**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**
**Instituto de Ciências Exatas**
**Departamento de Química**

JÚNIO GONÇALVES DA SILVA

# SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE NOVAS DRIMANAMIDAS E TETRONAMIDAS

**Belo Horizonte**
**2023**

UFMG/ICEX/DQ. 1.561
T. 708

JÚNIO GONÇALVES DA SILVA

# SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE NOVAS DRIMANAMIDAS E TETRONAMIDAS

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências - Química.

Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa

**Belo Horizonte**

**2023**

Ficha Catalográfica

S586s
2023
T

Silva, Júnio Gonçalves da.
Síntese e avaliação de atividades biológicas de novas drimanamidas e tetronamidas [manuscrito] / Júnio Gonçalves da Silva. 2023.
286 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química.
Inclui bibliografia.
Apêndices: f. 158-286.

1. Química orgânica – Teses. 2. Síntese orgânica – Teses. 3. Química farmacêutica – Teses. 4. Produtos naturais – Teses. 5. Lactonas – Teses. 6. Compostos bioativos – Teses. 7. Inibidores enzimáticos – Teses. 8. Inibidores da colinesterase – Teses. 9. Agentes antineoplásicos – Teses. 10. Produtos químicos agrícolas – Teses. 11. Herbicidas – Teses. 12. Cromatografia em camada fina – Teses. 13. Espectroscopia de ressonância nuclear – Teses. 14. Espectroscopia de infravermelho – Teses. I. Barbosa, Luiz Cláudio de Almeida, Orientador. II. Título.

CDU 043

Elaborada por Márcia Cavalcanti Moreira – CRB6/3847.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA – ICEx**
**31270-901 – Belo Horizonte –MG**
**TEL.: 031 – 3409-5732**
**FAX: 031 – 3409-5700**
**E-MAIL: pgquimic@zeus.qui.ufmg.br**

# "Síntese e Avaliação de Atividades Biológicas de Novas Drimanamidas e Tetronamidas"

Júnio Gonçalves da Silva

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos professores:

Documento assinado eletronicamente por **Luiz Claudio de Almeida Barbosa**, **Chefe de departamento**, em 14/08/2023, às 13:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa - Orientador
UFMG

Documento assinado eletronicamente por **Patrícia Fontes Pinheiro**, **Usuária Externa**, em 14/08/2023, às 09:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Profa. Patrícia Fontes Pinheiro
UFES

Documento assinado eletronicamente por **Giovanni Wilson Amarante**, **Usuário Externo**, em 21/07/2023, às 19:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Prof. Giovanni Wilson Amarante
UFJF

Documento assinado eletronicamente por **Kleber Thiago de Oliveira**, **Usuário Externo**, em 26/07/2023, às 19:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Prof. Kleber Thiago de Oliveira
UFSCar

Documento assinado eletronicamente por **Rossimiriam Pereira de Freitas**, **Professora do Magistério Superior**, em 14/08/2023, às 13:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Profa. Rossimiriam Pereira de Freitas
UFMG

Belo Horizonte, 21 de julho de 2023.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2478810** e o código CRC **B3BF5D4A**.

**Referência:** Processo nº 23072.244208/2023-95 SEI nº 2478810

Dedico este trabalho a minha mãe Maria Aparecida Gonçalves que sempre me apoiou e é um grande exemplo de mãe e mulher.

# AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Maria Aparecida Gonçalves e Sebastião Pires da Silva;

a todos os meus professores;

aos meus amigos de vida Arthur Castro, Caio Motta, Felipe Gaspar, Laércio Oliveira, Phillipe Martins, Rafael Matias e Wesley Ferreira;

aos meus amigos membros do grupo de pesquisa do professor Luiz Cláudio Barbosa: Anderson Ramos, Cleber Silva, Daiane Szczerbowski, Débora Alcântara, Gabriel Fernandes, Gabriela Mizrahy, Samuel Moreira e Tatiane Borgati;

ao meu orientador Luiz Cláudio de Almeida Barbosa;

à professora Amanda Silva de Miranda;

aos professores colaboradores André Oliveira, Giuseppe Forlani e René Csuk;

aos amigos e colegas do departamento de química da UFMG;

aos órgãos de fomento CNPq, FAPEMIG, CAPES;

aos membros da banca.

# RESUMO

A unidade química dos drimanos e dos butenolídeos está presente em uma ampla variedade de produtos naturais (PNs) com vasto espectro de bioatividade e, por isso, são unidades de grande interesse acadêmico e industrial. No capítulo 1 desta tese é abordada a síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica de 25 drimanamidas (15 inéditas) derivadas do produto natural (3a*R*)-(+)-esclareolídeo. A síntese dos derivados deu-se por aminólise da porção lactona do PN, com emprego de trimetilalumínio e diferentes aminas alifáticas e aromáticas (rendimentos 56-98%). Do derivado *N*-propargil substituído (**J-1.7**), com o emprego de azidas benzílicas, foram preparados 5 triazois inéditos (rendimentos 70-81%). Os compostos sintetizados foram avaliados quanto as suas atividades anticolinesterásicas e antitumorais. Os melhores resultados de inibição enzimática foram alcançados para os compostos **J-1.12** (*p*-trifluorometilfenil substituído) (AChE = 78%) e **J-1.9** (*m*-bromofenil substituído) (AChE = 77% e BuChE = 73%), sendo o último, para BuChE, mais ativo do que a droga padrão galantamina (BuChE = 43%). Ademais, interessantes correlações foram observadas entre os testes enzimáticos e estudos de *docking* molecular, que sugeriram que as atividades observadas *in vitro* ocorrem devido a importantes interações com o sítio ativo enzimático. A avaliação da atividade antitumoral desses compostos revelou uma nova classe de substâncias citotóxicas. Em especial, **J-1.1** (*N*-(2-(piperidin-1-il)etil) substituído) possui considerável ação antitumoral contra HT29 com $EC_{50}$ = 9,2 μM. A análise da atividade antitumoral revelou que a presença do anel triazólico não causou grande diferença na citotoxicidade contra a linhagem tumoral A2780 quando comparada com a respectiva drimanamida *N*-aril substituída. No entanto, a presença do heterociclo provocou, no geral, diminuição da citotoxicidade das moléculas contra a cepa não tumoral NIH3T3, aumento, assim, a seletividade das substâncias. Em suma, as modificações realizadas na estrutura do (3a*R*)-(+)-esclareolídeo conduziram a obtenção de novas moléculas anticolinesterásicas e antitumorais. No segundo capítulo da presente tese são descritas a síntese, a caracterização e a avaliação das atividades cianobactericida, herbicida e inibitória de fotossíntese de novos butenolídeos β-amino-substituídos (tetronamidas). Estes produtos são inspirados nos rubrolídeos, uma classe de PNs isolados de esponjas marinhas. A síntese desses análogos teve três principais etapas, que foram: (**i**) um acoplamento de Suzuki entre o *p*-bromobenzaldeído e diferentes ácidos borônicos para originar aldeídos bifenílicos (88-94%, 4 substâncias); (**ii**) uma adição/eliminação viníloga entre diferentes

2,4-dialofuran-2(5*H*)onas e aminas aromáticas e alifáticas (33-98%, 9 substâncias) e (**iii**) uma adição aldólica entre os aldeídos bifenílicos (**i**) e as tetronamidas que foram obtidas por meio da adição/eliminação viníloga (**ii**) (19-85%, 20 substâncias, 18 inéditas). As substâncias finais (os adutos de aldol **J-2.16** a **J-2.35**) foram avaliadas quanto às suas atividades cianobactericidas, sendo que os 5 compostos mais tóxicos da série possuem $IC_{50}$ próximos a 2 μM. Os ensaios de inibição de fotossíntese revelaram que o mecanismo de ação dessas substâncias cianobactericida não deve ocorrer via inibição do sistema transportador de elétrons fotossintéticos. Os ensaios de atividade herbicida mostraram que as tetronamidas obtidas não exercem grande influência sobre o desenvolvimento de plantas, o que sugere a seletividade das substâncias para a ação contra cianobactérias. Ademais, estudos de QSAR foram realizados no sentido de racionalizar as relações entre as bioatividades e as estruturas químicas das tetronamidas. Esses estudos apontaram grande relevância das unidades bifenila e *N*-aril para a bioatividade contra cianobactérias. Dado o contexto das enfermidades que acarretam a população humana e a consequente busca por novos fármacos, bem como a necessidade do desenvolvimento de novos agentes agroquímicos, os dados apresentados e discutidos no presente trabalho contribuem, assim, para a descoberta de novos esqueletos estruturais de interesse científico e social.

**Palavras-chave:** síntese; anticolinesterásicos; antitumorais; cianobactericidas.

# ABSTRACT

The chemical unit of drimanes and butenolides is present in a wide variety of natural products (NPs) with a wide spectrum of bioactivity and, therefore, are units of great academic and industrial interest. In chapter 1 of this thesis, the synthesis, characterization, and evaluation of the biological activity of 25 drimanamides (15 unpublished) derived from the natural product (3a*R*)-(+)-sclareolide are approached. The derivatives were synthesized by aminolysis of the lactone portion of NP using trimethylaluminum and different aliphatic and aromatic amines (yield 56-98%). From the substituted *N*-propargyl derivative (**J-1.7**), with the use of benzyl azides, 5 new triazoles were prepared (yield 70-81%). The synthesized compounds were evaluated for their anticholinesterase and antitumor activities. The best enzymatic inhibition results were achieved for compounds **J-1.12** (*p*-substituted trifluoromethylphenyl) (AChE = 78%) and **J-1.9** (*m*-substituted bromophenyl) (AChE = 77% and BuChE = 73%), being the last, for BuChE, more active than the standard drug galantamine (BuChE = 43%). Furthermore, interesting correlations were observed between enzymatic tests and molecular docking studies, which suggested that the activities observed in vitro occur due to important interactions with the enzymatic active site. The evaluation of the antitumor potential of these compounds revealed a new class of cytotoxic substances. In particular, **J-1.1** (substituted *N*-(2-(piperidin-1-yl)ethyl) exhibited considerable antitumor action against HT29 with $EC_{50}$ = 9.2 μM. Analysis of antitumor activity revealed that the presence of the triazole ring did not cause a great difference in the cytotoxicity against the A2780 tumor cell line when compared to the respective *N*-aryl substituted drimanamide. In short, the changes made to the structure of (3a*R*)-(+)-sclareolide led to the obtaining of new bioactive molecules. In the second chapter of this thesis, the synthesis, characterization, and evaluation of the cyanobactericidal, herbicide activities are described and inhibitor of photosynthesis of new β-amino-substituted butenolides (tetronamides). These products are inspired by rubrolides, a class of PNs isolated from marine sponges. The synthesis of these analogues had three main steps, which were: (**i**) a Suzuki cross-coupling between *p*-bromobenzaldehyde and different boronic acids to give biphenyl aldehydes (88-94%, 4 substances); (**ii**) a vinylologous addition/elimination between different 2,4-dialofuran-2(5*H*)ones and aromatic and aliphatic amines (33-98%, 9 substances) and (**iii**) an aldol condensation between the biphenyl aldehydes (**i**) and the tetronamides that were obtained through vinylic addition/elimination (**ii**) (19-85%, 20 substances, 18 unpublished). The final

substances (the aldol adducts **J-2.16** to **J-2.35**) were evaluated for their cyanobactericidal activities, with the 5 most toxic compounds in the series having an $IC_{50}$ close to 2 μM. The photosynthesis inhibition assays revealed that the mechanism of action of these substances, in the cyanobactericidal action, should not occur via inhibition of the photosynthetic electron transport system. The herbicidal activity assays showed that the obtained tetronamides do not exert great influence on the development of plants, which suggests the selectivity of the substances for action against cyanobacteria. Furthermore, QSAR studies were carried out to rationalize the relationships between bioactivities and chemical structures of tetronamides. These studies showed the great relevance of biphenyl and *N*-aryl units for bioactivity against cyanobacteria. Given the context of the diseases that affect the human population and the consequent search for new drugs, as well as the need to develop new agrochemical agents, the data presented and discussed in the present work thus contribute to the discovery of new structural skeletons of interest scientific and social.

**Key-words:** synthesis; anticholinesterase; antitumor; cyanobactericides.

# LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| **Ar** | Grupo arila |
| **ACh** | Acetilcolina |
| **AChE** | Acetilcolinesterase |
| **APP** | Proteína precursor amilóide |
| **ATChI** | Iodeto de acetiltiocolina |
| **BuChE** | Butirilcolinesterase |
| **CCD** | Cromatografia em camada delgada |
| **Ch** | Colina |
| **d** | Dupleto |
| **DA** | Doença de Alzheimer |
| **DCM** | Diclorometano |
| **DEPT** | *Distortionless enhancement by polarization transfer* |
| **dd** | Dupleto duplo |
| **DMF** | *N*,*N*-dimetilformamida |
| **DMSO** | Dimetilsulfóxido |
| **DPI** | Doença de Parkinson idiopática |
| **DTNB** | Íon 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoato |
| **FTIR** | Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier |
| **HMBC** | Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy |
| **HMQC** | *Heteronuclear multiple-quantum correlation spectroscopy* |
| **HSQC** | *Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy* |
| **Hz** | Hertz |
| **v/v** | Volume/volume |
| **$IC_{50}$** | Concentração que induz 50% de inibição |
| ***J*** | Constante de acoplamento escalar |
| **M** | Molar (mol $L^{-1}$) |
| **m** | Multipleto |
| **MG** | Miastenia gravis |
| **MIC** | Concentração inibitória mínima |
| **PC** | *principal component* |
| **PCA** | *principal component analysis* |
| **PDB** | Banco de dados de proteínas |
| **$pK_aH$** | Logarítmo negativo da constante de ionização ácida |
| **PN** | Produto natural |
| **$S_N2$** e **$A_ND_N$** | Reação de substituição nucleofílica bimolecular |
| **ppm** | Partes por milhão |
| **q** | Quarteto |
| **QSAR** | *Quantitative Structure-Activity Relationships* |
| **RM1** | *Recife model* 1 (método de cálculo semiempírico) |
| **RMN de $^{13}C$** | Ressonância magnética nuclear de carbono-13 |
| **RMN de $^{1}H$** | Ressonância magnética nuclear de hidrogênio-1 |
| **RMSD** | Raiz quadrática média |
| **s** | Simpleto |
| **SC** | (3a*R*)-(+)-esclareolídeo |
| **t** | Tripleto |
| **t.a.** | Temperature ambiente |
| **TAU** | Proteína associada aos microtúbulos |
| **$T_f$** | Temperatura de fusão |
| **TFA** | Ácido trifluoroacético |
| **THF** | Tetraidrofurano |
| **TsOH** | Ácido *p*-toluenossulfônico |
| **UV-Vis** | Ultravioleta-visível |
| **δ** | Deslocamento químico |

# LISTA DE ABREVIATURAS DE AMINOÁCIDOS

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Ala** e **A** | Alanina | **Lys** e **K** | Lisina |
| **Arg** e **R** | Arginina | **Met** e **M** | Metionina |
| **Asn** e **N** | Asparagina | **Phe** e **F** | fenilalanina |
| **Asp** e **D** | Ácido aspartico | **Pro** e **P** | Prolina |
| **Cys** e **C** | Cisteina | **Pyl** e **O** | Pirrolisina |
| **Gln** e **Q** | Glutamina | **Ser** e **S** | Serina |
| **Glu** e **E** | Ácido glutâmico | **Sec** e **U** | Selenocisteína |
| **Gly** e **G** | Glicina | **Thr** e **T** | Treonina |
| **His** e **H** | Histidina | **Trp** e **W** | Triptofano |
| **Ile** e **I** | Isoleucina | **Tyr** e **Y** | Tirosina |
| **Leu** e **L** | Leucina | **Val** e **V** | Valina |

## SUMÁRIO

**1 INTRODUÇÃO GERAL** **14**

**2 SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA E ANTITUMORAL DE NOVAS DRIMANAMIDAS** **17**

**2.1 INTRODUÇÃO** **17**

**2.2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS** **22**

**2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO** **23**

2.3.1 Sínteses e caracterizações 23

2.3.2 Avaliação das atividades anticolinesterásicas dos compostos J-1.1 a J-1.25 32

2.3.3 Avaliação da atividade antitumoral dos compostos J-1.1 a J-1.25 46

2.3.4 Viabilidade farmacológica *in silico* – regras de Lipinski 50

**2.4 CONCLUSÕES** **52**

**2.5 METODOLOGIAS** **54**

2.5.1 Sínteses e caracterizações 54

2.5.2 Ensaio de inibição enzimática 70

2.5.3 Ensaio antitumoral 72

**2.6 REFERÊNCIAS** **74**

**3 SÍNTESE, AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES CIANOBACTERICIDA, HERBICIDA E INIBITÓRIA DA REAÇÃO DE HILL E ESTUDOS DA RELAÇÃO ESTRUTURA ATIVIDADE (*QSAR*) DE NOVAS TETRONAMIDAS** **81**

**3.1 INTRODUÇÃO** **81**

**3.2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS** **89**

**3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO** **90**

3.3.1 Síntese dos butenolídeos 3,4-dialofuran-2(5*H*)-onas J-2.1 e J-2.2 93

3.3.2 Síntese dos aldeídos bifenílicos J-2.3 a J-2.6 93
3.3.3 Síntese das tetronamidas J-2.7 a J-2.15 95
3.3.4 Síntese dos adutos de aldol J-2.16 a J-2.35 104
3.3.5 Avaliação dos efeitos dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre cianobactérias 112
3.3.6 Avaliação dos efeitos dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre a reação de Hill 117
3.3.7 Avaliação do efeito dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre *Raphanus sativus* 118
3.3.8 Estudo de *QSAR* para a ação cianobactericida dos adutos de aldol 120

**3.4 CONCLUSÕES 129**

**3.5 METODOLOGIAS 130**
3.5.1 Sínteses e caracterizações 130
3.5.2 Avaliação dos efeitos dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre cianobactérias 147
3.5.3 Avaliação da capacidade dos adutos de aldol inibirem a reação de Hill 147
3.5.4 Avaliação dos efeitos dos adutos de aldol sobre *Raphanus sativus* 148
3.5.5 Estudo de *QSAR* para a ação cianobactericida dos adutos de aldol 149

**3.6 REFERÊNCIAS 150**

**4 CONCLUSÃO GERAL 156**

**APÊNDICE A 158**

*Docking* molecular 158

Espectros de RMN de $^{1}H$ e $^{13}C$ dos compostos J-1.1 a J-1.25 160

**APÊNDICE B 210**

Estudos de *QSAR* 210

Espectros de RMN de $^{1}H$ e $^{13}C$ dos compostos J-2.1 a J-2.35 218

# *INTRODUÇÃO GERAL*

A relação entre as civilizações humanas e o uso de substâncias orgânicas para cura e tratamento de enfermidades é observada desdes os primórdios da espécie.[1] O uso dessas substâncias, em grande maioria de origem botânica, era e ainda é feito mediante extratos, chás e infusões, tendo seu uso baseado inicialmente no conhecimento popular e não científico. Embora seja longínqua a relação entre os produtos naturais (PNs) e o tratamento de enfermidades, permanece atual a estratégia de buscar em organismos vegetais, animais e microbianos substâncias capazes de atuarem em sistemas biológicos a fim de se alcançar bioatividades desejadas.

O desenvolvimento da química, em especial a área de síntese orgânica, juntamente com a quimica medicinal, proporcionou ferramentas para isolar e elucidar a estrutura química de diversas substâncias naturais. Dessa forma, essas ciências proporcionam a racionalização da relação entre as estruturas químicas desses compostos e suas respectivas ações biológicas.

Reflexo disso é o fato de que cerca de 75% das substâncias utilizadas na medicina atual são PNs ou foram preparados tendo estas substâncias como modelo.[2] A grande relevância dos PNs na farmacologia se deve ao fato destas estruturas terem sido otimizadas pelo processo de evolução das espécies no intuito de servirem a funções biológicas específicas, incluindo a regulação de mecanismos endógenos de defesa e interação com outros organismos, daí o tamanho potencial farmacológico destas moléculas.[3]

Dentre as várias enfermididades que acometem a população humana, ganham destaque, nas últimas décadas, o câncer e as doenças neurodegenerativas, como o mal de Alzheimer, Parkinson e miastenia gravis. Tal destaque se deve ao fato da primeira estar atualmente entre as cinco principais causas de morte por doenças no mundo,[4] e a segunda por acometer principalmete a população idosa[5] que, devido ao aumento na expectativa de vida média global, têm se tornado cada vez mais preocupante.

Baseado nesse cenário, o capítulo 1 da presente tese objetivara a síntese e a avaliação da atividade antitumoral e anticolinesterásica de 25 drimanamidas (**2**) derivadas do produto natural (3a*R*)-(+)-esclareolídeo (**1**), que possui a unidade drimânica em sua estrutura (Figura 1). Esta unidade, assim como será apresentado na introdução do primeiro capítulo, é recorrente em diversos terpenos e é associada a diferentes ações

biológicas, dentre elas ação anticâncer e inibitória de colinesterases, uma classe de enzimas-alvo para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento de demências.

O capítulo 2 do presente trabalho aborda a síntese de 20 tetronamidas (**4**) análogas aos produtos naturais marinhos rubrolídeos (**3**) (Figura 1). Estudo prévio do grupo de pesquisa[6] apontou relevante ação dessa classe de substâncias contra a proliferação de cianobactérias, um grave problema ambiental atual.[7] Essas novas moléculas foram desenvolvidas de maneira a otimizar a ação do esqueleto bioativo previamente descoberto, conduzindo a um melhor entendimento da relação estrutura-atividade dessa promissora classe e apontando novas moléulas bactericidas.

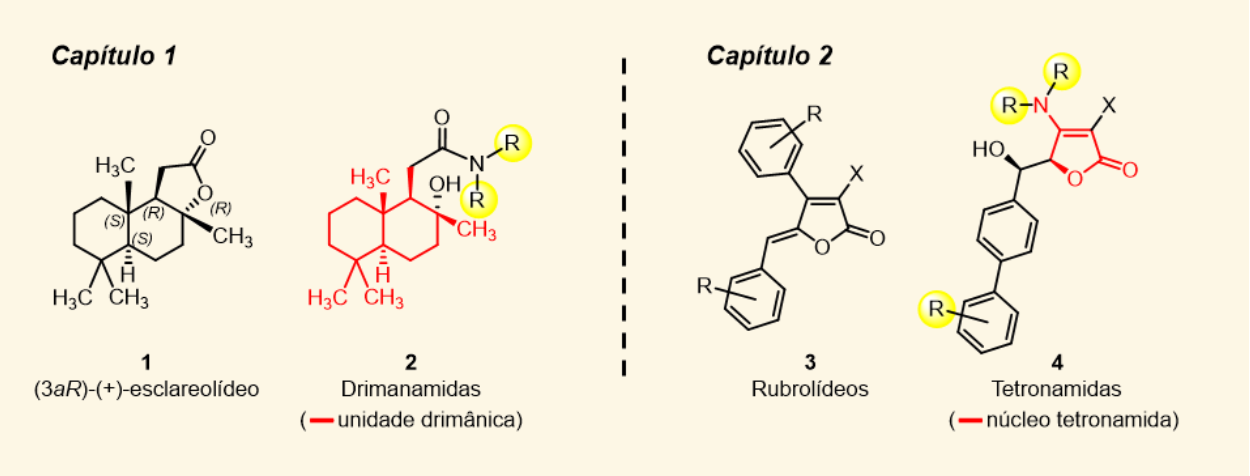



**Figura 1.** Estrutura do PN (3a*R*)-(+)-esclareolídeo (**1**), material precursor das drimanamidas (**2**) sintetizadas (capítulo 1) e estrutura geral dos rubrolídeos (**3**), que foi fonte de inspiração para as sínteses das tetronamidas (**4**) - capítulo 2.

Além dos argumentos apresentados, a importância e a necessidade do desenvolvimento da descoberta de novos compostos bioativos, objetivo geral da presente tese, é justificada pelo(a) (**i**) desenvolvimento natural de resistência dos micro-organismos aos antimicrobianos comerciais; (**ii**) falta de tratamento efetivo para várias doenças, em especial as negligenciadas, como são algumas doenças neurodegenerativas; (**iii**) elevada toxicidade e efeitos colaterais de alguns agentes terapeuticos atuais; (**iv**) elevado custo e complexidade sintética de alguns fármacos; (**v**) baixa especificidade bioquímica de alguns medicamentos e (**vi**) baixa efetividade de alguns tratamentos, sendo necessárias altas dosagens de substâncias.[8]

# REFERÊNCIAS


[1] Nogueira, Luciano J., Carlos A. Montanari, and Claudio L. Donnici. Histórico da Evolução da Química Medicinal e a Importância da Lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus E As Contribuições De Overton E De Hansch. *Revista virtual de Química,* **2009***,* 1 (3), 227-240.

[2] Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs Over the Nearly Four Decades From 01/1981 to 09/2019. *Journal of natural products*, **2020,** 83 (3), 770-803.

[3] Atanasov, A. G.; Zotchev, S. B., Dirsch; V. M.; Supuran, C. T. Natural Products in Drug Discovery: Advances and Opportunities. *Nature reviews Drug discovery*, **2021,** 20 (3), 200-216.

[4] Relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), **2020**. Disponível em: https://www.paho.org/en. Acessado em: 29/03/2023

[5] Campos-Peña, V.; Pichardo-Rojas, P.; Sánchez-Barbosa, T.; Ortíz-Islas, E.; Rodríguez-Pérez, C. E.; Montes, P.; Ramos-Palacios, G.; Silva-Adaya, D.; Valencia-Quintana, R.; Cerna-Cortes, J. F.; Toral-Rios, D. Amyloid β, Lipid Metabolism, Basal Cholinergic System, and Therapeutics in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **2022,** 23 (20), 12092.

[6] Acosta, J. A.; Karak, M., Barbosa, L. C.; Boukouvalas, J.; Straforini, A.; Forlani, G. Synthesis of New Tetronamides Displaying Inhibitory Activity Against Bloom‐Forming Cyanobacteria. *Pest management science*, **2020**, 76 (2), 779-788.

[7] Vieira-Lanero, R.; Barca, S.; Cobo, M. C.; Cobo, F. Occurrence of Freshwater Cyanobacteria and bloom Records in Spanish Reservoirs. *Hydrobiology*, **2022**, 1 (1), 122-136.

[8] Magalhaes, L. G.; Ferreira, L. L. G.; Andricopulo, A. D. Recent Advances and Perspectives in Cancer Drug Design. An Acad Bras Cienc, **2018**, 90 (1), 1233–1250.

# *CAPÍTULO 1*
# SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA E ANTITUMORAL DE NOVAS DRIMANAMIDAS

## 2.1 INTRODUÇÃO

Os sesquiterpenos constituem uma importante subclasse de substâncias naturais com enorme variedade estrutural, sendo representados por diversos compostos de elevado valor biológico. Em função disso, sem surpresa, tanto suas propriedades químicas quanto farmacológicas continuam sendo assunto de considerável interesse acadêmico e industrial. Dentro da variedade estrutural dos sesquiterpenos, os drimanos mostram-se atrativos alvos de pesquisa, porque possuem extensiva gama de bioatividades,[1–8] como ilustrado na Figura 1 e apresentado no texto a seguir.

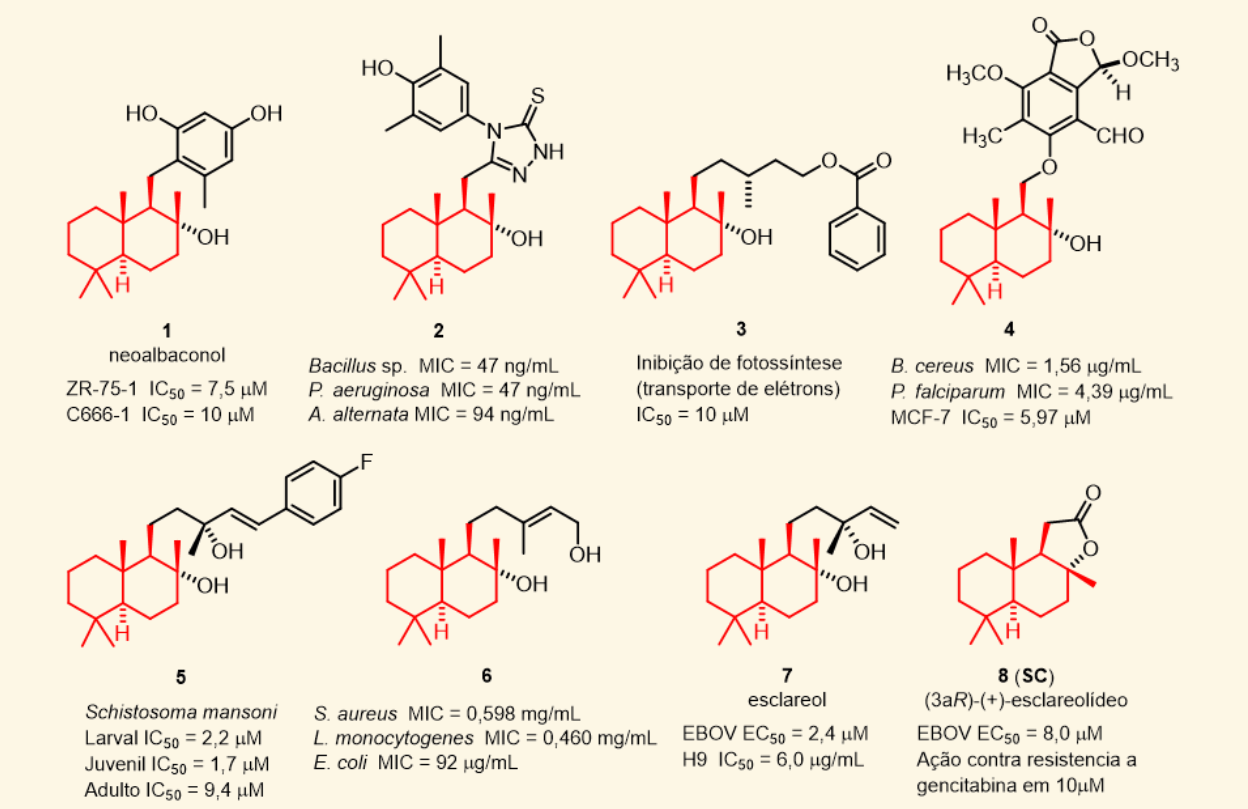
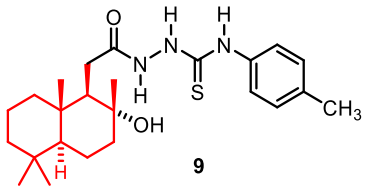



**Figura 1.** Estrutura de compostos que possuem a unidade drimânica (em vermelho) e suas respectivas atividades biológicas.[1–8] Os compostos **1**[7], **6**[4], **7**[2] e **8**[2,3] são PNs; **2**[5], **3**[8], **4**[6] e **5**[1] são sintéticos. ZR-75-1 e MCF-7: linhagens celulares de câncer de mama humano; C666-1: linhagem celular de carcinoma nasofaríngeo humano; EBOV: vírus Ebola; H9: vírus do tipo influenza.

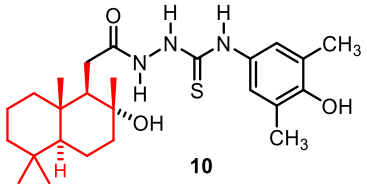
A exploração da atividade antimicrobiana de compostos drimânicos levou à descoberta de novas substâncias bioativas. Como exemplo, o composto **2** (Figura 1) que possui $IC_{50}$ de 94 ng/mL contra *Alternaria alternata*[5], fungo causador de doenças em diversas plantas e que é grave problema na pós colheita de tomates.[9] Esse composto também é ativo contra *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno resistente a antibióticos e causador de infecções hospitalares ($IC_{50}$ = 47 ng/mL).[5]

O composto **9** (Tabela 1), por sua vez, possui valor de MIC de 64 ng/mL contra *Bacilus sp*. Além da potente ação antimicrobiana, **9** e seu análogo **10**, possuem promissora ação contra células tumorais ovarianas (A2780 e A2780cis) (Tabela 1).[5]

**Tabela 1.** Valores de MIC (µg/mL) e $IC_{50}$ (mM) dos compostos **9** e **10** contra, respectivamente, diferentes espécies de micro-organismos e células tumorais ovarianas.[5]




**9**




**10**

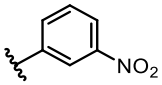
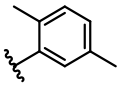
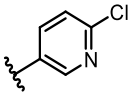
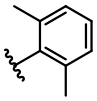
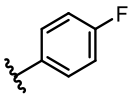
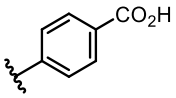
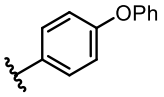
| | antimicrobiano | | | | antitumoral | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ***A. niger*** | ***F. solani*** | ***Bacillus sp.*** | ***P. aeruginosa*** | **A2780** | **A2780cis** |
| | **MIC (µg/mL)** | | | | **$IC_{50}$ (mM)** | |
| **9** | 0,125 | 0,125 | 0,064 | 0,064 | 11 | 15 |
| **10** | >32 | >32 | >256 | >256 | 9 | 14 |
| **Controle positivo** | 0,24[a] | 0,24[a] | 3,5[b] | 3,5[b] | 0,6[c] | 11[c] |

Controles positivos: [a] caspofungina, [b] canamicina e [c] cisplatina.

Embora diversos sesquiterpenóides drimânicos já tenham sido isolados a partir de diferentes espécies vegetais, não há ainda, até onde se sabe, uma molécula protótipo desta classe que esteja em estágio avançado (clínico e/ou pré-clínico) de desenvolvimento como fármaco antitumoral. Apesar disto, são diversos os estudos da exploração da atividade anticâncer da classe. Exemplos disso são os compostos **1**, que possui ação contra linhagens celulares cancerígenas de mama (ZR-75-1) e nasofaringe (C666-1)[7], e **4** que inibe o desenvolvimento de células tumorais mamárias (MCF-7)[6] (Figura 1).

Outros exemplos da atividade antitumoral dos drimanos são apresentados na Tabela 2, que resume os dados da atividade de derivados do produto natural esclareol (**7** – Figura 1) contra células de carcinoma de próstata (PC-3), pulmão (A549) e cervical (HeLa).[10]

**Tabela 2.** Valores de $IC_{50}$ (μM) da atividade antitumoral contra PC-3, A549 e HeLa de derivados do esclareol (**7**).[10]

| | | PC-3* | A549* | HeLa* |
|---|---|---|---|---|
| | | | $IC_{50}$ (μM) | |
| **11** | | 0,121 | 3,21 | 3,35 |
| **12** |  | 0,153 | 3,15 | 3,32 |
| **13** |  | 0,176 | 3,40 | 3,38 |
| **14** |  | 0,275 | 3,28 | 3,68 |
| **15** |  | 0,278 | 3,28 | 3,88 |
| **16** |  | 0,082 | 3,10 | 3,46 |
| **17** |  | 0,102 | 44,30 | 45,40 |
| **18** |  | 0,268 | 3,20 | 3,48 |
| Esclareol (**7**) | | 0,105 | 3,21 | 3,35 |
| Estaurosporina* | | 0,031 | 0,020 | 0,025 |

*Controle positivo.

Além das notórias propriedades antimicrobianas e antitumoral, drimanos, como ilustrado na Figura 1, também possuem promissoras atividades antivirais,[2] inibidoras de colinesterases[11,12] e de fotossíntese.[8]

Baseado no grande potencial farmacológico dos compostos com esqueleto drimânico, objetivou-se, no presente trabalho, a síntese de novos derivados do (3a*R*)-

(+)-esclareolídeo (**SC**) na intenção de potencializar as atividades que esta classe já possui e, assim, obter novos compostos bioativos.

Nos últimos anos, a hibridização molecular e a síntese de análogos de compostos bioativos tornaram-se algumas das principais estratégias no desenvolvimento de fármacos, recebendo grande atenção dada à descoberta de novas estruturas multi-alvos com alta bioatividade.[13–16] Visando potencializar as propriedades farmacológicas do esqueleto drimânico, almeja-se, no presente trabalho, a inserção de unidades nitrogenadas na cadeia do terpenóide. A escolha dessas unidades é baseada em uma busca na literatura por moléculas bioativas frente a diferentes alvos biológicos (inibidores enzimáticos, antitumorais e antimicrobianos) (Figura 2).[17–22]

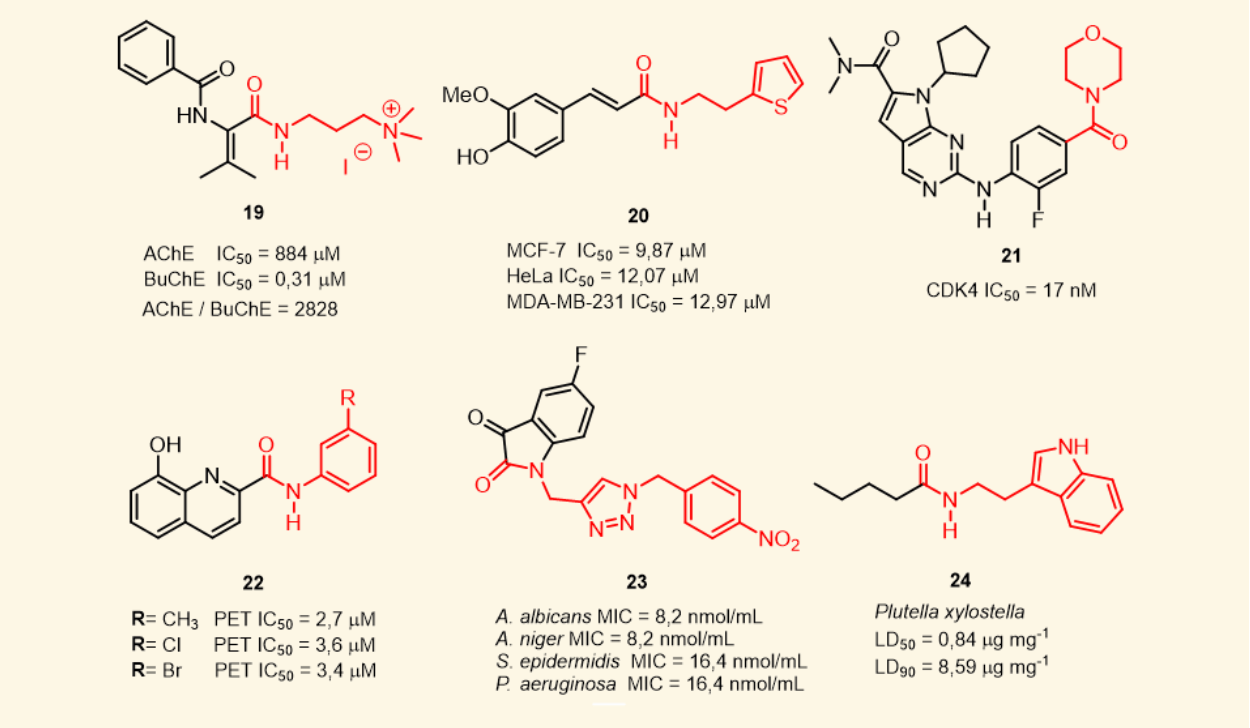
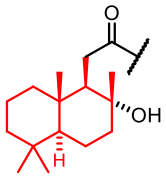
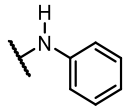
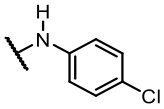
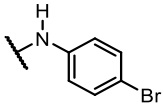
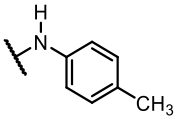
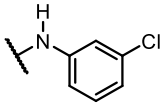
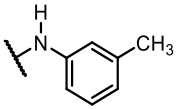
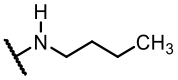



**Figura 2.** Exemplos de compostos bioativos que possuem unidades aminocarbonil-subtituídas e foram fonte de inspiração para as propostas de síntese do presente trabalho (**19**[22], **20**[17], **21**[18], **22**[21], **23**[20] e **24**[19]). Em vermelho, unidade farmacofórica comum aos compostos da presente tese.

Existem na literatura dois trabalhos que, utilizando o **SC**, sintetizaram compostos análogos aos que tem obtenção relatada neste capítulo, porém estes foram avaliados apenas contra cepas de fungos (Tabela 3). [23,24]

**Tabela 3.** Valores de $IC_{50}$ (µg/mL) de drimanamidas derivadas do esclareolídeo (**8**) contra diferentes espécies de fungos.[23,24]

| |  | Gc* | Aa* | Ab* | Bc* | Rs* | Ss* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $IC_{50}$ (µg/mL) | | | | | |
| **25** |  | 9,81 | 19,99 | 25,71 | 5,44 | 14,23 | 14,23 |
| **26** |  | 20,08 | 47,65 | 48,53 | 31,53 | 64,41 | 15,34 |
| **27** |  | - | - | - | 7,86 | 20,95 | 21,05 |
| **28** |  | 12,37 | 40,25 | 45,69 | 22,86 | 45,26 | 38,59 |
| **29** |  | 24,11 | 39,39 | 24,44 | 53,50 | 48,48 | 47,31 |
| **30** |  | 40,78 | 40,42 | 48,40 | 29,38 | 62,46 | 70,43 |
| **31** |  | - | - | - | 21,26 | 45,60 | 13,18 |
| Controle positivo** | | 0,012[a] | 47,98[a] | 36,07[a] | 0,017[a] | 0,36[b] | 0,29[b] |

**Glomerella cingulata* (Gc); *Alternaria alternata* (Aa); *Acholeplasma brassicae* (Ab); *Botrytis cinerea* (Bc); *Rhizoctonia solani* (Rs); *Sclerotinia scleotiorum* (Ss). **Controles positivos: [a] tiabendazol e [b] carbendazim

A leitura da Tabela 3 evidencia o promissor potencial da combinação entre o esqueleto drimânico com substâncias amino-substituídas. Destaque para os compostos **25** e **27** com $IC_{50}$ contra *B. cinerea* de 5,44 e 7,86 µg/mL, respectivamente. Esses dados são fonte de inspiração para a síntese de novos análogos e melhor exploração das atividades biológicas dessa classe. Por isso, se almeja também sintetizar alguns compostos já relatados na literatura[23,24] no intuito de melhor explorar suas propriedades farmacológicas.

## 2.2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

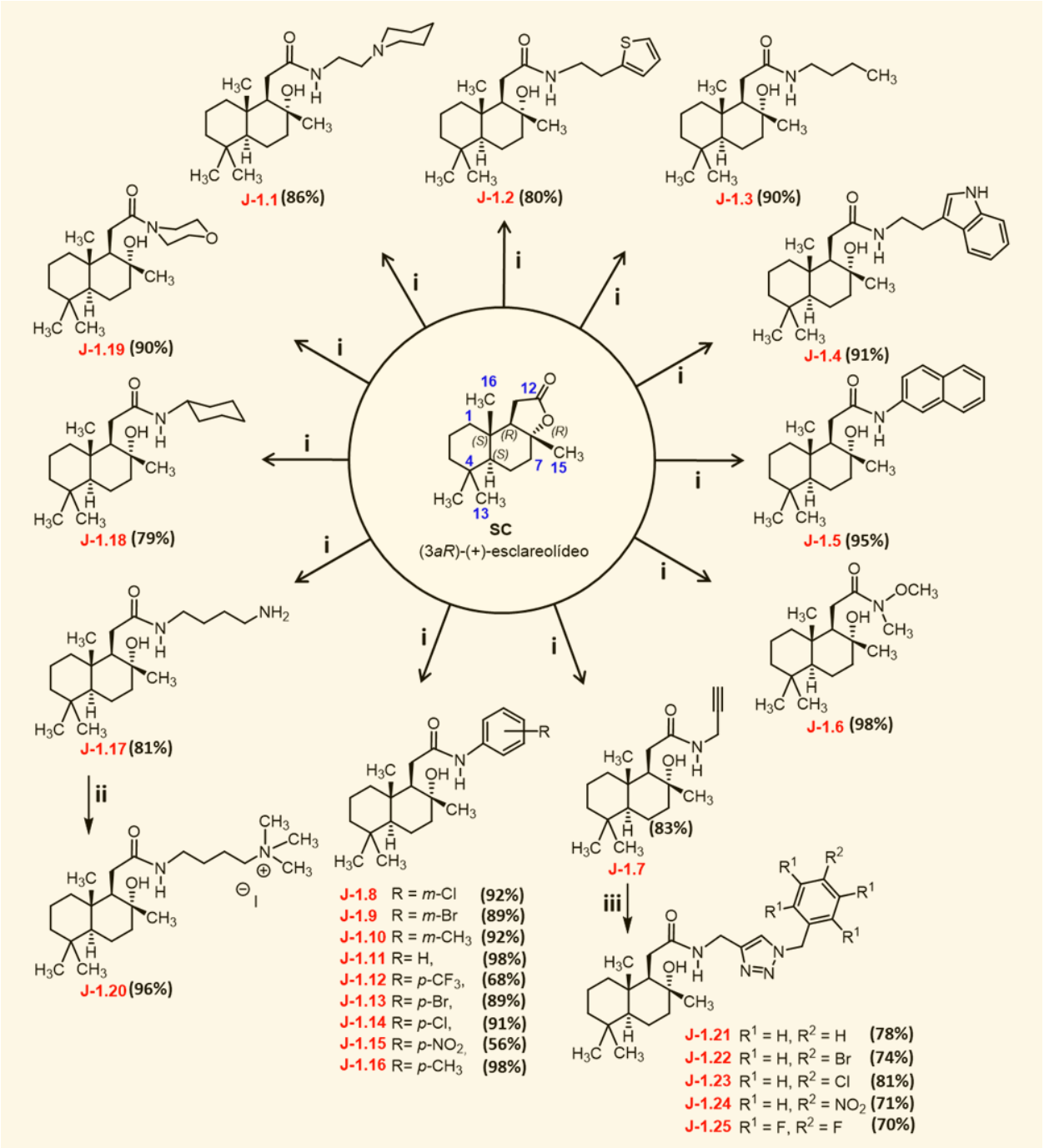
A fim de investigar a influência que a inserção de grupamentos aminocarbonil ocasiona nas atividades biológicas da classe drimânica, e à vista do que foi apresentado na introdução deste capítulo sobre o amplo potencial biológico dos compostos drimânicos, justifica-se a síntese de novas drimanamidas.

Os objetivos deste trabalho consistem na síntese e caracterização de novas drimanamidas, tendo o (3a*R*)-(+)-esclareolídeo (um PN produzido por *Salvia sclarea*)[23,24] como precursor sintético, e avaliação da atividade antitumoral e inibidora de colinesterases dessas.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Sínteses e caracterizações

Por meio das metodologias descritas na seção de metodologias foi possível a preparação de 25 amidas (Esquema 1).

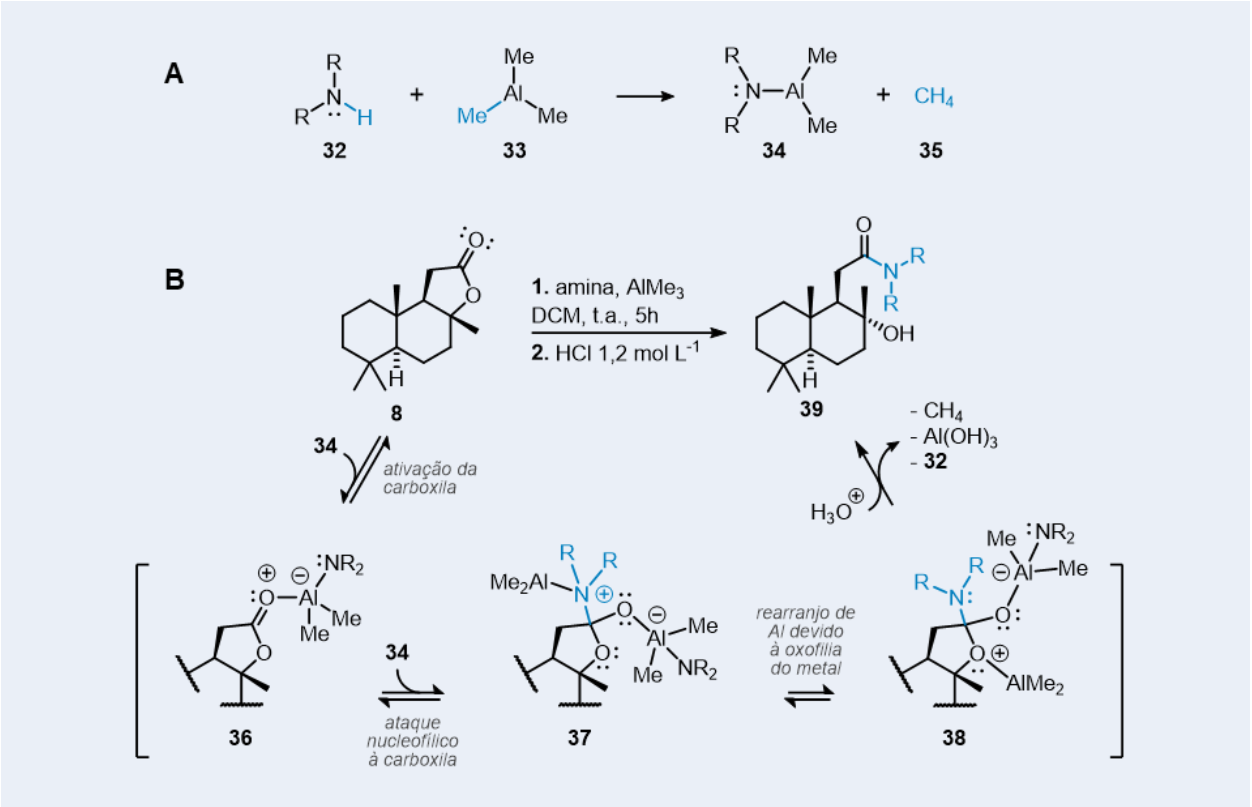



**Esquema 1.** Estrutura química e rendimento das amidas derivadas do (3*aR*)-(+)-esclareolídeo sintetizadas neste trabalho. **Condições reacionais**: **i.** $AlMe_3$, DCM, amina, temperatura ambiente, 5 h; **ii.** MeI, acetonitrila, $K_2CO_3$, temperatura ambiente, 24 h; **iii.** Azida orgânica, $CuSO_4$, ascorbato de sódio, água, acetato de etila, temperatura ambiente, 18 h.

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de $^{1}H$, $^{13}C$, DEPT-135, espectroscopia na região do infravermelho, análises de massas e elementar. Nesta seção será abordado o raciocínio empregado na caracterização das estruturas bem como os mecanismos químicos que explicam a formação dos produtos obtidos.

Assim como descrito na literatura,[23,24] observou-se a necessidade de 2 equivalentes molares da amina e do ácido de Lewis ($AlMe_3$) para obter rendimentos superiores a 50%. Em especial, fenilaminas contendo grupos retiradores de densidade eletrônica, como $-NO_2$ (**J-1.15**, 56%) e $-CF_3$ (**J-1.12**, 68%), ocasionam em piores rendimentos reacionais, mesmo aumentando a quantidade de amina e trimetilalumínio. Essa observação pode ser justificada pela menor nucleofilicidade dessas aminas.

As amidas foram sintetizadas via aminólise da porção lactona do (3a*R*)-(+)-esclareolídeo utilizando-se trimetilalumínio como ácido de Lewis. O mecanismo dessa reação não está totalmente elucidado na literatura e acredita-se que ele se inicia pela reação entre o $AlMe_3$ com a respectiva amina formando uma molécula de metano e um composto organometálico de estrutura geral **34** (Esquema 2 A). Esse intermediário pode se coordenar à carbonila da carboxila do substrato lactona (intermediário **36**), elevando a eletrofilicidade do carbono carboxílico. Isto favorece o ataque do par de elétrons livre do nitrogênio de outra molécula **34** ao carbono carboxílico (intermediário **37**). O término da reação pela inserção de água ao meio reacional conduz aos produtos observados nas sínteses executadas (Esquema 2 B).[34]




**Esquema 2.** Mecanismo proposto que explica a formação dos produtos **J-1.1** a **J-1.25**.

A fim de exemplificação, o texto a seguir irá abordar a sequência de raciocínio desenvolvida sobre os dados espectroscópicos que permitiram afirmar o sucesso da reação que conduziu ao produto **J-1.14**.

Primeiramente, pela comparação entre os espectros na região do infravermelho (IV) do esclareolídeo com o do produto **J-1.14** (Figura 3), é possível perceber, assim como esperado, o deslocamento da banda referente ao estiramento C=O. Enquanto que no espectro do material de partida o estiramento da ligação C=O da lactona ocorre em 1763 $cm^{-1}$, no produto **J-1.14** o mesmo ocorre em número de onda menor, 1677 $cm^{-1}$.[35] A presença da hidroxila no produto, bem como a presença da unidade NH também é de fácil percepção pela espectroscopia na região do infravermelho. Devido à dificuldade de formação de ligação de hidrogênio intramolecular (hidroxila ligada a um carbono terciário e, portanto, impedida estericamente), a banda referente ao estiramento da ligação O-H é observada em 3574 $cm^{-1}$ na forma de uma banda fina. As bandas referentes ao estiramento N-H são observadas em 3270 e 3298 $cm^{-1}$.[35]

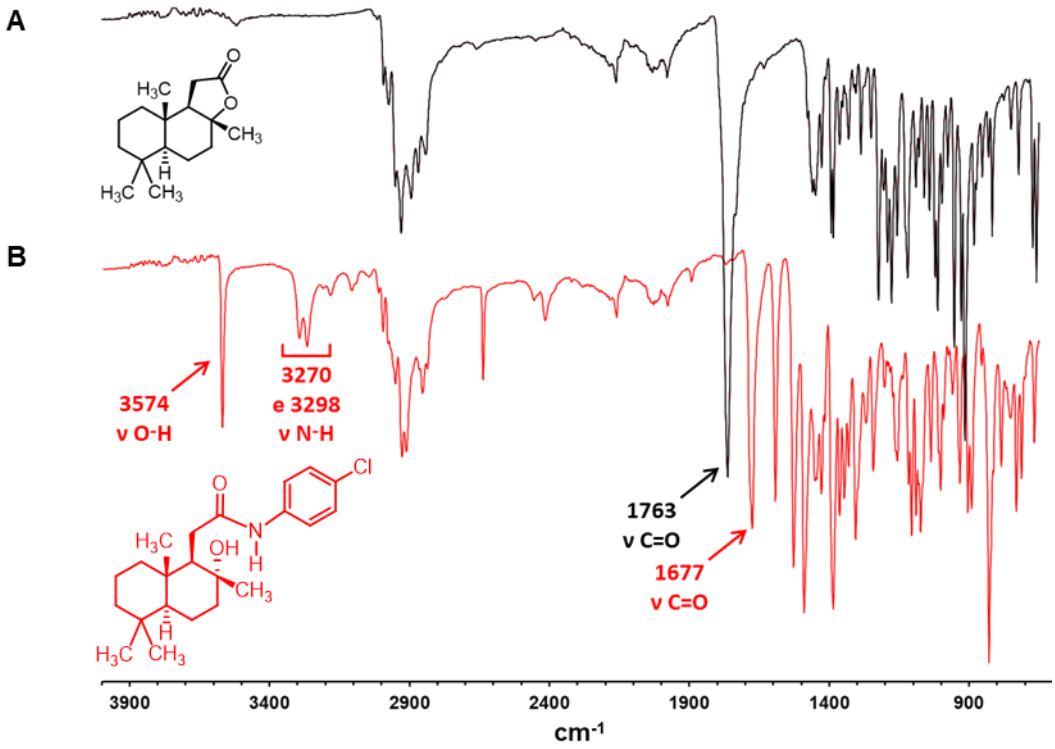



**Figura 3.** Espectro na região do infravermelho (FT-IR ATR) do (**A**) esclareolídeo e (**B**) do produto **J-1.14**.

A atribuição dos sinais no espectro de RMN de $^{1}$H (Figura 4) de **J-1.14** se inicia pelo sinal em 9,54 ppm característico de hidrogênios de NH de amidas. Devido a anisotropia do anel aromático, os sinais dos hidrogênios H2'/H6' e H3'/H5' aparecem em δ = 7,64 e 7,23 respectivamente. Ambos sinais, devido à simetria da porção aromática *para*-substituída, apresentam-se como dupletos (*J* = 8,9 Hz), sendo cada sinal integrado para o valor de dois hidrogênios. Para a distinção entre os sinais dos hidrogênios H2'/H6' e H3'/H5', considerou-se que o par H2'/H6' deve apresentar sinal em maior valor de deslocamento químico, haja vista que esses átomos estão na região do cone de desblindagem referente ao fenômeno de anisotropia causado pela presença da carbonila na estrutura.[36]

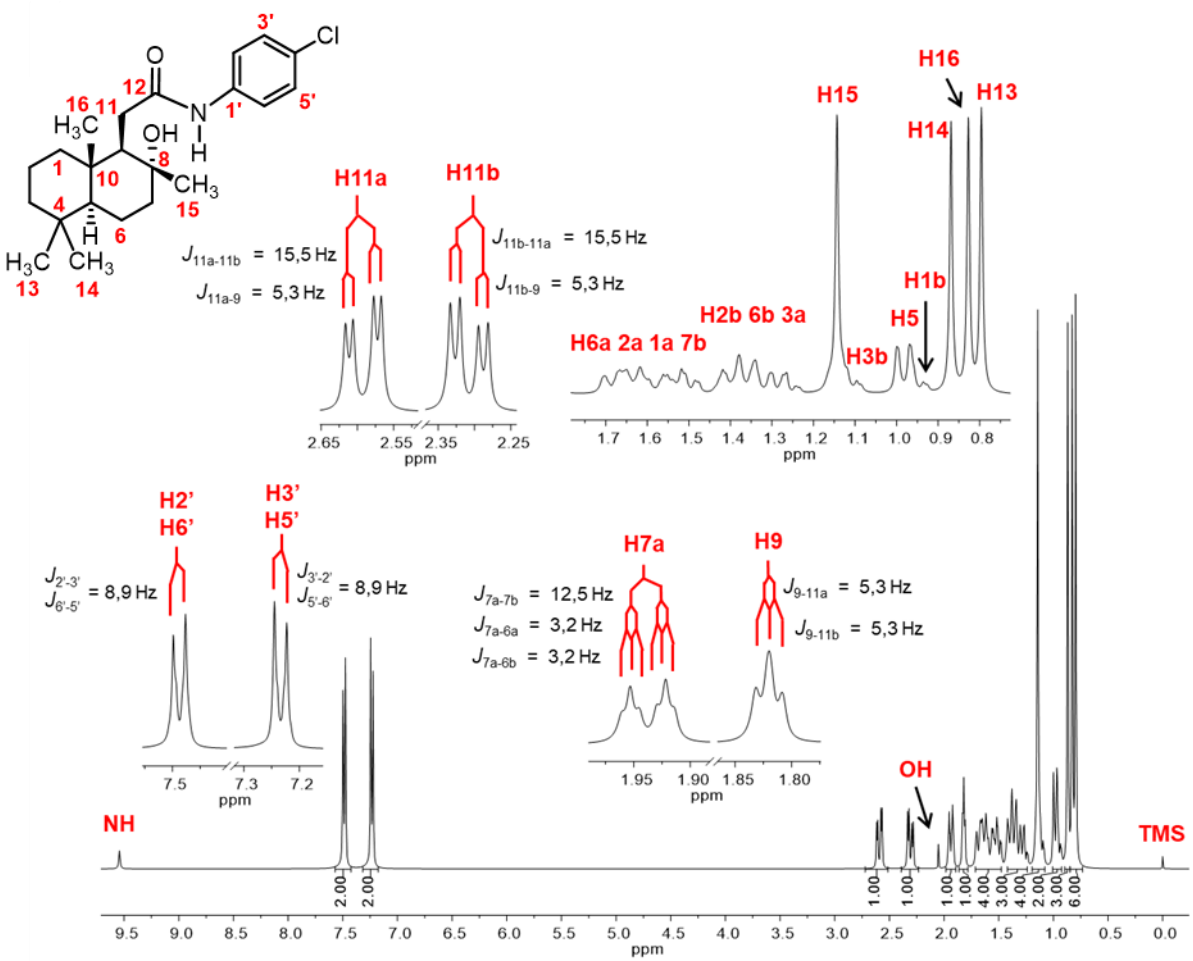



**Figura 4.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.14**.

Na sequência, os sinais dos hidrogênios diasterotópicos H11a e H11b foram identificados em δ = 2,60 e 2,31. Ambos aparecem na forma de dupletos duplos com constantes de acoplamento $J_{H11a,H11b}$ = 15,5 Hz e $J_{H11,H9}$ = 5,3 Hz. A atribuição destes sinais levou em consideração o deslocamento químico típico de hidrogênios α-carbonílicos de amidas bem como a correlação no espectro HMQC (Figura 5) de H11a e H11b para um mesmo sinal de carbono, indicando assim que os hidrogênios referentes a esses sinais são geminais.

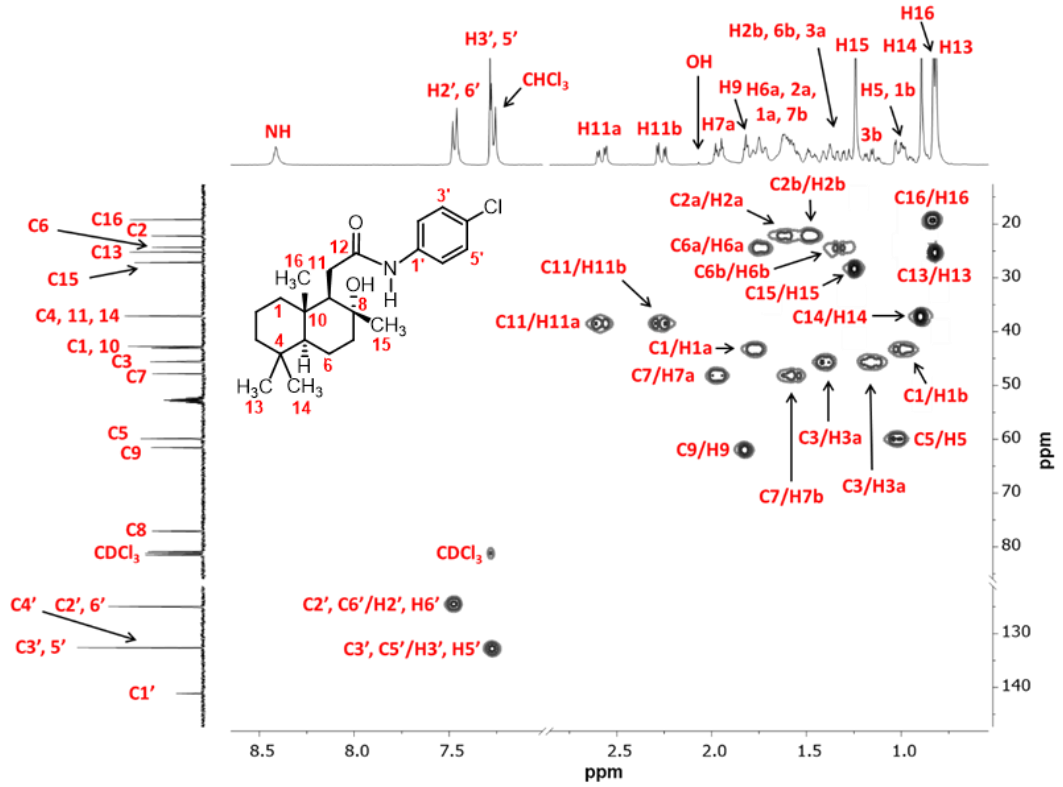



**Figura 5.** Mapa de contornos HMQC (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.14**.

Correlação intensa entre os hidrogênios geminais H11a e H11b também foi observada no espectro COSY (Figura 6).

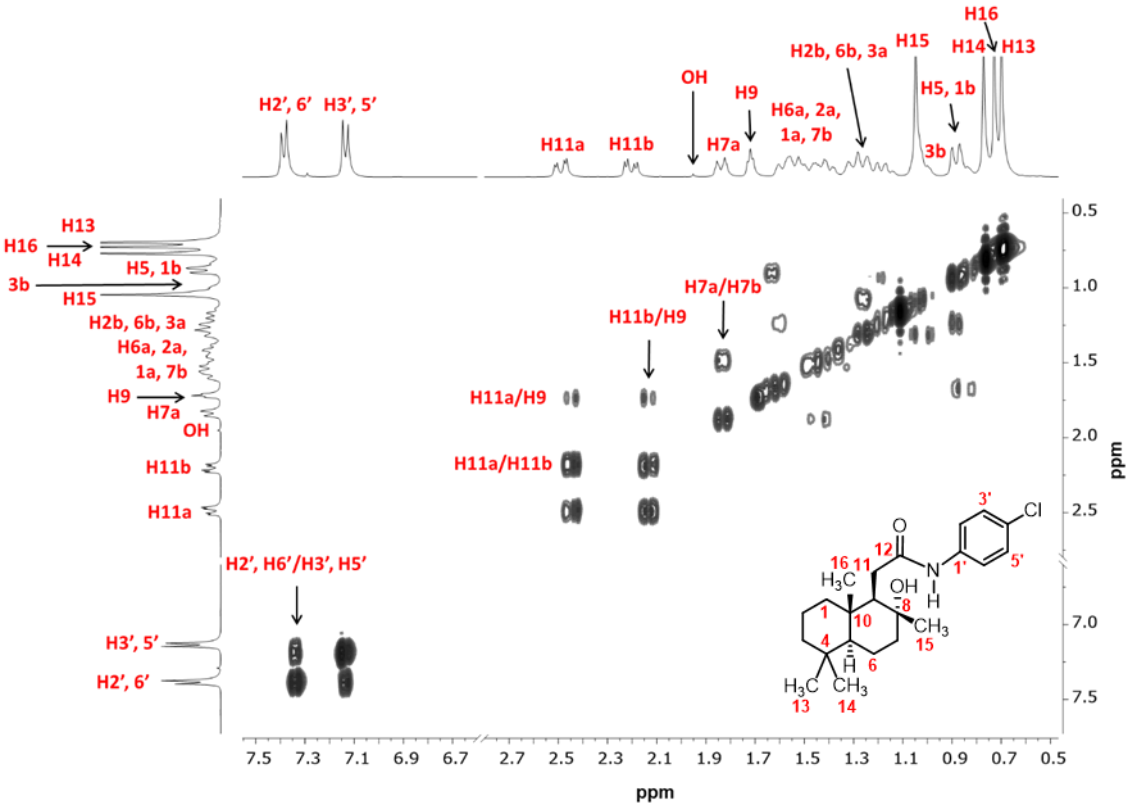



**Figura 6.** Mapa de contornos COSY (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.14**.

Outra informação obtida a partir do espectro COSY (Figura 6) é a correlação H11a/H9 e H11b/H9. Pelo fato do único hidrogênio vizinho aos hidrogênios H11 ser o hidrogênio H9, essa correlação permite a atribuição do sinal de H9 no espectro de RMN de $^{1}$H. Além disso, no espectro de RMN de $^{1}$H o sinal em δ = 1,82, que se apresenta como um tripleto, possui constante de acoplamento *J* = 5,3 Hz indicando, novamente, que este sinal é referente ao hidrogênio H9, haja visto que os sinais dos hidrogênios H11 (δ = 2,60 e 2,31) apresentam o mesmo valor de constante de acoplamento.

Com auxílio do mapa de contornos HMQC (Figura 5) é possível atribuir com segurança grande parte dos sinais de carbono no espectro de RMN de $^{13}$C (Figura 7). Pelo espectro de DEPT-135 (figura não mostrada) observam-se, além dos sinais dos carbonos do anel aromático, apenas dois sinais correspondentes a CH. Um deles, já previamente elucidado, referente ao C9 (57,5 ppm) e restando assim ao outro ser referente ao carbono C5 (δ = 55,9).

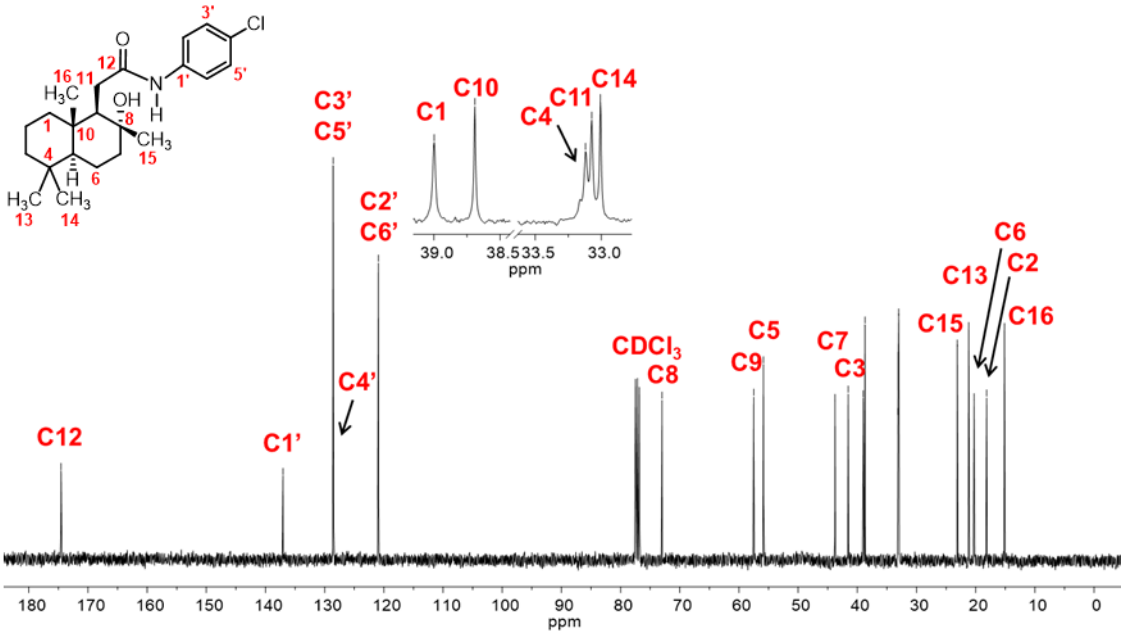



**Figura 7.** Espectro de RMN de $^{13}$C (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.14**.

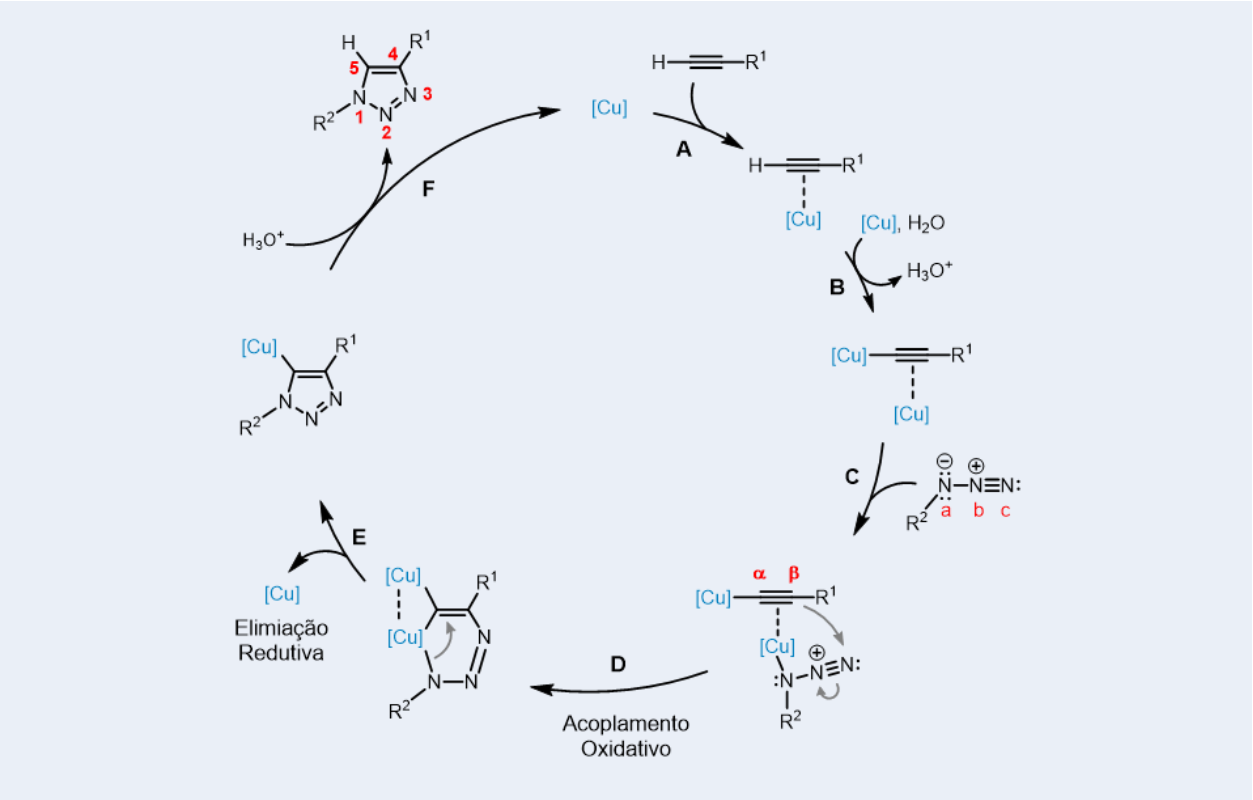
Uma vez atribuído o sinal em δ = 55,9 ao carbono C5, por meio do mapa de contornos HMQC, é possível afirmar que o sinal em δ = 0,98, no espectro de RMN de $^{1}$H, deve ser referente ao hidrogênio H5. Entre os sinais de carbonos não hidrogenados (sinais de $^{13}$C que não apareceram no DEPT-135 – C4, C8, C10 e C12), o sinal em 174,5 ppm deve ser referente ao carbono carboxílico C12 e o sinal em maior deslocamento químico na sequência ao carbono C8 (δ = 73,0), o diretamente ligado ao grupo OH.

Os sinais referentes às metilas da porção drimânica são prontamente reconhecidos tanto no espectro de RMN de $^{1}H$, sendo todos integrados para 3 hidrogênios e apresentados na forma de simpleto, quanto no espectro de RMN de $^{13}C$ com auxílio do DEPT-135.

No espectro de RMN de $^{13}C$, entre δ = 137,1 e 120,9 observam-se os sinais referentes aos carbonos do anel benzênico. Ao sinal referente ao núcleo mais desblindado (δ = 137,1), atribuiu-se o carbono C1', o diretamente ligado ao átomo de nitrogênio. Pela simetria do anel, os sinais dos carbonos C3' e C5', bem como C2' e C6' aparecem como um único sinal para cada par, sendo que pela correlação no HMQC o sinal em maior valor de deslocamento químico (δ = 128,6) é atribuído ao par C3'/C5'.

No espectro de RMN de $^{1}H$, os demais sinais referentes aos hidrogênios metilênicos foram observados entre δ = 0,9-2,0. Devido à coincidência de deslocamentos químicos e sobreposição entre eles, não foi possível aferir as constantes de acoplamento para todos. Todas as atribuições foram feitas pela interpretação dos espectros apresentados e conferidas com a literatura[23,24] e simulações do software ChemDraw®.[37]

A síntese dos 1,2,3-triazóis foi realizada empregando-se reação catalisada por Cu(I) que promove a cicloadição entre uma azida orgânica e um alquino terminal. O rendimento dessas reações variou de 70% a 81% sem a necessidade de purificação cromatográfica da azida orgânica previamente preparada. A metodologia empregada produz os 1,2,3-triazóis de forma mais eficiente e com maior regiosseletividade para o regioisômero 1,4-dissubstituído do que metodologias de cicloadições térmicas que não empregam cobre.[38] Tal regiosseletividade pode ser explicada por estudos computacionais que dão base para a proposta mecanística apresentada no Esquema 3.[38]




**Esquema 3**. Proposta mecanística para a reação de formação regiosseletiva de 1,2,3-triazólicos 1,4-dissubstituídos catalisada por espécies de Cu(I).[38]

O ciclo catalítico, que explica a regiosseletividade observada nas reações, se inicia por uma espécie de Cu(I) que se coordena ao sistema π do alquino (**A**), o que provoca aumento na acidez do hidrogênio do alquino terminal ($pK_a$ alquino terminal ≅ 25; $pK_a$ alquino coordenado ao Cu(I) ≅ 15) e permite a coordenação subsequente de uma outra espécie de Cu(I) ao alquino ativado (**B**) em meio aquoso, mesmo sem a presença de uma base adicional.[38]

O mecanismo reacional segue pela coordenação de uma azida ao Cu coordenado ao sistema π do alquino (**C**). Em princípio, a coordenação da azida pode ocorrer tanto via nitrogênio substituído (a) quanto pelo nitrogênio terminal (c), mas, em contraste com o nitrogênio terminal (c) que é π-receptor, espera-se que o nitrogênio substituído (a) π-doador aumente a densidade eletrônica no centro metálico, o que facilitaria o acoplamento oxidativo (**D**). A seletividade observada para o regioisômero 1,4-dissubstituído pode ser explicada pela preferência pela coordenação do Cu ligado ao sistema π no carbono α do acetileto. Como resultado, forma-se um metalaciclo de seis membros estabilizado por uma coordenação bimetálica geminal. [38] Essa coordenação promove um ataque nucleofílico do carbono β ao nitrogênio eletrofílico (c). O ciclo

monometálico representaria uma estrutura desfavorável, possuindo excessiva densidade de elétrons.[38]

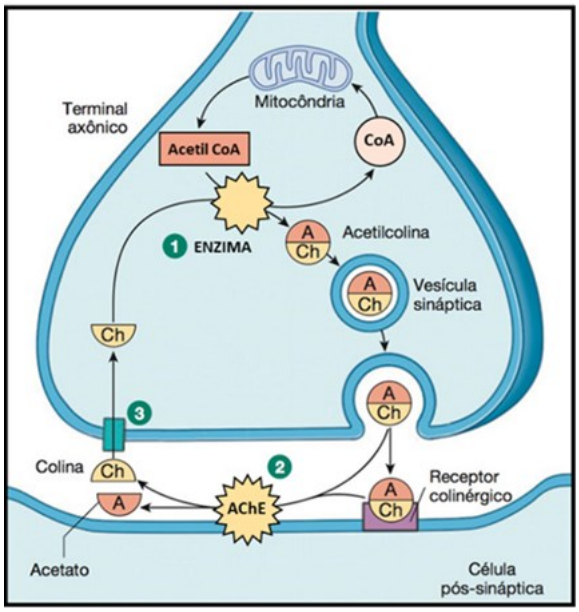
Por fim, a contração do anel acompanhada da expulsão do Cu(I), através da eliminação redutiva (**E**), proporciona a triazolida ligada a Cu(I). Em meio aquoso, a triazolida de Cu(I) sofre protonólise (**F**) liberando o triazol e o catalisador Cu(I).[38]

A caracterização dos compostos obtidos por esta metodologia deu-se de maneira similar ao descrito para **J-1.14**. Em particular, observou-se para estes derivados um sinal próximo a 7,6 ppm no espectro de RMN de $^{1}H$ referente ao hidrogênio do anel heteroaromático 1,2,3-triazólico. Para todos os compostos triazólicos (**J-1.21** a **J-1.25**), no espectro de RMN de $^{13}C$, foi possível verificar a presença de dois sinais em torno de 128 ppm referentes aos carbonos do heterociclo aromático. Para estes derivados, o carbono e os hidrogênios benzílicos (C4' e H4') advindos da azida tiveram seus sinais nos espectros de RMN de $^{13}C$ e de $^{1}H$ próximos a 54 e 5,5 ppm, respectivamente.

### 2.3.2 Avaliação das atividades anticolinesterásicas *in vitro* e *in silico* dos compostos J-1.1 a J-1.25

De posse dos compostos sintetizados, e dada a necessidade da busca e desenvolvimento de novas substâncias anticolinesterásicas, procedeu-se a avaliação da atividade inibitória de acetil e butirilcolinesterase dos compostos obtidos.

Em animais que possuem células nervosas e musculares, a transmissão dos impulsos nervosos dá-se por meio de neurotransmissores.[39,40] A maquinaria da transmissão de informação intercelular consiste, na maioria dos casos, na síntese, liberação, captação/reconhecimento e degradação desses neurotransmissores, como pode ser visto no Esquema 4, que mostra a ação do neurotransmissor acetilcolina na fenda sináptica entre neurônios.[39–43]



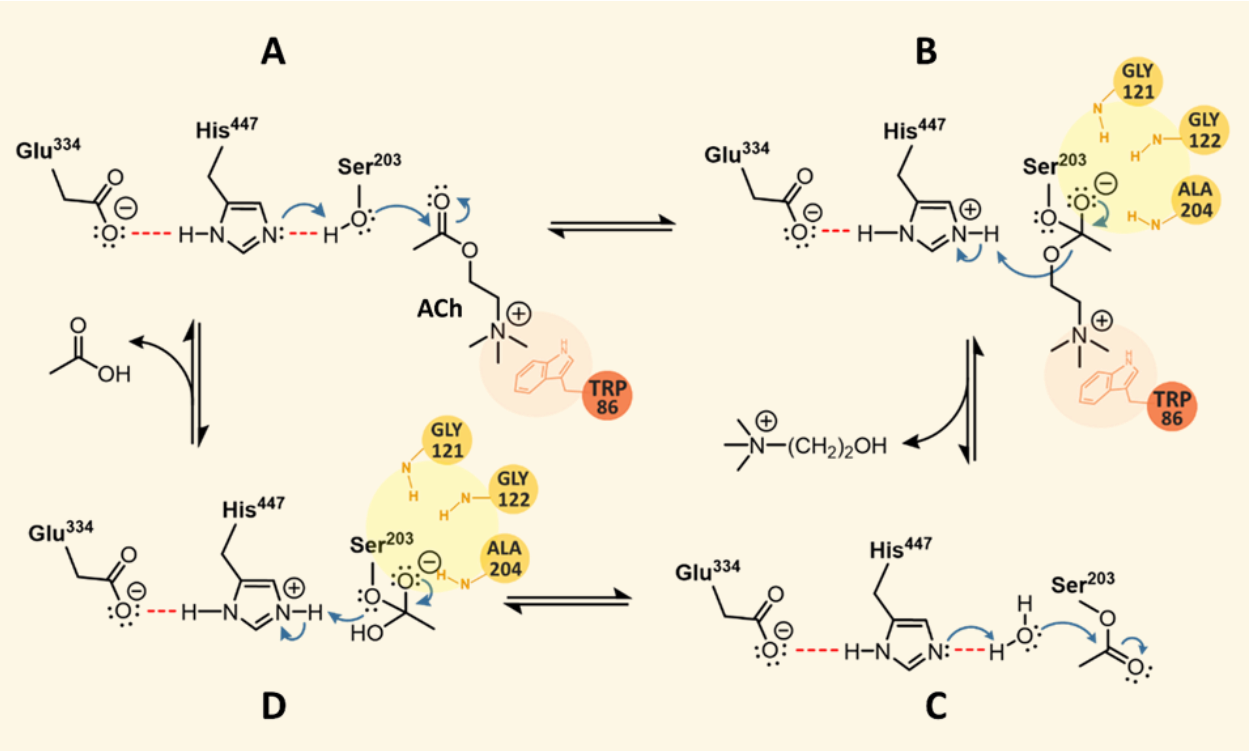

1. A acetilcolina (ACh) é sintetizada, em neurônios colinérgicos, pela enzima colina acetiltransferase que promove a acetilação de uma molécula de colina (Ch).
2. Após a ACh ser liberada na fenda sináptica e se ligar ao receptor colinérgico e, assim, transmitir o impulso nervoso, ela é degradada pela acetilcolinesterase (AChE) em seus precursores sintéticos, acetato e colina.
3. Reincorporação de colina e início de um novo ciclo.

**Esquema 4.** Transmissão de impulso nervoso entre neurônios por meio do neurotransmissor acetilcolina. Fonte: modificada de Silverthorn (2010).

Devido a este mecanismo de comunicação celular, as colinesterases exercem importante papel, porque sem a hidrólise dos neurotransmissores, permanecendo eles ligados aos receptores colinérgicos na fenda sináptica, ocorreria transmissão incessante de impulsos nervosos, o que acarretaria em espasmos musculares e morte do indivíduo. Essa importante classe enzimática é composta pela butirilcolinesterase (BuChE) e acetilcolinesterase (AChE). Ambas possuem elevada semelhança estrutural (aproximadamente 65% de homologia), sendo a porção não homóloga responsável pelas diferenças de seletividade tanto dos substratos quanto dos inibidores dessas enzimas. A AChE hidrolisa preferencialmente o neurotransmissor acetilcolina, enquanto que, a BuChE é menos seletiva, e atua hidrolisando tanto a acetilcolina quanto a butirilcolina.[41,43,44]

Como exemplo do mecanismo químico de operação dessas enzimas, a hidrólise da acetilcolina, no sítio ativo da AChE, depende principalmente da tríade catalítica que é composta pelos resíduos de glutamato (Glu), histidina (His) e serina (Ser). A $His^{447}$, auxiliada pelo $Glu^{334}$, opera como base desprotonando a $Ser^{203}$ na medida que esta promove um ataque nucleofílico ao carbono carbonílico do substrato acetilcolina (ACh) (Esquema 5 - A). O aminoácido $Trp^{86}$ é responsável por interagir (interações cátion-π) estabilizando e direcionando a acetilcolina ao sítio responsável pela sua hidrólise (Esquema 5 - A). Os resíduos $Gly^{121}$, $Gly^{122}$ e $Ala^{204}$ conseguem, por meio de ligações de hidrogênio, estabilizar o intermediário tetraédrico formado pelo ataque da $Ser^{203}$ à ACh

(Esquema 5 - B). O processo global da hidrólise da acetilcolina resulta na formação de uma molécula de ácido acético e uma molécula de colina. O ciclo catalítico da BuChE é similar ao descrito para AChE.[26,27,41,45]




**Esquema 5.** Representação mecanística da hidrólise da acetilcolina pelos resíduos de aminoácidos no sítio ativo da acetilcolinesterase. Fonte: autoria própria, baseado em Araújo *et al.*, 2016.[41]

Por esse mecanismo de degradação dos neurotransmissores, as colinesterases conseguem finalizar a transmissão do impulso nervoso e garantir o correto funcionamento do organismo animal. No entanto, pessoas com baixa concentração de neurotransmissores, como no caso das portadoras da doença de Alzheimer (DA),[40,45–47] ou que possuem quantidade anormal baixa de receptores colinérgicos, como na miastenia gravis (MG),[48,49] ou deficiências no sistema colinérgico, como na doença de Parkinson idiopática (DPI),[50–52] são afetadas pela ação normal das colinesterases, pois essas diminuem as taxas de neurotransmissores colinérgicos. Assim, o princípio do tratamento com anticolinesterásicos para essas três doenças é o mesmo: aumentar a quantidade de neurotransmissores nas fendas sinápticas.

Em especial, a DA é a que mais afeta, em números, a população idosa e ela se apresenta como demência com perda de funções cognitivas como a memória, orientação, atenção e linguagem. Não se sabe por que a DA ocorre, mas são conhecidas algumas

lesões cerebrais características dessa doença como alterações nas placas senis e os emaranhados neurofibrilares.[40]

Uma das hipóteses que tentam explicar o surgimento da DA é a hipótese colinérgica. Esta considera que o declínio das funções cognitivas e mentais, associadas à DA, estão relacionadas com a perda da neurotransmissão colinérgica cortical, sendo as colinesterases o principal foco desta hipótese.[45,53,54]

Atualmente, existem vários fármacos que possuem como alvo as colinesterases (Figura 8).[40] Por terem melhores resultados em retardar o comprometimento cognitivo associado à DA, os fármacos inibidores da AChE e BuChE vêm sendo, atualmente, embora paliativa, a alternativa terapêutica mais comumente empregada no tratamento da doença.[40,43] No tratamento da MG, os anticolisterásicos também têm considerável aplicação, no qual se observa maior prescrição clínica do brometo de piridostigmina (**42**) ao invés da fisostigmina (**41**) que possui, na maioria dos casos de prescrição, complicações por efeitos colaterais.[48,49]

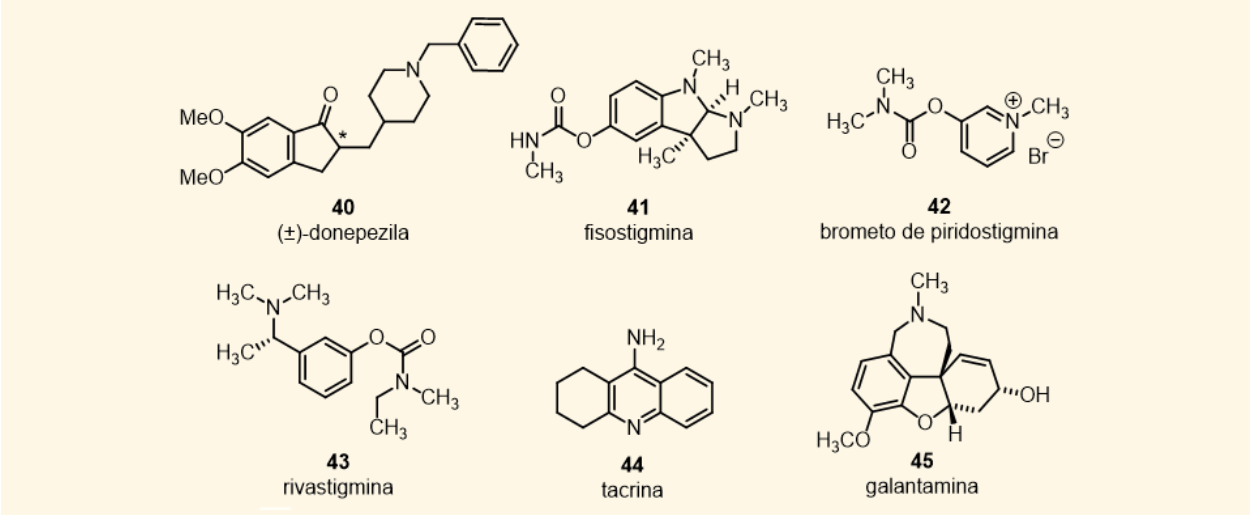



**Figura 8**. Estruturas químicas dos fármacos donepezila, fisostigmina, brometo de piridostigmina, rivastigmina, tacrina e galantamina.

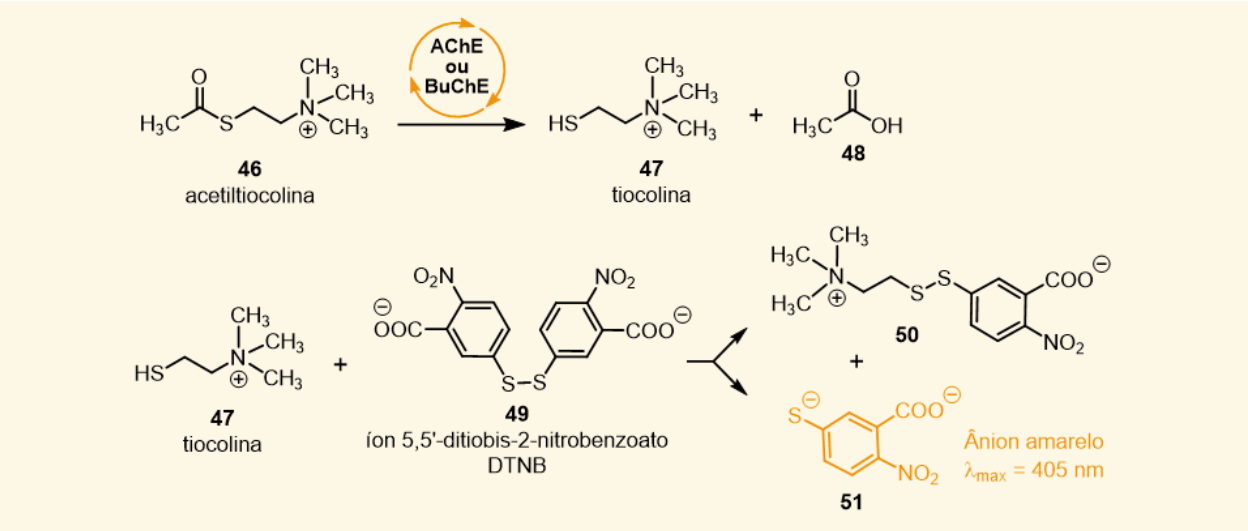
Dada a importância da busca por novos inibidores de colinesterases, os compostos **J-1.1** a **J-1.25** foram submetidos à avaliação das suas atividades inibitórias das enzimas AChE e BuChE por meio do ensaio de Ellman.

**Avaliação *in vitro* da ação anticolinesterásica dos compostos J-1.1 a J-1.25**

Estão disponíveis na literatura atual inúmeros métodos para a avaliação da capacidade inibitória das colinesterases.[55] Em sua grande maioria, estes métodos se baseiam na quantificação, por espectroscopia de UV-Vis, da porcentagem de hidrólise de um determinado substrato pela enzima na presença de um possível inibidor desta (substância a ser testada quanto à sua ação colinesterásica).

Caso a substância teste tenha ação inibitória sobre a AChE ou BuChE, a hidrólise do substrato não ocorrerá em extensão apreciável e, consequentemente, o produto de hidrólise não será observado espectrometricamente. Por outro lado, caso a substância teste não tenha ação inibitória sobre a enzima, o substrato será hidrolisado pela colinesterase e o seu produto de hidrólise será detectado (UV-Vis). Assim, a concentração do produto de hidrólise do substrato, e consequentemente a intensidade da absorbância medida, é proporcional à concentração de enzima não inibida pela substância teste e inversamente proporcional à capacidade inibitória de colinesterase da substância teste.[41]

Na imagem a seguir (Esquema 6) está representada a estratégia química utilizada no método de Ellman na quantificação da porcentagem de hidrólise do substrato acetiltiocolina (**46**) pela AChE ou BuChE.[41,55] Esta foi a estratégia adotada para a avaliação da capacidade inibitória das colinesterases dos compostos **J-1.1** a **J-1.25**.




**Esquema 6.** Estratégia química utilizada na quantificação da porcentagem de hidrólise do substrato acetiltiocolina pela enzima acetilcolinesterase.[41,55]

O método de Ellman é baseado na taxa de hidrólise da acetiltiocolina pela AChE ou BuChE dando origem à tiocolina (**47**), que reage com o ânion carboxilato DTNB (**49**), formando o benzoato de 2-nitro-5-(2-(trimetilamônio)etil)disulfanila (**50**) e um ânion de coloração amarela, o ânion 2-nitro-5-sulfidobenzoato (**51**), que é quantificado espectrofotometricamente em 405 nm. Por este método, quanto maior for a absorbância observada, maior a concentração do íon ânion 2-nitro-5-sulfidobenzoato, o que indica uma maior quantidade da enzima não inibida e, portanto, uma menor inibição de colinesterase por parte do anticolinesterásico avaliado.[41,55]

Na Tabela 4 é possível observar os valores de porcentagem de inibição da AChE e da BuChE para as drimanamidas **J-1.1** a **J-1.25** empregando-se o ensaio de Ellman.

Dos compostos avaliados, **J-1.12** e **J-1.9** (Figura 9) foram os que causaram maior efeito inibitório sobre a AChE e a BuChE.

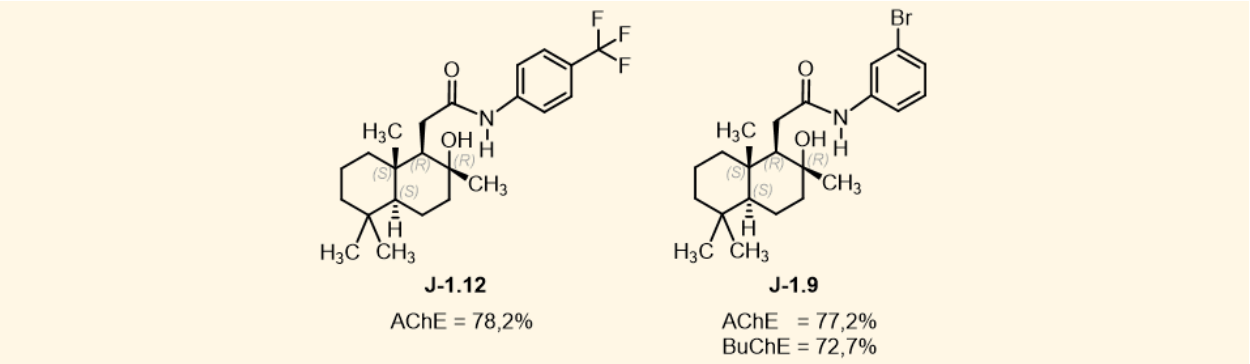



**Figura 9.** Estrutura química dos compostos **J-1.12** e **J-1.9**.

Em geral, os compostos *N*-fenil substituídos foram os que possuiram maior capacidade de inibir a ação enzimática das colinesterases. Interessantemente, a inserção da porção 1,2,3-triazol benzil substituída provocou, com exceção do derivado **J-1.22**, queda na atividade quando comparado com o respectivo composto *N*-fenil substituído.

Outra observação relevante é a influência da presença de bromo na inibição da AChE. Tantos nos derivados 1,2,3-triazólicos substituídos quanto nos *N*-fenil substituídos, a substituição do hidrogênio por cloro e por bromo provocou aumento na bioatividade, sendo os derivados bromo-substituído os mais ativos (Figura 10).

**Tabela 4.** Porcentagem de inibição da AChE e BuChE pelos compostos **J-1.1** a **J-1.25**. Compostos avaliados na concentração de 10 mmol $L^{-1}$. Galantamina utilizada como controle positivo.

| código | % inibição AChE | % inibição BChE |
|---|---|---|
| **J-1.1** | 10,2 ± 0,7 | 44,1 ± 0,4 |
| **J-1.2** | 08,5 ± 0,7 | <5 |
| **J-1.3** | 12,4 ± 0,4 | <5 |
| **J-1.4** | 12,1 ± 1,9 | 14,0 ± 0,7 |
| **J-1.5** | 15,2 ± 1,5 | 08,3 ± 1,3 |
| **J-1.6** | 15,4 ± 1,4 | <5 |
| **J-1.7** | 11,1 ± 0,7 | <5 |
| **J-1.8** | 55,8 ± 1,8 | 65,2 ± 3,0 |
| **J-1.9** | **77,2 ± 0,5** | **72,7 ± 0,7** |
| **J-1.10** | 41,4 ± 1,0 | 68,9 ± 0,5 |
| **J-1.11** | 22,1 ± 2,0 | 24,8 ± 3,1 |
| **J-1.12** | **78,2 ± 3,2** | 29,0 ± 1,0 |
| **J-1.13** | 51,4 ± 1,4 | 14,5 ± 1,6 |
| **J-1.14** | 46,8 ± 1,6 | 07,2 ± 1,2 |
| **J-1.15** | 55,8 ± 0,5 | 18,6 ± 1,3 |
| **J-1.16** | 19,1 ± 0,8 | 15,1 ± 0,3 |
| **J-1.17** | 23,3 ± 0,6 | 07,5 ± 0,2 |
| **J-1.18** | 14,3 ± 0,9 | <5 |
| **J-1.19** | 15,0 ± 1,0 | <5 |
| **J-1.20** | 05,7 ± 0,7 | <5 |
| **J-1.21** | 06,6 ± 2,4 | 07,0 ± 0,6 |
| **J-1.22** | 65,4 ± 2,7 | 17,0 ± 1,0 |
| **J-1.23** | 11,8 ± 4,7 | 07,7 ± 0,2 |
| **J-1.24** | 13,8 ± 1,9 | 07,9 ± 1,2 |
| **J-1.25** | 20,3 ± 1,3 | 14,4 ± 1,1 |
| esclareolídeo | 20,0 ± 4,7 | 05,4 ± 2,2 |
| galantamina* | 87,6 ± 0,2 | 42,8 ± 2,6 |

*Controle positivo

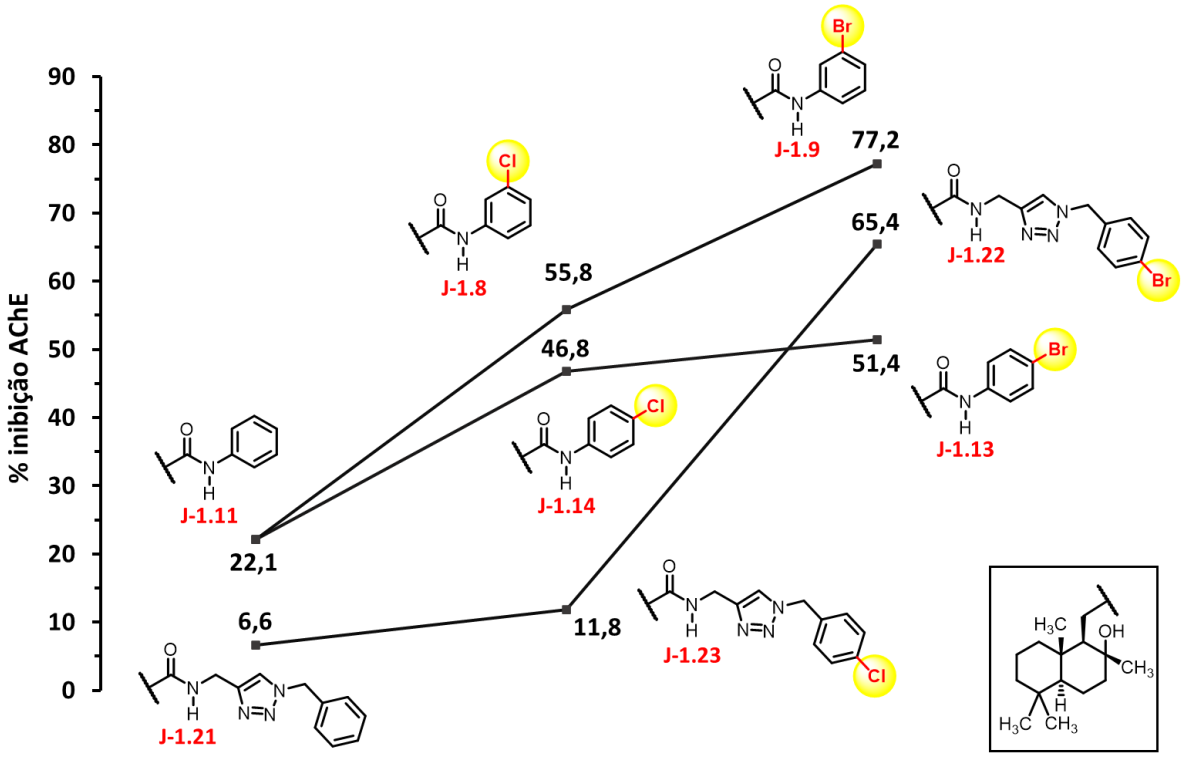



**Figura 10.** Relação estrutura-atividade observada em algumas drimanamidas na inibição da AChE. Compostos avaliados na concentração de 10 mmol $L^{-1}$

Para a BuChE a maior inibição foi alcançada com o derivado *N*-benzil-*m*-bromo substituído (**J-1.9**) (72,7%). Trabalhos na literatura[44,47,56] mostram a importância do desenvolvimento de inibidores seletivos para essa enzima. No cérebro normal, a AChE é responsável por 80% da hidrólise da acetilcolina, em pacientes com DA avançada, a atividade da AChE pode ser reduzida para 55-67%, enquanto a da BuChE aumenta. A proporção de BuChE para AChE muda drasticamente nas regiões corticais afetadas pela DA de 0,5 para 11.[47] Além disso, alguns estudos mostraram um acúmulo de BuChE em placas beta-amilóides e emaranhados neurofibrilares, estruturas morfológicas presentes no tecido cerebral com DA.[47,56] Assim, maior inibição da BuChE pode ser considerada uma opção viável no tratamento da disfunção do sistema colinérgico e formação de placas proteicas. Interessante seletividade para essa enzima foi alcançada com o derivado **J-1.10** (derivado *N*-benzil-*m*-metil substituído), inibindo em 69% a BuChE contra 41% de inibição da AChE (índice de seletividade igual a 1,7).

No intuito de melhor compreender como ocorre a interação entre as drimanamidas e as enzimas colinesterásicas, foi investigado, para os compostos que causaram mais de 60% de inibição enzimática (**J-1.8**, **J-1.9**, **J-1.10**, **J-1.12** e **J-1.22** - Tabela 4), o tipo de

inibição. Para isso, foram mensuradas as constantes de inibição $K_i$ (parte competitiva) e $K_i'$ (parte não competitiva).[57] Os valores de $K_i$ e $K_i'$ são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5**. Constantes inibitórias das drimanamidas **J-1.8**, **J-1.9**, **J-1.10**, **J-1.12** e **J-1.22** determinadas no ensaio de Ellman empregando AChE e BuChE.

| código | AChE | | BuChE | |
|---|---|---|---|---|
| | $K_i$ ± SD | $K_i'$ ± SD | $K_i$ ± SD | $K_i'$ ± SD |
| **J-1.8** | n.m. | n.m. | 1,07 ± 0,05 | 8,49 ± 0,27 |
| **J-1.9** | n.m. | 2,87 ± 0,2 | 1,95 ± 0,25 | 4,18 ± 0,28 |
| **J-1.10** | n.m. | n.m. | 1,71 ± 0,07 | 5,34 ± 0,23 |
| **J-1.12** | n.m. | 5,32 ± 0,70 | n.m. | n.m. |
| **J-1.22** | n.m. | 9,72 ± 1,14 | n.m. | n.m. |

AChE - acetilcolinesterase; BuChE - butirilcolesterase; $K_i$ - constante inibitória competitiva; $K_i'$ - constante inibitória incompetitiva; SD - desvio padrão; n.m. – não foi possível medir nas condições avaliadas.

Os compostos **J-1.9**, **J-1.12** e **J-1.22** são inibidores não competitivos da AChE, com valores de $K_i'$ variando de 2,87 a 9,72. Por outro lado, os compostos que inibiram a BuChE (**J-1.8**, **J-1.9** e **J-1.10**) operam por uma inibição mista (competitiva e incompetitiva), com predominância da parte competitiva (Tabela 5).

### Avaliação *in silico* da atividade anticolinesterásica das drimanamidas

Além da realização dos ensaios *in vitro* para a determinação da capacidade inibitória de um ligante frente a uma proteína, a realização de estudos computacionais é interessante para entender os mecanismos de interação enzima-ligante que ocasionam o resultado observado. Considerando que as proteínas regulam suas funções biológicas por intermédio destas interações, a predição da geometria e da energia de ligação é uma ferramenta de grande interesse para o planejamento e compreensão do modo de ação de novos fármacos.[58,59]

A técnica de docagem molecular (*molecular docking*) ligante-proteína tem como objetivo predizer o modo de ligação de uma pequena molécula (ligante) na região de ligação de uma proteína (sítio ativo). Essa técnica é uma das mais importantes para o estudo de reconhecimento molecular e descoberta de novos fármacos. Além de predizer o modo de ligação, ela quantifica a afinidade de ligação.[58,59]

Os programas de *docking* molecular geralmente são formados por uma combinação de dois componentes: um algoritmo de busca (orientação e conformação) e uma função

de pontuação. O algoritmo de busca é empregado na pesquisa de possíveis modos de ligação entre o ligante e a proteína, a fim de se alcançar uma complementaridade estérica e eletrostática obtendo um mínimo de energia local. A função de pontuação é aplicada para eleger, dentre os modos de ligação explorados pelo algoritmo de busca, os modos de ligação teoricamente mais próximos do modo de ligação "real", classificando-os de acordo com as energias de interação.[58,59]

Os valores da função de desempenho de docagem (*docking scoring function*), utilizados pelo programa MVD® (*Molegro Virtual Docker*), utilizado nas investigações *in silico* do presente trabalho, usam o algoritmo de evolução diferencial (DE, do inglês *differential evolution*), um tipo de algoritmo evolucionário no qual uma molécula é sujeitada a variações conformacionais aleatórias causadas por operadores. A função de avaliação *MolDock* do MVD leva em consideração a interação intermolecular entre o ligante e a proteína e também a energia de interação intramolecular do ligante.[32,58,59]

Uma vez que a avaliação da atividade anticolinesterásica dos compostos foi feito com AChE da espécie *Torpedo californica* (raia elétrica) e BuChE da espécie *Equus caballus* (cavalo) e como o objetivo do presente trabalho é obter compostos que possam ter ação em enzimas humanas, é necessário realizar o estudo de homologia entre as enzimas usadas nos testes com as enzimas da espécie *Homo sapiens*. Este estudo tem a finalidade de garantir que os resultados encontrados no teste com a enzima proveniente de peixe e cavalo sejam reprodutíveis na enzima humana.

Os estudos de alinhamento foram realizados com o *software* Swiss-Pdb Viewer[33] (Figuras AP-1.1 e AP-1.2 - Apêndice A). O alinhamento entre as sequências da AChE humana e de peixe mostrou que existe grande similaridade entre ambas. O valor da raiz quadrática média (RMSD) para este estudo foi de 0,63 Å. Segundo a literatura,[60–62] valores abaixo de 1,0 Å são considerados aceitáveis para assegurar a existência de uma boa homologia entre as proteínas avaliadas. Ademais, outro fator que corrobora para a garantia de que os resultados encontrados no teste com a enzima proveniente do peixe sejam reprodutíveis na AChE humana é o fato de o sítio ativo de ambas enzimas serem 100% iguais. Para BuChE humana e de cavalo o valor de RMSD foi 0,87 Å, sugerindo também boa correlação (Figuras AP-1.1 e AP-1.2 - Apêndice A).

No intuito de validar a metodologia utilizada no estudo de *docking* molecular foi realizado o re-*docking* da galantamina que estava cristalizada na estrutura da AChE humana (PDB 4EY6) e da tacrina que estava cristalizada na estrutura da BuChE humana (PDB 4BDS).

Tanto pela imagem a seguir (Figura 11) quanto pelo valor de RMSD encontrado para a sobreposição das estruturas docada e cristalizada da galantamina (RMSD = 0,216 Å) e tacrina (RMSD = 0,482 Å) é possível perceber que a metodologia de *docking* molecular utilizada mostrou-se robusta e confiável.

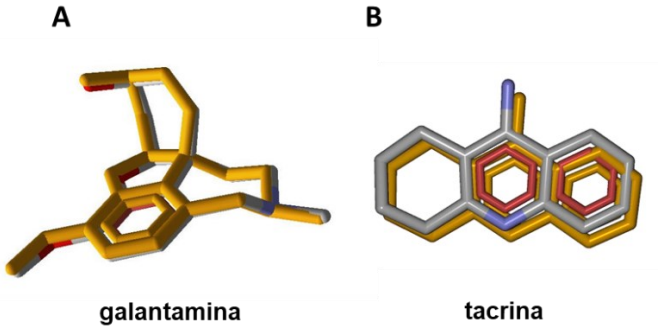



**Figura 11. A.** *Re-docking* da galantamina na AChE humana (4EY6). Galantamina cristalizada na enzima em cores por elemento e em amarelo, galantamina obtida do estudo de *docking* molecular. **B.** *Re-docking* da tacrina na BuChE humana (4BDS). Tacrina cristalizada na enzima em cores por elemento e em amarelo, tacrina obtida do estudo de *docking* molecular.

Uma vez assegurada a confiabilidade da metodologia, foi executado o estudo de *docking* molecular para os compostos mais ativos na inibição da AChE e BuChE. Os valores de energia total (valores da função *score*) podem ser vistos na Tabela 6. Pelos dados foi observada correlação entre a inibição *in vitro* e *in silico* da AChE pelos compostos **J-1.12** e **J-1.9**. É válida a ressalva de que a comparação entre os valores de pontuação da AChE com os da BuChE não deve ser feita devido às diferenças estruturais entre as enzimas.

**Tabela 6.** Porcentagens de inibição e valores de energia (kcal $mol^{-1}$) para os complexos enzima (AchE ou BuChE) e substrato (**J-1.9**, **J-1.12**, (3a*R*)-(+)-esclareolídeo ou galantamina, o controle positivo do teste *in vitro*).

| Enzima-ligante | *In vitro* - % inibição | *In silico - Score** |
|---|---|---|
| AChE-galantamina | 87,6 | -146,43 |
| AChE-(3a*R*)-(+)-esclareolídeo | 20,0 | -103,00 |
| AChE-J-1.12 | 78,2 | -113,42 |
| AChE-J-1.9 | 77,2 | -104,61 |
| BuChE-galantamina | 42,8 | -116,43 |
| BuChE-(3a*R*)-(+)-esclareolídeo | 5,4 | -108,66 |
| BuChE-J-1.9 | 72,7 | -143,20 |

* Valores de energia em kcal $mol^{-1}$.

Maiores informações sobre como ocorre a formação dos complexos enzima-ligante da Tabela 6 podem ser acessados na Tabela 7 e na Figura 12. Importantes interações, como as com os resíduos de serina catalítica ($Ser^{203}$ para AChE e $Ser^{198}$ para BuChE) foram observadas para todos os ligantes avaliados. Ademais, valores significativos de energia de interação foram alcançados com a histidina pertencente a tríade catalítica ($His^{447}$ para AChE e $His^{438}$ para BuChE) e os resíduos de glicina e triptofano, que possuem papel importante na estabilização de cargas e direcionamento do substrato no sítio ativo.[26–29,53]

**Tabela 7.** Valores de energia (kcal $mol^{-1}$) para as interações entre os resíduos de aminoácidos das enzimas AChE e BuChE humanas e as moléculas **J-1.12** e **J-1.9**.

| **BuChE (4BDS) Ligante: J-224** | | **AChE (4EY6) Ligante: J-214** | | **AChE (4EY6) Ligante: J-224** | |
|---|---|---|---|---|---|
| **aminoácido** | **Energia** | **aminoácido** | **Energia** | **aminoácido** | **Energia** |
| $Val^{288}$ | 4,85 | $Tyr^{341}$ | -22,22 | $Asp^{74}$ | -9,27 |
| $Tyr^{440}$ | -2,86 | $Tyr^{337}$ | -20,30 | $Glu^{202}$ | -2,44 |
| $Tyr^{332}$ | -3,00 | $Tyr^{124}$ | -3,71 | $Gly^{82}$ | -0,38 |
| $Tyr^{128}$ | -0,45 | $Tyr^{72}$ | -6,89 | $Gly^{120}$ | -0,33 |
| $Trp^{430}$ | -1,71 | $Trp^{286}$ | -11,39 | **$Gly^{121}$** | **-3,99** |
| $Trp^{231}$ | -17,90 | **$Trp^{86}$** | **-10,35** | **$Gly^{122}$** | **-3,15** |
| **$Trp^{82}$** | **-22,87** | $Thr^{75}$ | -0,30 | $Gly^{448}$ | -2,46 |
| $Ser^{287}$ | -1,49 | **$Ser^{203}$** | **-2,23** | **$His^{447}$** | **-2,30** |
| **$Ser^{198}$** | **-8,99** | $Ser^{125}$ | -2,13 | $Leu^{76}$ | -0,57 |
| $Phe^{398}$ | -1,51 | $Phe^{338}$ | -6,11 | $Phe^{297}$ | -4,15 |
| $Phe^{329}$ | -10,86 | $Phe^{297}$ | -5,55 | $Phe^{338}$ | -7,17 |
| $Met^{437}$ | -0,82 | $Leu^{76}$ | -4,87 | $Ser^{125}$ | -1,90 |
| $Leu^{286}$ | -8,22 | **$His^{447}$** | **-4,16** | **$Ser^{203}$** | **-2,19** |
| $Ile^{442}$ | -0,62 | $Gly^{448}$ | -1,87 | **$Trp^{86}$** | **-12,20** |
| **$His^{438}$** | **-24,29** | **$Gly^{122}$** | **-3,50** | $Trp^{286}$ | -12,45 |
| $Gly^{439}$ | -3,84 | **$Gly^{121}$** | **-7,07** | $Tyr^{72}$ | -4,96 |
| **$Gly^{117}$** | **-8,93** | $Gly^{120}$ | -0,47 | $Tyr^{124}$ | -10,82 |
| **$Gly^{116}$** | **-9,42** | $Glu^{202}$ | -2,26 | $Tyr^{337}$ | -14,02 |
| $Gly^{115}$ | -4,23 | $Asp^{74}$ | -9,33 | $Tyr^{341}$ | -16,70 |
| $Gly^{78}$ | -0,48 | | | $Tyr^{449}$ | -0,86 |
| $Glu^{197}$ | -7,73 | | | | |
| $Ala^{328}$ | -2,23 | | | | |
| **$Ala^{199}$** | **-0,89** | | | | |

* Valores de energia em kcal $mol^{-1}$. Em negrito, resíduos pertencentes a função catalítica (Esquema 5).

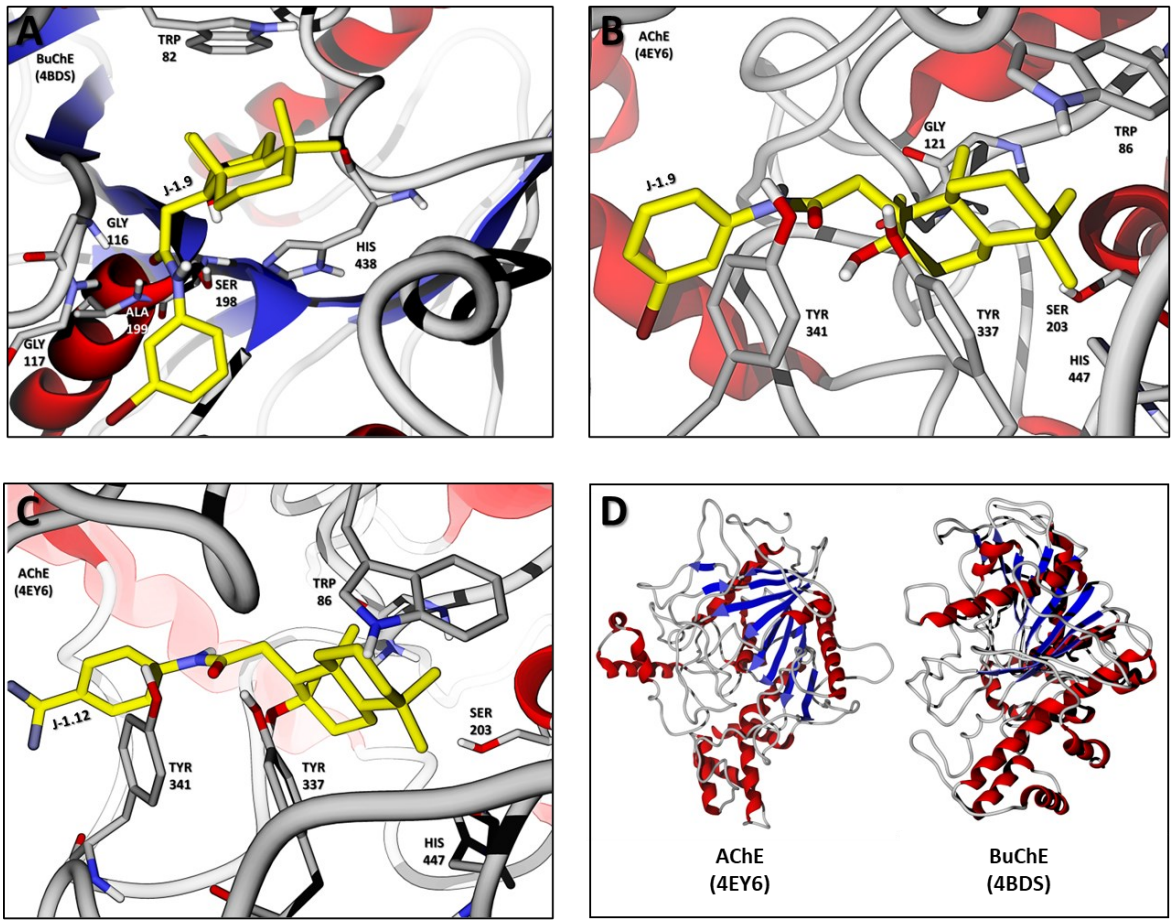



**Figura 12.** *Docking* molecular dos compostos **A. J-1.9** na BuChE humana; **B. J-1.9** na AChE humana; **C. J-1.12** na AChE humana e **D.** Estruturas tridimensionais da AChE e BuChE humanas.

A sobreposição entre as poses de menor energia dos compostos **J-1.12** e **J-1.9** com os inibidores comerciais das colinesterases sugere a importância da unidade drimânica nas estruturas, pois, como pode ser visto, essa porção interage na mesma região das enzimas que os inibidores comerciais (Figura 13).

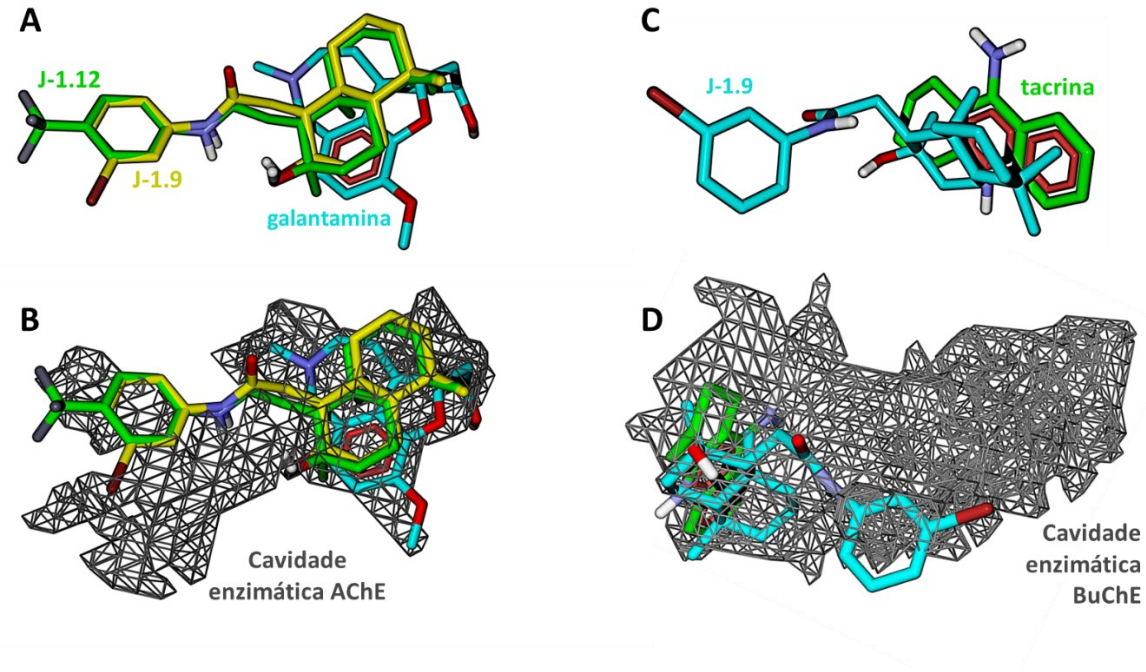



**Figura 13**. **A.** sobreposição entre as poses de menor energia para as substâncias **J-1.12**, **J-1.9** e galantamina no sítio ativo da AChE. **B.** poses representadas no item A com a marcação da cavidade enzimática da AChE. **C.** sobreposição entre as poses de menor energia para as substâncias **J-1.9** e tacrina no sítio ativo da BuChE. **D.** poses representadas no item C com a marcação da cavidade enzimática da BuChE.

Também pela Figura 13 é possível perceber, nas imagens B e D, em cinza, a superfície da cavidade enzimática da AChE e BuChE. É notória a diferença de tamanho entre essas cavidades, sendo a da BuChE maior. A Figura 13 B, sugere que, para a AChE, a construção de moléculas maiores não parece promissora, visto o tamanho diminuto do sítio ativo enzimático. Vale a ressalva de que estudos de *docking* molecular, por não considerarem grande movimentação das proteínas e diversas interações dinâmicas, não podem ser usados para afirmar de maneira incontestável as observações apresentadas nesta seção, mas, devido à facilidade de execução e rápida resposta, estes estudos podem ser usados para fazer suposições de como ocorre a interação enzima-ligante, bem como pode ser uma ferramenta no direcionamento da otimização da estrutura de substâncias promissoras.

### 2.3.3 Avaliação da atividade antitumoral dos compostos J-1.1 a J-1.25

Câncer é um termo genérico para designar um grande grupo de doenças cuja característica comum reside na rápida reprodução de células anormais. Considerado a segunda maior causa de morte em todo o mundo, o câncer foi responsável, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, por quase 10 milhões de óbitos somente em 2020.[63] A incidência global de câncer prevista para o ano de 2040 é de 29,5 milhões. Atualmente, estima-se que vivam 43,8 milhões de pessoas acometidas pela doença com diagnóstico nos últimos cinco anos. É, ainda, importante destacar que, embora a prevalência do câncer seja maior em países desenvolvidos, a mortalidade é maior em países em desenvolvimento, os quais respondem por 70% das mortes causadas por esta doença.[63]

O aumento da incidência e prevalência do câncer associado aos custos elevados dos tratamentos resulta em um significante impacto econômico. Em 2010, por exemplo, os custos anuais associados a esse conjunto de patologias foram estimados em 1,16 trilhão de dólares.[64] Em países em desenvolvimento, esse cenário implica um grande ônus aos sistemas de saúde e impõe um importante desafio econômico, uma vez que muitos desses países, como Índia, Brasil e Rússia, possuem população numerosa e, em contrapartida, são, em geral, dependentes de indústrias estrangeiras em relação a desenvolvimento e abastecimento de fármacos.

Não obstante, o grande número de fármacos lançados para o tratamento de vários tipos de câncer, o aumento da prevalência dessa enfermidade, o surgimento de tumores resistentes a fármacos, a falta de tratamento efetivo para vários tipos de câncer, bem como o alto custo e toxicidade dos agentes terapêuticos disponíveis evidenciam a grande demanda por novos agentes antitumorais.[65]

Dada a grande relevância pela busca e desenvolvimento de novos fármacos anticâncer, os compostos **J-1.1** a **J-1.25** foram submetidos a avaliação da sua atividade antiproliferativa contra diferentes cepas de células tumorais: A375 - melanoma, HT29 - adenocarcinoma de cólon, MCF7 - adenocarcinoma de mama, A2780 - carcinoma de ovário e HeLa - câncer cervical.

O método adotado na avaliação da atividade antitumoral dos compostos foi o ensaio colorimétrico empregando a sulforrodamina B (SBR). A sulforrodamina B é um aminoxanteno dissulfonado rosa brilhante. O ensaio se baseia na capacidade da SBR de promover ligações, em meio fracamente ácido, com os resíduos básicos das proteínas celulares (ligação promovida pelos grupos sulfônicos). Assim, esse ensaio mensura o

conteúdo total de proteína celular, que é proporcional ao número total de células viáveis numa amostra. A sequência experimental do teste consiste no cultivo das células alvo em uma placa de 96 poços seguido do tratamento dessas com os compostos nos quais se pretende mensurar a atividade citotóxica ($EC_{50}$). Após 72 h, a placa é lavada de modo a restar apenas as células vivas aderidas às paredes da placa. Na sequência, é adicionada uma solução levemente ácida de SRB que promove ligações com as proteínas das células remanescentes. Ao novamente lavar a placa para remover a SRB não ligada às proteínas celulares e, na sequência, ressuspender o corante ligado utilizando uma solução básica, mede-se a absorbância do poço e esta é proporcional ao número de células que sobreviveram ao contato de 72 h com as substâncias avaliadas.

Os resultados encontrados para os compostos **J-1.1** a **J-1.25** podem ser vistos na Tabela 8. Por esses resultados, é possível perceber que, em geral, as modificações realizadas na estrutura do (3a*R*)-(+)-esclareolídeo (**SC**) resultaram em substâncias mais citotóxicas do que o produto natural precursor **SC** ($EC_{50}$ > 30 μM para todas as células avaliadas).

Os compostos **J-1.15** (*N*-benzil-*p*-nitro substituído), **J-1.12** (*N*-benzil-*p*-trifluorometil substituído) e **J-1.8** (*N*-benzil-*m*-cloro substituído) foram os mais tóxicos da série avaliada. Destaque para **J-1.15** e **J-1.12** que tiveram, com excessão da HT29, citotoxicidade próxima a 10 μM para todas as células investigadas (tumorais e não tumorais).

Comparando os valores de seletividade entre as drimanamidas *N*-aril substituídas, nota-se que os derivados contendo o grupo metila são os mais promissores. O composto **J-1.10** (*m*-$CH_3$) possui índice de seletividade contra NIH3T3 de 2,0 (MCF7), 2,5 (A2780) e 1,5 (HeLa). Já o análogo *p*-CH3 substituído (**J-1.16**) tem valores de seletividade contra a mesma célula de 1,6 para MCF7 e A2780. Essas observações sugerem que a presença de grupos alquil doadores de densidade eletrônica na porção aromática dos derivados *N*-aril substituídos devem ser preferidos no intuito de obter substâncias mais seletivas frente a células tumorais.

**Tabela 8.** Valores de $EC_{50}$ (em µM) e Índice de Seletividade (IS) para **J-1.1** a **J-1.25** frente ao ensaio SRB, após 72 h de tratamento

| Código | A375 | IS | HT29 | IS | MCF7 | IS | A2780 | IS | HeLa | IS | NIH3T3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **J-1.1** | >30,0 | 1,0 | 9,2 | 3,3 | >30,0 | 1,0 | 15,6 | 1,9 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.2** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.3** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.4** | 18,6 | 1,6 | 14,2 | 2,1 | 11,9 | 2,5 | 11,4 | 2,6 | 15,4 | 1,9 | >30,0 |
| **J-1.5** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.6** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.7** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.8** | 14,0 | 0,8 | 16,4 | 0,7 | 10,8 | 1,0 | 11,1 | 1,0 | 13,5 | 0,8 | 11,1 |
| **J-1.9** | 13,4 | 1,0 | 15,7 | 0,9 | 12,1 | 1,1 | 9,7 | 1,4 | 13,6 | 1,0 | 13,4 |
| **J-1.10** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | 15,2 | 2,0 | 12,1 | 2,5 | 19,8 | 1,5 | >30,0 |
| **J-1.11** | >30,0 | 0,6 | >30,0 | 0,6 | 15,7 | 1,2 | 16,4 | 1,1 | >30,0 | 0,6 | 18,7 |
| **J-1.12** | 11,0 | 0,8 | 16,0 | 0,5 | 9,9 | 0,9 | 11,1 | 0,8 | 11,5 | 0,7 | 8,5 |
| **J-1.13** | 19,6 | 0,6 | >30,0 | 0,4 | 12,7 | 0,9 | 13,4 | 0,9 | 16,0 | 0,7 | 11,5 |
| **J-1.14** | 19,4 | 0,8 | >30,0 | 0,5 | 14,7 | 1,0 | 15,6 | 0,9 | 18,8 | 0,8 | 14,8 |
| **J-1.15** | 10,2 | 0,9 | 14,2 | 0,6 | 9,2 | 1,0 | 9,0 | 1,0 | 10,8 | 0,8 | 9,0 |
| **J-1.16** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | 19,1 | 1,6 | 19,0 | 1,6 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.17** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.18** | >30,0 | 0,5 | >30,0 | 0,5 | 17,8 | 0,9 | 17,8 | 0,9 | >30,0 | 0,5 | 15,2 |
| **J-1.19** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.20** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.21** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **J-1.22** | 14,3 | 1,1 | 18,7 | 0,8 | 13,3 | 1,2 | 9,2 | 1,7 | 16,3 | 0,9 | 15,4 |
| **J-1.23** | 17,4 | 0,9 | 19,7 | 0,8 | 12,5 | 1,2 | 11,2 | 1,3 | 16,4 | 0,9 | 14,8 |
| **J-1.24** | 18,3 | 1,0 | >30,0 | 0,6 | 16,1 | 1,1 | 9,7 | 1,8 | >30,0 | 0,6 | 17,9 |
| **J-1.25** | 19,2 | 1,1 | >30,0 | 0,7 | 18,3 | 1,2 | 12,2 | 1,7 | 25,4 | 0,8 | 21,1 |
| **SC** | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 | 1,0 | >30,0 |
| **DX** | n.d. | - | 0,9 | 0,4 | 1,1 | 0,4 | 0,01 | 40 | n.d. | - | 0,4 |

**IS**: índice de seletividade calculado pela razão $EC_{50}$ NIH3T3 / $EC_{50}$ linhagem tumoral avaliada. Para valores >30 considerou-se para o cálculo de IS o valor 30. **DX**: controle positivo doxorrubicina. Células avaliadas: **malignas:** A375 (melanoma), HT29 (adenocarcinoma de cólon), MCF7 (adenocarcinoma de mama), A2780 (carcinoma de ovário), HeLa (câncer cervical) e **não maligna:** NIH 3T3 (fibroblastos).

Tanto para os análogos triazólicos quanto os não triazólicos, observou-se a tendência geral de aumento da citotoxicidade contra A2780 (carcinoma de ovário) na medida em que se substituiu o átomo de hidrogênio (**J-1.21** e **J-1.11**) por cloro (**J-1.23** e **J-1.14**), bromo (**J-1.22** e **J-1.13**) e grupo nitro (**J-1.24** e **J-1.15**) (Figura 14). Fato interessante é a observação de que a presença do anel triazólico não causou grande

diferença de citotoxicidade contra A2780 quando comparado com a respectiva drimanamida *N*-aril substituída. No entanto, a presença do heterociclo provocou, no geral, aumento da seletividade das substâncias (Figura 14). Destaque é dado para o par **J-1.24** (derivado triazólico) e **J-1.15** (derivado não triazólico) que contém o grupamento nitro. As citotoxicidades de ambas contra A2780 são próximas ($EC_{50}$ = 9,7 e 9,0, respectivamente), no entanto a presença do anel 1,2,3-triazólico promoveu aumento de 80% no índice de seletividade ($EC_{50}$NIH3T3/$EC_{50}$A2780) da estrutura (Figura 14).

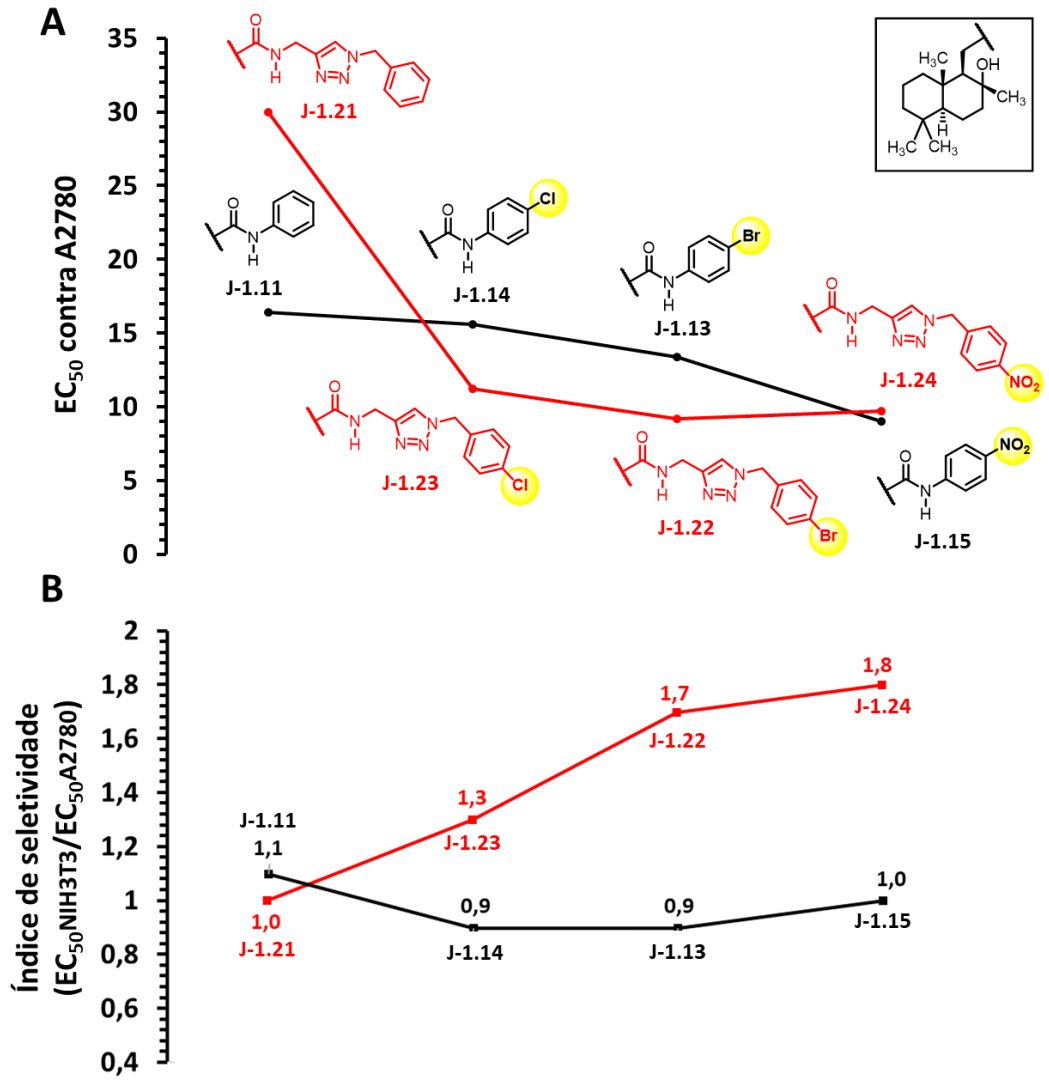



**Figura 14.** **A.** Comparação entre os valores de $EC_{50}$ (μM) contra A2780 (carcinoma de ovário) das drimanamidas triazólicas e não triazólicas. **B.** Índice de seletividade dos compostos mostrados em A. Índice calculado pela razão $EC_{50}$NIH3T3/$EC_{50}$A2780. Legenda: **–** compostos triazólicos e **–** compostos não triazólicos.

Os compostos que possuem melhores valores de $EC_{50}$ contra células tumorais e que tiveram maiores índices de seletividade foram os derivados **J-1.4** e **J-1.1**. Grande destaque é dado à estrutura **J-1.1** com $EC_{50}$ contra HT29 (adenocarcinoma de cólon) de 9,2 μM e $EC_{50}$ > 30 μM contra NIH3T3 (índice de seletividade de > 3,3). A mesma estrutura alcançou considerável seletividade (SI = 1,9) contra A2780 (carcinoma de ovário). O composto **J-1.4** também atingiu índices de seletividade maiores que 2,0. A saber, 2,6 (A2780), 2,5 (MCF7) e 2,1 (HT29).

### 2.3.4 Viabilidade farmacológica *in silico* – regras de Lipinski

As regras de Lipinski ou regra dos cinco (Ro5) é um conjunto de recomendações amplamente utilizadas para fármacos orais. A regra descreve uma série de quatro propriedades moleculares fundamentais que têm relação com a farmacocinética da substância no corpo humano, a qual compreende os fenômenos de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) do fármaco no organismo. O Ro5 de Lipinski afirma que uma molécula com massa molecular ≤ 500 Da, LogP ≤ 5, número de doadores de ligações de hidrogênio (DLH) ≤ 5 e número de aceptores de ligações de hidrogênio (ALH) ≤ 10 tem maior probabilidade de ser ativa por via oral e aprovada para uso clínico.[66]

A Ro5 de Lipinski é baseada na observação de que a maioria dos fármacos administrados por via oral possuem baixo valor de massa molecular e são moderadamente lipofílicos. Embora a Ro5 de Lipinski tenha sido publicada em 1997, ela ainda se mostra atual, haja vista a constante publicação de trabalhos que utilizam os parâmetros de Lipinski para o desenvolvimento de novos potenciais farmacos.[67–69]

Os compostos **J-1.1** a **J-1.25** tiveram os parâmetros de Lipinski calculados utilizando a plataforma *on-line* SwissADMET.[66] Os valores encontrados para a Ro5 de Lipinski podem ser acessados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Parâmetros *in silico* da Ro5 de Lipinski para os compostos **J-1.1** a **J-1.25**.

| Código | LogP | MM (g mol$^{-1}$) | ALH | DLH |
|---|---|---|---|---|
| **J-1.1** | 3,26 | 378,59 | 3 | 2 |
| **J-1.2** | 3,65 | 377,58 | 2 | 2 |
| **J-1.3** | 3,46 | 323,51 | 2 | 2 |
| **J-1.4** | 3,69 | 410,59 | 2 | 3 |
| **J-1.5** | 4,50 | 393,56 | 2 | 2 |
| **J-1.6** | 2,96 | 311,46 | 3 | 1 |
| **J-1.7** | 3,12 | 305,45 | 2 | 2 |
| **J-1.8** | 4,35 | 377,50 | 2 | 2 |
| **J-1.9** | 4,46 | 422,40 | 2 | 2 |
| **J-1.10** | 4,09 | 357,53 | 2 | 2 |
| **J-1.11** | 3,87 | 343,50 | 2 | 2 |
| **J-1.12** | 4,67 | 411,50 | 5 | 2 |
| **J-1.13** | 4,46 | 422,40 | 2 | 2 |
| **J-1.14** | 4,35 | 377,95 | 2 | 2 |
| **J-1.15** | 2,85 | 388,50 | 4 | 2 |
| **J-1.16** | 4,09 | 357,53 | 2 | 2 |
| **J-1.17** | 2,61 | 338,53 | 3 | 3 |
| **J-1.18** | 3,90 | 349,55 | 2 | 2 |
| **J-1.19** | 2,83 | 351,52 | 3 | 2 |
| **J-1.20** | -0,42 | 381,62 | 2 | 2 |
| **J-1.21** | 3,36 | 438,61 | 4 | 2 |
| **J-1.22** | 3,93 | 517,50 | 4 | 2 |
| **J-1.23** | 3,83 | 473,05 | 4 | 2 |
| **J-1.24** | 2,47 | 483,60 | 6 | 2 |
| **J-1.25** | 5,20 | 528,56 | 9 | 2 |

MM - massa molecular, DLH - número de doadores de ligação de hidrogênio, RLH - número de receptores de ligação de hidrogênio e LogP - coeficiente de partição octanol-água previsto.

Das moléculas sintetizadas, apenas o derivado **J-1.25** desobedece mais de uma regra de Lipinski e o derivado **J-1.22** desobedece a apenas um parâmetro. As demais moléculas atendem a todos os parâmetros da Ro5 de Lipinski (Tabela 9). Estes estudos *in silico* sugerem que, sendo biologicamente ativas, as drimanamidas sintetizadas possuem potencial para avançarem em estudos clínicos e serem utilizadas como fármacos. Apesar dessa predição, há de se salientar que muitos estudos precisam ser realizados para que compostos com aplicação prática sejam desenvolvidos.

## 2.4 CONCLUSÕES

Em resumo, foi possível a síntese de 25 amidas derivadas do produto natural (3*aR*)-(+)-esclareolídeo com rendimentos de 56% a 98%. Os compostos foram devidamente caracterizados e testados quanto às suas atividades anticolinesterásicas e antitumoral.

A avaliação da ação anticolinesterásica dos compostos revelou um novo esqueleto estrutural que pode ser útil na pesquisa por novos fármacos para o tratamento de doenças como a miastenia gravis, o mal de Parkinson e a doença de Alzheimer. Contra a BuChE, os compostos **J-1.1**, **J-1.8**, **J-1.9** e **J-1.10** foram mais ativos que o controle positivo utilizado nos testes *in vitro.* Contra a AchE, valores de porcentagem de inibição próximos aos do controle positivo foram atingidos (**J-1.12** e **J-1.9**). Os compostos **J-1.12** (78% AChE) e **J-1.9** (77% AChE e 73% BuChE) foram os mais ativos da série e informações sobre suas atividades foram inferidas por estudos de *docking* molecular. Esses estudos sugerem que a unidade drimânica seja crucial para as atividades observadas, uma vez que essa porção interagiu na mesma região das enzimas que seus inibidores comerciais interagem. Ademais, importantes interações entre os resíduos do sítio ativo das enzimas e os compostos ativos **J-1.12** e **J-1.9** foram observados pelos estudos de *docking*, sugerindo, assim, explicações para as atividades observadas. Os resultados desta pesquisa podem também ser acessados no artigo publicado em 2022 na revista *Bioorganic Chemistry*.[70]

A avaliação da citotoxicidade dos compostos **J-1.1** a **J-1.25** mostrou que as modificações realizadas no (3a*R*)-(+)-esclareolídeo conduziram a substâncias mais tóxicas do que o produto natural precursor. Em especial, **J-1.1** possui $EC_{50}$ = 9,2 µM contra HT29 (IS = 3,3). Para os derivados contendo porções aromáticas, observou-se variação na atividade a depender do grupo substituinte. Na série avaliada, o substituinte nitro ganhou destaque pelos menores valores de $EC_{50}$ e maior seletividade. Foi possível observar uma tendência geral de aumento de seletividade quando adicionado o grupo triazol aos compostos. Destaque para o par **J-1.15** (não triazólico *p*-$NO_2$ substituído) e **J-1.24** (triazólico *p*-$NO_2$ substituído) que teve aumento de 80% na seletividade contra A2780 com a presença do heterocíclico aromático e sem alteração significativa no valor de $EC_{50}$. Os estudos *in silico* da Ro5 de Lipinski revelaram que, em geral, as drimanamidas possuem propriedades químicas (polaridade, número de grupos

receptores e doadores de ligação de hidrogênio e massa molecular) semelhantes a dos fármacos que são utilizados por via oral na medicina.

Dessa forma, pelos dados obtidos, é possível concluir que as modificações químicas que foram propostas e alcançadas na estrutura do produto natural (3a*R*)-(+)-esclareolídeo resultaram na descoberta de novas substâncias com ação anticolinesterásica e antitumoral.

## 2.5 METODOLOGIAS

### 2.5.1 Sínteses e caracterizações

#### Generalidades metodológicas

A análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada em placas de sílica gel com suporte de alumínio Polygram-UV254 0,20 mm, Macherey-Nagel. Após a eluição, as placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta (λ = 254 nm; 365 nm). As separações foram realizadas por cromatografia em coluna utilizando-se sílica gel 60 (70-230 mesh) como fase estacionária.

As temperaturas de fusão ($T_f$) foram obtidas usando o aparelho 301-MQAPF (Microquímica, Brasil) - UFMG.

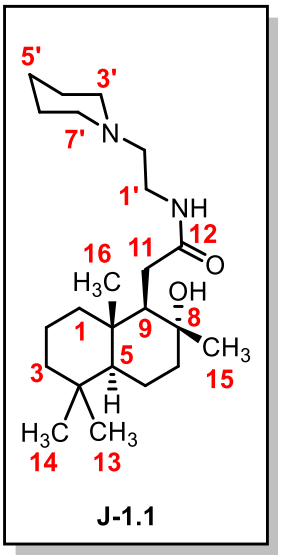
Os espectros na região do infravermelho (IV) foram registados no espectrômetro Varian 660-IR equipado com varrimento GladiATR de 4.000 a 400 $cm^{-1}$ - UFMG.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono, foram registados à temperatura ambiente em um espectrômetro Bruker de 400 MHz para RMN de $^{1}H$ e 100 MHz para RMN de $^{13}C$, usando como solventes $CDCl_3$, $(CD_3)_2CO$ e $(CD_3)_2SO$. Os deslocamentos químicos ($\delta$) são referidos em relação a clorofórmio ($\delta_H$ 7,26; $\delta_C$ 77,16), acetona ($\delta_H$ 2.05; $\delta_C$ 29,84, 206,26) ou dimetilsulfóxido ($\delta_H$ 2.50; $\delta_C$ 39,52). Dados de RMN de $^{1}H$ são registados como se segue: deslocamento químico ($\delta$) [integral relativa, multiplicidade e constante de acoplamento *J* (Hz)], em que a multiplicidade é definida como s = simpleto; d = dupleto; t = tripleto; q = quarteto, m = multipleto ou combinações dos anteriores. A numeração apresentada nas estruturas foi utilizada para a atribuição dos sinais na espectroscopia de RMN. Essa numeração não corresponde com a numeração utilizada nas recomendações de nomenclatura de substâncias orgânicas da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*). O (3a*R*)-(+)-esclareolídeo foi adquirido da Sigma-Aldrich e utilizado sem purificação adicional.

**Síntese das amidas J-1.1 a J-1.19**

Em um balão de 25 mL sob atmosfera de argônio foram adicionados a respectiva amina (1,60 mmol), diclorometano anidro (3,0 mL) e, lentamente, uma solução de trimetilalumínio em hexano (800 µL; 1,60 mmol; 2,0 mol $L^{-1}$). O sistema foi mantido sob agitação magnética em temperatura ambiente por 15 minutos. Após este tempo, foi adicionado o (3a*R*)-(+)-esclareolídeo (200 mg; 0,80 mmol) e a agitação foi continuada por mais 5 horas. A mistura reacional foi então vertida em um funil de separação contendo água (15,0 mL) e acetato de etila (20,0 mL). A fase orgânica foi lavada com solução de HCl (3x 10,0 mL; solução 1,2 mol/L), secada com sulfato de sódio anidro e os voláteis foram removidos em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material obtido foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel utilizando diferentes misturas de hexano e acetato de etila.

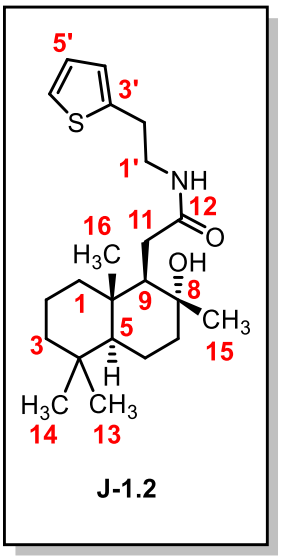
**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-(2-(piperidin-1-il)etil)acetamida (J-1.1)**



J-1.1

**Rendimento:** 86% (260 mg; 0,69 mmol). $\mathbf{R_f}$ = 0,4 (Acetato de etila). **Aspecto físico:** líquido amarelo claro. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3290, 2931, 2853, 1637, 1547, 1127, 730. **RMN de $^{1}$H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,70 – 6,56 (1H, m, NH), 3,18 – 2,87 (2H, m, H1'), 2,28 – 2,02 (7H, m, H11a, H3', H7', H2'), 1,91 (1H, dd, *J*=15,2, 4,4 Hz, H11b), 1,69 (1H, dt, *J*=12,5, 3,2 Hz, H7a), 1,56 – 0,91 (15H, m, H9, H6a, H2a, H1a, H7b, H2b, H6b, H3a, H4', H5', H6' e H3b), 0,88 (3H, s, H15), 0,81 – 0,65 (2H, m, H1b e H5), 0,63 (3H, s, H14), 0,55 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,2 (C12), 72,3 (C8), 57,8 (C9), 57,2 (C2'), 55,8 (C5), 54,1 (C3', C7'), 44,0 (C7), 41,5 (C3), 39,0 (C1), 38,5 (C10), 36,2 (C1'), 33,1 (C14), 32,9 (C4), 32,2 (C11), 25,6 (C4', C6'), 24,1 (C5'), 23,4 (C15), 21,2 (C13), 20,2 (C6), 18,1 (C2), 15,2 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{23}H_{42}N_2O_2$ (378,59): C 72,97, H 11,18, N 7,40. Encontrado: C 72,77, H 11,18, N 7,40. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 379,59. Encontrado: 379,7

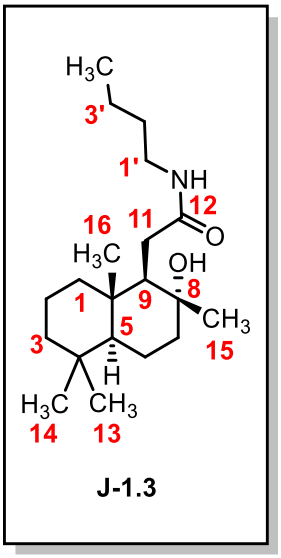
**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-(2-(tiofen -2-il)etil)acetamida (J-1.2)**




J-1.2

**Rendimento:** 80% (241 mg; 0,64 mmol). **$R_f$** = 0,2 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido amarelo claro. **$T_f$**: 176,0-177,5 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3286, 3083, 2924, 1633, 1546, 690. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,05 – 6,93 (1H, m, H6'), 6,84–6,73 (1H, m, H5'), 6,72–6,55 (1H, m, H4'), 3,87 (1H, s, OH), 3,31 (2H, m, H1'), 2,86 (2H, t, *J*=7,1 Hz, H2'), 2,27 (1H, dd, *J*=15,3, 4,5 Hz, H11a), 2,00 (1H, dd, *J*=15,3, 4,5 Hz, H11b), 1,77 (1H, dt, *J*=12,4, 2,8 Hz, H7a), 1,62 – 1,01 (9H, m, H9, H6a, H2a, H1a, H7b, H2b, H6b, H3a, H3b), 0,96 (3H, s, H15), 0,92 – 0,73 (2H, m, H1b e H5), 0,73 (3H, s, H14), 0,64 (3H, s, H16), 0,63 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,7 (C12), 141,2 (C3'), 126,7 (C4'), 125,0 (C5'), 123,4 (C6'), 72,5 (C8), 57,8 (C9), 55,8 (C5), 44,0 (C7), 41,6 (C3), 40,9 (C1'), 38,9 (C1), 38,6 (C10), 33,2 (C14), 33,0 (C4), 32,4 (C2'), 29,5 (C11), 23,6 (C15), 21,2 (C13), 20,2 (C6), 18,1 (C2), 15,2 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H35NSO_2$ (377,58): C 69,98, H 9,34, N 3,71. Encontrado: C 69,72, H 9,58, N 3,45. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 378,58. Encontrado: 378,5

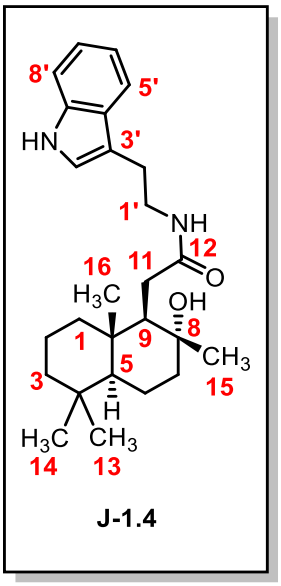
***N*-butil-2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)aceta mida (J-1.3)**




J-1.3

**Rendimento:** 90% (233 mg; 0,72 mmol). **$R_f$** = 0,6 (5:1 Hexano:acetato de etila).**Aspecto físico:** líquido incolor. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3308, 2931, 2867, 1640, 1548, 1129, 937. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,97 (1H, s, NH), 4,63 (1H, s, OH), 3,18 – 2,88 (2H, m, H1'), 2,27 (1H, dd, *J*=15,4, 4,5 Hz, H11a), 2,02 (1H, dd, *J*=15,4, 4,5 Hz, H11b), 1,76 (1H, dt, *J*=12,6, 3,1 Hz, H7a), 1,62 – 0,98 (16H, m, H9, H6a, H2a, H1a, H7b, H2b, H6b, H3a, H2', H3', H4'e H3b), 0,94 (3H, s, H15), 0,83 – 0,71 (2H, m, H1b e H5), 0,69 (3H, s, H14), 0,62 (6H, s, H 13 e H16). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,7 (C12), 72,6 (C8), 57,8 (C9), 55,9 (C5), 44,1 (C7), 41,7 (C3), 39,3 (C1), 39,1 (C1'), 38,7 (C10), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 32,4 (C2'), 31,4 (C11), 23,6 (C15), 21,3 (C13), 20,3 (C3'), 20,0 (C6), 18,2 (C2), 15,3 (C16), 13,7 (C4'). **Análise elementar**: calculado para $C_{20}H_{37}NO_2$ (323,51): C 74,25, H 11,53, N 4,33. Encontrado: C 73,99, H 11,85, N 4,04, **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 324,51. Encontrado: 324,4.

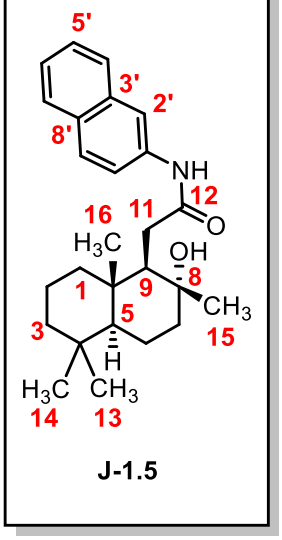
**_N_-(2-(1_H_-indol-3-il)etil)-2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidrona fitalen-1-il)acetamida (J-1.4)**




J-1.4

**Rendimento:** 91% (299 mg; 0,73 mmol). **$R_f$** = 0,2 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 206,2-207,5 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3322, 2921, 2870, 1629, 1545, 735.**RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 9,12 (1H, s, NH), 7,49 (1H, d, *J* = 7,9 Hz, H5'), 7,27 (1H, d, *J* = 8,1 Hz, H8'), 7,11–7,05 (1H, m, H7'), 7,03–6,97 (1H, m, H6'), 6,86 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, H10'), 6,52–6,39 (1H, m, NH9'), 3,64 (1H, s, OH), 3,54–3,34 (2H, m, H2'), 2,84 (2H, t, *J* = 6,9 Hz, H1'), 2,25 (1H, dd, *J* = 15,5, 4,9 Hz, H11a), 2,03–1,92 (2H, m, H11b e H9), 1,81 (1H, dt, *J* = 12,4 e 3,1 Hz, H7a), 1,64–1,07 (8H, m, H6a, H2a, H1a, H7b, H2b, H6b, H3a e H3b), 1,02 (3H, s, H15), 0,83 – 0,79 (2H, m, H1b e H5), 0,78 (3H, s, H14), 0,69 (3H, s, H16), 0,64 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,6 (C12), 136,4 (C9'), 127,4 (C4'), 122,4 (C10'), 121,7 (C7'), 119,0 (C6'), 118,5 (C5'), 112,3 (C3'), 111,5 (C8'), 72,9 (C8), 57,7 (C9), 55,7 (C5), 44,05 (C7), 41,6 (C1'), 40,1 (C3), 39,1 (C1), 38,6 (C10), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 32,4 (C11), 25,0 (C2'), 23,7 (C15), 21,3 (C13), 20,3 (C6), 18,3 (C2), 15,3 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{26}H_{38}N_2O_2$ (410,59): C 76,06, H 9,33, N 6,82. Encontrado: C 75,86, H 9,51, N 6;62. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 411,49. Encontrado: 411,1.

**2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-_N_-(nafitalen -2-il)acetamida (J-1.5)**

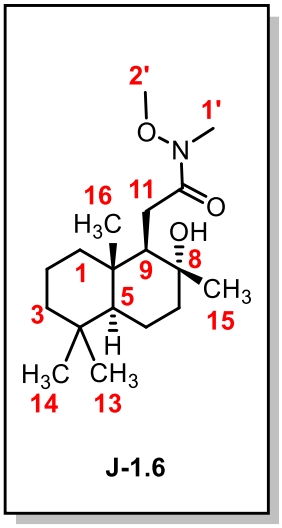



J-1.5

**Rendimento:** 95% (299 mg; 0,76 mmol). **$R_f$** = 0,4 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 198,0-199,5 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3468, 3225, 2920, 2850, 1640, 1514, 785. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 8,98 (1H, s, HN), 8,03 (1H, d, *J* = 7,4 Hz, H10'), 7,97-7,92 (1H, m, H5'), 7,86-7,79 (1H, m, H9'), 7,61 (1H, d, *J* = 8,1 Hz, H4'), 7,50-7,38 (3H, m, H2', H6', H7'), 2,70 (1H, dd, *J* = 15,2 Hz, 4,4 Hz, H11a), 2,34 (1H, dd, *J* = 15,2 Hz, 4,4 Hz, H11b), 2,04 (1H, s, HO8), 1,94 (1H, dt, *J* = 15,8 Hz, 3,3 Hz, H7a), 1,88 (1H, t, *J* = 4,4 Hz, H9), 1,84-1,76 (1H, m, H6a), 1,72-1,64 (1H, m, H2a), 1,60-1,48 (2H, m, H1a, H7b), 1,47-1,25 (3H, m, H2b, H6b, H3a), 1,22 (3H, s, H15), 1,09 (1H, td, *J* = 13,4 Hz, 4,4 Hz, H3b), 1,01-0,91 (1H, m, H1b), 0,94 (1H, dd, *J* = 12,3 Hz, 2,3 Hz, H5), 0,82 (3H, s, H14), 0,79 (6H, s, H16, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,3 (C12), 134,2 (C1'), 133,3 (C9'), 128,8 (C3'), 126,8 (C4'), 126,0 (C5'), 125,9 (C7'), 125,8 (C8'), 124,8 (C6'), 121,1 (C2'), 119,6 (C10'), 74,2 (C8), 58,6 (C9), 56,1 (C5), 44,3 (C7), 41,8 (C3), 39,5 (C1), 39,0 (C10), 34,6 (C11), 33.,3 (C4), 33,3 (C14), 24,4

(C15), 21,5 (C13), 20,5 (C6), 18,3 (C2), 15,4 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{26}H_{35}NO_2$ (393,56): C 79,35, H 8,96, N 3,56. Encontrado: C 79,17, H 9,13, N 3,30, **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 394,56. Encontrado: 394,5

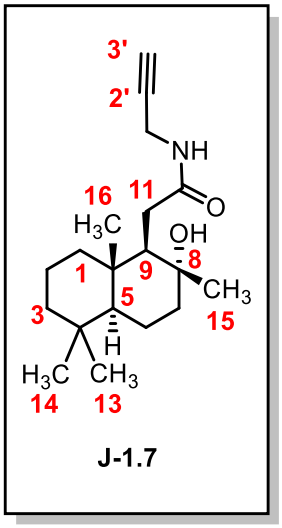
**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-metoxi-*N*-metilacetamida (J-1.6)**




J-1.6

**Rendimento:** 98% (244 mg; 0,78 mmol). **$R_f$** = 0,3 (2:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 102,1-103,3 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3406, 2923, 2840, 1769, 1638, 1386, 1009. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 3,74 (3H, s, H2'), 3,21 (3H, s, H1'), 2,67–2,55 (1H, m, H11a), 2,47 (1H, dd, *J*=16,7, 6,4 Hz, H11b), 2,05–1,88 (2H, m, H7a e H9), 1,76–1,23 (8H, m, H6a, H2a, H1a, H7b, H2b, H6b, H3a e H3b), 1,18 (3H, s, H15), 1,12–0,94 (2H, m, H1b e H5), 0,89 (3H, s, H14), 0,85 (3H, s, H16), 0,81 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): δ 166,2 (C12), 72,9 (C8), 61,2 (C2'), 56,3 (C9), 55,9 (C5), 44,5 (C7), 41,7 (C1'), 39,1 (C3), 38,6 (C1), 33,3 (C11 e C14), 33,2 (C4 e C10), 23,3 (C15), 21,4 (C13), 20,6 (C6), 18,5 (C2), 15,8 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{18}H_{33}NO_3$ (311,46): C 69,41, H 10,68, N 4,50. Encontrado: C 69,15, H 10,87, N 4,39. **MS m/z:** Calculado para [M+H]+: 312,46. Encontrado: 312,6.

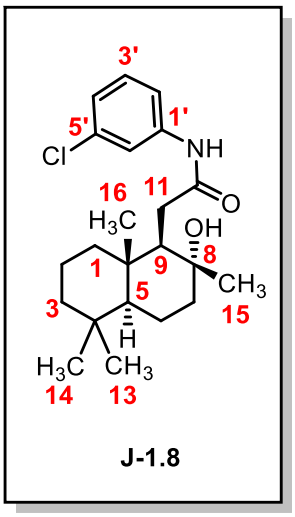
**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-(prop-2-in-1-il)acetamida (J-1.7)**




J-1.7

**Rendimento:** 83% (203 mg; 0,66 mmol). **$R_f$** = 0,4 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** líquido amarelo claro. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3310, 2925, 2868, 1639, 1536, 938. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,31 (1H, s, NH), 4,22 (1H, s, OH), 3,96–3,70 (2H, m, H1'), 2,30 (1H, dd, *J* = 15,4, 4,5 Hz, H11a), 2,16–1,93 (2H, m, H11b e H3'), 1,77 (1H, dt, *J* = 12,5, 3,2 Hz, H7a), 1,58 (1H, t, *J* = 4,5 Hz, H9), 1,56–0,99 (8H, m, H6a, H2a, H1a, H7b, H2b, H6b, H3a e H3b), 0,96 (3H, s, H15), 0,88–0,72 (2H, m, H5 e H1b), 0,70 (3H, s, H14), 0,63 (3H, s, H16), 0,62 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,5 (C12), 79,8 (C2'), 72,9 (C8), 71,1 (C3'), 60,3 (C1'), 57,7 (C9), 55,8 (C5), 44,0 (C7), 41,6 (C3), 39,0 (C1), 38,7 (C10), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 29,1 (C11), 23,6 (C15), 21,3 (C13), 20,3 (C6), 18,2 (C2), 15,2 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{19}H_{33}NO_2$ (307,47): C 74,22, H 10,82, N 4,56. Encontrado: C 73,95, H 11,02, N 4,26, MS m/z: **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 308,47. Encontrado: 308,5.

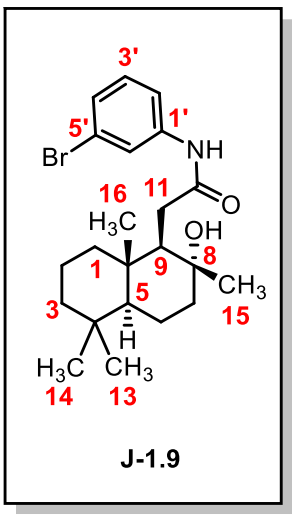
**_N_-(3-clorofenil)-2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)acetamida (J-1.8)**




J-1.8

**Rendimento:** 92% (278 mg; 0,74 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 176,2-178,5 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3317, 2920, 2845, 1661, 1591, 1531, 774. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 9,33 (1H, s, HN12), 7,60 (1H, s, H2'), 7,31 (1H, d, *J* = 8,2 Hz, H6'), 7,10 (1H, t, *J* = 8,2 Hz, H5'), 6,96 (1H, d, *J* = 8,2 Hz, H4'), 2,58 (1H, dd, *J* = 15,4 Hz, 4,5 Hz, H11a), 2,26 (1H, dd, *J* = 15,4 Hz, 4,5 Hz, H11b), 2,01 (1H, s, HO8), 1,91 (1H, dt, *J* = 15,7 Hz, 3,2 Hz, H7a), 1,81-1,72 (1H, m, H9), 1,69-1,57 (2H, m, H6a, H2a), 1,55-1,42 (2H, m, H1a, H7b), 1,38-1,17 (3H, m, H2b, H6b, H3a), 1,13 (3H, s, H15), 1,04 (1H, td, *J* = 13,8 Hz, 4,5 Hz, H3b), 0,95-0,82 (1H, m, H1b), 0,89 (1H, dd, *J* = 12,0 Hz, 2,4 Hz, H5), 0,80 (3H, s, H14), 0,73 (3H, s, H16), 0,71 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,5 (C12), 139,6 (C1'), 134,2 (C3'), 129,7 (C5'), 123,7 (C4'), 119,8 (C2'), 117,8 (C6'), 73,6 (C8), 58,0 (C9), 55,9 (C5), 44,0 (C7), 41,6 (C3), 39,2 (C1), 38,7 (C10), 34,1 (C11), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 23,8 (C15), 21,3 (C13), 20,3 (C6), 18,2 (C2), 15,2 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H_{32}ClNO_2$ (377,95): C 69,91, H 8,53, N 3,71. Encontrado: C 69,75, H 8,81, N 3,55, **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 378,95. Encontrado: 378,5.

**_N_-(3-bromofenil)-2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)acetamida (J-1.9)**

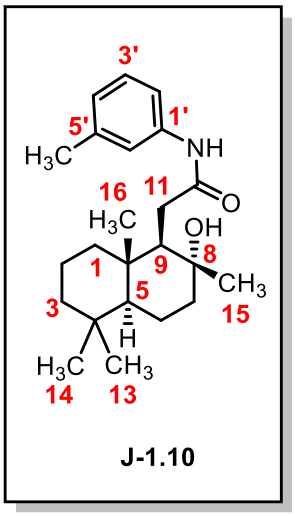



J-1.9

**Rendimento:** 89% (299 mg; 0,71 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 184,1-186,3 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3326, 2920, 1661, 1588, 1524, 1307, 773. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 9,31 (1H, s, HN12), 7,74 (1H, s, H2'), 7,38 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H6'), 7,10 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H4'), 7,04 (1H, t, *J* = 8,0 Hz, H5'), 2,57 (1H, dd, *J* = 15,4 Hz, 4,4 Hz, H11a), 2,25 (1H, dd, *J* = 15,4 Hz, 4,4 Hz, H11b), 2,01 (1H, s, HO8), 1,91 (1H, dt, *J* = 15,9 Hz, 3,3 Hz, H7a), 1,80-1,72 (1H, m, H9), 1,70-1,57 (2H, m, H6a, H2a), 1,56-1,41 (2H, m, H1a, H7b), 1,39-1,17 (3H, m, H2b, H6b, H-3a), 1,13 (3H, s, H15), 1,04 (1H, td, *J* = 14,0 Hz, 4,4 Hz, H3b), 0,96-0,82 (2H, m, H5, H1b), 0,80 (3H, s, H14), 0,73 (3H, s, H16), 0,71 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,5 (C12), 139,8 (C1'), 130,0 (C5'), 126,6 (C4'), 122.,6 (C2'), 122,3 (C3'), 118,2 (C6'), 73,6 (C8), 58,0 (C9), 55,9 (C5), 44,0 (C7), 41,6 (C3), 39,2 (C1), 38,7 (C10), 34,1 (C11), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 23,8 (C15), 21,3 (C13), 20,3 (C6), 18,2 (C2), 15,3 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H_{32}BrNO_2$ (422,40): C

62,59, H 7,64, N 3,32. Encontrado: C 62,34, H 7,82, N 3,13. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 422,40. Encontrado: 422,4.

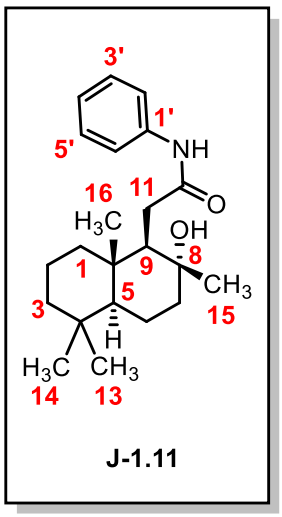
**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-(3-tolil)acetamida (J-1.10)**




J-1.10

**Rendimento:** 92% (263 mg; 0,74 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 165,2-166,3 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3296, 2921, 2865, 1660, 1613, 1557, 937, 778. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 9,20 (1H, s, HN12), 7,34 (1H, s, H2'), 7,31 (1H, d, *J* = 7,7 Hz, H6'), 7,08 (1H, t, *J* = 7,7 Hz, H5'), 6,82 (1H, d, *J* = 7,7 Hz, H4'), 2,60 (1H, dd, *J* = 15,5 Hz, 4,3 Hz, H11a), 2,28 (1H, dd, *J* = 15,5 Hz, 4,3 Hz, H11b), 2,23 (3H, s, H7'), 2,01 (1H, s, HO8), 1,92 (1H, dt, *J* = 15,8 Hz, 3,4 Hz, H7a), 1,80 (1H, t, *J* = 4,3 Hz, H9), 1,73-1,57 (2H, m, H6a, H2a), 1,56-1,41 (2H, m, H1a, H7b), 1,39-1,18 (3H, m, H2b, H6b, H3a), 1,12 (3H, s, H15), 1,04 (1H, td, *J* = 13,9 Hz, 4,8 Hz, H3b), 0,97-0,82 (1H, m, H-1b), 0,90 (1H, dd, *J* = 12,2 Hz, 2,2 Hz, H5), 0,82 (3H, s, H14), 0,74 (3H, s, H16), 0,73 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,3 (C12), 138,3 (C1' ,C3'), 128,4 (C5'), 124,5 (C4'), 120,5 (C2'), 117,0 (C6'), 73,2 (C8), 57,9 (C9), 55,8 (C5), 43,9 (C7), 41,5 (C3), 39,0 (C1), 38,7 (C10), 33,8 (C11), 33,1 (C14), 33,0 (C4), 23,6 (C15), 21,3 (C13), 21,2 (C7'), 20,3 (C6), 18,1 (C2), 15,2 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{23}H_{35}NO_2$ (357,53): C 77,27, H 9,87, N 3,92. Encontrado: C 76,98, H 10,14, N 3,75. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 358,53. Encontrado: 358,6.

**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-fenilacetamida (J-1.11)**

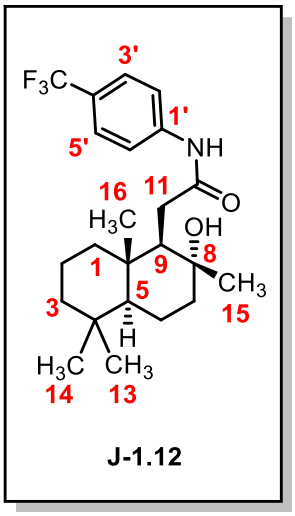



J-1.11

**Rendimento:** 98% (270 mg; 0,78 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 166,0-167,5 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3458, 2930, 1673, 1598, 1556, 1109, 752, 693. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 8,70 (1H, s, NH), 7,52 (2H, d, *J* = 8,1 Hz, H2', H6'), 7,29 (2H, d, *J* = 8,1 Hz, H3', H5'), 7,06 (1H, t, *J* = 8,1 Hz, H4'), 2,60 (1H, dd, *J* = 15,2 e 4,4 Hz, H11a), 2,27 (1H, dd, *J* = 15,2 e 4,4 Hz, H11b), 1,95 (1H, td, *J* = 12,5 e 3,3 Hz, H7a), 1,83 (1H, t, *J* = 4,4 Hz, H9), 1,71 (2H, m, H6a, H7b), 1,54 (2H, m, H1a, H2a), 1,35 (3H, m, H2b, H6b, H3a), 1,19 (3H, s, H15), 1,15 (1H, dt, *J* = 13,5 e 4,3 Hz, H3b), 0,98 (1H, dd, *J* = 12,4 e 2,6 Hz, H5), 0,93 (1H, m, H1b), 0,87 (3H, s, H14), 0,80 (6H, s, H13, H16). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,0 (C12), 138,6 (C1'), 128,9 (C3', C5'), 123,9 (C4'), 119,8 (C2', C6'), 73,8 (C8), 58,2 (C9), 56,1 (C5), 44,3 (C7), 41,8 (C3), 39,4 (C1), 38,9 (C10), 34,4 (C11), 33,4 (C14), 33,3 (C4), 24,2 (C15), 21,5 (C13), 20,6 (C6), 18,4 (C2), 15,5

(C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H_{33}NO_2$ (343,50): C 76,92, H 9,68, N 4,08. Encontrado: C 76,68, H 9,97, N 3,95. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 344,50. Encontrado: 344,7.

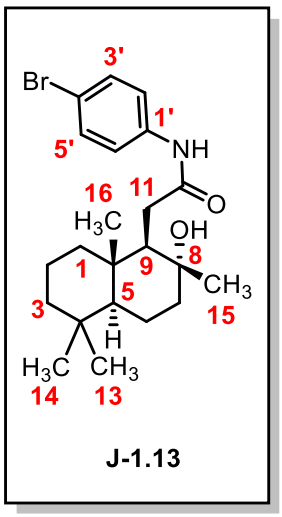
**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-(4-(trifluo rometil)fenil)acetamida (J-1.12)**




J-1.12

**Rendimento:** 68% (223 mg; 0,54 mmol). **$R_f$** = 0,3 (4:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** líquido amarelo claro. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3573, 2931, 2870, 1690, 1319, 1112, 1065, 941.**RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 9,06 (1H, s, HN12), 7,62 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, H3', H5'), 7,48 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, H2', H6'), 2,59 (1H, dd, *J* = 15,4 Hz, 4,5 Hz, H11a), 2,29 (1H, dd, *J* = 15,4 Hz, 4,5 Hz, H11b), 2,04 (1H, s, HO8), 1,93 (1H, dt, *J* = 15,9 Hz, 3,4 Hz, H7a), 1,81 (1H, t, *J* = 4,5 Hz, H9), 1,78-1,62 (2H, m, H6a', H2a), 1,61-1,47 (2H, m, H1a', H7b), 1,43-1,18 (3H, m, H2b', H6b', H3a), 1,17 (3H, s, H15), 1,08 (1H, td, *J* = 13,7 Hz, 4,2 Hz, H3b), 0,95 (1H, dd, *J* = 12,1 Hz, 2,4 Hz, H5), 0,94 (1H, m, H1b), 0,84 (3H, s, H14), 0,76 (6H, s, H16, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,6 (C12), 141,7 (C1'), 126,0 (q, *J* = 3,6 Hz, C3', C5'), 125,5 (q, *J* = 32,3 Hz, C4'), 124,1 (q, *J* = 269,7, C7'), 119,3 (C2', C6'), 74,2 (C8), 58,0 (C9), 56,0 (C5), 44,1 (C7), 41,7 (C3), 39,3 (C1), 38,9 (C10), 34,3 (C11), 33,3 (C14), 33,2 (C4), 23,9 (C15), 21,4 (C13), 20,5 (C6), 18,3 (C2), 15,4 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H_{33}NO_2$ (411,50): C 67,13, H 7,84, N 3,40. Encontrado: C 66,85, H 8,09, N 3,11. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 412,50. Encontrado: 412,5.

***N*-(4-bromofenil)-2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafita len-1-il)acetamida (J-1.13)**

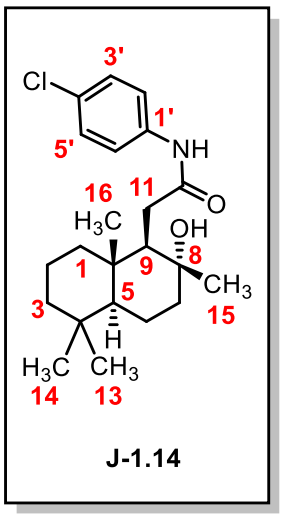



J-1.13

**Rendimento:** 89% (300 mg; 0,71 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:1 Hexano:acetato de etila). **$R_f$** = 0,3 (5:1 Hexano:Acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 179,2-180,6 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3575, 3296, 2930, 2850, 1679, 1590, 1525, 1487, 1386, 1307, 1073, 826. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 9,23 (1H, s, HN12), 7,35 (2H, d, *J* = 8,9 Hz, H2', H6'), 7,30 (2H, d, *J* = 8,9 Hz, H3', H5'), 2,49 (1H, dd, *J* = 15,5 Hz, 5,1 Hz, H11a), 2,20 (1H, dd, *J* = 15,5 Hz, 5,1 Hz, H11b), 1,97 (1H, s, HO8), 1,86 (1H, dt, *J* = 15,6 Hz, 3,2 Hz, H7a), 1,73 (1H, t, *J* = 5,1 Hz, H9), 1,65-1,38 (4H, m, H6a', H2a', H1a', H7b), 1,37-1,14 (3H, m, H2b', H6b', H3a), 1,07 (3H, s, H15), 1,05 (1H, td, *J* = 13,4 Hz, 4,4 Hz, H3b), 0,90 (1H, dd, *J* = 12,2 Hz, 2,3 Hz, H5), 0,88 (1H, td, *J* = 13,2 Hz, 4,3 Hz, H1b), 0,79 (3H, s, H14), 0,74 (3H, s, H16), 0,71 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,4 (C12), 137,6 (C1'), 131,6 (C3', C5'), 121,37 (C4'), 121,2 (C2', C6'), 73,3 (C8), 57,6 (C9), 55,9 (C5), 43,9 (C7), 41,6

(C3), 39,1 (C1), 38,8 (C10), 33,4 (C11), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 23,3 (C15), 21,3 (C13), 20,4 (C6), 18,2 (C2), 15,32 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H_{32}BrNO_2$ (422,40): C 62,56, H 7,64, N 3,32. Encontrado: C 62,36, H 7,82, N 3,07. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 422,30. Encontrado: 422,2.

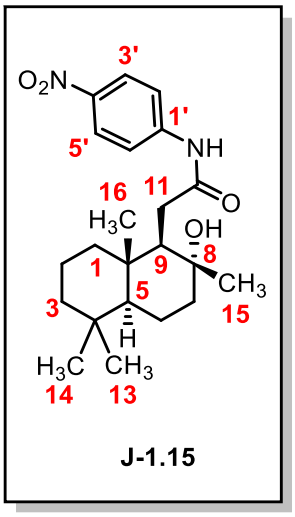
**_N_-(4-clorofenil)-2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)acetamida (J-1.14)**




J-1.14

**Rendimento:** 91% (274 mg; 0,73 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 174,1-176,3 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3574, 3301, 2930, 2637, 1677, 1493, 1387, 893, 829. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$)**:** 9,54 (1H, s, HN12), 7,64 (2H, d, *J* = 8,9 Hz, H2', H6'), 7,23 (2H, d, *J* = 8,9 Hz, H3', H5'), 2,60 (1H, dd, *J* = 15,5 Hz e 5,3 Hz, H11a), 2,31 (1H, dd, *J* = 15,5 Hz e 5,3 Hz, H11b), 2,05 (1H, s, HO8), 1,94 (1H, dt, *J* = 12,5 Hz e 3,2 Hz, H7a), 1,82 (1H, t, *J* = 5,3 Hz, H9), 1,74-1,46 (4H, m, H6a, H2a', H1a', H7b), 1,45-1,23 (3H, m, H2b', H6b', H3a), 1,14 (3H, s, H15), 1,12 (1H, td, *J* = 13,3 Hz e 4,3 Hz, H3b), 0,98 (1H, dd, *J* = 12,2 Hz e 2,3 Hz, H5), 0,96 (1H, td, *J* = 12,7 Hz e 4,2 Hz, H1b), 0,87 (3H, s, H14), 0,83 (3H, s, H16), 0,80 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,5 (C12), 137,0 (C1'), 128,56 (C3', C5'), 128,5 (C4'), 120,9 (C2', C6'), 73,0 (C8), 57,5 (C9), 55,8 (C5), 43,7 (C7), 41,5 (C3), 39,0 (C1), 38,6 (C10), 33,1 (C4), 33,0 (C11), 33,0 (C14), 23,1 (C15), 21,1 (C13), 20,2 (C6), 18,1 (C2), 15,1 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H_{32}ClNO_2$ (377,95): C 69,91, H 8,53, N 3,71. Encontrado: C 69,77, H 8,81, N 3,45. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 378,71. Encontrado: 378,6.

**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-_N_-(4-nitro fenil)acetamida (J-1.15)**

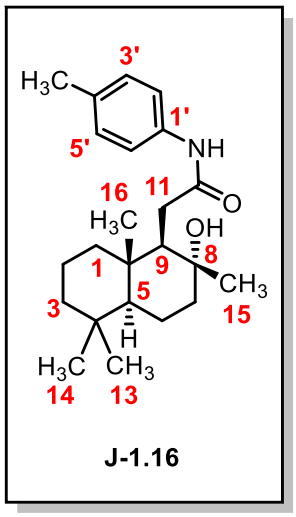



J-1.15

**Rendimento:** 56% (174 mg; 0,45 mmol). **$R_f$** = 0,3 (3:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido amarelo claro. **$T_f$**: 186,0-187,5 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3309, 2930, 1703, 1510, 1333, 1302, 1110, 849. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 9,35 (1H, s, HN12), 8,13 (2H, d, *J* = 9,2 Hz, H3', H5'), 7,65 (2H, d, *J* = 9,2 Hz, H2', H6'), 2,60 (1H, dd, *J* = 15,2 Hz, 4,6 Hz, H11a), 2,28 (1H, dd, *J* = 15,2 Hz, 4,6 Hz, H11b), 1,95 (1H, dt, *J* = 12,4 Hz, 3,2 Hz, H7a), 1,77 (1H, t, *J* = 4,6 Hz, H9), 1,75-1,66 (2H, m, H6a, H2a), 1,62-1,49 (2H, m, H1a', H7b), 1,46-1,32 (2H, m, H2b, H6b), 1,25 (1H, m, H3a), 1,23 (3H, s, H15), 1,10 (1H, td, *J* = 13,3 Hz, 4,3 Hz, H3b), 0,97 (1H, dd, *J* = 12,2 e 2,3 Hz, H5), 0,92 (1H, td, *J* = 13,3 Hz, 4,0 Hz, H1b), 0,85 (3H, s, H14), 0,78 (3H, s, H16), 0,77 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,2 (C12), 144,8 (C1'), 142,9

(C4'), 125,1 (C3', C5'), 118,7 (C2', C6'), 74,6 (C8), 58,0 (C9), 56,0 (C5), 44,1 (C7), 41,8 (C3), 39,4 (C1), 39,0 (C10), 35,0 (C11), 33,3 (C14), 33,3 (C4), 24,5 (C15), 21,4 (C13), 20,5 (C6), 18,2 (C2), 15,3 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H_{32}N_2O_4$ (388,50): C 68,01, H 8,30, N 7,21. Encontrado: C 67,76, H 8,56, N 7,01. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 389,50. Encontrado: 389,4.

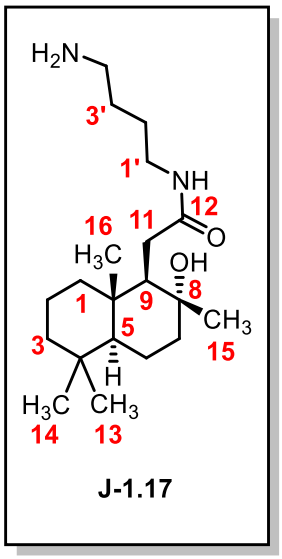
**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-(*p*-tolil)acetamida (J-1.16)**




J-1.16

**Rendimento:** 98% (280 mg; 0,78 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 168,2-169,4 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3560, 3296, 2930, 1682, 1527, 1310, 822. **RMN $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 8,55 (1H, s, HN12), 7,37 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H2', H6'), 7,05 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H3', H5'), 2,56 (1H, dd, *J* = 15,3 Hz, 4,5 Hz, H11a), 2,27 (3H, s, H7'), 2,24 (1H, dd, *J* = 15,3 Hz, 4,5 Hz, H11b), 1,92 (1H, dt, *J* = 15,6 Hz, 3,2 Hz, H7a), 1,80 (1H, t, *J* = 4,5 Hz, H9), 1,73-1,61 (2H, m, H6a, H2a), 1,59-1,44 (2H, m, H1a', H7b), 1,43-1,20 (3H, m, H2b', H6b', H3a), 1,15 (3H, s, H15), 1,09 (1H, td, *J* = 13,6 Hz, 4,3 Hz, H3b), 0,95 (1H, dd, *J* = 12,1 Hz, 2,2 Hz, H5), 0,93-0,86 (1H, m, H1b), 0,84 (3H, s, H14), 0,77 (6H, s, H16, H13). **RMN $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 173,8 (C12), 136,0 (C4'), 133,3 (C1'), 129,3 (C3', C5'), 119,9 (C2', C6'), 73,6 (C8), 58,14 (C9), 56,0 (C5), 44,2 (C7), 41,8 (C3), 39,3 (C1), 38,9 (C10), 34,1 (C11), 33,3 (C14), 33,2 (C4), 24,0 (C15), 21,4 (C13), 20,9 (C7'), 20,5 (C6), 18,3 (C2), 15,4 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{23}H_{35}NO_2$ (357,53): C 77,27, H 9,87, N 3,92. Encontrado: C 76,96, H 10,03, N 3,77. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 358,53. Encontrado: 358,4.

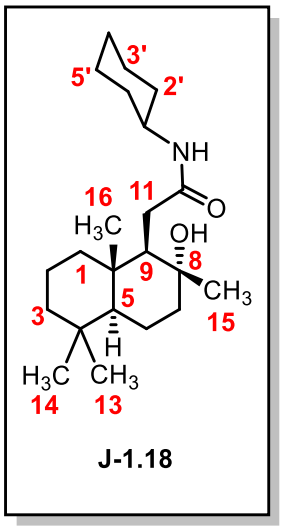
**_N_-(4-aminobutil)-2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen -1-il)acetamida (J-1.17)**




J-1.17

**Rendimento:** 81% (220 mg; 0,65 mmol). **$R_f$** = 0,3 (9:1 Acetato de etila:metanol). **Aspecto físico:** sólido amarelo claro. **$T_f$**: 195,0-195,5 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3285, 2924, 1633, 1550, 1066, 750. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 7,71 (1H, s, NH), 4,00 (1H, s, OH8), 3,16 (4H, m, H1' e H4'), 2,34 (1H, dd, *J* = 15,2 e 4,4 Hz, H11a), 2,09 (1H, dd, *J* = 15,2 e 4,4 Hz, H11b), 1,86 (1H, td, *J* = 12,5 e 3,3 Hz, H7a), 1,67 (1H, t, *J* = 4,4, H9),1,64-1,09 (12H, m, H6a, H2a, H1a, H7b, H2', H3', H2b, H6b, H3a, H3b), 1,06 (3H, s,H15), 0,95-0,82 (2H, m, H5 e H1b) 0,80 (3H, s, H16), 0,73 (6H, s, H13 e H14). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,4 (C12), 72,5 (C8), 57,8 (C9), 55,9 (C5), 50,7 (C4'), 44,1 (C7), 41,7 (C3), 39,3 (C1), 39,1 (C1'), 38,7 (C10), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 32,4 (C11), 27,9 (C3'), 27,2 (C2'), 23,7 (C15), 21,3 (C13), 20,4 (C6), 18,2 (C2), 15,3 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{20}H_{38}N_2O_2$ (338,53): C 70,96, H 11,31, N 8,28. Encontrado: C 70,66, H 11,56, N 8,06. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 339,53. Encontrado: 339,6.

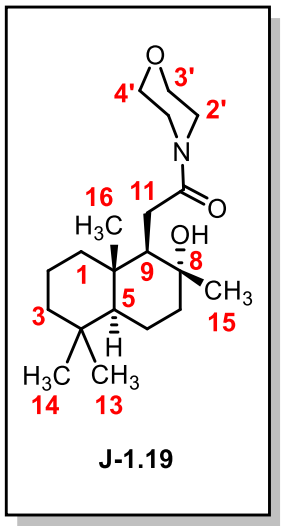
**_N_-cicloexil-2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametilldecaidronafitalen-1-il) acetamida (J-1.18)**




J-1.18

**Rendimento:** 79% (221 mg; 0,63 mmol). **$R_f$** = 0,4 (5:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 116,1-116,5 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3285, 2927, 2853, 1710, 1624, 1542, 1449, 937, 731.**RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,81 (1H, s, NH), 3,75–3,32 (1H, m, H1'), 2,27 (1H, dd, *J*=15,3, 4,5 Hz, H11a), 2,00 (1H, dd, *J*=15,3, 4,5 Hz, H11b), 1,85–1,63 (3H, m, H7a, H9 e H4a'), 1,61–1,03 (16H, m, H6a, H2a, H1a, H7b, H2a', H3a', H5a', H6a, H2b, H6b, H3a, H2b', H3b', H4b', H5b', H6b'), 0,94 (3H, s, H15), 0,84–0,72 (2H, m, H1b e H5), 0,69 (3H, s, H14), 0,61 (6H, s, H16 e H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 174,9 (C12), 72,9 (C8), 57,7 (C9), 55,9 (C5), 48,3 (C1'), 43,9 (C7), 41,6 (C3), 39,1 (C1), 38,7 (C10), 33,2 (C14), 33,0 (C4), 32,6 (C2',C6'), 32,4 (C11), 25,4 (C4'), 24,8 (C3',C5'), 23,4 (C15), 21,3 (C13), 20,3 (C6), 18,2 (C2), 15,2 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{22}H_{39}NO_2$ (349,55): C 75,59, H 11,25, N 4,01. Encontrado: C 75,30, H 11,57, N 3,86. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 350,45. Encontrado: 350,3.

**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-1-morfolino etan-1-ona (J-1.19)**



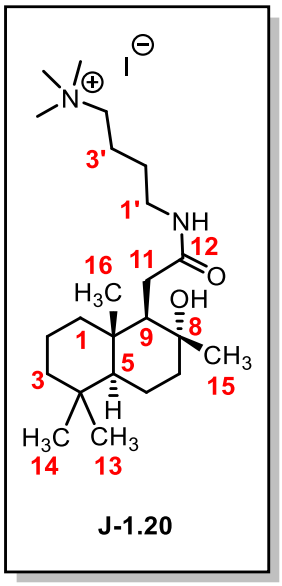

J-1.19

**Rendimento:** 90% (243 mg; 0,72 mmol). $R_f$ = 0,5 (Acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido amarelo claro. $T_f$: 160,1-161,3 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 2936, 1602, 1456, 1232, 1116, 1033, 853. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 3,54 (8H, s, H2', H3', H4', H5'), 2,26 (2H, m, H11), 1,95 (1H, m, H9), 1,84 (1H, td, *J* = 12,0 e 3,1 Hz, H7a), 1,65-1,11 (7H, m, H6a, H2a, H1a, H7b, H2b, H6b e H3a), 1,08 (1H, m, H3b), 1,06 (3H, s,H15), 0,96-0,83 (2H, m, H5 e H1b), 0,78 (3H, s, H16), 0,74-0,66 (6H, s, H13 e H14). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 173,6 (C12), 72,8 (C8), 66,9 (C3'), 66,6 (C4'), 56,4 (C9), 56,0 (C5), 46,1 (C1'), 44,5 (C7), 42,5 (C2'), 41,8 (C3), 39,3 (C1), 38,7 (C10), 33,4 (C14), 33,3 (C4), 28,0 (C11), 23,4 (C15), 21,5 (C13), 20,6 (C6), 18,5 (C2), 16,0 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{20}H_{35}NO_3$ (337,50): C 71,18, H 10,45, N 4,15. Encontrado: C 70,96, H 10,63, N 3,99. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 338,50. Encontrado: 338,6.

**Síntese do composto J-1.20**

Em um tubo de ensaio foi adicionado **J-1.17** (100 mg; 0,30 mmol), acetonitrila (1,5 mL), iodometano (298 mg; 2,10 mmol) e $K_2CO_3$ (166 mg; 1,20 mmol). O sistema foi mantido sob agitação magnética e em temperatura ambiente por 24 horas. Passado esse tempo, a reação foi diluída com diclorometano (6,0 mL) e filtrada em papel de filtro. Os voláteis foram removidos em evaporador rotatório sob pressão reduzida resultando no produto **J-1.20** em 96% (146 mg; 0,28 mmol).

**Iodeto de 4-(2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)acetamido)-*N*,*N*,*N*-trimetilbutan-1-amínio (J-1.20)**



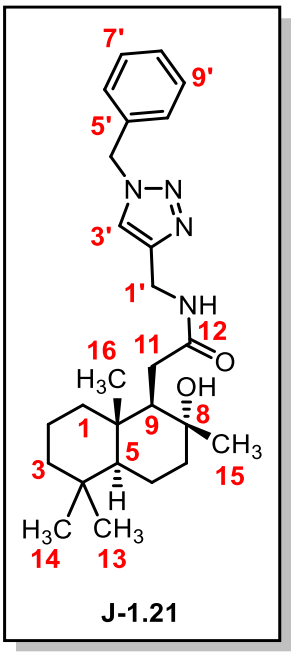

**J-1.20**

**Rendimento:** 96% (146 mg; 0,28 mmol). $R_f$ = 0,1 (1:1 Acetato de etila:metanol). **Aspecto físico:** líquido incolor. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3407, 3294, 2926, 2865, 1635, 1539, 1455, 938. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CD_3OD$): δ 3,55 – 3,40 (2H, m, H4'), 3,20 (11H, s, H5', H6', H7', H1'), 2,39 (1H, dd, *J*=15,5, 4,3 Hz, H11a), 2,28 – 2,20 (1H, m, H11b), 1,92 – 1,71 (3H, m, H3', H7a), 1,70 – 1,13 (11H, m, H9, H6a, H2a, H1a, H7b, H2b, H6b, H3a, H3b, H2'), 1,07 (3H, s, H15), 1,01 – 0,88 (2H, m, H1b, H5), 0,83 (3H, s, H14), 0,81 (3H, s, H16), 0,76 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CD_3OD$): δ 176,2 (C12), 72,6 (C8), 66,1 (C4'), 56,8 (C9), 55,9 (C5), 52,8 (C5'), 43,8 (C7), 41,6 (C3), 39,0 (C1), 38,7 (C10), 38,2 (C1'), 32,8 (C4), 31,6 (C11), 25,6 (C3'), 23,0 (C15), 20,7 (C13 e C14), 20,4 (C2'), 20,2 (C6), 18,1 (C2), 14,8 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{23}H_{45}IN_2O_2$ (508,52): C 54,32, H 8,92, N 5,51. Encontrado: C 54,07, H 9,13, N 5,32.

**Síntese dos 1,2,3-triazóis J-1.21 a J-1.25**

Em um tubo de ensaio foram adicionados azida de sódio (43 mg; 0,66 mmol), o respectivo brometo de benzila (0,50 mmol) e dimetilsulfóxido (1,5 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética em temperatura ambiente por 12 horas. Passado esse tempo, a mistura reacional foi vertida em um funil de separação contendo éter dietílico (20,0 mL) e água (15,0 mL). A fase orgânica foi separada e o solvente foi removido em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Ao balão, logo após a evaporação do solvente, foi adicionado **J-1.7** (100 mg; 0,33 mmol), acetato de etila (1,0 mL), água (1,0 mL), sulfato de cobre pentaidratado (16 mg; 0,06 mmol) e ascorbato de sódio (26 mg; 0,12 mmol). A reação foi mantida sob agitação magnética em temperatura ambiente por 18 horas. A mistura reacional foi então vertida em um funil de separação contendo acetato de etila (20,0 mL) e água (15,0 mL). A fase orgânica foi separada, secada com sulfato de magnésio anidro e o solvente foi removido em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material obtido foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:acetato de etila 2:1 v/v).

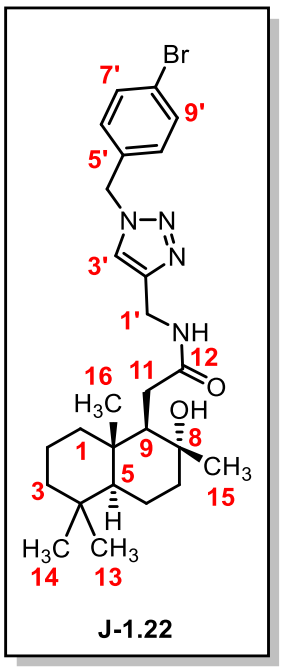
**_N_-((1-benzil-1_H_-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetra metildecaidronafitalen-1-il)acetamida (J-1.21)**




J-1.21

**Rendimento:** 78% (113 mg; 0,26 mmol). **R$_f$** = 0,2 (5:1 Acetato de etila:metanol). **Aspecto físico:** líquido incolor. **IR** (ATR, cm$^{-1}$): 3289, 2928, 2865, 1640, 1537, 1456, 909, 726. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 7,49 (1H, s, H3'), 7,37-7,28 (3H, m, H6', H8', H10'), 7,25-7,20 (2H, m, H7', H9'), 5,45 (2H, s, H4'), 4,40 (2H, s, H1'), 2,37 (1H, dd, J = 15,4 e 5,2 Hz, H11a), 2,16 (1H, dd, J = 15,4 e 5,2 Hz, H11b), 2,15 (1H, s, OH), 1,89 (1H, td, J = 12,6 e 3,2 Hz, H7a), 1,71 (1H, t, J = 5,2Hz, H9), 1,62 (1H, qd, J = 12,6 e 3,2 Hz, H6a), 1,57-1,38 (3H, m, H7b, H1a, H2a), 1,35-1,15 (3H, m, H2b, H6b, H3a), 1,11-1,02 (1H, m, H3b), 1,08 (3H, s, H15), 0,92 (1H, dd, J = 12.2 e 2,4 Hz, H5), 0,90-0,82 (1H, m, H1b), 0,84 (3H, s, H14), 0,75 (3H, s, H16), 0,73 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,7 (C12), 134,4 (C5'), 129,0 (C6', C10'), 128,8 (C2'), 128,7 (C7', C9'), 128,2 (C3'), 128,1 (C8'), 72,9 (C8), 57,8 (C9), 55,8 (C5), 54,2 (C4'), 44,1 (C7), 41,7 (C3), 39,1 (C1), 38,7 (C10), 33,3 (C14), 33,2 (C4), 32,3 (C1'), 31,5 (C11), 23,5 (C15), 21,4 (C13), 20,4 (C6), 18,3 (C2), 15,3 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{26}H_{38}N_4O_2$ (438,61): C 71,20, H 8,73, N 12,77. Encontrado: C 70,98, H 8,84, N 12,47. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 438,61. Encontrado: 438,6.

**_N_-((1-(4-bromobenzil)-1_H_-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5, 5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)acetamida (J-1.22)**

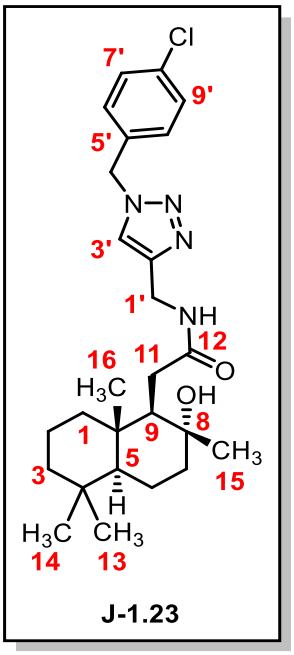



J-1.22

**Rendimento:** 81% (138 mg; 0,27 mmol). **R$_f$** = 0,2 (5:1 Acetato de etila:metanol). **Aspecto físico:** sólido branco. **T$_f$**: 199,5-200,3 °C. **IR** (ATR, cm$^{-1}$): 3285, 2926, 2865, 1638, 1535, 1012, 729. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 7,54 (1H, s, H3'), 7,46 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, H7', H9'), 7,11 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, H6', H10'), 5,40 (2H, s, H4'), 4,39 (2H, s, H1'), 2,36 (1H, dd, *J* = 15,4 e 5,2 Hz, H11a), 2,15 (1H, s, OH), 2,14 (1H, dd, *J* = 15,4 e 5,2 Hz, H11b), 1,88 (1H, td, *J* = 12,6 e 3,4 Hz, H7a), 1,71 (1H, t, *J* = 5,2 Hz, H9), 1,63 (1H, qd, *J* = 12,6 e 3,4 Hz, H6a), 1,56-1,38 (3H, m, H7b, H1a, H2a), 1,36-1,15 (3H, m, H2b, H6b, H3a), 1,11-1,00 (1H, m, H3b), 1,07 (3H, s, H15), 0,91 (1H, dd, *J* = 12,1 e 2,2 Hz, H5), 0,87-0,79 (1H, m, H1b), 0,75 (3H, s, H16), 0,72 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,5 (C12), 133,4 (C5'), 132,2 (C6', C7', C9', C10'), 131,9 (C2'), 129,8 (C3'), 122,9 (C8'), 73,0 (C8), 57,8 (C9), 55,9 (C5), 54,0 (C4'), 44,1 (C7), 41,7 (C3), 39,2 (C1), 38,7 (C10), 33,3 (C14), 33,2 (C4), 32,3 (C1'), 31,5 (C11), 23,6 (C15), 21,4 (C13), 20,4 (C6), 18,3 (C2), 15,4 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{26}H_{37}BrN_4O_2$ (517,50): C

60,34, H 7,21, N 10,83. Encontrado: C 60,08, H 7,43, N 10,61. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 517,50. Encontrado: 517,4.

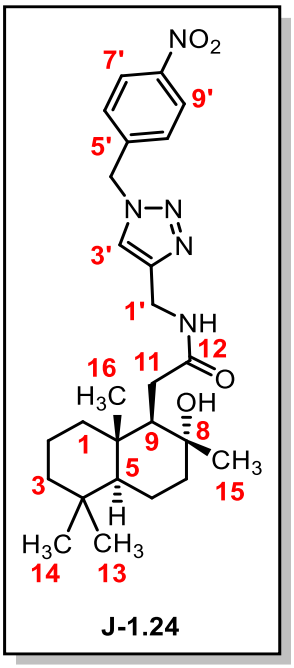
**_N_-((1-(4-clorobenzil)-1_H_-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-((1_R_,2_R_,4a_S_,8a_S_)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)acetamida (J-1.23)**




J-1.23

**Rendimento:** 74% (115 mg; 0,24 mmol). **$R_f$** = 0,2 (5:1 Acetato de etila:metanol). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 194,1-196,4 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3287, 2926, 2865, 1640, 1536, 1493, 729. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 7,54 (1H, s, H3'), 7,29 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H7', H9'), 7,16 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H6', H10'), 5,41 (2H, s, H4'), 4,38 (2H, s, H1'), 2,36 (1H, dd, *J* = 15,4 e 5,0 Hz, H11a), 2,15 (1H, dd, *J* = 15,4 e 5,0 Hz, H11b), 2,14 (1H, s, OH), 1,87 (1H, td, *J* = 12,6 e 3,3 Hz, H7a), 1,70 (1H, t, *J* = 5,0 Hz, H9), 1,62 (1H, qd, *J* = 12,6 e 3,3 Hz, H6a), 1,551,37 (3H, m, H7b, H1a, H2a), 1,34-1,14 (3H, m, H2b, H6b, H3a), 1,10-0,99 (1H, m, H3b), 1,06 (3H, s, H15), 0,90 (1H, dd, *J* = 12,2 e 2,3 Hz, H5), 0,86-0,78 (1H, m, H1b), 0,83 (3H, s, H14), 0,74 (3H, s, H16), 0,72 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,7 (C12), 134,6 (C5'), 133,0 (C8'), 129,4 (C6', C10'), 129,3 (C2'), 129,1 (C7', C9'), 128,9 (C3'), 72,9 (C8), 57,7 (C9), 55,8 (C5), 53,4 (C4'), 44,1 (C7), 41,6 (C3), 39,1 (C1), 38,6 (C10), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 32,2 (C1'), 31,5 (C11), 23,5 (C15), 21,3 (C13), 20,4 (C6), 18,2 (C2), 15.3 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{26}H_{37}ClN_4O_2$ (473,4): C 66,01, H 7,88, N 11,84. Encontrado: C 65,85, H 8,03, N 11,76. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 473,35. Encontrado: 473,4.

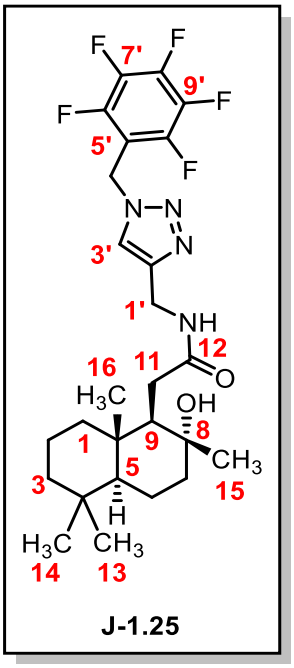
**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-((1-(4-nitrobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)acetamida (J-1.24)**




J-1.24

**Rendimento:** 71%. (113 mg; 0,23 mmol). **$R_f$** = 0,2 (4:1 Acetato de etila:metanol). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 209,8-211,0 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3290, 2928, 1520, 1344, 728. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 8,09 (2H, d, *J* = 8,3 Hz, H7', H9'), 7,70 (1H, s, H3'), 7,34 (2H, d, *J* = 8,3 Hz, H6', H10'), 5,55 (2H, s, H4'), 4,34 (2H, s, H1'), 2,41-2,26 (1H, m, H11a), 2,20-2.00 (1H, m, H11b), 2,09 (1H, s, OH), 1,90-1,75 (1H, m, H7a), 1,73-1,63 (1H, m, H9), 1,61-1,51 (1H, m, H6a), 1,50-1,32 (2H, m, H2a), 1,30-1,09 (4H, m, H7b, H2b, H6b, H3a), 1,05-0,93 (1H, m, H3b), 1,00 (3H, s, H15), 0,88-0,77 (2H, m, H5, H1b), 0,76 (3H, s, H14), 0,68 (3H, s, H16), 0,66 (3H, s, H13). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 175,8 (C12), 147,8 (C8'), 141,7 (C5'), 128,7 (C6', C10'), 128,6 (C2'), 124,1 (C7', C9'), 123,9 (C3'), 73,0 (C8), 57,7 (C9), 55,8 (C5), 53,0 (C4'), 44,1 (C7), 41,6 (C3), 39,1 (C1), 38,6 (C10), 33,2 (C14), 33,1 (C4), 32,2 (C1'), 31,5 (C11), 23,5 (C15), 21,3 (C13), 20,3 (C6), 18,2 (C2), 15,3 (C16). **Análise elementar**: calculado para $C_{26}H_{37}N_5O_4$ (483,60): C 64,57, H 13,23, N 14,48. Encontrado: C 64,32, H 13,41, N 14,24. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 484,6. Encontrado: 484,5.

**2-((1*R*,2*R*,4a*S*,8a*S*)-2-hidroxi-2,5,5,8a-tetrametildecaidronafitalen-1-il)-*N*-((1-((perfluorofenil)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)acetamida (J-1.25)**




J-1.25

**Rendimento:** 70%. (122 mg; 0,23 mmol). **$R_f$** = 0,2 (4:1 Acetato de etila:metanol). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 200,1-200,4 °C. **IR** (ATR, $cm^{-1}$): 3265, 3134, 2936, 1655, 1507, 921. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$): 7,67 (1H, s, H3'), 5,56 (2H, s, H4'), 4,47-4,29 (2H, m, H1'), 2,35 (1H, dd, *J* = 15,5 e 5,2 Hz, H11a), 2,15 (1H, dd, *J* = 15,5 e 5,2 Hz, H11b), 2,02 (1H, s, OH), 1,87 (1H, td, *J* = 11,8 e 3,3 Hz, H7a), 1,70 (1H, t, *J* = 5,2 Hz, H9), 1,62 (1H, qd, *J* = 11,8 e 3,3 Hz, H6a), 1,56-1,37 (3H, m, H7b, H1a, H2a), 1,35-1,14 (3H, m, H2b, H6b, H3a), 1,11-0,99 (1H, m, H3b), 1,06 (3H, s, H15), 0,91 (1H, dd, *J* = 12,2 e 2,4 Hz, H5), 0,85-0,79 (1H, m, H1b), 0,82 (3H, s, H14), 0,74 (3H, s, H16), 0,72 (3H, s, H17). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$): 15,4 (C16), 18,4 (C2), 20,5 (C6), 21,4 (C13), 23,6 (C15), 32,4 (C11), 33,3 (C4), 33,4 (C14), 34,9 (C1'), 38,8 (C10), 39,3 (C1), 40,9 (C4'), 41,8 (C3), 44,3 (C7), 56,0 (C5), 58,0 (C9), 73,2 (C8), 108,3 (C5'), 122,9 (C3'), 136,5 (C6', C10), 139,0 (C8'), 144,3 (C9', C7'), 145,8 (C2'), 175,8 (C12). **Análise elementar**: calculado para $C_{26}H_{33}F_5N_4O_2$ (528,56): C 59,058, H 6,29, N 10,60. Encontrado: C 58,86, H 6,47, N 10,37. **MS *m/z*:** Calculado para [M+H]+: 529,4. Encontrado: 529,3.

## 2.5.2 Ensaio de inibição enzimática

### Generalidades metodológicas

Os ensaios de inibição enzimática foram realizados em parceria com o professor René Csuk da Universidade de Martin-Luther, Alemanha. Para tal, utilizou-se espectrômetro TECAN SpectraFluorPlus trabalhando no modo cinético e medindo a absorbância em λ = 415 nm. A acetilcolinesterase (de *Electrophorus electricus*), 5,5'-ditiobis-(ácido-2-nitrobenzóico) (DTNB) e o iodeto de acetiltiocolina (ATChI) foram adquiridos da Fluka e a butirilcolinesterase (de soro equino) da Sigma-Aldrich.

### Preparo de soluções

| | |
|---|---|
| **Tampão tris-HCl 50 mM pH 8,0** | Em água bidestilada (100,0 mL) foi dissolvido o tris(hidroximetil)-aminometano (606mg) e o pH da solução foi ajustado com HCl até valor de 8,0 ± 0,1. |
| **AChE 2,005 U/ml** | Na solução tampão tris-HCl pH 8,0 previamente preparada (5,0 mL) foram dissolvidas a enzima (0,037 mg, 271 U/mg) e azida de sódio (0,98 mg). |
| **BuChE 2,040 U/ml** | Na solução tampão tris-HCl pH 8,0 previamente preparada (5,0 mL) foram dissolvidas a enzima (1,353 mg, 7,54 U/mg) e azida de sódio (0,98 mg). |
| **DTNB 3 mM** | Na solução tampão tris-HCl pH 8,0 previamente preparada (20,0 mL) foram dissolvidos DTNB (23,8 mg), NaCl (116,8 mg) e $MgCl_2$ (38,0 mg). |
| **ATChI 15 mM** | Em água bidestilada (10,0 mL) foi dissolvido o ATChI (43,4 mg). |

Todas as soluções foram armazenadas em frascos *Eppendorf* na geladeira. Os compostos puros foram inicialmente dissolvidos em DMSO. O bromidrato de galantamina empregado como controle positivo foi dissolvido em água bidestilada.

**Ensaio de Ellman**

Foi preparada uma mistura da solução DTNB (125 µL) com a solução contendo a respectiva enzima (AchE ou BuChE, 25 µL) e a solução contendo os compostos a serem avaliados (25 µL). Essa mistura foi incubada a 30 °C por 20 minutos, seguido da adição do substrato (ATChI, 25 µL) dando início à reação enzimática. Os dados de absorbância (λ = 415 nm) foram registrados sob temperatura controlada de 30 °C por 30 minutos em intervalos de 1 minuto. Todas as medições foram realizadas em triplicatas. A concentração final do inibidor foi de 10 mM e a concentração do substrato (ATChI) foi de 0,625 mM. A porcentagem de inibição foi determinada pela Equação 1 em que "I(%)" é a porcentagem de inibição da AChE ou BuChE, "$A_{medido}$" é a absorbância medida na presença do inibidor e "$A_{branco}$" é a absorbância na ausência do inibidor.[25]

$$I(\%) = \left( 1 - \frac{A_{medido}}{A_{branco}} \right) x\ 100 \qquad \textbf{Equação 1}$$

As concentrações finais para o ensaio enzimático foram obtidas diluindo as soluções estoque com água bidestilada. Nenhuma inibição é detectada por DMSO residual (<0,5%).

**Docking molecular**

A estrutura tridimensional (3D) da acetilcolinesterase da espécie *Homo sapiens* com resolução de 2,39 Å complexada com galantamina,[26] da acetilcolinesterase da espécie *Torpedo californica* com resolução de 4,20 Å,[27] da butirilcolinesterase da espécie *Equus caballus*,[28] e da butirilcolinesterase da espécie *Homo sapiens* com resolução de 2,10 Å,[29] complexada com tacrina, foram obtidas dos bancos de dados PDB e UniProtKB sob os códigos 4EY6, 1C2O, Q9N1N9 e 4BDS respectivamente.

As estruturas 3D dos compostos utilizados neste estudo foram construídas e otimizadas utilizando o programa PC Spartan® [30] e, posteriormente, tiveram suas cargas calculadas pelo método semiempírico RM1.[31] Os cálculos de energias de ancoragem dos compostos dentro dos sítios ativos das enzimas foram realizados utilizando o *software* Molegro Virtual Docker®.[32]

Os sítios de ligação das enzimas foram restritos a esferas com raio de 15 Å ao redor da cavidade enzimática responsável pela atividade das mesmas. Todos os resíduos

dentro dessas esferas foram ajustados para serem flexíveis. A influência das moléculas de água também foi considerada durante os estudos de *docking*. Em consequência da natureza estocástica do algoritmo de ancoragem, 10 execuções foram realizadas para cada composto, sendo que, para cada execução, eram analisadas 10 poses. Para validar o protocolo de acoplamento utilizado, realizou-se o *re-docking* dos inibidores cristalizados nas estruturas das enzimas. Para verificar a similaridade entre os resíduos dos sítios ativos da acetilcolinesterase humana e a de peixe e para determinar o grau de identidade entre eles, executou-se o alinhamento destas estruturas usando Swiss-Pdb Viewer.[33]

### 2.5.3 Ensaio antitumoral

#### Generalidades metodológicas

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados em parceria com o professor René Csuk da Universidade de Martin-Luther, Alemanha. Para tal, utilizou-se as linhagens celulares obtidas do Departamento de Oncologia (Martin-Luther-University Halle Wittenberg) que foram adiquiridas da ATCC®. São elas: **malignas:** A375 (melanoma), HT29 (adenocarcinoma de cólon), MCF7 (adenocarcinoma de mama), A2780 (carcinoma de ovário), HeLa (câncer cervical) e **não maligna:** NIH 3T3 (fibroblastos). A L-glutamina, estreptomicina e o soro fetal bovino foram adiquiridos da Sigma-Aldrich. As leituras de absorbância foram realizadas em um espectrômetro UV-Vis de 96 poços Tecan Spectra, Crailsheim, Alemanha.

#### Avaliação da citotoxicidade dos compostos J-1.1 a J-1.25

As culturas celulares foram mantidas como monocamadas em meio RPMI 1640 com *L*-glutamina suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado pelo calor e estreptomicina. Os ensaios foram realizados a 37 °C em atmosfera umidificada e com 5% de $CO_2$. A citotoxicidade dos compostos foi avaliada usando o ensaio colorimétrico de microcultura de sulforrodamina-B (SRB) usando células confluentes em placas de 96 poços.

Inicialmente, em uma placa de 96 poços foi aplicado densidades celulares apropriadas para evitar a confluência das células durante o período do experimento. Após 24 horas, as células foram tratadas com seis concentrações diferentes das substâncias **J-1.1** a **J-1.25**. A concentração final de DMSO foi, para todos os casos, <0,5%. Após 72

horas de incubação, o meio sobrenadante foi descartado, as células foram fixadas com ácido tricloroacético a 10% e mantidas por 24 horas a 4 °C. As células foram lavadas e coradas com a solução SRB (100 µL, 0,4% em solução aquosa de ácido acético a 1%) por cerca de 20 min. Na sequência, as placas foram lavadas 4 vezes com solução aquosa de ácido acético 1% e secadas ao ar durante uma noite. A cada poço da placa de 96 poços foi adicionado solução tris (200 µL, 10 mM, pH = 10,5) e a absorbância foi medida em $\lambda$ = 570 nm. Os valores de $EC_{50}$ foram calculados a partir de três experimentos independentes realizados cada um em triplicata. Os cálculos de $EC_{50}$ foram feitos a partir de curvas semilogarítmicas de resposta à dose, aplicando uma equação não linear de inclinação de quatro parâmetros de Hills (GraphPad Prism5). As variáveis superior e inferior foram definidas como 100 e 0, respectivamente.

## 2.6 REFERÊNCIAS


[1] Crusco, A.; Whiteland, H.; Baptista, R.; Forde-Thomas, J. E.; Beckmann, M.; Mur, L. A. J.; Nash, R. J.; Westwell, A. D.; Hoffmann, K. F. Antischistosomal Properties of Sclareol and Its Heck-Coupled Derivatives: Design, Synthesis, Biological Evaluation, and Untargeted Metabolomics. *ACS Infect Dis,* **2019**, 5 (7), 1188–1199.

[2] Chen, Q.; Tang, K.; Guo, Y. Discovery of Sclareol and Sclareolide as Filovirus Entry Inhibitors. *J Asian Nat Prod Res,* **2020**, 22 (5), 464–473.

[3] Chen, S.; Wang, Y.; Zhang, W. L.; Dong, M. S.; Zhang, J. H. Sclareolide Enhances Gemcitabine-Induced Cell Death through Mediating the NICD and Gli1 Pathways in Gemcitabine-Resistant Human Pancreatic Cancer. *Mol Med Rep,* **2017**, 15 (4), 1461–1470.

[4] Kim, J. I.; Choi, H. J.; Lee, J. S. Anticancer and Antimicrobial Activities of 13(*E*)-labd-13-ene-8α,15-diol from Brachyglottis Monroi. *J Appl Biol Chem,* **2013**, 56 (1), 49–51.

[5] Lungu, L.; Ciocarlan, A.; Barba, A.; Shova, S.; Pogrebnoi, S.; Mangalagiu, I.; Moldoveanu, C.; Vornicu, N.; D'Ambrosio, M.; Babak, M. v.; Arion, V. B.; Aricu, A. Synthesis and Evaluation of Biological Activity of Homodrimane Sesquiterpenoids Bearing Hydrazinecarbothioamide or 1,2,4-Triazole Unit. *Chem Heterocycl Compd,* **2019**, 55 (8), 716–724.

[6] Intaraudom, C.; Punyain, W.; Bunbamrung, N.; Dramae, A.; Boonruangprapa, T.; Pittayakhajonwut, P. Antimicrobial Drimane – Phthalide Derivatives from Hypoxylon Fendleri BCC32408. *Fitoterapia,* **2019**, 138, 104353.

[7] Deng, Q.; Yu, X.; Xiao, L.; Hu, Z.; Luo, X.; Tao, Y.; Yang, L.; Liu, X.; Chen, H.; Ding, Z.; Feng, T.; Tang, Y.; Weng, X.; Gao, J.; Yi, W.; Bode, A. M.; Dong, Z.; Liu, J.; Cao, Y. Neoalbaconol Induces Energy Depletion and Multiple Cell Death in Cancer Cells by Targeting PDK1-PI3-K/Akt Signaling Pathway. *Cell Death Dis,* **2013**, 4 (9), e804-e804.

[8] Morales-Flores, F.; Aguilar, M. I.; King-Díaz, B.; Lotina-Hennsen, B. Derivatives of Diterpen Labdane-8α,15-diol as Photosynthetic Inhibitors in Spinach Chloroplasts and Growth Plant Inhibitors. *J Photochem Photobiol B,* **2013**, 125, 42–50.

[9] Feng, W.; Zheng, X. Essential Oils to Control Alternaria Alternata *in Vitro* and *in Vivo*. *Food Control,* **2007**, 18 (9), 1126–1130.

[10] Shakeel-U-Rehman; Rah, B.; Lone, S. H.; Rasool, R. U.; Farooq, S.; Nayak, D.; Chikan, N. A.; Chakraborty, S.; Behl, A.; Mondhe, D. M.; Goswami, A.; Bhat, K. A.

Design and Synthesis of Antitumor Heck-Coupled Sclareol Analogues: Modulation of BH3 Family Members by SS-12 in Autophagy and Apoptotic Cell Death. *J Med Chem,* **2015**, 58 (8) 3432-3444.

[11] Çulhaoglu, B.; Yapara, G.; Dirmencic, T.; Topçu, G. Bioactive Constituents of Salvia Chrysophylla Stapf. *Nat Prod Res,* **2013**, 27 (4–5), 438–447.

[12] Kolak, U.; Hacibekiroğlu, I.; Öztürk, M.; Özgökçe, F.; Topçu, G.; Ulubelen, A. Antioxidant and Anticholinesterase Constituents of Salvia Poculata. *Turk J Chem,* **2009**, 33 (6), 813–823.

[13] Mehta, G.; Singh, V. Hybrid Systems through Natural Product Leads: An Approach towards New Molecular Entities. *Chem Soc Rev,* **2002**, 31 (6), 324–334.

[14] Claudio Viegas-Junior; Eliezer J. Barreiro; Carlos Alberto Manssour Fraga. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. *Curr Med Chem,* **2007**, 14 (17), 1829–1852.

[15] Zhang, M.; Liu, J.; Wang, Y.; Wang, P.; Morris-Natschke, S.; Lee, K. H. Molecular Hybridization Used to Design and Synthesize Neo-tanshinlactone Derivatives as PD-1/PD-L1 Inhibitors. *Bioorg Med Chem,* **2022**, 54, *116579*.

[16] Chaudhari, P.; Bari, S.; Surana, S.; Shirkhedkar, A.; Wakode, S.; Shelar, S.; Racharla, S.; Ugale, V.; Ghodke, M. Logical Synthetic Strategies and Structure-Activity Relationship of Indolin-2-one Hybrids as Small Molecule Anticancer Agents: An Overview. *Journal of Molecular Structure*, **2022**, 1247, 131280.

[17] Kumar, N.; Kumar, S.; Abbat, S.; Nikhil, K.; Sondhi, S. M.; Bharatam, P. V.; Roy, P.; Pruthi, V. Ferulic Acid Amide Derivatives as Anticancer and Antioxidant Agents: Synthesis, Thermal, Biological and Computational Studies. *Medicinal Chemistry Research,* **2016**, 25 (6), 1175–1192.

[18] Li, Y.; Du, R.; Nie, Y.; Wang, T.; Ma, Y.; Fan, Y. Design, Synthesis and Biological Assessment of Novel CDK4 Inhibitor with Potent Anticancer Activity. *Bioorg Chem,* **2021**, 109, 104717.

[19] Costa, Â. C. F.; Cavalcanti, S. C. H.; Santana, A. S.; Lima, A. P. S.; Brito, T. B.; Oliveira, R. R. B.; Macêdo, N. A.; Cristaldo, P. F.; Araújo, A. P. A.; Bacci, L. Insecticidal Activity of Indole Derivatives Against Plutella Xylostella and Selectivity to Four Non-target Organisms. *Ecotoxicology,* **2019**, 28 (8), 973–982.

[20] Deswal, S.; Naveen; Tittal, R. K.; Ghule Vikas, D.; Lal, K.; Kumar, A. 5-Fluoro-1*H*-indole-2,3-dione-triazoles Synthesis, Biological Activity, Molecular Docking, and DFT Study. *J Mol Struct,* **2020**, 1209, 127982.

[21] Jampilek, J.; Kralova, K.; Pesko, M.; Kos, J. Ring-Substituted 8-Hydroxyquinoline-2-carboxanilides as Photosystem II Inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett,* **2016**, 26 (16), 3862–3865.

[22] Topuzyan, V. O.; Alebyan, Z. G.; Paronikyan, R. V. Synthesis, Anticholinesterase, and Antibacterial Activity of *N*-aroyl-a-aminoacrylic Acid Dialkylaminoalkylamides. *Pharm Chem J,* **2015**, 49 (5), 304–308.

[23] Ma, M.; Feng, J.; Wang, D.; Chen, S.-W.; Xu, H. Synthesis and Antifungal Activities of Drimane-amide Derivatives from Sclareol. *Comb Chem High Throughput Screen,* **2018**, 21 (7), 501–509.

[24] Li, D.; Zhang, S.; Song, Z.; Wang, G.; Li, S. Bioactivity-Guided Mixed Synthesis Accelerate the Serendipity in Lead Optimization: Discovery of Fungicidal Homodrimanyl Amides, *Eur J Med Chem,* **2017**, 136, 114–121.

[25] Wiemann, J.; Loesche, A.; Csuk, R. Novel Dehydroabietylamine Derivatives as Potent Inhibitors of Acetylcholinesterase. *Bioorg Chem,* **2017**, 74, 145–157.

[26] Cheung, J.; Rudolph, M. J.; Burshteyn, F.; Cassidy, M. S.; Gary, E. N.; Love, J.; Franklin, M. C.; Height, J. J. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands, *J Med Chem,* **2012**, 55 (22), 10282–10286.

[27] Bourne, Y.; Grassi, J.; Bougis, P. E.; Marchot, P. Conformational Flexibility of the Acetylcholinesterase Tetramer Suggested by X-Ray Crystallography. *Journal of Biological Chemistry*, **1999**, 274 (43), 30370-30376.

[28] Banco de proteínas UniProtKB. Carboxylic ester hydrolase. Código: Q9N1N9*,* **2000**.

[29] Nachon, F.; Carletti, E.; Ronco, C.; Trovaslet, M.; Nicolet, Y.; Jean, L.; Renard, P. Y. Crystal Structures of Human Cholinesterases in Complex with Huprine W and Tacrine: Elements of Specificity for Anti-Alzheimer's Drugs Targeting Acetyl- and Butyryl-Cholinesterase. *Biochemical Journal,* **2013**, 453 (3), 393–399.

[30] *Software*: Hehre, D. & K. Spartan. **2014**, versão: 1.1.4.

[31] Simas, A. M.; Rocha, G. B. *Métodos Semi-Empíricos de Estrutura Eletrônica em Química Quântica.*; Editora Livraria da Física, São Paulo, **2007**.

[32] *Software*: Thomsen & Christensen. Molegro Virtual Docker. **2006**, versão: 6.0.

[33] *Software*: Guex & Peitsch. Swiss-Pdb Viewer. **1997**, versão: 4.1.1.

[34] Korbad, B. L.; Lee, S. H. Synthesis of *N*-aryl Substituted, Five- and Six-Membered Azacycles Using Aluminum-Amide Complexes. *Chemical Communications,* **2014**, 50 (64), 8985–8988.

[35] Barbosa, L. C. A. *Espectroscopia no Infravermelho*, 1st ed.; Editora UFV, **2007**.

[36] Hess, F. K., & Pook, K. H. Effect of *N*-acylamino Groups On The Chemical Shift Of The Ortho Proton In Biphenyls. *Canadian Journal of Chemistry*, **1969**, 47(7), 1151-1156.

[37] *Software*: PerkinElmer Informatics. ChemDraw. **2017**, versão 16.0.1.4.

[38] Schulze, B.; Schubert, U. S. Beyond Click Chemistry-Supramolecular Interactions of 1,2,3-Triazoles. *Chemical Society Reviews*. **2014**, 2522–2571.

[39] Ventura, A. M.; Abreu, P. A.; Freitas, R.; Sathler, P.; Loureiro, N.; Castro, H. Sistema Colinérgico: Revisitando Receptores, Regulação e a Relação com a Doença de Alzheimer, Esquizofrenia, Epilepsia e Tabagismo. *Journal of Clinical Psychiatry,* **2010**, 37 (2), 66–72.

[40] Campos-Peña, V.; Pichardo-Rojas, P.; Sánchez-Barbosa, T.; Ortíz-Islas, E.; Rodríguez-Pérez, C. E.; Montes, P.; Ramos-Palacios, G.; Silva-Adaya, D.; Valencia-Quintana, R.; Cerna-Cortes, J. F.; Toral-Rios, D. Amyloid β, Lipid Metabolism, Basal Cholinergic System, and Therapeutics in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **2022**, 23 (20), 12092.

[41] Araújo, C. R. M.; Santos, V. L. A.; Gonsalves, A. A. Acetylcholinesterase - AChE: a Pharmacological Interesting Enzyme. *Revista Virtual de Quimica*, **2016**, 8 (6), 1818–1834.

[42] Freitas, A. P. Filogenia da Sensibilidade da Acetilcolinesterase Cerebral de Peixe ao Metil-Paraoxon Como um Possível Marcador Ambiental, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, **2009**, Tese de Doutorado.

[43] Frisoni, G. B.; Altomare, D.; Thal, D. R.; Ribaldi, F.; van der Kant, R.; Ossenkoppele, R.; Blennow, K.; Cummings, J.; van Duijn, C.; Nilsson, P. M.; Dietrich, P. Y.; Scheltens, P.; Dubois, B. The Probabilistic Model of Alzheimer Disease: the Amyloid Hypothesis Revised. *Nature Reviews Neuroscience*, **2022**, 53–66.

[44] Giacobini, E. Selective Inhibitors of Butyrylcholinesterase A Valid Alternative for Therapy of Alzheimer's Disease?, *Drugs Aging,* **2001**, 18 (12), 891–898.

[45] Dai, R.; Sun, Y.; Su, R.; Gao, H. Anti-Alzheimer's Disease Potential of Traditional Chinese Medicinal Herbs as Inhibitors of BACE1 and AChE Enzymes. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **2022,** 154, 113576.

[46] Singh, M.; Kaur, M.; Kukreja, H.; Chugh, R.; Silakari, O.; Singh, D. Acetylcholinesterase Inhibitors as Alzheimer Therapy: From Nerve Toxins to Neuroprotection. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 165–188.

[47] Greig N.; Utsuki T.; Yu Q.; Zhu X.; Holloway H.; Perry T.; Lee BIngram D.; Lahiri D. A New Therapeutic Target in Alzheimer's Disease Treatment: Attention to Butyrylcholinesterase. *Current Medical Research and Opinion*, **2001**, 159-165.

[48] Paiva, J. T. O Uso de Anticolinesterásicos Empregados na Miastenia Gravis, Universidade Federal de São João Del Rei, **2013**, Tese de Doutorado.

[49] Menon, D.; Bril, V. Pharmacotherapy of Generalized Myasthenia Gravis with Special Emphasis on Newer Biologicals. *Drugs*, **2022**, 82, 865–887.

[50] Caixeta, L.; Vieira, R. T. Dementia in Parkinson's Disease. *Revista Brasileira de Psiquiatria,* **2008**, 30 (4), 375–383.

[51] Adebayo, O. G.; Aduema, W.; Emmanuel, M. U.; Ben-Azu, B.; Orji, B. O.; Akpakpan, E.; Adebayo, O. R.; Onuoha, O. G.; Ajayi, A. M. The Anti-Parkinson Potential of Gingko Biloba-Supplement Mitigates Cortico-Cerebellar Degeneration and Neuropathobiological Alterations via Inflammatory and Apoptotic Mediators in Mice. *Neurochem Res,* **2022**, 47 (8), 2211–2229.

[52] Idrissi, S. el; Fath, N.; Ibork, H.; Taghzouti, K.; Alamy, M.; Abboussi, O. Restraint Stress Exacerbates Apoptosis in a 6-OHDA Animal Model of Parkinson Disease. *Neurotox Res,* **2023**, 1-11.

[53] Koca, M.; Güller, U.; Güller, P.; Dağalan, Z.; Nişancı, B. Design and Synthesis of Novel Dual Cholinesterase Inhibitors: *In Vitro* Inhibition Studies Supported with Molecular Docking. *Chem Biodivers,* **2022**, 19 (6), e202200015.

[54] Zhou, S.; Huang, G. The Biological Activities of Butyrylcholinesterase Inhibitors. *Biomedicine and Pharmacotherapy,* **2022**, 146*,* 112556*.*

[55] Liu, D. M.; Xu, B.; Dong, C. Recent Advances in Colorimetric Strategies for Acetylcholinesterase Assay and Their Applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry,* **2021**, 142, 116320.

[56] Ha, Z. Y.; Mathew, S.; Yeong, K. Y. Butyrylcholinesterase: A Multifaceted Pharmacological Target and Tool, *Curr Protein Pept Sci,* **2019**, 21 (1), 99–109.

[57] Loesche, A.; Wiemann, J.; al Halabi, Z.; Karasch, J.; Sippl, W.; Csuk, R. Unexpected AChE Inhibitory Activity of (2*E*)α,β-unsaturated Fatty Acids. *Bioorg Med Chem Lett,* **2018**, 28 (20), 3315–3319.

[58] Souza, S. D. Estudo de Inibidores de Colinesterases Aplicando Técnicas de QSAR-2D (HQSAR) e *Docking* Molecular. Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, **2012**, Tese de Doutorado.

[59] Guimarães, A. P. Estudos por Modelagem Molecular da Enzima Timidilato Quinase do Variola Virus. Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, **2013**, Tese de Doutorado.

[60] Warren, G. L.; Andrews, C. W.; Capelli, A. M.; Clarke, B.; LaLonde, J.; Lambert, M. H.; Lindvall, M.; Nevins, N.; Semus, S. F.; Senger, S.; Tedesco, G.; Wall, I. D.; Woolven, J. M.; Peishoff, C. E.; Head, M. S. A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. *J Med Chem,* **2006**, 49 (20), 5912–5931.

[61] Kontoyianni, M.; McClellan, L. M.; Sokol, G. S. Evaluation of Docking Performance: Comparative Data on Docking Algorithms. *J Med Chem,* **2004**, 47 (3), 558–565.

[62] Leach, A. R.; Shoichet, B. K.; Peishoff, C. E. Prediction of Protein-Ligand Interactions. Docking and Scoring: Successes and Gaps. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2006**, 49 (20), 5851–5855.

[63] Câncer. *World Health Organization*. Disponível em: www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer, **2022**.

[64] Stewart, B. W.; Wild, C. P. *World Cancer Report*; World Health Organization, Disponível em: www.iarc.who.int/cards_page/world-cancer-report, **2014**.

[65] Magalhaes, L. G.; Ferreira, L. L. G.; Andricopulo, A. D. Recent Advances and Perspectives in Cancer Drug Design. *An Acad Bras Cienc,* **2018**, 90 (1), 1233–1250.

[66] SwissADMET. *Preditor de parâmetros de Lipinski*. http://www.swiss adme.ch/index .php. Acessado em 09/01/2023.

[67] Mitusova, K.; Peltek, O.; Karpov, T. E.; Muslimov, A. R.; Zyuzin, M. V.; Timin, A. S. Overcoming the Blood–Brain Barrier for the Therapy of Malignant Brain Tumor: Current Status and Prospects of Drug Delivery Approaches. *Journal of Nanobiotechnology*, **2022**, 20 (1), 412.

[68] Khan, A.; Unnisa, A.; Sohel, M.; Date, M.; Panpaliya, N.; Saboo, S. G.; Siddiqui, F.; Khan, S. Investigation of Phytoconstituents of Enicostemma Littorale as Potential Glucokinase Activators Through Molecular Docking for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *In Silico Pharmacol,* **2021**, 10 (1), 1-16.

[69] Ansori, A. N. M.; Sucipto, T. H.; Chylichcova, S.; Padmi, H.; Kharisma, V. D.; Widyananda, M. H.; Ullah, E.; Gumenyuk, O.; Prasedya, E. S.; Sibero, M. triandala; Bratishko, N.; Zainul, R. Macroalgae Bioactive Compounds for the Potential Antiviral of SARS-CoV-2: an *In Silico* Study. *J Pure Appl Microbiol,* **2022**, 16 (2), 1018–1027.

[70] Silva, J. G.; Borgati, T. F.; Lopes, S. M. G.; Heise, N.; Hoenke, S.; Csuk, R.; Barbosa, L. C. A. New Amides Derived from Sclareolide as Anticholinesterase Agents. *Bioorg Chem,* **2023**, 130, 106249.

# *CAPÍTULO 2*
# SÍNTESE, AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES CIANOBACTERICIDA, HERBICIDA E INIBITÓRIA DA REAÇÃO DE HILL E ESTUDOS DA RELAÇÃO ESTRUTURA ATIVIDADE (*QSAR*) DE NOVAS TETRONAMIDAS

## 3.1 INTRODUÇÃO

A estrutura do butenolídeo (**1** e **2** - Figura 1) está presente em uma enorme variedade de produtos naturais e muitos desses compostos têm contribuído para a melhoria da saúde humana e das práticas agrícolas. Por isso, sem surpresa, tanto suas propriedades químicas quanto farmacológicas são assunto de considerável interesse.[1–11]

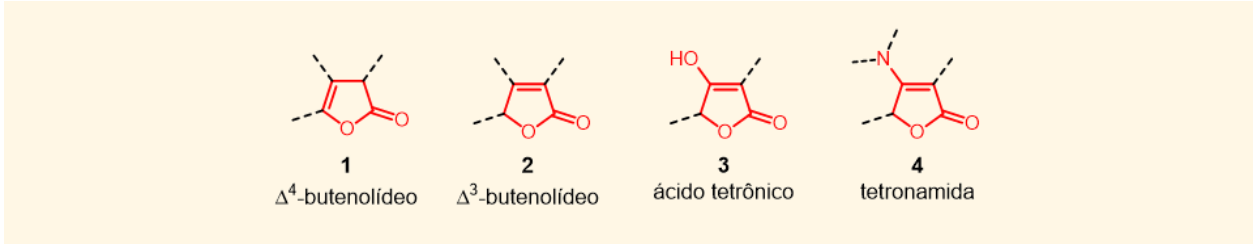



**Figura 1**. Estruturas químicas gerais dos butenolídeos (**1** e **2**) e alguns derivados desses (**3** e **4**).

Várias substituições químicas na estrutura dos butenolídeos são possíveis, em especial a que inclui o grupo amino na posição β do anel, a chamada tetronamida (**4**). Até o momento, apenas uma tetronamida natural foi descoberta (basidalina (**5**) - Figura 2), ela possui atividade antibiótica moderada contra diferentes cepas de bactérias, leveduras e fungos, incluindo *Aeromonas salmonicida* ATCC14174 ($MIC_{50}$ = 100 µg/mL), *Vibrio anguillarum* NCMB6 ($MIC_{50}$ = 100 µg/mL), *Bacillus brevis* ($MIC_{50}$ = 50 µg/mL), *Streptomyces spec*. ATCC 23836 ($MIC_{50}$ = 100 µg/mL) e *Botrytis cinerea* ($MIC_{50}$ = 100 µg/mL).[3,12]

Embora a baixa ocorrência natural das tetronamidas, o seu potencial biológico é notório. A seguir, serão apresentados alguns exemplos que ilustram as atividades biológicas dessa classe de compostos.

A exploração das tetronamidas no desenvolvimento de agroquímicos levou à descoberta da flupiradifurona (**6** - Figura 2), um inseticida semelhante aos neonicotinoides (mecanismo de ação análogo ao da nicotina), que foi lançado em 2015 nos Estados Unidos e no Japão com o nome comercial de Sivanto®.

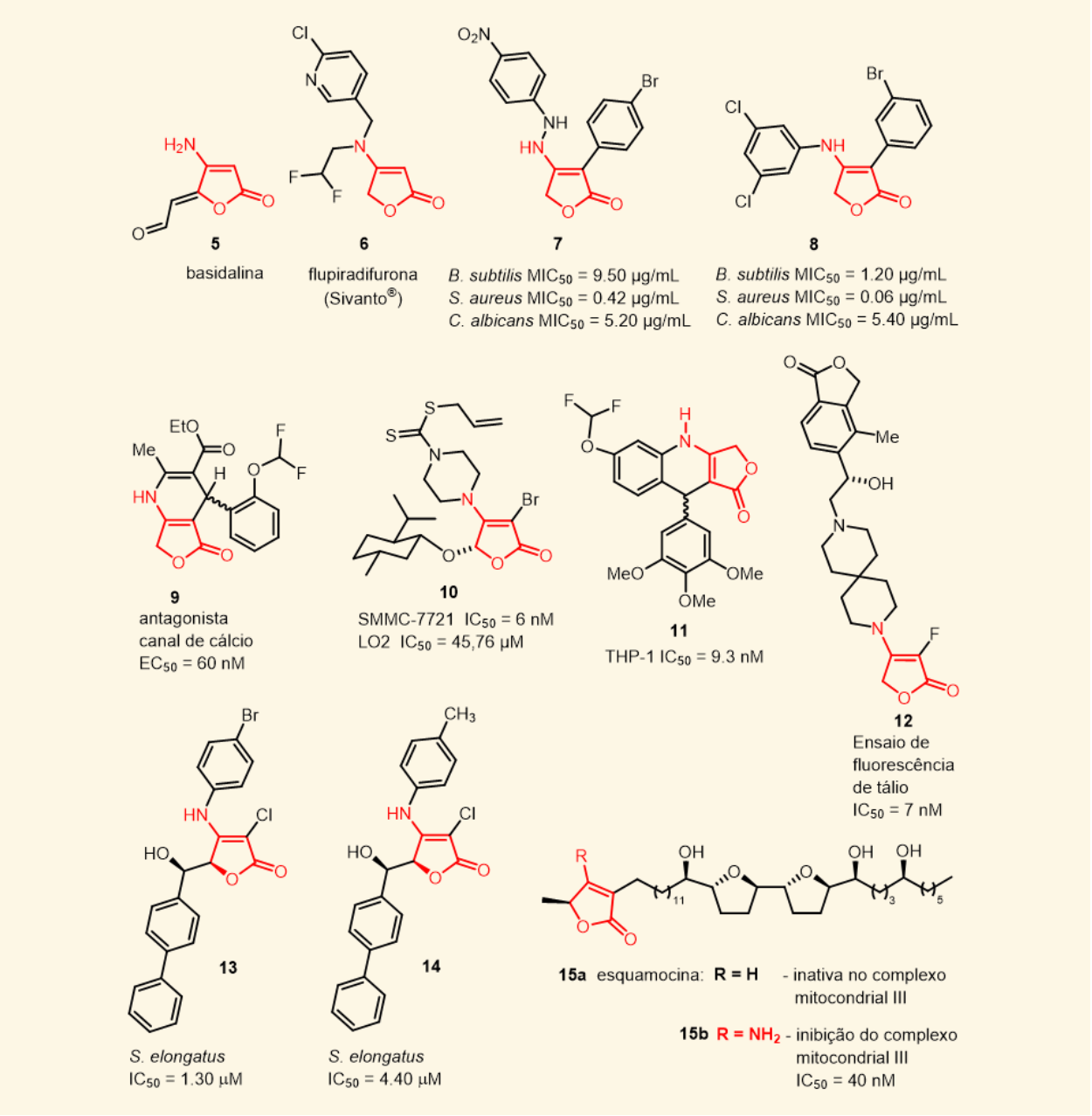



**Figura 2.** Exemplos de tetronamidas bioativas (**5**[3,12], **6**[13], **7**[14], **8**[15], **9**[16], **10**[17], **11**[18] , **12**[19–21], **13**[22], **14**[22] e **15**[23] ).

A ação inseticida da flupiradifurona (**6**) é evidenciada pela faixa de mortalidade de 90% a 100% para *Aphis craccivora* (pulgão do feijão) e *Nilaparvata lugens* (cigarra do

arroz) em concentração de 100 g a 200 g por hectar de plantação.[13] Também são relatadas atividades contra larvas de *Anopheles darling* (mosquito hospedeiro e transmissor da malária) ($CL_{50}$ = 1,18 µg/mL);[24] bem como mortalidade de 100% (0,80 mg/L) para *Myzuz persicae* (pulgão do pessegueiro) e 98% (4,00 mg/L) para *Aphis gossypii* (pulgão do algodoeiro).[25] Tais atividades são explicadas pela alta afinidade da flupiradifurona pelos receptores nicotínicos do sistema nervoso dos insetos, impedindo, assim, que esses receptores se liguem à acetilcolina pós-sináptica, levando à morte dos indivíduos.[26]

Tetronamidas também se mostram promissores alvos na busca por novos compostos antimicrobianos. O surgimento de resistência microbiana aos fármacos atualmente usados na clínica médica é uma questão de preocupação global. Nesse cenário, visando contornar a resistência já existente e em desenvolvimento, há uma alta demanda por novas substâncias, particularmente aquelas com novos esqueletos estruturais e novos mecanismos de ação.[27,28]

Como exemplo de potenciais novos agentes antimicrobianos que cumprem esses requisitos, podem-se citar os compostos **7** e **8**, que possuem atividade contra diversas cepas de bactérias e fungos (exemplos de valores de $MIC_{50}$ e espécies são mostrados na Figura 2). Em especial, **7** inibe a enzima metionil-t-RNA sintetase de *Staphylococcus aureus* com $IC_{50}$ = 0,12 µM. Essa classe de enzimas está envolvida na tradução de sequências de ácido nucleico em proteínas e é um importante alvo molecular no desenvolvimento de novos fármacos antibacterianos.[14]

Tetronamidas também são conhecidas por possuirem ação regulatória nos canais iônicos de sódio e cálcio, que estão associados a diversos processos no corpo animal como, por exemplo, a contração e relaxação de tecidos musculares. O composto **9**, por exemplo, mostrou-se capaz de reverter a inibição do batimento cardíaco causada por um antagonista do canal de cálcio com $EC_{50}$ = 66 nM.[16] Já em ensaio de fluorescência de tálio, que mede a eficiência de canais catiônicos, o composto **12** foi capaz de modular os canais de potássio com valor de $IC_{50}$ = 7 nM, sendo que compostos com valores de $IC_{50}$ < 0,25 µM são considerados bons moduladores (Figura 2).[19–21]

A exploração das atividades antitumorais das tetronamidas revelaram $IC_{50}$ = 6 nM para a substância **10** contra células de tecido hepático tumoral (SMMC-7721)[17] e $IC_{50}$ = 9,3 nM para **11** contra cultura de células leucêmicas (THP-1).[18] Esses exemplos ilustram o potencial da classe como um novo esqueleto molecular para a busca de novos compostos citotóxicos (Figura 2).

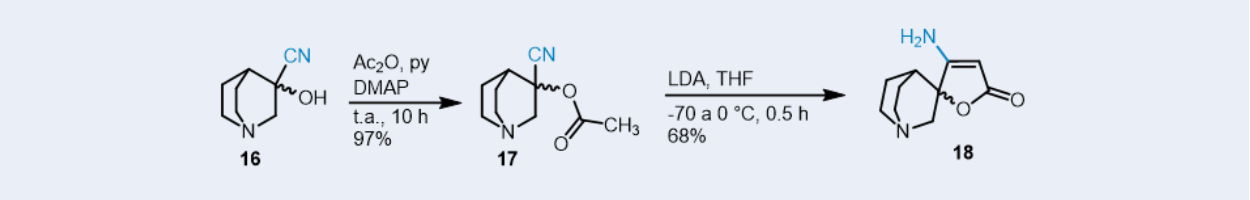
O potencial biológico de butenolídeos β-amino substituídos é notoriamente evidenciado pela conversão do butenolídeo **15a** na respectiva tetronamida. A esquamocina (**15a**) pertence ao grupo dos policetídeos lactônicos, que são conhecidos por sua notável atividade fitotóxica e são potentes e específicos inibidores do complexo mitocondrial I e, em geral, inativos na inibição do complexo III. O amplo espectro de atividades biológicas dessa classe baseia-se principalmente na inibição desse alvo. A conversão do núcleo butenolídeo da esquamocina na correspondente tetronamida (**15b**) foi capaz de converter a estrutura de inativa para ativa na inibição do complexo mitocondrial III com $IC_{50}$ = 40 nM (Figura 2).[23]

Tetronamidas, semelhantes às que estão sendo sintetizadas neste trabalho, contendo a porção (1,1'-bifenil)-4-il(hidroxi)metil na posição γ do anel butenolídeo (**13** e **14**), foram relatadas como inibidoras do desenvolvimento de colônias de cianobactérias que, sob certas condições ambientais, são capazes de aumentar sua população de maneira descontrolada, induzindo condições anóxicas generalizadas que podem conduzir a um colapso ou declínio do ecossistema geral.[29,30] Em alguns casos, esses organismos podem liberar toxinas e impactar negativamente a qualidade da água, colocando em risco a saúde pública.[31] Por serem seres fotossintetizantes, um dos alvos para inibir a proliferação das cianobactérias é a cadeia de transporte de elétrons nos cloroplastos (reação de Hill). Curiosamente, embora apresentem relevante atividade cianobactericida, **13** e **14** (Figura 2) não impactam as reações de Hill, o que sugere que eles podem exercer seus efeitos anticianobacterianos por um mecanismo diferente, tornando, assim, esses compostos promissores alvos de pesquisa dada a escassez de compostos cianobactericidas comerciais e a baixa variedade de alvos de ação explorados.[22]

As tetronamidas também têm atraído interesse por serem um promissor bloco de construção na química medicinal e também como intermediário de síntese de moléculas mais complexas, como produtos naturais.[11] Consequentemente, diversas metodologias sintéticas para este núcleo, bem como metodologias que permitem a sua funcionalização foram desenvolvidas.[11]

A seguir, serão apresentadas algumas destas estratégias sintéticas. A saber, as principais etapas-chave para a obtenção do núcleo tetronamida que se observa na literatura são: (**i**) ciclizações intramolecular, (**ii**) reações de *aza*-Michael adição/eliminação (substituição viníloga), (**iii**) reações de ciclização envolvendo alquinos mediadas ou não por metais e (**iv**) rearranjos de expansão e contração anelar.[11]

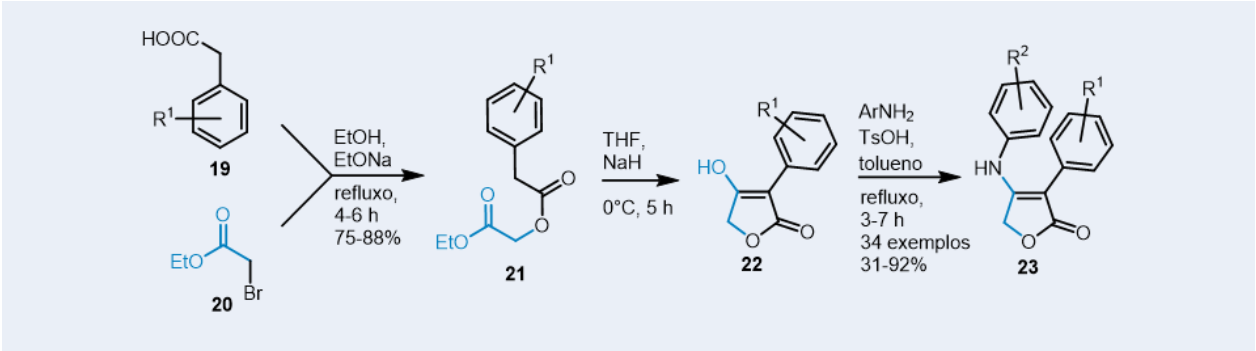
Um exemplo do emprego da estratégia de ciclização intramolecular (**i**) para a obtenção de tetronamidas pode ser visto no Esquema 1. Cianoidrinas (**16**) podem ser convertidas em butenolídeos β-amino substituídos pela acilação do grupo hidroxila seguido da geração de um enolato na porção acil inserida. O enolato gerado pode promover um ataque intramolecular ao carbono eletrofílico do grupo ciano e conduzir à formação da tetronamida (**18**) (Esquema 1).[11]




**Esquema 1.** Emprego da estratégia de ciclização intramolecular na síntese de tetronamidas.

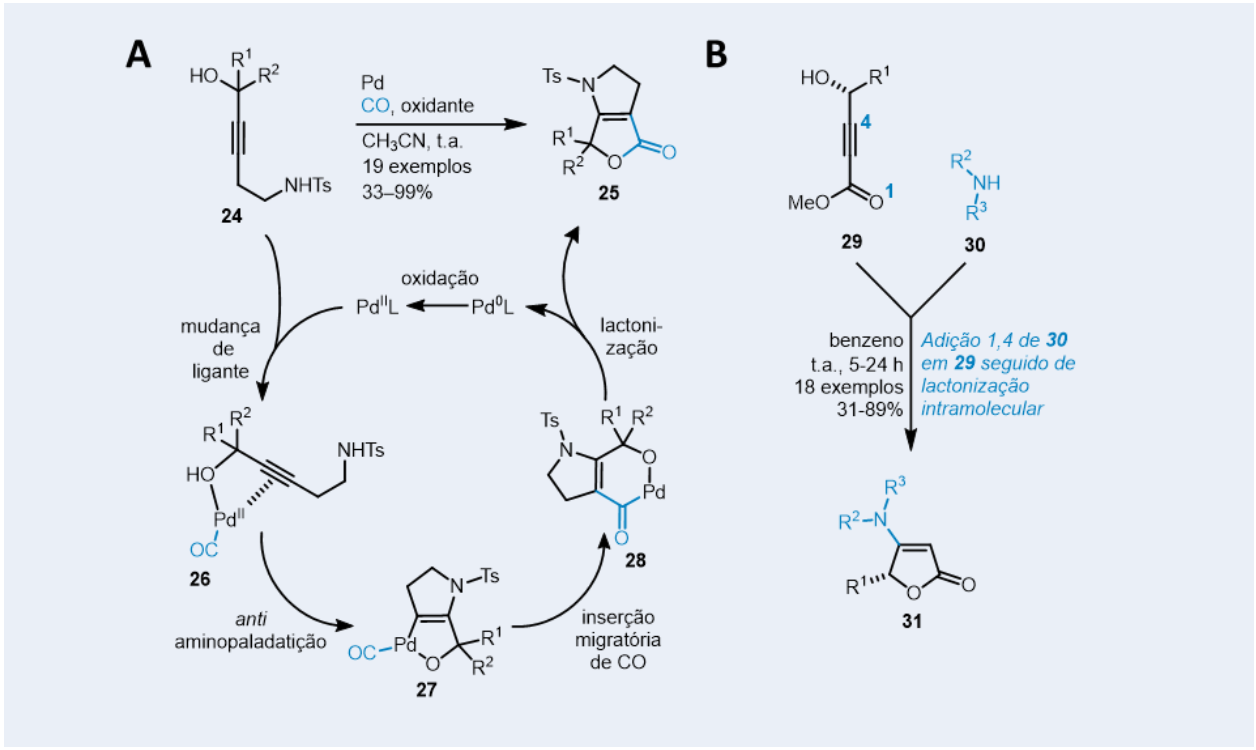
Ácidos fenilacéticos (**19**), quando convertidos em seus respectivos ésteres (**21**) pelo tratamento com bromoacetato de etila (**20**) via uma reação $S_N2$ (ou, segundo recomendação da IUPAC, $A_ND_N$, nota de rodapé[1]), podem conduzir a butenolídeos por meio de uma ciclização intramolecular (Esquema 2). Essa ciclização pode ser promovida pelo tratamento de **21** com NaH que desprotona o carbono benzílico (carbânion estabilizado por ressonância) e conduz a um ataque intramolecular à porção éster terminal da estrutura, levando à formação de um anel de 5 membros, o ácido tetrônico **22**. O tratamento de **22** com aminas na presença catalítica de ácido leva à tetronamida por meio de uma reação *aza*-Michael adição/eliminação (substituição vinílica) (**ii**) que corresponde a uma adição 1,4 seguida de eliminação de água (mecanismo apresentado para sistema similar na seção de resultados e discussão – Esquema 8).[11,15]

[1] O Sistema para representação simbólica de mecanismos de reação recomendado pela IUPAC aplica a representação $A_ND_N$ para reações as reações $S_N2$ (sistema de Ingold). O sistema proposto pela IUPAC descreve o mecanismo em termos da formação de ligações (A – do inglês *attachment*) e quebra de ligações (D – do inglês *dettachment*). Nesse Sistema, sub-índices são utilizados para denotar o padrão de movimento de elétrons. Assim, $A_ND_N$ descreve um processo sincronizado pela formação de uma ligação com o nucleófilo e rompimento de uma ligação com o nucleófugo (grupo abandonador). Maior detalhamento pode ser obtido em "Sistema para a representação simbólica de mecanismos de reação (recomendações 1988), *Química Nova*, V. 17, p. 1, 1994"




**Esquema 2**. Obtenção de tetronamidas por reações *aza*-Michael adição/eliminação, em que $R^1$ e $R^2$ = halogênio, $NO_2$, $CH_3$, OBn ou OMe.

Alquinos como precursores sintéticos (**iii**) também são úteis para a construção do núcleo tetronamida. Essas reações, a depender do substrato, podem[32] ou não[33] serem mediadas por catalisadores de paládio (Esquema 3).[11]




**Esquema 3**. Síntese de tetronamidas empregando alquinos como precursores sintéticos, em que $R^1$, $R^2$ e $R^3$ = H, alquil, fenil ou Bn.

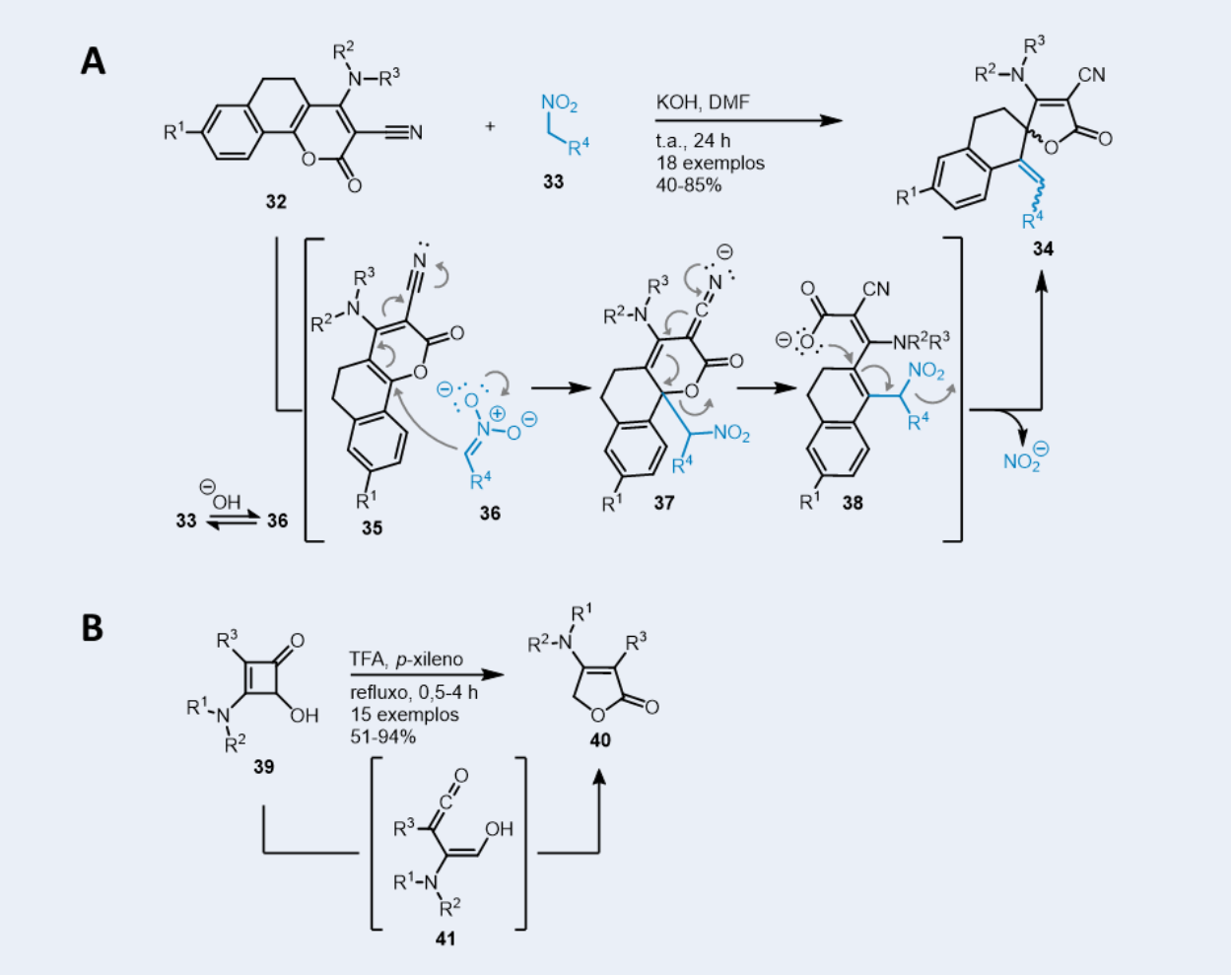
As reações envolvendo paládio na formação de tetronamidas a partir de alquinos tem como etapa inicial a coordenação do metal, em estado oxidado, ao sistema π (**26**). Na medida em que se forma a nova ligação N-C, uma ligação π é rompida e uma ligação

entre C-Pd se forma (**27**). A inserção migratória de CO pode então ocorrer (**28**) resultando, após eliminação redutiva do Pd, na tetronamida **25** (Esquema 3 A).[32]

Alquinos conjugados a ésteres contendo o grupo químico -OH (**29**) também podem dar origem à tetronamidas sem o auxílio de catalisadores metálicos. Essa transformação ocorre via tratamento destes alquinos com aminas (Esquema 3 B). Essas reações se iniciam por uma adição vinílogа ao sistema π conjugado que, após etapas de prototropismo, conduz a um intermediário que pode sofrer uma esterificação intramolecular (lactonização) e originar a respectiva tetronamida (**31**) pelo fechamento do anel butenolídeo.[33]

Ademais, tetronamidas podem ser alcançadas por reações envolvendo contração (Esquema 4 A)[34] ou expansão de anel (Esquema 4 B) (**iv**).[35] No primeiro exemplo (Esquema 4 A), tem-se a contração de um anel lactônico de seis membros. Isso ocorre por uma adição do nitrocomposto nucleofílico (**36**) à dupla eletrofílica do sistema lactônico, uma adição 1,6. Nessa adição, a carga negativa do intermediário (**37**) está dispersa pelos grupos ciano e éster. Na etapa seguinte, ocorre a abertura do anel lactônico tendo como grupo abandonador um carbolixato (**38**). Uma nova ciclização tendo como grupo abandonador nitrito ($NO_2^-$) é capaz de fechar um anel de cinco membros e conduzir à tetronamida **34**.[11,34]

Anéis de quatro membros com substituintes adequados podem, em condições ácidas, originar tetronamidas (Esquema 4 B). Sob aquecimento, esses sistemas altamente tensionados podem, por migrações eletrônicas, abrir (**41**) de modo que um ataque intramolecular permite, após etapa de protonação do sistema π, a formação da tetronamida correspondente.[11,35]




**Esquema 4**. **A**. Síntese de tetronamida envolvendo reação de contração anelar. $R^1$ = H ou OMe, $R^4$ = H ou $CH_3$, $NR^2R^3$ = amina cíclica secundária **B**. Síntese de tetronamida por meio da reação de expansão de anel. $R^1$ e $R^2$ = H, alquil, $CH_2$=$CHCH_2$, $R^3$ = H, Ph ou $^n$Bu.

Conforme foi apresentado, são diversas as metodologias descritas na literatura para a síntese e funcionalização do núcleo tetronamida, bem como é amplo o espectro de bioatividades dessa classe de substâncias. Conforme será apresentado e justificado a frente, baseado em trabalho prévio do grupo de pesquisa,[22] e também no que foi exposto nesta seção, objetivou-se o preparo de novas tetronamidas no intuito de melhor investigar a ação cianobactericida e herbicida das mesmas.

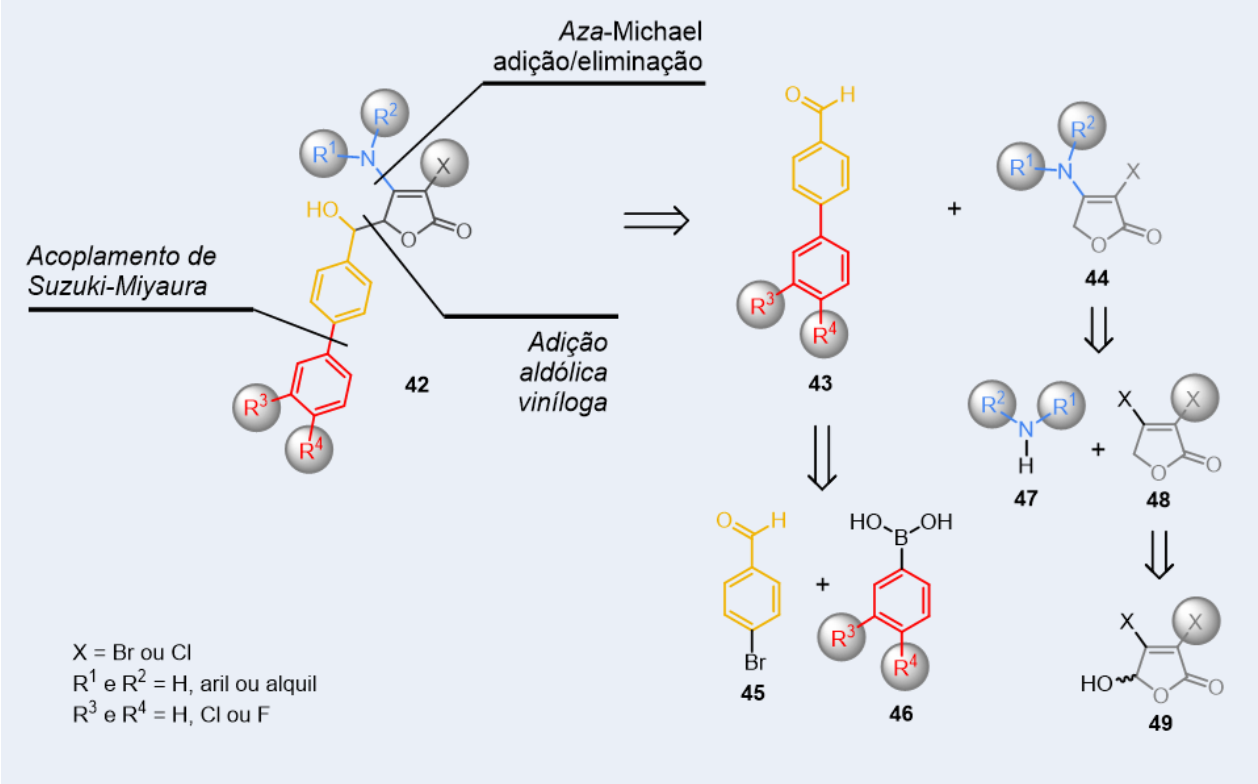
## 3.2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Baseado na extensa gama de bioatividades reportadas para as tetronamidas mostradas na introdução deste capítulo, justifica-se a síntese de novos butenolídeos β-amino substituídos no intuito de obter novos compostos potencialmente bioativos.

Objetiva-se, assim, a síntese e exploração do potencial agroquímico de novas tetronamidas contendo a unidade bifenila, que assim como já relatado pelo grupo de pesquisa, parece ser uma substituição chave nos butenolídeos para a atividade cianobactericida, visto que análogos que não a possuem não ocasionam atividade considerável.[22] Além da avaliação da atividade contra cianobactérias, no intuito de verificar a seletividade das substâncias para a ação cianobacteriana, pretende-se investigar a atividade dos compostos sintetizados quanto à sua ação herbicida e inibitória do sistema transportador de elétrons.

## 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese dos compostos almejados foi planejada tendo como etapa inicial a construção do núcleo tetronamida (**44**), que se almejou obter por meio de uma reação de adição/eliminação vinílogа entre uma amina e o butenolídeo **48**. A síntese de **48**, por sua vez, foi racionalizada por meio da redução quimiosseletiva do respectivo ácido mucoalogênico comercial (**49**). A obtenção das moléculas finais (**42**) foi pensada tendo como etapa chave uma adição aldólica vinílogа entre uma tetronamida previamente sintetizada e um aldeído contendo o anel bifenila (**43**) que, segundo trabalhos do grupo, mostra-se ser importante para as bioatividades já investigadas para moléculas análogas às que têm a sua síntese relatadas neste capítulo.[22] Por fim, a síntese do aldeído bifenílico utilizado na etapa de adição aldólica foi planejada por meio de um acoplamento de Suzuki entre o *p*-bromobenzaldeído (**45**) e o respectivo ácido borônico (**46**) (Esquema 5).




**Esquema 5**. Estratégia sintética adotada na construção das tetronamidas bifeniladas.

Estão mostrados na Figura 3 os blocos construtores das tetronamidas de estrutura geral **42** que foram possíveis de sintetizar com as metodologias descritas na seção de metodologias.

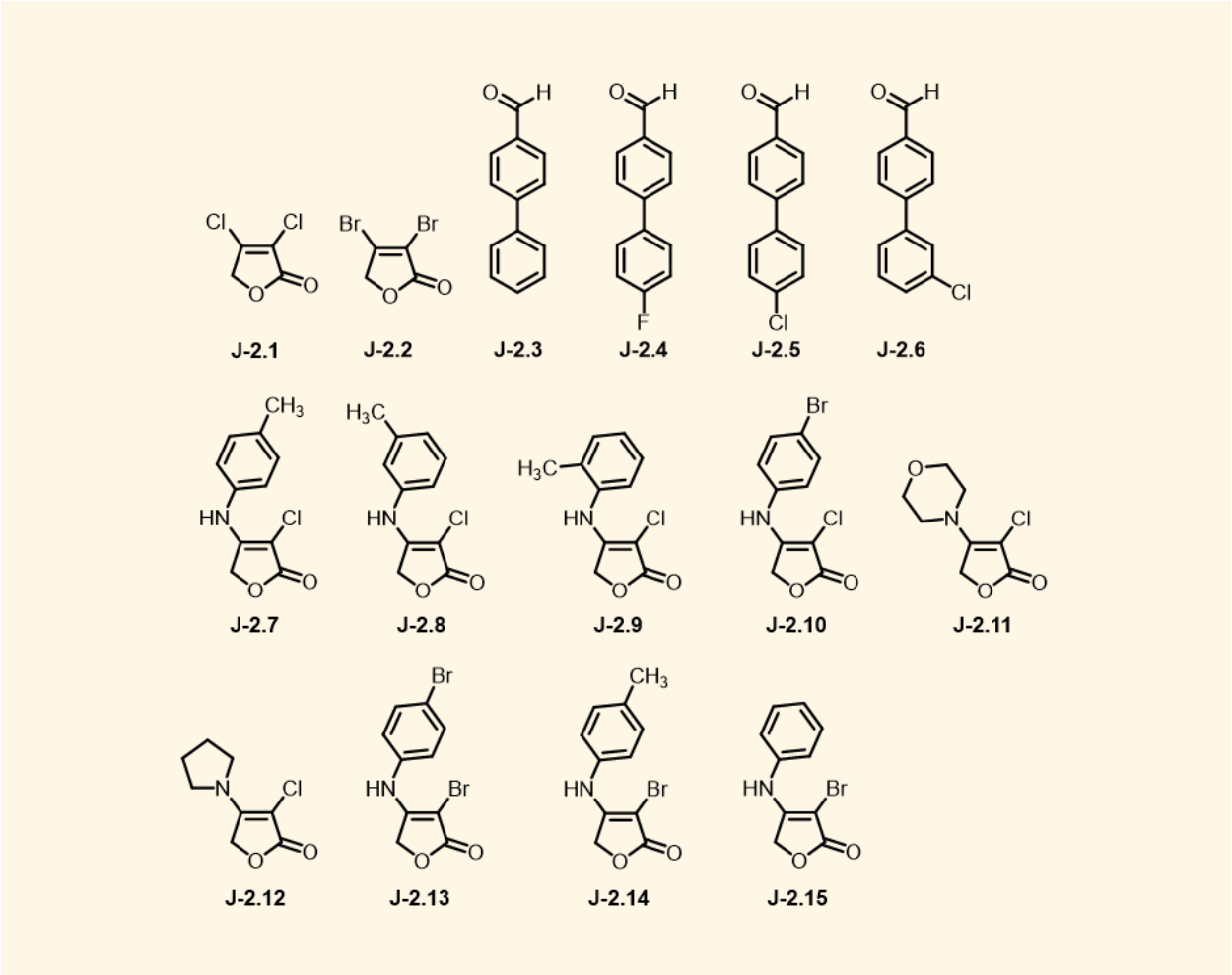



**Figura 3.** Blocos construtores das tetronamidas de estrutura geral **42** que foram possíveis de obter na presente tese.

A combinação entre os aldeídos (**J-2.3** a **J-2.6**) e as tetronamidas (**J-2.7** a **J-2.15**) apresentadas na Figura 3 possibilitou a síntese de 20 tetronamidas de estrutura geral **42** (rendimento 19% a 85%). Os produtos finais obtidos estão representados na Figura 4.

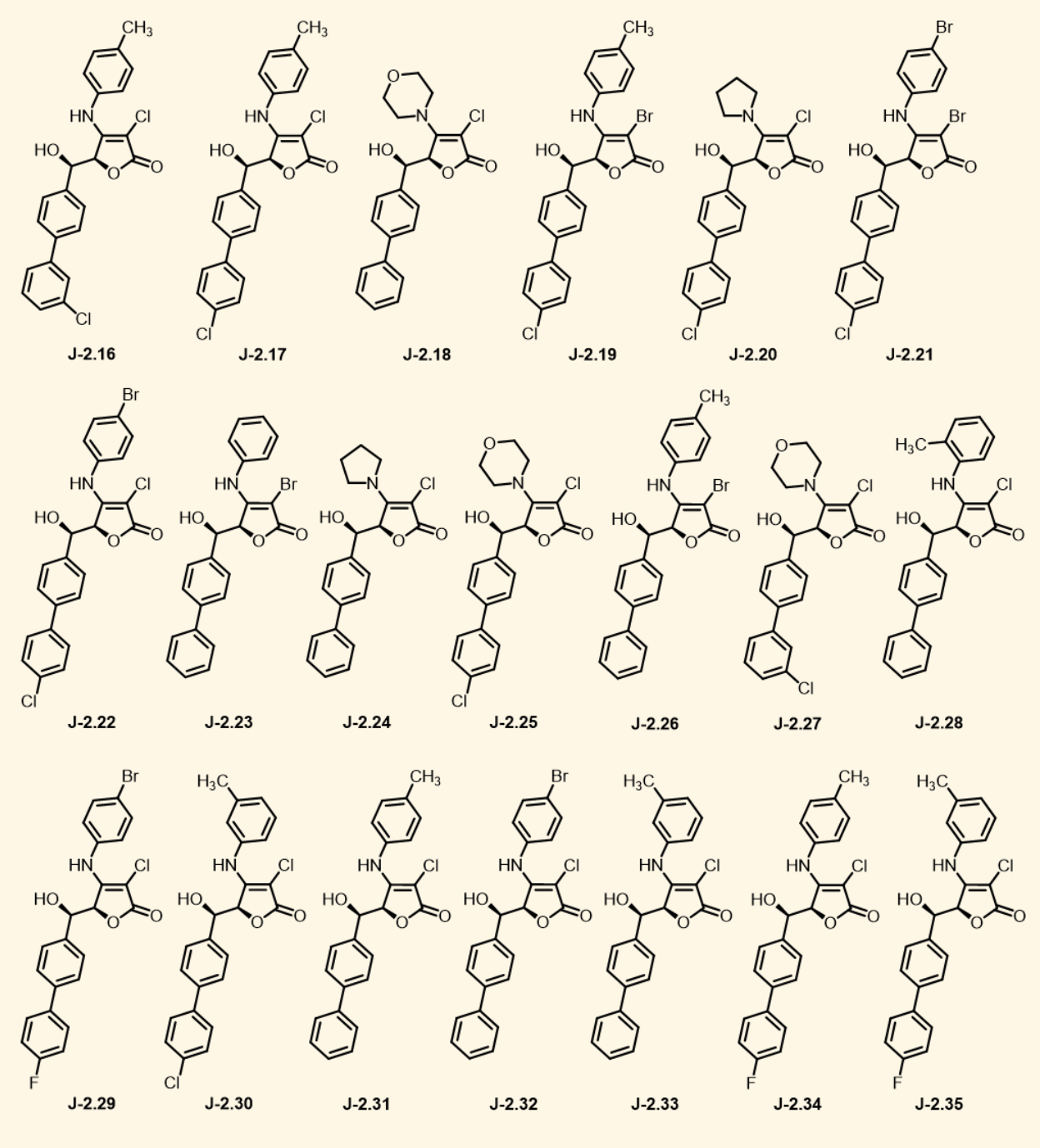
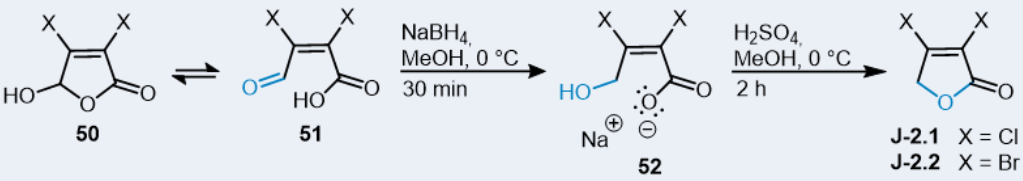



**Figura 4.** Tetronamidas de estrutura geral **42** que foram sintetizadas no presente trabalho.

A seguir, serão discutidas as sínteses dos intermediários e produtos finais obtidos, bem como aspectos chave da caracterização desses compostos e os mecanismos que explicam o sucesso das reações apresentadas na seção de metodologias.

### 3.3.1 Síntese dos butenolídeos 3,4-dialofuran-2(5*H*)-onas J-2.1 e J-2.2

No intuito de obter as tetronamidas, iniciaram-se as transformações químicas com a preparação dos butenolídeos **J-2.1** e **J-2.2**. A primeira reação consiste na conversão dos ácidos mucoclórico (**50**, X = Cl) e mucobrômico (**50**, X = Br) em seus respectivos derivados butenolídeos não substituídos na posição γ. Para tal, fez-se a redução seletiva do aldeído **51** com o emprego de borohidreto de sódio e, em seguida, acidificou-se o meio reacional para promover uma ciclização intramolecular e conduzir aos produtos **J-2.1** e **J-2.2** (Esquema 6).



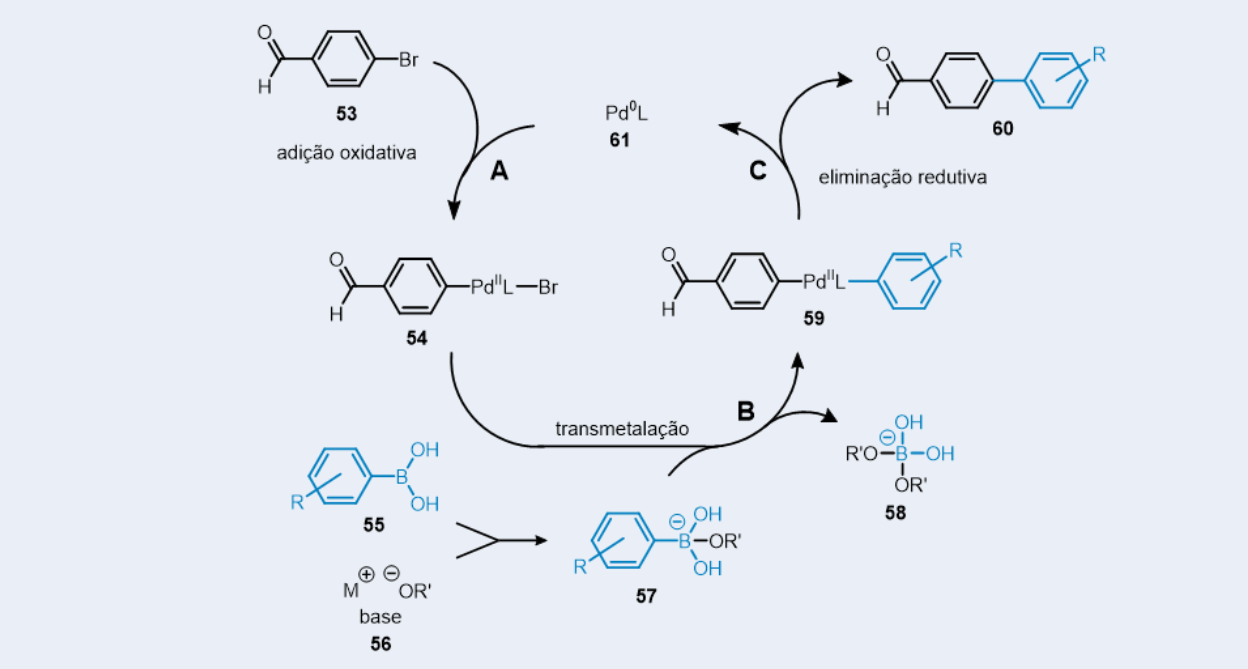

**Esquema 6.** Condições de reação para a redução dos ácido mucoalogênicos.

Os compostos **J-2.1** e **J-2.2** foram obtidos em 79% e 85% de rendimento, respectivamente. Essas substâncias foram identificadas por meio de análises de ressonância magnética nuclear e os dados obtidos coincidem com os encontrados na literatura.[22,39,43] A saber, para ambos, no espectro de RMN de $^{1}H$, observa-se a presença de um simpleto em $\delta$ próximo a 4,85 ppm referente aos hidrogênios metilênicos H5. No espectro de RMN de $^{13}C$ observam-se apenas quatro sinais. O sinal da carbonila é observado em torno de 166 ppm. Os sinais de C4 e C3 são observados em $\delta$ próximos a 144,0 e 115,0 ppm e o sinal do carbono C5 em 74,4 ppm.

### 3.3.2 Síntese dos aldeídos bifenílicos J-2.3 a J-2.6

Os aldeídos bifenílicos foram sintetizados via acoplamento de Suzuki-Miyaura. Essa reação é de grande utilidade sintética na formação de novas ligações carbono-carbono produzindo sistemas conjugados de alcenos, estirenos ou compostos biarílicos. A reação ocorre via um ciclo catalítico de paládio (Esquema 7), no qual, inicialmente, uma espécie catalítica de $Pd^{0}$ reage com um eletrófilo orgânico via reação de adição oxidativa,

levando à formação de um complexo organometálico de $Pd^{II}$ (**54**) (A). A etapa seguinte do ciclo ocorre pelo ataque de uma base ao átomo de boro, que leva à formação do intermediário **57**, que possui maior nucleofilicidade do grupo orgânico (fenil) ligado ao boro do que **55**. A formação de **57** facilita a transferência do grupo fenil para o Pd na etapa de transmetalação (B). A última etapa do ciclo consiste em uma eliminação redutiva, na qual se forma uma nova ligação C-C (C). Nesta etapa, o metal volta ao estado de oxidação original, regenerando o catalisador que pode sofrer nova adição oxidativa, que dará início a um novo ciclo.[44]




**Esquema 7.** Ciclo catalítico da reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura.[44]

A caracterização dos compostos obtidos via acoplamento de Suzuki-Miyaura (rendimentos 88% a 94%, 4 substâncias) deu-se principalmente por espectroscopia na região do infravermelho e RMN de $^{1}H$ e $^{13}C$. Como exemplo de caracterização, no espectro de RMN de $^{1}H$ do composto **J-2.4** (Figura AP-2.8 – Apêndice B) observou-se em 9,96 ppm o sinal referente ao hidrogênio da função aldeído. Na região de sinais de hidrogênios aromáticos, foi possível observar o restante dos sinais dos hidrogênios da molécula (6,9 a 7,9 ppm). No espectro de RMN de $^{13}C$ foi possível observar todos os sinais dos carbonos da molécula bem como os acoplamentos carbono-flúor com valores de constante de acoplamento típicos para este sistema[45] (Figura 5).

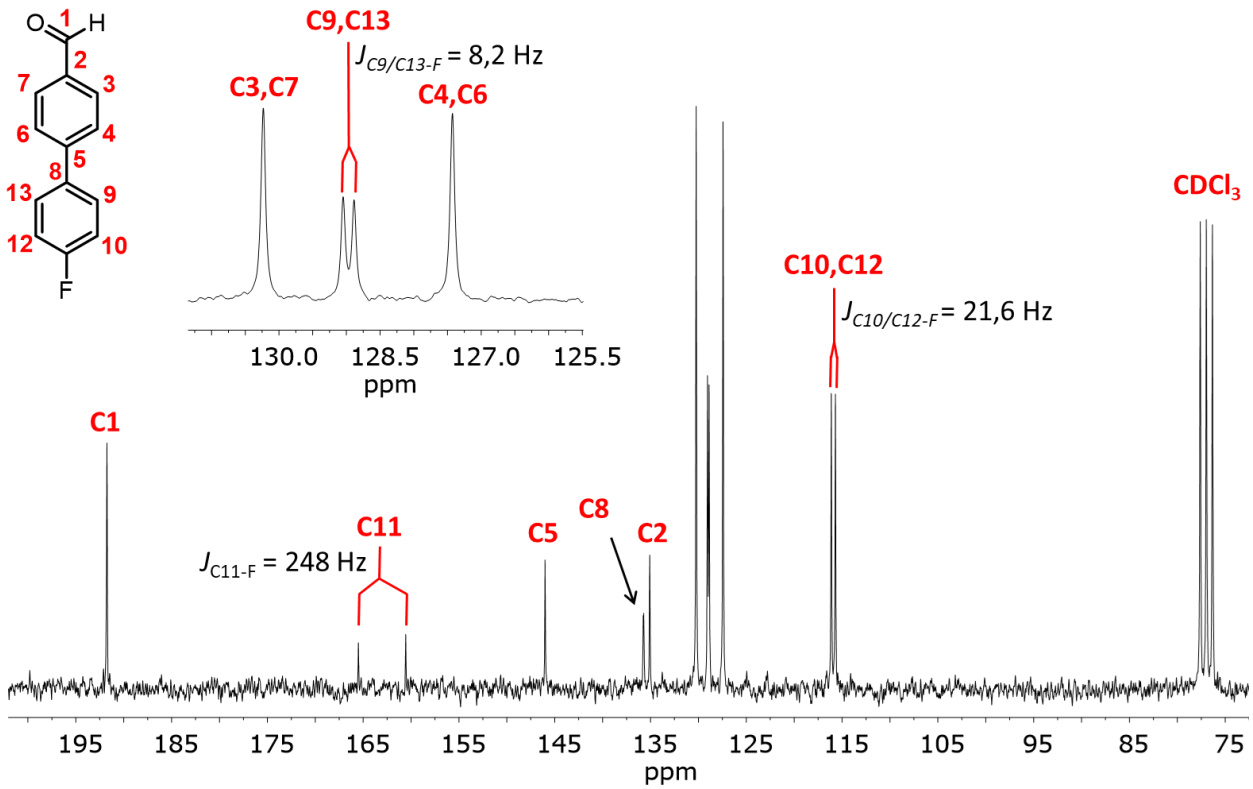
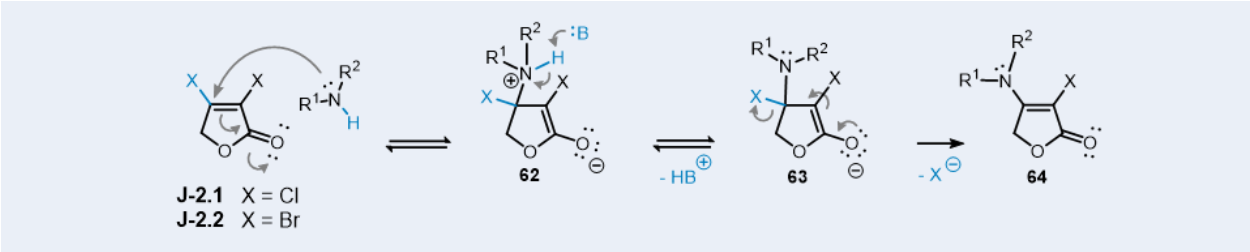



**Figura 5**. Espectro de RMN de $^{13}C$ (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.4**.

### 3.3.3 Síntese das tetronamidas J-2.7 a J-2.15

Inicialmente foram propostas a síntese de diversas tetronamidas (**64**) por meio da reação de *aza*-Michael adição/eliminação entre os compostos **J-2.1** e **J-2.2** e diferentes aminas. Em especial, buscando a síntese de moléculas inéditas, ou que foram pouco exploradas quanto suas atividades biológicas, foi proposto a síntese de tetronamidas derivadas de anilinas contendo grupos retiradores de densidade eletrônica (*p*-nitroanilina, *m*-nitroanilina e *p*-cianoanilina) e anilinas contendo halogênio na posição *orto* (*o*-cloroanilina e *o*-bromoanilina).

Os produtos que foram possíveis de serem obtidos estão apresentados na Figura 3. O preparo dessas substâncias (**J-2.7** a **J-2.15**) ocorreu utilizando metanol como solvente e bicarbonato de sódio como base. O mecanismo dessa transformação química está ilustrado no Esquema 8.



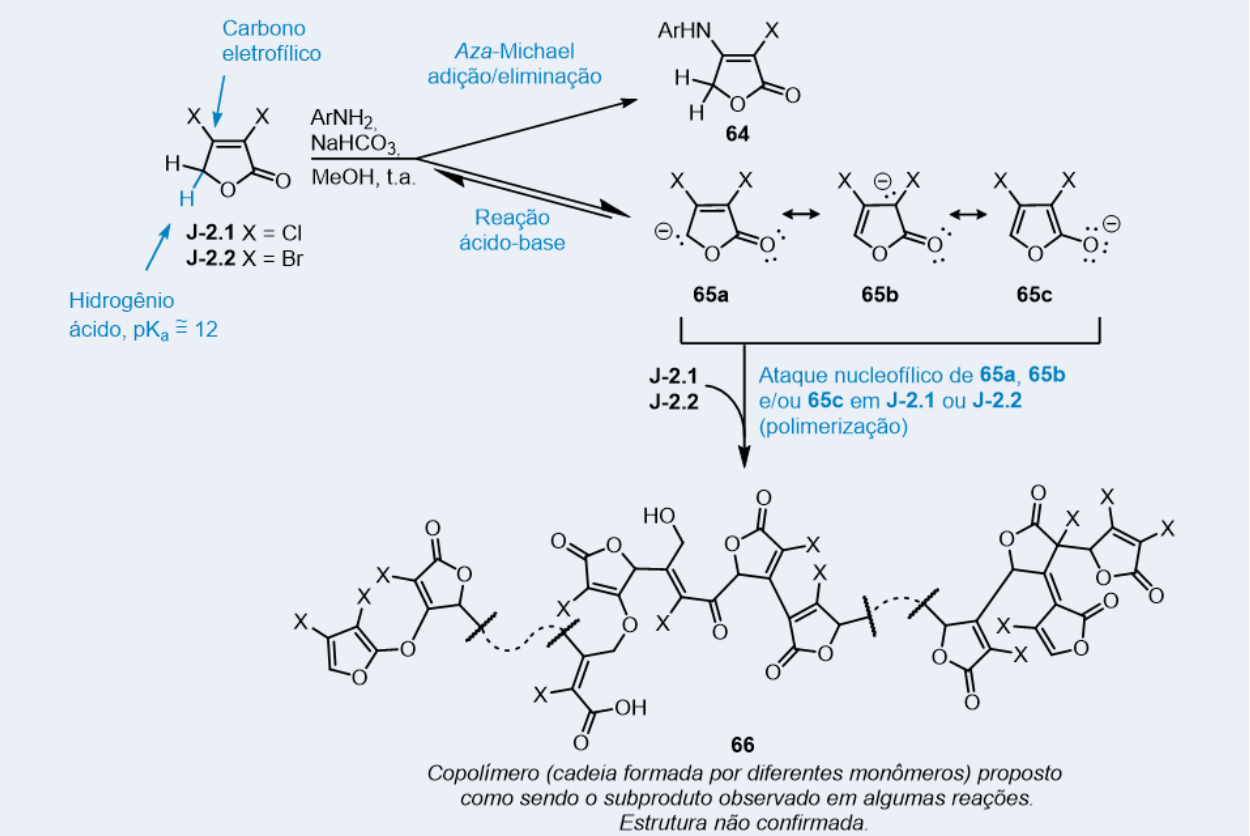

**Esquema 8.** Mecanismo da reação de *aza*-Michael adição/eliminação para a formação do núcleo tetronamida (**64**). B = base presente no meio (amina que ainda não reagiu ou $HCO_3^-$).

Embora as reações com as anilinas *para* substituídas por Br, $CH_3$, H ou $OCH_3$ ocorram com sucesso (rendimentos 33% a 98%), diversas tentativas foram executadas para obter as tetronamidas inicialmente propostas a partir das anilinas *p*-nitro, *p*-ciano, *o*-bromo, *o*-cloro ou *m*-nitro substituídas (Tabela 2, discutida mais adiante). Em nenhuma dessas tentativas obteve-se os produtos almejados. Supõem-se e justifica-se o insucesso dessas reações por uma competição entre a nucleofilicidade do enolato **65** e das aminas empregadas (Esquema 9).[43,46] A seguir, será discutido a respeito da reação paralela que ocorre nesse sistema. Foi proposto a formação do produto de polimerização/degradação **66**, mas a sua estrutura química não foi confirmada. No entanto, o foco da discussão aqui levantada se dá a respeito dos mecanismos e condições que levam à degradação do precursor butenolídeo **J-2.1** ou **J-2.2**.

Devido à existência do hidrogênio ácido γ-carbonílico nos butenolídeos **J-2.1** e **J-2.2** (base conjugada estabilizada por ressonância (**65a**, **65b** e **65c**)), pode-se escrever o equilíbrio ácido-base representado no Esquema 9, caminho B. Como a presença de base no meio reacional (aminas) desloca o equilíbrio no sentido da formação do enolato **65**, o emprego de aminas como nucleófilo para a formação das tetronamidas (Esquema 9, caminho A) permite com que seja possível a reação paralela representada pelo caminho B, visto que a presença de aminas (base) no meio reacional provoca aumento na concentração do nucleófilo **65** (deslocamento do equilíbrio B, Esquema 9, nota de rodapé [2] página seguinte) que compete pelo ataque nucleofílico em **J-2.1** ou **J-2.2** com a amina.

Assim, a proporção entre os produtos **64** e **66** deve ser proporcional à nucleofilicidade de **65**, à nucleofilicidade da amina e à basicidade da amina empregada na formação da tetronamida. A formação do polímero **66**, de estrutura não definida proposto como sendo o subproduto observado nas reações, é explicada pelo ataque nucleofílico de **65** ao substrato **J-2.1** ou **J-2.2**. Teoricamente, são possíveis várias formas de ataque do nucleófilo de **65** (carga negativa dispersa sobre 3 diferentes átomos – **65a**,

**65b** e **65c**) ao substrato **J-2.1** ou **J-2.2** que possui dois sítios eletrofílicos (carbono carbonílico e carbono β-carbonílico), daí a formação de um copolímero (cadeia polimérica formada por diferentes monômeros) como proposto (**66**).




**Esquema 9.** Proposta de reação paralela que ocorre na tentativa de executar reação de *aza*-Michael adição/eliminação nos butenolídeos **J-2.1** e **J-2.2** com aminas pouco nucleofílicas.

---

[2] A relação entre o $pk_aH$ da amina e a capacidade dessa desprotonar o butenolídeo (HBut) e, consequentemente, produzir o enolato ($But^-$) e a amina protonada ($Hamina^+$) pode ser racionalizada conforme a sequência a seguir:

(**1**) para o equilíbrio $HBut \rightleftharpoons H^+ + But^-$, pode-se escrever $K_1 = [But^-]\cdot[H^+] / [HBut] = 10^{-pka\ butenolídeo}$.

(**2**) para o equilíbrio $Hamina^+ \rightleftharpoons H^+ + amina$, pode-se escrever $K_2 = [amina]\cdot[H^+] / [Hamina^+] = 10^{-pKaH\ amina}$.

(**3**) para a reação entre a amina e o butenolídeo: $amina + HBut \rightleftharpoons Hamina^+ + But^-$, pode-se escrever $K_3 = [But^-]\cdot[Hamina^+] / [amina]\cdot[HBut]$.

Como pode ser observado, a razão entre as concentrações das espécies químicas que representa $K_3$ também pode ser obtida dividindo $K_1$ por $K_2$. Logo, $K_3 = K_1/K_2$ e, assim, a constante de equilíbrio da reação representada em (**3**) vale $10^{-pka\ butenolídeo} / 10^{-pKaH}$. Tomando como exemplo a reação entre a anilina ($pK_aH$ = 4,58) e o butenolídeo ($pK_a$ = 12), tem-se a constante de equilíbrio da reação = $3{,}80 \times 10^{-8}$.

Deve-se fazer a ressalva de que o valor da constante de equilíbrio (k) não tem relação com a cinética do processo. Desse modo, reações que tenham constante de equilíbrio pequenas podem ter cinética favorável e, assim, com o consumo de um dos constituíntes do equilíbrio, pode-se rapidamente formar mais da espécie consumida.

Nesse sentido, a nucleofilicidade da amina empregada na obtenção das tetronamidas parece ser um fator chave para o sucesso das reações. Os conceitos de nucleofilicidade e basicidade estão correlacionados por uma tendência geral em que a nucleofilicidade aumenta com o aumento da basicidade. No entanto, restrições estéricas no nucleófilo e no eletrófilo são, no geral, mais pronunciadas nas reações de ataque nucleofílico do que as reações ácido-base. A previsão da tendência de uma amina ser melhor nucleófilo ou base, pode, no entanto, não ser trivial.

Embora os valores de nucleofilicidade de Mayr[47] não estejam disponíveis para uma grande variedade de anilinas, os valores de $pK_aH$ (Tabela 1)[48–51] estão, e podem fornecer informações acerca da grande influência dos substituintes na basicidade das anilinas e consequentemente na sua nucleofilicidade.

**Tabela 1.** Valores de $pK_aH$ para anilinas monosubstituídos por diferentes grupos químicos nas posições *orto*, *meta* e *para*.[48–51]

| Substituinte | *orto* | *meta* | *para* |
|---|---|---|---|
| **$OCH_3$** | 4,52 | 4,20 | 5,29 |
| **$CH_3$** | 4,44 | 4,69 | 5,12 |
| **Cl** | 2,65 | 3,34 | 3,98 |
| **Br** | 2,53 | 3,51 | 3,91 |
| **$CF_3$** | 1,10 | 3,49 | 2,45 |
| **CN** | 0,77 | 2,76 | 1,74 |
| **$NO_2$** | -0,26 | 2,47 | 1,02 |

* pKaH anilina = 4,58

A análise da Tabela 1 permite perceber que a presença de grupos retiradores de densidade eletrônica, como $-NO_2$, $-CF_3$ e -CN, provoca queda expressiva nos valores de pKaH das respectivas anilinas. Essa observação sugere que anilinas contendo tais grupos apresentem baixa nucleofilicidade.[47]

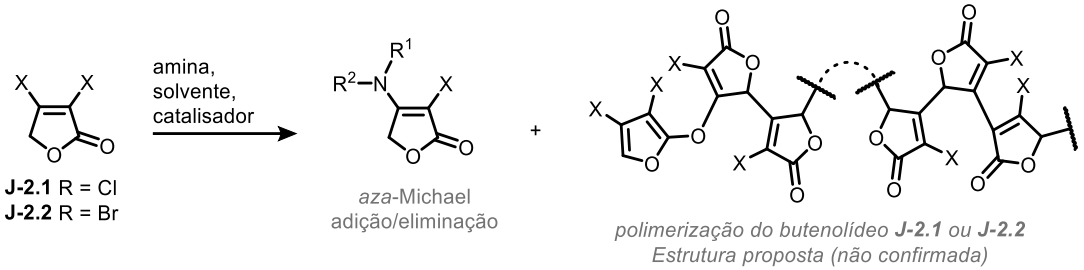
Justifica-se, assim, o insucesso da reação *aza*-Michael adição/eliminação com aminas *orto* substituídas (*o*-cloroanilina e *o*-bromoanilina) pelo efeito estérico causado pelo grupo substituinte que pode diminuir a nucleofilicidade da anilina e justifica-se também o insucesso com aminas contendo grupos retiradores de densidade eletrônica (*p*-nitroanilina, *m*-nitroanilina e *p*-cianoanilina) pelo decréscimo da nucleofilicidade que esses grupos podem causar no par de elétrons livres do nitrogênio, assim como sugerem

os valores de $pK_aH$. Esses fatores podem então tornar a amina menos nucleofílica do que o enolato **65** fazendo predominar o produto de ataque de **65** ao butenolídeo **J-2.1** ou **J-2.2** em detrimento do produto de ataque da amina empregada (Esquema 9).

Apesar de mais estudos serem necessários, acredita-se que o subproduto observado nessas reações seja o polímero de cadeia irregular apresentado no Esquema 9. Esta proposta é sustentada pela observação experimental de que a solubilização de apenas **J-2.1** ou **J-2.2** em DCM anidro, THF anidro ou metanol e a adição de base (bicarbonato de sódio, carbonato de potássio ou piridina) leva a solução de incolor para marrom escura e com formação de precipitado marrom escuro, que é o mesmo resultado observado nas tentativas de insucesso no preparo de algumas tetronamidas. O material precipitado teve sua solubilidade testada em diferentes solventes e apenas DMSO mostrou-se capaz de solubilizá-lo. A tentativa de caracterizar o material por espectroscopia de RMN em DMSO-$d_6$ não foi bem sucedida. Os espectros de RMN de $^{1}H$ e $^{13}C$ não apresentaram sinais nítidos. Apenas sinais na altura de ruídos foram observados mesmo executando os experimentos de RMN com massa e tempo que seriam suficientes para a aquisição dos sinais (tentativas com 30 mg/mL e 60 mg/mL do material sólido em DMSO-$d_6$ durante 10 horas de aquisição de sinais de $^{13}C$). Tal observação é compatível com a estrutura de uma mistura complexa de copolímeros nos quais as estrutura não apresenta um padrão de repetição das unidades monoméricas e nem possuem o mesmo número de monômeros, não permitindo, assim, a aquisição de um espectro de RMN resolvido.

Com o intuito de obter tetronamidas por meio de anilinas substituídas pelos grupos *o*-Cl, *o*-Br, *p*-$NO_2$, *m*-$NO_2$ ou *p*-CN, inúmeras tentativas, em diferentes condições reacionais, foram empregadas (Tabela 2), a seguir será apresentado as condições empregadas e a racionalização das tentativas.

**Tabela 2.,** Tentativas mal sucedidas da obtenção de tetronamidas a partir de aminas pouco nucleofílicas ou estericamente impedidas.




| Reação | Condições reacionais | Resultado experimental |
|---|---|---|
| **R1** | Em um tudo de ensaio foram adicionados **J-2.1** (20 mg, 0,13 mmol), metanol (4 mL) e *p*-nitroanilina (36 mg, 0,26 mmol). O sistema foi mantido em agitação por 12 h em t.a. | Escurecimento da reação (de amarelo claro para marrom escuro/preto) com cerca de 20 min, não foi observado (CCD) formação de produto nem consumo da amina. |
| **R2** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo o **J-2.1** pelo **J-2.2** (31 mg, 0,13 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R3** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo a *p*-nitroanilina pela *m*-nitroanilina (36 mg, 0,26 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R4** | Procedimento semelhante à reação **R3**, substituindo o **J-2.1** pelo **J-2.2** (31 mg, 0,13 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R5** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo a *p*-nitroanilina pela *p*-cianoanilina (31 mg, 0,26 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R6** | Procedimento semelhante à reação **R5**, substituindo o **J-2.1** pelo **J-2.2** (31 mg, 0,13 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R7** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo a *p*-nitroanilina pela *o*-cloroanilina (34 mg, 0,26 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R8** | Procedimento semelhante à reação **R7**, substituindo o **J-2.1** pelo **J-2.2** (31 mg, 0,13 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R9** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo a *p*-nitroanilina pela *o*-bromoanilina (44 mg, 0,26 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R10** | Procedimento semelhante à reação **R9**, substituindo o **J-2.1** pelo **J-2.2** (31 mg, 0,13 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |

| | | |
|---|---|---|
| **R11** | Em um balão de 10 mL foram adicionados **J-2.1** (20 mg, 0,13 mmol), metanol:água 2:1 (v/v) (5 mL), $NaHCO_3$ (17 mg, 0,2 mmol) e *p*-nitroanilina (18 mg, 0,13 mmol). O sistema foi mantido em agitação por 8 h em t.a. Após esse período, o sistema foi refluxado por 2 h. | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R12** | Procedimento semelhante à reação **R11**, tendo como modificação a adição de todos reagentes a 0 °C e mantendo o experimento durante essa temperatura por 6 h. Experimento não foi aquecido. | Semelhante ao resultado observado na reação **R1**. Com a demora de 1 h para observar o escureciemento do meio reacional. |
| **R13** | Procedimento semelhante à reação **R11**, porém sem a adição de $NaHCO_3$. | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R14** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo metanol por água (4 mL) | Reagentes não foram solúveis. Foi observado escurecimento da suspensão após 1h. Após aquecer, houve a formação de uma graxa preta. |
| **R15** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo metanol por acetato de etila (4 mL) | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R16** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo metanol por THF anidro (4 mL) | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R17** | Procedimento semelhante à reação **R1**, substituindo metanol por tolueno anidro (4 mL) | Idem ao resultado observado na reação **R1**. |
| **R18** | Em um tubo de ensaio foram adicionados metanol (5 mL), $NaHCO_3$ (58 mg, 0,7 mmol) e *p*-nitroanilina (18 mg, 0,13 mmol). Lentamente (ao longo de 2h), foi adicionado **J-2.1** (100 mg, 0,7 mmol). O sistema foi mantido durante todo o experimento (duração total de 6 h) a 0 °C sob agitação. | Escurecimento da reação (de amarelo claro para marrom escuro/preto). O escurecimento se iniciou após cerca de 50 min de reação. Não foi observado (CCD) formação de produto nem consumo da amina. |
| **R19** | Em um tubo de ensaio foram adicionados metanol (5 mL) e **J-2.1** (20 mg, 0,13 mmol). Lentamente (ao longo de 2h), foi adicionado a *p*-nitroanilina (36 mg, 0,26 mmol). O sistema foi mantido durante todo o experimento (duração total de 6 h) a 0 °C sob agitação. | Escurecimento da reação (de amarelo claro para marrom escuro/preto) na medida em que a amina foi adicionada. Não foi observado (CCD) formação de produto nem consumo da amina |

| | | |
|---|---|---|
| **R20** | Procedimento semelhante à reação **R18**, substituindo apenas a *p*-nitroanilina pela *p*-cianoanilina (16 mg, 0,13 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R18**. |
| **R21** | Procedimento semelhante à reação **R18**, substituindo apenas a *p*-nitroanilina pela *o*-cloroanilina (17 mg, 0,13 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R18**. |
| **R22** | Procedimento semelhante à reação **R20**, substituindo apenas o **J-2.1** pelo **J-2.2** (31 mg, 0,13 mmol). | Idem ao resultado observado na reação **R18**. |

Primeiramente, avaliou-se o preparo das tetronamidas contendo grupo retiradores de elétrons ou *o*-halo substituídas na porção *N*-aril em condições reacionais análogas (**R1** a **R10**) as que foram empregadas nos casos de sucesso (tetronamidas obtidas representadas na Figura 3). Como acredita-se que o produto de degradação observado seja um copolímero (Esquema 9), e como o $NaHCO_3$ é uma base mais forte ($pKa_{H_2CO_3}$ = 6,4) do que as aminas empregadas (anilinas *o*-Cl, *o*-Br, *p*-$NO_2$, *m*-$NO_2$ ou *p*-CN substituídas, pKaH Tabela 1), optou-se, no intuito de dificultar a formação de **65** (Esquema 9), por utilizar quantidade maior da respectiva amina no lugar do bicarbonato de sódio. Na hipótese da degradação dos butenolídeos **J-2.1** e **J-2.2** não estarem relacionadas à formação do enolato **65**, foi avaliado (**R11** e **R12**) condição idêntica à empregada nos casos de sucesso de preparo das tetronamidas (Figura 3), utilizando $NaHCO_3$ como base. Não foi observado formação de produto em nehuma tentativa.

Por acreditar que ambas reações (adição/eliminação de Michael e a reação paralela) ocorram por mecanismos iônicos, podendo, assim, o solvente ter grande papel na estabilização dos intermediários e também nos valores de nucleofilicidade e eletrofilicidade dos reagentes, foi avaliada a influência da polaridade do meio no intuito de obter maior seletividade para a formação da tetronamida em detrimento do subproduto. Os solventes avaliados foram: água (**R14**), água:MeOH 1:2 (v/v) (**R11**), MeOH (**R1** a **R10** e **R17** a **R21**), acetato de etila (**R15**), THF anidro (**R16**) e tolueno anidro (**R17**). Nenhuma modificação realizada provocou mudança significativa nos resultados experimentais, observando sempre a formação majoritária do subproduto de degradação.

Visando alcançar seletividade por meio da barreira energética necessária para atingir os estados de transição das reações, verificou-se a influência da temperatura. Como não se sabe qual estado de transição é mais energético (estado de transição que leva à tetronamida ou o que leva ao subproduto) avaliou-se as seguintes temperaturas:

0 ºC (**R12** e **R18** a **R22**), t.a. (≈ 25 ºC) (**R1** a **R11**, **R13** e **R14** a **R17**) e temperatura de refluxo (**R11** e **R13**). Novamente não se obteve êxito nas tentativas, observando a formação majoritária do subproduto independente da condição reacional.

Avaliou-se também a proporção estequiométrica dos reagentes (excesso ou não do butenolídeo) e o modo de adição dos mesmos: (**i**) adição lenta da amina, visando manter baixa a concentração de base (a amina) no meio reacional e assim assegurar menor quantidade do enolato **65** (**R19**); (**ii**) adição lenta do butenolídeo na tentativa de mater baixa a concentração de butenolídeo no meio reacional e assim diminuir a probabilidade de uma colisão efetiva entre um possível enolato **65** e o butenolídeo **J-2.1** ou **J-2.2** (**R18** e **R20** a **R21**); e (**iii**) adição de uma só vez de ambos reagentes (**R1** a **R17**). Nenhuma modificação provocou diferença significativa nos resultados experimentais. Observou-se, para todos os casos, a formação majoritária do subproduto.

Devido ao exaustivo insucesso das tentativas, decidiu-se não explorar mais as anilinas substituídas por grupos retiradores de densidade eletrônica ou halo-substituídas na posição *orto* como nucleófilos nas reações de aza-Michael adição/eliminação. Foi possível a síntese de 9 diferentes tetronamidas (Figura 3 - rendimentos 33% a 98%) e a escolha das aminas precursoras deu-se levando em conta os fatos já apresentados a respeito da sensibilidade da reação ao agente nucleofílico e os relatos de atividades biológicas de análogos previamente obtidos no grupo de pesquisa.[22]

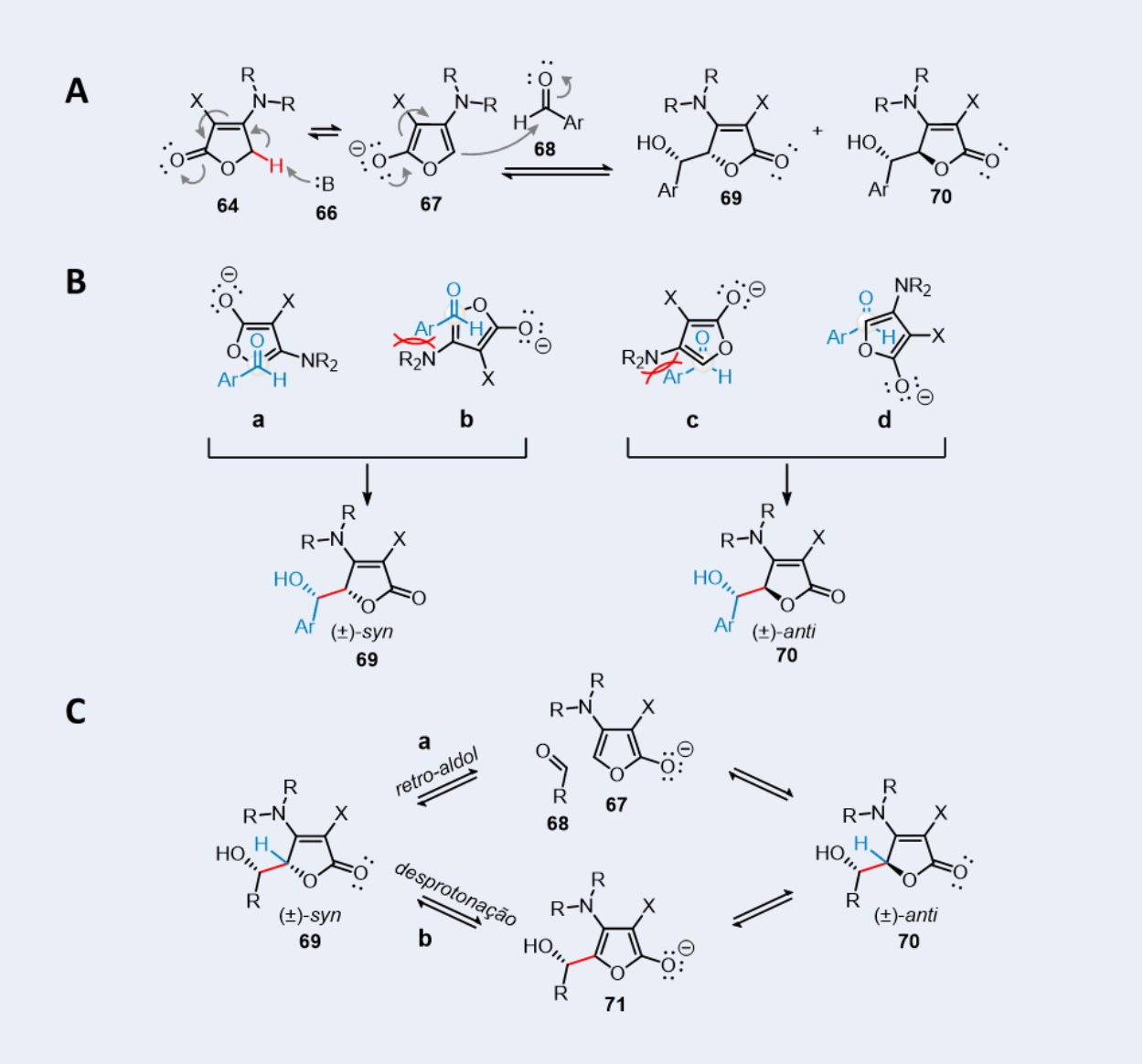
A elucidação estrutural dos produtos obtidos deu-se principalmente por espectroscopia de RMN de $^{1}H$ e $^{13}C$ nos quais, para os derivados contendo o anel benzênico (**J-2.7**, **J-2.8**, **J-2.9**, **J-2.10**, **J-2.13**, **J-2.14** e **J-2.15**), no espectro de RMN de $^{1}H$, entre 6,9 e 7,5 ppm foram observados todos os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos das moléculas. Próximo a 5,0 ppm observou-se, para todas as moléculas, um simpleto referente aos hidrogênios H5. Para os análogos metil substituídos (**J-2.7**, **J-2.8**, **J-2.9** e **J-2.14**) o sinal referente ao substituinte foi observado na forma de um simpleto próximo a 2,5 ppm integrado para 3 hidrogênios. No espectro de RMN de $^{13}C$, observa-se, para todas as tetronamidas, próximo a 170 ppm, o sinal referente ao carbono carbonílico e em 160 ppm o sinal referente ao carbono C4. Próximo a 80 ppm observa-se o sinal referente ao carbono halo-substituído C3 e, próximo a 70 ppm, o sinal referente ao carbono C5. O análogo derivado da morfolina (**J-2.11**) apresentou, no espectro de RMN de $^{13}C$, os sinais referentes aos carbonos C2'/C3' e C1'/C4' em 66 e 47 ppm, respectivamente. O análogo contendo o núcleo pirrolidina (**J-2.12**) apresentou os sinais para os mesmos carbonos em 25 e 48 ppm. Maiores detalhes das atribuições destes

sinais podem ser vistos nos espectros dos respectivos compostos no Apêndice B e na seção de metodologias do presente capítulo.

### 3.3.4 Síntese dos adutos de aldol J-2.16 a J-2.35

A adição aldólica vinílogа (Esquema 10), etapa final para a obtenção dos produtos almejados, entre os aldeídos **J-2.3** a **J-2.6** (estrutura geral representada por **68**) e as tetronamidas **J-2.7** a **J-2.15** (estrutura geral representada por **64**) procede por um mecanismo na qual a primeira etapa deve provavelmente consistir na remoção do hidrogênio acídico γ do sistema butenolídeo presente nas tetronamidas. A base conjugada formada (estabilizada por ressonância) pode então executar um ataque nucleofílico ao aldeído presente no meio reacional originando os produtos (Esquema 10 A).

Pelas observações experimentais, acredita-se que o aduto de aldol *syn* seja o produto termodinâmico e também o cinético nas reações de adição aldólica. Acredita-se que o aduto *syn* é termodinamicamente favorecido devido à observação da conversão do produto *anti* no *syn* durante o curso da reação. Já a razão pela qual acredita-se que o aduto *syn* é também cineticamente favorecido se deve a principalmente a dois fatores: estéricos e eletrônicos,[52,53] na qual a forma como o enolato se aproxima do aldeído pode definir a velocidade na formação dos produtos (Esquema 10 B).[52]




**Esquema 10. A.** mecanismo geral da adição aldólica vinílogа; **B.** Aproximações do anel butenolídeo ao aldeído na adição aldólica vinílogа e **C.** mecanismos que explicam o equilíbio existente entre os adutos de aldol *syn* e *anti*.

Fixando o aldeído e aproximando o enolato pelas faces *re* (Esquema 10 B - situações **a** e **b**) e *si* (Esquema 10 B - situações **c** e **d**), fica evidenciada a preferência cinética para o isômero *syn* nas reações. Isso porque, assim como mostrado no Esquema 10 B, fatores estéricos desfavorecem os modos de aproximação **b** e **c**. Por outro lado, a superposição entre os orbitais π da carbonila do aldeído e os orbitais π da ligação dupla que se forma entre os carbonos α e β do enolato, estabiliza os modos de aproximação **a** e **c** e os favorece.[52,53]

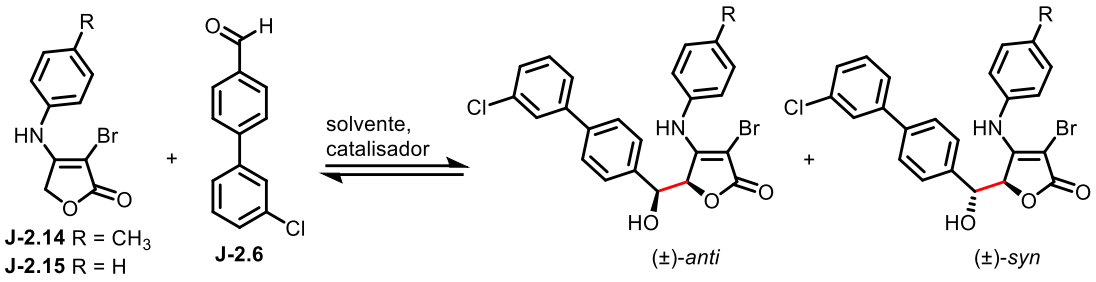
Dessa forma, o modo de aproximação representado em **a** (Esquema 10 B) deve ser o responsável pela formação cinética majoritária do aduto de adição vinílogа *syn*.[52,53]

De maneira geral, pelo monitoramento do progresso das reações por cromatografia em camada delgada (CCD), foi possível observar a formação dos adutos *syn* e *anti* no início dessas reações. No entanto, com o avançar do tempo reacional, se observou o consumo da mancha referente ao produto *anti*, restando apenas (ou majoritariamente) o produto *syn*. Os mecanismos que explicam a conversão do aduto *anti* no *syn* estão apresentados no Esquema 10 C. Esta conversão pode tanto ocorrer via uma reação retro-aldólica que regenera os materiais de partida **67** e **68** (Esquema 10 C – situação **a**) quanto via desprotonação do hidrogênio ácido γ-carbonílico, que conduz na aromatização do butenolídeo pela formação do anel furânico (Esquema 10 C – situação **b**).[39]

Inesperadamente, algumas combinações entre aldeídos e tetronamidas não resultaram na formação dos produtos almejados. Em especial, tentativas de obter produtos de aldol com o aldeído *m*-cloro substituído (**J-2.6**) e tetronamidas bromadas (**J-2.14** e **J-2.15**) foram mais desafiadoras, resultando na formação de um óleo escuro que exibe um grande arraste na CCD e não apresenta sinais nítidos no RMN de $^{1}H$ e $^{13}C$, sendo análogo ao problema enfrentado na obtenção de algumas tetronamidas de fórmula geral representada por **64**.

Visando obter estes produtos, diversas modificações na metodologia de síntese foram avaliadas (Tabela 3).

**Tabela 3.** Tentativas falhas da obtenção de adutos de aldol entre as tetronamidas **J-2.14** e **J-2.15** e o aldeído **J-2.6**.



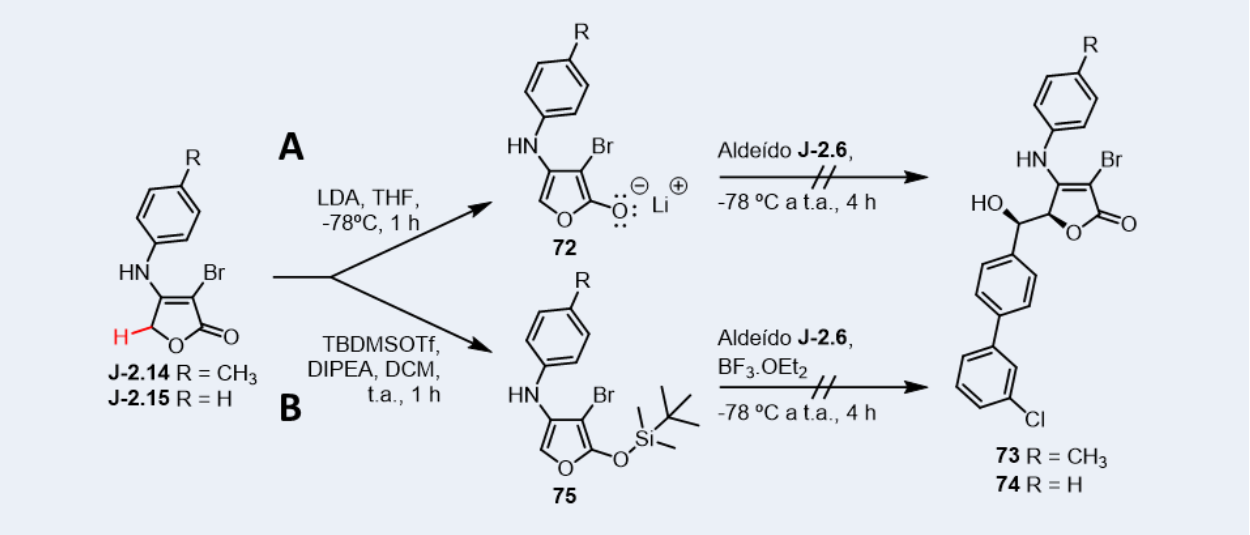

| Reação | Condições reacionais | Resultado experimental |
|---|---|---|
| **R1** | Em um tubo de ensaio foram adicionados **J-2.14** (15 mg, 0,06 mmol), **J-2.6** (12 mg, 0,06 mmol), metanol:água 2:1 (v/v) (1 mL) e NaOH (4 mg, 0,09 mmol). O sistema foi mantido sob agitação em t.a. por 8 h. | Após ± 6 h de reação não se observa (CCD) mais a tetronamida de partida nem a formação de produto. Reação escurece após ± 4 h. |
| **R2** | Procedimento semelhante à tentativa **R1**, substituindo o **J-2.14** pelo **J-2.15** (15 mg, 0,06 mmol). | Idem ao resultado observado na tentativa **R1.** |
| **R3** | Procedimento semelhante à tentativa **R1**, substituindo a mistura metanol:água por metanol (1 mL) e a base por $Et_3N$ (9 mg, 0,09 mmol). | Após ± 4 h de reação não se observa (CCD) a tetronamida de partida nem a formação de produto. Reação escurece após ± 2 h. |
| **R4** | Procedimento semelhante à tentativa **R3**, substituindo a base por LiOH (2 mg, 0,09 mmol). | Idem ao resultado observado na tentativa **R3.** |
| **R5** | Procedimento semelhante à tentativa **R3**, substituindo a base por piridina (7 mg, 0,09 mmol). | Idem ao resultado observado na tentativa **R3.** |
| **R6** | Procedimento semelhante à tentativa **R3**, substituindo a base por piridina (7 mg, 0,09 mmol) e o **J-2.14** pelo **J-2.15** (15 mg, 0,06 mmol). | Idem ao resultado observado na tentativa **R3.** |
| **R7** | Em um tubo de ensaio sob atmosfera de argônio e em banho de $N_2$ líquido e acetato de etila (-78 °C) foram adicionados **J-2.14** (15 mg, 0,06 mmol), THF anidro (2 mL) e uma solução de LDA em THF anidro previamente preparada (13 mg, 0,12 mmol). O sistema foi mantido em agitação por 30 min a -78 °C. Na sequência, foi adicionado **J-2.6** (12 mg, 0,06 mmol) na mesma temperatura e a agitação foi continuada por mais 1 h deixando o sistema aquecer lentamente até atingir t.a.. | Durante o aquecimento gradual do sistema se observou o escurecimento do mesmo. O monitoramento da reação (CCD) não indicou formação de produto nem o consumo do aldeído. |

| | | |
|---|---|---|
| **R8** | Procedimento semelhante à tentativa **R7**, substituindo o **J-2.14** pelo **J-2.15** (15 mg, 0,06 mmol). | Idem ao resultado observado na tentativa **R7.** |
| **R9** | Em um tubo de ensaio sob atmosfera de argônio e em banho de $N_2$ líquido e acetato de etila (-78 °C) foram adicionados **J-2.14** (45 mg, 0,18 mmol), THF anidro (2 mL), TBDMSOTf (96 mg, 0,36 mmol) e DIPEA (48 mg, 0,36 mmol). O sistema foi mantido em agitação por 30 min a -78 °C. O monitoramento por CCD indicou a formação do que parece ser o sililéter correspondente. Na sequência, foi adicionado **J-2.6** (36 mg, 0,18 mmol) na mesma temperatura e a agitação foi continuada por mais 1 h deixando o sistema aquecer lentamente até atingir t.a.. | Durante o aquecimento gradual do sistema se observou o escurecimento do mesmo. O monitoramento da reação (CCD) não indicou formação de produto nem o consumo do aldeído. Foi possível a recuperação da tetronamida e do aldeído por cromatografia em coluna de sílica gel. |
| **R10** | Procedimento semelhante à tentativa **R9**, substituindo apenas o **J-2.14** pelo **J-2.15** (45 mg, 0,18 mmol). | Idem ao resultado observado na tentativa **R9.** |
| **R11** | Em um balão de 10 mL foram adicionados **J-2.14** (15 mg, 0,06 mmol), **J-2.6** (12 mg, 0,06 mmol) e ácido acético (1 mL). O sistema foi mantido sob agitação em t.a. por 8 h. Posteriormente o sistema foi aquecido em condição de refluxo por 4 h. | Não foi observado escurecimento do meio reacional nem consumo dos reagentes. |
| **R12** | Procedimento semelhante à tentativa **R11**, substituindo apenas o ácido acético por $H_2SO_4$ 5% em metanol (1 mL) | Idem ao resultado observado na tentativa **R11.** Observou-se por CG-MS a formação do acetal produto da reação entre **J-2.6** e duas moléculas de metanol. |
| **R13** | Procedimento semelhante à tentativa **R11**, substituindo o ácido acético por PTSA 1% em THF anidro (1,5 mL) | Idem ao resultado observado na tentativa **R11.** |
| **R14** | Procedimento semelhante à tentativa **R11**, substituindo o ácido acético por ácido trifluoroacético 5% em DCM anidro (1 mL). O sistema não foi submetido à aquecimento. | Idem ao resultado observado na tentativa **R11.** |
| **R15** | Em um balão de 10 mL foram adicionados **J-2.14** (15 mg, 0,06 mmol), **J-2.6** (12 mg, 0,06 mmol), DCM anidro (1,5 mL) e $AlCl_3$ (16 mg, 0,12 mmol). O sistema foi mantido sob agitação em t.a. por 8 h. Posteriormente o sistema foi aquecido em condição de refluxo por 4 h. | Não foi observado escurecimento do meio reacional nem consumo dos reagentes. |

| | | |
|---|---|---|
| **R16** | Procedimento semelhante à tentativa **R15**, substituindo o $AlCl_3$ por $FeCl_3$ (19 mg, 0,12 mmol). | Idem ao resultado observado na tentativa **R15.** |
| **R17** | Procedimento semelhante à tentativa **R15**, substituindo o $AlCl_3$ por $ZnCl_2$ (16 mg, 0,12 mmol). | Idem ao resultado observado na tentativa **R15.** |

Verificou-se primeiro a influência da base, testando $Et_3N$ (**R3**), LiOH (**R4**) e piridina (**R5** e **R6**) como alternativa ao NaOH empregado nos casos de sucesso (Figura 4). Essas tentativas foram inspiradas no relato experimental do nosso grupo de pesquisa sobre a sensibilidade dessa reação à base empregada.[39] No entanto, nenhuma modificação provocou alteração significativa. Avaliou-se também a preparação do enolato **72** (Esquema 11 A) por meio do tratamento das tetronamidas **J-2.14** ou **J-2.15** com LDA em THF anidro à -78 ºC, seguido da adição do aldeído na mesma temperatura. Novamente não se observou a formação dos produtos desejados **73** ou **74** (**R7** e **R8**).

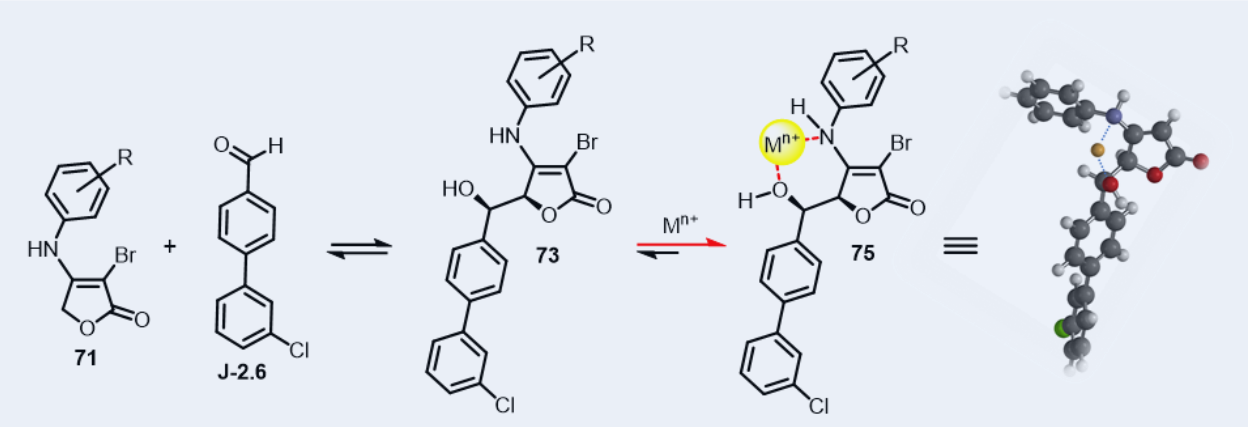
Com o insucesso da tentativa anterior, foi avaliado a adição aldólica de Mukaiyama (**R9** e **R10**), que consiste na geração prévia do sililéter **75**, que ao ser submetido a condições que levam à remoção do grupo de silício, gera, *in situ*, o enolato que, na presença do aldeído, resultaria no produto de adição **73** ou **74,** a depender da tetronamida de partida. A formação do sililéter **75** foi alcançada sem grandes dificuldades, porém o produto de adição não foi obtido quando o aldeído **J-2.6** e $BF_3{\cdot}OEt_2$ foram adicionados ao meio reacional. Observou-se apenas a regeneração da respectiva tetronamida **J-2.14** ou **J-2.15** (Esquema 11 B). Para **J-2.14** recuperou-se por coluna cromatográfica de sílica gel 90% da massa inicial e para **J-2.15**, 78%.




**Esquema 11.** Tenatativas falhas de obter os produtos **73** e **74**.

Na perspectiva de aumentar a eletrofilicidade do aldeído pela protonação da carbonila, foram avaliadas metodologias empregando catalisadores ácidos. Avaliou-se o emprego de (**i**) ácido acético como solvente (**R11**) – condição que permite refluxo a 118 ºC e facilitaria, assim, atingir intermediários de reação de maior energia; (**ii**) $H_2SO_4$ (5%) em metanol (**R12**) – condição que permitiria alta solvatação de intermediários polares; (**iii**) PTSA (1%) em THF anidro (**R13**) – condição que permitiria alta solubilização do produto de aldol (suposição baseada no fato experimental de que os solventes que possuem maior capacidade de solubilizar os compostos **J-2.16** a **J-2.35** são THF e DMSO), o que poderia estabilizar o produto de aldol no meio reacional e evitar a reação de reto-aldol e (**iv**) ácido trifluoroacético (5%) em DCM anidro (**R14**) – condição que não solubilizaria o produto de aldol (suposição baseada no fato experimental dos produtos de aldol **J-2.16** a **J-2.35** possuem baixa solubilidade em DCM) o que poderia levar à sua precipitação no meio reacional e deslocamento do equilíbrio. Essas metodoloias foram testadas em temperatura ambiente e em refluxo. Novamente não se obteve sucesso em nenhuma tentativa.

O insucesso de todas as tentativas levou a testes utilizando ácidos de Lewis e espécies que pudessem complexar nos sítios -OH e -NH do produto formado (Esquema 12) e, assim, deslocar o equilíbrio para a formação de mais produto. Avaliou-se o emprego de $AlCl_3$ (**R15**), $FeCl_3$ (**R16**) e $ZnCl_2$ (**R17**) como ácido de Lewis. Como solvente empregou-se DCM anidro. As reações foram conduzidas em temperatura ambiente e após 12 horas não foi observado, para nenhum dos casos, avanço nas reações. Procedeu-se então aquecimento dos sistemas reacionais em condição de refluxo. Novamente não se obteve êxito nas tentativas, não sendo observado o consumo dos reagentes pela CCD.




**Esquema 12.** Possível compexação entre tetronamidas e metais ($M^{n+}$).

Devido ao fato dessas reações aldólicas serem reversíveis, estando o produto em equilíbrio com os reagentes, justifica-se o insucesso das tentativas executadas para obter produtos de aldol de algumas combinações específicas entre aldeídos e tetronamidas por fatores intramoleculares do produto, o que o torna menos estável do que os reagentes, preferindo, assim, o equilíbrio se deslocar no sentido dos reagentes. Os produtos que foram possíveis de serem obtidos (**J-2.16** a **J-2.35**, rendimentos19-85%) estão mostrados na Figura 4 e na última página desta tese.

Pelo espectro de RMN de $^{1}H$ é possível reconhecer os produtos *syn* e *anti* da reação de adição aldólica vinílogа. Enquanto o produto *syn* possui constante de acoplamento $J_{4,1'}$ em torno de 2,5 Hz, o produto *anti* tem a mesma constante de acoplamento em valor maior, em torno de 3,5 Hz.[39] Como exemplo de caracterização espectroscópica no RMN, o texto a seguir descreve as atribuições químicas nos espectros de RMN de $^{13}C$ e $^{1}H$ do composto **J-2.16** (Figuras 6 e 7).

Pelo espectro de RMN de $^{13}C$ (Figura 6) é possível observar os sinais característicos referente à carbonila do anel butenolídeo (δ = 175,1), bem como o sinal referente à metila da porção aromática ligada ao átomo de nitrogênio, o C11 (δ = 24,6). Os sinais dos carbonos assimétricos C4 e C1' são observados, respectivamente, em 75,0 ppm e 83,8 ppm. Os demais sinais dos carbonos dos anéis aromáticos são observados de 128 ppm a 147 ppm e podem ser atribuídos com auxílio do DEPT-135 (espectro não mostrado).

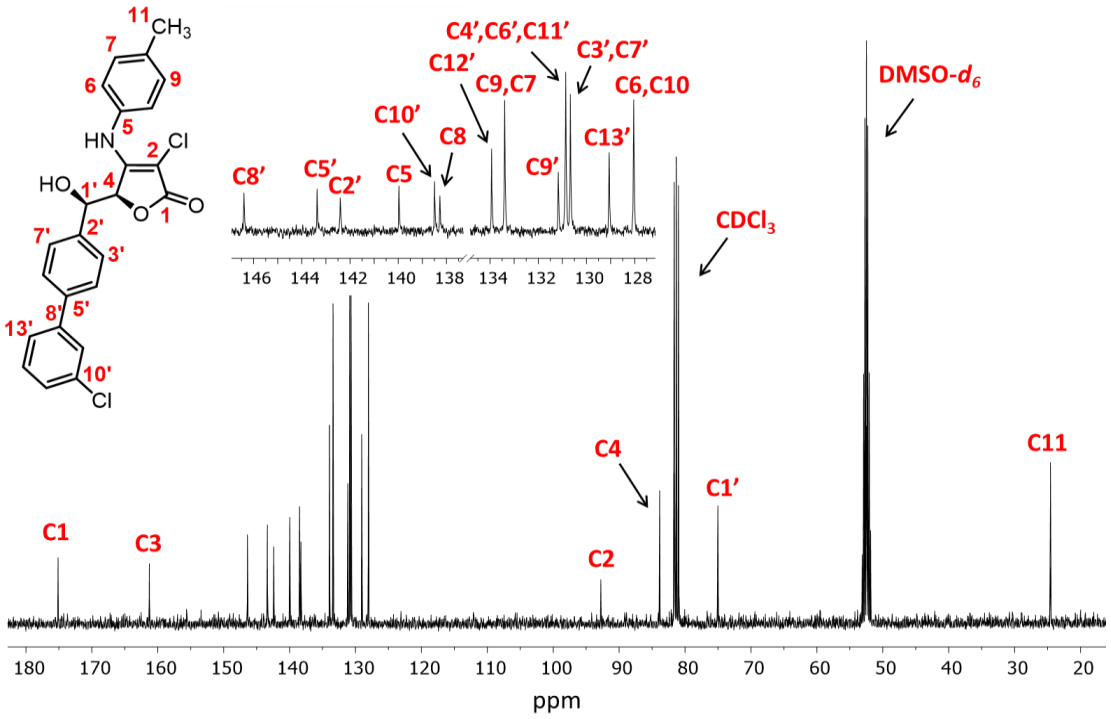



**Figura 6**. Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.16**.

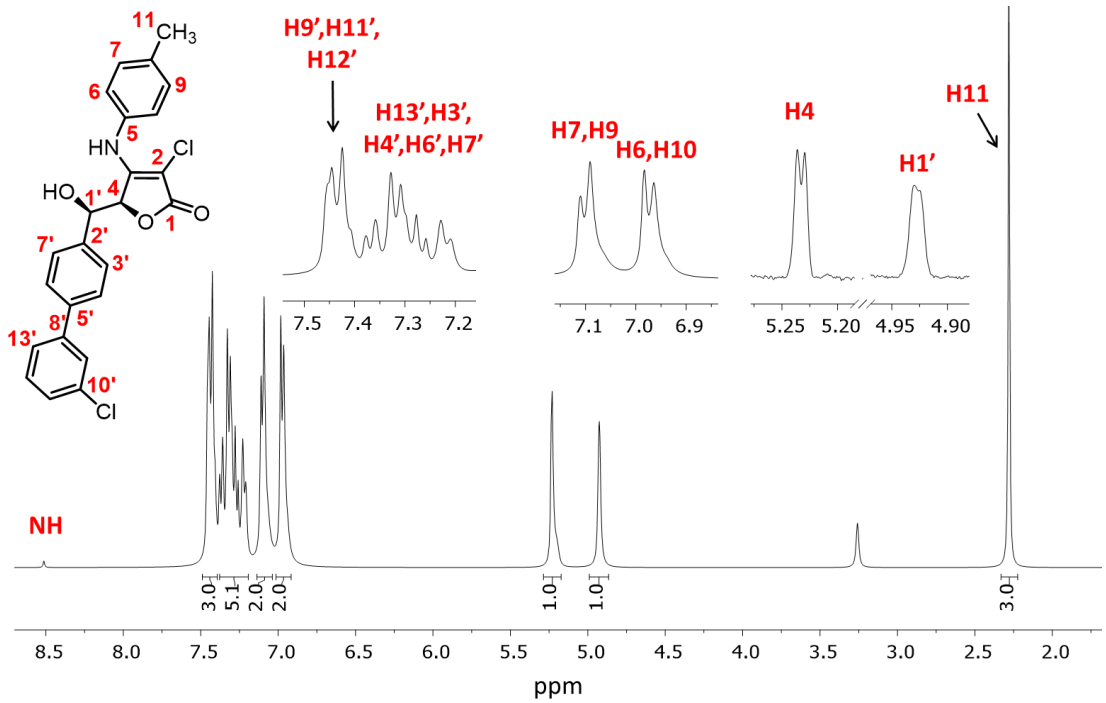



**Figura 7**. Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.16**.

Assim como comentado, pelo espectro de RMN de $^{1}H$ (Figura 7) é possível verificar a formação do produto *syn*. Essa afirmação é baseada no valor de $J_{4,1'}$ = 2,8 Hz do sinal do hidrogênio H4, o que sugere o produto de aproximação *syn*.[39] Sinais característicos como o referente aos três hidrogênios da metila são observados em 2,26 ppm (simpleto). Os sinais devido aos hidrogênios do sistema aromático foram observados em 6,96 ppm a 7,46 ppm e, embora fraco, devido à troca NH para ND, o sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio em 8,51 ppm. Foram possíveis a síntese de 20 tetronamidas adutos de aldol com rendimentos de 19% a 85%.

### 3.3.5 Avaliação dos efeitos dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre o desenvolvimento de cianobactérias

Diante da problemática ambiental atual que envolve as cianobactérias e uma vez obtidas as tetronamidas potencialmente cianobactericidas **J-2.16** a **J-2.35**, procedeu-se a avaliação das atividades biológicas dessas substâncias frente ao desenvolvimento de colônias de cianobactérias. As cianobactérias estão entre os seres vivos mais antigos do planeta, possuindo evidências fósseis com mais de 3,5 bilhões de anos.[54,55] Elas são bactérias Gram-negativas, produtoras de oxigênio, que utilizam a luz solar como fonte de

energia para converter gás carbônico em biomassa.[56] Devido à atividade fotossintética, tanto em meio aeróbico quanto anaeróbico, esses micro-organismos podem ser encontrados em diversos biomas aquáticos e terrestres.[54]

Em ambientes quentes e ricos em nutrientes, as cianobactérias se multiplicam rapidamente e podem atingir densidades populacionais elevadas, dando origem às chamadas florações de cianobactérias ou *blooms*, que podem produzir compostos orgânicos causadores de alterações na coloração, sabor e qualidade da água, podendo torná-la imprópria para o consumo devido à presença de cianotoxinas (Figura 8).[30] Outra problemática associada à formação dessas florações é o aumento de turbidez da água, que diminui a luminosidade para a vegetação aquática e tem como consequência a redução de oxigênio do meio, contribuindo para morte de peixes e invertebrados.[56]

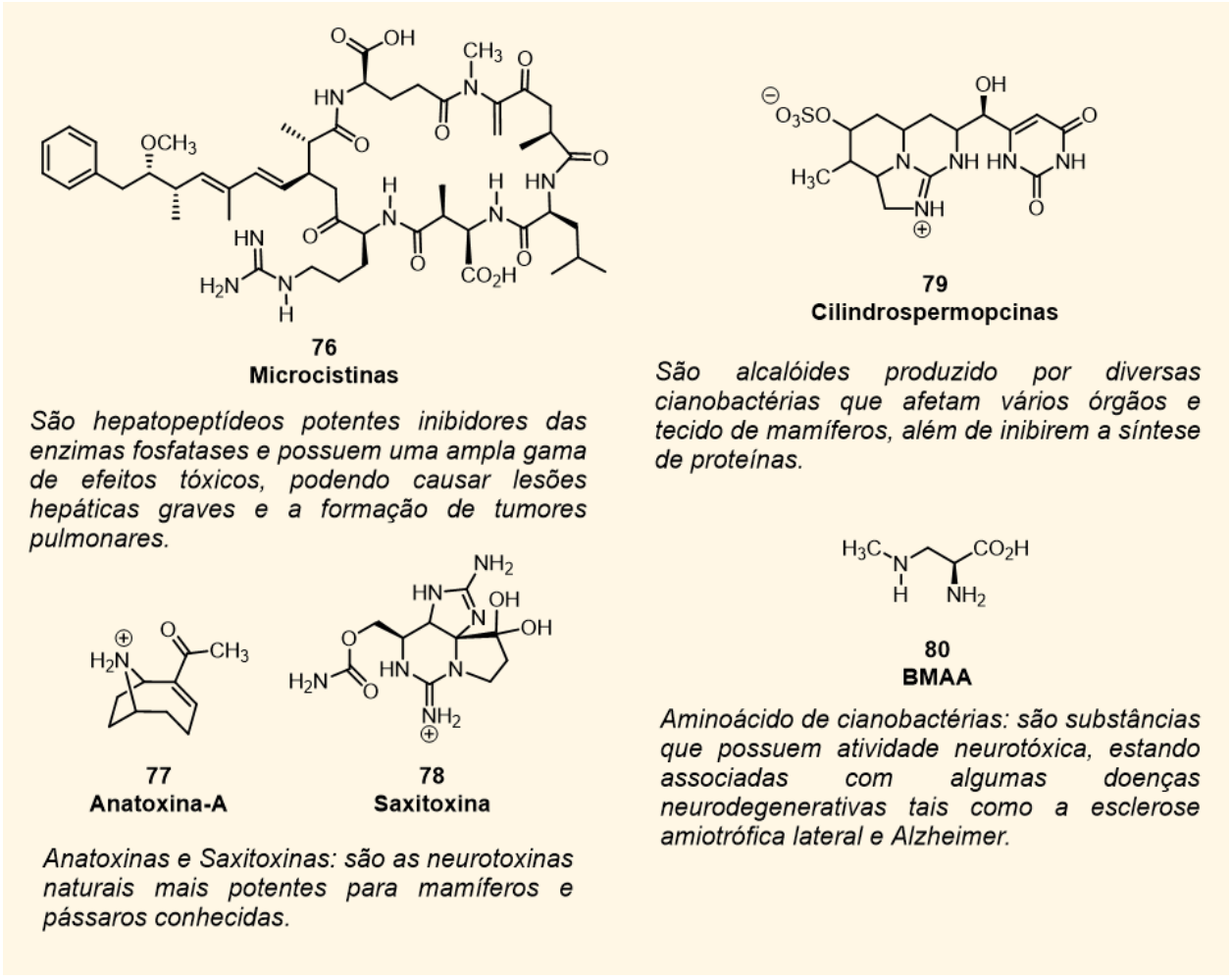



**Figura 8.** Estruturas de algumas substâncias tóxicas produzidas por cianobactérias. BMAA: β-*N*-metilamino-*L*-alanina.[30]

Nas últimas décadas, tem-se observado com maior frequência o surgimento de florações de cianobactérias. Isso pode estar relacionado ao aquecimento global e a degradação da qualidade das águas pela ação humana, tal como o despejo de fertilizantes em lagos e rios, além da contaminação por fossa séptica, favorecendo assim o processo de eutrofização.[56–59]

Diversas estratégias vêm sendo exploradas para prevenir ou suprimir as florações de cianobactérias, incluindo a redução das cargas de nutrientes, mudanças hidrodinâmicas e controle biológico e químico.[56]

O controle químico é considerado como uma das alternativas mais rápidas e eficientes para inibir e/ou suprimir o desenvolvimento de cianobactérias.[56] Várias substâncias podem ser empregadas, como, por exemplo, os sulfatos de cobre, de alumínio, de ferro e o dióxido de titânio. Apesar de eficientes a curto prazo, esses agentes raramente oferecem soluções a longo prazo.[60,61] Além disso, muitas dessas substâncias são tóxicas aos organismos aquáticos e se acumulam no meio ambiente.[61] É importante ressaltar que a maioria desses tratamentos químicos promove a quebra das membranas bacterianas, o que favorece a liberação das cianotoxinas, agravando os problemas de qualidade da água.[62] A utilização de peróxido de hidrogênio, em baixas concentrações, tem se mostrado um tratamento altamente eficaz para eliminar seletivamente o florescimento de cianobactérias sem deixar resíduos químicos a longo prazo no ambiente, já que se decompõe em água e oxigênio.[63] Entretanto, ao cessar à adição de $H_2O_2$ ao meio, muitas das vezes, se observa a formação de novas florações, o que torna o método pouco eficaz.[56]

Diante do exposto, dada a problemática atual envolvento florações de cianobactérias, justifica-se a busca por novos compostos cianobactericidas. Nesse sentido, os butenolídeos **J-2.16** a **J-2.35** foram avaliados quanto a sua ação contra a cianobactéria modelo *Synechococcus elongatus* PCC 6301 (Tabela 4).

**Tabela 4.** Concentrações das tetronamidas **J-2.16** a **J-2.35** capazes de inibir em 50% o crescimento da cianobactéria *Synechococcus elongatus* PCC 6301. Os intervalos de confiança de 95% são apresentados (limites inferior e superior).

| Código | $IC_{50}$ (μM) | Limite inferior | Limite superior |
|---|---|---|---|
| **J-2.16** | 74,8 | 51,4 | 109 |
| **J-2.17** | 1,82 | 1,55 | 2,14 |
| **J-2.18** | 580 | 204 | 1654 |
| **J-2.19** | 2,2 | 1,9 | 2,54 |
| **J-2.20** | 587 | 216 | 1592 |
| **J-2.21** | 2,02 | 1,79 | 2,28 |
| **J-2.22** | 68,3 | 56,6 | 82,4 |
| **J-2.23** | 71,6 | 58,7 | 88,2 |
| **J-2.24** | 42,7 | 36,1 | 50,5 |
| **J-2.25** | >1000 | - | - |
| **J-2.26** | 2,06 | 1,68 | 2,52 |
| **J-2.27** | 314 | 247 | 398 |
| **J-2.28** | 117 | 89,7 | 152 |
| **J-2.29** | 2,57 | 2,25 | 2,92 |
| **J-2.30** | 6,06 | 5,19 | 7,07 |
| **J-2.31** | 3,24 | 2,92 | 3,61 |
| **J-2.32** | 2,1 | 1,88 | 2,36 |
| **J-2.33** | 3,98 | 3,05 | 5,2 |
| **J-2.34** | 3,19 | 2,8 | 3,62 |
| **J-2.35** | >1000 | - | - |

* Os compostos foram adicionados ao meio de cultura em concentrações variando de 0,156 a 100 μM, em triplicata. As constantes de crescimento resultantes foram expressas como porcentagem daquelas não tratados (controles negativos).

Pelos dados da Tabela 4 é possível perceber que, em geral, as moléculas sintetizadas possuem ação cianobactericida. Os compostos **J-2.17**, **J-2.19**, **J-2.21**, **J-2.26** e **J-2.32** foram os mais ativos da série com valores de $IC_{50}$ estatisticamente equivalentes e próximos a 2 μM.

A importância das unidades *N*-aril e NH para a tividade biológica é evidenciada pelos análogos que não as possuem (**J-2.18**, **J-2.20**, **J-2.24**, **J-2.25** e **J-2.27**) tendo esses valores de $IC_{50}$ superiores a 40 μM. Destaca-se também que os derivados contendo a porção pirrolidina possuíram melhores valores de $IC_{50}$ do que os correspondentes análogos contendo o núcleo morfolina. A saber, **J-2.25** (morfolina, $IC_{50}$ > 1000 μM) / **J-**

**2.20** (pirrolidina, $IC_{50}$ = 587 μM) e **J-2.18** (morfolina, $IC_{50}$ =580 μM) / **J-2.24** (pirrolidina, $IC_{50}$ = 42,7 μM).

A influência da substituição no carbono alfa carbonílico do butenolídeo é evidenciada pela comparação entre os derivados **J-2.19** (bromo, $IC_{50}$ = 2,2 μM) / **J-2.17** (cloro, $IC_{50}$ = 1,82 μM); **J-2.21** (bromo, $IC_{50}$ = 2,02 μM) / **J-2.22** (cloro, $IC_{50}$ = 68,3 μM) e **J-2.26** (bromo, $IC_{50}$ = 2,06 μM) / **J-2.31** (cloro, $IC_{50}$ = 3,24 μM) nos quais, com excessão do par **J-2.19**/**J-2.17** que estatisticamente possui o mesmo valor de $IC_{50}$, os análogos bromo substituídos mostraram-se mais citotóxicos.

A posição dos substituíntes na unidade *N*-aril mostrou ser outro fator relevante para a bioatividade avaliada (Figura 9 A). Os análogos *m*-metilfenil (**J-2.33**) e *p*-metilfenil (**J-2.31**) possuem valores de $IC_{50}$ próximos à 3,6 μM (estatisticamente equivalentes entre si) enquanto que o análogo *o*-metilfenil (**J-2.28**) causou inibição em $IC_{50}$ de 117 μM.

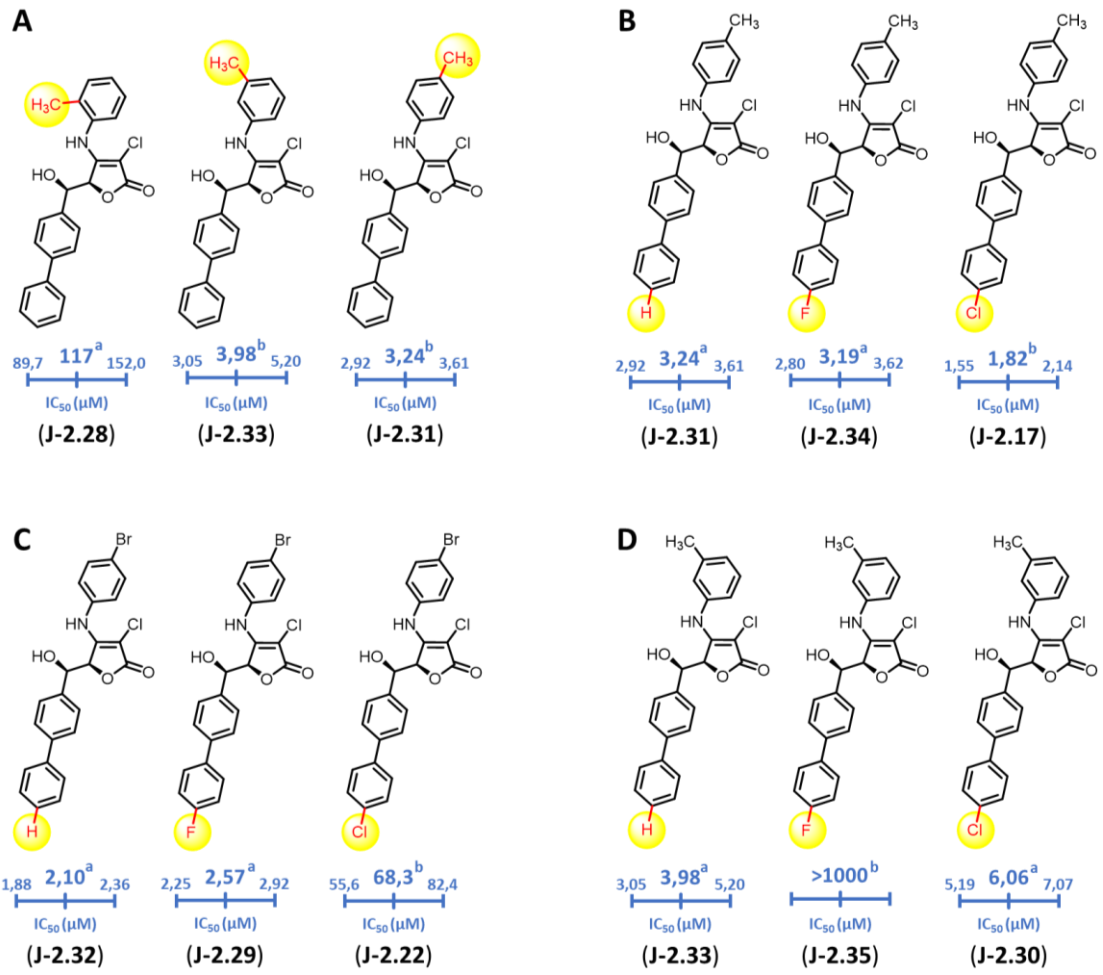



**Figura 9.** Comparações entre as atividades cianobactericidas dos compostos **J-2.16** a **J-2.35**. Em azul valor médio de $IC_{50}$ (μM) e limites inferiores e superiores referentes as repetições. Médias estatisticamente iguais recebem a mesma letra de acordo com teste Tukey ($p < 0,05$).

Pelos dados obtidos não fica claro ou parece não ser independente a relação entre a substituição no núcleo bifenila e a atividade cianobactericida (Figura 9 B, C e D). No conjunto contendo a unidade *N*-(*p*-metilfenil) (Figura 9 B), o análogo substituído por cloro (**J-2.17**) possui menor valor de $IC_{50}$ do que os substituídos por hidrogênio (**J-2.31**) e flúor (**J-2.34**). Já na série *N*-(*p*-bromofenil) (Figura 9 C) as substituições por hidrogênio (**J-2.32**) e fluor (**J-2.29**) mostraram-se mais promissoras. Os análogos *N*-(*m*-metilfenil) (Figura 9 D), por sua vez, sofrem abrupta queda na bioatividade quando a porção bifenila possui um átomo de flúor (**J-2.35**, $IC_{50}$ > 1000). Até o momento não foi racionalizada uma explicação para essa observação experimental, não sendo descartada a hipótese da ocorrência de algum erro experimental durante o ensaio cianobactericida.

### 3.3.6 Avaliação dos efeitos dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre a reação de Hill

Embora moléculas análogas às sintetizadas neste capítulo não possuam capacidade significativa de inibir o sistema transportador de eletróns fotossintéticos (reação de Hill),[22] optou-se, mesmo assim, por avaliar os efeitos dos compostos **J-2.16** a **J-2.35** sobre a reação de Hill na tentativa de se ter maiores informações acerca do mecanismo de ação cianobactericida dessas substâncias. A avaliação do efeito desses compostos sobre a inibição de fotossíntese foi realizada empregando ensaio colorimétrico que mensura a redução de ferricianeto de potássio na presença luz, tilacóides fotossintetisantes isolados de espinafre e o composto no qual se pretende avaliar a ação inibitória de fotossíntese.

Em consonância com os resultados da literatura,[22] em geral, os compostos **J-2.16** a **J-2.35** não se mostraram efetivos na inibição da fotossíntese (Figura 10). Algumas substâncias (**J-2.16**, **J-2.17**, **J-2.19**, **J-2.29**, **J-2.30**, **J-2.33**, **J-2.34** e **J-2.35**) causaram uma leve inibição na faixa de 1 μM a aproximadamente 10 μM (log[M] = -6 a -5), porém seus efeitos inibitórios não aumentaram com o aumento das concentrações. Isso sugere que esses compostos têm baixa solubilidade no ambiente em que o alvo molecular está presente (a membrana tilacoide). A única exceção é representada pelo composto **J-2.32**, para o qual o efeito inibitório aumentou com o aumento da concentração em toda a faixa testada. No entanto, o valor de $IC_{50}$ do mesmo (82 ± 8 μM) é elevado para configurá-lo como um possível herbicida visando a fotossíntese.

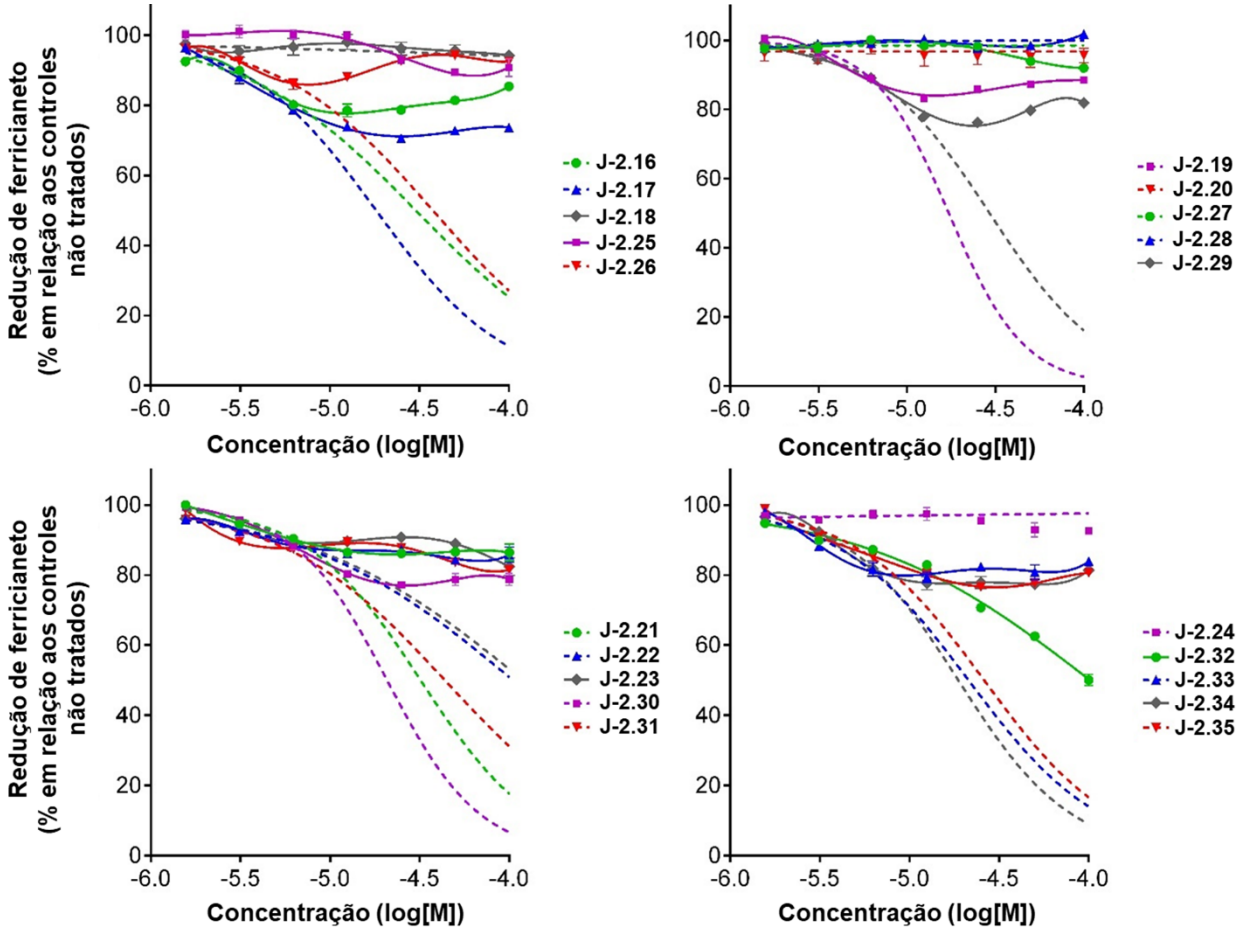



**Figura 10.** Efeito de níveis crescentes dos compostos **J-2.16** a **J-2.35** na inibição do sistema de transporte de elétrons fotossintéticos. Cada composto foi adicionado ao meio de crescimento em concentrações na faixa de 1 µM a 100 µM. A taxa de inibição foi determinada em relação ao controle negativo. Os dados apresentados são a média (triplicata) ± desvio-padrão.

Em conclusão, os resultados encontrados sugerem que a ação cianobactericida observada para as tetronamidas deve proceder via outro mecanismo de ação que não a inibição das reações de Hill no interior dos micro-organismo.

### 3.3.7 Avaliação do efeito dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre o desenvolvimento de *Raphanus sativus*

No intuito de verificar a atividade herbicida das substâncias **J-2.16** a **J-2.35** almejando que estas sejam seletivas para a atividade cianobactericida, não afetando o desenvolvimento de outros seres fotossintetizantes, avaliou-se também a ação dessas

moléculas sobre o desenvolvimento de *Raphanus sativus* (rabanete), uma espécie modelo. Os resultados encontrados são apresentados na Figura 11.

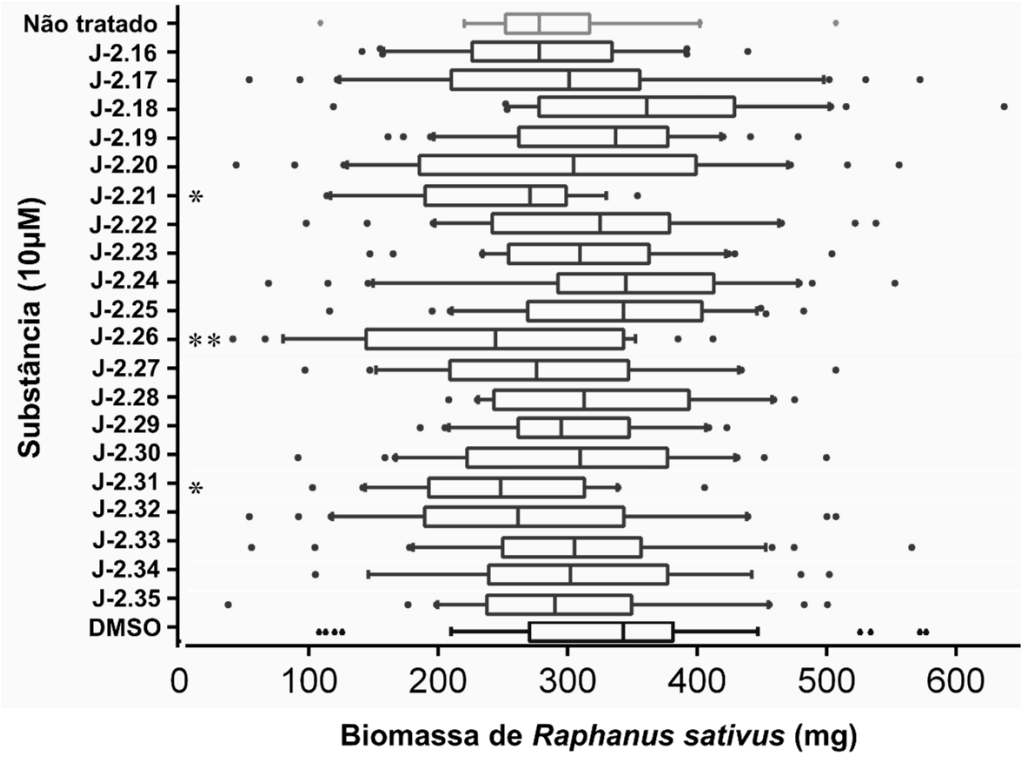



**Figura 11.** Diagrama de caixas do efeito das tetronamidas **J-2.16** a **J-2.35** (10 µM) sobre o desenvolvimento da planta modelo *Raphanus sativus*. Asterisco indica diferença significativa (teste de comparações múltiplas de Dunnett) com DMSO: * $p < 0,01$ e ** $p < 0,05$. Descrição dos elementos do diagrama de caixas na nota de rodapé.[3]

O teste de comparações múltiplas de Dunnett não mostrou diferença significativa entre controles não tratados e amostras tratadas com DMSO indicando que o DMSO utilizado nos ensaios não afeta os dados obtidos para as tetronamidas. Em geral, a comparação dos valores obtidos para as tetronamidas com os valores obtidos para o DMSO mostram que não foi observado ação herbicida significativa para as tetronamidas.

[3] **Traço no interior das barras retangulares**: mediana (valor do meio de uma sequência de dados (mediana ≠ média). **Laterais das barras retangulares**: primeiro quadril (lateral esquerda) e terceiro quadril (lateral direita). Quadris são os 3 valores que dividem uma sequência ordenada de dados em quatro partes que contém a mesma quantidade de elementos. Exemplo: se A = {1, 6, 9, 10, 11, 13, 14, 18, 18}, a mediana é 11 (valor central da sequência) e as quatro partes iguais são formadas cada uma por dois elementos: 1 e 6; 9 e 10; 13 e 14; 18 e 18. Assim, os quadris são $Q_1 = 9$, $Q_2 = 11$ (a mediana) e $Q_3 = 14$. **Linhas que saem das laterais das barras retangulares**: limite inferior (extremidade da linha esquerda) e limite superior (extremidade da linha direita). **Pontos**: *outliers.*

Exceção é observada para **J-2.26** ($p < 0,01$), **J-2.21** ($p < 0,05$) e **J-2.31** ($p < 0,05$) nos quais se observou, estatisticamente, menor biomassa de matéria seca de *R. sativus* quando comparado com o tratamento com apenas DMSO.

Assim, os dados obtidos mostram que as tetronamidas a 10 μM (concentração 5 vezes maior do que aquela encontrada para inibir 50% do cresciemento de cianobactérias nas substâncias mais ativas contra *S. elongatus*) não possuem, em geral, ação significativa contra o desenvolvimento de *R. sativus* ou provocam inibição baixa, indicando, desse modo, seletividade das estruturas avaliadas para *S. elongatus* (cianobactéria).

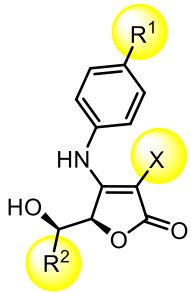
### 3.3.8 Estudo de *QSAR* para a ação cianobactericida dos adutos de aldol J-2.16 a J-2.35

Os estudos de QSAR (do inglês: *Quantitative Structure-Activity Relationships*) têm como principal objetivo a obtenção de modelos matemáticos que relacionam as estruturas químicas de uma série de compostos análogos às atividade biológica observadas. Em geral, esses compostos diferem entre si pela presença de um ou mais grupos substituintes, tendo todos uma estrutura química geral comum. A construção desses modelos requer a elaboração de um conjunto de dados contendo a medida da atividade biológica e os parâmetros físico-químicos e estruturais capazes de descreverem as propriedades biológicas dos compostos.[64] Assim, esses modelos estabelecem uma relação matemática, sob a forma de equações, entre a atividade biológica e os parâmetros físico-químicos (descritores) que influenciam essa atividade.[65]

A construção desse modelo permite determinar as propriedades físico-químicas desejadas na obtenção de moléculas potencialmente mais ativas, e assim planejar a síntese dessas novas substâncias. Nesse sentido, na busca por maior esclarecimento da relação entre a estrutura química das tetronamidas e sua ação cianobactericida, estudos de QSAR foram realizados confrome descrito na seção de metodologias. A seguir, são apresentados os resultados desse ensaio *in silico*.

Após as estruturas químicas da série “J” (estruturas do presente trabalho, Figura 3) e da série “9” (estruturas análogas previamente publicadas[22] – Tabela 5) terem sido minimizadas e alinhadas (Apêndice B – Tabela AP-2.1), diversos desritores físico-quimicos foram calculados por meio do *software* DataWarrior (Apêndice B – Tabela AP-2.2).

**Tabela 5.** Tetronamidas da série “9” que foram utilizadas nos estudos de QSAR.

| Estrutura geral | | Código | X | $R^1$ | $R^2$ | $IC_{50}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
|  isômero *syn* | 1 | **9a** | Cl | $CH_3$ | fenil | 198,0 |
| | 2 | **anti-9a** | Cl | $CH_3$ | fenil | 86,7 |
| | 3 | **9b** | Cl | $CH_3$ | 2-clorofenil | 200 |
| | 4 | **9c** | Br | $CH_3$ | 3-nitrofenil | 89,6 |
| | 5 | **9d** | Cl | $CH_3$ | 3-nitrofenil | 200 |
| | 6 | **9e** | Br | $CH_3$ | naftalen-2-il | 50,7 |
| | 7 | **anti-9e** | Br | $CH_3$ | naftalen-2-il | 25,0 |
| | 8 | **9f** | Cl | Br | naftalen-2-il | 16,1 |
| | 9 | **anti-9f** | Cl | Br | naftalen-2-il | 15,6 |
| | 10 | **9g** | Cl | Br | 4-metoxifenil | 200 |
| | 11 | **9h** | Cl | Br | 3-metoxifenil | 200 |
| | 12 | **9i** | Cl | Br | 4-nitrofenil | 32,0 |
| | 13 | **9j** | Cl | $CH_3$ | 4-fluor-2-clorofenil | 200 |
| | 14 | **9k** | Cl | $CH_3$ | 2-metoxifenil | 200 |
| | 15 | **9n** | Cl | H | 1,1'-bifenil-4-il | 200 |
| | 16 | **9o** | Cl | $OCH_3$ | 1,1'-bifenil-4-il | 200 |
| | 17 | **9p** | Cl | OH | 1,1'-bifenil-4-il | 200 |
| | 18 | **9r** | Br | Br | 1,1'-bifenil-4-il | 5,0 |
| | 19 | **9t** | Br | $OCH_3$ | 1,1'-bifenil-4-il | 5,1 |
| | 20 | **9u** | Br | OH | 1,1'-bifenil-4-il | 116,0 |
| | 21 | **9v** | H | $CH_3$ | 1,1'-bifenil-4-il | 31,0 |



* As estruturas dos compostos pertencentes à série “J” podem ser vistas na Figura 4 e na folha de estruturas sintetizadas (última página).

Devido ao enorme número de variáveis (51 descritores para 41 compostos) empregou-se a técnica estatística de análise de componentes principais (PCA). Essa ferramenta matemática reduz grande parte das variáveis de um conjunto de dados em poucas componentes principais (PCs, do inglês, *Principal Components*), sem perda significativa de informação.

Por meio da PCA foram geradas três PCs que juntas explicam 81,25% da variação dos dados (PC1 = 43,76%; PC2 = 23,23% e PC3 = 14,24%, Figura 12), sendo o mínimo aceitável 70%.[66] Estão mostrados na Tabela 6 os descritores que mais contribuiram para cada PC (Nota de rodapé página seguinte [4]).

**Tabela 6.** Alguns descritores e seus respectivos coeficientes em ordem decrescente de importância na contribuição para as PCs 1, 2 e 3. Nota de rodapé [4]

| | PC1 (43,76%) | | PC2 (23,23%) | | PC3 (14,24%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,244 | *Aromatic atoms* | 0,286 | H-*donors* | 0,405 | *Non-C/H atoms* |
| 2 | 0,238 | *Carbo-rings* | 0,174 | *Relative PSA* | 0,405 | *Electronegative atoms* |
| 3 | 0,238 | *Aromatic rings* | 0,169 | *Polar surface area* | 0,327 | H-*acceptors* |
| 4 | 0,238 | *Carbo-aromatic rings* | 0,124 | *Globularity vol* | 0,297 | *Polar surface area* |
| 5 | 0,236 | cLogP | 0,124 | *Rotatable bonds* | 0,233 | *Total molweight* |
| 6 | 0,236 | *Total surface area* | 0,072 | H-*Acceptors* | 0,233 | *Molweight* |
| 7 | 0,233 | *Non-H atoms* | 0,062 | *Carbo-Rings* | 0,232 | *Monoisotopic mass* |
| 8 | 0,229 | *Vdw-volume* | 0,062 | *Aromatic Rings* | 0,219 | *Relative PSA* |

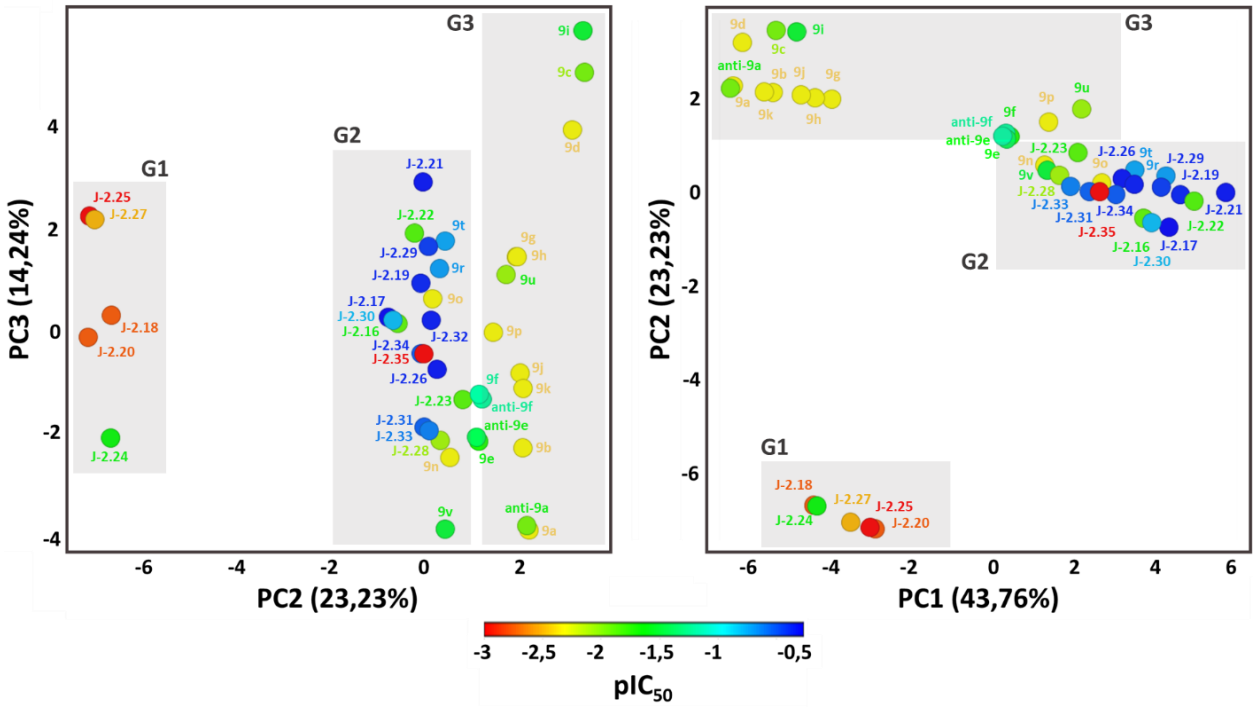



**Figura 12.** Representações gráficas das PCs resultado da análise de PCA. Os círculos representam as substâncias das séries "J" e "9" e a sua cor é referente ao valor de $pIC_{50}$. Assim, tonalidades quentes representam substâncias pouco ativas e tonalidades frias substâncias ativas. As caixas cinzas representam os grupos G1, G2 e G3 segregados pelas PCs.

[4] As PCs são equações lineares nas quais cada uma contém todas as variáveis, algumas em maior peso do que outras. Assim, na situação do presente trabalho, foram gerados 51 descritores (variáveis) para as substâncias das séries "J" e "9" (descritores e respectivos valores mostrados na Tabela AP-2.2, no Apêndice B). A análise de PCA sobre esses descritores gera 51 equações lineares (PCs) na qual cada uma dessas possui 52 termos (51 deles em função de cada um dos descritores e uma constante. Exemplo: *PC1 = c·Descritor 1 + c·Descritor 2 + … + c·Descritor 51 + c*, em que *c* são constantes). No entanto, as três primeiras PCs geradas nesse estudo conseguiram explicar juntas 81,25% da variação dos dados. As variáveis de maior peso nas PCs selecionadas no presente trabalho estão mostradas na Tabela 6.

A análise da Figura 12 permite perceber que as components PC2 e PC1 são as que melhor segregam os compostos em função do valor de $pIC_{50}$ (nota de rodapé ***5***). De maneira qualitativa é possível separar as substâncias em três grupos na análise de PCA (grupos G1, G2 e G3 demarcados por caixas cinzas na Figura 12), sendo G1 formado exclusivamente pelas tetronamidas derivadas da morfolina e pirrolidina, G2 constituído por tetronamidas contendo as porções bifenila e *N*-aril e G3 formado, em maioria, por tetronamidas substituídas por grupos polares (-OH, $-NO_2$ e $-OCH_3$) na porção advinda do aldeído na etapa de formação do aduto de aldol, com ausência da unidade bifenila.

Na Figura 13 é possível visualizar o resultado da PCA com marcação por cores para diferentes parâmetros. A Figura 13 A é a representação 3D para a Figura 12. Nas Figuras 13 B, C e D é possível ver, comparando-as com a Figura 13 A, alguns descritores que parecem estar diretamente relacionados à ação cianobactericida das substâncias avaliadas. Em especial, os descritores acerca da presença de anéis saturados (Figura 13 B) e anéis aromáticos (Figura 13 D).

***5*** Uma estratégia para visualizar qual componente melhor segrega as substâncias em função do valor de $pIC_{50}$ é projetar para o eixo da respectiva PC todos os círculos. Caso o resultado seja, ao longo do eixo da PC, grupamentos de cores semelhantes, a respectiva PC possui boa capacidade de segregação e, consequentemente, os descritores que mais contribuem para ela também. Exemplo: PC com segregação ruim: xyxy yz xyzxy; PC com boa segregação: xxxx yyyy zz.

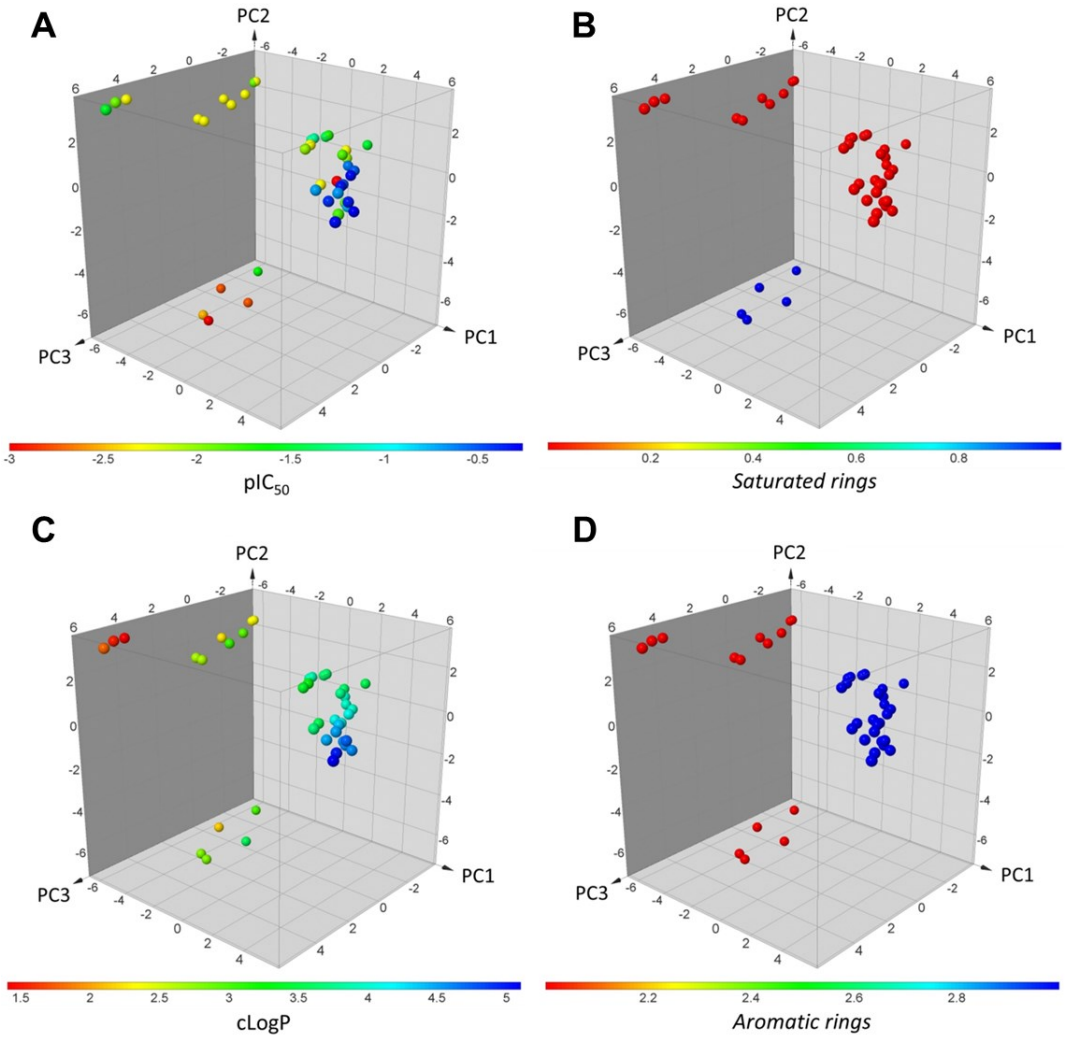



**Figura 13.** Gráficos da PCA em marcação por cores para diferentes parâmetros. As esferas representam os compostos das séries “J” e “9”.

O procedimento para encontrar equações de QSAR se inicia pela separação dos compostos, de maneira aleatória, em dois grupos: (**i**) grupo treinamento no qual foram geradas as QSARs e (**ii**) grupo teste no qual foram validadas as QSARs geradas no grupo treinamento. O grupo treinamento, por ser responsável por gerar as QSARs contemplou aproximadamente 70% das moléculas. Na sequência, os descritores gerados para o grupo treinamento foram carregados no *software* BuildQSAR e foram selecionados os parâmetros para a construção das QSARs.

A primeira tentativa bem sucedida ($R^2$ > 0,7) de geração de uma QSAR teve os seguintes descritores selecionados: *saturated rings, aromatic atoms,* cLogP e *H-donors*. Por sorteio, os compostos foram divididos nos seguintes grupos: grupo treinamento: **anti-9a**, **anti-9e**, **anti-9f**, **9a**, **9b**, **9c**, **9e**, **9f**, **9i**, **9j**, **9k**, **9n**, **9o**, **9p**, **9r**, **9t**, **9v**, **J-2.16**, **J-2.17**, **J-2.18**, **J-2.19**, **J-2.23**, **J-2.25**, **J-2.27**, **J-2.28**, **J-2.31**, **J-2.32**, **J-2.33**, **J-2.34** e **J-2.35**; grupo

teste: **9d**, **9g**, **9h**, **9u**, **J-2.20**, **J-2.21**, **J-2.22**, **J-2.24**, **J-2.26**, **J-2.29** e **J-2.30** (Estruturas da série "9" representadas na Tabela 3 e da série "J" na Figura 4).

Os critérios para a seleção deses quatro descritores foram: (**i**) as observações feitas nas análises da PCA que indicaram boa correlação dos descritores "*saturated rings"* (Figura 13 B) e *"aromatic rings"* (Figura 13 D) com o parâmetro biológico e (**ii**) a observação de que o parâmetro "*H-donors"* é o de maior importância para a PC2 (Tabela 6) que é a PC que melhor segrega as substâncias quanto as suas bioatividades (Figura 12). Após exclusão de 5 *outliers* (**9o**, **9n**, **J-2.23**, **J-2.28** e **J-2.35**) obteve-se a Equação 1 (**QSAR-1**).

$$pIC_{50} = \text{- } 0{,}0777\ \text{cLogP} \text{ - } 1{,}5026\ \text{H-}donors + 0{,}2625\ Aromatic\ atoms \text{ - } 1{,}8210\ Saturated\ rings \text{ - } 2{,}1362$$

**Equação 1** (**QSAR-1**)

$R^2 = 0{,}785$, $Q^2 = 0{,}588$ e $N = 25$

Nas Figuras 14 A e B estão apresentadas as correlações entre os valores experimentais e cálculados de $pIC_{50}$ (Equação 1, **QSAR-1**) tanto para o grupo de treinamento (Figura 14 A) quanto para o grupo teste (Figura 14 B). Por meio da imagem e dos valores dos coeficientes de correlação quadráticos ($R^2$, nota de rodapé [6]), que indicam a porcentagem de variação na resposta que é explicada pelo modelo, é possível perceber que a **QSAR-1** possui moderada correlação entre os valores obtidos nos ensaios *in vitro* e *in silico*, tanto no grupo treinamento quanto no grupo teste. As Figuras 14 C e D são referentes à **QSAR-2** e serão discutidas à frente.

[6] O coeficiente de determinação ($R^2$) é uma medida que indica o quão bem um modelo de regressão se ajusta aos dados observados, variando entre 0 e 1, com valores mais próximos de 1 indicando um melhor ajuste. Já o coeficiente de determinação cruzada ($Q^2$), variando de -1 a 1, é uma medida que avalia a capacidade de um modelo de regressão prever dados que não foram usados para treinar o modelo. Valores próximos de 1 indicam melhor capacidade preditiva.

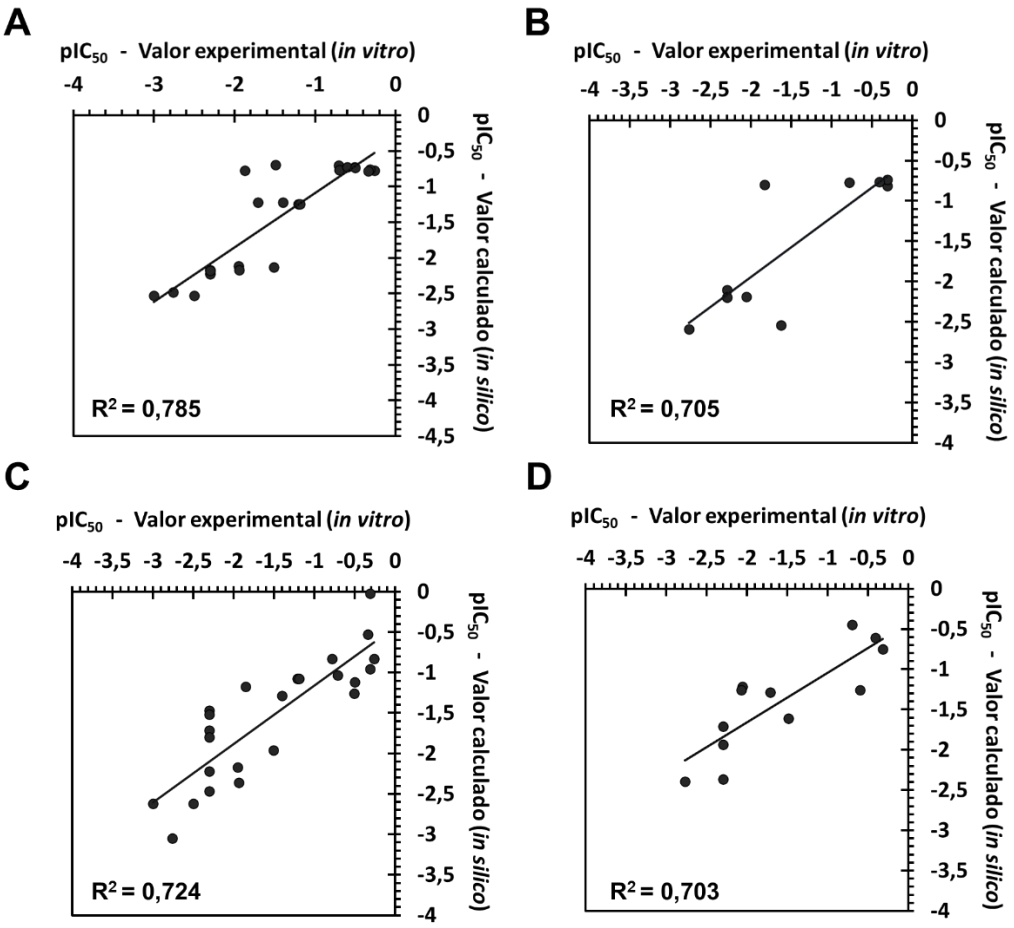



**Figura 14.** Relação entre os valores de $pIC_{50}$ *in vitro* e *in silico* das tetronamidas: **A.** Grupo treinamento – **QSAR-1**; **B.** Grupo teste – **QSAR-1**; **C.** Grupo treinamento – **QSAR-2** e **D.** Grupo teste **QSAR-2**.

A análise da equação gerada (**QSAR-1**) permite reafirmar observações levantadas na seção “Avaliação dos efeitos dos compostos **J-2.16** a **J-2.35** sobre o desenvolvimento de cianobactérias” na qual os dados *in vitro* da bioatividade foram apresentados. O termo “+ 0,2625 *Aromatic atoms*” mostra a relevância da unidade bifenila para a atividade biológica. Este termo também expressa, juntamente com o termo “- 1,8210 *Saturated rings*”, a importância do grupamento aril diretamente ligado ao nitrogênio das tetronamidas, o que está em consonância com o observado acerca dos análogos derivados da morfolina (**J-2.18**, **J-2.25** e **J-2.27**) e pirrolidina (**J-2.20** e **J-2.24**) que não o possuem e, em geral, não possuem relevante atividade cianobactericida contra *S. elongatus*. O termo “- 1,5026 H-*donors*” parece fazer inferência sobre os compostos da série “9” derivados da *p*-hidroxianilina que não expressaram ação cianobactericida. Por fim, “- 0,0777 cLogP” indica a importância da polaridade das estruturas.

Com o propósito de obter outros modelos matemáticos que correlacionem os dados de bioatividade com os descritores gerados, selecionou-se, em uma segunda tenativa de geração de QSAR, os seguintes parâmetros: *molweight*, cLogP, *saturated rings* e *aromatic rings*. Nesse ensaio, os compostos do grupo treinamento foram: **anti-9a**, **anti-9e**, **anti-9f**, **9c**, **9d**, **9f**, **9h**, **9i**, **9j**, **9k**, **9n**, **9o**, **9p**, **9t**, **J-2.16**, **J-2.17**, **J-2.18**, **J-2.19**, **J-2.21**, **J-2.22**, **J-2.23**, **J-2.24**, **J-2.25**, **J-2.26**, **J-2.27**, **J-2.30**, **J-2.31**, **J-2.34** e **J-2.35**; e do grupo teste: **9a**, **9b**, **9e**, **9g**, **9r**, **9u**, **9v**, **J-2.20**, **J-2.28**, **J-2.29**, **J-2.32** e **J-2.33**.

A escolha desses parâmetros foi baseada nas mesmas observações feitas para a **QSAR-1** na seleção de "*saturated rings"* e *"aromatic rings"*. Ademais, levou-se em conta os descritores "*Molweight*" e "cLogP" que também mostraram interessante correlação com os valores de $IC_{50}$. Após exclusão de 5 *outliers* (**9o**, **J-2.16**, **J-2.22**, **J-2.24** e **J-2.35**) obteve-se a Equação 2 (**QSAR-2**).

$$pIC_{50} = \text{ + 0,0056 } \textit{Molweight} \text{ + 0,3878 cLogP - 0,941 } \textit{Saturated Rings} \text{ + 0,0350 } \textit{Aromatic Rings} \text{ - 5,1821}$$

**Equação 2** (**QSAR-2**)

$R^2 = 0,724$, $Q^2 = 0,569$ e N = 25

Nas Figuras 11 C e D estão apresentadas as correlações entre os valores experimentais e calculados de $pIC_{50}$ (Equação 2), tanto para o grupo de treinamento (Figura 14 C) quanto para o grupo teste (Figura 14 D) empregando a **QSAR-2**. Por meio da imagem e dos valores de $R^2$ é possível perceber que a **QSAR-2** possui moderada correlação entre os valores obtidos nos ensaios *in vitro* e *in silico*, tanto no grupo treinamento quanto no grupo teste.

Interessantemente, a **QSAR-2** guarda semelhantes correlações com a **QSAR-1**, indicando novamente a importância do núcleo bifenila e do grupamento *N*-aril. O termo "+ 0,3878 cLogP", que parece conflituar com a **QSAR-1**, expressa a importância da lipofilia das estruturas. A interpretação conjunta das duas QSARs sugere que polaridades medianas sejam ideais para a ação biológica.

Em suma, os estudos de QSAR realizados propuseram a importância das unidades bifenila, *N*-aril, NH e de um valor mediano de polaridade para a bioatividade contra *S. elongatus* PCC 6301. Os estudos *in silico* também sugeriram que a presença do grupo fenol é desvantajoso para a ação cianobactericida das estruturas. Esses resultados corroboram com a análise dos dados biológicos das séries “J” e “9” e, assim como os dados *in vitro* também sugerem, modificações na bifenila pela inserção de halogênio ou modificações na unidade *N*-aril, substituindo-a por *N*-alquil não parecem ser caminhos promissores na busca por potencializar a atividade cianobactericida das tetronamidas. Seja porque essas modificações não afetam significamente de maneira positiva a bioatividade como no caso da inserção de halogênio na porção bifenila, ou porque causam queda considerada na ação biológica, como é observado na troca da unidade *N*-aril por uma *N*-alquil.

É válida a ressalva de que os estudos *in silico* aqui discutidos estão sujetos a erros de predição dos descritores, em especial aqueles dependentes da conformação da estrutura, na qual a conformação escolhida para os cálculos pode não ser a conformação farmacofórica. Ademais, mesmo tendo sido feita a remoção de *outliers*, podem haver erros associados aos dados biológicos dos compostos restantes, acredita-se ter minimizado esses erros com a realização das replicatas e as análises estatísticas nas avaliações *in vitro*. Pela natureza do estudo *in silico*, há de se pontuar também a possibilidade da geração de várias QSARs com os parâmetros de trabalho, podendo-se obter inúmeras, e até mesmo conflituosas, conclusões. Por isso, não se deve considerar irrefutável as inferências levantadas nesta seção. Entretanto, considera-se coerentes as observações aqui levantadas devido ao emprego, nos ensaios *in silico* e *in vitro,* de estudos estatísticos e de metodologias validadas pela literatura. Ademais, as conclusões sugeridas pelas QSARs apresentadas estão de acordo com as análises prévias mostradas na seção “Avaliação dos efeitos dos compostos **J-2.16** a **J-2.35** sobre o desenvolvimento de cianobactérias”.

## 3.4 CONCLUSÕES

Em resumo, foram executadas diversas tentativas de síntese de tetronamidas contendo, na unidade *N*-aril, grupos retiradores de elétrons ou halogênio na posição *orto*. Embora o insucesso, propostas que justifiquem os dados experimentais foram elaboradas e discutidas neste capítulo.

Com êxito, foi possível a síntese dos blocos construtores 3,4-dialofuran-2(5*H*)-ona (rendimentos 79-85%) e de 9 tetronamidas (rendimentos 33-98%) derivadas destes. Ademais, foi possível obter 4 aldeídos bifenílicos pelo acoplamento de Suzuki entre o *p*-bromobenzaldeído e diferentes ácidos fenilborônicos substituídos (rendimentos 88-94%) e 20 tetronamidas adutos de aldol (rendimentos 19-85%) que foram submetidas à avaliação das suas atividades cianobactericida, herbicida e inibitória do sistema transportador de elétrons. O estudo da bioatividade das mesmas foi interpretado e avaliado com auxílio da QSAR. Tanto pela observação empírica dos dados obtidos quanto pelo tratamento matemático dado aos resultados (QSAR), foi possível concluir que a unidade bifenila e a presença dos grupamentos *N*-aril e NH são de suma importância para a ação cianobactericida. Destaque é dado para as moléculas **J-2.17**, **J-2.19**, **J-2.21**, **J-2.26** e **J-2.32** que tiveram valores de $IC_{50}$ contra *Synechococcus elongatus* PCC 6301 de aproximadamente 2 μM.

Assim como esperado, baseado em resultados publicados pelo grupo,[22] o mecanismo de ação desses compostos parece não proceder via inibição do sistema fotossintetizante das cianobactérias. Ademais, a avaliação da atividade herbicida das estruturas **J-2.16** a **J-2.35** indicaram que essas substâncias, em geral, possuem seletividade para ação cianobactericida, o que é promissor no caso da aplicação das mesmas em sistemas aquáticos que contenham plantas ou outros seres fotossintetizantes.

## 3.5 METODOLOGIAS

### 3.5.1 Sínteses e caracterizações

#### Generalidades metodológicas

A análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada em placas de sílica gel com suporte de alumínio Polygram-UV254 0,20 mm, Macherey-Nagel. Após a eluição, as placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta (λ = 254 nm; 365 nm). As separações foram realizadas por cromatografia em coluna utilizando-se sílica gel 60 (70-230 mesh) como fase estacionária.

As temperaturas de fusão ($T_f$) foram obtidas usando o aparelho 301-MQAPF (Microquimica, Brasil).

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram registados no espectrômetro Varian 660-IR equipado com varrimento GladiATR de 4.000 a 400 $cm^{-1}$.

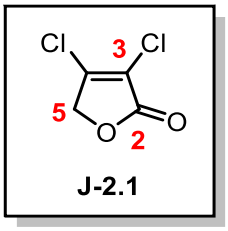
Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono, foram registados à temperatura ambiente em um espectrômetro Bruker de 400 MHz para RMN de $^{1}H$ e 100 MHz para RMN de $^{13}C$, usando como solventes $CDCl_3$, $(CD_3)_2CO$ e $(CD_3)_2SO$. Os deslocamentos químicos ($\delta$) são referidos em relação a clorofórmio ($\delta_H$ 7,26; $\delta_C$ 77,16), acetona ($\delta_H$ 2.05; $\delta_C$ 29,84, 206,26) ou dimetilsulfóxido ($\delta_H$ 2.50; $\delta_C$ 39,52). Dados de RMN de $^{1}H$ são registados como se segue: deslocamento químico ($\delta$) [integral relativa, multiplicidade e constante de acoplamento *J* (Hz)], em que a multiplicidade é definida como s = simpleto; d = dupleto; t = tripleto; q = quarteto, m = multipleto ou combinações dos anteriores. A numeração apresentada nas estruturas foi utilizada para a atribuição dos sinais na espectroscopia de RMN. Essa numeração não corresponde com a numeração utilizada nas recomendações de nomenclatura de substâncias orgânicas da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*).

#### Síntese dos butenolídeos 3,4-dialofuran-2(5*H*)-ona J-2.1 e J-2.2

Em um balão de fundo redondo de 250 mL, em banho de gelo e sob agitação magnética, foram adicionados o respectivo ácido mucoalogênico (mucobrômico ou mucoclórico) (83,40 mmol) e metanol (120,0 mL). Após solubilização, foi adicionado lentamente $NaBH_4$ (4,74 g; 125,10 mmol) em porções. A mistura resultante foi mantida

sob agitação por 30 minutos a 0 °C. Na sequência, foi adicionada uma solução de ácido sulfúrico (13,5 mL; 250,20 mmol) em metanol (50,0 mL) a 0 °C. A mistura foi mantida em agitação por 2 horas e então foi diluída em éter dietílico (200,0 mL) e lavada com uma solução de HCl (3 x 10,0 mL; 0,5 mol/L). A fase orgânica foi secada com $MgSO_4$ anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório de pressão reduzida.

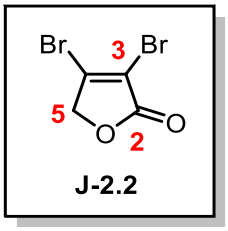
**3,4-diclorofuran-2(5*H*)-ona (J-2.1)**



**J-2.1**

**Rendimento:** 79% (10,08 g; 65,88 mmol). $\mathbf{R_f}$ = 0,4 (2:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico**: cristais brancos. $\mathbf{T_f}$: 49,0-50,5 °C ($\mathbf{T_f}$ literatura: 48-52 ºC)[36]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 2913, 2036, 1845, 1768, 1633, 749, 723. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 4,86 (s; 2H; H5). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 79,8 (C5); 122,1 (C3); 148,8 (C4); 165,8 (C2).

**3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (J-2.2)**



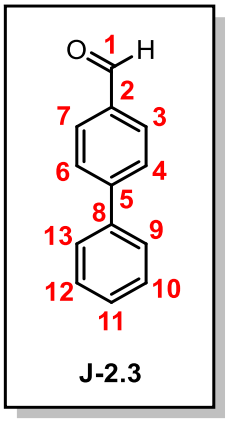
**J-2.2**

**Rendimento:** 85% (17,14 g; 70,89 mmol). $\mathbf{R_f}$ = 0,4 (2:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico**: cristais brancos. $\mathbf{T_f}$: 89,0-90,2 °C. ($\mathbf{T_f}$ literatura: 90-94 ºC)[36]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 1757, 1605, 1338, 1216, 1023, 992, 749, 717. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 4,90 (s; 2H; H5). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 74,4 (C5); 114,9 (C3); 143,8 (C4); 166,8 (C2).

**Síntese dos aldeídos bifenílicos J-2.3 a J-2.6**

Em um tubo de vidro Pirex© selado (16 x 160 mm) sob atmosfera de argônio foram adicionados 4-bromobenzaldeído (200 mg; 1,08 mmol), o respectivo ácido fenilborônico (1,08 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paládio(0) ($Pd(PPh_3)_4$) (62 mg; 0,05 mmol), uma solução aquosa de $K_2CO_3$ (1,0 mL; 2,0 $molL^{-1}$; 2,16 mmol) e tolueno (3,0 mL). A reação foi mantida sob atmosfera de argônio e agitação magnética a 110 ºC por 24 horas. Após este período, a mistura reacional foi vertida em um funil de separação contendo uma solução saturada de NaCl (15,0 mL) e acetato de etila (20,0 mL). A fase orgânica foi separada e secada com $Na_2SO_4$ anidro e, em seguida, os voláteis foram removidos em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material obtido foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:acetato de etila 9:1 v/v).

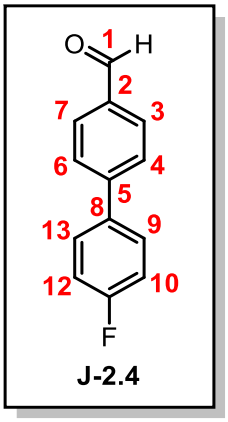
**[1,1'-bifenil]-4-carbaldeído (J-2.3)**



J-2.3

**Rendimento:** 94% (184 mg; 1,02 mmol). **$R_f$** = 0,8 (9:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 57,0-59,0 °C. (**$T_f$** literatura: 57-59 ºC)[36]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3446, 2836, 1698, 1683, 1606, 1174, 835, 766. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 10,08 (s, 1H, H1), 7,97 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H3 e H7), 7,78 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H4 e H6), 7,66 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H9 e H13), 7,53 – 7,43 (m, 3H, H10, H11 e H12). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 191,9 (C1), 147,2 (C5), 139,7 (C8), 135,2 (C2), 130,3 (C3 e C7), 129,0 (C C10 e C12), 128,5 (C11), 127,7 (C4 e C6), 127,4 (C9 e C13).

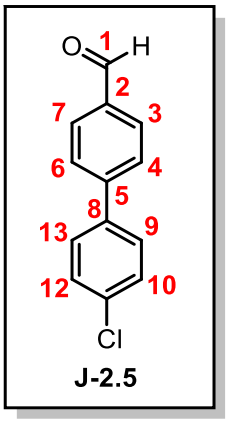
**4'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-carbaldeído (J-2.4)**



J-2.4

**Rendimento:** 92% (198 mg; 0,98 mmol). **$R_f$** = 0,7 (9:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** Sólido branco. **$T_f$:** 78,5-80,0 ºC. (**$T_f$** literatura: 72-74 ºC)[37]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3068, 2920, 2842, 2740, 1641, 1597, 1226, 1172, 806, 498. **RMN de $^1$H** (200 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.96 (s, 1H, H1), 7.85 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H3 e H7), 7.68 – 7.44 (m, 4H, H4, H6, H9 e H13), 7.07 (m, 2H, H10 e H12). **RMN de $^{13}$C** (50 MHz, $CDCl_3$) δ: 191,7 (C1), 163,0 (d, *J* = 248,6 Hz, C11), 146,0 (C5), 135,7 (C8), 135,0 (C2), 130,3 (C3 e C7), 128,9 (d, *J* = 8,2 Hz, C9 e C13), 127,3 (C4 e C6), 115,9 (d, *J* = 21,6 Hz, C10 e C12).

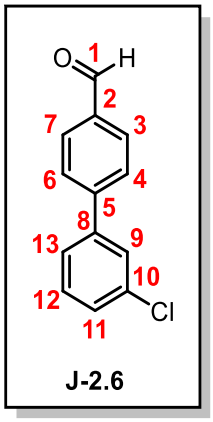
**4'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-carbaldeido (J-2.5)**



J-2.5

**Rendimento:** 89% (208 mg; 0,96 mmol). **$R_f$** = 0,7 (9:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 114,6-115,2 ºC. (**$T_f$** literatura: 114-115 ºC)[37]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 2922, 2820, 2720, 1696, 1600, 1478, 809, 499. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 9,98 (s, 1H, H1), 7,87 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H3 e H7), 7,63 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H4 e H6), 7,48 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H9 e H13), 7,36 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H10 e H12). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 191,7 (C1), 145,7 (C5), 138,1 (C8), 135,4 (C2), 134,7 (C11), 130,3 (C3 e C7), 129,2 (C9 e C13), 128,6 (C10 e C12), 127,5 (C4 e C6).

### 3'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-carbaldeido (J-2.6)



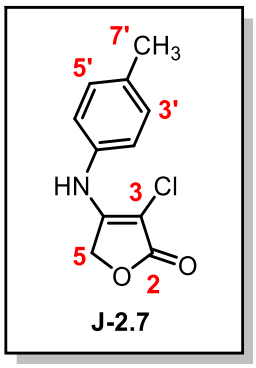
J-2.6

**Rendimento:** 88% (206 mg; 0,95 mmol). $\mathbf{R_f}$ = 0,7 (9:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. $\mathbf{T_f}$: 58-60 ºC. ($\mathbf{T_f}$ literatura: 57-60 ºC)[38]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 2832, 1688, 1596, 1382, 1162, 768, 575. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 9,86 (s, 1H, H1), 7,76 (d, J = 8,2 Hz, 2H, H3 e H7), 7,53 (d, J = 8,2 Hz, 2H, H6 e H4), 7,46 – 7,37 (m, 1H, H9), 7,37 – 7,29 (m, 1H, H13), 7,28 – 7,14 (m, 2H, H11 e H12). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 191,6 (C1), 145,2 (C5), 141,3 (C8), 135,4 (C2), 134,6 (C10), 130,2 (C12), 130,1 (C3 e C7), 128,2 (C11), 127,5 (C4 e C6), 127,2 (C9), 125,4 (C13).

### Síntese das tetronamidas J-2.7 a J-2.15

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados o butenolídeo **J-2.1** ou **J-2.2** (6,54 mmol), $NaHCO_3$ (330 mg; 3,92 mmol), metanol (15,0 mL) e a respectiva amina (7,19 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e em temperatura ambiente por 12 horas. Na sequência, a reação foi vertida em um funil de separação contendo acetato de etila (20,0 mL) e uma solução de HCl (20,0 mL; 1,2 mol/L). A fase orgânica foi separada e secada com $MgSO_4$ anidro e, em seguida, os voláteis foram removidos em evaporador sob pressão reduzida. O material obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:acetato de etila 2:1 v/v).

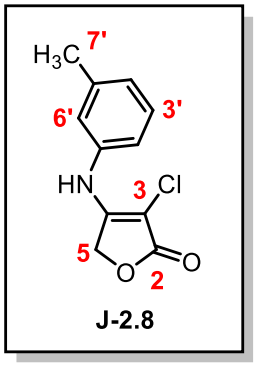
### 3-cloro-4-((4-metilfenil)amino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.7)



J-2.7

**Rendimento:** 97% (1,43 g; 6,30 mmol). $\mathbf{R_f}$ = 0,4 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. $\mathbf{T_f}$: 214,8-215,1 °C. ($\mathbf{T_f}$ literatura: 213-215 ºC)[39]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3218, 3032, 2919, 2850, 2370, 1704, 1625, 1607, 1511, 1352, 1197, 1046, 1015, 743, 483. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 9,06 (s, 1H, NH), 7,19 (s, 4H, H2', H3', H5' e H6'), 4,99 (s, 2H, H5), 2,31 (s, 3H, H7'). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 168,7 (C2), 158,5 (C4), 135,9 (C1'), 134,8 (C4'), 129,7 (2C, C3' e C5'), 122,4 (2C, C2' e C6'), 87,2 (C3), 66,0 (C5), 20,0 (C7').

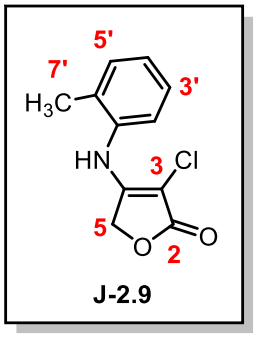
### 3-cloro-4-((3-metilfenil)amino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.8)



J-2.8

**Rendimento:** 98% (420 mg; 1,85 mmol). **$R_f$** = 0,4 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Características:** Sólido branco. **$T_f$:** 156,3-158,4 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3440,3289, 3251, 3139, 2968, 2920, 2851, 1720, 1626, 1597, 1045, 1018, 997, 771, 427. **RMN de $^1$H** (200 MHz, DMSO-$d_6$) δ: 2,29 (s, 3H, H7'), 5,09 (s, 2H, H5), 6,96-7,06 (m, 3H, H2', H4' e H6'), 7,21-7,28 (m, 1H, H3'), 9,60 (s, 1H, NH). **RMN de $^{13}$C** (50 MHz, DMSO-$d_6$) δ: 20,9 (C-7'), 66,3 (C5), 86,4 (C3), 119,0 (C4'), 122,4 (C2'), 125,5 (C6'), 129,0 (C3'), 138,1 (C1'), 138,7 (C5') 158,5 (C4), 169,0 (C2).

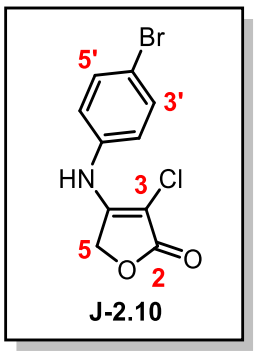
### 3-cloro-4-((2-metilfenil)amino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.9)



J-2.9

**Rendimento:** 33% (140 mg; 0,62 mmol). **$R_f$** = 0,4 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Características:** Sólido marrom claro. **$T_f$:** 186,0-187,6 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3215, 3043, 2922, 2851, 1715, 1620, 1182, 1041, 1013, 746. **RMN de $^1$H** (200 MHz, $CDCl_3$) δ: 2,34 (s, 3H, H7'), 4,72 (s, 2H, H5), 7,07-7,40 (m, 4H, H2', H3', H4' e H6'). **RMN de $^{13}$C** (50 MHz, $CDCl_3$) δ: 17,8 (C7'), 66,1 (C5), 124,3 (C4') 127,3 (C3'), 127,6 (C2'), 131,7 (C5'), 132,9 (C6'), 135,5 (C1'), 158,4 (C2).

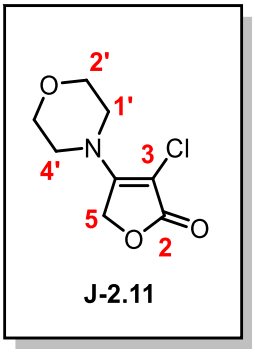
### 4-((4-bromofenil)amino)-3-clorofuran-2(5*H*)-ona (J-2.10)



J-2.10

**Rendimento:** 92% (1,74 g; 6,02 mmol). **$R_f$** = 0,4 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido amarelo pálido. **$T_f$**: 222,4-222,8 °C. (**$T_f$** literatura: 221-222 ºC)[39]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3215, 3039, 2922, 2845, 1709, 1621, 1352, 1194, 1047, 1016, 714, 558. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 8,80 (s, 1H, NH), 7,56 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H, H3' e H5'), 7,27 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H, H2' e H6'), 5,12 (s, 2H, H5). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 168,3 (C2), 157,6 (C4), 137,9 (C1'), 132,3 (2C, C3' e C5'), 123,8 (C2'), 123,6 (C6'), 117,4 (C4'), 89,1 (C3), 66,1 (C5).

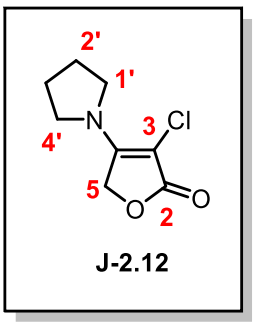
### 3-cloro-4-morfolinofuran-2(5*H*)-ona (J-2.11)




J-2.11

**Rendimento:** 80% (1,06 g; 5,23 mmol). **$R_f$** = 0,3 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido amarelo pálido. **$T_f$**: 231,3-232,6 °C. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 2913, 2859, 1729, 1600,1284, 1040, 995, 849. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 4,80 (s, 2H, H5), 3,69 (m, 4H, H2' e H3'), 3,55 (m, 4H, H1' e H4'). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 170,7(C2), 157,8 (C4), 84,5 (C3), 66,5 (C5), 66,1 (C2' e C3'), 47,1 (C1' e C 4').

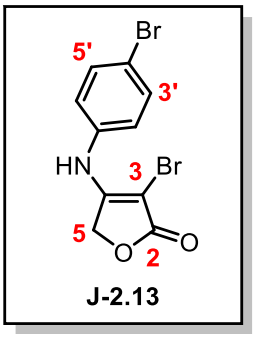
### 3-cloro-4-(pirrolidin-1-il)furan-2(5*H*)-ona (J-2.12)




J-2.12

**Rendimento:** 84% (1,03 g; 5,49 mmol). **$R_f$** = 0,5 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido amarelo pálido. **$T_f$**: 201,3-202,4 °C. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 2954, 1729, 1627, 1603, 1447, 986, 717. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 4,67 (s, 2H, H5), 1,89 (sl, 4H, H1', H2', H3' e H4'). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 170,8 (C2), 157,7 (C4), 82,8 (C3), 66,3 (C5), 48,5 (C1' e C4'), 25,1 (C2' e C3').

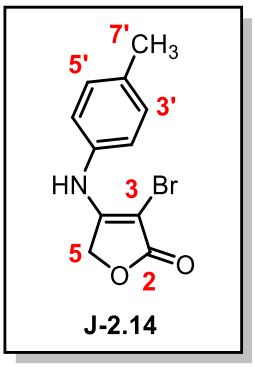
### 3-bromo-4-(4-bromofenil)amino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.13)




J-2.13

**Rendimento:** 88% (1,92 g; 5,75 mmol). **$R_f$** = 0,4 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido marrom. **$T_f$**: 152,5-154,1 °C. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3181, 3069, 1718, 1600, 1569,1481, 812, 493. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 7,52 (d; $J$ = 8,7 Hz, 2H; H2' e H6'), 6,98 (d; $J$ = 8,7 Hz 2H; H3' e H5'), 6,78 (s, 1H, NH), 4,91 (s, 2H, H5). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$) $\delta$: 169,1 (C2), 159,7 (C4), 136,4 (C1'), 133,2 (2C, C2' e C6'), 123,4 (2C, C3' e C5'), 119,5 (C4'), 79,1 (C3), 67,2 (C5).

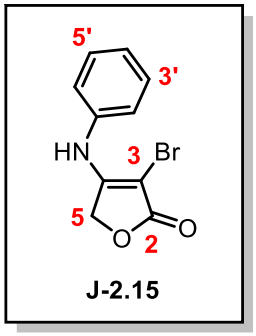
### 3-bromo-4-((4-metilfenil)amino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.14)




J-2.14

**Rendimento:** 85% (1,50 g; 5,56 mmol). **$R_f$** = 0,4 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido laranja escuro. **$T_f$**: 224,0–226,9°C. (**$T_f$** literatura: 225-226 ºC)[39]. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3208, 3021, 1701, 1620, 1345, 1192, 1036, 741 **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 9,45 (s, 1H, -NH), 7,15 (s, 4H, H2', H3', H5' e H6'), 4,99 (s, 2H, H5), 2,27 (s, 3H, H7'). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 170,0 (C2), 162,1 (C4), 135,9 (C1'), 135,0 (C4'), 130,0 (2C, C3' e C5'), 123,2 (2C, C2' e C6'), 73,8 (C3), 67,6 (C5), 20,8 (C7')

**3-bromo-4-(fenilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.15)**



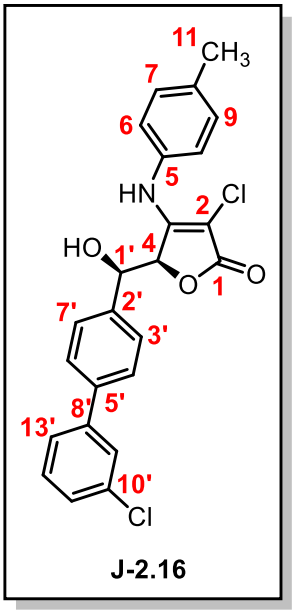

J-2.15

**Rendimento:** 79% (1,31 g; 5,16 mmol). $\mathbf{R_f}$ = 0,4 (1:1 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido laranja escuro. $\mathbf{T_f}$: 201,0–201,9°C. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3195, 2923, 2360, 1725, 1481, 1386, 1253, 1186, 900, 724, 493. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 8,75 (s, 1H, -NH), 7,29 (t, $J$ = 7,9 Hz, 2H, H3' e H5'), 7,10 (m, 3H, H2', H4' e H6'), 4,81 (s, 2H, H5). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 170,2 (C2), 160,9 (C4), 137,8 (C1'), 129,5 (C2' e C6'), 125,9 (C4'), 122,8 (C3' e C5'), 77,6 (C3), 67,5 (C5).

**Síntese dos adutos de aldol J-2.16 a J-2.35**

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foi adicionado a respectiva tetronamida (0,17 mmol), hidróxido de sódio (8 mg; 0,21 mmol) e uma mistura de MeOH:$H_2O$ (5,0 mL, 2:1 v/v). O sistema foi mantido em agitação em temperatura ambiente até solubilização dos sólidos e, na sequência, foi adicionado o respectivo aldeído (0,17 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação por 12 horas. A reação foi neutralizada com uma solução aquosa de HCl (0,3 mL, 1,0 $molL^{-1}$). O metanol foi removido sob pressão reduzida e, à mistura resultante, foi adicionada solução saturada de NaCl (5,0 mL). O produto foi extraído com acetato de etila (3 x 5,0 mL). A fase orgânica foi secada com $Na_2SO_4$ anidro e o solvente removido em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O material obtido foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:acetato de etila 2:1 v/v).

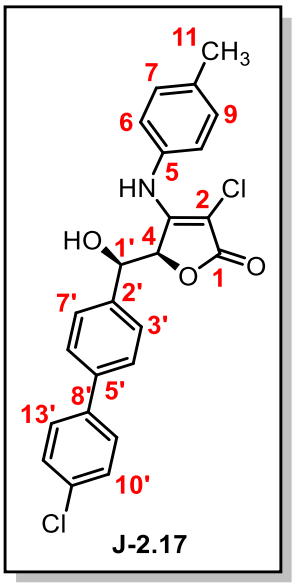
**(±)-(*R*)-3-cloro-5-((*R*)-(3'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-(*p*-tolilamino)furan-2-(5*H*)-ona (J-2.16)**




J-2.16

**Rendimento:** 19% (14 mg; 0,03 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 246,0-248,0 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3243, 1710, 1618, 1600, 1189, 1020, 661. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 8,51 (s, 1H, NH), 7,58 – 7,38 (m, 3H, H9', H11' e H12'), 7,36 – 7,27 (m, 5H, H13', H3', H4', H6' e H7'), 7,10 (d, $J$ = 7,9 Hz, 2H, H7 e H9), 6,97 (d, $J$ = 7,9 Hz, 2H, H6 e H10), 5,23 (d, $J$ = 2,9 Hz, 1H, H4), 5,00 – 4,84 (m, 1H, H1'), 2,28 (s, 3H, H11). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 175,1 (C1), 161,2 (C3), 146,4 (C8'), 143,3 (C5'), 142,4 (C2'), 139,9 (C5), 138,4 (C10'), 138,2 (C8), 133,9 (C12), 133,3 (C9 e C7), 131,1 (C9'), 130,8 (C11'), 130,8 (C4' e C6'), 130,6(C3' e C7'), 129,0 (C13'), 128,0 (C6 e C10), 92,7 (C2), 83,8 (C4), 75,0 (C1'), 24,5 (C11). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{19}Cl_2NO_3$: 439,0742. [M-H$^+$]: 438,0669. Encontrado: 438,06692.

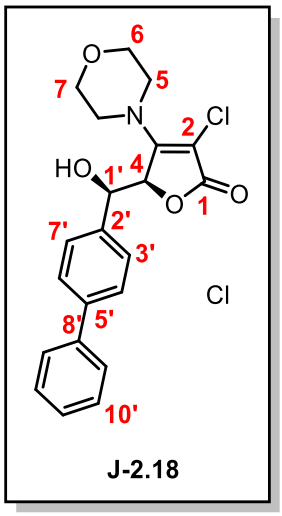
**(±)-(*R*)-3-cloro-5-((*R*)-(4'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-(*p*-tolilamino)furan-2-(5*H*)-ona (J-2.17)**




J-2.17

**Rendimento:** 22% (16 mg; 0,04 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$**: 240,7-241,6 ºC**. IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3275, 3040, 2920, 2851, 1729, 1621, 1601, 1021, 814, 798. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 7,51 – 7,39 (m, 4H, H9', H10', H12' e H13'), 7,37 – 7,28 (m, 4H, H3', H7', H4' e H6'), 7,11 (d, $J$ = 8,1 Hz, 2H, H7 e H9), 6,99 (d, $J$ = 8,1 Hz, 2H, H6 e H10), 5,24 (d, $J$ = 2,8 Hz, 1H, H4), 4,92 (m, 1H, H1'), 4,90 – 4,81 (m, 1H, OH), 2,29 (s, 3H, H11). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 174,6 (C1), 161,6 (C3), 145,4 (C5'), 143,9 (C8'), 143,4 (C2'), 139,9 (C5), 139,6 (C11'), 137,7 (C8), 134,1 (C7 e C9), 133,8 (C10' e C 12'), 133,1 (C9' e C13'), 132,0 (C4' e C6'), 131,2 (C3' e C7'), 128,8 (C6 e C10), 93,3 (C2), 85,5 (C4), 75,0 (C1'), 25,7 (C11). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{19}Cl_2NO_3$: 439,0742. [M-H$^+$]: 438,0669. Encontrado: 438,06692.

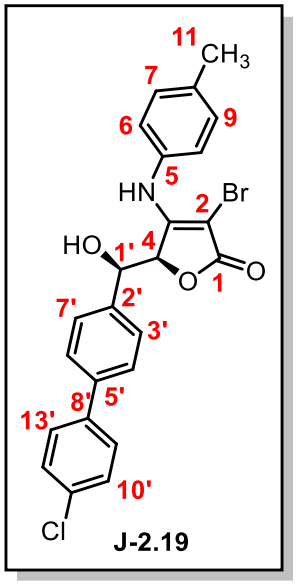
**(±)-(*R*)-5-((*R*)-[1,1'-bifenil]-4-il(hidroxi)metil)-3-cloro-4-morfolinofuran-2(5*H*)-ona (J-2.18)**




J-2.18

**Rendimento:** 50% (33 mg; 0,085 mmol). **$R_f$** = 0,2 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$R_f$** = 0,2 (5:6 Hexano:Acetato de etila). **$T_f$:** 216,9-219,0 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3330, 1716, 1608, 1255, 1008, 750. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 7,36 (m, 9H, H3', H4', H6', H7', H9', H10', H11', H12', e H13'), 5,63 (sl, 1H, H4), 5,21 (s, 1H, H1'), 4,97 (sl, 1H, OH), 3,70 (s, 4H, H6 e H7), 2,93 (s, 4H, H5 e H8). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 169,8 (C1), 158,2 (C3), 140,4 (C8'), 140,3 (C5'), 139,3 (C2'), 128,9 (C10' e C12'), 127,5 (C11'), 127,3 (C4' e C6'), 126,9 (C9' e C13'), 126,5 (C3' e C7'), 88,6 (C2), 80,0 (C4), 71,7 (C1'), 66,5 (C6 e C7), 48,7 (C5 e C8). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{21}H_{20}ClNO_4$: 385,1081. [M+$Cl^-$]: 420,0769. Encontrado: 420,07694.

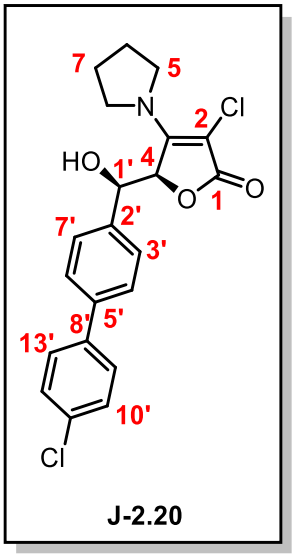
**(±)-(*R*)-3-bromo-5-((*R*)-(4'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-(*p*-tolilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.19)**




J-2.19

**Rendimento:** 60% (49 mg; 0,102 mmol). **Aspecto físico:** sólido branco. **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **$T_f$:** 221,6-222,8 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3262, 1731, 1722, 1606, 1598, 1187, 813. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 8,08 (sl, 1H, NH), 7,34 (m, 8H, H3', H7', H4', H6', H9', H13', H10' e H12'), 7,05 (d, $J$ = 7,9 Hz, 2H, H7 e H9), 6,95 (d, $J$ = 7,9 Hz, 2H, H6 e H10), 5,60 (sl, 1H, OH), 5,19 (s, 1H, H4), 4,98 (s, 1H, H1'), 2,26 (s, 3H, H11). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 170,3 (C1), 159,8 (C3), 140,0 (C5'), 139,1 (C8'), 138,9 (C2'), 135,5 (C5), 134,7 (C11'), 133,1 (C8), 129,4 (C7 e C9), 128,9 (C10' e C12'), 128,3 (C9' e C13'), 127,20 (C4' e C6'), 126,5 (C3' e C7'), 124,6 (C6 e C10), 81,5 (C4), 75,7 (C2), 70,5 (C1'), 21,1 (C11). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{19}BrClNO_3$: 483,0237. [M-$H^+$]: 482,0164. Encontrado: 482,01641.

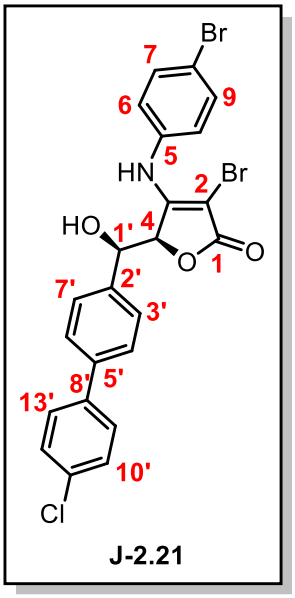
**(±)-(*R*)-3-cloro-5-((*R*)-(4'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-(pirrolidin-1-il)furan-2(5*H*)-ona (J-2.20)**




J-2.20

**Rendimento:** 58% (40 mg; 0,096mmol). **Aspecto físico:** sólido branco. **$R_f$** = 0,4 (5:6 Hexano:acetato de etila). **$T_f$:** 213,4-214,9 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3257, 1714, 1591, 1477, 1249, 1016, 815, 661. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 7,66 (m, 4H, H9', H13', H10' e H12'), 7,49 (m, 4H, H3', H7', H4' e H6'), 5,88 (sl, 1H, OH), 5,29 (s, 1H, H4), 5,18 (s, 1H, H1'), 2,51 (s, 2H, H6 e H7), 1,96 (sl, 2H, H5 e H8). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 170,2 (C1), 158,5 (C3), 141,1 (C5'), 139,1 (C8'), 138,2 (C2'), 132,7 (C11'), 129,3 (C10' e C12'), 128,7 (C9' e C13'), 127,5 (C4' e C6'), 126,5 (C3' e C7'), 84,5 (C2), 81,1 (C4), 69,2 (C1'), 49,8 (C5 e C8), 25,2 (C6 e C7). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{21}H_{19}Cl_2NO_3$: 403,0742. Encontrado: 403,07420.

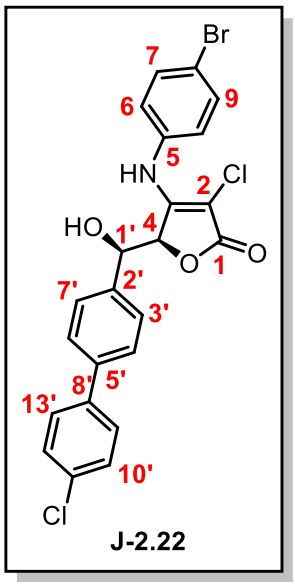
**(±)-(*R*)-3-bromo-4-((4-bromofenil)amino)-5-((*R*)-(4'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)furan-2(5*H*)-ona (J-2.21)**




J-2.21

**Rendimento:** 40% (37 mg; 0,068 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 251,8-253,1 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3278, 1725, 1608, 1606, 1481, 1184, 1002, 815, 794. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 9,56 (1H, s, NH), 7,68 – 7,30 (10H, m, H7, H9, H3', H7', H4', H6', H9', H13', H10' e H12'), 7,20 – 7,09 (2H, m, H6 e H10), 5,32 (1H, d, $J$ = 2,1 Hz, H4), 5,02 (1H, s, H1'). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 170,1 (C1), 159,2 (C3), 140,9 (C5'), 139,2 (C8'), 138,6 (C5), 137,1 (C2'), 132,9 (C11'), 131,6 (C7 e C9), 129,0 (C10' e C12'), 128,5 (C9' e C13'), 127,3 (C4' e C6'), 126,5 (C3' e C7'), 125,9 (C6 e C10), 117,7 (C8), 82,3 (C4), 77,2 (C2), 70,2 (C1'). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{23}H_{16}ClBr_2NO_3$: 546,9185. [M-$H^+$]: 547,9092 Encontrado: 547,90922.

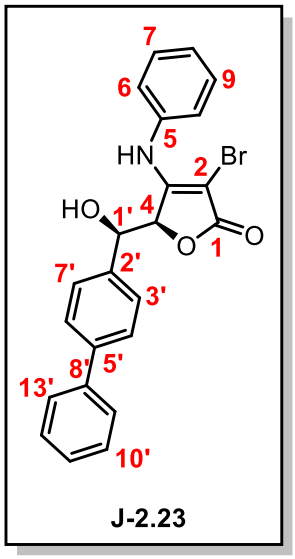
**(±)-(*R*)-4-((4-bromofenil)amino)-3-cloro-5-((*R*)-(4'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)furan-2(5*H*)-ona (J-2.22)**




J-2.22

**Rendimento:** 25% (21 mg; 0,04 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 245,1-247,5 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3241, 1726, 1614, 1585, 1583, 1008, 813. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 8,78 (s, 1H, NH), 7,14 – 6,82 (m, 10H, H7, H9, H3', H7', H4', H6', H9', H13', H10' e H12'), 6,58 (d, $J$ = 8,5 Hz, 2H, H6 e H10), 5,45 – 5,17 (m, 1H, OH), 4,86 – 4,70 (s, 1H, H4), 4,62 (m, 1H, H1'). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) $\delta$: 174,3 (C1), 160,7 (C3), 145,4 (C5'), 143,9 (C8'), 143,4 (C5), 141,9 (C2'), 137,7 (C11') 136,4 (C7 e C9), 133,8 (C10' e C12'), 133,2 (C9' e C13'), 132,0 (C4' e C6'), 131,3 (C3' e C7'), 130,0 (C6 e C10), 122,2 (C8), 94,8 (C2), 85,8 (C4), 75,2 (C1'). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{23}H_{16}Cl_2BrNO_3$: 505,1890. [M-H$^+$]: 503,9597 Encontrado: 503,95987.

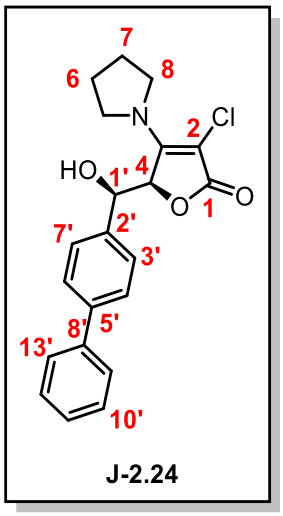
**(±)-(*R*)-5-((*R*)-[1,1'-bifenil]-4-il(hidroxi)metil)-3-bromo-4-(fenilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.23)**




J-2.23

**Rendimento:** 50% (37 mg; 0,085 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 233,7-234,0 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3307, 1727, 1616, 1592, 1583, 1186, 1014, 775. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 4,61 (s, 1H, H1'), 5,03 (d, $J$ = 5,4 Hz, H4), 5,21 (m, 1H, OH), 6,76-7,32 (m, 14H, H6, H7, H8, H9, H10, H3', H7', H4', H6', H9', H13', H10', H12' e H11'), 8,48 (s, 1H, NH). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 169,6 (C1), 159,0 (C3), 140,0 (C5' e C8'), 137,4 (C5 e C2'), 128,9 (C6 e C10), 128,0 (C7 e C9), 127,4 (C11'), 126,7 (C10' e C12'), 126,1 (C4' e C6'), 125,3 (C9' e C13'), 123,7 (C8, C3' e C7'), 81,5 (C2), 76,6 (C4), 72,8 (C1'). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{23}H_{18}BrNO_3$: 435,0470. [M-H$^+$]: 434,0397. Encontrado: 434,03973.

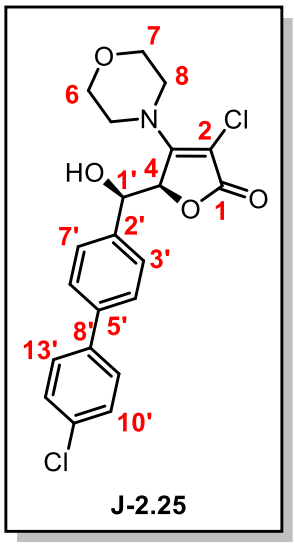
**(±)-(*R*)-5-((*R*)-[1,1'-bifenil]-4-il(hidroxi)metil)-3-cloro-4-(pirrolidin-1-il)furan-2(5*H*)-ona (J-2.24)**




J-2.24

**Rendimento:** 61% (38 mg; 103 mmol). **$R_f$** = 0,4 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 222,8-223,2 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3289, 1718, 1600, 1255, 1008, 744. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 1,88 (m, 4H, H6 e H7), 3,72 (sl, 4H, H8 e H5), 5,05 (sl, 1H, H1'), 5,10 (sl, 1H, H4'), 5,58 (sl, 1H, OH), 7,43 (m, 9H, H3', H4', H6', H7', H9', H10', H11', H12' e H13'). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 170,0 (C1), 158,1 (C3), 140,5 (C8'), 140,3 (C5'), 139,9 (C2'), 129,0 (C10' e C12'), 127,5 (C11'), 127,3 (C4' e C6'), 126,9 (C9' e C13'), 126,5 (C3' e C7'), 85,3 (C2), 81,0 (C4), 69,8 (C1'), 49,8 (C5 e C8), 25,2 (C6 e C7). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{21}H_{20}ClNO_3$: 369,1132. [M+$Cl^-$]: 404,0820. Encontrado: 404,08202.

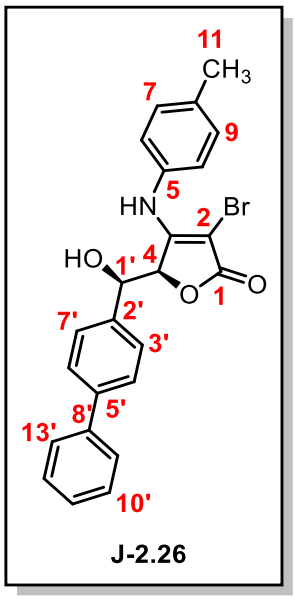
**(±)-(*R*)-3-cloro-5-((*R*)-(4'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-morfolinofuran-2(5*H*)-ona (J-2.25)**




J-2.25

**Rendimento:** 80% (57 mg; 0,136 mmol). **$R_f$** = 0,2 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 215,8-217,0 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3316, 1714, 1604, 1284, 1091, 798, 663. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 3,76 (m, 8H, H5, H6, H7 e H8), 5,00 (d, $J$ = 2,1 Hz, 1H, H1'), 5,29 (d, $J$ = 2,1 Hz, 1H, H4), 7,35 (d, $J$ = 8,2 Hz, 2H, H4 e H6), 7,51 (m, 6H, H3', H7', H9', H10', H11' e H13'). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 169,8 (C1), 158,3 (C3), 140,3 (C5'), 139,1 (C8'), 138,6 (C2'), 132,9 (C11'), 129,0 (C10' e C12'), 128,4 (C4' e C6'), 127,5 (C9' e C13'), 126,4 (C3' e C7'), 88,0 (C2), 80,2 (C4), 71,0 (C1'), 66,5 (C6 e C7), 48,6 (C5 e C8). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{21}H_{19}Cl_2NO_4$: 419,0691. [M+$Cl^-$]: 454,0380. Encontrado: 454,03797.

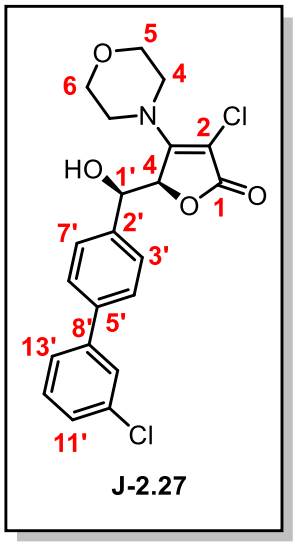
**(±)-(R)-5-((*R*)-[1,1'-bifenil]-4-il(hydroxi)metil)-3-bromo-4-(*p*-tolilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.26)**




J-2.26

**Rendimento:** 81% (62 mg; 0,137 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco **$T_f$:** 241,8-242,0 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3320, 1720, 1604, 1596, 1515, 1189, 1010, 771. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 2,10 (s, 3H, H11), 4,66 (sl, 1H, H1'), 5,15 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H, OH), 5,80 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H, H4), 6,83 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H, H10 e H6), 6,91 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H, H7 e H9), 7,27 (m, 9H, H3', H4', H6', H7', H9', H10', H12' e H13), 8,75 (s, 1H, NH). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 169,8 (C1), 159,4 (C3), 140,4 (C8'), 140,2 (C5'), 137,6 (C2'), 135,1 (C5), 134,7 (C8), 129,4 (C7 e C9), 128,9 (C10' e C12'), 128,0 (C4' e C6'), 127,4 (C11'), 126,8 (C9' e C13'), 126,3 (C3' e C7'), 124,1 (C6 e C10), 81,3 (C2), 75,9 (C4), 73,1 (C1'), 21,0 (C11). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{20}BrNO_3$: 449,0627. [M-H$^+$]: 448,0554. Encontrado: 448,05538.

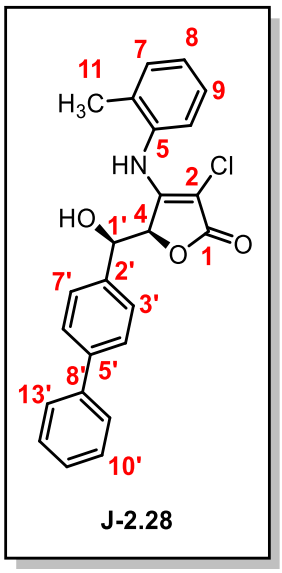
**(±)-(*R*)-3-cloro-5-((*R*)-(3'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-morfolinofuran-2(5*H*)-ona (J-2.27)**




J-2.27

**Rendimento:** 58% (41 mg; 0,98 mmol). **$R_f$** = 0,2 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 211,8-212,1 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3434, 1716, 1602, 1278, 1251, 1016, 782, 673. **RMN** de $^1$H (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 7,59 – 7,22 (m, 8H, H3', H4', H6', H7', H9', H11', H12', e H13'), 5,79 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H, H4), 5,29 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H, H1'), 4,98 (s, 1H, OH), 3,84 – 3,51 (m, 8H, H5, H6, H7 e H8). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ 169,7 (C1), 158,1 (C3), 142,4 (C8'), 140,0 (C5'), 138,8 (C2'), 134,4 (C10'), 130,3 (C12'), 127,4 (C4' e C6'), 127,3 (C9'), 126,8 (C11'), 126,5 (C10' e C12'), 125,3 (C13'), 88,7 (C2), 79,9 (C4), 71,7 (C1'), 66,5 (C6 e C7), 48,7 (C5 e C8). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{21}H_{19}Cl_2NO_4$: 419,0691. [M+Cl$^-$]: 454,0380. Encontrado: 454,03851.

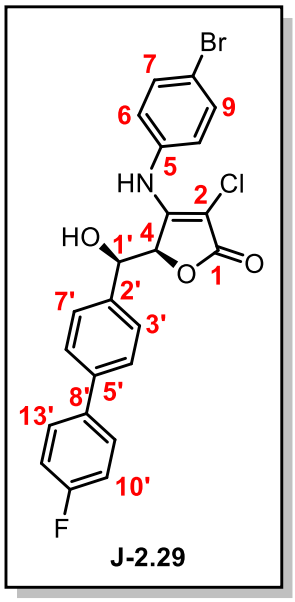
**(±)-(*R*)-5-((*R*)-[1,1'-bifenil]-4-il(hidroxi)metil)-3-cloro-4-(*o*-tolilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.28)**




J-2.28

**Rendimento:** 19% (13 mg; 0,032 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 231,8-232,0 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3574, 3211, 3037, 2854, 1715, 1616, 1036, 749. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 2,35 (s, 3H, H11), 5,13 (sl, OH), 5,21 (m, 1H, H1'), 5,86 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H4), 7,10-7,60 (m, 1H, H-6'), 7,19-24 (m, 3H, H-3', H-5' e H-5'), 7,31-7,35 (m, 13H, H7, H8, H9, H10, H3', H4', H6', H7', H9', H10', H11', H12' e H13'), 8,31 (s, 1H, NH). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 17,2 (C11), 70,2 (C1'), 79,2 (C4), 87,2 (C2), 125,2 (C8), 125,7 (C3, C7 e C9), 125,9 (C9', C13' e C10), 126,2 (C4' e C6'), 126,5 (C11'), 128,0 (C10' e C12'), 129,6 (C7), 133,3 (C6), 135,0 (C5), 138,5 (C2'), 139,4 (C5'), 139,6 (C8'), 156,4 (C3), 169,0 (C1). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{20}ClNO_3$: 405,1132. [M-H$^+$]: 404,1059. Encontrado: 404,10589.

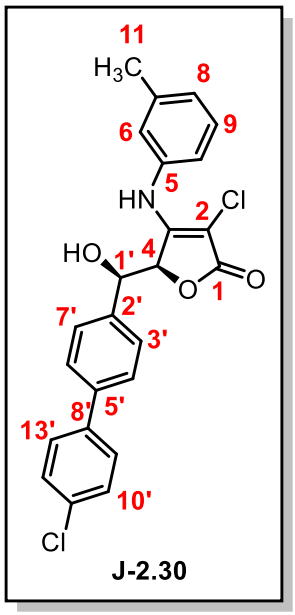
**(±)-(*R*)-4-((4-bromofenil)amino)-3-cloro-5-((*R*)-(4'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)furan-2-(5*H*)-ona (J-2.29)**




J-2.29

**Rendimento:** 85% (90 mg; 0,19 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Característica:** Sólido branco. **$T_f$:** 225,0-225,5 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3206, 3035, 2920, 2848, 1706, 1618, 1600, 1192, 1022, 824. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 5.75 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H, H4), 5,20 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, OH), 5,03 (dd, *J* = 5,8 Hz, 2,0 Hz, 1H, H1'), 7,12 (m, 4H, H7, H6, H9 e H10), 7,52 (m, 8H, H3', H4', H6', H7', H9', H10', H12' e H13'), 9,30 (s, 1H, NH). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 75,4 (C1'), 85,5 (C4), 94.9 (C2), 120,3 (d, *J* = 85 Hz, C10' e C12'), 122,4 (C8), 130,0 (C6 e C10), 131,3 (C3' e C7'), 131,7 (C4' e C6'), 133,3 (d, *J* = 32 Hz, C9' e C13'), 136,3 (C7 e C9), 136,4 (C8'), 141,5 (C2'), 141,5 (C5), 141,7 (C5'), 143,9 (d, *J* = 320 Hz, C11'), 160,6 (C3), 174,4 (C1). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{23}H_{16}ClBrFNO_3$: 486,9986. [M-H$^+$]: 485,9913. Encontrado: 485,99134.

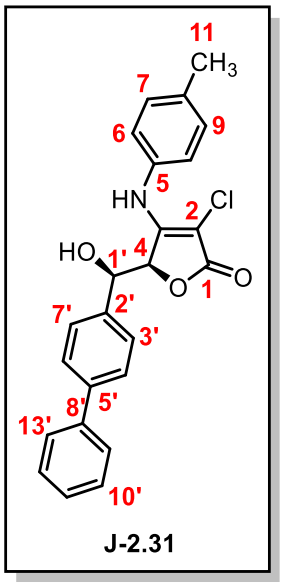
**(±)-(*R*)-3-cloro-5-((*R*)-(4'-cloro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-(m-tolilamino)furan-2(-5*H*)-ona (J-2.30)**




J-2.30

**Rendimento:** 40% (40 mg; 0,090 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Características:** sólido branco. **$T_f$:** 229,0-230,8 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3231, 3045, 2958, 2920, 2852, 1734, 1714, 1618, 1020, 978. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 2,27 (s, 3H, H11), 5,04 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, H1'), 5,19 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, H4), 6,86 (s, 2H, H6 e H10), 6,94 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H8), 7,16 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, H9), 7,41 (m, H3', H4', H6', H7', H9', H10', H12' e H13'), 8,42 (s, 1H, -NH). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 21,0 (C11), 70,9 (C1'), 79,2 (C4), 89,1 (C2), 120,4 (C8), 124,1 (C10), 125,9 (C6), 126,1 (C3' e C7'), 126,8 (C4' e C6'), 127,8 (C9' e C13'), 128,1 (C9), 128,5 (C10' e C12'), 132,8 (C11'), 136,5 (C2'), 138,2 (C8'), 138,3 (C5), 138,7 (C7), 138,9 (C5'), 155,3 (C3). 169,3 (C1). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{19}Cl_2NO_3$: 439,0742. [M-H$^+$]: 438,0669 Encontrado: 438,06692.

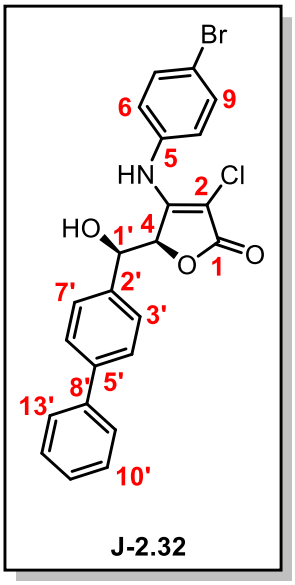
**(±)-(*R*)-5-((*R*)-[1,1'-bifenil]-4-il(hidroxi)metil)-3-cloro-4-(*p*-tolilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.31)**




J-2.31

**Rendimento:** 60% (41 mg; 0,102 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Características:** sólido branco. **$T_f$:** 228,3-229,4 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3304, 3028, 2910, 2872, 1726, 1625, 1601, 1522, 1290 ,1188, 1027, 770. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e $CD_3OD$) δ: 7,61–7,30 (m, 9H, H3', H4', H6', H7', H9', H10', H11', H12', H13'), 7,24 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, H7 e H9), 7,17 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, H10 e H6), 5,65 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, H4), 5,59 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H, H1'), 4,90 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H, OH). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 168,6 (C1), 156,4 (C3), 139,6 (C8'), 139,4 (C5'), 137,3 (C2'), 135,1 (C5), 134,4 (C8), 129,4 (C7 e C9), 128,9 (C10' e C12'), 127,9 (C4' e C6'), 127,4 (C11'), 126,5 (C9' e C13'), 125,7 (C3' e C7'), 123,2 (C6 e C10), 88,0 (C2), 80,1 (C4), 72,0 (C1'), 20,5 (C11). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{20}ClNO_3$: 405,1132. [M-H$^+$]: 404,1059 Encontrado: 404,10589.

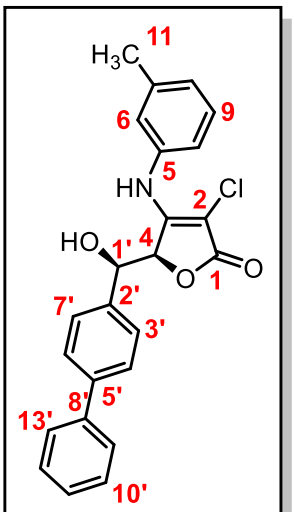
**(±)-(*R*)-5-((*R*)-[1,1'-bifenil]-4-il(hidroxi)metil)-4-((4-bromofenil)amino)-3-clorofuran-2-(5*H*)-ona (J-2.32)**




J-2.32

**Rendimento:** 85% (88 mg; 0,19 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Característica:** Sólido branco. **$T_f$:** 212,2-212,8 ºC. **IV (ATR, $cm^{-1}$):** 3271, 3040, 2921, 2850, 1742, 1708, 1621, 1600, 1020, 815. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 4,96 (m, 1H, H1'), 5,30 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H, OH), 6,14 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H, H4), 6,98 (d, *J* = 8,68 Hz, 2H, H6 e H10), 7,34-758 (m, 11H, H7, H9 H3', H4', H6', H7', H9', H10', H11', H12' e H13'), 9,01 (s, 1H, NH). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 78,6 (C1'), 84,9 (C4), 95,1 (C2), 122,5 (C8), 129,5 (C6 e C10), 131,3 (C3' e C7'), 131,6 (C9' e C13'), 132,3 (C-11''), 132,7 (C4' e C6'), 133,6 (C10' e C12'), 136,3 (C7 e C9), 141,3 (C5), 142,5 (C2'), 145,0 (C5'), 145,5 (C8'), 160,4 (C3), 174,0 (C1). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{23}H_{17}ClBrNO_3$: 469,0080. [M-$H^+$]: 468,0008 Encontrado: 468,00076.

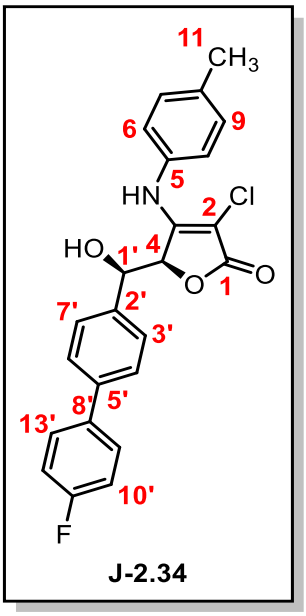
**(±)-(*R*)-5-((R)-[1,1'-bifenil]-4-il(hidroxi)metil)-3-cloro-4-(*m*-tolilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.33)**




J-2.33

**Rendimento:** 40% (27 mg; 0,068 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **$T_f$:** 205,0-205,5 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3243, 3030, 2921, 2851, 1724, 1603, 1584, 1034, 690. **RMN de $^1$H** (400 MHz, DMSO-$d_6$) *δ*: 9,64 (s, 1H, NH), 7,69 (m, 4H, H9', H10', H12' e H13'), 7,43 (m, 6H, H9, H3', H4', H6', H7' e H11'), 7,06 (m, 3H, H6, H7 e H10), 5,86 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H, H4), 5,51 (s, 1H, OH), 4,93 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H, H1'), 2,33 (s, 3H, H11). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, DMSO-$d_6$) *δ*: 169,1 (C1), 156,8 (C3), 140,7 (C8'), 139,9 (C5'), 139,2 (C7), 138,2 (C5), 137,6 (C2'), 128,9 (C10' e C12'), 128,6 (C11'), 127,4 (C9), 126,7 (C9' e C13'), 126,6 (C4' e C6'), 126,3 (C3' e C7'), 125,6 (C6), 123,8 (C10), 120,3 (C8), 88,3 (C2), 80,7 (C4), 69,2 (C1'), 21,0 (C11). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{20}ClNO_3$: 405,1132. [M-$H^+$]: 404,1059. Encontrado: 404,10589.

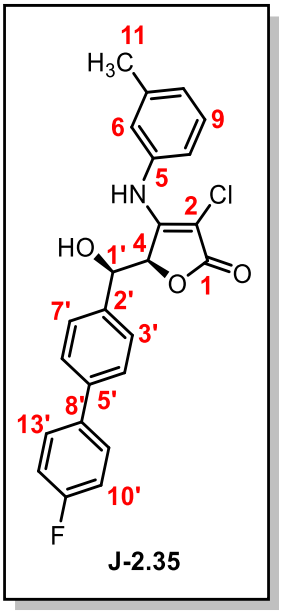
**(±)-(*R*)-3-cloro-5-((*R*)-(4'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-(*p*-tolilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.34)**




J-2.34

**Rendimento:** 64% (46 mg; 108 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **Tf:** 221,5-223,4 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3426, 3209, 3036, 3918, 2850, 1706, 1619, 1601, 1493, 1046, 823, 666. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 2,28 (s, 3H, H11), 5,04 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, H1'), 5,17 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, H4), 7,00 (m, 6H, H7, H9, H6, H10, H10' e H12'), 7,07 (m, 6H, H3', H7', H4', H6', H9' e H13'), 8,37 (s, 1H, NH). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) δ: 20,6 (C11), 70,9 (C1'), 79,1 (C4), 88,5 (C2), 115,2 (d, *J* = 21,3 Hz, C10' e C-12'), 123,8 (C6 e C10), 126,1 (C3' e C7'), 126,7 (C4' e C6'), 128,2 (d, *J* = 8,0 Hz, C9' e C-13'), 128,9 (C7 e C9), 134,0 (C8), 135,1 (C5), 136,3 (C8'), 137,9 (C2'), 139,1 (C5'), 155,9 (C3). 161,9 (d, *J* = 246,2 Hz, C11'), 169,4 (C1). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{19}ClFNO_3$: 423,8684. [M-H$^+$]: 422,0964. Encontrado: 422,09647.

**(±)-(*R*)-3-cloro-5-((*R*)-(4'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-il)(hidroxi)metil)-4-(*m*-tolilamino)furan-2(5*H*)-ona (J-2.35)**




J-2.35

**Rendimento:** 35% (25 mg; 0,06 mmol). **$R_f$** = 0,3 (5:6 Hexano:acetato de etila). **Aspecto físico:** sólido branco. **Tf:** 231,4-233,0 ºC. **IV** (ATR, $cm^{-1}$): 3264, 2630, 2399, 1706, 1600, 1587, 1027, 653. **RMN de $^1$H** (400 MHz, $CD_3OD$ e acetona-$d_6$) δ: 7,65 (m, 2H, H10' e H12'), 7,60 – 7,52 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, H4' e H6'), 7,41 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, H3' e H7'), 7,30 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, H9' e H13'), 7,25 – 7,01 (m, 4H, H6, H8, H9 e H10), 5.52 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, H4), 4.96 (sl, 1H, H1'), 2.36 (s, 3H, H11). **RMN de $^{13}$C** (100 MHz, $CD_3OD$ e acetona-$d_6$) δ: 162,4 (d, *J* = 244,6 Hz, C11'), 157,1 (C3), 139,6 (C5'), 139,2 (C7), 138,9 (C5), 137,8 (C2'), 136,9 (d, *J* = 2,9 Hz, C8'), 128,7 (C9), 128,5 (d, *J* = 8,1 Hz, C9' e C13'), 126,8 (C4' e C6'), 126,3 (C3' e C7'), 126,1 (C6), 124,1 (C10), 120,5 (C8), 115,3 (d, *J* = 21,5 Hz, C10' e C12'), 80,4 (C4), 70,2 (C1'), 20,3 (C11). **MS *m/z*:** Calculado para $C_{24}H_{19}ClFNO_3$: 423,8684. [M-H$^+$]: 422,0965. Encontrado: 422,09647.

### 3.5.2 Avaliação dos efeitos dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre o desenvolvimento de cianobactérias

A avaliação dos efeitos dos compostos **J-2.16** a **J-2.35** sobre o desenvolvimento de cianobactérias foi realizada em parceria com o professor Giuseppe Forlani da universidade de Ferrara, Itália. Para tal, a espécie modelo *Synechococcus elongatus* PCC 6301 foi cultivada em meio mineral Bg11. Para medir conteúdo de clorofila, alíquotas da cultura (0,5 - 1,0 mL) foram retiradas. As células foram sedimentadas por centrifugação por 3 min a 14000 G e os peletes foram solubilizados com metanol (1,0 mL) por 30 min no escuro. As amostras foram centrifugadas novamente, e o teor de clorofila no sobrenadante foi estimado espectrofotometricamente em 663 nm. Células de crescimento tardio foram sedimentados por centrifugação 5 min a 4000 G e usados para inocular placas de 96 poços (0,2 mL por poço) a uma densidade inicial de cerca de 1,0 mg $L^{-1}$ de clorofila. Alíquotas (2 µL) de diluições adequadas dos compostos em DMSO foram adicionados de modo a obter as concentrações finais desejadas (0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25, 50, 100 e 200 µM). O crescimento celular em cada poço foi monitorado por uma semana por determinação diária de absorbância usando um leitor de placas Ledetect 96 (Labexim, Lengau, Áustria) equipado com um *plug-in* de LED em 660 nm. Seguindo logarítmico de transformação de dados, as constantes de crescimento foram calculadas e expressas como porcentagem do valor médio para controles tratados com o mesmo volume de DMSO. Devido a inexistência de substância orgânica padrão que tenha ação cianobactericida, não foi realizado controle positivo.

### 3.5.3 Avaliação da capacidade dos compostos J-2.16 a J-2.35 inibirem a reação de Hill

Os ensaios da capacidade inibitória do sistema fotossintetisante foram realizados em parceria com o professor Giuseppe Forlani da universidade de Ferrara, Itália. Para tal, os tilacóides fotossinteticamente ativos foram isolados de folhas de espinafre (*Spinacia oleracea L.*). Para isto, triturou-se em liquidificador (30 segundos, velocidade máxima) o material vegetal (20,0 g) juntamente com tampão Tricina/NaOH gelado (100 mL, 20 mM, pH = 8,0) contendo NaCl (10 mM), $MgCl_2$ (5 mM) e sacarose (0,4 M). O homogeneizado foi filtrado através de gaze cirúrgica e o filtrado foi centrifugado a 4 ºC por 1 min a 500 g. Os cloroplastos peletizados foram ressuspendidos em tampão sem sacarose e imediatamente diluídos (1:1 v/v) com tampão contendo sacarose e foram

mantidos em gelo e no escuro até serem utilizados. Após diluição com 80% (v/v) de acetona, o teor de clorofila foi calculado usando a fórmula de Arnon. A taxa de transporte de elétrons fotossintéticos foi medida após a redução do ferricianeto pela luz (800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$).

Alíquotas de preparações de membrana correspondentes a 15 µg de clorofila foram incubados a 24 ºC em cubetas de 1 mL contendo tampão tricina/NaOH (20 mM, pH 8,0), NaCl (10 mM), $MgCl_2$ (5 mM), sacarose (0,2 M) e $K_3[Fe(CN)_6]$ (1 mM). O ensaio foi iniciado por exposição à luz (800 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) e a taxa de redução de ferricianeto foi medida em intervalos de 1 min por 20 min a 420 nm contra um branco. A atividade foi calculada sobre a porção linear da curva (coeficiente de extinção molar de 1000 $M^{-1}$ $cm^{-1}$). Os compostos foram dissolvidos em DMSO e depois diluídos com água, conforme necessário. O efeito dos compostos sob a cadeia transportadora de elétrons foi medido pela adição de concentrações crescentes (0,8, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25, 50, 100 e 200 µM) dos compostos à mistura contendo os cloroplastos. Cada dose foi testada em triplicata e os resultados foram expressos como porcentagem de controles não tratados.

### 3.5.4 Avaliação dos efeitos dos compostos J-2.16 a J-2.35 sobre o desenvolvimento de *Raphanus sativus*

A avaliação dos efeitos dos compostos **J-2.16** a **J-2.35** sobre o desenvolvimento de *R. sativus* foram realizados em parceria com o professor Giuseppe Forlani da Universidade de Ferrara, Itália. Para tal, sementes de rabanete foram esterilizadas superficialmente por tratamento com etanol durante 5 minutos e com NaClO 3% contendo 0,04% Triton X-100 durante 5 minutos. Após lavagem extensa com água bidestilada estéril, as sementes foram transferidas para recipientes GA7-magenta contendo uma solução 1 mL/L de mistura conservante vegetal (*Plant Cell Technology*, Washington, DC), suplementado ou não com soluções dos compostos de teste em DMSO. A concentração final das substâncias avaliadas foi de 10 µM. Foram realizados controle sem e com adição de DMSO (50 µL, o mesmo volume empregado na avaliação das tetronamidas). Foram utilizadas 10 sementes em cada recipiente, sendo realizado 3 repetições, com exceção do controle DMSO que foram 6 repetições. Os recipientes foram incubados a 24 ± 1 °C sob 150 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa com um ciclo fotoperiódico de 16:8 claro:escuro. Nessas condições, as plantas não tratadas atingiram o estádio de três folhas 20 dias após a semeadura. A biomassa de cada muda foi então medida. O material

vegetal colhido de cada vaso foi combinado e tratado em estufa a 80 °C por 3 dias para a determinação da matéria seca. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos quanto à proporção de peso seco para fresco (não mostrado). Os resultados foram analisados por meio do teste de normalidade e submetidos a 1-*way* ANOVA.

### 3.5.5 Estudo de QSAR para a ação cianobactericida dos adutos de aldol

Os estudos de QSAR forma realizados com a colaboração do professor André Oliveira do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET/MG). Para tal, as estruturas químicas tridimensionais dos compostos **J-2.16** a **J-2.35** e dos análogos já publicados pelo grupo de pesquisa[22] foram desenhadas e otimizadas utilizando o programa AMMP (VegaZZ version)[40] com campo de força AM1BCC e cargas Gasteiger, que distribui a carga total da estrutura de acordo com a eletronegatividade dos átomos envolvidos. A busca conformacional por dinâmica molecular foi realizada pelo método Boltzmann *jump*, variando os ângulos torsionais livres e simulando temperatura termodinâmica de 300 K. As estruturas otimizadas foram alinhadas no programa Discovery Studio[41] com campo de força CHARMM tendo como base o campo estérico (50%) e eletrostático (50%). O composto **9a** (Acosta *et al.*, 2019)[22] foi utilizado como referência de coordenadas.

Os estudos de QSAR (do inglês: *Quantitative Structure-Activity Relationships*) foram realizados pelo programa DataWarrior[42] que calculou os seguintes descritores físico-químicos para as substâncias avaliadas: *acidic oxygens, alkyl-amines, amides, amines, aromatic amines, aromatic atoms, aromatic nitrogens, aromatic rings, basic nitrogens, carbo-aromatic rings, carbo-rings,* cLogP, cLogS*, druglikeness, effective, electronegative atoms, fragments, globularity* SVD*, globularity vol,* H-*acceptors,* H-*donors, hetero-aromatic rings, hetero-rings, irritant, molecular complexity, molecular flexibility, molweight, monoisotopic mass, mutagenic, nasty functions, non-aromatic carbo-rings, non-aromatic hetero-rings, non-aromatic rings, non-*C/H *atoms, non-*H *atoms, polar surface area, relative* PSA*, reproductive, rings closures, rotatable bonds, saturated carbo-rings, saturated hetero-rings, saturated rings, shape index, small rings,* $sp^3$*-atoms, stereo centers, stereo configuration, symmetric atoms, total molweight, total surface area, tumorigenic,* VDW-*surface e* VDW-*volume*. Embora passível de tradução, optou-se por manter o nome dos descritores em inglês, tal como é a saída do programa.

## 3.6 REFERÊNCIAS


[1] Lacoske, M. H.; Theodorakis, E. A. Spirotetronate Polyketides as Leads in Drug Discovery. *Journal of Natural Products*, **2015**, 562–575.

[2] Zografos, A. L.; Georgiadis, D. Synthetic Strategies towards Naturally Occurring Tetronic Acids. *Synthesis*, **2006**, 3157–3188.

[3] Linuma, H.; Nakamura, H.; Naganawa, H.; Masuda, T.; Takano, S.; Takeuchi, T.; Umezawa, H.; Iitaka, Y.; Obayashi, A. Basidalin, a New Antibiotic from Basidiomycetes. *J Antibiot* (Tokyo), **1983**, 36, 448–450.

[4] Haynes, L. J.; Plimmjb, J. R. Tetronic Acids. *Chemistry Society*. **1960**, 292–315.

[5] Balansa, W.; Islam, R.; Fontaine, F.; Piggott, A. M.; Zhang, H.; Xiao, X.; Webb, T. I.; Gilbert, D. F.; Lynch, J. W.; Capon, R. J. Sesterterpene Glycinyl-Lactams: a New Class of Glycine Receptor Modulator from Australian Marine Sponges of the Genus Psammocinia. *Org Biomol Chem* **2013**, 11 (28), 4695–4701.

[6] Moscheles, R.; Cornelius, H. Ueber Die Natur der Tetrinsäure Ihrer Homologen. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. **1888**, 2603–2609.

[7] Wolff, L. Condensations Producte der Tetronsäure. *Justus Liebigs Ann Chem*, **1901**, 145–173.

[8] Nielsen, K. F.; Månsson, M.; Rank, C.; Frisvad, J. C.; Larsen, T. O. Dereplication of Microbial Natural Products by LC-DAD-TOFMS. *J Nat Prod* **2011**, 74 (11), 2338–2348.

[9] Reichert, B.; Schafter, H. Uber Einige Derivate der 3-Benzyltetronsaure. *Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft*. **1958**, 100–105.

[10] Kobayashi, ichi; Ohizumi, Y.; Nakamura, H.; Hirata, Y. A Novel Puranosesterterpene Possessing Antispasmodic Activity Prom Tre Okinaian Marine Sponge *Hippospongia* Sp. *Tetrahedron Letters*. **1986**, 2113–2116.

[11] Silva, J. G.; Borgati, T. F.; Lopes, S. M. G.; Heise, N.; Hoenke, S.; Csuk, R.; Barbosa, L. C. A. New Amides Derived from Sclareolide as Anticholinesterase Agents. *Bioorg Chem,* **2023**, 130.

[12] Huff, T.; Kuball, H.-G.; Anke, T. 7-Chloro-4,6-dimethoxy-(3*H*)-isobenzofurane and Basidalin: Antibiotic Secondary Metabolites from *Leucoagaricus cameifolia* Gillet (Basidiomycetes). *Z. Naturforsch,* **1994**, 49, 407–410.

[13] Wang, X.; Li, J.; Wang, G.; Han, X.; Li, D.; Tian, Z. Design, Synthesis and Insecticidal Activities of Novel 5-Alkoxyfuran-2(5*H*)-one Derivatives. *Chem Res Chin Univ*, **2019**, 35 (5), 799–805.

[14] Xiao, Z. P.; He, X. B.; Peng, Z. Y.; Xiong, T. J.; Peng, J.; Chen, L. H.; Zhu, H. L. Synthesis, Structure, Molecular Docking, and Structure-Activity Relationship Analysis of Enamines: 3-Aryl-4-alkylaminofuran-2(5*H*)-ones as Potential Antibacterials. *Bioorg Med Chem,* **2011**, 19 (5), 1571–1579.

[15] Xiao, Z. P.; Ma, T. W.; Liao, M. L.; Feng, Y. T.; Peng, X. C.; Li, J. L.; Li, Z. P.; Wu, Y.; Luo, Q.; Deng, Y.; Liang, X.; Zhu, H. L. Tyrosyl-tRNA Synthetase Inhibitors as Antibacterial Agents: Synthesis, Molecular Docking and Structure-Activity Relationship Analysis of 3-Aryl-4-arylaminofuran-2(5*H*)-ones. *Eur J Med Chem*, **2011**, 46 (10), 4904–4914.

[16] Patmore, L.; Duncan, G. P.; Clarke, B.; Anderson, A. J.; Greenhouse, R.; Pfister, J. R. RS 30026: A Potent and Effective Calcium Channel Agonist. *Br J Pharmacol,* **1990**, 99 (4), 687–694.

[17] Wei, M. X.; Zhang, J.; Ma, F. L.; Li, M.; Yu, J. Y.; Luo, W.; Li, X. Q. Synthesis and Biological Activities of Dithiocarbamates Containing 2(5*H*)-furanone-piperazine. *Eur J Med Chem,* **2018**, 155, 165–170.

[18] Jeedimalla, N.; Flint, M.; Smith, L.; Haces, A.; Minond, D.; Roche, S. P. Multicomponent Assembly of 4-Aza-podophyllotoxins: a Fast Entry to Highly Selective and Potent Anti-Leukemic Agents. *Eur J Med Chem*, **2015**, 106, 167–179.

[19] Dong, S.; Pasternak, A.; Suzuki, T.; Xin Gu; Fu, Q.; Jiang, J.; Ding, F.-X.; Tang, H.; Dejesus, R. K. Inhibitors of Renal Outer Medullary Potassium Channel. WO2015096035A1, **2015**.

[20] Ding, F.-X.; Dong, S.; Frie, J.; Gu, X.; Jiang, J.; Pasternak, A.; Tang, H.; Wu, Z.; Yu, Y.; Suzuki, T. Inhibitors of the Renal Outer Medullary Potassium Channel. WO2014015495A1, **2014**.

[21] Pasternak, A.; Frie, J.; Dong, S.; Suzuki, T.; Xu, S. Inhibitors of the Renal Outer Medullary Potassium Channel. WO2016130444A1, **2016**.

[22] Acosta, J. A. M.; Karak, M.; Barbosa, L. C. A.; Boukouvalas, J.; Straforini, A.; Forlani, G. Synthesis of New Tetronamides Displaying Inhibitory Activity against Bloom-Forming Cyanobacteria. *Pest Manag Sci*, **2020**, 76 (2), 779–788.

[23] Duval, R. A.; Poupon, E.; Brandt, U.; Hocquemiller, R. Remarkable Substituent Effect: β-Aminosquamocin, a Potent Dual Inhibitor of Mitochondrial Complexes I and III. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*, **2005**, 1709 (3), 191–194.

[24] Mesquita, R. S.; Kyrylchuk, A.; Grafova, I.; Kliukovskyi, D.; Bezdudnyy, A.; Rozhenko, A.; Tadei, W. P.; Leskelä, M.; Grafov, A. Synthesis, Molecular Docking Studies, and Larvicidal Activity Evaluation of New Fluorinated Neonicotinoids against Anopheles Darlingi Larvae. *PLoS One,* **2020**, 15 (2), e0227811.

[25] Arnold, C.; Beck, M.; Görgens, U.; Jeschke, P.; Malsam, O.; Müller, T.; Nauen, R.; Pitta, L.; Pontzen, R.; Reckmann, U.; Sanwald, E.; Schallner, O.; Schenke, T.; Velten, R. Substituierte Enaminocarbonylverbindungen. DE102006015467, **2007**.

[26] Jeschke, P.; Haas, M.; Nauen, R.; Gutbrod, O.; Beck, M. E.; Matthiesen, S.; Velten, R. Sivanto® - A Novel Insecticide with a Sustainable Profile; *American Chemical Society*, **2015**, 1204, 331–334.

[27] Butler, M. S.; Paterson, D. L. Antibiotics in the Clinical Pipeline in October 2019. *Journal of Antibiotics,* **2020**, 1–36.

[28] Hede, K. Antibiotic Resistance: An Infectious Arms Race. *Nature*, **2014**, 509, S2–S3.

[29] Watershed management strategies to prevent and control cyanobacterial harmful algal blooms. In: Hudnell, H.K. (eds) Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 619. *Springer*, New York, **2008**,

[30] Merel, S.; Walker, D.; Chicana, R.; Snyder, S.; Baurès, E.; Thomas, O. State of Knowledge and Concerns on Cyanobacterial Blooms and Cyanotoxins. *Environment International*, **2013**, 303–327.

[31] Cheung, M. Y.; Liang, S.; Lee, J. Toxin-Producing Cyanobacteria in Freshwater: a Review of the Problems, Impact on Drinking Water Safety, and Efforts for Protecting Public Health. *Journal of Microbiology*, **2013**, 1–10.

[32] Yin, X.; Mohammad, H.; Eldesouky, H. E.; Abdelkhalek, A.; Seleem, M. N.; Dai, M. Rapid Synthesis of Bicyclic Lactones: Via Palladium-Catalyzed Aminocarbonylative Lactonizations. *Chemical Communications,* **2017**, 53 (53), 7238–7241.

[33] Zhou, L. H.; Yu, X. Q.; Pu, L. Reactivity of γ-Hydroxy-α-acetylenic Esters with Amines: Facile Synthesis of the Optically Active 4-Amino-2(5*H*)-furanones. *Journal of Organic Chemistry,* **2009**, 74 (5), 2013–2017.

[34] Elagamy, A.; Shaw, R.; Panwar, R.; Shally; Ram, V. J.; Pratap, R. Synthesis of Highly Functionalized Spirobutenolides via a Nitroalkane-Mediated Ring Contraction of 2-Oxobenzo[*h*]chromenes through Denitration. *Journal of Organic Chemistry,* **2019**, 84 (3), 1154–1161.

[35] Wang, J.; Jiang, X.; Chen, M.; Ge, Z.; Hu, Y.; Hu, H. TFA-Catalyzed Ring Transformation of 4-Hydroxycyclobutenone: a Simple and General Route for Preparation of 3-Substituted 4-Aminofuran-2(5*H*)-ones. *J Chem Soc Perkin 1*, **2001**, 1, 66–71.

[36] Sigma-Aldrich. Disponível em: https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt. Acessado em 01/04/2023.

[37] Nallasivam, J. L.; Fernandes, R. A. Development of Unimolecular Tetrakis(piperidin-4-ol) as a Ligand for Suzuki–Miyaura Cross-Coupling Reactions: Synthesis of Incrustoporin and Preclamol. *European J Org Chem*, **2015**, 16, 3558–3567.

[38] Bordenave, T.; Helle, M.; Beau, F.; Georgiadis, D.; Tepshi, L.; Bernes, M.; Ye, Y.; Levenez, L.; Poquet, E.; Nozach, H.; Razavian, M.; Toczek, J.; Stura, E. A.; Dive, V.; Sadeghi, M. M.; Devel, L. Synthesis and *in Vitro* and *in Vivo* Evaluation of MMP-12 Selective Optical Probes. *Bioconjug Chem,* **2016**, 27 (10), 2407–2417.

[39] Karak, M.; Barbosa, L. C. A.; Acosta, J. A. M.; Sarotti, A. M.; Boukouvalas, J. Thermodynamically Driven, Syn-Selective Vinylogous Aldol Reaction of Tetronamides. *Org Biomol Chem*, **2016**, 14 (21), 4897–4907.

[40] *Software*: Pedretti, A.; Villa, L.; Vistoli, G. VEGA: A Versatile Program to Convert, Handle and Visualize Molecular Structure on Windows-Based PCs. *J Mol Graph Model,* **2002**, 21 (1), 47–49.

[41] *Software*: Biovia, D. S. Discovery Studio Modeling Environment. **2017**.

[42] *Software*: Sander, T.; Freyss, J.; von Korff, M.; Rufener, C. DataWarrior: an Open-Source Program For Chemistry Aware Data Visualization And Analysis. *J Chem Inf Model*, **2015**, 55 (2), 460–473.

[43] Gómez-Bombarelli, R.; González-Pérez, M.; Calle, E.; Casado, J. Reactivity of Mucohalic Acids in Water. *Water Res,* **2011**, 45 (2), 714–720.

[44] Kürti, L.; Czakó, B. Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis; *Elsevier*, **2005**.

[45] Branco, F. S. C.; Silva, B. v.; do Rio, G. F.; Santana, M. J.; Júnior, L. H.; Pinto, A. C.; Boechat, N.; Lião, L. M. Ressonância Magnética Nuclear de Substâncias

Organofluoradas: um Desafio no Ensino de Espectroscopia. *Quim Nova*, **2015**, 38 (9), 1237–1246.

[46] Shaabani, A.; Sarvary, A.; Keshipour, S.; Rezayan, A. H.; Ghadari, R. Unexpected Knoevenagel Self-Condensation Reaction of Tetronic Acid: Synthesis of a New Class of Organic Heterocyclic Salts. *Tetrahedron,* **2010**, 66 (10), 1911–1914.

[47] AK prof. Mayr. Mayr's Database of Reactivity Parameters. Disponível em: https://www.cup.lmu.de/oc/mayr/reaktionsdatenbank/. Acessado em: 03/08/2021.

[48] Gohar, G. A.; Habeeb, M. M. Proton transfer equilibria, temperature and substituent effects on hydrogen bonded complexes between chloranilic acid and anilines. *Spectroscopy*, **2000**,14, 99-107.

[49] Gross, K. C.; Seybold, P. G. Substituent Effects on the Physical Properties and pKa of Aniline. *International Journal of Quantum Chemistry*, **2000**, 80, 1107-1115.

[50] Chemical Book. Disponível em: https://www.chemicalbook.com/productIndex_EN.aspx. Acessado em: 03/08/2021.

[51] Bryson, A. The Effects of M-Substituents on the PKa Values of Anilines, and on the Stretching Frequencies of the N-H Bonds. *J Am Chem Soc,* **1959**, 82, 4858–4862.

[52] Jefford, C. W., Jaggi, D.; Boukouvalas, J. Diastereoselectivity in the Directed Aldol Condensation of 2-Trimethylsiloxyfuran with Aldehydes: a Stereodivergent Route to Threo and Erythro δ-Hydroxy-γ-lactones. *Tetrahedron Letters*, **1987**, 28, 4037-4040.

[53] Martin, S.; Corbett, J. The Stereochemical Course of Nucleophilic Additions of 2-Trialkylsiloxyfurans to Cyclic *N*-acyliminium Ions. *Synthesis* (Stuttg), **1992**, 55–57.

[54] Lee, J.; Lee, S.; Jiang, X. Cyanobacterial Toxins in Freshwater and Food: Important Sources of Exposure to Humans. *Annual Review of Food Science and Technology,* **2017**, 8 (1), 281–304.

[55] Newcombe, G. International guidance manual for the management of toxic cyanobacteria. *Iwa Publishing*, **2012**, 254-262.

[56] Huisman, J.; Codd, G. A.; Paerl, H. W.; Ibelings, B. W.; Verspagen, J. M. H.; Visser, P. M. Cyanobacterial Blooms. *Nature Reviews Microbiology,* **2018**, 16 (8), 471–483.

[57] Carey, C. C.; Ibelings, B. W.; Hoffmann, E. P.; Hamilton, D. P.; Brookes, J. D. Eco-physiological Adaptations That Favour Freshwater Cyanobacteria in a Changing Climate. *Water Research*, **2012**, 46 (5), 1394–1407.

[58] Codd, G. A.; Morrison, L. F.; Metcalf, J. S. Cyanobacterial Toxins: Risk Management for Health Protection. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2005**, 203, 264–272.

[59] Codd, G. A.; Azevedo, S. M. F. O.; Bagchi, S. N.; Burch, M. D.; Carmichael, W. W.; Harding, W.; Kaya, K.; Utkilen, H. C. Cyanonet a Global Network for Cyanobacterial Bloom and Toxin Risk Management. Initial Situation Assessment and Recommendations. *UNESCO*, **2005**, 76, 1–5.

[60] Jančula, D.; MarŠálek, B. Critical Review of Actually Available Chemical Compounds for Prevention and Management of Cyanobacterial Blooms. *Chemosphere*, **2011**, 85 (9), 1415–1422.

[61] Matthijs, H. C. P.; Jančula, D.; Visser, P. M.; Maršálek, B. Existing and Emerging Cyanocidal Compounds: New Perspectives for Cyanobacterial Bloom Mitigation. *Aquatic Ecology,* **2016**, 50 (3), 443–460.

[62] Codd, G. A. Cyanobacterial Toxins: Occurrence, Properties and Biological Significance. *Water Science and Technology*, **1995**, 32 (4), 149–156.

[63] Matthijs, H. C. P.; Visser, P. M.; Reeze, B.; Meeuse, J.; Slot, P. C.; Wijn, G.; Talens, R.; Huisman, J. Selective Suppression of Harmful Cyanobacteria in an Entire Lake with Hydrogen Peroxide. *Water Research*, **2012**, 46 (5), 1460–1472.

[64] Ferreira, M. M. C. Multivariate QSAR, *J. Braz. Chem. Soc*., **2002**, 13 (6), 742-753.

[65] Quirino A. da Lima Neto; Marisa A. Nogueira; Ralpho R. dos Reis; Eduardo B. de Melo. Estudo da Relação Estrutura-Atividade Quantitativa de Dibenzoilmetanos α-Substituídos Quanto à Atividade Anticâncer de Mama (Linhagem Celular MCF7). *Revista Brasileira de Cancerologia,* **2006**, 52 (4), 345–357.

[66] Fabrigar, L. R.; Wegener, D. T.; Mac Callum, R. C.; Strahan, E. J. Evaluating the Use of Exploratory Factor Analysis in Psychological Research. *Psychol Methods*, **1999**, 4 (3), 272–299.

# *CONCLUSÃO GERAL*

Dada a relevância dos produtos naturais (PNs) na descoberta de novos compostos bioativos de interesse social, a presente tese abordou a síntese de novas amidas derivadas do PN (3a*R*)-(+)-esclareolídeo (**SC**) e de novos compostos butenolídeos inspirados na classe dos PNs rubrolídeos.

No capítulo 1 foi descrito a obtenção de 25 drimanamidas por aminólise do (3a*R*)-(+)-esclareolídeo (rendimentos 56-98%) as quais se mostraram promissores agentes anticolinesterásicos e antitumorais. Quando comparadas as atividades dos derivados obtidos com as do precursor natural **SC**, conclui-se que as funcionalizações feitas na estrutura do PN foram vantajosas, permitindo obter novos esqueletos estruturais bioativos tanto no aspecto de inibição enzimática, com destaque para **J-1.12** (78% AChE) e **J-1.9** (77% AChE e 73% BuChE), quanto antitumoral, com destaque para **J-1.1** ($EC_{50}$ = 9,2 μM contra HT29, IS = 3,3). Em especial, na avaliação da atividade inibitória de colinesterases, foi possível obter substâncias (**J-1.8** (65%), **J-1.9** (73%) e **J-1.10** (69%)) mais ativas do que a droga padrão (galantamina (43%)) atualmente utilizada no tratamento de algumas demências. Interessantemente, os dados da atividade atitumoral mostraram que a presença do núcleo 1,2,3-triazólico 1,4-dissubstituído provoca considerável aumento na seletividade para cepa tumoral (**J-1.24** (triazólico) 80% mais seletivo para A2780 do que **J-1.15** (não triazólico))

No segundo capítulo, foram descritas as sínteses de novas tetronamidas (rendimentos de 19-85%) análogas dos rubrolídeos, uma classe de PNs isoladas de esponjas marinhas. A construção dessas moléculas foi executada a partir dos ácidos mucoclórico e mucobrômico empregando etapa de redução quimiosseletiva, adição/eliminação de Michael, acoplamento de Suzuki e adição aldólica. A síntese destas substâncias permitiu obter novas estruturas cianobactericidas (**J-2.17**, **J-2.19**, **J-2.21**, **J-2.26** e **J-2.32** todas com $IC_{50} \approx 2$ μM contra *S. elongatus*) e também a racionalização, por meio de estudos *in silico* (QSAR), da relação dessas estruturas químicas com a bioatividade avaliada. Ademais, a análise da capacidade dessas substâncias inibirem o sistema fotossintetizante ou terem ação herbicida revelou a seletividade dessas moléculas para a ação cianobactericida. A relevância da presente investigação é mensurada pela problemática atual acerca das cianobactérias, assim como foi pontuado na introdução do segundo capítulo. Ademais, a investigação é justificada, e os resultados

obtidos são relevantes, dada a escassez de recursos químicos para o controle populacional desses micro-organismos.

Em suma, conclui-se que tantos as modificações químicas propostas no esqueleto do PN (3a*R*)-(+)-esclareolídeo, quanto as sínteses dos análogos dos PNs rubrolídeos permitiram obter novos esqueletos estruturais com potencial fármacológico e/ou agroquímico. Assim, o presente trabalho tem relevância social no sentido de contribuir para a pesquisa e desenvolvimento de novas substâncias bioativas com potencial a vir auxiliar no tratamento de enfermidades como demências e cânceres e atuar no combate a pragas, como as cianobactérias.

# APÊNDICE A

## *CAPÍTULO 1*: SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA E ANTITUMORAL DE NOVAS DRIMANAMIDAS

### ***DOCKING*** MOLECULAR

```
4EY6    4     EDAELLVTVR GGRLRGIRLK TPGGPVSAFL GIPFAEPPMG PRRFLPPEPK
1C2O    5      DPQLLVRVR GGQLRGIRLK APGGPVSAFL GIPFAEPPVG SRRFMPPEPK
              *..*** ** **.******* .********* ********.* .***.*****

4EY6    54    QPWSGVVDAT TFQSVCYQYV DTLYPGFEGT EMWNPNRELS EDCLYLNVWT
1C2O    54    RPWSGVLDAT TFQNVCYQYV DTLYPGFEGT EMWNPNRELS EDCLYLNVWT
              .*****.*** ***.****** ********** ********** **********

4EY6    104   PYPRPTSPTP VLVWIYGGGF YSGASSLDVY DGRFLVQAER TVLVSMNYRV
1C2O    104   PYPRPASPTP VLIWIYGGGF YSGAASLDVY DGRFLAQVEG AVLVSMNYRV
              *****.**** **.******* ****.***** ***** * *  .*********

4EY6    154   GAFGFLALPG SREAPGNVGL LDQRLALQWV QENVAAFGGD PTSVTLFGES
1C2O    154   GTFGFLALPG SREAPGNVGL LDQRLALQWV QENIAAFGGD PMSVTLFGES
              *.******** ********** ********** ***.****** * ********

4EY6    204   AGAASVGMHL LSPPSRGLFH RAVLQSGAPN GPWATVGMGE ARRRATQLAH
1C2O    204   AGAASVGMHI LSLPSRSLFH RAVLQSGTPN GPWATVSAGE ARRRATLLAR
              *********. ** ***.*** *******.** ******. ** ****** **.

4EY6    254   LVGCP----- -NDTELVACL RTRPAQVLVN HEWHVLPQES VFRFSFVPVV
1C2O    254   LVGCPPGGAG GNDTELIACL RTRPAQDLVD HEWHVLPQES IFRFSFVPVV
              *****       *****.*** ****** **. ********** .*********

4EY6    304   DGDFLSDTPE ALINAGDFHG LQVLVGVVKD EGSYFLVYGA PGFSKDNESL
1C2O    304   DGDFLSDTPE ALINTGDFQD LQVLVGVVKD EGSYFLVYGV PGFSKDNESL
              ********** ****.***.  ********** *********  **********

4EY6    354   ISRAEFLAGV RVGVPQVSDL AAEAVVLHYT DWLHPEDPAR LREALSDVVG
1C2O    354   ISRAQFLAGV RIGVPQASDL AAEAVVLHYT DWLHPEDPTH LRDAMSAVVG
              ****.***** *.**** *** ********** ********.. **.*.* ***

4EY6    404   DHNVVCPVAQ LAGRLAAQGA RVYAYVFEHR ASTLSWPLWM GVPHGYEIEF
1C2O    404   DHNVVCPVAQ LAGRLAAQGA RVYAYIFEHR ASTLTWPLWM GVPHGYEIEF
              ********** ********** *****.**** ****.***** **********

4EY6    454   IFGIPLDPSR NYTAEEKIFA QRLMRYWANF ARTGDPNEP- -RDP-QWPPY
1C2O    454   IFGLPLDPSL NYTTEERIFA QRLMKYWTNF ARTGDPNDPR DSKSPQWPPY
              ***.*****  ***.**.*** ****.**.** *******.*      . *****

4EY6    504   TAGAQQYVSL DLRPLEVRRG LRAQACAFWN RFLPKLLSA
1C2O    504   TTAAQQYVSL NLKPLEVRRG LRAQTCAFWN RFLPKLLSAT
              *..******* .*.******* ****.***** *********
```

**Figura AP-1.1.** Resultado de homologia entre a enzima acetilcolinesterase das espécies *Homo sapiens* (4EY6) e *Torpedo californica* (1C2O). Em destaque estão os resíduos pertencentes ao sítio ativo. Símbolos: ***** equivalente; **.** não equivalente, porém similar.

```
4BDS    4      IIIATKNGKV RGMQLTVFGG TVTAFLGIPY AQPPLGRLRF KKPQSLTKWS
Q9N1N9  32     IIITTKNGKV RGMNLPVLGG TVTAFLGIPY AQPPLGRLRF KKPQSLTKWS
               ***.****** *** * *.** ********** ********** **********

4BDS    54     DIWNATKYAN SCCQNIDQSF PGFHGSEMWN PNTDLSEDCL YLNVWIPAPK
Q9N1N9  82     NIWNATKYAN SCYQNTDQSF PGFLGSEMWN PNTELSEDCL YLNVWIPAPK
               .********* ** ** **** *** ****** ***.****** **********

4BDS    104    PKNATVLIWI YGGGFQTGTS SLHVYDGKFL ARVERVIVVS MNYRVGALGF
Q9N1N9  132    PKNATVMIWI YGGGFQTGTS SLPVYDGKFL ARVERVIVVS MNYRVGALGF
               ******.*** ********** ** ******* ********** **********

4BDS    154    LALPGNPEAP GNMGLFDQQL ALQWVQKNIA AFGGNPKSVT LFGESAGAAS
Q9N1N9  182    LALSENPEAP GNMGLFDQQL ALQWVQKNIA AFGGNPRSVT LFGESAGAAS
               ***. ***** ********** ********** ******.*** **********

4BDS    204    VSLHLLSPGS HSLFTRAILQ SGSFNAPWAV TSLYEARNRT LNLAKLTGCS
Q9N1N9  232    VSLHLLSPRS QPLFTRAILQ SGSSNAPWAV TSLYEARNRT LTLAKRMGCS
               ******** * ..******** *** ****** ********** * ***  ***

4BDS    254    RENETEIIKC LRNKDPQEIL LNEAFVVPYG TPLSVNFGPT VDGDFLTDMP
Q9N1N9  282    RDNETEMIKC LRDKDPQEIL LNEVFVVPYD TLLSVNFGPT VDGDFLTDMP
               *.****.*** **.******* *** *****  * ******** **********

4BDS    304    DILLELGQFK KTQILVGVNK DEGTAFLVYG APGFSKDNNS IITRKEFQEG
Q9N1N9  332    DTLLQLGQFK RTQILVGVNK DEGTAFLVYG APGFSKDNNS IITRKEFQEG
               * **.***** .********* ********** ********** **********

4BDS    354    LKIFFPGVSE FGKESILFHY TDWVQRPENY REALGDVVGD YNFICPALEF
Q9N1N9  382    LKIFFPRVSE FGRESILFHY MDWLDDQRAE NYREALDDVV GDYNIICPAL
               ****** *** **.*******  **..          .       ..      .

4BDS    406    TKKFSEWGNN AFFYYFEHRS SKLPWPEWMG VMHGYEIEFV FGLPLERRDQ
Q9N1N9  432    EFTKKFSELG NDAFFYYFEH RSTKLPWPEW MGVMHGYEIE FVFGLPLERR
                          ...          *     .      *.  * . *    .

4BDS    456    YTKAEEILSR SIVKRWANFA KYGNPQETQN QSTSWPVFKS TEQKYLTLNT
Q9N1N9  482    VNYTKAEEIL SRSIMKRWAN FAKYGNPNGT QSNSTRWPVF KSTEQKYLTL
                  .       *                    ** *             *

4BDS    506    ESTRIMTKLR AQQCRFWTSF FPKV ----- ---------- ----------
Q9N1N9  532    NTESPKVYTK LRAQQCRFWT LFFPKVLELT GNIDEAEREW KAGFHRWNNY
               ..   .   .  .  . .    .

4BDS
Q9N1N9  582    MMDWKNQFND YT-
```

**Figura AP-1.2.** Resultado de homologia entre a enzima butirilcolinesterase das espécies *Homo sapiens* (4BDS) e *Equus caballus* (Q9N1N9). Símbolos: ***** equivalente; **.** não equivalente, porém similar.

## ESPECTROS DE RMN DE $^{1}H$ E $^{13}C$ DOS COMPOSTOS J-1.1 A J-1.25

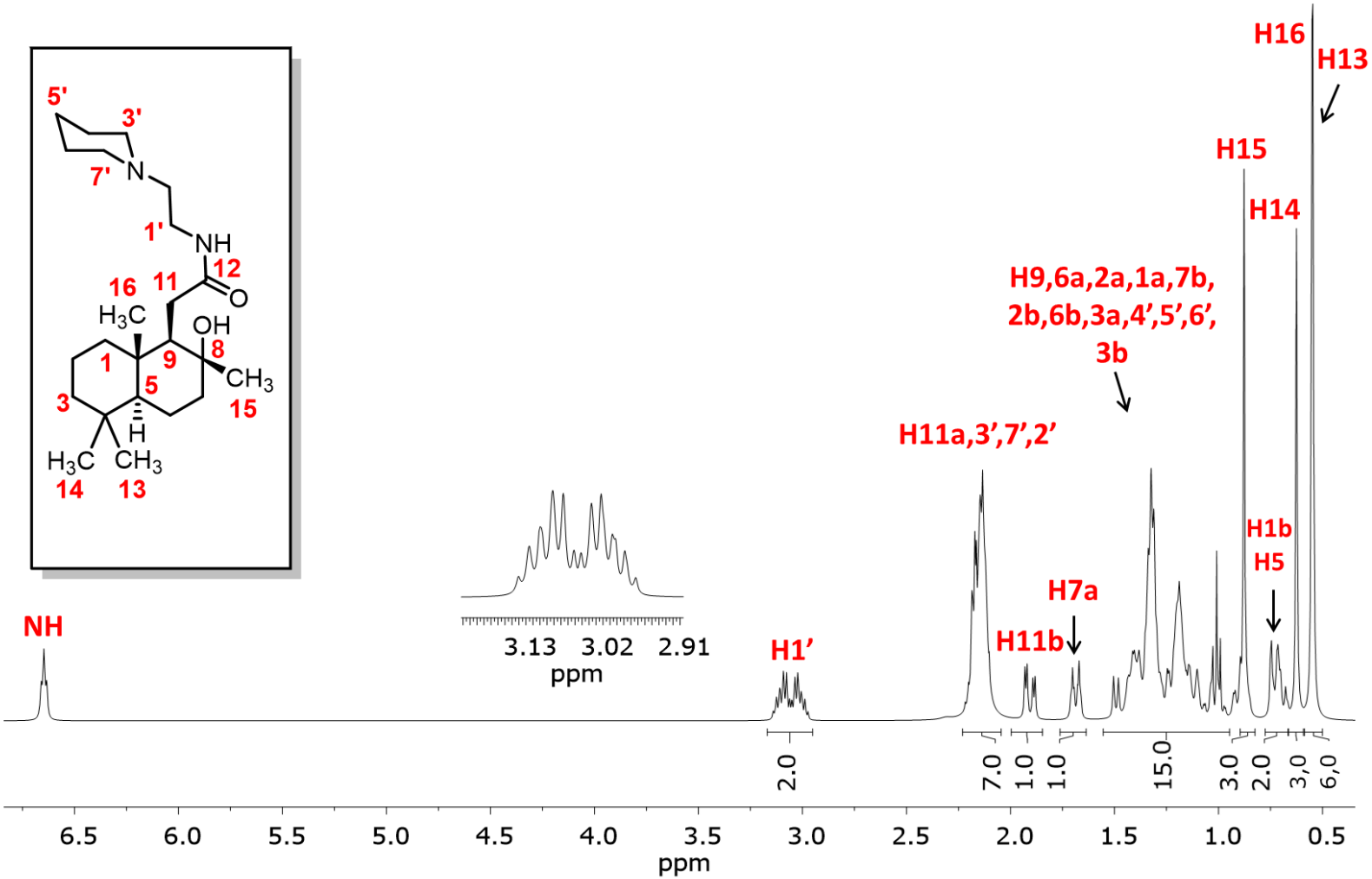



**Figura AP-1.3.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.1**.

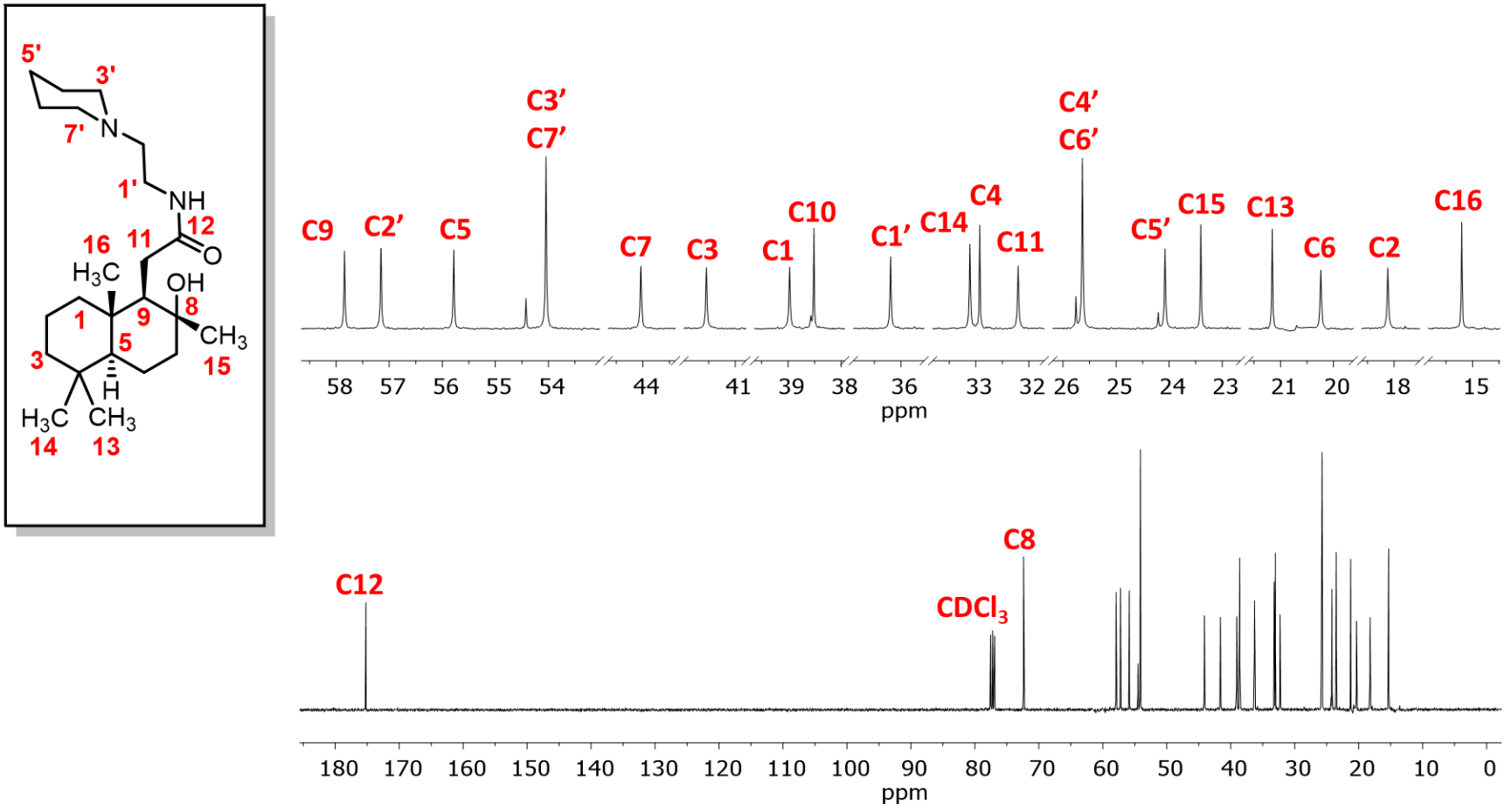



**Figura AP-1.4.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.1**.

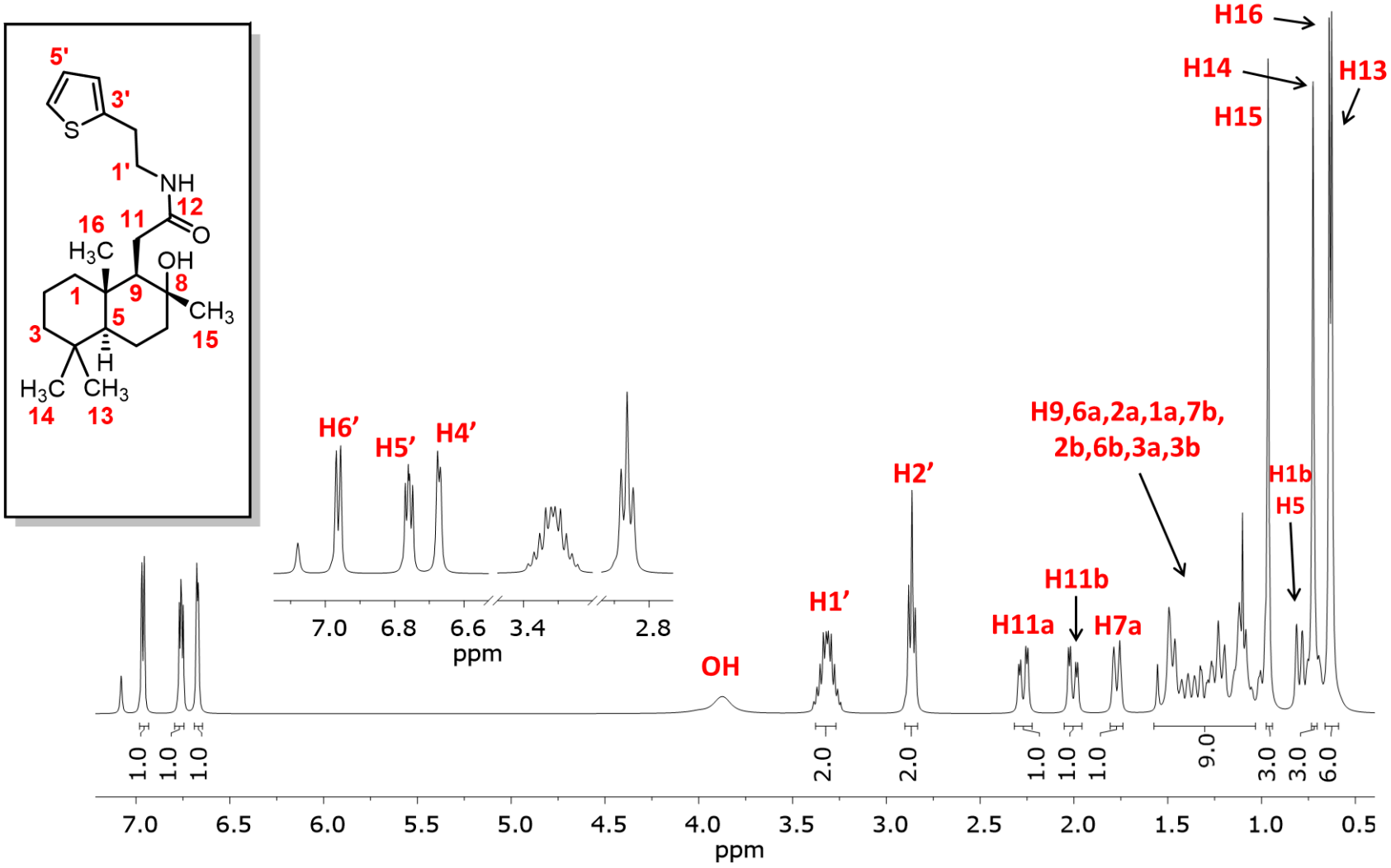



**Figura AP-1.5.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.2**.

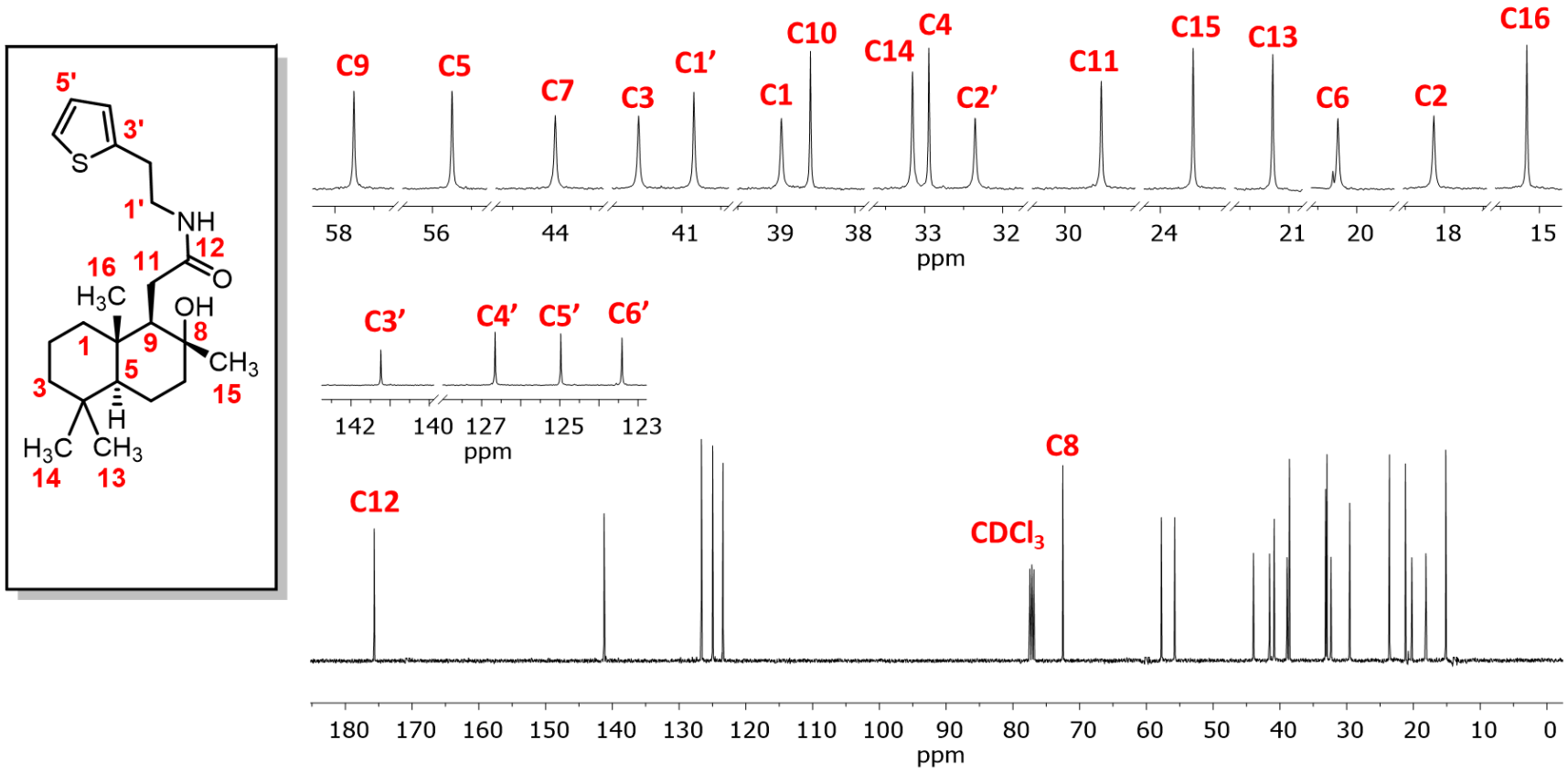



**Figura AP-1.6.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.2**.

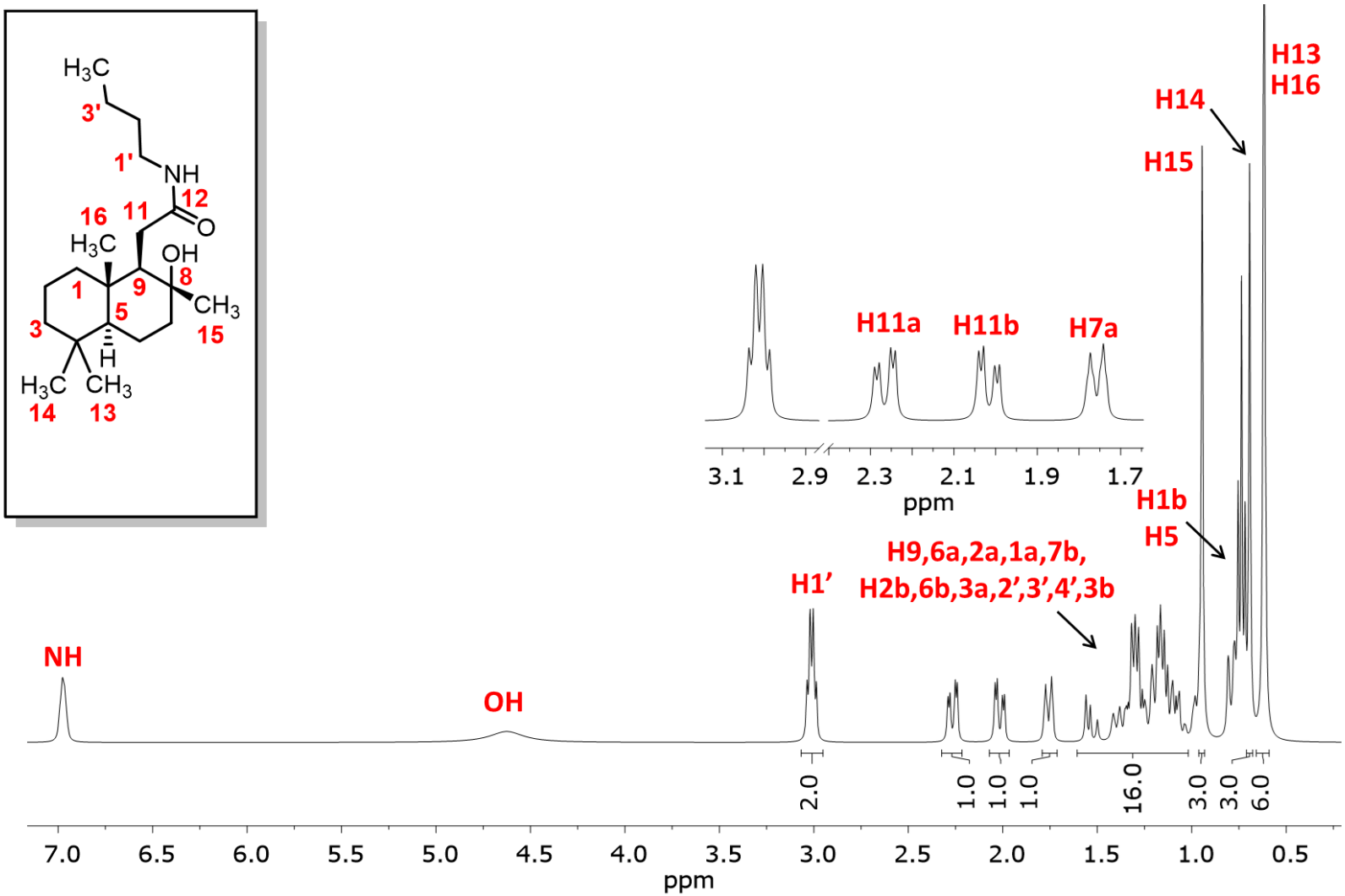



**Figura AP-1.7.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.3**.

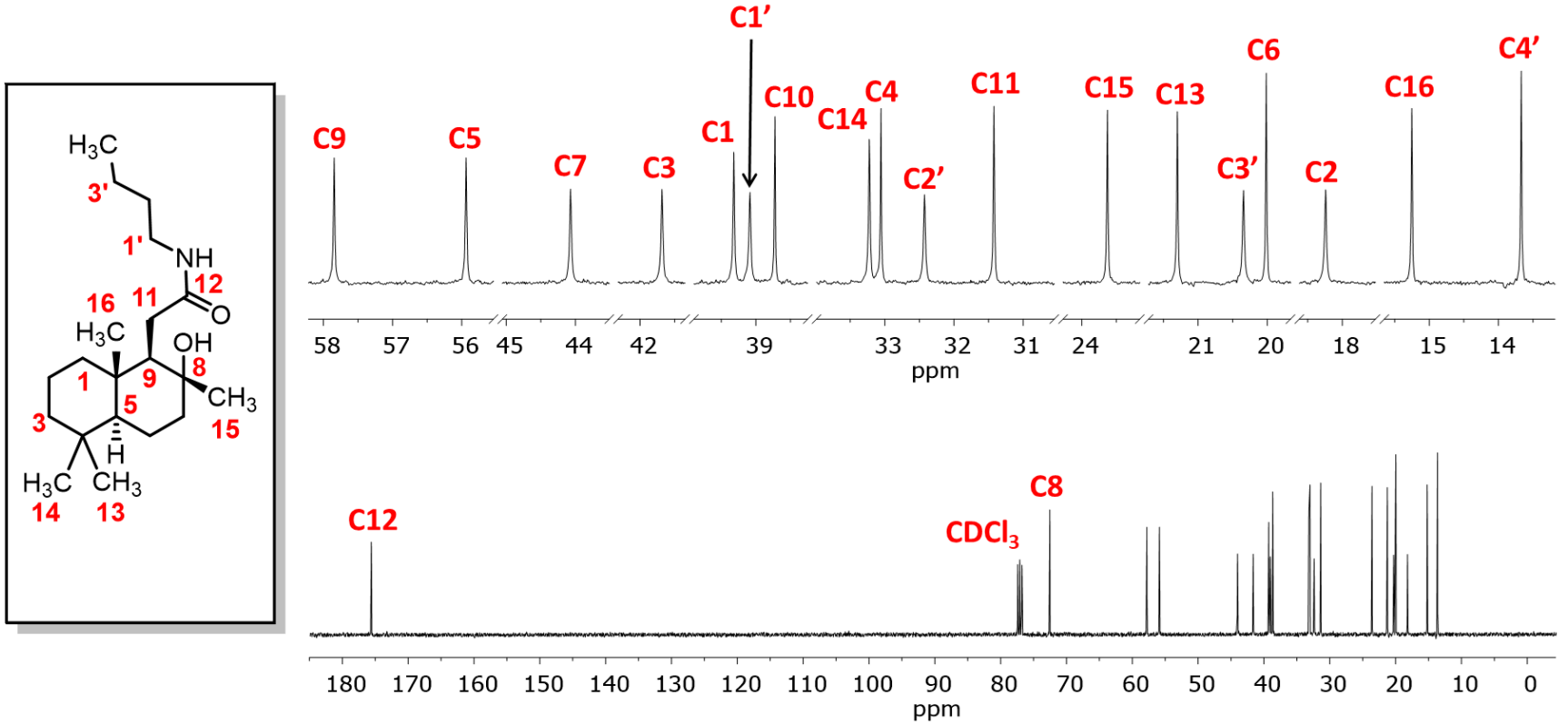



**Figura AP-1.8.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.3**.

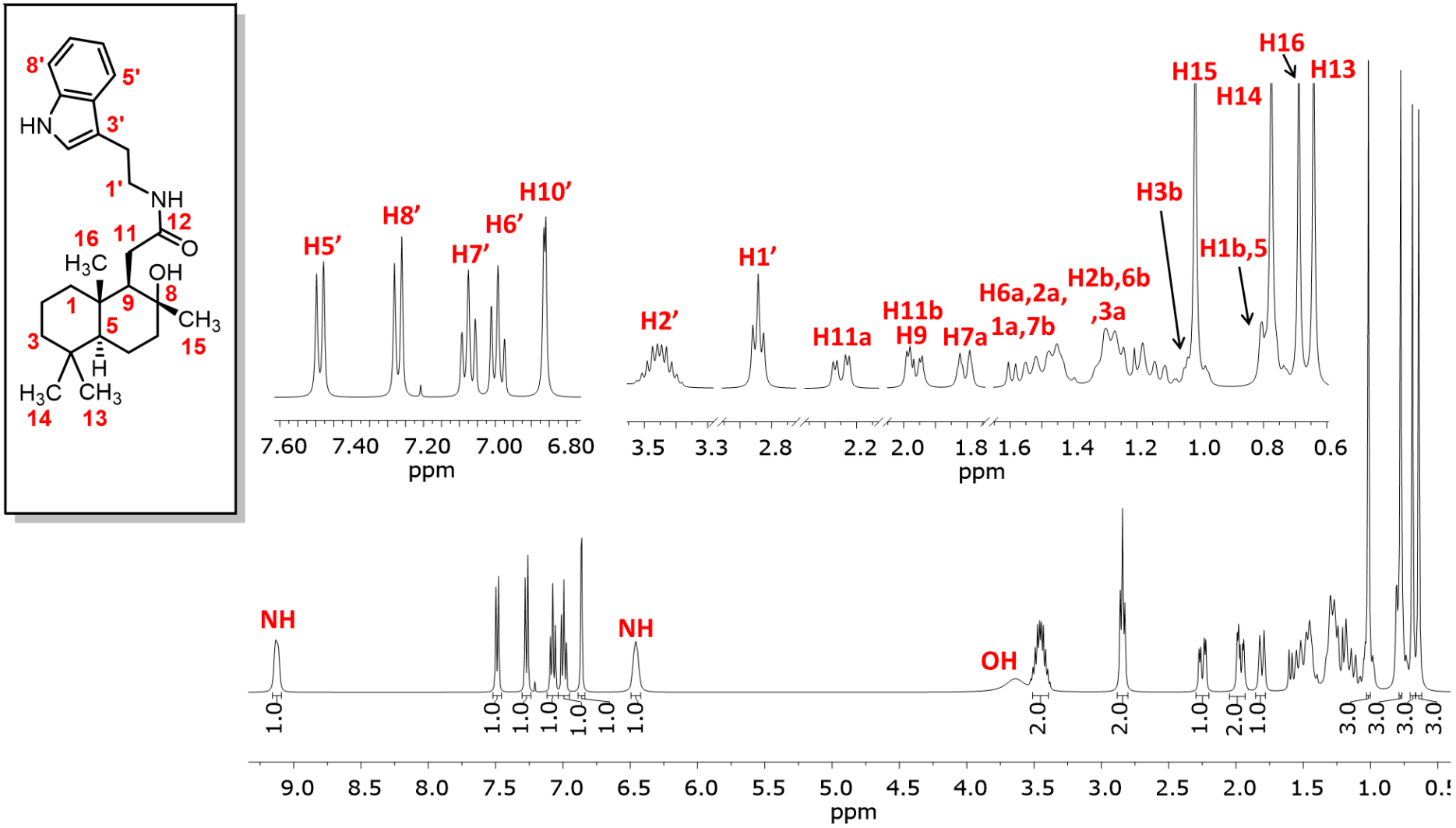



**Figura AP-1.9.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.4**.

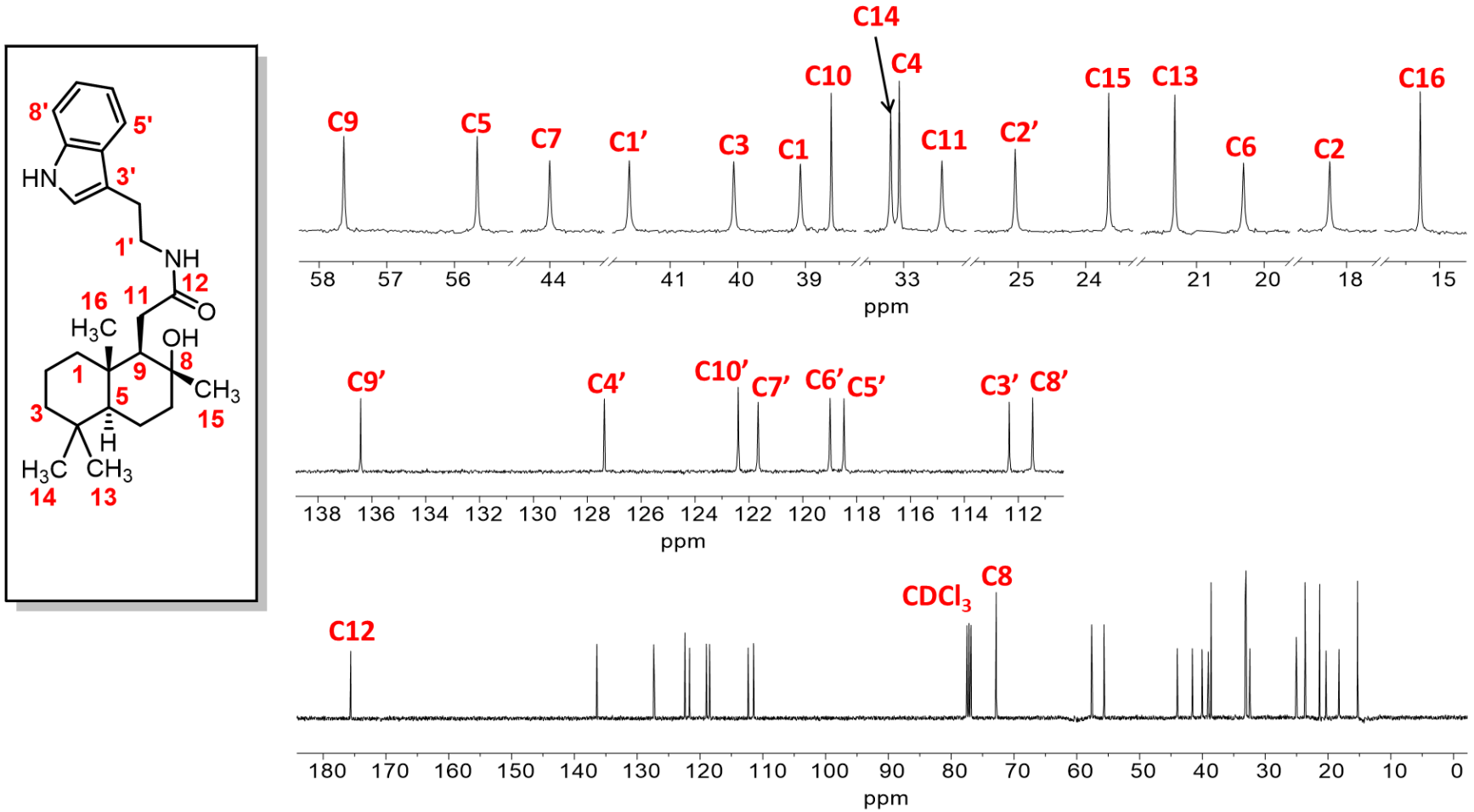



**Figura AP-1.10.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.4**.

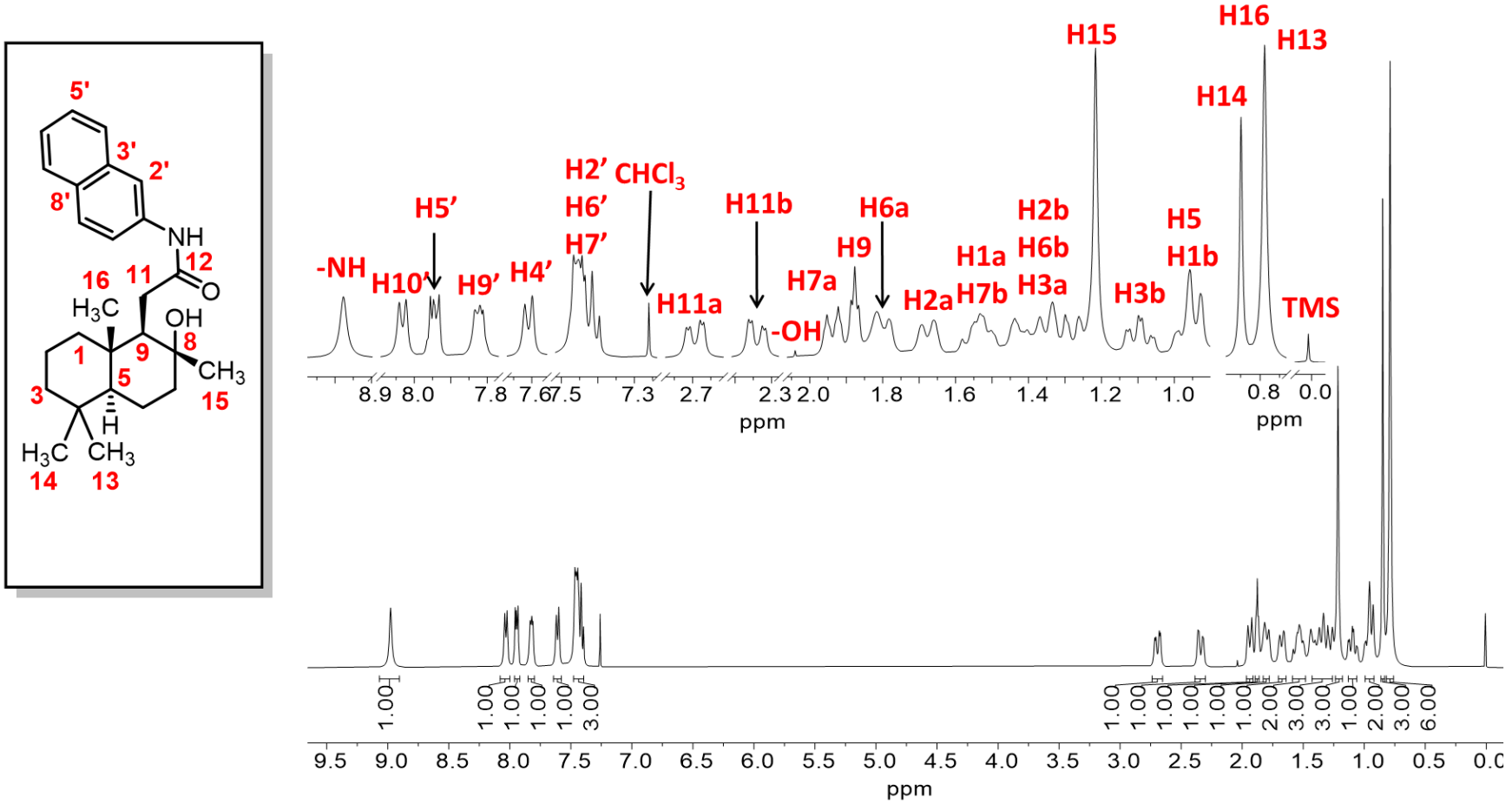



**Figura AP-1.11.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.5**.

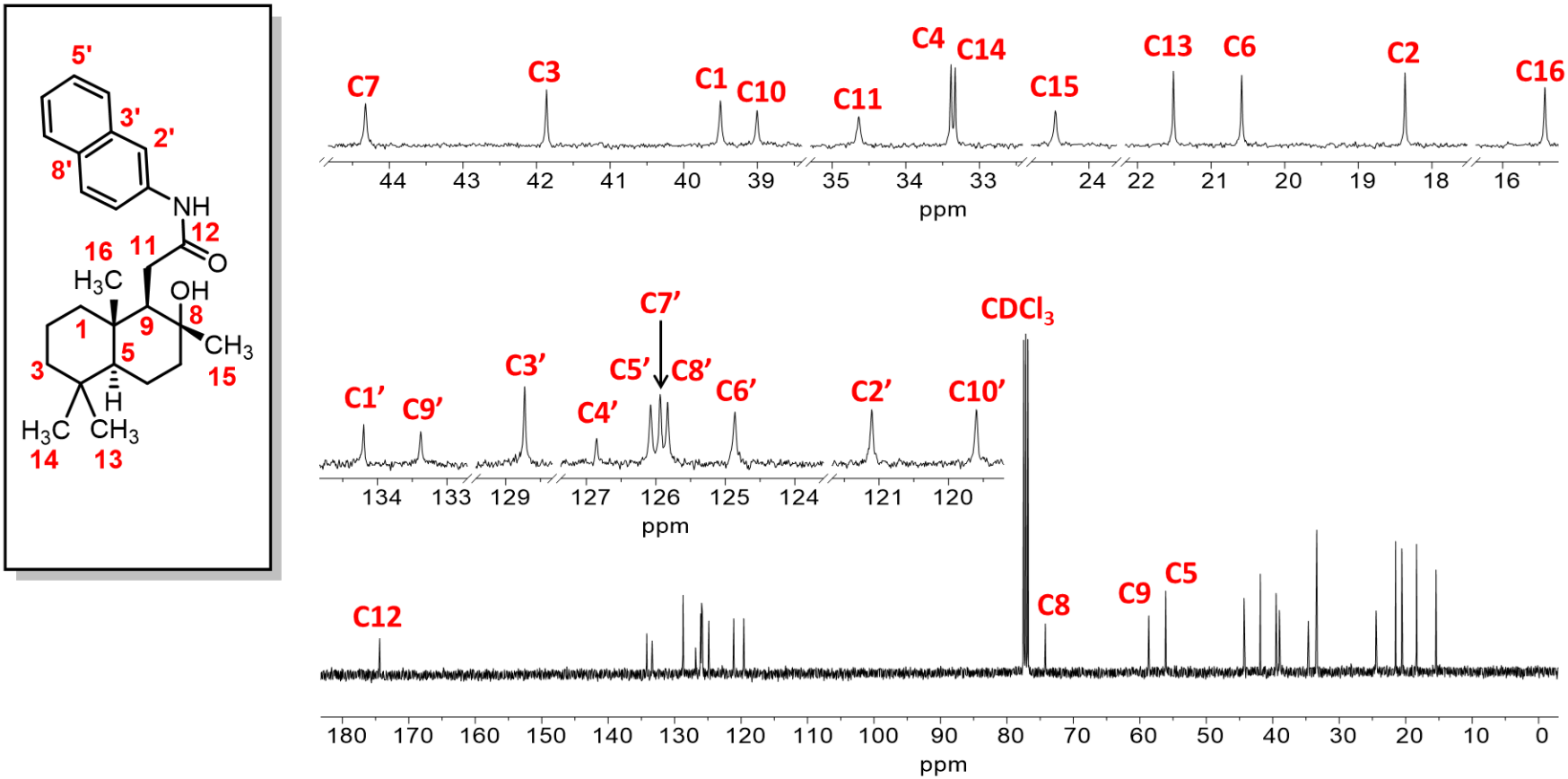



**Figura AP-1.12.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.5**.

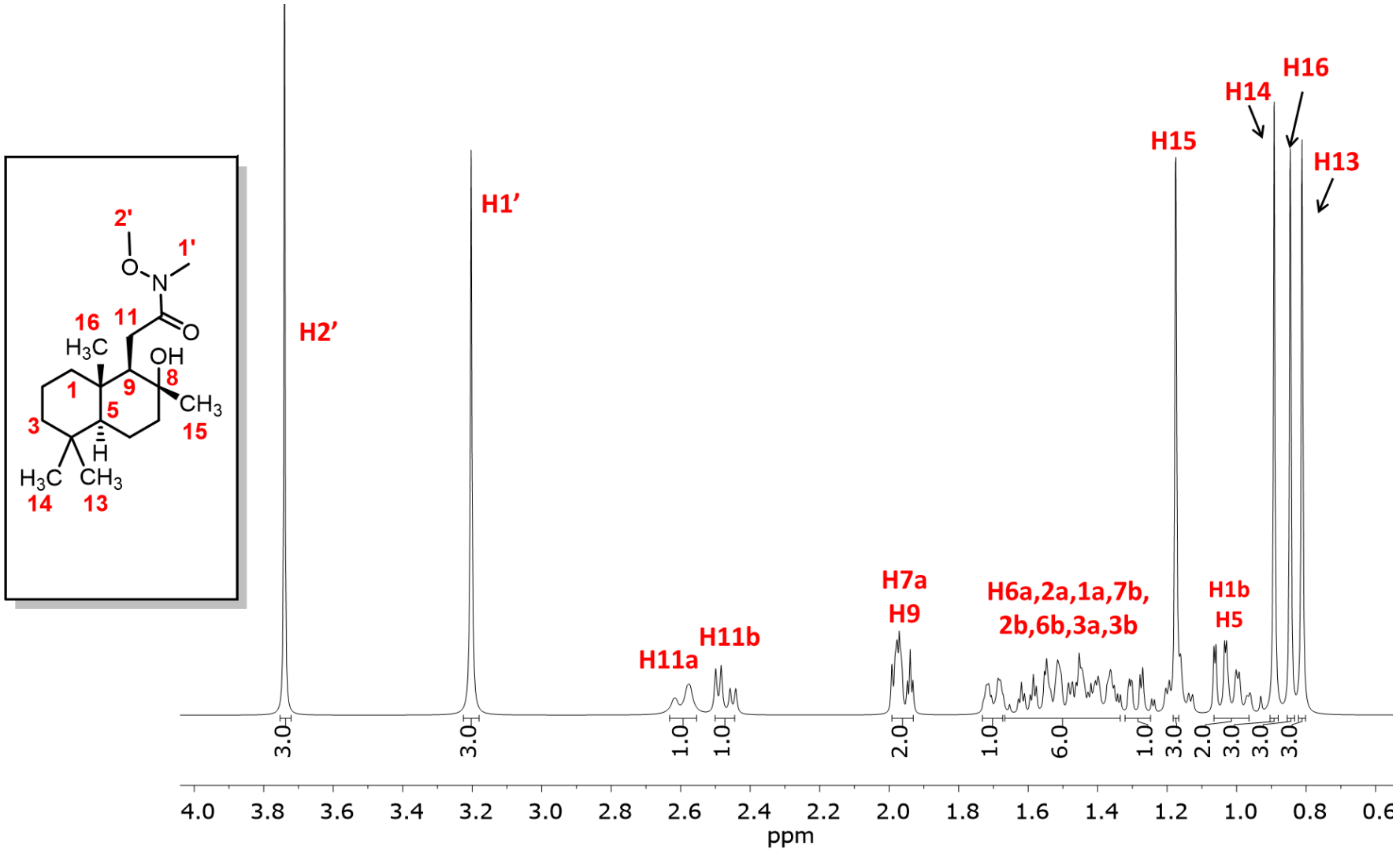



**Figura AP-1.13.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.6**.

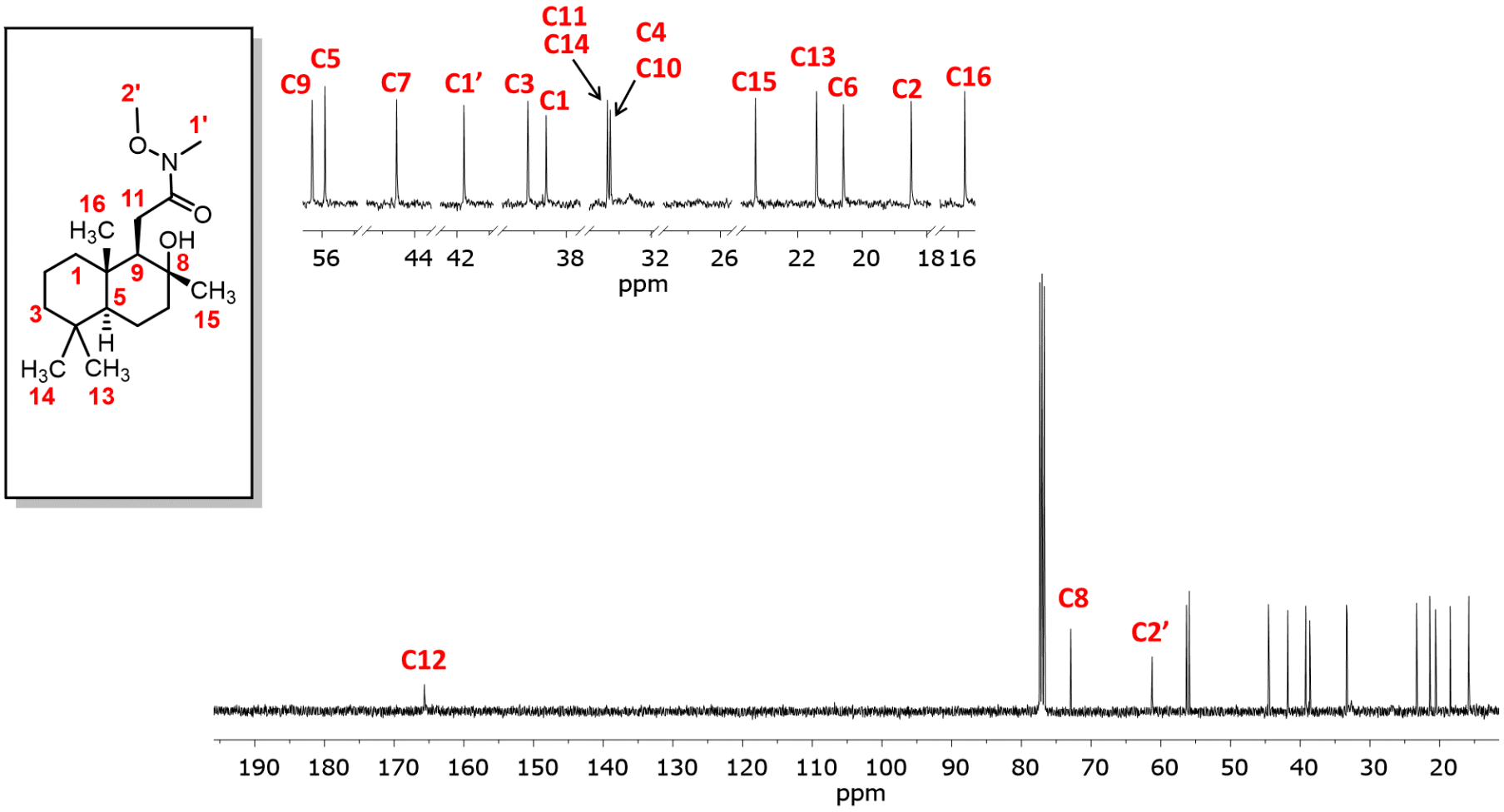



**Figura AP-1.14.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.6**.

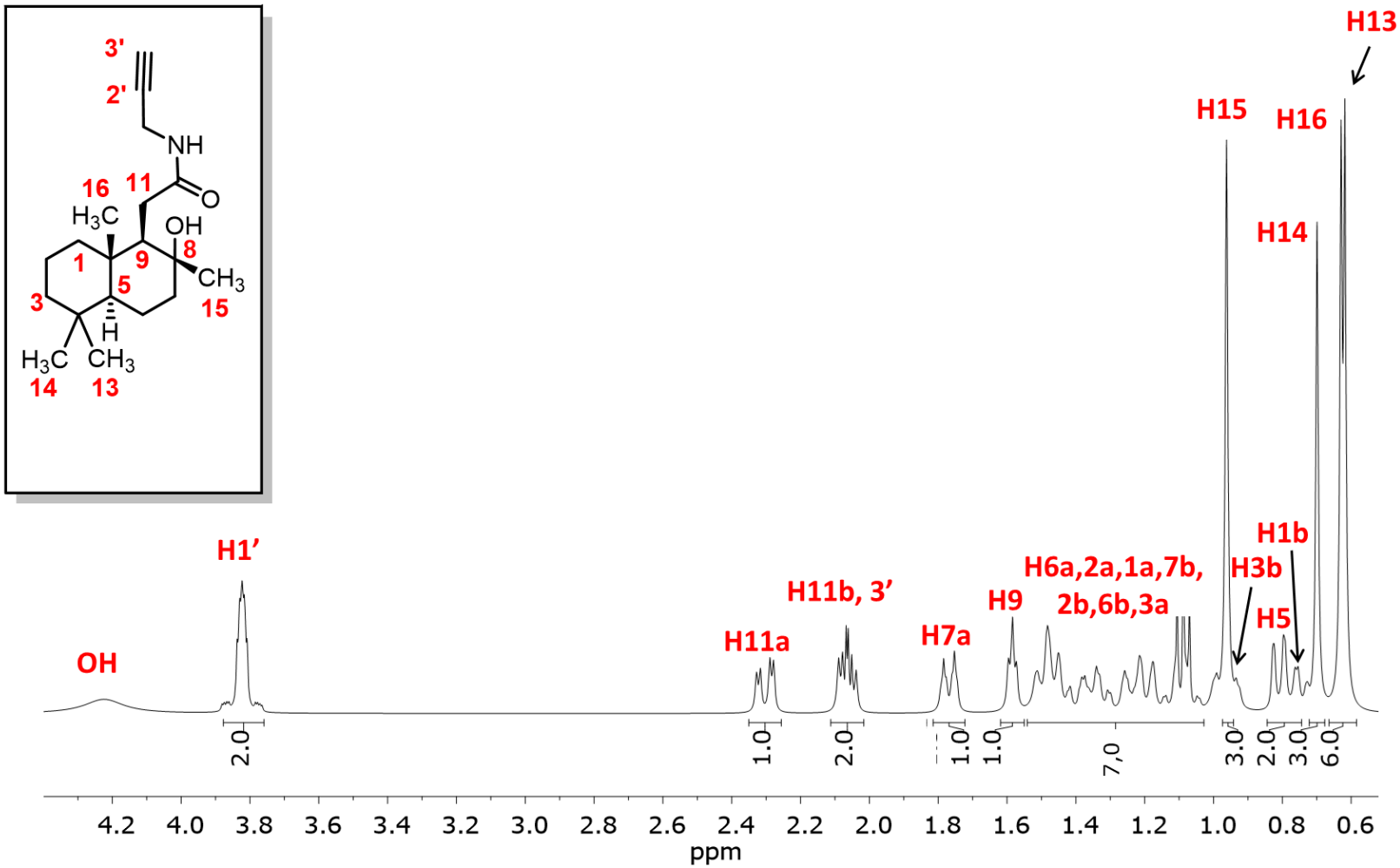



**Figura AP-1.15.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.7**.

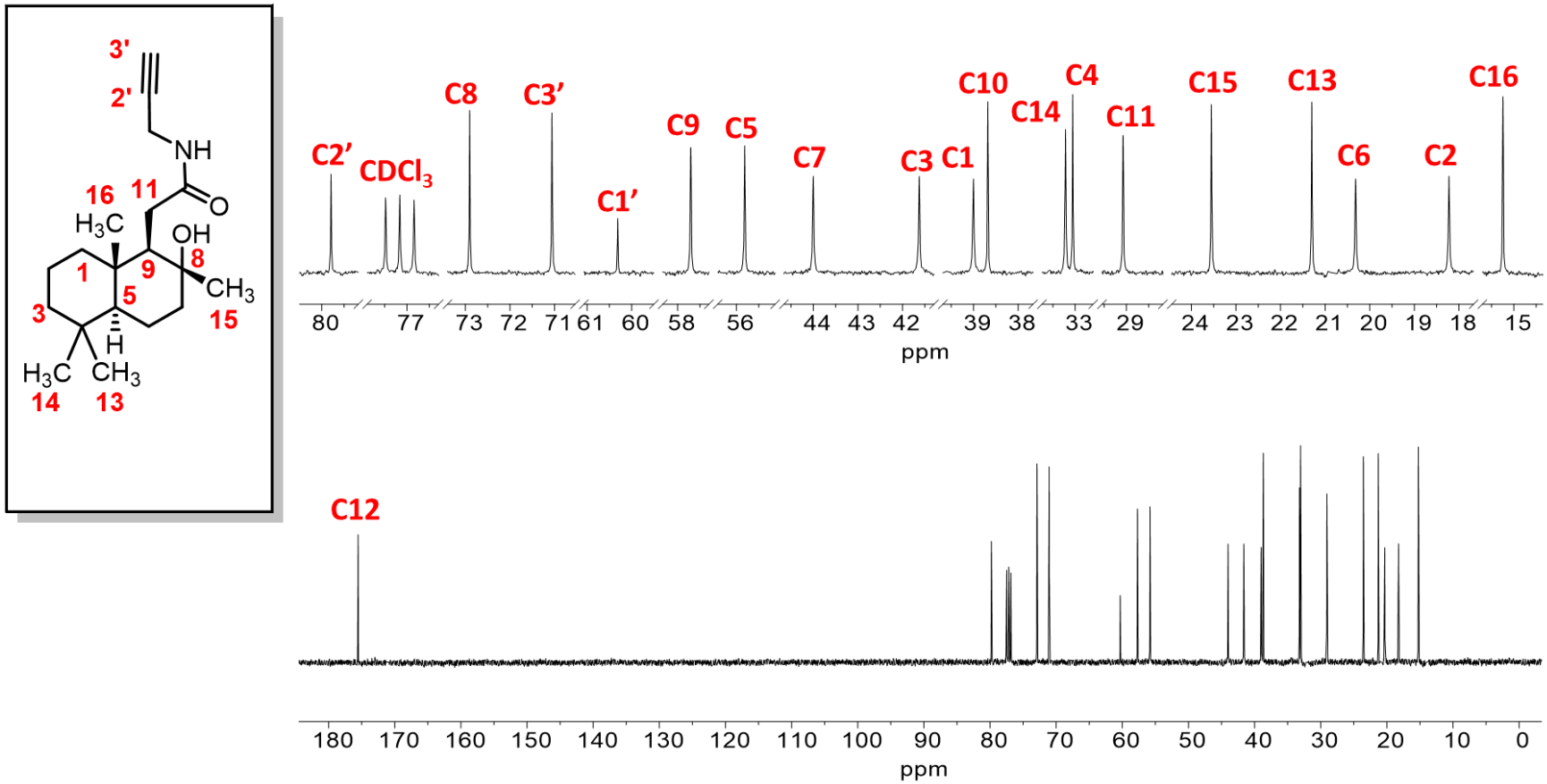



**Figura AP-1.16.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.7**.

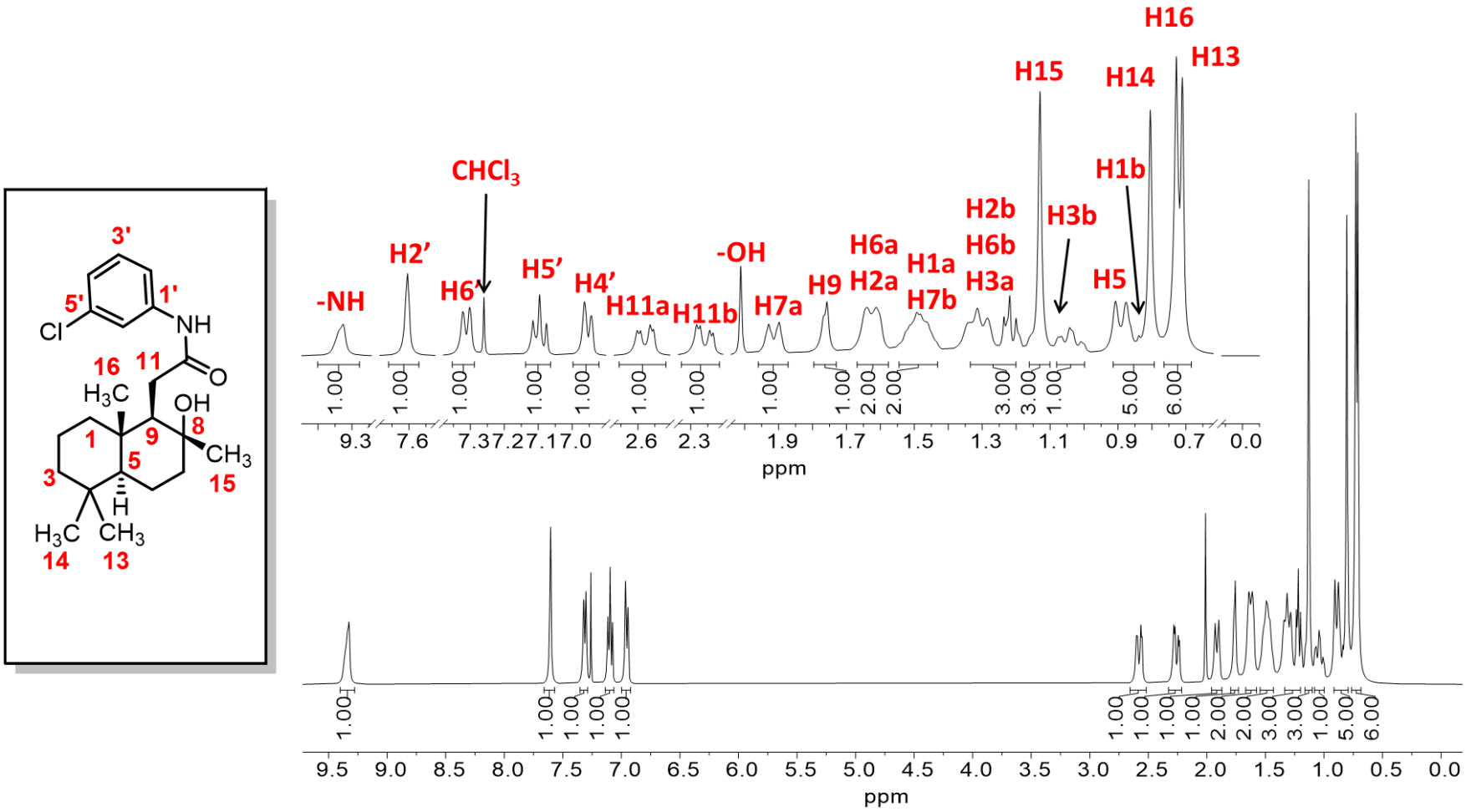



**Figura AP-1.17.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.8**.

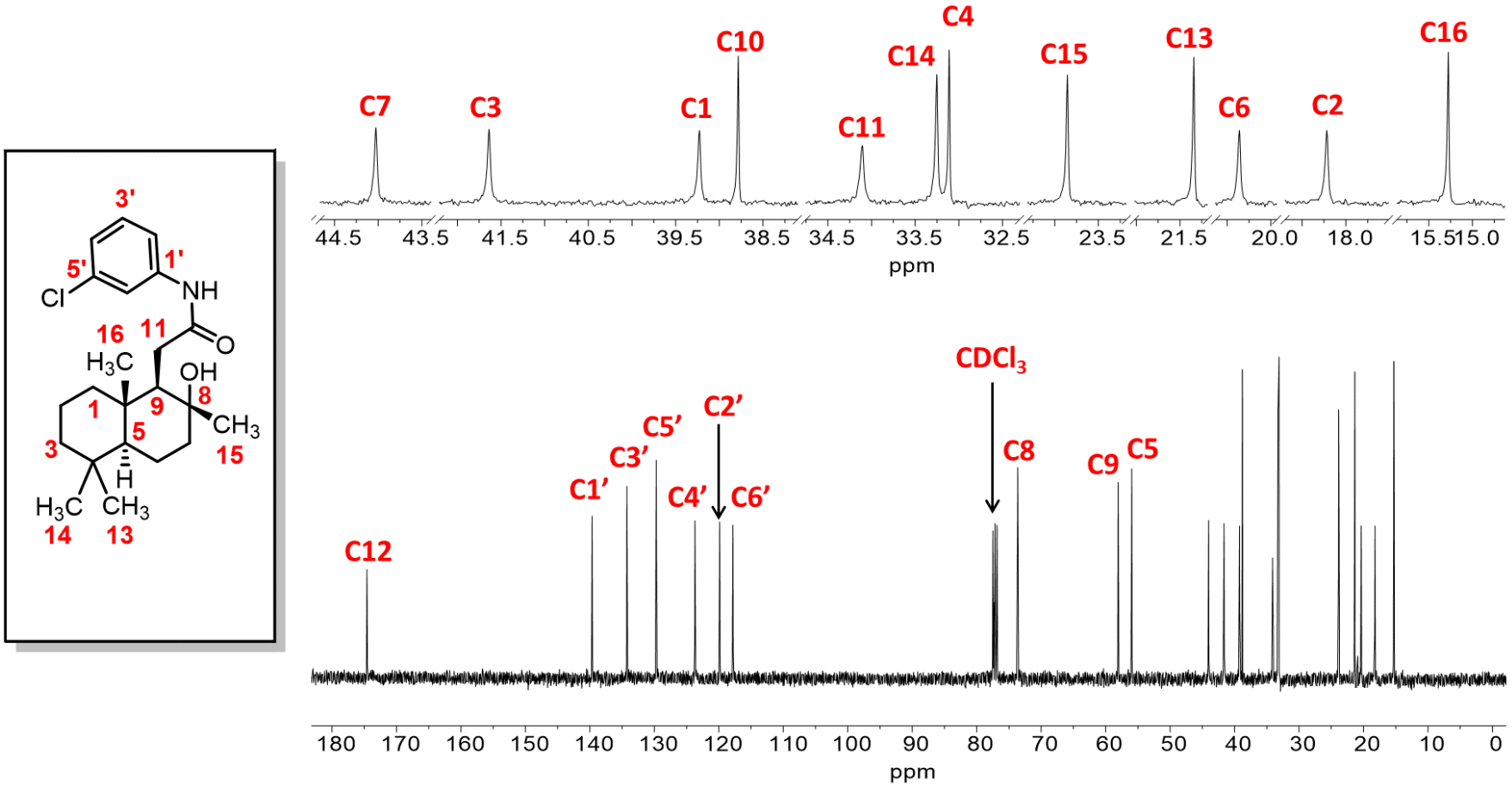



**Figura AP-1.18.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.8**.

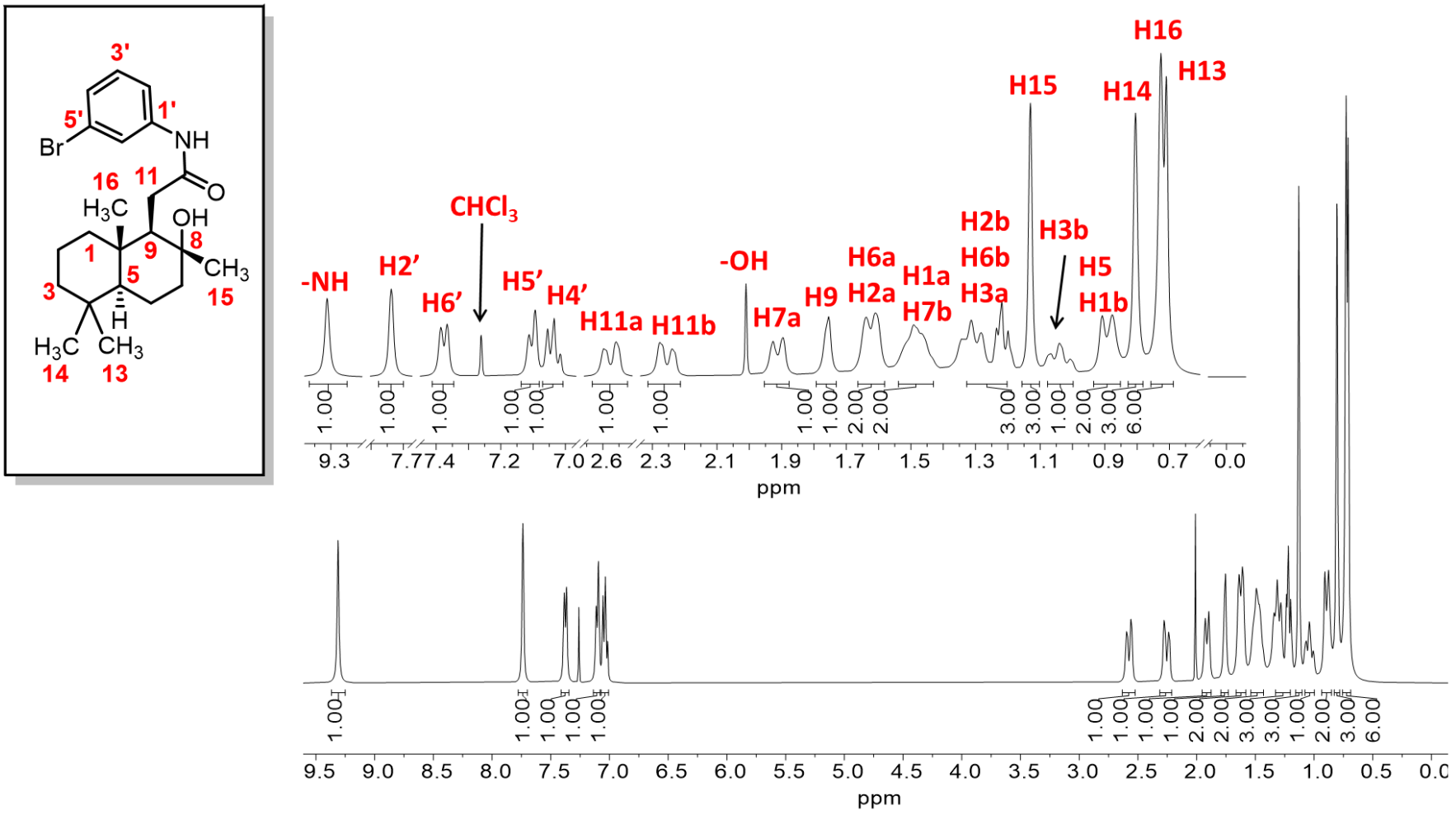



**Figura AP-1.19.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.9**.

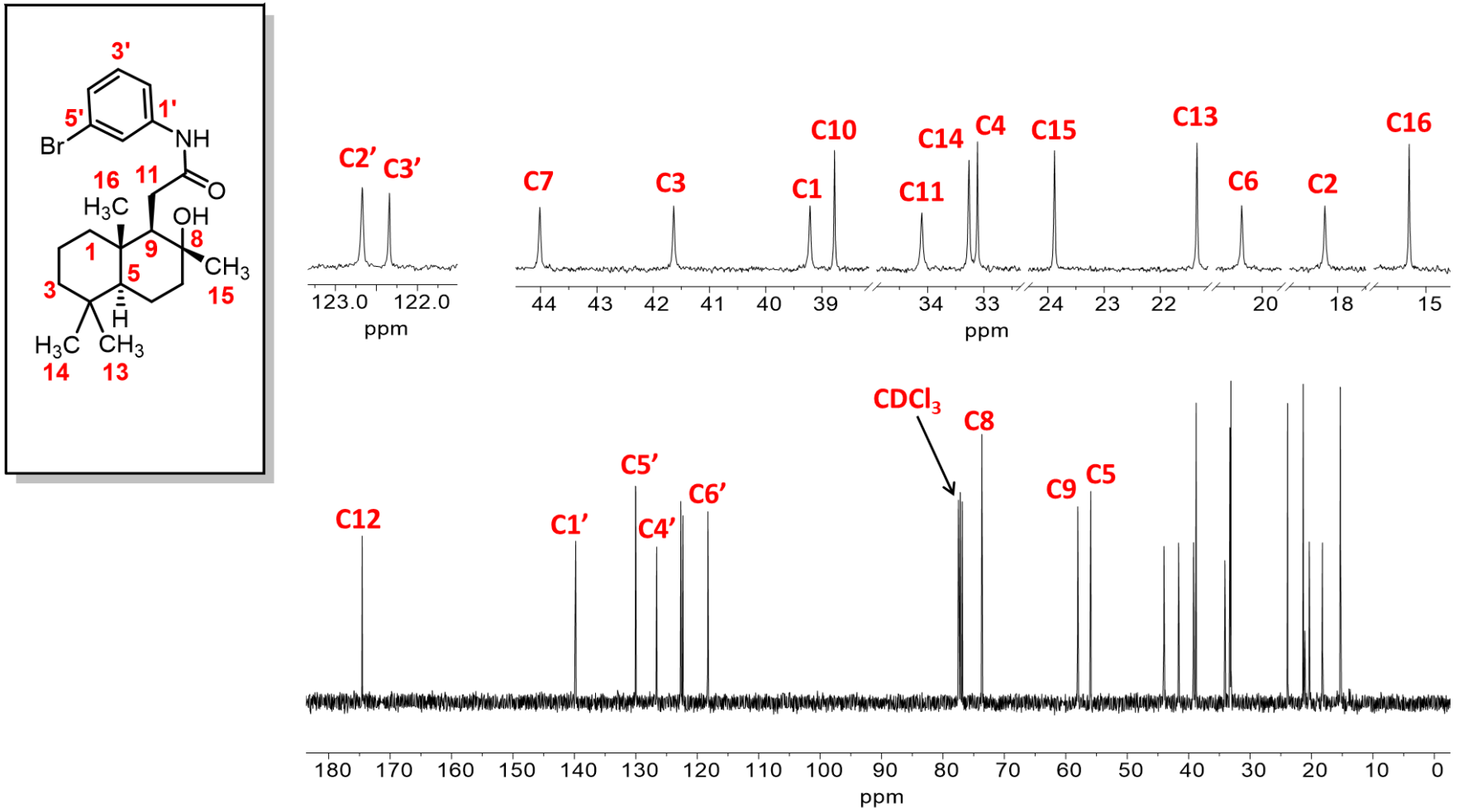



**Figura AP-1.20.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.9**.

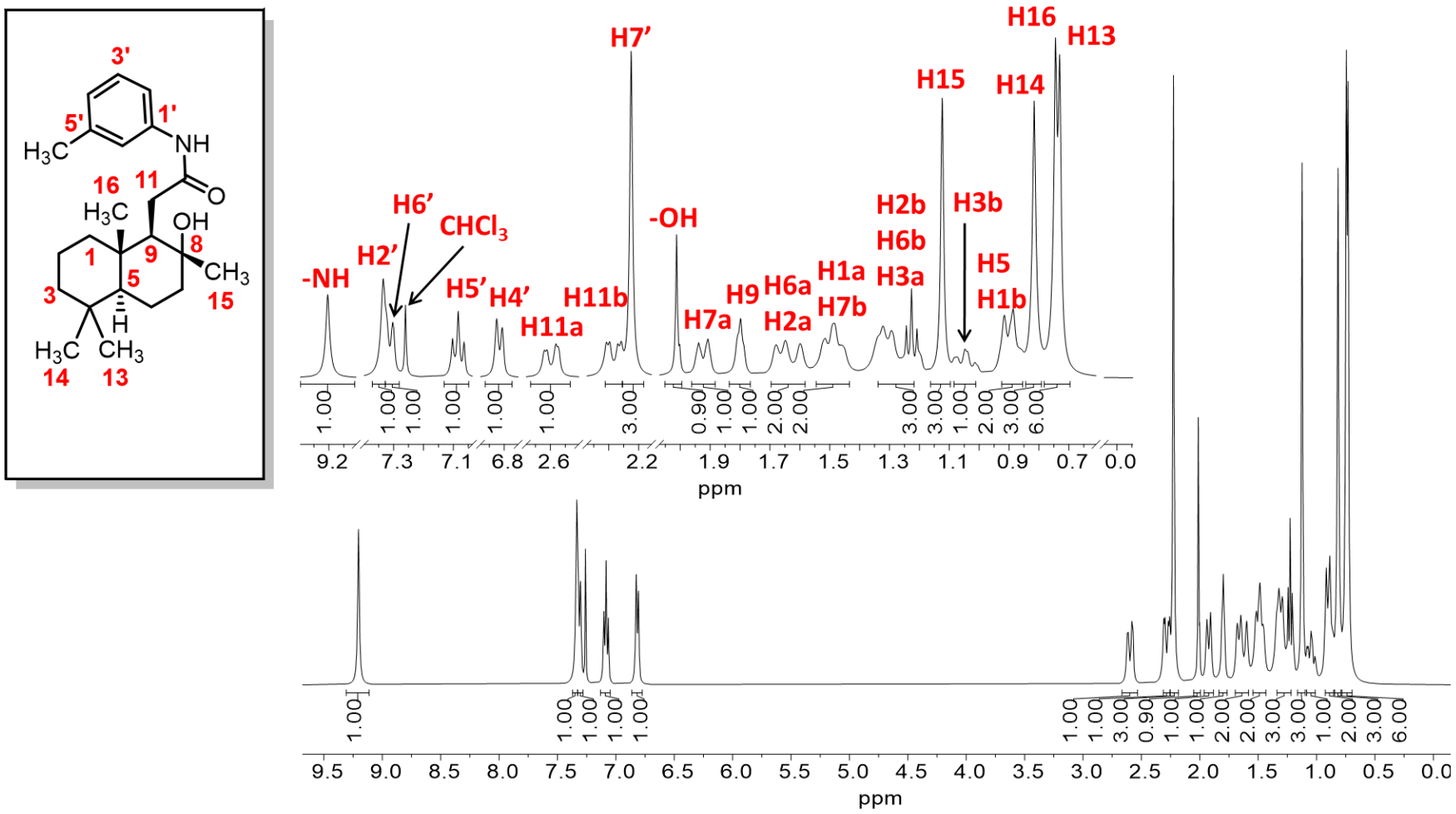



**Figura AP-1.21.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.10**.

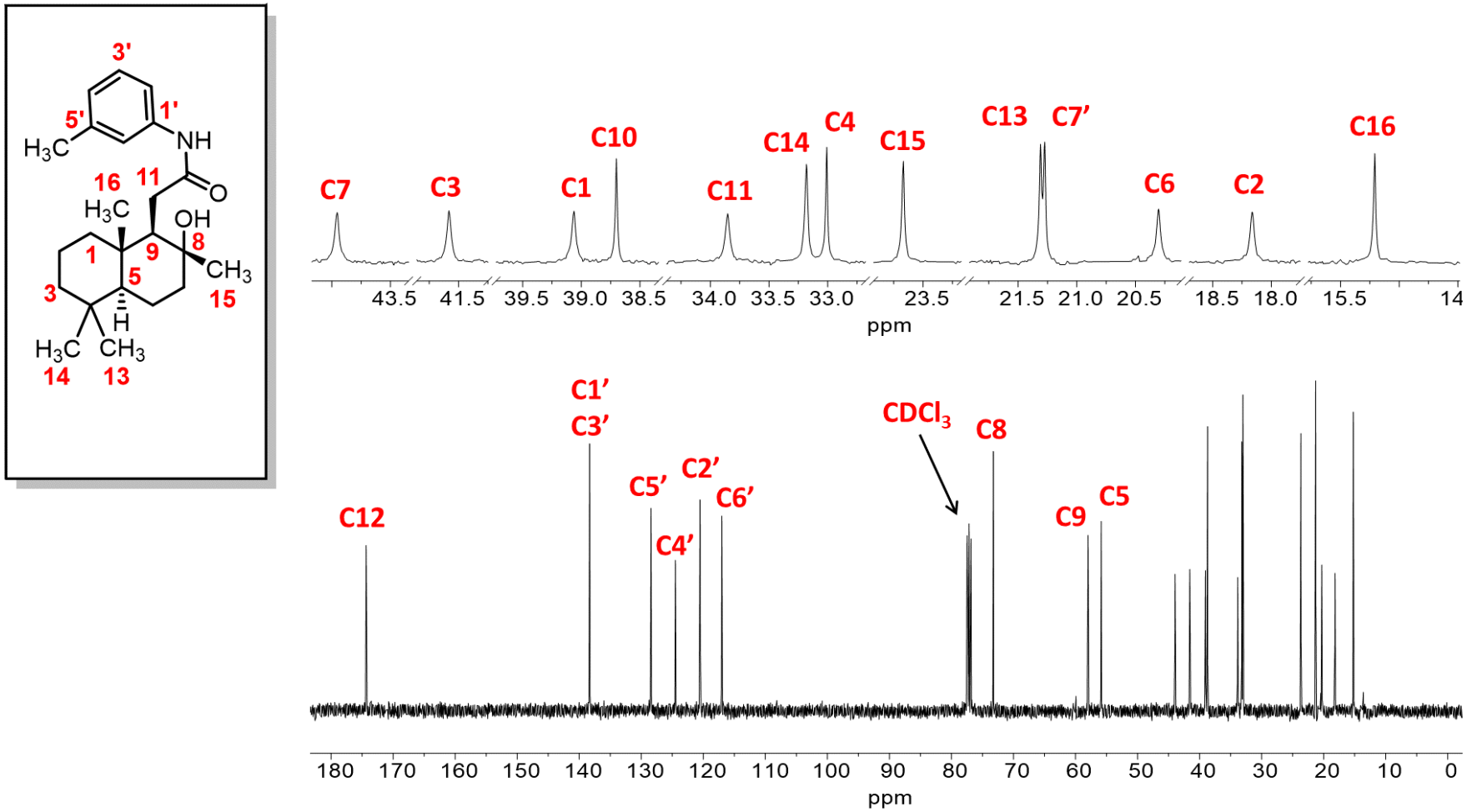



**Figura AP-1.22.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.10**.

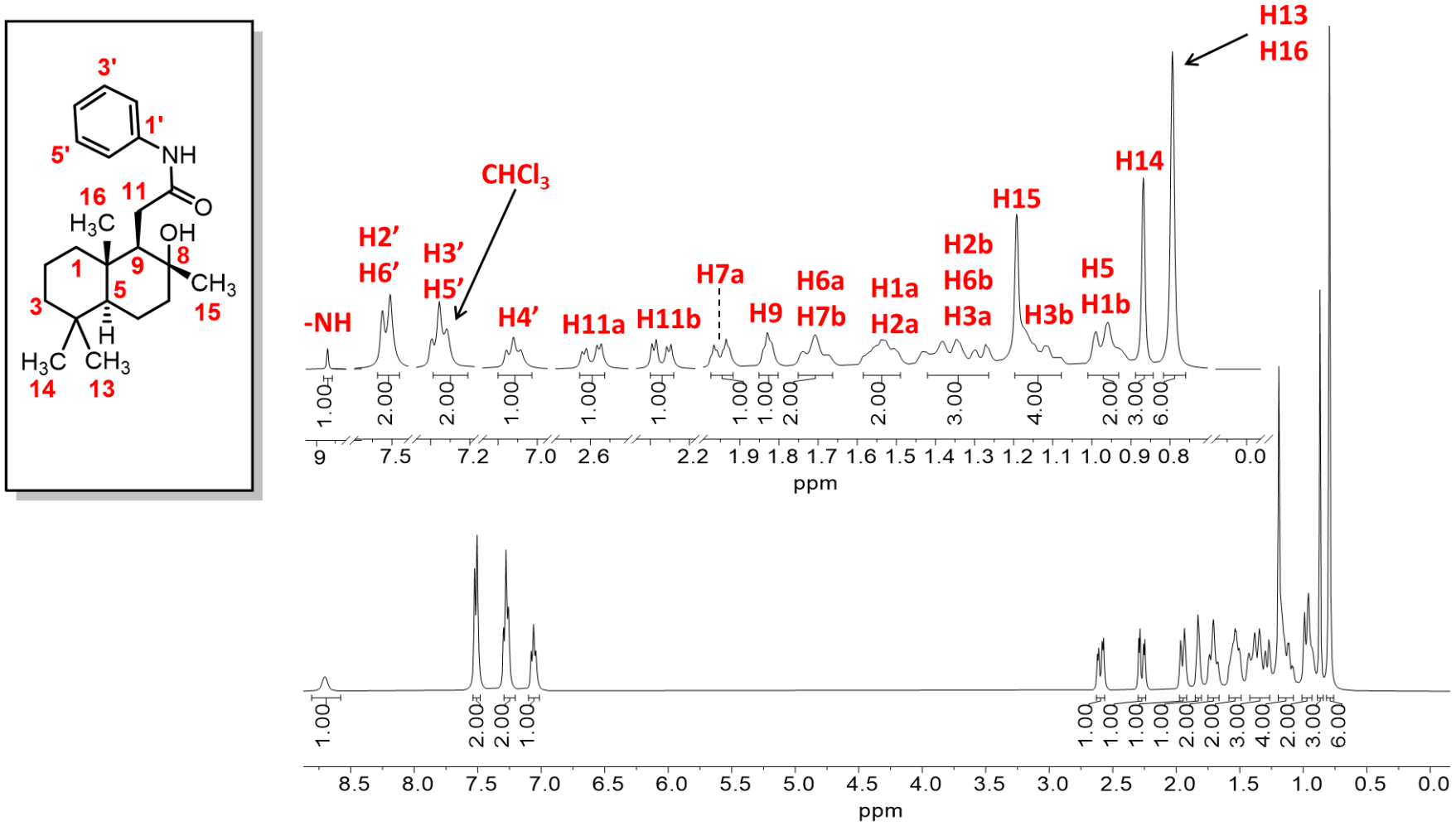



**Figura AP-1.23.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.11**.

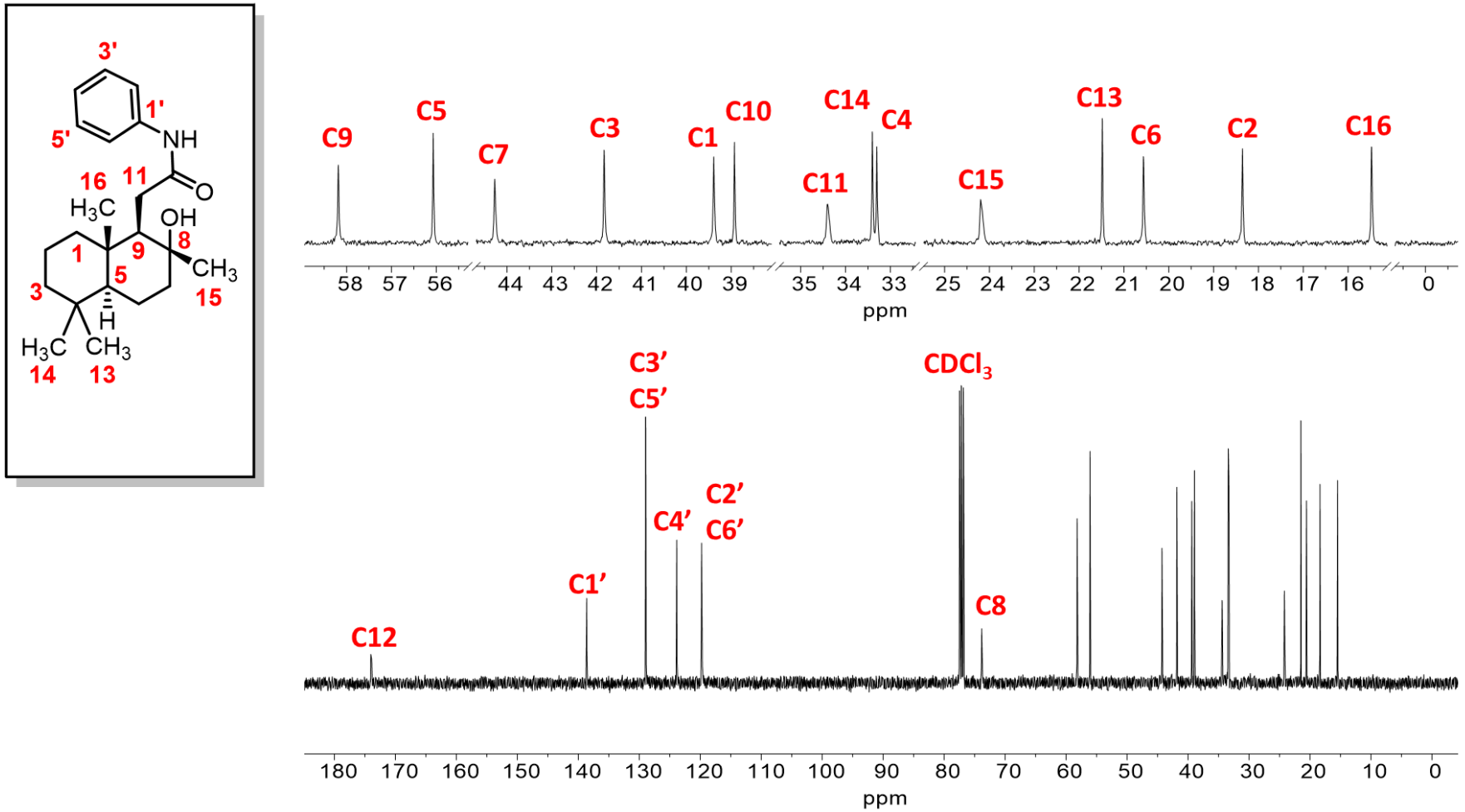



**Figura AP-1.24.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.11**.

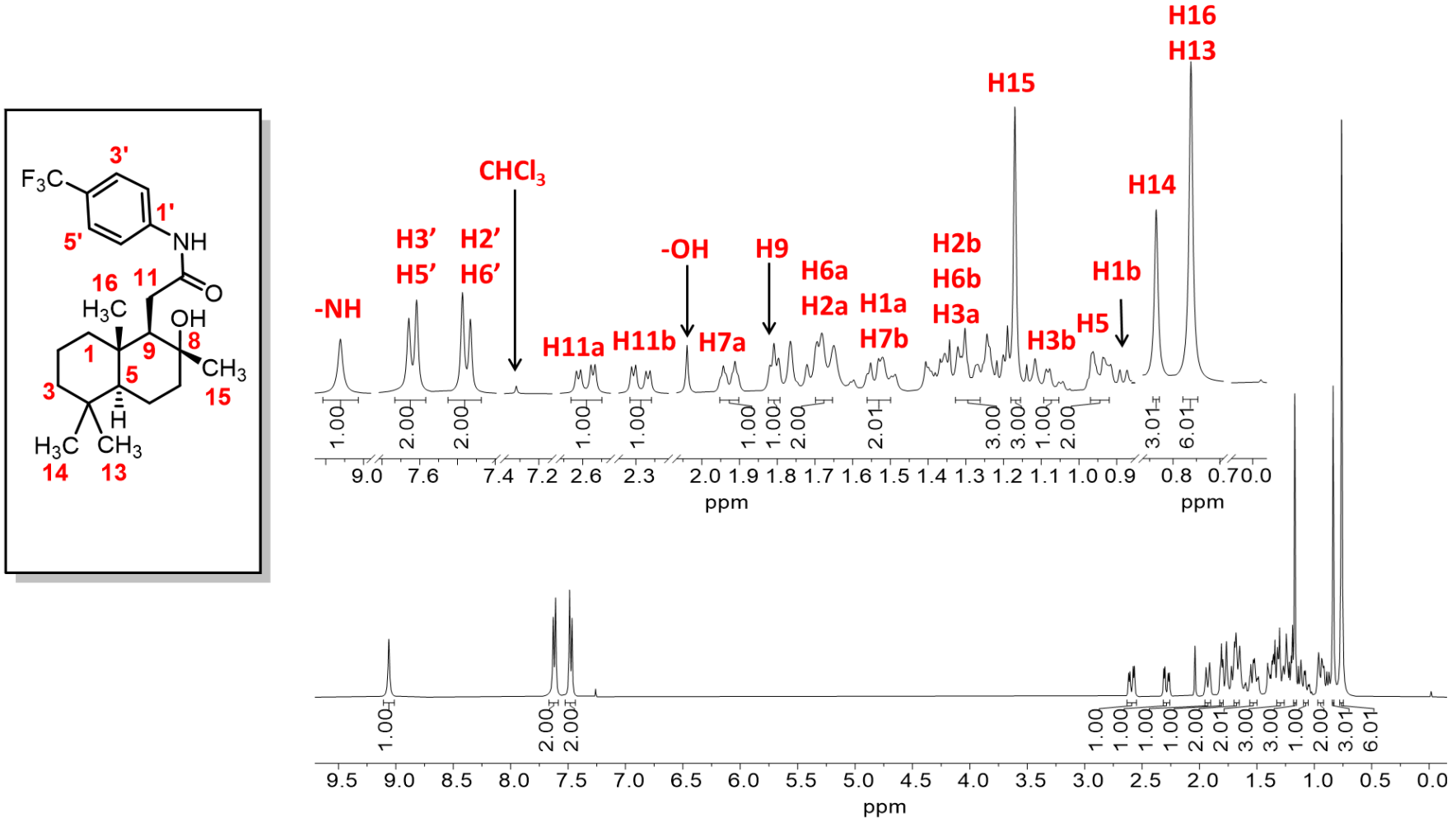



**Figura AP-1.25.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.12**.

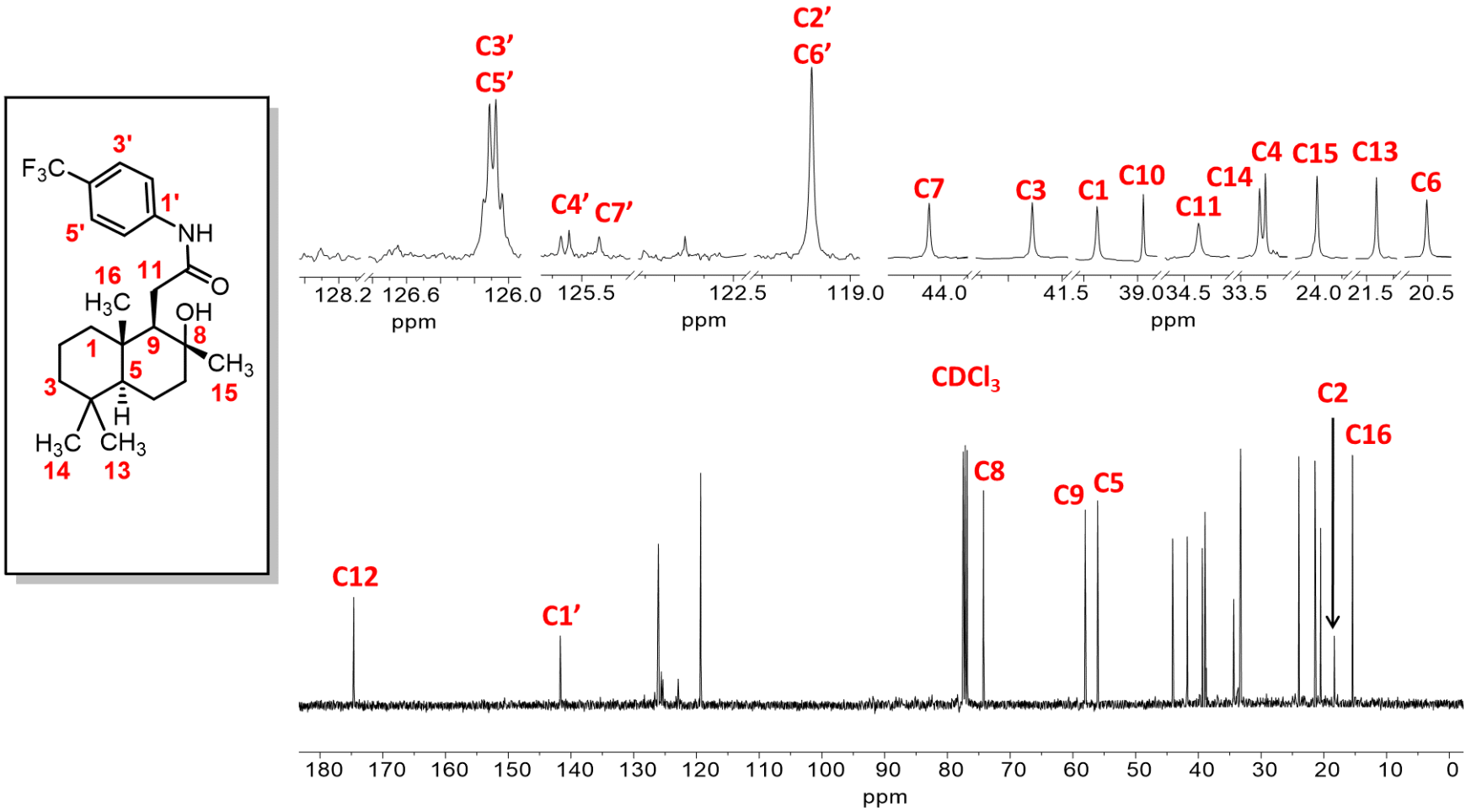



**Figura AP-1.26.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.12**.

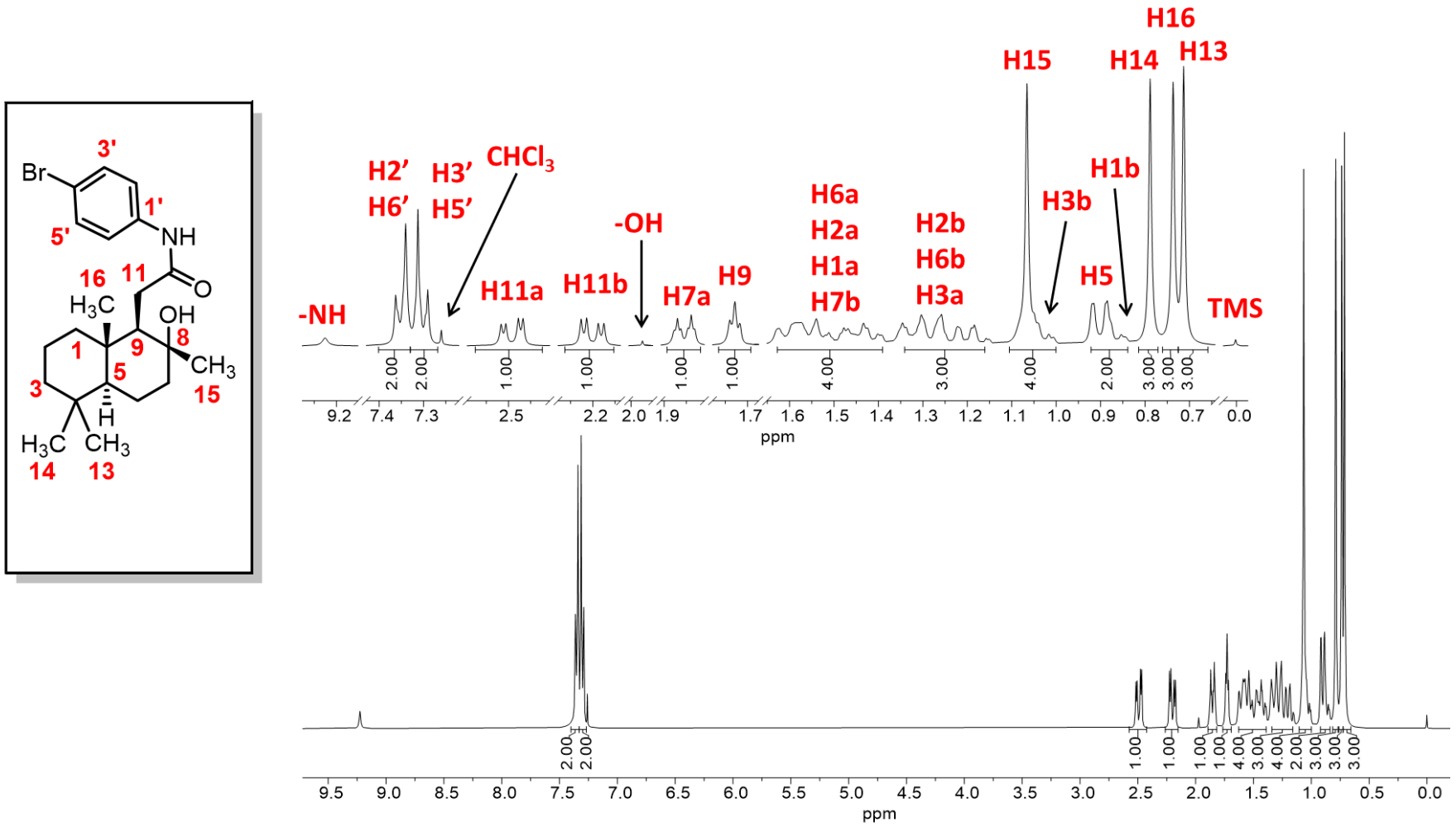



**Figura AP-1.27.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.13**.

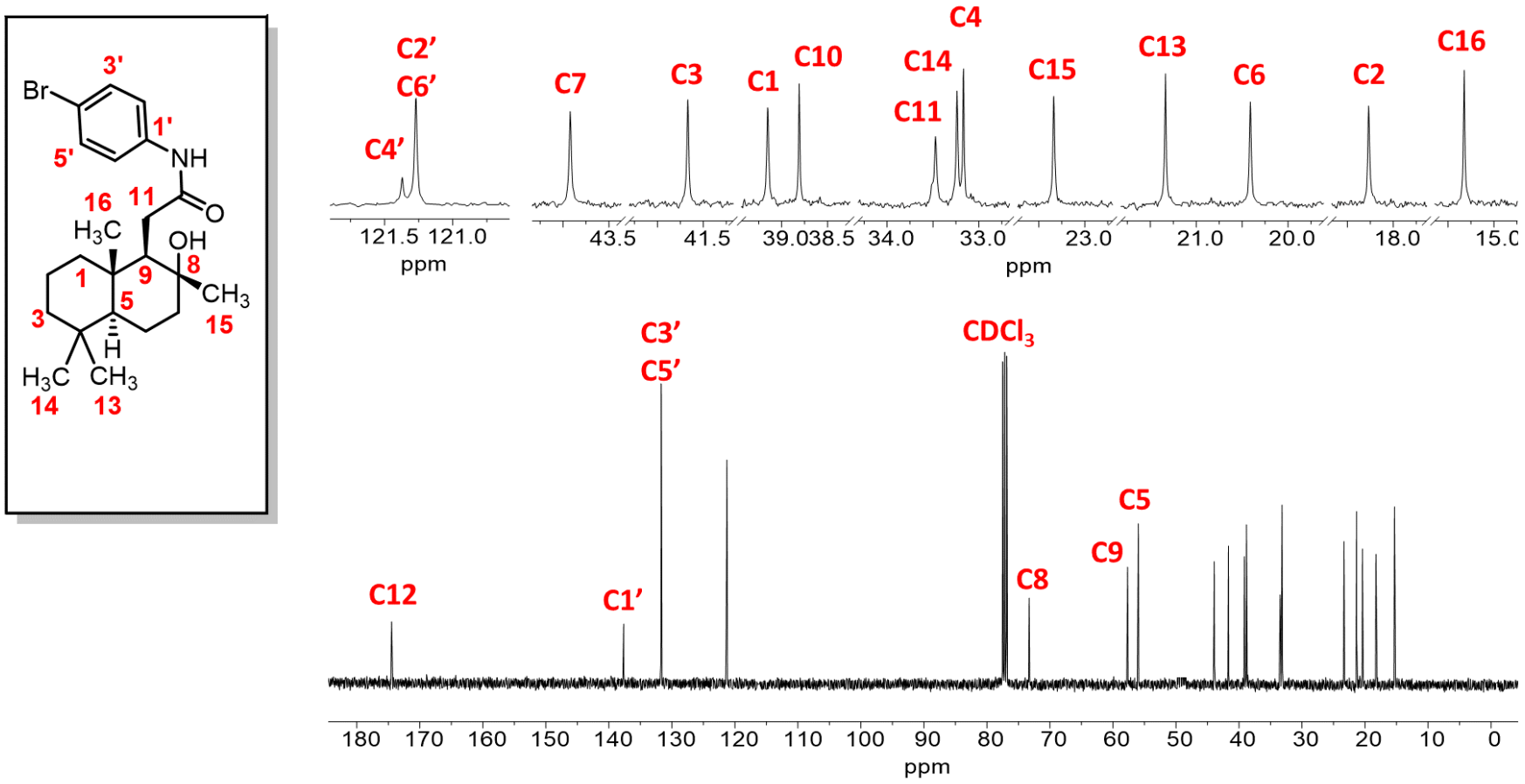



**Figura AP-1.28.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.13**.

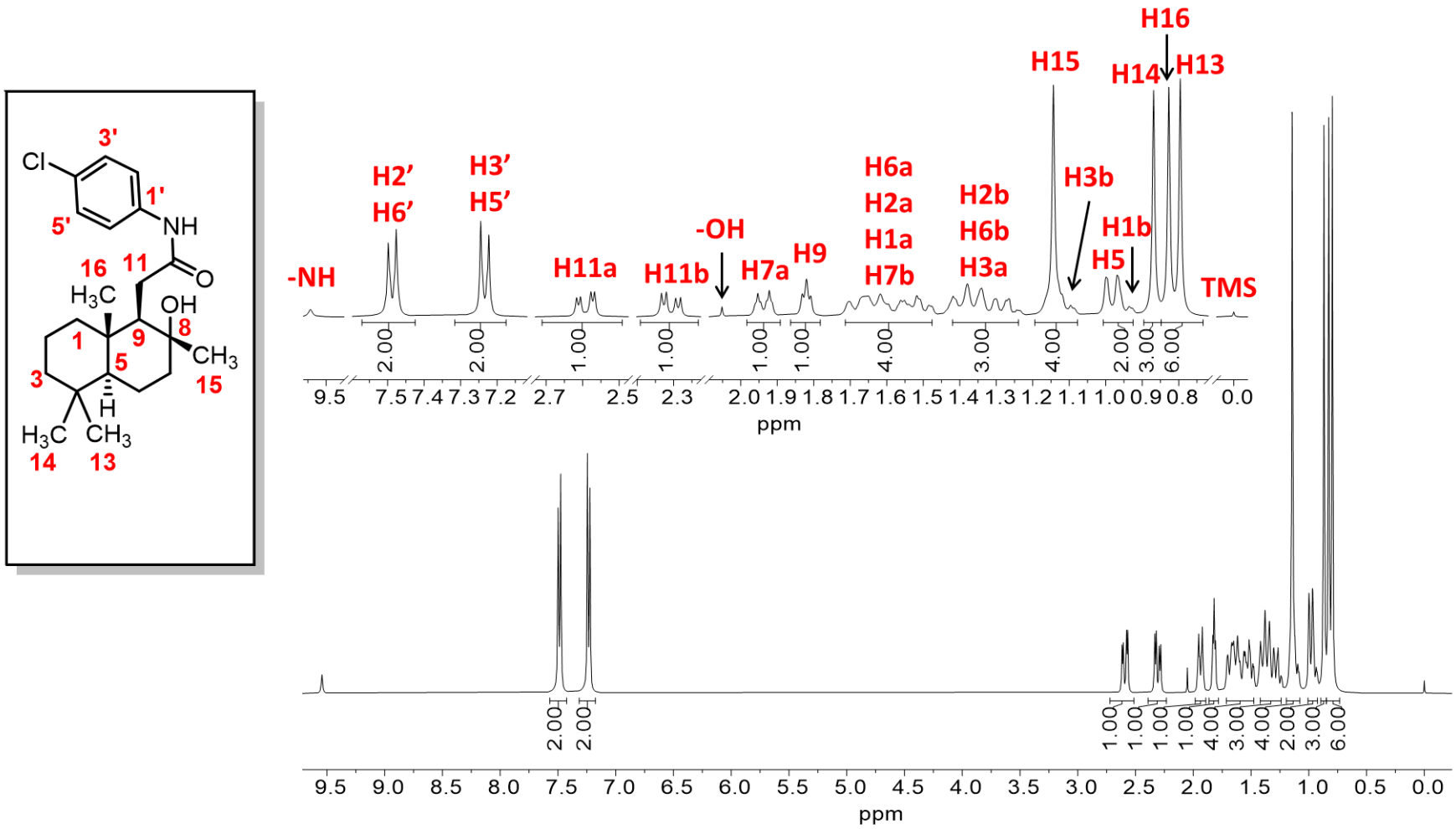



**Figura AP-1.29.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.14**.

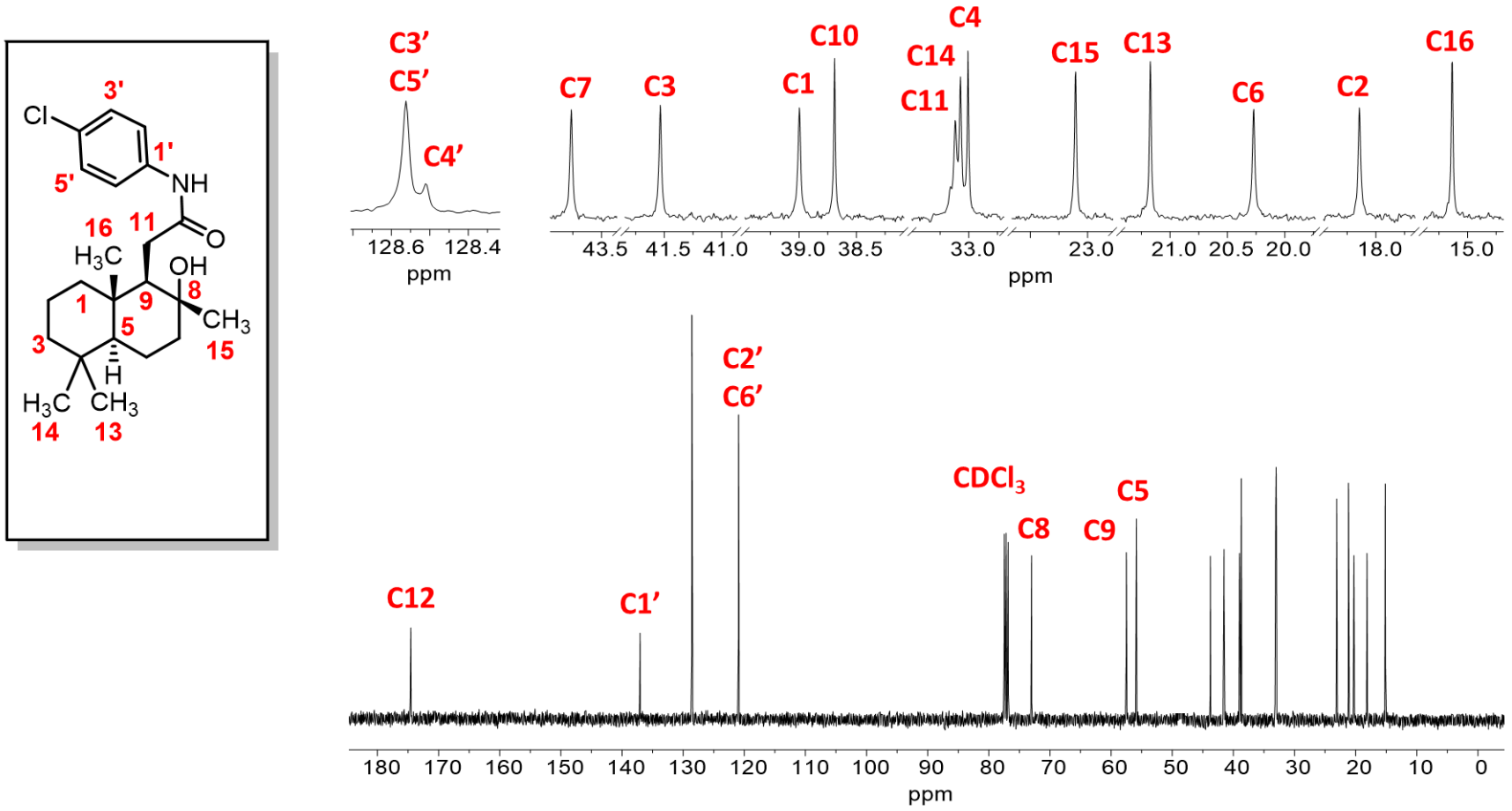



**Figura AP-1.30.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.14**.

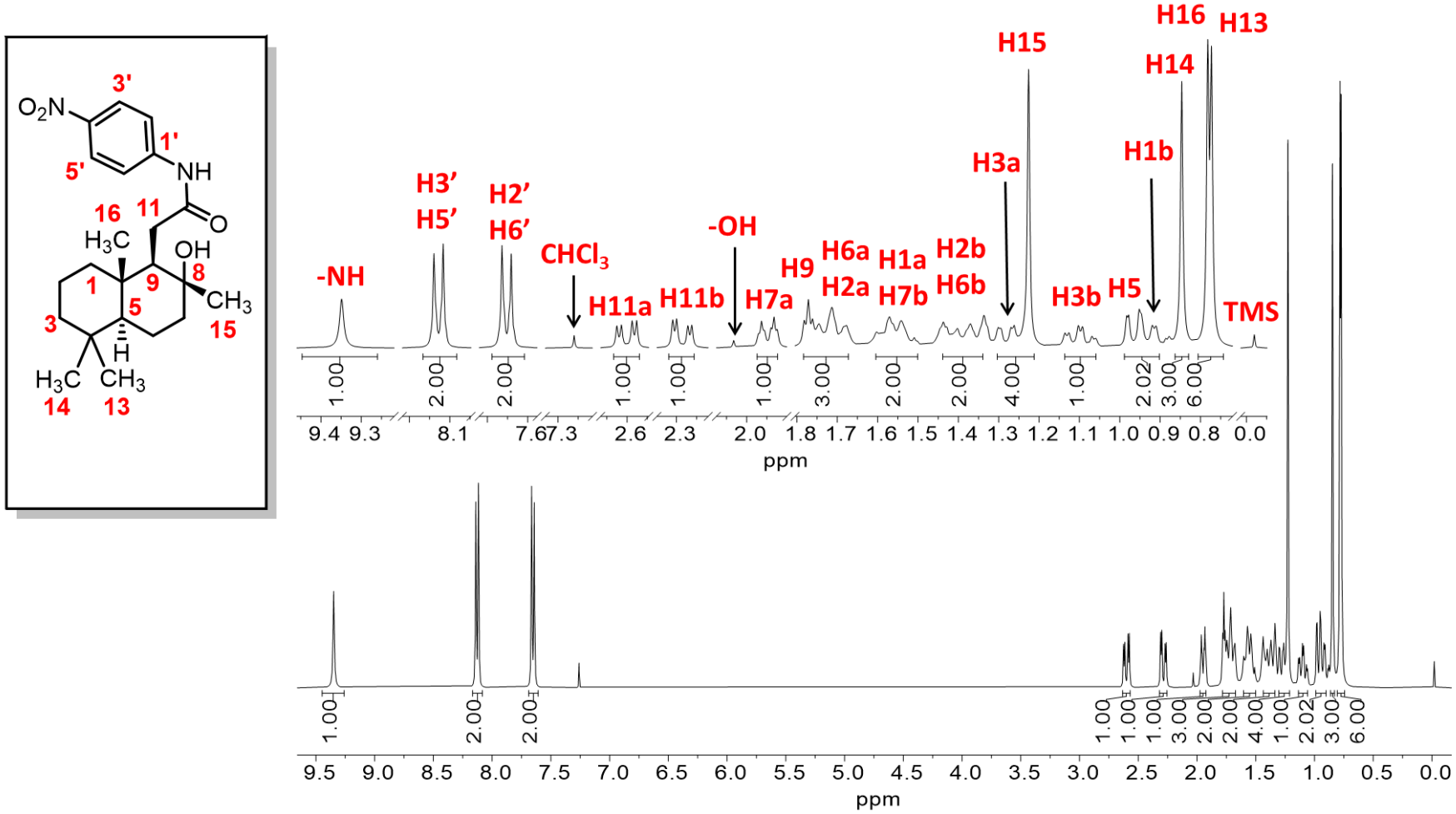



**Figura AP-1.31.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.15**.

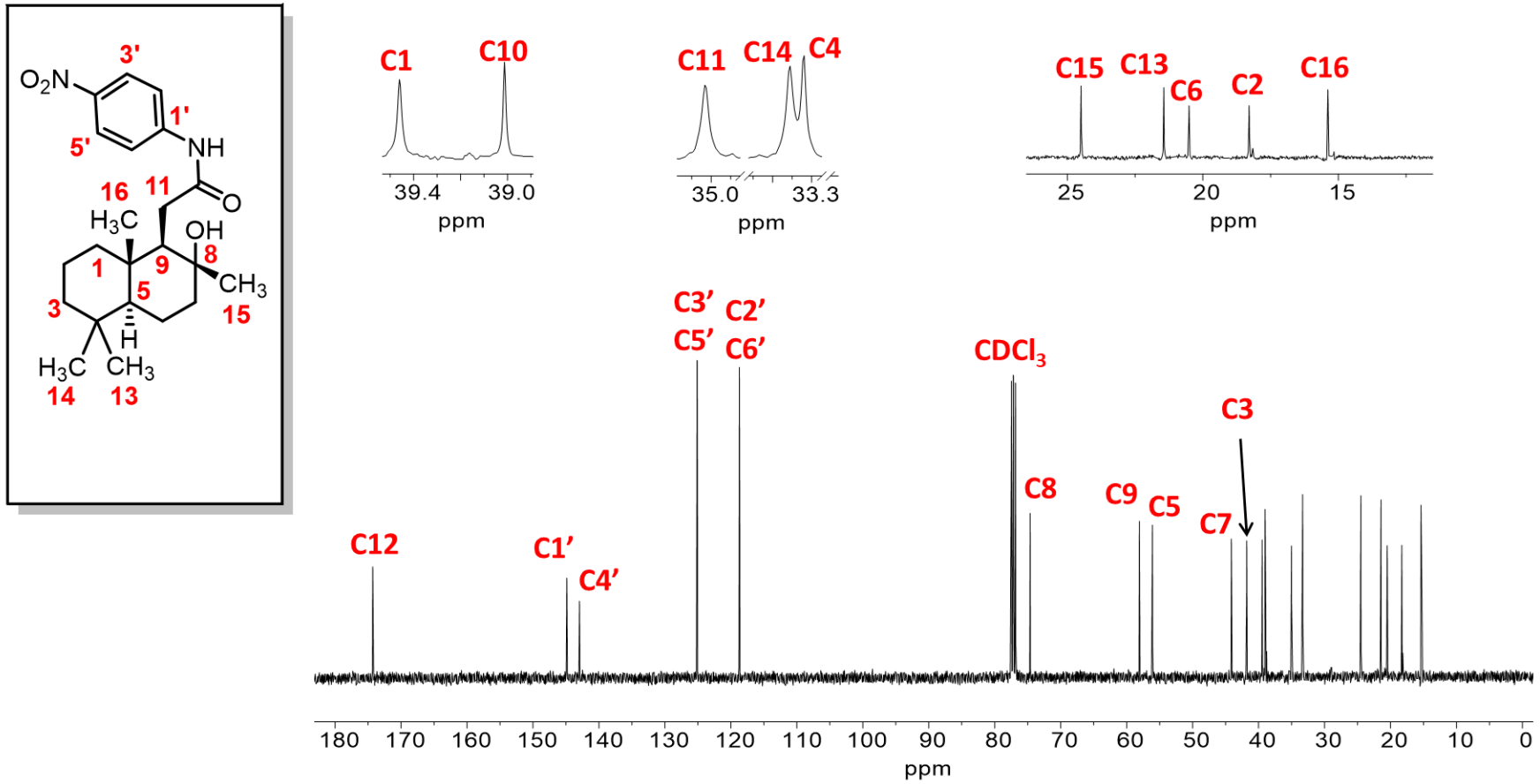



**Figura AP-1.32.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.15**.

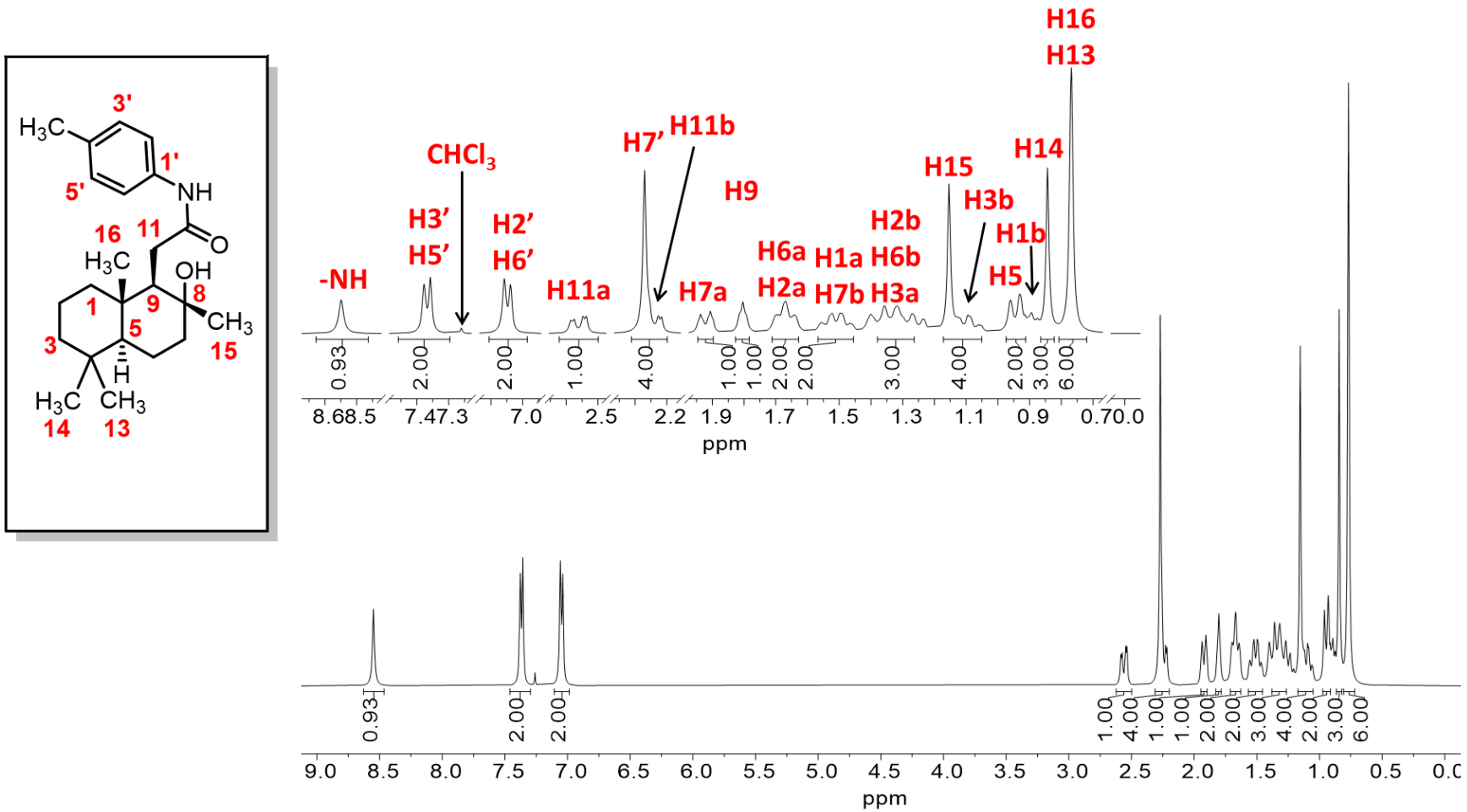



**Figura AP-1.33.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.16**.

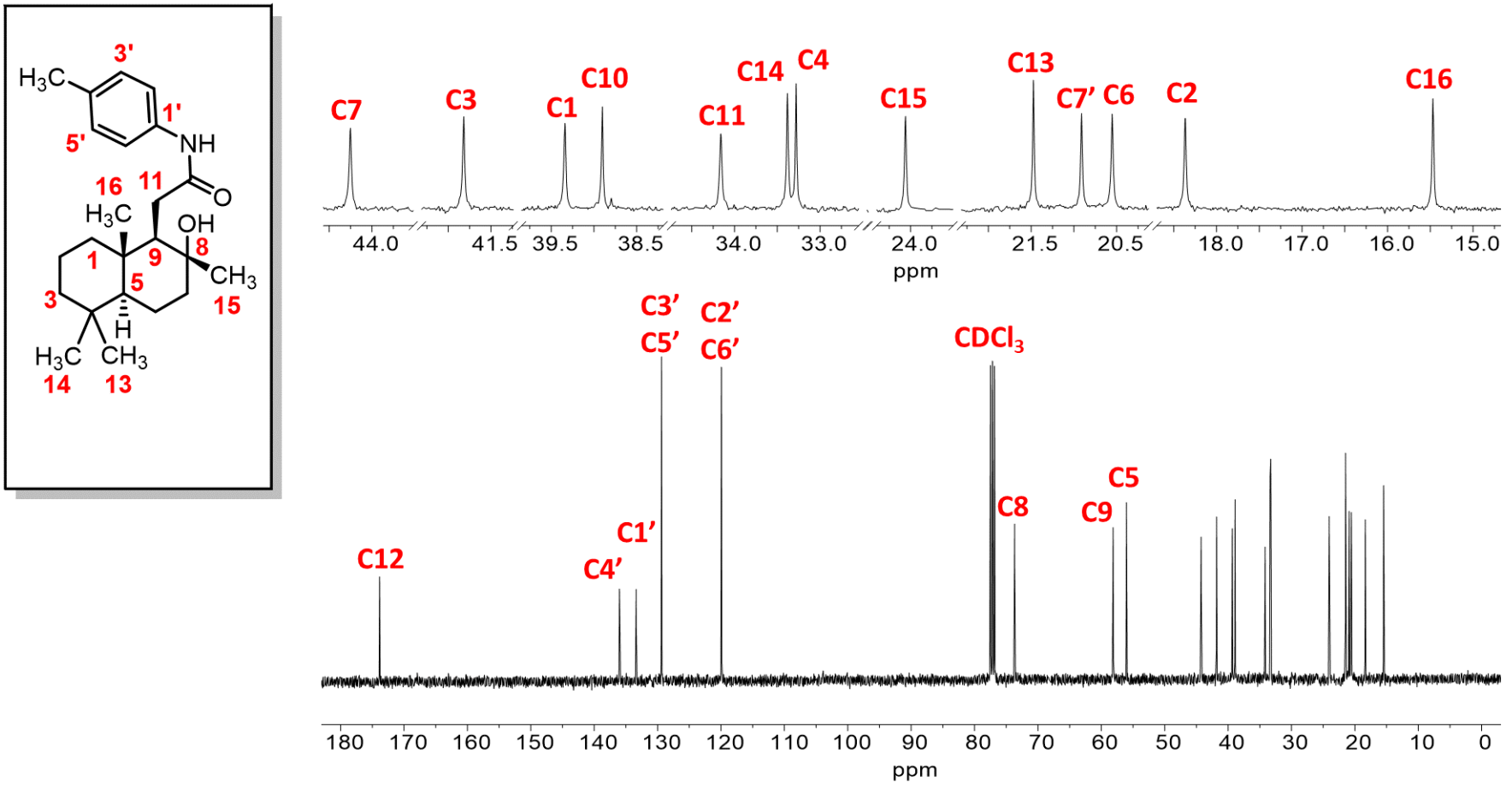



**Figura AP-1.34.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.16**.

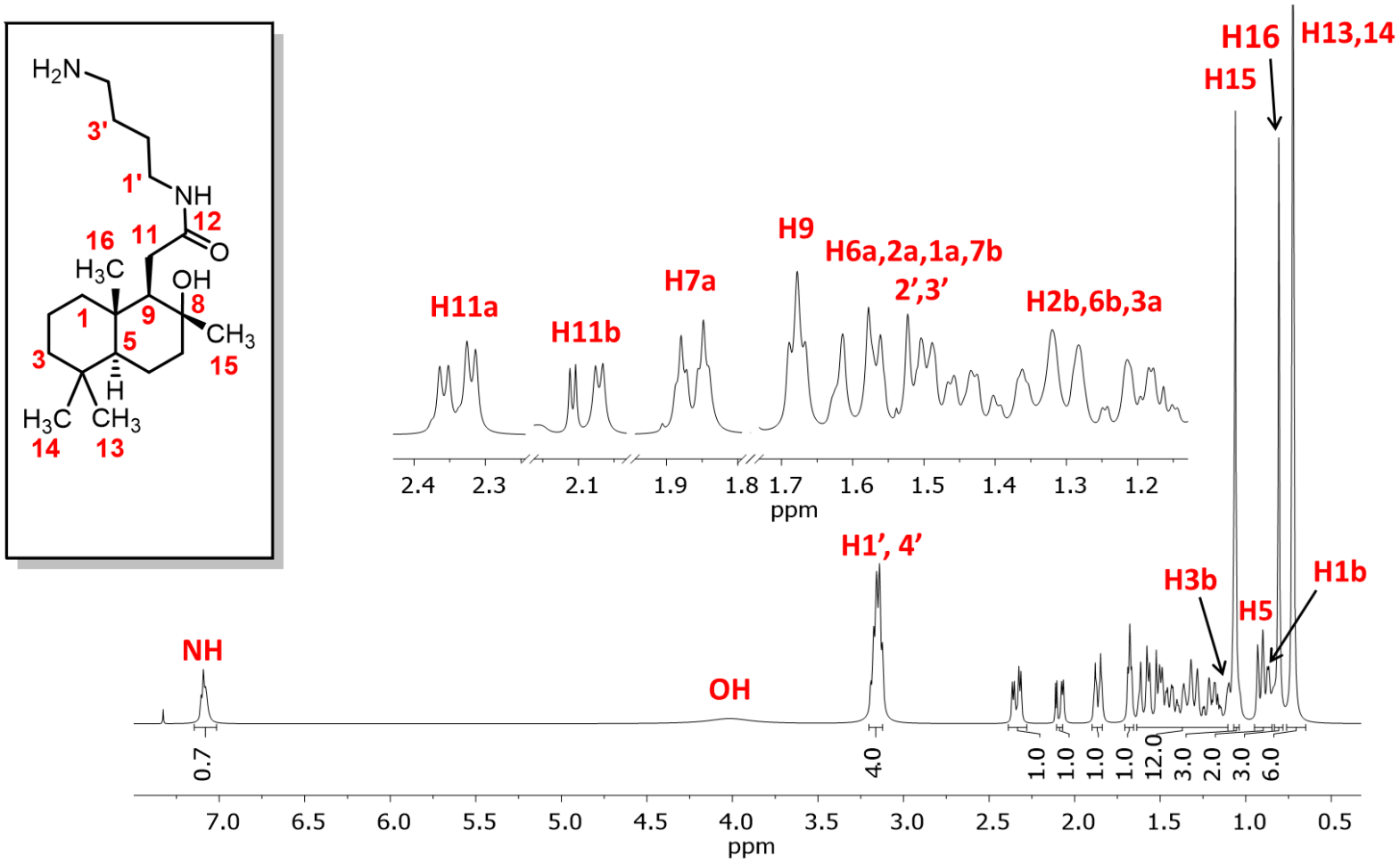



**Figura AP-1.35.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.17**.

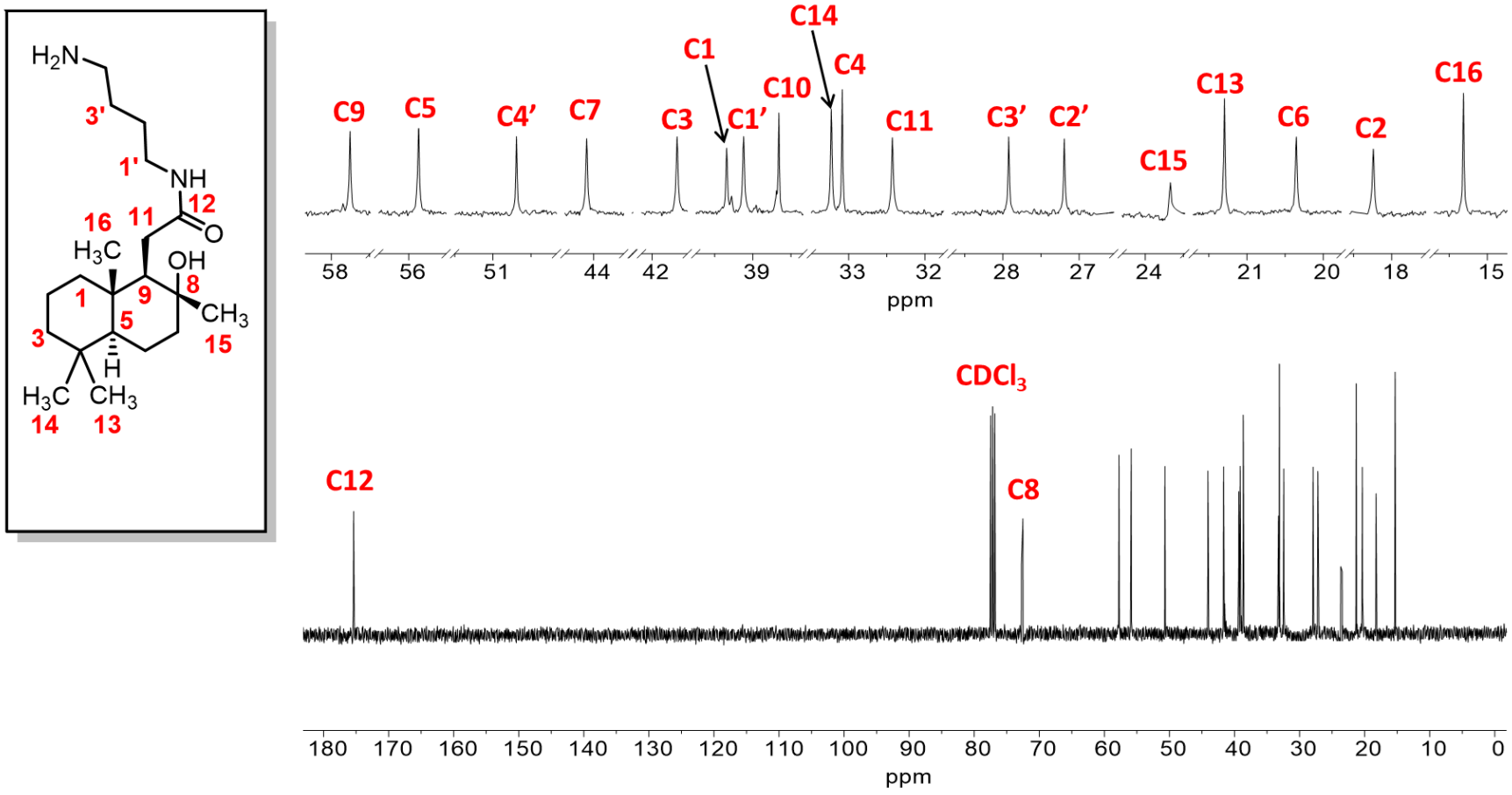



**Figura AP-1.36.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.17**.

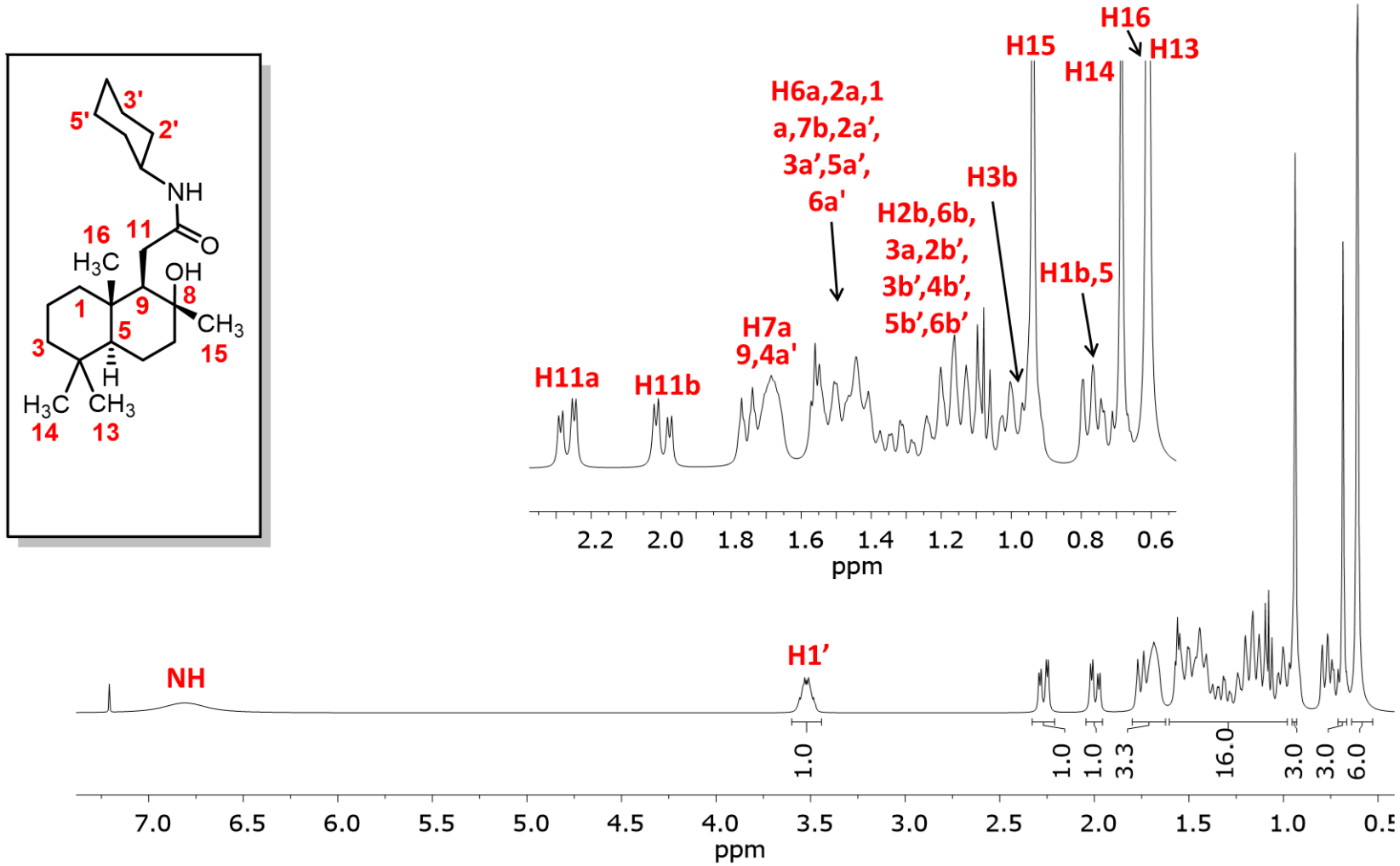



**Figura AP-1.37.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.18**.

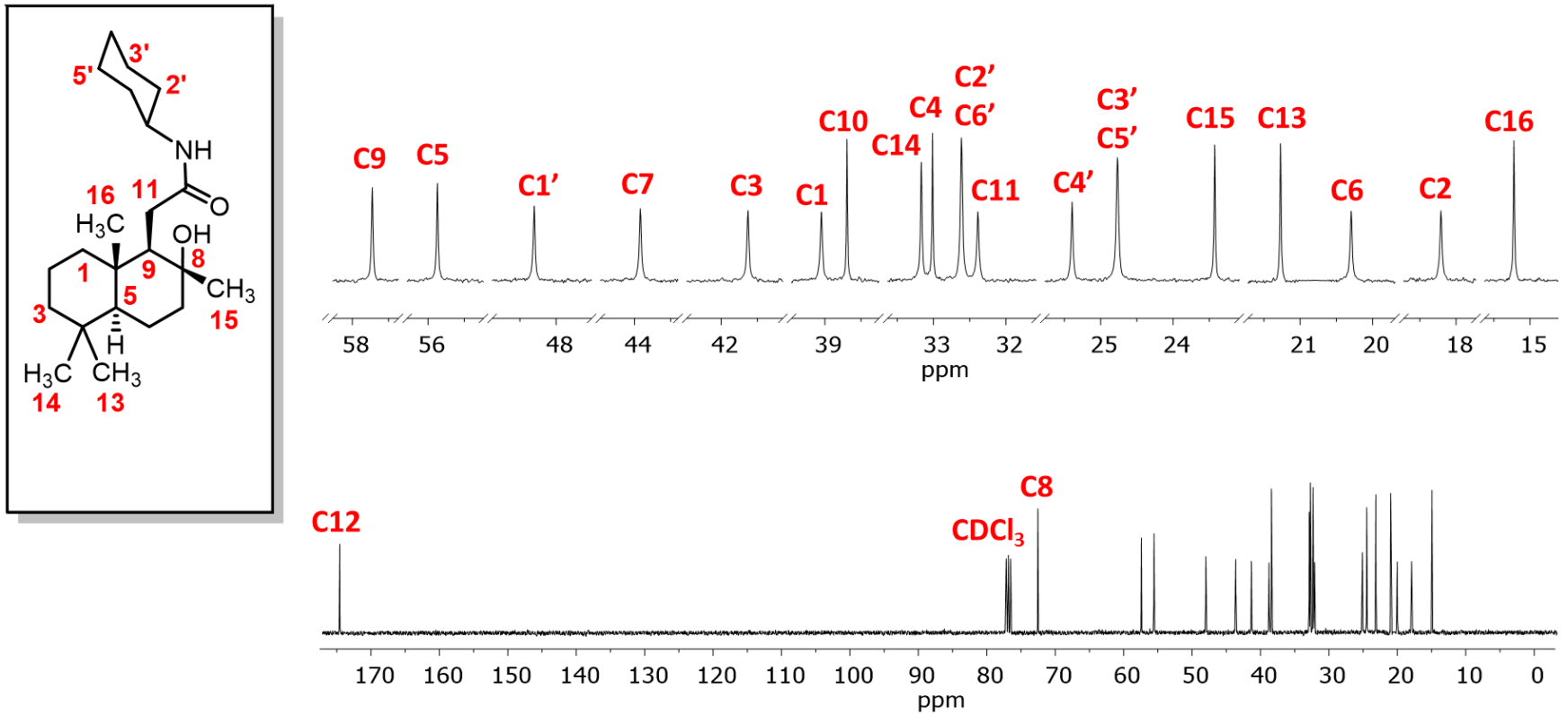



**Figura AP-1.38.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.18**.

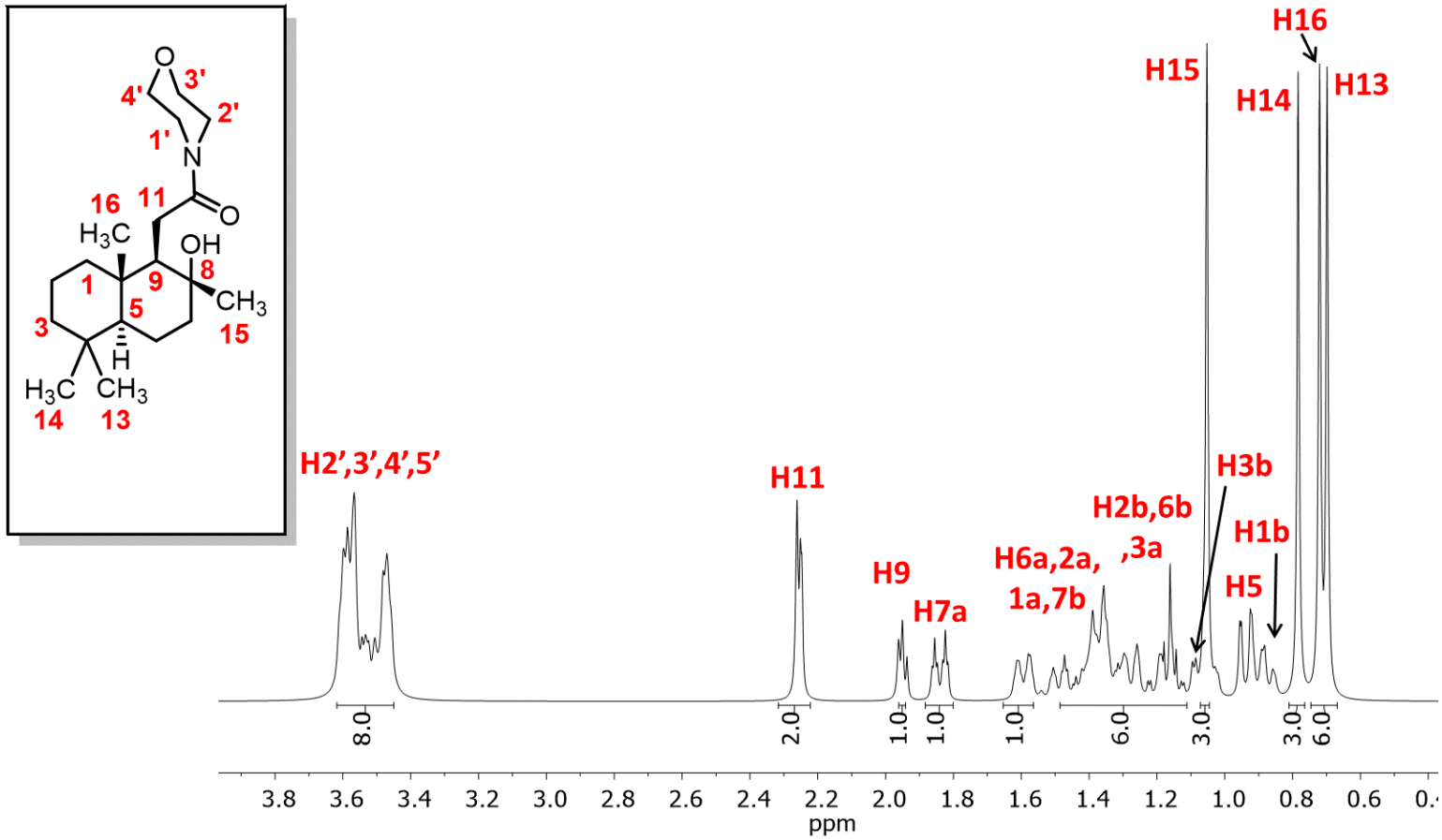



**Figura AP-1.39.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.19**.

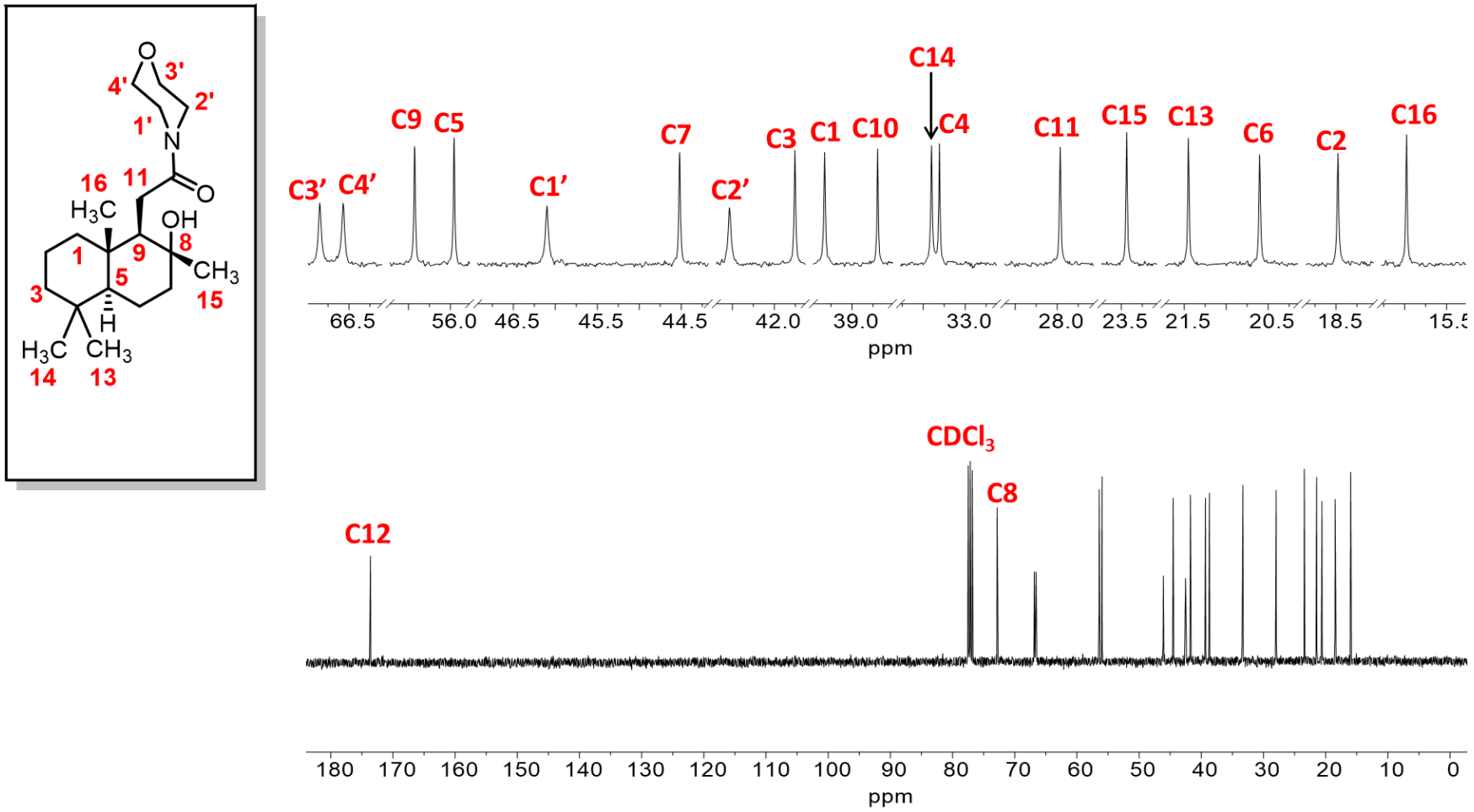



**Figura AP-1.40.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.19**.

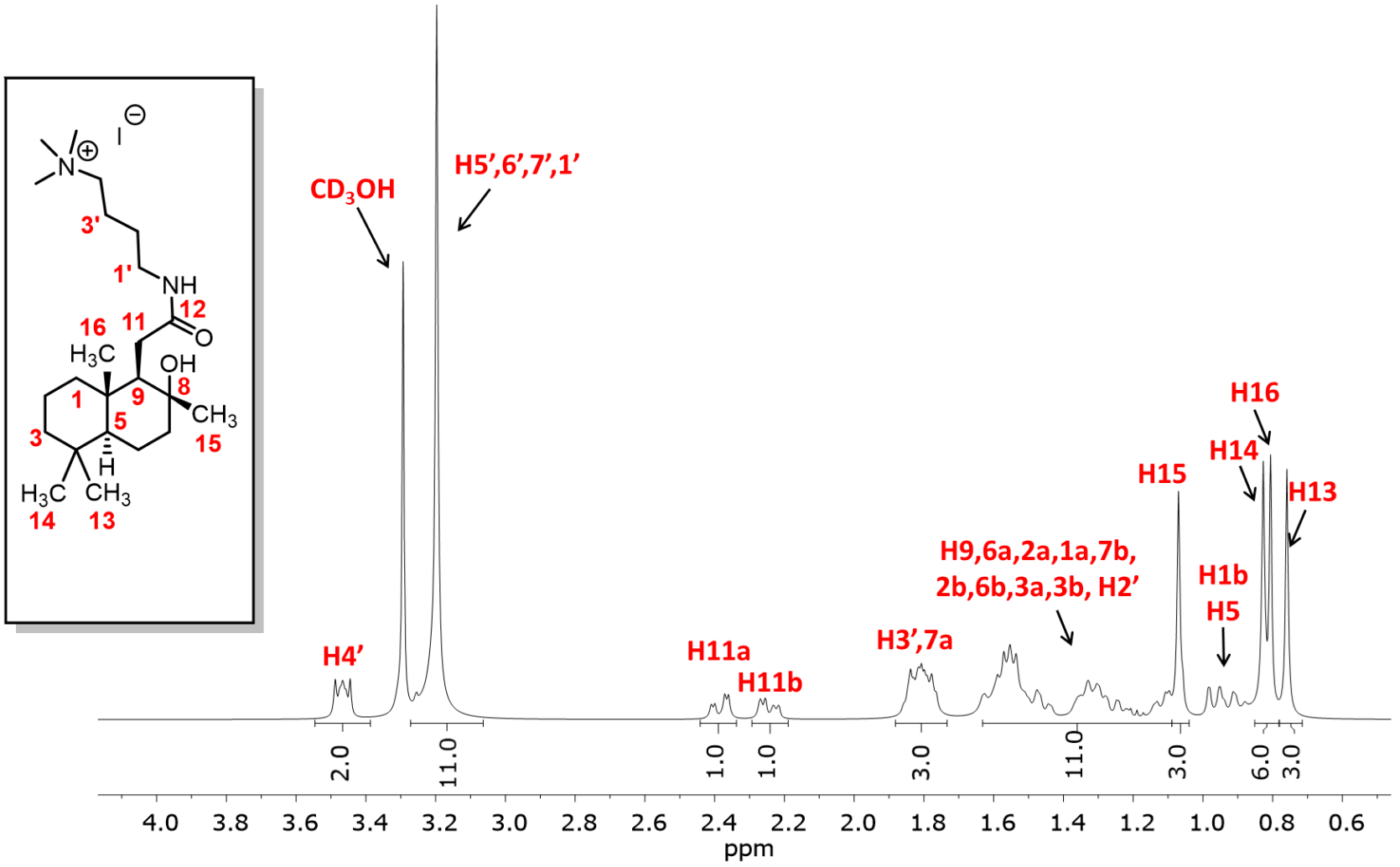



**Figura AP-1.41.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CD_3OD$) do composto **J-1.20**.

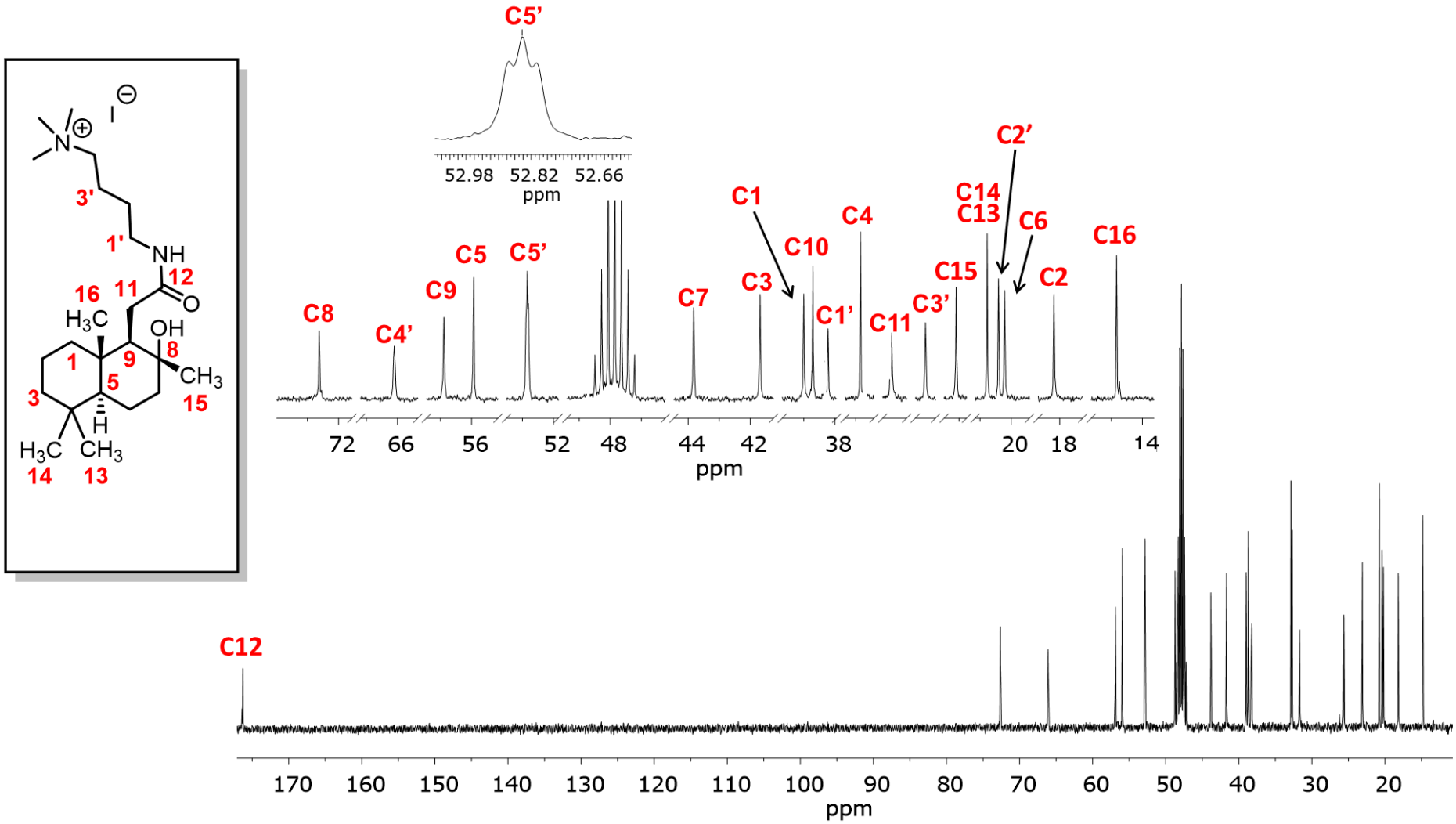



**Figura AP-1.42.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CD_3OD$) do composto **J-1.20**.

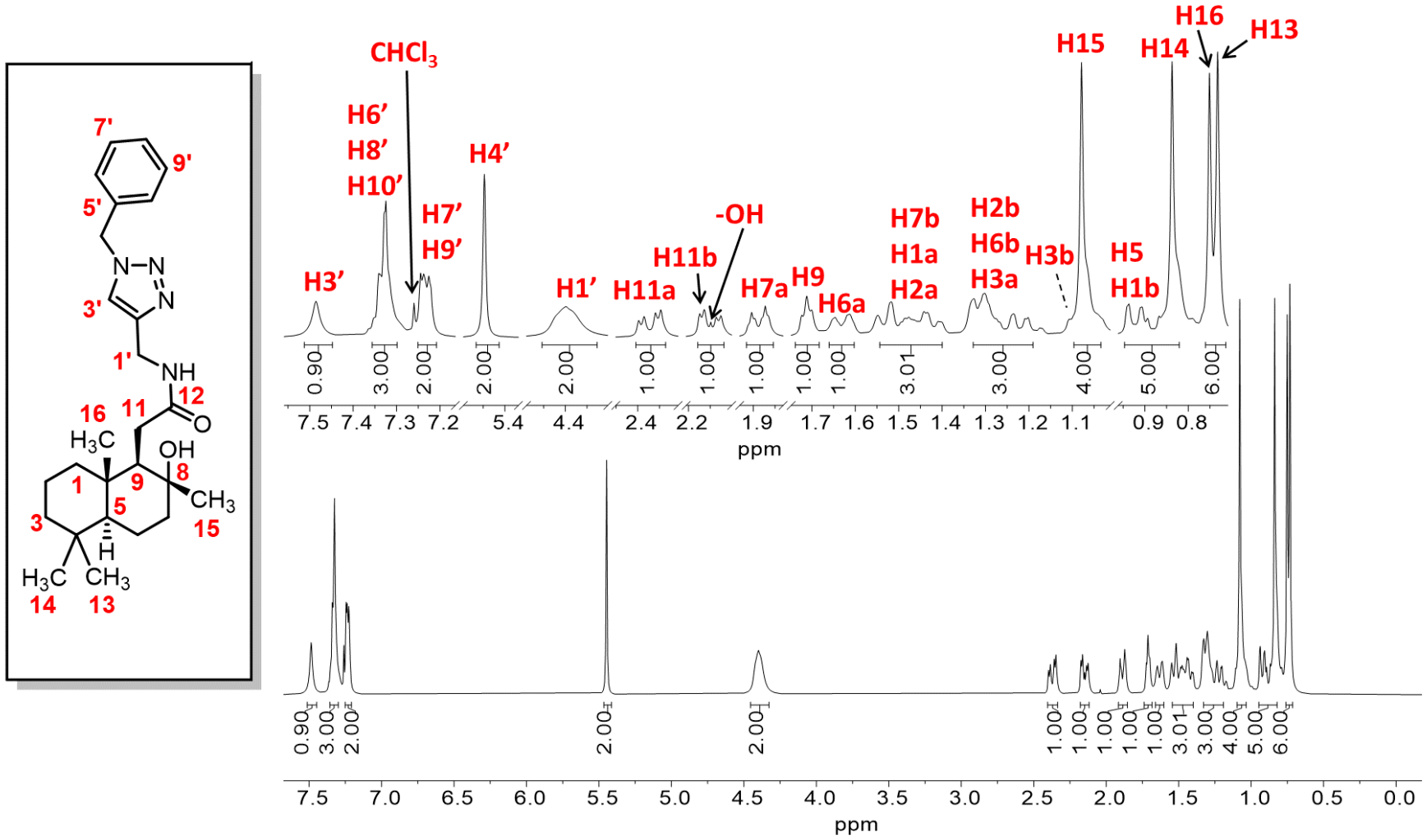



**Figura AP-1.43.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.21**.

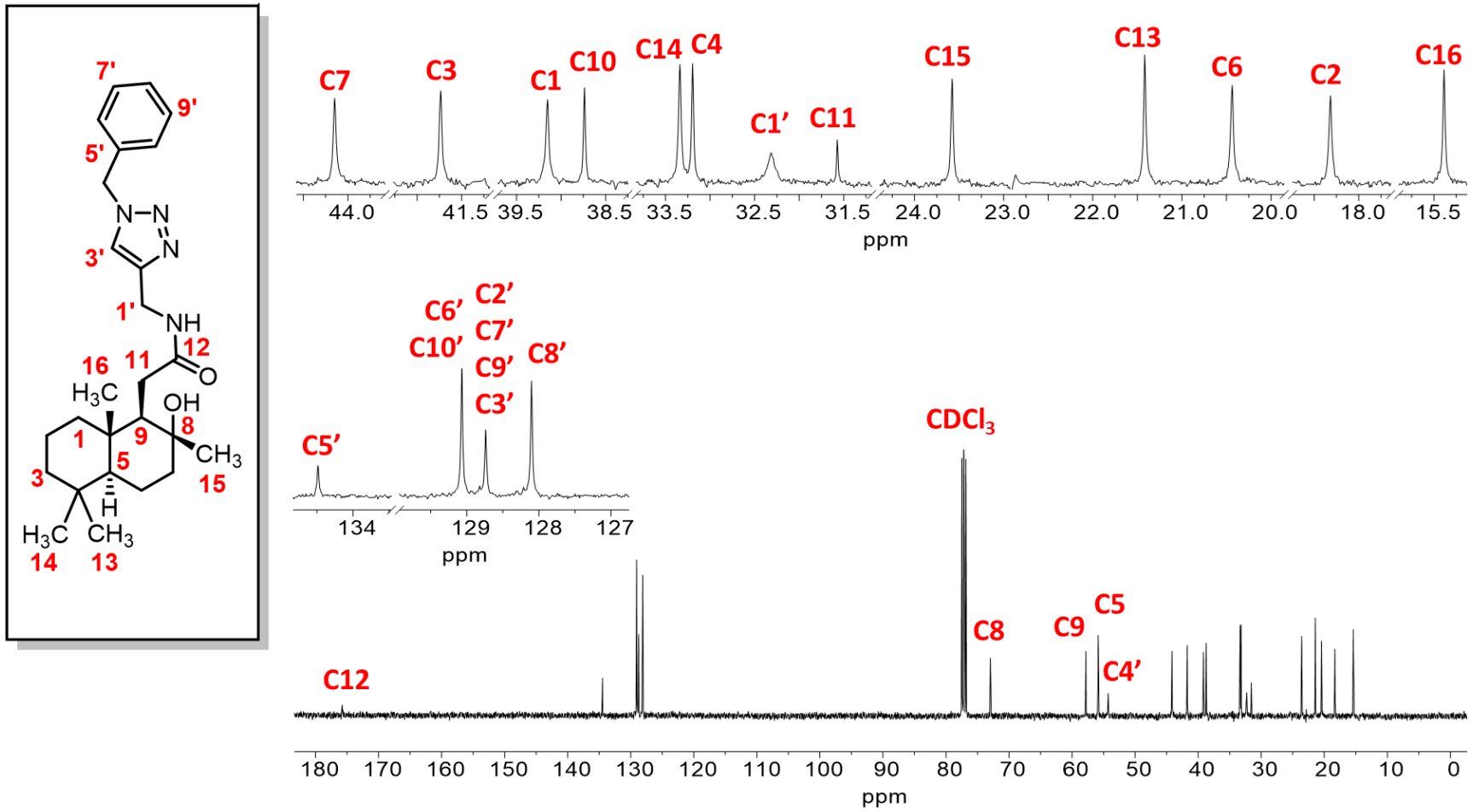



**Figura AP-1.44.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.21**.

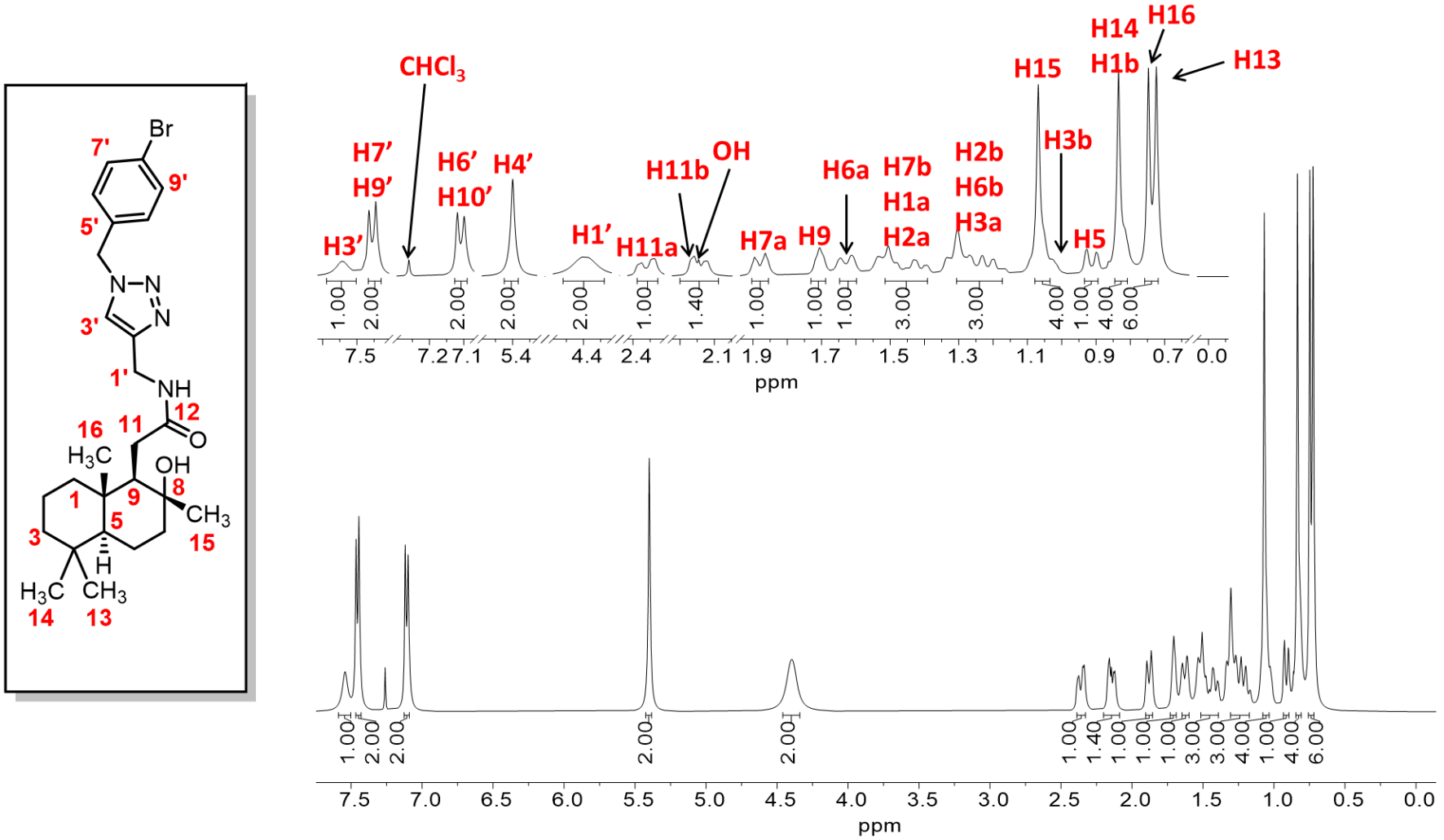



**Figura AP-1.45.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.22**.

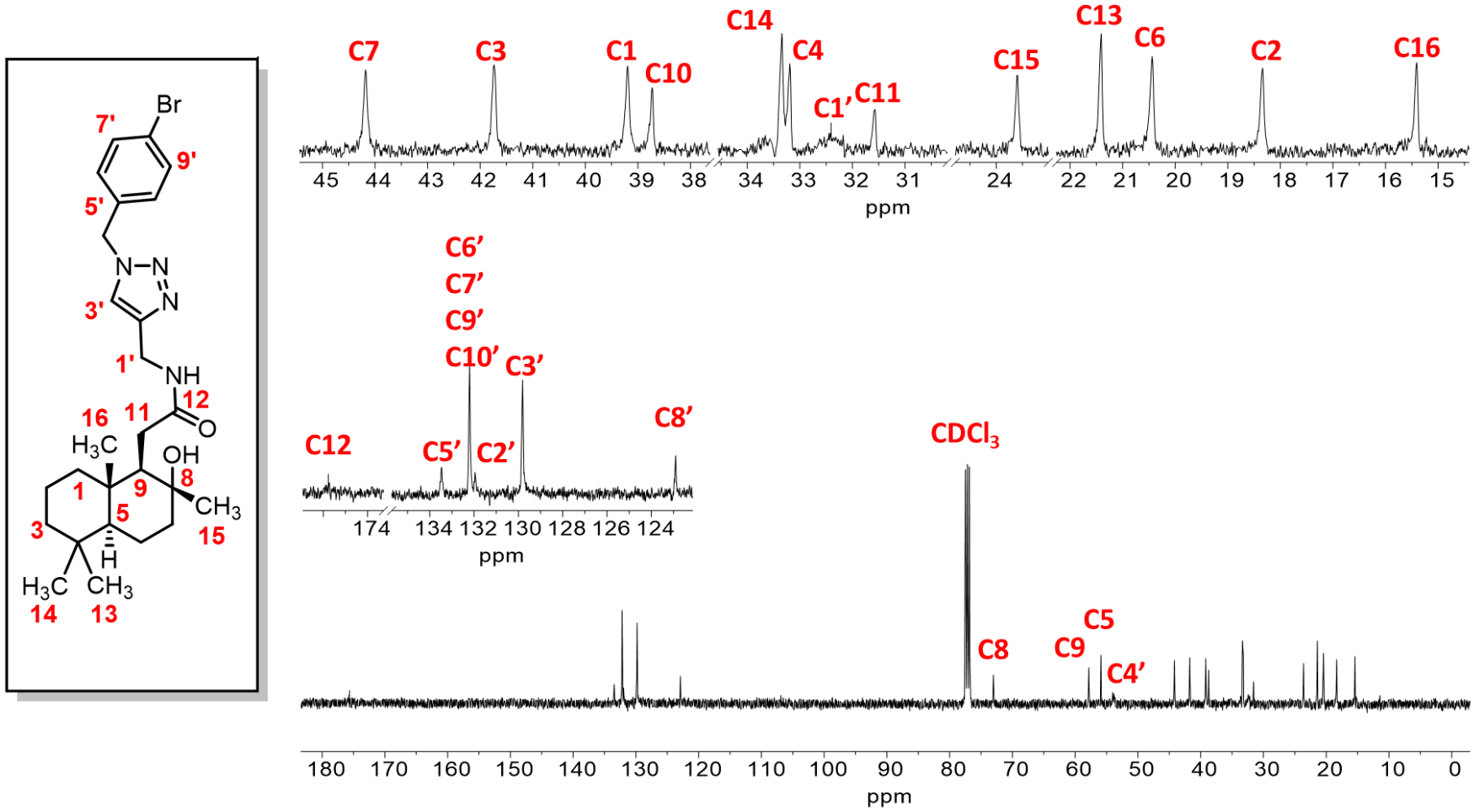



**Figura AP-1.46.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.22**.

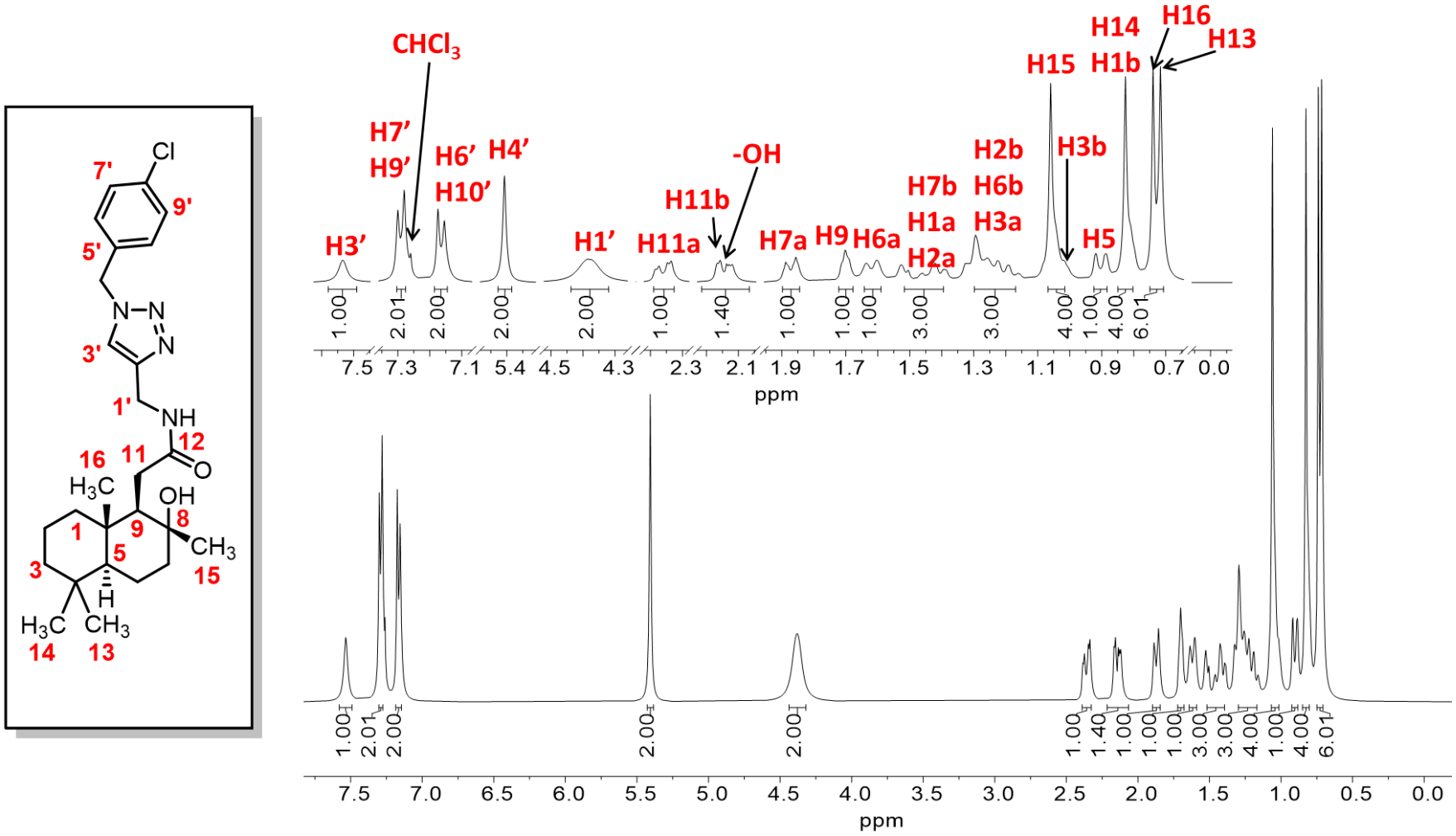



**Figura AP-1.47.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.23**.

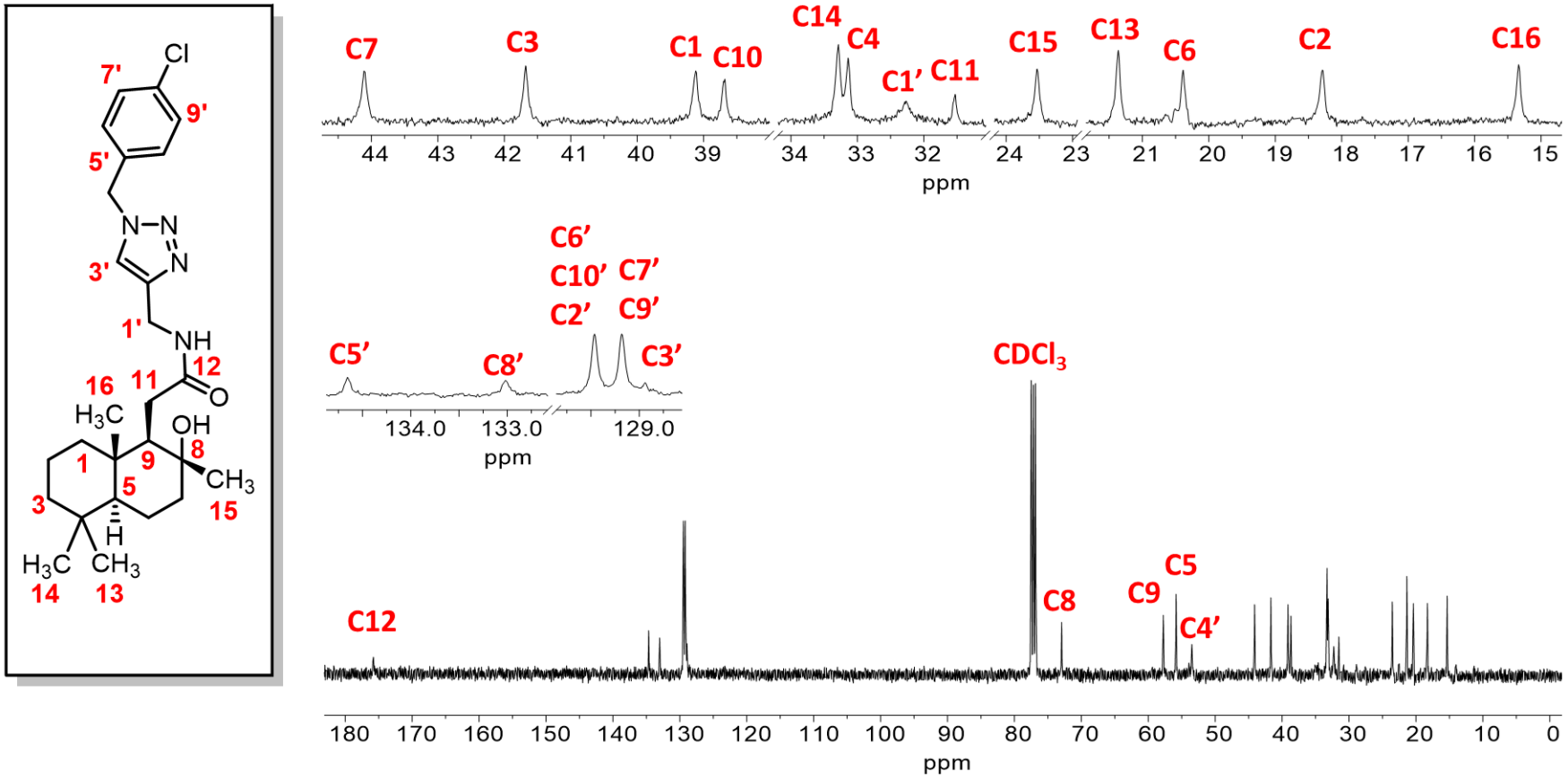



**Figura AP-1.48.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.23**.

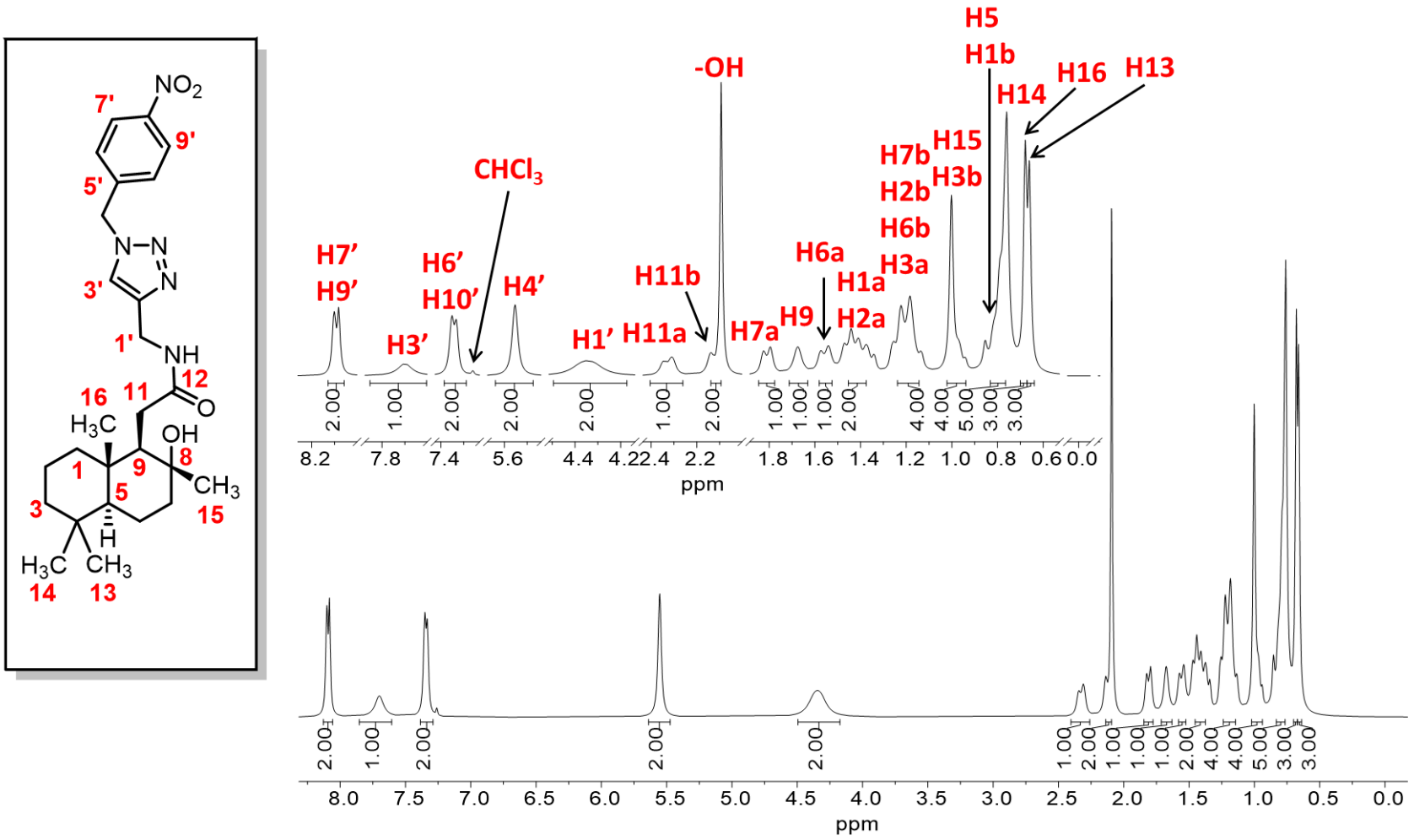



**Figura AP-1.49.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.24**.

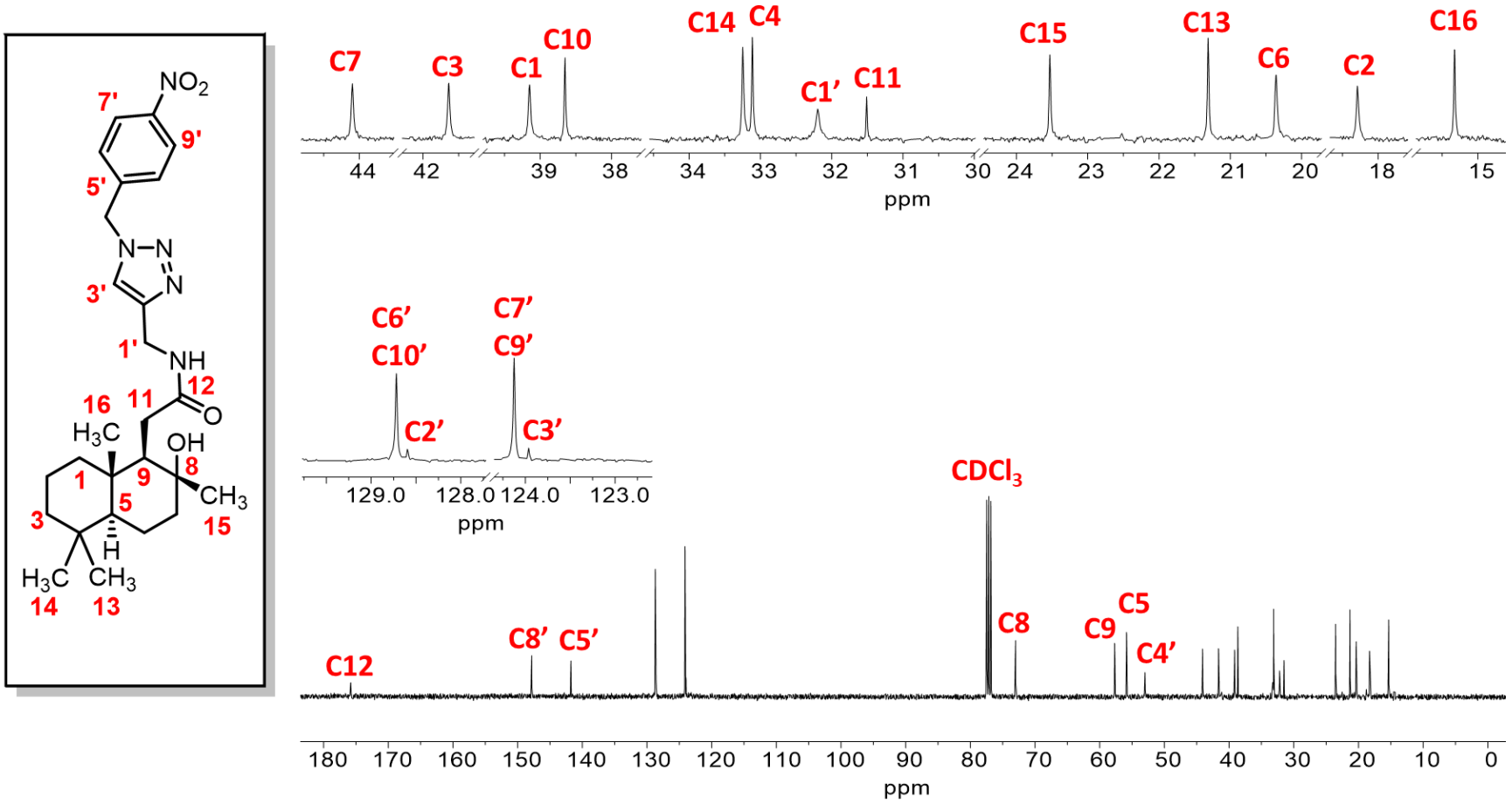



**Figura AP-1.50.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.24**.

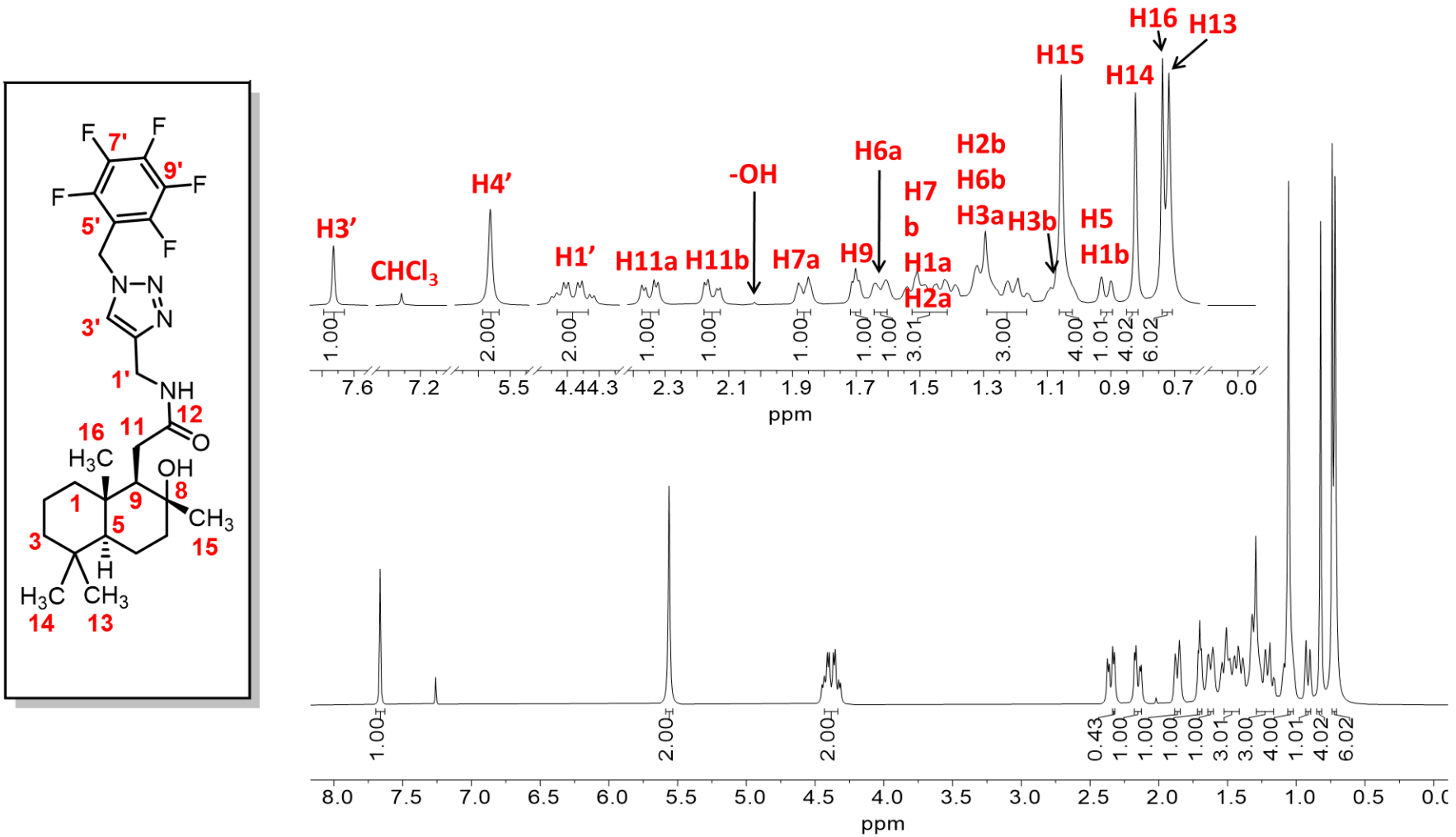



**Figura AP-1.51.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.25**.

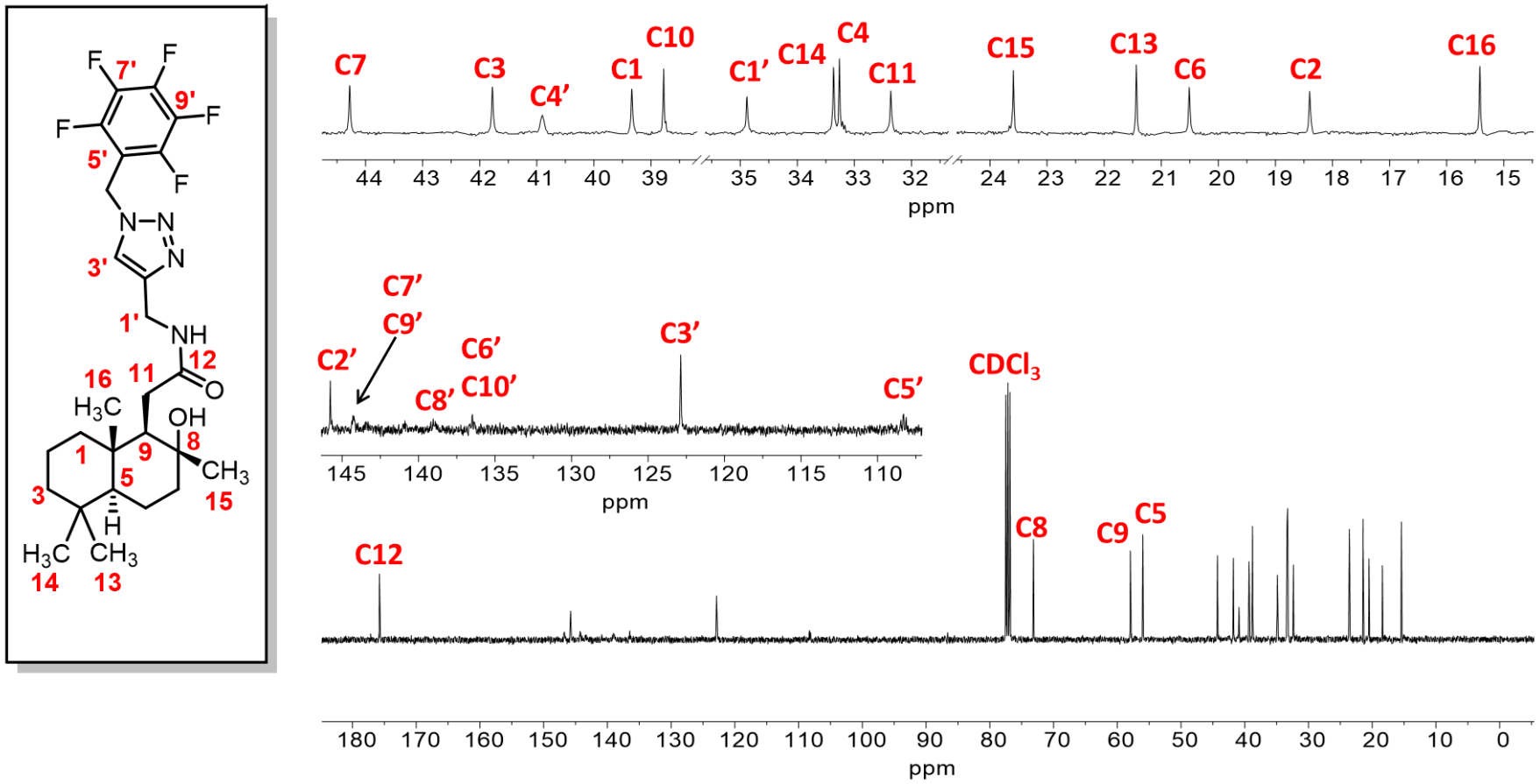



**Figura AP-1.52.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-1.25**.

# APÊNDICE B

## *CAPÍTULO 2: SÍNTESE, AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES CIANOBACTERICIDA, HERBICIDA E INIBITÓRIA DA REAÇÃO DE HILL E ESTUDOS DA RELAÇÃO ESTRUTURA ATIVIDADE (QSAR) DE NOVAS TETRONAMIDAS*

### ESTUDOS DE QSAR

**Tabela AP-2.1.** Similaridade estrutural (sobreposição espacial) em relação ao composto **9a** (Overlay similarity/**9a**).

| substância | *Overlay similarity*/**9a** | substância | *Overlay similarity*/**9a** | substância | *Overlay similarity*/**9a** |
|---|---|---|---|---|---|
| **9e** | 0,9434 | **J-2.16** | 0,6735 | **J-2.29** | 0,6941 |
| **9f** | 0,9580 | **J-2.17** | 0,6677 | **J-2.30** | 0,6645 |
| **9g** | 0,9593 | **J-2.18** | 0,6581 | **J-2.31** | 0,9225 |
| **9h** | 0,9601 | **J-2.19** | 0,9094 | **J-2.32** | 0,7017 |
| **9i** | 0,9370 | **J-2.20** | 0,7316 | **J-2.33** | 0,9050 |
| **9j** | 0,9050 | **J-2.21** | 0,7182 | **J-2.34** | 0,9179 |
| **9k** | 0,9647 | **J-2.22** | 0,6963 | **J-2.35** | 0,7825 |
| **9n** | 0,9121 | **J-2.23** | 0,8955 | **anti-9a** | 0,9259 |
| **9o** | 0,9018 | **J-2.24** | 0,6982 | **anti-9e** | 0,8528 |
| **9p** | 0,9035 | **J-2.25** | 0,7021 | **anti-9f** | 0,6355 |
| **9r** | 0,7250 | **J-2.26** | 0,9066 | | |
| **9t** | 0,8844 | **J-2.27** | 0,6943 | | |
| **9u** | 0,8980 | **J-2.28** | 0,9062 | | |
| **9v** | 0,7250 | | | | |

* O alinhamento foi realizado no *software* Discovery Studio e teve com base os campos estérico (50%) e eletrostático (50%), usando como referência a estrutura **9a**.

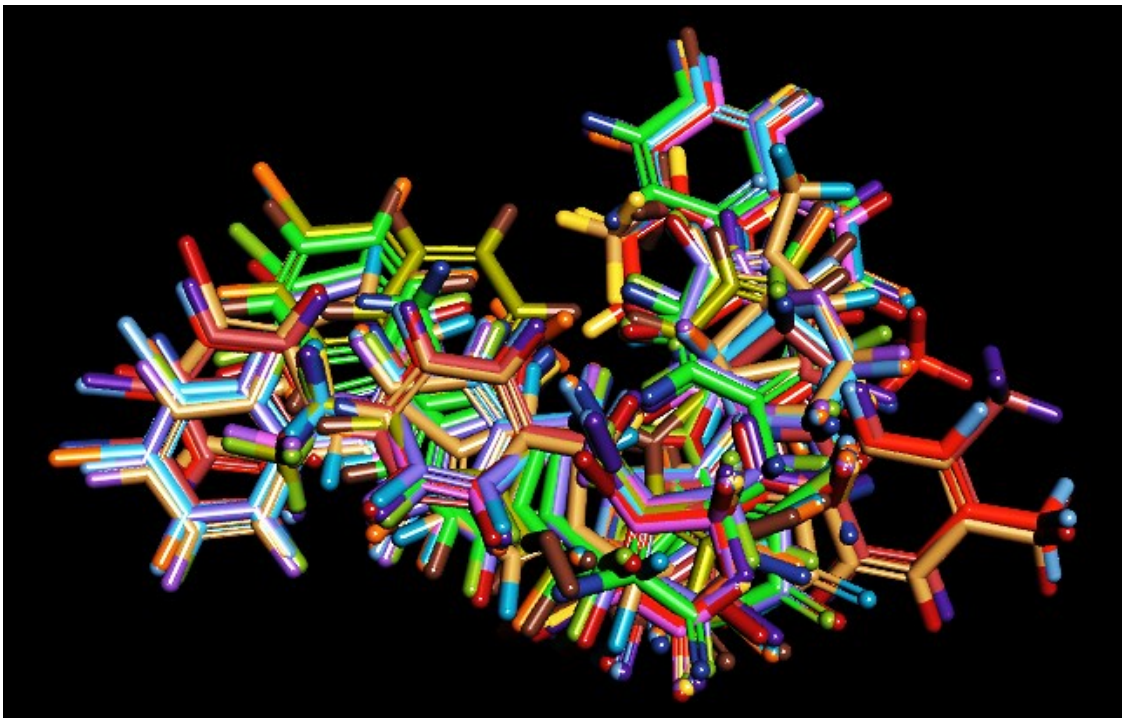


**Figura AP-2.1.** Estruturas das tetronamidas utilizadas nos estudos de QSAR após alinhamento. O alinhamento foi feito com base nos campos estérico (50%) e eletrostático (50%), usando como referência a estrutura **9a**.

**Tabela AP-2.2.** Descritores físico-químicos calculados para as tetronamidas das séries “J” e “9” pelo *software* DataWarrior.

| Código | *Molweight* | *Globularity* Vol | *Saturated Rings* | cLogP | *Shape Index* | *Monoisot. Mass* | cLogS | H-*Accept.* | *Total Molweight* | H-*Donors* | *Total Surf. Area* | $sp^3$- *Atoms* | *Relative* PSA | *Polar Surf. Area* | *Drug-likeness* | VDW-*Surface* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **9a** | 329,782 | 0,7377 | 0 | 2,327 | 0,565 | 329,082 | -4,175 | 4 | 329,782 | 2 | 240,680 | 5 | 0,198 | 58,560 | -2,068 | 299,420 |
| **9b** | 364,227 | 0,7298 | 0 | 2,933 | 0,542 | 363,043 | -4,911 | 4 | 364,227 | 2 | 256,100 | 5 | 0,186 | 58,560 | -2,068 | 311,260 |
| **9c** | 419,23 | 0,7167 | 0 | 1,536 | 0,538 | 418,016 | -4,777 | 7 | 419,230 | 2 | 267,560 | 6 | 0,292 | 104,380 | -13,387 | 326,370 |
| **9d** | 374,779 | 0,7182 | 0 | 1,405 | 0,538 | 374,067 | -4,635 | 7 | 374,779 | 2 | 264,350 | 6 | 0,295 | 104,380 | -7,037 | 323,040 |
| **9e** | 424,293 | 0,7081 | 0 | 3,652 | 0,556 | 423,047 | -5,923 | 4 | 424,293 | 2 | 278,490 | 5 | 0,171 | 58,560 | -8,404 | 345,480 |
| **9f** | 444,711 | 0,7166 | 0 | 3,902 | 0,556 | 442,992 | -6,271 | 4 | 444,711 | 2 | 281,650 | 4 | 0,169 | 58,560 | -3,857 | 338,690 |
| **9g** | 424,677 | 0,7190 | 0 | 2,638 | 0,600 | 422,987 | -4,683 | 5 | 424,677 | 2 | 269,310 | 6 | 0,214 | 67,790 | -3,732 | 325,230 |
| **9h** | 424,677 | 0,7215 | 0 | 2,638 | 0,560 | 422,987 | -4,683 | 5 | 424,677 | 2 | 269,310 | 6 | 0,214 | 67,790 | -3,732 | 324,370 |
| **9i** | 439,648 | 0,7182 | 0 | 1,786 | 0,577 | 437,962 | -5,125 | 7 | 439,648 | 2 | 270,720 | 5 | 0,288 | 104,380 | -8,832 | 323,120 |
| **9j** | 382,217 | 0,7257 | 0 | 3,034 | 0,560 | 381,033 | -5,225 | 4 | 382,217 | 2 | 262,450 | 5 | 0,181 | 58,560 | -3,408 | 316,060 |
| **9k** | 359,808 | 0,7199 | 0 | 2,257 | 0,520 | 359,092 | -4,193 | 5 | 359,808 | 2 | 262,940 | 7 | 0,219 | 67,790 | -1,940 | 323,880 |
| **9n** | 391,853 | 0,7037 | 0 | 3,642 | 0,571 | 391,098 | -5,917 | 4 | 391,853 | 2 | 288,180 | 4 | 0,165 | 58,560 | -2,067 | 351,410 |
| **9o** | 421,879 | 0,6872 | 0 | 3,572 | 0,600 | 421,108 | -5,935 | 5 | 421,879 | 2 | 310,440 | 6 | 0,186 | 67,790 | -1,942 | 376,880 |
| **9p** | 407,852 | 0,6963 | 0 | 3,296 | 0,586 | 407,092 | -5,621 | 5 | 407,852 | 3 | 294,530 | 5 | 0,206 | 78,790 | -2,067 | 361,330 |
| **9r** | 515,2 | 0,6901 | 0 | 4,498 | 0,586 | 512,958 | -6,893 | 4 | 515,200 | 2 | 310,020 | 4 | 0,154 | 58,560 | -8,399 | 373,600 |
| **9t** | 466,33 | 0,6861 | 0 | 3,703 | 0,600 | 465,058 | -6,077 | 5 | 466,330 | 2 | 313,650 | 6 | 0,184 | 67,790 | -8,276 | 379,940 |
| **9u** | 452,303 | 0,6951 | 0 | 3,427 | 0,586 | 451,042 | -5,763 | 5 | 452,303 | 3 | 297,740 | 5 | 0,204 | 78,790 | -8,399 | 364,100 |
| **9v** | 371,435 | 0,6941 | 0 | 3,567 | 0,607 | 371,152 | -5,570 | 4 | 371,435 | 2 | 286,810 | 5 | 0,166 | 58,560 | -0,702 | 358,140 |
| **J-2.16** | 440,325 | 0,6732 | 0 | 4,592 | 0,567 | 439,074 | -6,997 | 4 | 440,325 | 2 | 315,860 | 5 | 0,151 | 58,560 | -2,068 | 391,330 |
| **J-2.17** | 440,325 | 0,6699 | 0 | 4,592 | 0,600 | 439,074 | -6,997 | 4 | 440,325 | 2 | 315,860 | 5 | 0,151 | 58,560 | -2,068 | 396,690 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **J-2.18** | 385,846 | 0,7059 | 1 | 2,169 | 0,556 | 385,108 | -4,115 | 5 | 385,846 | 1 | 278,800 | 9 | 0,178 | 59,000 | -1,001 | 348,380 |
| **J-2.19** | 484,776 | 0,6807 | 0 | 4,723 | 0,600 | 483,024 | -7,139 | 4 | 484,776 | 2 | 319,070 | 5 | 0,149 | 58,560 | -8,313 | 388,740 |
| **J-2.20** | 404,292 | 0,6959 | 1 | 3,597 | 0,556 | 403,074 | -5,470 | 4 | 404,292 | 1 | 284,220 | 8 | 0,140 | 49,770 | 0,074 | 359,760 |
| **J-2.21** | 549,645 | 0,6802 | 0 | 5,104 | 0,600 | 546,919 | -7,629 | 4 | 549,645 | 2 | 325,440 | 4 | 0,146 | 58,560 | -8,309 | 389,640 |
| **J-2.22** | 505,194 | 0,6808 | 0 | 4,973 | 0,600 | 502,969 | -7,487 | 4 | 505,194 | 2 | 322,230 | 4 | 0,148 | 58,560 | -3,857 | 386,710 |
| **J-2.23** | 436,304 | 0,7023 | 0 | 3,773 | 0,571 | 435,047 | -6,059 | 4 | 436,304 | 2 | 291,390 | 4 | 0,163 | 58,560 | -8,399 | 354,530 |
| **J-2.24** | 369,847 | 0,7090 | 1 | 2,991 | 0,538 | 369,113 | -4,734 | 4 | 369,847 | 1 | 268,800 | 8 | 0,148 | 49,770 | 0,074 | 341,980 |
| **J-2.25** | 420,291 | 0,6931 | 1 | 2,775 | 0,571 | 419,069 | -4,851 | 5 | 420,291 | 1 | 294,220 | 9 | 0,169 | 59,000 | -1,001 | 366,270 |
| **J-2.26** | 450,331 | 0,6908 | 0 | 4,117 | 0,586 | 449,063 | -6,403 | 4 | 450,331 | 2 | 303,650 | 5 | 0,157 | 58,560 | -8,404 | 372,580 |
| **J-2.27** | 420,291 | 0,6931 | 1 | 2,775 | 0,536 | 419,069 | -4,851 | 5 | 420,291 | 1 | 294,220 | 9 | 0,169 | 59,000 | -1,001 | 366,200 |
| **J-2.28** | 405,88 | 0,7102 | 0 | 3,986 | 0,552 | 405,113 | -6,261 | 4 | 405,880 | 2 | 300,440 | 5 | 0,158 | 58,560 | -2,068 | 359,910 |
| **J-2.29** | 488,739 | 0,6868 | 0 | 4,468 | 0,600 | 486,999 | -7,065 | 4 | 488,739 | 2 | 313,160 | 4 | 0,152 | 58,560 | -5,197 | 375,900 |
| **J-2.30** | 440,325 | 0,6690 | 0 | 4,592 | 0,567 | 439,074 | -6,997 | 4 | 440,325 | 2 | 315,860 | 5 | 0,151 | 58,560 | -2,068 | 396,860 |
| **J-2.31** | 405,88 | 0,6917 | 0 | 3,986 | 0,586 | 405,113 | -6,261 | 4 | 405,880 | 2 | 300,440 | 5 | 0,158 | 58,560 | -2,068 | 369,600 |
| **J-2.32** | 470,749 | 0,6911 | 0 | 4,367 | 0,586 | 469,008 | -6,751 | 4 | 470,749 | 2 | 306,810 | 4 | 0,155 | 58,560 | -3,857 | 370,560 |
| **J-2.33** | 405,88 | 0,6959 | 0 | 3,986 | 0,552 | 405,113 | -6,261 | 4 | 405,880 | 2 | 300,440 | 5 | 0,158 | 58,560 | -2,068 | 369,480 |
| **J-2.34** | 423,87 | 0,6882 | 0 | 4,087 | 0,600 | 423,104 | -6,575 | 4 | 423,870 | 2 | 306,790 | 5 | 0,155 | 58,560 | -3,408 | 374,780 |
| **J-2.35** | 423,87 | 0,6890 | 0 | 4,087 | 0,567 | 423,104 | -6,575 | 4 | 423,870 | 2 | 306,790 | 5 | 0,155 | 58,560 | -3,408 | 375,600 |
| **anti-9a** | 329,782 | 0,7375 | 0 | 2,327 | 0,565 | 329,082 | -4,175 | 4 | 329,782 | 2 | 240,680 | 5 | 0,198 | 58,560 | -2,068 | 300,250 |
| **anti-9e** | 424,293 | 0,7095 | 0 | 3,652 | 0,556 | 423,047 | -5,923 | 4 | 424,293 | 2 | 278,490 | 5 | 0,171 | 58,560 | -8,404 | 345,510 |
| **anti-9f** | 444,711 | 0,7159 | 0 | 3,902 | 0,556 | 442,992 | -6,271 | 4 | 444,711 | 2 | 281,650 | 4 | 0,169 | 58,560 | -3,857 | 339,630 |

**Tabela AP-2.2.** Continuação.

| Código | *Mutagenic* | *Tumorig.* | *Reprod. Effective* | *Irritant* | *Nasty Functions* | *Molecular Flexibility* | *Molecular Complexity* | *Non-H Atoms* | *Non-C/H Atoms* | *Electroneg. Atoms* | *Stereo Centers* | *Rotatable Bonds* | *Rings Closures* | *Ar-Atoms* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **9a** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,370 | 0,800 | 23 | 5 | 5 | 2 | 4 | 3 | 12 |
| **9b** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,314 | 0,850 | 24 | 6 | 6 | 2 | 4 | 3 | 12 |
| **9c** | none | none | high | none | nitrophenyl 2-halo-enone | 0,403 | 0,833 | 26 | 8 | 8 | 2 | 5 | 3 | 12 |
| **9d** | high | none | high | high | nitrophenyl 2-halo-enone | 0,403 | 0,833 | 26 | 8 | 8 | 2 | 5 | 3 | 12 |
| **9e** | low | low | high | none | 2-halo-enone | 0,348 | 0,829 | 27 | 5 | 5 | 2 | 4 | 4 | 16 |
| **9f** | high | low | high | high | 2-halo-enone | 0,348 | 0,848 | 27 | 6 | 6 | 2 | 4 | 4 | 16 |
| **9g** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,393 | 0,831 | 25 | 7 | 7 | 2 | 5 | 3 | 12 |
| **9h** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,393 | 0,841 | 25 | 7 | 7 | 2 | 5 | 3 | 12 |
| **9i** | high | none | high | high | nitrophenyl 2-halo-enone | 0,403 | 0,836 | 26 | 9 | 9 | 2 | 5 | 3 | 12 |
| **9j** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,313 | 0,861 | 25 | 7 | 7 | 2 | 4 | 3 | 12 |
| **9k** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,311 | 0,836 | 25 | 6 | 6 | 2 | 5 | 3 | 12 |
| **9n** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,390 | 0,822 | 28 | 5 | 5 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **9o** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,398 | 0,828 | 30 | 6 | 6 | 2 | 6 | 4 | 18 |
| **9p** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,390 | 0,825 | 29 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **9r** | none | none | high | none | 2-halo-enone | 0,390 | 0,844 | 29 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **9t** | none | none | high | none | 2-halo-enone | 0,398 | 0,828 | 30 | 6 | 6 | 2 | 6 | 4 | 18 |
| **9u** | none | none | high | none | 2-halo-enone | 0,390 | 0,825 | 29 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **9v** | none | none | none | none | - | 0,385 | 0,790 | 28 | 4 | 4 | 2 | 5 | 4 | 18 |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **J-2.16** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,397 | 0,858 | 30 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.17** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,397 | 0,853 | 30 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.18** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,423 | 0,832 | 27 | 6 | 6 | 2 | 4 | 4 | 12 |
| **J-2.19** | none | none | high | none | 2-halo-enone | 0,397 | 0,830 | 30 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.20** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,413 | 0,858 | 27 | 6 | 6 | 2 | 4 | 4 | 12 |
| **J-2.21** | none | none | high | none | 2-halo-enone | 0,397 | 0,849 | 30 | 7 | 7 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.22** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,397 | 0,849 | 30 | 7 | 7 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.23** | none | none | high | none | 2-halo-enone | 0,390 | 0,822 | 28 | 5 | 5 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.24** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,406 | 0,830 | 26 | 5 | 5 | 2 | 4 | 4 | 12 |
| **J-2.25** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,429 | 0,859 | 28 | 7 | 7 | 2 | 4 | 4 | 12 |
| **J-2.26** | none | none | high | none | 2-halo-enone | 0,390 | 0,825 | 29 | 5 | 5 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.27** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,429 | 0,864 | 28 | 7 | 7 | 2 | 4 | 4 | 12 |
| **J-2.28** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,368 | 0,838 | 29 | 5 | 5 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.29** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,397 | 0,849 | 30 | 7 | 7 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.30** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,397 | 0,858 | 30 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.31** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,390 | 0,825 | 29 | 5 | 5 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.32** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,390 | 0,844 | 29 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.33** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,390 | 0,831 | 29 | 5 | 5 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.34** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,397 | 0,830 | 30 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **J-2.35** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,401 | 0,835 | 30 | 6 | 6 | 2 | 5 | 4 | 18 |
| **anti-9a** | high | none | high | high | 2-halo-enone | 0,384 | 0,800 | 23 | 5 | 5 | 2 | 4 | 3 | 12 |
| **anti-9e** | low | low | high | none | 2-halo-enone | 0,363 | 0,829 | 27 | 5 | 5 | 2 | 4 | 4 | 16 |
| **anti-9f** | high | low | high | high | 2-halo-enone | 0,363 | 0,848 | 27 | 6 | 6 | 2 | 4 | 4 | 16 |

**Tabela AP-2.2.** Continuação.

| Código | *Sym. atoms* | *Small Rings* | *Carbo-Rings* | *Het.-Rings* | *Non-Ar. Rings* | *Ar.-Rings* | *Sat. C-Rings* | *Non-Ar C-Rings* | *C-Ar. Rings* | *Sat. Het. Rings* | *Non-Ar. Het. Rings* | *Het.-Ar. Rings* | *Amides* | *Amines* | *Alkyl-Amin.* | *Ar.-Amines* | *Ar.-Nitrog.* | *Basic-Nitrog.* | *Acid.-Oxyg.* | *Globularity SVD* | *VDW-Volume* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **9a** | 4 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,255 | 308,610 |
| **9b** | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,238 | 321,830 |
| **9c** | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,224 | 336,330 |
| **9d** | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,224 | 332,240 |
| **9e** | 2 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,215 | 359,690 |
| **9f** | 2 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,270 | 355,440 |
| **9g** | 4 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,277 | 336,180 |
| **9h** | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,265 | 336,560 |
| **9i** | 4 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,266 | 332,320 |
| **9j** | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,239 | 326,540 |
| **9k** | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,210 | 334,700 |
| **9n** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,230 | 365,580 |
| **9o** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,209 | 391,780 |
| **9p** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,231 | 375,120 |
| **9r** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,231 | 389,150 |
| **9t** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,209 | 395,690 |
| **9u** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,231 | 378,510 |
| **9v** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,226 | 368,410 |
| **J-2.16** | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,206 | 401,950 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **J-2.17** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,188 | 407,260 |
| **J-2.18** | 6 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,208 | 362,540 |
| **J-2.19** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,226 | 404,640 |
| **J-2.20** | 6 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,252 | 372,390 |
| **J-2.21** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,223 | 405,640 |
| **J-2.22** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,223 | 401,580 |
| **J-2.23** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,229 | 369,330 |
| **J-2.24** | 6 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,227 | 354,910 |
| **J-2.25** | 6 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,241 | 380,250 |
| **J-2.26** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,226 | 388,140 |
| **J-2.27** | 4 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,251 | 380,130 |
| **J-2.28** | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,225 | 384,180 |
| **J-2.29** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,230 | 389,950 |
| **J-2.30** | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,195 | 406,690 |
| **J-2.31** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,226 | 384,230 |
| **J-2.32** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,231 | 385,270 |
| **J-2.33** | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,232 | 387,620 |
| **J-2.34** | 6 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,226 | 389,420 |
| **J-2.35** | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,228 | 391,400 |
| **anti-9a** | 4 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,278 | 309,770 |
| **anti-9e** | 2 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,236 | 360,840 |
| **anti-9f** | 2 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,295 | 356,420 |

## ESPECTROS DE RMN DE $^{1}H$ E $^{13}C$ DOS COMPOSTOS J-2.1 A J-2.35

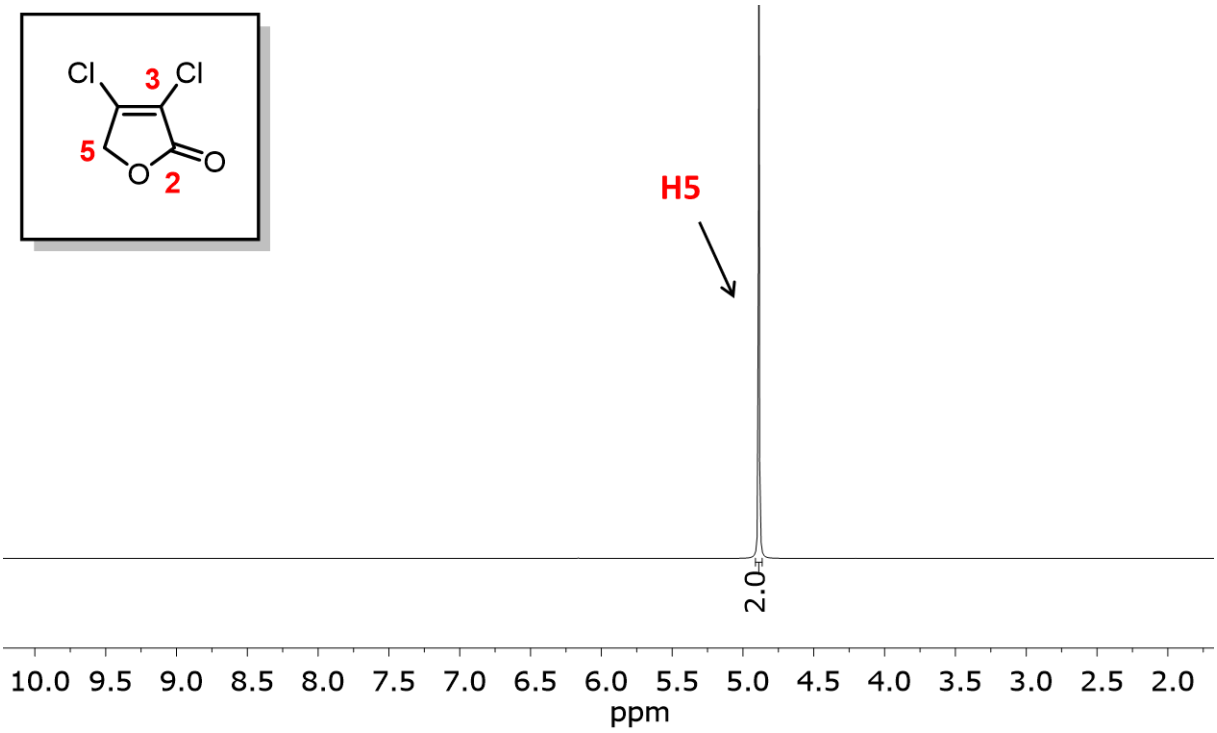



**Figura AP-2.2.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.1**.

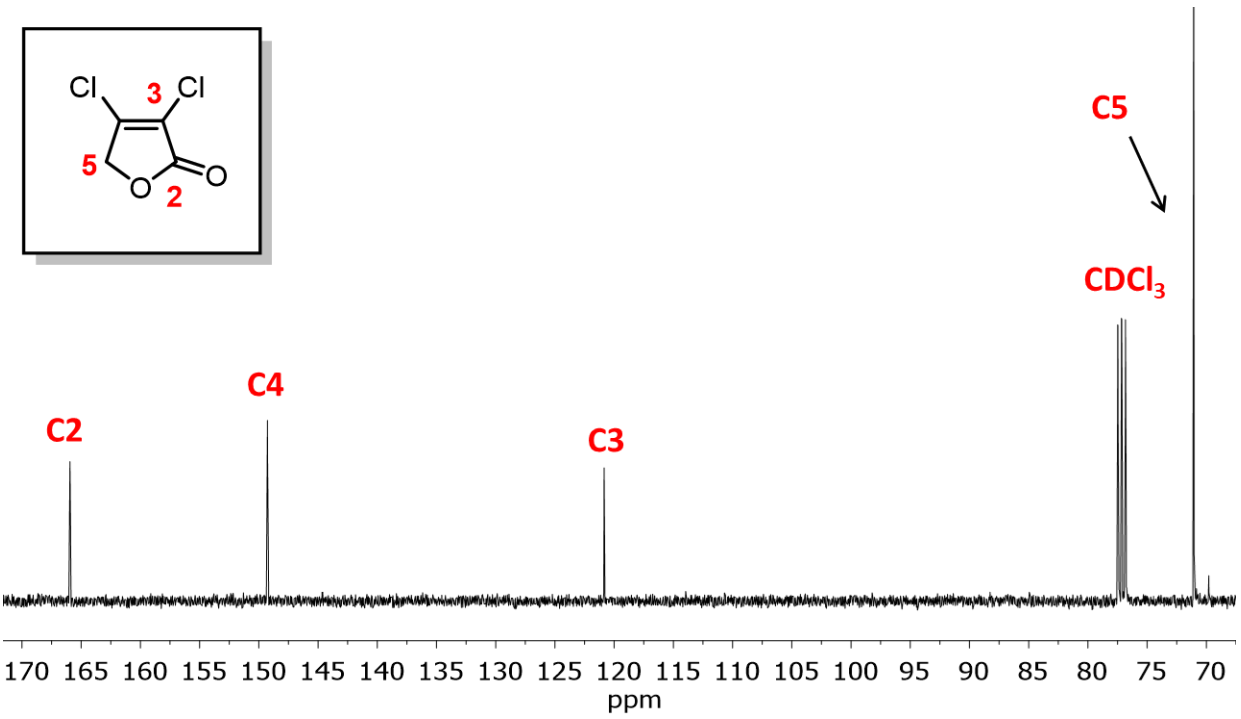



**Figura AP-2.3.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.1**.

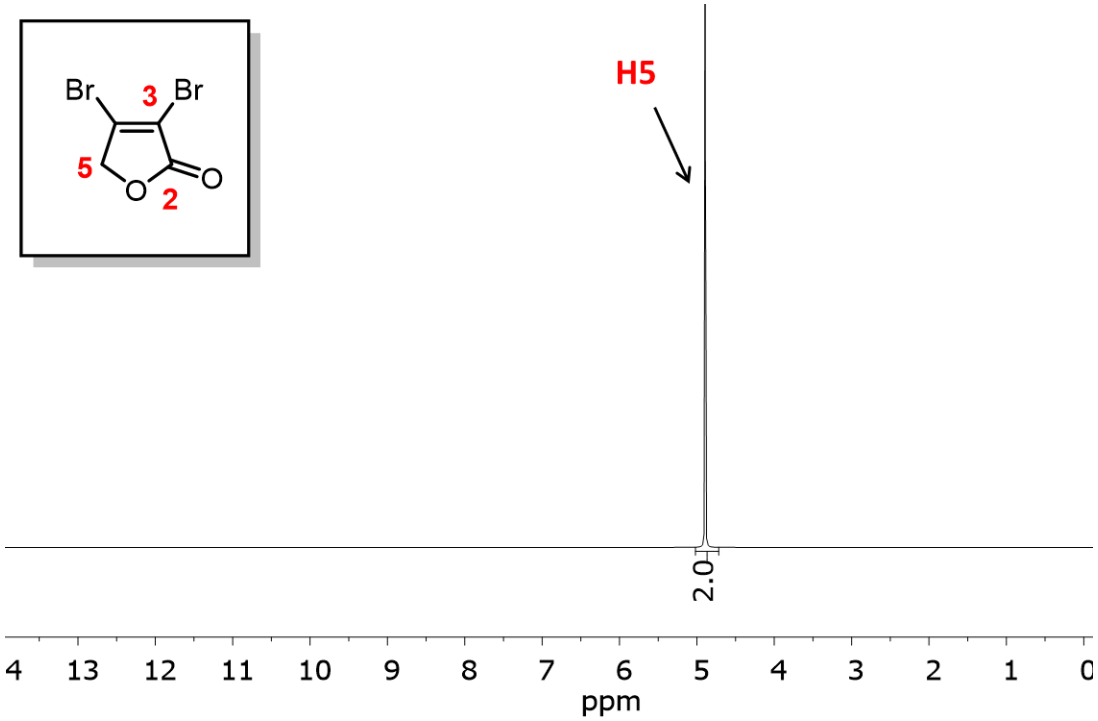



**Figura AP-2.4.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.2**.

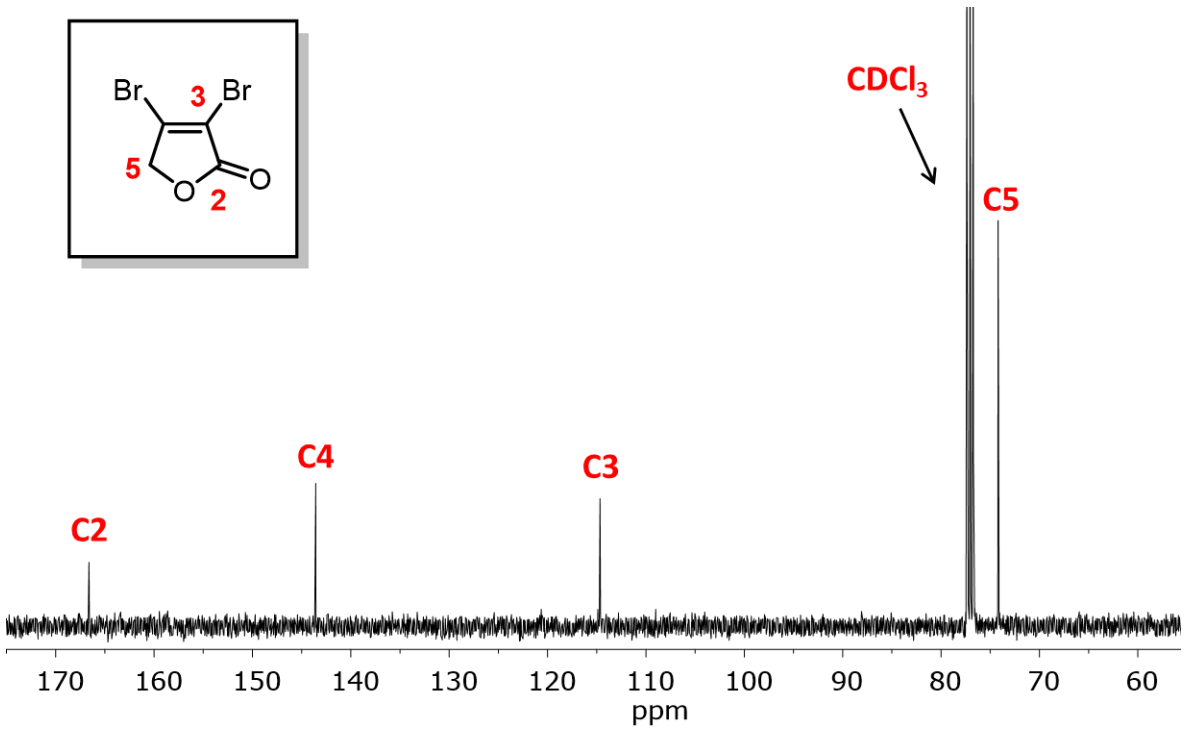



**Figura AP-2.5.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.2**.

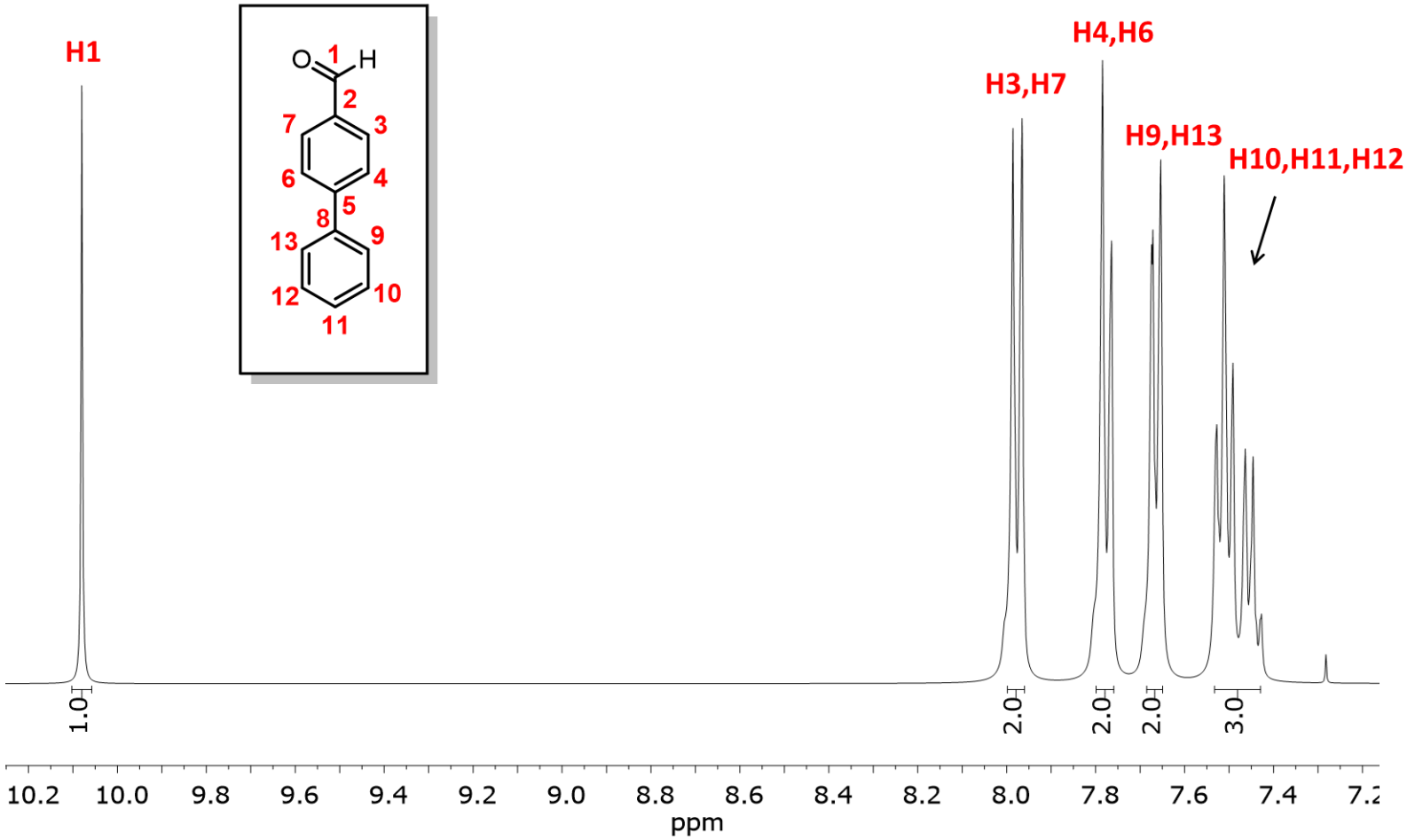



**Figura AP-2.6.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.3**.

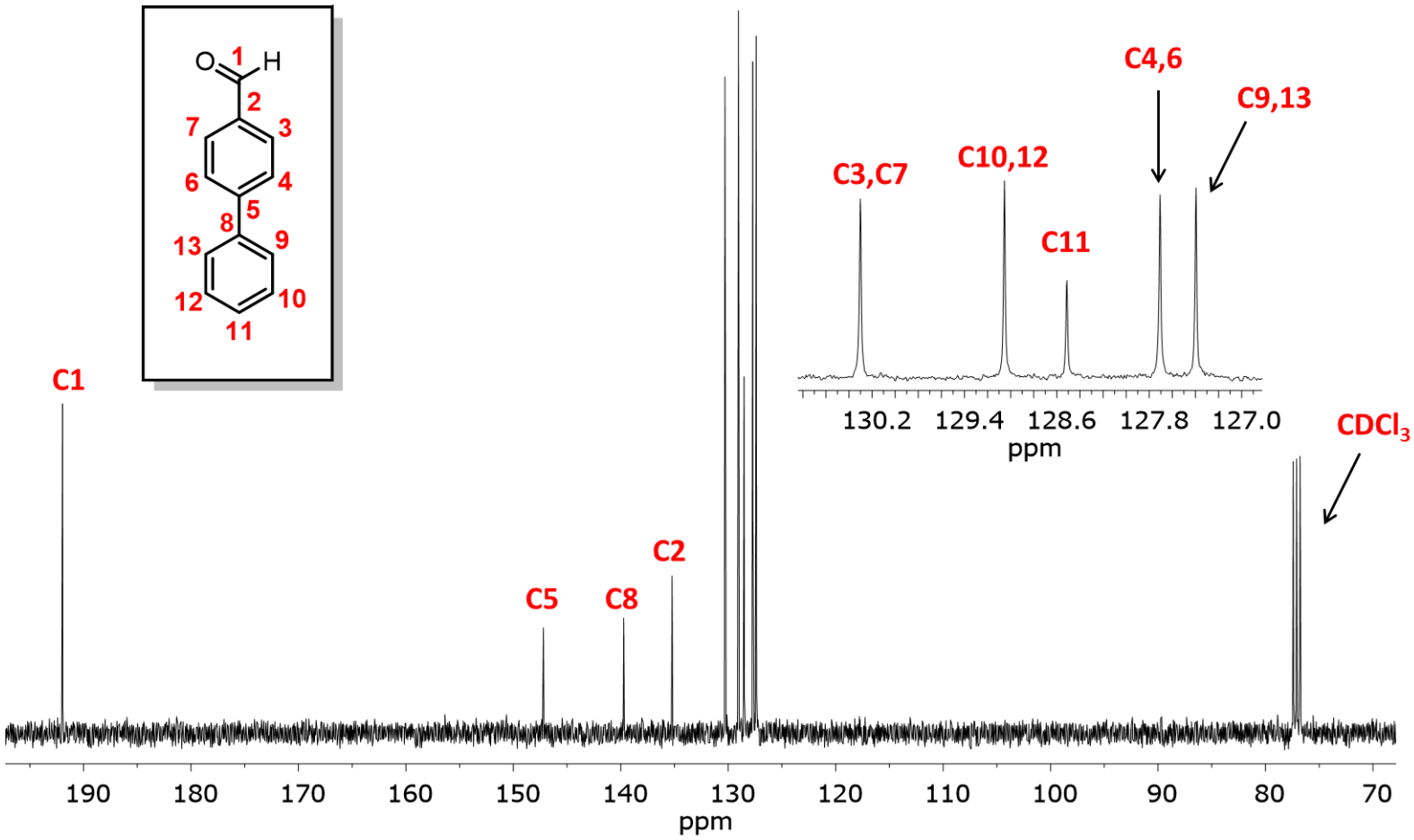



**Figura AP-2.7.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.3**.

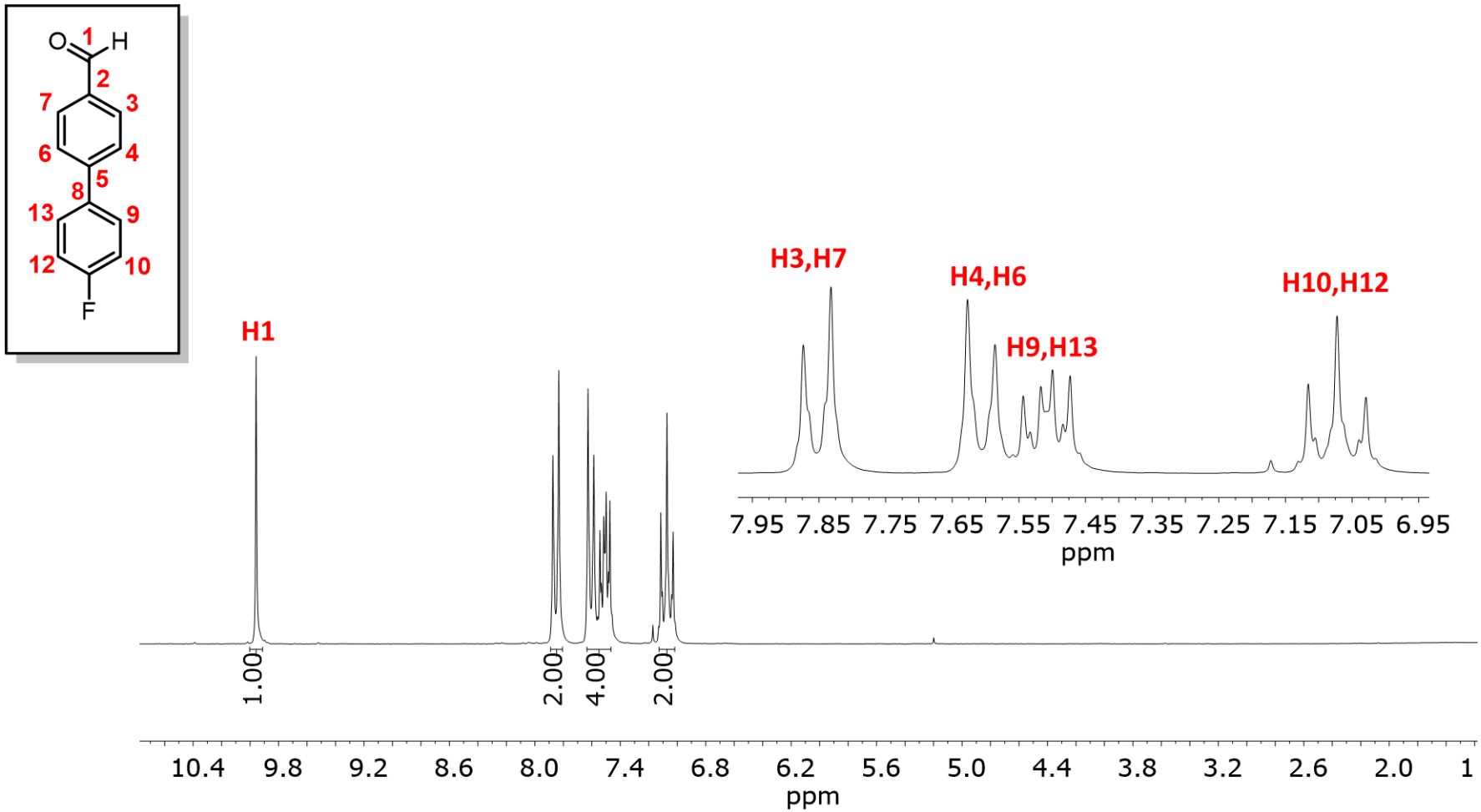



**Figura AP-2.8.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.4**.

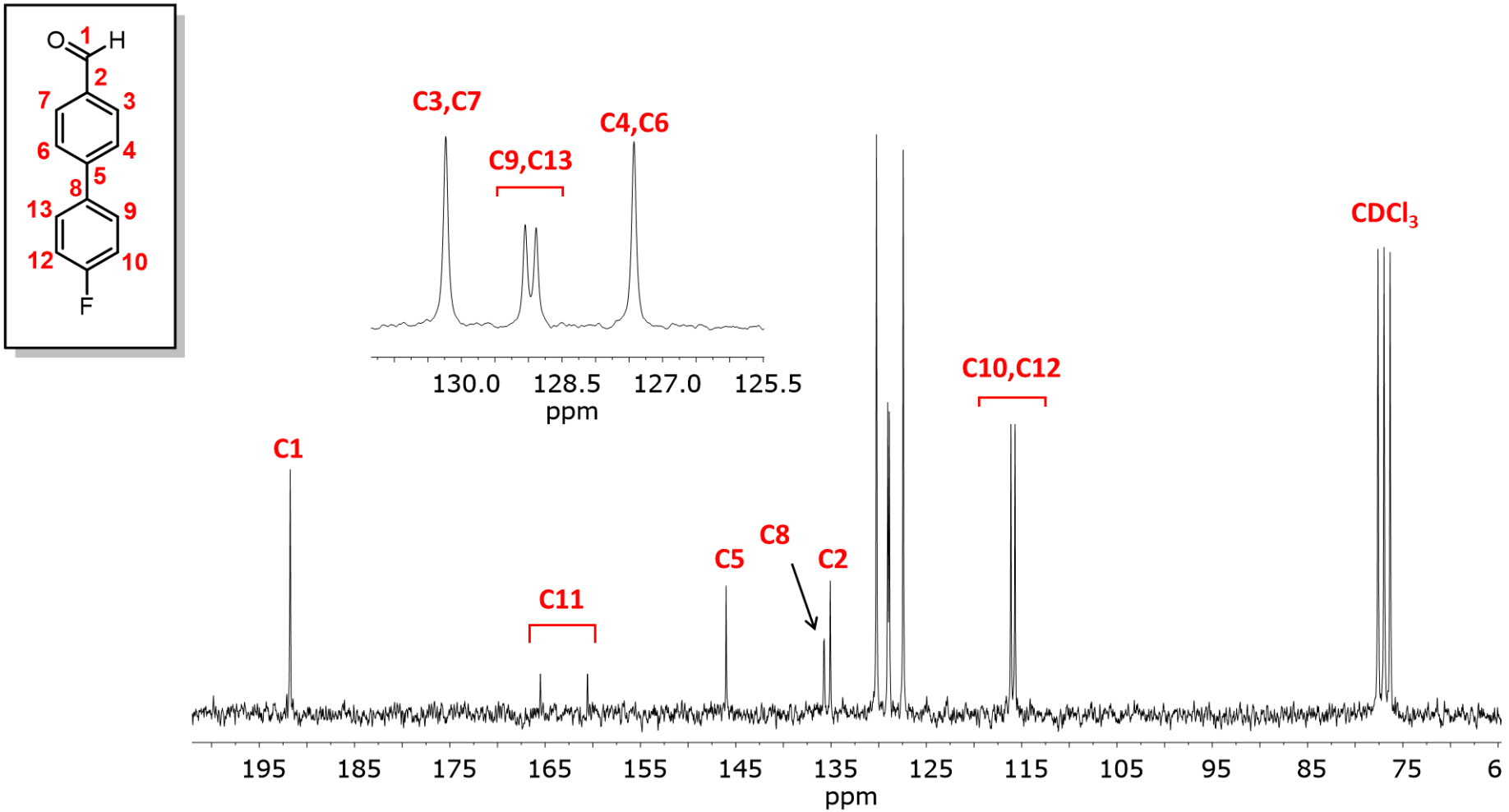



**Figura AP-2.9.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.4**.

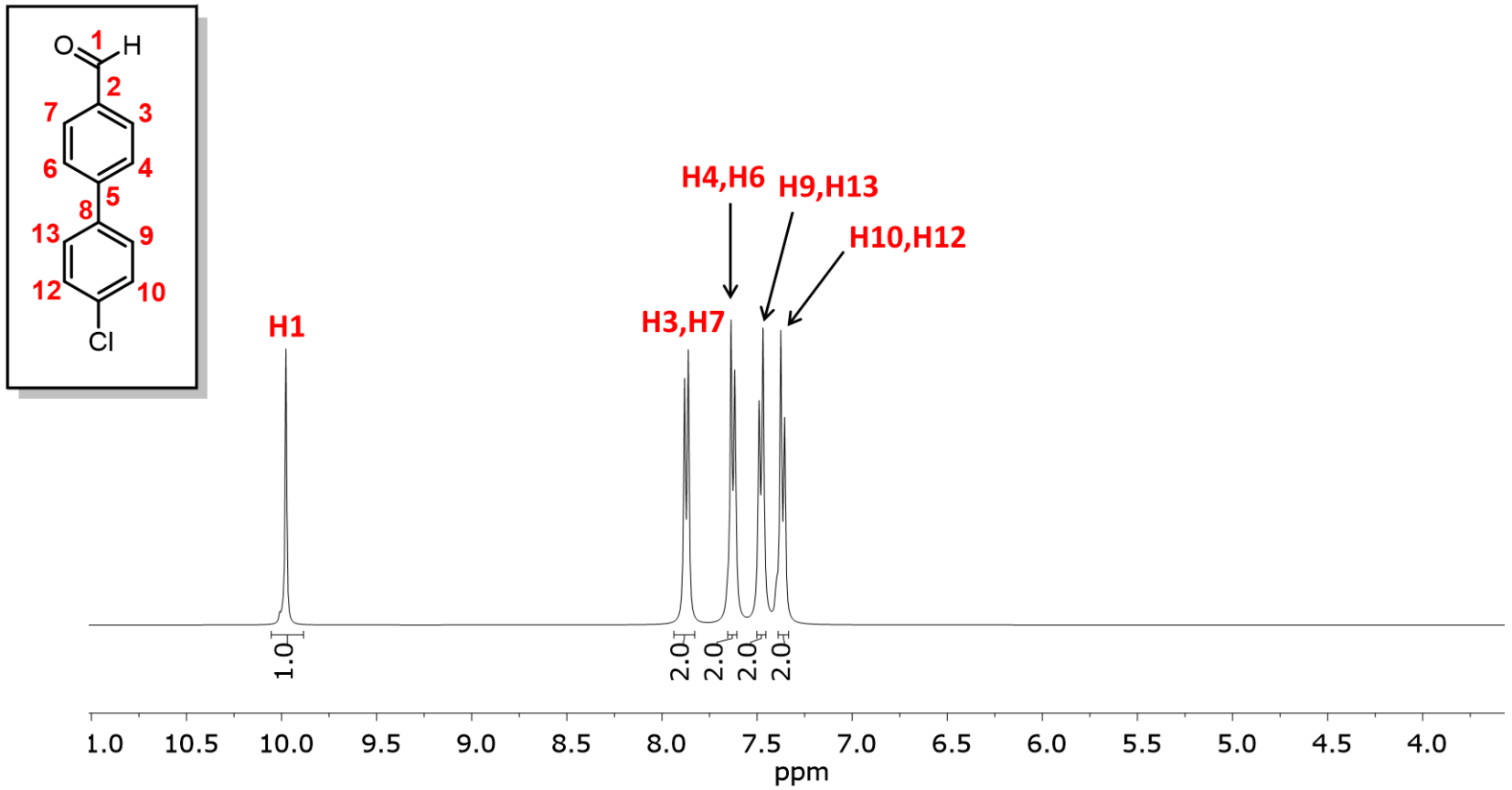



**Figura AP-2.10.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.5**.

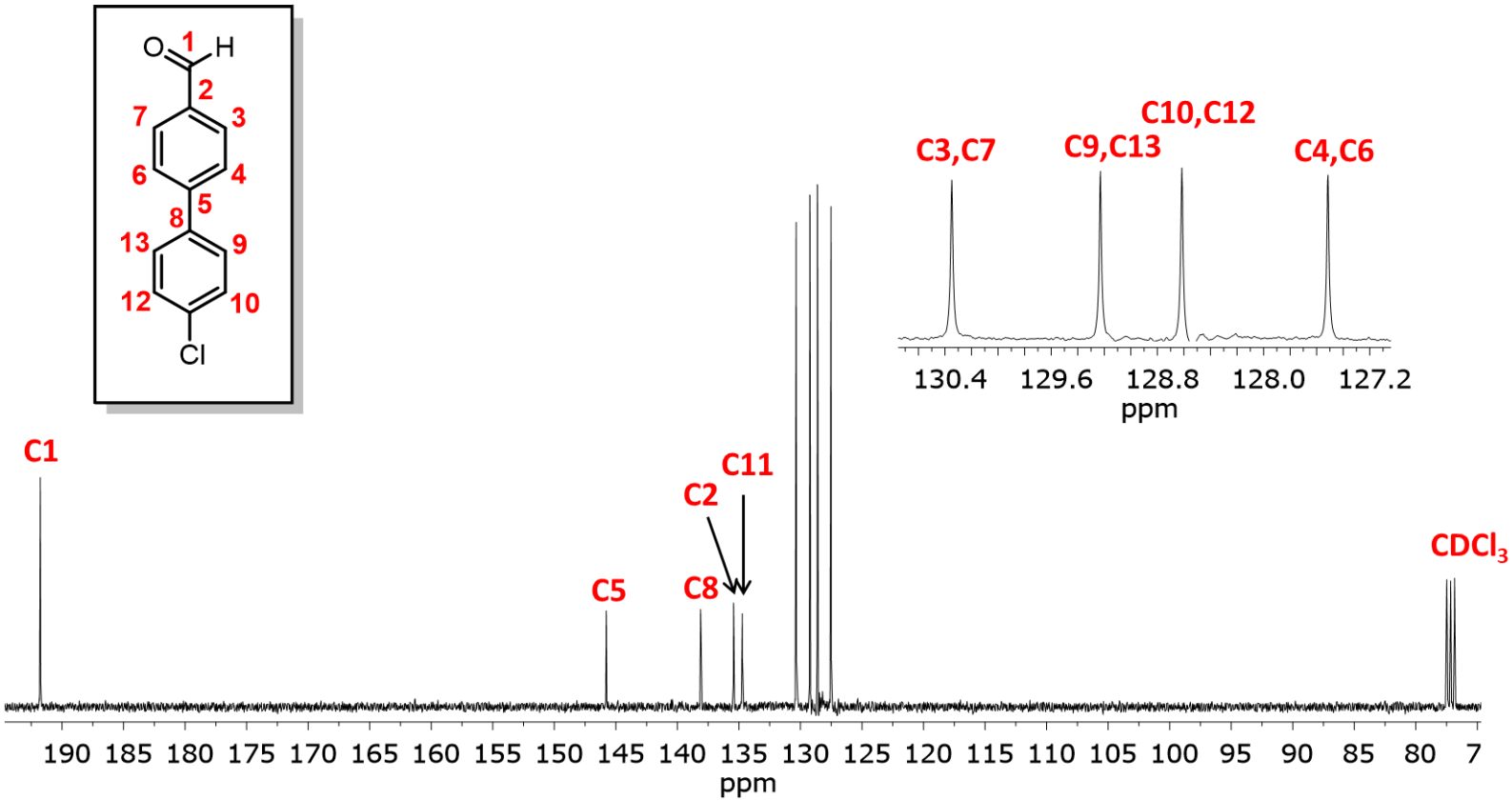



**Figura AP-2.11.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.5**.

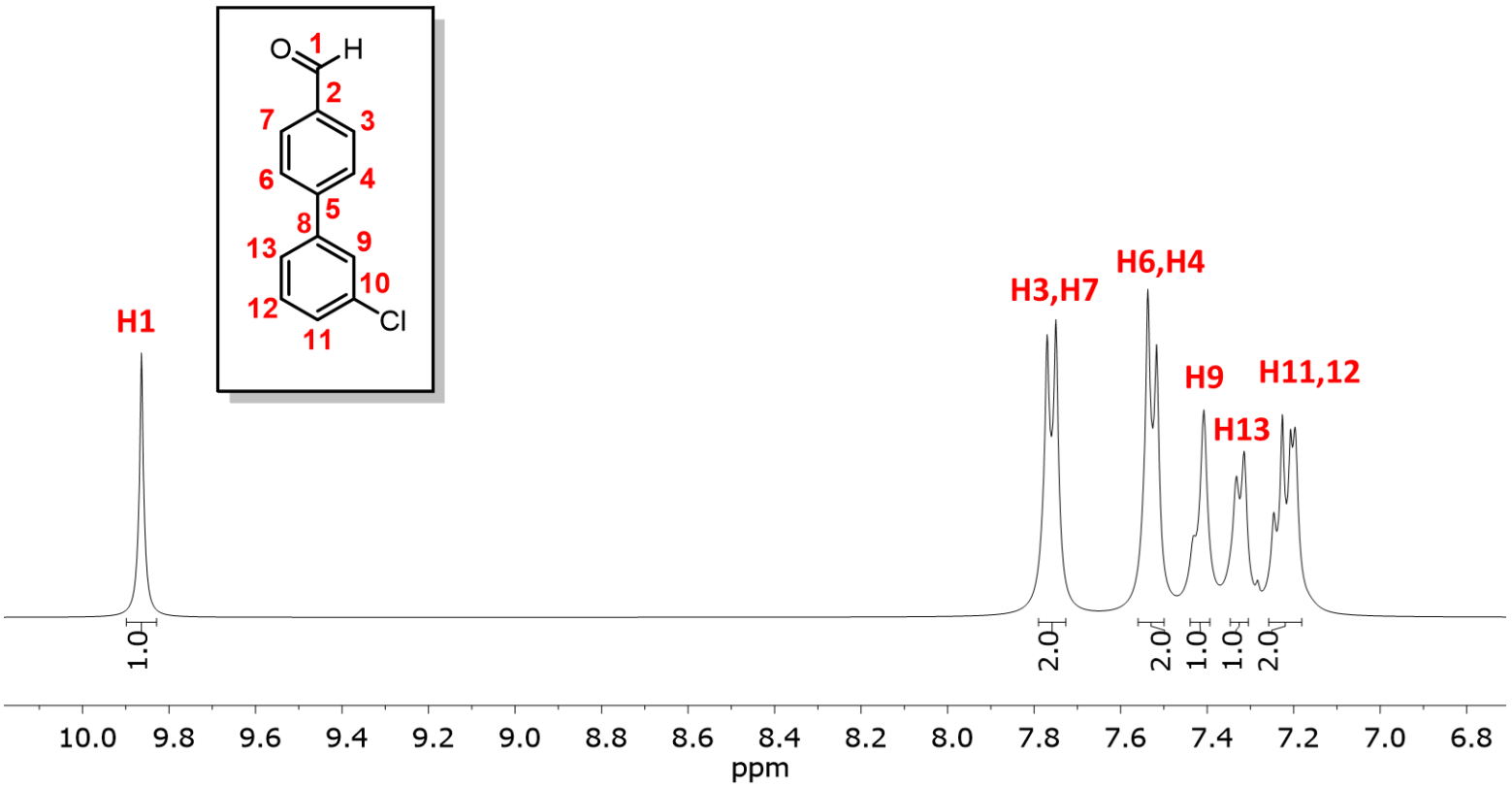



**Figura AP-2.12.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.6**.

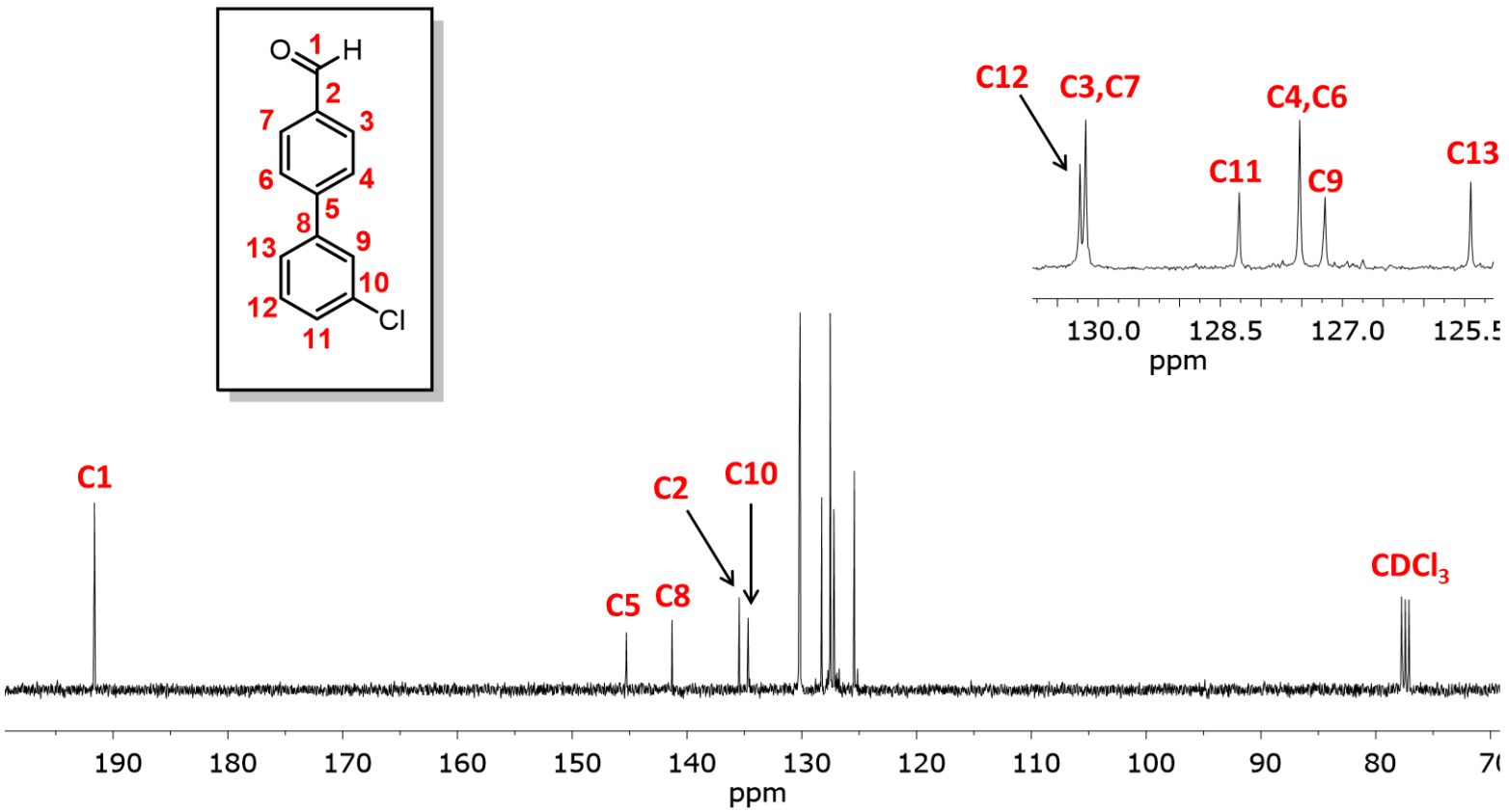



**Figura AP-2.13.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.6**.

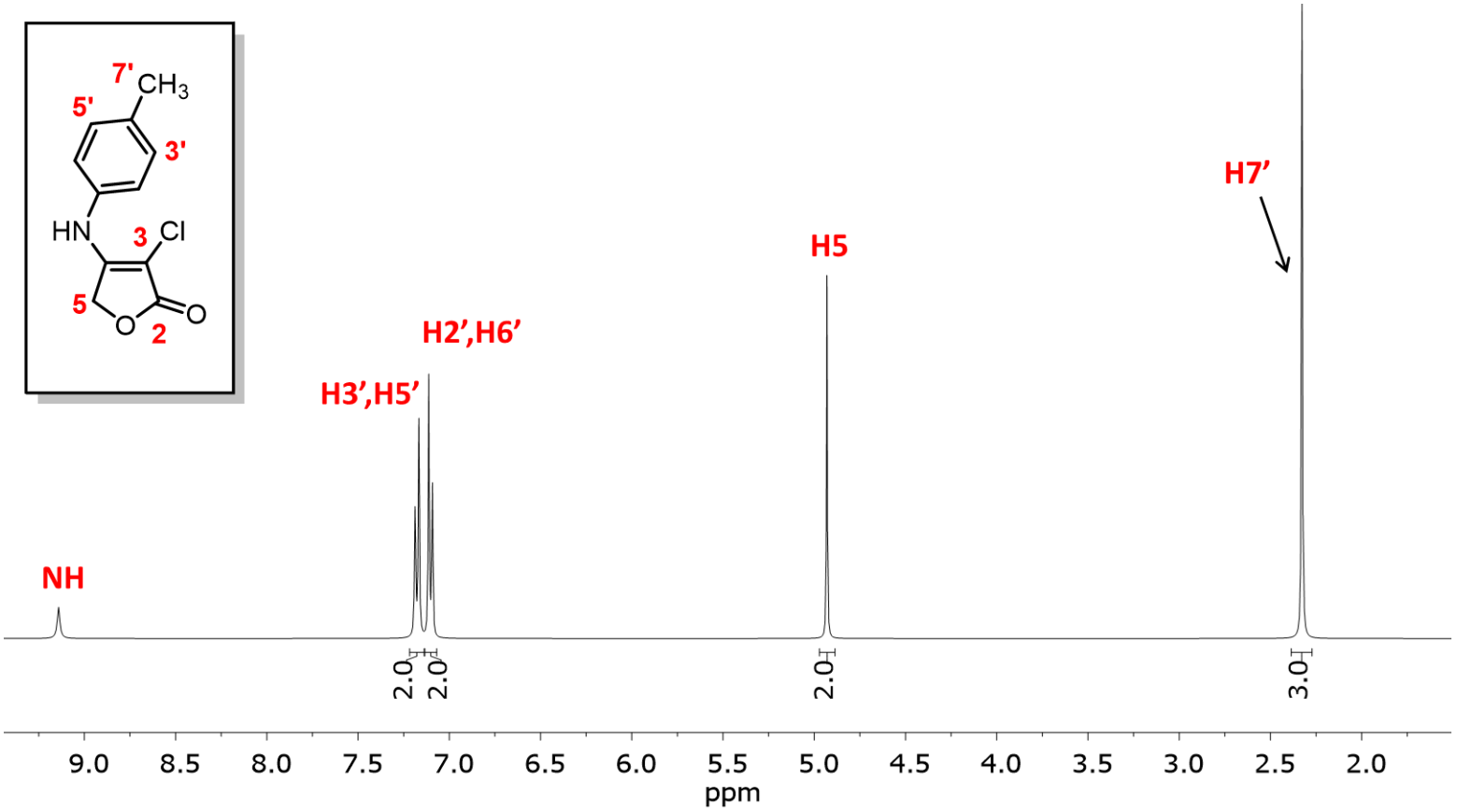



**Figura AP-2.14.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.7**.

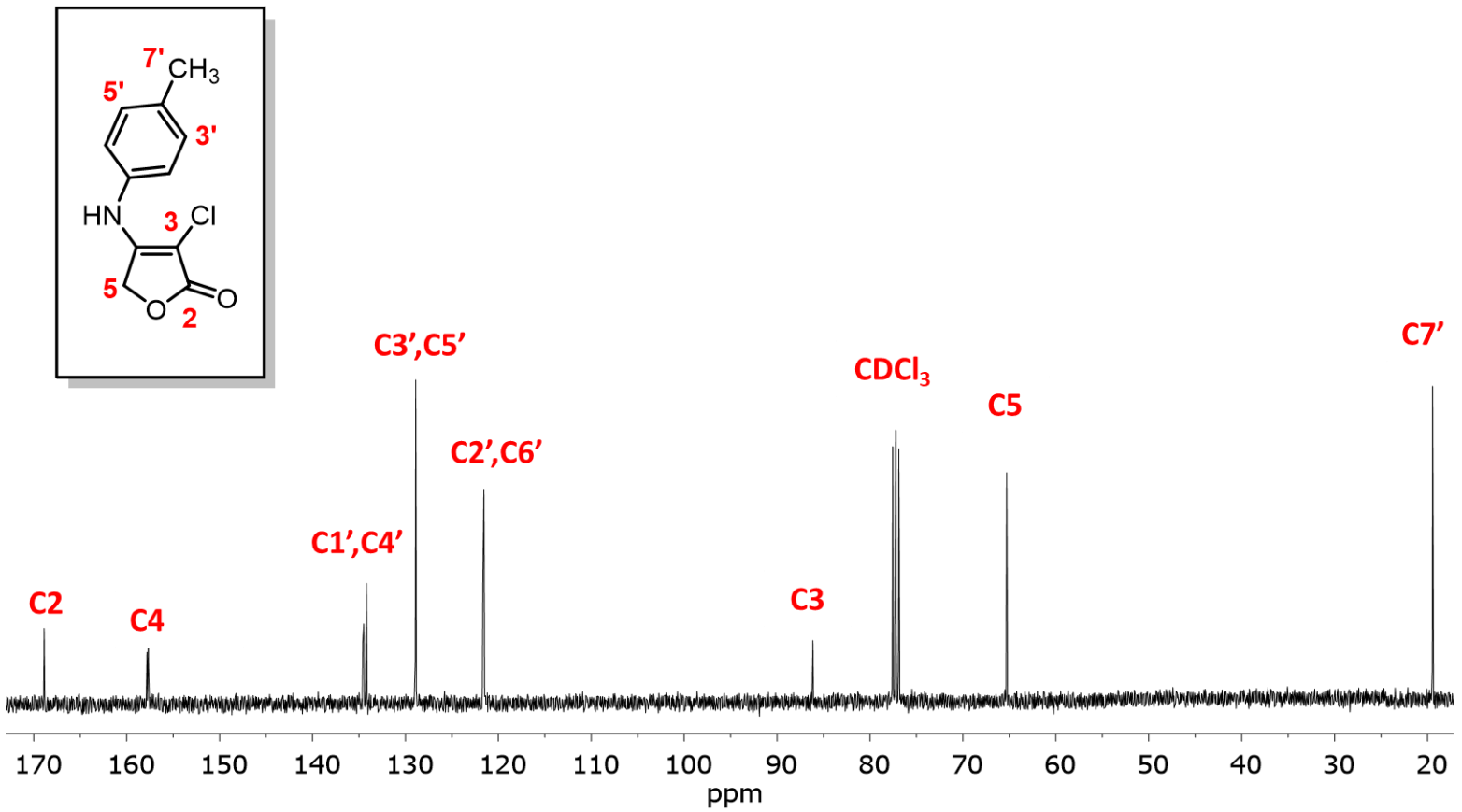



**Figura AP-2.15.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.7**.

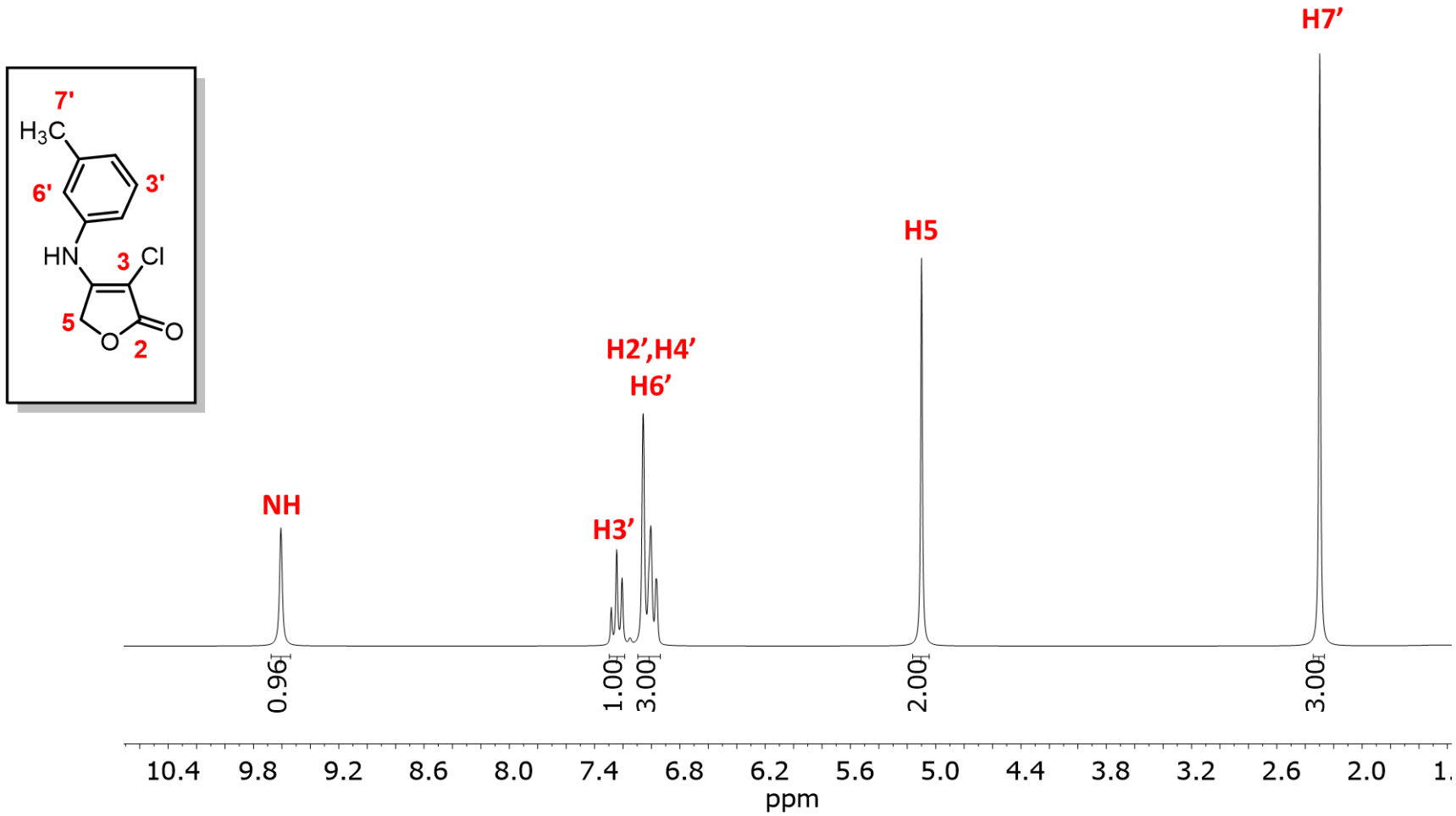



**Figura AP-2.16.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (200 MHz, DMSO-$d_6$) do composto **J-2.8**.

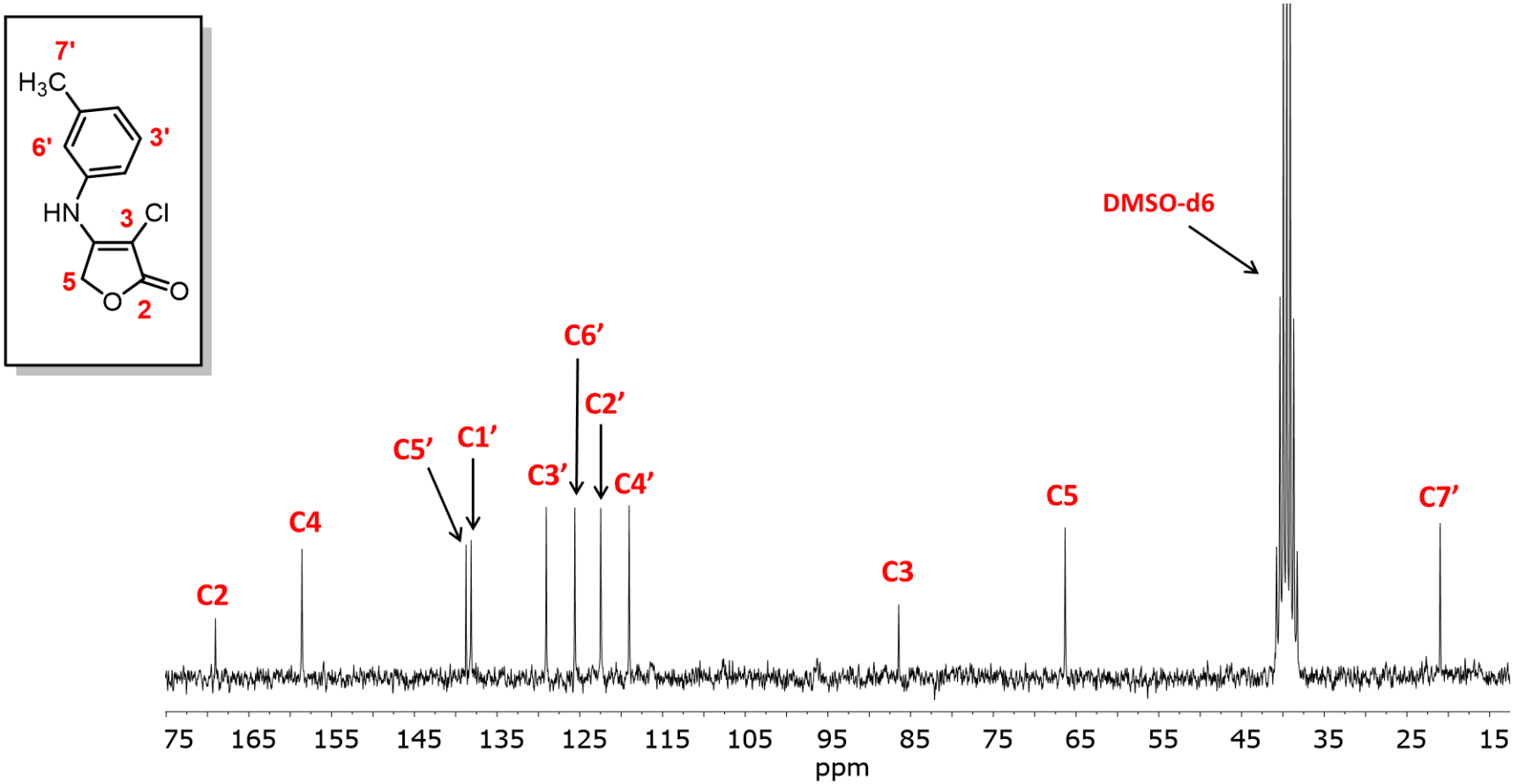



**Figura AP-2.17.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (50 MHz, DMSO-$d_6$) do composto **J-2.8**.

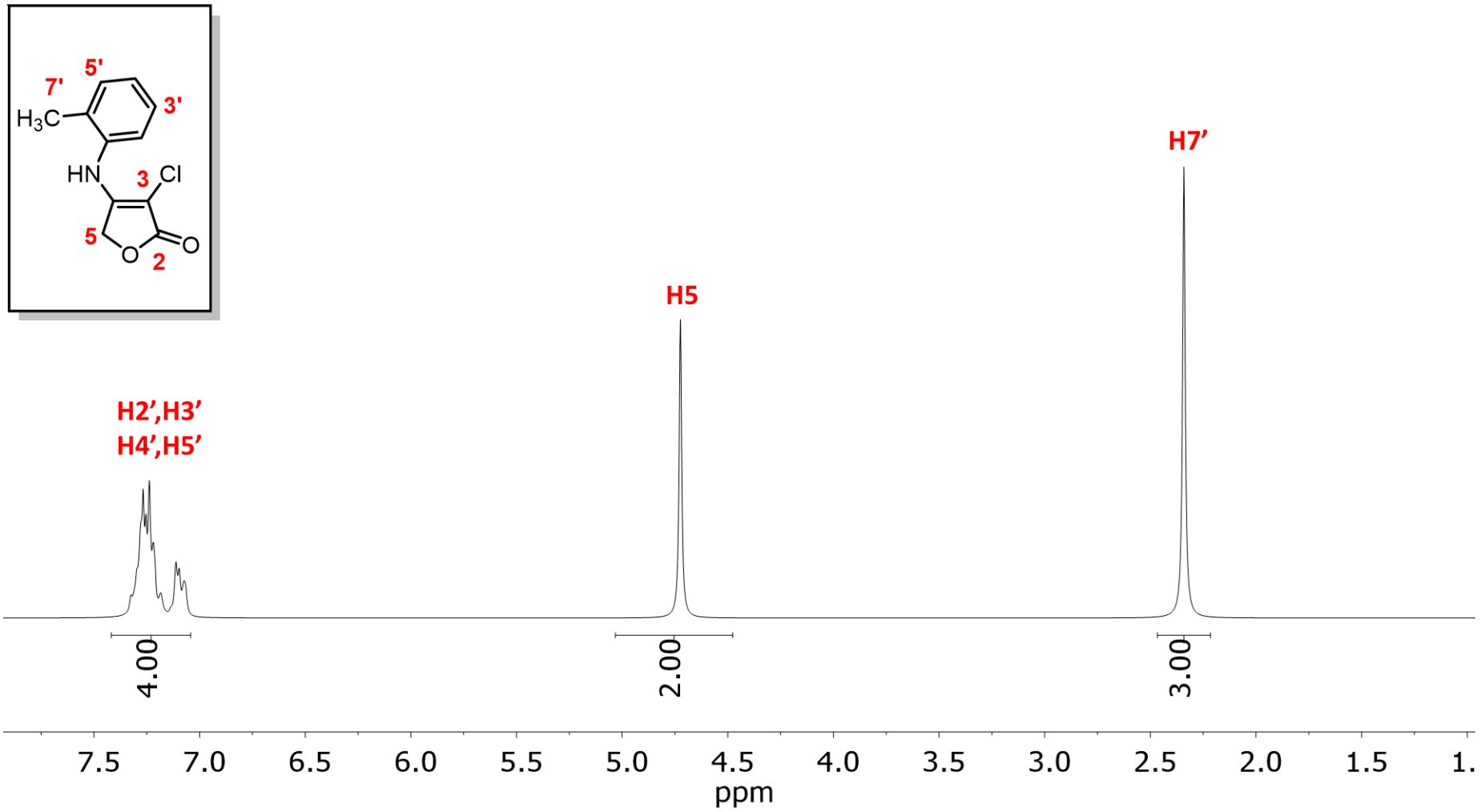



**Figura AP-2.18.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.9**.

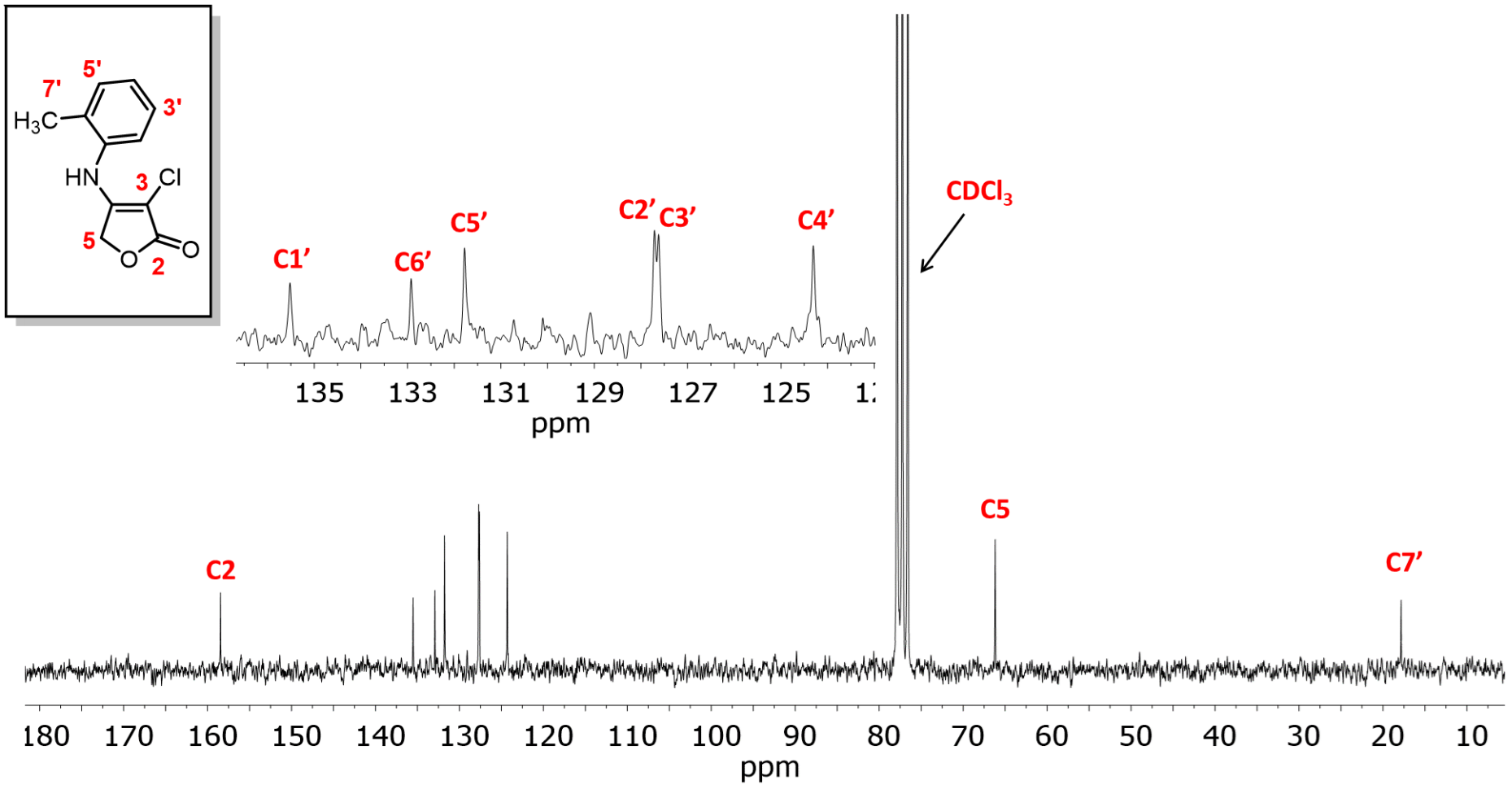



**Figura AP-2.19.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.9**.

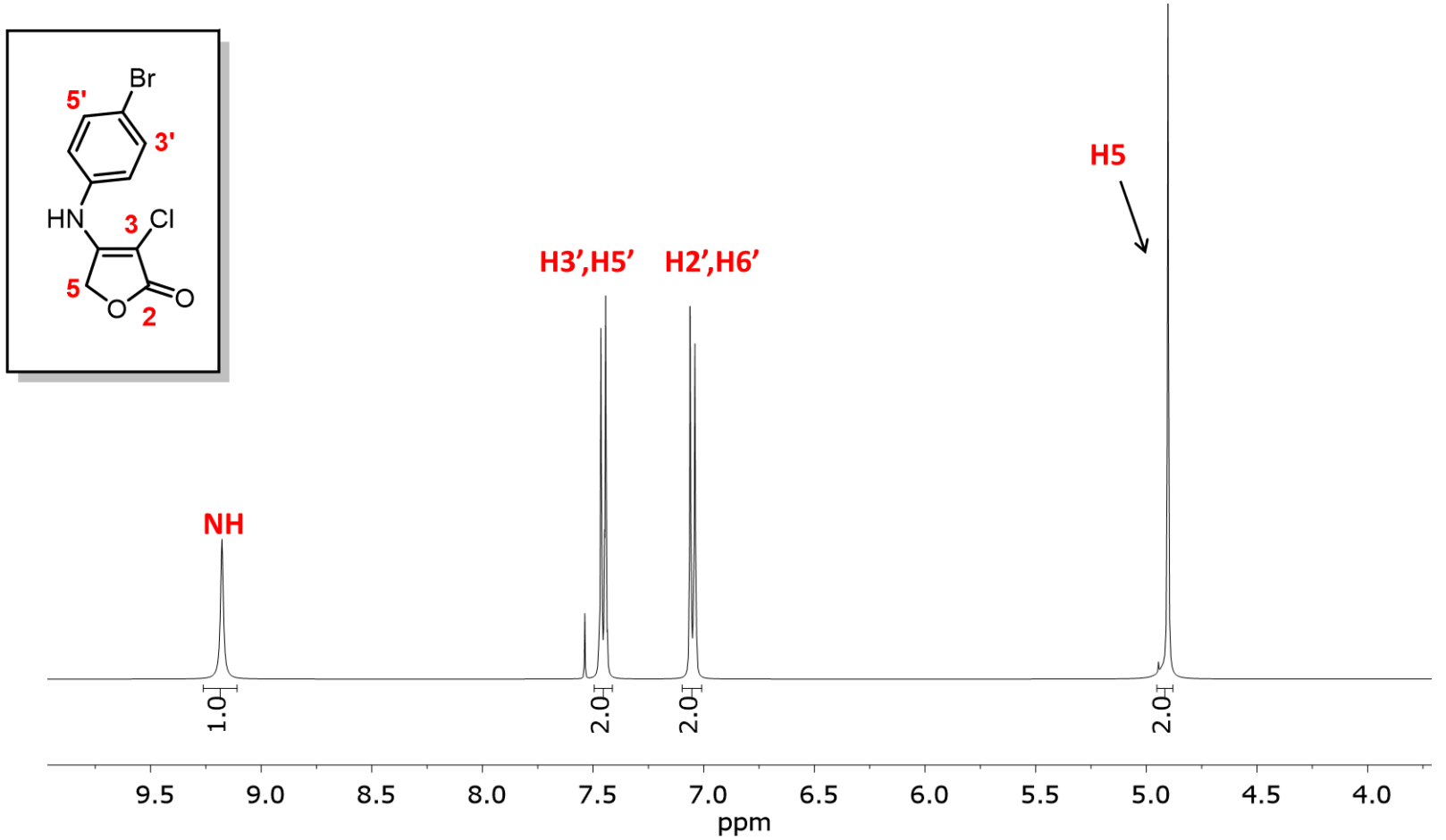



**Figura AP-2.20.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.10**.

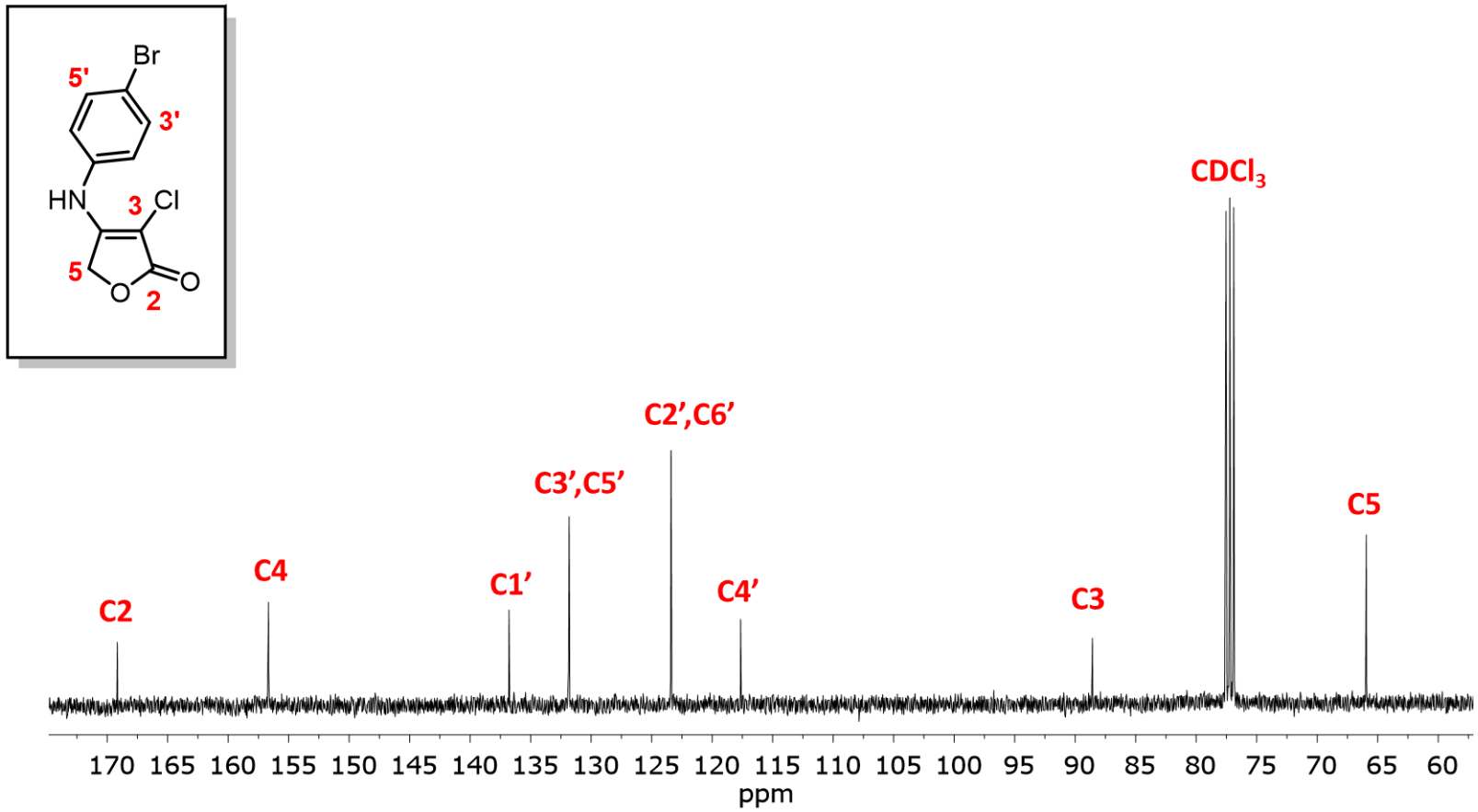



**Figura AP-2.21.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.10**.

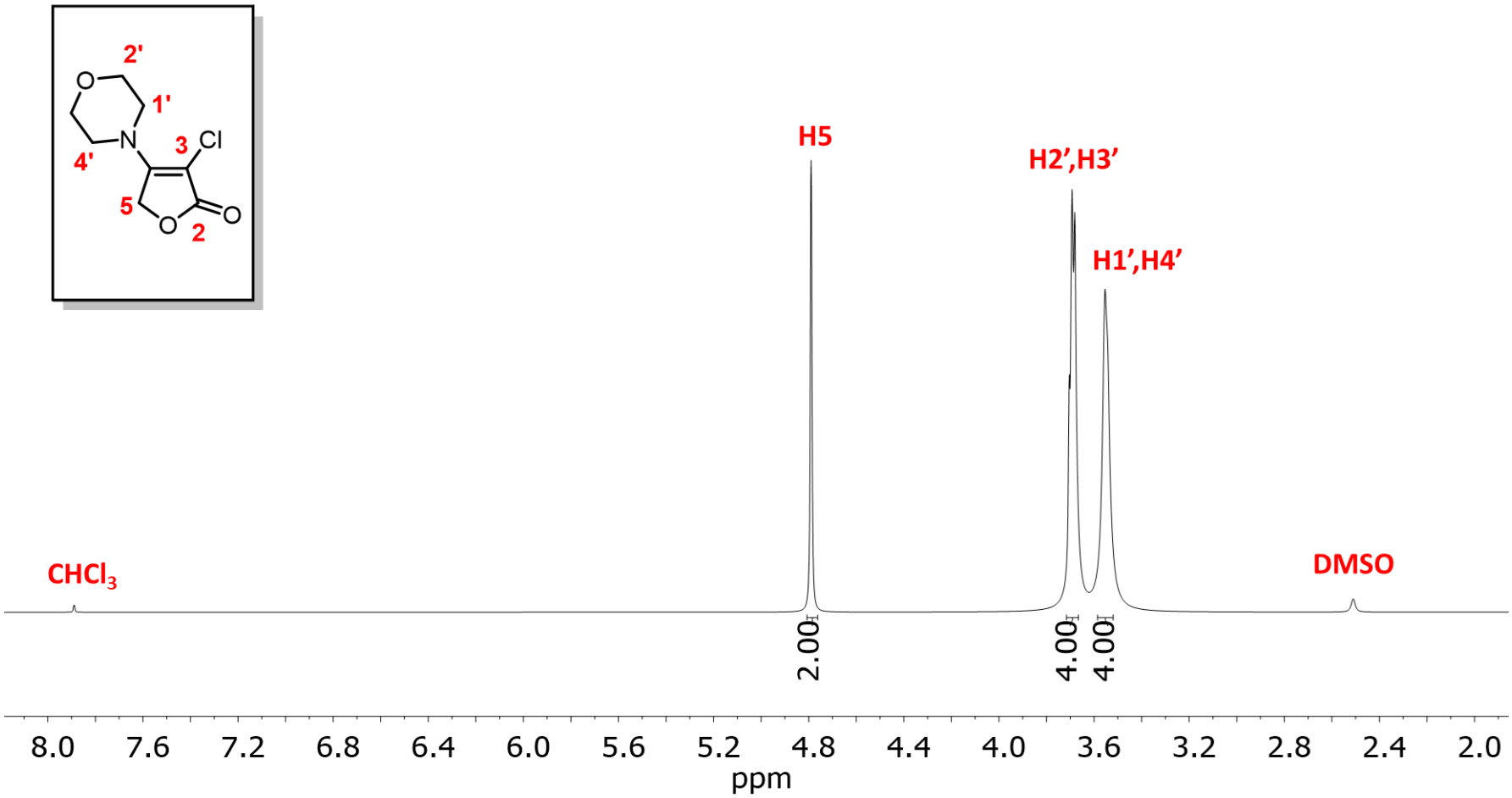



**Figura AP-2.22.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.11**.

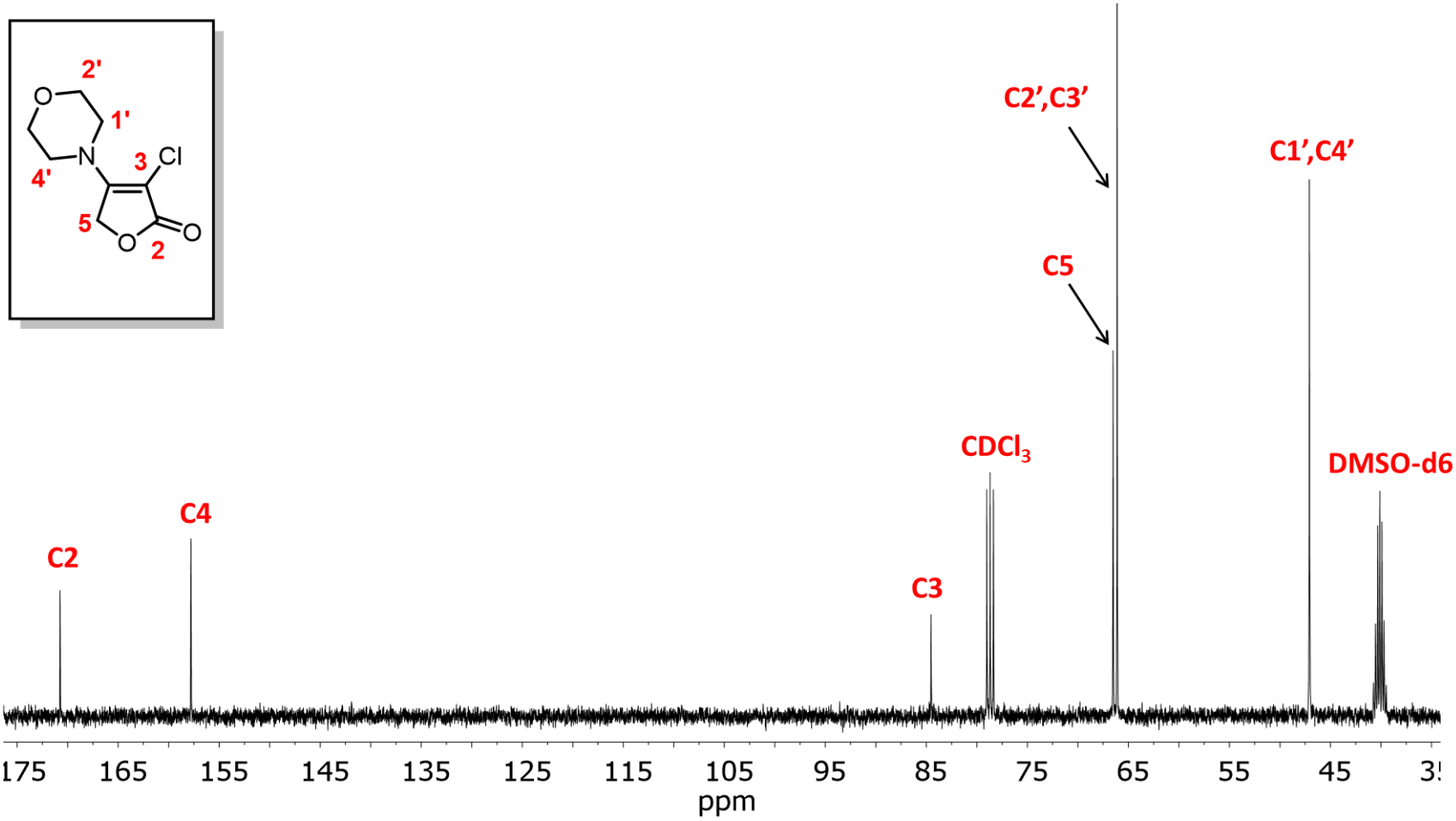



**Figura AP-2.23.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.11**.

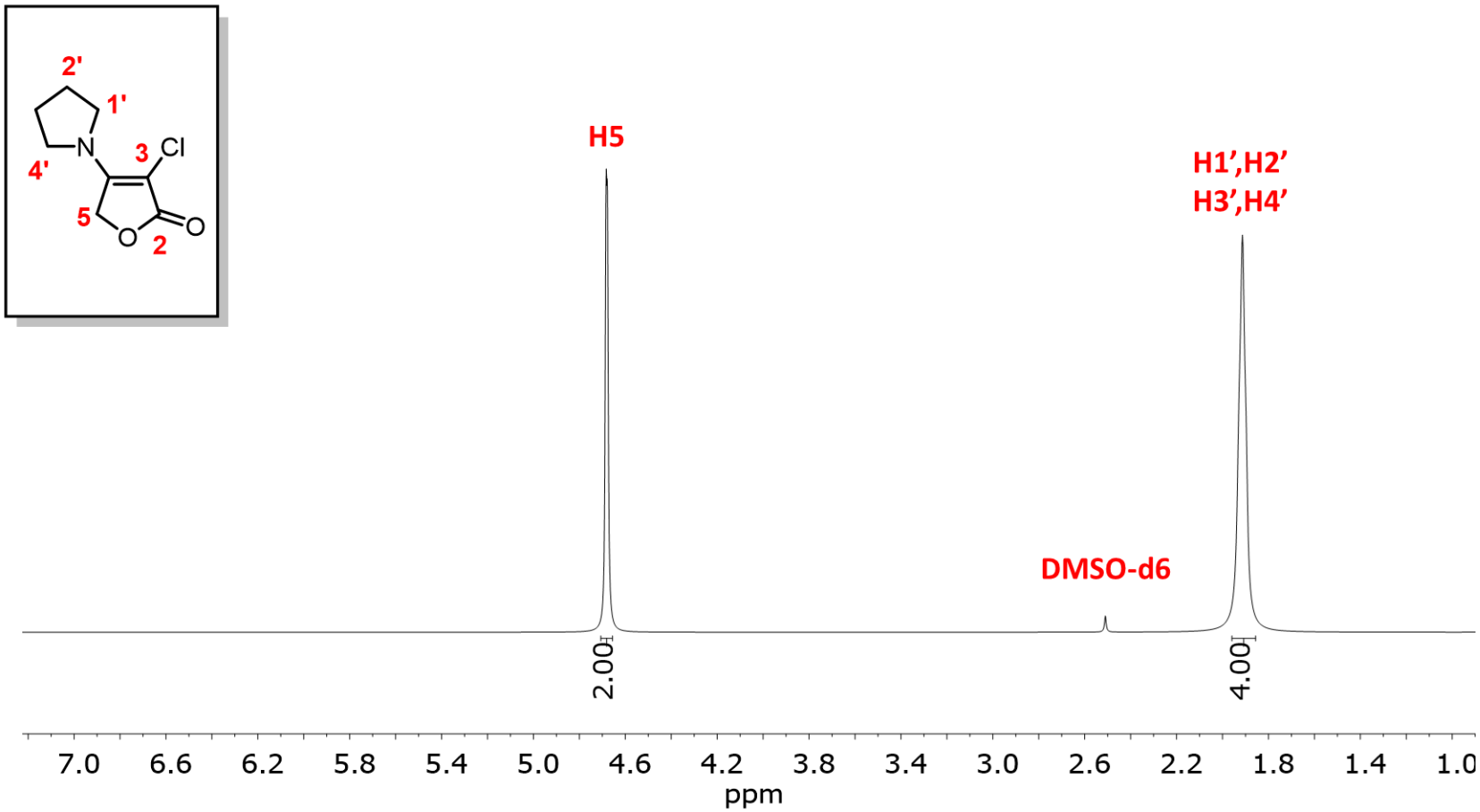



**Figura AP-2.24.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.12**.

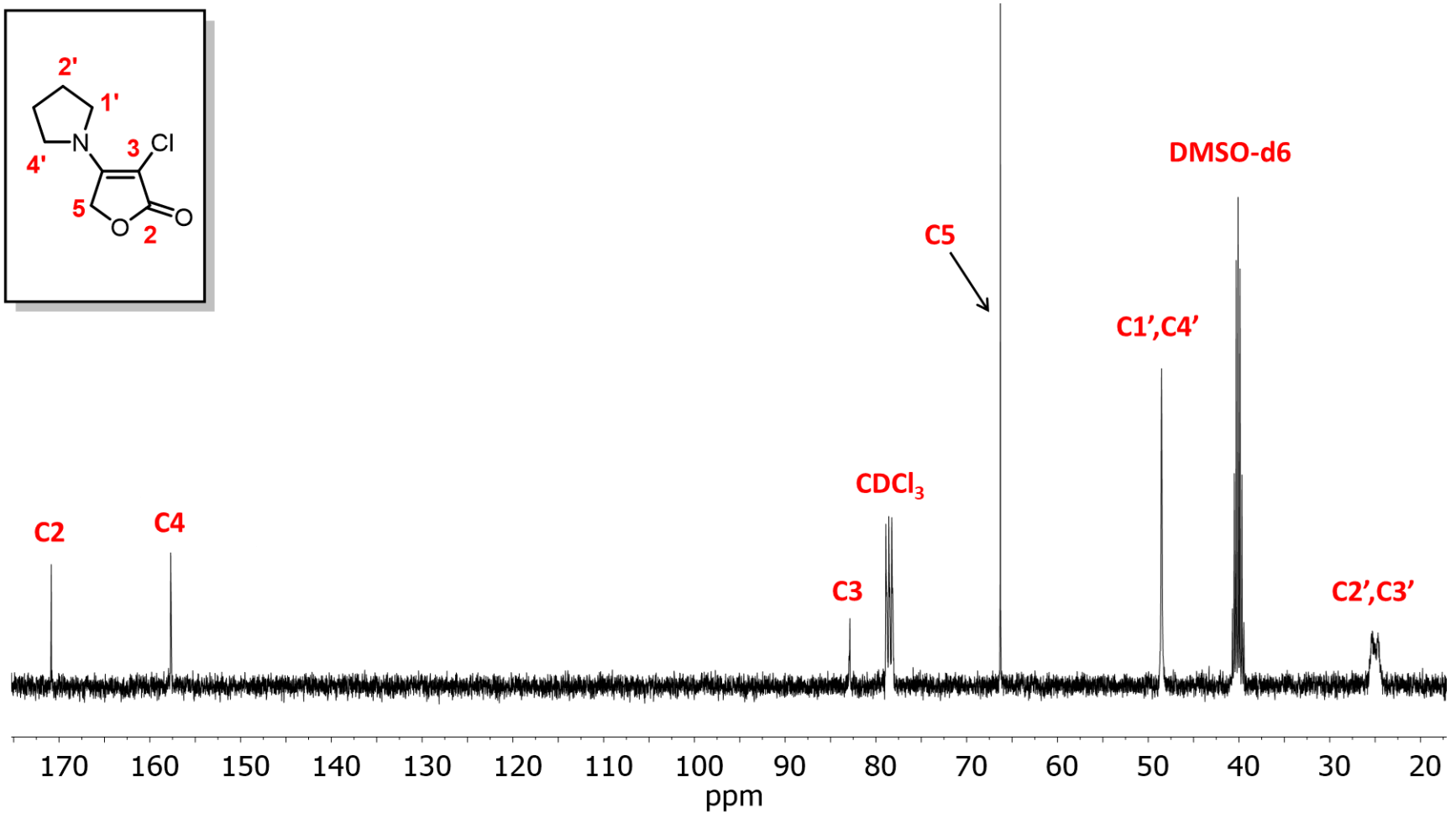



**Figura AP-2.25.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.12**.

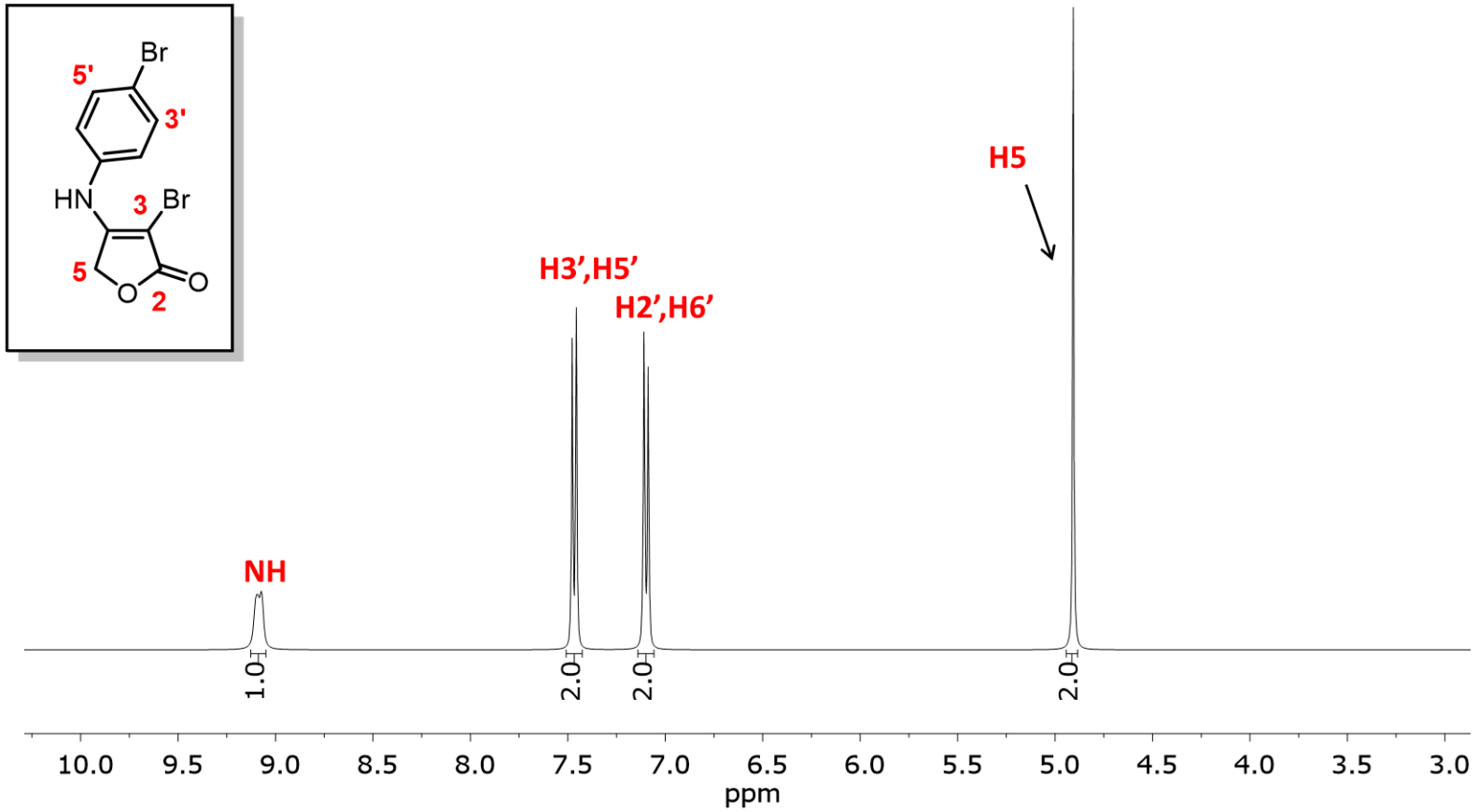



**Figura AP-2.26.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.13**.

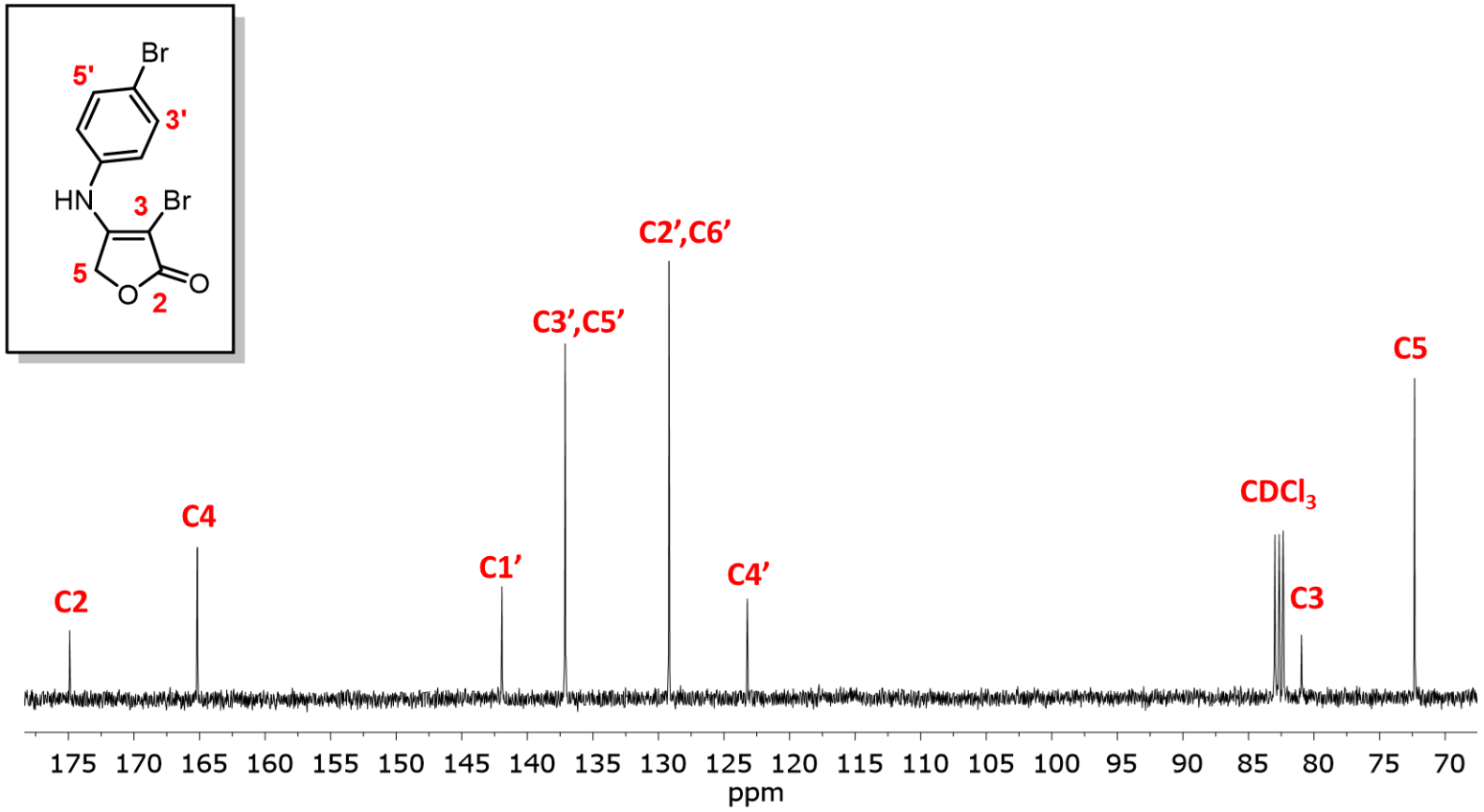



**Figura AP-2.27.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.13**.

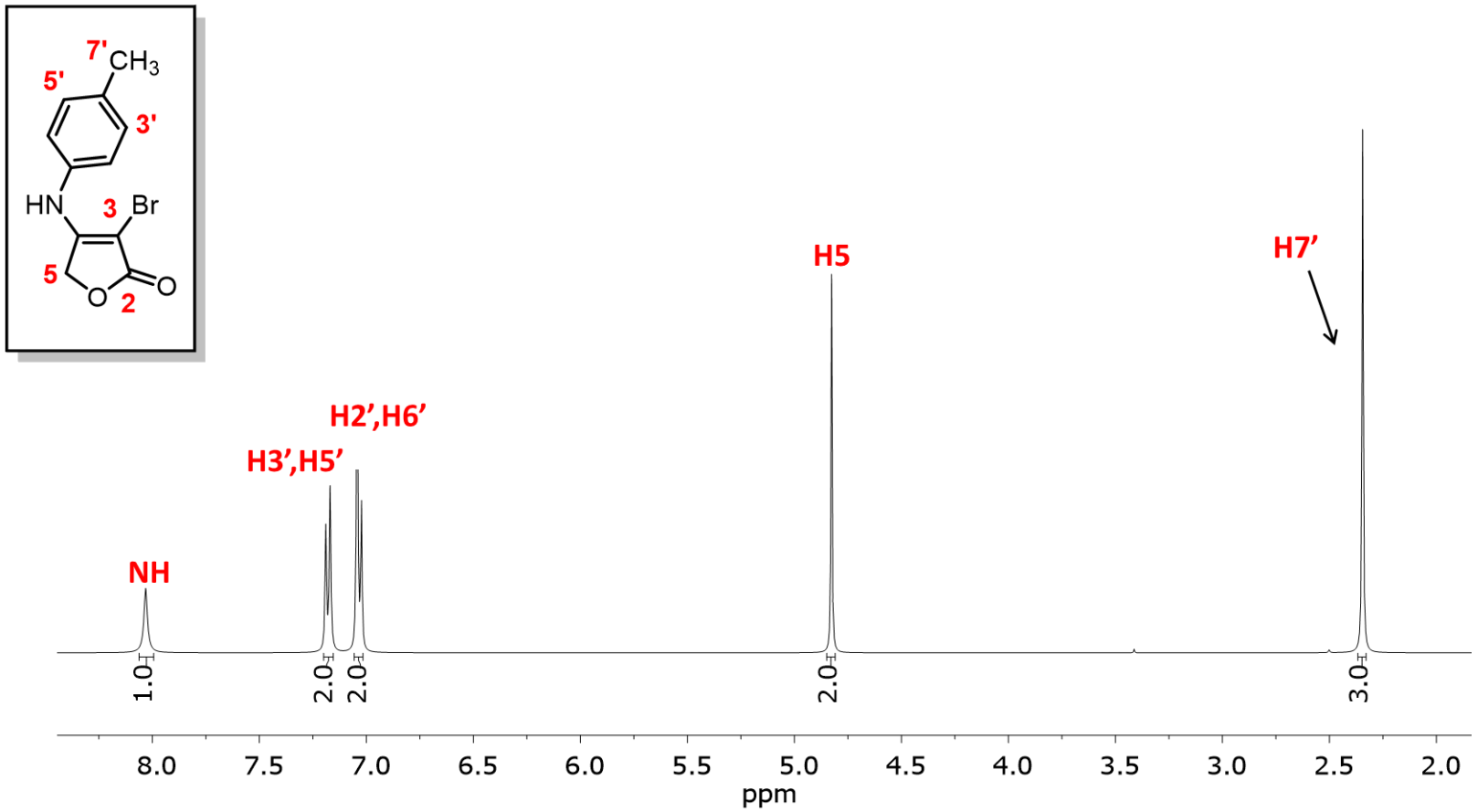



**Figura AP-2.28.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.14**.

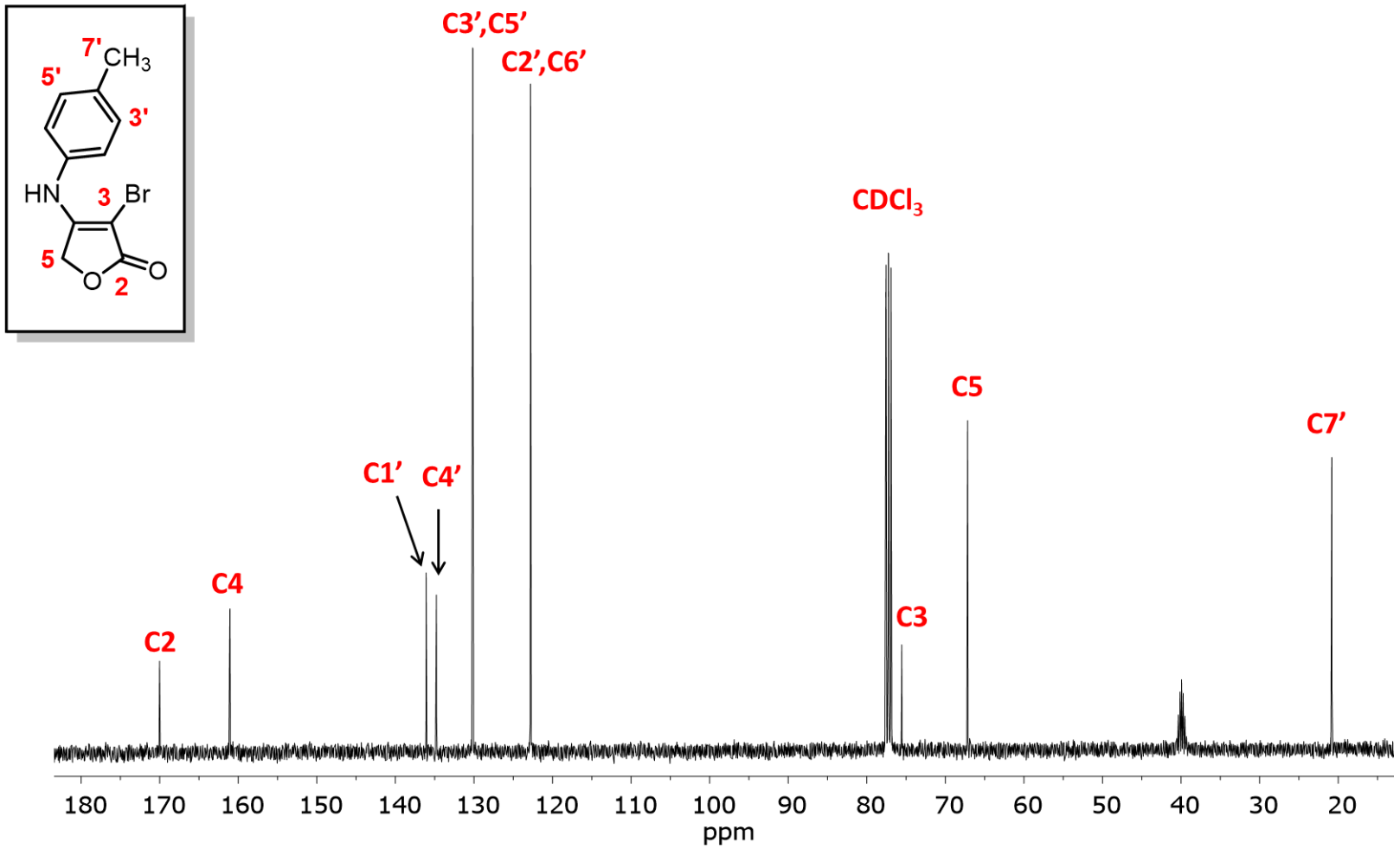



**Figura AP-2.29.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.14**.

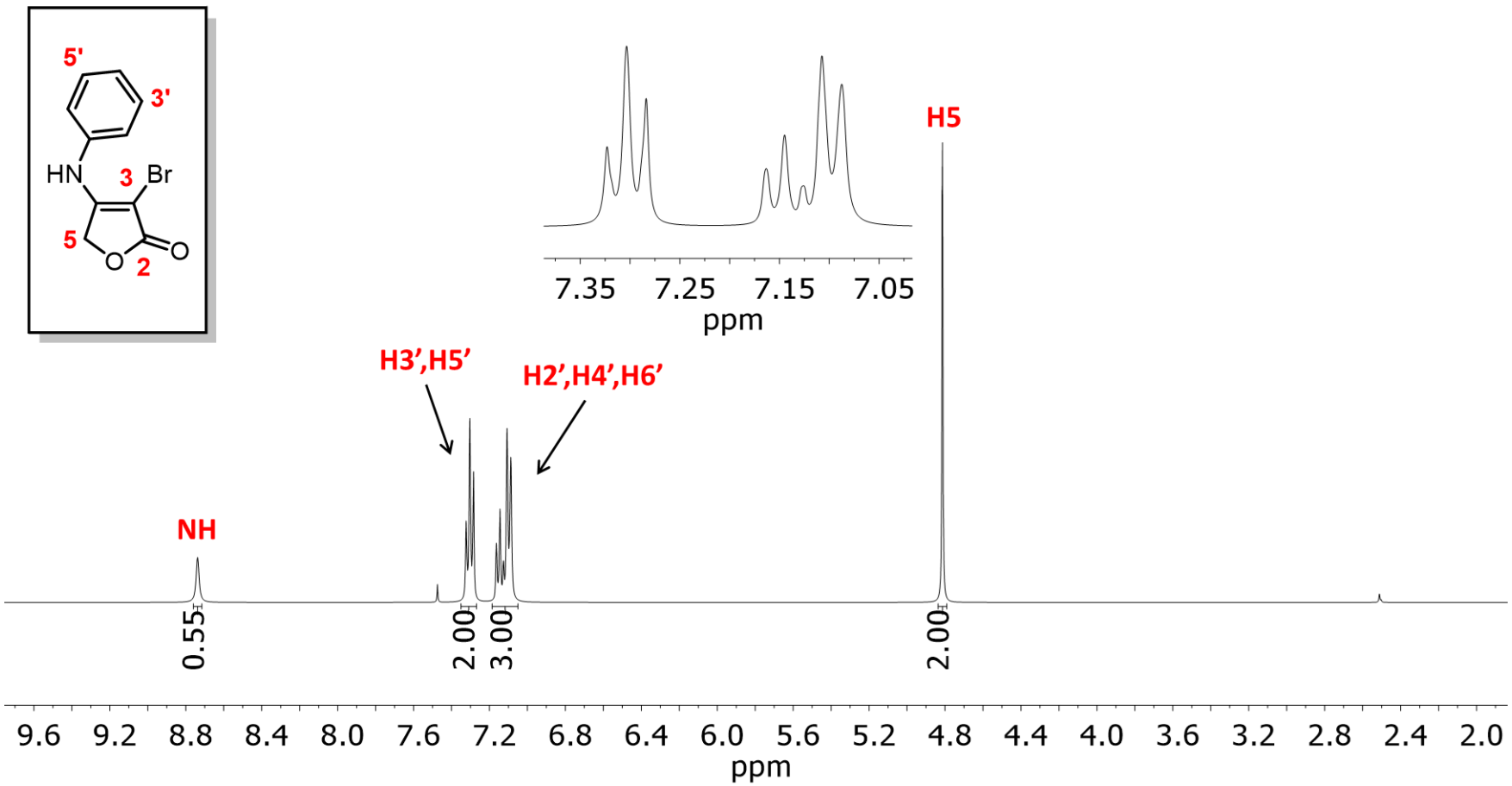



**Figura AP-2.30.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.15**.

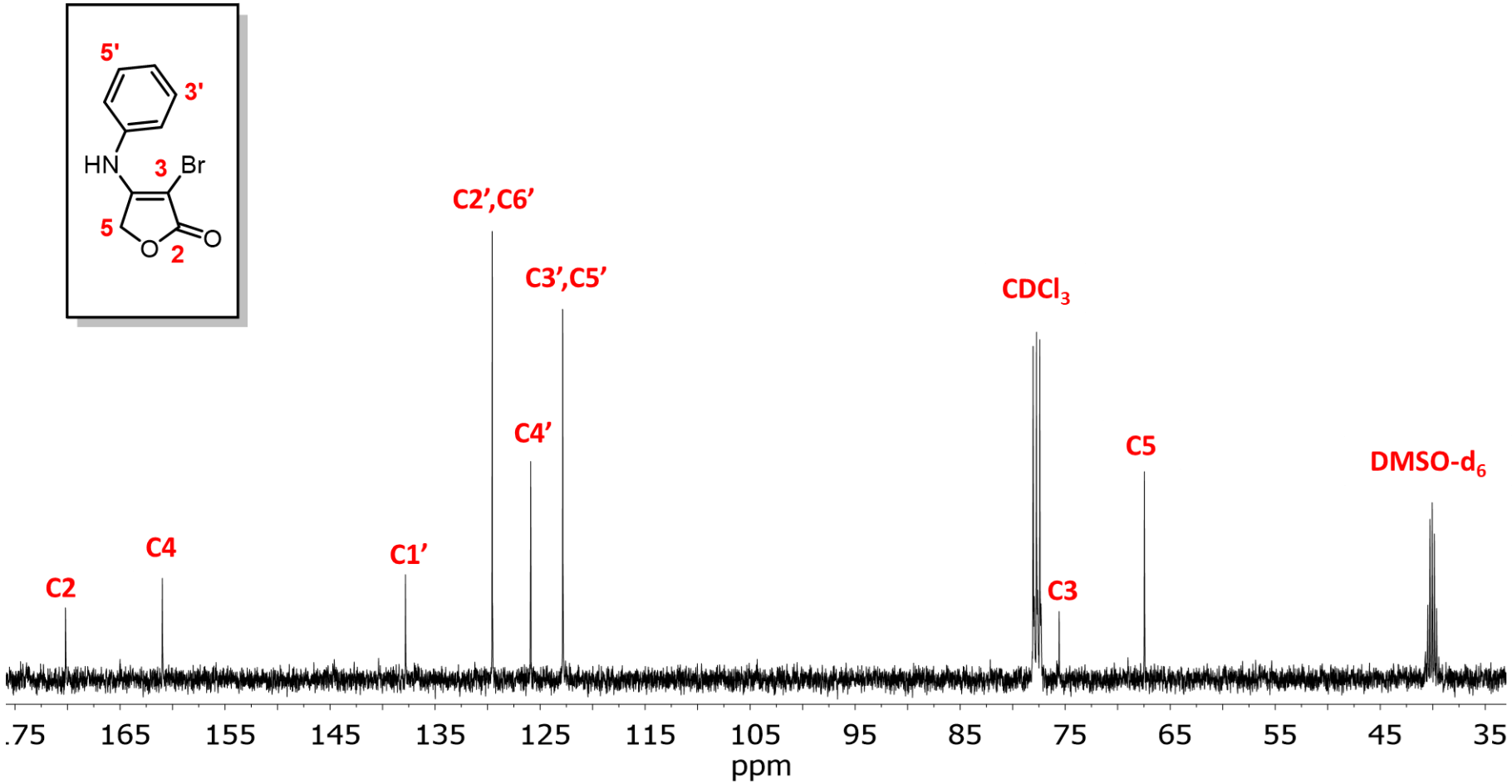



**Figura AP-2.31.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.15**.

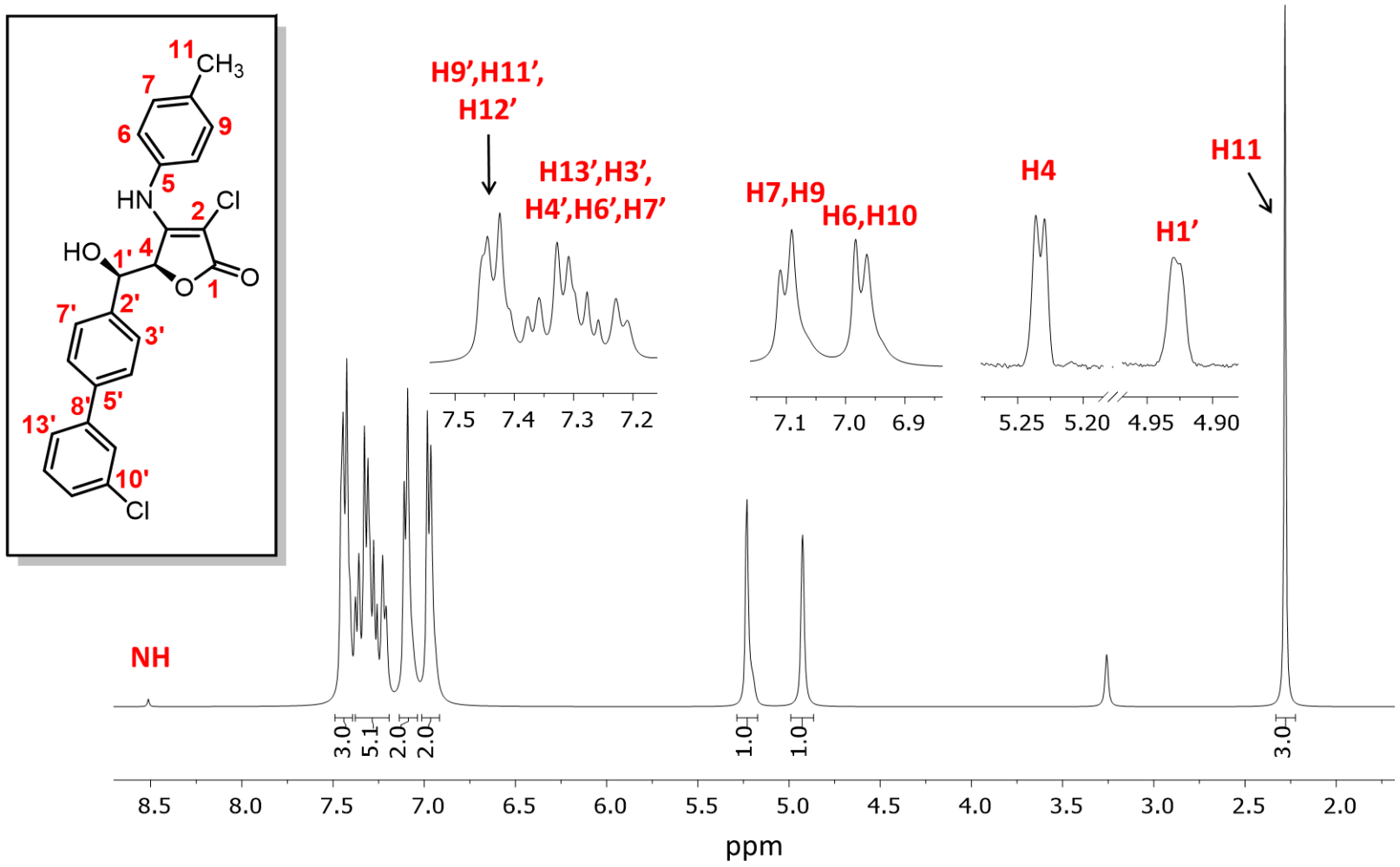



**Figura AP-2.32.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.16**.

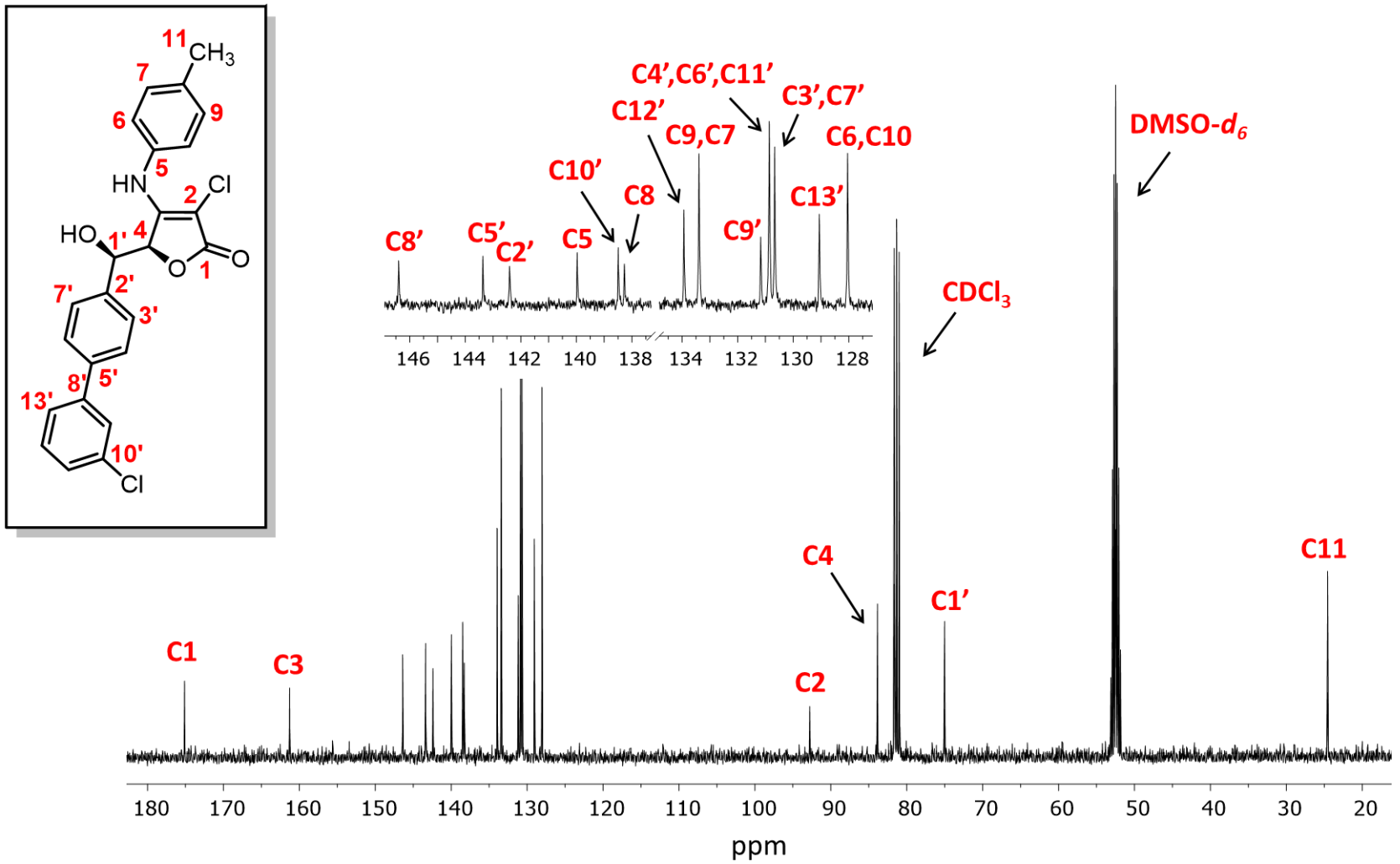



**Figura AP-2.33.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.16**.

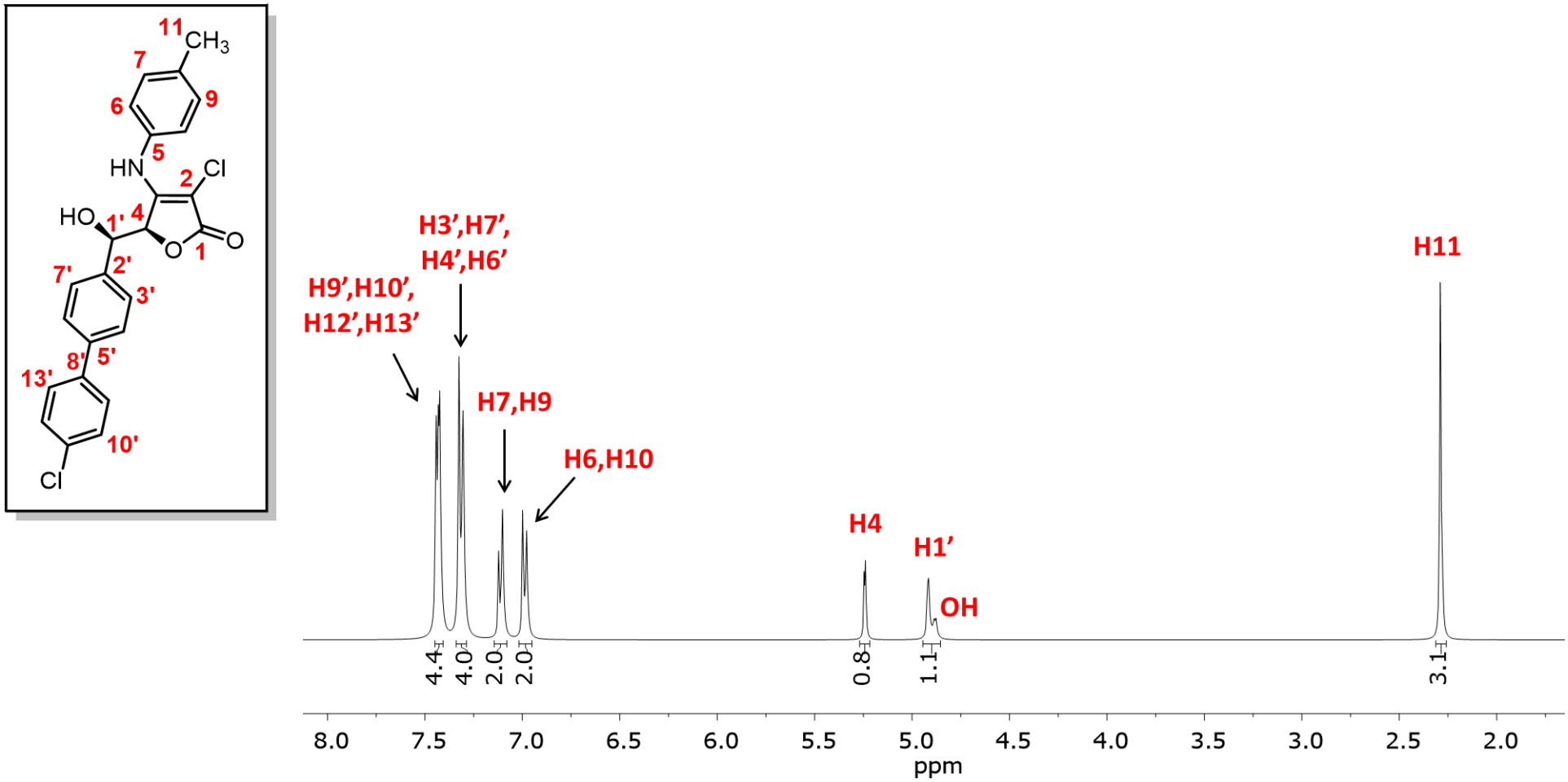



**Figura AP-2.34.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.17**.

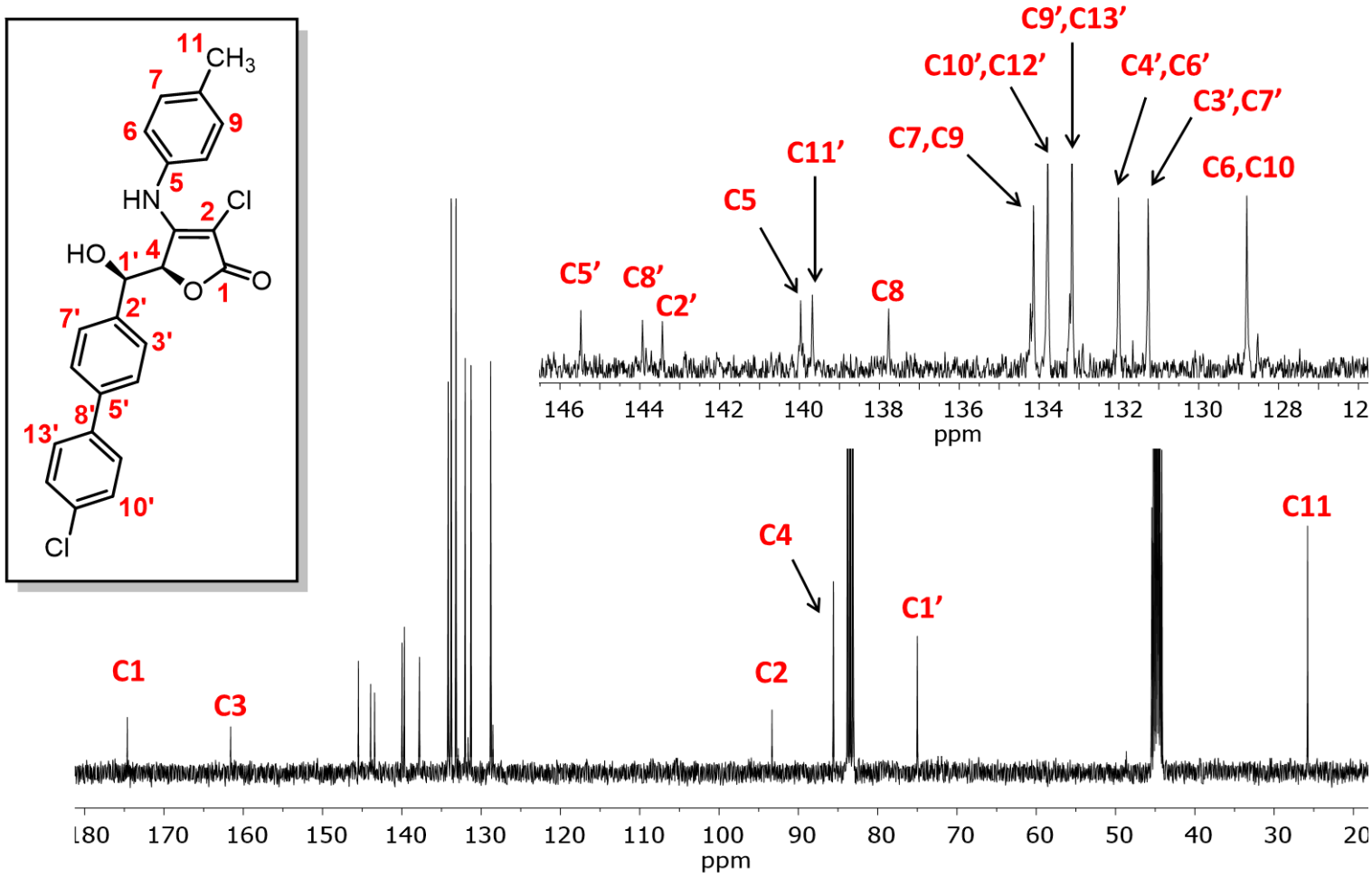



**Figura AP-2.35.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.17**.

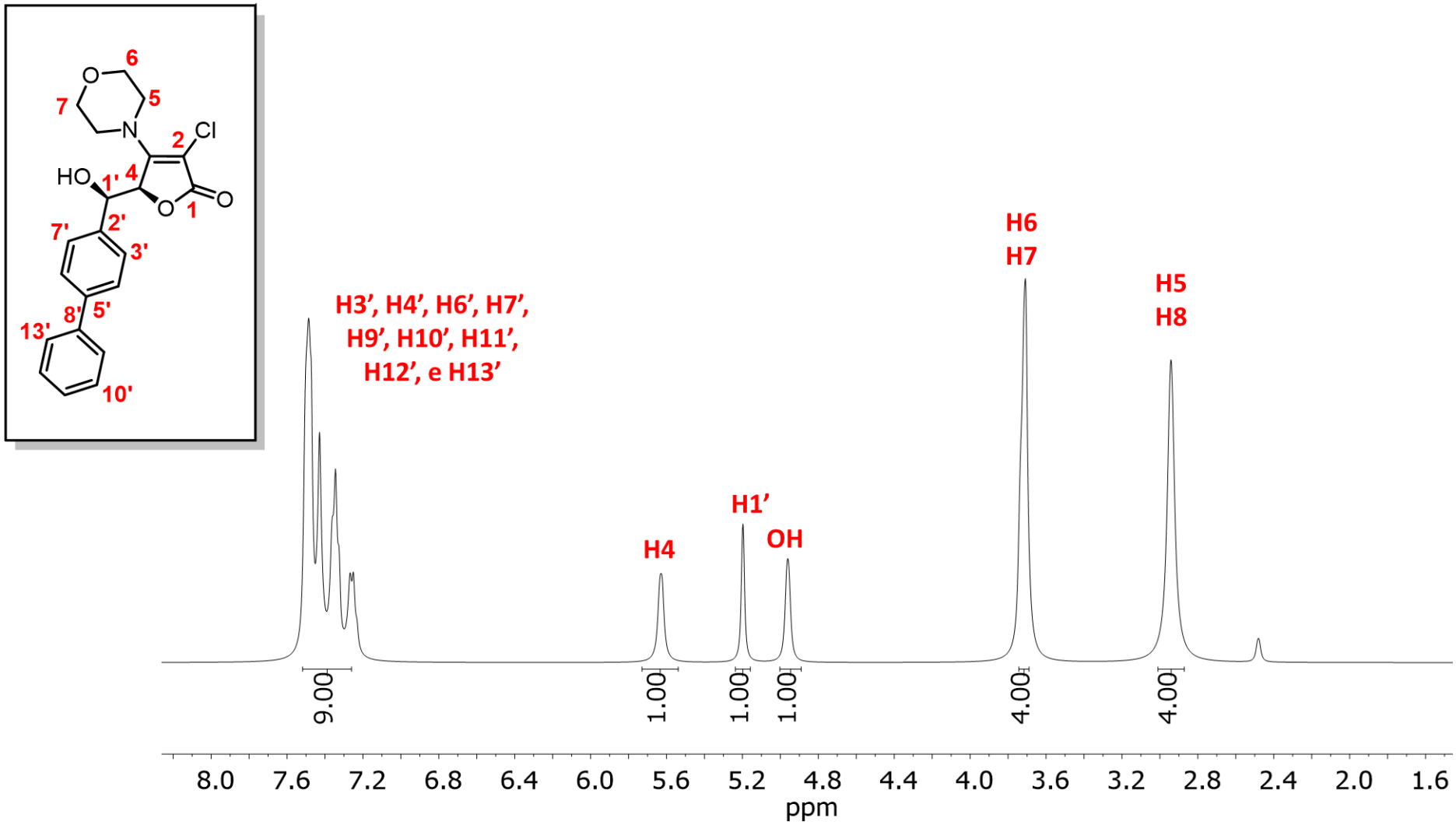



**Figura AP-2.36.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.18**.

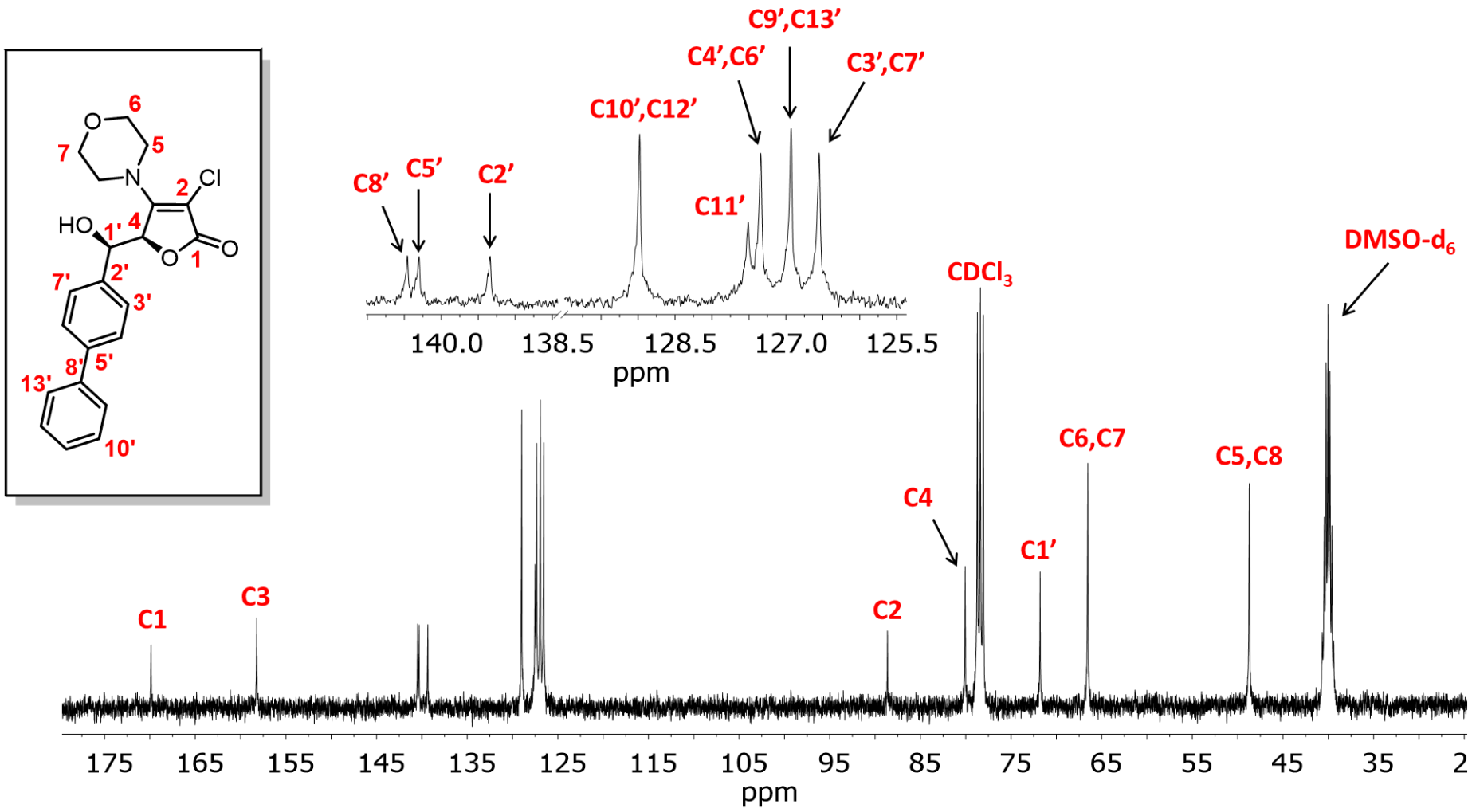



**Figura AP-2.37.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.18**.

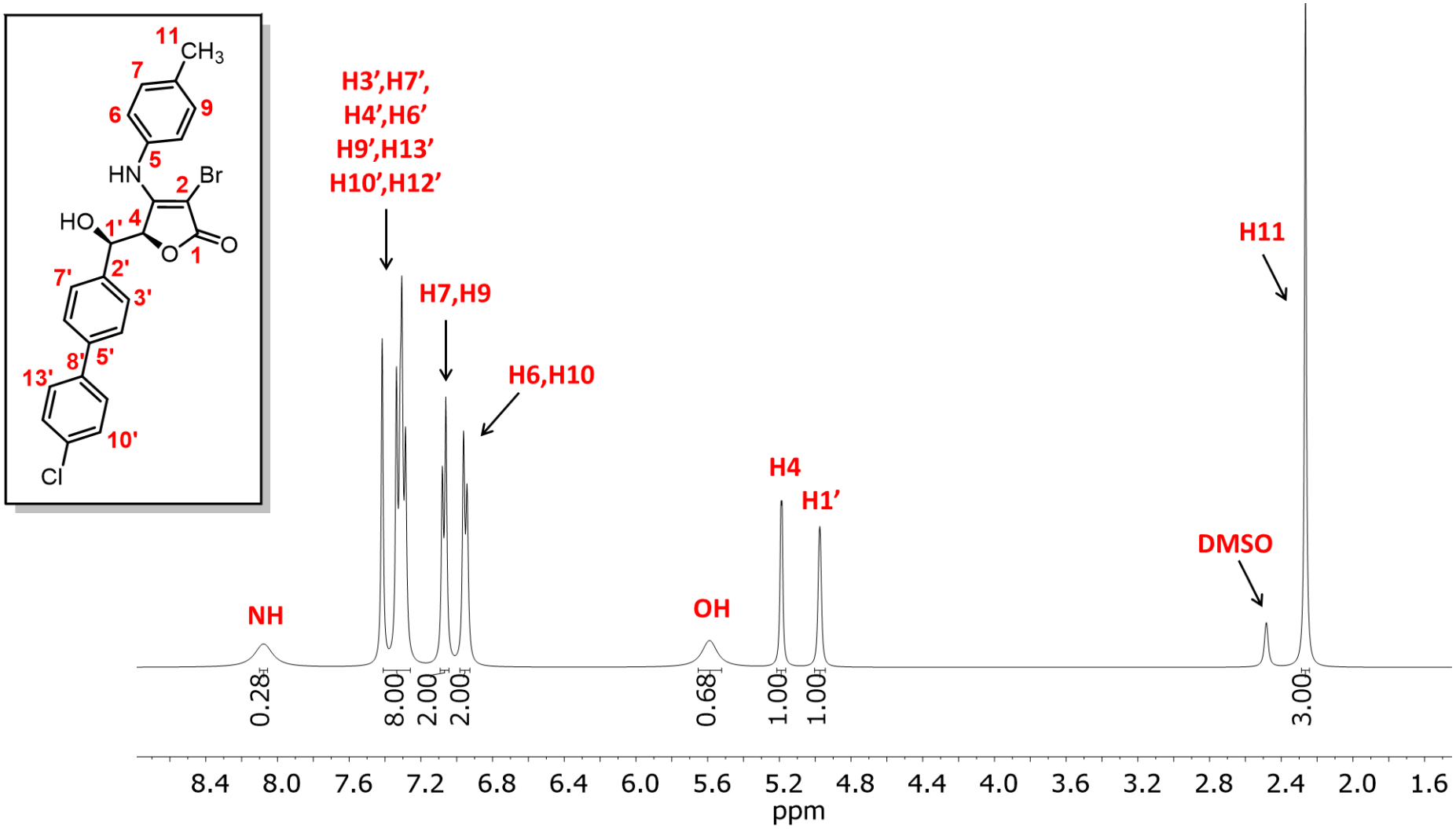



**Figura AP-2.38.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.19**.

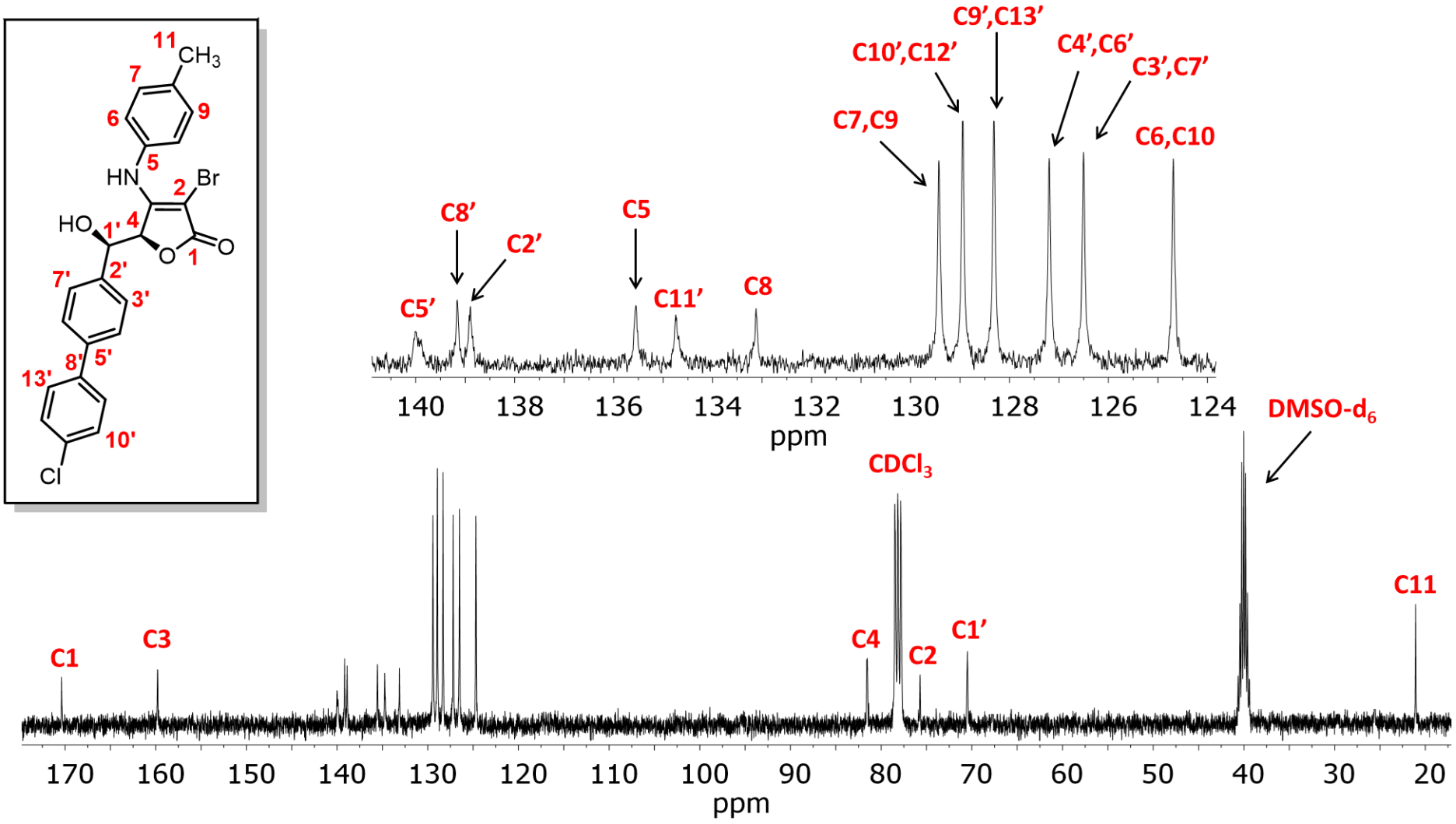



**Figura AP-2.39.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.19**.

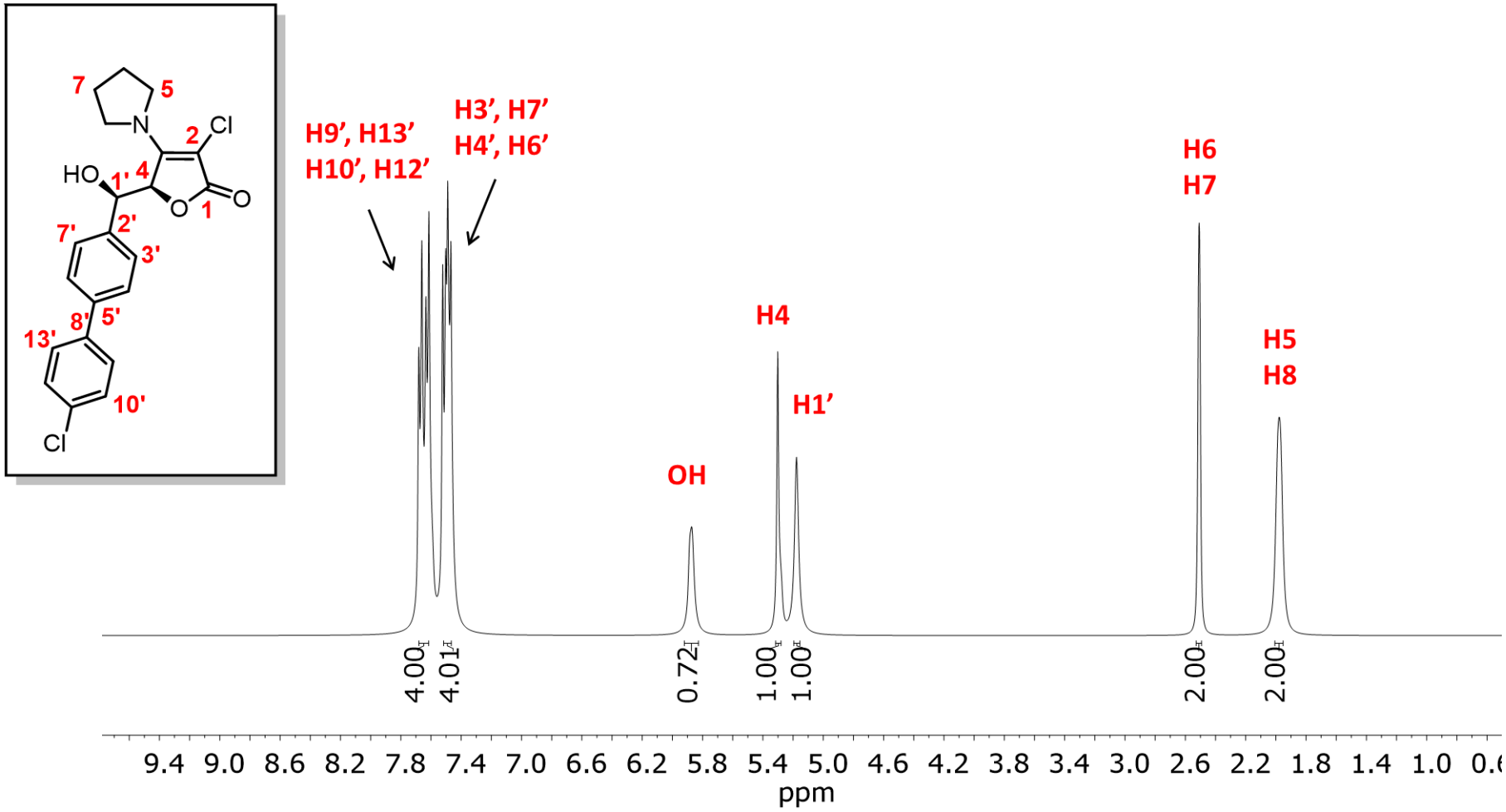



**Figura AP-2.40.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.20**.

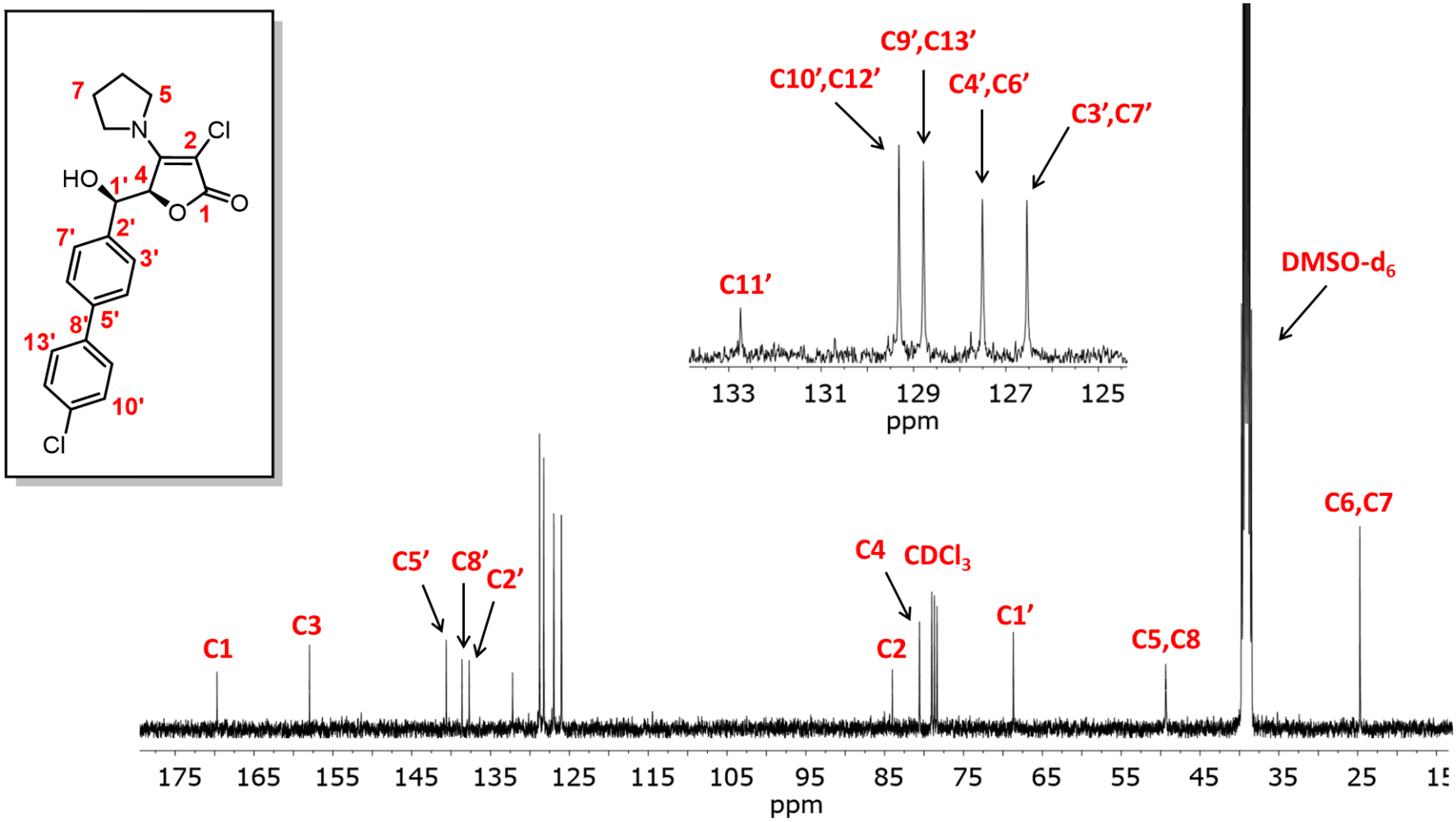



**Figura AP-2.41.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.20**.

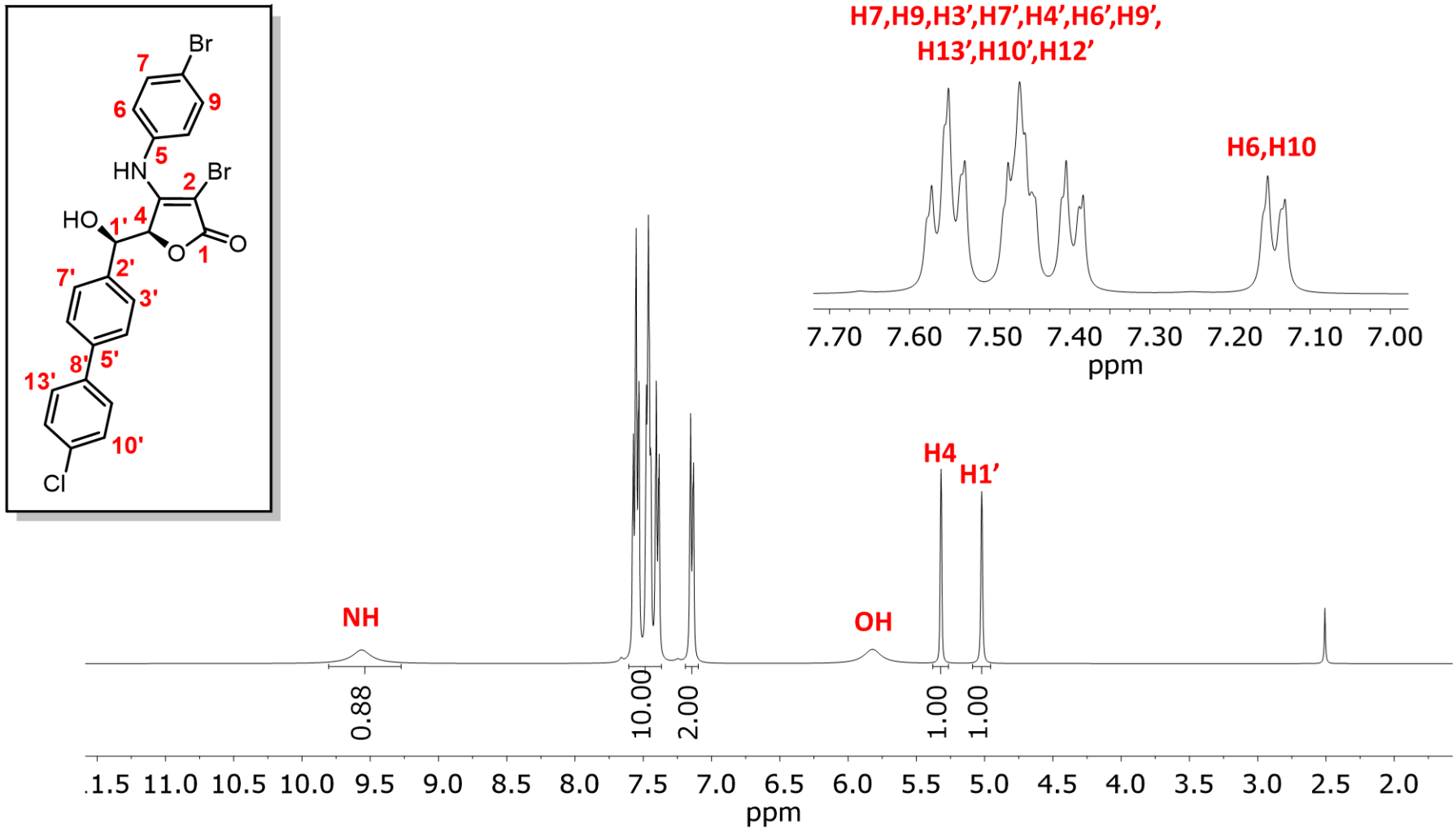



**Figura AP-2.42.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.21**.

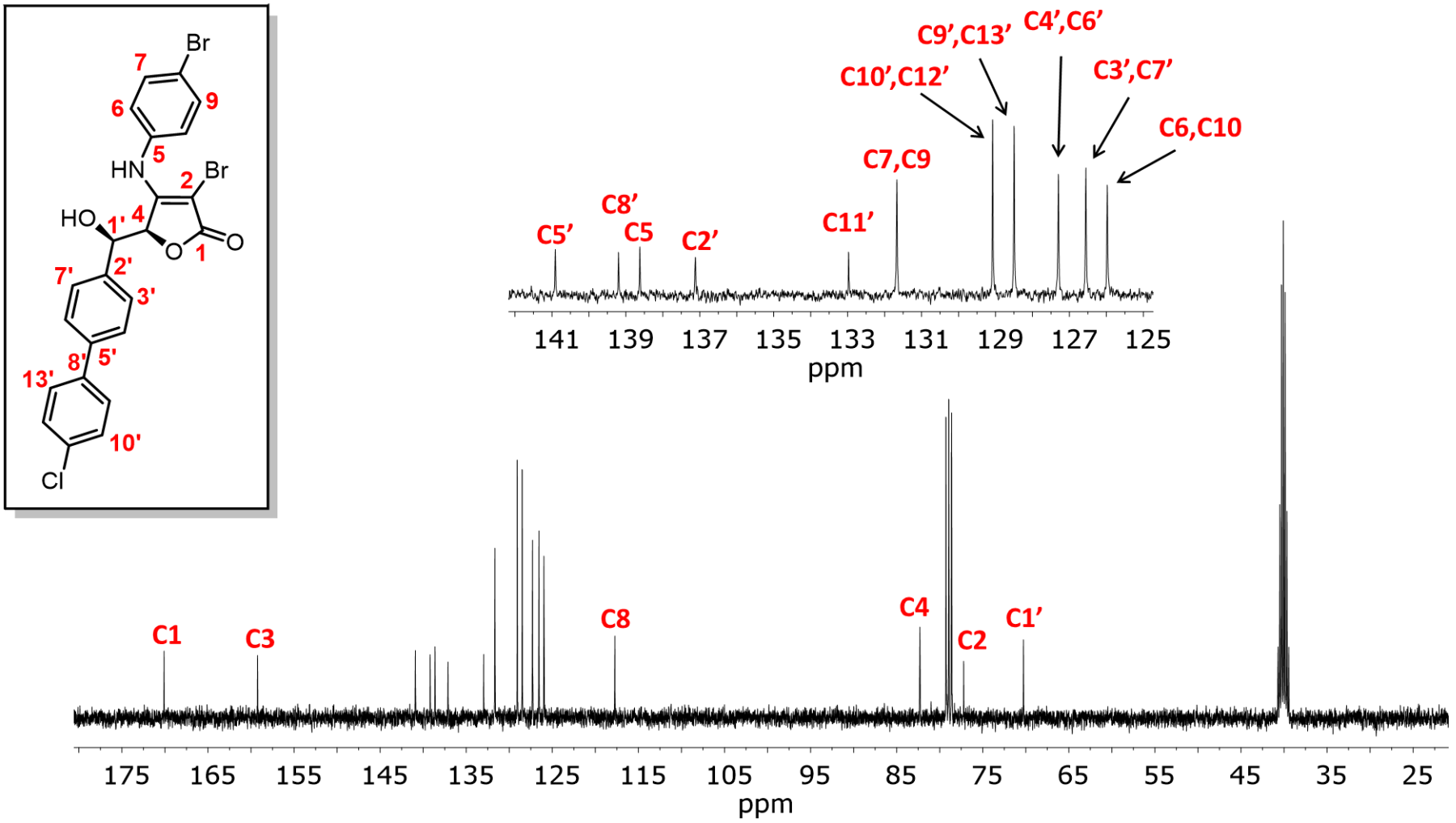



**Figura AP-2.43.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.21**.

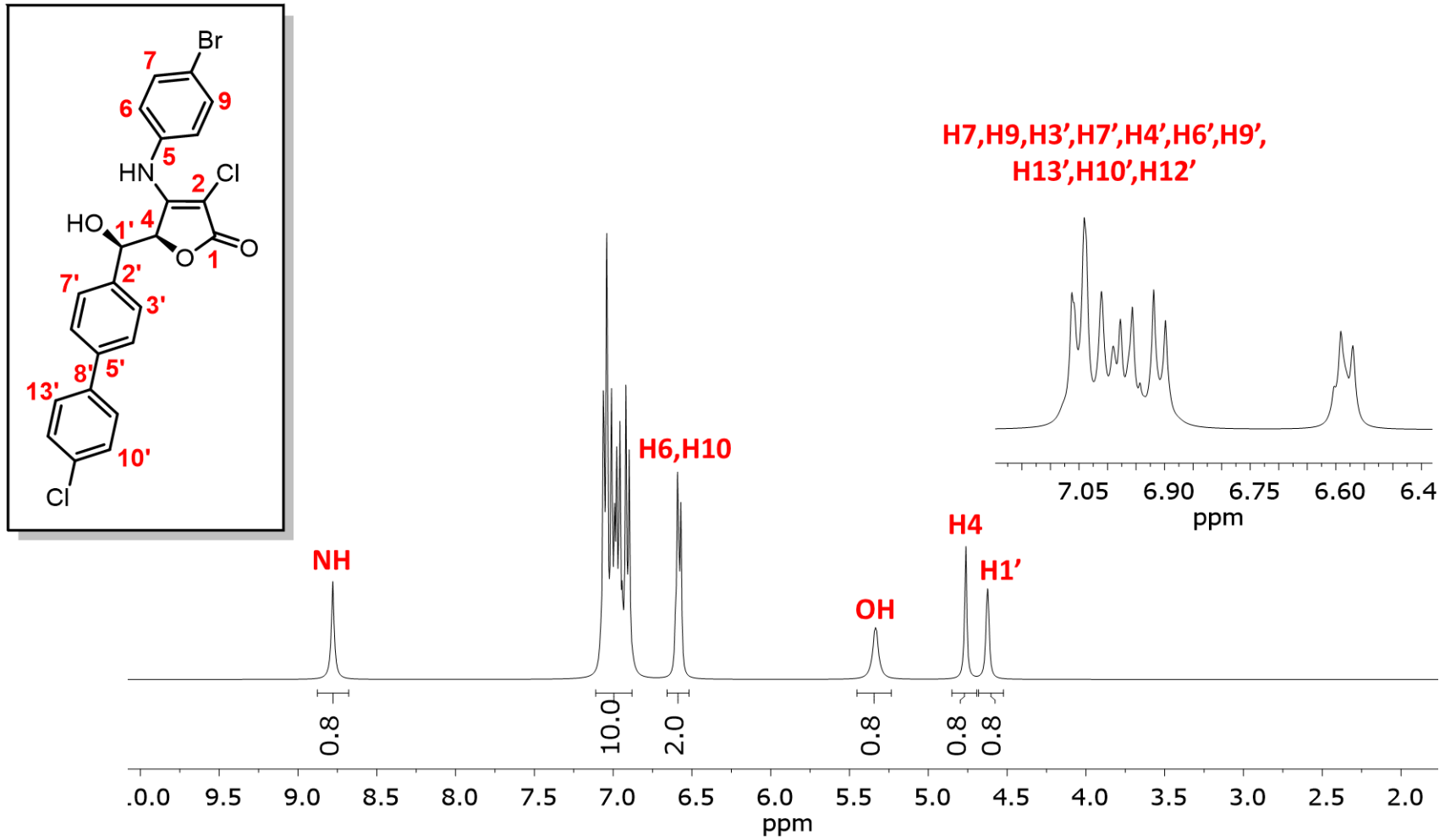



**Figura AP-2.44.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.22**.

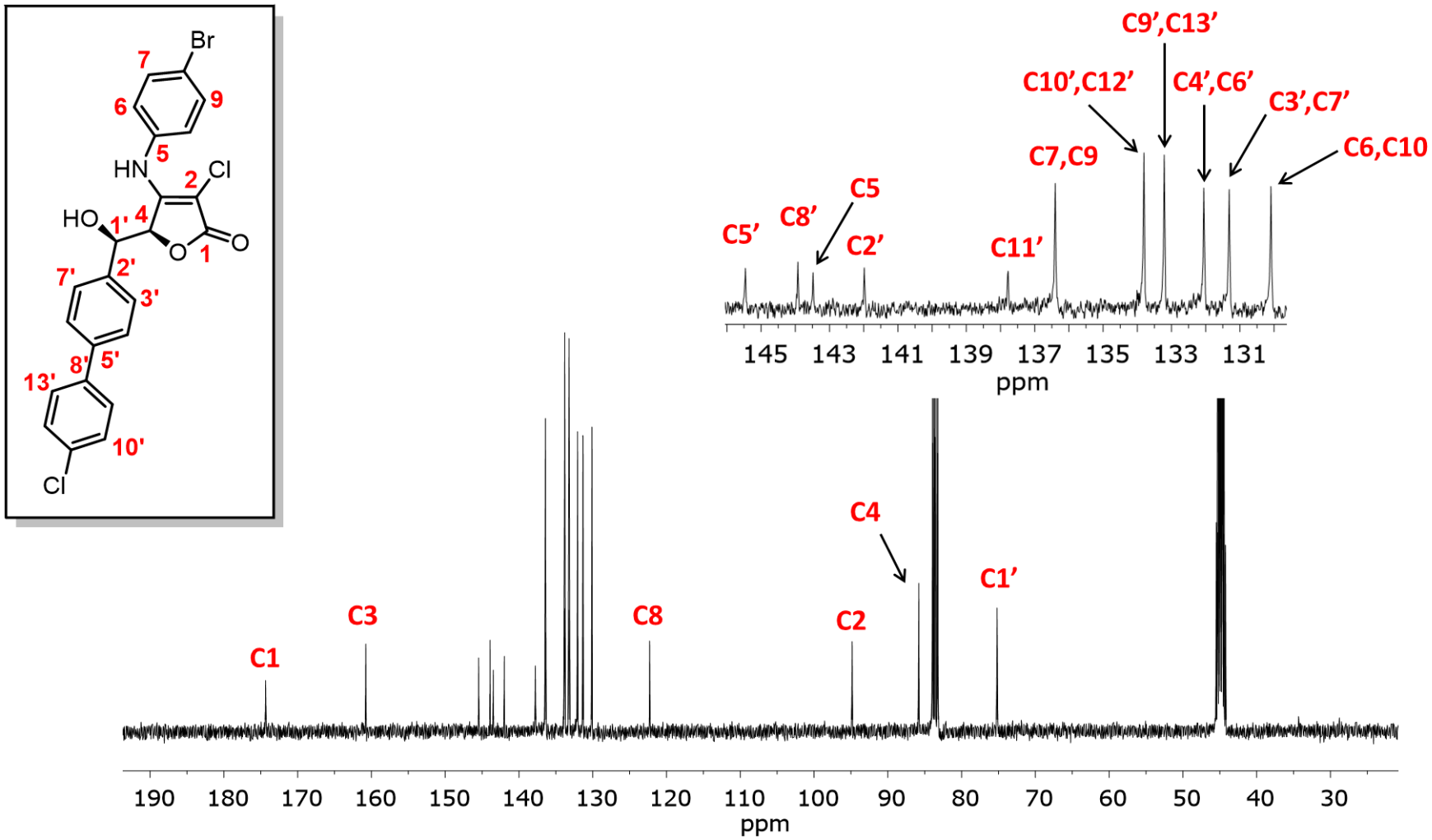



**Figura AP-2.45.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.22**.

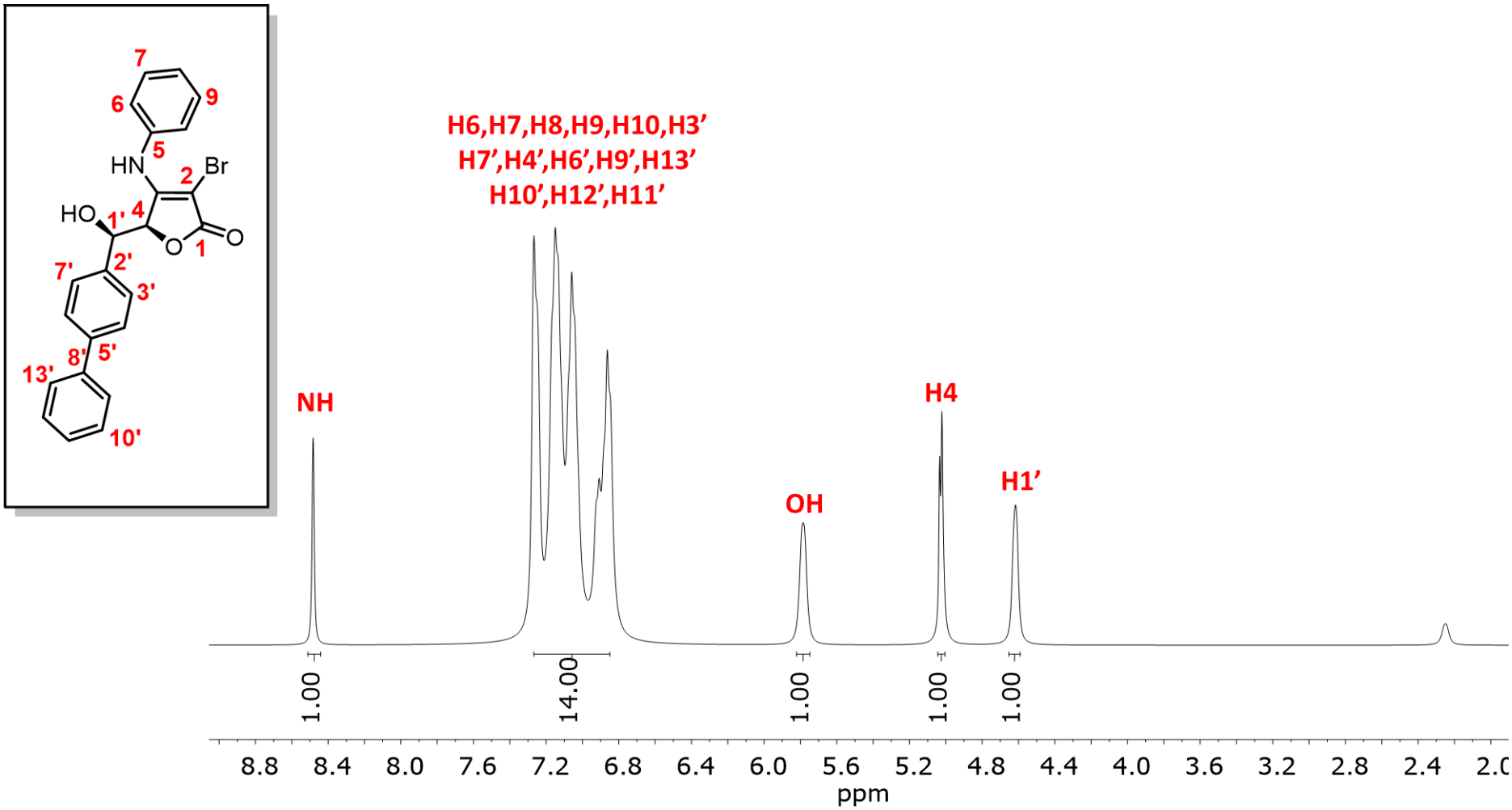



**Figura AP-2.46.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.23**.

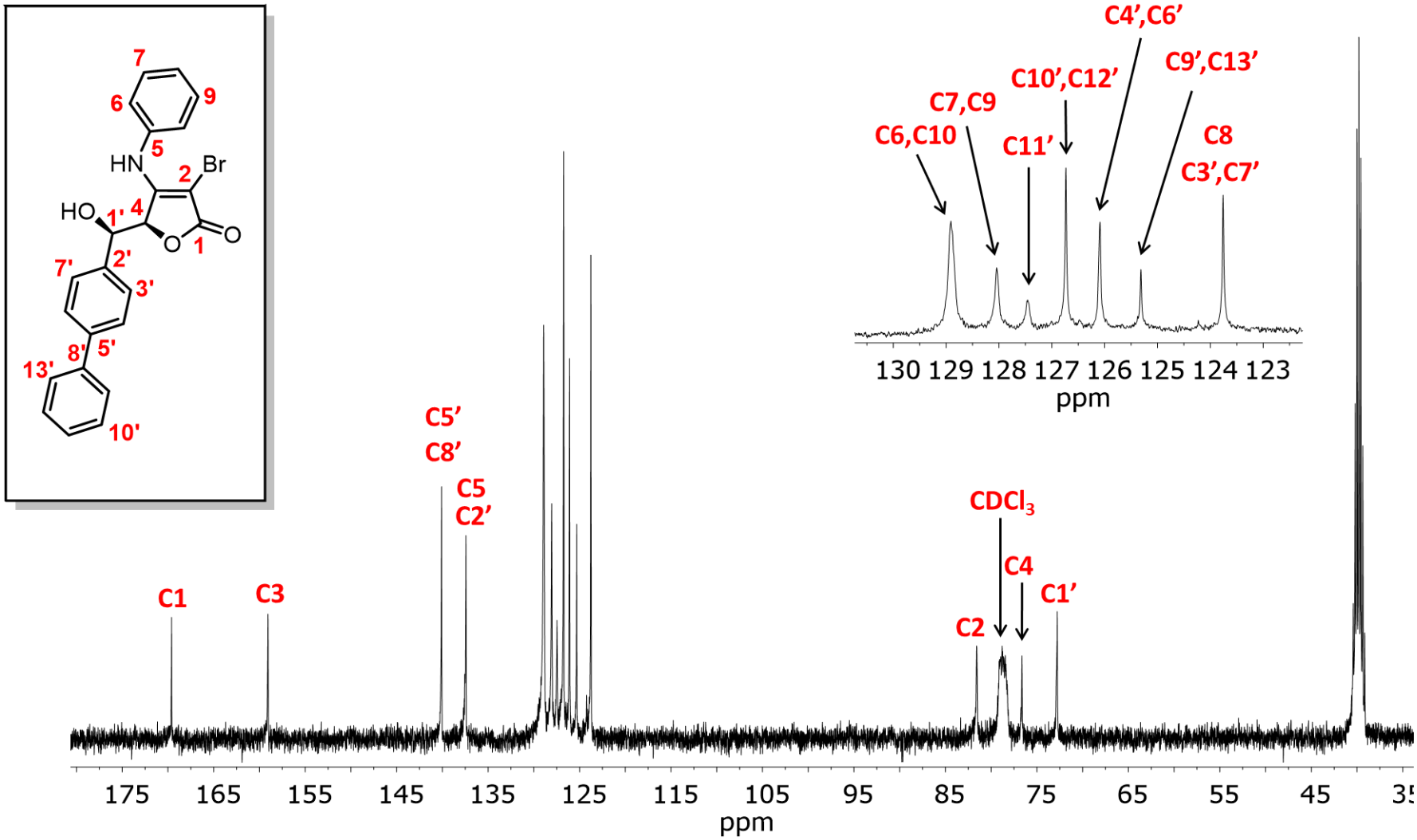



**Figura AP-2.47.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.23**.

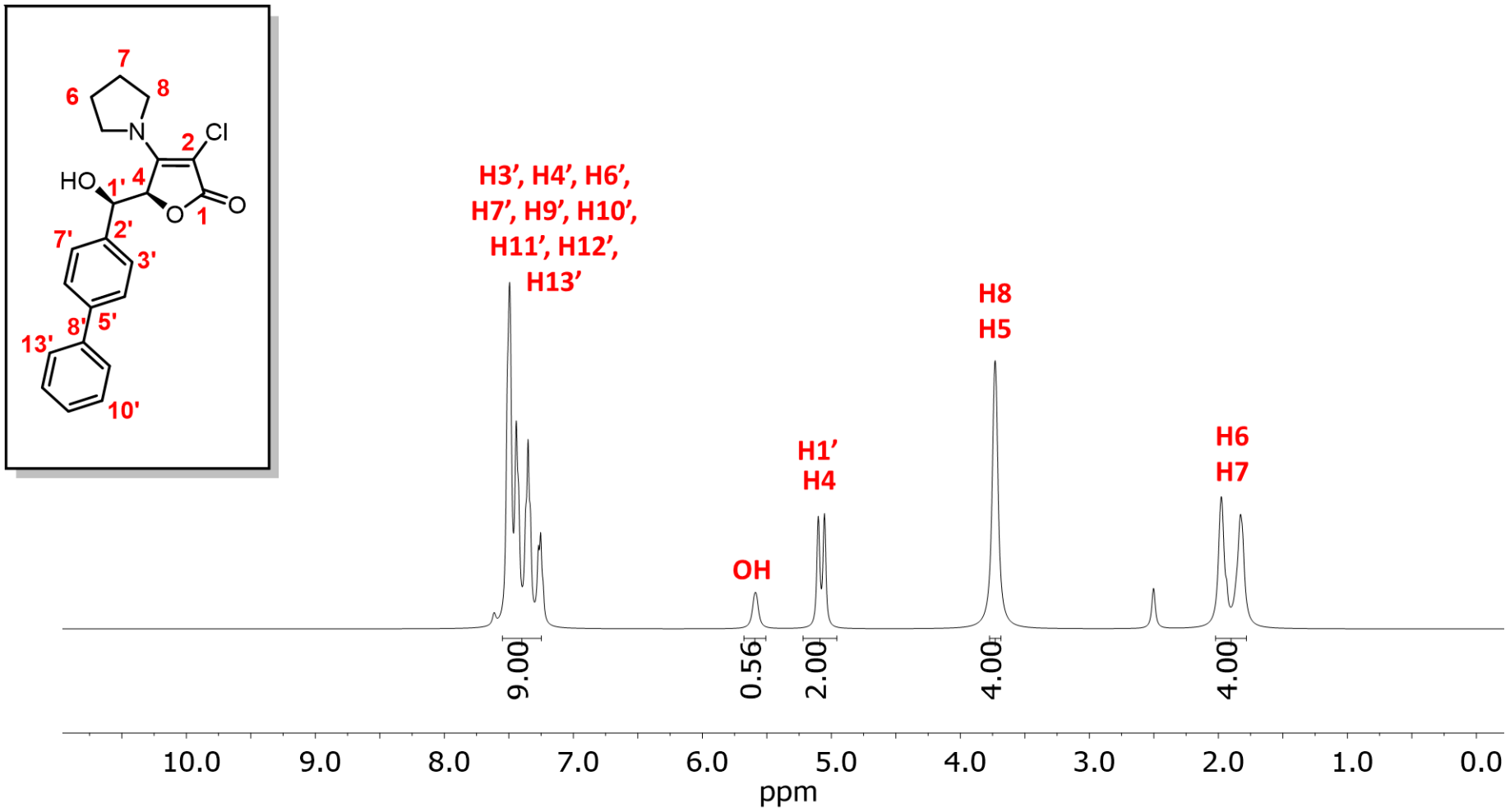



**Figura AP-2.48.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.24**.

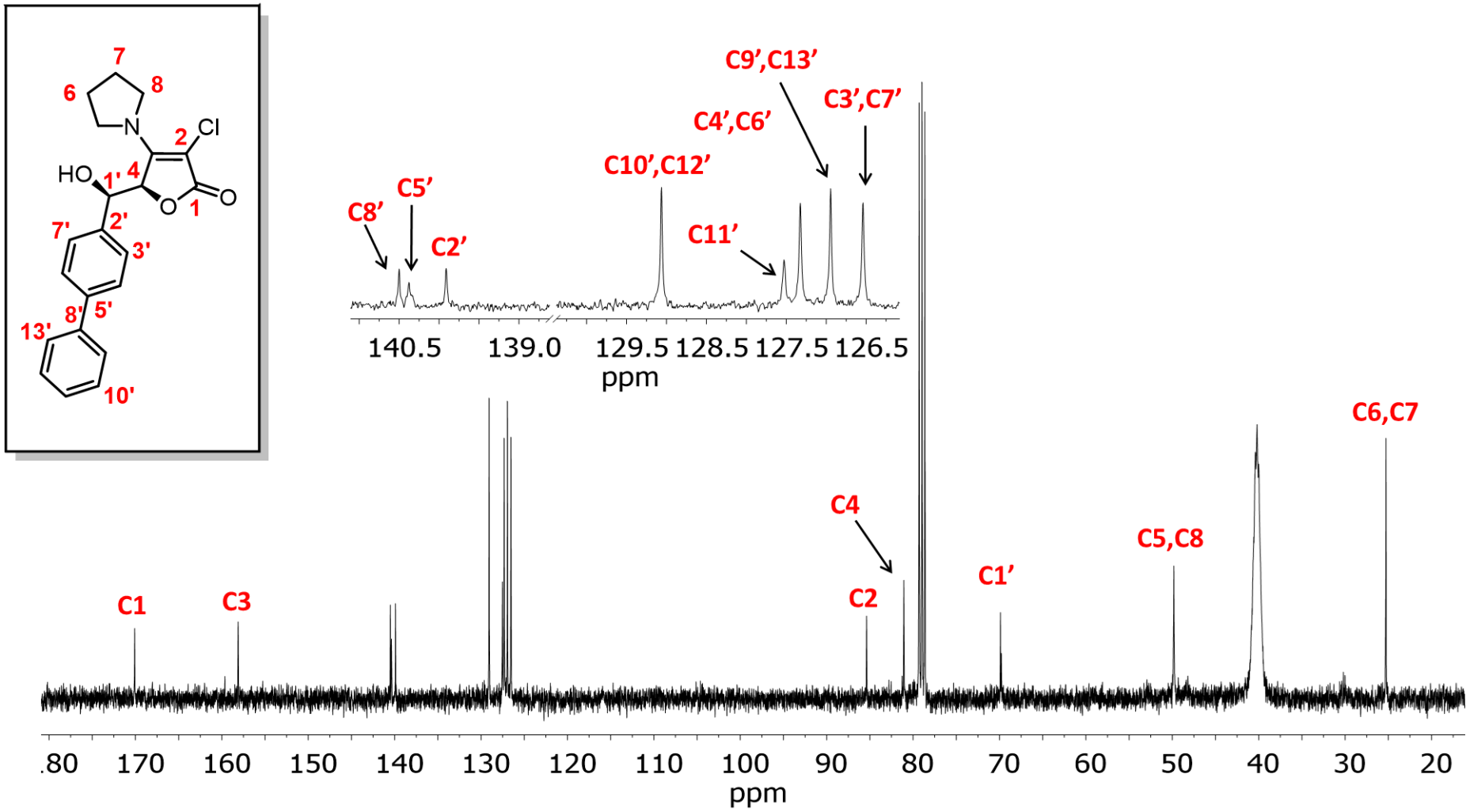



**Figura AP-2.49.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.24**.

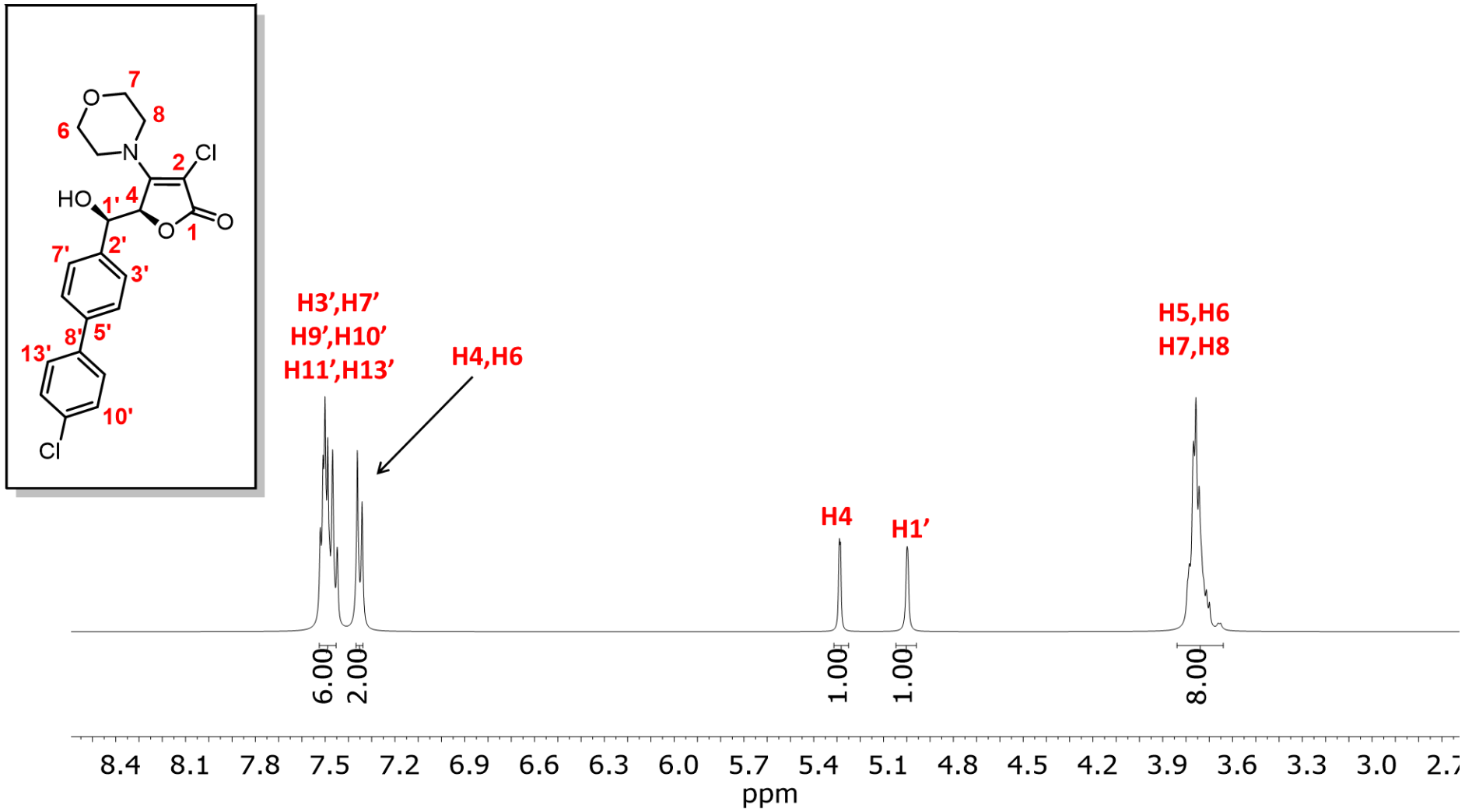



**Figura AP-2.50.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.25**.

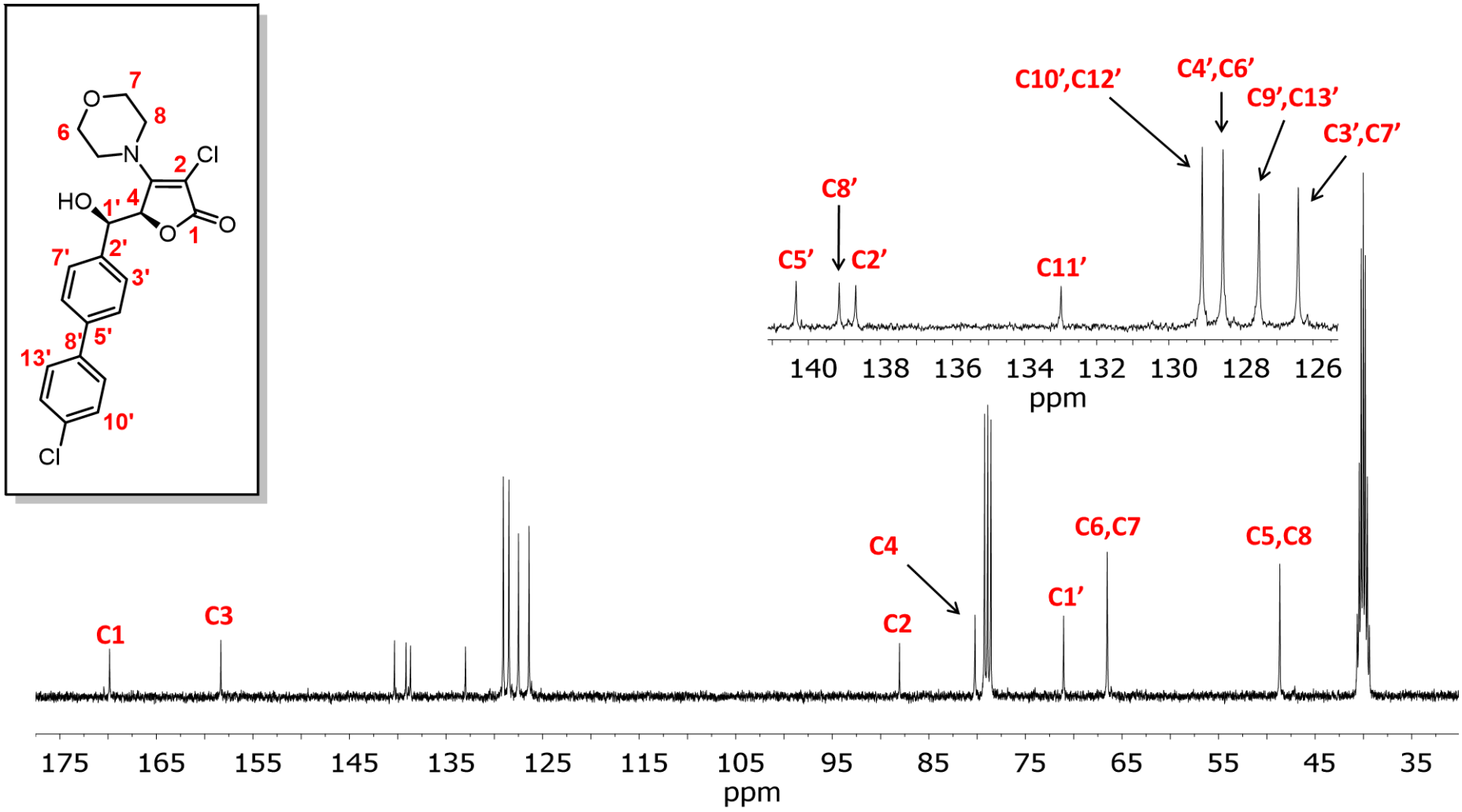



**Figura AP-2.51.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.25**.

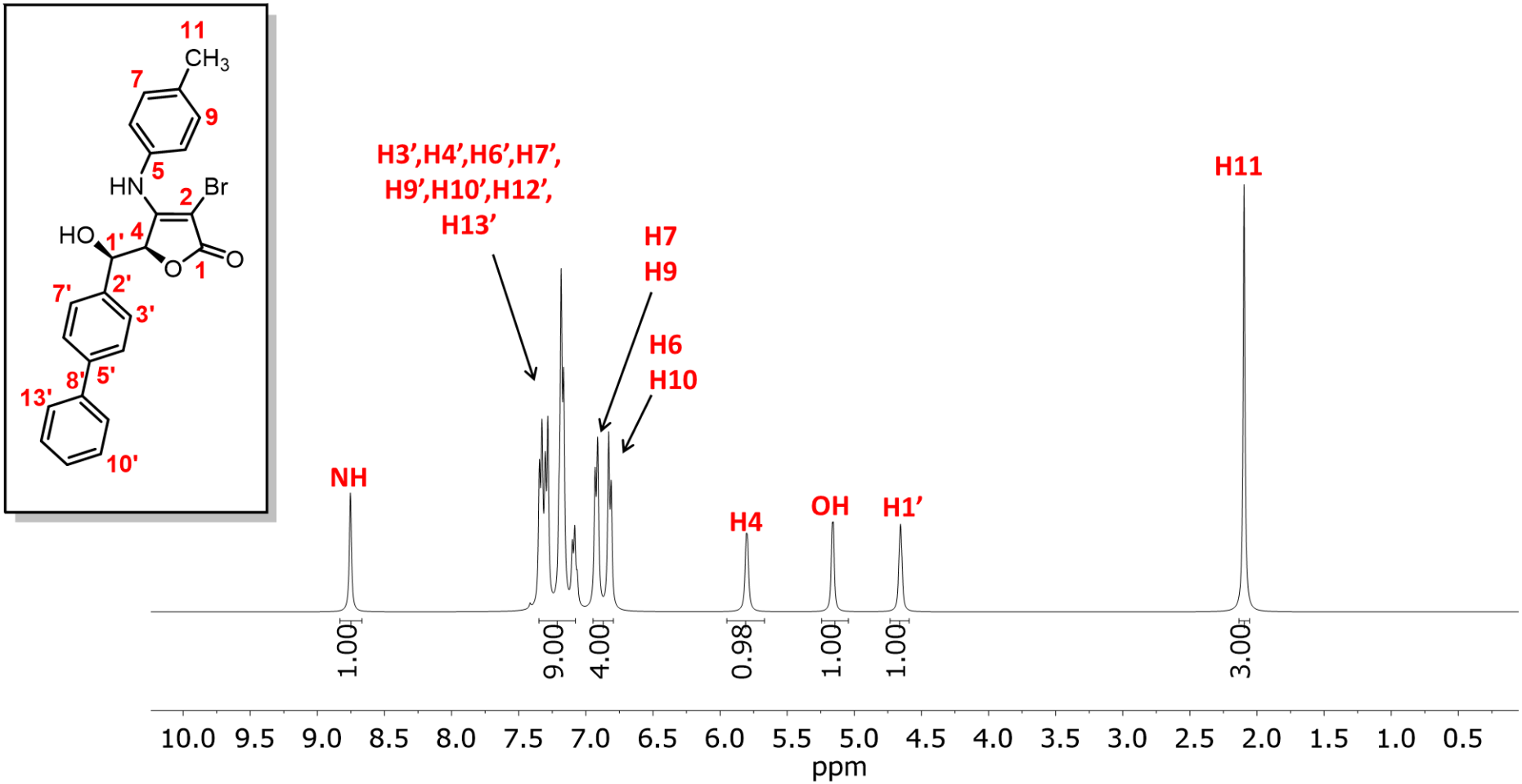



**Figura AP-2.52.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **J-2.26**.

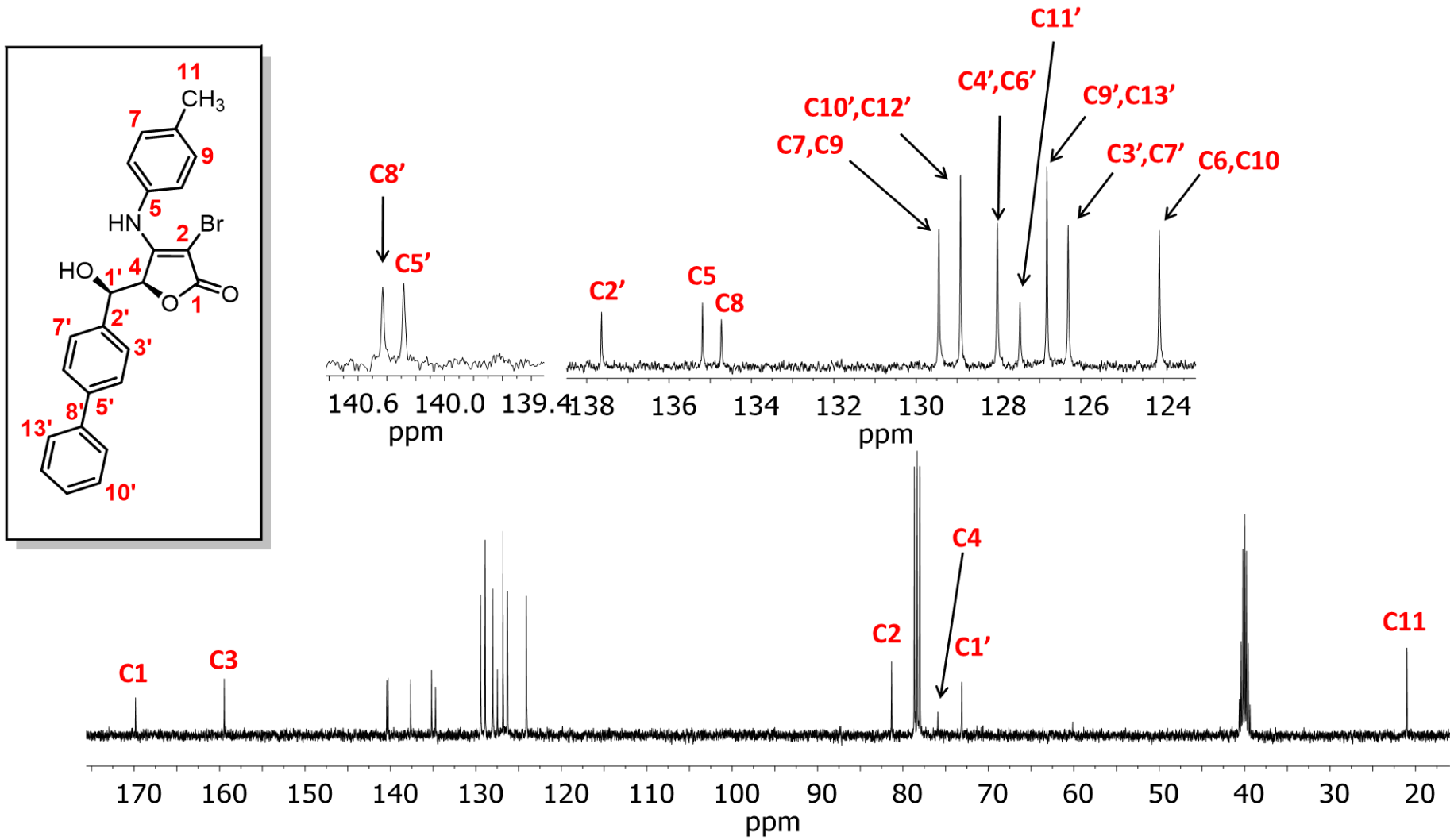



**Figura AP-2.53.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.26**.

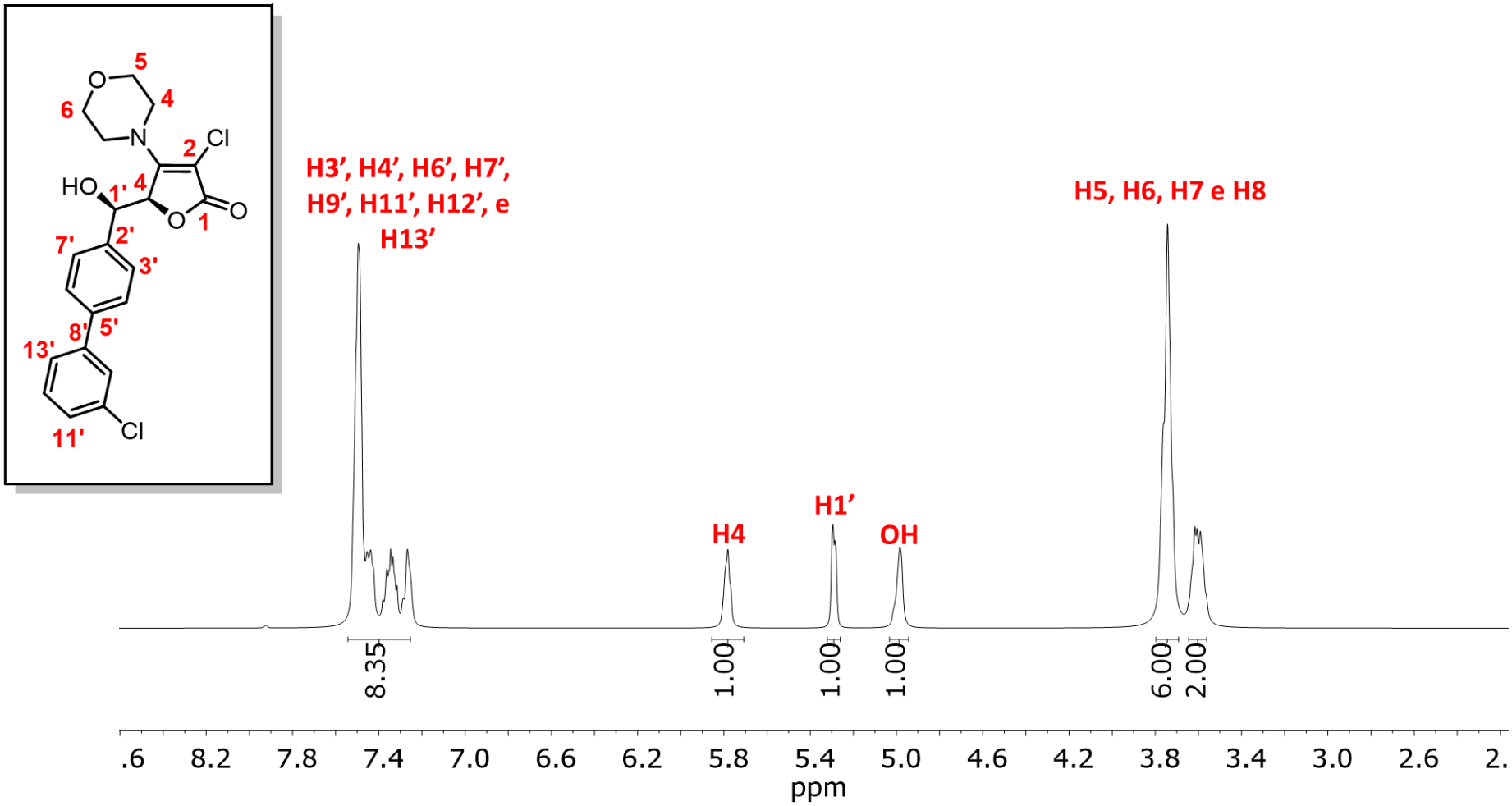



**Figura AP-2.54.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.27**.

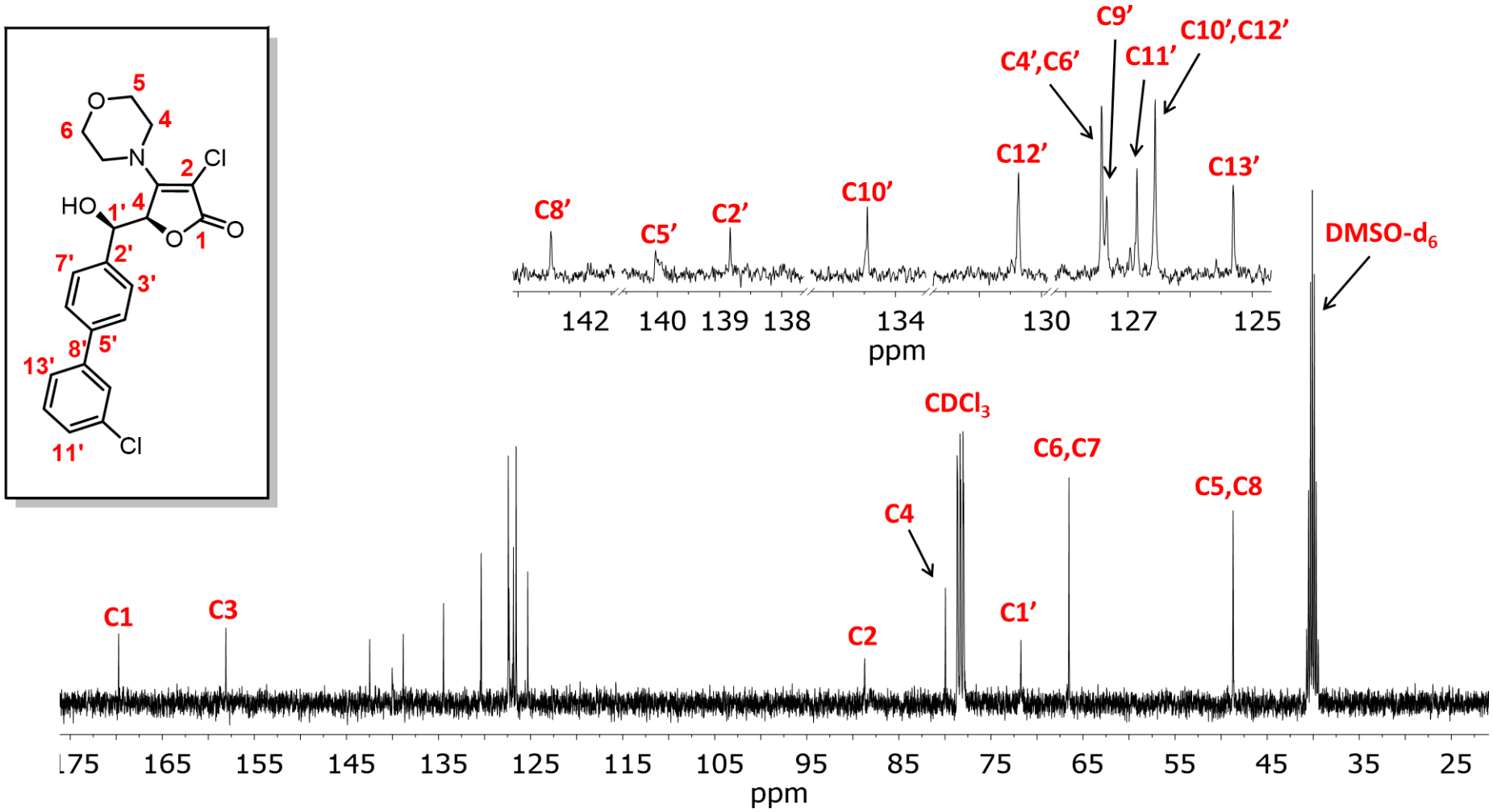



**Figura AP-2.55.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.27**.

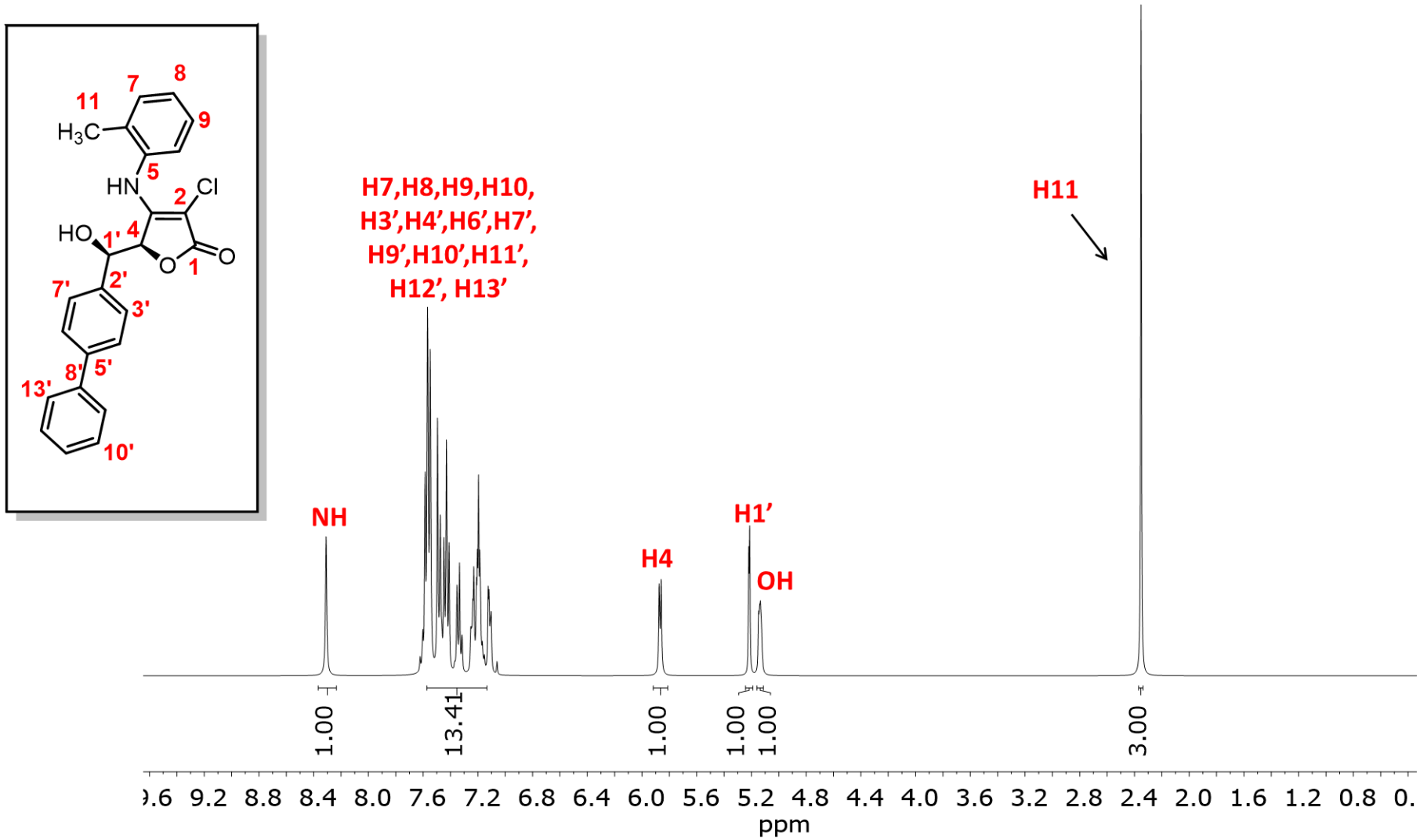



**Figura AP-2.56.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.28**.

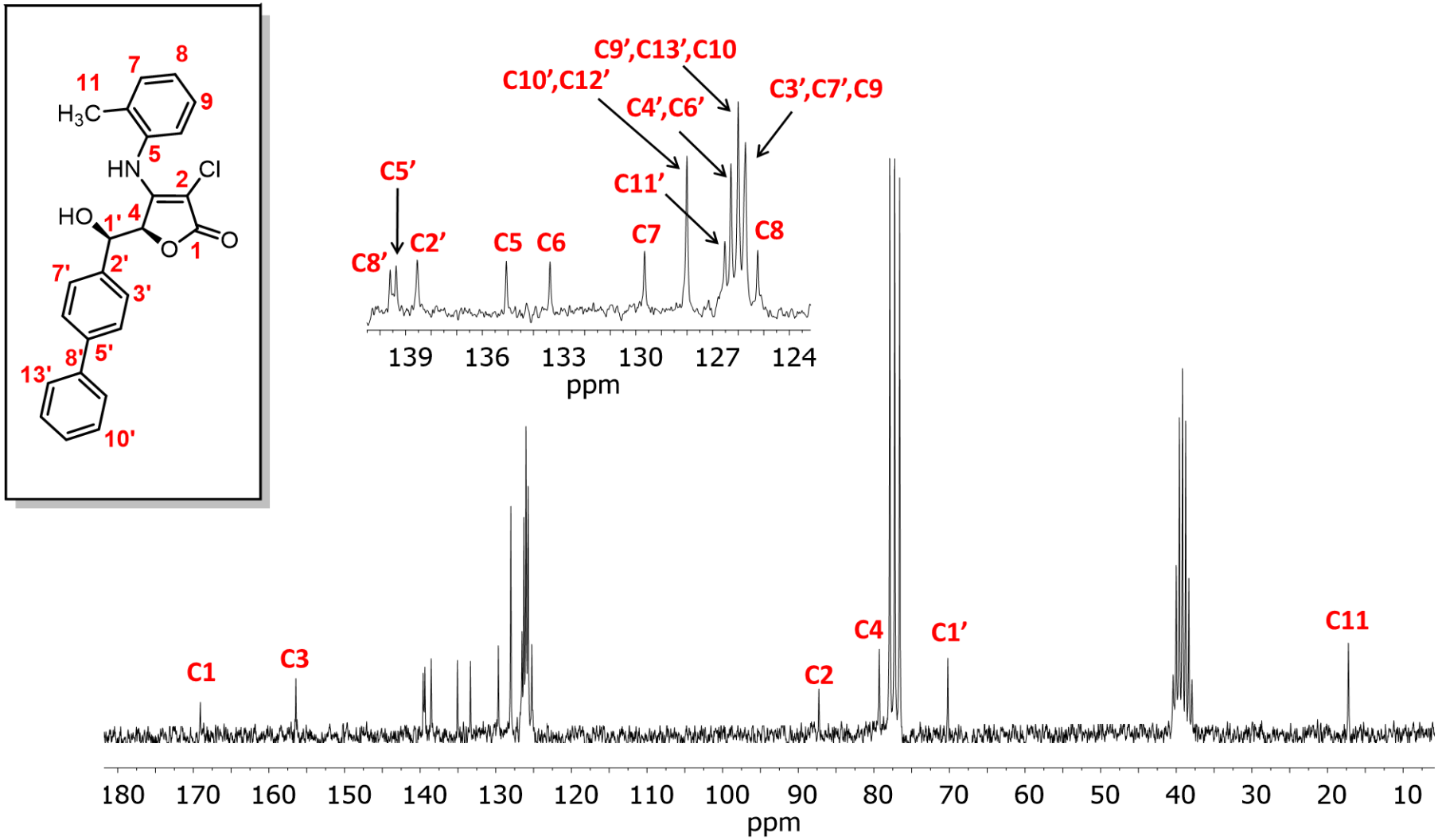



**Figura AP-2.57.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.28**.

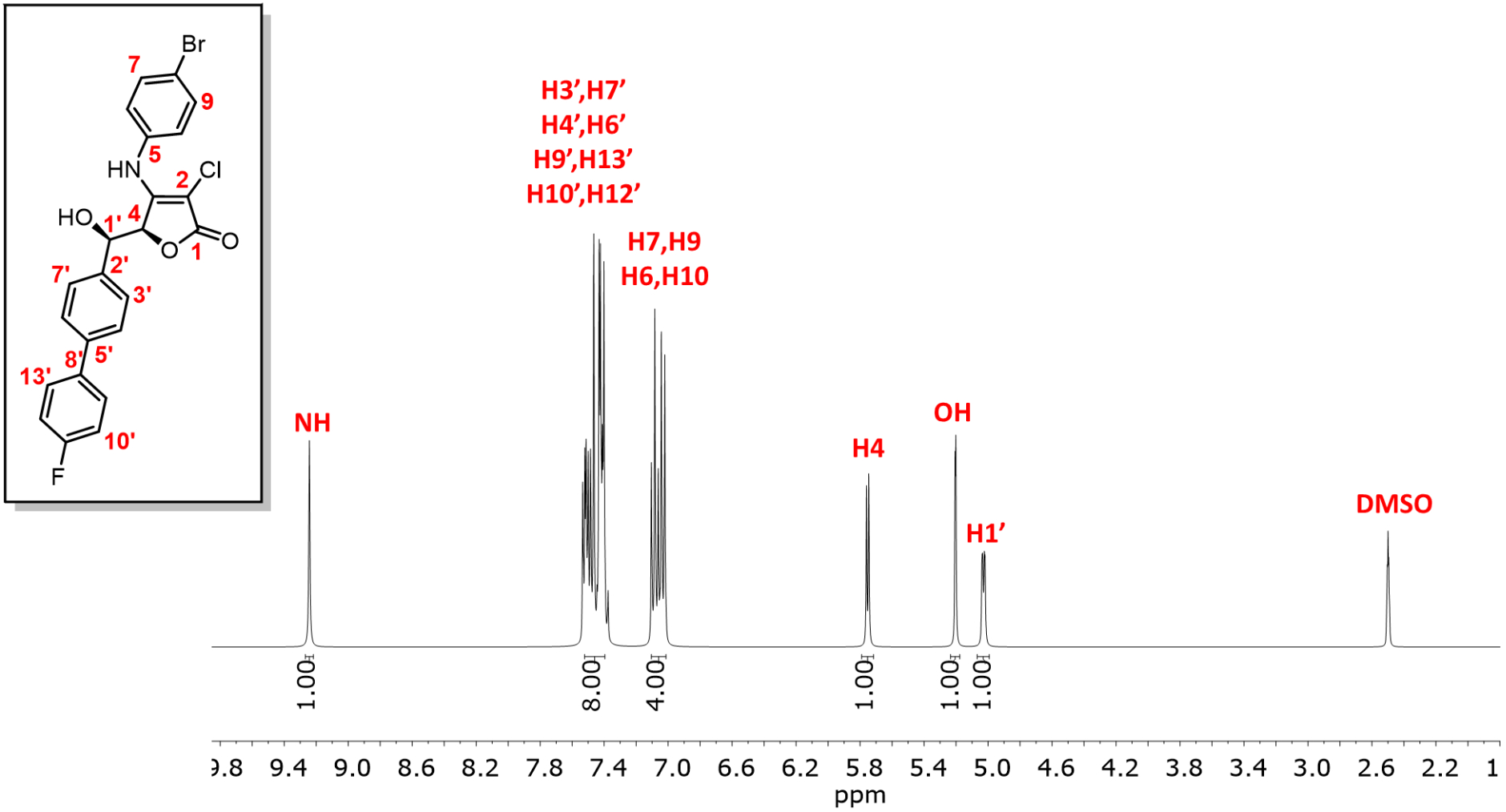



**Figura AP-2.58.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.29**.

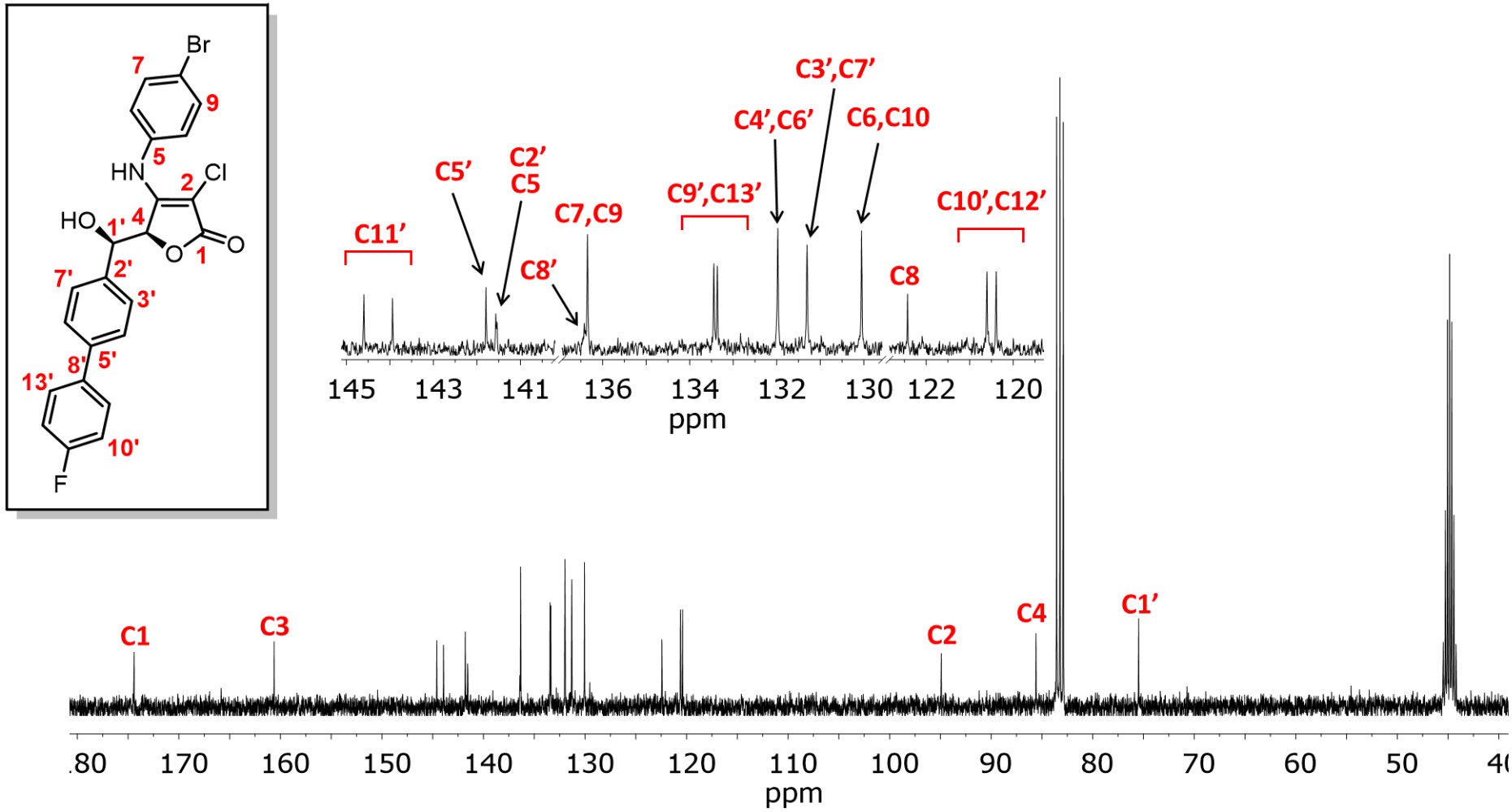



**Figura AP-2.59.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.29**.

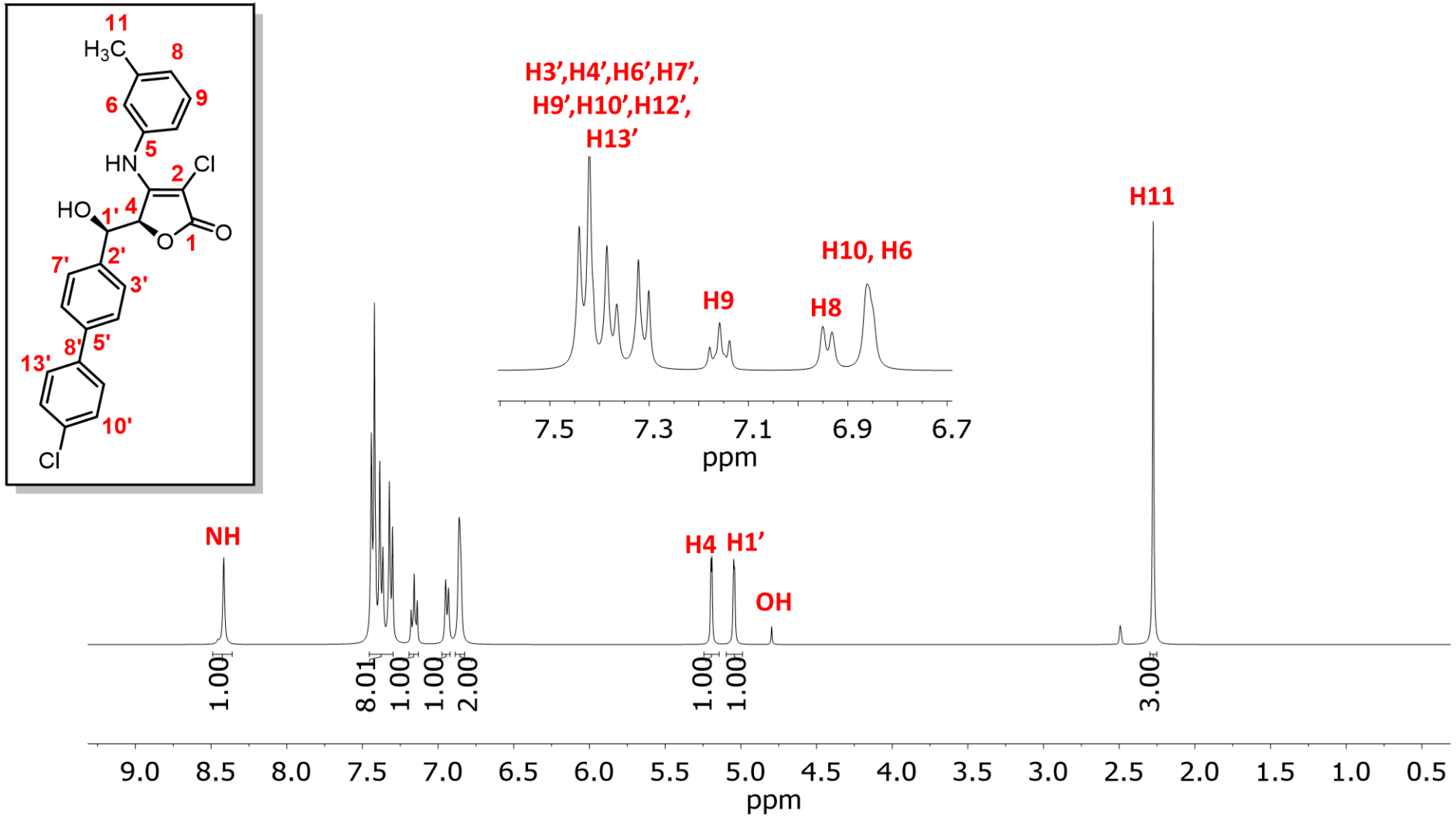



**Figura AP-2.60.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.30**.

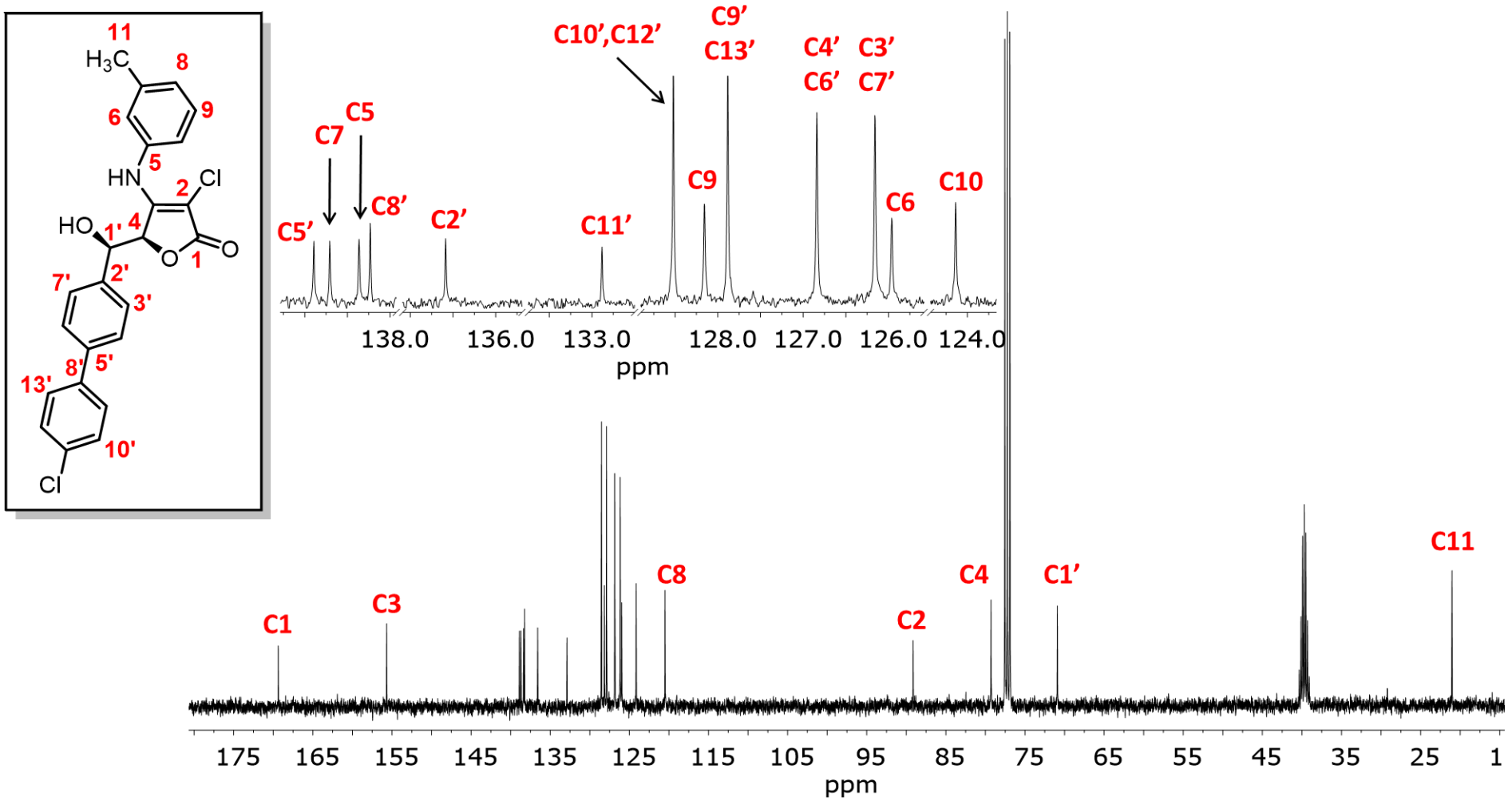



**Figura AP-2.61.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.30**.

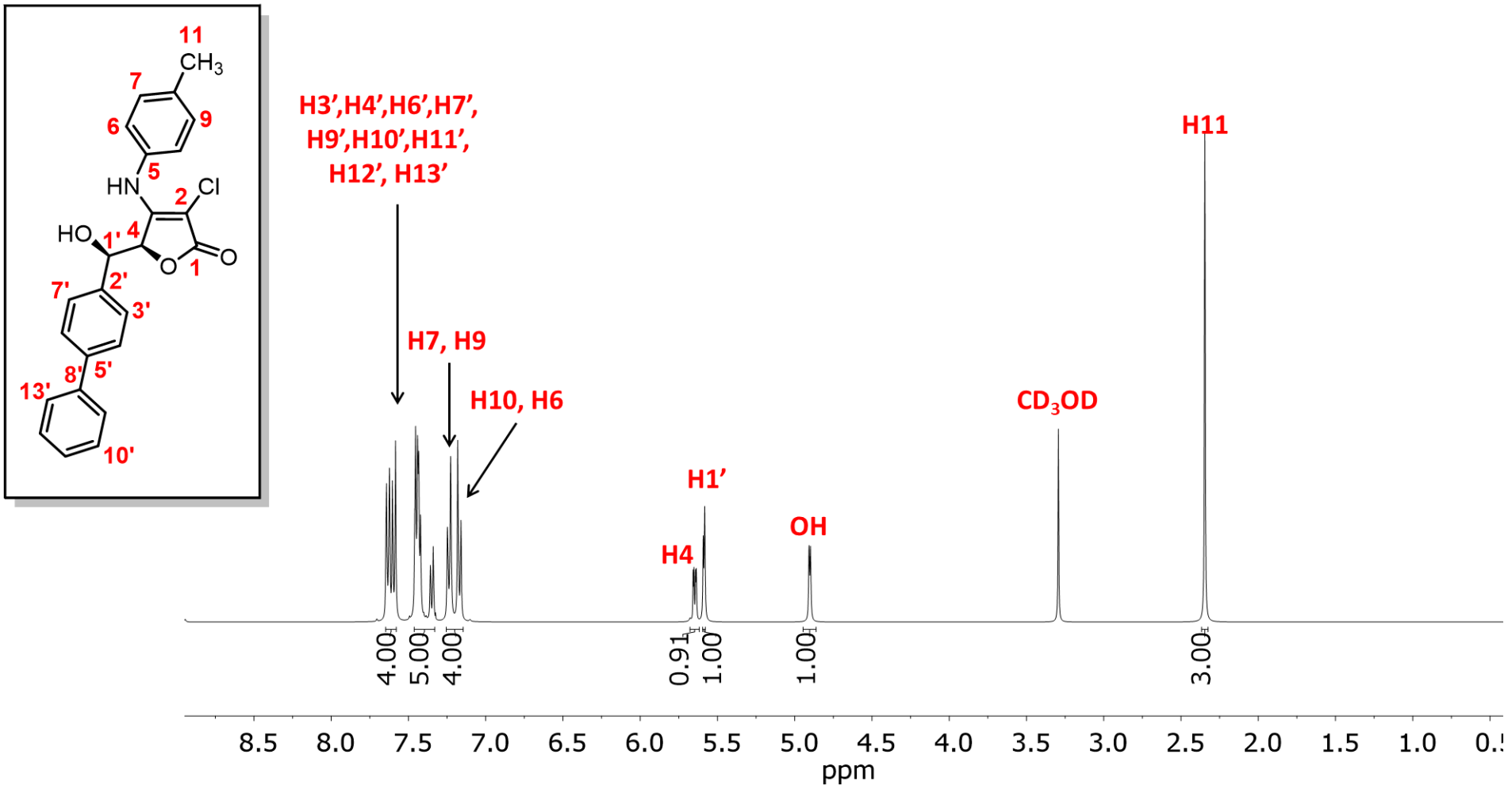



**Figura AP-2.62.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e $CD_3OD$) do composto **J-2.31**.

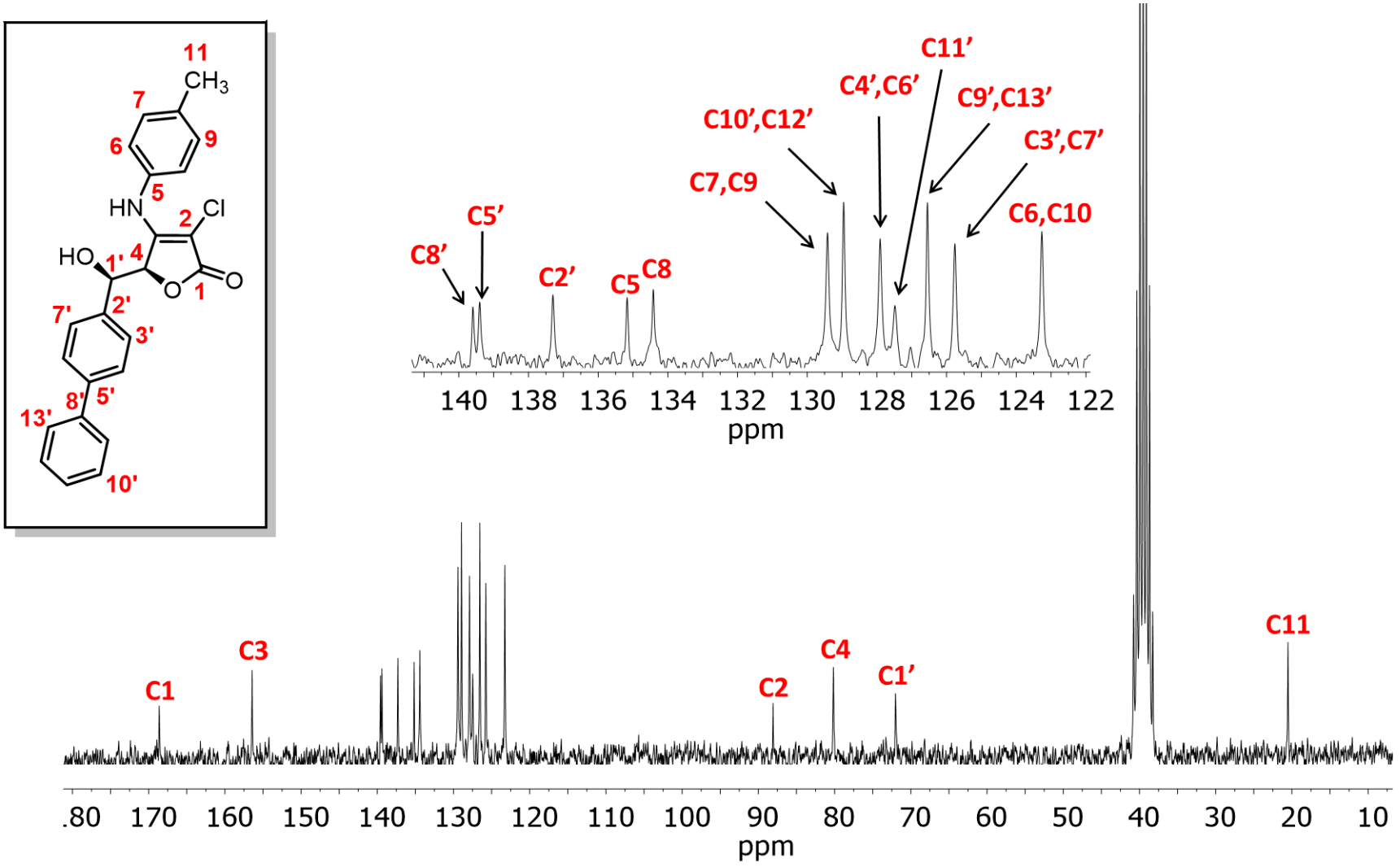



**Figura AP-2.63.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.31**.

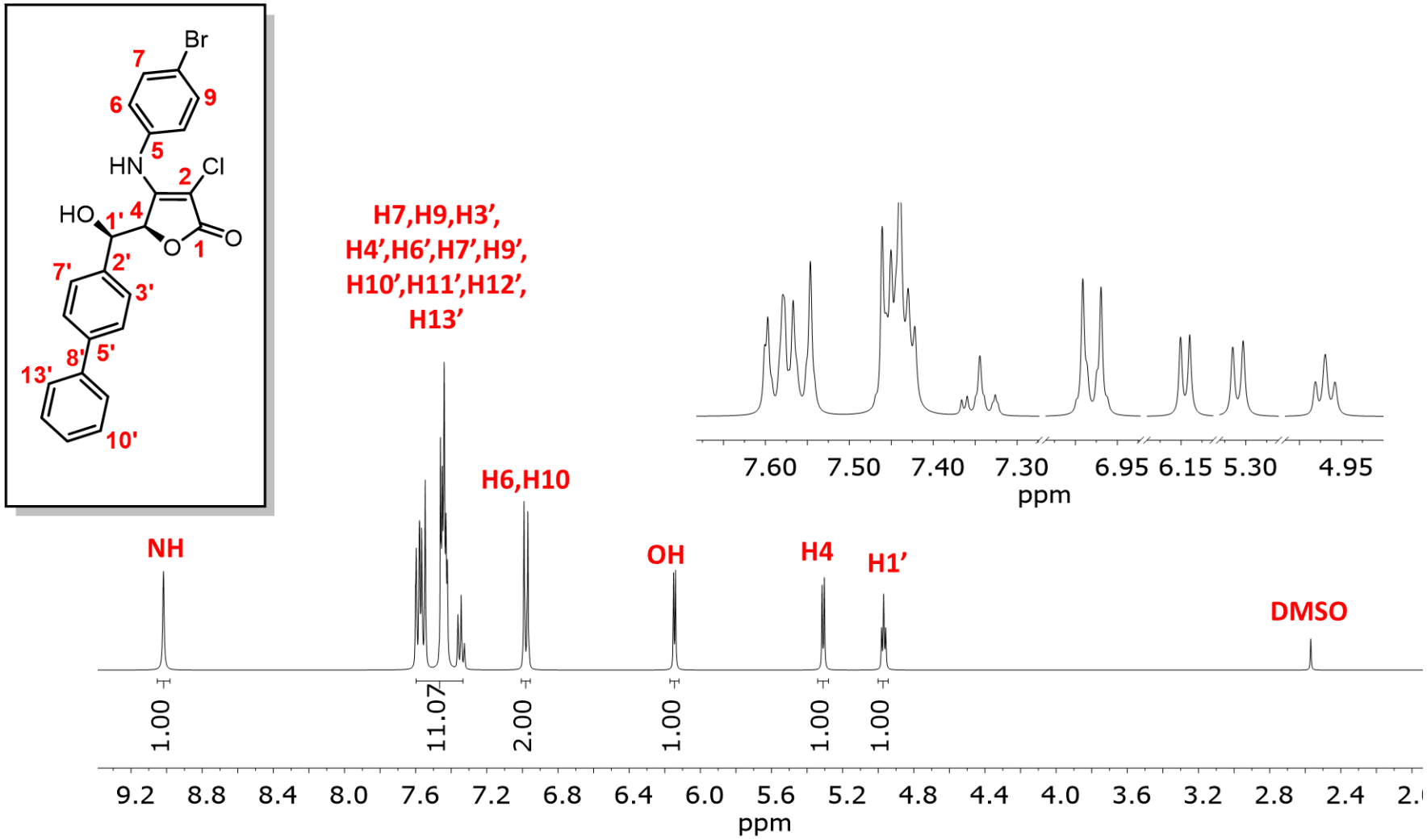



**Figura AP-2.64.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.32**.

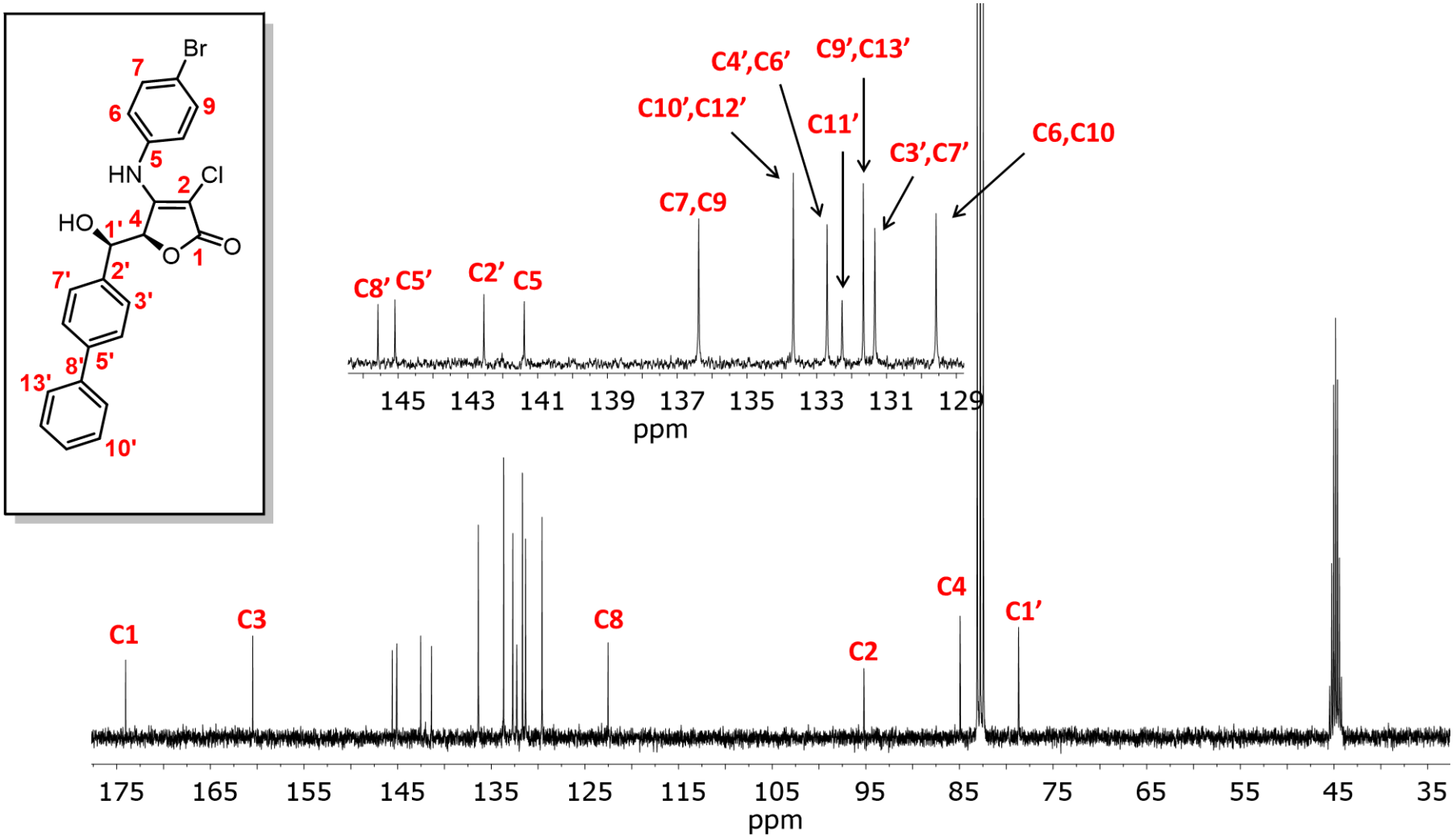



**Figura AP-2.65.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.32**.

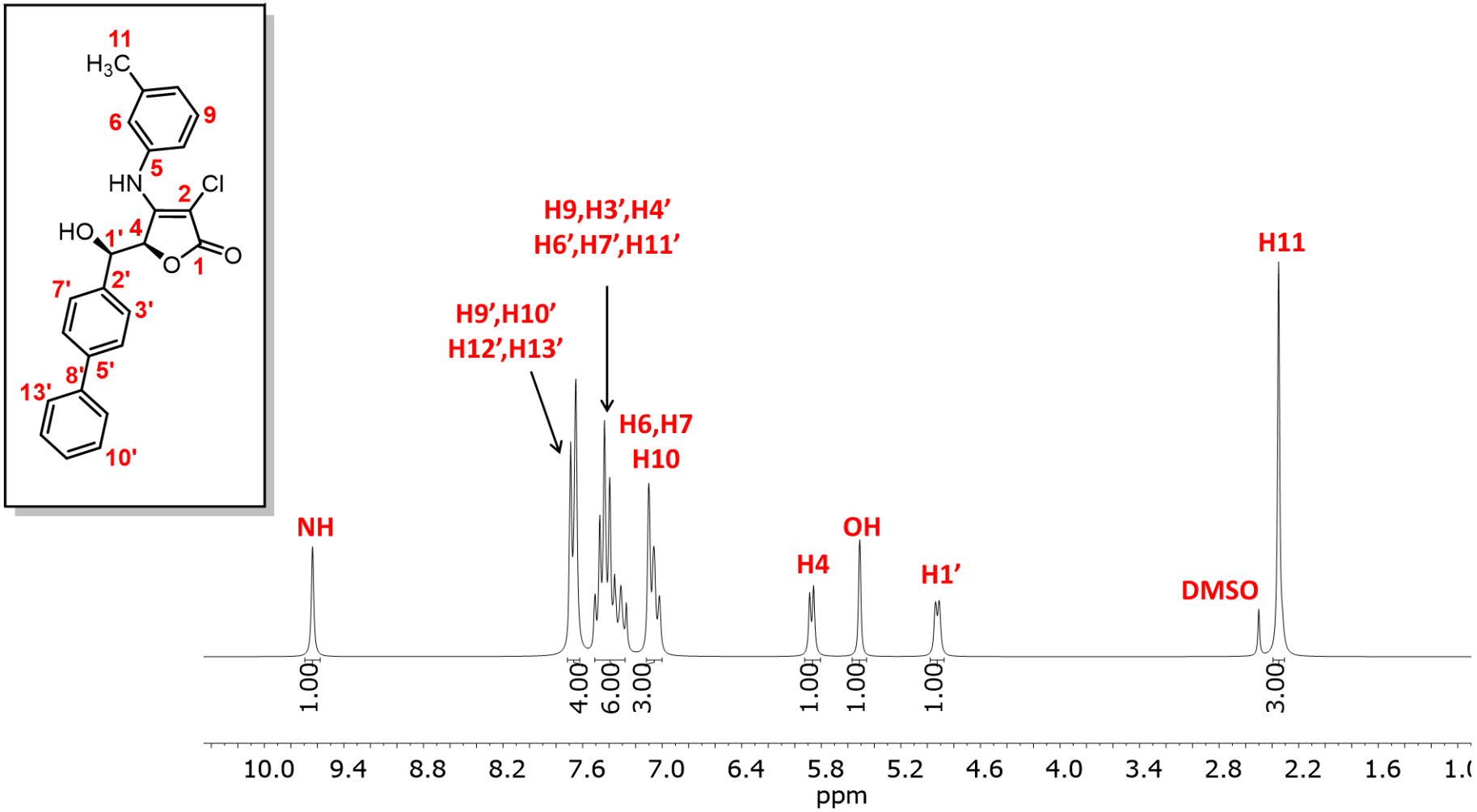



**Figura AP-2.66.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) do composto **J-2.33**.

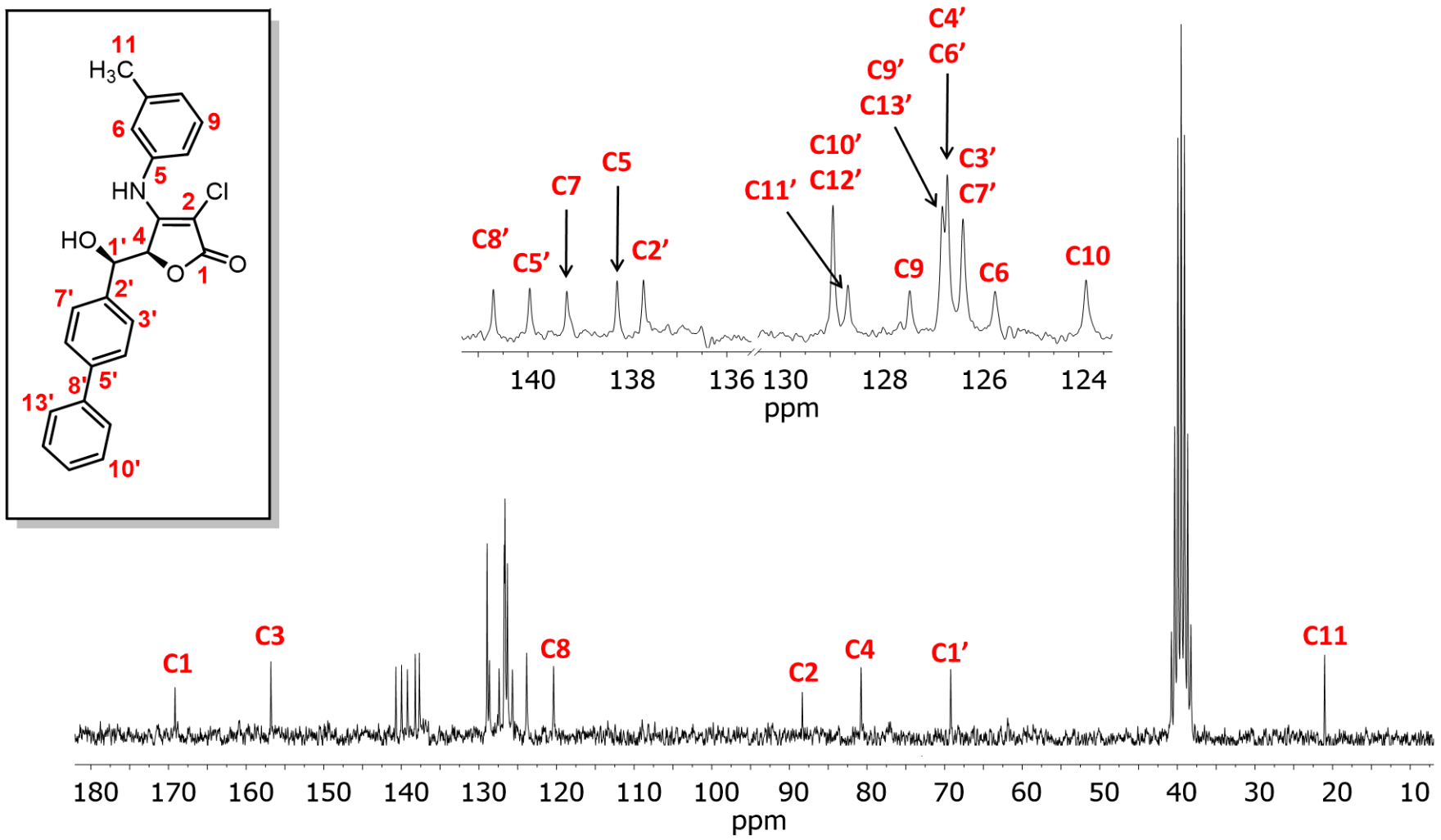



**Figura AP-2.67.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, DMSO-$d_6$) do composto **J-2.33**.

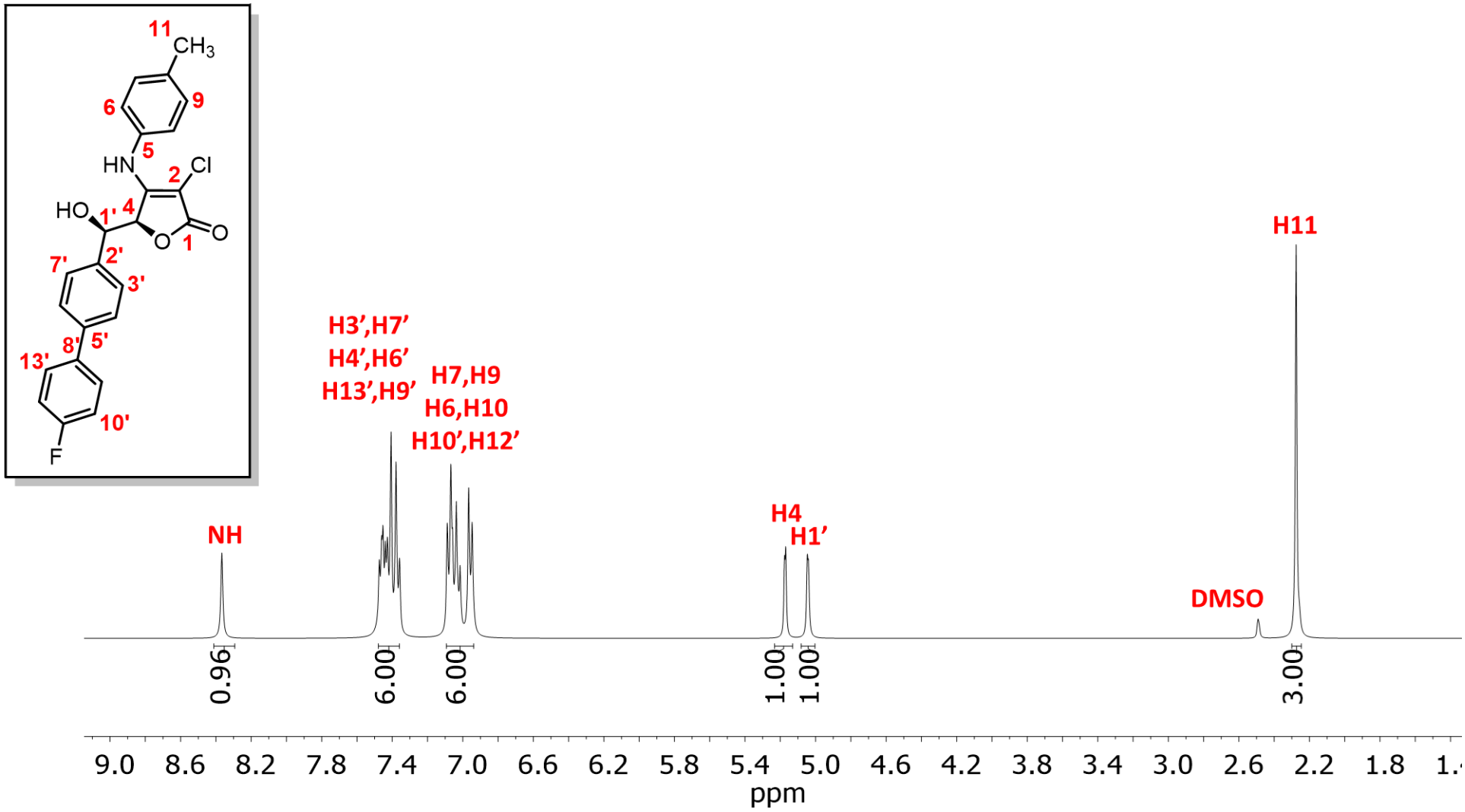



**Figura AP-2.68.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.34**.

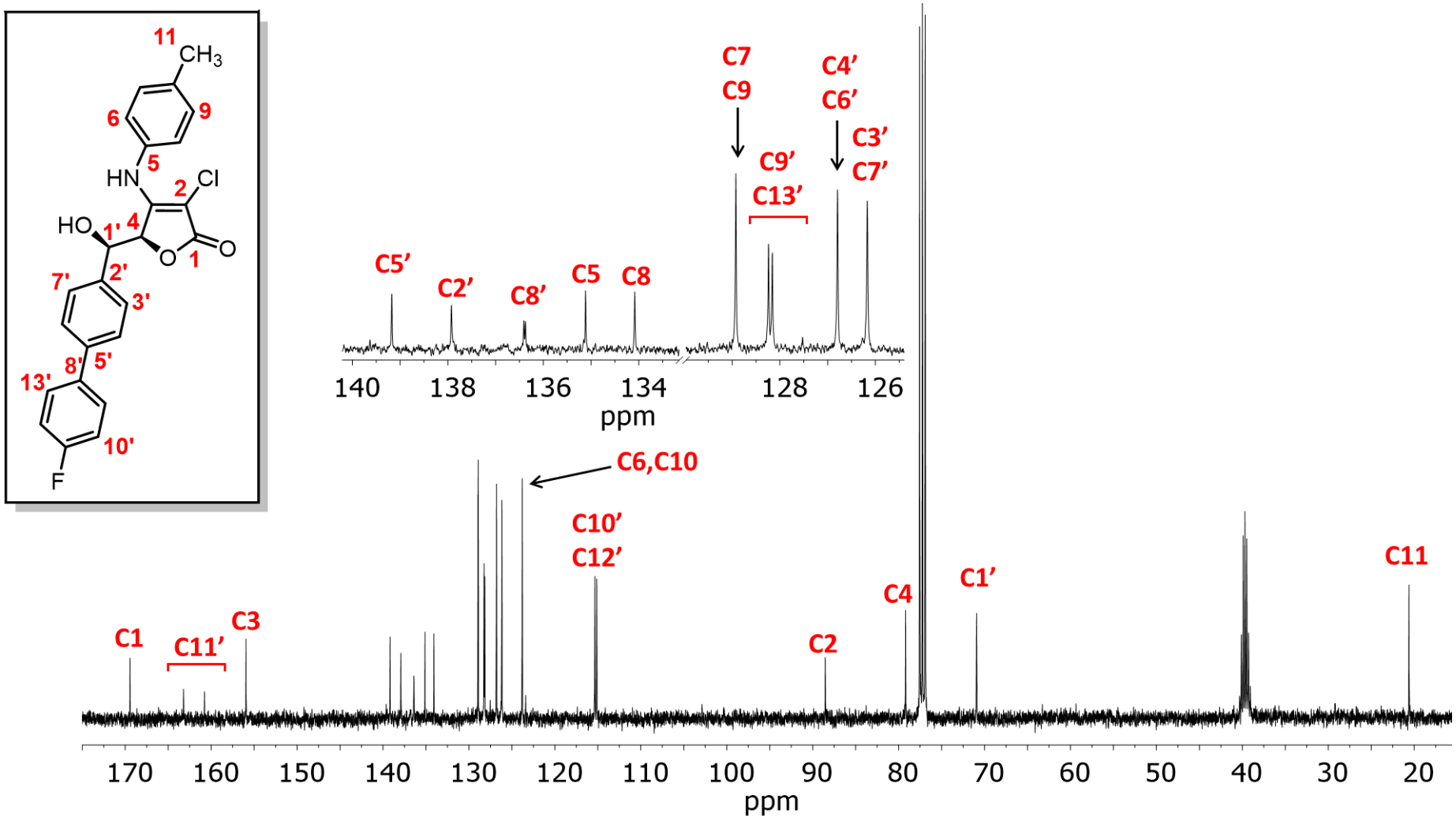



**Figura AP-2.69.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CDCl_3$ e DMSO-$d_6$) do composto **J-2.34**.

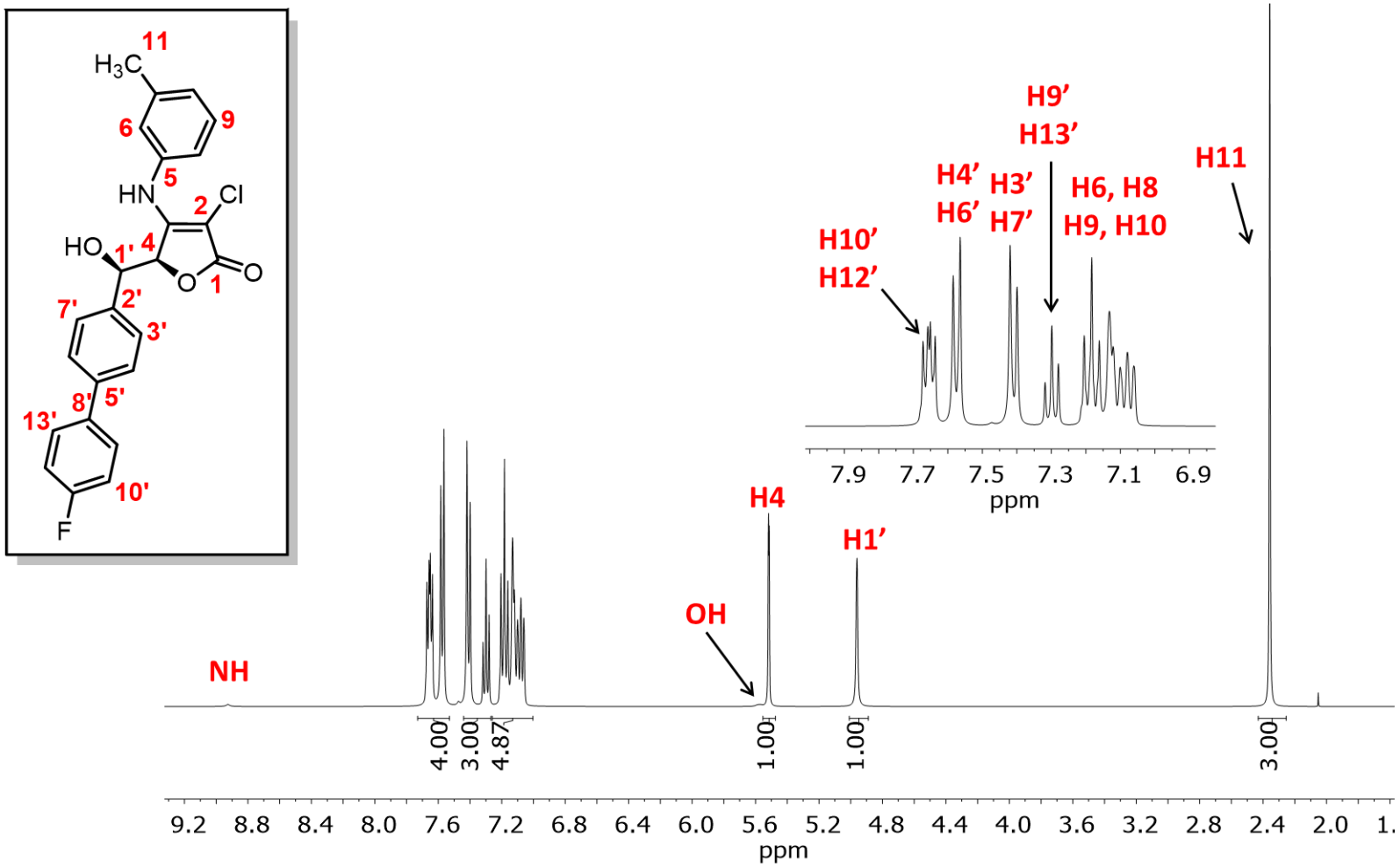



**Figura AP-2.70.** Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz, $CD_3OD$ e acetona-*d6*) do composto **J-2.35**.

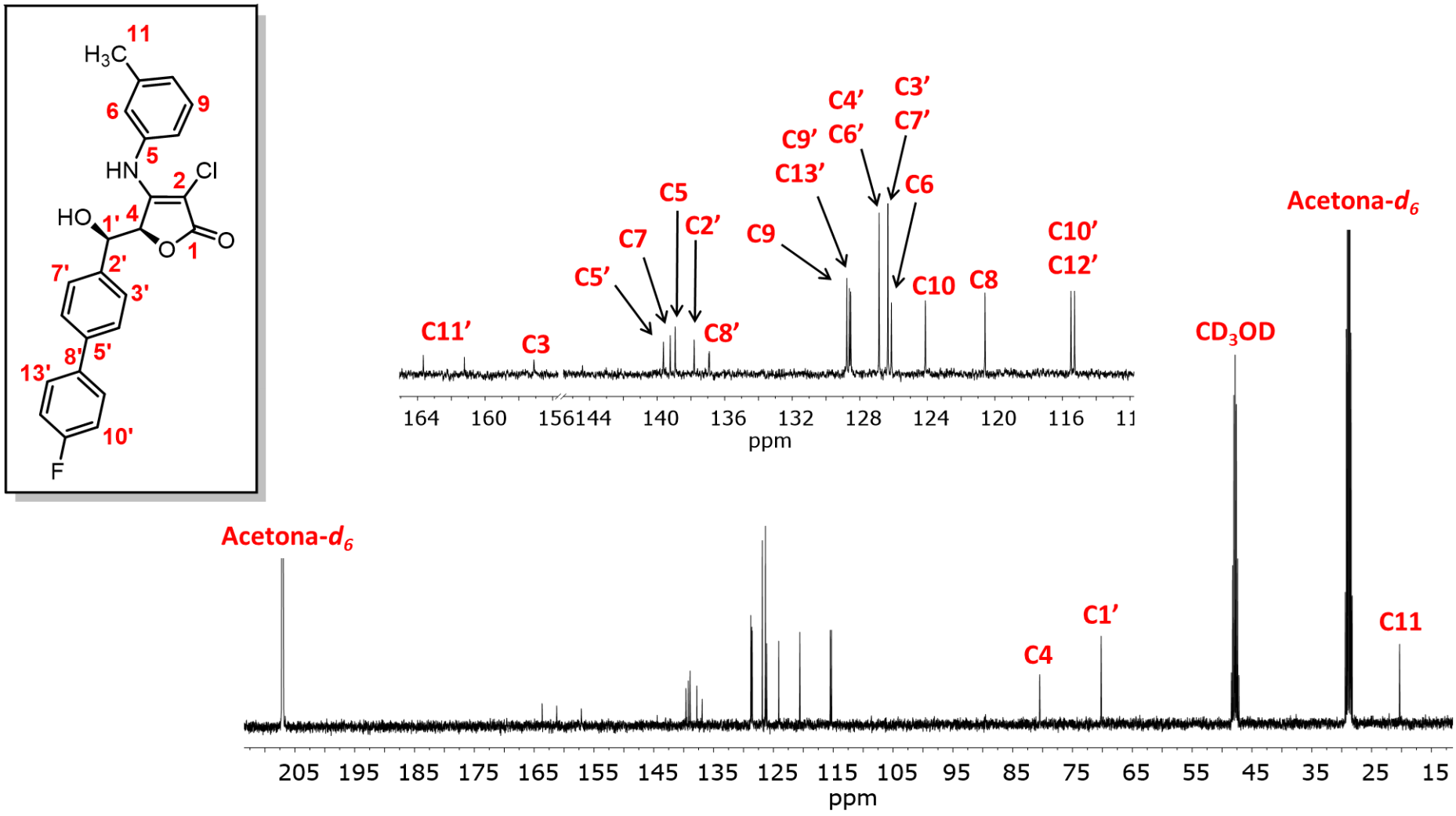
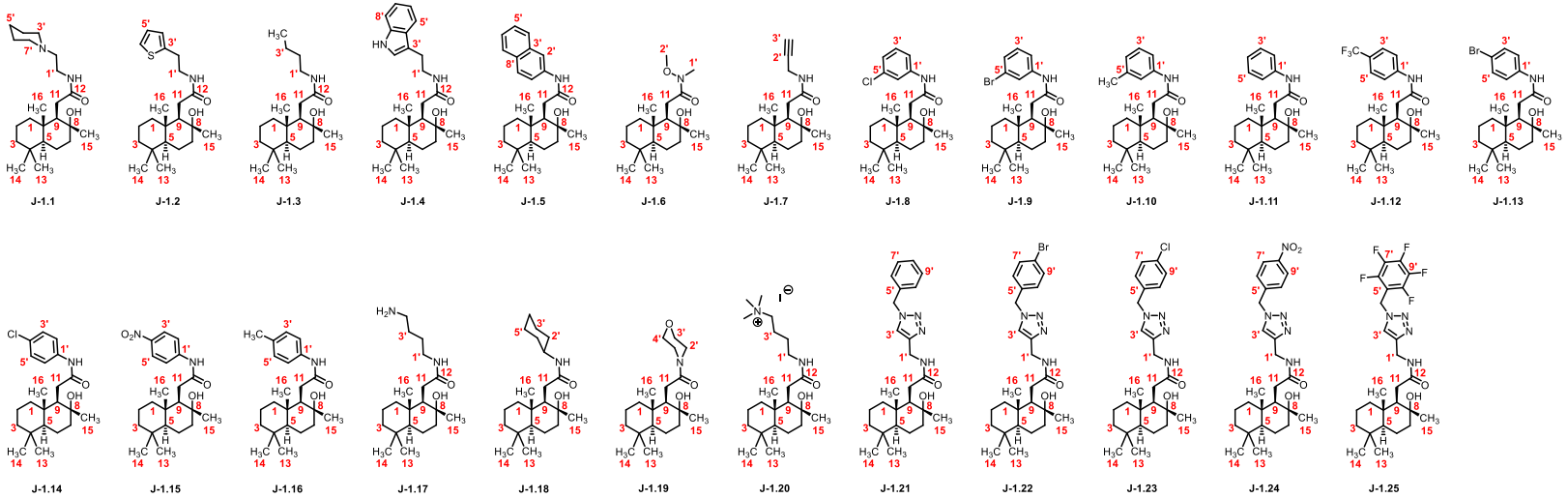



**Figura AP-2.71.** Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz, $CD_3OD$ e acetona-*d6*) do composto **J-2.35**.

## COMPOSTOS CAPÍTULO 1 - *DRIMANAMIDAS*




## COMPOSTOS CAPÍTULO 2 - *TETRONAMIDAS*