

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

ALINE TEIXEIRA MACIEL E SILVA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ÉSTERES
DERIVADOS DO BORNEOL**

Belo Horizonte

2014

UFMG/ ICEx/ DQ 1005^a

D 545^a

ALINE TEIXEIRA MACIEL E SILVA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ÉSTERES
DERIVADOS DO BORNEOL**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química – Química Orgânica.

Belo Horizonte

2014

S586s Silva, Aline Teixeira Maciel e
2014 Síntese e avaliação biológica de ésteres derivados
D do borneol [manuscrito] / Aline Teixeira Maciel e
Silva. 2014.
[xii], 146 f. : il.

Orientadora: Grácia Divina de Fátima Silva.
Coorientadora: Roqueline Rodrigues Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais. Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química orgânica - Teses 2. Ésteres - Teses 3.
Produtos naturais - Teses 4. Síntese orgânica - Teses
I. Silva, Grácia Divina de Fátima, Orientadora II.
Silva, Roqueline Rodrigues, Coorientadora III. Título.

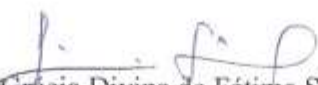
CDU 043

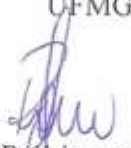


"Síntese e Avaliação Biológica de Ésteres Derivados do Borneol"

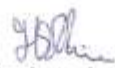
Aline Teixeira Maciel e Silva

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Profa. Gracia Divina de Fátima Silva - Orientadora
UFMG


Profa. Roqueline Rodrigues Silva - Coorientadora
UFMG


Prof. Marcelo Moreira Britto
UFVJM


Profa. Henriete da Silva Vieira
UFMG

Belo Horizonte, 24 de fevereiro de 2014.

O trabalho descrito nesta dissertação foi realizado sob orientação da Professora Doutora Grácia Divina de Fátima Silva e co-orientação da Professora Doutora Roqueline Rodrigues Silva.

O trabalho descrito nesta dissertação foi desenvolvido sob a colaboração da professora Doutora Lucienir Pains Duarte.

“...e esta é a vitória que vence o mundo: a
nossa fé .”

1 Jo. 5:4

Dedico este trabalho à minha querida avó
Maria Margarida Maciel e Silva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre se fazer presente na minha vida, guiando meus passos e me abençoando em todas as minhas escolhas. A Ti, Senhor, toda minha gratidão!

Aos meus pais Arlinda e Luiz por todo o amor, apoio e incentivo. Aos meus irmãos Camilla e André pelo carinho e amizade.

À minha avó Margarida e minha tia Dé que nunca mediram esforços para que eu pudesse realizar os meus sonhos. Tenho certeza que sem a ajuda de vocês eu jamais teria chegado até aqui.

À Professora Dr^a. Grácia Divina de Fátima Silva pela contribuição com seus conhecimentos e por todos estes anos de convivência tão agradável.

À Professora Dr^a. Roqueline Rodrigues Silva por sua colaboração, sugestões e discussões que contribuíram para meu crescimento científico e pessoal.

À Professora Dr^a. Lucienir Pains Duarte, obrigada por sempre estar disposta a ajudar e pelas contribuições ao longo destes seis anos de convivência. Você é um exemplo de uma profissional dedicada e compromissada com o ensino e com o conhecimento. Serei eternamente grata a você por tudo!

Aos Professores Dr. Sidney Augusto Vieira Filho (Bibo) e Dr. Daniel Crístian Ferreira Soares pela amizade e discussões que muito contribuíram para meu crescimento.

Aos Professores Dr. Marcelo Henrique dos Santos, Dr^a. Jacqueline Aparecida Takahashi, Dr^a. Ana Lúcia Tasca Gois Ruiz, Dr^a. Ana Lúcia Teles Rabello pela realização dos testes biológicos.

À minha querida “aluna” Laila, por me ajudar com tanta dedicação e compromisso. Obrigada por tudo!

Aos Professores Fernando Carazza (*in memoriam*) e Adriana Akemi Okuma por terem iniciado o trabalho com o borneol.

Agradeço a colaboração do Professor Ângelo de Fátima e a doutoranda Débora pela contribuição para a realização das sínteses no reator de micro-ondas.

Agradecimentos

Aos examinadores, pela participação na banca de mestrado e por contribuírem para essa dissertação.

Aos amigos de laboratório: Grasi, Vinícius, Fernando, Vanessa, Josana, Débora, Fernanda, Larissa, Carol, Dani, Nathany, Jeff, Jailton e Mariana pelo convívio, companheirismo e amizade.

À Comunidade Apostólica pelas contínuas orações e pelo carinho que transmitem a mim.

À minha amiga Betânia pelo carinho, apoio e por transmitir tanta alegria nos momentos que precisei. Aos amigos do time (Lê, Carol e Bruno), que mesmo distantes torceram por mim!

Aos Professores do Departamento de Química da UFMG, pelos conhecimentos transmitidos e aos técnicos pela assistência.

Ao Departamento de Química e a Universidade Federal de Minas Gerais, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho,
MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	x
ÍNDICE DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	xiii
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii

INTRODUÇÃO

Produtos naturais como fonte de novos fármacos.....	01
A classe dos terpenos.....	05
Substâncias derivadas dos terpenos.....	08

OBJETIVOS

Objetivos do trabalho.....	11
----------------------------	----

CAPÍTULO 1: SÍNTESE DOS ÉSTERES DO BORNEOL

1.1 Parte Experimental.....	12
1.1.1 Materiais e Métodos.....	12
1.1.2 Procedimentos.....	13
1.1.2.1 Obtenção dos ésteres derivados do borneol.....	13
1.1.2.1.a Obtenção dos ésteres derivados do borneol utilizando DIC/DMAP (KANE et al., 2004, adaptado).....	13
1.1.2.1.b Obtenção dos ésteres derivados do borneol utilizando SOCl ₂ (MIRANDA, 2007).....	14
1.1.2.1.c Obtenção dos ésteres derivados do borneol utilizando DIC/DMAP com irradiação por micro-ondas.....	14
1.1.3 Descrição dos ésteres obtidos.....	16
1.1.3.1 Hexanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (1).....	16
1.1.3.2 Octanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (2).....	17
1.1.3.3 Decanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (3).....	18
1.1.3.4 Duodecanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (4).....	19
1.1.3.5 Tetradecanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (5).....	20

1.1.3.6 Hexadecanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (6).....	21
1.1.3.7 Octadecanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (7).....	22
1.1.3.8 Ácido 4-oxo-4-[(1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila)oxi] butanoico (8).....	23
1.1.3.9 Succinato de bis(1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (9).....	24
1.1.3.10 4-{Isopropil[isopropilamino]carbonil}amino}-4-oxobutanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (10).....	25
1.1.3.11 Benzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (11).....	26
1.1.3.12 4'-Metoxibenzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (12).....	27
1.1.3.13 Isopropilcarbamato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (13).....	28
1.1.3.14 3',4'-Dimetoxibenzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (14).....	29
1.1.3.15 3',4',5'-Trimetoxibenzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (15).....	30
1.1.3.16 3',5'-Dinitrobenzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (16)...	31
1.1.3.17 3',5'-Dinitrosalicilato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (17)....	32
1.1.3.18 Nicotinato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (18).....	33
1.1.3.19 4'-Aminobenzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (19).....	34
1.1.3.20 2'-Acetilbenzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (20).....	35
1.2 Resultados e Discussão.....	36
1.2.1 Síntese dos ésteres.....	40
1.2.2 Síntese e caracterização dos ésteres graxos.....	42
1.2.3 Síntese e caracterização dos ésteres aromáticos.....	60

CAPÍTULO 2: ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

2.1 Introdução Geral.....	72
2.2 Atividade Antimicrobiana.....	73
2.2.1 Introdução.....	73
2.2.2 Teste antimicrobiano.....	74
2.2.2.1 Avaliação da atividade antimicrobiana em ensaio de CIM (Concentração Inibitória Mínima).....	75
2.2.2.2 Metodologia.....	76
2.2.2.3 Resultados e discussão.....	78
2.3 Atividade Antiproliferativa.....	80
2.3.1 Introdução.....	80
2.3.2 Teste antiproliferativo.....	82
2.3.2.1 Resultados e discussão.....	83
2.4 Atividade Anti-inflamatória.....	86
2.4.1 Introdução.....	86

2.4.2 Teste anti-inflamatório.....	87
2.4.2.1 Metodologia.....	87
2.4.2.1.1 Avaliação da atividade anti-inflamatória: edema de pata induzido por carragenina.....	88
2.4.2.2 Resultados e discussão.....	88
2.5 Atividade Leishmanicida.....	91
2.5.1 Introdução.....	91
2.5.2 Teste leishmanicida.....	92
2.5.2.1 Metodologia.....	92
2.5.2.1.1 Método colorimétrico empregando o reagente MTT.....	93
2.5.2.2 Resultados e Discussão.....	94
CONCLUSÃO.....	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
ANEXO.....	107

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Obtenção do ácido acetilsalicílico (aspirina). (Foto: Richard Webb).....	02
Figura 2: Catharanthus roseus (vinca) e estrutura química das substâncias vincristina e vimblastina. (Foto: P. Schönfelder).....	03
Figura 3: Estrutura química do paclitaxel e do docetaxel.....	04
Figura 4: Estrutura química do <i>trans</i> -cariofileno e do α -humuleno.....	05
Figura 5: Mecanismo simplificado da biossíntese dos monoterpenos cíclicos borneol e cânfora. As estruturas sombreadas em azul correspondem aos intermediários comuns à biossíntese de todos os monoterpenos cíclicos.....	07
Figura 6: Estrutura do ácido betulínico e do bevirimat.....	08
Figura 7: Benzoatos do Borneol sintetizados por Corrêa <i>et al.</i> , 2012.....	09
Figura 8: Salicilato de bornila sintetizado por Vasconcelos <i>et al.</i> , 2012.....	10
Figura 9: Deslocamento de sinal do hidrogênio H2 observado quando ocorre formação do éster.....	43
Figura 10: Espectro na região do IV do éster 9 (KBr).....	46
Figura 11: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do composto 9 em CDCl_3	46

Figura 12: Estrutura do composto 9	47
Figura 13: Espectro na região do IV do éster 8 (KBr).....	48
Figura 14: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 8 em CDCl_3	49
Figura 15: Espectro na região do IV do éster 10 (NaCl).....	51
Figura 16: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 10 em CDCl_3	51
Figura 17: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 10 em CDCl_3	52
Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 10 em CDCl_3	53
Figura 19: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 10 em CDCl_3	53
Figura 20: Expansão do mapa de contornos HSQC (400 MHz) do composto 10 em CDCl_3	54
Figura 21: Expansão do mapa de contornos HSQC (400 MHz) do composto 10 em CDCl_3	55
Figura 22: Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz) do composto 10 em CDCl_3	56
Figura 23: Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz) do composto 10 em CDCl_3	57
Figura 24: Mapa de contornos COSY (400 MHz) do composto 10 em CDCl_3	58
Figura 25: Fragmentos do composto 10	58

Figura 26: Estrutura proposta para o composto 10	59
Figura 27: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 12 em CDCl_3 .	63
Figura 28: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 13 em CDCl_3 .	64
Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 13 em CDCl_3	64
Figura 30: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 13 em CDCl_3	65
Figura 31: Expansão do mapa de contornos HSQC (400 MHz) do composto 13 em CDCl_3	66
Figura 32: Expansão do mapa de contornos HSQC (400 MHz) do composto 13 em CDCl_3	67
Figura 33: Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz) do composto 13 em CDCl_3	68
Figura 34: Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz) do composto 13 em CDCl_3	68
Figura 35: Mapa de contornos COSY (400 MHz) do composto 13 em CDCl_3	69
Figura 36: Estrutura proposta para o composto 13	70
Figura 37: Fotos dos micro-organismos avaliados.....	75
Figura 38: Estimativa de incidência de câncer no Brasil em 2014 por região.....	81

Figura 39: Medicamento Taxol [®] (Paclitaxel).....	81
Figura 40: Efeito do borneol e seus ésteres na proliferação de células tumorais.....	85
Figura 41: Reação de redução do MTT a Formazan.....	93
Figura 42: Espectro na região do IV do éster 1 (ATR).....	108
Figura 43: Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 1 em CDCl ₃	108
Figura 44: Expansão do espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 1 em CDCl ₃ ...	109
Figura 45: Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) do éster 1 em CDCl ₃	109
Figura 46: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 1 em CDCl ₃	110
Figura 47: Espectro na região do IV do éster 2 (ATR).....	110
Figura 48: Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 2 em CDCl ₃	111
Figura 49: Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) do éster 2 em CDCl ₃	111
Figura 50: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 2 em CDCl ₃	112
Figura 51: Espectro na região do IV do éster 3	112
Figura 52: Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 3 em CDCl ₃	113
Figura 53: Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) do éster 3 em CDCl ₃	113
Figura 54: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 3 em CDCl ₃	114

Figura 55: Espectro na região do IV do éster 4	114
Figura 56: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 4 em CDCl_3	115
Figura 57: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 4 em CDCl_3	115
Figura 58: Expansão do subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 4 em CDCl_3	116
Figura 59: Espectro na região do IV do éster 5 (ATR).....	116
Figura 60: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 5 em CDCl_3	117
Figura 61: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 5 em CDCl_3 ...	117
Figura 62: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 5 em CDCl_3	118
Figura 63: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 5 em CDCl_3	118
Figura 64: Espectro na região do IV do éster 6 (ATR).....	119
Figura 65: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 6 em CDCl_3	119
Figura 66: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 6 em CDCl_3	120
Figura 67: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 6 em CDCl_3	120
Figura 68: Espectro na região do IV do éster 7 (ATR).....	121
Figura 69: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 7 em CDCl_3	121

Figura 70: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 7 em CDCl_3 ..	122
Figura 71: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 7 em CDCl_3	122
Figura 72: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 7 em CDCl_3	123
Figura 73: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 8 em CDCl_3	123
Figura 74: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 8 em CDCl_3	124
Figura 75: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 9 em CDCl_3	124
Figura 76: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 9 em CDCl_3	125
Figura 77: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 9 em CDCl_3	125
Figura 78: Espectro na região do IV do éster 11 (ATR).....	126
Figura 79: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 11 em CDCl_3	126
Figura 80: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 11 em CDCl_3	127
Figura 81: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 11 em CDCl_3	127
Figura 82: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 11 em CDCl_3	128
Figura 83: Espectro na região do IV do éster 12 (NaCl).....	128
Figura 84: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 12 em CDCl_3	129
Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 12 em CDCl_3	129

Figura 86: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 12 em CDCl ₃	130
Figura 87: Espectro na região do IV do éster 13	130
Figura 88: Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 13 em CDCl ₃	131
Figura 89: Espectro na região do IV do éster 14	131
Figura 90: Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 14 em CDCl ₃	132
Figura 91: Expansão do espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 14 em CDCl ₃	132
Figura 92: Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) do éster 14 em CDCl ₃	133
Figura 93: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 14 em CDCl ₃	133
Figura 94: Espectro na região do IV do éster 15 (ATR).....	134
Figura 95: Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 15 em CDCl ₃	134
Figura 96: Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) do éster 15 em CDCl ₃	135
Figura 97: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 15 em CDCl ₃	135
Figura 98: Espectro na região do IV do éster 16 (ATR).....	136
Figura 99: Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 16 em CDCl ₃	136
Figura 100: Expansão do espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do éster 16 em CDCl ₃	137

Figura 101: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 16 em CDCl_3	137
Figura 102: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 16 em CDCl_3	138
Figura 103: Espectro na região do IV do éster 17 (KBr).....	138
Figura 104: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 17 em CDCl_3	139
Figura 105: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 17 em CDCl_3	139
Figura 106: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 17 em CDCl_3	140
Figura 107: Espectro na região do IV do éster 18 (NaCl).....	140
Figura 108: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 18 em CDCl_3	141
Figura 109: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 18 em CDCl_3	141
Figura 110: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 18 em CDCl_3	142
Figura 111: Espectro na região do IV do éster 19	142
Figura 112: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 19 em CDCl_3	143
Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 19 em CDCl_3	143
Figura 114: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 19 em CDCl_3	144
Figura 115: Espectro na região do IV do éster 20	144

Figura 116: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 20 em CDCl_3	145
Figura 117: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 20 em CDCl_3	145
Figura 118: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster 20 em CDCl_3	146

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Mecanismo da reação de esterificação de Steglich.....	37
Esquema 2: Rearranjo 1,3 do intermediário <i>O</i> -acil-isouréia.....	37
Esquema 3: Reação com participação do DMAP.....	38
Esquema 4: Mecanismo da reação com SOCl_2	39
Esquema 5: Ácidos utilizados na esterificação do borneol.....	40
Esquema 6: Reação de obtenção do derivado do ácido <i>p</i> -metoxibenzoico.....	62
Esquema 7: Proposta de mecanismo para formação do composto 13	70

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Rendimento e tempo de reação nas diferentes metodologias para obtenção dos ésteres do borneol.....	41
Tabela 2: Dados de RMN e de IV dos ésteres 1 – 10	44
Tabela 3: Condições de reação usada na tentativa de obtenção do éster derivado do ácido succínico.....	45
Tabela 4: Dados de RMN 1D e 2D (400 MHz, CDCl ₃) do composto 10 e comparação com dados de RMN ¹³ C do borneol.....	59
Tabela 5: Dados de RMN e de IV dos ésteres 11 – 20	61
Tabela 6: Condições de reação usada na tentativa de obtenção do éster derivado do ácido <i>p</i> -metoxibenzoico.....	62
Tabela 7: Dados de RMN 1D e 2D (400 MHz, CDCl ₃) do composto 13 e comparação com dados de RMN ¹³ C do borneol.....	71
Tabela 8: Amostras utilizadas no teste antimicrobiano.....	77
Tabela 9: Avaliação biológica do borneol e seus ésteres.....	79
Tabela 10: Valores de concentração (GI ₅₀ em µg/mL) necessários para inibir a proliferação de células em 50%.....	84
Tabela 11: Média, erro padrão da média e percentual de inibição do edema de pata em relação ao controle negativo (P<0,05).....	89

Tabela 12: Atividade biológica do borneol e seus ésteres testados em dose única

20 $\mu\text{g mL}^{-1}$	95
--------------------------------	----

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

δ – Deslocamento químico

°C – Graus Celsius

1D – Uma dimensão

2D – Duas dimensões

786-0 – Linhagem de células de carcinoma de rim

AINEs – Anti-inflamatórios não esteroides

ATCC – *American Type Culture Collection*

ATR – *Attenuated Total Reflection* (Reflectância Total Atenuada)

BHI – *Broth Heart Infusion*

CC – Cromatografia em Coluna

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CDTN/CNEN – Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear / Comissão Nacional de Energia Nuclear

CI₅₀ – Concentração da substância em teste que inibe 50% do crescimento celular

CPQBA – Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas

COSY – “Correlation Spectroscopy”

d – Duplete

ddd – Duplo duplete duplo

DEPT135 – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer 135*

DIC – Di-isopropilcarbodi-imida

DIU – N',N'-Di-isopropiluréia

DMAP – 4-Dimetilaminopiridina

DOX – Doxorrubicina

DQ – Departamento de Química

Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz

HaCaT – Célula humana normal de queratinócitos

hept – Hepteto

HIV – *Human immunodeficiency virus*

HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy*

HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy*

HRMS-ESI – *High Resolution Mass Spectra using Electrospray Ionization*

HT-29 – Linhagem de células de carcinoma de cólon humano

IC₅₀ – Concentração da substância em teste que inibe 50% do crescimento celular

IMO – Irradiação de Micro-ondas

IV – Infravermelho

J – Constante de acoplamento

K562 – Linhagem de células de tumor de medula óssea

LAREMAR – Laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução

m – Multiplete

MCF-7 – Linhagem de células de tumor de mama

MIC – Mínima Concentração Inibitória

MO – Micro-ondas

NCI-ADR/RES – Linhagem de células de tumor de ovário resistente a múltiplos fármacos

NEPLAM – Núcleo de Estudo de Plantas Medicinais

NO – Óxido Nítrico

oct – Octeto

OMS – Organização Mundial da Saúde

OVCAR-3 – Linhagem de células de tumor de ovário humano

ppm – Partes por milhão

R_f – Fator de retenção

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RMN de ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

RMN de ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s – Simpleto

sl – Sinal largo

SNC – Sistema Nervoso Central

t – Tripleto

td – Tripleto duplo

TMS – Tetrametilsilano

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

UNIFAL – Universidade Federal de Alfenas

Unicamp – Universidade Estadual de Campinas

RESUMO

Os terpenos e seus derivados representam compostos de grande interesse para os pesquisadores em função do grande potencial como fonte de novos fármacos.

Neste trabalho foram sintetizados ésteres a partir do terpeno borneol utilizando duas metodologias (DIC/DMAP e SOCl_2). Também foi avaliada a irradiação de micro-ondas, para obter estes compostos, em ausência de solvente. Foram sintetizados 20 ésteres do borneol, dentre eles 18 não estão descritos na literatura. Algumas das reações conduzidas sob irradiação com micro-ondas e na ausência de solvente levaram a produtos de rearranjo. Os ésteres do borneol tiveram suas estruturas elucidadas através de métodos espectrométricos e espectroscópicos. O meio reacional no qual se utilizou DIC/DMAP e irradiação de micro-ondas, em menor tempo proporcionou os melhores rendimentos.

Os compostos sintetizados foram submetidos a testes de avaliação de sua atividade como antimicrobiano, leishmanicida, antiproliferação celular e anti-inflamatório. Os melhores resultados no teste antimicrobiano foram encontrados para 4'-metoxibenzoato de bornila, 3',4'-dimetoxibenzoato de bornila e 3',4',5'-trimetoxibenzoato de bornila. Não foi observado nenhum efeito leishmanicida significativo produzido pelos ésteres do borneol submetidos ao teste. Em relação à atividade antiproliferativa, os compostos octanoato de bornila, benzoato de bornila e 3',4',5'-trimetoxibenzoato de bornila apresentaram resultados mais promissores, com efeitos citotóxicos para as linhagens de células de câncer de ovário (OVCAR-3), ovário-resistente (NCI-ADR/RES), mama (MCF-7), medula óssea (K562) e rim (786-0). No teste de atividade anti-inflamatória, o hexanoato de bornila, octanoato de bornila, tetradecanoato de bornila, hexadecanoato de bornila, octadecanoato de bornila, benzoato de bornila, 3',5'-dinitrobenzoato de bornila e nicotinato de bornila foram aqueles que proporcionaram melhor redução do edema induzido por carragenina.

ABSTRACT

The terpenes and its derivatives represent compounds of great interest to researchers because of the great potential as a source of new drugs.

In this work, esters from the terpene borneol were synthesized using two methodologies (DIC/DMAP and SOCl_2). It was also evaluated the microwave irradiation to obtain these compounds, without the use of solvent. It was synthesized 20 borneol esters, among them 18 are not described in the literature. Some of the reactions conducted under microwave irradiation and in the absence of solvent, led to products of rearrangement. The borneol esters had their structures elucidated through spectroscopic and spectrometric methods. The reaction condition in which were used DIC/DMAP and microwave irradiation, in less time produced better yields.

The synthesized compounds were subjected to assays to evaluate its activity as antimicrobial, leishmanicidal, cellular antiproliferation and anti-inflammatory. The best results on the antimicrobial assays were found for bornyl 4'-methoxybenzoate, bornyl 3',4'-dimethoxybenzoate and bornyl 3',4',5'-trimethoxybenzoate. It was not observed significative leishmanicidal effect produced by the borneol esters subjected to assay. In relation to the antiproliferative cells assays, bornyl octanoate, bornyl benzoate and bornyl 3',4',5'-trimethoxybenzoate showed more promising results, with cytotoxic effects to cell lines of ovarian cancer (OVCAR-3), ovarian-resistant (NCI-ADR/RES), breast (MCF-7), bone marrow (K562) and kidney (786-0). In the anti-inflammatory assays, the bornyl hexanoate, bornyl octanoate, bornyl tetradecanoate, bornyl hexadecanoate, bornyl octadecanoate, bornyl benzoate, bornyl 3',5'-dinitrobenzoate and bornyl nicotinate were those that provided better reduction in the edema induced by carrageenin.

INTRODUÇÃO

Produtos naturais como fonte de novos fármacos

Ao longo dos tempos os seres humanos têm contado com a natureza para atender as suas necessidades básicas. As plantas, em particular, formam a base de diversos sistemas tradicionais de medicina, com os primeiros registros que datam de cerca de 2600 a.C., que documentam o uso de aproximadamente 1000 substâncias derivadas de plantas, na Mesopotâmia. Os gregos e os romanos contribuíram substancialmente para o uso e desenvolvimento racional de drogas a partir de plantas. Dioscórides, um médico grego (40-90 d.C.), registrou com precisão a coleta, o armazenamento e o uso de ervas medicinais durante suas viagens com exércitos romanos (CRAGG E NEWMAN, 2013).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que cerca de 80% da população em alguns países asiáticos e africanos dependem da medicina tradicional para cuidados de saúde primários. Os tratamentos à base de plantas são a forma mais popular da medicina tradicional e são altamente lucrativos no mercado internacional. O mercado global de produtos à base de plantas deve chegar a R\$ 10 trilhões em 2050 (KHAZIR *et al.*, 2014; CHAUDHARY E SINGH, 2011).

Em 1804, Friedrich Sertürner foi o primeiro a isolar o alcaloide morfina da papoula (*Papaver somniferum*), fato que marcou uma busca constante por outros medicamentos a partir de plantas. Em 1824, Pierre-Jean Robiquet isolou a codeína (antitussígeno) também da papoula. Porém, o marco histórico no processo de desenvolvimento da indústria farmacêutica mundial foi a descoberta da salicina por Raffaele Piria em 1829 a partir da planta *Salix alba*. A primeira modificação estrutural realizada foi a partir da salicilina, que levou à obtenção do ácido salicílico em 1839. A partir do ácido salicílico, Felix Hoffman sintetizou a aspirina (ácido acetilsalicílico) em 1897 (Figura 1, pág 2). Nasceu então a famosa e poderosa indústria farmacêutica da Alemanha e também a primeira patente que se tem conhecimento na área de medicamento (CALIXTO E SIQUEIRA JR, 2008).

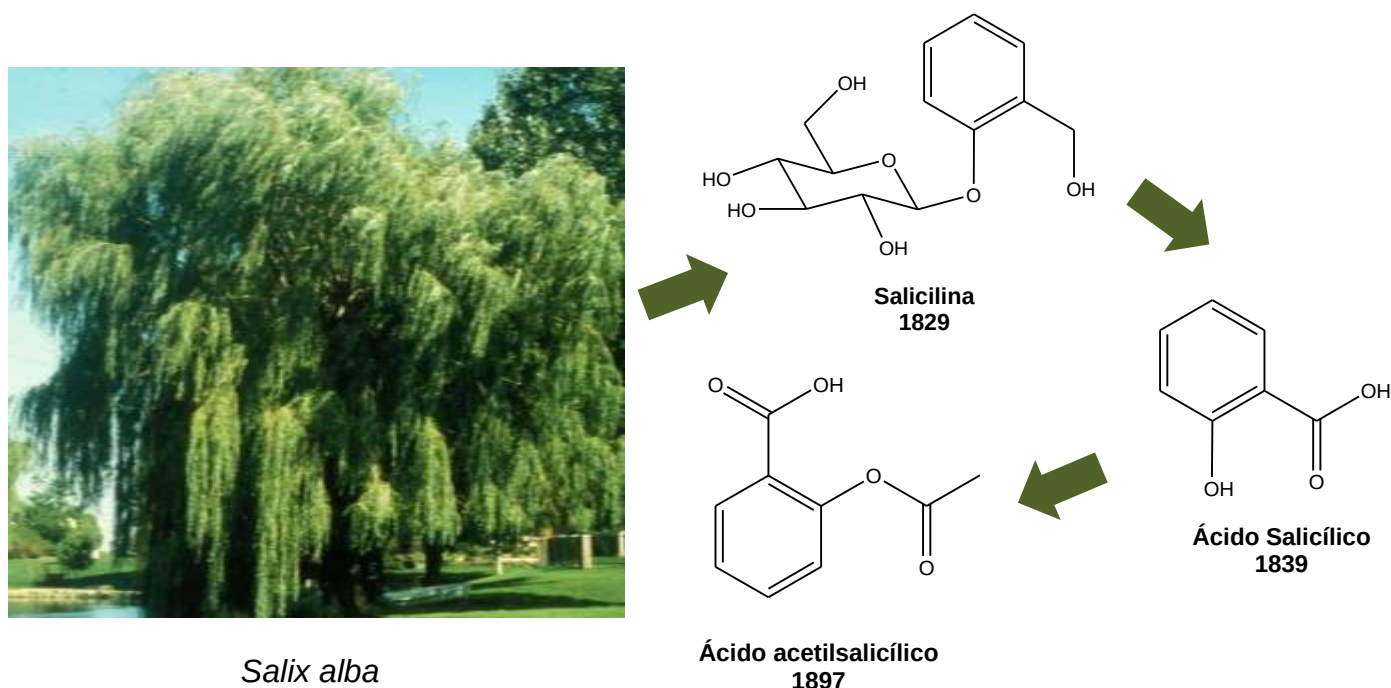
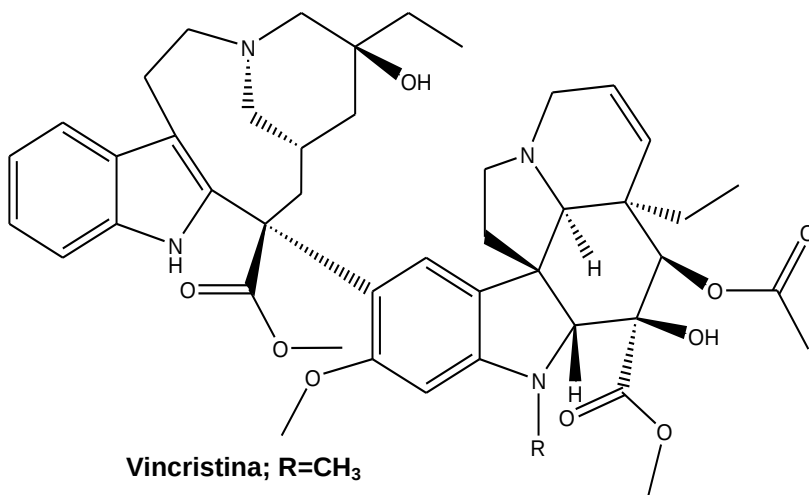


Figura 1: Obtenção do ácido acetilsalicílico (aspirina). (Foto: Richard Webb).

Fonte: <http://www.forestryimages.org>. Acesso em: 02/01/2012.

A descoberta de várias substâncias utilizadas no tratamento do câncer está ligada ao uso de plantas na medicina tradicional. Os primeiros agentes derivados de plantas que avançaram para o uso clínico no tratamento do câncer foram os alcaloides vinblastina e vincristina, isolados da planta *Catharanthus roseus* (vinca) (CRAGG *et al.*, 2009) (Figura 2, pág. 3). A planta inicialmente foi investigada por ser utilizada pela população de Madagascar como hipoglicemiante. Porém, foi observado durante os estudos da vinca que seus extratos levavam a granulocitopenia, em consequência da supressão da medula óssea dos animais. A confirmação da atividade em modelos experimentais de leucemia e linfoma levou ao isolamento dos alcaloides que, atualmente, são de grande utilidade no tratamento de linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e testículos e leucemia linfoblástica aguda infantil (BRANDÃO *et al.*, 2010).



Vincristina; R=CH₃

Vimblastina; R=CHO

Figura 2: *Catharanthus roseus* (vinca) e estrutura química das substâncias vincristina e vimblastina. (Foto: P. Schönfelder).

Fonte: <http://www.biologie.uni-regensburg.de/Botanik/Schoenfelder/> Acesso em: 03/01/2014.

O paclitaxel (Figura 3, pág. 4), um terpeno extraído a partir da casca de *Taxus brevifolia* (Taxaceae), também confirma o sucesso de produtos naturais na descoberta de novas drogas. O paclitaxel foi isolado pela primeira vez em 1971, por Wall e colaboradores, nos Estados Unidos. Nenhum agente anticancerígeno natural teve um impacto tão grande sobre o tratamento do câncer como o paclitaxel (KHAZIR *et al.*, 2014). O paclitaxel foi o primeiro composto descoberto capaz de inibir a divisão celular pela despolimerização dos microtúbulos, um mecanismo de ação até então desconhecido. Ele é comercializado pela companhia americana Bristol-Meyer Squibb com o nome de Taxol[®] e atualmente está disponível como medicamento em mais de 60 países (SOUZA, 2004). O paclitaxel tem sido utilizado no tratamento do câncer, principalmente o de ovário e mama (KHAZIR *et al.*, 2014).

Diversos derivados semi-sintéticos têm sido desenvolvidos a partir do paclitaxel. O primeiro aprovado para utilização clínica foi o docetaxel (Figura 3, pág. 4), que demonstrou atividade significativa em diversos tipos de tumores, e um padrão de toxicidade diferente do seu composto de origem. No entanto, os dois compostos

aprovados possuem certas limitações, que os cientistas ainda estão tentando superar através da síntese de outros análogos. Modificações nas estruturas destes compostos têm sido feitas com o objetivo de se descobrir novos agentes com maior citotoxicidade em tumores resistentes, baixa toxicidade e maior solubilidade (KHAZIR *et al.*, 2014).

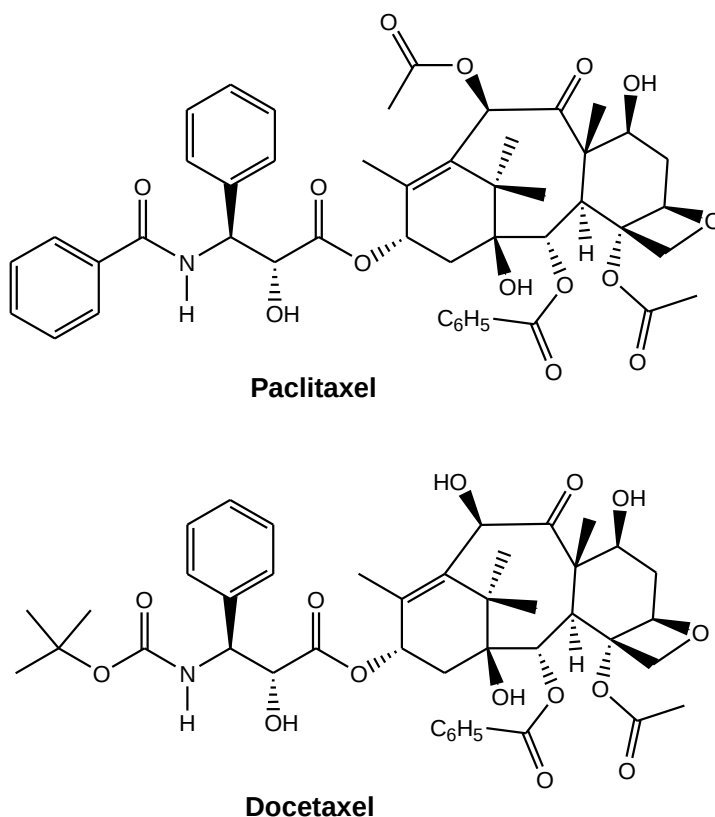


Figura 3: Estrutura química do paclitaxel e do docetaxel.

Cragg e Newman analisaram as fontes de novos medicamentos ao longo do período de 01/1981 a 12/2010. Eles observaram que 69% dos anti-infecciosos (compostos que englobam os agentes antibacterianos, antifúngicos, antiparasitários e antivirais) são derivados de produtos naturais ou são compostos inspirados em produtos naturais. Já na área do tratamento do câncer, esse número é ainda maior, correspondendo a 75% dos medicamentos (CRAGG E NEWMAN, 2013).

Um exemplo nacional de medicamento desenvolvido a partir de estudos com plantas é o Acheflan[®], um anti-inflamatório tópico totalmente desenvolvido no Brasil. O laboratório Aché, uma das maiores indústrias farmacêuticas da América do Sul, após

vários anos de pesquisas, lançou em 2005 este produto. A descoberta foi feita a partir da planta conhecida como “erva baleeira” (*Cordia verbenacea*). Do óleo essencial desta planta foram isolados dois compostos ativos, responsáveis pela ação anti-inflamatória relatada, o α -humuleno e o *trans*-cariofileno (Figura 4) (PASSOS *et al.*, 2007; FERNANDES *et al.*, 2007; QUEIROZ *et al.*, 2009). Fica claro a partir desse exemplo como a biodiversidade pode auxiliar a indústria de países emergentes na descoberta de novos compostos para o tratamento de diversas doenças existentes.

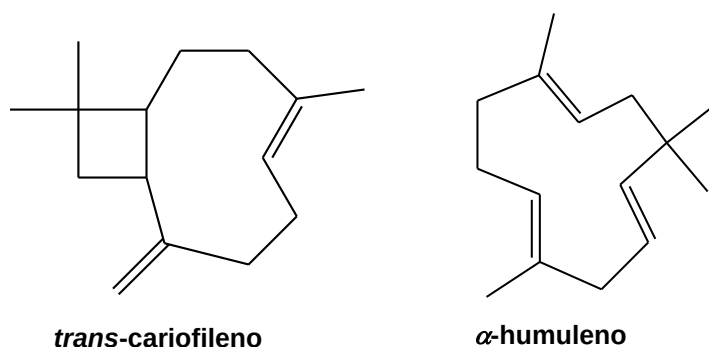


Figura 4: Estrutura química do *trans*-cariofileno e do α -humuleno.

Além de serem fonte de novas drogas, os produtos naturais têm inspirado o desenvolvimento da química orgânica sintética, levando a avanços em metodologias de síntese e possibilitando a criação de análogos do composto original com propriedades farmacológicas melhoradas (HARVEY, 2008).

A classe dos terpenos

Com base na sua estrutura e na origem biossintética, os produtos vegetais podem ser classificados em diferentes grupos, tais como os terpenos, alcaloides e compostos fenólicos (CROTEAU *et al.*, 2000).

Os terpenos estão entre a classe mais estruturalmente variada dos produtos vegetais. Todos os terpenos são derivados da fusão repetitiva de uma unidade de isopreno (C_5H_8) e o número de unidades determina a sua classificação (MOSES, *et al.*, 2013). Os terpenos com 10 unidades de carbono (C_{10}) são chamados de monoterpenos e foram os primeiros compostos a serem isolados a partir da terebintina

(resina líquida obtida de coníferas) na década de 1850. Os monoterpenos são conhecidos como componentes voláteis das essências das flores e dos óleos essenciais de ervas e especiarias. Em geral, são isolados por processo de destilação ou extração e encontra uso industrial considerável em indústria de flavorizantes e perfumes (CROTEAU *et al.*, 2000).

A síntese de todos os monoterpenos passa por um mecanismo comum, iniciado pela formação de um cátion geranila (Figura 5, pág. 7). Este intermediário sofre isomerização, ciclizações até a reação final, que geralmente é finalizada através da perda de um próton ou a adição de um nucleófilo (DEGENHARDT *et al.*, 2009). Os monoterpenos borneol e cânfora são formados através do intermediário difosfato de bornila (CROTEAU E KARP, 1977). Neste processo, uma enzima terpeno sintase catalisa a formação do difosfato de bornila a partir do cátion de bornila. O produto é então hidrolisado ou oxidado, levando à formação de borneol ou cânfora, respectivamente (Figura 5, pág. 7) (CROTEAU E KARP, 1979).

O borneol é um monoterpeno bicíclico presente no óleo essencial de numerosas plantas medicinais das famílias Dipterocarpaceae (*Dipterocarpus turbinatus tree*), Lamiaceae (*Rosmarinus officinalis* e *Salvia officinalis*), Valerianaceae (*Valeriana officinalis*) e Asteraceae (*Matricaria chamomilla*) (HORVÁTHOVÁ *et al.*, 2009). Na medicina popular chinesa, o borneol é empregado para diversos fins, como por exemplo, tratamento da dor de garganta, aftas, feridas, queimaduras e infecções da pele (LIU *et al.*, 2011). Ele também tem sido frequentemente encontrado em muitos medicamentos populares para o tratamento de doenças do Sistema Nervoso Central (SNC), tais como a doença de Alzheimer e Acidente Vascular Cerebral (YU *et al.*, 2013).

Muitos estudos mostram que o borneol possui ação analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana e cicatrizante (CANDAN *et al.*, 2003; HORVÁTHOVÁ *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2011; BARRETO, 2013). Além disso, diversas publicações têm mostrado que o borneol aumenta a penetração de drogas através da pele e da córnea (CUI *et al.*, 2011; QI *et al.*, 2013, JINGJING *et al.*, 2012) e acelera a abertura da barreira hemato-encefálica, aumentando a distribuição de drogas no tecido cerebral (YU *et al.*, 2013).

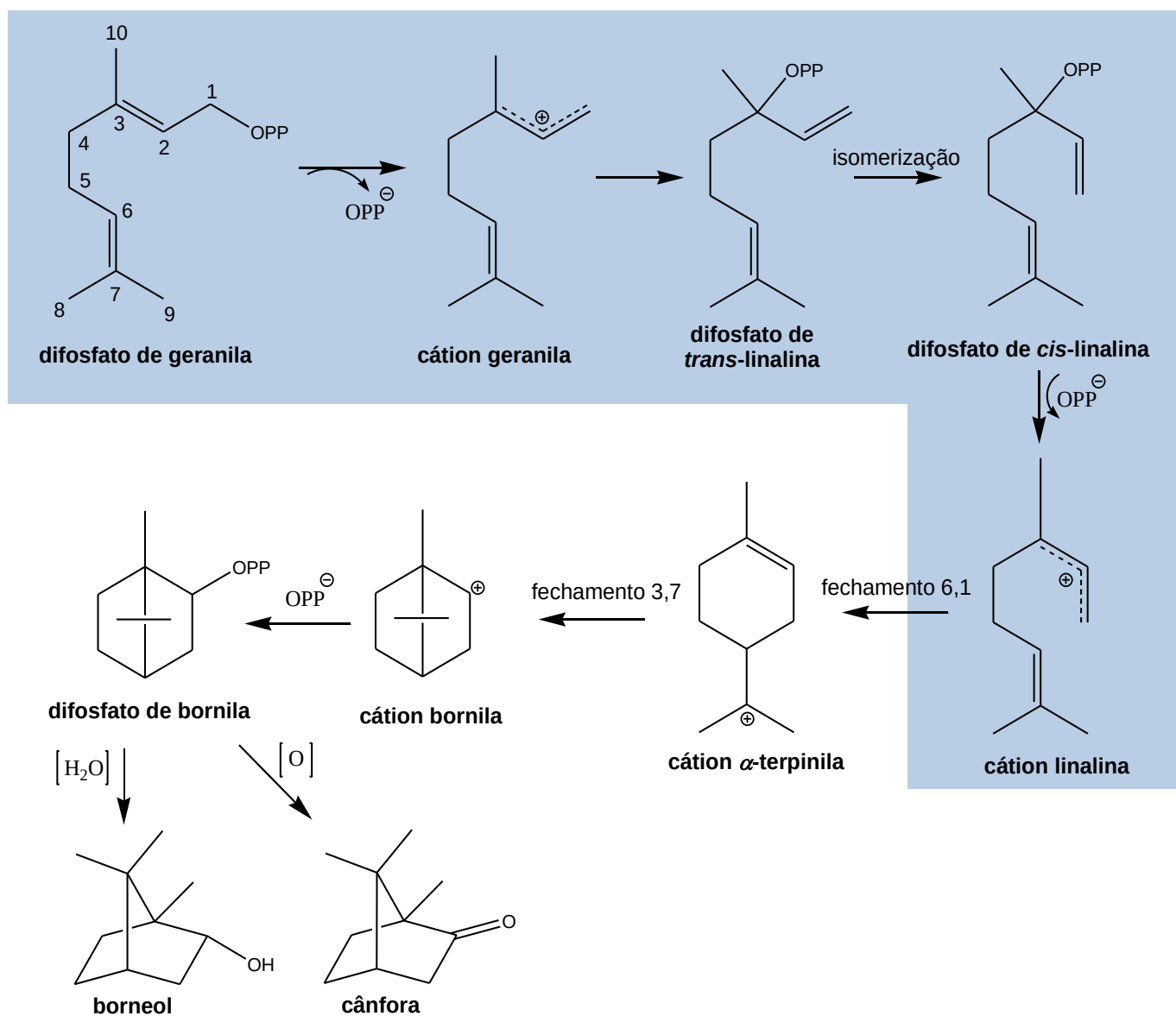


Figura 5: Mecanismo simplificado da biossíntese dos monoterpenos cíclicos borneol e cânfora. As estruturas sombreadas em azul correspondem aos intermediários comuns à biossíntese de todos os monoterpenos cíclicos.

Substâncias derivadas dos terpenos

Devido às diversas atividades atribuídas aos terpenos, muitos estudos vêm sendo conduzidos no sentido de se obter derivados destes compostos e testá-los frente a diversos alvos biológicos (BORGATI, 2013; CORRÊA *et al.*, 2012).

Um dos exemplos de grande êxito na obtenção de derivados de terpenos é o antiviral bevirimat, um análogo do triterpeno pentacíclico ácido betulínico (Figura 6). O bevirimat é o primeiro composto de uma nova classe de terapia antirretroviral, conhecido como inibidores de maturação do vírus HIV (SMITH, *et al.*, 2007). Kashiwada e colaboradores (1996) isolaram o ácido betulínico de *Syzigium claviflorum* e observaram a moderada atividade anti-HIV do composto. Porém, quando foi realizada a modificação na cadeia lateral do ácido, com a adição de um grupo na posição 3, a atividade do novo composto mostrou ser 1000 vezes maior que do ácido betulínico (KASHIWADA, *et al.*, 1996).

Devido à necessidade cada vez maior de novos agentes antirretrovirais com novos mecanismos de ação, a fim de prevenir a resistência do vírus HIV e fornecer terapias alternativas para aqueles pacientes que não conseguem ou não toleram os medicamentos existentes no mercado, o bevirimat mostra-se como uma esperança, já que apresenta um mecanismo de ação novo, diferente de todas as drogas utilizadas para tratamento do HIV.

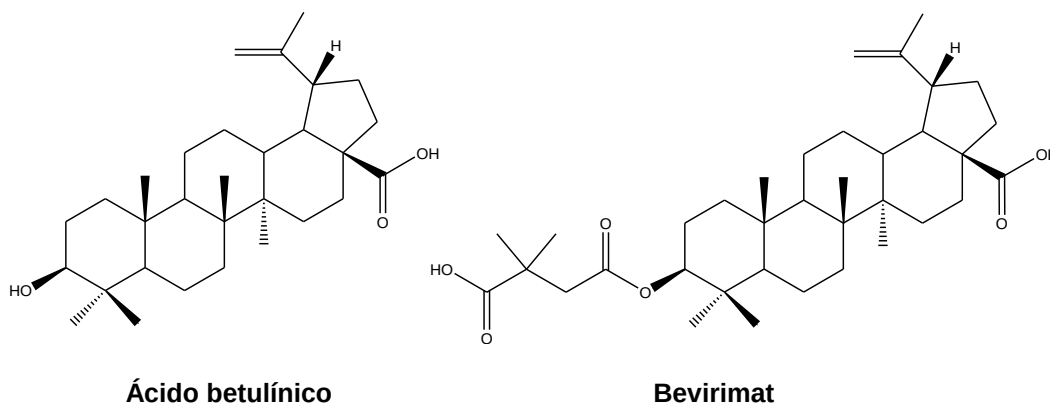


Figura 6: Estrutura do ácido betulínico e do bevirimat.

Corrêa e colaboradores relataram a síntese de dois benzoatos do borneol (Compostos 1 e 2, Figura 7) e estes apresentaram considerável atividade *in vitro* contra as formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi*. O composto 1, quando testado com concentração igual 100 µg/mL, inibiu mais de 98% do crescimento do parasita após 72h de incubação. Na mesma concentração, o composto 2 inibiu completamente a proliferação do parasita. O IC_{50/72h} encontrado para 1 e 2 foram 10,1 e 12,8 µg/mL, respectivamente. O IC_{50/72h} do benzonidazol (padrão utilizado) para *T. cruzi* foi de 2,5 µg/mL (CORRÊA *et al.*, 2012).

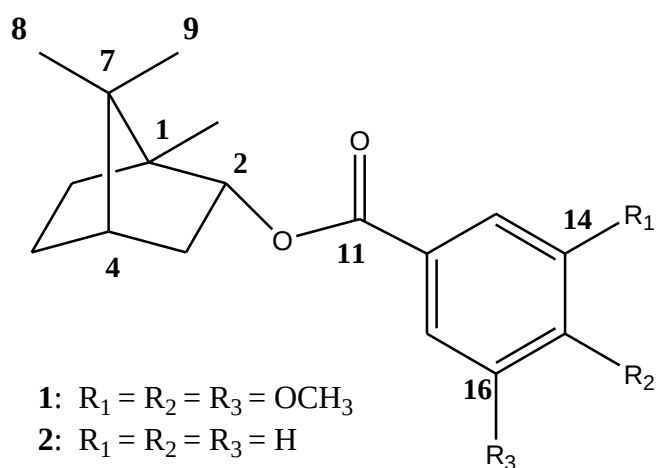


Figura 7: Benzoatos do Borneol sintetizados por Corrêa *et al.*, 2012.

Vasconcelos e colaboradores também estudaram a atividade biológica de um derivado do borneol. No estudo realizado, o éster salicilato de bornila (Figura 8, pág. 10) foi sintetizado e avaliado frente às atividades de toxicidade e anti-inflamatória (VASCONCELOS *et al.*, 2012). Como resultado do teste realizado, os pesquisadores observaram que não houve sinal de toxicidade aguda do éster nos animais estudados. Além disso, o derivado do borneol apresentou boa atividade anti-inflamatória, relacionada possivelmente com a diminuição de mediadores como prostaglandina E2 (PGE2), óxido nítrico (NO) e citocinas pró-inflamatórias.

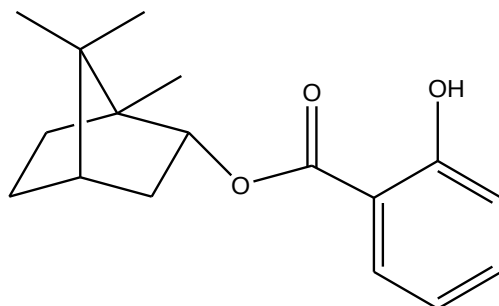


Figura 8: Salicilato de bornila sintetizado por Vasconcelos *et al.*, 2012.

Devido às diversas atividades já atribuídas ao borneol e o fato de existirem poucos estudos com derivados deste monoterpene, propõe-se sintetizar derivados desta molécula e avaliar a atividade farmacológica dos mesmos.

OBJETIVOS DO TRABALHO

- ✓ Sintetizar e caracterizar os ésteres derivados do borneol utilizando duas metodologias diferentes;
- ✓ Avaliar o rendimento e eficácia das metodologias utilizadas;
- ✓ Avaliar *in vitro* a atividade leishmanicida, antimicrobiana e antiproliferativa dos compostos sintetizados;
- ✓ Avaliar a atividade anti-inflamatória *in vivo* dos ésteres sintetizados.

1 SÍNTESE DOS ÉSTERES DO BORNEOL

1.1 Parte Experimental

1.1.1 Materiais e métodos

Nesse trabalho, a purificação dos produtos obtidos da síntese foi realizada por cromatografia em coluna (CC), utilizando sílica gel 60 (0,063-0,2mm, Macherey-Nagel) como fase estacionária. Os solventes empregados como fase móvel foram hexano, clorofórmio e acetato de etila (puros ou combinados e em ordem crescente de polaridade).

Para acompanhamento das reações foram executadas análises de cromatografia em camada delgada (CCD). Na preparação das cromatoplasas utilizou-se como fase estacionária sílica gel 60G (0,045mm, Merck) na espessura de aproximadamente 0,25 mm; como fase móvel utilizaram-se os solventes hexano, clorofórmio e acetato de etila (puros ou combinados). Como reveladores usou-se vanilina perclórica (solução de vanilina etanólica a 1% (p/v) e ácido perclórico a 3% (v/v), misturados na proporção de 1:1), seguido por aquecimento em estufa a 130 °C.

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

Espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando o espectrômetro modelo Spectrum One Perkin Elmer do Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da UFMG. Este possui dispositivo ATR, permitindo que o espectro seja obtido diretamente da amostra sólida ou oleosa, sem a necessidade do uso de pastilha. Também foi utilizado o espectrômetro Shimadzu IR-408 do Departamento de Química, UFMG, neste caso utiliza-se pastilhas de KBr [1% (m/m)] ou janela de NaCl e o espectrômetro Nicolet, modelo Nexus 470 da Thermo Scientific do Laboratório de Química de Nanoestruturas de Carbono do CDTN/CNEN. O equipamento está acoplado a um microscópio Nicolet Centaurus com uma ampliação de 10 vezes, com amostra aplicada diretamente em janela de silício.

Os espectros de RMN de 1D e 2D foram obtidos em espectrômetros Bruker *Avance* DPX-200 e DRX-400 do Laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química, UFMG. Os solventes deuterados utilizados encontram-se indicados em cada caso. Os deslocamentos químicos (δ) foram registrados em ppm usando tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interna e as constantes de acoplamento (J) dadas em Hz.

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em Espectrômetro de Massas com Fonte de Ionização Electrospray (ESI-MS) modelo SHIMADZU LC-ITTOF (Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG).

A numeração utilizada na nomenclatura dos compostos segue a regra da IUPAC, porém a utilizada nas estruturas químicas não segue a regra da IUPAC. As estruturas foram numeradas de modo a auxiliar na atribuição e no detalhamento dos dados espectroscópicos.

Os ácidos empregados para a síntese dos ésteres foram aqueles disponíveis no laboratório (Esquema 5, pág. 40).

1.1.2 Procedimentos

1.1.2.1 Obtenção dos ésteres derivados do borneol

1.1.2.1.a Obtenção dos ésteres derivados do borneol utilizando DIC/DMAP (KANE *et al.*, 2004, adaptado)

Foram solubilizados, sob agitação magnética, em um balão de fundo redondo acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio, 3 mmol do ácido, 1 mmol de borneol e uma quantidade catalítica de DMAP (0,25 – 0,33 mmol) em diclorometano, (exceto para o ácido succínico (Tabela 3, pág. 45), onde as concentrações foram alteradas). Após 10 minutos foram adicionados a esta mistura, sob banho de gelo, 3 mmol de DIC. A mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, e o desenvolvimento da reação foi seguido por CCD. Após o fim da reação evaporou-se o

solvente da mistura em evaporador rotatório. Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia em coluna.

1.1.2.1.b Obtenção dos ésteres derivados do borneol utilizando SOCl_2 (MIRANDA, 2007)

Foram adicionados, sob agitação magnética, em um balão bitubulado, 2 mL (27,5 mmol) de SOCl_2 e 3 mmol do ácido. O balão foi acoplado a um condensador de bolas com terminação ligada a um tubo com cloreto de cálcio. A mistura foi mantida sob agitação magnética e refluxo durante 3 horas. Após o fim da reação, o excesso de SOCl_2 foi removido com o auxílio de uma bomba de vácuo, acoplada a 2 tubos imersos em nitrogênio líquido. Após remoção total do SOCl_2 , adicionaram-se 1 mmol de borneol ao balão e 2 mL de tolueno. A mistura foi mantida sob agitação magnética e refluxo e o desenvolvimento da reação foi seguido por CCD. Após o fim da reação adicionaram-se lentamente, 5 mL de solução aquosa de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) 5% (p/v) ao balão. A mistura reacional foi levada para o funil de separação e foi lavada três vezes com clorofórmio (3 x 25 mL). Em seguida, a fase orgânica foi lavada com 20 mL de água destilada, posteriormente com 30 mL de solução de bicarbonato de sódio 5% (p/v) e por fim com 20 mL de água destilada. Esta fase foi colocada em contato com sulfato de sódio anidro, filtrada e, finalmente, o solvente foi destilado em evaporador rotatório. O material obtido foi purificado por cromatografia em coluna (CC), conduzindo ao éster de interesse.

1.1.2.1.c Obtenção dos ésteres derivados do borneol utilizando DIC/DMAP com irradiação por micro-ondas

Adicionaram-se em um balão de fundo redondo 3 mmol do ácido, 1 mmol de borneol e uma quantidade catalítica de DMAP (0,25 – 0,33 mmol) na ausência de solvente. A mistura foi mantida sob banho de gelo e, em seguida, foram adicionados 3 mmol de DIC. A mistura reacional foi submetida à irradiação de micro-ondas (IMO) em um reator DISCOVER CEM®. As condições empregadas foram: temperatura de 25, 70,

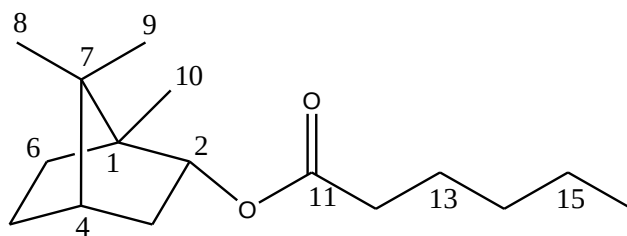
130 ou 170 °C (indicada em cada caso), potência de 250 watts, tempo de rampa: 2 minutos, tempo de irradiação de micro-ondas: 3 ou 5 minutos, em agitação máxima e tubo aberto. Após o término da IMO o bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna.

Na Tabela 1 (pág. 41) encontram-se os rendimentos, as condições e o tempo de reação para cada produto obtido.

Apenas os produtos **11** (benzoato de bornila, pág. 26) e **15** (3,4',5'-trimetoxibenzoato de bornila, pág. 30) estão descritos, os demais são inéditos na literatura.

1.1.3 Descrição dos ésteres obtidos

1.1.3.1 Hexanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (1)



Fórmula Molecular: $C_{16}H_{28}O_2$

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	2 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	62	103
2	Tolueno	26 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	36	91
3	-	3 min	25 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	51	85
4	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	76	126
5	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	61	102

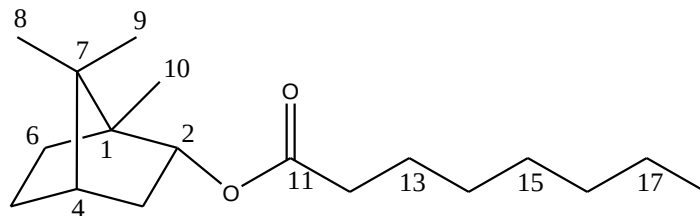
IV (ATR, cm⁻¹): 1160, 1175, 1454, 1782, 2873, 2954.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição): 4,92-4,85 (ddd, 1H, *J*₁ = 2,2, *J*₂ = 3,4, *J*₃ = 10, H2), 2,43-2,27 (m, 3H, H3 e H12), 2,01-1,87 (m, 1H) 1,78-1,56 (m, 4H), 1,35-1,16 (m, 6H), 0,99 (d, 1H, *J* = 3,4, H3), 0,93-0,91 (6H, H9 e H16), 0,87 (s, 3H, H8), 0,83 (s, 3H, H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 174,1 (C11), 79,6 (C2), 48,8 (C7), 47,8 (C1), 45,1 (C4), 36,9 (C3), 34,7 (C12), 31,4 (C13), 28,1 (C5), 27,2 (C14), 24,9 (C6), 22,3 (C15), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 13,9 (C16), 13,5 (C10).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M + Na]⁺: 275,1987; encontrado: 275,1922; erro: 23,6 ppm.

1.1.3.2 Octanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (2)



Fórmula Molecular: $C_{18}H_{32}O_2$

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	1 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	79	144
2	Tolueno	29 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	44	125
3	-	3 min	25 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	83	153
4	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	87	160
5	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	93	175

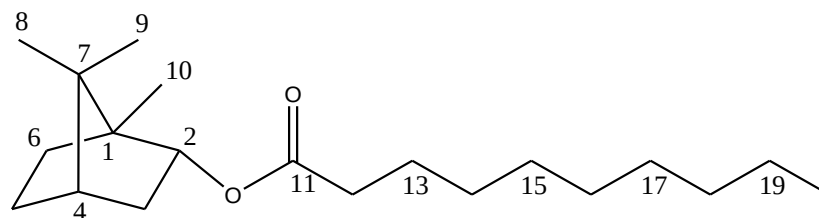
IV (ATR, cm⁻¹): 1160, 1175, 1732, 2873, 2933, 2954.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, J (Hz), atribuição): 4,92-4,85 (m, 1H, H2), 2,43-2,27 (m, 3H, H3 e H12), 2,01-1,87 (m, 1H) 1,76-1,60 (m, 4H), 1,29 (sl, 10H, H13 ao H17), 0,98 (d, 1H, J = 3,4, H3), 0,91-0,87 (9H, H18, H9 e H8), 0,83 (s, 3H, H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 174,2 (C11), 79,6 (C2), 48,8 (C7), 47,8 (C1), 44,9 (C4), 36,9 (C3), 34,7 (C12), 31,7 (C13), 29,1 (C14), 29,0 (C15), 28,1 (C5), 27,1 (C16), 25,2 (C6), 22,6 (C17), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 14,1 (C18), 13,5 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M + Na]⁺: 303,2300; encontrado: 303,2387; erro: 28,7 ppm.

1.1.3.3 Decanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (3)



Fórmula Molecular: C₂₀H₃₆O₂

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	3 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	85	171
2	Tolueno	17 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	34	80
3	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	92	186
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	95	194

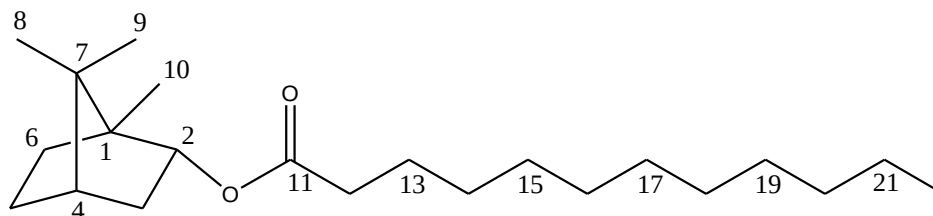
IV (KBr, cm⁻¹): 1160, 1178, 1456, 1736, 2856, 2926, 2956.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição): 4,92-4,85 (ddd, 1H, *J*₁ = 2, *J*₂ = 3,4, *J*₃ = 10, H2), 2,43-2,27 (m, 3H, H3 e H12), 2,01-1,87 (m, 1H) 1,76-1,59 (m, 4H), 1,27 (sl, 14H, H13 ao H19), 0,98 (d, 1H, *J* = 3,4, H3), 0,91-0,87 (9H, H20, H9 e H8), 0,83 (s, 3H, H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 174,2 (C11), 79,6 (C2), 48,7 (C7), 47,8 (C1), 44,9 (C4), 36,9 (C3), 34,7 (C12), 31,9 (C13), 29,5 (C14), 29,3 (C15), 29,3 (C16), 29,2 (C17), 28,1 (C5), 27,1 (C18), 25,2 (C6), 22,7 (C19), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 14,1 (C20), 13,5 (C10).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M + Na]⁺: 331,2613; encontrado: 331,2563; erro: 15,1 ppm.

1.1.3.4 Dodecanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (4)



Fórmula Molecular: C₂₂H₄₀O₂

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	14 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	72	157
2	Tolueno	19 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	43	95
3	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	82	82
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	76	171

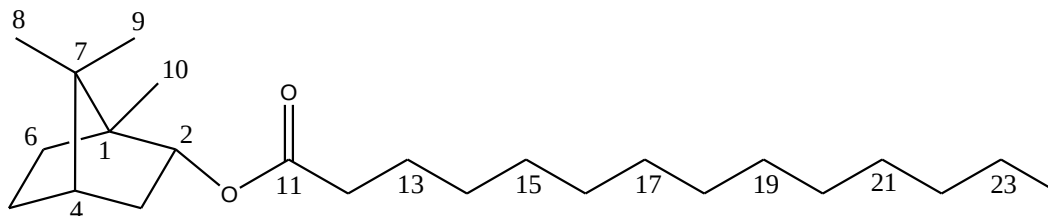
IV (Si, cm⁻¹): 1025, 1160, 1180, 1736, 2854, 2925.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição): 4,92-4,85 (ddd, 1H, *J*₁ = 2,2, *J*₂ = 3,4, *J*₃ = 10, H₂), 2,43-2,27 (m, 3H, H₃ e H₁₂), 2,01-1,87 (m, 1H) 1,78-1,59 (m, 4H), 1,26 (sl, 18H, H₁₃ ao H₂₁), 0,99 (d, 1H, *J* = 3,4, H₃), 0,91-0,87 (9H, H₂₂, H₉ e H₈), 0,83 (s, 3H, H₁₀).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 174,0 (C₁₁), 79,6 (C₂), 48,8 (C₇), 47,8 (C₁), 45,0 (C₄), 36,9 (C₃), 34,7 (C₁₂), 31,9 (C₁₃), 29,6 (CH₂), 29,5 (CH₂), 29,3 (CH₂), 29,2 (CH₂), 28,1 (C₅), 27,2 (CH₂), 25,2 (C₆), 22,6 (CH₂), 19,7 (C₉), 18,8 (C₈), 14,0 (C₂₂), 13,4 (C₁₀).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M + Na]⁺: 359,2926; encontrado: 359,2956; erro: 8,3 ppm.

1.1.3.5 Tetradecanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (5)



Fórmula Molecular: C₂₄H₄₄O₂

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	2 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	82	194
2	Tolueno	24 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	17	62
3	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	89	213
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	87	213

IV (ATR, cm⁻¹): 721, 1024, 1159, 1177, 1247, 1734, 2853, 2923, 2953.

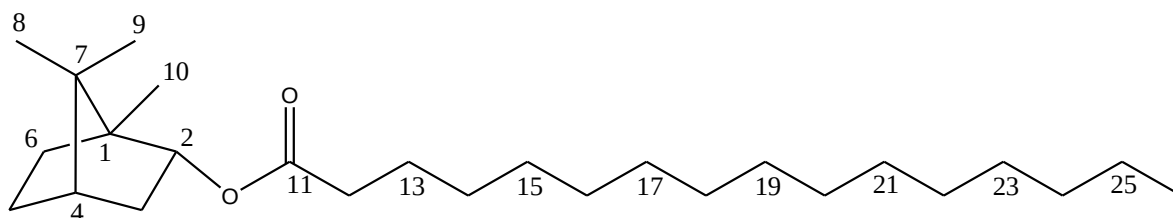
RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, J (Hz), atribuição):

4,92-4,85 (m, 1H, H2), 2,43-2,27 (m, 3H, H3 e H12), 2,01-1,87 (m, 1H) 1,69-1,61 (m, 4H), 1,26 (sl, 22H, H13 ao H23), 0,98 (d, 1H, J = 3,4, H3), 0,91-0,87 (9H, H24, H9 e H8), 0,83 (s, 3H, H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 174,1 (C11), 79,6 (C2), 48,8 (C7), 47,8 (C1), 45,1 (C4), 36,9 (C3), 34,8 (C12), 32,0 (C13), 29,7 (CH₂), 29,5 (CH₂), 29,4 (CH₂), 29,2 (CH₂), 28,1 (C5), 27,2 (CH₂), 25,2 (C6), 22,7 (CH₂), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 14,1 (C24), 13,5 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M + Na]⁺: 387,3239; encontrado: 387,3294; erro: 14,5 ppm.

1.1.3.6 Hexadecanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (6)



Fórmula Molecular: C₂₆H₄₈O₂

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

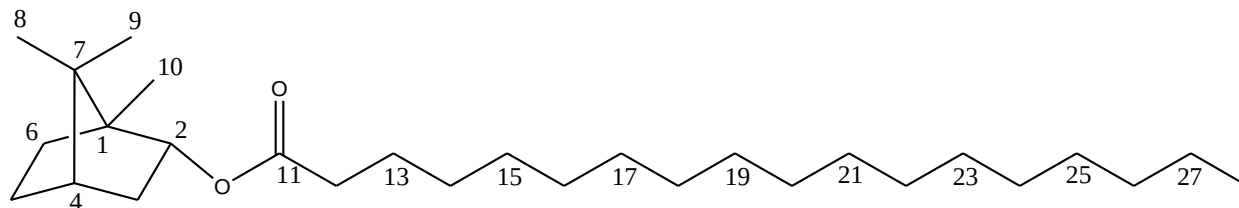
Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	1 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	73	186
2	Tolueno	47 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	36	140
3	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	77	196
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	82	212

IV (ATR, cm⁻¹): 721, 1024, 1159, 1177, 1734, 2853, 2922.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, J (Hz), atribuição): 4,92-4,85 (ddd, 1H, J₁ = 2, J₂ = 3, J₃ = 10, H2), 2,43-2,27 (m, 3H, H3 e H12), 2,00-1,87 (m, 1H) 1,69-1,60 (m, 4H), 1,26 (sl, 26H, H13 ao H25), 0,98 (d, 1H, J = 3,4, H3), 0,90-0,87 (9H, H26, H9 e H8), 0,83 (s, 3H, H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 174,2 (C11), 79,6 (C2), 48,7 (C7), 47,8 (C1), 44,9 (C4), 36,9 (C3), 34,7 (C12), 31,9 (C13), 29,7 (CH₂), 29,6 (CH₂), 29,5 (CH₂), 29,4 (CH₂), 29,3 (CH₂), 29,2 (CH₂), 28,1 (C5), 27,1 (CH₂), 25,2 (C6), 22,7 (CH₂), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 14,1 (C26), 13,5 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M + Na]⁺: 415,3552; encontrado: 415,3561; erro: 2,2 ppm.

1.1.3.7 Octadecanoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (7)**Fórmula Molecular:** C₂₈H₅₂O₂**Aspecto:** óleo incolor**Condições da Reação:**

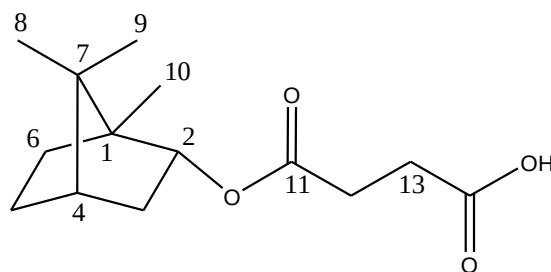
Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	19 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	65	182
2	Tolueno	47 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	41	175
3	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	85	234
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	92	253

IV (ATR, cm⁻¹): 721, 1159, 1176, 1734, 2852, 2922.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição): 4,92-4,85 (ddd, 1H, *J*₁ = 2,2, *J*₂ = 3,4, *J*₃ = 9,8, H2), 2,43-2,27 (m, 3H, H3 e H12), 2,01-1,87 (m, 1H) 1,76-1,59 (m, 4H), 1,26 (sl, 30H, H13 ao H27), 0,98 (d, 1H, *J* = 3,4, H3), 0,91-0,87 (9H, H28, H9 e H8), 0,83 (s, 3H, H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 174,1 (C11), 79,6 (C2), 48,8 (C7), 47,8 (C1), 45,1 (C4), 36,9 (C3), 34,8 (C12), 32,0 (C13), 29,7 (CH₂), 29,5 (CH₂), 29,4 (CH₂), 29,2 (CH₂), 28,1 (C5), 27,2 (CH₂), 25,2 (CH₂), 22,7 (CH₂), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 14,1 (C28), 13,5 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M + Na]⁺: 443,3865; encontrado: 443,4183; erro: 71,7 ppm.

1.1.3.8 Ácido 4-oxo-4-[(1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-il)oxi] butanoico (8)**Fórmula Molecular:** C₁₄H₂₂O₄**Aspecto:** sólido branco**Condições da Reação:**

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	26 h	T. a.	DIC/DMAP	1	5	35	58

Faixa de temperatura de fusão: 50-52 °C

IV (KBr, cm⁻¹): 642, 804, 1018, 1160, 1182, 1328, 1386, 1714, 1738, 2882, 2928, 2954, 2988, 3448.

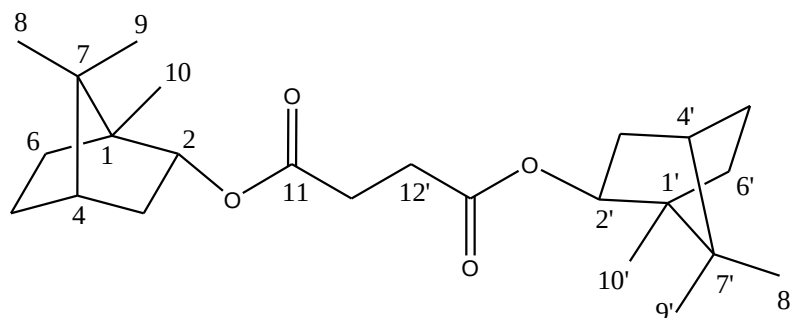
RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição):

4,93-4,89 (m, 1H, H2), 2,67 (sl, 4H, H12, H13), 2,42-2,27 (m, 1H), 1,97-1,65 (m, 3H) 1,35-1,15 (m, 3H), 1,00 (d, 1H, *J* = 3,2, H3), 0,90 (s, 3H, H9), 0,87 (s, 3H, H8), 0,82 (s, 3H, H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 178,1(C14), 172,3 (C11), 80,5 (C2), 48,8 (C7), 47,8 (C1), 44,8 (C4), 36,6 (C3), 29,2 (C12), 29,1 (C13), 28,0 (C5), 27,0 (C6), 19,7 (C9), 18,8 (C8), 13,4 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M - H]⁻: 253,1440; encontrado 253,1428; erro: 4,6 ppm.

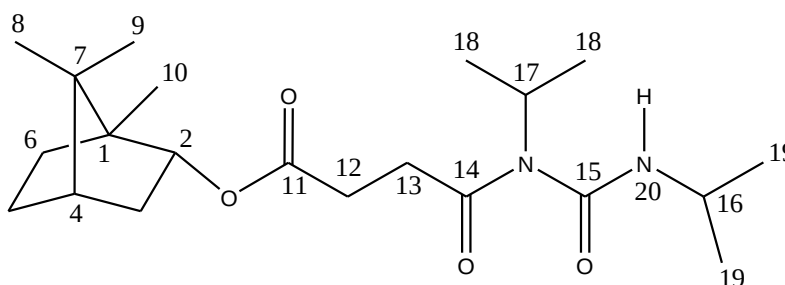
1.1.3.9 Succinato de bis(1,7,7 trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ila (9)

**Fórmula Molecular:** C₂₄H₃₈O₄**Aspecto:** sólido branco**Condições da Reação:**

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	26 h	T. a.	DIC/DMAP	2	1	20	155
2	-	3 min	25 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	2	4
3	-	5 min	25 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	17	44

Faixa de temperatura de fusão: 75-77 °C**IV** (KBr, cm⁻¹): 1022, 1156, 1212, 1352, 1386, 1456, 1730, 2876, 2956, 3446.**RMN de ¹H** (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, J (Hz), atribuição):4,94-4,87 (ddd, 2H, J₁ = 2,2, J₂ = 3,2, J₃ = 10, H2, H2'), 2,65 (s, 4H, H12, H12'), 2,42-2,27 (m, 2H), 1,99-1,60 (m, 8H) 1,36-1,16 (m, 6H), 1,02-0,93 (dd, 2H, J₁ = 3,4, J₂ = 10,2, H3, H3'), 0,90 (s, 6H, H9, H9'), 0,87 (s, 6H, H8, H8'), 0,83 (s, 6H, H10, H10').**RMN de ¹³C** (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 172,4 (C11, C11'), 80,3 (C2, C2'), 48,8 (C7, C7'), 47,8 (C1, C1'), 45,0 (C4, C4'), 36,7 (C3, C3'), 29,7 (C12, C12'), 28,1 (C5, C5'), 27,2 (C6, C6'), 19,7 (C9, C9'), 18,9 (C8, C8'), 13,5 (C10, C10').**HRMS (ESI):** m/z calculado - [M + Na]⁺: 413,2668; encontrado 413,2700; erro: 7,7 ppm.

1.1.3.10 4-{Isopropil[isopropilamino]carbonil]amino}-4-oxobutanoato de 1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ila (10)



Fórmula Molecular: C₂₁H₃₆N₂O₄

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	-	3 min	25 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	20	50
2	-	5 min	25 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	17	44

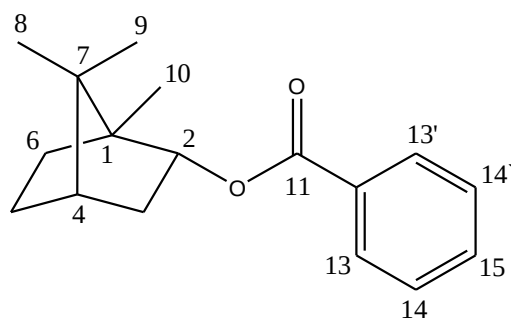
IV (NaCl, cm⁻¹): 1022, 1170, 1366, 1386, 1456, 1524, 1662, 1704, 1732, 2878, 2956, 2970, 3314.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição): 7,63-7,61 (sl, 1H, H₂₀), 4,94-4,86 (ddd, 1H, *J*₁ = 2,2, *J*₂ = 3,3, *J*₃ = 10, H₂), 4,52-4,32 (hept, 1H, *J* = 6,8, H₁₇), 4,10-3,86 (oct, 1H, *J* = 7, H₁₆), 2,73 (sl, 4H, H₁₂, H₁₃), 2,41-2,25 (m, 1H, H₃), 1,93-1,84 (m, 1H, H₆) 1,79-1,72 (m, 1H, H₅), 1,69-1,65 (m, 1H, H₄), 1,31-1,24 (m, 2H, H₅ e H₆), 1,38 (d, 6H, *J* = 6,6, H₁₈), 1,19 (d, 6H, *J* = 6,6, H₁₉), 1,02-0,95 (dd, 1H, *J*₁ = 3,3, *J*₂ = 10,2, H₃), 0,87 (s, 3H, H₉), 0,90 (s, 3H, H₈), 0,82 (s, 3H, H₁₀).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 173,5 (C₁₁), 172,2 (C₁₄), 154,0 (C₁₅), 80,5 (C₂), 48,9 (C₇), 47,9 (C₁ e C₁₇), 45,0 (C₄), 42,8 (C₁₆), 36,6 (C₃), 30,5 (C₁₃), 29,8 (C₁₂), 28,0 (C₅), 27,2 (C₆), 22,4 (C₁₉), 20,8 (C₁₈), 19,7 (C₉), 18,8 (C₈), 13,5 (C₁₀).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M + Na]⁺: 403,2573; encontrado 403,2655; erro: 20,3 ppm.

1.1.3.11 Benzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (11)



Fórmula Molecular: C₁₇H₂₂O₂

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	4 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	59	99
2	Tolueno	17 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	3	8
3	Tolueno	30 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	26	68
4	Tolueno	100 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	6	13
5	-	3 min	122 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	62	107
6	-	5 min	122 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	81	140

IV (ATR, cm⁻¹): 710, 978, 1112, 1270, 1451, 1714, 2879, 2953.

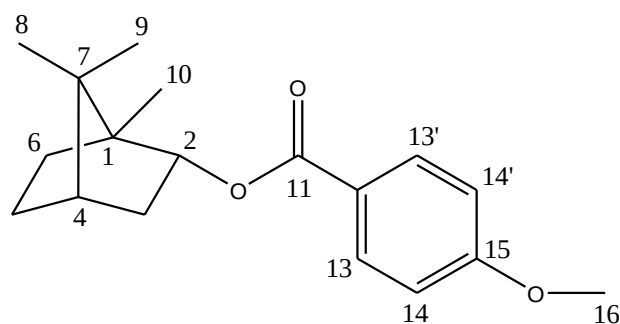
RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição):

8,07 (d, 2H, *J* = 6,8, H13, H13'), 7,60-7,41 (m, 3H, H14, H14' e H15), 5,16-5,08 (ddd, 1H, *J*₁ = 2, *J*₂ = 3, *J*₃ = 9,8, H2), 2,56-2,40 (m, 1H, H3), 2,21-2,07 (m, 1H, H6) 1,86-1,74 (m, 2H), 1,46-1,27 (m, 2H), 1,17-1,08 (dd, 1H, *J*₁ = 3,4, *J*₂ = 13,6, H3), 0,97 (s, 3H, H9), 0,92 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 166,8 (C11), 132,7 (C-15), 130,9 (C12), 129,5 (C13 ou C14), 128,3 (C13 ou C14), 80,5 (C2), 49,1 (C7), 47,9 (C1), 45,0 (C4), 36,9 (C3), 28,1 (C5), 27,4 (C6), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 13,6 (C10).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M + Na]⁺: 281,1517; encontrado: 281,1525; erro: 2,8 ppm.

1.1.3.12 4'-Metoxibenzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (12)



Fórmula Molecular: $C_{18}H_{24}O_3$

Aspecto: óleo incolor

Condições da Reação:

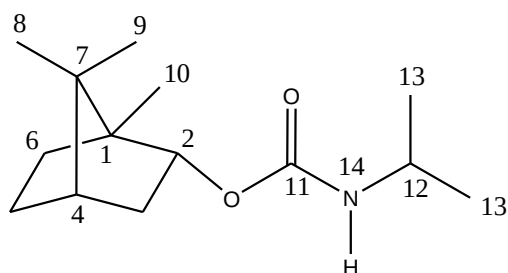
Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	24 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	30	57
2	Tolueno	31 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	5	14
3	-	3 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	56	105
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	15	29
5	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	50	95

IV (ATR, cm⁻¹): 696, 770, 848, 1032, 1102, 1118, 1168, 1280, 1510, 1606, 1712, 2838, 2880, 2954.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição): 8,02 (d, 2H, *J* = 9, H13 e H13'), 6,93 (d, 2H, *J* = 8,8, H14 e H14'), 5,13-5,05 (ddd, 1H, *J*₁ = 2,2, *J*₂ = 3,2, *J*₃ = 10, H2), 3,86 (s, 3H, H16), 2,54-2,38 (m, 1H, H3), 2,19-2,06 (m, 1H, H6), 1,88-1,72 (m, 2H), 1,45-1,22 (m, 2H), 1,15-1,06 (dd, 1H, *J*₁ = 3,5, *J*₂ = 13,6, H3), 0,96 (s, 3H, H9), 0,91 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 166,6 (C11), 163,3 (C15), 131,5 (C13, C13'), 123,5 (C12), 113,6 (C14, C14'), 80,2 (C2), 55,4 (C16), 49,1 (C7), 47,9 (C1), 45,1 (C4), 37,0 (C3), 28,1 (C5), 27,5 (C6), 19,8 (C9), 18,9 (C8), 13,6 (C10).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M + Na]⁺: 311,1623; encontrado 311,1609; erro: 4,5 ppm.

1.1.3.13 Isopropilcarbamato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (13)**Fórmula Molecular:** $C_{14}H_{25}NO_2$ **Aspecto:** sólido branco**Condições da Reação:**

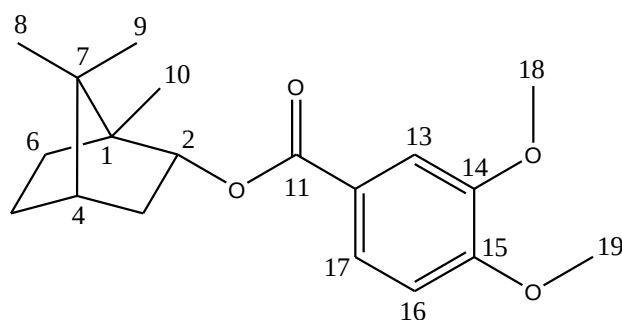
Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	13	20
2	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	17	28
3	-	3 min	170 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	12	19

Faixa de Temperatura de Fusão: 63-65 °C**IV** (Si, cm^{-1}): 1087, 1259, 1546, 1708, 1683, 2876, 2954, 3298.**RMN de ^1H** (200 MHz, $CDCl_3$, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, J (Hz), atribuição):

4,85-4,80 (m, 1H, H2), 4,48 (sl, 1H, H14) 3,91-3,68 (m, 1H, H12), 2,41-2,26 (m, 1H, H3), 1,94-1,82 (m, 1H, H6), 1,79-1,71 (m, 1H, H5), 1,67-1,63 (m, 1H, H4), 1,25-1,23 (m, 2H, H5 e H6), 1,16 (d, 6H, $J = 6,4$, H13, H13'), 1,01 (d, 1H, $J = 3,1$, H3), 0,90 (s, 3H, H8), 0,86 (s, 3H, H9), 0,84 (s, 3H, H10).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ_C (ppm): 156,3 (C11), 79,9 (C2), 48,8 (C7), 47,8 (C1), 45,0 (C4), 43,1 (C12), 36,9 (C3), 28,1 (C5), 27,2 (C6), 23,1 (C13, C13'), 19,7 (C9), 18,8 (C8), 13,5 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - $[M + Na]^+$: 262,1783; encontrado 262,1834; erro: 19,4 ppm.

1.1.3.14 3',4'-Dimetoxibenzoato de 1,7,7 trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ila (14)**Fórmula Molecular:** C₁₉H₂₆O₄**Aspecto:** óleo incolor**Condições da Reação:**

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	72 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	77	161
2	Tolueno	43 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	23	47
3	-	3 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	51	106
4	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	60	127

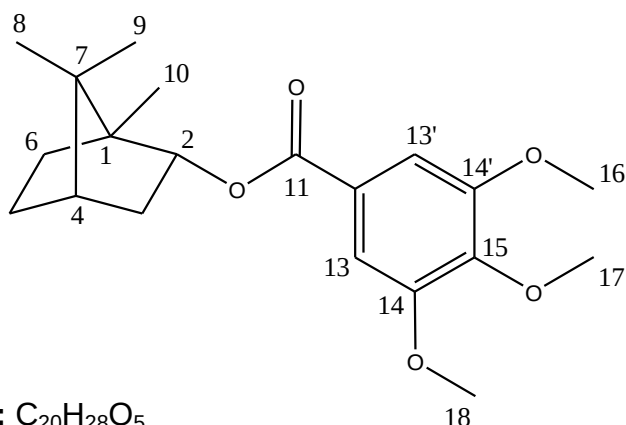
IV (Si, cm⁻¹): 763, 1025, 1114, 1177, 1224, 1271, 1290, 1453, 1514, 1601, 1710, 2878, 2954.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição): 7,73-7,68 (dd, 1H, *J*₁ = 1,8, *J*₂ = 8,4, H17), 7,58 (d, 1H, *J* = 2, H13), 6,90 (d, 1H, *J* = 8,4, H16), 5,13-5,06 (ddd, 1H, *J*₁ = 2, *J*₂ = 3,4, *J*₃ = 9,8, H2), 3,94 (s, 6H, H18, H19), 2,55-2,39 (m, 1H, H3), 2,18-2,05 (m, 1H, H6) 1,84-1,71 (m, 2H), 1,48-1,23 (m, 2H), 1,16-1,08 (dd, 1H, *J*₁ = 3,4, *J*₂ = 13,8, H3), 0,97 (s, 3H, H9), 0,92 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 166,6 (C11), 153,1 (C15), 148,9 (C14), 123,7 (C12), 123,4 (C17), 112,5 (C16), 110,5 (C13), 80,4 (C2), 56,1 (C18 e C19), 49,2 (C7), 47,9 (C1), 45,2 (C4), 37,0 (C3), 28,2 (C5), 27,5 (C6), 19,8 (C9), 19,0 (C8), 13,6 (C10).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M + Na]⁺: 341,1729; encontrado 341,1703; erro: 7,6 ppm.

1.1.3.15 3',4',5'-Trimetoxibenzoato de 1,7,7 trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ila (15)



Fórmula Molecular: $C_{20}H_{28}O_5$

Aspecto: sólido branco

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	5 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	54	123
2	Tolueno	72 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	35	122
3	-	3 min	170 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	82	193
4	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	80	182

Faixa de Temperatura de Fusão: 69-71 °C

IV (ATR, cm⁻¹): 767, 873, 1122, 1228, 1333, 1415, 1586, 1708, 2836, 2952.

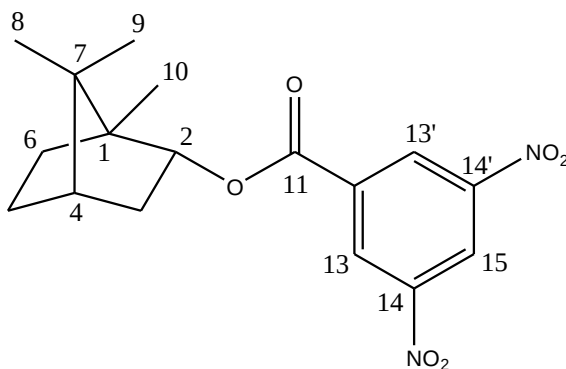
RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, J (Hz), atribuição):

7,32 (s, 2H, H13, H13'), 5,12-5,07 (m, 1H, H2), 3,92 (s, 9H, H16, H17 e H18), 2,54-2,42 (m, 1H, H3), 2,16-2,05 (m, 1H, H6) 1,81-1,75 (m, 2H), 1,47-1,26 (m, 2H), 1,12 (d, 1H, J = 13,6, H3), 0,98 (s, 3H, H9), 0,92 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 166,4 (C11), 152,9 (C14, C14'), 142,2 (C15), 126 (C12), 106,8 (C13, C13'), 80,7 (C2), 60,9 (C17), 56,2 (C16 e C18), 49,1 (C7), 47,9 (C1), 45,0 (C4), 37,0 (C3), 28,1 (C5), 27,5 (C6), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 13,6 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M + Na]⁺: 371,1834; encontrado 371,1892; erro: 15,6 ppm.

1.1.3.16 3',5'-Dinitrobenzoato de 1,7,7 trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ila (16)



Fórmula Molecular: $C_{17}H_{20}N_2O_6$

Aspecto: sólido branco

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	1 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	84	381
2	Tolueno	19 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	7	27
3	-	3 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	56	128
4	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	75	174

Faixa de Temperatura de Fusão: 145-147 °C

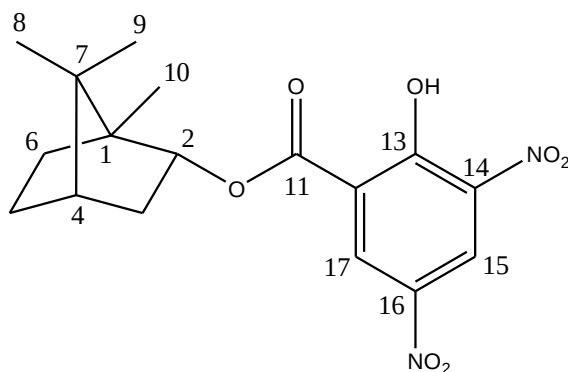
IV (ATR, cm⁻¹): 702, 729, 822, 913, 1286, 1302, 1343, 1541, 1723, 2879, 2956, 3018.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição): 9,23 (t, 1H, *J* = 2,1, H15), 9,15 (d, 2H, *J* = 2, H13 e H13'), 5,27-5,20 (m, 1H, H2), 2,62-2,46 (m, 1H, H3), 2,14-2,01 (m, 1H, H6) 1,88-1,80 (m, 2H), 1,58-1,36 (m, 2H), 1,21-1,12 (dd, 1H, *J*₁ = 3,4, *J*₂ = 13,8, H3), 0,99 (s, 3H, H9), 0,95 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 162,7 (C11), 148,7 (C14, C14'), 134,6 (C12), 129,3 (C13, C13'), 122,2 (C15), 83,2 (C2), 49,3 (C7), 48,1 (C1), 44,9 (C4), 36,8 (C3), 28,1 (C5), 27,4 (C6), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 13,7 (C10).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M+H]⁺: 349,1400; encontrado 349,1408; erro: 2,3 ppm.

1.1.3.17 3',5'-Dinitrosalicilato de 1,7,7 trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ila (17)



Fórmula Molecular: C₁₇H₂₀N₂O₇

Aspecto: sólido laranja

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	21 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	41	97
2	Tolueno	24 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	traços	-
3	-	3 min	170 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	13	16
4	-	5 min	170 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	21	25

Faixa de Temperatura de Fusão: 135-136 °C

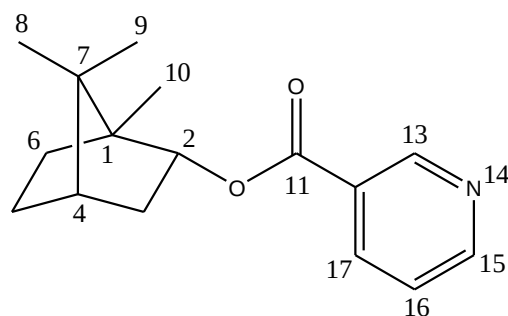
IV (KBr, cm⁻¹): 720, 742, 806, 1086, 1178, 1262, 1338, 1352, 1454, 1546, 1622, 1682, 1710, 2884, 2958, 3098.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição):

12,93 (s, 1H, H13), 9,03 (1H, H15), 8,97 (1H, H17), 5,28-5,23 (m, 1H, H2), 2,60-2,48 (m, 1H, H3), 2,09-1,98 (m, 1H, H6), 1,89-1,83 (m, 2H), 1,55-1,37 (m, 2H), 1,14 (1H, H3), 0,99 (s, 3H, H9), 0,96 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 168,3 (C11), 159,9 (C13), 138,2 (C16), 137,8 (C14), 129,7 (C17), 126,5 (C15), 116,2 (C12), 84,6 (C2), 49,3 (C7), 48,1 (C1), 44,7 (C4), 36,6 (C3), 28,0 (C5), 27,3 (C6), 19,6 (C9), 18,8 (C8), 13,6 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M - H]⁻: 363,1192; encontrado 363,1191; erro: 0,3 ppm.

1.1.3.18 Nicotinato de 1,7,7 trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ila (18)**Fórmula Molecular:** C₁₆H₂₁NO₂**Aspecto:** óleo incolor**Condições da Reação:**

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	3 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	72	123
2	Tolueno	40 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	10	26
3	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	43	73
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	60	101
5	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	38	64

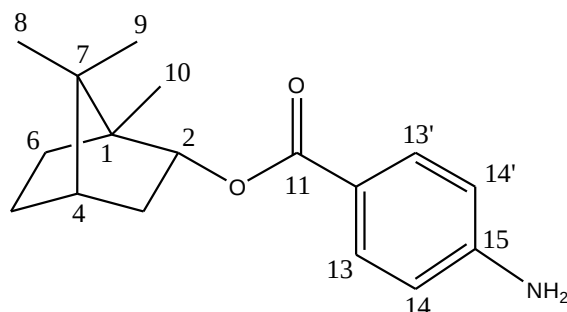
IV (NaCl, cm⁻¹): 702, 740, 1024, 1124, 1286, 1302, 1590, 1718, 2880, 2954, 3040, 3054.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, J (Hz), atribuição): 9,26-9,25 (sl, 1H, H13), 8,80-8,76 (dd, 1H, J₁ = 1,8, J₂ = 4,8, H15), 8,34-8,28 (td, 1H, J₁ = 1,8, J₂ = 8,0, H17), 7,44-7,37 (dd, 1H, J₁ = 4,8, J₂ = 8,0, H16), 5,19-5,12 (ddd, 1H, J₁ = 2, J₂ = 3,2, J₃ = 9,8, H2), 2,57-2,41 (m, 1H, H3), 2,17-2,03 (m, 1H, H6), 1,84-1,74 (m, 2H), 1,50-1,26 (m, 2H), 1,18-1,09 (dd, 1H, J₁ = 3,6, J₂ = 13,8, H3), 0,98 (s, 3H, H9), 0,93 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 165,5 (C11), 153,2 (C13), 150,9 (C15), 136,9 (C17), 126,8 (C12), 123,2 (C16), 81,2 (C2), 49,2 (C7), 48,0 (C1), 45,0 (C4), 36,9 (C3), 28,1 (C5), 27,4 (C6), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 13,6 (C10).

HRMS (ESI): m/z calculado - [M + H]⁺: 260,1651; encontrado 260,1651; erro: 0 ppm.

1.1.3.19 4'-Aminobenzoato de 1,7,7 trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ila (19)



Fórmula Molecular: C₁₇H₂₃NO₂

Aspecto: sólido branco

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	96 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	24	43
2	Tolueno	18 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	0	0
3	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	7	13
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	6	11
5	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	8	15

Faixa de Temperatura de Fusão: 114-115 °C

IV (Si, cm⁻¹): 773, 1120, 1172, 1286, 1311, 1598, 1630, 1681, 2954, 3369, 3478.

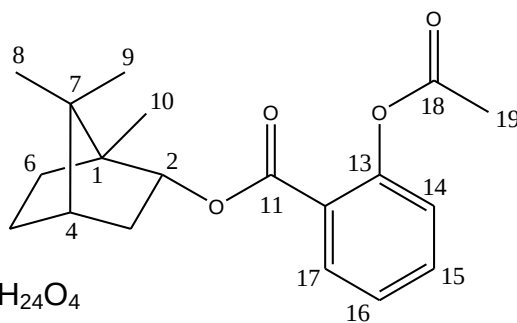
RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, *J* (Hz), atribuição):

7,87 (d, 2H, *J* = 8,6, H13, H13'), 6,65 (d, 2H, *J* = 8,6, H14, H14'), 5,10-5,02 (ddd, 1H, *J*₁ = 2,2, *J*₂ = 3,4, *J*₃ = 9,8, H2), 4,06 (sl, 2H, H16), 2,52-2,36 (m, 1H, H3), 2,19-2,06 (m, 1H, H6), 1,80-1,71 (m, 2H), 1,40-1,23 (m, 2H), 1,14-1,05 (dd, 1H, *J*₁ = 3,4, *J*₂ = 13,8, H3), 0,96 (s, 3H, H9), 0,90 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 166,9 (C11), 150,7 (C15), 131,6 (C13, C13'), 120,7 (C12), 113,8 (C14, C14'), 79,8 (C2), 49,1 (C7), 47,9 (C1), 45,1 (C4), 37,0 (C3), 28,2 (C5), 27,5 (C6), 19,8 (C9), 19,0 (C8), 13,6 (C10).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M + Na]⁺: 296,1626; encontrado 296,1581; erro: 15,2 ppm.

1.1.3.20 2'-Acetilbenzoato de 1,7,7 trimetilbíciclo[2.2.1]heptan-2-ila (20)



Fórmula Molecular: C₁₉H₂₄O₄

Aspecto: sólido branco

Condições da Reação:

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Quant. (mg)
1	CH ₂ Cl ₂	96 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	10	21
2	Tolueno	22 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	5	16
3	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	traços	-
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	9	19
5	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	8	16

Faixa de Temperatura de Fusão: 53-54 °C

IV (Si, cm⁻¹): 669, 1081, 1194, 1263, 1722, 1776, 2882, 2955.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ_H (ppm), multiplicidade, integração, J (Hz), atribuição):

8,05-8,00 (dd, 1H, J₁ = 1,6, J₂ = 7,8, H14), 7,60-7,51 (td, 1H, J₁ = 1,8, J₂ = 7,6, H16), 7,36-7,27 (td, 1H, J₁ = 1,2, J₂ = 7,6, H15), 7,13-7,08 (dd, 1H, J₁ = 1,0, J₂ = 8,0, H17), 5,11-5,03 (ddd, 1H, J₁ = 2, J₂ = 3,2, J₃ = 10, H2), 2,53-2,39 (m, 1H, H3), 2,36 (s, 3H, H19), 2,14-2,00 (m, 1H, H6), 1,81-1,72 (m, 2H), 1,44-1,26 (m, 2H), 1,14-1,05 (dd, 1H, J₁ = 3,4, J₂ = 13,8, H3), 0,95 (s, 3H, H9), 0,90 (s, 6H, H8 e H10).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ_C (ppm): 169,5 (C18), 164,5 (C11), 150,8 (C13), 133,4 (C15), 131,4 (C17), 125,9 (C14), 124,0 (C12), 123,8 (C16), 80,8 (C2), 49,1 (C7), 47,9 (C1), 45,0 (C4), 36,8 (C3), 28,1 (C5), 27,4 (C6), 21,1 (C19), 19,7 (C9), 18,9 (C8), 13,6 (C10).

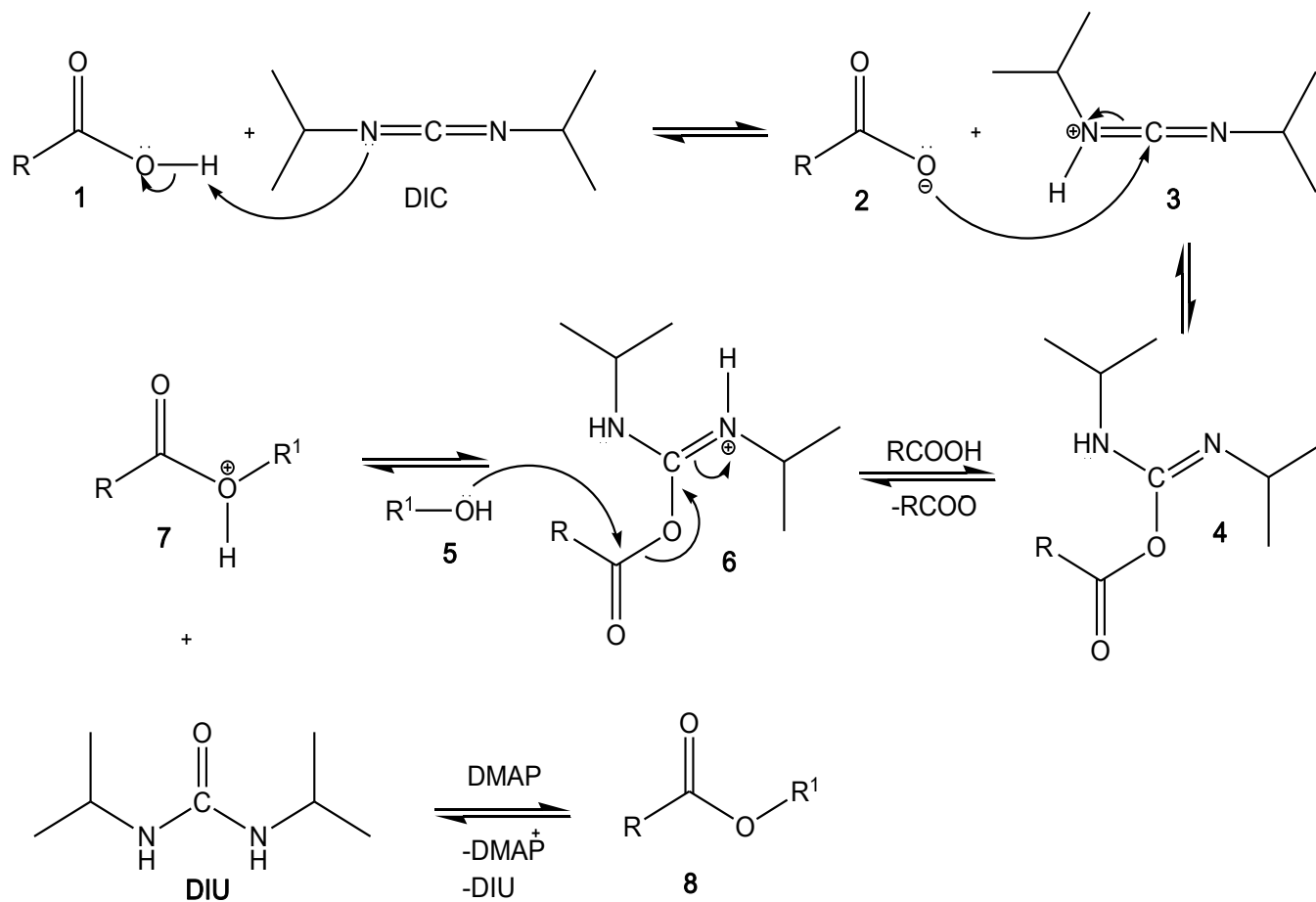
HRMS (ESI): m/z calculado - [M + Na]⁺: 339,1572; encontrado 339,1571; erro: 0,3 ppm.

1.2 Resultados e Discussão

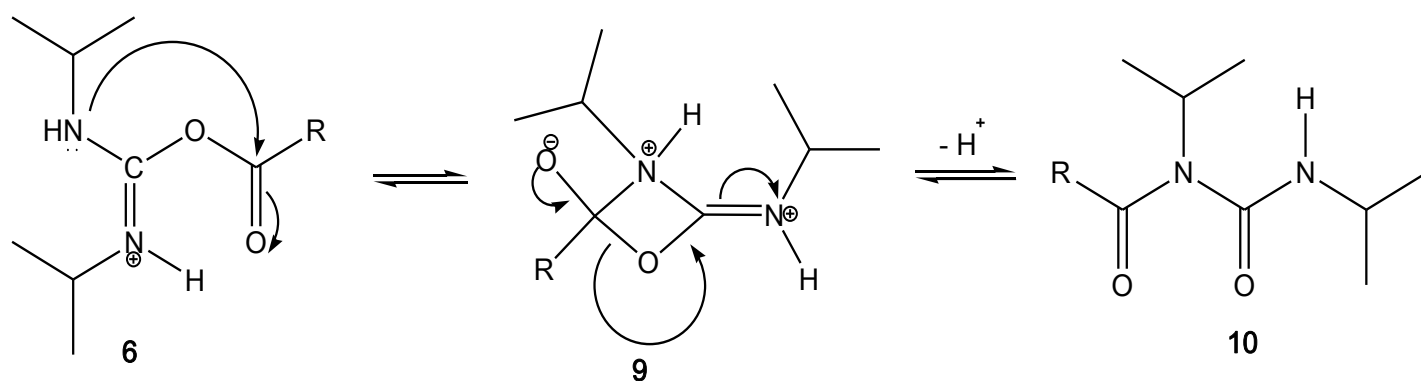
Todos os ésteres foram sintetizados através de duas metodologias distintas, onde foram avaliados o tempo de reação, temperatura, rendimento e a eficiência do uso da irradiação de micro-ondas na preparação destes.

As metodologias avaliadas seguem mecanismos de reações distintos. A primeira metodologia aplicada utiliza a DIC (di-isopropilcarbodi-imida) como reagente de acoplamento e o DMAP (4-dimetilaminopiridina) como catalisador. Esta reação é conhecida como esterificação de Steglich (LAUE e PLAGENS, 2005) e consiste no uso de um reagente de acoplamento que ao reagir com o ácido carboxílico forma um intermediário (*O*-acil-isouréia), que apresenta reatividade semelhante ao anidrido correspondente do ácido carboxílico. O mecanismo desta reação está descrito no Esquema 1 (pág. 37). Na primeira etapa da reação a DIC desprotona o ácido carboxílico **1**. Em seguida, a DIC protonada **3**, que apresenta um carbono com grande caráter eletrofílico, é atacada pelo carboxilato **2**, originando a *O*-acil-isouréia **4**. Após uma nova protonação deste intermediário, há uma adição nucleofílica do álcool **5** ao carbono carbonílico de **6**, levando à formação do éster protonado **7** e conduzindo à eliminação da *N,N'*-di-isopropiluréia (DIU) (excelente grupo abandonador). Após desprotonação de **7**, obtém-se o produto desejado **8**.

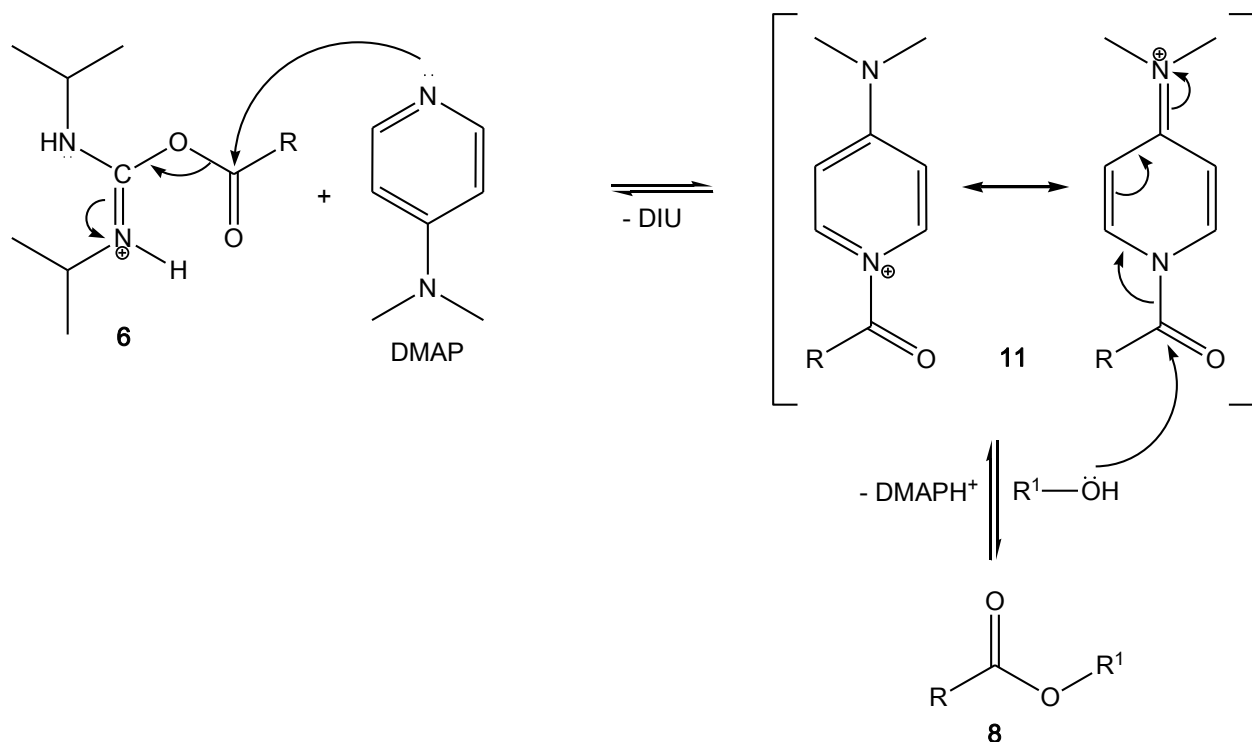
Quando a reação ocorre na presença de nucleófilos fortes, tais como aminas, há uma rápida adição deste nucleófilo ao intermediário protonado *O*-acil-isouréia (**6**), levando à obtenção do produto desejado. Entretanto, para nucleófilos mais fracos, como álcoois, onde a esterificação ocorre de maneira mais lenta, existe a possibilidade de um rearranjo 1,3 do intermediário *O*-acil isouréia (**6**) resultando na *N*-acil-isouréia (**10**), o que impossibilita a reação com o álcool (Esquema 2, pág. 37). Assim, o uso de DMAP (um nucleófilo mais forte que o álcool) impede que esta reação paralela ocorra (Esquema 3, pág. 38), pois esta base substitui o grupo *O*-acil-uréia como grupo abandonador, formando a nova espécie acilante **11**. Esta nova espécie, que não pode formar produtos secundários de rearranjo, reage rapidamente com o álcool, conduzindo à formação do éster **8** (RODRIGUES, 2011).



Esquema 1: Mecanismo da reação de esterificação de Steglich.



Esquema 2: Rearranjo 1,3 do intermediário O-acil-isouréia.

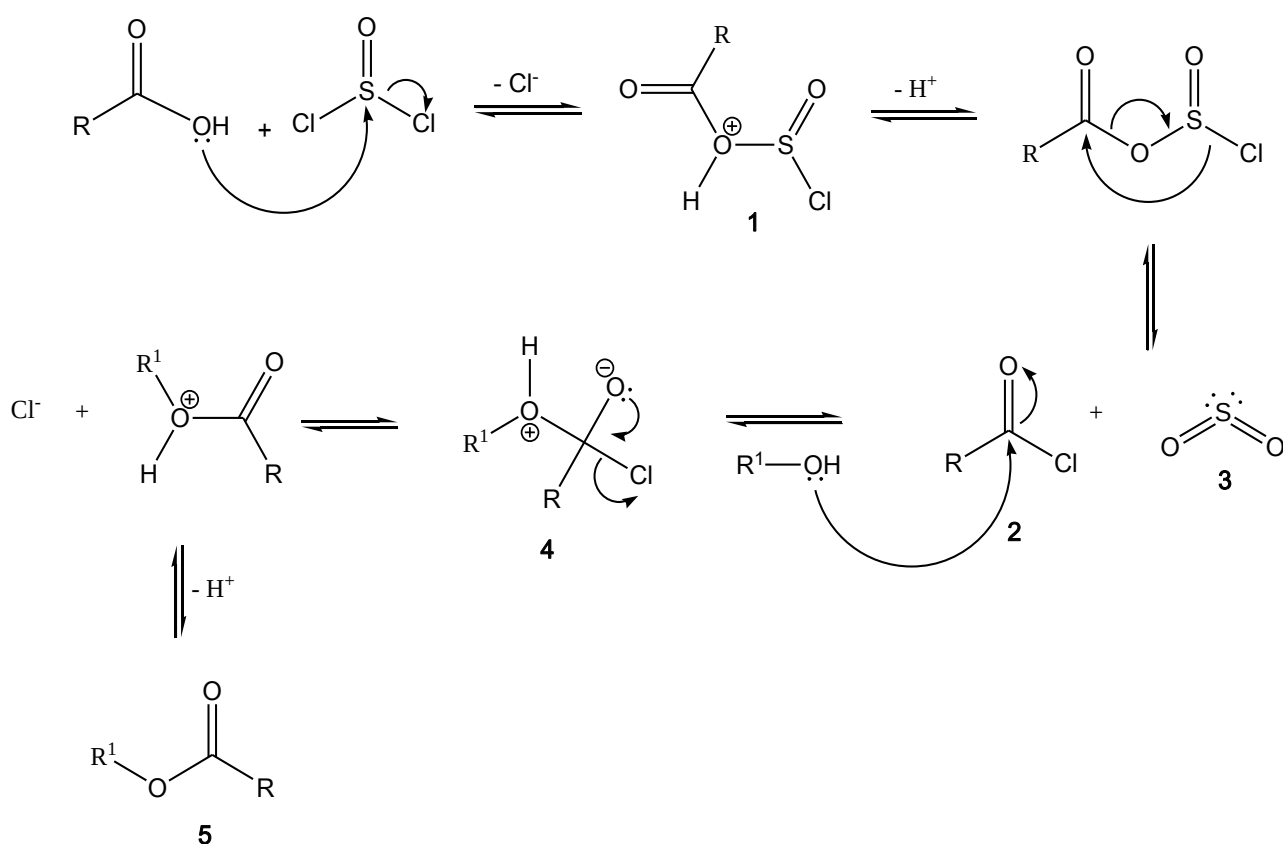


Esquema 3: Reação com participação do DMAP.

Para as reações utilizando-se DIC e DMAP foi avaliado o uso da irradiação de micro-ondas na preparação dos ésteres. Inicialmente, todos os ésteres foram submetidos a 3 minutos de reação; porém, observou-se que para alguns deles o tempo era insuficiente para consumir todo o borneol do meio reacional. Assim, aumentou-se o tempo de reação para 5 minutos para obter melhores rendimentos.

Como a reação no reator de micro-ondas ocorre na ausência de solvente, faz-se necessário que um dos reagentes esteja na forma líquida para que ocorra maior contato entre as substâncias do meio reacional, levando a formação do produto desejado. Portanto, como a maior parte dos reagentes eram sólidos à temperatura ambiente, foi necessário o aquecimento da reação para que ocorresse a fusão de um dos reagentes. A temperatura da reação variou de acordo com o ácido utilizado, sendo observado bons rendimentos à temperatura de 70 °C, mesmo não sendo essa temperatura correspondente ao ponto de fusão da maioria dos ácidos utilizados.

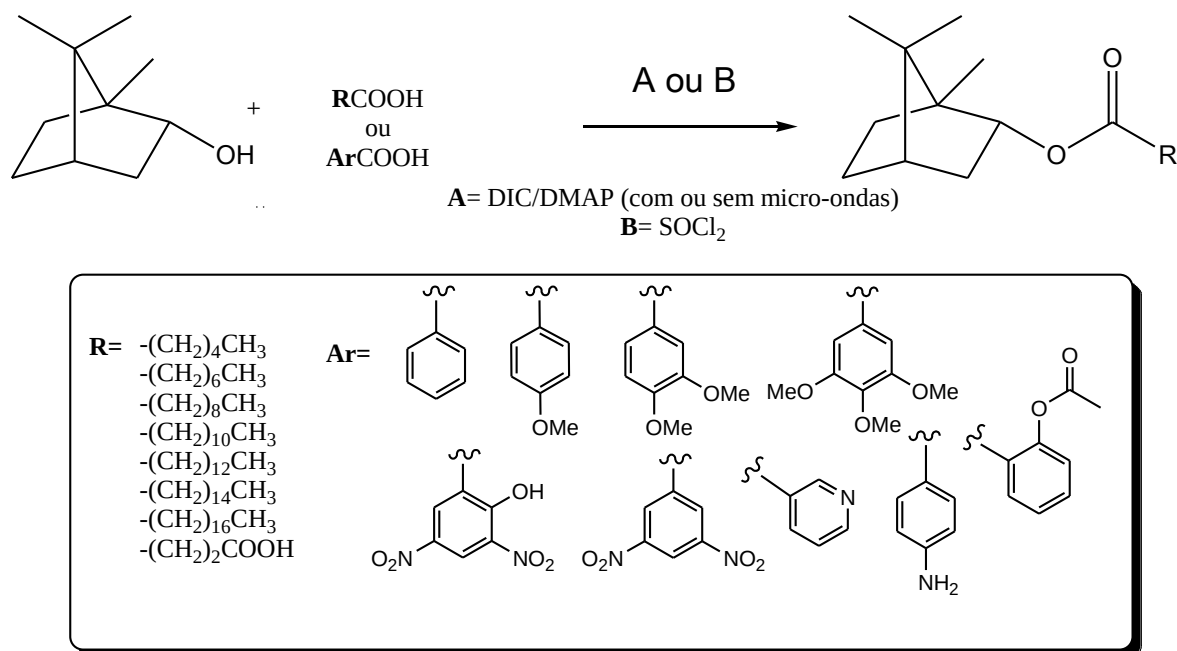
Na segunda metodologia avaliada, utiliza-se o cloreto de tionila (SOCl_2) com o objetivo de produzirmos um cloreto de acila (cloreto de ácido), para posterior adição do álcool. O mecanismo dessa reação consiste no ataque nucleofílico da hidroxila do ácido ao enxofre polarizado, com a saída do íon cloreto, formando o composto **1** (Esquema 4). Logo após, ocorre desprotonação de **1**, seguida de ruptura de ligação, levando à formação do cloreto de acila **2** e dióxido de enxofre **3**. Em seguida, com a adição do álcool ao meio reagente, ocorre um ataque nucleofílico da hidroxila alcoólica ao carbono altamente polarizado do cloreto de ácido, originando o intermediário **4**. Finalmente, há saída de cloreto e desprotonação, levando à formação do éster **5**. Um dos maiores problemas desta reação é a instabilidade do cloreto de ácido formado durante o mecanismo, pois, sendo uma espécie muito reativa, pode ocorrer sua hidrólise pela umidade do ar, levando a formação do ácido carboxílico de origem.



Esquema 4: Mecanismo da reação com SOCl_2 .

1.2.1 Síntese dos ésteres

Para síntese dos ésteres derivados do borneol foram utilizados dezessete ácidos, sendo oito graxos e nove aromáticos (Esquema 5). Destes, foi possível obter 20 ésteres, sendo 18 inéditos. Os rendimentos das reações variaram de 02 a 95% (Tabela 1, pág. 41). Os melhores resultados foram obtidos utilizando os reagentes DIC/DMAP com irradiação de micro-ondas, uma vez que o tempo de reação diminuiu consideravelmente e os rendimentos foram satisfatórios.



Esquema 5: Ácidos utilizados na esterificação do borneol.

As reações conduzidas com SOCl_2 apresentaram rendimentos muito inferiores quando comparados ao DIC/DMAP. Isso se explica devido à formação do cloreto de ácido, uma espécie muito instável que é facilmente hidrolisada na presença de umidade no ar. Assim, como as reações de esterificação conduzidas por esta metodologia não foram realizadas em atmosfera inerte, pode-se concluir que o cloreto de ácido formado retornava ao ácido original, diminuindo os rendimentos destas reações.

De todos os ésteres sintetizados, apenas o benzoato de bornila (**11**) e 3',4',5'-trimetoxibenzoato de bornila (**15**) não são inéditos.

Tabela 1: Rendimento e tempo de reação nas diferentes metodologias para obtenção dos ésteres do borneol

Acido Carboxílico	Metodologias							
	DIC/DMAP (sem IMO) ^{*, c}		DIC/DMAP (com IMO) [*]				SOCl ₂ ^{*, d}	
	Tempo (h)	Rendimento/ (Produto) ^a	3 minutos		5 minutos		Tempo ^b (h)	Rendimento (Produto) ^a
			Temperatura (°C)	Rendimento (Produto) ^a	Temperatura (°C)	Rendimento (Produto) ^a		
Hexanoico	2	62 / (1)	25	51 / (1)	70	61 / (1)	26	36 / (1)
			70	76 / (1)				
Octanoico	1	79 / (2)	25	83 / (2)	70	93 / (2)	29	44 / (2)
			70	87 / (2)				
Decanoico	3	85 / (3)	70	92 / (3)	70	95 / (3)	17	34/ (3)
Dodecanoico	14	72 / (4)	70	82 / (4)	70	76 / (4)	19	43 / (4)
Tetradecanoico	2	82 / (5)	70	89 / (5)	70	87 / (5)	24	17 / (5)
Hexadecanoico	1	73 / (6)	70	77 / (6)	70	82 / (6)	47	36 / (6)
Octadecanoico	19	65 / (7)	70	85 / (7)	70	92 / (7)	47	41 / (7)
Butanodioico	26	20 / (9)	70	0	25	17 / (9)	46	8 / (9)
	26	35 / (8)	25	20 / (10) 2 / (9)		17 / (10)		
Benzoico	4	59 / (11)	122	62 / (11)	122	81 / (11)	17	3 / (11)
							30	26 / (11)
							100	6 / (11)
<i>p</i> -metoxibenzoico	24	30 / (12)	130	56 (12)	130	50 / (12)	31	5 / (12)
					70	15 / (12) 13 / (13)		
3,4-dimetoxibenzoico	72	77 / (14)	130	51 / (14)	130	60 / (14)	43	23/ (14)
3,4,5-trimetoxibenzoico	5	54 / (15)	170	82 / (15)	130	80 / (15)	72	35 / (15)
3,5-dinitrobenzoico	1	84 / (16)	130	56 / (16)	130	75 / (16) 17 / (13)	19	7 / (16)
2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico	21	41 / (17)	170	13 / (17) 12 / (13)	170	21 / (17)	24	- / (17)
Nicotínico	3	72 / (18)	70	43 / (18)	70	60 / (18)	40	10 / (18)
					130	38 / (18)		
<i>p</i> -aminobenzoico	96	24 / (19)	70	7 / (19)	70	6 / (19)	18	0
					130	8 / (19)		
Acetilsalicílico	96	10 / (20)	70	- / (20)	70	9 / (20)	22	5 / (20)
					130	8 / (20)		

* Em todas as reações foram utilizados a proporção de 1 mol borneol para 3 mol do ácido, exceto para ácido Butanodioico (Ver tabela 3, pág. 45).

^a Os produtos encontram-se descritos por números, a estrutura de cada um deles está descrita no item 1.1.3.

^b Tempo de reação entre cloreto de ácido e o borneol. O tempo para formar o cloreto de ácido foi padronizado em 3h (MIRANDA, 2007).

^c A reação conduzida por essa metodologia foi realizada sob temperatura ambiente.

^d A reação conduzida por essa metodologia foi mantida em aquecimento, sob refluxo.

1.2.2 Síntese e caracterização dos ésteres graxos

Para obtenção dos ésteres de cadeia graxa foram utilizados oito ácidos, que seguem uma série homóloga na qual se varia o número de carbono na cadeia graxa, com exceção do ácido butanodioico (succínico), que apresenta dois grupos carboxila na sua estrutura. Os rendimentos dos ésteres obtidos variaram de 20 a 85%, utilizando-se DIC/DMAP sem IMO (Tabela 1, pág. 41). Quando foi utilizada a metodologia do cloreto de tionila, os rendimentos foram muito inferiores (8 a 44%). O uso de DIC/DMAP com IMO forneceu melhores rendimentos (2 a 95%), e menor tempo de reação (3 e 5 minutos) quando comparados com cloreto de tionila (17 a 47 horas) e DIC/DMAP sem IMO (1 a 26 horas).

Para as reações conduzidas sob irradiação de micro-ondas, não foi observado grande diferença nos rendimentos quando se utilizou 3 minutos ou 5 minutos de aquecimento. Como os ácidos graxos possuem baixo ponto de fusão, 3 minutos de aquecimento já foram suficientes para que houvesse fusão de todo material de partida. Para os ácidos hexanoico e octanoico, utilizou-se em um primeiro momento a temperatura de 25 °C, uma vez que estes são líquidos a temperatura ambiente e, portanto, não seria necessário o aquecimento para que ocorresse a sua fusão. Porém, foi observado para o ácido hexanóico um rendimento abaixo do obtido pela metodologia DIC/DMAP sem IMO. Assim, decidiu-se aquecer a reação a 70 °C para observar se haveria um aumento na formação do produto.

Todos os ésteres obtidos foram caracterizados utilizando espectroscopia de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e espectrometria de massas.

Alguns sinais observados nos espectros no IV e de RMN de ^1H e ^{13}C são fundamentais para a caracterização e confirmação da formação dos ésteres graxos:

- a) deslocamento do sinal do hidrogênio (H2) ligado ao carbono carbinólico para região mais desblindada do espectro em relação ao borneol (Figura 9, pág. 43);

- b) aparecimento do espectro de RMN de ^{13}C dos sinais correspondentes ao carbono carbonílico do éster (~ 174 ppm) e a cadeia alifática do ácido (~ 29 ppm);
- c) presença de uma banda intensa no espectro no IV, referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ de éster ($\sim 1730\text{ cm}^{-1}$).

Nos espectros de todos os derivados graxos sintetizados foi possível observar os sinais característicos que comprovavam a obtenção do produto desejado (Tabela 2, pág. 44). Todos os compostos obtidos são inéditos na literatura.

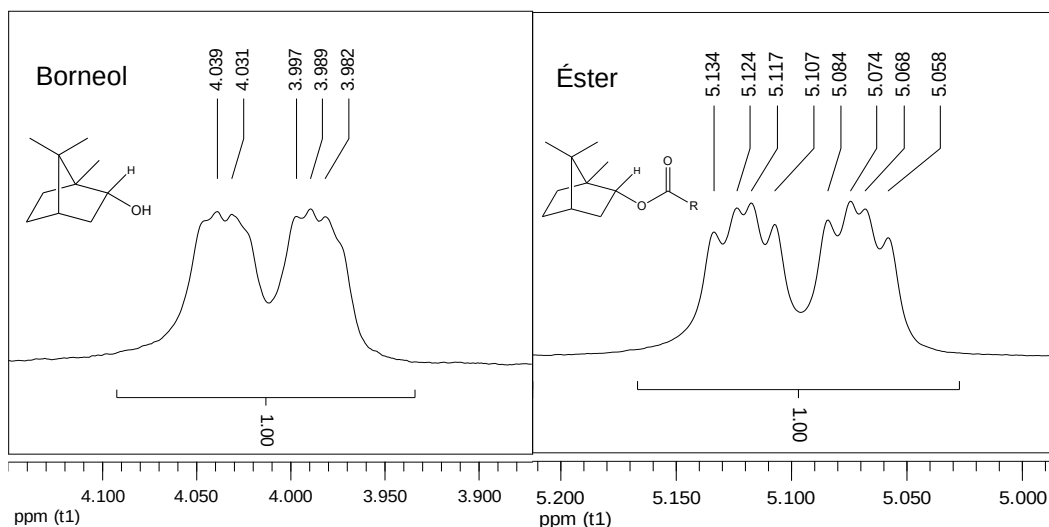


Figura 9: Deslocamento de sinal do hidrogênio H2 observado quando ocorre formação do éster.

Como os ésteres de cadeia graxa apresentam grande similaridade estrutural, será discutida detalhadamente apenas a caracterização dos ésteres derivados do ácido succínico. A caracterização dos demais produtos foi feita de modo semelhante e seus dados espectroscópicos encontram-se descritos no item 1.1.3 (pág. 16).

Tabela 2: Dados de RMN e de IV dos ésteres **1 – 10**

Composto	RMN de ^1H δ_{H} (ppm)	RMN de ^{13}C δ_{C} (ppm)	IV (cm^{-1})
	<u>H-C-O</u>	<u>C=O</u>	<u>C=O</u>
1	4,92-4,85 (ddd)	174,1	1732
2	4,92-4,85 (m)	174,2	1732
3	4,92-4,85 (ddd)	174,2	1710
4	4,92-4,85 (ddd)	174,0	1736
5	4,92-4,85 (m)	174,1	1734
6	4,92-4,85 (ddd)	174,2	1734
7	4,92-4,85 (ddd)	174,1	1734
8	4,93-4,89 (m)	172,3	1738
9	4,94-4,87 (ddd)	172,4	1730
10	4,94-4,86 (ddd)	173,5	1732

Para todos os ésteres sintetizados, foi utilizado excesso do ácido numa quantidade três vezes maior que o álcool. Porém, para o ácido succínico foram avaliadas outras quantidades de reagente, uma vez que este substrato apresenta dois grupos carboxila passíveis de esterificação. Portanto, devido à possibilidade de ocorrerem a adição do álcool em ambas carboxilas do ácido, decidiu-se utilizar primeiro um excesso do álcool em relação ao ácido (Condição 1, Tabela 3, pág. 45). Nesta reação, foi observada a formação de dois produtos. Um deles apresentou um Fator de Retenção (R_f) maior que o Borneol (material de partida) e o outro um R_f menor que o Borneol.

Tabela 3: Condições de reação usada na tentativa de obtenção do éster derivado do ácido succínico

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Produto
1	CH ₂ Cl ₂	26 h	T. a.	DIC/DMAP	2	1	20	9
2	CH ₂ Cl ₂	26 h	T. a.	DIC/DMAP	1	5	35	8
4	Tolueno	46 h	Refluxo	SOCl ₂	2	1	8	9
5	-	3 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	0	-
6	-	3 min	25 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	2 e 20	9 e 10
7	-	5 min	25 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	17 e 17	9 e 10

Após purificação em coluna cromatográfica foi possível isolar apenas o composto que apresentou maior R_f. Este se apresentou como óleo incolor, solúvel em clorofórmio. O espectro na região do IV (Figura 10, pág. 46) de **9** apresenta bandas em 2956 cm⁻¹ característica de estiramento assimétrico da ligação CH de grupos CH₂ de compostos alifáticos. A banda em 1730 cm⁻¹ é característica de estiramento de ligação dupla CO de éster. Não foi observada nenhuma banda correspondente a estiramento OH, ou CO de ácido. Para espectros obtidos com pastilha de KBr, pode-se observar uma banda larga em torno de 3400 cm⁻¹, que caracteriza estiramento OH de água, uma vez que o KBr é muito higroscópico, sendo muito difícil mantê-lo seco (BARBOSA, 2007). Isto foi observado no espectro do éster **9**, onde verificamos uma banda em 3446 cm⁻¹.

Na expansão do espectro de RMN de ¹H (Figura 11, pág. 46) de **9** observou-se um duplo duplete duplo (ddd) em δ_H 4,94-4,87 (*J*₁ = 2,2, *J*₂ = 3,2, *J*₃ = 10), integrando para um hidrogênio, que foi atribuído ao hidrogênio do carbono carbinólico H2, que acopla com os hidrogênios H6α, H3α e H3β respectivamente (Figura 24, pág. 58). Em δ_H 2,66 observou-se um simpleto, integrando para dois hidrogênios. Este sinal foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H12 e H12' vizinhos à carbonila.

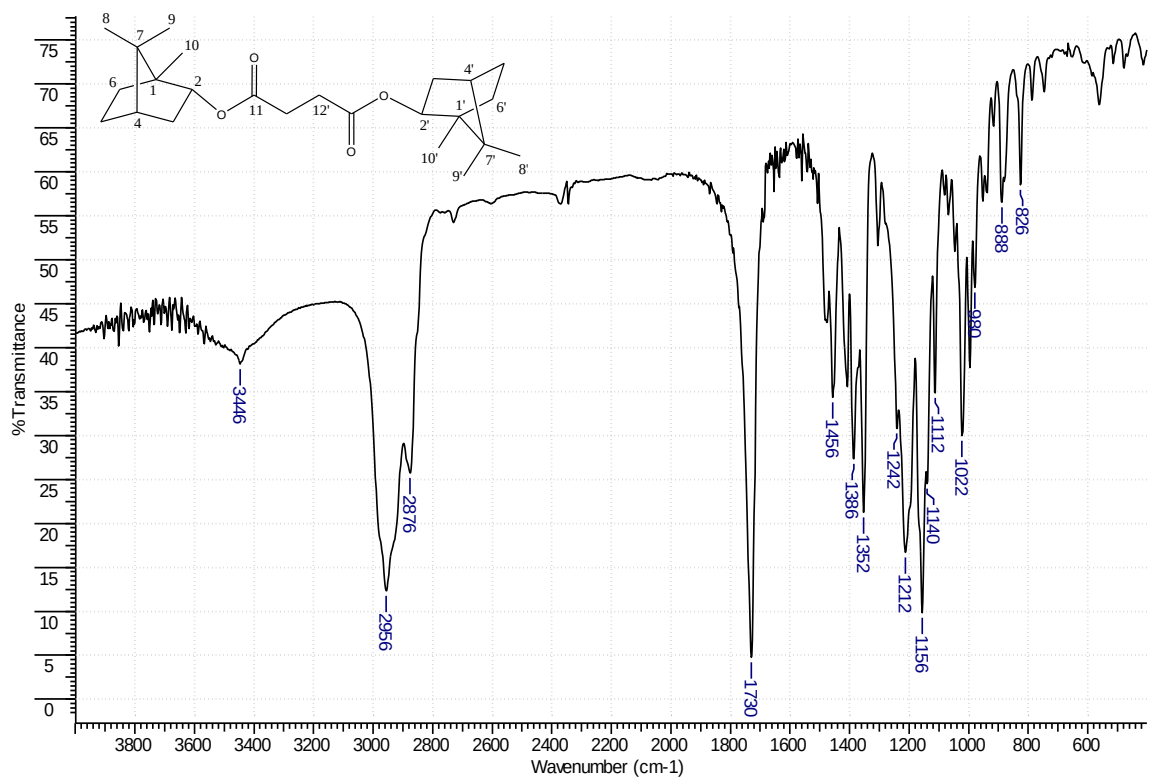


Figura 10: Espectro na região do IV do éster **9** (KBr).

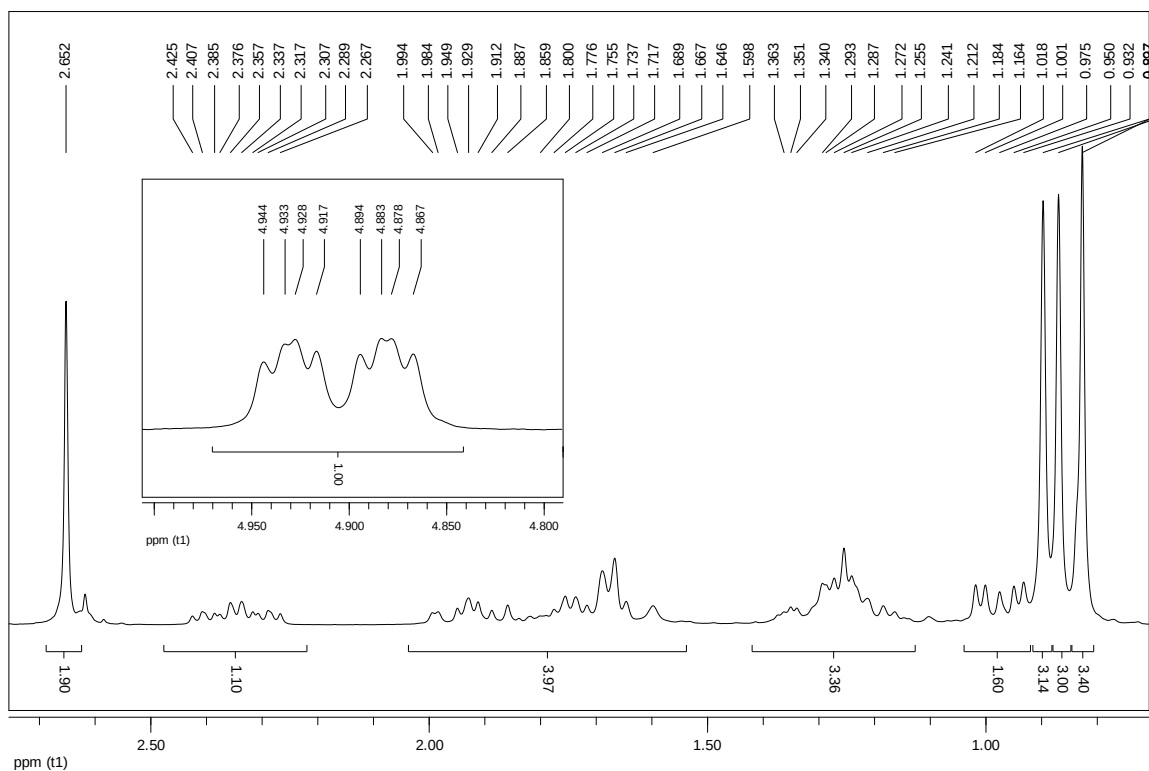


Figura 11: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do composto **9** em CDCl_3 .

A análise do espectro de RMN de ^{13}C e do subespectro DEPT135 (Figuras 76 e 77, pág. 125) indicou a presença de 12 sinais, sendo dois referentes à carbono metínico, quatro à carbono metilênico, três à carbono metílico e três à carbono não hidrogenado.

O fato do espectro de RMN de ^{13}C apresentar apenas um sinal em δ_{C} 172,4 permite sugerir que o éster **9** apresentou esterificação em ambas as carbonilas do ácido succínico, uma vez que não foi observado nenhum sinal de carbono carboxílico de ácido no RMN de ^{13}C . A presença de apenas um sinal integrando para 2 hidrogênios em δ_{H} 2,66 também confirma essa hipótese, uma vez que o produto dissustituído leva à um composto simétrico, onde ambos hidrogênios (H12 e H12') teriam um mesmo deslocamento (simpleto) no espectro de RMN de ^1H .

Para confirmação da estrutura do composto obtido foi importante a utilização da espectrometria de massas de alta resolução com ionização por electrospray (HRMS-ESI) em modo positivo. Este experimento mostrou a presença de um pico de massa sobre carga (m/z) para o íon $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 403,2700, que está bem próximo da massa exata teórica $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 403,2668, erro: 7,7 ppm, o que confirmou a estrutura proposta para **9** (Figura 12). Assim, após análise, verificamos que o espectro de RMN de ^1H (Figura 11, pág. 46) para a substância **9** não estava com as integrais de acordo com a estrutura proposta. Portanto, os valores das integrais dos sinais foram dobrados (Figura 75, pág. 124), já que a molécula apresenta plano de simetria, e por isso, os sinais dos hidrogênios são equivalentes entre si.

O composto **9** também foi obtido quando se utilizou o SOCl_2 , porém com rendimento inferior ao obtido com DIC/DMAP (Entrada 4, Tabela 3, pág. 45).

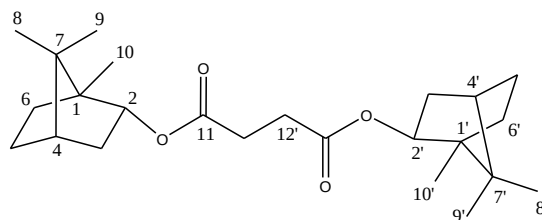


Figura 12: Estrutura do composto **9**.

Para avaliar o efeito da concentração do ácido na obtenção do éster, utilizou-se uma concentração maior deste em relação ao álcool (Condição 2, Tabela 3, pág. 45). A

reação também ficou por 26 horas à temperatura ambiente e obteve-se um produto (**8**) com 35% de rendimento.

O produto **8** apresentou-se como sólido branco, com R_f menor que o borneol e faixa de fusão de 50-52 °C. No espectro no infravermelho (IV) (Figura 13) de **8** observou-se uma banda intensa em 1738 cm^{-1} característica do estiramento de ligação C=O de éster e uma banda também intensa em 1714 , característica de estiramento de ligação C=O de ácido. Em 3448 cm^{-1} observou-se uma banda larga, característica de estiramento da ligação O-H. Em 1328 cm^{-1} foi observado uma banda intensa referente ao estiramento da ligação C-O.

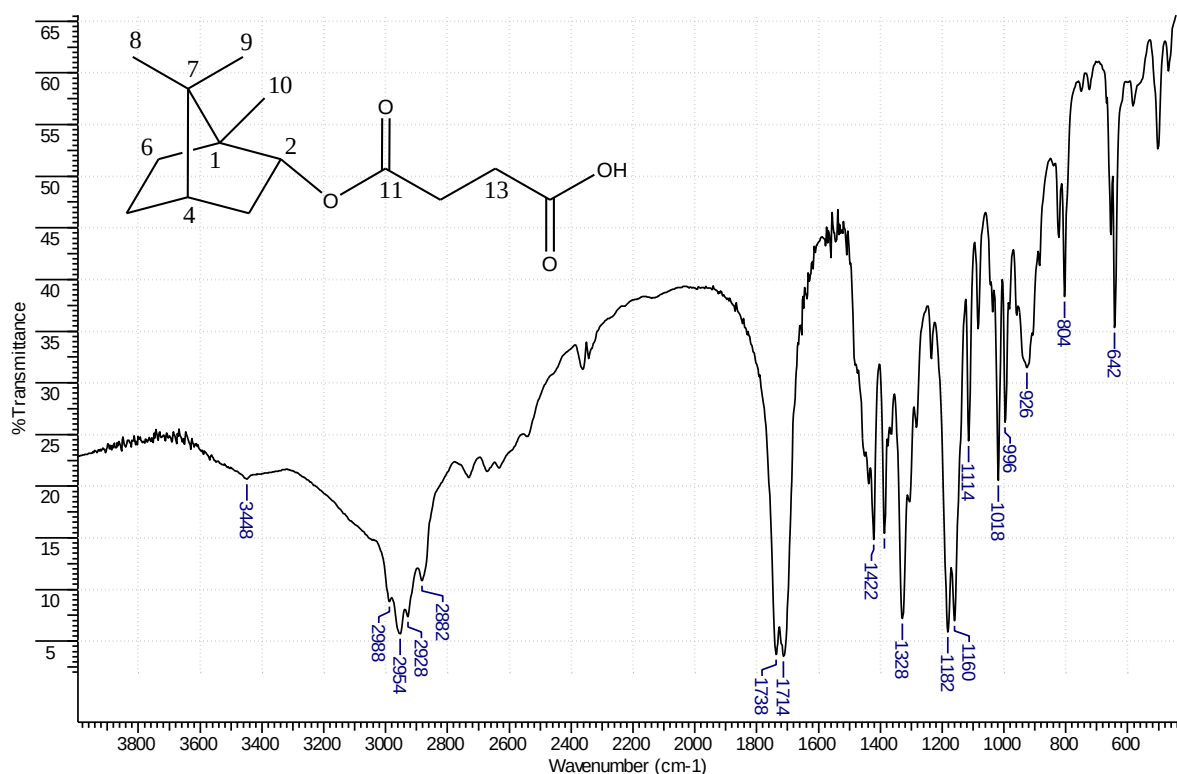


Figura 13: Espectro na região do IV do éster **8** (KBr).

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 14, pág. 49) de **8** mostrou a presença de um multipeto em δ_{H} 4,93-4,89, integrando para um hidrogênio, o qual corresponde ao hidrogênio H2 do carbono carbinólico. Em δ_{H} 2,67 observou-se a presença de um sinal largo, integrando para quatro hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H12 e H13.

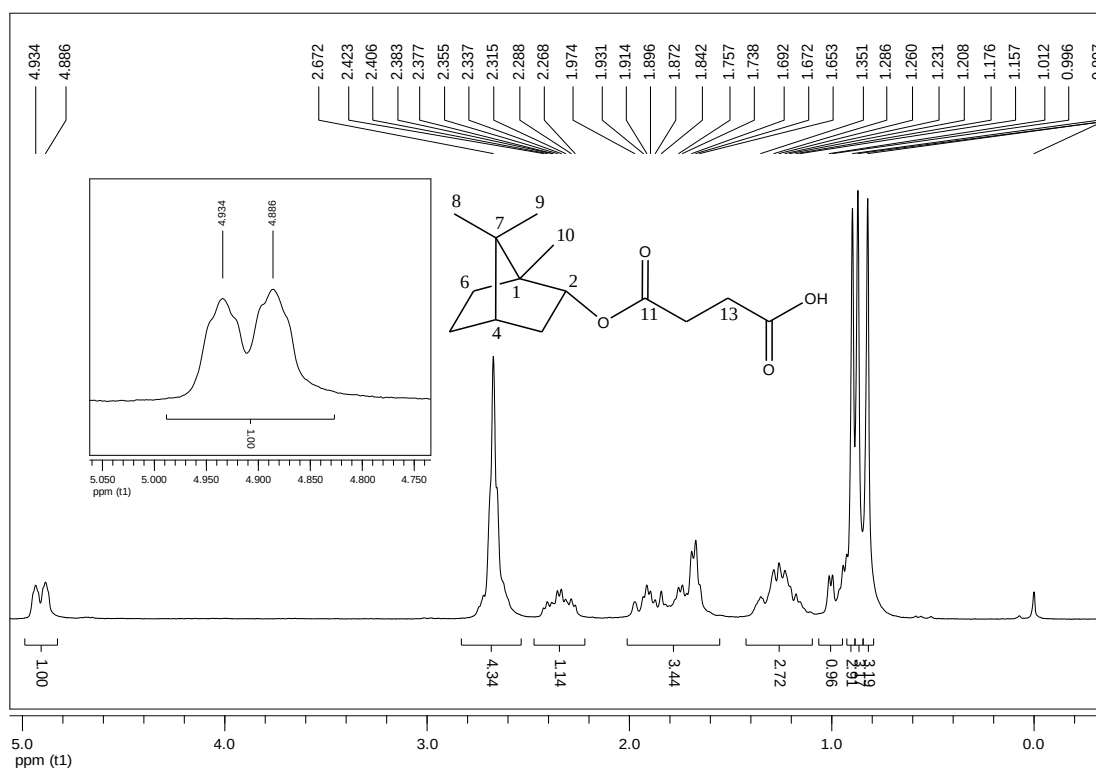


Figura 14: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **8** em CDCl_3 .

O espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT135 (Figuras 73 e 74, págs. 123 e 124) indicou a presença de 14 sinais, sendo dois referentes à carbono metínico, cinco à carbono metilênico, três à carbono metílico e quatro à carbono não hidrogenado. Observou-se a presença de dois sinais de carbono carbonílico, em δ_{C} 178,1 e 172,3, o que evidenciou a formação do éster em apenas uma carboxila do ácido succínico. A análise do espectro de massas de alta resolução com ionização por electrospray (HRMS-ESI) em modo negativo de **8** confirmou a estrutura proposta. O experimento mostrou a presença de um pico de massa sobre carga (m/z) para o íon $[\text{M} - \text{H}]^-$: 253,1428, que está bem próximo da massa exata teórica $[\text{M} - \text{H}]^-$: 253,1440, erro: 4,6 ppm.

A síntese do éster derivado do ácido succínico através da metodologia utilizando DIC/DMAP com uso da IMO também forneceu compostos diferentes (Condições 6 e 7, Tabela 3, pág. 45). Quando a reação foi aquecida a 70 °C (Condição 5), não houve formação de nenhum produto e observamos decomposição do ácido, uma vez que a reação tornou-se escura e na placa cromatográfica visualizou-se a mancha

correspondente apenas ao borneol. Assim, a síntese foi novamente realizada, sob temperatura ambiente, variando-se apenas o tempo de reação.

A irradiação usando apenas 3 minutos (Condição 6, Tabela 3, pág. 45) forneceu 2 produtos, com 20% e 2% de rendimento. O produto minoritário foi identificado através dos dados de RMN ^1H e ^{13}C do como sendo o composto **9**. O produto obtido em maior quantidade (**10**), após a caracterização através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135, apresentou sinais que não eram compatíveis com nenhum dos compostos esperados (compostos **8** e **9**).

O composto **10** foi obtido como um óleo transparente e solúvel em clorofórmio. O espectro na região do IV (Figura 15, pág. 51) de **10** apresenta absorção em 3314 cm^{-1} característica de estiramento de ligação NH de amida, em 2970 cm^{-1} característica de estiramento assimétrico da ligação CH de grupos CH_3 , em 2878 cm^{-1} característica de estiramento simétrico da ligação CH de grupos CH_2 de compostos alifáticos, em 1732 cm^{-1} característica de estiramento de ligação C=O de éster, em 1704 e 1662 cm^{-1} característica de estiramento da ligação C=O de amida e de deformação angular da ligação NH, em 1524 cm^{-1} características de deformação angular da ligação NH de grupo amida, em 1456 e 1386 cm^{-1} características de deformação angular de CH_2 e CH_3 (BARBOSA, 2007).

No espectro de RMN de ^1H de **10** (Figura 16 e 17, págs. 51 e 52) observou-se um sinal largo em δ_{H} 7,62, integrando para 1H, um duplo duplo duplo em δ_{H} 4,94-4,86 ($J_1 = 2,2$, $J_2 = 3,3$, $J_3 = 10$); integrando para 1H, característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico (H2); um hepteto em δ_{H} 4,42 ($J = 6,8$), integrando para 1H, um octeto em δ_{H} 3,98 ($J = 7$), integrando para 1H. Observou-se ainda, três simpletos em δ_{H} 0,90, 0,87 e 0,82, correspondentes a três metilas e dois dupletos em δ_{H} 1,38 ($J = 6,6$) e 1,19 ($J = 6,6$), integrando para seis hidrogênios cada, correspondentes a quatro metilas. Também verificou-se a presença de cinco multipletos em δ_{H} 2,41-2,25, 1,93-1,84, 1,79-1,72, 1,69-1,65, 1,31-1,24, todos integrando para 1H; houve também, um duplo duplo em δ_{H} 1,02-0,95 ($J_1 = 3,3$, $J_2 = 10,2$), integrando para 1H.

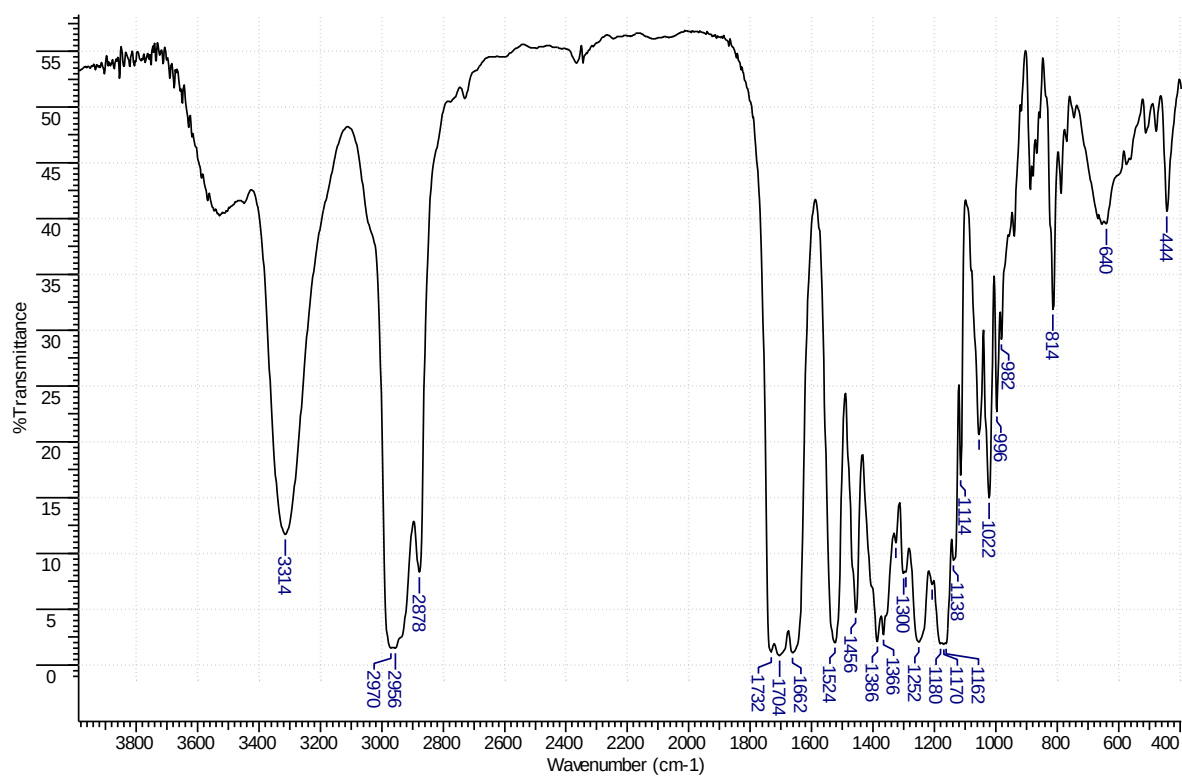


Figura 15: Espectro na região do IV do éster **10** (NaCl).

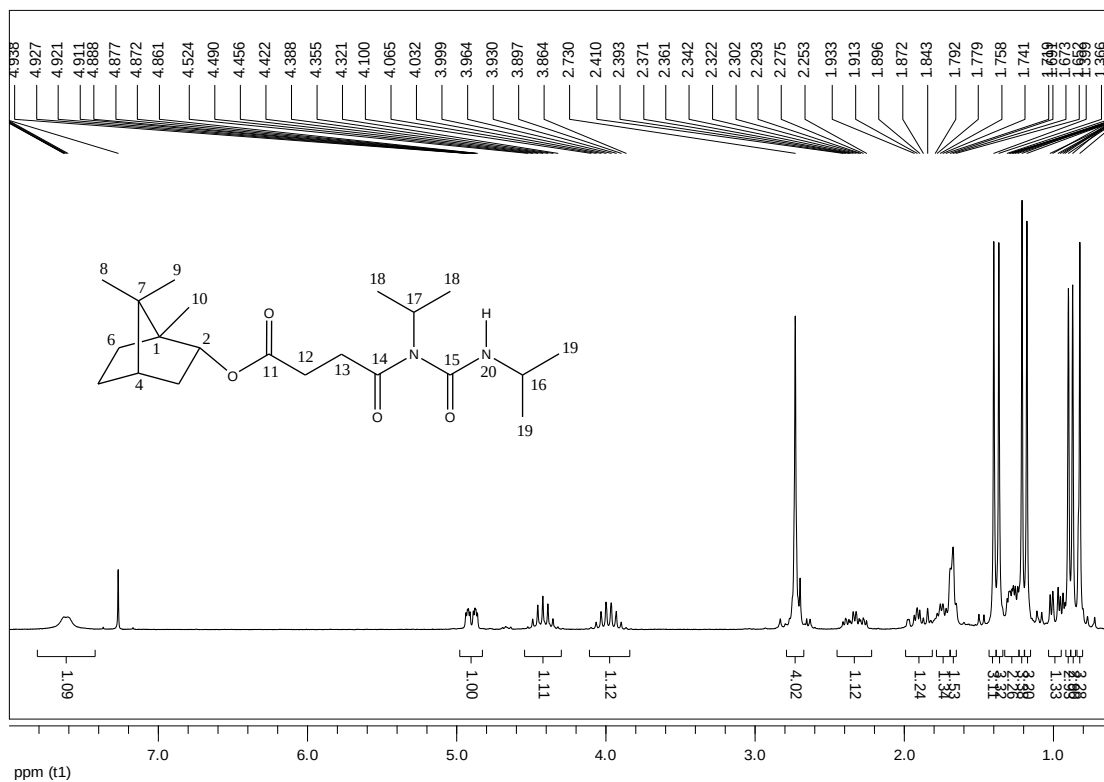


Figura 16: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **10** em CDCl₃.

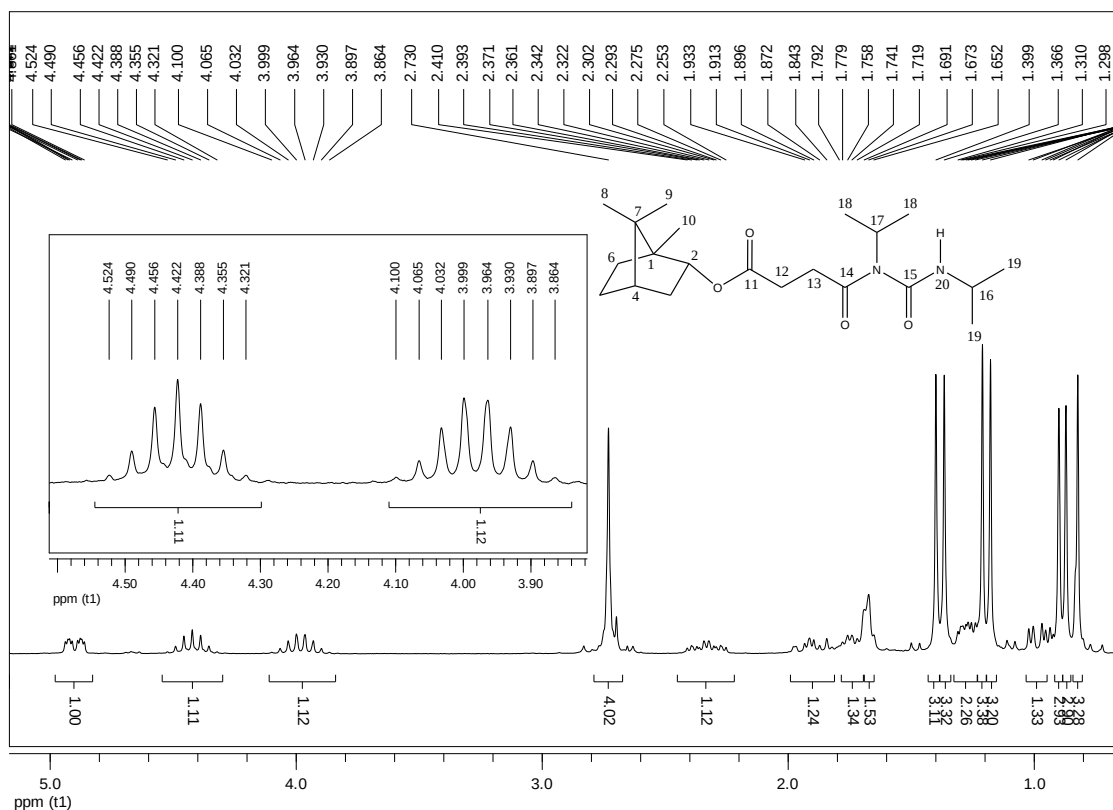


Figura 17: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **10** em CDCl_3 .

A análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 18, pág. 53) e do subespectro DEPT-135 (Figura 19, pág. 53) de **10** indicou a presença de 18 sinais de carbono, sendo dois sinais com intensidades bem diferentes, isto fica nítido no espectro DEPT135. Destes, cinco sinais correspondem a carbono metílico, cinco a carbono metilênico, quatro a carbono metínico e quatro a carbono não hidrogenado. Os sinais em δ_{C} 173,5 (CO), 172,2 (CO) e 154,0 (CO) foram atribuídos a carbono carbonílico e o sinal em δ_{C} 80,5 foi atribuído a um carbono carbinólico. Os sinais mais intensos em δ_{C} 22,4 e δ_{C} 20,8 foram atribuídos a dois carbono metílico cada um.

A observação no espectro de RMN de ^1H dos sinais em δ_{H} 7,62, 4,42 e 3,98 que não estão presentes no espectro dos compostos **8** e **9**, aliado à presença de dois sinais de carbono metílico em δ_{C} 22,4 e δ_{C} 20,8, dois sinais de carbono metínico em δ_{C} 42,8 e δ_{C} 45 e três sinais de carbono carbonílico em δ_{C} 173,5, 172,3 e 154 no espectro de RMN de ^{13}C , sugeriu um composto totalmente diferente dos compostos **8** e **9**.

Procedeu-se, então, a uma análise detalhada dos espectros de RMN 1D e 2D de **10** a fim de se elucidar a estrutura química do composto obtido.

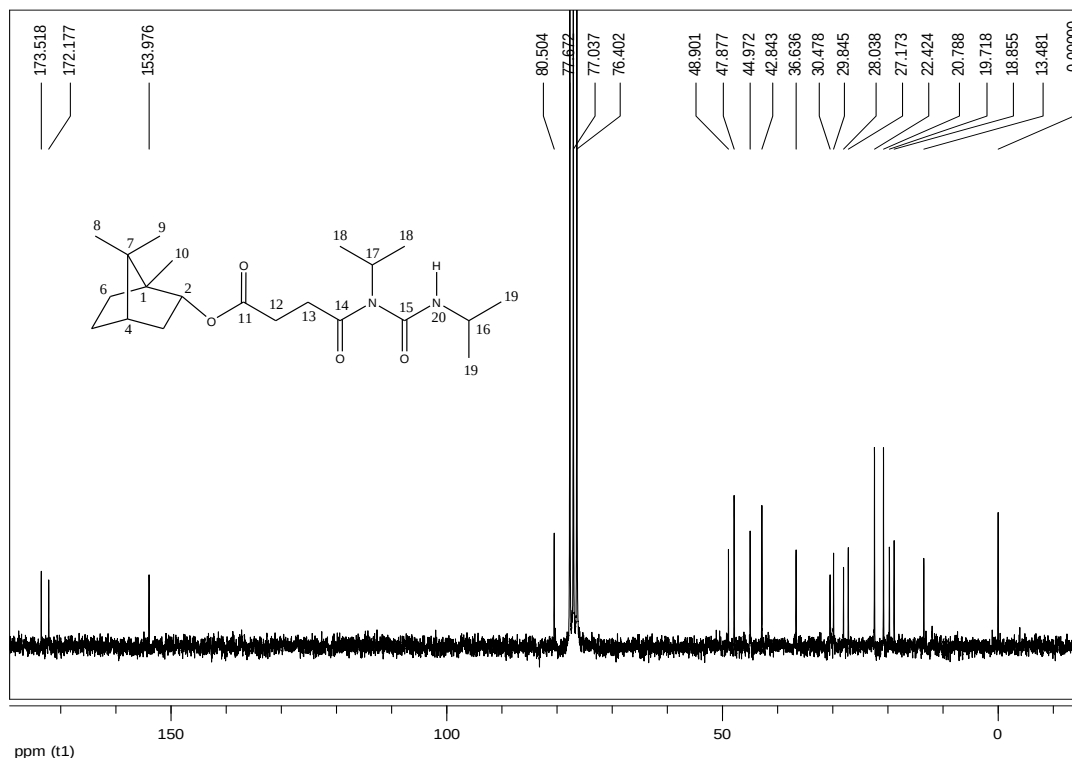


Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **10** em CDCl_3 .

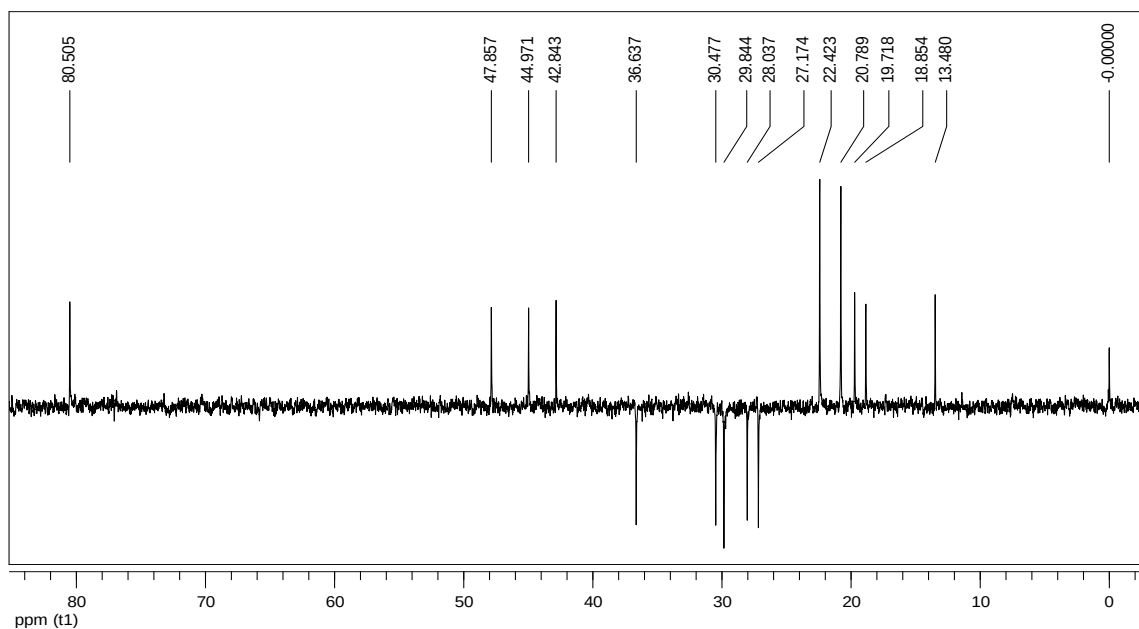


Figura 19: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **10** em CDCl_3 .

No mapa de correlações HSQC (Figura 20), o sinal em δ_H 4,90 mostrou correlação com o sinal em δ_C 80,5. Esses sinais foram atribuídos a H2 e C2. Os sinais de hidrogênio de H3 a H10 foram atribuídos aos seus respectivos átomos de carbono no mapa de contornos HSQC (Figuras 20 e 21, pág. 55), após comparação com dados de RMN de ^{13}C descritos na literatura (BRIGGS *et al.*, 1971) para o borneol (Tabela 4, pág. 59). As correlações feitas para os sinais de carbono do anel bicíclico foram: o sinal em δ_C 36,6 (C3) mostrou correlação com sinal em δ_H 2,32 e 0,98 (H3), sinal em δ_C 45,0 (C4) mostrou correlação com sinal em δ_H 1,67 (H4), sinal em δ_C 28,0 (C5) mostrou correlação com sinal em δ_H 1,74 e 1,23 (H5), sinal em δ_C 27,2 (C6) mostrou correlação com sinal em δ_H 1,90 e 1,29, sinal em δ_C 18,8 (C8) mostrou correlação com sinal em δ_H 0,90, sinal em δ_C 19,7 (C9) mostrou correlação com sinal em δ_H 0,87 e, por fim, sinal em δ_C 13,5 (C10) mostrou correlação com sinal em δ_H 0,82 (H10).

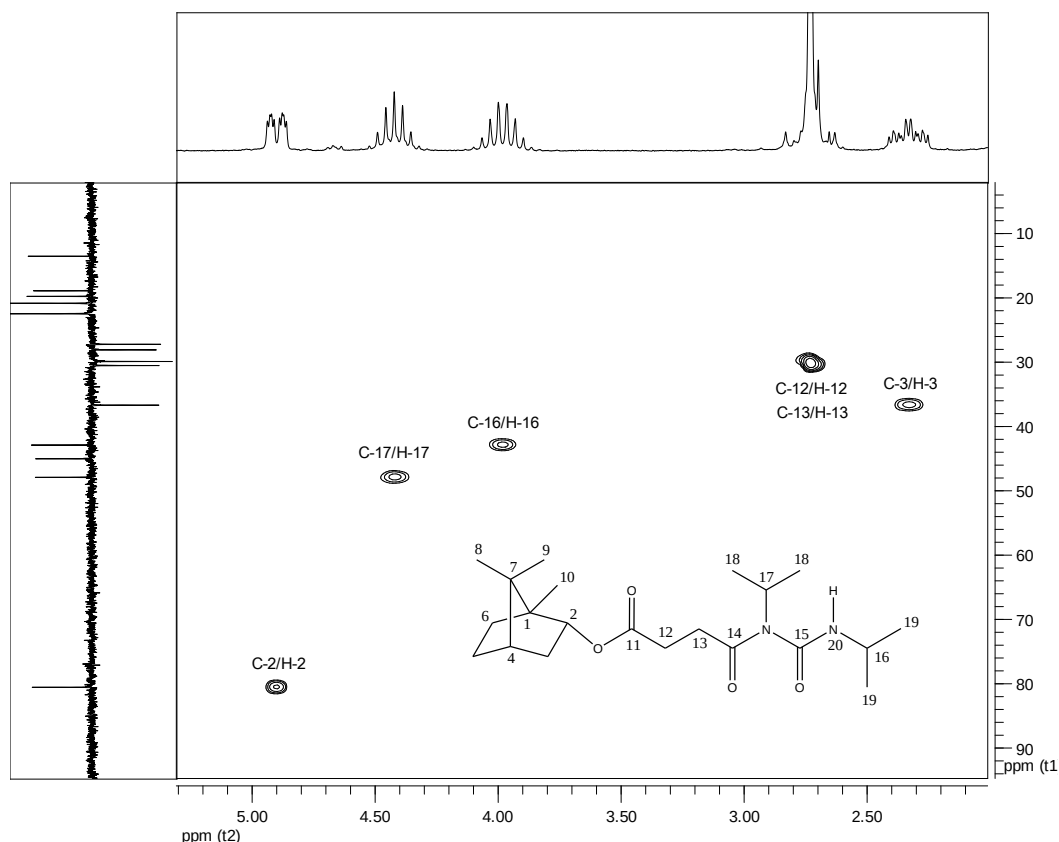


Figura 20: Expansão do mapa de contornos HSQC (400 MHz) do composto **10** em $CDCl_3$.

A partir dos sinais atribuídos de C1 a C10 procedeu-se a análise do mapa de contornos HMBC (Figuras 22 e 23 págs. 56 e 57) para atribuição dos sinais de carbono restantes na molécula.

O sinal em δ_H 4,90 (H2) apresentou correlação com os sinais em δ_C 27,2 (C6) (Figura 22, pág. 56) e δ_C 173,5 (C11) (Figura 23 pág. 57). No mapa de contornos HMBC o sinal em δ_C 173,5 (C11) apresentou correlação com o sinal em δ_H 2,73. O sinal de hidrogênio em δ_H 2,73 também apresentou correlação com um carbono carbonílico em δ_C 172,2 (C14) (Figura 22, pág. 56). No mapa de contornos HSQC foram atribuídos os sinais para os carbonos metilênicos C12 e C13 em δ_H 2,73 (Figura 21).

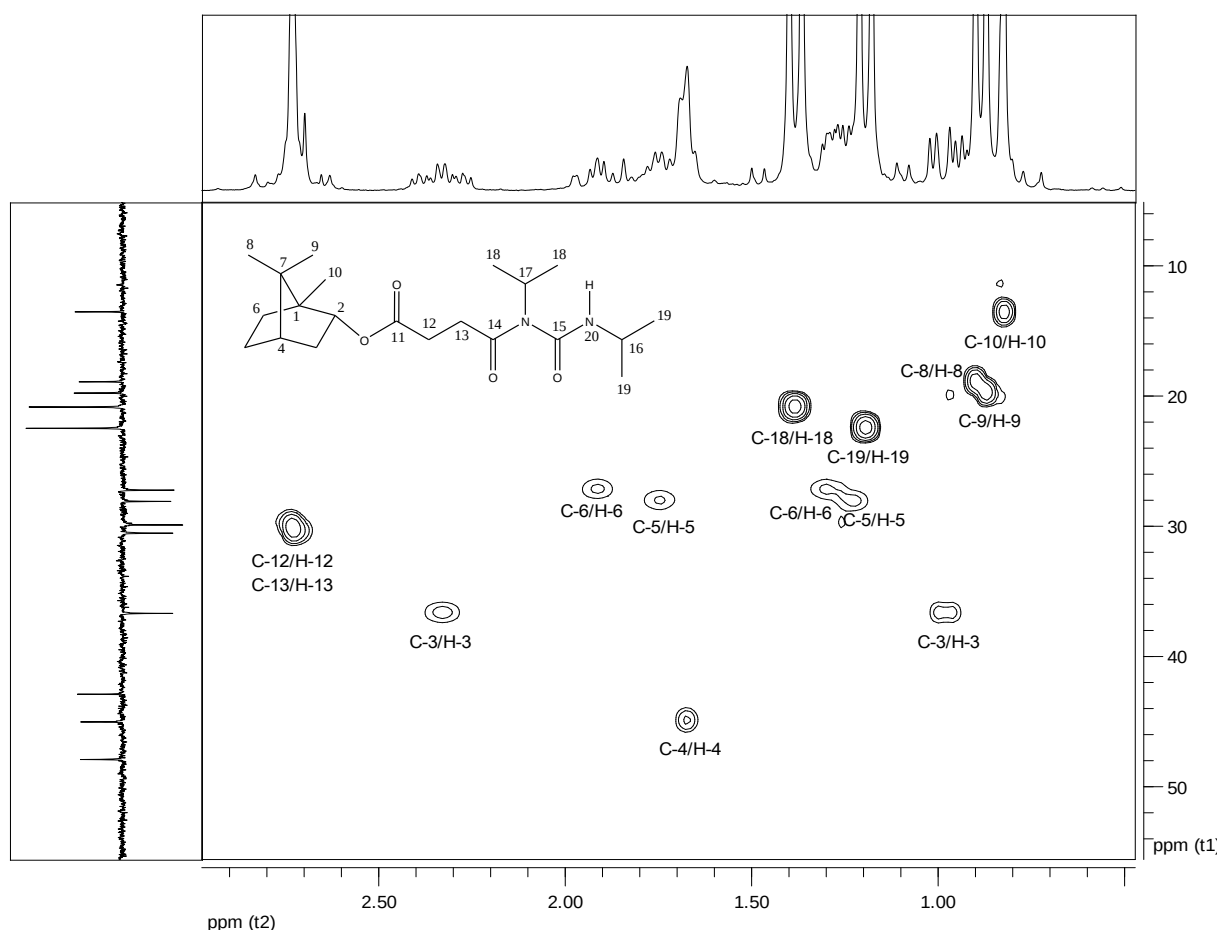


Figura 21: Expansão do mapa de contornos HSQC (400 MHz) do composto **10** em $CDCl_3$.

No mapa de contornos HMBC, o sinal do carbono carbonílico em δ_C 172,2 (C14) apresentou correlação com o sinal em δ_H 4,42 (H17). O sinal de hidrogênio H17 também apresentou correlações com um carbono metílico em δ_C 20,8 (C18) e com um carbono não hidrogenado em δ_C 154,0 (C15) (Figura 22). No mapa de contornos HSQC foi atribuído o sinal para H18 em δ_H 1,38 (Figura 21, pág. 55) e para o carbono metínico C17 em δ_C 47,9.

No mapa de contornos HMBC, o sinal em δ_H 3,98 (H16) correlacionou-se com o sinal do carbono metílico em δ_C 22,4 (C19) (Figura 22). No mapa de contornos HSQC foram atribuídos os sinais para H19 em δ_H 1,19 e para o carbono metínico C16 em δ_C 42,8 (Figura 21, pág. 55).

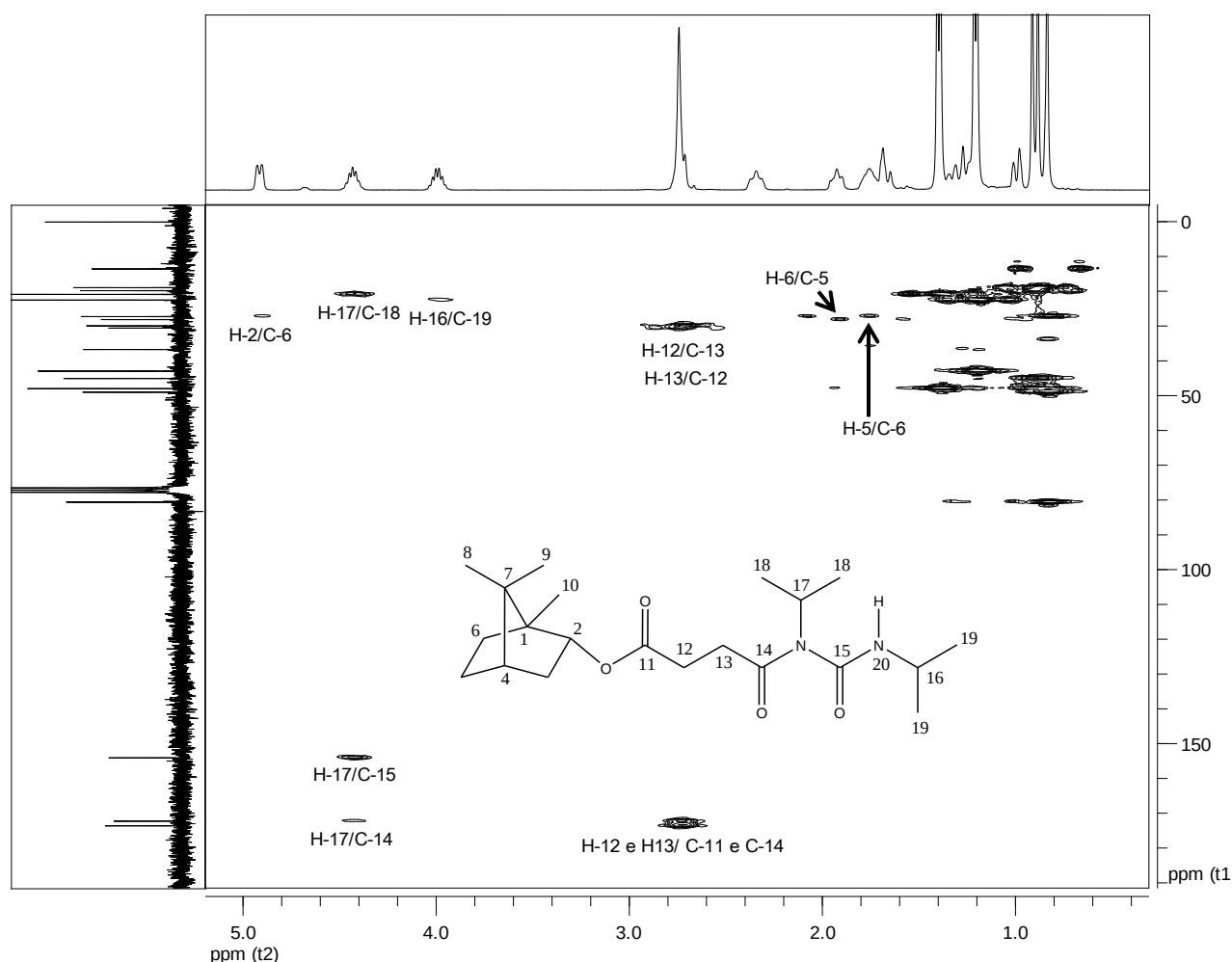


Figura 22: Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz) do composto **10** em $CDCl_3$.

No mapa de contornos COSY (Figura 24, pág. 58), o sinal de hidrogênio em δ_H 7,62 (H20) apresentou correlação com o sinal em δ_H 3,98 (H16). O sinal de hidrogênio em δ_H 4,90 (H2) apresentou correlação com os sinais de hidrogênio em δ_H 2,32 (H3) e δ_H 0,98 (H3). O sinal em δ_H 4,42 (H17) apresentou correlação com o sinal em δ_H 1,38 (H18). O sinal de hidrogênio em δ_H 3,98 (H16) apresentou correlação com o hidrogênio em δ_H 1,19 (H19). O sinal de hidrogênio em δ_H 2,32 (H3) apresentou correlação com o sinal de hidrogênio em δ_H 1,67 (H4).

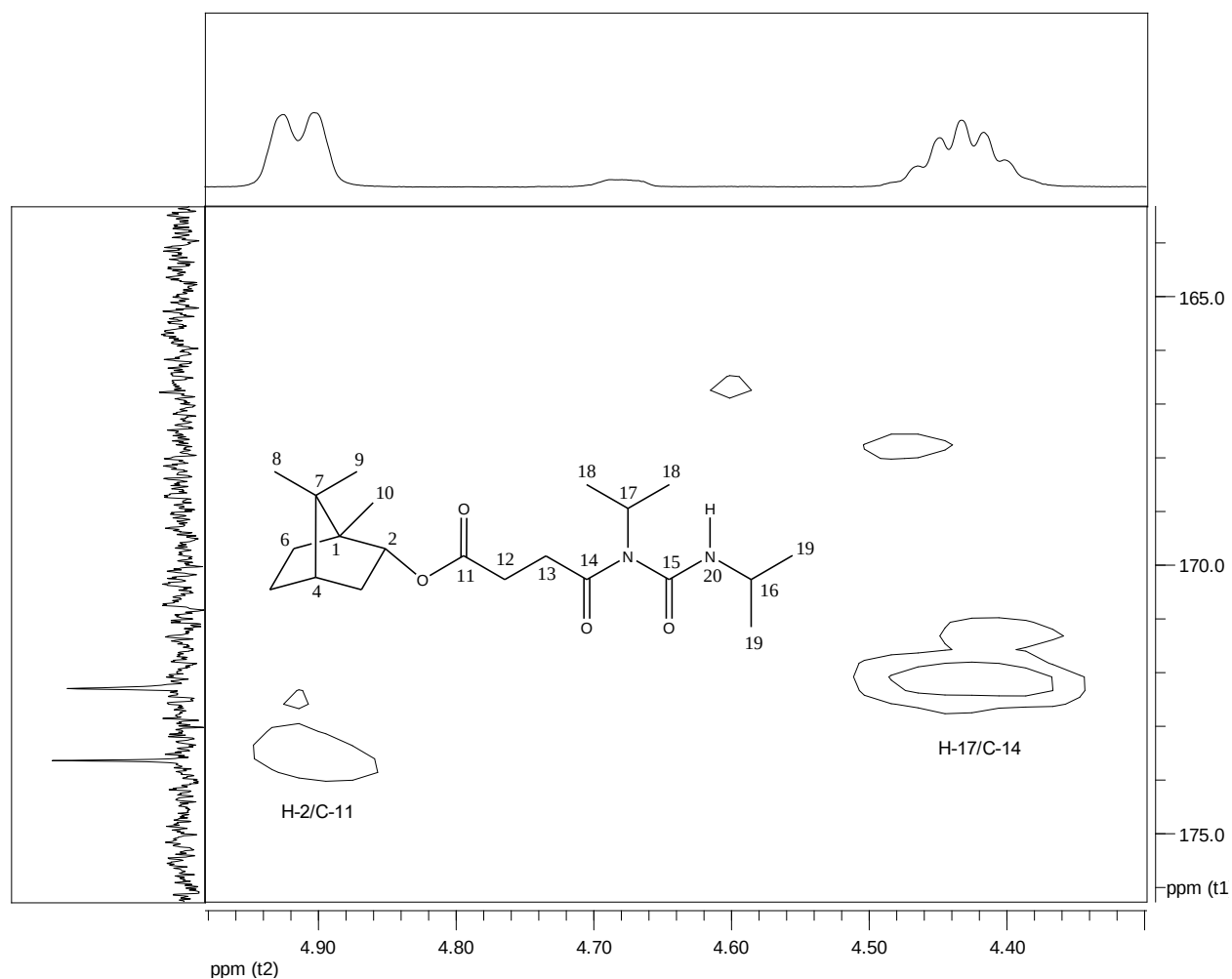


Figura 23: Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz) do composto **10** em CDCl_3 .

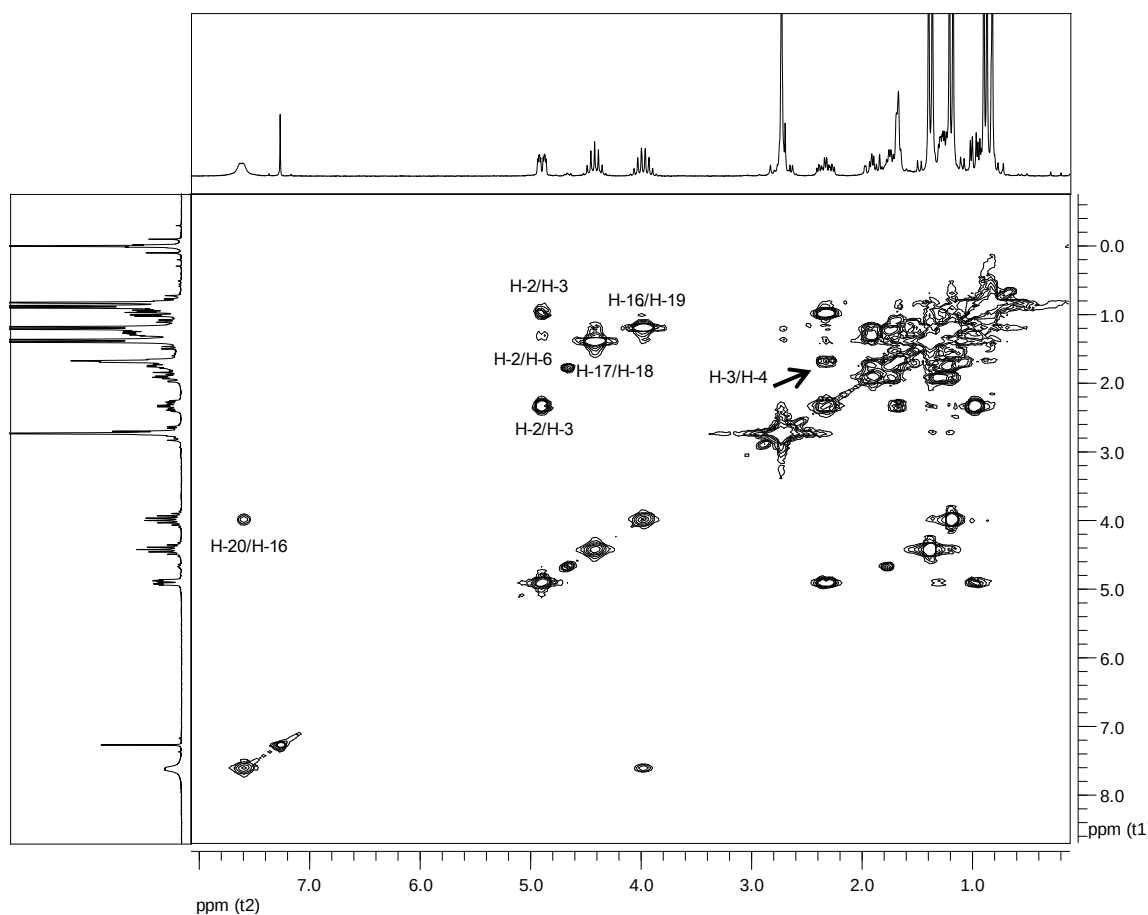


Figura 24: Mapa de contornos COSY (400 MHz) do composto **10** em CDCl_3 .

Devido ao alto valor de deslocamento do hidrogênio H20 (δ_{H} 7,62), ao desdobramento do seu sinal no espectro de RMN de ^1H (sinal largo) e bem como o fato do seu sinal não apresentar correlação com nenhum carbono no mapa de contornos HSQC, pode-se inferir que H20 está ligado a um átomo de nitrogênio.

Assim, após análise dos espectros de RMN 1D e 2D do composto **10**, chegou-se nos seguintes fragmentos do produto:

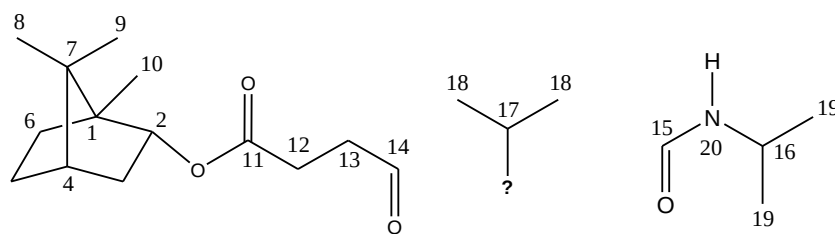


Figura 25: Fragmentos do composto **10**.

Através da análise dos fragmentos encontrados para o composto **10**, observou-se que os grupos isopropila presentes nessa molécula só poderiam ter se originado do reagente DIC. Sabendo-se que pode ocorrer o rearranjo do intermediário 1,3 O-acil-isouréia, resultando na *N*-acil-isouréia (Esquema 2, pág. 37), foi proposta a estrutura abaixo para o composto **10** (Figura 26), que está de acordo com todos os dados de RMN encontrados.

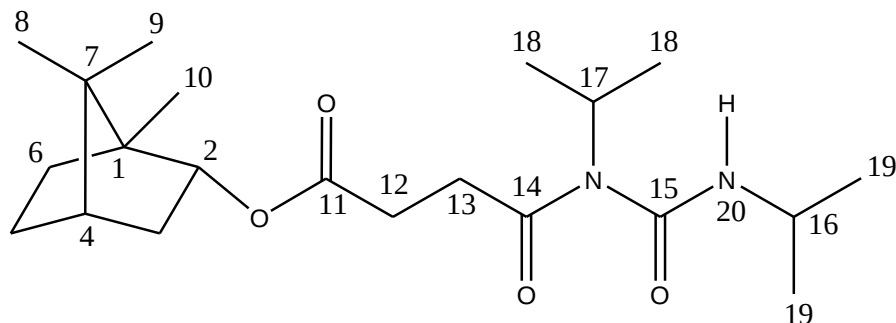


Figura 26: Estrutura proposta para o composto **10**.

Tabela 4: Dados de RMN 1D e 2D (400 MHz, CDCl₃) do composto **10** e comparação com dados de RMN ¹³C do borneol

Nº	Borneol	Composto 10	Tipo de carbono	δ _H	HMBC	COSY
1	47,8	47,9	C			
2	77,3	80,5	CH	4,94-4,86	6	3
3	38,7	36,6	CH ₂	2,41-2,25; 1,02-0,95		
4	44,9	45,0	CH	1,69-1,65		
5	28,1	28,0	CH ₂	1,79-1,72; 1,31-1,24		
6	25,7	27,2	CH ₂	1,93-1,84; 1,31-1,24	5	
7	49,3	48,9	C			
8	18,5	18,8	CH ₃	0,90		
9	20,0	19,7	CH ₃	0,87		
10	13,1	13,5	CH ₃	0,82		
11		173,5	C			
12		29,8	CH ₂	2,73	11, 13, 14	
13		30,5	CH ₂	2,73	12, 14	
14		172,2	C			
15		154,0	C			
16		42,8	CH	3,98		19, 20
17		47,9	CH	4,42	18, 15, 14	
18		20,8	2CH ₃	1,38		17
19		22,4	2CH ₃	1,19		

Foi observado que o aumento no tempo de irradiação para 5 minutos (Condição 7, Tabela 3, pág. 45) também forneceu 2 produtos, ambos com 17% de rendimento. Um dos produtos apresentou R_f maior que o borneol e, após a caracterização através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT135, pode-se concluir que se tratava do composto **9**. O segundo composto, apresentou R_f menor que o borneol e após comparação com dados de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135 verificou-se que o produto era correspondente ao composto **10**. Portanto, um aumento no tempo de radiação aumentou a proporção do produto dissubstituído em relação ao produto obtido por rearranjo. Isto possivelmente ocorre, pois, o aumento no tempo de irradiação favorece uma maior dispersão do DMAP no meio reacional, o que diminui a ocorrência de reações paralelas.

1.2.3 Síntese e caracterização dos ésteres aromáticos

Na síntese dos ésteres aromáticos foram utilizados nove ácidos, sendo oito com anel arila, contendo diferentes substituintes doadores e retiradores de densidade eletrônica no anel, e um com anel piridínico. A partir destes ácidos sintetizou-se 10 compostos. Os rendimentos obtidos para os ésteres variaram de 10 a 84%, utilizando-se DIC/DMAP sem IMO (Tabela 1, pág. 41). Quando foi utilizada a metodologia do cloreto de tionila, os rendimentos foram muito inferiores (3 a 35%). O uso de DIC/DMAP com IMO forneceu bons rendimentos (6 a 81%) e menor tempo de reação (3 e 5 minutos) quando comparados com cloreto de tionila (17 a 100 horas) e DIC/DMAP sem IMO (1 a 96 horas).

Os ésteres aromáticos foram caracterizados por espectroscopia no Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C , subspectro DEPT135, ponto de fusão (quando aplicado) e espectrometria de massas de alta resolução. Os sinais característicos do espectro no IV e de RMN que comprovaram a formação dos produtos estão descritos na Tabela 5 (pág. 61) e se caracterizam por:

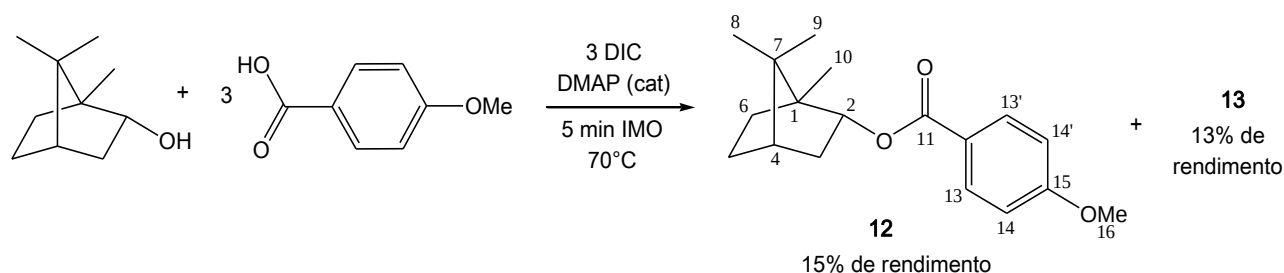
- a) deslocamento do sinal do hidrogênio (H₂) ligado ao carbono carbinólico do borneol para região mais desblindada do espectro;

- b) aparecimento no espectro de RMN de ^1H dos sinais correspondentes aos hidrogênios do anel aromático;
- c) aparecimento do espectro de RMN de ^{13}C dos sinais correspondentes ao carbono carbonílico do éster (~ 166 ppm) e os sinais correspondentes aos carbonos aromáticos;
- d) presença de uma banda intensa no espectro no IV, referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ de éster (~ 1710 cm^{-1}).

Tabela 5: Dados de RMN e de IV dos ésteres **11 – 20**

Composto	RMN de ^1H δ_{H} (ppm)	RMN de ^{13}C δ_{C} (ppm)	IV (cm^{-1})
	<u>H-C-O</u>	<u>C=O</u>	<u>C=O</u>
11	5,16-5,08 (ddd)	166,8	1714
12	5,13-5,05 (ddd)	166,6	1712
13	4,85-4,80 (m)	156,3	1708
14	5,13-5,06 (ddd)	166,6	1710
15	5,12-5,07 (m)	166,4	1708
16	5,27-5,20 (m)	162,7	1723
17	5,28-5,23 (m)	168,3	1710
18	5,19-5,12 (ddd)	165,5	1718
19	5,10-5,02 (ddd)	166,9	1681
20	5,11-5,03 (ddd)	164,5	1722

Na síntese dos ésteres aromáticos também foi verificada a formação de subproduto quando se utilizou irradiação de micro-ondas para obtenção do éster derivado do ácido *p*-metoxibenzoico. De acordo com a Tabela 6 (pág. 62), quando se utilizou a temperatura de 70 °C (Condição 4), foi verificada a formação de mais de um produto (Esquema 6, pág. 62).



Esquema 6: Reação de obtenção do derivado do ácido *p*-metoxibenzoico.

Tabela 6: Condições de reação usada na tentativa de obtenção do éster derivado do ácido *p*-metoxibenzoico

Condição	Solvente	Tempo	Temp.	Metodologia	Borneol (mmol)	Ácido (mmol)	Rend. (%)	Produto
1	CH ₂ Cl ₂	24 h	T. a.	DIC/DMAP	1	3	30	12
2	Tolueno	31 h	Refluxo	SOCl ₂	1	3	5	12
3	-	3 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	56	12
4	-	5 min	70 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	15 e 13	12 e 13
5	-	5 min	130 °C	DIC/DMAP com MO	1	3	50	12

No espectro de RMN de ¹H do produto majoritário (**12**) (Figura 27, pág. 63) verificou-se a presença de um duplo duplete duplo em δ_{H} 5,13-5,05 ($J_1 = 2,2$, $J_2 = 3,2$, $J_3 = 10$), integrando para um hidrogênio, atribuído ao hidrogênio do carbono carbinólico (H2). Em δ_{H} 8,02 ($J = 9$ Hz), observou-se um duplete, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do anel aromático (H13 e H13'). Em δ_{H} 6,93 ($J = 8,8$ Hz), verificou-se a presença de um duplete, integrando para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios H14 e H14' do anel aromático. O simpleto em δ_{H} 3,86, integrando para três hidrogênios, corresponde aos hidrogênios H16 do grupo metoxila.

O espectro de RMN de ¹³C (Figura 85, pág. 129) revelou a presença de dezesseis sinais, sendo dois destes sinais com maior intensidade, e o subespectro de ¹³C DEPT135 (Figura 86, pág. 130) mostrou a presença de onze sinais. Assim, a

molécula apresentou quatro sinais correspondentes a carbono metílico, três a carbono metilênico, quatro a carbono metínico e cinco a carbono não hidrogenado. Portanto, a análise dos espectros não deixaram dúvidas quanto a obtenção do produto desejado **12**.

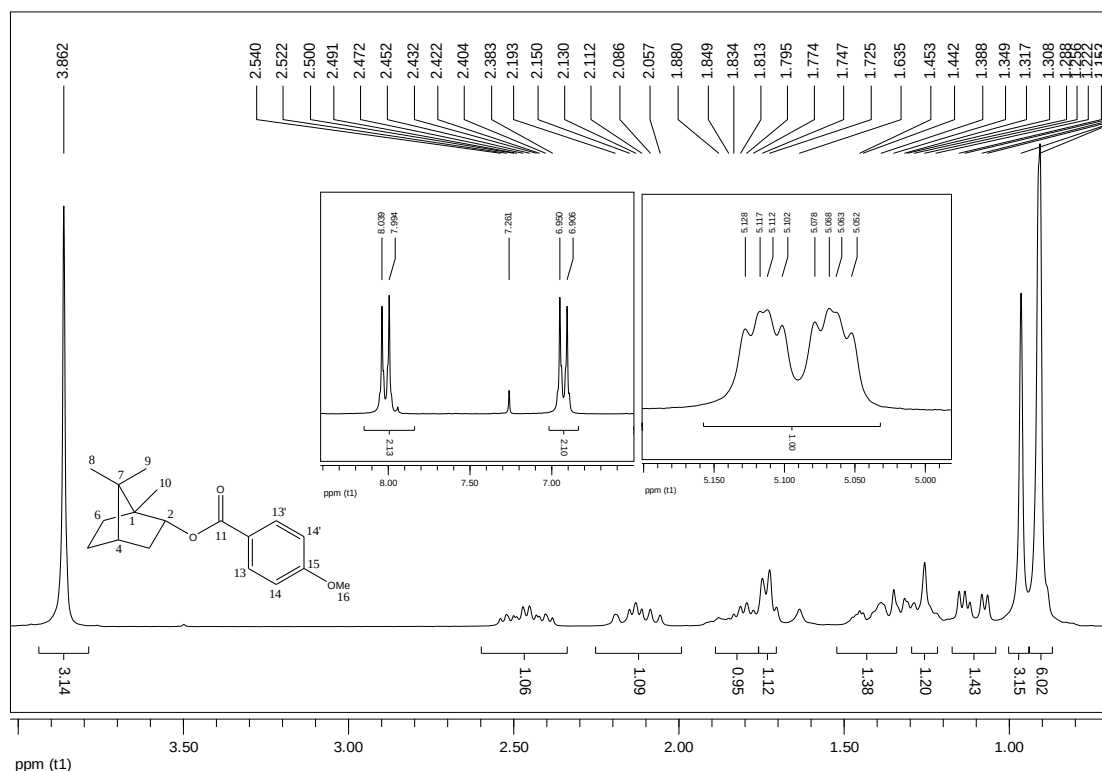


Figura 27: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **12** em CDCl_3 .

Após a obtenção dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT135 (Figuras 28, 29 e 30, págs. 64 e 65) do composto obtido com menor rendimento (**13**), observou-se que estes não apresentavam sinais correspondentes aos hidrogênios e carbono aromáticos; no entanto, apresentavam os sinais referentes ao borneol esterificado, indicando a formação de um subproduto.

No espectro de RMN de ^1H de **13** (Figura 28, pág. 64) observou-se a presença de um multipeto em δ_{H} 3,91-3,68, integrando para um hidrogênio, cujo sinal não era compatível com a estrutura esperada de **12**. Verificou-se um dupeto em δ_{H} 1,16 ($J = 6,4$ Hz), integrando para seis hidrogênios, indicando a presença de duas metilas. Também se observou a presença um sinal largo em δ_{H} 4,48, integrando para um hidrogênio e a ausência do sinal dos hidrogênios do anel aromático e da metoxila.

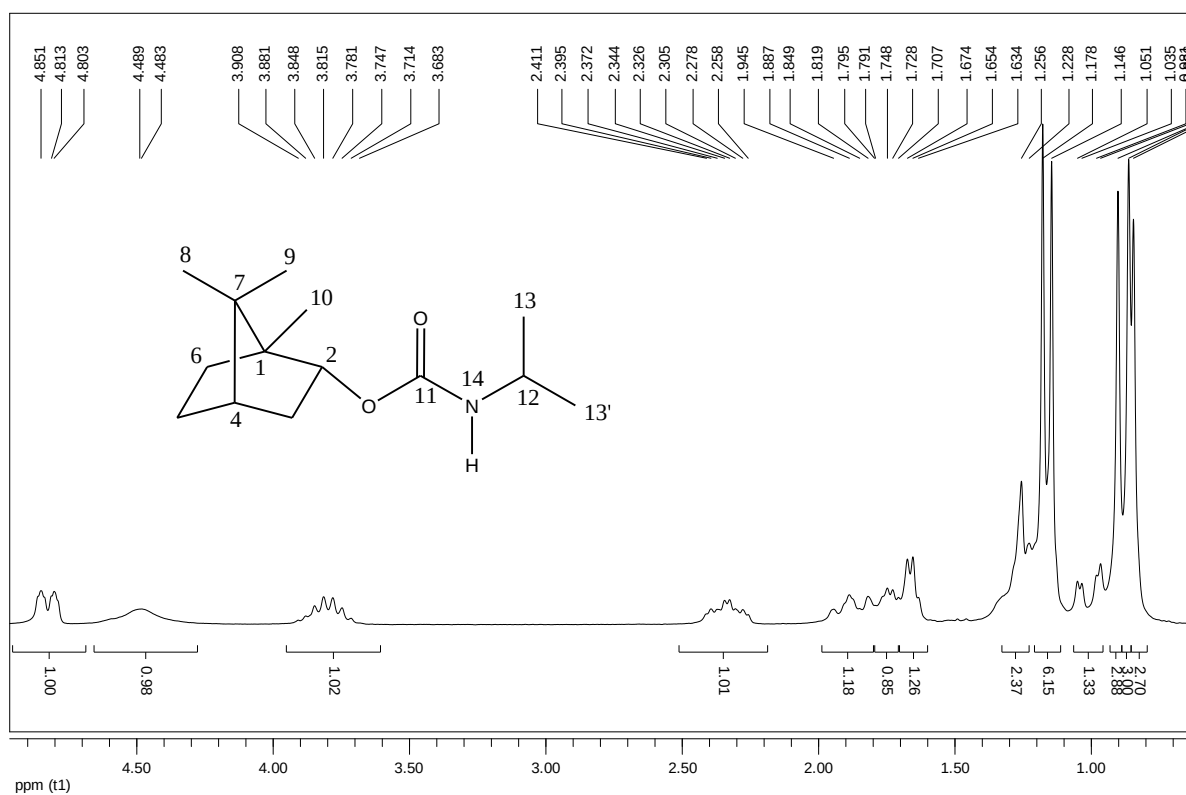


Figura 28: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **13** em CDCl_3 .

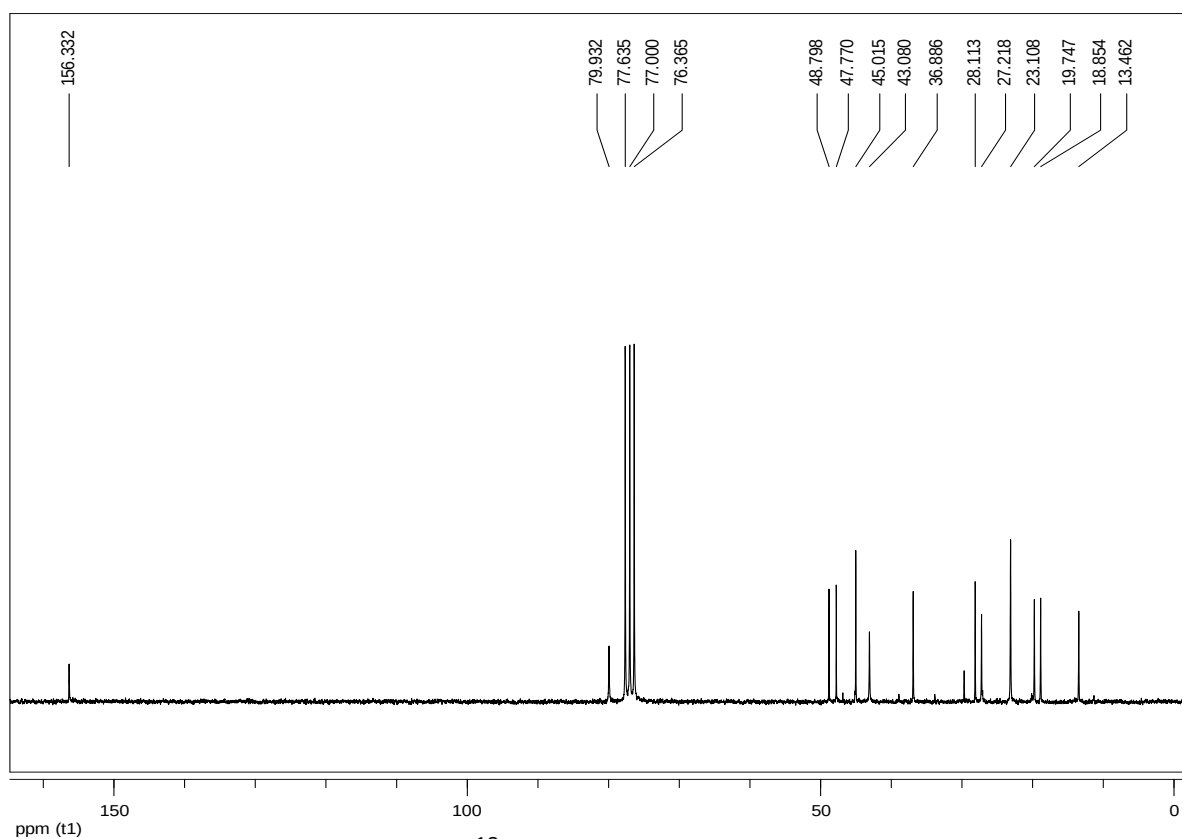


Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **13** em CDCl_3 .

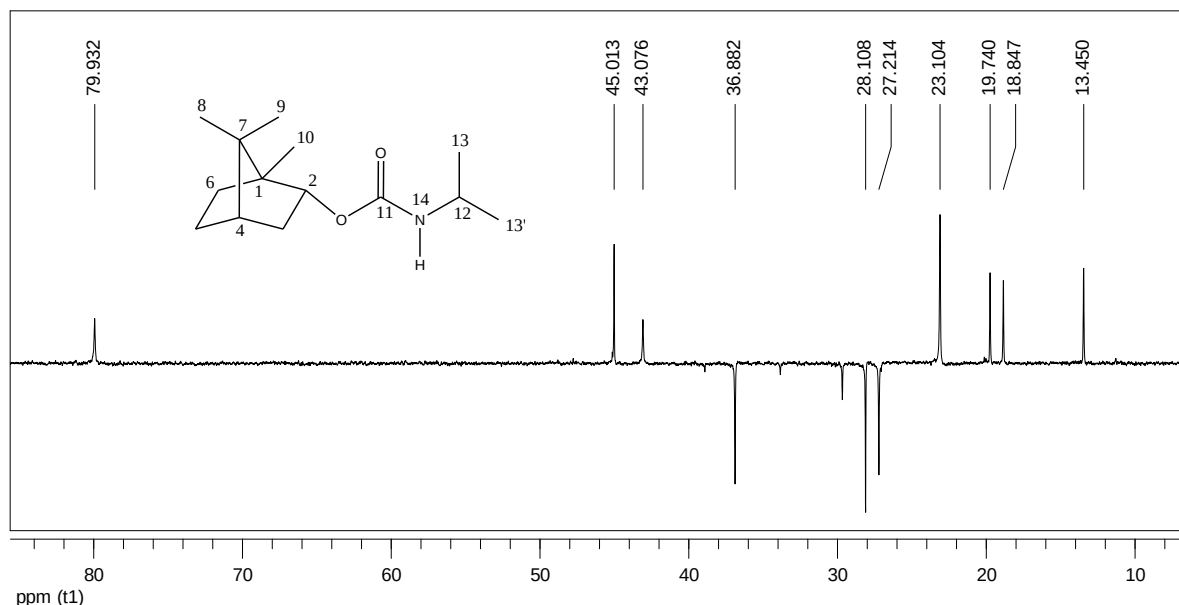


Figura 30: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **13** em CDCl₃.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 29, pág. 64) e do subespectro DEPT135 (Figura 30) de **13** indicou a presença de apenas treze sinais de carbono. Destes, quatro sinais correspondem a carbono metílico, três a carbono metilênico, três a carbono metínico e três a carbono não hidrogenado. O sinal intenso em δ_{C} 23,11 foi atribuído a dois carbonos metílicos.

Como os dados dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C indicavam a formação de um éster diferente do já obtido (composto **12**), procedeu-se a uma análise detalhada dos espectros de RMN 1D e 2D de **13** a fim de se elucidar a estrutura química do composto.

Os sinais de carbono de 1 a 10 foram atribuídos por comparação com o material de partida (borneol) e estão descritos na Tabela 7 (pág. 71). Observou-se que o composto **13** apresentou apenas 13 sinais de carbono, sendo dez correspondentes ao anel bicíclico.

Os sinais de hidrogênio de H1 a H10 foram atribuídos aos seus respectivos átomos de carbono no mapa de contornos HSQC, uma vez que os sinais de carbono do borneol já eram conhecidos.

No mapa de correlações HSQC (Figura 31 e 32, págs. 66 e 67), o sinal em δ_{H} 4,82 mostrou correlação com o sinal em δ_{C} 79,9. Esses sinais foram atribuídos a H2 e

C2. O sinal em δ_C 36,9 (C3) mostrou correlação com sinal em δ_H 2,32 e 1,01 (H3), sinal em δ_C 45,0 (C4) mostrou correlação com sinal em δ_H 1,65 (H4), sinal em δ_C 28,1 (C5) mostrou correlação com sinal em δ_H 1,75 e 1,24 (H5), sinal em δ_C 27,2 (C6) mostrou correlação com sinal em δ_H 1,88 e 1,24, sinal em δ_C 18,8 (C8) mostrou correlação com sinal em δ_H 0,90 (H8), sinal em δ_C 19,7 (C9) mostrou correlação com sinal em δ_H 0,86 e, por fim, sinal em δ_C 13,5 (C10) mostrou correlação com sinal em δ_H 0,84 (H10).

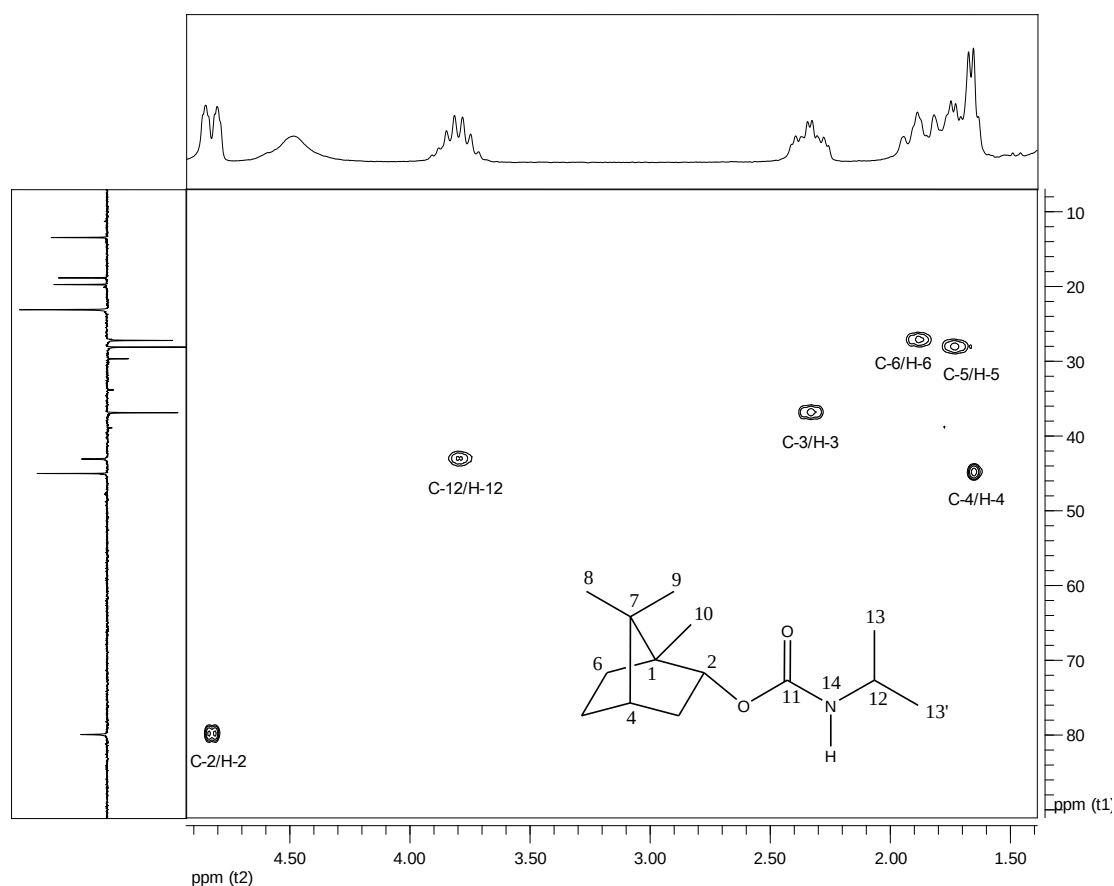


Figura 31: Expansão do mapa de contornos HSQC (400 MHz) do composto **13** em $CDCl_3$.

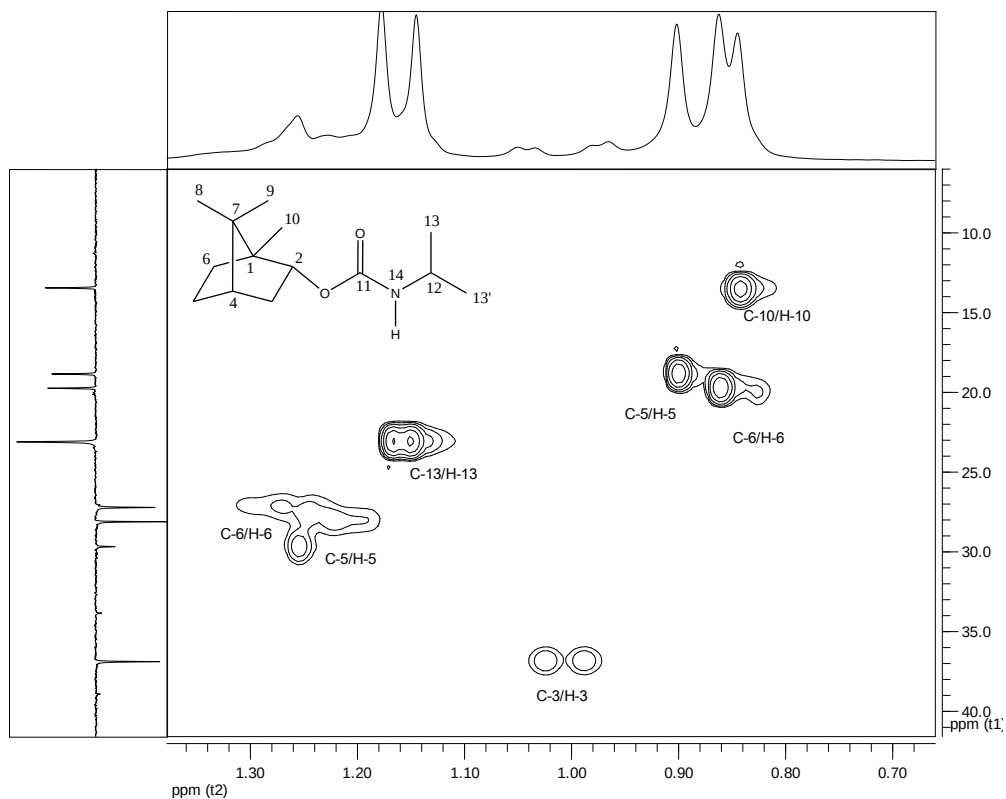


Figura 32: Expansão do mapa de contornos HSQC (400 MHz) do composto **13** em CDCl_3 .

No mapa de contornos HMBC (Figuras 33 e 34, pág. 68), o sinal do carbono em δ_{C} 156,3 (C11) apresentou correlação com o sinal em δ_{H} 4,82 (H2). O sinal de hidrogênio H2 também apresentou correlações com um carbono metílico em δ_{C} 13,5 (C10) e com um carbono metilênico em δ_{C} 27,2 (C6), conforme esperado. O sinal em δ_{H} 1,16 (H13 e H13') correlacionou-se com o sinal do carbono metílico em δ_{C} 23,1 (C13 e C13') e com o sinal do carbono metínico em δ_{C} 43,1 (C12).

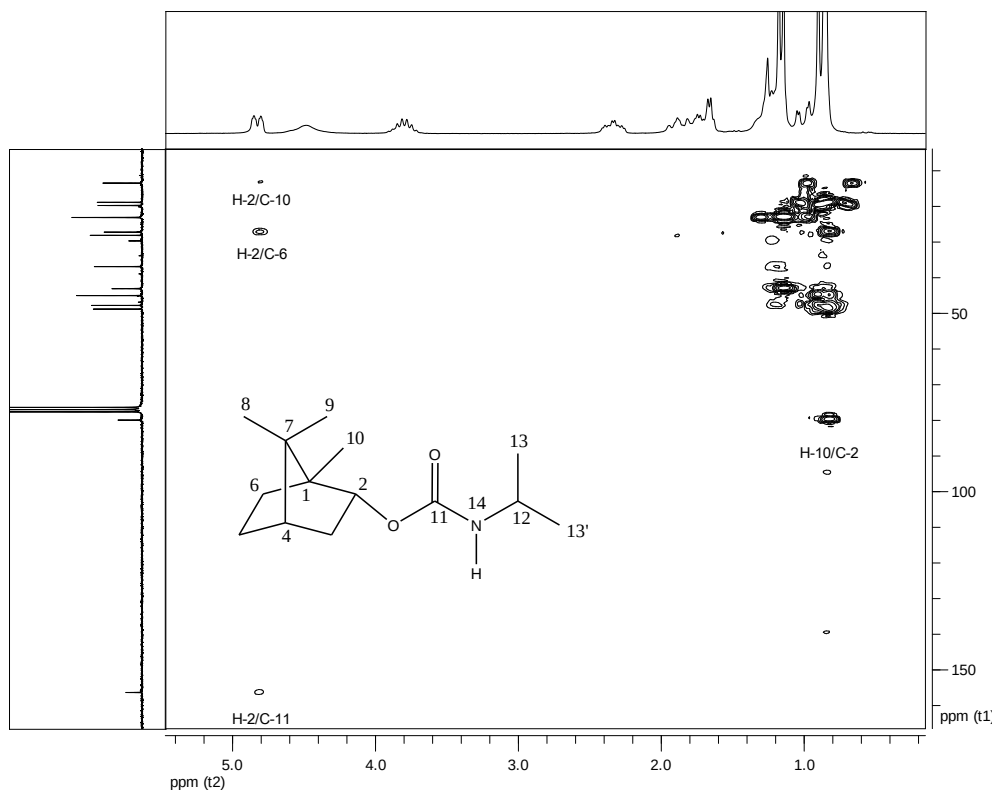


Figura 33: Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz) do composto **13** em CDCl₃.

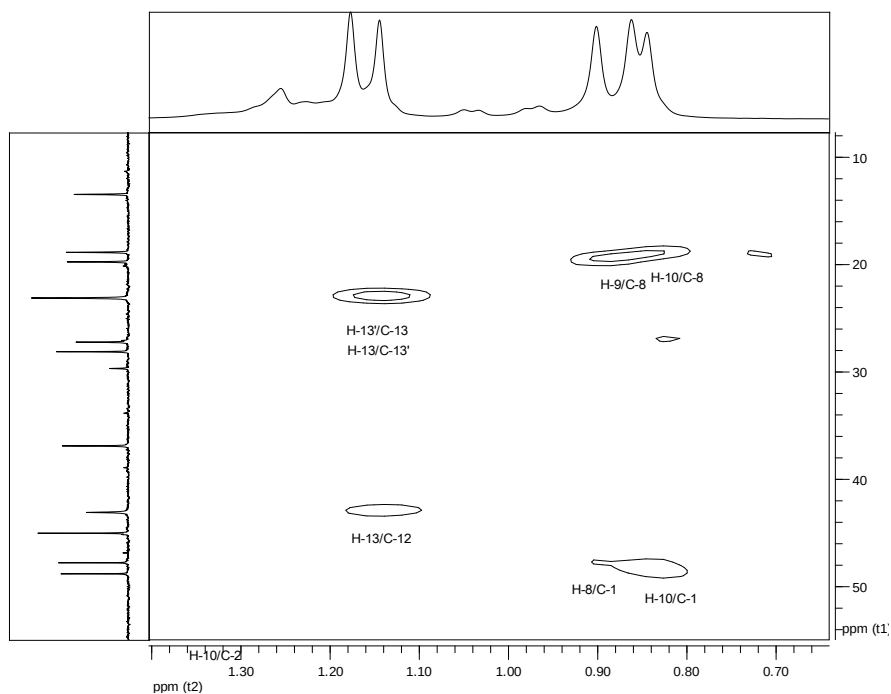


Figura 34: Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz) do composto **13** em CDCl₃.

No mapa de contornos COSY (Figura 35), o sinal de hidrogênio em δ_H 4,48 (H14) apresentou correlação com o sinal em δ_H 3,80 (H12) e este último por sua vez, correlacionou-se com os sinais da metila H13 e H13' (δ_H 1,16). O sinal de hidrogênio em δ_H 4,82 (H2) apresentou correlação com os sinais de hidrogênio em δ_H 2,32 (H3) e 1,01 (H3). O sinal de hidrogênio em δ_H 2,32 (H3) apresentou correlação com o hidrogênio em δ_H 1,65 (H4).

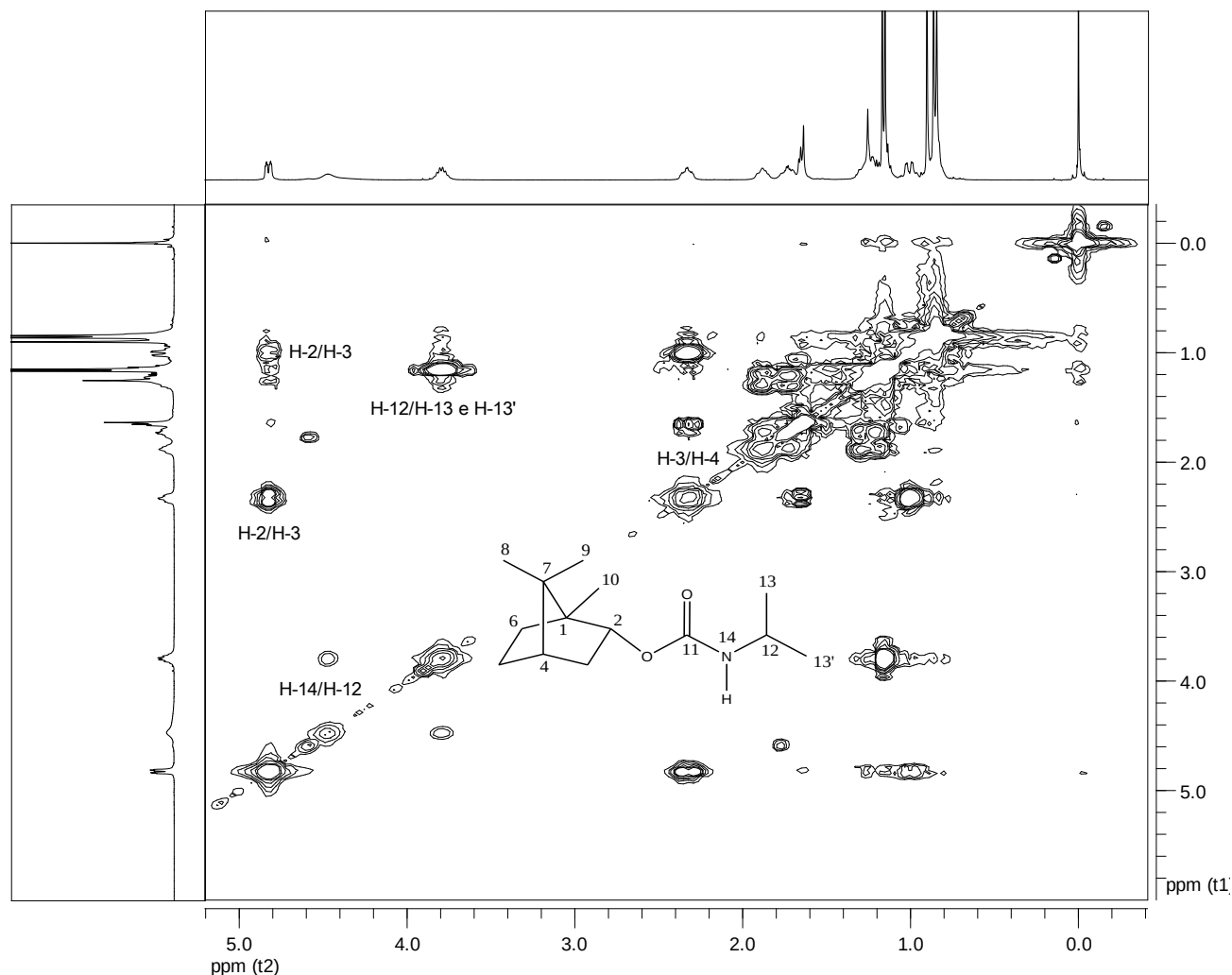


Figura 35: Mapa de contornos COSY (400 MHz) do composto **13** em CDCl_3 .

O sinal largo em δ_H 4,48 (H14) corresponde a hidrogênio ligado a átomo de nitrogênio, uma vez que este sinal não apresenta correlação com nenhum carbono no mapa de contornos HSQC.

Após a análise dos mapas de contornos HSQC, HMBC e COSY foi possível definir a estrutura abaixo, do composto **13**.

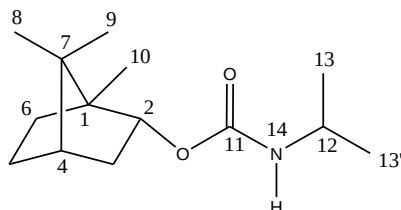
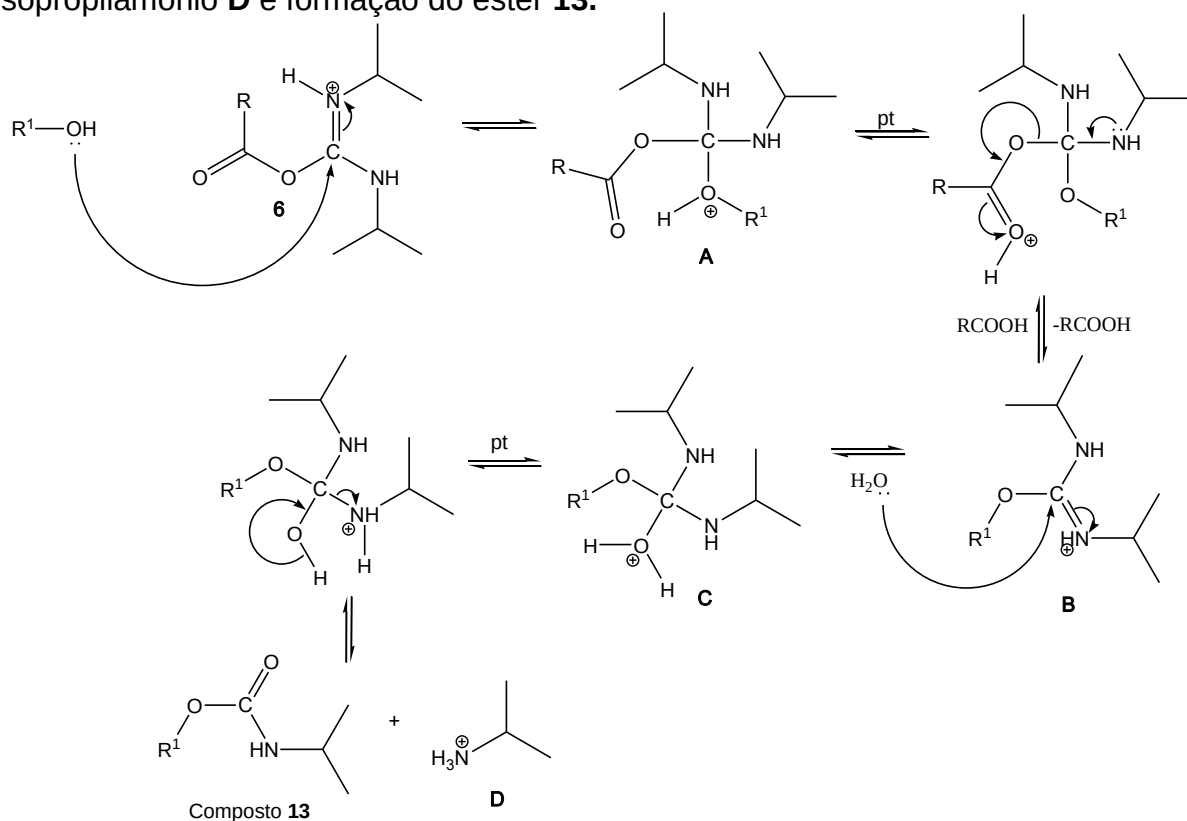


Figura 36: Estrutura proposta para o composto **13**.

A formação deste produto só pode ser justificada pela presença de água residual na reação. O intermediário **6** pode ter sofrido um ataque nucleofílico pelo borneol no carbono nitrogenado (altamente eletrofílico), originado o composto **A** (Esquema 7). Em seguida, há prototropismo e eliminação do ácido, conduzindo a formação do composto **B**, que por sua vez sofre hidrólise, levando a formação do composto **C**. Após a transferência de próton (prototropismo) neste intermediário, ocorre eliminação de isopropilamônio **D** e formação do éster **13**.



Esquema 7: Proposta de mecanismo para formação do composto **13**.

O composto **13** também foi obtido na reação com ácido 3,5-dinitrobenzoico com 17% de rendimento e com o ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico, com 12% de rendimento (Tabela 1, pág. 41).

Tabela 7: Dados de RMN 1D e 2D (400 MHz, CDCl₃) do composto **13** e comparação com dados de RMN ¹³C do borneol

Nº	Borneol	Composto 13	Tipo de carbono	δ_H	HMBC	COSY
1	47,8	47,8	C			
2	77,3	79,9	CH	4,85-4,80	6, 10, 11	3
3	38,7	36,9	CH ₂	2,41-2,26; 1,01		4
4	44,9	45,0	CH	1,67-1,63		
5	28,1	28,1	CH ₂	1,79-1,71; 1,25-1,23		
6	25,7	27,2	CH ₂	1,88; 1,25-1,23		
7	49,3	48,8	C			
8	18,5	18,8	CH ₃	0,90	1	
9	20,0	19,7	CH ₃	0,86	8	
10	13,1	13,5	CH ₃	0,84	1, 8	
11		156,3	C			
12		43,1	CH	3,91-3,68		13, 13'
13		23,1	2CH ₃	1,16	13, 13', 12	14

2 ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

2.1 Introdução Geral

Os ésteres derivados do borneol foram submetidos aos seguintes estudos de atividade biológica:

- atividade antimicrobiana (antibacteriana e antifúngica);
- atividade antiproliferativa;
- atividade anti-inflamatória;
- atividade leishmanicida.

Para os testes realizados, não foram avaliadas as atividades de todos os ésteres, uma vez que os ensaios foram realizados de acordo com a disponibilidade dos laboratórios parceiros. Assim, muitas substâncias ainda não haviam sido sintetizadas e/ou caracterizadas, e por isso não foram enviadas para os estudos de atividade biológica.

As estruturas, os rendimentos e as metodologias utilizadas para a obtenção dos compostos testados estão descritos na Parte Experimental, item 1.1.3, pág. 16.

2.2 Atividade Antimicrobiana

2.2.1 Introdução

As infecções bacterianas e fúngicas são responsáveis por um enorme número de doenças e encargos sociais. Há milhões de pessoas afetadas por doenças infecciosas atribuídas a bactérias e fungos em todo o mundo (DANISHUDDIN *et al.*, 2012).

O grande marco no tratamento das infecções bacterianas ocorreu com a descoberta da penicilina, em 1928, por Alexander Fleming. Entretanto, o seu uso como agente terapêutico somente foi introduzido nos anos 1940. Após o processo de industrialização da penicilina, especialmente em consequência da Segunda Guerra Mundial, foi observado um rápido crescimento na descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos (sintéticos e naturais) (WHO, 2013c; GUIMARÃES *et al.*, 2010).

Diversos antibióticos foram descobertos no período de 1940 a 1960. A maior parte foi obtida a partir de triagens de produtos naturais, como os β -lactâmicos (cefalosporina), aminoglicosídeos (estreptomicina), tetraciclina (clortetraciclina), macrolídeos (eritromicina), entre outros. Neste mesmo período, apenas três derivados sintéticos foram introduzidos no mercado: isoniazida, trimetopim e metronidazol (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

O período de 1960 a 1980 foi marcado pela entrada no mercado dos antibióticos semi-sintéticos, análogos aos antibióticos naturais já existentes. A maioria deles foram obtidos a partir de protótipos naturais microbianos, como derivados β -lactâmicos (análogos de penicilina e cefalosporina, ácido clavulânico, aztreonam), análogos da tetraciclina e derivados aminoglicosídicos (gentamicina, tobramicina, amicacina). (FERNANDES, 2006; GUIMARÃES *et al.*, 2010).

A partir dos anos 1980 houve uma redução na identificação de novos protótipos antibióticos. Muitas publicações recentes têm documentado o fato de que, apesar dos problemas crescentes relacionados à resistência dos agentes patogênicos aos antimicrobianos, o número de novos antibióticos introduzidos no mercado tem mostrado uma queda acentuada ao longo das últimas décadas, com apenas cinco

novos agentes antibacterianos aprovados para uso clínico nos EUA entre 2003 e 2007 (MOELLERING JR, 2011).

A falta de interesse dos grandes laboratórios farmacêuticos em agentes antibacterianos está relacionada a inúmeros fatores, incluindo a diversidade de antimicrobianos genéricos disponível no mercado, que ainda são considerados primeira opção de terapia por muitas autoridades de saúde pública. Além disso, a duração do tratamento com agentes antibacterianos é limitada, quando comparado a drogas utilizadas para o tratamento do câncer, doenças neurológicas ou cardiovasculares; o que significa uma menor rentabilidade para a indústria farmacêutica. Além disso, algumas doenças, em geral, apresentam medicamentos com preços mais elevados, como é o caso daqueles utilizados no tratamento do câncer (MOELLERING JR, 2011; BUSH *et al.*, 2011).

Além do declínio na descoberta de novos fármacos, outro grande problema associado à terapia antimicrobiana é o aumento crescente da resistência dos patógenos. Prescrições de antibióticos inadequados ou desnecessários, o uso excessivo de antibióticos na pecuária e na agricultura e a falta de adesão dos pacientes ao período de tratamento são os principais contribuintes para o surgimento de resistência a antibióticos (GLICKMAN E SAWYERS, 2012; BOLOGA *et al.*, 2013).

Devido à crescente ameaça de patógenos multirresistentes há uma necessidade cada vez maior de desenvolver novas terapias para o tratamento de doenças microbianas. Assim, buscando a identificação de novas substâncias com atividade antimicrobiana, os ésteres derivados do borneol foram submetidos a testes frente a diferentes micro-organismos.

2.2.2 Teste antimicrobiano

O teste foi realizado pelo grupo da Professora Dr^a Jacqueline Aparecida Takahashi no Laboratório Biotecnologia e Bioensaios, do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais. Para a realização dos experimentos foram utilizadas culturas das bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e bactérias Gram-positivas *Staphylococcus*

aureus (ATCC 25923) e *Streptococcus sanguinis* (ATCC 49456), e do fungo leveduriforme *Candida albicans* (ATCC 18804) (Figura 37).



*Escherichia coli*¹



*Pseudomonas aeruginosa*²



*Staphylococcus aureus*³



*Streptococcus sanguinis*⁴



*Candida albicans*⁵

Figura 37: Fotos dos micro-organismos avaliados.

Fonte:, acesso: 17/01/2014

¹ <http://www.wired.co.uk/news/archive/2013-04/23/e-coli-fuel>

² <http://globalmedicaldiscovery.com/key-scientific-articles/the-effects-of-hyperosmosis-or-high-ph-on-a-dual-species-biofilm-of-enterococcus-faecalis-and-pseudomonas-aeruginosa-an-in-vitro-study/attachment/pseudomonas-aeruginosa-bacteria-sem/>

³ <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=11181>

⁴ <http://stepha.myweb.uga.edu/strepsanguisjpg.jpg>

⁵ <http://albicans-candida.blogspot.com.br/2008/11/oi.html>

2.2.2.1 Avaliação da atividade antimicrobiana em ensaio de CIM (Concentração Inibitória Mínima)

Os testes foram realizados em meio de cultura caldo BHI (*Broth Heart Infusion*) utilizando placas de 96 micropoços e um leitor de placa de Elisa (492 nm). Avaliou-se a inibição do crescimento dos micro-organismos desafiados comparando a turbidez do

meio com aquela obtida no meio em que não houve adição dos compostos (controle positivo: inóculo + meio BHI). Utilizou-se concentrações crescentes de cada uma das amostras testadas.

2.2.2.2 Metodologia

As amostras foram pesadas e solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO), resultando em uma solução com concentração de 12,5 mg/mL. Pipetaram-se 40 µL desta solução para um frasco contendo 960 µL de meio de cultura BHI (solução de trabalho). Foi preparado um pré-inóculo no qual as bactérias (leveduras) estocadas em tubos de ensaio foram transferidas com alça de platina e inoculadas em tubos de ensaios contendo 3,0 mL de meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion, Infuso de cérebro e coração). Em seguida, os tubos foram incubados em estufa a 37 °C por 18 h. Com o auxílio de uma micropipeta, 500 µL do pré-inóculo bacteriano foram transferidos para tubos de ensaio contendo 4,5 mL de água destilada estéril. Os tubos foram homogeneizados e a concentração ajustada comparando-se com o tubo 0,5 da escala de McFarland de turbidez padrão (10^8 UFC/mL), obtendo-se assim, os inóculos bacterianos utilizados no teste.

Os testes foram realizados em placas de 96 micropoços, em triplicata. Em cada poço foram adicionados 100 µL do meio de cultura BHI. No poço 1 foram adicionados também 100 µL da solução de trabalho. Homogeneizou-se a solução e 100 µL foram transferidos para o próximo poço e assim sucessivamente. Desprezaram-se os 100 µL finais. Foram testadas 8 concentrações de cada amostra (500 µg, 250 µg, 125 µg, 62,5 µg, 31,2 µg, 15,6 µg, 7,8 µg, 3,9 µg). A seguir, 100 µL do inóculo do micro-organismo a ser testado foram adicionados a cada poço. Foram realizados dois controles, um para controle de crescimento do micro-organismo, no qual não houve adição da solução de trabalho (para verificar a viabilidade celular) e o branco, em que não se adicionou o inóculo bacteriano (para se eliminar o efeito da coloração da solução de trabalho). Uma placa controle contendo 100 µL de meio de cultura BHI e 100 µL de água destilada estéril foi adicionada ao experimento como de controle de esterilidade do meio de cultura BHI.

As microplacas foram submetidas à primeira leitura em leitor de placa de Elisa (492 nm) imediatamente após a execução do experimento (leitura a 0h). Posteriormente, foram incubadas em estufa a 37 °C e após 24 h foi realizada nova leitura das mesmas, encerrando o teste.

Tabela 8: Amostras utilizadas no teste antimicrobiano

Composto	Identificação
1	Hexanoato de bornila
2	Octanoato de bornila
3	Decanoato de bornila
4	Dodecanoato de bornila
5	Tetradecanoato de bornila
6	Hexadecanoato de bornila
7	Octadecanoato de bornila
8	Monossuccinato de bornila
9	Succinato de bis-bornila
10	4-{[Isopropil[isopropilamino)carbonil]amino]-4-oxobutanoato de bornila
11	Benzoato de bornila
12	4'-Metoxibenzoato de bornila
14	3',4'-Dimetoxibenzoato de bornila
15	3',4',5'-Trimetoxibenzoato de bornila
16	3',5'-Dinitrobenzoato de bornila
17	3',5'-Dinitrosalicilato de bornila
18	Nicotinato de bornila
21	Borneol

O grau de resistência ou sensibilidade das bactérias e da levedura frente às amostras testadas foi determinado pela presença ou ausência de inibição; quanto maior a inibição, menor a turbidez do meio. Os resultados encontrados para as amostras testadas na leitura de 24 h estão apresentados na forma de Tabela (Tabela 9 pág. 79) onde está descrito os valores de CIM₅₀ (concentração da amostra necessária para inibir 50% do crescimento dos micro-organismos). Os testes foram realizados em triplicata e a percentagem de inibição dos compostos foi calculada a partir da comparação das médias de absorção das amostras com o branco.

2.2.2.3 Resultados e discussão

No resultado do teste biológico foi observada a menor concentração dos compostos que inibiu 50% do crescimento do microrganismo (CIM_{50}). Eles estão descritos na Tabela 9 (pág. 79), onde é possível verificar que os melhores resultados (com CIM_{50} menor) são dos compostos **12**, **14** e **15**, que correspondem aos ésteres contendo anel benzênico com substituinte doador de densidade eletrônica (grupo metoxila). Logo, pressupõe-se que esse grupo deve ser o responsável pela eficácia do composto contra o micro-organismo.

Da série dos ésteres graxos, apenas o composto **4** apresentou atividade, com uma CIM_{50} igual a 500 $\mu\text{g/mL}$ contra *Pseudomonas aeruginosa*. O composto **10** manifestou CIM_{50} igual a 500 $\mu\text{g/mL}$ para *Candida albicans*, não mostrando atividade significativa para nenhuma das bactérias testadas. Os compostos **12**, **14** e **15** foram os que apresentaram os resultados mais significativos. Para o composto **12** foi observado baixo valor de CIM contra todos os micro-organismos testados. A substância **12** mostrou ter menor valor de CIM contra *Streptococcus sanguinis*, onde apresentou mesmo valor que a droga de referência (CIM = 62,5 $\mu\text{g/mL}$). Contra *Staphylococcus aureus* (CIM = 125 $\mu\text{g/mL}$), *Escherichia coli* (CIM = 250 $\mu\text{g/mL}$) e *Candida albicans* (CIM = 250 $\mu\text{g/mL}$), também foi observado atividade do composto **12**.

O composto **14** manifestou mesmo valor de CIM que o controle positivo contra *Escherichia coli* (CIM = 62,5 $\mu\text{g/mL}$). Para este composto também foi observado atividade contra *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguinis* e *Pseudomonas aeruginosa* (CIM = 125 $\mu\text{g/mL}$). O composto **15** apresentou resultado promissor contra *Escherichia coli* (CIM = 250 $\mu\text{g/mL}$). Contra *Staphylococcus aureus* (CIM = 62,5 $\mu\text{g/mL}$) e *Streptococcus sanguinis* (CIM = 62,5 $\mu\text{g/mL}$) o composto **15** apresentou o mesmo valor de inibição que a droga de referência.

De acordo com os resultados obtidos, foi possível observar que o tamanho na cadeia graxa não exerce influência na atividade biológica, uma vez que os ésteres de cadeia graxa não tiveram resultados satisfatórios no teste realizado.

Tabela 9: Avaliação biológica do borneol e seus ésteres

Amostra	Valores de CIM_{50} ($\mu\text{g/mL}$)				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. sanguinis</i>	<i>C. albicans</i>
1	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
2	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
3	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
4	> 500	> 500	500	> 500	> 500
5	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
6	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
7	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
8	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
9	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
10	> 500	> 500	> 500	> 500	500
11	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
12	125	250	500	62,5	250
14	125	62,5	125	125	125
15	62,5	250	> 500	62,5	> 500
16	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
17	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
18	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
21	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
AMP	62,5	62,5	> 500	62,5	-
CIM	-	-	-	-	62,5

S. aureus = *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *E. coli* = *Escherichia coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* = *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *S. sanguinis* = *Streptococcus sanguinis* (ATCC 49456), *C. albicans* = *Candida albicans* (ATCC 18804). AMP = ampicilina (controle positivo para bactérias, exceto *P. aeruginosa*, pois apresenta resistência), MIC = miconazol (controle positivo para *C. albicans*).

2.3 Atividade Antiproliferativa

2.3.1 Introdução

O câncer é uma doença que se caracteriza pelo crescimento desordenado das células do corpo. Quando estas células sofrem mutações que afetam na regulação da divisão celular, elas passam a se multiplicar de maneira ilimitada, levando a formação de tumores. Essas células em proliferação, conseqüentemente, se transformam em células malignas, que invadem outros tecidos (metástase) (SAHA E KHUDA-BUKHSH, 2013).

Apesar dos avanços significativos na pesquisa biomédica durante as últimas décadas, o câncer continua a ser uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo, com uma probabilidade de prevalência crescente. Estima-se que a incidência de 12,7 milhões de novos casos em 2008 (FERLAY *et al.*, 2010) vai subir para 21,4 milhões de casos em 2030 (WHO, 2011). Assim, é necessário encontrar novos medicamentos e tratamentos para ultrapassar esta projeção.

O investimento do Ministério da Saúde na assistência aos pacientes com câncer no Brasil foi de R\$ 2,1 bilhões no ano de 2012, crescimento de 26% em relação a 2010. A previsão é que, até 2014, o valor alocado no fortalecimento do atendimento em oncologia chegue a R\$ 4,5 bilhões (INCA, 2013a). No Brasil, estima-se que em 2014 haverá 576 mil novos casos de câncer. Destes, a região onde há maior previsão de incidência é a Sudeste, representada por cerca de 300 mil casos (Figura 38, pág. 81). São esperados que 70% dos casos descritos para homens sejam correspondentes a câncer de próstata e 56% dos casos nas mulheres seja de câncer de mama (INCA, 2013b).

Por causa dos efeitos secundários observados com múltiplos quimioterápicos de origem sintética, pesquisadores estão se concentrando cada vez mais em medicamentos derivados de produtos naturais. De 1981 a 2010, produtos naturais e seus derivados foram a fonte de 41% de novos medicamentos, destes 79,8% correspondem a drogas aprovadas para o tratamento do câncer (NEWMAN E CRAGG, 2012).

Entre as substâncias derivadas de produtos naturais aprovadas para o tratamento do câncer está o paclitaxel (Taxol[®], Figura 39), um derivado terpenoide obtido a partir das cascas do caule de espécies de *Taxus* (LI E VEDERAS, 2009). O paclitaxel é empregado em tratamentos de neoplasias como o câncer de mama e de ovário (AJIKUMAR *et al.*, 2008). Outra substância utilizada é a vincristina (Oncovin[®]), um alcaloide obtido da planta *Catharanthus roseus* que, atualmente, é de grande utilidade no tratamento de linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário, testículos e leucemia (BRANDÃO *et al.* 2010)

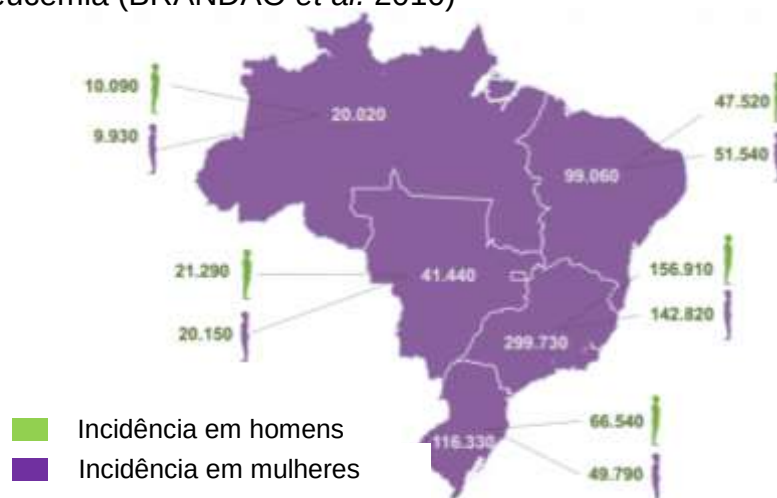


Figura 38: Estimativa de incidência de câncer no Brasil em 2014 por região. Fonte: MS/INCA/ Estimativa de Câncer no Brasil, 2013.



Figura 39: Medicamento Taxol[®] (Paclitaxel).

Fonte: https://ttc.nci.nih.gov/about/success_taxol.php. Acesso em: 18/01/2014.

Muitos estudos mostram que vários monoterpenos são eficazes na prevenção e tratamento de câncer. Entre estes, os monoterpenos monocíclicos *D*-limoneno e o

álcool perílico são conhecidos por inibir o desenvolvimento do câncer de mama, fígado, pele, pulmão e cólon. Monoterpenos, tais como carveol, uroterpenol, e sobrerol mostraram atividade contra carcinomas mamários. (AJIKUMAR, *et al.* 2008).

Devido à relativa semelhança entre as células malignas e as células normais do corpo, o grande desafio para o tratamento do câncer é a busca de medicamentos que apresentem seletividade para células tumorais. Assim, como não existem estudos que relatem o efeito de ésteres de borneol contra células cancerígenas, decidiu-se testar estas moléculas e avaliar o seu potencial.

2.3.2 Teste antiproliferativo

Os testes de atividade antiproliferativa foram realizados pelo grupo de pesquisa da Dr^a. Ana Lúcia Tasca Gois Ruiz, do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Unicamp. Foram avaliados nove compostos frente a seis linhagens de células cancerígenas: MCF-7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), 786-0 (rim), OVCAR-3 (ovário), HT29 (colorretal), K-562 (medula óssea) e uma linhagem de célula humana normal: HaCaT (queratinócito).

Os compostos foram testados em quatro concentrações distintas (0,25; 2,5; 25 e 250 µg/mL) e a doxorrubicina (DOX) foi empregada como controle positivo (DOX 0.25–250 µg/mL). A proliferação celular foi determinada através da quantificação do conteúdo protéico das amostras através de um teste com sulforrodamina B (MONKS *et al.*, 1991). Em cada avaliação foram realizadas medidas espectrofotométricas no tempo zero (T0; início da incubação) e 48 horas após a incubação, tanto das células-controle (C; não-tratadas) quanto das células expostas aos compostos-teste (T). A proliferação celular foi determinada empregando-se a equação $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$.

Os resultados do teste são apresentados em forma de gráfico de porcentagem de crescimento em função da concentração da amostra testada, para cada uma das linhagens de células testadas. As concentrações efetivas denominadas GI₅₀ (do inglês growth inhibition, concentração necessária para interromper em 50% o crescimento celular), foram calculadas para todas as amostras através da regressão não linear, utilizando-se software Origin (SHOEMAKER, 2006).

2.3.2.1 Resultados e discussão

O ensaio antiproliferativo permite avaliar a atividade antitumoral através da exposição de células tumorais humanas, em fase exponencial de crescimento, a diferentes concentrações da amostra e verificar se essa exposição induziu uma interrupção na taxa de crescimento sem morte celular (atividade citostática, valores positivos no gráfico) ou se provocou a morte celular (atividade citotóxica, valores negativos no gráfico). São considerados seletivos os compostos que apresentarem comportamento diferenciado sobre uma determinada linhagem celular em detrimento das demais testadas.

Na Tabela 10 (pág. 84) estão descritos os valores de GI_{50} determinados para os compostos testados. Os compostos **5**, **6**, **7** e **16** não apresentaram efeito relevante contra nenhuma das linhagens de células testadas ($GI_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$). Os derivados **2**, **11** e **15** foram mais seletivos contra K562. O composto **11** foi 9 vezes mais potente para linhagem de célula cancerígena (K562) do que para célula humana normal (HaCaT).

O éster **15** foi o derivado mais potente para todas as linhagens de células avaliadas. Como pode ser observado na Tabela 10, ele foi 2,4 vezes mais potente do que a droga de referencia DOX em inibir o crescimento de células NCI-ADR/RES e 120 vezes menos seletivo do que a DOX para a linhagem de células humanas normais (HaCat). Isto mostra uma maior seletividade do composto **15** para a célula cancerígena.

Uma comparação entre o composto **11** e o borneol contra as células NCI-ADR/RES e 786-0 mostra que o composto não esterificado (borneol) foi inativo, porém a introdução de anel aromático na sua estrutura resultou em um aumento de 4 vezes na sua atividade antiproliferativa. Quando comparamos o composto **11** com o composto **15**, que apresenta grupos doadores de densidade eletrônica no anel aromático (-OMe), verificamos um aumento de 9 vezes na atividade contra as células cancerígenas.

Na Figura 40 (págs. 84 e 85) são mostrados os gráficos da porcentagem de crescimento celular após 48 horas de incubação das células cancerígenas com os compostos-teste. Os compostos **1**, **5**, **6**, **7** e **16** apresentaram somente efeito citostático

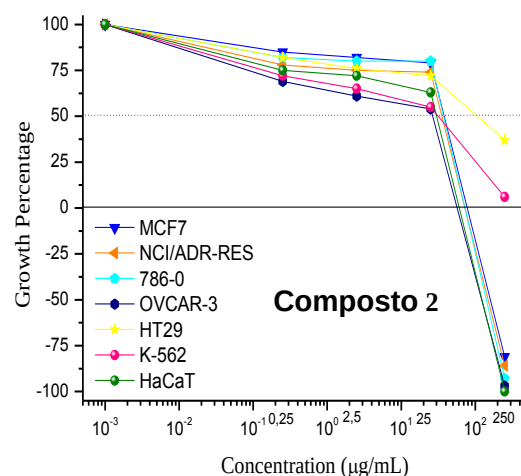
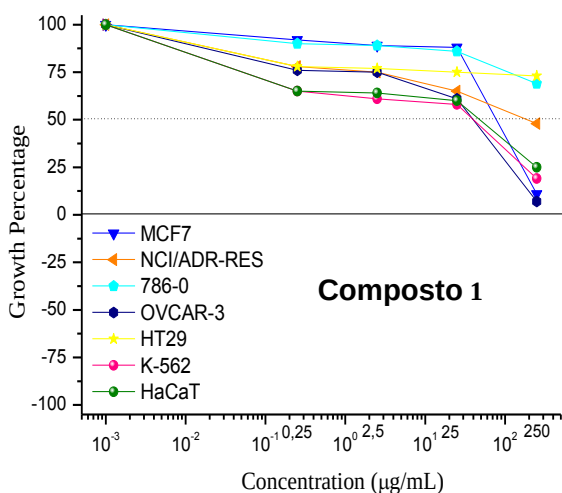
contra todas as linhagens de células em todas as concentrações empregadas. Diferentemente, os ésteres **2**, **11** e **15** apresentaram efeitos citotóxicos na concentração de 250 mg/mL para algumas linhagens estudadas (Figuras 39; págs. 84-85).

Tabela 10: Valores de concentração (GI_{50} em $\mu\text{g/mL}$) necessários para inibir a proliferação de células em 50%

Linhagem Celular ^a	DOX ^b	Borneol	Éster 1	Éster 2	Éster 5	Éster 6	Éster 7	Éster 11	Éster 15	Éster 16
MCF-7	0,044	>250	7,4	29,2	>250	>250	>250	25,3	18,1	>250
NCI-ADR/RES	6,7	>250	250	25,7	>250	>250	>250	26,1	2,8	>250
786-0	0,092	>250	>250	29,4	>250	>250	>250	25,3	3,1	>250
OVCAR-3	0,27	5,3	19,7	25,4	>250	>250	>250	26,6	3,0	>250
HT29	0,26	111,5	>250	108,4	>250	>250	>250	12,1	8,5	>250
K562	0,31	83,7	10,2	9,5	>250	>250	>250	2,8	2,6	>250
HaCat	0,040	>250	17,0	26,6	>250	>250	>250	25,9	4,8	>250

^a Células tumorais: MCF-7 (mama); NCI-ADR/RES (ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos); 786-0 (rim); OVCAR-3 (ovário); HT-29 (colorretal); K562 (medula óssea). Célula normal: HaCat (queratinócitos);

^b Controle positivo.



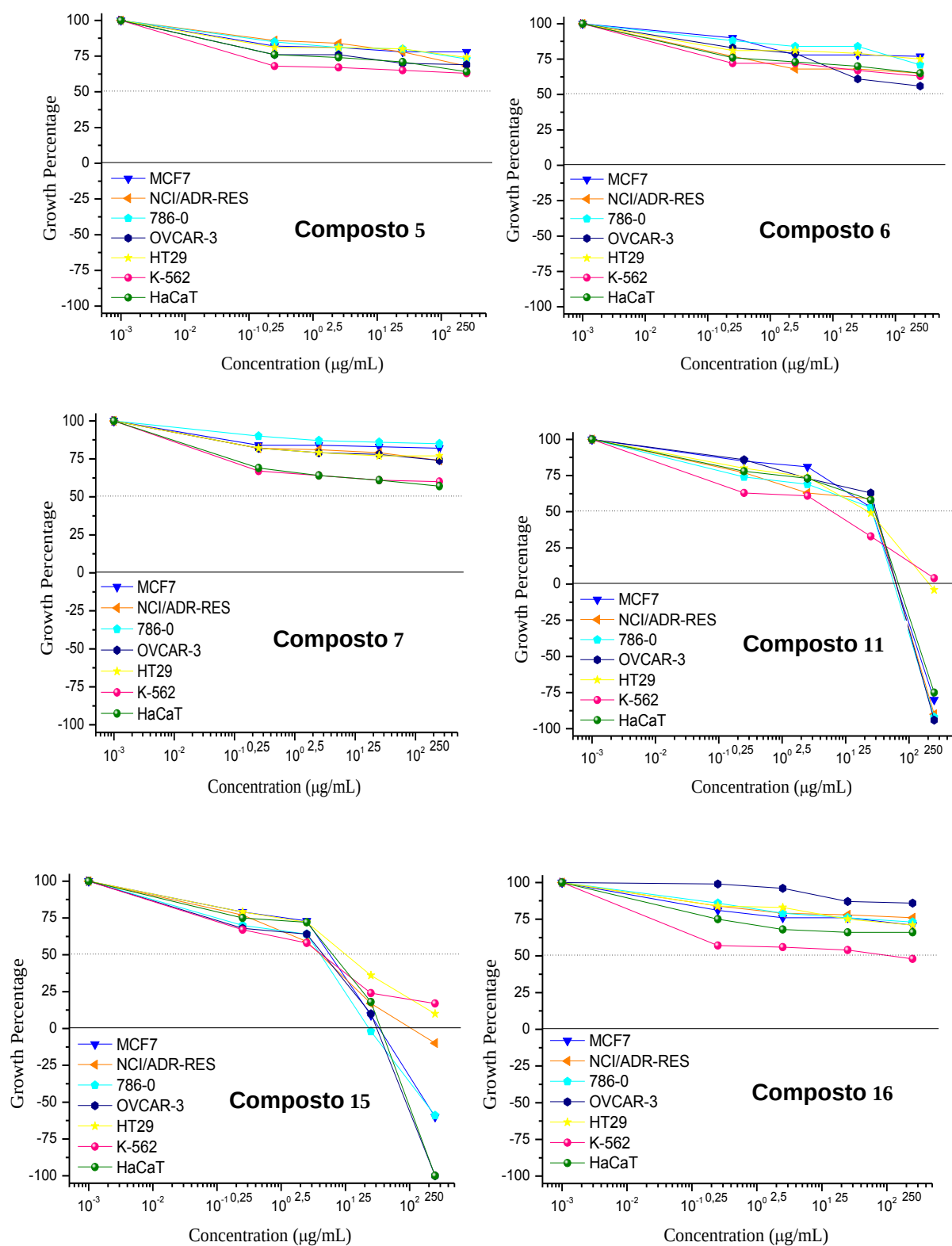


Figura 40: Efeito do borneol e seus ésteres na proliferação de células tumorais humanas.

2.4 Atividade Anti-inflamatória

2.4.1 Introdução

A inflamação é uma reação do organismo a infecções e danos teciduais. Quando não há um equilíbrio entre os efeitos benéficos da cascata inflamatória e o seu potencial para destruição de tecidos, pode ocorrer o desenvolvimento de doenças, tais como: a asma crônica, artrite reumatóide, esclerose múltipla e psoríase (SIMMONS, 2006).

As principais drogas utilizadas clinicamente são os fármacos anti-inflamatórios não-esteróides (AINEs) e os corticóides. Mesmo sendo as drogas mais comumente utilizadas em doenças inflamatórias, os AINEs podem causar efeitos adversos graves no trato gastrointestinal, além de insuficiência renal e broncoespasmos (RANG *et al.*, 2007). Na maior parte, eles atuam inibindo a atividade de ciclo-oxigenases (COX-1 e COX-2), inibindo assim a síntese de prostaglandinas (PG) e tromboxano (TX) (VASCONCELOS, *et al.*, 2012).

Na literatura são descritos diversos monoterpenos com atividade anti-inflamatória, como linalol e seu éster acetato de linalila (PEANA *et al.*, 2002). Recentemente, Vasconcelos e colaboradores (2012) descreveram a atividade anti-inflamatória de um éster derivado do borneol (salicilato de bornila). Foi mostrado que o éster sintetizado apresentou propriedades anti-inflamatórias, como: redução na produção de mediadores eicosanoides, inibição da via da bradicinina e redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6), sem interferir nos níveis de IL-10. O éster também reduziu a migração dos neutrófilos para o foco inflamatório, através de redução da síntese de NO (óxido nítrico) pelos macrófagos. Contudo, não existem relatos da atividade anti-inflamatória de outros ésteres do borneol. Assim, decidiu-se investigar a atividade do borneol e de 10 derivados como potenciais agentes anti-inflamatórios.

Para avaliar a atividade dos ésteres foi realizado o estudo de edema de pata em camundongos, que utiliza como agente inflamatório a carragenina. A resposta edematogênica é um dos sinais do processo inflamatório decorrente do aumento da

permeabilidade vascular, que ocorre na microcirculação, devido à ação dos mediadores liberados (RANG *et al.*, 2007).

A carragenina é um polissacarídeo extraído de algas, que induz resposta inflamatória local mensurável. É o modelo de edema de pata mais utilizado para se avaliar o efeito anti-inflamatório de drogas. Apresenta duas fases inflamatórias e uma terceira não característica. Na primeira hora, logo após injeção da carragenina, há aumento da permeabilidade vascular mediada por histamina e serotonina. Na segunda hora, o aumento da permeabilidade é resultado da liberação de cininas. Na terceira hora, o aumento da permeabilidade vascular ocorre devido à ação das prostaglandinas (DI ROSA, GIROUD e WILLOUGHBY, 1971).

2.4.2 Teste anti-inflamatório

Inicialmente, avaliou-se a atividade anti-inflamatória de 10 ésteres sintetizados e do borneol. A indometacina, um conhecido anti-inflamatório, foi empregado como controle positivo. Esses experimentos foram realizados no Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas, em colaboração com o Professor Dr. Marcelo Henrique dos Santos.

2.4.2.1 Metodologia

Para realização do teste foram utilizados camundongos Swiss (25-35g) obtidos no biotério da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) e concedidos após aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética dessa Instituição (Protocolo 488/2013). Os animais foram tratados com ração comercial e água “ad libitum”, garantida sua adaptação por 7 dias em sala climatizada a 23 ± 2 °C, com ciclo claro-escuro de 12 h, e em caixas de polipropileno adequadas à sua manutenção. Foram privados de comida durante cerca de 12 horas antes do experimento. Ao término dos experimentos, os animais foram sacrificados por inalação de halotano.

As substâncias testadas foram suspensas em solução de carboximetilcelulose (CMC; 0,5% p/V). A indometacina foi solubilizada em tampão TRIS e solução salina na proporção 1:1.

2.4.2.1.1 Avaliação da atividade anti-inflamatória: edema de pata induzido por carragenina

O edema de pata dos animais foi induzido pela injeção de 40 µL de carragenina (2% p/v) em salina estéril e administrada na região subplantar da pata direita de camundongos swiss machos (n = 8). Uma hora antes da injeção de carragenina os animais receberam tratamento com o borneol e seus ésteres (**1, 2, 5, 6, 7, 8, 11, 15, 16 e 18**). As substâncias testadas foram administrados (v.o.) na dose de 20 mg/kg, ou indometacina (10 mg/kg, v.o.), ou veículo (10 mL/kg de CMC). O volume da pata direita do animal foi determinado antes da administração da carragenina, e após uma, duas, três e quatro horas da administração da carragenina, pela imersão da pata até a região tíbio-társica com o uso de um pletismômetro.

Os resultados foram demonstrados através da média e erro padrão da média. Análise de variância (ANOVA) seguida do teste Scott-Knott foi utilizada para medir o grau de significância ($p < 0,05$).

2.4.2.2 Resultados e discussão

Na Tabela 11 (pág. 89) está apresentado o resultado do edema induzido por carragenina. Na primeira hora os compostos **1, 2, 5, 6, 7, 11 e 18** foram capazes de inibir o edema de pata. Na hora 2 os ésteres **1, 2, 11, 16** e a indometacina (controle positivo) reduziram o edema da pata. Já na terceira hora, os ésteres **5, 6, 11 e 18** e a indometacina foram capazes de inibir o edema. Na última hora testada, apenas os compostos **6, 11** e a indometacina apresentaram inibição no edema de pata.

Tabela 11: Média, erro padrão da média e percentual de inibição do edema de pata em relação ao controle negativo ($P < 0,05$)

Tratamento	Volume da pata (mL)			
	1 h	2 h	3 h	4 h
Veículo	0,049±0,004a	0,058±0,007b	0,067±0,006b	0,065±0,010a
Borneol	0,038±0,005a (23)	0,051±0,005a (12)	0,055±0,006a (18)	0,055±0,004a (15)
Composto 1	0,026±0,006a (47)	0,029±0,006a (49)	0,041±0,005a (39)	0,043±0,05a (33)
Composto 2	0,026±0,005a (47)	0,034±0,006a (41)	0,051±0,003a (24)	0,046±0,005a (29)
Composto 5	0,028±0,010a (43)	0,052±0,010b (9)	0,038±0,008a (43)	0,053±0,009a (18)
Composto 6	0,029±0,007a (41)	0,038±0,007a (34)	0,037±0,009a (44)	0,034±0,010a (47)
Composto 7	0,027±0,007a (45)	0,046±0,007b (20)	0,049±0,006a (28)	0,053±0,007a (18)
Composto 8	0,037±0,004a (25)	0,062±0,006b (0)	0,057±0,008b (16)	0,053±0,005a (18)
Composto 11	0,025±0,007a (49)	0,022±0,005a (63)	0,040±0,007a (41)	0,024±0,004a (63)
Composto 15	0,032±0,004a (34)	0,058±0,008b (0)	0,065±0,009b (4)	0,049±0,010a (25)
Composto 16	0,031±0,005a (36)	0,033±0,006a (43)	0,048±0,006a (29)	0,042±0,008a (35)
Composto 18	0,021±0,006a (57)	0,036±0,004a (37)	0,40±0,005a (41)	0,039±0,009a (39)
Indometacina	0,030±0,006a (39)	0,031±0,005 (46)	0,041±0,004a (39)	0,031±0,008a (53)

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de significância de 5%. O número entre parênteses indica o percentual de inibição do aumento do volume em relação ao veículo (controle negativo).

O borneol e os compostos **8** e **15** não foram capazes de inibir o edema em nenhuma das horas testadas. Já os ésteres de cadeia graxa apresentaram porcentagens de redução do edema bem parecidas nas horas avaliadas, o que indica que o tamanho da cadeia não influenciou na atividade biológica destes compostos.

Dentre todos os compostos testados, o composto **11** (benzoato de bornila) foi o éster mais promissor, apresentando porcentagem de inibição do edema maior que a droga referência em todas as horas avaliadas.

2.5 Atividade Leishmanicida

2.5.1 Introdução

As leishmanioses são um grupo de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. Existem três tipos principais de leishmaniose: visceral, muitas vezes conhecida como calazar, que representa a forma mais grave da doença, com aproximadamente 100% de taxa de mortalidade em indivíduos não tratados; leishmaniose cutânea, a forma mais comum, sendo caracterizada por lesões ulcerativas em áreas expostas (braços, pernas, entre outras) e a mucocutânea, compreendendo lesões que destroem parcial ou totalmente a mucosa nasal e oral, gerando deformidades (SOARES-BEZERRA *et al.*, 2004).

A doença afeta principalmente pessoas na África, Ásia e América Latina e está associada à desnutrição, deslocamento da população, condições precárias de habitação, sistema imunológico fraco e falta de recursos (WHO, 2013a). Uma análise recente mostra que mais de 98 países e territórios são endêmicos para leishmaniose. Os dez países com as maiores contagens de casos de leishmaniose cutânea são: Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Etiópia, Irã, Peru, Sudão e Síria, e, juntos, representam 70 a 75% da incidência global estimada. No Brasil, apenas no ano de 2012, foram reportados 23.793 novos casos de leishmaniose cutânea (WHO, 2013b).

A transmissão da doença para o homem (e também a outros mamíferos) ocorre através da picada de um mosquito-palha, que pertence ao gênero *Lutzomia*. Parasitas da *Leishmania* sp. existem sob duas fases morfológicas: uma forma amastigota intracelular, dentro dos fagócitos mononucleares dos hospedeiros mamíferos e uma forma promastigota extracelular, no trato digestivo de seu inseto vetor (MITROPOULOS *et al.* 2010; ZUCCA E SAVOIA, 2011).

Por mais de 60 anos os antimoniais pentavalentes (Sb^{5+}) tem sido os fármacos de primeira escolha no tratamento da leishmaniose, mas o surgimento de cepas resistentes tem limitado a sua utilidade. Alternativamente, a anfotericina B lipossomal, pentamidina, miltefosina e paromomicina (CROFT E COOMBS, 2003) estão

disponíveis, mas a sua utilização é limitada devido à toxicidade e alto custo do tratamento (CHAWLA E MADHUBALA, 2010).

A procura por novas drogas com atividade elevada e específica é muito importante, especialmente nos países onde essa doença constitui um grave problema de saúde pública (DA SILVA MOTA *et al.*, 2009). Assim, buscando a identificação de novas substâncias com atividade leishmanicida, o borneol e seus ésteres foram submetidos a testes frente ao parasita causador da doença.

2.5.2 Teste leishmanicida

O teste foi realizado pelo grupo da Professora Dr^a. Ana Lúcia Teles Rabello do Laboratório de Pesquisas Clínicas do Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Na realização dos experimentos foram testados o borneol e 10 ésteres na concentração de 20 µg/mL contra formas amastigotas de *Leishmania* (L.) *amazonensis*.

2.5.2.1 Metodologia

Formas amastigotas de *L. amazonensis* (cepa IFLA/BR/196/PH-8) foram obtidas a partir de lesões de hamsters experimentalmente infectados. Os parasitas foram incubados durante 9 dias a 26 °C em meio Schneider, tamponado a pH 7,2. As formas promastigotas foram estimuladas a se diferenciarem em formas amastigotas com o aumento da temperatura de incubação para 32 °C e a redução do pH do meio para 6,0. Após 7 dias, sob estas condições, mais de 90% dos parasitas encontravam-se na forma amastigota. A concentração dos parasitas foi ajustada para 1×10^8 cells mL⁻¹. Em placas de 96 poços foram adicionados 90 µL da solução contendo os parasitas e 10 µL das soluções contendo as amostras e a droga padrão (0.2 µg mL⁻¹ Anfotericina B - Fungisone Bristol-Myers Squibb, Brasil). As placas foram incubadas a 32 °C durante 72 h e o número de parasitas foi estimado utilizando o método colorimétrico do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) (TEIXEIRA *et al.*, 2002). Os resultados foram calculados a partir das Absorvância medidas, usando a fórmula [1-

$(\text{Abs}_{\text{exp}}/\text{Abs}_{\text{contr}})] \times 100$, que expressa a porcentagem de morte do parasita em relação ao grupo controle (sem droga). Todas as amostras foram testadas em duplicata.

2.5.2.1.1 Método colorimétrico empregando o reagente MTT

O ensaio de MTT é utilizado para determinar a viabilidade celular, quantificando o quanto o MTT (um sal de coloração amarela) presente no meio foi reduzido pela atividade metabólica celular de enzimas desidrogenases mitocondriais, levando a formação de cristais de formazan de cor azul-púrpura, que se acumulam no citoplasma celular (Figura 41) (DENIZOT E LANG, 1986). Dessa maneira, a quantidade de formazan medida por espectrofotometria é diretamente proporcional ao número de células viáveis.

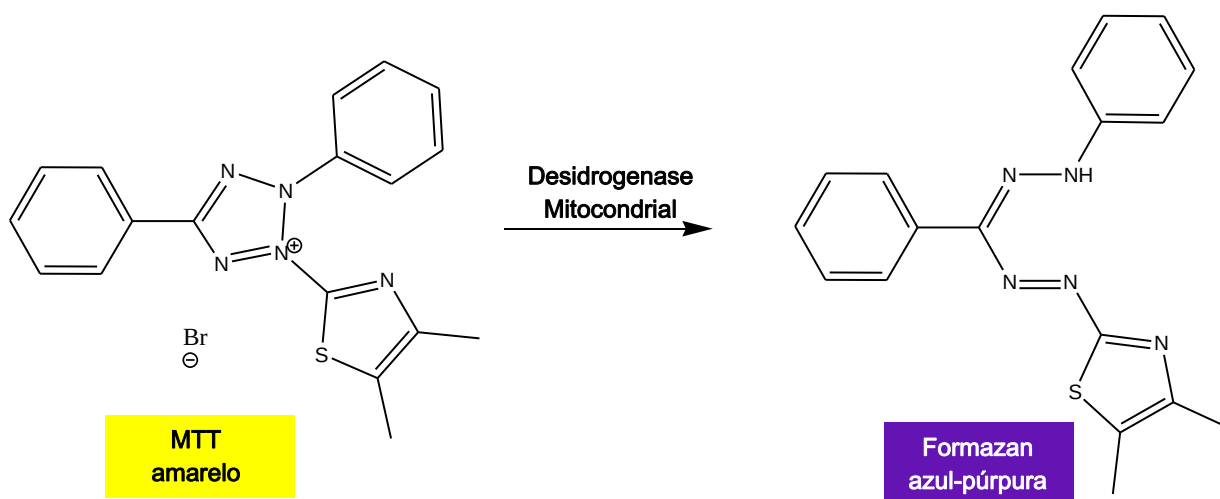


Figura 41: Reação de redução do MTT a Formazan.

2.5.2.2 Resultados e Discussão

O dados mostraram que nenhum dos ésteres testados apresentou resultados satisfatórios. Os ésteres testados e as porcentagens de morte dos parasitas estão listados na Tabela 12 (pág. 95).

As substâncias avaliadas não apresentaram porcentagens elevadas de morte do parasita. Todos os resultados estão abaixo do obtido para a droga padrão (AMB, 85% de morte). O éster que obteve maior porcentagem de morte foi o **11**, com resultado igual a 18%.

O ensaio trata-se de uma triagem, feito com dose única de 20 µg/mL das amostras. Assim, como nenhuma das amostras mostrou atividade maior que 70%, não foi realizado outro teste para avaliar o CE₅₀ (Concentração Efetiva que causa a morte de 50% dos parasitas) das amostras.

Tabela 12: Atividade biológica do borneol e seus ésteres testados em dose única 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Composto	Absorvância 1	Absorvância 2	Média	Morte Parasita (%)
Borneol	0,821	0,850	0,836	8
1	0,811	0,808	0,810	11
2	0,787	0,786	0,787	14
5	0,769	0,808	0,788	13
6	0,765	0,756	0,760	16
7	0,801	0,799	0,800	12
8	0,853	0,827	0,840	8
11	0,729	0,765	0,747	18
15	0,825	0,799	0,812	11
16	0,808	0,864	0,836	8
18	0,823	0,825	0,824	10
ANF^a			0,135	85

^a Anfotericina B: controle positivo do teste (20 $\mu\text{g mL}^{-1}$)

CONCLUSÃO

Neste trabalho foram sintetizados 20 ésteres derivados do borneol, sendo 18 inéditos. Dentre essas substâncias, 10 foram obtidas a partir de ácidos graxos e 10 a partir de ácidos aromáticos.

Duas metodologias (SOCl_2 e DIC/DMAP) foram utilizadas na obtenção dos derivados do borneol. Além disso, para as reações conduzidas utilizando-se DIC/DMAP, foi avaliado o efeito do uso da irradiação de micro-ondas, na ausência de solvente, na obtenção dos ésteres. Foram observados melhores rendimentos e menor tempo de reação quando se utilizou o reagente DIC/DMAP com irradiação de micro-ondas. As sínteses conduzidas com SOCl_2 apresentaram menores rendimentos e maior tempo de reação. Todos os ésteres obtidos foram caracterizados utilizando métodos espectrométricos e espectroscópicos.

Para as reações feitas na ausência de solvente, foi observada a formação de produtos obtidos por rearranjo, cujas estruturas foram elucidadas através das técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C , HMBC, HSQC e COSY.

Alguns produtos obtidos foram submetidos a teste de atividade antimicrobiana, antiproliferativa, anti-inflamatória e leishmanicida. No teste antimicrobiano foram avaliadas 18 substâncias frente a 5 micro-organismos (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. sanguinis*, *C. albicans*). Os ésteres 4'-metoxibenzoato de bornila e 3',4',5'-trimetoxibenzoato de bornila apresentaram atividade promissora contra *S. aureus* e *S. sanguinis*. O éster 3',4'-dimetoxibenzoato de bornila mostrou bons resultados contra todos os micro-organismos testados. Para o teste leishmanicida (contra formas amastigotas de *L. amazonensis*) nenhuma das substâncias avaliadas apresentou porcentagens elevadas de morte do parasita. No teste anti-inflamatório, dos 11 compostos testados, aqueles que apresentaram atividade foram os ésteres: hexanoato de bornila, octanoato de bornila, tetradecanoato de bornila, hexadecanoato de bornila, octadecanoato de bornila, benzoato de bornila, 3',5'-dinitrobenzoato de bornila e nicotinato de bornila. Dentre estes, o composto benzoato de bornila foi o mais eficiente em inibir o processo edematogênico, apresentando resultados mais satisfatórios que a droga de referência (indometacina). Para atividade antiproliferativa,

foram avaliadas nove substâncias frente a seis linhagens de células tumorais humanas e uma linhagem de célula humana normal. As substâncias hexanoato de bornila, tetradecanoato de bornila, hexadecanoato de bornila, octadecanoato de bornila e 3',5'-dinitrobenzoato de bornila apresentaram somente efeito citostático contra todas as linhagens de células. Já os ésteres octanoato de bornila, benzoato de bornila e 3',4',5'-trimetoxibenzoato de bornila apresentaram efeitos citotóxicos para as linhagens de células de câncer de ovário (OVCAR-3), ovário-resistente (NCI-ADR/RES), mama (MCF-7), medula óssea (K562) e rim (786-0).

De modo geral observou-se que o aumento da cadeia carbônica nos ésteres graxos não influenciou a atividade biológica. Já na série dos ésteres aromáticos, a presença de grupo doador de elétrons favoreceu a atividade biológica.

Como os testes de atividade biológica não foram realizados com todas as substâncias sintetizadas, pretende-se posteriormente avaliar a atividade destes derivados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ajikumar, P. K.; Tyo, K.; Carlsen, S.; Mucha, O.; Phon, T. H.; Stephanopoulos, G. Terpenoids: Opportunities for Biosynthesis of Natural Product Drugs Using Engineered Microorganisms. *Mol. Pharmaceutics*, 167-190, **2008**.

Barbosa L. C. A.; Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa: Ed. UFV, **2007**. 189p.

Barreto, R. S. S. “Efeito cicatrizante do (-)- borneol incorporado ao filme bioativo de quitosana em roedores”. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Sergipe. Aracaju, SE. **2013**.

Bologa, C. G.; Ursu, O.; Oprea, T. I.; Melançon III, C. E.; Tegos, G. P. Emerging trends in the discovery of natural product antibacterials. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 13, 678-687, **2013**.

Borgati, T. F. “Síntese e atividade antimalárica de derivados 1,2,3-triazólicos do Lupeol”. Dissertação de mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, **2013**.

Brandão, H. N.; David, J. P.; Couto, R. D.; Nascimento, J. A. P.; David, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. *Quim. Nova*, 33(6), 1359-1369, **2010**.

Briggs, J.; Hart, F. A.; Moss, G. P.; Randall, E. W. A ready method for ^{13}C nuclear magnetic resonance spectra: the complete assignment of the ^{13}C spectrum of borneol. *J. Chem. Soc. D: ChemComm.*, 364-365, **1971**.

Bush, K.; Courvalin, P.; Dantas, G.; Davies, J.; Eisenstein, B.; Huovinen, P.; Jacoby, G. A.; Kishony, R.; Kreiswirth, B. N.; Kutter, E.; Lerner, S. A.; Levy, S.; Lewis, K.; Lomovskaya, O.; Miller, J. H.; Mobashery, S.; Piddock, L. J.; Projan, S.; Thomas, C. M.;

Tomasz, A.; Tulkens, P. M.; Walsh, T. R.; Watson, J. D.; Witkowski, J.; Witte, W.; Wright, G.; Yeh, P.; Zgurskaya, H. I. *Nat Rev Microbiol*, 9(12), 894-896, **2011**.

Calixto, J. B.; Siqueira Jr, J. M. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. *Gazeta Médica da Bahia*, 78(Suplemento 1), 98-106, **2008**.

Candan, F.; Unlu, M.; Tepe, B.; Daferera, D.; Polissiou, M.; Sökmen, A.; Akpulat, H. A. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium subsp. millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol.*, 87(2-3), 215-220, **2003**.

Chaudhary, A.; Singh, N. Contribution of world health organization in the global acceptance of Ayurveda. *J. Ayurveda Integr. Med.*, 2(4), 179-186, **2011**.

Chawla, B.; Madhubala, R. Drug targets in *Leishmania*. *J. Parasit. Dis.*, 34, 1-13, **2010**.

Corrêa, P. R. C.; Miranda, R. R. S.; Duarte, L. P.; Silva, G. D. F.; Vieira Filho, S. A.; Okuma, A. A.; Carazza, F.; Morgado-Díaz, J. A.; Pinge-Filho, P.; Yamauchi, L. M.; Nakamura, C. V.; Yamada-Ogatta, S. F. Antimicrobial activity of synthetic bornyl benzoates against *Trypanosoma cruzi*. *Pathogens and Global Health*, 106(2), 107-112, **2012**.

Cragg, G. M.; Newman, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(6), 3670-3695, **2013**.

Cragg, G. M.; Grothaus, P. G.; Newman, D. J. Impact of Natural Products on Developing New Anti-Cancer Agents. *Chem. Rev.*, 109, 3012-3043, **2009**.

Croteau, R.; Kutchan, T. M.; Lewis, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R.; Eds. *Biochemistry & molecular biology of plants*. Rockville, MD, USA: American Society of Plant Biologists, **2000**. 1250-1318p.

Croteau, R.; Karp, F. Demonstration of a cyclic pyrophosphate intermediate in the enzymatic conversion of neryl pyrophosphate to borneol. *Arch. Biochem. Biophys.*, 184(1), 77-86, **1977**.

Croteau, R.; Karp, F. Biosynthesis of monoterpenes: Hydrolysis of bornyl pyrophosphate, an essential step in camphor biosynthesis, and hydrolysis of geranyl pyrophosphate, the acyclic precursor of camphor, by enzymes from sage (*Salvia officinalis*). *Arch. Biochem. Biophys.*, 198(2), 523-532, **1979**.

Croft, S. L.; Coombs, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol.*, 19, 502-508, **2003**.

Cui, Y.; Li, L.; Zhang, L.; Li, J.; Gu, J.; Gong, H.; Guo, P.; Tong, W. Enhancement and mechanism of transdermal absorption of terpene-induced propranolol hydrochloride. *Arch. Pharm. Res.*, 34 (9), 1477-1485, **2011**.

Da Silva Mota, J. S.; Leite, A. C.; Batista Junior, J. M.; Noelí López, S.; Luz Ambrósio, D.; Duó Passerini, G.; Kato, M. J.; da Silva Bolzani, V.; Barretto Cicarelli, R. M.; Furlan, M. In vitro trypanocidal activity of phenolic derivatives from *Peperomia obtusifolia*. *Planta Med.*, 75, 620-623, **2009**.

Danishuddin, M.; Kaushal, L.; Baig, M. H.; Khan, A. U. AMDD: Antimicrobial Drug Database. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 10, 360-363, **2012**.

Degenhardt, J.; Köllner, T. G.; Gershenzon, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70, 1621-1637, **2009**.

Denizot, F.; Lang, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods*, 89(2), 271-277, **1986**.

Di Rosa, M.; Giroud, J. P.; Willoughby, D. A. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J. Pathol.*, 104, 15-29, **1971**.

Ferlay, J.; Shin, H. R.; Bray, F.; Forman, D.; Mathers, C.; Parkin, D. M. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer*, 127, 2893-2917, **2010**.

Fernandes, E. S.; Passos, G. F.; Medeiros, R.; da Cunha, F. M.; Ferreira, J.; Campos, M. M.; Pianowski, L. F.; Calixto, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *Eur. J. Pharmacol.*, 569(3), 2007, 228-236, **2007**.

Fernandes, P. Antibacterial discovery and development—the failure of success? *Nat. Biotechnol.*, 24(12), 1497-1503, **2006**.

Glickman, M. S.; Sawyers, C. L. Converting Cancer Therapies into Cures: Lessons from Infectious Diseases. *Cell*, 148, 1089-1098, **2012**.

Guimarães, D. O.; Momesso, L. S.; Pupo, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Quím. Nova*, 33(3), 667-679, **2010**.

Harvey, A. L. Natural products in drug discovery. *Drug Disc. Today*, 13, 894-901, **2008**.

Horváthová, E.; Slameňová, D.; Maršáľková, L.; Šramková, M.; Wsóllová, L. Effects of borneol on the level of DNA damage induced in primary rat hepatocytes and testicular cells by hydrogen peroxide. *Food and Chem. Toxicol.*, 47, 1318-1323, **2009**.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. INCA e Ministério da Saúde apresentam estimativas de câncer para 2014. Disponível em:

http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2013/inca_ministerio_saude_apresentam_estimativas_cancer_2014. Acesso em: 24 nov. **2013a**.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. Estimativa 2014: Incidência do câncer no Brasil. Disponível em:

http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/0129ba0041fbbc01aa4fee936e134226/Apresentacao+Estimativa+2014_final+corrigido+tireoide.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=0129ba0041fbbc01aa4fee936e134226. Acesso em 23 nov. **2013b**.

Jingjing, L.; Shaoying, F.; Nan, W.; Yongsheng, H.; Xiaoning, Z.; Hao, C. The effects of combined menthol and borneol on fluconazole permeation through the cornea ex vivo. *Eur. J. Pharmacol.*, 688, 1-5, **2012**.

Kane, T. R.; Ly, C. Q.; Kelly, D. E.; Dener, J. M. Solid-Phase Synthesis of 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline Derivatives Employing Support-Bound Tyrosine Esters in the Pictet-Spengler Reaction. *J. Comb. Chem.*, 6, 564-572, **2004**.

Kashiwada, Y.; Hashimoto, F.; Cosentino, L. M.; Chen, C. H.; Garrett, P. E.; Lee, K. H. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents. *J. Med. Chem.*, 39, 1016-1017, **1996**.

Khazir, J.; Mir, B. A.; Pilcher, L.; Riley, D. L. Role of plants in anticancer drug discovery. *Phytochem. Lett.*, 7, 173-181, **2014**.

Laue, T.; Plagens, A.; *Named Organic Reactions*. John Willey & Sons Ltd, England, **2005**. 310p.

Li, J. W. -H.; Vederas, J. C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? *Science*, 325, 161-165, **2009**.

Liu, R.; Zhang, L.; Lan, X.; Li, L.; Zhang, T. -T.; Sun, J. -H.; DU, G. -H. Protection by borneol on cortical neurons against oxygen-glucose deprivation/reperfusion:

involvement of anti-oxidation and anti-inflammation through nuclear transcription factor κ appaB signaling pathway. *Neuroscience*, 176, 408-419, **2011**.

Miranda, R. R. S. “Estudo fitoquímico e avaliação do potencial farmacológico de *Maytenus salicifolia* Reissek”. Tese de doutorado. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, **2007**.

Mitropoulos, P.; Konidas, P.; Durkin-Konidas, M. New World cutaneous leishmaniasis: Updated review of current and future diagnosis and treatment. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 6, 309-322, **2010**.

Moellering Jr, R. C. Discovering new antimicrobial agents. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 37, 2-9, **2011**.

Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.*, 83, 757-766, **1991**.

Moses, T.; Pollier, J.; Thevelein, J. M.; Goossens, A. Bioengineering of plant (tri)terpenoids: from metabolic engineering of plants to synthetic biology in vivo and in vitro. *New Phytol.*, 200, 27-43, **2013**.

Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.*, 75, 311-335, **2012**.

Passos, G. F.; Fernandes, E. S.; da Cunha, F. M.; Ferreira, J.; Pianowski, L. F.; Campos, M. M.; Calixto, J. B. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. *J. Ethnopharmacol.* 110(2), 323-333, **2007**.

Peana, A. T.; D'Aquila, P. S.; Panin, F.; Serra, G.; Pippia, P.; Moretti, M. D. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine.*, 9, 721-726, **2002**.

Qi, -P.; Gao, -C.; Zhang, -Q.; Wei, -Q.; Bi, S.; Yang, -C.; Cui, H. In vitro evaluation of enhancing effect of borneol on transcorneal permeation of compounds with different hydrophilicities and molecular sizes. *Eur. J. Pharmacol.*, 705, 20-25, **2013**.

Queiroz, E. F.; Faro, R. R. A.; Melo, C. A. A biodiversidade brasileira como fonte de novas drogas: passado, presente e futuro. *Rev. Fitoterapia*, 9(S1), 31-35, **2009**.

Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Farmacologia. Rio de Janeiro: Ed Elsevier, **2007**. 904 p.

Rodrigues, S. B. V. "Quimeras moleculares: síntese de novas moléculas híbridas contendo fulereno C₆₀". Dissertação de mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, **2011**.

Saha, S. K.; Khuda-Bukhsh, A. R. Molecular approaches towards development of purified natural products and their structurally known derivatives as efficient anti-cancer drugs: Current trends. *Europ. Journal of Pharmacol.*, 714, 239–248, **2013**.

Shoemaker, R. H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nat. Rev. Cancer*, 6, 813–823, **2006**.

Simmons, D. L. What makes a good anti-inflammatory drug target? *Drug Discov. Today*, 11(5-6), 210-219, **2006**.

Smith, P. F.; Ogundele, A.; Forrest, A.; Wilton, J.; Salzwedel, K.; Doto, J.; Allaway, G. P.; Martin, D. E. Phase I and II Study of the Safety, Virologic Effect, and Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Single-Dose 3-O-(3',3'-

Dimethylsuccinyl)Betulinic Acid (Bevirimat) against Human Immunodeficiency Virus Infection. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 51(10), 3574-3581, **2007**.

Soares-Bezerra, R. J.; Leon, L.; Genestra, M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, 40(2), 139-149, **2004**.

Souza, M. V. N. Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtúbulos, um importante alvo no combate ao câncer. *Quim. Nova*, 27(2), 308-312, **2004**.

Teixeira, M. C. A.; Santos, R. D.; Sampaio, R. B.; Pontes-de-Carvalho, L.; dos-Santos, W. L. C. A simple and reproducible method to obtain large numbers of axenic amastigotes of different Leishmania species. *Parasitol. Res.*, 88, 963-968, **2002**.

Vasconcelos R. M.; Leite F. C.; Leite J. A.; Rodrigues Mascarenhas S.; Rodrigues L. C.; Piuvezam M. R. Synthesis, acute toxicity and anti-inflammatory effect of bornyl salicylate, a salicylic acid derivative. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 34(6), 1028-1038, **2012**.

Zucca, M.; Savoia, D. Current developments in the therapy of protozoan infections. *Open Med. Chem. J.*, 5, 4-10, **2011**.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. Leishmaniasis: Situation and trends. Disponível em: http://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/index.html. Acesso em: 23 nov. **2013a**.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. Leishmaniasis: Number of cases of cutaneous leishmaniasis reported by country. Disponível em: <http://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDLEISHCNUM?lang=en>. Acesso em 22 nov. **2013b**.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2010. WHO: Geneva, Switzerland, **2011**. 176p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. Microbes and Antimicrobial Agents. Disponível em: http://www.who.int/drugresistance/Microbes_and_Antimicrobials/en/. Acesso em: 22 nov. **2013c**.

Yu, B.; Ruan, M.; Dong, X.; Yua, Y.; Cheng, H. The mechanism of the opening of the blood–brain barrier by borneol: A pharmacodynamics and pharmacokinetics combination study. *J. Ethnopharmacol.*, 150, 1096-1108, **2013**.

ANEXO: ESPECTROS

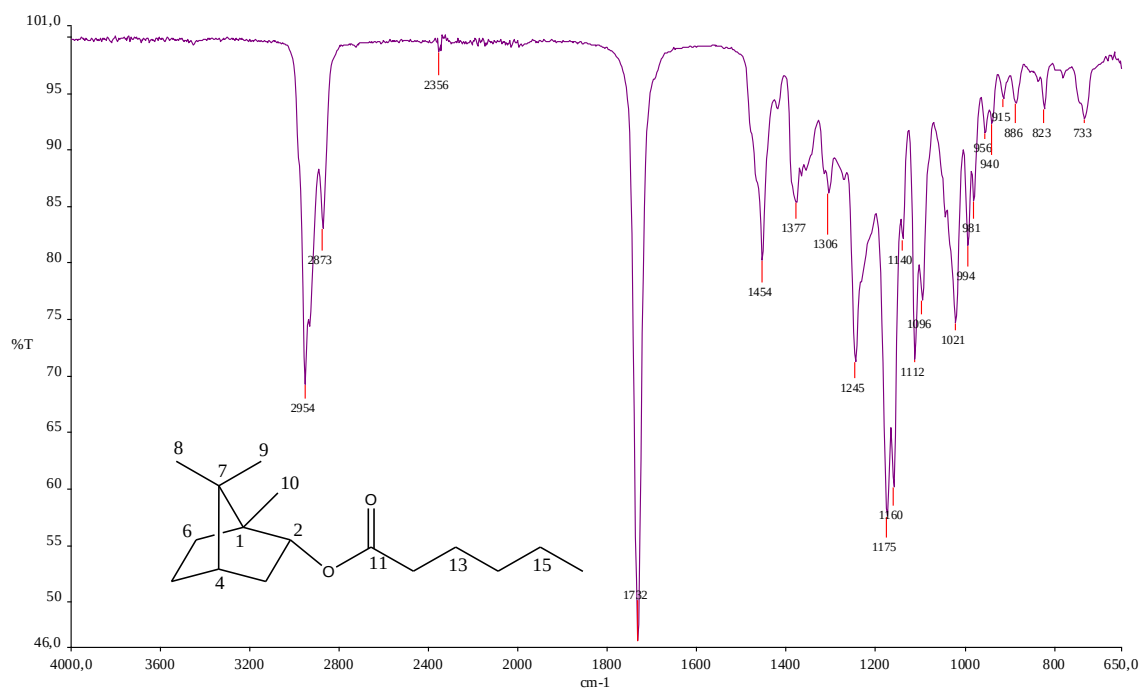


Figura 42: Espectro na região do IV do éster **1** (ATR).

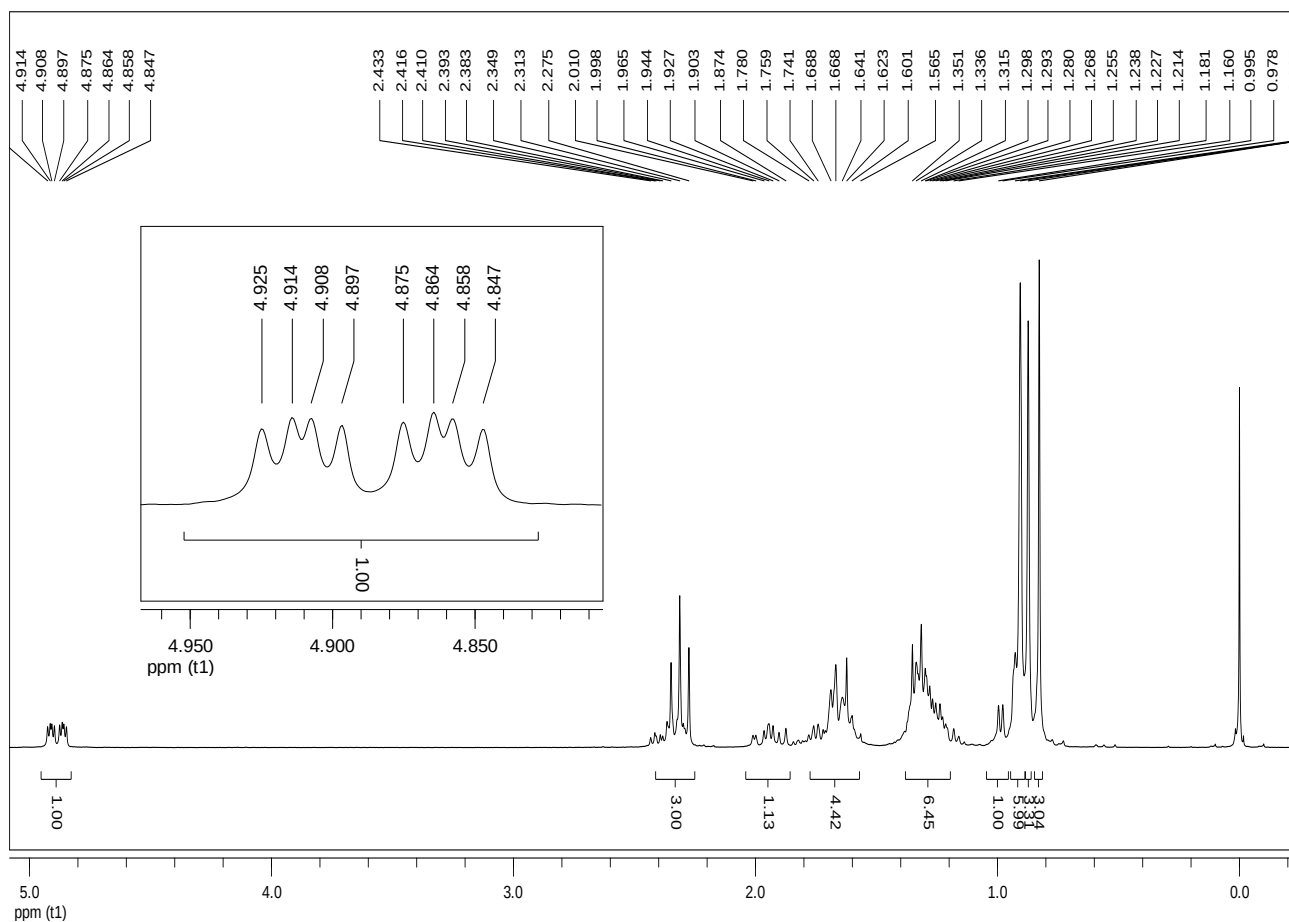


Figura 43: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **1** em CDCl₃.

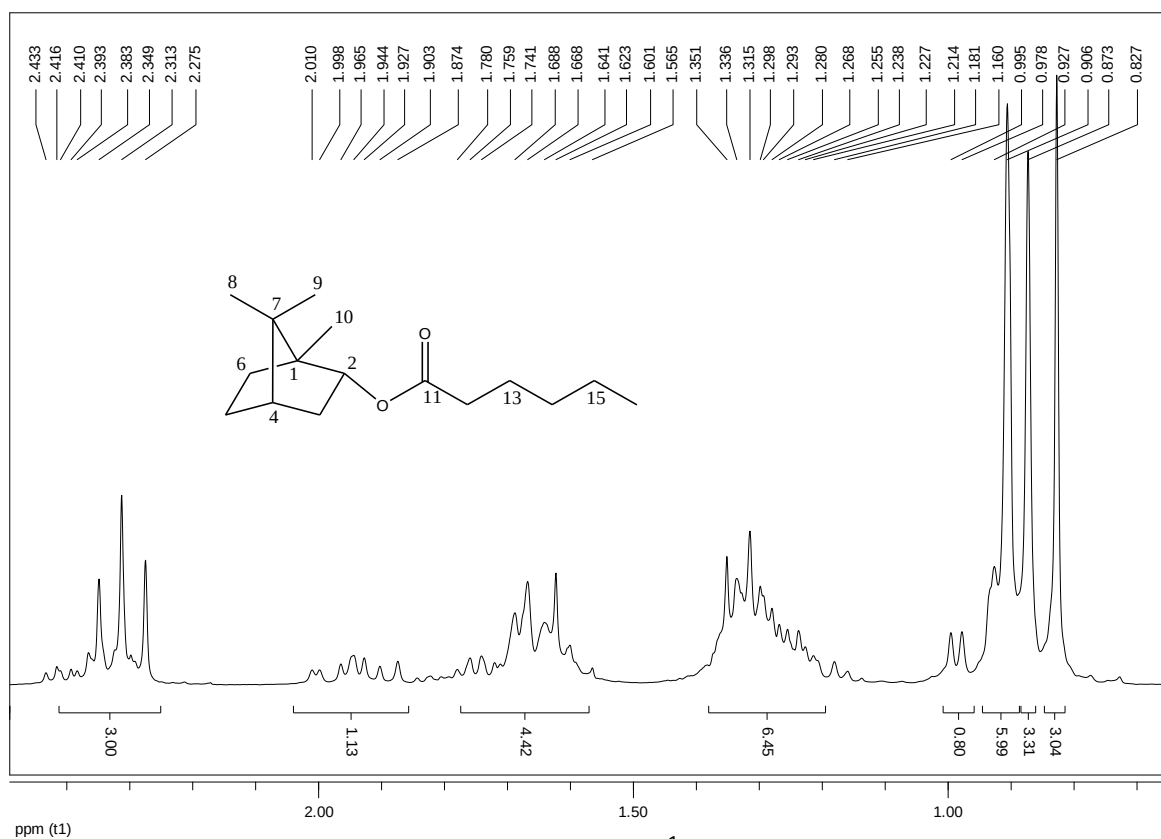


Figura 44: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **1** em CDCl_3 .

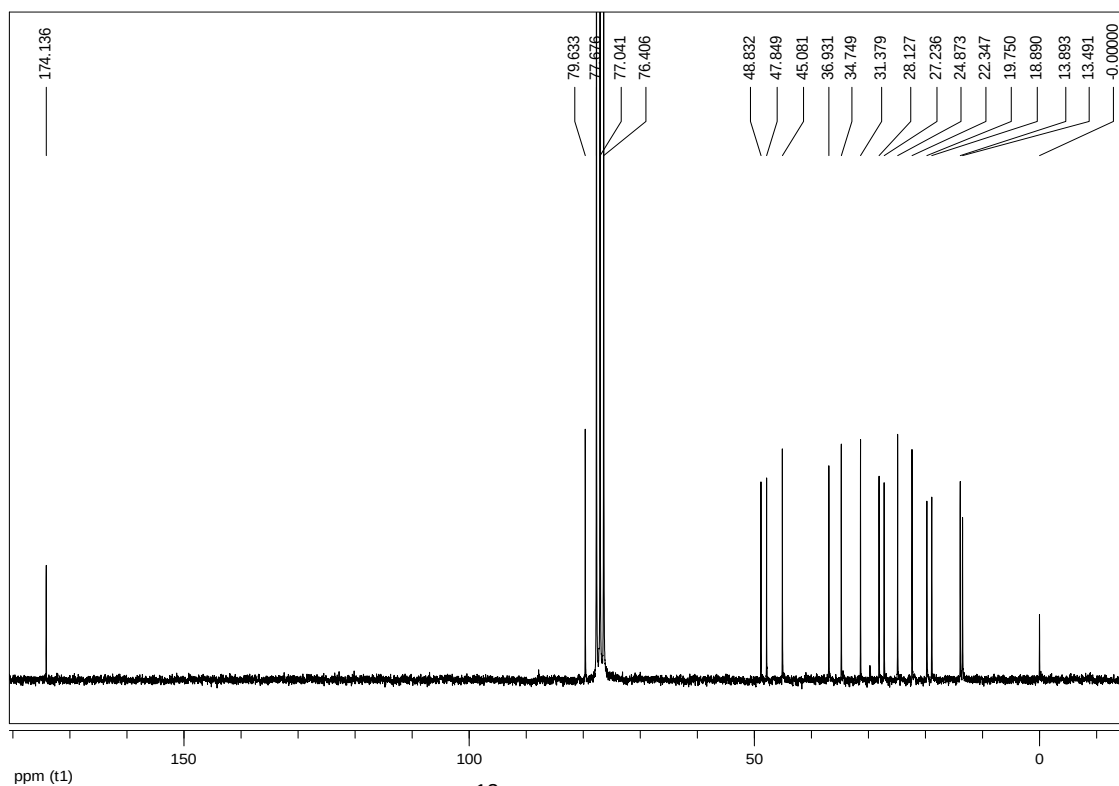


Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **1** em CDCl_3 .

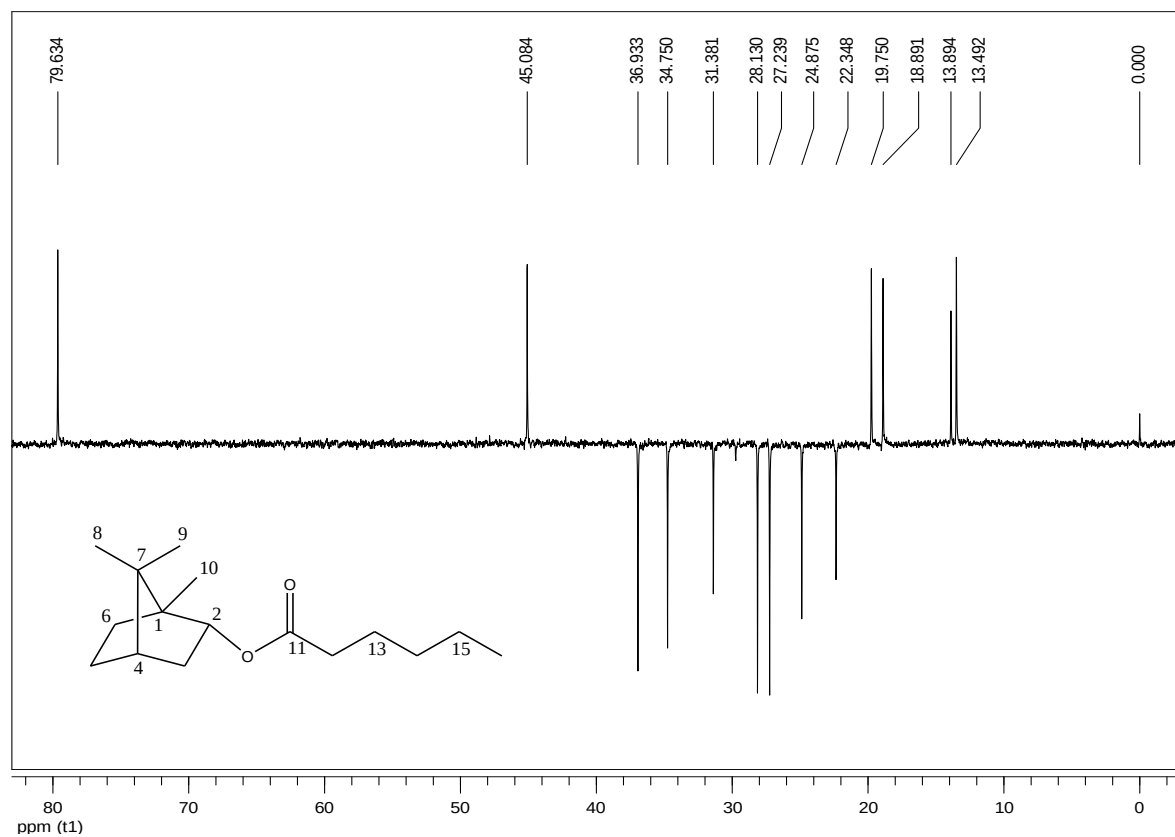


Figura 46: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **1** em CDCl_3 .

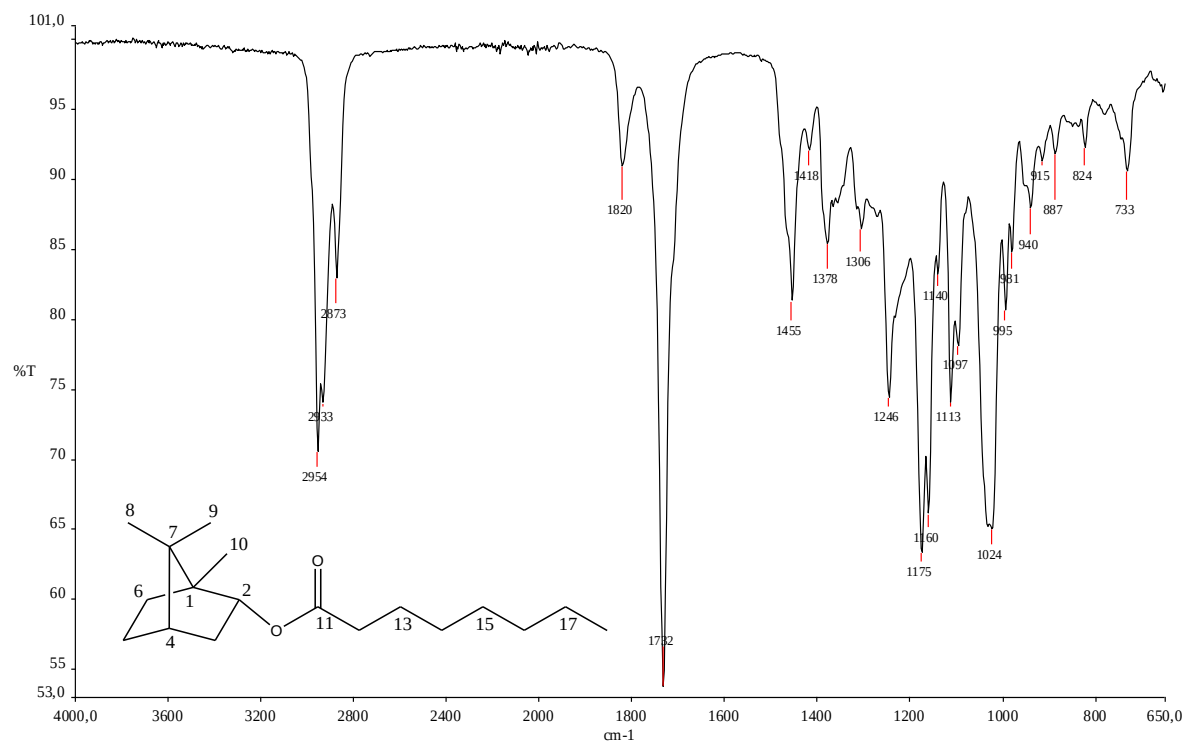


Figura 47: Espectro na região do IV do éster **2** (ATR).

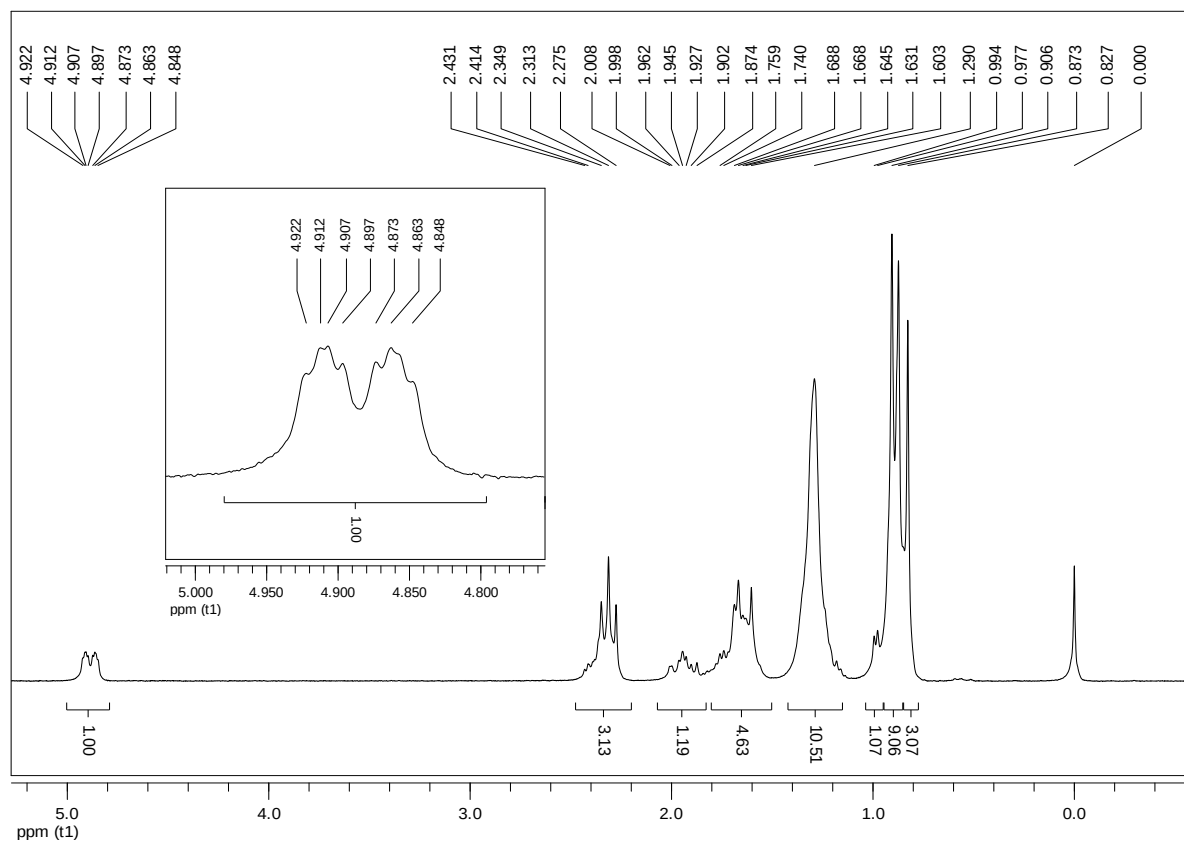


Figura 48: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **2** em CDCl_3 .

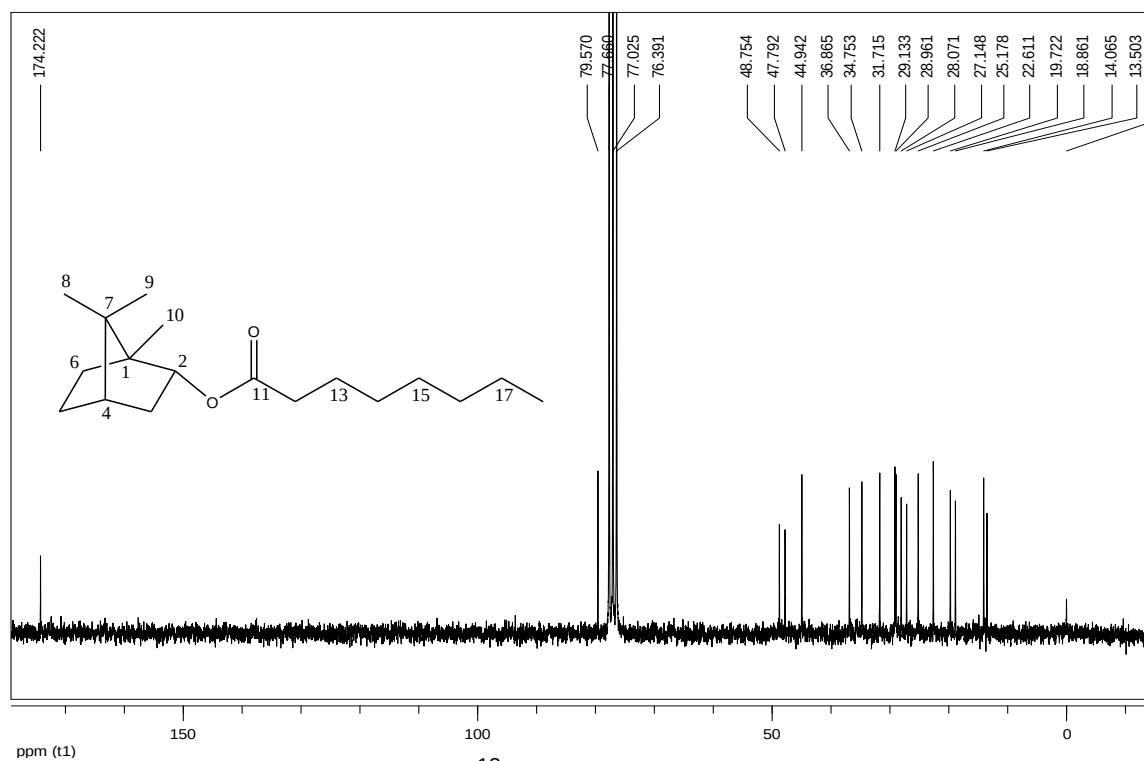


Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **2** em CDCl_3 .

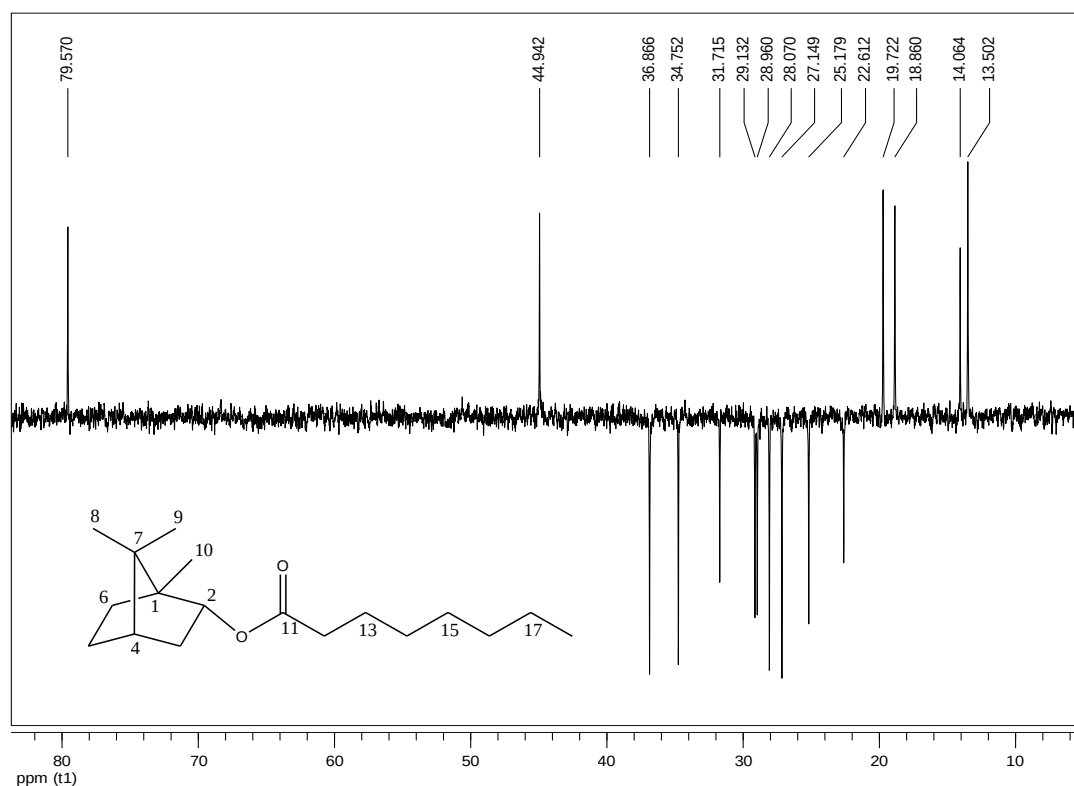


Figura 50: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **2** em CDCl_3 .

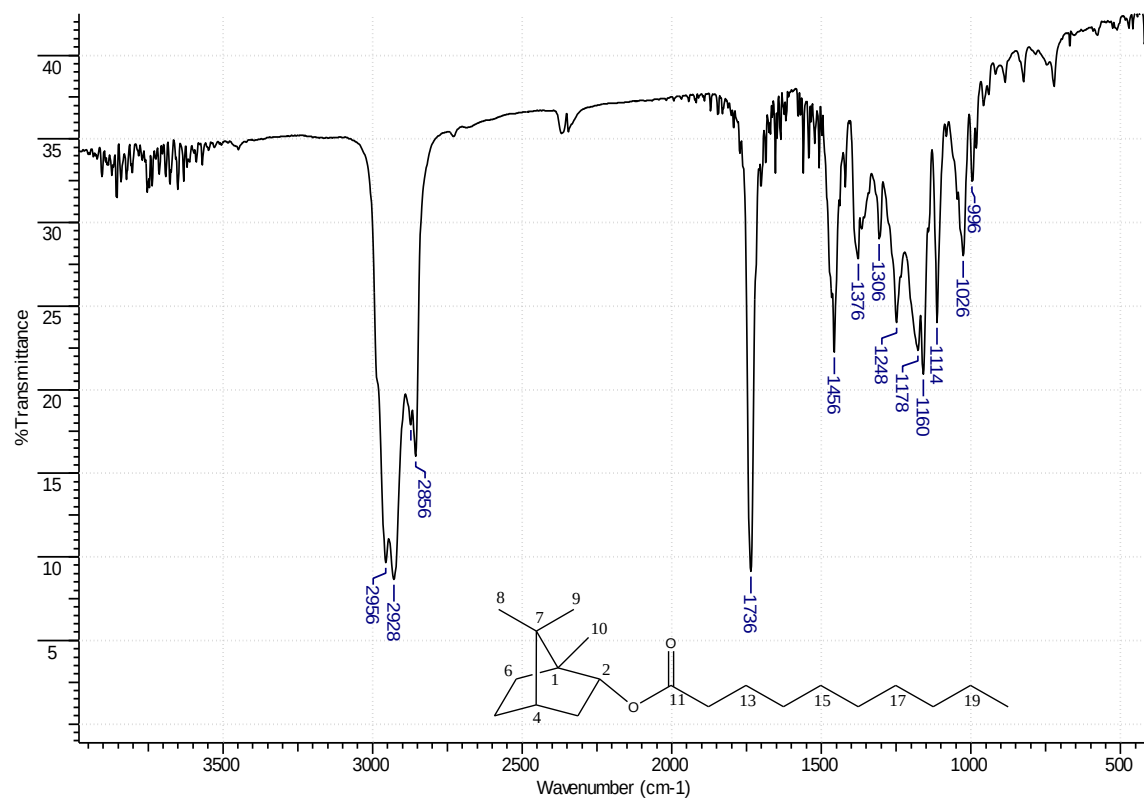


Figura 51: Espectro na região do IV do éster **3** (KBr).

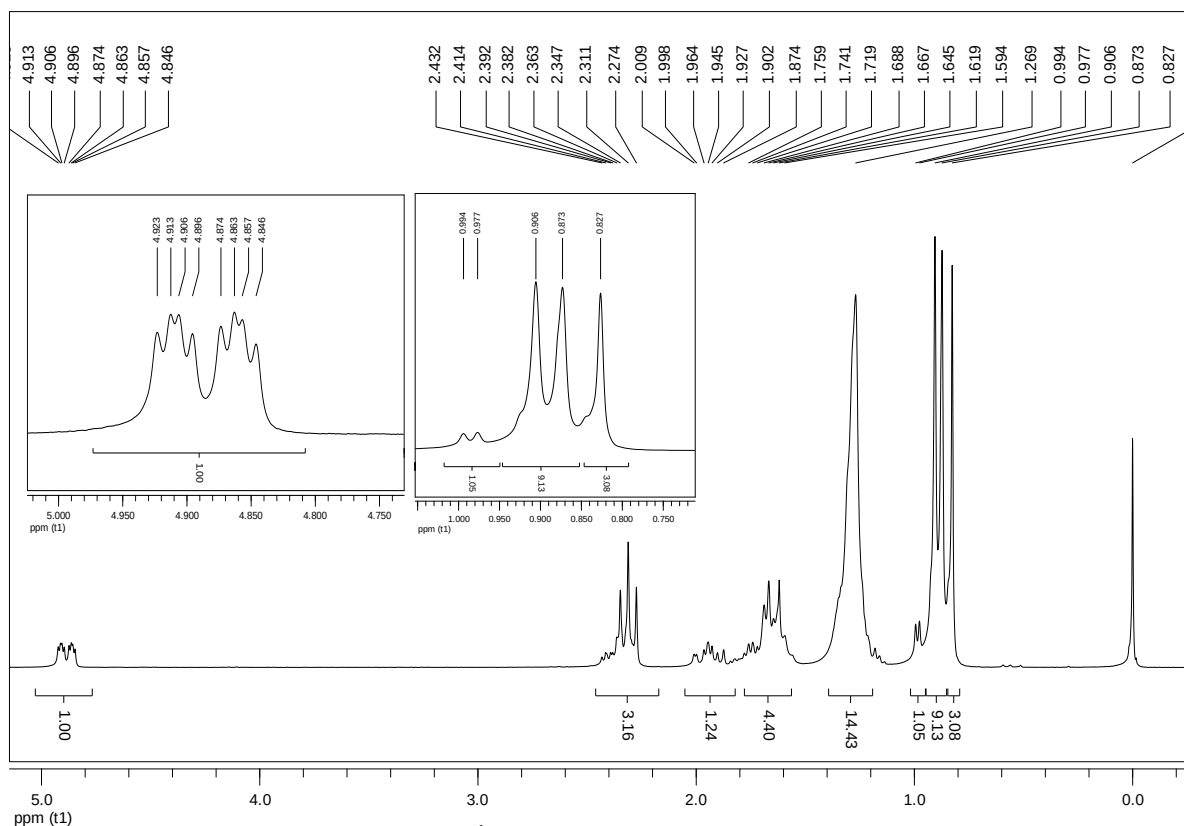


Figura 52: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **3** em CDCl_3 .

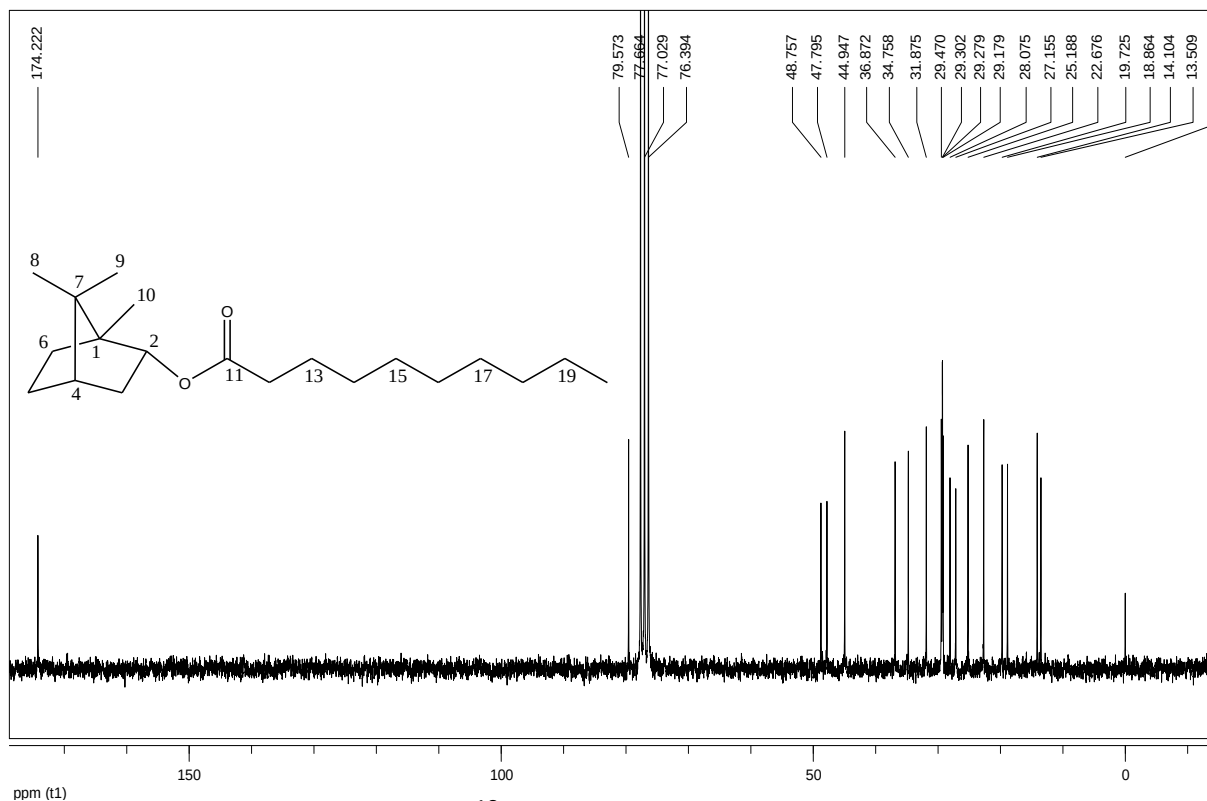


Figura 53: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **3** em CDCl_3 .

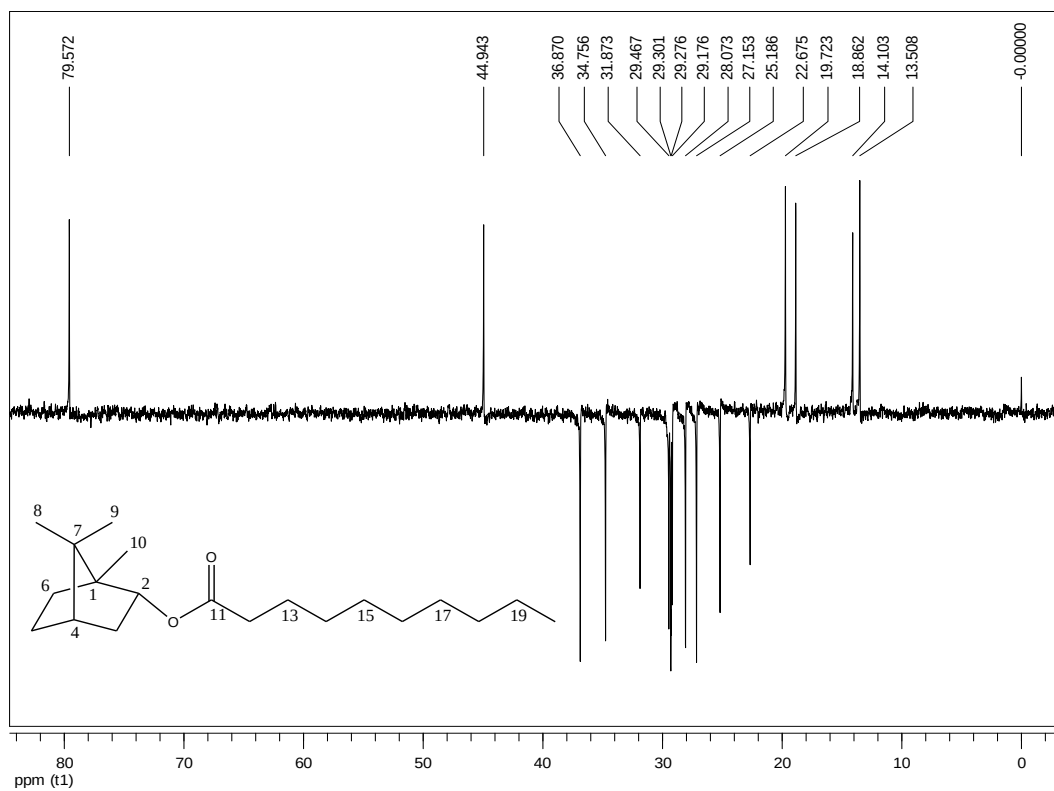


Figura 54: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **3** em CDCl_3 .

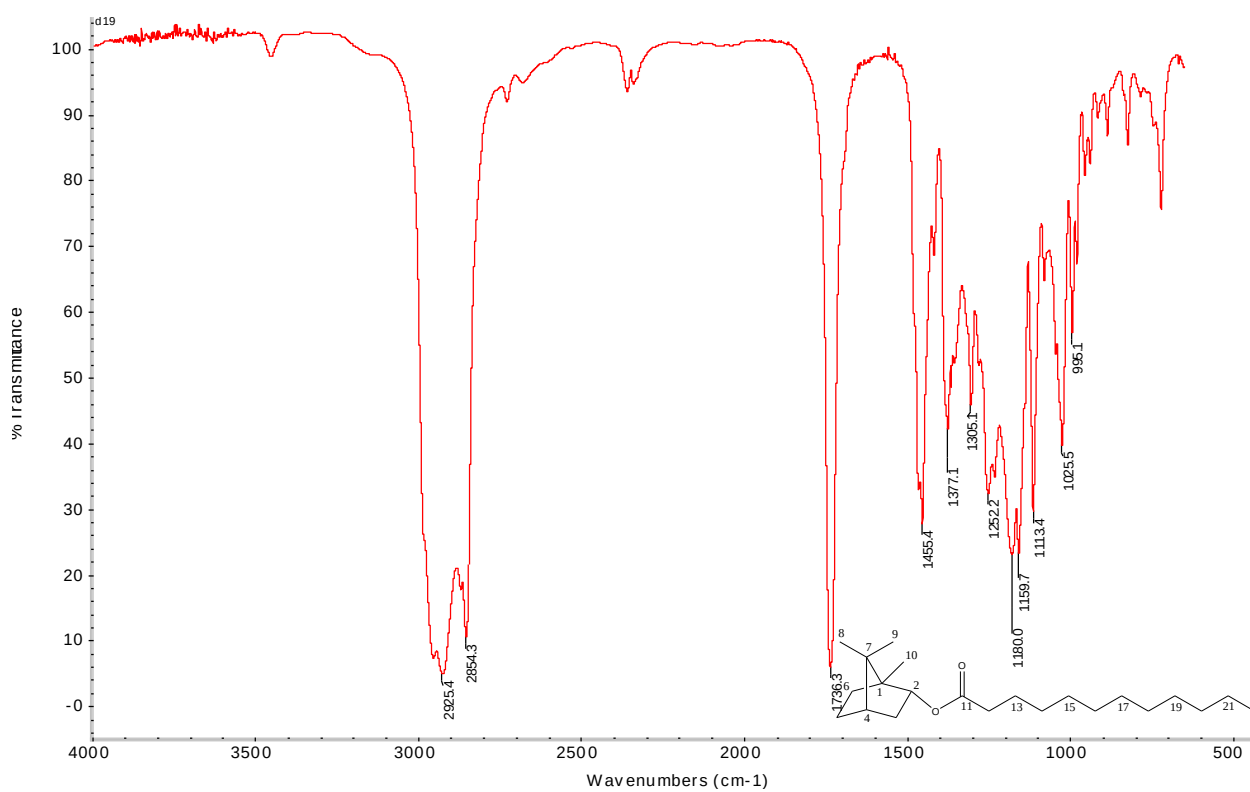


Figura 55: Espectro na região do IV do éster **4**.

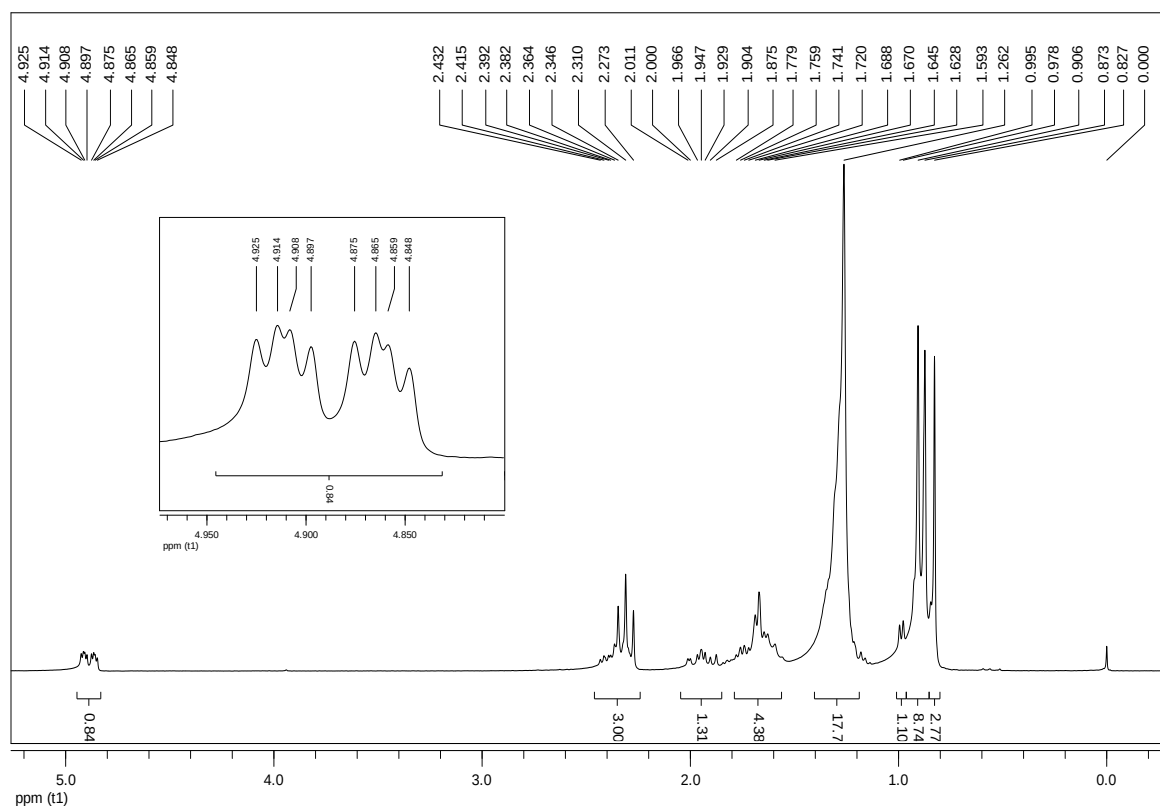


Figura 56: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **4** em CDCl_3 .

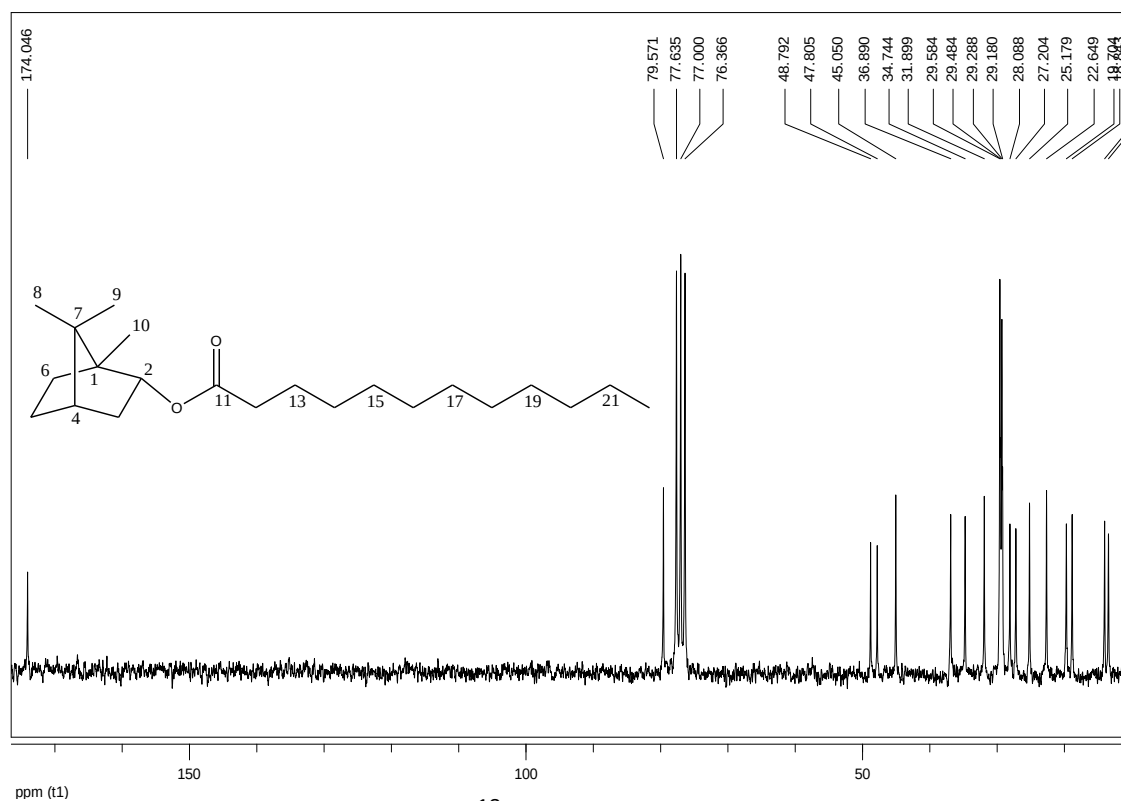


Figura 57: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **4** em CDCl_3 .

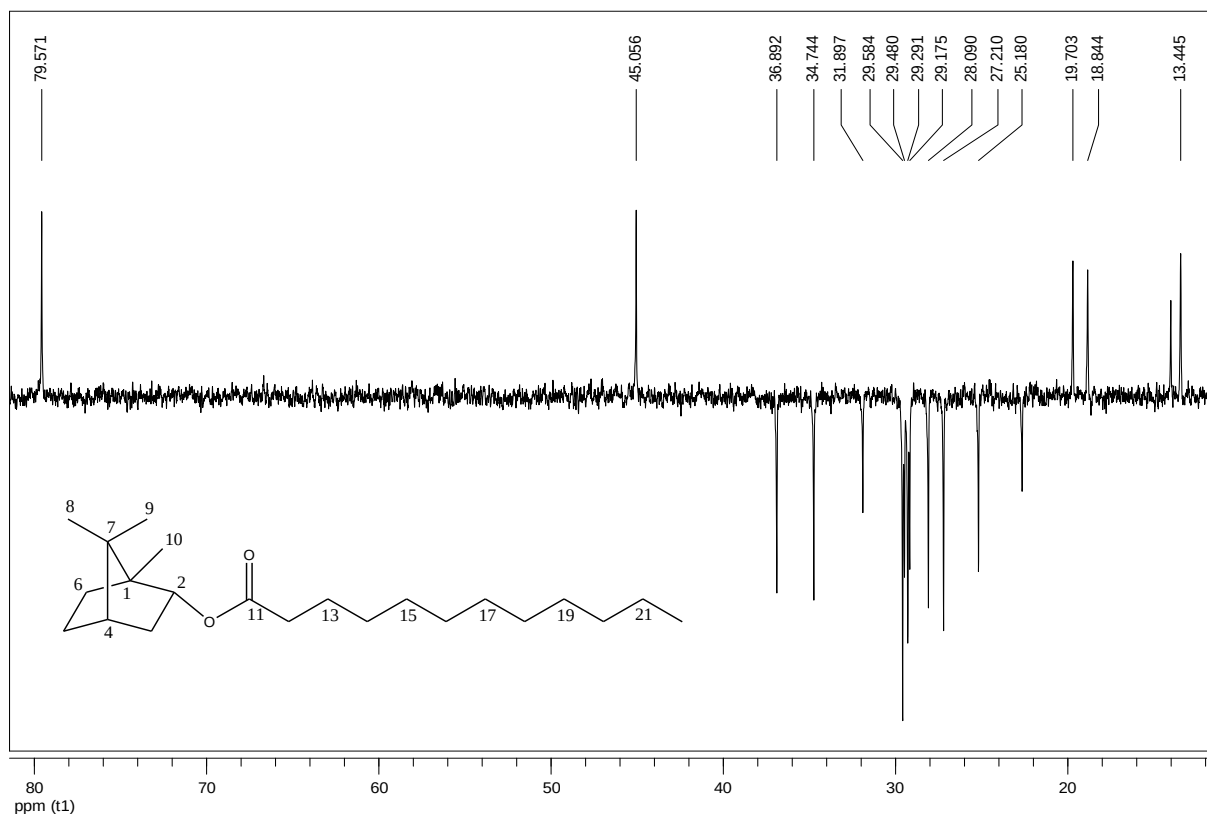


Figura 58: Expansão do subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **4** em CDCl_3 .

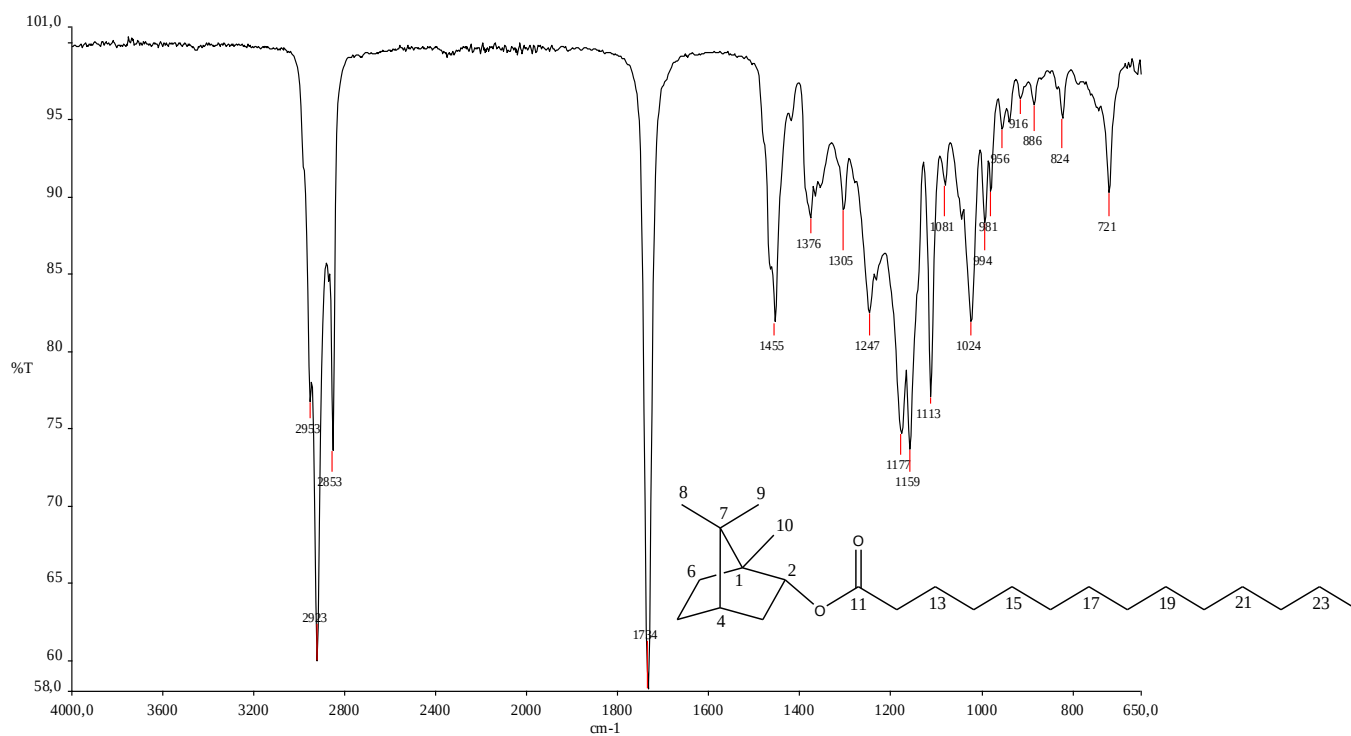


Figura 59: Espectro na região do IV do éster **5** (ATR).

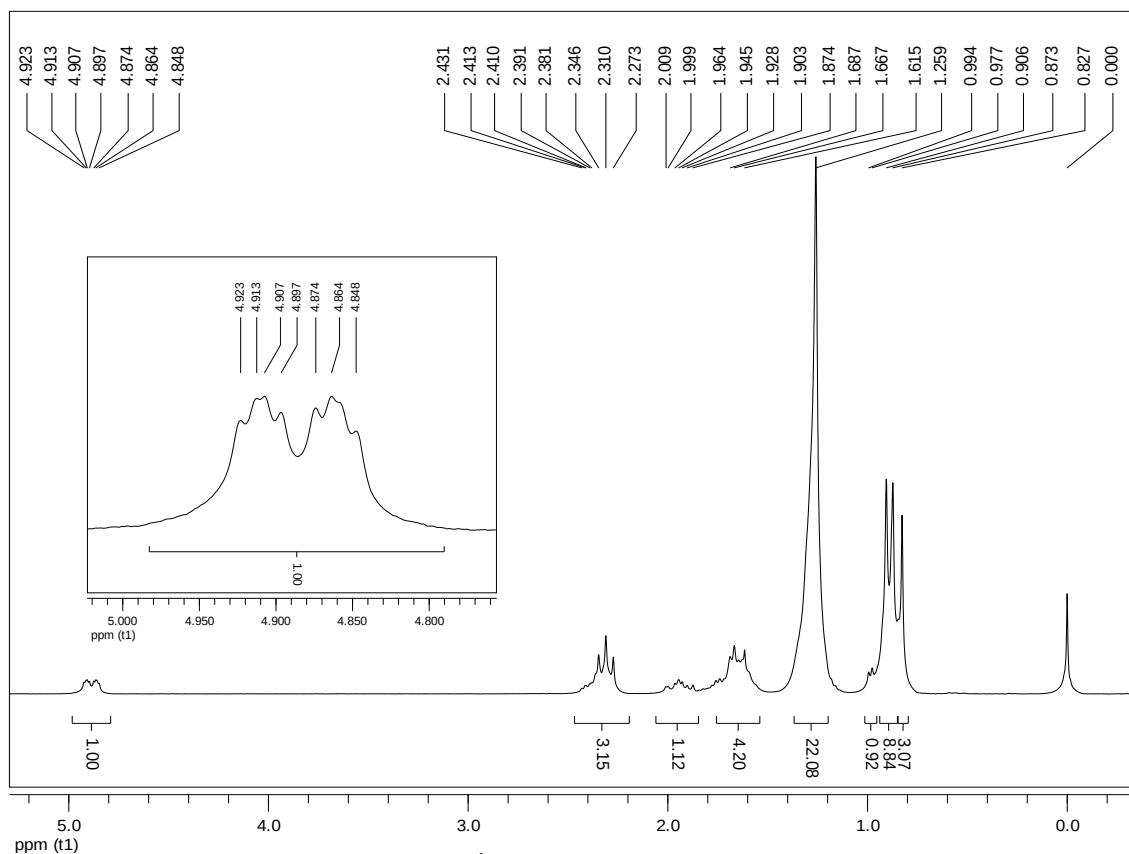


Figura 60: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **5** em CDCl_3 .

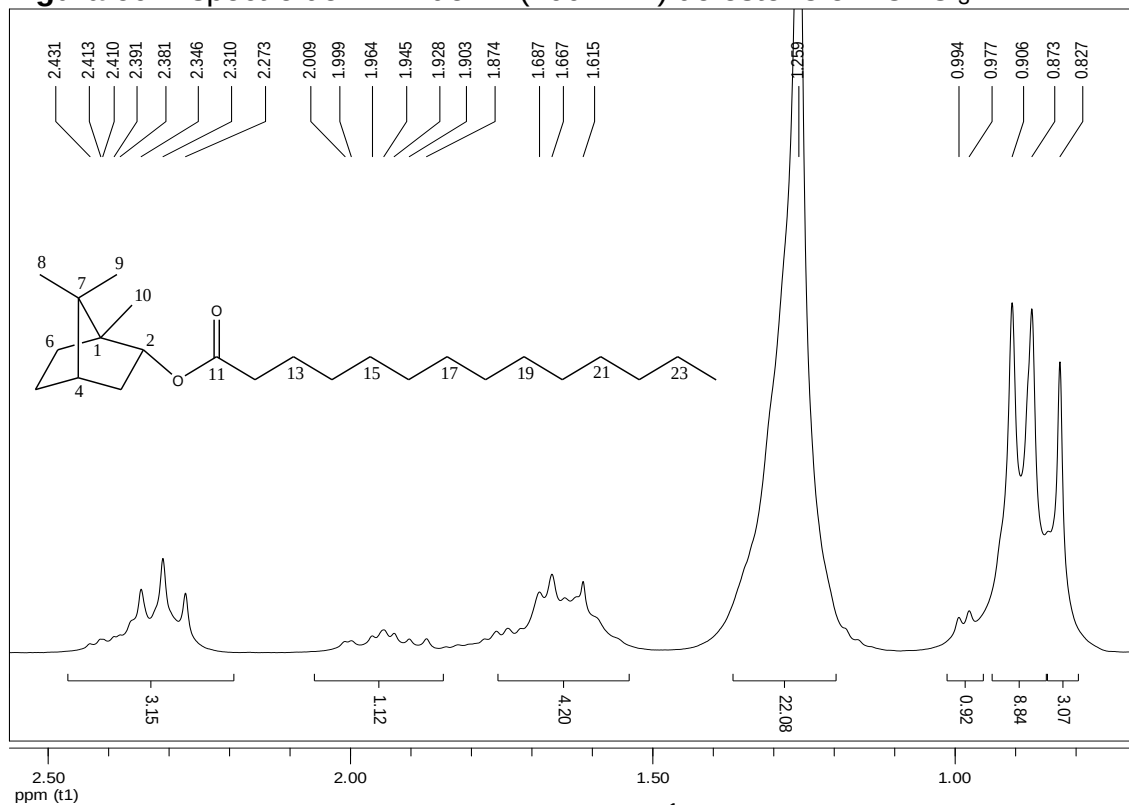


Figura 61: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **5** em CDCl_3 .

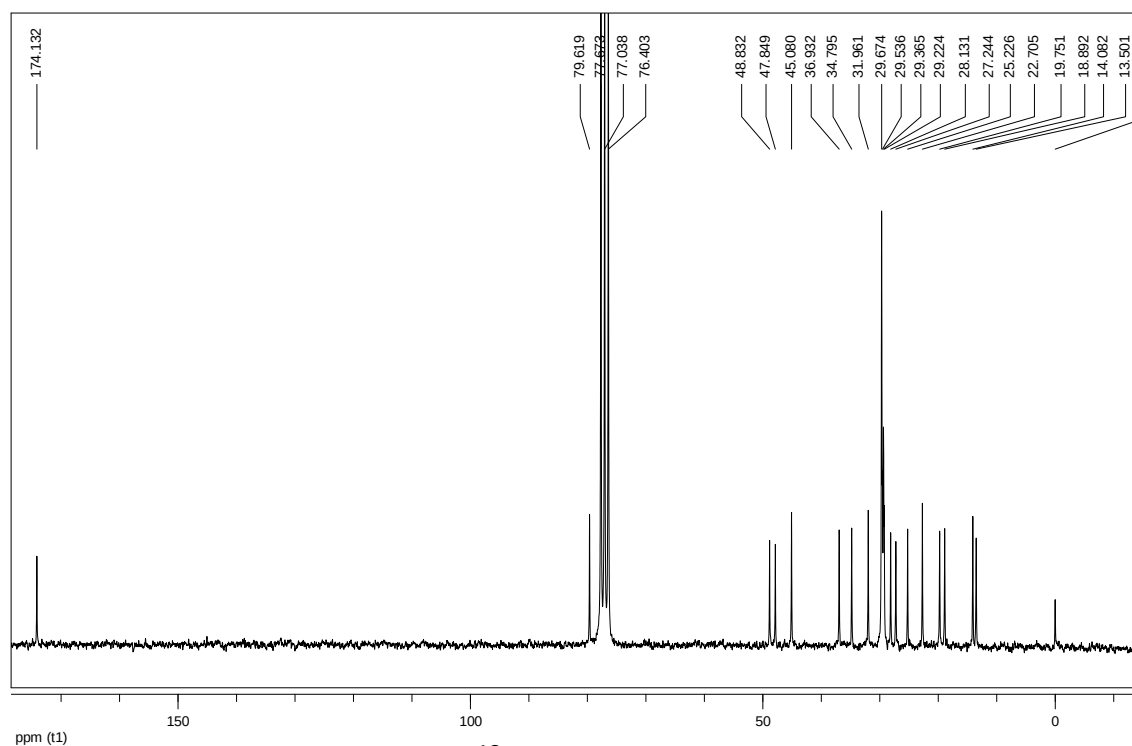


Figura 62: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **5** em CDCl_3 .

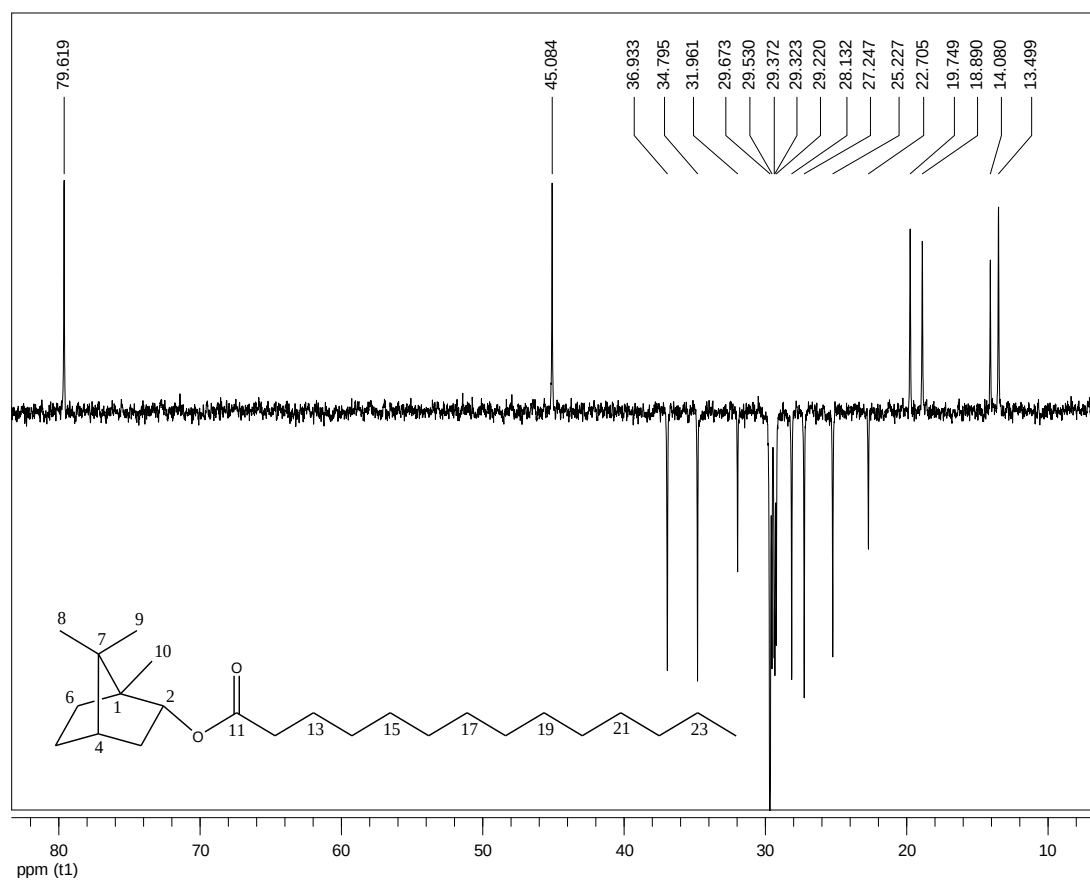


Figura 63: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **5** em CDCl_3 .

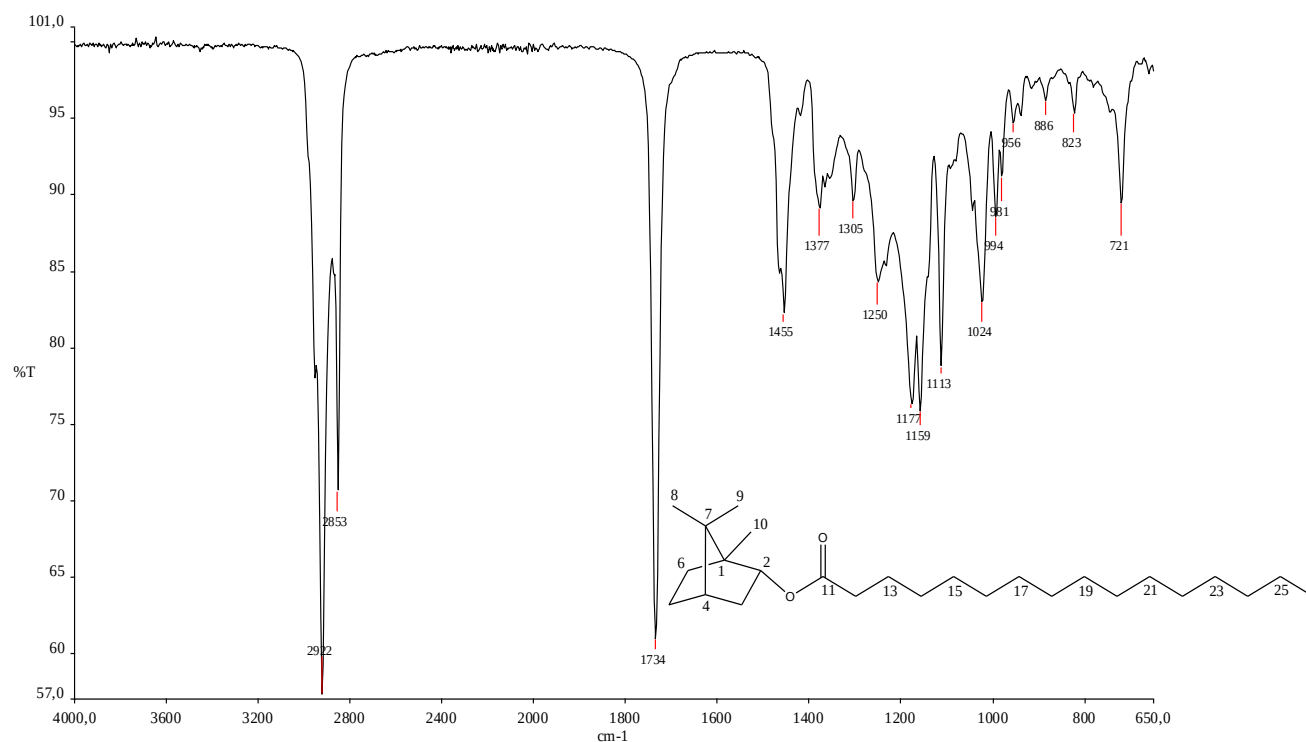


Figura 64: Espectro na região do IV do éster **6** (ATR).

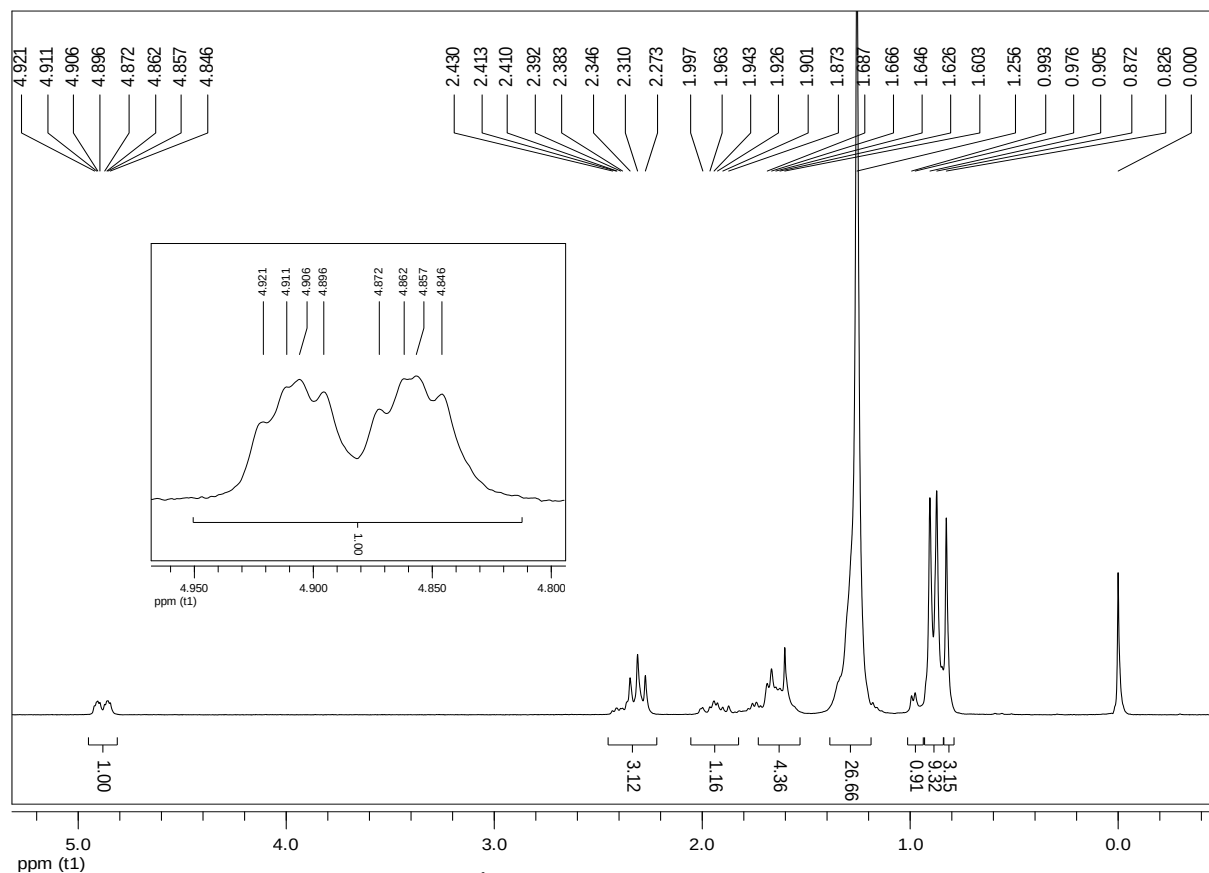


Figura 65: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **6** em CDCl₃.

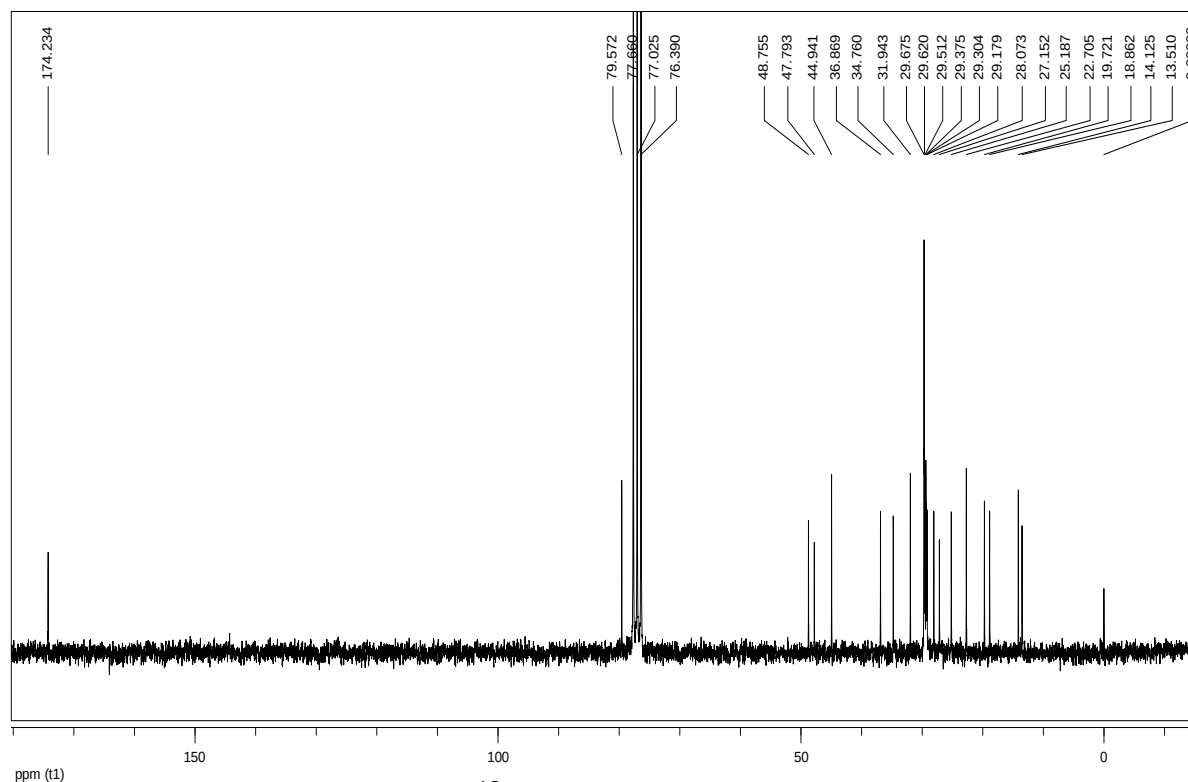


Figura 66: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **6** em CDCl_3 .

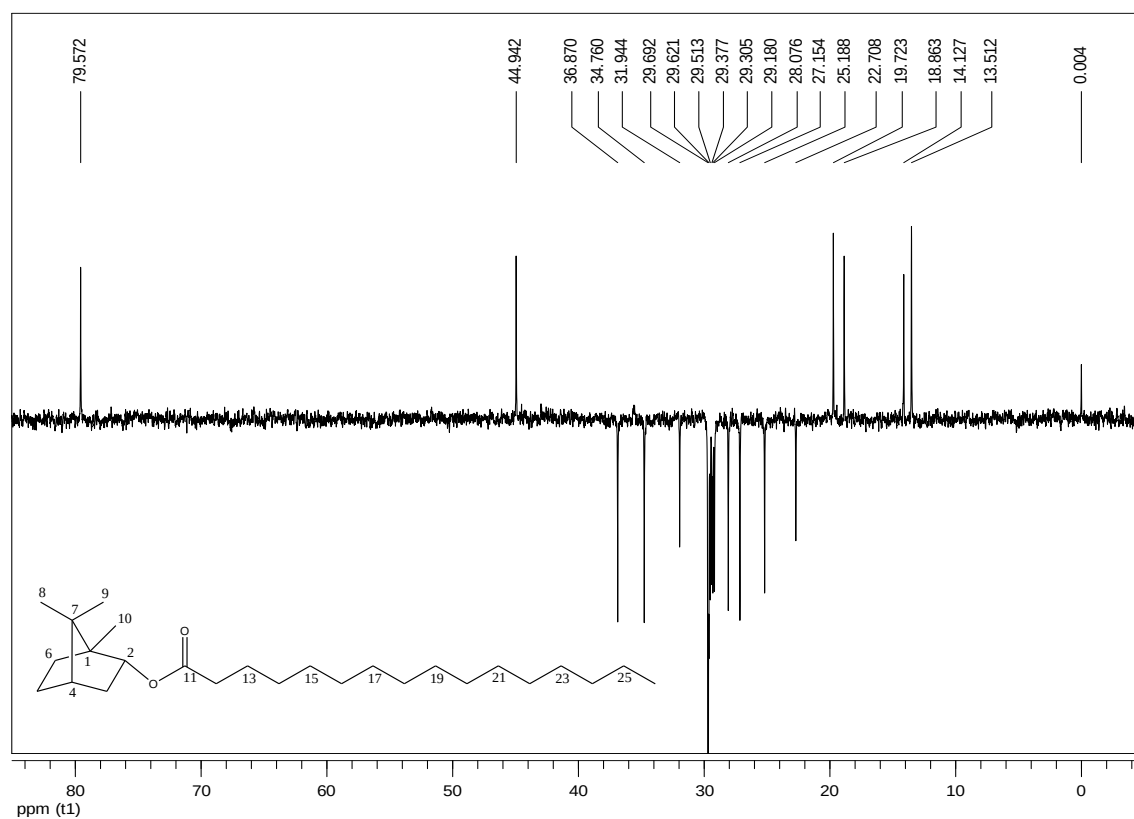


Figura 67: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **6** em CDCl_3 .

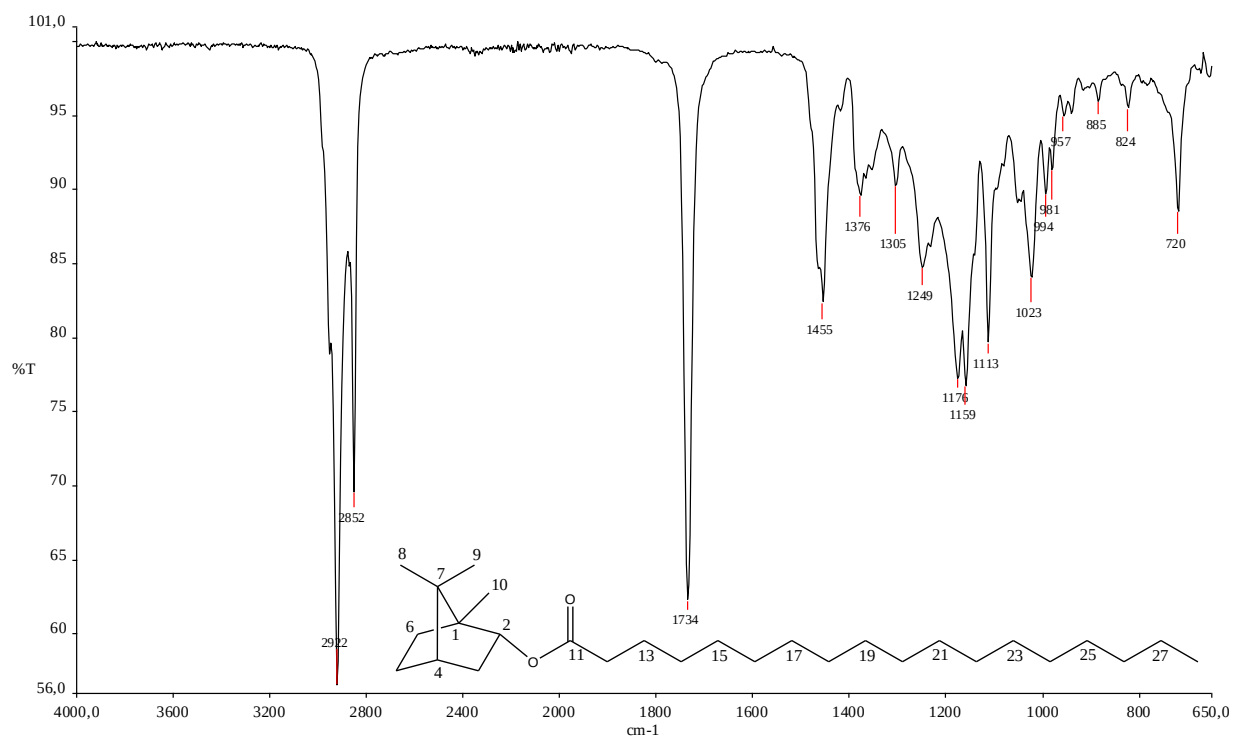


Figura 68: Espectro na região do IV do éster **7** (ATR).

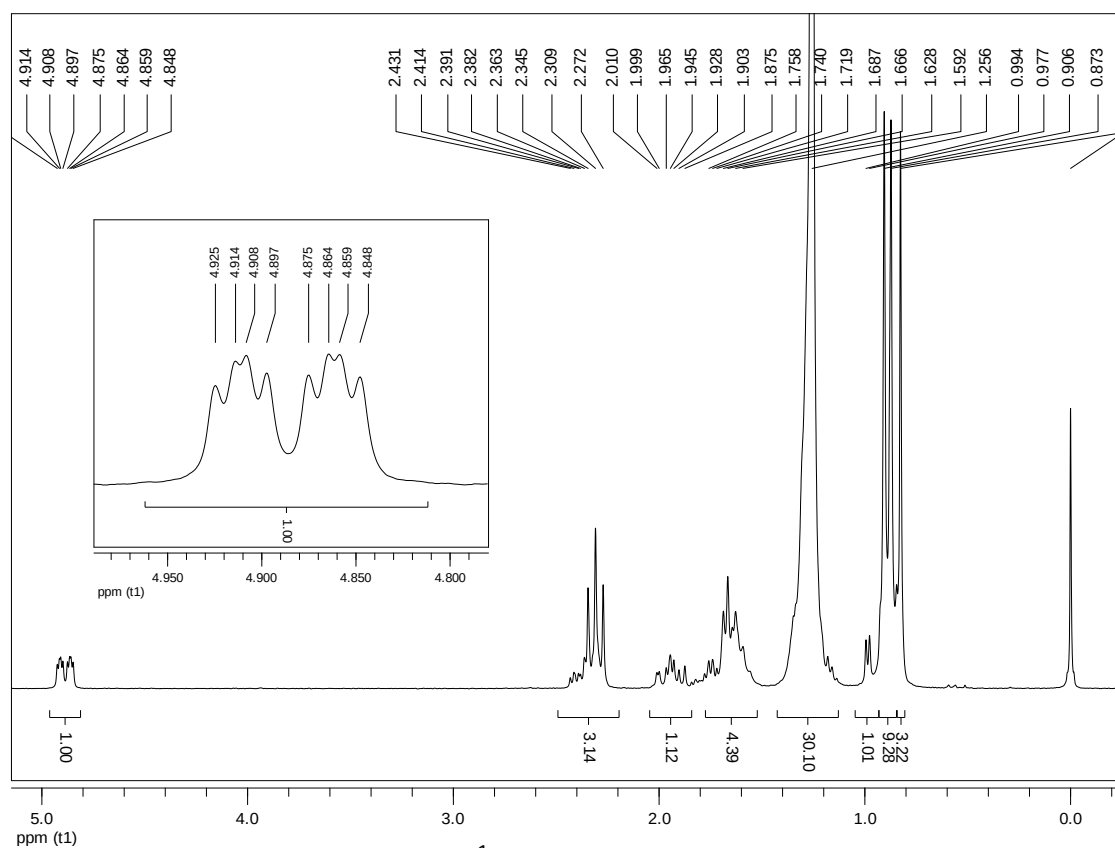


Figura 69: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **7** em CDCl₃.

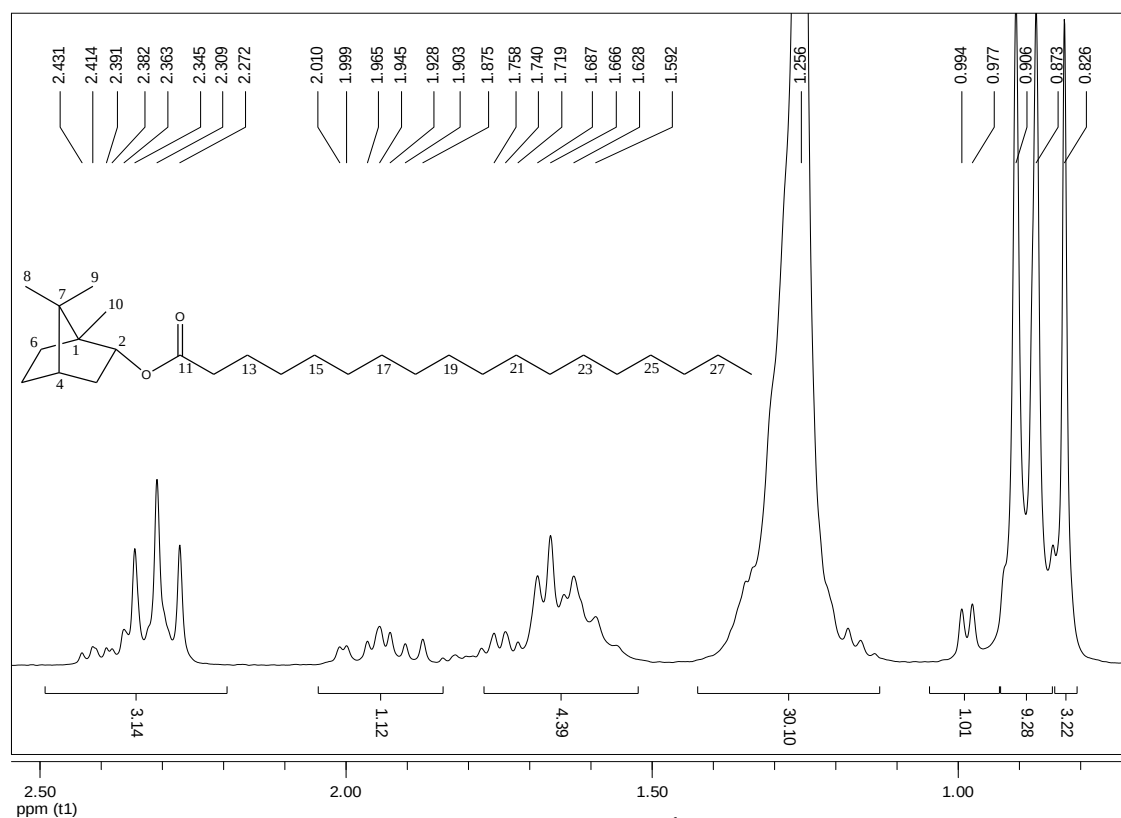


Figura 70: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster 7 em CDCl_3 .

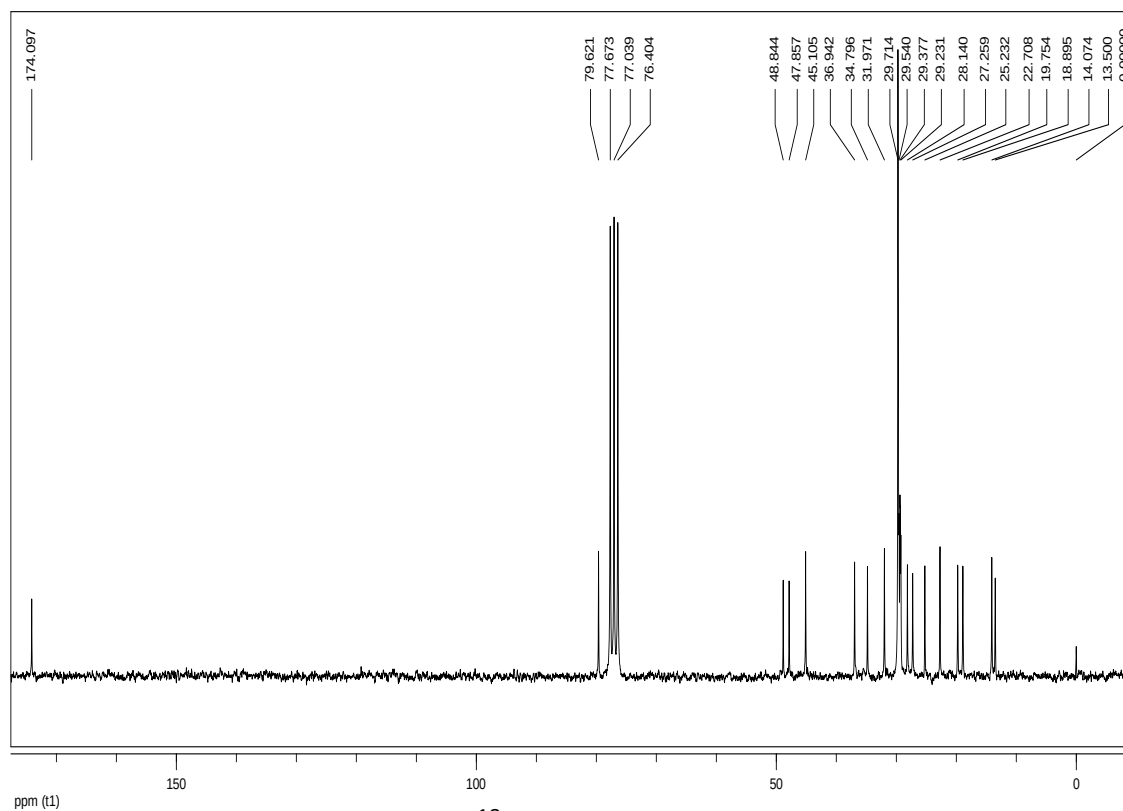


Figura 71: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster 7 em CDCl_3 .

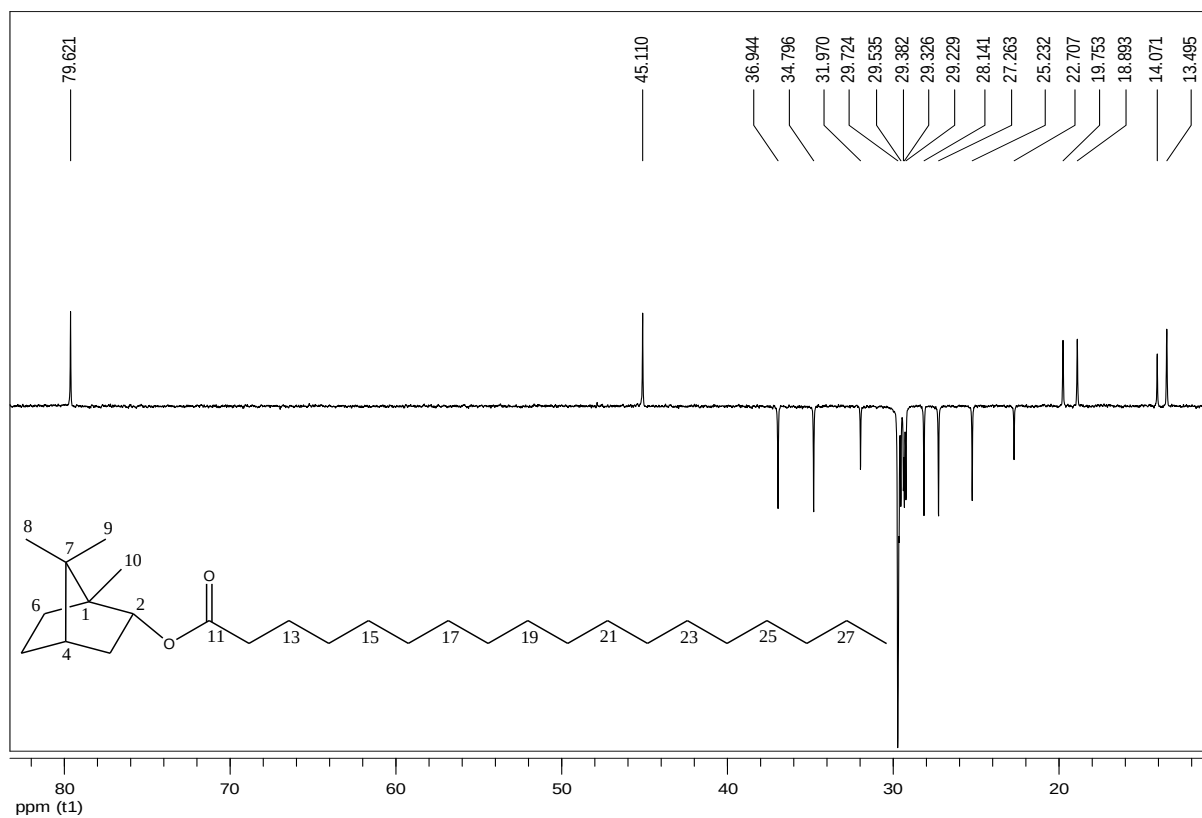


Figura 72: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **7** em CDCl₃.

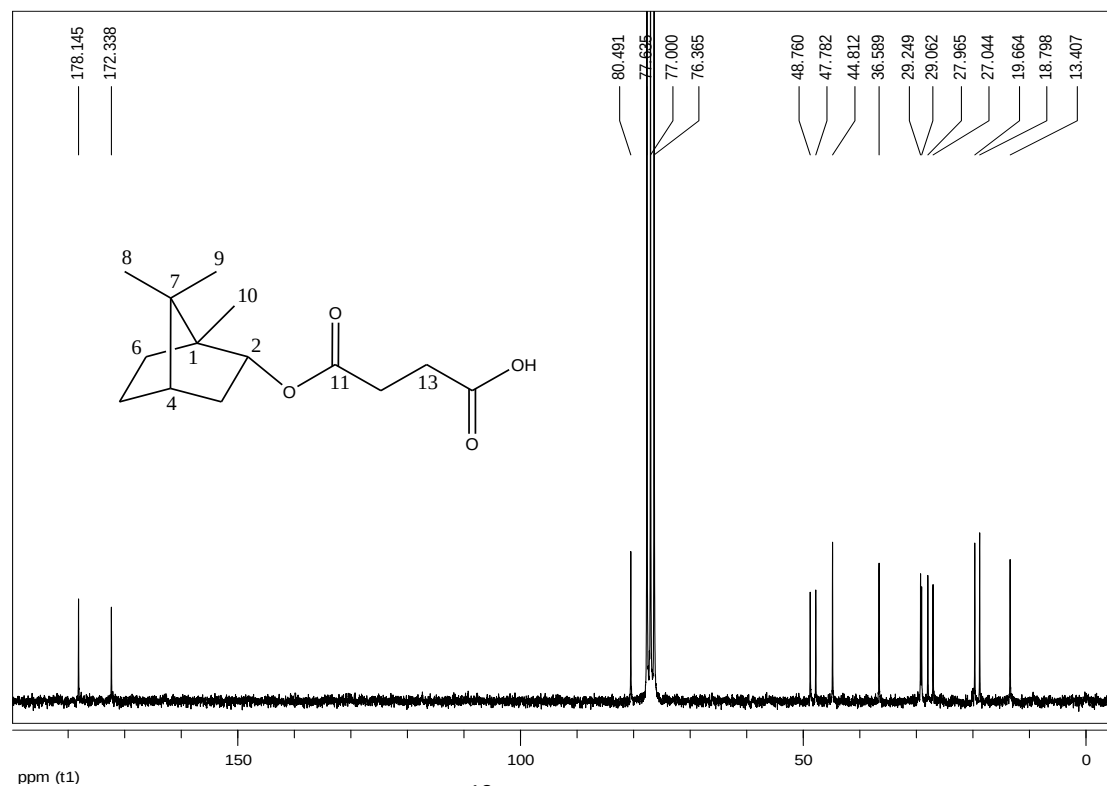


Figura 73: Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz) do éster **8** em CDCl₃.

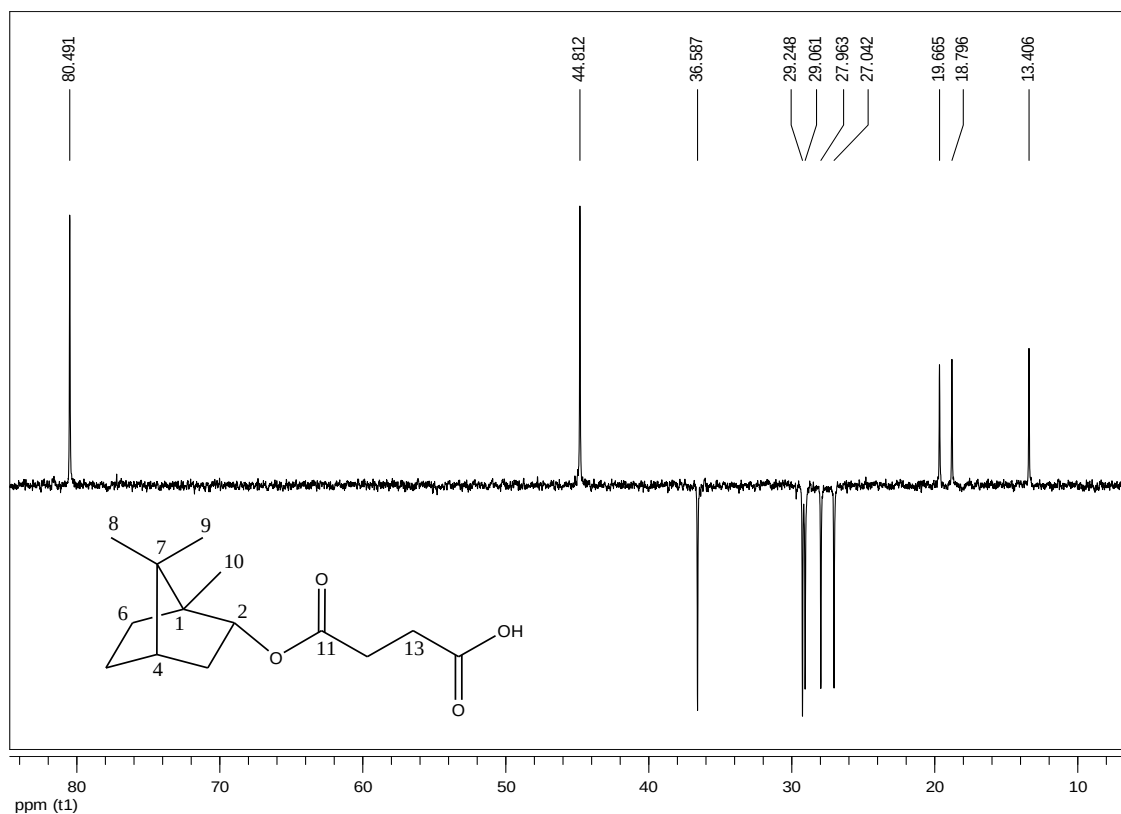


Figura 74: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **8** em CDCl₃.

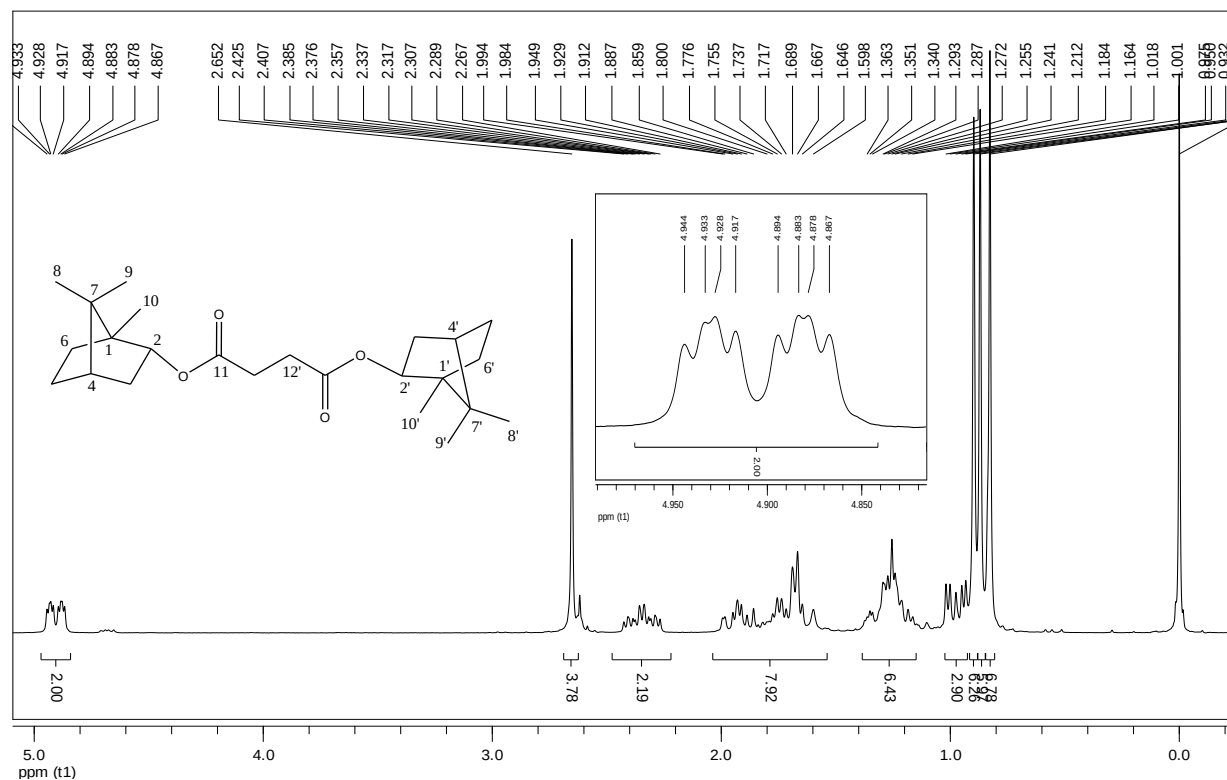


Figura 75: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **9** em CDCl₃.

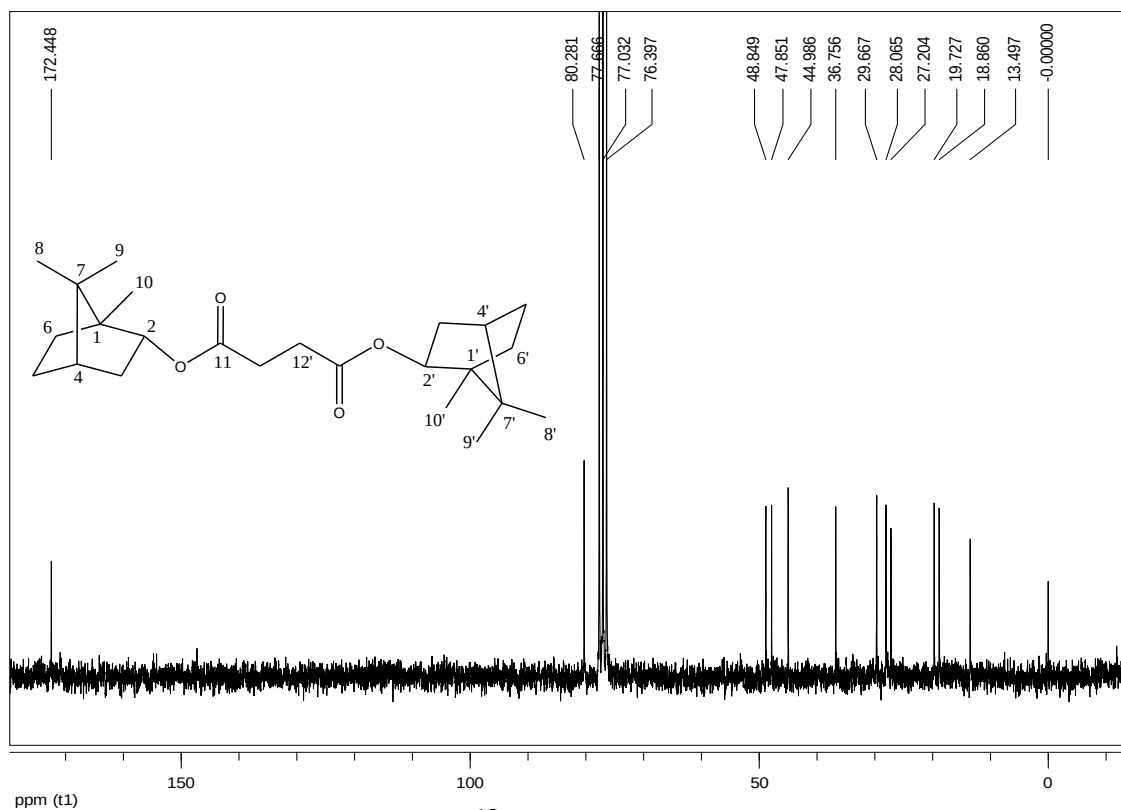


Figura 76: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **9** em CDCl_3 .

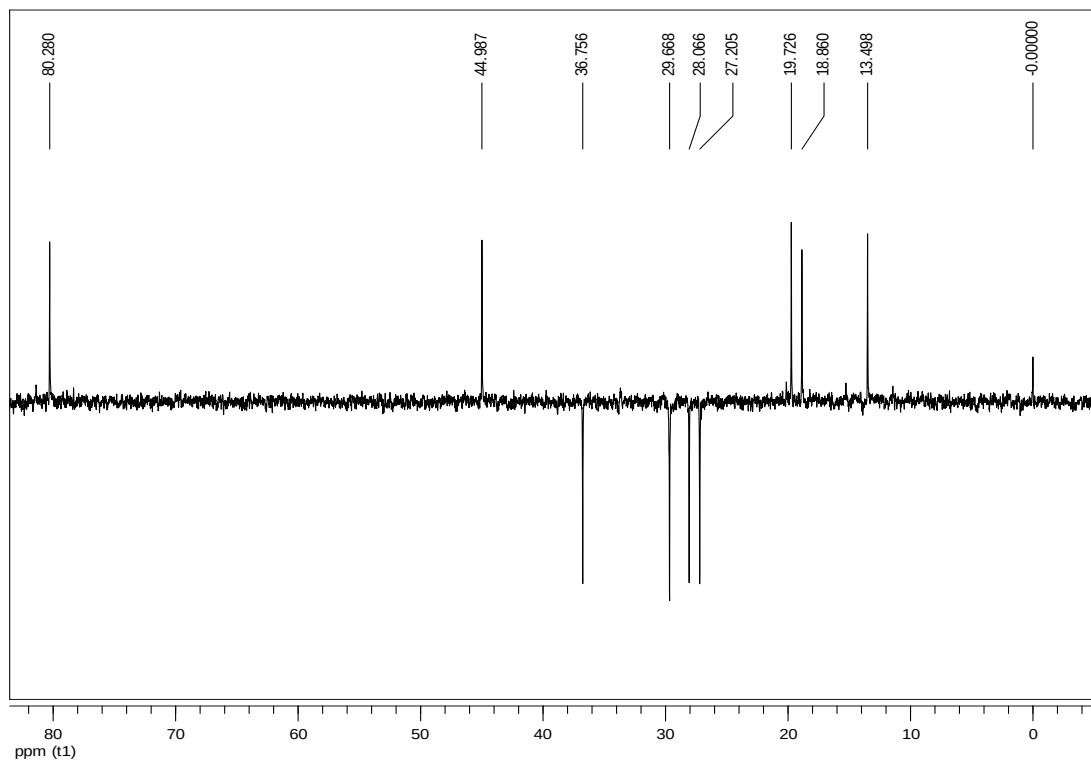


Figura 77: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **9** em CDCl_3 .

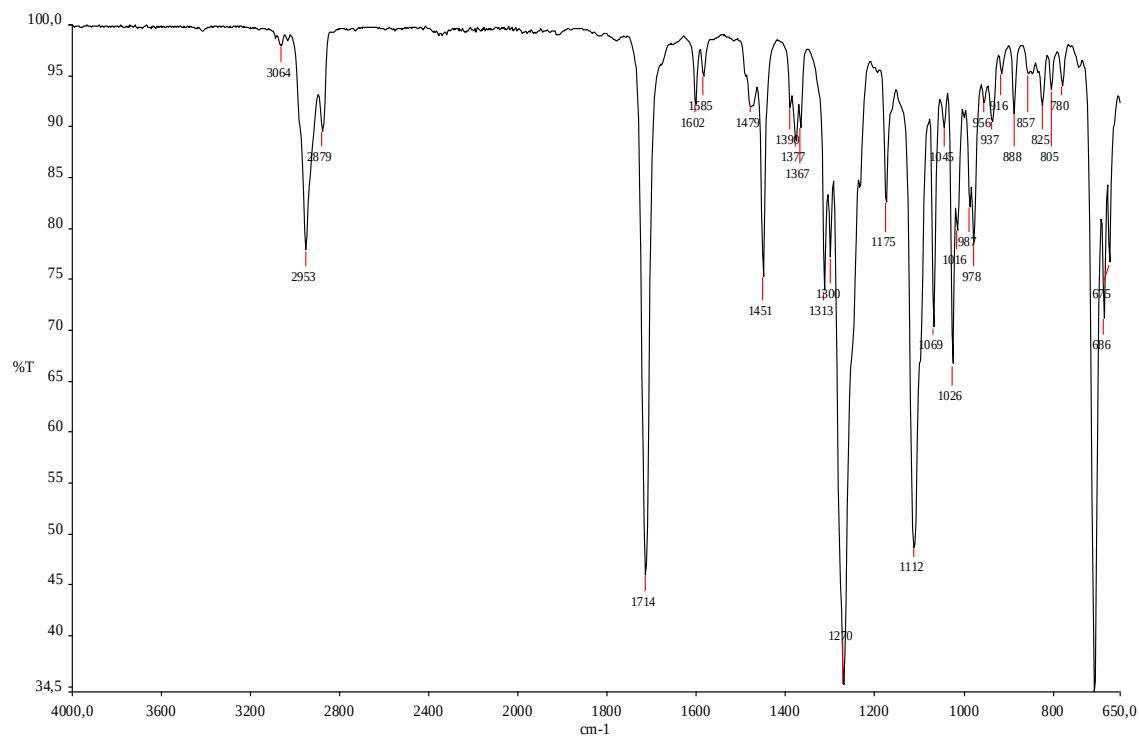


Figura 78: Espectro na região do IV do éster **11** (ATR).

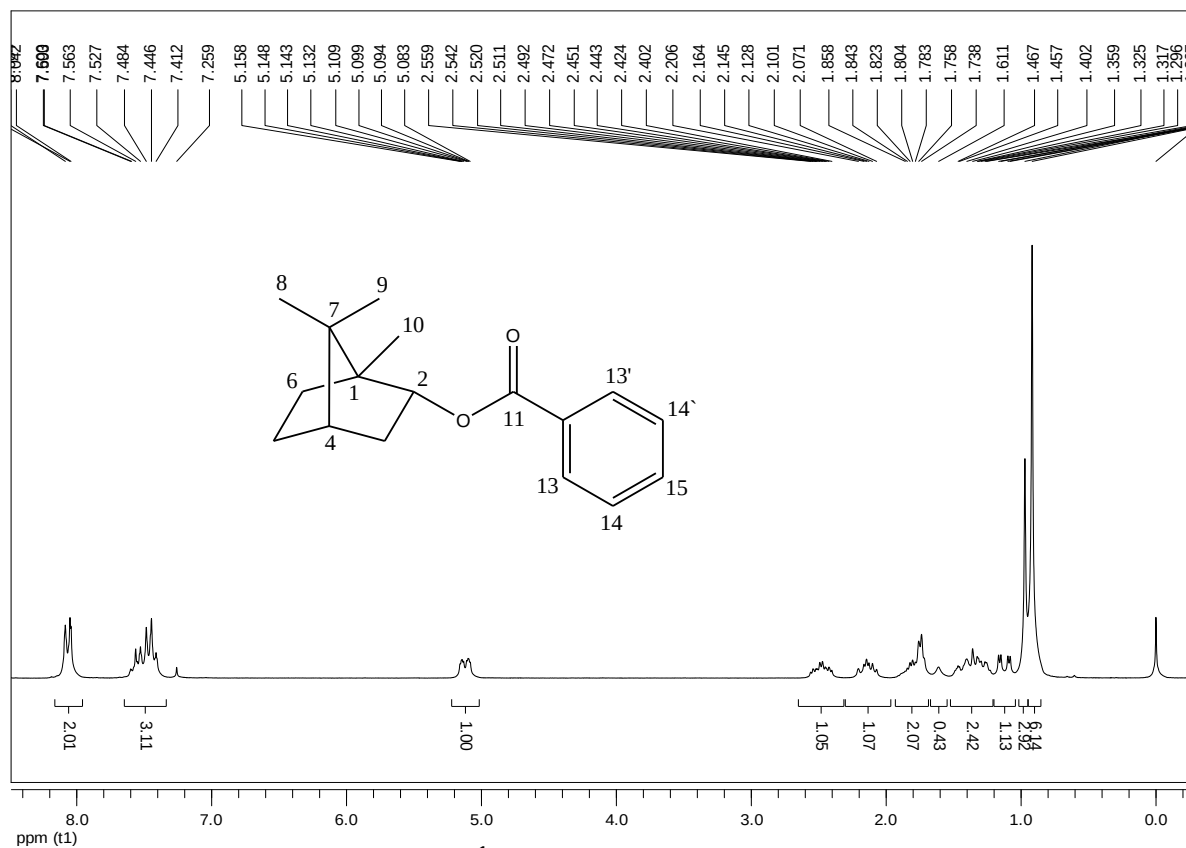


Figura 79: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **11** em CDCl₃.

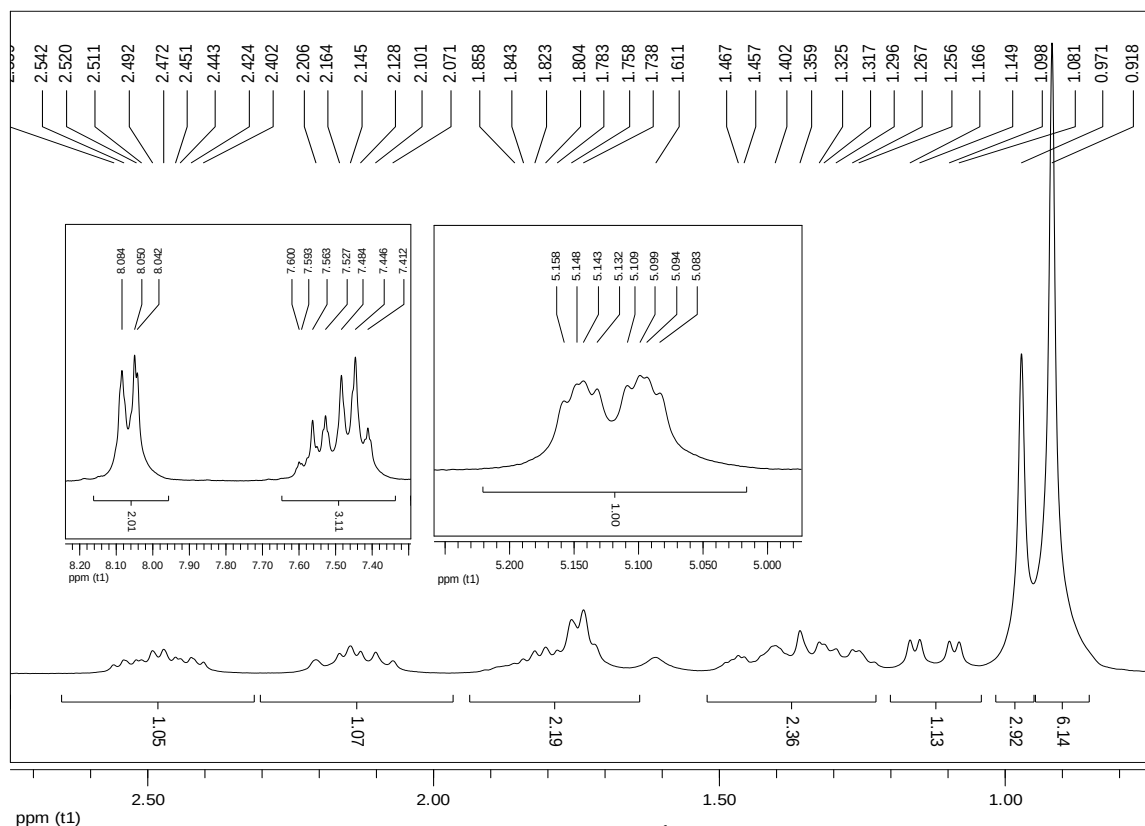


Figura 80: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **11** em CDCl_3 .

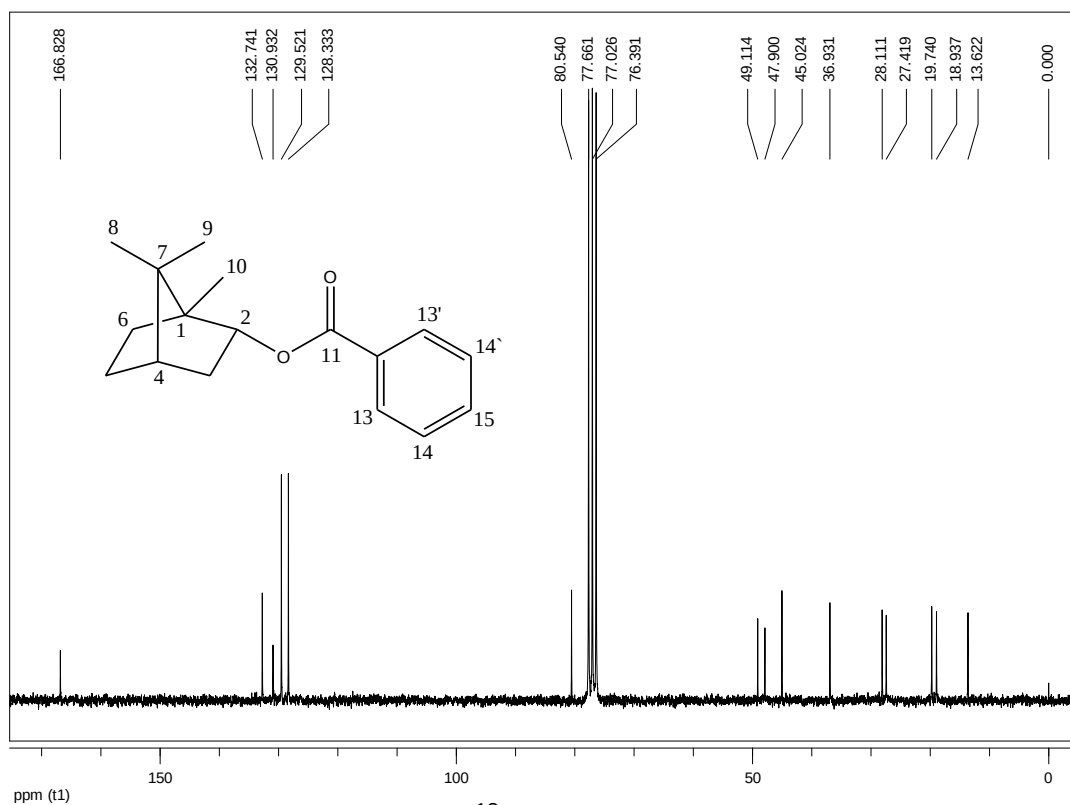


Figura 81: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **11** em CDCl_3 .

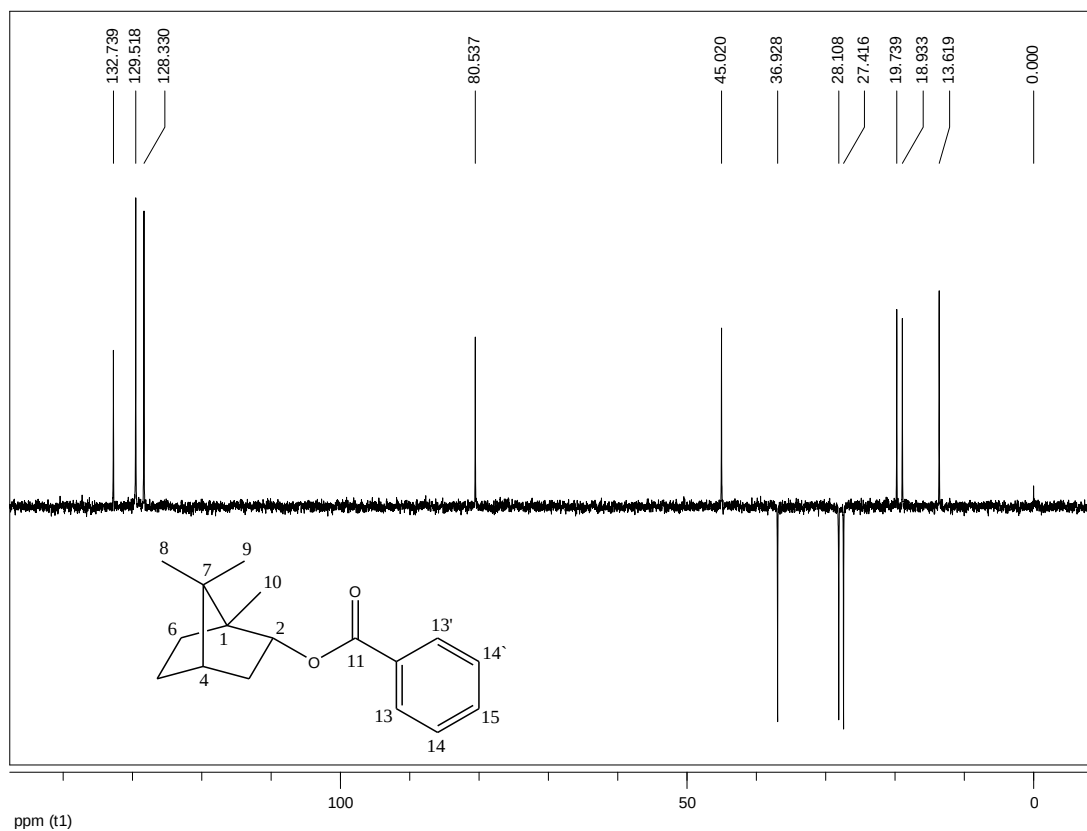


Figura 82: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **11** em CDCl_3 .

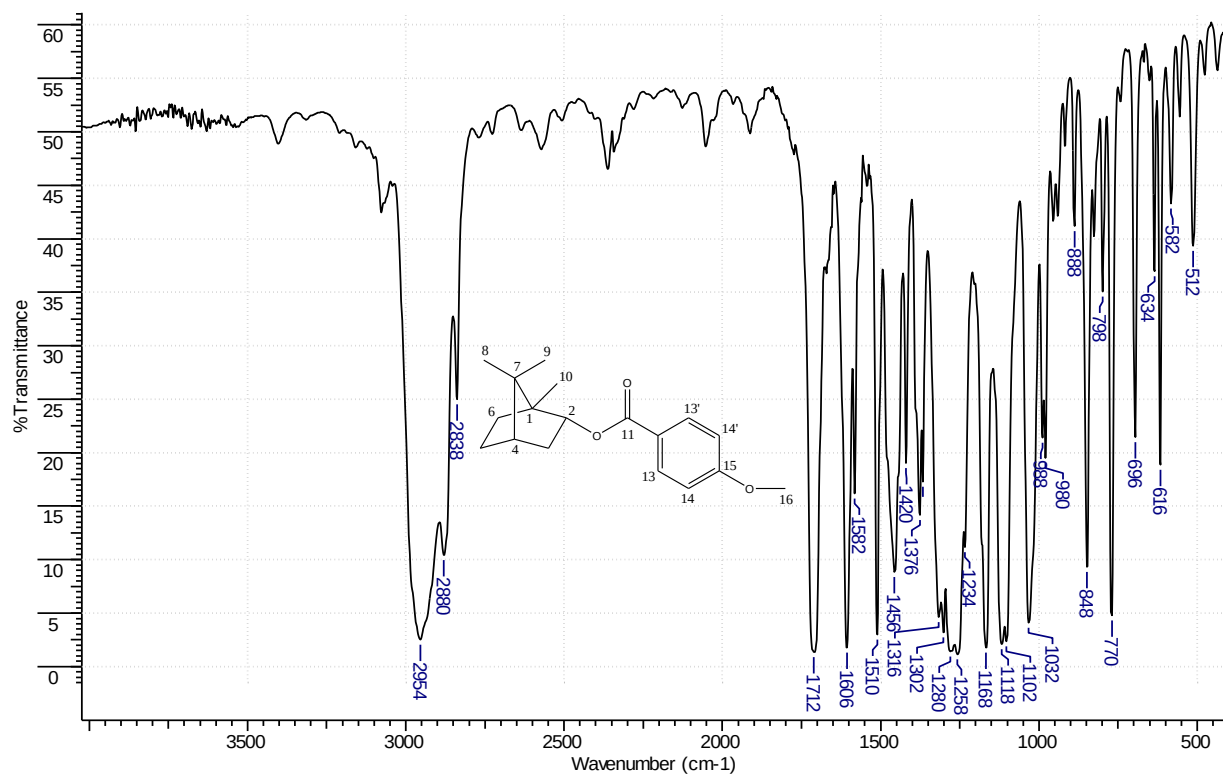


Figura 83: Espectro na região do IV do éster **12** (NaCl).

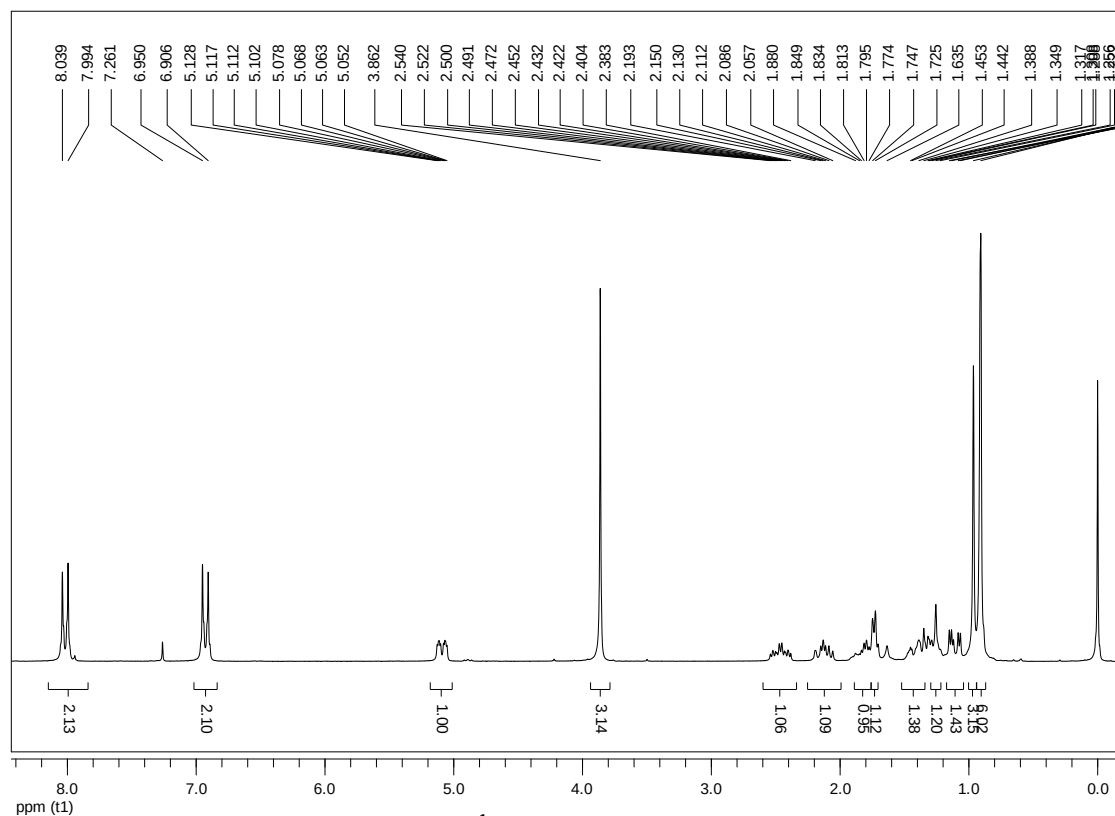


Figura 84: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **12** em CDCl₃.

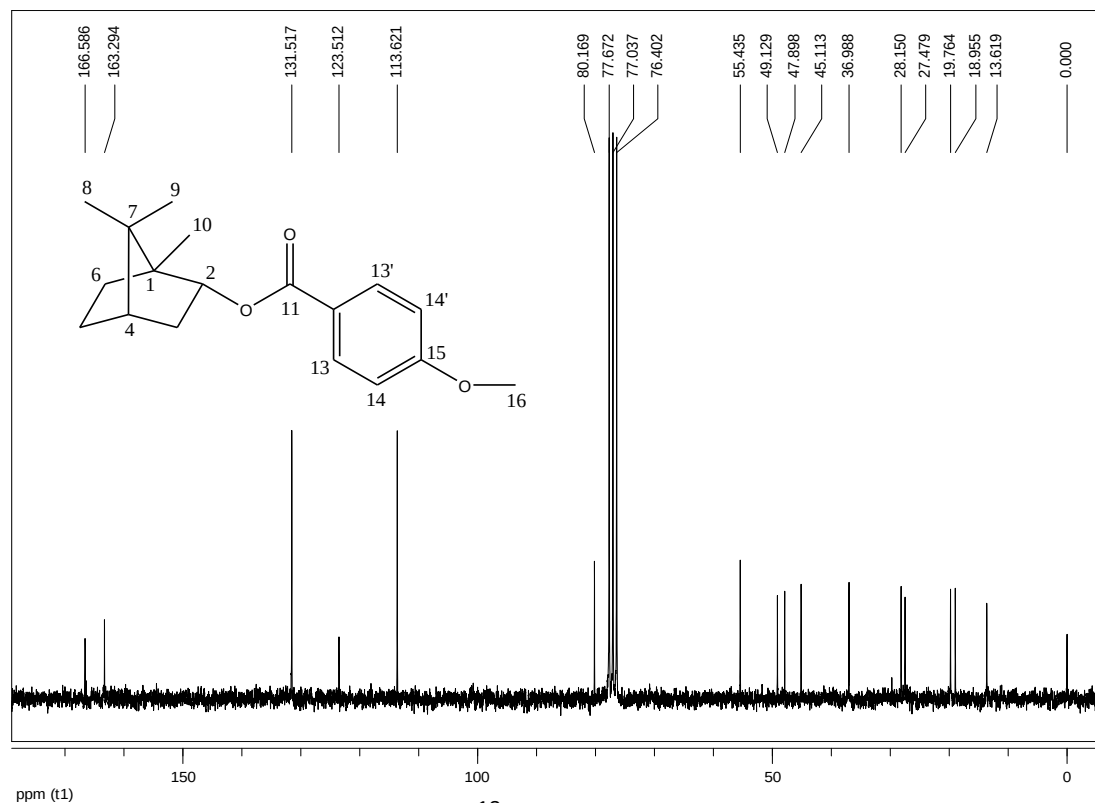


Figura 85: Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz) do éster **12** em CDCl₃.

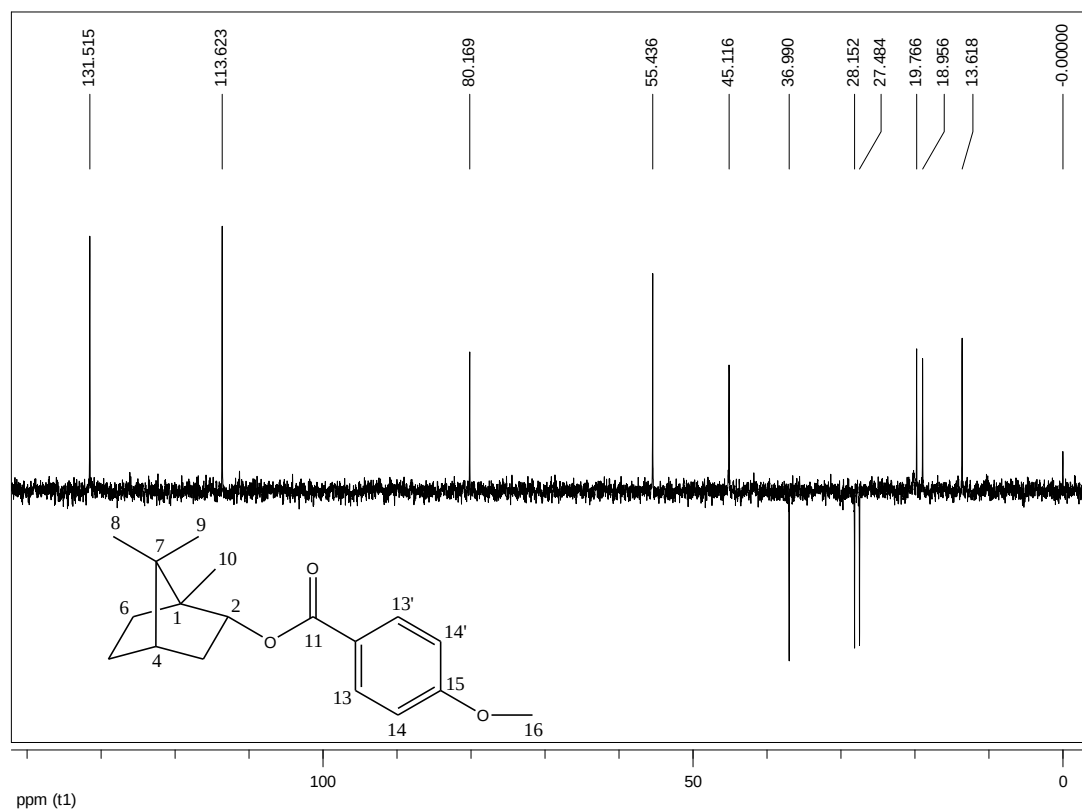


Figura 86: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **12** em CDCl₃.

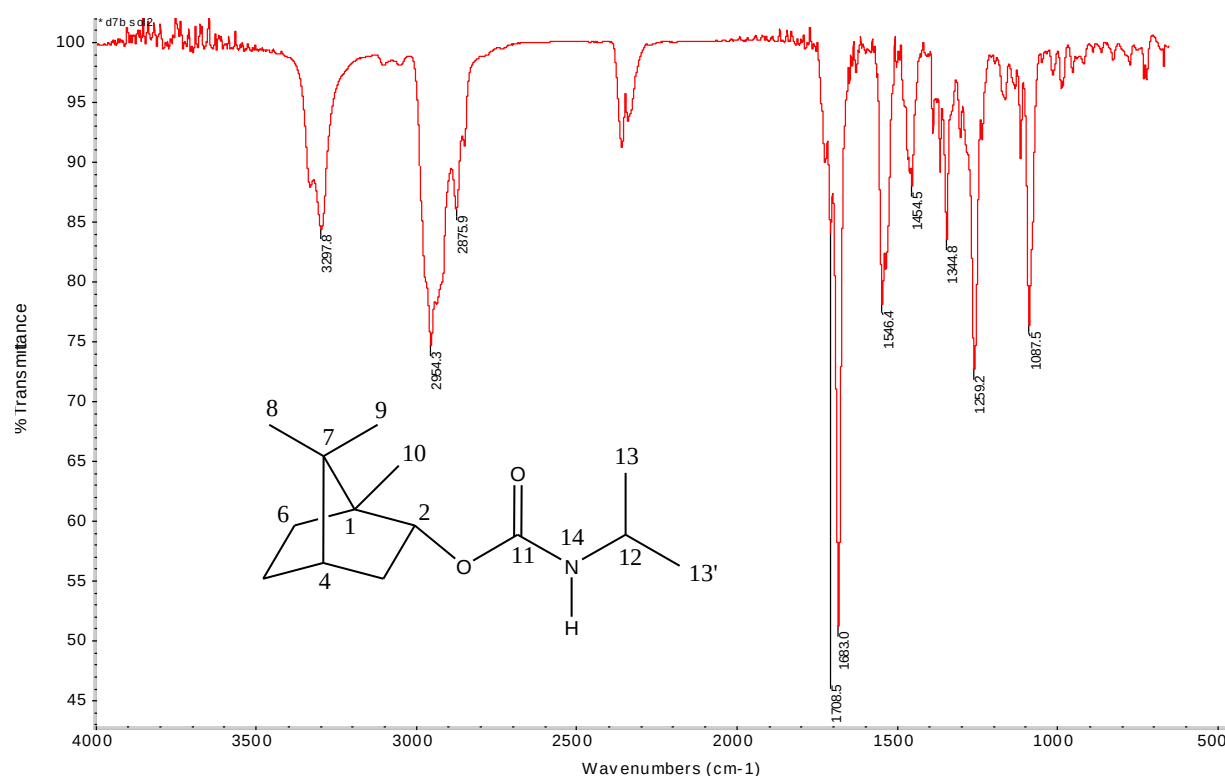


Figura 87: Espectro na região do IV do éster **13** (ATR).

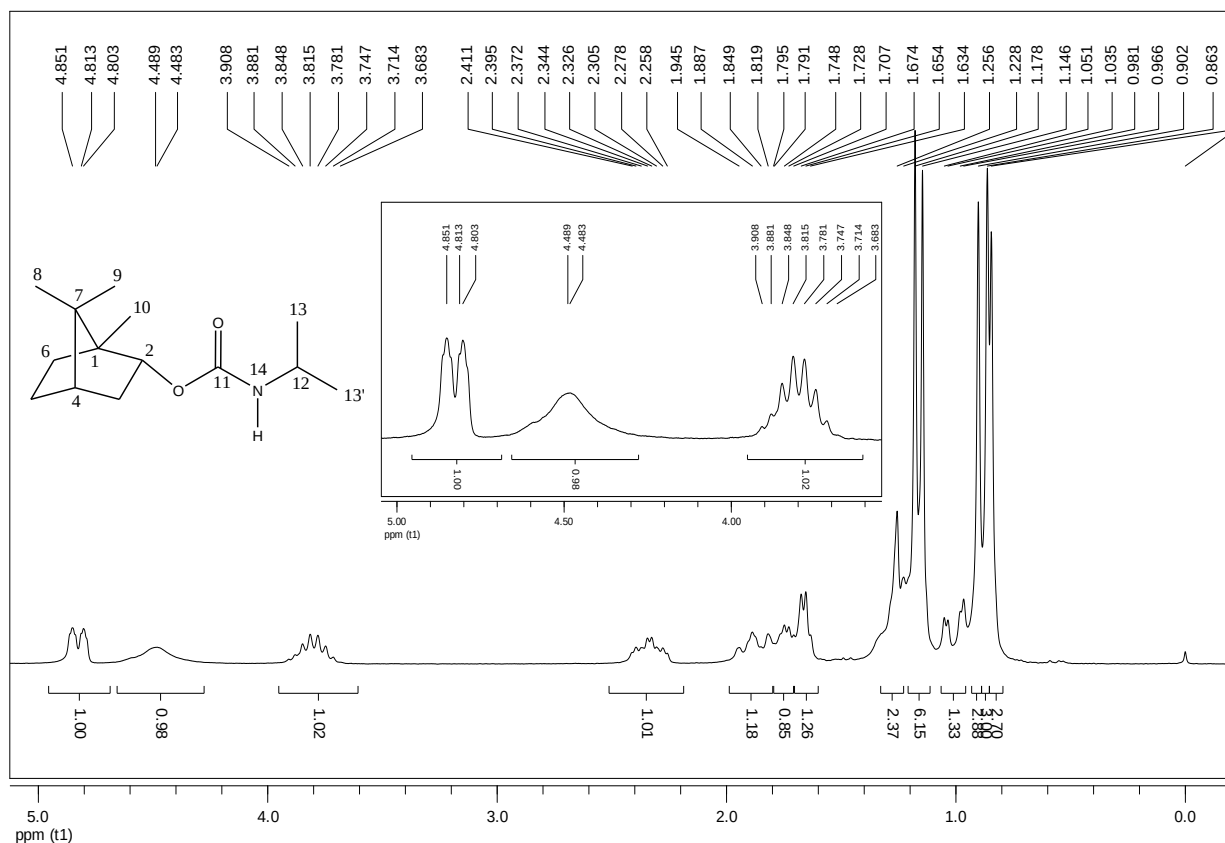


Figura 88: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **13** em CDCl_3 .

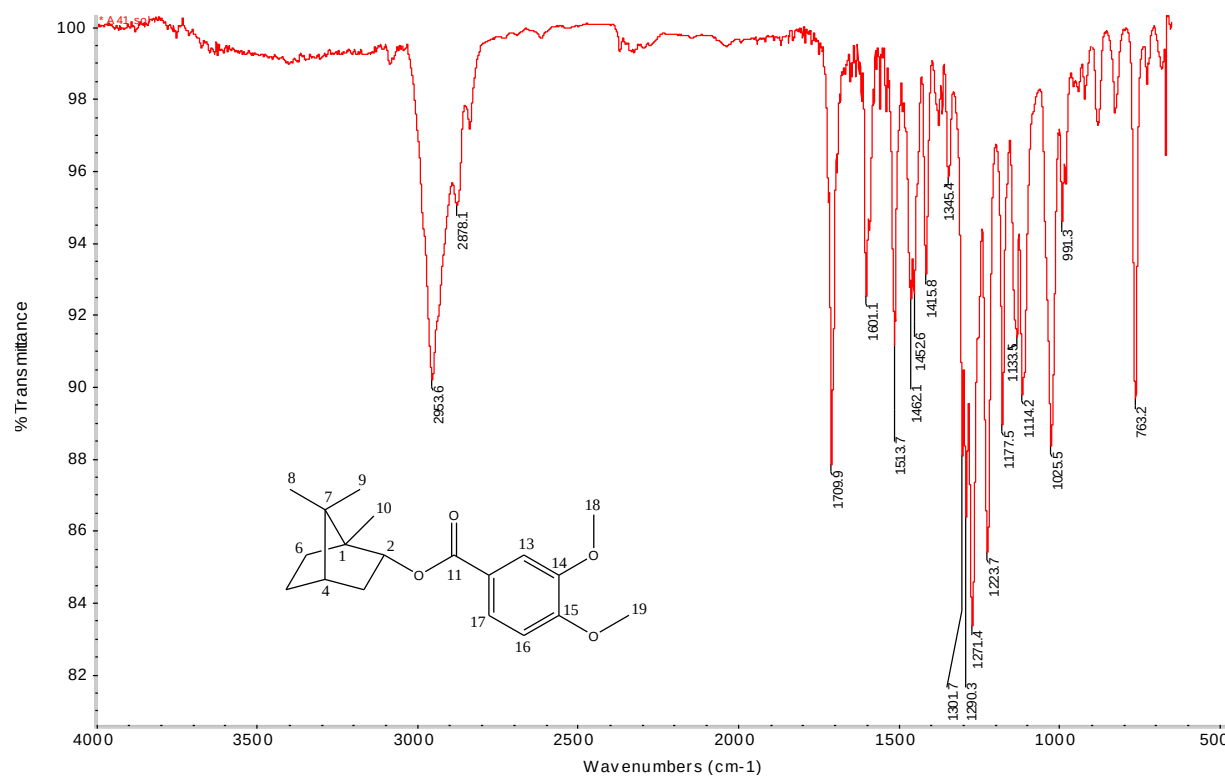


Figura 89: Espectro na região do IV do éster **14**.

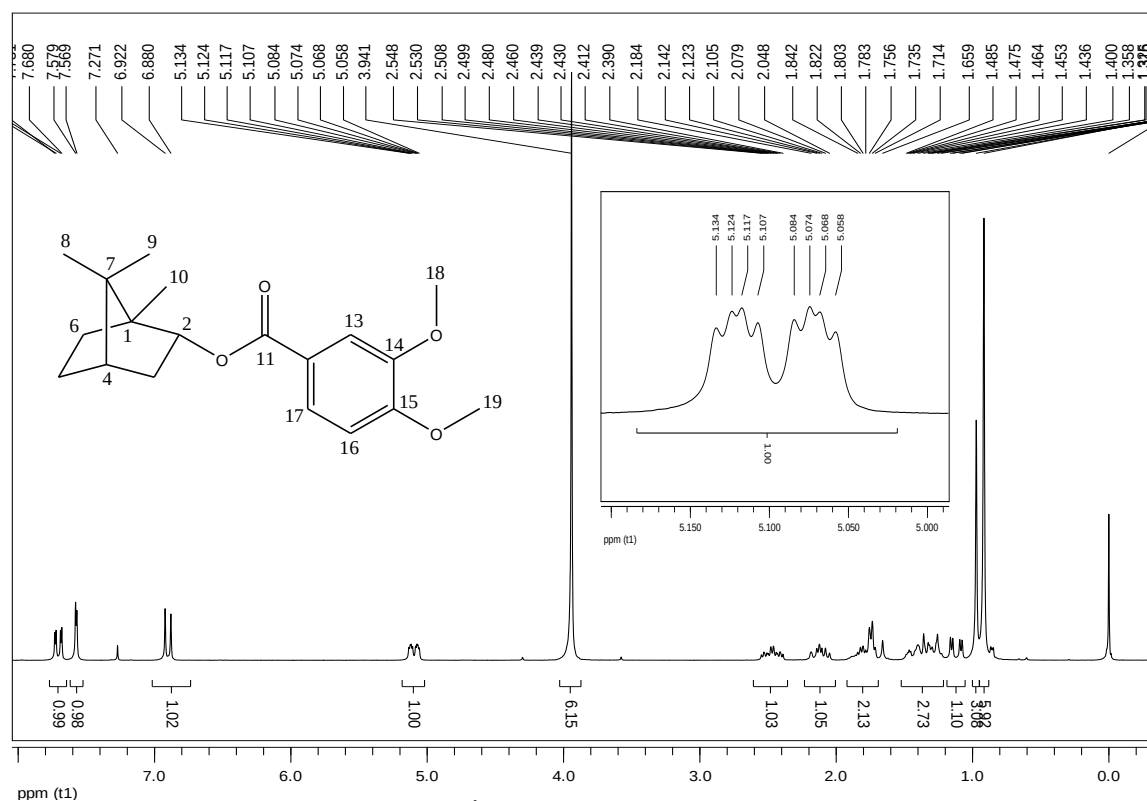


Figura 90: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **14** em CDCl_3 .

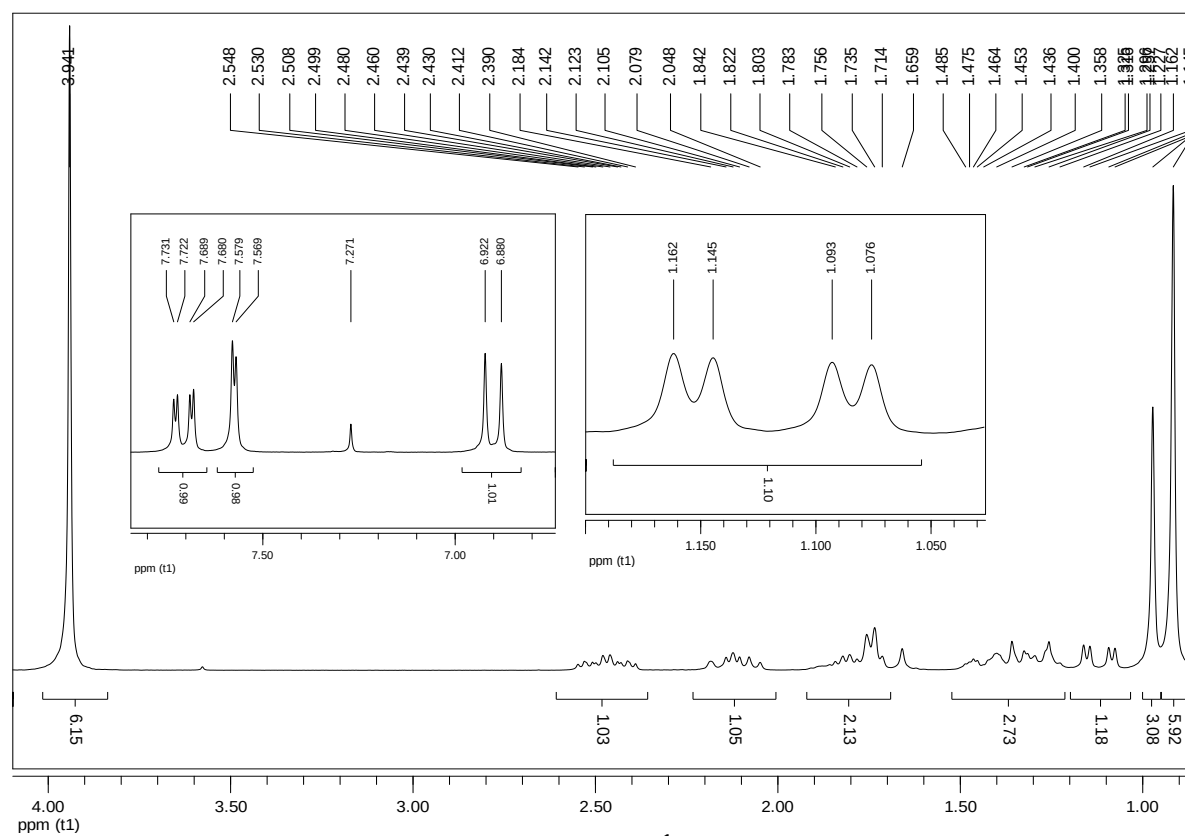


Figura 91: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **14** em CDCl_3

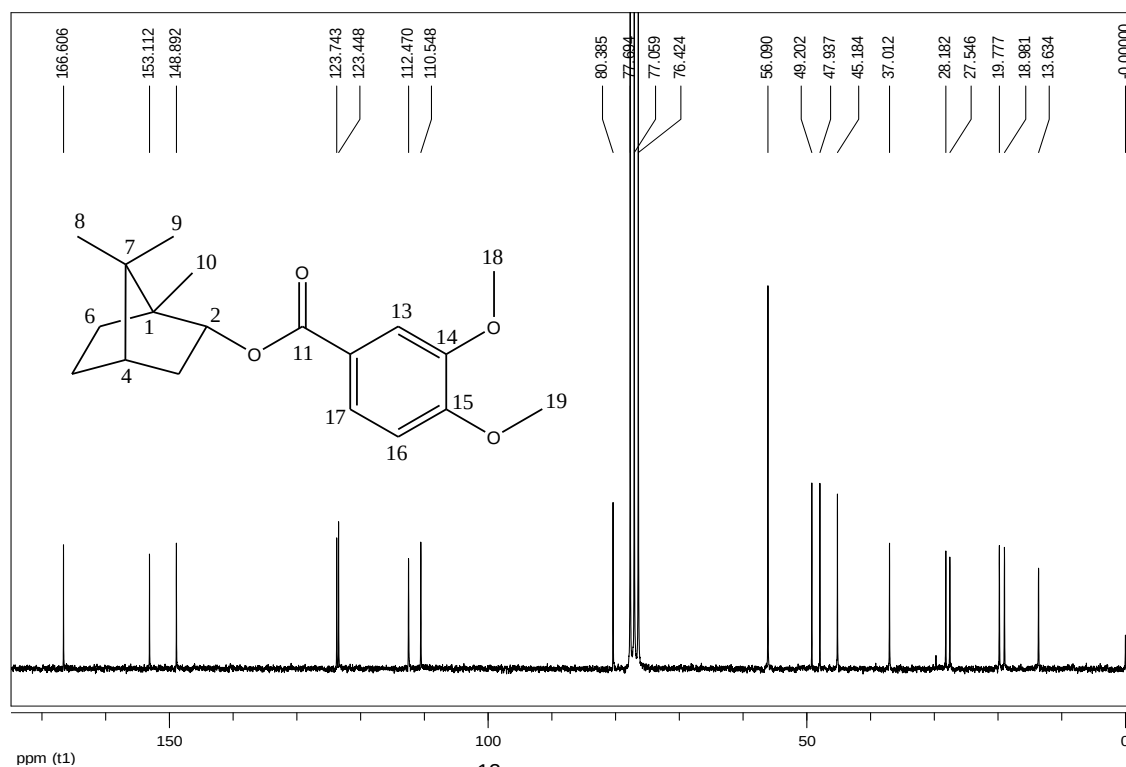


Figura 92: Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz) do éster **14** em CDCl₃.

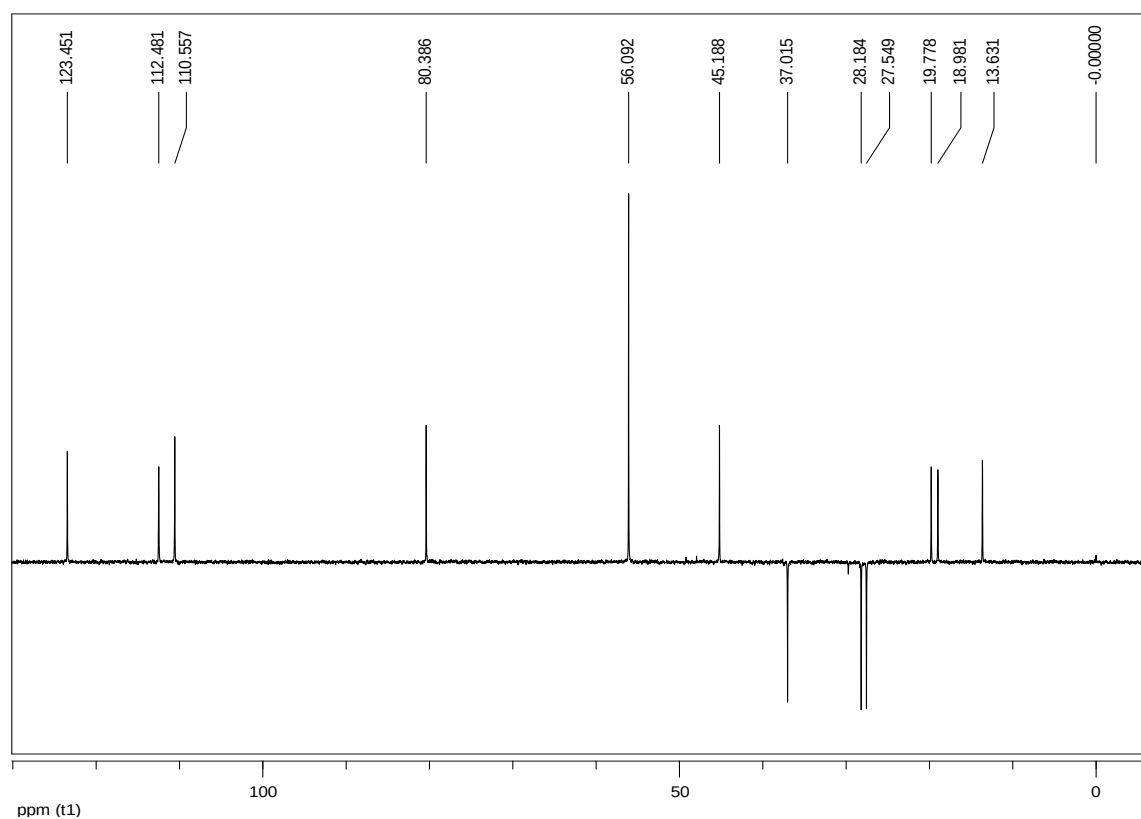


Figura 93: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **14** em CDCl₃.

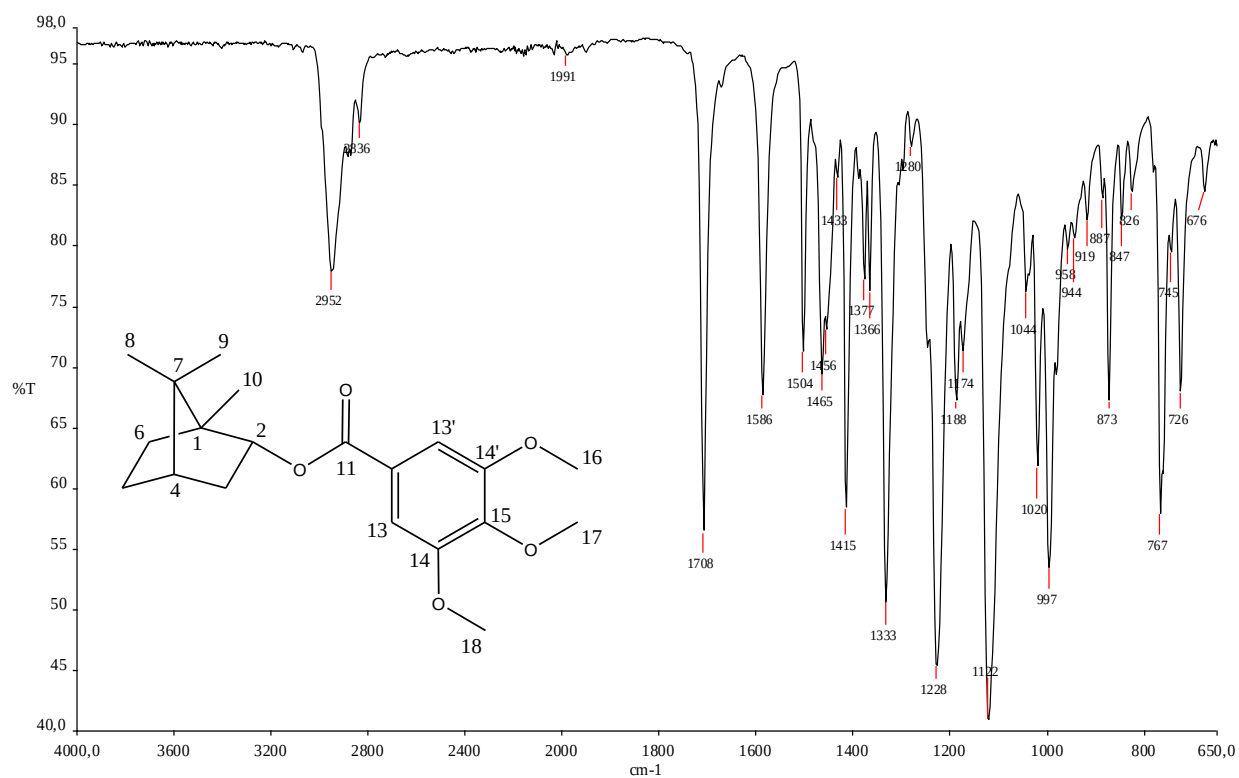


Figura 94: Espectro na região do IV do éster **15** (ATR).

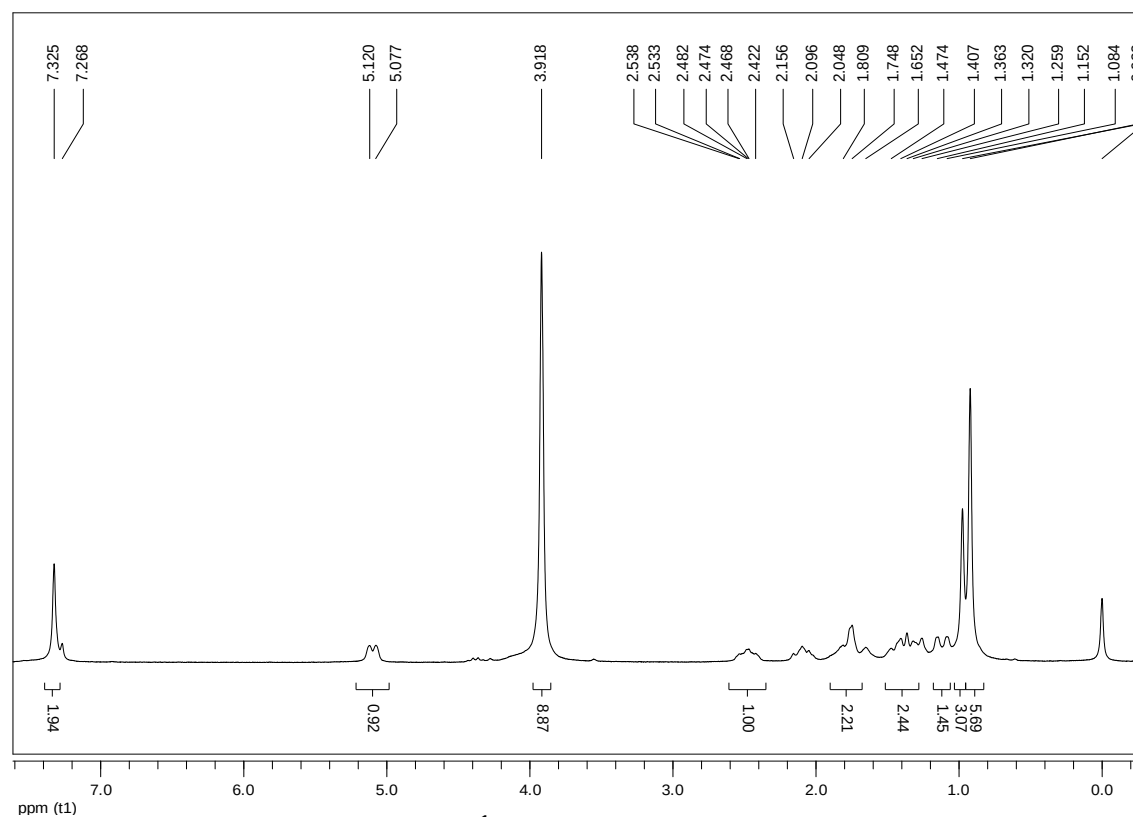


Figura 95: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **15** em CDCl₃.

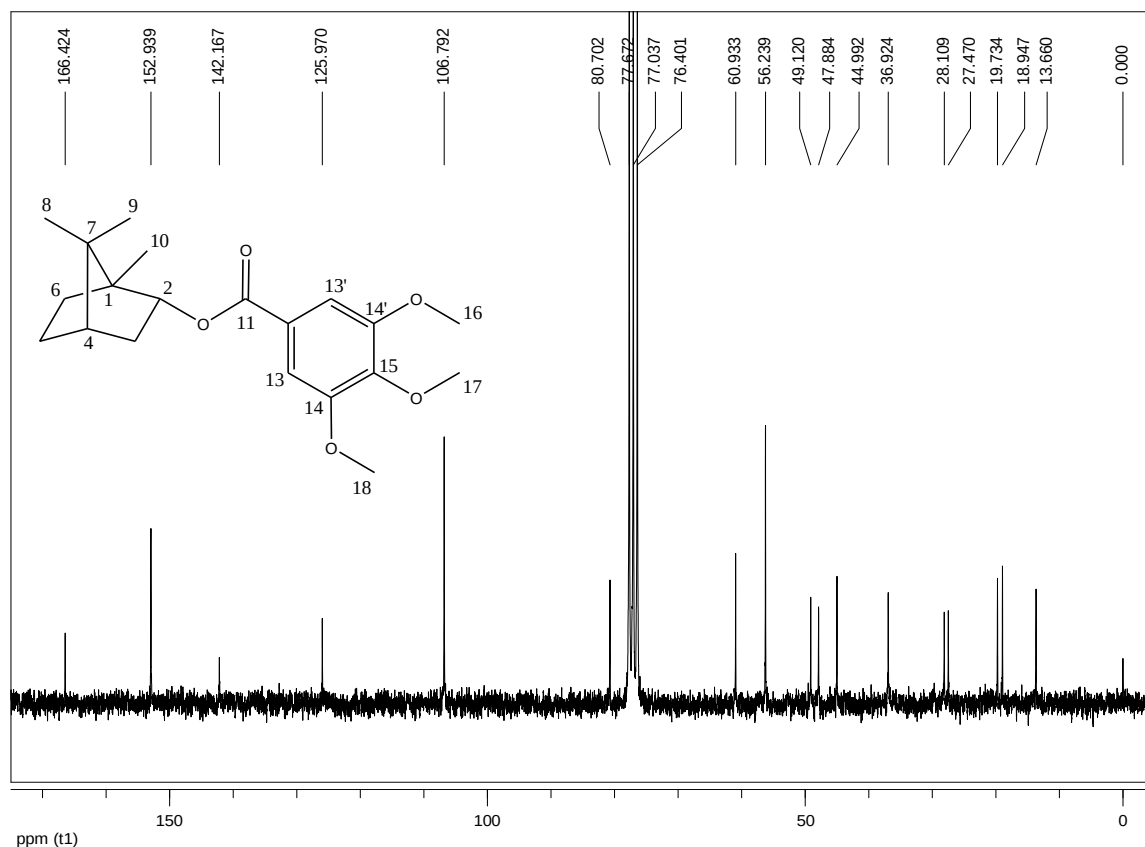


Figura 96: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **15** em CDCl_3 .

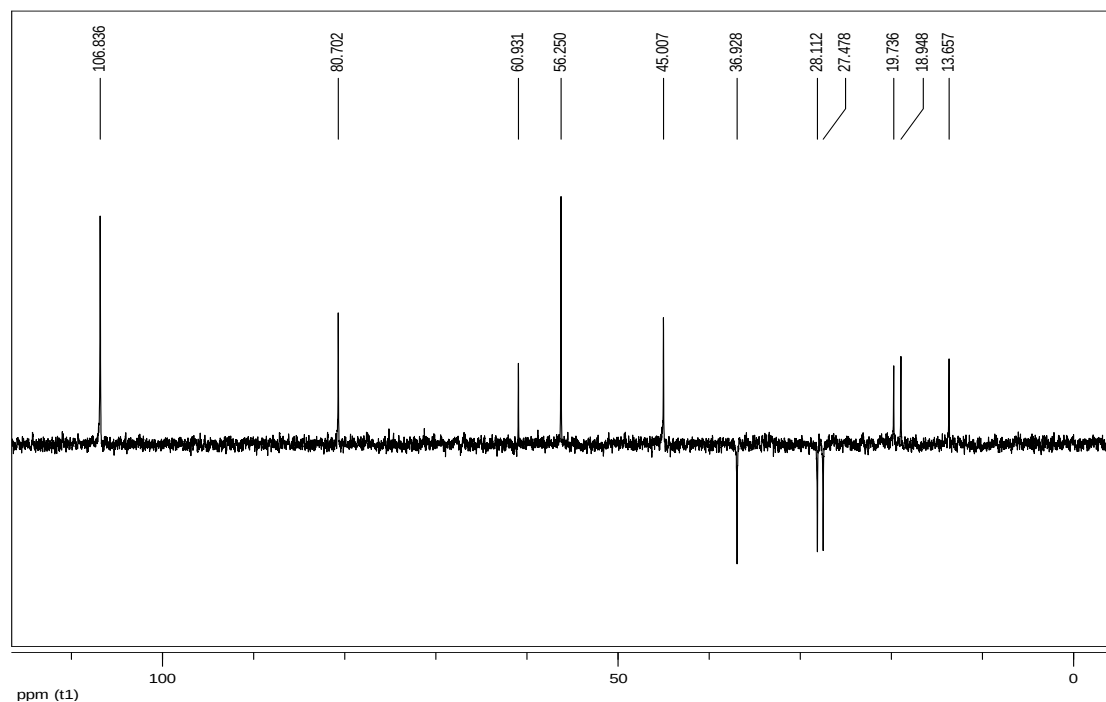


Figura 97: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **15** em CDCl_3 .

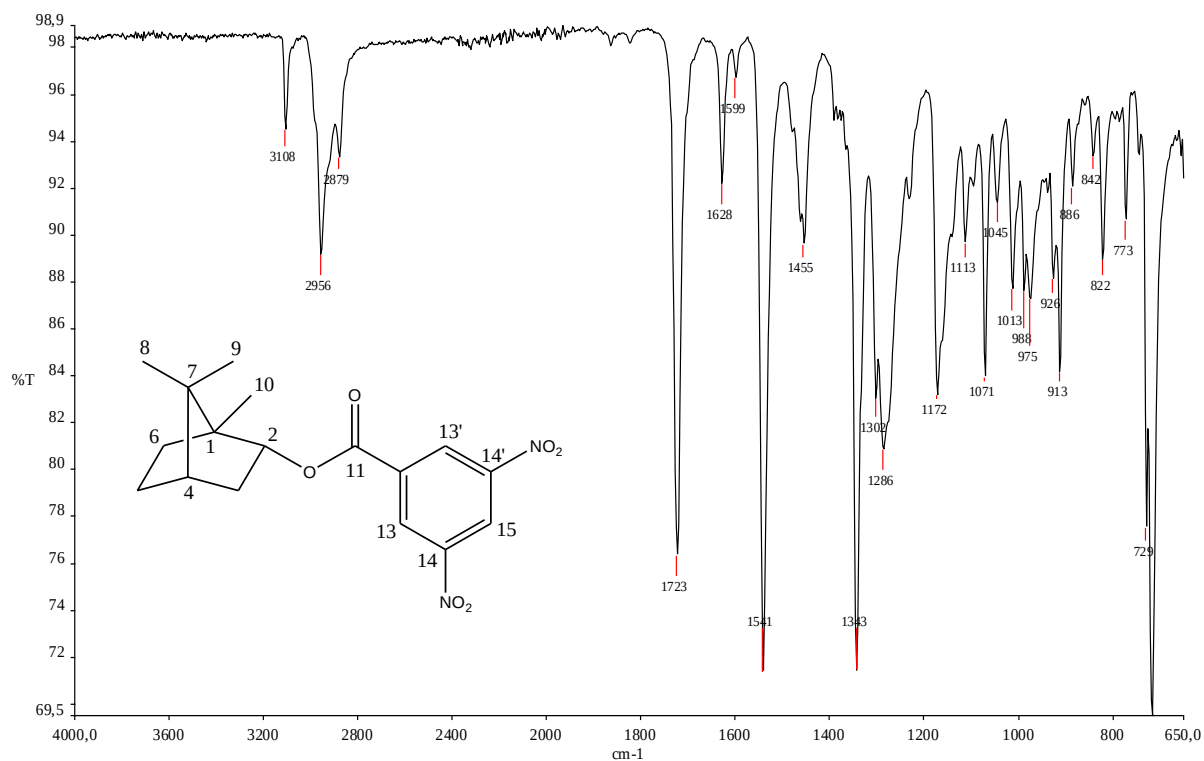


Figura 98: Espectro na região do IV do éster **16** (ATR).

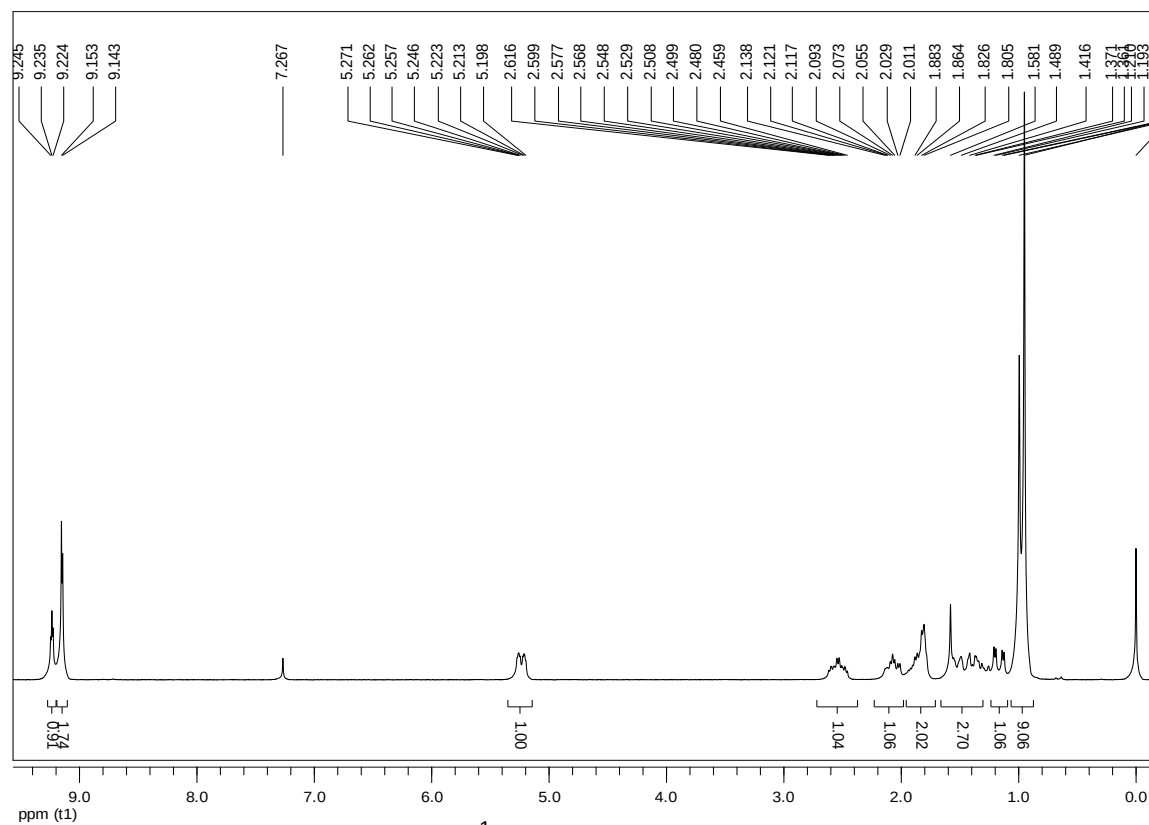


Figura 99: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **16** em CDCl_3 .

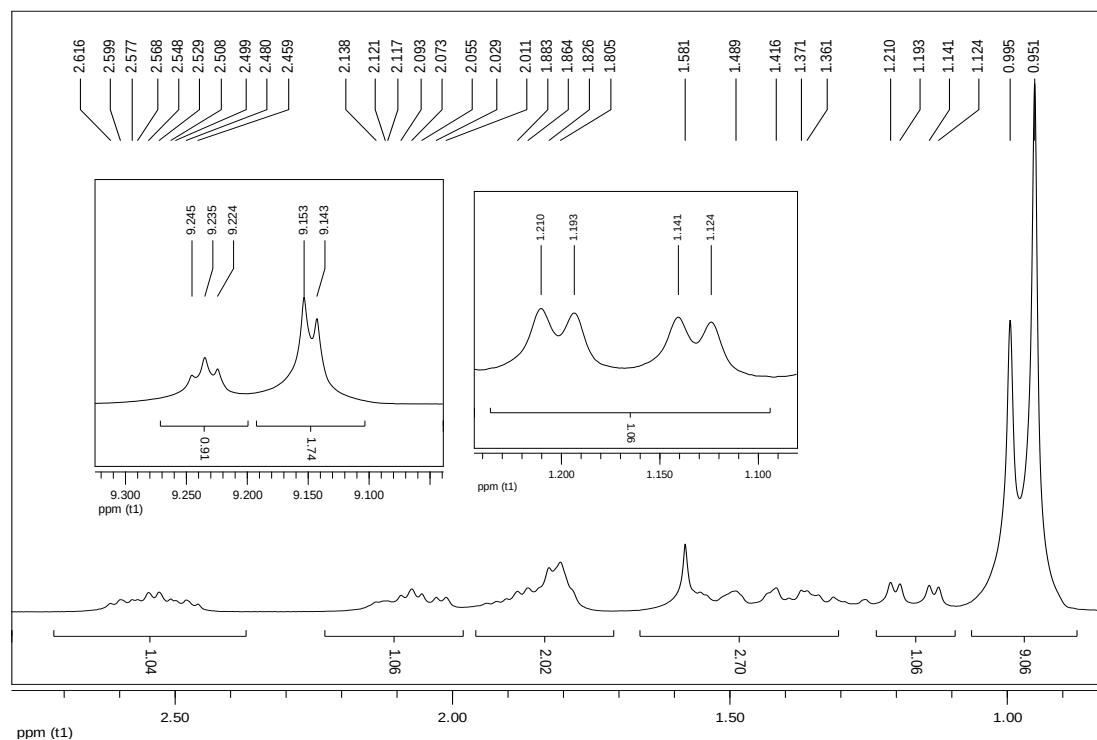


Figura 100: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **16** em CDCl_3 .

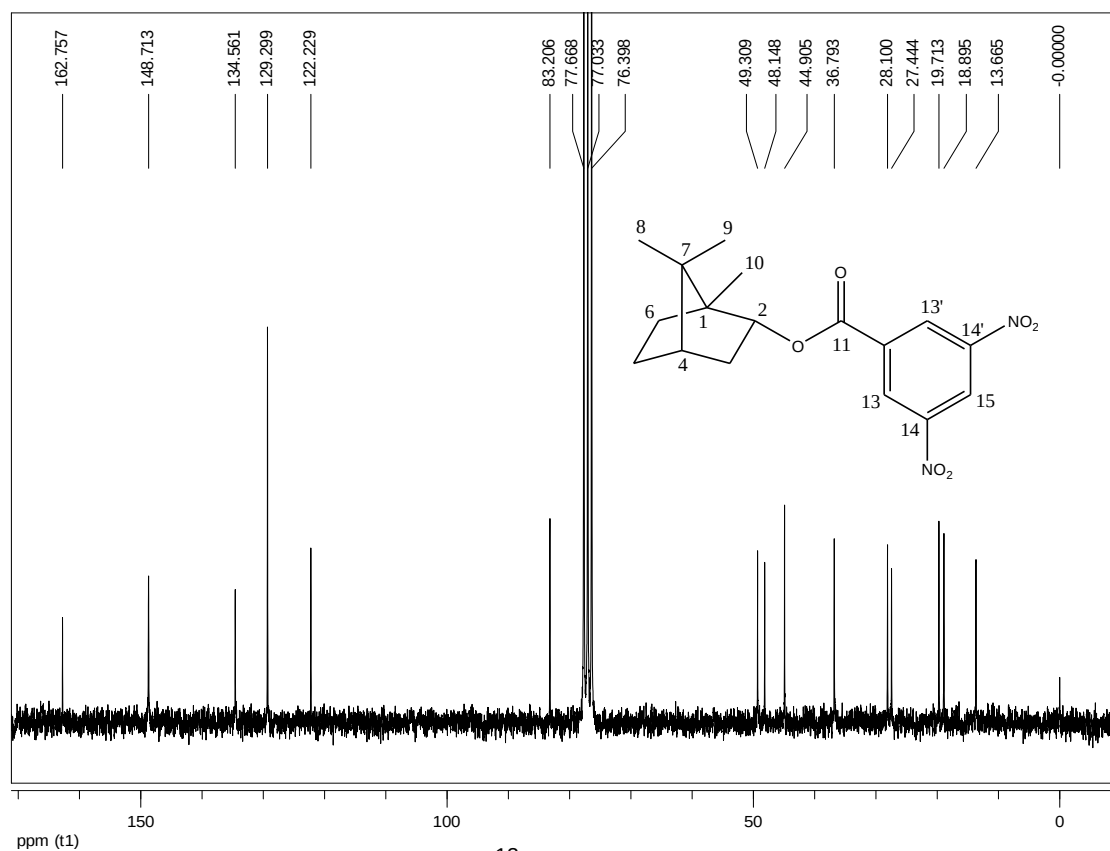


Figura 101: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **16** em CDCl_3 .

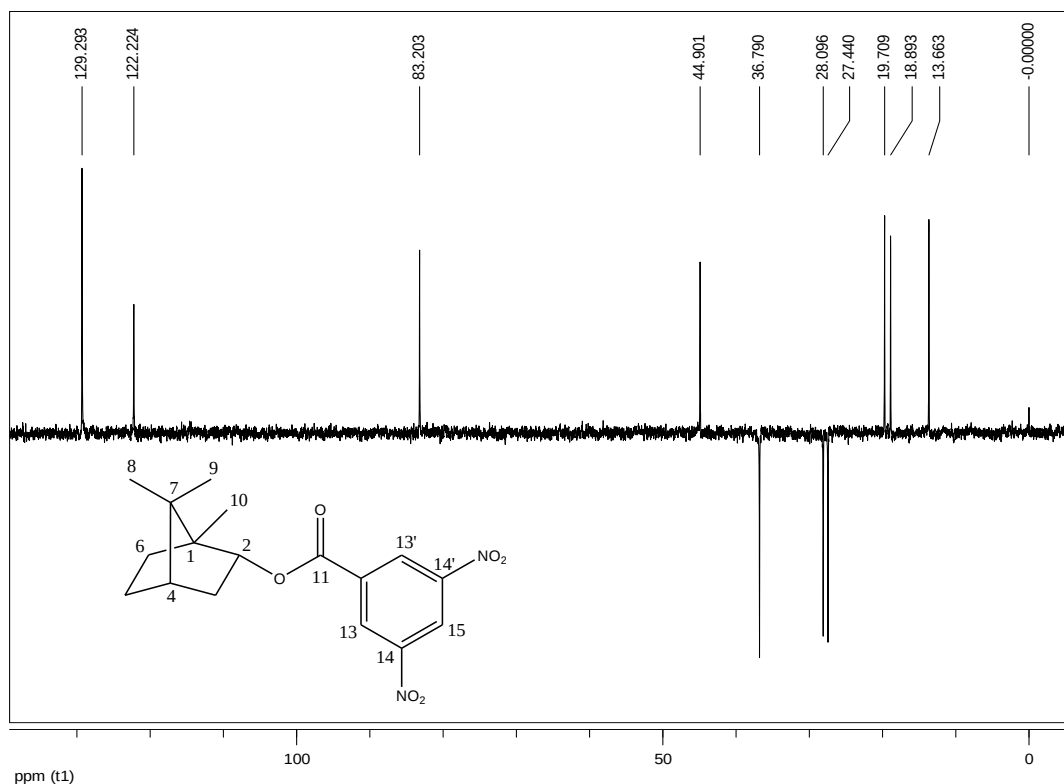


Figura 102: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **16** em CDCl_3 .

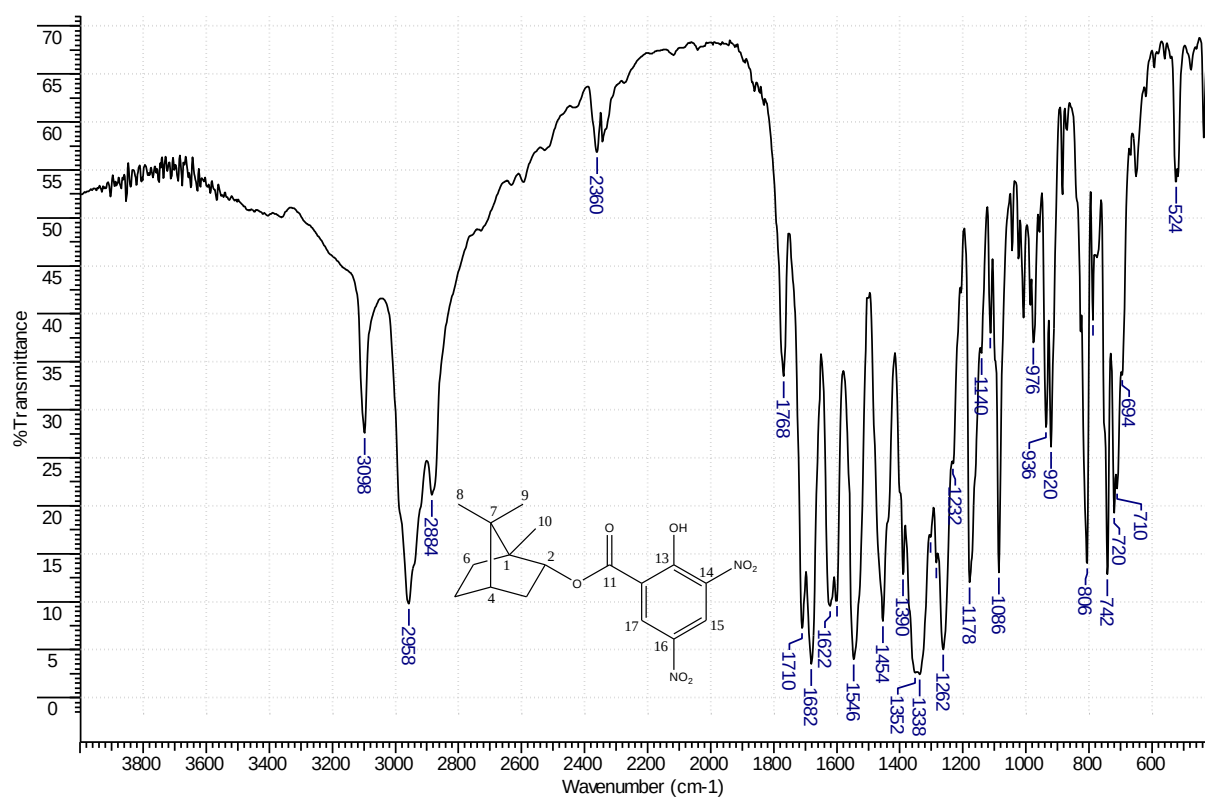


Figura 103: Espectro na região do IV do éster **17** (KBr).

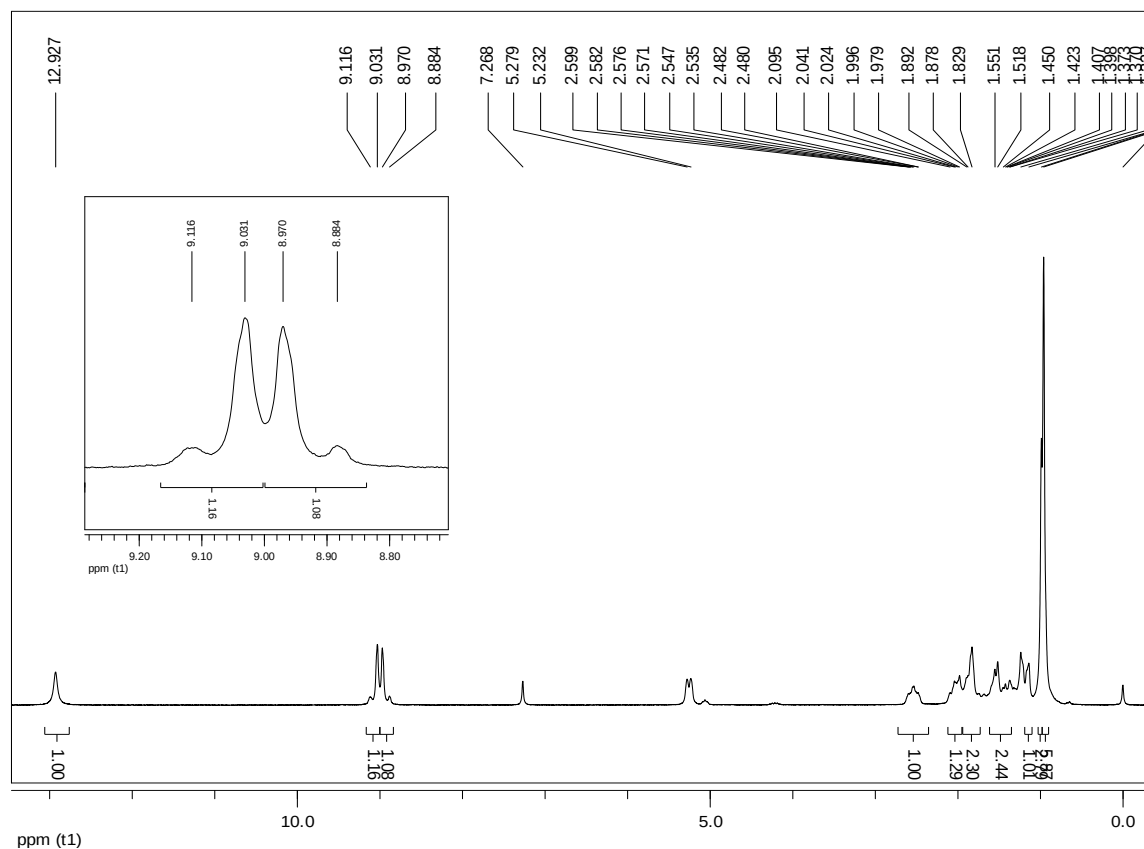


Figura 104: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) do éster **17** em CDCl₃.

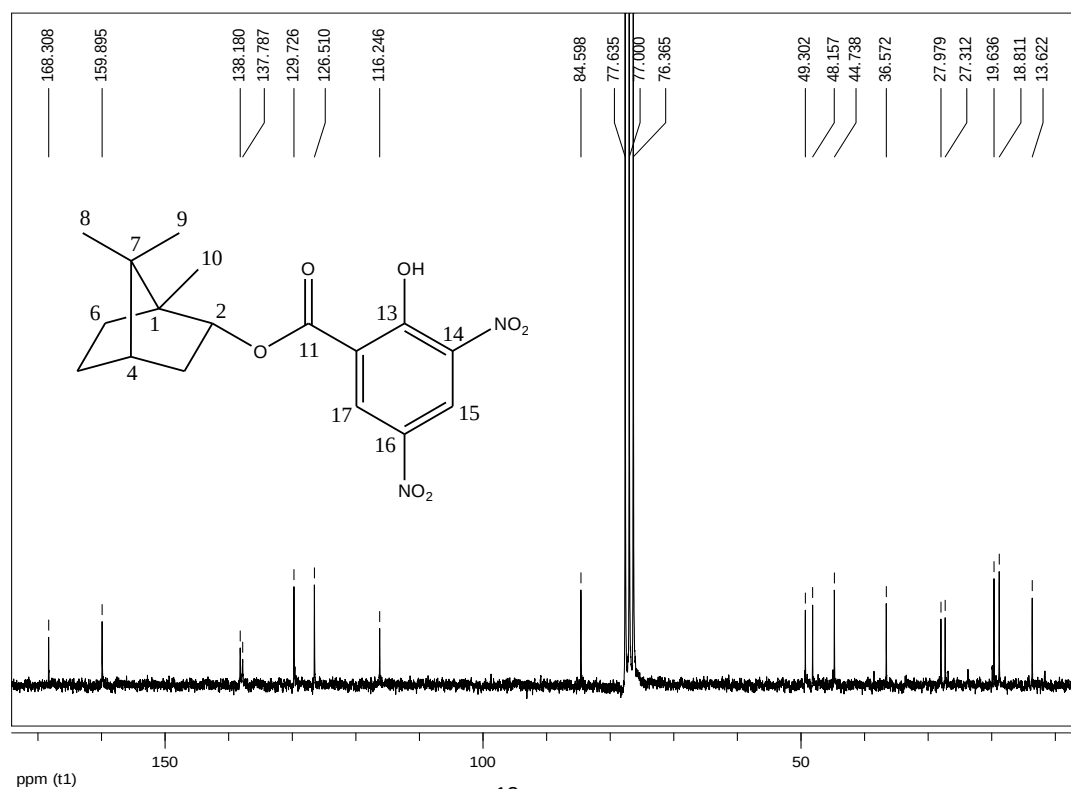


Figura 105: Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz) do éster **17** em CDCl₃.

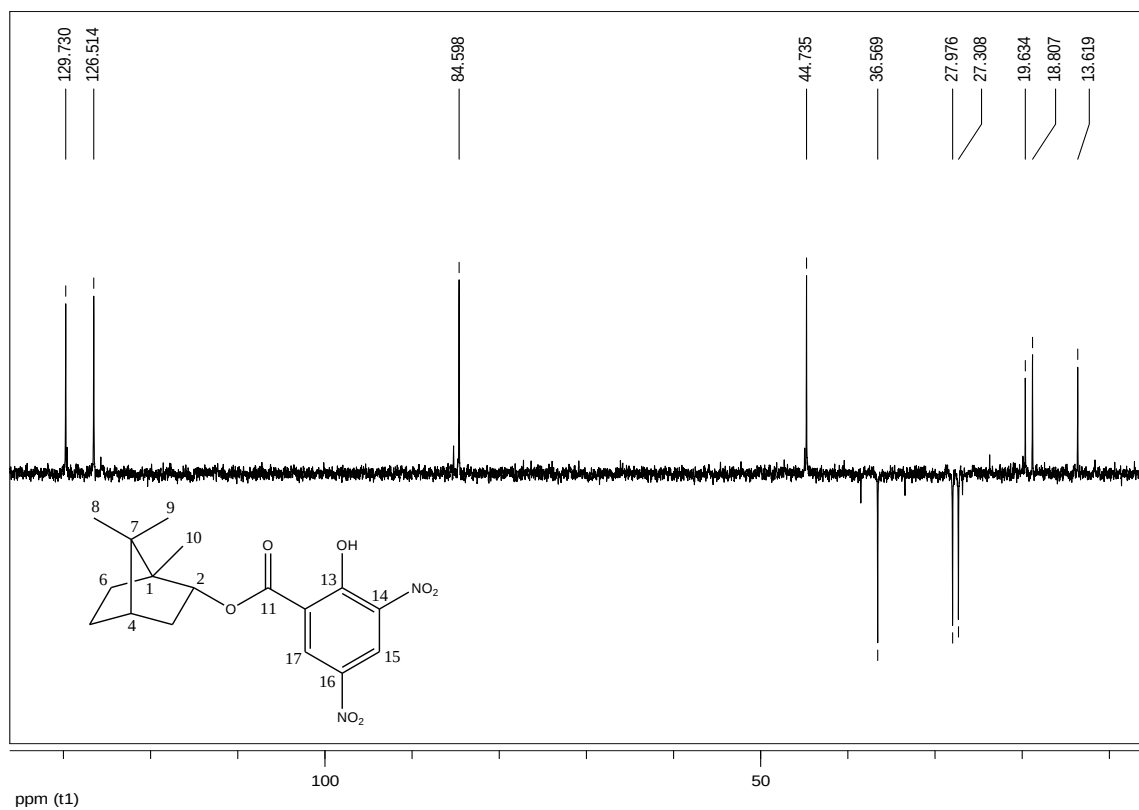


Figura 106: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **17** em CDCl_3 .

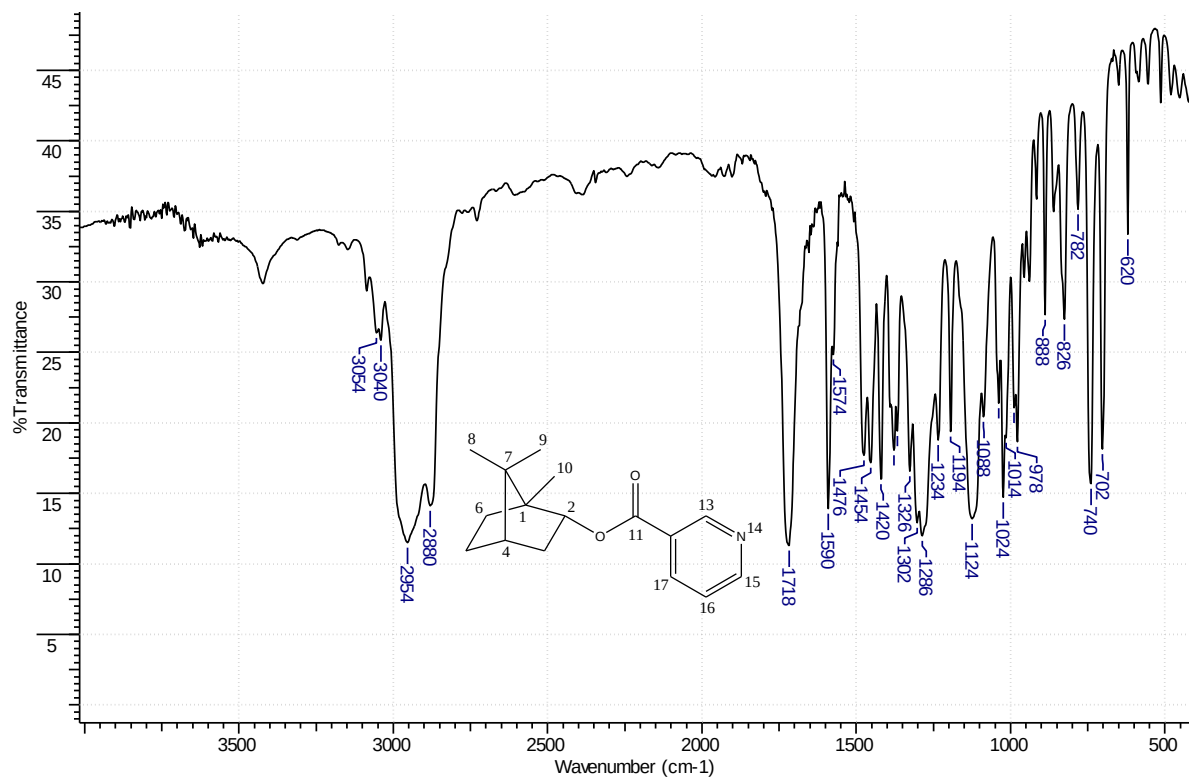


Figura 107: Espectro na região do IV do éster **18** (NaCl).

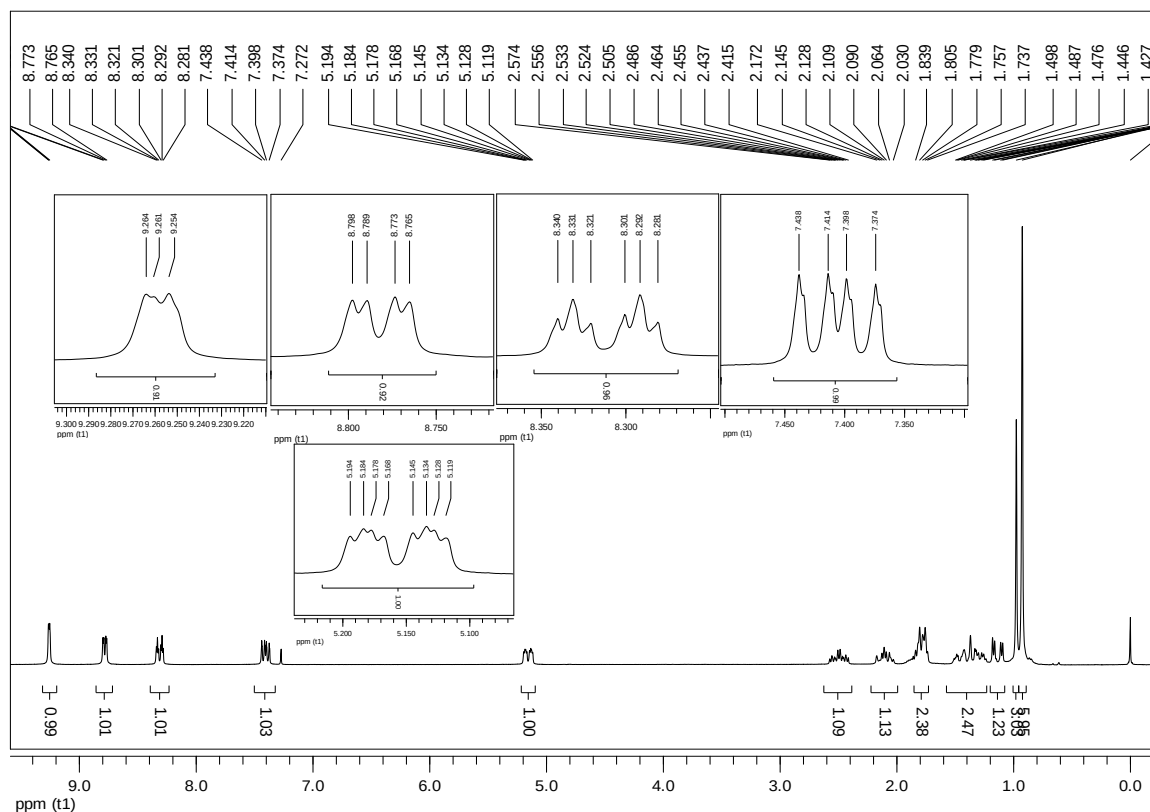


Figura 108: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **18** em CDCl_3 .

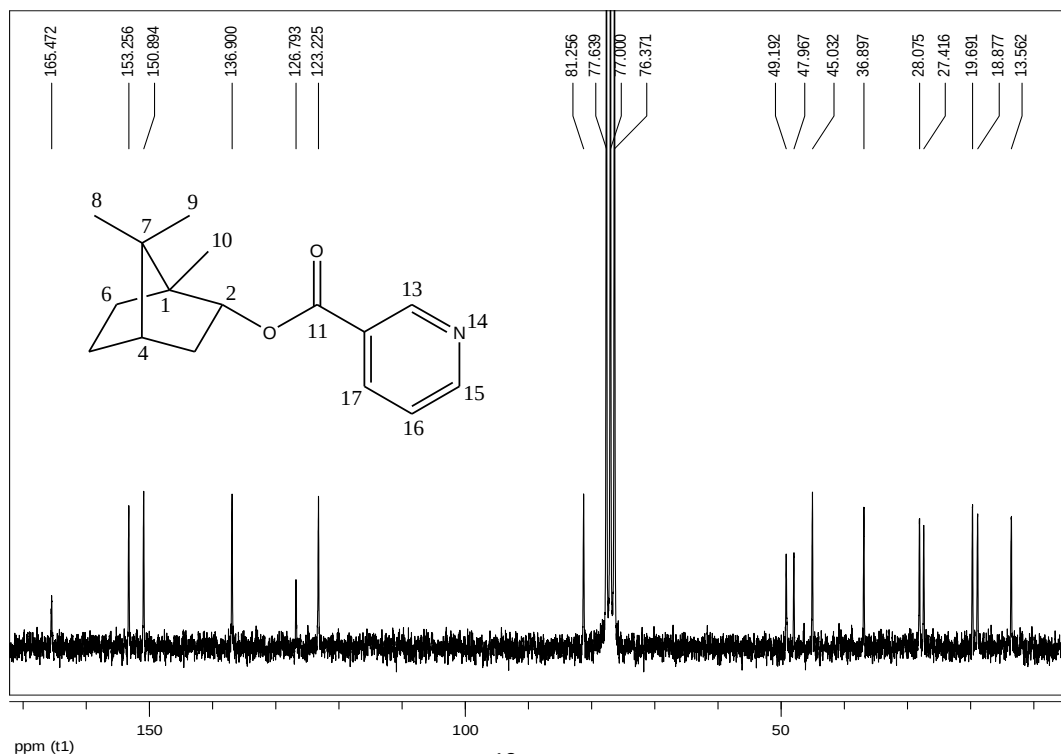


Figura 109: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **18** em CDCl_3 .

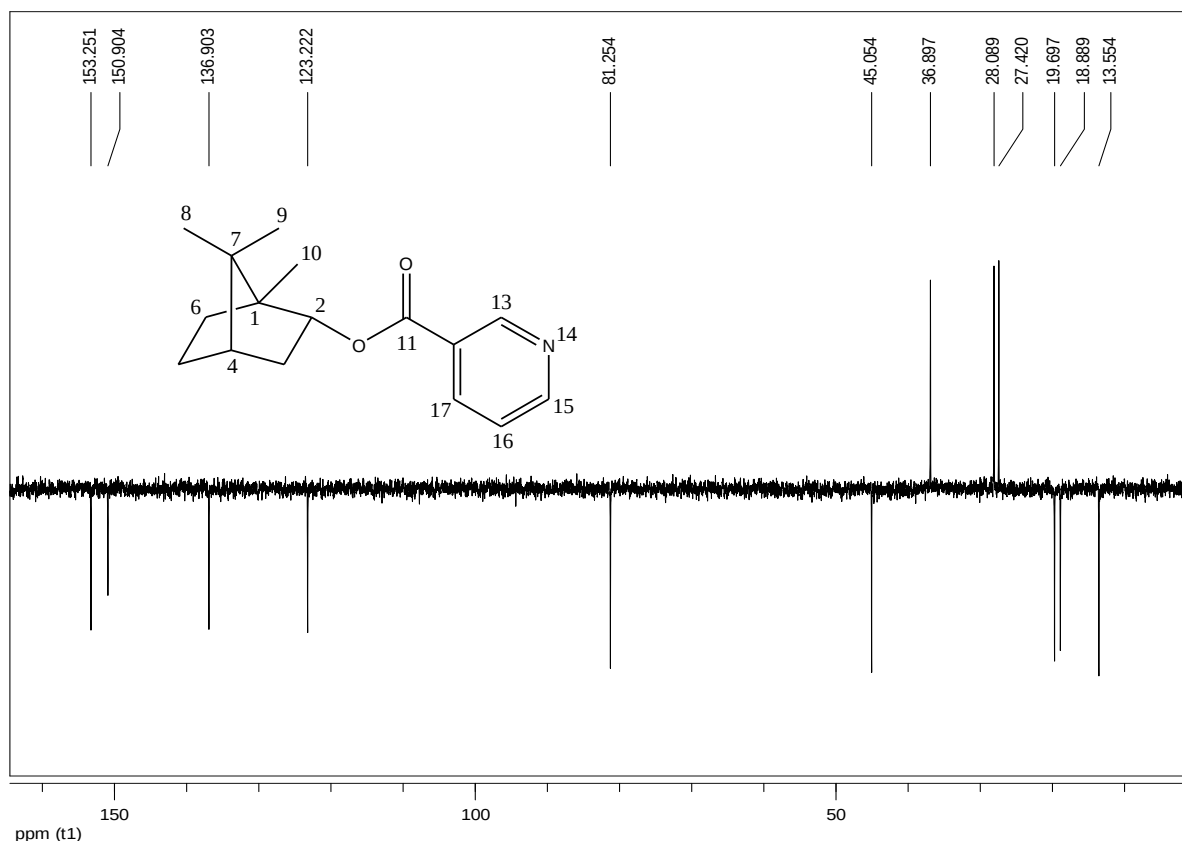


Figura 110: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **18** em CDCl₃.

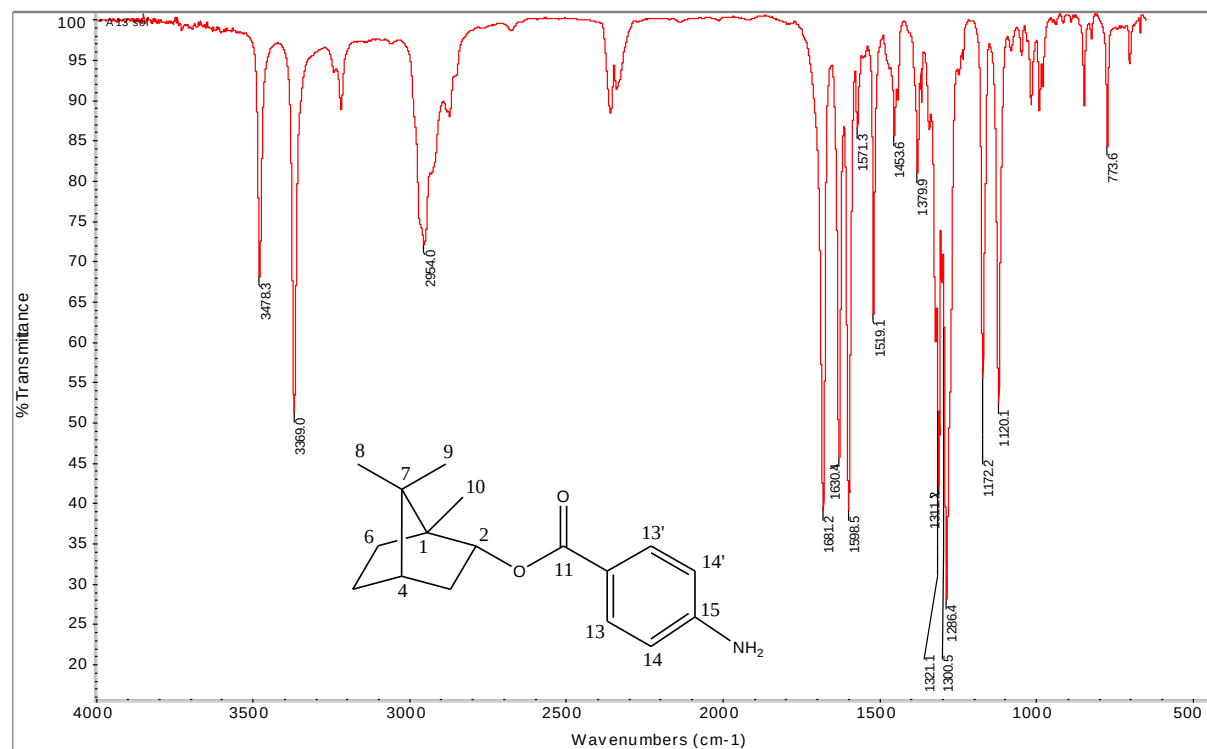


Figura 111: Espectro na região do IV do éster **19**.

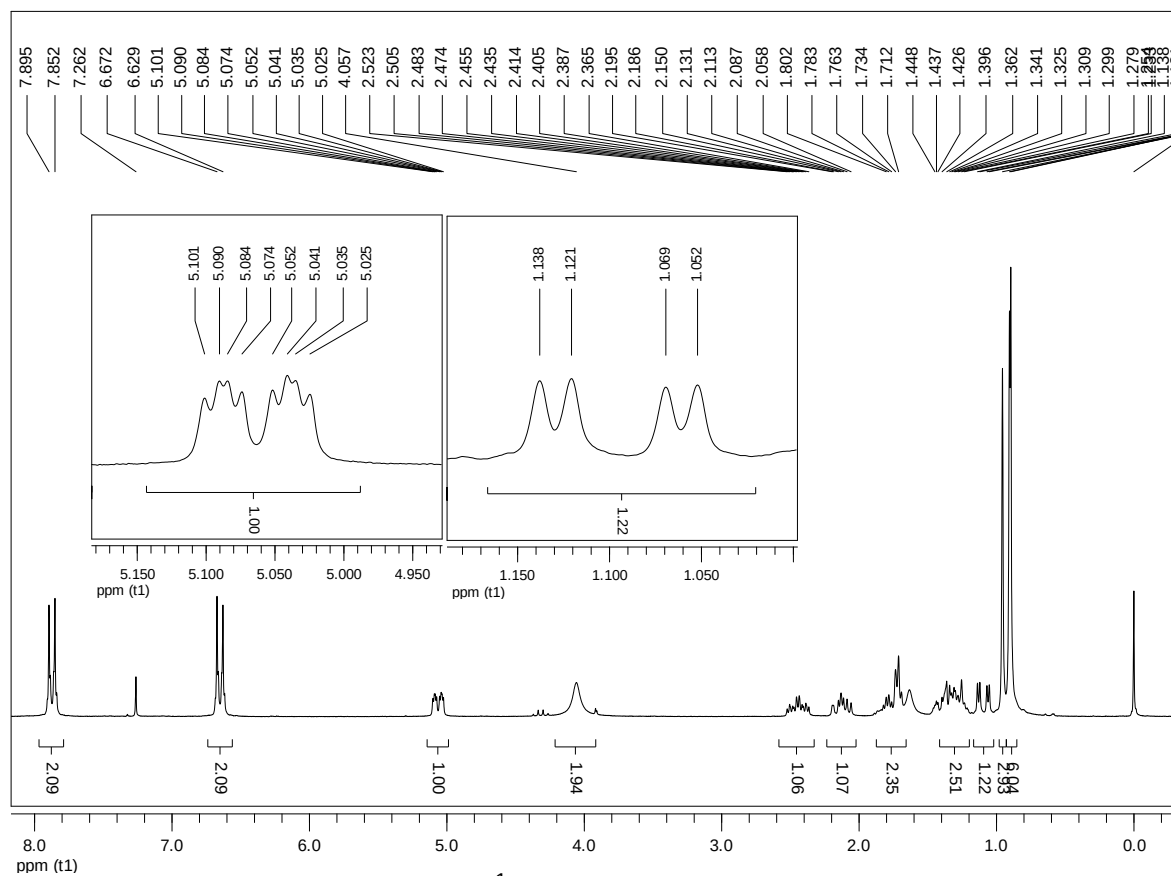


Figura 112: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **19** em CDCl_3 .

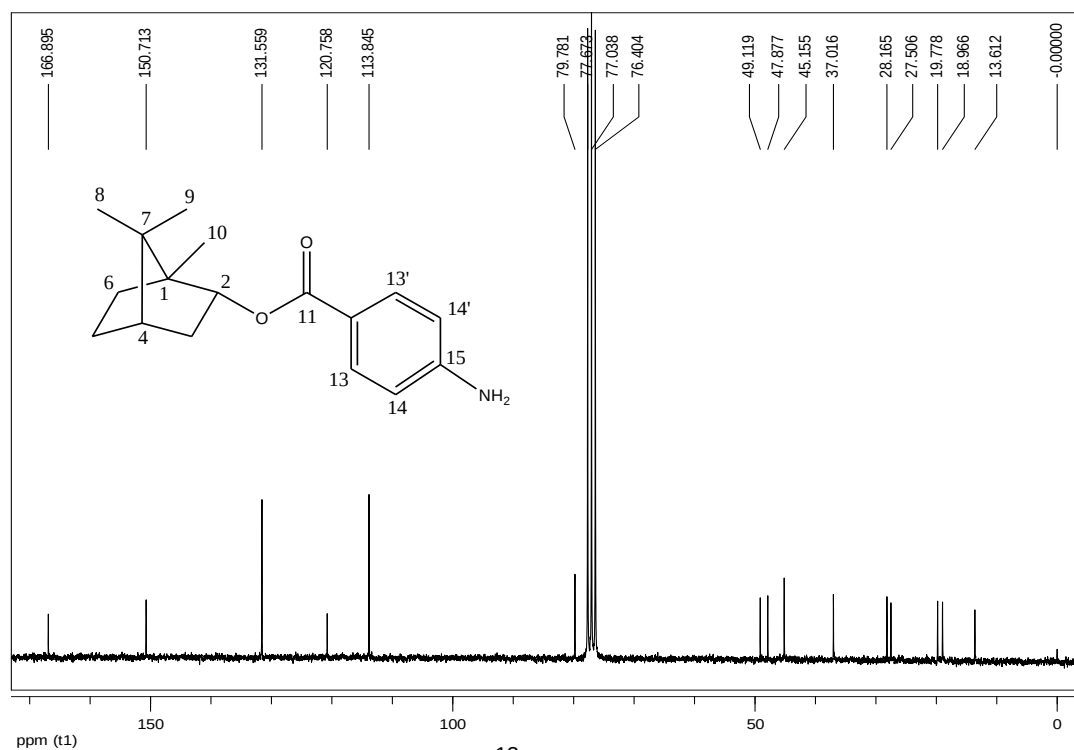


Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **19** em CDCl_3 .

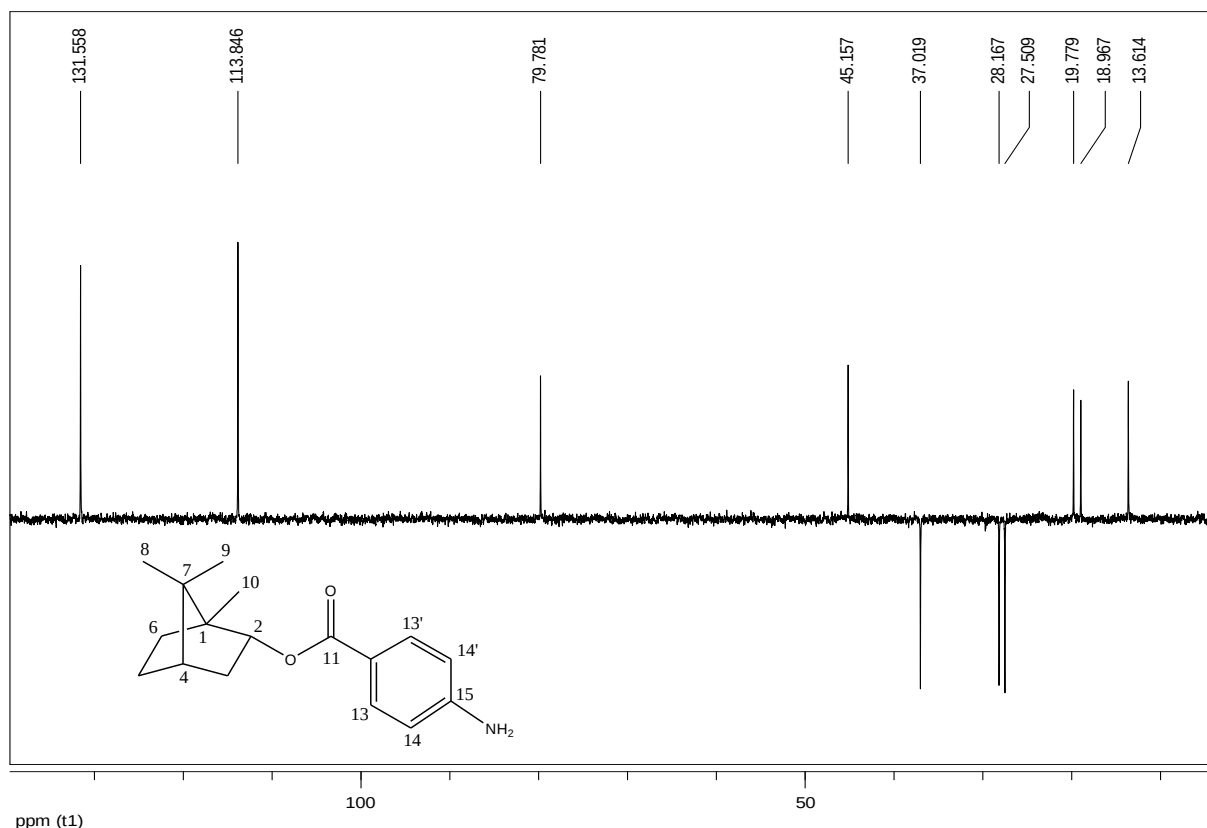


Figura 114: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **19** em CDCl₃.

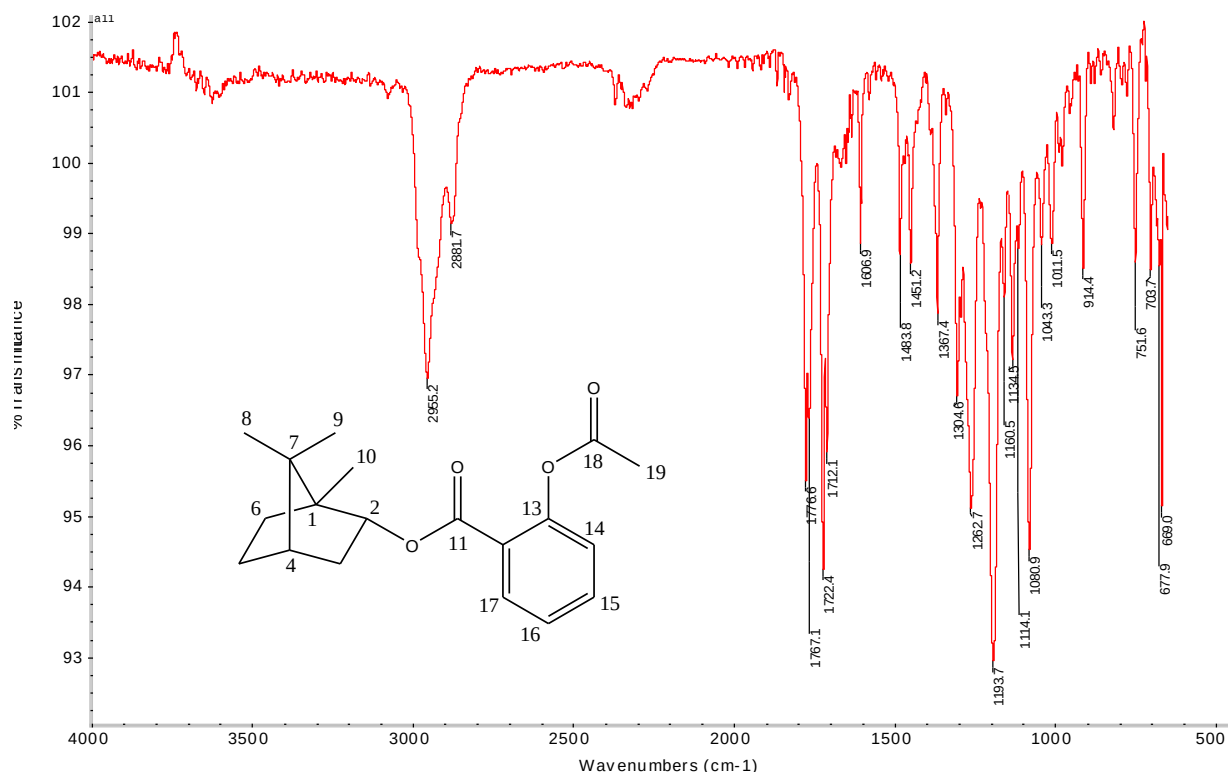


Figura 115: Espectro na região do IV do éster **20**.

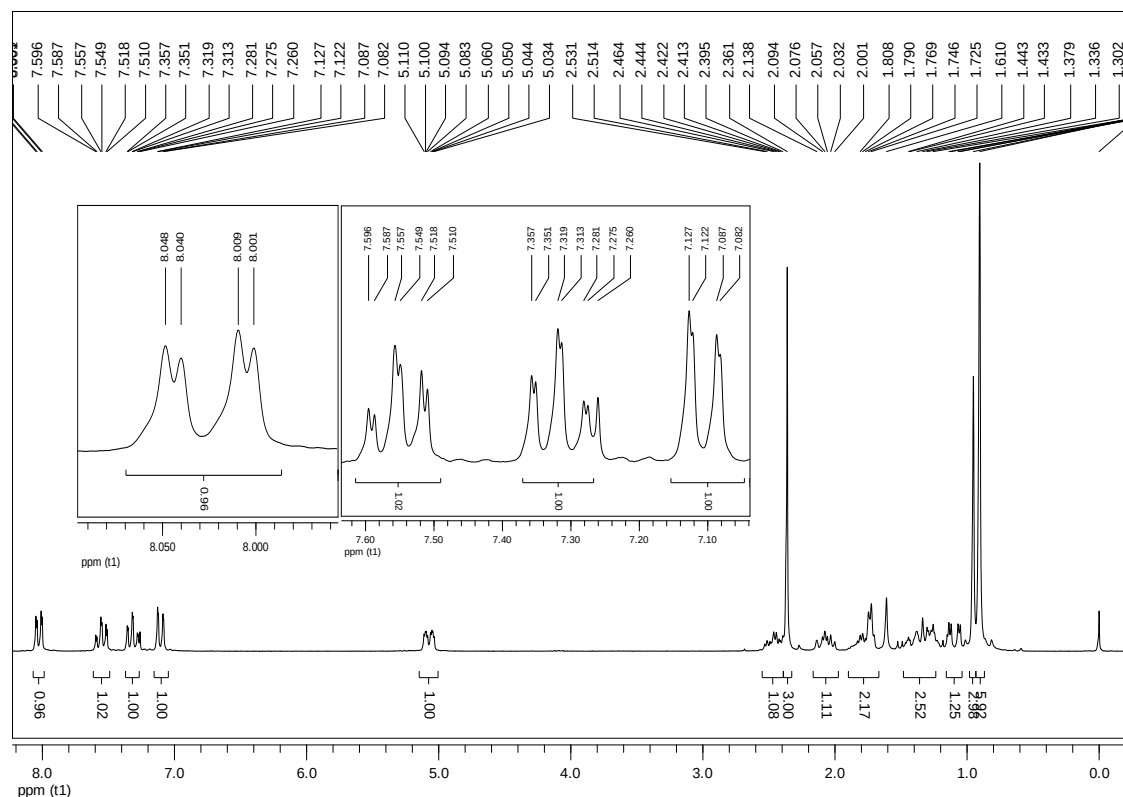


Figura 116: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do éster **20** em CDCl_3 .

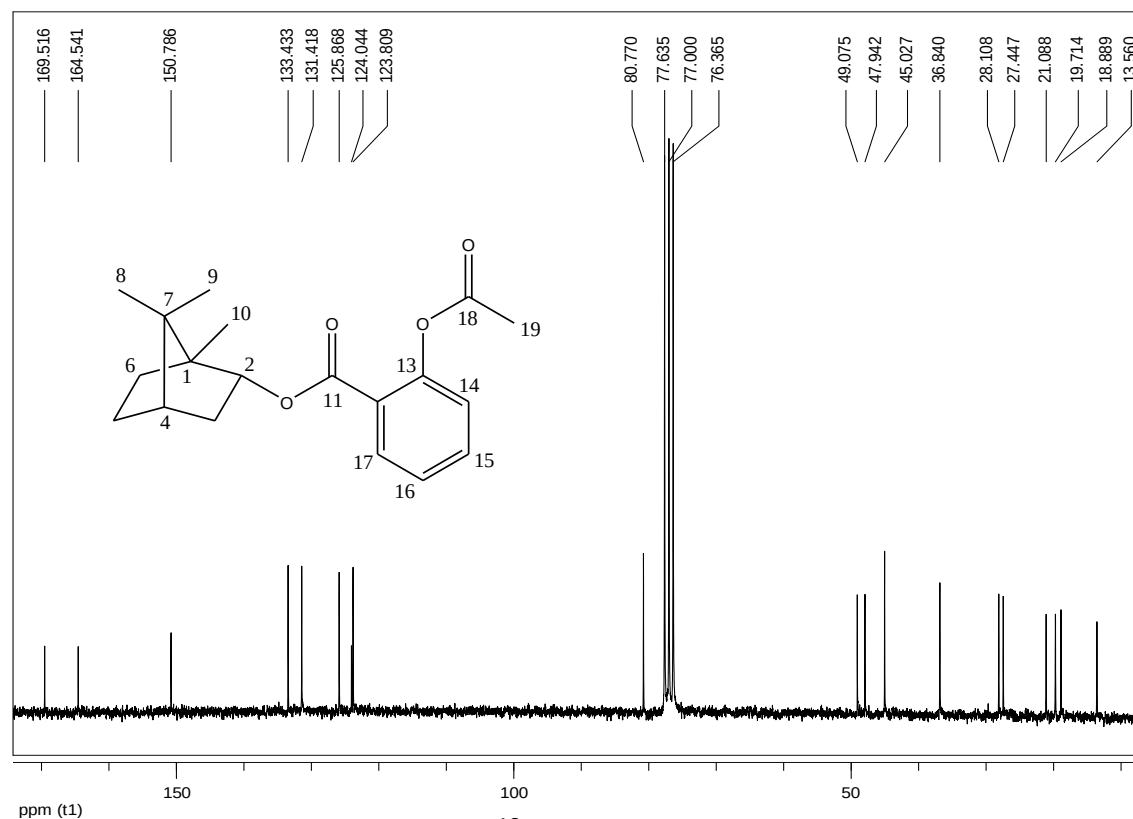


Figura 117: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do éster **20** em CDCl_3 .

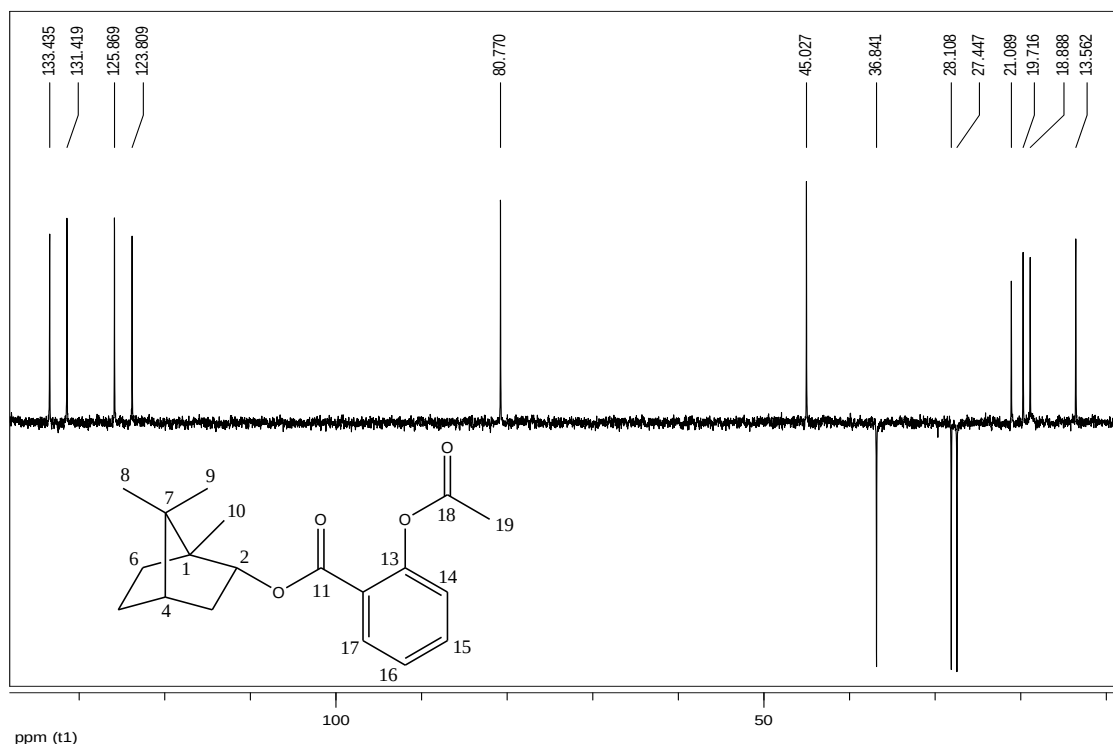


Figura 118: Subespectro DEPT135 (50 MHz) do éster **20** em CDCl_3 .