

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química

Ruth Pereira Paulino

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS
ACEPTORES DE MICHAEL: dipeptídeos miméticos, 3,5-
bis(arilideno)piperid-4-onas e síntese inédita das pubesamidas A e B**

Belo Horizonte

2024

UFMG/ICEX/DQ. 1.622

T. 739

Ruth Pereira Paulino

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS ACEPTORES DE
MICHAEL: dipeptídeos miméticos, 3,5-bis(arilideno)piperid-4-onas e síntese
inérita das pubesamidas A e B**

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

Orientadora: Prof^a Dr^a Rossimiriam Pereira de Freitas

Coorientadora: Prof^a Dr^a Rosemeire Brondi Alves

Esta é uma versão corrigida da tese

Belo Horizonte

2024

Ficha Catalográfica

P328d
2024
T

Paulino, Ruth Pereira.
Desenvolvimento e avaliação biológica de novos aceptores de Michael
[manuscrito]: dipeptídeos miméticos, 3,5-bis(arilideno)piperid-4-onas e síntese inédita
das pubesamidas A e B / Ruth Pereira Paulino. 2024.
243 f. : il., gráfs., tabs.

Orientadora: Rossimiriam Pereira de Freitas.
Coorientadora: Rosemeire Brondi Alves.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de
Química.
Inclui bibliografia.
Apêndices: f. 155-243.

1. Química orgânica – Teses. 2. Peptídios – Teses. 3. Agentes antineoplásicos –
Teses. 4. Testes biológicos – Teses. 5. Infecções por coronavírus – Teses. 6. Produtos
naturais – Teses. 7. Ressonância magnética nuclear – Teses. 8. Agentes antivirais –
Teses. I. Freitas, Rossimiriam Pereira de, Orientadora. II. Alves, Rosemeire Brondi,
Coorientadora. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



"Desenvolvimento e Avaliação Biológica de Novos Aceptores de Michael: Dipeptídeos Miméticos, 3,5-BIS(arilideno)piperid-4-onas e Síntese Inédita das Pubesamidas A e B"

Ruth Pereira Paulino

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Rossimiriam Pereira de Freitas - Orientadora
UFMG

Profa. Vanessa do Nascimento
UFF

Profa. Adriana Akemi Okuma
CEFET-MG

Prof. Ângelo de Fátima
UFMG

Profa. Grasiely Faria de Sousa
UFMG

Belo Horizonte, 30 de agosto de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Adriana Akemi Okuma, Usuário Externo**, em 31/08/2024, às 20:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rossimiriam Pereira de Freitas, Professora do Magistério Superior**, em 02/09/2024, às 08:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa do Nascimento, Usuária Externa**, em 02/09/2024, às 10:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Grasiely Faria de Sousa, Professora do Magistério Superior**, em 02/09/2024, às 11:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Angelo de Fatima, Professor do Magistério Superior**, em 02/09/2024, às 15:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3508730** e o código CRC **2EC2FEBE**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha mãe, Luizabet Inácio Pereira Paulino, por sempre me incentivar a buscar conhecimento, seja científico, literário ou musical.

Agradeço à minha família, meu pai Eliézer Paulino e minha irmã Pâmela Pereira Paulino, pelo carinho, amor e apoio incondicional em todas as etapas da minha vida, que me permitiram ser a pessoa que sou hoje.

À minha orientadora, Prof^a Rossimiriam Pereira de Freitas, que abriu as portas do LabSinto para mim em 2018. Além de sua orientação acadêmica, sou grata por sua generosidade, compreensão e incentivo constantes. A confiança que depositou em mim ao longo desta jornada foi um fator crucial para minha motivação e determinação.

À minha coorientadora, Prof^a Rosemeire Brondi Alves, pelos ensinamentos e bons conselhos compartilhados comigo desde o início da minha jornada na UFMG.

À Prof^a Adriana Akemi Okuma e à todos os professores do CEFET-MG, por acreditarem no meu potencial e por me inspirarem a seguir a carreira acadêmica desde o início da graduação, em 2011.

Ao Prof. Jonathan Sperry e aos membros do Sperry's group, em especial ao aluno Tyler, na Universidade de Auckland, na Nova Zelândia, que me receberam tão amistosamente durante minha jornada de 10 meses na Terra Média e permitiram a realização de um sonho.

À Prof^a Heveline Silva, pela colaboração nos ensaios biológicos e por me receber de braços abertos em seu laboratório e projetos.

Aos amigos da UFMG da química orgânica que fiz durante minha jornada que começou no mestrado: Ana Carolina, Maria Caroline, Talita, Fernanda, Lucas, Wallace, Gabi, Natália, Dionathas, Daiane, Alix, Nara, Luciana, Karen, Mariana, Rafael, Manaus. E aos da química inorgânica também: Ana Luiza, Alexandre, Carol, Marininha, Thaiz, Alice, Toninho, Katherine, Lara, Patrícia, Gustavo.

Aos meus eternos amigos do CEFET-MG, que eu tenho o prazer e a alegria de conhecer desde 2011: Alana, Bárbara Rios, Peluzo, Letícia, Orsilane, Rachel e Thalles.

Às amigas que sempre carrego no meu coração, desde antes sonhar em ser química: Bárbara Caroline e Mia Liberata.

Ao João, pela amizade maravilhosa que construímos no intercâmbio e que tornou meus dias mais leves, animados e felizes.

Ao meu amigo Mateus, por sempre me ajudar com conselhos em momentos difíceis, por ser uma fonte garantida de risadas sinceras e por ainda me fazer acreditar nos espécimes do gênero masculino.

À minha mais que amiga, Nathany Vieira, *my person*, minha terapeuta, *my sunshine in a cloudy day*. Obrigada pelos anos de amizade, por ouvir minhas lamúrias, por não me julgar e sempre me escutar. Te amo mais do que sou capaz de exprimir em palavras.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química da UFMG.

Ao CNPq pelas bolsas concedidas e à CAPES pela bolsa CAPES-PrInt

Muito obrigada a todos!!!

RESUMO

Aceptores de Michael são compostos que apresentam diversas atividades biológicas descritas na literatura, tais como anticâncer, antimalárica, leishmanicida, antiviral e anti-Alzheimer. Essa classe também é conhecida pela sua capacidade de realizar uma ligação covalente com a cisteína, o que a torna capaz de realizar a inibição de certas proteínas contendo esse aminoácido. Dessa forma, o presente trabalho descreve no primeiro capítulo o planejamento e a síntese de 15 novos dipeptídeos miméticos derivados do ácido cinâmico (**24a-o**, série 1), um clássico aceptor de Michael de origem natural, com rendimentos globais entre 19-44%. Também foram sintetizados nove compostos do tipo 3,5-bis(arilideno)piperidin-4-ona (**25a-i**, série 2), contendo um anel 1,2,3-triazólico e obtidos com rendimentos globais entre 15-50%. Três compostos da série 1 (**24a**, **24e** e **24o**) foram testados contra o vírus SARS-CoV-2 e 15 compostos da série 1 (**24a-o**) foram testados contra células cancerígenas de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB-231). Dos compostos testados nenhum apresentou atividade significativa frente às células infectadas pelo vírus SARS-CoV-2. Dentre os avaliados contra as células cancerígenas, o aceptor de Michael **24f** foi o que apresentou maior valor de citotoxicidade frente à célula MDA-MB-231 ($IC_{50} = 2,5 \mu M$) e com alto índice de seletividade (7,9). No segundo capítulo é apresentada a síntese inédita de dois aceptores de Michael de origem natural: as pubesamidas A e B, compostos do tipo *N*-benzoiltiramida isolados da *Casimiroa pubescens*, uma árvore frutífera tropical com propriedades psicotrópicas conhecidas. Os produtos naturais foram sintetizados por uma rota cuja etapa chave foi uma reação de metátese cruzada, entre um alceno 1,1-dissubstituído e uma dienona, na presença do catalisador Hoveyda-Grubbs de segunda geração, sendo os isômeros obtidos com rendimento global de 12%. Neste estudo foi realizada também a confirmação estrutural de ambos os produtos naturais por meio de técnicas espectroscópicas de RMN de 1H e de ^{13}C .

Palavras-chave: compostos α,β -insaturados; derivados ácido cinâmico; MDA-MB-231; MCF-7; anel 1,2,3-triazólico; pubesamidas A e B.

ABSTRACT

Michael acceptors are compounds that exhibit various biological activities described in the literature, such as anticancer, antimalarial, leishmanicidal, antiviral, and anti-Alzheimer. This class is also known for its ability to form a covalent bond with cysteine, which enables the inhibition of certain proteins containing this amino acid. The first chapter of this work describes the design and synthesis of 15 new cinnamic acid-derived mimetic dipeptides (**24a-o**, serie 1), a classic naturally occurring Michael acceptor, with overall yields ranging from 19-44%. Additionally, nine 3,5-bis(arylidene)piperidin-4-one compounds (**25a-i**, serie 2), containing a 1,2,3-triazole ring, were synthesized with overall yields ranging from 15-50%. Three compounds from series 1 (**24a**, **24e**, and **24o**) were tested against the SARS-CoV-2 virus, and 15 compounds from series 1 (**24a-o**) were tested against breast cancer cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231). None of the compounds tested showed significant activity against SARS-CoV-2 infected cells. Among the compounds tested against cancer cells, the Michael acceptor **24f** exhibited the highest cytotoxicity against MDA-MB-231 cells ($IC_{50} = 2.5 \mu M$) and a high selectivity index (7.9). In the second chapter, the novel synthesis of two naturally occurring Michael acceptors is presented: pubesamides A and B, which are *N*-benzoyltyramide compounds isolated from *Casimiroa pubescens*, a tropical fruit tree known for its psychotropic properties. The natural products were synthesized through a route in which the key step was a cross-metathesis reaction between a 1,1-disubstituted alkene and a dienone, in the presence of the second-generation Hoveyda-Grubbs catalyst, giving both natural products on an overall yield of 12%. This study also involved the structural confirmation of both natural products using 1H and ^{13}C NMR spectroscopic techniques.

Keywords: α,β -unsaturated compounds; acid cinnamic derivatives; MDA-MB-231; MCF-7; 1,2,3-triazole ring; pubesamides A and B.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química dos fármacos anti-virais bictegravir, doltegravir, baloxavir marboxil e delavirdina	24
Figura 2. Exemplos de compostos de origem natural contendo um aceptor de Michael em sua estrutura	26
Figura 3. Estruturas químicas dos agentes de acoplamento DCC, EDC e HATU.....	31
Figura 4. Estrutura química do inibidor N3 da enzima M ^{pro}	34
Figura 5. Estruturas químicas dos aceptores de Michael cinanserin, 21 , 22 e 23 , inibidores da M ^{pro}	34
Figura 6. Estrutura geral dos dipeptídeos miméticos 24a-o planejados no trabalho.....	35
Figura 7. Estrutura geral das 3,5-bis(arilideno)piperidin-4-ona (25a-i) planejadas neste trabalho	36
Figura 8. Estruturas químicas das amidas desprotegidas 27a-e com seus respectivos rendimentos	42
Figura 9. Espectro de RMN de ¹ H do composto 27a (CDCl ₃ , 400 MHz)	43
Figura 10. (a)Espectro de RMN de ¹³ C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 23a (CDCl ₃ , 100 MHz).....	44
Figura 11. Espectro na região do IV (KBr) do composto 24a	46
Figura 12. Espectro de RMN de ¹ H do composto 24a (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz).....	48
Figura 13. Mapa de contornos COSY do composto 24a (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz)	49
Figura 14. (a)Espectro de RMN de ¹³ C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 24a (DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz)	50
Figura 15. Mapa de contornos HSQC do composto 24a (DMSO- <i>d</i> ₆).....	50
Figura 16. Mapa de contornos HMBC do composto 24a (DMSO- <i>d</i> ₆).....	51
Figura 17. Expansão do mapa de contornos HMBC, na região dos aromáticos, do composto 24a (DMSO- <i>d</i> ₆)	52
Figura 18. Espectro de IV do composto 32b	58
Figura 19. Espectro de ¹ H do composto 32b (400 MHz, CDCl ₃).....	59
Figura 20. (a) Espectro de RMN de ¹³ C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 32b (100 MHz, CDCl ₃)	60
Figura 21. Ampliação do espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃).....	61
Figura 22. Espectro na região do IV do composto 25f	66
Figura 23. Espectro de ¹ H do composto 25f (400 MHz, CDCl ₃).....	67
Figura 24. Mapa de contornos COSY do composto 25f (CDCl ₃ , 400 MHz)	68
Figura 25. Expansão do COSY do composto 25f	68
Figura 26. (a) Espectro de RMN de ¹³ C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 25f (100 MHz, CDCl ₃)	69
Figura 27. Expansão do (a) Espectro de RMN de ¹³ C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 25f (100 MHz, CDCl ₃)	70
Figura 28. Mapa de contornos HSQC do composto 25f (CDCl ₃).....	70

Figura 29. Expansão do mapa de contorno HSQC do composto 25f	71
Figura 30. Estruturas químicas dos compostos avaliados nos testes antivirais.....	72
Figura 31. Resultado do ensaio de citotoxicidade em células Vero CCL-81 após 24h	73
Figura 32. Resultado do ensaio de citotoxicidade em células Vero CCL-81 após 72h	73
Figura 33. Resultados dos testes de ensaio de citotoxicidade em células L929 após 48 horas.....	74
Figura 34. Resultados do ensaio antiviral preliminar anti-MHV-A59 em células L929 após 16 h	75
Figura 35. Resultados do ensaio antiviral dose-resposta anti-MHV-A59 em células L929 após 48 horas	76
Figura 36. Resultados do ensaio virucida para os compostos 24o , 24a e 24e	77
Figura 37. Ensaios realizados no vírus SARS-CoV-2 com os compostos 24o , 24a e 24e	77
Figura 38. Pubesamidas A-C extraídas das sementes da <i>Casimiroa pubescens</i>	111
Figura 39. Estrutura química do catalisador de Schrock	115
Figura 40. Estrutura química dos principais catalisadores de Grubbs	116
Figura 41. Guia para reatividade e seletividade para os tipos de olefinas apresentados na Tabela 21.....	118
Figura 42. Espectro de RMN de ^1H do composto 27 (DMSO- d_6 , 400 MHz).....	126
Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 27 (DMSO- d_6 , 100 MHz)	126
Figura 44. Espectro na região de infravermelho (ATR) do composto 20	130
Figura 45. Espectro de RMN de ^1H do composto 20 (CDCl $_3$, 400 MHz).....	131
Figura 46. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 20 (CDCl $_3$, 100 MHz).....	131
Figura 47. Espectro na região do IV (ATR) da pubesamida A.....	142
Figura 48. Espectro na região do IV (ATR) da pubesamida B.....	142
Figura 49. Espectro de RMN de ^1H da pubesamida A (CDCl $_3$, 400 MHz).....	143
Figura 50. Espectro de RMN de ^{13}C da pubesamida A (CDCl $_3$, 100 MHz)	144
Figura 51. Espectro de RMN de ^1H da pubesamida B (CDCl $_3$, 400 MHz).....	145
Figura 52. Espectro de RMN de ^{13}C da pubesamida B (CDCl $_3$, 100 MHz)	145

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Estudos iniciais desenvolvidos por Arthur Michael em 1887 e 1894.....	20
Esquema 2. Adição de Michael do tipo 1,4 e 1,2 frente à nucleófilos duros e macios	21
Esquema 3. (a) Mecanismo de reação entre o ibrutinib e o resíduo de cisteína 481 da proteína BTK; (b) Estruturas químicas dos fármacos neratinibe, osimertinibe e afatinibe	23
Esquema 4. Sínteses para obtenção dos compostos α,β -insaturados (a) acroleína, (b) crotonaldeído e (c) cinamaldeído	28
Esquema 5. Exemplos de reações para obtenção de aceptores de Michael.....	29
Esquema 6. Exemplos de reações para obtenção de aceptores de Michael seletivos com atividade biológica	31
Esquema 7. Retrossíntese proposta para os novos aceptores de Michael (24a-o).....	37
Esquema 8. Síntese dos compostos 27a-e	38
Esquema 9. Proposta mecanística para obtenção de amidas a partir de ácidos carboxílicos, utilizando reagentes de acoplamento do tipo carbodiimidas e DMAP como catalisador	40
Esquema 10. Mecanismo de desproteção do grupo Fmoc na presença de piperidina	41
Esquema 11. Síntese dos aceptores de Michael 24a-o e suas respectivas estruturas químicas e rendimentos.....	45
Esquema 12. Análise retrossintética para a obtenção dos novos aceptores de Michael da série 2 (25a-i).....	53
Esquema 13. Reação de <i>N</i> -alquilação do cloridrato de 4-piperidona mono-hidratado e brometo de propargila	54
Esquema 14. Rota geral de síntese realizada para obtenção das azidas benzílicas 34a-c	55
Esquema 15. Reação utilizada para a obtenção dos compostos 32a-c	57
Esquema 16. Mecanismo proposto por Worrel e colaboradores para obtenção dos compostos triazólicos	58
Esquema 17. Reação de Claisen-Schmidt para a formação do composto 25f utilizando a metodologia de Dimmock (2001)	62
Esquema 18. Reação de Claisen-Schmidt para a formação do composto 25f utilizando a metodologia de Odinet (2010)	63
Esquema 19. Mecanismo de reação proposto para a formação dos compostos 25a-i utilizando BF ₃ como catalisador	64
Esquema 20. Estruturas químicas e rendimentos de síntese dos compostos 25a-i	65
Esquema 21. Principais constituintes das espécies <i>Casimiroa</i>	110
Esquema 22. Mecanismo proposto por Chauvin para a reação de metátese cruzada de olefinas.....	113
Esquema 23. Reações comuns na metátese de olefinas	114
Esquema 24. Reação de CM na última etapa de síntese do melitiazol C	119
Esquema 25. Reação de CM na síntese do faranal	120

Esquema 26. Reação de CM na síntese do coletol.....	121
Esquema 27. Reação de CM utilizada por Prunet (2011) na síntese do fragmento 16-30 da dolabelida C	122
Esquema 28. Análise retrossintética para a obtenção das pubesamidas A e B	124
Esquema 29. Síntese da amida 27 a partir do ácido benzóico e a tiramina na presença de EDC.....	125
Esquema 30. Síntese do mesilato 31	127
Esquema 31. Síntese do tosilato 26	128
Esquema 32. Síntese da olefina 20	129
Esquema 33. Síntese da dienona 21	132
Esquema 34. Mecanismo proposto para a formação da dienona 21	133
Esquema 35. Mecanismo proposto para a (i) formação das pubesamidas A e B e (ii) decomposição do catalisador de Grubbs II na presença de 21	137
Esquema 36. Caminho I (produtivo) e II (improdutivo) no equilíbrio de metátese	139
Esquema 37. Estereoquímica dos produtos formados	140
Esquema 38. Ilustração da placa de TLC da reação de metátese cruzada entre 20 e 21	141

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados do índice de seletividade dos compostos 24a , 24e e 24o	76
Tabela 2. Citotoxicidade expressa como IC ₅₀ (μM) e índice de seletividade (IS) dos compostos 24 a-o , obtida pelo ensaio de MTT com as linhagens celulares MCF7, MDA-MB-231 e MCF10A após 72 h.....	79
Tabela 3. Parâmetros ADME calculados para os compostos 24a-b , 24f-g , 24i , 24l e 24o	82
Tabela 4. Dados referentes aos compostos sintetizados 27a-c	89
Tabela 5. Dados referentes aos compostos sintetizados 27d-e	89
Tabela 6. Dados referentes aos compostos sintetizados 24a e 24b	91
Tabela 7. Dados referentes aos compostos sintetizados 24c e 24d	91
Tabela 8. Dados referentes ao composto sintetizado 24e	92
Tabela 9. Dados referentes aos compostos sintetizados 24f e 24g	92
Tabela 10. Dados referente ao composto sintetizados 24h	93
Tabela 11. Dados referentes aos composto sintetizados 24i e 24j	93
Tabela 12. Dados referente ao composto sintetizado 24k	94
Tabela 13. Dados referentes aos compostos sintetizados 24l e 24 m	94
Tabela 14. Dados referentes aos compostos sintetizados 24n e 24o	95
Tabela 15. Dados referentes aos compostos sintetizados 34a-c	96
Tabela 16. Dados referentes aos compostos sintetizados 32a-c	99
Tabela 17. Dados referentes aos compostos sintetizados 25a e 25b	100
Tabela 18. Dados referentes aos compostos sintetizados 25c e 25d	101
Tabela 19. Dados referentes aos compostos sintetizados 25e e 25f	101
Tabela 20. Dados referente ao composto sintetizado 25g	102
Tabela 21. Dados referentes aos compostos sintetizados 25h e 25i	102
Tabela 21. Tipos de olefinas para metátese cruzada seletiva	118
Tabela 22. Otimização da reação de eterificação	129
Tabela 24. Estudo de otimização da reação de metátese cruzada para a obtenção das pubesamidas A e B	135
Tabela 25. Comparação entre os dados de RMN de ¹ H e ¹³ C da literatura e experimentais obtidos para a confirmação estrutural das pubesamidas A e B	146

LISTA DE ABREVIATURAS, ACRONIMOS, SIGLAS E UNIDADES

α	Alfa
°C	Graus celsius
AcOEt	Acetato de etila
ADMET	do inglês <i>acyclic diene metathesis</i>
ADME	Absorção, distribuição, metabolismo e excreção
AscNa	Ascobarto de sódio
ATR	Reflectância total atenuada, do inglês <i>attenuated total reflection</i>
BTK	Proteína tirosina cinase de Bruton
CC ₅₀	A metade da concentração citotóxica máxima
CCD	Cromatografia em camada delgada
CM	do inglês <i>Cross-metathesis</i>
COSY	Espectroscopia de correlação homonuclear, do inglês <i>homonuclear correlation spectroscopy</i>
CuAAC	cicloadição 1,3-dipolar catalisada por cobre, do inglês <i>copper catalyzed azide-alkyne cycloadition</i>
d	duplete
dd	duplete duplo
DCC	<i>N, N</i> - dícicloexilcarbodi-imida
DCM	Diclorometano
DEPT 135	Intensificação sem distorção por transferência de polarização, do inglês <i>distortionless enhancement by polarization transfer 135</i>
DIC	<i>N-N</i> - di-isopropilcarbodi-imida
DMAP	<i>N,N</i> -dimetil-4-aminopiridina
DMF	<i>N, N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilssulfóxido
EC ₅₀	Concentração de eficiência
EDC	<i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N</i> -etilcarbodi-imida
ER	Receptor de estrogênio
FDA	do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
Fmoc	9-Fluorenilmetiloxycarbonila
H	hora
HATU	1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridínio-3-óxido

	hexafluorofosfato
Hep	hepteto
HER 2	do inglês <i>human epidermal growth factor 2</i>
HIV	do inglês <i>human immunodeficiency virus</i>
HMBC	Coerência heteronuclear através de múltiplas ligações; do inglês <i>heteronuclear multiple bond coherence</i>
HMQC	Correlação heteronuclear múltiplo quântica ; do inglês <i>heteronuclear multiple -quantum – correlation</i>
HOBt	1-hidroxi-benzotriazol
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia; do inglês <i>highest occupied molecular orbital</i>
HPLC	do inglês <i>high performance liquid chromatography</i>
HWE	Horner-Wadsworth-Emmons
Hz	Hertz
IC ₅₀	A metade da concentração inibitória máxima
IS	Índice de seletividade
IV	Espectroscopia na região do infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento (Hz)
LUMO	Orbital molecular ocupado de menor energia; do inglês <i>lowest occupied molecular orbital</i>
m	Multiplete
M	Multiplicidade
MCF-10 ^a	Linhagem de células epiteliais de mama
MCF-7	Linhagem de células de câncer de mama estrógeno-dependente
MDA-MB-231	Linhagem de células de câncer de mama com fenótipo triplo negativo
MERS-CoV	do inglês <i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
min	Minuto
mmol	milimol
M ^{pro}	Proteína principal; do inglês <i>Main protease</i>
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
n.a.	não se aplica
NHC	<i>N</i> -heterociclo de carbeno
OMS	Organização mundial de saúde
PCy ₃	Triciclohexilfosfina

PN	Produtos naturais
Ppm	partes por milhão
RCM	do inglês <i>ring-closing metathesis</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ROCM	do inglês <i>ring opening cross- metathesis</i>
ROMP	do inglês <i>ring-opening metathesis polymerization</i>
RP	receptor de progesterona
RPMI	Meio de cultura Roswell Park Memorial Institute
SARS-CoV	do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
SI	sinal largo
S _N 1	Substituição nucleofílica unimolecular
S _N 2	Substituição nucleofílica bimolecular
t	triplete
t.a.	temperatura ambiente
THF	tetraidrofurano
TMS	trimetilsilano
TNBC	fenótipo triplo negativo
B	Beta
Δ	deslocamento químico
μ M	micromolar

SUMÁRIO

Capítulo I - Desenvolvimento e avaliação biológica de novos Aceptores de Michael: dipeptídeos miméticos e 3,5-bis(arilideno)piperid-4-onas.....	19
1 Introdução.....	20
1.1 Aceptores de Michael	20
1.2 Aceptores de Michael em moléculas de origem natural	25
1.3 Síntese de aceptores de Michael	28
1.4 Vírus, coronavírus e doenças relacionadas.....	32
2. Objetivos.....	35
3. Resultados e discussão	37
3.1. Análise retrossintética da série 1	37
3.2. Síntese e caracterização dos novos aceptores de Michael 24a-o (série 1).....	38
3.2.1 Síntese das amidas 27a-e e caracterização do composto 27a	38
3.2.2 Síntese dos aceptores de Michael 24a-o e caracterização do composto 24a	44
3.3. Análise retrossintética série 2	53
3.4 Síntese e caracterização dos novos aceptores de Michael (série 2)	54
3.4.1 Reação de N-aquilação do anel 4-piperidona	54
3.4.2 Síntese das azidas benzílicas 34a-c	55
3.4.3 Síntese dos derivados 32a-c e caracterização do composto 32b	56
3.4.4 Síntese dos compostos 25a-i e caracterização do composto 25f	61
3.5 Ensaios biológicos	72
3.5.1 Testes antivirais	72
3.5.2 Atividade antiproliferativa	78
3.5.3 Resultado dos parâmetros farmacológicos ADME.....	81
4. Conclusões e perspectivas	84
5. Parte experimental.....	86
5.1 Equipamentos	86
5.2 Materiais e reagentes	86
5.3 Reveladores.....	86
5.4 Purificação de solventes	87
5.5. Sínteses.....	87
5.5.1. Síntese dos compostos da série 1(24a-o).....	87
5.5.1.1 Procedimento geral da síntese das aminas 27a-e	87
5.5.1.2 Procedimento geral da síntese das aminas 24a-o	90
5.5.2 Síntese dos compostos da série 2 (25a-i).....	95

5.5.2.1	Síntese das azidas 38a-c	95
5.5.2.2	Síntese da 1-(prop-2-in-1-il)piperidin-4-ona (41).....	97
5.5.2.3	Síntese dos derivados triazólicos 32a-c	98
5.5.2.4	Síntese dos compostos 25a-l	99
5.6	Testes biológicos	103
Capítulo II Síntese inédita das pubesamidas A e B – <i>N</i> -benzoiltiramidas extraídas da <i>Casimiroa pubescens</i>		107
1.	Introdução.....	108
1.1	Produtos naturais na descoberta de novos fármacos	108
1.2	<i>Casimiroa pubescens</i>	109
1.3	Breve histórico das reações de metátese de olefinas	112
1.4	Catalisadores de rutênio na síntese de metátese cruzada	116
1.5	Metátese cruzada na síntese de produtos naturais	119
2	Objetivos.....	123
3	Resultados e discussão	124
3.1	Análise retrossintética para obtenção das pubesamidas A e B	124
3.2	Síntese e caracterização das pubesamidas A e B e intermediário	125
3.2.1	Síntese e caracterização da <i>N</i> -(4-hidroxifenetil)benzamida) (27)	125
3.2.2	Síntese da <i>N</i> -(4-((3-metilbut-3-en-1-il)oxi)fenetil)benzamida (20).....	127
3.2.3	Síntese da 5-metil-hexa-1,4-dien-3-ona (21)	132
3.2.4	Síntese, caracterização e confirmação estrutural das pubesamidas A e B.....	134
4.0	Conclusões e perspectivas.	147
5.0	Parte experimental.....	148
5.1.	Materiais e equipamentos	148
5.2	Síntese da <i>N</i> -(4-hidroxifenetil)benzamida) (27)	149
5.3	Síntese do 3-metilbut-3-en-1-il 4-metilbenzenesulfonato (26)	150
5.4	Síntese da <i>N</i> -(4-((3-metilbut-3-en-1-il)oxi)fenetil)benzamida (20).....	151
5.5	Síntese da 5-metil-hexa-1,4-dien-3-ona (21)	152
5.6	Síntese das pubesamidas A e B	149
Apêndices do Capítulo I.....		155
Apêndices do Capítulo II		233

Capítulo I

**Desenvolvimento e avaliação biológica de novos aceptores de Michael:
dipeptídeos miméticos e 3,5-bis(arilideno)piperid-4-onas**

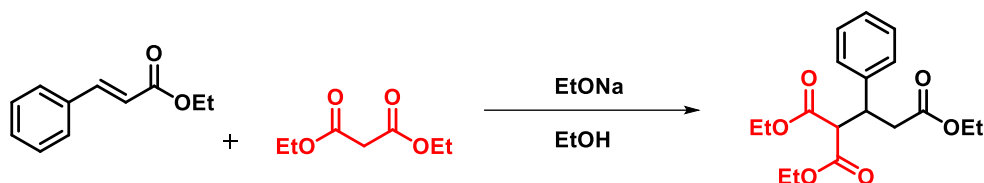
1. INTRODUÇÃO

1.1. Aceptores de Michael

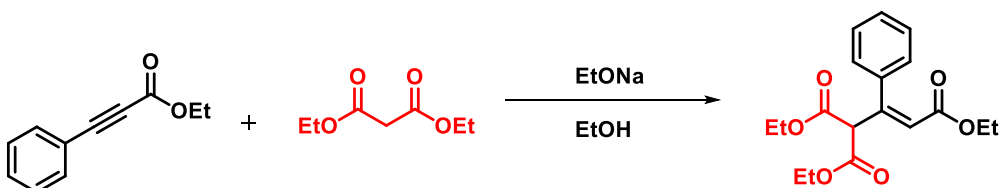
A reação de adição de Michael é uma das mais utilizadas na formação de ligações carbono-carbono e por isso tem sido amplamente estudada em síntese química devido sua versatilidade para a construção de novas moléculas.¹ Esse tipo de reação ocorre entre um nucleófilo (doador de Michael) e uma espécie carbonílica (ou equivalente) α,β (alfa,beta)-insaturada (aceptor de Michael), formando um produto de adição denominado 1,4.² Esse tipo de reação foi descoberto por Arthur Michael, em 1887, quando ele estudava a reação do malonato de dietila em meio básico na presença do cinamato de etila e, posteriormente, a reação de adição ao fenilpropionato de etila, em 1894 (Esquema 1).^{3,4}

Esquema 1. Estudos iniciais desenvolvidos por Arthur Michael em 1887 e 1894

- Michael, 1887



- Michael, 1894



¹ Santos, M.; Moreira, R. Michael acceptors as cysteine protease inhibitors. *Mini-Reviews Med. Chem.* **2007**, 7 (10), 1040–1050. <https://doi.org/10.2174/138955707782110105>.

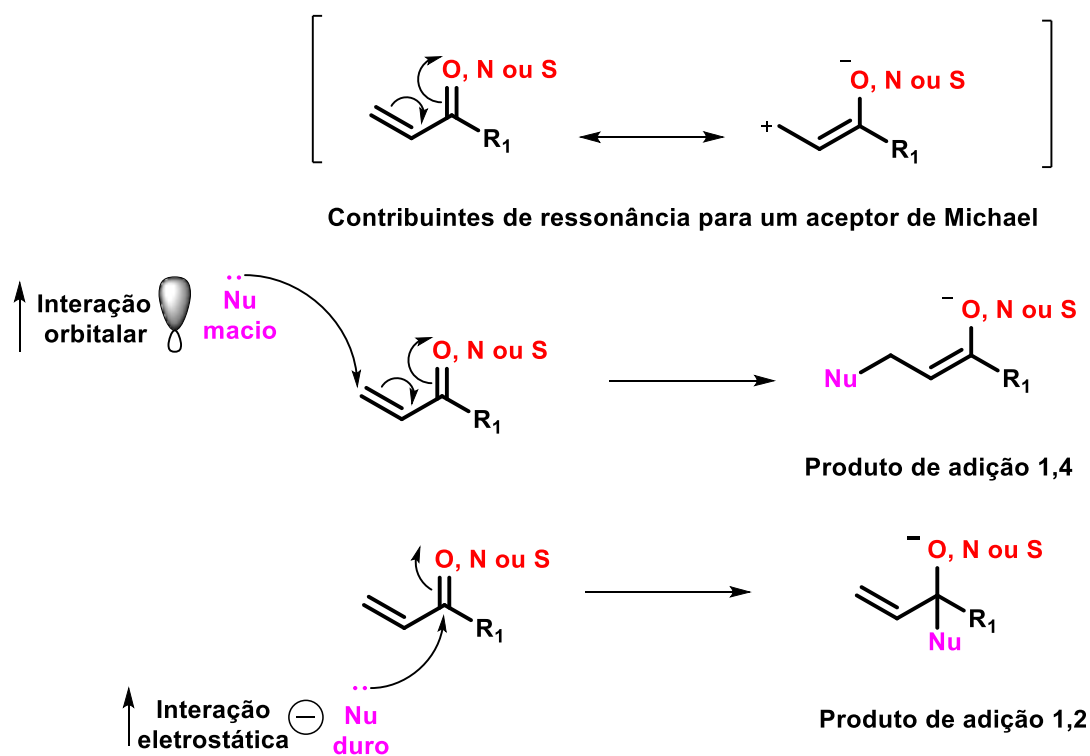
² Krishnan, S.; Miller, R. M.; Tian, B.; Mullins, R. D.; Jacobson, M. P.; Taunton, J. Design of reversible, cysteine-targeted Michael acceptors guided by kinetic and computational Analysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136 (36), 12624–12630. <https://doi.org/10.1021/ja505194w>.

³ Michael, A.; Schulthess, O. Ueber Die Addition von Natriumacetessig- Und Natriummalsäureäthern Zu Den Aethern Ungesättigter Säuren. *J. für Prakt. Chemie.* **1892**, 45 (1), 55–63. <https://doi.org/10.1002/prac.18910450104>.

⁴ Michael, A. Ueber Die Addition von Natriumacetessig- Und Natriummalsäureäther Zu Den Aethern Ungesättigter Säuren. *J. für Prakt. Chemie.* **1894**, 49 (1), 20–25. <https://doi.org/10.1002/prac.18940490103>

Os aceptores de Michael são eletrófilos “ambidentados”, como pode ser visualizado pelos contribuintes de ressonância mostrados no Esquema 2. Para nucleófilos duros, onde a carga negativa está concentrada em um átomo pequeno e eletronegativo (orbital de fronteira HOMO – do inglês *highest occupied molecular orbital* - de baixa energia) a atração eletrostática exerce papel fundamental no início da formação da ligação com o orbital LUMO (do inglês *lowest unoccupied molecular orbital*) do sistema conjugado, favorecendo a reação de adição do tipo 1,2. Para nucleófilos moles (orbital HOMO de alta energia), o fator orbitalar predomina sobre o efeito eletrostático, e a menor diferença de energia entre os orbitais de fronteira favorece a adição do tipo 1,4.⁵

Esquema 2. Adição de Michael do tipo 1,4 e 1,2 frente à nucleófilos duros e macios⁵



⁵ Costa, P.; Pilli, R.; Pinheiro, S. **Sustâncias Carboniladas e Derivados**, São Paulo: EditSBQ, 2019, 2ª Ed.

⁶ Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. **Organic Chemistry**, New York: Oxford University Press, 2012, 2ª Ed.

Nas últimas décadas pesquisadores observaram que substâncias carboniladas α,β -insaturadas estão diretamente relacionadas com diversos processos biológicos e, sob condições fisiológicas, nucleófilos presentes em proteínas e moléculas pequenas podem atacar uma olefina deficiente em elétrons e mudar as suas conformações biológicas.⁷ Como exemplo, a cisteína é um aminoácido que possui um grupo tiol altamente reativo, e os aminoácidos lisina, histidina e serina possuem um átomo de nitrogênio rico em elétrons propício a realizar o ataque nucleofílico aos aceptores de Michael.⁷ Reações onde o ataque nucleofílico a um aceptor de Michael ocorrem por meio de um átomo de enxofre são denominadas adições de tiol-Michael e quando ocorrem via um átomo de nitrogênio são denominadas adições de aza-Michael.⁸

Devido ao simples mecanismo, irreversibilidade e alta eficiência, o planejamento de compostos para serem usados como aceptores em uma adição de tiol-Michael irreversível com um resíduo de cisteína é uma estratégia utilizada em vários fármacos já comercializados no tratamento de câncer. O composto ibrutinib⁹ por exemplo, aprovado pelo FDA (do inglês *Food and Drug Administration*) em 2013, é empregado no tratamento de leucemia e doenças auto-imunes e seu mecanismo de ação se dá pela adição 1,4 entre a molécula e o resíduo de cisteína 481 da proteína tirosina cinase de Bruton (BTK) (Esquema 3a, página 23), levando à inibição permanente do alvo biológico.¹⁰ Dentre os compostos aprovados pelo FDA, que utilizam como mecanismo de inibição uma reação entre aceptores de Michael com resíduos de aminoácidos, formando uma ligação covalente, destacam-se ainda o neratinibe,¹¹ utilizado no tratamento do câncer de mama, assim como o osimertinibe¹² e o afatinibe,¹³ ambos empregados no tratamento de câncer de pulmão (Esquema 3b, página 23).

⁷ Chu, H.; Sethy, B.; Hsieh, P.; Horgn, J. T. Identification of Potential Drug Targets of Broad-Spectrum Inhibitors with a Michael Acceptor Moiety Using Shotgun Proteomics. *Viruses*, **2021**, 13 (9), 1756. <https://doi.org/10.3390/v13091756>

⁸ Bates, R. W.; Ko, W.; Barát, V. The: Endo-Aza-Michael Addition in the Synthesis of Piperidines and Pyrrolidines. *Org. Biomol. Chem.* 2020, 18 (5), 810–829. <https://doi.org/10.1039/c9ob02388g>.

⁹ Cameron, F.; Sanford, M. Ibrutinib: First Global Approval. *Drugs*, **2014**, 74 (2), 263–271. <https://doi.org/10.1007/s40265-014-0178-8>.

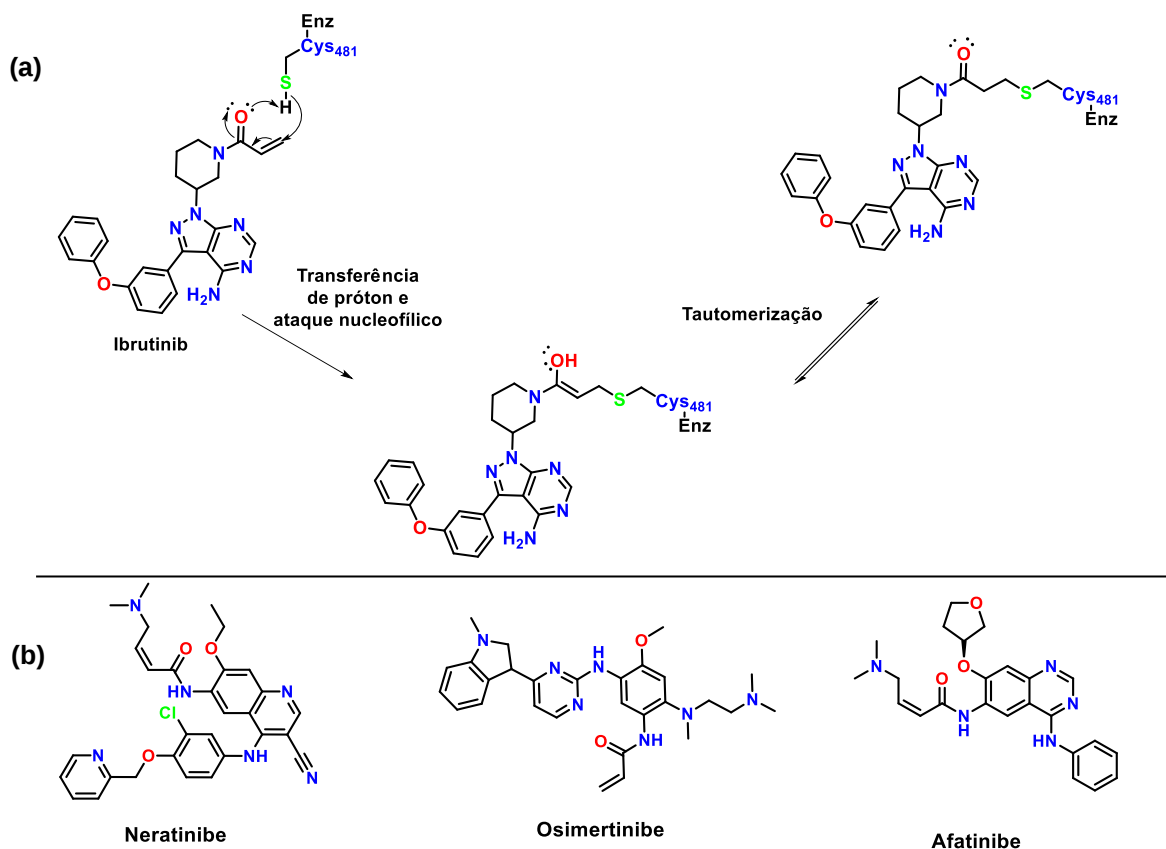
¹⁰ Voice, A. T.; Tresadern, G.; Twidale, R. M.; van Vlijmen, H.; Mulholland, A. J. Mechanism of Covalent Binding of Ibrutinib to Bruton's Tyrosine Kinase Revealed by QM/MM Calculations. *Chem. Sci.*, **2021**, 12 (15), 5511–5516. <https://doi.org/10.1039/d0sc06122k>.

¹¹ Deeks, E. D. Neratinib: First Global Approval. *Drugs*, **2017**, 77 (15), 1695–1704. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0811-4>.

¹² Zhang, H. Osimertinib Making a Breakthrough in Lung Cancer Targeted Therapy. *Onco. Targets. Ther.*, **2016**, 9, 5489–5493. <https://doi.org/10.2147/OTT.S114722>.

¹³ Dunto, R. T.; Keating, G. M. Afatinib: First Global Approval. *Drugs*, **2013**, 73 (13), 1503–1515. <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0111-6>.

Esquema 3. (a) Mecanismo de reação entre o ibrutinib e o resíduo de cisteína 481 da proteína BTK;¹⁰ (b) Estruturas químicas dos fármacos neratinibe, osimertinibe e afatinibe



Apesar dos aceptores de Michael possuírem um potente e vasto espectro de bioatividade,¹⁴ existe uma preocupação entre químicos medicinais devido à falta de seletividade apresentada por esses compostos no meio biológico, pois são inúmeras as proteínas que apresentam resíduos de aminoácidos que podem atuar como nucleófilos para a reação de adição de Michael.¹⁵ O uso de fármacos altamente reativos e que formam ligações covalentes irreversíveis pode levar à haptênização de proteínas, desencadeando uma resposta imunológica de não reconhecimento do aduto formado entre o par proteína-ligante e acarretando alta toxicidade desses compostos.¹⁶

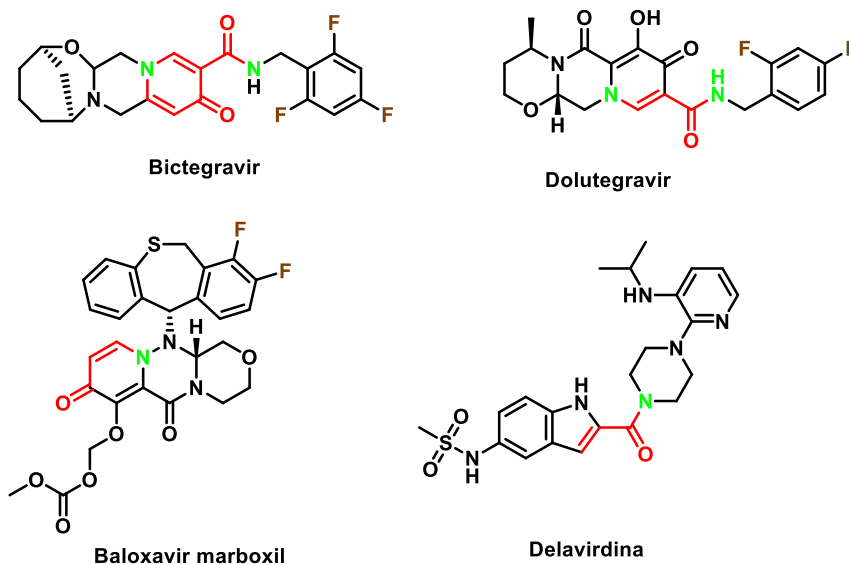
¹⁴ Giraldo, C.; Gómez, S.; Weinhold, F.; Restrepo, A. Insight into the Mechanism of the Michael Reaction. *Chem. Phys. Chem.*, **2016**, 2022–2034. <https://doi.org/10.1002/cphc.201600166>.

¹⁵ Hearn, B. R.; Fontaine, S. D.; Schneider, E. L.; Kraemer, Y.; Ashley, G. W.; Santi, D. V. Attenuation of the Reaction of Michael Acceptors with Biologically Important Nucleophiles. *Bioconjug. Chem.*, **2021**, 32 (4), 794–800. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjugchem.1c00075>.

¹⁶ H. Johansson, M. Reversible Michael Additions: Covalent Inhibitors and Prodrugs. *Mini Rev. Med. Chem.*, **2012**, 12 (13), 1330–1344. <https://doi.org/10.2174/138955712804586693>.

Uma abordagem adotada por químicos medicinais para reduzir a reatividade dos compostos e, conseqüentemente torná-los mais seletivos, envolve a alteração estrutural dos grupos adjacentes às ligações α,β -insaturadas encontradas em um aceptor de Michael.⁷ Por exemplo, a presença dos átomos de nitrogênio (em verde) na substância Bictegravir¹⁷ (Figura 1), utilizada no tratamento de pacientes portadores do vírus HIV (do inglês *Human Immunodeficiency Virus*) do tipo 1, diminui a reatividade em reações de adição de Michael com diversos alvos biológicos. Esse fenômeno é observado uma vez que a ressonância do grupo carbonila com o par de elétrons livres do nitrogênio diminui a eletrofilia do aceptor de Michael em questão e, conseqüentemente, torna o ataque nucleofílico mais seletivo. Dos compostos que apresentam propriedades anti-virais e que possuem um ou dois átomos de nitrogênio adjacentes à um grupo α,β -insaturado em sua estrutura destacam-se o dolutegravir,¹⁸ principal fármaco utilizado no Brasil para tratamento dos pacientes com HIV,¹⁹ a delavirdina (anti-HIV) e o baloxavir marboxil,²⁰ empregado no tratamento da Influenza A e B.

Figura 1. Estrutura química dos fármacos anti-virais bictegravir, dolutegravir, baloxavir marboxil e delavirdina



¹⁷ Deeks, E. D. Bictegravir/Emtricitabine/Tenofovir Alafenamide: A Review in HIV-1 Infection. *Drugs*, **2018**, 78 (17), 1817–1828. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1010-7>.

¹⁸ Rhee, S. Y.; Grant, P. M.; Tzou, P. L.; Barrow, G.; Harrigan, P. R.; Ioannidis, J. P. A.; Shafer, R. W. A Systematic Review of the Genetic Mechanisms of Dolutegravir Resistance. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2019**, 74 (11), 3135–3149. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz256>.

¹⁹ Fiocruz. Fiocruz inicia distribuição do antirretroviral Dolutegravir <https://portal.fiocruz.br/noticia/fiocruz-inicia-distribuicao-do-antirretroviral-dolutegravir> (Acesso em 03-maio-2024).

²⁰ Shirley, M. Baloxavir Marboxil: A Review in Acute Uncomplicated Influenza. *Drugs*, **2020**, 80 (11), 1109–1118. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01350-8>

1.2. Aceptores de Michael em moléculas de origem natural

Os produtos naturais constituem um recurso indispensável atualmente e dentre os fármacos tradicionais utilizados em todo o mundo, 28% são de origem natural.²¹ As estruturas dos produtos naturais têm características de alta diversidade química, especificidade bioquímica e outras propriedades moleculares que os tornam úteis como estruturas principais para o desenvolvimento de fármacos.²² Os aceptores de Michael presentes em moléculas de origem natural podem ser encontrados em plantas, animais e organismos procarióticos. A elucidação estrutural desses compostos inspira químicos a pesquisarem novos fármacos ou candidatos inovadores. Dentre os principais tipos de compostos de origem natural contendo um aceptor de Michael em sua estrutura, podem ser destacados: aldeídos (crotanaldeído e cinamaldeído),²³ ácidos fenólicos (ácido ferúlico),²⁴ amidas fenólicas (N-cafeoil tiramina),²⁵ flavonoides (licochalcona A),²⁶ ésteres (ácido rosmarínico),²⁷ fenil propanoides (curcumina),²⁸ terpenoides (alfa-ciperona),²⁹ dentre outros (Figura 2, página 26).³⁰

²¹ Products, P. N.; Agents, T. Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents. *Molecules*, **2022**, 27 (2), 349. <https://doi.org/10.3390/molecules27020349>.

²² Clardy, J.; Walsh, C. Lessons from Natural Molecules. *Nature*, **2004**, 432 (7019), 829–837. <https://doi.org/10.1038/nature03194>.

²³ Zalivatskaya, A. S.; Zakusilo, D. N.; Vasilyev, A. V. The Use of Cinnamic Acid and Cinnamaldehyde, as Bio-Based Molecules, in Organic Synthesis and Preparation of Biologically Active Compounds. *Mini. Rev. Org. Chem.* **2020**, 18 (8), 992–1011. <https://doi.org/10.2174/1570193x17999201228153003>.

²⁴ Madhuri, H.; Dey, C.; Sudandiradoss, C.; Khan, M. Targeting in FI Ammatory Mediators with Ferulic Acid , a Dietary Polyphenol , for the Suppression of Monosodium Urate Crystal-Induced in FI Ammaton in Rats. *Life Sci.* **2016**, 148, 201–210. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.02.004>.

²⁵ Moradi-afropoli, F.; Asghari, B.; Saeidnia, S.; Ajani, Y.; Mirjani, M.; Malmir, M.; Bazaz, R. D.; Hadjiakhoondi, A.; Salehi, P.; Hamburger, M.; Yassa, N. In Vitro α -Glucosidas e Inhibitory Activity of Phenolic Constituents from Aerial Parts of *Polygonum Hyrcanicum*. *J Sci Food Agric*, **2012**, 86, 156–162.

²⁶ Li, M. T.; Xie, L.; Jiang, H. M.; Huang, Q.; Tong, R. S.; Li, X.; Xie, X.; Liu, H. M. Role of Licochalcone A in Potential Pharmacological Therapy: A Review. *Front. Pharmacol.* **2022**, 13, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.878776>.

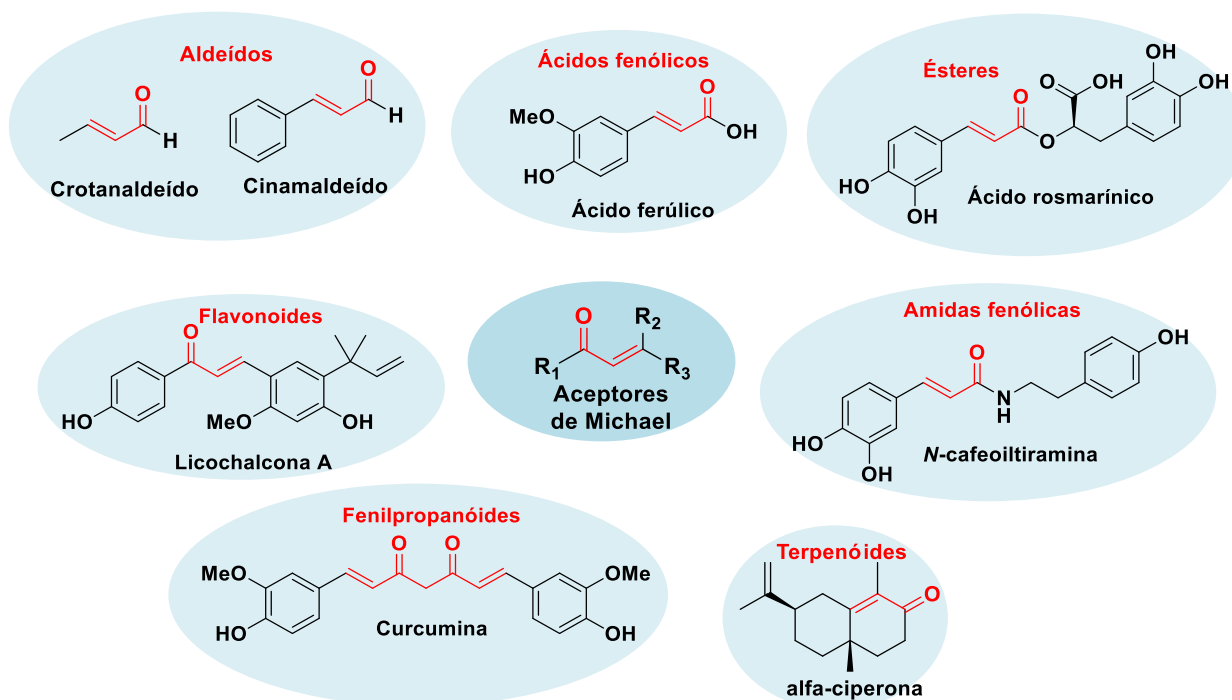
²⁷ Amoah, S. K. S.; Sandjo, L. P.; Kratz, J. M.; Biavatti, M. W. Rosmarinic Acid - Pharmaceutical and Clinical Aspects. *Planta Med.* **2016**, 82 (5), 388–406. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1568274>.

²⁸ Shah, M.; Murad, W.; Mubin, S.; Ullah, O.; Rehman, N. U.; Rahman, M. H. Multiple Health Benefits of Curcumin and Its Therapeutic Potential. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2022**, 29 (29), 43732–43744. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20137-w>.

²⁹ Vilhena, K. S. S.; Maria, G.; Pinheiro, S.; Zoghbi, G. B.; Santos, L. S. Formerly Natural Product Letters Chemical Investigation of *Cyperus Distas* L . and Inhibitory Activity of Scabequinone in Seed Germination and Seedling Growth Bioassays. *Nat. Prod. Res.* **2014**, 37–41. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.925891>.

³⁰ Liang, S. T.; Chen, C.; Chen, R. X.; Li, R.; Chen, W. L.; Jiang, G. H.; Du, L. L. Michael Acceptor Molecules in Natural Products and Their Mechanism of Action. *Front. Pharmacol.* **2022**, 13 (11), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1033003>.

Figura 2. Exemplos de compostos de origem natural contendo um aceptor de Michael em sua estrutura



Dentre os aldeídos, crotanaldeído, extraído da planta *Croton tiglium* L, é utilizado na síntese do ácido sórbico, um conservante alimentar.³¹ O cinamaldeído, presente nas espécies de plantas do gênero *Cinnamomum*, possui diversas atividades biológicas, dentre elas: antimicrobiana, antioxidante, anticâncer, antidiabética, anti-inflamatória, dentre outras.³² A diversidade da aplicabilidade do cinamaldeído e também de outros compostos similares, como o ácido cinâmico, faz com que essas moléculas sejam empregadas na síntese de diversos análogos que apresentam atividade promissora.³³

Outro exemplo importante de aceptor de Michael natural é a curcumina, um composto natural extraído da raiz do açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) e que tem sido amplamente estudado devido às suas propriedades terapêuticas promissoras, incluindo atividades anti-inflamatória, antioxidante, anticancerígena e neuroprotetora. Como um composto bioativo natural, a curcumina tem atraído significativa atenção na pesquisa biomédica.²⁸

³¹ Taylor, P.; Thakur, B. R.; Singh, R. K.; Arya, S. S. Chemistry of Sorbates — a Basic Perspective. *Food Rev. Int.* **2013**, 37–41. <https://doi.org/10.1080/87559129409540986>.

³² Kumar, S.; Kumari, R. Pharmacological Properties and Their Medicinal Uses of Cinnamomum : A Review. 2019, 71, 1735–1761. <https://doi.org/10.1111/jph.13173>.

³³ Ruwizhi, N.; Aderibigbe, B. A. Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, 21 (16), 1–36. <https://doi.org/10.3390/ijms21165712>

No entanto, apesar de suas vantagens notáveis, a curcumina também apresenta várias limitações que afetam sua eficácia clínica, como baixa biodisponibilidade, instabilidade química e distribuição limitada nos tecidos.³⁴ Para superar essas desvantagens, diversos análogos de curcumina têm sido desenvolvidos. Estes análogos são modificados estruturalmente para melhorar a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade, mantendo ou até aprimorando as propriedades biológicas desejáveis da curcumina original.^{35,36}

Dessa forma os aceptores de Michael são fundamentais tanto na natureza quanto na síntese de fármacos devido à capacidade de participarem de reações de adição nucleofílica conjugada. Como citado, encontrados em moléculas bioativas como a curcumina e o ácido cinâmico, esses compostos desempenham papéis importantes em atividades anti-inflamatória, anticancerígena e antioxidante. Na síntese de fármacos, a reatividade específica dos aceptores de Michael permite o *design* de moléculas capazes de modificar alvos biológicos, oferecendo potenciais tratamentos para uma variedade de condições patológicas. Além disso, sua versatilidade facilita a síntese de bibliotecas de compostos, acelerando a descoberta de novos fármacos com perfis de atividade otimizados e menor toxicidade.

³⁴Anand, P.; Kunnumakkara, A. B.; Newman, R. A.; Aggarwal, B. B. Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Mol. Pharm.* **2007**, 4 (6), 807–818. <https://doi.org/10.1021/mp700113r>.

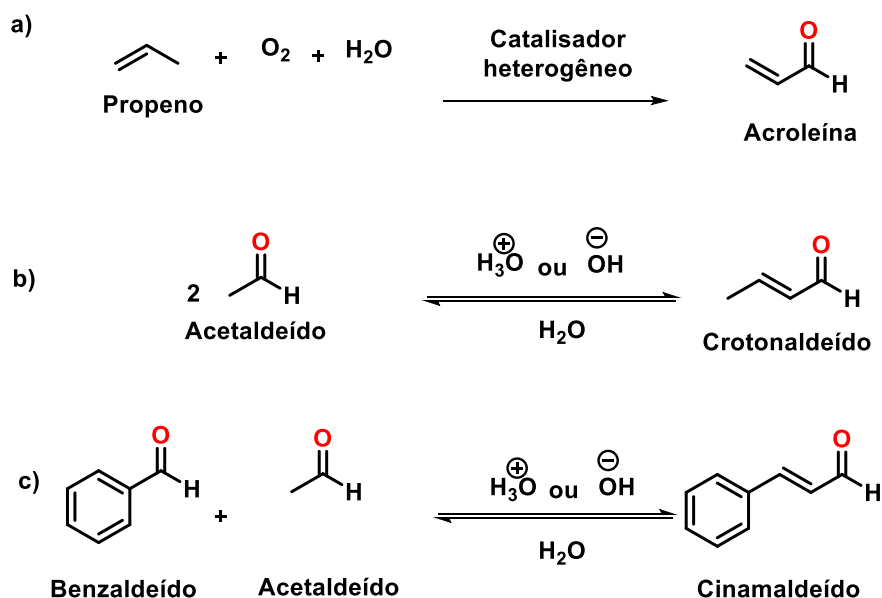
³⁵Kostrzewa, T.; Wolosewicz, K.; Jamrozik, M.; Drzezdzon, J.; Sieminska, J.; Jaceicz, D.; Gorska-Ponikowska, M.; Kolaczowski, M.; Lazny, R.; Kuban-Jankowska, A. Curcumin and Its New Derivatives : Correlation between Cytotoxicity against Breast Cancer Cell Lines , Degradation of PTP1B Phosphatase and ROS Generation Many of Them Are Derived from Biomolecules of Natural Substances , Due to a Wide Range of Activity I. *Int. Mol. Sci.* **2021**, 22 (19), 10368. <https://doi.org/10.3390/ijms221910368>

³⁶Laha, B.; Tiwari, A. R.; Gravel, E.; Doris, E.; Namboothiri, I. N. N. The Michael Donor-Acceptor Reactivity of Curcumins in the Synthesis of Diverse Multi-Functional Scaffolds. *Org. Biomol. Chem.* **2024**, 22 (7), 1346–1359. <https://doi.org/10.1039/d3ob0173>

1.3. Síntese de aceptores de Michael

Muitos derivados carbonilados α,β -insaturados estão disponíveis comercialmente e apresentam grande valor industrial. A acroleína (Esquema 4a) por exemplo, que é a matéria-prima para o ácido acrílico, um composto amplamente utilizado na indústria de produção de tintas e resinas, é preparada pela oxidação do propeno na presença de oxigênio em uma reação que utiliza um catalisador de fase heterogênea.³⁷ Já o crotonaldeído (Esquema 4b) é obtido por reação de condensação aldólica do acetaldeído, sendo também empregado na indústria de química fina na fabricação do ácido sórbico, um conservante de alimentos.³⁸ Dentre os aceptores de Michael de origem natural, podemos destacar o cinamaldeído (Esquema 4c), que é responsável pelo aroma e sabor da canela e pode ser extraído de espécies do gênero *Cinnamomum* por destilação de arraste a vapor e também pode ser obtido a partir da condensação aldólica entre o benzaldeído e o acetaldeído.³⁹

Esquema 4. Sínteses para obtenção dos compostos α,β -insaturados (a) acroleína,³⁷ (b) crotonaldeído³⁸ e (c) cinamaldeído³⁹



³⁷ Liu, L.; Ye, X. P.; Bozell, J. J. A Comparative Review of Petroleum-Based and Bio-Based Acrolein Production. *Chem. Sus. Chem.* **2012**, 5 (7), 1162–1180. <https://doi.org/10.1002/cssc.201100447>.

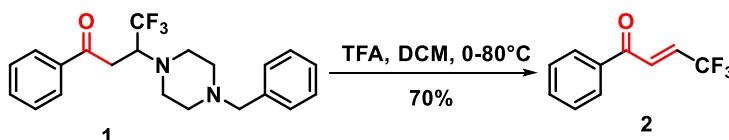
³⁸ Smedley, I. The Condensation of Crotonaldehyde. *J. Chem.Soc. Trans.*, **1911**, 99, 1627–1633. <https://doi.org/10.1039/CT9119901627>

³⁹ Zalivatskaya, A. S.; Zakusilo, D. N.; Vasilyev, A. V. The Use of Cinnamic Acid and Cinnamaldehyde, as Bio-Based Molecules, in Organic Synthesis and Preparation of Biologically Active Compounds. *Mini. Rev. Org. Chem.* **2020**, 18 (8), 992–1011. <https://doi.org/10.2174/1570193x17999201228153003>

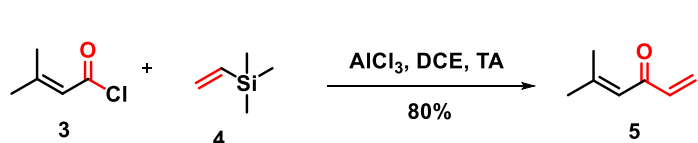
Na síntese de compostos carbonilados adjacentes à uma ligação dupla de substratos mais complexos, existem diversas metodologias clássicas que podem ser utilizadas e que são exemplificadas no Esquema 5. Dentre essas reações podem ser destacadas as de: eliminação,⁴⁰ acilação de trimetilvinilsilano,⁴¹ oxidação de álcoois alílicos,⁴² Horner-Wadsworth-Emmons (HWE),⁴³ metátese cruzada utilizando catalisadores de rutênio,⁴⁴ condensação de Claisen-Schmidt,⁴⁵ dentre outras.

Esquema 5. Exemplos de reações para obtenção de aceptores de Michael

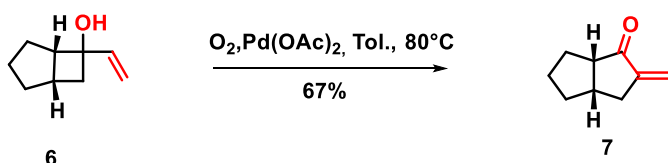
a) Reação de eliminação⁴⁰



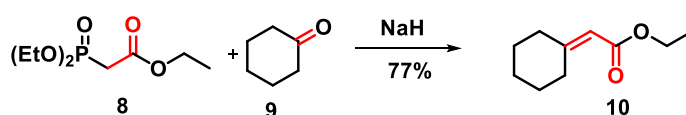
b) Acilação de trimetilvinilsilano⁴¹



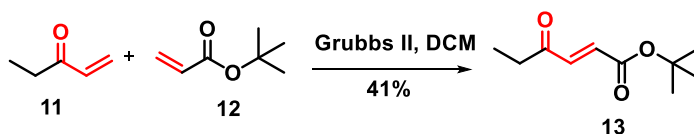
c) Oxidação de álcoois alílicos⁴²



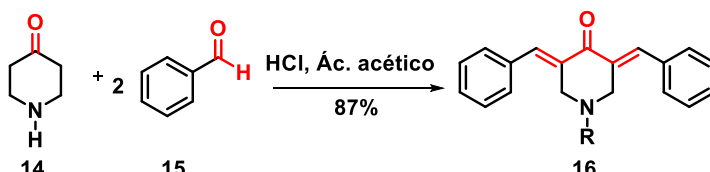
d) Reação de HWE⁴³



e) Metátese cruzada com catalisador de rutênio⁴⁴



f) Condensação de Claisen-Schmidt⁴⁵



⁴⁰ Blond, G.; Billard, T.; Langlois, B. R. Reactivity of Stable Trifluoroacetaldehyde Hemiaminals. 1. An Unexpected Reaction with Enolizable Carbonyl Compounds. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66 (14), 4826–4830. <https://doi.org/10.1021/JO015587U>.

⁴¹ Jes, G. K.; Knudsen, S.; Ravn-Petersen, L. S.; Torssell, K. B. G. Synthesis of 1,4-Dien-3-Ones and 2-Cyclopentenones. *Tetrahedron*, **1983**, 39 (13), 2237–2239. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)91945-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)91945-3)

⁴² Nishimura, T.; Ohe, K.; Uemura, S. Oxidative Transformation of Tert-Cyclobutanols by Palladium Catalysis under Oxygen Atmosphere. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66 (4), 1455–1465. <https://doi.org/10.1021/JO0016475>.

⁴³ Wadsworth, W. S.; Emmons, W. D. The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83 (7), 1733–1738. <https://doi.org/10.1021/ja01468a042>.

⁴⁴ Chatterjee, A. K.; Choi, T. L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. A General Model for Selectivity in Olefin Cross Metathesis. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125 (37), 11360–11370. <https://doi.org/10.1021/ja0214882>.

⁴⁵ Dimmock, J. R.; Padmanilayam, M. P.; Puthucode, R. N.; Nazari, A. J.; Motaganahalli, N. L.; Zello, G. A.; Quail, J. W.; Oloo, E. O.; Kraatz, H. B.; Prisciak, J. S.; Allen, T. M.; Santos, C. L.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Manavathu, E. K. A Conformational and Structure-Activity Relationship Study of Cytotoxic 3,5-Bis(Arylidene)-4-Piperidones and Related N-Acryloyl Analogues. *J. Med. Chem.*, **2001**, 44 (4), 586–593. <https://doi.org/10.1021/jm0002580>.

A reação aldólica é uma das transformações químicas mais importantes e amplamente utilizadas na síntese orgânica, oferecendo um método eficaz para a formação de ligações carbono-carbono. Essa reação envolve a adição nucleofílica de um enolato a um grupo carbonila, geralmente um aldeído ou cetona, resultando na formação de um produto β -hidroxialdeído (aldol) ou β -hidroxicetona.⁵ Um exemplo proeminente dessa transformação é a reação de Claisen-Schmidt, que é frequentemente empregada na síntese de derivados da curcumina, como os compostos do tipo 3,5-bis(arilideno)piperid-4-ona (Esquema 5, reação f, página 29).⁴⁶ Na reação de Claisen-Schmidt ocorre a formação da ligação C-C entre um aldeído aromático não enolizável e uma cetona. Nesse caso, não ocorre a autocondensação da cetona, pois o aldeído é mais eletrofílico.⁵

Na síntese de aceptores de Michael mais seletivos, contendo um átomo de nitrogênio vizinho à carbonila (Esquema 6, página 31), pode-se preparar derivados do tipo amida, utilizando um ácido carboxílico α,β -insaturado, como o ácido cinâmico e uma amina. Na literatura existem diversas metodologias para a formação de amidas a partir de ácidos carboxílicos, como o uso de cloreto de tionila (SOCl_2) para transformar a hidroxila em um bom grupo abandonador,⁴⁷ emprego de cloreto de fosforila (POCl_3) em meio básico,⁴⁸ uso de agentes de acoplamento,^{49,50} dentre outras.

⁴⁶ Li, N.; Xin, W. Y.; Yao, B. R.; Wang, C. H.; Cong, W.; Zhao, F.; Li, H. J.; Hou, Y.; Meng, Q. G.; Hou, G. G. Novel Dissymmetric 3,5-Bis(Arylidene)-4-Piperidones as Potential Antitumor Agents with Biological Evaluation in Vitro and in Vivo. *Eur. J. Med. Chem.*, **2018**, 147, 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.088>.

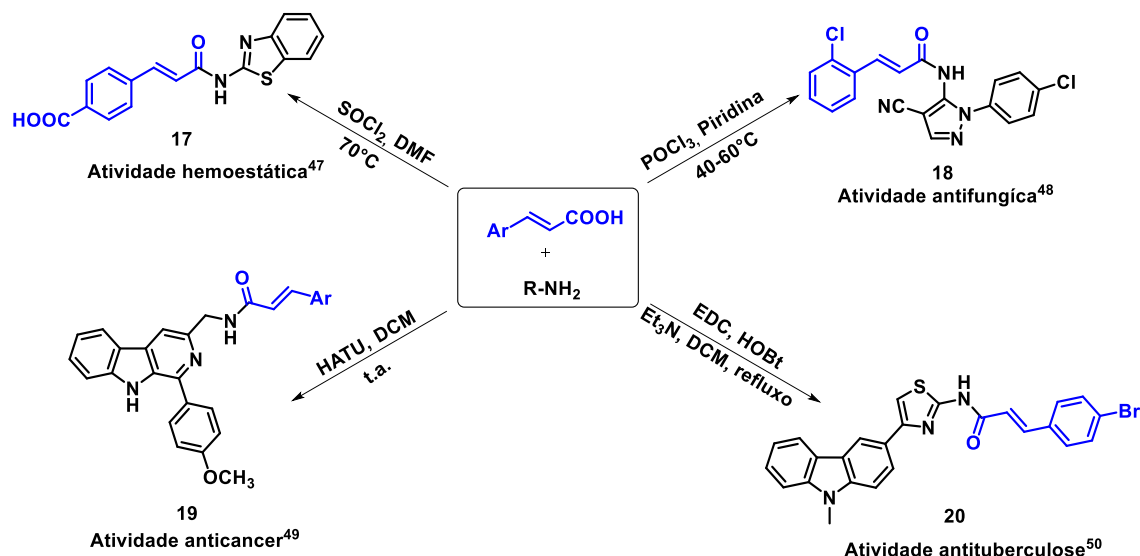
⁴⁷ Sá, M.M.; Ferreira, M.; Lima, E.S.; dos Santos, I.; Orlandi, P.P.; Fernandes, L. Antimicrobial activity of allylic thiocyanates derived from the Morita-Baylis-Hillman reaction. *Braz. J. Microbiol.* **2014**, 45(3), 807-812. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000300007>

⁴⁸ Wu, Y.; Liu, L.; Yan, K.; Xu, P.; Gao, Y.; Zhao, Y. Nickel-catalyzed decarboxylative C-P cross-coupling of alkenyl acids with P(O)H compounds. *J. Org. Chem.* **2014**, 79(17), 8118-8127. <https://doi.org/10.1021/jo501321m>

⁴⁹ Hu, J.; Zhao, N.; Yang, B.; Wang, G.; Guo, L.N.; Liang, Y.M.; Yang, S.D. Copper-catalyzed C-P coupling through decarboxylation. *Chemistry*. **2011**, 17(20), 5516-5521. <https://doi.org/10.1002/chem.201003561>

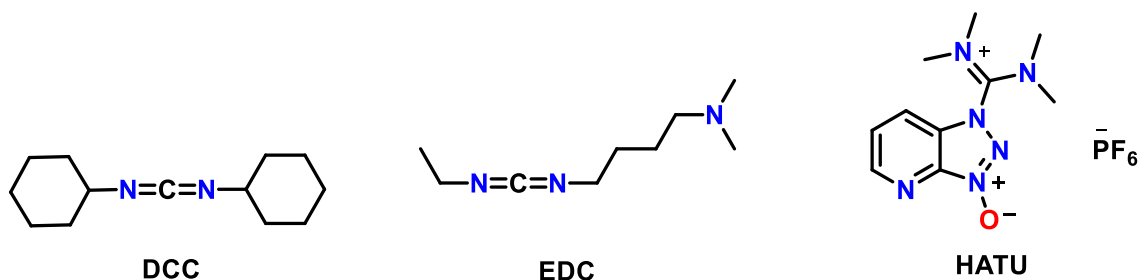
⁵⁰ Liu, L.; Zhou, D.; Dong, J.; Zhou, Y.; Yin, S.F.; Han, L.B. Transition-metal-free C-P bond formation via decarboxylative phosphorylation of cinnamic acids with P(O)H compounds. *J. Org. Chem.* **2018**, 83(7), 4190-4196. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b00187>

Esquema 6. Exemplos de reações para obtenção de aceptores de Michael seletivos com atividade biológica



Os agentes de acoplamento são compostos que promovem a ativação de ácidos carboxílicos ou aminas, facilitando a formação da ligação amídica em condições mais brandas e controladas. Entre os agentes mais utilizados na síntese de amidas estão o DCC (díciclo-hexilcarbodiimida), o EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) e o HATU (1-[bis(dimetilamino)metileno]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridínio-3-óxido hexafluorofosfato) (Figura 3).⁵¹ O DCC é um dos agentes de acoplamento mais tradicionais e seu mecanismo envolve a ativação do ácido carboxílico para formar um intermediário *O*-acilureia, que então reage com a amina para formar a ligação amídica. A principal vantagem do DCC é sua alta eficiência em condições relativamente brandas e relativo baixo custo. No entanto, ele pode gerar subprodutos insolúveis no meio de reação como a díciclo-hexilureia.⁵¹

Figura 3. Estruturas químicas dos agentes de acoplamento DCC, EDC e HATU



⁵¹Valeur, E.; Bradley, M. Amide Bond Formation: Beyond the Myth of Coupling Reagents. *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, 38 (2), 606–631. <https://doi.org/10.1039/b701677h>.

O EDC é um composto amplamente utilizado em reações de acoplamento peptídico e na síntese de amidas. Comparado ao DCC, o EDC gera subprodutos mais fáceis de remover. O HATU é um agente de acoplamento altamente eficaz de alta reatividade e seletividade, que permite a formação de amidas mesmo em condições desafiadoras. No entanto, o HATU é mais caro que outros agentes de acoplamento, o que deve ser levado em consideração em sínteses em larga escala.⁵¹

1.4. Vírus, coronavírus e doenças relacionadas

Vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, que não possuem metabolismo próprio e, portanto, dependem da maquinaria metabólica de um hospedeiro para sua replicação. A estrutura básica de um vírus é formada por um ácido nucléico (DNA ou RNA) e uma camada proteica externa, denominada capsídeo. Alguns vírus também podem apresentar uma camada lipoproteica externa ao capsídeo e são denominados como envelopados. Coronavírus é uma família de vírus, encapsulados por uma camada proteica, que possuem uma fita simples de RNA.⁵²⁻⁵³ Esses vírus afetam comumente o trato respiratório de aves e mamíferos e já foram, até o momento, identificados sete tipos de coronavírus que causam doenças em seres humanos, onde três causam infecções respiratórias graves: o SARS-CoV (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*), o MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) e, mais recentemente, o SARS-CoV-2.⁵⁴

O vírus SARS-CoV-2 causa a doença COVID-19, que teve seu primeiro registro na cidade de Wuham, na China, em dezembro de 2019. A principal forma de contágio do SARS-CoV-2 é por meio da propagação de gotículas geradas pelo indivíduo infectado, por meio da tosse, espirro e exalação. Os sintomas causados pela COVID-19 incluem: febre, tosse, cansaço, dificuldade de respirar, dentre outros. Em 11 de março de 2020, a OMS (Organização Mundial de Saúde) declarou a COVID-19 como uma pandemia e até o momento já foram registrados mais de 7 milhões de mortes em todo o mundo.⁵⁵

⁵² Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Bender, K. S. **Brock Biology of Microorganisms**, Upper Saddle River: Prentice Hall, 2003, 10ª ed.

⁵³ Carter, J.; Saunders, V. **Virology: Principles and Applications**, New Jersey: Wiley, 2007.

⁵⁴ Boopathi, S.; Poma, A. B.; Kolandaivel, P. Novel 2019 Coronavirus Structure, Mechanism of Action, Antiviral Drug Promises and Rule out against Its Treatment. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **2020**, 39 (9), 3409–3418. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1758788>

⁵⁵ Organization, W. H. COVID-19 Timeline. Disponível em: <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths>. Acessado em: 26 de maio de 2024.

Atualmente, a situação da COVID-19 continua sendo monitorada globalmente, mas a pandemia está em uma fase mais controlada em comparação com os anos anteriores. As vacinas contra a COVID-19 têm desempenhado um papel crucial na contenção da pandemia, entretanto ainda há uma busca por terapias alternativas, uma vez que a eficácia das vacinas pode variar com o surgimento de novas variantes do SARS-CoV-2. Algumas variantes podem escapar parcialmente da imunidade conferida pelas vacinas, reduzindo a eficácia na prevenção da infecção. Outros desafios encontrados na vacinação incluem a necessidade de doses de reforço, distribuição desigual e hesitação na vacinação alimentada por desinformação e desconfiança nas autoridades de saúde.⁵⁶

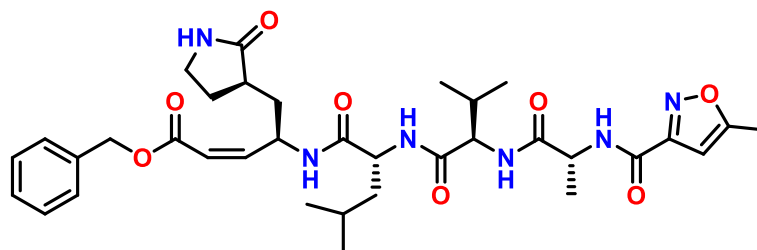
A M^{pro} (do inglês *main protease*) do vírus SARS-CoV-2 é uma enzima essencial para a replicação e transcrição do vírus, tornando-se um alvo crucial para o desenvolvimento de terapias antivirais. Trata-se de uma enzima chave na replicação e transcrição do vírus, além de não apresentar similaridades com enzimas presentes em humanos. O inibidor N3 desta enzima (Figura 4, página 34) é um composto peptídico que se liga covalentemente ao sítio ativo da M^{pro}, mais precisamente ao átomo de enxofre do resíduo de cisteína 145, bloqueando sua atividade proteolítica.⁵⁷ Estudos estruturais e funcionais demonstraram que o N3 impede eficazmente a replicação viral em culturas celulares, destacando seu potencial como base para o desenvolvimento de tratamentos contra a COVID-19, inspirando o estudo e síntese de novos inibidores frente à M^{pro} do vírus SARS-CoV-2, como o cinaserin e os compostos **21**, **22** e **23** apresentados na Figura 5 (página 34).⁵⁷⁻⁵⁸

⁵⁶Organization, W. H. Coronavirus disease (COVID-19) Epidemiological Updates and Monthly Operational Updates. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>. Acessado em: 26 de maio de 2024.

⁵⁷ Jin, Z.; Du, X.; Xu, Y.; Deng, Y.; Liu, M.; Zhao, Y.; Zhang, B.; Li, X.; Zhang, L.; Peng, C.; Duan, Y.; Yu, J.; Wang, L.; Yang, K.; Liu, F.; Jiang, R.; Yang, X.; You, T.; Liu, X.; Yang, X.; Bai, F.; Liu, H.; Liu, X.; Guddat, L. W.; Xu, W.; Xiao, G.; Qin, C.; Shi, Z.; Jiang, H.; Rao, Z.; Yang, H. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and Discovery of Its Inhibitors. *Nature*, **2020**, 582 (7811), 289–293. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>.

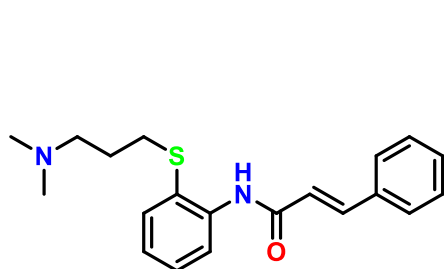
⁵⁸ Fischer, C.; Feys, J. R. SARS-CoV-2 Mpro Inhibitors: Achieved Diversity, Developing Resistance and Future Strategies. *Futur. Pharmacol.*, **2023**, 3 (1), 80–107. <https://doi.org/10.3390/futurepharmacol3010006>

Figura 4. Estrutura química do inibidor N3 da enzima M^{pro}



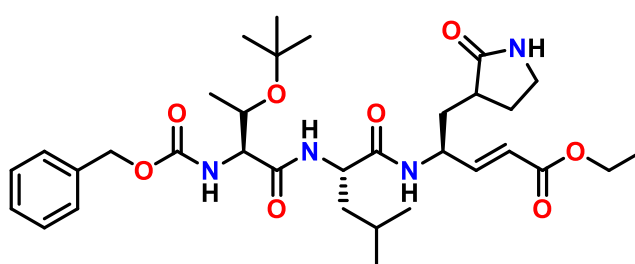
$$EC_{50}(\text{Vero-E6}) = 16,77 \mu\text{M}$$

Figura 5. Estruturas químicas dos aceptores de Michael cinanserin, 21, 22 e 23, inibidores da M^{pro}



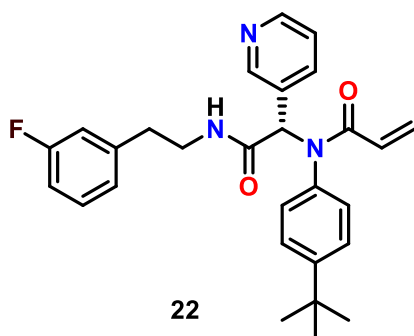
Cinanserin

$$IC_{50}(M^{pro}) = 125 \mu\text{M}$$



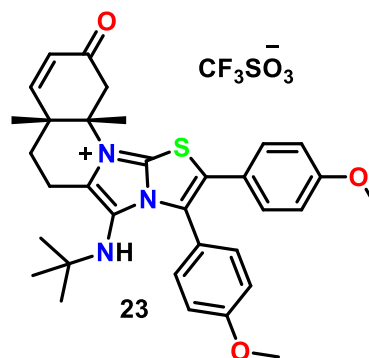
21

$$IC_{50}(M^{pro}) = 0,15 \mu\text{M}$$



22

$$IC_{50}(M^{pro}) = 2,9 \mu\text{M}$$



23

$$IC_{50}(M^{pro}) = 21 \mu\text{M}$$

Dessa forma, a síntese de novos aceptores de Michael é de interesse científico para o desenvolvimento de novas terapias para doenças emergentes, como é o caso da SARS-CoV-2 e também para o tratamento de doenças como câncer, malária, leishmania, dentre outras.

2. Objetivos

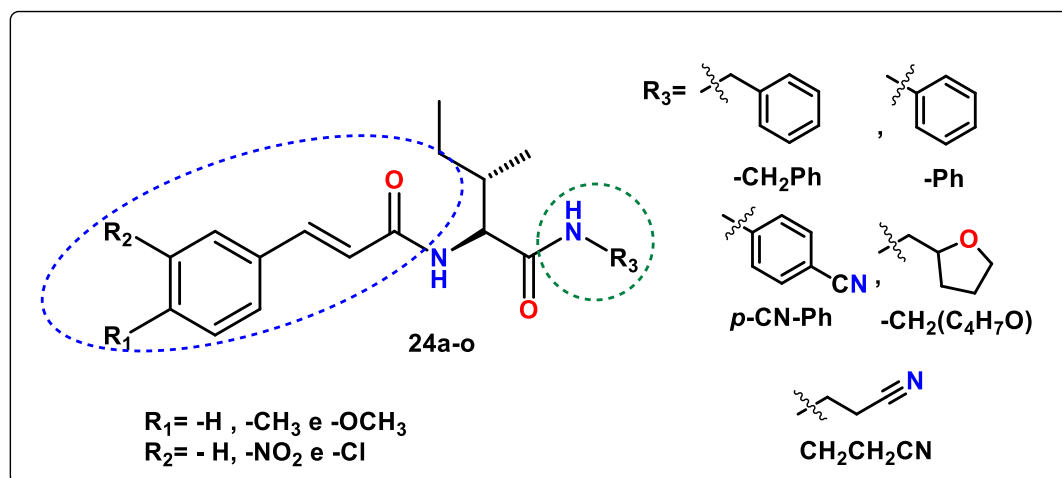
2.1 Objetivos gerais

Sintetizar e caracterizar duas séries de aceptores de Michael, avaliando sua atividade biológica contra o vírus SARS-CoV-2 e células de câncer de mama, com o intuito de identificar potenciais candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos antivirais e anticancerígenos.

2.2 Objetivos específicos

- Planejamento, síntese e caracterização de novos dipeptídeos miméticos **24a-o** (série 1- Figura 6), contendo uma ligação α,β -insaturada e grupos doadores e retiradores de elétrons na sub unidade referente ao ácido cinâmico (em azul), além de variações estruturais na subunidade amida terminal (em verde).

Figura 6. Estrutura geral dos dipeptídeos miméticos 24a-o planejados no trabalho

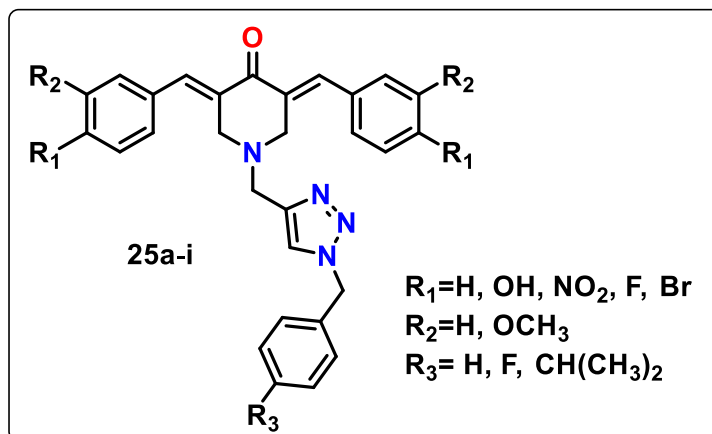


24a) $R_1=R_2= H$, $R_3=CH_2-Ph$
24b) $R_1=CH_3$, $R_2= H$, $R_3=CH_2-Ph$
24c) $R_1=OCH_3$, $R_2= H$, $R_3=CH_2-Ph$
24d) $R_1=H$, $R_2=Cl$, $R_3=CH_2-Ph$
24e) $R_1=H$, $R_2=NO_2$, $R_3=CH_2-Ph$
24f) $R_1= R_2= H$, $R_3= Ph$
24g) $R_1= CH_3$, $R_2= H$, $R_3=Ph$
24h) $R_1=H$, $R_2=NO_2$, $R_3=Ph$

24i) $R_1= R_2= H$, $R_3=p-CN-Ph$
24j) $R_1=OCH_3$, $R_2= H$, $R_3=p-CN-Ph$
24k) $R_1=NO_2$, $R_2= H$, $R_3=p-CN-Ph$
24l) $R_1= CH_3$, $R_2= H$, $R_3=CH_2(C_4H_7O)$
24m) $R_1= H$, $R_2= NO_2$, $R_3= CH_2(C_4H_7O)$
24n) $R_1= H$, $R_2= H$, $R_3= CH_2CH_2CN$
24o) $R_1= OCH_3$, $R_2= H$, $R_3= CH_2CH_2CN$

- Planejamento, síntese e caracterização, utilizando técnicas espectroscópicas, de novos compostos do tipo 3,5-bis(arilideno)piperidin-4-ona (série 2, Figura 7), contendo um anel do tipo 1,2,3-triazólico ligado ao átomo de nitrogênio do anel 4-piperidona.

Figura 7. Estrutura geral das 3,5-bis(arilideno)piperidin-4-ona (25a-i) planejadas neste trabalho



25a) $R_1 = \text{H, } R_2 = \text{F, } R_3 = \text{H}$

25b) $R_1 = \text{H, } R_2 = \text{NO}_2, R_3 = \text{H}$

25c) $R_1 = R_2 = \text{H, } R_3 = \text{F}$

25d) $R_1 = R_2 = R_3 = \text{F}$

25e) $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH, } R_3 = \text{F}$

25f) $R_1 = \text{H, } R_2 = \text{NO}_2, R_3 = \text{F}$

25g) $R_1 = \text{H, } R_2 = \text{NO}_2, \text{CH(CH}_3)_2$

25h) $R_1 = \text{H, } R_2 = \text{Br, CH(CH}_3)_2$

25i) $R_1 = \text{H, } R_2 = \text{F, CH(CH}_3)_2$

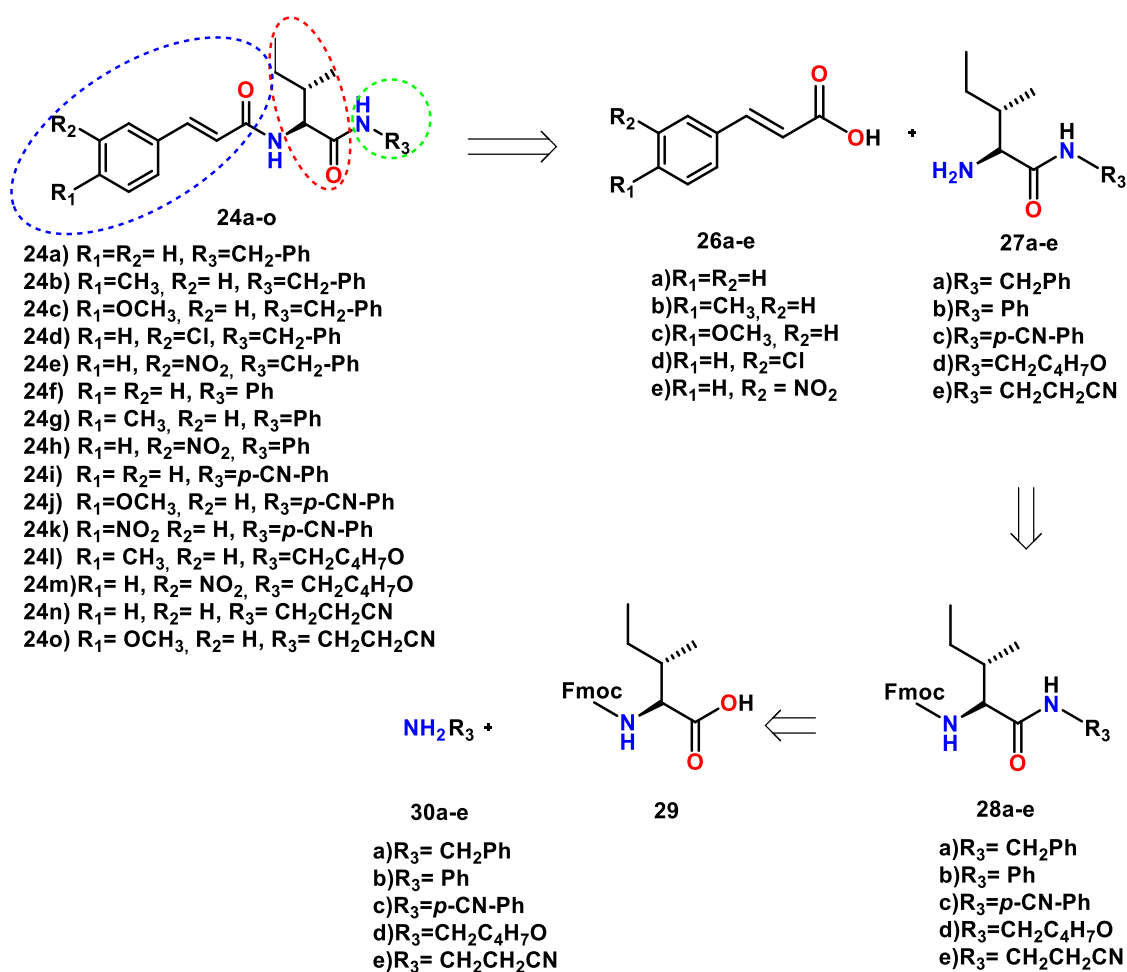
- Testar a atividade antiviral das moléculas sintetizadas contra o vírus SARS-CoV-2 em ensaios *in vitro* utilizando culturas de células infectadas.
- Avaliar a citotoxicidade das moléculas da série 1 em linhagens celulares de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB-231) e célula de mama não cancerígena (MCF-10A).
- Avaliação *in silico* das propriedades físico-químicas e farmacocinéticas dos compostos da série 1 (absorção, distribuição, metabolização e excreção – ADME) que foram mais ativos no estudo de citotoxicidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise retróssintética série 1

A obtenção dos novos aceptores de Michael (**24a-o**) propostos neste trabalho foi realizada de acordo com a retróssíntese representada no Esquema 7. A síntese desses derivados foi planejada a partir da formação de uma ligação amídica entre os ácidos carboxílicos derivados do ácido cinâmico **26a-e**, contendo em suas estruturas grupos doadores e retiradores de elétrons em diferentes posições (a fim de avaliar a relação estrutura atividade), e os substratos derivados da isoleucina **27a-e**, contendo em suas estruturas um grupo amina primária livre, obtidos após a desproteção do grupo protetor fluorenilmetiloxicarbonil (Fmoc) das amidas do tipo **28a-e**. A formação destes intermediários protegidos seria a partir da reação de acoplamento entre a isoleucina (**29**) e cinco diferentes aminas (**30a-e**).

Esquema 7. Retróssíntese proposta para os novos aceptores de Michael (24a-o)



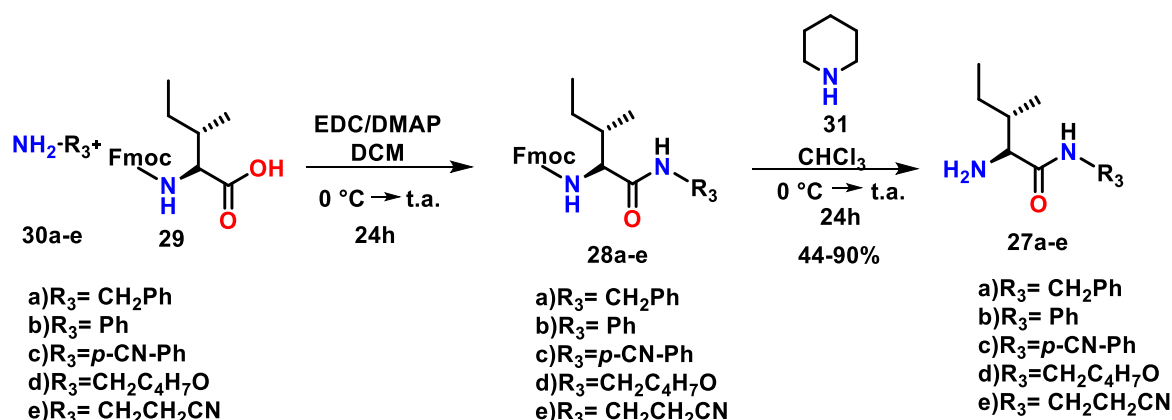
A escolha do aminoácido *L*-isoleucina (**29**) foi baseada em suas características estruturais, utilizando como modelo o composto peptídico 'inibidor N3' da Mpro do vírus SARS-CoV-2. Este composto possui um grupo lipofílico ramificado (sec-butila) capaz de realizar interações de *van der Waals* com o sítio ativo da proteína, de forma semelhante à cadeia lipofílica da isoleucina. Os derivados do ácido cinâmico (**26a-e**) foram escolhidos por apresentarem grupos com diferentes características eletrônicas, o que pode influenciar as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas dos aceptores de Michael, assim como sua seletividade frente ao resíduo de cisteína. Tendo como objetivo a modulação estrutural de dipeptídeos miméticos e avaliação da interação do par ligante-proteína foram escolhidas aminas do tipo benzílica (**30a**), aromáticas como a anilina (**30b**) e a *p*-cianoanilina (**30c**), o heterociclo tetraidrofuranil (**30d**) e a de cadeia aberta contendo um grupo nitrila (**30e**).

3.2. Síntese e caracterização dos novos aceptores de Michael 24a-o (série 1)

3.2.1 Síntese das amidas 27a-e e caracterização do composto 27a

A síntese das amidas **27a-e** foi realizada em duas etapas (Esquema 8), de acordo com metodologia proposta por Gontijo (2021).⁵⁹

Esquema 8. Síntese dos compostos 27a-e



⁵⁹Gontijo, T.B. Síntese de dipeptídeos miméticos com potencial uso na terapia da osteoporose e desenvolvimento de nova metodologia para obtenção de 2-amino-1,3,4-oxadiazóis. Tese de doutorado em Ciências - Química. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

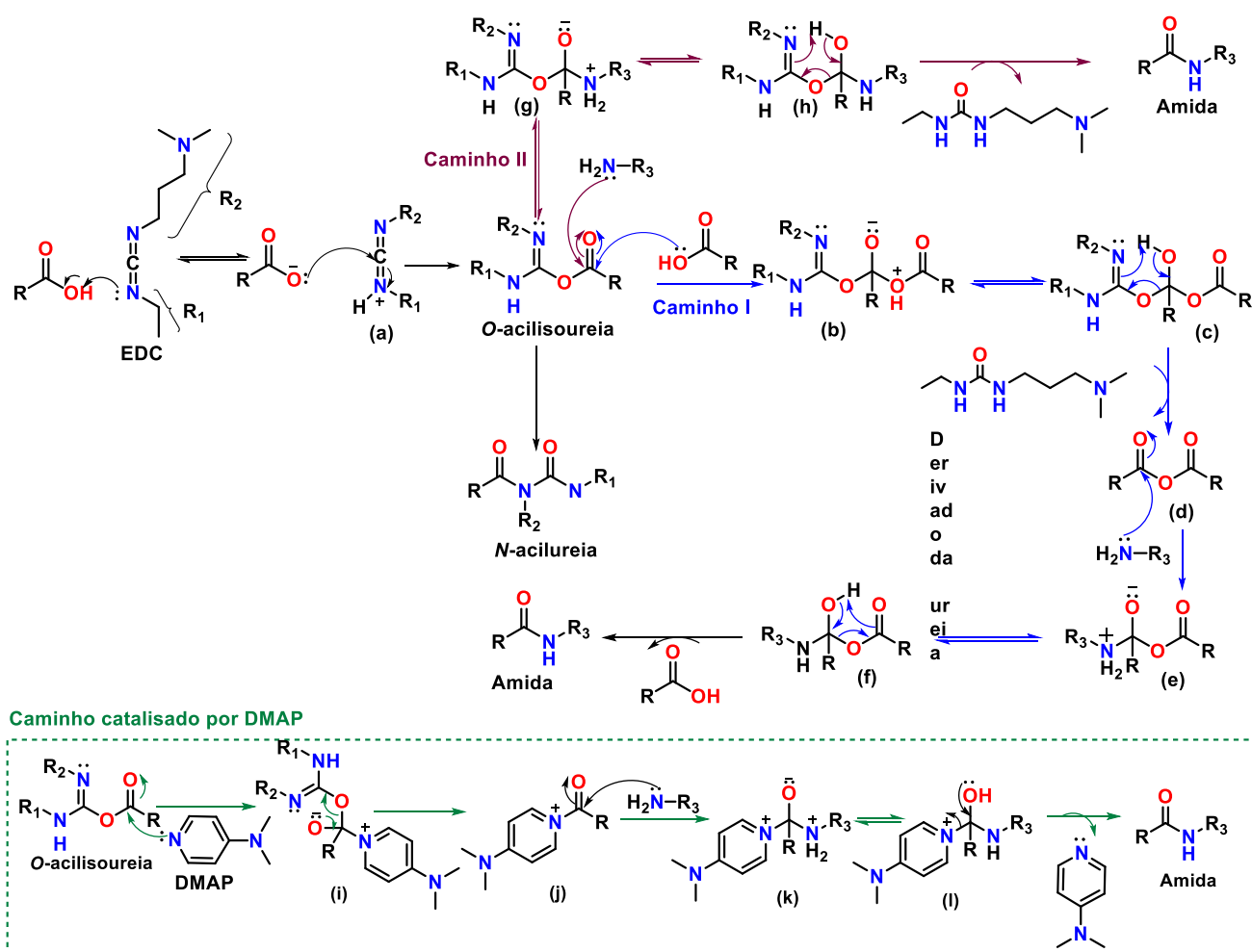
Na primeira etapa ocorreu a reação entre a isoleucina protegida comercial (**29**) e as aminas (**30a-e**) na presença do reagente de acoplamento EDC e do catalisador DMAP (*N,N*-dimetil-4-aminopiridina) em diclorometano (DCM), levando à formação dos derivados protegidos (**28a-e**). Para esta síntese optou-se pelo uso do reagente de acoplamento EDC, que, como citado anteriormente, possui como vantagem sua fácil separação do meio de reação, uma vez que a ureia formada possui o grupo amino e, assim, é possível separá-la por meio de uma simples extração em meio ácido.⁵⁰

O mecanismo proposto^{6,60,61} para formação de amidas a partir de ácidos carboxílicos, mediado por EDC e DMAP, está representado no Esquema 9, página 40. Inicialmente ocorre a abstração do próton do ácido carboxílico pelo par de elétrons do nitrogênio do EDC, levando ao íon carboxilato e ao intermediário **a**. Em seguida ocorre o ataque do átomo de oxigênio do carboxilato à carbazida **a**, formando o intermediário chave desta reação, a *O*-acilisoureia. A *O*-acilisoureia pode reagir para formar a amida desejada por diferentes caminhos (**I** ou **II**), e também se rearranjar formando a *N*-acilureia, composto estável e não reativo, logo a obtenção desse derivado é indesejável no meio de reação. A obtenção da amida pelo caminho **I** ocorre inicialmente pelo ataque do ácido carboxílico à *O*-acilisoureia, seguido da formação do anidrido **d** e posterior ataque da amina presente no meio, o que leva ao produto desejado. Pelo caminho **II**, ocorre a formação do intermediário **g**, a partir de uma reação entre a amina e a *O*-acilisoureia, formando a amida e liberando o derivado da ureia no meio. Na presença de DMAP, a obtenção da amida pode ocorrer por outra via (Esquema 9 - página 40), onde uma molécula de *O*-acilisoureia reagirá com o catalisador, formando o intermediário reativo **j** que em seguida sofre um ataque nucleofílico da amina presente no meio, obtendo-se então a amida de interesse. O uso do DMAP pode acelerar a reação devido à formação do intermediário **j** no meio reagente, sendo esse mais reativo frente à nucleófilos como aminas e álcoois, quando comparado com a *O*-acilisoureia. Por acelerar a reação como catalisador, o uso do DMAP pode também minimizar ou até mesmo impedir a formação da *N*-acilureia.

⁶⁰El-Faham, A.; Albericio, F. Peptide coupling reagents, more than a letter soup. *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6557-6602. <https://doi.org/10.1021/cr100048w>

⁶¹Carey, F. A.; Sundberg, R. J. *Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms*, New York: Springer. 2007. 5ªEd.

Esquema 9. Proposta mecanística para obtenção de amidas a partir de ácidos carboxílicos, utilizando reagentes de acoplamento do tipo carbodiimidas e DMAP como catalisador^{60,61}

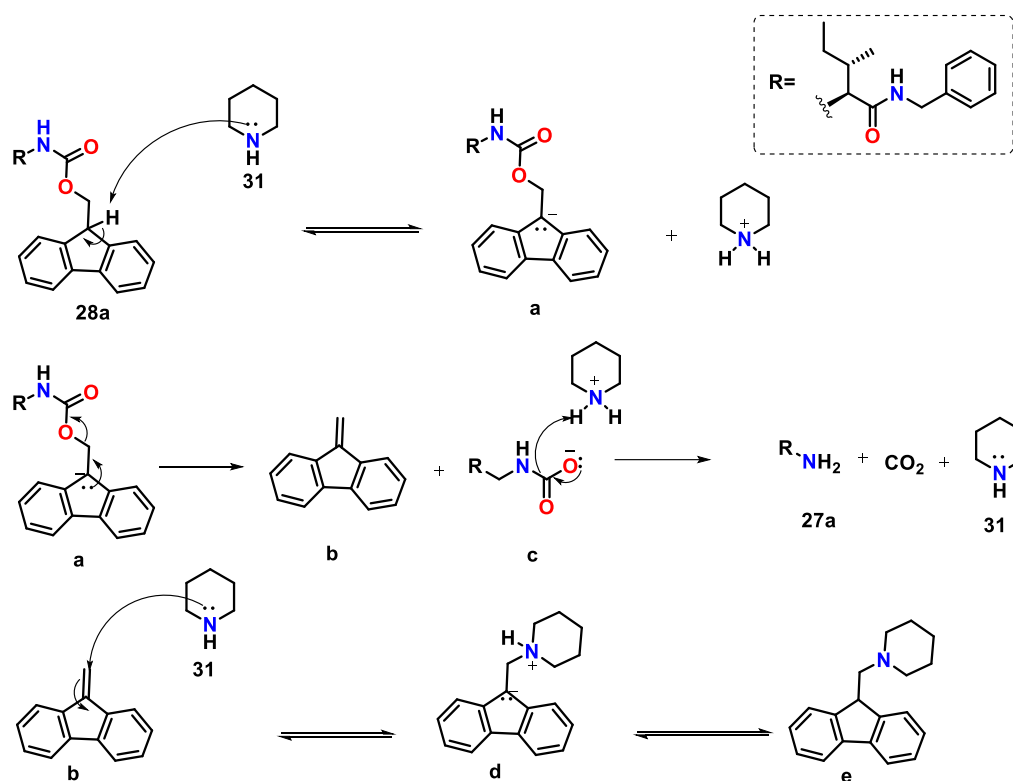


A segunda etapa para obtenção dos compostos **27a-e** foi realizada sem a purificação das amidas protegidas (**28a-e**). A desproteção do grupo Fmoc foi realizada de acordo com o trabalho de Jahnke e colaboradores (2009),⁶² utilizando a piperidina em clorofórmio e agitação magnética em temperatura ambiente por 24 horas. O Fmoc é um grupo protetor utilizado na proteção de aminas e, portanto, é amplamente utilizado em reações para obtenção de peptídeos, por ser um grupo facilmente removido em meio alcalino e em condições brandas, evitando assim a clivagem de outros grupos orgânicos presentes na cadeia peptídica.

⁶² Jahnke, E.; Weiss, J.; Neuhaus, S.; Hoheisel, T. N.; Frauenrath, H. Synthesis of diacetylene-containing peptide building blocks and amphiphiles, their self-assembly and topochemical polymerization in organic solvents. *Chem. - A Eur. J.* **2009**, 15 (2), 388-404. <https://doi.org/10.1002/chem.200801668>

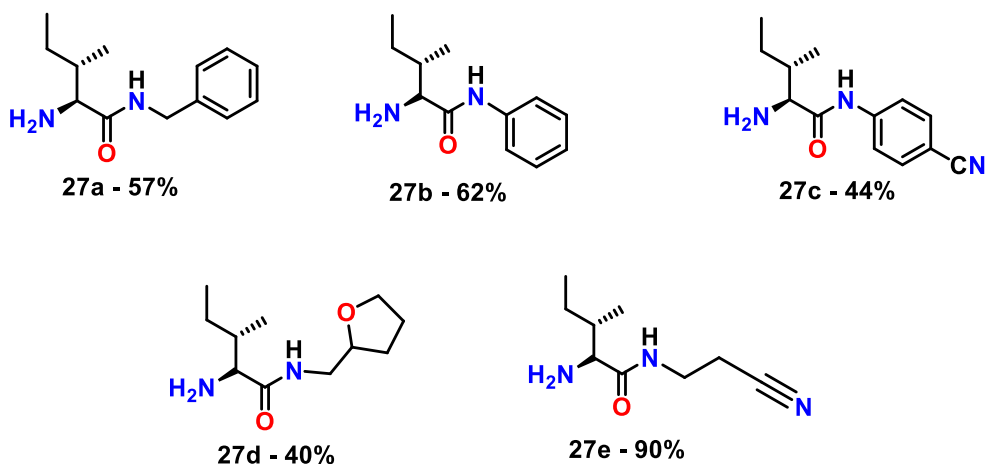
No Esquema 10 está representado o mecanismo da desproteção do grupo Fmoc, utilizando-se piperidina (**31**) e o composto **28a**. Inicialmente a piperidina abstrai o próton do anel fluoreno do derivado protegido (**28a**), formando o íon **a** e liberando uma molécula de piperidina protonada. Esse, através de uma reação de eliminação do tipo E1cb leva ao dibenzofulveno (**b**) e a um aminocarboxilato (**c**) que sofre uma descarboxilação, fornecendo a amina livre e liberando CO₂ no meio. O dibenzofulveno (**b**) formado no meio está em equilíbrio com o aduto **e**, passando pela espécie **d**.

Esquema 10. Mecanismo de desproteção do grupo Fmoc na presença de piperidina⁶²



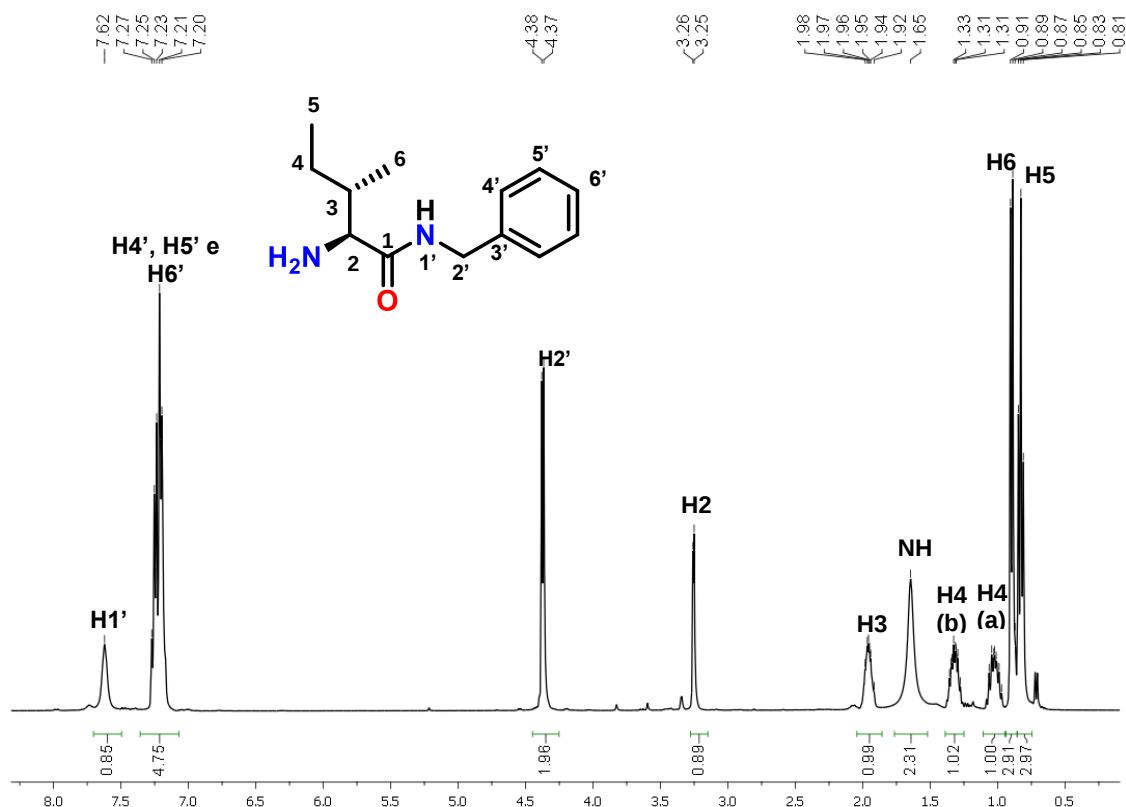
As amidas desprotegidas foram obtidas com rendimentos de 40-90% (Figura 8, página 42). Os rendimentos das amidas desprotegidas obtidas para essa metodologia variaram de acordo com a estrutura da amina (**30a-e**) utilizada, sendo que o menor rendimento (44%) (**27c**) foi quando utilizado a *p*-cianoanilina (**30c**) e o melhor rendimento (90%) (**27e**) foi quando utilizou-se a 3-amino-propionitrila (**30e**). Esses valores de rendimento observados estão de acordo com o esperado ao considerarmos as estruturas dessas aminas, uma vez que a amina **30c** é menos nucleofílica do que a amina **30e**, por se tratar de uma amina aromática com um grupo ciano retirador de elétrons na posição *para* do mesmo.

Figura 8. Estruturas químicas das amidas desprotegidas 27a-e com seus respectivos rendimentos



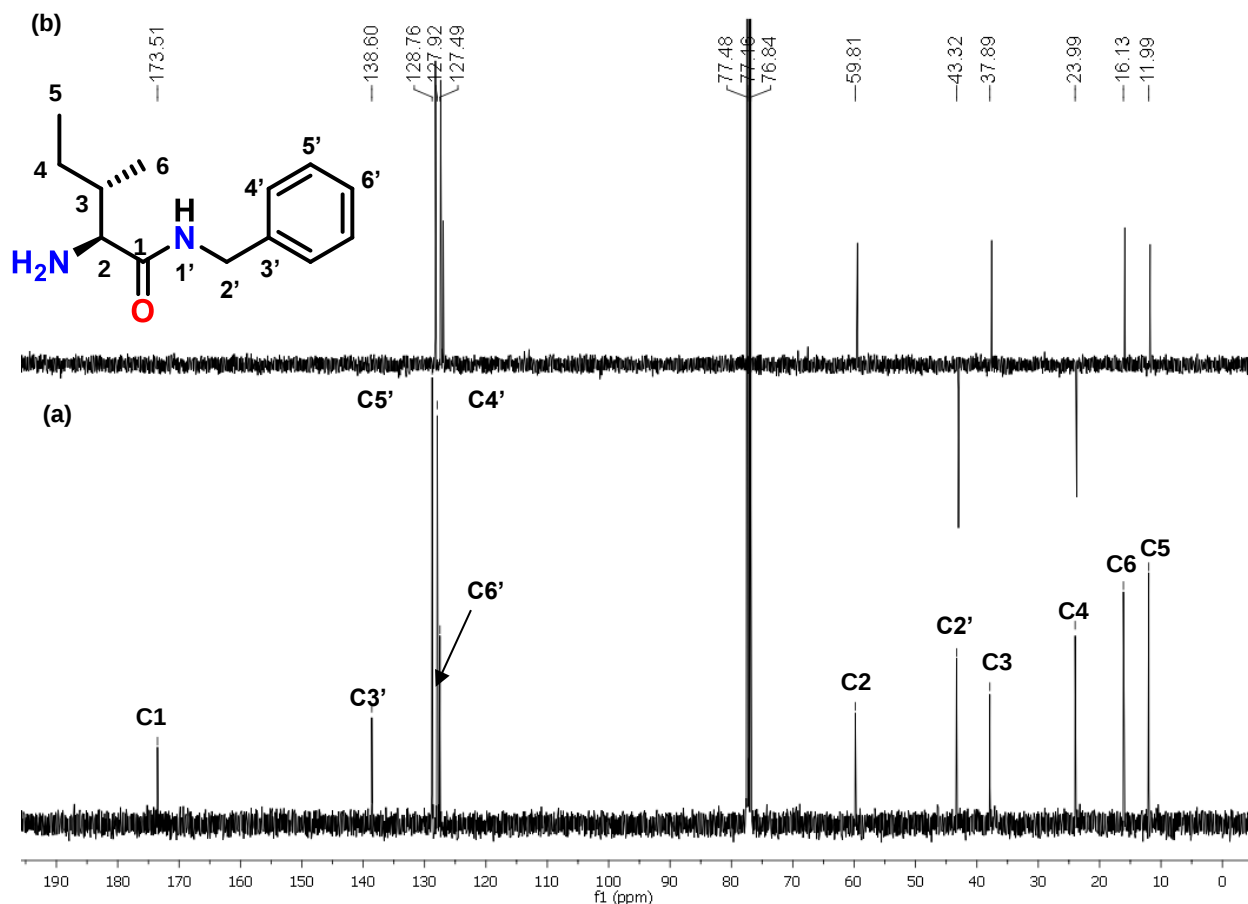
O intermediário **27a** foi caracterizado por meio das técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C e DEPT 135. No espectro de RMN de ^1H de **27a** (Figura 9, página 43) observa-se um multipeto na região entre δ 7,27-7,20 ppm, integrado para 5H, referente aos hidrogênios aromáticos H4', H5' e H6' e um dupeto em δ 4,37 ppm ($J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6,0$ Hz), integrado para 2H, atribuído aos hidrogênios benzílicos H2'. Outros sinais importantes observados no espectro são os dois multipletos na região entre δ 1,36-1,28 ppm e δ 1,04-0,97 ppm, referentes aos hidrogênios diastereotópicos H4, vizinhos ao centro de quiralidade C3. O tripleto em δ 0,83 ppm ($J_{\text{H}5,\text{H}4} = 8,0$ Hz), integrado para 3 hidrogênios, e o dupeto em δ 0,86 ppm ($J_{\text{H}6,\text{H}3} = 8,0$ Hz) referem-se aos hidrogênios H5 e H6, respectivamente, correspondentes ao grupo alifático proveniente da isoleucina. Assim, os sinais descritos comprovam o sucesso na reação de acoplamento entre a isoleucina e a amina **30a**.

Figura 9. Espectro de RMN de ^1H do composto 27a (CDCl_3 , 400 MHz)



No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 10, página 44) foi observado um sinal em δ 173,5 ppm, característico de um carbono carbonílico de um grupo amida, e como o mesmo não aparece no espectro de DEPT 135 ele foi atribuído a C1. O sinal em δ 138,6 ppm foi atribuído a C3' por se tratar de um carbono aromático que não está ligado a nenhum hidrogênio, fato comprovado devido à ausência desse sinal no espectro de DEPT 135. Os carbonos C5' e C4', foram atribuídos aos sinais em δ 128,8 ppm e δ 127,9 ppm. O sinal em δ 127,5 ppm refere-se à C6' e os sinais dos carbonos alifáticos C2 à C6 encontram-se entre δ 59,8 e δ 12,0 ppm.

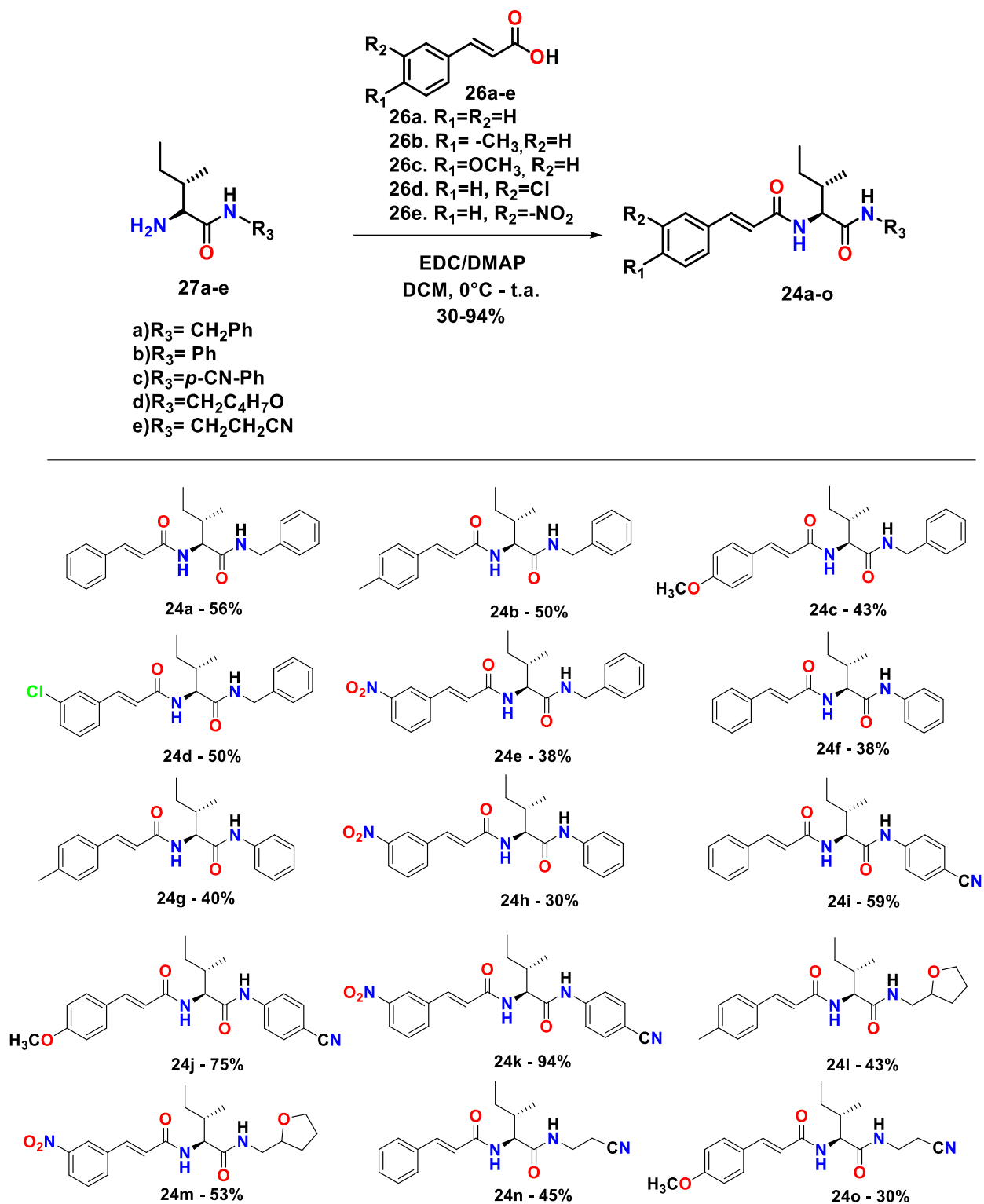
Figura 10. (a) Espectro de RMN de ^{13}C e (b) subespectro DEPT-135 do composto **23a** (CDCl_3 , 100 MHz)



3.2.2 Síntese dos aceptores de Michael **24a-o** e caracterização do composto **24a**

Após a síntese e caracterização do intermediário **27a**, realizou-se então a etapa da rota sintética para obtenção dos aceptores de Michael inéditos **24a-o** (Esquema 11, página 45). Esta etapa consistiu também em uma reação de acoplamento entre os ácidos carboxílicos **26a-e** e as amidas livres **27a-e**. Foram utilizadas as mesmas condições de reação para a obtenção de **27a-e**, onde os derivados do ácido cinâmico **26a-e** foram tratados com EDC e DMAP, em DCM, seguidas da adição de uma solução das aminas livres **30a-e** obtendo-se no final os dipeptídeos miméticos **24a-o**.

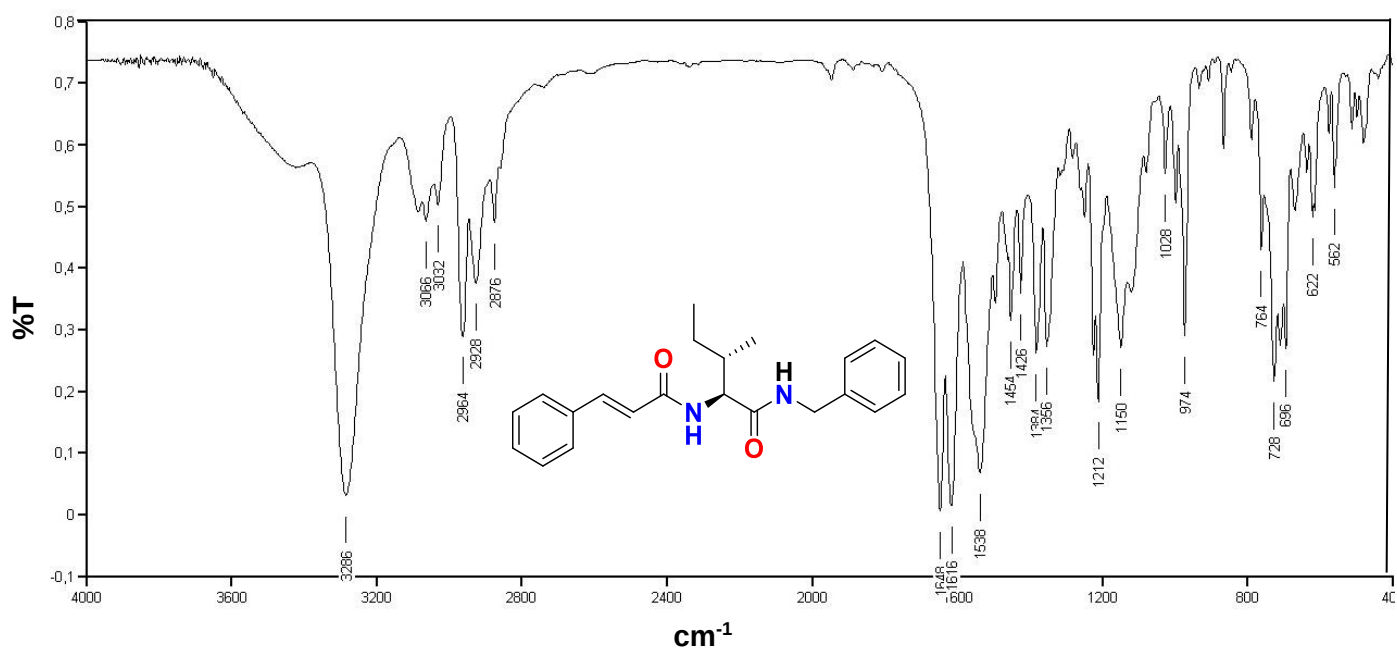
Esquema 11. Síntese dos aceptores de Michael 24a-o e suas respectivas estruturas químicas e rendimentos



Todos os aceptores de Michael foram caracterizados pelas técnicas de espectroscopia na região do IV, RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135. Os espectros dos aceptores de Michael encontram-se no Anexo II do capítulo 1, e nessa discussão será abordada a caracterização do composto **24a**. Para este composto foram realizados experimentos de correlação em duas dimensões, COSY, HSQC e HMBC, para comprovar as correlações entre os hidrogênios e carbonos.

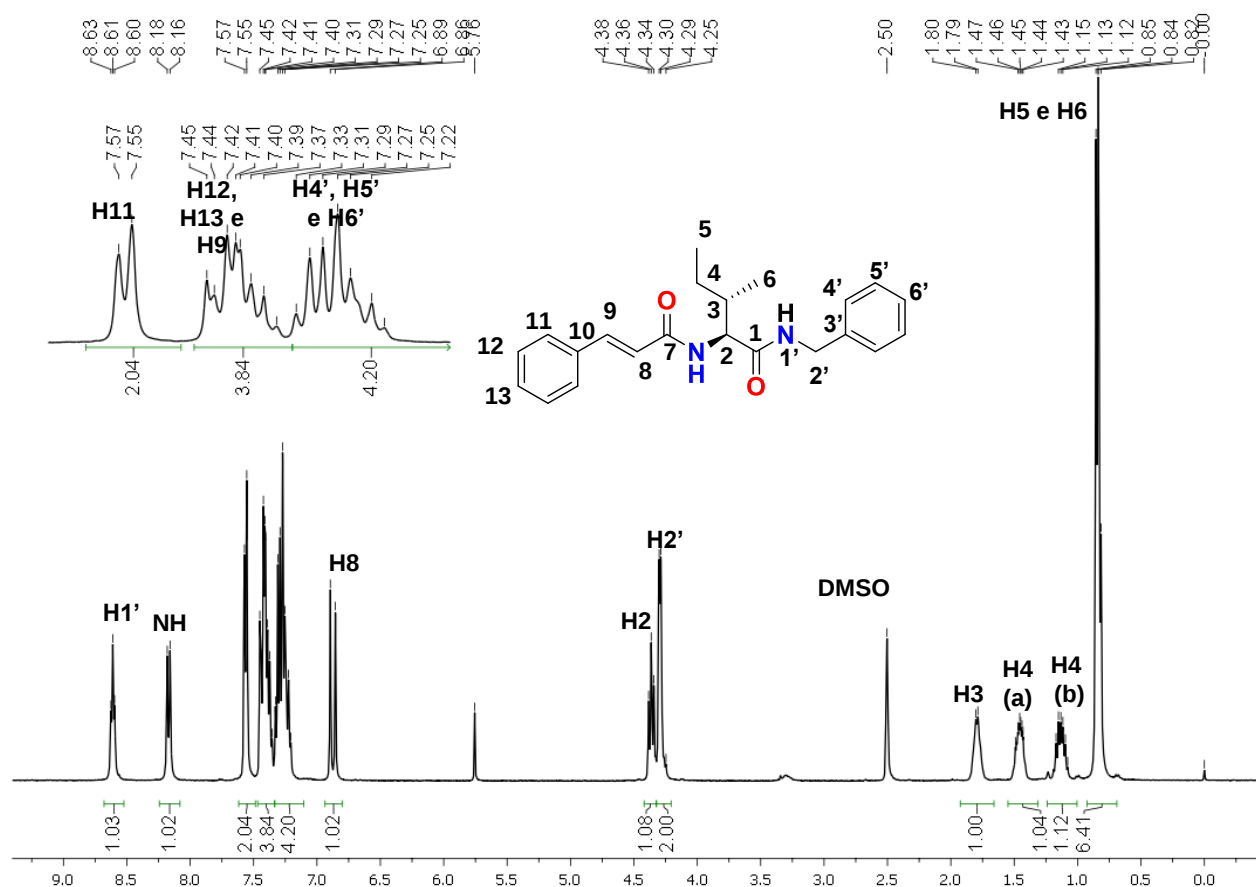
Na Figura 11 está representado o espectro na região do infravermelho, realizado usando pastilha de KBr anidro, do composto **24a**. Em 3296 cm^{-1} observa-se banda de absorção referente ao estiramento da ligação N-H, característico do grupo amida; na região de $2964 - 2876\text{ cm}^{-1}$ há bandas atribuídas ao estiramento assimétrico das ligações C-H e as bandas características do estiramento da ligação C=O são observadas em 1648 e 1616 cm^{-1} .

Figura 11. Espectro na região do IV (KBr) do composto 24a



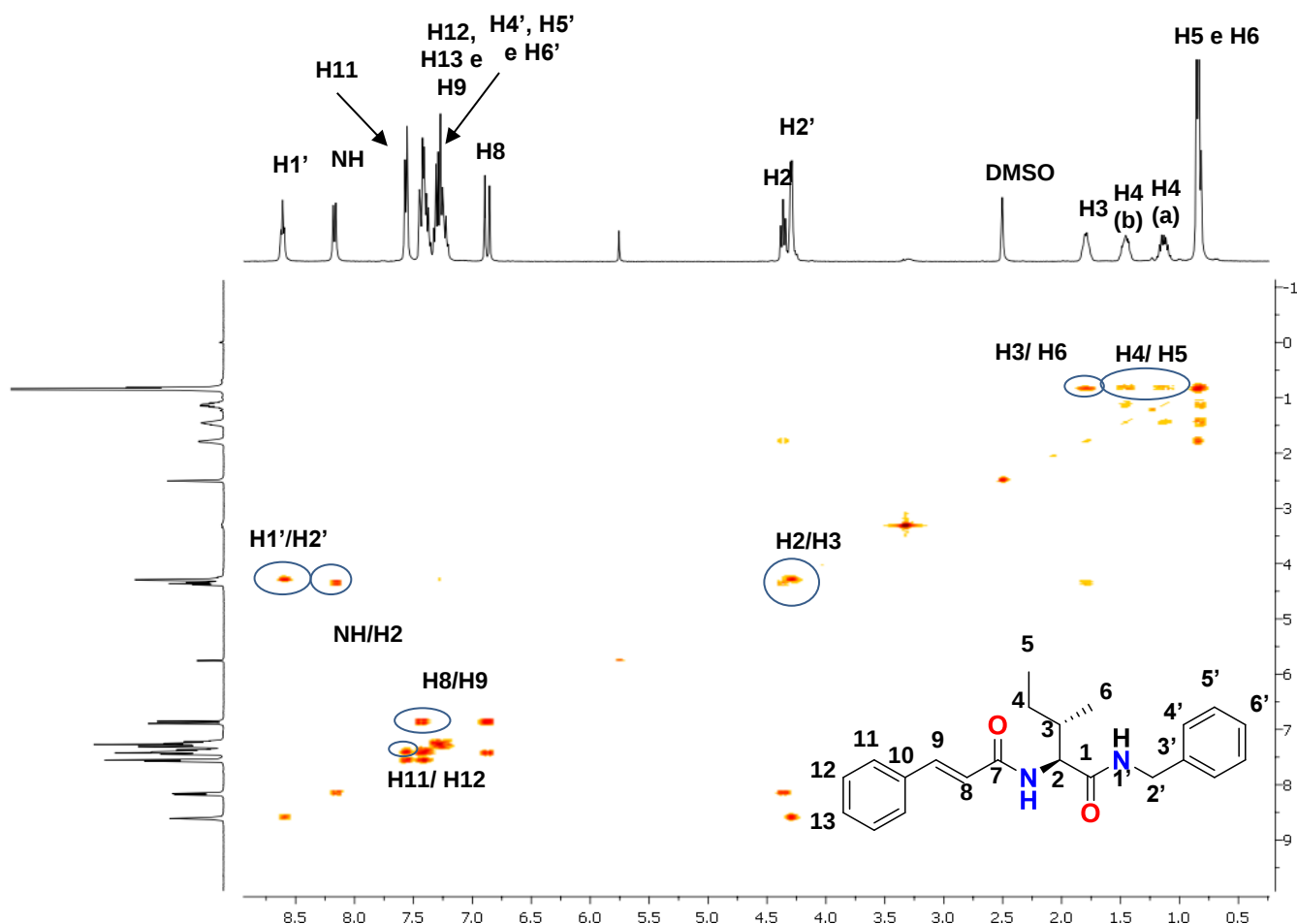
No espectro de RMN de ^1H do composto **24a** (Figura 12, página 48) observaram-se novos sinais na região dos aromáticos, sendo estes um multiplete entre δ 7,57 e 7,44 ppm, integrado para dois hidrogênios (atribuído ao H11), um multiplete entre δ 7,45-7,39 ppm que apresentou integração para quatro hidrogênios e um duplete em δ 6,87 ppm e $J = 16$ Hz, com integração de um hidrogênio. Esses novos sinais indicam que houve sucesso entre o acoplamento entre o ácido cinâmico e o composto **27a**. Além disso, observou-se que o sinal referente ao H2 no derivado **27a** (Figura 9, página 43) mudou a multiplicidade de um duplete para um triplete, e essa mudança indicou que o H ligado ao nitrogênio da amida vizinha passou a interagir com H2. O duplete em δ 6,87 ppm indica que o mesmo se refere à um hidrogênio vinílico, podendo ser ele H8 ou H9. Como a ligação dupla entre C8 e C9 apresenta ressonância com a carbonila vizinha, pode-se afirmar que há uma deficiência de elétrons (δ^+) em C9 mais proeminente do que em C8, tornando o H9 ligado ao C9 mais desblindado do que o H8. Assim, H9 apresentaria maior deslocamento químico quando comparado ao H8. A análise de outros experimentos de RMN foi essencial para a elucidação correta de hidrogênios e carbonos na estrutura dos novos compostos.

Figura 12. Espectro de RMN de ^1H do composto **24a** ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz)



Nos mapas de contornos COSY do composto **24a** (Figura 13, página 49), foi possível observar o acoplamento entre os sinais referentes aos hidrogênios H2/H3, H3/H6 e H4/H5, assim como em H1'/H2' e NH/H2. Também foi possível observar a correlação entre H8/H9, apesar de um dos sinais dos hidrogênios vinílicos estar superposto aos sinais dos hidrogênios aromáticos H12 e H13.

Figura 13. Mapa de contornos COSY do composto **24a** (DMSO- d_6 , 400 MHz)



No espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 do composto **24a** (Figura 14a e 14b, página 50), observam-se os sinais referentes aos carbonos aromáticos. Notam-se também o sinal de uma nova carbonila em 164,5 ppm, atribuído ao C7 e de novos sinais na região de carbonos aromáticos e alifáticos, com δ entre 139,4 e 122,3 ppm. Além disso, apenas com esses experimentos não foi possível elucidar quais sinais correspondem aos carbonos C9 e C8, mas os mesmos foram atribuídos no mapa de contornos HSQC e confirmados no HMBC.

Os sinais dos carbonos do composto **24a** foram atribuídos com o auxílio do mapa de contornos HSQC (Figura 15, página 50), e comparação com o espectro do material de partida, o composto **27a** (Figura 10, página 44).

Figura 14. (a) Espectro de RMN de ^{13}C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 24a (DMSO- d_6 , 100 MHz)

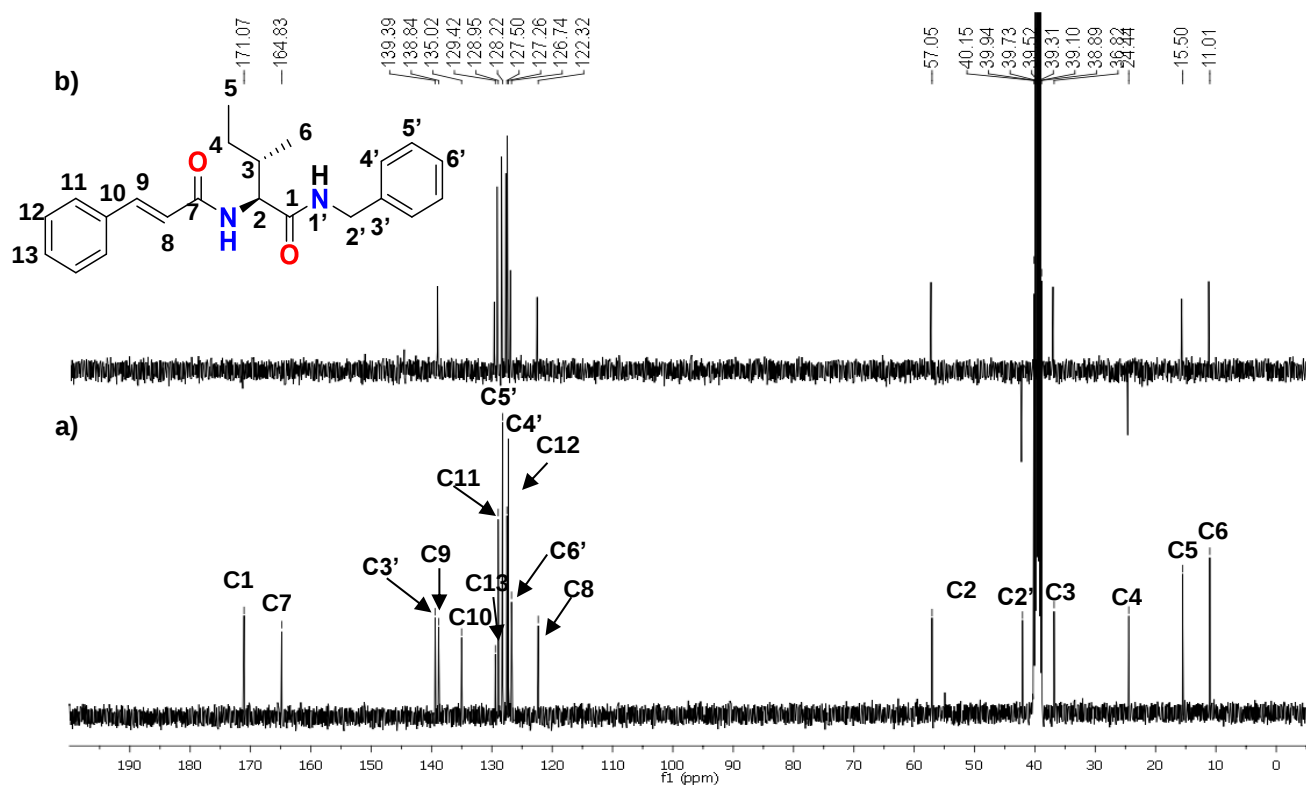
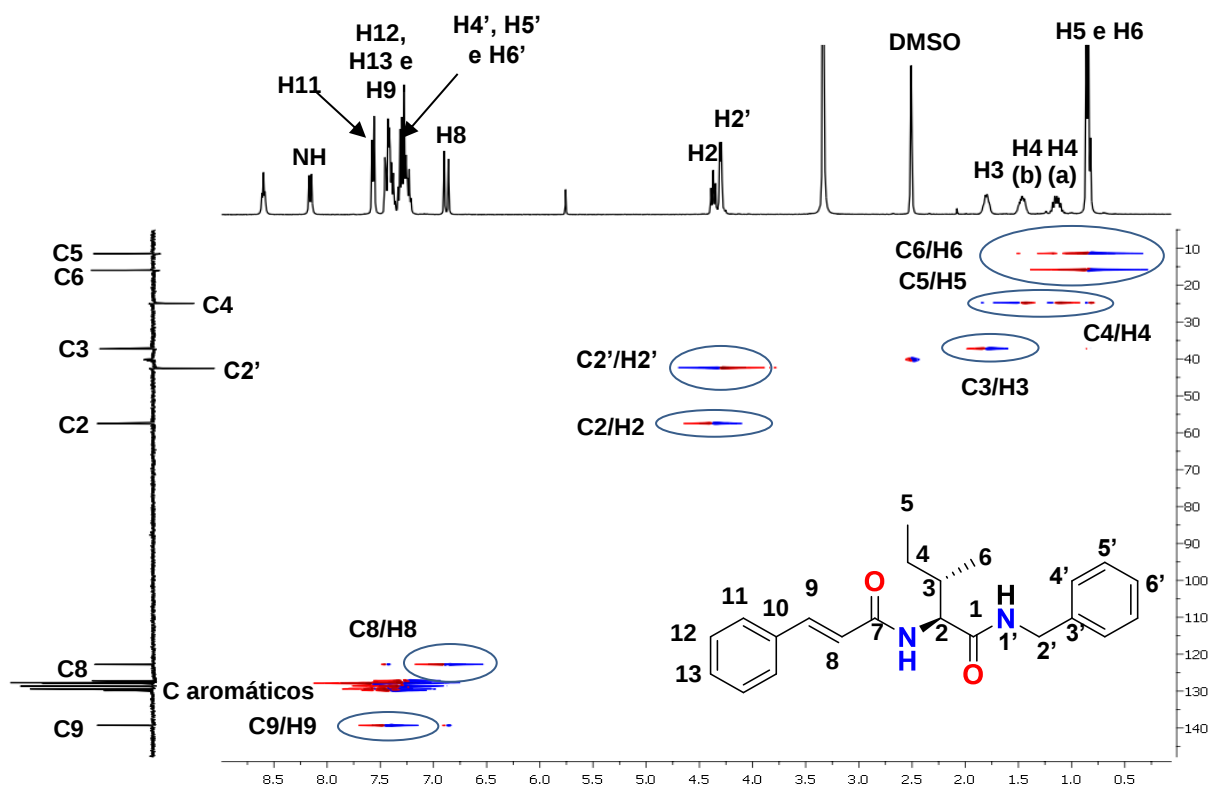


Figura 15. Mapa de contornos HSQC do composto 24a (DMSO- d_6)



A análise do mapa de contornos HMBC do composto **24a** permitiu observar uma correlação entre H11/C9 (Figura 16), indicando que o sinal de carbono em δ 138,8 ppm (mais desblindado) refere-se ao C9, uma vez que o mapa de correlação HMBC apresenta, preferencialmente, a correlação entre carbonos e hidrogênios com duas ou três ligações de distância e, portanto, não seria possível observar a correlação entre H11 e C8. Assim, ao analisar novamente o mapa de correlações HSQC (Figura 15, página 50) foi possível observar a correlação entre H8/C8. Assim, a análise do mapa de contornos HMBC permitiu atribuir os hidrogênios H8 e H9 corretamente.

Figura 16. Mapa de contornos HMBC do composto **24a** (DMSO- d_6)

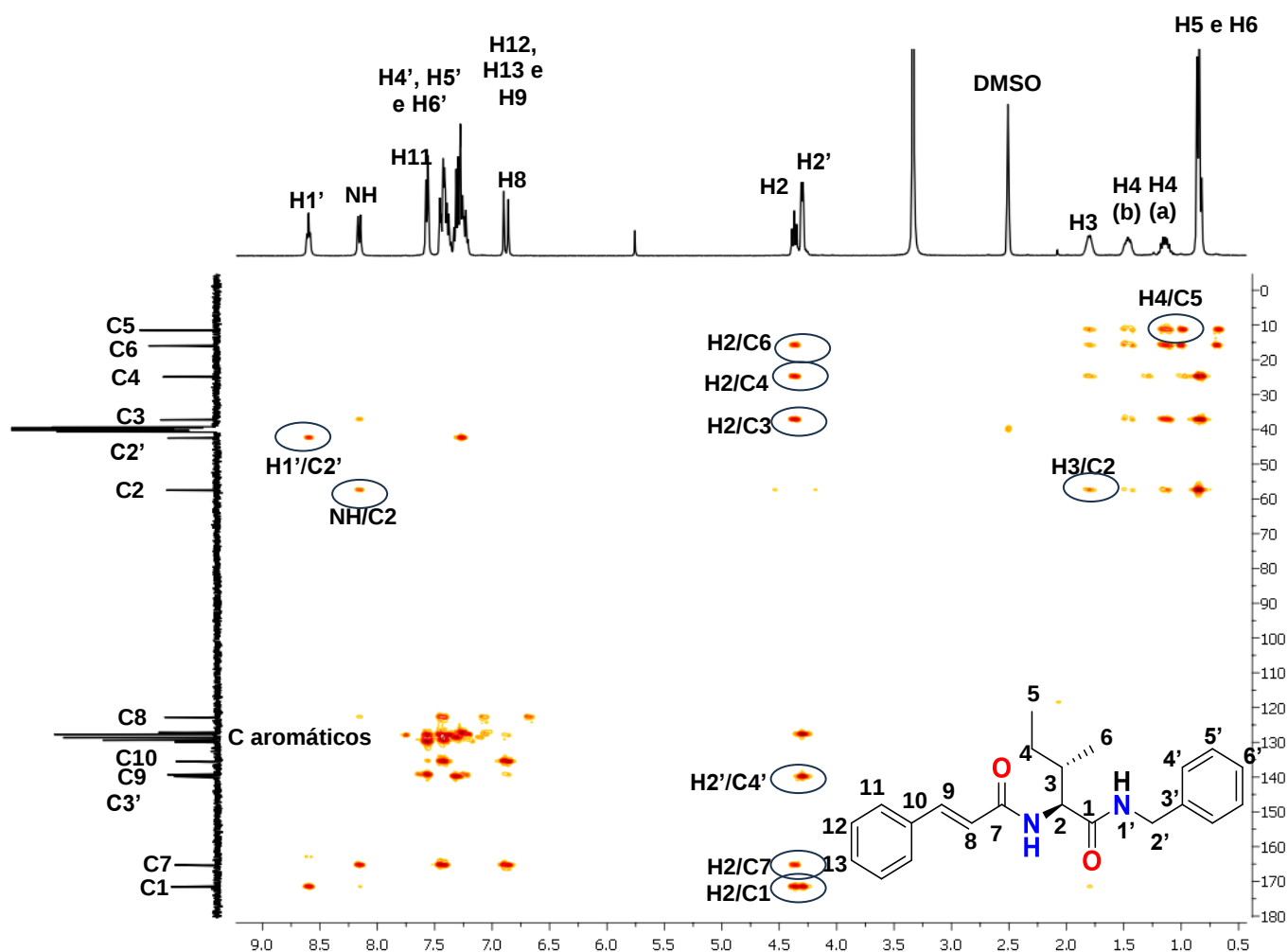
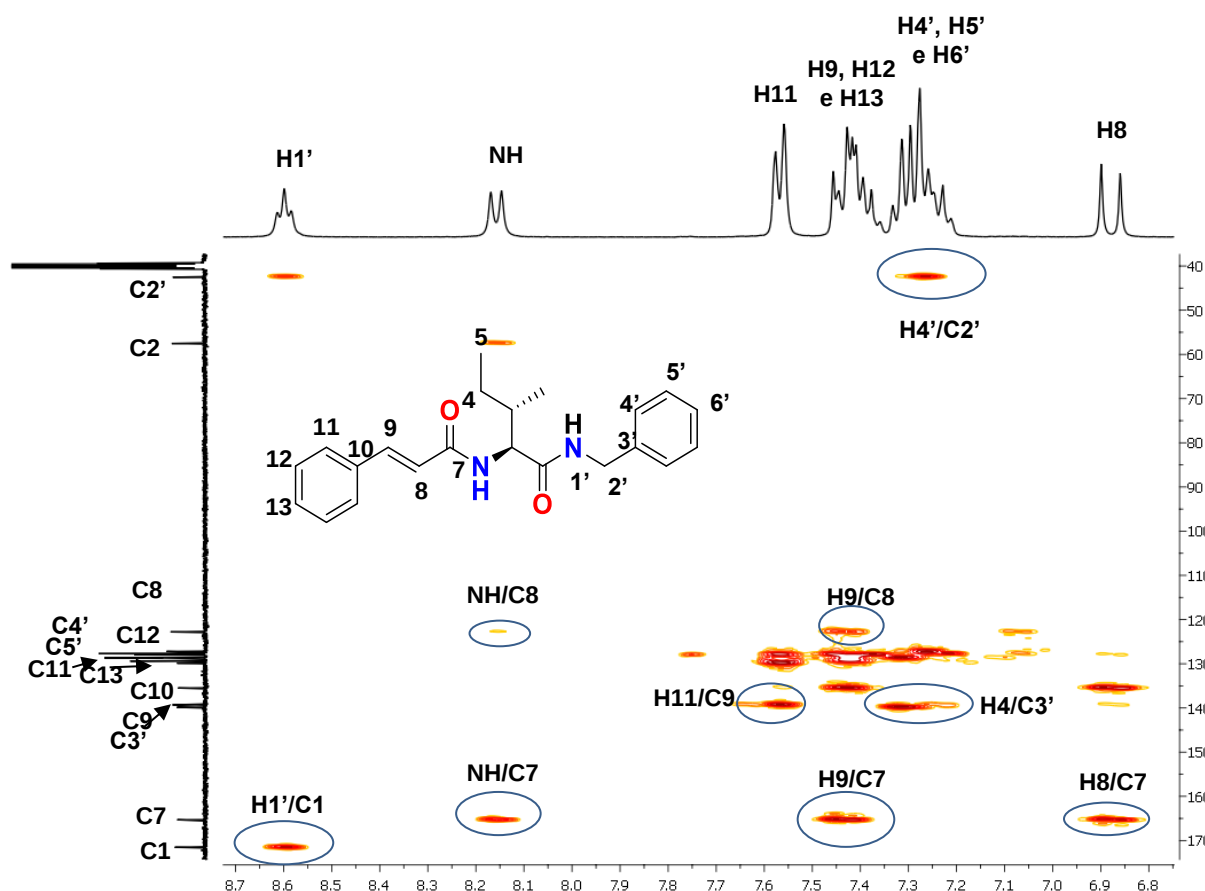


Figura 17. Expansão do mapa de contornos HMBC, na região dos aromáticos, do composto 24a (DMSO- d_6)

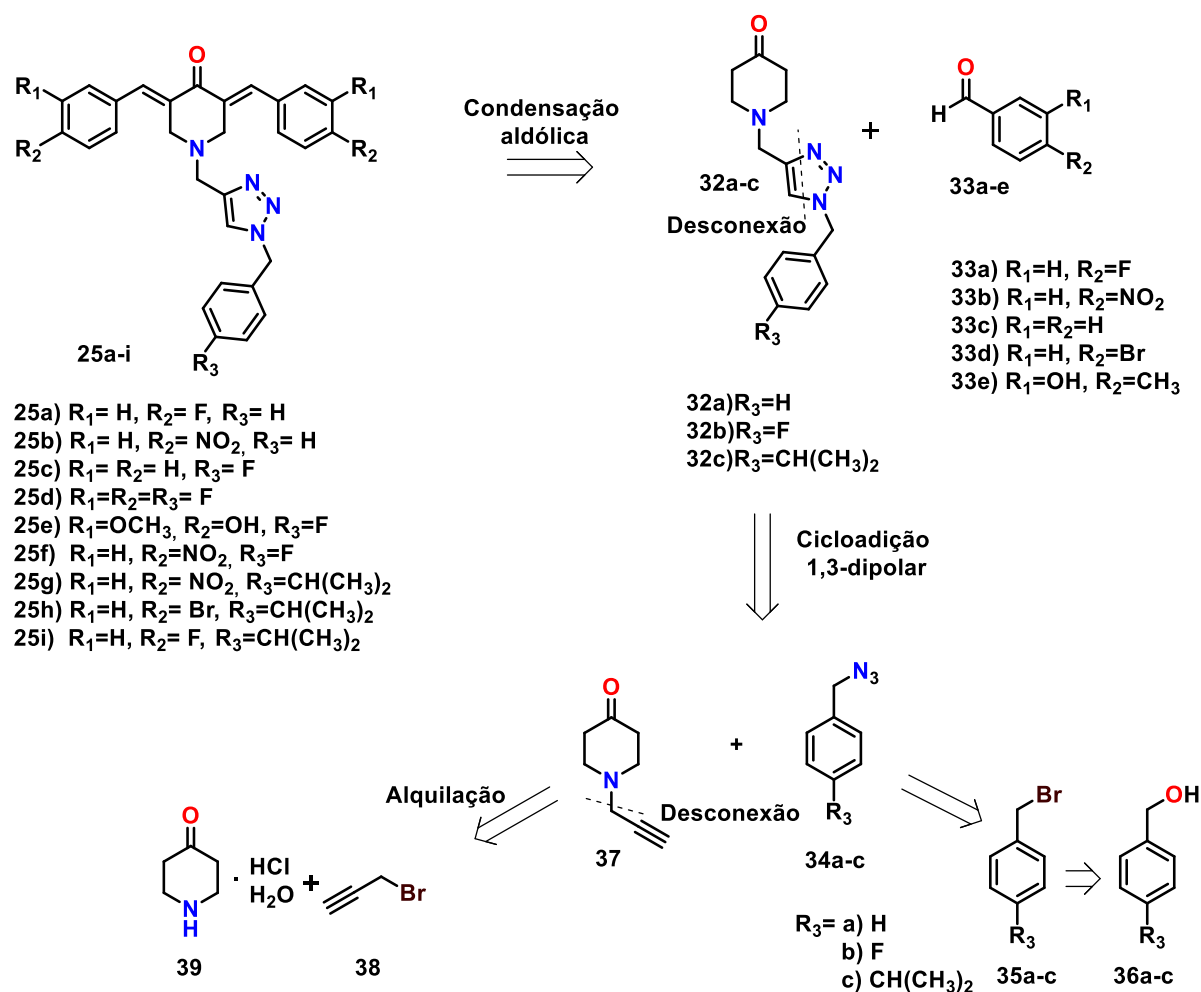


A caracterização dos aceptores de Michael da série 1 sintetizados neste trabalho (**24a-o**) com os deslocamentos químicos (δ , ppm), as atribuições dos sinais dos hidrogênios e carbonos, os valores das constantes de acoplamentos (J , Hertz) e as multiplicidades (M) encontram-se nas tabelas do Apêndice do capítulo I. As atribuições dos sinais de hidrogênios e de carbonos foram feitas com auxílio de tabelas de deslocamentos, e comparação com os espectros dos materiais de partida. Entretanto, não foram realizados experimentos de correlação em duas dimensões, COSY, HMQC e HMBC para os demais derivados. Dessa forma, alguns sinais de carbono e hidrogênio podem estar com as atribuições trocadas, principalmente os sinais referentes aos hidrogênios e carbonos aromáticos, por apresentarem deslocamentos químicos próximos.

3.3. Análise retróssintética da série 2

Os compostos **25a-i** foram planejados conforme a análise retróssintética representada no Esquema 12. As moléculas do tipo 3,5-bis(arilideno)piperid-4-ona seriam obtidas a partir de uma reação de condensação aldólica entre as cetonas **32a-c** e diferentes aldeídos aromáticos (**33a-e**), contendo grupos ativadores do anel benzênico, como a vanilina (**33e**), e desativadores (**33a**, **33b** e **33d**) do anel aromático. As piperidonas contendo um anel 1,2,3-triazólico seriam obtidas a partir da reação do tipo 1,3-dipolar entre as azidas benzílicas **34a-c** e o alcino terminal **37**. As azidas benzílicas **34a-c** seriam obtidas a partir dos brometos benzílicos **35a-c**, que por sua vez seriam obtidos a partir dos álcoois comerciais **36a-c**. O alcino terminal **37** seria obtido a partir da reação de alquilação entre o anel 4-piperidona (**39**) e o brometo de propargila (**38**).

Esquema 12. Análise retróssintética para a obtenção dos novos aceptores de Michael da série 2 (25a-i)

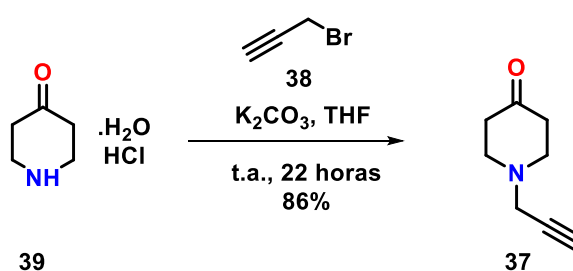


3.4. Síntese e caracterização dos novos aceptores de Michael 25a-i (série 2)

3.4.1. Reação de *N*-alquilação do anel 4-piperidona

A reação de alquilação entre o cloridrato de 4-piperidona mono-hidratado (**39**) e o brometo de propargila (**38**), para obtenção do alcino **37**, é uma reação de substituição do tipo bimolecular (S_N2), onde a cinética depende tanto da natureza do nucleófilo como do grupo abandonador. Dessa forma, optou-se por utilizar um solvente polar aprótico, o tetraidrofurano (THF), capaz de estabilizar o estado de transição dessa reação.⁶ A escolha do THF ao invés de outros solventes apróticos polares comumente utilizados em reação do tipo S_N2 , como o dimetilsulfóxido (DMSO) e a dimetilformamida (DMF), foi feita devido ao seu baixo ponto de ebulição (66 °C) e maior facilidade de eliminação do mesmo nas etapas subsequentes de reação. A utilização do carbonato de potássio (K_2CO_3) como base forneceu o alcino *N*-alquilado (**37**) com um bom rendimento (86%) (Esquema 13).

Esquema 13. Reação de *N*-alquilação do cloridrato de 4-piperidona mono-hidratado e brometo de propargila



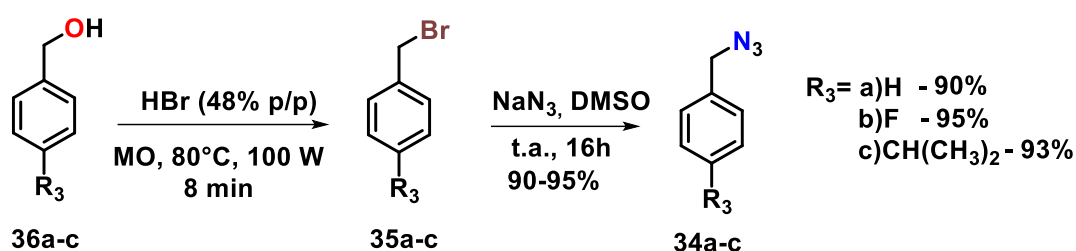
O alcino **37** é um composto conhecido e, portanto, o mesmo foi caracterizado por RMN de 1H e os dados foram comparados com a literatura.⁶³

⁶³ Makarov, M. V.; Rybalkina, E. Y.; Khrustalev, V. N.; Röschenhaler, G. V. Modification of 3,5-Bis(Arylidene)-4-Piperidone Pharmacophore by Phosphonate Group Using 1,2,3-Triazole Cycle as a Linker for the Synthesis of New Cytostatics. *Med. Chem. Res.* 2015, 24 (4), 1753–1762. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1262-z>.

3.4.2. Síntese das azidas benzílicas 34a-c

As azidas benzílicas do tipo *p*-substituídas foram obtidas a partir dos álcoois benzílicos comerciais **36a-c**, que foram primeiramente convertidos nos brometos benzílicos **35a-c** e, em seguida, nas azidas orgânicas **34a-c** de interesse (Esquema 14).

Esquema 14. Rota geral de síntese realizada para obtenção das azidas benzílicas 34a-c



Os álcoois, em geral, não reagem via reação direta de substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$), entretanto, o grupo hidroxila pode ser convertido em bom grupo abandonador por diferentes condições de reação.⁶⁴ Assim, os álcoois **36a-c** foram convertidos nos brometos **35a-c**, utilizando o ácido bromídrico (48% p/p) e irradiação de micro-ondas, para promover a substituição da hidroxila, segundo a metodologia descrita por Freitas e colaboradores (2014)⁶⁵ e Cardoso (2023).⁶⁶ Trata-se de uma reação de substituição nucleofílica de caráter unimolecular ($\text{S}_{\text{N}}1$), na qual o meio ácido propicia a protonação do grupo hidroxila com posterior eliminação de água.⁶ Os derivados bromados foram utilizados sem purificação prévia na próxima etapa.

⁶⁴Lin, S.; March, J. March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th Edition. *Molecules* **2001**, 6, 1064-1065. <https://doi.org/10.3390/61201064>

⁶⁵De O Freitas, L. B.; Borgati, T. F.; De Freitas, R. P.; Ruiz, A. L. T. G.; Marchetti, G. M.; De Carvalho, J. E.; Da Cunha, E. F. F.; Ramalho, T. C.; Alves, R. B. Synthesis and Antiproliferative Activity of 8-Hydroxyquinoline Derivatives Containing a 1,2,3-Triazole Moiety. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 84, 595–604. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.061>.

⁶⁶Cardoso, G. de A. Síntese e Avaliação da Atividade Citotóxica de Derivados Triazólicos de Canabinoides Indólicos. Tese de Doutorado em Ciências - Química. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020.

Em seguida foi realizada a reação do tipo S_N2 , com o ataque do íon azida ao carbono parcialmente positivo dos brometos benzílicos, utilizando-se uma solução de azida de sódio em DMSO à $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, com agitação vigorosa à temperatura ambiente, por 16 horas. Desta forma, após duas etapas de reação foram obtidas as azidas benzílicas **34a-c** com rendimentos globais de 90-95%. As azidas orgânicas obtidas foram caracterizadas por RMN de ^1H e comparadas com dados da literatura.⁶⁶ Os espectros desses compostos encontram-se no Apêndice II.

3.4.3. Síntese dos derivados 32a-c e caracterização do composto 32b

Uma vez obtido o alcino *N*-alquilado **37** e as azidas benzílicas **34a-c** foi realizada a reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada por cobre, conhecida como reação *click* ou CuAAC, para obtenção dos intermediários triazólicos chave para a aquisição dos novos aceptores de Michael da série 2 (Esquema 15, página 57). A reação foi extraída de acordo com a metodologia de Zacchi e colaboradores (2018)⁶⁶, amplamente empregada em nosso grupo de pesquisa com bons rendimentos e que envolve a remoção dos íons Cu^+ utilizando uma solução alcalina de EDTA.⁶⁷⁻⁶⁹ Nessa metodologia, os solventes utilizados são água destilada e DCM, na proporção de 1:1, capaz de solubilizar tanto os compostos orgânicos como os sais de sulfato de cobre (CuSO_4) e de ascobarto de sódio (AscNa). O íon de cobre Cu^{2+} seria reduzido à Cu^+ *in situ* pelo AscNa, utilizado em excesso. A vantagem de reduzir o Cu^{2+} à Cu^+ durante a reação, ao invés de utilizar diretamente uma fonte de Cu^+ , como o iodeto de cobre (CuI), deve-se ao fato desse reagente encontrar-se na forma de aglomerados estáveis (como Cu_2I_3^- , Cu_4I_5^- e Cu_5I_6^-), tornando-se necessário o uso de uma base nitrogenada ou aquecimento para a obtenção da espécie Cu^+ livre.⁷⁰

⁶⁶ Zacchi, C. H. C.; Federighi, S. S. M.; Gadelha, F. R.; Martins, F. T.; Alves, R. B.; de Fátima, Â. Synthesis of Potential Anti-Trypanosoma Cruzi Azole-Naftifine Analogues by Azide-Alkyne Click Reaction. *Mendeleev Commun.* **2018**, 28 (2), 195–197. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2018.03.029>

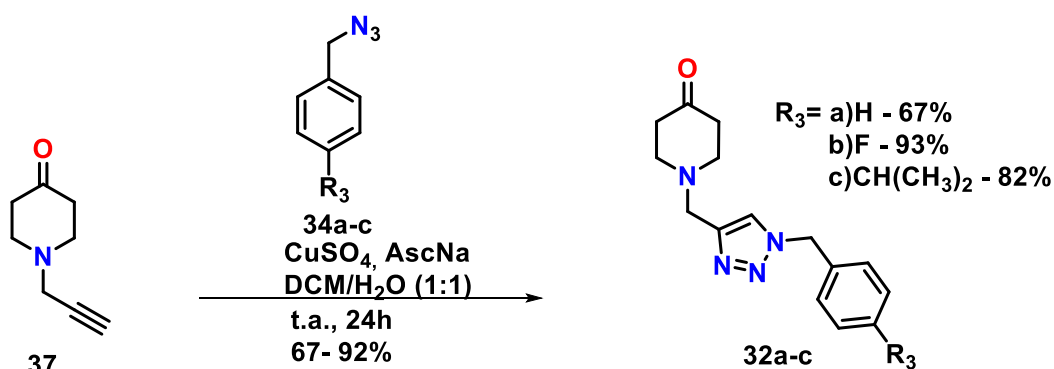
⁶⁷ Paulino, R.P.; Alves, R.B.; Matalińska, J.; Lipiński, P.F.J.; Freitas, Rossimiri P. Synthesis of Fentanyl Triazole Derivatives and their Affinity for Mu-Opioid and Sigma-1 Receptors. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2023**, 34 (10), 1474–1485. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20230059>

⁶⁸ Cardoso, G. de A.; Querino, A. L. A.; Silva, H.; Martins, J. P. A.; de Freitas, R. P.; Alves, R. B. Synthesis, Cytotoxicity and QSAR Studies of Indolic Cannabinoid-Triazole Hybrids. *J. Mol. Struct.* **2023**, 1290. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135889>

⁶⁹ Torres, N. M. P. de O.; Cardoso, G. de A.; Silva, H.; Freitas, R. P. de; Alves, R. B. New Purine-Triazole Hybrids as Potential Anti-Breast Cancer Agents: Synthesis, Antiproliferative Activity, and ADMET in Silico Study. *Med. Chem. Res.* **2023**, 32, 1816. <https://doi.org/10.1007/s00044-023-03115-w>

⁷⁰ Freitas, L. B. de O.; Ruela, F. A.; Pereira, G. R.; Alves, R. B.; Freitas, R. P. de; Santos, L. J. dos. A Reação "Click" Na Síntese de 1, 2, 3-Triazóis: Aspectos Químicos e Aplicações. *Quim. Nova* 2011, 34 (10), 1791–1804. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011001000012>.

Esquema 15. Reação utilizada para a obtenção dos compostos 32a-c



O mecanismo de reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada por Cu (I) já foi estudado por diversos pesquisadores.⁷¹⁻⁷³ Em 2013, Worrel e colaboradores⁷⁴ propuseram um mecanismo de reação envolvendo dois átomos de Cu (I) no ciclo catalítico, baseado em experimentos envolvendo isótopos. Conforme mostrado no Esquema 16 (página 58) o primeiro átomo de Cu(I)^a complexa-se com o orbital π do alcino, diminuindo o valor de pKa do intermediário formado (I), possibilitando a formação do acetileto de cobre (II) a partir da entrada do segundo átomo de Cu(I)^b e saída do próton terminal do alcino. Em seguida, a azida orgânica se complexa ao átomo de Cu(I)^b, a partir do átomo de nitrogênio mais nucleofílico, permitindo o ataque nucleofílico do alcino enriquecido ao nitrogênio da azida terminal (III), formando o metalociclo (IV), onde ambos os átomos de Cu(I) estabilizam o nitrogênio ligado ao carbono. A ligação termodinamicamente favorecida entre os átomos de carbono e nitrogênio é a força motriz que favorece o fechamento do anel e saída de um átomo de Cu(I), formando o intermediário (V). Por fim, ocorre a protonólise da ligação [Cu]-C no intermediário (V), liberando o catalisador e um anel 1,2,3-triazólico-1,4-dissubstituído.

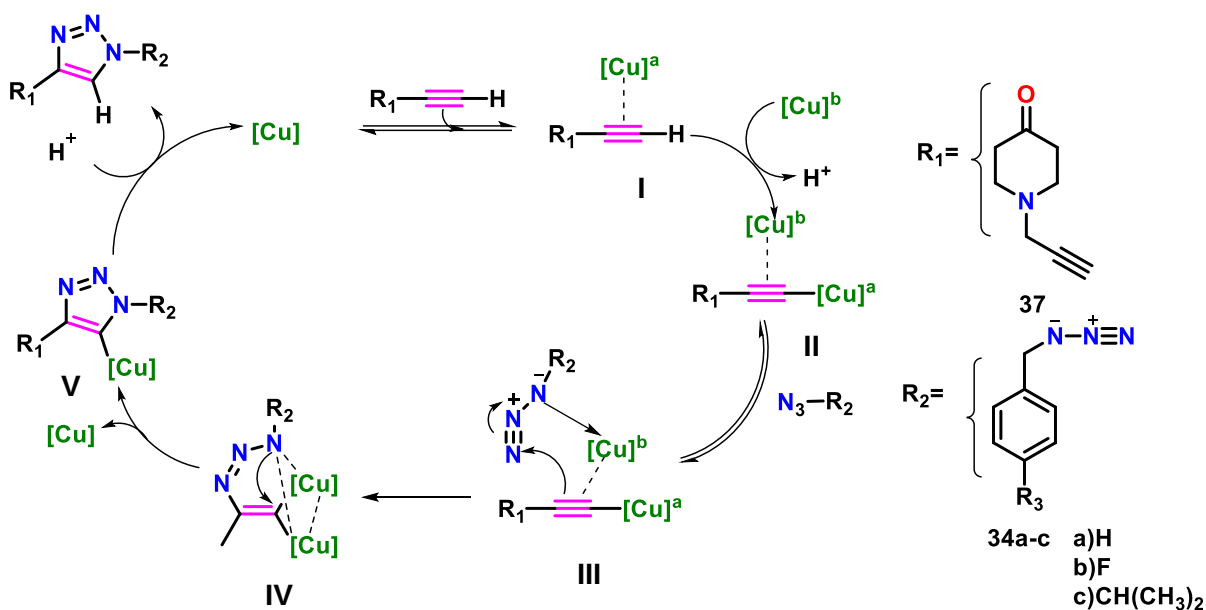
⁷¹Meldal, M.; Tomøe, C. W. Cu-Catalyzed Azide - Alkyne Cycloaddition. *Chem. Rev.* 2008, 108 (8), 2952–3015. <https://doi.org/10.1021/cr0783479>.

⁷²Hein, J. E.; Fokin, V. V. Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition (CuAAC) and beyond: New Reactivity of Copper(I) Acetylides. *Chem. Soc. Rev.* 2010, 39 (4), 1302–1315. <https://doi.org/10.1039/b904091a>.

⁷³Buckley, B. R.; Dann, S. E.; Harris, D. P.; Heaney, H.; Stubbs, E. C. Alkynylcopper(I) Polymers and Their Use in a Mechanistic Study of Alkyne-Azide Click Reactions. *Chem. Commun.* 2010, 46 (13), 2274–2276. <https://doi.org/10.1039/b924649e>.

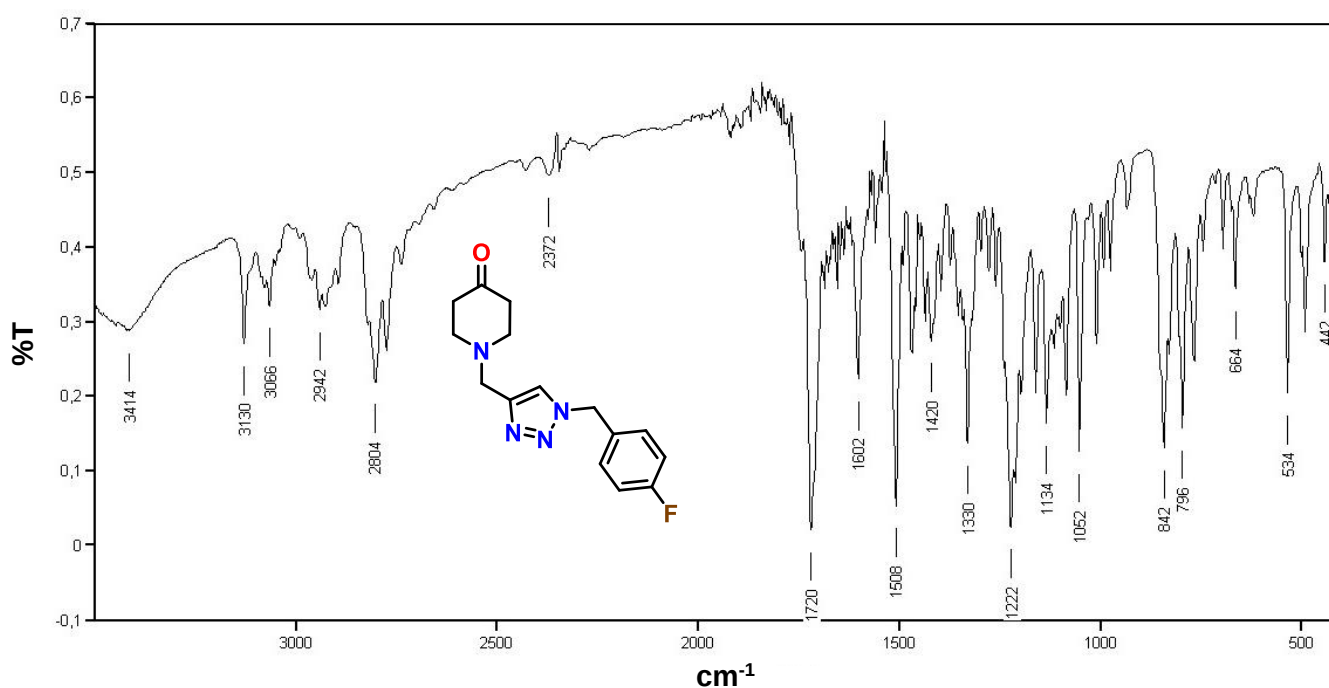
⁷⁴Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science*, 2013, 340 (6131), 457–460. <https://doi.org/10.1126/science.1229506>.

Esquema 16. Mecanismo proposto por Worrel e colaboradores ⁷⁴ para obtenção dos compostos triazólicos



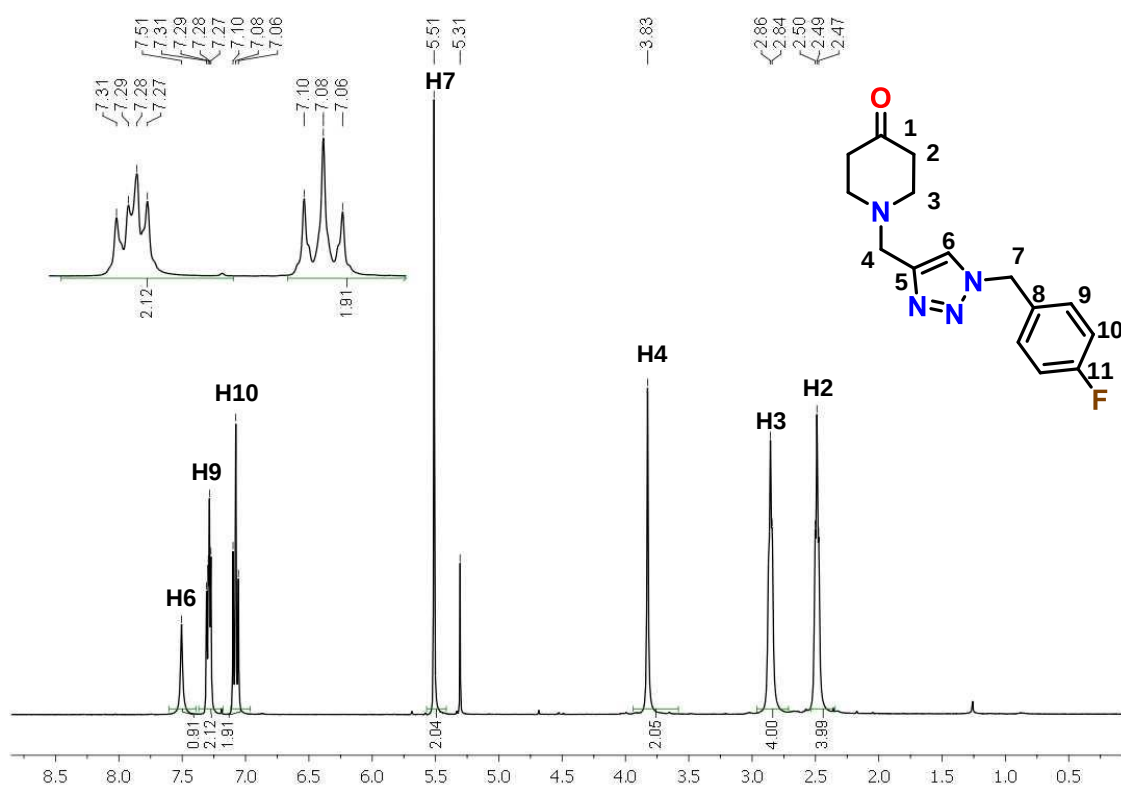
Para efeitos de discussão espectral, a caracterização do composto **32b** será discutida em maiores detalhes a seguir. No espectro na região do IV (Figura 18) foram observadas as bandas características da ligação CH_2 benzílica em 2804 cm^{-1} , $C=O$ em 1720 cm^{-1} e $=C-F$ em 1222 cm^{-1} . A banda observada em 1508 cm^{-1} poderia ser atribuída à ligação $C=C$ do anel triazólico.

Figura 18. Espectro de IV do composto 32b



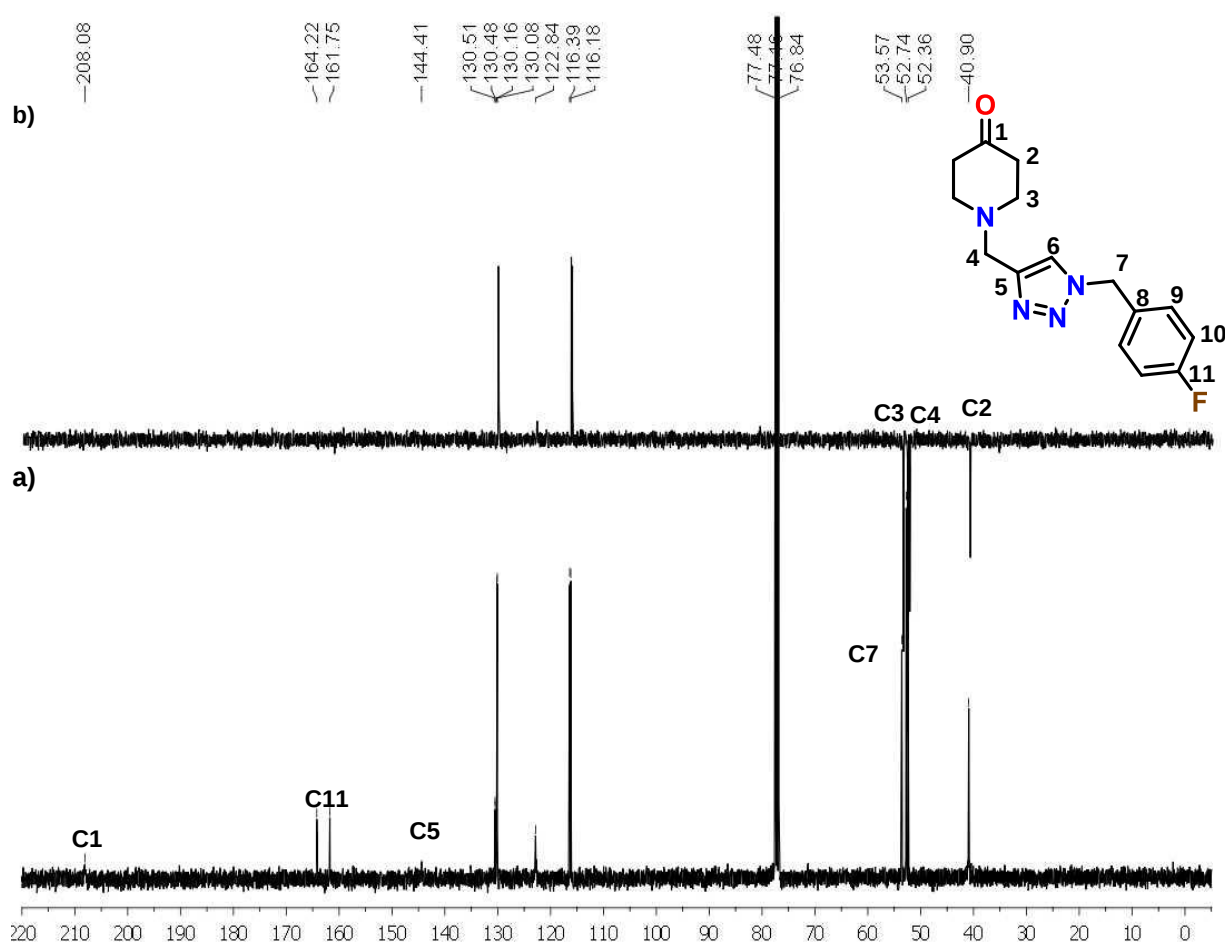
No espectro de RMN de ^1H (Figura 19) do composto **32b** observa-se um simpleto com deslocamento químico em δ 7,51 ppm, com integração igual a um, que se encontra na região de hidrogênios aromáticos, e que pode ser atribuído ao hidrogênio do anel triazólico (H-6), o que confirma o acoplamento entre a azida **34b** e o alcino **37**. Ainda na região dos aromáticos foi possível observar dois sinais multipletos nos intervalos δ 7,31 – 7,27 e 7,10 – 7,06 ppm, referente à H-9 e H-10. O simpleto em 5,51 ppm, com integração igual a 2, corresponde à H-7, que se encontra ligado ao átomo de carbono diretamente ligado ao nitrogênio do anel triazólico e, assim, este núcleo está mais desblindado do que H-4 (δ = 3,83 ppm). Os tripletos ($J_{3,4}$ = 3,0 Hz), em δ 2,86 ppm e 2,49 ppm, ambos apresentando integração igual a 4, correspondem aos hidrogênios do anel da 4-piperidona H-3 e H-2, respectivamente. O hidrogênio atribuído como H-2 encontra-se em um ambiente químico mais blindado do que H-3 e, portanto, apresenta o sinal mais próximo do TMS.

Figura 19. Espectro de ^1H do composto **32b** (400 MHz, CDCl_3)

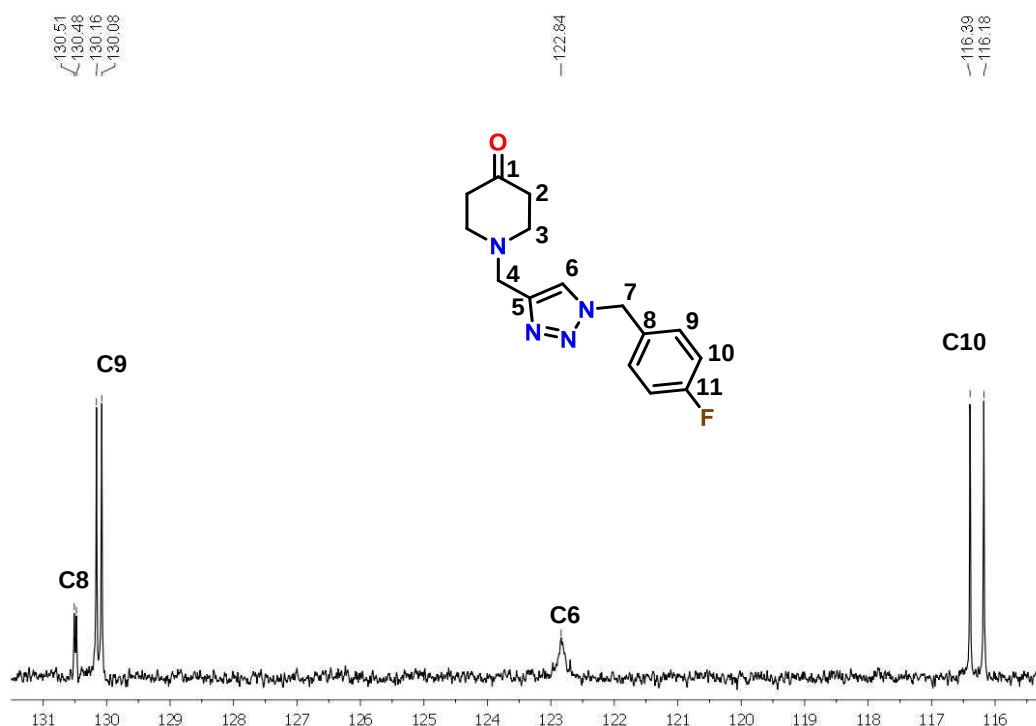


No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20a) foi possível identificar os sinais referentes aos acoplamentos entre os isótopos de carbono e os átomos de flúor. Para o duplete atribuídos a C11 em δ 163,0 ppm observou-se um acoplamento do tipo $^1J_{\text{C11,F}}$ igual a 247,0 Hz. Para C10 em δ 116,2 ppm o acoplamento observado seria do tipo $^2J_{\text{C10,F}}$ com valor de 21 Hz e para C9 em δ 130,2 ppm seria $^3J_{\text{C10,F}}$, com valor de 8 ppm, de acordo com os dados relatados na literatura.⁷⁵

Figura 20. (a) Espectro de RMN de ^{13}C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 32b (100 MHz, CDCl_3)



⁷⁵Dolbier, W.R. **Guide to fluorine NMR for organic chemists**. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2016, 2^a ed.

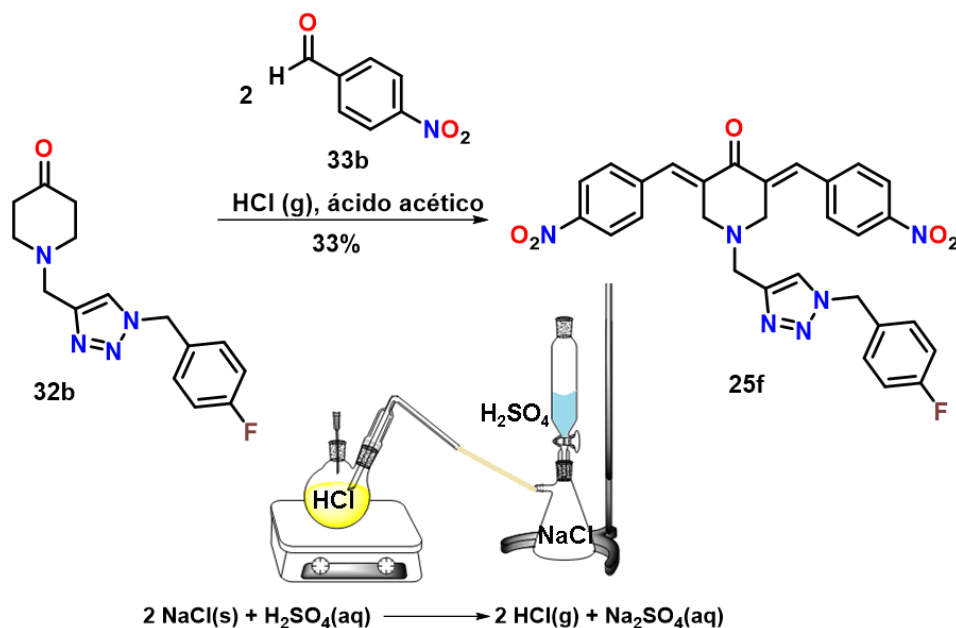
Figura 21. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)

3.4.4. Síntese dos compostos da série 2 (25a-i) e caracterização do composto 25f

Para a obtenção dos novos aceptores de Michael da série 2 (**25a-i**) realizou-se a reação de condensação aldólica do tipo Claisen-Schmidt, utilizando os derivados triazólicos da 4-piperidona (**32a-c**) contendo um H_α possível de ser abstraído e, então, formar o enol ou enolato capaz de atacar o aldeído aromático. Existem várias metodologias para a formação dos compostos do tipo 3,5-bis(arilideno)piperidon-4-ona e inicialmente testou-se a metodologia de Dimmock e colaboradores (2001)⁷⁶ (Esquema 17, página 62) utilizando ácido clorídrico (HCl) como catalisador, gerado *in situ* a partir da reação entre o cloreto de sódio (NaCl) e o ácido sulfúrico (H_2SO_4). O objetivo dessa metodologia é garantir um ambiente químico saturado com íons H_3O^+ por pelo menos 30 min. Entretanto a necessidade do uso de grande quantidade de H_2SO_4 mesmo para obtenção de rendimentos moderados incentivou a busca por metodologias mais brandas.

⁷⁶ Dimmock, J. R.; Padmanilayam, M. P.; Puthucode, R. N.; Nazarali, A. J.; Motaganahalli, N. L.; Zello, G. A.; Quail, J. W.; Oloo, E. O.; Kraatz, H. B.; Prisciak, J. S.; Allen, T. M.; Santos, C. L.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Manavathu, E. K. A conformational and structure-activity relationship study of cytotoxic 3,5-Bis(arylidene)-4-piperidones and related *N*-acryloyl analogues. *J. Med. Chem.* **2001**, 44 (4), 586-593. <https://doi.org/10.1021/jm0002580>

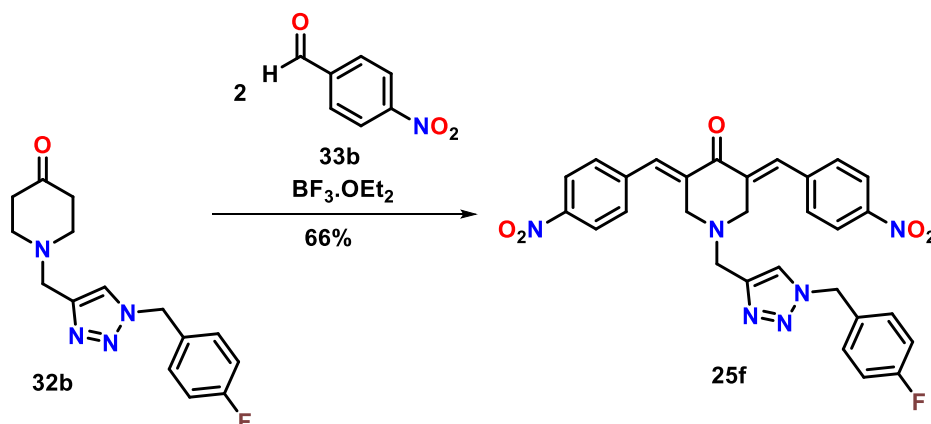
Esquema 17. Reação de Claisen-Schmidt para a formação do composto 25f utilizando a metodologia de Dimmock (2001)⁷⁶



Assim, optou-se por utilizar um ácido de Lewis como catalisador da reação de condensação para fornecer os aceptores de Michael da série 2. De acordo com um estudo publicado em 2010 por Odinet e colaboradores,⁷⁷ a utilização do BF₃.OEt₂ proporcionou o produto de interesse com bons rendimentos (acima de 86%). O catalisador para essa reação é o trifluoreto de boro (BF₃), um gás tóxico e incolor, que é normalmente utilizado na forma de eterato, um complexo líquido estável em baixas temperaturas.⁶ Ao empregar essa metodologia na síntese do composto **25 f**, observou-se um aumento considerável no rendimento da reação, de 33% para 66% (Esquema 18, página 63).

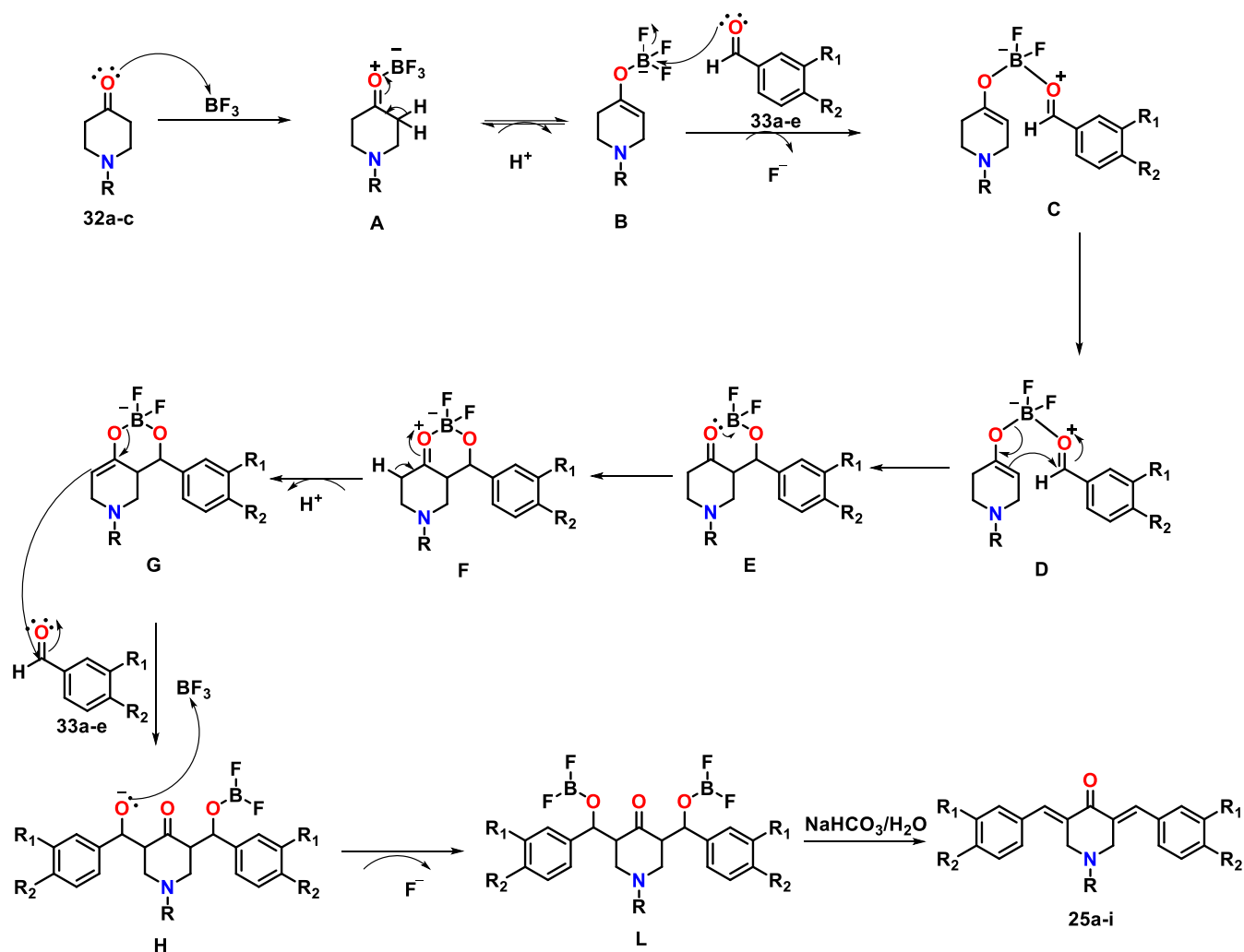
⁷⁷ Leonova, E.; Makarov, M.; Klemenkova, Z.; Odinet, I.; Lewis Acids as Mild and Effective Catalysts for the Synthesis of 3,5-Bis[(hetero)arylidene]piperidin-4-ones. *Helv. Chim. Acta.* **2010**, 93 (10), 1990-1999. <https://doi.org/10.1002/hlca.201000005>.

Esquema 18. Reação de Claisen-Schmidt para a formação do composto 25f utilizando a metodologia de Odinetts (2010)⁷⁷



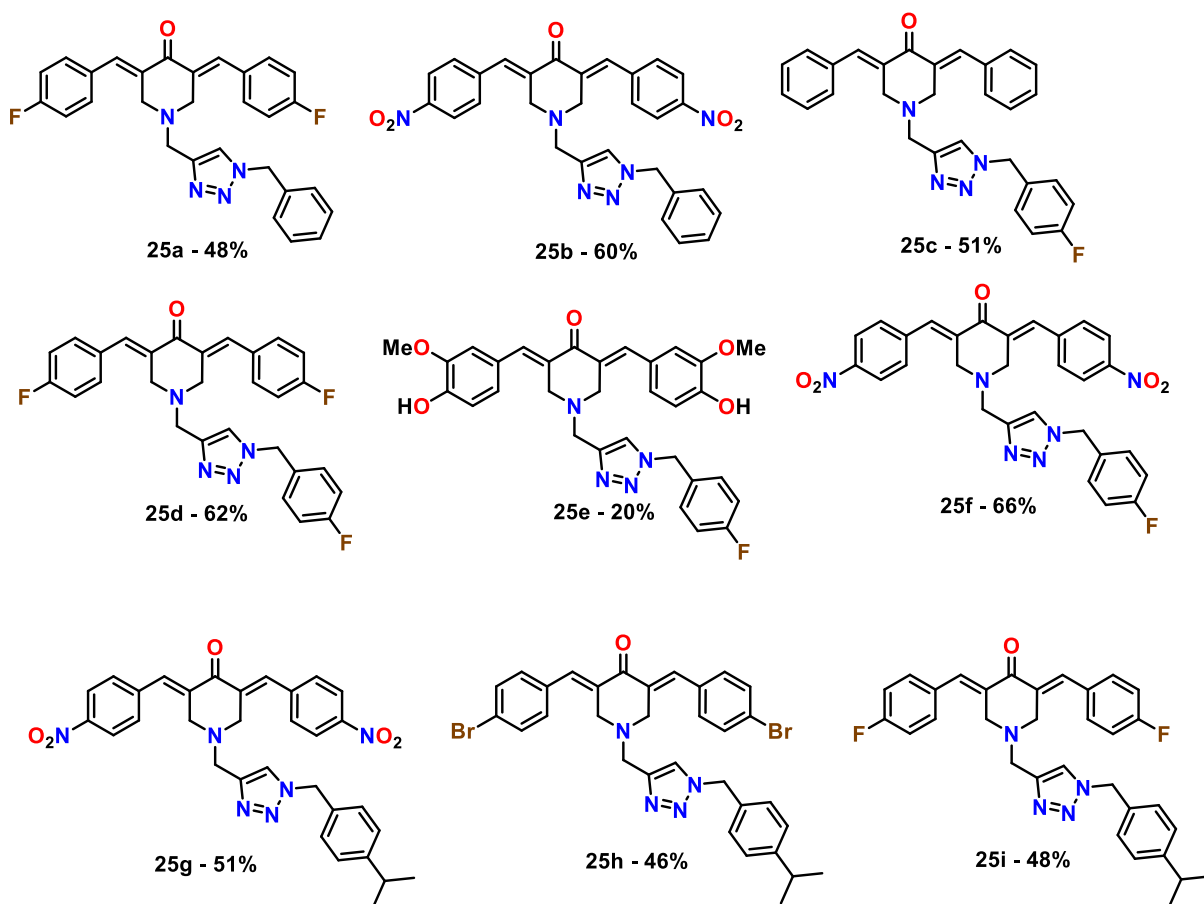
Um mecanismo para a reação é proposto no Esquema 19 – página 64.⁶ Inicialmente, ocorre a interação do par de elétrons livre do oxigênio da cetona alquilada com o orbital p vazio do átomo de boro, formando o intermediário **A**, que após a liberação de um próton leva à formação do enolato de boro **B**. A interação do par de elétrons do aldeído correspondente (**33a-e**) com o átomo de boro, seguida da saída de um íon fluoreto, resulta na formação do intermediário **C**. Uma reação intramolecular, onde ocorre a quebra da ligação boro-oxigênio, leva à regeneração da carbonila e ao subsequente ataque do enol formado ao carbono carbonílico, resultando na formação do composto **E**. A interação do par de elétrons livres do oxigênio com o orbital p vazio do átomo de boro forma o intermediário **F**, e a liberação de um próton leva à formação do enol **G**. A quebra da ligação boro-oxigênio favorece a reação do enol com o carbono carbonílico de uma segunda molécula de aldeído, resultando na formação do íon **H**, que prontamente reage com uma molécula de BF_3 , formando o intermediário **L**. A formação da ligação dupla e a liberação dos complexos de boro formados durante a reação ocorrem após a extração da reação com solução aquosa saturada com NaHCO_3 .

Esquema 19. Mecanismo de reação proposto para a formação dos compostos 25a-i utilizando BF_3 como catalisador⁶



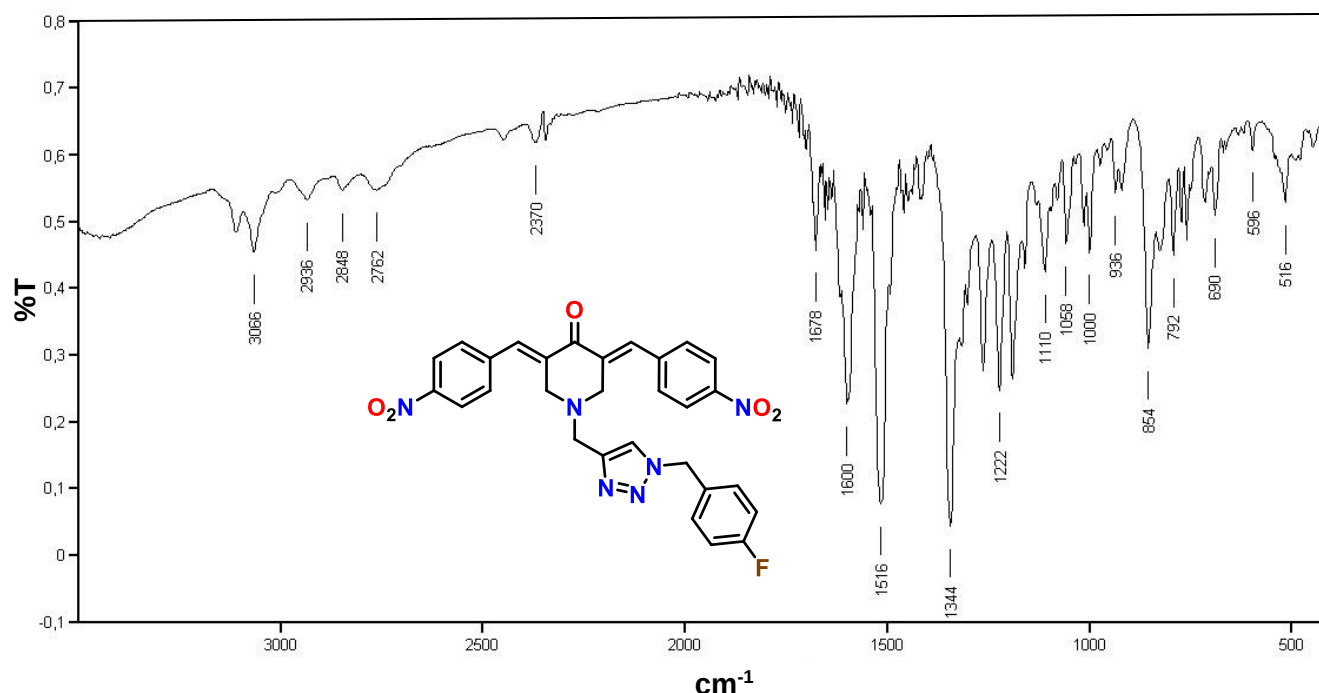
Os compostos inéditos **25a-i** foram obtidos utilizando a metodologia de Odinetts com rendimentos entre 20-66%. As estruturas dos compostos sintetizados nesse trabalho estão ilustradas no Esquema 20 (página 65).

Esquema 20. Estruturas químicas e rendimentos de síntese dos compostos 25a-i

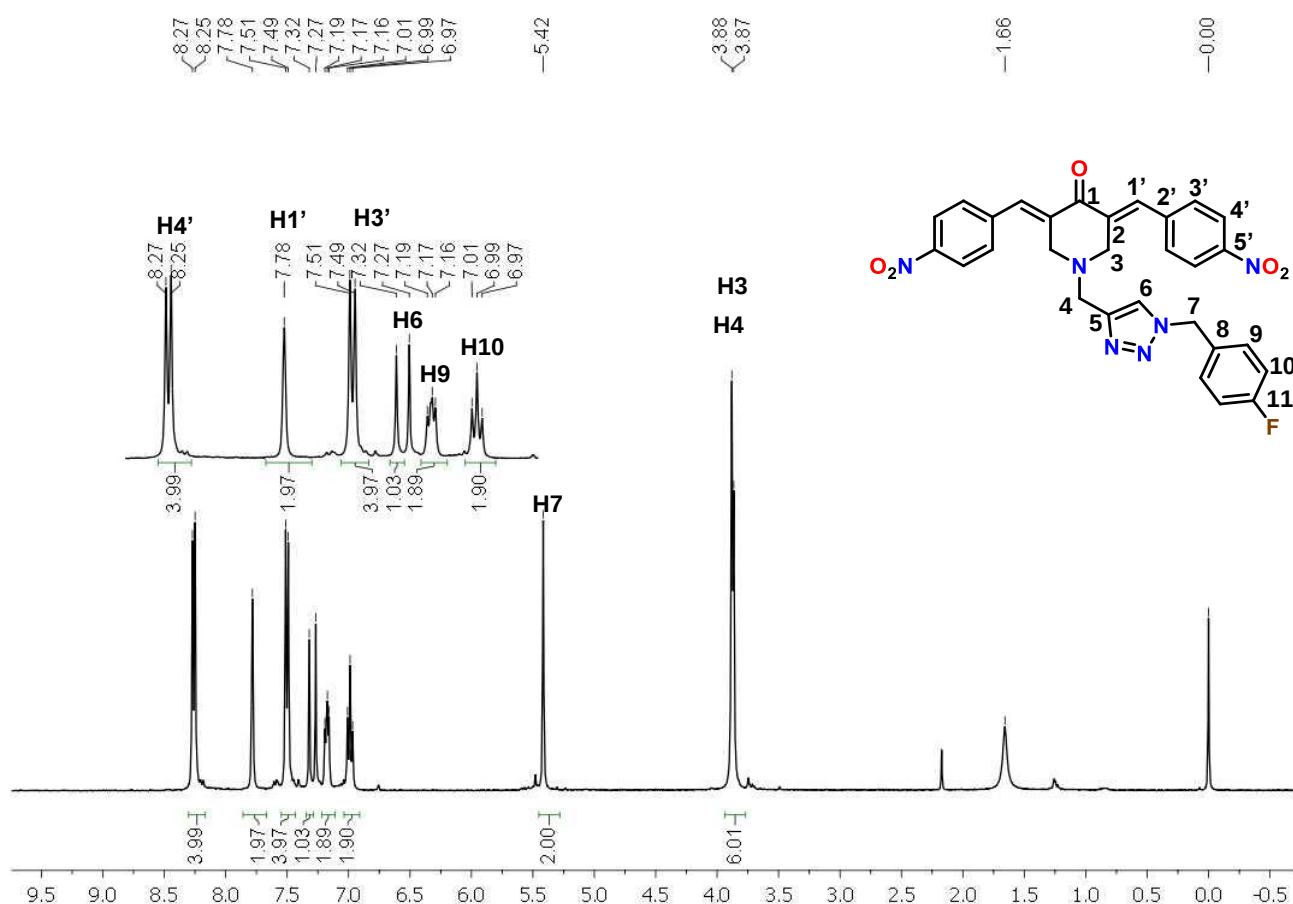


Os aceptores de Michael da série 2 sintetizados neste trabalho foram caracterizados utilizando as técnicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135, além de espectroscopia na região do infravermelho (IV) e espectrometria de massas de alta resolução (EM). Em todos os espectros de massas de alta resolução foram identificados picos dos íons moleculares no modo positivo $[\text{M}+\text{H}]^+$ ou negativo $[\text{M}-\text{H}]^-$. Os espectros de RMN, na região do IV e de espectrometria de massas encontram-se no Apêndice I do capítulo 1. A caracterização do composto **25f** será discutida mais a fundo, uma vez que também foram realizados experimentos adicionais de correlações bidimensionais COSY e HSQC.

Ao comparar-se o espectro na região do IV do composto **25f** (Figura 22, página 66) com o espectro do material de partida (**32b** – Figura 18, página 58) observou-se que a banda característica da ligação $\text{C}=\text{O}$ deslocou-se de 1720 cm^{-1} para 1600 cm^{-1} , indicando uma mudança estrutural importante no esqueleto carbônico.

Figura 22. Espectro na região do IV do composto **25f**

No espectro de RMN de ^1H do composto **25f** (Figura 23, página 67) foi possível observar novos sinais na região de H aromáticos quando comparado com o espectro do precursor **32b** (Figura 19, página 59). Em δ 8,26 ppm e δ 7,42 ppm observaram-se dois dupletos ($J_{\text{H4}',\text{H3}'} = 8,5$ Hz), cada um com integração igual a 4, atribuídos aos hidrogênios H4' e H3', respectivamente. Devido à efeitos de ressonância e retirada de densidade eletrônica do grupo nitro, o sinal referente ao hidrogênio H4' estaria mais distante do TMS. O simpleto em δ 7,78 ppm, com integral igual a 2, pode ser atribuído aos hidrogênios H1', confirmando a reação de condensação entre o 4-nitrobenzaldeído e o intermediário triazólico **32b**. Outra evidência do sucesso da reação seria a ausência do tripleto em δ 2,49 ppm referente à H2, observado no espectro do composto **32b** (Figura 19, página 59), e mudança de multiplicidade e deslocamento químico do sinal atribuído à H3, anteriormente observado como um tripleto em δ 2,86 e na Figura 23 (página 67) observado como um simpleto em δ 3,87 ppm.

Figura 23. Espectro de ^1H do composto 25f (400 MHz, CDCl_3)

Pelas correlações presentes no mapa de contornos COSY (Figura 24, página 68) foi possível observar o acoplamento entre os hidrogênios H6/H4 e H1'/H3. A expansão do mapa de correlação (Figura 25, página 68) permitiu verificar a correlação entre H3'/H1', confirmando as atribuições feitas aos sinais de H aromáticos no espectro de ^1H .

Figura 24. Mapa de contornos COSY do composto 25f (CDCl₃, 400 MHz)

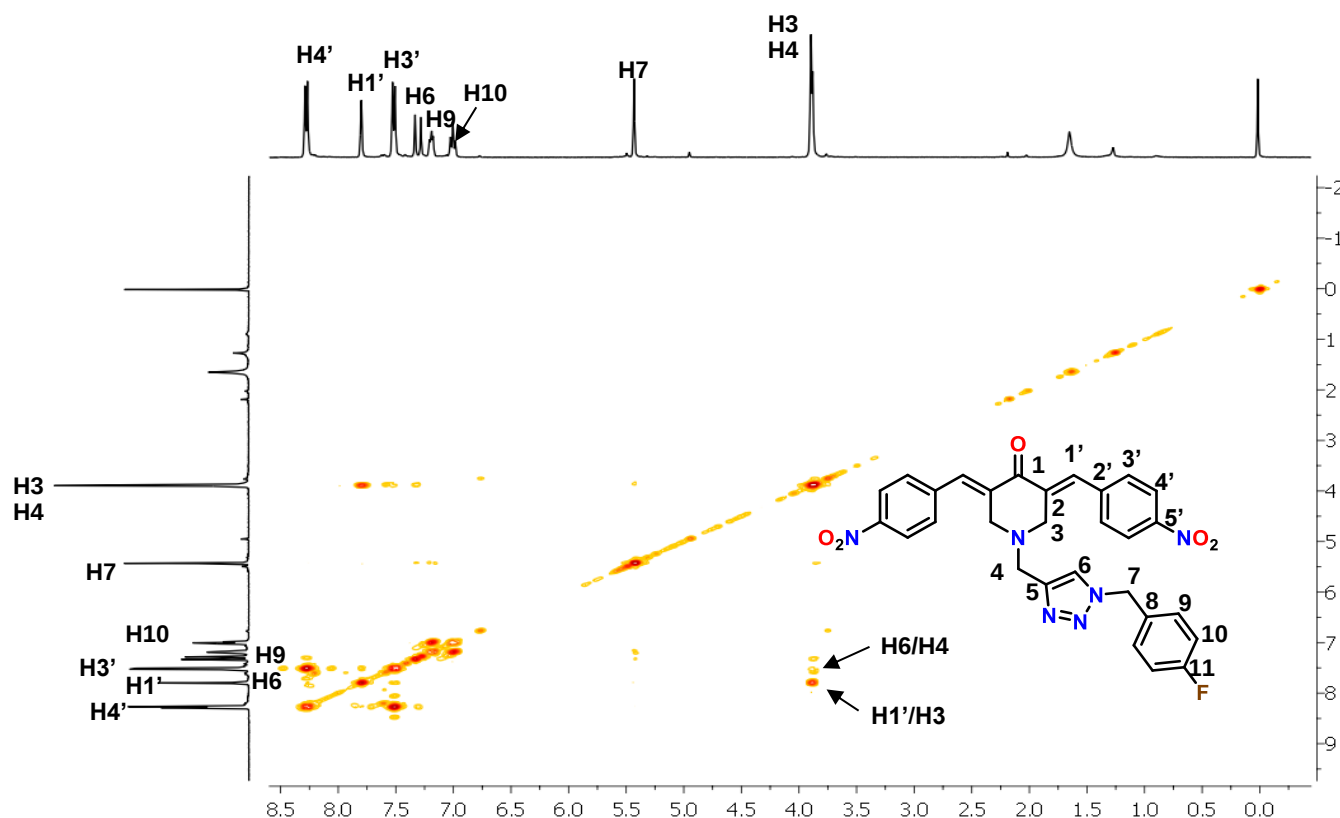
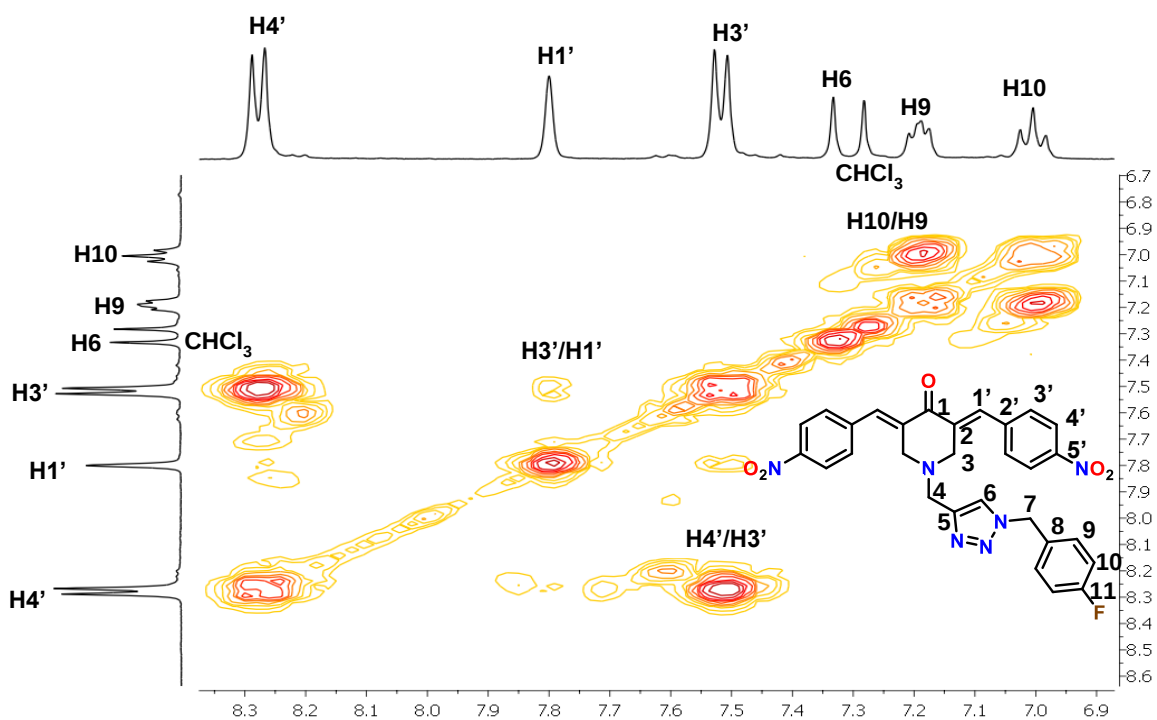


Figura 25. Expansão do COSY do composto 25f



No espectro de RMN de ^{13}C e sub-espectro DEPT-135 (Figuras 26 e 27 (a) e (b)) foi possível observar a mudança de deslocamento químico δ do sinal de C1 em 209,1 ppm, no material de partida (Figura 20, página 60), para δ 186,4 ppm, indicando que a reação ocorreu. Além disso, não foi observado o sinal em δ 40,9 ppm, atribuído ao carbono C2 no espectro do intermediário triazólico. Também foi possível observar novos sinais na região de carbonos aromáticos, confirmando que a reação de condensação entre os aldeídos aromáticos e o intermediário triazólico ocorreu. O desdobramento dos sinais referentes aos carbonos C8, C9, C10 e C11, por influência do núcleo ^{19}F , permitiu a diferenciação desses sinais frente aos sinais dos carbonos aromáticos C2', C3', C4' e C5'. A análise do mapa de contornos HSQC (Figuras 28 e 29, páginas 70 e 71) permitiu a atribuição de C4' em δ 124,0 ppm e C3' em δ 131,0 ppm, assim como a atribuição ao sinal de C1' em δ 135,7 ppm.

Figura 26. (a) Espectro de RMN de ^{13}C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 25f (100 MHz, CDCl_3)

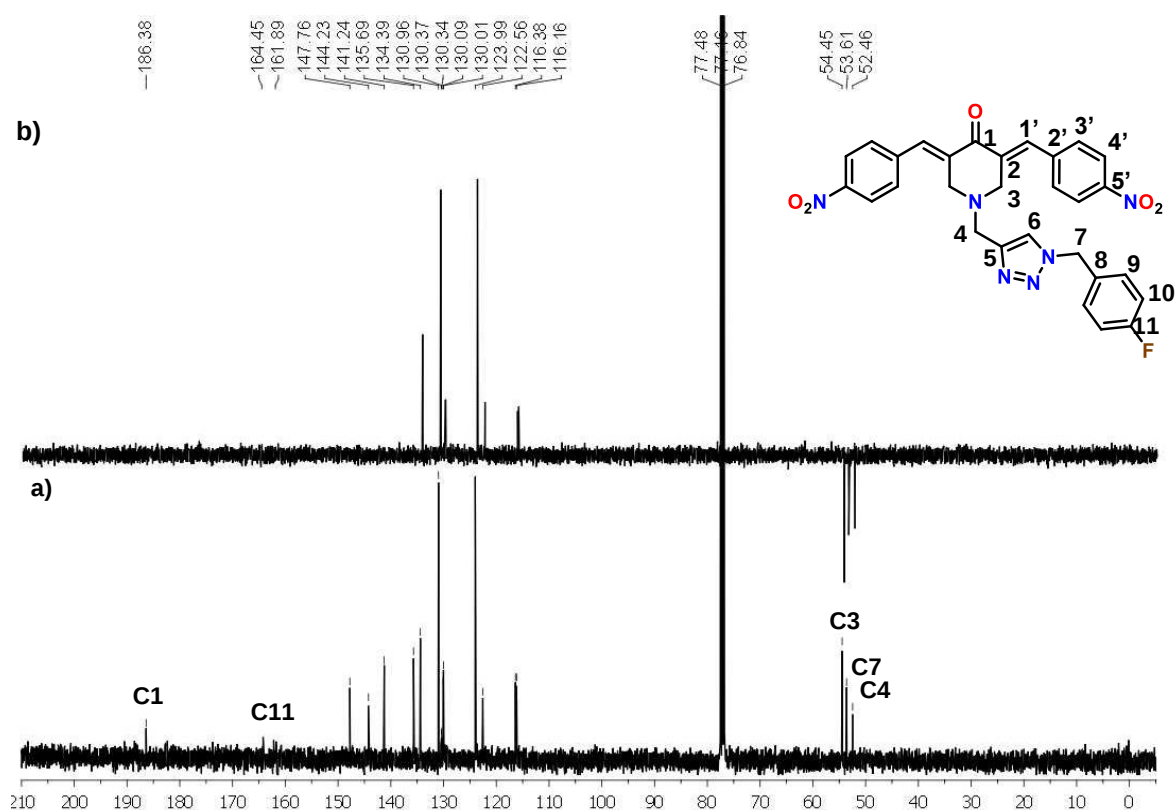


Figura 27. Expansão do (a) Espectro de RMN de ^{13}C e (b) subespectro DEPT-135 do composto 25f (100 MHz, CDCl_3)

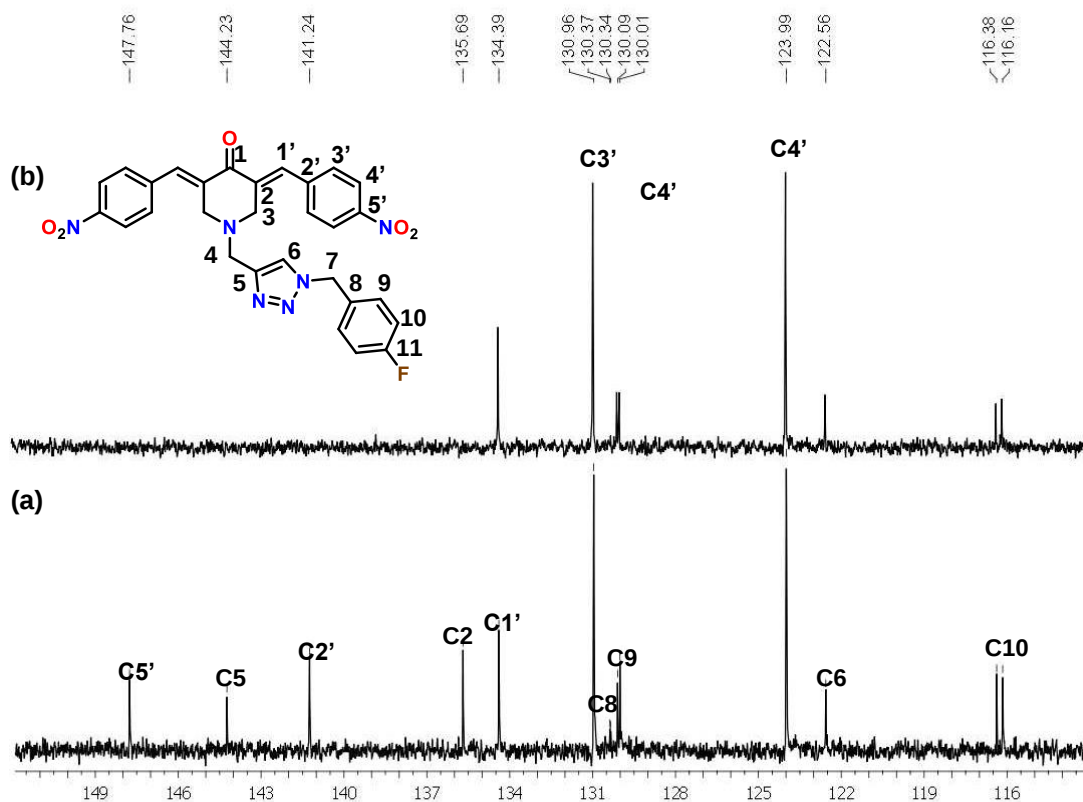


Figura 28. Mapa de contornos HSQC do composto 25f (CDCl_3)

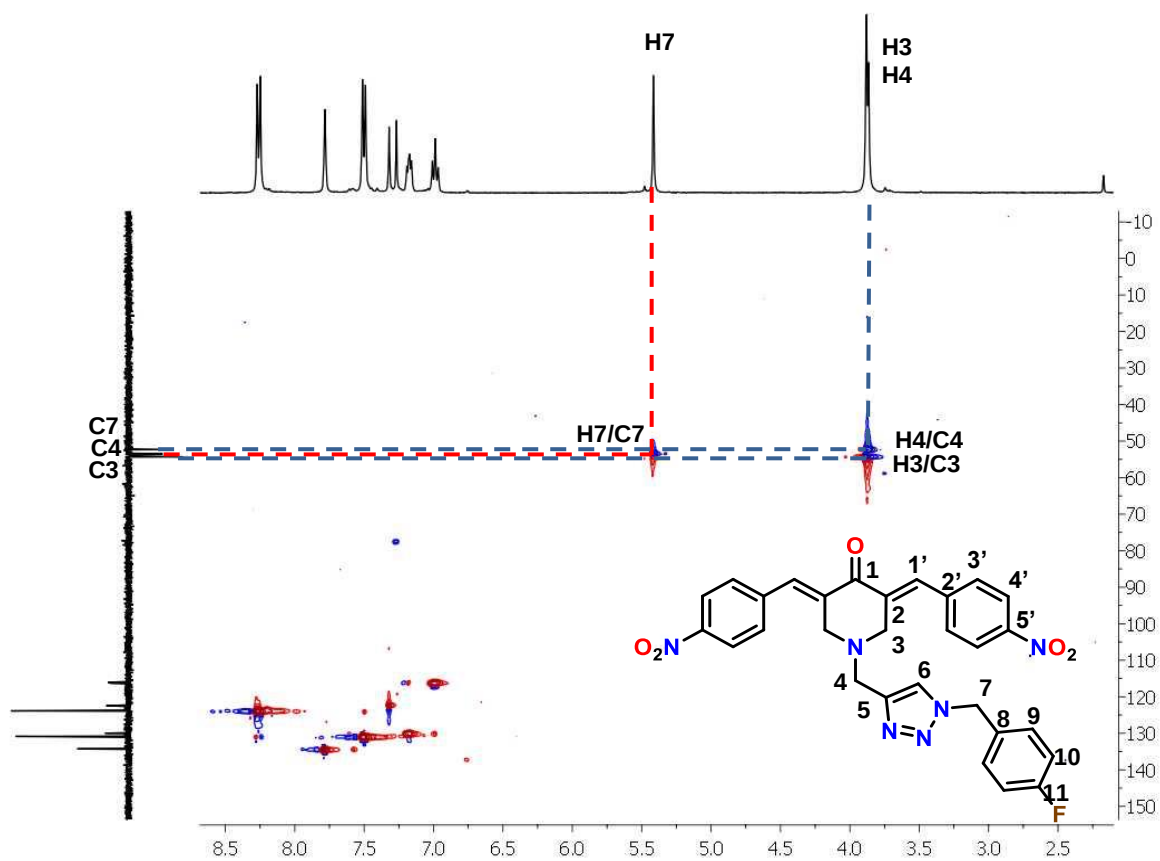
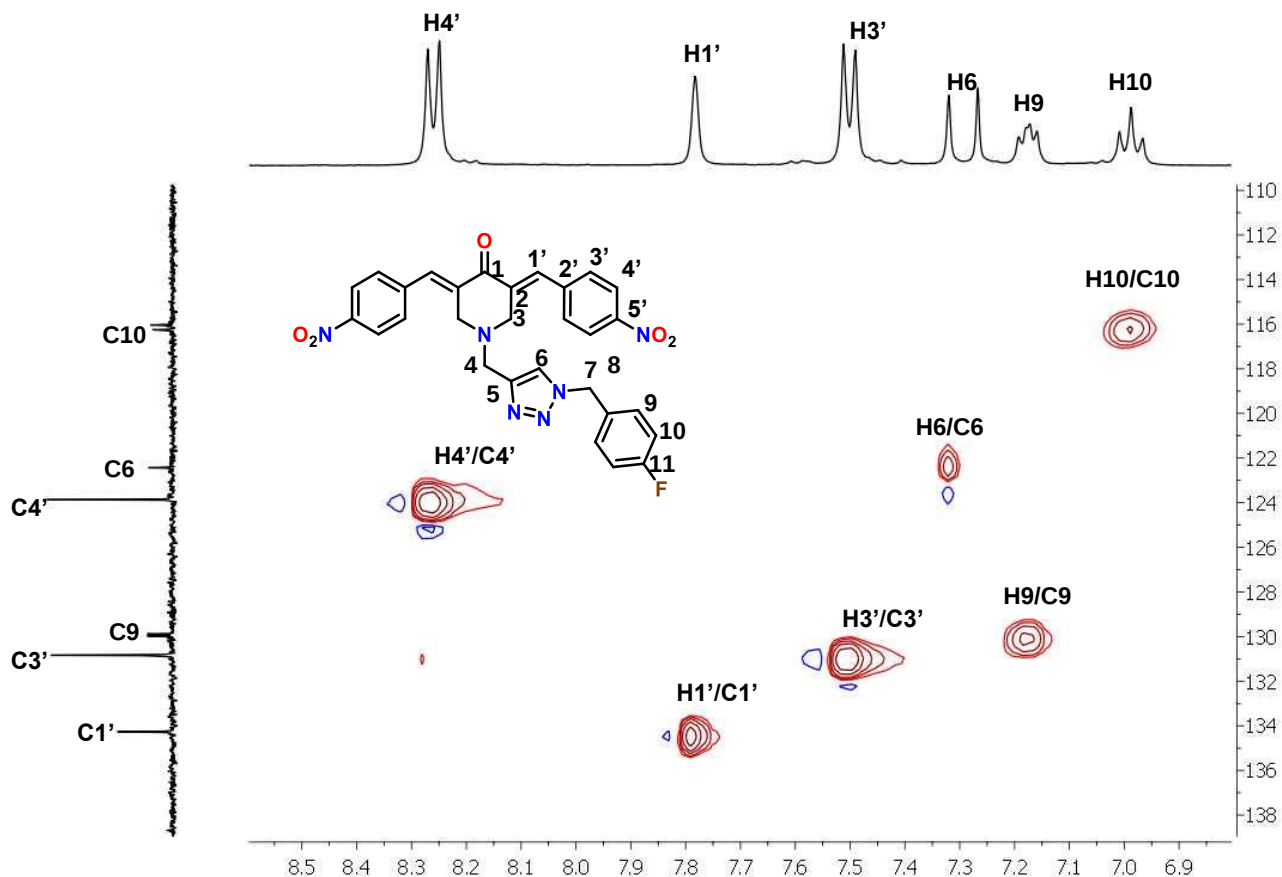


Figura 29. Expansão do mapa de contorno HSQC do composto 25f



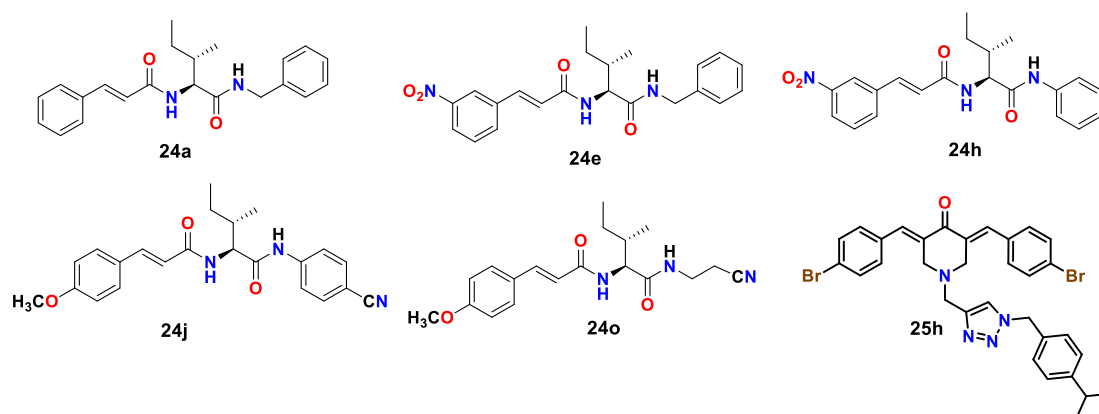
A caracterização dos demais aceptores de Michael da série 2 sintetizados neste trabalho (**25a-e** e **25g-i**) com os deslocamentos químicos (δ , ppm), as atribuições dos sinais dos hidrogênios e carbonos, os valores das constantes de acoplamentos (J , Hertz) e as multiplicidades (M) encontram-se nas tabelas do Apêndice do Capítulo I.

3.5. Ensaios biológicos

3.5.1. Testes antivirais

Os testes antivirais foram realizados pelo grupo da Professora Jordana Graziela Alves Coelho dos Reis, no Laboratório de Virologia Básica e Aplicada (LVBA), no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Os testes foram realizados pelos alunos Felipe Alves Clarindo e Erik Vinícius de Sousa Reis. Devido à alta demanda de testes antivirais realizados no LVBA, foram selecionados apenas seis compostos sintetizados, sendo cinco deles da série 1 (**24a**, **24e**, **24h**, **24j** e **24o**) e um composto da série 2 (**25h**) (Figura 30).

Figura 30. Estruturas químicas dos compostos avaliados nos testes antivirais



Ensaio de citotoxicidade em células Vero CCL-81 (24 e 72 horas): o primeiro ensaio de citotoxicidade, ou viabilidade celular, foi realizado em células Vero CCL-81. A Vero CCL-81 é uma linha celular derivada de rim de macaco-verde-africano (*Chlorocebus aethiops*) e amplamente utilizada em pesquisa científica, especialmente em virologia.⁷⁸ Essas células são capazes de suportar a infecção de uma ampla gama de vírus, incluindo o vírus da dengue, vírus da febre amarela e coronavírus. A Vero CCL-81 é essencial em estudos de virologia, testes de vacinas e na produção de vacinas. O ensaio de citotoxicidade em células Vero CCL-81 após 24h de incubação (Figura 31 – página 73) indicou que nenhum dos compostos apresentou efeito citotóxico em qualquer concentração.

⁷⁸ Rosli, S.N.Z.; Dimeng, S.R.; Shamsuddin, F.; Mohd Ali, M.R.; Muhamad Hendri, N.A.; Suppiah, J.; Mohd Zain, R.; Thayan, R.; Ahmad, N. Vero CCL-81 and Calu-3 Cell Lines as Alternative Hosts for Isolation and Propagation of SARS-CoV-2 Isolated in Malaysia. *Biomedicines* **2023**, *11*, 1658. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061658>

O segundo ensaio, realizado com um tempo de incubação de 72h (Figura 32), indicou que apenas o composto **24h** apresentou uma citotoxicidade elevada (redução da viabilidade celular a 50% ou menos) na concentração de 100 μM .

Figura 31. Resultado do ensaio de citotoxicidade em células Vero CCL-81 após 24h

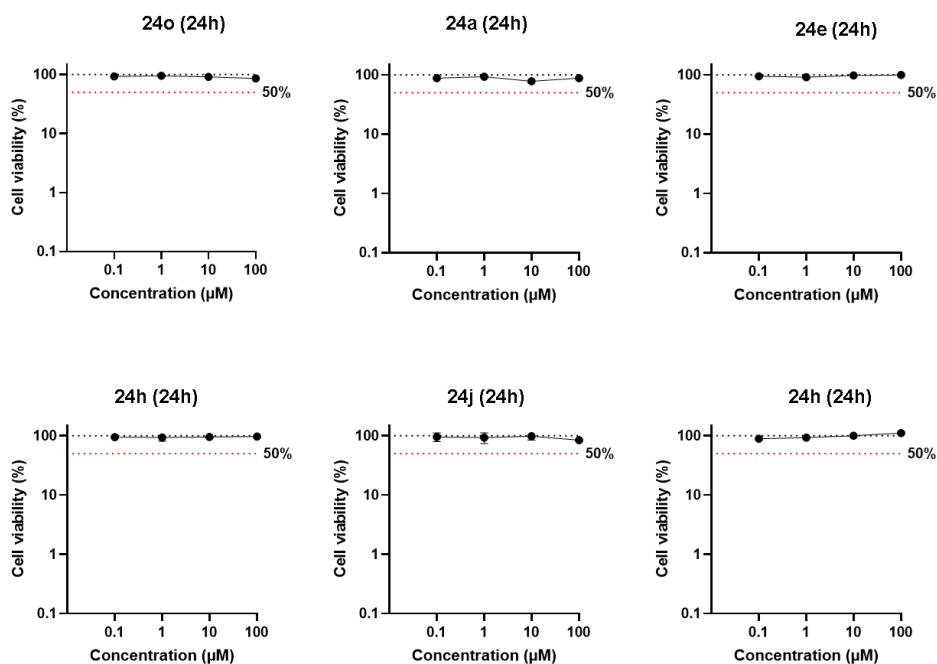
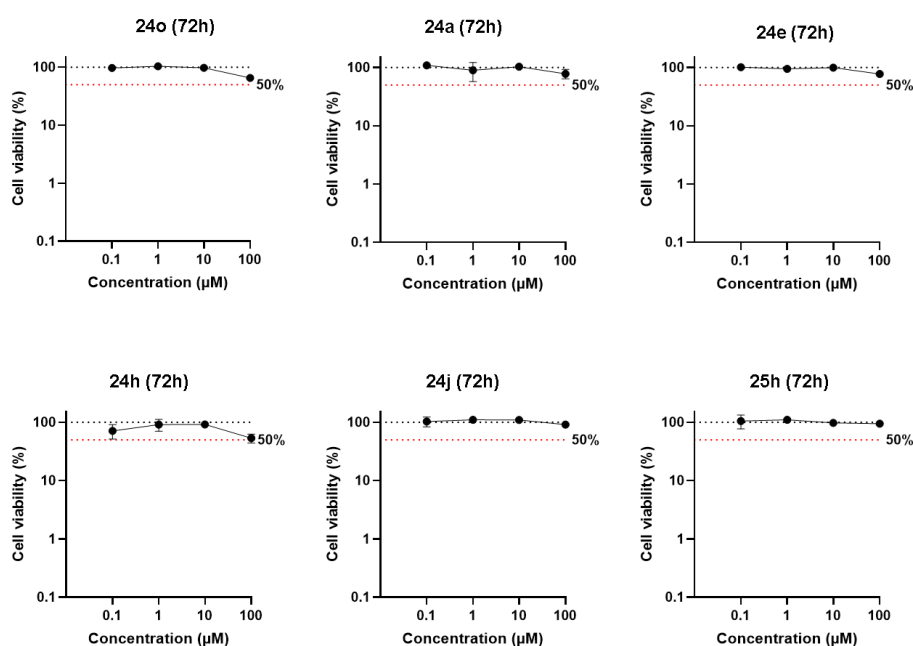
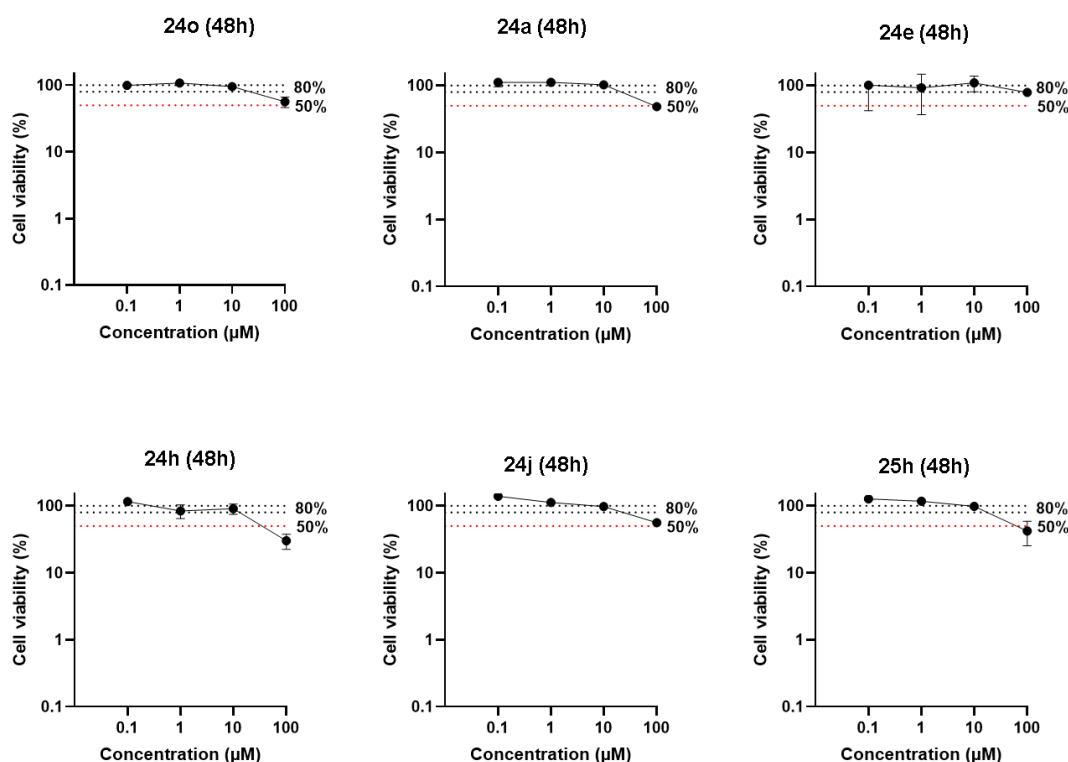


Figura 32. Resultado do ensaio de citotoxicidade em células Vero CCL-81 após 72h



Ensaio de citotoxicidade em células L929 (48 horas): as células L929 são frequentemente empregadas em ensaios de citotoxicidade para avaliar a biocompatibilidade de materiais e compostos, bem como em estudos de biologia celular e molecular. Elas são conhecidas por sua capacidade de produzir fatores de necrose tumoral (TNF), o que as tornam úteis em pesquisas relacionadas à inflamação e respostas imunológicas.⁷⁹ Após 48h de incubação dos compostos com as células, foi observado que todos os candidatos promoveram redução da viabilidade celular na concentração de 100 μ M. No entanto, apenas **24a**, **24h** e **25h** reduziram a viabilidade celular abaixo de 50% (Figura 33).

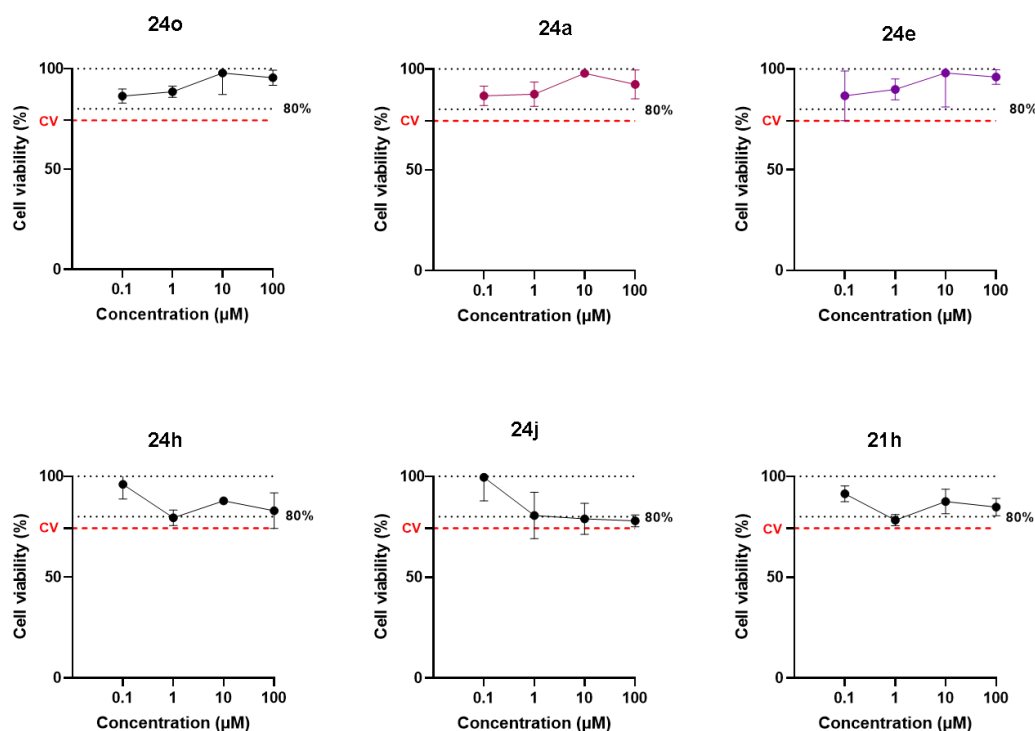
Figura 33. Resultados dos testes de ensaio de citotoxicidade em células L929 após 48 horas



⁷⁹ Chen, H. L.; Chung, J. W. Y.; Yan, V. C. M.; Wong, T. K.S. Polylactic Acid-Based Biomaterials in Wound Healing: A Systematic Review. *Adv. in Skin & Wound Care*. 2023, 36(9):p 1-8. <https://doi.org/10.1097/ASW.0000000000000011>

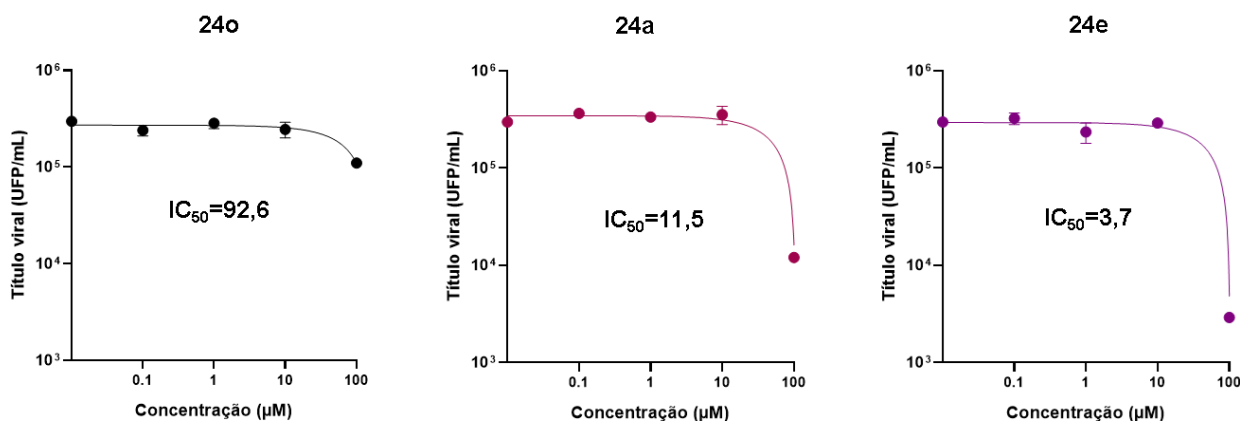
Ensaio Antiviral Preliminar (MHV-A59): o vírus MHV-A59 (*Mouse Hepatitis Virus*, cepa A59) é um coronavírus que infecta camundongos, amplamente utilizado como modelo para estudar a patogênese viral e respostas imunes em mamíferos. Este vírus pertence ao grupo dos betacoronavírus e é conhecido por causar hepatite e encefalomielite em camundongos, mimetizando algumas características de infecções humanas por coronavírus. O MHV-A59 é particularmente útil em pesquisas que investigam mecanismos de replicação viral, respostas imunológicas, e desenvolvimento de vacinas e antivirais. Após 16 h do ensaio antiviral preliminar MHV-A59 foi possível determinar que apenas os compostos **24a**, **24e** e **24o** apresentaram efeito protetor contra o vírus (aumentaram a viabilidade celular de maneira dose-dependente) e, portanto, foram escolhidos para os próximos ensaios antivirais (Figura 34).

Figura 34. Resultados do ensaio antiviral preliminar anti-MHV-A59 em células L929 após 16 h



Ensaio Dose-Resposta (MHV-A59): os compostos **24a**, **24e** e **24o** foram testados por 48h e o experimento mostrou que os três compostos apresentaram atividade antiviral dose-dependente anti-MHV-A59, sendo que o composto **24e** apresentou menor valor de IC_{50} (3,7 μ M) (Figura 35).

Figura 35. Resultados do ensaio antiviral dose-resposta anti-MHV-A59 em células L929 após 48 horas



Índice de seletividade (IS)

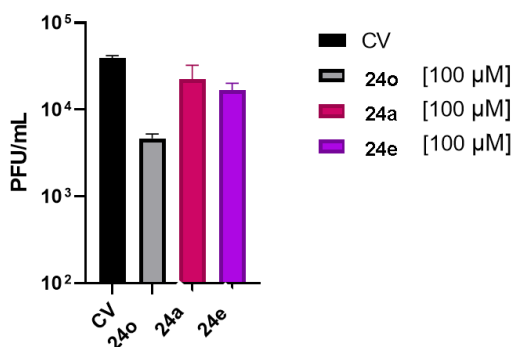
O índice de seletividade (IS) é a relação entre CC_{50} (a metade da concentração citotóxica máxima), obtida no ensaio de citotoxicidade em células L929), e IC_{50} , obtida no ensaio antiviral dose-resposta. Índices de seletividade acima de 10 indicam compostos com ótima relação de toxicidade/ atividade biológica. Apesar de apenas o composto **24o** ter apresentado $IS > 10$, os compostos **24e** e **24o** também foram escolhidos para dar prosseguimento aos experimentos (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados do índice de seletividade dos compostos 24a, 24e e 24o

Composto	$CC_{50}(\mu M)$	$IC_{50}(\mu M)$	SI
24a	100	11,5	8,69
24e	100	3,7	>27,03
24o	100	92,6	1,08

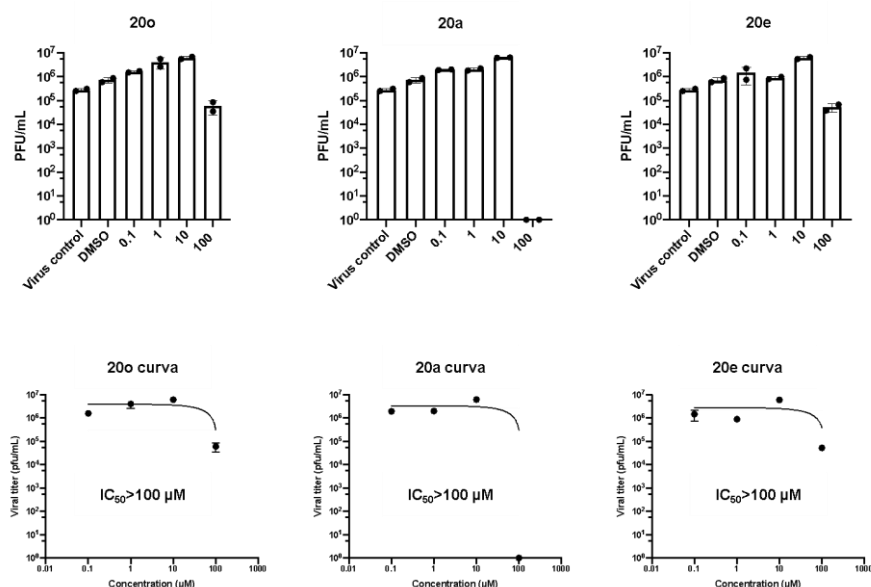
Ensaio Virucida (MHV-A59): apenas o composto **24o** apresentou uma redução significativa das células MHV-A59 infectadas, quando comparado ao controle de vírus (Figura 36).

Figura 36. Resultados do ensaio virucida para os compostos 24o, 24a e 24e



Os ensaios realizados com as células Vero CCL-81 infectadas com vírus SARS-CoV-2 Wuhan devem ser feitos em laboratórios de biossegurança nível 3 (NB3), para garantir a segurança do analista e evitar riscos de contaminação. Os experimentos de dose-resposta, realizado no laboratório NB3 com o vírus SARS-CoV-2 indicam que não houve uma ação antiviral robusta dos compostos contra o mesmo e os compostos testados **24a**, **24e** e **24o** apresentaram valores elevados de IC_{50} ($>100 \mu M$) (Figura 37).

Figura 37. Ensaios realizados contra o vírus SARS-CoV-2 com os compostos 24o, 24a e 24e



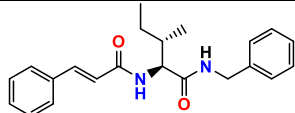
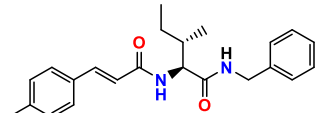
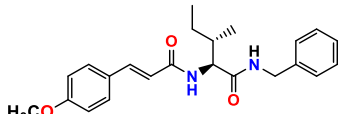
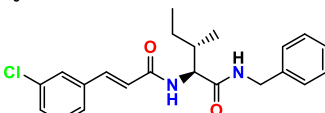
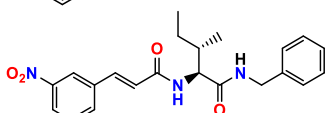
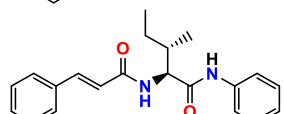
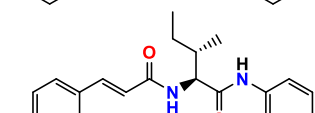
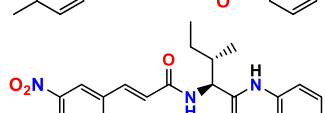
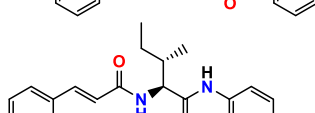
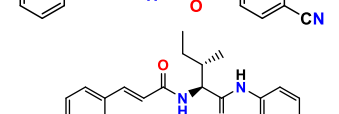
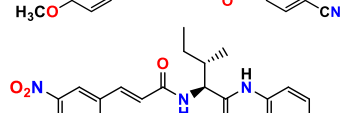
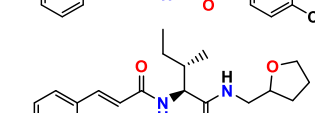
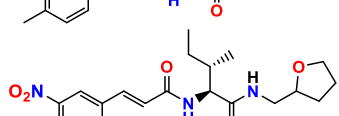
3.5.2 Atividade antiproliferativa

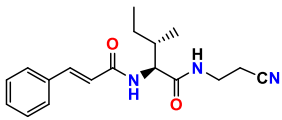
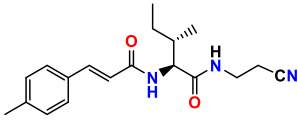
A fim de avaliar a aplicação biológica dos compostos sintetizados foram realizados estudos de viabilidade celular em uma linhagem de célula de mama humana não maligna e duas linhagens de células tumorais. Esse estudo citotóxico foi realizado em parceria com o laboratório da professora Heveline Silva (SiBLab – Laboratório de Síntese e Interações Bioinorgânicas) no Departamento de Química da UFMG. A linhagem de célula não-tumoral MCF-10A corresponde a uma linhagem epitelial e foi selecionada para determinação da seletividade dos compostos frente às células tumorais. As linhagens celulares tumorais selecionadas correspondem a adenocarcinoma mamário, sendo a MCF-7 estrógeno-dependente e a MDA-MB-231, uma linhagem altamente metastática que possui o fenótipo triplo negativo (TNBC). O fenótipo triplo negativo é assim denominado pois essa linhagem não expressa os marcadores comumente associados a tumores, o receptor de estrogênio (RE), o receptor de progesterona (RP) e o fator de crescimento epitelial (do inglês *human epidermal growth factor 2* – HER2).⁸⁰

O ensaio MTT foi empregado para avaliar a atividade antiproliferativa dos compostos sintetizados da série 1 (**24a-o**) em duas linhagens celulares de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB-231) e uma linhagem celular não tumoral de mama (MCF-10A), comumente utilizado em ensaios *in vitro*. Além disso, a resposta de células não tumorais foi avaliada utilizando a linhagem celular MCF-10A para calcular o índice de seletividade (IS) dos compostos. A cis-platina foi escolhida como controle positivo. Os resultados, apresentados na Tabela 2 – página 79, incluem os valores de IC₅₀ (concentração inibitória de 50% da viabilidade celular) e IS.

⁸⁰ Wopereis, S.; Walter, L.O.; Vieira, D.S.C.; Ribeiro, A.A.B.; Fernandes, B.L.; Wilkens, R.S. Evaluation of ER, PR and HER2 markers by flow cytometry for breast cancer diagnosis and prognosis. *Clin Chim Acta*. **2021**, 523, 504–12. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.11.005>

Tabela 2. Citotoxicidade expressa como IC₅₀ (μM) e índice de seletividade (IS) dos compostos 24 a-o, obtida pelo ensaio de MTT com as linhagens celulares MCF7, MDA-MB-231 e MCF10A após 72 h

Compostos	IC ₅₀ ± DP ^a (μM)					
	Células tumorais			Célula sadia		
	MCF-7	IS ^a	MDA-MB-231	IS ^a	MCF-10A	
24a		> 100	n.d.	12,8 ± 2,9	>7,8	> 100
24b		11,2 ± 6,0	0,3	6,4 ± 0,1	0,6	3,6 ± 0,6
24c		> 100	n.d.	>100	n.d.	>100
24d		> 100	n.d.	34,1 ± 2,8	0,4	13,3 ± 1,2
24e		> 100	n.d.	>100	n.d.	70,4 ± 7,3
24f		> 100	n.d.	2,5 ± 0,1	7,9	19,7 ± 2,5
24g		28,7 ± 3,3	0,4	7,2 ± 0,1	1,6	11,7 ± 0,7
24h		22,0 ± 2,8	1,0	25,9 ± 0,9	0,9	22,1 ± 1,4
24i		50,6 ± 1,6	0,9	53,0 ± 3,5	0,8	43,9 ± 0,6
24j		>100	n.d.	>100	n.d.	>100
24k		>100	n.d.	>100	n.d.	>100
24l		49,0 ± 3,8	0,6	22,2 ± 1,2	1,4	31,3 ± 0,9
24m		> 100	n.d.	> 100	n.d.	> 100

24n		>100	n.d.	>100	n.d.	>100
24o		>100	n.d.	>100	n.d.	>100
Cisplatina		$10,3 \pm 2,6$	0,2	$1,0 \pm 0,1$	2,4	$2,3 \pm 0,1$

n.d.= não determinado;
^a DP: desvio padrão de quadruplicata em dois experimentos distintos.
^b IS: índice de seletividade calculado conforme mostrado a seguir: IC_{50} (célula sadia, μM)/ IC_{50} (célula tumoral, μM).

Da série 1 de compostos sintetizados neste trabalho, seis (**24c**, **24j**, **24k**, **24m-o**) não foram ativos contra nenhuma linhagem celular nas concentrações testadas e o composto **24e** foi ativo contra a linhagem celular não tumoral MCF- 10A ($IC_{50} = 70,4 \pm 7,3 \mu M$). Oito compostos (**24a-b**, **24d-i** e **24l**) apresentaram citotoxicidade contra as linhagens celulares testadas. Os compostos **24a** e **24f** exibiram seletivamente ($IS > 7,0$) e foram ativos contra MDA-MB-231 ($IC_{50} = 12,8 \pm 2,9 \mu M$ e $IC_{50} = 2,5 \pm 0,1 \mu M$, respectivamente), mas não mostram qualquer atividade contra células MCF-7. Estruturalmente, ambos os compostos são bastante semelhantes e não possuem substituintes nos anéis aromáticos. O composto **24b** exibiu citotoxicidade significativa contra células MDA-MB-231 ($IC_{50} = 6,4 \pm 0,1 \mu M$) e MCF-7 ($IC_{50} = 11,2 \pm 6 \mu M$), mas baixa seletividade ($IS < 1$) para ambas as células. O composto **24d** foi não seletivo, mas ativo contra MDA-MB-231 ($IC_{50} = 34,1 \pm 2,8 \mu M$, $IS < 1$). O composto **24g**, assim como o composto **24b**, exibiram citotoxicidade contra células MDA-MB-231 ($IC_{50} = 7,2 \pm 0,1 \mu M$) e MCF-7 ($IC_{50} = 28,7 \pm 3,3 \mu M$), mas não apresentaram grande índice de seletividade ($IS < 1,6$ para ambas as células). Esta tendência de atividade contra células cancerosas e com baixo índice de seletividade é seguida pelo composto **24l** (MDA-MB-231 - $IC_{50} = 22,2 \pm 1,8 \mu M$ e MCF-7 - $IC_{50} = 49,0 \pm 3,8 \mu M$, $IS < 1,4$). O composto **24h** também mostrou atividade contra MDA-MB-231 ($IC_{50} = 25,9 \pm 0,9 \mu M$) e MCF-7 ($IC_{50} = 22,0 \pm 2,8 \mu M$), mas com baixa seletividade ($IS < 1,0$).

Assim, o composto **24f** e o composto **24a** foram os compostos que exibiram atividade citotóxica mais interessante, pois apresentaram altos índice de seletividade frente à célula MDA-MB-231.

3.5.3 Resultado dos parâmetros farmacológicos ADME

A eficácia de um composto como fármaco depende de sua capacidade de atingir o alvo no corpo humano de maneira ativa e com baixa toxicidade. Entre as diversas vias de administração de medicamentos, a via oral é preferida devido à sua alta adesão pelos pacientes, facilidade de uso e baixo custo. A biodisponibilidade dos compostos administrados oralmente está diretamente relacionada à sua capacidade de permear as membranas celulares e ser absorvido pela mucosa intestinal. Ferramentas computacionais como o SwissADME permitem a avaliação das propriedades físico-químicas e farmacológicas dos compostos, incluindo lipofilia, polaridade e solubilidade em água.⁸¹

O programa online SwissADME foi utilizado para calcular os parâmetros farmacológicos dos compostos mais seletivos e potentes contra as células MCF-7 e MDA-MB-231 (**24a-b**, **24f-g**, **24i** e **24l**). O composto **24o** também foi escolhido para esta análise como controle negativo, pois não mostrou atividade contra as linhas celulares em concentrações superiores a 100 µM. ADME significa absorção, distribuição, metabolismo e excreção (Tabela 3, página 82). Informações sobre as propriedades ADME de novos compostos bioativos são cruciais porque ajudam a elucidar seu potencial para o desenvolvimento de substâncias medicinais e fornecem direção para quaisquer esforços subsequentes de otimização estrutural.

Consistente com a regra de Lipinski, um candidato a fármaco pode desviar-se de apenas um dos seguintes critérios: (i) o número de aceptores de ligação de hidrogênio não deve exceder 10 ($HBA \leq 10$); (ii) o número de doadores de ligação de hidrogênio não deve exceder 5 ($HBD \leq 5$); (iii) a massa molecular (MM) não deve exceder 500 Daltons; ou (iv) o coeficiente de partição octanol-água da molécula não deve exceder 5 ($\log P_{o/w} \leq 5$). Os compostos analisados apresentaram alta absorção gastrointestinal (GIA) e solubilidade moderada em água ($\log S$).⁸²

⁸¹ Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep.* **2017**, *7*, 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.

⁸² Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* **2012**, *64*, 4–17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019>

Além disso, os valores calculados de TPSA (área polar de superfície topológica) foram inferiores a 140 Å, indicando potencial para administração oral. As propriedades farmacocinéticas desses compostos também foram avaliadas, e apenas os compostos **24i** e **24o** não atravessariam a barreira hematoencefálica (BBB).

Tabela 3. Parâmetros ADME calculados para os compostos 24a-b, 24f-g, 24i, 24l e 24o

Parâmetros	Compostos						
Propriedades físico-químicas	24a	24b	24f	24g	24i	24l	24o
Massa molecular	350,5	364,5	336,5	350,5	361,4	358,5	343,4
HBA	2	2	2	2	3	3	4
HBD	2	2	2	2	2	2	2
TPSA	58,2	58,2	58,2	67,4	82,0	67,4	91,2
Log P _{o/w}	3,73	4,03	3,66	4,0	3,44	3,20	2,39
Log S	-4,33	-4,64	-4,36	-4,67	-4,32	-3,75	-2,90
Lipinski (violações)	0	0	0	0	0	0	0
Propriedades farmacocinéticas							
GIA	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto
Permeia a BBB?	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não

*HBD, doador de ligações de H; HBA, aceptores de ligação de H; LogP_{o/w}, coeficiente de partição octanol/água; Log S, solubilidade aquosa; TPSA, área polar de superfície topológica; GIA, absorção gastrointestinal; BBB, barreira hematoencefálica.

Embora nenhum composto analisado no estudo ADME tenha violado a regra de Lipinski, é possível correlacionar informações entre a relação estrutura-atividade e as propriedades físico-químicas dos novos compostos sintetizados. Os compostos **24b** e **24g**, ambos com um grupo metila na subunidade cinâmica, apresentaram valores mais altos de LogP_{o/w} e Log S do que os compostos **24a** e **24f**, indicando que a inserção de um grupo metila aumenta sua lipofilicidade. Essa tendência não foi seguida pelo composto **24l**, que exibe um grupo tetraidrofurano na sub-unidade amida da molécula, aumentando sua polaridade. Os aceptores de Michael **24b** e **24g** mostraram citotoxicidade relevante contra as linhas celulares cancerosas MDA-MB-231 ($6,4 \pm 0,1$ e $7,2 \pm 0,1$ µM, respectivamente) e MCF-7 ($11,2 \pm 6,0$ e $28,7 \pm 3,3$ µM, respectivamente), mas também contra células não cancerosas (MCF-10A), levando a valores de seletividade inferiores a 1,6 para ambos os tipos de células cancerosas. A inserção de um grupo metila e as melhorias na afinidade

de ligação foram reconhecidas por Cernack e Schönherr (2013),⁸³ sendo chamadas de “o efeito mágico do metila”. Os compostos **24i** e **24o**, ambos apresentando um grupo ciano na sub-unidade amida da molécula, foram previstos como incapazes de atravessar a barreira hematoencefálica (BBB).

⁸³Schönherr H, Cernak T. Profound methyl effects in drug discovery and a call for new C-H methylation reactions. *Angew Chemie - Int Ed.* **2013**, 52, 12256–67. <https://doi.org/10.1002/anie.201303207>.

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O presente estudo teve como objetivo geral sintetizar e caracterizar duas séries de novas moléculas do tipo aceptores de Michael, avaliando sua atividade biológica contra o vírus SARS-CoV-2 e células de câncer de mama, visando identificar potenciais candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos antivirais e anticancerígenos.

Os novos dipeptídeos miméticos **24a-o** (série 1) foram planejados com uma ligação α,β -insaturada e diferentes substituintes na subunidade referente ao ácido cinâmico e na subunidade amida terminal. A síntese e a caracterização desses compostos foram realizadas com rendimentos globais entre 19-42%. A estrutura e pureza dos produtos foram confirmadas por meio de técnicas espectroscópicas de caracterização. Os novos compostos do tipo 3,5-bis(arilideno)piperidin-4-ona (**25a-i** - série 2) foram planejados com um anel 1,2,3-triazólico ligado ao átomo de nitrogênio do anel 4-piperidona, com rendimentos globais entre 15-50%. A caracterização dos produtos por meio de técnicas espectroscópica validou as estruturas obtidas e a pureza dos produtos.

As moléculas **24a**, **24e** e **24o** foram as que apresentaram resultados mais significativos nos testes antivirais preliminares e foram testadas *in vitro* em culturas de células infectadas com o vírus SARS-CoV-2. Entretanto nenhum dos compostos testados apresentou resultados significativos frente ao vírus SARS-CoV-2.

A citotoxicidade das moléculas foi avaliada em linhagens celulares de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB-231) e em células de mama não cancerígenas (MCF-10A). Os testes identificaram que o composto **24f** foi mais seletivo ($IC_{50} = 2,5 \pm 0,1$ e $IS = 7,9$) contra a linhagem MDA-MB-231, destacando seu potencial como agente anticancerígeno.

As propriedades físico-químicas e farmacocinéticas dos compostos mais ativos no estudo de citotoxicidade (**24a-b**, **24f-g**, **24i** e **24l**) foram avaliadas *in silico*, utilizando a ferramenta SwissADME. Os resultados forneceram informações relevantes sobre a absorção, distribuição, metabolização e excreção dos compostos

mais ativos, auxiliando na identificação dos candidatos mais promissores para o desenvolvimento de novos fármacos.

Em conclusão, o estudo alcançou com sucesso os objetivos propostos, resultando na síntese e caracterização de duas séries de aceptores de Michael com potencial atividade anticancerígena. No total foram sintetizados e caracterizados 29 novos compostos (**24a-o**, **25a-i**, **27c-d** e **32a-c**). Os compostos mais promissores demonstraram atividade significativa nos ensaios citotóxicos e apresentaram propriedades físico-químicas e farmacocinéticas favoráveis, de acordo com a avaliação *in silico*.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Equipamentos

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , de ^{13}C , de DEPT, e os mapas de contorno COSY e HSQC foram obtidos pelo espectrômetro BRUKER AVANCE-III 400 *Nanobay* (Departamento de Química, UFMG). Como referência interna utilizou-se o sinal do tetrametilsilano (TMS) presente no solvente deuterado (δ_{H} e δ_{C} 0,00 ppm) ou do resíduo de clorofórmio presente no clorofórmio deuterado (δ_{H} 7,26 e δ_{C} 77,16 ppm). Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J), em Hertz (Hz).

Os espectros na região do IV foram registrados no aparelho Perkin Elmer Spectrum One FT-IR (Departamento de Química UFMG) utilizando pastilha de KBr.

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho Microquímica MQAPF (Departamento de Química).

Algumas reações foram realizadas sob irradiação de micro-ondas em reator CEM Discover.

5.2 Materiais e reagentes

Para cromatografia em camada delgada (CCD), utilizada para o acompanhamento do desenvolvimento das reações, foi empregada sílica-gel 60 G Merck® de 0,25 mm de espessura sobre lâminas de vidro e placa de alumínio comercial Aldrich. Para o método de purificação de cromatografia em coluna (CC) foi utilizada sílica gel (SiliCycle 0,035 – 0,070 mm, diâmetro de poro de 6 nm).

5.3 Reveladores

Os reveladores utilizados na técnica de CCD foram câmara de UV ($\lambda = 265$ nm) e vapor de iodo sublimado.

5.4 Purificação de solventes

Diclorometano (DCM): foram acrescentadas ao solvente pequenas porções de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, e a mistura foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente até o desaparecimento da coloração escura no ácido, indicando a remoção da graxa. O DCM foi transferido para um balão de fundo redondo e o mesmo foi neutralizado com bicarbonato de sódio (NaHCO_3) sólido. Em seguida, agitou-se magneticamente o solvente com cloreto de cálcio (CaCl_2) anidro por 5 horas seguido da destilação do mesmo. O DCM destilado foi recolhido e estocado em um frasco âmbar contendo peneira molecular do tipo A4 ativada por aquecimento em estufa ($300\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h), sob atmosfera de nitrogênio.⁸⁴

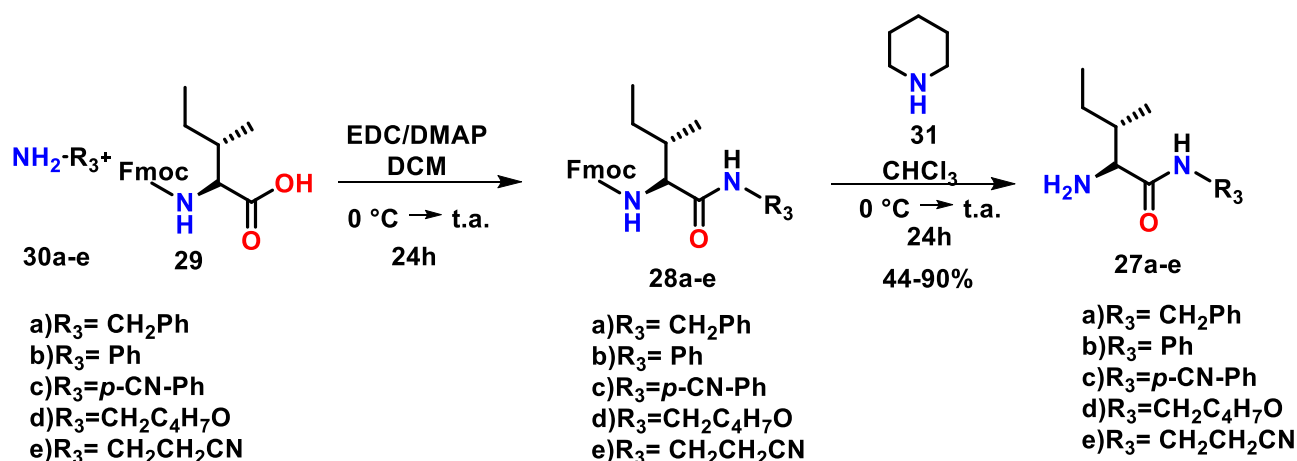
Anilina comercial: foi destilada sob pressão reduzida e estocada em um frasco âmbar em ambiente escuro.

Benzilamina comercial: foi destilada sob pressão reduzida e estocada em um frasco âmbar em ambiente escuro.

5.5. Sínteses

5.5.1. Síntese dos compostos da série 1 (24a-o)

5.5.1.1. Procedimento geral da síntese das aminas 27a-e⁵⁹



⁸⁴ Perrin DD, Amarego WLF, Perrin DR. **Purification of laboratory chemicals**. Oxford: Pergamon Press, 1980. 2^a Ed.

Em um balão de fundo redondo adicionaram-se Fmoc-*L*-isoleucina (**29**) (5,66 mmol, 2,00 g, 1,00 equiv.), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) (6,23 mmol, 967 mg, 1,1 equiv.) e 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (2,26 mmol, 276 mg, 0,4 equiv.). O balão foi resfriado a 0 °C e mantido sob atmosfera de N₂ e então foram adicionados 10 mL de diclorometano. Após 15 minutos sob agitação foi adicionado ao sistema inerte a amina correspondente (**30 a-e**) (1,1 equiv.). A mistura de reação ficou sob agitação por 20 horas em temperatura ambiente (t.a.). O progresso da reação foi acompanhado por meio de CCD (eluente: acetato de etila/hexano 1:1, revelador: iodo), observando-se após este tempo o consumo total material de partida e formação de um sólido. A extração da reação foi realizada vertendo-se o conteúdo do balão a um funil de separação, juntamente com 30 mL de diclorometano. A fase orgânica foi lavada com solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl (3 x 10 mL) e com solução saturada de NaHCO₃ (2 x 10 mL). Em seguida, a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, obtendo-se um sólido branco.

O sólido branco foi transferido para um balão de fundo redondo e então foram adicionados 30 mL de clorofórmio e piperidina (4,5 equiv.). A reação ficou sob agitação magnética em t.a. e foi acompanhada por CCD, observando-se consumo total do material de partida, após 24 horas. O solvente da reação foi evaporado sob vácuo, e o material bruto foi purificado em coluna de sílica gel utilizando-se como eluentes: hexano: acetato de etila (1:1), acetato de etila (1:0) e acetato de etila: metanol (9:1).

Tabela 4. Dados referentes aos compostos sintetizados 27a-c

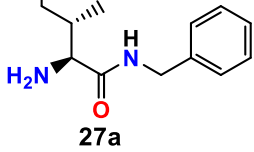
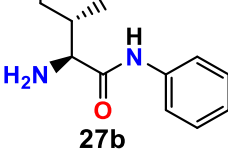
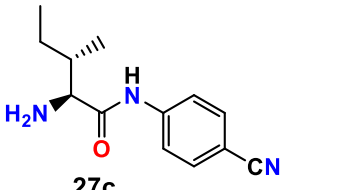
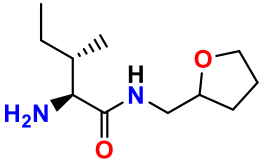
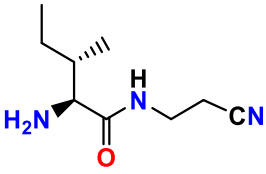
Composto	(2S,3S)-2-amino-3-metil-N-benzilpentanamida 	(2S,3S)-2-amino-3-metil-N-fenilpentanamida 	(2S,3S)-2-amino-N-(4-cianofenil)-3-metilpentanamida 
Fórmula molecular	C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O	C ₁₃ H ₁₇ N ₃ O
Massa molar (gmol ⁻¹)	220,16	206,14	231,30
Aspecto	Óleo amarelo	Óleo amarelo	Óleo amarelo
Rendimento	57%	62%	22%
IV (ν, cm ⁻¹)	3455 (ν NH amida), 3383 (ν NH amina), 1733 (ν C=O) ⁸⁵	3411 (ν NH amida), 3372 (ν NH amina), 1734 (ν C=O) ⁸⁶	3391 (ν NH amida), 3355 (ν NH amina), 2375 (ν CN), 1738 (ν C=O)
EMAR (ESI ⁺) m/z	[M+H] ⁺ Calc.: 221,1500, enc. 221,1100 ⁸⁵	[M+H] ⁺ Calc.: 207,1497, enc. 207,1484 ⁸⁶	[M+H] ⁺ Calc.: 232,3444, enc. 232,3443.
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

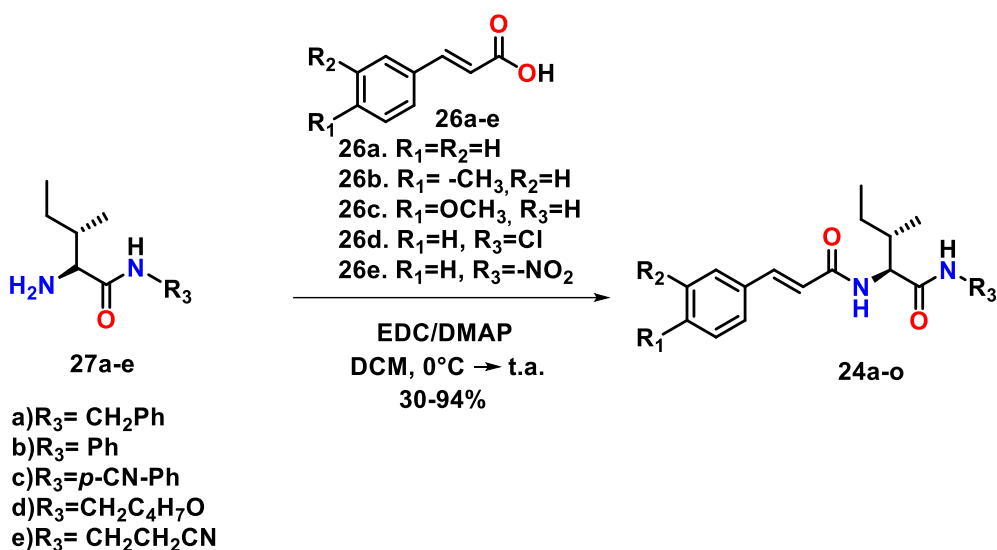
Tabela 5. Dados referentes aos compostos sintetizados 27d-e

Composto	(2S,3S)-2-amino-3-metil-N-((tetrahidrofuran-2-il)metil)pentanamida 	(2S,3S)-2-amino-N-(2-cianoetil)-3-metilpentanamida 
Fórmula molecular	C ₁₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	C ₉ H ₁₇ N ₃ O
Massa molar (gmol ⁻¹)	214,17	183,25
Aspecto	Óleo amarelo	Óleo amarelo
Rendimento	40%	90%
IV (ν, cm ⁻¹)	3455 (ν NH amida), 3383 (ν NH amina), 1733 (ν C=O)	3455 (ν NH amida), 3383 (ν NH amina), 1733 (ν C=O) ⁵⁹
EMAR (ESI) m/z	[M+H] ⁺ Calc.: 215,1754, enc. 215,1753	[M- H] ⁻ Calc.: 182,1293, enc. 182,1296
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

⁸⁵ Ahuja P, Husain A, Siddiqui N. Essential aminoacid incorporated GABA-phthalimide derivatives: Synthesis and anticonvulsant evaluation. *Med Chem Res.* **2014**, 23, 4085–98. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-0949-5>.

⁸⁶ Agarwal DS, Anantaraju HS, Sriram D, Yogeeswari P, Nanjegowda SH, Mallu P, et al. Synthesis, characterization and biological evaluation of bile acid-aromatic/heteroaromatic amides linked via amino acids as anti-cancer agents. *Steroids.* **2016**, 107,87–97. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.12.022>.

5.5.3 Procedimento geral da síntese dos compostos 24a-o



Procedimento geral

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,5 mmol do ácido cinâmico ou derivado substituído (**26a-e**), EDC (0,65 mmol, 101 mg, 1,1 equiv.) e DMAP (0,3 mmol, 37 mg, 0,5 equiv.). O sistema foi resfriado a 0 °C e mantido sob atmosfera de N₂ e então foram adicionados 5 mL de diclorometano seco. O sistema ficou sob agitação magnética por 15 minutos, e em seguida foi adicionado à reação uma solução da amina equivalente (**27a-e**) (0,5 mmol, 1,0 equiv.) em 5 mL de diclorometano. A mistura foi mantida sob agitação a temperatura ambiente e o progresso da reação foi acompanhado por CCD. A extração da reação foi realizada vertendo-se o conteúdo do balão a um funil de separação, juntamente com 30 mL de diclorometano. A fase orgânica foi lavada com solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl (3 x 10 mL) e com solução saturada de NaHCO₃ (2 x 10 mL), seca com Na₂SO₄ e o solvente foi eliminado sob vácuo. O material obtido foi purificado por coluna de sílica gel ou recristalizado por etanol.

Tabela 6. Dados referentes aos compostos sintetizados 24a e 24b

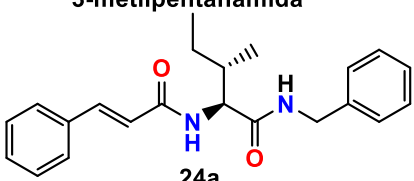
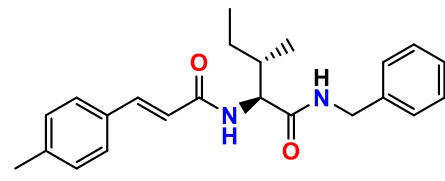
Composto	(2S,3S)- <i>N</i> -benzil-2-cinamamido-3-metilpentanamida 	(2S,3S)- <i>N</i> -benzil-3-metil-2-((<i>E</i>)-3-(<i>p</i> -tolil)acrilamido)pentanamida 
Fórmula molecular	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₂	C ₂₃ H ₂₈ N ₂ O ₂
Massa molar (gmol ⁻¹)	350,20	364,21
Tempo de reação	22 horas	22 horas
Aspecto	Sólido branco	Sólido branco
Purificação	Recristalização	Recristalização
Rendimento	57%	50%
Faixa de fusão	237,4 – 239,2 °C	243,9 – 246,3 °C
IV (ν, cm ⁻¹)	2834 (ν _{ass} C-H alifático), 1659 e 1600 (ν C=O)	3278 (ν NH), 2964- 2830 (ν _{ass} C-H alifático), 1677 e 1616 (ν C=O)
EMAR (ESI ⁻) <i>m/z</i>	[M-H] ⁻ Calc.: 349,1921 enc. 349,1922.	[M-H] ⁻ Calc.: 363,2078 enc. 363,2080
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

Tabela 7. Dados referentes aos compostos sintetizados 24c e 24d

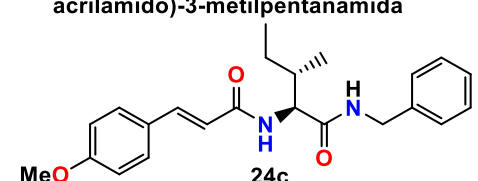
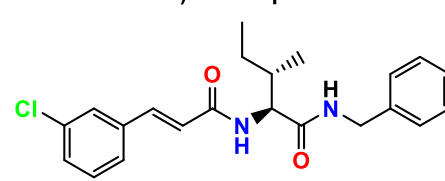
Composto	(2S,3S)- <i>N</i> -benzil-2-((<i>E</i>)-3-(4-metoxifenil)acrilamido)-3-metilpentanamida 	(2S,3S)- <i>N</i> -benzil-2-((<i>E</i>)-3-(3-clorofenil)acrilamido)-3-metilpentanamida 
Fórmula molecular	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₂	C ₂₂ H ₂₅ ClN ₂ O ₂
Massa molar (gmol ⁻¹)	380,21	384,16
Tempo de reação	18 horas	19 horas
Aspecto	Sólido branco	Sólido branco
Purificação	Recristalização	Recristalização
Rendimento	43%	50%
Faixa de fusão	230,4-232,7 °C	260,0 -262,4
IV (ν, cm ⁻¹)	3277 (ν NH), 2966- 2832 (ν _{ass} C-H alifático), 1678 e 1610 (ν C=O).	3274 (ν NH), 2966- 2832 (ν _{ass} C-H alifático), 1670 e 1610 (ν C=O).
EMAR (ESI ⁻) <i>m/z</i>	[M-H] ⁻ Calc.: 379,2099 enc. 379,2118	[M-H] ⁻ Calc.: 383,1532 enc. 383,1534
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

Tabela 8. Dados referente ao composto sintetizado 24e

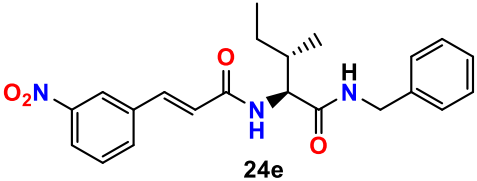
Composto	(2S,3S)- N-benzil-3-metil-2-((E)-3-(3-nitrofenil)acrilamido)pentanamida
	
Fórmula molecular	C ₂₂ H ₂₅ N ₃ O ₄
Massa molar (g mol ⁻¹)	395,18
Tempo de reação	19 horas
Aspecto	Sólido branco
Purificação	Recristalização
Rendimento	38%
Faixa de fusão	221,1 – 223,3 °C
IV (ν, cm ⁻¹)	3284 (ν NH), 2996- 2874 (ν ass C-H alifático), 1650 e 1624 (ν C=O), 1358 (ν N=O)
EMAR (ESI ⁻) m/z	[M-H] ⁻ Calc.: 394,1772 enc. 394,1771
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I

Tabela 9. Dados referentes aos compostos sintetizados 24f e 24g

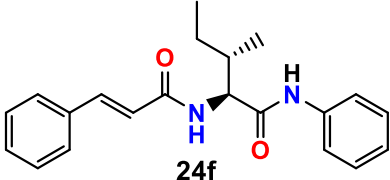
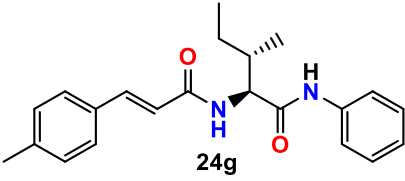
Composto	(2S,3S)-2-cinamamido-3-metil-N-fenilpentanamida	(2S,3S)-3-metil-N-fenil-2-((E)-3-(p-tolil)acrilamido)pentanamida
		
Fórmula molecular	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₂	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₂
Massa molar (g mol ⁻¹)	336,44	350,20
Tempo de reação	21 horas	18 horas
Aspecto	Sólido branco	Sólido branco
Purificação	Coluna cromatográfica	Coluna cromatográfica
Rendimento	38%	40%
Faixa de fusão	258,4 – 260,1 °C	267,9 – 270,0 °C
IV (ν, cm ⁻¹)	3284 (ν NH), 2966-2874 (ν ass C-H alifático), 1652 e 1627 (ν C=O)	3270 (ν NH), 2964-2872 (ν ass C-H alifático), 1650 e 1625 (ν C=O)
EMAR (ESI ⁻) m/z	[M-H] ⁻ Calc.: 335,1766 enc. 335,1767.	[M-H] ⁻ Calc.: 349,1921 enc. 349,1922.
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

Tabela 10. Dados referente ao composto sintetizado 24h

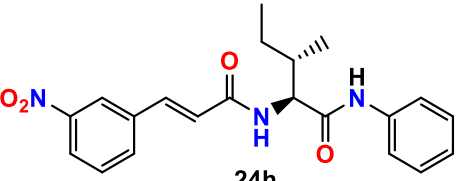
Composto	(2S,3S)-3-metil-2-((E)-3-(3-nitrofenil)acrilamido)-N-fenilpentanamida
	
Fórmula molecular	C ₂₁ H ₂₃ N ₃ O ₄
Massa molar (g mol ⁻¹)	381,17
Tempo de reação	20 horas
Aspecto	Sólido branco
Purificação	coluna cromatográfica
Rendimento	30%
Faixa de fusão	260,4 -262,3 °C
IV (ν, cm ⁻¹)	3284 (ν NH), 2966 (ν ass C-H alifático), 1662 e 1622 (ν C=O).
EMAR (ESI ⁻) m/z	[M-H] ⁻ Calc.: 380,1616 enc. 380,1617
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I

Tabela 11. Dados referentes aos compostos sintetizados 24i e 24j

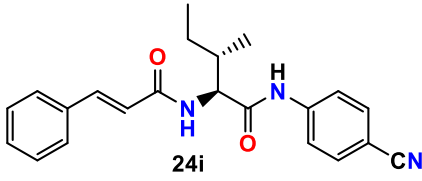
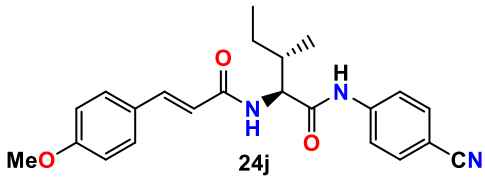
Composto	(2S,3S)-2-cinamamido-N-(4-cianofenil)-3-metilpentanamida	(2S,3S)-N-(4-cianofenil)-2-((E)-3-(4-metoxifenil)acrilamido)-3-metilpentanamida
		
Fórmula molecular	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₂	C ₂₃ H ₂₅ N ₃ O ₃
Massa molar (g mol ⁻¹)	361,18	391,19
Tempo de reação	20 horas	20 horas
Aspecto	Sólido amarelo	Sólido amarelo
Purificação	Coluna cromatográfica	Coluna cromatográfica
Rendimento	59%	75%
Faixa de fusão (°C)	100,4-103,4	203,4-205,1
IV (ν, cm ⁻¹)	3270 (ν NH amida), 2228 (ν C≡N), 1660 e 1600 (ν C=O).	3270 (ν NH amida), 2226 (ν C≡N), 1664 e 1604 (ν C=O).
EMAR (ESI ⁺) m/z	[M+H] ⁺ Calc.: 362,1863 enc. 362,1861.	[M+H] ⁺ Calc.: 392,1969 enc. 392,1965.
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

Tabela 12. Dados referentes ao composto sintetizado 24k

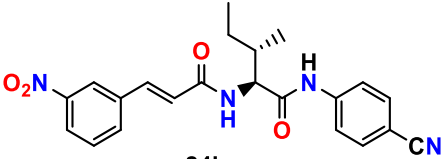
Composto	(2S,3S)-N-(4-cianofenil)-3-metil-2-((E)-3-(3-nitrofenil)acrilamido)pentanamida
	
Fórmula molecular	C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₄
Massa molar (g·mol ⁻¹)	406,16
Tempo de reação	22 horas
Aspecto	Sólido amarelo
Purificação	Coluna cromatográfica
Rendimento	94%
Faixa de fusão	110,1 -113,4 °C
IV (ν, cm ⁻¹)	3274 (ν NH amida), 2226 (ν C≡N), 1662 e 1558 (ν C=O).
EMAR (ESI ⁺) m/z	[M+Na] ⁺ Calc.: 429,1533 enc. 429,1535
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I

Tabela 13. Dados referentes aos compostos sintetizados 24l e 24 m

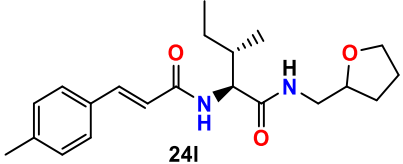
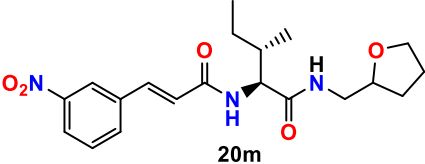
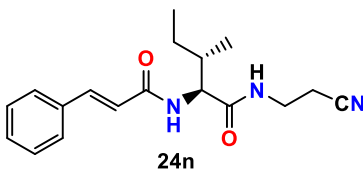
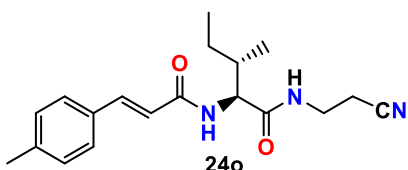
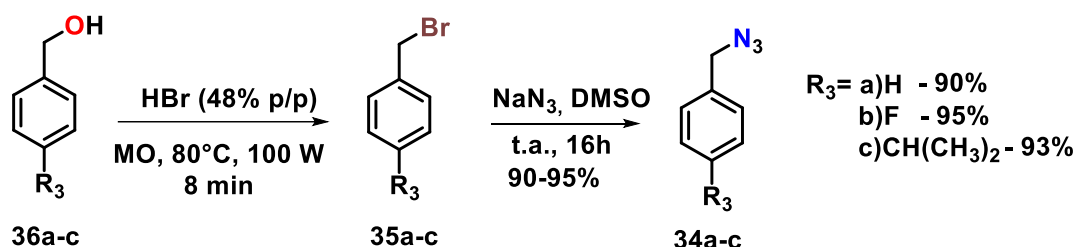
Composto	(2S,3S)-3-metil-N-((tetrahydrofuran-2-il)metil)-2-((E)-3-(p-tolil)acrilamido)pentanamida	(2S,3S)-3-metil-2-((E)-3-(3-nitrofenil)acrilamido)-N-((tetrahydrofuran-2-il)metil)pentanamida
		
Fórmula molecular	C ₂₁ H ₃₀ N ₂ O ₃	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₅
Massa molar (g·mol ⁻¹)	358,23	389,20
Tempo de reação	22 horas	22 horas
Aspecto	Sólido amarelo	Sólido amarelo
Purificação	Coluna cromatográfica	Coluna cromatográfica
Rendimento	43%	53%
Faixa de fusão (°C)	157,8-160,4	150,4-152,3
IV (ν, cm ⁻¹)	3058 e 2926 (ν NH amida), 1700 e 1588 (ν C=O).	3060 e 2928 (ν NH amida), 1700 e 1588 (ν C=O).
EMAR (ESI ⁺) m/z	[M+H] ⁺ Calc.: 359,2329 enc. 359,2328.	[M+H] ⁺ Calc.: 390,2023 enc. 390,2018.
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

Tabela 14. Dados referentes aos compostos sintetizados 24n e 24o

Composto	(2S,3S)-2-cinamamido- <i>N</i> -(2-cianoetil)-3-metilpentanamida	(2S,3S)- <i>N</i> -(2-cianoetil)-2-((<i>E</i>)-3-(4-metoxifenil)acrilamido)-3-metilpentanamida
		
Fórmula molecular	C ₁₈ H ₂₃ N ₃ O ₂	C ₁₉ H ₂₅ N ₃ O ₂
Massa molar (g·mol ⁻¹)	313,18	327,19
Tempo de reação	20 horas	20 horas
Aspecto	Sólido branco	Sólido branco
Purificação	Coluna cromatográfica	Coluna cromatográfica
Rendimento	45%	30%
Faixa de fusão (°C)	220,9-223,9	217,9-220,0
IV (ν, cm ⁻¹)	3438 e 3280 (ν NH), 2920-2852 (ν ass C-H alifático), 1649 e 1623 (ν C=O).	3422 e 3288 (ν NH), 2920-2852 (ν ass C-H alifático), 1644 e 16219 (ν C=O).
EMAR (ESI ⁻) <i>m/z</i>	[M-H] ⁻ Calc.: 312,1728 enc. 312,1717	[M-H] ⁻ Calc.: 342,1823 enc. 342,1822
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

5.5.2. Síntese dos compostos da série 2 (25a-i)

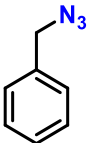
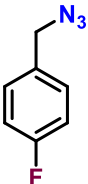
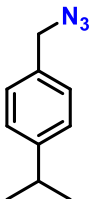
5.5.2.1. Síntese das azidas benzílicas 38a-c⁶⁵



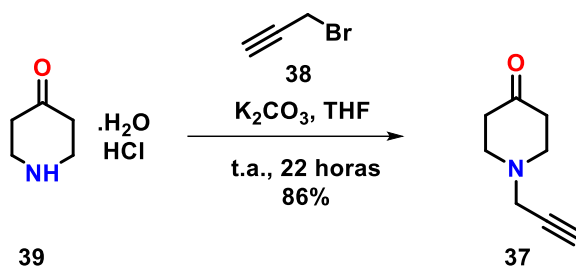
Procedimento geral: A um balão de fundo redondo foram adicionados 3,0 mmol do álcool de partida 36a-c e 4,0 mL de solução de ácido bromídrico (48% p/p). Foi montado um sistema de refluxo no reator de micro-ondas e a mistura foi submetida à irradiação de micro-ondas à 80 °C, por 8 minutos, com 1 minuto de rampa, em uma potência de 100 W. A reação foi monitorada por CCD, e ao inal da reação a mistura foi neutralizada com 15,0 mL de solução saturada de NaHCO₃ e extraída com DCM (3 x 15,0 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, e o solvente removido em evaporador rotatório, sem aquecimento. O óleo obtido foi utilizado na etapa seguinte, sem purificação adicional. Em um balão de fundo redondo de 50 mL

foram adicionados os derivados bromados 35a-c com 1,3 eq. de azida de sódio (NaN_3), em solução previamente preparada em dimetilsulfóxido ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$). A reação foi mantida, sob agitação magnética, a temperatura ambiente por 16 horas. Ao final da reação adicionaram-se 15,0 mL de água destilada, e fez-se a extração líquido-líquido com DCM ($3 \times 15,0 \text{ mL}$). A fase orgânica foi novamente lavada com água destilada ($3 \times 15,0 \text{ mL}$), em seguida foi seca com Na_2SO_4 . O solvente foi removido em evaporador rotatório sem aquecimento. O produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando a sílica gel como fase estacionária e hexano como eluente. A caracterização dos produtos 34a-c foi realizada com RMN de ^1H e os dados foram comparados com aqueles descritos na literatura.⁶⁵ Os espectros de RMN de ^1H encontram-se no Apêndice I.

Tabela 15. Dados referentes aos compostos sintetizados 34a-c

Composto	Azidometilbenzeno	1-(azidometil)-4-fluorobenzeno	1-(azidometil)-4-isopropilbenzeno
			
	34a	34b	34c
Fórmula molecular	$\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_3$	$\text{C}_7\text{H}_6\text{FN}_3$	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3$
Massa molar (g mol^{-1})	133,15	151,14	175,24
Tempo de reação	16 horas	16 horas	16 horas
Aspecto	Óleo incolor	Óleo incolor	Óleo incolor
Rendimento	90%	95%	93%
RMN ^1H	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

5.5.2.2. Síntese da 1-(prop-2-in-1-il)piperidin-4-ona (41)⁶³



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 1,12 g da 4-piperidona (39) (7,28 mmol, 1,0 equiv.), 2,0 g de K_2CO_3 (14,56 mmol, 2,0 equiv.) e 10 mL de THF. A mistura foi agitada por 15 minutos em temperatura ambiente e, em seguida, foi adicionado 0,96 mL de uma solução de brometo de propargila (80% em tolueno, $d = 1,355 \text{ g mL}^{-1}$) (8,75 mmol, 1,2 equiv.) A reação foi agitada por 22 horas, em temperatura ambiente. Após esse tempo, foi adicionado ao balão de reação 15 mL de água destilada e realizou-se a extração da fase orgânica com DCM (2 x 15 mL). As frações orgânicas foram combinadas, filtrada em Na_2SO_4 e o solvente foi removido em um rotaevaporador sob pressão reduzida, fornecendo 1,10 g de um óleo de cor marrom. O óleo foi purificado em coluna de sílica gel como fase estacionária e uma mistura de Hex/EtOAc (8:2) como eluente, fornecendo 0,86 g (6,27 mmol, 86% de rendimento) do produto 37 como um óleo amarelo.

Fórmula molecular: $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}$

Massa molar (g mol^{-1}): 137,08

Aspecto: Óleo amarelo

Rendimento: 86%

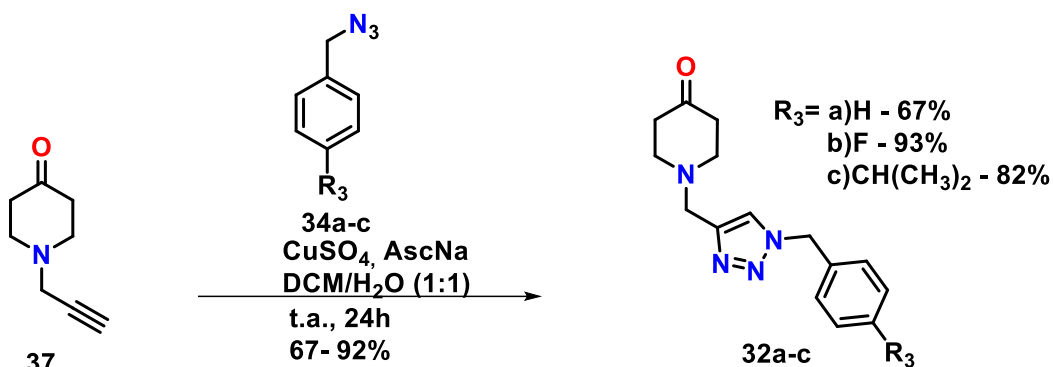
IV (ν , cm^{-1}): 3238 (ν H-C $\equiv$ C), 2964 – 2799 (ν C-H alifático), 1711 (ν C=O).⁶³

EMAR (ESI⁺) m/z : Calc.: 138,08742 enc. 138,09542.⁶³

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 2,25 (t, $^4J = 2,4 \text{ Hz}$, 1H, C $\equiv$ CH), 2,44 (t, $^3J = 6,2 \text{ Hz}$, 4H), 2,82 (t, $^3J = 6,2 \text{ Hz}$, 4H), 3,39 (d, $^4J = 2,4 \text{ Hz}$, 2H, CH₂-C $\equiv$ CH).⁶³

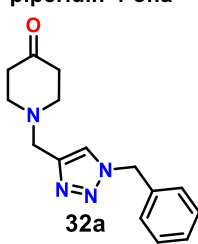
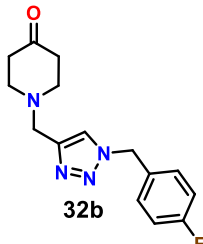
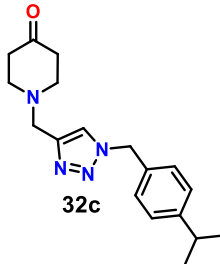
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 40,9 (CH₂COCH₂), 46,2 (CH₂-C $\equiv$ CH), 51,7 (-₂HC-N-CH₂), 73,5 (C $\equiv$ CH), 78,1 (C $\equiv$ CH), 207,9 (C=O).⁶³

5.5.2.3. Síntese dos derivados triazólicos 32a-c

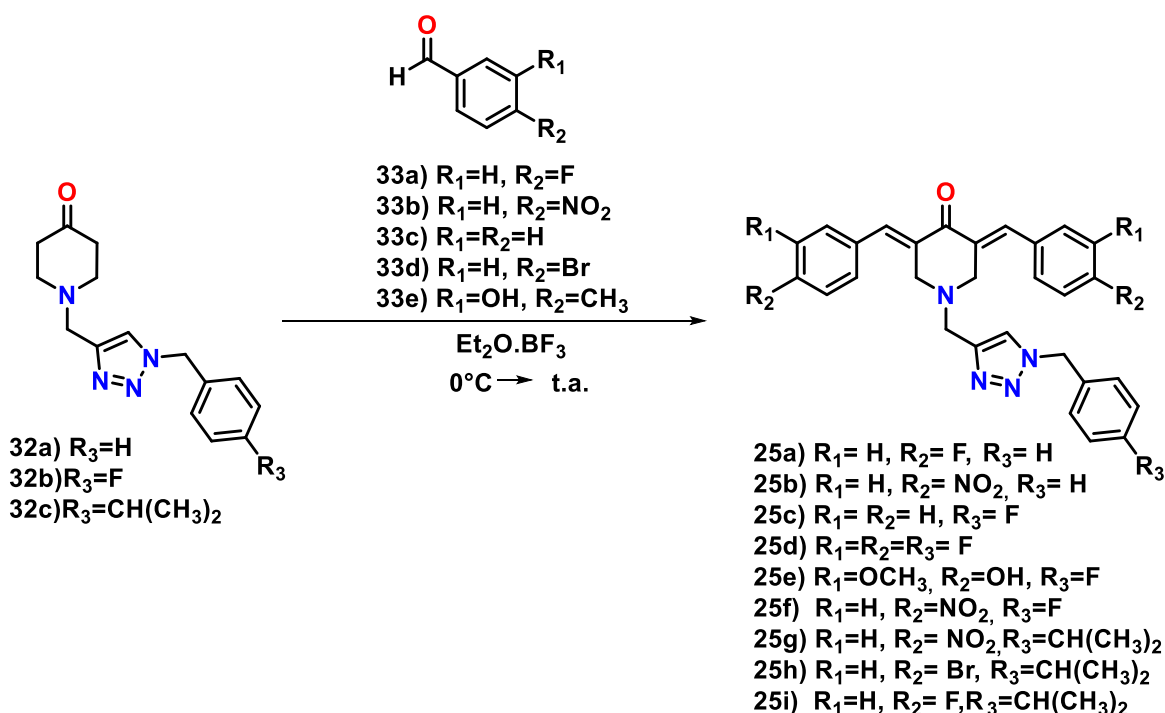


Em um balão de fundo redondo foram adicionados a azida benzílica correspondente **34a-c** (1,0 equiv.), dissolvida em 2 mL de DCM, o alcino **37** (1,0 equiv.), o sulfato de cobre (CuSO_4) (0,2 equiv.) e o ascorbato de sódio (AscNa) (0,4 equiv.), sendo os dois últimos dissolvidos separadamente em 1 mL de água destilada. A mistura foi agitada por 24h em temperatura ambiente, e acompanhada via CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9/1, revelador: iodo). Após esse tempo, foi adicionado à mistura 2 mL de solução de EDTA 50% m/v e NH_4OH concentrado, misturados na proporção de 1:1, por 10 min. A solução foi em seguida vertida em um funil de separação e extraída com DCM ou acetato de etila (3 x 10 mL). As fases orgânicas foram recolhidas, secas com Na_2SO_4 e o solvente evaporado em rotaevaporador sob pressão reduzida. A purificação dos resíduos foi realizada via coluna cromatográfica em sílica gel (eluente: Hex/ AcOEt , 1:1), fornecendo os produtos **32a-c** com rendimentos entre 67-92%.

Tabela 16. Dados referentes aos compostos sintetizados 32a-c

Composto	1-((1-benzil-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)metil)piperidin-4-ona  32a	1-((1-(4-fluorobenzil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)metil)piperidin-4-ona  32b	1-((1-(4-isopropilbenzil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)metil)piperidin-4-ona  32c
Fórmula molecular	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ O	C ₁₅ H ₁₇ FN ₄ O	C ₁₈ H ₂₄ N ₄ O
Massa molar (g·mol ⁻¹)	270,15	288,14	312,19
Tempo de reação	24 horas	24 horas	24 horas
Aspecto	Sólido amarelo	Sólido amarelo	Sólido amarelo
Rendimento	67%	82%	92%
Faixa de fusão (°C)	134,8-136,0	100,5 -102,4	105,7-107,9
IV (ν, cm ⁻¹)	2804 (ν C-H), 1712 (ν C=O), 1500 (ν C=C)	2812 (ν C-H), 1710 (ν C=O), 1508 (ν C=C)	2804 (ν C-H), 1720 (ν C=O), 1560 (ν C=C)
EMAR (ESI ⁺) <i>m/z</i>	[M+H] ⁺ Calc.: 271,15142 enc. 271,15518	[M+H] ⁺ Calc.: 289,14199 enc. 289,14548	[M+H] ⁺ Calc.: 313,19837 enc. 313,20190
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

5.5.2.4. Síntese dos compostos 25a-i



Em um balão de fundo redondo, em banho de gelo, eterato de trifluoreto de boro ($\text{Et}_2\text{O} \cdot \text{BF}_3$) (4 ml) foi adicionado ao triazol equivalente (**32a-c**) (1,0 equiv.), à 0°C. O aldeído correspondente (**33a-e**) (2,0 equiv.) foi adicionado à solução. A mistura de reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente e o progresso da reação foi acompanhado por CCD. Após o consumo total do material de partida o material bruto foi extraído com solução de NaHCO_3 saturada (2 x 10 mL) e DCM (30 mL). A fase orgânica foi recolhida e seca com Na_2SO_4 e o solvente foi evaporado com o auxílio de um rotaevaporador sob pressão reduzida. O sólido obtido foi purificado por recristalização em etanol ou coluna cromatográfica.

Tabela 17. Dados referentes aos compostos sintetizados 25a e 25b

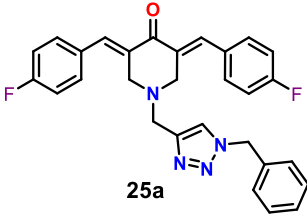
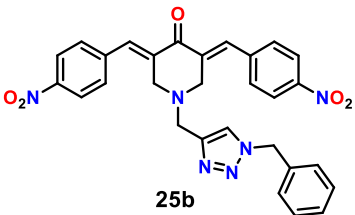
Composto	1-((1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-3,5-bis((<i>E</i>)-4-fluorobenzilideno)piperidin-4-ona	1-((1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-3,5-bis((<i>E</i>)-4-nitrobenzilidene)piperidin-4-ona
		
Fórmula molecular	$\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}$	$\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_5$
Massa molar (g mol^{-1})	482,19	536,18
Tempo de reação	48 horas	46 horas
Aspecto	Sólido amarelo	Sólido amarelo
Purificação	Recristalização	Recristalização
Rendimento	48%	60%
Faixa de fusão (°C)	181,6-182,6	215,6-218,2
IV (ν , cm^{-1})	2780 (ν C-H), 1600 (ν C=O), 1510 (ν C=C)	2838 (ν C-H), 1678 (ν C=O), 1594 (ν C=C)
EMAR (ESI^+) m/z	$[\text{M}+\text{H}]^+$ Calc.: 483,19517 enc. 483,19962	$[\text{M}+\text{H}]^+$ Calc.: 537,18417 enc. 537,18811
RMN ^1H e ^{13}C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

Tabela 18. Dados referentes aos compostos sintetizados 25c e 25d

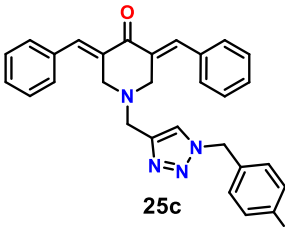
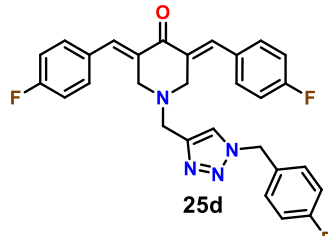
Composto	3,5-di((<i>E</i>)-benzilideno)-1-((1-(4-fluorobenzil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)piperidin-4-ona	1-((1-(4-fluorobenzil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-3,5-bis((<i>E</i>)-4-fluorobenzilideno)piperidin-4-ona
		
Fórmula molecular	C ₂₉ H ₂₅ FN ₄ O	C ₂₉ H ₂₃ F ₃ N ₄ O
Massa molar (g·mol ⁻¹)	464,20	500,18
Tempo de reação	47 horas	47 horas
Aspecto	Sólido amarelo	Sólido amarelo
Purificação	Recristalização	Recristalização
Rendimento	51%	62%
Faixa de fusão (°C)	183,4-185,1	179,8-181,9
IV (ν, cm ⁻¹)	2928 (ν C-H), 1598 (ν C=O), 1508 (ν C=C)	2928 (ν C-H), 1598 (ν C=O), 1508 (ν C=C)
EMAR (ESI ⁺) <i>m/z</i>	[M+H] ⁺ Calc.: 465,20459 enc.465,20801	[M+H] ⁺ Calc.: 501,18240 enc.501,18924
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

Tabela 19. Dados referentes aos compostos sintetizados 25e e 25f

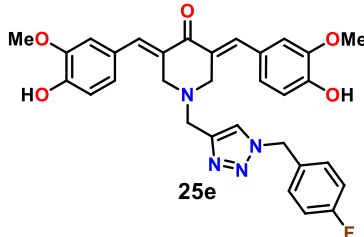
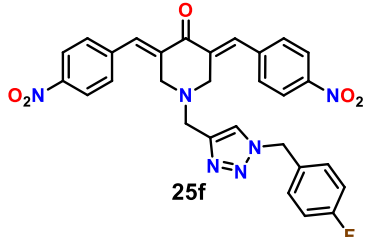
Composto	1-((1-(4-fluorobenzil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)- 3,5-bis((<i>E</i>)-4-hidroxi-3-metoxibenzilideno) piperidin-4-ona	1-((1-(4-fluorobenzil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)metil)- 3,5-bis((<i>E</i>)-4-nitrobenzilideno) piperidin-4-ona
		
Fórmula molecular	C ₃₁ H ₂₉ FN ₄ O ₅	C ₂₉ H ₂₃ FN ₄ O ₅
Massa molar (gmol ⁻¹)	556,21	554,17
Tempo de reação	48 horas	56 horas
Aspecto	Sólido amarelo	Sólido amarelo
Purificação	Coluna cromatográfica	Recristalização
Rendimento	20%	66%
Faixa de fusão (°C)	134,4-136,1	199,8-202,7
IV (ν, cm ⁻¹)	2938 (ν C-H), 1584 (ν C=O), 1514 (ν C=C)	2932 (ν C-H), 1598(ν C=O), 1518 (ν C=C)
EMAR (ESI ⁺) <i>m/z</i>	[M+H] ⁺ Calc.: 557,21555 enc.557,21979	[M+H] ⁺ Calc.: 555,17475 enc.555,17847
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	Apêndice do Cap.I

Tabela 20. Dados referentes ao composto sintetizado 25g

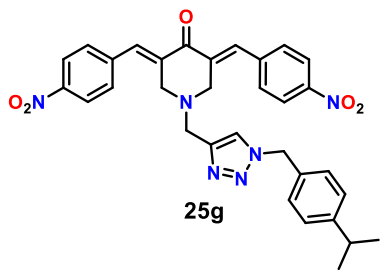
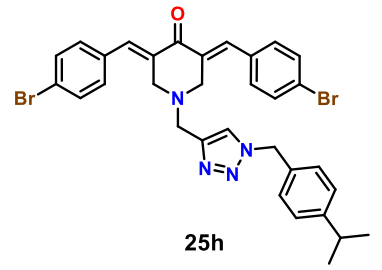
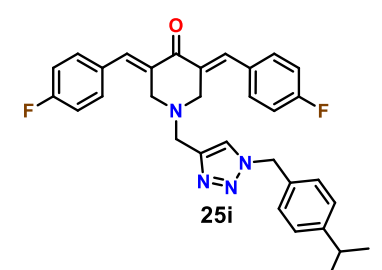
Composto	1-((1-(4-isopropilbenzil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-3,5-bis((<i>E</i>)-4-nitrobenzilideno)piperidin-4-ona	
		
Fórmula molecular	C ₃₂ H ₃₀ N ₆ O ₅	
Massa molar (g·mol ⁻¹)	578,27	
Tempo de reação	58 horas	
Aspecto	Sólido amarelo	
Purificação	Recristalização	
Rendimento	51%	
Faixa de fusão (°C)	202,2-205,3	
IV (ν, cm ⁻¹)	2960 (ν C-H), 1594 (ν C=O), 1516 (ν C=C)	
EMAR (ESI ⁺) <i>m/z</i>	[M+H] ⁺ Calc.: 579,23112 enc. 579,23492	
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I	

Tabela 21. Dados referentes aos compostos sintetizados 25h e 25i

Composto	3,5-bis((<i>E</i>)-4-bromobenzilidene)-1-((1-(4-isopropylbenzil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl)piperidin-4-one		3,5-bis((<i>E</i>)-4-fluorobenzilideno)-1-((1-(4-isopropilbenzil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)piperidin-4-ona	
				
Fórmula molecular	C ₃₂ H ₃₀ Br ₂ N ₄ O		C ₃₂ H ₃₀ F ₂ N ₄ O	
Massa molar (g·mol ⁻¹)	644,0786		524,24	
Tempo de reação	48 horas		46 horas	
Aspecto	Sólido amarelo		Sólido amarelo	
Purificação	Coluna cromatográfica Eluentes: EtOAc:Hex (1:1)		Recristalização	
Rendimento	46%		48%	
Faixa de fusão (°C)	160,0-162,3		174,4-176,7	
IV (ν, cm ⁻¹)	2964 (ν C-H), 1676 (ν C=O), 1516 (ν C=C)		2964 (ν C-H), 1600 (ν C=O), 1508 (ν C=C)	
EMAR (ESI ⁺) <i>m/z</i>	[M+H] ⁺ Calc.: 645,0846 enc. 645,08533		[M+H] ⁺ Calc.: 525,24212 enc. 525,24542	
RMN ¹ H e ¹³ C	Apêndice do Cap.I		Apêndice do Cap.I	

5.6. Testes biológicos

5.6.1 Testes antivirais

- Ensaio de Citotoxicidade – Vero CCL-81

Metodologia: As células Vero CCL-81 foram cultivadas e plaqueadas em placas de 96 poços com meio MEM 5% SFB. Após 24 h, adicionaram-se (em triplicatas) os compostos previamente diluídos em meio de cultivo nas concentrações de 0,1 μ M; 1 μ M; 10 μ M e 100 μ M. Incubou-se em estufa por 24 a 72 h e, após esse tempo, retirou-se todo o sobrenadante, que foi descartado. Depois, adicionaram-se 100 μ L de uma solução de MEM 5% SFB 10% Alamar Blue™ em cada poço e incubou-se a placa por 4 h em estufa e ao abrigo de luz. Após incubação, leu-se a absorbância no comprimento de 577 nm no espectrofotômetro Multiskan™ GO da Thermo Scientific™. Analisaram-se os resultados e, em seguida, plotaram-se os gráficos em GraphPad Prism 8.0.

- Ensaio de Citotoxicidade – L929

Metodologia: As células L929 foram cultivadas e plaqueadas em placas de 96 poços com meio MEM 5% SFB. Após 24 h, adicionou-se (em triplicatas) os compostos previamente diluídos em meio de cultivo nas concentrações de 0,1 μ M; 1 μ M; 10 μ M e 100 μ M. Incubou-se em estufa por 48 h e, após esse tempo, retirou-se todo o sobrenadante que foi descartado. Depois foram adicionados 100 μ L de uma solução de MEM 5% SFB 10% Alamar Blue™ em cada poço e incubou-se a placa por 4 h em estufa e ao abrigo de luz. Após incubação, leu-se a absorbância no comprimento de 577 nm no espectrofotômetro Multiskan™ GO da Thermo Scientific™. Analisar resultados e, em seguida, plotar gráficos em GraphPad Prism 8.0.

- Ensaio Antiviral Preliminar (MHV-A59)

Metodologia: As células L929 foram cultivadas e plaqueadas em placas de 96 poços com meio MEM 5% SFB. Após 24 h, as células foram infectadas com um inóculo de MHV-A59 de MOI (multiplicidade de infecção = número de partículas virais/células) igual a 0,01. As células foram incubadas em estufa por 1 h para

adsorção. Após adsorção, descartou-se os sobrenadantes e adicionou-se (em triplicatas) os compostos previamente diluídos em meio de cultivo nas concentrações de 0,1 μ M; 1 μ M; 10 μ M e 100 μ M. Incubou-se em estufa por 16 h e, após esse tempo, retirou-se todo o sobrenadante, que foi descartado. Depois, adicionou-se 100 μ L de uma solução de MEM 5% SFB 10% Alamar Blue™ em cada poço e incubou-se a placa por 4h em estufa e ao abrigo de luz. Após incubação, leu-se a absorbância no comprimento de 577 nm no espectrofotômetro Multiskan™ GO da Thermo Scientific™. Os resultados foram analisados e os gráficos plotados em GraphPad Prism 8.0.

- Ensaio Dose-Resposta (MHV-A59)

Metodologia: As células L929 foram cultivadas e plaqueadas em placas de 24 poços com meio MEM 5% SFB. Após 24 h, as células foram infectadas com um inóculo de MHV-A59 de MOI (multiplicidade de infecção = número de partículas virais/células) igual a 0,01. Incubou-se as células em estufa por 1 h para adsorção. Após adsorção, descartou-se os sobrenadantes e adicionou-se (em duplicatas) os compostos previamente diluídos em meio de cultivo nas concentrações de 0,1 μ M; 1 μ M; 10 μ M e 100 μ M, que foram incubados em estufa por 48 h e, após esse tempo, foram coletados o sobrenadante. Realizou-se uma diluição seriada do sobrenadante de cada tratamento até a diluição 10^{-4} e, em seguida, transferiu-se as soluções diluídas para uma nova placa de 24 poços com células L929 (em duplicatas). Após 1 h de adsorção, descartou-se os sobrenadantes e adicionou-se a solução de MEM 1,5% CMC e 5 % SFB nos poços. As placas foram incubadas por 48 h e depois, descartou-se o sobrenadante, as células foram fixadas com solução de formaldeído 3,7% por 30 min e, após fixação, lavou-se as placas e as mesmas foram tratadas com com Cristal Violeta 3%. Contabilizou-se o número de placas de lise e os gráficos foram plotados no programa GraphPad Prism 8.0.

- Ensaio Virucida (MHV-A59)

Metodologia: Preparou-se uma suspensão de MHV-A59 (MOI final = 1) com cada composto testado a 200 μ M (concentração final do composto = 100 μ M). Realizou-se a diluição seriada da suspensão de cada tratamento até a diluição 10^{-4} e, em seguida, transferiu-se as soluções diluídas para uma nova placa de 24 poços com células L929 (em duplicatas). Após 1 h de adsorção, descartou-se os sobrenadantes e adicionou-se a solução de MEM 1,5% CMC e 5 % SFB nos poços. As placas foram incubadas por 48 h e depois descartou-se o sobrenadante. As células foram fixadas com solução de formaldeído 3,7% por 30 min e, após fixação, as mesmas foram lavas e tratadas com Cristal Violeta 3%. Contabilizou-se o número de placas de lise e os gráficos foram plotados em GraphPad Prism 8.0.

- Ensaios dose-resposta com SARS-CoV-2

Metodologia: Células Vero CCL-81 (120.000 células por poço) foram mantidas em MEM 5% com suplementação de antibióticos (penicilina 200 U/mL, 40 μ g/mL de estreptomicina 1,5 mg/mL e anfotericina B 2 μ g/mL) e foram incubadas em placas de 24 poços por 24 h a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂. As células foram infectadas com SARS-CoV-2 Wuhan em uma multiplicidade de infecção (MOI) 0,01 e após a adsorção viral foram tratadas com os compostos **24a**, **24e** e **24o** até 48 horas pós-infecção (hpi). Foram utilizados poços em duplicatas e quatro concentrações (0,1; 1; 10 e 100 μ M).

5.6.2 Testes da atividade antiproliferativa

O experimento de atividade antiproliferativa foi realizado em placas de 96 poços. Foram preparadas, para cada composto, cinco soluções com concentrações diferentes (100 μ M, 50 μ M, 10 μ M, 5 μ M e 1 μ M). Essas soluções foram distribuídas em cinco colunas e replicadas em quatro poços. O controle neutro foi realizado em 16 poços no centro da placa, onde apenas o meio de cultura foi aplicado. Os experimentos mencionados foram realizados em duplicata, para cada linhagem celular. Na primeira etapa do experimento foi realizada a distribuição das células nas microplacas, para aderência das células. Assim, as células foram plaqueadas em

densidades entre $0,6 - 1,2 \times 10^3$ células por poço, e incubadas por 24 horas a 37°C , em atmosfera de 5% de CO_2 para completa aderência. Após esse tempo, o meio de cultura foi aspirado para adição de 100 μL das soluções contendo os compostos a serem testados, e as placas foram incubadas por 72h à 37°C e atmosfera de 5% de CO_2 . Decorrido o tempo de incubação foram adicionados 20 μL de uma solução aquosa de MTT (5 μg /poço). As placas foram incubadas por mais quatro horas, ao abrigo da luz, e avaliação da viabilidade celular após o tempo de exposição aos compostos testados. O sobrenadante foi então aspirado para solubilização do resíduo metabólico do MTT (formazan) em 100 μL /poço de DMSO. A solução resultante foi submetida à análise em espectrofotômetro leitor de microplacas (Marca/modelo), no comprimento de onda de 570 nm. As absorbâncias determinadas foram utilizadas para a construção de curvas dose/resposta, utilizando o programa GraphPrisma, de onde foram obtidos os valores de concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC_{50} μM). O controle neutro foi utilizado para normalização dos dados de absorbância.

Capítulo II

**Síntese inédita das pubesamidas A e B – *N*-benzoiltiramidas extraídas da
*Casimiroa pubescens***

1. INTRODUÇÃO

1.1 Produtos naturais na descoberta de novos fármacos

Historicamente, produtos naturais (PNs) vêm desempenhando um papel importante na descoberta de novos fármacos, especialmente para tratamento de câncer e doenças infecciosas,^{1,2} assim como na abordagem terapêutica de doenças cardiovasculares e esclerose múltipla.^{3,4} PNs oferecem uma ampla diversidade de estruturas complexas, e apresentam características vantajosas se comparadas com moléculas sintéticas. Dentre essas vantagens destacam-se: maior número de átomos de carbonos do tipo sp^3 e oxigênio (mas menor número de átomos de nitrogênio e halogênios), maior número de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio (maior polaridade), baixo coeficiente de partição octanol-água (alta solubilidade em água) e maior rigidez molecular.⁵

A metodologia mais comumente utilizada para a descoberta de PNs é a partir da triagem de extratos brutos para identificar “hits” promissores. Para a criação de bibliotecas de interesse para aplicação biológicas, extratos brutos podem ser pré-fracionados para posterior análise em equipamentos analíticos, como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou do inglês HPLC- *High Performance Liquid Chromatography*), e posterior análise de RMN (Ressonância Magnética Nuclear) para confirmação estrutural e identificação de isômeros.⁶ Além disso, as metodologias analíticas de separação podem ser ajustadas de modo a fornecer compostos com propriedades de interesse farmacológico.⁵

¹Atanasov, A. G.; Waltenberger, B.; Pferschy-Wenzig, E. M.; Linder, T.; Wawrosch, C.; Uhrin, P.; Temml, V.; Wang, L.; Schwaiger, S.; Heiss, E. H.; Rollinger, J. M.; Schuster, D.; Breuss, J. M.; Bochkov, V.; Mihovilovic, M. D.; Kopp, B.; Bauer, R.; Dirsch, V. M.; Stuppner, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review *Biotechnol. Adv.* **2015**, 33, 1582. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>

²Harvey, A. L.; Edrada-Ebel, R.; Quinn, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2015**, 14, 111. <https://doi.org/10.1038/nrd4510>

³Waltenberger, B.; Mocan, A.; Šmejkal, K.; Heiss, E. H.; Atanasov, A. G. Natural Products to Counteract the Epidemic of Cardiovascular and Metabolic Disorders. *Molecules*, **2016**, 21, <https://doi.org/10.3390/molecules21060807>

⁴Tintore, M.; Vidal-Jordana, A.; Sastre-Garriga, J. Treatment of multiple sclerosis - success from bench to bedside. *Nat. Rev. Neurol.* **2019**, 15, 53. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0082-z>

⁵Clardy, J.; Walsh, C. Lessons from natural molecules. *Nature* **2004**, 432, 829. <https://doi.org/10.1038/nature03194>

⁶Wagenaar, M. M. Pre-fractionated Microbial Samples – The Second Generation Natural Products Library at Wyeth. *Molecules*, **2008**, 13, 1406. <https://doi.org/10.3390/molecules13061406>

Atualmente, a investigação farmacêutica em relação aos produtos naturais vem sofrendo um declínio lento nas últimas duas décadas, uma vez que o ciclo entre a descoberta inicial de um potente agente terapêutico e lançamento no mercado pode levar no mínimo 10 anos.⁷ Entretanto é possível obter informações valiosas na área de descoberta de PN's ao analisar as ferramentas disponíveis, como bancos de dados (abertos ao público ou comerciais), catálogos industriais, livros e artigos científicos que são publicados periodicamente.⁸ Dessa forma, a síntese de produtos naturais que já foram previamente isolados e que apresentem características químicas relevantes, além de potenciais aplicações biológicas já descritas na literatura, é essencial para a descobertas de novos fármacos.

1.2. *Casimiroa pubescens*

O gênero *Casimiroa*, pertencente à família Rutaceae, compreende apenas 13 espécies conhecidas, que crescem naturalmente em regiões da América Central e México.^{9,10} Dentre essas espécies, as mais comuns são a *Casimiroa pubescens* e a *Casimiroa edulis*, sendo esta última uma planta frutífera conhecida como “sapota branca”. A decocção das folhas e sementes da sapota branca é utilizada por habitantes locais como um remédio natural para indução do sono e no tratamento de ansiedade, devido aos seus efeitos sedativos, e também como agente hipotensivo.¹¹ As folhas e raízes da *Casimiroa pubescens* apresentam propriedades biológicas relevantes como: dilatação de vasos sanguíneos (anti-hipertensiva),¹² antidepressiva,¹³ atividade antioxidante,¹⁰ antimutagênica¹⁰ e com seletividade frente à células tumorais de leucemia e cólon.¹⁴

⁷Atanasov, A. G. *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2021**, 20, 200. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>.

⁸Sorokina, M.; Steinbeck, C. J. *Cheminform.* Review on natural products databases: where to find data in 2020. **2020**, 12, 1. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00424-9>

⁹Chiang, F. *Casimiroa Greggii*, Formerly in *Sargentia* (Rutaceae). *Taxon*, **1989**, 38 (1), 116-119. <https://doi.org/10.2307/1220909>

¹⁰Tun, K. N. W.; Aminah, N. S.; Kristanti, A. N.; Aung, H. T.; Takaya, Y. Natural products isolated from *Casimiroa*. *Open Chem.* **2020**, 18 (1), 778-797. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0128>

¹¹Magos, G. A.; Vidrio, H.; Reynolds, W. F.; Enríquez, R. G. Pharmacology of *Casimiroa edulis* IV. Hypotensive effects of compounds isolated from methanolic extracts in rats and guinea pigs. *J. Ethnopharmacol.* **1998**, 64 (1), 35. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00101-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00101-9)

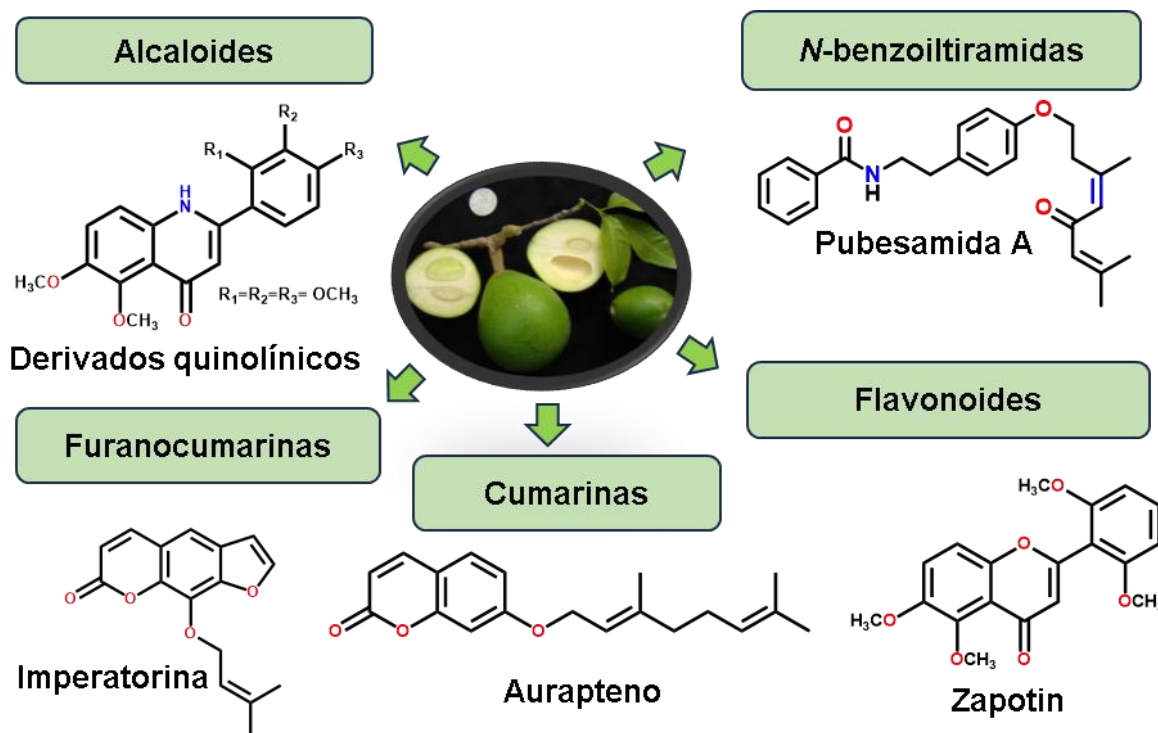
¹²Froldi, G.; Bertin, R.; Secchi, E.; Zagotto, G.; Martínez-Vázquez, M.; García-Argaéz, A. Vasorelaxation by extracts of *Casimiroa* spp. in rat resistance vessels and pharmacological study of cellular mechanisms *J. Ethnopharmacol.* **2011**, 134 (3), 637-643. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.01.008>

¹³Ubaldo-Suárez, D.; Estrada Reyes, R.; de la Rosa-Sierra, R.; Martínez-Vázquez, M. Antidepressant-like Effect of *Casimiroa Pubescens* Root Extracts. *Nat. Prod. Res.* **2019**, 33 (17), 2526-2530. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1448808>

¹⁴Xu, Y. M.; Ramirez-Ahumada, M. del C.; Valeriote, F. A.; Gunatilaka, A. A. L. Solid Tumor Inhibitory and other Constituents of *Casimiroa tetrameria*. *Chin. J. Nat. Med.* **2011**, 9(5), 334. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1009.2011.00334>

Dentre os maiores constituintes das espécies de *Casimiroa* destacam-se alcaloides,¹⁵ flavonoides,¹⁶ furanocumarinas,¹⁷ cumarinas¹⁸ e derivados do tipo *N*-benzoiltiramidas ¹⁹ (Esquema 21).

Esquema 21. Principais constituintes das espécies *Casimiroa*



¹⁵Khaleel, A. E. M. 2-Phenyl-4-quinolinone Alkaloids from *Casimiroa edulis* Llave et Lex (Rutaceae) *Monatshefte fur Chemie*. **2002**, 133, 183. <https://doi.org/10.1007/s706-002-8248-4>

¹⁶García-Argáez, A. N.; González-Lugo, N. M.; Parra-Delgado, H.; Martínez-Vázquez, M. Casimiroin, zapoterin, zapotin and 5,6,2',3',4'-pentamethoxyflavone from *Casimiroa pubescens*. *Biochem. Syst. Ecol.* **2005**, 33 (4), 441-443. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2004.11.004>

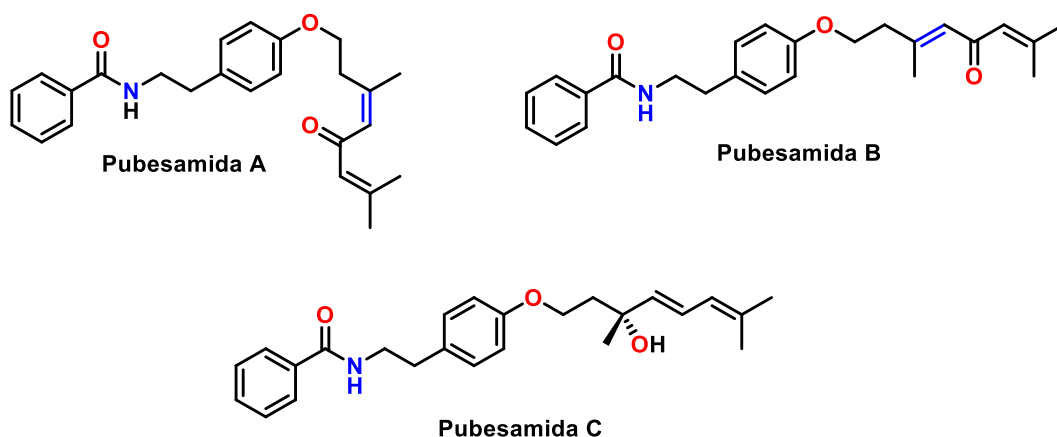
¹⁷Bertin, R.; Chen, Z.; Martínez-Vázquez, M.; García-Argáez, A.; Foldi, G. Vasodilation and radical-scavenging activity of imperatorin and selected coumarinic and flavonoid compounds from genus *Casimiroa*. *Phytom.* **2014**, 21(5), 586-594. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.10.030>

¹⁸Tun, K. N. W.; Aminah, N. S.; Kristanti, A. N.; Ramadhan, R.; Takaya, Y. Cytotoxic Prenyl and Geranyl Coumarins from the Stem Bark of *Casimiroa edulis*. *Lett. Org. Chem.* **2019**, 17(9), 680-687. <https://doi.org/10.2174/1570178616666191019121437>

¹⁹García-Argáez, A. N.; González-Lugo, N. M.; Parra-Delgado, H.; Martínez-Vázquez, M. Z. Pubesamides A, B, and C, Three New N-Benzoyltyramide Derivatives Isolated from *Casimiroa Pubescens*. *Naturforsch.* **2004**, 59, 245-248. <https://doi.org/10.1515/znb-2004-0219>

A pubesamida A, da família das *N*-benziltiramidas, foi isolada e caracterizada pela primeira vez em 2004, assim como os compostos pubesamida B e C (Figura 38).¹⁹ Além do esqueleto carbônico principal da benzoiltiramida, as pubesamidas A e B contêm uma cadeia lateral contendo uma dienona conjugada presente em outros produtos naturais de origem distintas,²⁰⁻²² e a pubesamida C apresenta uma cadeia lateral monoterpênica não usual em produtos naturais extraídos da *Casimiroa*.

Figura 38. Pubesamidas A-C extraídas das sementes da *Casimiroa pubescens*¹⁹



As sementes de *Casimiroa pubescens* utilizadas no estudo de García e colaboradores (2004)¹⁹ foram coletadas nos arredores da cidade de Ixmiquilpan, no estado de Hidalgo, México. Nesse estudo, foram utilizadas 3,8 g de sementes, a partir das quais foram isolados 20 mg de pubesamida A e 297 mg de uma mistura de pubesamidas A e B a partir do extrato polar (EtOAc). A síntese das pubesamidas A e B, assim como a confirmação estrutural das mesmas é descrita pela primeira vez no presente trabalho.²³ A síntese da pubesamida C não foi relatada na literatura até o presente momento.

²⁰ Asakawwa, Y.; Toyota, M.; Takemoto, T. New Aromatic Esters of the Liverwort, *Tricholea tomentella*. *Specialia* 1978, 34, 155–156. <https://doi.org/10.1007/BF01944646>.

²¹ Schneider, J. A.; Lee, J.; Naya, Y.; Nakanishi, K.; Oba, K.; Uritani, I. The Fate of the Phytoalexin ipomeamarone: Furanoterpenes and Butenolides from *Ceratocystis Fimbriata*-Infected Sweet Potatoes. *Phytochem.* **1984**, 23 (4), 759–764. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)85019-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85019-0).

²² Jin, A.; Wu, W.; Ruan, H. Sesquiterpenoids and Monoterpenoid Coumarins from *Parasenecio rubescens*. *RSC Advances*, **2017**, 7, 5167–5176. <https://doi.org/10.1039/c6ra24833k>.

²³ Paulino, R.P.; Ichikawa, K.; Sperry, J. Synthesis and Structural Affirmation of Pubesamides A and B, Monoterpene *N*-Benzoyltyramides from White Sapote (*Casimiroa pubescens*). *Tetrahedron Chem.* **2024**. Disponível on-line em: <https://doi.org/10.1016/j.tchem.2024.100075>

Os artigos que descrevem a síntese da unidade da dienona conjugada presente nas pubesamidas A e B baseiam-se em acoplamentos cruzados catalisados por Pd e reações de Wittig.^{24,25} Entretanto o emprego de catalisadores de rutênio, conhecidos como catalisadores de Grubbs, surge como uma oportunidade de implantar uma reação de metátese cruzada em estágios já avançados da síntese. Ao utilizar os catalisadores de Grubbs é possível obter os isômeros *E* e *Z* o que, em princípio, proporcionaria acesso a ambos os isômeros das pubesamidas A e B.

1.3. Breve histórico das reações de metátese de olefinas

A reação de metátese de olefinas é uma ferramenta sintética poderosa onde átomos de carbono das ligações duplas são rearranjados criando novas ligações duplas carbono-carbono. O mecanismo da reação foi proposto por Chauvin em 1971 e ainda é aceito hoje (Esquema 22, página 113).²⁶ O componente chave para qualquer reação de metátese de olefinas é uma espécie de metal de transição com uma ligação dupla metal-carbono (alquilideno). Um alceno se aproxima do alquilideno (1) e sofre uma cicloadição-[2+2] que gera uma nova ligação carbono-carbono e fornece um metalociclobutano (2). A liberação de uma molécula de etileno forma um aduto entre o alceno e o metal de transição (3), possibilitando uma nova cicloadição e formação do metalociclobutano (4). A quebra das ligações gera uma nova olefina e o catalisador é regenerado. Essa transformação vem sendo usada de diversas maneiras para sintetizar moléculas orgânicas simples, produtos naturais complexos, supramoléculas e polímeros.^{27,28}

²⁴ Beaudet, I.; Launay, V.; Parrain, J. L.; Quintard, J. P. C5-Branched vinyltin acetals as versatile tools for terpenic synthesis. *Tetrahedron Letters*, **1995**, 36(3), 389-392. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(94\)02264-C](https://doi.org/10.1016/0040-4039(94)02264-C).

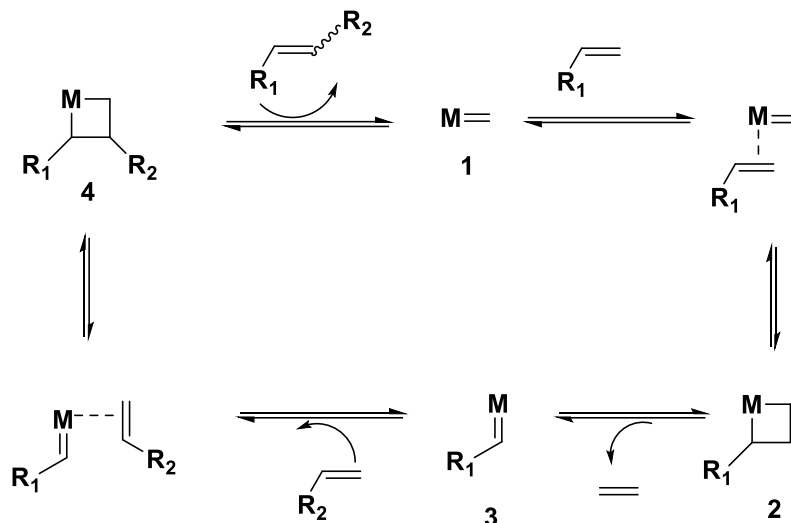
²⁵ Motoyoshiya, J.; Miyajima, M.; Hirakawa, K.; Kakurai, T. Dimethyl (2-oxo-4-methyl-3-pentenyl) phosphonate as a precursor of. $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -dienones. Short syntheses of (+, -)- α -atlantone and (+, -)- α -turmerone. *J. of Org. Chem.*, **1985**, 50(8), 1326-1327.

²⁶ Hérisson, P. J.; Chauvin, Y. Transformation Catalysis of Olefins by Tungsten Complexes: 2. Telomerization in Presence of Acyclic Olefins. *Makromol Chem* 1971, 141, 161-176.

²⁷ Grubbs, R. H.; O'Leary, D. J. **Handbook of Metathesis. Volume 2: Applications in Organic Synthesis**, Hoboken: John Wiley & Sons, 2015.

²⁸ Bano, T.; Zahoor, A.F.; Rasool, N.; Irfan, M.; Mansha, A. Recent trends in Grubbs catalysis toward the synthesis of natural products: a review. *J. Iran Chem. Soc.* **2022**, 19, 2131-2170. <https://doi.org/10.1007/s13738-021-02463-x>

Esquema 22. Mecanismo proposto por Chauvin para a reação de metátese cruzada de olefinas²⁶

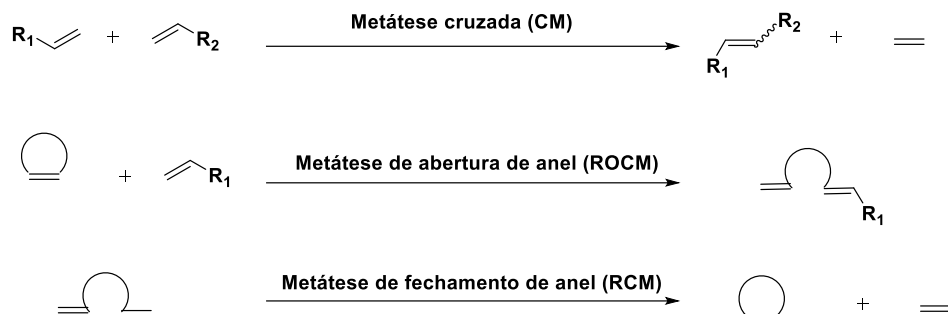


Metátese cruzada (CM - do inglês *cross-metathesis*), metátese de abertura de anel (ROCM - do inglês *ring opening cross- metathesis*) e metátese de fechamento de anel (RCM - do inglês *ring-closing metathesis*) são empregadas na síntese de moléculas pequenas. A polimerização por metátese de dieno acíclico (ADMET – do inglês *acyclic diene metathesis*) e polimerização por metátese de abertura de anel (ROMP – do inglês *ring-opening metathesis polymerization*) são processos que geram olefinas e polímeros (Esquema 23, página 114).²⁹

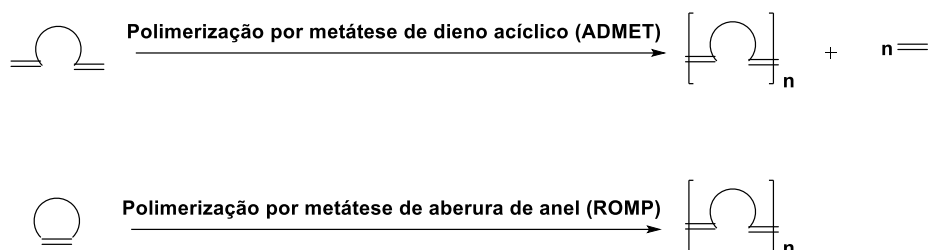
²⁹ Funk, T. W. Chemo- and Stereoselective Olefin Metathesis in Small Molecule Synthesis. 2007. Thesis. California Institute of Technology, Pasadena.

Esquema 23. Reações comuns na metátese de olefinas²⁹

Reações usadas na síntese de moléculas pequenas:



Reações usadas na síntese de polímeros:



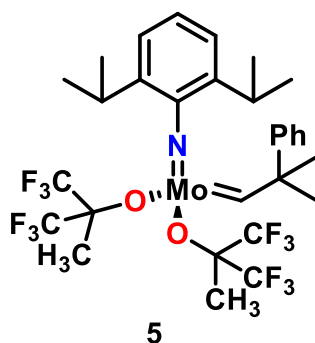
Embora a reação de metátese de olefinas seja conhecida desde a década de 1960,³⁰ foi somente com o desenvolvimento de catalisadores homogêneos e mais resistentes à decomposição que essa reação encontrou aplicações na síntese orgânica, sendo os complexos à base de titânio, molibdênio e rutênio os mais utilizados.³¹ Diferentes metais conferem diferentes reatividades aos alquilidenos e, mesmo dentro de uma família de complexos derivados de um metal, pequenos ajustes no ambiente do ligante causam grandes mudanças no comportamento do catalisador. Geralmente, os alquilidenos de metais de transição mais à esquerda da tabela periódica são mais oxofílicos do que os complexos de metais mais à direita, e esta propriedade tem um grande impacto na quimiosseletividade do catalisador.²⁹

³⁰ Truett, W. L.; Johnson, D. R.; Robinson, I. M.; Montague, B. A. Polynorbornene by Coordination Polymerization. J. Am. Chem. Soc. 1960, 82 (9), 2337–2340. <https://doi.org/10.1021/ja01494a057>.

³¹ Grubbs, Robert H.; Wenzel, A. G. **Handbook of Metathesis, Volume 1: Catalyst Development and Mechanism**, Hoboken: John Wiley & Sons 2015; Vol. 1, 2^aed.

Os catalisadores de molibdênio são mais reativos com olefinas do que os catalisadores de tungstênio, embora também reajam com aldeídos e outros grupos polares ou próticos. Dentre os diferentes catalisadores de molibdênio já sintetizados, o mais frequentemente utilizado é o catalisador de Schrock (Figura 39).³² A principal desvantagem dos catalisadores à base de molibdênio é a sua sensibilidade ao ar e à umidade, assim como a reatividade com grupos funcionais contendo oxigênio. Ácidos carboxílicos, aminas primárias, aldeídos, a maioria dos álcoois e algumas cetonas reagem com esses catalisadores e os removem do ciclo catalítico de metátese de olefinas.³³ Estes grupos funcionais são encontrados em muitos compostos orgânicos, limitando o uso dos catalisadores de molibdênio. Já o rutênio reage preferencialmente com ligações duplas carbono-carbono em relação à maioria das outras espécies, o que torna esses catalisadores excepcionalmente estáveis em relação a álcoois, amidas, aldeídos e ácidos carboxílicos.²⁹

Figura 39. Estrutura química do catalisador de Schrock



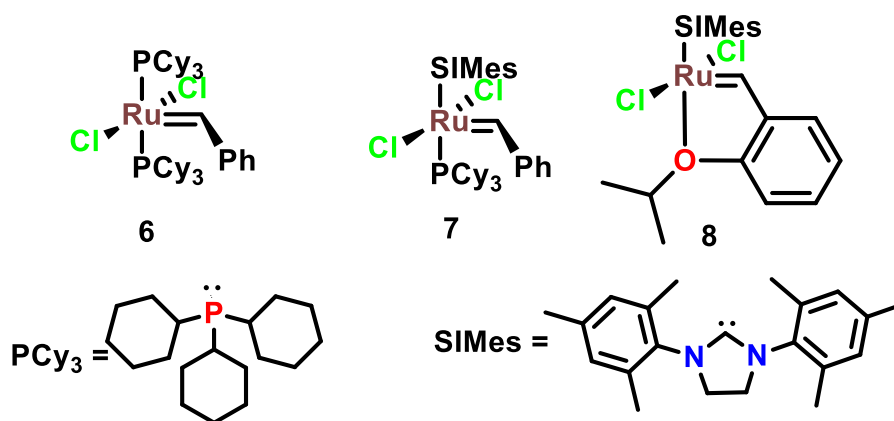
³² Murdzek, J. S.; Schrock, R. R. Well-characterized olefin metathesis catalysts that contain molybdenum. *Organometallics*. **1987**, 6 (6), 1373-1374. <https://doi.org/10.1021/om00149a048>

³³ Frederico, D.; Brocksom, U.; Brocksom, T. J. A Reação de Metátese de Olefinas: Reorganização e Ciclização de Compostos Orgânicos. *Quim. Nova*. **2005**, 28 (4), 692-702. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000400024>

1.4. Catalisadores de rutênio na síntese de metátese cruzada

Devido à tolerância dos catalisadores de rutênio à presença de diversos grupos funcionais, a metátese de olefinas tornou-se uma reação seletiva que tem sido amplamente utilizada entre os químicos orgânicos e de polímeros. Assim como no caso do molibdênio, muitos catalisadores de rutênio ativos de metátese diferentes são conhecidos. Alguns dos catalisadores mais comuns são mostrados na Figura 40. Todos os três alquilidenos (**6**, **7** e **8**) são estáveis ao ar e à umidade, e os complexos **7** e **8** exibem atividades catalíticas semelhantes às dos sistemas de molibdênio altamente ativos.²⁷

Figura 40. Estrutura química dos principais catalisadores de Grubbs



O catalisador **6**, conhecido como catalisador de Grubbs de primeira geração, foi desenvolvido por Grubbs e colaboradores em 1996.³⁴ Esse complexo penta-coordenado de rutênio constitui em um catalisador altamente eficiente nas reações de fechamento de anel, tolerando a maioria dos grupos funcionais. Entretanto, sua baixa estabilidade e reatividade restrita frente a olefinas substituídas motivou a busca para obtenção de catalisadores mais eficientes. Assim, a substituição de um dos grupos triciclohexilfosfina (PCy₃) por um *N*-heterociclo de carbeno (NHC), mais precisamente o SIMes, levou à descoberta do catalisador **7**, conhecido como catalisador de Grubbs de segunda geração, em 1999.³⁵

³⁴ Schwab, P.; Grubbs, R. H.; Ziller, J. W.; August, R. V. Synthesis and Applications of RuCl₂(CHR')(PR₃)₂: The Influence of the Alkylidene Moiety on Metathesis Activity. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118 (1), 100–110. <https://doi.org/10.1021/ja952676d>

³⁵ Scholl, M.; Ding, S.; Lee, C. W.; Grubbs, R. H. Synthesis and Activity of a New Generation of Ruthenium-Based Olefin Metathesis Catalysts Coordinated with 1, 3-Dimesityl-4,5-Dihydroimidazol-2-Ylidene. *Org. Lett.* **1999**, 1(6), 953–956. <https://doi.org/10.1021/ol990909q>

O catalisador de Grubbs de segunda geração é mais ativo que o catalisador de primeira geração, devido à presença do ligante NHC, o que aumenta a estabilidade do complexo de rutênio e facilita a dissociação da fosfina, essencial para a ativação catalítica. Um ano depois, Hoveyda e colaboradores publicaram a síntese do complexo bidentado **8**,³⁶ que demonstrou reatividade superior frente à olefinas com maior impedimento estérico, além da possibilidade de sua recuperação para uso em reações subsequentes.

O aumento do emprego dos catalisadores **6**, **7** e **8** motivou a exploração de métodos para prever a reatividade e seletividade frente aos diversos tipos de alcenos encontrados. Em um artigo publicado em 2003 por Grubbs e colaboradores foram criadas “regras” de seletividade, que serve de modelo até os dias atuais como guia para aqueles que se aventuram no campo da metátese cruzada.³⁷ Assim, a maneira mais conveniente de classificar a reatividade das olefinas é examinar sua capacidade de homodimerizar (Tabela 22, página 118). As olefinas do tipo I são categorizadas como aquelas capazes de sofrer uma rápida homodimerização e cujos homodímeros podem participar da metátese cruzada. As olefinas do tipo II homodimerizam-se lentamente e, diferentemente das olefinas do tipo I, seus homodímeros só podem ser consumidos com moderação em reações de metátese subsequentes. As olefinas do tipo III são essencialmente incapazes de serem homodimerizadas pelo catalisador, mas ainda são capazes de reagir com olefinas do tipo I e do tipo II. As olefinas do tipo IV não são capazes de participar das reações de metátese com um catalisador específico, mas não inibem a atividade do catalisador em relação a outras olefinas.

³⁴ Schwab, P.; Grubbs, R. H.; Ziller, J. W.; August, R. V. Synthesis and Applications of $\text{RuCl}_2(\text{CHR}')(\text{PR}_3)_2$: The Influence of the Alkylidene Moiety on Metathesis Activity. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118 (1), 100–110. <https://doi.org/10.1021/ja952676d>

³⁵ Scholl, M.; Ding, S.; Lee, C. W.; Grubbs, R. H. Synthesis and Activity of a New Generation of Ruthenium-Based Olefin Metathesis Catalysts Coordinated with 1, 3-Dimesityl-4,5-Dihydroimidazol-2-Ylidene. *Org. Lett.* **1999**, 1(6), 953–956. <https://doi.org/10.1021/ol990909g>

³⁶ Garber, S. B.; Kingsbury, J. S.; Gray, B. L.; Hoveyda, A. H. Efficient and Recyclable Monomeric and Dendritic Ru-Based Metathesis Catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122 (34), 8168–8179. <https://doi.org/10.1021/ja001179g>.

³⁷ Chatterjee, A. K.; Choi, T. L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. A General Model for Selectivity in Olefin Cross Metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125 (37), 11360–11370. <https://doi.org/10.1021/ja0214882>.

Tabela 22. Tipos de olefinas para metátese cruzada seletiva³⁷

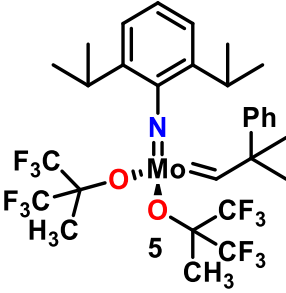
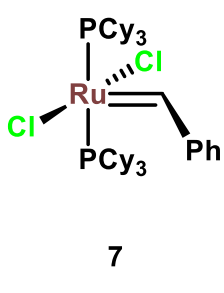
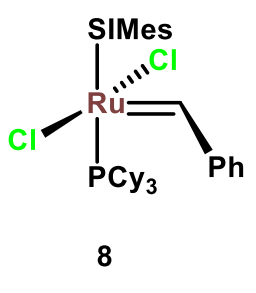
Tipo de Olefina			
Tipo I (homodimerização rápida)	Olefinas terminais, silanos alílicos	Olefinas terminais, silanos alílicos, álcoois alílicos primários, ésteres borônicos alílicos	Olefinas terminais, silanos alílicos, álcoois alílicos primários, estirenos (sem substituintes volumosos em orto), ésteres borônicos alílicos, sulfetos alílicos, haletos alílicos, aminas alílicas protegidas
Tipo II (homodimerização lenta)	Estirenos, estanho alílicos	Estirenos, álcoois alílicos secundários, boronatos vinílicos	Estirenos (com substituintes volumosos em orto), acrilatos, acrilamida, ácido acrílico, acroleínas, cetonas vinílicas, epóxidos vinílicos, álcoois alílicos secundários
Tipo III (sem homodimerização)	Aminas terciárias vinílicas, acrilonitrila	Siloxanos vinílicos	Olefinas 1,1-dissubstituídas, olefinas trissubstituídas não volumosas, fosfonatos vinílicos, álcoois alílicos terciários protegidos
Tipo IV (espectadores da metátese cruzada)	Olefinas 1,1-dissubstituídas	Olefinas 1,1-dissubstituídas, aminas alílicas terciárias	Nitro olefinas vinílicas

Figura 41. Guia para reatividade e seletividade para os tipos de olefinas apresentados na Tabela 21

Reatividade ↑

- Tipo I - Homodimerização rápida
- Tipo II - Homodimerização lenta
- Tipo III - Não há homodimerização
- Tipo IV - Olefinas inertes à CM (espectadoras)

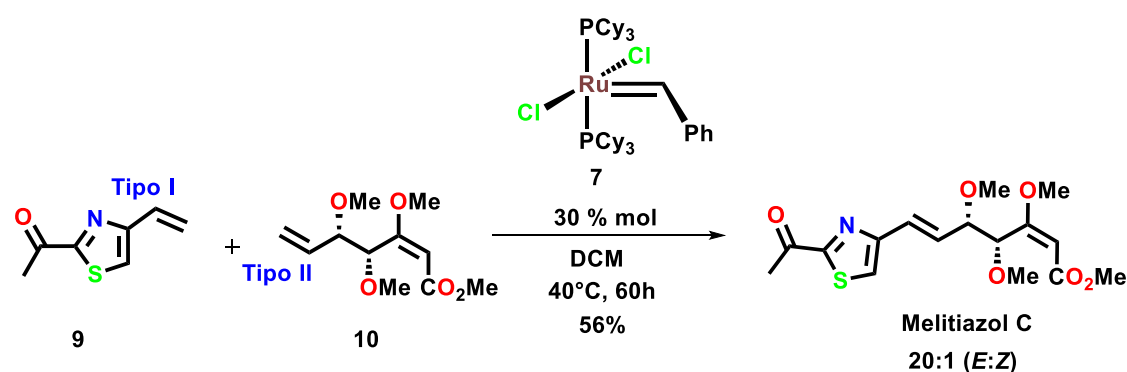
- Reação entre duas olefinas do tipo I = reação de CM formando homodímeros e heterodímeros
- Reação entre duas olefinas do mesmo tipo (exceto tipo I) = reação de CM não seletiva
- Reação entre olefinas de tipos diferentes = reação de CM seletiva

A CM de olefinas utilizando catalisadores à base de molibdênio e de rutênio foi de grande importância para a química orgânica, e em 2005 Chauvin, Schrock e Grubbs foram laureados com o prêmio Nobel em química. Atualmente vários catalisadores à base de rutênio estão disponíveis comercialmente,³⁸ e diversos trabalhos na literatura já foram publicados utilizando esses compostos na construção de compostos de interesse na química orgânica, especialmente na síntese de produtos naturais.³⁹

1.5. Metátese cruzada na síntese de produtos naturais

A utilização de catalisadores à base de rutênio na construção de olefinas tem se mostrado uma ferramenta útil para a síntese de diversos produtos naturais. Por exemplo, na última etapa da síntese do melitiazol C, um fungicida extraído da micobactéria *Melittangium lichenicola*, Cossy e colaboradores otimizaram uma reação de metátese cruzada entre o tiazol vinílico **9** e o éter alílico **10** (Esquema 24).⁴⁰ Como o composto **10** é uma olefina tipo II que dimeriza lentamente, foram empregadas maiores concentrações do catalisador (30% molar) e o composto alvo foi obtido com rendimento de 56% com uma excelente relação *E:Z* (20:1). O aumento da concentração catalítica ou aquecimento da reação em benzeno a 60 °C não melhoraram o rendimento.

Esquema 24. Reação de CM na última etapa de síntese do melitiazol C⁴⁰



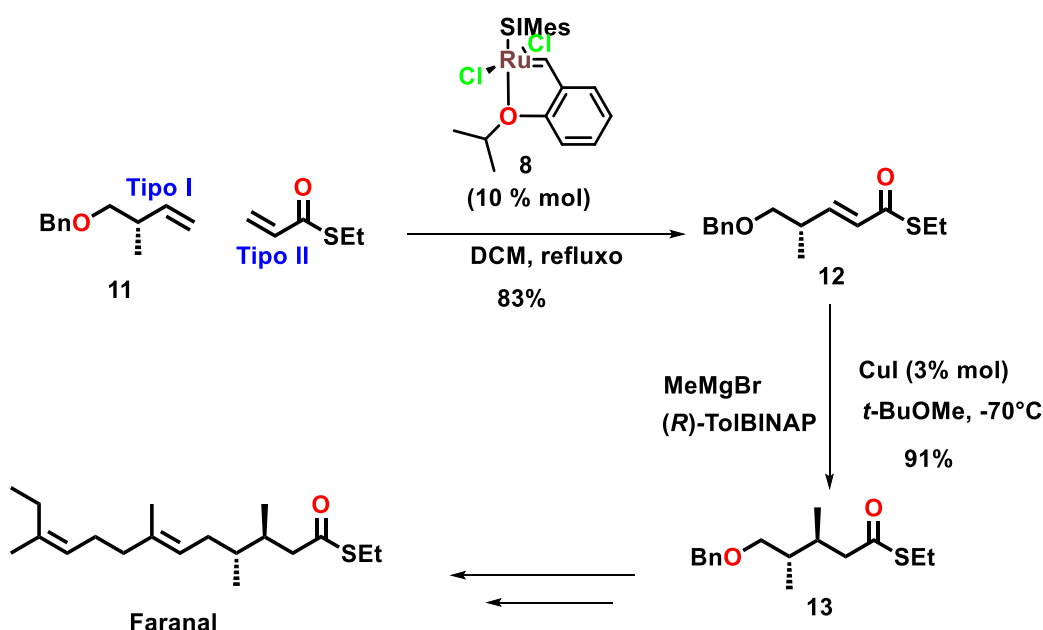
³⁸ Merck; Sigma-Aldrich; Catalisadores de Grubbs disponíveis comercialmente. Disponível em: https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/aldrich/569755?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=17827319212&utm_content=138866936586&qclid=CjwKCAjwwr6wBhBcEiwAfMEQs6P7FcvrTAUIFAWh9oXmw-lq7gJFV3Lxf98SBQTL0taZ2oUsDt4B7hoCe_QQAvD_BwE. Acesso em: 05 de jun. de 2024.

³⁹ Ahmed, W.; Jayant, V.; Alvi, S.; Ahmed, N.; Ahmed, A.; Ali, R. Metathesis Reactions in Natural Product Fragments and Total Syntheses. *Asi. Jou. Of Org. Chem.* 2022, 11 (4). <https://doi.org/10.1002/ajoc.202100753>

⁴⁰ Gebauer, J.; Arseniyadis, S.; Cossy, J. A Concise Total Synthesis of Melithiazole C. *Org. Lett.* 2007, 9 (17), 3425–3427. <https://doi.org/10.1021/ol701459j>

A síntese do faranal, o feromônio de trilha da formiga comum *Monomorium pharaonis*, foi relatada por Minnaard, Feringa e colaboradores.⁴¹ Assim, a CM de **11** com o tioacrilato de etila forneceu o tioéster insaturado com bom rendimento (83%) (Esquema 25). O segundo estereocentro foi instalado por adição conjugada enantiosseletiva, o que levou ao composto **13** em alto rendimento (91%) e reações subsequentes forneceram o produto natural.

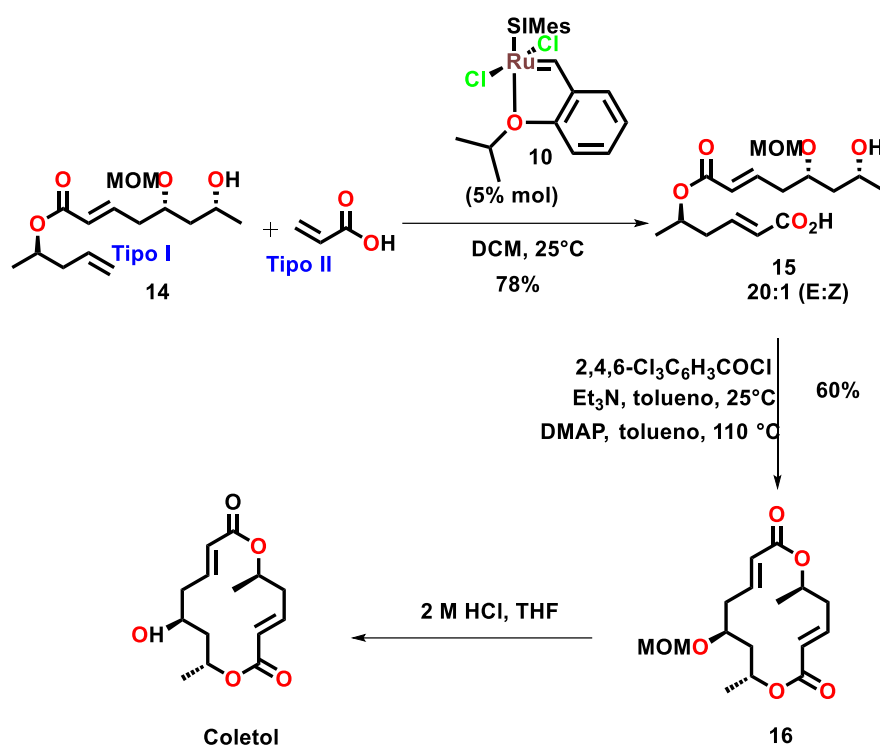
Esquema 25. Reação de CM na síntese do faranal⁴¹



Como citado anteriormente, os catalisadores de rutênio são tolerantes a muitos grupos funcionais, incluindo ácidos carboxílicos. BouzBouz e Cossy aplicaram esta propriedade para a construção do coletol,⁴² uma bis-lactona isolada do extrato de fermentação do fungo *Collectotrichum capsici*. O composto **15** foi obtido com 78% de rendimento, a partir da reação de metátese entre **14** e o ácido acrílico, com uma seletividade *E/Z* igual a 20:1 (Esquema 26, página 121).

⁴¹ Zijl, A. W. Van; Szymanski, W.; Lo, F.; Minnaard, A. J.; Feringa, B. L. Catalytic enantioselective synthesis of vicinal dialkyl arrays. *J. Org. Chem.* **2008**, 73(18): 6994-7002. <https://doi.org/10.1021/jo8010649>.

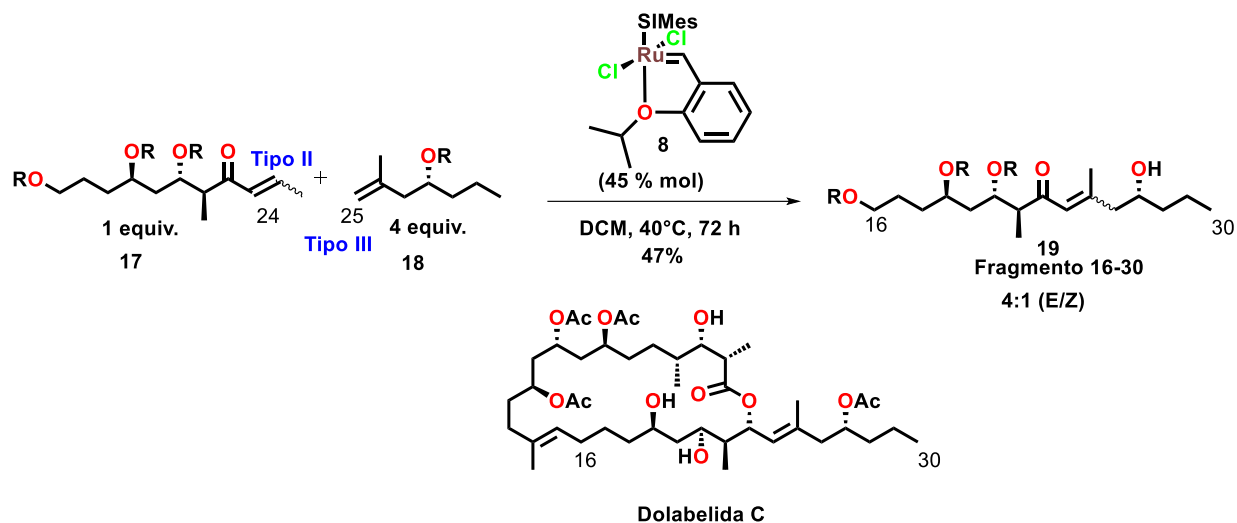
⁴² BouzBouz, S.; Cossy, J. Two approaches for efficient synthesis of (–)-colletol. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 901. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.11.161>

Esquema 26. Reação de CM na síntese do coletol⁴²

A construção de olefinas trissubstituídas ainda é um desafio entre as reações de CM, pois envolve a o uso de uma olefina 1,1-dissubstituída, que aumenta o impedimento estérico na formação do metalociclobutano necessário para que a reação ocorra. Vincent e Prunet utilizaram este tipo de CM para a síntese do fragmento C16-C30 da dolabelida C (Esquema 27, página 122),⁴³ uma macrolactona citotóxica isolada da espécie marinha *Dolabella auricularia*. A obtenção do composto **19** só foi possível por meio de diversos estudos com sistemas-modelo, utilizando olefinas mais simples para determinação dos melhores parâmetros da reação de CM. Os autores determinaram que, para essa reação desafiadora, a metátese cruzada entre uma olefina de tipo II e uma olefina de tipo III seria mais promissora do que a reação entre o composto **18** e uma olefina menos impedida estericamente (do tipo I, que homodimeriza-se rapidamente na presença do catalisador **8**).³⁷

⁴³ Braun, M. G.; Vincent, A.; Boumediene, M.; Prunet, J. Highly Demanding Cross-Metathesis in the Synthesis of the C16–C30 Fragment of Dolabelide C. *J. Org. Chem.* **2011**, 76 (12), 4921-4929. <https://doi.org/10.1021/jo200466t>

Esquema 27. Reação de CM utilizada por Prunet (2011) na síntese do fragmento 16-30 da dolabelida C⁴³

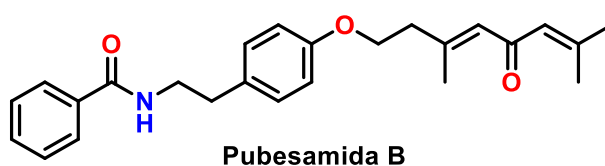
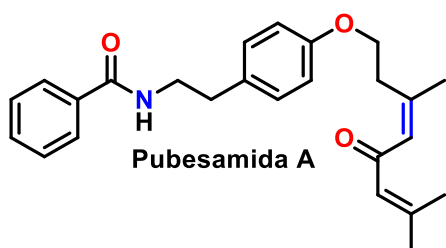


Os catalisadores de rutênio desempenham um papel crucial na síntese de produtos naturais devido à sua eficiência e versatilidade em reações químicas, especialmente em processos de metátese cruzada. Para a síntese das benzoiltiramidas pubesamidas A e B, a utilização de catalisadores de rutênio possibilita a realização de acoplamentos cruciais em estágios avançados da síntese, permitindo o acesso eficiente a ambos os isômeros desejados. Esta abordagem não só melhora a eficiência da síntese, mas também amplia as possibilidades de exploração química de compostos naturais complexos, destacando a importância dos catalisadores de rutênio na química sintética moderna.

2. Objetivos

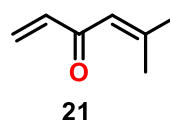
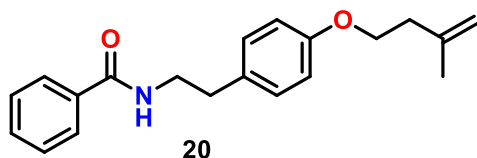
2.1 Objetivo geral

- Planejamento, síntese inédita e caracterização dos produtos de origem natural pubesamida A e pubesamida B através de reações de metátese cruzada utilizando diferentes catalisadores de Grubbs.



2.2. Objetivos específicos

- Síntese das olefinas **20** e **21** para posterior reação de CM e obtenção dos produtos naturais de interesse.



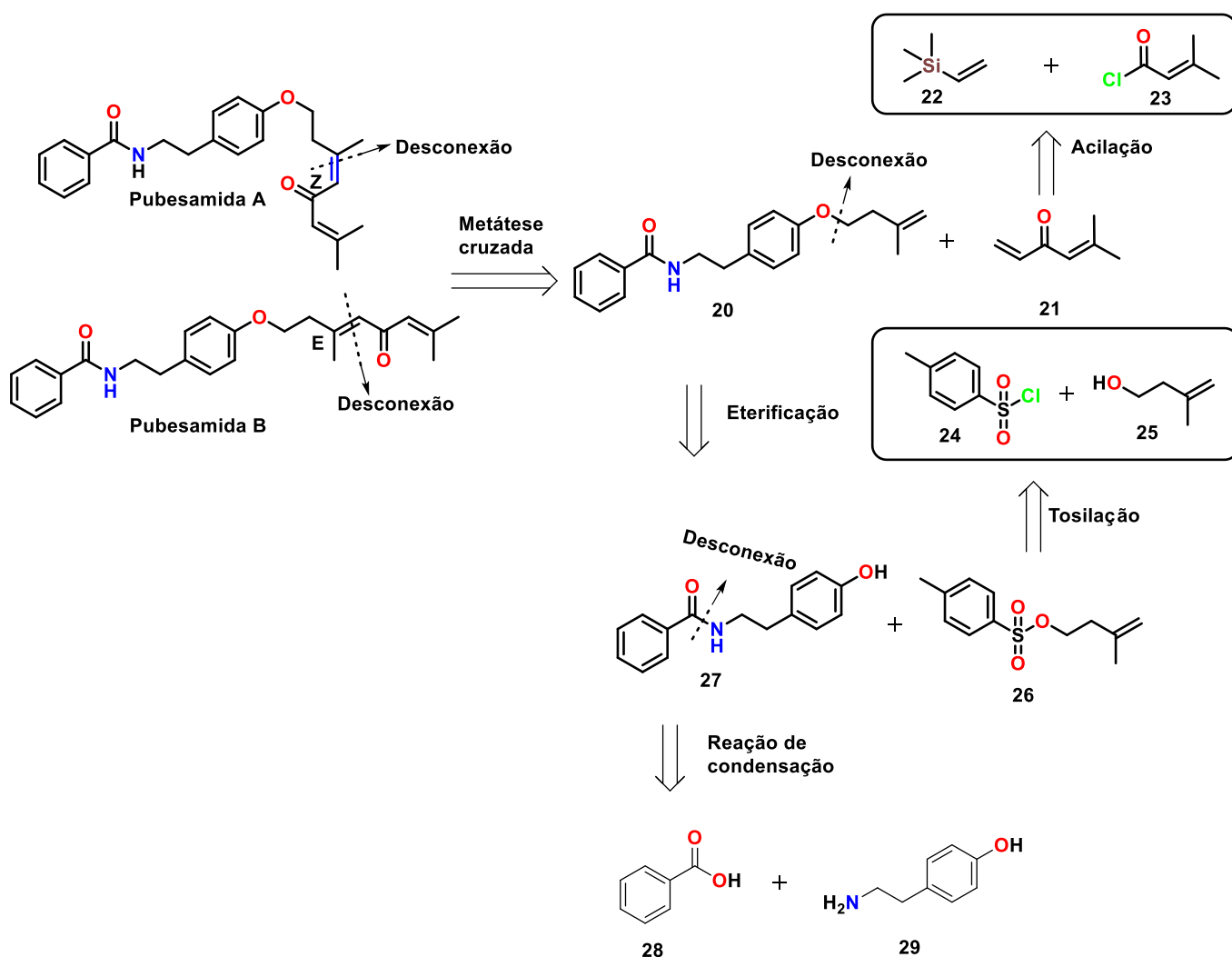
- Estudo das melhores condições de metátese cruzada para a obtenção das Pubesamidas A e B.
- Separação dos isômeros *E* e *Z* utilizando técnicas cromatográficas.
- Caracterização dos compostos obtidos utilizando técnicas espectroscópicas

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise retrossintética para obtenção das pubesamidas A e B

A síntese das pubesamidas A e B foi planejada de acordo com a análise retrossintética apresentada no Esquema 28. As *N*-benzoiltiramidas *E* e *Z* seriam obtidas utilizando o catalisador de Grubbs, através de uma reação de metátese cruzada entre as olefinas **20** e **21**. A olefina **20** seria obtida a partir da reação de eterificação entre a amida **27** e o tosilato **26**, na presença de uma base moderada. A amida **27** seria sintetizada a partir do ácido benzóico (**28**) e da tiramina (**29**), utilizando um reagente de acoplamento. Já a olefina **21** seria obtida a partir de uma reação de acilação entre o cloreto de ácido **23** e o trimetilvinilsilano **22**.

Esquema 28. Análise retrossintética para a obtenção das pubesamidas A e B

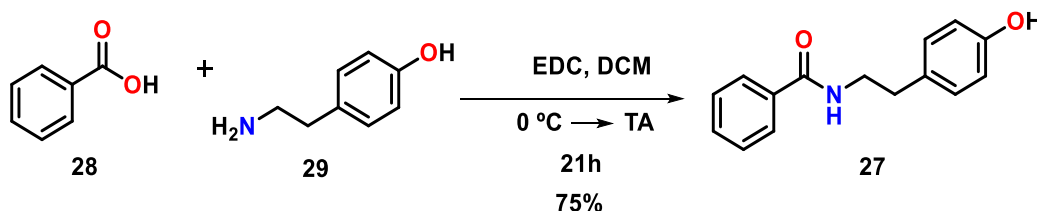


3.2. Síntese e caracterização das pubesamidas A e B e intermediários

3.2.1. Síntese e caracterização da *N*-(4-hidroxifenetil)benzamida) (**27**)

A síntese da *N*-(4-hidroxifenetil)benzamida) (**27**) foi realizada entre o ácido benzóico (**28**) e a tiramina (**29**), na presença do reagente de acoplamento EDC, em DCM por 21 horas.⁴⁴ O mecanismo proposto para a síntese de amidas a partir de ácidos carboxílicos e aminas foi amplamente discutido no Capítulo 1 da tese. O reagente EDC mostrou-se eficiente para a formação da amida de interesse, sendo a mesma obtida com 75% de rendimento (Esquema 29). A proteção da hidroxila fenólica da tiramina não foi necessária pois o par de elétrons do átomo de nitrogênio da amina livre é mais nucleofílico do que o par de elétrons do oxigênio fenólico.

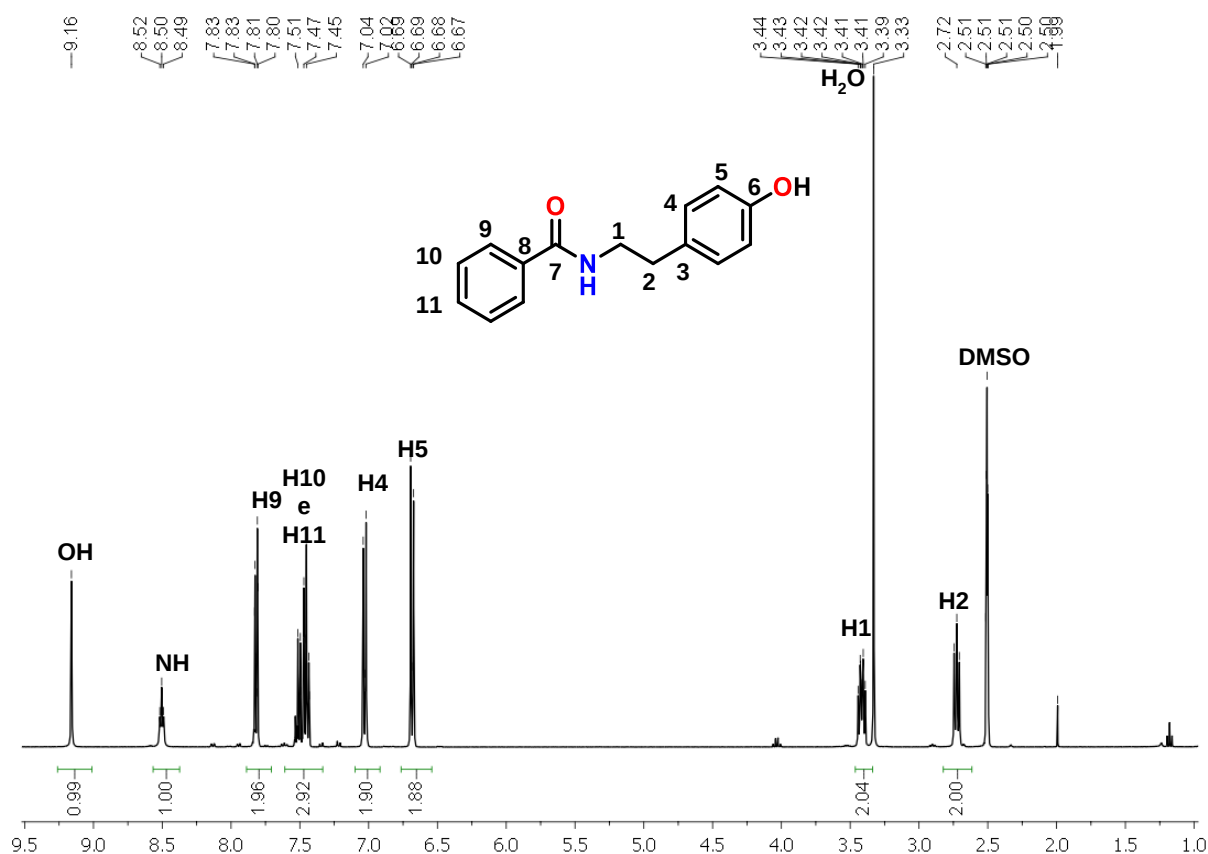
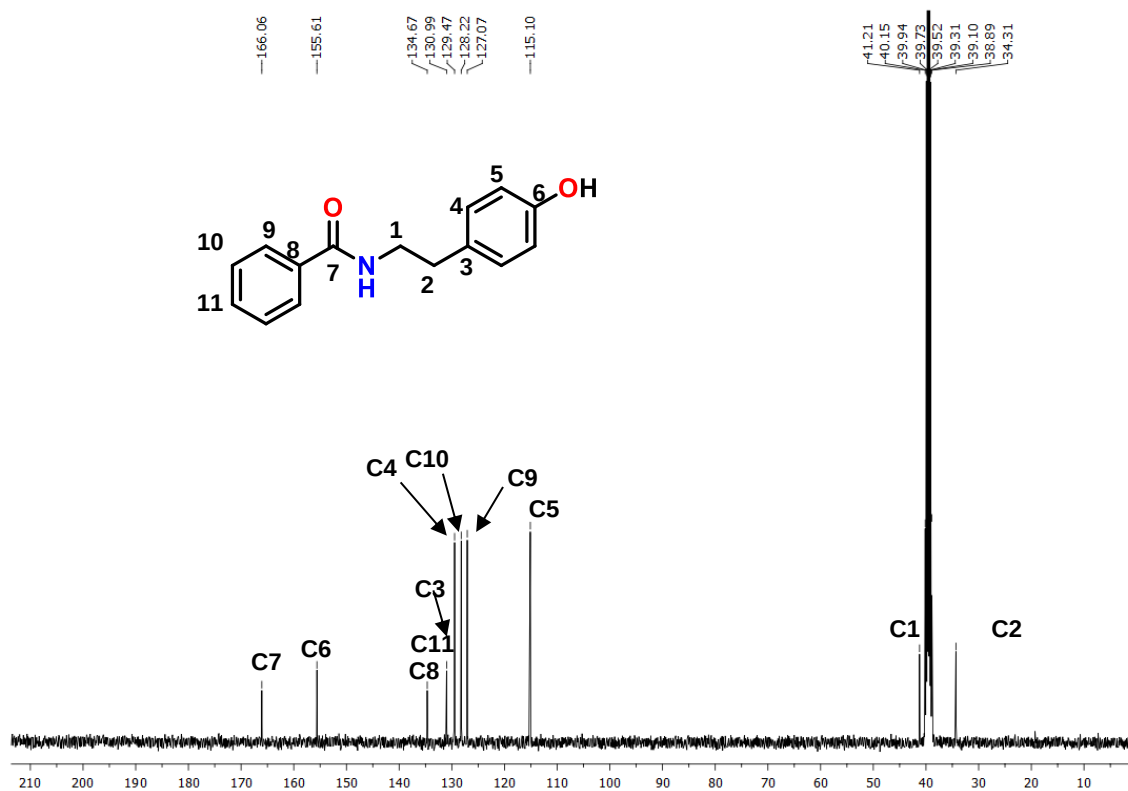
Esquema 29. Síntese da amida **27 a partir do ácido benzóico e a tiramina na presença de EDC**



A caracterização do composto **27** já foi reportada na literatura.⁴⁵ Dessa forma, serão discutidos apenas os espectros de RMN ¹H e ¹³C para fim de comparação com os intermediários sintetizados neste trabalho. No espectro de RMN de ¹H do composto **27** (Figura 41, página 126) nota-se um simpleto em δ 9,16 ppm, que pode ser atribuído ao hidrogênio fenólico, essencial para a etapa seguinte de reação. Também foram observados sinais na região de H aromáticos entre δ 7,83-6,67 ppm, assim como um sinal quarteto em δ 3,42 ppm ($J_{1,2} = 6,9$ Hz) e um tripleto em δ 2,72 ppm ($J_{1,2} = 6,9$ Hz), referentes à H1 e H2 respectivamente, confirmando o sucesso da reação entre **28** e **29**. O espectro de RMN de ¹³C do composto **27** (Figura 42 - página 126) está de acordo com os dados da literatura.⁴⁵

⁴⁴ Jae B. Park. Protective effects of veskamide, enferamide, becatamide, and oretamide on H₂O₂-induced apoptosis of PC-12 cells. *Phytomedicine*, **2011**, 18 (10), 843-847. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.01.025>

⁴⁵ Dasko, M., *et al.* Synthesis and biological evaluation of N-acylated tyramine sulfamates containing C-F bonds as steroid sulfatase inhibitors. *Chem Biol Drug Des.* **2017**, 90. 156-161. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12931>.

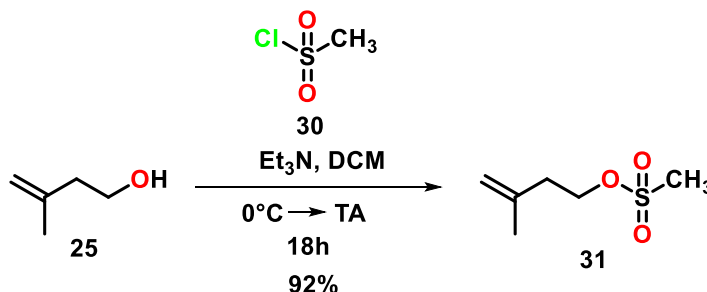
Figura 42. Espectro de RMN de ^1H do composto 27 (DMSO- d_6 , 400 MHz)Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 27 (DMSO- d_6 , 100 MHz)

3.2.2. Síntese da *N*-(4-((3-metilbut-3-en-1-il)oxi)fenetil)benzamida (**20**)

Para a síntese do composto **20** foi necessária a transformação do grupo hidroxila do álcool **25** em um bom grupo abandonador, uma vez que o íon hidróxido é uma base forte e, portanto, um péssimo grupo abandonador. Uma das maneiras mais utilizadas na síntese orgânica para esse fim consiste em transformar o álcool em um éster sulfonato. Álcoois primários e secundários são facilmente convertidos em ésteres de sulfonato, tratando-os com cloretos e bases de sulfonila. Os ésteres sulfonatos mais empregados em química orgânica, como os tosilatos (*p*-toluenossulfonatos, R-OTs) e mesilatos (metanosulfonatos, R-OMs) são conhecidos por serem excelentes grupos de saída.⁴⁶

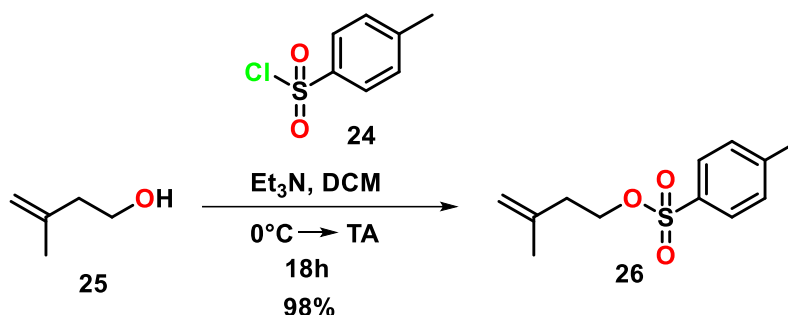
Dessa forma, realizou-se a síntese do mesilato **31** (Esquema 30) e do tosilato **26** (Esquema 31), na presença de trietilamina Et₃N) e DCM por 18 horas, ambos os casos fornecendo os produtos em excelentes rendimentos (92% e 98%, respectivamente).

Esquema 30. Síntese do mesilato **31**



⁴⁶ Carey, F. A., & Sundberg, R. J. **Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms**. New York: Springer, 2007.

Esquema 31. Síntese do tosilato 26



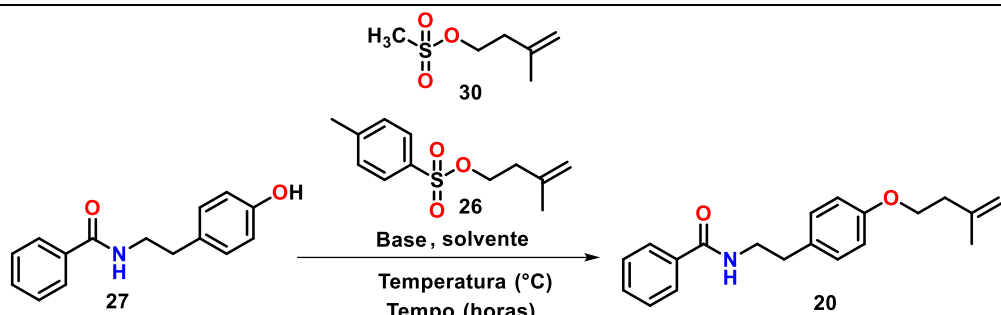
Os compostos **26**⁴⁷ e **31**⁴⁸, moléculas já sintetizadas, foram caracterizadas por RMN de ^1H e os dados comparadas com a literatura. Os espectros desses compostos encontram-se no Apêndice do Capítulo II.

Para obtenção do composto **20** foram testadas uma série de reações com o objetivo de aumentar o rendimento da olefina de interesse (Tabela 23, página 129). Por se tratar de uma reação bimolecular de segunda ordem ($\text{S}_{\text{N}}2$), utilizou-se os solventes acetona e acetonitrila, ambos polares apróticos. Também foram testadas as bases carbonato de potássio (K_2CO_3) e carbonato de cério (Cs_2CO_3), na presença do mesilato **30** ou do tosilato **26**. O experimento 5 apresentou o melhor rendimento (90%), empregando Cs_2CO_3 como base, acetonitrila em refluxo e tosilato **26** (Esquema 32-página 129).

⁴⁷ Gosh, A. K.; Nicponski, D. R. Cu(II)-Catalyzed Olefin Migration and Prins Cyclization: Highly Diastereoselective Synthesis of Substituted Tetrahydropyrans *Org. Lett.* 2011; 13, 16, 4328-433. <https://doi.org/10.1021/ol2016675>.

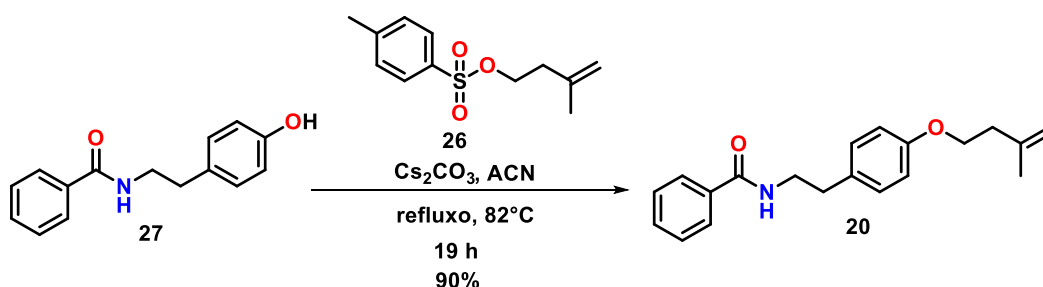
⁴⁸ Brodney, M.; Cole, M. L.; Freemont, J.; Kyi, S.; Junk, P. C.; Padwa, A.; Riches, A.; Ryan, J.H. Stereoselective reductions of N-Boc-hexahydro-1*H*-indolin-5(6*H*)-ones. *Tetrahedron Letters*, 48 (11), 2007, 1939-1943. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.01.078>.

Tabela 23. Otimização da reação de eterificação

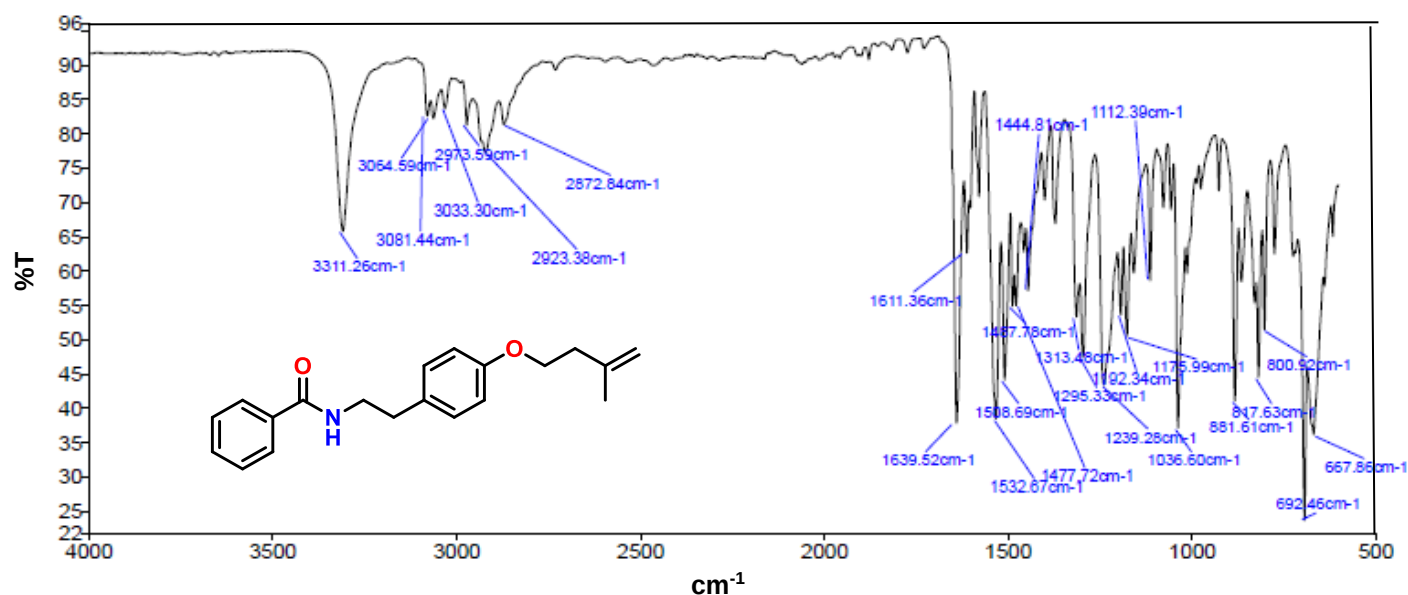


Exp	Composto	Base	Solvente	T (°C)	T (h)	Rendimento
1	Mesilato	K ₂ CO ₃	Acetona	56	22	32%
2	Mesilato	K ₂ CO ₃	Acetonitrila	82	22	40%
3	Mesilato	Cs ₂ CO ₃	Acetonitrila	82	22	44%
4	Tosilato	K ₂ CO ₃	Acetonitrila	82	20	56%
5	Tosilato	Cs ₂ CO ₃	Acetonitrila	82	19	90%

Esquema 32. Síntese da olefina 20

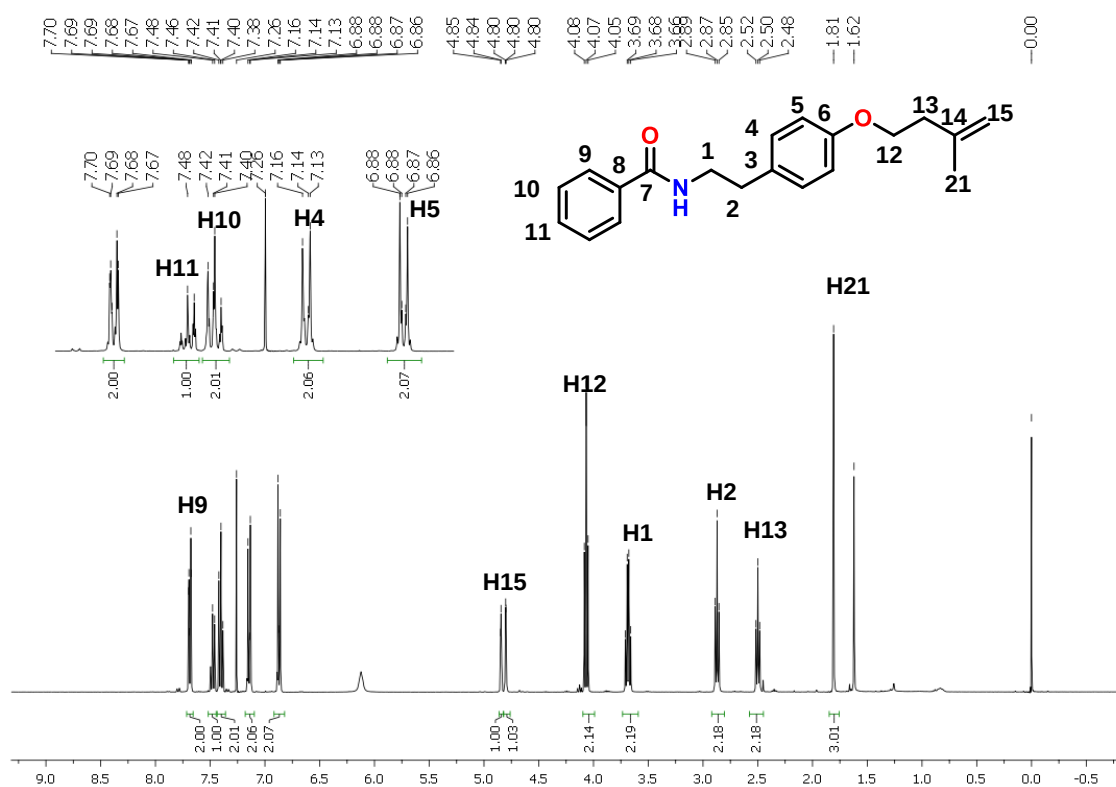
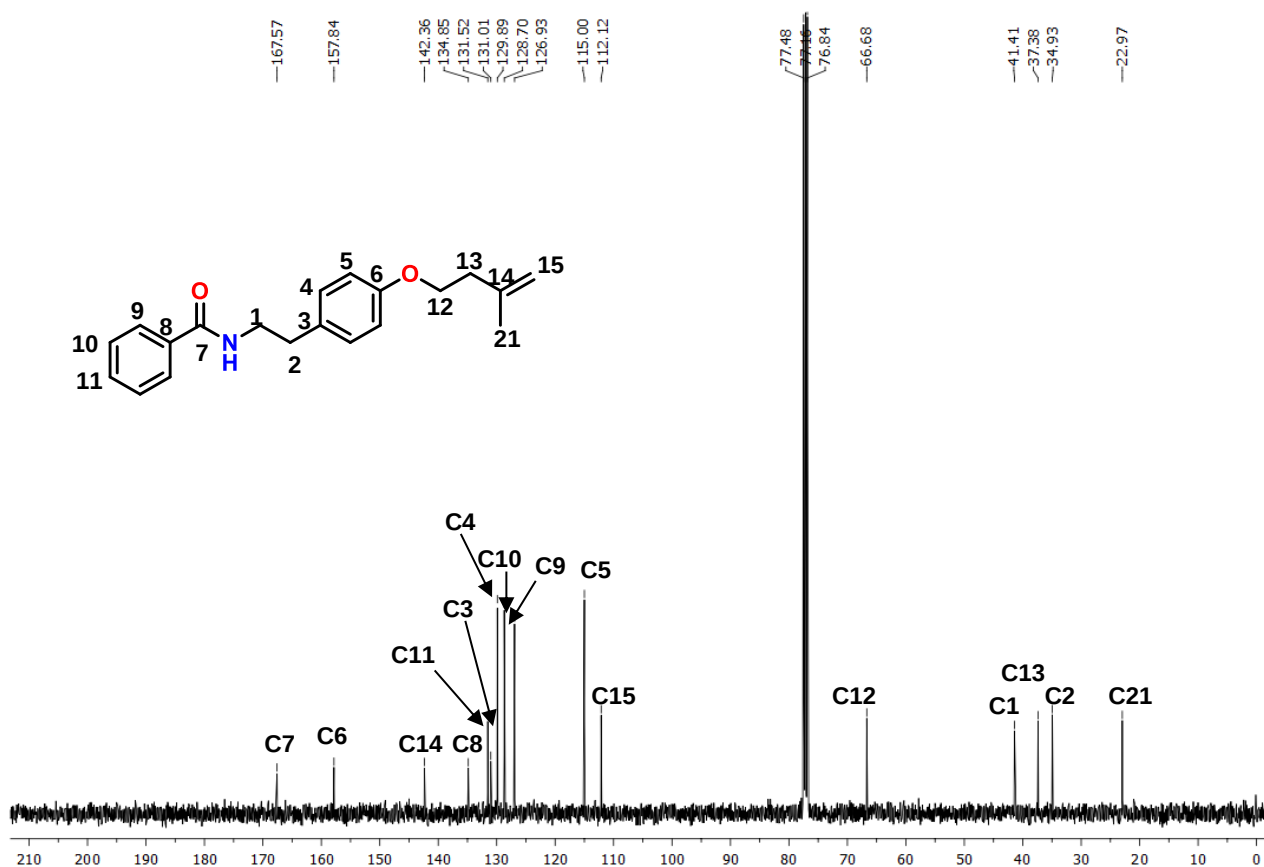


Por se tratar de um composto inédito, a olefina **20** foi cuidadosamente caracterizada pelas técnicas de espectroscopia (IV, RMN de ¹H e ¹³C, EM). No espectro na região do IV (Figura 44, página 130) foi possível observar a banda característica de N-H de amidas secundárias em 3311 cm⁻¹, assim como estiramento da ligação C=O em 1639 cm⁻¹ e da ligação C-N em 1532 cm⁻¹. Os estiramentos da ligação C-O de éteres são claramente observados em 1239 e 1036 cm⁻¹. Já a banda observada em 881 cm⁻¹ é característica de olefinas 1,1-dissubstituídas, confirmando os principais grupos orgânicos do composto **20**.⁴⁹

Figura 44. Espectro na região de infravermelho (ATR) do composto **20**

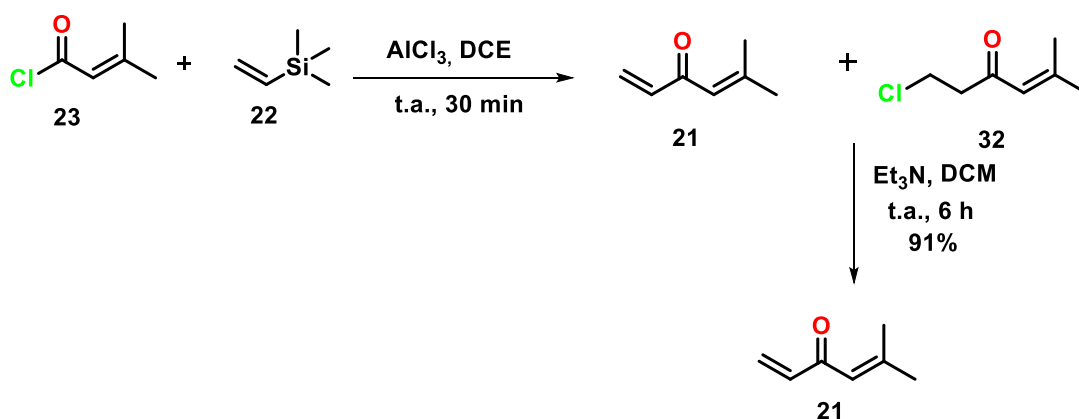
No espectro de RMN de ^1H do composto **20** (Figura 45, página 131) foi possível observar novos sinais, referentes aos hidrogênios da cadeia lateral unida ao material de partida **27**. Na região dos H aromáticos observou-se apenas uma pequena mudança no valor de deslocamento dos sinais comparando com o espectro de RMN de ^1H de **27** (Figura 42, página 126). Entre δ 4,85-4,80 ppm observaram-se dois sinais de multiplete, cada um com valor de integral igual a 1, referente aos hidrogênios olefínicos H15. Também foram observados novos sinais tripletos na região de H alifáticos: em δ 4,07 ppm ($J_{12,13} = 6,7$ Hz) e em δ 2,50 ppm ($J_{13,12} = 6,7$ Hz), o que confirma o sucesso da reação entre a amida **27** e o tosionato **26**. O composto **20** também foi caracterizado por RMN de ^{13}C (Figura 46, página 131) e os sinais apresentados no espectro estão de acordo com o esperado.

⁴⁹Pavia, D. L.; Lampman, G.M.; Kriz, G.S. **Introduction to spectroscopy: a guide for students of organic chemistry**. New York: Thomson Learning, 2001. 3^a ed.

Figura 45. Espectro de RMN de ^1H do composto 20 (CDCl_3 , 400 MHz)Figura 46. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 20 (CDCl_3 , 100 MHz)

A síntese da dienona **21** foi realizada de acordo com Torssell e colaboradores,⁵⁰ utilizando o cloreto de ácido **23** e o trimetilvinilsilano **22** na presença do cloreto de alumínio (AlCl_3) (Esquema 33). A reação de acilação é rápida na presença do ácido de Lewis, devido à reatividade do cloreto **23**. Entretanto, a liberação de uma molécula de ácido clorídrico no meio levou a formação do subproduto indesejado **32**, a partir de uma reação de adição eletrofílica ao alceno **21**. A separação dos compostos **21** e **32** não foi bem-sucedida utilizando técnica de destilação sob pressão reduzida, conforme empregado por Torssel e colaboradores. Portanto, optou-se pela reação da mistura na presença de Et_3N , que forneceu a olefina **21** com um rendimento de 91%, sendo facilmente purificada por cromatografia *flash*.

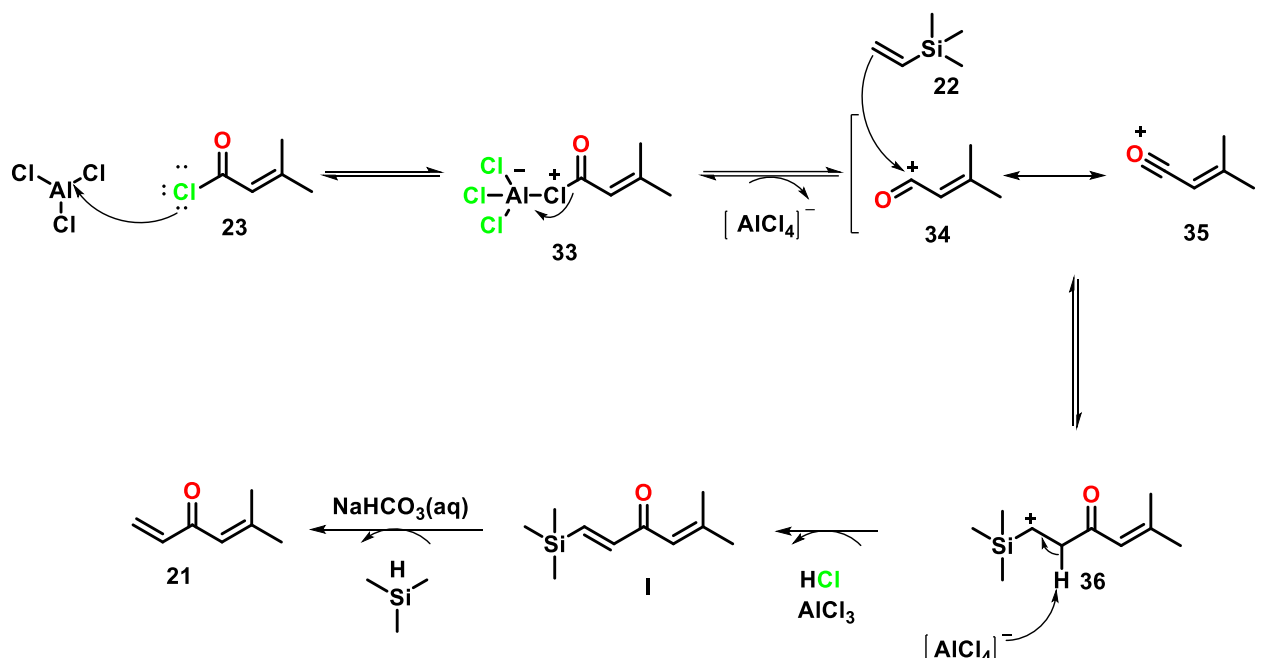
Esquema 33. Síntese da dienona **21**



⁵⁰Kjeldsen G., Knudsen J.S., Ravn-Petersen L.S., Torssell K.B.G. Synthesis of 1,4-dien-3-ones and 2-cyclopentenones. *Tetrahedron*, **1983**, 39 (13) 2237-2239. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)91945-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)91945-3)

Um mecanismo de reação para a obtenção da olefina **21** é proposto no Esquema 35. Inicialmente o AlCl_3 atua como um ácido de Lewis, aceitando um par de elétrons do átomo de oxigênio do grupo carbonila, formando um complexo acil- AlCl_3 (**33**). A formação do complexo **33** facilita a ruptura da ligação C-Cl, gerando o íon acílio (estruturas de ressonância **34** e **35**) e o íon $[\text{AlCl}_4]^-$. O ataque nucleofílico do composto **22** ao carbono eletrofílico do íon acílio leva à formação do carbocátion **36** instável. A captura do próton pelo íon $[\text{AlCl}_4]^-$ leva à formação do intermediário **I**, que após a extração fornece a dienona **21**.

Esquema 34. Mecanismo proposto para a formação da dienona **21**⁵⁰



Como o composto **21** já é um composto conhecido, o mesmo foi caracterizado por RMN de ^1H e os dados foram comparadas com a literatura.⁵⁰ O espectro de RMN de ^1H desse composto encontra-se no Apêndice do Capítulo II.

3.2.4. Síntese, caracterização e confirmação estrutural das pubesamidas A e B

Uma vez sintetizadas as olefinas **20** e **21**, deu-se início ao estudo e otimização da reação de CM para obtenção das pubesamidas A e B (Tabela 24, página 135). A olefina **20** é do tipo 1,1-dissubstituída e, portanto, se enquadraria no Tipo III em relação à sua capacidade de homodimerização (Tabela 22, página 118). Já a olefina **21** seria mais próxima do grupo orgânico acrilato, e, portanto, seria classificada como um tipo II. Dessa maneira, fez-se uso do protocolo de Grubbs e Chatterjee,³⁷ utilizando 4 equivalentes da olefina mais impedida estericamente (**20**), para minimizar a homodimerização do seu par (**21**) na reação de metátese cruzada.

O estudo de otimização foi realizado com os catalisadores de rutênio disponíveis (GII, HGII, Zhan 1B e GIII), utilizando três dos solventes mais comumente empregados na metátese de olefinas: o DCM, o dicloroetano (DCE) e o tolueno. O estudo iniciou-se com o catalisador Grubbs de segunda geração (GII), devido à sua vasta aplicação na síntese orgânica, conforme discutido no tópico 1.4.1 da introdução desse capítulo. A adição de 5% de GII em vários solventes não forneceu os compostos de interesse (Tabela 24, exps. 1-3). O aumento da quantidade de catalisador para 15%, e adição lenta do mesmo, levou à formação do produto com 8% de rendimento, conforme determinado por espectroscopia de RMN de ¹H (Tabela 24, exp. 4).

Tabela 24. Estudo de otimização da reação de métatase cruzada para a obtenção das pubesamidas A e B

 GII HGII Zhan 1B GIII						
Exp.	Catalisador (mol%)	T (°C)	Tempo (horas)	Solvente	Rendimento (%)	Proporção E:Z
1	GII (5)	40	48	DCM	-	-
2	GII (5)	80	48	DCE	-	-
3	GII (5)	60	48	Tolueno	-	-
4*	GII (15)	80	48	Tolueno	8	n.d
5**	GII (5)	40	30	Et ₂ O	5	n.d.
6**	GII (5)	80	48	DCE	-	-
7**	GII (5)	60	48	Tolueno	-	-
8	HGII (5)	40	48	DCM	-	-
9	HGII (5)	80	48	DCE	-	-
10	HGII (5)	60	48	Tolueno	-	-
11*	HGII (15)	60	48	Tolueno	20	1:1
12	HGII (25)	60	144	Tolueno	20	1:1
13	Zhan 1B (15)	40	48	DCM	-	-
14	Zhan 1B (15)	60	48	Tolueno	-	-
15	GIII-(5)	40	48	DCM	-	-
16	GIII-(5)	60	24	Tolueno	-	-

n.d. = não determinado

*Catalisador adicionado lentamente por 6 horas

**Adição de 3% de CuI

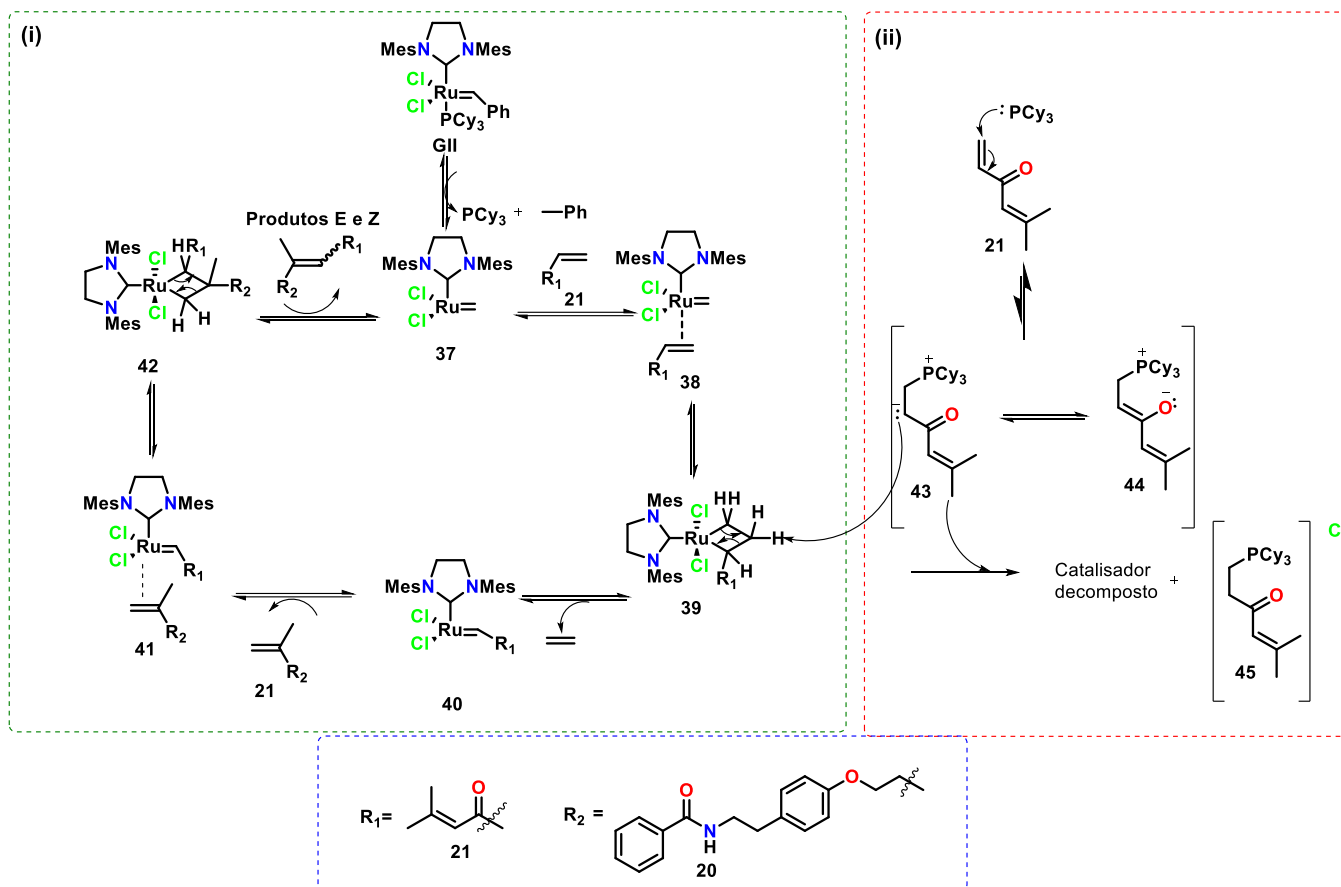
Um mecanismo de reação entre as olefinas **20** e **21** na presença do catalisador GII é proposto no Esquema 35 (i) (linha tracejada verde), página 137. Na etapa de iniciação ocorre a dissociação da PCy₃ (trifenilfosfina) e, no primeiro ciclo, do anel benzênico coordenado ao átomo de Ru. O catalisador **37** se coordenaria à uma molécula contendo elétrons π . Apesar do composto **21** ser uma molécula do tipo aceptor de Michael deficiente em elétrons, ela pode ser classificada como uma olefina do tipo II e, portanto, mais reativa se comparada com a olefina **20** (tipo III), que é mais impedida estericamente. Dessa forma, a etapa seguinte de reação consistiria na coordenação de **21** ao catalisador **37**, formando o complexo **38** e, em seguida, o intermediário metalociclobutano **39**. Nessa etapa o metalociclo se rearranaria, com a quebra das ligações C-C, liberação de uma molécula de eteno e liberação do complexo **40**. A etapa seguinte consistiria na coordenação do complexo **40** à olefina **20**, formando o complexo **41**, através do caminho produtivo para a formação do segundo metalociclobutano **42**. A quebra das ligações C-C levaria à formação dos produtos de interesse *E* e *Z* e regeneração do catalisador **37**, e reiniciação do ciclo catalítico.

Um dos motivos que explicariam os baixos rendimentos apresentados seria que o ligante de fosfina dissociado em GII estaria reagindo com a dienona **21**, conforme observado por Fogg e Bailey em um estudo publicado em 2015.⁵¹ Neste estudo os autores realizaram uma série de experimentos que comprovaram que a presença de uma olefina deficiente em elétron desencadearia reações de decomposição do catalisador contendo o grupo fosfina, levando à baixa eficiência do mesmo na reação de metátese cruzada (Esquema 35 (ii)(linha tracejada em vermelho), página 137). O mecanismo de degradação^{51,52} seria iniciado com o ataque nucleofílico do átomo de fósforo da trifenilfosfina à espécie deficiente em elétrons **21**, formando as espécies anfóteras instáveis **43** e **44**. A espécie **43** capturaria o próton do metalociclo **39**, intermediário chave na síntese de metátese cruzada, desencadeando a formação da espécie **45**, abstração de um átomo de cloro e decomposição do catalisador.

⁵¹ Bailey G.A.; Fogg D.E. Acrylate Metathesis via the Second-Generation Grubbs Catalyst: Unexpected Pathways Enabled by a PCy₃-Generated Enolate *J. Am. Chem. Soc.* **2015**; 137: 7318-7321. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b04524>

⁵² Santos, A.G.; Bailey, G.A.; Santos, E.N. dos; Fogg, D.E. Overcoming Catalyst Decomposition in Acrylate Metathesis: Polyphenol Resins as Enabling Agents for PCy₃-Stabilized Metathesis Catalysts. *ACS Catalysis*, **2017**, 7 (5), 3181-3189. <https://doi.org/10.1021/acscatal.6b03557>.

Uma forma de contornar a formação da espécie **45** e minimizar a decomposição do catalisador foi adicionando iodeto de cobre como eliminador de fosfina,⁵³ o que levou aos produtos desejados, embora com baixo rendimento (5%)(Tabela 24, página 135, exp. 5). Os esforços para melhorar este rendimento por meio da mudança do solvente falharam (Tabela 23, exps. 6 e 7).



Uma forma de contornar a formação da espécie **45** e minimizar a decomposição do catalisador foi adicionando iodeto de cobre como eliminador de fosfina,⁵³ o que levou aos produtos desejados, embora com baixo rendimento (5%)(Tabela 24, página 135, exp. 5). Os esforços para melhorar este rendimento por meio da mudança do solvente falharam (Tabela 23, exps. 6 e 7).

⁵³ Voigtritter K.; Ghorai S.; Lipshutz B.H. Rate Enhanced Olefin Cross-Metathesis Reactions: The Copper Iodide Effect *J. Org. Chem.*, **2011**, 76 (11) (2011), 4697-4702. <https://doi.org/10.1021/jo200360s>

Dessa forma, a atenção foi voltada para o catalisador de segunda geração Hoveyda-Grubbs (HGII), anteriormente bem-sucedido na metátese cruzada de alcenos 1,1-dissubstituídos com olefinas deficientes em elétrons, embora com rendimentos moderados (<50%),^{43,54} em parte devido à ausência de um ligante de fosfina.⁵⁵ Embora o uso de 5% molar de HGII em uma variedade de solventes tenha falhado (Tabela 24, página 135, exps. 8,9 e 10), um rendimento de 20% do produto foi obtido usando uma quantidade de 15% molar do catalisador (Tabela 24, exp. 11). O aumento da concentração do catalisador para 25 % molar e do tempo de reação para 6 dias não resultou em um rendimento melhorado (Tabela 24, exp. 12). O emprego dos catalisadores Zhan-1B⁵⁶ e Grubbs de terceira geração (GIII)⁵⁷ não levaram à formação das pubesamidas A e B (Tabela 2, exps. 13-16).

Conforme discutido no tópico 1.4.1 da introdução desse capítulo, a síntese de alcenos trissubstituídos utilizando catalisadores de rutênio ainda é um desafio na área da metátese cruzada de olefinas. Esse fenômeno ocorre porque, no equilíbrio da metátese cruzada, há dois caminhos de reação possíveis: o caminho I, que é produtivo, levando à formação de olefinas cruzadas e regenerando o catalisador; e o caminho II, que é improdutivo e não resulta na formação dos produtos desejados (Esquema 36, página 139). No caso das olefinas 1,1-dissubstituídas, o caminho I é viável apenas quando a olefina se aproxima do complexo **40** pelo trajeto mais impedido estericamente. Em contrapartida, o caminho improdutivo II enfrenta menor impedimento estérico, mas fornecendo os intermediários não-reativos **45** e **46**.⁵⁸

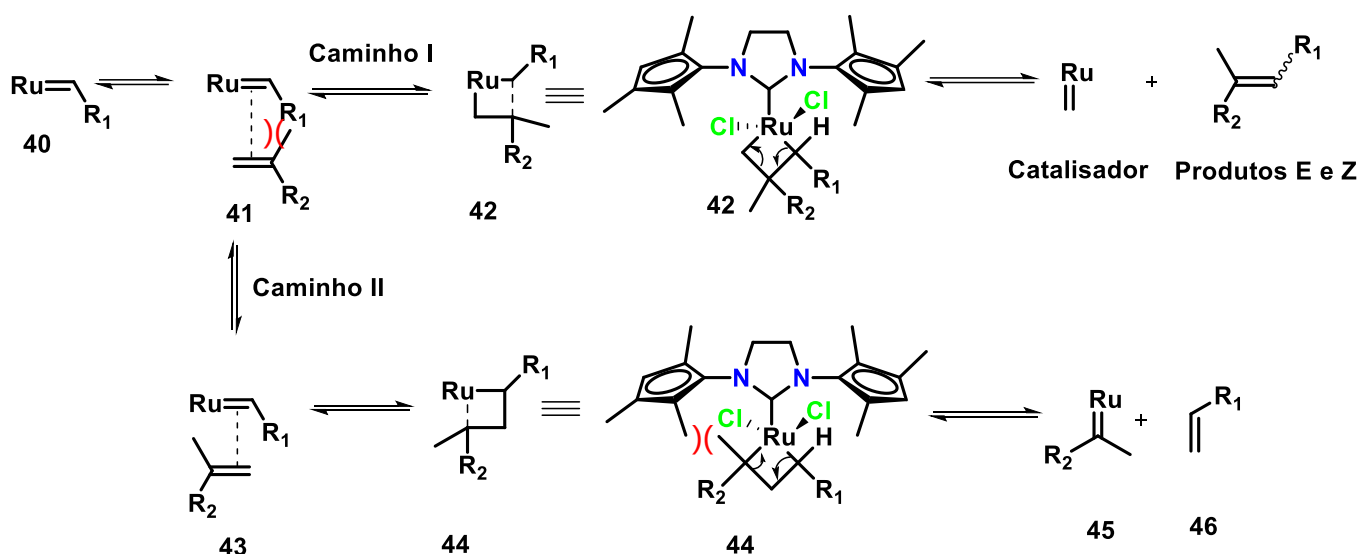
⁵⁴ Fernandes, L.S.; Mandelli, D.; Carvalho, W. A.; Fischmeister, C.; Bruneau, C. Functionalization of (-)- β -pinene and (-)-limonene via cross metathesis with symmetrical internal olefins. *Catalysis Comm.* **2020**, 135 <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2019.105893>.

⁵⁵ Stewart, I.C.; Douglas, C.J.; Grubbs, R.H. Increased efficiency in Cross-Metathesis Reactions of Sterically Hindered Olefins. *Org. Lett.* **2008**; 10 (3), 441-444. <https://doi.org/10.1021/ol702624n>.

⁵⁶ Kajetanowicz, A.; Grela K. Nitro and Other Electron Withdrawing Group Activated Ruthenium Catalysts for Olefin Metathesis Reactions. *Angew. Chem. Int.* **2021**, 60 (25), 13738-13756. <https://doi.org/10.1002/anie.202008150>.

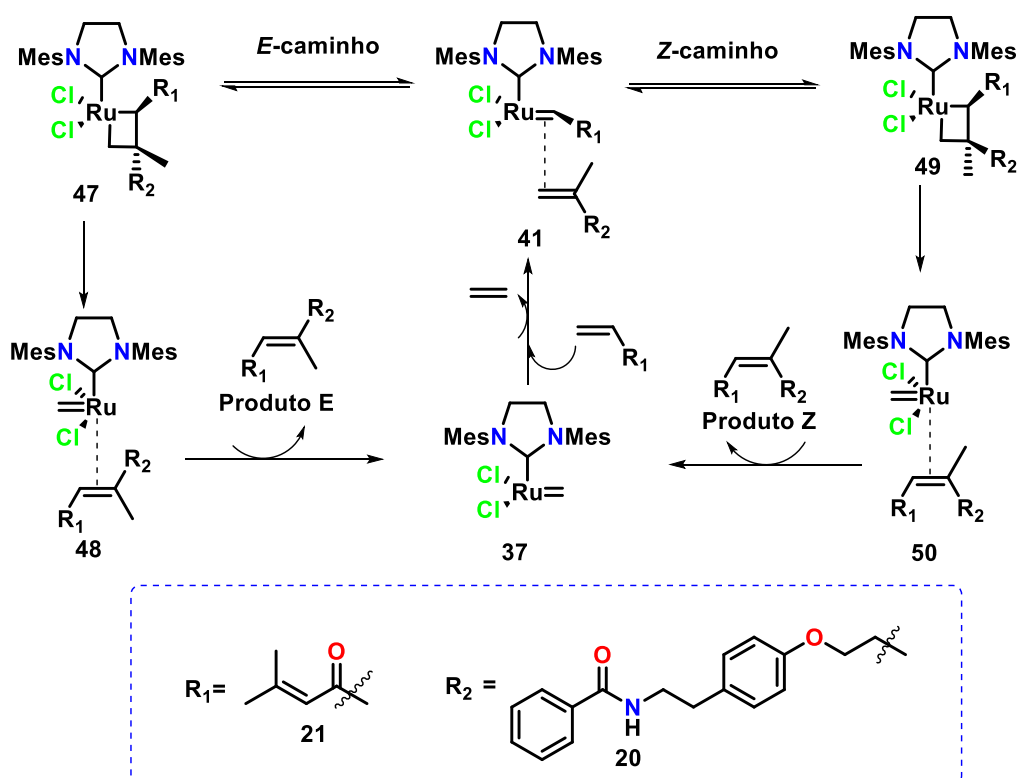
⁵⁷ Forcina V. García-Domínguez A. Lloyd-Jones G.C. Kinetics of Initiation of the Third Generation Grubbs Metathesis Catalyst: Convergent Associative and Dissociative Pathways. *Faraday Discuss.* **2019**, 220, 179-195. <https://doi.org/10.1039/c9fd00043g>.

⁵⁸ Maior, C.R.S. Metátese cruzada de olefinas e hidrogenações diastereosseletivas na síntese de ésteres metílicos 3-carboxialquil esteranos: fósseis moleculares do período cretáceo. Tese de doutorado, Universidade de Campinas, São J|Paulo, Campinas, 2022.

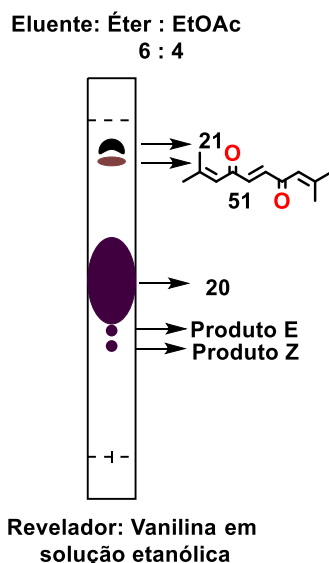
Esquema 36. Caminho I (produtivo) e II (improdutivo) no equilíbrio de metátese⁵⁸

As reações de metátese de olefinas realizadas com os catalisadores GII, e HGII podem resultar em uma mistura dos dois estereoisômeros, *E* e *Z*. No entanto, o isômero *E*, que é o produto termodinâmico, geralmente é produzido em maior quantidade que o isômero *Z*, que é o produto cinético (Esquema 37, página 140). Se esse intermediário se forma com os substituintes em um arranjo anti (**47**), favorecido estericamente, será formada uma olefina *E*. Se for formado em um arranjo sin (**49**), estericamente menos favorecido, será formada uma olefina *Z*. Portanto, dois fatores favorecem o isômero *E* em relação ao isômero *Z*: a cinética do intermediário metalaciclobutano e a termodinâmica da olefina formada. No caso da síntese das pubesamidas A (isômero *Z*) e B (isômero *E*) não foi observado a preferência pela formação de um produto, uma vez que a relação estereoquímica entre os isômeros *E*:*Z* observada foi de 1:1. Apesar da estereosseletividade ser um fator muito importante na síntese de produtos naturais, nesse caso específico foi vantajoso a formação de ambos os isômeros em proporções equivalentes.

⁵⁹Santos, A.G. produtos da química fina através da metátese de propenilbenzenos de origem vegetal empregando catalisadores rutênio-alquilideno. Tese de Doutorado em Ciências - Química. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

Esquema 37. Estereoquímica dos produtos formados⁵⁹

Apesar da utilização de 4,0 equivalentes da olefina **20** observou-se a formação do dímero (**51**) referente à olefina **21** durante a reação de CM (Esquema 38, página 141). Entretanto, não foi possível separá-lo da olefina **21** para determinação da quantidade do dímero formado. A separação dos produtos *E* e *Z* só foi possível através da técnica de cromatografia em placa preparativa, pois os isômeros possuíam valores de fator de retenção (*R_f*) muito próximos (0,37 e 0,34, respectivamente). Apesar da técnica de cromatografia em placa preparativa ser uma ferramenta versátil e simples, o seu uso levou a perdas significativas dos produtos finais durante o processo de purificação, sendo obtido um rendimento de apenas 5% para a pubesamida A e 5% para a pubesamida B na reação final de CM.

Esquema 38. Ilustração da placa de TLC da reação de metátese cruzada entre 20 e 21

Conforme discutido anteriormente, compostos contendo pares de elétrons livres podem reagir com os intermediários da reação, levando à decomposição do catalisador de Grubbs. Para aumentar o rendimento da reação de metátese cruzada, foram realizadas reações adicionais utilizando ácidos de Lewis. Entre as condições testadas, a melhor performance foi obtida empregando isopropóxido de titânio ($\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$) a 30% molar, como aditivo, em DCM, por 24 horas, na presença de HG-II (15% mol). Utilizando essas condições foi possível obter as pubesamidas A e B com 31% de rendimento. As reações adicionais foram conduzidas pela aluna de pós-doutorado Karen Ichikawa, na Universidade de Auckland.

Os isômeros obtidos foram então caracterizados pelas técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e os dados foram comparados com o artigo original de elucidação das pubesamidas A e B, publicado por García e colaboradores em 2004.¹⁹

Nos espectros na região do IV das pubesamidas A (Figura 47, página 142) e B (Figura 48, página 142) pôde-se observar as bandas características da ligação NH de amidas secundárias (3347 e 3292 cm^{-1}), assim como as bandas referentes às carbonilas amídicas (1633 e 1630 cm^{-1}). Além disso observou-se em 1529 e 1512 cm^{-1} as bandas de carbonila referente à cetona conjugada, assim como a banda em 1242 e 1243 cm^{-1} referente à ligação C-O do éter fenólico.

Figura 47. Espectro na região do IV (ATR) da pubesamida A

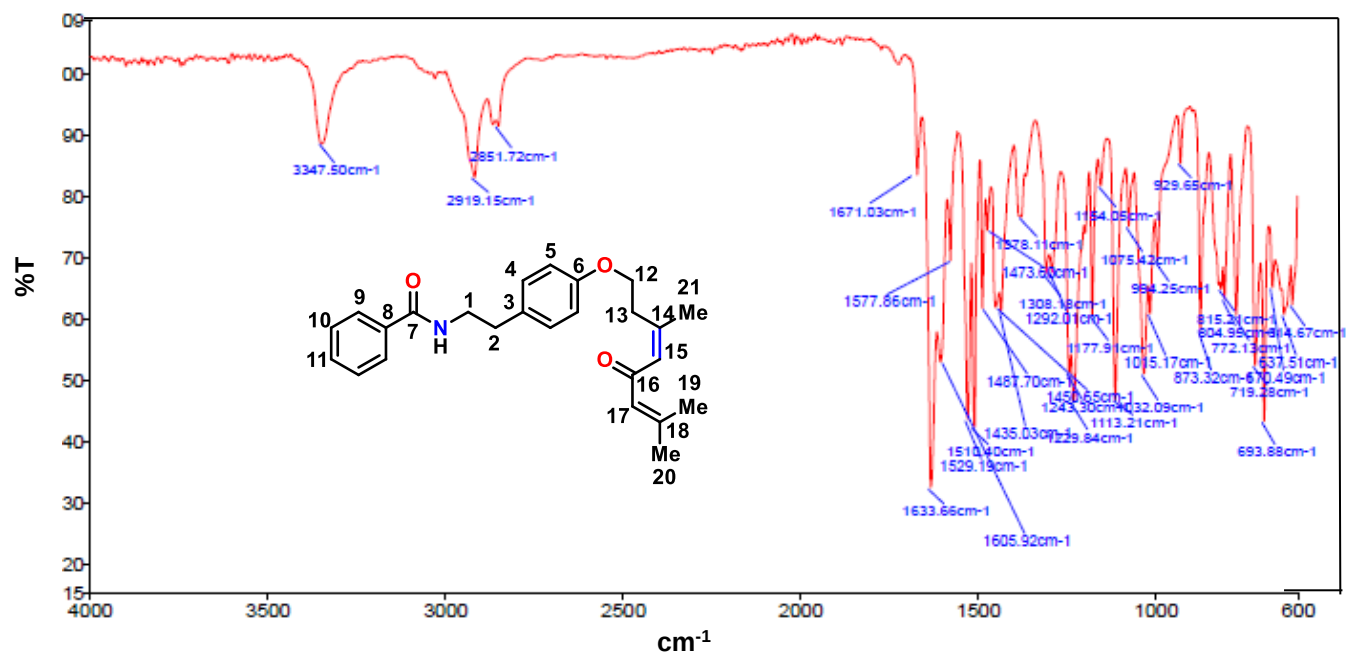
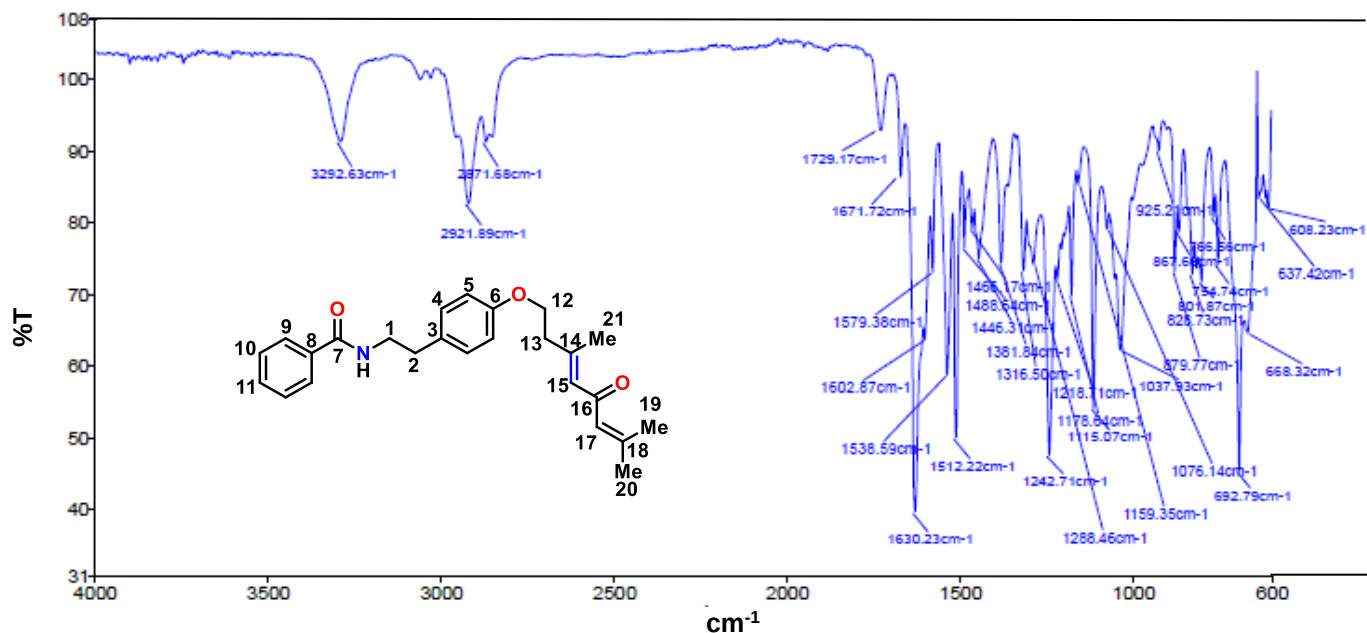


Figura 48. Espectro na região do IV (ATR) da pubesamida B



A partir dos espectros de RMN de ^1H da pubesamida A (Figura 49) e do composto (Figura 45, página 131) foi possível observar o deslocamento dos sinais referentes aos hidrogênios olefínicos, de δ 4,85-4,80 ppm no material de partida, para δ 6,14-6,07 ppm. Também foram observados três novos sinais dupletos na região de H alifáticos: em δ 2,22 ppm ($J_{19,15} = 1,2$ Hz), em δ 2,17 ppm ($J_{20,17} = 1,2$ Hz) e em δ 1,89 ppm ($J_{21,17} = 1,2$ Hz), cada sinal apresentando integração próxima de 3, e que confirmaram o sucesso da reação de metátese cruzada entre as olefinas **20** e **21**. A pubesamida A também foi caracterizada por RMN de ^{13}C (Figura 50 - página 144) e os sinais apresentados no espectro estão de acordo com os dados da literatura.¹⁹

Figura 49. Espectro de RMN de ^1H da pubesamida A (CDCl_3 , 400 MHz)

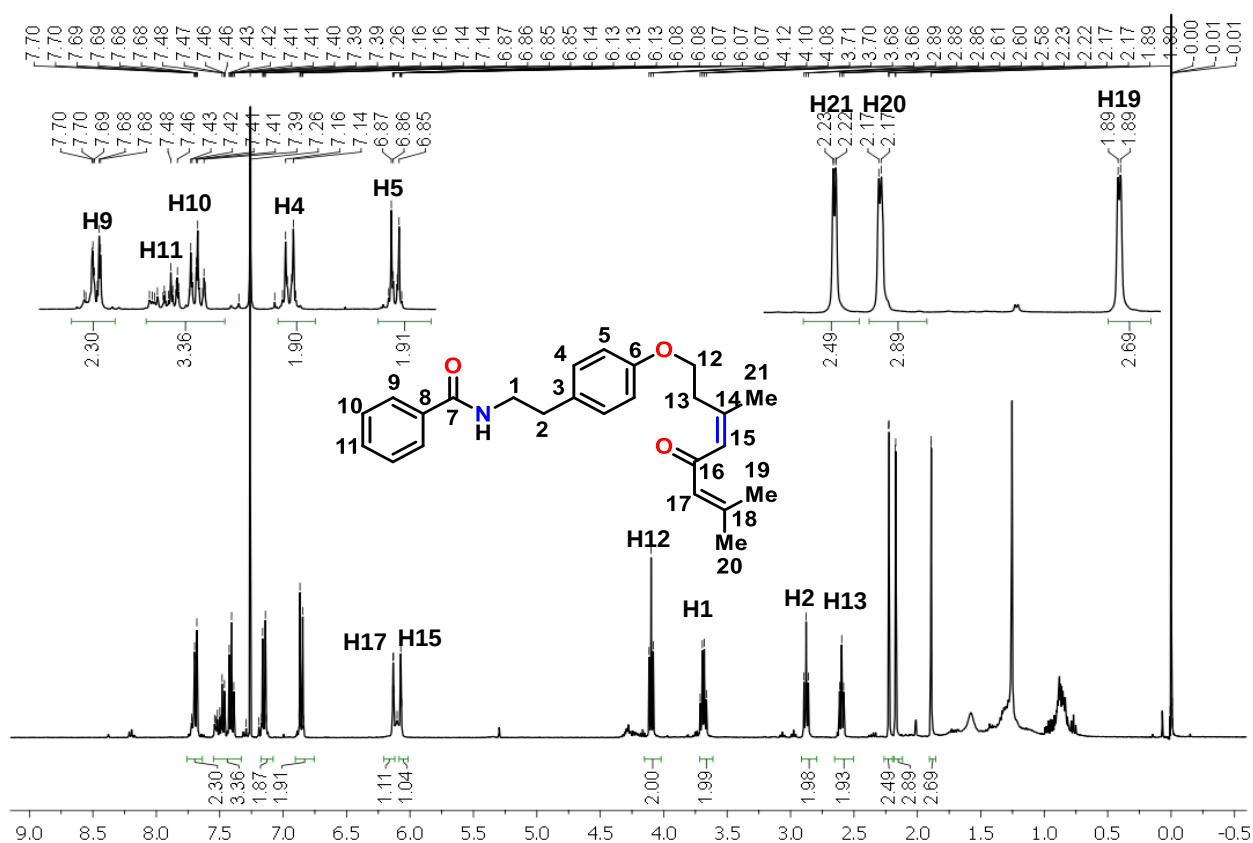
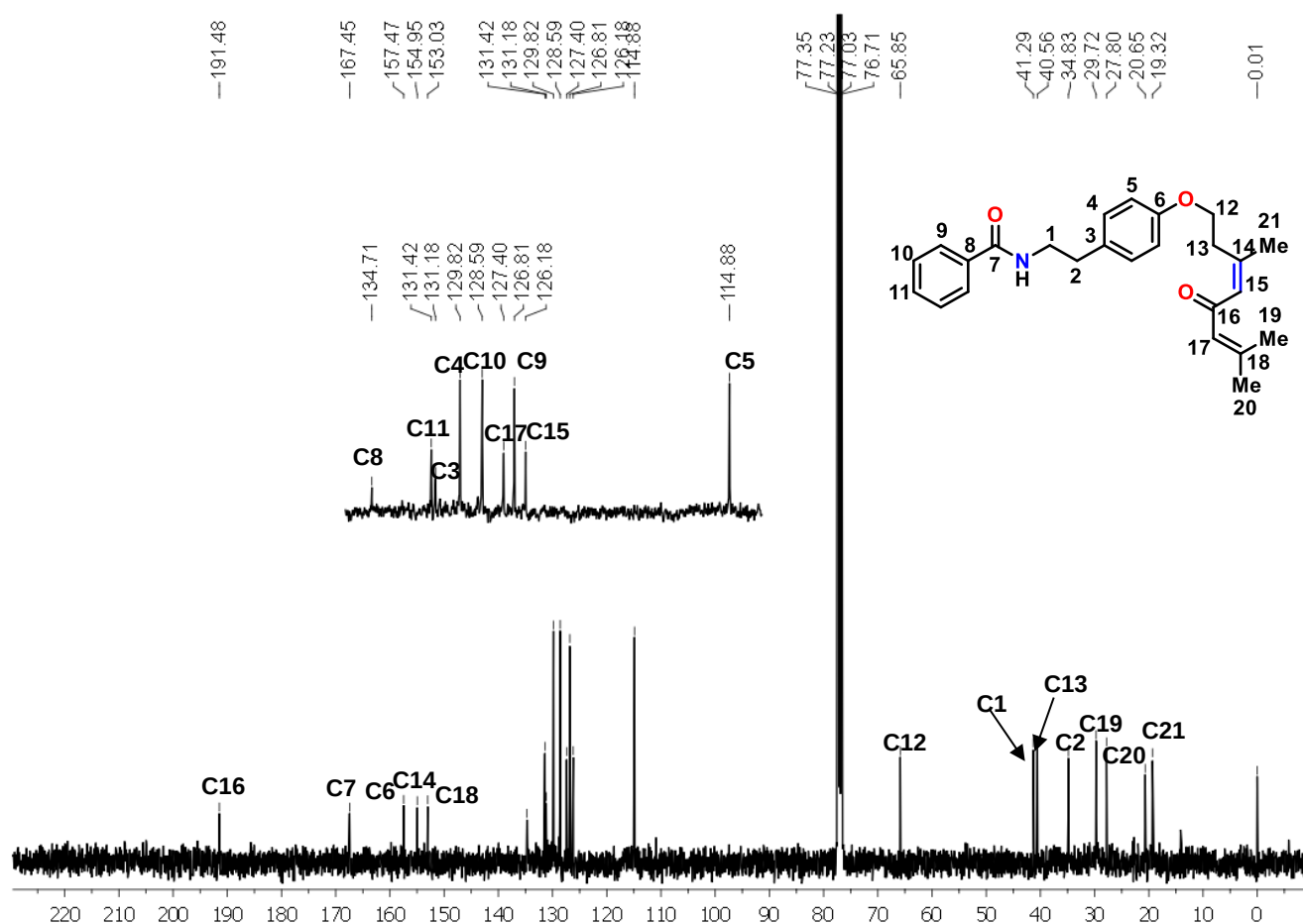
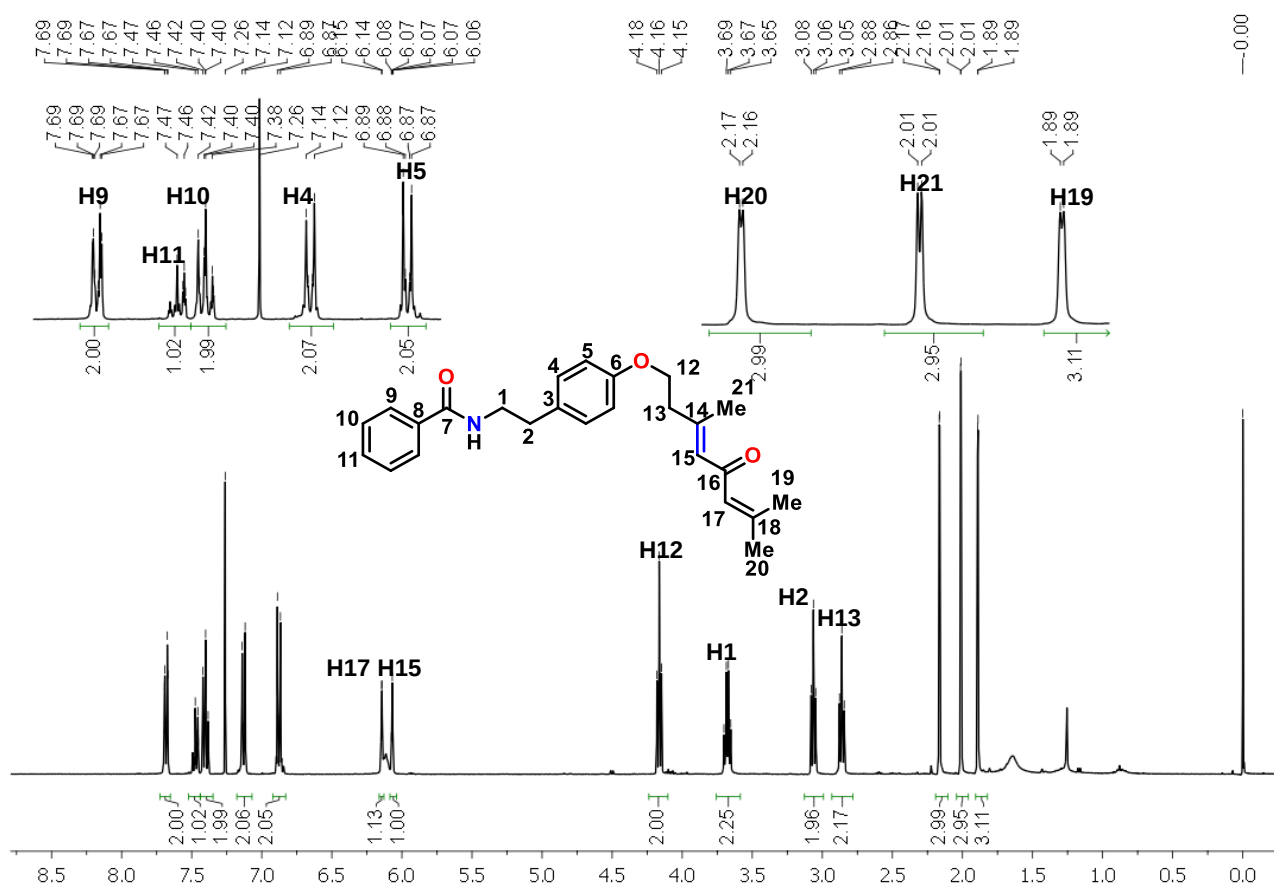
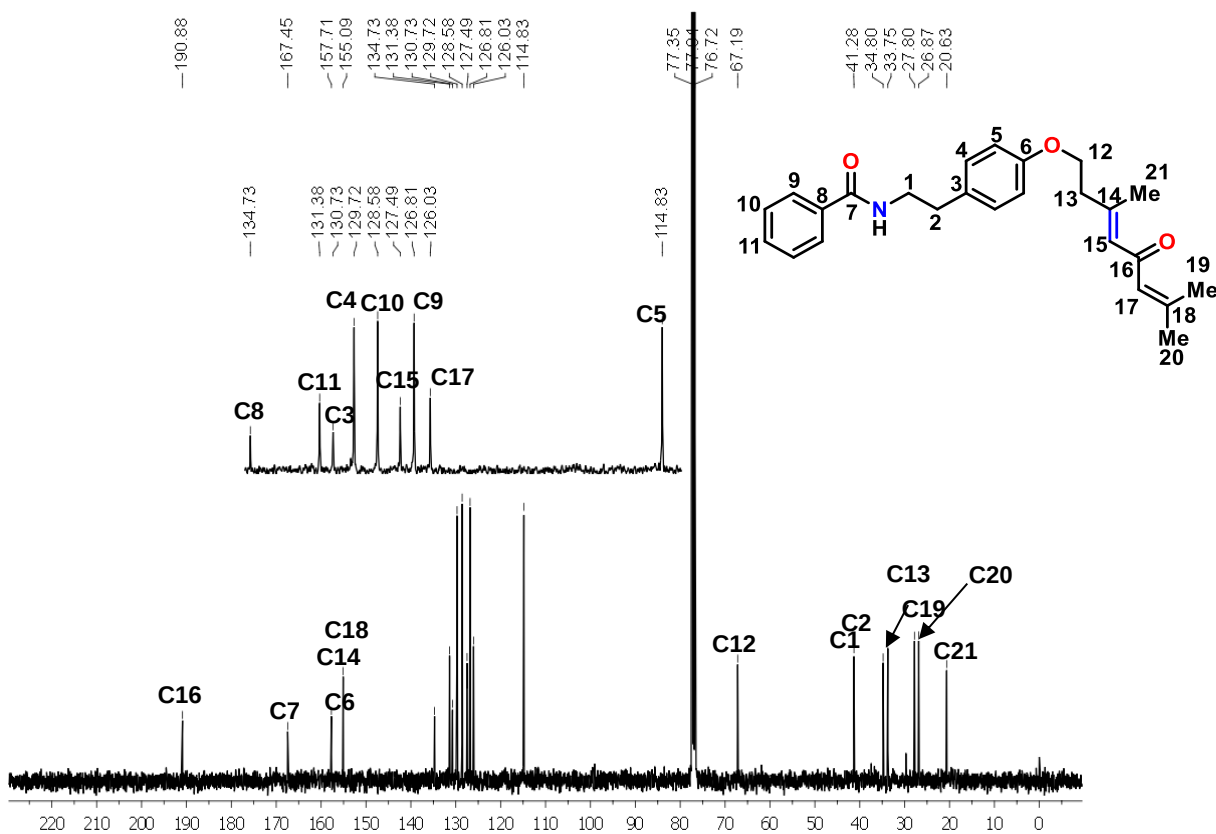


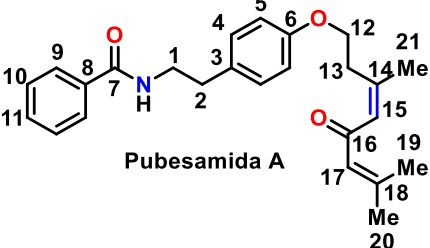
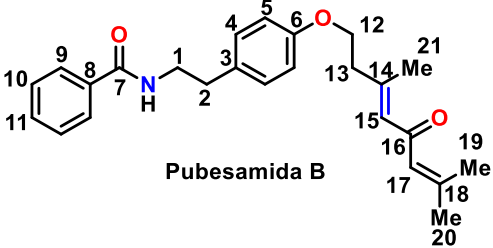
Figura 50. Espectro de RMN de ^{13}C da pubesamida A (CDCl_3 , 100 MHz)

No espectro de RMN de ^1H da pubesamida B (Figura 51 – página 145) também foi possível observar o deslocamento dos sinais referentes aos hidrogênios olefínicos, de δ 4,85-4,80 ppm no material de partida, para δ 6,14-6,06 ppm. Também foram observados três novos dupletos na região de H alifáticos: em δ 2,16 ppm ($J_{21,15} = 1,2$ Hz), em δ 2,01 ppm ($J_{21,15} = 1,2$ Hz) e em δ 1,89 ppm ($J_{19,17} = 1,2$ Hz), cada sinal apresentando integração próxima de 3. Ao analisar os espectros dos isômeros *E* e *Z* observou-se que o sinal referente ao H21 foi o que apresentou maior mudança de deslocamento químico, o que comprova a estereoisomeria na cadeia terpênica. A pubesamida B também foi caracterizada por RMN de ^{13}C (Figura 52 - página 145) e os sinais apresentados no espectro estão de acordo com os dados da literatura.¹⁹

Figura 51. Espectro de RMN de ^1H da pubesamida B (CDCl_3 , 400 MHz)Figura 52. Espectro de RMN de ^{13}C da pubesamida B (CDCl_3 , 100 MHz)

Na Tabela 25 são apresentados os valores dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C que permitiram a elucidação estrutural dos produtos naturais obtidos.

Tabela 25. Comparação entre os dados de RMN de ^1H e ^{13}C da literatura e experimentais obtidos para a confirmação estrutural das pubesamidas A e B

 Pubesamida A					 Pubesamida B				
	^1H Lit ¹⁹	^1H obtido (400 MHz)	^{13}C Lit ¹⁹	^{13}C obtido (100 MHz)		^1H Lit ¹⁹	^1H obtido (400 MHz)	^{13}C Lit ¹⁹	^{13}C obtido (100 MHz)
1	3,69(t, J 6,9)	3,69(q, J 6,9)	41,3	41,3		3,69 (t, J 6,9)	3,69(q, J 6,9)	41,3	41,3
2	2,87 (t, J 6,9)	2,87 (t, J 6,9)	34,8	34,8		2,86 (t, J 6,9)	2,86(t, J 6,9)	34,8	34,8
3	-	-	131,2	131,2		-	-	130,7	130,7
4	7,14(d, J 6,9)	7,16-7,14 m	129,8	129,8		7,13 (d, J 8,7)	7,15-7,11 m	129,7	129,7
5	6,85 (t, J 6,9)	6,87-6,85 m	114,9	114,9		6,86 (d, J 8,7)	6,89-6,86 m	114,8	114,8
6	-	-	157,5	157,5		-	-	157,7	157,7
7	-	-	167,4	167,4		-	-	167,4	167,4
8	-	-	134,7	134,7		-	-	134,7	134,7
9	7,69 (sl)	7,70-7,68 m	126,8	126,8		7,68 (brd)	7,69-7,67 m	126,1	126,8
10	7,45 m	7,48-7,46 m	128,5	128,5		7,45 m	7,49-7,45 m	128,5	128,5
11	7,38 m	7,43-7,39 m	131,4	131,4		7,41 m	7,42-7,38 m	131,4	131,4
12	4,09 (t, J 7,1)	4,09 (t, J 6,6)	65,9	65,9		4,16 (t, J 6,6)	4,16 (t, J 6,6)	67,2	67,2
13	2,59 (t, J 7,1)	2,59 (t, J 6,6)	40,6	40,6		3,06 (t, J 6,6)	3,06 (t, J 6,6)	33,7	33,7
14	-	-	154,9	154,9		-	-	155,0	155,0
15	6,08 (sl)	6,08-6,07 m	126,2	126,2		6,08 m	6,08-6,07 m	127,4	127,4
16	-	-	191,4	191,4		-	-	190,8	190,8
17	6,13 (sl)	6,14-6,13 m	127,4	127,4		6,13 m	6,15-6,13 m	126,0	126,0
18	-	-	153,0	153,0		-	-	153,0	155,0
19	1,88 s	1,88(d, J 1,1)	27,8	27,8		1,89 s	1,89(d, J 1,1)	27,8	27,8
20	2,17 s	2,17(d, J 1,2)	20,6	20,6		2,15 s	2,16(d, J 1,3)	20,6	20,6
21	2,22 s	2,22(d, J 1,2)	19,3	19,3		2,01 s	2,01(d, J 1,2)	26,8	26,9

4. Conclusões e perspectivas

O estudo realizado teve como objetivo geral o planejamento, síntese inédita, caracterização e elucidação estrutural dos monoterpênoides pubesamida A e pubesamida B, extraídos da planta *Casimiroa pubescens*. Primeiramente, foi realizada a síntese da olefina **20** em duas etapas e rendimento global de 68%, assim como a síntese da olefina **21**, obtida com 91% de rendimento. O uso de quatro diferentes catalisadores de Grubbs permitiu a otimização do processo de metátese cruzada, visando a obtenção eficiente dos produtos naturais. Durante essa etapa, foram investigadas diferentes condições de reação para determinar quais seriam as mais adequadas para a formação dos produtos, e foi possível obter os produtos como uma mistura de isômeros com 12 % de rendimento global e relação estereoisomérica de 1:1.

Além disso, foram utilizadas técnicas cromatográficas para a separação dos isômeros *E* e *Z*, resultantes da reação de metátese cruzada. Os compostos obtidos foram caracterizados utilizando técnicas espectroscópicas, permitindo a confirmação de suas estruturas e purezas. A caracterização espectroscópica forneceu dados importantes que corroboraram o sucesso das sínteses e a eficácia das condições de reação empregadas.

Em resumo, o planejamento detalhado, a síntese precisa e a caracterização rigorosa dos produtos pubesamida A e pubesamida B demonstraram a viabilidade e a eficiência das reações de metátese cruzada utilizando catalisadores de Grubbs. Os produtos naturais terão sua atividade biológica testada no sistema nervoso central de mamíferos na Universidade do Norte Carolina nos Estados Unidos para avaliação de suas propriedades neurológicas.

5. Parte Experimental

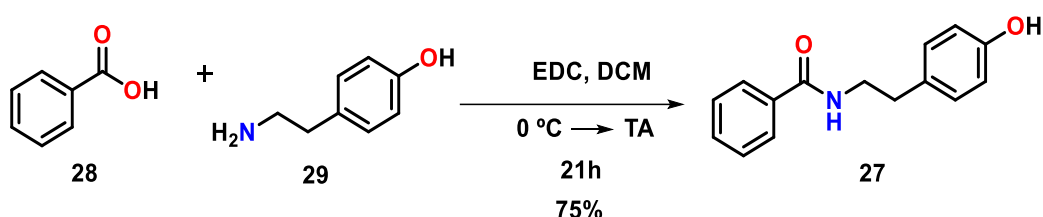
Todas as reações e caracterizações relatadas no Capítulo II da tese foram realizadas no Laboratório do Prof. Jonathan Sperry, na Universidade de Auckland, na Nova Zelândia, durante o período de junho 2023 a fevereiro de 2024.

5.1 Materiais e equipamentos

Os reagentes comercialmente disponíveis foram utilizados sem purificação adicional. Os solventes foram secos utilizando um sistema de purificação de solventes LC Technology Solutions Inc. SP-1 sob uma atmosfera de nitrogênio seco. Todas as reações foram rotineiramente realizadas em vidrarias secas previamente em estufa. As reações que necessitaram de aquecimento foram realizadas utilizando uma chapa de aquecimento de aço inoxidável IKA®. Cromatografia de camada delgada (CCD) foi realizada utilizando placas de sílica e os compostos foram visualizados sob irradiação ultravioleta de 254 nm, seguida de coloração com solução etanólica de vanilina. Os solventes foram evaporados utilizando um rotavapor Buchi R-100 com controle de pressão. Os pontos de fusão foram registrados num aparelho de ponto de fusão eletrotérmico Fisher Scientific e não estão corrigidos. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos usando um espectrômetro Perkin Elmer One Fourier Transform Infrared como filmes finos entre placas de cloreto de sódio. Os máximos de absorção são expressos em números de onda (cm^{-1}). Os espectros de RMN foram registrados em um espectrômetro Bruker DRX400 operando a 400 MHz para núcleos ^1H e 100 MHz para núcleos ^{13}C . Os desvios químicos são relatados em partes por milhão (ppm) em relação ao pico de tetrametilsilano registrado como δ 0,00 ppm em solvente CDCl_3/TMS , ou aos picos residuais de clorofórmio (δ 7,26 ppm) ou DMSO (δ 2,50 ppm). Os valores de RMN de ^{13}C foram referenciados aos picos residuais de clorofórmio (δ 77,1 ppm) ou DMSO (δ 39,5 ppm). Os valores de RMN de ^{13}C são relatados como deslocamento químico δ e atribuição. Os valores de deslocamento de RMN de ^1H são relatados como deslocamento químico δ , multiplicidade (s, simpleto; d, duplete; t, tripleto; q, quarteto; m, multiplete), integral relativa, constante de acoplamento (J em Hz) e atribuição. Foram utilizados tubos de RMN convencionais (5 mm de diâmetro, Norell) utilizando

um volume de amostra de 500 μL . Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos em um espectrômetro de massa Bruker 4 microOTOF, com ionização por eletrospray utilizando uma tensão capilar de 4500 V para o modo positivo e 3200 V para o modo negativo. As amostras foram dissolvidas em solvente apropriado (DCM) e diluídas até uma concentração nominal de 3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ usando MeOH ou MeCN, antes da infusão direta no instrumento.

5.2 Síntese da *N*-(4-hidroxifenetil)benzamida (**27**)⁴⁵



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 490 mg de ácido benzóico (**28**) (4,0 mmol, 1,0 equiv.) e 620 mg de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) (4 mmol, 1,0 equiv.). O sistema foi resfriado a 0 °C e mantido sob uma atmosfera de N_2 , adicionando-se 10 mL de DCM anidro em seguida. A mistura de reação foi agitada por 15 minutos e, em seguida, 550 mg de tiramina (**29**) (4,0 mmol, 1,0 equiv.) foi adicionada ao frasco. Em seguida a mistura foi agitada por 21 horas em temperatura ambiente, até o consumo total dos materiais de partida, acompanhada por CCD. À mistura de reação foram adicionados 20 mL de DCM e 10 mL de solução de ácido clorídrico (HCl) 1 mol L^{-1} , onde as fases foram separadas em um funil de separação. A fase orgânica foi novamente lavada com 10 mL de solução de HCl 1 mol L^{-1} , seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O sólido obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, utilizando éter de petróleo (PET) e acetato de etila (AcOEt) (1:1) como eluentes, fornecendo o composto **27** como um sólido branco (650 mg, 2,7 mmol, 75%).

Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_2$

Massa molar: 241,11 g mol^{-1}

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão: 162,1 -163,7 °C (lit.)⁴⁵

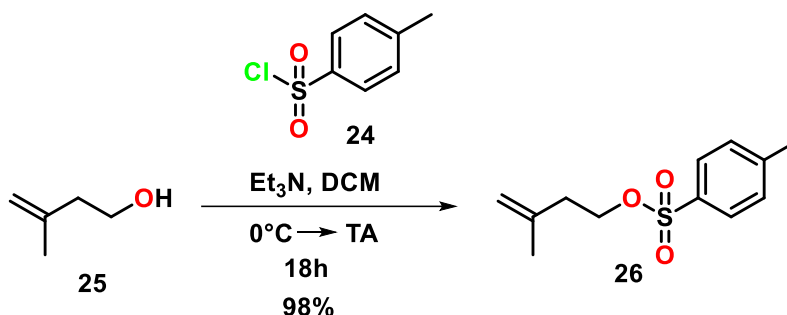
Rendimento: 75%

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3326, 1637, 1602, 1539, 1511, 1447, 1371, 1312, 1294, 1234, 1192, 1107, 1052, 1015, 823, 779, 565.

HRMS (ESI⁺): (m/z) [$M+H$]⁺ encontrada: 242,1203, massa calculada para [$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}_2$]⁺: 242,1203 (lit.)⁴⁵

RMN ^1H e ^{13}C : Apêndice do Capítulo II.

5.3 Síntese do 3-metilbut-3-en-1-il 4-metilbenzenesulfonato (**26**)⁴⁷



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,43 mL de 3-metil-3-en-1-ol (**25**) (4,2 mmol, 1,0 equiv.) e 10 mL de DCM anidro. O sistema foi resfriado à 0°C e, em seguida, foram acrescentados 0,88 mL de trietilamina (Et_3N) (6,3 mmol, 1,5 equiv. e 876 mg de cloreto de 4-toluenossulfonila (**24**). A mistura de reação foi agitada por 18 horas a temperatura ambiente, até o consumo total dos materiais de partida, acompanhado por CCD. Após esse tempo, 10 mL de água destilada foi adicionada ao frasco de reação, e a fase aquosa foi extraída três vezes com DCM (3 x 30 mL), utilizando um funil de separação. As fases orgânicas foram combinadas, secas em Na_2SO_4 , filtradas e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, fornecendo um óleo. O óleo obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, utilizando PET e AcOEt (8:2) como eluentes, fornecendo 950 mg do tosilato **26** (4 mmol, 98%) como um óleo incolor.

Fórmula molecular: C₁₂H₁₆O₃S

Massa molar: 240,08 g mol⁻¹

Aspecto: óleo incolor

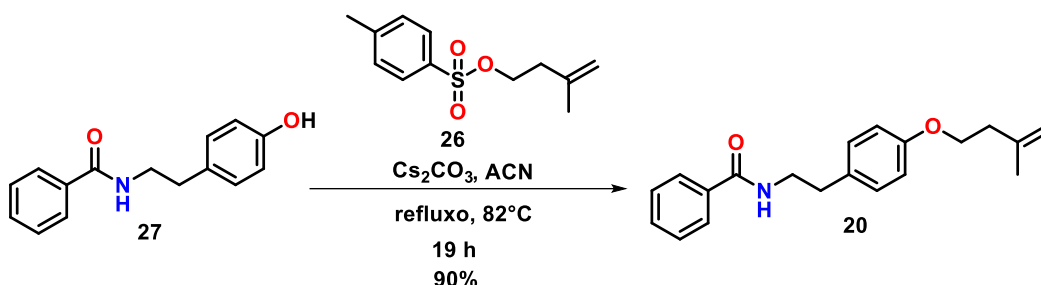
Rendimento: 95%

IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹): 2970, 2352, 1650, 1598, 1356, 1173, 1096, 960, 896, 814, 776, 661⁴⁷

HRMS (ESI⁺): (m/z) [M+H]⁺ encontrada: 241,9000, massa calculada para [C₁₂H₁₆O₃S]⁺: 241,0898⁴⁷

RMN ¹H e ¹³C: Apêndice do Capítulo II.

5.4 Síntese da *N*-(4-((3-metilbut-3-en-1-il)oxi)fenetil)benzamida (**20**)



Em um balão bitubulado, equipado com uma barra magnética e um condensador, foram adicionados 40 mg de *N*-(4-hidroxifenetil)benzamida (**27**) (1,4 mmol, 1,0 equiv.), 688 mg (2,1 mmol, 1,5 equiv.) de **26** e 10 mL de acetonitrila (ACN) anidra. O frasco foi selado com um septo em atmosfera de N₂ e submetido à aquecimento de 82 °C por 10 minutos. Após esse tempo, 500 mg de 3-metilbut-3-en-1-il 4-metilbenzenesulfonato (**26**) (1,55 mmol, 1,1 equiv.) foi adicionado ao frasco com o auxílio de uma seringa e a mistura de reação foi agitada por 19 horas, até o desaparecimento do material de partida limitante. Após esse tempo, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente e 10 mL de água destilada foi vertida ao frasco de reação. A fase aquosa foi extraída com DCM (2 x 10 mL) em um funil de separação e as fases orgânicas foram combinadas e lavadas com 10 mL de solução saturada de cloreto de amônio (NH₄Cl), secas com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, utilizando PET e AcOEt (6:4) como eluentes, fornecendo 390 mg do composto **20** (1,26 mmol, 90%) como um sólido branco.

Fórmula molecular: C₂₀H₂₃NO₂

Massa molar: 309,178 g·mol⁻¹

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão: 71,7 – 73,8 °C

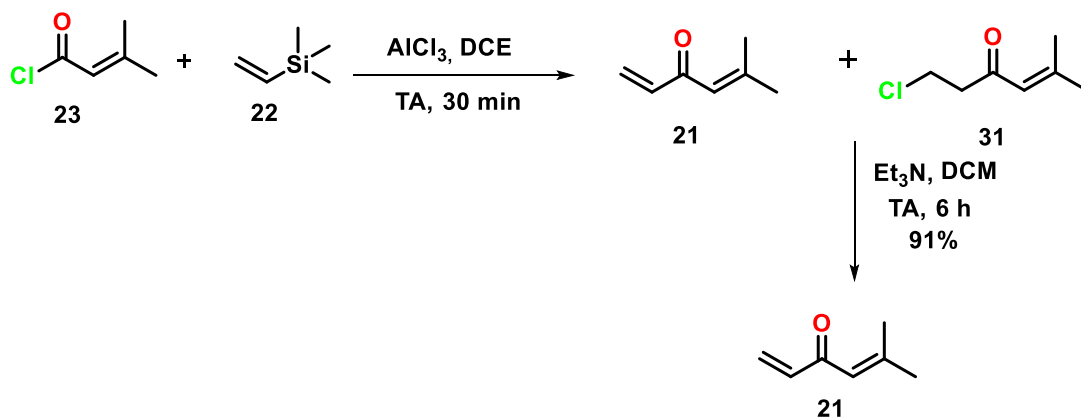
Rendimento: 90%

IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹): 3311, 3081, 3064, 2973, 1639, 1611, 1532, 1508, 1477, 1313, 1112, 1036, 881, 817, 800, 692, 667 (exp.)

HRMS (ESI⁺): (*m/z*) [M+H]⁺ encontrada: 310,1799 (exp.), massa calculada para [C₂₀H₂₄NO₂]⁺: 310,1729.

RMN ¹H e ¹³C: Apêndice do Capítulo II.

5.5 Síntese da 5-metil-hexa-1,4-dien-3-ona (**21**)⁵⁰



Em um balão de fundo redondo, sob atmosfera de N₂, adicionaram-se 667 mg de cloreto de alumínio (5,0 mmol, 1,0 equiv.) em 10 mL de DCE seco, seguida da adição de 600 mg de cloreto de 3-metilbut-2-enoil (**23**) (5,0 mmol, 1,0 equiv.) e 0,7 mL trimetilvinilsilano (**22**) (5,5 mmol, 1,1 equiv.) em temperatura ambiente. A mistura foi agitada por 30 minutos e, após esse tempo, 10 mL de solução saturada de NH₄Cl foi vertida no frasco e a fase aquosa foi extraída com DCM (2 x 10 mL) em um funil de separação. As frações orgânicas combinadas foram lavadas com 10 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃), secas com Na₂SO₄ e concentrada sob pressão reduzida e fornecendo um óleo amarelo como uma mistura de compostos (550 mg). O óleo bruto foi colocado em um balão de fundo redondo, sob atmosfera de N₂, com 5 mL de DCM seco e 0,7 mL de Et₃N (5,0 mmol, 1,0 equiv.),

e o sistema foi agitado por 6 horas à temperatura ambiente. Após esse tempo 10 mL de água destilada foi vertida na reação e a fase aquosa foi extraída com DCM (2 x 10 mL), lavada com 10 mL de solução saturada de NH_4Cl , seca com Na_2SO_4 , filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O óleo obtido foi purificado em coluna de sílica gel, utilizando PET e éter etílico (8:2) como eluente, fornecendo 500 mg da cetona **21** como um óleo amarelo (4,55 mmol, 91%).

Fórmula molecular: $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}$

Massa molar: $110,07 \text{ g mol}^{-1}$

Aspecto: óleo amarelo

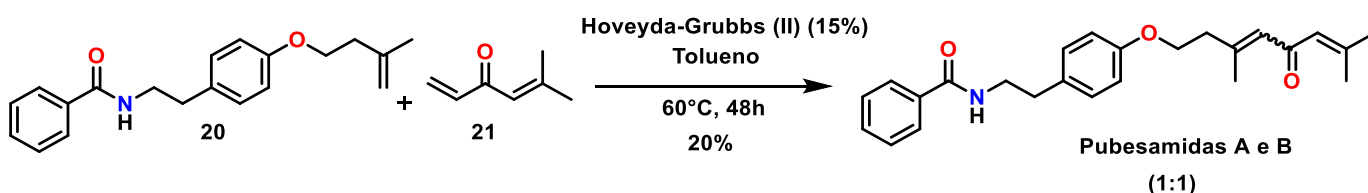
Rendimento: 91%

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3182, 3044, 1733, 1386, 705, 647.⁵⁰

HRMS (ESI⁺): (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ encontrada: 111,0804 (exp.); massa calculada para $[\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}]^+$: 111, 0732

RMN ^1H e ^{13}C : Apêndice do Capítulo II.

5.6 Síntese das pubesamidas A e B



Em um balão bitubulado, equipado com um condensador e uma barra magnética, foram adicionados 480 mg do composto **7** (1,56 mmol, 4,0 equiv.), 12 mg do catalisador Hoveyda-Grubbs (II) (0,02 mmol, 0,05 equiv.) e 50 mg do composto **10**, em 1 mL de tolueno anidro. O sistema foi selado com um septo, sob atmosfera de N_2 e submetido a aquecimento (60°C). Uma solução estoque do catalisador Hoveyda-Grubbs (II) foi preparada (24 mg, 0,04 mmol, 10% em 1,0 mL em tolueno) e adicionada a cada uma hora (0,2 mL x 5). A mistura de reação foi agitada por 48 horas no total e, após esse tempo, resfriada à temperatura ambiente e o volume da reação reduzido para 0,5 mL. A reação bruta foi transferida diretamente para uma coluna cromatográfica de sílica gel, usando PET e EtOAc como eluentes (6:4) para

fornecer os compostos título como uma mistura de isômeros (31 mg, 0,079 mmol, 20%). A separação dos isômeros foi realizada por placa preparativa de TLC em sílica gel, usando PET e EtOAc como eluentes (7:3), fornecendo os isômeros *Z* (pubesamida A) (8 mg, 0,02 mmol, 5%), e *E* (pubesamida B) (7,5 mg, 0,19 mmol, 4,8 %), ambos como sólidos amarelos.

Pubesamida A

Fórmula molecular: $C_{25}H_{29}NO_3$

Massa molar: 391,21 $g\text{mol}^{-1}$

Aspecto: sólido amarelo

Faixa de fusão: 88-91 °C (lit.); 88,7-91,2 °C (exp.)

Rendimento: 5%

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3347, 2919, 2851, 1671, 1633, 1529, 1510, 1435, 1378, 1308, 1243, 1177, 1113, 1032, 873, 772, 693, 670.

HRMS (ESI⁺): (m/z) [$M+H$]⁺ encontrada: 391,2220 (lit.),¹⁹ 392,2217 (exp.); massa calculada para $[C_{25}H_{30}NO_3]^+$: 392,2226.

RMN ¹H e ¹³C: Apêndice do Capítulo II.

Pubesamida B

Fórmula molecular: $C_{25}H_{29}NO_3$

Massa molar: 391,21 $g\text{mol}^{-1}$

Aspecto: sólido amarelo

Faixa de fusão: 88,7 - 91,2 °C (exp.).

Rendimento: 4,8 %

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3292, 2921, 2871, 1729, 1630, 1538, 1512, 1446, 1381, 1316, 1242, 1159, 1115, 1037, 879, 754, 692, 668,

HRMS (ESI⁺): (m/z) [$M+H$]⁺ encontrada: 392,2218, massa calculada para $[C_{25}H_{30}NO_3]^+$: 392,2226.

RMN ¹H e ¹³C: Apêndice do Capítulo II.

Apêndices Capítulo I

Apêndice 1: Quadros de RMN de ^1H e ^{13}C

Apêndice 2: Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos obtidos

Apêndice 3: Espectros na região do IV

Apêndice 4: Espectros de Massas

Apêndice 1 – Tabelas de RMN

Tabela 1. Dados de RMN de ^1H dos compostos **27a** e **24a**

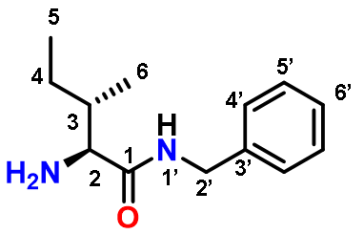
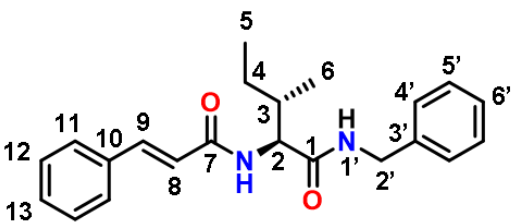
	 27a (CDCl_3, 400 MHz)			 24a ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
H1'	7,62	s	-	8,61	t	H1'/H2'=8
H2'	4,38	d	H2'/H1'=8	4,27	d	H2'/H1'=8
H4'	7,27-7,20	m	-	7,31-7,22	m	-
H5'	7,27-7,20	m	-	7,31-7,22	m	-
H6'	7,27-7,20	m	-	7,31-7,22	m	-
H2	3,25	d	H2/H3=6	4,36	t	H2/NH=8 H2/H3=8
H3	2,02-1,98	m	-	1,80-1,79	m	-
H4(a)	1,04-0,97	m	-	1,15-1,12	m	-
H4(b)	1,36-1,28	m	-	1,47-1,43	m	-
H5	0,83	t	H5/H4=8	0,85-0,82	m	-
H6	0,86	d	H6/H3=8	0,85-0,82	m	-
H8	-	-	-	6,87	d	H8/H9= 16
H9	-	-	-	7,45-7,37	m	-
H11	-	-	-	7,57-7,55	m	-
H12	-	-	-	7,45-7,37	m	-
H13	-	-	-	7,45-7,37	m	-
NH ₂	1,65	s	-	-	-	-
NH	-	-	-	8,17	d	NH/H2=8

Tabela 2. Dados de RMN de ^1H dos compostos **24b** e **24c**

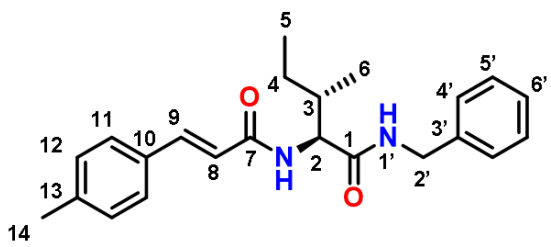
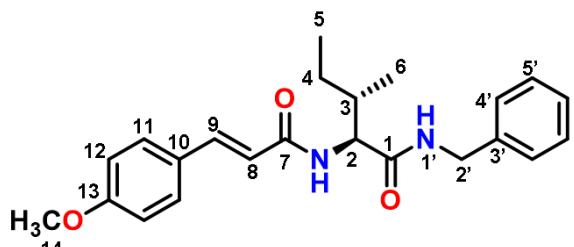
	 24b (DMSO-d_6, 400 MHz)			 24c (DMSO-d_6, 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
H1'	8,58	t	H1'/H2'=8	8,58	t	H1'/H2'=8
H2'	4,28	d	H2'/H1'=8	4,28	d	H2'/H1'=8
H4'	7,32-7,21	m	-	7,31-7,22	m	-
H5'	7,32-7,21	m	-	7,31-7,22	m	-
H6'	7,32-7,21	m	-	7,31-7,22	m	-
H2	4,33	t	H2/NH=8 H2/H3=8	4,35	t	H2/NH=8 H2/H3=8
H3	1,79-1,77	m	-	1,79-1,78	m	-
H4(a)	1,10-1,14	m	-	1,15-1,11	m	-
H4(b)	1,44-1,43	m	-	1,47-1,43	m	-
H5	0,84-0,80	m	-	0,85-0,81	m	-
H6	0,84-0,80	m	-	0,85-0,81	m	-
H8	6,79	d	H8/H9= 16	6,72	d	H8/H9= 16
H9	7,38	d	H9/H8= 16	7,38	d	H9/H8= 16
H11	7,46-7,44	m	-	7,52-7,50	m	-
H12	7,32-7,21	m	-	6,99-6,97	m	-
H13	-	-	-	-	-	-
H14	2,31	s	-	3,79	s	-
NH	8,11	d	NH/H2=8	8,05	d	NH/H2=8

Tabela 3. Dados de RMN de ^1H dos compostos **24d** e **24e**

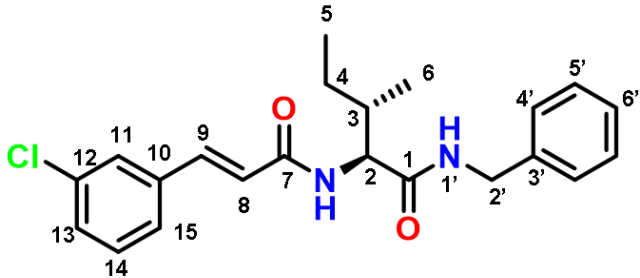
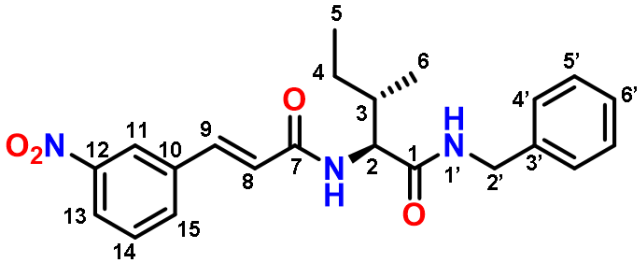
	 24d (DMSO-d_6, 400 MHz)			 24e (DMSO-d_6, 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
H1'	8,61	t	H1'/H2'=8	8,63	t	H1'/H2'=8
H2'	4,29	d	H2'/H1'=8	4,28	d	H2'/H1'=8
H4'	7,33-7,22	m	-	7,31-7,23	m	-
H5'	7,33-7,22	m	-	7,31-7,23	m	-
H6'	7,33-7,22	m	-	7,31-7,23	m	-
H2	4,36	t	H2/NH=8 H2/H3=8	4,37	t	H2/NH=8 H2/H3=8
H3	1,80-1,78	m	-	1,81-1,78	m	-
H4 (a)	1,16-1,08	m	-	1,18-1,10	m	-
H4 (b)	1,45-1,43	m	-	1,50-1,43	m	-
H5	0,85-0,81	m	-	0,86-0,78	m	-
H6	0,85-0,81	m	-	0,86-0,78	m	-
H8	6,88	d	H8/H9= 16	7,09	d	H8/H9=16
H9	7,42	d	H9/H8= 16	7,56	d	H9/H8=16
H11	7,60-7,48	m	-	8,25-8,23	m	-
H12	-	-	-	-	-	-
H13	7,60-7,48	m	-	8,25-8,23	m	-
H14	7,60-7,48	m	-	7,74-7,70	m	-
H15	7,60-7,48	m	-	8,02-8,00	m	-
NH	8,18	d	NH/H2= 8	8,42	d	NH/H2= 8

Tabela 4. Dados de RMN de ^1H dos compostos **27b** e **24f**

	 27b (CDCl_3 , 400 MHz)			 24f ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
H1'	9,58	s	-	10,21	s	-
H3'	7,61-7,59	m	-	7,65-7,63	m	-
H4'	7,33-7,26	m	-	7,33-7,29	m	-
H5'	7,09	t	H5'/H4'=8	7,06	t	H5'/H4'=8
H2	3,47	d	H2/H3=6	4,49	t	H2/NH=8 H2/H3=8
H3	2,16-2,12	m	-	1,86-1,84	m	-
H4(a)	1,18-1,10	m	-	1,22-1,18	m	-
H4(b)	1,47-1,39	m	-	1,57-1,51	m	-
H5	0,90	t	H5/H4=8	0,93-0,85	m	-
H6	1,01	d	H6/H3=8	0,93-0,85	m	-
H8	-	-	-	6,89	d	H9/H8=16
H9	-	-	-	7,47-7,38	m	-
H11	-	-	-	7,58-7,56	m	-
H12	-	-	-	7,47-7,38	m	-
H13	-	-	-	7,47-7,38	m	-
NH ₂	2,16-2,12	m	-	-	-	-
NH	-	-	-	8,34	d	NH/H2=8

Tabela 5. Dados de RMN de ^1H dos compostos **24g** e **24h**

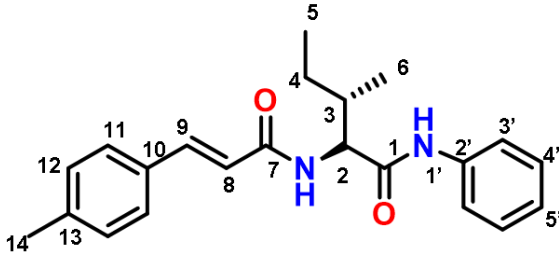
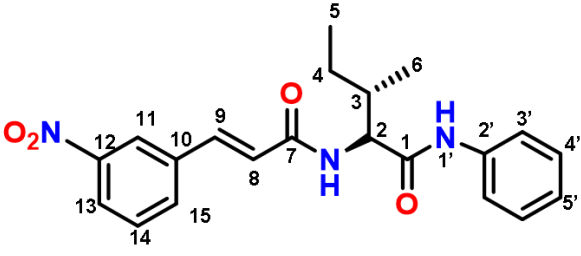
	 24g (DMSO-d_6, 400 MHz)			 24h (DMSO-d_6, 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
H1'	10,21	s	-	10,22	s	-
H3'	7,65-7,63	m	-	7,64-7,62	m	-
H4'	7,33-7,29	m	-	7,33-7,30	m	-
H5'	7,07-7,04	m	-	7,08-7,06	m	-
H2	4,48	t	H2/NH=8 H2/H3=8	4,50	t	H2/NH=8 H2/H3=8
H3	1,85-1,83	m	-	1,88-1,83	m	-
H4(a)	1,21-1,18	m	-	1,23-1,17	m	-
H4(b)	1,54-1,52	m	-	1,58-1,52	m	-
H5	0,92-0,85	m	-	0,94-0,86	m	-
H6	0,92-0,85	m	-	0,94-0,86	m	-
H8	6,83	d	H8/H9=16	7,06-7,12	m	-
H9	7,41	d	H9/H8=16	7,58	d	H9/H8=16
H11	7,47-7,45	m	-	8,43-8,40	m	-
H12	7,24-7,22	m	-	-	m	-
H13	-	-	-	7,75-7,71	m	-
H14	2,32	s	-	7,73	d	H15/H14= 6
H15	-	-	-	8,02	d	H15/H14= 6
NH	8,32	d	NH/H2=8	8,23-8,21	m	-

Tabela 6. Dados de RMN de ^1H dos compostos **27c** e **24i**

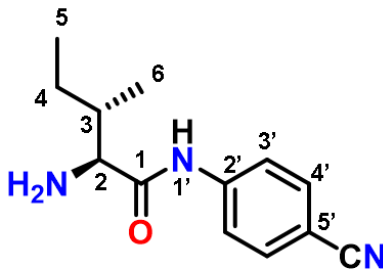
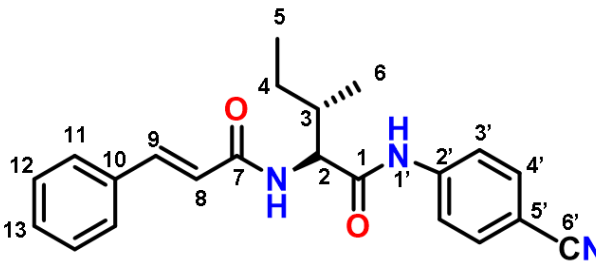
	 27c (CDCl_3, 400 MHz)			 24i ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
H1'	9,93	s	-	10,70	s	-
H3'	7,75-7,73	m	-	7,85-7,78	m	-
H4'	7,62-7,60	m	-	7,85-7,78	m	-
H2	3,45	d	H2/H3=8	4,49	t	H2/H3=6 H2/NH=6
H3	2,18-2,14	m	-	188-1,86	m	-
H4(a)	1,19-1,12	m	-	1,23-1,20	m	-
H4(b)	1,42-1,36	m	-	1,55-1,52	m	-
H5	0,90	t	H5/H4=8	0,93-0,85	m	-
H6	1,01	d	H6/H3=8	0,93-0,85	m	-
H8	-	-	-	6,87	d	H9/H8=16
H9	-	-	-	7,47-7,38	m	-
H11	-	-	-	7,58-7,56	m	-
H12	-	-	-	7,47-7,38	m	-
H13	-	-	-	7,47-7,38	m	-
NH ₂	1,64	s	-	-	-	-
NH	-	-	-	8,45	d	NH/H2=8

Tabela 7. Dados de RMN de ^1H dos compostos **24j** e **24k**

24j (DMSO-d_6, 400 MHz)				24k (DMSO-d_6, 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
H1'	10,68	s	-	10,71	s	-
H3'	7,83-7,78	m	-	7,85-7,73	m	-
H4'	7,83-7,78	m	-	7,85-7,73	m	-
H2	4,46	t	H2/H3=8 H2/NH=8	4,51	t	H2/H3=8 H2/NH=8
H3	1,90-1,83	m	-	1,89-1,87	m	-
H4(a)	1,23-1,20	m	-	1,24-1,21	m	-
H4(b)	1,41-1,18	m	-	1,55-1,52	m	-
H5	0,92-0,85	m	-	0,94-0,84	m	-
H6	0,92-0,85	m	-	0,94-0,84	m	-
H8	6,72	d	H8/H9=16	7,09	d	H8/H9=16
H9	7,40	d	H9/H8=16	7,59	d	H9/H8=16
H11	7,54-7,51	m	-	8,43-8,39	m	-
H12	7,00-6,98	m	-	-	-	-
H13	-	-	-	8,24-8,22	m	-
H14	3,79	s	-	7,85-7,83	m	-
H15	-	-	-	8,02	d	H15/H14=8
NH	8,35	d	NH/H2=8	8,52	d	NH/H2=8

Tabela 9. Dados de RMN de ^1H dos compostos 27e, 24n e 24o

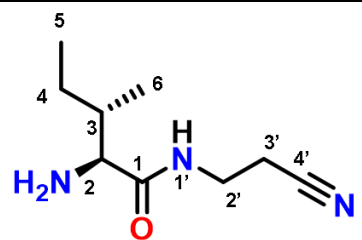
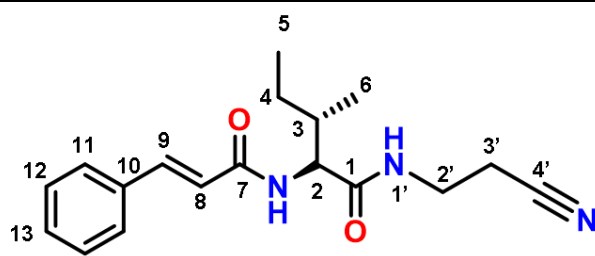
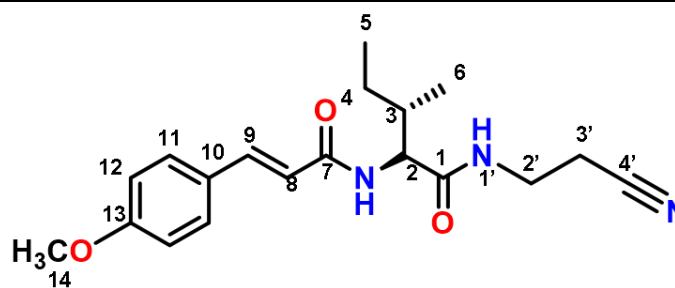
												
	27e (CDCl ₃ , 400 MHz)				24n (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz)				24o (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz)			
H	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
H1'	7,92	s	-	8,45	t	H1'/H2'=8	8,40	t	H1'/H2'=8			
H2'	3,58-3,48	m	-	3,24-3,20	m	-	3,24-3,18	m	-			
H3'	2,64	t	H3'/H2' = 6,0	3,30	s	-	3,35	s	-			
H2	3,25	d	H2/H3=8	2,68-2,56	m	-	2,62-2,58	m	-			
H3	2,02-1,98	m	-	1,75-1,73	m	-	1,73-1,71	m	-			
H4 (a)	1,39-1,33	m	-	1,45-1,41	m	-	1,41-1,39	m	-			
H4 (b)	1,16-1,09	m	-	1,13-1,09	m	-	1,13-1,07	m	-			
H5	0,91	t	H5/H4=8	0,85-0,79	m	-	0,83-0,77	m	m			
H6	0,98	d	H6/H3=8	0,85-0,79	m	-	0,83-0,77	m	-			
H8	-	-	-	6,84	d	H8/H9= 16	6,67	d	H8/H9= 16			
H9	-	-	-	7,41-7,34	m	-	7,32	d	H8/H9= 16			
H11	-	-	-	7,54-7,52	m	-	7,46	d	H11/H12= 8			
H12	-	-	-	7,41-7,34	m	-	6,93	d	H12/H11=8			
H13	-	-	-	7,41-7,34	m	-	-	-	-			
H14	-	-	-	-	-	-	3,74	s	-			
NH				8.15	d	NH/H2=8	8.01	d	NH/H2=8			

Tabela 10. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos 27a, 24a e 24b

	27a (CDCl_3, 100 MHz)	24a ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz)	24b ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz)
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
C2'	43,3	40,2	40,2
C3'	138,6	139,4	139,5
C4'	127,9	127,5	127,4
C5'	128,8	128,2	128,3
C6'	127,5	126,7	126,9
C1	173,5	171,1	171,3
C2	59,8	59,8	57,2
C3	37,9	36,8	38,9
C4	24,0	24,4	24,5
C5	12,0	11,0	11,1
C6	16,0	16,0	15,6
C7	-	164,8	165,2
C8	-	122,3	121,3
C9	-	138,8	139,3
C10	-	135,0	139,0
C11	-	129,0	127,6
C12	-	127,5	132,3
C13	-	129,4	122,3
C14	-	-	21,0

Tabela 12. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos 27b, 24f e 24g

	 27b (CDCl_3 , 100 MHz)	 24f ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz)	 24g ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz)
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
C2'	137,9	138,8	138,8
C3'	119,6	119,3	119,3
C4'	129,1	128,7	129,6
C5'	124,2	123,4	123,4
C1	172,3	170,4	170,5
C2	60,2	57,8	57,8
C3	37,9	36,9	36,7
C4	23,9	24,6	24,6
C5	12,1	10,9	10,9
C6	16,3	15,4	15,4
C7	-	165,0	165,1
C8	-	122,1	121,0
C9	-	138,8	139,0
C10	-	135,0	138,8
C11	-	128,7	129,6
C12	-	127,5	126,7
C13	-	129,5	132,2
C14	-	-	21,0

Tabela 12. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **24h**, **27c** e **24i**

	24h (DMSO-d_6, 100 MHz)	27c (CDCl$_3$, 100 MHz)	24i (DMSO-d_6, 100 MHz)
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
C2'	136,7	141,8	142,9
C3'	119,3	119,4	119,3
C4'	128,8	133,4	133,4
C5'	123,4	119,4	119,1
C6'	-	106,9	105,2
C1	170,2	173,3	171,4
C2	57,8	60,3	58,1
C3	37,0	38,0	38,9
C4	24,5	23,9	24,6
C5	10,9	12,10	10,8
C6	15,4	16,5	15,4
C7	164,4	-	165,1
C8	121,4	-	121,8
C9	136,9	-	134,9
C10	134,0	-	139,3
C11	138,8	-	127,6
C12	148,3	-	129,0
C13	160,3	-	129,6
C14	130,5	-	-
C15	125,0	-	-

Tabela 13. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **24j**, **24k** e **27d**

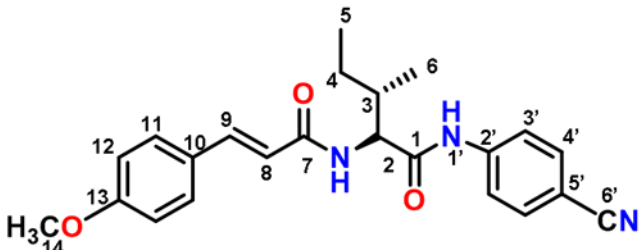
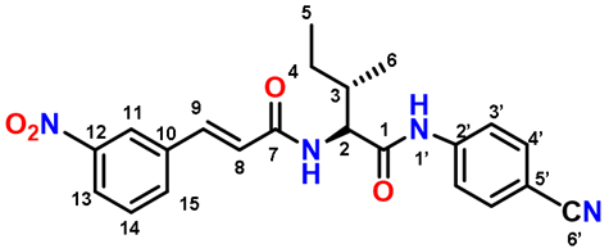
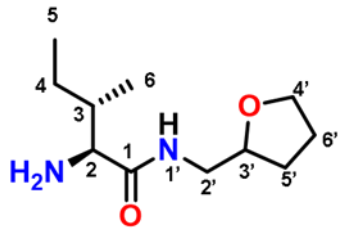
	 24j (DMSO-d_6, 100 MHz)	 24k (DMSO-d_6, 100 MHz)	 27d (CDCl$_3$, 100 MHz)
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
C2'	143,0	143,0	42,9
C3'	119,4	119,0	77,9
C4'	133,4	134,0	68,10
C5'	119,1	119,3	28,7
C6'	105,2	105,2	25,8
C1	171,6	171,2	173,8
C2	58,1	58,1	59,8
C3	39,1	38,9	37,8
C4	24,6	24,5	23,9
C5	10,8	10,8	11,8
C6	15,4	15,3	16,0
C7	165,5	164,6	-
C8	119,4	119,3	-
C9	139,4	136,9	-
C10	127,5	124,7	-
C11	129,2	130,6	-
C12	114,5	148,3	-
C13	160,4	123,8	-
C14	55,3	136,8	-

Tabela 14. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **24l** e **24m**

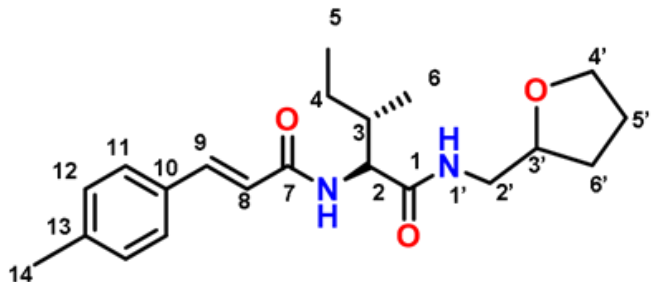
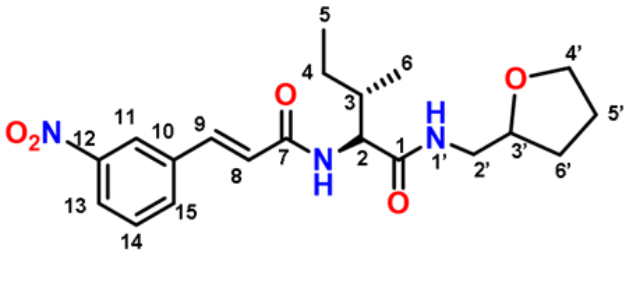
	 24l (DMSO-d_6, 100 MHz)	 24m (DMSO-d_6, 100 MHz)
C	δ (ppm)	δ (ppm)
C2'	40,6	40,2
C3'	77,4	77,0
C4'	25,6	25,1
C5'	29,0	28,7
C6'	67,6	67,2
C1	171,7	171,0
C2	57,4	59,8
C3	39,6	37,8
C4	24,9	24,4
C5	11,5	11,0
C6	15,9	15,4
C7	165,0	164,1
C8	139,6	134,0
C9	121,7	121,4
C10	139,2	136,9
C11	130,0	134,0
C12	127,9	148,3
C13	132,7	125,3
C14	21,4	130,5
C15	-	123,7

Tabela 15. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos 27e, 24n e 24o

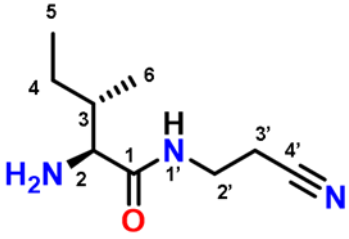
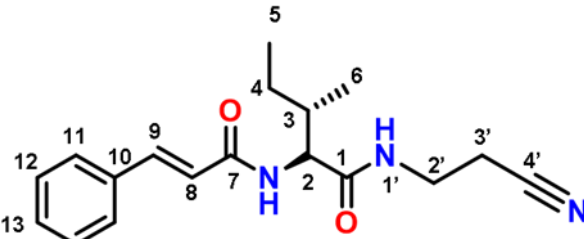
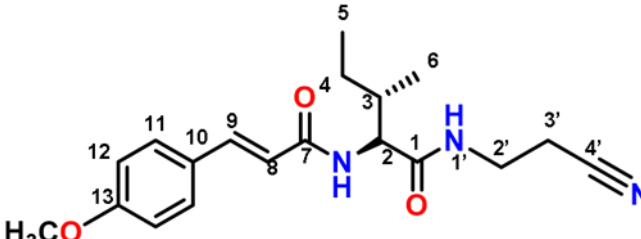
	 27e (CDCl_3, 100 MHz)	 24n ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz)	 24o ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz)
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
C2'	35,3	34,9	34,5
C3'	18,5	17,5	17,4
C4'	118,3	119,3	119,2
C1	175,4	171,5	171,6
C2	59,8	56,9	56,9
C3	38,0	36,9	38,9
C4	23,8	24,4	24,4
C5	12,0	11,0	11,0
C6	16,2	15,5	15,5
C7	-	165,0	165,1
C8	-	122,2	119,7
C9	-	138,9	138,6
C10	-	135,0	119,7
C11	-	129,0	129,1
C12	-	127,5	114,4
C13	-	129,5	160,3
C14	-	-	55,3

Tabela 16. Dados de RMN de ^1H dos compostos **37**, **34a**, **34b** e **34c** (CDCl_3 , 400 MHz)

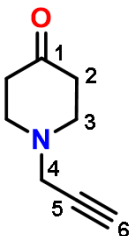
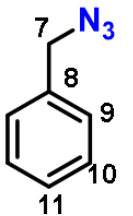
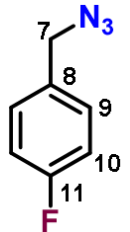
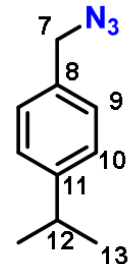
	 37 (CDCl ₃ ,400 MHz)			 34a (CDCl ₃ ,400 MHz)			 34b (CDCl ₃ ,400 MHz)			 34c (CDCl ₃ ,400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
2	2,44	t	H2/H3=6,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	2,82	t	H2/H3=6,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	3,39	d	H4/H6=2,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	2,25	t	H6/H5=2,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	4,32	s	-	4,31	-	-	4,29	s	-
9	-	-	-	7,40-7,22	m	-	7,31-7,25	m	-	7,24-7,22	m	-
10	-	-	-	7,40-7,22	m	-	7,09-7,04	m	-	7,24-7,22	m	-
11	-	-	-	7,40-7,22	m	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,91	hep	H12/H13=6,9
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,25		

Tabela 17. Dados de RMN de ^1H dos compostos **32a**, **32b** e **32c**

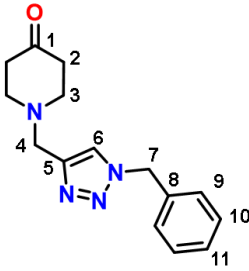
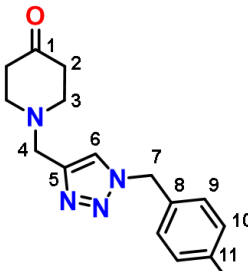
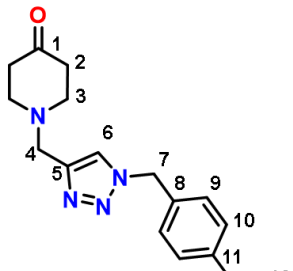
	 32a (CDCl ₃ ,400 MHz)			 32b (CDCl ₃ ,400 MHz)			 32c (CDCl ₃ ,400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
2	2,44	t	H2/H3=5,4	2,49	t	H2/H3=5,6	2,48	t	H2/H3=6,0
3	2,79	t	H3/H2=5,4	2,86	t	H3/H2=5,6	2,84	t	H3/H2=6,0
4	3,77	s	-	3,83	s	-	3,80	s	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	7,42	s	-	7,51	s	-	7,47	s	-
7	5,53	s	-	5,53	s	-	5,50	s	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	7,41-7,35	m	-	7,31-7,27	m	-	7,28-7,21	m	-
10	7,30-7,26	m	-	7,10-7,06	m	-	7,41-7,35	m	-
11	7,41-7,35	m	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	2,92	hep	H12/H13=6,9
13	-	-	-	-	-	-	1,25	d	H13/H12=6,9

Tabela 18. Dados de RMN de ^1H dos compostos **25a**, **25b** e **25c**

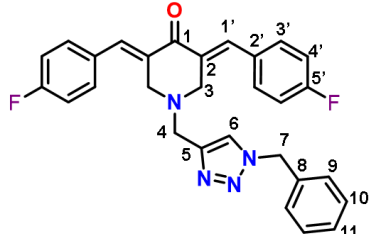
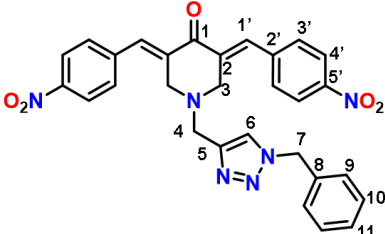
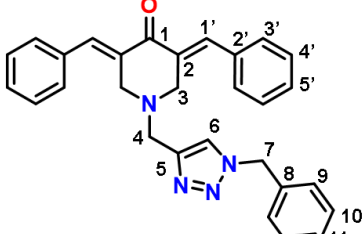
	 25a (CDCl_3 , 400 MHz)			 25b (CDCl_3 , 400 MHz)			 25c (CDCl_3 , 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
3	3,83	s		3,87	s	-	3,88	s	-
4	3,86	s	-	3,87	s	-	3,88	s	-
6	7,35-7,26	m	-	7,32-7,27	m	-	7,28	s	-
7	5,43	s	-	5,45	s	-	5,39	s	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	7,35-7,26	m	-	7,32-7,27	m	-	7,31-7,27	m	-
10	7,14-7,07	m	-	7,19-7,17	m	-	6,96-6,92	m	-
11	7,35-7,26	m	-	7,32-7,27	m	-	-	-	-
H1'	7,73	s	-	7,78	s	-	7,81	-	-
H3'	7,35-7,26	m	-	7,48	d	$\text{H3'}/\text{H4'}=8,6$	7,44-7,37	m	-
H4'	7,14-7,07	m	-	8,24	d	$\text{H4'}/\text{H3'}=8,6$	7,44-7,37	m	-
H5'	-	-	-	-	-	-	7,11-7,08	m	-

Tabela 19. Dados de RMN de ^1H dos compostos **25d**, **25e** e **25f**

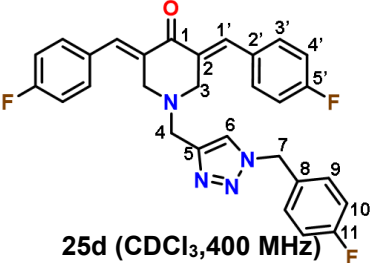
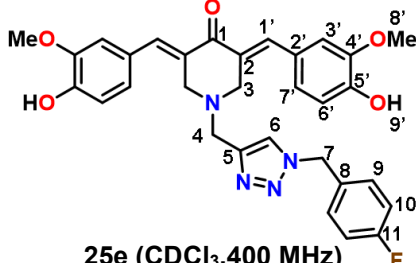
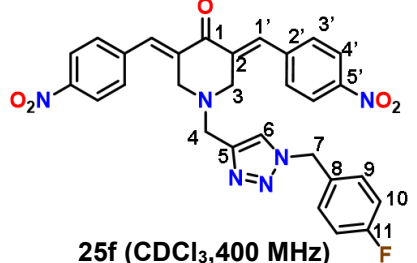
	 25d (CDCl_3 , 400 MHz)			 25e (CDCl_3 , 400 MHz)			 25f (CDCl_3 , 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
3	3,83	s	-	3,87	s	-	3,88-3,87	m	-
4	3,86	s	-	3,87	s	-	3,88-3,87	m	-
6	7,27	s	-	7,27	m	-	7,32	s	-
7	5,39	s	-	5,38	s	-	5,42	s	-
9	7,14-7,07	m	-	7,11-7,08	m	-	7,19-7,16	m	-
10	6,98-6,93	m	-	6,95-7,88	m	-	7,01-6,97	m	-
1'	7,73	s	-	7,71	s	-	7,78	s	-
3'	7,35-7,26	m	-	6,95-7,88	m	-	7,50	d	$\text{H4'}/\text{H3'}=8,8$
4'	7,14-7,07	m	-	-	-	-	8,26	d	$\text{H4'}/\text{H3'}=8,8$
6'	-	-	-	6,95-7,88	m	-	-	-	-
7'	-	-	-	6,95-7,88	m	-	-	-	-
8'	-	-	-	3,91	s	-	-	-	-
9'	-	-	-	6,07	s	-	-	-	-

Tabela 20. Dados de RMN de ^1H dos compostos **25g**, **25h** e **25i** (CDCl_3 , 400 MHz)

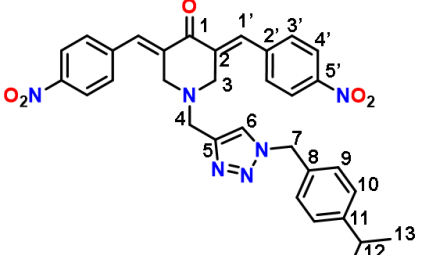
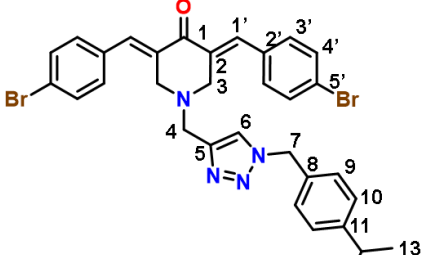
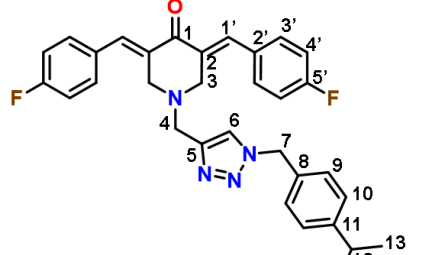
	 25g (CDCl_3 , 400 MHz)			 25h (CDCl_3 , 400 MHz)			 25i (CDCl_3 , 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
3	3,88-3,86	m	-	3,86-3,83	m	-	3,86-3,83	m	-
4	3,88-3,86	m	-	3,86-3,83	m	-	3,86-3,83	m	-
6	7,33	s	-	7,26-7,06	s	-	7,29	s	-
7	5,42	s	-	5,40	s	-	5,40	s	-
9	7,18-7,16 ou 7,12-7,10	m	-	7,26-7,06	m	-	7,14-7,05	m	-
10	7,18-7,16 ou 7,12-7,10	m	-	7,26-7,06	m	-	7,14-7,05	m	-
12	2,88	hep	H12/H13=6,9	2,88	hep	H12/H13=6,9	2,88	hep	H12/H13=6,9
13	1,25	d	H13/H12=6,9	1,22	d	H13/H12=6,9	1,21	d	H13/H12=6,9
1'	7,78	s	-	7,70	s	-	7,73	s	-
3'	7,50	d	H3'/H4'=8,2	7,26-7,06 ou 7,57-7,52	m	-	7,36-7,33	m	-
4'	8,26	d	H3'/H4'=8,2	7,26-7,06 ou 7,57-7,52	m	-	7,14-7,05	m	-

Tabela 21. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **37**, **32a**, **32b** e **32c**

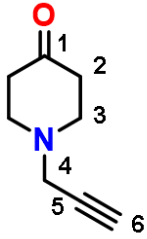
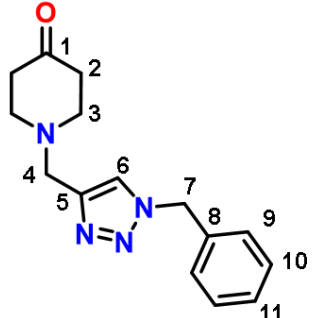
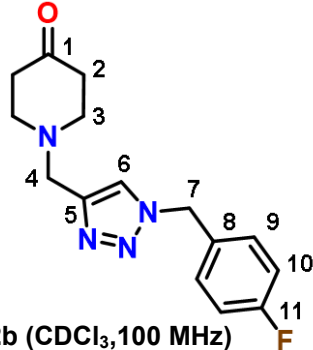
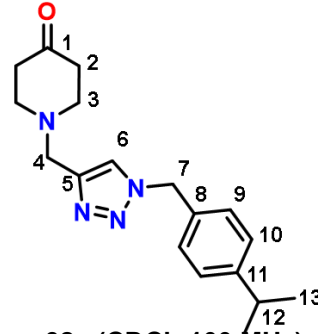
						
	37 (CDCl ₃ , 100 MHz)	32a (CDCl ₃ , 100 MHz)	32b (CDCl ₃ , 100 MHz)			32c (CDCl ₃ , 100 MHz)
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	M	J(Hz)	δ (ppm)
1	207,9	208,8	208,1	-	-	208,4
2	40,9	41,2	40,9	-	-	41,0
3	51,7	52,9	53,6	-	-	52,8
4	46,2	52,5	52,7	-	-	52,4
5	78,1	144,9	144,4	-	-	144,3
6	73,5	122,6	122,8	-	-	122,8
7	-	54,3	53,6	-	-	54,1
8	-	134,7	130,5	d	⁴ J _{C,F} =3,0	131,9
9	-	129,3 ou 128,2	130,2	d	³ J _{C,F} =8,0	128,3 ou 127,3
10	-	129,3 ou 128,2	116,2	d	² J _{C,F} =21,0	128,3 ou 127,3
11	-	128,9	163,0	d	¹ J _{C,F} =247,0	149,8
12	-	-	-	-	-	34,0
13	-	-	-	-	-	24,0

Tabela 22. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **25a**, **25b** e **25c**

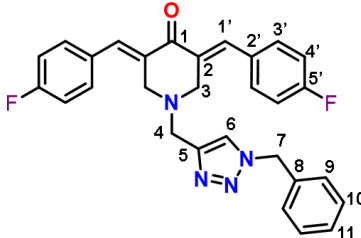
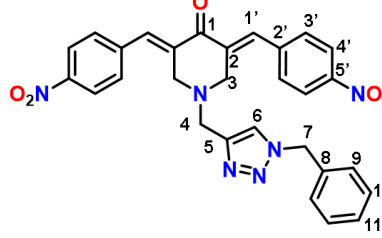
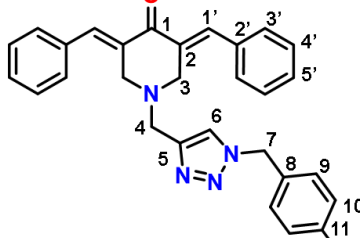
	 25a (CDCl ₃ , 100 MHz)	 25b (CDCl ₃ , 100 MHz)	 25c (CDCl ₃ , 100 MHz)				
Carbono	δ (ppm)	M	J(Hz)	δ (ppm)	δ (ppm)	M	J(Hz)
1	187,1	-	-	186,4	187,4	-	-
2	132,7	-	-	134,5	133,1	-	-
3	54,6	-	-	54,4	54,8	-	-
4	52,7	-	-	52,4	52,7	-	-
5	144,7	-	-	144,0	145,2	-	-
6	122,7	-	-	122,7	122,5	-	-
7	54,3	-	-	54,4	53,4	-	-
8	134,6	-	-	135,7	130,6	-	-
9	129,2 ou 128,0	-	-	129,3 ou 128,2	129,8	d	³ J _{C,F} =8,0
10	129,2 ou 128,0	-	-	129,3 ou 128,2	116,2	d	² J _{C,F} =22,0
11	128,9	-	-	129,0	162,2	d	¹ J _{C,F} =278,0
1'	135,6	-	-	134,4	136,7	-	-
2'	131,3	d	⁴ J _{C,F} =3,0	141,3	135,2	-	-
3'	132,5	d	³ J _{C,F} =8,0	124,0	130,6 ou 128,7	-	-
4'	116,0	d	² J _{C,F} =22,0	131,0	130,6 ou 128,7	-	-
5'	163,1	d	¹ J _{C,F} =249,0	147,8	129,2	-	-

Tabela 23. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **25d**, **25e** e **25f** (CDCl_3 , 100 MHz)

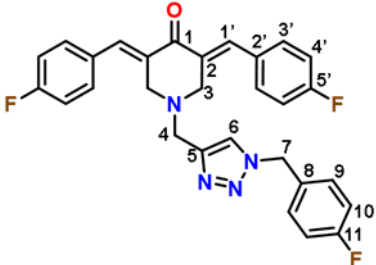
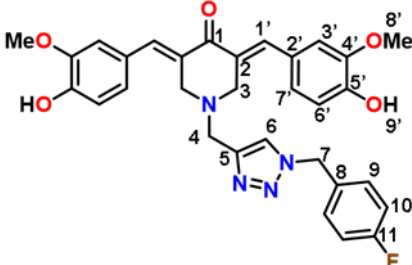
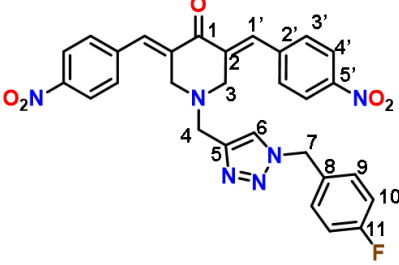
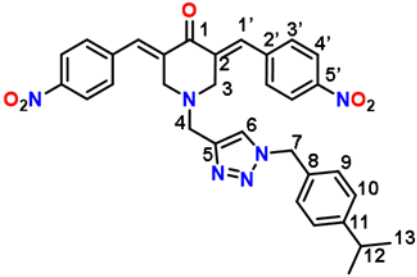
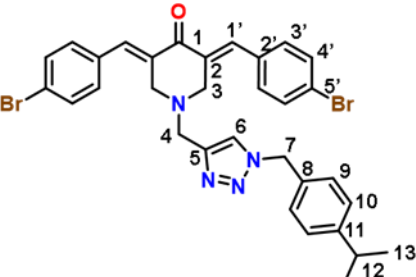
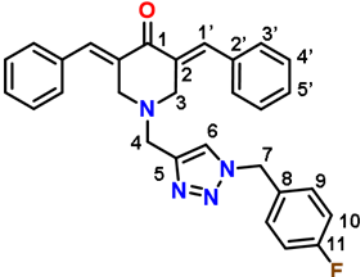
		25d (CDCl ₃ , 100 MHz)				25e (CDCl ₃ , 100 MHz)				25f (CDCl ₃ , 100 MHz)		
Carbono	δ (ppm)	M	$J(\text{Hz})$	δ (ppm)	M	$J(\text{Hz})$	δ (ppm)	M	$J(\text{Hz})$			
1	187,0	-	-	187,0	-	-	186,4	-	-			
2	132,7	-	-	131,0	-	-	135,7	-	-			
3	54,7	-	-	54,8	-	-	54,5	-	-			
4	52,7	-	-	52,7	-	-	52,5	-	-			
5	144,9	-	-	145,0	-	-	144,2	-	-			
6	122,5	-	-	122,8	-	-	122,6	-	-			
7	53,5	-	-	53,5	-	-	53,6	-	-			
8	130,4	d	$^4J_{\text{C,F}}=3,0$	130,4	d	$^4J_{\text{C,F}}=3,0$	130,4	d	$^4J_{\text{C,F}}=3,0$			
9	129,9	d	$^3J_{\text{C,F}}=8,0$	129,9	d	$^3J_{\text{C,F}}=8,0$	130,1	d	$^3J_{\text{C,F}}=8,0$			
10	116,2	d	$^2J_{\text{C,F}}=21,0$	116,3	d	$^2J_{\text{C,F}}=21,0$	116,4	d	$^2J_{\text{C,F}}=22,0$			
11	163,1 ou 162,9	d	$^1J_{\text{C,F}}=247,0$	164,1	d	$^1J_{\text{C,F}}=250,0$	164,5	d	$^1J_{\text{C,F}}=256,0$			
1'	135,6	-	-	136,9	-	-	134,4	-	-			
2'	131,3	-	$^4J_{\text{C,F}}=3,0$	129,8 ou 127,8	-	-	141,2	-	-			
3'	132,5	-	$^3J_{\text{C,F}}=8,0$	129,8 ou 127,8	-	-	124,0	-	-			
4'	116,0	-	$^2J_{\text{C,F}}=22,0$	147,1 ou 146,6	-	-	131,0	-	-			
5'	163,1 ou 162,9	-	$^1J_{\text{C,F}}=249,0$	147,1 ou 146,6	-	-	147,8	-	-			
6'	-	-	-	113,3	-	-	-	-	-			
7'	-	-	-	114,8	-	-	-	-	-			
8'	-	-	-	56,1	-	-	-	-	-			

Tabela 24. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **25g**, **25h** e **25i**

	 25g (CDCl_3 , 100 MHz)	 25h (CDCl_3 , 100 MHz)	 25i (CDCl_3 , 100 MHz)		
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	M	J(Hz)
1	186,4	187,01	187,6	-	-
2	131,8	132,0	132,7	-	-
3	54,4	54,1	54,5	-	-
4	52,4	52,4	52,8	-	-
5	143,8	144,7	144,5	-	-
6	122,7	122,8	122,7	-	-
7	54,1	54,2	54,1	-	-
8	131,9	131,9	131,9	-	-
9	128,2 ou 127,3	128,3 ou 127,3	128,1 ou 127,3	-	-
10	128,2 ou 127,3	128,3 ou 127,3	128,1 ou 127,3	-	-
11	149,8	149,8	149,7	-	-
12	34,0	33,8	33,9	-	-
13	24,0	23,9	24,0	-	-
1'	134,4	134,0	135,4	-	-
2'	141,2	132,1	132,6	d	$^4J_{\text{C,F}}=3,0$
3'	127,3	132,0 ou 131,9	132,4	d	$^3J_{\text{C,F}}=8,0$
4'	131,0	132,0 ou 131,9	116,1	d	$^2J_{\text{C,F}}=22,0$
5'	147,8	165,0	164,3	d	$^1J_{\text{C,F}}=249,0$

APÊNDICE 2: Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos obtidos

Figura 1. Espectro de RMN de ^1H do composto 24b (DMSO- d_6 , 400 MHz)

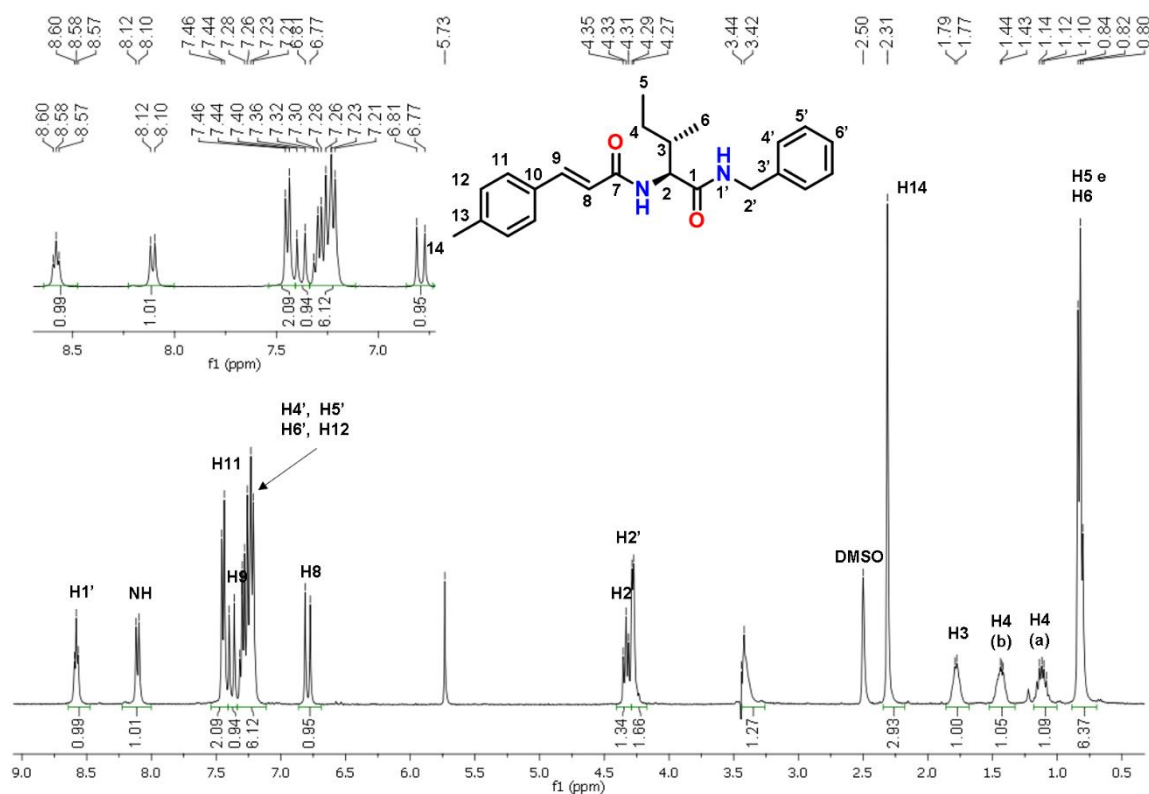


Figura 2. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24b (DMSO- d_6 , 100 MHz)

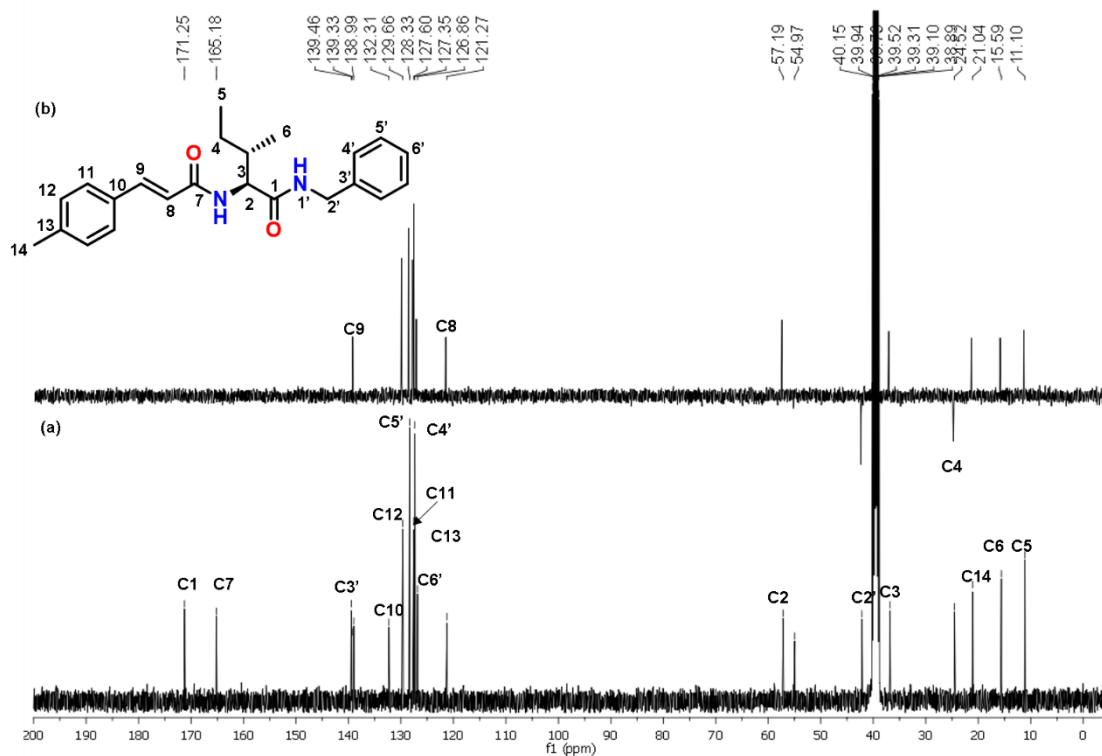


Figura 3. Espectro de RMN de ^1H do composto 24c (DMSO- d_6 , 400 MHz)

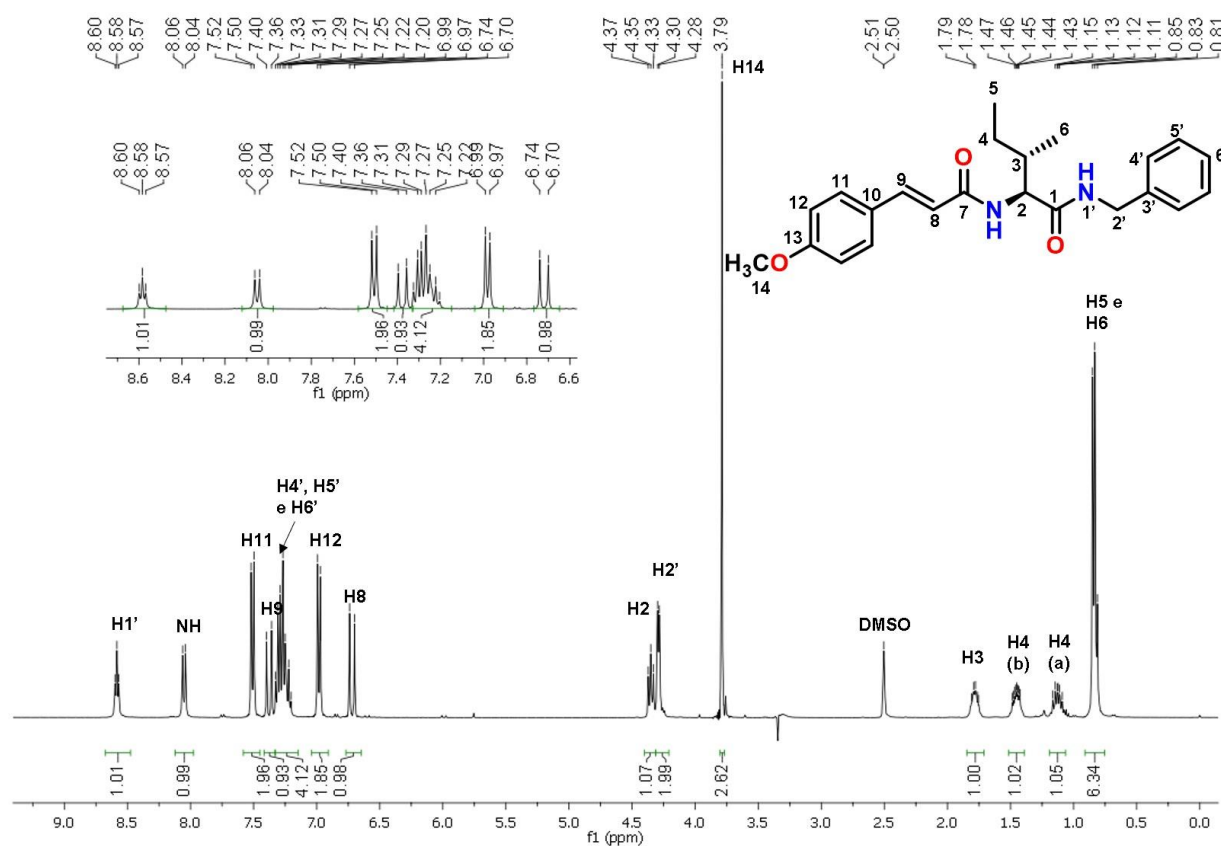


Figura 4. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24c (DMSO- d_6 , 100 MHz)

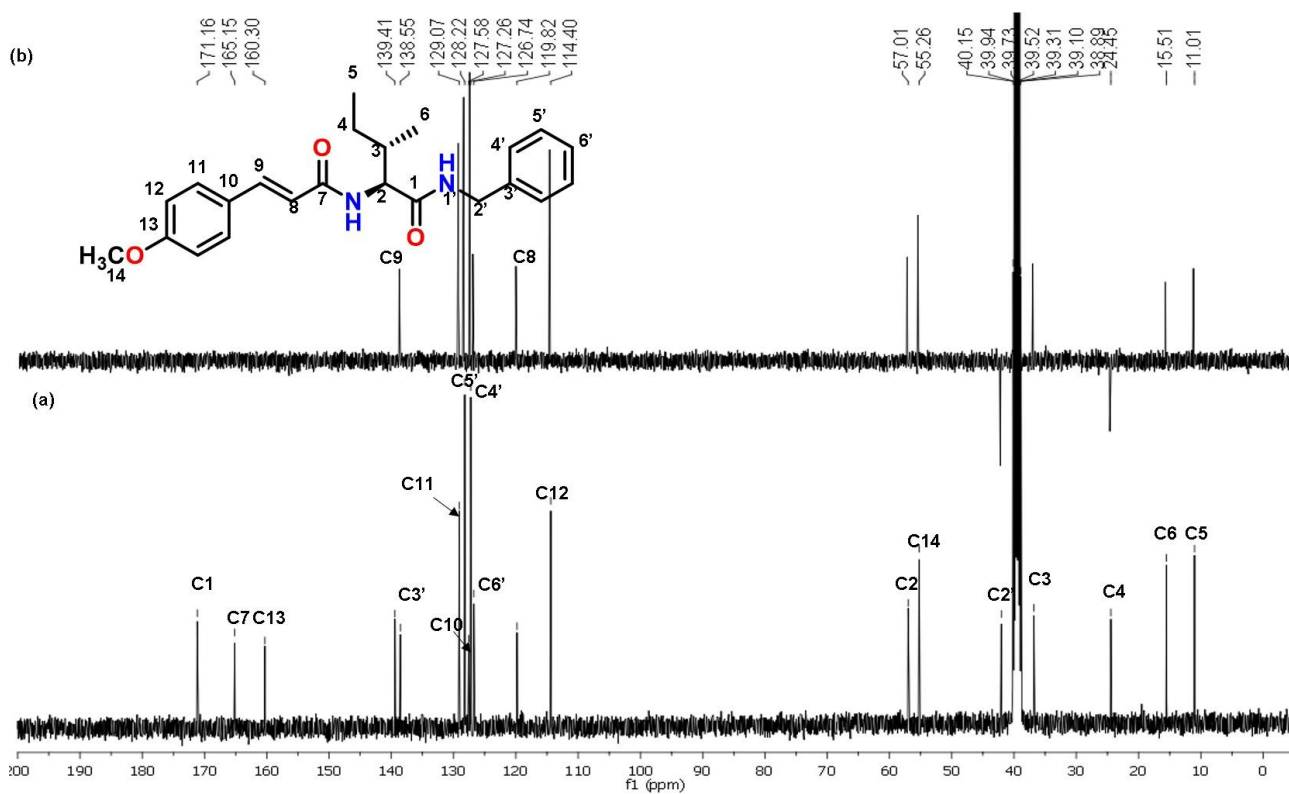


Figura 5. Espectro de RMN de ^1H do composto 24d (DMSO- d_6 , 400 MHz)

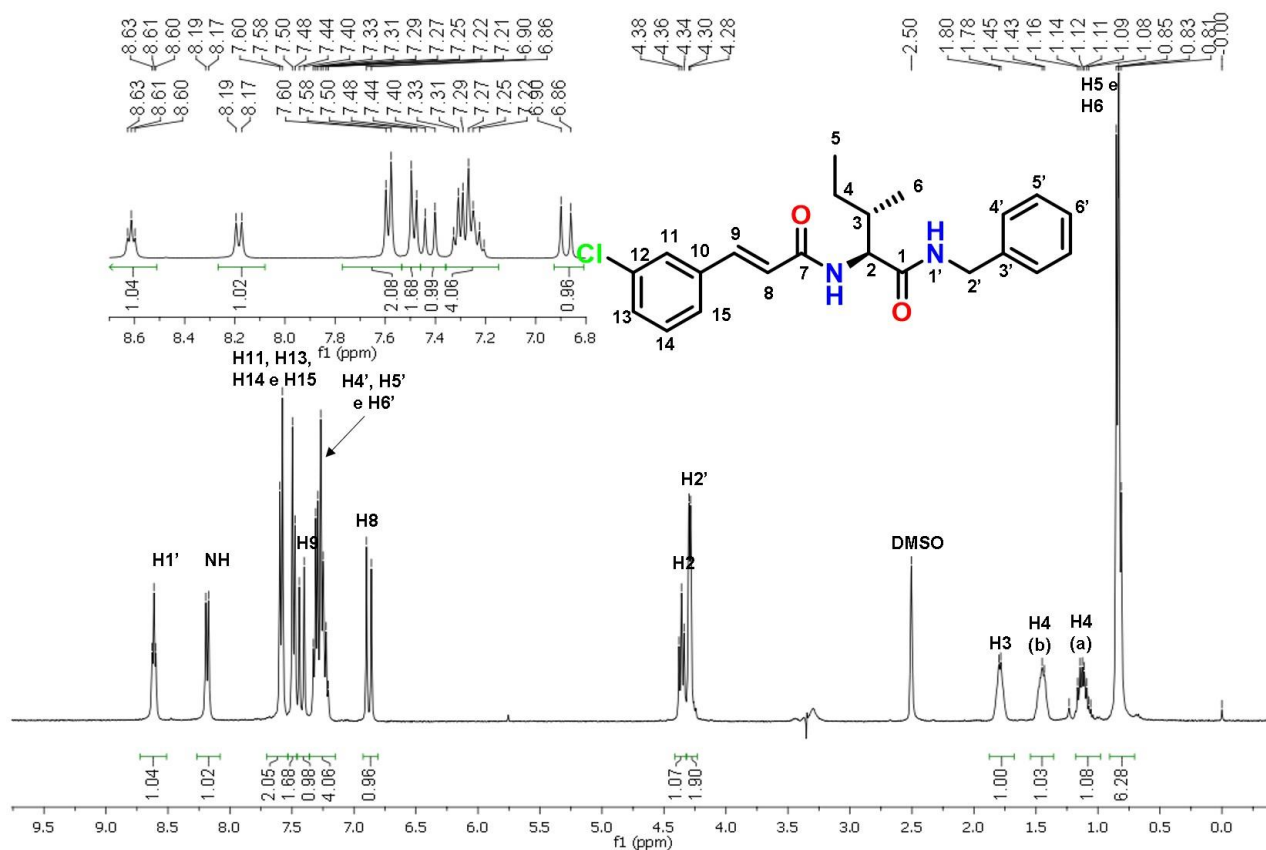


Figura 6. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24d (DMSO- d_6 , 100 MHz)

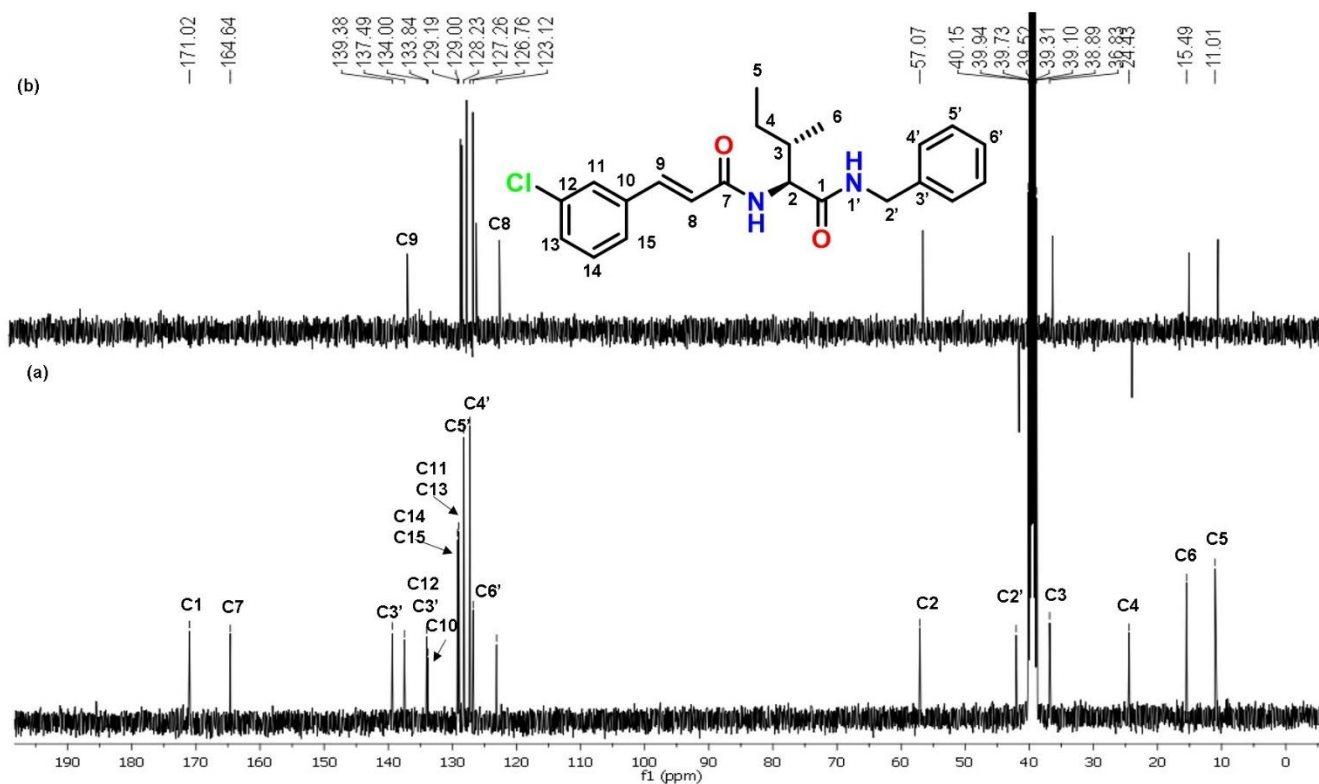


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H do composto 24e (DMSO- d_6 , 400 MHz)

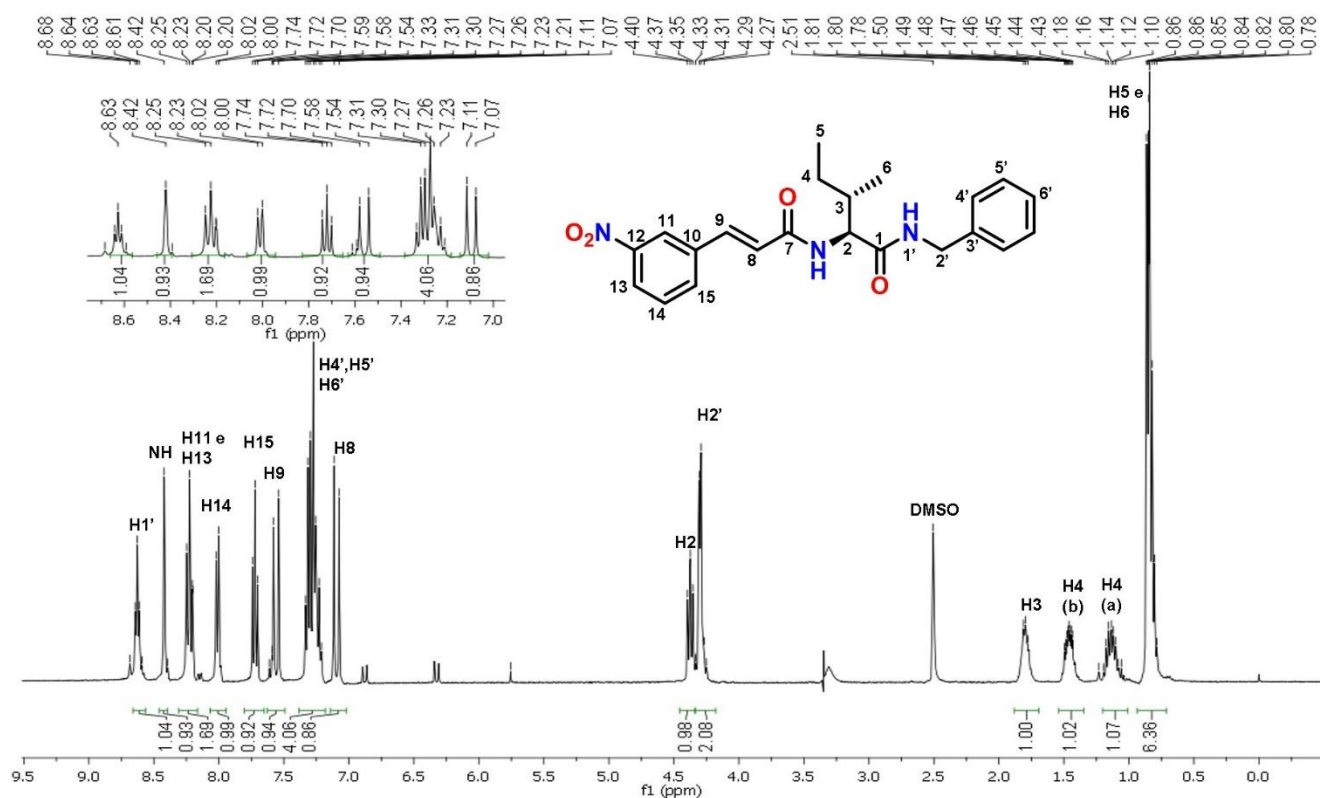


Figura 8. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24e (DMSO- d_6 , 100 MHz)

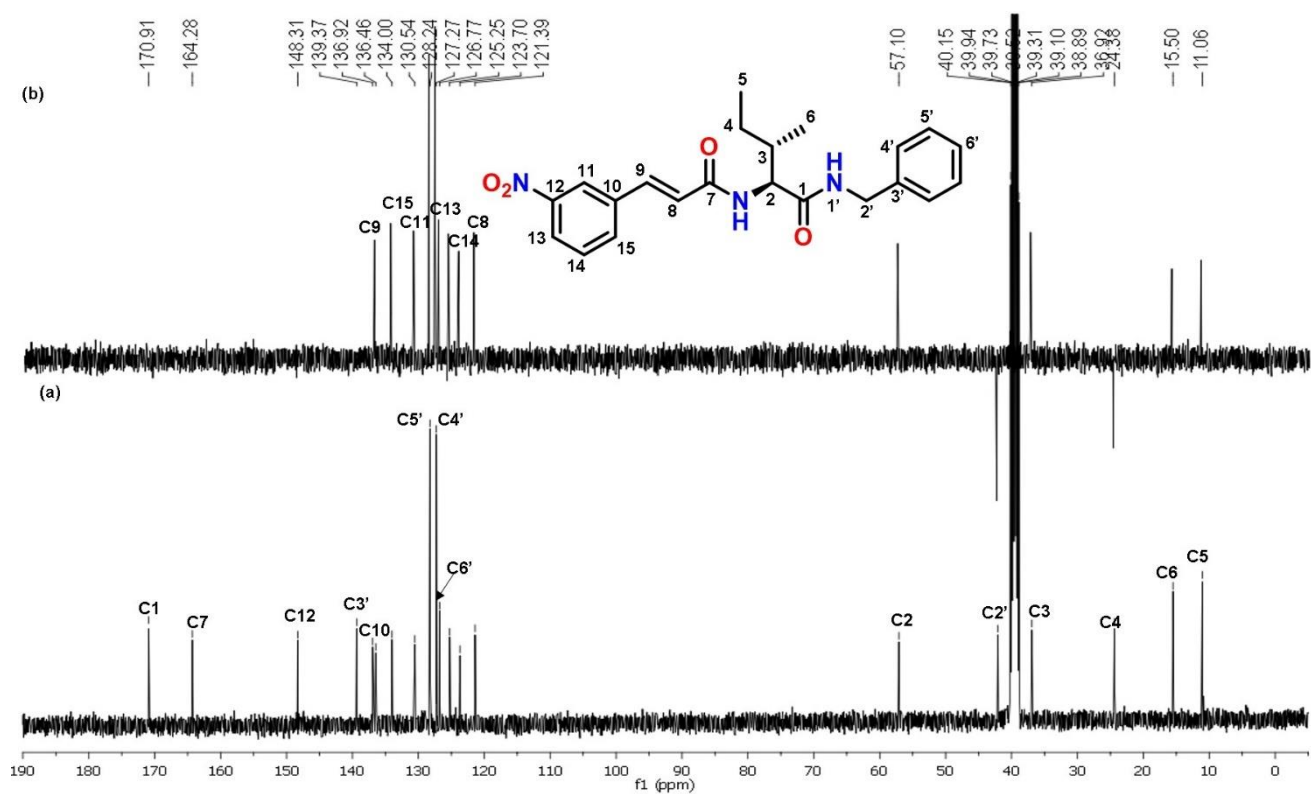


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H do composto 27b (CDCl_3 , 400 MHz)

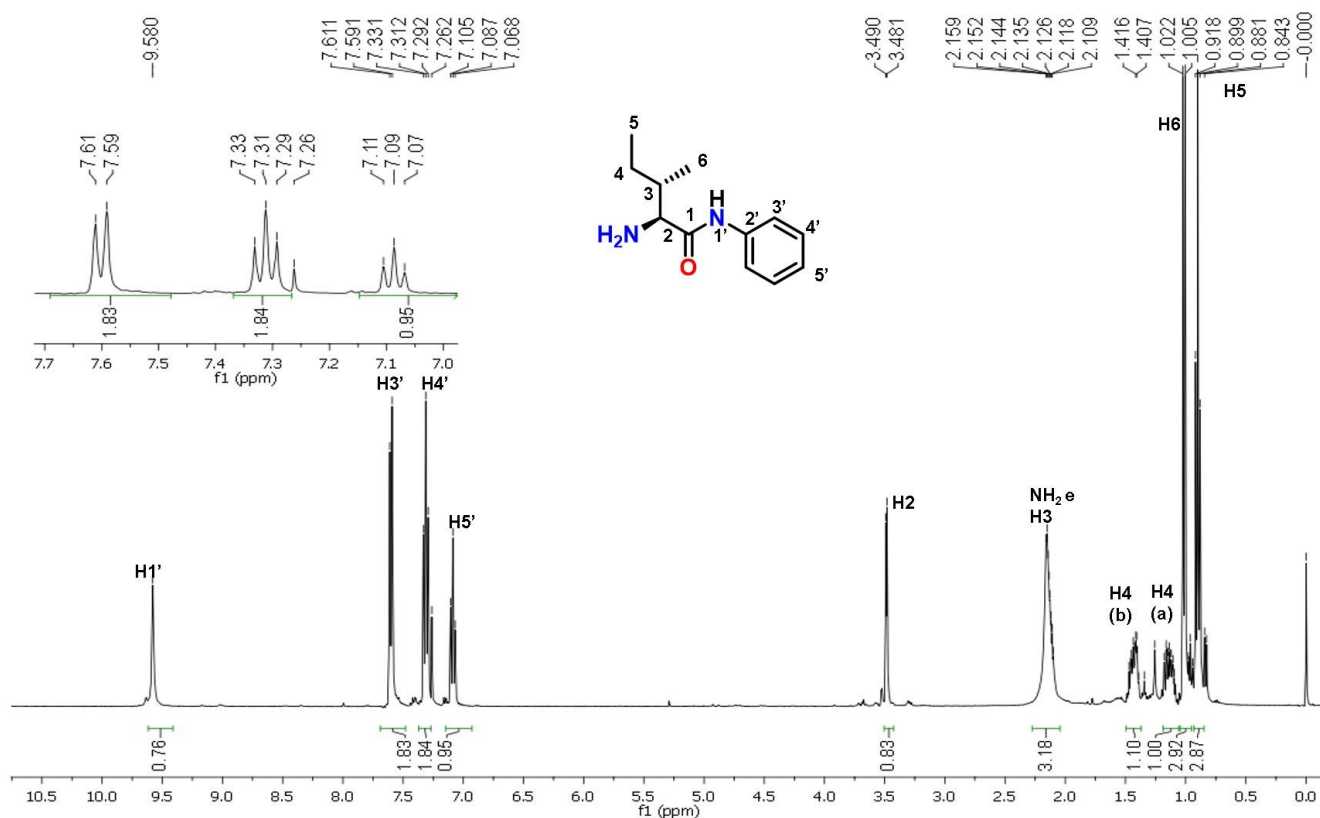


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 27b (CDCl_3 , 100 MHz)

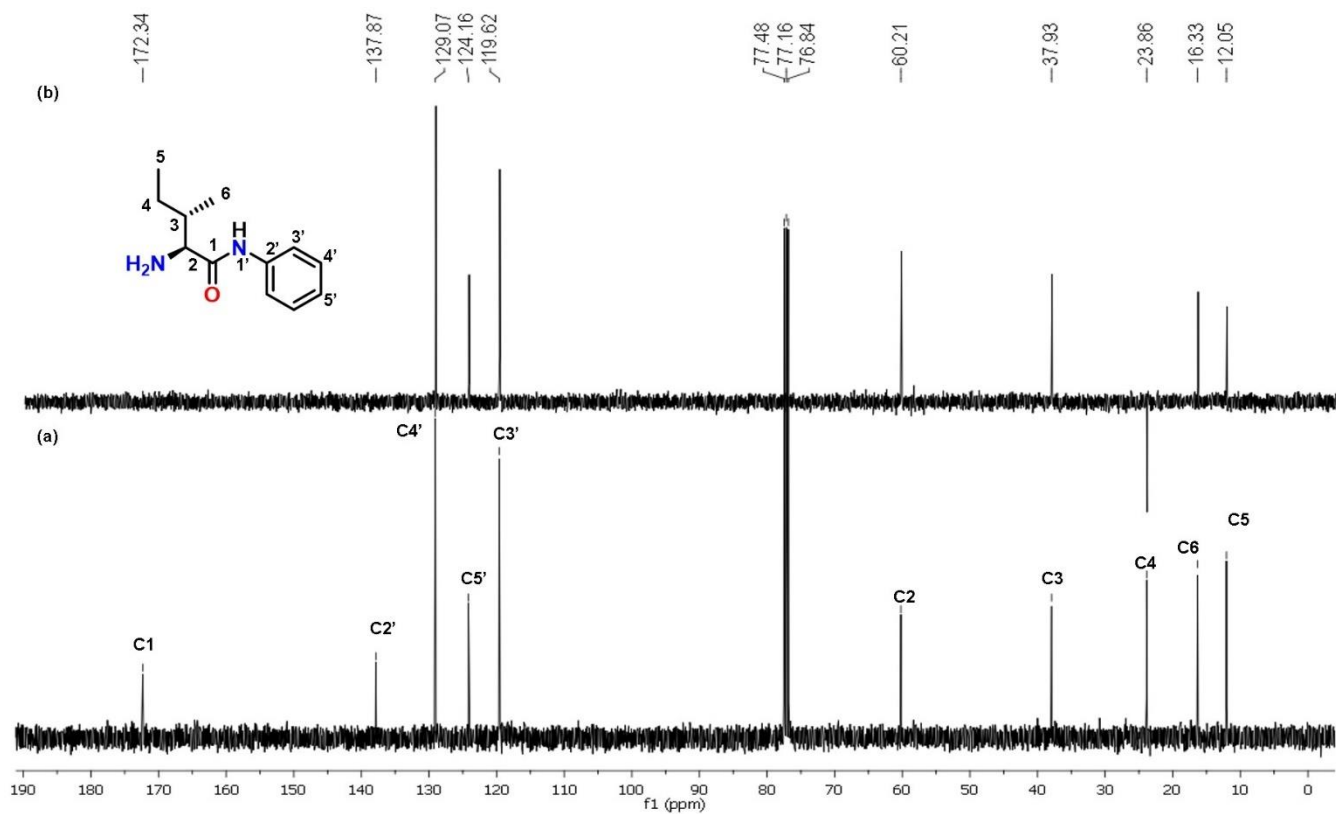


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H do composto 24f (DMSO- d_6 , 400 MHz)

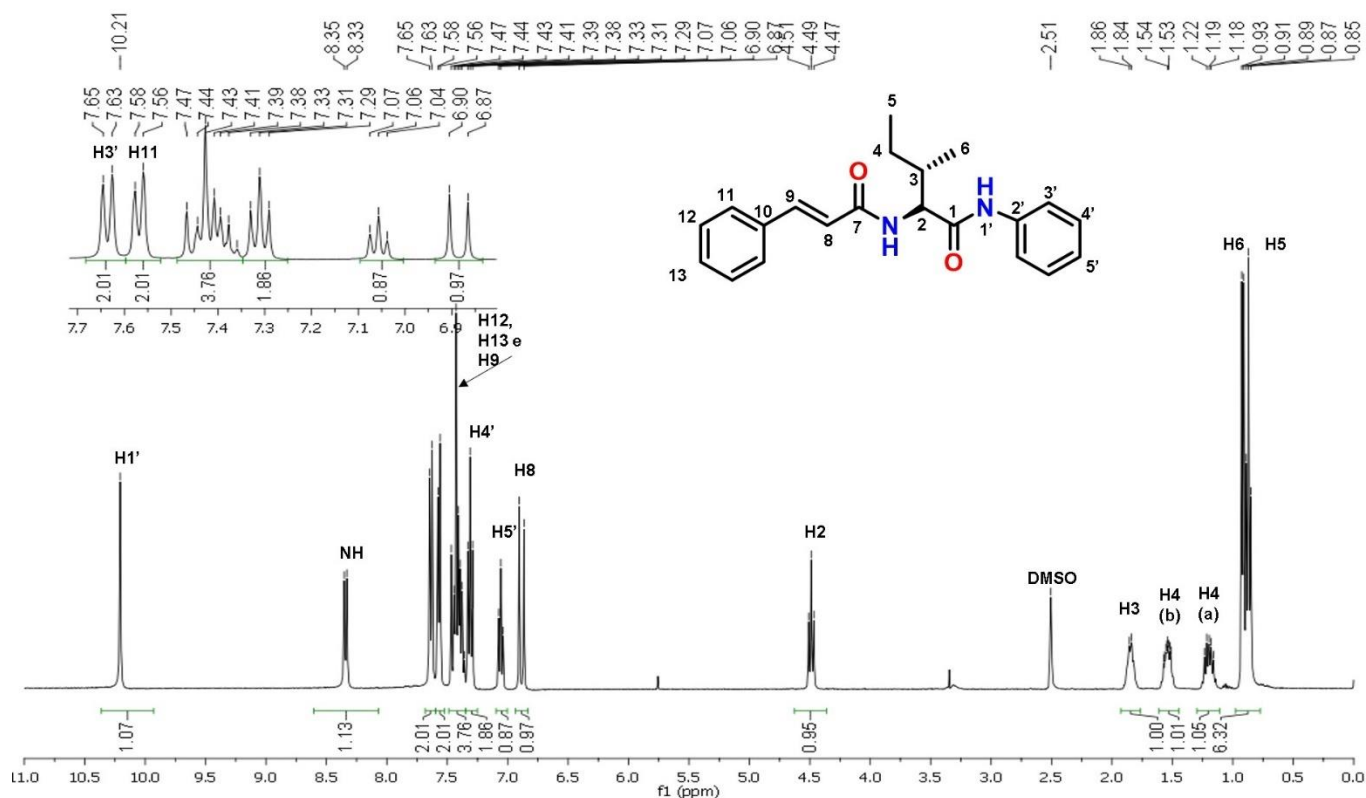


Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24f (DMSO- d_6 , 100 MHz)

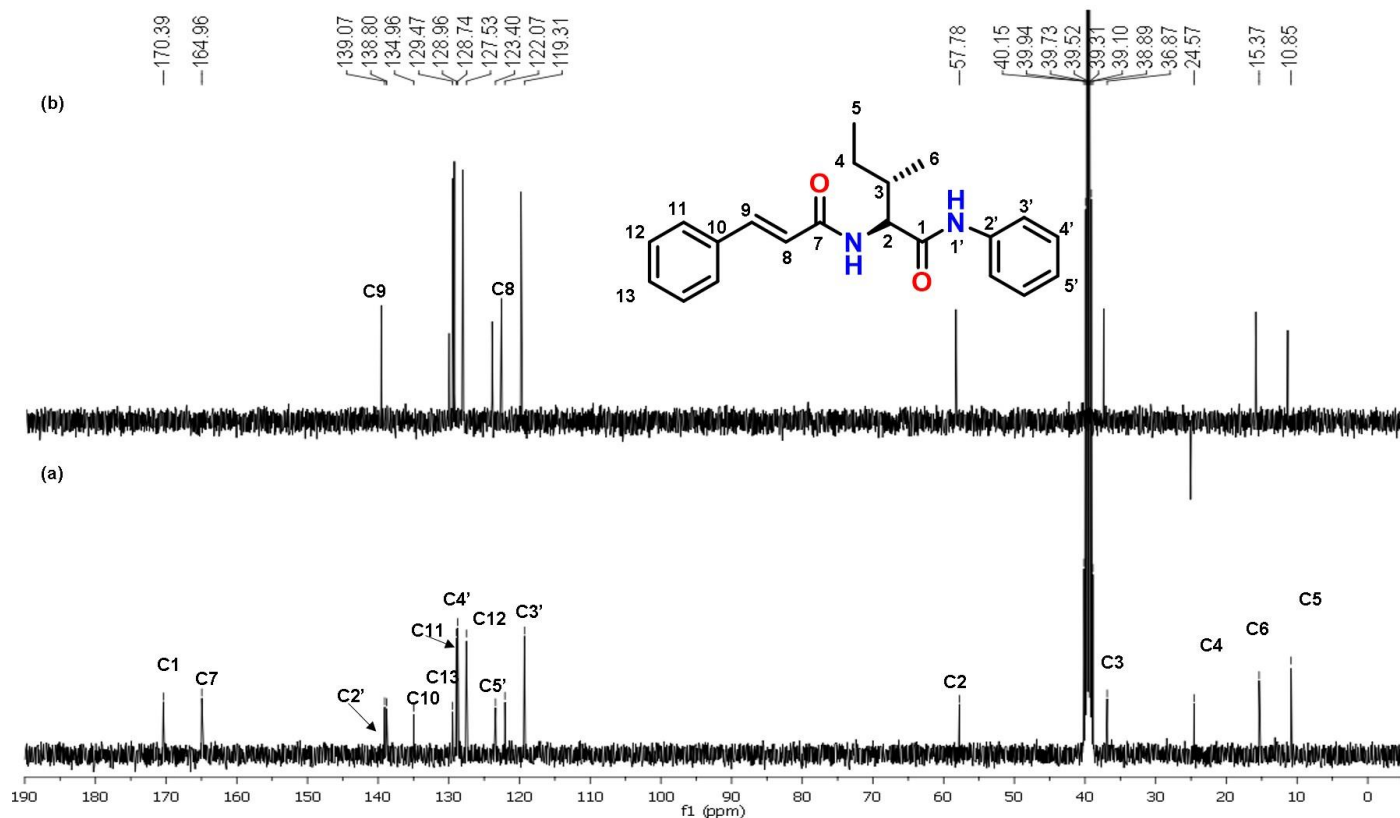


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H do composto 24g (DMSO- d_6 , 400 MHz)

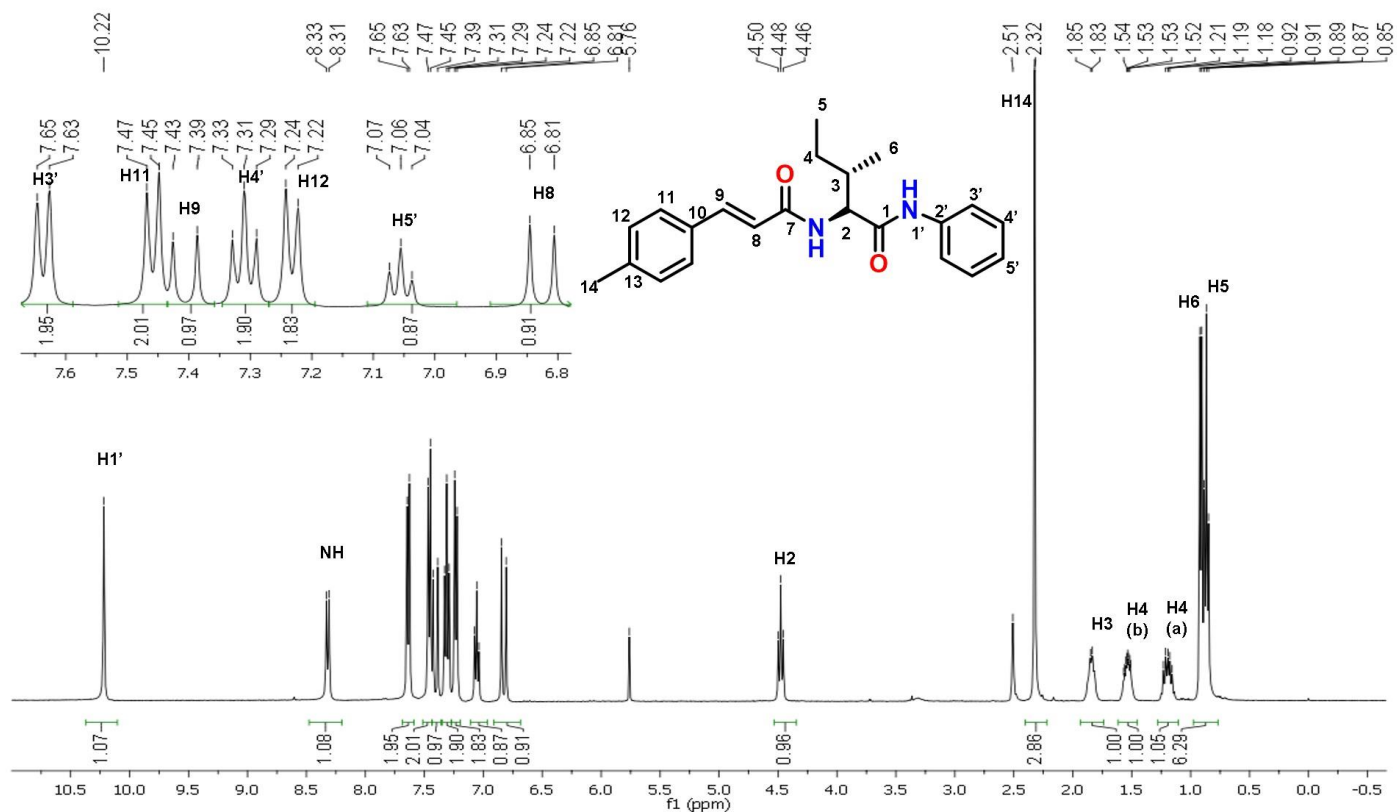


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24g (DMSO- d_6 , 100 MHz)

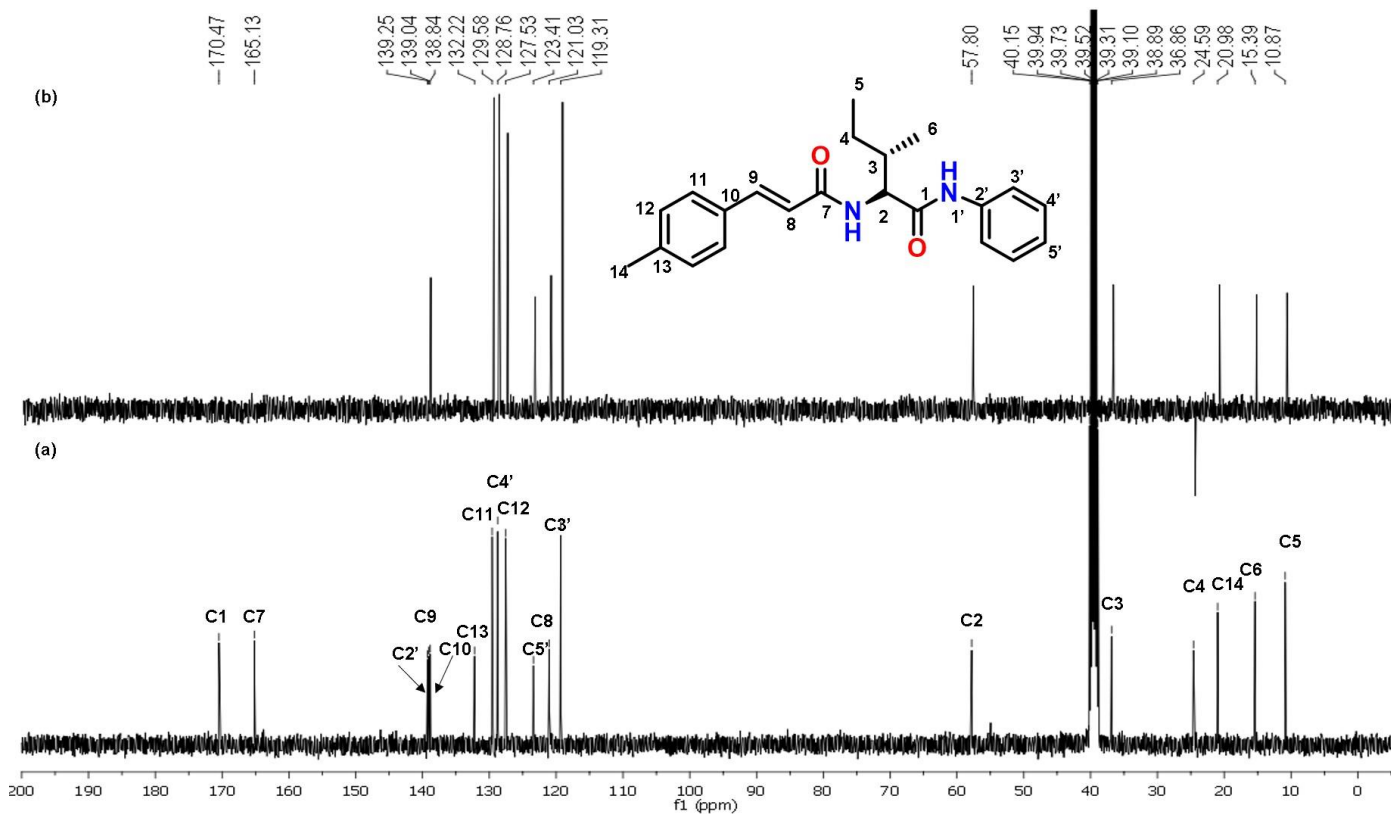


Figura 15. Espectro de RMN de ^1H do composto 24h (DMSO- d_6 , 400 MHz)

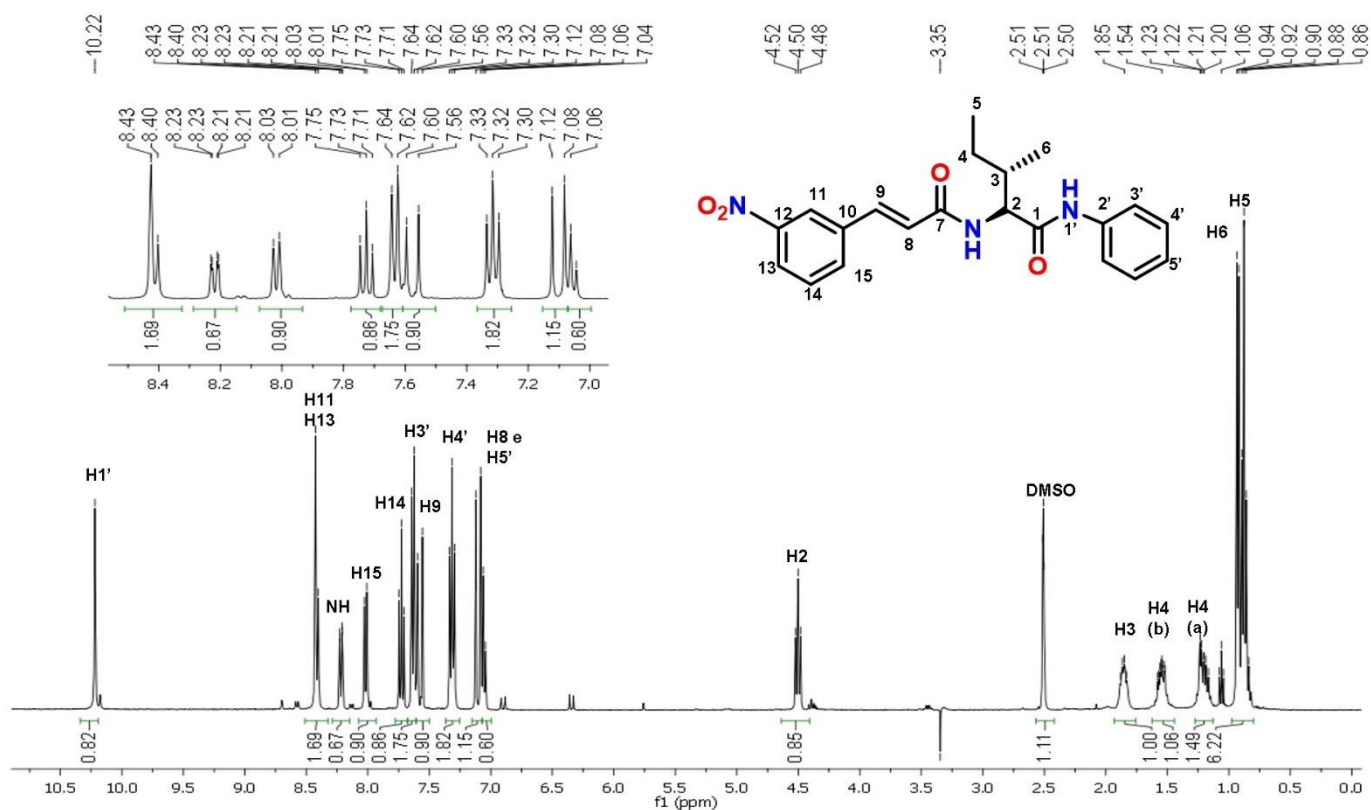


Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24h (DMSO- d_6 , 100 MHz)

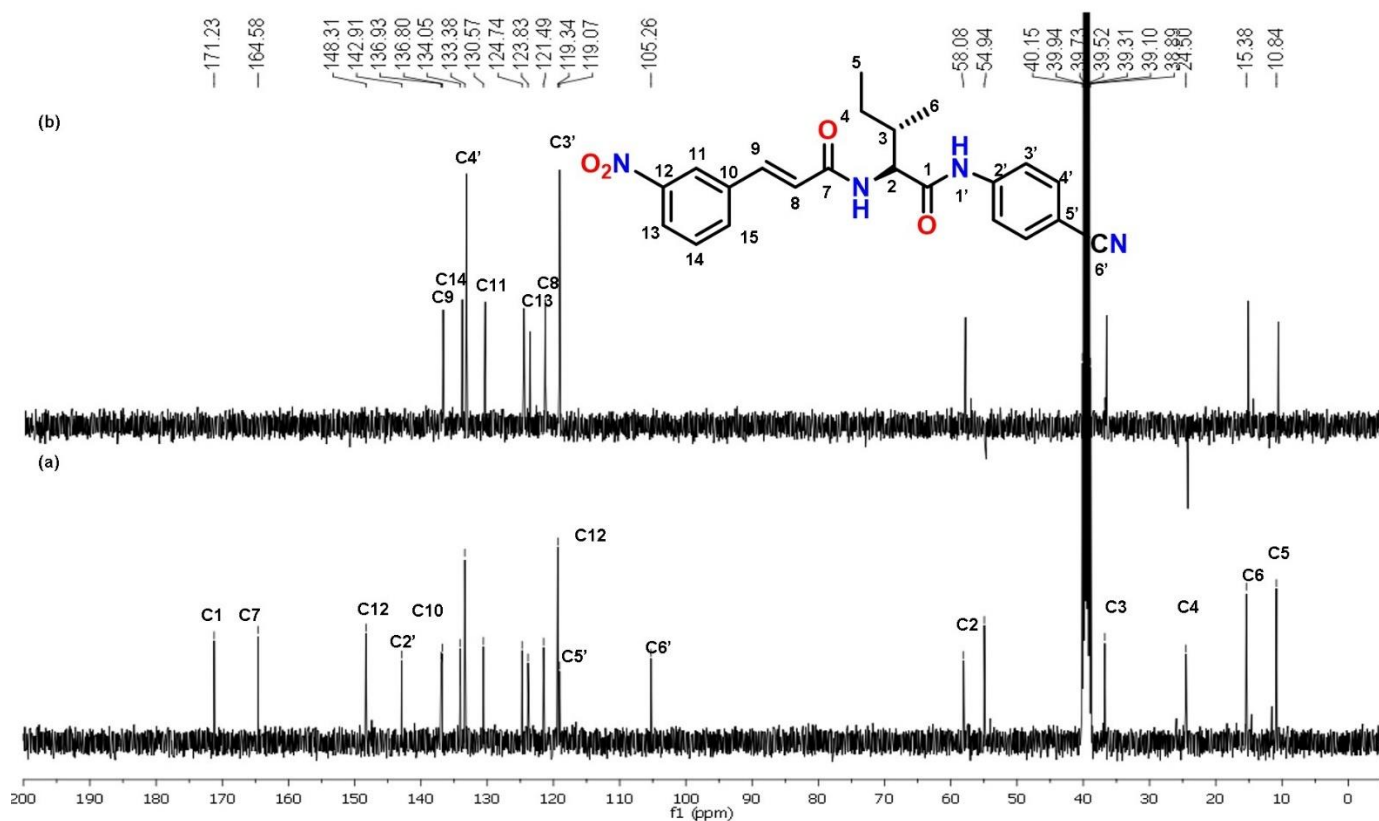


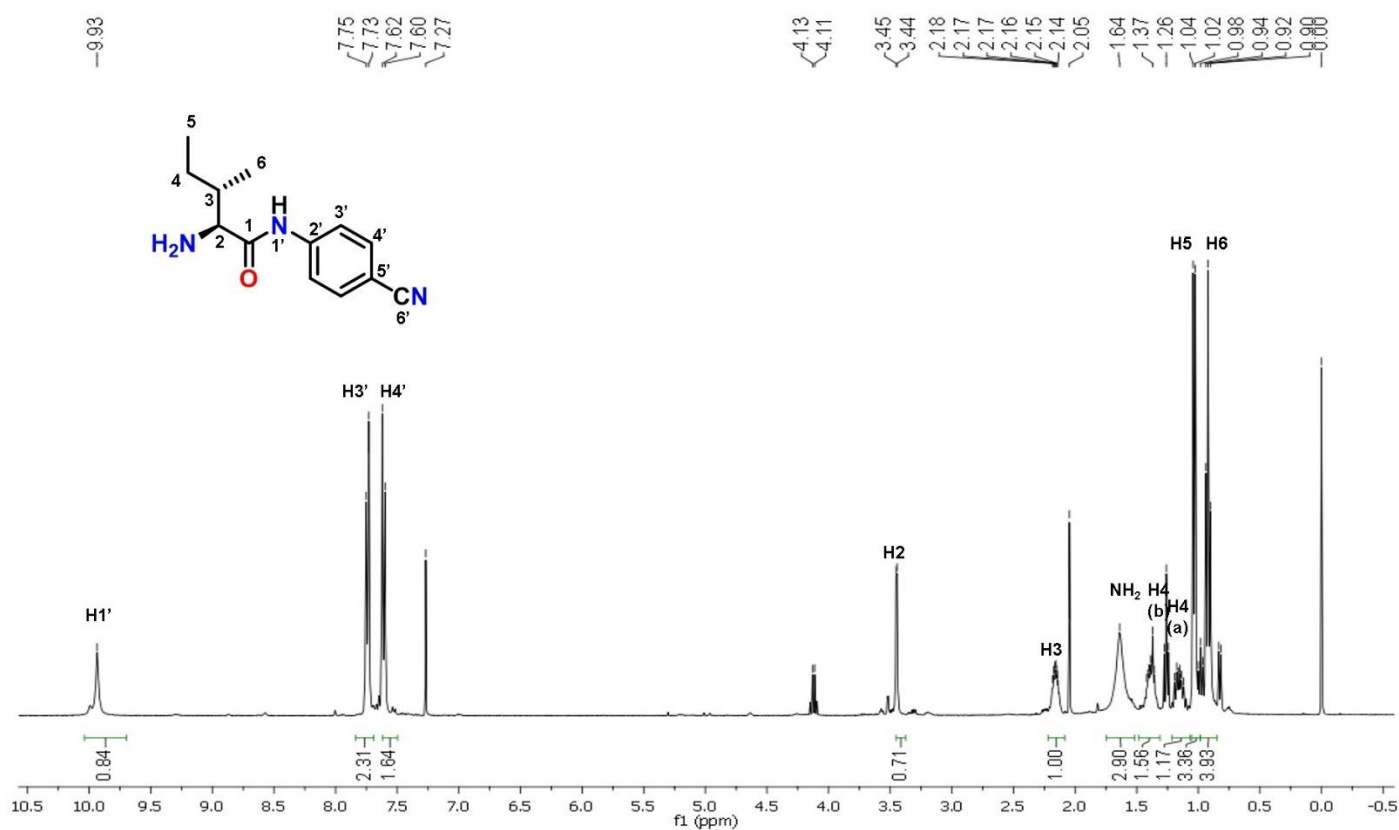
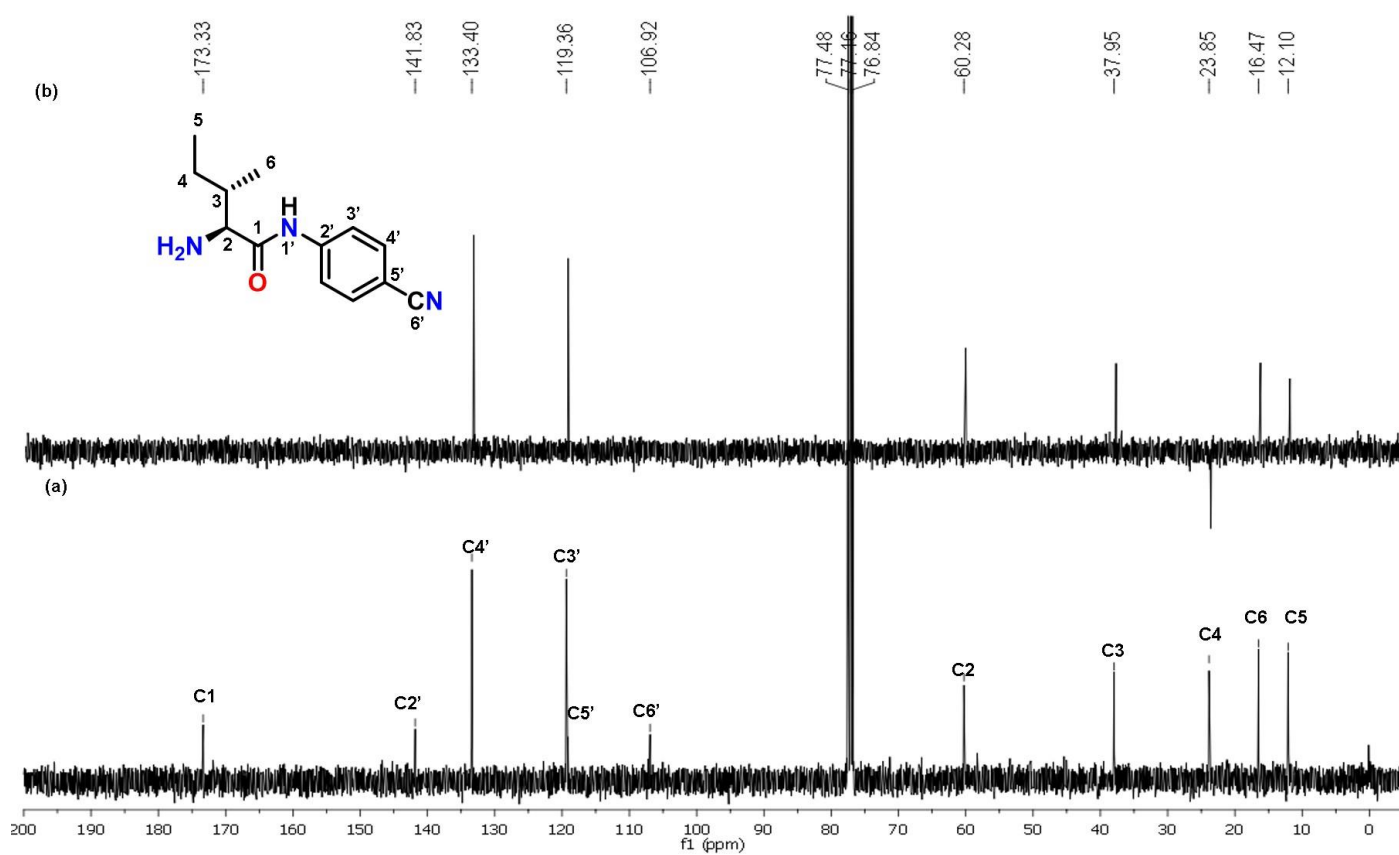
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H do composto 27c (CDCl_3 , 400 MHz)Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 27c (CDCl_3 , 100 MHz)

Figura 19. Espectro de RMN de ^1H do composto 24i (DMSO- d_6 , 400 MHz)

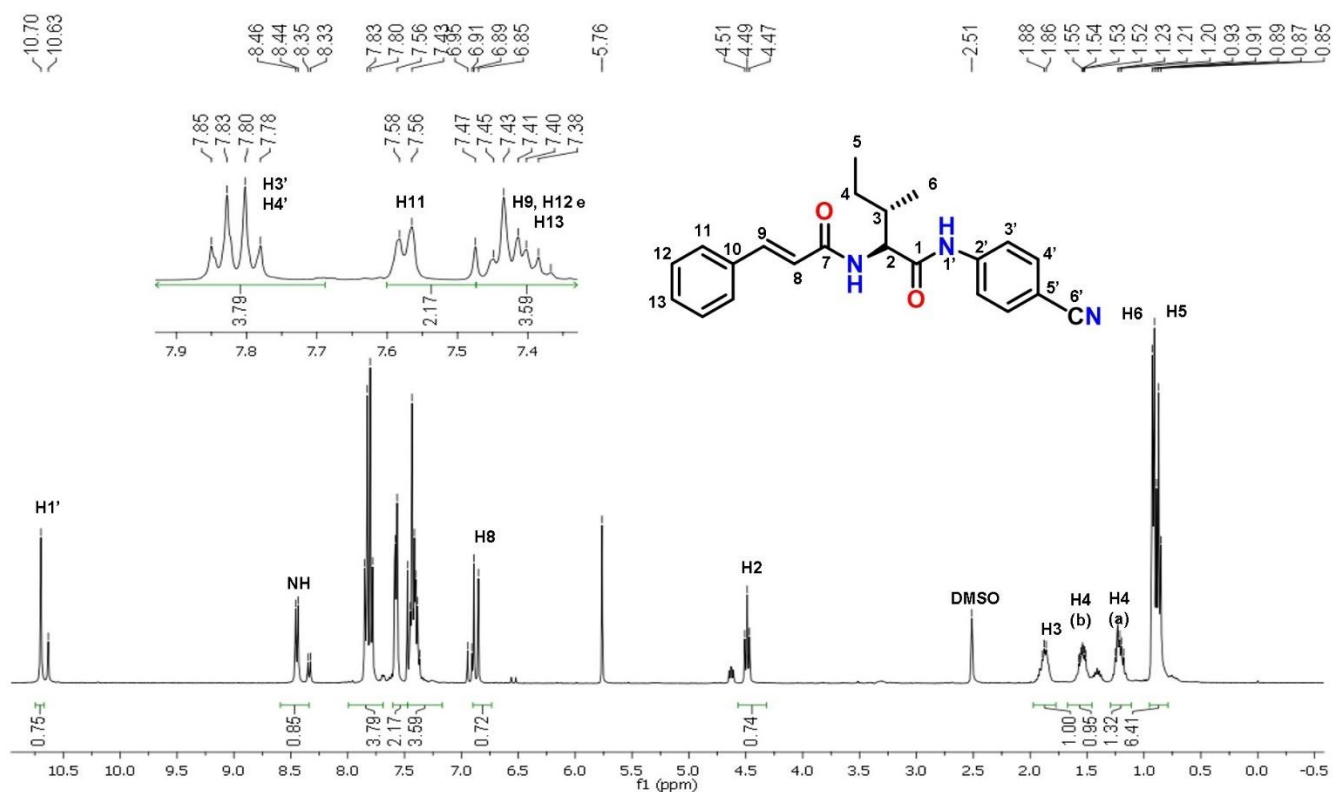


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24i (DMSO- d_6 , 100 MHz)

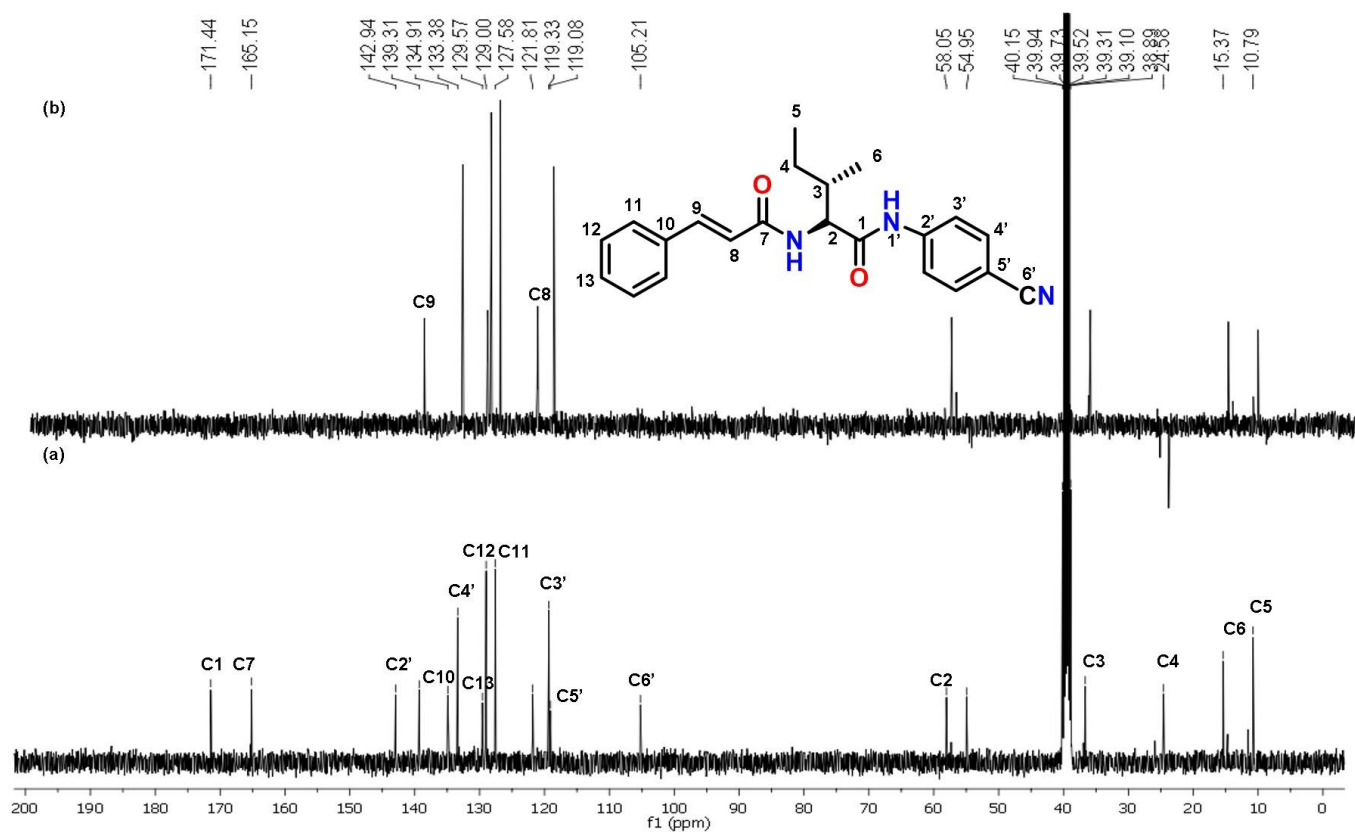


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H do composto 24j (DMSO- d_6 , 400 MHz)

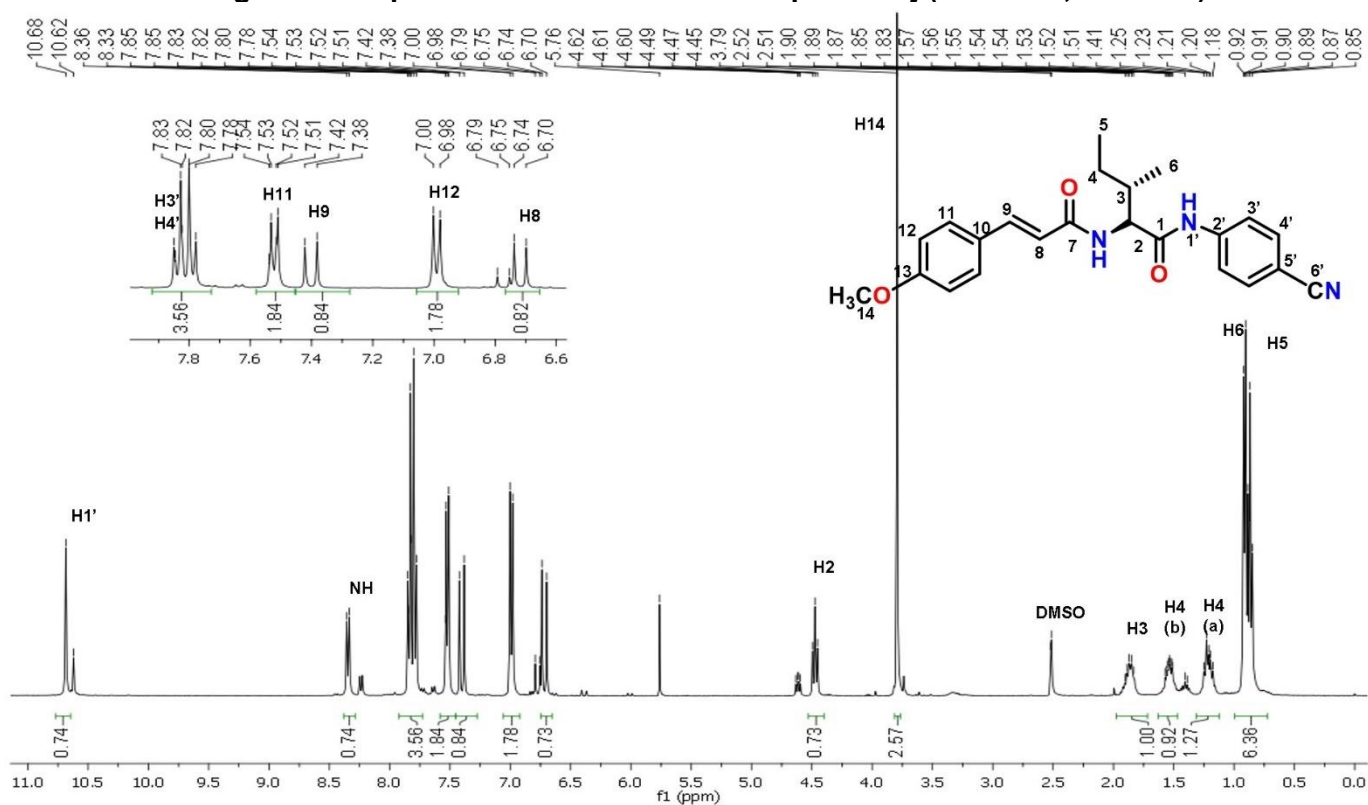


Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24j (DMSO- d_6 , 100 MHz)

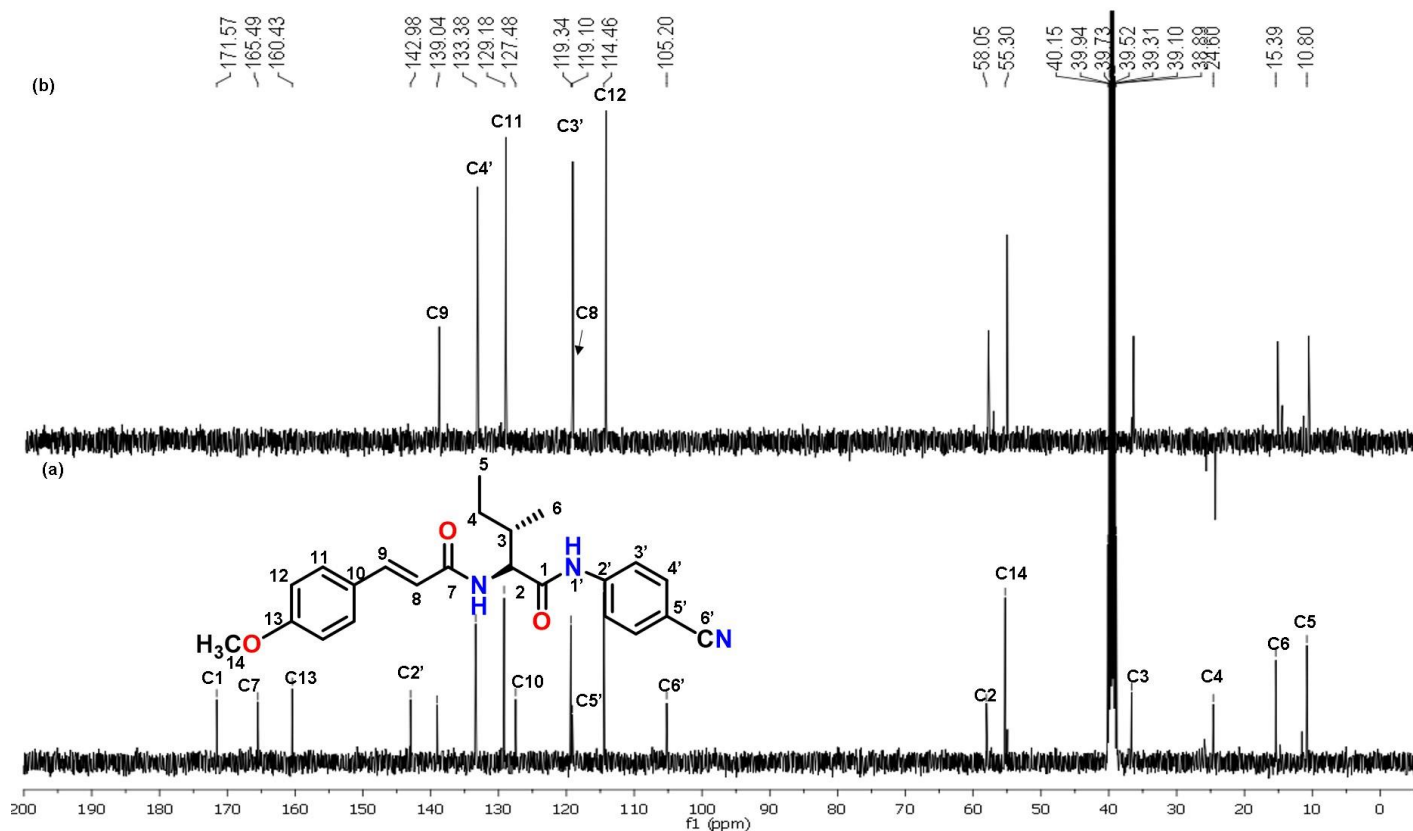


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H do composto 24k (DMSO- d_6 , 400 MHz)

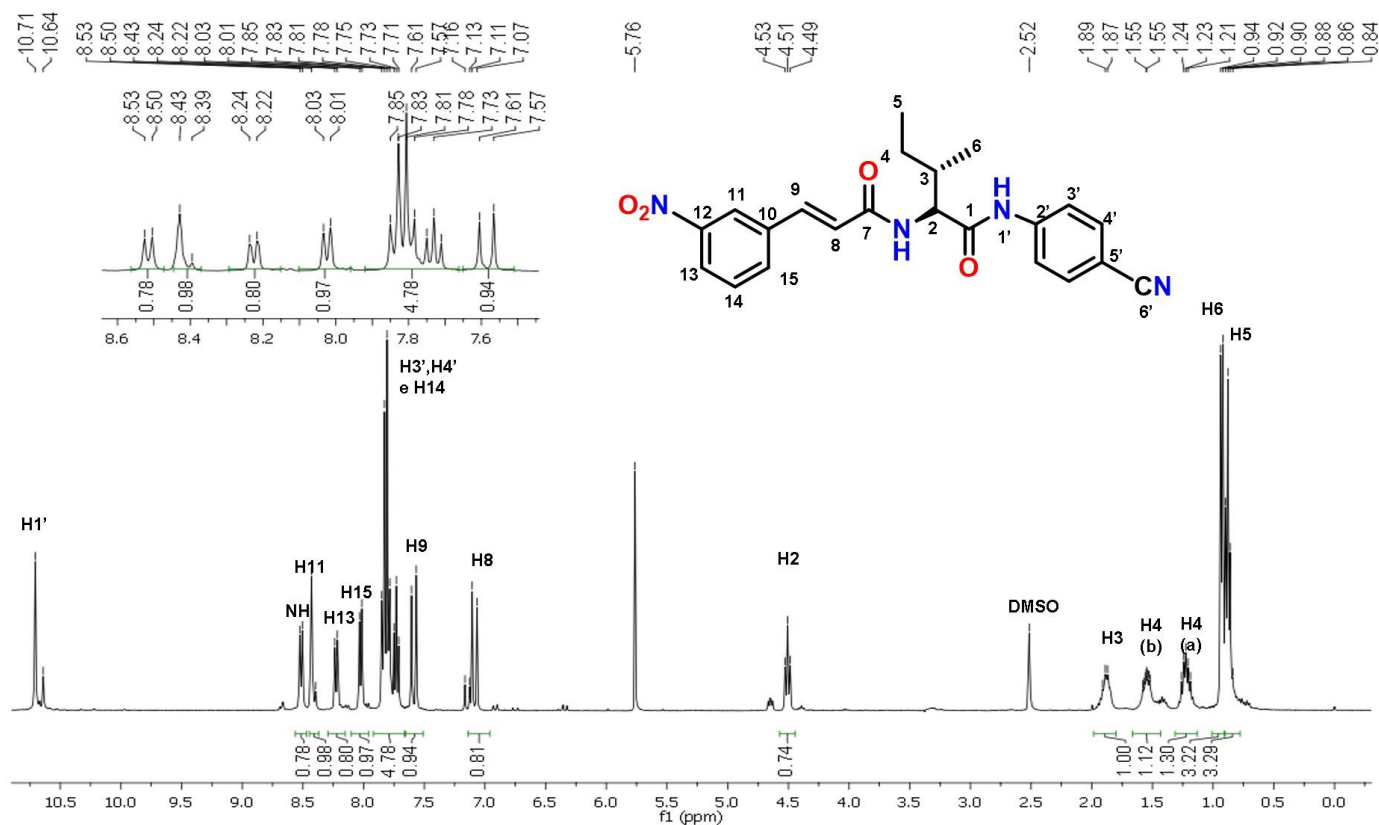


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24k (DMSO- d_6 , 100 MHz)

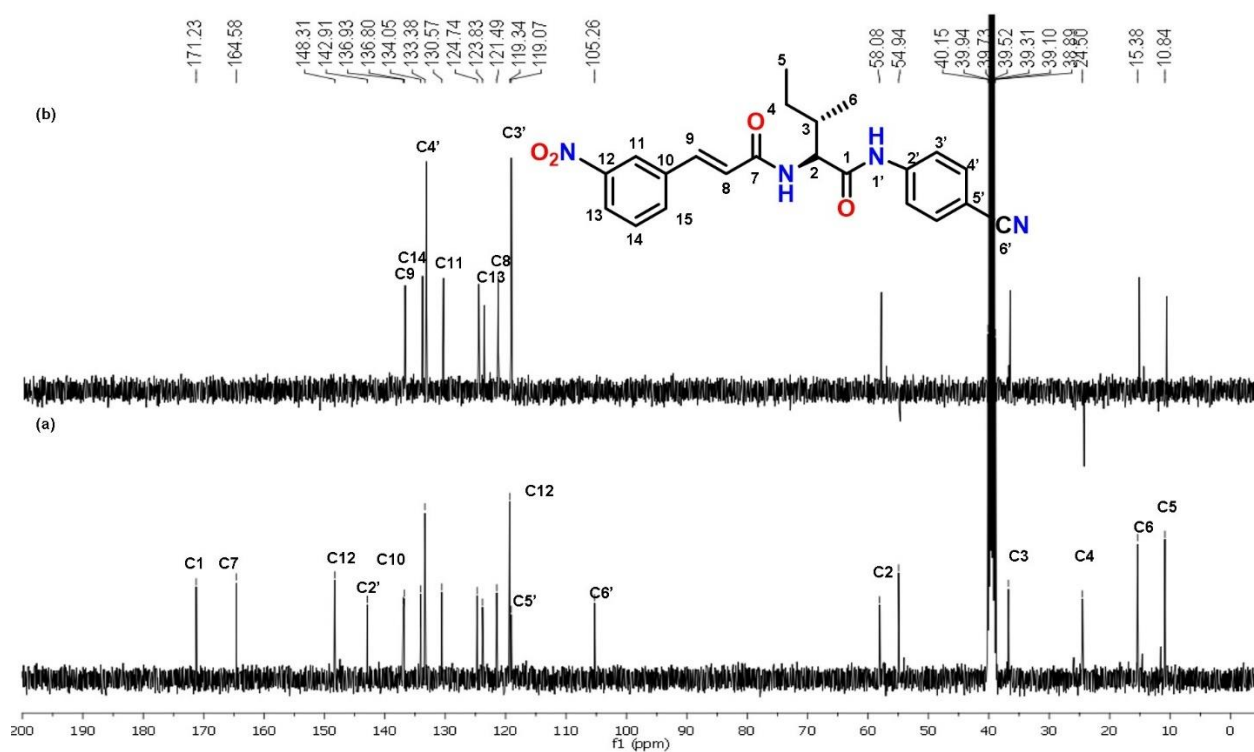


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H do composto 27d (CDCl_3 , 400 MHz)

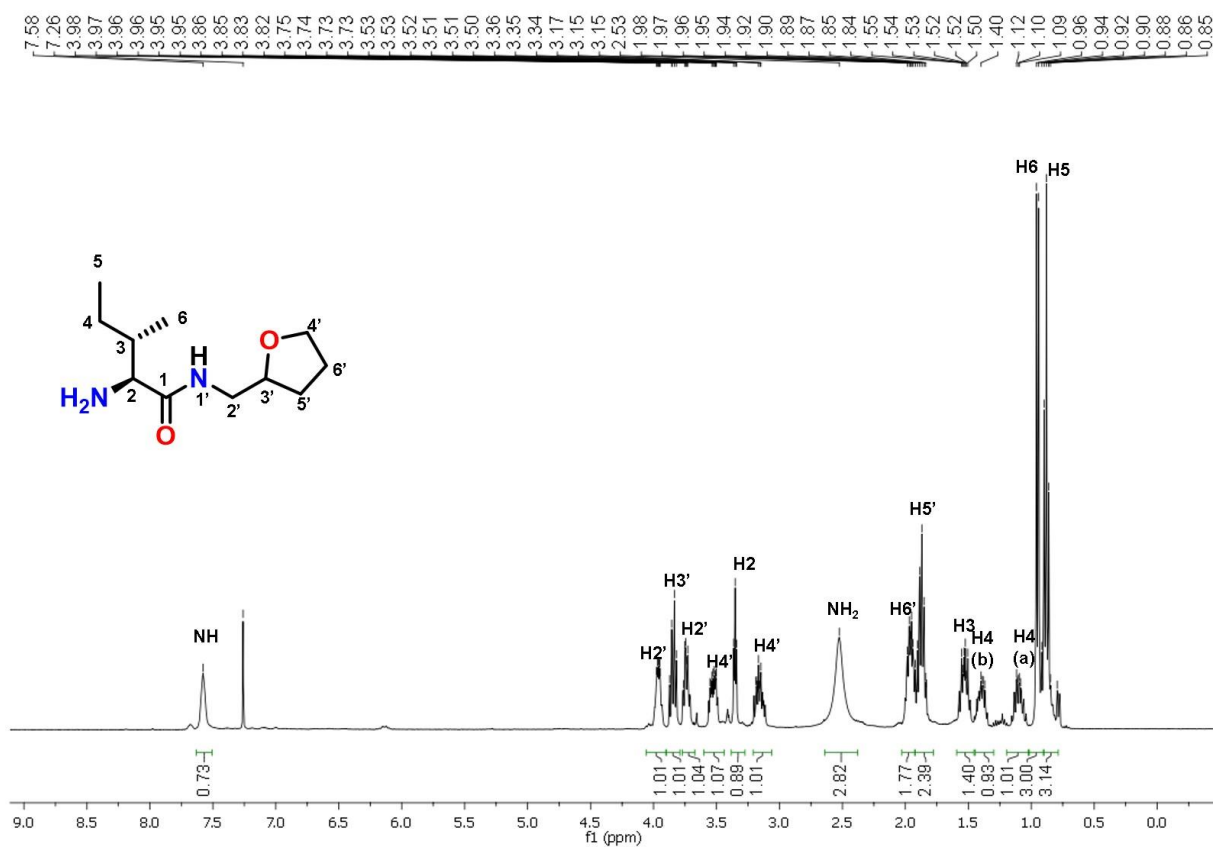


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 27d (CDCl_3 , 100 MHz)

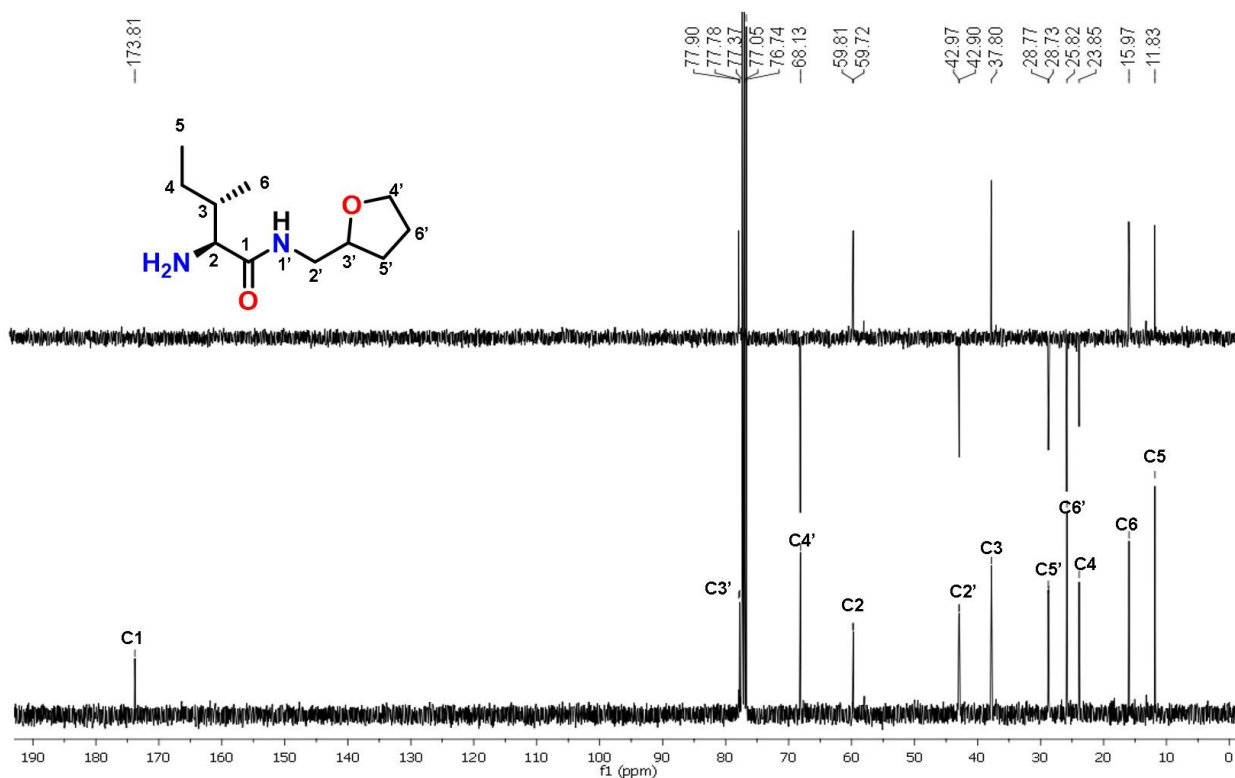


Figura 27. Espectro de RMN de ^1H do composto 24I (DMSO- d_6 , 400 MHz)

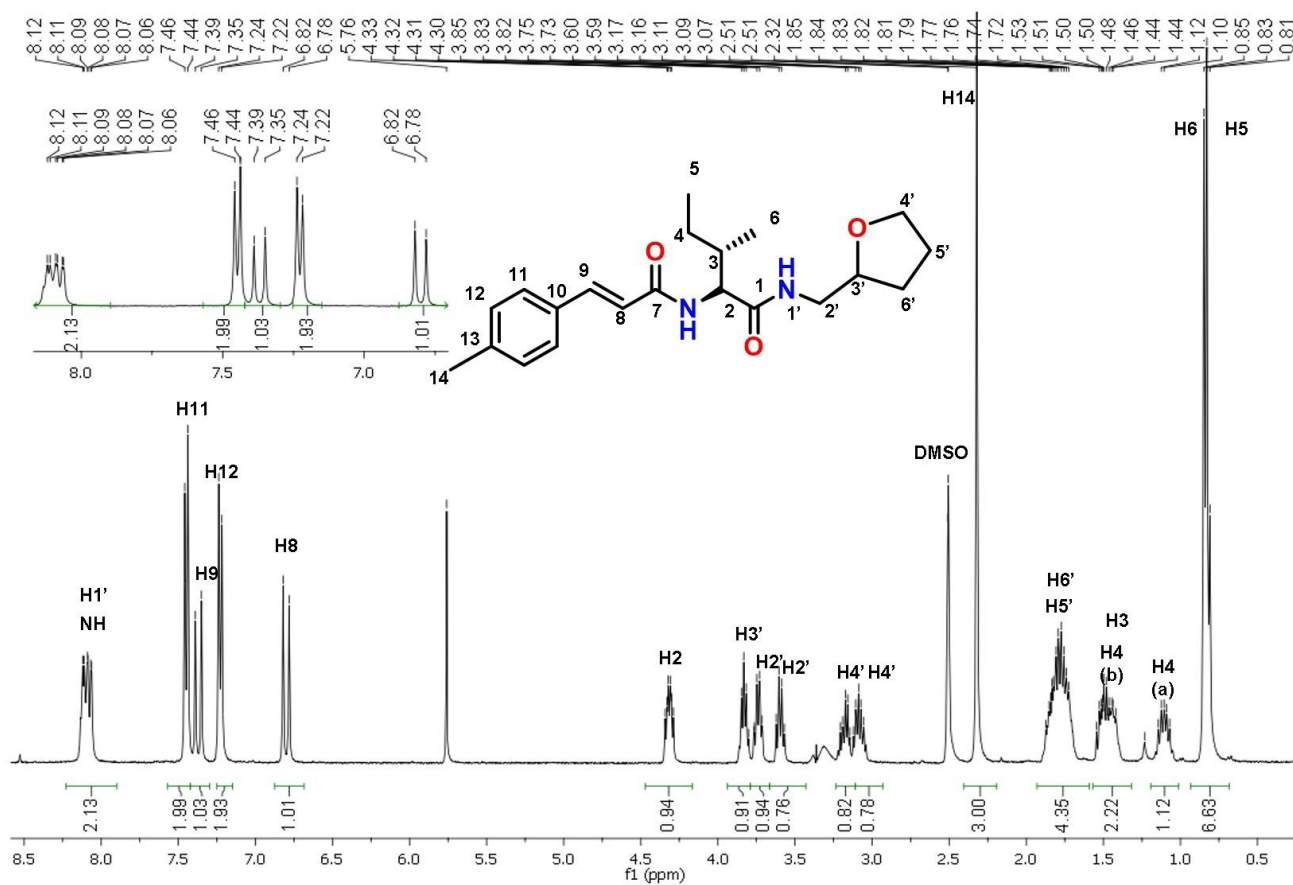


Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24I (DMSO- d_6 , 100 MHz)

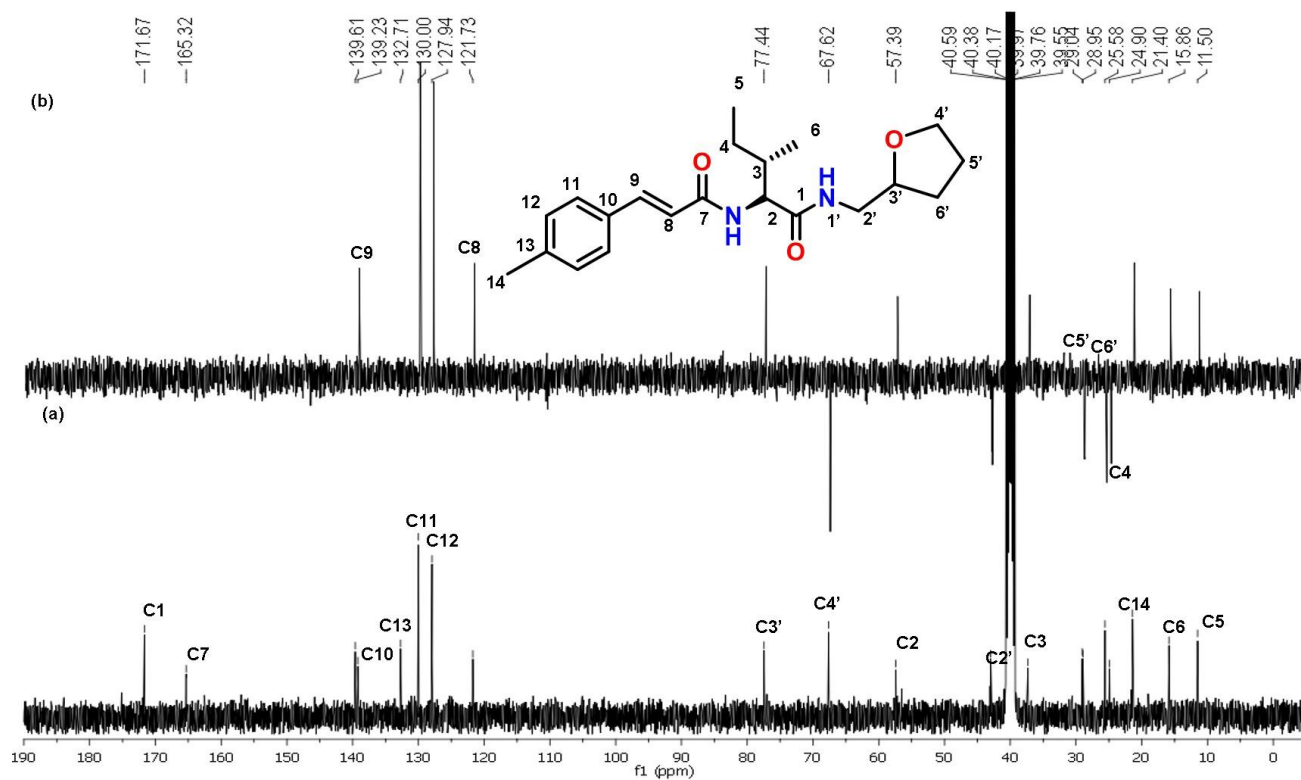


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H do composto 24m (DMSO- d_6 , 400 MHz)

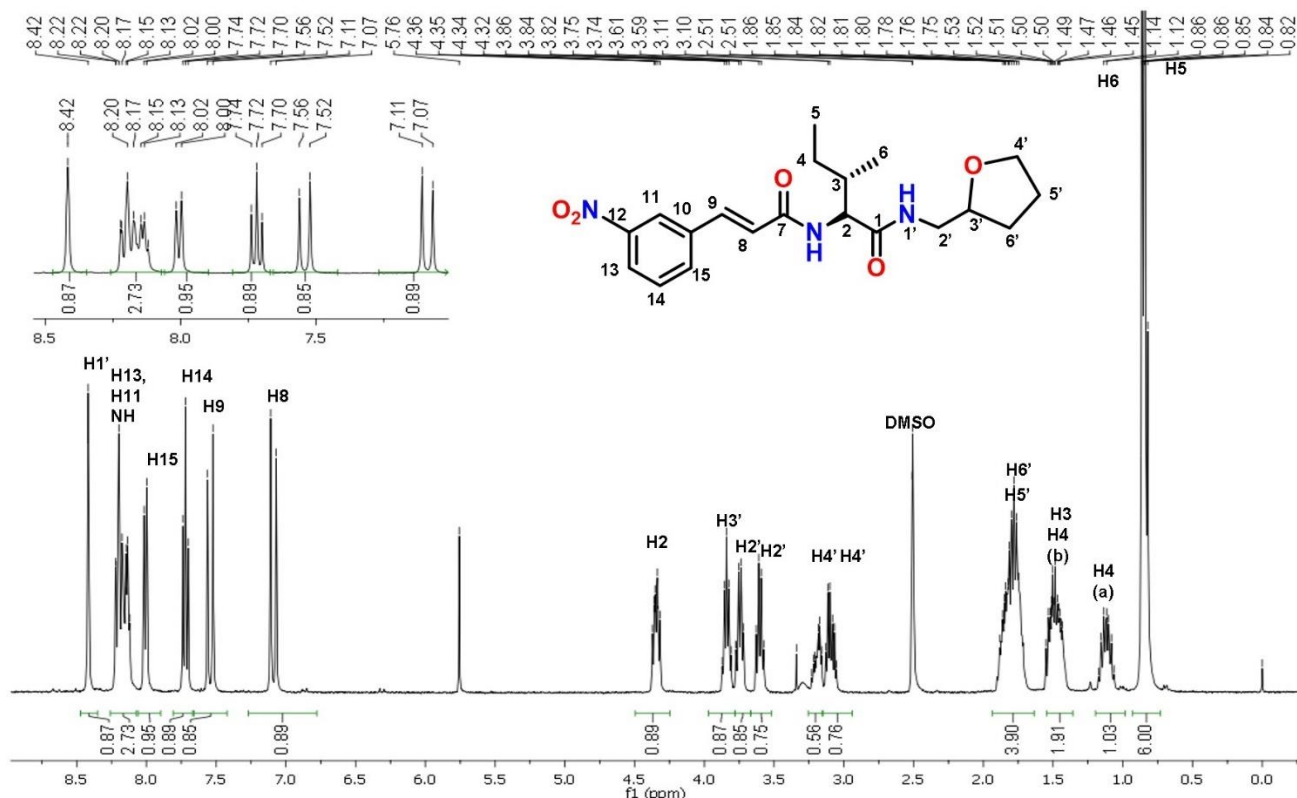


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24m (DMSO- d_6 , 100 MHz)

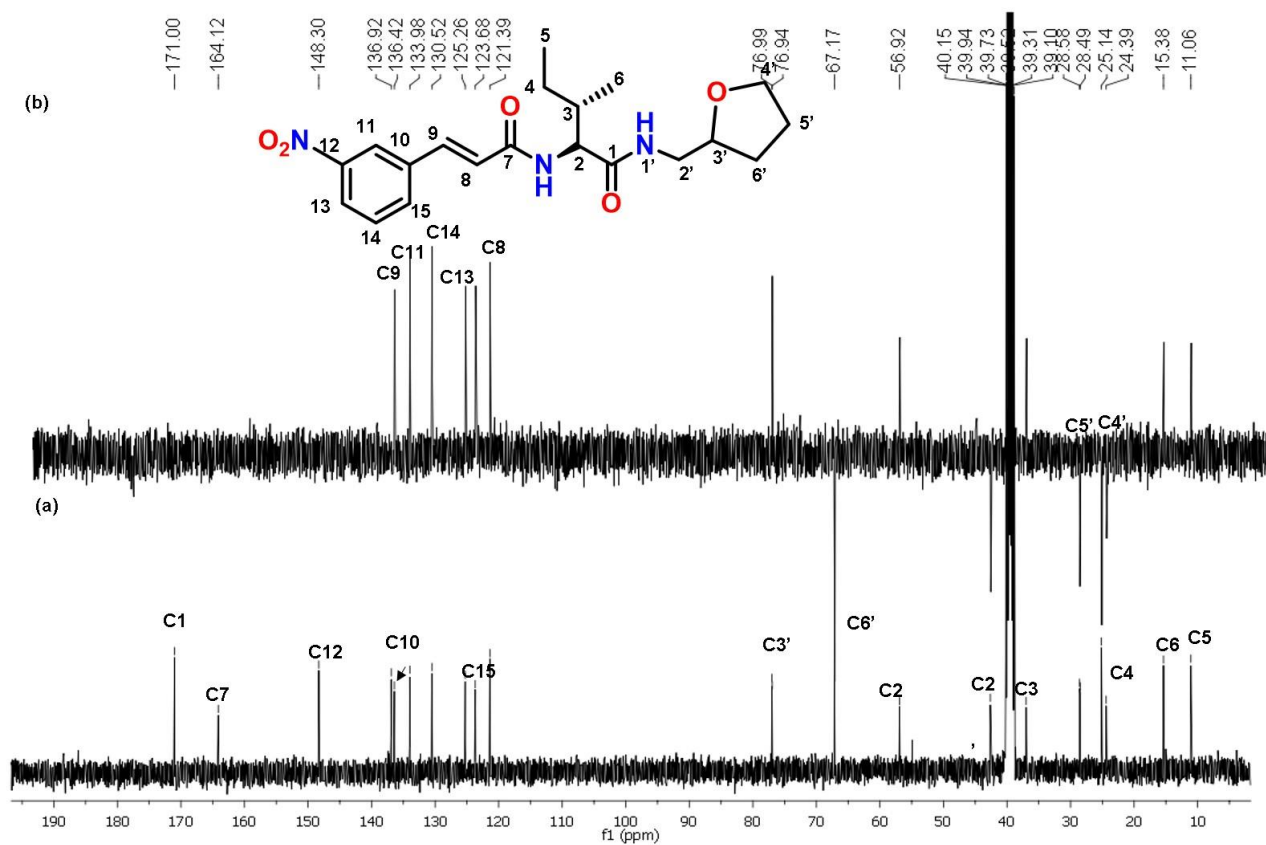


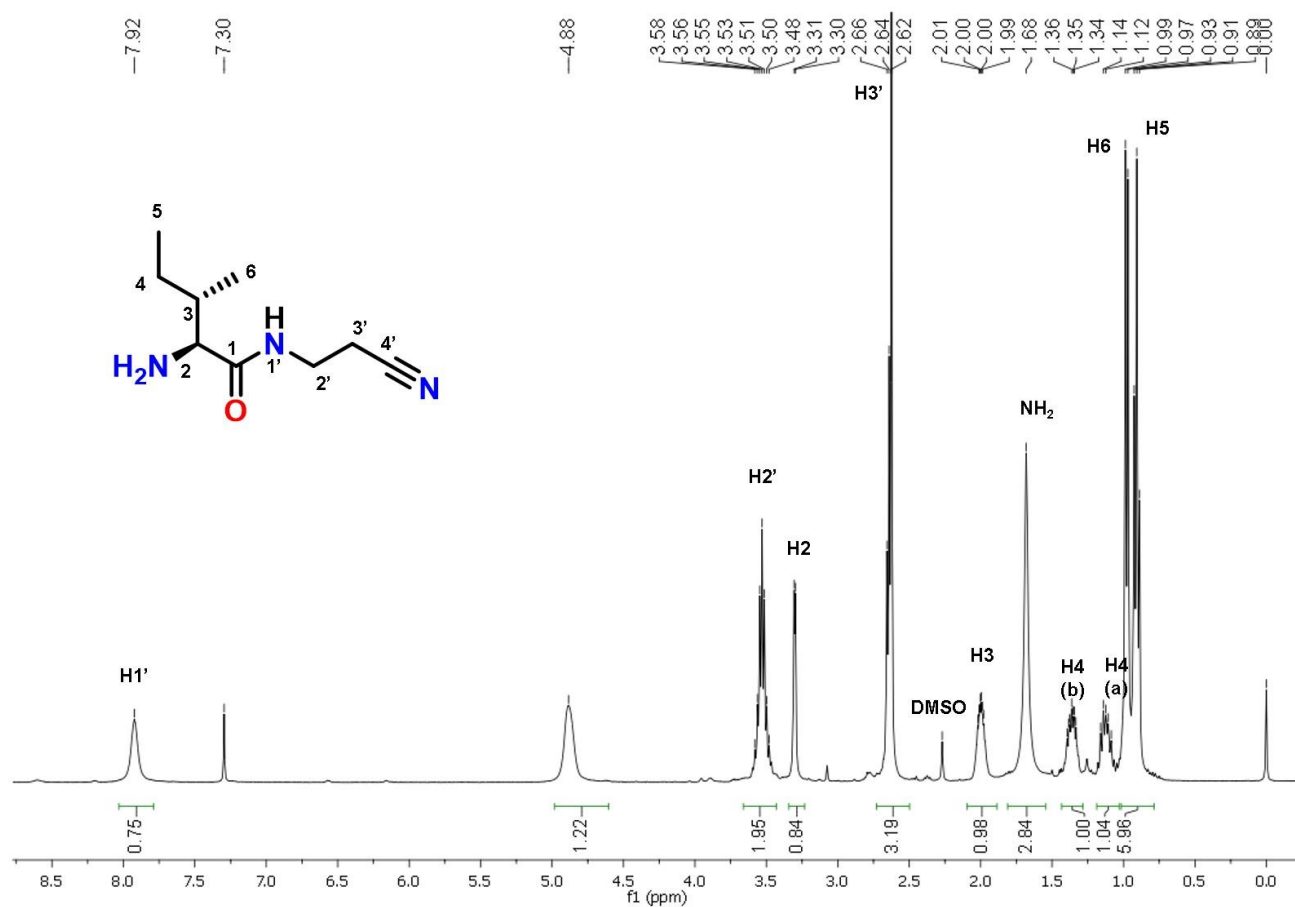
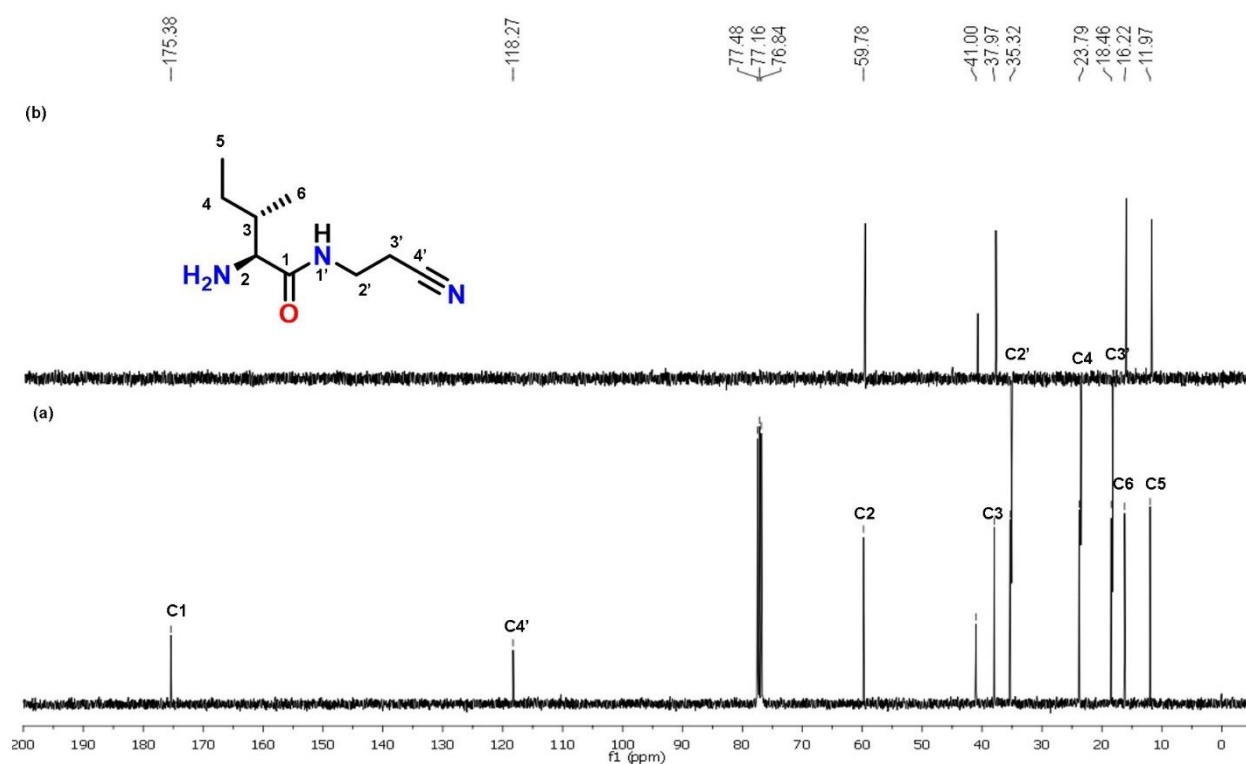
Figura 31. Espectro de RMN de ^1H do composto 27e (CDCl_3 , 400 MHz)Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 27e (CDCl_3 , 100 MHz)

Figura 33. Espectro de RMN de ^1H do composto 24n (DMSO- d_6 , 400 MHz)

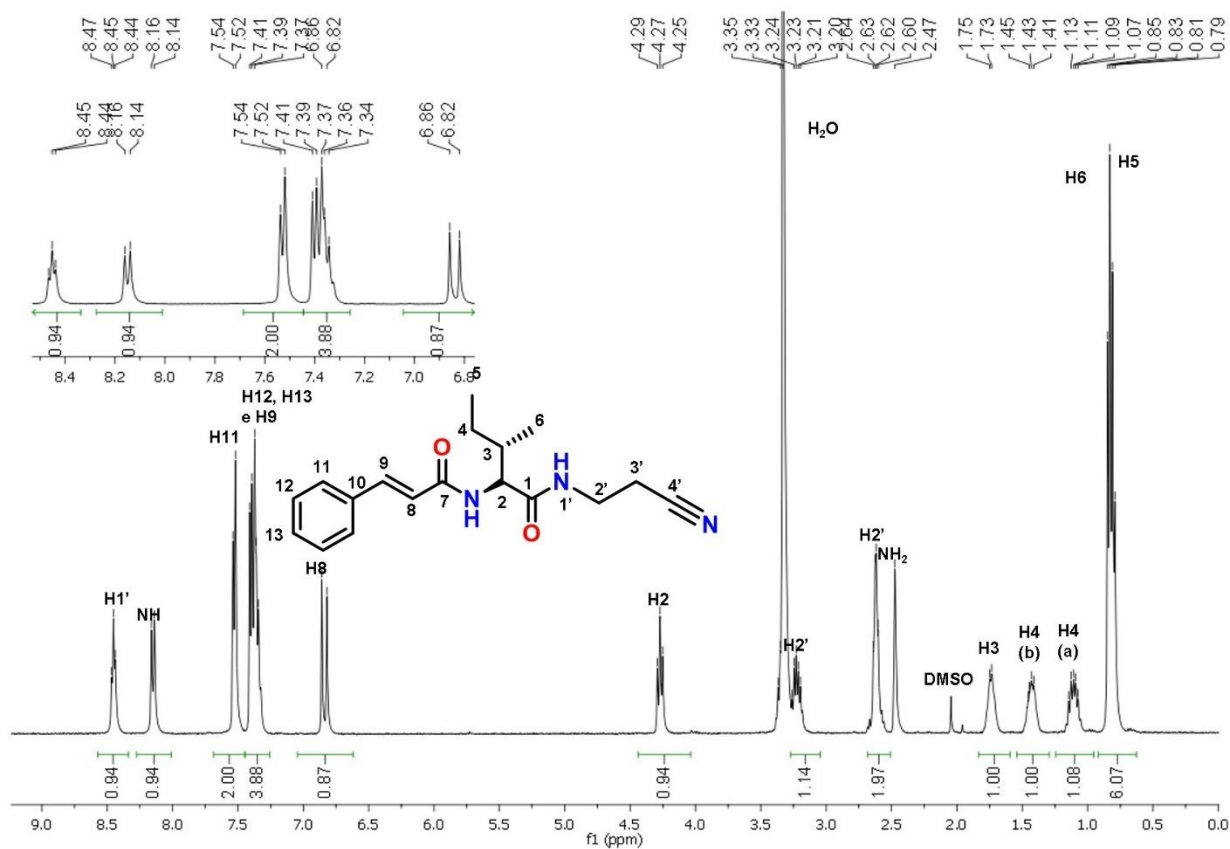


Figura 34. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24n (DMSO- d_6 , 100 MHz)

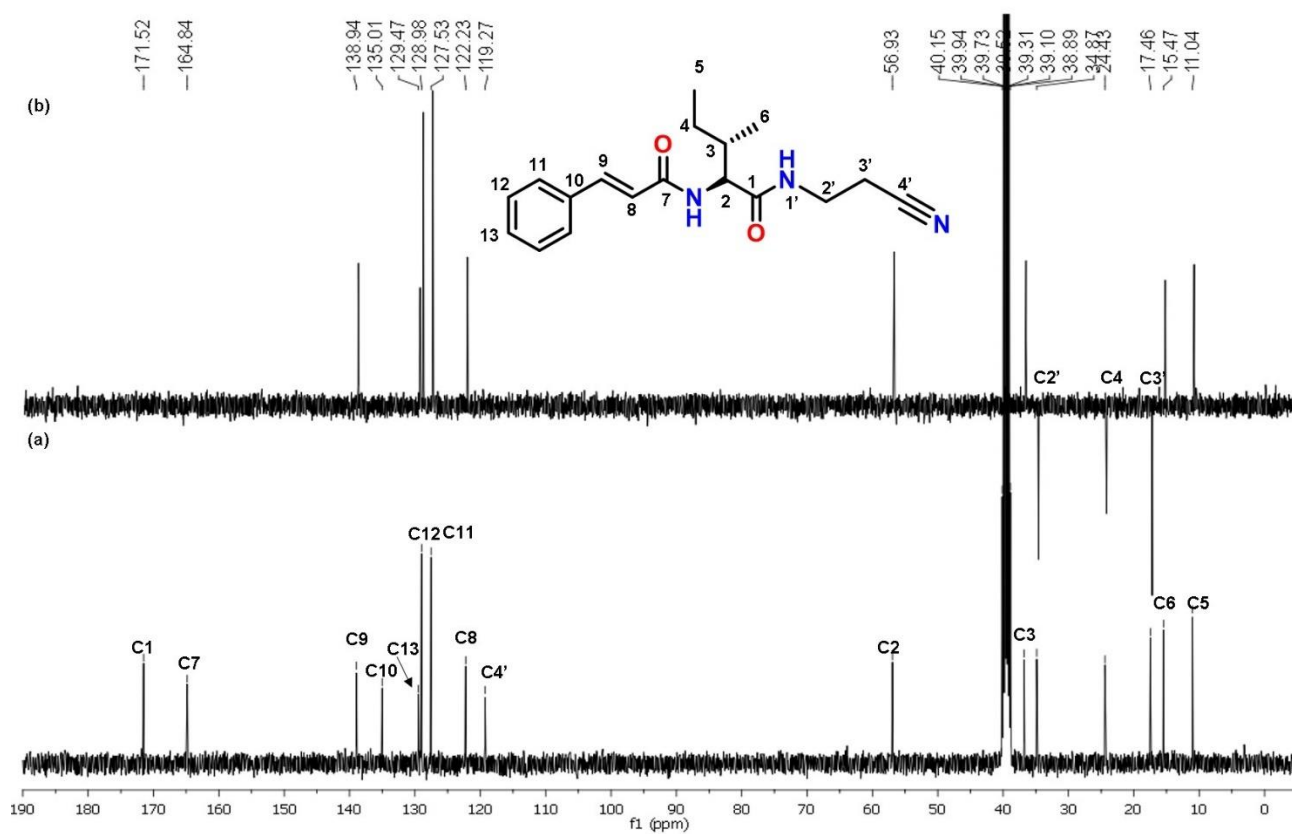


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H do composto 24o (DMSO- d_6 , 400 MHz)

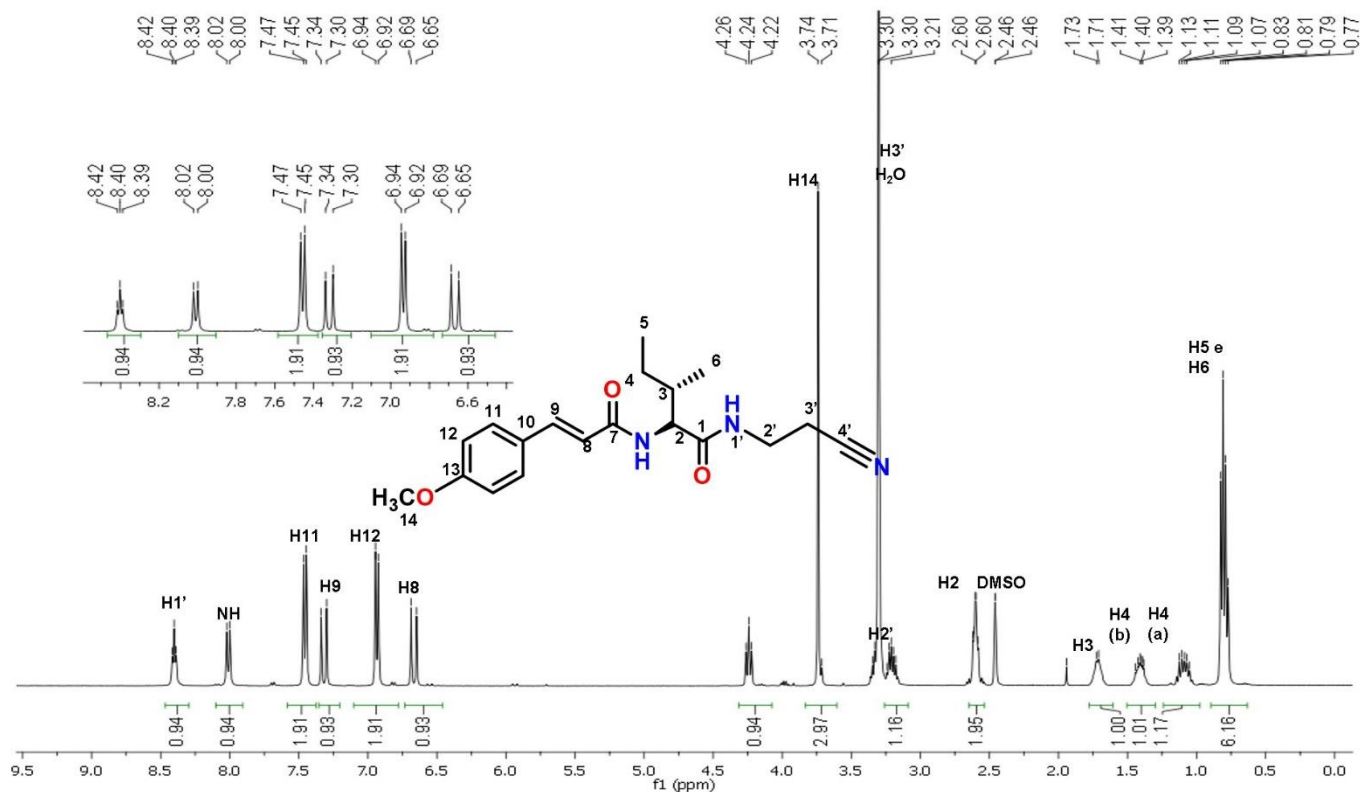


Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto 24o (DMSO- d_6 , 100 MHz)

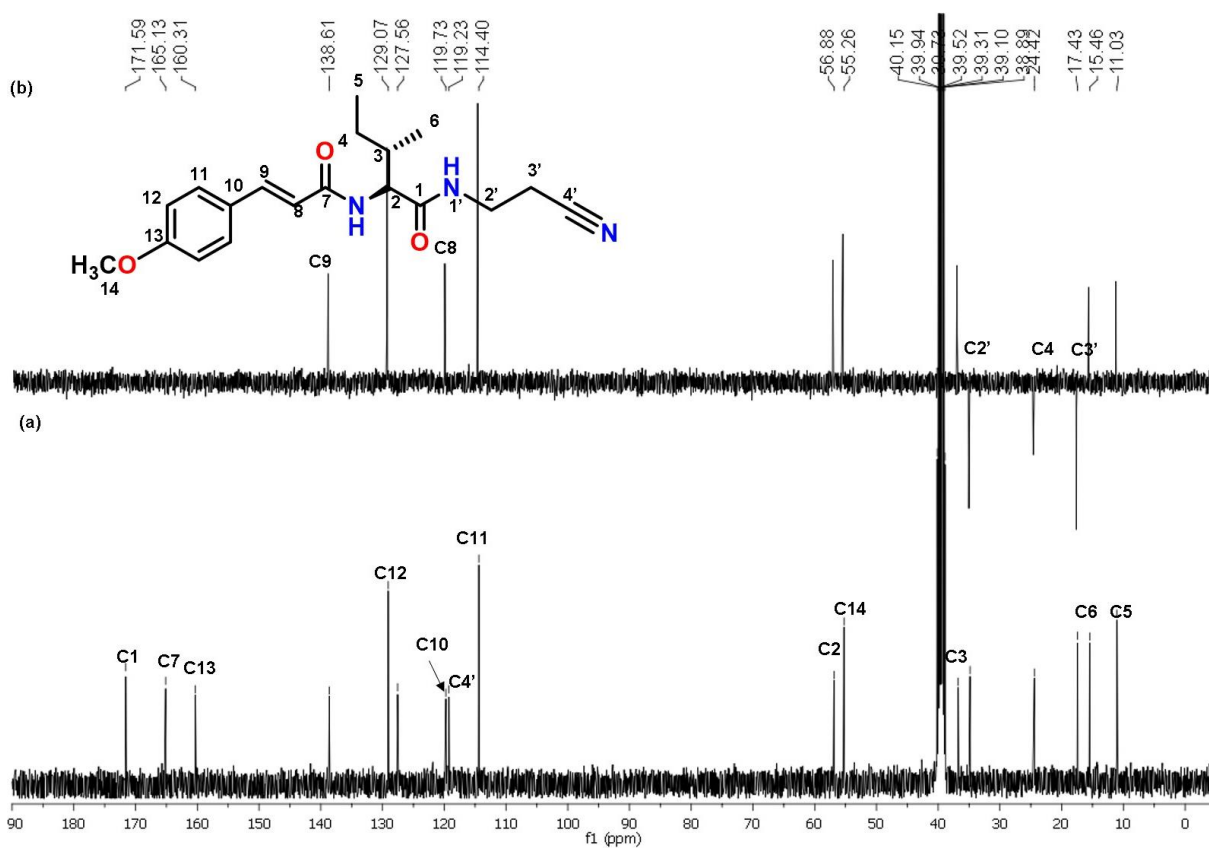


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H do composto **32a** (CDCl_3 , 400 MHz)

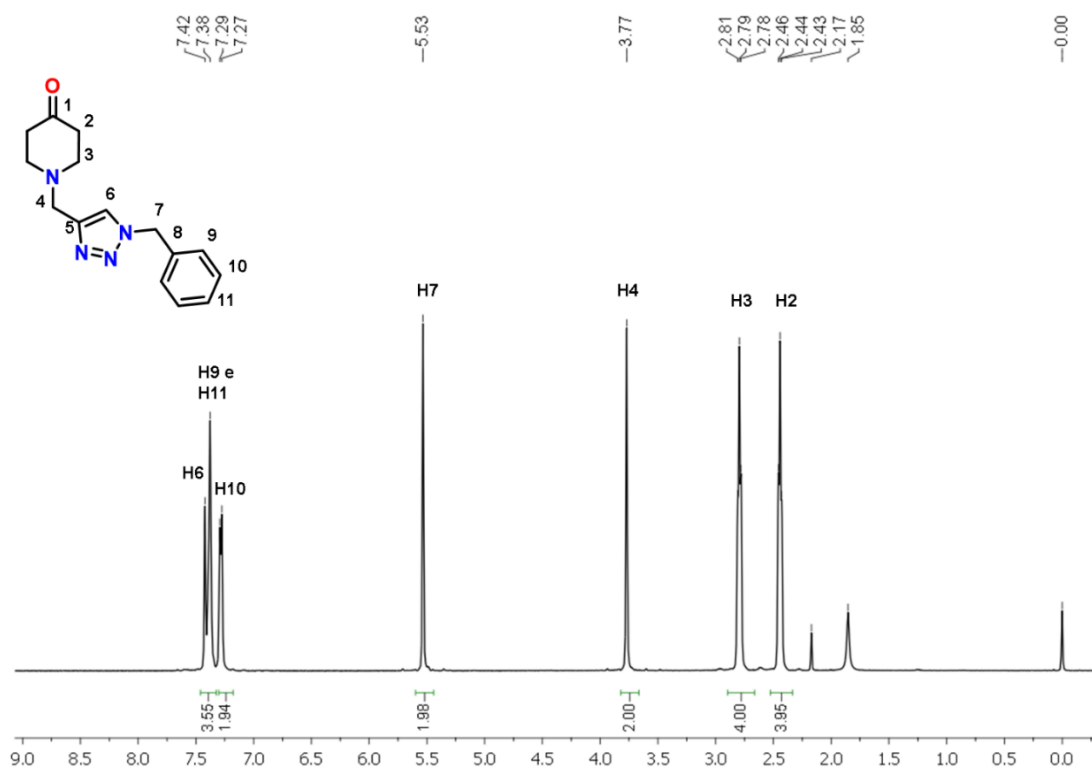


Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **32a** (CDCl_3 , 100 MHz)

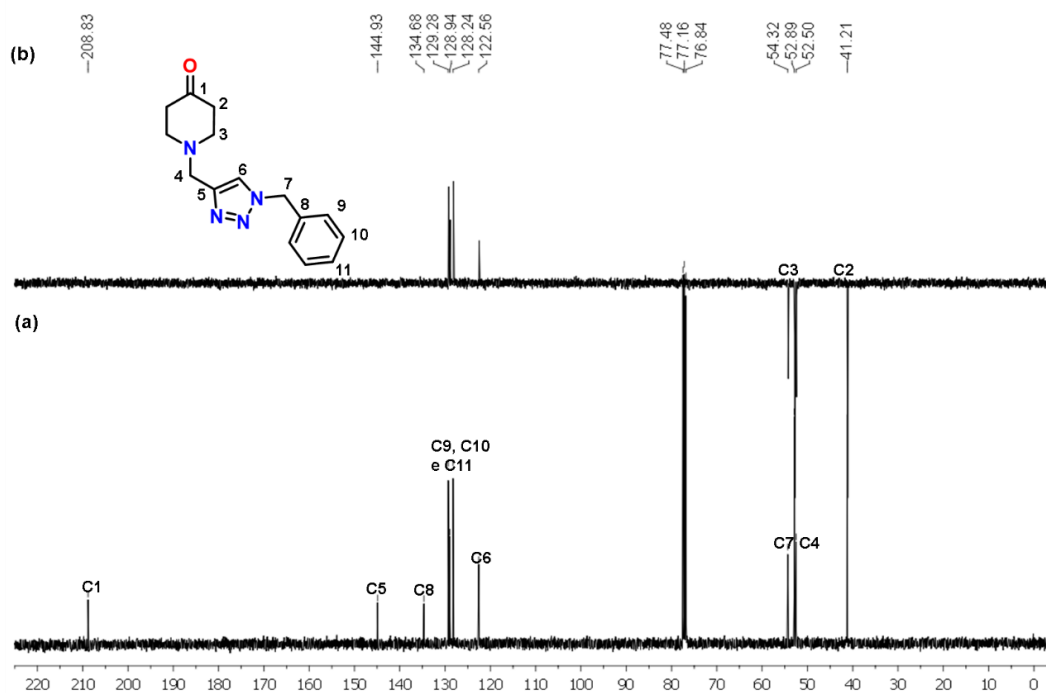


Figura 39. Espectro de RMN de ^1H do composto **32b** (CDCl_3 , 400 MHz)

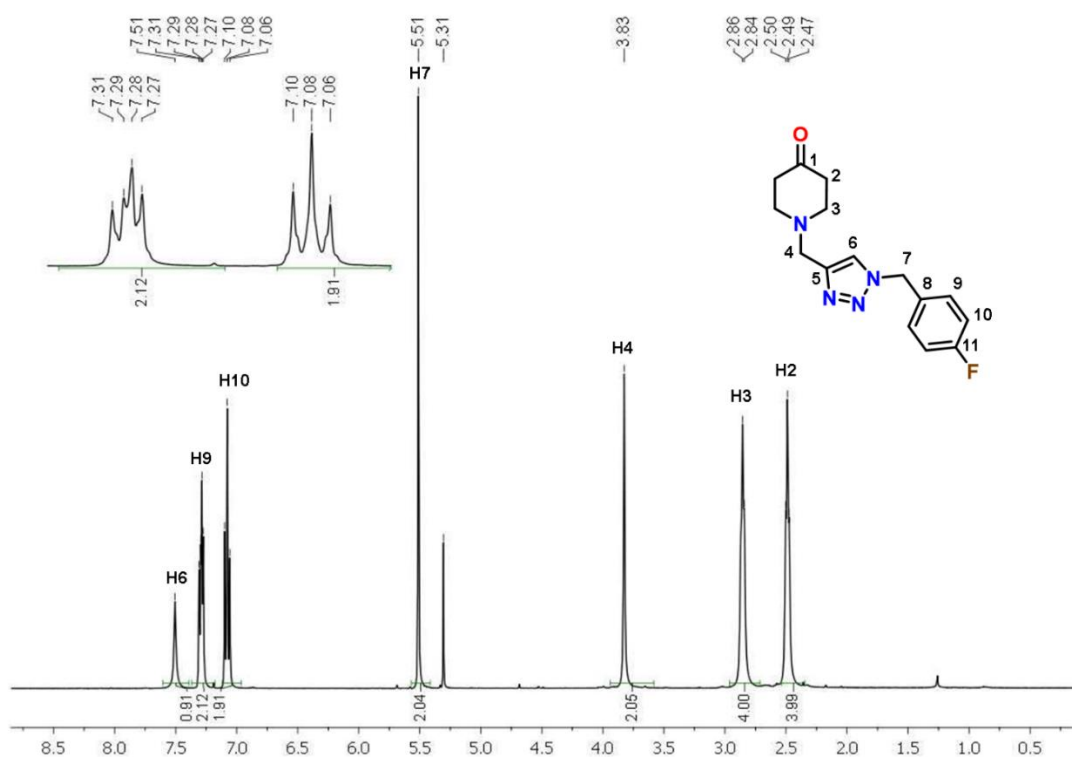


Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **32a** (CDCl_3 , 100 MHz)

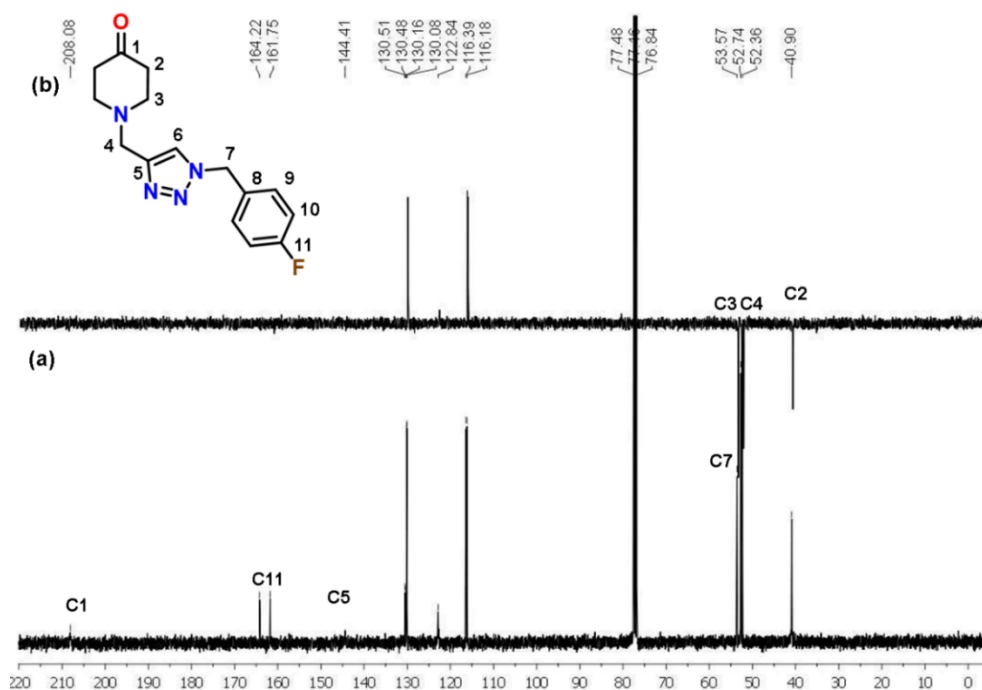


Figura 41. Espectro de RMN de ^1H do composto **32c** (CDCl_3 , 400 MHz)

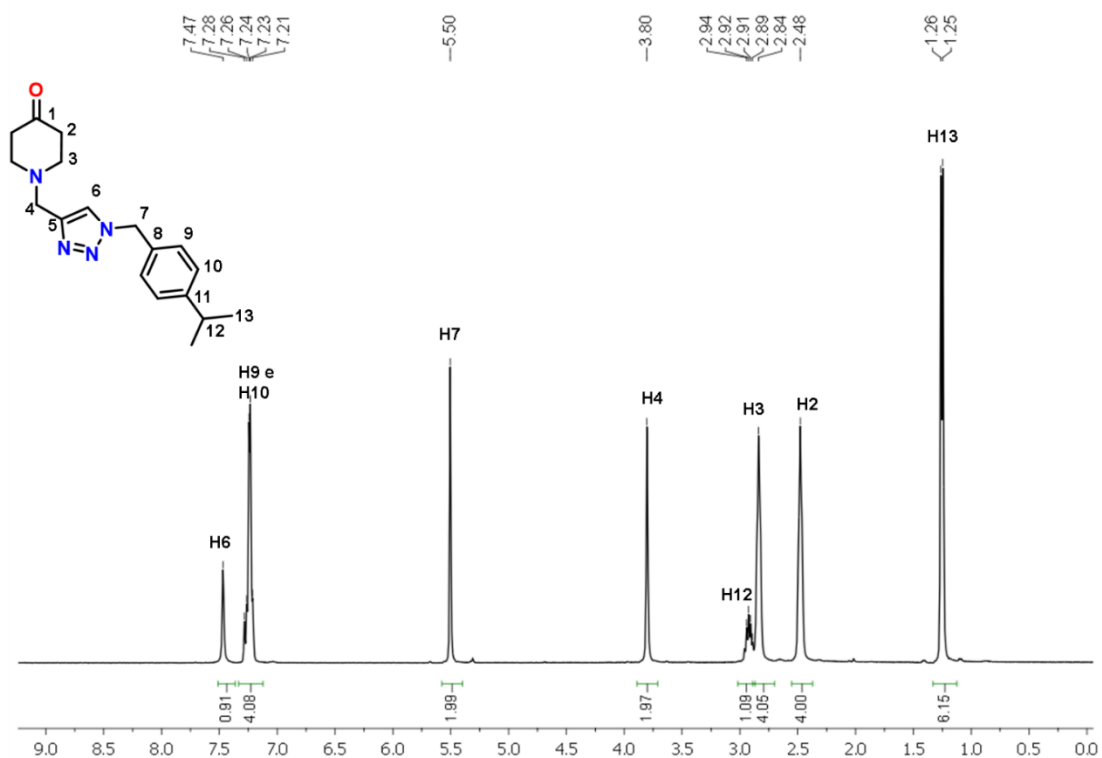


Figura 42. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **32c** (CDCl_3 , 100 MHz)

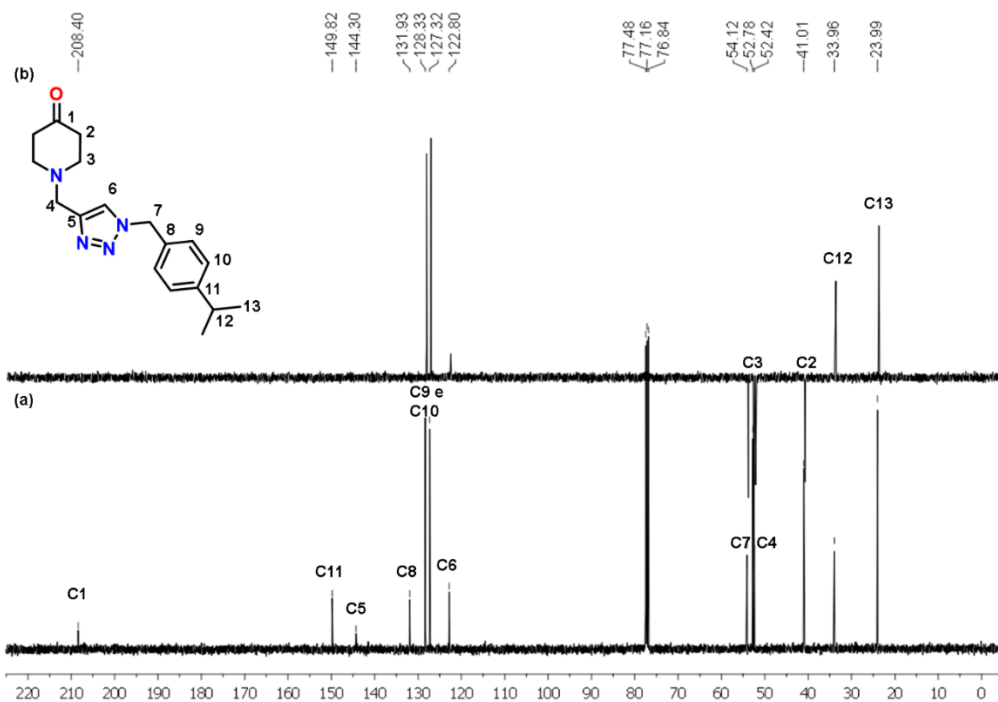


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H do composto **25a** (CDCl_3 , 400 MHz)

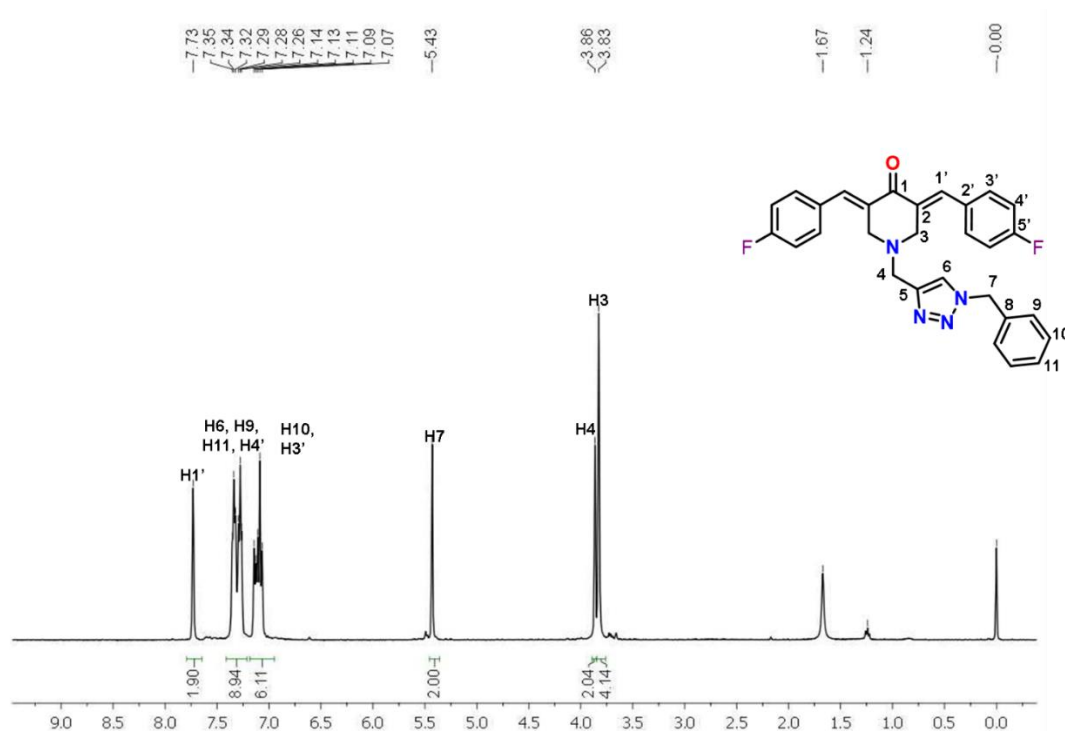


Figura 44. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **25a** (CDCl_3 , 100 MHz)

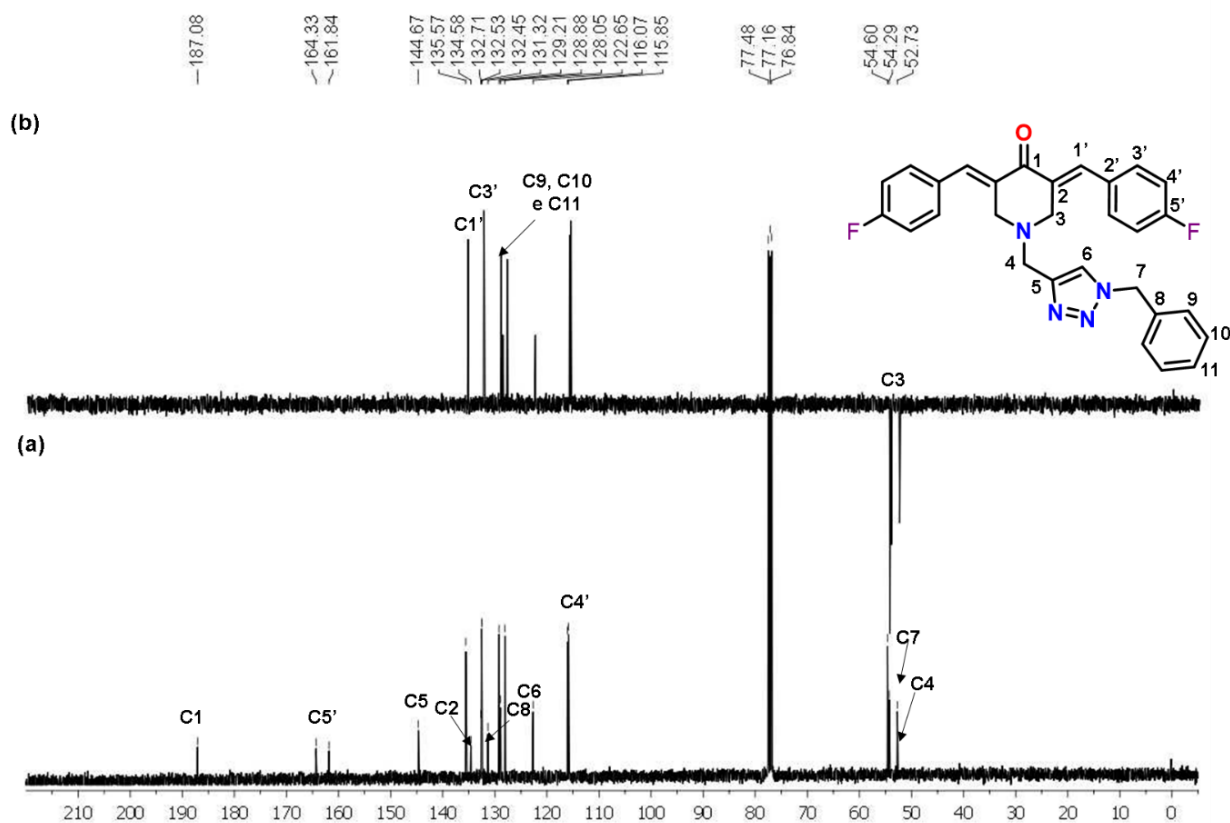


Figura 45. Espectro de RMN de ^1H do composto **25b** (CDCl_3 , 400 MHz)

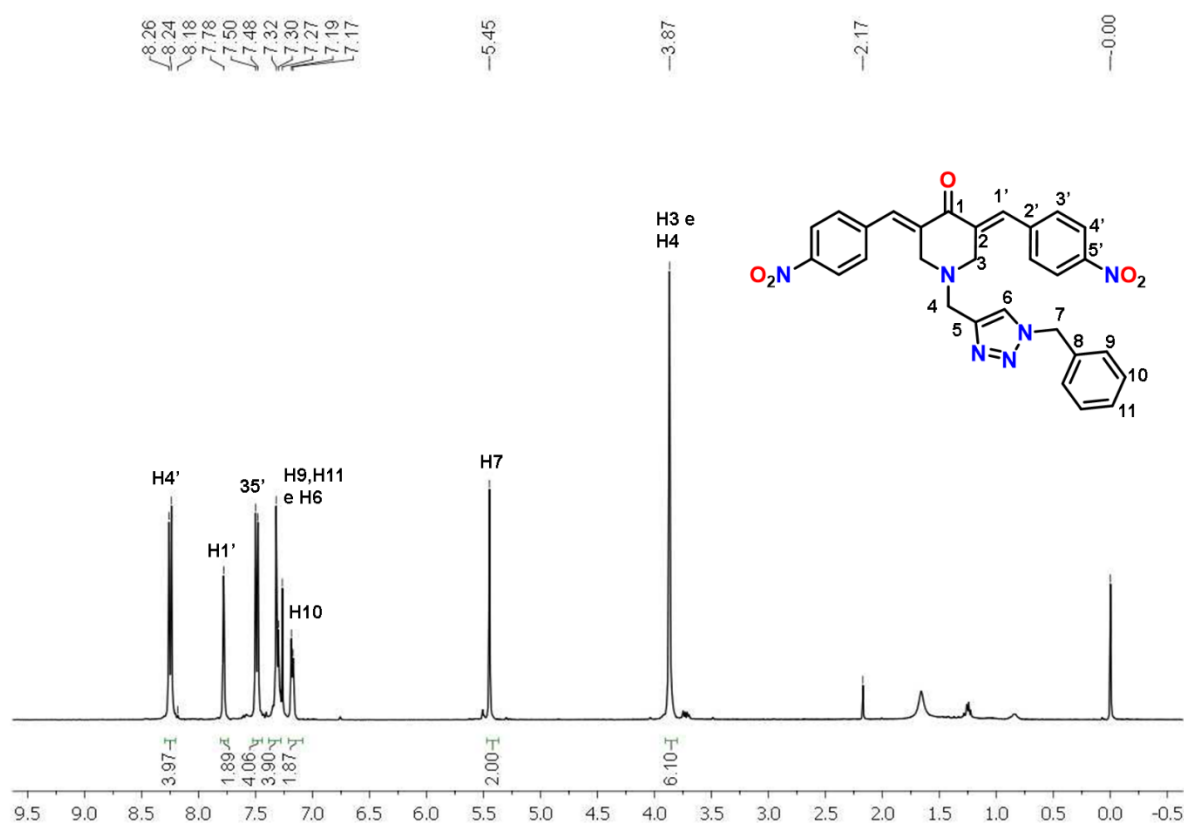


Figura 46. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **25b** (CDCl_3 , 100 MHz)

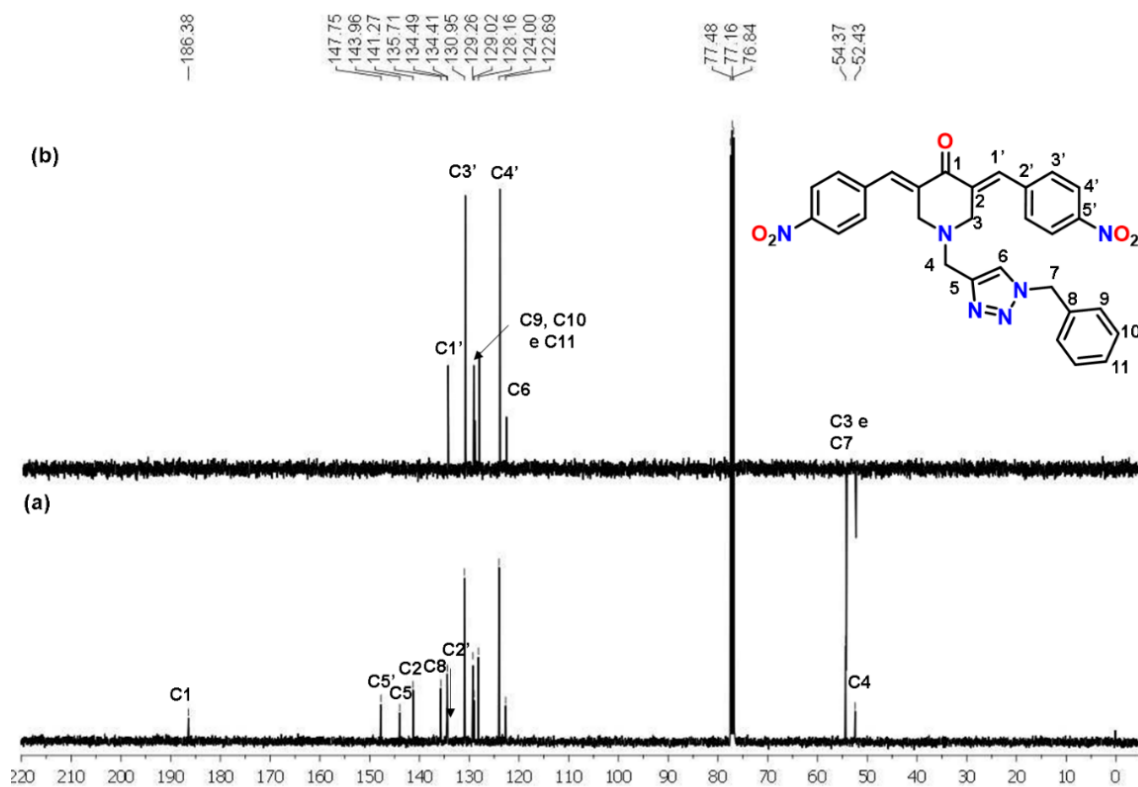


Figura 47. Espectro de RMN de ^1H do composto **25c** (CDCl_3 , 400 MHz)

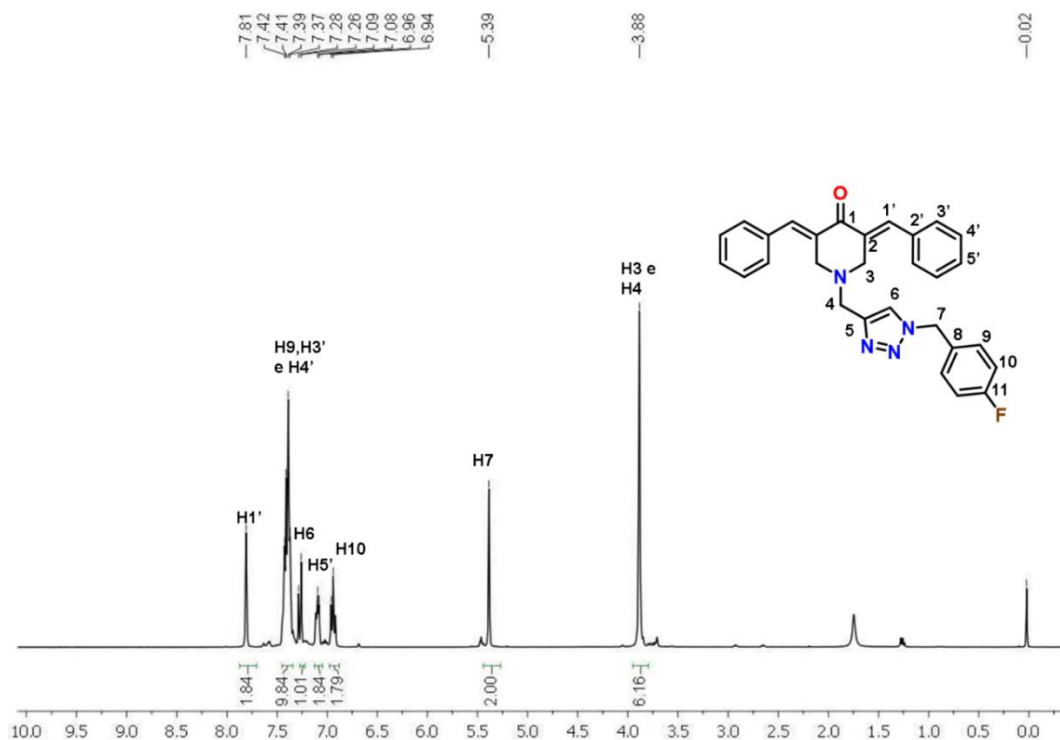


Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **25c** (CDCl_3 , 100 MHz)

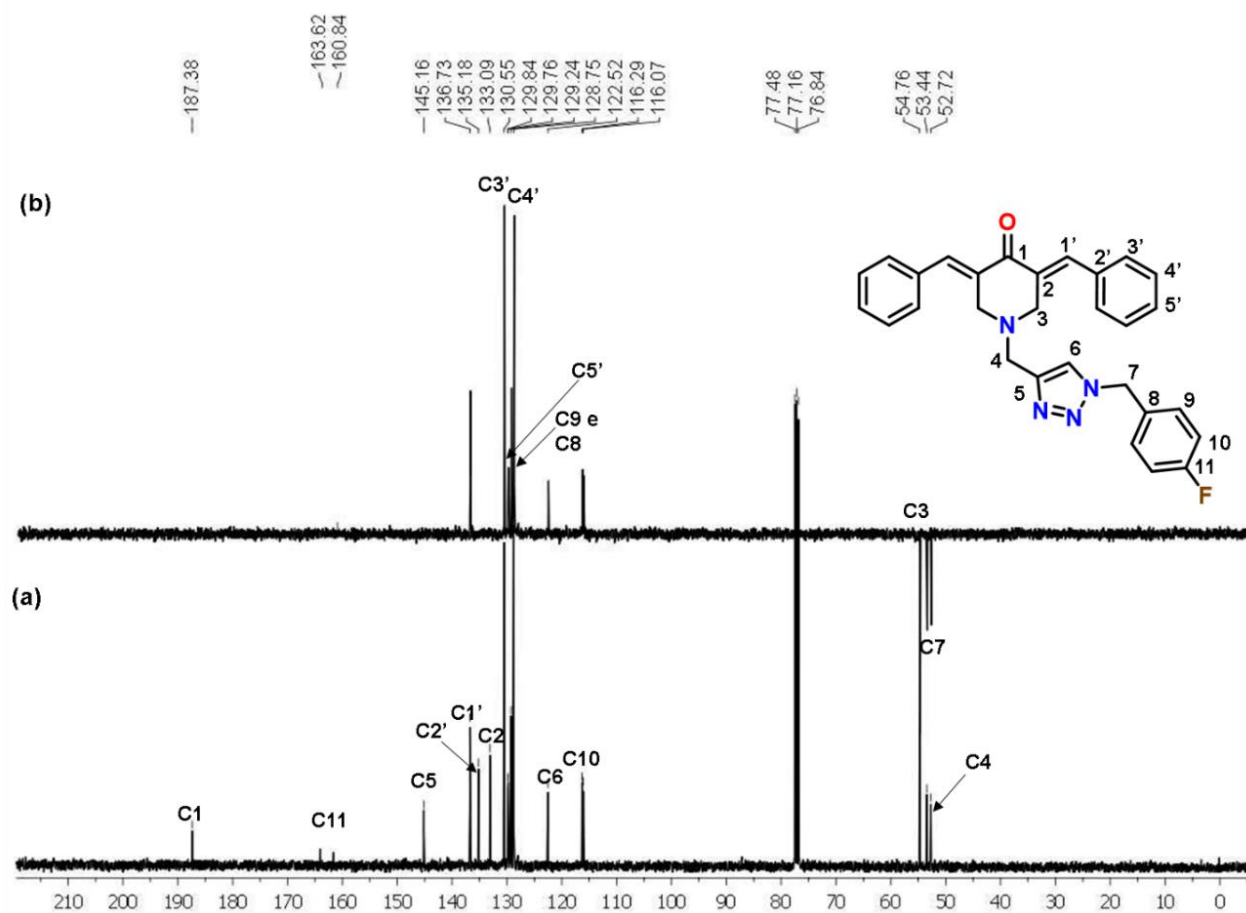


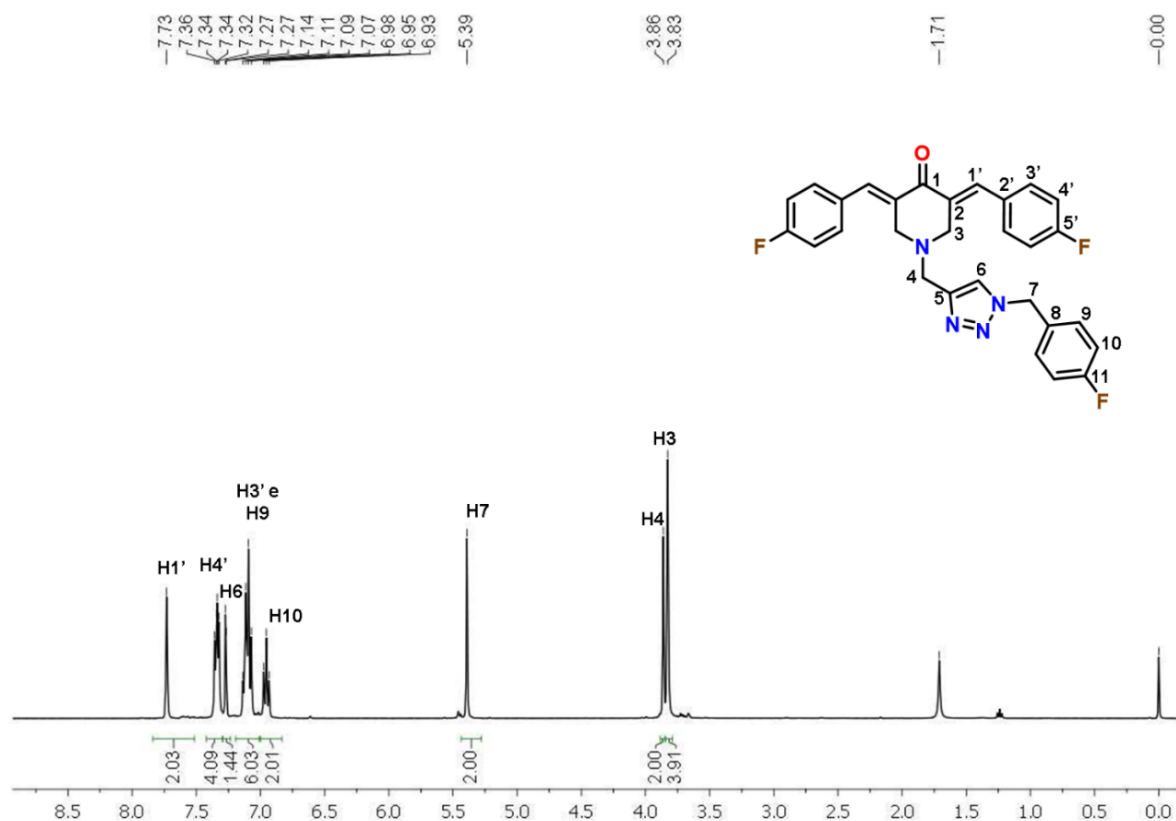
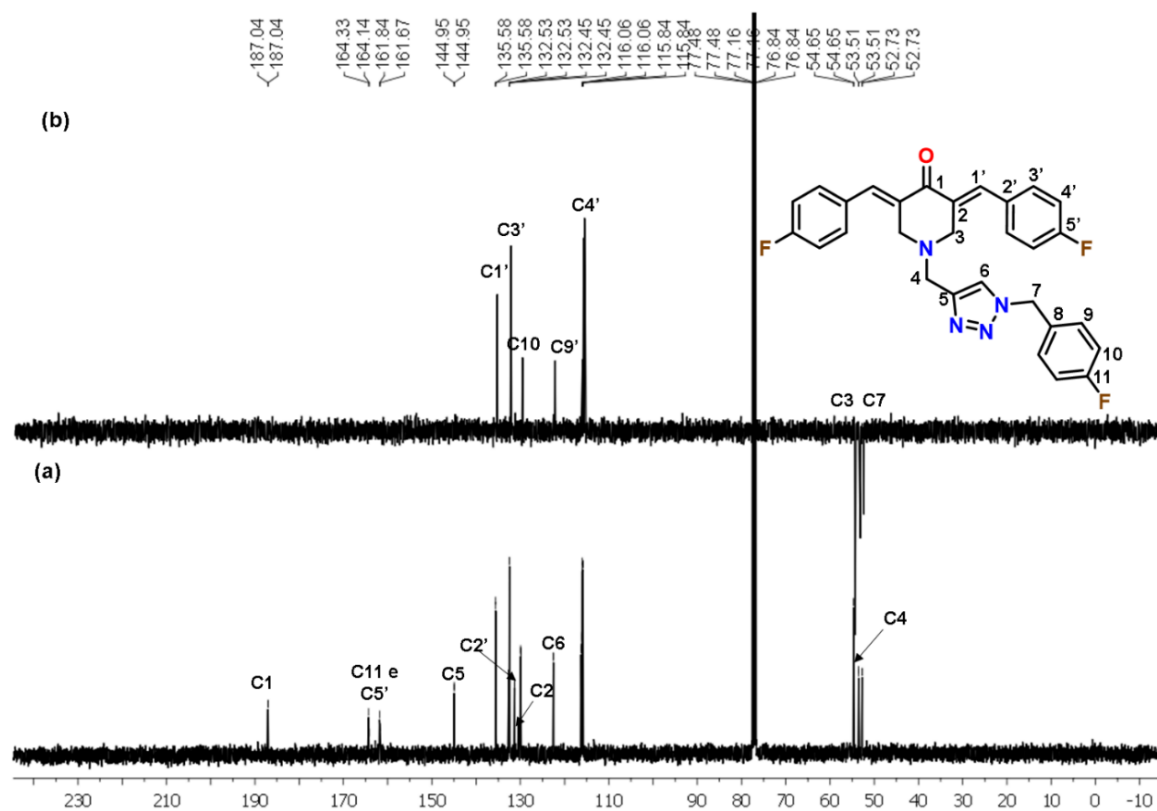
Figura 49. Espectro de RMN de ^1H do composto **25d** (CDCl_3 , 400 MHz)**Figura 50.** Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **25d** (CDCl_3 , 100 MHz)

Figura 51. Espectro de RMN de ^1H do composto **25e** (CDCl_3 , 400 MHz)

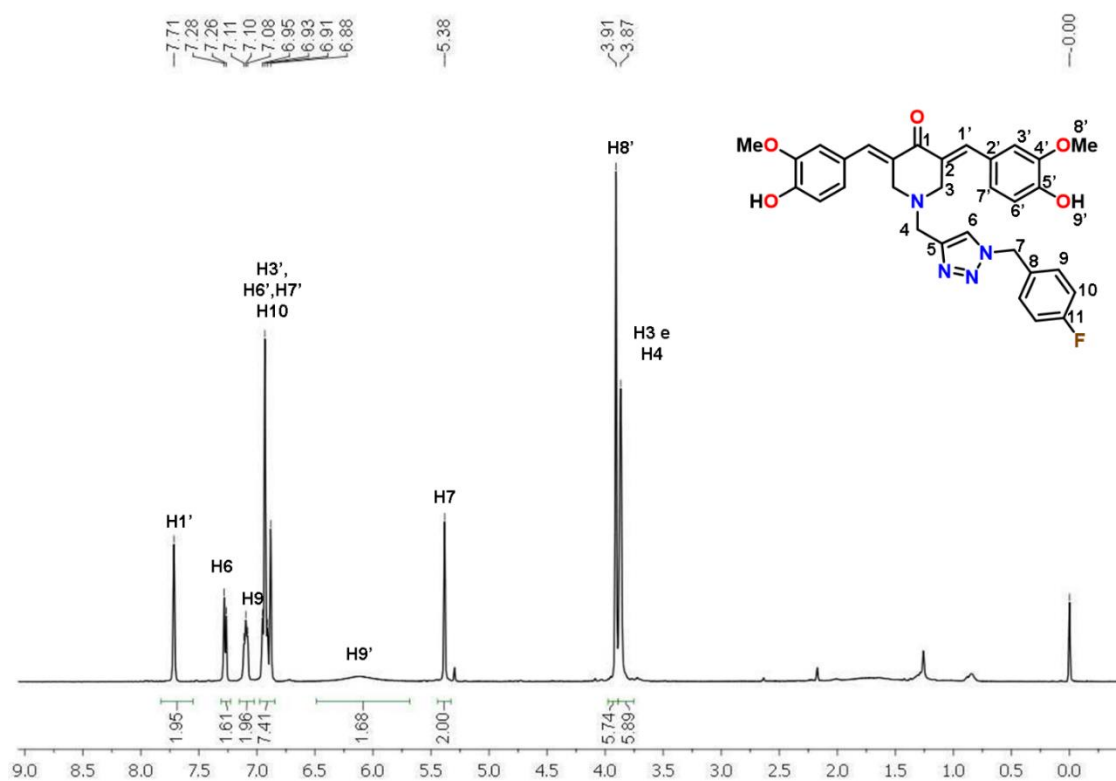


Figura 52. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **25e** (CDCl_3 , 100 MHz)

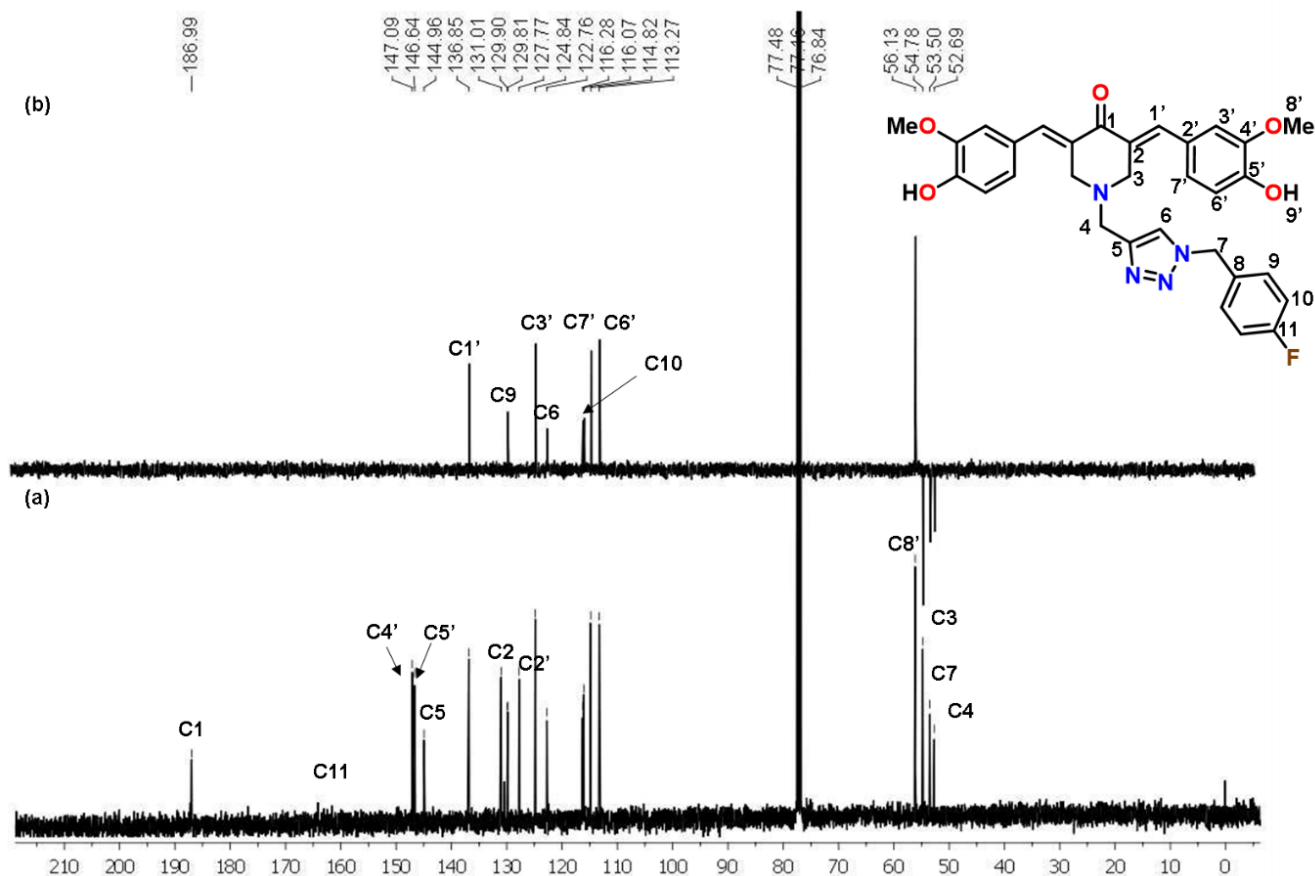


Figura 53. Espectro de RMN de ^1H do composto **25g** (CDCl_3 , 400 MHz)

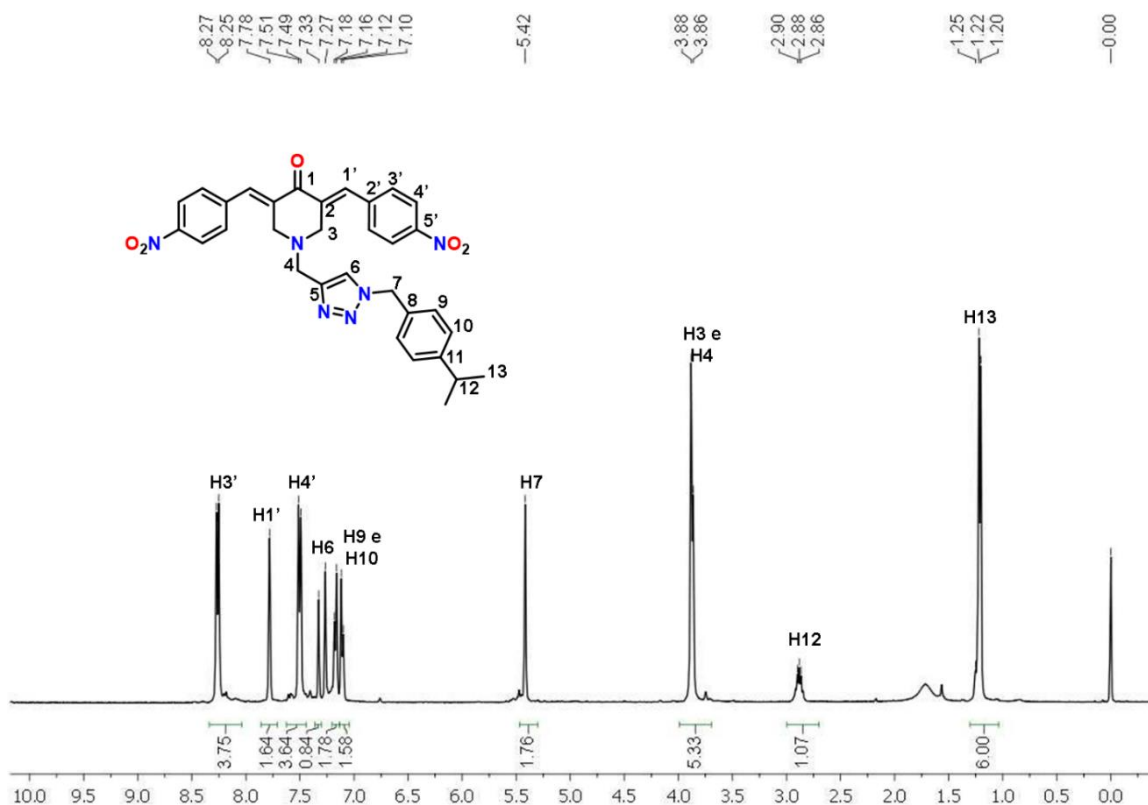


Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **25g** (CDCl_3 , 100 MHz)

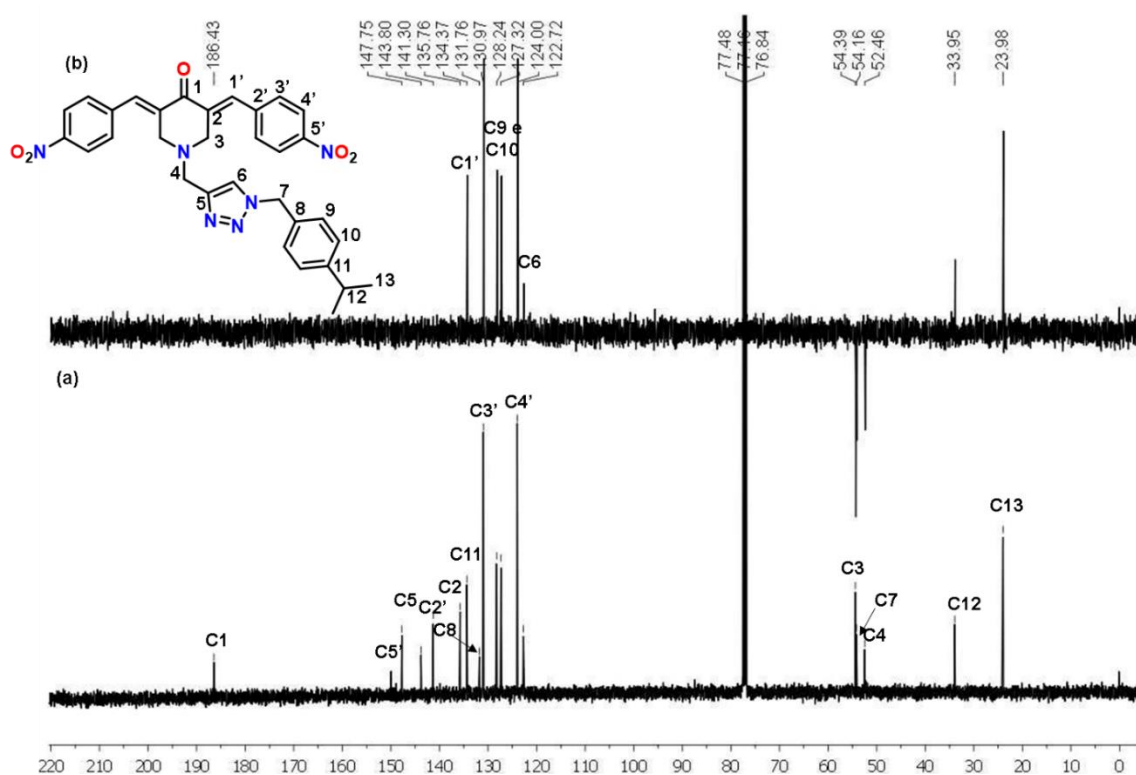


Figura 55. Espectro de RMN de ^1H do composto **25h** (CDCl_3 , 400 MHz)

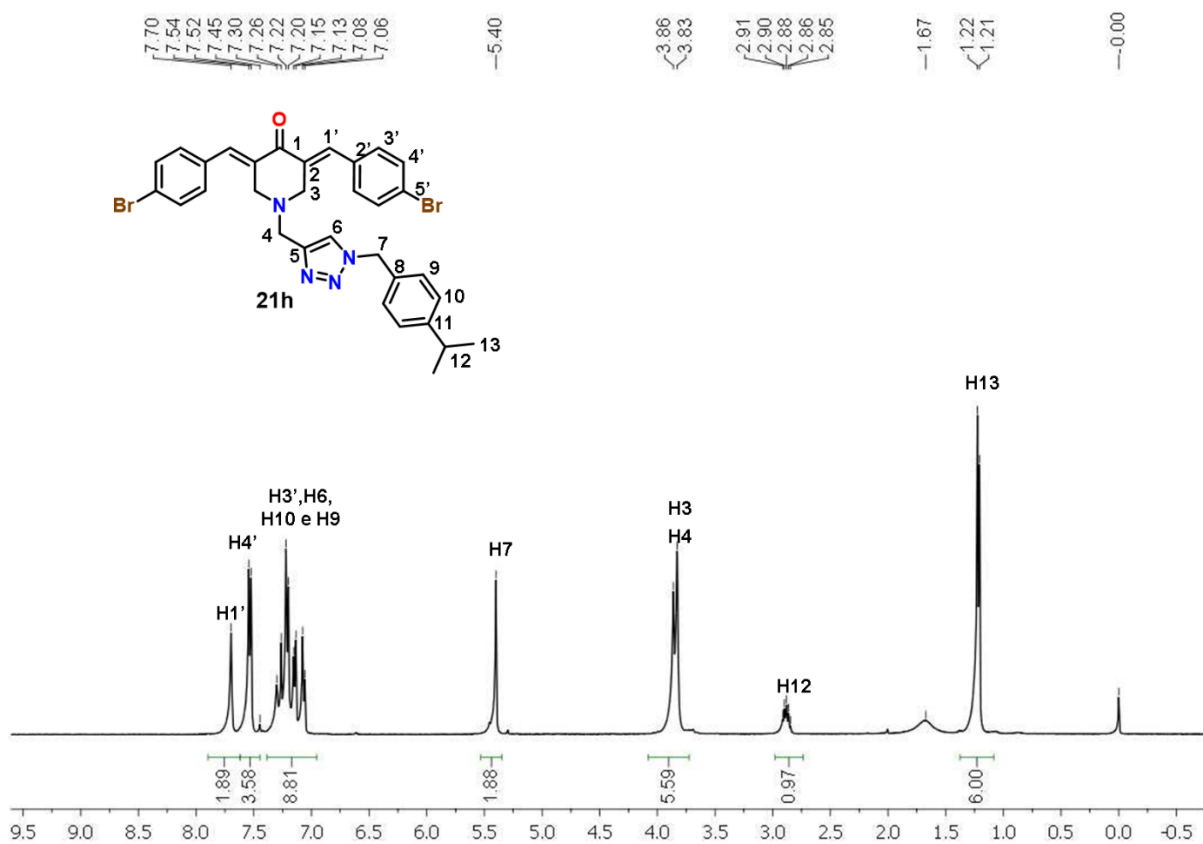


Figura 56. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **25h** (CDCl_3 , 100 MHz)

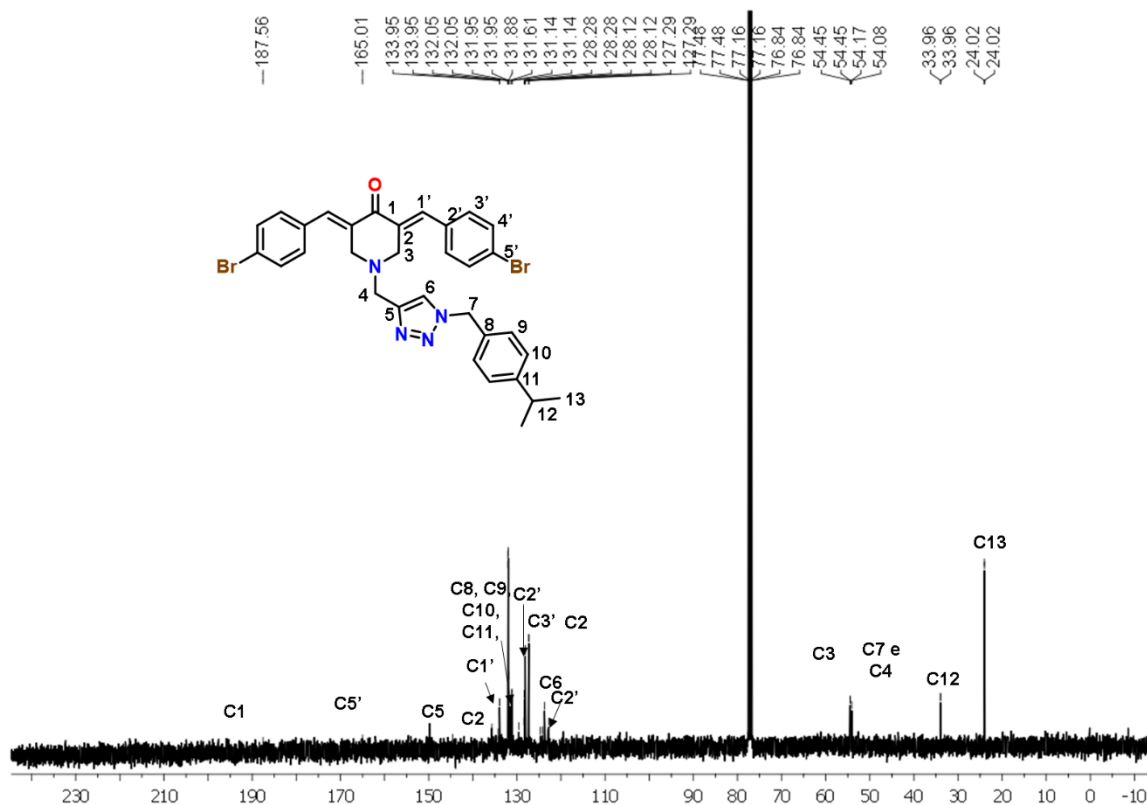


Figura 57. Espectro de RMN de ^1H do composto **25i** (CDCl_3 , 400 MHz)

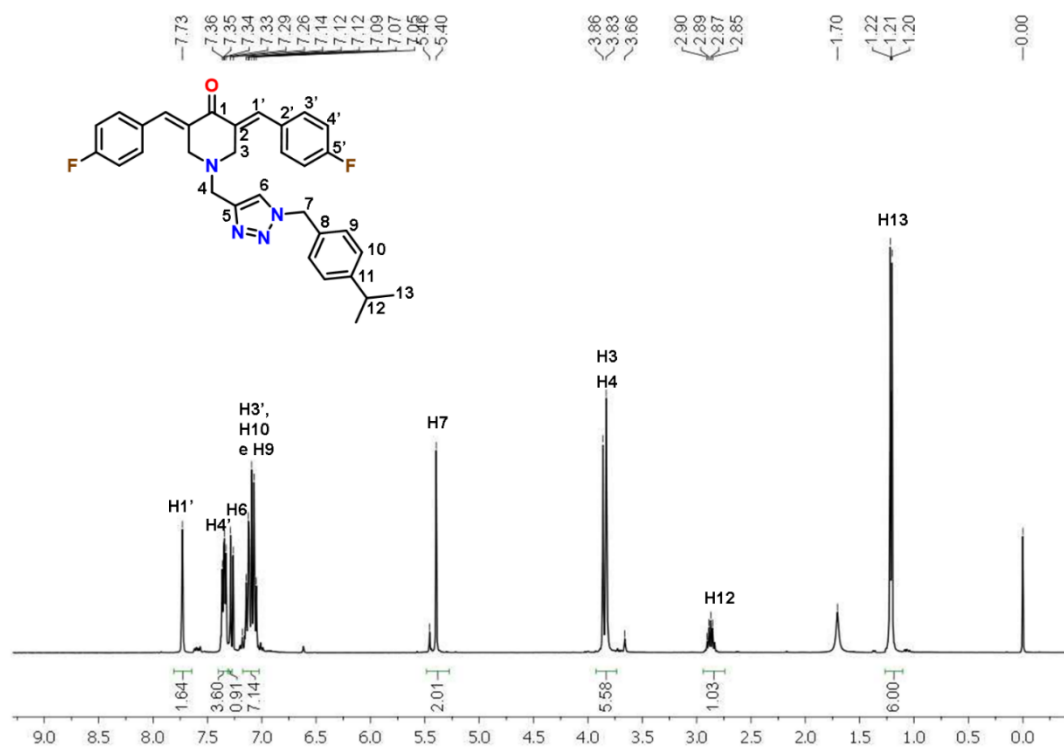
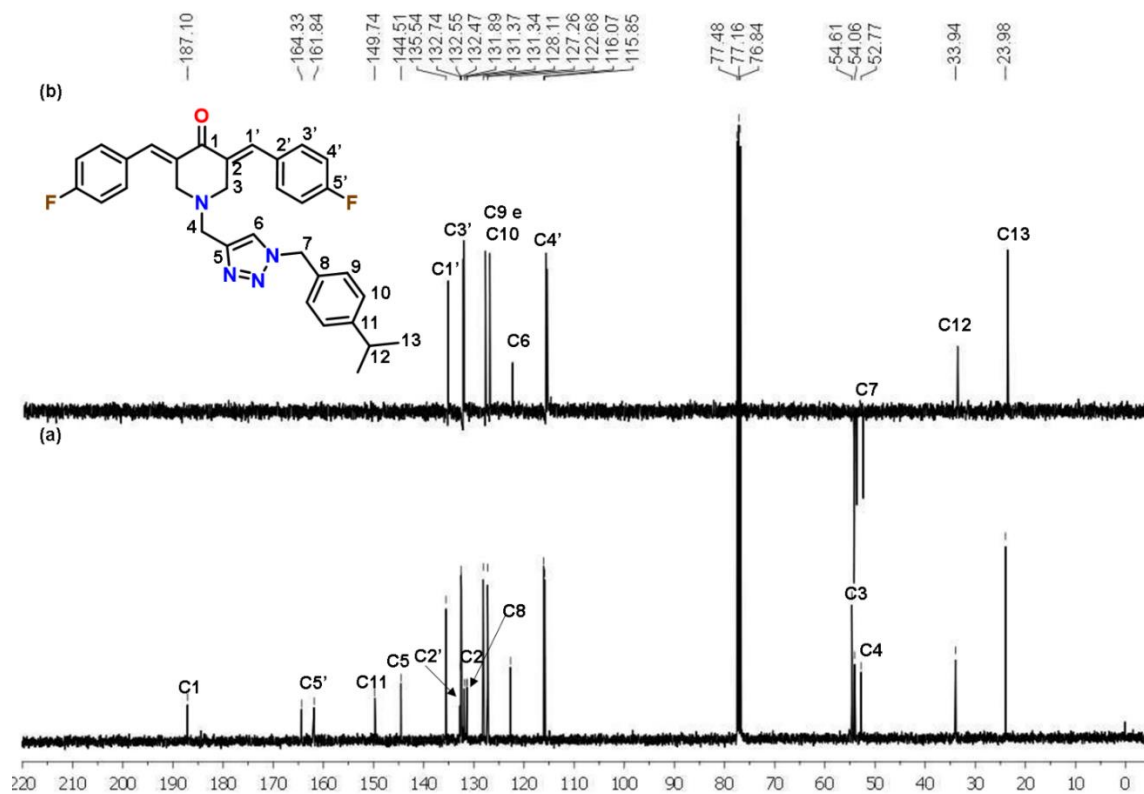


Figura 58. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) do composto **25i** (CDCl_3 , 100 MHz)



Apêndice 3: Espectros na região do IV dos produtos finais

Figura 59. Espectro na região do IV (KBr) do composto **24b**

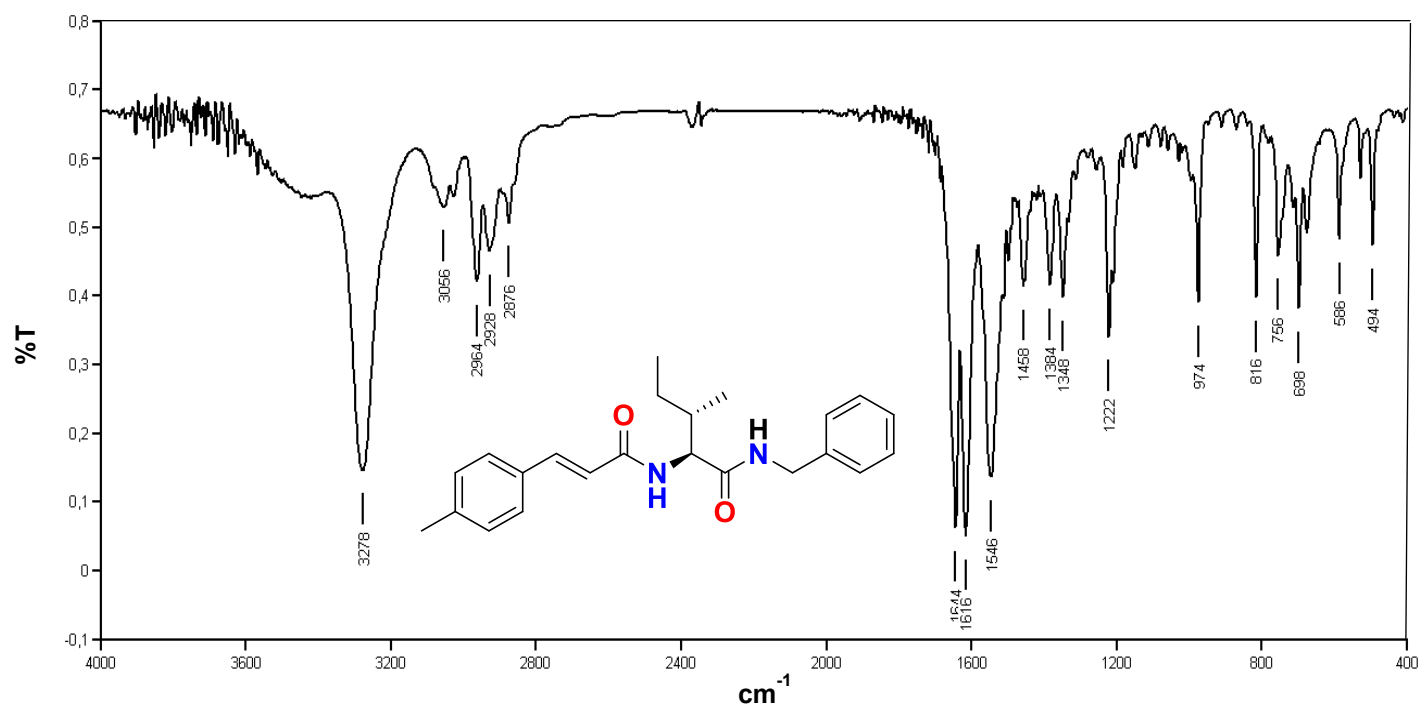


Figura 60. Espectro na região do IV (KBr) do composto **24c**

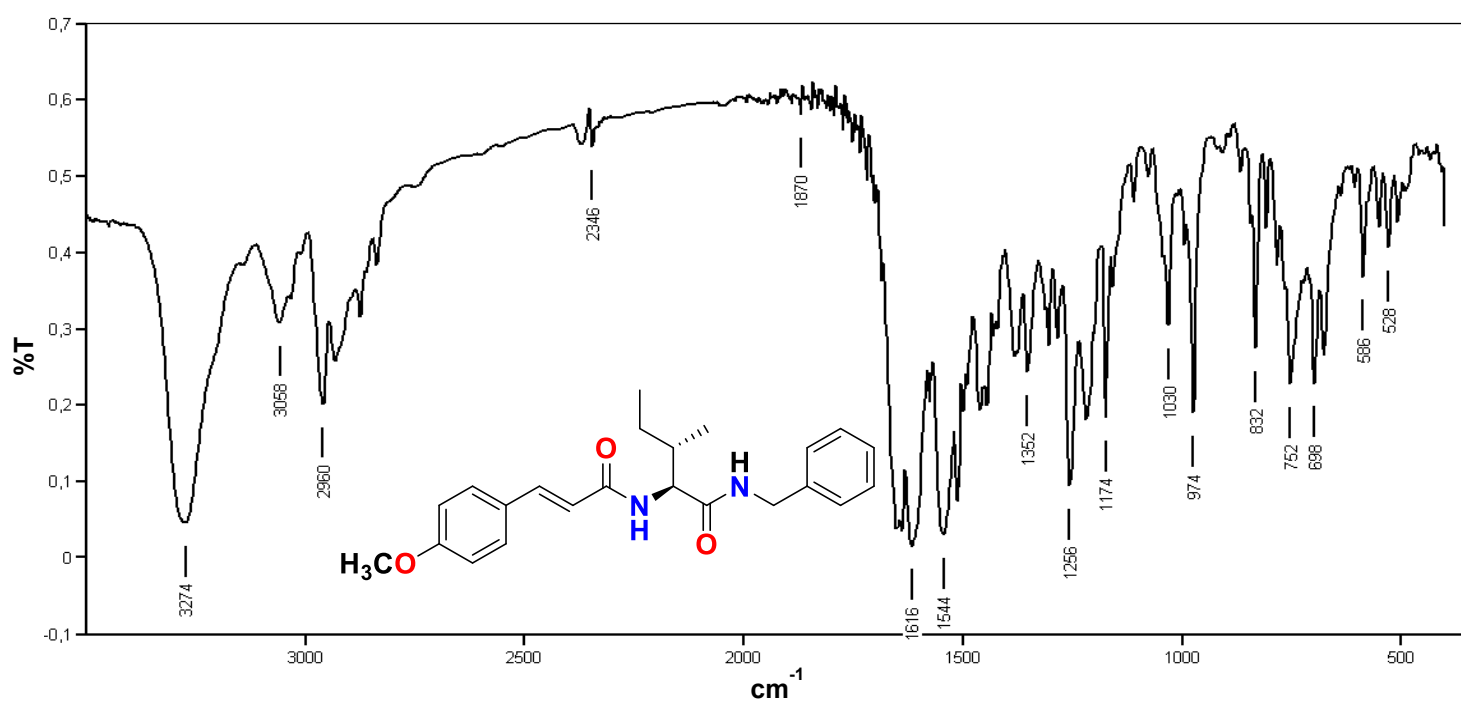


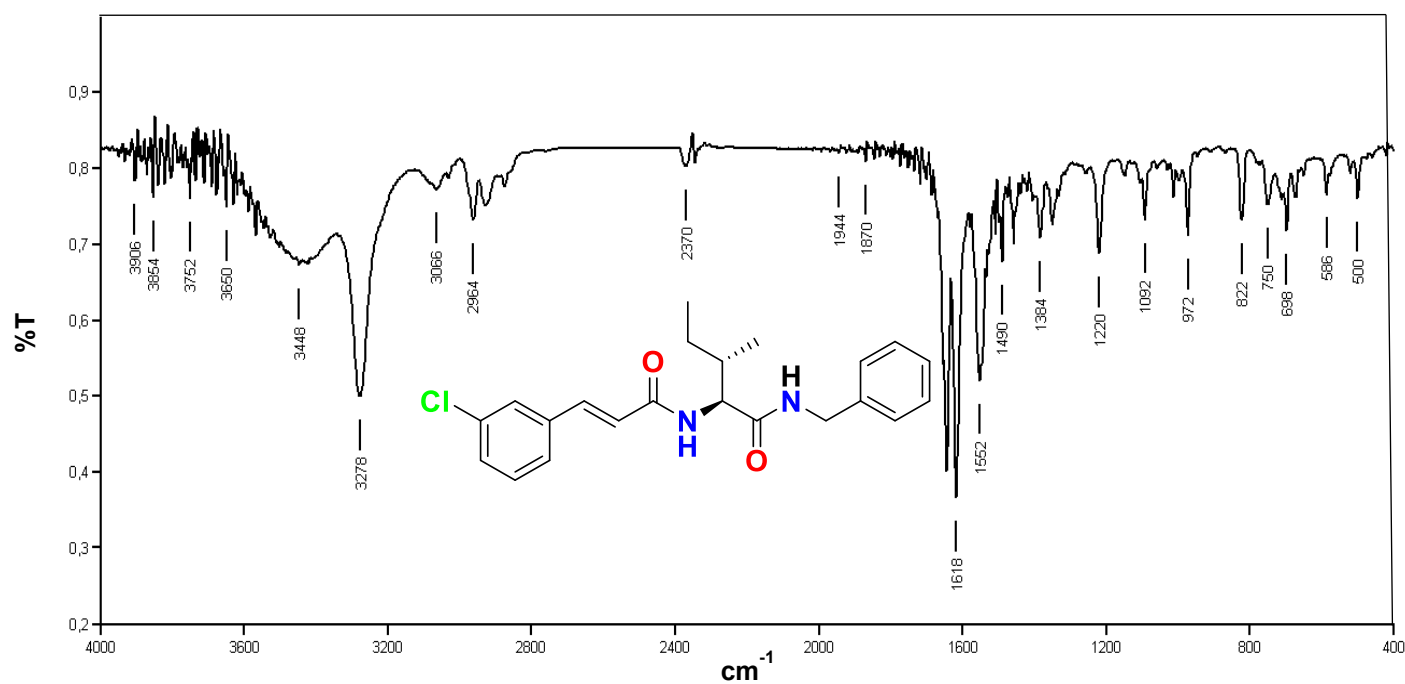
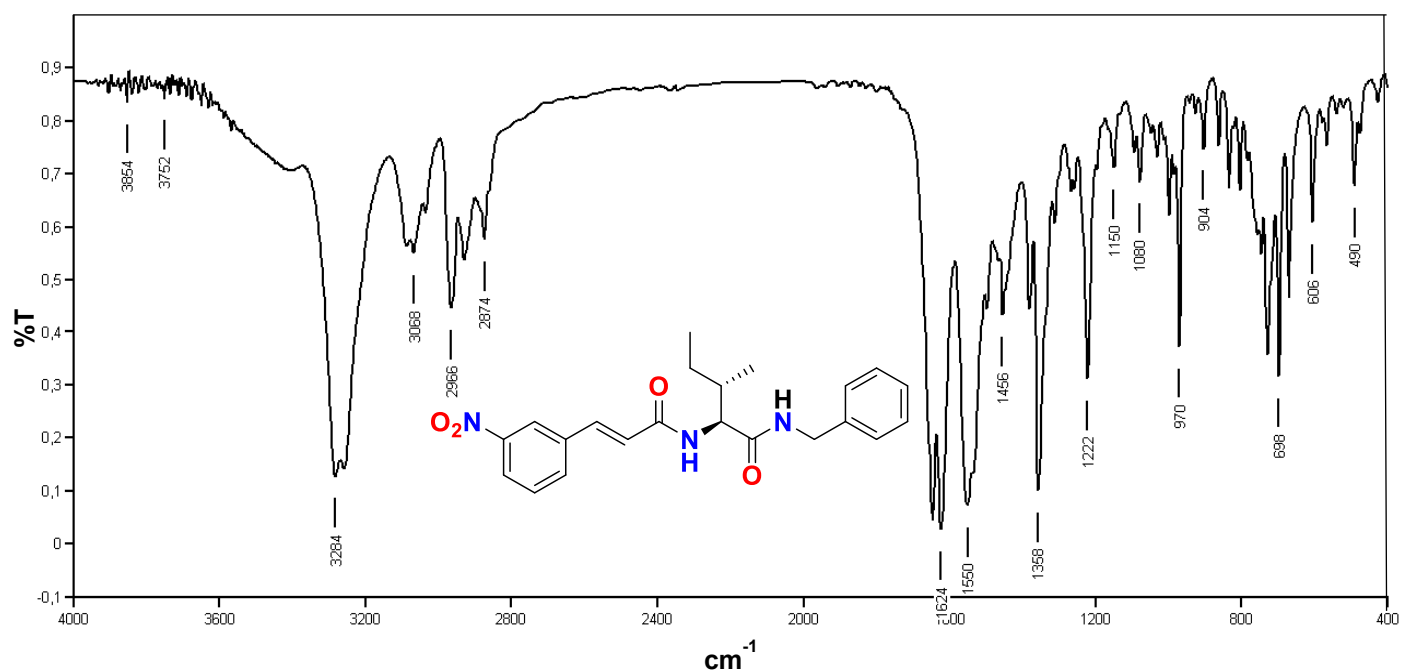
Figura 61. Espectro na região do IV (KBr) do composto **24d****Figura 62.** Espectro na região do IV (KBr) do composto **24e**

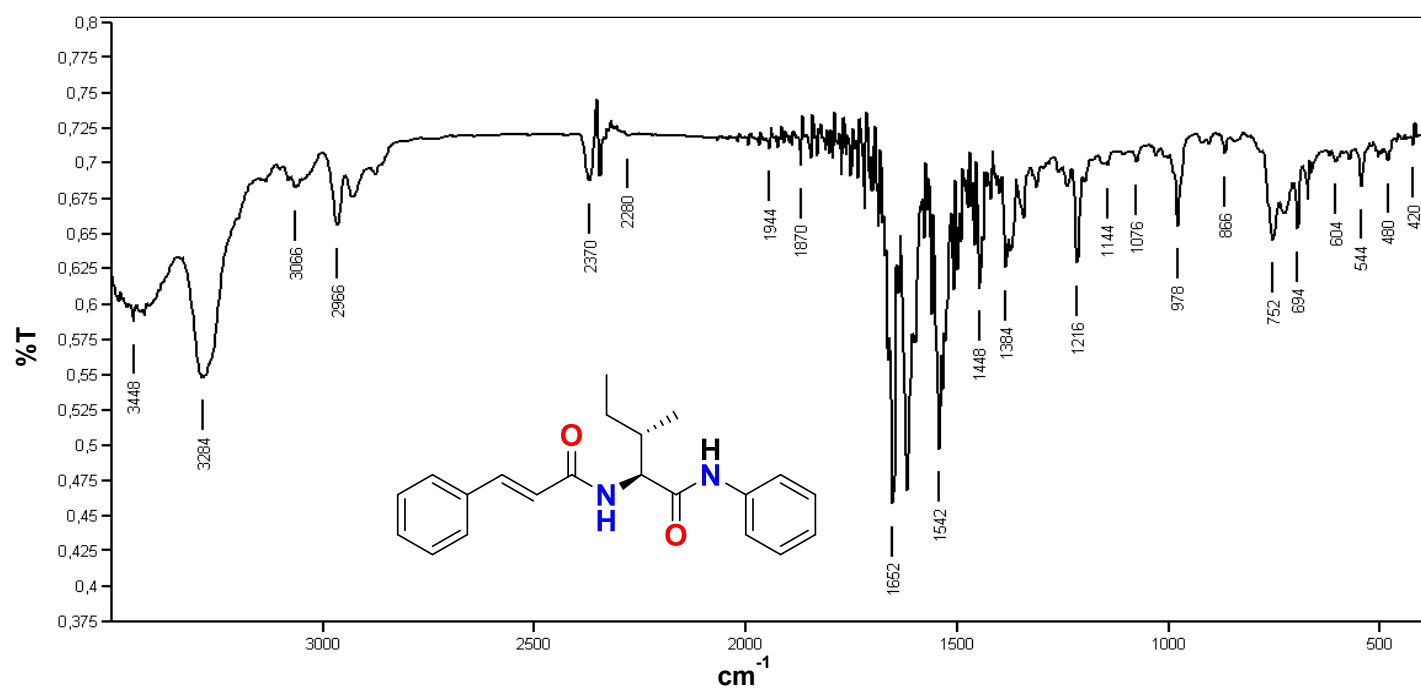
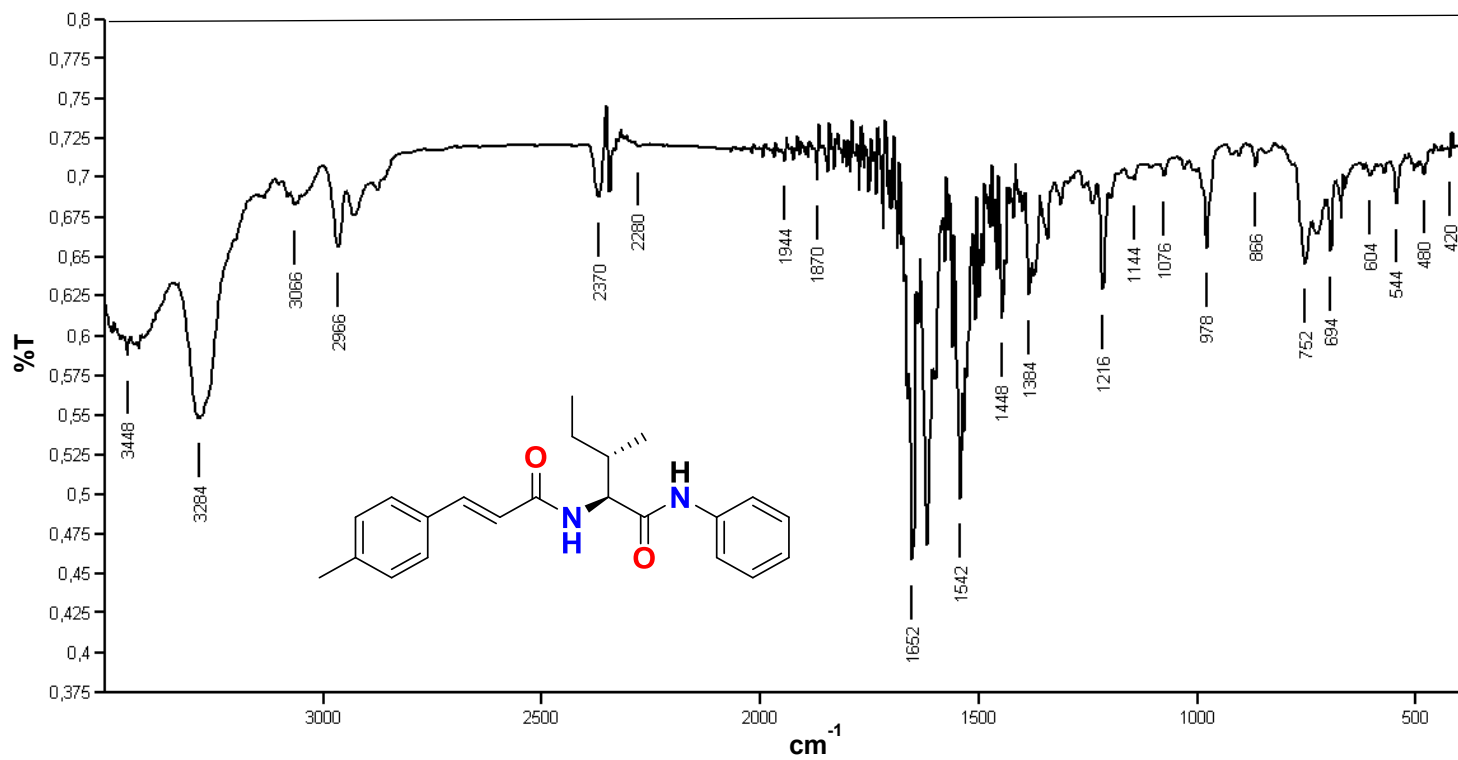
Figura 63. Espectro na região do IV (KBr) do composto **24f****Figura 64.** Espectro na região do IV (KBr) do composto **24g**

Figura 65. Espectro na região do IV (KBr) do composto 24h

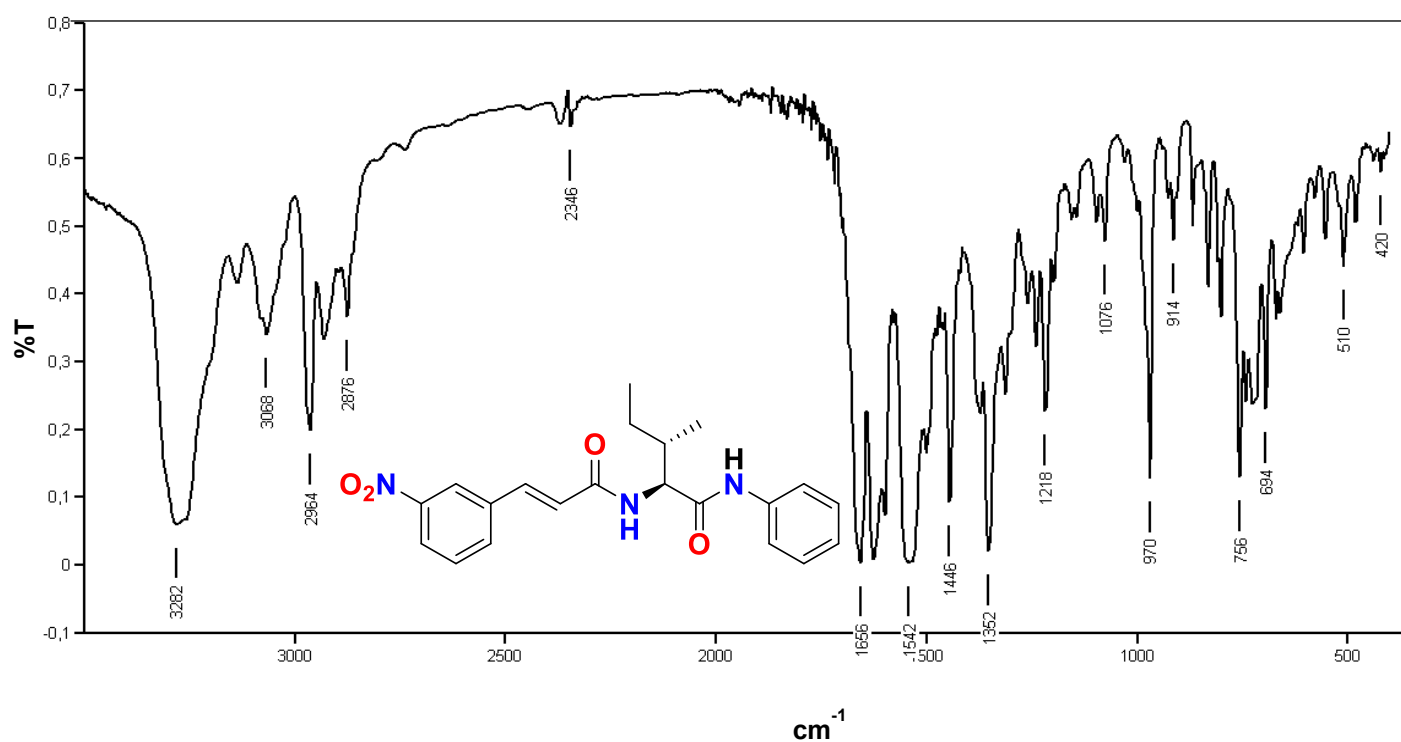


Figura 66. Espectro na região do IV (KBr) do composto 24i

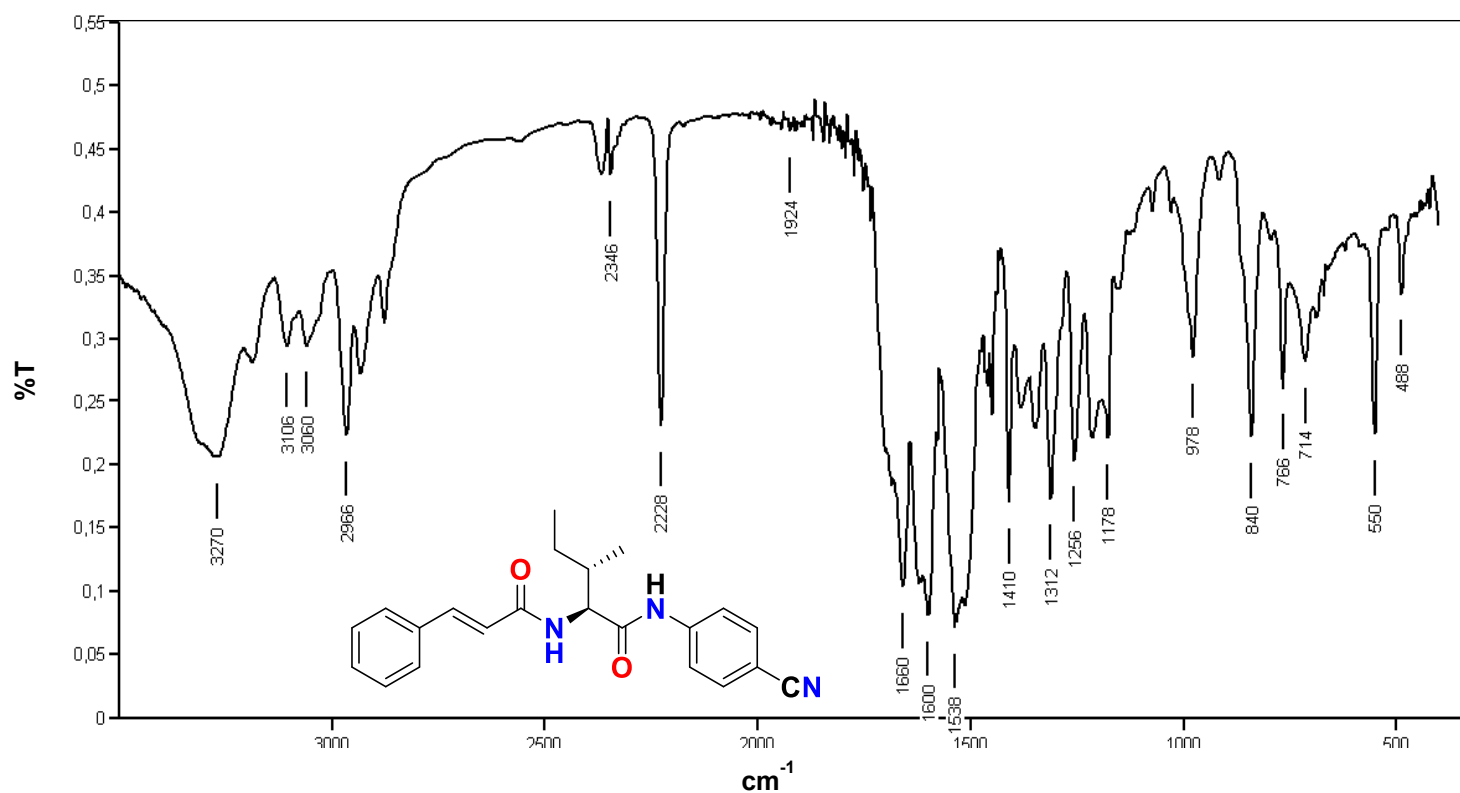


Figura 67. Espectro na região do IV (KBr) do composto **24k**

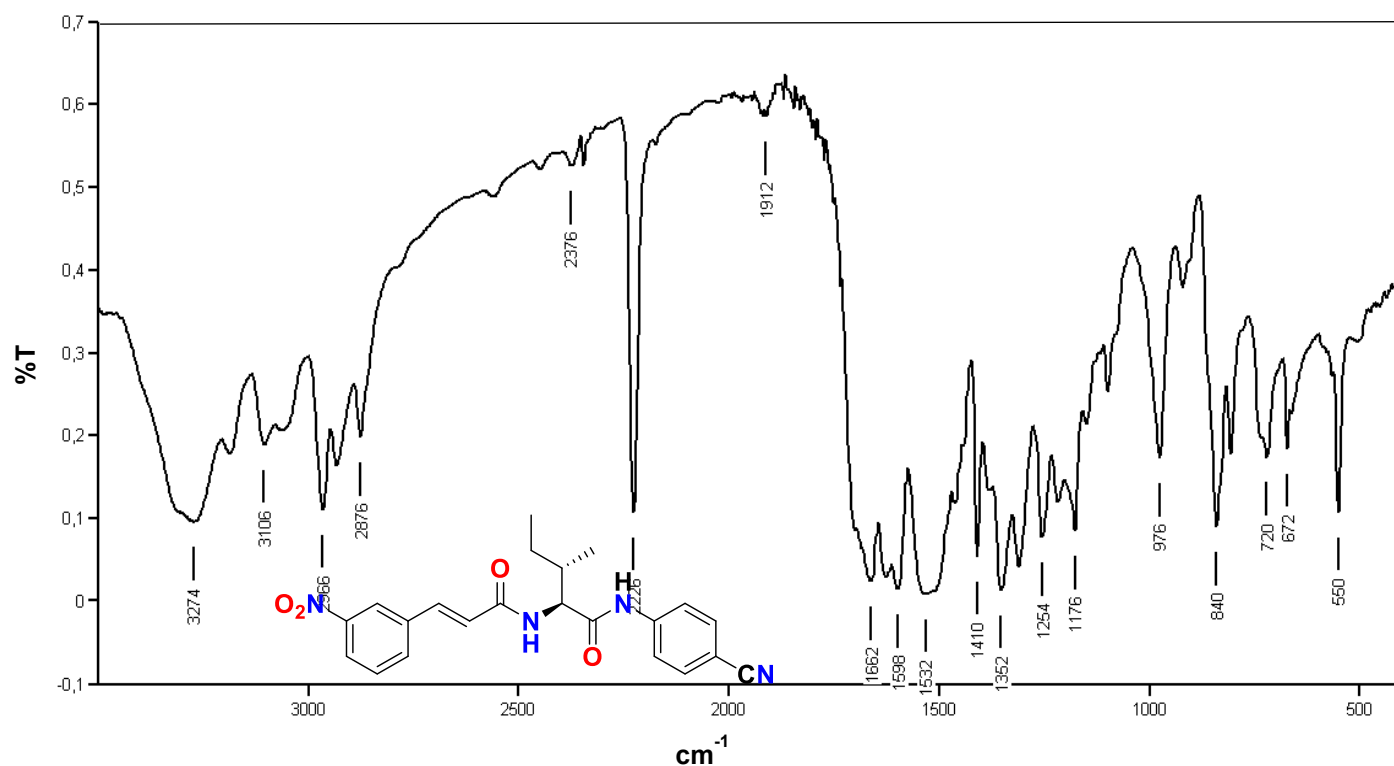
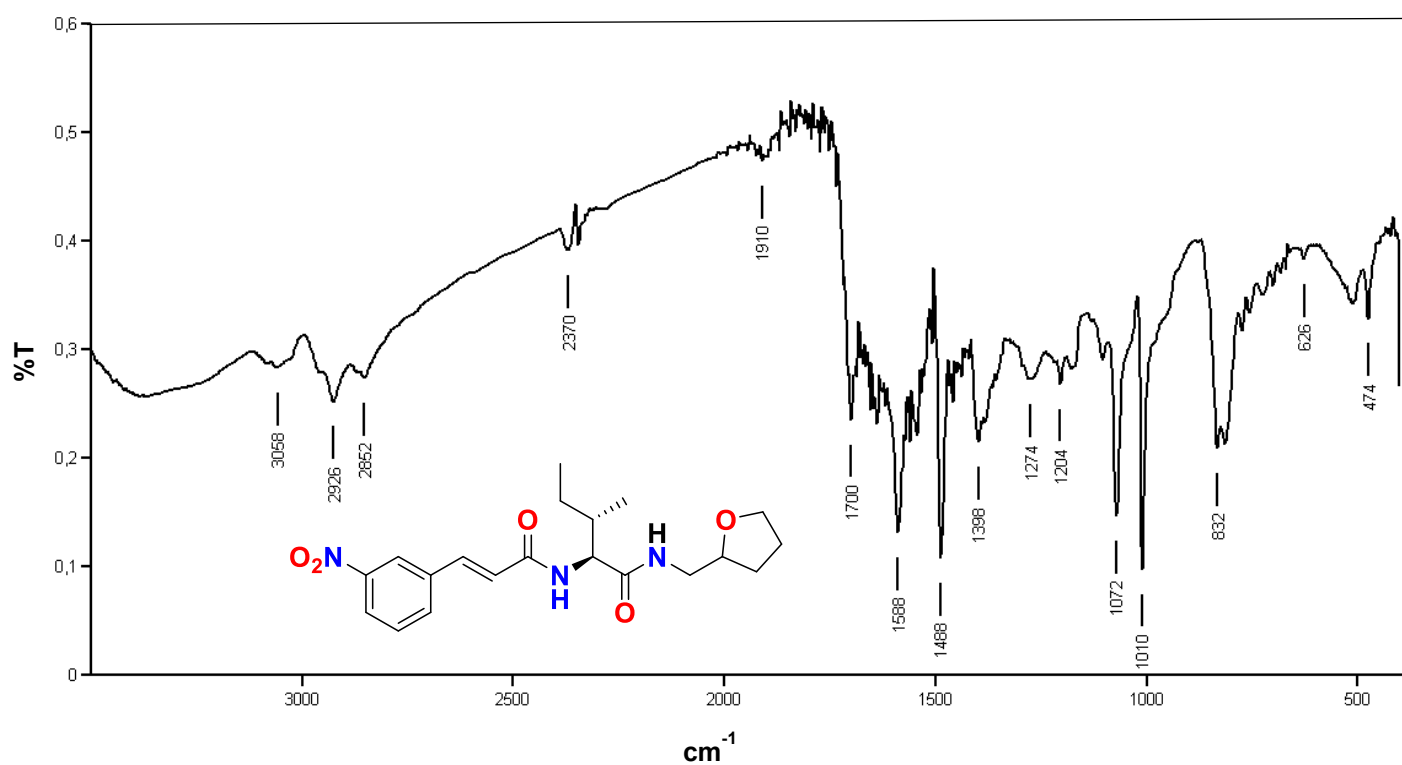


Figura 68. Espectro na região do IV (KBr) do composto **24l**



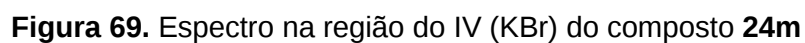


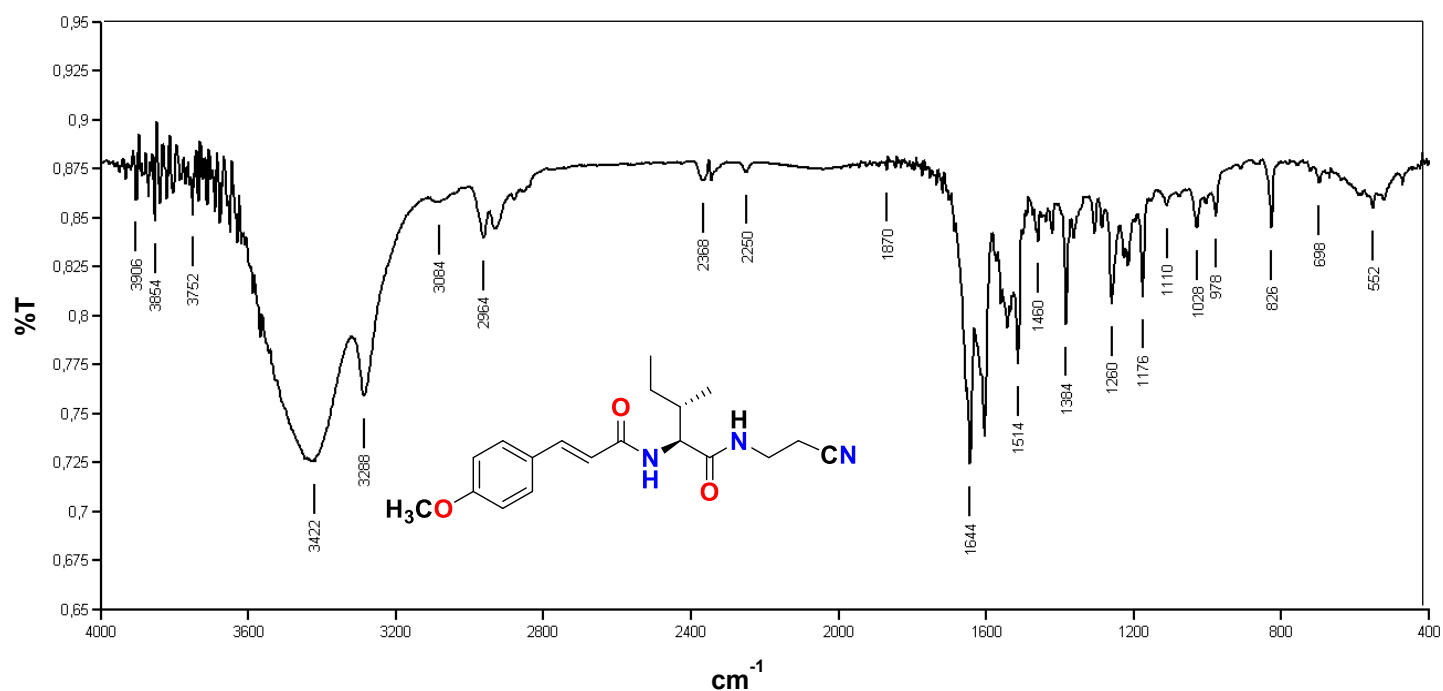
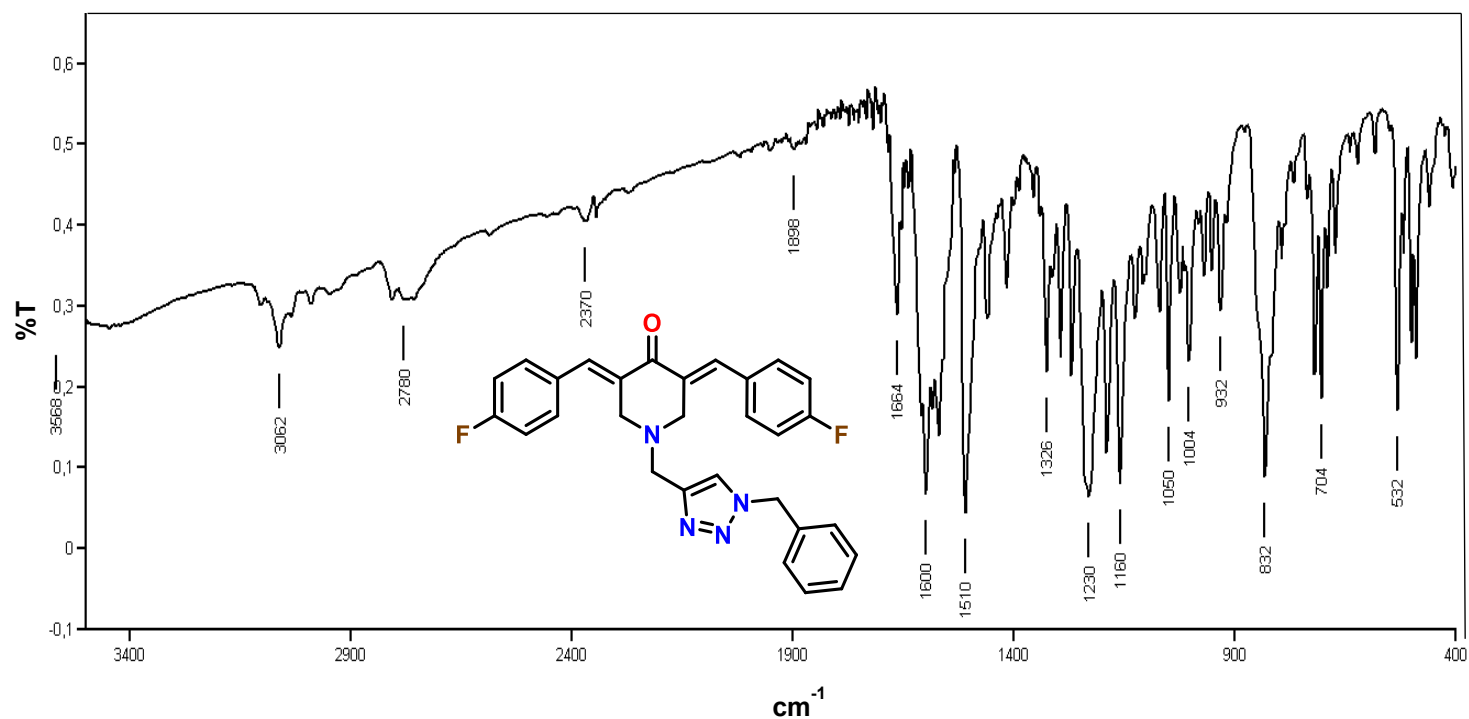
Figura 71. Espectro na região do IV (KBr) do composto **20o****Figura 72.** Espectro na região do IV (KBr) do composto **25a**

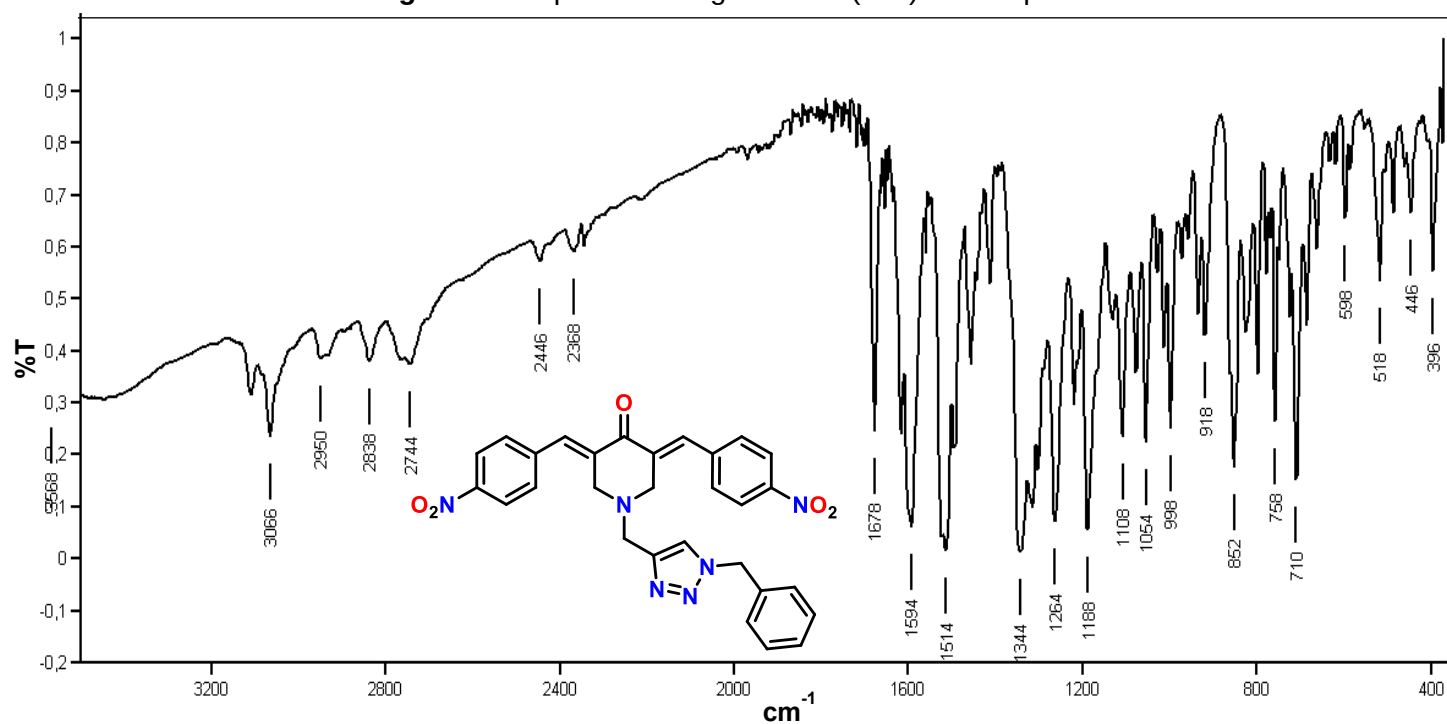
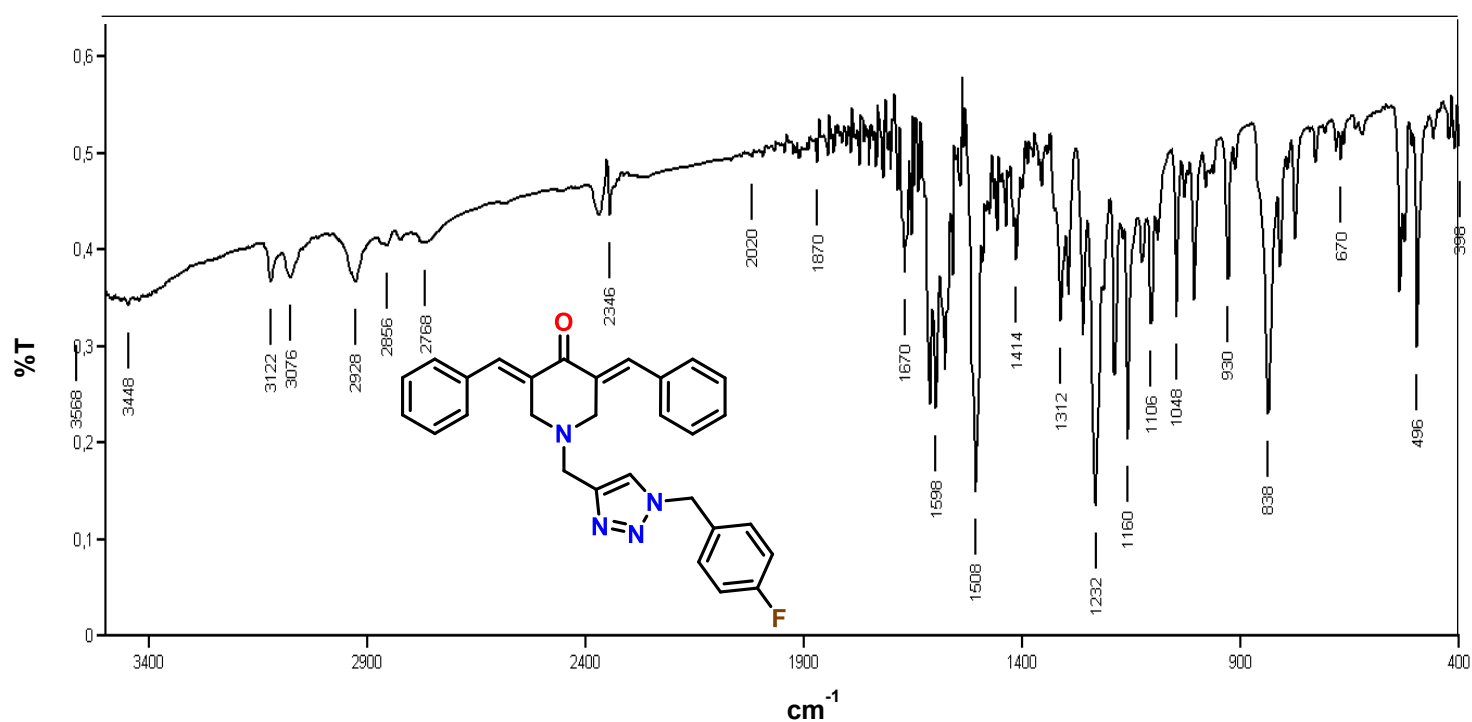
Figura 73. Espectro na região do IV (KBr) do composto **25b**Figura 74. Espectro na região do IV (KBr) do composto **25c**

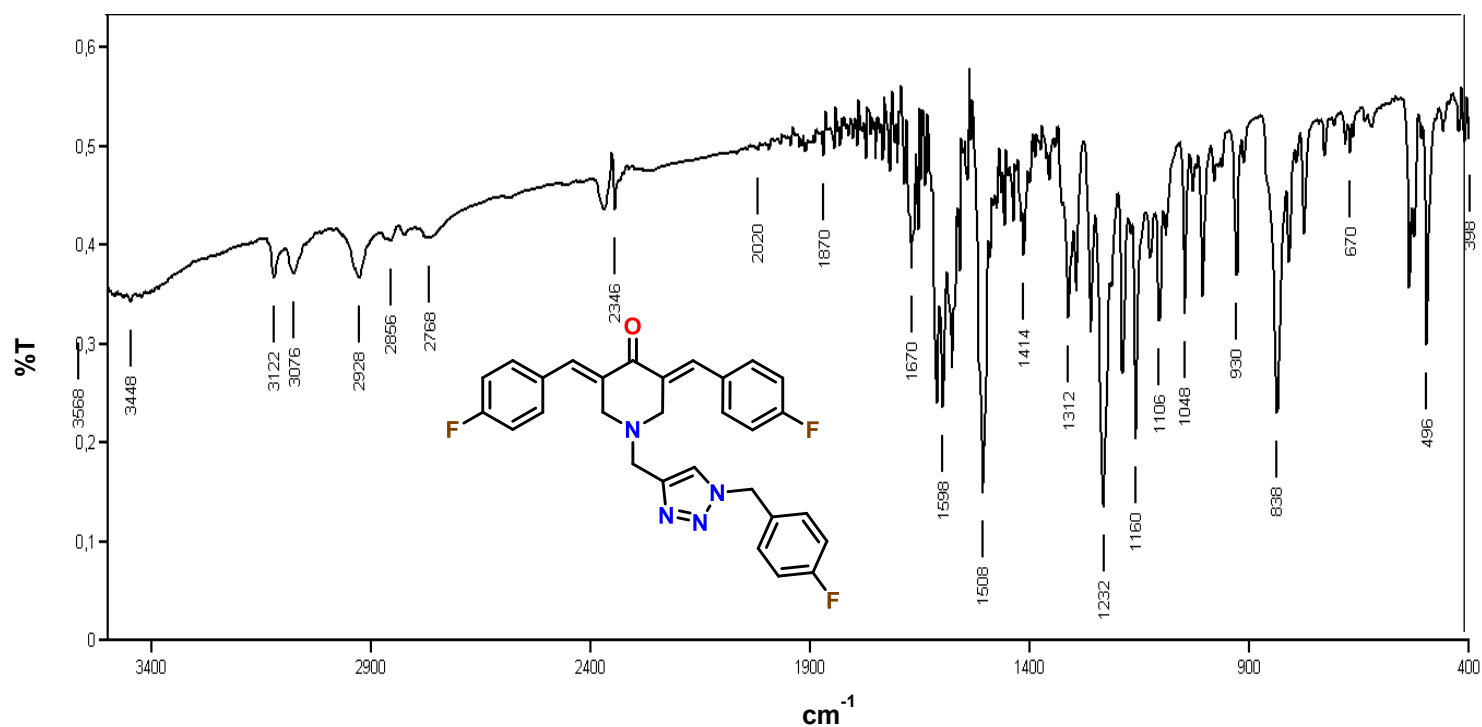
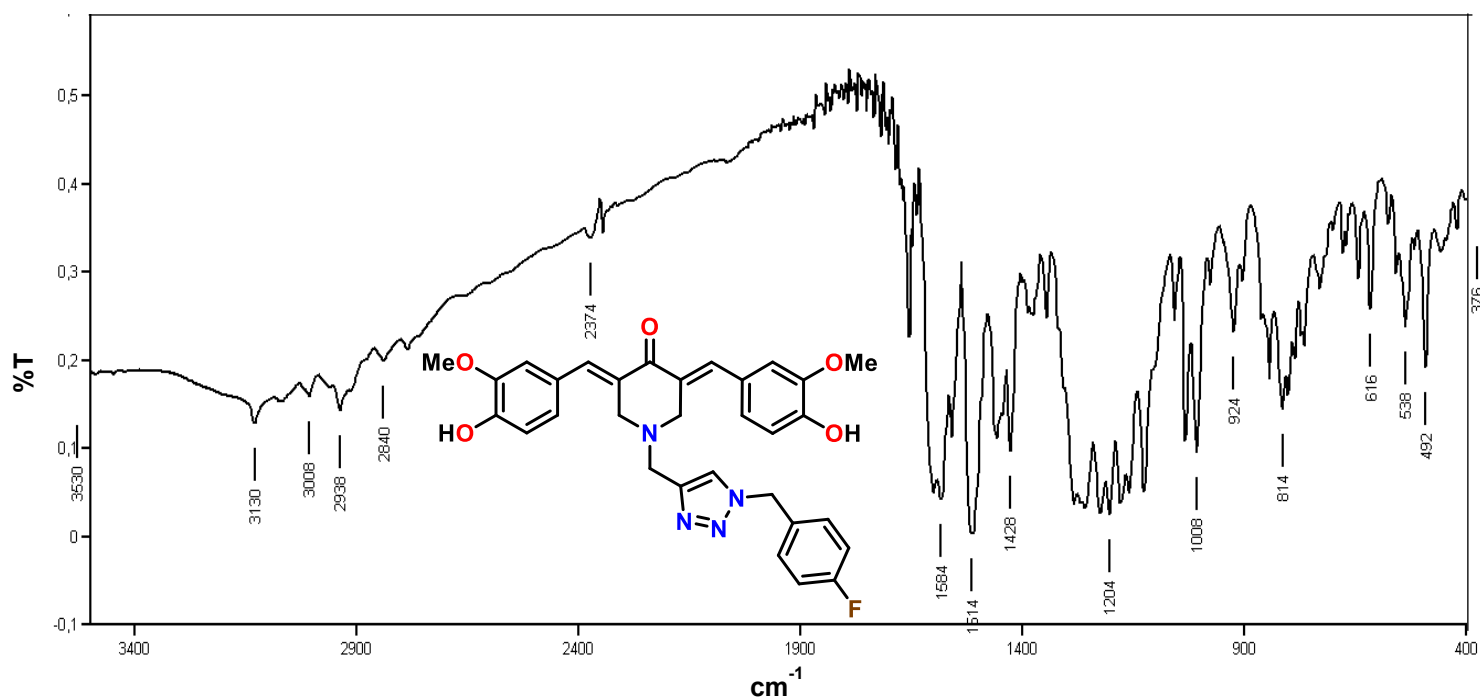
Figura 75. Espectro na região do IV (KBr) do composto **25d****Figura 76.** Espectro na região do IV (KBr) do composto **25e**

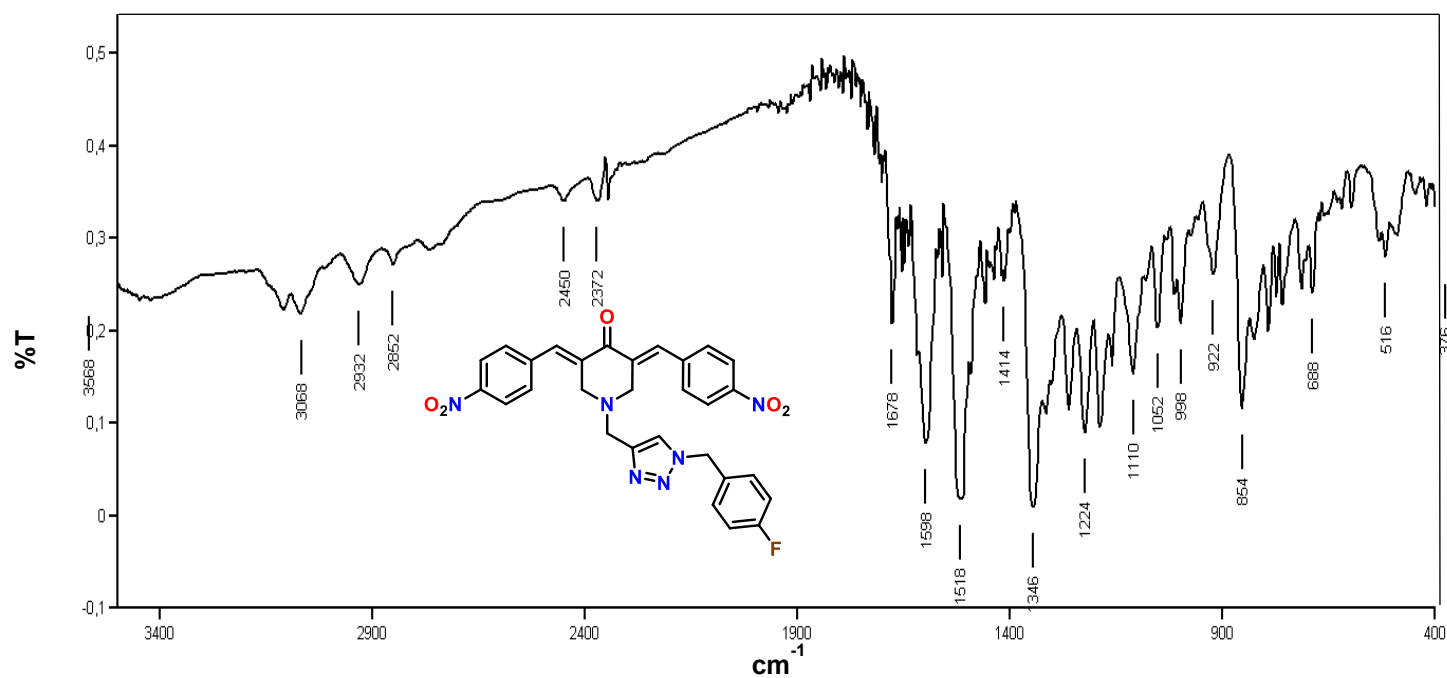
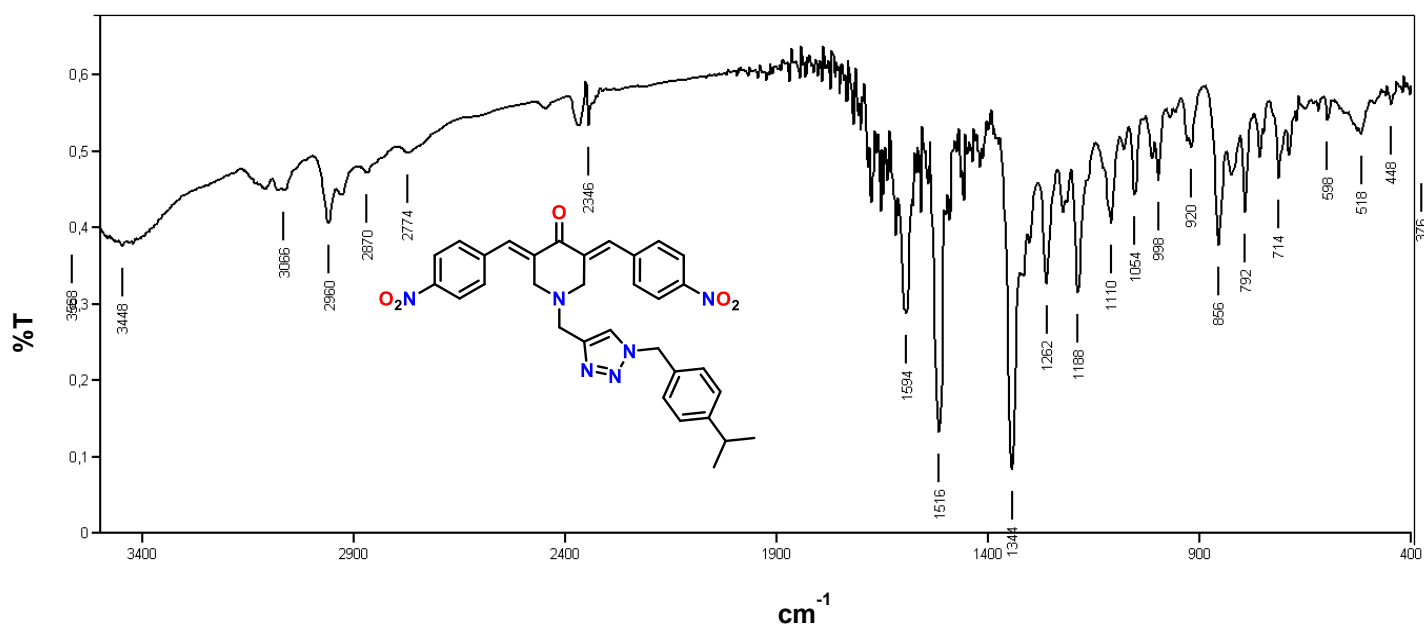
Figura 77. Espectro na região do IV (KBr) do composto **25f**Figura 78. Espectro na região do IV (KBr) do composto **25g**

Figura 79. Espectro na região do IV (KBr) do composto **25h**

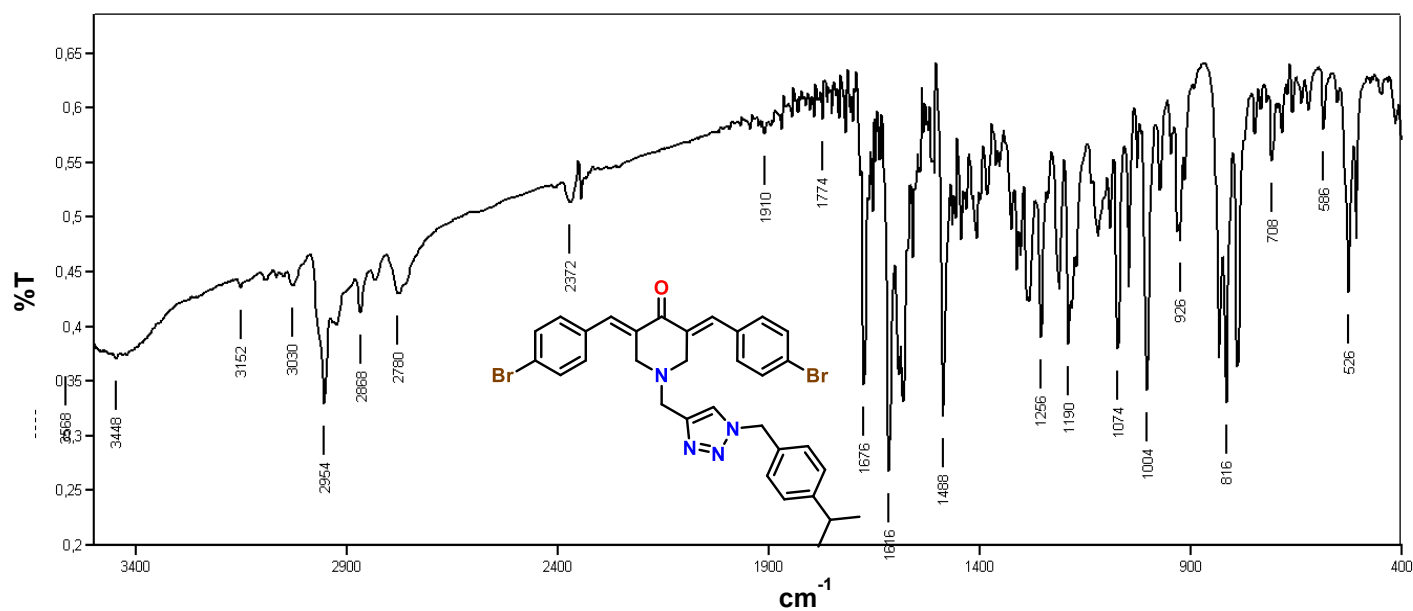
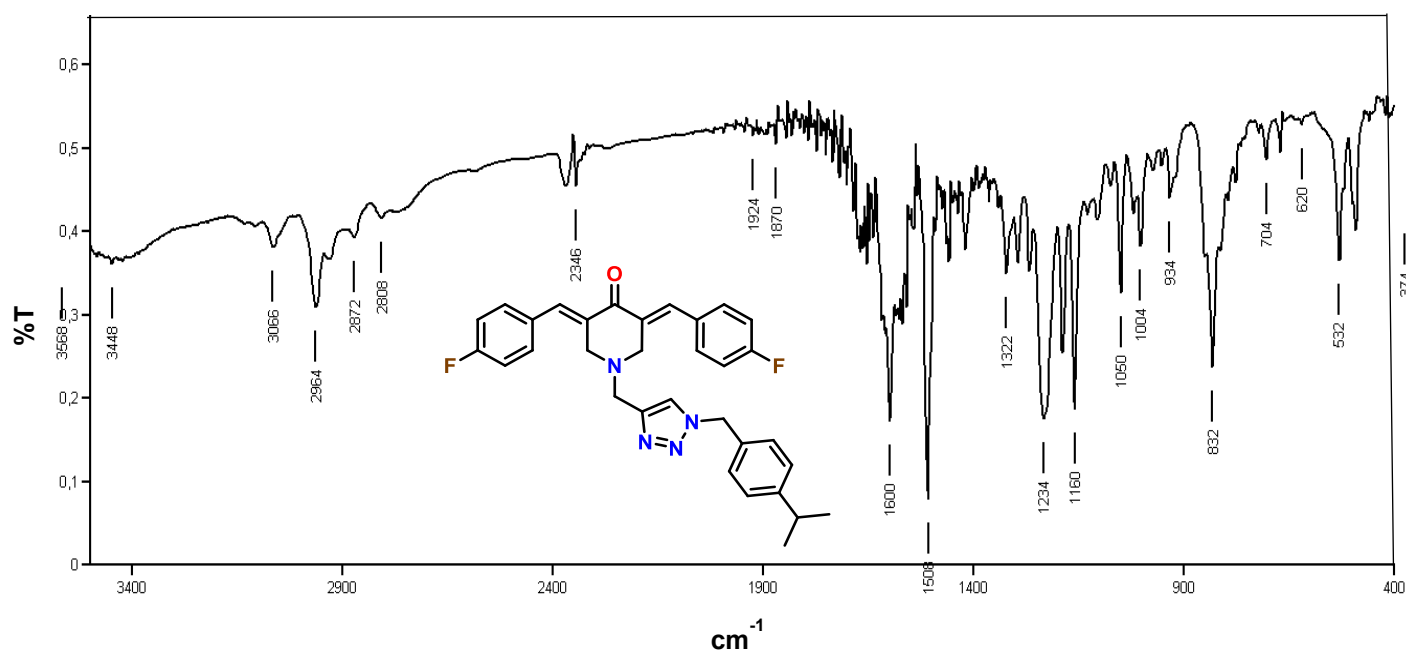


Figura 80. Espectro na região do IV (KBr) do composto **25i**



Apêndice 4: Espectros de Massas

Figura 81. Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **27c**

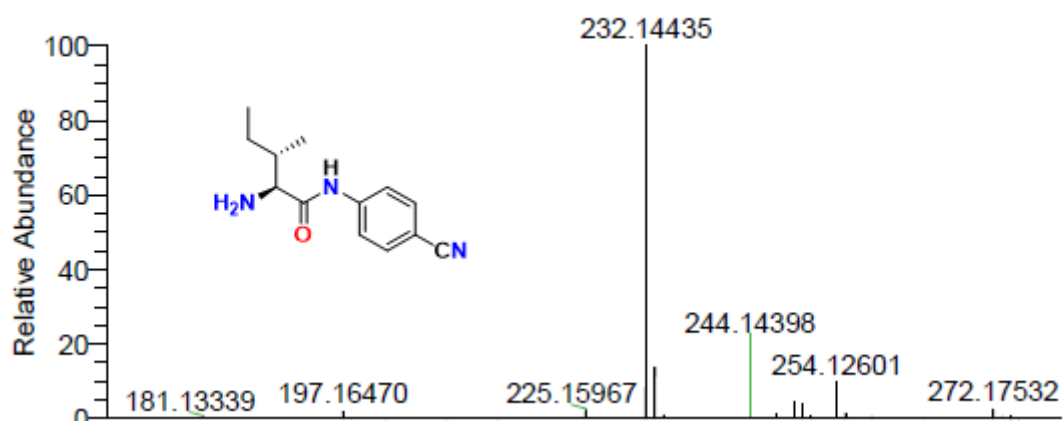


Figura 82. Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **27d**

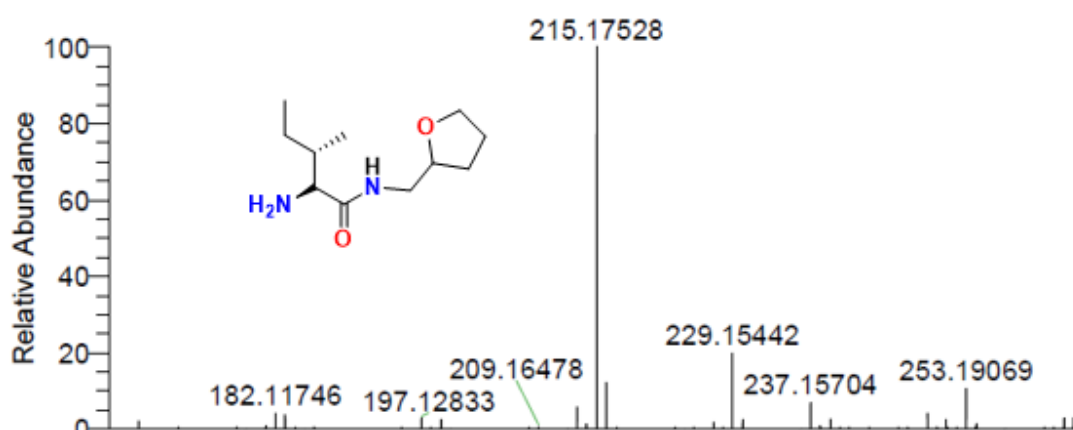


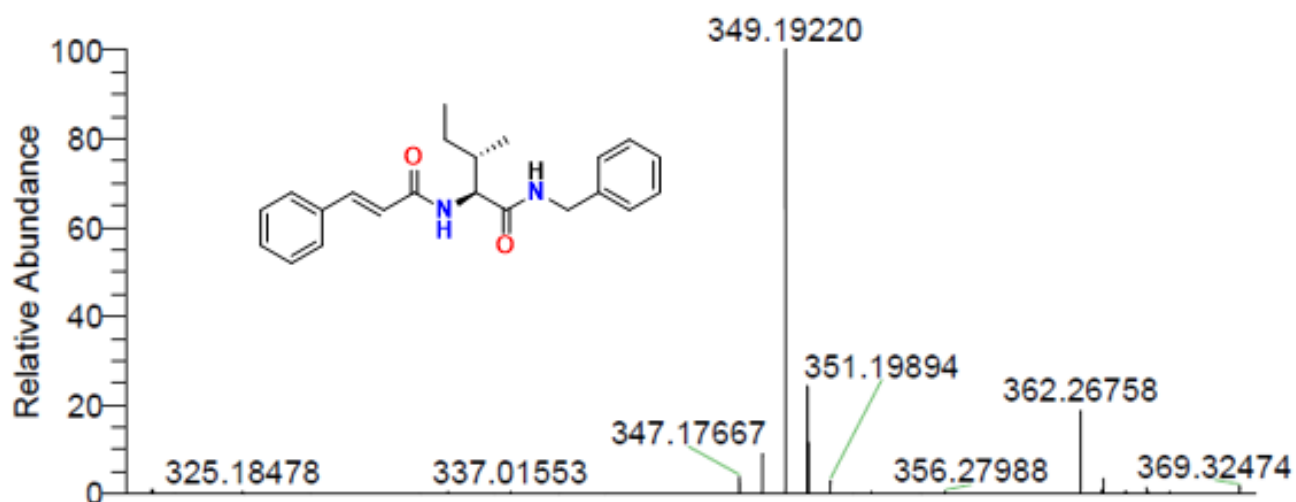
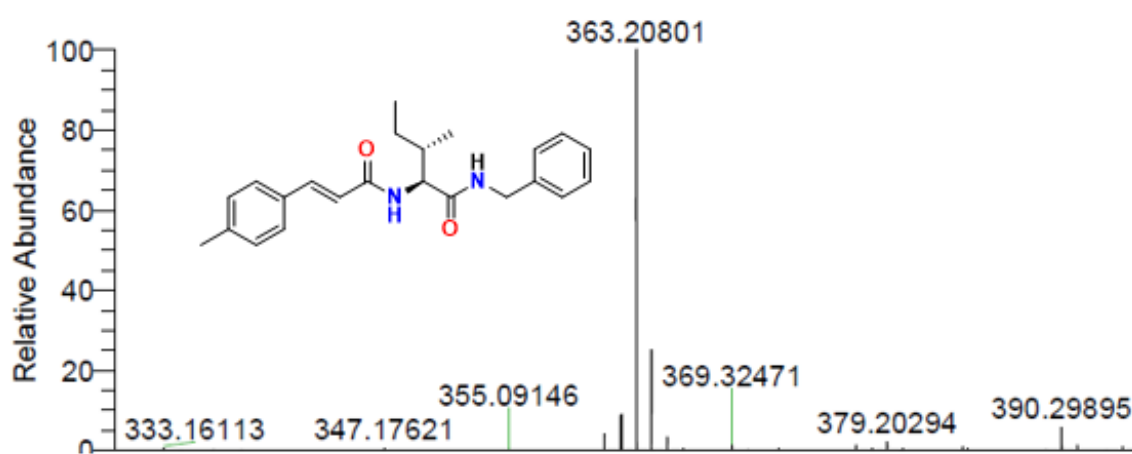
Figura 83. Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24a****Figura 84.** Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24b**

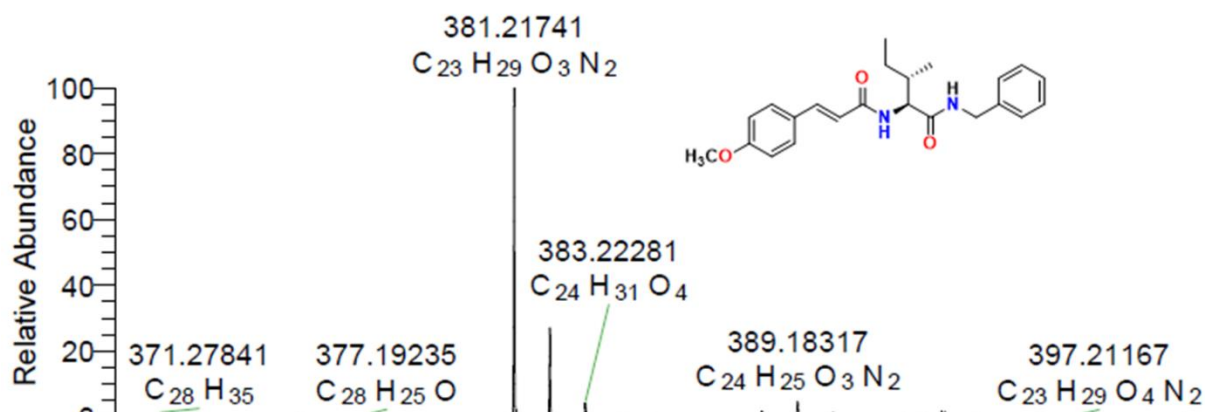
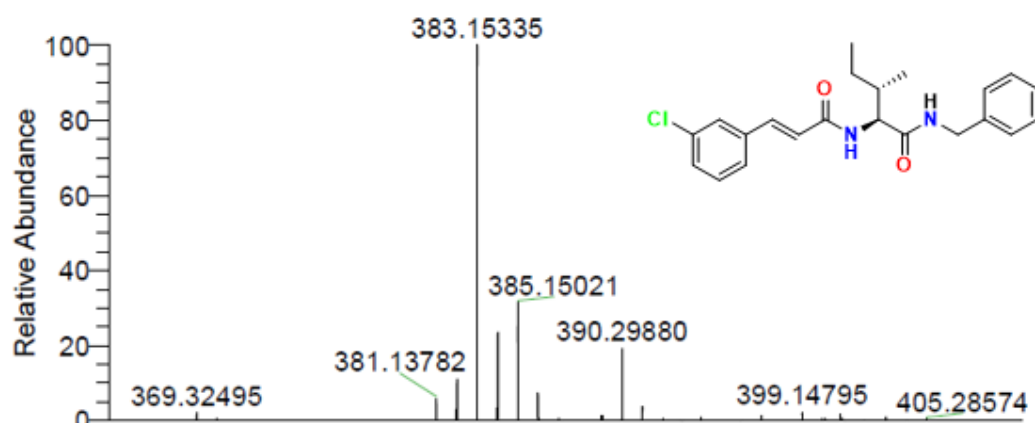
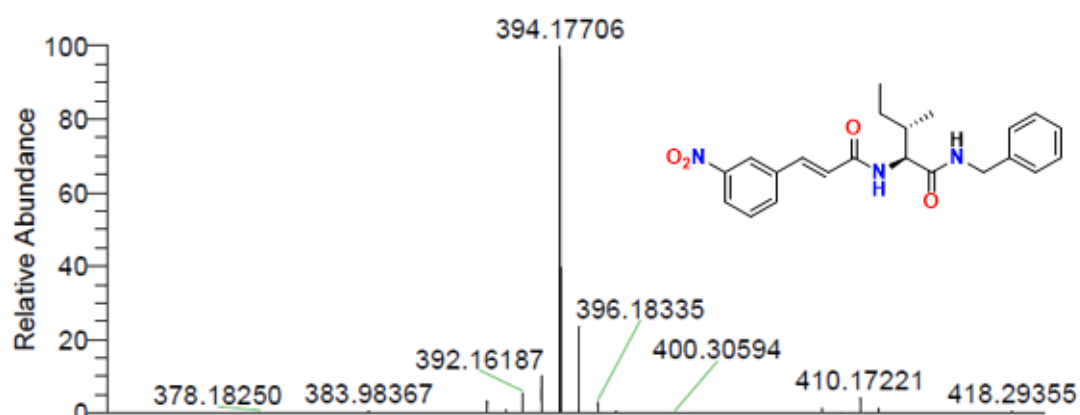
Figura 85. Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24c****Figura 86.** Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24d****Figura 87.** Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24e**

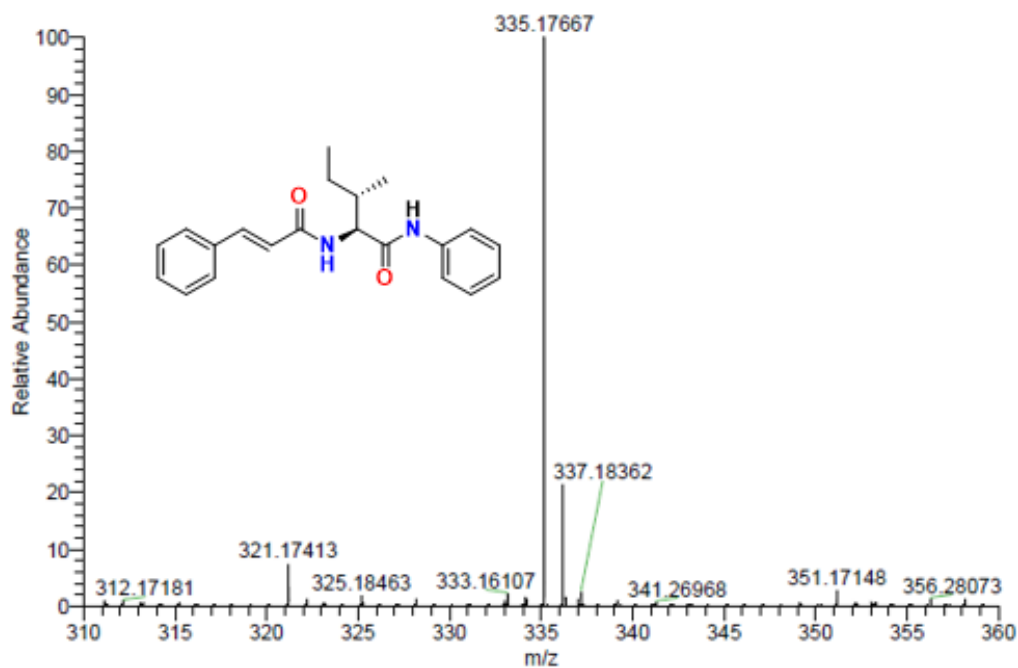
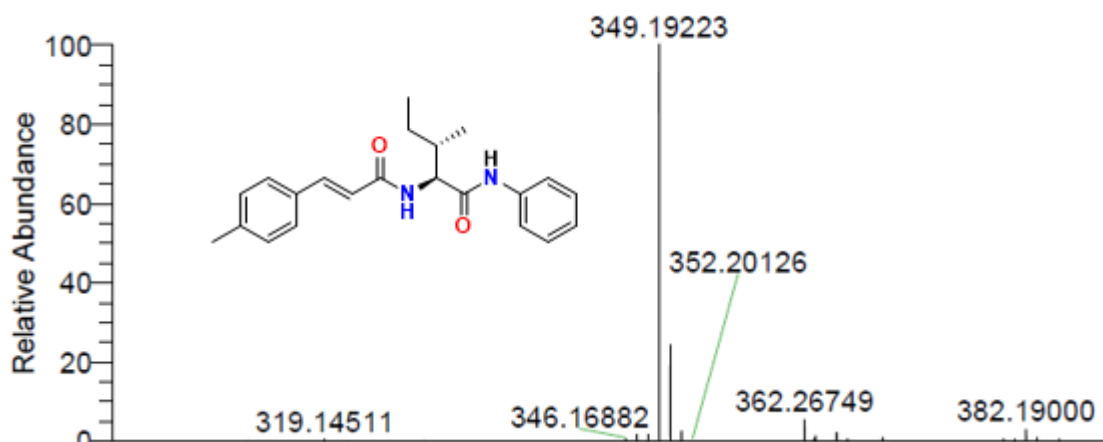
Figura 88. Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24f****Figura 89.** Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24g**

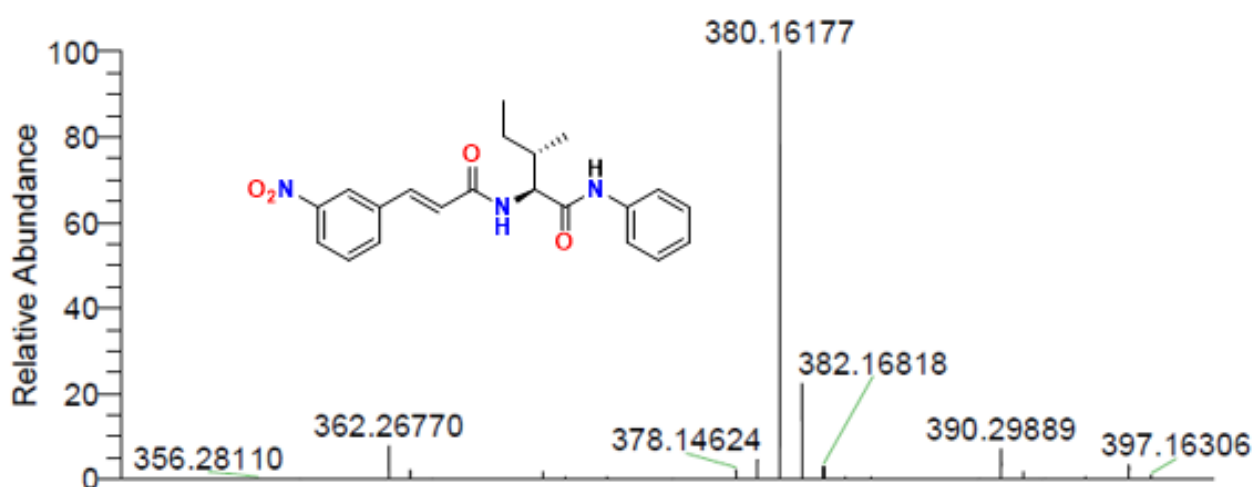
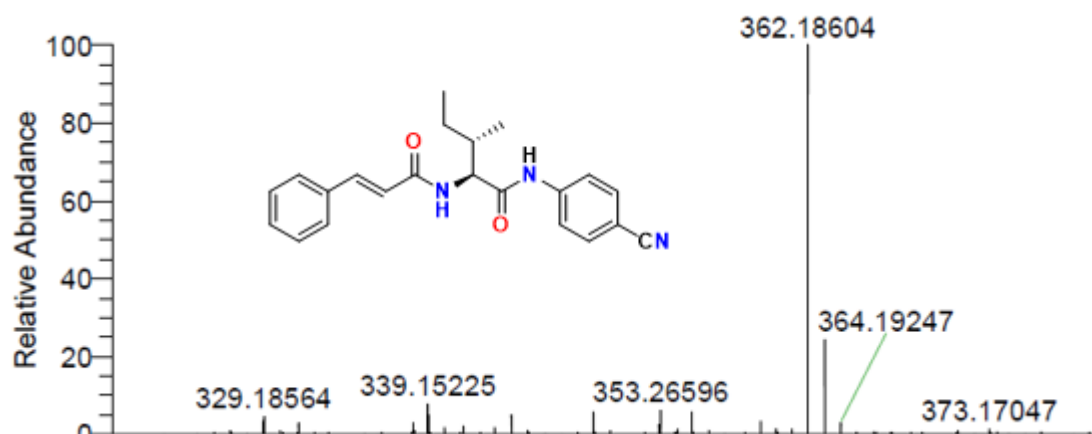
Figura 90. Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24h****Figura 91.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **24i**

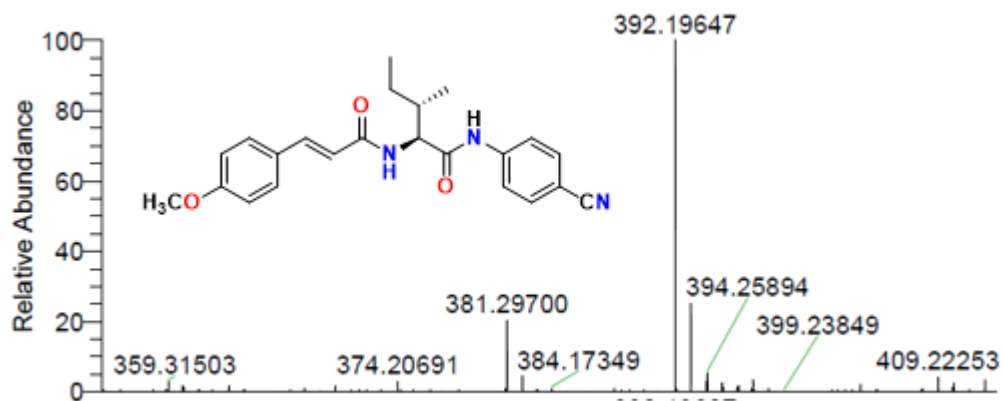
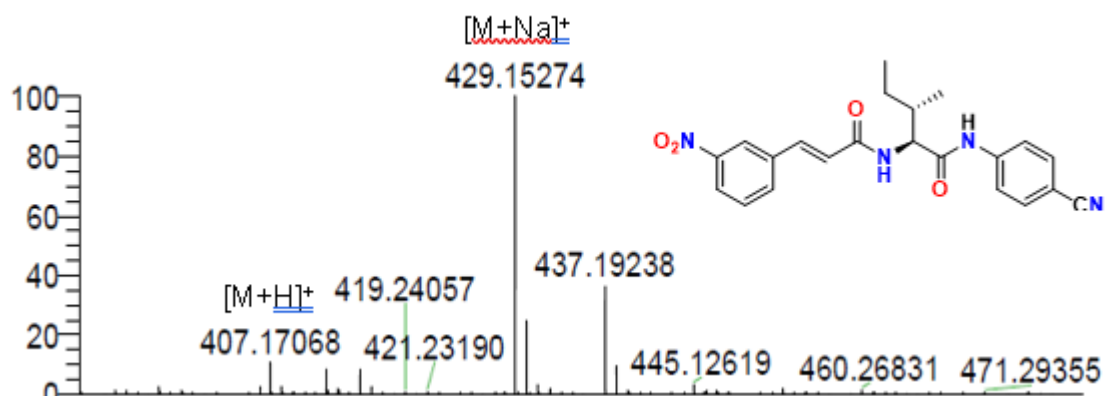
Figura 92. Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **24j****Figura 93.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **24k**

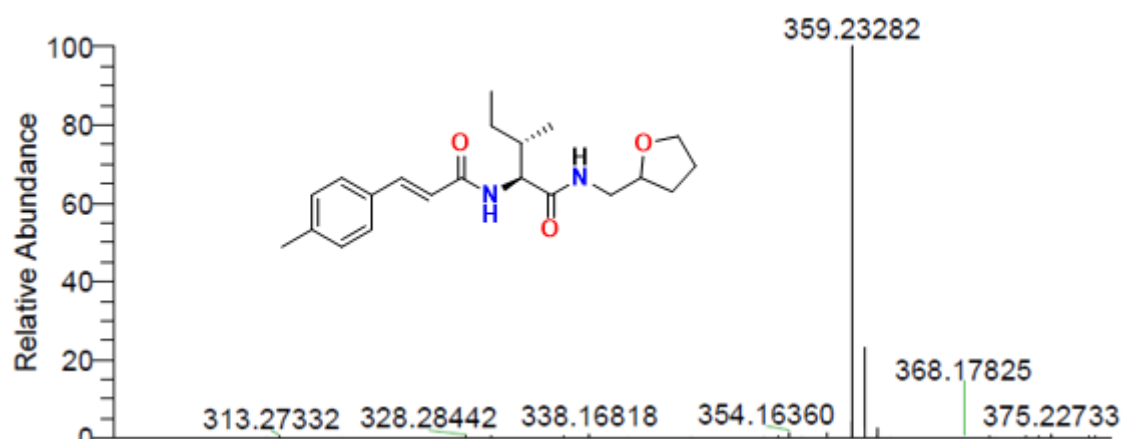
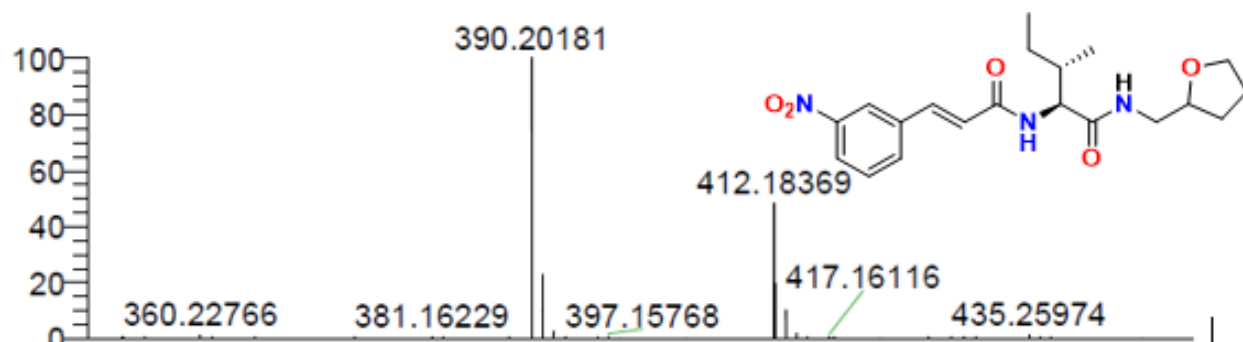
Figura 94. Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **24l****Figura 95.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **24m**

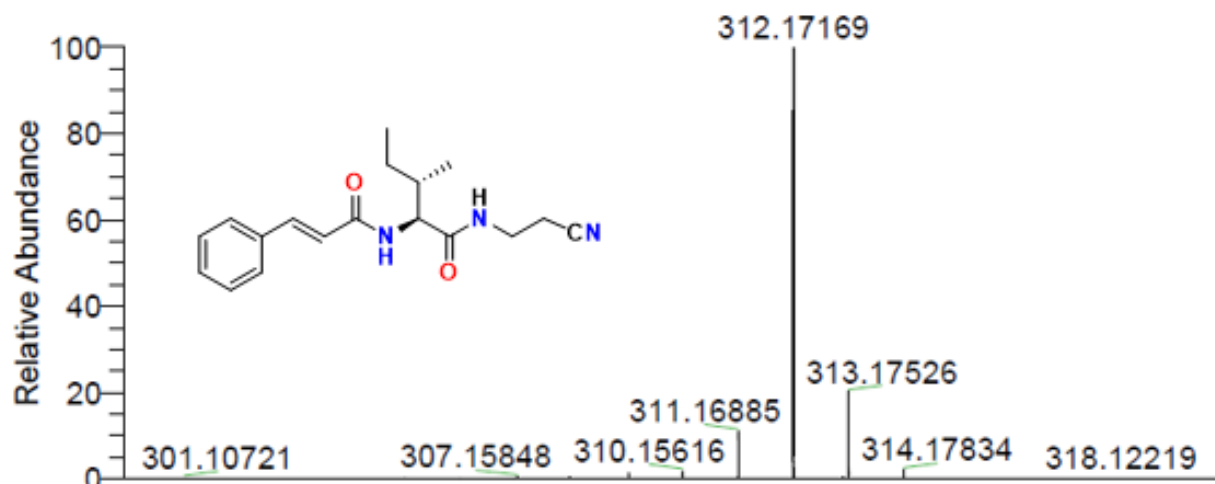
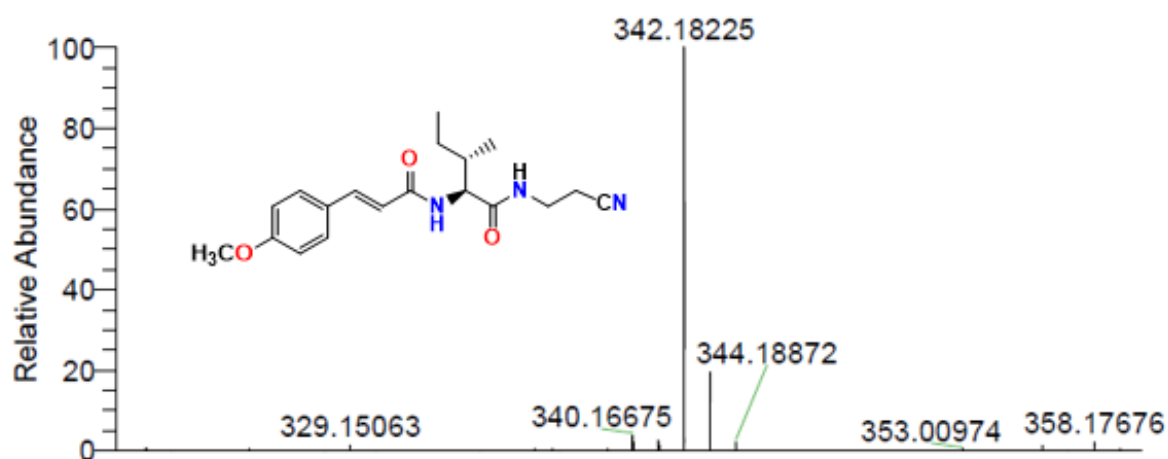
Figura 96. Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24n****Figura 97.** Espectro de EMAR (ESI⁻) do composto **24o**

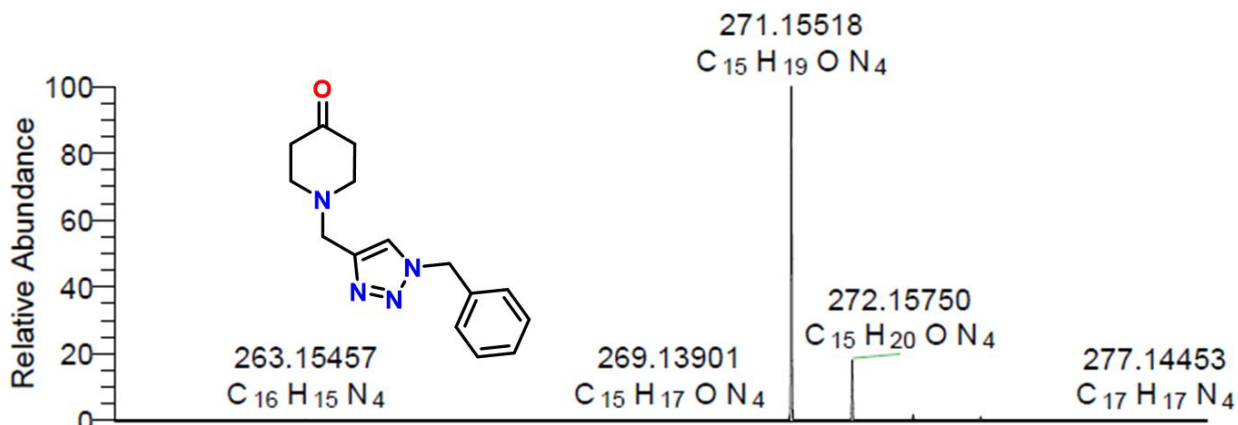
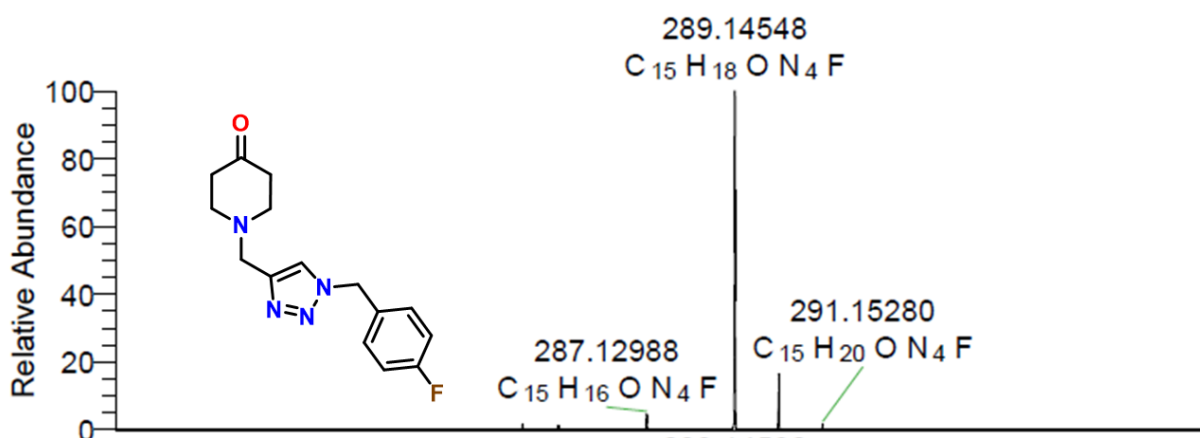
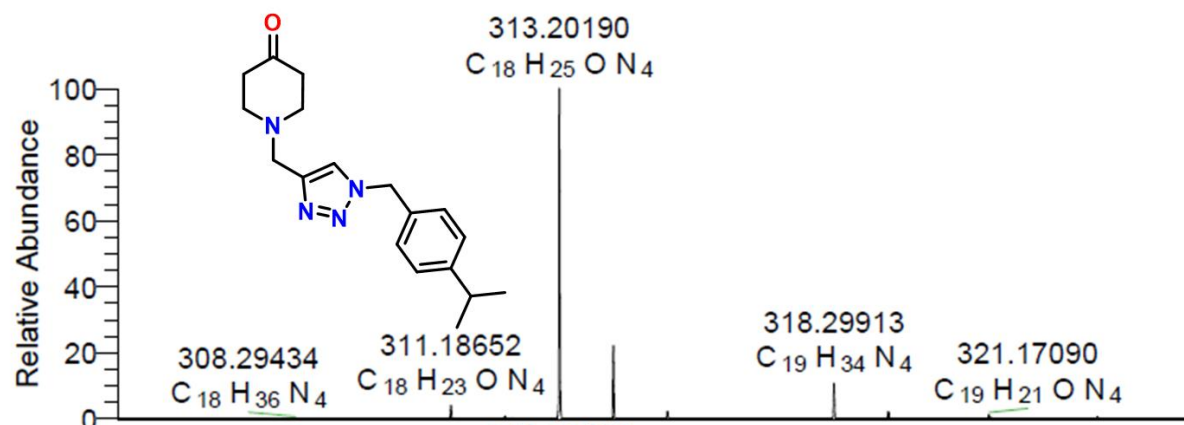
Figura 98. Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **32a****Figura 99.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **32b****Figura 100.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **32c**

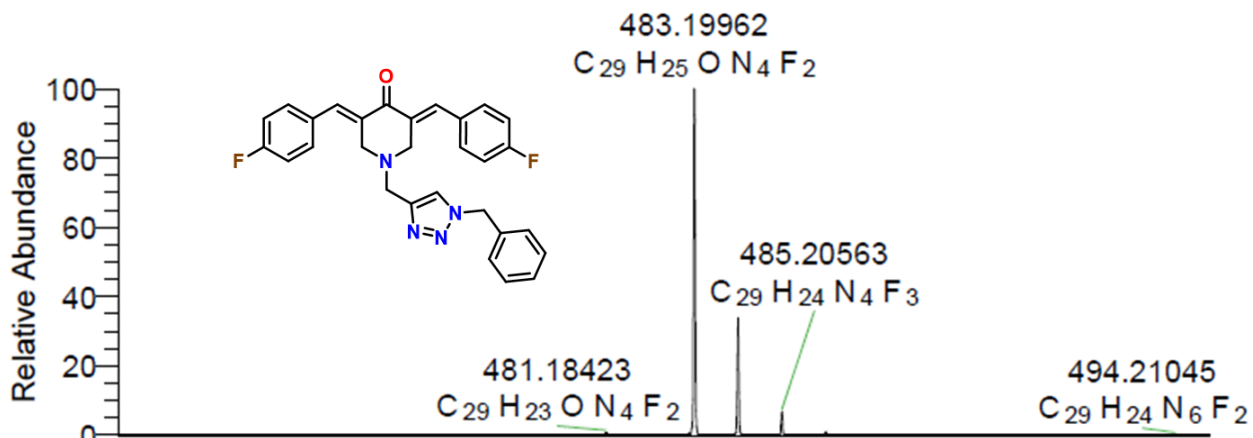
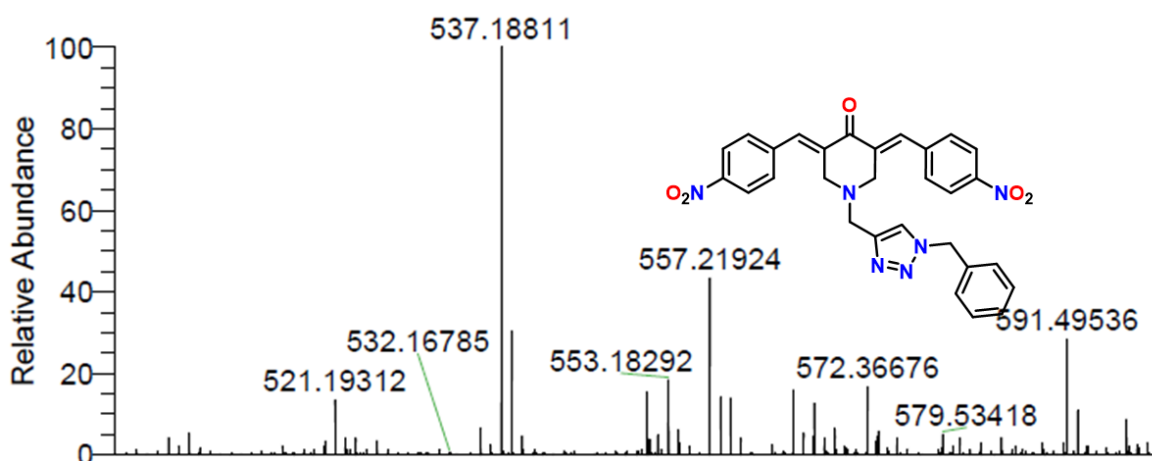
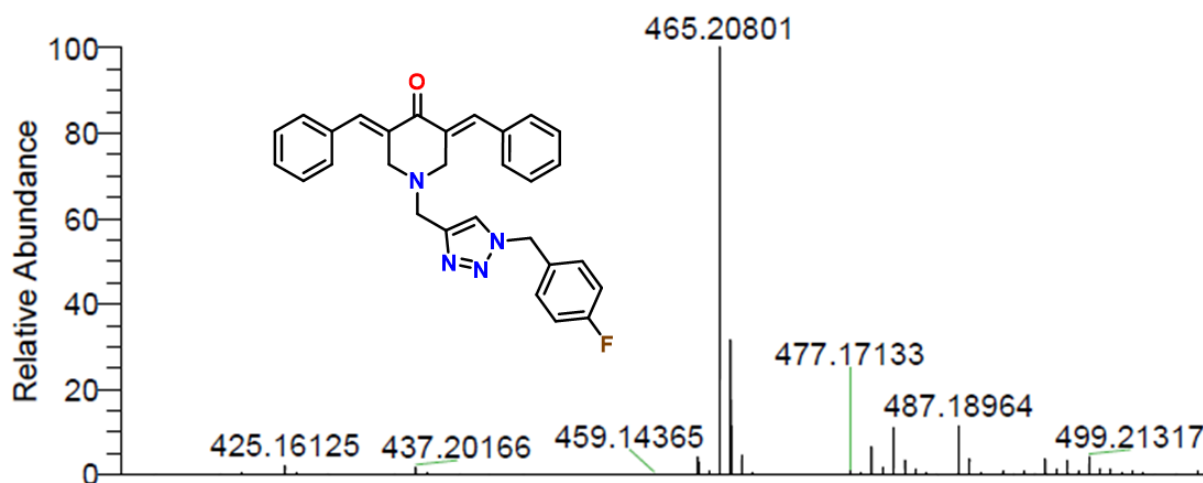
Figura 101. Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25a****Figura 102.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25b****Figura 103.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25c**

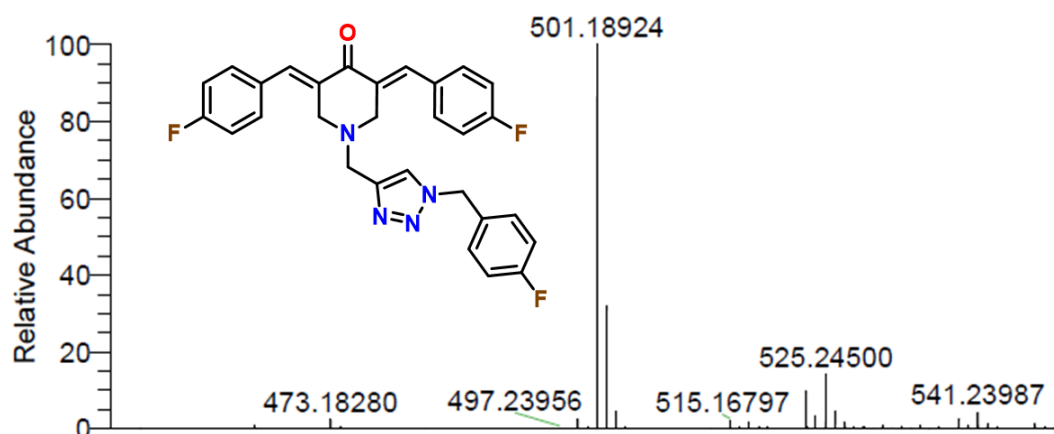
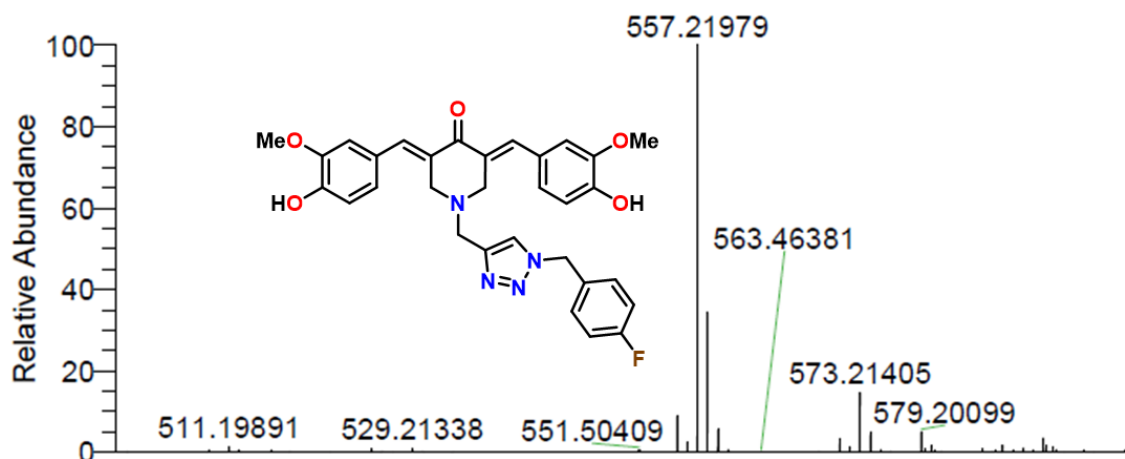
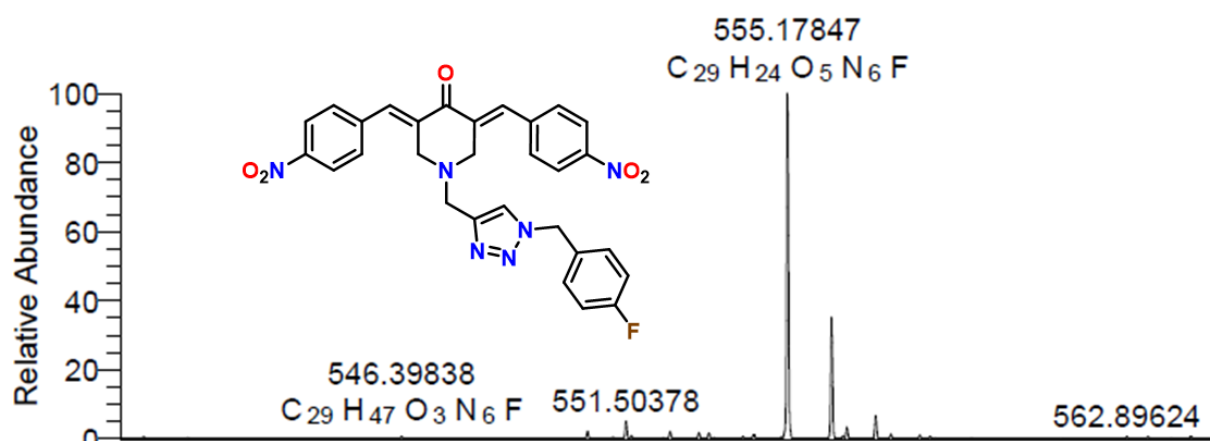
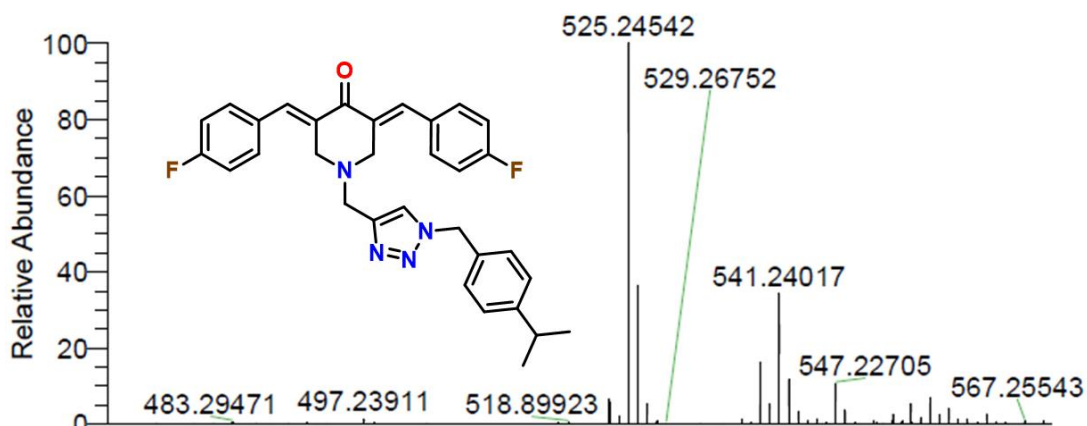
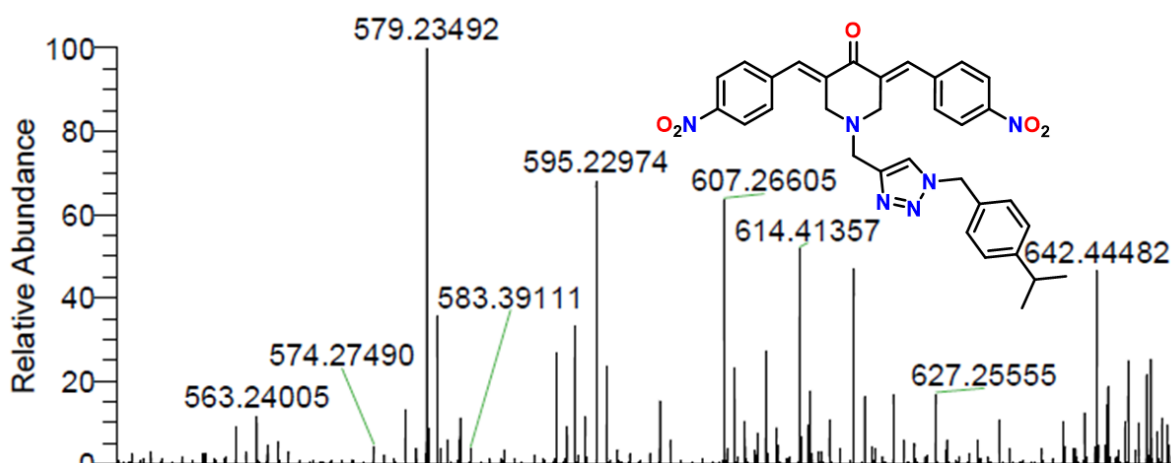
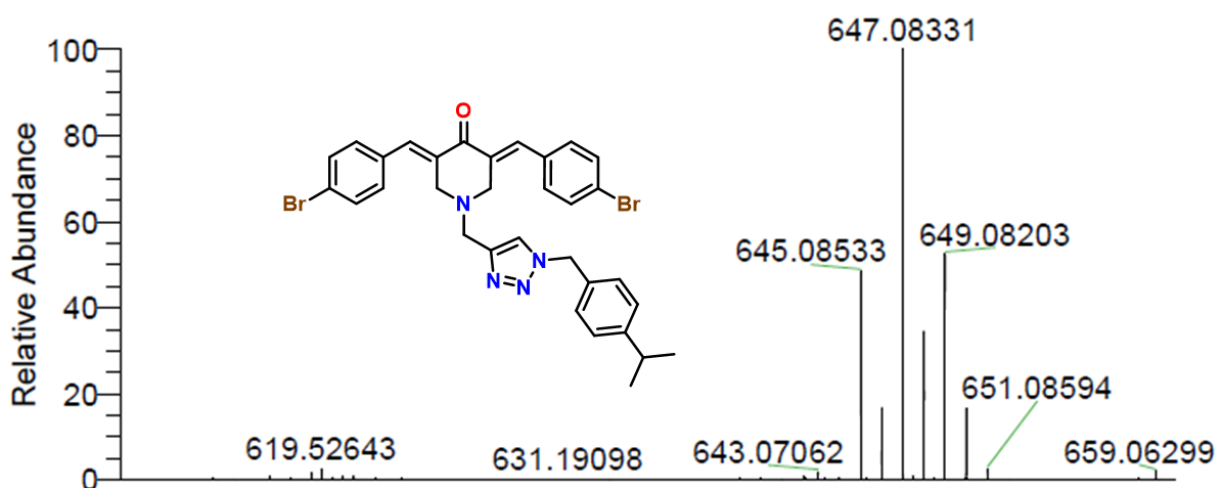
Figura 104. Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25d****Figura 105.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25e****Figura 106.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25f**

Figura 107. Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25g****Figura 108.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25h****Figura 109.** Espectro de EMAR (ESI⁺) do composto **25i**

Apêndice Capítulo II

Apêndice I: tabelas comparativas de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos sintetizados

Apêndice II: espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos sintetizados

Apêndice III: espectros de massas

Tabela 25. Dados de RMN de ^1H dos compostos 27, 26 e 20

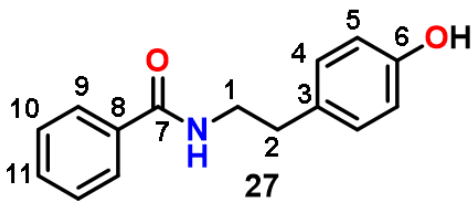
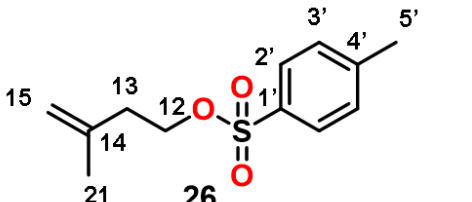
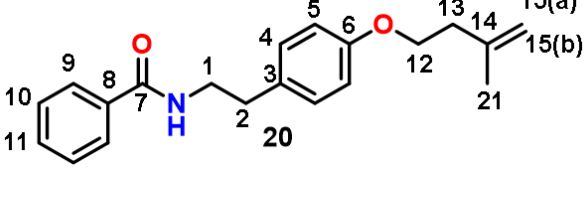
	 DMSO <i>d</i> ₆ , 400 MHz			 CDCl ₃ , 400 MHz			 CDCl ₃ , 400 MHz		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	<i>J</i> (Hz)	δ (ppm)	M	<i>J</i> (Hz)	δ (ppm)	M	<i>J</i> (Hz)
NH	8,50	t	H1/NH=5,5	-	-	-	6,07	s	-
OH	9,16	s	-	-	-	-	-	-	-
1	3,42	q	H1/H2/NH=6,9	-	-	-	3,68	q	H1/H2/NH=6,0
2	2,72	t	H2/H1=6,9	-	-	-	2,87	t	H2/H1=6,8
4	7,04-7,02	m	-	-	-	-	7,16-7,13	m	-
5	6,69-6,67	m	-	-	-	-	6,88-6,86	m	-
9	7,83-7,80	m	-	-	-	-	7,70-7,67	m	-
10	7,51-7,43	m	-	-	-	-	7,48-7,40	m	-
11	7,51-7,43	m	-	-	-	-	7,48-7,40	m	-
12	-	-	-	4,13	t	H12/H13= 6,8	4,07	t	H12/H13= 6,8
13	-	-	-	2,35	t	H12/H13= 6,8	2,50	t	H12/H13= 6,8
15(a)	-	-	-	4,79-4,80	m	-	4,85-4,84	m	-
15(b)	-	-	-	4,68-4,69	m	-	4,80-4,79	m	-
21	-	-	-	1,66	s	-	1,81	s	-
2'	-	-	-	7,80-7,78	m	-	-	-	-
3'	-	-	-	7,35-7,33	m	-	-	-	-
5'	-	-	-	2,45	s	-	-	-	-

Tabela 26. Dados de RMN de ^1H dos compostos 20, 21 e Pubesamida A

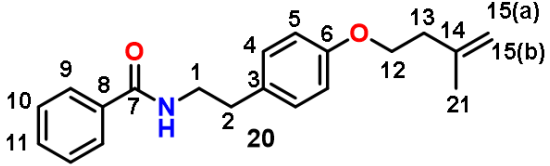
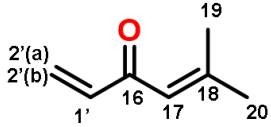
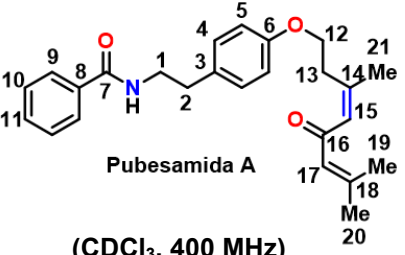
	 (CDCl ₃ , 400 MHz)			 21 (CDCl ₃ , 400 MHz)			 Pubesamida A (CDCl ₃ , 400 MHz)		
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
NH	6,07	s	-	-	-	-	6,10	s	-
1	3,68	q	H1/H2/NH=6,8	-	-	-	3,69	q	H1/H2/NH=6,9
2	2,87	t	H2/H1=6,8	-	-	-	2,87	t	H2/H1=6,9
4	7,16-7,13	m	-	-	-	-	7,16-7,14	m	-
5	6,88-6,86	m	-	-	-	-	6,87-6,85	m	-
9	7,70-7,67	m	-	-	-	-	7,70-7,68	m	-
10	7,48-7,40	m	-	-	-	-	7,48-7,46	m	-
11	7,48-7,40	m	-	-	-	-	7,43-7,39	m	-
12	4,07	t	H12/H13= 6,8	-	-	-	4,09	t	H12/H13=6,6
13	2,50	t	H12/H13= 6,8	-	-	-	2,59	t	H12/H13=6,6
15(a)	4,85-4,84	m	-	-	-	-	6,08-6,07	m	-
15(b)	4,80-4,79	m	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	6,28	hep	H17/H19/H20= 1,3	6,14-6,13	m	-
19	-	-	-	1,95	d	H19/H17=1,2	1,88	d	H19/H17=1,1
20	-	-	-	2,18	d	H20/H17=1,2	2,17	d	H20/H17=1,2
21	1,81	s	-	-	-	-	2,22	d	H21/H15=1,2
1'	-	-	-	6,40	-	H1'/H2'(a)/H2'(b)=10,5 e 7,0	-	-	-
2'(a)	-	-	-	6,21	dd	H2'(a)/H2'(b)/H1'=16,2 e 1,3	-	-	-
2'(b)	-	-	-	5,74	dd	H2'(a)/H2'(b)/H1'=16,2 e 1,3	-	-	-

Tabela 27. Dados de RMN de ^1H dos compostos 20, 21 e Pubesamida B

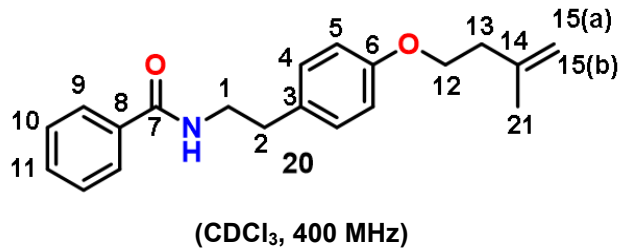
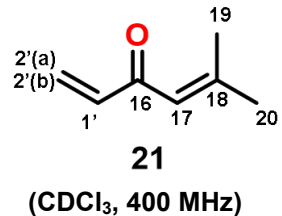
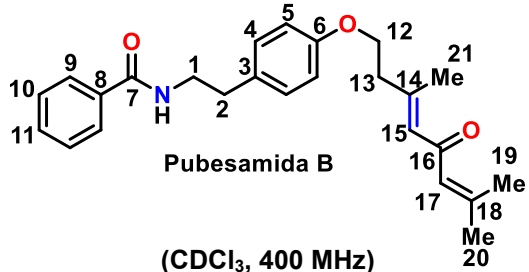
 (CDCl₃, 400 MHz)				 21 (CDCl₃, 400 MHz)				 Pubesamida B (CDCl₃, 400 MHz)	
Hidrogênio	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)	δ (ppm)	M	J (Hz)
NH	6,07	s	-	-	-	-	-	-	-
1	3,68	q	H1/H2/NH=6,8	-	-	-	3,69	q	H1/H2/NH=6,9
2	2,87	t	H2/H1=6,8	-	-	-	2,86	t	H2/H1=6,9
4	7,16-7,13	m	-	-	-	-	7,15-7,11	m	-
5	6,88-6,86	m	-	-	-	-	6,89-6,86	m	-
9	7,70-7,67	m	-	-	-	-	7,69-7,67	m	-
10	7,48-7,40	m	-	-	-	-	7,49-7,45	m	-
11	7,48-7,40	m	-	-	-	-	7,42-7,38	m	-
12	4,07	t	H12/H13= 6,8	-	-	-	4,16	t	H12/H13=6,6
13	2,50	t	H12/H13= 6,8	-	-	-	3,06	t	H12/H13=6,6
15(a)	4,85-4,84	m	-	-	-	-	6,08-6,07	m	-
15(b)	4,80-4,79	m	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	6,28	hep	H17/H19/H20=1,3	6,15-6,13	m	-
19	-	-	-	1,95	d	H19/H17=1,2	1,89	d	H19/H17=1,1
20	-	-	-	2,18	d	H20/H17=1,2	2,16	d	H20/H17=1,2
21	1,81	s	-	-	-	-	2,01	d	H21/H15=1,2
1'	-	-	-	6,40		H1'/H2'(a)/H2'(b)=10,5 e 7,0	-	-	-
2'(a)	-	-	-	6,21	dd	H2'(a)/H2'(b)/H1' =16,2 e 1,3	-	-	-
2'(b)				5,74	dd	H2'(a)/H2'(b)/H1' =16,2 e 1,3	-	-	-

Tabela 28. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos 27, 26 e 20

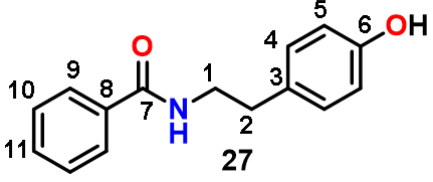
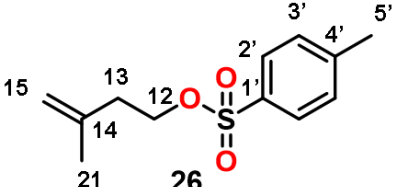
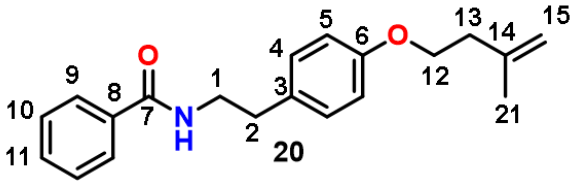
	 DMSO d_6 , 100 MHz	 CDCl $_3$, 100 MHz	 CDCl $_3$, 100 MHz
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
1	41,2	-	41,4
2	34,3	-	34,9
3	131,0	-	131,0
4	129,5	-	129,9
5	115,1	-	115,0
6	155,6	-	157,8
7	166,1	-	167,6
8	134,7	-	134,9
9	127,1	-	126,9
10	128,2	-	128,7
11	131,0	-	131,5
12	-	68,7	66,7
13	-	36,9	37,4
14	-	144,9	142,4
15	-	113,2	112,2
21	-	22,4	23,0
1'	-	133,3	-
2'	-	129,9 ou 128,0	-
3'	-	129,9 ou 128,0	-
4'	-	140,3	-
5'	-	21,7	-

Tabela 29. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos 20, 21 e Pubesamida A

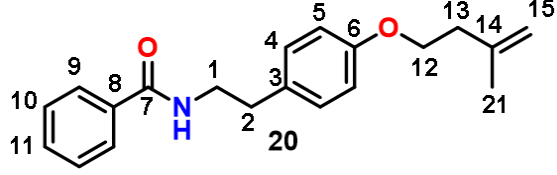
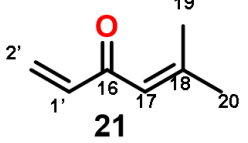
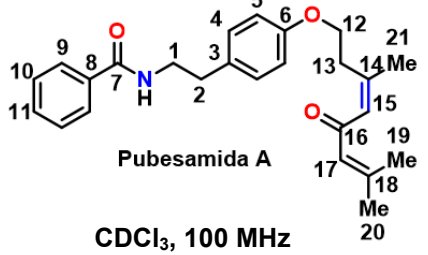
 CDCl₃, 100 MHz				 CDCl₃, 100 MHz				 CDCl₃, 100 MHz			
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
1	41,4	-	41,3	16	-	190,1	191,4	16	-	191,4	191,4
2	34,9	-	34,8	17	-	127,2	127,4	17	-	127,4	127,4
3	131,0	-	131,2	18	-	157,2	153,0	18	-	153,0	153,0
4	129,9	-	129,8	19	-	28,0	27,8	19	-	27,8	27,8
5	115,0	-	114,9	20	-	21,2	20,6	20	-	20,6	20,6
6	157,8	-	157,5	21	23,0	-	19,3	21	23,0	-	19,3
7	167,6	-	167,4	1'	-	122,2	-	1'	-	122,2	-
8	134,9	-	134,7	2'	-	138,4	-	2'	-	138,4	-
9	126,9	-	126,8								
10	128,7	-	128,5								
11	131,5	-	131,4								
12	66,7	-	65,9								
13	37,4	-	40,6								
14	142,4	-	154,9								
15	112,2	-	126,2								

Tabela 30. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos 20, 21 e Pubesamida A

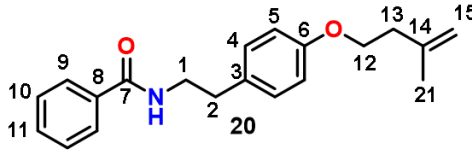
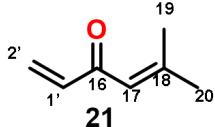
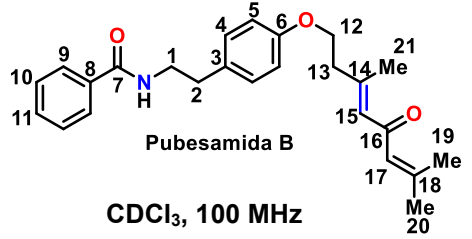
	 CDCl_3 , 100 MHz	 CDCl_3 , 100 MHz	 Pubesamida B CDCl_3 , 100 MHz
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
1	41,4	-	41,3
2	34,9	-	34,8
3	131,0	-	130,7
4	129,9	-	129,7
5	115,0	-	114,8
6	157,8	-	157,7
7	167,6	-	167,4
8	134,9	-	134,7
9	126,9	-	126,8
10	128,7	-	128,5
11	131,5	-	131,4
12	66,7	-	67,2
13	37,4	-	33,7
14	142,4	-	155,0
15	112,2	-	127,4
16	-	190,1	190,8
17	-	127,2	126,0
18	-	157,2	155,0
19	-	28,0	27,8
20	-	21,2	20,6
21	23,0	-	26,9
1'	-	122,2	-
2'	-	138,4	-

Figura 110. Espectro de RMN de ^1H do composto **26** (CDCl_3 , 400 MHz)

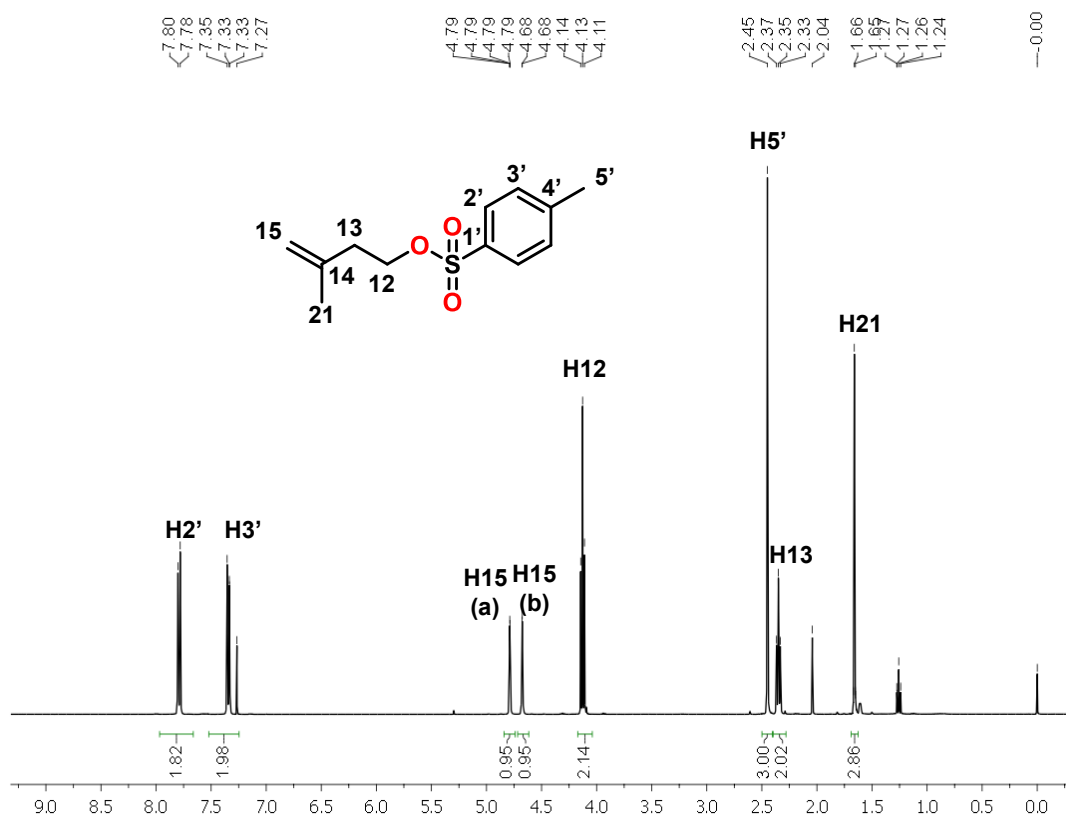


Figura 111. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **26** (CDCl_3 , 100 MHz)

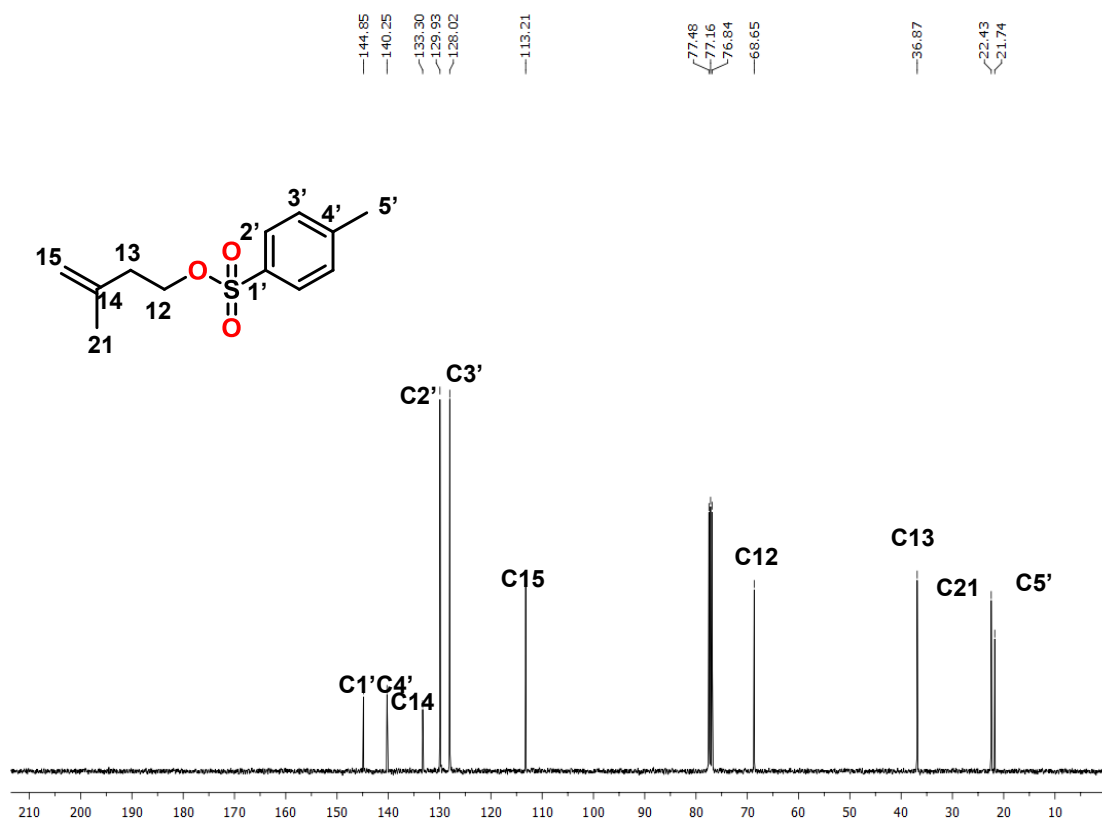


Figura 112. Espectro de RMN de ^1H do composto **21** (CDCl_3 , 400 MHz)

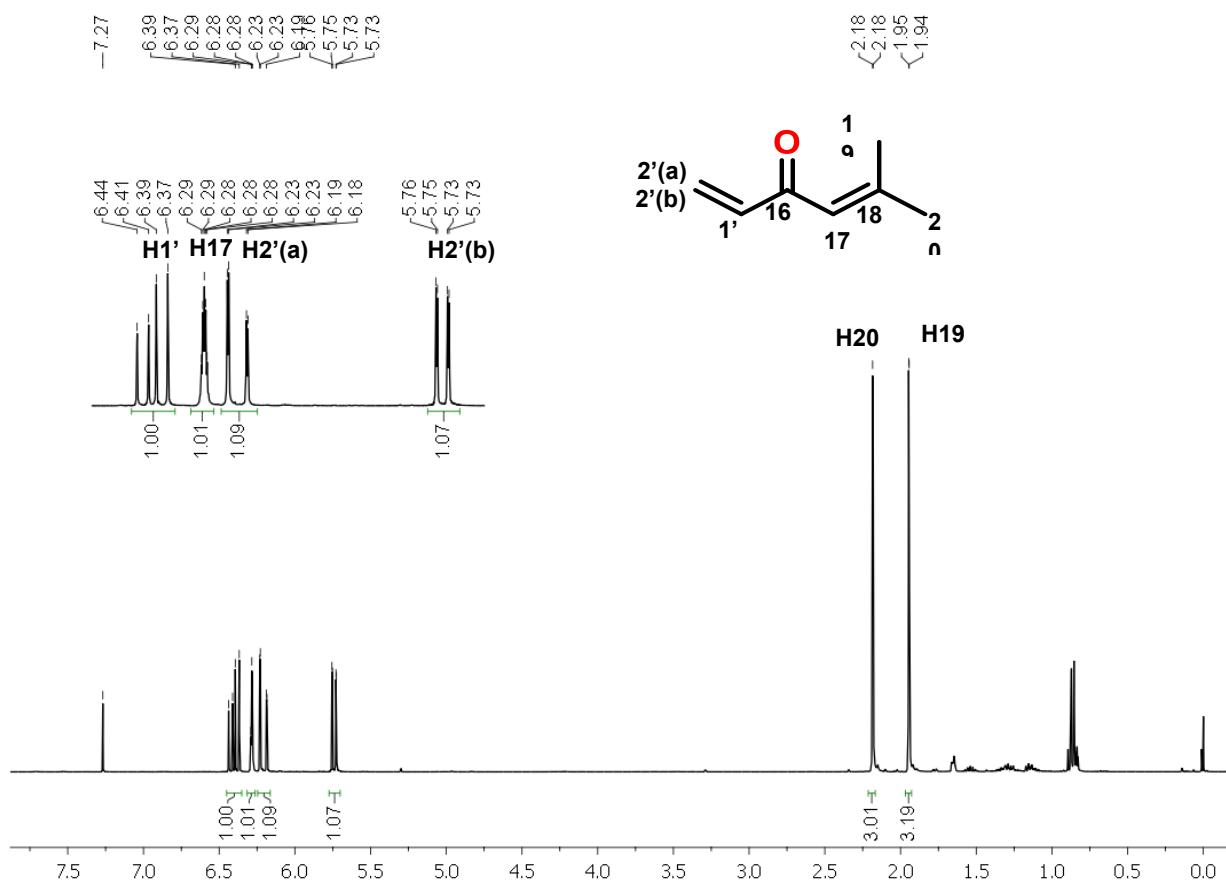


Figura 113. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **26** (CDCl_3 , 100 MHz)

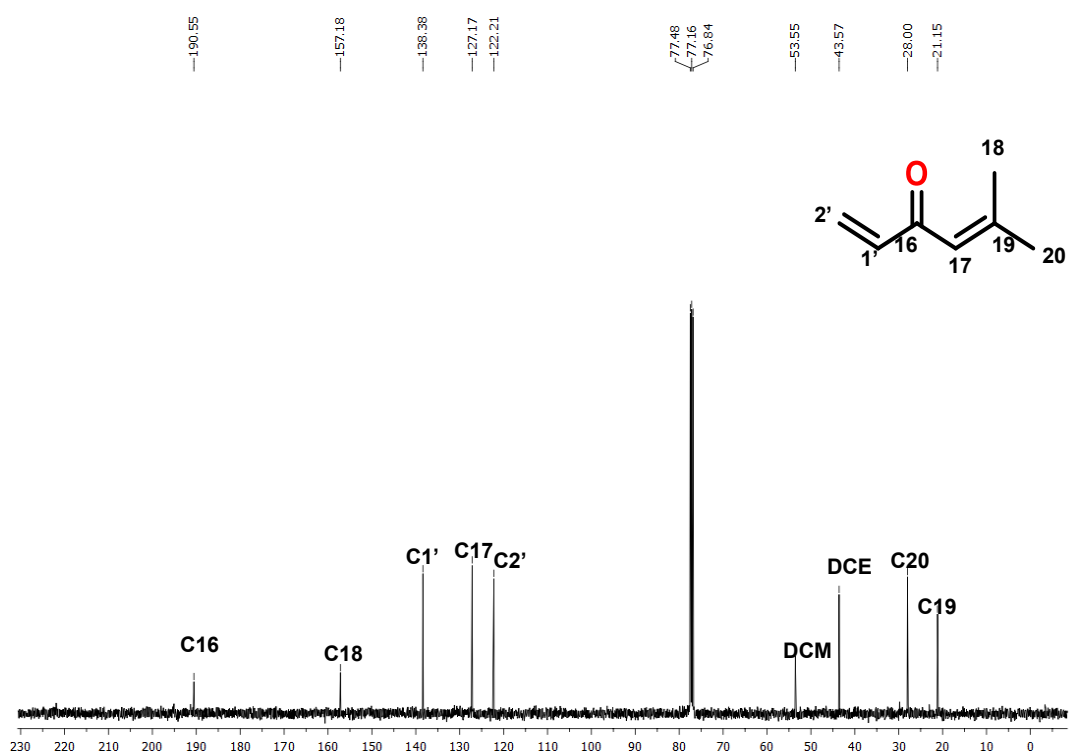


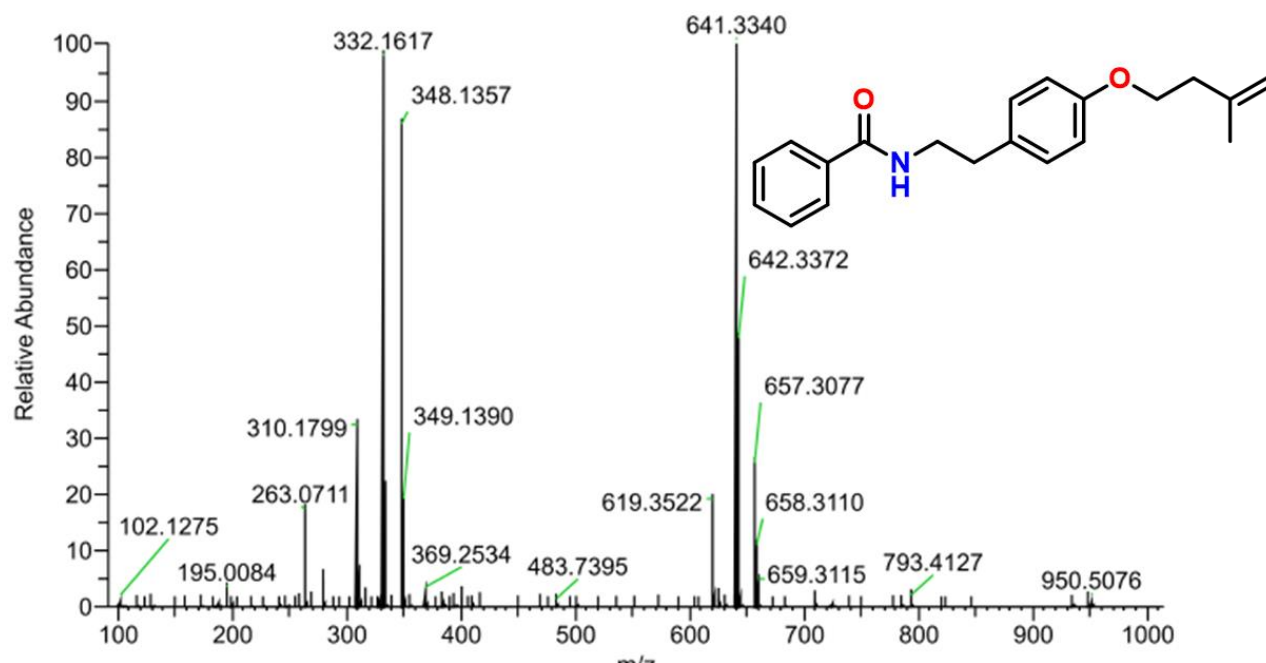
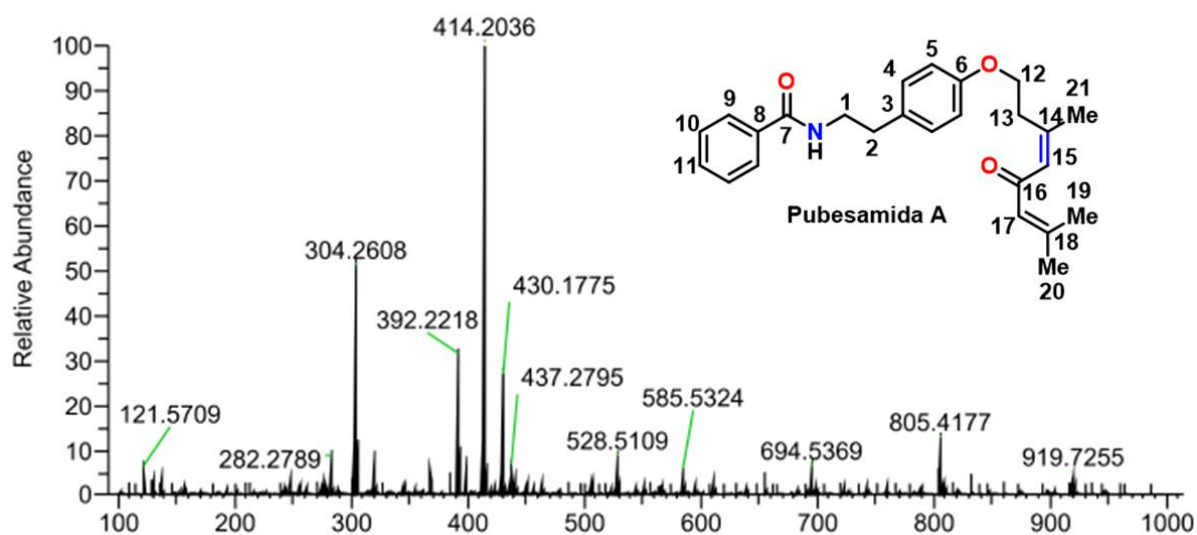
Figura 114. Espectro de EMAR **20** (ESI⁺Na⁺)**Figura 115.** Espectro de EMAR da Pubesamida A (ESI⁺)

Figura 116. Espectro de EMAR da Pubesamida B (ESI⁺)