 1H); 6,10 (dd,  $J = 15,8$  e 7,4 Hz, 1H); 5,96 (d,  $J = 9,7$  Hz, 1H); 5,67 (sl, 1H); 4,34-4,25 (m, 1H); 2,56 (dt,  $J = 17,5$  e 5,2 Hz, 1H); 2,37 (ddd,  $J = 17,5$ ; 9,4 e 2,8 Hz, 1H).

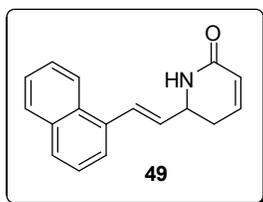
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)**  $\delta$  (ppm): 166,1; 162,6 (d,  $J = 250,6$  Hz); 140,1; 132,1(d,  $J = 3,3$  Hz); 131,1; 128,2 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2C); 128,1 (d,  $J = 2,1$  Hz); 124,5; 115,6 (d,  $J = 21,7$  Hz, 2C); 53,5; 30,5.

**RMN de  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 235 MHz)**  $\delta$  (ppm): -113,4.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3406, 3215, 2923, 1681, 1610, 1412, 1227, 972, 816.

**EMAR:** Calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{FNO}$  [ $\text{MH}^+$ ]: 218,0981; Obtido: [ $\text{MH}^+$ ]: 218,1069; Erro: 40 ppm.

4.4.2.4.10. (E)-6-(2-(naftalen-1-il)vinil)-5,6-di-hidropiridin-2(1H)-ona (49)



**Rendimento:** 61%.

**Aspecto físico:** sólido esverdeado.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 8,08-8,03 (m, 1H); 7,87-7,77 (m, 2H); 7,58-7,33 (m, 5H); 6,64 (ddd,  $J = 9,7$ ; 5,0 e 3,4 Hz, 1H); 6,25 (dd,  $J = 15,6$  e 7,2 Hz,

1H); 6,01 (dd,  $J = 9,9$  e  $2,0$  Hz, 1H); 5,94 (sl, 1H); 4,44 (m, 1H); 2,63 (dt,  $J = 17,6$  e  $5,0$  Hz, 1H); 2,44 (dddd,  $J = 17,6; 9,7; 3,4$  e  $2,0$  Hz, 1H).

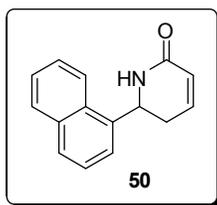
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 166,3; 140,1; 133,6; 133,6; 131,7; 131,0; 129,5; 128,6; 128,5; 126,3; 125,9; 125,5; 124,6; 124,1; 123,5; 53,7; 30,6.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3449, 3047, 2942, 1668, 1608, 1329, 965.

**EMAR (ESI+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{NO}$   $[\text{MH}^+]$ : 250,1232; Obtido:  $[\text{MH}^+]$ : 250,1234; Erro: 0,8 ppm.

**P.F.:** 141,9-142,8°C.

#### 4.4.2.4.11. 6-(naftalen-1-il)-5,6-di-hidropiridin-2(1H)-ona (50)



**Rendimento:** 84%.

**Aspecto físico:** sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)  $\delta$  (ppm):** 8,06-8,03 (m, 1H); 7,93-7,82 (m, 2H); 7,62-7,46 (m, 4H); 6,65 (ddd,  $J = 10,2; 5,1$  e  $3,3$  Hz, 1H); 6,10-6,06 (m, 1H); 5,77 (sl, 1H); 5,57 (dd,  $J = 10,2$  e  $6,0$  Hz, 1H); 2,83 (dt,  $J = 10,2$  e  $6,0$  Hz, 1H); 2,79-2,61 (m, 1H).

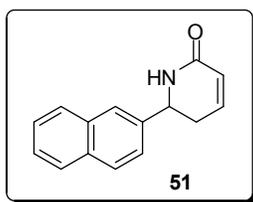
**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)  $\delta$  (ppm):** 166,7; 140,4; 136,4; 134,0; 130,1; 129,3; 128,8; 126,7; 126,0; 125,5; 124,5; 123,8; 122,3; 52,0; 31,7.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3448, 3195, 2951, 2910, 1674, 1615, 1378, 1238, 864..

**EMAR (ESI+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NO}$   $[\text{MH}^+]$ : 224,1075; Obtido:  $[\text{MH}^+]$ : 250,1097; Erro: 10 ppm.

**P.F.:** 159,5-162,0°C.

#### 4.4.2.4.12. 6-(naftalen-2-il)-5,6-di-hidropiridin-2(1H)-ona (51)



**Rendimento:** 80%.

**Aspecto físico:** sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz)**  $\delta$  (ppm): 7,89-7,80 (m, 4H); 7,55-7,45 (m, 3H); 6,65 (ddd,  $J = 9,9; 4,9$  e  $3,5$  Hz, 1H); 6,08-6,03 (m, 1H); 5,73 (sl, 1H); 4,90 (dd,  $J = 10,2$  e  $6,6$  Hz, 1H); 2,74-2,52 (m, 2H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 62,5 MHz)**  $\delta$  (ppm): 166,5; 140,1; 138,4; 133,2; 133,1; 129,0; 127,9; 127,7; 126,6; 126,4; 125,4; 124,6; 124,1; 55,9; 33,0.

**IV (pastilha KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3448, 3185, 2932, 2881, 1672, 1609, 1310, 816.

**EMAR (ESI/+):**  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NO}$  [ $\text{MH}^+$ ]: 224,1075; Obtido: [ $\text{MH}^+$ ]: 250,1097; Erro: 10 ppm.

**P.F.:** 181,1-182,4°C.

## 4.5. Ensaio de Atividade Antiproliferativa<sup>66</sup>

### 4.5.1. Células

As linhagens celulares cedidas pelo National Cancer Institute (NCI) dos EUA, e utilizadas na triagem da atividade antiproliferativa estão relacionadas na Tabela 4. Estas foram cultivadas em meio de cultura [RPMI-1640 suplementado com 5% de soro fetal bovino inativado (SFB)]. Todos os procedimentos descritos abaixo foram realizados sob condições estéreis.

<sup>66</sup> Skehan, P.; Storeng, R.; Scudiero, D.; Monks, A.; McMahon, J.; Vistica, D.; Warren, J. T.; Bokesch, H.; Kenney, S.; Boyd, M. R. *J. Nat. Can. Inst.* **1990**, *82*, 1107.

#### **4.5.1.1. Descongelamento celular**

Como todas as linhagens celulares foram enviadas congeladas para o laboratório, o primeiro passo realizado foi o descongelamento das células e a propagação das mesmas. Estas células foram fotografadas para uma avaliação geral de sua morfologia.

O criotubo que contém as células foi mantido à temperatura ambiente para descongelamento sendo seu conteúdo transferido para um tubo de centrifuga de 15mL. O volume foi completado para 10mL com RPMI/SFB. O tubo foi centrifugado a 2000 rpm e 4°C por 4 minutos. O sobrenadante foi aspirado e o “pellet celular” foi ressuscitado cuidadosamente para evitar a formação de grumos com 5mL de RPMI/SFB. A solução celular foi transferida para frascos de 25 cm<sup>2</sup> (T25) com 5mL de RPMI-1640/SFB e incubada a 37°C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e 100% de umidade.

#### **4.5.1.2. Congelamento celular**

As células da suspensão a ser congelada foram contadas e transferidas para um tubo de centrifuga de 50mL. O tubo foi centrifugado a 4°C e 2000 rpm por 4 minutos, o sobrenadante foi aspirado e o “pellet celular” ressuscitado em RPMI/SFB acrescidos de 10% de glicerol a 4°C, resultando numa suspensão de concentração final equivalente a  $1 \times 10^6$  cel/mL. O frasco foi mantido a 4°C e 1mL da suspensão celular foi transferido para criotubos rotulados que foram armazenados na fase gasosa do nitrogênio líquido por 24 horas. Após este período, os criotubos foram submersos no nitrogênio líquido.

## **4.5.2. Repiques Celulares**

### **4.5.2.1. Células em Suspensão**

Um volume previamente determinado foi retirado do frasco de manutenção e transferido para outro frasco, sendo completado o volume para 5mL no caso de frascos de culturas de 25 cm<sup>2</sup> (T25) e 10ml para os frascos de 75 cm<sup>2</sup> (T75). A diluição utilizada foi dependente das características de cada linhagem celular ou ainda dos objetivos dos experimentos realizados. Estes frascos foram incubados a 37°C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e 100% de umidade.

### **4.5.2.2. Células aderidas**

Quando a monocamada celular atingiu cerca de 80% de confluência, estas foram repicadas, sendo mantidos sempre dois frascos de cada linhagem celular. Para estas células cujo crescimento ocorreu em monocamada, foi necessário a tripsinização, ou seja, o desprendimento das mesmas do frasco através de ação enzimática.

Após a aspiração do meio de cultura, foram adicionados 0,5mL de tampão de Hank's banhando toda a monocamada celular por 10 vezes consecutivas. Este líquido foi aspirado e então adicionado 0,5mL de tripsina a 37°C. O frasco foi incubado de 25 a 30 segundos. Quando as células se desprenderam da parede do frasco de cultura, este foi banhado com RPMI/SFB. A partir deste ponto, quando as células apresentaram em suspensão, foi utilizado o mesmo procedimento do item 4.5.2.1.

**Tabela 4.** Linhagens celulares utilizadas nos ensaios antiproliferativo.

<b>Tipo celular</b>	<b>Designação</b>	<b>Tipo de cultura</b>
Ovário	OVCAR-03	Aderida
Renal	786-0	Aderida
Próstata	PC-03	Aderida
Cólon	HT-29	Aderida
Pulmão	NCI-H460	Aderida
Glioma	U251	Aderida
Mama	MCF-7	Aderida
Ovário Resistente	NCI-ADR/RES	Aderida
Melanoma	UACC-62	Aderida
Leucemia	K562	Não aderida
Rim Macaco Verde	VERO	Aderida
Queratinócito Humano Imortal	HaCaT	Aderida

#### **4.5.2.3. Contagem celular**

Com as células em suspensão, os frascos foram agitados delicadamente e uma alíquota foi retirada e colocada na Câmara de Neubauer para contagem. Os quatro quadrantes externos foram contados e determinados a média aritmética. Este valor foi multiplicado pelo fator de correção da câmara, equivalente a 104, estipulando assim o quanto de células e meio de cultura devem ser inoculado nas placas de 96 compartimentos para a avaliação da atividade antiproliferativa.

#### **4.5.3. Ensaio para a determinação da atividade antiproliferativa dos compostos**

Foram plaqueados 100 µL de células, em meio RPMI/SFB/gentamicina, nas suas respectivas densidades de inoculação em placas de 96 compartimentos. Estas foram incubadas por 24 horas a 37°C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e 100% de umidade. Para cada linhagem foram utilizada um número estipulado de placas, além da placa T0 (Placa Controle), dependendo da quantidade de células obtidas na contagem.

#### **4.5.3.1. Diluição das amostras**

As amostras foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 1 g/mL resultando em soluções estoques. Estas soluções foram diluídas 400 vezes em RPMI/SFB/gentamicina. Foram adicionados 100  $\mu$ L do composto testado nas placas de 96 compartimentos, exceto na T0, nas doses de 0,25; 2,5; 25; 250  $\mu$ g/ml, sendo realizada no mesmo momento, a fixação e posterior leitura da placa T0, determinando assim a quantidade de células presentes no momento em que os extratos foram colocados. As demais placas foram incubadas por 48 horas. Após este período, foram realizadas as leituras pelo ensaio do SRB.

#### **4.5.3.2. Ensaio de Sulforrodamina B**

As placas de 96 compartimentos foram centrifugadas por 3 minutos a 2000 rpm, e foram fixadas com 50  $\mu$ L de ácido tricloroacético a 50% (TCA) para as células aderidas e 80% para as células em suspensão. Para completar a fixação celular, as placas foram incubadas por 1 hora a 4°C. Após esse tempo, foram submetidas a quatro lavagens consecutivas com água destilada para a remoção dos resíduos de TCA, meio, SFB e metabólitos secundários. Estas placas foram mantidas à temperatura ambiente até a secagem completa.

Em seguida, as placas foram coradas pela adição de 50  $\mu$ L de sulforrodamina B a 0,4 % (peso/volume) dissolvido em ácido acético a 1%. Estas foram incubadas a 4°C, durante 30 minutos. Após esse período, as placas foram lavadas por 4 vezes consecutivas com uma solução de ácido acético 1%. O resíduo da solução de lavagem foi removido e as placas foram novamente secas à temperatura ambiente.

O corante ligado às proteínas celulares foi solubilizado com uma solução de Trizma Base na concentração de 10  $\mu$ M e pH 10,5 por 5 minutos em ultrassom. A leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada em 560 nm em um leitor de microplacas.

#### 4.5.3.3. Análise dos resultados

Foram calculadas as médias das absorbâncias descontadas de seus respectivos brancos e através da fórmula abaixo, foi determinada a inibição de crescimento (IC) de cada amostra testada.

- Se  $T > C$  a droga estimulou o crescimento, não apresenta IG.
- Se  $T \geq T_0$ , mas  $< C$ , a droga será citostática e a fórmula utilizada é  $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$ .
- Se  $T < T_0$  a droga é citocida e a fórmula utilizada é  $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$

Sendo que T é a média da absorbância da célula tratada; C é o controle de célula;  $T_0$  é o controle das células no dia da adição das drogas. O resultado obtido foi subtraído de 100%, obtendo-se, então, a porcentagem de inibição de crescimento. As amostras foram consideradas ativas quando apresentarem inibição de crescimento maior que 50% e ainda de forma concentração dependente.



## **Anexos**

---

---

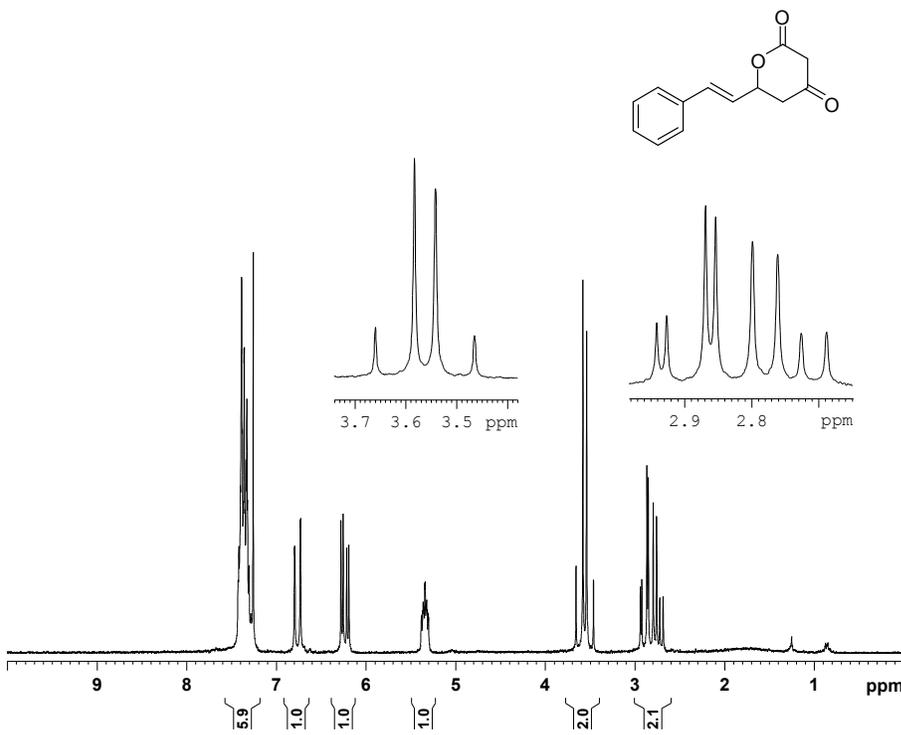


## **A.1. Síntese e Atividade Biológica de Derivados da Kavaína**



Anexos

Vanessa Caixeta - E1R8P - CDCl3 - nov04VCPH



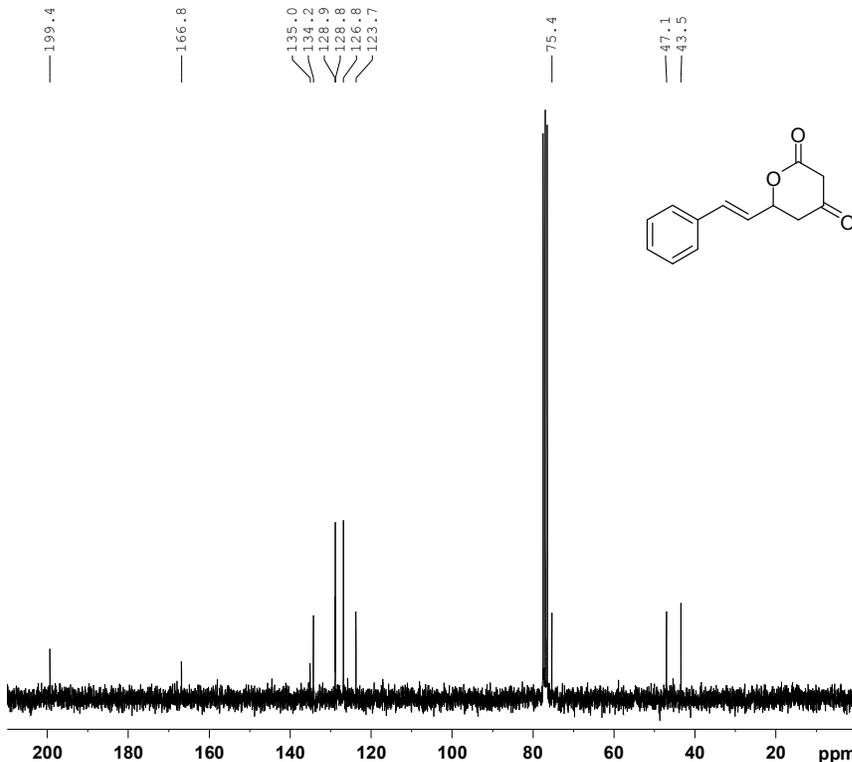
```

NAME nov04VCPH
EXPNO 1
PROCNO 1
Date_ 20091104
Time_ 8.34
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 0
SWH 5175.983 Hz
FIDRES 0.157958 Hz
AQ 3.1654389 sec
RG 2048
DW 96.600 usec
DE 6.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.00000000 sec
TDO 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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 23.

Vanessa Caixeta - E1R8P - CDCl3 - nov04VCPH



```

NAME nov04VCPH
EXPNO 1
PROCNO 1
Date_ 20091104
Time_ 8.37
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zgpg30
TD 16384
SOLVENT CDCl3
NS 701
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 300.0 K
D1 2.00000000 sec
d11 0.03000000 sec
DELTA 1.89999998 sec
TDO 1

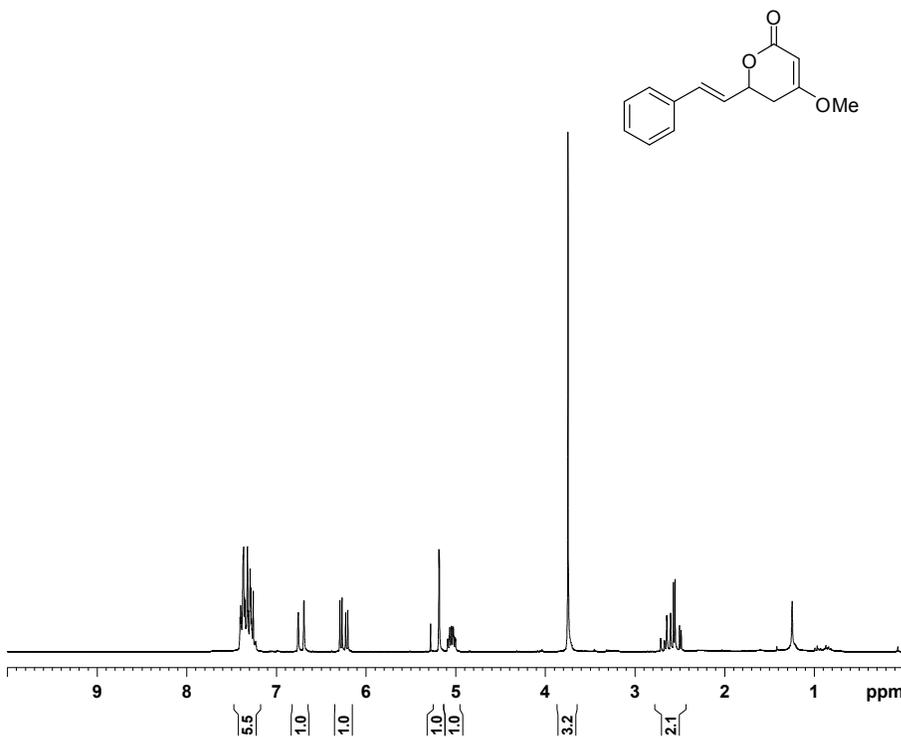
===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 10.00 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 62.9015280 MHz

===== 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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 23.

# Anexos

Vanessa E3R1 dez14vcpH CDC13 250 MHZ



```

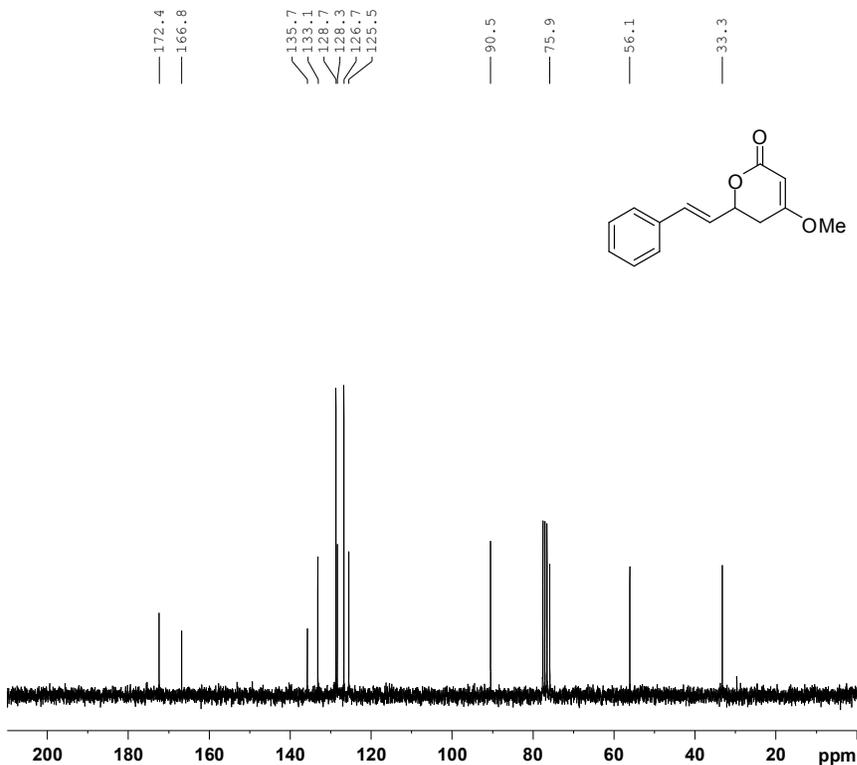
NAME      dez14vcpH
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20091214
Time      18.36
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         32768
SOLVENT   CDC13
NS         16
DS         0
SWH        5175.983 Hz
FIDRES     0.157958 Hz
AQ         3.1654389 sec
RG         322.5
DW         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
D1         1.00000000 sec
TDO        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
    
```

**Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 17.**

Vanessa E3R1 dez14vcpC CDC13 250 MHZ



```

NAME      dez14vcpC
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20091214
Time      18.53
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDC13
NS         88
DS         0
SWH        15060.241 Hz
FIDRES     0.919204 Hz
AQ         0.5439988 sec
RG         362
DW         33.200 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
D1         2.00000000 sec
d11        0.03000000 sec
DELTA     1.89999998 sec
TDO        1
    
```

```

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

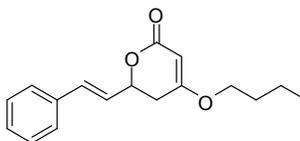
```

===== 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
    
```

**Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 17.**

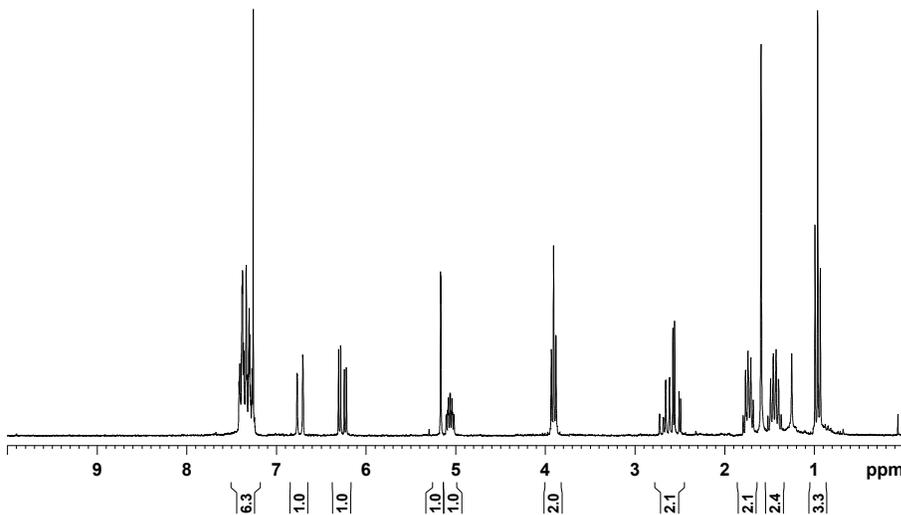
# Anexos

Vanessa - E3R6Ci - CDC13 - mar19vcpH2 - 9mg



```

NAME      mar19vcpH2
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20100319
Time      19.54
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         32768
SOLVENT   CDC13
NS         20
DS         0
SWH        5175.983 Hz
FIDRES     0.157958 Hz
AQ         3.1654389 sec
RG         2298.8
DW         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
D1         1.0000000 sec
TDO        1
    
```



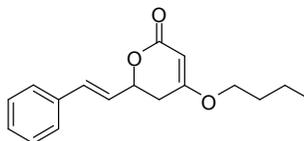
```

===== 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
    
```

**Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 24.**

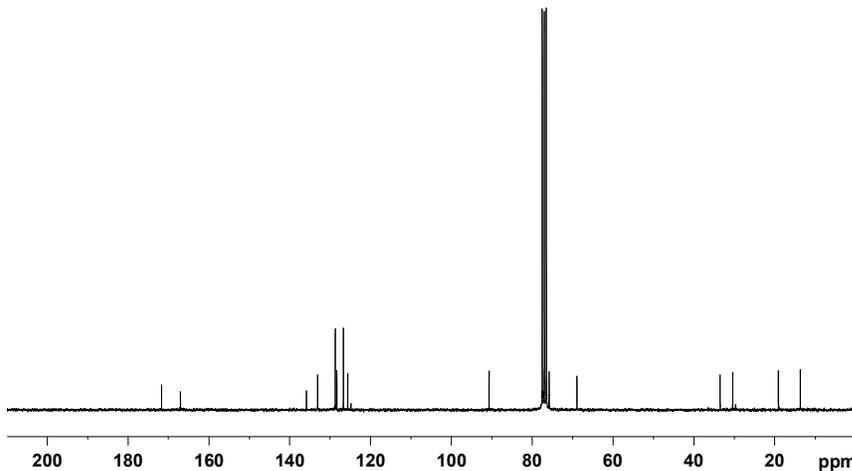
Vanessa - CDC13 - E3R6Ci (13C)

171.7  
167.0  
135.8  
133.0  
128.7  
126.3  
126.7  
125.6  
90.7  
75.8  
68.9  
33.5  
30.4  
19.1  
13.7



```

NAME      mar22vcpC
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20100323
Time      5.58
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDC13
NS         14000
DS         0
SWH        15060.241 Hz
FIDRES     0.919204 Hz
AQ         0.5439988 sec
RG         362
DW         33.200 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
D1         2.0000000 sec
d11        0.0300000 sec
DELTA     1.89999998 sec
TDO        1
    
```



```

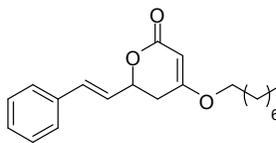
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      13C
P1        10.00 usec
PL1        0.00 dB
SFO1     62.9015280 MHz

===== 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
    
```

**Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 24.**

# Anexos

Vanessa - E3R10 - CDCl3 - mai05vcph

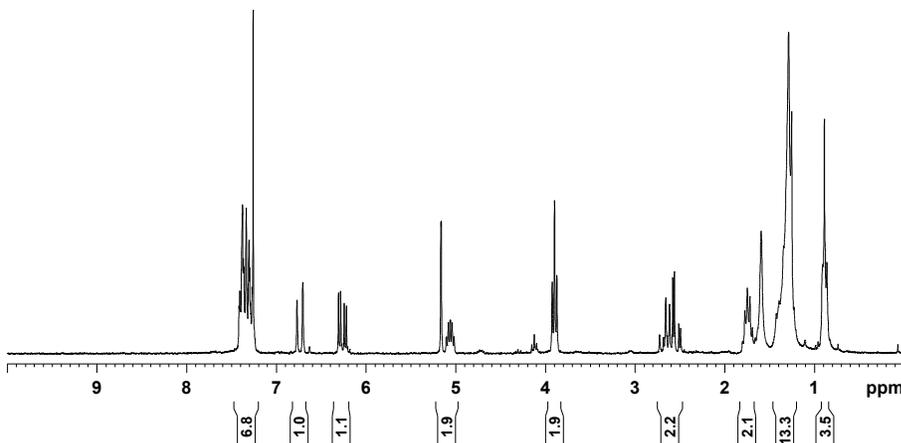


```

NAME          mai05vcph
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20100505
Time_         9.17
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       zg30
TD            32768
SOLVENT       CDCl3
NS            32
DS            0
SWH           5175.983 Hz
FIDRES        0.157958 Hz
AQ            3.1654389 sec
RG            1824.6
DW            96.600 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            1.00000000 sec
TDO           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
    
```



Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 25.

Vanessa - E3R11 - jun26vcpc - CDCl3

171.6  
167.0  
135.8  
133.0  
128.7  
128.5  
126.7  
125.6

90.7

75.8

69.2

33.5

31.7

29.2

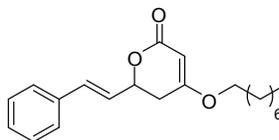
29.1

28.4

25.8

22.6

14.0



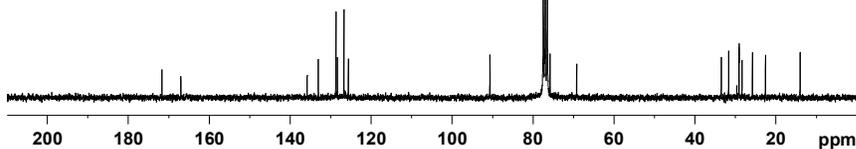
```

NAME          jun26vcpc
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20100626
Time_         21.50
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       zgpg30
TD            16384
SOLVENT       CDCl3
NS            17406
DS            0
SWH           15060.241 Hz
FIDRES        0.919204 Hz
AQ            0.5439988 sec
RG            1625.5
DW            33.200 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            2.00000000 sec
d11           0.03000000 sec
DELTA         1.89999998 sec
TDO           1
    
```

```

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

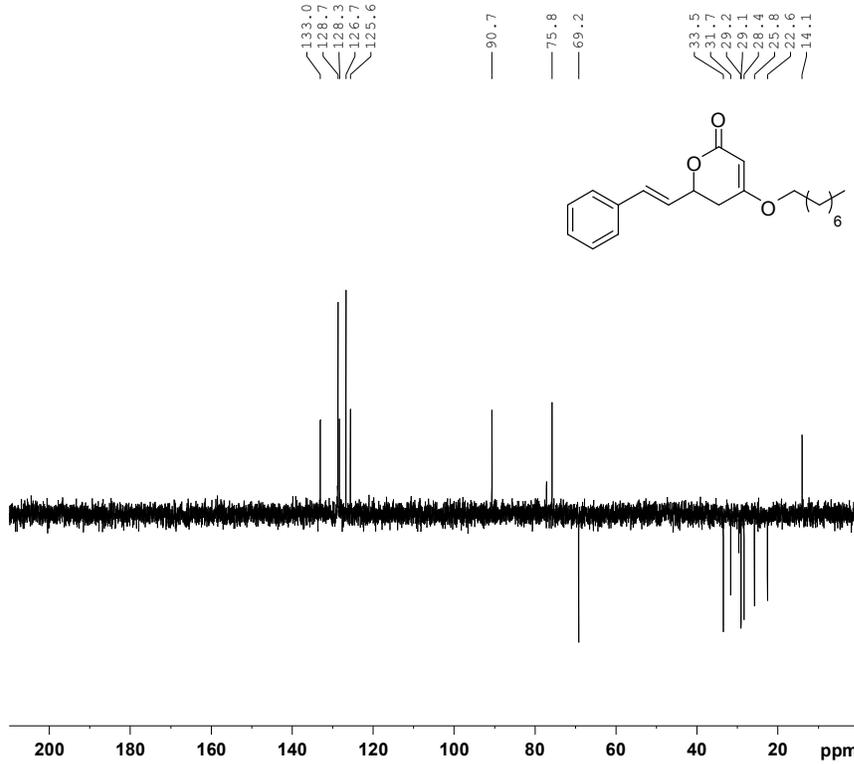
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2       waltz16
NUC2          1H
PCPD2         100.00 usec
PL2           -6.00 dB
PL12          18.00 dB
PL13          18.00 dB
SFO2         250.1310005 MHz
SI            32768
SF           62.8952390 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            1.00 Hz
GB         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



Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 25.

# Anexos

Vanessa - E3R11 - jun26vcvD1 - DEPT135 - CDC13



```

NAME          jun26vcvD1
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20100626
Time_         19.34
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       dept135
TD            16384
SOLVENT       CDC13
NS            3000
DS            4
SWH           15060.241 Hz
FIDRES        0.919204 Hz
AQ            0.5439988 sec
RG            16384
DW            33.200 usec
DE            6.00 usec
TE            298.3 K
CNST2         145.000000
D1            2.00000000 sec
d2            0.00344828 sec
d12           0.00002000 sec
DELTA         0.00001273 sec
TDO           1

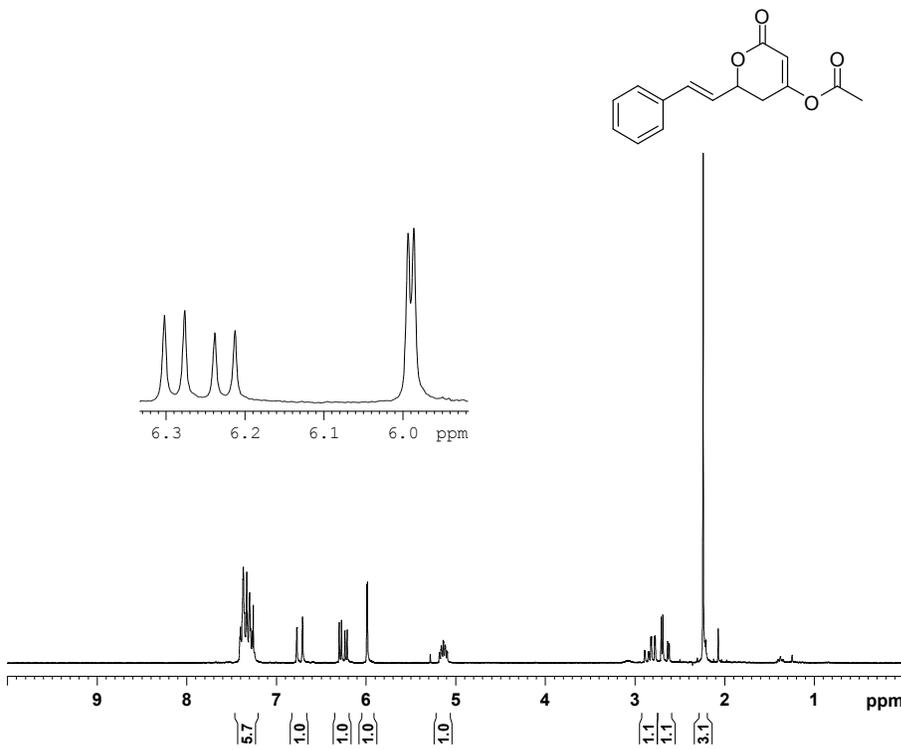
===== CHANNEL f1 =====
NUC1          13C
P1            10.00 usec
p2            20.00 usec
PL1           0.00 dB
SFO1          62.9015280 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2       waltz16
NUC2          1H
P3            13.00 usec
p4            26.00 usec
PCPD2         100.00 usec
PL2           -6.00 dB
PL12          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
    
```

**Espectro de DEPT-135 (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 25.**

Anexos

Vanessa E2R1 cdc13 dez02vcpH



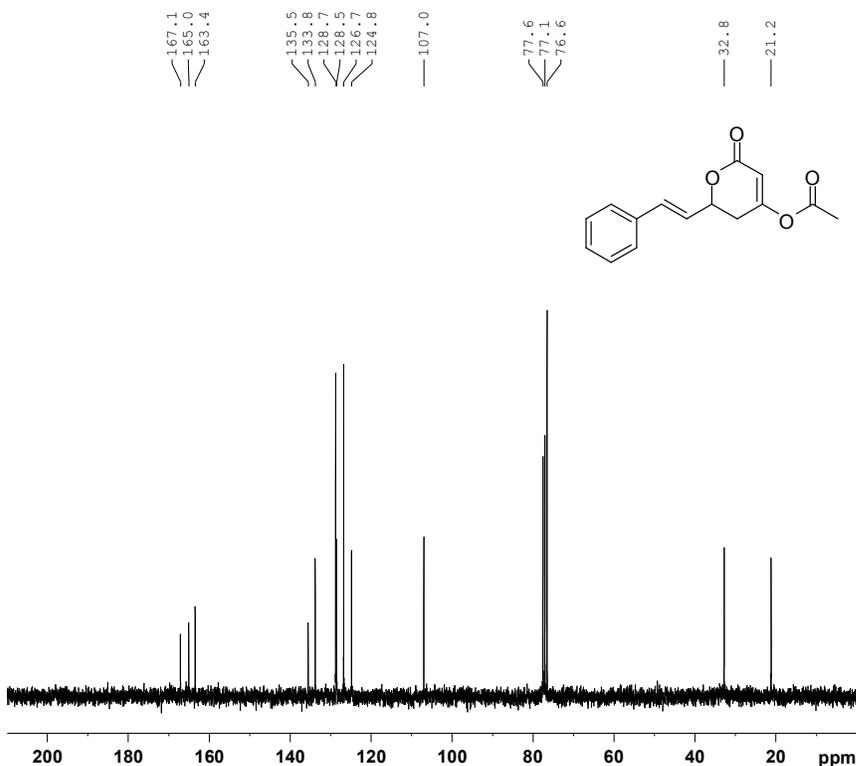
```

NAME      dez02vcpH
EXPNO    1
PROCNO   1
Date_    20091202
Time     9.09
INSTRUM spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG zg30
TD       32768
SOLVENT  CDC13
NS       1
DS       0
SWH      5175.983 Hz
FIDRES   0.157958 Hz
AQ       3.1654389 sec
RG       362
DW       96.600 usec
DE       6.00 usec
TE       300.0 K
D1       1.0000000 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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 26.

Vanessa E2R1 cdc13 dez02vcpC



```

NAME      dez02vcpC
EXPNO    1
PROCNO   1
Date_    20091202
Time     9.14
INSTRUM spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG zgpg30
TD       16384
SOLVENT  CDC13
NS       129
DS       0
SWH      15060.241 Hz
FIDRES   0.919204 Hz
AQ       0.5439988 sec
RG       362
DW       33.200 usec
DE       6.00 usec
TE       300.0 K
D1       2.0000000 sec
d11      0.0300000 sec
DELTA    1.89999998 sec
TD0      1

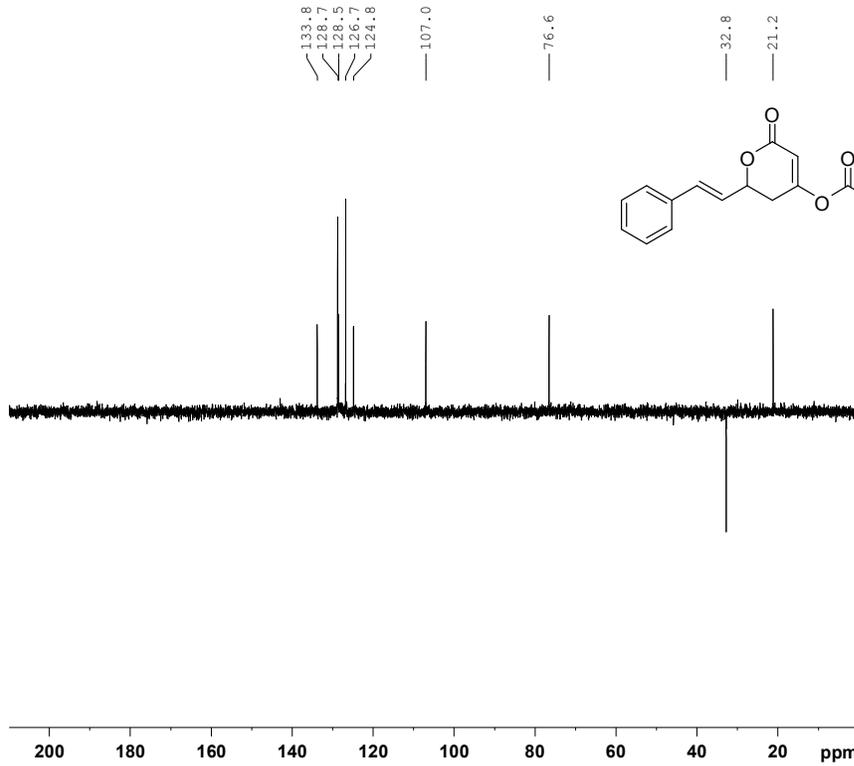
===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       10.00 usec
PL1      0.00 dB
SFO1    62.9015280 MHz

===== 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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 26.

# Anexos

Vanessa E2R1 cdc13 dez02vcpD135



```

NAME          dez02vcpD
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20091202
Time_         9.20
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       dept135
TD            16384
SOLVENT       CDC13
NS            37
DS            4
SWH           15060.241 Hz
FIDRES        0.919204 Hz
AQ            0.5439988 sec
RG            1625.5
DW            33.200 usec
DE            6.00 usec
TE            300.0 K
CNST2         145.000000
D1            2.00000000 sec
d2            0.00344828 sec
d12           0.00002000 sec
DELTA         0.00001273 sec
TD0           1

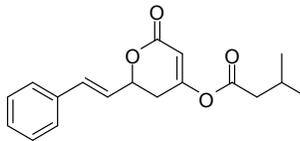
===== CHANNEL f1 =====
NUC1           13C
P1             10.00 usec
p2             20.00 usec
PL1            0.00 dB
SFO1           62.9015280 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2       waltz16
NUC2           1H
P3             13.00 usec
P4             26.00 usec
PCPD2         100.00 usec
PL2            -6.00 dB
PL12           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
    
```

**Espectro de DEPT-135 (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 26.**

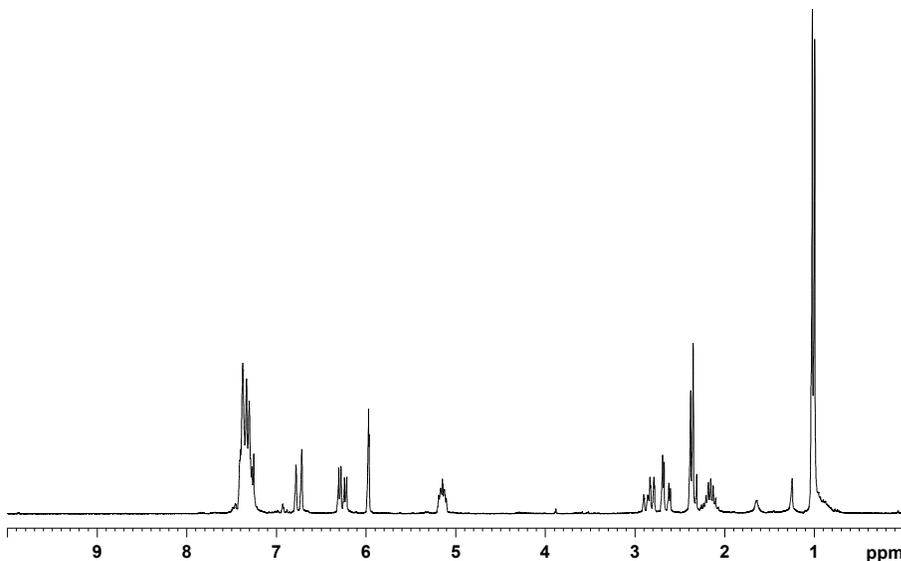
Anexos

Vanessa - E2R3 - CDC13 - mar10vcpH2



```

NAME      mar10vcpH2
EXPNO    1
PROCNO   1
Date_    20100310
Time_    9.47
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG  zg30
TD        32768
SOLVENT  CDC13
NS        8
DS        0
SWH      5175.983 Hz
FIDRES   0.157958 Hz
AQ        3.1654389 sec
RG        574.7
DW        96.600 usec
DE        6.00 usec
TE        300.0 K
D1        1.00000000 sec
TDO       1
    
```



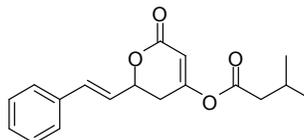
```

===== 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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 27.

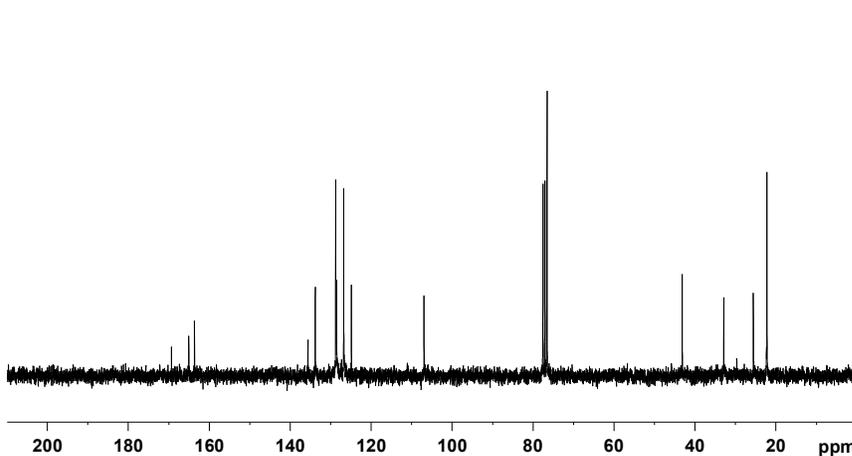
Vanessa - E2R3 - mar01vcpC1 - CDC13

169.3  
165.0  
163.6  
135.6  
133.6  
128.7  
128.5  
126.7  
124.8  
106.9



```

NAME      mar01vcpC1
EXPNO    1
PROCNO   1
Date_    20100301
Time_    18.37
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG  zgpg30
TD        32000
SOLVENT  CDC13
NS        204
DS        0
SWH      15060.241 Hz
FIDRES   0.470633 Hz
AQ        1.0624501 sec
RG        406.4
DW        33.200 usec
DE        6.00 usec
TE        300.0 K
D1        2.00000000 sec
d11      0.03000000 sec
DELTA    1.89999998 sec
TDO       1
    
```



```

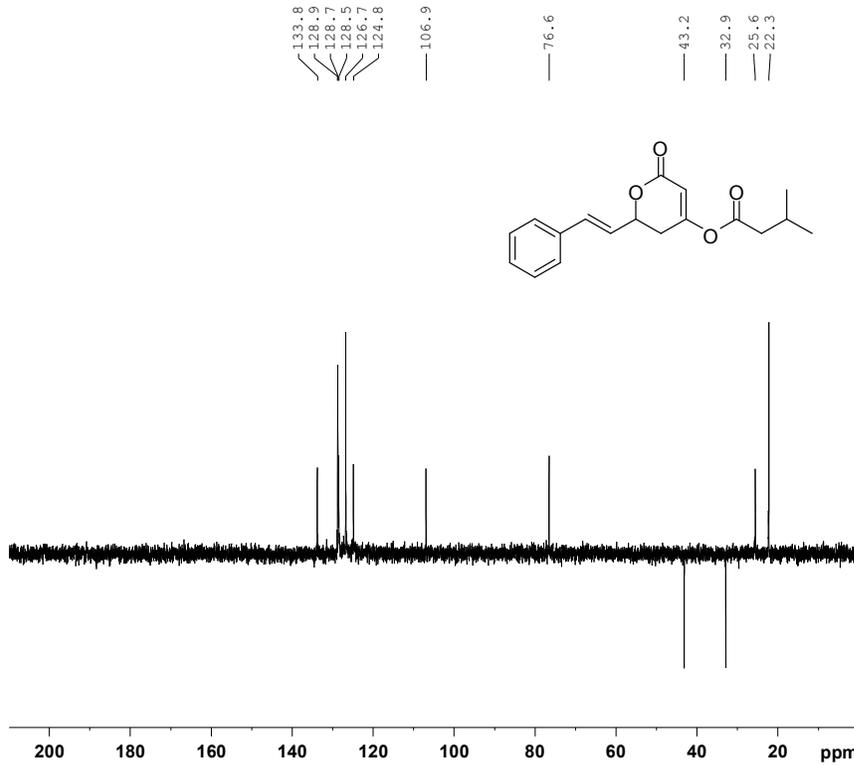
===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       10.00 usec
PL1      0.00 dB
SFO1    62.9015280 MHz

===== 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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 27.

# Anexos

Vanessa - E2R3 - mar01vcpd - CDCl3



```

NAME          mar01vcpd
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20100301
Time_         18.50
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       dept135
TD            32000
SOLVENT       CDCl3
NS            70
DS            2
SWH           15060.241 Hz
FIDRES        0.470633 Hz
AQ            1.0624501 sec
RG            4096
DW            33.200 usec
DE            6.00 usec
TE            300.0 K
CNST2         145.000000
D1            2.00000000 sec
d2            0.00344828 sec
d12           0.00002000 sec
DELTA         0.00001273 sec
TDO           1

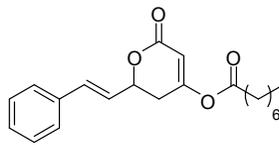
===== CHANNEL f1 =====
NUC1          13C
P1            10.00 usec
p2            20.00 usec
PL1           0.00 dB
SFO1          62.9015280 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2       waltz16
NUC2          1H
P3            13.00 usec
P4            26.00 usec
PCPD2         100.00 usec
PL2           -6.00 dB
PL12          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
    
```

**Espectro de DEPT-135 (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 27.**

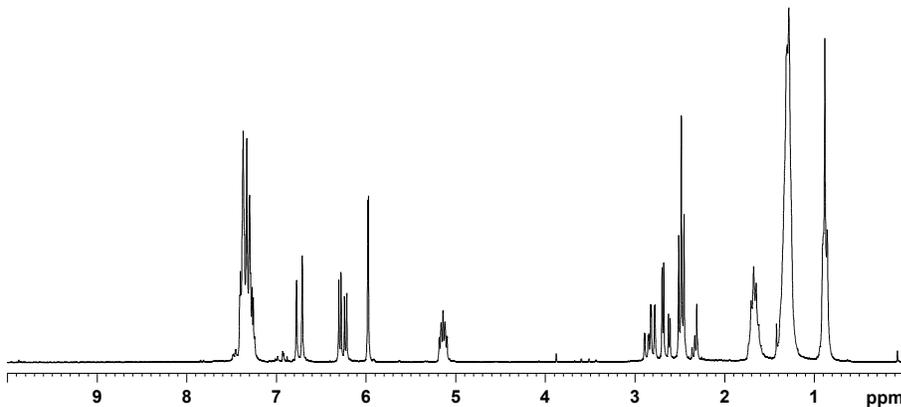
# Anexos

Vanessa - E2R4 - éster - CDC13 - abr14vcpH1



```

NAME      abr14vcpH1
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20100414
Time      8.47
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         32768
SOLVENT   CDC13
NS         16
DS         0
SWH        5175.983 Hz
FIDRES     0.157958 Hz
AQ         3.1654389 sec
RG         287.4
DW         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
D1         1.00000000 sec
TDO        1
    
```

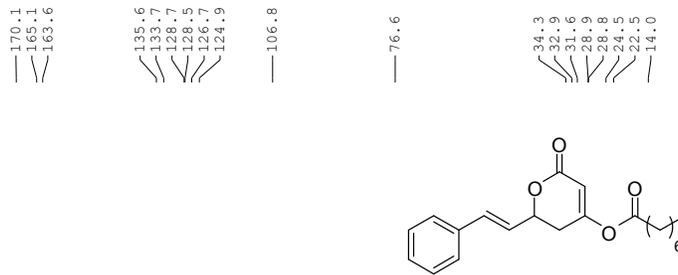


```

===== 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
    
```

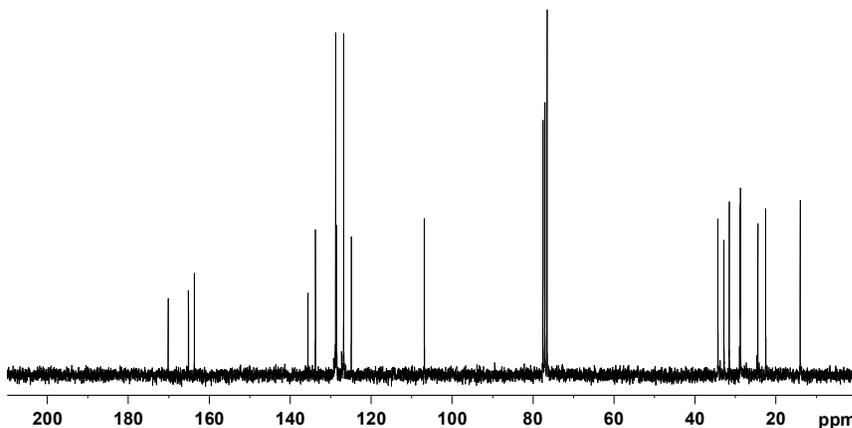
**Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 28.**

Vanessa - E2R4 - éster - CDC13 - abr14vcpC



```

NAME      abr14vcpC
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20100414
Time      8.57
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDC13
NS         228
DS         0
SWH        15060.241 Hz
FIDRES     0.919204 Hz
AQ         0.5439988 sec
RG         645.1
DW         33.200 usec
DE         6.00 usec
TE         300.0 K
D1         2.00000000 sec
d11        0.03000000 sec
DELTA     1.89999998 sec
TDO        1
    
```



```

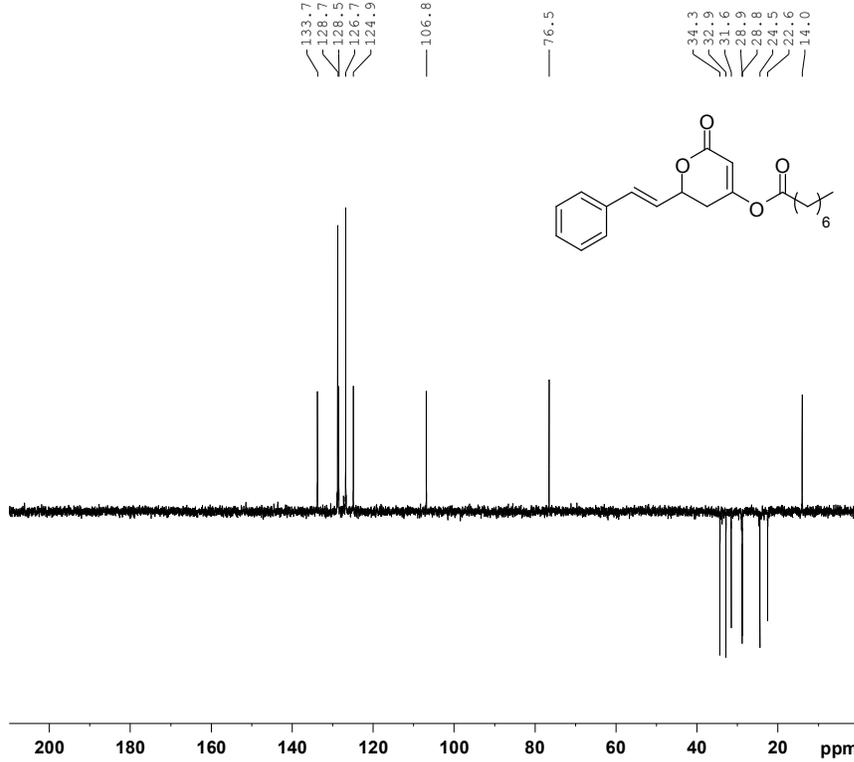
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      13C
P1        10.00 usec
PL1       0.00 dB
SFO1     62.9015280 MHz

===== 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
    
```

**Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 28.**

# Anexos

Vanessa - E2R4 - éster - CDCl<sub>3</sub> - abr14vcpD



```

NAME          abr14vcpD
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20100414
Time_         8.50
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       dept135
TD            16384
SOLVENT       CDCl3
NS            123
DS            4
SWH           15060.241 Hz
FIDRES        0.919204 Hz
AQ            0.5439988 sec
RG            2048
DW            33.200 usec
DE            6.00 usec
TE            300.0 K
CNST2         145.000000
D1            2.00000000 sec
d2            0.00344828 sec
d12           0.00002000 sec
DELTA         0.00001273 sec
TDO           1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1          13C
P1            10.00 usec
p2            20.00 usec
PL1           0.00 dB
SFO1          62.9015280 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2       waltz16
NUC2          1H
P3            13.00 usec
P4            26.00 usec
PCPD2         100.00 usec
PL2           -6.00 dB
PL12          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
    
```

**Espectro de DEPT-135 (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 28.**

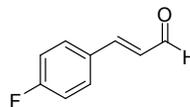


## **A.2. Síntese e Atividade Biológica da Azagoniotalamina e seus Derivados**



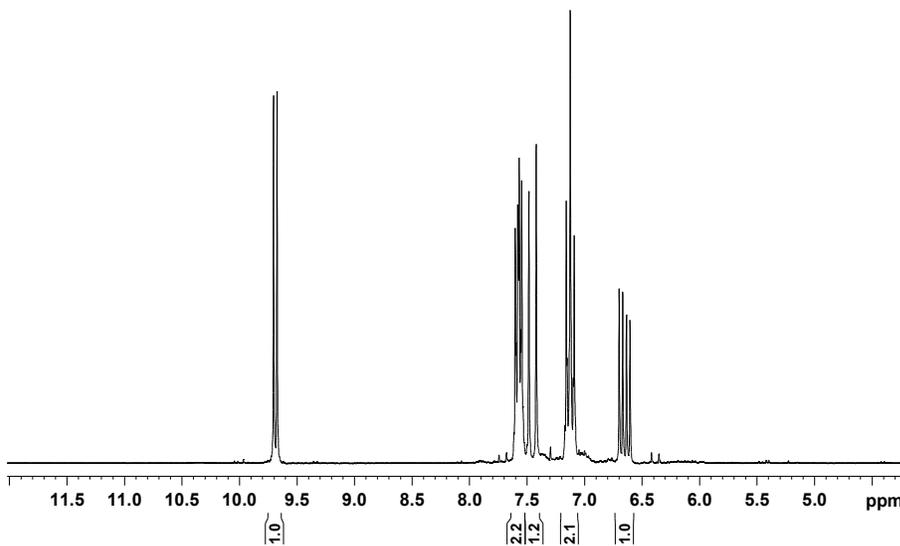
# Anexos

mbz93ip CDC13 1H dez17mbzH2



```

NAME      dez17mbzH2
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20101217
Time      11.00
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         32768
SOLVENT   CDC13
NS         8
DS         0
SWH        5175.983 Hz
FIDRES     0.157958 Hz
AQ         3.1654389 sec
RG         228.1
DW         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         298.2 K
D1         1.00000000 sec
TDO        1
    
```



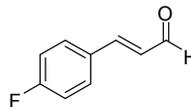
```

===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1        13.00 usec
PL1       -6.00 dB
SFO1     250.1315447 MHz
SI        32768
SF        250.1299905 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        0.30 Hz
GB        0
PC        1.00
    
```

**Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 53.**

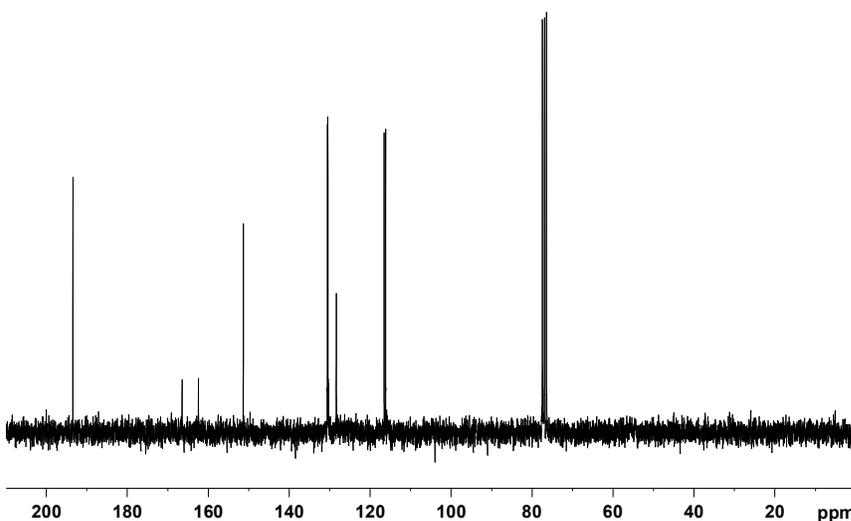
mbz93 CDC13 13C dez17mbzC1

193.4  
166.4  
162.4  
151.3  
130.5  
130.4  
130.3  
130.2  
128.3  
128.3  
126.5  
116.1



```

NAME      dez17mbzC1
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20101217
Time      10.44
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDC13
NS         160
DS         0
SWH        15060.241 Hz
FIDRES     0.919204 Hz
AQ         0.5439988 sec
RG         645.1
DW         33.200 usec
DE         6.00 usec
TE         298.2 K
D1         2.00000000 sec
d11        0.03000000 sec
DELTA     1.89999998 sec
TDO        1
    
```



```

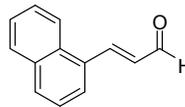
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      13C
P1        10.00 usec
PL1       0.00 dB
SFO1     62.9015280 MHz

===== 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        62.8952399 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        1.00 Hz
GB        0
PC        1.40
    
```

**Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 53.**

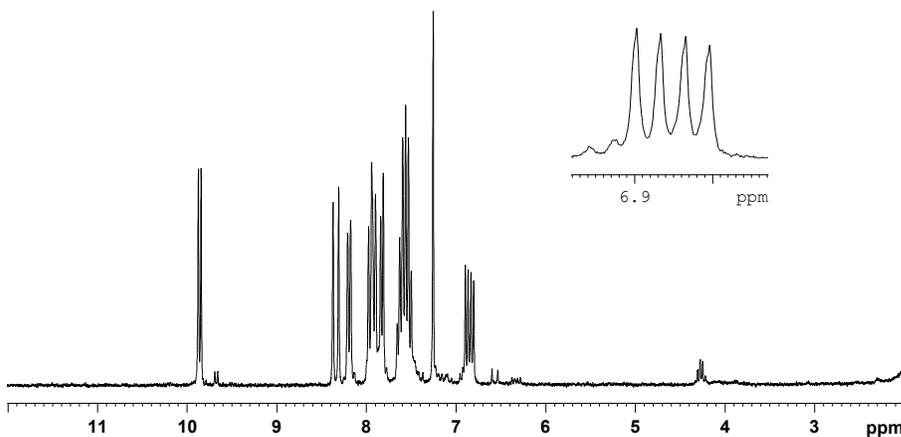
Anexos

Vanessa - nafaldprep - fev20vcph



```

NAME          fev20vcph
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20110220
Time_         16.15
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       zg30
TD            32768
SOLVENT       CDCl3
NS            8
DS            0
SWH           5175.983 Hz
FIDRES        0.157958 Hz
AQ            3.1654389 sec
RG            1625.5
DW            96.600 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            1.00000000 sec
TDO           1
    
```



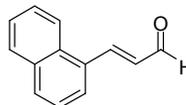
```

===== 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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 54.

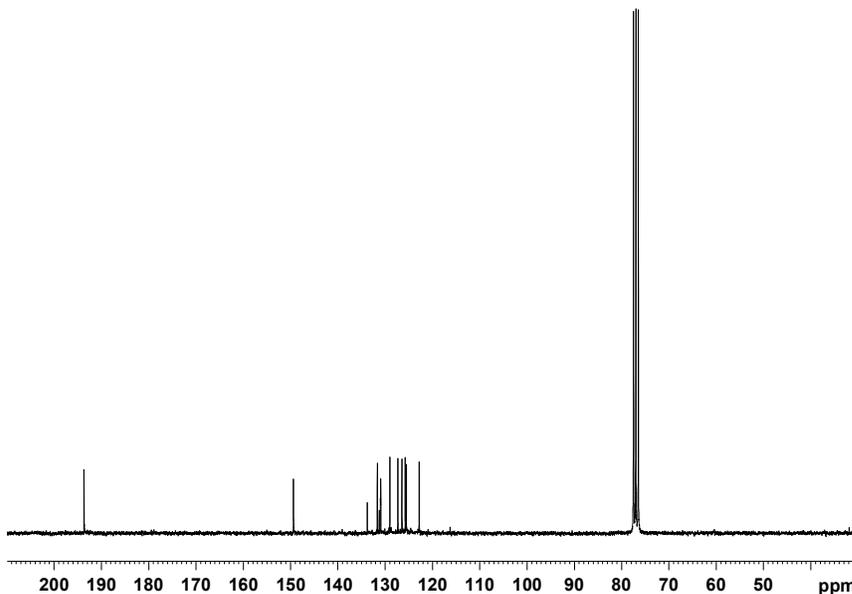
nafaldcol fev21vcpc

193.7  
149.3  
133.8  
131.6  
131.2  
131.0  
130.9  
129.0  
127.3  
126.4  
125.7  
125.5  
122.8



```

NAME          fev21vcpc
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20110222
Time_         5.51
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       zgpg30
TD            16384
SOLVENT       CDCl3
NS            7375
DS            0
SWH           15060.241 Hz
FIDRES        0.919204 Hz
AQ            0.5439988 sec
RG            456.1
DW            33.200 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            3.00000000 sec
d11           0.03000000 sec
DELTA         2.90000010 sec
TDO           1
    
```



```

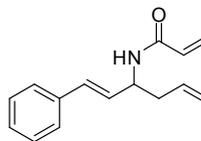
===== CHANNEL f1 =====
NUC1          13C
P1            10.00 usec
PL1           0.00 dB
SFO1         62.9015280 MHz

===== 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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 54.

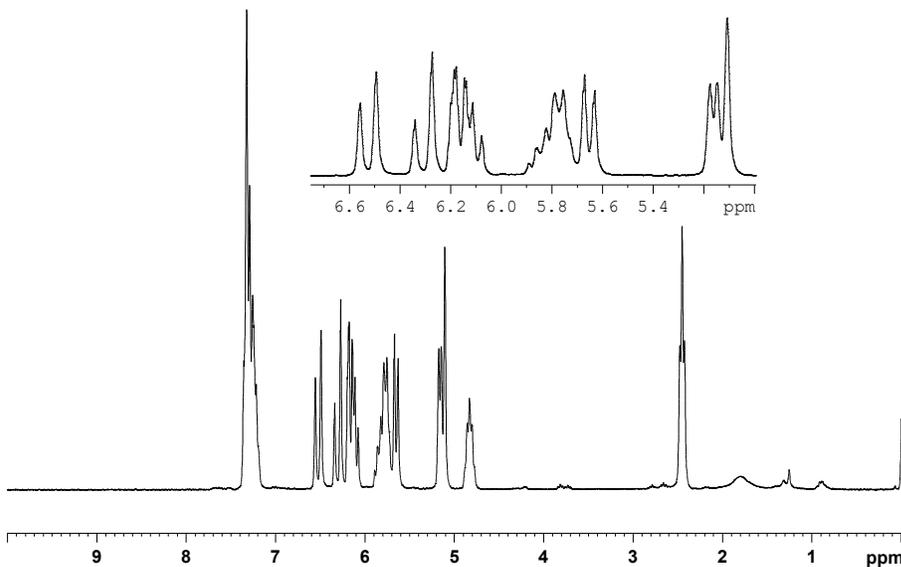
Anexos

Vanessa - amida - CDC13 - dez08vcph



```

NAME      dez08vcph
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20101208
Time      9.27
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         32768
SOLVENT   CDC13
NS         16
DS         0
SWH        5175.983 Hz
FIDRES     0.157958 Hz
AQ         3.1654389 sec
RG         812.7
DW         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         298.2 K
D1         1.0000000 sec
TD0        1
    
```



```

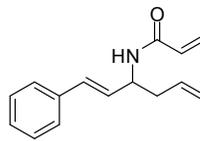
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1         13.00 usec
PL1        -6.00 dB
SFO1      250.1315447 MHz
SI         32768
SF         250.1300000 MHz
WDW        EM
SSB         0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDC1<sub>3</sub>) do composto 58a.

Vanessa - amida - CDC13 - dez08vcpc

164.8  
136.5  
133.7  
130.9  
130.8  
128.9  
128.5  
127.7  
126.7  
126.4  
118.5

50.1  
39.4



```

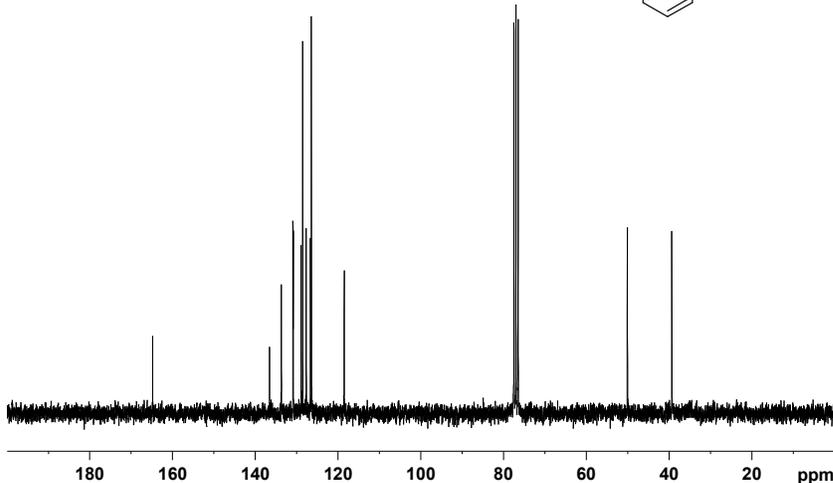
NAME      dez08vcpc
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20101208
Time      9.40
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDC13
NS         516
DS         0
SWH        15060.241 Hz
FIDRES     0.919204 Hz
AQ         0.5439988 sec
RG         812.7
DW         33.200 usec
DE         6.00 usec
TE         298.2 K
D1         2.0000000 sec
d11        0.0300000 sec
DELTA     1.89999998 sec
TD0        1
    
```

```

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

```

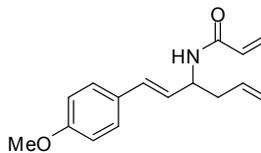
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2   waltz16
NUC2       1H
PCPD2     100.00 usec
PL2        -6.00 dB
PL12       18.00 dB
PL13       18.00 dB
SFO2      250.1310005 MHz
SI         32768
SF         62.8952390 MHz
WDW        EM
SSB         0
LB         1.00 Hz
GB         0
PC         1.40
    
```



Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDC1<sub>3</sub>) do composto 58a.

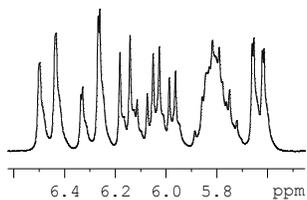
Anexos

Vanessa - MeO-AMD - CDCl<sub>3</sub> - jan14vcpH



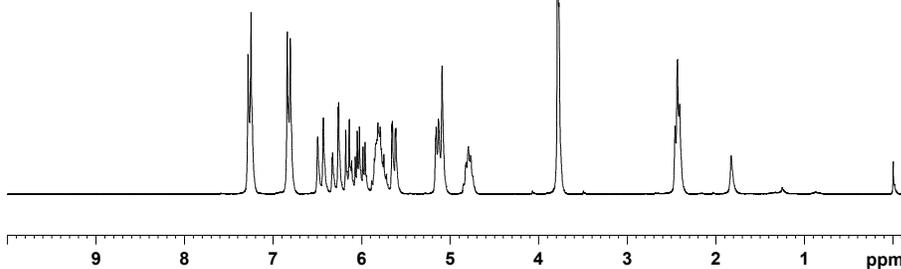
```

NAME      jan14vcpH
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110114
Time      19.24
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         512
DW         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         298.2 K
D1         1.00000000 sec
TD0        1
    
```



```

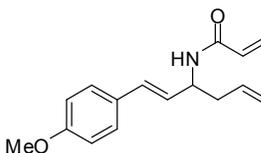
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1         13.00 usec
PL1        -6.00 dB
SFO1      250.1315447 MHz
SI         32768
SF         250.1300000 MHz
WDW        EM
SSB         0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00
    
```



**Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 58b.**

Vanessa - MeO-AMD - CDCl<sub>3</sub> - jan14vcpC

164.8  
159.2  
133.8  
130.9  
130.3  
129.3  
127.5  
126.7  
126.5  
118.3  
113.9  
55.3  
50.2  
39.5



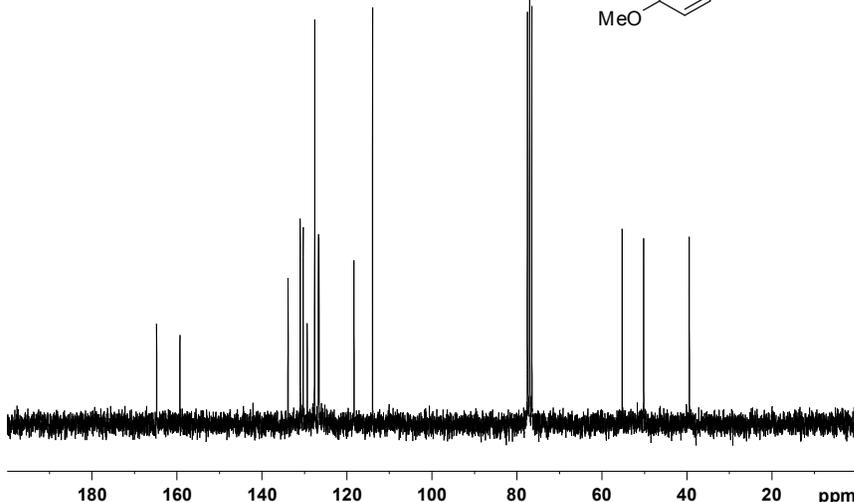
```

NAME      jan14vcpC
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110114
Time      19.39
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDCl3
NS         227
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

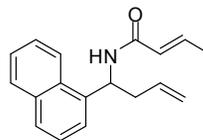
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2   waltz16
NUC2      1H
PCPD2     100.00 usec
PL2        -6.00 dB
PL12       18.00 dB
PL13       18.00 dB
SFO2      250.1310005 MHz
SI         32768
SF         62.8952390 MHz
WDW        EM
SSB         0
LB         1.00 Hz
GB         0
PC         1.40
    
```



**Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 58b.**

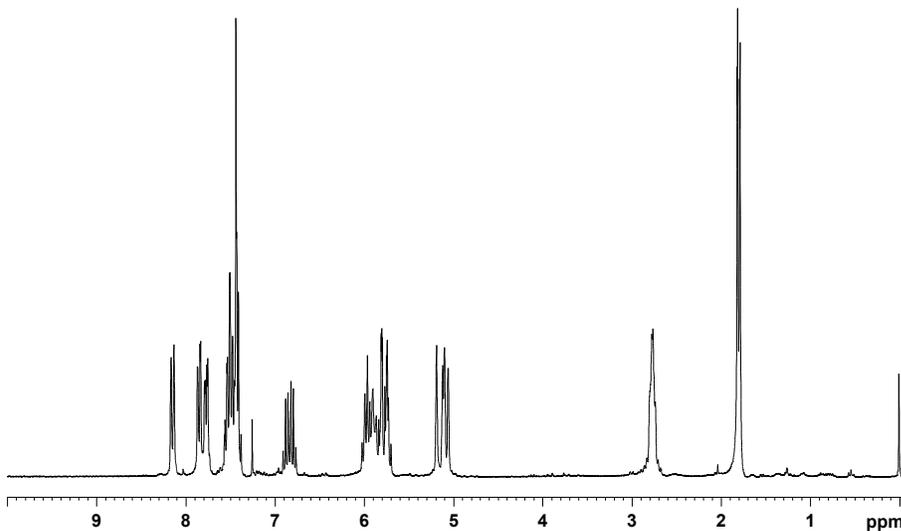
Anexos

Vanessa - 1N-AMD - CDCl3 - mar11vcpH2



```

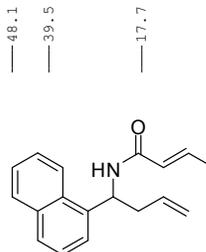
NAME      mar11vcpH2
EXPNO    1
PROCNO   1
Date_    20110311
Time     18.43
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG  zg30
TD        32768
SOLVENT  CDCl3
NS        10
DS        0
SWH       5175.983 Hz
FIDRES    0.157958 Hz
AQ        3.1654389 sec
RG        574.7
DW        96.600 usec
DE        6.00 usec
TE        298.2 K
D1        1.00000000 sec
TDO       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
    
```



Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 58e.

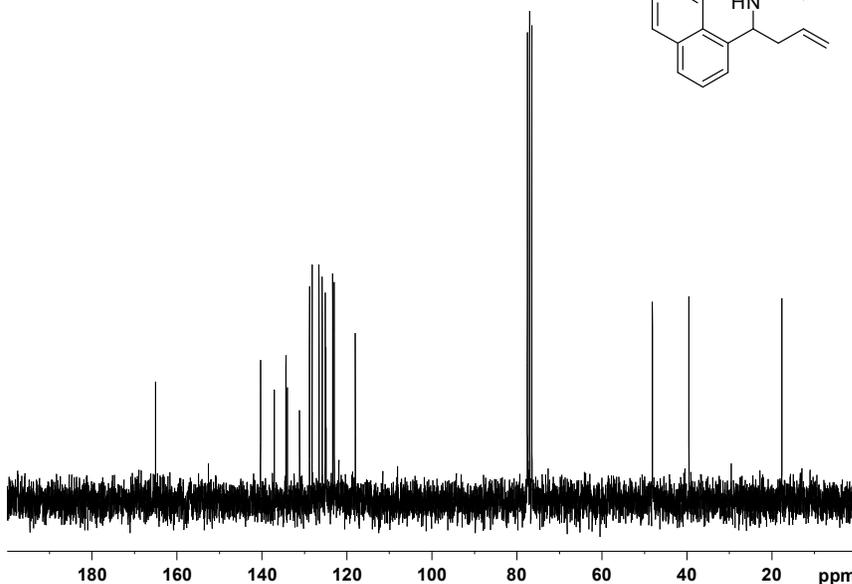
Vanessa - 1N-AMD - CDCl3 - mar11vcpC2

165.0  
140.3  
137.1  
134.3  
134.0  
131.1  
128.8  
128.2  
126.5  
125.8  
125.1  
124.9  
123.3  
122.9  
118.0



```

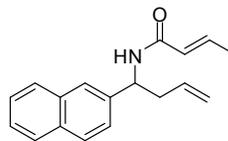
NAME      mar11vcpC2
EXPNO    1
PROCNO   1
Date_    20110311
Time     18.49
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG  zgpg30
TD        16384
SOLVENT  CDCl3
NS        102
DS        0
SWH       15060.241 Hz
FIDRES    0.919204 Hz
AQ        0.5439988 sec
RG        512
DW        33.200 usec
DE        6.00 usec
TE        298.2 K
D1        2.00000000 sec
d11       0.03000000 sec
DELTA    1.89999998 sec
TDO       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
    
```



Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 58e.

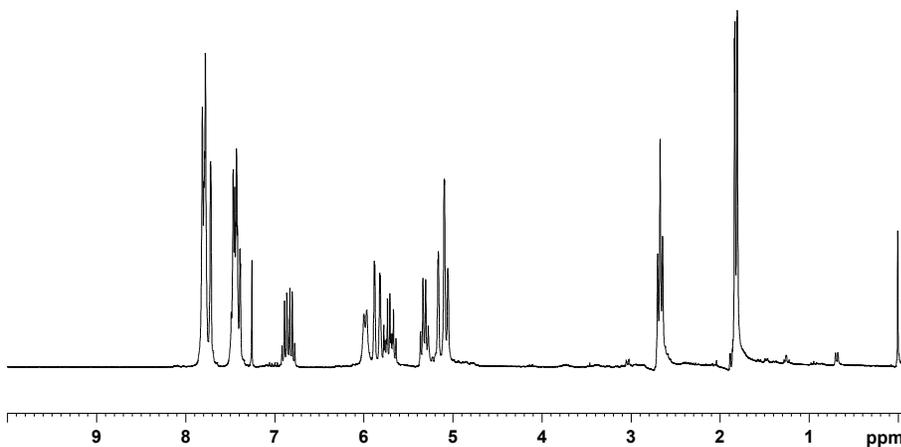
Anexos

Vanessa - 2N-AMD - CDC13 - abr09vcpH1



```

NAME      abr09vcpH1
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110409
Time      16.26
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD        32768
SOLVENT   CDC13
NS        20
DS        0
SWH       5175.983 Hz
FIDRES    0.157958 Hz
AQ        3.1654389 sec
RG        574.7
DW        96.600 usec
DE        6.00 usec
TE        298.2 K
D1        1.00000000 sec
TDO       1
    
```

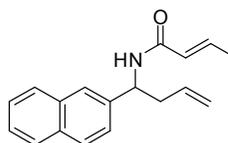
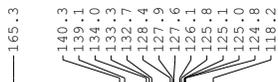


```

===== 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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 58f.

Vanessa - 2N-AMD - CDC13 - abr09vcpC1



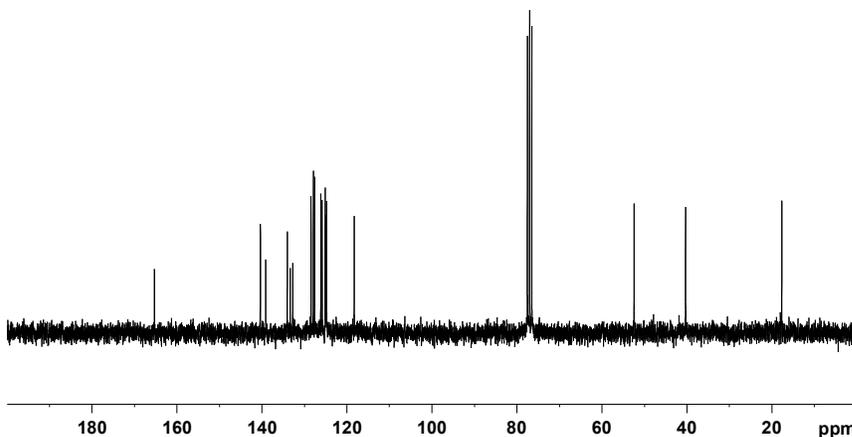
```

NAME      abr09vcpC1
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110409
Time      16.40
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD        16384
SOLVENT   CDC13
NS        201
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        298.2 K
D1        2.00000000 sec
d11       0.03000000 sec
DELTA     1.89999998 sec
TDO       1
    
```

```

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

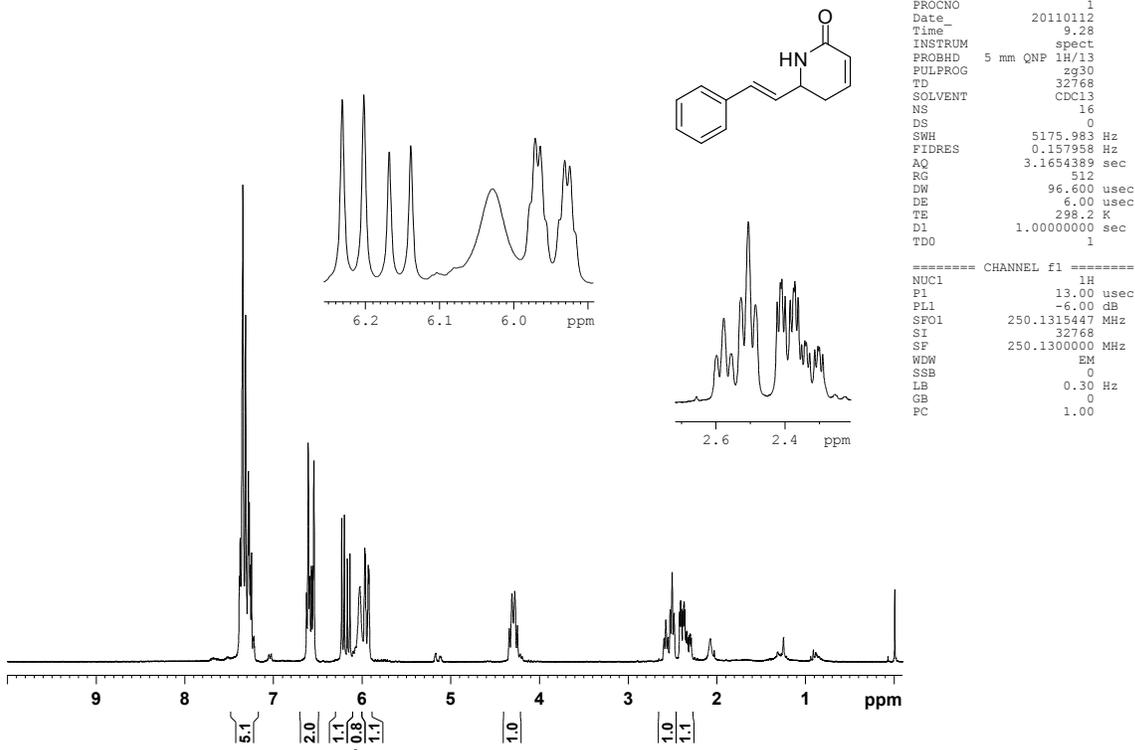
===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2   waltz16
NUC2      1H
PCPD2     100.00 usec
PL2       -6.00 dB
PL12      18.00 dB
PL13      18.00 dB
SFO2     250.1310005 MHz
SI       32768
SF       62.8952390 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40
    
```



Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 58f.

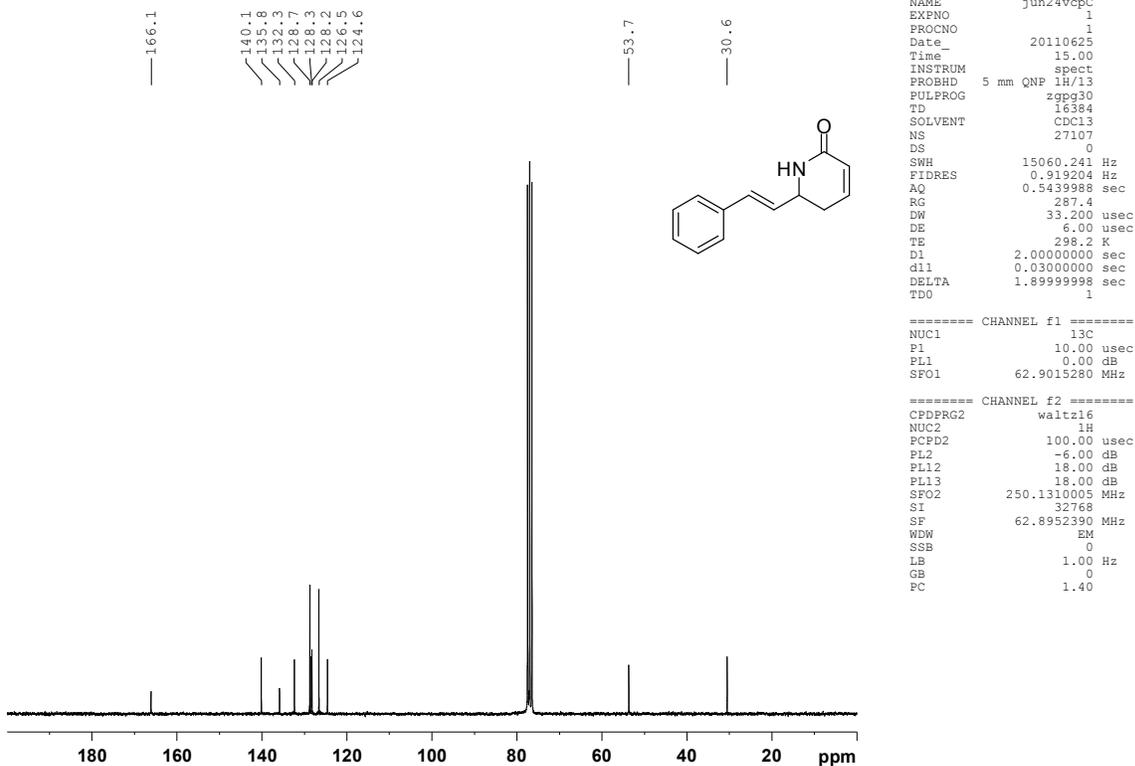
Anexos

Vanessa - azaGNT - CDC13 - jan12vcpH2



Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 46.

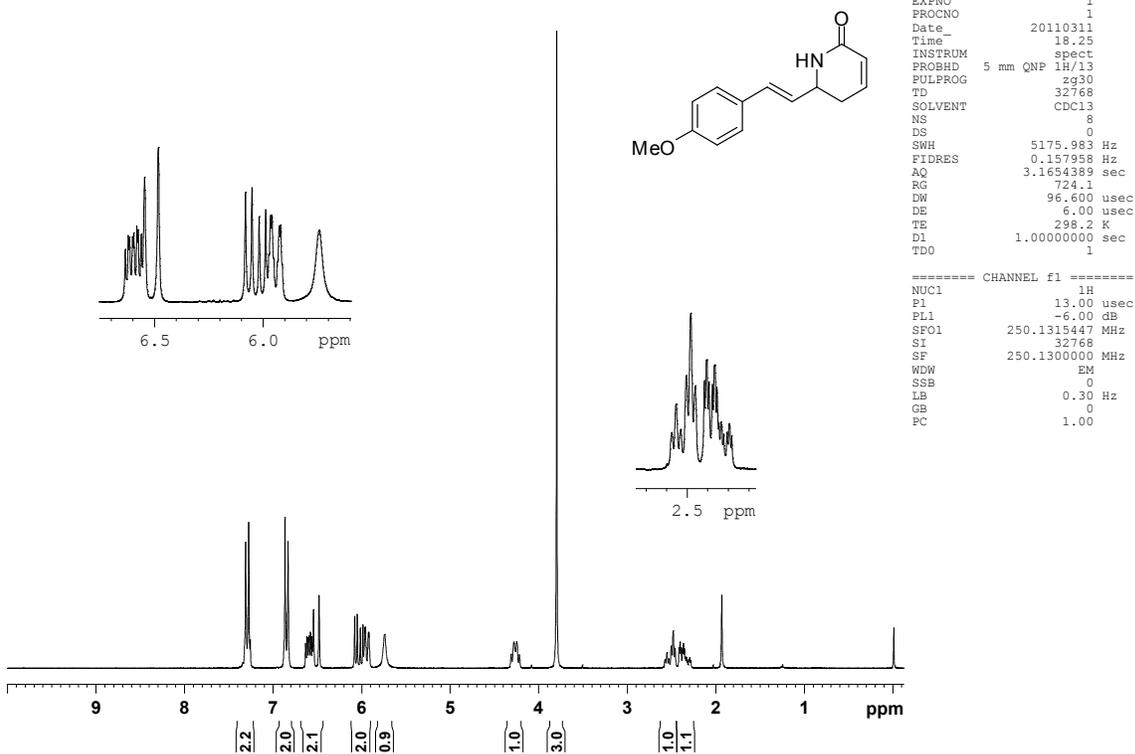
Vanessa AZA - CDC13 - jun24vcpC



Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 46.

Anexos

Vanessa - MeO-AZA - CDCl<sub>3</sub> - mar11vcpH1



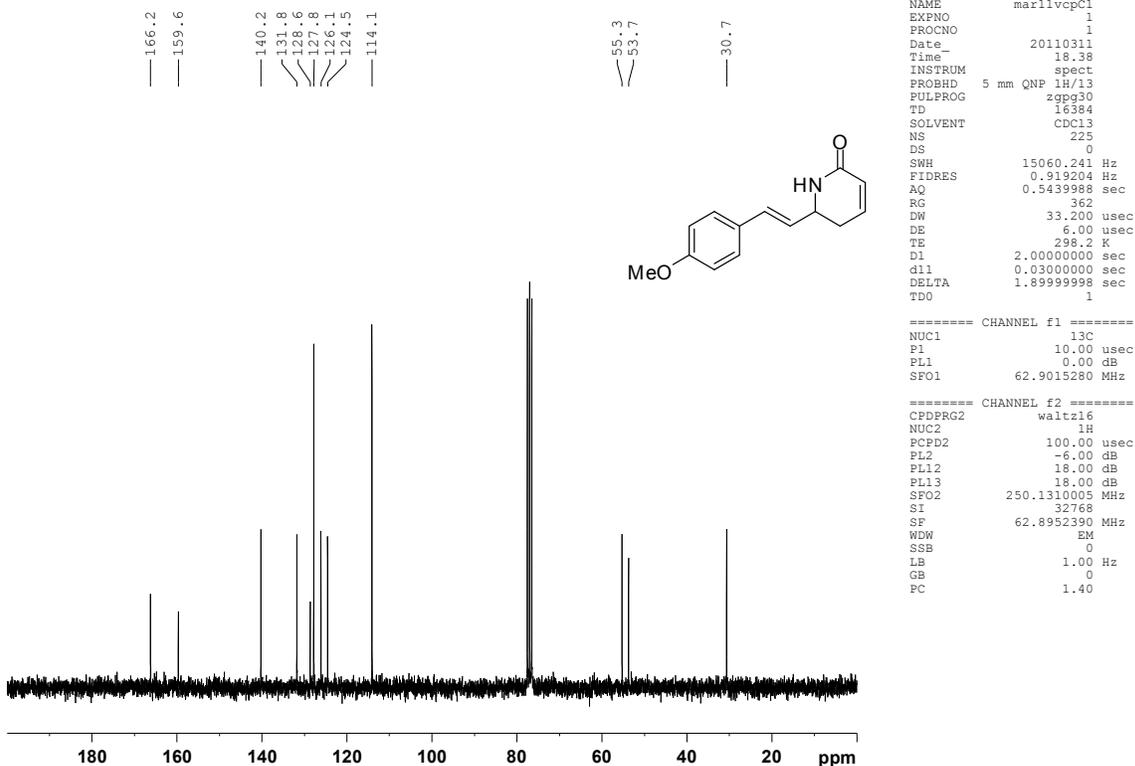
```

NAME      mar11vcpH1
EXPNO    1
PROCNO   1
Date_    20110311
Time     18.25
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG  zg30
TD        32768
SOLVENT  CDCl3
NS        8
DS        0
SWH       5175.983 Hz
FIDRES    0.157958 Hz
AQ        3.1654389 sec
RG        724.1
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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 47.

Vanessa - MeO-AZA - CDCl<sub>3</sub> - mar11vcpC1



```

NAME      mar11vcpC1
EXPNO    1
PROCNO   1
Date_    20110311
Time     18.38
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm QNP 1H/13
PULPROG  zgpg30
TD        16384
SOLVENT  CDCl3
NS        225
DS        0
SWH       15060.241 Hz
FIDRES    0.919204 Hz
AQ        0.5439988 sec
RG        362
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

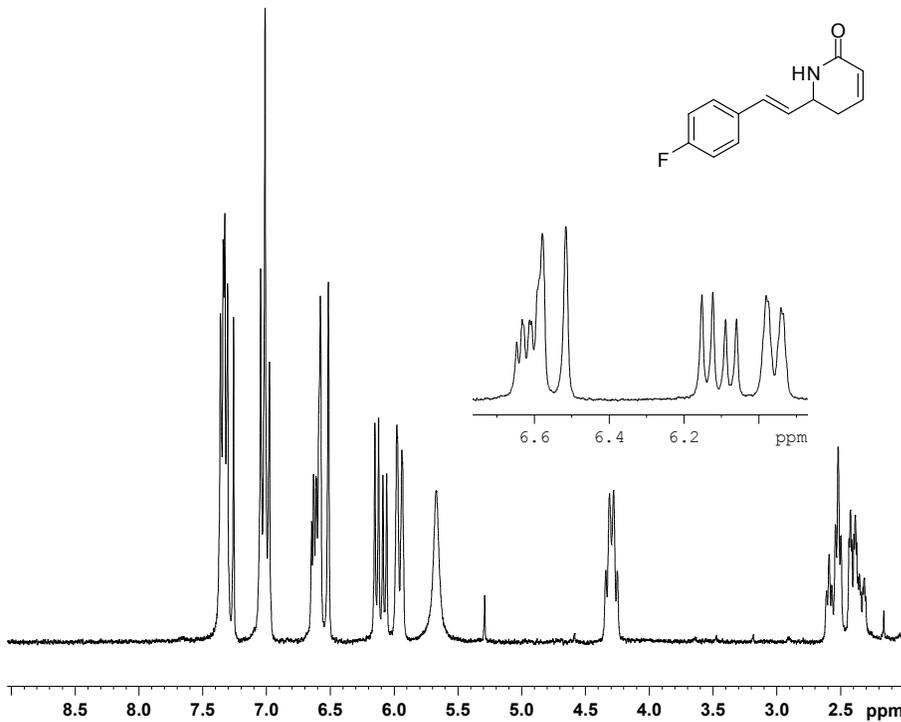
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      13C
P1        10.00 usec
PL1       0.00 dB
SFO1     62.9015280 MHz

===== 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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 47.

Anexos

Vanessa - F-AZA - CDCl3 - abr11vcpH1



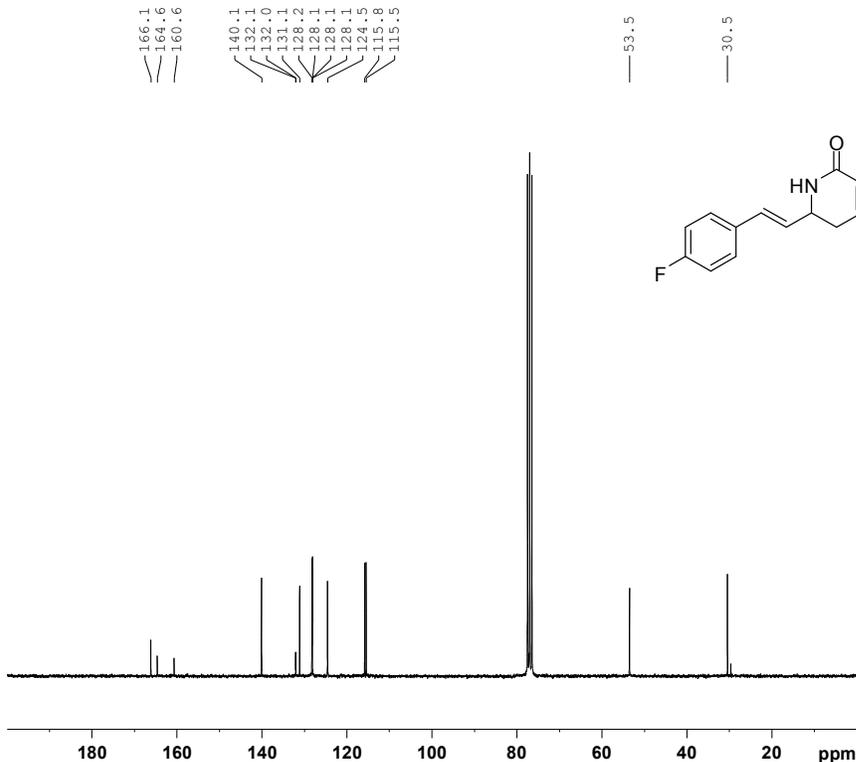
```

NAME      abr11vcpH1
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110411
Time      18.09
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         32768
SOLVENT   CDCl3
NS         8
DS         0
SWH        5175.983 Hz
FIDRES     0.157958 Hz
AQ         3.1654389 sec
RG         1448.2
DW         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         298.2 K
D1         1.0000000 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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 48.

Vanessa - F-AZA - CDCl3 - abr11vcpC1



```

NAME      abr11vcpC1
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110412
Time      8.20
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDCl3
NS         16312
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         298.2 K
D1         2.0000000 sec
d11        0.0300000 sec
DELTA     1.89999998 sec
TD0        1

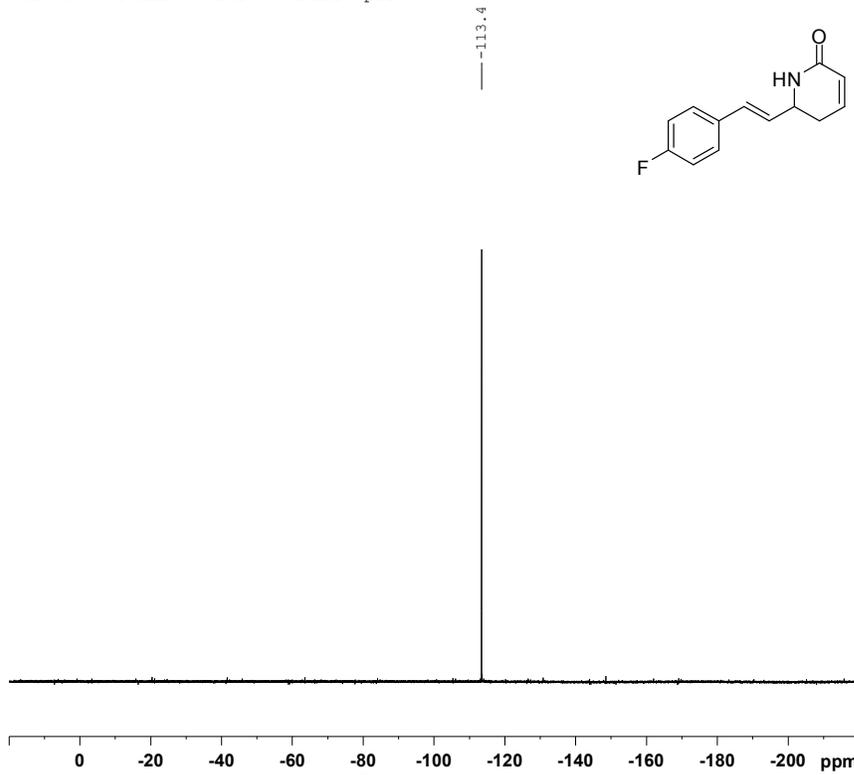
===== CHANNEL f1 =====
NUC1       13C
P1         10.00 usec
PL1         0.00 dB
SFO1       62.9015280 MHz

===== 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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 48.

Anexos

Vanessa - F-AZA - CDCl3 - abr11vcpF2



```

NAME          abr11vcpF2
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20110411
Time_         18.20
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       zgpg30
TD            131072
SOLVENT       CDCl3
NS            8
DS            0
SWH           56497.176 Hz
FIDRES        0.431039 Hz
AQ            1.1600372 sec
RG            2298.8
DW            8.850 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            1.0000000 sec
d11           0.03000000 sec
d12           0.00002000 sec
TD0           1
    
```

```

===== CHANNEL f1 =====
NUC1          19F
P1            12.00 usec
PL1           -1.00 dB
SFO1         235.3338140 MHz
    
```

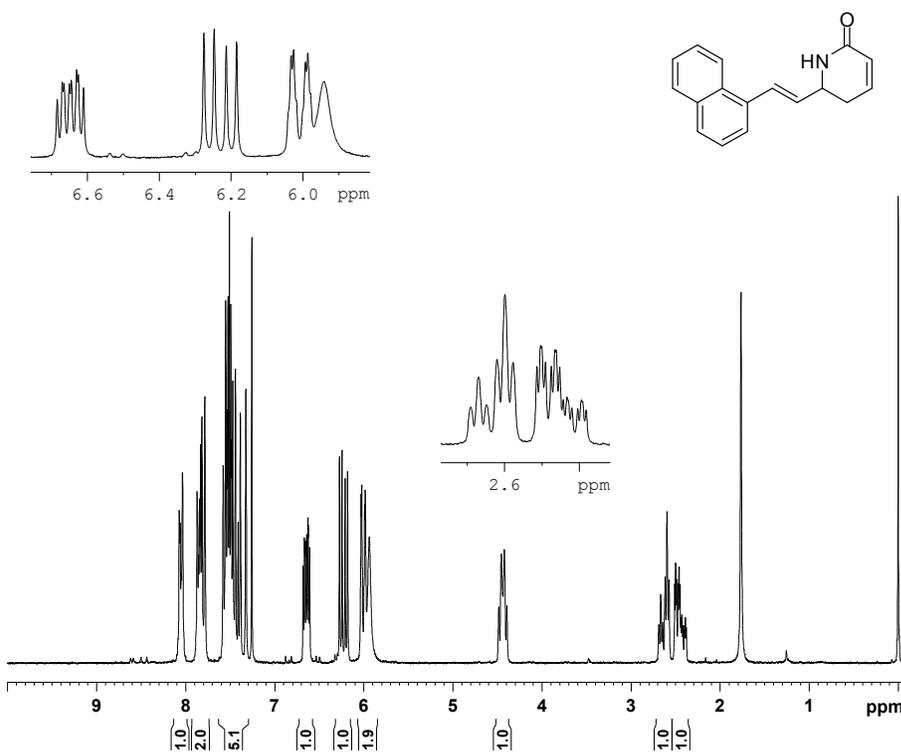
```

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2       waltz16
NUC2          1H
PCPD2         100.00 usec
PL2           -6.00 dB
PL12          18.00 dB
SFO2         250.1310005 MHz
SI            65536
SF           235.3573500 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            0.30 Hz
GB            0
PC            1.00
    
```

Espectro de <sup>19</sup>F-RMN (235MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 48.

Anexos

Vanessa - Naf-AZA - abr06vcpH3

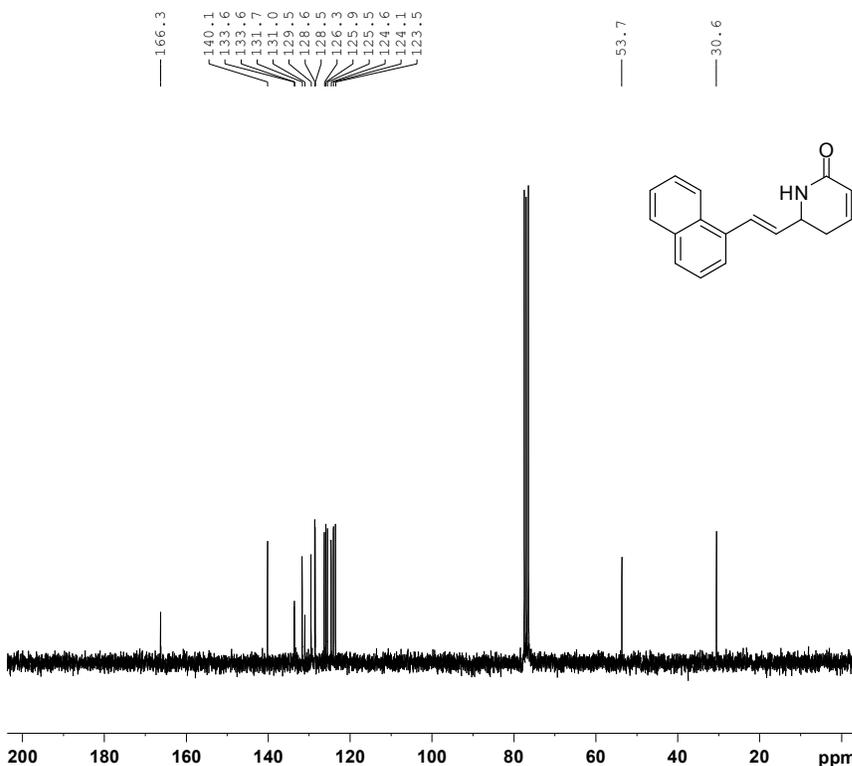


```

NAME          abr06vcpH3
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20110406
Time_         18.45
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            1149.4
DW            96.600 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            1.0000000 sec
TDO           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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 49.

Vanessa - Naf-AZA - CDCl<sub>3</sub> - abr11vcpC2



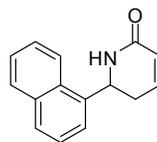
```

NAME          abr11vcpC2
EXPNO         1
PROCNO        1
Date_         20110411
Time_         20.05
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm QNP 1H/13
PULPROG       zgpg30
TD            16384
SOLVENT       CDCl3
NS            305
DS            0
SWH           15060.241 Hz
FIDRES        0.919204 Hz
AQ            0.5439988 sec
RG            362
DW            33.200 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            2.0000000 sec
d11           0.0300000 sec
DELTA         1.89999998 sec
TDO           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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 49.

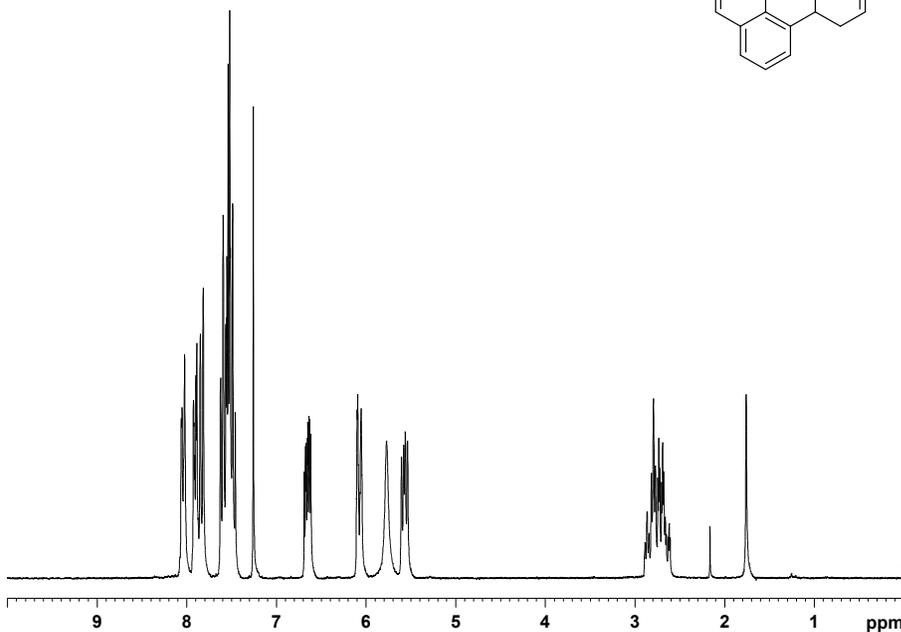
Anexos

Vanessa - 1N-AZA - CDC13 - jun20vcph3



```

NAME      jun20vcph3
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110620
Time      19.39
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         32768
SOLVENT   CDC13
NS         0
DS         0
SWH        5175.983 Hz
FIDRES     0.157958 Hz
AQ         3.1654389 sec
RG         1448.2
DW         96.600 usec
DE         6.00 usec
TE         298.2 K
D1         1.00000000 sec
TD0        1
    
```



```

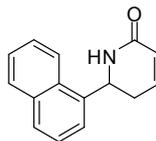
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      1H
P1        13.00 usec
PL1       -6.00 dB
SFO1     250.1315447 MHz
SI        32768
SF        250.1300000 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        0.30 Hz
GB        0
PC        1.00
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 50.

Van 1N-AZA - 250 MHz - CDC13 - abr09vcpcr

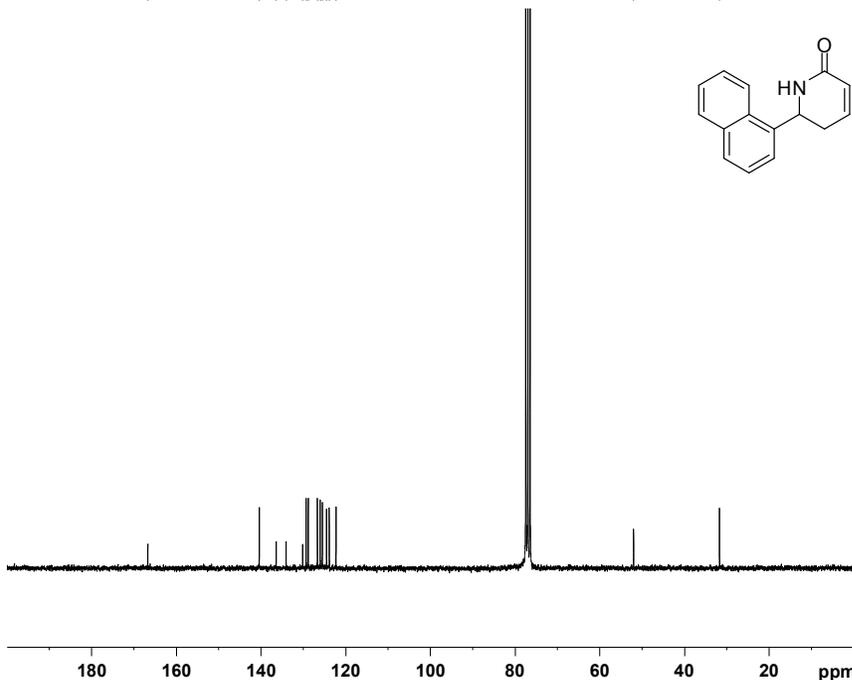
166.7  
140.4  
136.4  
134.0  
130.1  
129.3  
128.8  
126.7  
126.0  
125.5  
124.5  
123.8  
122.3

52.0  
31.7



```

NAME      abr09vcpcrRos
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110409
Time      18.28
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDC13
NS         20000
DS         0
SWH        15060.241 Hz
FIDRES     0.919204 Hz
AQ         0.5439988 sec
RG         456.1
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
    
```



```

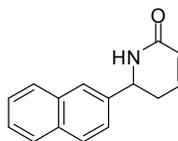
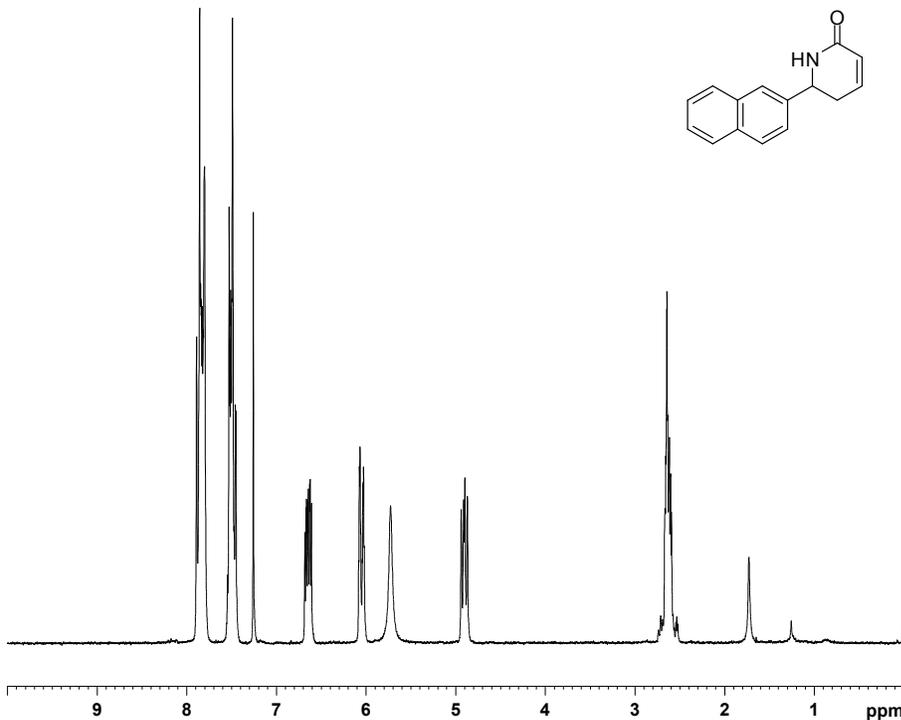
===== CHANNEL f1 =====
NUC1      13C
P1        10.00 usec
PL1       0.00 dB
SFO1     62.9015280 MHz

===== 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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 50.

Anexos

Vanessa - 2N-AZA - CDC13 - jun20vcpH4



```

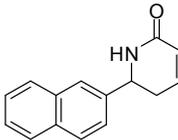
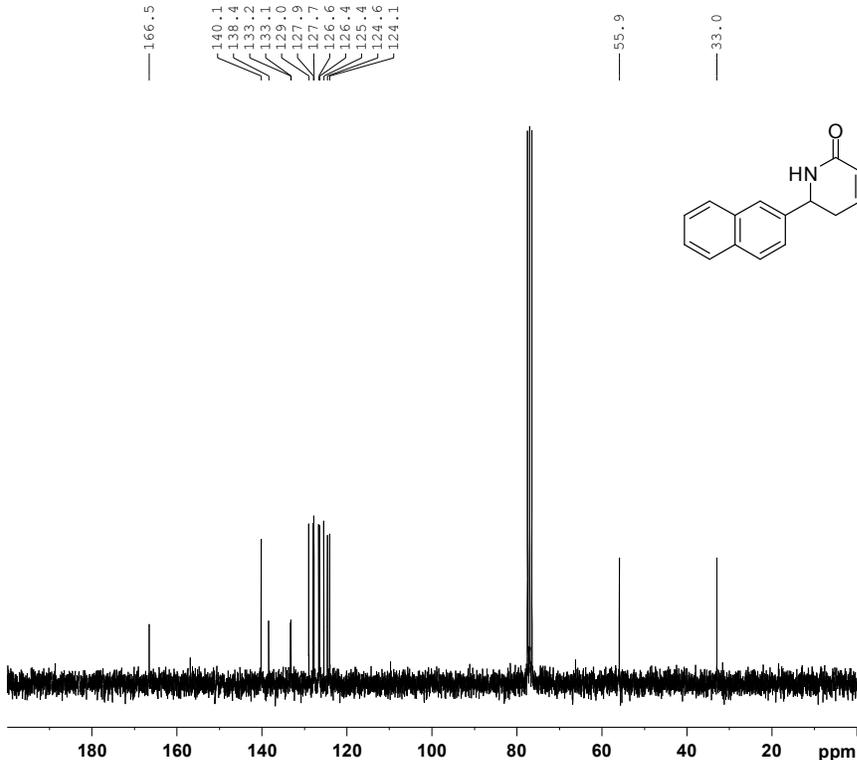
NAME      jun20vcpH4
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110620
Time      20.14
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zg30
TD         32768
SOLVENT   CDC13
NS         20
DS         0
SWH        5175.983 Hz
FIDRES     0.157958 Hz
AQ         3.1654389 sec
RG         2048
DW         96.600 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
    
```

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (250MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 51.

Vanessa - 2N-AZA - abr08vcpC1 - CDC13



```

NAME      abr08vcpC1
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20110408
Time      19.07
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm QNP 1H/13
PULPROG   zgpg30
TD         16384
SOLVENT   CDC13
NS         267
DS         0
SWH        15060.241 Hz
FIDRES     0.919204 Hz
AQ         0.5439988 sec
RG         724.1
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
    
```

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN (62,5MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 51.