

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Thaís Altoé Moreira

**SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE BUTENOLÍDEOS NATURAIS E
ANÁLOGOS**

Belo Horizonte
2019

UFMG/ICEx/DQ.1348^a

T.615^a

Thaís Altoé Moreira

**SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE BUTENOLÍDEOS NATURAIS E
ANÁLOGOS**

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

Belo Horizonte

2019

Ficha Catalográfica

M838s Moreira, Thaís Altoé
2019 Síntese e atividade biológica de butenolídeos
D naturais e análogos [manuscrito] / Thaís Altoé
Moreira. 2019.
[viii], 261 f. : il.

Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais - Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química orgânica - Teses 2. Produtos naturais -
Teses 3. Biofilme - Teses 4. Síntese orgânica - Teses
5. Polímeros na medicina - Teses 6. Lactonas - Teses
I. Barbosa, Luiz Cláudio de Almeida, Orientador II.
Título.

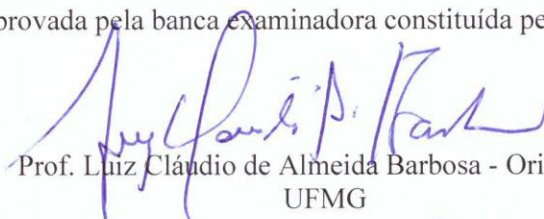
CDU 043

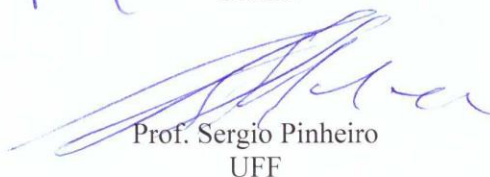


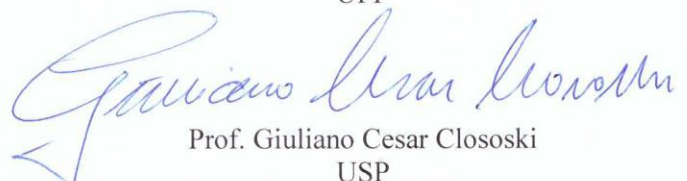
"Síntese e Atividade Biológica de Butenólídeos Naturais e Análogos"

Thaís Altoé Moreira

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa - Orientador
UFMG


Prof. Sergio Pinheiro
UFF


Prof. Giuliano Cesar Clososki
USP


Profa. Rosemeire Brondi Alves
UFMG


Prof. Cleiton Moreira da Silva
UFMG

Belo Horizonte, 07 de junho de 2019.

“Cada um de nós deve trabalhar para seu próprio crescimento e, ao mesmo tempo, partilhar uma responsabilidade geral por toda a humanidade”

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar ao meu lado em todas as etapas deste trabalho, protegendo-me e iluminando-me, e a Maria, por me cobrir com seu manto sagrado!

Aos meus queridos pais, Vanderléia e Daniel, e ao meu irmão, Thales, pela educação que me foi dada, amor incondicional, incentivo e dedicação em todos os momentos. Ao meu marido, Leonel, pelo companheirismo, compreensão, apoio e amor, desde os primeiros dias desta jornada até a finalização deste sonho. Vocês foram e são fundamentais em todas as etapas da minha vida.

À Universidade Federal de Minas Gerais e a Université Laval, pela disponibilização da infraestrutura para realização dos experimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pelo apoio, incentivo e dedicação na orientação.

Ao professor John Boukouvalas, pela orientação e disponibilização de seu laboratório para realização de uma parte experimental do projeto de doutorado. À professora Andrea de Lima Pimenta e aos alunos Mariane Beatriz Sordi e Juan Felipe Dumes Montero, pela parceria e colaboração nos ensaios biológicos.

Aos amigos do Laboratório 220 e a todos os alunos da química orgânica do departamento de química da UFMG, pela convivência agradável, amizade e também pela troca de materiais. Aos amigos do laboratório do professor Boukouvalas, no Canadá, pelo acolhimento, amizade e ensinamentos.

A minha família e também à família do meu marido, que, mesmo distantes, torciam pelo meu sucesso. Aos amigos de Cachoeiro e da república 104, pelo convívio, amizade e momentos de descontração.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERÊNCIAS	4
CAPÍTULO 1.....	6
SÍNTESE TOTAL DOS RUBROLÍDEOS R e S	6
1.1. INTRODUÇÃO.....	6
1.1.1. Rubrolídeos.....	6
1.1.2. Estudos sintéticos envolvendo os rubrolídeos R e S	8
1.2. OBJETIVOS E ESTRATÉGIAS.....	12
1.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	12
1.3.1. Rota sintética visando obtenção do rubrolídeo S.....	12
1.3.2. Rota sintética visando a obtenção dos rubrolídeos R e S	29
1.3.3. Avaliação crítica entre as rotas de síntese utilizadas neste trabalho e as relatadas na literatura	38
1.4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	39
1.5. METODOLOGIAS	39
1.5.1. Técnicas experimentais gerais	39
1.5.2. Técnicas espectroscópicas gerais.....	40
1.5.3. Técnicas de purificação de solventes e reagentes.....	40
1.5.4. Procedimentos sintéticos para a preparação do rubrolídeo S	41
1.5.5. Procedimentos sintéticos para a preparação dos rubrolídeos R e S utilizando como grupo protetor metil (Me)	46
1.5.6. Procedimentos sintéticos para a preparação dos rubrolídeos R e S utilizando como grupo protetor <i>tert</i> -butildimetilsilil (TBS).....	48
1.6. REFERÊNCIAS	53
CAPÍTULO 2.....	56
SÍNTESE DE NOVOS ANÁLOGOS AOS CADIOLÍDEOS.....	56
2.1. INTRODUÇÃO.....	56
2.1.1. Cadiolídeos: definição, descoberta e importância	56
2.1.2. Estudos sintéticos envolvendo cadiolídeos naturais e análogos.....	60

2.2. OBJETIVOS E ESTRATÉGIAS.....	65
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	65
2.3.1. Síntese dos alquinos aromáticos terminais (50a-e).....	66
2.3.2. Síntese dos cloretos de ácidos (51c-e).....	70
2.3.3. Síntese dos cetoalquinos (52a-h).....	70
2.3.4. Síntese das furanonas (53a-d).....	76
2.3.5. Síntese dos análogos aos cadiolídeos metoxilados (54a-m).....	86
2.3.6. Síntese dos análogos aos cadiolídeos hidroxilados (55a-e).....	91
2.4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	92
2.5. METODOLOGIAS.....	92
2.5.1. Técnicas experimentais gerais.....	92
2.5.2. Técnicas espectroscópicas gerais.....	93
2.5.3. Técnicas de purificação de solventes e reagentes.....	93
2.5.4. Procedimentos sintéticos.....	94
2.6. REFERÊNCIAS.....	128
CAPÍTULO 3.....	130
SÍNTESE DE γ-ALQUILIDENO-γ-LACTONAS E γ-LACTAMAS ANÁLOGAS AOS RUBROLÍDEOS E SUAS ATIVIDADES INIBIDORAS DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS.....	130
3.1. INTRODUÇÃO.....	130
3.1.1. γ -lactonas e γ -lactamas.....	130
3.1.2. Estudo sintético envolvendo γ -alquilidenolactonas e γ -lactamas derivadas.....	132
3.1.3. Biofilme bacteriano e PEEK.....	133
3.2. OBJETIVOS E ESTRATÉGIAS.....	135
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	135
3.3.1. Rota sintética para obtenção das γ -alquilidenolactonas e γ -lactamas derivadas.....	135
3.3.2. Avaliação da inibição da formação do biofilme de <i>S. mutans</i>	141
3.3.3. Avaliação da inibição da formação do biofilme de <i>S. mutans</i> quando as lactonas 15a-b estão incorporadas em PEEK sulfonado.....	144
3.4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	148
3.5. METODOLOGIAS.....	149
3.5.1. Procedimentos sintéticos.....	149
3.5.2. Avaliação da inibição da formação do biofilme de <i>S. mutans</i>	149

3.5.3. Avaliação da inibição da formação do biofilme de <i>S. mutans</i> quando as lactonas 15a-b estão incorporadas em PEEK sulfonado	151
3.6. REFERÊNCIAS	154
CONCLUSÕES GERAIS	158
APÊNDICE 1: Espectros referentes ao Capítulo 1	159
APÊNDICE 2: Espectros referentes ao Capítulo 2	178

LISTA DE ABREVIATURAS

Ar	Grupo arila
CTF	Catalisador de transferência de fase
CIM	Concentração inibitória mínima
CCD	Cromatografia em camada delgada
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
ESI	Ionização por eletrospray
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
MHz	Megahertz
<i>m/z</i>	Massa/carga
Ph	Grupo fenila
ppm	Partes por milhão
PTSA	Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio-1
rpm	Rotações por minuto
t.a.	Temperatura ambiente
TBDMSOTf	Trifluorometanossulfonato de <i>tert</i> -butildimetilsilila
T _f	Temperatura de fusão
THF	Tetraidrofurano
v/v	Volume/volume
δ	Deslocamento químico
Multiplicidades e símbolos utilizados nos espectros de RMN:	
d	Duplete
dd	Duplete duplo
l	Largo/alargado
m	Multiplete
s	Simpleto
t	Triplete
*	Sinal residual do solvente
**	Sinal da H ₂ O do solvente

RESUMO

MOREIRA, Thaís Altoé, D.Sc. Universidade Federal de Minas Gerais, junho de 2019. **Síntese e atividade biológica de butenolídeos naturais e análogos.** Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Os butenolídeos, γ -lactonas insaturadas, estão presentes na estrutura de um grande número de produtos naturais, tais como nostoclídeos, rubrolídeos, fimbrolídeos e cadiolídeos. Esses compostos são oriundos, principalmente, de metabólitos marinhos e apresentam uma vasta variedade de atividades biológicas como fungicida, antibacteriana, antibiofilme, anti-inflamatória, citotóxica e reguladora de germinação de sementes. Na literatura, encontram-se vários estudos de síntese total, síntese de análogos e atividade biológica dos butenolídeos. Visando contribuir com o estudo dessa classe de compostos, o foco deste trabalho consiste na síntese de diferentes tipos de butenolídeos naturais e análogos, além da análise de suas atividades biológicas.

O Capítulo 1 teve como objetivo realizar uma síntese breve e eficiente dos rubrolídeos **R** e **S**, uma vez que, os mesmos foram descobertos recentemente e apresentaram boa atividade antioxidante e antiviral contra o vírus da gripe H1N1 (Influenza A), respectivamente. Este trabalho foi dividido em duas partes: uma para obtenção do rubrolídeo **S** e outra para obtenção de ambos os rubrolídeos. As principais etapas sintéticas são: bromação do tipo Vilsmeier, condensação aldólica, reação de acoplamento cruzado de Suzuki, seguida de desproteção e ciclização (utilizada apenas na segunda parte). O uso dessas metodologias permitiu, na primeira parte, a síntese do rubrolídeo **S** em duas e três etapas, com, respectivamente, 52% e 64% de rendimento global a partir da 4-bromofuran-2(5*H*)-ona. E, na segunda parte, a síntese dos rubrolídeos **R** e **S** em três etapas (44% de rendimento global) e quatro etapas (41% de rendimento global) etapas, respectivamente, também a partir da 4-bromofuran-2(5*H*)-ona. Um importante resultado obtido corresponde à conversão do rubrolídeo **R** no **S** por meio de uma ciclização.

No Capítulo 2 foi realizada a síntese de 18 análogos aos cadiolídeos, sendo que 16 desses compostos são inéditos. Esses análogos foram obtidos a partir de alquinos terminais e cloretos de ácido em três (cadiolídeos metoxilados) ou quatro (cadiolídeos hidroxilados) etapas e apresentaram bons rendimentos globais que variaram de 11% a 47%. Inicialmente,

os alquinos terminais reagiram com os cloretos de ácido via acoplamento de Sonogashira, formando diferentes cetoalquinos. Estes foram submetidos a reação de Diels-Alder/retro-Diels-Alder (DA/RDA), seguido de hidrólise, para obtenção de diversas lactonas. As lactonas reagiram com diferentes aldeídos aromáticos formando 13 análogos aos cadiolídeos metoxilados. Finalmente, as hidroxilas dos análogos metoxilados foram desprotegidas e 5 análogos hidroxilados foram obtidos. A etapa-chave envolve a reação de DA/RDA, uma vez que, gerou produtos regioseletivos com rendimentos de 36% a 79%. Todos os análogos estão sendo avaliados quanto às suas atividades antibacteriana e antibiofilme.

No Capítulo 3 foram sintetizadas 11 lactonas e 4 lactamas, que foram avaliadas quanto as suas atividades antibiótica e inibidora da formação de biofilme bacteriano. Na rota sintética utilizada, destacam-se as reações de acoplamento de Suzuki, alquilidação e lactamização. Como a síntese desses butenolídeos foi publicada anteriormente, este capítulo teve maior enfoque em suas atividades biológicas, que foram divididas em dois tipos de ensaios. No primeiro ensaio, treze compostos foram analisados e oito inibiram a formação de biofilmes de *S. mutans*, sem mostrar interferência significativa na viabilidade bacteriana. Além disso, os mais ativos revelaram uma taxa de inibição de 65%. No segundo ensaio, duas lactonas foram incorporadas em sPEEK (poli-éter-éter-cetona sulfonado), um polímero utilizado em implantes dentários, e suas atividades antibacteriana e antibiofilme foram analisadas. O crescimento planctônico de *S. mutans* em torno dos agentes sPEEK/antibiofilme não foi afetado, mas a atividade antibiofilme aumentou significativamente. Ainda foi analisada a atividade citotóxica e esta mostrou que sPEEK/agentes antibiofilmes não apresentaram citotoxicidade, além da estrutura sPEEK/**15a-b** estimular a atividade metabólica e a proliferação de fibroblastos.

Palavras-Chave: Butenolídeos, rubrolídeos, cadiolídeos, antibiofilme bacteriano, PEEK.

ABSTRACT

MOREIRA, Thaís Altoé, D.Sc. Universidade Federal de Minas Gerais, June, 2019. **Synthesis and biological activity of natural butenolides and analogues.** Adviser: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Butenolides, γ -unsaturated lactones, are present in the structure of a large number of natural products such as nostoclides, rubrolides, fimbrolides and cadiolides. These compounds come mainly from marine metabolites and present a wide array of biological activities as fungicide, bacterial, antibiofilm, anti-inflammatory, cytotoxic and regulating seed germination. There are several reported studies on the total synthesis, synthesis of analogues and biological activity of butenolides. Aiming to contribute to the study of this class of compounds, the focus of this work is the synthesis of different types of natural butenolides and analogues, as well as the analysis of their biological activities.

Chapter 1 had as its objective the accomplishment of a brief and efficient synthesis of rubrolides **R** and **S**, since they were first isolated in 2014, and showed good antioxidant activity and antiviral activity against H1N1 influenza virus (Influenza A), respectively. This work was divided in two parts: one to obtain rubrolide **S** and another to obtain both rubrolides (**R** and **S**). The main synthetic steps are: Vilsmeier type bromination, aldol condensation, Suzuki cross coupling reaction followed by deprotection and cyclization (used only in the second part). The use of these methodologies allowed in the first part the synthesis of rubrolide **S** in 2 and 3 steps, respectively 52% and 64% overall yield from 4-bromofuran-2(5*H*)-one. And in the second part, the synthesis of rubrolides **R** and **S** in 3 (44% overall yield) and 4 (41% overall yield) steps, respectively, also from 4-bromofuran-2(5*H*)-one. An important result was the conversion of rubrolide **R** into **S** by cyclization.

In Chapter 2 the synthesis of 18 analogues to the cadiolides was carried out and 16 of which are unpublished. These compounds were obtained from terminal alkynes and acid chlorides in three (methoxylated cadiolides) or four (hydroxylated cadiolides) steps and showed good overall yields ranging from 11% to 47%. Initially, the terminal alkynes reacted with the acid chlorides by Sonogashira coupling, forming different ketoalkynes. These were subjected to Diels-Alder/retro-Diels-Alder reaction (DA/RDA), followed by hydrolysis, to obtain various lactones. The lactones were reacted with different aromatic

aldehydes to form 13 analogues to the methoxylated cadiolides. Finally, the hydroxyls of the methoxylated analogues were deprotected and 5 hydroxylated analogs were obtained. The key step involves the DA/RDA reaction, since it generated regioselective products with yields among 36% to 79%. All analogues are being evaluated for their bacterial and antibiofilm activities.

In Chapter 3 were synthesized 11 lactones, 4 lactams, and these compounds were evaluated for their antibiotic and inhibitory activities of bacterial biofilm formation. In the synthetic route used, we highlight the Suzuki coupling, alkylation and lactamization reactions. As the synthesis of these butenolides has already been published, this chapter had a greater focus on its biological activities, which were divided into two types of assay. In the first assay thirteen compounds were analyzed and eight were active against *S. mutans* biofilms without showing significant interference in bacterial viability. In addition, the more active showed an inhibition rate of 65%. In the second trial two lactones were incorporated into sPEEK (sulfonated poly-ether-ether-ketone), a polymer used in dental implants, and its bacterial and antibiofilm activities were analyzed. The planktonic growth of *S. mutans* around the sPEEK/antibiofilm agents was not affected, however, the antibiofilm activity increased significantly. Cytotoxic activity was still analyzed and this showed that sPEEK/antibiofilm agents did not present cytotoxicity, in addition to sPEEK/**15a-b** structure stimulate metabolic activity and fibroblast proliferation.

Keywords: Butenolides, rubrolides, cadiolides, bacterial antibiofilm, PEEK.

INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais e suas estruturas moleculares têm uma longa tradição como valiosos pontos de partida para a química medicinal e para a descoberta de fármacos (Rodrigues *et al.*, 2016). A natureza tem fornecido abundantes fontes de produtos naturais que foram utilizados como produtos comerciais para a medicina humana, a saúde animal e a proteção das culturas de plantas (Katz e Baltz, 2016).

A química auxilia na descoberta de compostos bioativos oriundos da natureza, além de realizar estudos capazes de sintetizar, modificar e melhorar as atividades biológicas de tais compostos, a fim de serem empregados no combate a diversas enfermidades existentes (Katz e Baltz, 2016).

Em 2016, a organização Mundial da Saúde (OMS) chamou atenção para a resistência dos microrganismos a vários fármacos em todo o mundo (OMS, 2016), uma vez que, essa resistência ameaça a prevenção e o tratamento eficaz de uma gama de infecções causadas por bactérias, parasitas, vírus e fungos, tornando-se uma ameaça global para a saúde pública (Boukouvalas e Thibault, 2015). Segundo o diretor assistente geral de segurança de saúde da OMS, infecções comuns e que causavam poucos danos agora podem matar e, nenhum país - nem rico, nem pobre - está suficientemente protegido contra a chegada de uma doença nova a seu território e as perturbações que isso pode causar (OMS, 2016). Com isso, os pesquisadores têm intensificado as buscas por novos compostos capazes de combater os microrganismos resistentes a fármacos utilizados atualmente.

Os butenolídeos são produtos naturais e correspondem a γ -lactonas insaturadas, podendo apresentar anéis de dois tipos, como mostrados na Figura 1 (Barbosa *et al.*, 2010).



Figura 1 - Estrutura geral dos anéis presentes nos butenolídeos.

Quando um grupo alquilideno está presente na posição γ de Δ^3 -butenolídeos (Figura 1), têm-se os γ -alquilidenobutenolídeos (Figura 2, pg. 2). Os nostoclídeos (Xuemin *et al.*,

1993), rubrolídeos (Miao e Andersen, 1991), fimbrolídeos (Givskov *et al.*, 1996) e cadiolídeos (Smith *et al.*, 1998) são exemplos de γ -alquilidenobutenolídeos (Figura 2).

Os butenolídeos estão presentes na estrutura de um grande número de produtos naturais, como nostoclídeos (Xuemin *et al.*, 1993), rubrolídeos (Miao e Andersen, 1991), fimbrolídeos (Givskov *et al.*, 1996) e cadiolídeos (Smith *et al.*, 1998) (Figura 2). Esses produtos naturais foram isolados principalmente de esponjas, algas e metabólitos marinhos (Souza, 2005; Kuang *et al.*, 2008). Além disso, os butenolídeos exibem uma variedade de atividades biológicas e têm sido considerados potenciais agentes anticâncer (El-Tombary *et al.*, 2011; Ortega *et al.*, 2000), bactericidas (Miao e Andersen, 1991; Wang *et al.*, 2012; Sikorska *et al.*, 2012), fungicidas (Kumar *et al.*, 2013), anti-inflamatórios (Pearce *et al.*, 2007), antioxidantes (Weber *et al.*, 2002), reguladores da germinação de sementes (Flematti *et al.*, 2004), inibidores da aldose redutase (Manzanaro *et al.*, 2006; Boukouvalas e McCann, 2010) e inibidores seletivos da proteína fosfatase 1 e 2A (Miao e Andersen, 1991).

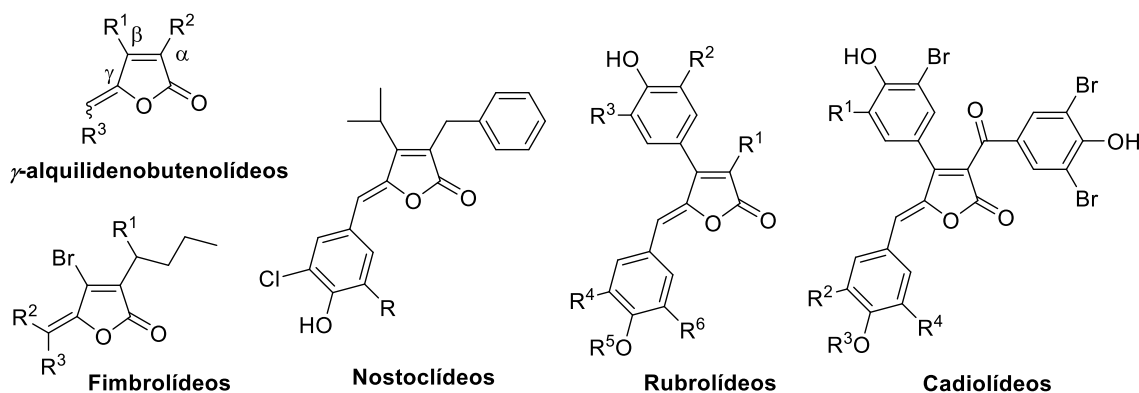


Figura 2 - Estruturas gerais dos γ -alquilidenobutenolídeos, nostoclídeos, rubrolídeos, fimbrolídeos e cadiolídeos.

Durante as últimas décadas foi descoberto um grande número de butenolídeos e γ -alquilidenobutenolídeos de origem natural e muitos compostos sintéticos foram também obtidos (Figura 3, pg. 3). Muitos deles apresentam interessantes atividades biológicas. Há pouco tempo, o butenolídeo rofecoxibe (**1**) mereceu destaque no noticiário nacional e internacional. Produzida e comercializada pela Merck com o nome de Vioxx®, essa substância corresponde a um poderoso anti-inflamatório (Pirlamarla e Bond, 2016). Entretanto, o Vioxx® foi retirado do mercado em 2004 devido ao risco cardiovascular

associado ao uso crônico por mais de 18 meses (Magalhães *et al.*, 2012). Outro importante butenolídeo é o flupiradifurona (**2**), ingrediente ativo de um inseticida vendido pela Bayer e conhecido comercialmente como Sivanto, um eficiente inseticida contra um amplo espectro de insetos de sucção, tais como moscas brancas (Jeschke *et al.*, 2015). O butenolídeo **3** também é um composto poderoso, é um agente anti-HIV (Boukouvalas e Marion, 2006). O rubrolídeo **S** (**4**), descoberto há cinco anos, apresentou atividade viral comparável ou superior à da ribavirina, um medicamento comercial anti-influenza A (H1N1) (Zhu *et al.*, 2014). Os goniobutenolídeos A (**5**) e B (**6**) exibem atividade citotóxica, sendo o goniobutenolídeo B mais ativo que o A contra a maioria das células testadas. Por exemplo, o goniobutenolídeo B apresentou $CI_{50} = 0,91 \mu\text{g/mL}$ contra A-549 (células epiteliais alveolares humanas), enquanto o goniobutenolídeo A apresentou $CI_{50} = 3,73 \mu\text{g/mL}$ para a mesma célula (Fang *et al.*, 1991). Os fimbrolídeos **7a** e **7b** apresentaram atividade inibitória contra a formação de biofilme e expressão da virulência de bactérias (Givskov *et al.*, 1996) e o lissoclinolídeo **8** possui atividade antibiótica (Davidson e Ireland, 1990).

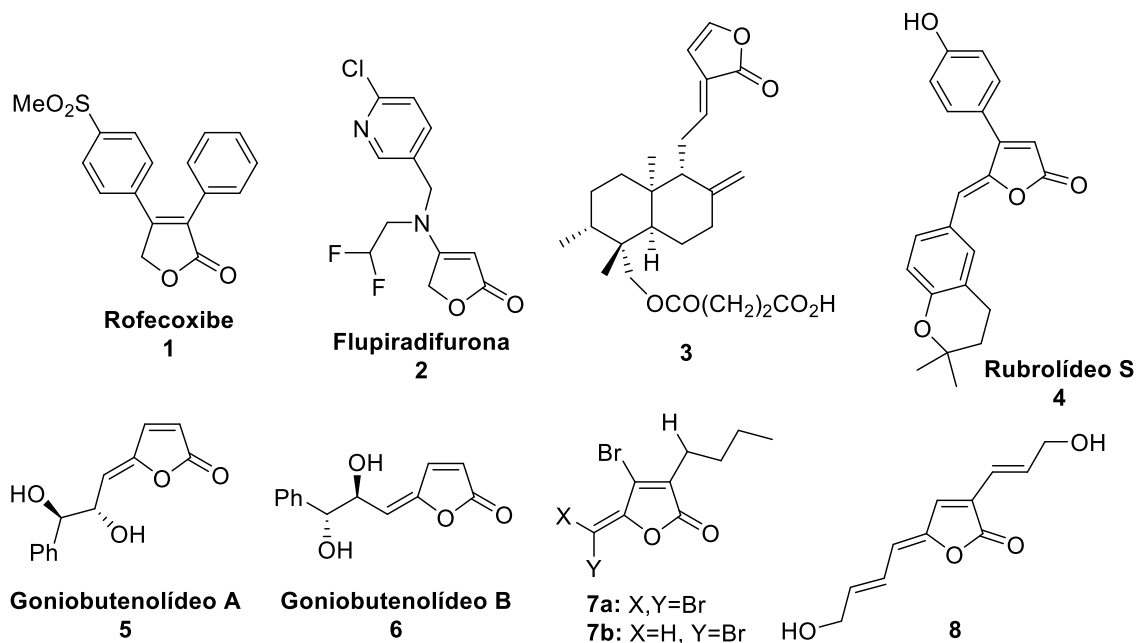


Figura 3 - Estruturas específicas de butenolídeos biologicamente ativos.

Frente aos atuais problemas de saúde, à necessidade de busca por novos fármacos e o potencial medicinal dos produtos naturais, dissertaremos aqui sobre a síntese de compostos bioativos inspirados em produtos naturais da família dos butenolídeos. Para

cumprir tal objetivo, esse projeto foi dividido em 3 capítulos. O Capítulo 1 tratará da síntese dos rubrolídeos **R** e **S** devido à recente descoberta desses compostos (5 anos atrás) e suas importantes atividades antioxidante e antiviral. O Capítulo 2 envolverá a síntese de novos análogos aos cadiolídeos, uma vez que, cadiolídeos naturais e análogos vem apresentando diversas atividades biológicas importantes, principalmente, atividade antibiofilme bacteriano. O terceiro Capítulo vai abranger a síntese de γ -alquilidenolactonas e lactamas derivadas, além dos resultados apresentados por esses compostos como inibidores da formação de biofilme bacteriano.

2. REFERÊNCIAS

- Barbosa, L. C. A.; Teixeira, R. R.; Pinheiro, P. F.; Maltha, C. R. A.; Demuner, A. J. *Estratégias para a síntese de γ -alquilidenobutenolídeos*. Quim. Nova 33 (2010) 1163-1174.
- Boukouvalas, J.; Marion, O. *Efficient synthesis of (E)-3-alkylidene-2(3H)-furanones from 3-(1-hydroxyalkyl)-2-silyloxyfurans*. Synlett 10 (2006) 1511-1514.
- Boukouvalas, J.; McCann, L. C. *Synthesis of the human aldose reductase inhibitor rubrolide L*. Tetrahedron Lett. 51 (2010) 4636-4639.
- Boukouvalas, J.; Thibault, C. *Step-economical synthesis of the marine ascidian antibiotics cadiolide A, B, and D*. J. Org. Chem. 80 (2015) 681-684.
- Damodar, K.; Kimb, J-K.; Juna, J-G. *Efficient, collective synthesis and nitric oxide inhibitory activity of rubrolides E, F, R, S and their derivatives*. Tetrahedron Letters 58 (2017) 50-53.
- Davidson, B. S.; Ireland, C. M. *Lissoclinolide, the first non-nitrogenous metabolite from α Lissoclinum tunicate*. J. Nat. Prod. 53(4), (1990) 1036-1038.
- El-Tombary, A. A.; Abdel-Ghany, Y. S.; Belal, A. S. F.; El-Dine, S. A. S.; Soliman, F. S. G. *Synthesis of some substituted furan-2(5H)-ones and derived quinoxalinones as potential anti-microbial and anti-cancer agents*. Med. Chem. Res. 20 (2011) 865-876.
- Fang, X.; Anderson, J. E.; Chang, C.; McLaughlin, J. L. *Three new bioactive styryllactones from Goniothalamus giganteus (Annonaceae)*. Tetrahedron 47 (1991) 9751-9758.
- Flematti, G. R.; Ghisalberti, E. L.; Dixon, K. W.; Trengove, R. D. *A compound from smoke that promotes seed germination*. Science 305 (2004) 977.
- Givskov, M.; Nys, R.; Manefield, M.; Gram, L.; Maximilien, R.; Eberl, L.; Molin, S.; Steinberg, P. D.; Kjelleberg, S. *Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling*. J. Bacteriol. 178 (1996) 6618-6622.
- Jeschke, P.; Nauen, R.; Gutbrod, O.; Beck, M. E.; Matthiesen, S.; Haas, M.; Velten, R. *Flupyradifurone (Sivanto™) and its novel butenolide pharmacophore: Structural considerations*. Pestic. Biochem. Physiol. 121 (2015) 31-38.
- Katz, L.; Baltz, R. H. *Natural product discovery: past, present, and future*. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 43 (2016) 155-176.

- Kuang, H.; Yang, B.; Xia, Y.; Feng, W. *Chemical constituents from the flower of Datura metel L.* Arch. Pharm. Res. 31 (2008) 1094-1097.
- Kumar, S.; Garg, R.; Kabra, A. *Review on Butenolides.* WJPRT 1 (2013) 83-94.
- Magalhães, W. S.; Corrêa, C. M.; Alencastro, R. B.; Nagem, T. J. *Bases moleculares da ação anti-inflamatória dos ácidos oleanólico e ursólico sobre as isoformas da ciclo-oxigenase por docking e dinâmica molecular.* Quim. Nova 35(2), (2012) 241-248.
- Manzanaro, S.; Salva, J.; Fuente, J. A. *Phenolic marine natural products as aldose reductase inhibitors.* J. Nat. Prod. 69 (2006) 1485-1487.
- Miao, S.; Andersen, R. J. *Rubrolides A-H, metabolites of the colônia ltunicate Ritterella rubra.* J. Org. Chem. 56 (1991) 6275-6280.
- OMS (WHO, World Health Organization). Acessado em: 17 janeiro, 2016. Disponível: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/commitment-antimicrobial-resistance/en/> e <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>.
- Ortega, M. J.; Zubía, E.; Ocaña, J. M.; Naranjo, S.; Salvá, J. *New rubrolides from the ascidian Synoicum blochmanni.* Tetrahedron 56 (2000) 3963-3967.
- Pearce, A. N.; Chia, E. W.; Berridge, M. V.; Maas, E. W.; Page, M. J.; Webb, V. L.; Harper, J. L.; Copp, B. R. *E/Z-Rubrolide O, an anti-inflammatory halogenated furanone from the New Zealand ascidian Synoicum n. sp.* J. Nat. Prod. 70 (2007) 111-113.
- Pirlamarla, P.; Bond, R. M. *FDA labeling of NSAIDs: review of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cardiovascular disease.* Trends Cardiovasc. Med. 26 (2016) 675-680.
- Rodrigues, T.; Reker, D.; Schneider, P.; Schneider, G. *Counting on natural products for drug design.* Nat. Chem. 8 (2016) 531-541.
- Sikorska, J.; Parker-Nance, S.; Davies-Coleman, M. T.; Vining, O. B.; Sikora, A. E.; McPhail, K. L. *Antimicrobial rubrolides from a South African species of synoicum tunicate.* J. Nat. Prod. 75 (2012) 1824-1827.
- Smith, C. J.; Hettich, R. L.; Jompa, J.; Tahir, A.; Buchanan, M. V.; Ireland, C. M. *Cadiolides A and B, new metabolites from an ascidian of the genus Botryllus.* J. Org. Chem. 63 (1998) 4147-4150.
- Souza, M. V. N. *The furan-2(5H)-ones: recent synthetic methodologies and its application in total synthesis of natural products.* Mini-Rev. Org. Chem. 2 (2005) 139-145.
- Wang, W.; Kim, H.; Nam, S.-J.; Rho, B. J.; Kang, H. *Antibacterial butenolides from the Korean tunicate Pseudodistoma antinboja.* J. Nat. Prod. 75 (2012) 2049-2054.
- Weber, V.; Coudert, P.; Rubat, C.; Duroux, E.; Vallée-Goyet, D.; Gardette, D.; Bria, M.; Albuissou, E.; Leal, F.; Gramain, J.; Couquelet, J.; Madesclaire, M. *Novel 4,5-diaryl-3-hydroxy-2(5H)-furanones as antioxidants and anti-inflammatory agents.* Bioorg. Med. Chem. 10 (2002) 1647-1658.
- Xuemin, Y.; Yuzuru, S.; Steiner, J. S.; Clardy, J. *Nostoclides I e II, extracellular metabolites from a symbiotic cyanobacterium, Nostoc sp., from the Lichen Peltigera canina.* Tetrahedron Lett. 34 (1993) 761-764.
- Zhu, T.; Chen, Z.; Liu, P.; Wang, Y.; Xin, Z.; Zhu, W. *New rubrolides from the marine-derived fungus Aspergillus terreus OUCMDZ-1925.* J. of Antibiot. 67 (2014) 315-318.

CAPÍTULO 1

SÍNTESE TOTAL DOS RUBROLÍDEOS R e S

1.1. INTRODUÇÃO

1.1.1. Rubrolídeos

Os rubrolídeos são produtos naturais biologicamente ativos, oriundos principalmente de metabólitos marinhos (Bellina *et al.*, 2001). Desde 1991, foram isolados 22 diferentes rubrolídeos (**A-S**, **3''-bromorubrolídeo F**, **3'-bromorubrolídeo E** e **3',3''-dibromorubrolídeo E**).

Em 1991, os primeiros rubrolídeos foram descobertos e denominados rubrolídeos **A-H** (Figura 1.1). Esses compostos foram isolados da ascídia marinha *Ritterella rubra* e apresentam elevada atividade antibiótica contra *Staphylococcus aureus* (Miao e Andersen, 1991). Posteriormente, o rubrolídeo **A** também foi isolado da ascídia *Synoicum prunum* por Carroll *et al.* (1999) e da ascídia do gênero *Botryllus* por Smith *et al.* (1998). Nesse último trabalho, o rubrolídeo **A** foi encontrado como mistura de isômeros *E/Z* na proporção 3:1.

Em 2000, seis novos membros da família dos rubrolídeos foram isolados da ascídia marinha *Synoicum blochmanni*, por Ortega e colaboradores. Essas substâncias foram caracterizadas como rubrolídeos **I-N** (Figura 1.1) e mostraram significativa citotoxicidade contra algumas linhagens de células tumorais.

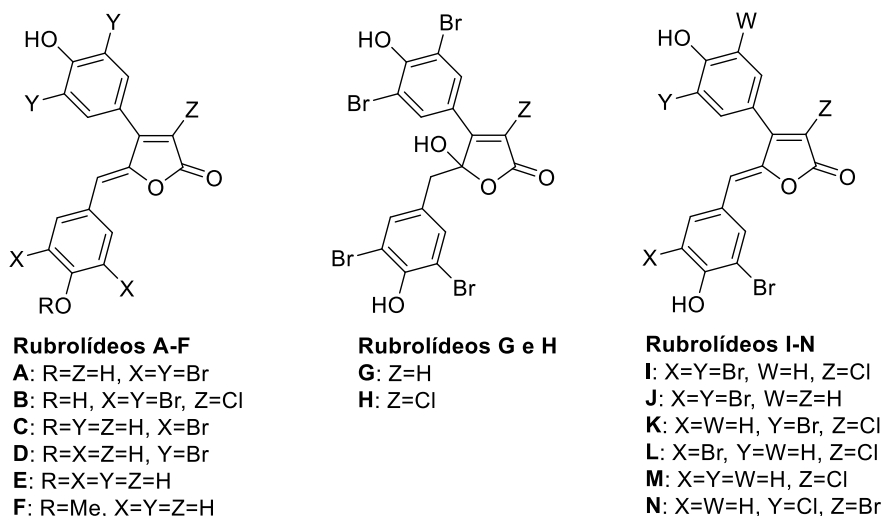


Figura 1.1 - Fórmulas estruturais dos rubrolídeos **A-N**.

O rubrolídeo **O** (Figura 1.2) foi isolado em 2007 (Pearce *et al.*) da ascídia *Synoicum n. sp.* e apresentou atividade anti-inflamatória, o que não era precedente nesse grupo de metabólitos ativos. Os rubrolídeos **P** e **Q** (Figura 1.2) foram isolados em 2012 do tunicato *Pseudodistoma antiboja* por Wang *et al.* No mesmo ano, o rubrolídeo **Q** foi isolado por outro grupo de pesquisa, Sikorska e colaboradores (2012), juntamente com os rubrolídeos **3''-bromorubrolídeo F**, **3'-bromorubrolídeo E** e **3',3''-dibromorubrolídeo E** (Figura 1.2).

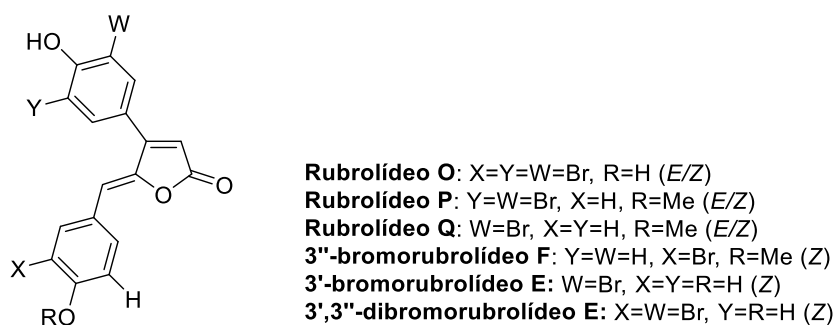


Figura 1.2 - Fórmulas estruturais dos rubrolídeos **O-Q**, **3''-bromorubrolídeo F**, **3'-bromorubrolídeo E** e **3',3''-dibromorubrolídeo E**.

Em 2014, os rubrolídeos **R** e **S** (Figura 1.3) foram isolados do fungo marinho *Aspergillus terreus* OUCMDZ-1925 pelo grupo de pesquisa de Zhu e colaboradores (2014). Ambos os rubrolídeos apresentaram atividades comparáveis ou superiores à de fármacos comerciais. O rubrolídeo **R** foi destacado como um bom antioxidante ($CI_{50} = 1,33 \mu M$), sendo comparado aos fármacos trolox ($CI_{50} = 2,04 \mu M$) e ácido ascórbico ($CI_{50} = 2,85 \mu M$). Por outro lado, o rubrolídeo **S** ($CI_{50} = 87,1 \mu M$) apresentou atividade viral superior à da ribavirina ($CI_{50} = 118,8 \mu M$), um medicamento comercial anti-influenza A (H1N1).

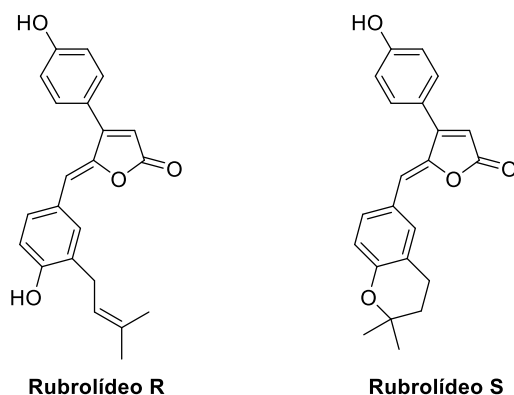


Figura 1.3 - Fórmulas estruturais dos rubrolídeos **R** e **S**.

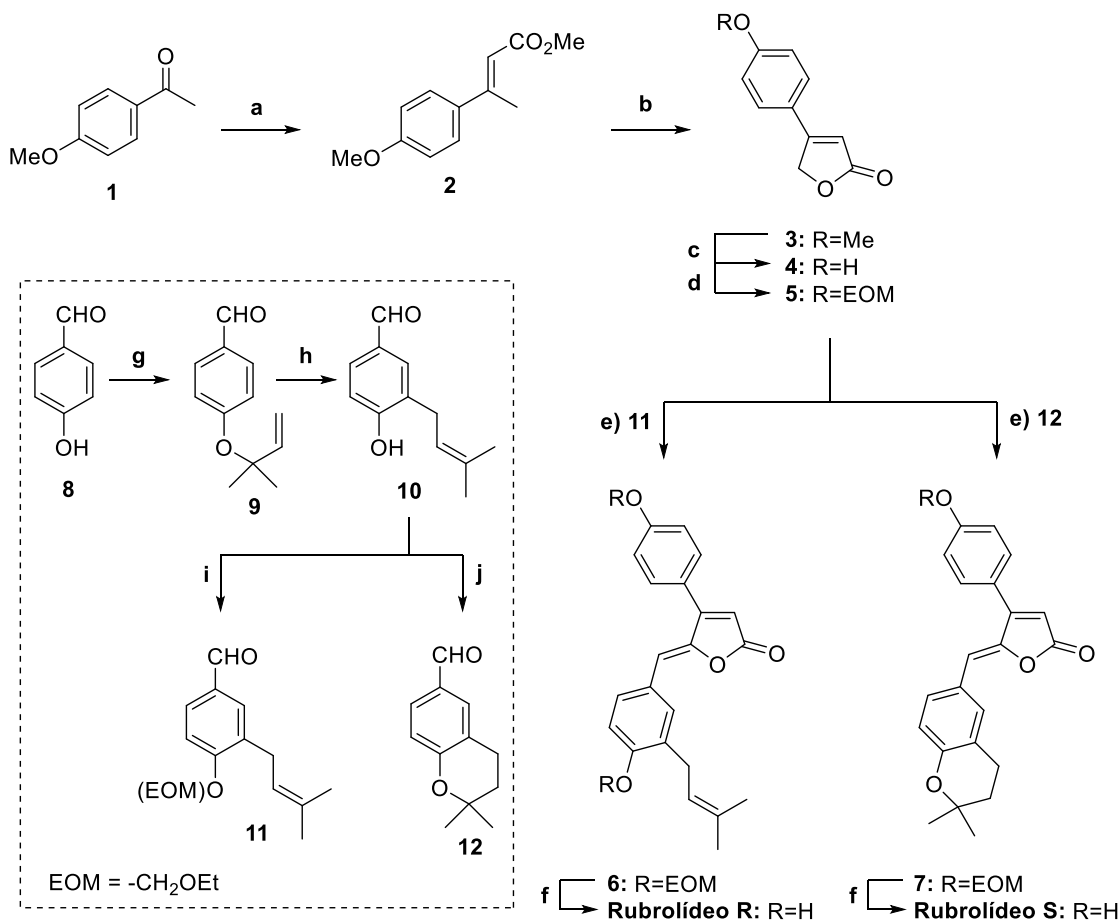
1.1.2. Estudos sintéticos envolvendo os rubrolídeos **R** e **S**

O recente isolamento dos rubrolídeos **R** e **S** (2014) e suas significativas atividades biológicas encorajaram a comunidade química a buscar uma rota sintética breve e eficiente para obtenção desses produtos naturais.

Como ainda não havia publicação sobre a síntese dos rubrolídeos **R** e **S**, no início de 2016 propusemos uma rota sintética a fim de obter esses produtos naturais. Alcançamos os produtos finais no final do ano de 2016, mas no início de 2017 dois outros grupos de pesquisa publicaram a síntese das mesmas substâncias (Damodar *et al.*, 2017; Schacht *et al.*, 2017).

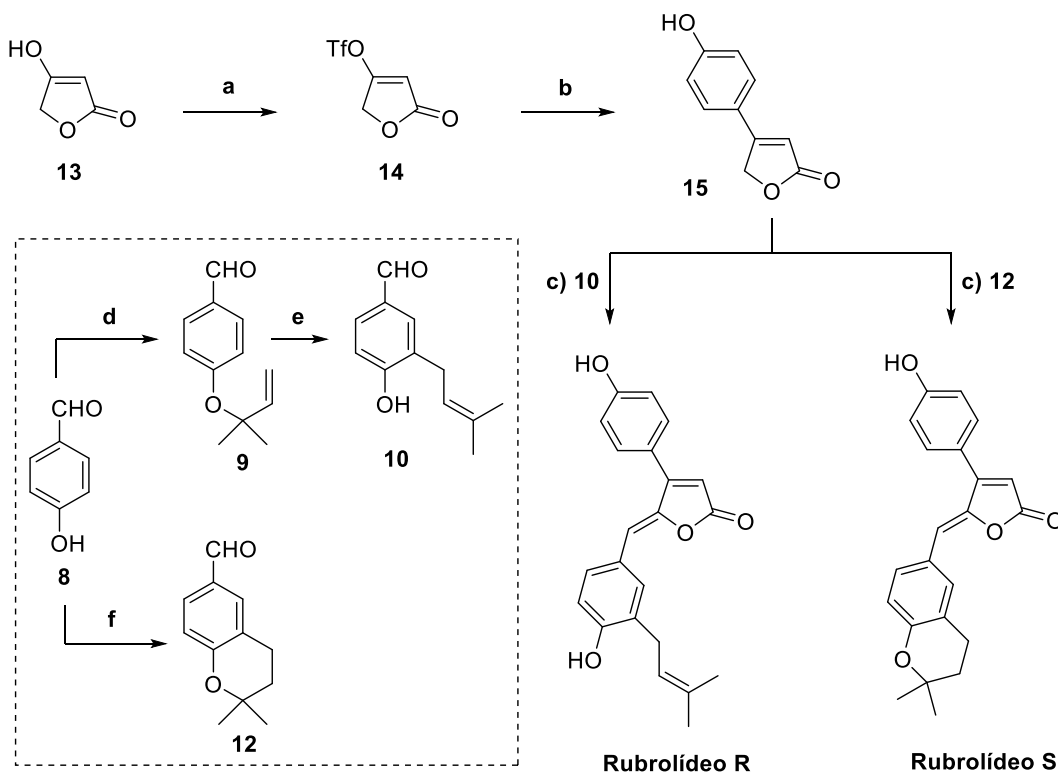
Damodar e colaboradores (2017) publicaram a primeira síntese total para obtenção dos rubrolídeos **R** e **S** (Esquema 1.1, pg. 9). Ambos foram obtidos em 6 etapas, partindo da 4-metoxiacetofenona (**1**), disponível comercialmente. O rubrolídeo **R** foi obtido com rendimento global de 14%, e o rubrolídeo **S** com 35%.

Inicialmente (Esquema 1.1, pg. 9), a 4-metoxiacetofenona (**1**) reagiu com fosfonoacetato de trimetila via reação de Wittig-Horner para obter o éster **2** com 83% de rendimento. O éster **2** foi então convertido na lactona **3** (73% de rendimento) por meio de uma ciclização oxidativa induzida por SeO₂. Essa lactona foi desprotegida, fornecendo **4** (97% de rendimento), que foi posteriormente protegida, formando **5** com 91% de rendimento. O intermediário **5** foi utilizado na obtenção dos rubrolídeos **R** e **S**. O composto **5** reagiu com o aldeído **11** via condensação de Knoevenagel, resultando em **6** (51% de rendimento), que foi desprotegido para formar o rubrolídeo **R** (51% de rendimento). Por outro lado, o composto **5** reagiu com o aldeído **12** (condensação de Knoevenagel), resultando em **7** (70% de rendimento), que foi desprotegido para formar o rubrolídeo **S** (95% de rendimento). Os aldeídos **11** e **12** foram obtidos a partir do 4-hidroxibenzaldeído (**8**). Esse aldeído foi submetido a uma alilação catalisada por paládio na presença de carbonato de *tert*-butil-2-metilbut-3-en-2-ila (não disponível comercialmente e sintetizado a partir de Boc₂O), formando **9** (80% de rendimento), seguida do rearranjo de Claisen para formar **10** (88% de rendimento). O intermediário **10** foi protegido com EOM (cloreto de etoximetil) para fornecer o aldeído **11** (69% de rendimento), e posteriormente **10** foi submetido a uma ciclização com ácido *p*-toluenossulfônico para fornecer o aldeído **12** (90% de rendimento).



Esquema 1.1 - Reagentes e condições: (a) fosfonoacetato de trimetila, NaH, 0 °C, 30 min; 25 °C, 14 h, 83%; (b) SeO₂, 1,4-dioxano, refluxo, 3 h, 73%; (c) BBr₃, -78 °C - 25 °C, 24 h, 97%; (d) EOM-Cl, K₂CO₃, TBAI, 0 °C - 25 °C, 15 h, 91%; (e) **11** ou **12**, piperidina, MeOH, 25-30 °C, 15 h, 51% (**6**), 70% (**7**); (f) resina Dowex, MeOH, 35 °C, 24 h, 51% (**rubrolídeo R**), 95% (**rubrolídeo S**); (g) carbonato de *tert*-butil-2-metilbut-3-en-2-ila, Pd(PPh₃)₄, THF, 4 °C, 12 h, 80%; (h) *N,N*-dietilanilina, microondas, 250 °C, 1 h, 88%; (i) EOM-Cl, K₂CO₃, TBAI, 0 °C - 25 °C, 20 h, 69%; (j) *p*-TsOH.H₂O, tolueno, refluxo, 2 h, 90%.

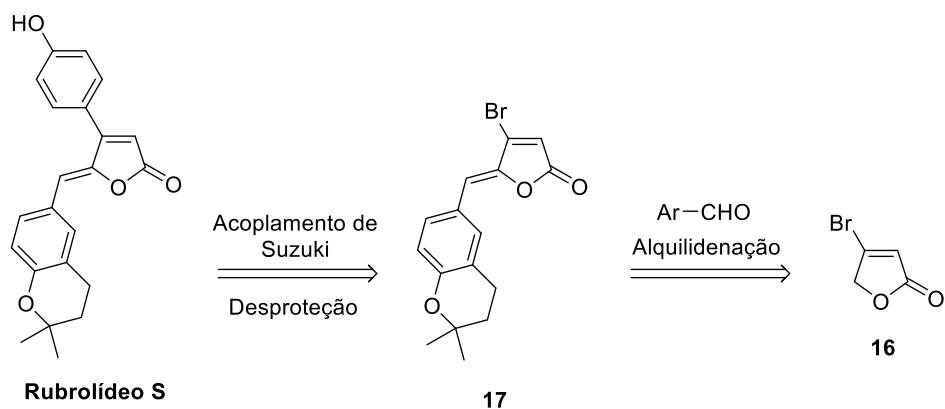
No trabalho de Schacht *et al.* (2017), os rubrolídeos **R** e **S** foram obtidos em 3 etapas e com rendimento global de 54 e 56%, respectivamente, a partir do ácido tetrônico (**13**), disponível comercialmente (Esquema 1.2, pg. 10).



Esquema 1.2 - Reagentes e condições: (a) Et_3N , Tf_2O , DCM, $0\text{ }^\circ\text{C}$ - $25\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, 90%; (b) ácido 4-hidroxifenilborônico, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Na_2CO_3 , 1,4-dioxano, $70\text{ }^\circ\text{C}$, 16 h, 95%; (c) TBDMSOTf, DIPEA, DMF, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h; **10** ou **12**, DMF, 2 h; DBU, $120\text{ }^\circ\text{C}$, 5 h; H_2O , DBU, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 16 h, 63% (**rubrolídeo R**), 66% (**rubrolídeo S**); (d) carbonato de *tert*-butil-2-metilbut-3-en-2-ila, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, THF, $4\text{ }^\circ\text{C}$, 16 h, 80%; (e) DMF, microondas, $180\text{ }^\circ\text{C}$, 45 min, 88%; (f) isopreno, H_3PO_4 , éter de petróleo, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 16 h, 52%.

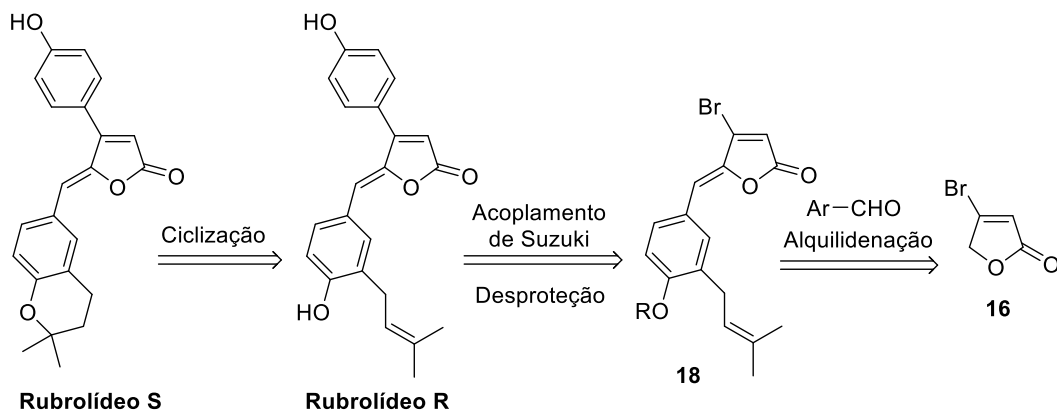
O ácido tetrônico (**13**) foi convertido no triflato de vinila **14** (90% de rendimento) (Esquema 1.2). Este, por sua vez, foi submetido a uma reação de acoplamento de Suzuki na presença de ácido 4-hidroxifenilborônico e catalisador de paládio, formando o intermediário **15** com 95% de rendimento. Por meio de uma reação de alquilidação, **15** reagiu com o aldeído **10** para preparação do rubrolídeo **R** (63% de rendimento), e com o aldeído **12** para obtenção do rubrolídeo **S** (66% de rendimento). Os aldeídos **10** e **12** foram obtidos a partir do 4-hidroxibenzaldeído (**8**). Esse aldeído foi submetido a uma alilação catalisada por paládio na presença de carbonato de *tert*-butil-2-metilbut-3-en-2-ila (não disponível comercialmente e sintetizado a partir de Boc_2O), formando **9** (80% de rendimento), seguida do rearranjo de Claisen para formar **10** (88% de rendimento). Entretanto, o aldeído **12** foi obtido a partir de **8** por uma condensação catalisada por ácido (52% de rendimento).

A proposta de síntese para a preparação dos rubrolídeos **R** e **S**, desenvolvida nesse trabalho, abrange duas rotas sintéticas: uma para obtenção do rubrolídeo **S** (Esquema 1.3) e outra para obtenção do rubrolídeo **R**, e conseqüentemente do **S** pois envolve a conversão do **R** no **S** (Esquema 1.4). No Esquema 1.3 é apresentada a análise retrossintética para a obtenção apenas do rubrolídeo **S** em 2 ou 3 etapas a partir da lactona **16**, disponível comercialmente. As etapas-chave dessa síntese envolvem a reação de alquilidação e a reação de acoplamento de Suzuki.



Esquema 1.3 - Análise retrossintética para a obtenção do rubrolídeo **S**.

No Esquema 1.4 é apresentada a análise retrossintética planejada para a obtenção dos rubrolídeos **R** e **S** em três e quatro etapas, respectivamente, a partir da lactona **16**, disponível comercialmente. As etapas-chave dessa síntese envolvem a reação de alquilidação, a reação de acoplamento de Suzuki e uma ciclização intramolecular para conversão do rubrolídeo **R** no **S**.



Esquema 1.4 - Análise retrossintética para a obtenção dos rubrolídeos **R** e **S**.

1.2. OBJETIVOS E ESTRATÉGIAS

O presente trabalho visa realizar a síntese total dos rubrolídeos **R** e **S** (Figura 1.4), de forma breve, eficiente e inédita, frente à recente descoberta dos mesmos e aos resultados positivos descritos quanto às suas atividades biológicas. A fim de alcançar os objetivos acima, a pesquisa foi dividida em duas partes. Na primeira parte, foi desenvolvida uma rota sintética com o intuito de obter apenas o rubrolídeo **S** (Esquema 1.3, pg. 11). Na segunda parte, o objetivo é sintetizar o rubrolídeo **R**, e conseqüentemente o **S**, pois a última etapa dessa rota sintética envolve a conversão do **R** em **S** (Esquema 1.4, pg. 11).

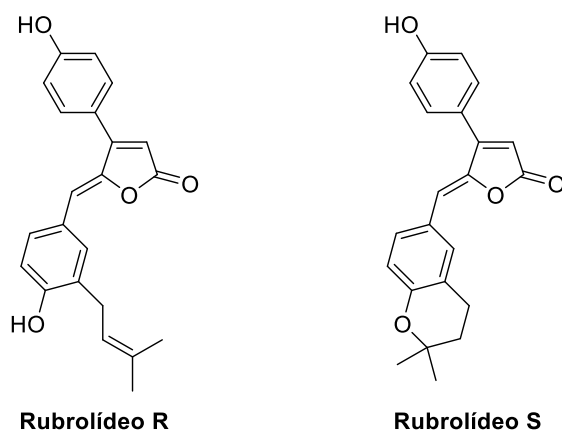
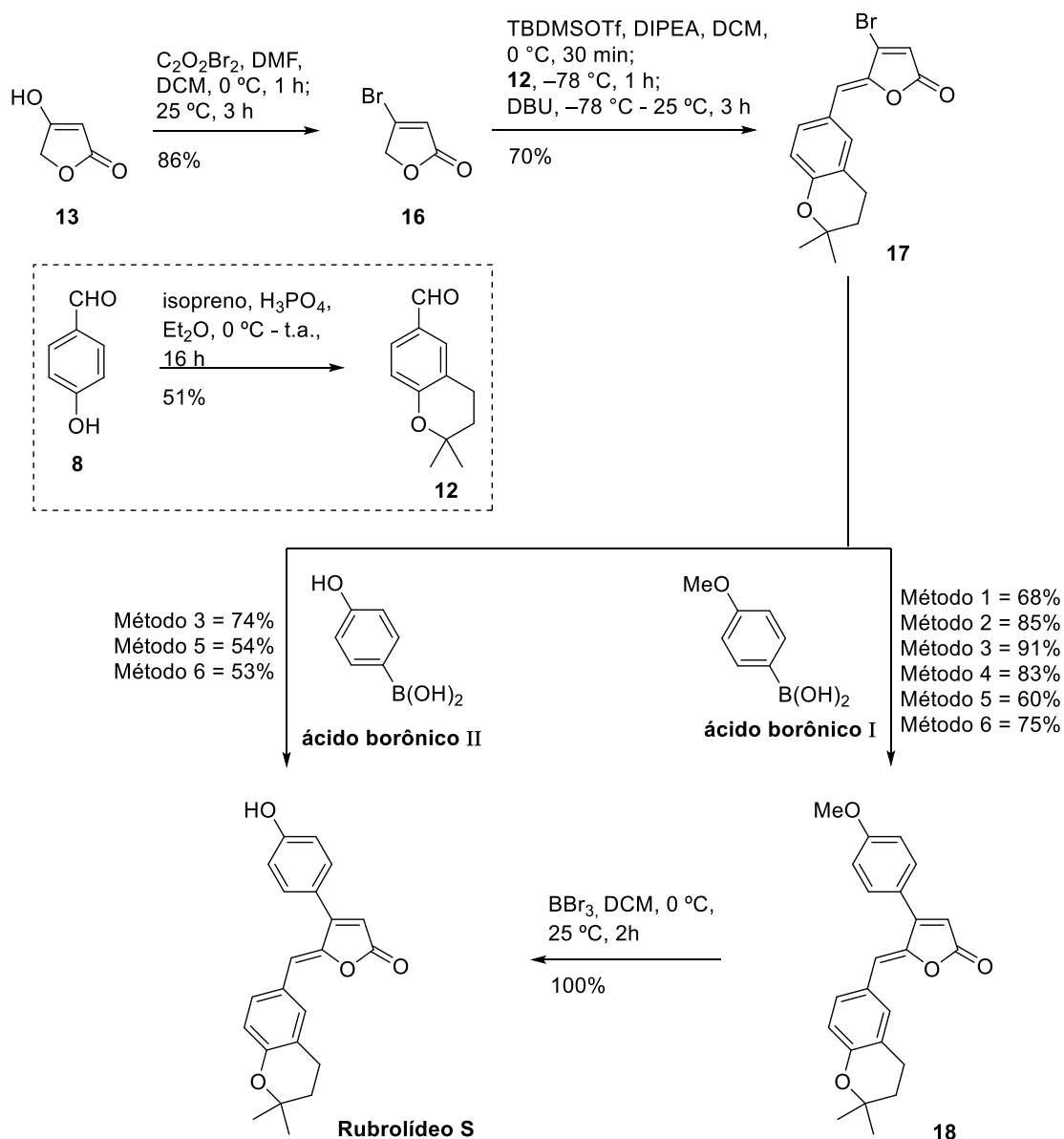


Figura 1.4 - Estruturas dos rubrolídeos **R** e **S**.

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

1.3.1. Rota sintética visando obtenção do rubrolídeo **S**

Para a obtenção do rubrolídeo **S**, foi proposta uma rota sintética a partir da lactona 4-bromofuran-2(5*H*)-ona (**16**) e do 4-hidroxibenzaldeído (**8**), compostos disponíveis comercialmente (Esquema 1.5, pg. 13).



Esquema 1.5 - Rota sintética desenvolvida para obtenção do rubrolídeo S.

Apesar da lactona **16** estar disponível comercialmente, esta foi sintetizada, uma vez que possuíamos uma grande quantidade do seu precursor. Dessa forma, a 4-bromofuran-2(5H)-ona (**16**) foi preparada por meio da bromação inspirada na reação de Vilsmeier (Esquema 1.5). Utilizou-se ácido β -tetrônico (**13**), brometo de oxalila, dimetilformamida e diclorometano. A substância **16** foi obtida com 86% de rendimento (Boukouvalas *et al.*, 1998; Jas, 1991; Lattmann e Hoffmann, 1996).

Para obtenção do 2,2-dimetilcroman-6-carbaldeído (**12**) (51% de rendimento), foi realizada uma condensação catalisada por ácido com isopreno, 4-hidroxibenzaldeído (**8**),

ácido fosfórico e éter dietílico, na temperatura do ambiente (25 °C) em 16 h (Esquema 1.5, pg. 13) (Tripathi *et al.*, 2011).

Com o derivado β -bromado do ácido tetrônico (**16**) e o aldeído **12**, foi possível realizar a reação de alquilidenação para obtenção do intermediário inédito **17** (Esquema 1.5, pg. 13).

1.3.1.1. Síntese de **17** via reação de alquilidenação

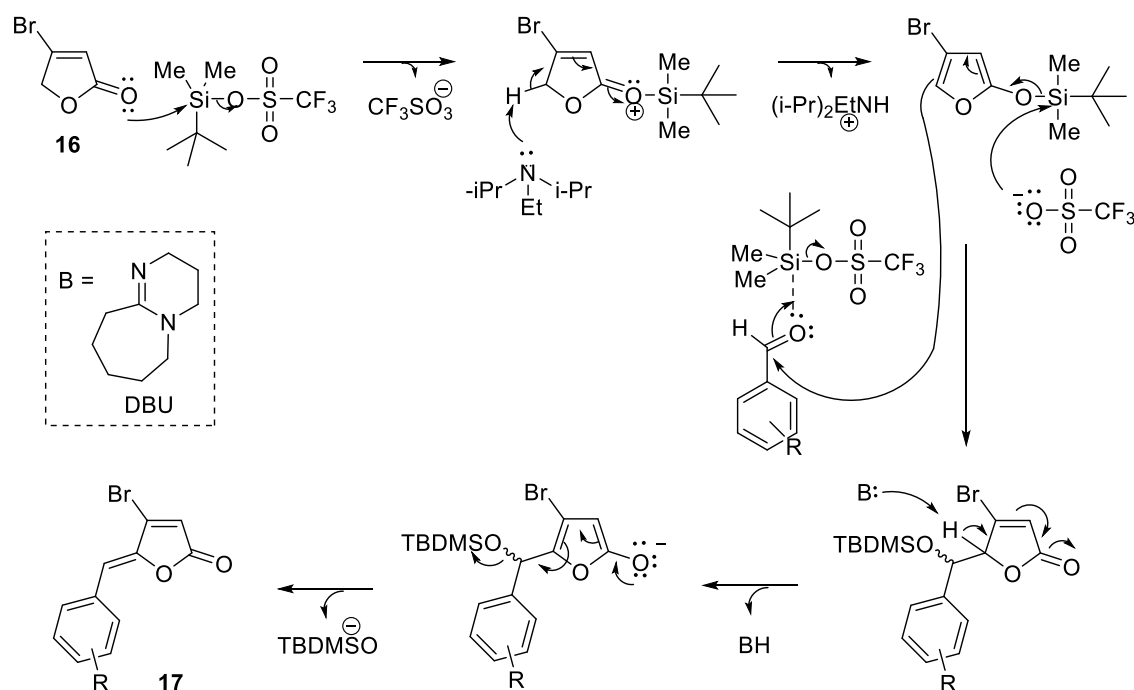
Utilizando a lactona **16** e o aldeído **12**, preparados anteriormente (item 1.3.1, pg. 12), foi possível obter o intermediário **17** com 70% de rendimento via reação de alquilidenação, desenvolvida pelo grupo de pesquisa de Boukouvalas (Esquema 1.5, pg. 13) (Boukouvalas *et al.*, 2007).

Na síntese de **17** (Esquema 1.5, pg. 13), uma solução de diclorometano anidro da 4-bromofuran-2(5*H*)-ona **16** foi tratada com TBDMSOTf e DIPEA. Essa mistura reacional foi agitada por 30 min. a 0 °C. Posteriormente, foi adicionado o aldeído **12** e a solução foi agitada por mais 1 h a -78 °C. A seguir, a mistura reacional foi tratada com DBU e mantida na temperatura do ambiente (25 °C) por mais 3 h para preparar o intermediário **17**.

No Esquema 1.6 (pg. 15) é apresentada uma proposta de mecanismo para essa metodologia de alquilidenação (Teixeira, 2008). A princípio, ocorre um ataque dos pares de elétrons do oxigênio da carbonila da lactona **16** ao TBDMSOTf, com eliminação do bom grupo abandonador triflato. A seguir, a DIPEA captura um dos hidrogênios H-5 do intermediário anterior, levando à formação *in situ* do éter de silila, que na etapa seguinte ataca a carbonila do aldeído, resultando na formação dos intermediários aldólicos correspondentes, não isolados. Essa etapa ocorre via regeneração do ácido de Lewis TBDMSOTf, pois o silício sofre ataque nucleofílico do íon triflato (Clayden *et al.*, 2001). A eliminação do grupo *tert*-butildimetilsililoxila a partir desses adutos ocorreu empregando-se DBU.

O composto **17** deve apresentar configuração *Z*, uma vez que, em trabalhos anteriores de síntese de nostoclídeos e substâncias análogas foi verificada alta diastereosseletividade na etapa de alquilidenação (Teixeira *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2014a; Pereira *et al.*, 2014b). Nesses trabalhos, a eliminação do grupo *tert*-butildimetilsililoxila, que ocorre na presença da base DBU, resulta na formação do

estereoisômero com configuração *Z* para a ligação dupla exocíclica (Boukouvalas *et al.*, 1994; Teixeira *et al.*, 2008). Segundo Boukouvalas e colaboradores (2007), isso pode ocorrer devido à presença de um grupo volumoso na posição β do anel lactônico. Além disso, as ligações de hidrogênio intramoleculares não clássicas entre o átomo de oxigênio do núcleo γ -lactônico e os hidrogênios ligados na posição *orto* do anel benzilideno devem exercer papel importante para a formação preferencial do isômero *Z* (Esquema 1.6) (Teixeira, 2008).



Esquema 1.6 - Proposta de mecanismo da reação de alquilidenação para formação do composto **17**.

A γ -alquilideno- γ -lactona inédita **17** foi caracterizada pelas análises dos dados de espectroscópicos (IV, RMN) e massas de alta resolução. Para **17**, a massa exata encontrada experimentalmente foi de 335,0266 u.m.a., correspondente à fórmula molecular $C_{16}H_{16}BrO_3 [M+H]^+$, cujo valor de massa calculado é 335,0277 u.m.a. O espectro no IV de **17** (Figura 1.5, pg. 16) apresentou uma banda em 3129 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C-H de carbono sp^2 e duas bandas em 2930 e 2975 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C-H de carbono sp^3 . A presença de uma banda de forte absorção observada em 1761 cm^{-1} confirma a presença do grupo carbonila característico de lactona α,β -insaturada.

No espectro de RMN de ^1H de **17** (Figura 1.6, pg. 17), destacam-se dois simpletos integrados para um átomo de hidrogênio: um em δ 6,29, referente ao H-3 ligado a posição α da lactona, e outro em δ 6,32, referente ao H-6 ligado a ligação dupla exocíclica. Pode-se observar também um simpleto integrado para seis átomos de hidrogênio em δ 1,36, correspondente às metilas ligadas ao cromano (H-11'/H-12'). Os dois tripletos em δ 1,83 e 2,81, cada um integrado para dois átomos de hidrogênios, foram atribuídos aos hidrogênios H-3' e H-4', respectivamente. E os sinais correspondentes aos hidrogênios ligados ao anel benzênico aparecem em δ 6,81 (H-8'), δ 7,53 (H-7') e δ 7,62 (H-5'). A análise do mapa de contornos *COSY* (Figura 1.7, pg. 17) contribuiu para a determinação desses sinais.

Os sinais no espectro de RMN de ^{13}C de **17** (Figura 1.8, pg. 18) foram atribuídos com auxílio da técnica bidimensional HMQC (Figura 1.9, pg. 18). O sinal mais afastado do TMS foi aquele referente ao carbono da carbonila em δ 167,7. Outro sinal importante para identificação desse composto refere-se aos carbonos das metilas C-11'/C-12' em um mesmo deslocamento químico, δ 27,0. Pode-se observar também os sinais referentes aos carbonos que pertencem ao anel benzênico, em δ 118,0 (C-8'), δ 121,6 (C-6'), δ 123,9 (C-10'), δ 131,0 (C-7') e δ 132,7 (C-5').

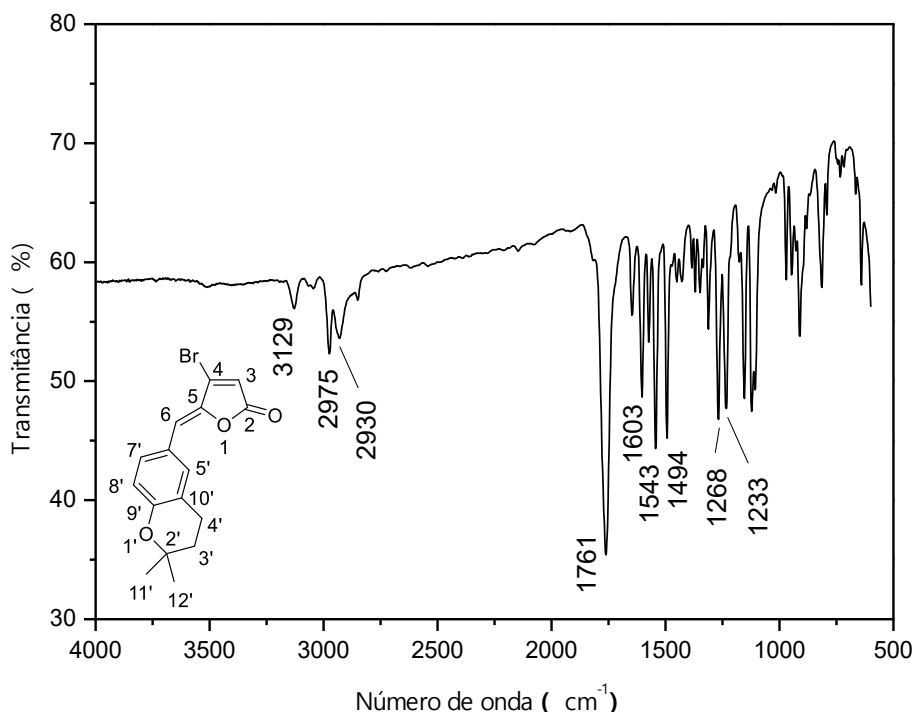


Figura 1.5 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do composto **17**.

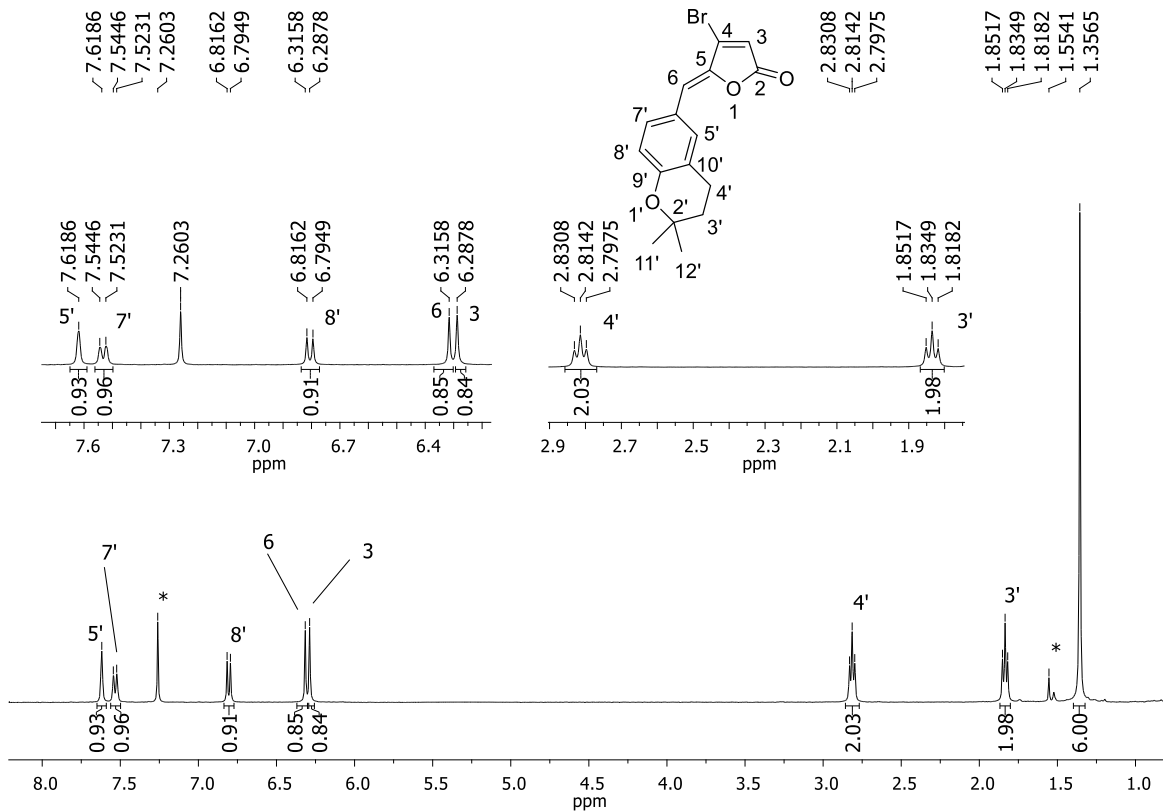


Figura 1.6 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **17**.

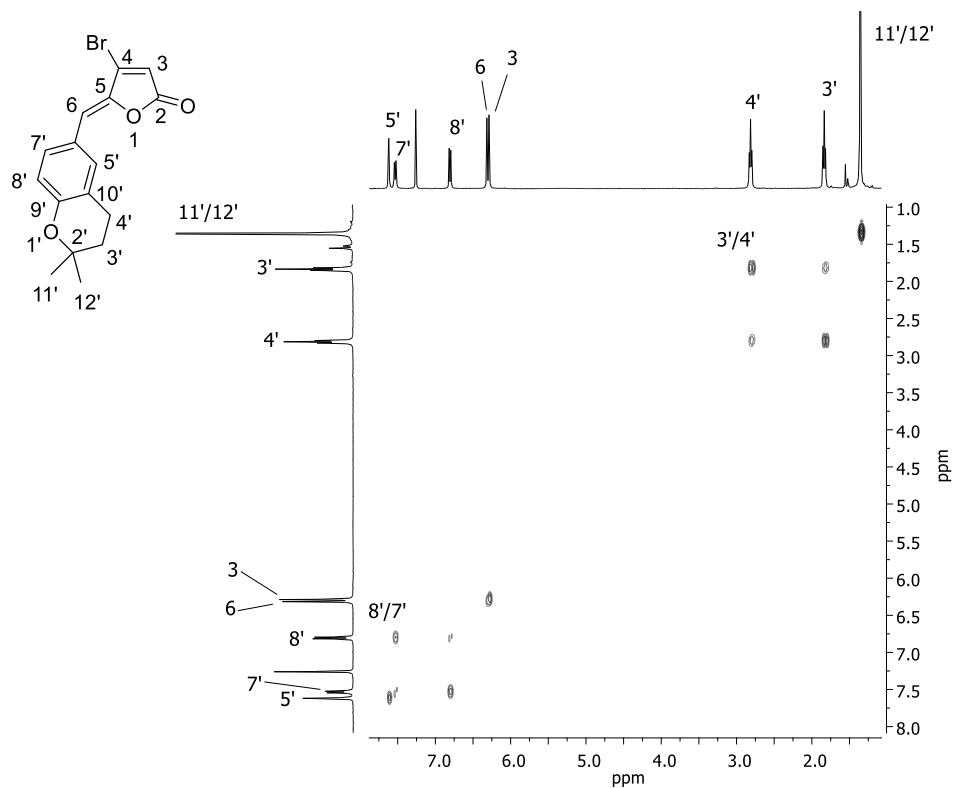


Figura 1.7 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **17**.

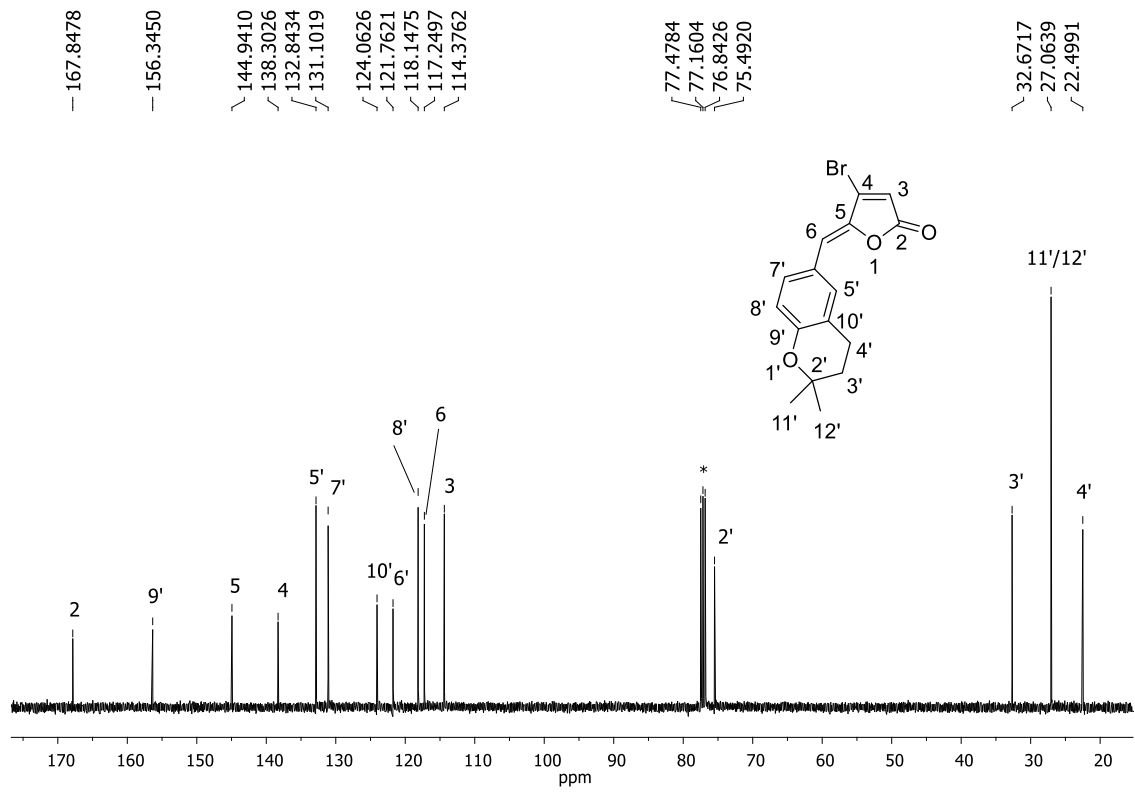


Figura 1.8 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 17.

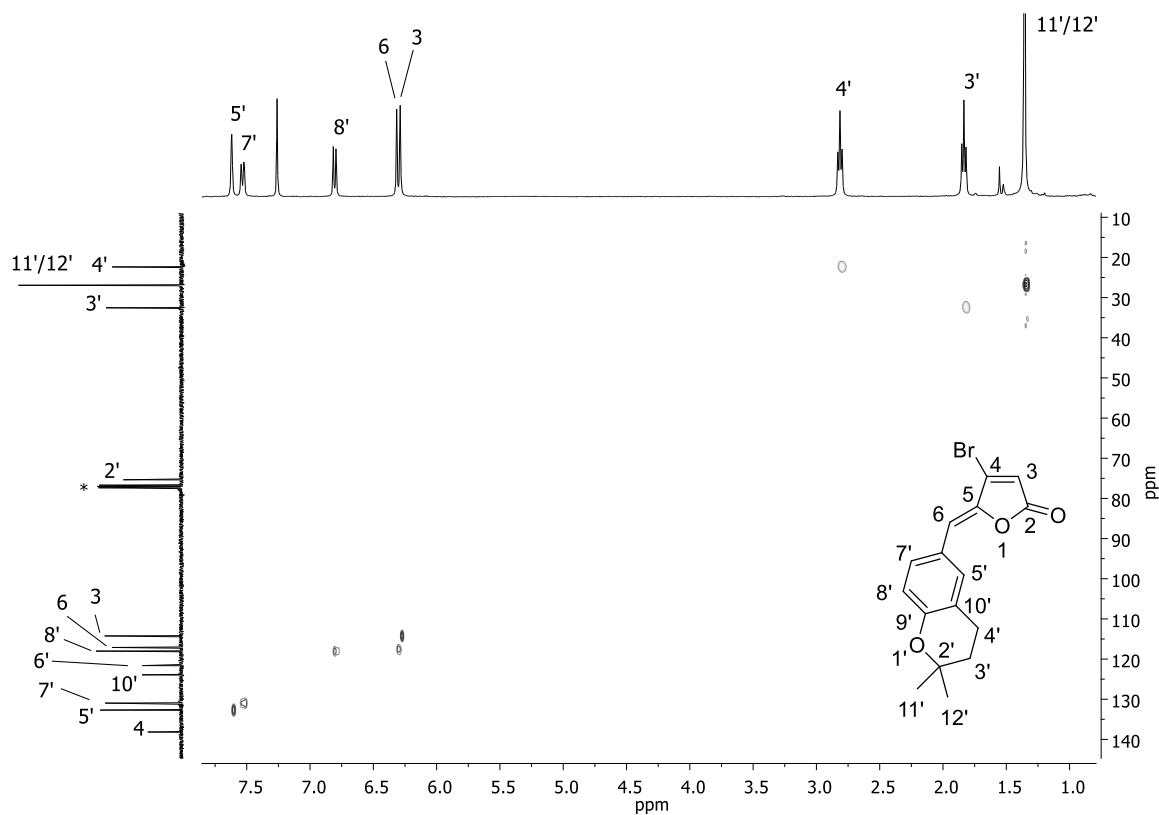


Figura 1.9 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, CDCl_3) do composto 17.

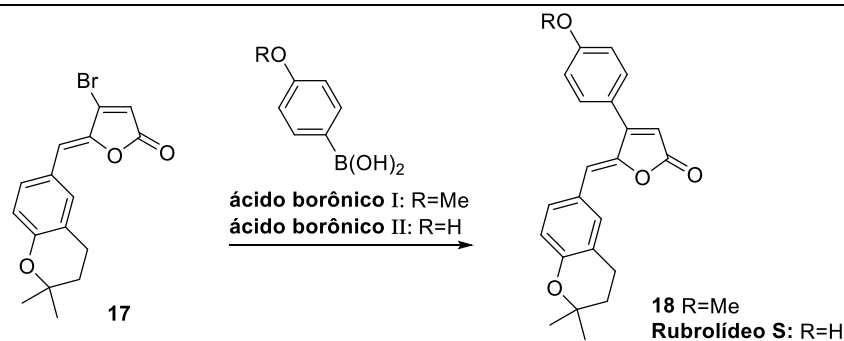
1.3.1.2. Síntese do rubrolídeo **S** empregando a reação de Suzuki

O rubrolídeo **S** foi obtido por duas diferentes estratégias a partir do intermediário **17** (Esquema 1.5, pg. 13). A primeira envolveu a reação de **17** com o ácido borônico **I** (ácido 4-metoxifenilborônico) por meio da reação de acoplamento de Suzuki, formando **18** (91% de rendimento), que foi desprotegido, fornecendo o rubrolídeo **S** (rendimento quantitativo). Na segunda estratégia, **17** reagiu com o ácido borônico **II** (ácido 4-hidroxifenilborônico) por intermédio da reação de acoplamento de Suzuki, formando diretamente o rubrolídeo **S** (74% de rendimento) (Esquema 1.5, pg. 13).

Para obtenção do intermediário **18** a partir de **17**, foram testadas seis diferentes metodologias de acoplamento de Suzuki (Métodos 1-6; Tabela 1.1, pg. 20). As metodologias 1, 2, 3, 4, 5 e 6 foram baseadas, respectivamente, nos trabalhos de Zhang *et al.* (2009), Bellina *et al.* (2001), Zhang *et al.* (2002), Boukouvalas *et al.* (2005), Harada *et al.* (2014) e Chen *et al.* (2009).

E para obtenção do rubrolídeo **S** diretamente a partir de **17**, utilizaram-se três diferentes metodologias de acoplamento de Suzuki (Métodos 3, 5 e 6). O método 3 foi escolhido por ter sido o mais eficiente na preparação de **18**, e os métodos 5 e 6 foram selecionados devido aos seus bons resultados relatados na literatura para acoplamento de Suzuki utilizando o ácido 4-hidroxifenilborônico.

Tabela 1.1 - Produtos 18 e rubrolídeo S, as diferentes metodologias utilizadas para serem obtidos e seus respectivos rendimentos



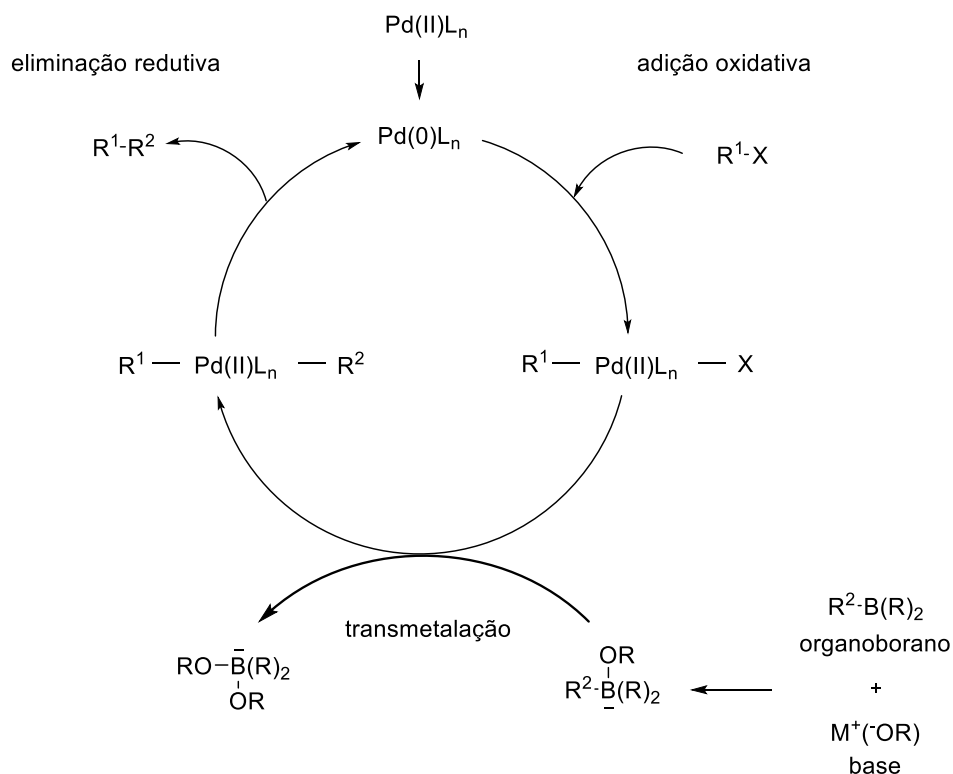
Reação	Método	Condições							Composto (%)
		Ácido borônico (equiv.)	Base ou óxido (equiv.)	Catalisador (equiv.)	Ligante (equiv.)	CTF (equiv.)	Solvente	Temperatura (°C)/Tempo (h)	
1	1	I (1,2)	CsF (3)	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (0,05)	-	Bu ₄ NI (0,05)	Tolueno-H ₂ O 1:1	110 / 36	18 (68)
2	2	I (1,2)	Ag ₂ O (3)	PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂ (0,05)	AsPh ₃ (0,05)	-	THF	70 / 36	18 (85)
3	3	I (2)	CsF (2,7)	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (0,05)	-	BnEt ₃ NCl (0,05)	Tolueno-H ₂ O 1:1	25 / 36	18 (91)
4	4	I (1,6)	Ag ₂ O (1,6)	PdCl ₂ (PhCN) ₂ (0,03)	AsPh ₃ (0,06)	-	THF-H ₂ O 1:0,15	25 / 36	18 (83)
5	5	I (2)	K ₂ CO ₃ (6)	Pd(OAc) ₂ (0,2)	DPPF (0,2)	-	THF	70 / 36	18 (60)
6	6	I (1,2)	KF (5)	Pd ₂ (dba) ₃ 0,02 equiv.	SPhos (0,16)	-	1,4-dioxano-H ₂ O 10:1	110 / 36	18 (75)
7	3	II (2)	CsF (2,7)	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (0,05)	-	BnEt ₃ NCl (0,05)	Tolueno-H ₂ O 1:1	110 / 36	S (74)
8	5	II (2)	K ₂ CO ₃ (6)	Pd(OAc) ₂ (0,2)	DPPF (0,2)	-	THF	70 / 36	S (54)
9	6	II (1,2)	KF (5)	Pd ₂ (dba) ₃ (0,02)	SPhos (0,16)	-	1,4-dioxano-H ₂ O 10:1	110 / 36	S (53)

S = Rubrolídeo S

Nessa estratégia, o rubrolídeo **S** foi obtido a partir de **17**, na presença do ácido borônico **II**, em apenas 1 etapa e com 52% rendimento global. No entanto, na presença do ácido borônico **I**, o rubrolídeo **S** foi obtido a partir de **17** em 2 etapas (acoplamento de Suzuki e desproteção) e com maior rendimento global, 64%.

O acoplamento cruzado de Suzuki foi escolhido, uma vez que é considerado um dos métodos de catálise por metais de transição mais úteis para formação de ligação carbono-carbono (Rossi *et al.*, 2011). Essa escolha se deve a vários fatores, que incluem: (i) tolerância a diversos grupos funcionais; (ii) os ácidos organoborônicos são estáveis ao aquecimento, água e ar, além de serem disponíveis comercialmente; (iii) os subprodutos contendo boro são facilmente separados da mistura reacional; e (iv) os compostos organoboranos são degradados em produtos ambientalmente seguros (Kürti e Czakó, 2005; Suzuki, 2005; Suzuki, 2011).

O ciclo catalítico geral proposto para o acoplamento de Suzuki está apresentado no Esquema 1.7 (pg. 22) (Kürti e Czakó, 2005). Inicialmente, uma espécie catalítica de paládio no seu estado zero de oxidação reage com um eletrófilo orgânico via reação de adição oxidativa, quebrando a ligação covalente do eletrófilo orgânico e levando à formação de um complexo organometálico de paládio (elevando seu número de oxidação em 2 unidades). Para que a etapa seguinte ocorra é necessário que a base se coordene ao boro, formando um complexo que gera um aumento na nucleofilia do grupo orgânico ligado ao ácido borônico. Isso facilita a transferência desse grupo orgânico para o paládio na substituição de X na etapa de transmetalção, formando, assim, um novo complexo organometálico de paládio, que segue o ciclo. Vale ressaltar que a transmetalção não ocorre facilmente, devido à baixa nucleofilia do organoborano (Harada *et al.*, 2014). A última etapa consiste em uma eliminação redutiva, na qual se forma uma nova ligação C-C. Nessa etapa, o metal de transição volta ao estado de oxidação original, regenerando o catalisador de paládio (0), e este pode sofrer nova adição oxidativa, que dará início a um novo ciclo.



Esquema 1.7 - Ciclo catalítico geral da reação de acoplamento de Suzuki (Kürti e Czakó, 2005).

Apesar do mecanismo da adição oxidativa e da eliminação redutiva serem razoavelmente bem entendidos, pouco se sabe sobre a transmetalacão, pois o mecanismo é dependente das condições reacionais ou do organometálico usado no acoplamento (Miyaura e Suzuki, 1995). Apesar disso, alguns reagentes utilizados nesse acoplamento auxiliam na explicação do mesmo.

Como mencionado anteriormente, neste projeto foram testadas seis metodologias diferentes para a reação de acoplamento de Suzuki, sendo utilizados diferentes reagentes para cada uma (Tabela 1.1, pg. 20). Em todas as metodologias foi utilizado o mesmo eletrófilo orgânico, a (*Z*)-4-bromo-5-((2,2-dimetilcroman-6-il)metileno)furan-2(*5H*)-ona (**17**), como material de partida. Os ácidos borônicos usados foram o ácido 4-metoxifenilborônico, a fim de se obter o intermediário **18** e o ácido 4-hidroxiborônico, para se obter o rubrolídeo **S**. As bases utilizadas também foram diversificadas de acordo com cada metodologia, sendo elas: CsF, K₂CO₃ e KF. E em duas metodologias foi utilizado Ag₂O em vez de base.

Iniciaremos uma análise aprofundada dessa reação pela etapa de adição oxidativa. Nessa etapa, foi utilizado como eletrófilo o composto **17**, que possui um bromo ligado a uma ligação dupla, o que facilita a adição oxidativa, uma vez que nesses acoplamentos cruzados a ordem relativa de reatividade dos haletos de arila são $\text{ArI} > \text{ArBr} > \text{ArCl} > \text{ArF}$ (Rossi *et al.*, 2011). Essa ordem está relacionada à força da ligação Ar-X , que aumenta com a diminuição do raio do halogênio e dificulta a ocorrência da adição oxidativa (Rossi *et al.*, 2011).

Na etapa de transmetalização, usualmente ácidos arilborônicos deficientes em elétrons são menos nucleofílicos e transmetalam a uma taxa mais lenta do que ácidos arilborônicos ricos em elétrons (Barder *et al.*, 2005). Como neste trabalho foram utilizados ácidos arilborônicos ricos em elétrons, como o ácido 4-metoxifenilborônico e o ácido 4-hidroxiborônico, pode-se inferir que essa etapa de transmetalização foi facilitada.

Normalmente, as bases mais utilizadas no acoplamento de Suzuki são Na_2CO_3 , $\text{Ba}(\text{OH})_2$, K_3PO_4 , Cs_2CO_3 , K_2CO_3 , KF e NaOH , mas sua escolha é empírica (Kotha *et al.*, 2002). Logo, não existe até então uma explicação concreta a respeito da melhor base a ser utilizada nesse tipo de acoplamento, tanto que a etapa de transmetalização não é muito entendida até hoje, e é dependente das condições reacionais e do organometálico utilizado, ou seja, do conjunto metodológico utilizado.

Correlacionando os resultados obtidos em cada metodologia empregada neste trabalho (Tabela 1.1, pg. 20) e o que se sabe sobre cada etapa do acoplamento de Suzuki mencionado acima, observa-se que, partindo de **17**, quando se utilizou o ácido borônico **I** (ácido 4-metoxifenilborônico), a metodologia que demonstrou maior sucesso foi a metodologia 3 (Reação 3), com 91% de rendimento. Nesse método, a mistura reacional foi mantida na temperatura do ambiente (25 °C) e CsF foi empregado como base; $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ foi o catalisador; o solvente foi uma mistura de tolueno e água. Frente ao bom desempenho da metodologia 3, a mesma foi testada, porém utilizando o ácido borônico **II** (ácido 4-metoxifenilborônico) para o preparo do rubrolídeo **S**. Comparando-se as três metodologias testadas usando o ácido borônico **II**, a que se mostrou mais eficiente foi também a número 3 (Reação 7), com 74% de rendimento. A princípio, a reação 7 foi mantida na temperatura do ambiente (25 °C) por 36 h, assim como realizado na reação 3. No entanto, ao fim desse período, nenhuma alteração foi observada quanto ao material de partida **17** e a reação foi

refeita sob refluxo. Em refluxo durante 36 h, a mesma resultou no produto desejado (rubrolídeo **S**).

Comparando-se os caminhos de preparação do intermediário **18** e do rubrolídeo **S**, partindo de **17**, consegue-se ter uma ideia de que não há uma lógica muito bem definida para qual será a melhor metodologia a se utilizar para obter **18**, e que a reação de acoplamento de Suzuki depende do conjunto de reagentes utilizados, que neste caso foi a metodologia 3. Vale ressaltar ainda que, para obtenção do rubrolídeo **S** por meio do acoplamento de Suzuki, pode-se verificar que todas as metodologias testadas conduziram ao produto desejado, e todas elas foram realizadas sob refluxo. Até a metodologia 3, que segundo o protocolo (Zhang *et al.*, 2002) não necessitava ser conduzida sob refluxo, só funcionou quando se utilizou refluxo. Assim, infere-se que para obter o rubrolídeo **S** a partir de **17**, utilizando o ácido 4-hidroxifenilborônico, uma das necessidades é o aquecimento.

Além dos produtos desejados, esses acoplamentos de Suzuki conduziram a biarilas simétricas ($\text{CH}_3\text{OAr-ArOCH}_3$ e HOAr-ArOH), porém em quantidades muito pequenas - cerca de 3% a 5% de rendimento. Elas foram detectadas pela análise da mistura reacional por cromatografia em camada delgada e pelos espectros de RMN. As biarilas simétricas são geradas a partir do homoacoplamento de ácidos borônicos (ArB(OH)_2) e são frequentemente observadas na reação de Suzuki. Apesar de as biarilas serem subprodutos e considerados produtos indesejáveis nessas reações de acoplamento de Suzuki, as mesmas têm sido descritas na literatura como uma importante classe de compostos para a química farmacêutica e agrícola (Martin e Buchwald, 2008; Saikia *et al.*, 2012).

Vale ressaltar que estudos anteriores revelaram que a presença de oxigênio aumenta a quantidade de produtos de homoacoplamento (Moreno-Mañas *et al.*, 1996). Por isso a importância da realização dessas reações em atmosfera inerte.

O intermediário **18** e o rubrolídeo **S** foram caracterizados mediante uso de métodos espectroscópicos (IV e RMN) e espectros de massas de alta resolução. No espectro no IV do composto **18** (Figura 1.10, pg. 25) observaram-se bandas em 2974 e 2839 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação C-H de carbono *sp*³. A presença de uma banda de forte absorção, observada em 1756 cm^{-1} , confirma a presença do grupo carbonila de lactona α,β -insaturada. O espectro de RMN de ¹H de **18** (Figura 1.11, pg. 26) contém 2 aspectos

diferentes do espectro de RMN de ^1H do composto **17**. O primeiro é a presença dos sinais referentes a mais 4 hidrogênios aromáticos provenientes da reação de acoplamento de Suzuki, em δ 7,02 (H-3' e H-5') e δ 7,45 (H-2' e H-6'). E o segundo aspecto é a presença de um simpleto, referente aos hidrogênios da metoxila em δ 3,89, integrado para 3 átomos de hidrogênio. O mapa de contornos COSY (Figura 1.12, pg. 26) contribuiu para determinação desses sinais. E no espectro de RMN de ^{13}C de **18** (Figura 1.13, pg. 27) também pode-se observar que ele se diferencia em 2 aspectos do espectro de RMN de ^{13}C do composto **17**: a presença de mais 4 sinais referentes a seis carbonos aromáticos e o sinal referente ao carbono da metoxila em δ 55,5. O mapa de contornos HMQC (Figura 1.14, pg. 27) auxiliou na caracterização desses sinais.

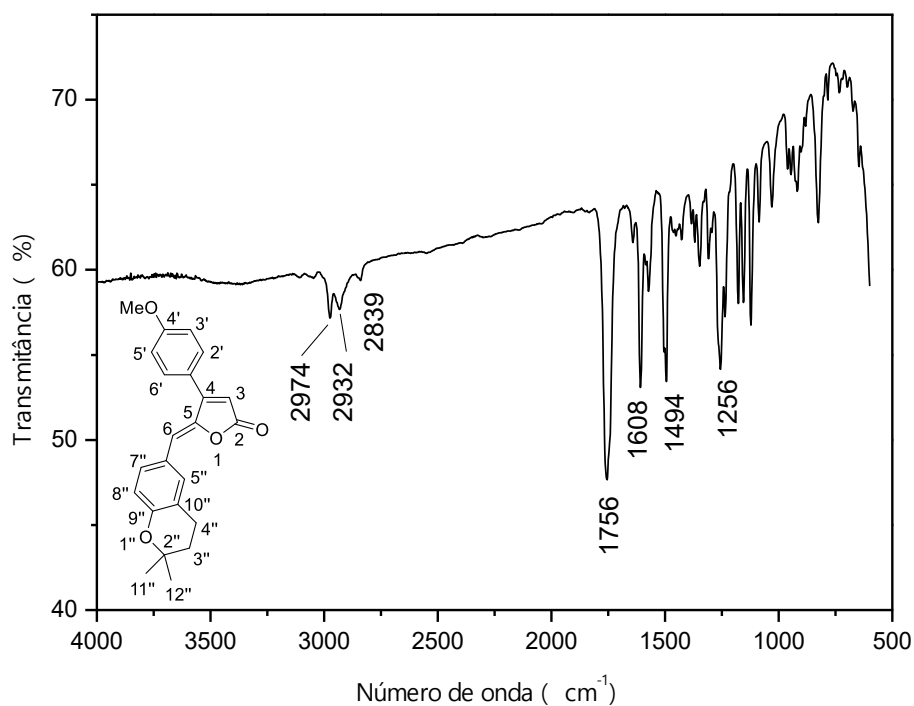


Figura 1.10 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do composto **18**.

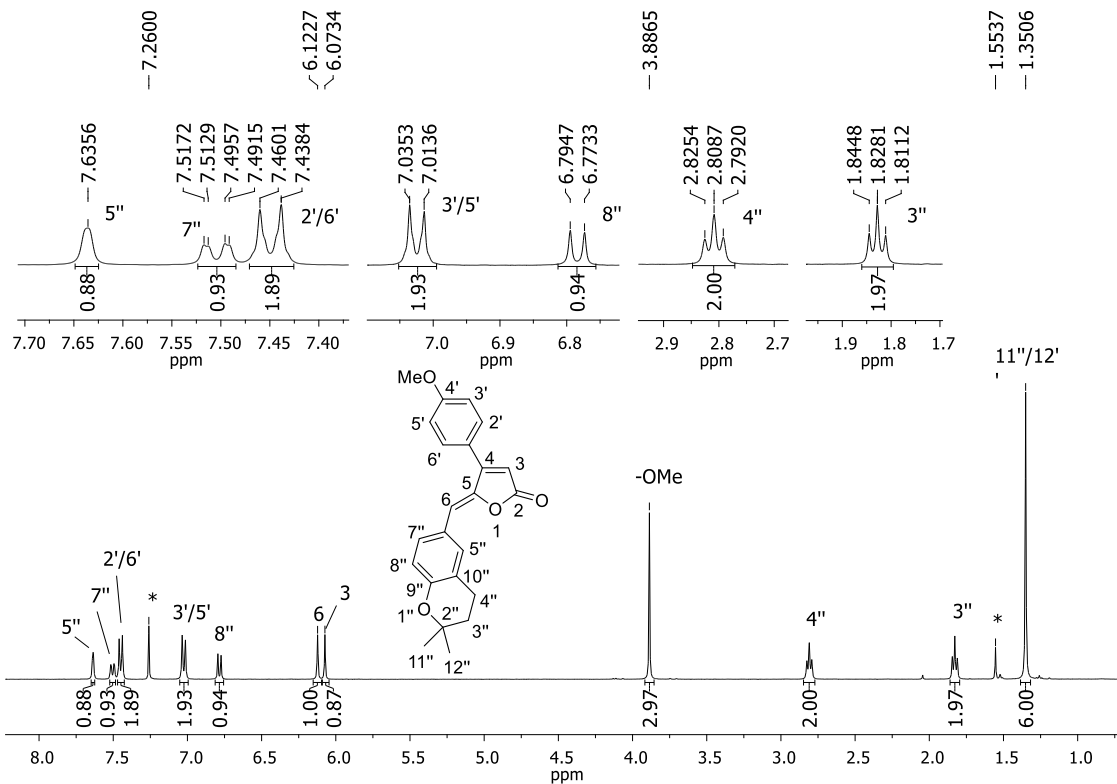


Figura 1.11 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **18**.

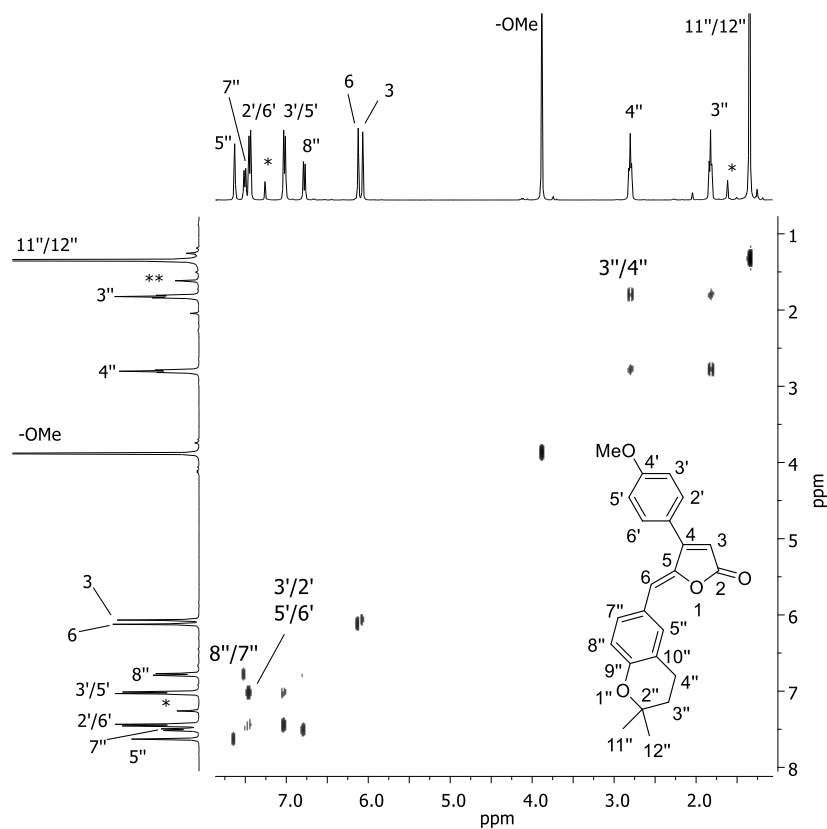


Figura 1.12 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **18**.

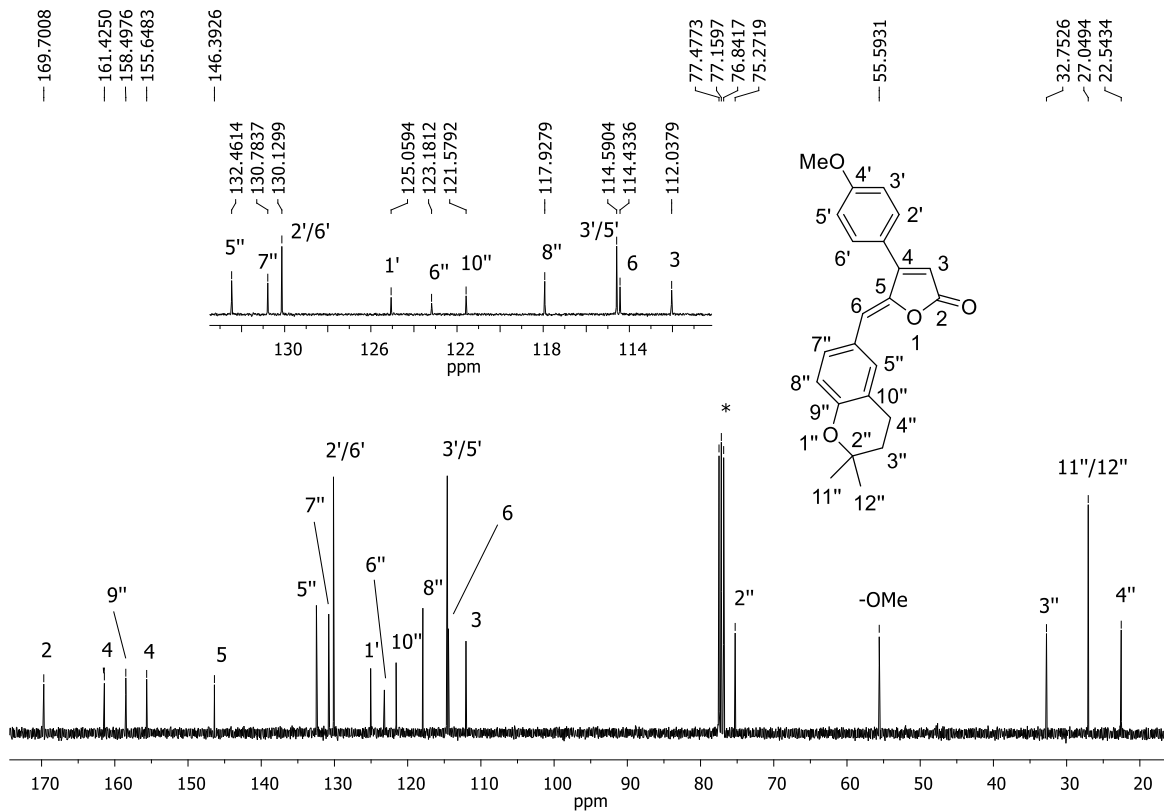


Figura 1.13 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 18.

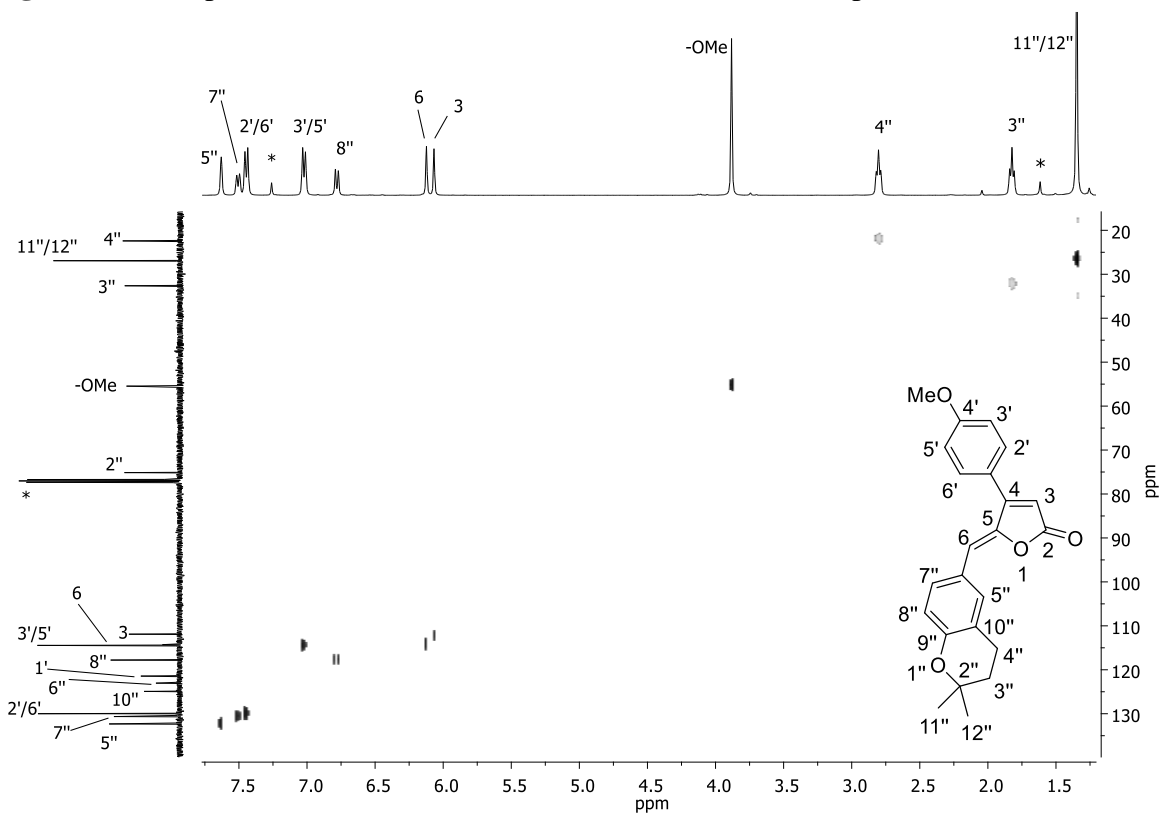
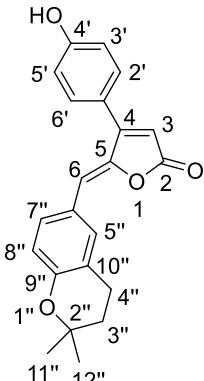


Figura 1.14 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, CDCl_3) do composto 18.

Para confirmar a preparação do rubrolídeo **S**, foram realizadas análises espectroscópicas (IV e RMN de ^1H , COSY, ^{13}C e HMQC; Apêndice 1, pg. 159), além de comparações entre os sinais de RMN de ^1H e ^{13}C em DMSO encontrados neste trabalho e os referenciados no trabalho de Zhu e colaboradores (2014) (Tabela 1.2).

Tabela 1.2 - Sinais de RMN de ^1H e ^{13}C em DMSO- d_6 referenciados por Zhu e colaboradores (**A**), e encontrados neste trabalho (**B**) para o rubrolídeo **S**

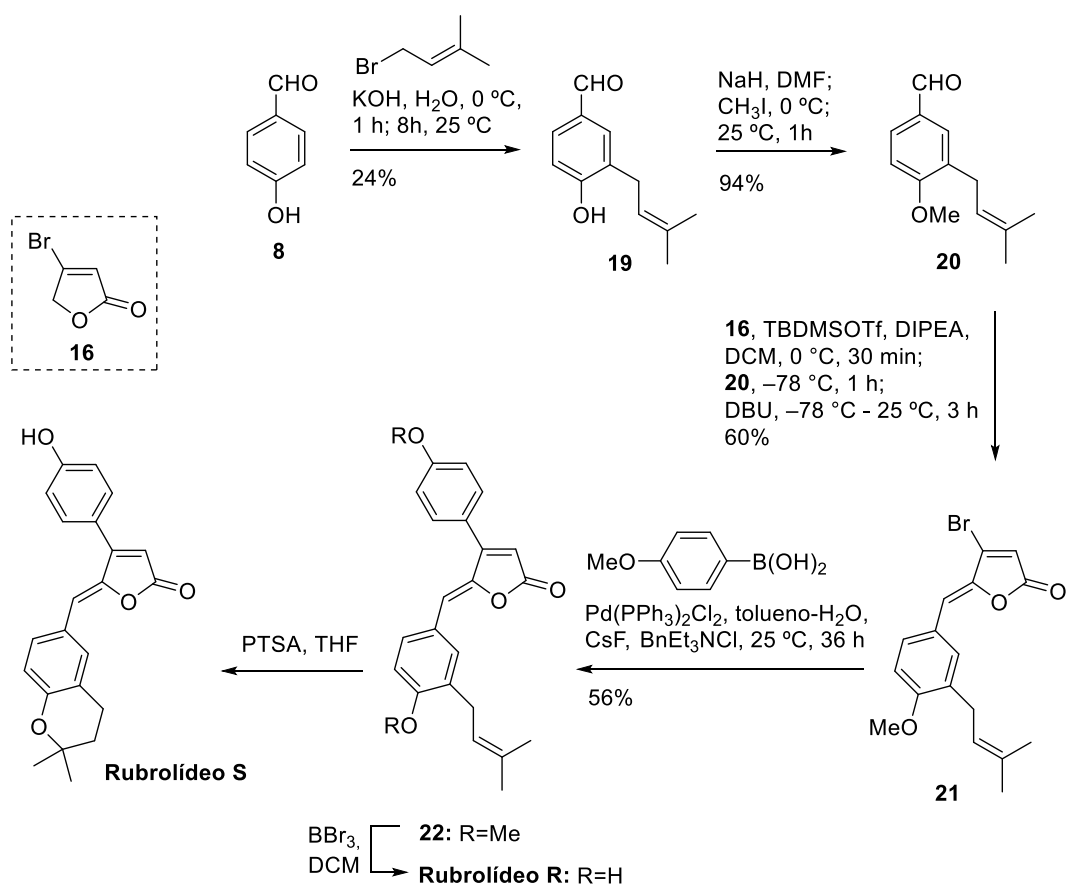
Posição	δ_{C}	δ_{H} ; multiplicidade (<i>J</i> em Hz)			
	A (150 MHz)	B (100 MHz)			
		A (600 MHz)	B (400 MHz)		
	2	168,8	168,7	-	-
	3	110,9	110,9	6,37; s	6,39; s
	4	158,2	158,1	-	-
	5	145,7	145,6	-	-
	6	113,4	113,3	6,31; s	6,32; s
	1'	120,5	120,6	-	-
	2'/6'	130,5	130,5	7,48; d (8,8)	7,49; d (8,5)
	3'/5'	116,1	115,9	6,92; d (8,8)	6,93; d (8,5)
	4'	160,2	159,8	-	-
	2''	75,1	75,1	-	-
	3''	32,0	31,9	1,78; t (6,6)	1,79; t (6,5)
	4''	21,8	21,8	2,75; t (6,6)	2,76; t (6,5)
	5''	132,5	132,5	7,57; d (2,2)	7,58-7,60; m
	6''	124,9	124,8	-	-
	7''	130,1	130,1	7,58; dd (8,2; 2,2)	7,58-7,60; m
	8''	117,5	117,4	6,78; d (8,2)	6,78; d (9,1)
	9''	154,9	154,9	-	-
10''	121,4	121,4	-	-	
11''/12''	26,7	26,6	1,29; s	1,29; s	
-OH	-	-	-	10,11	

Contudo, ao final dessa estratégia de síntese pode-se preparar o rubrolídeo **S** com 52% de rendimento global em 2 etapas, e com 64% de rendimento global em 3 etapas, a partir da 4-bromofuran-2(5*H*)-ona.

1.3.2. Rota sintética visando a obtenção dos rubrolídeos **R** e **S**

Nesta segunda parte do projeto, foi desenvolvida uma rota sintética para a obtenção dos rubrolídeos **R**, e consequentemente do **S**, uma vez que o planejamento envolveu a conversão do **R** em **S** por uma reação de ciclização (Esquema 1.4, pg. 11). Como o rubrolídeo **R** possui duas hidroxilas, e as reações planejadas para sua síntese acontecem na presença de base, essas hidroxilas foram protegidas com o grupo metila (Esquema 1.8).

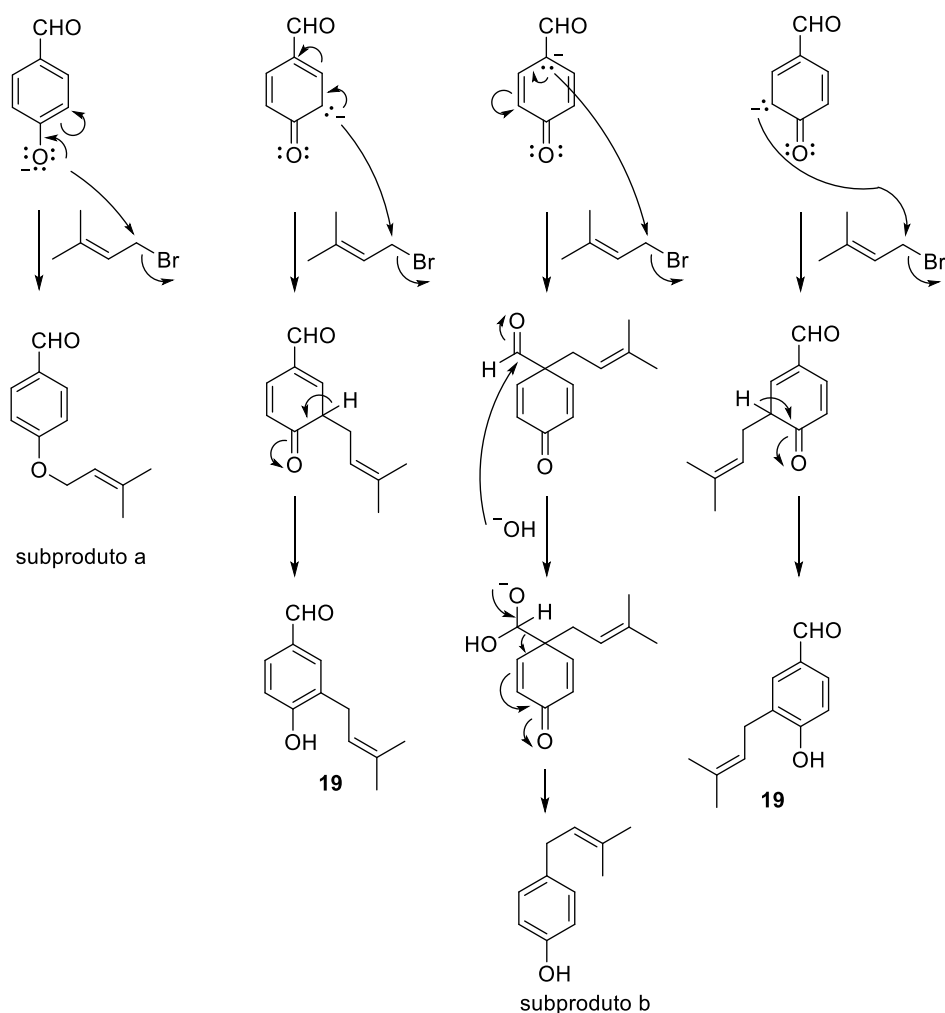
1.3.2.1. Síntese dos rubrolídeos **R** e **S** utilizando intermediários protegidos com metil (Me)



Esquema 1.8 - Rota sintética desenvolvida a fim de se obter os rubrolídeos **R** e **S**.

Nessa estratégia, inicialmente foi sintetizado o aldeído **19** (24% de rendimento) por meio de uma reação de prenilação (Zhao *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2009; Moriarty *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2016) entre 4-hidroxibenzaldeído (**8**), brometo de prenila e hidróxido de potássio (Esquema 1.8, pg. 29). Essa reação possui baixo rendimento pois a mesma produz

três compostos diferentes, entre os quais o composto **19** está presente (Esquema 1.9) (Moriarty *et al.*, 2006).



Esquema 1.9 - Mecanismo da prenilação para preparação do aldeído **19**.

O grupo OH do aldeído **19** foi protegido por metilação, utilizando-se hidreto de sódio, DMF e iodeto de metila (Rao *et al.*, 2009). A reação foi mantida na temperatura do ambiente (25 °C) por 1 h, resultando no aldeído **20** com 94% de rendimento (Esquema 1.8, pg. 29) (Rao *et al.*, 2009). O produto **20** foi caracterizado por técnicas espectroscópicas, especialmente pelo RMN de ^1H (Apêndice 1, pg. 159), em que se observa um simpleto integrado para três hidrogênios, referente ao grupo metoxila em δ 3,91.

Com a lactona **16** (síntese apresentada no item 1.3.1, pg. 12) e o aldeído **20**, foi possível realizar a reação de alquilidenação (metodologia e mecanismo descritos no item 1.3.1.1, pg. 14) e obter o intermediário **21** com 60% de rendimento (Esquema 1.8, pg. 29)

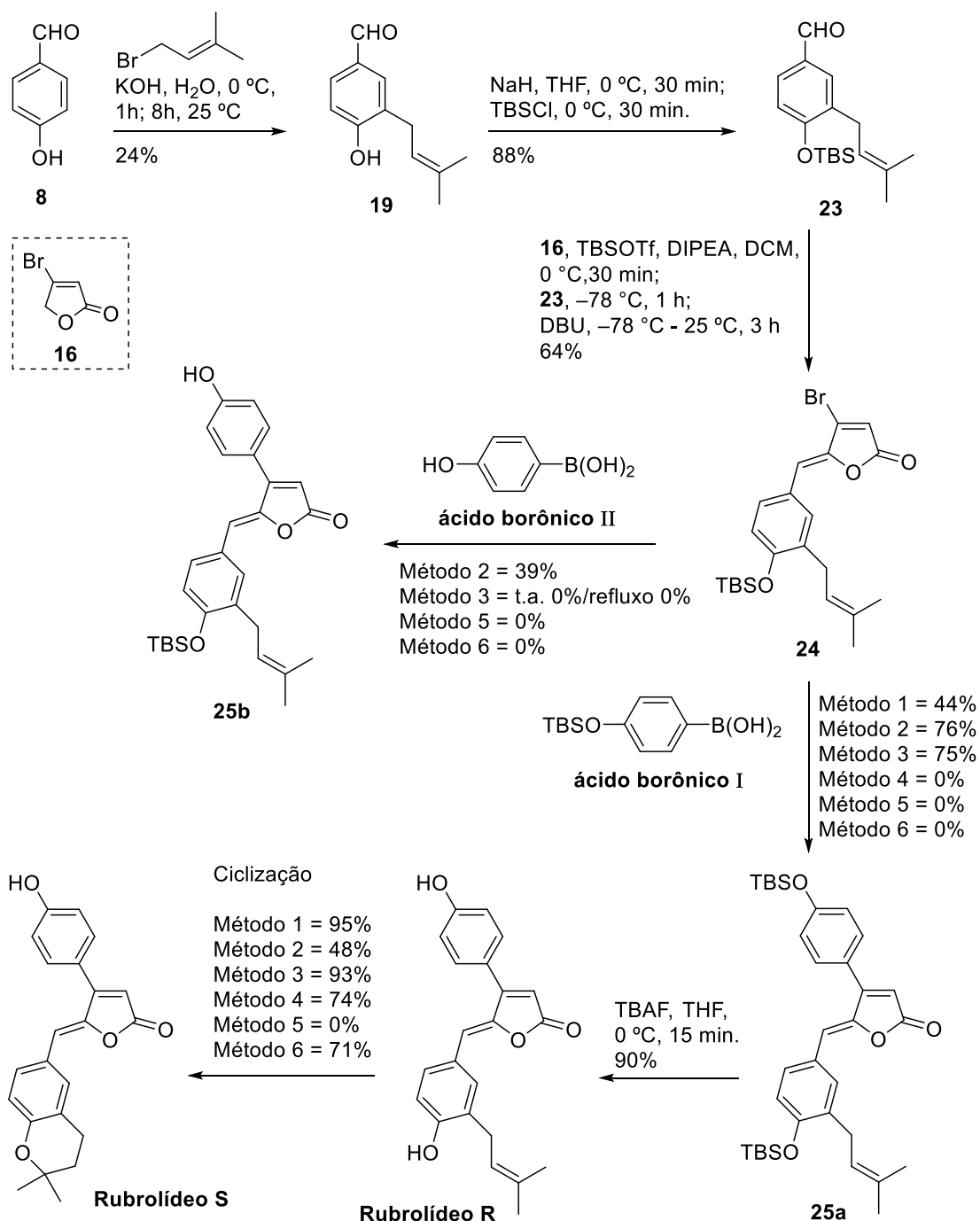
(Boukouvalas *et al.*, 2007). O composto **21** foi caracterizado por RMN de ^1H (Apêndice 1, pg. 159). Nesse espectro, destacam-se dois simpletos integrados para um átomo de hidrogênio: um em δ 6,31, referente ao H-3, ligado à posição α da lactona α,β -insaturada, e outro em δ 6,32, referente ao H-6, ligado à ligação dupla exocíclica do composto. Pode-se observar também três simpletos, todos integrados para três átomos de hidrogênio: um em δ 3,88, correspondente à metoxila ligada ao anel aromático, e outros dois em δ 1,73 (H-5'') e δ 1,77 (H-4''), correspondentes aos hidrogênios das metilas do grupo prenila, ligado ao aromático. Ainda há dois sinais que pertencem ao grupo prenila, quais sejam, um duplete integrado para dois átomos de hidrogênio em δ 3,32, referente a H-1'', e um tripleto integrado para um átomo de hidrogênio em δ 5,29, referente a H-2''. Os sinais correspondentes aos hidrogênios ligados ao anel benzênico aparecem em δ 6,88 (H-5'), δ 7,54 (H-2') e δ 7,75 (H-6').

Posteriormente, o composto **21** foi submetido a uma reação de acoplamento de Suzuki (Método 3 descrito no item 1.3.1.2, pg. 19), utilizando-se o ácido 4-metoxifenilborônico, que resultou no intermediário **22**, com 56% de rendimento (Esquema 1.8, pg. 29). O intermediário **22** foi caracterizado por RMN de ^1H (Apêndice 1, pg. 159) e seu espectro apresenta grande semelhança com o espectro de **21**. As variações observadas são referentes à nova metoxila, ligada ao anel aromático proveniente do ácido borônico (totalizando duas metoxilas na molécula, ambas como simpletos integrados para três hidrogênios: uma em δ 3,87 e outra em δ 3,89), e os hidrogênios ligados a esse anel aromático em δ 7,03 (H-3'/H-5') e δ 7,46 (H-2'/H-6').

Ao tentar desproteger o intermediário **22** (Esquema 1.8, pg. 29) com BBr_3 e diclorometano na temperatura do ambiente (25 °C) para se obter o rubrolídeo **R**, foi observada a degradação do produto desejado. Ao tentar a mesma reação a -48 °C e a 0 °C, observou-se que os materiais de partida não reagiram. Assim, dever-se-ia procurar outro caminho para obter o rubrolídeo **R**, pois esse caminho (Esquema 1.8, pg. 29) não funcionou na penúltima etapa. Acredita-se que o BBr_3 utilizado na desproteção de **22**, por ser um ácido de Lewis, pode ter reagido com a ligação dupla do grupo prenila ligado ao anel aromático e, então, desencadeado uma série de reações não desejadas. Com isso, utilizou-se o grupo protetor TBS (*tert*-butildimetilsilil) (Esquema 1.10, pg. 32). Logo, usando-se TBS

como grupo protetor, utilizar-se-ia TBAF na desproteção, e este, de acordo com a teoria, não desencadearia uma série de reações não desejadas.

1.3.2.2. Síntese dos rubrolídeos **R** e **S** utilizando intermediários protegidos com *tert*-butildimetilsilil (TBS)



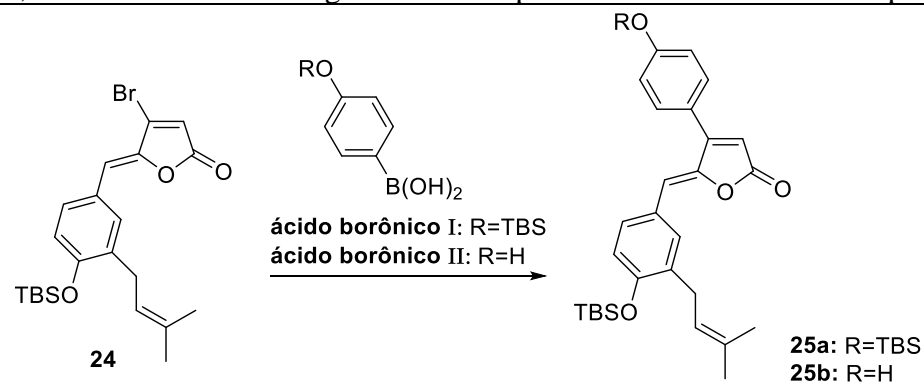
Esquema 1.10 - Rota sintética para os rubrolídeos **R** e **S**.

Nessa nova rota sintética, em vez de proteger o aldeído **19** com metil, optou-se por protegê-lo com *tert*-butildimetilsilil, utilizando-se, a princípio, hidreto de sódio e THF, sendo mantidos a 0 °C por 30 min. Posteriormente, adicionou-se cloreto de *tert*-butildimetilsilila e essa mistura reacional foi agitada a 0 °C por mais 30 min., resultando em **23** com 88% de rendimento (Esquema 1.10, pg. 32) (Huanga *et al.*, 2015).

A etapa seguinte consistiu na reação de alquilidação (metodologia e mecanismo descritos no item 1.3.1.1, pg. 14) entre a lactona **16** (síntese apresentada no item 1.3.1, pg. 12) e o aldeído **23**, que resultou no composto **24** com 64% de rendimento (Esquema 1.10, pg. 32) (Boukouvalas *et al.*, 2007). Análises espectroscópicas confirmaram a obtenção de **24** (Apêndice 1, pg. 159). Seu grupo protetor *tert*-butildimetilsilil, a única parte que o diferencia do composto **21**, pode ser observado com dois sinais no espectro de RMN de ¹H: um simpleto em δ 0,27 integrado para seis hidrogênios referentes às metilas ligadas no átomo de Si (Me₂Si), e outro simpleto em δ 1,02, integrado para nove hidrogênios referentes ao grupo *tert*-butila (Me₃CSi).

Com **24** (Esquema 1.10, pg. 32) foi realizado o acoplamento de Suzuki, empregando-se os 6 métodos descritos no item 1.3.1.2 (pg. 19), porém utilizando-se o ácido borônico protegido com TBS (ácido 4-(*tert*-butildimetilsililoxi)fenilborônico) para obtenção de **25a**. O acoplamento de Suzuki também foi testado, utilizando-se outro ácido borônico, o ácido 4-hidroxifenilborônico, para obtenção de **25b**, pelos Métodos 2, 3, 5 e 6 (descritos no item 1.3.1.2, pg. 19). Na Tabela 1.3 (pg. 34) estão apresentados os produtos **25a** e **25b**, as diferentes metodologias utilizadas para serem obtidos e seus respectivos rendimentos.

Tabela 1.3 - Produtos 25a e 25b, as diferentes metodologias utilizadas para serem obtidos e seus respectivos rendimentos



Reação	Método	Condições							Composto (%)
		Ácido borônico (equiv.)	Base ou óxido (equiv.)	Catalisador (equiv.)	Ligante (equiv.)	CTF (equiv.)	Solvente	Temperatura (°C)/Tempo (h)	
1	1	I (1,2)	CsF (3)	Pd Cl ₂ (PPh ₃) ₂ (0,05)	-	Bu ₄ NI (0,05)	Tolueno-H ₂ O 1:1	110 / 36	25a (44)
2	2	I (1,2)	Ag ₂ O (3)	PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂ (0,05)	AsPh ₃ (0,05)	-	THF	70 / 36	25a (76)
3	3	I (2)	CsF (2,7)	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (0,05)	-	BnEt ₃ NCl (0,05)	Tolueno-H ₂ O 1:1	25 °C/ 36	25a (75)
4	4	I (1,6)	Ag ₂ O (1,6)	PdCl ₂ (PhCN) ₂ (0,03)	AsPh ₃ (0,06)	-	THF-H ₂ O 1:0,15	25 °C/36	25a (0)
5	5	I (2)	K ₂ CO ₃ (6)	Pd(OAc) ₂ (0,2)	DPPF (0,2)	-	THF	70 / 36	25a (0)
6	6	I (1,2)	KF (5)	Pd ₂ (dba) ₃ (0,02)	SPhos (0,16)	-	1,4-dioxano-H ₂ O 10:1	110 / 36	25a (0)
7	2	II (1,2)	Ag ₂ O (3)	PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂ (0,05)	AsPh ₃ (0,05)	-	THF	70 / 36	25b (39)
8	3	II (2)	CsF (2,7)	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (0,05)	-	BnEt ₃ NCl (0,05)	Tolueno-H ₂ O 1:1	0 / 36; 110 / 36	25b (0)
9	5	II (2)	K ₂ CO ₃ (6)	Pd(OAc) ₂ (0,2)	DPPF (0,2)	-	THF	70 / 36	25b (0)
10	6	II (1,2)	KF 5 equiv.	Pd ₂ (dba) ₃ (0,02)	SPhos (0,16)	-	1,4-dioxano-H ₂ O 10:1	110 / 36	25b (0)

Entre as metodologias testadas para obtenção de **25a**, duas foram bem eficientes: a 2 e a 3. Nos métodos 4, 5 e 6, foram observados produtos de degradação. Para a obtenção de **25b** foram testados os métodos 5 e 6, pois, segundo a literatura, eles apresentam bons resultados no acoplamento de Suzuki quando se utiliza o ácido 4-hidroxifenilborônico. No entanto, ambos os métodos não funcionaram, resultando também em produtos de degradação. Como a aplicação das metodologias 2 e 3 foram eficientes na obtenção de **25a** (utilizando o ácido 4-(*tert*-butildimetilsililoxi)fenilborônico), as mesmas foram testadas na obtenção de **25b** (utilizando o ácido 4-hidroxifenilborônico). No entanto, nessas reações também houve uma surpresa: a metodologia 2 (Reação 7) resultou no produto **25b** com 39% de rendimento, e a metodologia 3 (Reação 8) resultou em um produto de degradação.

Comparando-se os caminhos para preparação de **25a** e **25b**, partindo-se de **24**, consegue-se inferir que não há uma lógica muito bem definida de qual será a melhor metodologia a se utilizar para obter ambos os produtos, e que a reação de acoplamento de Suzuki nesses casos depende do conjunto de reagentes utilizados.

A caracterização de **25a** e **25b** foi realizada por análises espectroscópicas (Apêndice 1, pg. 159) e seus sinais nos espectros de RMN são semelhantes aos do composto **22**, discutido anteriormente no item 1.3.2.1 (pg. 29).

Como o rendimento para obtenção de **25b** (39%), por meio do acoplamento de Suzuki, foi baixo se comparado àqueles obtidos para preparação de **25a**, decidiu-se seguir a rota sintética a partir de **25a**. Então, **25a** foi desprotegido, utilizando-se TBAF em THF, a 0 °C em 15 min., conduzindo ao rubrolídeo **R** com 90% de rendimento.

Os espectros de RMN de ¹H, COSY, ¹³C e HMQC referentes ao rubrolídeo **R** encontram-se no Apêndice 1 (pg. 159). Comparando-se os espectros de RMN de ¹H e ¹³C do rubrolídeo **R** sintetizado neste trabalho com os espectros de RMN de ¹H e ¹³C do rubrolídeo **R** isolado por Zhu e colaboradores (2014), pode-se observar que os sinais encontrados para ambos são praticamente iguais, confirmando que o composto sintetizado neste trabalho consiste no rubrolídeo **R** (Tabela 1.4, pg. 36).

Tabela 1.4 - Sinais de RMN de ^1H e ^{13}C em $\text{DMSO-}d_6$ referenciados por Zhu e colaboradores (A), e encontrados nesse trabalho (B) para o rubrolídeo **R**

Posição	δ_{C}	δ_{H} ; multiplicidade (J em Hz)		
	A (150 MHz)	B (100 MHz)		
	A (600 MHz)	B (400 MHz)		
2	168,8	168,7	-	-
3	110,7	110,8	6,27; s	6,28; s
4	158,2	158,1	-	-
5	145,3	145,2	-	-
6	113,9	113,8	6,34; s	6,36; s
1''	124,3	124,3	-	-
2''	132,5	132,5	7,56; d (2,2)	7,57; d (2,3)
3''	128,2	128,1	-	-
4''	156,7	156,5	-	-
5''	115,4	115,4	6,86; d (8,8)	6,86; d (8,3)
6''	130,1	130,1	7,53; dd (8,8; 2,2)	7,55; dd (8,3; 2,3)
1'''	28,0	28,0	3,22; d (7,7)	3,23; d (7,2)
2'''	122,5	122,4	5,26; t (7,7)	5,28; t (7,2)
3'''	131,9	131,8	-	-
4'''	17,8	17,7	1,68; s	1,69; s
5'''	25,6	25,6	1,69; s	1,70; s
1'	120,8	120,8	-	-
2'/6'	130,5	130,4	7,48; d (7,7)	7,49; d (8,6)
3'/5'	116,0	116,0	6,93; d (7,7)	6,93; d (8,6)
4'	159,8	159,7	-	-
-OH	-	-	-	9,99
-OH	-	-	-	10,09

A última etapa dessa rota sintética envolve a ciclização do rubrolídeo **R** para formação do rubrolídeo **S** (Esquema 1.10, pg. 32 e Tabela 1.5, pg. 37). Para alcançar tal objetivo, foi realizado um estudo no qual se testaram seis condições diferentes para a ciclização, sendo que em cada uma foi empregado um ácido diferente. Essas reações tiveram como base o trabalho de Eom *et al.* (2012). Contudo, algumas modificações foram realizadas para a otimização dessa ciclização, assim como troca de solvente e uso de outros tipos de ácidos. Na Tabela 1.5 (pg. 37) estão apresentadas as diferentes condições utilizadas nessas ciclizações e seus respectivos rendimentos.

Tabela 1.5 - Diferentes condições utilizadas para a reação de ciclização do rubrolídeo **R** para formação do rubrolídeo **S** e seus respectivos rendimentos

Condições	Reagente (equiv.)	Temperatura (°C)/ tempo (h)	Rubrolídeo S (%)
1	BF ₃ O(C ₂ H ₅) ₂ (22,5)	70 / 12	95
2	PTSA (40 mol %)	70 / 12	48
3	TfOH (80 mol %)	25 / 12	93
4	HCl (12)	70 / 12	74
5	BBr ₃ (4)	70 / 12	-
6	HClO ₄ (10)	70 / 2	71

* Todas as reações foram realizadas em THF.

Todas as seis condições listadas na Tabela 1.5 foram realizadas na presença de ácido, THF e testadas inicialmente na temperatura do ambiente (25 °C) e posteriormente sob refluxo. Entre essas condições, apenas a quinta não resultou no produto desejado, uma vez que na temperatura do ambiente (25 °C) o material de partida não reagiu com o BBr₃, e, sob refluxo, formou-se um produto de degradação. Com exceção da quinta condição, todas as outras resultaram na formação do rubrolídeo **S** com bons rendimentos, sendo o melhor deles o método 3 (93%), em que foi empregado o ácido trifílico. Além de apresentar o melhor rendimento, a condição 3 foi a única que reagiu na temperatura do ambiente (25 °C), sem necessidade de aquecimento sob refluxo. Apesar de a condição 1 ter apresentado o maior rendimento (95%), esta não é considerada a melhor delas, pois o número de equivalentes de ácido utilizado foi muito alto (22,5 equivalentes).

Contudo, ao final dessa estratégia de síntese pode-se preparar o rubrolídeo **R** com 44% de rendimento global em 3 etapas, e o rubrolídeo **S** com 41% de rendimento global em 4 etapas, ambos a partir da 4-bromofuran-2(5H)-ona.

1.3.3. Avaliação crítica entre as rotas de síntese utilizadas neste trabalho e as relatadas na literatura

Na Tabela 1.6 são apresentados os valores de rendimento global e número de etapas utilizados no presente trabalho e nos artigos publicados por Damodar *et al.* (2017) e Schacht *et al.* (2017) para a síntese dos rubrolídeos **R** e **S**.

Tabela 1.6 - Valores de rendimento global e número de etapas utilizados no presente trabalho e nos artigos publicados por Damodar *et al.* (2017) e Schacht *et al.* (2017) para a síntese dos rubrolídeos **R** e **S**

Rubrolídeo	Presente trabalho Rendimento global (n° etapas)	Damodar <i>et al.</i> (2017) Rendimento global (n° etapas)	Schacht <i>et al.</i> (2017) Rendimento global (n° etapas)
R	44% (3)	14% (6)	54% (3)
S	64% (3)	36% (6)	56% (3)

Analisando a Tabela 1.6, observa-se que os valores de rendimentos globais obtidos no presente trabalho e os relatados por Schacht *et al.* (2017) são muito próximos. Além disso, ambos prepararam os produtos naturais em apenas três etapas. No entanto, Damodar e colaboradores sintetizaram os rubrolídeos com rendimentos globais bastante inferiores e com um número de etapas duas vezes maior. Damodar apresentou uma rota sintética muito extensa e envolveu diversas etapas de proteção e desproteção, configurando um planejamento prévio teórico ruim.

Apesar da metodologia desenvolvida por Schacht ser próxima da desenvolvida nesta parte do trabalho, ela utiliza uma metodologia de condensação aldólica pouco eficiente, pois forma mistura de isômeros *E/Z* dos produtos finais **R** e **S**. Infelizmente, esses isômeros não separaram por recristalização, nem em coluna cromatográfica em sílica gel, uma vez que, o isômero *Z* isomeriza em *E* após longo tempo de exposição na coluna. Apenas a coluna em fase reversa conseguiu isolar os rubrolídeos **R** e **S** com configuração *Z*.

Entretanto, o presente trabalho traz uma inovação aqueles publicados anteriormente. Em uma das rotas sintéticas desenvolvidas, conseguimos converter o rubrolídeo **R** no rubrolídeo **S**, em apenas uma etapa e com ótimo rendimento (93%). Dessa forma, em uma mesma rota linear, conseguimos obter ambos os produtos naturais (rubrolídeos **R** e **S**), o que não foi realizado nos trabalhos publicados anteriormente, uma vez que, utilizaram rotas distintas para formar cada rubrolídeo.

1.4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho, foram apresentadas as metodologias de síntese total dos rubrolídeos **R** e **S**. Na primeira parte deste projeto, foi alcançada a síntese do rubrolídeo **S** em 2 e 3 etapas, com, respectivamente, 52% e 64% de rendimento global. Na segunda parte do projeto, em uma única rota sintética, foram obtidos ambos os rubrolídeos **R** e **S**, com respectivamente 3 (44% de rendimento global) e 4 (41% de rendimento global) etapas. A etapa-chave desta segunda parte consiste na última etapa da rota sintética, em que uma reação de ciclização intramolecular converte o rubrolídeo **R** no rubrolídeo **S**.

Duas etapas intermediárias das rotas sintéticas mostraram-se muito importantes para a obtenção dos produtos naturais desejados: a reação de alquilidenação e o acoplamento de Suzuki. A reação de alquilidenação foi estereosseletiva em todas as rotas utilizadas, uma vez que forneceram os rubrolídeos apenas com a configuração *Z*. E, com a otimização da reação de acoplamento de Suzuki, foi possível reduzir uma etapa na obtenção do rubrolídeo **S** na primeira rota. Na primeira e terceira rotas, conseguiu-se realizar o acoplamento de Suzuki com alto rendimento, sendo 91% para a primeira rota e 76% para a terceira rota.

Como perspectivas futuras e frente às atividades biológicas apresentadas pelos diversos produtos naturais da família dos γ -alquilidenobutenolídeos, além de seu alto nível de funcionalidade, vislumbra-se a síntese de análogos aos rubrolídeos **R** e **S**, objetivando-se a descoberta de novos compostos que apresentem atividades antioxidantes e antivirais.

1.5. METODOLOGIAS

1.5.1. Técnicas experimentais gerais

Os seguintes procedimentos experimentais foram utilizados segundo metodologias exploradas na literatura. Todos os reagentes comerciais foram utilizados como recebidos. Reações sensíveis à humidade foram realizadas em material de vidro seco à chama, selado em atmosfera de Ar. Os solventes usados foram grau analítico ou purificados. Líquidos sensíveis à umidade, soluções e solventes anidros foram transferidos via seringa ou cânula através de septos de borracha. Quando necessário, as reações foram realizadas sob atmosfera de Ar.

A análise por CCD foi realizada em placas de sílica gel com suporte de alumínio Polygram-UV254 0,20mm, Macherey-Nagel (20 x 20 cm). Após a eluição, as placas foram observadas sob lâmpada ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$ e 365 nm) e reveladas com soluções de 2,4-dinitrofenilidrazina e KMnO_4 .

As separações cromatográficas foram realizadas por cromatografia *flash* em um sistema automático (UV-VIS detector), utilizando-se sílica gel (70-230 mesh e 230-400 mesh), como fase estacionária.

As temperaturas de fusão não corrigidas foram obtidas a partir do aparelho 301-MQAPF.

1.5.2. Técnicas espectroscópicas gerais

Os espectros no infravermelho (IV) foram registrados empregando-se a técnica de transmitância, utilizando filme em NaCl em um espectrômetro Aminco-bowman-FIT-IR.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono foram registrados na temperatura do ambiente (25 °C), em espectrômetros Bruker de 500, 400 e 300 MHz, usando-se como solventes CDCl_3 , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ e $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$. Os deslocamentos químicos (δ) são referidos em relação a clorofórmio (δ_{H} 7,26; δ_{C} 77,16), acetona (δ_{H} 2,05; δ_{C} 29,84; δ_{C} 206,26) e dimetilsulfóxido (δ_{H} 2,50; δ_{C} 39,52). Dados de RMN de ^1H são registrados como se segue: desvio químico (δ) [multiplicidade, integral relativa, constante de acoplamento J (Hz) e atribuição], em que a multiplicidade é definida como s = simpleto; d = duplete; dd = duplete duplo; t = tripleto; m = multiplete e l = largo/alargado, ou combinações dos anteriores.

Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos em um instrumento de tempo-de-voo com ionização por eletrospray (ESI-TOF) marca Varian, e são indicados para quatro casas decimais.

1.5.3. Técnicas de purificação de solventes e reagentes

Secagem do tetraidrofurano (THF) - A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de THF contendo sódio metálico. A seguir, adicionou-se benzofenona ao balão contendo o THF, deixando-se o sistema sob refluxo até que a mistura reacional adquirisse a coloração azul. Após a mudança na coloração, destilou-se o THF anidro, e o mesmo foi retirado do aparelho de destilação através de seringa descartável para ser utilizado nas reações (Perrin e Armarego, 2003).

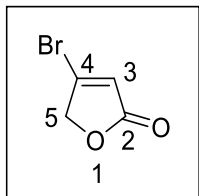
Secagem do diclorometano (DCM) - A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de diclorometano e 3 g de hidreto de cálcio. Deixou-se o sistema sob refluxo durante três horas, destilou-se o diclorometano anidro, e o mesmo foi retirado do aparelho de destilação através de seringa descartável para ser utilizado nas reações (Perrin e Armarego, 2003).

Purificação da N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) - A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de base sobre lentilhas de hidróxido de potássio. A mistura foi refluxada

por duas horas. Após esse período, a base foi destilada e armazenada sobre lentilhas de hidróxido de potássio, sob atmosfera de argônio (Perrin e Armarego, 2003).

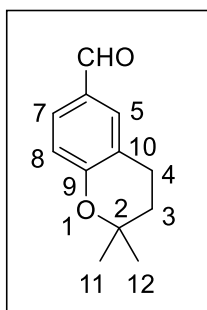
1.5.4. Procedimentos sintéticos para a preparação do rubrolídeo S

1.5.4.1. 4-bromofuran-2(5H)-ona (**16**) (adaptado de Boukouvalas et al., 1998 e Jas, 1991)



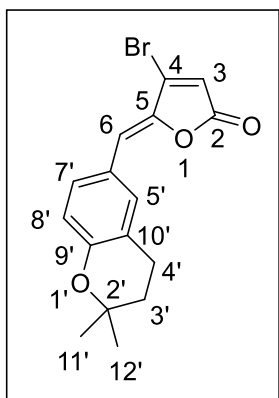
A um balão de fundo redondo (100 mL) a 0 °C foram adicionados ácido tetrônico (3 g; 29,98 mmol; 1equiv), DCM (50 mL), DMF (3 mL) e brometo de oxalila (5 mL; 35,97 mmol; 1,2 equiv) lentamente. A mistura reacional foi agitada a 0 °C por uma hora e então na temperatura do ambiente (25 °C) por 3 h. Em seguida, adicionou-se água (50 mL) e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com éter dietílico (3 x 50 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com soluções saturadas de NaHCO₃ (50 mL) e NaCl (50 mL), secadas com Na₂SO₄ anidro. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, resultando na obtenção de **16** como um sólido branco em 83,0% (4,06 g; 24,88 mmol). **Tf:** 77 °C. **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃)** δ: 4,87 (d; 2H; *J*_{5,3} = 1,7 Hz; H-5); 6,36 (t; 1H; *J*_{3,5} = 1,7 Hz; H-3). **HRMS (ESI-TOF) *m/z* [M+H]⁺:** Calculado para C₄H₄BrO₂ 162,9389; encontrado 162,9395.

1.5.4.2. 2,2-dimetilcroman-6-carbaldeído (**12**) (Tripathi et al., 2011)



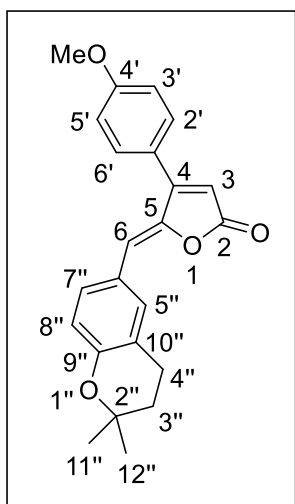
Em um balão de fundo redondo (25 mL) e a 0 °C, foram adicionados 4-hidroxibenzaldeído (300 mg; 2,46 mmol; 1 equiv), ácido fosfórico (0,29 mL; 4,91 mmol; 2 equiv) em éter dietílico (4 mL) e isopreno (0,74 mL; 7,37 mmol; 3 equiv). A mistura reacional foi agitada na temperatura do ambiente (25 °C) por 16 h, depois vertida em um béquer contendo gelo triturado e bicarbonato de sódio. Em seguida, adicionou-se acetato de etila (20 mL) e as fases foram separadas. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **12** como um líquido amarelo em 51% (238 mg; 1,25 mmol). **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ: 1,37 (s; 6H; H-11/H-12); 1,85 (t; 2H; *J*_{3,4} = 6,8 Hz; H-3); 2,84 (t; 2H; *J*_{4,3} = 6,8 Hz; H-4); 6,87 (d; 1H; *J*_{8,7} = 9,0 Hz; H-8); 7,61 - 7,63 (m; 2H; H-5/H-7); 9,82 (s; 1H; -CHO). **HRMS (ESI-TOF) *m/z* [M+H]⁺:** Calculado para C₁₂H₁₅O₂ 191,1067; encontrado 191,1073.

1.5.4.3. (Z)-4-bromo-5-((2,2-dimetilcroman-6-il)metileno)furan-2(5H)-ona (**17**) (Boukouvalas et al., 2007)



Em um balão de fundo redondo (10 mL) a 0 °C e sob atmosfera de argônio, foram adicionados **16** (50 mg; 0,31 mmol; 1 equiv) em DCM anidro (1 mL), TBDMSOTf (67 µL; 0,37 mmol; 1,2 equiv) e DIPEA anidra (53 µL; 0,31 mmol; 1 equiv). A mistura reacional foi agitada a 0 °C por 30 min., resfriada a -78 °C, e então foi adicionado o aldeído **12** (52,53 mg; 0,28 mmol; 0,9 equiv). Depois de agitada a -78 °C por 1 h, adicionou-se DBU (83 µL; 0,55 mmol; 1,8 equiv) e a solução resultante de coloração roxa escura foi deixada na temperatura do ambiente (25 °C) e agitada por mais 3 h. A mistura reacional foi transferida para um funil de separação, empregando-se DCM (5 mL), e a fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de HCl 3 mol L⁻¹ (5 mL) e solução saturada de NaCl (5 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano), para obtenção de **17** como um sólido amarelo em 70% (70,4 mg; 0,21 mmol). **Tf**: 152-153 °C. **IV**; **Filme em NaCl**; **FTIR por transmitância (cm⁻¹)**: $\bar{\nu}_{\max}$ 3129, 3067, 3043, 2975, 2930, 2848, 1761, 1603, 1543, 1494, 1268, 1233, 1154, 1122, 1106. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 1,36 (s; 6H; H-11'/H-12'); 1,83 (t; 2H; $J_{3',4'} = 6,7$ Hz; H-3'); 2,81 (t; 2H; $J_{4',3'} = 6,7$ Hz; H-4'); 6,29 (s; 1H; H-3); 6,32 (s; 1H; H-6); 6,81 (d; 1H; $J_{8',7'} = 8,5$ Hz; H-8'); 7,53 (dl; 1H; $J_{7',8'} = 8,5$ Hz; H-7'); 7,62 (sl; 1H; H-5'). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 22,5 (C-4'); 27,1 (C-11'/C-12'); 32,7 (C-3'); 75,5 (C-2'); 114,4 (C-3); 117,3 (C-6); 118,2 (C-8'); 121,8 (C-6'); 124,1 (C-10'); 131,1 (C-7'); 132,8 (C-5'); 138,3 (C-4); 144,9 (C-5); 156,4 (C-9'); 167,9 (C-2). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₁₆H₁₆BrO₃ 335,0277; encontrado 335,0266.

1.5.4.4. (Z)-5-((2,2-dimetilcroman-6-il)metileno)-4-(4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (**18**): diferentes metodologias da reação de acoplamento de Suzuki (Métodos 1-6) para obtenção de **18** a partir de **17**



Método 1 (Zhang *et al.*, 2009): Em um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados **17** (75 mg; 0,22 mmol; 1 equiv), tolueno (1 mL), água (1 mL), ácido 4-metoxifenilborônico (40,80 mg; 0,27 mmol; 1,2 equiv), CsF (102 mg; 0,67 mmol; 3 equiv), Bu₄NI (4,14 mg; 0,05 equiv) e PdCl₂(PPh₃)₂ (7,86 mg; 0,05 equiv). A mistura reacional foi refluxada por 36 h, sob atmosfera de argônio, e então foi transferida para um funil de separação, empregando-se acetato de etila (5 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl (5 mL), secada com MgSO₄ anidro, filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano), resultando no isolamento do produto **18** como um sólido amarelo com 68% de rendimento (55 mg; 0,15 mmol).

Método 2 (Bellina *et al.*, 2001): Em um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados **17** (50 mg; 0,15 mmol; 1 equiv), THF (1 mL), ácido 4-metoxifenilborônico (27,2 mg; 0,18 mmol; 1,2 equiv), Ag₂O (103,7 mg; 0,45 mmol; 3 equiv), AsPh₃ (9,13 mg; 0,2 equiv) e PdCl₂(CH₃CN)₂ (1,94 mg; 0,05 equiv). A mistura reacional foi refluxada por 36 h sob atmosfera de argônio. Em seguida, a mistura reacional foi diluída com acetato de etila (5 mL), filtrada a vácuo sobre celite e concentrada sob pressão reduzida. O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **18** como um sólido amarelo em 85% (45,9 mg; 0,13 mmol).

Método 3 (Zhang *et al.*, 2002): Em um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados **17** (50,0 mg; 0,15 mmol; 1 equiv), ácido 4-metoxifenilborônico (45,33 mg; 0,30 mmol; 2 equiv), CsF (61,19 mg; 0,4021 mmol; 2,7 equiv), PdCl₂(PPh₃)₂ (5,24 mg; 0,01 mmol; 0,05 equiv), BnEt₃NCl (1,70 mg; 0,01 mmol; 0,05 equiv), 1 mL de tolueno e 1 mL de água. A mistura reacional foi agitada na temperatura do ambiente (25 °C) por 24 h sob atmosfera de argônio. Em seguida, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação, empregando-se acetato de etila (5 mL), e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl (5 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por

cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **18** como um sólido amarelo em 91% (49,2 mg; 0,14 mmol).

Método 4 (Boukouvalas *et al.*, 2005): Em um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados **17** (50 mg; 0,15 mmol; 1 equiv), ácido 4-metoxifenilborônico (36,27 mg; 0,24 mmol; 1,6 equiv), Ag₂O (55,32 mg; 0,24 mmol; 1,6 equiv), AsPh₃ (2,74 mg; 0,01 mmol; 6 mol%), PdCl₂(PhCN)₂ (1,72 mg; 3 mol%), 1 mL de THF e 0,15 mL de água. A mistura reacional foi refluxada por 36 h sob atmosfera de argônio. Em seguida, a mistura reacional foi diluída com acetato de etila (5 mL), filtrada a vácuo sobre celite e concentrada sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **18** como um sólido amarelo em 83% (44,9 mg; 0,12 mmol).

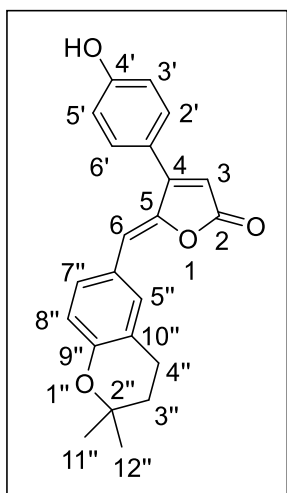
Método 5 (Harada *et al.*, 2014): Em um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados **17** (50 mg; 0,15 mmol), ácido 4-metoxifenilborônico (45,34 mg; 0,30 mmol), THF (3 mL), Pd(OAc)₂ (6,70 mg; 20 mol%), DPPF (16,54 mg; 20 mol%), e K₂CO₃ (123,73 mg; 0,90 mmol). A mistura reacional foi refluxada (70 °C) por 36 h sob atmosfera de argônio. Em seguida, a mistura reacional foi diluída com acetato de etila (5 mL), filtrada a vácuo sobre celite e concentrada sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **18** como um sólido amarelo em 60% (32,6 mg; 0,09 mmol).

Método 6 (Chen *et al.*, 2009): Em um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados **17** (50 mg; 0,15 mmol), 1,4-dioxano-água (10:1; 3,3 mL), KF (43,34 mg; 5 equiv), ácido 4-metoxifenilborônico (27,21 mg; 1,2 equiv), 2-dicicloexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenil (SPhos) (9,81 mg; 16 mol %) e Pd₂(dba)₃ (2,73 mg; 2 mol %). A mistura reacional foi refluxada a 110 °C por 36 h sob atmosfera de argônio. Em seguida, a mistura reacional foi diluída com acetato de etila (5 mL) e filtrada a vácuo sobre celite. A fase orgânica foi transferida para um funil de separação e lavada com solução aquosa de HCl 3 mol L⁻¹ (5 mL) e solução saturada de NaCl (5 mL). Em seguida, a fase orgânica foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **18** como um sólido amarelo em 75% (40,7 mg; 0,11 mmol).

Tf: 146-147 °C. **IV; Filme em NaCl; FTIR por transmitância (cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 2974, 2932, 2839, 1756, 1608, 1494, 1256. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 1,35 (s; 6H; H-11''/H-12''); 1,83 (t; 2H; $J_{3'',4''} = 6,7$ Hz; H-3''); 2,81 (t; 2H; $J_{4'',3''} = 6,7$ Hz; H-4''); 3,89 (s; 3H; -OCH₃); 6,07 (s; 1H; H-3); 6,12 (s; 1H; H-6); 6,78 (d; 1H; $J_{8'',7''} = 8,6$ Hz; H-8''); 7,02 (dl;

2H; $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,7$ Hz; H-3'/H-5'); 7,45 (dl; 2H; $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,7$ Hz; H-2'/H-6'); 7,50 (dd; 1H; $J_{7'',8''} = 8,6$ Hz, $J_{7'',5''} = 1,7$ Hz; H-7''); 7,64 (sl; 1H; H-5''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 22,5 (C-4''); 27,1 (C-11''/C-12''); 32,8 (C-3''); 55,6 (-OCH₃); 75,3 (C-2''); 112,0 (C-3); 114,4 (C-6); 114,6 (C-3'/C-5'); 117,9 (C-8''); 121,6 (C-10''); 123,2 (C-6''); 125,1 (C-1'); 130,1 (C-2'/C-6'); 130,8 (C-7''); 132,5 (C-5''); 146,4 (C-5); 155,7 (C-4); 158,5 (C-9''); 161,4 (C-4'); 169,7 (C-2). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₃H₂₃O₄ 363,1591; encontrado 363,1580.

1.5.4.5. Rubrolídeo S: Diferentes metodologias da reação de acoplamento de Suzuki (Métodos 3, 5 e 6 citados no item 1.5.4.4, pg. 43) para obtenção do rubrolídeo S a partir de 17



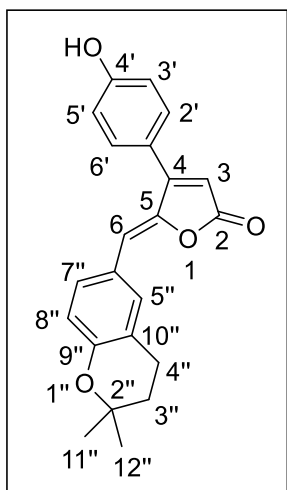
Método 3: Foi utilizado **17** (50 mg; 0,15 mmol), ácido 4-metoxifenilborônico e cromatografia em coluna de sílica gel (0-25% de acetato de etila em hexano) para obtenção do rubrolídeo **S** como um sólido amarelo em 74% (38,5 mg; 0,11 mmol).

Método 5: Foi utilizado **17** (50 mg; 0,15 mmol), ácido 4-metoxifenilborônico e cromatografia em coluna de sílica gel (0-25% de acetato de etila em hexano) para obtenção do rubrolídeo **S** como um sólido amarelo em 54% (28,3 mg; 0,08 mmol).

Método 6: Foi utilizado **17** (50 mg; 0,15 mmol), ácido 4-metoxifenilborônico e cromatografia em coluna de sílica gel (0-25% de acetato de etila em hexano) para obtenção do rubrolídeo **S** como um sólido amarelo em 53% (27,5 mg; 0,08 mmol).

Tf: 204-206°C. **IV; Filme em NaCl; FTIR por transmitância (cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3336, 2975, 2928, 2854, 1718, 1609, 1507, 1496, 1269, 1237. **RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 1,29 (s; 6H; H-11''/H-12''); 1,79 (t; 2H; $J_{3'',4''} = 6,5$ Hz; H-3''); 2,76 (t; 2H; $J_{4'',3''} = 6,5$ Hz; H-4''); 6,32 (s; 1H; H-6); 6,39 (s; 1H; H-3); 6,78 (d; 1H; $J_{8'',7''} = 9,1$ Hz; H-8''); 6,93 (d; 2H; $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,5$ Hz; H-3'/H-5'); 7,49 (d; 2H; $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,5$ Hz; H-2'/H-6'); 7,58-7,60 (m; 2H; H-5''/H-7''); 10,11 (s; 1H; -OH). **RMN de ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 21,8 (C-4''); 26,6 (C-11''/C-12''); 31,9 (C-3''); 75,1 (C-2''); 110,9 (C-3); 113,3 (C-6); 115,9 (C-3'/C-5'); 117,4 (C-8''); 120,6 (C-1'); 121,4 (C-10''); 124,8 (C-6''); 130,1 (C-7''); 130,5 (C-2'/C-6'); 132,5 (C-5''); 145,6 (C-5); 154,9 (C-9''); 158,1 (C-4); 159,8 (C-4'); 168,7 (C-2). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₂H₂₁O₄ 349,1434; encontrado 349,1422.

1.5.4.6. Rubrolídeo S: Desproteção de **18** para obtenção do rubrolídeo S

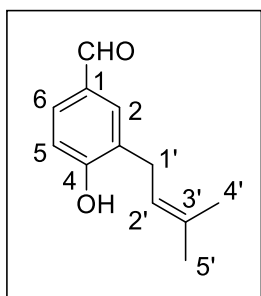


Em um balão de fundo redondo (5 mL) a 0 °C e sob atmosfera de argônio, foram adicionados **18** (25 mg; 0,07 mmol) em DCM (0,5 mL) e BBr₃ (1M) em DCM (0,20 mL). A mistura reacional foi agitada por 2 h na temperatura do ambiente (25 °C). Em seguida, uma solução aquosa de NaHCO₃ (5 mL) foi adicionada e a mistura reacional foi extraída com acetato de etila (3 x 5 mL). As fases orgânicas combinadas foram secadas em MgSO₄ anidro, filtradas e o solvente foi removido sob pressão reduzida, fornecendo o rubrolídeo **S** como um sólido amarelo em 100% (23 mg; 0,07 mmol).

Os dados referentes a caracterização do rubrolídeo **S** estão apresentados no item 1.5.4.5 (pg. 45).

1.5.5. Procedimentos sintéticos para a preparação dos rubrolídeos R e S utilizando como grupo protetor metil (Me)

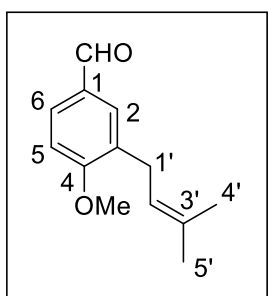
1.5.5.1. 4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-enil)benzaldeído (**19**) (Yang et al., 2016)



Em um balão de fundo redondo (50 mL) a 0 °C foram adicionados KOH (46 mg; 8,19 mmol), água (8 mL), 4-hidroxibenzaldeído (50 mg; 4,10 mmol) e brometo de 3,3-dimetilalila (0,95 mL; 8,19 mmol). A mistura reacional foi agitada a 0 °C por 1 h e depois na temperatura do ambiente (25 °C) por 8 h, no escuro. Em seguida, foi adicionada uma solução de HCl (3 M) até que a mesma atingisse pH < 3. A mistura reacional foi extraída com acetato de etila (3 x 15 mL) e as fases orgânicas combinadas foram secadas com Na₂SO₄ anidro, filtradas, e o solvente removido sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **19** como um líquido incolor em 24% (187 mg; 0,98 mmol).

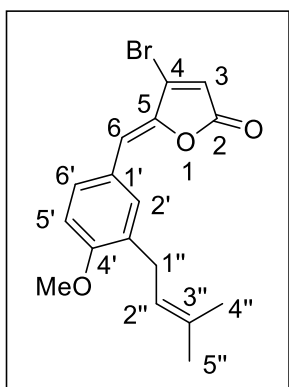
IV; Filme em NaCl; FTIR por transmitância (cm⁻¹): $\bar{\nu}_{\max}$ 3275, 2969, 2919, 2854, 2749, 1668, 1590, 1506, 1439, 1283, 1252. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 1,77 (s; 3H; H-5'); 1,79 (s; 3H; H-4'); 3,41 (d; 2H; $J_{1',2'} = 7,2$ Hz; H-1'); 5,33 (t; 1H; $J_{2',1'} = 7,2$ Hz; H-2'); 6,82 (sl; 1H; -OH); 6,95 (d; 1H; $J_{5,6} = 8,0$ Hz; H-5); 7,66 - 7,68 (m; 2H; H-2/H-6); 9,83 (s; 1H; -CHO). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 18,0 (C-5'); 25,9 (C-1'); 28,8 (C-4'); 116,0 (C-5); 121,0 (C-2'); 128,7 (C-3'); 129,3 (C-2); 130,8 (C-6); 132,2 (C-1); 135,0 (C-3); 161,1 (C-4); 192,4 (-CHO). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺:** Calculado para C₁₂H₁₅O₂ 191,1067; encontrado 191,1069.

1.5.5.2. 4-metoxi-3-(3-metilbut-2-enil)benzaldeído (**20**) (Rao et al., 2009)



Em um balão de fundo redondo (50 mL) a 0 °C foram adicionados **19** (50 mg; 0,26 mmol), DMF (1 mL) e NaH (12,6 mg; 0,53 mmol) em pequenas porções. A mistura reacional foi agitada por 10 minutos e então adicionou-se iodometano (75 mg; 0,53 mmol), gota a gota, continuando-se a agitação por mais 1 h na temperatura do ambiente (25 °C). O solvente foi eliminado sob pressão reduzida e a mistura reacional foi neutralizada com água gelada (5 mL) e extraída com tolueno (3 x 5 mL). As fases orgânicas combinadas foram secadas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e o solvente removido sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **20** como um líquido amarelo em 94% (50,45 mg; 0,25 mmol). **IV; Filme em NaCl; FTIR por transmitância (cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2967, 2916, 2841, 2728, 1689, 1600, 1498, 1258. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 1,70 (s; 3H; H-5'); 1,75 (s; 3H; H-4'); 3,33 (d; 2H; $J_{1',2'} = 7,3$ Hz; H-1'); 3,91 (s; 3H; -OCH₃); 5,29 (t; 1H; $J_{2',1'} = 7,3$ Hz; H-2'); 6,93 (d; 1H; $J_{5,6} = 8,4$ Hz; H-5); 7,67 (sl; 1H; H-2); 7,71 (dd; 1H; $J_{6,5} = 8,4$ Hz; $J_{6,2} = 1,8$ Hz; H-6); 9,85 (s; 1H; -CHO). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 17,9 (C-5'); 25,9 (C-4'); 28,3 (C-1'); 55,8 (-OCH₃); 110,0 (C-5); 121,4 (C-2'); 129,7 (C-3'); 130,3 (C-2); 130,7 (C-6); 131,2 (C-1); 133,6 (C-3); 162,5 (C-4); 191,4 (-CHO). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺:** Calculado para C₁₃H₁₇O₂ 205,1223; encontrado 205,1224.

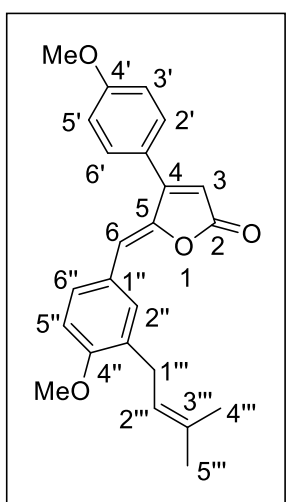
1.5.5.3. (Z)-4-bromo-5-(4-metoxi-3-(3-metilbut-2-enil)benzilideno)furan-2(5H)-ona (**21**) (Boukouvalas et al., 2007)



Em um balão de fundo redondo (5 mL) a 0 °C e sob atmosfera de argônio, foram adicionados **16** (50 mg; 0,31 mmol; 1 equiv) em DCM anidro (1 mL), TBDMSOTf (67 μ L; 0,37 mmol; 1,2 equiv) e DIPEA anidra (43 μ L; 0,31 mmol; 1 equiv). A mistura reacional foi agitada por 30 min. a 0 °C, então resfriada a -78 °C, e o aldeído **20** (56,40 mg; 0,28 mmol; 0,9 equiv) foi adicionado. Depois de agitada a -78 °C por 1 h, adicionou-se DBU (83 μ L; 0,55 mmol; 1,8 equiv) e a solução resultante de coloração roxa escura foi deixada na temperatura do ambiente (25 °C) e agitada por mais 3 h. A mistura reacional foi transferida para um funil de separação empregando-se DCM (5 mL) e a fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de HCl 3 mol L⁻¹ (5 mL) e solução saturada de NaCl (5 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O

material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **21** como um sólido amarelo pastoso em 60% (64,28 mg; 0,18 mmol). **RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ: 1,73 (s; 3H; H-5''); 1,77 (s; 3H; H-4''); 3,32 (d; 2H; $J_{1'',2''} = 7,3$ Hz; H-1''); 3,88 (s; 3H; -OCH₃); 5,29 (t; 1H; $J_{2'',1''} = 7,3$ Hz; H-2''); 6,31 (s; 1H; H-6); 6,32 (s; 1H; H-3); 6,88 (d; 1H; $J_{5',6'} = 8,6$ Hz; H-5'); 7,53 (d; 1H; $J_{2',6'} = 2,1$ Hz; H-2'); 7,75 (dd; 1H; $J_{6',5'} = 8,6$ Hz; $J_{6',2'} = 2,1$ Hz; H-6'). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₁₇H₁₈BrO₃ 349,0434; encontrado 349,0420.

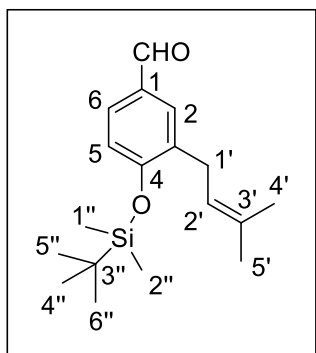
1.5.5.4. (Z)-5-(4-metoxi-3-(3-metilbut-2-enil)benzilideno)-4-(4-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (**22**) via reação de acoplamento de Suzuki (Método 3 citado no item 1.5.4.4, pg. 43)



Método 3: Foi utilizado **21** (50 mg; 0,15 mmol), ácido 4-metoxifenilborônico e cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **22** como um sólido amarelo pastoso em 56% (30,19 mg; 0,08 mmol). **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ: 1,72 (s; 3H; H-5'''); 1,75 (s; 3H; H-4'''); 3,32 (d; 2H; $J_{1''',2'''} = 7,1$ Hz; H-1'''); 3,87 (s; 3H; -OCH₃); 3,89 (s; 3H; -OCH₃); 5,28 (t; 1H; $J_{2''',1'''} = 7,1$ Hz; H-2'''); 6,08 (s; 1H; H-3); 6,14 (s; 1H; H-6); 6,87 (d; 1H; $J_{5',6'} = 8,6$ Hz; H-5''); 7,03 (d; 2H; $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,6$ Hz; H-3'/H-5''); 7,46 (d; 2H; $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,6$ Hz; H-2'/H-6'); 7,48 (sl; 1H; H-2''); 7,78 (dd; 1H; $J_{6'',5''} = 8,6$ Hz; $J_{6'',2''} = 1,4$ Hz; H-6'').

1.5.6. Procedimentos sintéticos para a preparação dos rubrolídeos R e S utilizando como grupo protetor *tert*-butildimetilsilil (TBS)

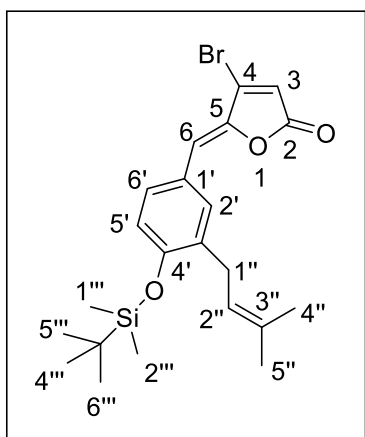
1.5.6.1. 4-(*tert*-butildimetilsililoxi)-3-(3-metilbut-2-enil)benzaldeído (**23**) (Huanga et al., 2015)



Em um balão de fundo redondo (50 mL) a 0 °C foram adicionados **19** (300 mg; 1,58 mmol), THF seco (6 mL) e NaH (57 mg; 2,37 mmol) em uma porção. A mistura reacional foi agitada a 0 °C por 30 min. Posteriormente, adicionou-se TBDMSCl (0,71 g; 4,73 mmol) e a mistura reacional foi agitada por mais 30 min. a 0 °C. Em seguida, adicionou-se uma solução saturada de NH₄Cl (10 mL), e a mistura reacional foi extraída com acetato de etila (10 mL). A fase orgânica foi lavada com NaCl, secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada

sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **23** como um óleo incolor em 88% (0,42 g; 1,38 mmol). **IV**; **Filme em NaCl**; **FTIR por transmitância (cm⁻¹)**: $\bar{\nu}_{\max}$ 2958, 2931, 2859, 2724, 1696, 1599, 1493, 1278. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 0,29 (s; 6H; H-1''/H-2''); 1,02 (s; 9H; H-4''/H-5''/H-6''); 1,69 (s; 3H; H-4'); 1,76 (s; 3H; H-5'); 3,34 (d; 2H; $J_{1',2'} = 7,2$ Hz; H-1'); 5,31 (t; 1H; $J_{2',1'} = 7,2$ Hz; H-2'); 6,88 (d; 1H; $J_{5,6} = 8,3$ Hz; H-5); 7,62 (dd; 1H; $J_{6,5} = 8,3$ Hz; $J_{6,2} = 2,2$ Hz; H-6); 7,67 (d; 1H; $J_{2,6} = 2,2$ Hz; H-2); 9,85 (s; 1H; -CHO). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : -4,0 (C-1''/C-2''); 18,0 (C-4'); 18,4 (C-3''); 25,8 (C-4''/C-5''/C-6''); 25,9 (C-5'); 28,5 (C-1'); 118,5 (C-5); 121,6 (C-2'); 129,7 (C-6); 130,2 (C-3'); 131,5 (C-2); 133,4 (C-1); 133,7 (C-3); 159,4 (C-4); 191,4 (-CHO). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₁₈H₂₉O₂Si 305,1931; encontrado 305,1932.

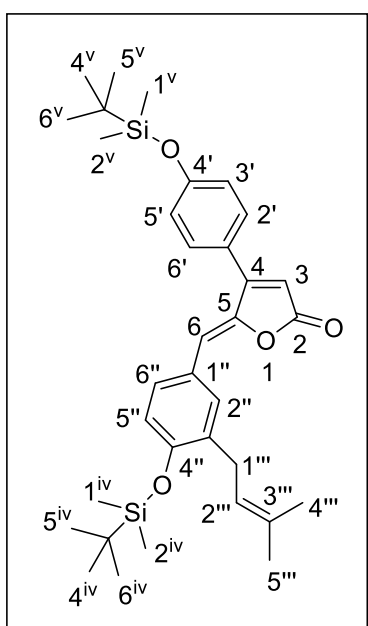
1.5.6.2. (Z)-4-bromo-5-(4-(tert-butildimetilsililoxi)-3-(3-metilbut-2-enil)benzilideno)furan-2(5H)-ona (**24**) (Boukouvalas et al., 2007)



Em um balão de fundo redondo (25 mL) a 0 °C e sob atmosfera de argônio, foram adicionados **16** (0,23 g; 1,39 mmol; 1 equiv) em DCM anidro (5 mL), TBDMSOTf (0,30 mL; 1,66 mmol; 1,2 equiv) e DIPEA anidra (0,25 mL; 1,39 mmol; 1 equiv). A mistura reacional foi agitada por 30 min. a 0 °C, resfriada a -78 °C, e então adicionou-se o aldeído **23** (0,38 g; 1,25 mmol; 0,9 equiv). Depois de agitada a -78 °C por 1 h, adicionou-se DBU (0,37 mL; 2,50 mmol; 1,8 equiv) e a solução resultante de coloração roxa escura foi deixada na temperatura do ambiente (25 °C) e agitada por 3 h. A mistura reacional foi transferida para um funil de separação empregando-se DCM (5 mL) e a fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de HCl 3 mol L⁻¹ (5 mL) e solução saturada de NaCl (5 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **24** como um líquido amarelo em 64% (0,36 g; 0,21 mmol). **IV**; **Filme em NaCl**; **FTIR por transmitância (cm⁻¹)**: $\bar{\nu}_{\max}$ 2958, 2929, 2857, 1772, 1599, 1546, 1497, 1268. **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃)** δ : 0,27 (s; 6H; H-1'''/H-2'''); 1,02 (s; 9H; H-4'''/H-5'''/H-6'''); 1,72 (s; 3H; H-4''); 1,78 (s; 3H; H-5''); 3,31 (d; 2H; $J_{1',2''} = 7,0$ Hz; H-1''); 5,30 (t; 1H; $J_{2'',1''} = 7,0$ Hz; H-2''); 6,30 (s; 1H; H-6); 6,32 (s; 1H; H-3); 6,82 (d; 1H; $J_{5',6'} = 8,5$ Hz; H-5'); 7,51 (d; 1H; $J_{2',6'} = 1,8$ Hz; H-2'); 7,66 (dd; 1H; $J_{6',5'} = 8,5$ Hz; $J_{6',2'} =$

1,8 Hz; H-6'). **RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)** δ : -4,0 (C-1^v/C-2^v); 18,1 (C-4^v); 18,4 (C-3^v); 25,8 (C-4^v/C-5^v/C-6^v); 25,9 (C-5^v); 28,6 (C-1^v); 114,2 (C-6); 117,6 (C-3); 119,0 (C-5); 122,1 (C-2^v); 125,4 (C-1^v); 130,2 (C-6^v); 133,1 (C-3^v); 133,2 (C-2^v); 133,5 (C-3^v); 138,3 (C-4); 145,2 (C-5); 155,7 (C-4'); 167,7 (C-2). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{BrO}_3\text{Si}$ 449,1142; encontrado 449,1142.

1.5.6.3. (Z)-5-(4-(*tert*-butildimetilsililoxil)-3-(3-metilbut-2-enil)benzilideno)-4-(4-(*tert*-butildimetilsililoxi)fenil)furan-2(5H)-ona (**25a**): diferentes metodologias da reação de acoplamento de Suzuki (Métodos 1-3 citados no item 1.5.4.4, pg. 43) para obtenção de **25a** a partir de **24**



Método 1: Foi utilizado **24** (52 mg; 0,12 mmol), ácido 4-(*tert*-butildimetilsililoxi)fenilborônico e cromatografia em coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **25a** como um líquido amarelo em 44% (29,3 mg; 0,05 mmol).

Método 2: Foi utilizado **24** (100 mg; 0,22 mmol), ácido 4-(*tert*-butildimetilsililoxi)fenilborônico e cromatografia em coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **25a** como um líquido amarelo em 76% (97,6 mg; 0,17 mmol).

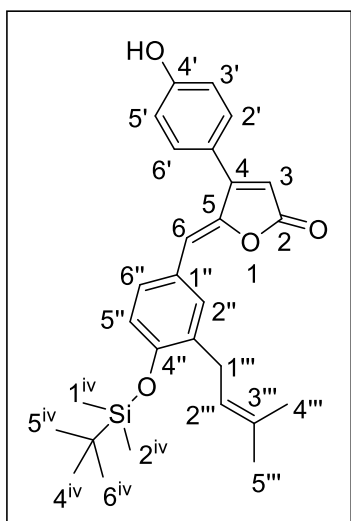
Método 3: Foi utilizado **24** (50 mg; 0,11 mmol), ácido 4-(*tert*-butildimetilsililoxi)fenilborônico e cromatografia em

coluna de sílica gel (0-10% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **25a** como um líquido amarelo em 75% (48,11 mg; 0,08 mmol).

IV; Filme em NaCl; FTIR por transmitância (cm^{-1}): $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2956, 2930, 2858, 1766, 1605, 1501, 1270. **RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)** δ : 0,27 (s; 6H; H-1^{iv}/H-2^{iv}); 0,27 (s; 6H; H-1^v/H-2^v); 1,02 (s; 18H; H-4^{iv}/H-5^{iv}/H-6^{iv}/H-4^v/H-5^v/H-6^v); 1,72 (s; 3H; H-4^{''}); 1,76 (s; 3H; H-5^{''}); 3,32 (d; 2H; $J_{1'',2''} = 7,0$ Hz; H-1^{''}); 5,30 (t; 1H; $J_{2'',1''} = 7,0$ Hz; H-2^{''}); 6,08 (s; 1H; H-6); 6,14 (s; 1H; H-3); 6,82 (d; 1H; $J_{5'',6''} = 8,5$ Hz; H-5^{''}); 6,97 (d; 2H; $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,5$ Hz; H-3'/H-5'); 7,40 (d; 2H; $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,5$ Hz; H-2'/H-6'); 7,47 (d; 1H; $J_{2'',6''} = 1,7$ Hz; H-2^{''}); 7,71 (dd; 1H; $J_{6'',5''} = 8,5$ Hz; $J_{6'',2''} = 1,7$ Hz; H-6^{''}). **RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)** δ : -4,2 (C-1^{iv}/C-2^{iv}); -4,0 (C-1^v/C-2^v); 18,0 (C-4^{''}); 18,3 (C-3^{iv}); 18,4 (C-3^v); 25,7 (C-4^{iv}/C-5^{iv}/C-6^{iv}); 25,9 (C-4^v/C-5^v/C-6^v); 25,9 (C-5^{''}); 28,7 (C-1^{''}); 112,4 (C-6); 114,3 (C-3); 119,0 (C-5); 120,7 (C-3'/C-5'); 122,3 (C-2^{''}); 123,7 (C-1^v); 126,4 (C-1^v); 129,9 (C-

6''); 130,1 (C-2'/C-6'); 132,9 (C-2''); 132,9 (C-3'''); 133,1 (C-3''); 146,7 (C-5); 154,9 (C-4); 157,9 (C-4''); 158,5 (C-4'); 169,5 (C-2). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₃₄H₄₉O₄Si₂ 577,3164; encontrado 577,3162.

1.5.6.4. (Z)-5-(4-(*tert*-butildimetilsililoxi)-3-(3-metilbut-2-enil)benzilideno)-4-(4-hidroxifenil)furan-2(5H)-ona (**25b**): diferentes metodologias da reação de acoplamento de Suzuki (Método 2 citado no item 1.5.4.4, pg. 43) para obtenção de **25b** a partir de **24**

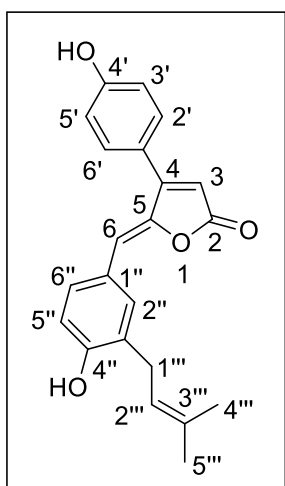


Método 2: Foi utilizado **24** (50 mg; 0,11 mmol), ácido 4-hidroxifenilborônico e cromatografia em coluna de sílica gel (0-20% de acetato de etila em hexano) para obtenção de **25b** como um sólido amarelo em 39% (20 mg; 0,04 mmol).

Tf: 197-198 °C. **IV; Filme em NaCl; FTIR por transmitância (cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3323, 2957, 2929, 2857, 1723, 1610, 1506, 1274. **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ :** 0,26 (s; 6H; H-1^{iv}/H-2^{iv}); 1,01 (s; 9H; H-4^{iv}/H-5^{iv}/ H-6^{iv}); 1,70 (s; 3H; H-4'''); 1,75 (s; 3H; H-5'''); 3,30 (d; 2H; $J_{1''',2'''} = 7,1$ Hz; H-1'''); 5,29 (t; 1H; $J_{2''',1'''} = 7,1$ Hz; H-2'''); 5,74 (s; 1H; -OH);

6,08 (s; 1H; H-6); 6,14 (s; 1H; H-3); 6,81 (d; 1H; $J_{5'',6''} = 8,5$ Hz; H-5''); 7,00 (d; 2H; $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,7$ Hz; H-3'/H-5'); 7,41 (d; 2H; $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,7$ Hz; H-2'/H-6'); 7,45 (d; 1H; $J_{2'',6''} = 2,3$ Hz; H-2''); 7,69 (dd; 1H; $J_{6'',5''} = 8,5$ Hz; $J_{6'',2''} = 2,3$ Hz; H-6''). **RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ :** -3,9 (C-1^{iv}/C-2^{iv}); 18,1 (C-4'''); 18,5 (C-3^{iv}); 25,9 (C-4^{iv}/C-5^{iv}/C-6^{iv}); 25,9 (C-5'''); 28,7 (C-1'''); 112,2 (C-6); 114,7 (C-3); 116,2 (C-3'/C-5'); 119,0 (C-5''); 122,3 (C-2'''); 123,2 (C-1'); 126,3 (C-1''); 129,9 (C-6''); 130,4 (C-2'/C-6'); 133,0 (C-2''); 133,0 (C-3'''); 133,2 (C-3''); 146,7 (C-5); 155,1 (C-4); 157,9 (C-4''); 158,6 (C-4'); 169,9 (C-2). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₈H₃₅O₄Si 463,2299; encontrado 463,2282.

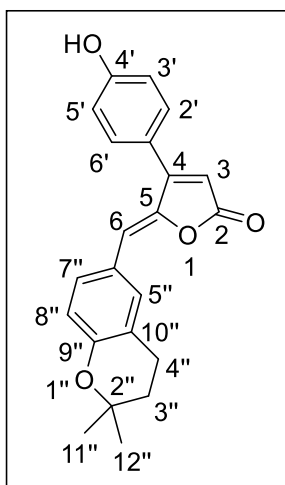
1.5.6.5. Rubrolídeo **R**: desproteção de **25a** para obtenção do rubrolídeo **R**



Em um balão de fundo redondo (25 mL) a 0 °C foram adicionados TBAF (1 M) em THF (0,54 mL; 0,54 mmol) e **25a** (0,78 g; 0,14 mmol) em THF seco (5 mL). A mistura reacional foi agitada por 15 min., adicionou-se H₂O (5 mL), e esta foi extraída com acetato de etila (3 x 5 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com NaCl, secadas com MgSO₄ anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (0-25% de acetato de etila em hexano) para obtenção rubrolídeo **R** como um sólido amarelo em 90% (42,4 mg; 0,12 mmol).

Tf: 202–203°C. **IV; Filme em NaCl; FTIR por transmitância (cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3333, 3099, 2973, 2929, 2852, 1733, 1684, 1559, 1507. **RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂SO)** δ : 1,69 (s; 3H; H-4'''); 1,70 (s; 3H; H-5'''); 3,23 (d; 2H; $J_{1''',2'''} = 7,2$ Hz; H-1'''); 5,28 (t; 1H; $J_{2''',1'''} = 7,2$ Hz; H-2'''); 6,28 (s; 1H; H-3); 6,36 (s; 1H; H-6); 6,86 (d; 1H; $J_{5'',6''} = 8,3$ Hz; H-5''); 6,93 (d; 2H; $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,6$ Hz; H-3'/H-5'); 7,49 (d; 2H; $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,6$ Hz; H-2'/H-6'); 7,55 (dd; 1H; $J_{6'',5''} = 8,3$ Hz; $J_{6'',2''} = 2,3$ Hz; H-6''); 7,57 (d; 1H; $J_{2'',6''} = 2,3$ Hz; H-2''); 9,99 (s; 1H; -OH); 10,09 (s; 1H; -OH). **RMN de ¹³C (100 MHz, (CD₃)₂SO)** δ : 17,7 (C-4'''); 25,6 (C-5'''); 28,0 (C-1'''); 110,8 (C-3); 113,8 (C-6); 115,4 (C-5''); 116,0 (C-3'/C-5'); 120,8 (C-1'); 122,4 (C-2'''); 124,3 (C-1''); 128,1 (C-3''); 130,1 (C-6''); 130,4 (C-2'/C-6'); 131,8 (C-3'''); 132,5 (C-2''); 145,2 (C-5); 156,5 (C-4''); 158,1 (C-4); 159,7 (C-4'); 168,7 (C-2). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺:** Calculado para C₂₂H₂₁O₄ 349,1434; encontrado 349,1431.

1.5.6.6. Rubrolídeo **S**: diferentes condições de ciclização (Condições 1-6; Eom et al., 2012) do rubrolídeo **R** para obtenção do rubrolídeo **S**



Condição 1: Em um balão de fundo redondo (50 mL) foram adicionados o Rubrolídeo **R** (50 mg; 0,14 mmol), BF₃-Et₂O (390 μ L; 447,08 mg; 3,15 mmol) e THF (5 mL). A mistura reacional foi refluxada a 70 °C por 12 h sob atmosfera de argônio. Após a mistura reacional ser resfriada na temperatura do ambiente (25 °C), água destilada (10 mL) foi adicionada e mistura reacional foi extraída com acetato de etila (20 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia em coluna

de sílica gel (0-25% de acetato de etila em hexano) para obtenção do rubrolídeo **S** como um sólido amarelo em 95% (47,6 mg; 0,14 mmol).

As **condições 2-6** foram realizadas utilizando o mesmo procedimento descrito para a **condição 1**, no entanto empregou-se apenas 2 mL de THF e variou-se o ácido, a temperatura e o tempo de reação. A Tabela 1.7 apresenta a temperatura, o tempo de reação, os diferentes ácidos e suas quantidades, além dos rendimentos obtidos em cada condição. Os dados referentes a caracterização do rubrolídeo **S** estão apresentados no item 1.5.4.5 (pg. 45).

Tabela 1.7 - Dados referentes as **condições 1-6** utilizadas no preparo do rubrolídeo **S**

Condição	Rubrolídeo R (mg; mmol)	Ácido (mg; mmol)	Temperatura (°C)/ tempo (h)	Rubrolídeo S (mg; mmol; rendimento)
1	(50; 0,14)	BF ₃ -Et ₂ O (390 µL; 447,1; 3,15)	70/12	(47,6; 0,14; 95%)
2	(50; 0,14)	PTSA (9,6; 0,056)	70/12	(24; 0,07; 48%)
3	(50; 0,14)	TfOH (10 µL; 16,8; 0,112)	25/12	(46,7; 0,13; 93%)
4	(30; 0,09)	HCl aq (39,4; 1,08)	70/12	(22,1; 0,07; 74%)
5	(50; 0,14)	BBr ₃ (140,3; 0,56)	70/12	-
6	(30; 0,09)	HClO ₄ aq (90,4; 0,90)	70/2	(22,3; 0,06; 71%)

1.6. REFERÊNCIAS

Barder, T. E.; Walker, S. D.; Martinelli, J. R.; Buchwald, S. L. *Catalysts for Suzuki-Miyaura coupling processes: scope and studies of the effect of ligand structure*. J. Am. Chem. Soc. 127(13), (2005) 4685-4696.

Bellina, F.; Anselmi, C.; Viel, S.; Mannina, L.; Rossi, R. *Selective synthesis of (Z)-4-aryl-5-[1-(aryl)methylidene]-3-bromo-2-(5H)-furanones*. Tetrahedron 57 (2001) 9997-10007.

Boukouvalas, J.; Beltrán, P. P.; Lachance, N.; Côté, S.; Maltais, F.; Pouliot, M. *A new, highly stereoselective synthesis of β -unsubstituted (Z)- γ -alkylidenebutenolides Using bromine as a removable stereocontrol element*. Synlett 2 (2007) 219-222.

Boukouvalas, J.; Lachance, N.; Ouellet, M.; Trudeau, M. *Facile access to 4-Aryl-2(5H)-furanones by Suzuki cross coupling: efficient synthesis of rubrolides C and E*. Tetrahedron Lett. 39 (1998) 7665-7668.

Boukouvalas, J.; Maltais, F.; Lachance, N. *Furanolate-based strategy for sequential 2,3,4-trisubstitution of butenolide: total synthesis of nostoclides I and II*. Tetrahedron Lett. 35 (1994) 7897-7900.

Boukouvalas, J.; Pouliot, M. *Short and efficient synthesis of cadiolide B*. Synlett 2 (2005) 343-345.

- Carroll, A. R.; Healy, P. C.; Quinn, R. J.; Tranter, C. J. *Prunolides A, B, and C: novel tetraphenolic bis-spiroketal from the Australian ascidian Synoicum prunum*. *J. Org. Chem.* 64(8), (1999) 2680-2682.
- Chen, C-M.; Liu, Y-C. *A concise synthesis of honokiol*. *Tetrahedron Lett.* 50 (2009) 1151-1152.
- Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P. *Organic chemistry*. New York: Oxford University Press (2001) 757.
- Damodar, K.; Kimb, J-K.; Juna, J-G. *Efficient, collective synthesis and nitric oxide inhibitory activity of rubrolides E, F, R, S and their derivatives*. *Tetrahedron Lett.* 58 (2017) 50-53.
- Eom, D.; Park, S.; Park, Y.; Ryu, T.; Lee, P. H. *Synthesis of indenenes via Brønsted Acid catalyzed cyclization of diaryl- and alkyl aryl-1,3-dienes*. *Org. Lett.* 14(21), (2012) 5392-5395.
- Harada, K.; Arioka, C.; Miyakita, A.; Kubo, M.; Fukuyama, Y. *Efficient synthesis of neurotrophic honokiol using Suzuki-Miyaura reactions*. *Tetrahedron Lett.* 55 (2014) 6001-6003.
- Huanga, S.; Chena, S.; Wanga, G.; Zhanga, J.; Tangb, L.; Duc, G.; Wang, X. *Total synthesis of aculeatins A and B, and formal synthesis of aculeatin D and 6-epi-aculeatin D through an asymmetric aldol reaction*. *Synthesis* 47 (2015) 1303-1308.
- Jas, G. *Ein einfacher Zugang zu 4-Brom-2-(tert-butyl dimethylsiloxy)furan aus tetrahydro-2,4-dioxofuran*. *Synthesis* (1991) 965-966.
- Kotha, S.; Lahiri, K.; Kashinath, D. *Recent applications of the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction in organic synthesis*. *Tetrahedron* 58(48), (2002) 9633-9695.
- Kürti, L.; Czakó, B. *Strategic applications of named reactions in organic synthesis*. Elsevier (2005) 448-449.
- Lattmann, E.; Hoffmann, H. M. R. *From tetronic acid and furfural to C(4)-halogenated, vinylated and formylated furan-2(5H)-ones and their 5-alkoxy derivatives*. *Synthesis* (1996) 155-163.
- Martin, R.; Buchwald, S. L. *Palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura cross coupling reactions employing dialkyl biaryl phosphine ligands*. *Acc. Chem. Res.* 41(11), (2008), 1461-1473.
- Miao, S.; Andersen, R. J. *Rubrolides A-H, metabolites of the colônia Itunicate Ritterella rubra*. *J. Org. Chem.* 56 (1991) 6275-6280.
- Miyaura, N.; Suzuki, A. *Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds*. *Chem. Rev.* 95(7), (1995) 2457-2483.
- Moreno-Mañas, M.; Pérez, M.; Pleixats, R. *Palladium-catalyzed Suzuki type self-coupling of arylboronic acids. A mechanistic study*. *J. Org. Chem.* 61(7), (1996) 2346-2351.
- Moriarty, R. M.; Grubjesic, S.; Surve, B. C.; Chandrasekera, S. N.; Prakash, O.; Naithani, R. *Synthesis of abyssinone II and related compounds as potential chemopreventive agents*. *Eur. J. Med. Chem.* 41 (2006) 263-267.
- Ortega, M. J.; Zubía, E.; Ocaña, J. M.; Naranjo, S.; Salvá, J. *New rubrolides from the ascidian Synoicum blochmanni*. *Tetrahedron* 56 (2000) 3963-3967.
- Pearce, A. N.; Chia, E. W.; Berridge, M. V.; Maas, E. W.; Page, M. J.; Webb, V. L.; Harper, J. L.; Copp, B. R. *E/Z-Rubrolide O, an anti-inflammatory halogenated furanone from the New Zealand ascidian Synoicum n. sp.* *J. Nat. Prod.* 70 (2007) 111-113.
- Pereira, U. A.; Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Demuner, A. J.; Masood, M. A.; Pimenta, A. L. *γ -Alkylidene- γ -lactones and isobutylpyrrol-2(5H)-ones analogues to rubrolides as inhibitors of biofilm formation by Gram-positive and Gram-negative bacteria*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 24 (2014a) 1052-1056.
- Pereira, U. A.; Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Demuner, A. J.; Masood, M. A.; Pimenta, A. L. *Inhibition of Enterococcus faecalis biofilm formation by highly active lactones and lactams analogues of rubrolides*. *Eur. J. Med. Chem.* 82 (2014b) 127-138.

- Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. *Purification of laboratory chemicals*. Butterworth-Heinemann Ltd., 5 Ed. (2003).
- Rao, G. V.; Swamy, B. N.; Chandregowda, V.; Reddy, G. C. *Synthesis of (±)-Abyssinone I and related compounds: their anti-oxidant and cytotoxic activities*. Eur. J. Med. Chem. 44 (2009) 2239-2245.
- Rossi, R.; Bellina, F.; Lessi, M. *Highly selective palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura monocoupling reactions of ethene and arene derivatives bearing two or more electrophilic sites*. Tetrahedron 67(37), (2011) 6969-7025.
- Saikia, K.; Deb, B.; Borah, B. J.; Sarmah, P. P.; Dutta, D. K. *Palladium complexes of P,P and P,S type bidentate ligands: implication in Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction*. J. Organomet. Chem. 696(26), (2012) 4293-4297.
- Schacht, M.; Boehlich, G. J.; Vries, J.; Bertram, S.; Gabriel, G.; Zimmermann, P.; Heisig, P.; Schutzenmeis, N. *Protecting-Group-Free Total Syntheses of Rubrolide R and S*. Eur. J. Org. Chem. 13 (2017) 1745-1748.
- Sikorska, J.; Parker-Nance, S.; Davies-Coleman, M. T.; Vining, O. B.; Sikora, A. E.; McPhail, K. L. *Antimicrobial rubrolides from a South African species of Synoicum tunicate*. J. Nat. Prod. 75 (2012) 1824-1827.
- Smith, C. J.; Hettich, R. L.; Jompa, J.; Tahir, A.; Buchanan, M. V.; Ireland, C. M. *Cadiolides A and B, new metabolites from an ascidian of the genus Botryllus*. J. Org. Chem. 63 (1998) 4147-4150.
- Suzuki, A. *Carbon-carbon bonding made easy*. Chem. Commun. 38 (2005) 4759-4763.
- Suzuki, A. *Cross-coupling reactions of organoboranes: an easy way to construct C-C bonds (Nobel Lecture)*. Angew. Chem. Int. Ed. 50(30), (2011) 6722-6737.
- Teixeira, R. R.; Barbosa, L. C. A.; Forlani, G.; Piló-Veloso, D.; Walkimar, J.; Carneiro, M. *Synthesis of photosynthesis-inhibiting nostoclide analogues*. J. Agric. Food Chem. 56 (2008) 2321-2329.
- Teixeira, R. R.; Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Rocha, M. E.; Bezerra, D. P.; Costa-Lotufo, L. V.; Pessoa, C.; Moraes, M.O. *Synthesis and cytotoxic activity of some 3-benzyl-5-arylidenefuran-2(5H)-ones*. Molecules 12 (2007) 1101-1116.
- Teixeira, R. R. *Síntese e avaliação das atividades fitotóxicas de compostos análogos aos nostoclídeos*. Tese (Doutorado em Ciências - Química) – Universidade Federal de Minas Gerais (2008).
- Tripathi, R. P.; Bisht, S. S.; Pandey, V. P.; Pandey, S. K.; Singh, S.; Sinha, S. K.; Chaturvedi, V. *Search of antimycobacterial activities in hybrid molecules with benzopyran skeleton*. Med. Chem. Res. 20 (2011) 1515-1522.
- Wang, W., Kim, H., Nam, S.-J., Rho, B. J. & Kang, H. *Antibacterial butenolides from the Korean tunicate Pseudodistoma antinboja*. J. Nat. Prod. 75 (2012) 2049-2054.
- Yang, Y.; Zhou, H.; Du, G.; Feng, K.; Feng, T.; Fu, X.; Liu, J.; Zeng, Y. *A monooxygenase from boreostereum vibrans catalyzes oxidative decarboxylation in a divergent vibrallactone biosynthesis pathway*. Angew. Chem. Int. Ed. 55 (2016) 1-5.
- Zhang, J.; Blazecka, P. G.; Belmont, D.; Davidson, J. G. *Reinvestigation of mucohalic acids, versatile and useful building blocks for highly functionalized α,β -unsaturated γ -butyrolactones*. Org. Lett. 4(25), (2002) 4559-4561.
- Zhang, R.; Chan, D.; Jessica, S.; Iskander, G.; Black, D. S.; Kumar, N. *Synthesis of new aryl substituted 5-alkylidenefuran-2(5H)-ones*. ARKIVOC (2009) 102-115.
- Zhao, P.; Yang, Y.; Du, L.; Liu, J.; Zeng, Y. *Elucidating the biosynthetic pathway for vibrallactone: a pancreatic lipase inhibitor with a fused bicyclic β -lactone*. Angew. Chem. Int. Ed. 52 (2013) 2298-2302.
- Zhu, T.; Chen, Z.; Liu, P.; Wang, Y.; Xin, Z.; Zhu, W. *New rubrolides from the marine-derived fungus Aspergillus terreus OUCMDZ-1925*. J. Antibiot. 67 (2014) 315-318.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE DE NOVOS ANÁLOGOS AOS CADIOLÍDEOS

2.1. INTRODUÇÃO

2.1.1. Cadiolídeos: definição, descoberta e importância

O ambiente marinho é uma fonte prolífica de compostos bioativos. Nas últimas décadas, as pesquisas sobre plantas, animais e micróbios derivados de espécies marinhas têm fornecido um número impressionante de agentes anti-infecciosos estruturalmente diversos, com atividades antibacterianas, antifúngicas, antiprotozoárias ou antivirais. Além disso, vários desses compostos possuem novos mecanismos de ação, o que destaca seu potencial como líderes na descoberta de drogas. (Ancheeva *et al.*, 2018).

Dentre os diversos tipos de compostos bioativos oriundos do mar, destacam-se os cadiolídeos. Esses compostos são furanonas tri-aromáticas bromadas densamente funcionalizadas (Won *et al.*, 2012). E, assim como os rubrolídeos, quase todos os cadiolídeos também possuem a unidade 4-aryl-5-arylmetilenofuran-2(5H)-ona, mas diferem dos primeiros, pois contêm um novo esqueleto de carbono na posição 3 da lactona (Figura 2.1) (Boukouvalas e Pouliot, 2005; Smith *et al.*, 1998).

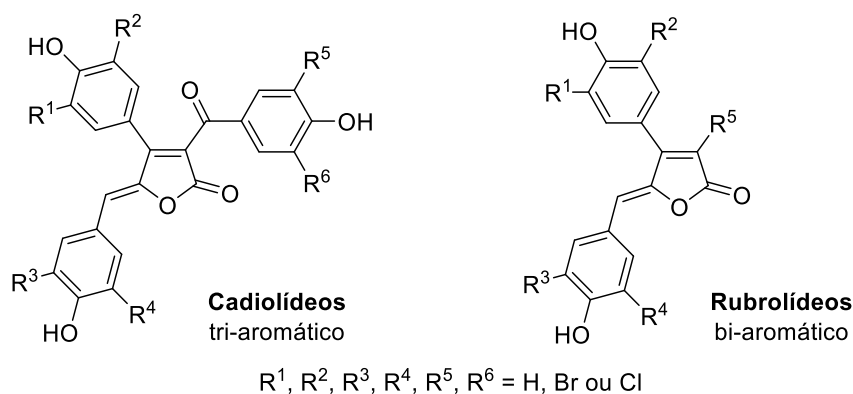


Figura 2.1 - Estruturas gerais dos cadiolídeos e rubrolídeos.

Os primeiros cadiolídeos foram isolados em 1998 de ascídias marinhas, e até hoje foram descobertos diversos outros compostos dessa mesma classe, os cadiolídeos **A-M** (Smith *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2012; Won *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2017). Na Figura 2.2 (pg. 57) são apresentadas as estruturas de todos esses compostos.

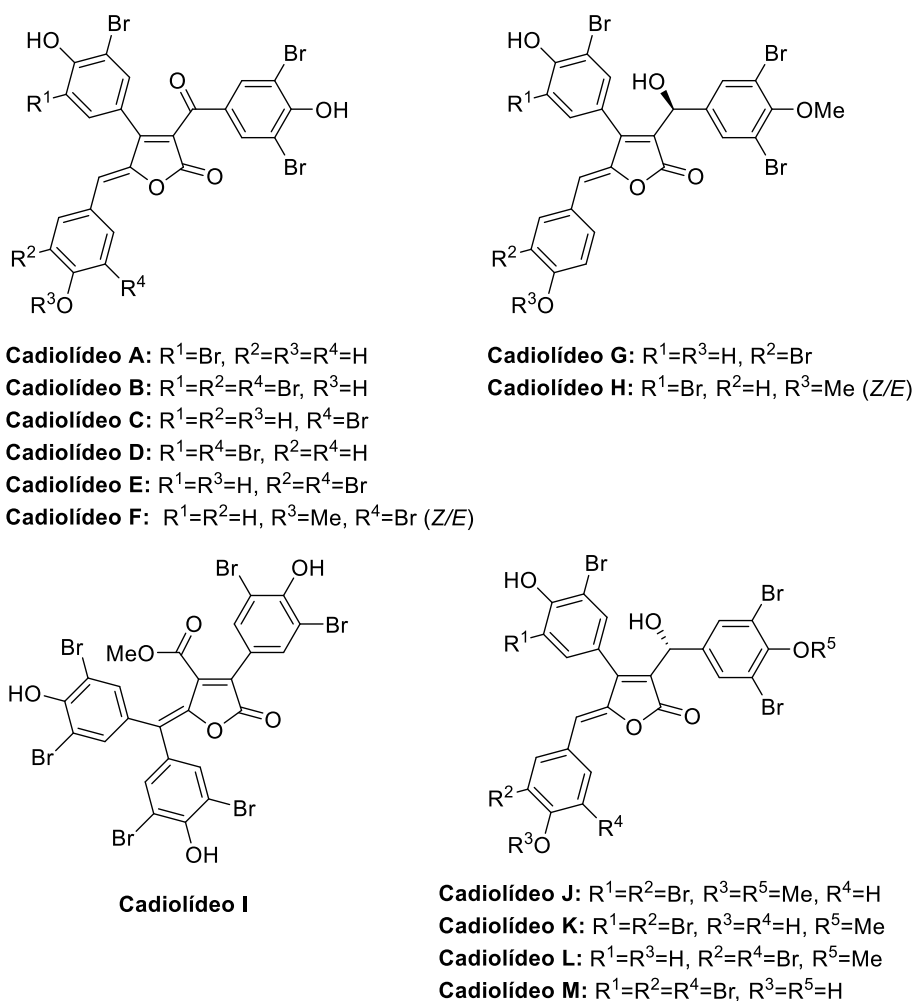


Figura 2.2 - Estrutura química dos cadiolídeos **A-M** de ocorrência natural.

Inicialmente, foram isolados os cadiolídeos **A** e **B**, juntamente com o conhecido rubrolídeo **A**. Essas substâncias foram encontradas em ascídias do gênero *Botryllus sp.* e coletadas manualmente por meio de mergulho (-3 a -15m) em Barrang Caddi, na Indonésia (Smith *et al.*, 1998). Em 2012, os cadiolídeos **C-F** foram descobertos por Wang e colaboradores de outra ascídia marinha, a ascídia *Pseudodistoma antinboja*. O cadiolídeo **F** foi obtido como uma mistura de isômeros *Z/E* com predomínio da forma *Z*. Nesse mesmo trabalho, proveniente da mesma ascídia, também foram isolados o cadiolídeo **B**, e os rubrolídeos **A**, **J**, **P** e **Q**.

A ascídia *Synoiicum sp.*, encontrada na costa de Chuja-do, na Coreia, produziu os cadiolídeos **G-I** (Won *et al.*, 2012). O cadiolídeo **H** foi obtido como uma mistura de isômeros *Z/E* (2:1) e, a partir dessa ascídia, também foi isolado o cadiolídeo **E**. Em 2017, Wang e colaboradores identificaram mais 4 novos cadiolídeos (**J-M**), e estes foram extraídos do tunicato *Pseudodistoma antinboja*, juntamente com o cadiolídeo **H** (Wang *et al.*, 2017; Gribble, 2018).

No trabalho de Wang e colaboradores (2012), foi relatado que os cadiolídeos B-F exibiram atividade antibacteriana significativa contra todas as cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) testadas (*Stap. aureus*: CCARM 3089, CCARM 3090, CCARM 3634, CCARM 3635), apresentando CIM de 0,5-1, 0,13-0,5, 0,25-1, 0,5-2 e 1-2 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente para os cadiolídeos **B-F**. Esses valores foram comparáveis ou até melhores do que o dos medicamentos comercializados, como vancomicina (CIM 0,5-1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e linezolida (CIM 2-4 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Pesquisas mostram que nas últimas duas décadas houve um aumento substancial de infecções por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (SARM), sendo este o mais letal dentre os patógenos bacterianos (Boukouvalas e Thibault, 2015). As infecções por SARM são transmitidas, em sua grande maioria, em hospitais, aparecendo principalmente como infecção da pele ou dos tecidos moles e podem causar morte e morbidade grave, como pneumonia, abscesso cerebral e septicemia (Haysom *et al.*, 2018).

Os cadiolídeos **E** e **G-I** também apresentaram significantes atividades antibacterianas contra várias cepas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Kocuria rhizophila*) e Gram-negativas (*Salmonella entérica*, *Proteus hauseri*, *Escherichia coli*). Como exemplo, o cadiolídeo **G** apresenta CIM = 0,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *Salmonella entérica* (Ampicilina: CIM = 0,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$), e o cadiolídeo **I** apresenta CIM = 0,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *Staphylococcus aureus* (Ampicilina: CIM = 0,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Won *et al.*, 2012). Os cadiolídeos isolados mais recentemente (**J-M**) também apresentaram potente atividade antibacteriana contra SARM (Wang *et al.*, 2012). Ambos os cadiolídeos **K** e **M** apresentaram CIM = 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (CCARM 3635), enquanto os medicamentos comerciais como vancomicina e linezolida apresentam CIM equivalente a 1 e 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

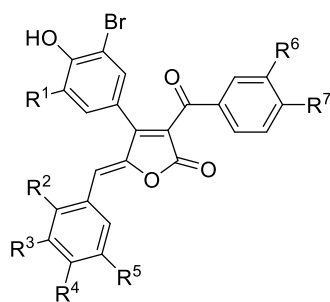
Além da atividade antibacteriana, a atividade antifúngica também foi relatada para os cadiolídeos. Os cadiolídeos **E** e **I** inibem fortemente a enzima isocitrato liase de *Candida albicans*, com CI_{50} de 7,62 e 10,36 μM , respectivamente, enquanto o controle positivo 3-nitropropinato apresenta CI_{50} de 13,91 μM (Ahn *et al.*, 2013). Também foi relatado que o cadiolídeo **B** inibe o vírus *Japanese encephalitis* na concentração de 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, (Smitha *et al.*, 2014).

Devido a atividade biológica dos cadiolídeos naturais, alguns cadiolídeos sintéticos começaram a ser desenvolvidos. Em 2015, Boulangé e colaboradores sintetizaram alguns análogos aos cadiolídeos e esses também foram muito ativos contra diversas bactérias. Os análogos **1** e **2** (Figura 2.3, pg. 59) apresentaram CIM equivalente a 1,95 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra as

bactérias *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* e *Escherichia coli* 405, enquanto o medicamento comercial tetraciclina resultou em CIM de 3,90, 7,81 e 7,81 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (Boulangé *et al.*, 2015).

Em 2018, Mairink e colaboradores sintetizaram novos análogos aos cadiolídeos, e demonstraram, pela primeira vez, que essa classe de compostos é capaz de inibir a formação de biofilme sobre uma gama de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O composto **3** (Figura 2.3) apresentou atividade antibiofilme contra as bactérias *E. faecalis* e *S. aureus* com CI_{50} de 0,5 e 0,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. No entanto, todos os compostos testados apresentaram pouca ou nenhuma inibição do crescimento planctônico para a maioria dos organismos testados. Isso sugere que os compostos atuam interferindo no mecanismo de comunicação entre as bactérias, conhecido como “quórum sensin (QS)”.

Entre os processos controlados pelo QS está a formação de biofilmes. O QS corresponde a um processo em que os microorganismos se comunicam numa base célula-a-célula, regulando a expressão genética e sincronizando processos vitais. Esses processos incluem a formação de biofilmes e fatores de virulência, que defendem as bactérias contra drogas antibacterianas ou o sistema imunológico de um hospedeiro (Park *et al.*, 2017; Paczkowski *et al.*, 2017; Pappenfort e Bassler, 2016). Ao contrário dos antibióticos, que impõem uma pressão seletiva de “vida ou morte” nos agentes patogênicos específicos, os inibidores QS não matam o patógeno diretamente, mas reduzem a sua população com a interrupção da formação de biofilmes. Assim, a inibição do QS nesses patógenos reduziria a virulência em vez de matar as bactérias, o que poderia enfraquecer a pressão seletiva imposta aos patógenos e retardar a evolução da resistência microbiana (Tang e Zhang, 2014).



Análogos aos cadiolídeos

1: $\text{R}^1=\text{R}^5=\text{R}^6=\text{Br}$, $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{H}$, $\text{R}^4=\text{R}^7=\text{OH}$

2: $\text{R}^1=\text{R}^3=\text{R}^5=\text{R}^6=\text{Br}$, $\text{R}^2=\text{H}$, $\text{R}^4=\text{R}^7=\text{OH}$

3: $\text{R}^1=\text{R}^3=\text{R}^4=\text{R}^6=\text{R}^7=\text{H}$, $\text{R}^2=\text{R}^5=\text{OH}$

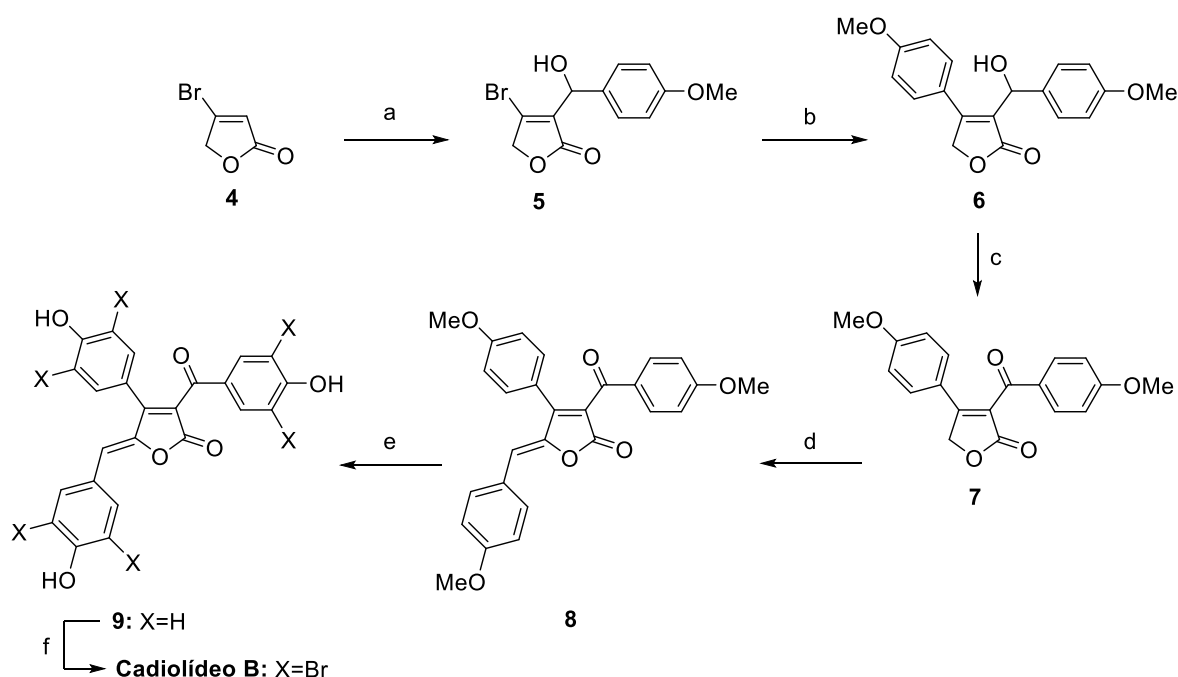
Figura 2.3 - Estruturas dos análogos aos cadiolídeos **1-3**.

Desde 1998, todos os estudos envolvendo a citotoxicidade dos cadiolídeos mostraram que estes não possuem atividade significativa contra células cancerígenas, sendo, assim, denominados como um grupo de compostos não citotóxicos (Smith *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2012; Won *et al.*, 2012; Boulangé *et al.*, 2015; Boukouvalas e Thibault, 2015; Wang *et al.*, 2017).

2.1.2. Estudos sintéticos envolvendo cadiolídeos naturais e análogos

Desde a descoberta dos primeiros cadiolídeos naturais, em 1998, poucas foram as publicações envolvendo a síntese de cadiolídeos e seus análogos. Até hoje, apenas 5 trabalhos foram publicados contendo rotas sintéticas plausíveis para a obtenção desses butenolídeos.

Em 2005, foi relatada a primeira síntese de um cadiolídeo, o cadiolídeo **B**. Este foi obtido em 6 etapas e com rendimento global de 42% (Esquema 2.1). (Boukouvalas e Pouliot, 2005).

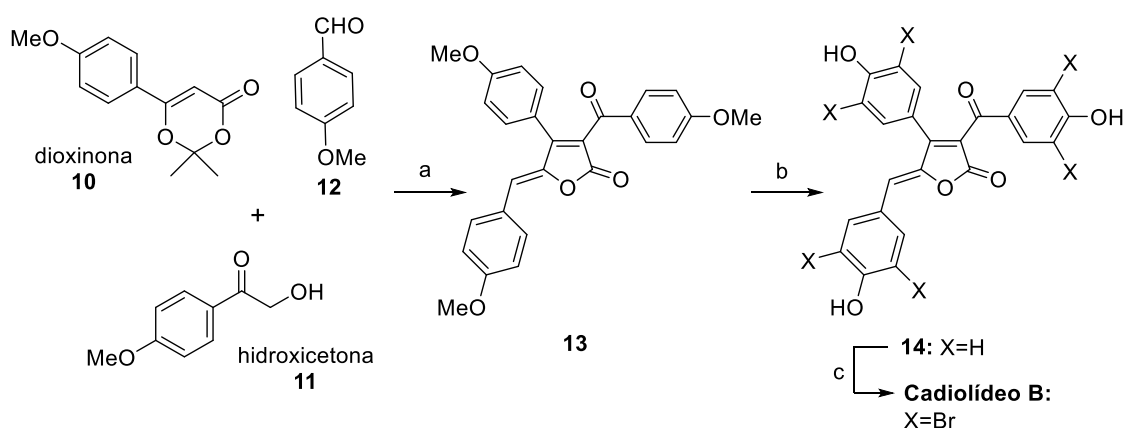


Esquema 2.1 - Reagentes e condições: (a) 2,6-lutidina, *n*-Bu₂BOTf, *p*-anisaldeído, THF, -78 à -20 °C, 45 min, 64%; (b) ácido *p*-metoxifenilborônico, AsPh₃, Ag₂O, PdCl₂(PhCN)₂, THF, H₂O, 23 °C, 20 h, 86%; (c) DMP, CH₂Cl₂, 23 °C, 15 h, 89%; (d) TBDMSOTf, *p*-anisaldeído, *i*-Pr₂NEt, CH₂Cl₂, 23 °C, 1 h; DBU, 23 °C, 2 h, 94%; (e) BBr₃, CH₂Cl₂, -78 °C à 23 °C, 20 h, 93%; (f) Br₂, KBr, dioxano, H₂O, 23 °C, 1 h, 98%.

Nessa metodologia (Esquema 2.1), a lactona 4-bromofuran-2(5H)-ona (**4**), disponível comercialmente, foi convertida no 2-furanolato de dibutilboro, que posteriormente foi submetido à reação de condensação aldólica com *p*-anisaldeído, fornecendo o intermediário **5** com 64% de rendimento. Em seguida, um grupo arila foi adicionado na posição 4 do anel lactônico, utilizando a reação de acoplamento cruzado de Suzuki para formação de **6** (86% de rendimento). Na etapa seguinte, **6** foi oxidado a **7**, utilizando-se periodinana de Dess-Martin (89% de rendimento). A reação de adição aldólica entre **7** e *p*-anisaldeído na presença de TBDMSOTf e *i*-Pr₂NEt, seguida por uma β -eliminação *in situ* com DBU, proporcionou a obtenção de **8** (isômero *Z*) com 94% de rendimento. As etapas seguintes consistiram na

desmetilação com BBr_3 , levando à formação de **9** (93% de rendimento) e bromação com Br_2/KBr para formação do cadiolídeo **B** (98% de rendimento).

Apenas 8 anos depois, em 2013, outra síntese de um cadiolídeo foi relatada, sendo esta também referente ao cadiolídeo **B** (Esquema 2.2) (Peixoto *et al.*, 2013). Essa rota sintética foi realizada em 3 etapas, com rendimento global de 48% a partir da dioxinona **10**. No entanto, a dioxinona **10** não é disponível comercialmente, e esta foi obtida em 4 etapas (76% de rendimento) a partir do ácido *p*-metoxibenzóico, o que altera o número de etapas e o rendimento global para obtenção do produto final (7 etapas e 36% de rendimento). Apesar desse equívoco, os autores relataram uma nova metodologia para formação desse cadiolídeo, uma reação multicomponente (RMC), que consiste em reações convergentes. Nesse tipo de reação, três ou mais materiais de partida reagem em uma única operação para formar um único produto, no qual basicamente todos os átomos, ou a maioria deles, contribuem para o produto formado (Abou-Shehada *et al.*, 2017).



Esquema 2.2 - Reagentes e condições: (a) Et_3N , tolueno, 300 W, 150 °C, 5 min, 77%; (b) BBr_3 , CH_2Cl_2 , -78 °C à 20 °C, 20 h, 94%; (c) Br_2 , KBr, H_2O , dioxano, t.a., 24 h, 67%.

A partir da dioxinona **10**, a hidroxacetona **11** e o aldeído **12**, foi realizada a reação multicomponente em micro-ondas, utilizando-se trietilamina e tolueno para formação da furanona **13** (77% de rendimento). As etapas seguintes consistiram na remoção dos grupos metila de **13** com BBr_3 , levando à formação de **14** (94% de rendimento) e bromação com Br_2/KBr para formação do cadiolídeo **B** (67% de rendimento) (Esquema 2.2).

Utilizando a mesma reação multicomponente citada no Esquema 2.2, Peixoto *et al.* (2013) também sintetizaram os análogos **15-21** (Figura 2.4, pg. 62) e Boulangé *et al.* (2015) prepararam os cadiolídeos **A-C**, além dos análogos **1, 2, 22-32** (Figura 2.4, pg. 62). Os análogos aos cadiolídeos sintetizados por Boulangé apresentaram bons resultados como bactericida, principalmente os compostos **1** e **2**, que tiveram essa atividade discutida no item 2.1.1 (pg. 56) deste capítulo.

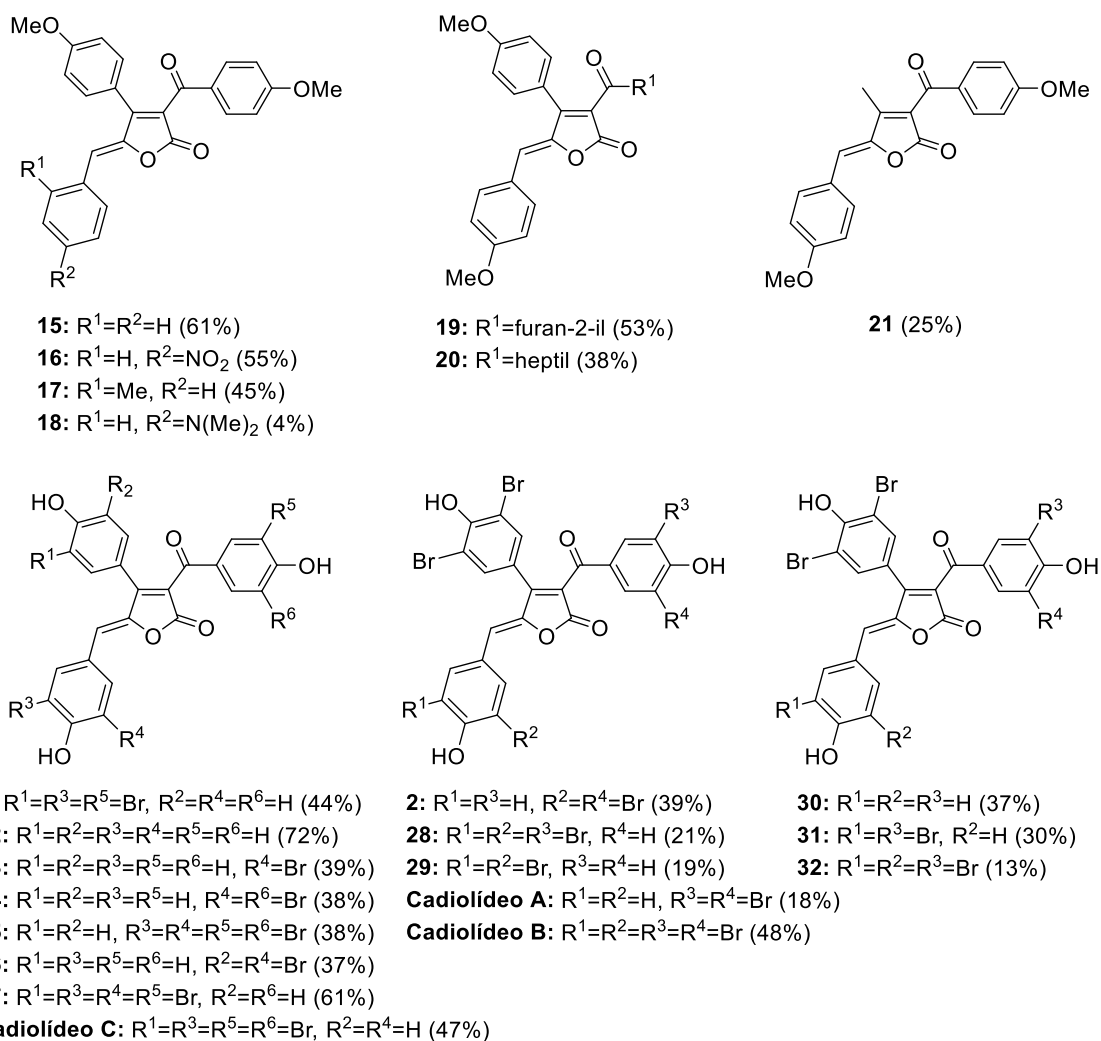
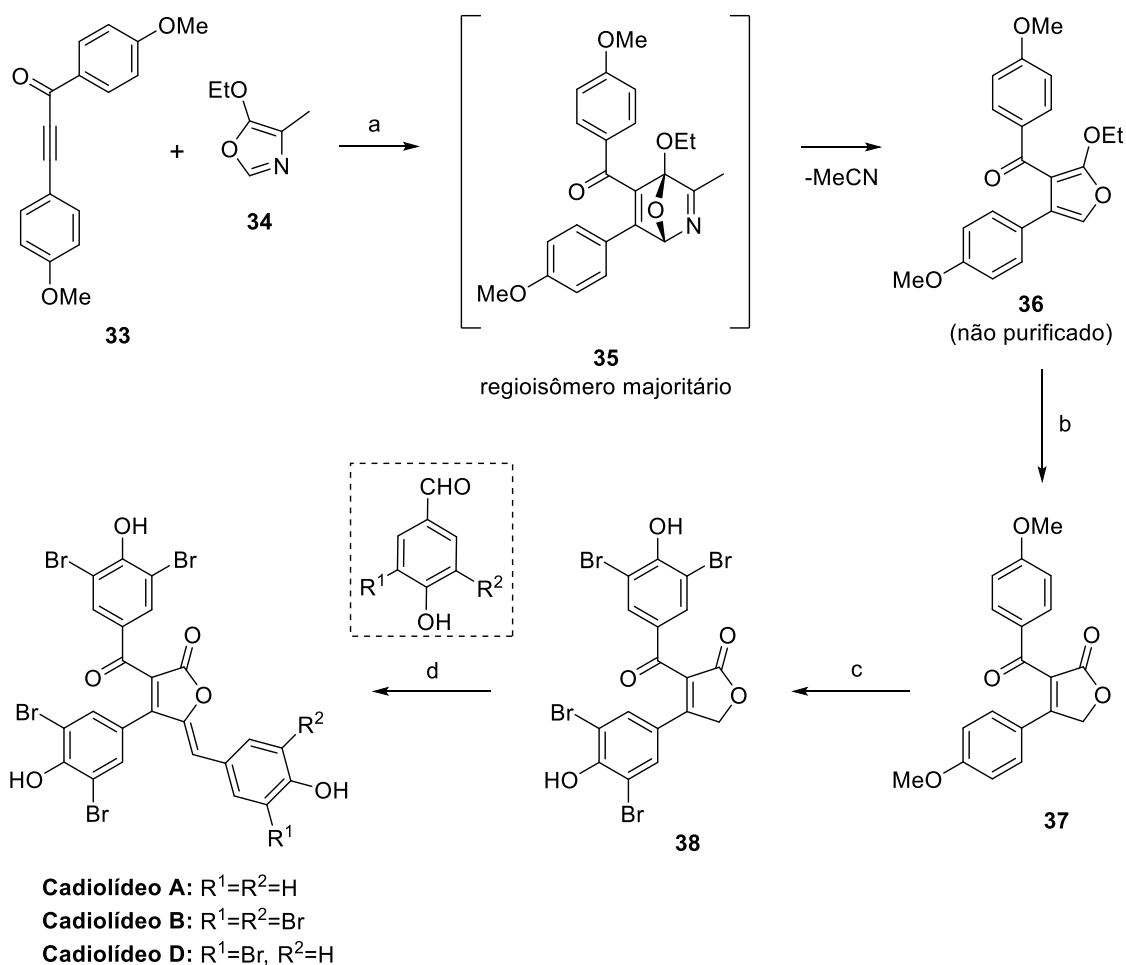


Figura 2.4 - Estruturas dos cadiolídeos **A-C**, os análogos **15-32**, e seus respectivos rendimentos globais.

Em 2015, Boukouvalas e Thibault apresentaram a primeira síntese dos cadiolídeos **A** e **D**, e uma nova síntese do cadiolídeo **B**, utilizando uma nova metodologia que foi realizada em 3 etapas e com rendimentos globais de 47%, 43% e 38% a partir do cetoalquino **33** (Esquema 2.3, pg. 63), respectivamente. Esse processo envolve uma reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder, seguida de hidrólise, o que favorece a eficiência da reação química, uma vez que um reagente é submetido a sucessivas reações no mesmo meio reacional.

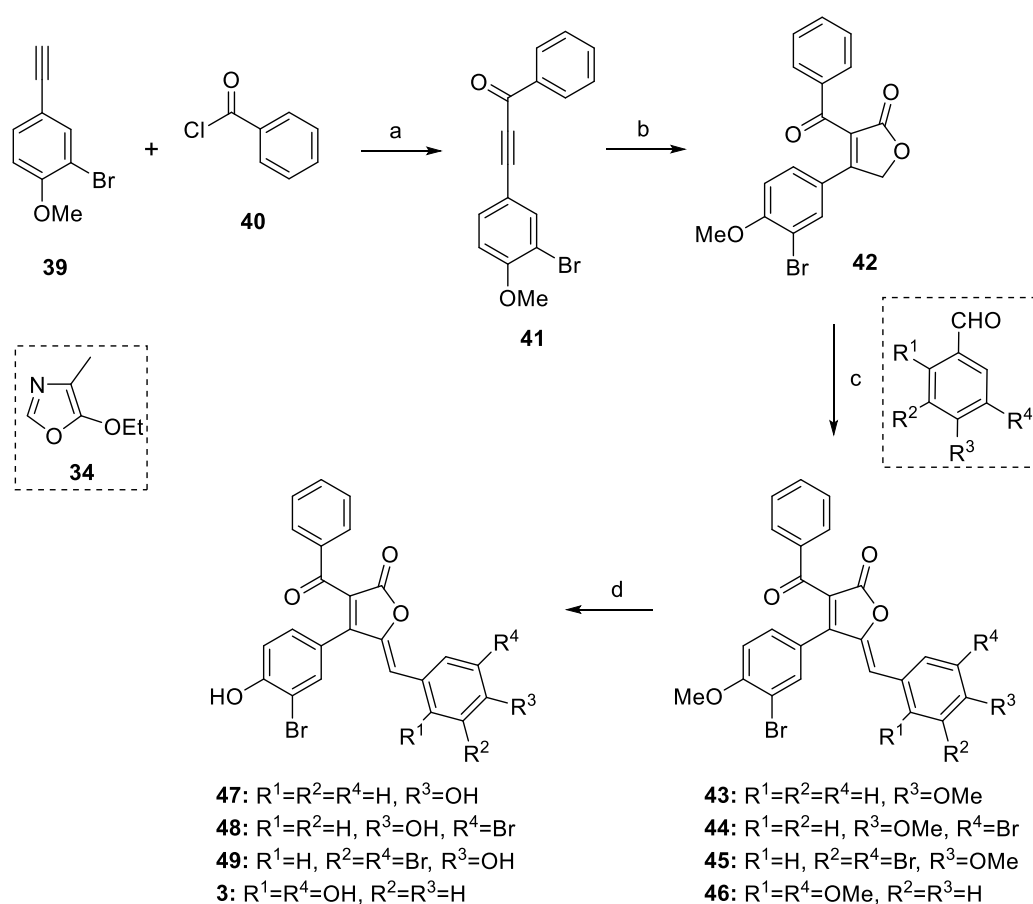


Esquema 2.3 - Reagentes e condições: (a) PhEt, 150 °C, 15 h; (b) aq. HBr, THF, t.a., 8 h, 70% (2 etapas: a-b); (c) BBr₃, CH₂Cl₂, -78 °C à 20 °C, 24 h; Br₂/KBr, Et₂O, H₂O, dioxano, t.a., 2 h, 84%; (d) ArCHO, MeOH, piperidina, t.a., cadiolídeo **A** (15 h, 80%), cadiolídeo **B** (28 h, 65%), cadiolídeo **C** (28 h, 73%).

Inicialmente, o cetoalquino **33**, obtido pela reação de acoplamento de Sonogashira entre cloreto de 4-metoxibenzoíla e 1-etinil-4-metoxibenzeno, reage com o oxazol **34** via reação de DA/retro-DA. Nessa reação ocorre uma cicloadição de Diels-Alder, formando o intermediário **35**, que, por sua vez, sofre espontaneamente uma ciclo-reversão de Diels-Alder com perda de acetonitrila, formando o composto **36**. Esse intermediário é submetido à hidrólise com ácido bromídrico, fornecendo a lactona **37** (70% de rendimento, regioisômero majoritário). Posteriormente, realizaram-se as reações de desmetilação e bromação de **37**, obtendo **38** com 84% de rendimento. Finalmente, a reação de condensação de Knoevenagel resultou na formação dos cadiolídeos **A**, **B** e **D**, com rendimentos de 80%, 65% e 73%, respectivamente (Esquema 2.3).

Utilizando-se uma metodologia similar àquela desenvolvida por Boukouvalas e Thibault (2015), Mairink e colaboradores (2018) sintetizaram os análogos aos cadiolídeos **3**, **43-49** (Esquema 2.4, pg. 64). Nesse processo, o cetoalquino **41** também é obtido via reação de

acoplamento de Sonogashira. Nesse caso, utilizou-se cloreto de benzoíla e 2-bromo-4-etinil-1-metoxibenzeno para obtenção de **41** com 97% de rendimento. O composto **41** reage com o oxazol **34** por meio da reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder, seguida de hidrólise para obtenção da lactona **42** (51% de rendimento, regioisômero majoritário). A reação de adição aldólica entre **42** e diversos aldeídos aromáticos na presença de TBDMSOTf e *i*-Pr₂NEt, seguida por uma β -eliminação *in situ* com DBU, proporcionou a obtenção dos análogos **43-46** (isômero *Z*), com rendimentos variando entre 45-82%. Finalmente, realizaram-se as reações de desmetilação de **43-46**, levando à formação dos análogos **3, 47-49**. Os compostos sintetizados por Mairink *et al.* (2018) apresentaram bons resultados como inibidores de biofilme bacteriano, principalmente o composto **3**, que teve sua atividade discutida no item 2.1.1 (pg. 56) deste capítulo.



Esquema 2.4 - Reagentes e condições: (a) Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, Et₃N, THF, t.a., 3 h, 97%; (b) **34**, xileno, 150 °C, 24 h; aq. HBr, THF, t.a., 8 h, 51%; (c) ArCHO, TBDMSOTf, DIPEA, CH₂Cl₂, t.a., 1 h; DBU, refluxo, 2 h, **43** (79%), **44** (55%), **45** (45%), **46** (82%); (d) BBr₃, CH₂Cl₂, -78 °C à 20 °C, 20 h, **47** (86%), **48** (83%), **49** (45%), **3** (78%).

Frente à recente descoberta dos cadiólídeos, a importante atividade biológica apresentada pelos cadiólídeos naturais e análogos e à escassez de trabalhos referentes a essa classe de compostos, os cadiólídeos serão o alvo de investigação dessa parte do nosso

trabalho. Além da síntese de novos análogos aos cadiolídeos, testaremos suas atividades biológicas, uma vez que, os cadiolídeos podem servir como antibióticos para o tratamento de infecções bacterianas causadas por SARM, e como inibidores do biofilme bacteriano (Wang *et al.*, 2012).

2.2. OBJETIVOS E ESTRATÉGIAS

Neste capítulo, pretende-se sintetizar novos análogos aos cadiolídeos, utilizando-se a rota sintética desenvolvida por Boukouvalas e Thibault (2015) (Esquema 2.4, pg. 64), uma metodologia recente, inovadora e eficiente. Os análogos a serem preparados serão escolhidos de acordo com os resultados publicados por Mairink *et al.* (2018) e Boulangé *et al.* (2015), que apontam os cadiolídeos como bons antibacterianos e inibidores da formação de biofilme bacteriano. Dessa forma, os compostos seriam obtidos mediante variação dos substituintes nos anéis A, B e C (Figura 2.5), utilizando-se os grupos funcionais que se mostraram mais ativos nos trabalhos relatados acima.

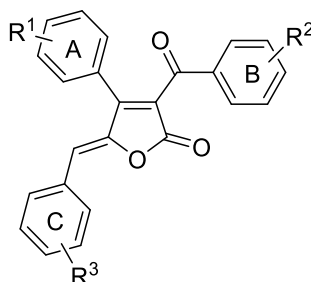


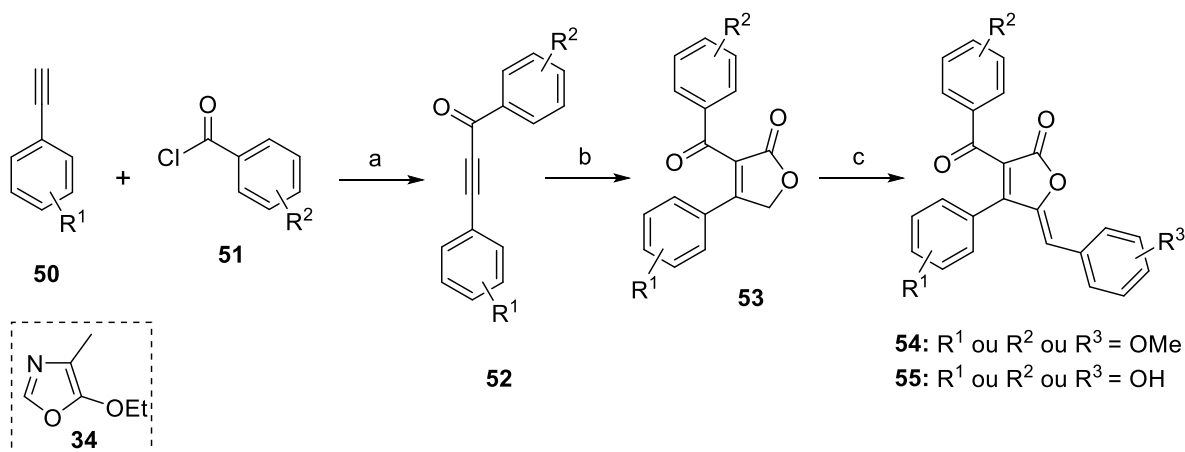
Figura 2.5 - Estrutura geral dos cadiolídeos.

As principais etapas a serem avaliadas incluem a reação de acoplamento de Sonogashira, a reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder, seguida de hidrólise, e a reação de adição aldólica, seguida por reação de β -eliminação.

Além disso, pretende-se submeter esses análogos a ensaios biológicos, a fim de avaliar suas atividades antibacteriana e inibitória do crescimento de biofilme bacteriano.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A rota sintética escolhida para sintetizar os análogos aos cadiolídeos neste trabalho foi desenvolvida por Boukouvalas e Thibault (2015) (Esquema 2.5, pg. 66).

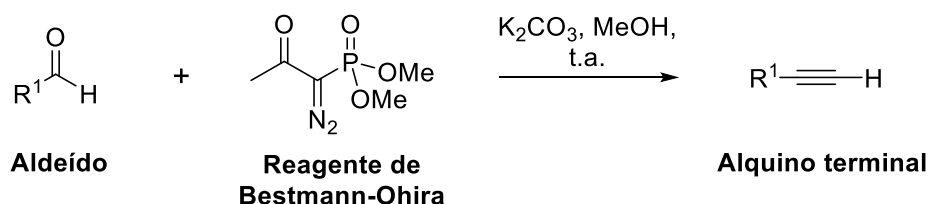


Esquema 2.5 - Reagentes e condições: (a) Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, Et₃N, THF, 25-30 °C, 3 h; (b) **34**, tolueno, 150 °C, 24 h; aq. HBr, THF, 25-30 °C, 8 h; (c) ArCHO, TBDMSOTf, DIPEA, CH₂Cl₂, 25-30 °C, 1 h; DBU, refluxo, 2 h; (d) BBr₃, CH₂Cl₂, 25-30 °C, 2 h.

Inicialmente, o cetoalquino **52** é obtido por meio da reação de acoplamento de Sonogashira. Nesse caso foram utilizados diferentes alquinos aromáticos terminais (**50**) e diversos cloretos de benzoíla (**51**) para obtenção de **52**. Posteriormente, **52** reage com o oxazol **34** via reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder, seguida de hidrólise para obtenção da lactona **53**. A reação de adição aldólica entre **53** e diversos aldeídos aromáticos na presença de TBDMSOTf e *i*-Pr₂NEt, seguida por uma β-eliminação *in situ* com DBU, proporcionou a obtenção dos análogos aos cadiolídeos metoxilados (**54**). Finalmente, realizaram-se as reações de desmetilação, levando à formação dos análogos aos cadiolídeos hidroxilados (**55**).

2.3.1. Síntese dos alquinos aromáticos terminais (50a-e)

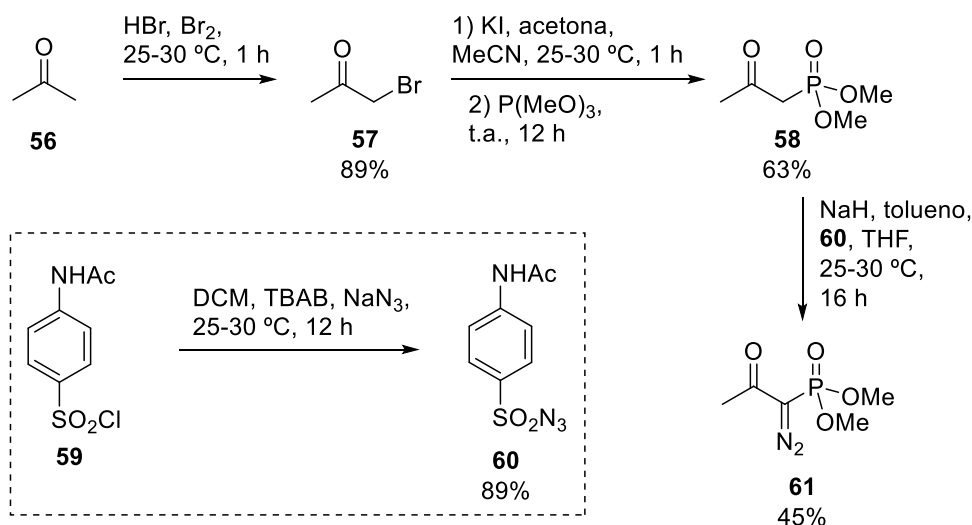
Para a preparação dos alquinos terminais **50a-e** foi utilizada a reação chamada reação de Seyfert-Gilbert (Esquema 2.6) (Kürti e Czako, 2005; Roth *et al.*, 2004). Essa reação permite a obtenção de alquinos terminais a partir de aldeídos em condições suaves, evitando o uso de uma base forte em condições de baixa temperatura (Pietruszka e Witt, 2006).



Esquema 2.6 - Reação de Seyfert-Gilbert para obtenção de alquinos terminais.

Nessa metodologia de preparação dos alquinos terminais, faz-se necessária a utilização do reagente de Bestmann-Ohira (Esquema 2.6). Frente ao alto custo de comercialização do

reagente de Bestmann-Ohira, o mesmo foi preparado seguindo a estratégia proposta por Pietruszka e Witt (2006) (Esquema 2.7).

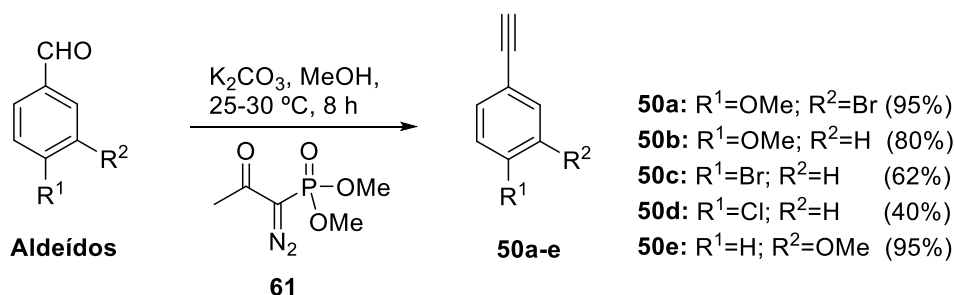


Esquema 2.7 - Rota sintética para a preparação do reagente de Bestmann-Ohira.

A primeira etapa consistiu na síntese da bromoacetona (**57**) via monobromação da acetona (**56**), empregando-se $\text{Br}_2/\text{HBr}_{\text{aq}}$. O produto **57** foi obtido como um óleo lacrimojante com 89% de rendimento, sendo utilizado na etapa seguinte sem qualquer tipo de purificação. Essa etapa envolveu a síntese do dimetil-2-oxopropilfosfonato (**58**). A iodoacetona foi sintetizada *in situ* por meio da reação entre a bromoacetona (**57**) e KI/MeCN , e, em seguida, adicionou-se trimetilfosfito, levando à formação do produto **58** com 63% de rendimento.

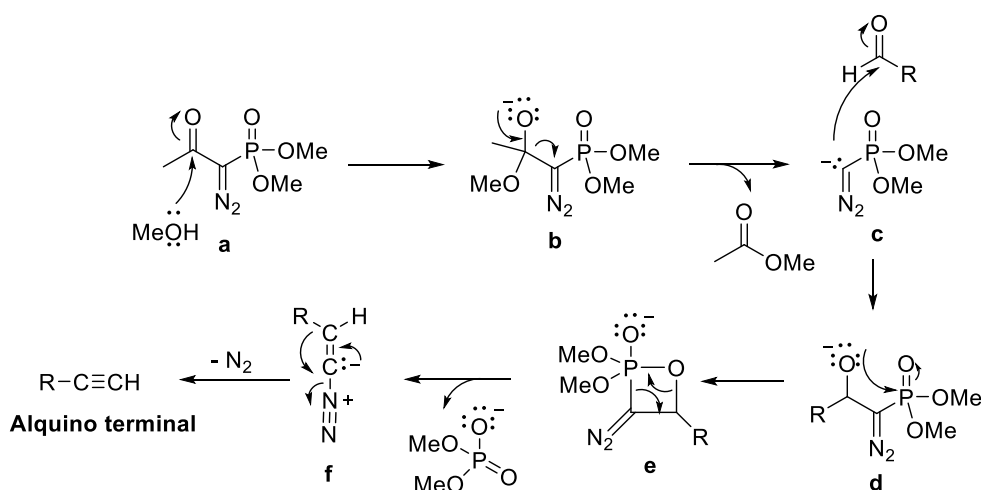
Na última etapa, a azida **60**, obtida com 89% de rendimento pela reação entre cloreto de 4-acetamidobenzenossulfonila (**59**) e azida de sódio, reage com o fosfonato **58**, proporcionando a síntese do reagente de Bestmann-Ohira (**61**) com 45% de rendimento.

Uma vez sintetizado, o reagente de Bestmann-Ohira (**61**) foi utilizado na síntese dos alquinos terminais via reação de Sayferth-Gilbert, usada por Roth e colaboradores (2004). Nessa reação, **61** reagiu com diferentes aldeídos na presença de K_2CO_3 , levando à formação dos alquinos terminais **50a-e**. Os alquinos foram obtidos com rendimentos que variaram entre 40-95% (Esquema 2.8).



Esquema 2.8 - Síntese dos alquinos terminais (**50a-e**).

Uma proposta mecanística para a síntese dos alquinos terminais, via reação de Seyfeth-Gilbert, encontra-se no Esquema 2.9 (Kürti e Czakó, 2005). Inicialmente, o metanol realiza o ataque à carbonila do reagente de Bestmann-Ohira, levando à formação de um alcóxido (**b**). Posteriormente, ocorre a formação de um carbânion (**c**), que, por sua vez, realiza um ataque nucleofílico à carbonila do aldeído, formando um novo alcóxido (**d**). O alcóxido ataca o átomo de fósforo, levando à formação do oxafosfetano (**e**). O oxafosfetano se decompõe, formando um diazoalqueno (**f**) termicamente instável, que se rearranja para formação dos alquinos terminais (Esquema 2.9). Uma característica central desse tipo de reação é que a presença de grupos doadores de elétrons (ativantes) no aldeído leva à formação de alquinos com bons a excelentes rendimentos (Kürti e Czakó, 2005).



Esquema 2.9 - Mecanismo proposto para a formação dos alquinos terminais a partir de aldeídos via reação de Seyfeth-Gilbert.

Todos os alquinos sintetizados (**50a-e**) foram devidamente caracterizados utilizando-se espectroscopia de RMN (^1H e ^{13}C). Os espectros obtidos para os alquinos **50a-e** (Apêndice 2, pg. 178) apresentaram grande semelhança. As variações observadas referem-se aos substituintes presentes no anel aromático proveniente dos diferentes aldeídos utilizados nas reações. Portanto, a discussão feita a seguir é baseada nos dados do composto **50a**, mas pode ser estendida aos demais compostos.

O espectro de RMN de ^1H de **50a** (Figura 2.6, pg. 69) apresenta um simpleto referente ao hidrogênio acetilênico em δ 3,02 e outro simpleto em δ 3,90 referente ao grupo metoxila. Os sinais dos hidrogênios aromáticos são observados como um duplete em δ 6,82 ($J = 8,5$ Hz), um duplete duplo em δ 7,41 ($J = 8,5$ Hz e $J = 2,0$ Hz) e um duplete em δ 7,68 ($J = 2,0$ Hz). No espectro de RMN de ^{13}C de **50a** (Figura 2.7, pg. 69) destacam-se os sinais em δ 56,5,

referente ao grupo metoxila, e os sinais em δ 77,1 e 82,3, referentes aos carbonos da ligação tripla.

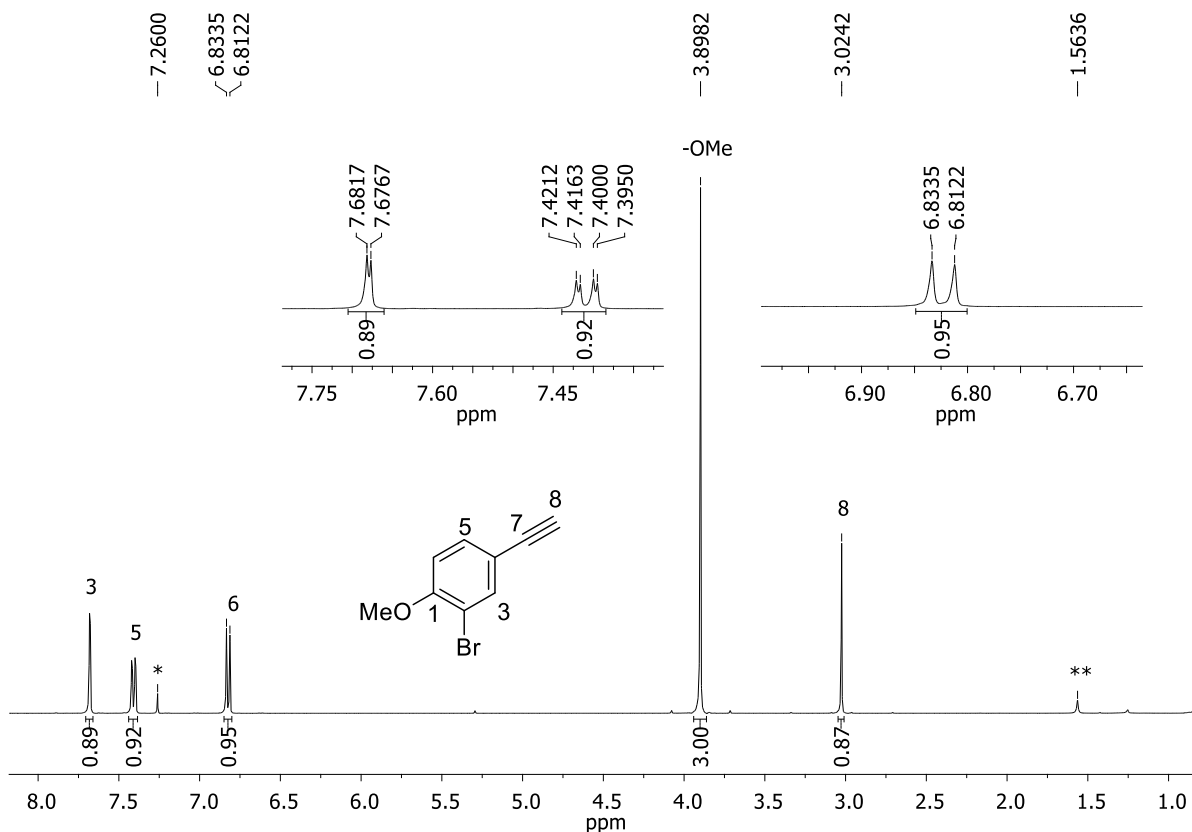


Figura 2.6 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **50a**.

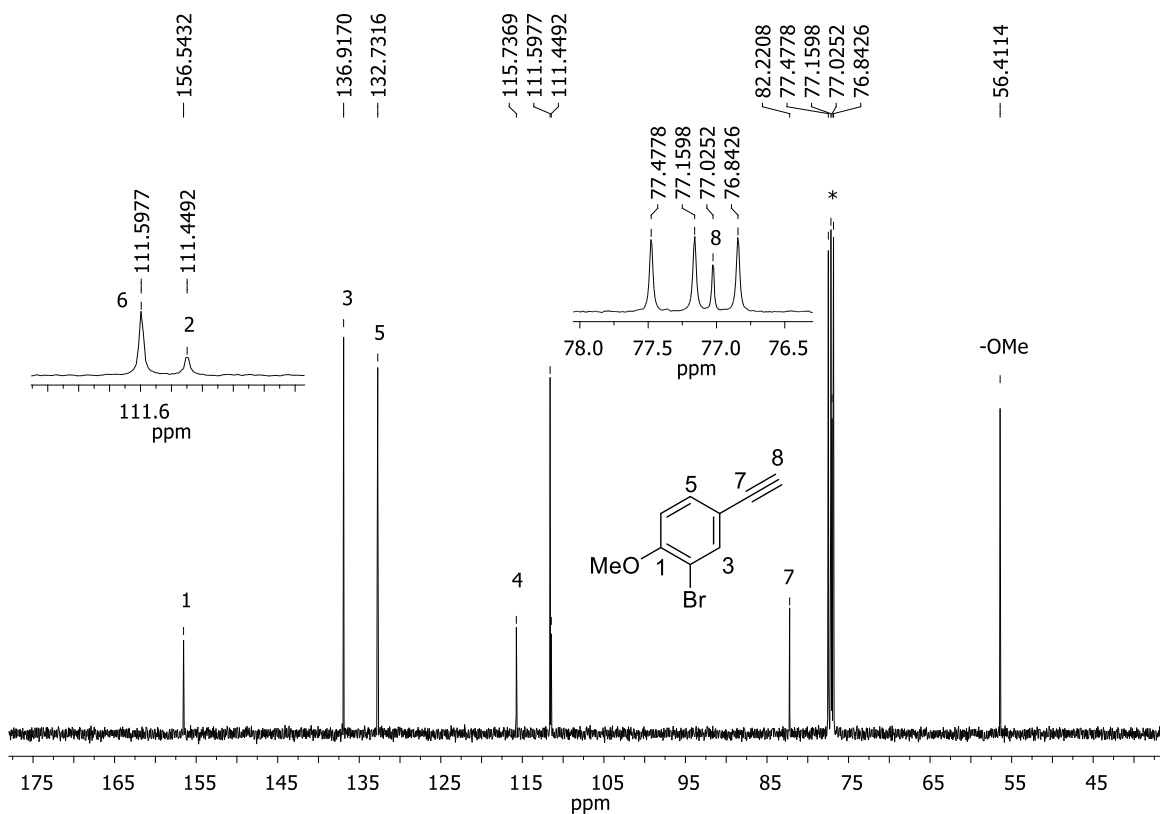
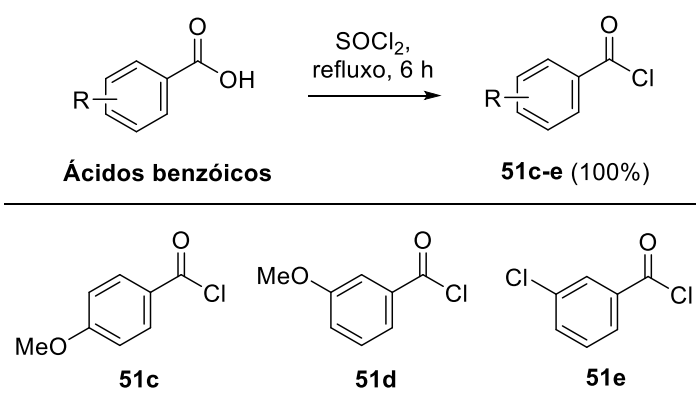


Figura 2.7 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **50a**.

2.3.2. Síntese dos cloretos de ácidos (51c-e)

Neste trabalho foram utilizados cinco diferentes cloretos de ácido. Apenas dois desses cloretos estavam disponíveis no laboratório: o cloreto de 4-bromobenzoíla (**51a**) e o cloreto de 3-bromobenzoíla (**51b**). Os compostos cloreto de 4-metoxibenzoíla (**51c**), cloreto de 3-metoxibenzoíla (**51d**) e cloreto de 3-clorobenzoíla (**51e**) foram sintetizados a partir da reação entre ácidos benzóicos e cloreto de tionila, com rendimentos quantitativos, conforme descrito no Esquema 2.10.



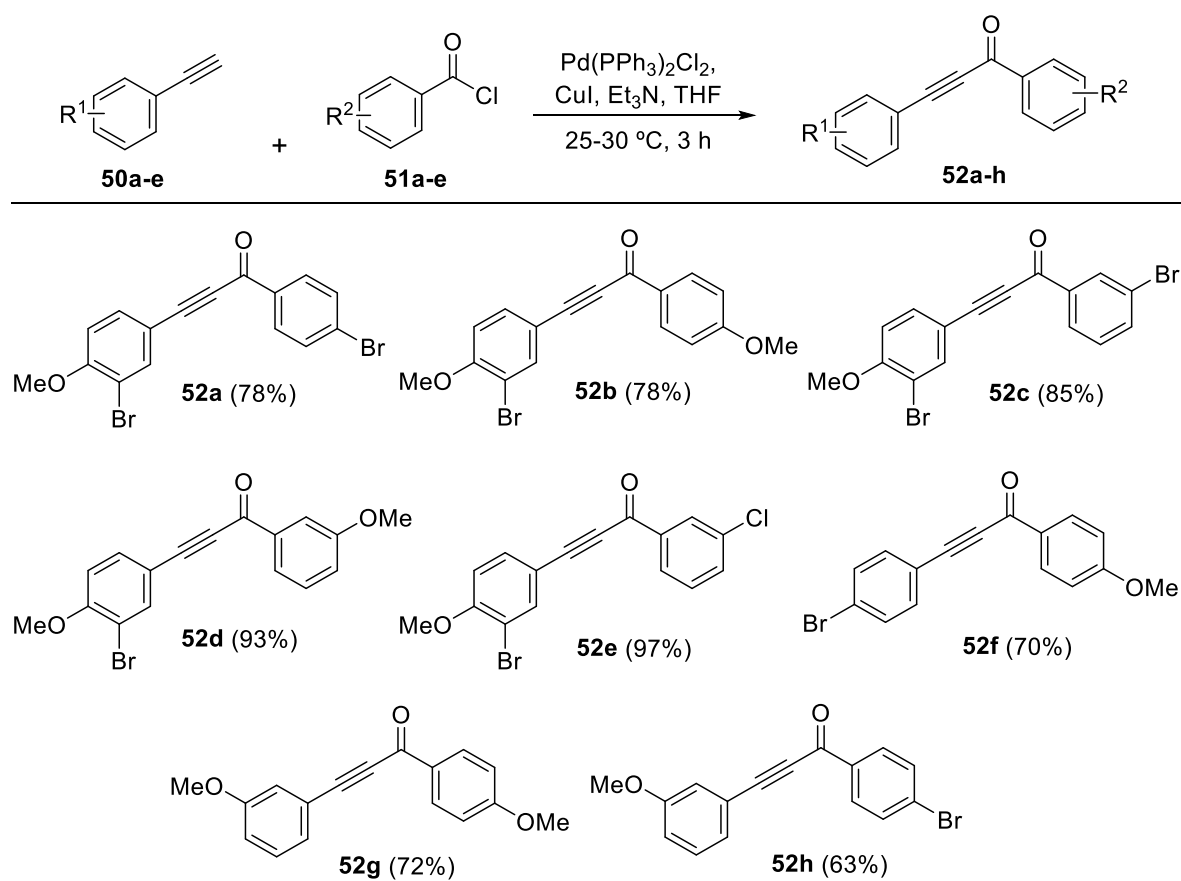
Esquema 2.10 - Síntese dos cloretos de ácido **51c-e**.

Os cloretos não foram caracterizados, pois foram utilizados logo após sua preparação, uma vez que são compostos muito reativos.

2.3.3. Síntese dos cetoalquinos (52a-h)

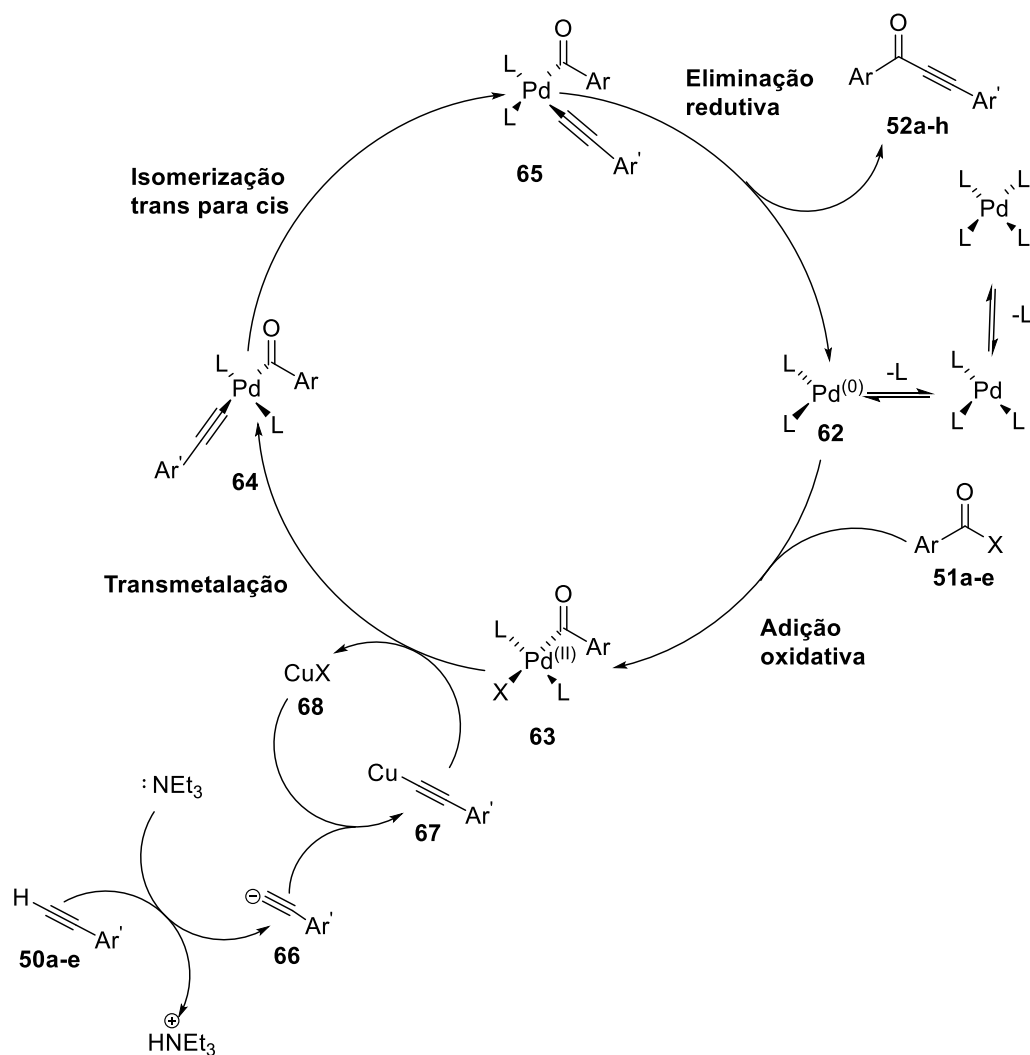
A estratégia utilizada para obtenção dos cetoalquinos foi o acoplamento cruzado de Sonogashira. Esse acoplamento é uma importante reação de formação da ligação carbono-carbono, catalisada por cobre e paládio, e acontece entre alquinos terminais e haletos, principalmente, de arila e vinila (Kürti e Czako, 2005).

Por meio do acoplamento de Sonogashira, cada alquino terminal (**50a-e**) reagiu com um cloreto de ácido diferente (**51a-e**), resultando na formação dos cetoalquinos **52a-h** com rendimentos que variam de 63% a 97% (Esquema 2.11, pg. 71) (Boukouvalas e Thibault, 2015). Nessa etapa não foi observada a formação de produto de homoacoplamento.



Esquema 2.11 - Síntese dos cetoalquinos **52a-h**.

O mecanismo da reação de Sonogashira é representado por um ciclo catalítico (Esquema 2.12, pg. 72) (Karak *et al.*, 2014). Inicialmente, acontece a adição oxidativa do haleto de acila (**51a-e**) ao catalisador de paládio (0) (**62**), formando um complexo tetraédrico de paládio (II) (**63**). A seguir, ocorre uma transmetalacão em que o nucleófilo do alquino é transferido do intermediário de cobre **67** para o complexo de paládio **64** (Pd permanece como Pd (II)). Esse novo intermediário de paládio sofre uma isomerização (Pd permanece como Pd (II)) e finalmente leva à eliminação redutiva, que proporciona a formação dos alquinos desejados **52a-h** e a restituição do complexo de paládio (0). A formação *in situ* do complexo cuproso **67** é possível devido à adição de uma base (trimetilamina) que extrai o próton do alquino terminal, e este reage com o sal de cobre para formar **67**.



Esquema 2.12 - Mecanismo proposto para a reação de acoplamento de Sonogashira (Karak *et al.*, 2014).

Todos os cetoalquinos **52a-h** foram devidamente caracterizados, utilizando-se IV, RMN e espectrometria de massas (Apêndice 2, pg. 178). Os espectros obtidos para os alquinos **52a-h** apresentaram grande semelhança. Portanto, a discussão feita a seguir será baseada nos dados do composto **52a**, mas pode ser estendida aos demais compostos sintetizados.

O espectro no IV de **52a** (Figura 2.8, pg. 73) apresenta a banda de estiramento do grupo carbonila em 1634 cm^{-1} . A banda referente ao estiramento $\text{C}\equiv\text{C}$ é observada em 2191 cm^{-1} e a banda aguda em 1586 cm^{-1} é referente ao estiramento $\text{C}=\text{C}$ de compostos aromáticos (BARBOSA, 2007).

No espectro de RMN de ^1H de **52a** (Figura 2.9, pg. 74) pode-se observar um simpleto em δ 3,96 referente ao grupo metoxila. O duplete referente ao hidrogênio H5' apresenta deslocamento em δ 6,93 ($J_{5',6'} = 8,6\text{ Hz}$). O duplete duplo em δ 7,63 ($J_{6',5'} = 8,6\text{ Hz}$, $J_{6',2'} = 2,0\text{ Hz}$) é referente ao H-6' e o duplete em δ 7,87 ($J_{2',6'} = 2,0\text{ Hz}$) refere-se ao H-2'.

relativo aos hidrogênios H3'' e H5'' foi observado como um duplete, em δ 7,66 ($J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,5$ Hz), assim como os sinais de H2'' e H6'', apresentando deslocamento em δ 8,05 ($J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz). As atribuições foram realizadas com segurança por meio da interpretação dos mapas de contornos COSY (Figura 2.10, pg. 74).

Os sinais no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.11, pg. 75) foram atribuídos com auxílio da técnica bidimensional HSQC (Figura 2.12, pg. 75). O sinal em δ 56,6 refere-se ao carbono da metoxila. Os sinais dos carbonos $\text{C}\equiv\text{C}$ em δ 87,0 e 92,8 referem-se, respectivamente, aos carbonos C-2 e C-1. Os sinais em δ 131,0 e 132,2 referem-se aos carbonos C2''/C6'' e C3''/C5'', respectivamente. O sinal do carbono C1'' é observado em δ 135,8 e o sinal do carbono C4'' é observado em δ 129,7. Os sinais dos carbonos C-1', C-2', C-3', C-5' e C-6' encontram-se em δ 113,2, 138,0, 112,1, 111,9 e 134,4, respectivamente. O sinal do carbono ligado ao grupo metoxila apresenta deslocamento em 158,4 (C4'). O sinal em δ 176,8 é referente ao carbono da carbonila (C-3), que está de acordo com a posição de um grupo carbonila de cetona em sistemas conjugados.

No espectro de massas de **52a** (Figura 2.13, pg. 76) observam-se a presença do pico em m/z 392 ($[\text{M}]^{++}$), consistente com a fórmula molecular do composto ($\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{O}_2$), e os picos em m/z 394 ($[\text{M}+2]^{++}$) e em m/z 396 ($[\text{M}+4]^{++}$) confirmaram a presença de dois átomos de bromo na molécula, devido às abundâncias relativas dos isótopos de ^{79}Br e ^{81}Br (Pavia *et al.*, 2001).

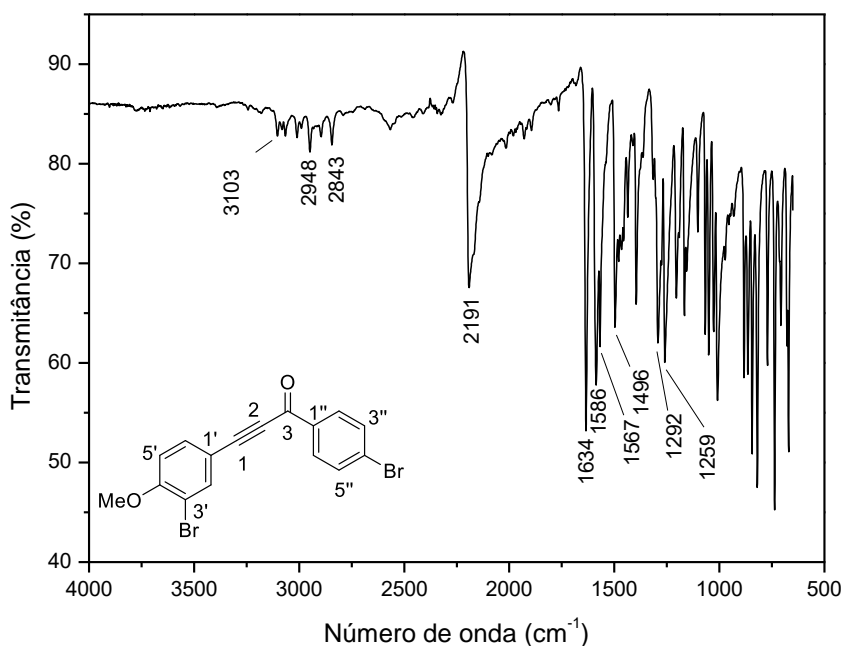


Figura 2.8 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **52a**.

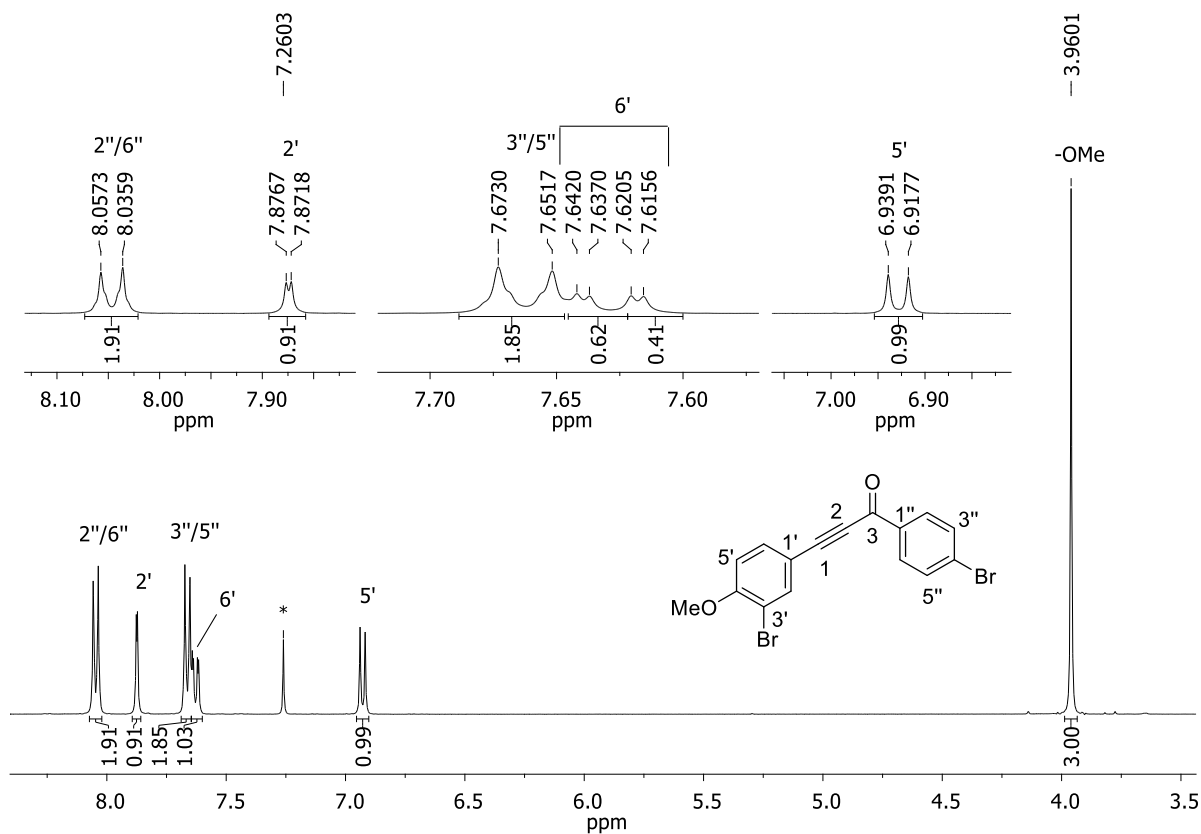


Figura 2.9 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **52a**.

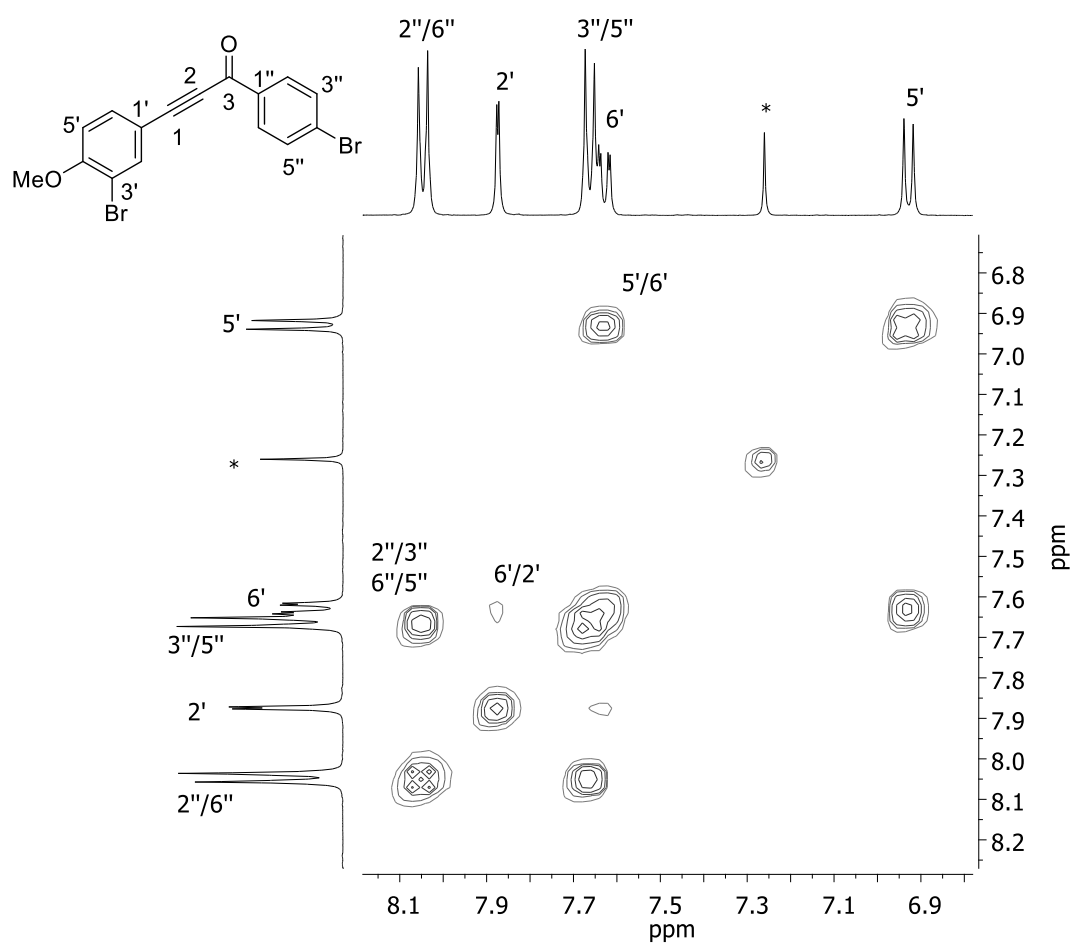


Figura 2.10 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **52a**.

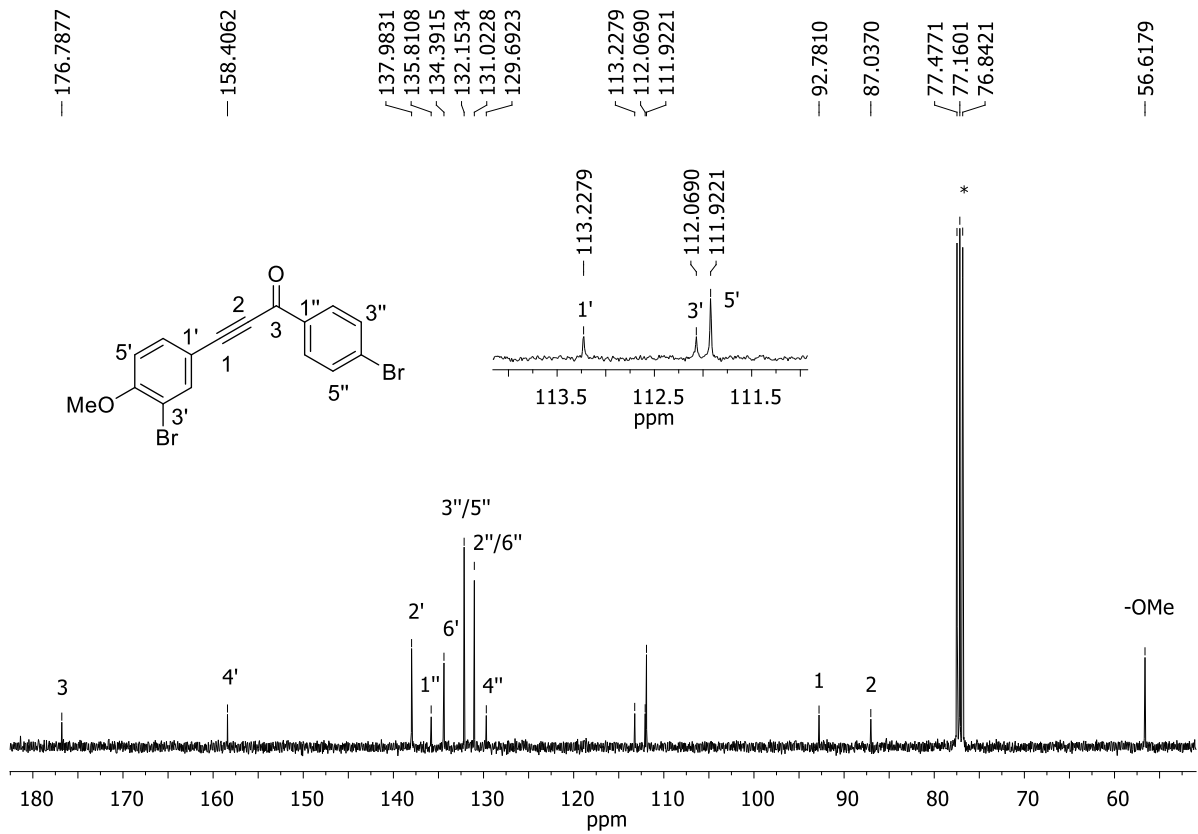


Figura 2.11 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **52a**.

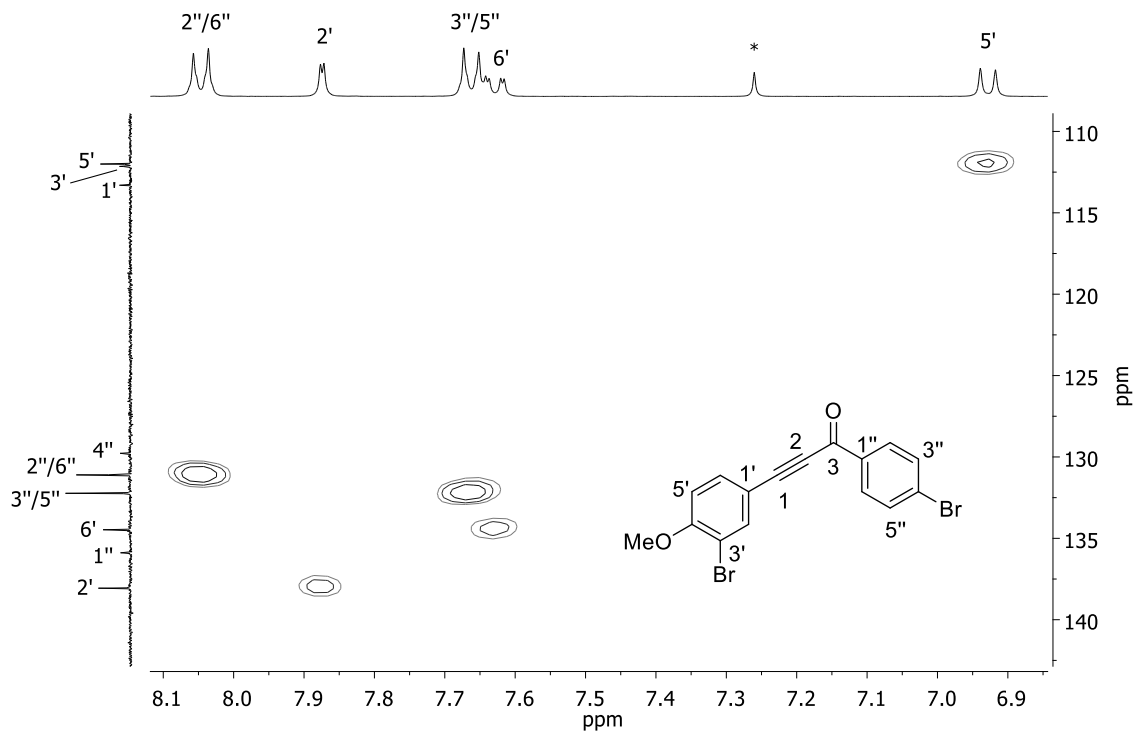


Figura 2.12 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) (ampliado na região dos aromáticos) do composto **52a**.

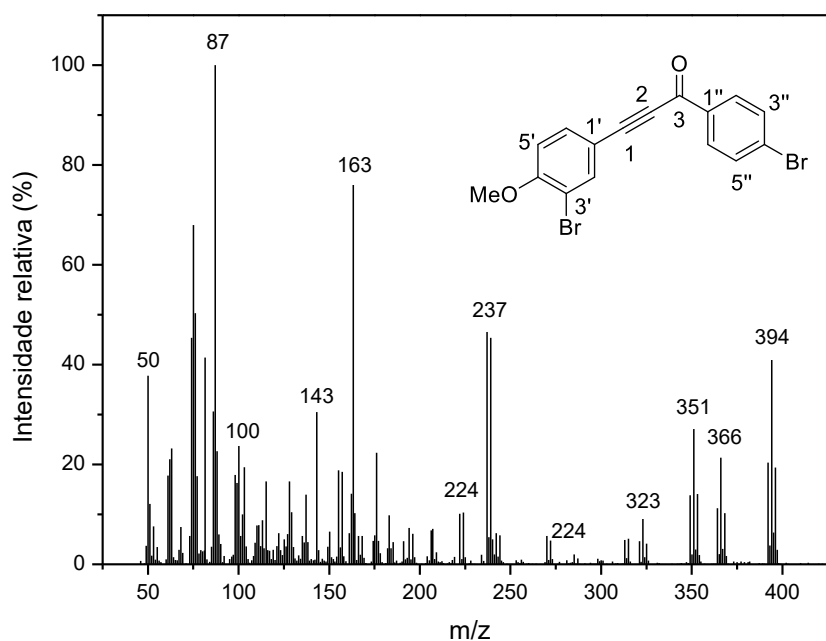
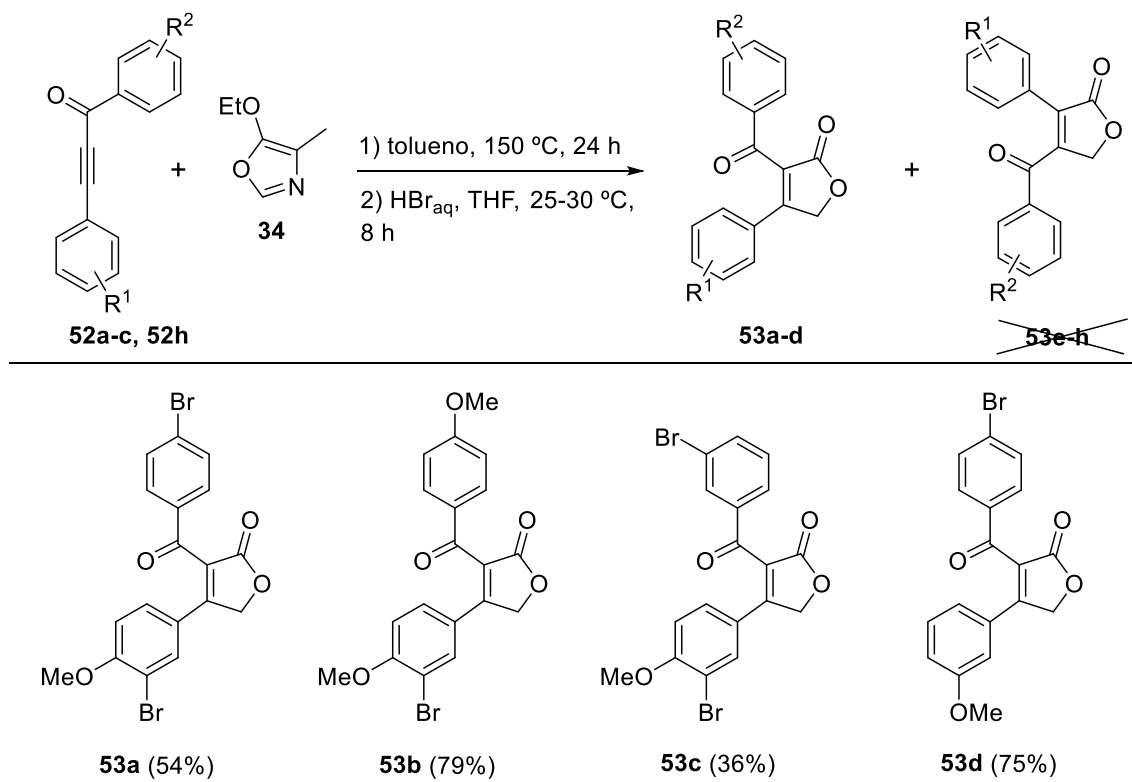


Figura 2.13 - Espectro de massas (IE) do composto **52a**.

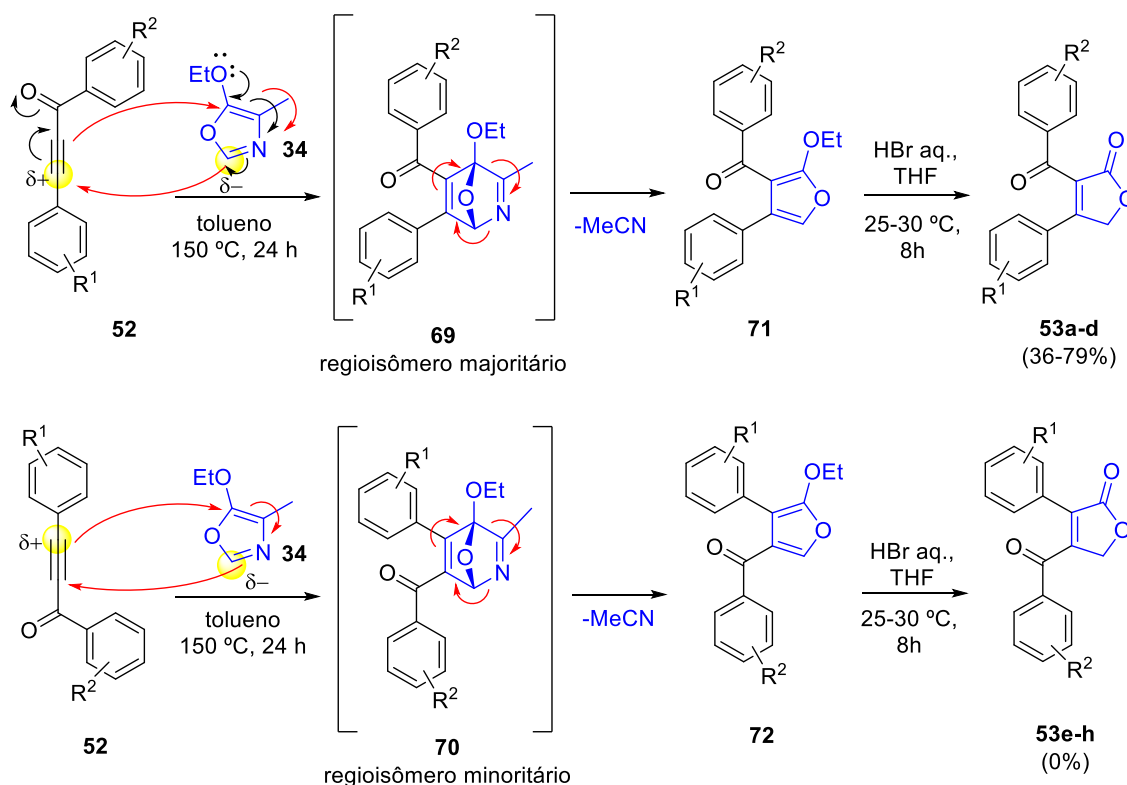
2.3.4. Síntese das furanonas (**53a-d**)

A estratégia utilizada para obtenção das furanonas foi a reação de Diels-Alder/retro-Diels-Alder, seguida de hidrólise, desenvolvida por Boukouvalas e Thibault (2015). Nessa etapa, cada cetoalquino (**52a-c** e **52h**) reagiu com o 5-etóxi-4-metiloxazol (**34**) para obtenção das furanonas **53a-d** (Esquema 2.13, pg. 77). O oxazol **34** (Esquema 2.13, pg. 77) está disponível comercialmente; no entanto, ele foi preparado em nosso laboratório devido ao seu alto custo de comercialização. A síntese de **34** está descrita no item 2.3.4.1 (pg. 83) deste trabalho.



Esquema 2.13 - Síntese das furanonas **53a-d**.

Pode-se observar no Esquema 2.13 que as reações de cicloadição foram altamente regioseletivas, uma vez que foram obtidos apenas um regioisômero como produto final para cada análogo. Essa observação pode ser confirmada no Esquema 2.14 (pg. 78), que apresenta a proposta mecanística desta etapa (reação de Diels-Alder/Retro-Diels-Alder, seguida de hidrólise) e por meio dos mapas de contornos NOESY das furanonas **53a-d** (ex: composto **53a**, Figura 2.17, pg. 81)



Esquema 2.14 - Proposta mecanística da reação de cicloadição/cicloversão de Diels-Alder, seguida de hidrólise, utilizada na síntese das furanonas **53a-d**.

Inicialmente ocorre a cicloadição [4+2] (setas vermelhas, Esquema 2.14) entre o oxazol (dieno) e a inona (dienófilo), seguida da cicloversão (setas vermelhas, Esquema 2.14), com perda de uma molécula de acetonitrila e consequente formação do intermediário **71** (não purificado). Os intermediários (ex: **71** e **72**) foram submetidos à hidrólise ácida e as furanona **53a-d** foram obtidas.

A obtenção majoritária dos regioisômeros **53a-d** era esperada devido à polarização dos contribuintes de ressonância da inona **52** e o oxazol **34**, conforme apresentado no Esquema 2.14, com as setas em preto e as densidades de carga evidenciadas com os círculos amarelos. Pode-se observar que o dienófilo **52** possui um grupo retirador de densidade eletrônica (carbonila), favorecendo o deslocamento de elétrons (setas pretas) e a formação de um carbono com deficiência em elétrons. No entanto, o dieno **34** possui um grupo doador de densidade eletrônica (etoxila), favorecendo o deslocamento de elétrons (setas pretas) e a formação de um carbono rico em elétrons. Dessa forma, os carbonos com maiores coeficientes de carga (orbitalar) reagem formando o produto final regioseletivo (Barber *et al.*, 2018).

Todas as furanonas **53a-d** foram devidamente caracterizadas utilizando-se IV, RMN e massas de alta resolução (Apêndice 2, pg. 178). Os espectros obtidos para **53a-d** apresentaram

grande semelhança. Portanto, a discussão feita a seguir será baseada nos dados do composto **53a**, mas pode ser estendida as demais furanonas sintetizadas.

Para **53a**, a massa molecular exata foi determinada por HRMS (espectrometria de massas de alta resolução), apresentando valor equivalente a 450,9175 (valor calculado = 450,9182). A presença dos grupos carbonila da lactona e da cetona puderam ser confirmadas por IV (Figura 2.14, pg. 80), observando-se as bandas de estiramento do grupo carbonila em 1735 e 1656 cm^{-1} , respectivamente (BARBOSA, 2007).

No espectro de RMN de ^1H do composto **53a** (Figura 2.15, pg. 80), o sinal da metoxila foi observado como um simpleto em δ 3,90. Em δ 5,29, o simpleto integrado para dois hidrogênios foi identificado como sendo os hidrogênios metilênicos H-5. O duplete em δ 6,84 foi atribuído a H-5' ($J_{5',6'} = 8,7$ Hz), o duplete duplo em δ 7,35 atribuído a H-6' ($J_{6',5'} = 8,7$ Hz, $J_{6',2'} = 2,2$ Hz), e o duplete em δ 7,58 foi atribuído a H-2' ($J_{2',6'} = 8,7$ Hz). O sinal relativo aos hidrogênios H3'' e H5'' foram observados como um duplete, em δ 7,60 ($J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,5$ Hz), assim como os sinais de H2'' e H6'', apresentando deslocamento em δ 7,77 ($J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,5$ Hz). Por meio da interpretação dos mapas de contornos COSY (Figura 2.16, pg. 81) e NOESY (Figura 2.17, pg. 81), as atribuições foram realizadas com segurança. A regioselectividade do composto **53a** foi confirmada pelas correlações apresentadas pelos hidrogênios H-5/H-2' e H-5/H-6' no mapa de contornos NOESY.

A interpretação do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.18, pg. 82) foi realizada com auxílio do espectro DEPT 135 (Figura 2.19, pg. 82) e a técnica bidimensional HMQC (Figura 2.20, pg. 83). O sinal da metoxila é observado em δ 56,6 e o sinal em δ 70,6 refere-se ao carbono C-5 (C sp^2 confirmado no espectro DEPT 135). Os sinais em δ 112,3, 112,9, 122,6 e 124,2 referem-se aos carbonos C-5', C-3', C-3 e C-1', respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos C-6', C-4'', C2''/C6'' e C3''/C5'' são observados em δ 129,2, 130,3, 131,1 e 132,5 e os sinais referentes aos carbonos C2' e C1'' em δ 132,7 e 134,4, respectivamente. Os núcleos mais desblindados em δ 159,0 e 160,1 referem-se aos carbonos C-4 e C-4'. O sinal da carbonila da lactona é observado em δ 170,7 e o sinal da carbonila da cetona em δ 190,5.

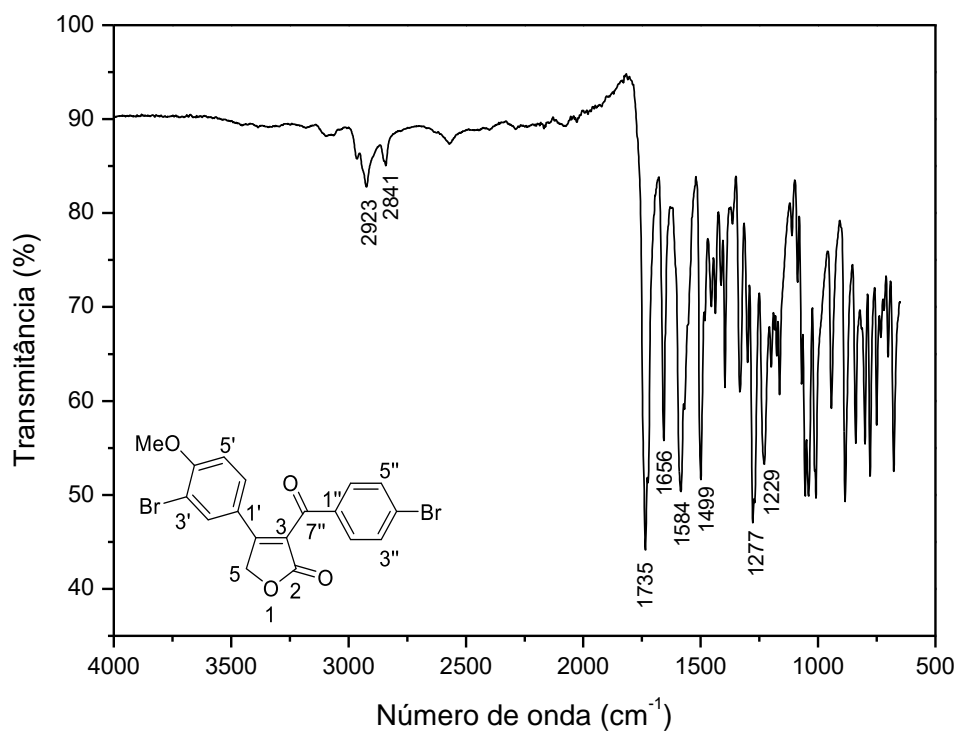


Figura 2.14 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **53a**.

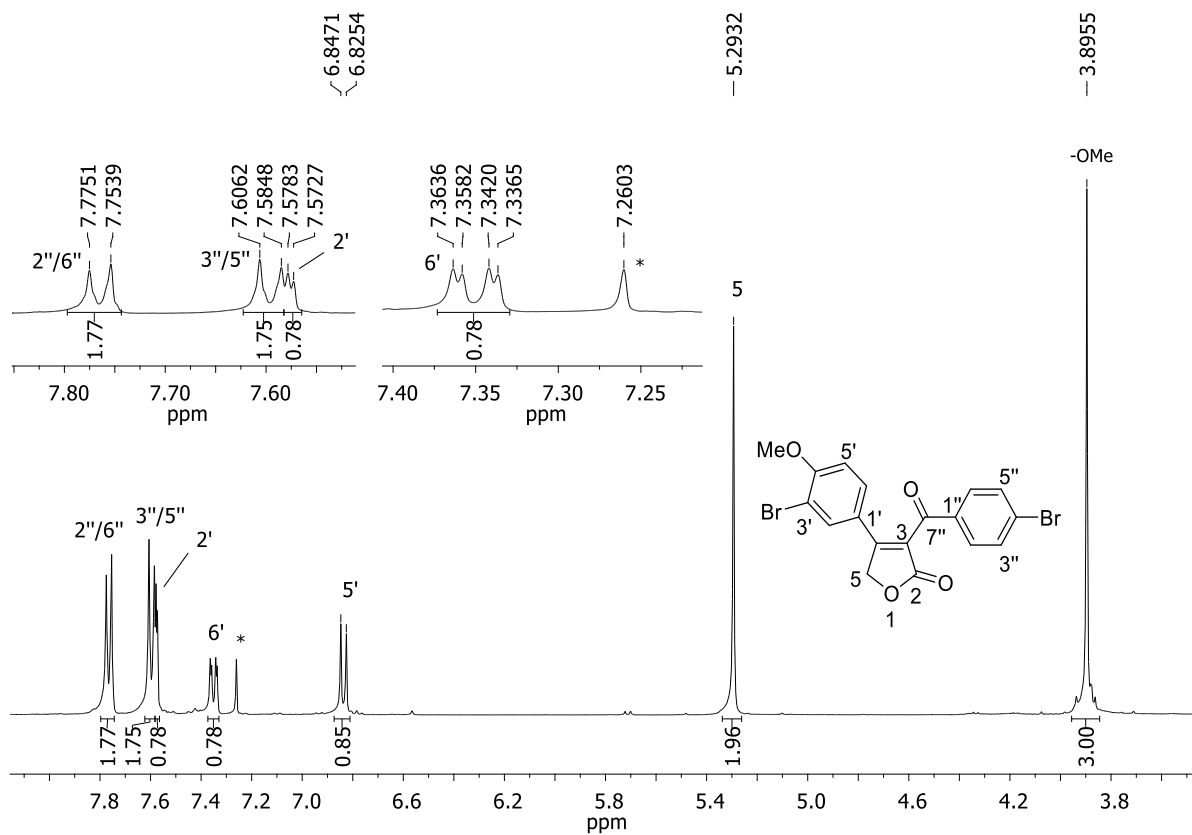


Figura 2.15 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **53a**.

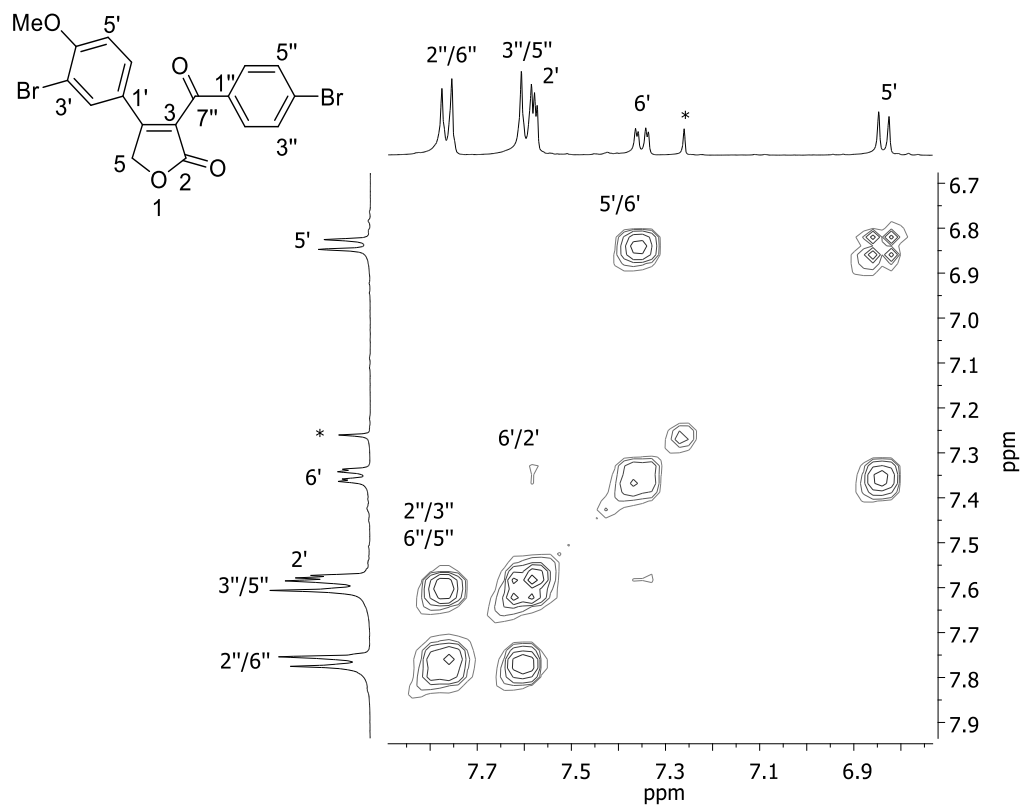


Figura 2.16 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **53a**.

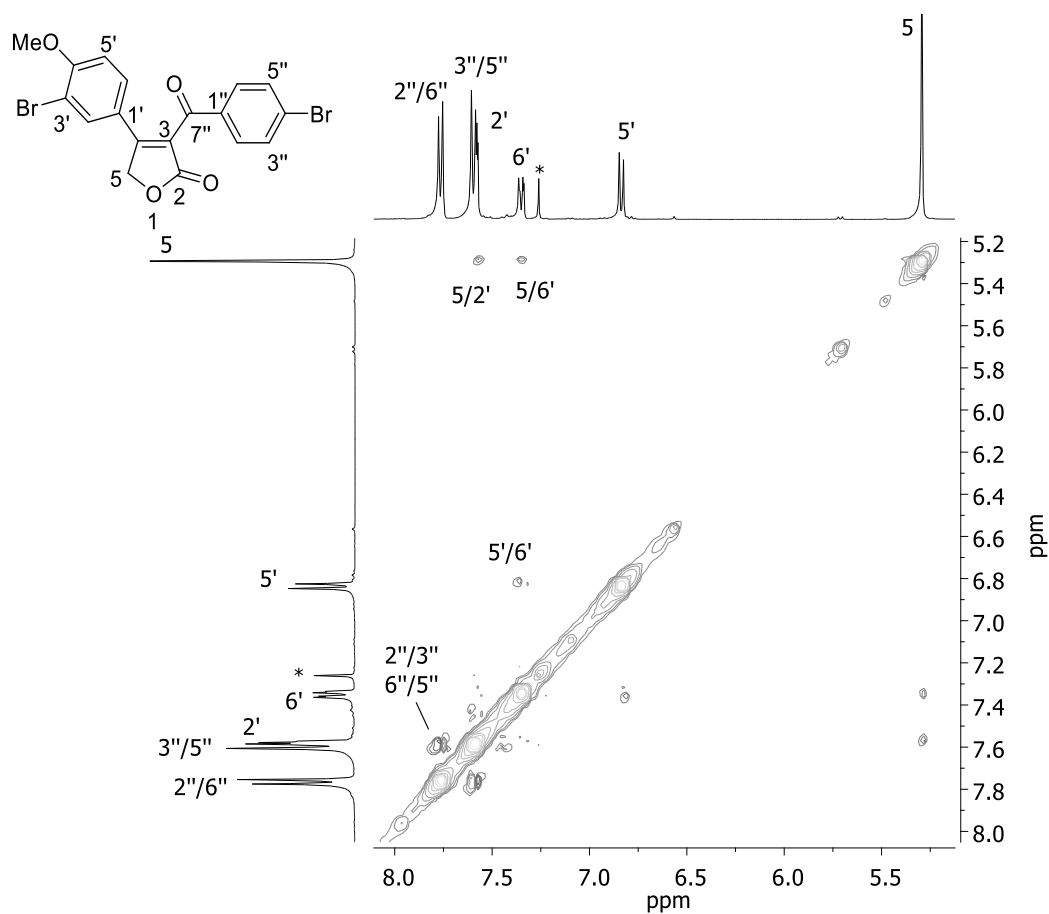


Figura 2.17 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl₃) do composto **53a**.

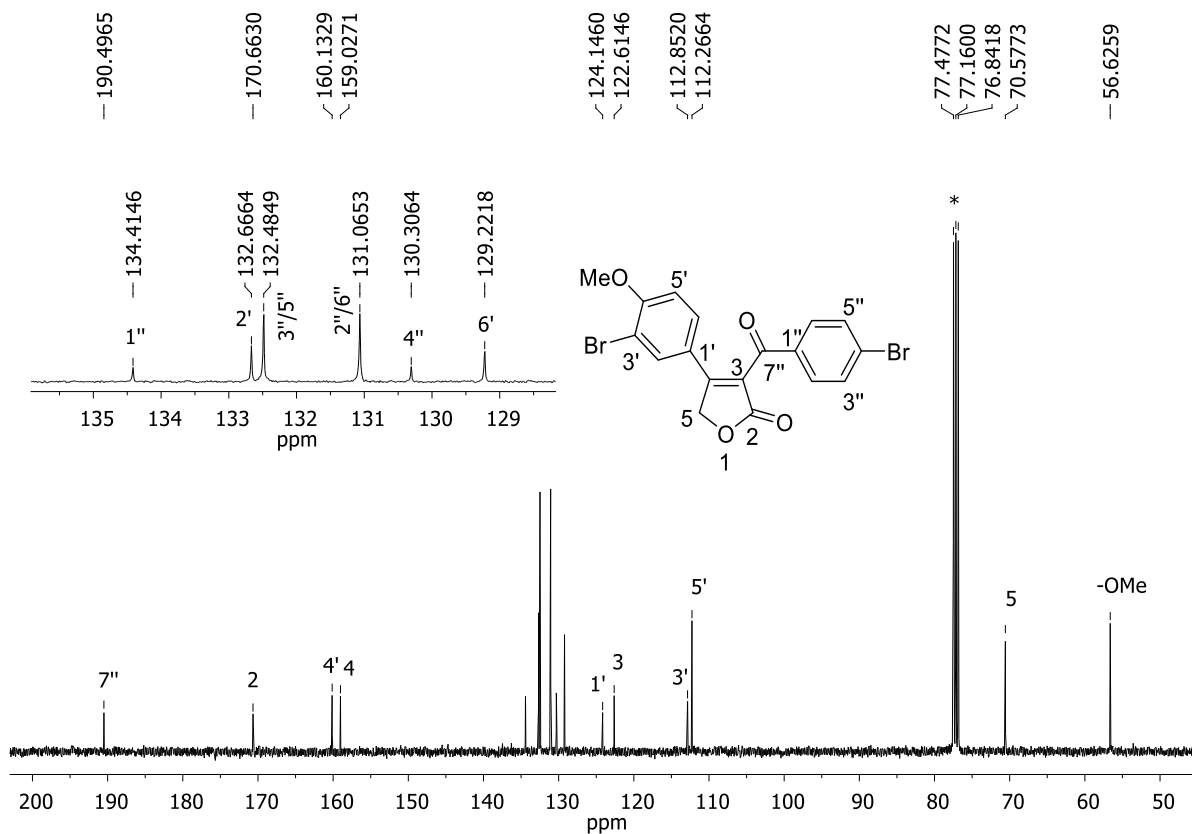


Figura 2.18 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 53a.

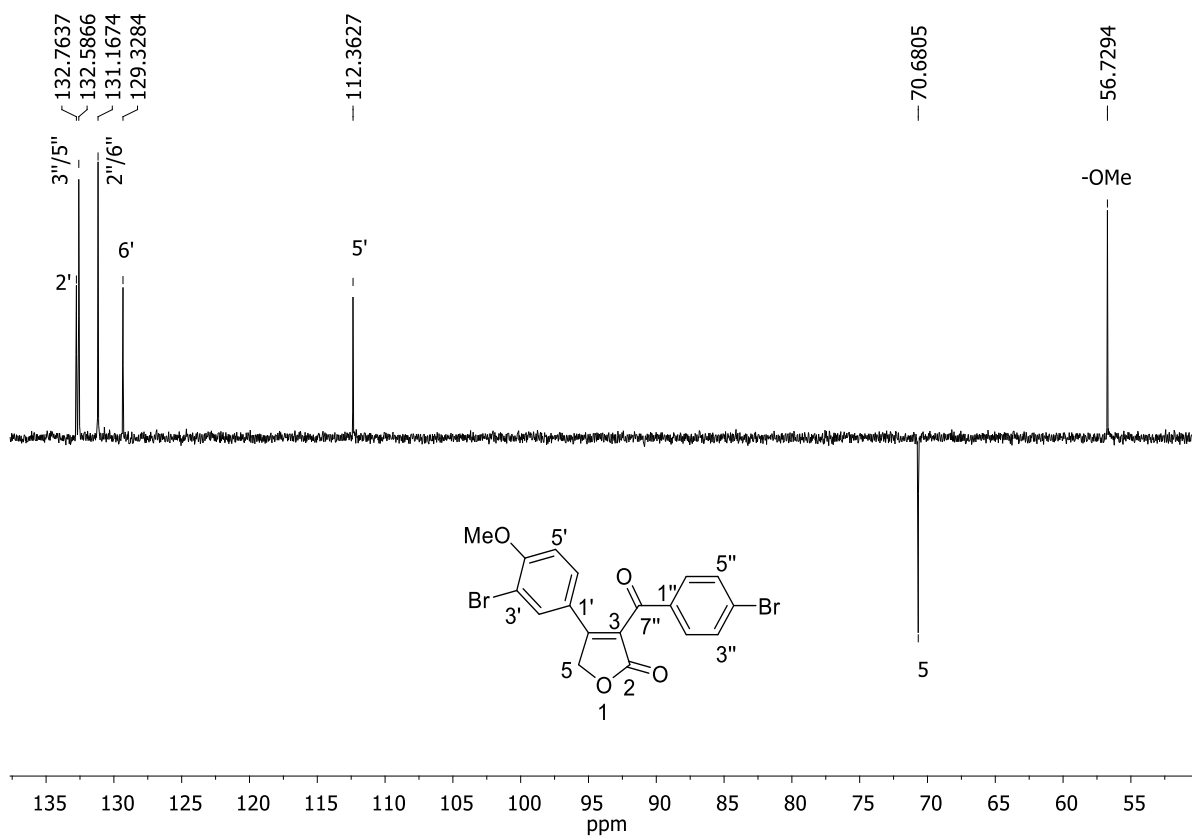


Figura 2.19 - Espectro DEPT 135 (400 MHz, CDCl_3) do composto 53a.

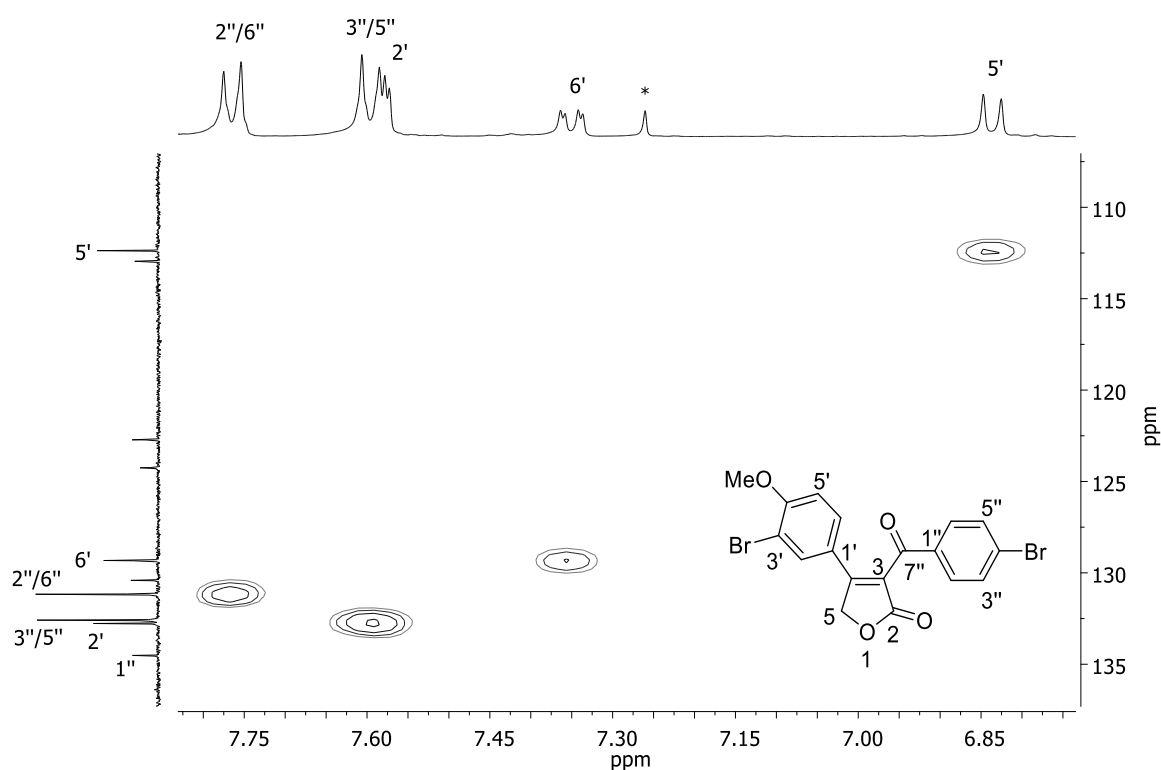
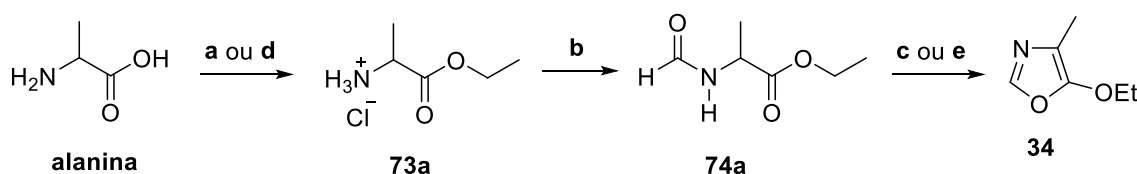


Figura 2.20 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, CDCl_3) (ampliado na região dos aromáticos) do composto **53a**.

2.3.4.1. Síntese do 5-etóxi-4-metiloxazol (**34**)

A estratégia inicial para preparação do 5-etóxi-4-metiloxazol (**34**) foi a utilização da metodologia desenvolvida por Dean e colaboradores (2008). No entanto, 2 das 3 etapas propostas por esse grupo foram alteradas, a fim de melhorar o rendimento ou o tempo de reação das mesmas. No Esquema 2.15 são apresentadas as etapas reacionais utilizadas por Dean *et al.*, (2008) (condições e reagentes **a-c**) e as etapas alternativas **d** (Kantharaju e Babu, 2006) e **e** (Caulkins *et al.*, 2014) utilizadas para a preparação do 5-etóxi-4-metiloxazol (**34**).

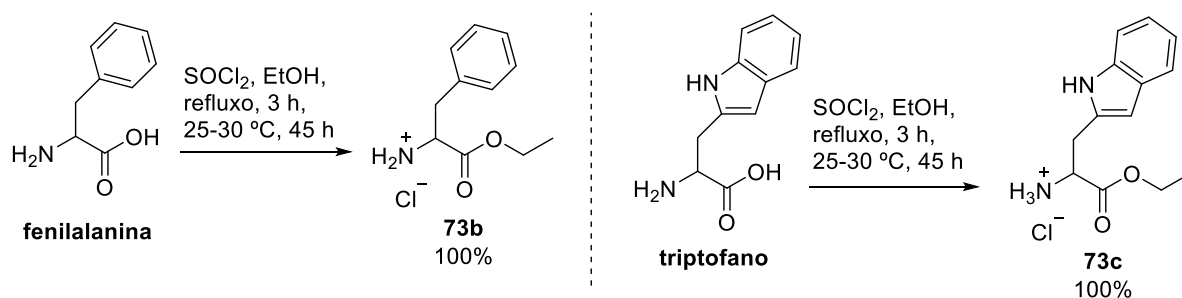


Esquema 2.15 - Reagentes e condições: (a) SOCl_2 , EtOH, refluxo, 3 h, 25-30 °C, 45 h, 100%; (b) $\text{HC}(\text{OEt})_3$, refluxo, 2 h, 93 %; (c) P_2O_5 , MgO, celite, CHCl_3 , refluxo, 20 h, 25%; (d) SOCl_2 , EtOH, ultrassom, 25-30 °C, 30 min, 100%; (e) P_2O_5 , DCM, refluxo, 24 h, 89%.

A primeira etapa envolveu a obtenção do cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (**73a**) baseado na metodologia proposta por Dean e colaboradores (2008) (Esquema 2.15, etapa **a**; pg. 83). O composto **73a** foi obtido por meio da esterificação da alanina, utilizando EtOH e SOCl₂. Após 48 horas de reação (3 h na temperatura do ambiente (25-30 °C) e 45 h sob refluxo), o produto foi obtido com rendimento quantitativo.

Nesta etapa foram encontradas algumas dificuldades, como eluente adequado para CCD, revelador eficiente e purificação do produto obtido. Após diversas tentativas encontrou-se a mistura de eluentes adequada (ButOH:AcOH:H₂O na proporção 50:20:5 v/v), o revelador adequado (solução de ninidrina 0,1 mol/L em acetona), e a recristalização utilizando CH₂Cl₂:Hex (9:1 v/v) que permitiu a obtenção do produto (**73a**) com elevado grau de pureza.

Utilizando-se essa metodologia de Dean *et al.* (2008), também foram sintetizados outros 2 cloridratos (Esquema 2.16). O composto **73b** foi obtido a partir da fenilalanina, **73c** a partir do triptofano, e ambos foram obtidos com rendimento quantitativo. Esses compostos (**73b-c**) foram sintetizados com o intuito de formar um oxazol mais estável, uma vez que sua cadeia carbônica é maior.

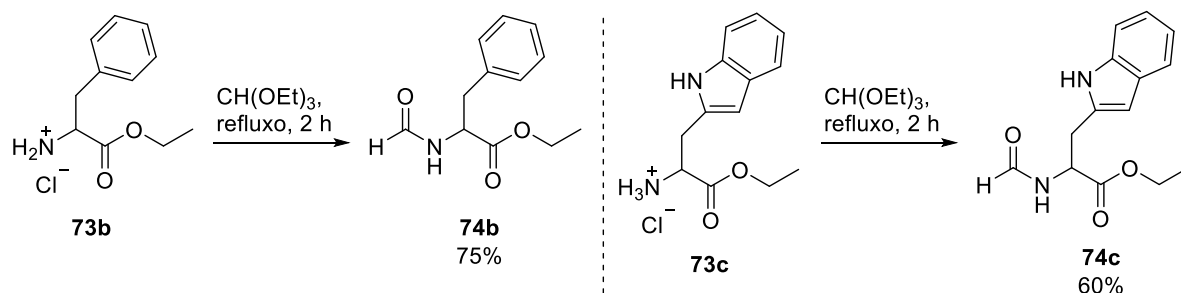


Esquema 2.16 - Síntese dos compostos **73b-c**.

Estudos bibliográficos chamaram atenção para uma nova metodologia de síntese do composto **73a**, e a mesma foi testada. Essa estratégia foi empregada por Kantharaju e Babu (2006) e consistiu no emprego da energia do ultrassom durante um curto tempo de reação (30 min.). Diante disso, o composto **73a** foi obtido como um sólido branco com rendimento quantitativo, sem necessidade de purificação (Esquema 2.15, etapa **d**, pg. 83).

A segunda etapa para obtenção do oxazol consistiu na síntese do composto **74a** a partir do cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (**73a**), usando ortoformiato de trietila durante 2 horas sob refluxo (Dean *et al.*, 2008). Após purificação através de coluna cromatográfica (Hex:AcOEt, 7:3 v/v), o produto foi obtido como um óleo amarelado com ótimo rendimento (93%) (Esquema 2.15, pg. 83).

Utilizando-se essa metodologia, também foram sintetizados outros 2 compostos (Esquema 2.17). A partir de **73b** foi obtido **74b** com 75% de rendimento, e a partir **73c** foi obtido **74c** com 60% de rendimento.

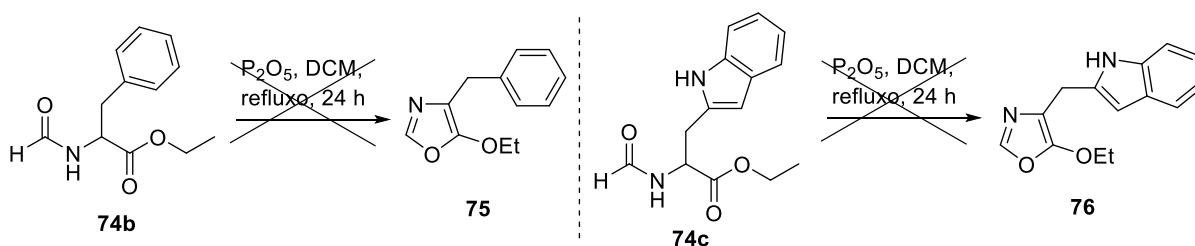


Esquema 2.17 - Síntese dos compostos **74b-c**.

A terceira etapa consistiu na preparação do oxazol (**34**). Primeiramente, foi testada a metodologia descrita por Dean e colaboradores (2008), que consiste na reação do composto **74a** com pentóxido de fósforo, na presença de óxido de magnésio e celite, usando-se clorofórmio como solvente. Embora tenha sido possível verificar que houve o consumo completo do material de partida (**74a**), via monitoração da reação por CCD e revelação em luz UV (254 nm), foram encontrados diversos problemas ao longo da elaboração da reação, ocasionados pelo excesso de celite e óxido de magnésio. Dessa forma, após purificação em coluna cromatográfica, o oxazol (**34**) foi obtido com baixo rendimento (25%) (Esquema 2.15, etapa **c**; pg. 83).

Diante do baixo rendimento obtido, foi testada a metodologia proposta por Caulkins *et al.* (2014). Nessa metodologia, a reação foi mantida sob refluxo por 24 horas na ausência de celite e MgO, utilizando diclorometano como solvente. Dessa forma, o oxazol **34** foi obtido com rendimento quantitativo, sendo utilizado na reação de Diels-Alder/retro-Diels-Alder sem qualquer tipo de purificação (Esquema 2.15, etapa **e**; pg. 83).

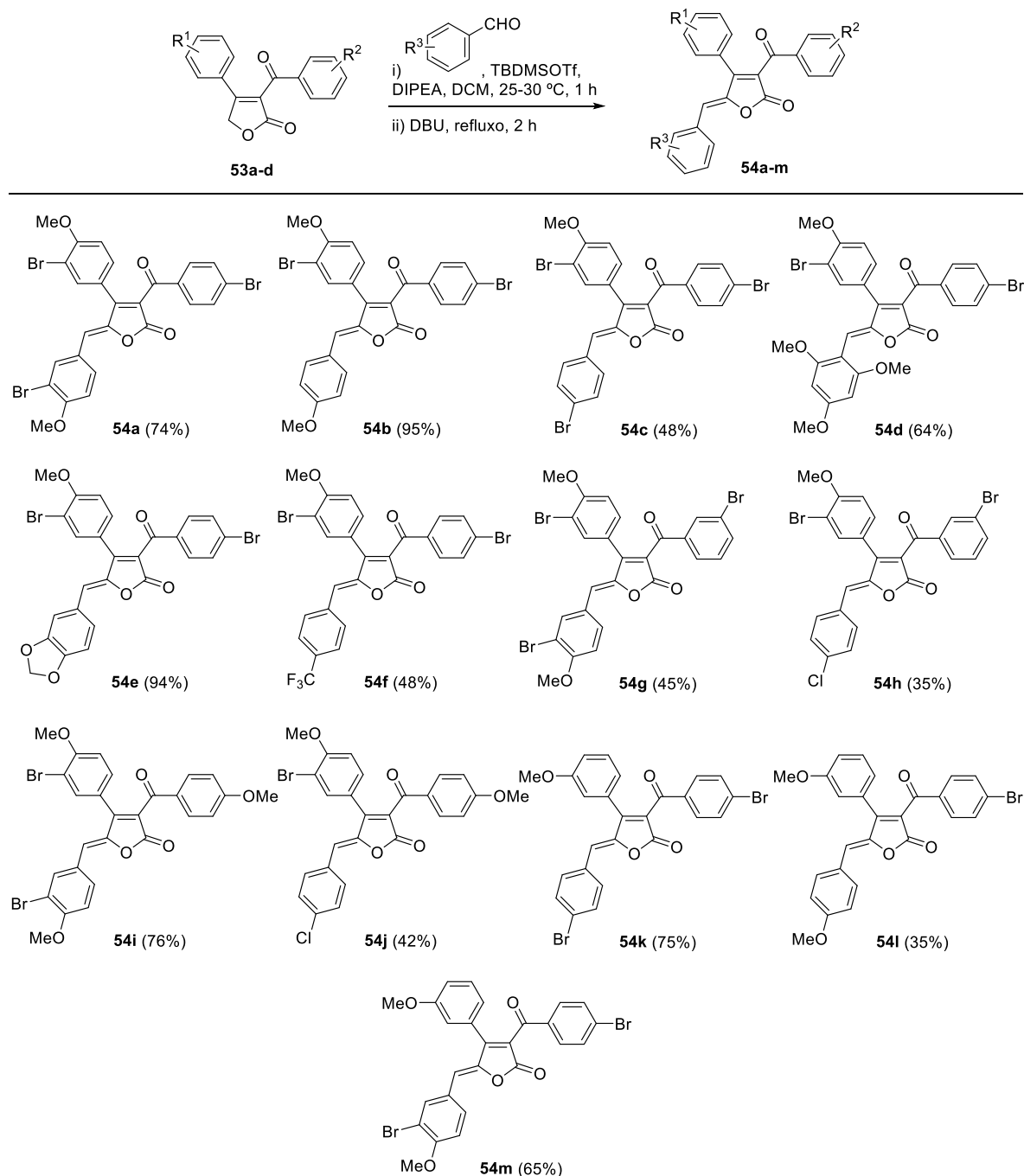
Utilizando-se a metodologia de Caulkins *et al.* (2014), tentou-se sintetizar outros 2 oxazóis (**75** e **76**), a partir de **74b-c** (Esquema 2.18). No entanto, esses outros 2 oxazóis não foram formados, muito provavelmente devido ao impedimento estérico encontrado durante a ciclização da molécula.



Esquema 2.18 - Tentativa de síntese dos compostos **75** e **76**.

2.3.5. Síntese dos análogos aos cadiólídeos metoxilados (54a-m)

Para obtenção dos análogos aos cadiólídeos metoxilados **54a-m** foi utilizada uma reação de adição aldólica, seguida de eliminação, relatada por Boukouvalas *et al.* (2007). Nessa etapa, as furanonas **53a-d** reagiram, separadamente, com diferentes aldeídos na presença de TBDMSOTf, DIPEA e DBU, para formação dos análogos **54a-m** com configuração Z (Esquema 2.19).



Esquema 2.19 – Síntese dos análogos aos cadiólídeos metoxilados **54a-m**.

Uma proposta de mecanismo para essa metodologia de alquilidenação e a justificativa para sua alta estereosseletividade (*Z*) encontram-se no Capítulo 1 (item 1.3.1.1, pg. 14; Esquema 1.6, pg. 15).

Todos os análogos **54a-m** foram devidamente caracterizados utilizando-se IV, RMN e massas de alta resolução (Apêndice 2, pg. 178). Os espectros obtidos para **54a-m** apresentaram grande semelhança. Portanto, a discussão feita a seguir será baseada nos dados do composto **54a**, mas pode ser estendida aos demais análogos sintetizados.

Para **54a**, a massa exata encontrada experimentalmente foi igual a 646,8699 u.m.a., correspondente à fórmula molecular $C_{26}H_{18}Br_3O_5 [M+H]^+$, cujo valor de massa calculado é 646,8693 u.m.a. A presença dos grupos carbonila da lactona e da cetona foram confirmadas por IV (Figura 2.21, pg. 88), observando-se uma banda larga em 1756 (Barbosa, 2007).

No espectro de RMN de 1H de **54a** (Figura 2.22, pg. 88), os sinais da 2 metoxilas foram observados como simpletos em δ 3,93 e 3,96, respectivamente. O simpleto em δ 6,14 foi atribuído ao hidrogênio H-6. Os dupletos em δ 6,92 e 6,95 provenientes de acoplamento na posição orto foram atribuídos a H-5' ($J_{5',6'} = 8,5$ Hz) e H-5''' ($J_{5''',6'''} = 8,7$ Hz). Os dupletos em δ 7,61 e 7,99 provenientes de acoplamento na posição *meta* foram atribuídos a H-2' ($J_{2',6'} = 1,9$ Hz) e H-2''' ($J_{2''',6'''} = 1,8$ Hz). Os dupletos duplos em δ 7,35 e 7,86 foram atribuídos a H-6' ($J_{6',5'} = 8,5$ Hz; $J_{6',2'} = 1,9$ Hz) e H-6''' ($J_{6''',5'''} = 8,7$ Hz; $J_{6''',2'''} = 1,8$ Hz). O sinal relativo aos hidrogênios H3'' e H5'' foi observado como um duplete, em δ 7,55 ($J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$ Hz), assim como os sinais de H2'' e H6'', apresentando deslocamento em δ 7,67 ($J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$ Hz). Por meio da interpretação do mapa de contornos *COSY* (Figura 2.23, pg. 89) e *NOESY* (Figura 2.24, pg. 89), as atribuições foram realizadas com segurança. A configuração *Z* do composto **54a** foi confirmada pelas correlações apresentadas pelos hidrogênios H-6/H-2' e H-6/H-6' no mapa de contornos *NOESY*.

Os sinais no espectro de RMN de ^{13}C de **54a** (Figura 2.25, pg. 90) foram atribuídos com auxílio da técnica bidimensional HMQC (Figura 2.26, pg. 90). O sinal em δ 56,6 refere-se às duas metoxilas. Os sinais em δ 122,2, 146,3 e 156,9 são referentes aos carbonos do anel lactônico C-3, C-5 e C-4, respectivamente, e o sinal em δ 116,5 refere-se ao carbono C-6, ligado a ligação dupla exocíclica. Os carbonos que se encontram nos anéis aromáticos apresentam sinais em δ 112,0, 112,2, 112,5, 112,5, 123,1, 126,8, 129,7, 130,1, 131,1, 132,1, 132,2, 134,0, 135,0 e 136,2, e referem-se aos carbonos C-5', C-5''', C-3', C-3''', C-4'', C-1''', C-1', C-6', C-2''/6'', C-3''/5'', C-6''', C-2', C-1'', C-2''', respectivamente. Os sinais dos carbonos ligados a grupos OMe apresentam deslocamentos em δ 157,6 (C4') e 158,0

(C4'''). O sinal da carbonila da lactona é observado em δ 166,0 e o sinal da carbonila da cetona em δ 188,4.

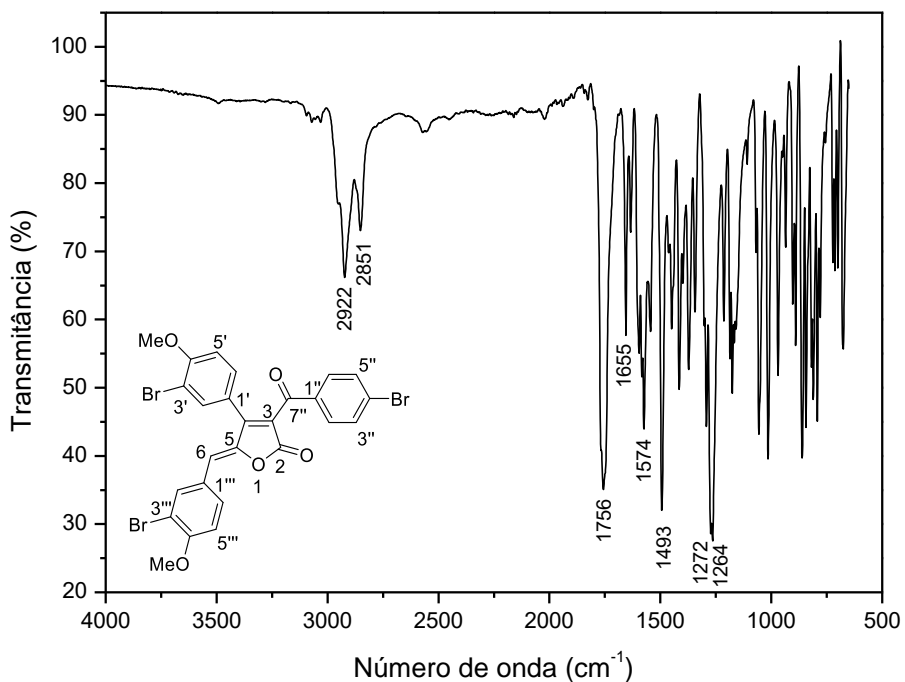


Figura 2.21 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54a**.

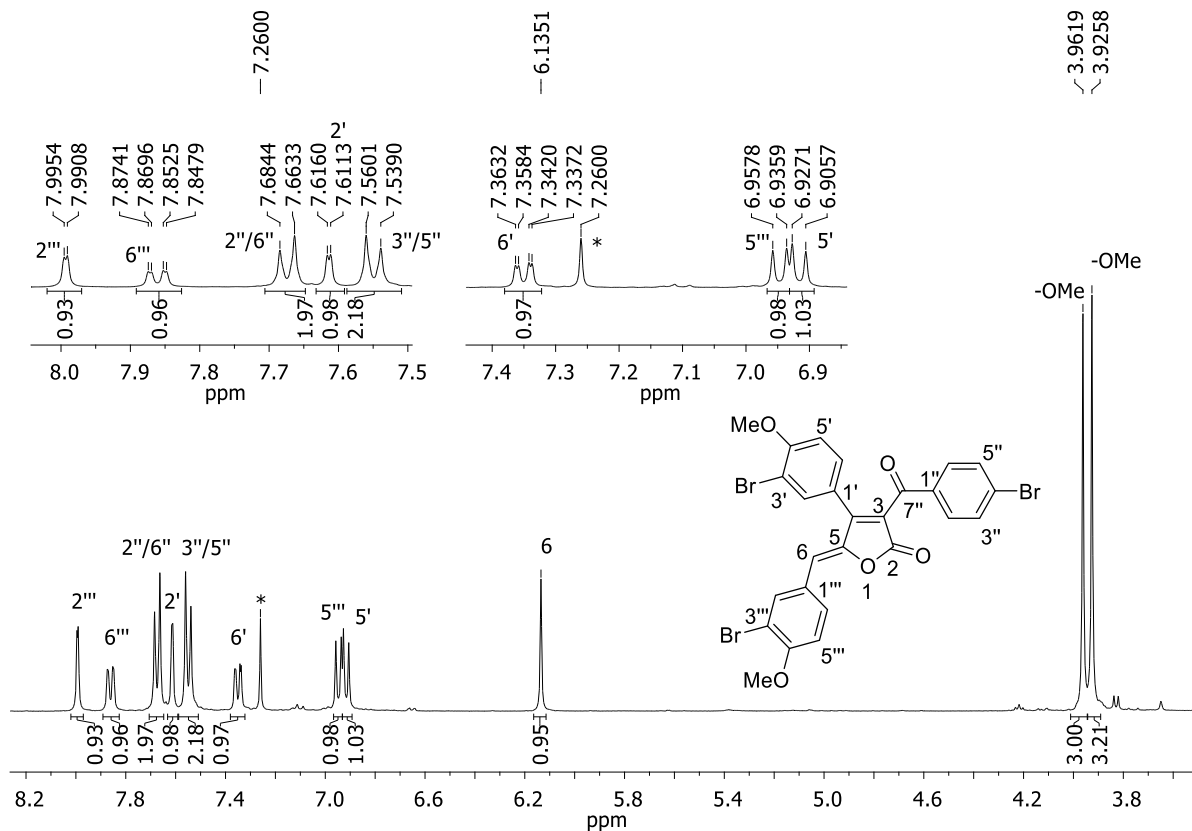


Figura 2.22 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **54a**.

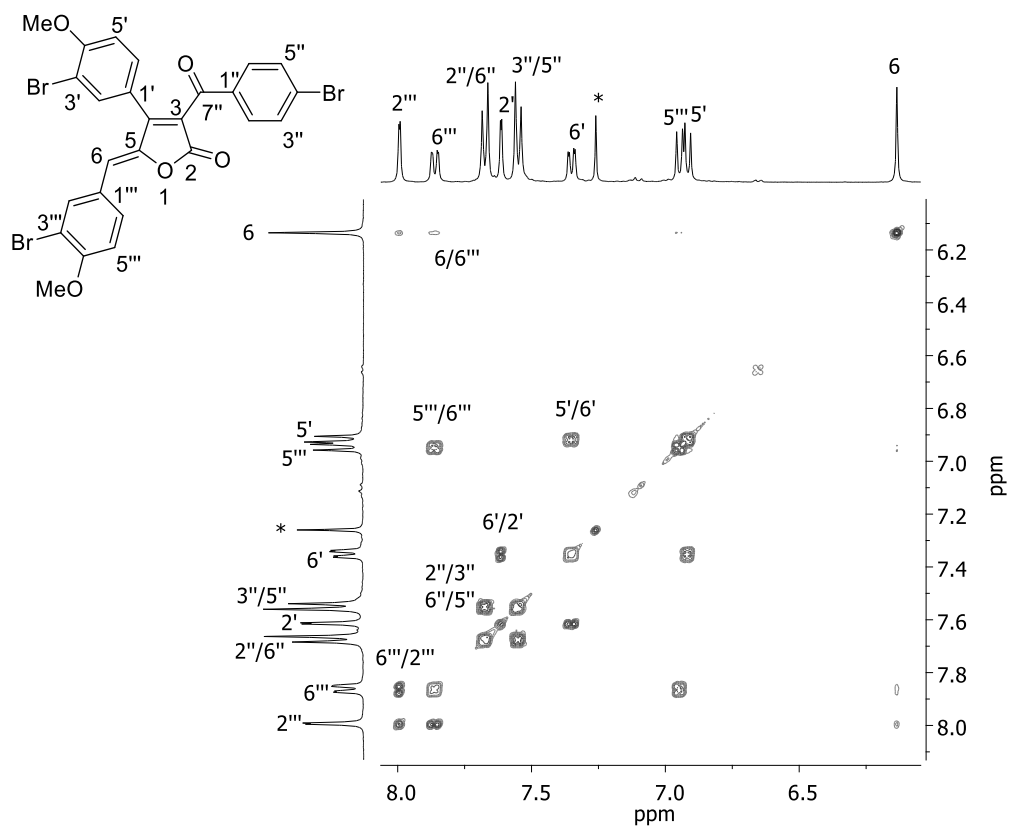


Figura 2.23 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54a**.

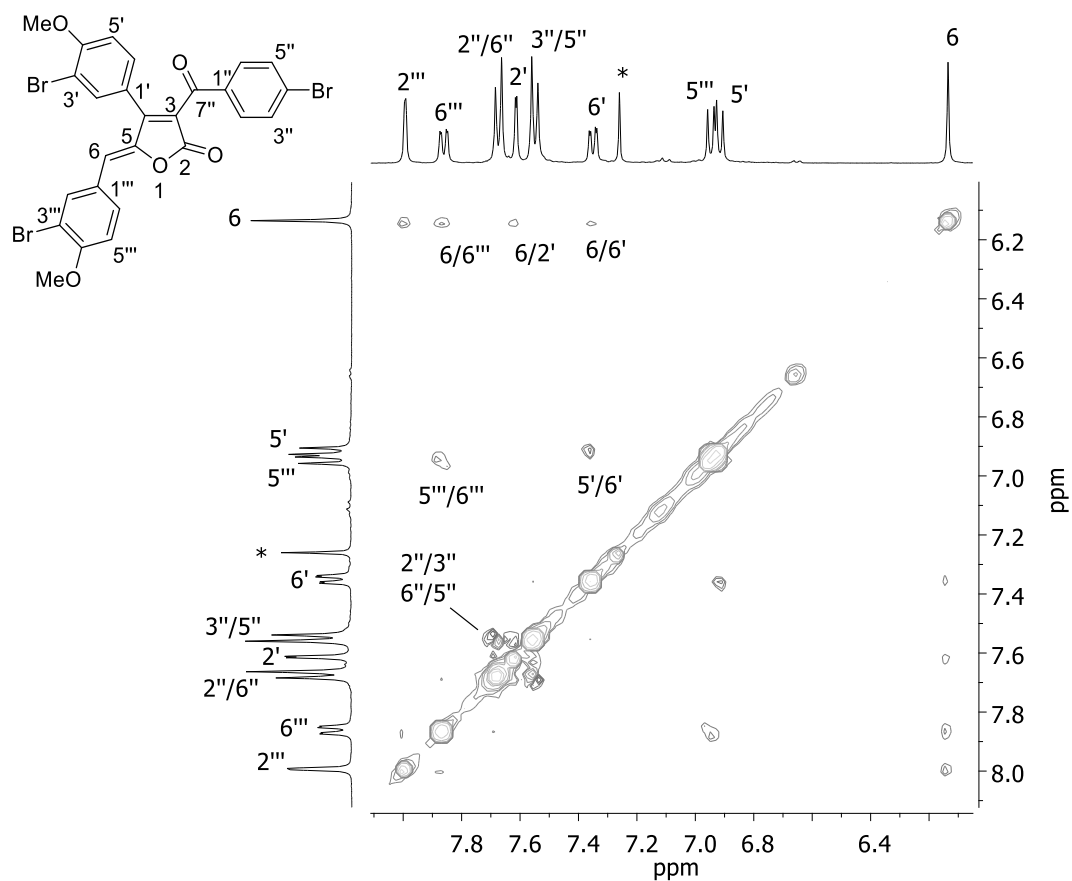


Figura 2.24 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54a**.

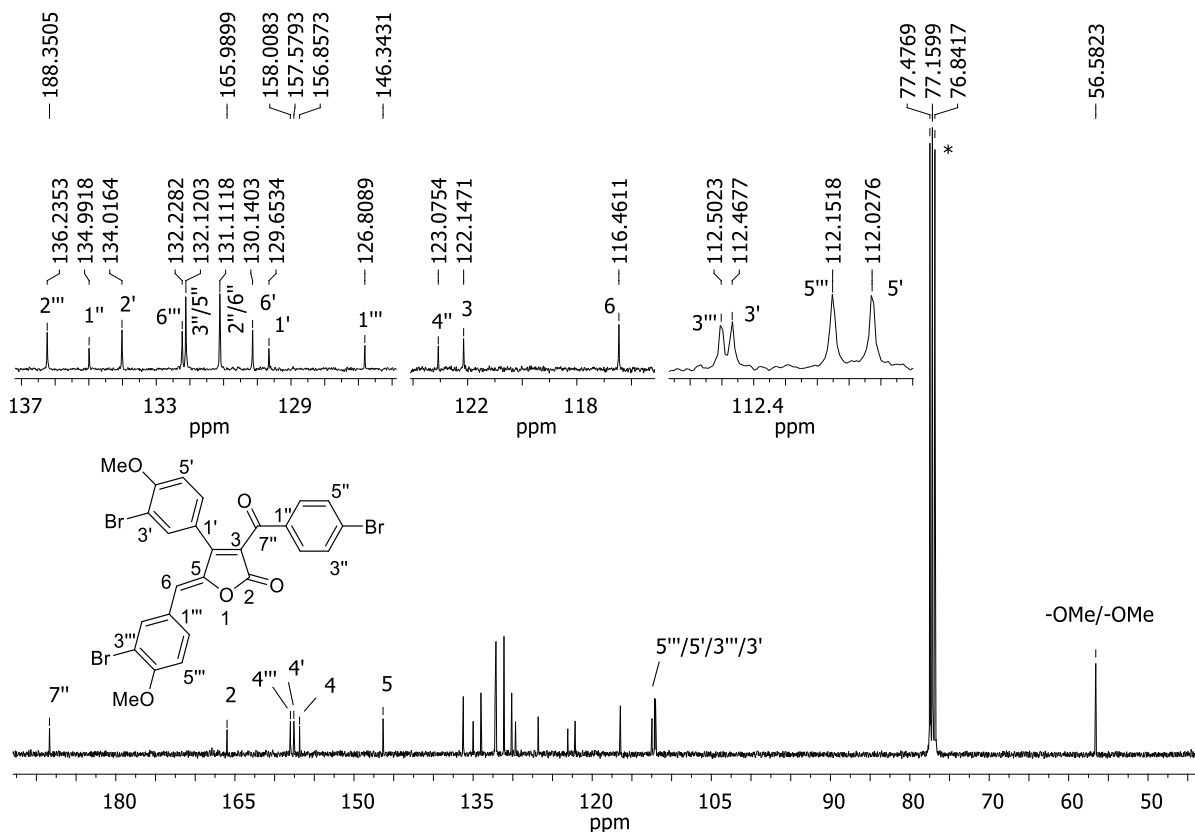


Figura 2.25 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54a**.

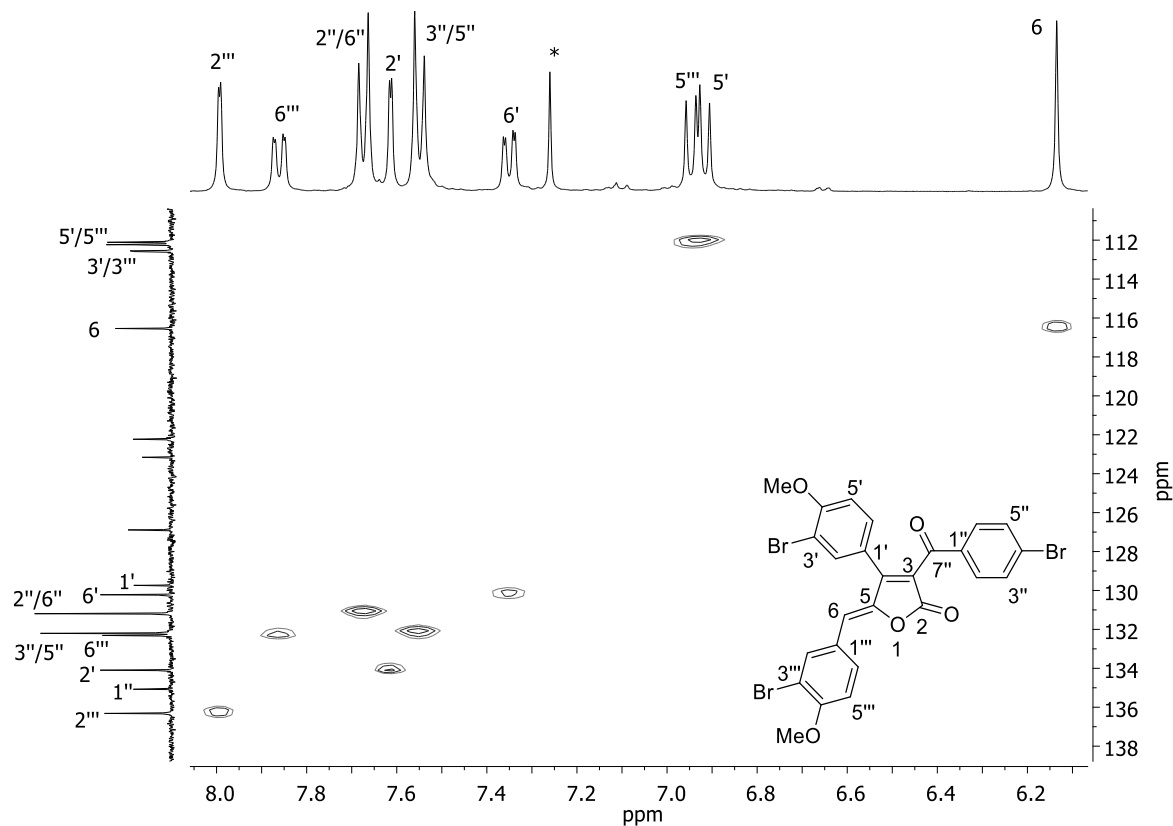
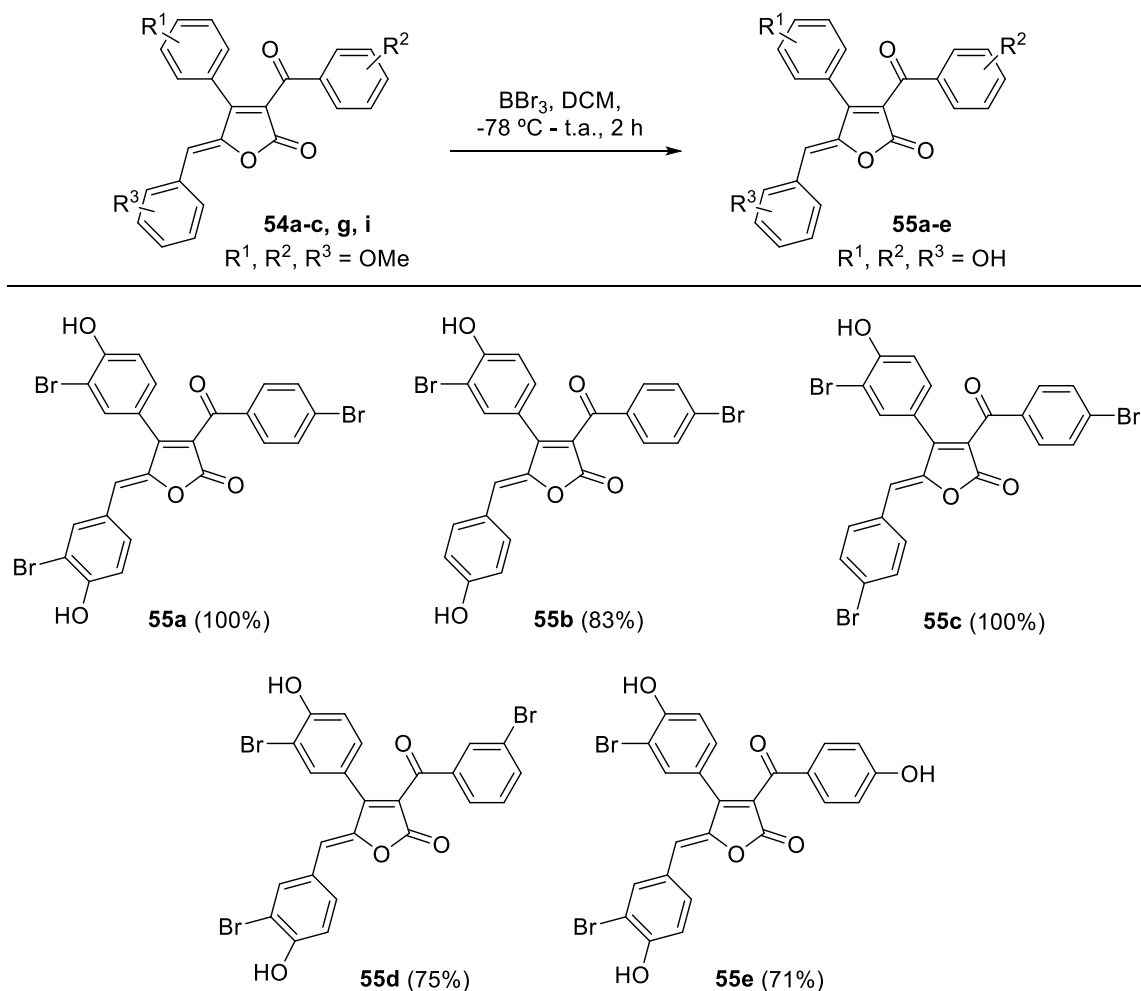


Figura 2.26 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, CDCl_3) (ampliado na região dos aromáticos) do composto **54a**.

2.3.6. Síntese dos análogos aos cadiolídeos hidroxilados (55a-e)

Os análogos aos cadiolídeos metoxilados (**54a-c, g, i**) foram submetidos à reação de desmetilação na presença de BBr_3 para obtenção dos respectivos compostos hidroxilados **55a-e**, conforme apresentado no Esquema 2.20.



Esquema 2.20 - Reação de desmetilação para obtenção dos respectivos compostos hidroxilados **55a-e**.

Todos os análogos **55a-e** foram devidamente caracterizados utilizando-se IV, RMN e massas de alta resolução (Apêndice 2, pg. 178). Os espectros obtidos para **55a-e** apresentaram grande semelhança com seus precursores metoxilados (**54a-c, g, i**), portanto, nenhuma discussão foi realizada a respeito desses novos compostos.

Contudo, os análogos aos cadiolídeos foram obtidos em três e quatro etapas e apresentaram bons rendimentos globais que variaram de 11% a 47%.

2.4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho foi descrita a síntese de 18 análogos aos cadiolídeos, sendo que 16 desses compostos são inéditos. Os compostos foram obtidos em 3 e 4 etapas e apresentaram bons rendimentos globais que variaram de 11% a 47%, sendo a etapa-chave a reação de Diels-Alder/retro-Diels-Alder.

A fim de se obter os análogos, inicialmente foi realizada a síntese dos alquinos terminais (rendimentos de 40-95%) utilizando o reagente de Bestmann-Ohira. Esse reagente está disponível comercialmente, mas, devido ao seu alto custo, foi sintetizado em quatro etapas lineares, com rendimento global de 22%. Os alquinos sintetizados foram submetidos à reação de acoplamento cruzado de Sonogashira com diversos cloretos de benzoíla, levando à formação de cetoalquinos com rendimentos que variaram entre 63% a 97%.

Os cetoalquinos, juntamente com o oxazol 5-etóxi-4-metiloxazol, foram submetidos à reação de DA/retro-DA, seguida de hidrólise, levando à formação das lactonas desejadas com rendimentos de 36% a 79%. Essa etapa foi regioseletiva, e o oxazol, disponível comercialmente, foi sintetizado em 3 etapas com rendimento global de 93% devido ao seu alto custo comercial.

Finalmente, a reação de alquilidenação entre as lactonas e diversos aldeídos gerou 13 novos análogos aos cadiolídeos metoxilados com bons rendimentos (35% a 95%) e alta diastereosseletividade (apenas o isômero Z foi obtido). Alguns análogos metoxilados foram desprotegidos, formando 5 novos análogos hidroxilados com ótimos rendimentos (71-100%).

Todos os 18 análogos aos cadiolídeos e as 4 lactonas intermediárias sintetizadas foram enviados para um colaborador nos Estados Unidos da América para realização dos ensaios antimicrobiano e antibiofilme bacteriano. Os ensaios estão em andamento e, assim que forem finalizados, serão analisados e publicados em um artigo científico.

2.5. METODOLOGIAS

2.5.1. Técnicas experimentais gerais

As técnicas experimentais gerais são similares as descritas no item 1.5.1 (pg. 39), diferindo em apenas 2 aspectos: as análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram reveladas com soluções de 2,4-dinitrofenilidrazina, KMnO_4 e solução de ninidrina em acetona (0,1 M); e as separações utilizando cromatografia em coluna, foram feitas com fase estacionária de sílica gel (70 a 230 mesh).

2.5.2. Técnicas espectroscópicas gerais

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos empregando-se a técnica reflectância total atenuada (ATR) em equipamento Varian 660-IR com acessório GladiATR.

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos seguindo a mesma descrição do item 1.5.2 (pg. 40). No entanto, foi utilizado apenas o espectrômetro Bruker de 200 e 400 MHz, não foi usado o solvente dimetilsulfóxido ((CD₃)₂SO) e empregou-se outros dois solventes, tais como metanol (CD₃OD; δ_{H} 3,31; δ_{C} 49,0) e óxido de deutério (D₂O; δ_{H} 4,79).

Os compostos iniciais da rota sintética foram analisados em aparelho de cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massas por impacto de elétrons (IE) (Shimadzu GCMS-QP2010). Os produtos finais da rota sintética foram analisados com espectrometria de massas de alta resolução, em instrumento de tempo-de-voo com ionização por electrospray (ESI-TOF) da marca Bruker, e seus valores são apresentados com quatro casas decimais.

2.5.3. Técnicas de purificação de solventes e reagentes

Secagem do metanol (MeOH) - A um balão de 500 mL foram adicionados 2,5 g de magnésio, 0,25 g de iodo molecular e 50 mL de metanol. O sistema foi refluxado durante uma hora. Após esse tempo, 250 mL de metanol foram adicionados ao balão, em que foram mantidos sob refluxo por mais 2 horas. Posteriormente, o metanol anidro foi destilado e devidamente armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar devidamente vedado, sob atmosfera de argônio (Perrin e Armarego, 1996).

Secagem do etanol (EtOH) - A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de etanol 95% e 80 g de óxido de cálcio. A mistura foi refluxada durante 6 horas. Em seguida, o etanol absoluto foi destilado e devidamente armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar devidamente vedado, sob atmosfera de argônio (Perrin e Armarego, 1996).

Secagem do tetraidrofurano (THF) - A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de THF e 12 g de hidróxido de potássio. A mistura foi refluxada durante 20 horas. Em seguida, o THF foi destilado e transferido para outro balão de 500 mL. Adicionaram-se sódio metálico e benzofenona. A mistura foi refluxada até que a mesma adquirisse a coloração azul. Após a mudança na coloração, o THF anidro foi destilado e armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de argônio (Perrin e Armarego, 1996).

Secagem do clorofórmio - A um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de clorofórmio e 3 g de carbonato de potássio previamente seco em mufla por 5 horas a 300 °C. O sistema foi deixado sob refluxo durante cinco horas. Em seguida, o clorofórmio anidro foi destilado e armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de argônio (Perrin e Armarego, 1996).

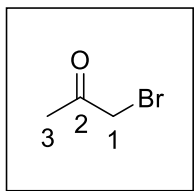
Secagem do tolueno - A um balão de 500 mL foram adicionados sódio metálico, benzofenona e 250 mL de tolueno. O sistema foi refluxado até que a mistura reacional adquirisse a coloração azul. Após a mudança na coloração, o tolueno anidro foi destilado e armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de argônio (Perrin e Armarego, 1996).

Secagem do diclorometano (DCM) - Metodologia similar a descrita no item 1.5.3 (pg. 40). No entanto, o solvente seco não foi utilizado diretamente do aparelho de destilação, sendo assim armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um frasco de vidro âmbar vedado, sob atmosfera de argônio.

Purificação da N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) - Metodologia descrita no item 1.5.3 (pg. 40).

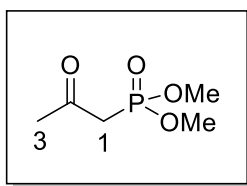
2.5.4. Procedimentos sintéticos

Bromoacetona (57) (Pietruszka e Witt, 2006)



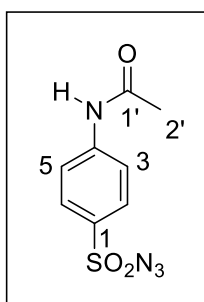
Em um balão bitubulado de fundo redondo (100 mL) contendo acetona (34,1 g, 587 mmol) e HBr 48% (8 mL), sob agitação magnética e a 0 °C, foi adicionado bromo (9,33 g, 3 mL, 58,7 mmol) com auxílio de um funil de adição por um período de 30 minutos. A reação foi mantida sob agitação magnética e na temperatura do ambiente (25-30 °C) por 1 h. Em seguida, o excesso de HBr foi removido pela passagem de argônio gasoso na mistura reacional. Na etapa seguinte, foram adicionados 20 mL de água destilada no meio reacional e feita a extração com diclorometano (3 x 60 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO₃ (1 x 30 mL) e NaCl (1 x 30 mL). A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro e concentrada sob pressão reduzida, fornecendo o produto **57**, um líquido amarelo claro lacrimejante, que se tornou castanho escuro em 89% (14,4 g, 105 mmol). O produto resultante da monobromação foi utilizado sem qualquer tipo de purificação adicional. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ: 2,32 (s, 3H, H-3), 3,86 (s, 2H, H-1). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ: 27,1 (C-3), 34,9 (C-1), 199,7 (C-2).

Dimetil-2-oxopropilfosfonato (58) (Pietruszka e Witt, 2006)



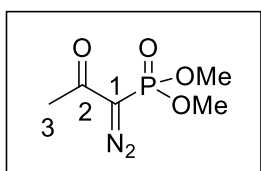
Em um balão bitubulado (50 mL) foi adicionado bromoacetona (**50**) (6,8 g, 50 mmol) a uma suspensão de KI (8,3 g, 50 mmol) em acetona (10 mL) e MeCN (12,5 mL) sob agitação. A agitação foi continuada durante 1 h na temperatura do ambiente (25-30 °C). Trimetilfosfito (5,9 ml, 50 mmol) foi adicionado lentamente. Após 12 h na temperatura do ambiente (25-30 °C), a mistura foi aquecida a 50 °C e mantida por um período de 1 h, para assegurar a conversão completa. A filtração utilizando uma camada de celite e a evaporação dos solventes sob pressão reduzida forneceram o produto bruto. A purificação em coluna cromatográfica de sílica gel (acetato de etila: metanol, 97:3 v/v) conduziu ao fosfonato **58** em 63% (5,2 g, 31 mmol) como um líquido amarelo. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 2,31 (s, 3H, H-3), 3,09 (d, 2H, $J_{1,P} = 22,8$ Hz, H-1), 3,78 (d, 6H, $J_{OMe,P} = 11,2$ Hz, -OMe/-OMe).

Azida de p-acetamidobenzenossulfonila (60) (Pietruszka e Witt, 2006)



Em um balão de 50 mL sob agitação magnética, foram adicionados cloreto de 4-acetamidobenzenossulfonila (1,50 g, 6,42 mmol) e DCM (12 mL). A essa suspensão adicionou-se brometo de tetrabutilamônio (10,0 mg, 0,03 mmol), seguido por uma solução de NaN₃ (630 mg, 9,63 mmol) em H₂O (30 mL). A agitação foi mantida na temperatura do ambiente (25-30 °C) por 12 h, sendo formadas duas fases lípidas. A fase orgânica foi lavada com H₂O (2 × 5 mL), secada com Na₂SO₄ e o solvente removido sob pressão reduzida, fornecendo um sólido branco, identificado como o composto **60** em 89% (1,38 g, 5,71 mmol). A azida **60** foi utilizada diretamente sem qualquer purificação adicional. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 2,24 (s, 3H, H-2'), 7,78 (d, 2H, $J_{3,2} = J_{5,6} = 8,9$ Hz, H-3/5), 7,88 (d, 2H, $J_{2,3} = J_{6,5} = 8,9$ Hz, H-2/6), 7,95 (s, 1H, -NH). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 24,9 (C-2'), 119,7 (C-3/5), 129,1 (C-2/6), 132,7 (C-1), 144,1 (C-4), 169,2 (C-1').

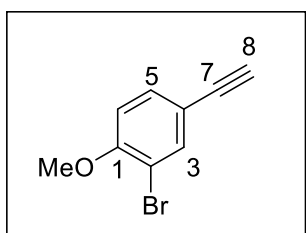
Dimetil-1-diazo-2-oxopropilfosfonato (61) (Pietruszka e Witt, 2006)



Em um balão bitubulado (25 mL), sob agitação magnética, foi adicionada uma solução de dimetil-2-oxopropilfosfonato (**58**) (500 mg, 3,01 mmol) em tolueno anidro (3 mL). O sistema foi resfriado a 0 °C e NaH (132 mg de 60% em óleo mineral; 3,30 mmol) foi adicionado em porções. Após a evolução de gás ter cessado, uma solução de azida de p-acetamidobenzenossulfonila (**60**) (795 mg, 3,30 mmol) em THF anidro (2 mL) foi adicionada gota a gota. A suspensão leitosa, que antes era altamente viscosa e de difícil agitação, foi

convertida em uma solução de coloração amarelo-marrom menos viscosa. Após 16 h, a mistura foi diluída com éter de petróleo, filtrada através de uma camada de celite e lavada com Et₂O. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um resíduo viscoso de coloração marrom. A purificação em coluna cromatográfica de sílica gel (acetato de etila: éter de petróleo, 3:1 v/v) conduziu a **61** em 45% (260 mg, 1,35 mmol) como um líquido amarelo. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ: 2,14 (s, 3H, H-3), 3,73 (d, 6H, J_{OMe,P} = 11,9 Hz, -OMe/-OMe).

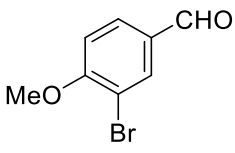
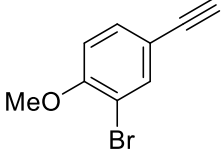
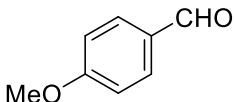
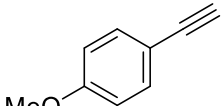
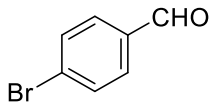
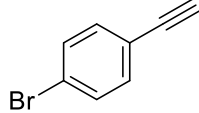
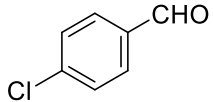
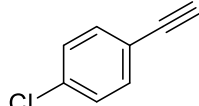
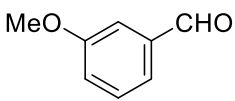
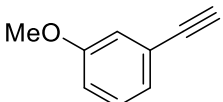
2-bromo-4-etinil-1-metoxibenzeno (50a) (Roth et al., 2004)



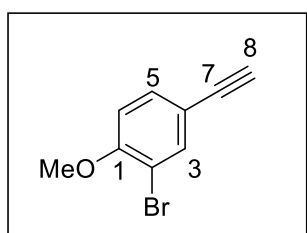
Em um balão bitubulado (50 mL) adicionou-se 3-bromo-4-metoxibenzaldeído (1,50 g, 8,99 mmol) e K₂CO₃ anidro (2,48 g, 17,99 mmol). Sob atmosfera de argônio e agitação magnética foi adicionado MeOH anidro (17 mL) seguido do reagente de Bestmann-Ohira (**61**) (2,07 mg, 10,79 mmol), e a agitação foi continuada por 8 h. A mistura reacional foi diluída em Et₂O (80 mL), lavada como solução aquosa de NaHCO₃ 5% m/v (80 mL) e secada com Na₂SO₄. O solvente foi removido sob pressão reduzida, fornecendo um resíduo viscoso de coloração laranja. A purificação em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:éter dietílico, 1:1 v/v) conduziu ao alquino **50a** em 95% (1,80 g, 8,54 mmol) como um sólido branco.

Os compostos **50b-e** foram preparados utilizando o mesmo procedimento descrito para a síntese do composto **50a**, e todos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel. Na Tabela 2.1 (pg. 97) são apresentadas as quantidades necessárias de aldeído e os rendimentos obtidos em cada reação.

Tabela 2.1 - Dados referentes ao preparo dos alquinos **50a-e**

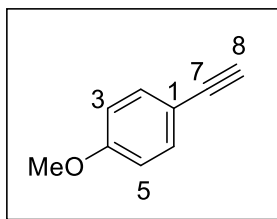
Aldeído (g; mmol)	Alquino (g; mmol; rendimento)
 (1,50; 8,99)	 50a (1,80; 8,54; 95%)
 (0,50; 3,67)	 50b (0,388; 2,94; 80%)
 (0,50; 2,70)	 50c (0,303; 1,67; 62%)
 (0,50; 3,56)	 50d (0,194; 1,42; 40%)
 (0,50; 3,67)	 50e (0,461; 3,49; 95%)

Dados referentes ao composto 2-bromo-4-etinil-1-metoxibenzeno (**50a**)



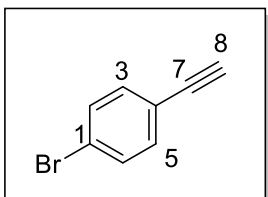
Aspecto físico: sólido branco. **Tr:** 91,4 - 92,0 °C. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 3,02 (s, 1H, H-8), 3,90 (s, 3H, -OMe), 6,82 (d, 1H, $J_{6,5} = 8,5$ Hz, H-6), 7,41 (dd, 1H, $J_{5,6} = 8,5$ Hz, $J_{5,3} = 2,0$ Hz, H-5), 7,68 (d, 1H, $J_{3,5} = 2,0$ Hz, H-3). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 56,4 (-OMe), 77,0 (C-8), 82,2 (C-7), 111,5 (C-2), 111,6 (C-6), 115,7 (C-4), 132,7 (C-5), 136,9 (C-3), 156,5 (C-1).

Dados referentes ao composto 1-etinil-4-metoxibenzeno (50b)



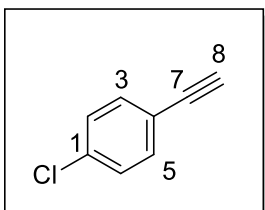
Aspecto físico: óleo amarelo claro. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 3,01 (s, 1H, H-8), 3,81 (s, 3H, -OMe), 6,85 (d, 2H, $J_{3,2} = J_{5,6} = 8,8$ Hz, H-3/5), 7,44 (d, 2H, $J_{2,3} = J_{6,5} = 8,8$ Hz, H-2/6). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 55,4 (-OMe), 75,9 (C-8), 83,8 (C-7), 114,1 (C-3/5), 114,3 (C-1), 133,7 (C-2/6), 160,1 (C-4).

Dados referentes ao composto 1-bromo-4-etinilbenzeno (50c)



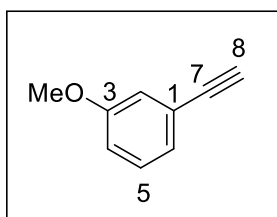
Aspecto físico: sólido branco. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 3,13 (s, 1H, H-8), 7,35 (d, 2H, $J_{2,3} = J_{6,5} = 8,4$ Hz, H-2/6), 7,46 (d, 2H, $J_{3,2} = J_{5,6} = 8,4$ Hz, H-3/5). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 78,5 (C-8), 82,7 (C-7), 121,2 (C-1), 123,3 (C-4), 131,7 (C-2/6), 133,7 (C-3/5).

Dados referentes ao composto 1-cloro-4-etinilbenzeno (50d)



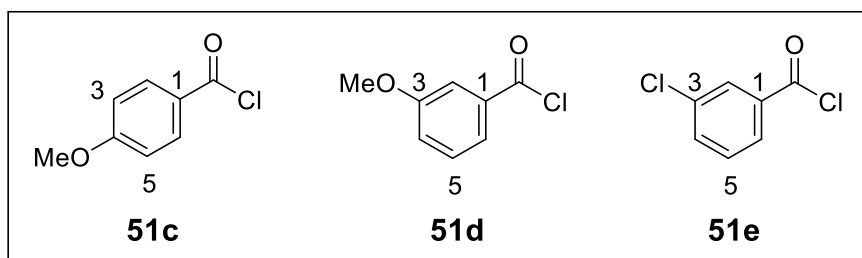
Aspecto físico: sólido branco. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 3,11 (s, 1H, H-8), 7,30 (d, 2H, $J_{2,3} = J_{6,5} = 8,5$ Hz, H-2/6), 7,42 (d, 2H, $J_{3,2} = J_{5,6} = 8,5$ Hz, H-3/5). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 78,3 (C-8), 82,7 (C-7), 120,8 (C-4), 128,8 (C-2/6), 133,5 (C-3/5), 135,1 (C-1).

Dados referentes ao composto 1-etinil-3-metoxibenzeno (50e)



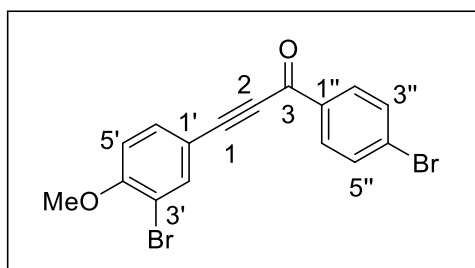
Aspecto físico: óleo amarelo escuro. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 3,00 (s, 1H, H-8), 3,71 (s, 3H, -OMe), 6,83 (dd, 1H, $J_{4,5} = 7,9$ Hz, $J_{4,2} = 1,9$ Hz, H-4), 6,96 (sl, 1H, H-2), 7,02 (d, 1H, $J_{6,5} = 7,9$ Hz, H-6), 7,15 (t, 1H, $J_{5,4} = J_{5,6} = 7,9$ Hz, H-5). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 55,3 (-OMe), 77,1 (C-8), 83,7 (C-7), 115,5 (C-4), 117,1 (C-2), 123,2 (C-1), 124,7 (C-6), 129,5 (C-5), 159,4 (C-3).

Cloretos de ácido (**51c-e**)



Em um schlenk de 50 mL, uma solução de ácido 4-metoxibenzóico, ácido 3-metoxibenzóico ou ácido 3-clorobenzóico (10,0 mmol) em SOCl_2 (5,00 mL) foi colocada sob refluxo por um período de 6 h. O excesso de SOCl_2 foi removido sob pressão reduzida, sendo obtido um sólido branco como produto. Os compostos **51c-e** foram obtidos com rendimentos quantitativos (**51c**: 1,71 g; 10,0 mmol - **51d**: 1,71 g; 10,0 mmol - **51e**: 1,75; 10,0 mmol). Os cloretos de ácidos obtidos foram utilizados diretamente sem qualquer purificação adicional e caracterização.

3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(4-bromofenil)prop-2-in-1-ona (**52a**) (Boukouvalas e Thibault, 2015)



Em um balão bitubulado de fundo redondo (25 mL), sob atmosfera de argônio e na temperatura do ambiente (25-30 °C), uma mistura de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (33,0 mg, 0,0474 mmol), CuI (18,0 mg, 0,0948 mmol) e THF anidro (7 mL) foi mantida sob agitação magnética por um período de 30 min. Em seguida, Et_3N (330 μL , 2,37 mmol), cloreto de 4-bromobenzoíla (780 mg, 3,55 mmol) e 2-bromo-4-etinil-1-metoxibenzeno (**50a**) (500 mg, 2,37 mmol) foram adicionados e a agitação foi mantida por mais 3 h. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o produto bruto da reação foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, empregando-se a mistura de solvente hexano:acetato de etila (3:1 v/v) para obtenção do cetoalquino **52a** com 78% de rendimento (728 mg, 1,85 mmol).

Os compostos **52b-h** foram preparados com o mesmo procedimento descrito para a síntese do composto **52a**, e todos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel. As quantidades necessárias de alquino, cloreto de ácido e os rendimentos obtidos em cada reação são apresentadas na Tabela 2.2 (pg. 100).

Tabela 2.2 - Dados referentes ao preparo dos cetoalquinos **52a-h**

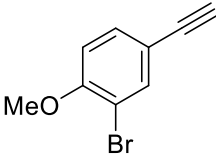
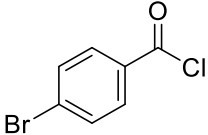
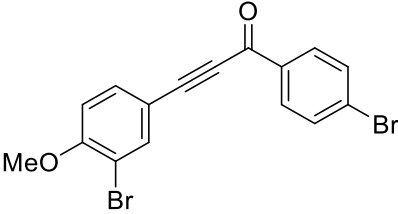
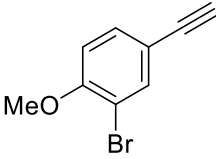
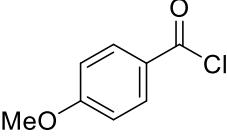
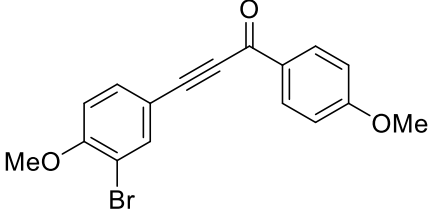
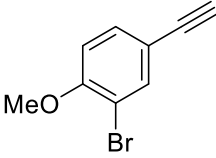
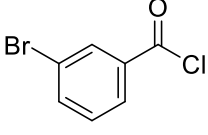
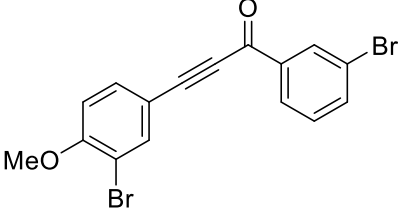
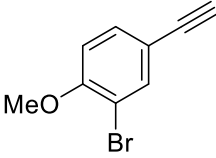
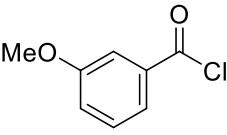
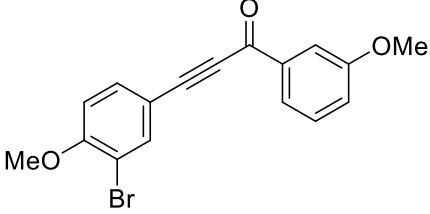
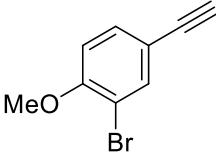
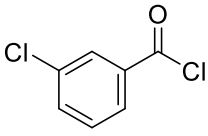
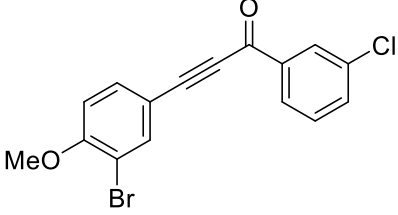
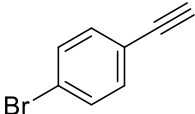
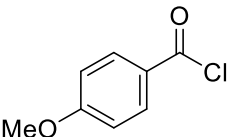
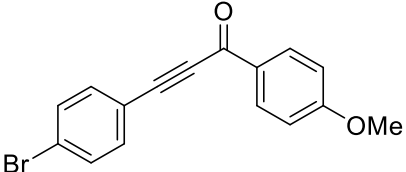
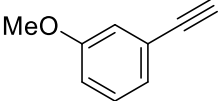
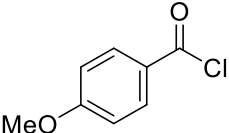
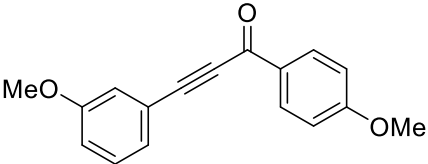
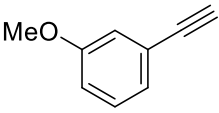
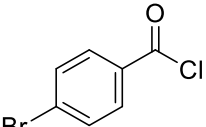
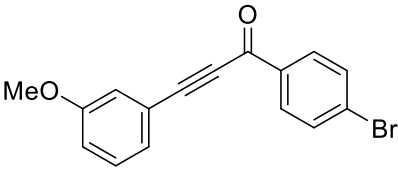
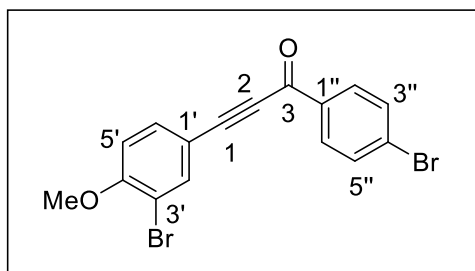
Alquino (mg; mmol)	Cloreto de ácido (mg; mmol)	Cetoalquino (mg; mmol; rendimento)
 50a (500; 2,37)	 51c (779; 3,55)	 52a (728; 1,85; 78%)
 50a (500; 2,37)	 51d (606; 3,55)	 52b (638; 1,85; 78%)
 50a (500; 2,37)	 51e (779; 3,55)	 52c (794; 2,01; 85%)
 50a (500; 2,37)	 51d (606; 3,55)	 52d (761; 2,20; 93%)
 50a (500; 2,37)	 51e (621; 3,55)	 52e (804; 2,30; 97%)

Tabela 2.2 – Continuação...

Alquino (mg; mmol)	Cloreto de ácido (mg; mmol)	Cetoalquino (mg; mmol; rendimento)
 50c (500; 2,76)	 51c (706; 4,14)	 52f (609; 1,93; 70%)
 50e (500; 3,78)	 51c (967; 5,67)	 52g (725; 2,72; 72%)
 50e (500; 3,78)	 51c (1244; 5,67)	 52h (750; 2,38; 63%)

Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(4-bromofenil)prop-2-in-1-ona
(52a)



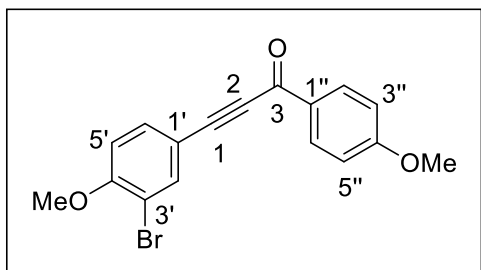
Aspecto físico: sólido branco. **Tr:** 170,3 - 171,9 °C.

IV (ATR, cm⁻¹): $\bar{\nu}_{\max}$ 3103, 2948, 2843, 2191, 1634, 1586, 1567, 1496, 1292, 1259. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 3,96 (s, 3H, -OMe), 6,93 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,6$ Hz, H-5'), 7,63 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,6$ Hz, $J_{6',2'} = 2,0$ Hz, H-6'), 7,66 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,5$ Hz,

H-3''/5''), 7,87 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,0$ Hz, H-2'), 8,05 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,5$ Hz, H-2''/6'').

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 56,6 (-OMe), 87,0 (C-2), 92,8 (C-1), 111,9 (C-5'), 112,1 (C-3'), 113,2 (C-1'), 129,7 (C-4''), 131,0 (C-2''/6''), 132,2 (C-3''/5''), 134,4 (C-6'), 135,8 (C-1''), 138,0 (C-2'), 158,4 (C-4'), 176,8 (C-3). **EM (IE), m/z (%):** 392 ([M⁺], C₁₆H₁₀Br₂O₂, 20), 394 ([M+2], 41), 396 ([M+4], 19), 366 (21), 351 (27), 239 (45), 237 (46), 176 (22), 163 (76), 157 (18), 155 (19), 143 (30), 128 (17), 115 (17), 103 (19), 99 (16), 98 (18), 87 (100), 86 (31), 82 (41), 77 (18), 76 (50), 75 (68), 74 (45), 63 (23), 62 (21), 61 (18), 50 (38).

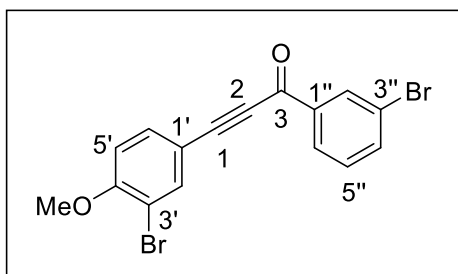
Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (52b)



Aspecto físico: sólido amarelo claro. **Tr:** 136,8 - 137,2 °C. **IV (ATR, cm^{-1}):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3009, 2925, 2842, 2195, 1632, 1590, 1495, 1450, 1252, 1162, 1011. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ :** 3,90 (s, 3H, -OMe), 3,95 (s, 3H, -OMe), 6,91 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 6,98 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 9,0$ Hz, H-3''/5'')

7,61 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 2,0$ Hz, H-6'), 7,86 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,0$ Hz, H-2'), 8,16 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 9,0$ Hz, H-2''/6''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ :** 55,7 (-OMe), 56,6 (-OMe), 87,3 (C-2), 91,3 (C-1), 112,0 (C-5'), 112,0 (C-3'), 113,9 (C-1'), 114,1 (C-3''/5''), 130,4 (C-1''), 132,1 (C-2''/6''), 134,1 (C-6'), 137,8 (C-2'), 158,1 (C-4'), 164,6 (C-4''), 176,6 (C-3). **EM (IE), m/z (%):** 344 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BrO}_3$, 73), 346 ($[\text{M}+2]$, 71), 318 (71), 316 (70), 303 (100), 301 (100), 239 (27), 237 (29), 222 (28), 163 (30), 159 (25), 151 (50), 150 (32), 143 (25), 135 (48), 107 (32), 92 (53), 87 (64), 77 (94), 64 (40), 63 (51).

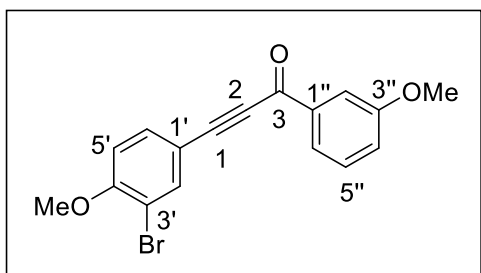
Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(3-bromofenil)prop-2-in-1-ona (52c)



Aspecto físico: sólido branco. **Tr:** 131,5 - 133,0 °C. **IV (ATR, cm^{-1}):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3103, 3013, 2949, 2845, 2192, 1634, 1592, 1567, 1496, 1420, 1292, 1253, 1199, 1184, 1050, 1012. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ :** 3,96 (s, 3H, -OMe), 6,93 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,40 (t, 1H, $J_{5'',6''} = J_{5'',4''} = 7,8$ Hz, H-5''), 7,63 (d, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$

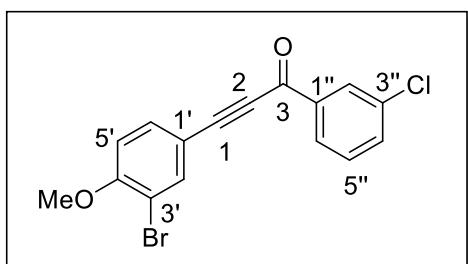
Hz, H-6'), 7,75 (d, 1H, $J_{6'',5''} = 7,8$ Hz, H-6''), 7,88 (s, 1H, H-2'), 8,12 (d, 1H, $J_{4'',5''} = 7,8$ Hz, H-4''), 8,29 (s, 1H, H-2''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ :** 56,6 (-OMe), 87,0 (C-2), 93,1 (C-1), 111,9 (C-5'), 112,1 (C-3'), 113,1 (C-1'), 123,1 (C-3''), 128,3 (C-4''), 130,4 (C-5''), 132,4 (C-2''), 134,5 (C-6'), 137,0 (C-6''), 138,0 (C-2'), 138,7 (C-1''), 158,5 (C-4'), 176,3 (C-3). **EM (IE), m/z (%):** 394 ($[\text{M}^+]$, $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{O}_2$, 55), 396 ($[\text{M}+2]$, 27), 392 (28), 366 (22), 351 (25), 239 (80), 237 (82), 163 (71), 143 (36), 100 (25), 88 (21), 87 (100), 86 (30), 82 (42), 76 (48), 75 (61), 74 (43), 63 (24), 50 (38).

Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(3-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (52d)



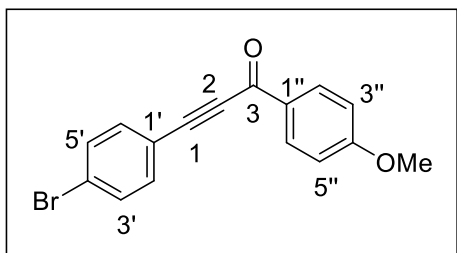
Aspecto físico: sólido laranja. **Tr:** 98,0 - 99,8 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3073, 3012, 2941, 2837, 2183, 1687, 1629, 1594, 1575, 1496, 1436, 1286, 1258, 1190, 1157, 1050, 1017. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 3,88 (s, 3H, -OMe), 3,95 (s, 3H, -OMe), 6,92 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,17 (dd, 1H, $J_{6'',5''} = 7,9$ Hz, $J_{6'',2''} = 2,0$ Hz, H-6''), 7,43 (t, 1H, $J_{5'',6''} = J_{5'',4''} = 7,9$ Hz, H-5''), 7,62 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 2,0$ Hz, H-6'), 7,67 (t, 1H, $J_{2'',6''} = J_{2'',4''} = 2,0$ Hz, H-2''), 7,83 (d, 1H, $J_{4'',5''} = 7,9$ Hz, H-4''), 7,87 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,0$ Hz, H-2'). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 55,7 (-OMe), 56,6 (-OMe), 87,4 (C-2), 92,0 (C-1), 111,9 (C-5'), 112,0 (C-3'), 112,9 (C-2''), 113,5 (C-1'), 121,0 (C-6''), 123,0 (C-4''), 129,8 (C-5''), 134,3 (C-6'), 137,9 (C-2'), 138,4 (C-1''), 158,3 (C-4'), 160,0 (C-3''), 177,7 (C-3). **EM (IE), m/z (%):** 344 ([M⁺], C₁₇H₁₃BrO₃, 73), 346 ([M+2], 69), 318 (47), 316 (48), 303 (51), 301 (51), 239 (73), 237 (77), 222 (38), 164 (29), 163 (38), 151 (53), 150 (33), 143 (43), 115 (29), 107 (30), 100 (28), 92 (52), 88 (26), 87 (100), 86 (27), 82 (33), 77 (86), 76 (31), 75 (40), 74 (36), 64 (56), 63 (68), 62 (29).

Dados referentes ao composto 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(3-clorofenil)prop-2-in-1-ona (52e)



Aspecto físico: sólido branco. **T_f:** 141,5 - 143,0 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3105, 3004, 2952, 2844, 2177, 1626, 1591, 1567, 1495, 1291, 1253, 1193, 1156, 1014. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 3,96 (s, 3H, -OMe), 6,93 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,47 (t, 1H, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8$ Hz, H-5''), 7,60 (d, 1H, $J_{4'',5''} = 7,8$ Hz, H-4''), 7,64 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 1,8$ Hz, H-6'), 7,88 (d, 1H, $J_{2',6'} = 1,8$ Hz, H-2'), 8,08 (d, 1H, $J_{6'',5''} = 7,8$ Hz, H-6''), 8,14 (d, 1H, $J_{2'',6''} = 1,3$ Hz, H-2''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 56,6 (-OMe), 87,0 (C-2), 93,0 (C-1), 111,9 (C-5'), 112,1 (C-3'), 113,1 (C-1'), 127,8 (C-4''), 129,4 (C-2''), 130,1 (C-5''), 134,1 (C-6''), 134,5 (C-6'), 135,1 (C-3''), 138,0 (C-2'), 138,5 (C-1''), 158,5 (C-4'), 176,4 (C-3). **EM (IE), m/z (%):** 348 ([M⁺], C₁₆H₁₀BrClO₂, 73), 350 ([M+2], 94), 351 ([M+3], 16), 352 ([M+4], 24), 322 (35), 320 (27), 307 (40), 305 (30), 239 (98), 237 (100), 163 (45), 143 (27), 111 (34), 87 (54), 75 (33).

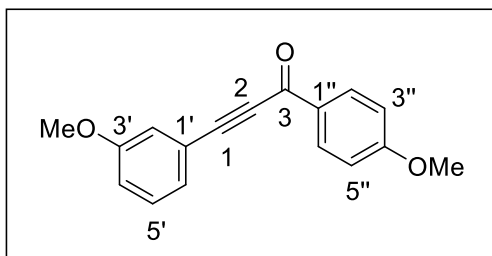
Dados referentes ao composto 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (52f)



Aspecto físico: sólido amarelo. **Tr:** 185 - 186 °C. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 3,90 (s, 3H, -OMe), 6,99 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,8$ Hz, H-3''/5''), 7,53 (d, 2H, $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,6$ Hz, H-3'/5'), 7,57 (d, 2H, $J_{2',3'} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, H-2'/6''), 8,17 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6',5'} = 8,8$ Hz,

H-2''/6''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 55,6 (-OMe), 87,7 (C-2), 90,9 (C-1), 113,9 (C-3'/5'), 119,2 (C-1'), 125,3 (C-4'), 130,1 (C-1''), 132,0 (C-2'/6'), 132,0 (C-3''/5''), 134,2 (C-2''/6''), 164,6 (C-4''), 176,3 (C-3).

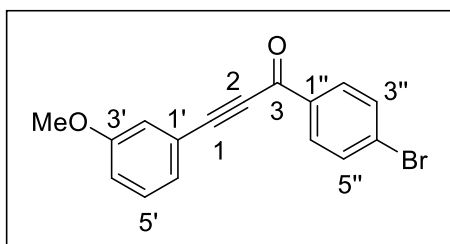
Dados referentes ao composto 3-(3-metoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (52g)



Aspecto físico: sólido amarelo. **T_f:** 177 - 178 °C. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 3,72 (s, 3H, -OMe), 3,78 (s, 3H, -OMe), 6,88 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,8$ Hz, H-3''/5''), 6,89 - 6,93 (m, 1H, H-4'), 7,07 (t, 1H, $J_{2',4'} = J_{2',6'} = 1,3$ Hz, H-2'), 7,16 (d, 1H,

$J_{6',5'} = 7,6$ Hz, H-6'), 7,21 (t, 1H, $J_{5',6'} = J_{5',4'} = 7,6$ Hz, H-5'), 8,08 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,8$ Hz, H-2''/6''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 55,4 (-OMe), 55,6 (-OMe), 86,7 (C-2), 92,3 (C-1), 114,0 (C-3''/5''), 117,4 (C-4'), 117,6 (C-2'), 121,3 (C-1'), 125,5 (C-6'), 129,8 (C-5'), 130,3 (C-1''), 132,0 (C-2''/6''), 159,5 (C-3'), 164,6 (C-4''), 176,7 (C-3).

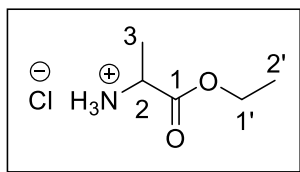
Dados referentes ao composto 1-(4-bromofenil)-3-(3-metoxifenil)prop-2-in-1-ona (52h)



Aspecto físico: sólido amarelo. **T_f:** 189 - 191 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3064, 2944, 2841, 2196, 1640, 1576, 1478, 1396, 1285, 1230, 1174, 1044, 1007. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 3,83 (s, 3H, -OMe), 7,02 - 7,05 (m, 1H, H-4'), 7,16 - 7,17 (m, 1H, H-2'), 7,26 (d, 1H,

$J_{6',5'} = 7,8$ Hz, H-6'), 7,32 (t, 1H, $J_{5',6'} = J_{5',4'} = 7,8$ Hz, H-5'), 7,64 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,6$ Hz, H-3''/5''), 8,05 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, H-2''/6''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 55,5 (-OMe), 86,3 (C-2), 93,7 (C-1), 117,7 (C-4'), 117,8 (C-2'), 120,8 (C-4''), 125,7 (C-6'), 129,6 (C-1'), 129,9 (C-5'), 131,0 (C-3''/5''), 132,1 (C-2''/6''), 135,7 (C-1''), 159,5 (C-3'), 176,8 (C-3).

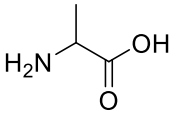
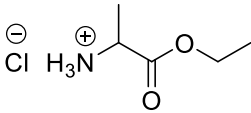
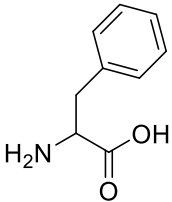
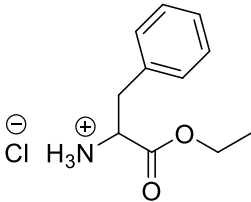
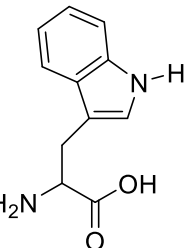
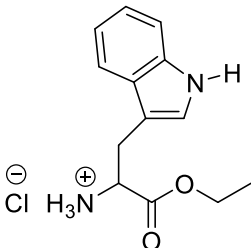
Cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (**73a**) utilizando aquecimento (Dean et al., 2008)



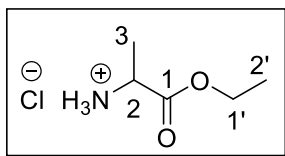
Em um balão bitubulado (250 mL), sob atmosfera de argônio e na temperatura do ambiente (25-30 °C), foi adicionada uma solução de L-alanina (20,0 g, 225 mmol) em etanol absoluto (150 mL). O sistema foi resfriado a 0 °C e o SOCl₂ (22,8 mL, 315 mmol) foi adicionado lentamente. A mistura foi submetida a refluxo durante 3 h e mantida em agitação na temperatura do ambiente (25-30 °C) por mais 45 h. O etanol e o excesso de SOCl₂ foram então removidos sob pressão reduzida e **73a** foi obtido como um óleo viscoso amarelo palha (35,5 g) com rendimento quantitativo. O composto **73a** foi utilizado sem qualquer tipo de purificação adicional.

Os compostos **73b-c** foram preparados com o mesmo procedimento descrito para a síntese do composto **73a**. As quantidades necessárias de aminoácido e os rendimentos obtidos em cada reação são apresentadas na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Dados referentes ao preparo dos cloridratos **73a-c**

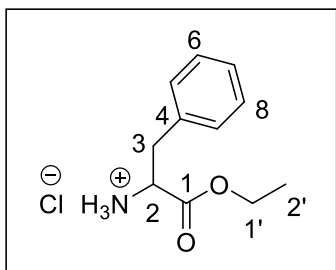
Aminoácido (g; mmol)	Cloridrato (g; mmol; rendimento)
 alanina (20,0; 224,5)	 73a (34,6; 224,5; 100%)
 fenilalanina (5,0; 30,3)	 73 (6,96; 30; 100%)
 triptofano (5,0; 24,5)	 73c (6,58; 24,5; 100%)

Dados referentes ao composto cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (73a)



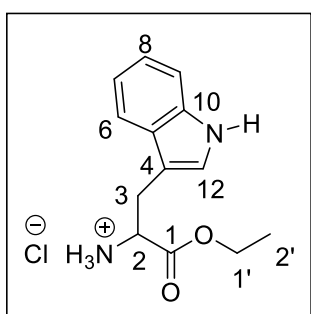
Aspecto físico: óleo viscoso amarelo palha. **RMN de ^1H (400 MHz, D_2O)** δ : 1,33 (t, 3H, $J_{2',1'} = 7,2$ Hz, H-2'), 1,59 (d, 3H, $J_{3,2} = 7,3$ Hz, H-3), 4,21 (q, 1H, $J_{2,3} = 7,3$ Hz, H-2), 4,33 (q, 1H, $J_{1',2'} = 7,2$ Hz, H-1'). **RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O)** δ : 13,4 (C-2'), 15,4 (C-3), 49,1 (C-2), 63,7 (C-1'), 171,0 (C-1).

Dados referentes ao composto cloridrato de 2-amino-3-fenilpropanoato de etila (73b)



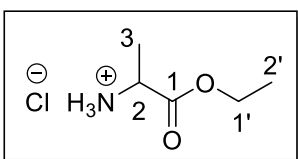
Aspecto físico: óleo viscoso amarelo palha. **RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD)** δ : 1,23 (t, 3H, $J_{2',1'} = 7,1$ Hz, H-2'), 3,23 (d, 2H, $J_{3,2} = 6,6$ Hz, H-3), 4,19-4,33 (m, 3H, H-1'/2), 7,26-7,38 (m, 5H, H-5/6/7/8/9). **RMN de ^{13}C (50 MHz, CD_3OD)** δ : 14,3 (C-2'), 37,5 (C-3), 55,2 (C-1'), 63,6 (C-2), 128,9 (C-7), 130,1 (C-5/9), 130,5 (C-6/8), 135,4 (C-4), 170,0 (C-1).

Dados referentes ao composto cloridrato de 2-amino-3-(1H-indol-3-il)-1-oxopropanoato de etila (73c)



Aspecto físico: óleo viscoso amarelo palha. **RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD)** δ : 1,20 (t, 3H, $J_{2',1'} = 7,1$ Hz, H-2'), 3,39 (dd, 1H, $J_{3a,3b} = 15,0$ Hz, $J_{3a,2} = 7,1$ Hz, H-3a), 3,46 (dd, 1H, $J_{3b,3a} = 15,0$ Hz, $J_{3b,2} = 5,7$ Hz, H-3b), 4,17 - 4,26 (m, 2H, H-1'), 4,30 (t, 1H, $J_{2,3} = 6,4$ Hz, H-2), 7,07 (t, 1H, $J_{8,9} = J_{8,7} = 7,5$ Hz, H-8), 7,15 (t, 1H, $J_{7,8} = J_{7,6} = 7,5$ Hz, H-7), 7,24 (s, 1H, H-12), 7,41 (d, 1H, $J_{9,8} = 7,5$ Hz, H-9), 7,56 (d, 1H, $J_{6,7} = 7,5$ Hz, H-6). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD)** δ : 14,2 (C-2'), 27,6 (C-3), 54,7 (C-2), 63,6 (C-1'), 107,6 (C-4), 112,7 (C-9), 118,9 (C-6), 120,2 (C-7), 122,9 (C-8), 125,6 (C-12), 128,2 (C-5), 138,3 (C-10), 170,4 (C-1).

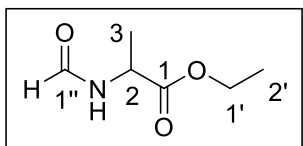
Cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (73a) utilizando ultrassom (Kantharaju e Babu, 2006)



A um balão de fundo redondo (100 mL) a 0 °C e contendo etanol absoluto (34,0 mL), foi adicionado SOCl_2 (3,66 mL; 50,41 mmol). Alanina (3,0 g; 33,67 mmol) foi adicionada à mistura reacional e submetida ao ultrassom na temperatura do ambiente (25-30 °C) por

30 min. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por recristalização, utilizando MeOH:Et₂O para obter um cristal branco identificado como o produto **73a** em rendimento quantitativo (5,17 g; 33,67 mmol).

N-formil-2-aminopropanoato de etila (**74a**) (Dean et al., 2008)



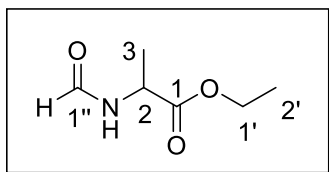
Em um balão bitubulado (100 mL), sob atmosfera de argônio e agitação magnética, foram adicionados cloridrato de 2-aminopropanoato de etila (**73a**) (5,0 g, 32,55 mmol) e ortoformiato de trietila (16,24 mL, 97,65 mmol). O sistema foi submetido a refluxo durante 2 h. O etanol produzido como subproduto da reação e o excesso de ortoformiato de trietila foram então removidos sob pressão reduzida, obtendo um resíduo viscoso de coloração marrom. Após cromatografia de coluna de sílica gel eluída com hexano/éter dietílico (1:2 v/v) foi obtido o composto **74a** como um óleo laranja com 93% de rendimento (4,39 g, 30,27 mmol).

Os compostos **74b-c** foram preparados utilizando o mesmo procedimento descrito para a síntese do composto **74a**, e todos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel. As quantidades necessárias de cloridrato e os rendimentos obtidos em cada reação são apresentadas na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Dados referentes ao preparo dos intermediários **74a-c**

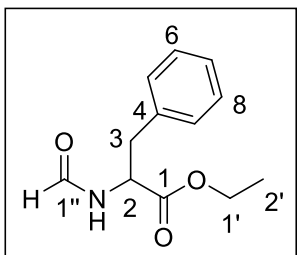
Cloridrato (g; mmol)	Intermediário (g; mmol; rendimento)
 73a (5,0; 32,55)	 74a (4,39; 30,27; 93%)
 73b (2,0; 8,71)	 74b (1,44; 6,53; 75%)
 73c (2,0; 7,44)	 74c (1,16; 4,46; 60%)

Dados referentes ao composto *N*-formil-2-aminopropanoato de etila (**74a**)



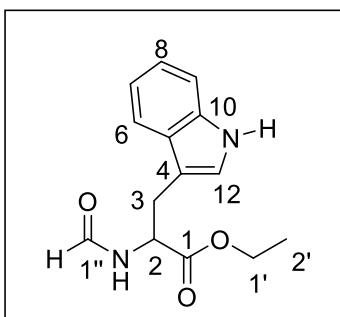
Aspecto físico: óleo laranja. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 1,29 (t, 3H, $J_{2',1'} = 7,1$ Hz, H-2'), 1,44 (d, 3H, $J_{3,2} = 7,1$ Hz, H-3), 4,21 (q, 2H, $J_{1',2'} = 7,1$ Hz, H-1'), 4,62-4,69 (m, 1H, H-2), 6,28 (s, 1H, -NH), 8,18 (s, 1H, H-1''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 14,2 (C-2'), 18,7 (C-3), 47,0 (C-2), 61,9 (C-1'), 160,5 (C-1''), 172,8 (C-1).

Dados referentes ao composto *N*-formil-2-amino-3-fenilpropanoato de etila (**74b**)



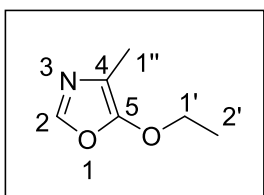
Aspecto físico: óleo laranja. **RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD)** δ : 1,28 (t, 3H, $J_{2',1'} = 7,1$ Hz, H-2'), 3,09 (dd, 1H, $J_{3a,3b} = 13,8$ Hz, $J_{3a,2} = 8,0$ Hz, H-3a), 3,23 (dd, 1H, $J_{3b,3a} = 13,8$ Hz, $J_{3b,2} = 5,9$ Hz, H-3b), 4,21 (q, 2H, $J_{1',2'} = 7,1$ Hz, H-1'), 4,83-4,87 (m, 1H, H-2), 7,28-7,38 (m, 5H, H-5/6/7/8/9), 8,11 (s, 1H, H-1''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD)** δ : 14,4 (C-2'), 38,5 (C-3), 53,8 (C-2), 62,4 (C-1'), 127,9 (C-7), 129,5 (C-5/9), 130,3 (C-6/8), 137,7 (C-4), 163,3 (C-1''), 172,4 (C-1).

Dados referentes ao composto *N*-formil-2-amino-3-(1*H*-indol-3-il)-1-oxopropanoato de etila (**74c**)



Aspecto físico: óleo laranja. **RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD)** δ : 1,17 (t, 3H, $J_{2',1'} = 7,1$ Hz, H-2'), 3,23 - 3,36 (m, 2H, H-3), 4,11 - 4,14 (m, 3H, H-1'/2), 7,06 (t, 1H, $J_{8,9} = J_{8,7} = 7,9$ Hz, H-8), 7,13-7,16 (m, 2H, H-7/12), 7,38 (d, 1H, $J_{9,8} = 7,9$ Hz, H-9), 7,57 (d, 1H, $J_{6,7} = 7,9$ Hz, H-6), 8,08 (s, 1H, H-1''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD)** δ : 14,2 (C-2'), 28,6 (C-3), 53,5 (C-2), 62,4 (C-1'), 110,3 (C-4), 112,3 (C-9), 119,2 (C-6), 119,8 (C-7), 122,5 (C-8), 124,5 (C-12), 128,7 (C-5), 138,0 (C-10), 163,5 (C-1''), 173,0 (C-1).

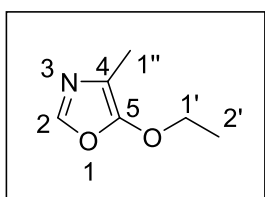
5-etóxi-4-metiloxazol (**34**) utilizando celite e MgO (Dean et al., 2008)



Em um balão bitubulado de fundo redondo (500 mL), na temperatura do ambiente (25-30 °C) e sob atmosfera de argônio, foram adicionados 150 mL de CHCl_3 anidro, P_2O_5 (20,0 g), celite (6,00 g) e MgO (6,00 g). A mistura reacional foi vigorosamente agitada até se tornar homogênea. Em seguida, uma solução de *N*-formil-2-aminopropanoato de etila (**74a**) (4,00 g, 27,6 mmol) em 50 mL de CHCl_3 foi adicionada, gota a gota, e a agitação foi continuada durante 30 min. Depois de ser refluxada durante 20 h, a mistura reacional foi resfriada e uma

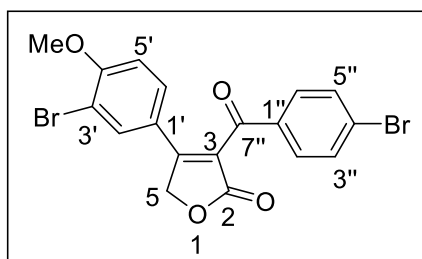
solução saturada de NaHCO_3 (200 mL) foi adicionada lentamente e os sólidos foram removidos por filtração. O filtrado foi extraído com clorofórmio (200 mL), a fase orgânica foi lavada com água e secada com Na_2SO_4 anidro. Na remoção do solvente, sob pressão reduzida, um óleo laranja escuro foi obtido e submetido à purificação em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:éter dietílico; 1:1 v/v), obtendo-se **34** como um líquido amarelo volátil com 25% de rendimento (876 mg, 6,89 mmol). **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 1,35 (t, 3H, $J_{2,1'} = 7,1$ Hz, H-2'), 2,04 (s, 3H, H-1''), 4,14 (q, 2H, $J_{1',2'} = 7,1$ Hz, H-1'), 7,37 (s, 1H, H-2).

5-etóxi-4-metiloxazol (34) na ausência de celite e MgO (Caulkins et al., 2014)



Em um balão bitubulado de fundo redondo (500 mL), na temperatura do ambiente (25-30 °C) e sob atmosfera de argônio, foram adicionados N-formil-2-aminopropanoato de etila (**74a**) (3,0 g; 20,67 mmol) em DCM (190 mL) e P_2O_5 (14,67 g; 103,35) lentamente. A reação foi refluxada por 24h e posteriormente colocada em banho de gelo para resfriar. Na mistura reacional resfriada, foram adicionados 160 mL de uma solução saturada de NaHCO_3 . A fase aquosa foi extraída com DCM (200 mL) e a fase orgânica foi secada em Na_2SO_4 , filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O produto final **34** foi obtido com 89% de rendimento (2,34 g; 18,40 mmol) e utilizado sem mais purificações.

4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)furan-2(5H)-ona (53a) (Boukouvalas e Thibault, 2015)

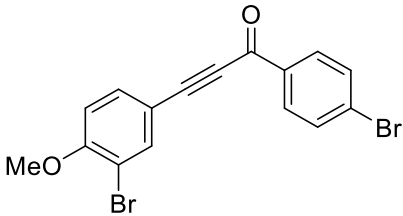
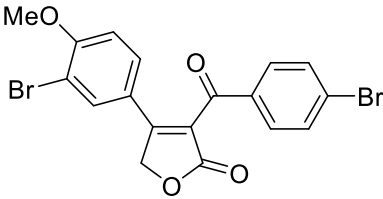
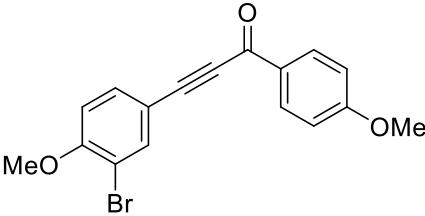
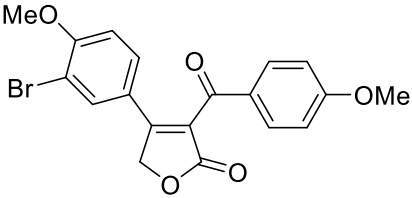
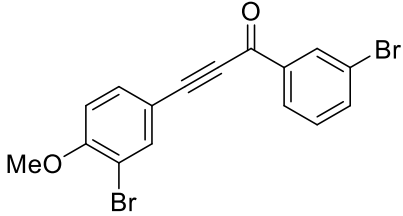
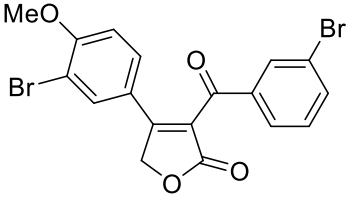
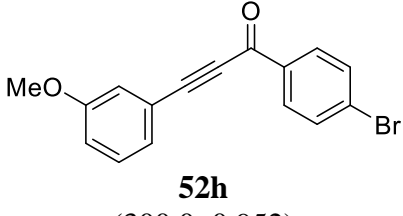
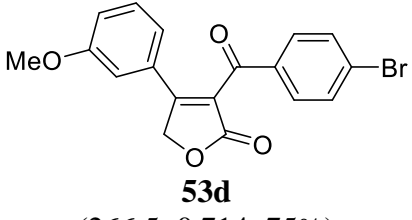


Em um schlenk, na temperatura do ambiente (25-30 °C) e sob atmosfera de argônio, foram adicionados 3-(3-bromo-4-metoxifenil)-1-(4-bromofenil)prop-2-in-1-ona (**52a**) (300,0 mg, 0,761 mmol), 5-etóxi-4-metiloxazol (**34**) (532,2 mg, 4,19 mmol) e tolueno (4 mL). O schlenk foi envolvido com papel alumínio e o sistema foi agitado magneticamente, sendo aquecido em banho de óleo em temperatura de 145-150 °C durante 24 h. Após resfriamento, os produtos voláteis foram removidos sob pressão reduzida a 60 °C. O material bruto foi dissolvido em THF (10 mL) e uma solução aquosa 48% de HBr (45,0 μL , 0,380 mmol) foi adicionada lentamente. O sistema foi mantido sob agitação magnética e na temperatura do ambiente (25-30 °C) por 8 h. Após esse período, a mistura reacional foi vertida em um funil de separação, uma solução saturada de NaCl (20 mL) foi adicionada e foi extraída com acetato de etila (2 x 30 mL). A fase orgânica foi secada com Na_2SO_4 , filtrada e concentrada sob pressão reduzida, obtendo-se um óleo marrom escuro como material bruto da reação. O material residual foi

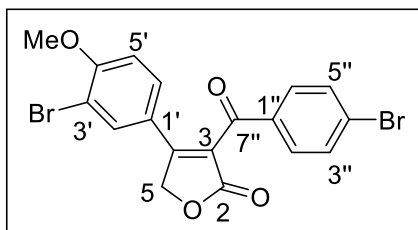
submetido à purificação em coluna cromatográfica de sílica gel (hexano:acetato de etila; 1:1 v/v), obtendo-se como produto um sólido amarelo com 54% de rendimento (185,8 mg; 0,411 mmol), identificado como o produto **53a**.

Os compostos **53b-d** foram preparados utilizando o mesmo procedimento descrito para a síntese da lactona **53a**, e todos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel. Na Tabela 2.5 são apresentadas as quantidades necessárias de cetoalquino e os rendimentos obtidos em cada reação.

Tabela 2.5 - Dados referentes ao preparo das lactonas **53a-d**

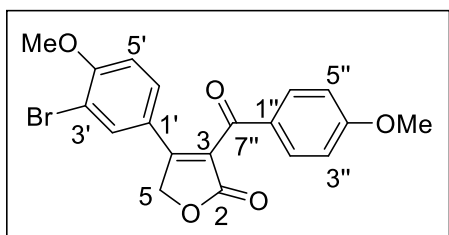
Cloridrato (mg; mmol)	Intermediário (mg; mmol; rendimento)
 <p>52a (300,0; 0,761)</p>	 <p>53a (185,8; 0,411; 54%)</p>
 <p>52b (300,0; 0,869)</p>	 <p>53b (276,8; 0,687; 79%)</p>
 <p>52c (300,0; 0,761)</p>	 <p>53c (123,9; 0,274; 36%)</p>
 <p>52h (300,0; 0,952)</p>	 <p>53d (266,5; 0,714; 75%)</p>

Dados referentes ao composto 4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)furan-2(5H)-ona (53a)



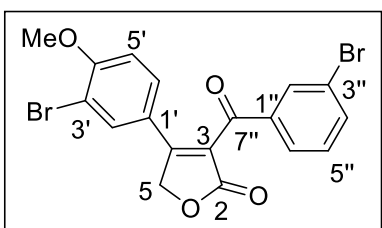
Aspecto físico: sólido amarelo. **Tr:** 121,2 - 122,8 °C. **IV** (ATR, cm^{-1}): $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2923, 2841, 1735, 1656, 1584, 1499, 1277, 1229. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 3,90 (s, 3H, -OMe), 5,29 (s, 2H, H-5), 6,84 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,7$ Hz, H-5'), 7,35 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,7$ Hz, $J_{6',2'} = 2,2$ Hz, H-6'), 7,58 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,2$ Hz, H-2'), 7,60 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,5$ Hz, H-3''/5''), 7,77 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,5$ Hz, H-2''/6''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 56,6 (-OMe), 70,6 (C-5), 112,3 (C-5'), 112,9 (C-3'), 122,6 (C-3), 124,2 (C-1'), 129,2 (C-6'), 130,3 (C-4''), 131,1 (C-2''/6''), 132,5 (C-3''/5''), 132,7 (C-2'), 134,4 (C-1''), 159,0 (C-4), 160,1 (C-4'), 170,7 (C-2), 190,5 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$:** Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{Br}_2\text{O}_4$ 450,9182; encontrado 450,9175.

Dados referentes ao composto 4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (53b)



Aspecto físico: sólido amarelo. **Tr:** 155,8-156,7 °C. **IV** (ATR, cm^{-1}): $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2962, 2929, 2839, 1732, 1645, 1630, 1586, 1501, 1329, 1268, 1247, 1162, 1054, 1017. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 3,84 (s, 3H, -OMe), 3,86 (s, 3H, -OMe), 5,26 (s, 2H, H-5), 6,81 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,7$ Hz, H-5'), 6,90 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,9$ Hz, H-3''/5''), 7,36 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,7$ Hz, $J_{6',2'} = 2,2$ Hz, H-6'), 7,57 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,2$ Hz, H-2'), 7,88 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,9$ Hz, H-2''/6''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 55,7 (-OMe), 56,5 (-OMe), 70,4 (C-5), 112,2 (C-5'), 112,6 (C-3'), 114,4 (C-3''/5''), 122,9 (C-3), 124,9 (C-1'), 128,8 (C-1''), 129,1 (C-6'), 132,2 (C-2''/6''), 132,5 (C-2'), 158,6 (C-4), 158,7 (C-4'), 165,0 (C-4''), 171,0 (C-2), 189,8 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$:** Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{BrO}_5$ 403,0165; encontrado 403,0176.

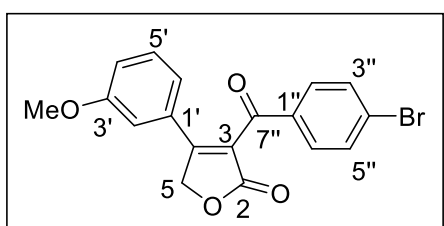
Dados referentes ao composto 4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3-bromobenzoil)furan-2(5H)-ona (53c)



Aspecto físico: sólido amarelo. **Tr:** 126,8 - 128,0 °C. **IV** (ATR, cm^{-1}): $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3059, 2988, 2946, 1745, 1661, 1593, 1498, 1413, 1328, 1278, 1264, 1233, 1051, 1035, 1012.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 3,90 (s, 3H, -OMe), 5,31 (s, 2H, H-5), 6,85 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,7$ Hz, H-5'), 7,33 (t, 1H, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,8$ Hz, H-5''), 7,37 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,7$ Hz, $J_{6',2'} = 2,2$ Hz, H-6'), 7,59 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,2$ Hz, H-2'), 7,72 (d, 1H, $J_{6'',5''} = 7,8$ Hz, H-6''), 7,80 (d, 1H, $J_{4'',5''} = 7,8$ Hz, H-4''), 8,04 (s, 1H, H-2''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 56,6 (-OMe), 70,6 (C-5), 112,3 (C-5'), 112,9 (C-3'), 122,6 (C-3''), 123,4 (C-3), 124,0 (C-1'), 128,3 (C-4''), 129,2 (C-6'), 130,6 (C-5''), 132,3 (C-2''), 132,7 (C-2'), 137,4 (C-1''), 137,5 (C-6''), 159,1 (C-4'), 160,5 (C-4), 170,6 (C-2), 190,2 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$** : Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{Br}_2\text{O}_4$ 450,9171; encontrado 450,9175.

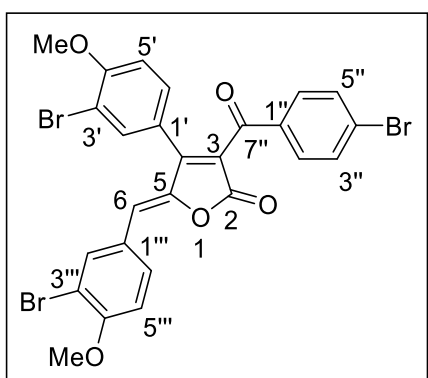
Dados referentes ao composto 3-(4-bromobenzoil)-4-(3-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (**53d**)



Aspecto físico: óleo amarelo escuro. **IV (ATR, cm^{-1}):**

$\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3063, 2936, 2840, 1746, 1661, 1639, 1578, 1328, 1260, 1229, 1166, 1034. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 3,69 (s, 3H, -OMe), 5,32 (s, 2H, H-5), 6,87 (t, 1H, $J_{2',4'} = J_{2',6'} = 2,0$ Hz, H-2'), 6,93 (ddd, 1H, $J_{4',5'} = 8,0$ Hz, $J_{4',2'} = 2,0$ Hz, $J_{4',6'} = 0,8$ Hz, H-4'), 6,97 (ddd, 1H, $J_{6',5'} = 8,0$ Hz, $J_{6',2'} = 2,0$ Hz, $J_{6',4'} = 0,8$ Hz, H-6'), 7,27 (t, 1H, $J_{5',6'} = J_{5',4'} = 8,0$ Hz, H-5'), 7,58 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,7$ Hz, H-3''/5''), 8,17 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7$ Hz, H-2''/6''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 55,4 (-OMe), 70,8 (C-5), 113,4 (C-2'), 118,0 (C-4'), 120,1 (C-6'), 125,6 (C-3), 130,1 (C-4''), 130,2 (C-5'), 130,6 (C-1'), 131,0 (C-2''/6''), 132,4 (C-3''/5''), 134,3 (C-1''), 160,1 (C-3'), 161,8 (C-4), 170,6 (C-2), 190,4 (C-7'').

(Z)-5-(3-bromo-4-metoxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)furan-2(5H)-ona (**54a**) (adaptado de Boukouvalas et al., 2007)



A um balão bitubulado de fundo redondo (25 mL), sob atmosfera de argônio, foram adicionados a lactona **53a** (50,0 mg, 0,111 mmol), 3-bromo-4-metoxibenzaldeído (28,6 mg; 0,133 mmol), TBDMSOTf (36 μL , 0,155 mmol), DIPEA (40 μL , 0,222 mmol) e DCM anidro (5 mL). A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética e na temperatura do ambiente (25-30 $^{\circ}\text{C}$) por um período de 1 h. Após esse período, a mistura reacional

foi refluxada a 40 $^{\circ}\text{C}$ e posteriormente foi adicionado DBU (34 μL , 0,222 mmol), mantendo-se o refluxo por 2 h. A mistura reacional foi transferida para um funil de separação, empregando-se DCM (10 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de

HCl 1M (5 mL) e solução saturada de NaCl (5 mL). Em seguida, a fase orgânica foi secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material bruto da reação foi purificado por cromatografia de coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila; 2:1 v/v) para obtenção de **54a** com 74% de rendimento (53,3 mg; 0,0821 mmol).

Os compostos **54b-m** foram preparados com o mesmo procedimento descrito para a síntese do composto **54a**, e todos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel. Na Tabela 2.6 são apresentadas as quantidades necessárias de lactona, aldeído e os rendimentos obtidos de cada reação.

Tabela 2.6 - Dados referentes ao preparo dos análogos aos cadiolídeos metoxilados **54a-m**

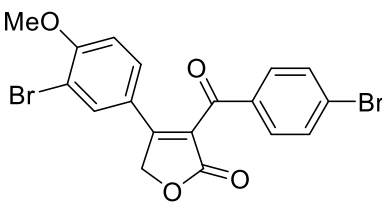
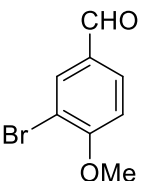
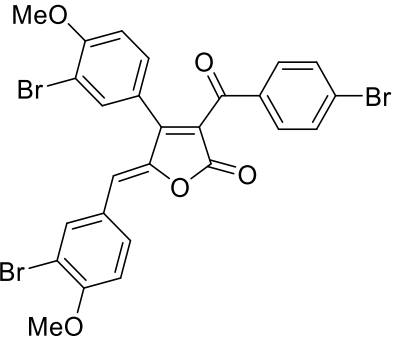
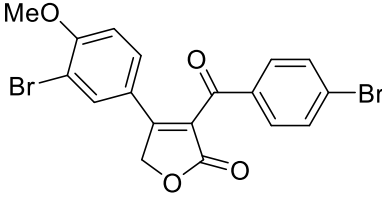
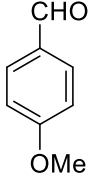
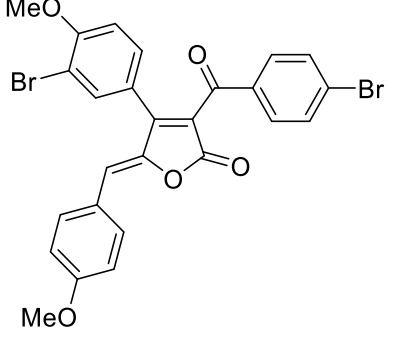
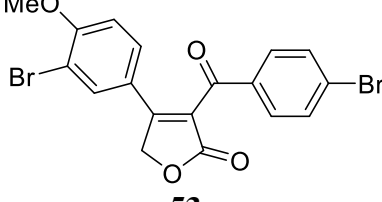
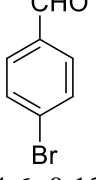
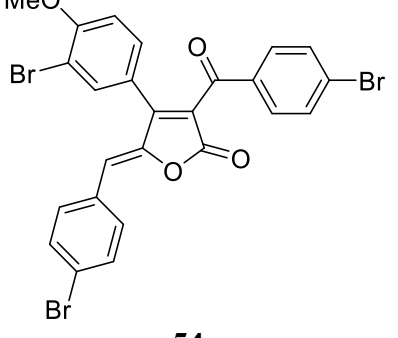
Lactona (mg; mmol)	Aldeído (mg; mmol)	Análogo ao cadiolídeo metoxilado (mg; mmol; rendimento)
 53a (50,0; 0,111)	 (28,6; 0,133)	 54a (53,3; 0,0821; 74%)
 53a (50,0; 0,111)	 (18,1; 0,133)	 54b (60,1; 0,105; 95%)
 53a (50,0; 0,111)	 (24,6; 0,133)	 54c (33,0; 0,0533; 48%)

Tabela 2.6 - Continuação...

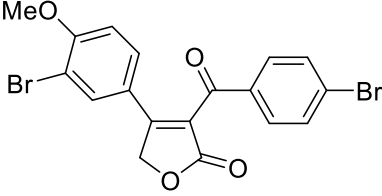
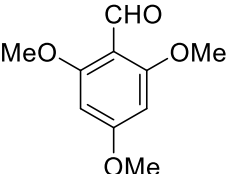
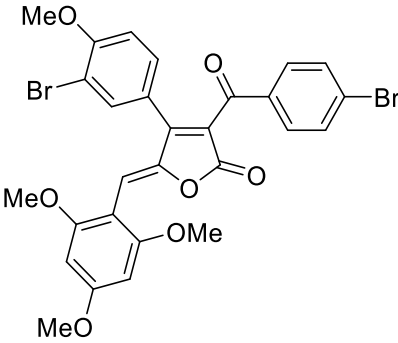
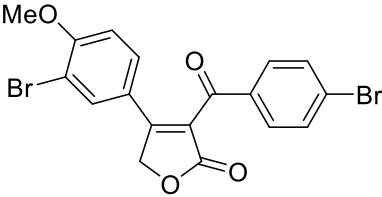
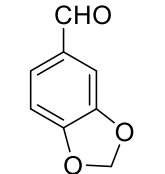
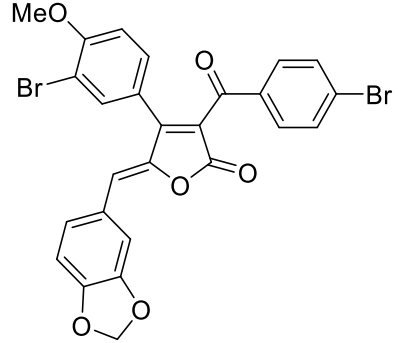
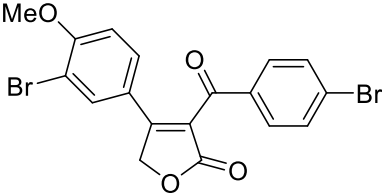
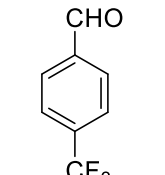
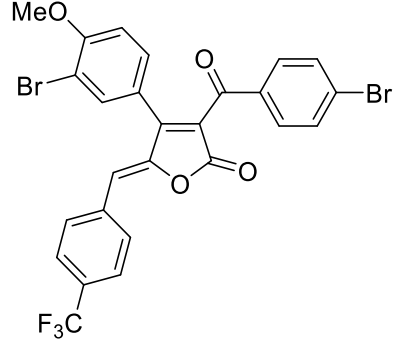
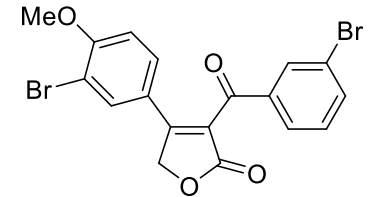
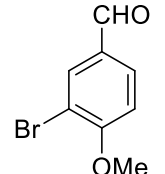
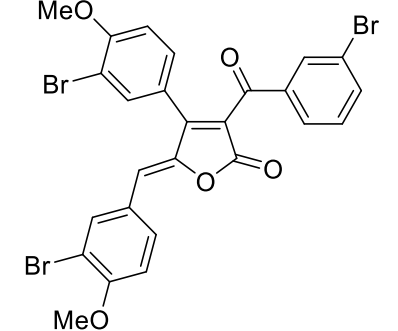
Lactona (mg; mmol)	Aldeído (mg; mmol)	Análogo ao cadiólídeo metoxilado (mg; mmol; rendimento)
 53a (50,0; 0,111)	 (26,1; 0,133)	 54d (44,8; 0,0710; 64%)
 53a (50,0; 0,111)	 (20,0; 0,133)	 54e (61,0; 0,104; 94%)
 53a (50,0; 0,111)	 (23,2; 0,133)	 54f (32,4; 0,0533; 48%)
 53c (50,0; 0,111)	 (28,6; 0,133)	 54g (32,4; 0,0499; 45%)

Tabela 2.6 - Continuação...

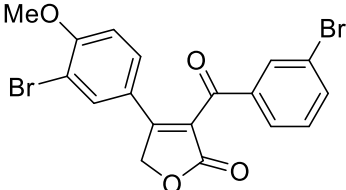
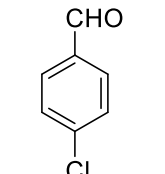
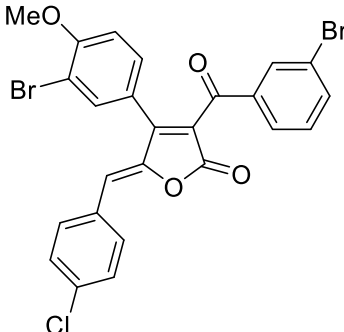
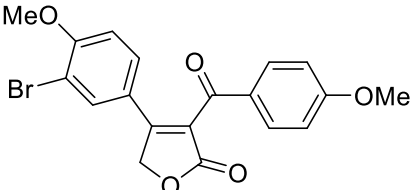
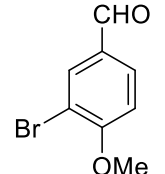
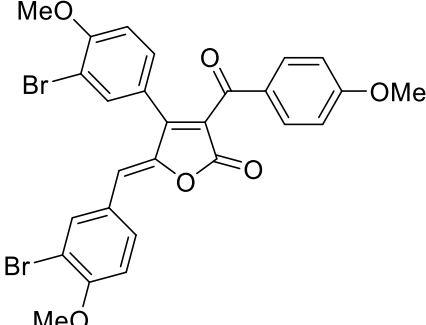
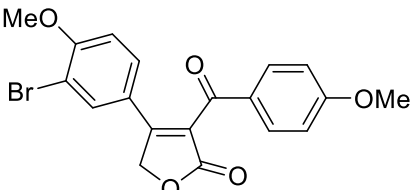
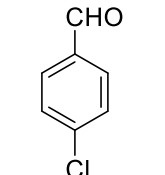
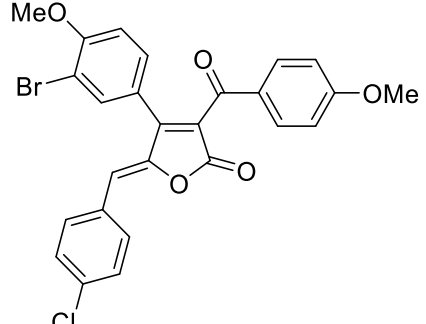
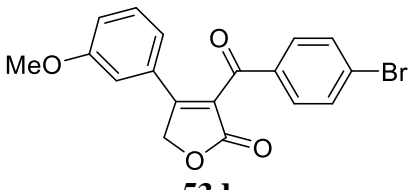
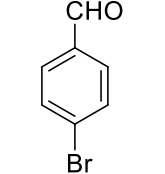
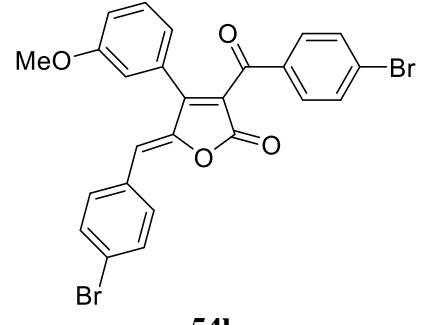
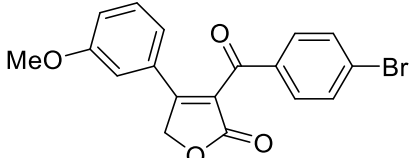
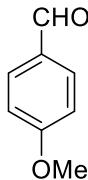
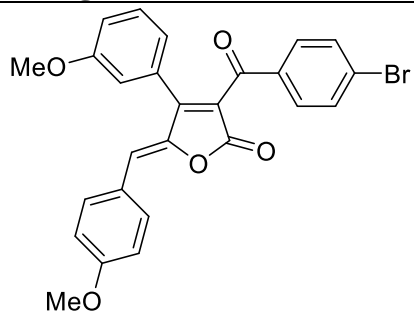
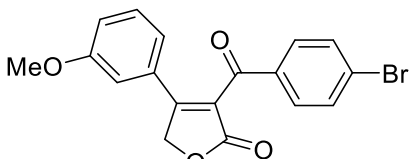
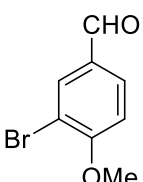
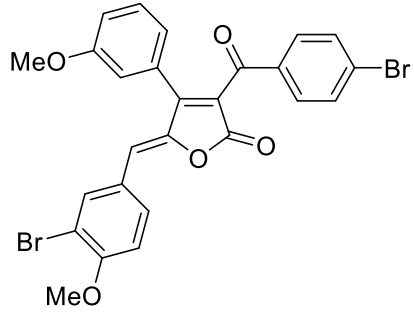
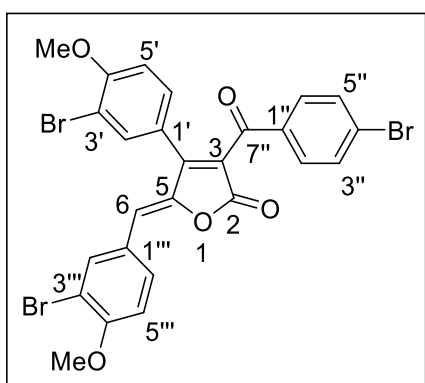
Lactona (mg; mmol)	Aldeído (mg; mmol)	Análogo ao cadiólídeo metoxilado (mg; mmol; rendimento)
 <p>53c (50,0; 0,111)</p>	 <p>(18,7; 0,133)</p>	 <p>54h (22,3; 0,0388; 35%)</p>
 <p>53b (50,0; 0,124)</p>	 <p>(32,0; 0,149)</p>	 <p>54i (56,7; 0,0942; 76%)</p>
 <p>53b (50,0; 0,124)</p>	 <p>(20,9; 0,149)</p>	 <p>54j (27,4; 0,0521; 42%)</p>
 <p>53d (50,0; 0,134)</p>	 <p>(29,8; 0,161)</p>	 <p>54k (54,3; 0,101; 75%)</p>

Tabela 2.6 - Continuação...

Lactona (mg; mmol)	Aldeído (mg; mmol)	Análogo ao cadiolídeo metoxilado (mg; mmol; rendimento)
 <p>53d (50,0; 0,134)</p>	 <p>54l (21,9; 0,161)</p>	 <p>54l (46,1; 0,0938; 70%)</p>
 <p>53d (50,0; 0,134)</p>	 <p>54m (34,6; 0,161)</p>	 <p>54m (49,7; 0,0871; 65%)</p>

Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-metoxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)furan-2(5H)-ona (**54a**)

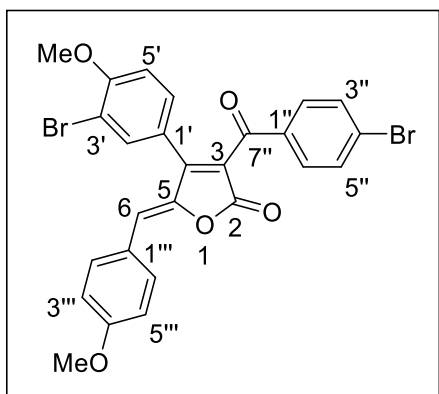


Rendimento global: 31%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **Tr:** 189,0 - 190,5 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3031, 2922, 2851, 1756, 1655, 1574, 1493, 1272, 1264. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ : 3,93 (s, 3H, -OMe), 3,96 (s, 3H, -OMe), 6,14 (s, 1H, H-6), 6,92 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 6,95 (d, 1H, $J_{5''',6'''} = 8,7$ Hz, H-5'''), 7,35 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 1,9$ Hz, H-6'), 7,55 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$ Hz, H-3''/5''), 7,61 (d, 1H, $J_{2',6'} = 1,9$ Hz, H-

2'), 7,67 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$ Hz, H-2''/6''), 7,86 (dd, 1H, $J_{6''',5'''} = 8,7$ Hz, $J_{6''',2'''} = 1,8$ Hz, H-6'''), 7,99 (d, 1H, $J_{2''',6'''} = 1,8$ Hz, H-2'''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)** δ : 56,6 (-OMe, -OMe), 112,0 (C-5'), 112,2 (C-5'''), 112,5 (C-3'), 112,5 (C-3'''), 116,5 (C-6), 122,2 (C-3), 123,1 (C-4''), 126,8 (C-1'''), 129,7 (C-1'), 130,1 (C-6'), 131,1 (C-2''/6''), 132,1 (C-3''/5''), 132,2 (C-6'''), 134,0 (C-2'), 135,0 (C-1''), 136,2 (C-2'''), 146,3 (C-5), 156,9 (C-

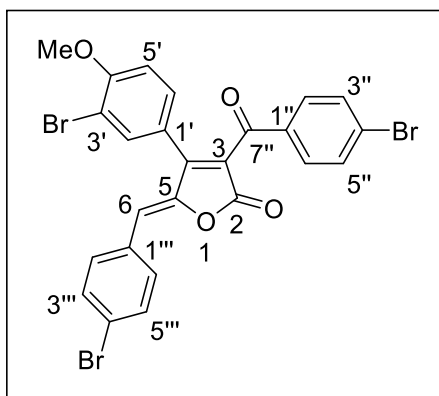
4), 157,6 (C-4'), 158,0 (C-4'''), 166,0 (C-2), 188,4 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₆H₁₈Br₃O₅ 646,8693; encontrado 646,8699.

Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)-5-(4-metoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (54b)



Rendimento global: 40%. **Aspecto físico:** sólido amarelo fluorescente. **T_f:** 196,2 - 198,0. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3058, 2922, 2849, 1766, 1600, 1573, 1507, 1493, 1295, 1261, 1170, 1161, 1010. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ :** 3,87 (s, 3H, -OMe), 3,92 (s, 3H, -OMe), 6,22 (s, 1H, H-6), 6,91 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 6,95 (d, 2H, $J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,8$ Hz, H-3'''/5'''), 7,35 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 2,1$ Hz, H-6'), 7,54 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',3''} = 8,6$ Hz, H-3''/5''), 7,62 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, H-2'), 7,67 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, H-2''/6''), 7,82 (d, 2H, $J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,8$ Hz, H-2'''/6'''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ :** 55,6 (-OMe), 56,6 (-OMe), 112,0 (C-5'), 112,3 (C-3'), 114,8 (C-3'''/5'''), 118,5 (C-6), 122,4 (C-3), 122,4 (C-1'''), 125,6 (C-1'), 129,5 (C-4''), 130,2 (C-6'), 131,1 (C-2''/6''), 132,0 (C-3''/5''), 133,6 (C-2'''/6'''), 134,1 (C-2'), 135,2 (C-1''), 145,6 (C-5), 157,2 (C-4), 157,9 (C-4'), 161,7 (C-4'''), 166,3 (C-2), 188,5 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₆H₁₉Br₂O₅ 568,9594; encontrado 568,9594.

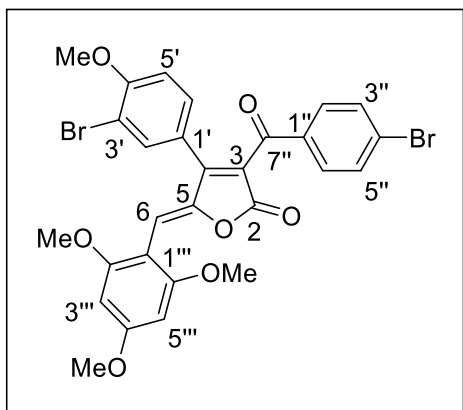
Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)-5-(4-bromobenzilideno)furan-2(5H)-ona (54c)



Rendimento global: 20%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **T_f:** 207,2 - 209,0 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 2921, 2851, 1758, 1657, 1583, 1551, 1494, 1293, 1274. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ :** 3,93 (s, 3H, -OMe), 6,18 (s, 1H, H-6), 6,92 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,36 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 2,2$ Hz, H-6'), 7,56 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,6$ Hz, H-3''/5''), 7,56 (d, 2H, $J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,6$ Hz, H-3'''/5'''), 7,63 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,2$ Hz, H-2'), 7,67 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, H-2''/6''), 7,71 (d, 2H, $J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,6$ Hz, H-2'''/6'''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ :** 56,6 (-OMe), 112,1 (C-5'), 112,6 (C-3'), 116,5 (C-6), 122,0 (C-3), 124,0 (C-4'''), 125,1 (C-4''), 129,8 (C-1'), 130,2 (C-6'), 131,1 (C-2''/6''), 131,5 (C-1'''), 132,2 (C-3''/5''), 132,5 (C-3'''/5'''), 132,7 (C-2'''/6'''), 134,0 (C-

2'), 134,8 (C-1''), 147,5 (C-5), 156,7 (C-4), 158,1 (C-4'), 165,8 (C-2), 188,3 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₄H₁₅Br₂O₅ 616,8596; encontrado 616,8593.

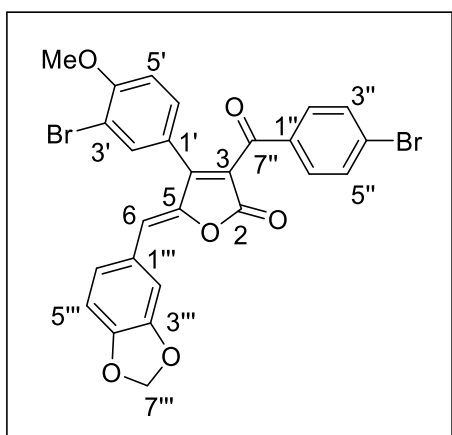
Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)-5-(2,4,6-trimetoxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (54d)



Rendimento global: 27%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **Tr:** 169,3 - 171,0 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 2936, 2836, 1752, 1581, 1565, 1494, 1471, 1456, 1326, 1208, 1201, 1158, 1125. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ :** 3,86 (s, 9H, -OMe), 3,91 (s, 3H, -OMe), 6,15 (s, 2H, H-3'''/5'''), 6,44 (s, 1H, H-6), 6,87 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,38 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 2,2$ Hz, H-6'), 7,53 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} =$

8,6 Hz, H-3''/5''), 7,67 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, H-2''/6''), 7,69 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,2$ Hz, H-2'). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ :** 55,6 (-OMe), 56,1 (-OMe/-OMe), 56,5 (-OMe), 90,9 (C-3'''/5'''), 104,2 (C-1'''), 111,8 (C-3'), 112,0 (C-5'), 112,1 (C-6), 122,8 (C-3), 123,0 (C-1'), 129,3 (C-4''), 130,5 (C-6'), 131,1 (C-2''/6''), 132,0 (C-3''/5''), 135,5 (C-2'), 135,3 (C-1''), 146,4 (C-5), 156,4 (C-4), 157,8 (C-4'), 159,8 (C-2'''/6'''), 163,6 (C-4'''), 166,2 (C-2), 188,9 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₈H₂₃Br₂O₇ 628,9787; encontrado 628,9805.

Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)-5-(3,4-metilenodioxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (54e)

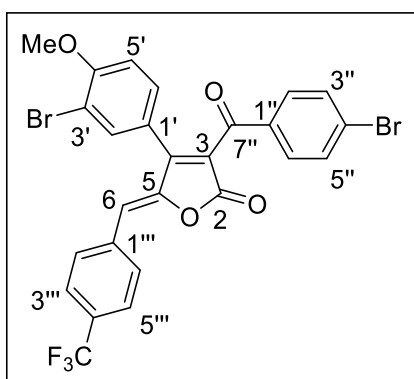


Rendimento global: 40%. **Aspecto físico:** sólido laranja fluorescente. **Tr:** 198,8 - 200,5 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 2919, 1754, 1601, 1581, 1488, 1360, 1289, 1259, 1035. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ :** 3,92 (s, 3H, -OMe), 6,04 (s, 2H, H-7'''), 6,17 (s, 1H, H-6), 6,85 (d, 1H, $J_{5''',6'''} = 8,2$ Hz, H-5'''), 6,91 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,21 (dd, 1H, $J_{6''',5'''} = 8,2$ Hz, $J_{6''',2'''} = 1,5$ Hz, H-6'''), 7,35 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'''} = 2,1$ Hz, H-6'), 7,53 - 7,55 (m, 3H, H-2''/3''/5''), 7,61 (d, 1H,

$J_{2',6'} = 2,1$ Hz, H-2'), 7,67 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, H-2''/6''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ :** 56,6 (-OMe), 102,0 (C-7'''), 108,9 (C-5'''), 110,6 (C-2'''), 112,0 (C-5'), 112,4

(C-3'), 118,4 (C-6), 122,3 (C-3), 122,6 (C-1'), 127,2 (C-4''), 127,9 (C-6'''), 129,5 (C-1'''), 130,2 (C-6'), 131,1 (C-2''/6''), 132,1 (C-3''/5''), 134,1 (C-2'), 135,1 (C-1''), 145,8 (C-5), 148,7 (C-4), 149,9 (C-4'''), 157,0 (C-3'''), 157,9 (C-4'), 166,1 (C-2), 188,4 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₆H₁₇Br₂O₆ 582,9380; encontrado 582,9386.

Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-bromobenzoil)-5-(4-(trifluorometil)benzilideno)furan-2(5H)-ona (54f)

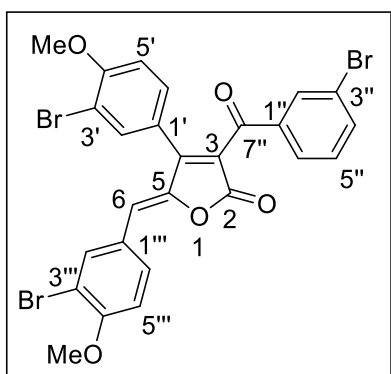


Rendimento global: 20%. **Aspecto físico:** sólido amarelo.

Tr: 178,3 – 179,0 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3082, 2923, 2851, 1761, 1659, 1598, 1584, 1566, 1495, 1322, 1274, 1170, 1106, 1070. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ :** 3,93 (s, 3H, -OMe), 6,26 (s, 1H, H-6), 6,93 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,38 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2''} = 1,6$ Hz, H-6'), 7,56 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$ Hz, H-3''/5''), 7,64 (d, 1H, $J_{2',6'} = 1,6$ Hz, H-2'), 7,67 - 7,69 (m, 4H, H-

2''/6''/2''''/6'''), 7,94 (d, 2H, $J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,1$ Hz, H-3'''/5'''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ :** 56,6 (-OMe), 112,2 (C-5'), 112,7 (C-3'), 115,5 (C-6), 121,7 (C-3), 124,7 (C-1'), 125,3 (CF₃), 126,0 (C-2'''), 126,0 (C-6'''), 130,0 (C-4''), 130,1 (C-6'), 131,1 (C-2''/6''), 131,4 (C-3'''/5'''), 131,7 (C-4'''), 132,2 (C-3''/5''), 134,0 (C-2'), 134,7 (C-1''), 135,9 (C-1'), 148,5 (C-5), 156,4 (C-4), 158,2 (C-4'), 165,5 (C-2), 188,1 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₆H₁₆Br₂F₃O₄ 606,9351; encontrado 606,9362.

Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-metoxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3-bromobenzoil)furan-2(5H)-ona (54g)



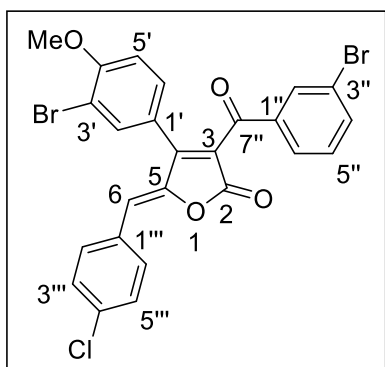
Rendimento global: 14%. **Aspecto físico:** sólido amarelo.

Tr: 213,5 - 215,2 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3023, 2924, 2849, 1772, 1567, 1493, 1379, 1261, 1167, 1050, 1014. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ :** 3,92 (s, 3H, -OMe), 3,96 (s, 3H, -OMe), 6,15 (s, 1H, H-6), 6,91 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 6,94 (d, 1H, $J_{5''',6'''} = 8,8$ Hz, H-5'''), 7,27 (t, 1H, $J_{5'',4''} = J_{5'',6''} = 7,9$ Hz, H-5''), 7,34 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz,

$J_{6',2''} = 2,1$ Hz, H-6'), 7,59 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, H-2'), 7,64 (dl, 1H, $J_{4'',5''} = 7,9$ Hz, H-4''), 7,71 (dl, 1H, $J_{6'',5''} = 7,9$ Hz, H-6''), 7,86 (dd, 1H, $J_{6''',5'''} = 8,8$ Hz, $J_{6''',2'''} = 2,0$ Hz, H-6'''), 7,88 (d, 1H, $J_{2'',4''} = 1,4$ Hz, H-2''), 8,00 (d, 1H, $J_{2''',6'''} = 2,0$ Hz, H-2'''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ :** 56,6 (-OMe, -OMe), 112,0 (C-3'), 112,2 (C-3'''), 112,5 (C-5'), 112,5 (C-

5'''), 116,7 (C-6), 122,1 (C-3), 122,6 (C-1'''), 122,9 (C-3''), 126,8 (C-1'), 128,2 (C-6''), 130,1 (C-6'), 130,3 (C-5''), 132,3 (C-6'''), 132,5 (C-2''), 134,0 (C-2'), 136,2 (C-2'''), 136,8 (C-4''), 137,9 (C-1''), 146,2 (C-5), 157,1 (C-4), 157,6 (C-4'), 158,0 (C-4'''), 165,8 (C-2), 188,0 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$** : Calculado para $C_{26}H_{18}Br_3O_5$ 646,8698; encontrado 646,8699.

Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(3-bromobenzoil)-5-(4-clorobenzilideno)furan-2(5H)-ona (54h)

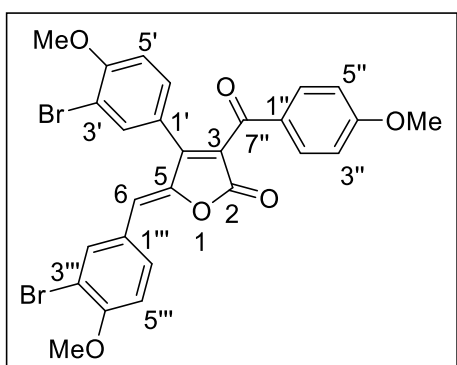


Rendimento global: 11%. **Aspecto físico:** sólido amarelo.

Tf: 187,5 – 189,7 °C. **IV (ATR, cm^{-1}):** $\bar{\nu}_{max}$ 3065, 2919, 2850, 1768, 1597, 1571, 1491, 1272, 1257, 1162, 1051, 1012. **RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ :** 3,92 (s, 3H, -OMe), 6,22 (s, 1H, H-6), 6,92 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,28 (t, 1H, $J_{5'',6''} = J_{5'',4''} = 8,0$ Hz, H-5''), 7,35 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 2,1$ Hz, H-6'), 7,40 (d, 2H, $J_{3''',2'''} =$

$J_{5''',6'''} = 8,6$ Hz, H-3'''/5'''), 7,61 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, H-2'), 7,65 (dl, 1H, $J_{4'',5''} = 8,0$ Hz, H-4''), 7,71 (dl, 1H, $J_{6'',5''} = 8,0$ Hz, H-6''), 7,78 (d, 2H, $J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,6$ Hz, H-2'''/6'''), 7,88 (t, 1H, $J_{2'',6''} = J_{2'',4''} = 1,7$ Hz, H-2''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ :** 56,6 (-OMe), 112,1 (C-5'), 112,5 (C-3'), 116,7 (C-6), 122,0 (C-3), 123,0 (C-3''), 123,5 (C-1'), 128,2 (C-6''), 129,5 (C-3'''/5'''), 130,2 (C-6'), 130,3 (C-5''), 131,1 (C-1'''), 132,5 (C-2''), 132,6 (C-2'''/6'''), 134,0 (C-2'), 136,6 (C-4'''), 137,0 (C-4''), 137,8 (C-1''), 147,3 (C-5), 157,0 (C-4), 158,1 (C-4'), 165,6 (C-2), 187,9 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$** : Calculado para $C_{25}H_{16}Br_2ClO_4$ 572,9097; encontrado 572,9098.

Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-metoxibenilideno)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (54i)



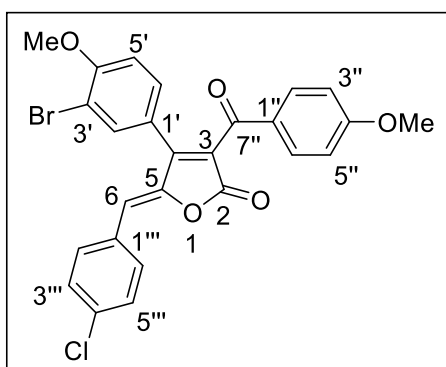
Rendimento global: 47%. **Aspecto físico:** sólido amarelo.

Tf: 191,6 - 192,2 °C. **IV (ATR, cm^{-1}):** $\bar{\nu}_{max}$ 3065, 3008, 2928, 2840, 1771, 1755, 1592, 1582, 1494, 1256, 1158. **RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ :** 3,85 (s, 3H, -OMe), 3,91 (s, 3H, -OMe), 3,95 (s, 3H, -OMe), 6,10 (s, 1H, H-6), 6,88 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,9$ Hz, H-3''/5''), 6,89 - 6,95 (m, 2H, H-5'/5'''), 7,36 (dd, 1H,

$J_{6',5'} = 8,5$ Hz, $J_{6',2'} = 2,1$ Hz, H-6'), 7,62 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, H-2'), 7,81 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,9$ Hz, H-2''/6''), 7,85 (dd, 1H, $J_{6''',5'''} = 8,7$ Hz, $J_{6''',2'''} = 2,1$ Hz, H-6'''), 7,99 (d,

1H, $J_{2''',6'''} = 2,1$ Hz, H-2'''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 55,7 (-OMe), 56,5 (-OMe), 56,6 (-OMe), 112,0 (C-5'''), 112,1 (C-5'), 112,3 (C-3'''), 112,4 (C-3'), 114,1 (C-3''/5''), 115,3 (C-6), 122,5 (C-3), 124,4 (C-1'), 127,0 (C-1'''), 129,3 (C-1''), 130,1 (C-6'), 132,0 (C-6'''), 132,3 (C-2''/6''), 133,9 (C-2'), 136,0 (C-2'''), 146,5 (C-5), 155,4 (C-4), 157,3 (C-4'''), 157,8 (C-4'), 164,6 (C-4''), 166,3 (C-2), 187,7 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$** : Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{Br}_2\text{O}_6$ 598,9678; encontrado 598,9699.

Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-metoxifenil)-5-(4-clorobenzilideno)-3-(4-metoxibenzoil)furan-2(5H)-ona (54j)

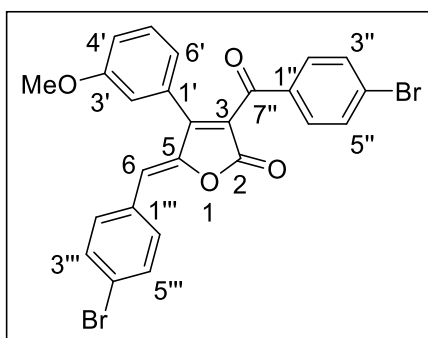


Rendimento global: 26%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **Tr:** 154,0 - 155,6 °C. **IV (ATR, cm^{-1}):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2920, 2850, 1756, 1647, 1594, 1574, 1493, 1257, 1164.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 3,86 (s, 3H, -OMe), 3,92 (s, 3H, -OMe), 6,17 (s, 1H, H-6), 6,89 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 9,1$ Hz, H-3''/5''), 6,91 (d, 1H, $J_{5',6'} = 9,0$ Hz, H-5'), 7,37 - 7,41 (m, 1H, H-6'), 7,40 (d, 2H,

$J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,6$ Hz, H-3'''/5'''), 7,65 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, H-2'), 7,78 (d, 2H, $J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,6$ Hz, H-2'''/6'''), 7,81 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 9,1$ Hz, H-2''/6''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)** δ : 55,7 (-OMe), 56,5 (-OMe), 112,1 (C-5'), 112,4 (C-3'), 114,2 (C-3''/5''), 115,3 (C-6), 122,3 (C-3), 125,2 (C-1'), 129,2 (C-1''), 129,4 (C-3'''/5'''), 130,1 (C-6'), 131,3 (C-1'''), 132,3 (C-2'''/6'''), 132,4 (C-2''/6''), 133,9 (C-2'), 136,2 (C-4'''), 147,5 (C-5), 155,3 (C-4), 157,9 (C-4'), 164,7 (C-4''), 166,1 (C-2), 187,6 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$** : Calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{BrClO}_5$ 525,0083; encontrado 525,0099.

Dados referentes ao composto (Z)-3-(4-bromobenzoil)-5-(4-bromobenzilideno)-4-(3-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (54k)

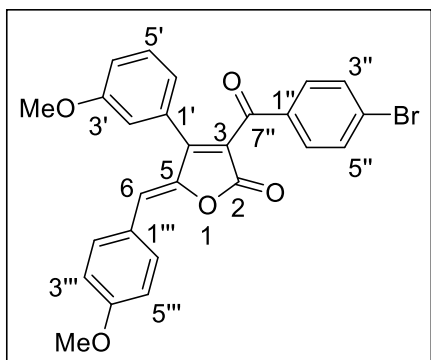


Rendimento global: 35%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **Tr:** 225 - 227 °C. **IV (ATR, cm^{-1}):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3065, 3007, 2920, 2849, 1761, 1744, 1655, 1584, 1568, 1373, 1343, 1250, 1009. **RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 3,77 (s, 3H, -OMe), 6,24 (s, 1H, H-6), 6,91 (s, 1H, H-2'), 6,99-6,94 (m, 2H, H-4'/6'), 7,33 (t, 1H, $J_{5',6'} = J_{5',4'} = 8,0$ Hz, H-5'), 7,52 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,6$ Hz, H-3''/5''),

7,55 (d, 2H, $J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,6$ Hz, H-3'''/5'''), 7,66 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, H-2''/6''), 7,69 (d, 2H, $J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,6$ Hz, H-2'''/6'''). **RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)**

δ : 55,6 (-OMe), 115,0 (C-2'), 116,4 (C-6'), 116,5 (C-6), 121,4 (C-4'), 124,3 (C-3), 124,9 (C-4'''), 129,7 (C-4''), 129,8 (C-1'''), 130,3 (C-5'), 131,0 (C-2''/6''), 131,6 (C-1'), 132,1 (C-3''/5''), 132,4 (C-3'''/5'''), 132,7 (C-2'''/6'''), 134,8 (C-1''), 147,4 (C-5), 157,9 (C-4), 159,9 (C-3'), 165,8 (C-2), 188,3 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₅H₁₇Br₂O₄ 538,9485; encontrado 538,9488.

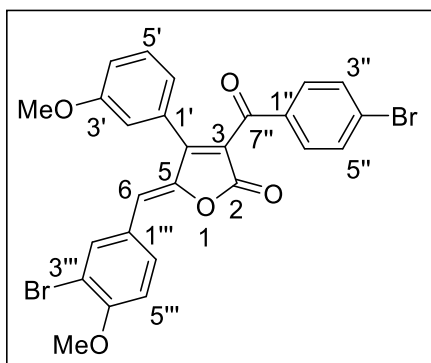
Dados referentes ao composto (Z)-3-(4-bromobenzoil)-5-(4-metoxibenzilideno)-4-(3-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (54l)



Rendimento global: 17%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **T_f:** 230 - 231 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3001, 2918, 2850, 1750, 1600, 1586, 1557, 1512, 1464, 1377, 1254, 1173 1029. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ :** 3,77 (s, 3H, -OMe), 3,87 (s, 3H, -OMe), 6,28 (s, 1H, H-6), 6,91 (s, 1H, H-2'), 6,93-6,98 (m, 4H, H-4'/6'/3'''/5'''), 7,32 (t, 1H, $J_{5',6'} = J_{5',4'} = 7,9$ Hz, H-5'),

7,51 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$ Hz, H-3''/5''), 7,67 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$ Hz, H-2''/6''), 7,82 (d, 2H, $J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,8$ Hz, H-2'''/6'''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ :** 55,6 (-OMe), 55,6 (-OMe), 114,7 (C-3'''/5'''), 115,0 (C-2'), 116,2 (C-4'), 118,4 (C-6), 121,6 (C-6'), 122,7 (C-3), 125,7 (C-1'''), 129,4 (C-4''), 130,2 (C-5'), 130,3 (C-1'), 131,1 (C-2''/6''), 132,0 (C-3''/5''), 133,5 (C-2'''/6'''), 135,2 (C-1''), 145,6 (C-5), 158,4 (C-4), 159,8 (C-4'''), 161,6 (C-3'), 166,4 (C-2), 188,6 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₆H₂₀BrO₅ 491,0473; encontrado 491,0489.

Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-metoxibenzilideno)-3-(4-bromobenzoil)-4-(3-metoxifenil)furan-2(5H)-ona (54m)

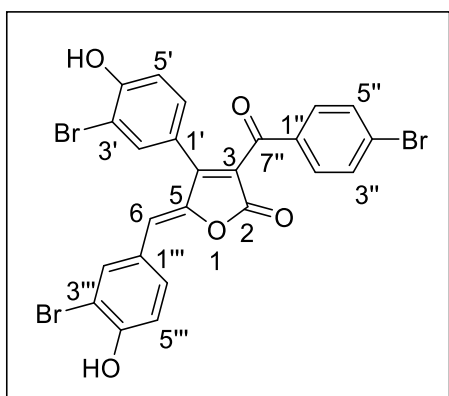


Rendimento global: 31%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **T_f:** 235 - 237 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 2924, 2853, 1750, 1584, 1566, 1495, 1461, 1428, 1378, 1266, 1245, 1172, 1158. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ :** 3,78 (s, 3H, -OMe), 3,96 (s, 3H, -OMe), 6,19 (s, 1H, H-6), 6,90 (s, 1H, H-2'), 6,93-7,00 (m, 3H, H-4'/6'/5'''), 7,32 (t, 1H, $J_{5',6'} = J_{5',4'} = 7,9$ Hz, H-5'), 7,52 (d, 2H,

$J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,4$ Hz, H-3''/5''), 7,67 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,4$ Hz, H-2''/6''), 7,87 (d, 1H, $J_{6''',5'''} = 8,6$ Hz, H-6'''), 7,98 (s, 1H, H-2'''). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ :** 55,6 (-OMe), 56,6 (-OMe), 112,1 (C-6), 112,4 (C-3'''), 115,0 (C-5'''), 116,3 (C-2'), 116,4 (C-4'),

121,5 (C-6'), 123,4 (C-3), 126,9 (C-1'''), 129,5 (C-4''), 130,0 (C-1'), 130,3 (C-5'), 131,0 (C-3''/5''), 132,1 (C-2''/6''), 132,2 (C-6'''), 135,0 (C-1''), 136,2 (C-2'''), 146,3 (C-5), 157,5 (C-4), 158,0 (C-4'''), 159,8 (C-3'), 166,0 (C-2), 188,4 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺**: Calculado para C₂₆H₁₉Br₂O₅ 568,9586; encontrado 568,9594.

(Z)-5-(3-bromo-4-hidroxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-bromobenzil)furano-2(5H)-ona (**55a**)



A um balão bitubulado de fundo redondo (25 mL), sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foram adicionados **54a** (50,0 mg, 0,0770 mmol) e DCM anidro (3 mL). A solução foi resfriada a -78 °C e então foi adicionado BBr₃ (45 µL, 0,462 mmol). A mistura foi aquecida para a temperatura do ambiente (25-30 °C), permanecendo sob agitação magnética por 2 h. A mistura reacional foi transferida para um funil de separação, empregando-se 10 mL de água, e foi extraída com acetato de etila (4 x 10 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl (20 mL), secadas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida para obtenção de **55a** como um sólido amarelo em rendimento quantitativo (47,8 mg, 0,0770 mmol).

Os compostos **55b-e** foram preparados utilizando-se o mesmo procedimento descrito para a síntese do composto **55a**. Na Tabela 2.7 (pg. 124) são apresentadas as quantidades necessárias de cada análogo metoxilado, BBr₃ e os rendimentos obtidos de cada reação.

Tabela 2.7 - Dados referentes ao preparo dos análogos aos cadiolídeos hidroxilados **55a-e**

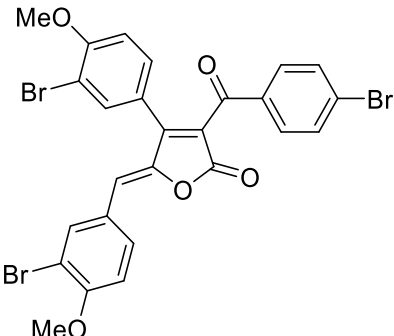
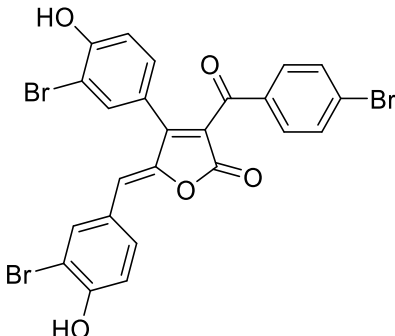
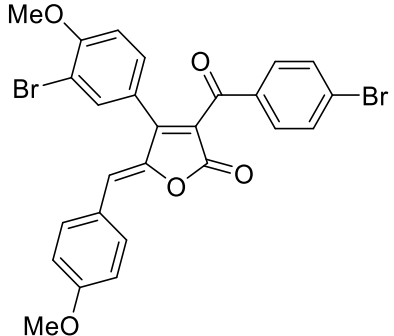
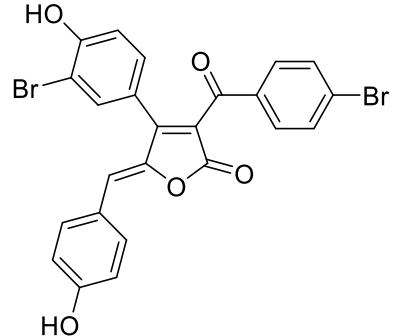
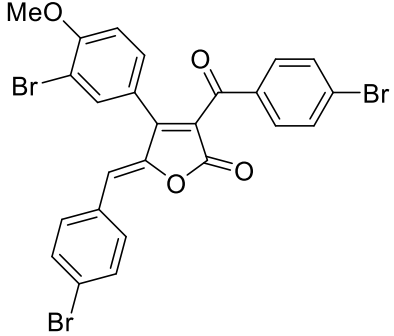
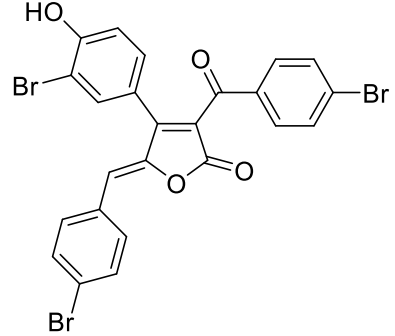
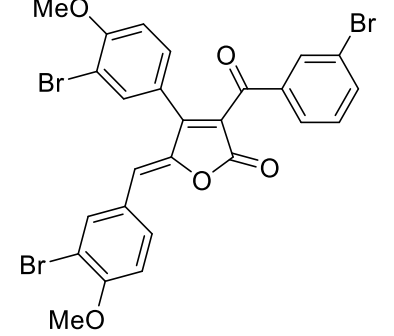
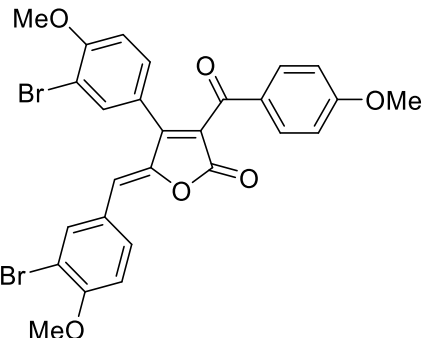
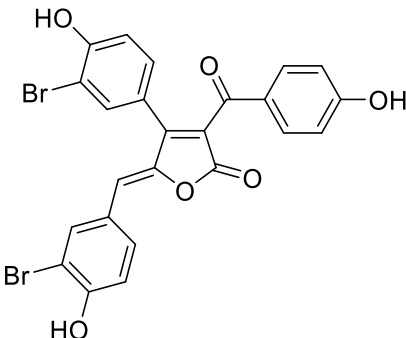
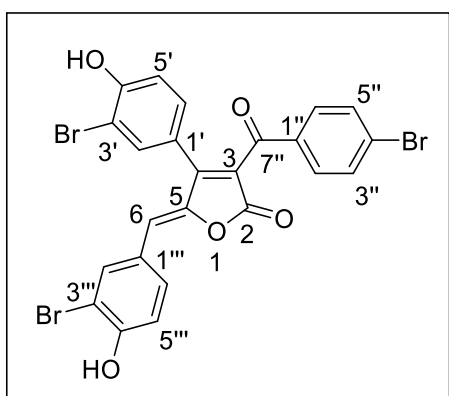
Análogo ao cadiolídeo metoxilado (mg; mmol)	BBr ₃ (μL; mmol)	Análogo ao cadiolídeo hidroxilado (mg; mmol; rendimento)
 <p>54a (50,0; 0,0770)</p>	(45 μL, 0,462)	 <p>55a (47,8; 0,0770; 100%)</p>
 <p>54b (50,0; 0,0877)</p>		 <p>55b (39,5; 0,0728; 83%)</p>
 <p>54c (50,0; 0,0808)</p>	(24 μL; 0,242)	 <p>55c (48,9; 0,0808; 100%)</p>
 <p>54g (50,0; 0,0770)</p>		(45 μL; 0,462)

Tabela 2.7 - Continuação...

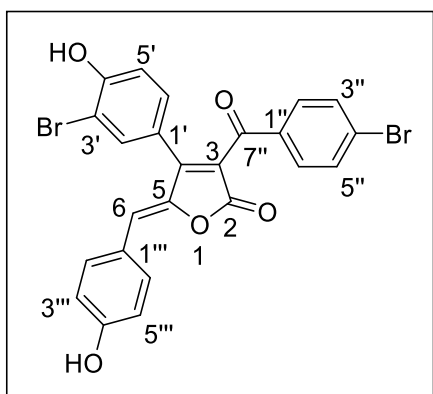
Análogo ao cadiólídeo metoxilado (mg; mmol)	BBr ₃ (μL; mmol)	Análogo ao cadiólídeo hidroxilado (mg; mmol; rendimento)
 <p style="text-align: center;">54i (50,0; 0,0833)</p>	(72 μL; 0,750)	 <p style="text-align: center;">55e (33,0; 0,0591; 71%)</p>

Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-hidroxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-bromobenzoil)furan-2(5H)-ona (55a)



Rendimento global: 31%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **Tr:** 197,5 – 199,0 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3258, 2924, 1743, 1731, 1599, 1581, 1563, 1494, 1399, 1287, 1194, 1165. **RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO)** δ : 6,44 (s, 1H, H-6), 7,06 (d, 1H, $J_{5''',6'''} = 8,4$ Hz, H-5'''), 7,13 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, H-5'), 7,36 (dd, 1H, $J_{6''',5'''} = 8,4$ Hz, $J_{6''',2'''} = 2,1$ Hz, H-6'''), 7,66-7,64 (m, 1H, H-2'), 7,65 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,6$ Hz, H-3''/5''), 7,86 - 7,81 (m, 1H, H-6'), 7,85 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,6$ Hz, H-2''/6''), 8,14 (d, 1H, $J_{2''',6'''} = 2,1$ Hz, H-2'''), 9,65 (s, 2H, -OH). **RMN de ¹³C (100 MHz, (CD₃)₂CO)** δ : 110,7 (C-3'), 111,0 (C-3'''), 116,4 (C-6), 117,4 (C-5'''), 117,7 (C-5'), 122,5 (C-3), 123,5 (C-1'''), 127,6 (C-1'), 129,3 (C-4'''), 131,2 (C-6'''), 132,1 (C-2''/C-6''), 132,7 (C-3''/5''), 133,0 (C-6'), 135,0 (C-2'), 136,4 (C-1''), 136,8 (C-2'''), 147,1 (C-5), 156,6 (C-4), 157,1 (C-4'), 157,5 (C-4'''), 166,3 (C-2), 189,4 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺:** Calculado para C₂₄H₁₄Br₃O₅ 618,8372; encontrado 618,8386.

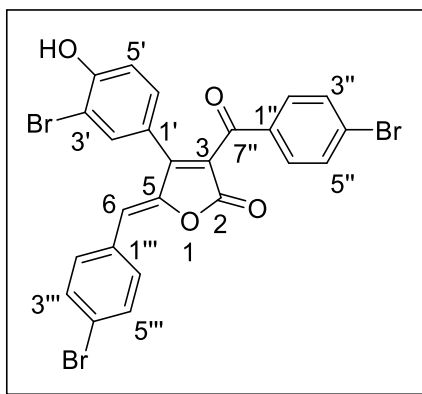
Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-bromobenzoil)-5-(4-hidroxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (**55b**)



Rendimento global: 33%. **Aspecto físico:** sólido amarelo fluorescente (após purificação por coluna cromatográfica). **Tr:** 254,0 – 255,5 °C. **IV (ATR, cm^{-1}):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3322, 2924, 2853, 1708, 1655, 1602, 1583, 1566, 1491, 1443, 1371, 1354, 1285, 1161. **RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ :** 6,42 (s, 1H, H-6), 6,97 (d, 2H, $J_{3''',2'''} = J_{5''',6'''} = 8,8$ Hz, H-3'''/5'''), 7,06 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, H-5'), 7,35 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,4$ Hz, $J_{6',2'} = 2,2$ Hz,

H-6'), 7,63 - 7,65 (m, 3H, H-2'/3''/5''), 7,82 - 7,84 (m, 4H, H-2''/6''/2'''/6'''), 9,31 (s, 2H, OH). **RMN de ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ :** 110,7 (C-3'), 117,0 (C-3'''/5'''), 117,4 (C-5'), 118,4 (C-6), 122,8 (C-3), 122,8 (C-1'''), 125,9 (C-1'), 129,2 (C-4''), 131,1 (C-6'), 132,1 (C-2''/6''), 132,7 (C-3''/5''), 134,3 (C-2'''/6'''), 135,0 (C-2'), 136,6 (C-1''), 146,3 (C-5), 156,9 (C-4), 157,7 (C-4'), 160,5 (C-4'''), 166,6 (C-2), 189,5 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$:** Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{Br}_2\text{O}_5$ 540,9276; encontrado 540,9281.

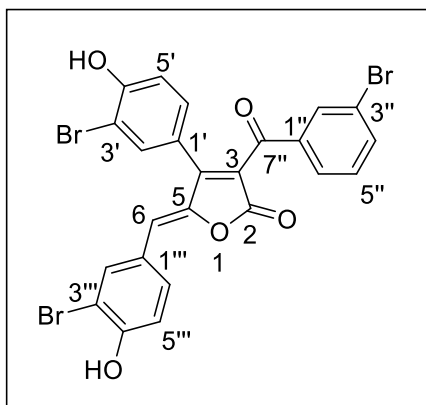
Dados referentes ao composto (Z)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-bromobenzoil)-5-(4-bromobenzilideno)furan-2(5H)-ona (**55c**)



Rendimento global: 20%. **Aspecto físico:** sólido amarelo. **Tr:** 213,6 - 215,1 °C. **IV (ATR, cm^{-1}):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 3386, 3066, 2920, 2850, 1762, 1744, 1600, 1582, 1496, 1486, 1397, 1372, 1349, 1297, 1277, 1186, 1161. **RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ :** 6,50 (s, 1H, H-6), 7,08 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, H-5'), 7,37 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,4$ Hz, $J_{6',2'} = 2,2$ Hz, H-6'), 7,64 - 7,69 (m, 5H, H-2'/3''/5''/3'''/5'''), 7,85 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,7$ Hz, H-2''/6''), 7,86 (d,

2H, $J_{2''',3'''} = J_{6''',5'''} = 8,6$ Hz, H-2'''/6'''), 9,65 (s, 1H, -OH). **RMN de ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ :** 110,8 (C-3'), 115,9 (C-6), 117,5 (C-5'), 122,3 (C-3), 124,5 (C-4'''), 124,6 (C-1'), 129,5 (C-4''), 131,2 (C-6'), 132,1 (C-2''/6''), 132,8 (C-3''/5''), 133,0 (C-3'''/5'''), 133,3 (C-1'''), 133,6 (C-2'''/6'''), 135,0 (C-2'), 136,2 (C-1''), 148,7 (C-5), 157,2 (C-4), 157,3 (C-4'), 166,1 (C-2), 189,3 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$:** Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{14}\text{Br}_3\text{O}_4$ 602,8437; encontrado 602,8437.

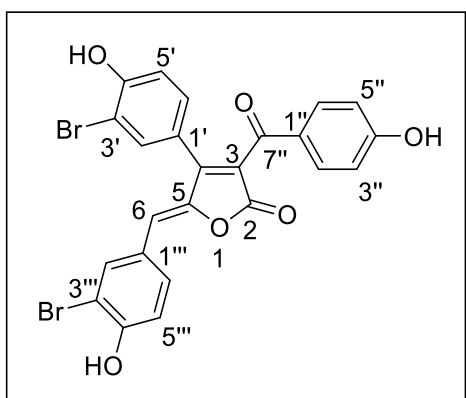
Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-hidroxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(3-bromobenzoil)furan-2(5H)-ona (55d)



Rendimento global: 11%. **Aspecto físico:** sólido amarelo (após purificação por coluna cromatográfica). **Tf:** 182,5 - 184,0 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3358, 3062, 2921, 2851, 1735, 1596, 1557, 1496, 1412, 1370, 1339, 1287, 1187, 1163. **RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO)** δ : 6,45 (s, 1H, H-6), 7,05 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, H-5'), 7,13 (d, 1H, $J_{5''',6'''} = 8,5$ Hz, H-5'''), 7,35 (dd, 1H, $J_{6',5'} = 8,4$ Hz, $J_{6',2'} = 2,1$ Hz, H-6'), 7,40 (t, 1H, $J_{5'',6''} = J_{5'',4''} = 7,9$ Hz,

H-5''), 7,65 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, H-2'), 7,75 (ddd, 1H, $J_{6'',5''} = 7,9$ Hz, $J_{6'',2''} = 1,7$ Hz, $J_{6'',4''} = 0,8$ Hz, H-6''), 7,81 - 7,84 (m, 1H, H-6'''), 7,87 (dl, 1H, $J_{4'',5''} = 7,9$ Hz, H-4''), 8,02 (t, 1H, $J_{2'',6''} = 1,7$ Hz, H-2''), 8,14 (d, 1H, $J_{2''',6'''} = 2,0$ Hz, H-2'''), 9,75 (s, 2H, -OH). **RMN de ¹³C (100 MHz, (CD₃)₂CO)** δ : 110,8 (C-3'), 111,0 (C-3'''), 116,7 (C-6), 117,3 (C-5'), 117,7 (C-5'''), 122,5 (C-3), 123,0 (C-1'''), 123,1 (C-3''), 127,6 (C-1'), 129,1 (C-4''), 131,2 (C-6'), 131,5 (C-5''), 132,9 (C-2''), 133,0 (C-6'''), 135,0 (C-2'), 136,9 (C-2'''), 137,3 (C-6''), 139,3 (C-1''), 147,1 (C-5), 156,7 (C-4), 157,1 (C-4'), 158,0 (C-4'''), 166,2 (C-2), 188,9 (7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺:** Calculado para C₂₄H₁₄Br₃O₅ 618,8382; encontrado 618,8386.

Dados referentes ao composto (Z)-5-(3-bromo-4-hidroxibenzilideno)-4-(3-bromo-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxibenzoil)furan-2(5H)-ona (55e)



Rendimento global: 33%. **Aspecto físico:** sólido laranja (após purificação por coluna cromatográfica). **Tf:** 151,8 - 152,5 °C. **IV (ATR, cm⁻¹):** $\bar{\nu}_{\max}$ 3230, 2922, 1730, 1639, 1560, 1501, 1399, 1371, 1350, 1292, 1223, 1194, 1164. **RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO)** δ : 6,38 (s, 1H, H-6), 6,87 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 8,8$ Hz, H-3''/5''), 7,06 (d, 1H, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, H-5'), 7,12 (d, 1H, $J_{5''',6'''} = 8,5$ Hz, H-5'''), 7,35 (dd, 1H, $J_{6',5'} =$

8,4 Hz, $J_{6',2'} = 2,1$ Hz, H-6'), 7,66 (d, 1H, $J_{2',6'} = 2,1$ Hz, H-2'), 7,79 - 7,82 (m, 1H, H-6'''), 7,83 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 8,8$ Hz, H-2''/6''), 8,13 (d, 1H, $J_{2''',6'''} = 2,1$ Hz, H-2'''), 9,61-9,50 (m, 3H, -OH). **RMN de ¹³C (100 MHz, (CD₃)₂CO)** δ : 110,7 (C-3'), 110,9 (C-3'''), 115,1 (C-6), 116,3 (C-3''/5''), 117,4 (C-5'), 117,6 (C-5'''), 122,8 (C-3), 125,1 (C-1'''), 127,7

(C-1'), 129,4 (C-1''), 131,0 (C-6'), 132,7 (C-6'''), 133,1 (C-2''/6''), 134,8 (C-2'), 136,6 (C-2'''), 147,2 (C-5), 155,4 (C-4), 156,3 (C-4'), 156,9 (C-4'''), 163,9 (C-4''), 166,6 (C-2), 188,5 (C-7''). **HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$** : Calculado para C₂₄H₁₅Br₂O₆ 556,9228; encontrado 556,9230.

2.6. REFERÊNCIAS

Abou-Shehada, S.; Mampuy, P.; Maes, B. U. W.; Clark, J. H.; Summerton, L. *An evaluation of credentials of a multicomponent reaction for the synthesis of isothiouras through the use of a holistic CHEM21 green metrics toolkit*. *Green Chem.* 19 (2017) 249-258.

Ahn, C-H., Won, T-H., Kim, H., Shin, J., Oh, K-B. *Inhibition of Candida albicans isocitratelase activity by cadiolides and synoilides from the ascidian Synoicum sp.* *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23 (2013) 4099-4101.

Ancheeva, E.; El-Neketi, M.; Daletos, G.; Ebrahim, W.; Song, W.; Lin, W.; Proksch, P. *Grand challenges in biology and biotechnology*. Springer International Publishing (2018) 97-155.

Barber, J. S.; Yamano, M. M.; Ramirez, M.; Darzi, E. R.; Knapp, R. R.; Liu, F.; Houk, K. N.; Garg, N. K. *Diels-Alder cycloadditions of strained azacyclic allenes*. *Nat. Chem.* 10 (2018) 953-960.

Barbosa, L. C. A. *Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos*. Viçosa: Editora UFV (2007) 189.

Boukouvalas, J.; Beltrán, P. P.; Lachance, N.; Côté, S.; Maltais, F.; Pouliot, M. *A New, highly stereoselective synthesis of β -Unsubstituted (Z)- γ -alkylidenebutenolides using bromine as a removable stereocontrol element*. *Synlett* 2 (2007) 219-222.

Boukouvalas, J., Pouliot, M. *Short and efficient synthesis of cadiolide B*. *Synlett* 2 (2005) 343-345.

Boukouvalas, J.; Thibault, C. *Step-economical synthesis of the marine ascidian antibiotics cadiolide A, B, and D*. *J. Org. Chem.* 80 (2015) 681-684.

Boulangé, A., Parraga, J., Galán, A., Cabedo, N., Leleu, S., Sanz, M. S., Cortes, D., Franck, X. *Synthesis and antibacterial activities of cadiolides A, B and C and analogues*. *Bioorg. Med. Chem.* 23 (2015) 3618-3628.

Caulkins, B. G.; Bastin, B.; Yang, C.; Neubauer, T. J.; Young, R. P.; Hilario, E.; Huang, Y. M.; Chang, C. A.; Fan, L.; Dunn, M. F.; Marsella, M. J.; Mueller, L. J. *Protonation states of the tryptophan synthase internal aldimine active site from solid-state NMR Spectroscopy: direct observation of the protonated schiff base linkage to pyridoxal-5'-phosphate*. *J. Am. Chem. Soc.* 136 (2014) 12824-12827.

Dean, A., Ferlin, M. G., Brun, P., Castagliuolo, I., Badocco, D., Pastore, P., Venzo, A., Bombi, G. G., DI Marco, V. B. *Evaluation of 2-methyl-3-hydroxy-4-pyridinecarboxylic acid as a possible chelating agent for iron and aluminium*. *Dalton Trans.* (2008) 1689-1697.

Gribble, G. W. *Newly discovered naturally occurring organohalogenes*. *Arkivoc part i* (2018) 372-410.

Haysom, L.; MBBS, Cross, M.; Anastasas, R.; Moore, E.; Hampton, S. *Prevalence and risk factors for methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infections in custodial populations: a systematic review*. *J. Correct. Health Care* 24(2), (2018) 197-2013.

Kantharaju e Babu, V. V. S. *Ultrasound accelerated synthesis of proteinogenic and α,α -dialkylamino acid ester salts*. *Indian J. Chem.* 45B (2006) 1942-1944.

Karak, M.; Barbosa, L. C. A.; Hargaden, G. C. *Recent mechanistic developments and next generation catalysts for the Sonogashira coupling reaction*. *RSC Adv.* 4 (2014) 53442-53466.

- Kürti, L.; Czakó, B. *Strategic applications of named reactions in organic synthesis*. Elsevier Academic Press (2005) 402-403.
- Mairink, S. Z.; Barbosa, L. C. A.; Boukouvalas, J.; Pedrosa, S. H. S. P.; Santos, S. G.; Magalhães, P. P.; Farias, L. M. *Synthesis and evaluation of cadiolide analogues as inhibitors of bacterial biofilm formation*. *Med. Chem. Res.* 27 (2018) 2426-2436.
- Paczkowski, J. E.; Mukherjee, S.; McCready, A. R.; Cong, J-P.; Aquino, C. J., Kim, H.; Henke, B. R.; Smith, C. D.; Bassler, B. L. *Flavonoids suppress Pseudomonas aeruginosa virulence through allosteric inhibition of quorum-sensing receptors*. *J. Biol. Chem.* 292 (2017) 4064-4076.
- Papenfort, K.; Bassler, B. *Quorum-sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria*. *Nat. Ver. Microbiol.* 14 (2016) 576-588.
- Park, J. S.; Ryu, E-J.; Li, L.; Choi, B-K.; Kim, B. M. *New bicyclic brominated furanones as potent autoinducer-2 quorum-sensing inhibitors against bacterial biofilm formation*. *Eur. J. Med. Chem.* 137 (2017) 76-87.
- Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S. *Introduction to spectroscopy*. Brooks/cole Thomson Learning, 3^a Edição (2001) 403.
- Peixoto, P. A., Boulangé, A., Leleu, S., Franck, X. *Versatile synthesis of acylfuranones by reaction of acylketenes with α -hydroxy ketones: application to the one-step multicomponent synthesis of cadiolide B and its analogues*. *Eur. J. Org. Chem.* (2013) 3316-3327.
- Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. *Purification of laboratory chemicals*. Butterworth-Heinemann Ltd., 4 Ed. (1996).
- Pietruszka, J., Witt, A. *Synthesis of the Bestmann-Ohira reagent*. *Synthesis* 24 (2006) 4266-4268.
- Roth, G. J., Liepold, B., Müller, S. G., Bestmann, H. J. *Further improvements of the synthesis of alkynes from aldehydes*. *Synthesis* 1 (2004) 59-62.
- Smith, C. J., Hettich, R. L., Jompa, J.; Tahir, A., Buchanan, M. V., Ireland, C. M. *Cadiolides A and B, new metabolites from an ascidian of the genus Botryllus*. *J. Org. Chem.* 63 (1998) 4147-4150.
- Smitha, D., Kumar, M. M. K., Ramana, H., Rao, D. V. *Rubrolide R: a new furanone metabolite from the ascidian Synoicum of the Indian ocean*. *Nat. Prod. Res.* 28 (2014) 12-17.
- Tang, K.; Zhang, X-H. *Quorum quenching agents: resources for antivirulence therapy*. *Mar Drugs* 12 (2014) 3245-3282.
- Wang, W.; Kim, H.; Patil, R. S.; Giri, A. G.; Won, D. H.; Hahn, D.; Sung, Y.; Lee, J.; Choi, H.; Nam, S.-J.; Kang, H. *Cadiolides J-M, antibacterial polyphenyl butenolides from the Korean tunicate Pseudodistoma antinboja*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27 (2017) 574-577.
- Wang, W., Kim, H., Nam, S-J., Rho, B. J., Kang H. *Antibacterial butenolides from the Korean tunicate Pseudodistoma antinboja*. *J. Nat. Prod.* 75 (2012) 2049-2054.
- Won, T. H., Jeon, J-E., Kim, S-H., Lee, S-H., Rho, B. J., Oh, D-C., Oh, K-B., Shin, J. *Brominated aromatic furanones and related esters from the ascidian Synoicum sp.* *J. Nat. Prod.* 75 (2012) 2055-2061.

CAPÍTULO 3

SÍNTESE DE γ -ALQUILIDENO- γ -LACTONAS E γ -LACTAMAS ANÁLOGAS AOS RUBROLÍDEOS E SUAS ATIVIDADES INIBIDORAS DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS

3.1. INTRODUÇÃO

3.1.1. γ -lactonas e γ -lactamas

γ -lactona corresponde a uma estrutura central presente nos butenolídeos. Quando o oxigênio do anel lactônico é trocado por um nitrogênio, formam-se as γ -lactamas (Figura 3.1) (Miranda *et al.*, 2018).



Figura 3.1 - Estrutura de γ -lactonas e γ -lactamas.

As γ -hidroxi- γ -lactamas e as γ -alquilideno- γ -lactamas (Figura 3.2), também conhecidas como 5-hidroxi-3-pirrolin-2(5H)-onas e 5-alquilideno-3-pirrolin-2(5H)-onas, são frequentemente encontradas como metabólitos de fungos. Suas estruturas variam de compostos monocíclicos a sistemas mais complexos, como longas cadeias ou esqueletos policíclicos fundidos, e estão presentes em vários produtos naturais biologicamente ativos (Nay *et al.*, 2009). Na Figura 3.2 são apresentados alguns desses produtos naturais bioativos.

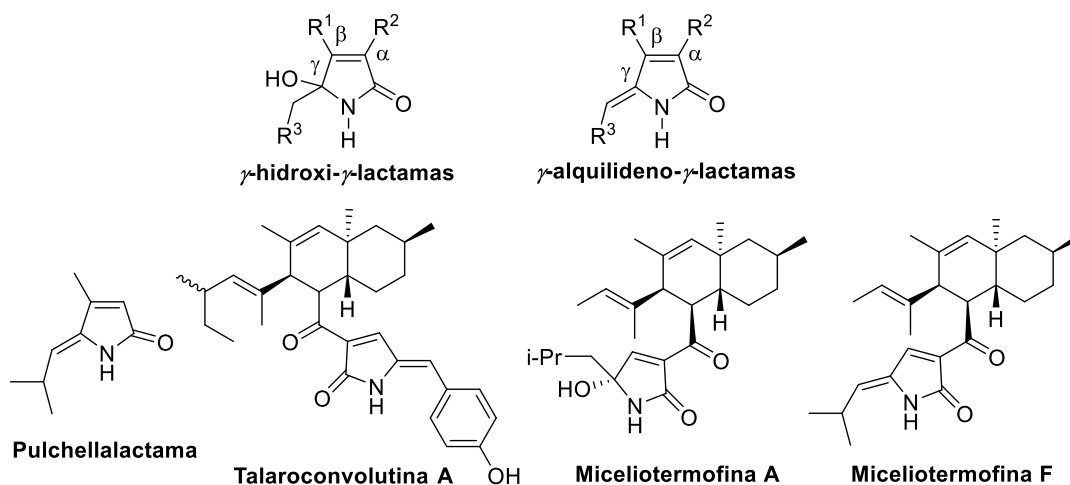


Figura 3.2 - Estruturas gerais das γ -hidroxi- γ -lactamas e γ -alquilideno- γ -lactamas e produtos naturais bioativos dessas classes de compostos.

A pulchellalactama (Figura 3.2, pg. 130) foi isolada do fungo marinho *Corollospora pulchella* e apresenta atividade inibitória contra a enzima tirosina fosfatase CD45, que atua na diferenciação celular (Alvi *et al.*, 1998). A talaroconvolutina A (Figura 3.2, pg. 130) também foi isolada de um fungo (*Talaromyces convolutus*) e possui atividade antifúngica contra *Candida albicans* (Suzuki *et al.*, 2000). E as miceliotermofinas A e F (Figura 3.2, pg. 130), isoladas do fungo *Micelioftora termofina*, foram citotóxicas na faixa de concentração de 0,2-1,3 µg/mL contra algumas linhagens de células cancerígenas (HepG2, A-549 e MCF-7) (Yang *et al.*, 2007).

Além das γ -alquilidenolactonas e γ -lactamas naturais, têm sido relatadas diversas γ -alquilidenolactonas e seus derivados γ -lactamas sintéticos com promissoras atividades biológicas. Em 2014, Pereira e colaboradores publicaram dois trabalhos descrevendo a síntese de novas γ -alquilideno- γ -lactonas análogas aos rubrolídeos e suas γ -lactamas derivadas. Nesses trabalhos foram destacadas três γ -alquilideno- γ -lactamas (**1-3**) (Figura 3.3), uma vez que apresentaram boa atividade contra o crescimento de biofilme bacteriano de *Pseudomonas aeruginosa* (**1**: CI_{50} = 0,6 µg/mL; **2**: CI_{50} = 0,7 µg/mL) e *Enterococcus faecalis* (**3**: CI_{50} = 0,76 µg/mL) (Pereira *et al.*, 2014a; Pereira *et al.*, 2014b). Em 2016, Pereira *et al.* relataram que as γ -alquilideno- γ -lactonas foram mais ativas do que as lactamas em ensaios com células cancerígenas. Assim, **4** e **5** apresentaram CI_{50} de 3 e 3,58 µM contra a linhagem celular HL-60 (leucemia) (Pereira *et al.*, 2016). E em 2018, Miranda e colaboradores também relataram a síntese de novas γ -alquilideno- γ -lactonas análogas aos rubrolídeos e suas γ -lactamas derivadas. Nesse caso, destacam-se os compostos **6** e **7** pois inibiram a formação do biofilme de *Staphylococcus aureus* com CI_{50} de 0,9 e 1,3 µg/mL, respectivamente, além de **8**, que apresentou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (CI_{50} = 1,8 µg/mL).

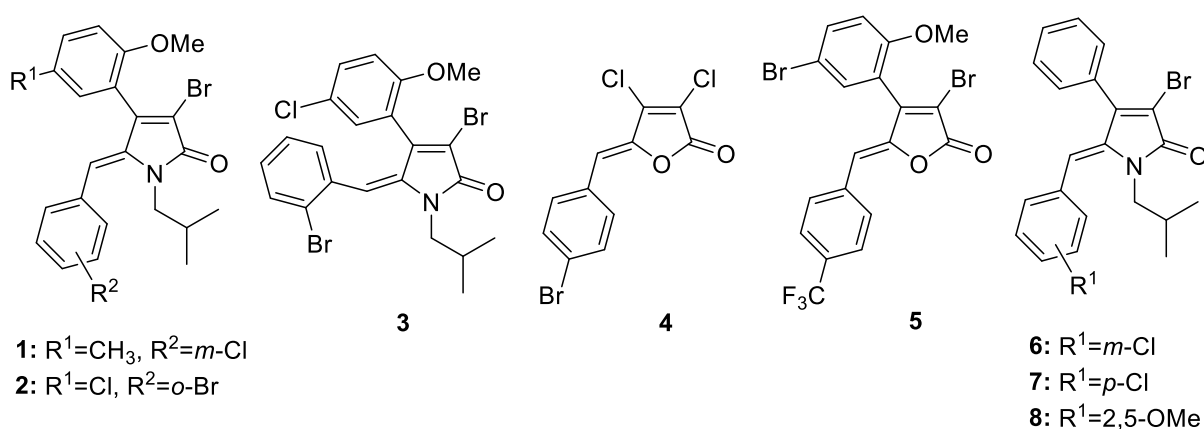
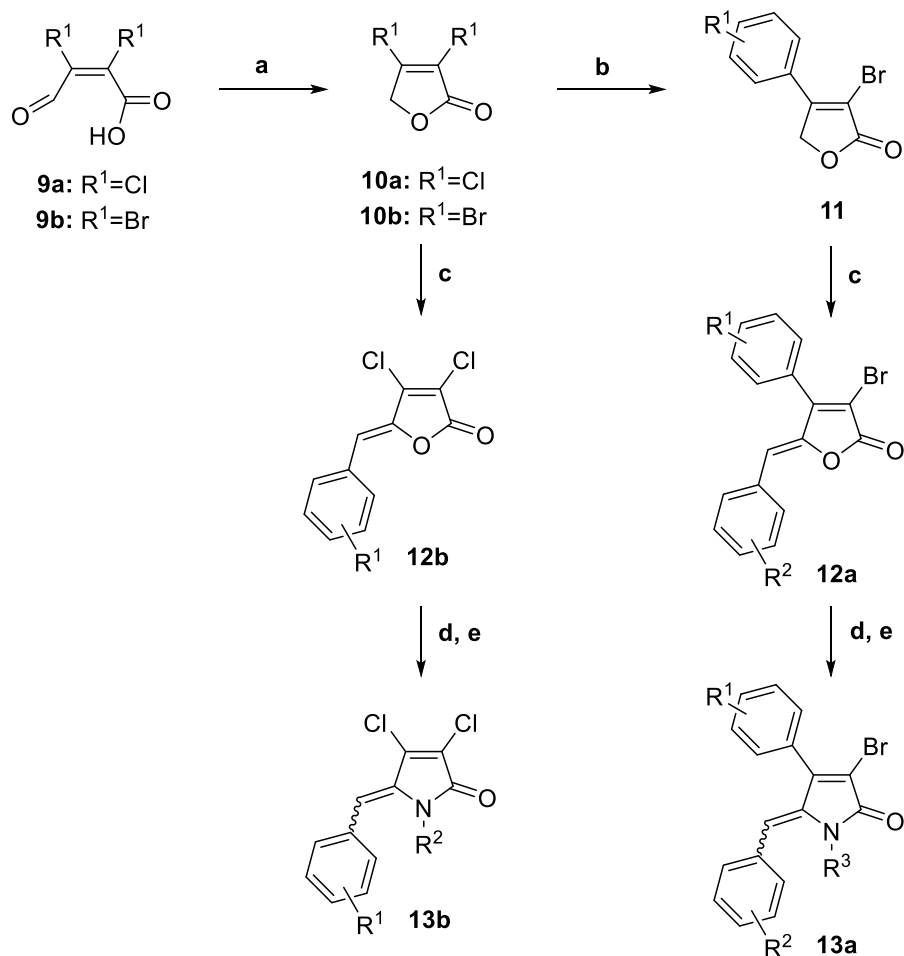


Figura 3.3 - γ -alquilidenolactonas e γ -alquilidenolactamas sintéticas ativas biologicamente.

3.1.2. Estudo sintético envolvendo γ -alquilidenolactonas e γ -lactamas derivadas

As γ -alquilidenolactonas e γ -lactamas vêm ganhando destaque devido às suas múltiplas atividades biológicas. Com isso, muitos esforços sintéticos têm sido realizados para a obtenção dessa classe de compostos. Em 2016, Pereira e colaboradores relataram a síntese dessa classe de lactonas e lactamas (Esquema 3.1), além das boas atividades anticâncer apresentadas por essas substâncias.



Esquema 3.1 - Reagentes e condições: (a) NaBH₄, MeOH, 0 °C, 15 min., H₂SO₄, MeOH, 0 °C, 15 min.; (b) ArB(OH)₂, PdCl₂(MeCN)₂, AsPh₃, Ag₂O, THF, 65 °C, 24 h; (c) ArCHO, DIPEA, TBDMSOTf, DCM, t.a., 1 h, DBU, refluxo, 1-3 h; (d) RNH₂, DCM, 0 °C, 3 h; (e) *p*-TsOH, CHCl₃, refluxo, 2 h.

Inicialmente, os ácidos mucoclorídricos (**9a**) e mucobrômicos (**9b**) foram reduzidos a 3,4-diclorofuran-2(5*H*)-ona (**10a**) e 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**10b**), respectivamente. Posteriormente, **10b** reagiu com diferentes ácidos arilborônicos por meio do acoplamento de Suzuki, para a formação das lactonas **11**. A reação de alquilidação entre as lactonas **10a** e **11** com diversos aldeídos aromáticos resultou no preparo dos γ -alquilidenobutenolídeos análogos aos rubrolídeos (**12a-b**). A conversão desses análogos nas γ -hidroxi- γ -lactamas

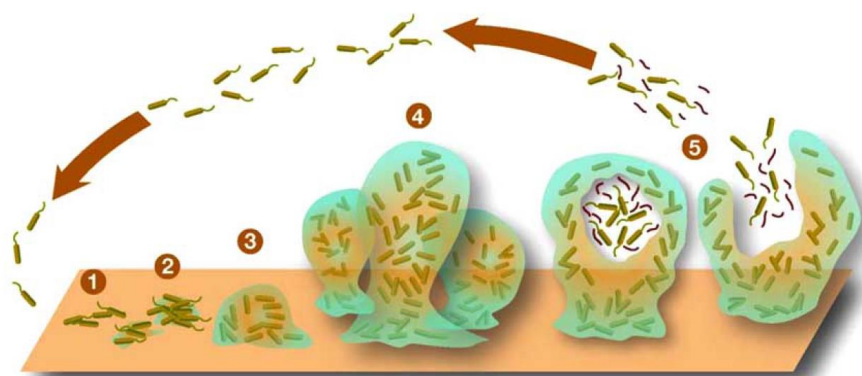
correspondentes pela reação de lactamização, utilizando-se amina primária e a subsequente desidratação das γ -hidroxi- γ -lactamas, resultou na formação das (*Z*) e (*E*)- γ -alquilideno- γ -lactamas (**13a-b**).

Frente à boa atividade contra células cancerígenas apresentada pelos compostos relatados por Pereira *et al.* (2016), nosso grupo de pesquisa se empenhou na preparação de uma maior quantidade de alguns desses compostos. Posteriormente, essas substâncias seriam analisadas contra biofilme bacteriano, pois as γ -alquilidenolactonas e as γ -alquilidenolactamas em geral vêm apresentando ótimas atividades antimicrobiana e antibiofilme bacteriano.

3.1.3. Biofilme bacteriano e PEEK

O biofilme bacteriano consiste em um coagregado bem organizado de bactérias que vive em uma matriz complexa e dinâmica ligada a uma superfície (Gu *et al.*, 2016). Essa matriz é formada por polissacarídeos extracelulares, glicoproteínas, ácidos nucleicos e água, que são produzidos pelas próprias bactérias, a fim de formar um ambiente de crescimento favorável, protegendo-as de condições de estresse, como: temperaturas extremas, luz ultravioleta e agentes antibióticos (Martinez e Casadevall, 2007; Hall-Stoodley *et al.*, 2004).

O ciclo de vida de um biofilme bacteriano pode ser dividido em cinco etapas (Figura 3.4). Na primeira etapa acontece a fixação das células na superfície. Em seguida, na segunda etapa, as células bacterianas secretam substâncias exopoliméricas e a adesão a superfície torna-se irreversível. Na terceira etapa, o biofilme adota uma forma tridimensional, crescendo tanto pela multiplicação da população originalmente aderida quanto pelo recrutamento de bactérias planctônicas. Posteriormente, na quarta etapa, o biofilme alcança o seu limite de maturação e na última etapa ocorre uma dispersão, em que sinais químicos induzem a diferenciação de bactérias do biofilme que se liberam da matriz para colonizar um novo ambiente (Stoodley *et al.*, 2002; Musk e Hergenrother, 2006).



Fonte: Musk e Hergenrother (2006).

Figura 3.4 - Diagrama do desenvolvimento de um biofilme bacteriano.

A formação dos biofilmes envolve um mecanismo químico de comunicação intercelular conhecido como Quorum Sensing (QS) (Whiteley *et al.*, 2017). O QS regula a expressão de uma série de genes que controlam um grande espectro de fenótipos, como bioluminescência, produção de fatores de virulência (tais como enzimas e toxinas), esporulação, produção de polissacarídeos extracelulares, fixação de nitrogênio e muitos outros (Pan e Ren, 2009). Inibidores de QS (QSI) têm sido propostos como promissores agentes antibiofilmes, uma vez que interrompem a organização do biofilme, reduzindo a população de bactérias resistentes (Brackman e Coenye, 2015).

Alguns relatos sobre resistência bacteriana demonstraram que a capacidade de sobrevivência das bactérias a tratamentos com antibióticos é muito maior quando estão organizadas em biofilmes do que quando encontram-se no estado livre (Pereira *et al.*, 2014b). Estima-se que os biofilmes estejam associados a 80% das infecções microbianas que ocorrem no corpo humano, justificando o interesse na descoberta de mecanismos que possam controlar o desenvolvimento dessas comunidades bacterianas (Brackman e Coenye, 2015).

A colonização de microorganismos que crescem em forma de biofilme pode ser encontrada em oleodutos industriais, usinas nucleares, estações espaciais, sistemas de ar condicionado, sistemas de distribuição de água e até em hospitais (Hall-Stoodley *et al.*, 2004). Na área da saúde, eles se encontram em instrumentos médicos como catéteres e implantes, além de estar presentes na região bucal causando cáries, gengivite, periodontite e peri-implantite (Teughels *et al.*, 2006).

Com o intuito de inibir essa colonização bacteriana e acúmulo de biofilme em equipamentos da área da saúde, estudos vêm sendo desenvolvidos, visando a preparação de instrumentos médicos e dentários contendo agentes antibiofilmes (Maekawa *et al.*, 2015). Nesse contexto, agentes antibiofilmes estão sendo incorporados em PEEK (poli-éter-éter-cetona), um polímero amplamente utilizado como biomaterial para a fabricação de implantes ortopédicos, espinhais e dentários (Kurtz e Devine, 2007).

PEEK é um polímero aromático policíclico com alto desempenho termoplástico (300 °C), inerte e biocompatível, comparado ao titânio, um dos materiais mais comuns e biocompatíveis utilizados em implantes há várias décadas (Kurtz e Devine, 2007; Converse *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2012b; Sagomyants *et al.*, 2008).

O tratamento de sulfonação do PEEK (poli(éter-éter-cetona)), formando sPEEK, é útil para aumentar suas propriedades antibacterianas e realizar a incorporação de substâncias terapêuticas no mesmo, como, por exemplo, agentes antibiofilmes (Montero *et al.*, 2016). Trabalhos anteriores mostraram que a presença do ácido sulfônico na estrutura do sPEEK

(poli-éter-éter-cetona sulfonado) influencia na atividade antibacteriana do material modificado. Ouyang *et al.* (2016) mostraram que sPEEK inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em placas de ágar. Recentemente, Montero e colaboradores (2017) avaliaram os efeitos antibiofilme e antimicrobiano do sPEEK com diferentes graus de sulfonação, contra *S. mutans* e *Enterococcus faecalis*, concluindo que o processo de sulfonação auxilia na atividade antibiofilme (Montero *et al.*, 2017). Continuando tal estudo, Montero e colaboradores (2016) realizaram a incorporação de compostos antibiofilmes como as lactamas em sPEEK, e observaram uma inibição significativa do biofilme nas superfícies dos sPEEK's contendo lactamas. No entanto, nenhum efeito foi observado no crescimento planctônico de *S. mutans*. Tal experimento confirma a ação dos polímeros funcionalizados na virulência bacteriana ao invés da ação na viabilidade bacteriana.

Nesse contexto, nesta parte do trabalho abordaremos a síntese de butenólídeos que possuem atividade citotóxica comprovada, em artigo publicado por Pereira *et al.* (2016), e promissora atividade antibacteriana. Além da síntese, planeja-se também analisar seus efeitos antibacterianos e antibiofilmes bacterianos.

3.2. OBJETIVOS E ESTRATÉGIAS

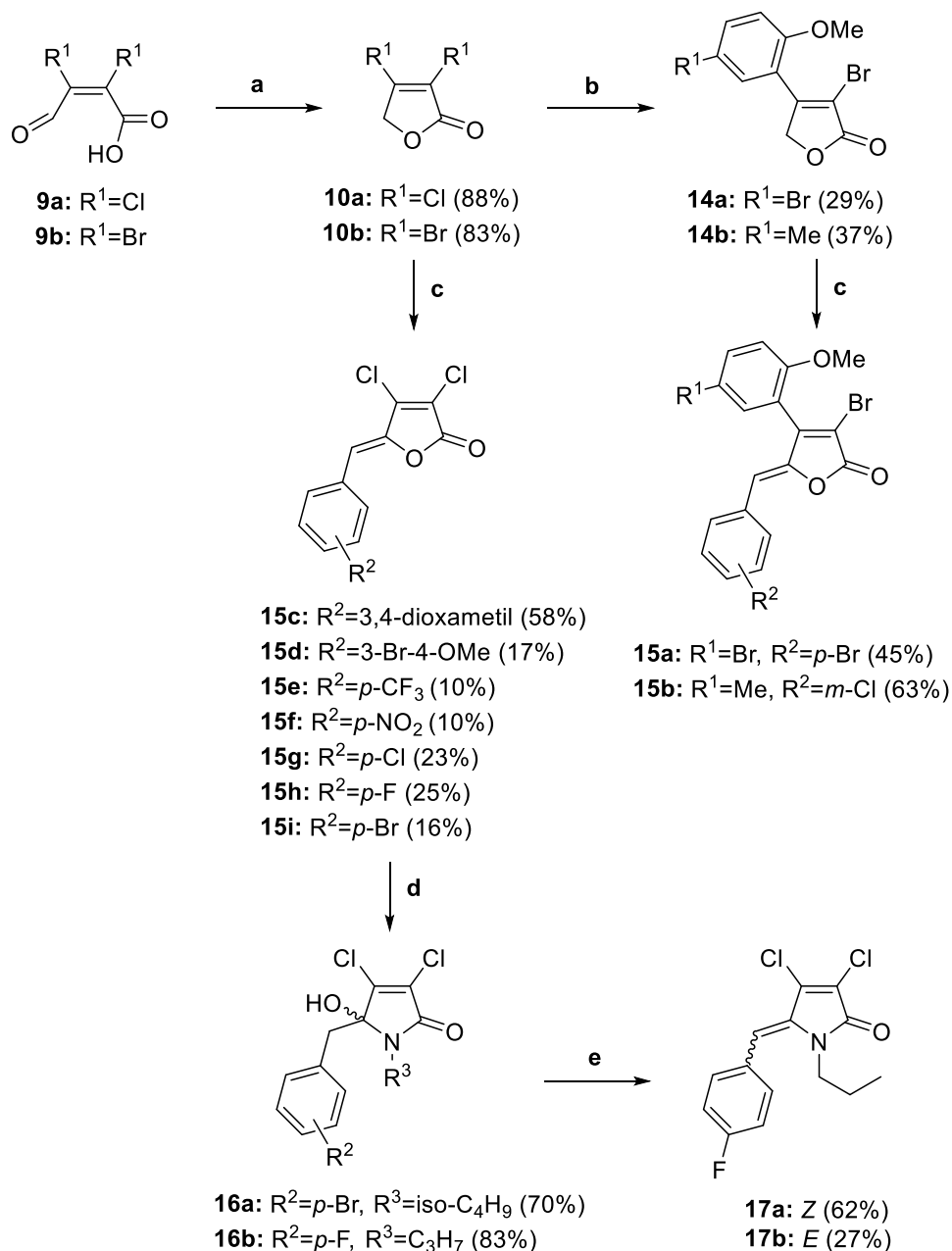
Neste trabalho, objetivou-se sintetizar uma maior quantidade de algumas γ -alquilidenolactonas e γ -alquilidenolactamas relatadas por Pereira *et al.* (2016). A rota sintética a ser utilizada para a preparação dessas substâncias encontra-se no Esquema 3.1 (pg. 132), e os produtos desejados são obtidos em 2 a 5 etapas a partir dos ácidos mucoclóricos e mucobrômicos, disponíveis comercialmente. Nessa metodologia, destacam-se como etapas-chave as reações de acoplamento de Suzuki, alquilidenação e lactamização.

Após a síntese, esses produtos serão submetidos a ensaios biológicos, a fim de avaliar suas atividades antibacteriana e inibitória do crescimento de biofilme bacteriano. Além disso, também será realizado um estudo do comportamento antibiofilme desses compostos quando incorporados em PEEK (poli(éter-éter-cetona)) sulfonado.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.3.1. Rota sintética para obtenção das γ -alquilidenolactonas e γ -lactamas derivadas

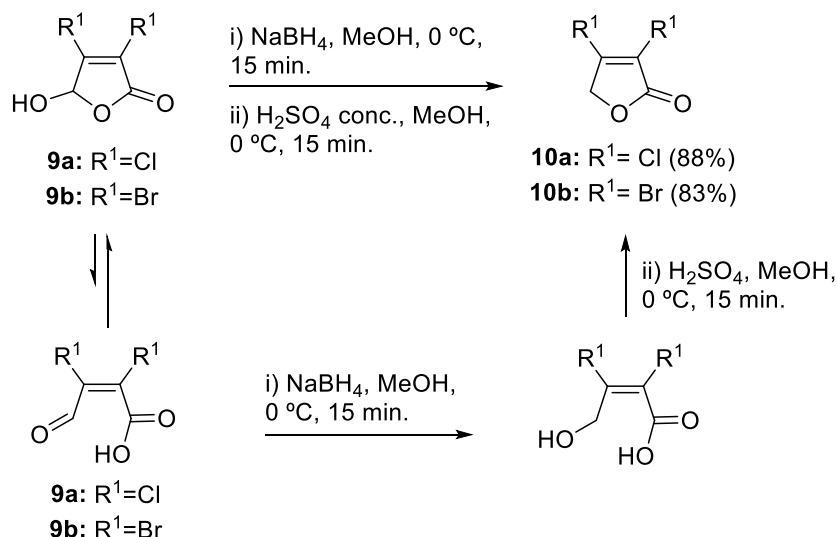
Foram sintetizadas novamente as γ -alquilidenolactonas e γ -lactamas derivadas, publicadas por Pereira *et al.* (2016), seguindo a rota sintética apresentada no Esquema 3.2.



Esquema 3.2 - Reagentes e condições: (a) NaBH₄, MeOH, 0 °C, 15 min., H₂SO₄, MeOH, 0 °C, 15 min.; (b) **10b**, ArB(OH)₂, PdCl₂(MeCN)₂, AsPh₃, Ag₂O, THF, 65 °C, 24 h; (c) ArCHO, DIPEA, TBDMSOTf, DCM, t.a., 1 h, DBU, refluxo, 1-3 h; (d) RNH₂, DCM, 0 °C, 3 h; (e) *p*-TsOH, CHCl₃, refluxo, 2 h.

Síntese das lactonas **10a-b**

As sínteses das lactonas **10a** e **10b** foram realizadas pela redução dos ácidos mucoclórico (**9a**) e ácido mucubrômico (**9b**), respectivamente (Esquema 3.3, pg. 137) (Bellina *et al.*, 2001).

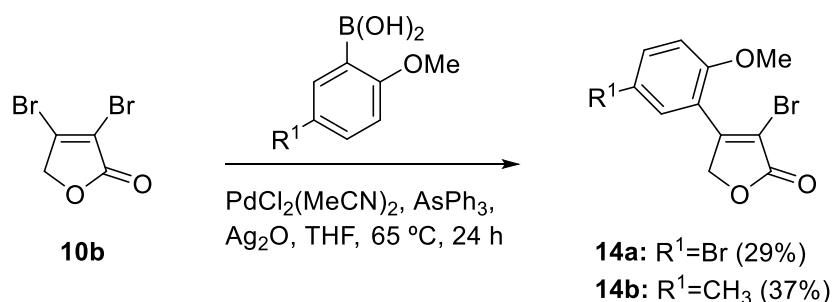


Esquema 3.3 - Síntese das lactonas **10a-b**.

Os ácidos mucoclórico (**9a**) e mucobromico (**9b**), disponíveis comercialmente, podem existir em sua forma acíclica como um aldeído α,β -insaturado em equilíbrio com a sua forma cíclica γ -lactona (Esquema 3.3). Há predominância de sua forma cíclica, mas o padrão de reatividade é melhor compreendido quando se considera sua forma acíclica (Cunha e Oliveira, 2011; Bellina e Rossi, 2004;). Assim, a função aldeído da forma acíclica dos ácidos **9a** e **9b** é seletivamente reduzida com boroidreto de sódio. Após a acidificação do meio com ácido sulfúrico, o álcool anteriormente gerado *in situ* participa da reação de ciclização intramolecular juntamente com o ácido carboxílico da mesma molécula, formando as lactonas **10a** (88% de rendimento) e **10b** (83% de rendimento).

Síntese dos intermediários **14a-b**

Os intermediários **14a** e **14b** foram sintetizados utilizando-se a reação de acoplamento cruzado de Suzuki-Miyaura entre a lactona **10b** e diferentes ácidos arilborônicos adquiridos comercialmente, na presença de Ag_2O , AsPh_3 e quantidades catalíticas de $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$ (Esquema 3.4) (Bellina *et al.* 2001).



Esquema 3.4 - Síntese dos intermediários **14a-b**.

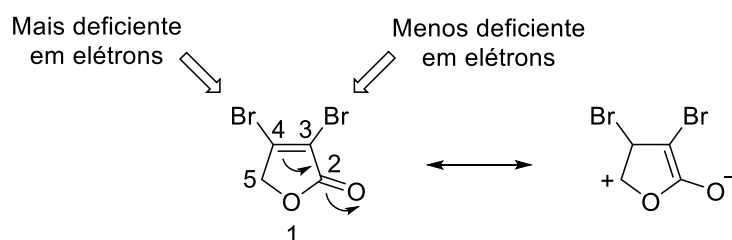
O ciclo catalítico geral proposto para o acoplamento de Suzuki e a explicação do mesmo encontra-se no Capítulo 1 (item 1.3.1.2, pg. 19; Esquema 1.7, pg. 22).

Em nenhuma das reações de acoplamento de Suzuki (Esquema 3.4, pg. 137) observou-se a formação da 3,4-diarilfuran-2(5*H*)-ona, derivada do acoplamento cruzado em ambos os átomos de carbono C-3 e C-4, nem a formação da 3-aryl-4-bromofuran-2(5*H*)-ona, derivada do acoplamento cruzado no carbono C-3.

Quando os haletos de arila possuem átomos de halogênio diferentes é possível determinar a seletividade em que as reações de Suzuki ocorrem. Nesses casos, a ordem relativa de reatividade dos haletos de arila são $\text{ArI} > \text{ArBr} > \text{ArCl} > \text{ArF}$. Essa ordem está relacionada à força da ligação Ar-X , que diminui com o aumento do raio do halogênio e favorece a adição oxidativa (Rossi *et al.*, 2011).

Entretanto, a lactona **10b** possui dois halogênios iguais na sua estrutura. Nesse caso, outros parâmetros além da força da reação Ar-X irão determinar a seletividade da reação, como fatores eletrônicos e estéricos (Rossi *et al.*, 2011; Schröter *et al.*, 2005).

Estudos mostram que a regioseletividade nas reações de acoplamento catalisadas por paládio acontece no centro mais deficiente em elétrons durante a etapa de adição oxidativa. Dessa forma, a posição 4 da lactona **10b** é mais deficiente em elétrons que a posição 3, devido à deslocalização de elétrons, e será o local onde o acoplamento acontecerá (Esquema 3.5). Isso pode ser evidenciado pelo fato de que C-4 ($\delta = 143,6$), nesse composto, tem maior deslocamento químico do que C-3 ($\delta = 114,4$) (Bellina e Rossi, 2007).



Esquema 3.5 - Explicação da regioseletividade da reação de acoplamento de Suzuki.

Os intermediários **14a** e **14b** foram formados com 29% e 37% de rendimento, respectivamente, e esses rendimentos podem ser explicados pelos diferentes substituintes presentes na estrutura dos ácidos borônicos. Os dois ácidos borônicos utilizados apresentam o grupo metóxi no carbono C-2 e se diferenciam somente quanto ao grupo ligado ao carbono C-5. O ácido 5-bromo-2-metoxifenilborônico, que possui grupo retirador de densidade eletrônica em C-5, resultou em menor rendimento (29%) do que o ácido 2-metoxi-5-metilfenilborônico (37%), que possui grupo doador de densidade eletrônica. Geralmente,

ácidos arilborônicos deficientes em elétrons são menos nucleofílicos e transmetalam a uma taxa mais lenta do que ácidos arilborônicos ricos elétrons (Barder *et al.*, 2005).

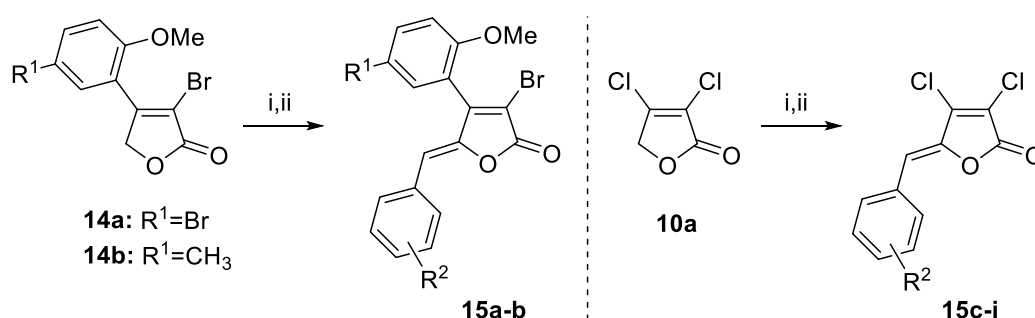
Síntese das γ -alquilideno- γ -lactonas **15a-i**

As γ -alquilideno- γ -lactonas **15a-i** foram sintetizadas por meio da reação de alquilidenação (Teixeira *et al.*, 2008). Os compostos **15a** e **15b** foram preparados a partir das lactonas **14a** e **14b**, respectivamente. E os compostos **15c-i** foram sintetizados a partir da lactona **10a** (Tabela 3.1).

Nesta metodologia, as lactonas (**10a**, **14a-b**) foram tratadas com TBDMSOTf, DIPEA e diferentes aldeídos aromáticos via adição aldólica, formando um intermediário *in situ*. Esse intermediário foi submetido a β -eliminação, utilizando-se DBU para fornecer as γ -alquilideno- γ -lactonas **15a-i** com configuração Z (10-63% de rendimento).

Uma proposta de mecanismo para essa metodologia de alquilidenação encontra-se no Capítulo 1 (item 1.3.1.1, pag. 14; Esquema 1.6, pg. 15).

Tabela 3.1 - Síntese das γ -alquilideno- γ -lactonas **15a-i**

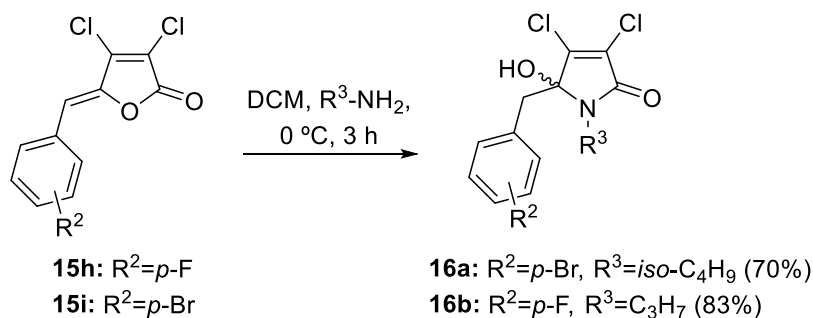


Reagentes e condições: (i) ArCHO, DIPEA, TBDMSOTf, DCM, 25-30 °C, 1 h; (ii) DBU, refluxo, 1-3 h

Composto	R ¹	R ²	Rendimento (%)
15a	Br	<i>p</i> -Br	45
15b	CH ₃	<i>m</i> -Cl	63
15c	-	3,4-dioxametil	58
15d	-	3-Br-4-OMe	17
15e	-	<i>p</i> -CF ₃	10
15f	-	<i>p</i> -NO ₂	10
15g	-	<i>p</i> -Cl	23
15h	-	<i>p</i> -F	25
15i	-	<i>p</i> -Br	16

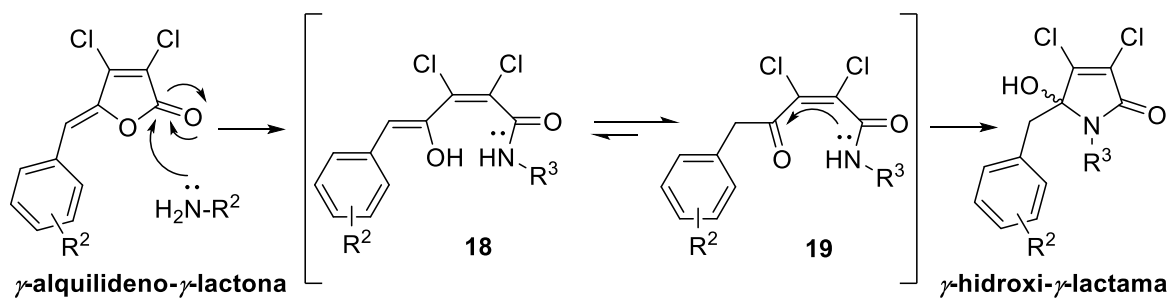
Síntese das γ -hidroxi- γ -lactamas **16a-b**

Os compostos **15h-i** foram submetidos à lactamização utilizando-se aminas primárias que, permitiram a troca do oxigênio da lactona pelo nitrogênio, para preparação das γ -hidroxi- γ -lactamas **16a-b** (Esquema 3.6) (Goh *et al.*, 2007).



Esquema 3.6 - Síntese das γ -hidroxipirrol-2(*5H*)-onas **16a-b**.

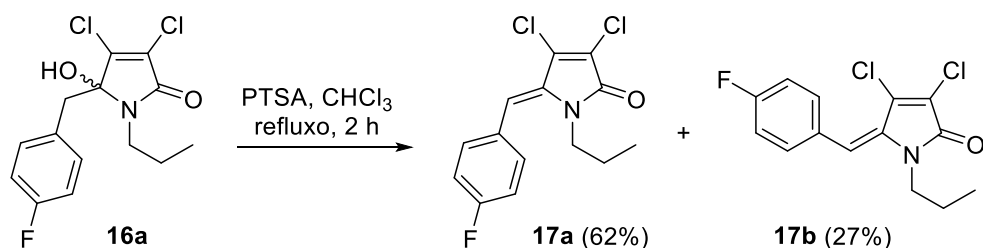
No mecanismo da reação de lactamização (Esquema 3.7), inicialmente a amina ataca a carbonila da lactona, levando à abertura do anel e à formação do intermediário **18**. Subsequentemente, o equilíbrio ceto-enólico proporciona a formação do isômero mais estável na forma ceto **19**, que então ciclizará para formação do anel lactâmico. Na etapa de ciclização, o ataque nucleofílico do nitrogênio à carbonila pode ocorrer por duas faces distintas da carbonila, formando mistura de enantiômeros.



Esquema 3.7 - Proposta de mecanismo para formação dos compostos **16a-b**.

Síntese das γ -alquilideno- γ -lactamas **17a-b**

A γ -hidroxi- γ -lactama **16a** foi desidratada, utilizando-se ácido *p*-toluenossulfônico (PTSA), fornecendo as γ -alquilideno- γ -lactamas **17a** (isômero *Z*) e **17b** (isômero *E*) (Esquema 3.8, pg. 141) (Goh *et al.*, 2007). Os isômeros *Z* e *E* foram determinados por meio do mapa de contornos NOESY dos compostos **17a** e **17b**.



Esquema 3.8 - Síntese das γ -alquilidenopirrol-2(5H)-onas **17a-b**.

3.3.2. Avaliação da inibição da formação do biofilme de *S. mutans*

As γ -lactonas e γ -lactamas **10a-b**, **15c-i**, **16a-b** e **17a-b** (Figura 3.5), foram testados quanto a sua capacidade de inibição do crescimento planctônico e formação do biofilme de *S. mutans*.

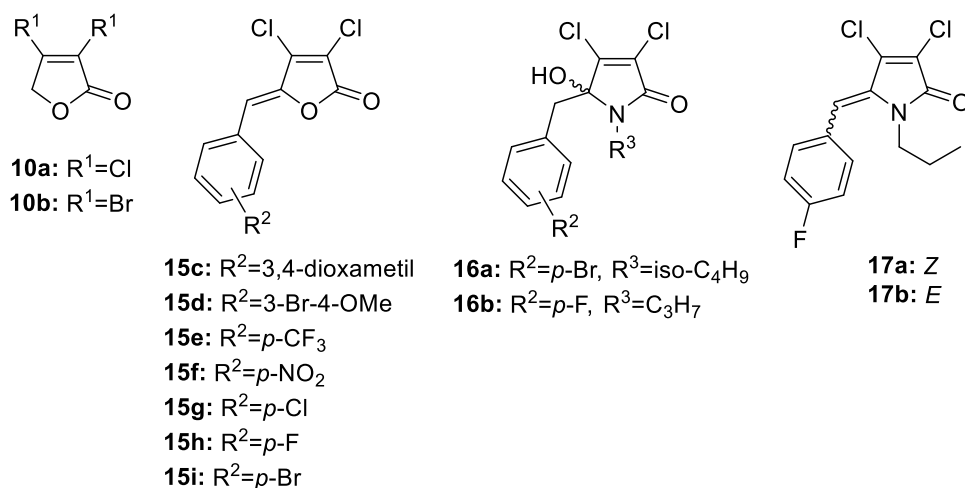


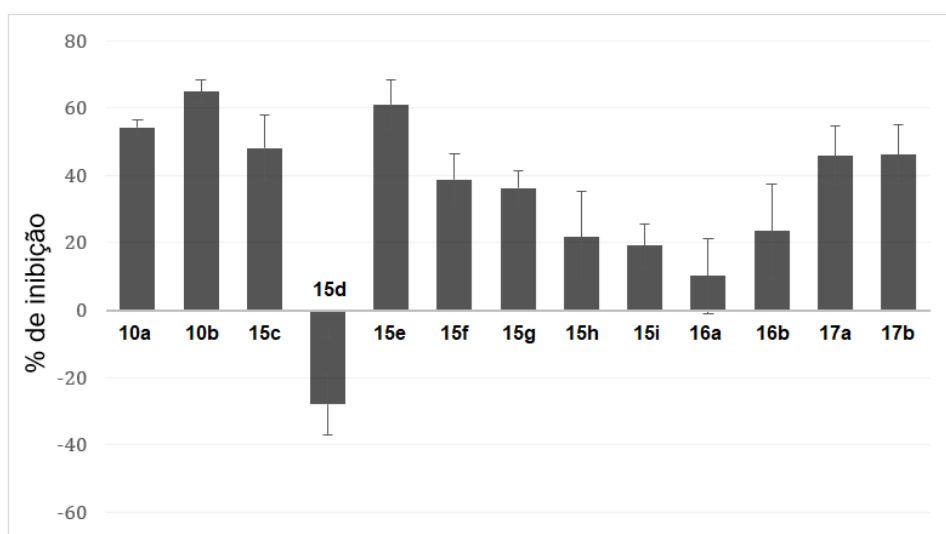
Figura 3.5 - Fórmulas estruturais dos compostos utilizados no ensaio de inibição do crescimento planctônico e formação de biofilme de *Streptococcus mutans*.

Os resultados obtidos para inibição da formação de biofilme de *S. mutans* encontram-se nas Figuras 3.6 e 3.7 (pg. 142) e os resultados obtidos para inibição de crescimento bacteriano estão apresentados na Figura 3.8 (pg. 143). Para cada composto testado, os valores para inibição do crescimento planctônico e biofilme foram indicados como porcentagens nas concentrações que cada composto apresentou o maior efeito inibitório do biofilme.

As análises do biofilme (Figura 3.6, pg. 142) mostraram que doze dos treze compostos testados inibiram a formação do biofilme de *S. mutans*, porém o composto **15d** induziu à formação do biofilme ($87,5 \mu\text{g/mL}^{-1}$). Os compostos **10a-10b**, **15c**, **15e** e **17a-b** causaram mais de 40% de inibição no biofilme a diferentes concentrações para cada composto. Claramente, o composto mais ativo foi a lactona dibromada **10b**, que apresentou uma taxa de inibição do biofilme de 65% ($0,17 \mu\text{g/mL}^{-1}$). A lactona diclorada **10a** foi menos ativa,

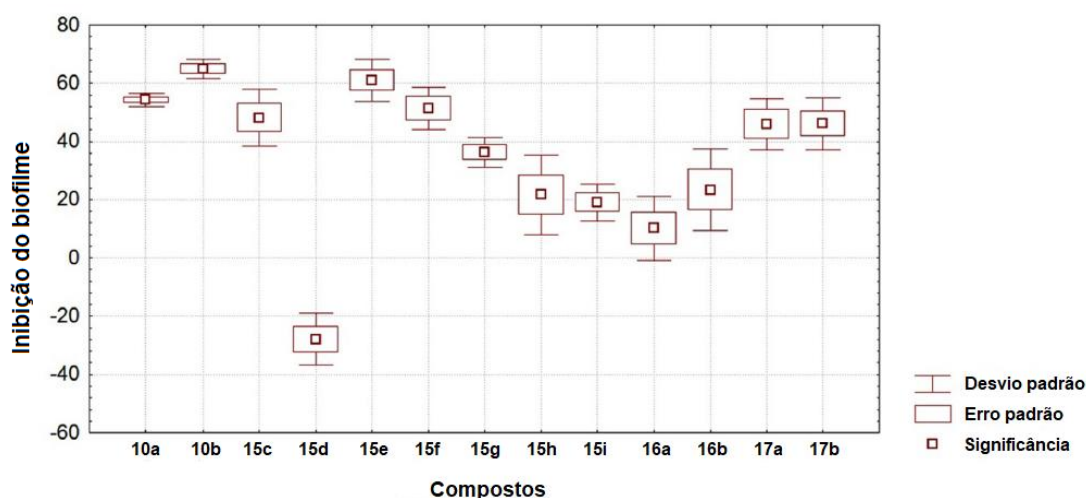
causando 54% de inibição do biofilme ($5,44 \mu\text{g/mL}^{-1}$). A análise estatística confirmou a significância dos resultados (Figura 3.7).

A respeito do crescimento planctônico (Figura 3.8, pg. 143), apenas o composto **15h** ($0,34 \mu\text{g/mL}^{-1}$) revelou um efeito inibitório (19%), considerado pouco significativo para indução de resistência ao composto. Os demais compostos não apresentaram efeito inibitório do crescimento planctônico, e alguns foram capazes de uma leve indução do mesmo. O composto **16b**, por exemplo, induziu o crescimento bacteriano em 35,8% ($43,8 \mu\text{g/mL}^{-1}$), enquanto os compostos **10b** e **15c-15f**, apresentaram efeito insignificante no crescimento planctônico.



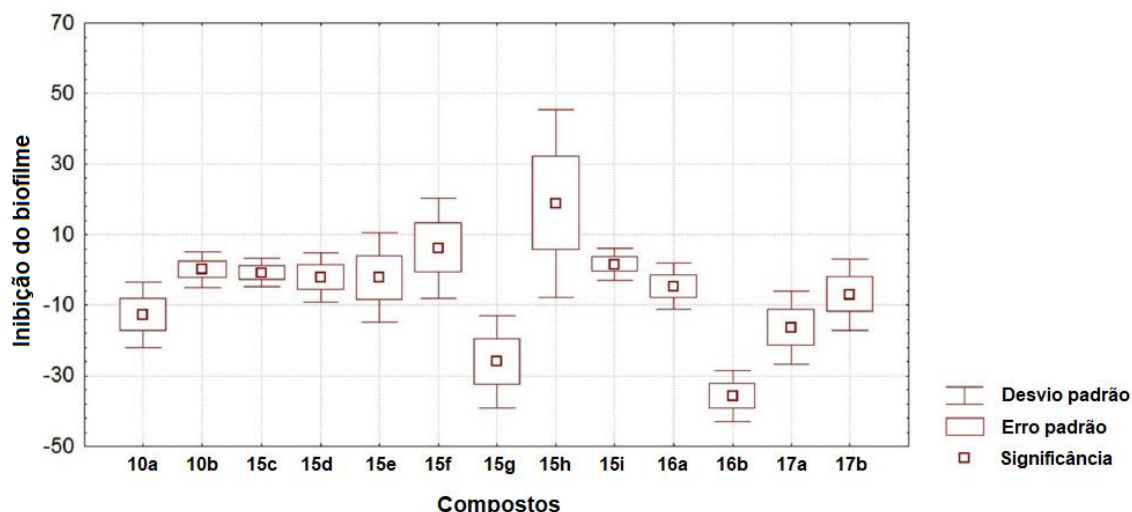
Fonte: Sordi *et al.*, 2018.

Figura 3.6 - Atividade antibiofilme dos compostos **10a-b**, **15c-i**, **16a-b** e **17a-b** nas suas concentrações mais eficazes para a inibição de biofilme de *S. mutans*. Os dados do percentual de inibição foram calculados em relação às medidas do controle positivo, definido como 100% da formação do biofilme.



Fonte: Sordi *et al.*, 2018.

Figura 3.7 - Análise estatística dos resultados de inibição da formação de biofilme obtidos por ANOVA para cada composto.



Fonte: Sordi *et al.*, 2018.

Figura 3.8 - Análise estatística dos resultados de inibição do crescimento planctônico, obtidos por ANOVA para cada composto.

Dentre todos os treze compostos testados, oito inibiram a formação do biofilme de *S. mutans* sem interferir na viabilidade bacteriana, medida pelo crescimento planctônico. Tais resultados mostram que γ -lactonas e γ -lactamas têm potencial para o desenvolvimento de uma nova geração de fármacos antibacterianos, visando a virulência bacteriana ao invés de viabilidade. Esta especificidade é importante para o desenvolvimento de uma nova geração de compostos antimicrobianos, porque ao eleger como alvo a virulência, sem comprometer a viabilidade do microrganismo, esses compostos passam a apresentar um baixíssimo potencial de indução do aparecimento de resistência por parte da população-alvo, garantindo para si uma vida média de comercialização e atividade muito maior quando comparados aos atuais antibióticos clássicos. Além disso, estudos prévios mostraram que as lactamas são menos citotóxicas do que as furanonas (Hentzer *et al.*, 2002; Hentzer *et al.*, 2003) e mais reativas à formação de biofilme do que suas correspondentes lactonas (Pereira *et al.*, 2014a; Pereira *et al.*, 2014b).

Analisando os resultados obtidos para inibição do biofilme, observa-se que não existe uma correlação direta de dose/resposta pelos compostos testados, o que poderia indiretamente estar afetando a formação de biofilme ou mesmo levando a uma inibição de biofilme em baixas concentrações (Pereira *et al.*, 2014a). Independente deste fenômeno, como ressaltado anteriormente, o desenvolvimento de lactonas e lactamas biocompatíveis permanece como uma estratégia importante para o tratamento de infecções e contaminações associadas ao biofilme, evitando a estimulação da resistência bacteriana (Barczak e Hung, 2009; Boles *et al.*, 2004; Cegelski *et al.*, 2008; Clatworthy *et al.*, 2007).

3.3.3. Avaliação da inibição da formação do biofilme de *S. mutans* quando as lactonas **15a-b** estão incorporadas em PEEK sulfonado

As lactonas **15a-b** (Figura 3.9), previamente determinadas como bons agentes antibiofilmes (Pereira *et al.*, 2014a; Pereira *et al.*, 2014b) foram incorporadas em PEEK sulfonado e submetidas a ensaios de inibição de biofilme em presença de *S. mutans*. A lactona comercial (*Z*)-4-bromo-5-(bromometileno)furan-2(5*H*)-ona (**18**) (Figura 3.9), conhecida como Furanona C-30, também foi avaliada neste trabalho, pois estudos anteriores mostraram que esta é a melhor substância caracterizada com capacidade comprovada de inibição do QS (processo que controla a formação dos biofilmes) (Maeda *et al.*, 2012; He *et al.*, 2012; Hentzer *et al.*, 2003).

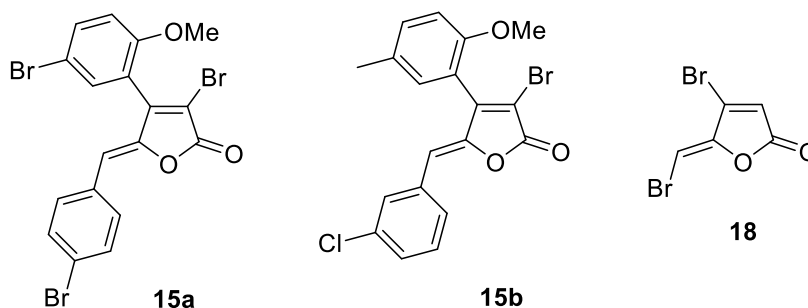


Figura 3.9 - Fórmulas estruturais das lactonas **15a-b** e da Furanona C-30 (**18**).

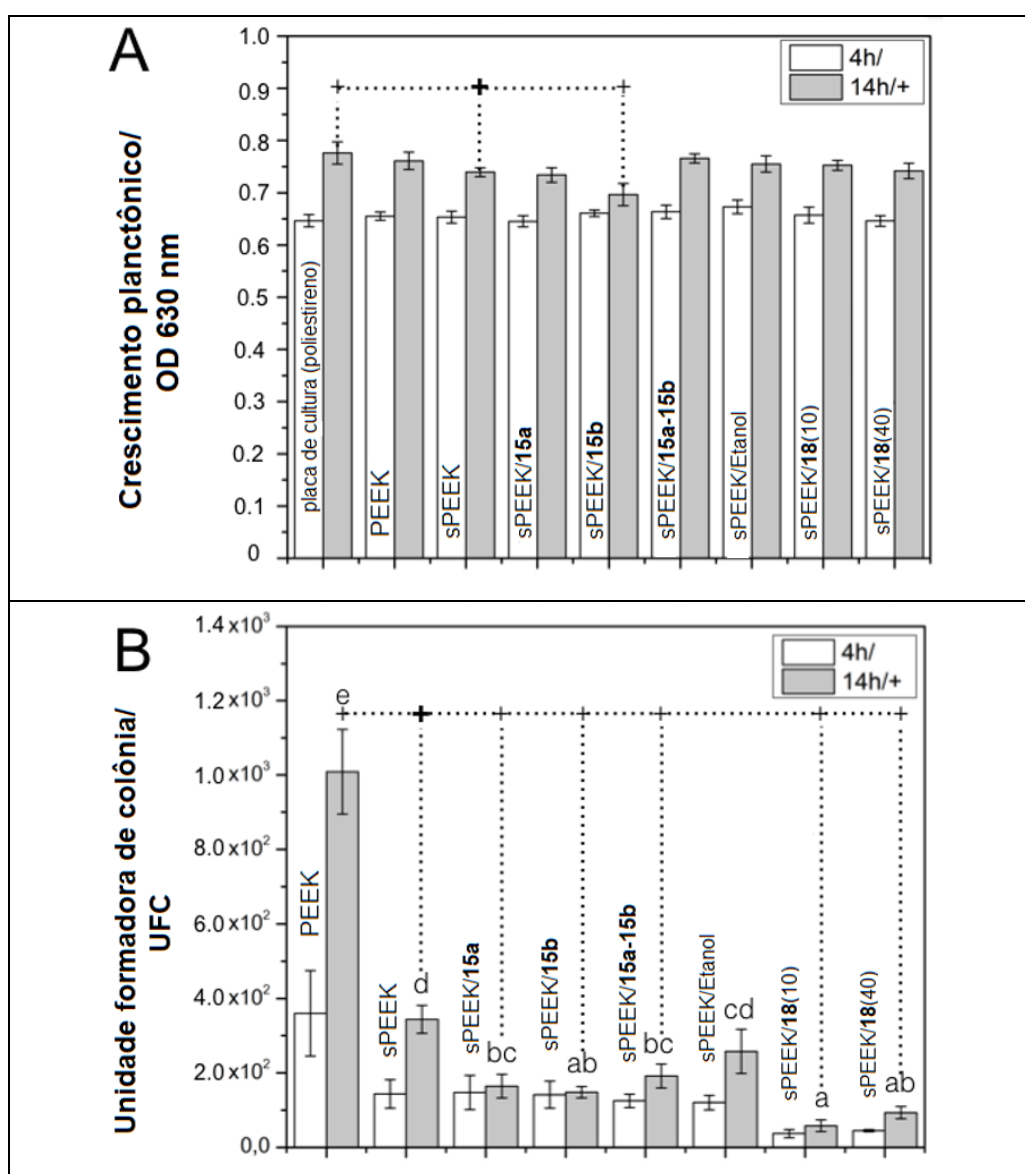
Inicialmente, foi analisado o crescimento planctônico de *S. mutans* ao redor das estruturas sPEEK/agentes antibiofilmes. Todas as amostras analisadas interferiram levemente no crescimento planctônico de *S. mutans* após 4 e 14 h de experimento (Figura 3.10A, pg. 145), indicando que há pouco ou nenhum efeito dos compostos antibiofilmes na viabilidade bacteriana.

A atividade antibiofilme foi determinada de acordo com a contagem UFC (Unidades Formadoras de Colônias) das colônias de *S. mutans* que aderiram nas superfícies dos polímeros após 4 e 14 h (Figura 3.10B, pg. 145). Para a realização dessa análise, as colônias que aderiram nas superfícies dos polímeros foram destacadas, coletadas e cultivadas em placa de ágar (Figura 3.11, pg. 146).

Os resultados da contagem de UFC mostraram que a incorporação de SO₃H inibe a aderência bacteriana sobre a superfície do sPEEK, ou tem efeito direto sobre a viabilidade bacteriana, uma vez que o número de colônias recuperadas da superfície do sPEEK é significativamente inferior ao das recuperadas da superfície do PEEK. Quando comparados a sPEEK (100%), os agentes sPEEK/antibiofilme mais ativos contra biofilme são sPEEK/**18**(10) (17,0%), sPEEK/**18**(40) (27,2%), sPEEK/**15b** (43,0%), sPEEK/**15a** (47,9%),

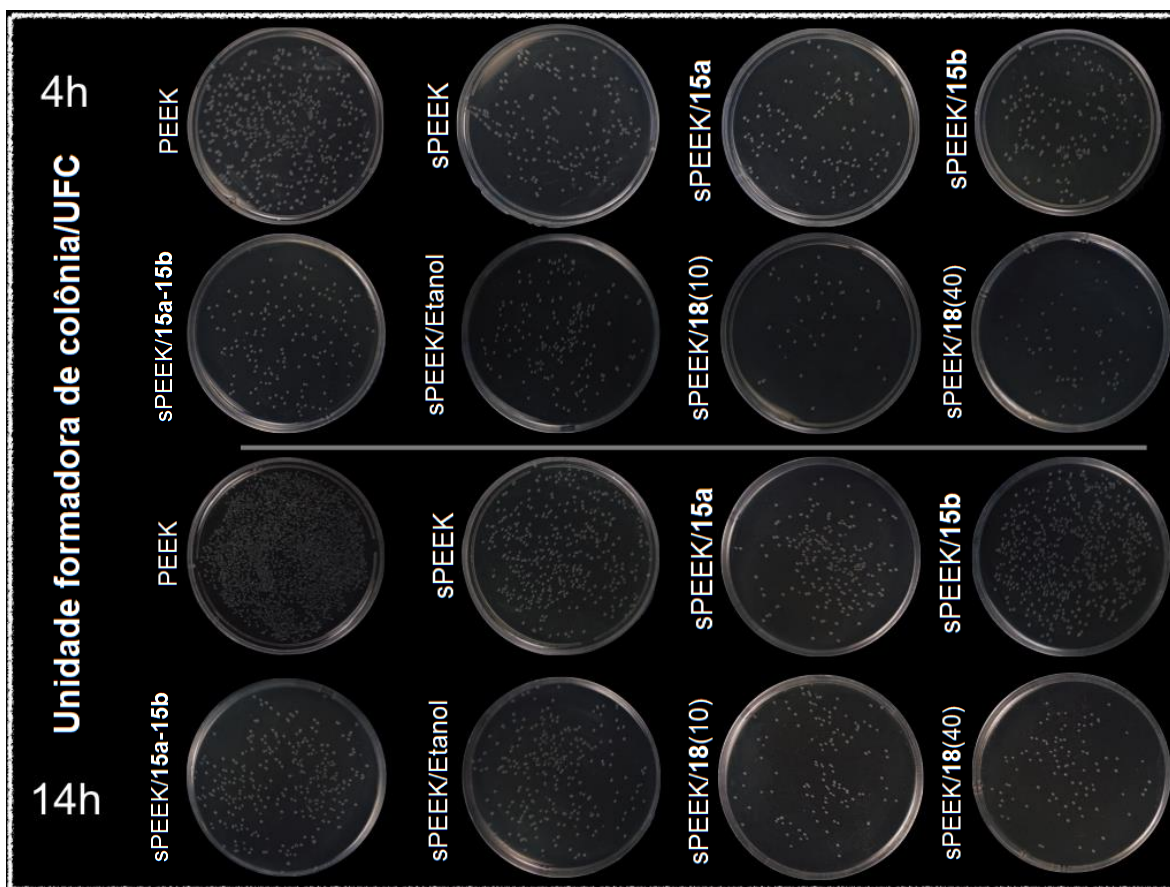
sPEEK/**15a-15b** (55,9%) e sPEEK/Etanol (74,9%), respectivamente (Figura 3.10B, pg. 145). Dessa forma, pode-se observar que a introdução de todos os compostos antibiofilme na superfície do sPEEK inibiu de forma significativa a adesão bacteriana após 14 h de exposição (Figura 3.10B, pg. 145).

Comparando-se os resultados mostrados para o crescimento planctônico e a formação de biofilme, percebe-se que a incorporação das furanonas (**15a**, **15b**, **15a-15b**, **18(10)** e **18(40)**) na estrutura do sPEEK aumentou significativamente as propriedades antibiofilme do polímero, ao mesmo tempo em que não mostrou influência no crescimento planctônico. Esse comportamento indica que a atividade antibacteriana obtida é específica contra a adesão bacteriana e não contra a viabilidade bacteriana.



Fonte: Montero, 2018.

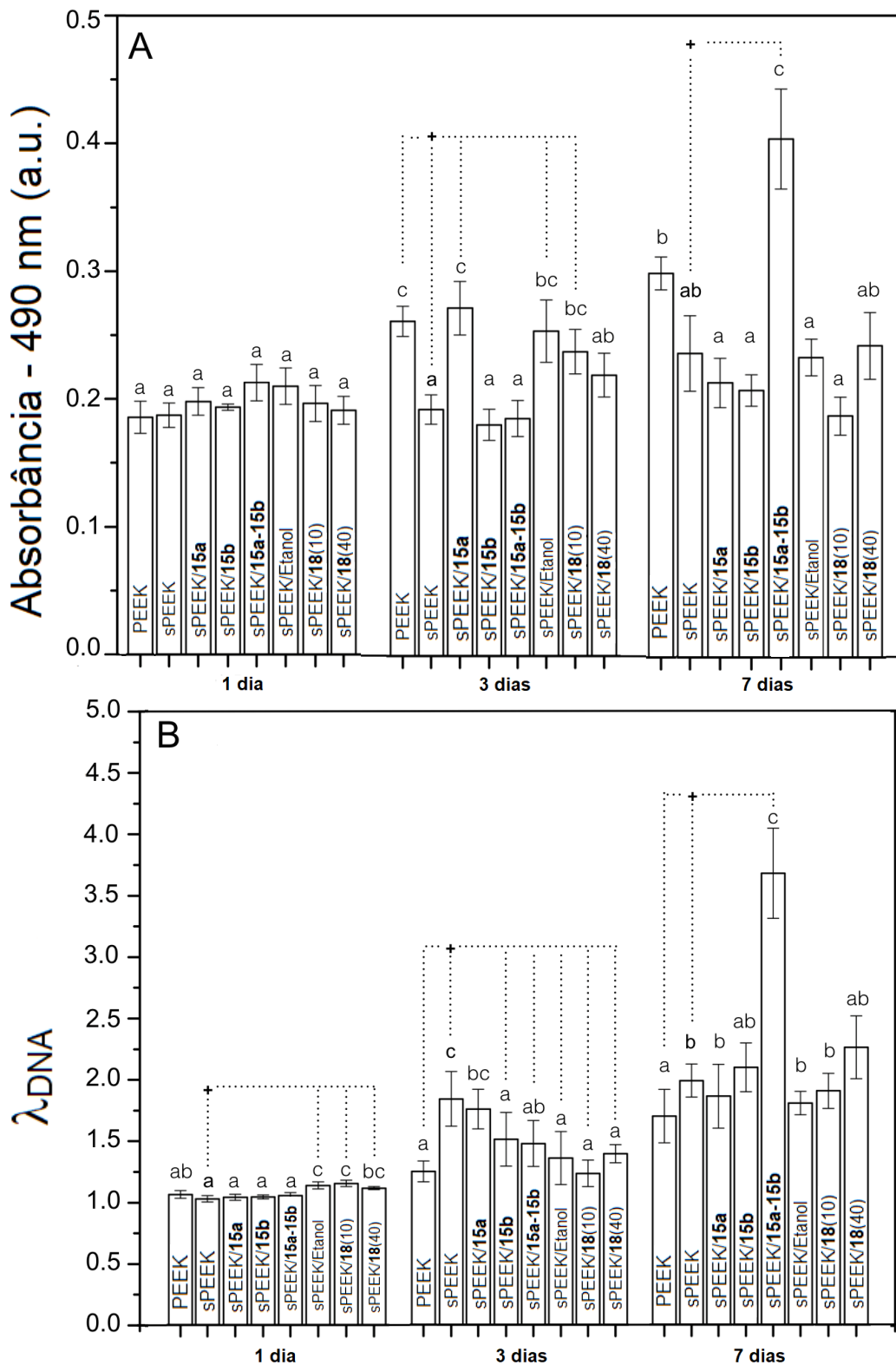
Figura 3.10 - (A) Crescimento planctônico de *S. mutans*, (B) unidades formadoras de colônia (UFC/mL) de 4 e 14 h.



Fonte: Montero, 2018.

Figura 3.11 - Unidades formadoras de colônia (UFC/mL) de 4 e 14 h (*S. mutans*).

Além da atividade antibacteriana e antibiofilme, também foi realizado um estudo da atividade metabólica e da proliferação celular de fibroblastos L929 em PEEK e sPEEK carregados com agentes antibiofilmes (furanonas **15a**, **15b** e **18**). Os resultados desses ensaios foram analisados após 1, 3 e 7 dias de cultura de células (Figura 3.12A-B, pg. 147). Após 7 dias e quando comparados a sPEEK (100%), as taxas de metabolismo e proliferação celular foram, respectivamente, (I) metabolismo: PEEK (126,3%), sPEEK/**15a** (90,32%), sPEEK/**15b** (87,79%), sPEEK/**18**(10) (79,37%), sPEEK/**18**(40) (102,5%) e sPEEK/**15a-15b** (170,5%); (II) proliferação: PEEK (68,4%), sPEEK/**15a** (93,6%), sPEEK/**15b** (84,3%), sPEEK/**18**(10) (95,8%), sPEEK/**18**(40) (86,6%), sPEEK/**15a-15b** (148,0%). Esses resultados indicam que a associação de sPEEK/**15a-15b** aumentou significativamente tanto a atividade metabólica (170,5%) quanto a proliferação celular (148,0%) dos fibroblastos (Figura 3.12A -B, pg. 147).

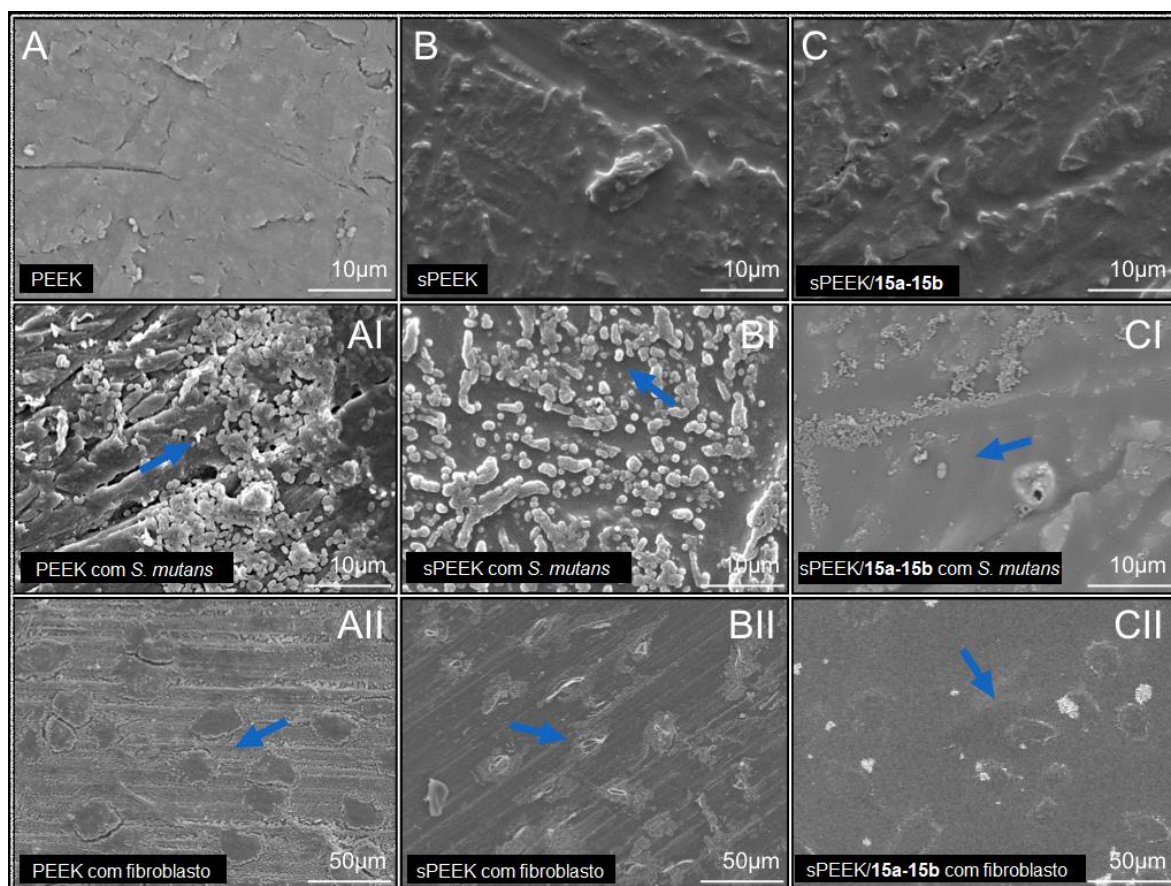


Fonte: Montero, 2018.

Figura 3.12 - (A) Atividade metabólica (MTS) e (B) proliferação de células L929 (Quant-iT™ PicoGreen®dsDNA) após 1, 3 e 7 dias de cultura.

As imagens do estudo de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de PEEK, sPEEK e sPEEK/15a-15b na presença de *S. mutans* e fibroblastos encontram-se na Figura 3.13A-C (pg. 148). Análises de MEV (Figura 3.13: AI, BI e CI; pg. 148) mostram grandes

quantidades de biofilme na superfície do PEEK, menor quantidade sobre sPEEK, e uma diminuição menor ainda sobre sPEEK/**15a-15b**, confirmando os resultados quantitativos mostrados na Figura 3.10B (pg. 145). No entanto, os fibroblastos apresentaram crescimento normal e morfologia característica após 24 h na superfície de PEEK, sPEEK e sPEEK/**15a-15b** (Figura 3.13: AII, BII e CII; pg. 148). Assim, percebe-se que o agente sPEEK/**15a-15b** não é citotóxico contra células L929, além de estimular a atividade metabólica e a proliferação de fibroblastos quando comparados com os resultados obtidos com o PEEK e sPEEK. Esta é a primeira vez que tal efeito é descrito na literatura e os mecanismos envolvidos estão sendo investigados.



Fonte: Montero, 2018.

Figura 3.13 - Imagens MEV de (A) PEEK, (B) sPEEK e (C) sPEEK/**15a-15b**. As setas indicam a presença de biofilmes de *S. mutans* e a morfologia das células L929 na superfície de diferentes materiais.

3.4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho foram sintetizadas 11 lactonas (**10a-b** e **15a-i**) e 4 lactamas (**16a-b** e **17a-b**), preparadas anteriormente e relatadas na literatura por nosso grupo de pesquisa. Os compostos **10a-b**, **15c-i**, **16a-b** e **17a-b** foram submetidos a ensaios antimicrobiano e

antibiofilme contra *S. mutans*, e os agentes antibiofilme **15a-b** também foram avaliados quanto as mesmas atividades, no entanto, após terem sido incorporados em PEEK sulfonado.

No primeiro ensaio foram analisados treze compostos (**10a-b**, **15c-i**, **16a-b** e **17a-b**). Desses treze, oito foram ativos contra biofilmes de *S. mutans* sem mostrar interferência significativa na viabilidade bacteriana. Os compostos mais ativos revelaram uma taxa de inibição de 65% e, em geral, os compostos testados apresentaram grande potencial para inibir a formação de biofilme. Assim, essas substâncias mostram-se boas candidatas para o desenvolvimento de novas drogas antibiofilme, evitando o desenvolvimento de resistência bacteriana. Estudos complementares devem ser realizados para avaliar seus efeitos contra a formação de biofilmes de outras espécies bacterianas ou mesmo de biofilmes mistos.

No segundo ensaio foram introduzidos grupos SO₃H em PEEK comercial, formando sPEEK. O polímero modificado (sPEEK) continuou sendo funcionalizado pela adição de compostos antibiofilme (**15a-b** e **18**). O crescimento planctônico de *S. mutans* em torno dos agentes PEEK, sPEEK e sPEEK/antibiofilme não foi afetado; no entanto, a atividade antibiofilme aumentou significativamente. Os ensaios de citotoxicidade indicaram que sPEEK e sPEEK/agentes antibiofilmes não apresentaram citotoxicidade. Além disso, sPEEK/**15a-b** demonstrou estimular a atividade metabólica e a proliferação de fibroblastos quando comparados aos resultados obtidos para PEEK e sPEEK. Dessa forma, os materiais obtidos pela introdução de agentes antibiofilme em sPEEK apresentam bom potencial para serem explorados e futuramente utilizados para o desenvolvimento de dispositivos biomédicos resistentes à contaminação bacteriana.

3.5. METODOLOGIAS

3.5.1. Procedimentos sintéticos

Os compostos **10a-b**, **14a-b**, **15a-i**, **16a-b** e **17a-b** foram sintetizados seguindo as metodologias relatadas por Pereira *et al.* (2014b) e Pereira *et al.* (2016). As reações foram acompanhadas por CCD e os espectros de RMN de ¹H obtidos foram comparados com aqueles reportados na literatura para confirmação da obtenção dos produtos.

3.5.2. Avaliação da inibição da formação do biofilme de *S. mutans*

As lactonas **15c-i** e lactamas **16a-b** e **17a-b** foram enviadas para a professora Andrea de Lima Pimenta na Universidade Federal de Santa Catarina - Brasil (Departamento de

Odontologia) e foram submetidas a ensaios de inibição da formação de biofilme em *S. mutans*.

Para realização do ensaio biológico, as soluções aquosas de DMSO e sacarose foram preparadas em água destilada e autoclavadas a 120 °C por 20 minutos antes de serem adicionadas ao meio de cultura. Os compostos testados foram solubilizados em DMSO 100% e posteriormente diluídos em meio *Tryptic Soy Broth* (TSB) na concentração inicial de 175 µg mL⁻¹. A concentração de DMSO em todos os ensaios (3,5% v/v) foi mantida constante. A linhagem bacteriana (*Streptococcus mutans*) foi cultivada em TSB, e durante os ensaios de inibição de biofilme foi acrescentado ao meio sacarose (4% m/v) e DMSO (3,5% v/v). Resultados prévios mostraram que nessa concentração, DMSO não interfere no crescimento bacteriano e na formação do biofilme.

As cepas-teste (*Streptococcus mutans*) foram cultivadas por 24 h em meio TSB a 37 °C sem agitação e, após as primeiras 8 h de incubação, foram plaqueadas em meio ágar-sangue para verificação da pureza. As culturas puras foram diluídas a 10⁸ UFC mL⁻¹ e 100 µL dessas suspensões foram depositadas nos poços das microplacas de poliestireno. Em seguida, foram adicionados ao primeiro poço de cada série 100 µL de solução de cada composto a ser testado, resultando em uma concentração inicial de 87,5 µg mL⁻¹, e realizadas diluições sucessivas, em razão de 2 para o preparo das soluções a 43,8, 21,9, 10,9, 5,5, 2,73, 1,37, 0,68, 0,34 e 0,17 µg mL⁻¹. O experimento controle foi realizado da mesma forma, mas sem a presença de algum composto. As microplacas de *S. mutans* foram então incubadas em ambiente de microaerofilia. Ao final da incubação, o crescimento bacteriano foi quantificado por absorbância a 630 nm, usando-se um leitor de microplacas para avaliar os efeitos dos compostos testados sobre o crescimento bacteriano antes da quantificação do biofilme. As suspensões bacterianas foram então descartadas e os poços foram repetidamente lavados com água destilada, a fim de eliminar as bactérias não aderidas.

As bactérias aderentes (biofilme) foram coradas com 120 mL de uma solução de cristal violeta 0,1% (m/v). Em seguida, solubilizou-se o cristal violeta fixado nas bactérias aderidas com uma solução 1% (m/v) de dodecilssulfato de sódio (SDS) para permitir a quantificação da coloração pelo leitor de microplacas a 595 nm. Cada ensaio foi realizado em triplicata. Os resultados obtidos foram calculados em relação ao tratamento controle. Os dados foram tratados e os valores de CI₅₀ (concentração necessária para inibir 50% da formação do biofilme bacteriano) foram determinados.

3.5.3. Avaliação da inibição da formação do biofilme de *S. mutans* quando as lactonas **15a-b** estão incorporadas em PEEK sulfonado

As lactonas **15a-b** foram enviadas para a professora Andrea de Lima Pimenta na Universidade Federal de Santa Catarina - Brasil (Departamento de Odontologia). Esses compostos, juntamente com a lactona comercial (Z)-4-bromo-5-(bromometileno)furan-2(5H)-ona (**18**) (Sigma-Aldrich), foram incorporados em PEEK sulfonado e submetidos a ensaios de inibição da formação do biofilme de *S. mutans*.

Funcionalização do PEEK

PEEK (D0602/Optima 381G, forma de grão, Victrex; Inglaterra) foi funcionalizado por meio de uma sulfonação, de acordo com procedimentos descritos na literatura, com modificações (Xu *et al.*, 1992; Zaidi, 2003; Conceição *et al.*, 2008). O PEEK granulado (2,0 g) foi solubilizado em 50 mL de ácido sulfúrico a 98% (Synth[®]) por um processo de intumescimento, sob agitação constante na temperatura do ambiente durante 18 h. A mistura foi aquecida a 50 °C e mantida sob agitação por 1 h. Essa mistura reacional foi gradualmente adicionada a 400 mL de água destilada gelada, sob agitação constante, para a precipitação do sPEEK. Esse precipitado foi então filtrado e lavado com solução salina tamponada com fosfato (PBS = phosphate buffered saline) até a fase aquosa atingir o pH 7, indicando a remoção completa do ácido sulfúrico. Finalmente, o precipitado foi secado a 70 °C durante 24 h. Após a funcionalização, o polímero foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) e os agentes antibiofilmes (**15a-b** e **18**) foram adicionados à mistura e deixados sob agitação durante 1 hora na temperatura do ambiente. As furanonas **15a-b** (em DMSO) foram adicionadas a sPEEK em sua concentração inibitória mínima de biofilme (MBIC = Minimum Biofilm Inhibitory Concentration, 128 µg / mL), como previamente determinado (Pereira *et al.*, 2014a; Pereira *et al.*, 2014b; Montero *et al.*, 2016), enquanto a furanona **18** (em etanol a 95%) foi utilizada em 10 e 40 µg/mL, conforme descrito na literatura (Ren *et al.*, 2001; Ren *et al.*, 2002; Weng *et al.*, 2012).

Discos PEEK (5 mm de diâmetro e 2 mm de espessura) foram cortados na máquina Transfer Multifuncional (0517.03-FGM[®]). Os discos de poli(metacrilato de metila) (PMMA) e PEEK foram então preparados com malha de papel SiC 600, imersos em álcool isopropílico por 10 min, lavados em água destilada em banho ultrassônico por 5 min e mantidos em câmara de desumidificação por 24 h (Kakinuma *et al.*, 2014). Utilizando-se a técnica de dip coating (revestimento por imersão), os discos de PMMA foram cobertos por uma fina película de sPEEK/antibiofilme (30 s de imersão), mantidos em dessecador por 24 h a 50 °C para

remoção dos solventes e secagem (Montero *et al.*, 2017). A esterilização foi realizada por fumigação com óxido de etileno antes do uso (Yujie *et al.*, 2013).

Formação do biofilme e análise

S. mutans (ATCC 25175) foi cultivado em caldo de soja trípico (TSB = Tryptic Soy Broth) (Bacto[®], Disc) suplementado com extrato de levedura (3 g/L) e sacarose (200 g/L), por 18 h a 37 °C. Para os ensaios de formação de biofilme, após incubação, as bactérias foram colhidas por centrifugação a 5000 rpm durante 10 min a 4 °C, e lavadas duas vezes com PBS. *S. mutans* foram ressuspensas em meio TSB suplementado com mucina (2,5 g/L), peptona (5 g/L), ureia (1 g/L), extrato de levedura (2 g/L) e sacarose (200 g/L). A suspensão foi calibrada para uma densidade ótica (OD₆₃₀) de 0,6, medida com uso de um espectrofotômetro (BioTek[®], EUA) correspondendo a aproximadamente 1×10^8 UFC/mL para *S. mutans* (Montero *et al.*, 2017; Xavier *et al.*, 2016; Montero *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2013).

As amostras foram colocadas em placas de 24 poços contendo 1,5 mL de meio TSB e incubadas durante 4 h ou 14 h a 37 °C. As suspensões bacterianas foram então recuperadas dos poços (150 µL) e transferidas para placas novas de 96 poços para determinar o crescimento planctônico, com o auxílio de leituras espectrofotométricas (OD₆₃₀, BioTek[®], EUA).

A formação de biofilme foi quantificada utilizando-se o método de quantificação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Outro conjunto de amostras PEEK ou sPEEK revestidas com biofilme (4 ou 14 h) foram lavadas 3 vezes com água destilada estéril e o biofilme aderido remanescente foi separado da superfície por tratamento mecânico, agitação constante em um Vortex por 30 s, seguido por tratamento químico por incubação a 37 °C por 1 h com proteinase K a 1% (Sigma[®], Aldrich) (Beg *et al.*, 2002). Após descolamento, as suspensões obtidas foram diluídas em PBS, plaqueadas em placas de ágar Brain Heart Infusion (BHI, Bacto[®], Difco), suplementadas com extrato de levedura (3 g/L) (Bacto[®], Difco) e sacarose (200 g/L) (Bacto[®], Difco) e incubadas durante 24 h a 37 °C. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

A viabilidade das células bacterianas dos biofilmes foi avaliada usando-se o teste Live/Dead BacLight (BacLight[®] Bacterial Viability Kit L7012, EUA), seguindo as especificações dos fornecedores (Neilands *et al.*, 2011). As amostras foram analisadas quanto à fluorescência usando um Microscópio de Varredura a Laser Confocal (CLSM = Confocal Laser Scanning Microscope, Leica DMI6000 B) e as imagens obtidas foram analisadas usando-se um *software* de imagem do microscópio.

Para avaliação da morfologia e distribuição do biofilme na superfície do sPEEK, as amostras foram lavadas três vezes com PBS e fixadas em glutaraldeído a 2,5% por 1 h a 37 °C. As amostras foram desidratadas durante 15 min de incubação utilizando uma série de soluções aquosas de etanol (50, 70, 80 e 100%), metalizadas com ouro e analisadas por MEV (JEOL JSM-6390LV, Japão) a 10 kV (Montero *et al.*, 2016).

Atividade metabólica e proliferação celular

A citotoxicidade de PEEK e sPEEK com agentes antibiofilmes foi analisada por contato direto de acordo com os procedimentos padrão recomendados pela ISO 10993-5 para avaliação biológica de dispositivos médicos. Para a atividade metabólica e ensaios de proliferação, os fibroblastos marinhos L929 foram mantidos em Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco®, Brasil) suplementado com 10% de soro bovino fetal (Gibco®, EUA) e 1% de penicilina/estreptomicina (Gibco®, EUA), em atmosfera umidificada com 5% de CO₂ a 37 °C. As células L929 foram semeadas a uma densidade de 2,5x10⁴ células/cm² em placas de 96 poços e deixadas crescendo durante 1, 3 e 7 dias.

O meio de cultura foi removido das placas de 96 poços preparadas como apresentado no item anterior, e os poços contendo as amostras foram lavados três vezes com PBS. Os discos foram transferidos para placas novas de 96 poços e 200 µL de meio de cultura e 60 µL de reagente MTS (1 mg mL⁻¹) foram adicionados por poço e as placas de cultura foram incubadas a 37 °C em uma atmosfera de 5% de CO₂. Após 3 h de incubação, os conteúdos foram homogeneizados e 100 µL foram transferidos de cada cavidade para uma placa nova de 96 poços. A absorbância foi medida por espectrofotometria a 490 nm em um leitor de microplacas (Molecular, Leica, EUA). Cada ensaio foi realizado em triplicata.

A proliferação de células L929 foi quantificada, utilizando-se o *kit* de quantificação dsDNA PicoGreen (P7589/Molecular® Probes, EUA) após 1, 3 e 7 dias de cultura *in vitro*. A porcentagem de proliferação de células L929 foi calculada, utilizando-se uma curva de calibração de concentração de λ_{DNA} (Curva de calibração de fluorescência λ_{DNA} fornecida pelo kit Quant-iT™PicoGreen® dsDNA) (Monich *et al.*, 2017).

As amostras foram removidas dos poços e lavadas três vezes com PBS. Os discos foram então transferidos para placas novas de 48 poços e 1 mL de água ultrapura foi adicionado a cada poço. As placas de cultura foram mantidas em atmosfera úmida a 37 °C com 5% de CO₂ durante 1 h e armazenadas a -80 °C até ser analisada. Para a reação de Picogreen, as amostras foram descongeladas, os componentes do *kit* foram adicionados a cada poço e os resultados foram analisados no multileitor de espectro de fluorescência (paradigma Spectramax/LAMEB/UFSC, Brasil).

Observação morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a avaliação da adesão e morfologia celular, as amostras foram cultivadas durante 24 h, enxaguadas duas vezes com PBS, e depois com água deionizada. As amostras foram rapidamente congeladas (-80 °C), transferidas para um liofilizador e mantidas por 48 h (L101, Liobras, Brasil), metalizadas com ouro e analisadas por MEV (JEOL JSM-6390LV, Japão) a 10 kV (Lee *et al.*, 2012a).

3.6. REFERÊNCIAS

- Alvi, K.A.; Casey, A.; Nair, B. G. *Pulchellalactam: a CD45 protein tyrosine phosphatase inhibitor from the marine fungus *Corollospora pulchella**. J. Antibiot. 51 (1998) 515-517.
- Barczak, A. K.; Hung, D. T. *Productive steps toward an antimicrobial targeting virulence*. Curr. Opin. Microbiol. 12(5), (2009) 490-496.
- Barder, T. E.; Walker, S. D.; Martinelli, J. R.; Buchwald, S. L. *Catalysts for Suzuki-Miyaura coupling processes: scope and studies of the effect of ligand structure*. J. Am. Chem. Soc. 127(13), (2005) 4685-4696.
- Beg, A. M.; Jones, M. N.; Miller-Torbert, T.; Holt, R. G. *Binding of *Streptococcus mutans* to extracellular matrix molecules and fibrinogen*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 298(1), (2002) 75-79.
- Bellina, F.; Anselmi, C.; Viel, S.; Mannina, L.; Rossi, R. *Selective synthesis of (Z)-4-aryl-5-[1-(aryl)methylidene]-3-bromo-2-(5H)-furanones*. Tetrahedron 57 (2001) 9997-10007.
- Bellina, F.; Rossi, R. *An efficient and inexpensive multigram synthesis of 3,4-dibromo- and 3,4-dichlorofuran-2(5H)-one*. Synthesis 12 (2007) 1887-1889.
- Bellina, F.; Rossi, R. *Mucochloric and mucobromic acids: inexpensive, highly functionalized starting materials for the selective synthesis of variously substituted 2(5H)-furanone derivatives, sulfur- or nitrogen-containing heterocycles and stereodefined acyclic unsaturated dihalogenated compounds*. Curr. Org. Chem. 8 (2004) 1089-1103.
- Boles, B. R.; Thoendel, M.; Singh, P. K. *Self-generated diversity produces “insurance effects” in biofilm communities*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(47), (2004) 16630-16635.
- Brackman, G.; Coenye, T. *Quorum Sensing Inhibitors as Anti-Biofilm Agents*. Curr. Pharm. Des. 21 (2015) 5-11.
- Cegelski, L.; Marshall, G. R.; Eldridge, G. R.; Hultgren, S. J. *The biology and future prospects of antivirulence therapies*. Nat. Rev. Microbiol. 6(1), (2008) 17-27.
- Clatworthy, A. E.; Pierson, E.; Hung, D. T. *Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy*. Nat. Chem. Biol. 3(9), (2007) 541-548.
- Conceição, T. F.; Bertolino, J. R.; Barra, G. M. O.; Mireski, S. L.; Joussef, A. C.; Pires, A. T. N. *Preparation and characterization of poly(ether-ether-ketone) derivatives*. J. Braz. Chem. Soc. 19(1), (2008) 111-116.
- Converse, G. L.; Conrad, T. L.; Roeder, R. K. *Mechanical properties of hydroxyapatite whisker reinforced polyetherketoneketone composite scaffolds*. J. Mech. Behav. Biomed. Mater. 2(6), (2009) 627-635.
- Cunha, S.; Oliveira, C. C. *Aplicações sintéticas do ácido mucobromico e da 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona*. Quim. Nova 34 (2011) 1425-1438.
- Goh, W. K.; Iskander, G.; Black, D. S.; Kumar, N. *An efficient lactamization of fimbrolides to novel 1,5-dihydropyrrol-2-ones*. Tetrahedron Lett. 48 (2007) 2287-2290.

- Gu, H.; Chen, A.; Song, X.; Brasch, M. E.; Henderson, J. H.; Ren, D. *How Escherichia coli lands and forms cell clusters on a surface: a new role of surface topography*. Sci. Rep. 6 (2016) 1-14.
- Hall-Stoodley, L.; Costerton, J. W.; Stoodley, P. *Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases*. Nat. Rev. Microbiol. 2 (2004) 95-108.
- Hentzer, M.; Riedel, K.; Rasmussen, T. B.; Heydorn, A.; Andersen, J. B.; Parsek, M. R.; Rice, S. A.; Eberl, L.; Molin, S.; Høiby, N.; Kjelleberg, S.; Givskov, M. *Inhibition of quorum sensing in Pseudomonas aeruginosa biofilm bacteria by a halogenated furanone compound*. Microbiology 148(Pt 1), (2002) 87-102.
- Hentzer, M.; Wu, H.; Andersen, J. B.; Riedel, K.; Rasmussen, T. B.; Bagge, N.; Kumar, N.; Schembri, M. A.; Song, Z.; Kristoffersen, P.; Manefield, M.; Costerton, J. W.; Molin, S.; Eberl, L.; Steinberg, P.; Kjelleberg, S.; Høiby, N.; Givskov, M. *Attenuation of Pseudomonas aeruginosa virulence by quorum sensing inhibitors*. EMBO J. 22(15), (2003) 3803-3815.
- He, Z.; Wang, Q.; Hu, Y.; Liang, J.; Jiang, Y.; Ma, R.; Tang, Z.; Huang, Z. *Use of the quorum sensing inhibitor furanone C-30 to interfere with biofilm formation by Streptococcus mutans and its luxS mutant strain*. Int. J. Antimicrob. Agents 40 (2012) 30-35.
- Kakinuma, H.; Ishii, K.; Ishihama, H.; Honda, M.; Toyama, Y.; Matsumoto, M.; Aizawa, M. *Antibacterial polyetheretherketone implants immobilized with silver ions based on chelate-bonding ability of inositol phosphate : processing , material characterization , cytotoxicity , and antibacterial properties*. J. Biomed. Mater. Res. A 103(1), (2014) 57-64.
- Kurtz, S. M.; Devine, J. N. *PEEK biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants*. Biomaterials 28(32), (2007) 4845-4869.
- Lee, J. T.; Chow, K. L. *SEM sample preparation for cells on 3D scaffolds by freeze-drying and HMDS*. Scanning. 34(1), (2012a) 12-25.
- Lee, W-T.; Koak, J-Y.; Lim, Y-J.; Kim, S-K.; Kwon, H-B.; Kim, M-J. *Stress shielding and fatigue limits of poly-ether-ether-ketone dental implants*. J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater. 100(4), (2012b) 1044-1052.
- Maeda, T.; García-Contreras, R.; Pu, M.; Sheng, L.; Garcia, L. R.; Toma's, M.; Wood, T. K. *Quorum quenching quandary: resistance to antivirulence compounds*. ISME J. 6 (2012) 493-501.
- Maekawa, M.; Kanno, Z.; Wada, T.; Hongo, T.; Doi, H.; Hanawa, T.; Ono, T.; Uo, M. *Mechanical properties of orthodontic wires made of super engineering plastic*. Dent. Mater. J. 34(1), (2015) 114-119.
- Martinez, L. R.; Casadevall, A. *Cryptococcus neoformans Biofilm Formation Depends on Surface Support and Carbon Source and Reduces Fungal Cell Susceptibility to Heat, Cold, and UV Light*. Appl. Environ. Microbiol. 73(14), (2007) 4592-4601.
- Miranda, A. C. M.; Barbosa, L. C. A.; Masood, M. A.; Varejão, J. O. S.; Sordi, M.; Benfatti, C. A. M.; Pimenta, A. L. *Inhibitory effect on biofilm formation of pathogenic bacteria induced by rubrolide lactam analogues*. ACS Omega 3 (2018) 8475-18480.
- Monich, P. R.; Berti, F. V.; Porto, L. M.; Henriques, B.; Oliveira, A. P. N.; Fredel, M. C.; Souza, J. C. M. *Physicochemical and biological assessment of PEEK composites embedding natural amorphous silica fibers for biomedical applications*. Mater. Sci. Eng. C. 79 (2017) 354-362.
- Montero, J. F. D.; Barbosa, L. C.; Pereira, U. A.; Barra, G. M.; Fredel, M. C.; Benfatti, C. A.; Magini, R. S.; Pimenta, A. L.; Souza, J. C. *Chemical, microscopic, and microbiological analysis of a functionalized poly-ether-ether-ketone-embedding antibiofilm compounds*. J. Biomed. Mater. Res. A. 104(12), (2016) 3015-20.
- Montero, J. F. D. *Estudo do comportamento celular e bacteriano sobre PEEK sulfonado (sPEEK) com agentes antibiofilme*. Tese submetida ao programa de pós-graduação em odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina (2018) 1-108.

- Montero, J. F. D.; Tajiri, H. A.; Barra, G. M. O.; Fredel, M. C.; Benfatti, C. A.; Magini, R. S.; Pimenta, A. L.; Souza, J. C. *Biofilm behavior on sulfonated poly(ether-ether-ketone) (sPEEK)*. Mater. Sci. Eng. C. 70 (2017) 456-460.
- Musk, D. J.; Hergenrother, P. J. *Chemical countermeasures for the control of bacterial biofilms: effective compounds and promising targets*. Curr. Med. Chem. 13 (2006) 2163-2177.
- Nay, B.; Riache, N.; Evanno, L. *Chemistry and biology of non-tetramic γ -hydroxy- γ -lactams and γ -alkylidene- γ -lactams from natural sources*. Nat. Prod. Rep. 26 (2009) 1044-1062.
- Neilands, J.; Sutherland, D.; Resin, A.; Wejse, P. L.; Chávez de Paz, L. E. *Chitosan Nanoparticles Affect the Acid Tolerance Response in Adhered Cells of Streptococcus mutans*. Caries Res. 45(6), (2011) 501-505.
- Ouyang, L.; Zhao, Y.; Jin, G.; Lu, T.; Li, J.; Qiao, Y.; Ning, C.; Zhang, X.; Chu, P. K.; Liu, X. *Influence of sulfur content on bone formation and antibacterial ability of sulfonated PEEK*. Biomaterials 83 (2016) 115-126.
- Pan, J.; Ren, D. *Quorum sensing inhibitors: a patent overview*. Expert Opin. Ther. Pat. 19(11), (2009) 1-21.
- Pereira, U. A.; Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Demuner, A. J.; Masood, M. A.; Pimenta, A. L. *γ -Alkylidene- γ -lactones and isobutylpyrrol-2(5H)-ones analogues to rubrolides as inhibitors of biofilm formation by Gram-positive and Gram-negative bacteria*. Bioorg. Med. Chem. Lett. 24 (2014a) 1052-1056.
- Pereira, U. A.; Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Demuner, A. J.; Masood, M. A.; Pimenta, A. L. *Inhibition of Enterococcus faecalis biofilm formation by highly active lactones and lactams analogues of rubrolides*. Eur. J. Med. Chem. 82 (2014b) 127-138.
- Pereira, U. A.; Moreira, T. A.; Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Bomfim, I. S.; Maranhão, S. S.; Moraes, M. O.; Pessoa, C.; Barros-Nepomuceno, F. W. A. *Rubrolide analogues and their derived lactams as potential anticancer agents*. Med. Chem. Commun. 7 (2016) 345-352.
- Ren, D.; Sims, J. J.; Wood, T. K. *Inhibition of biofilm formation and swarming of Bacillus subtilis by (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(5H)-furanone*. Lett. Appl. Microbiol. 34(4), (2002) 293-299.
- Ren, D.; Sims, J. J.; Wood, T. K. *Inhibition of biofilm formation and swarming of Escherichia coli by (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(5H)-furanone*. Environ. Microbiol. 3 (2001) 731-736.
- Rossi, R.; Bellina, F.; Lessi, M. *Highly selective palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura monocoupling reactions of ethene and arene derivatives bearing two or more electrophilic sites*. Tetrahedron 67 (2011) 6969-7025.
- Sagomyants, K. B.; Jarman-Smith, M. L.; Devine, J. N.; Aronow, M. S.; Gronowicz, G. A. *The in vitro response of human osteoblasts to polyetheretherketone (PEEK) substrates compared to commercially pure titanium*. Biomaterials 29(11), (2008) 1563-1572.
- Schröter, S.; Stock, C.; Bach, T. *Regioselective cross-coupling reactions of multiple halogenated nitrogen-, oxygen-, and sulfur-containing heterocycles*. Tetrahedron 61(9), (2005) 2245-2267.
- Sordi, M. B.; Moreira, T. A.; Montero, J. F. D.; Barbosa, L. C. A.; Benfatti, C. A. M.; Magini, R. S.; Pimenta, A. L.; Souza, J. C. M. *Effect of γ -lactones and γ -lactams compounds on Streptococcus mutans biofilms*. J. Appl. Oral Sci. 26 (2018) 1-8.
- Souza, J. C. M.; Ponthiaux, P.; Henriques, M.; Oliveira, R.; Teughels, W.; Celis, J. P.; Rocha, L. A. *Corrosion behaviour of titanium in the presence of Streptococcus mutans*. J. Dent. 41(6), (2013) 528-534.
- Stoodley, P.; Sauer, K.; Davies, D. G.; Costerton, J. W. *Biofilms as complex differentiated communities*. Annu. Rev. Microbiol. 56 (2002) 187-209.

- Suzuki, S.; Hosoe, T.; Nozawa, K.; Kawai, K.; Yaguchi, T.; Udagawa, S. *Antifungal substances against pathogenic fungi, talaroconvolutins, from Talaromyces convolutus*. J. Nat. Prod. 63 (2000) 768-772.
- Teixeira, R. R.; Barbosa, L. C. A.; Forlani, G.; Piló-Veloso, D.; Walkimar, J.; Carneiro, M. *Synthesis of photosynthesis-inhibiting nostoclide analogues*. J. Agric. Food Chem. 56 (2008) 2321-2329.
- Teughels, W.; Assche, N. V.; Sliepen, I.; Quirynen, M. *Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development*. Clin. Oral Imp. Res. 17 (2006) 68-81.
- Weng, Y.; Howard, L.; Chong, V. J.; Sun, J.; Gregory, R. L.; Xie, D. *A novel furanone-modified antibacterial dental glass ionomer cement*. Acta Biomater. 8(8), (2012) 3153-3160.
- Whiteley, M., Diggle, S. P.; Greenberg, E. P. *Progress in and promise of bacterial quorum sensing research*. Nature 551 (2017) 313-320.
- Xavier, J. G.; Geremias, T. C.; Montero, J. F. D.; Vahey, B. R.; Benfatti, C. A. M.; Souza, J. C. M.; Magini, R. S.; Pimenta, A.L. *Lactam inhibiting Streptococcus mutans growth on titanium*. Mater. Sci. Eng. C. 68 (2016) 837-841.
- Xu, J.; Zhang, Z.; Xiong, X.; Zeng, H. *A new solvent for poly(ether-ether-ketone)*. Polymer 33(20), (1992) 4432-4434.
- Yang, Y-L.; Lu, C-P.; Chen, M-Y.; Chen, K-Y.; Wu, Y-C.; Wu, S-H. *Cytotoxic polyketides containing tetramic acid moieties isolated from the fungus Myceliophthora thermophila: elucidation of the relationship between cytotoxicity and stereoconfiguration*. Chem. Eur. J.13 (2007) 6985-6991.
- Yujie, L.; Geng, X.; Huang, Y. C.; Li, Y.; Yang, K.; Ye, L.; Chen, X.; Zhao, G.; Yin, C. *The effect of brominated furanones on the formation of Staphylococcus aureus biofilm on PVC*. Cell. Biochem. Biophys. 67(3), (2013) 1501-1505.
- Zaidi, S. M. J. *Polymer Sulfonation - A versatile route to prepare proton-conducting membrane material for advanced technologies*. Arab. J. Sci. Eng. 28(2B), (2003) 183-194.

CONCLUSÕES GERAIS

O presente trabalho mostrou a síntese de diversos compostos bioativos inspirados em butenolídeos. O capítulo 1 apresentou a síntese dos rubrolídeos **R** e **S** em 44% (3 etapas) e 64% (3 etapas) de rendimento, respectivamente, a partir da 4-bromofuran-2(5*H*)-ona. No capítulo 2 foi desenvolvida a síntese de 16 novos análogos aos cadiolídeos e todos esses compostos estão sendo avaliados quanto as suas atividades antimicrobianas e antibiofilmes bacterianos. O terceiro capítulo trouxe a síntese de γ -alquilidenolactonas e lactamas derivadas, além dos bons resultados apresentados pela grande maioria dessas substâncias como agentes inibidores de biofilme bacteriano, antes e após a incorporação em sPEEK.

APÊNDICE 1: Espectros referentes ao Capítulo 1

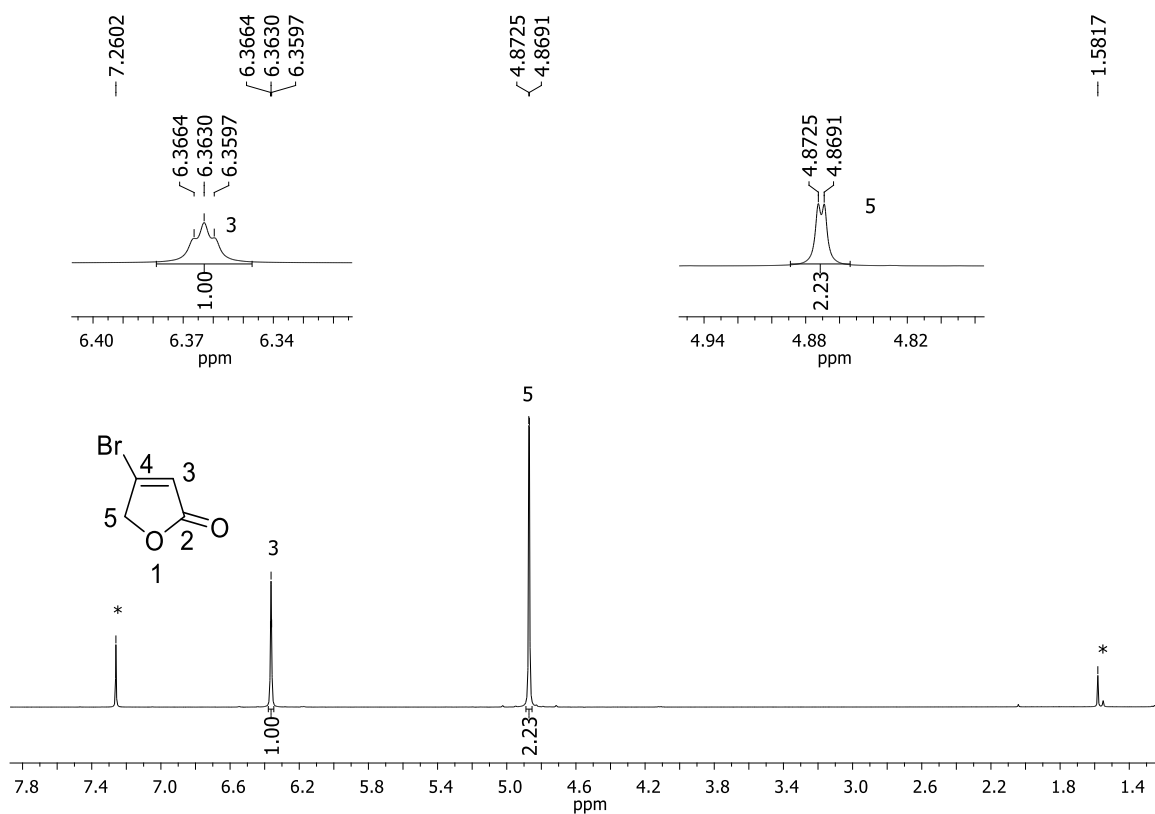


Figura A1.1 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto **16**.

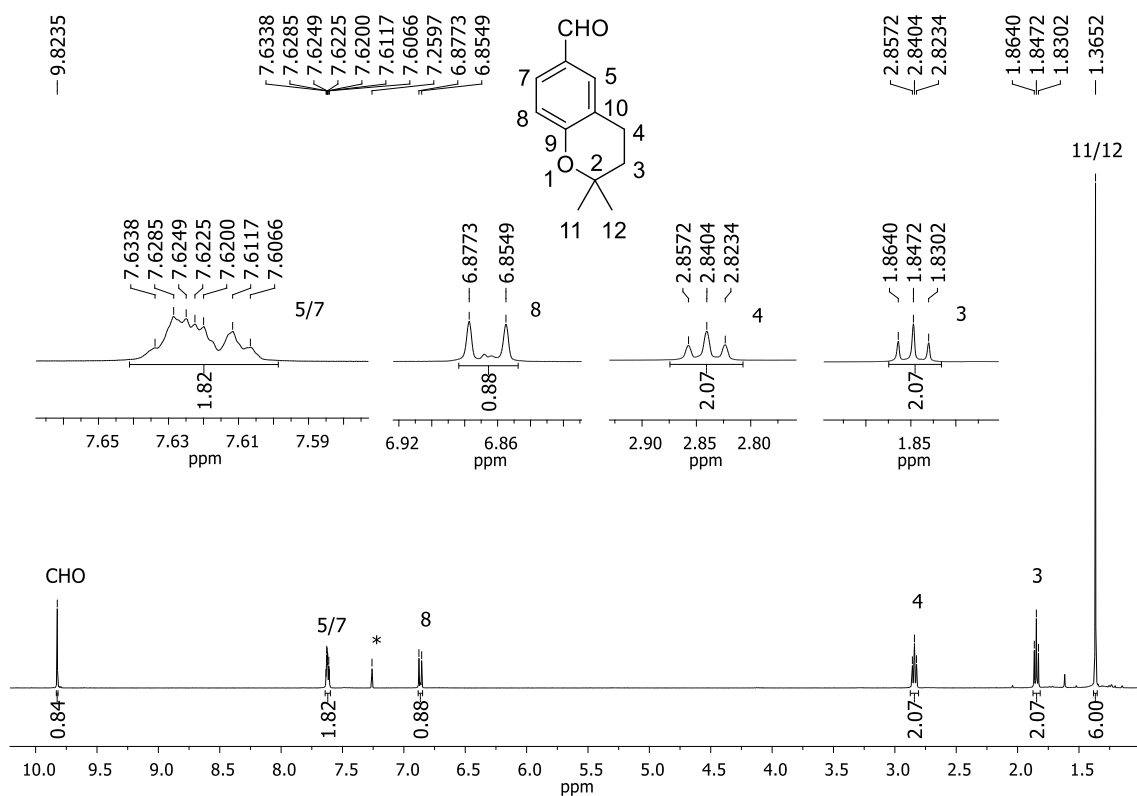


Figura A1.2 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **12**.

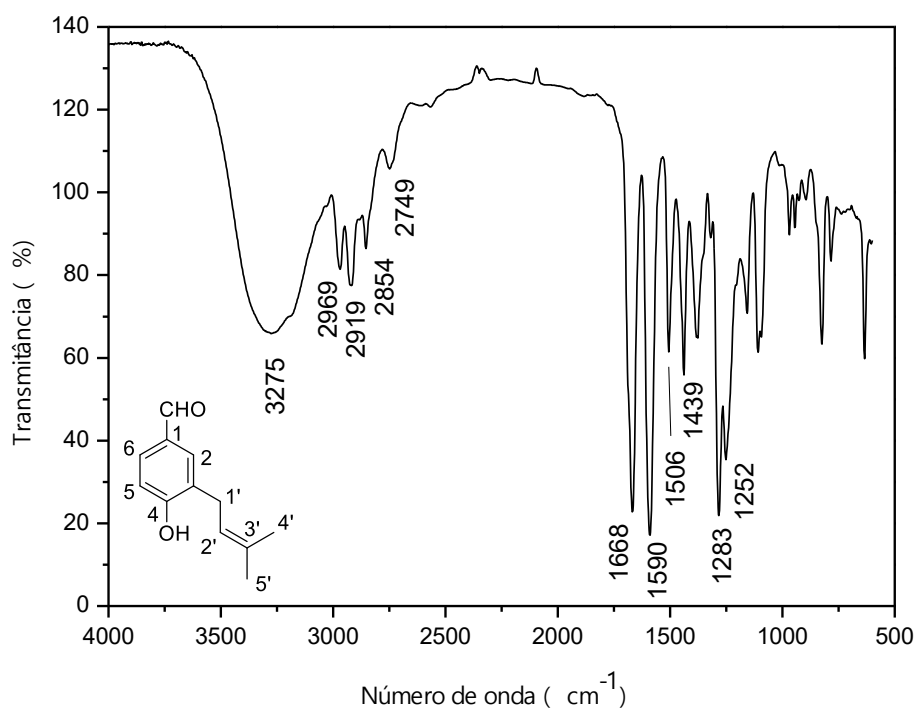


Figura A1.3 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do composto **19**.

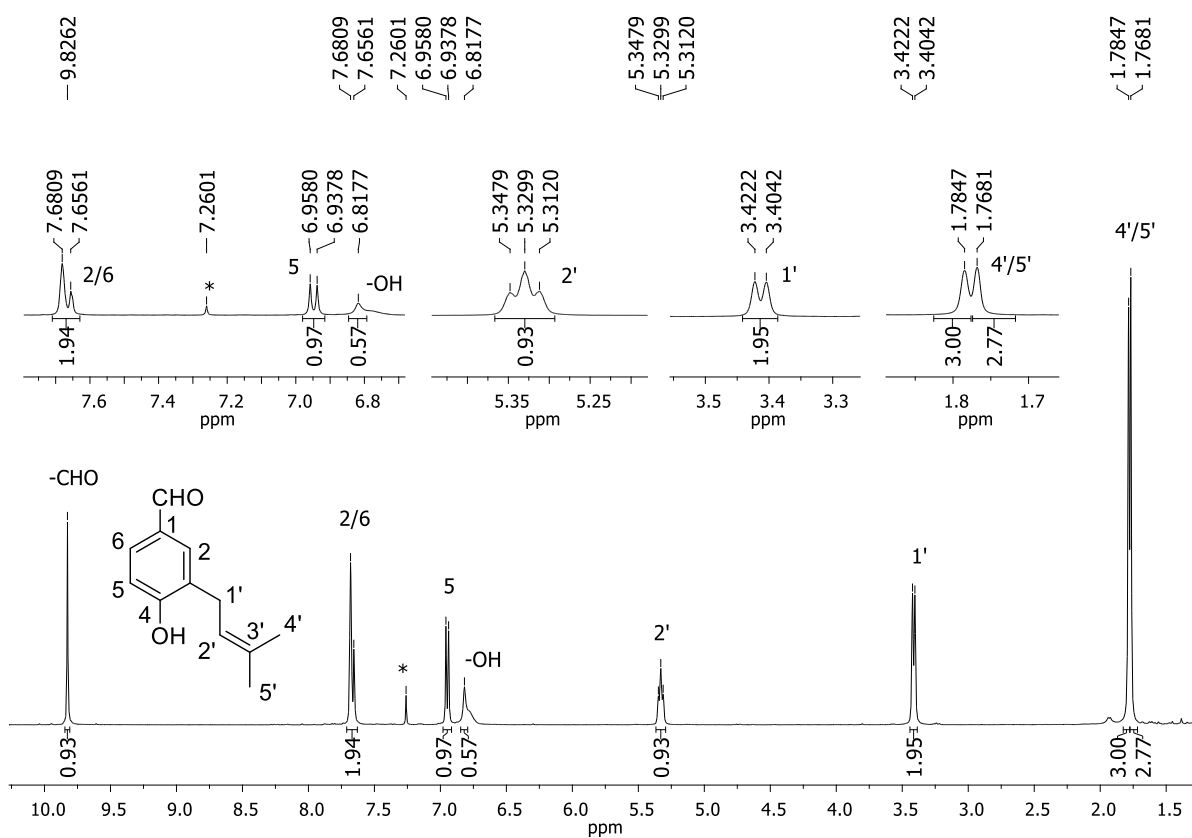


Figura A1.4 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **19**.

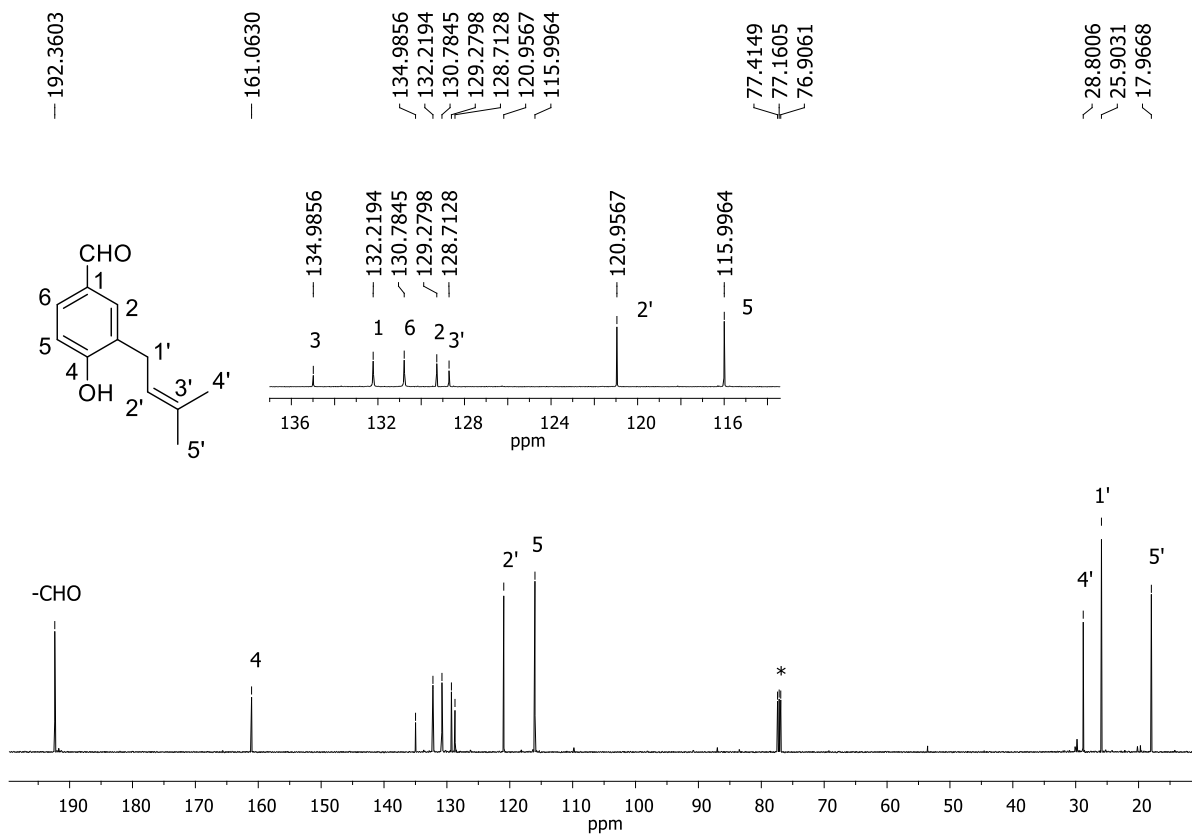


Figura A1.5 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **19**.

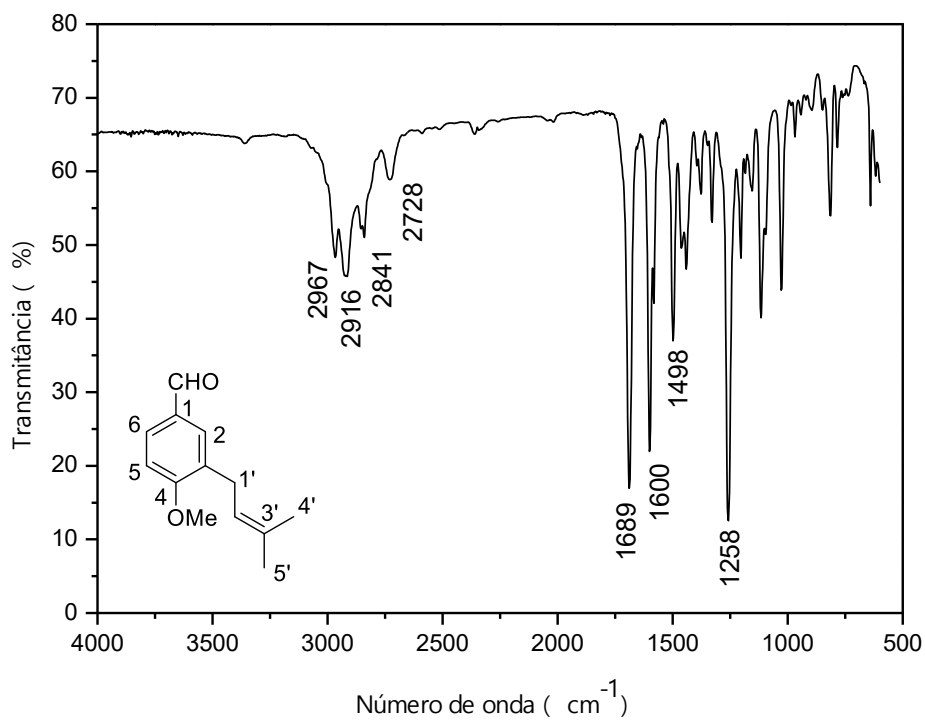


Figura A1.6 - Espectro no IV (filme em NaCl /transmitância) do composto **20**.

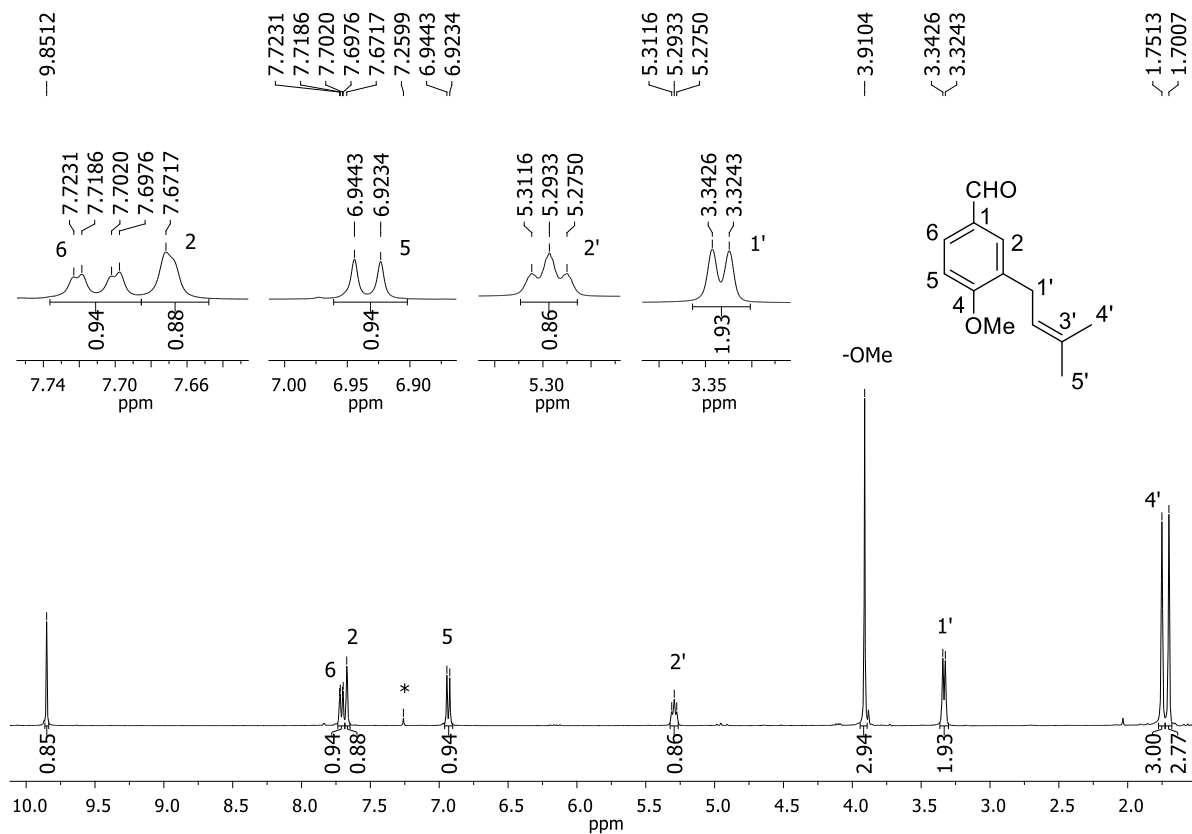


Figura A1.7 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **20.**

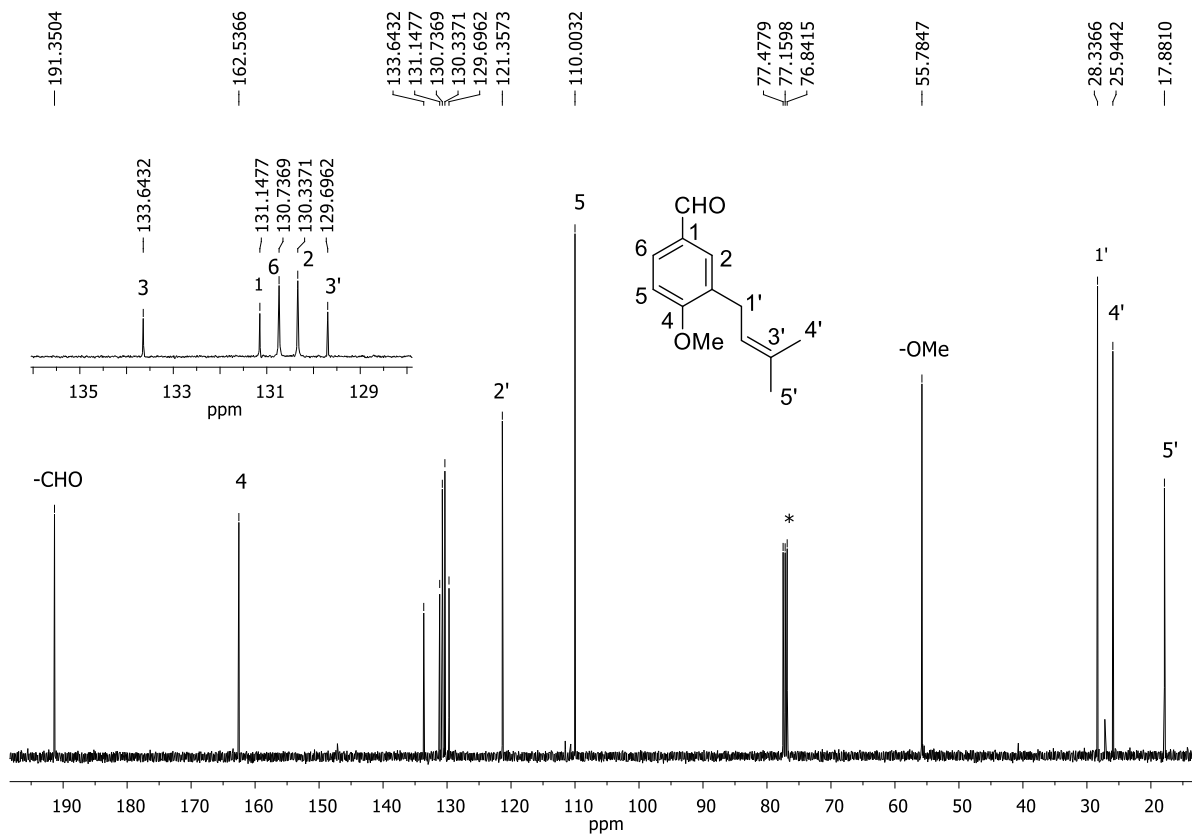


Figura A1.8 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **20.**

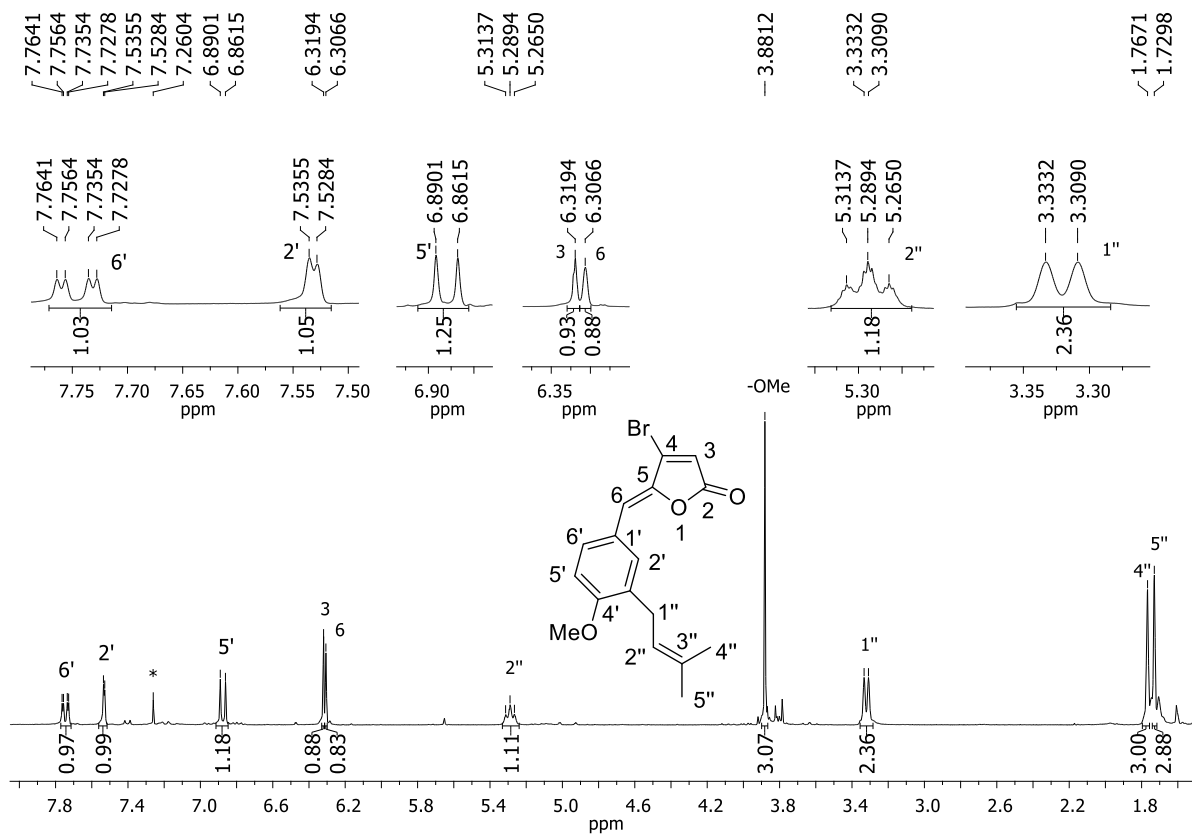


Figura A1.9 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 21.

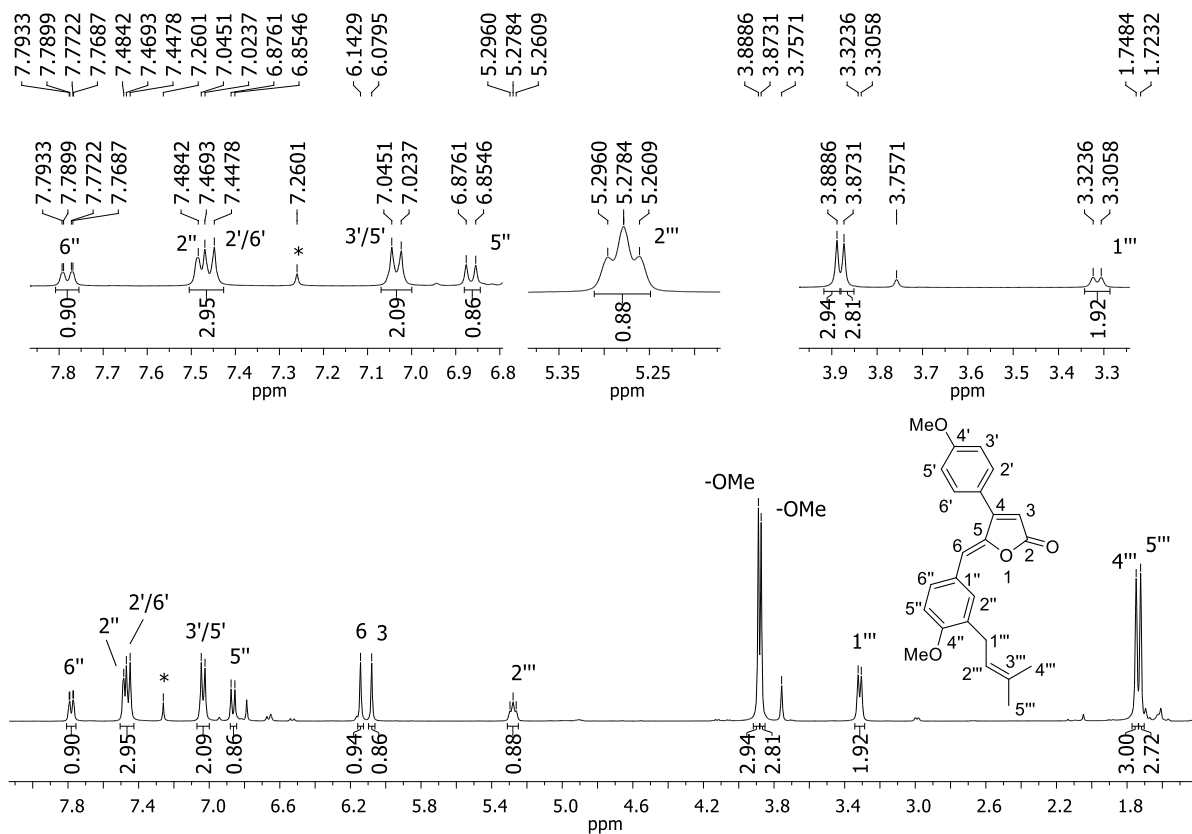


Figura A1.10 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 22.

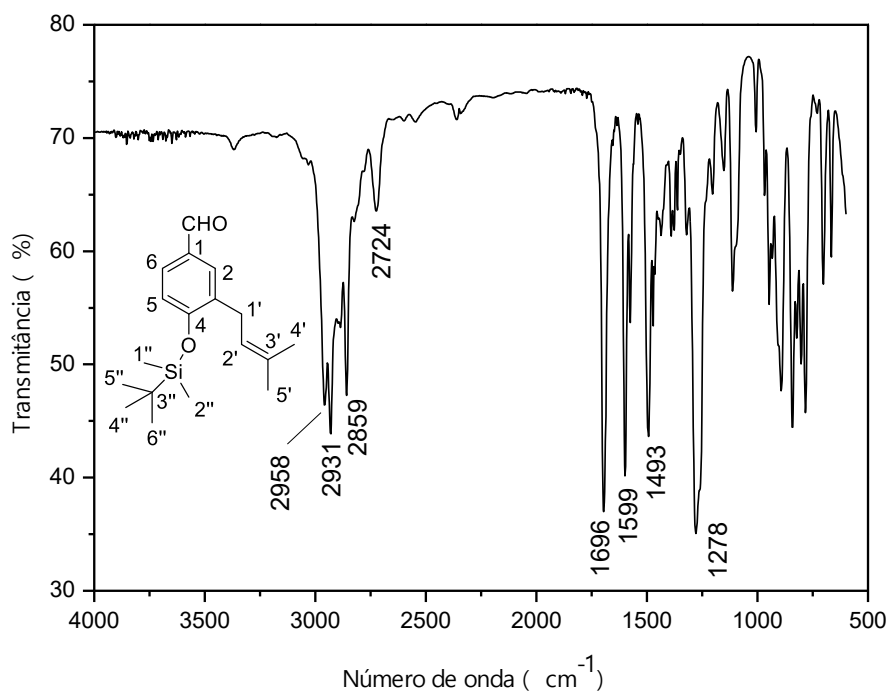


Figura A1.11 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do composto **23**.

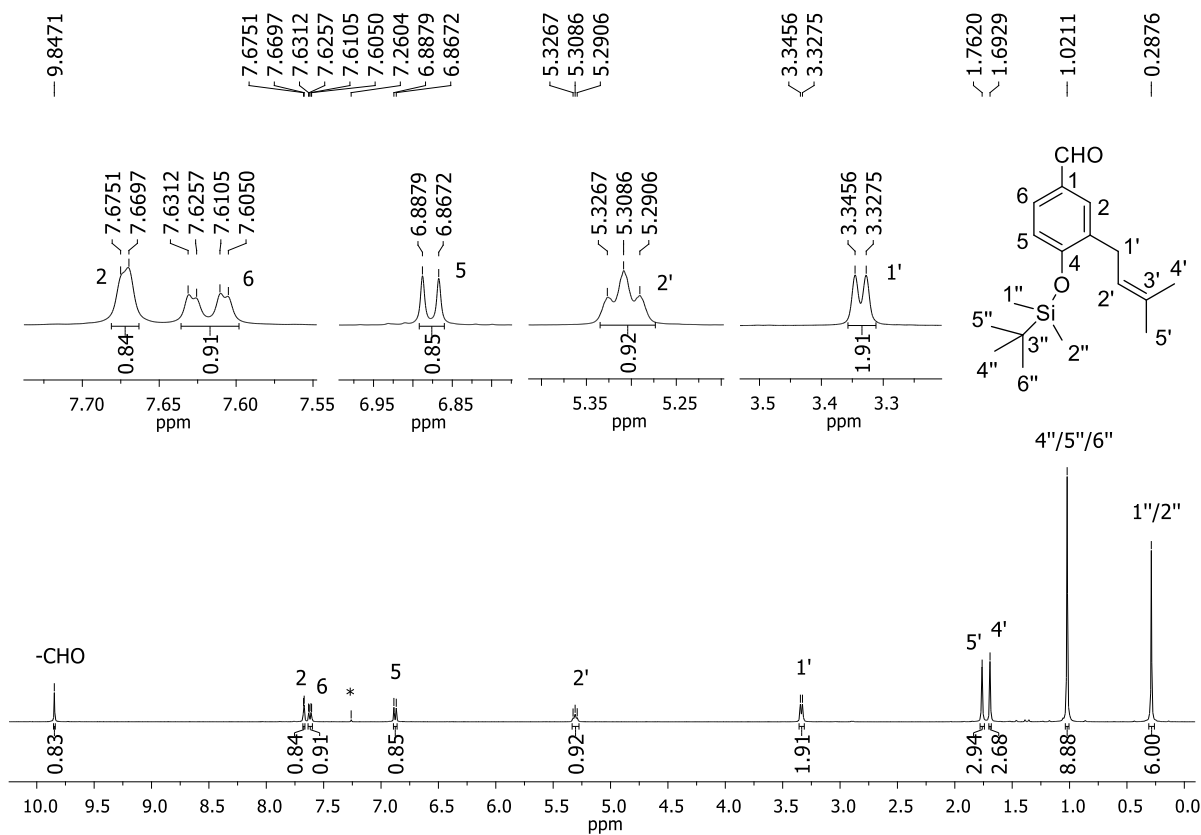


Figura A1.12 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **23**.

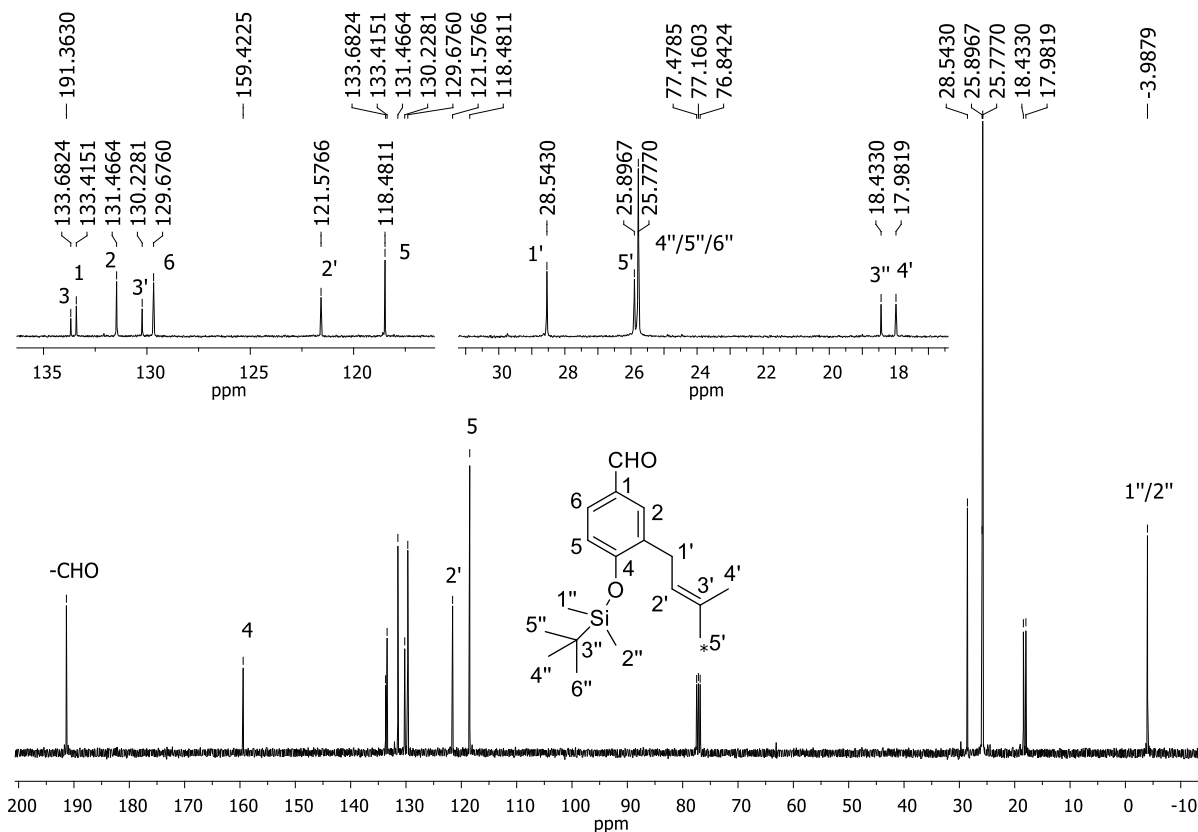


Figura A1.13 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **23**.

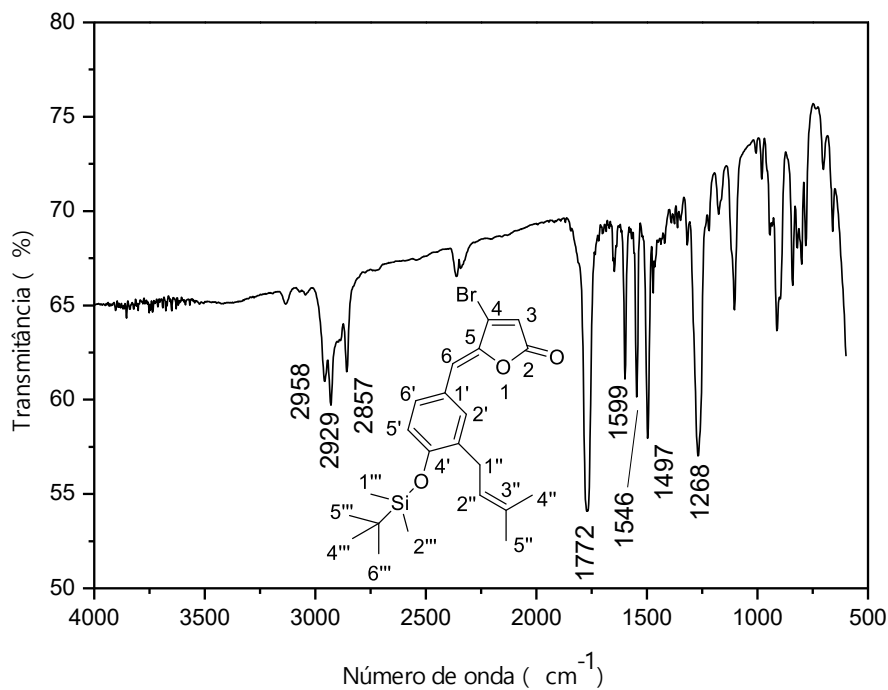


Figura A1.14 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do composto **24**.

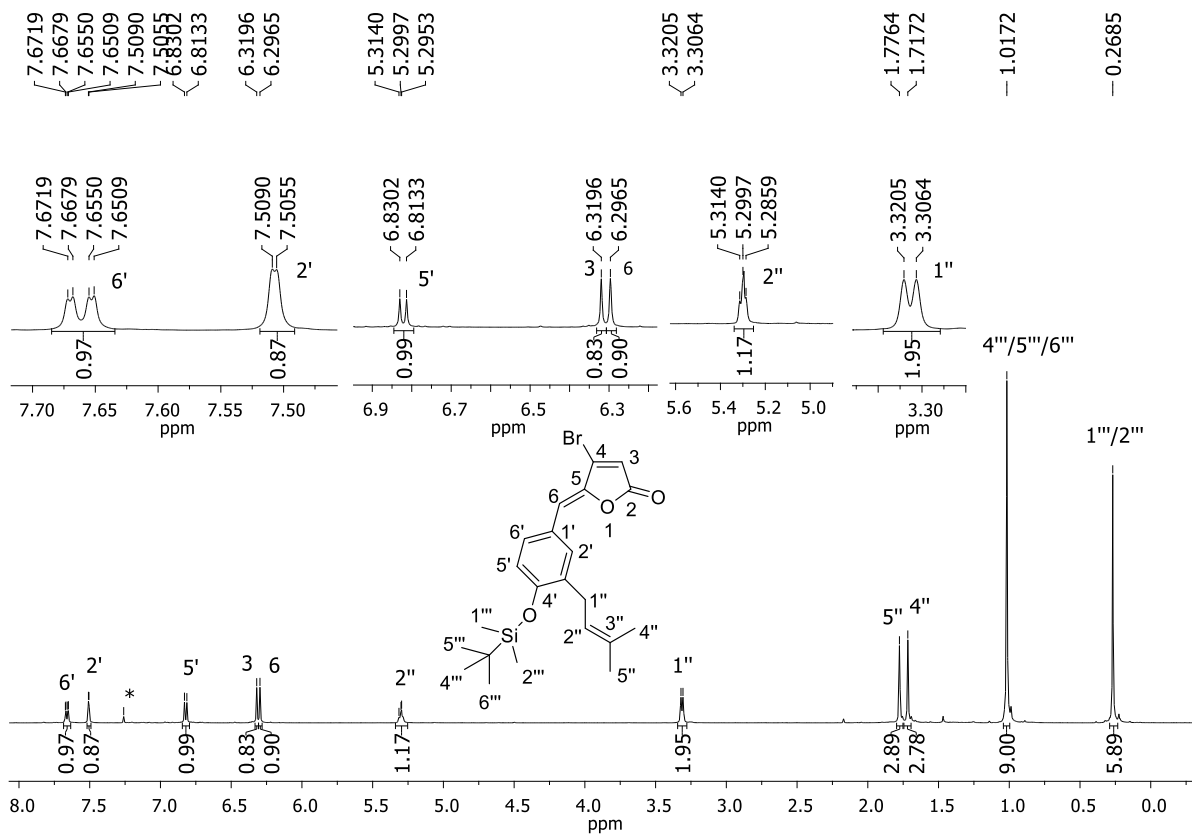


Figura A1.15 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto **24**.

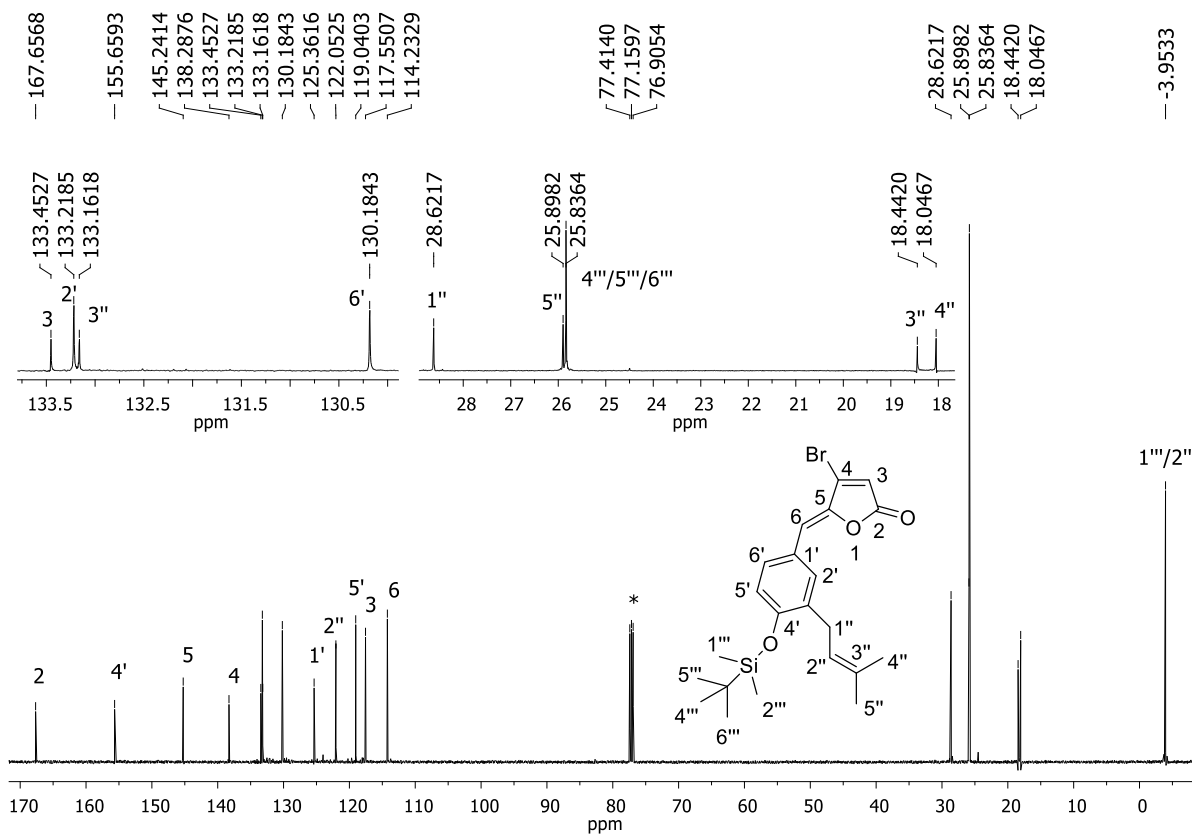


Figura A1.16 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto **24**.

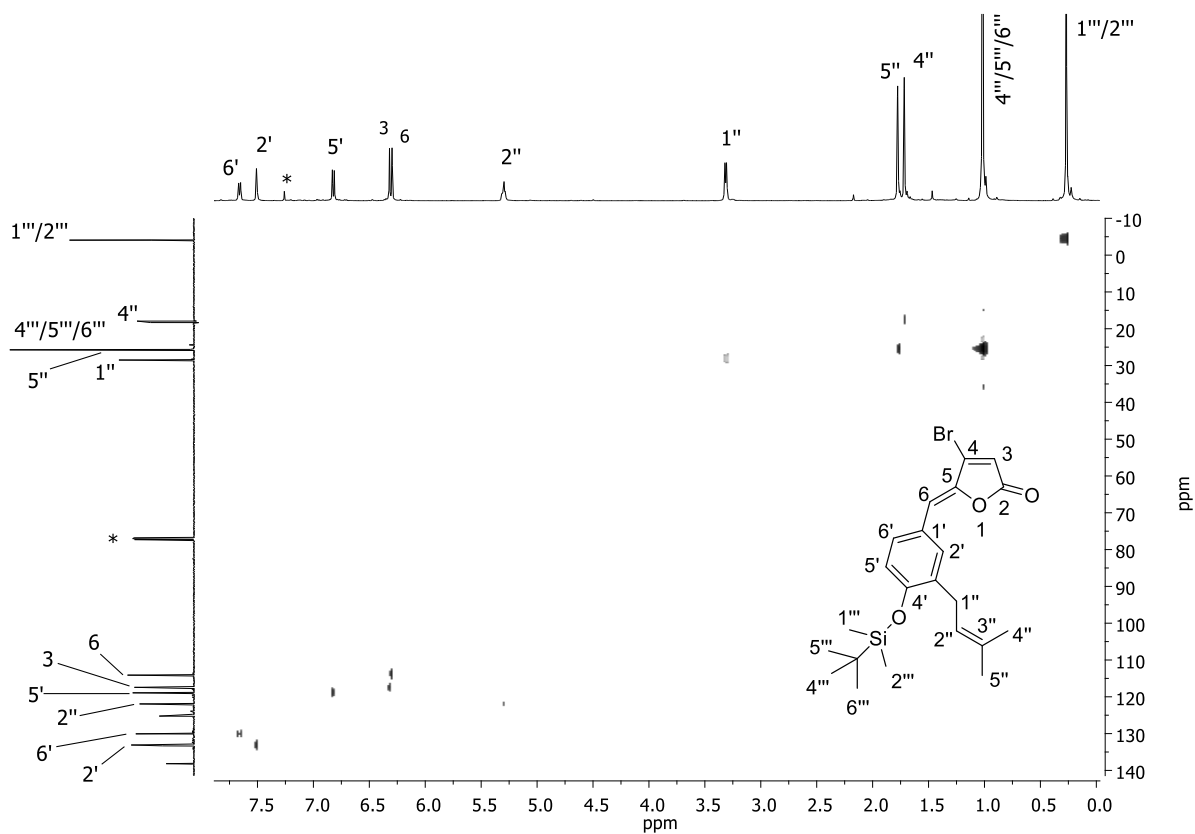


Figura A1.17 - Mapa de contornos HMQC (500 MHz, CDCl_3) do composto **24**.

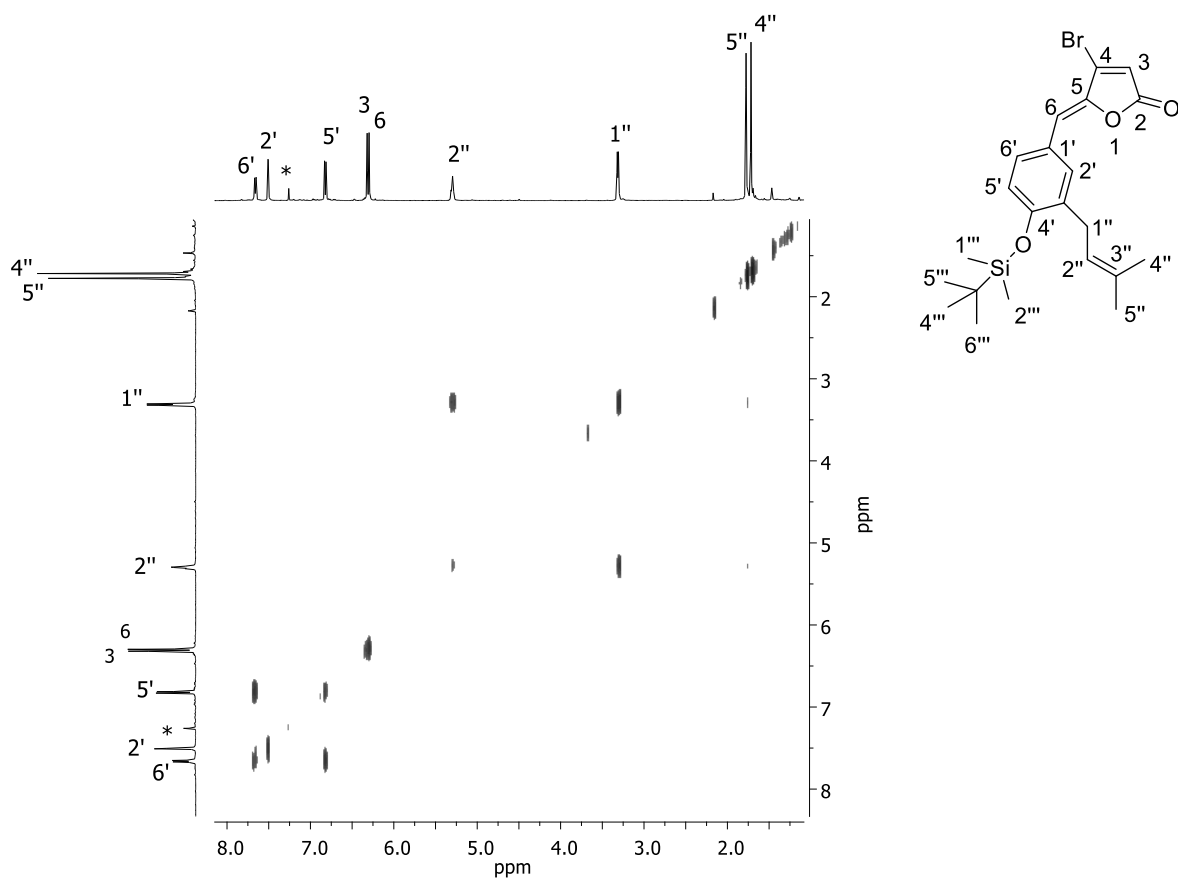


Figura A1.18 - Mapa de contornos COSY (500 MHz, CDCl_3) do composto **24**.

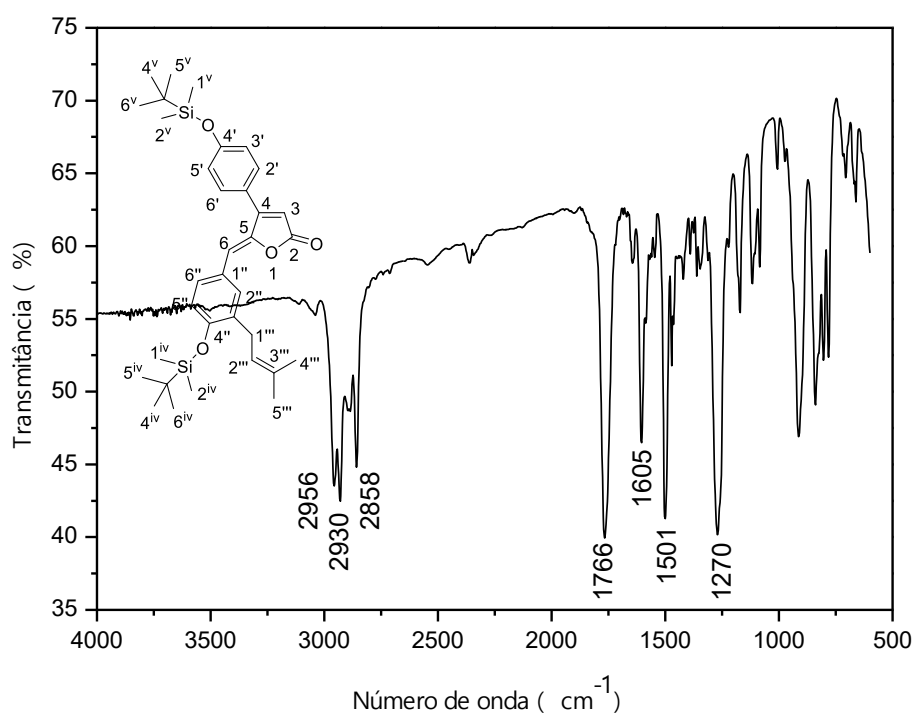


Figura A1.19 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do composto **25a**.

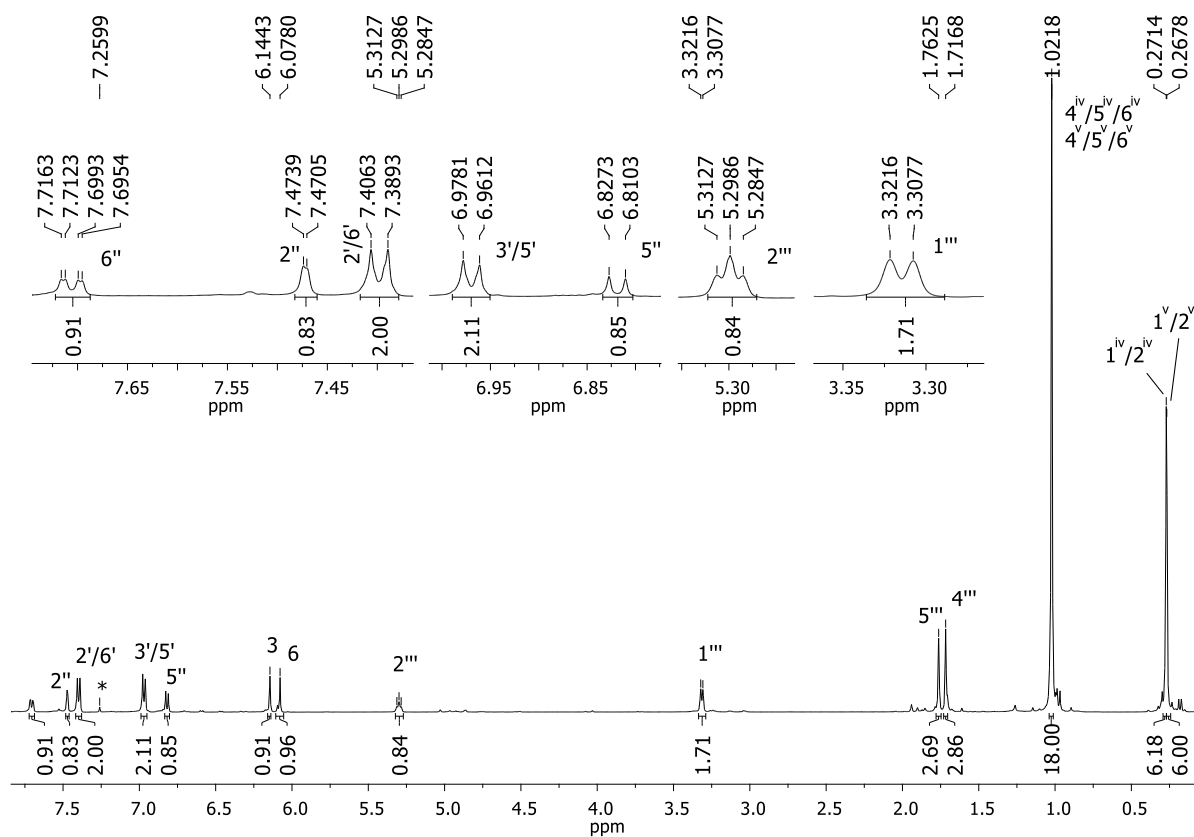


Figura A1.20 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto **25a**.

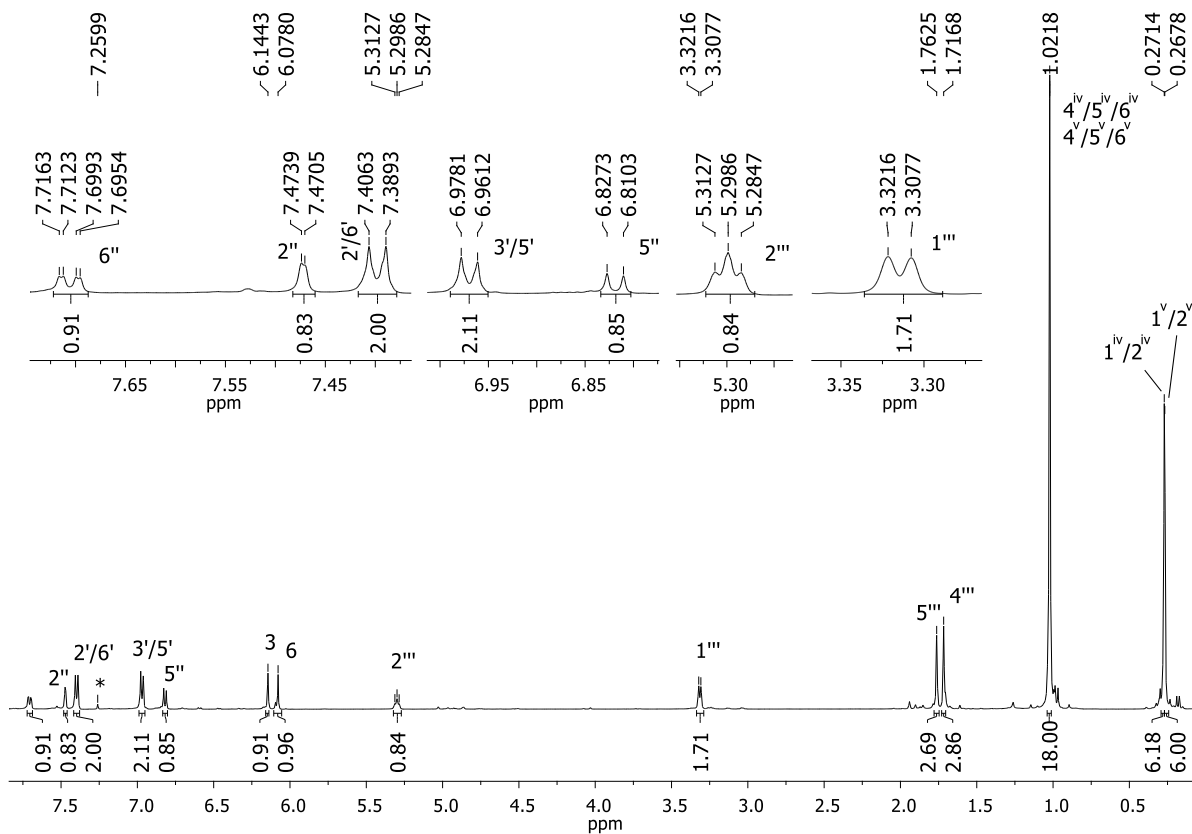


Figura A1.21 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto **25a**.

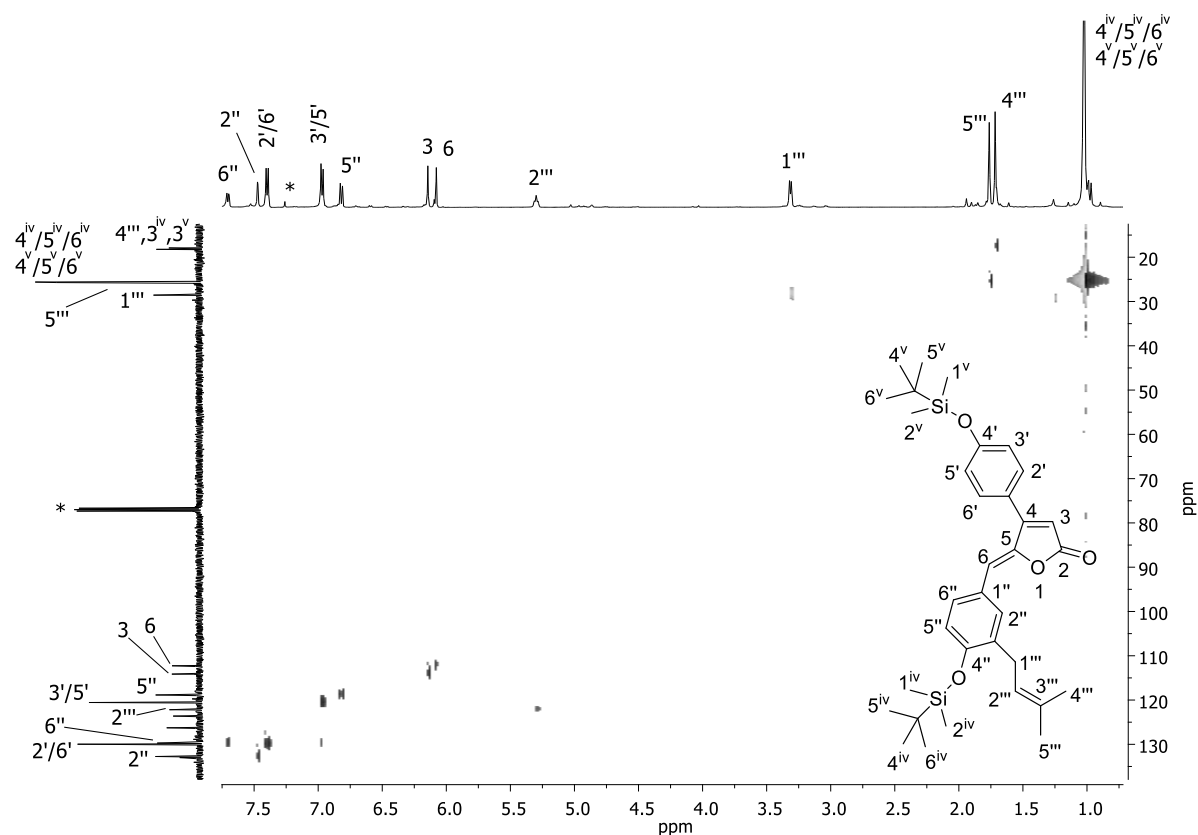


Figura A1.22 - Mapa de contornos HMBC (500 MHz, CDCl_3) do composto **25a**.

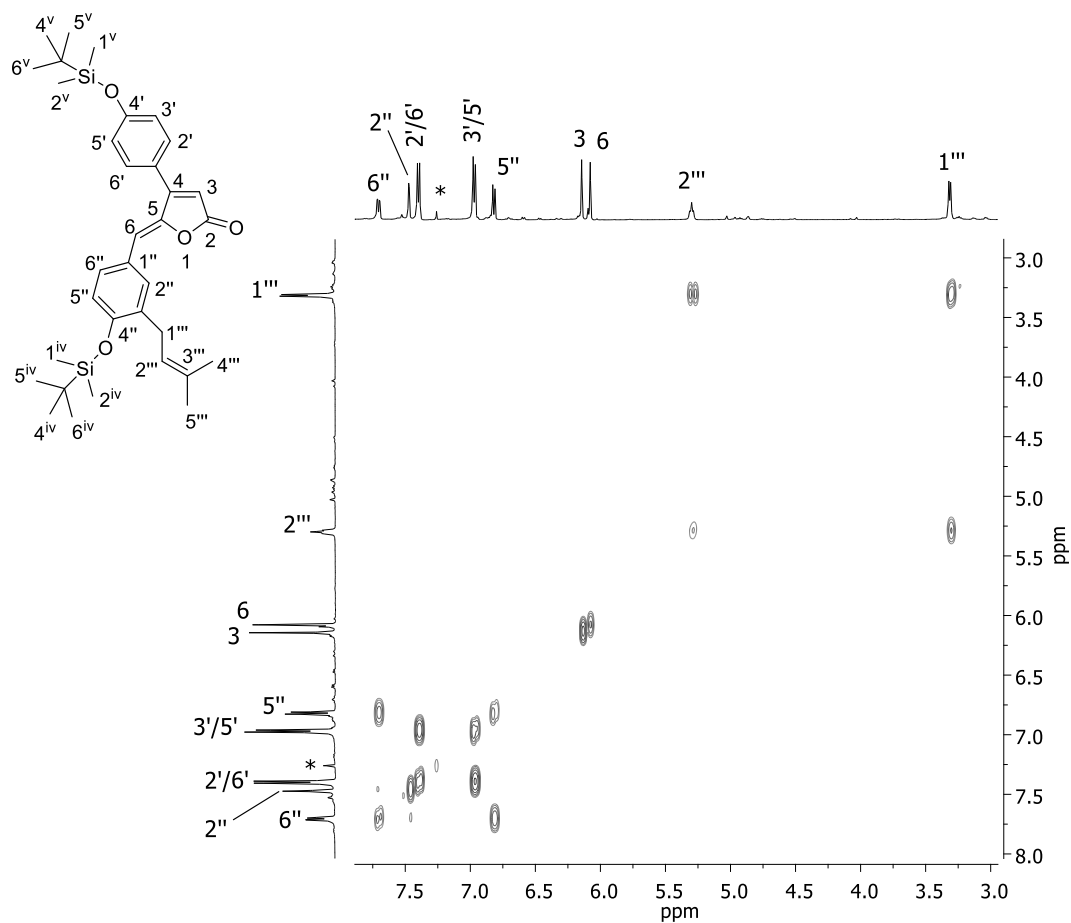


Figura A1.23 - Mapa de contornos COSY (500 MHz, CDCl_3) do composto **25a**.

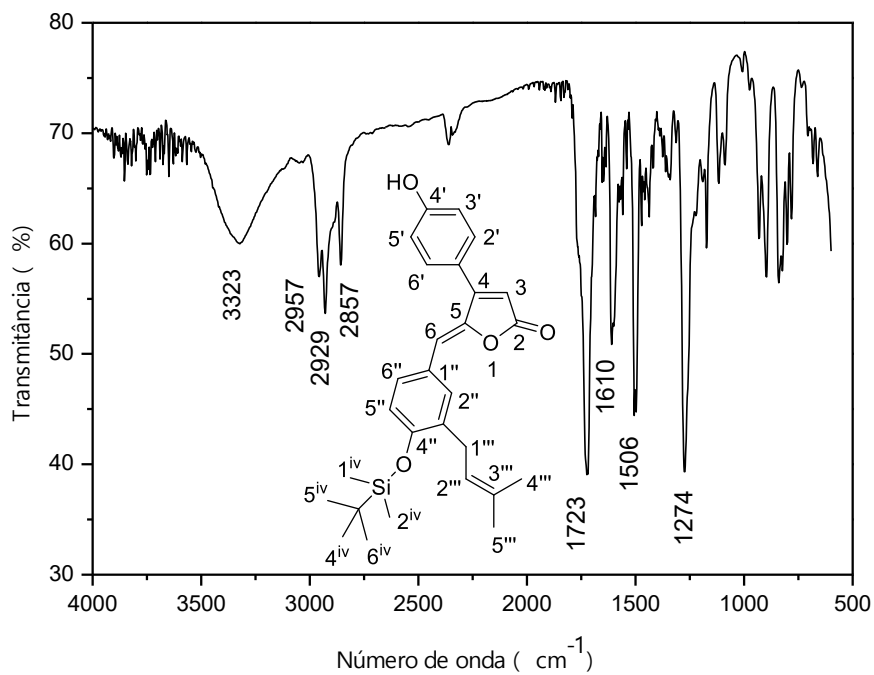


Figura A1.24 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do composto **25b**.

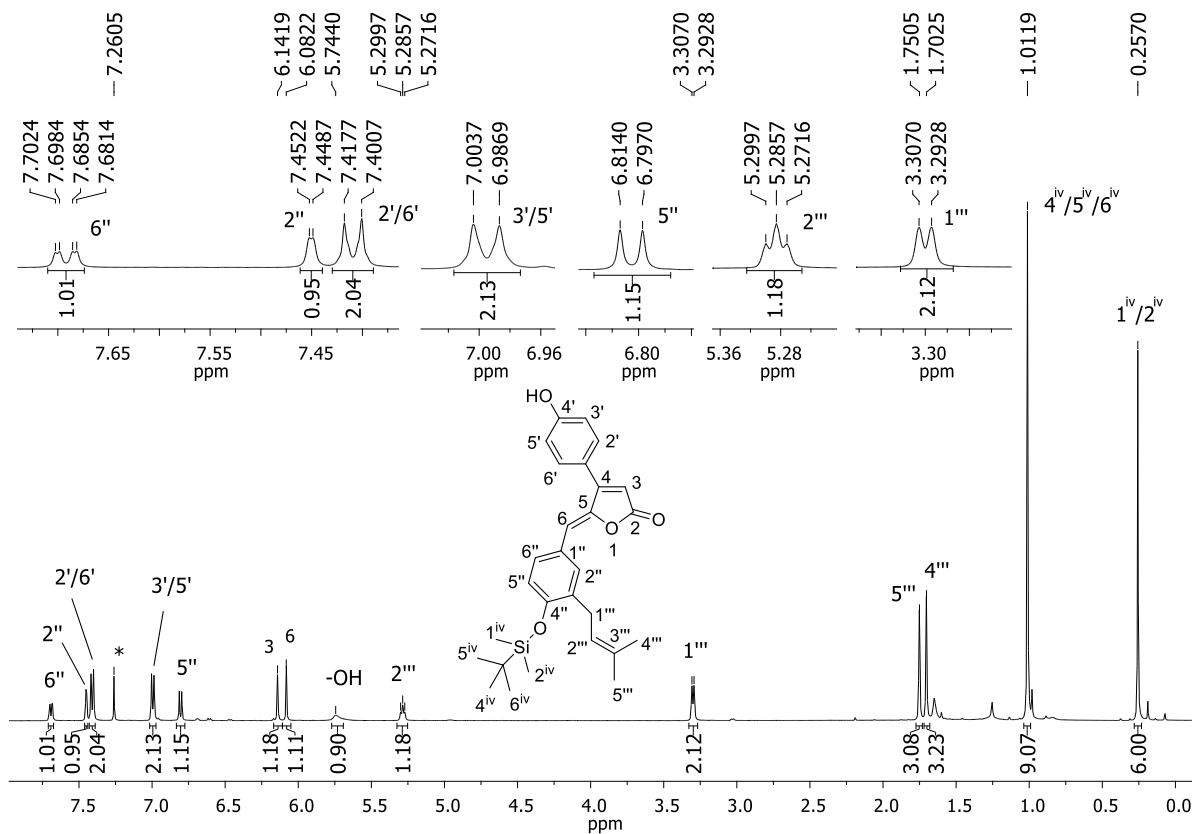


Figura A1.25 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto **25b**.

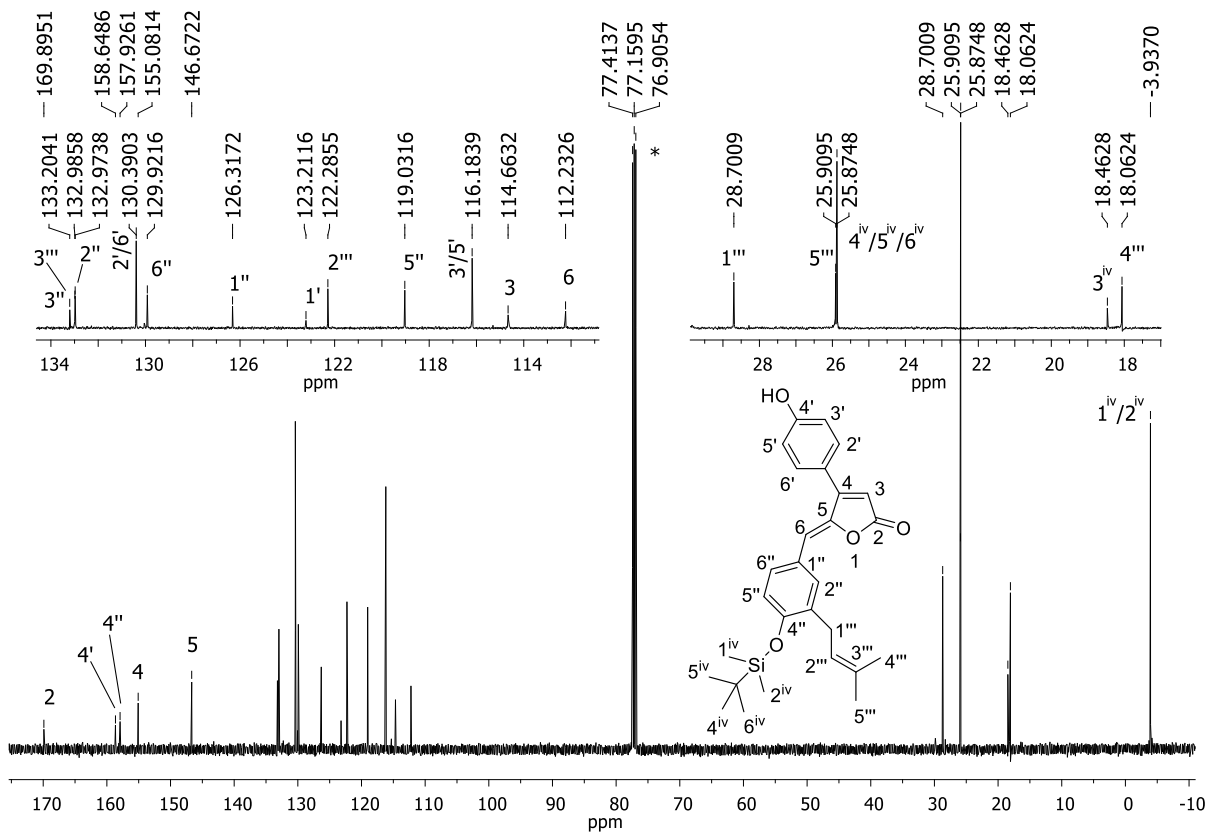


Figura A1.26 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do composto **25b**.

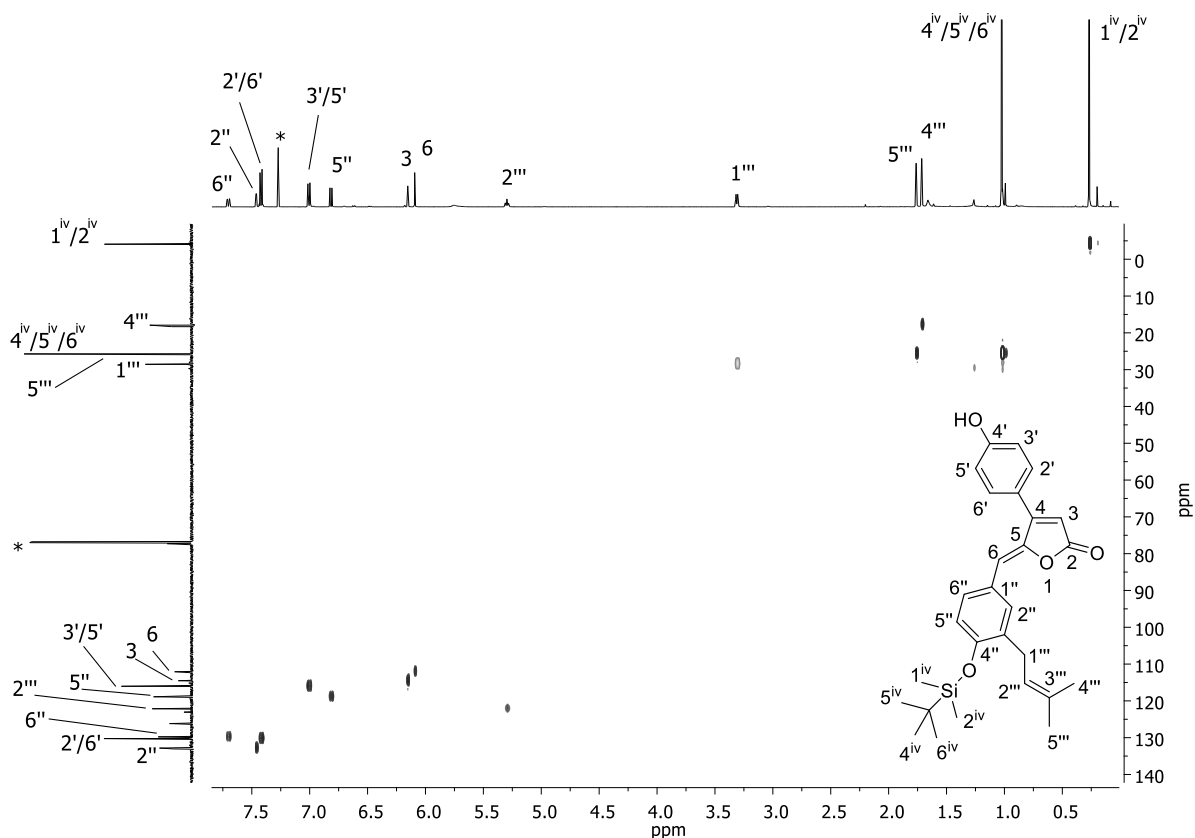


Figura A1.27 - Mapa de contornos HMQC (500 MHz, CDCl₃) do composto **25b**.

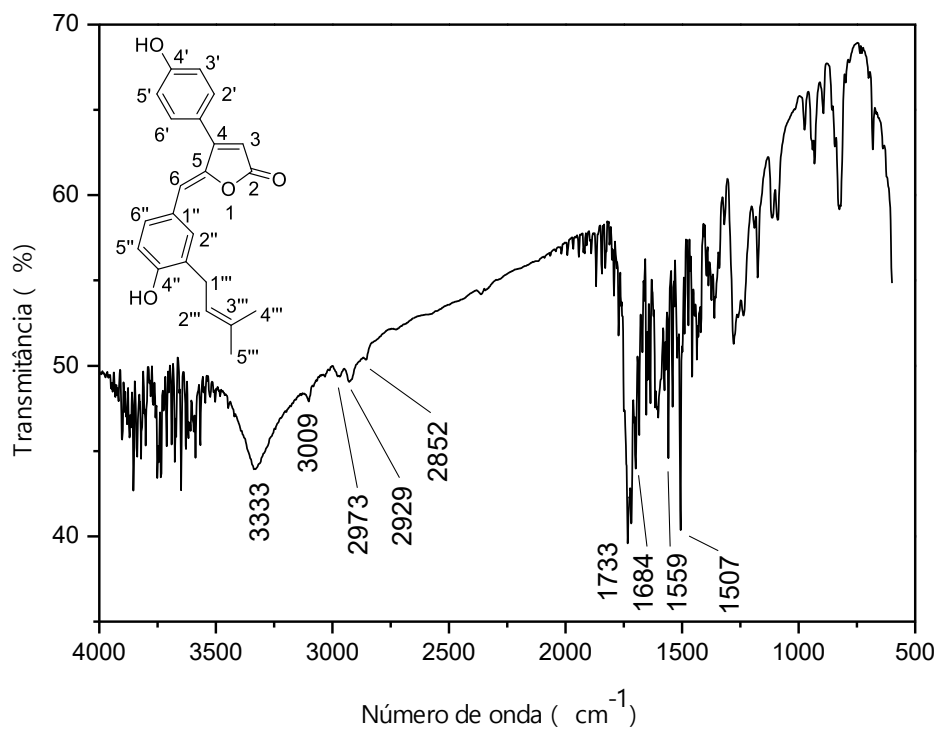


Figura A1.28 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do rubrolídeo **R**.

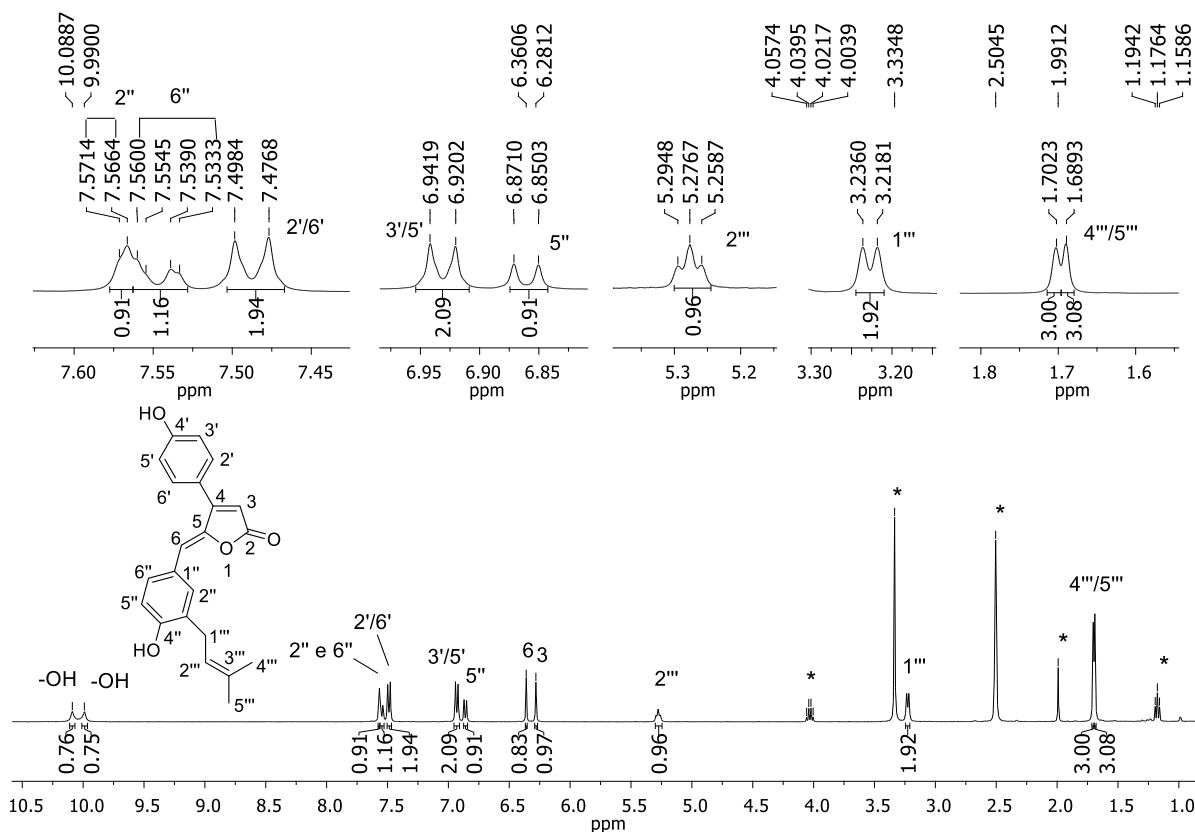


Figura A1.29 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) do rubrolídeo R.

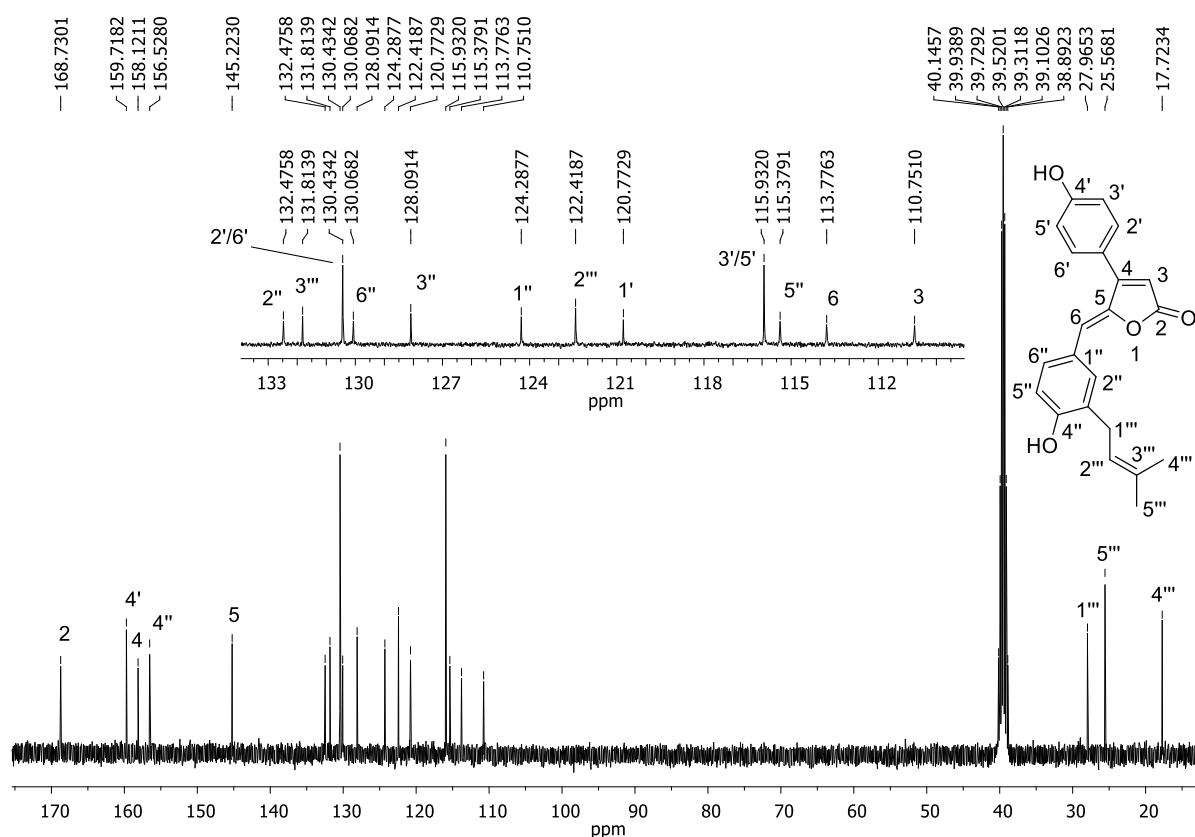


Figura A1.30 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) do rubrolídeo R.

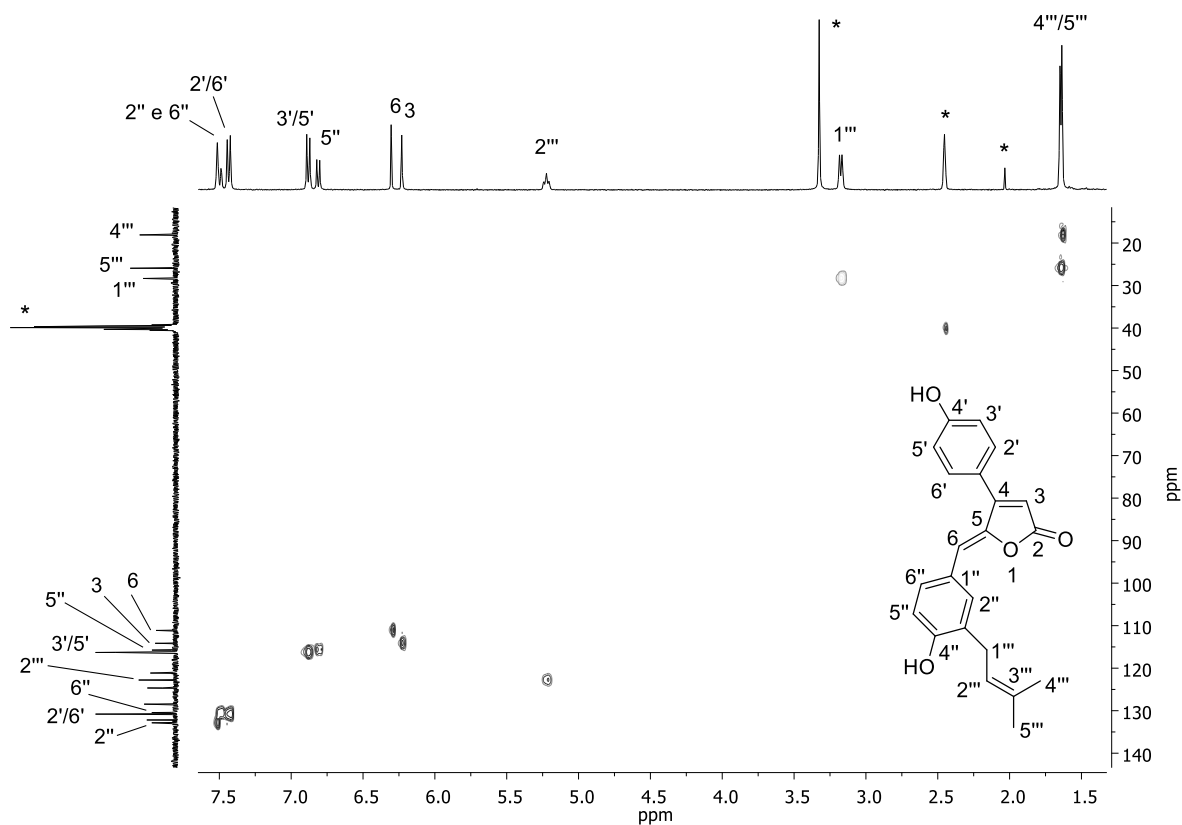


Figura A1.31 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) do rubrolídeo **R**.

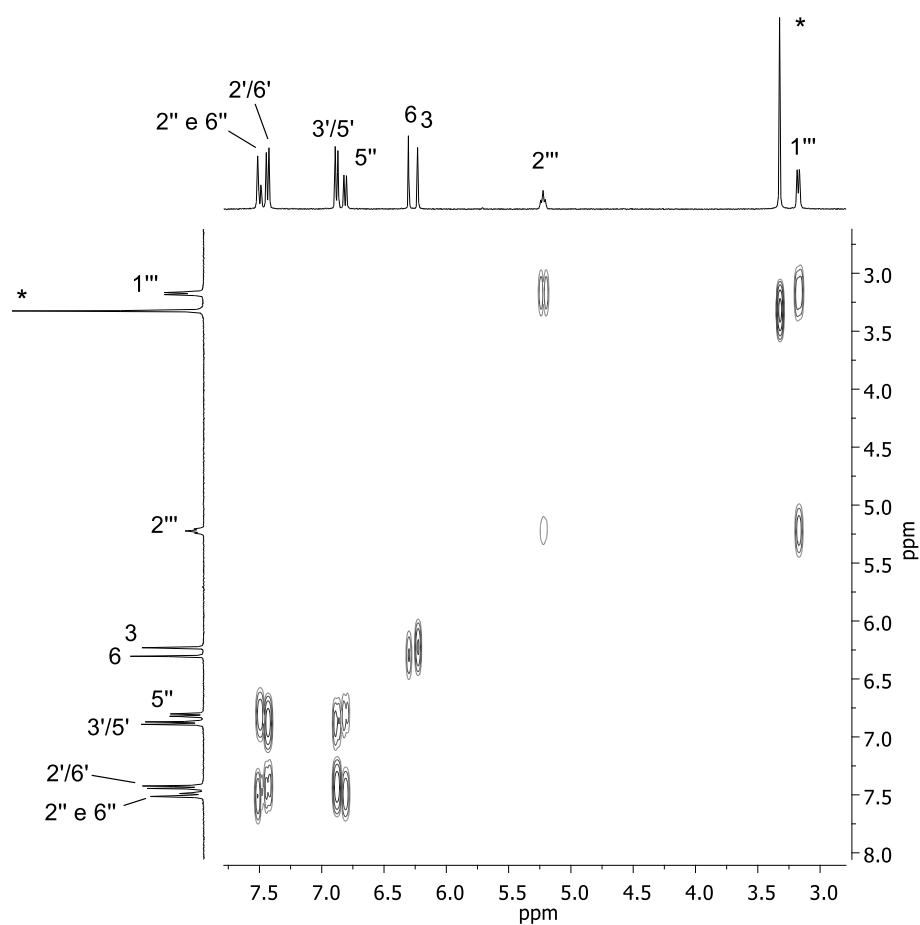


Figura A1.32 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) do rubrolídeo **R**.

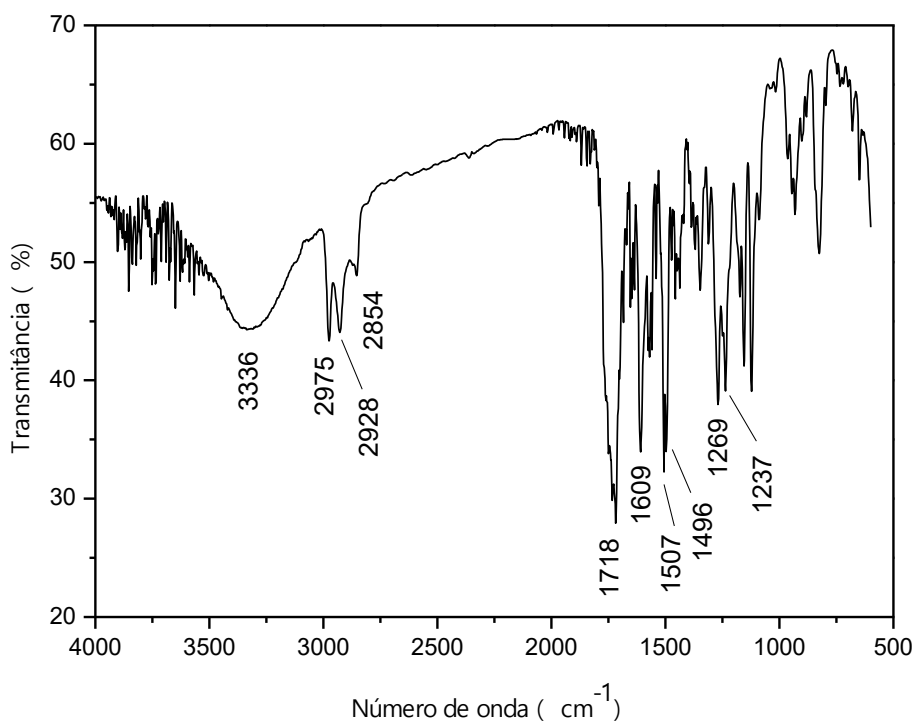


Figura A1.33 - Espectro no IV (filme em NaCl/transmitância) do rubrolídeo S.

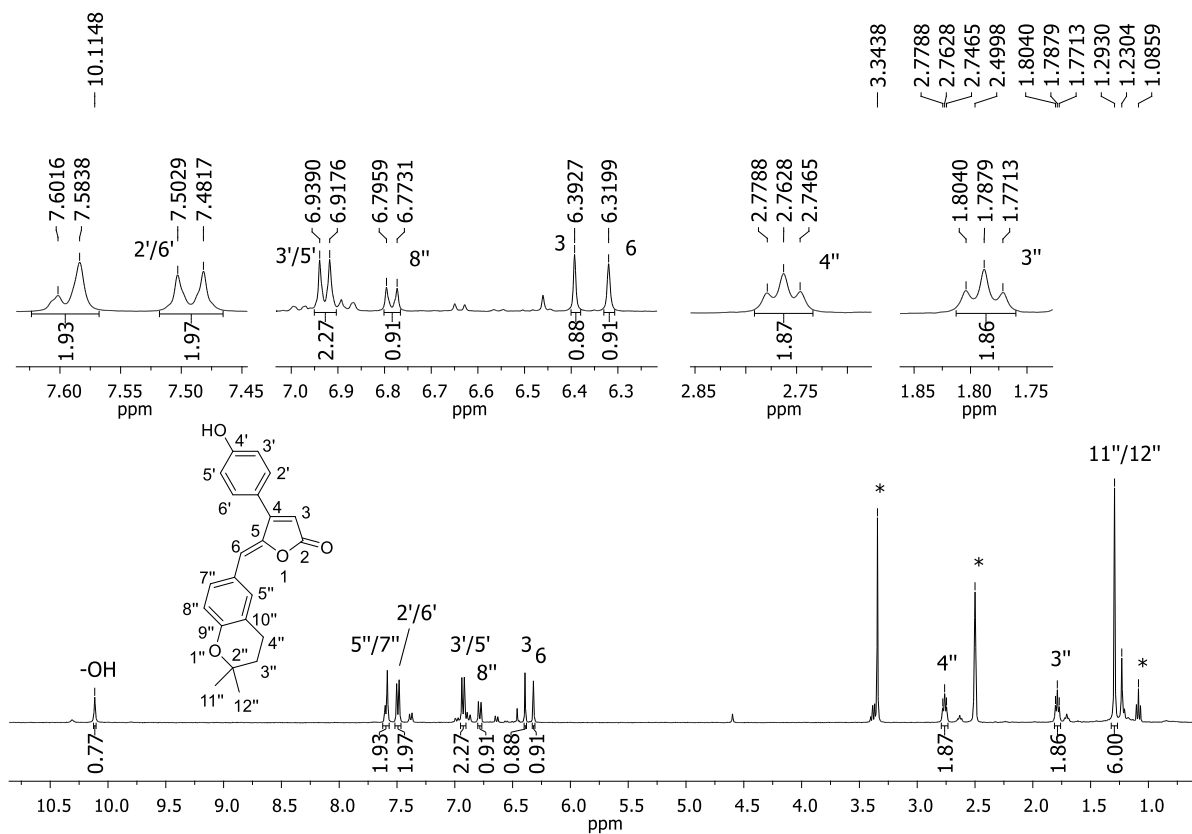


Figura A1.34 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) do rubrolídeo S.

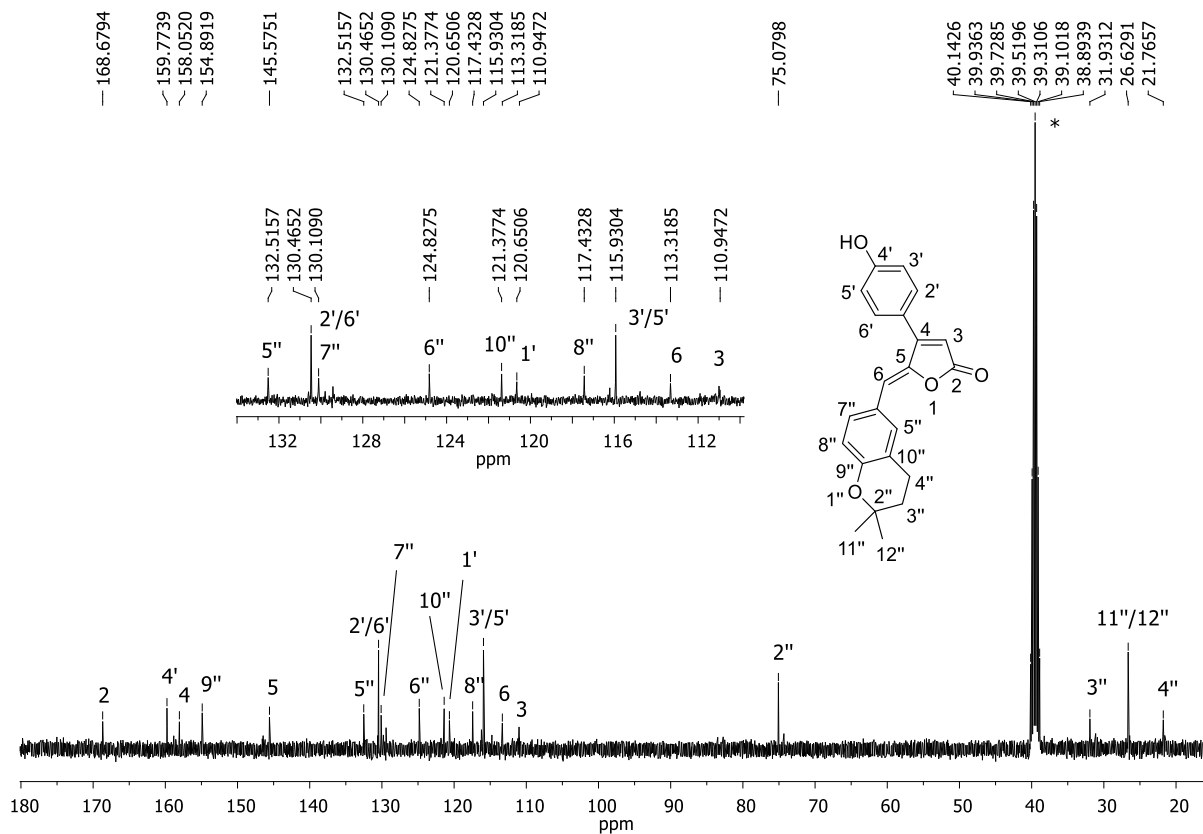


Figura A1.35 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) do rubrolídeo S.

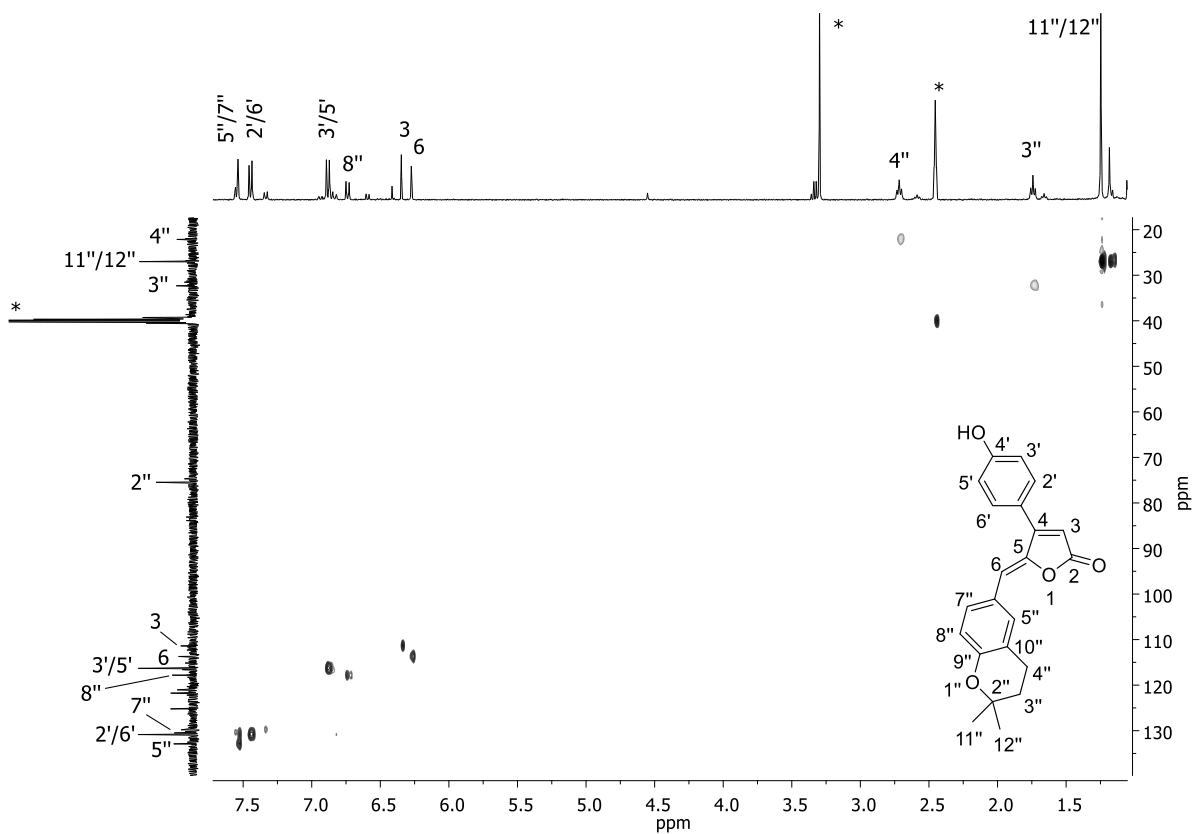


Figura A1.36 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) do rubrolídeo S.

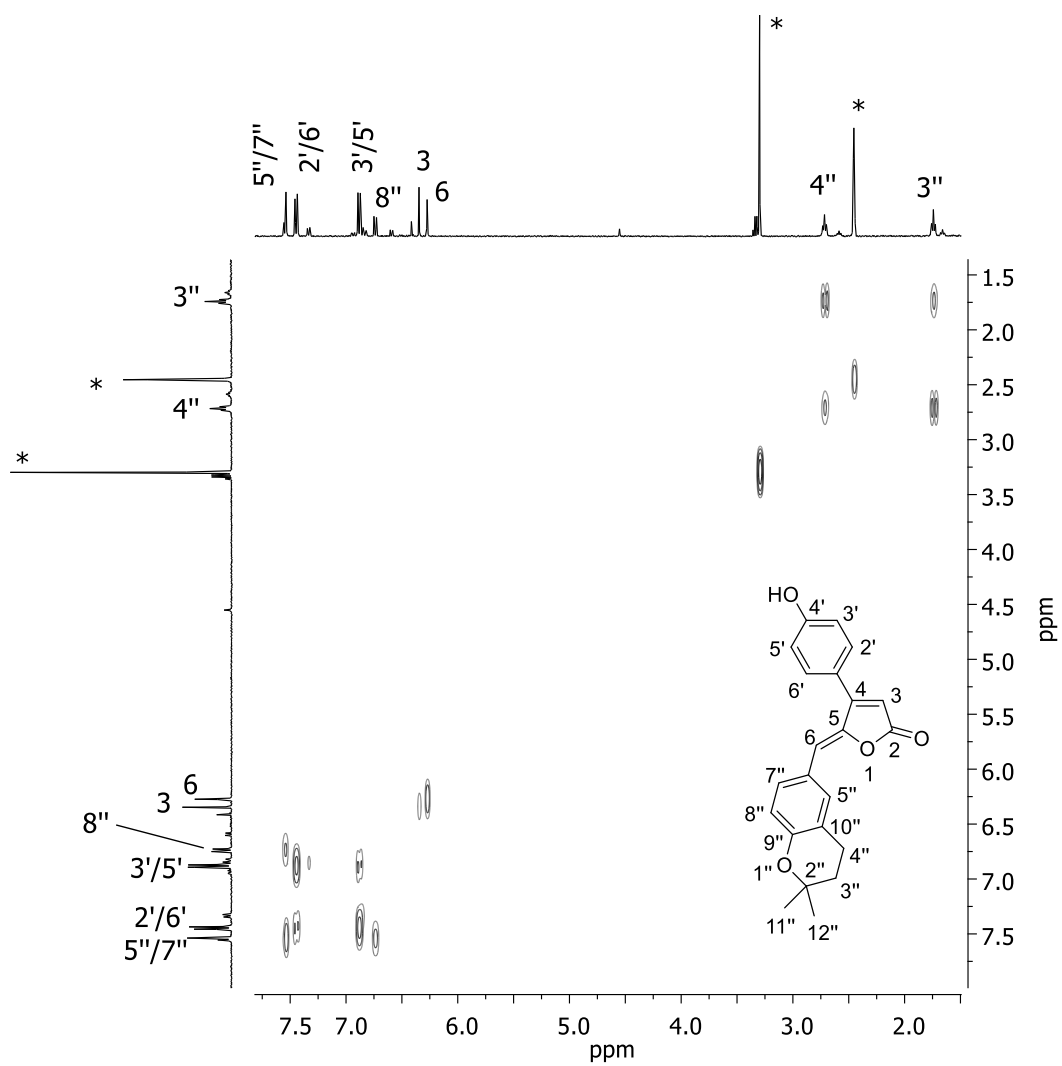


Figura A1.37 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) do rubrolídeo S.

APÊNDICE 2: Espectros referentes ao Capítulo 2

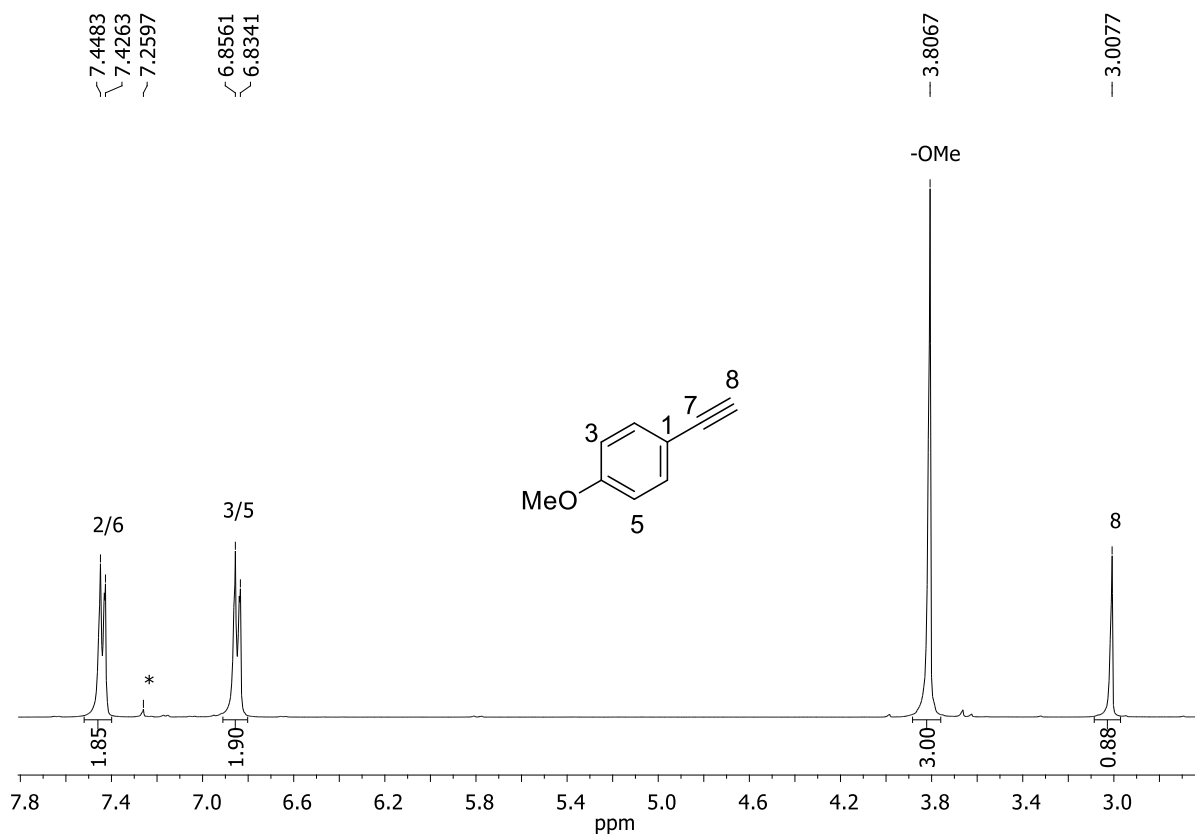


Figura A2.1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **50b**.

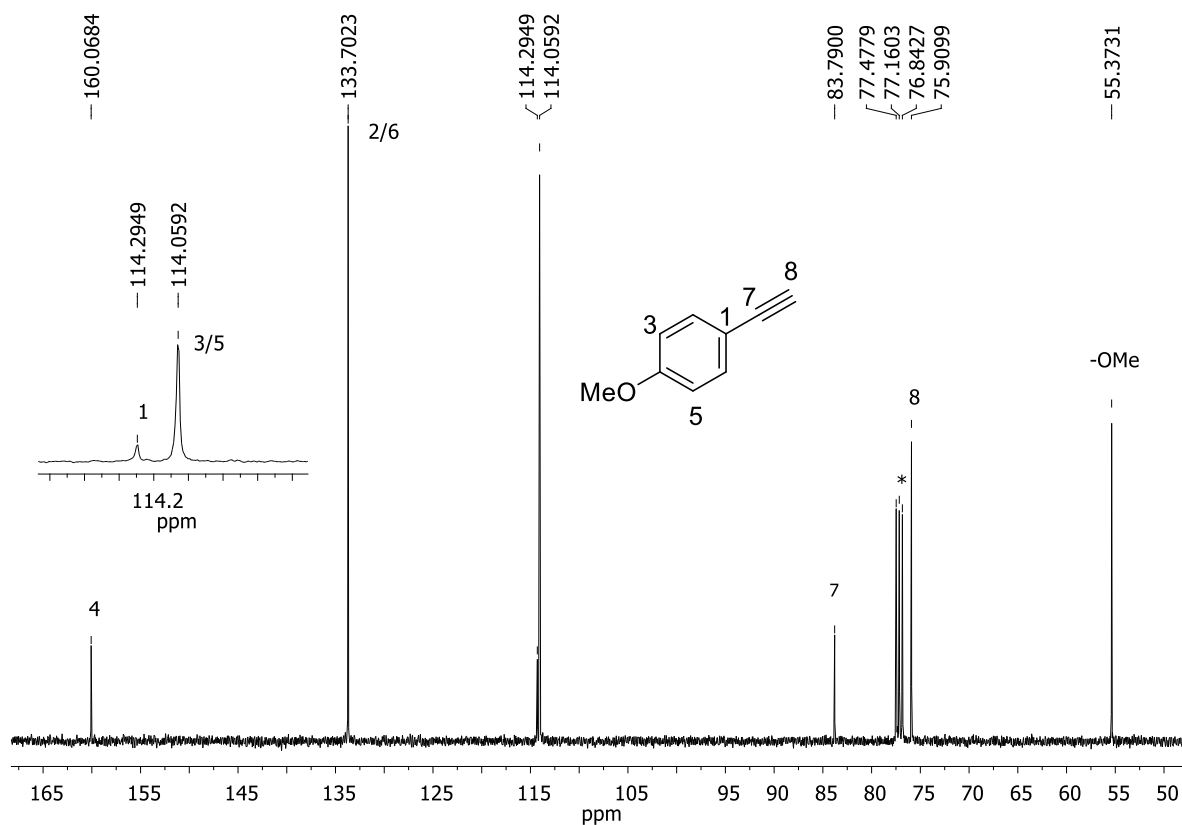


Figura A2.2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **50b**.

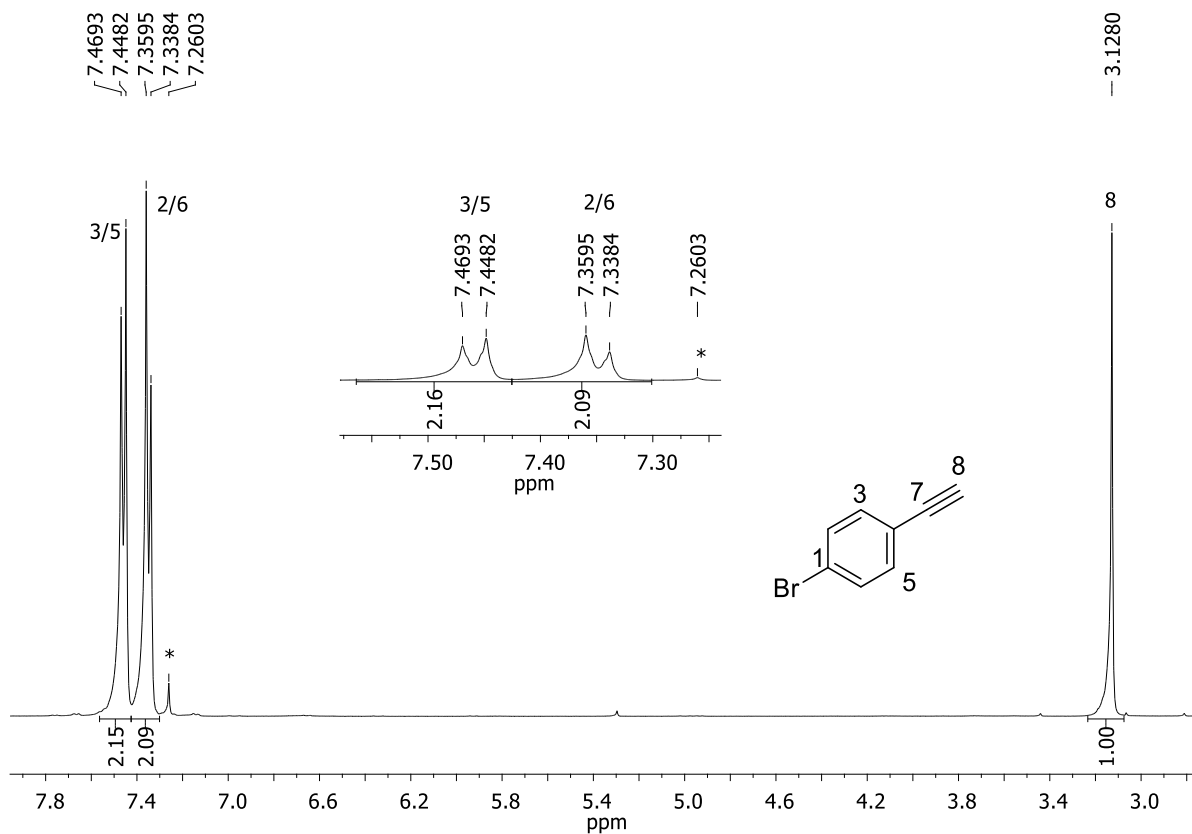


Figura A2.3 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **50c**.

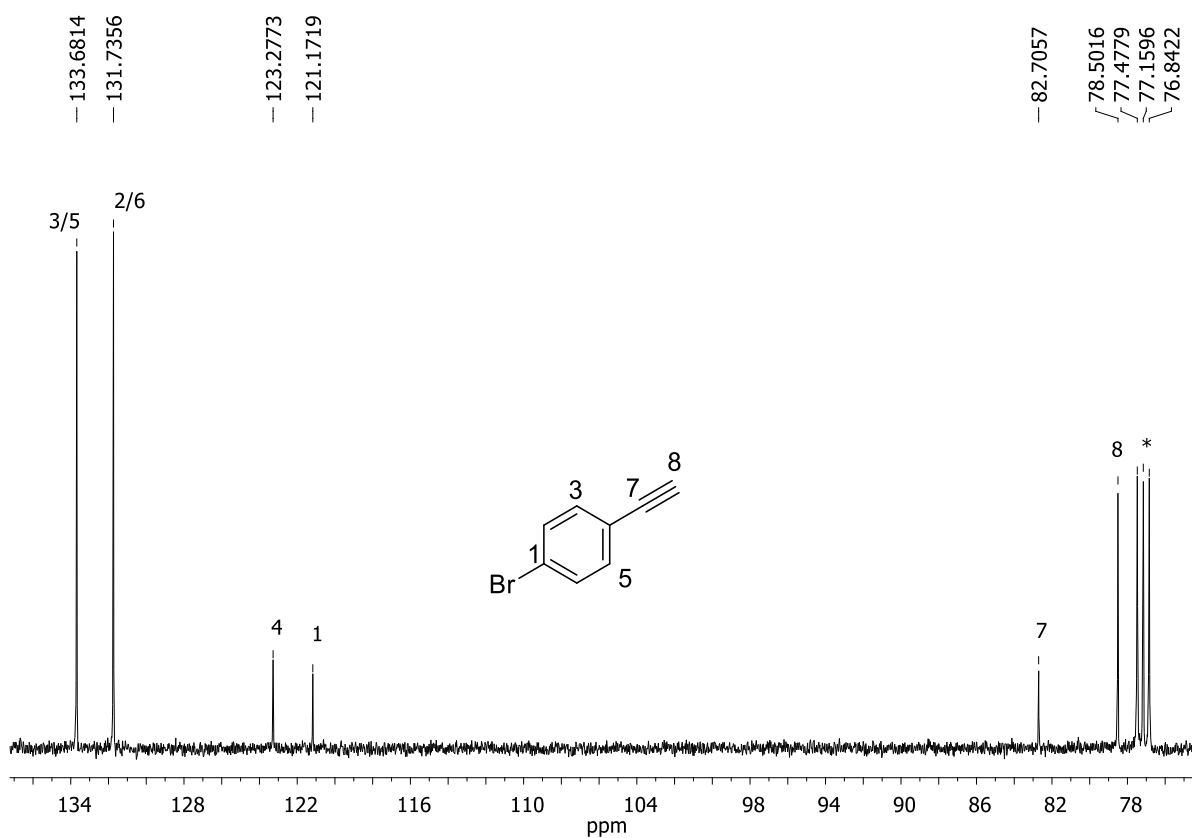


Figura A2.4 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **50c**.

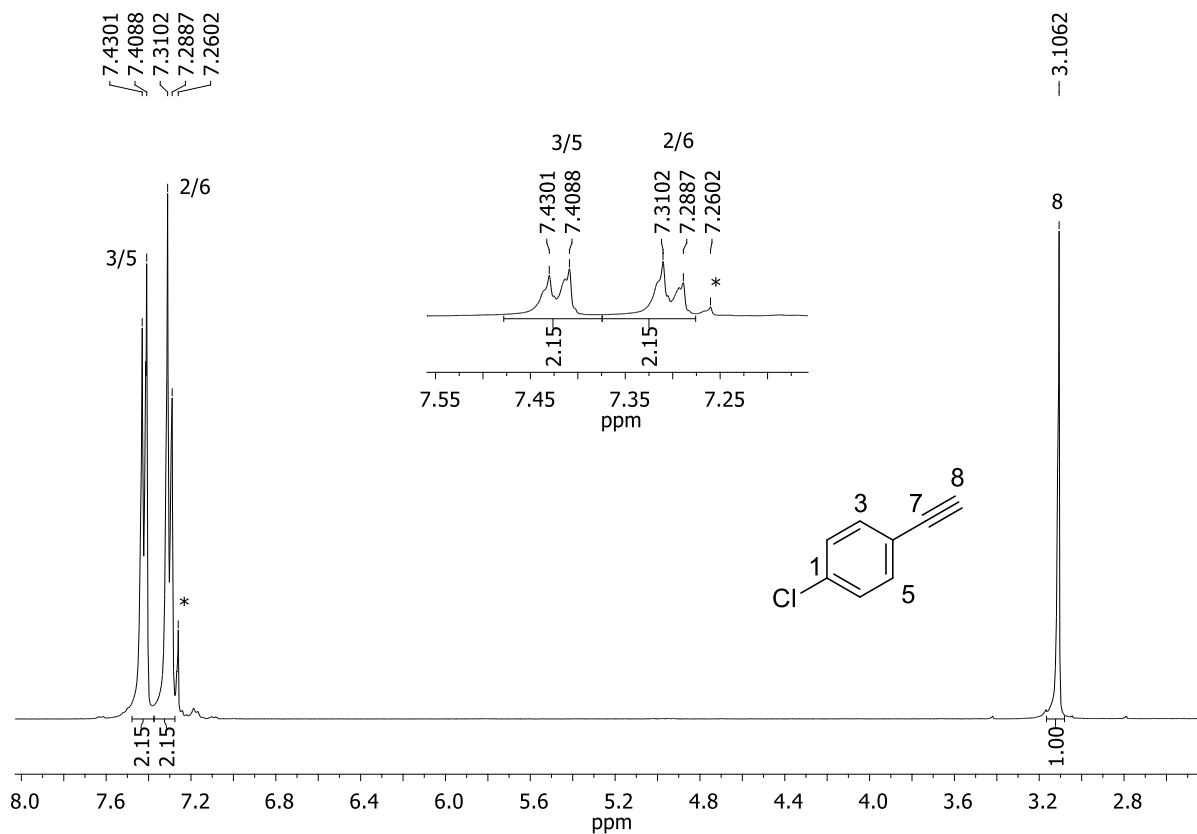


Figura A2.5 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 50d.

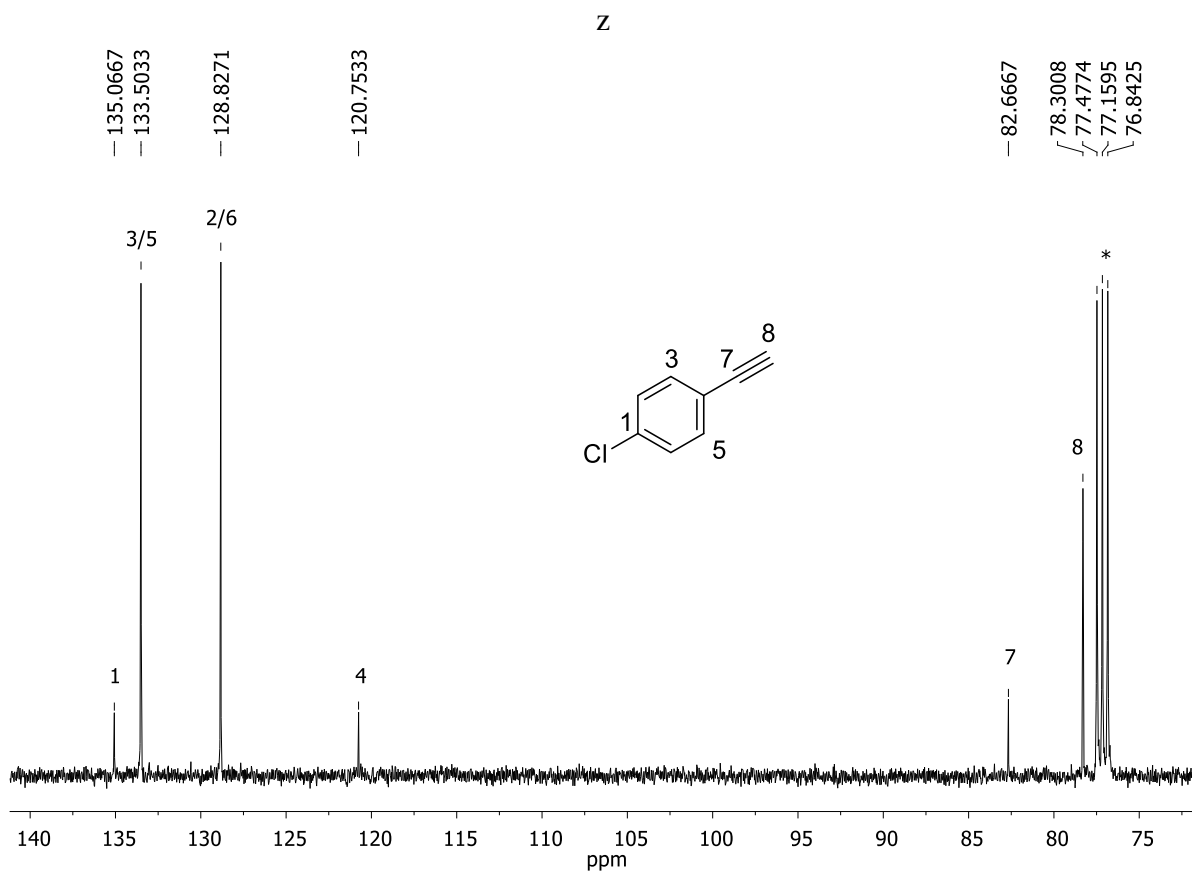


Figura A2.6 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 50d.

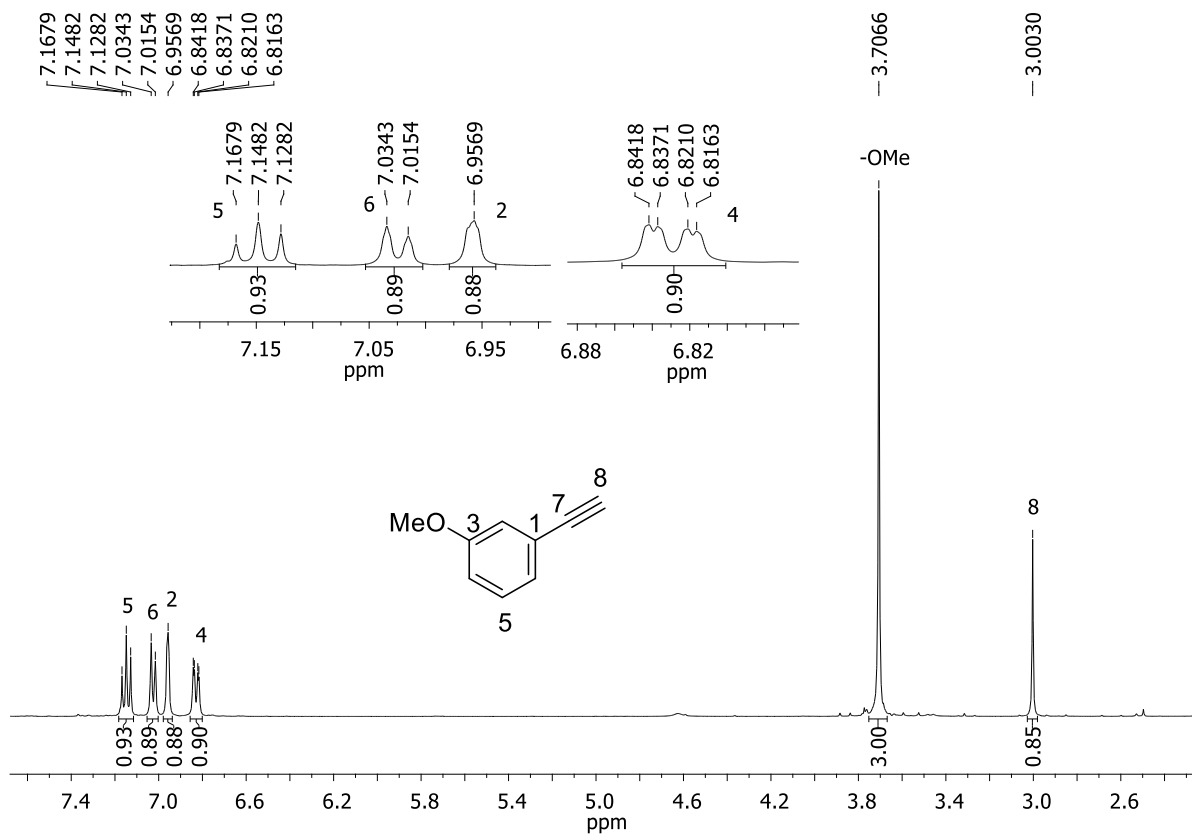


Figura A2.7 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **50e**.

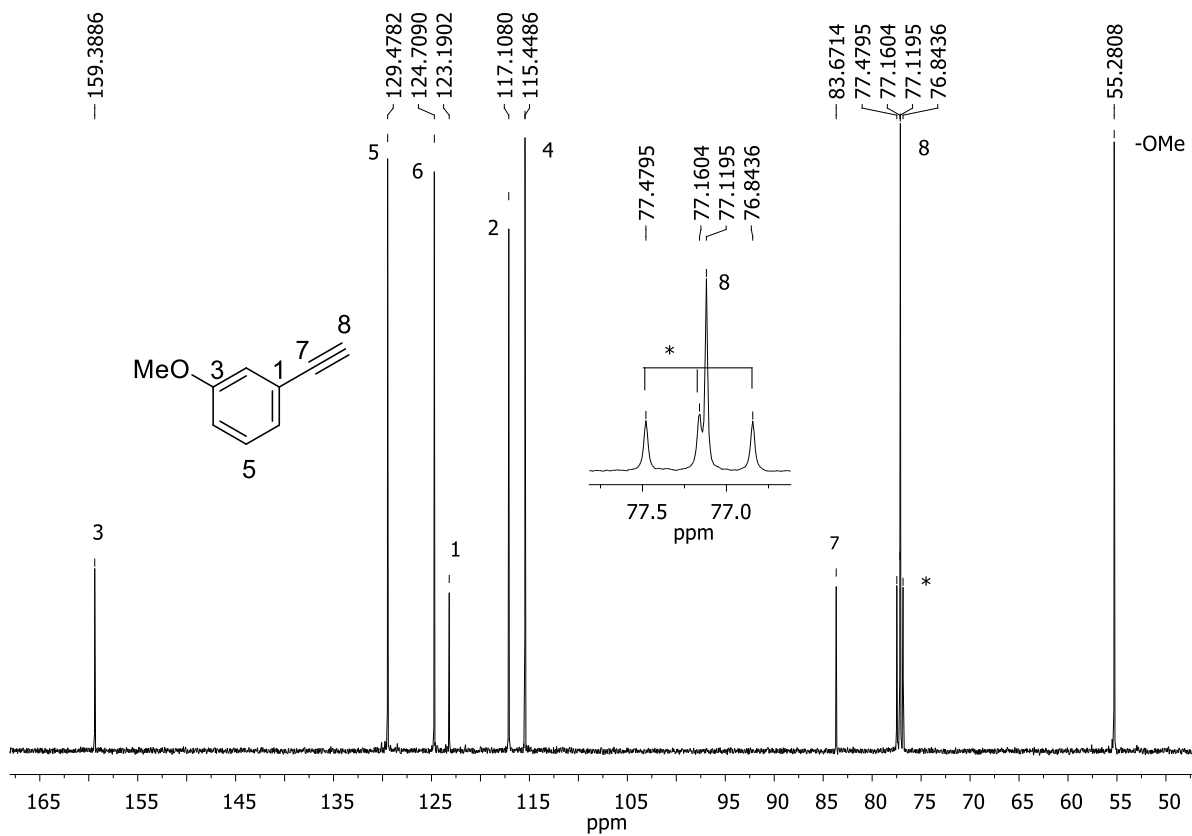


Figura A2.8 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **50e**.

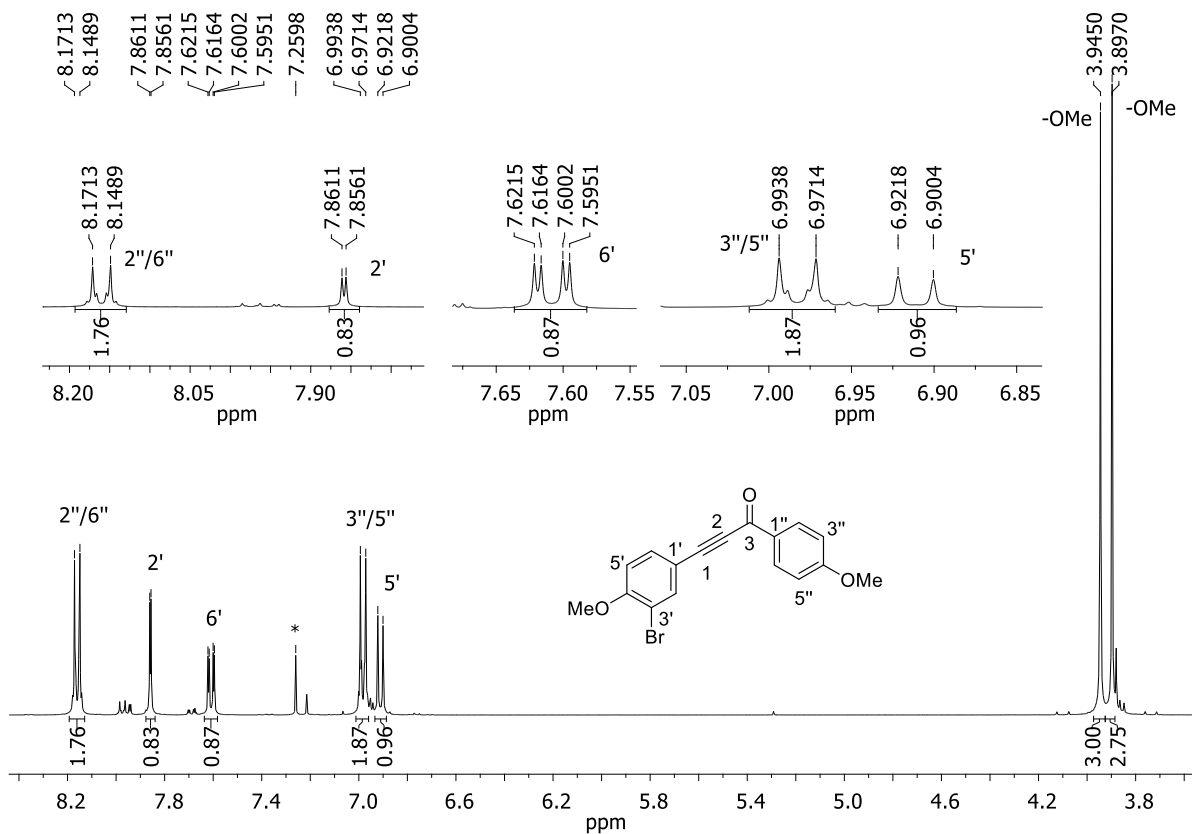


Figura A2.9 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **52b**.

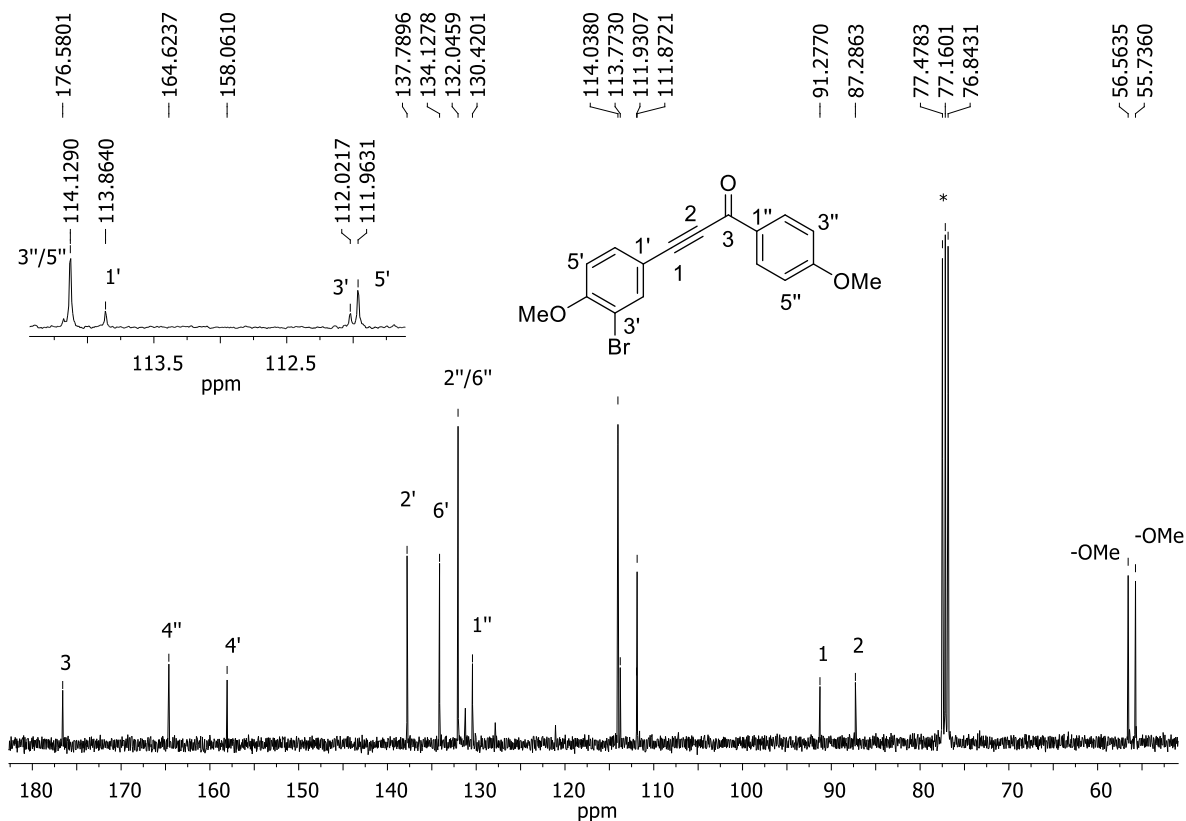


Figura A2.10 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **52b**.

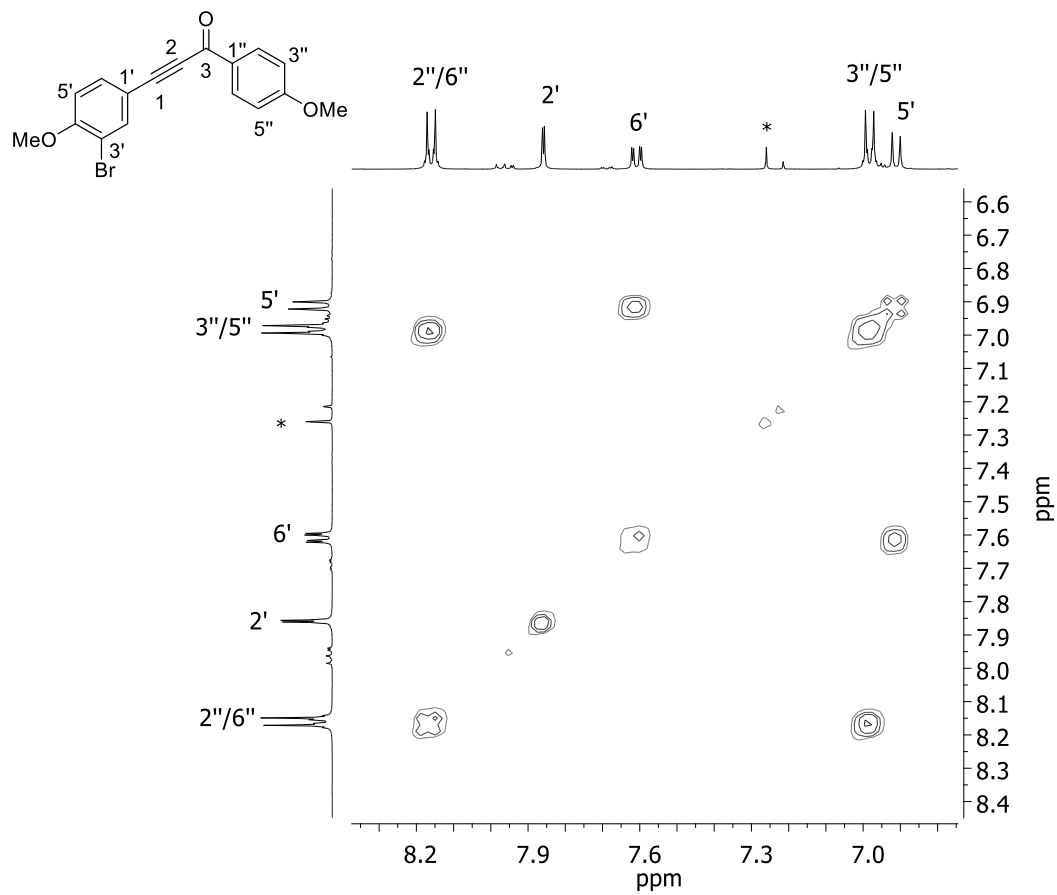


Figura A2.11 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **52b**.

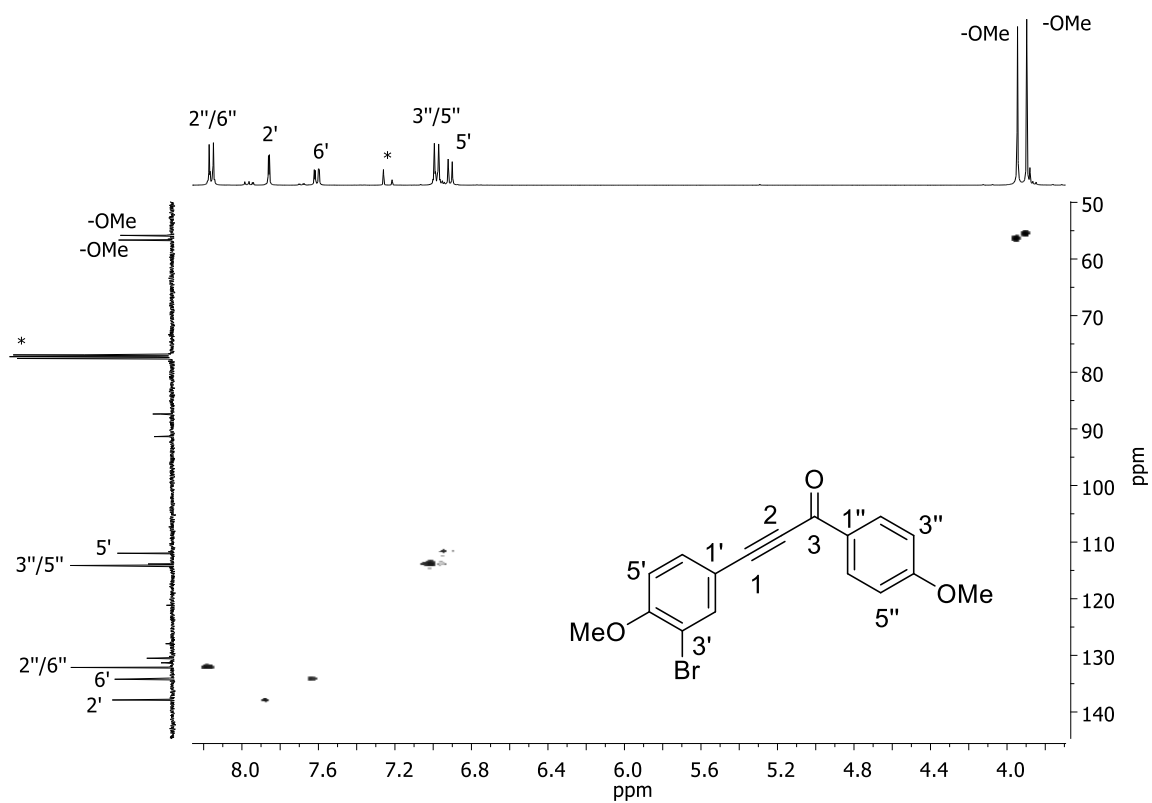


Figura A2.12 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) do composto **52b**.

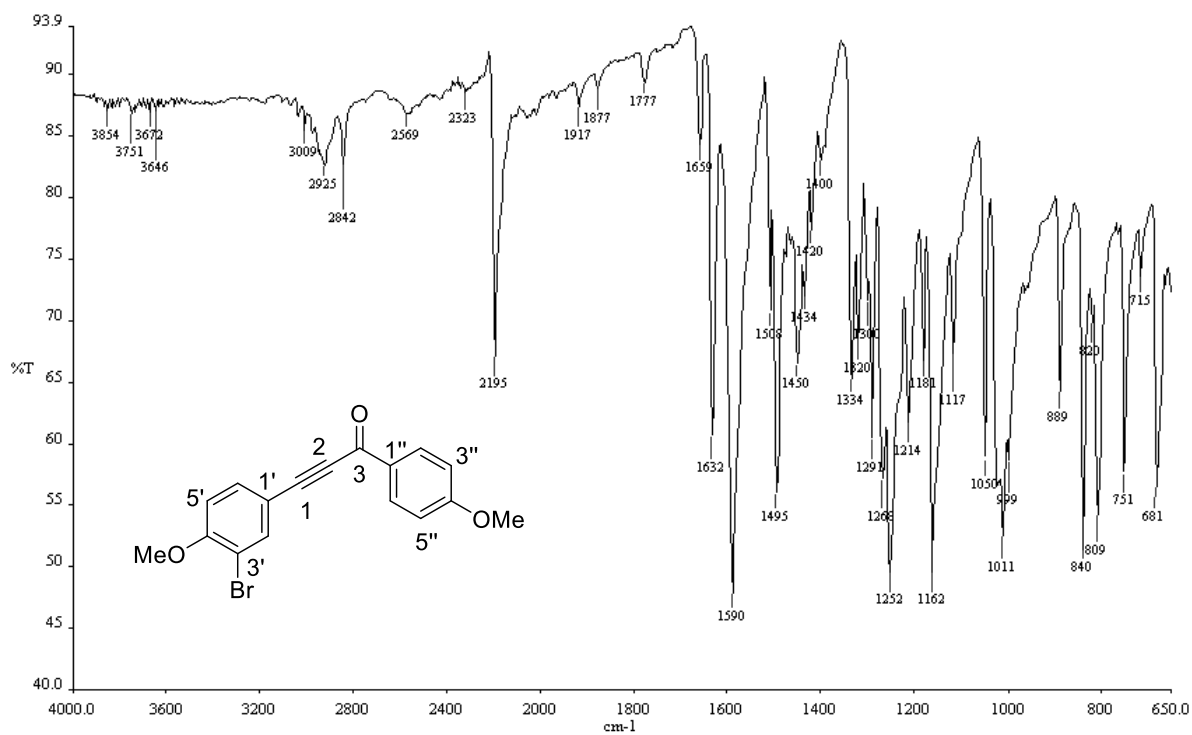


Figura A2.13 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **52b**.

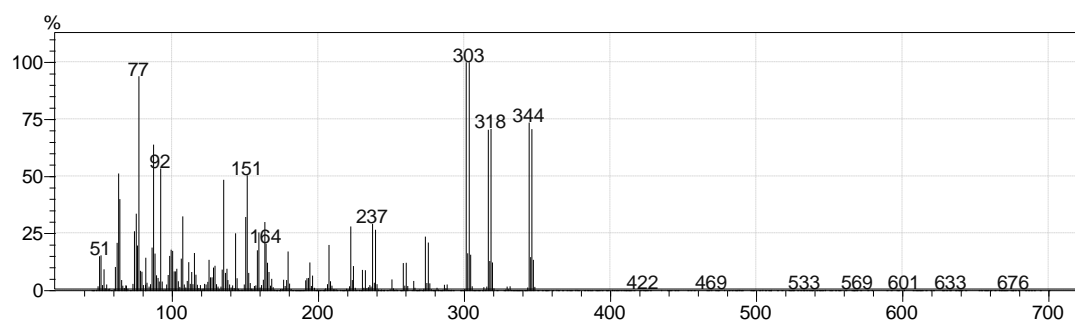


Figura A2.14 - Espectro de massas (IE) do composto **52b**.

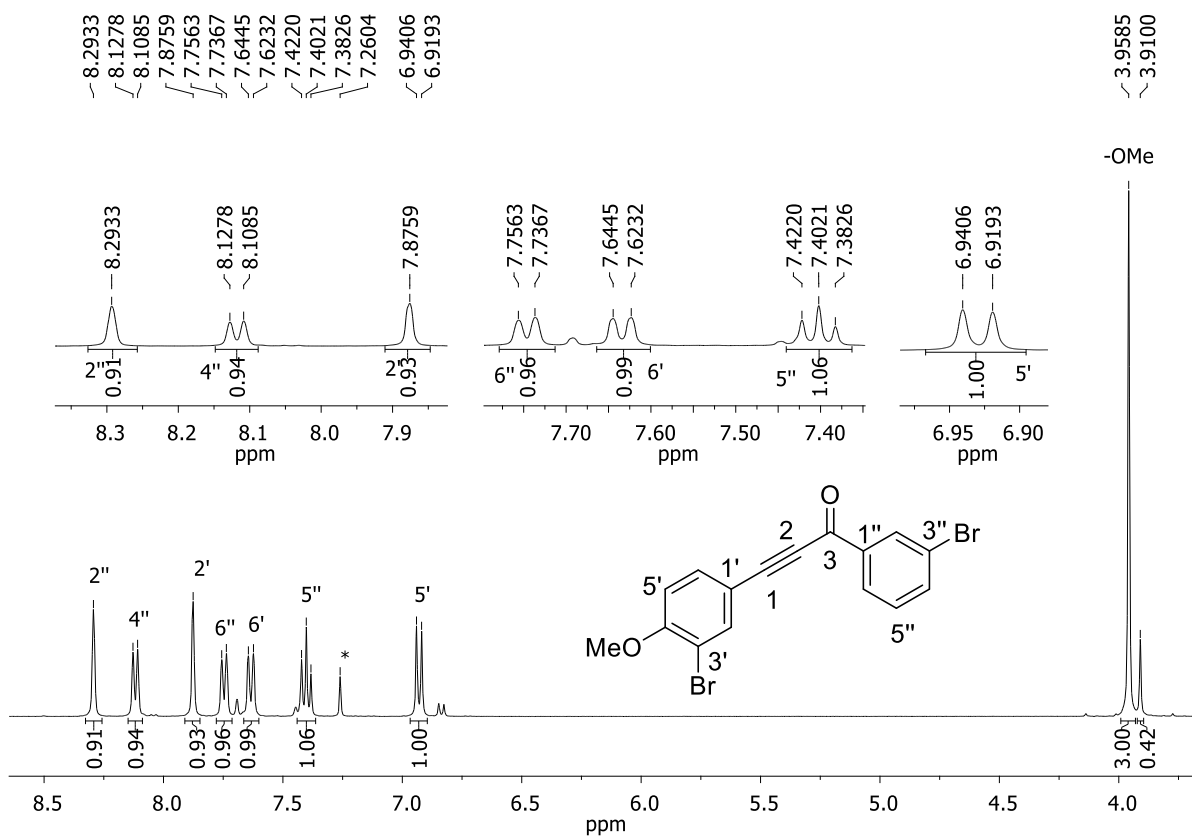


Figura A2.15 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **52c**.

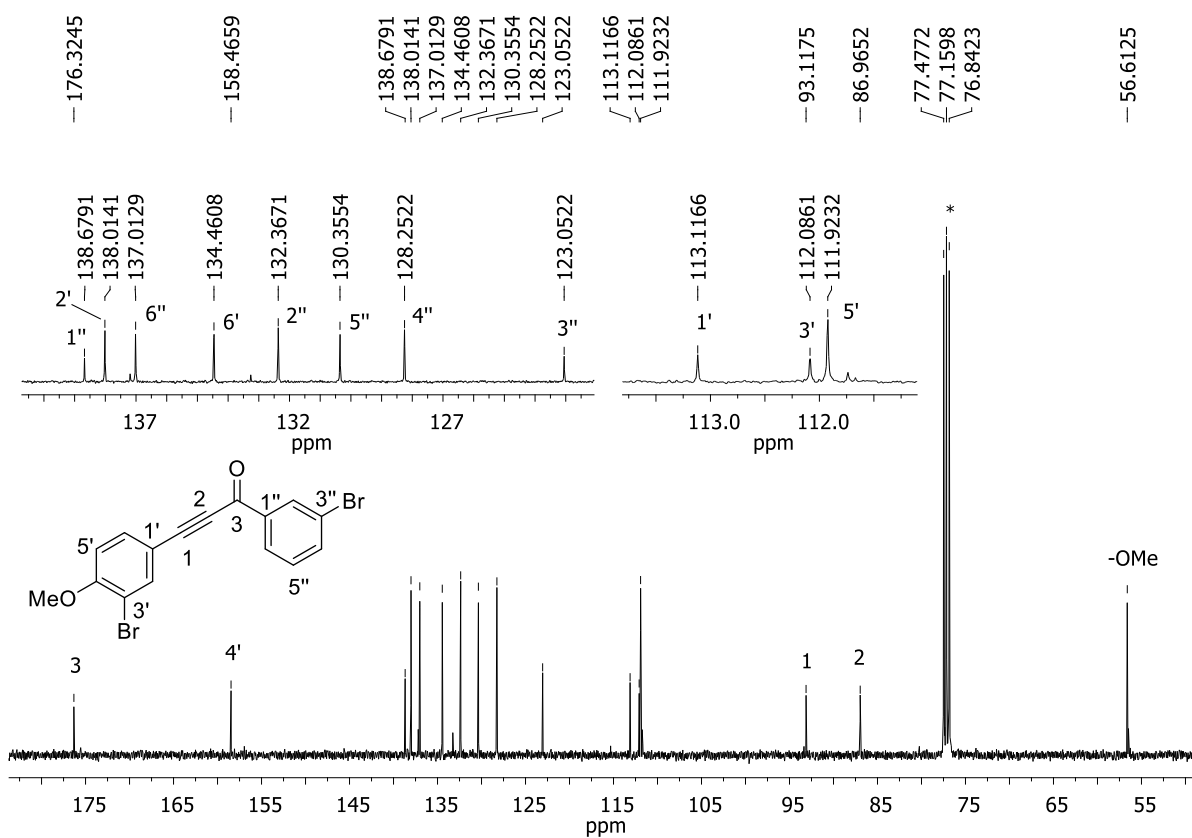


Figura A2.16 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **52c**.

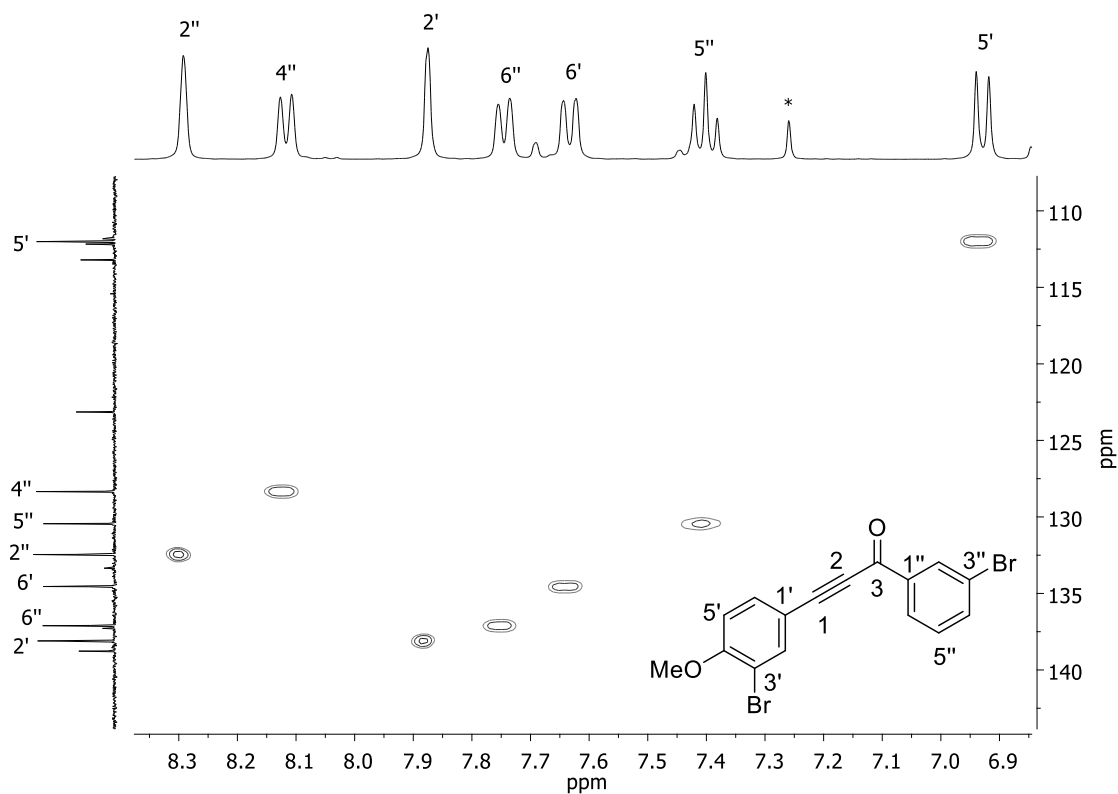


Figura A2.17 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) do composto **52c**.

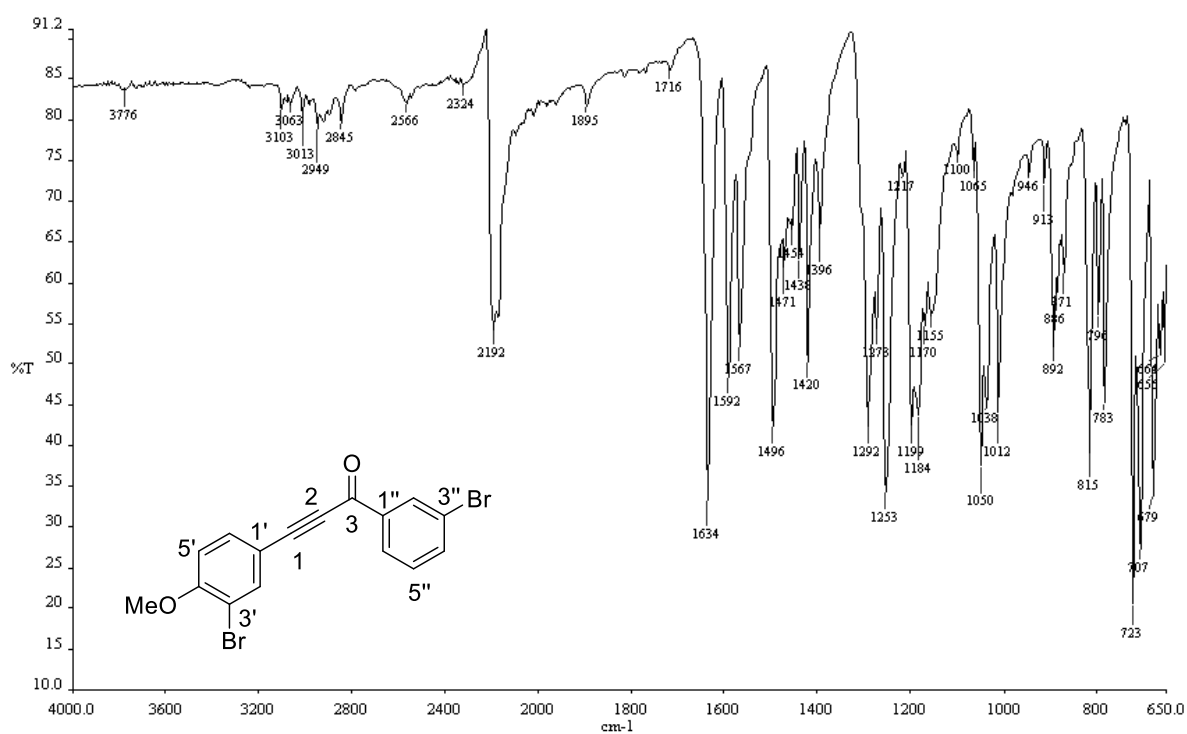


Figura A2.18 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **52c**.

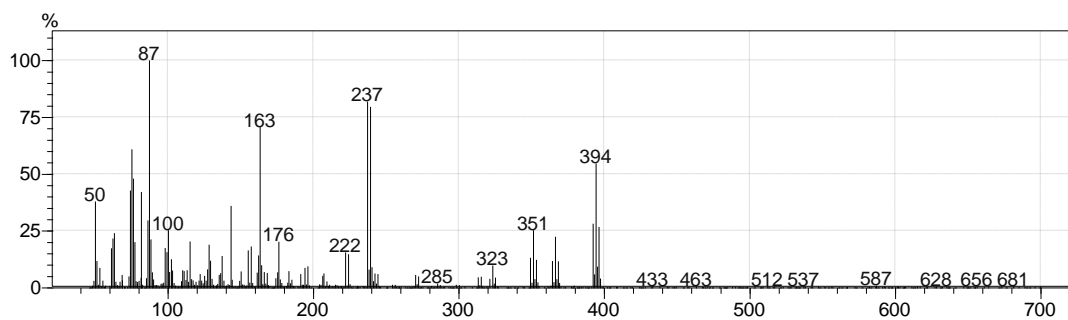


Figura A2.19 - Espectro de massas (IE) do composto **52c**.

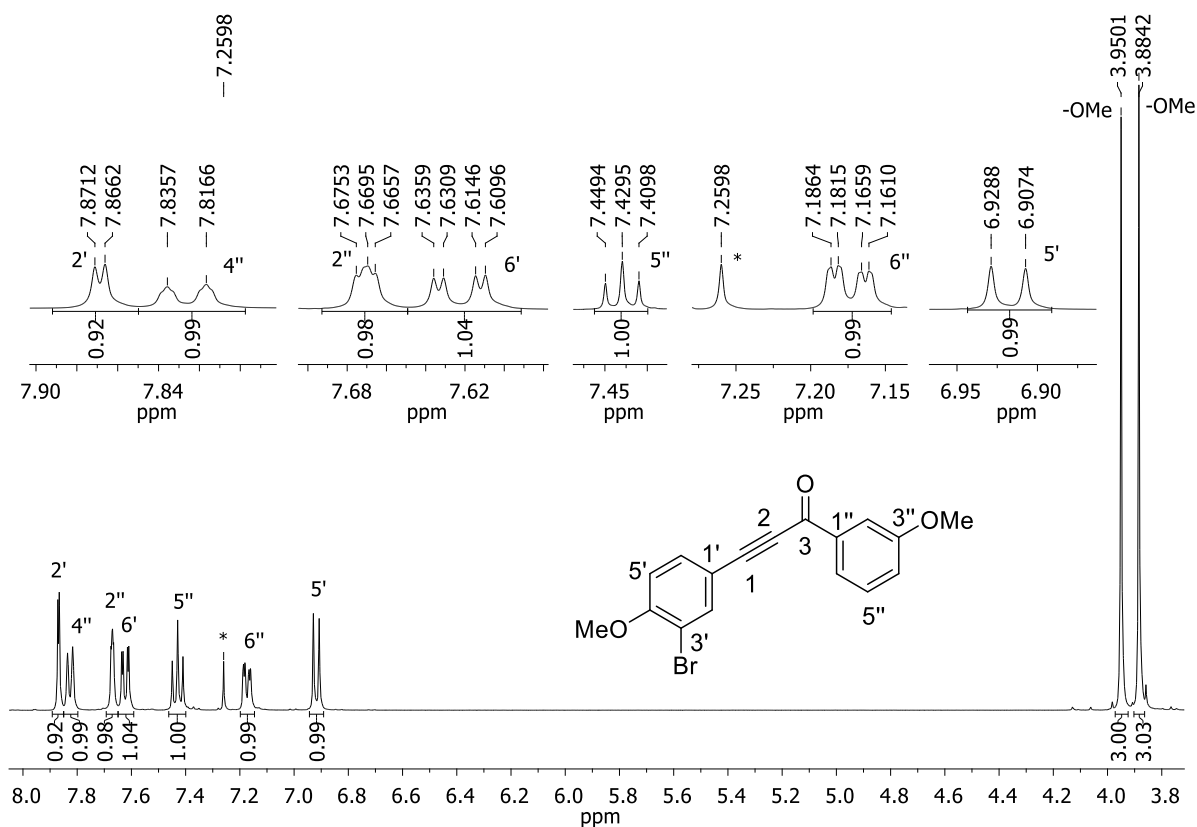


Figura A2.20 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **52d**.

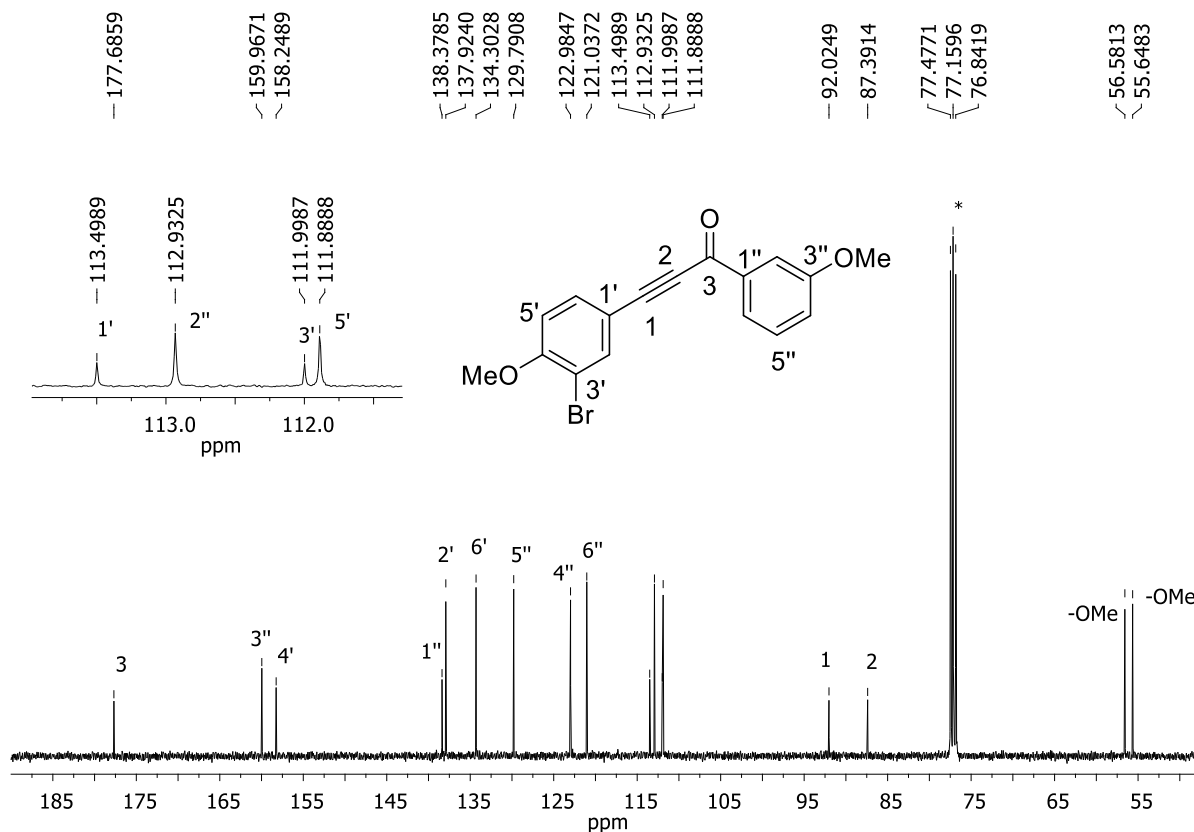


Figura A2.21 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **52d**.

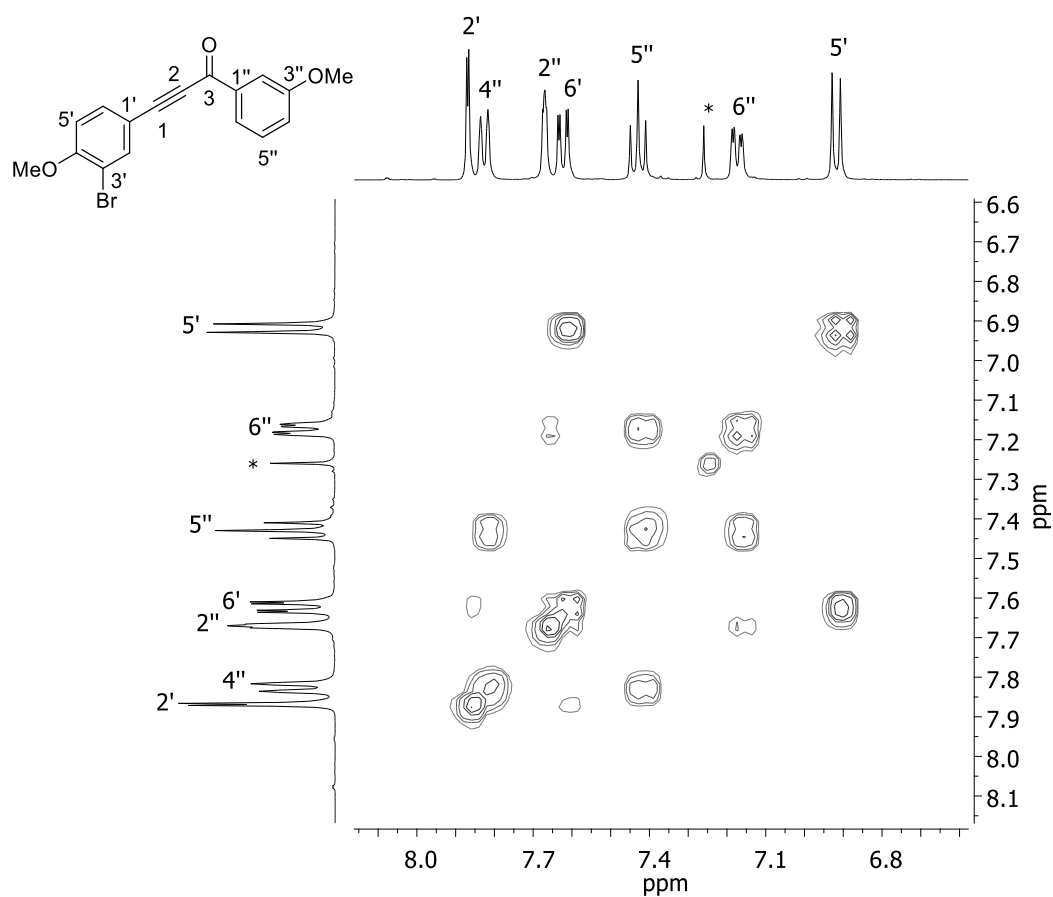


Figura A2.22 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **52d**.

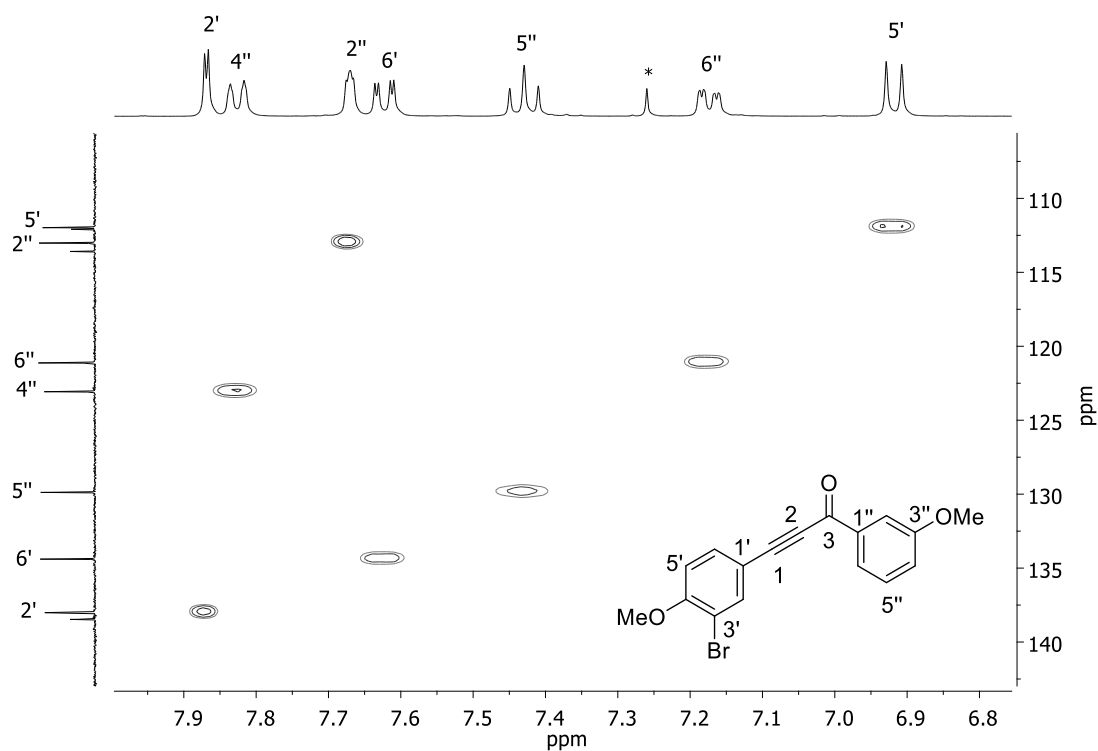


Figura A2.23 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) do composto **52d**.

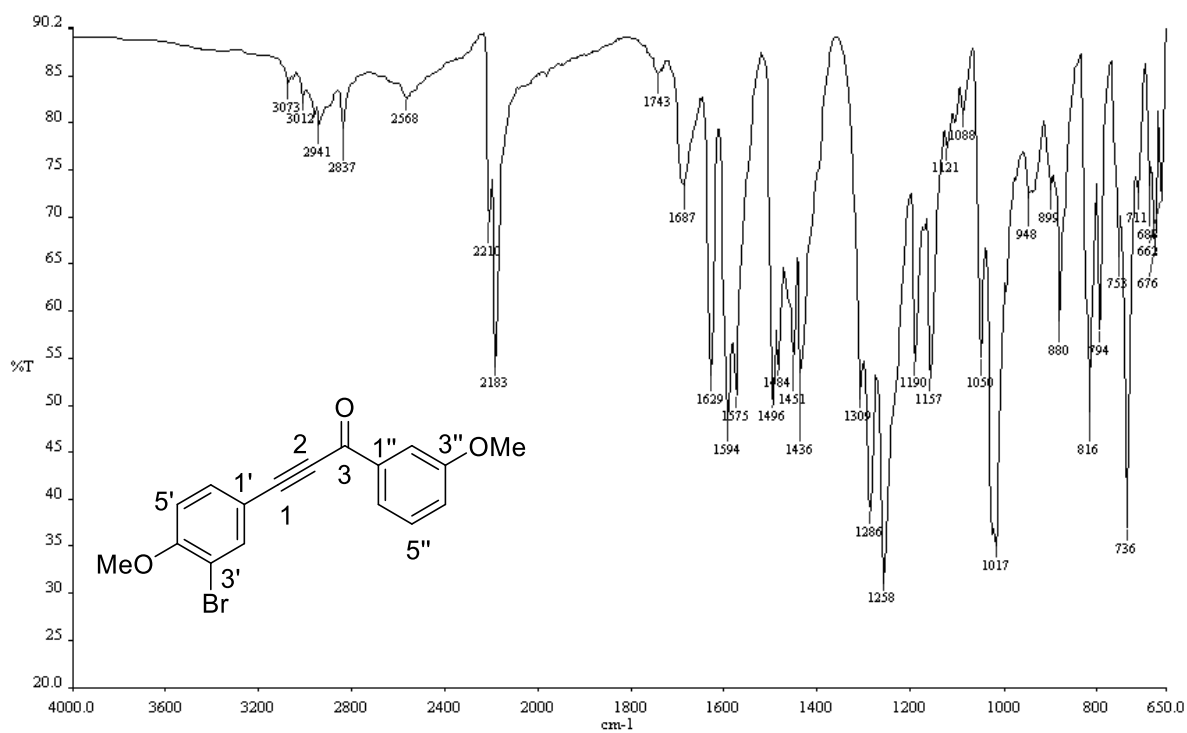


Figura A2.24 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **52d**.

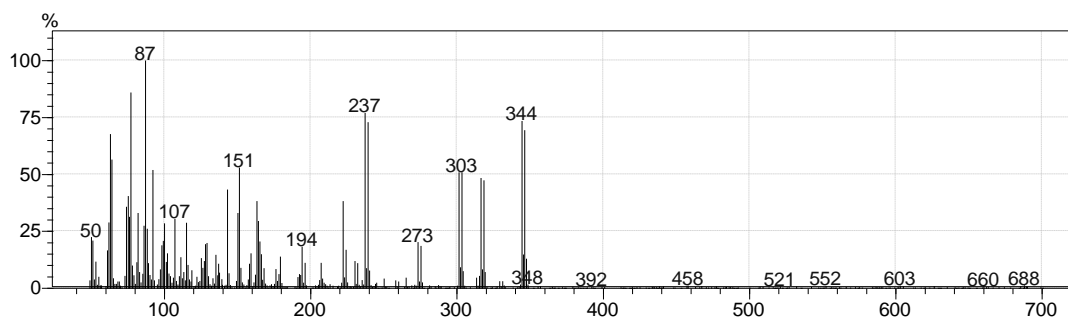


Figura A2.25 - Espectro de massas (IE) do composto **52d**.

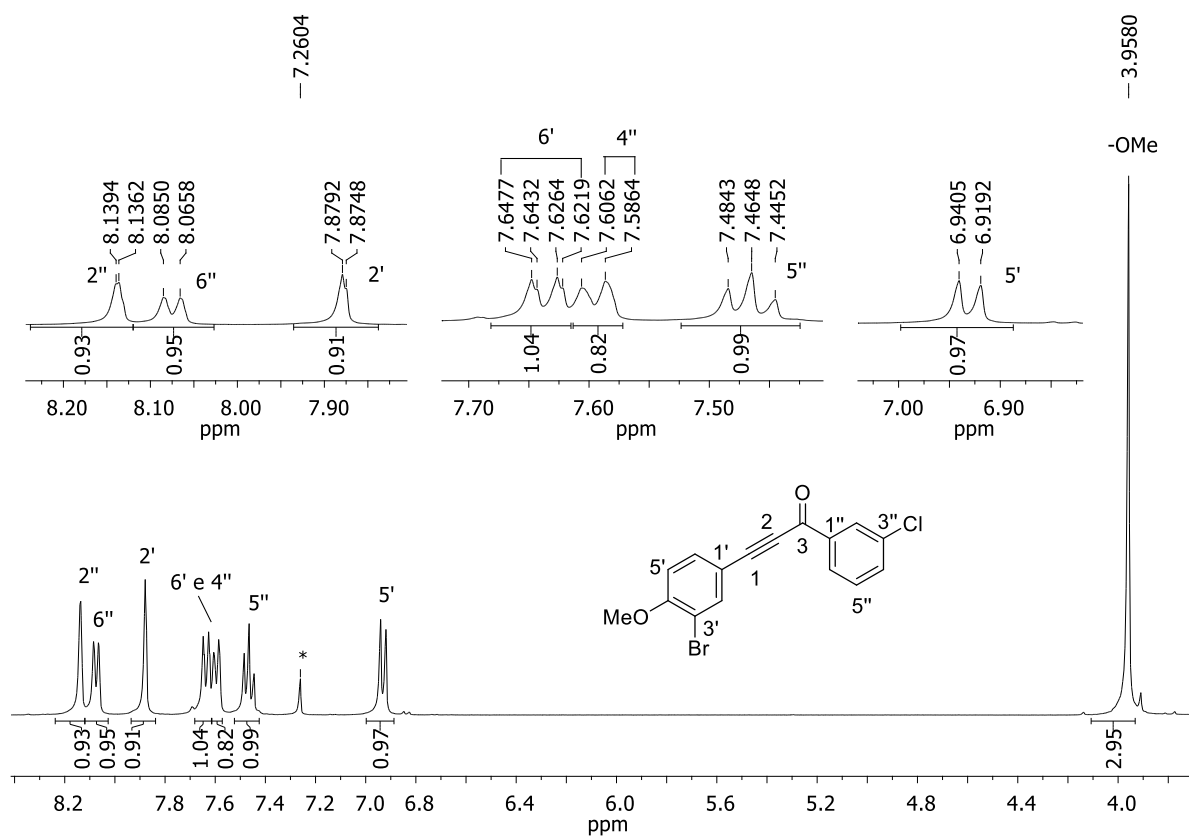


Figura A2.26 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **52e**.

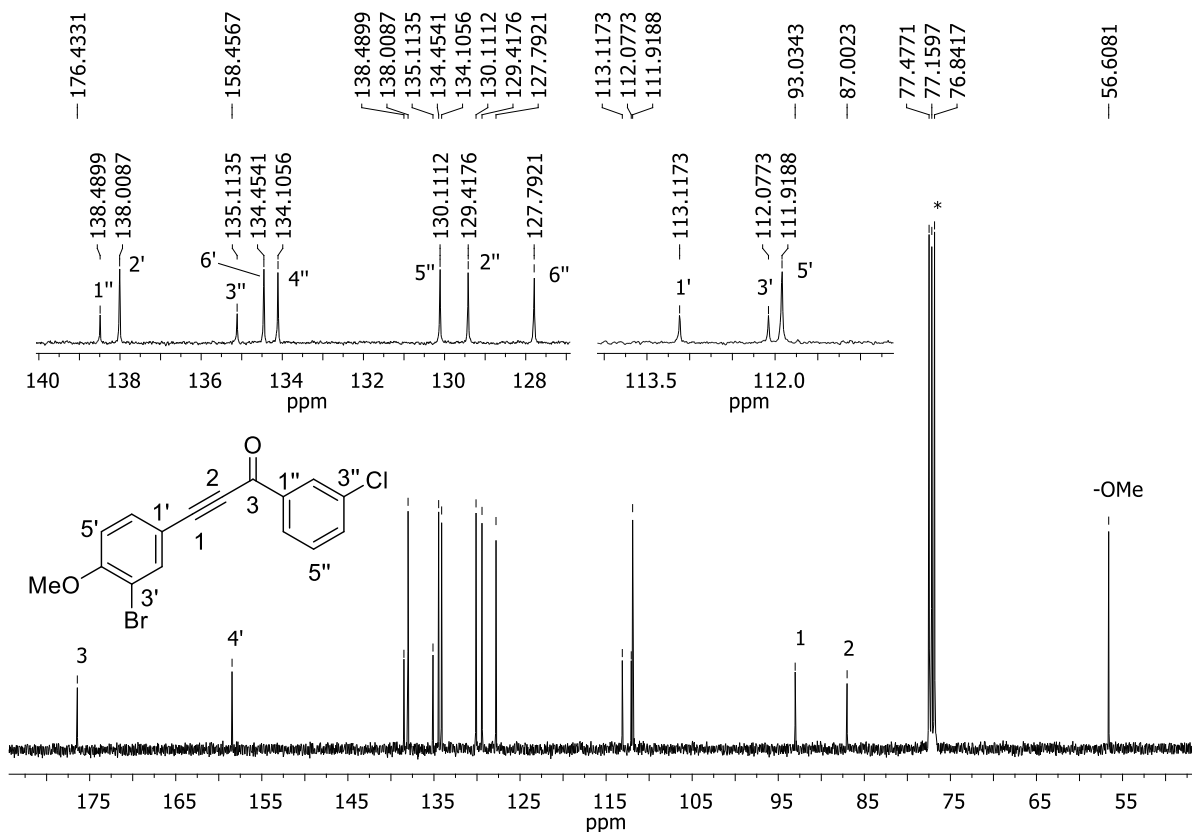


Figura A2.27 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **52e**.

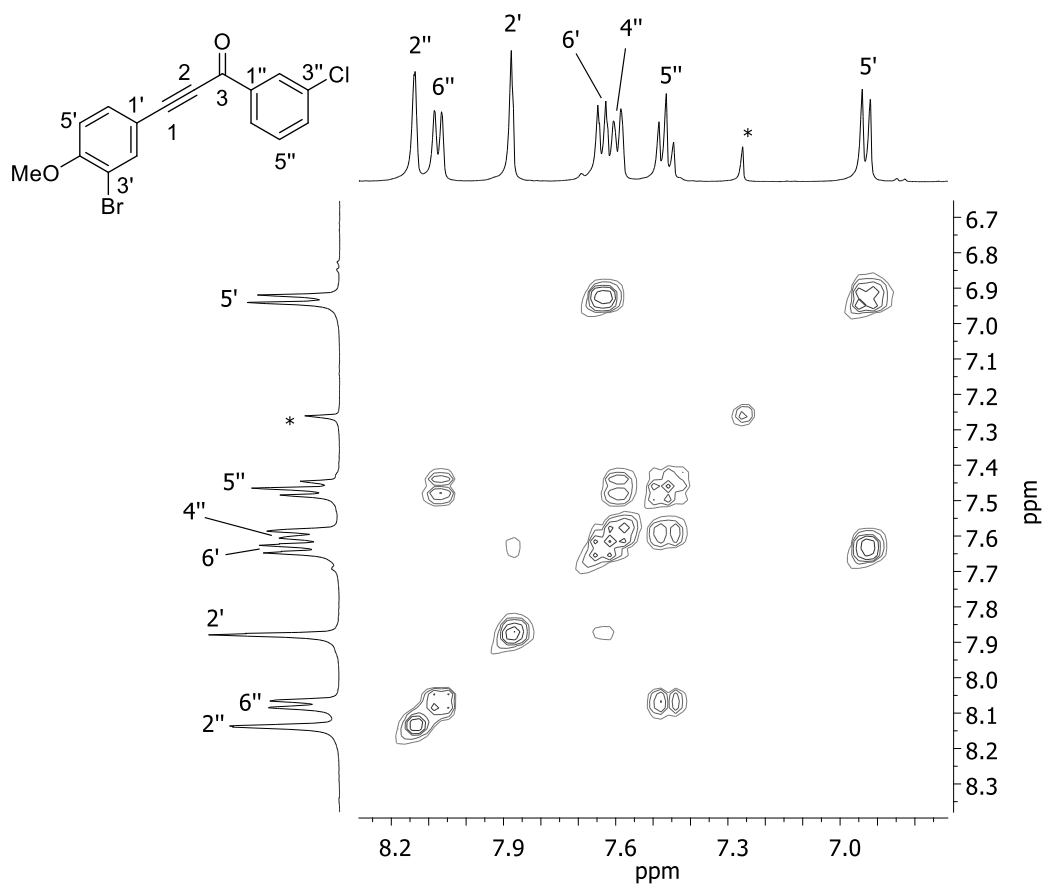


Figura A2.28 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **52e**.

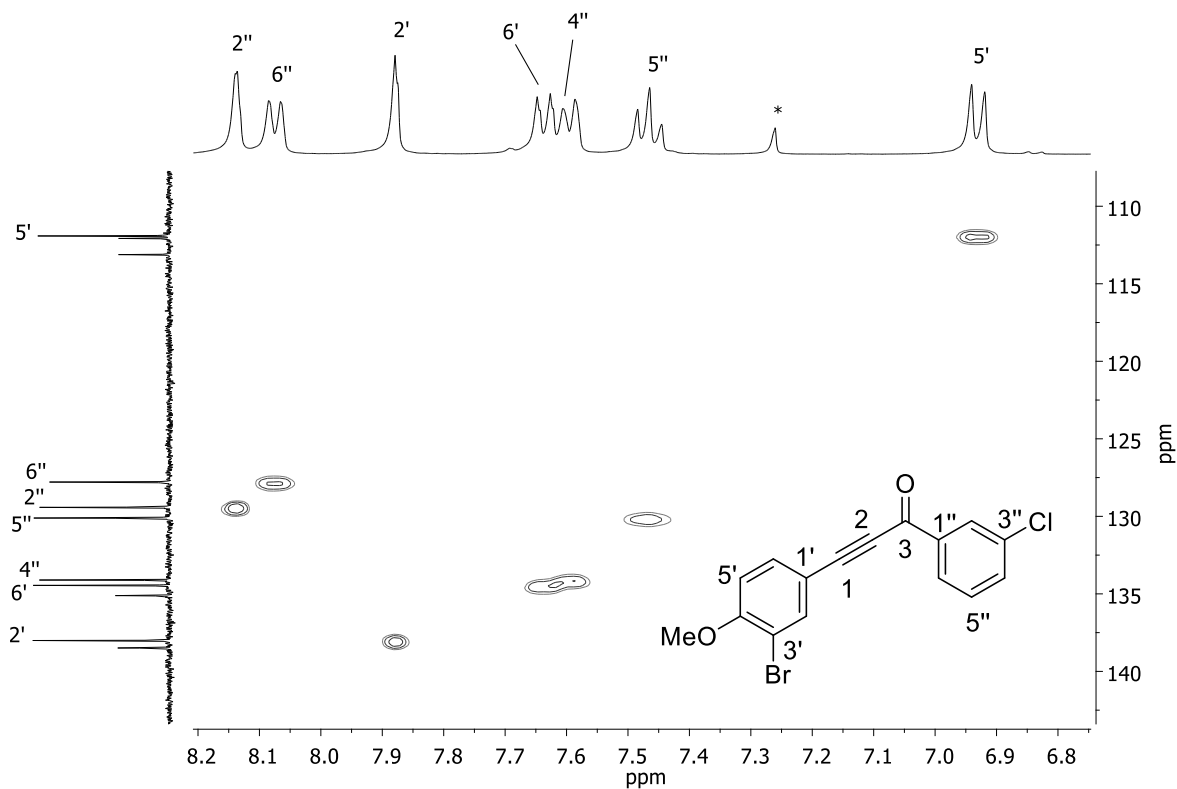


Figura A2.29 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) do composto 52e.

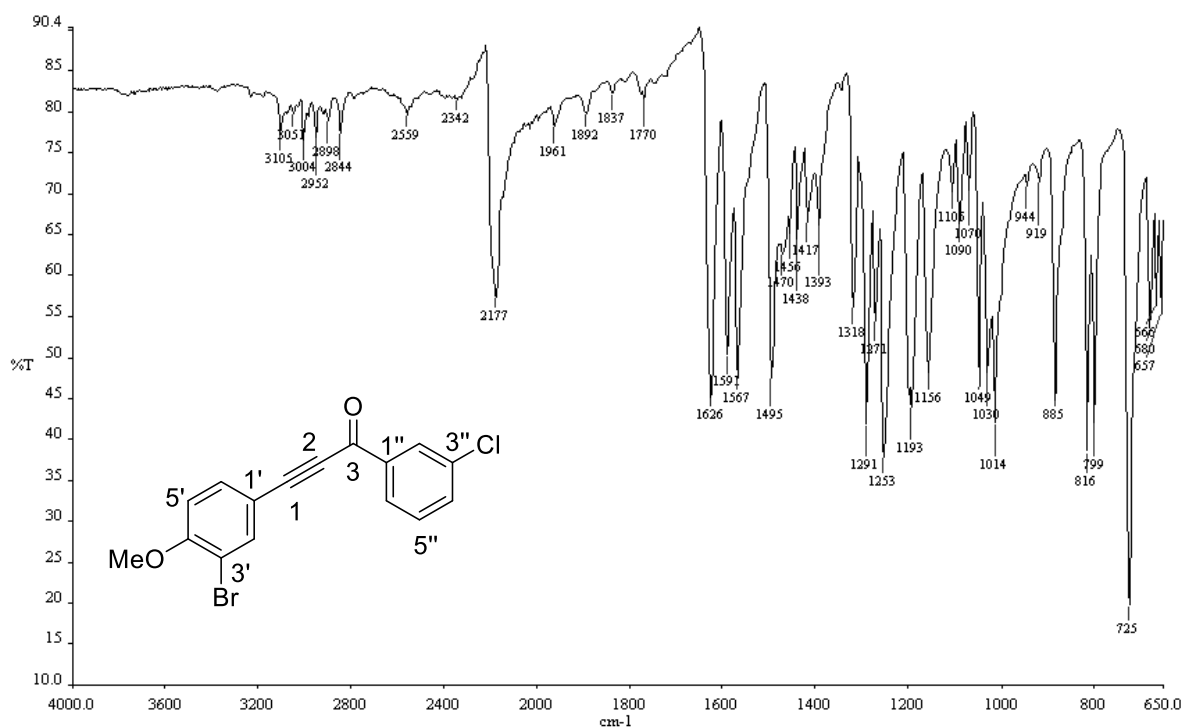


Figura A2.30 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto 52e.

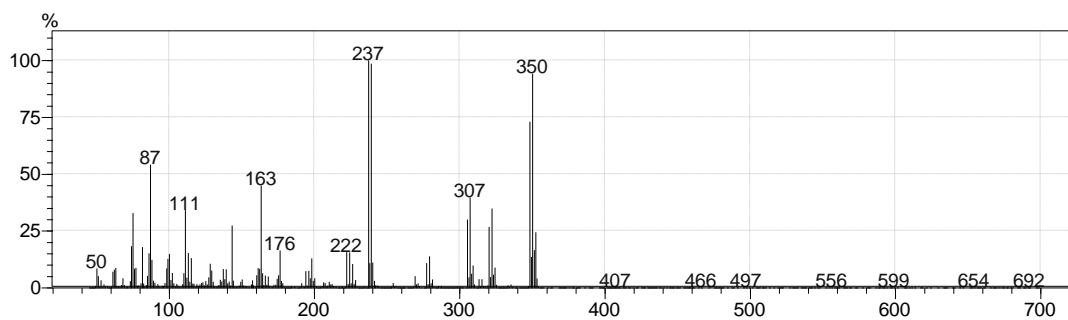


Figura A2.31 - Espectro de massas (IE) do composto **52e**.

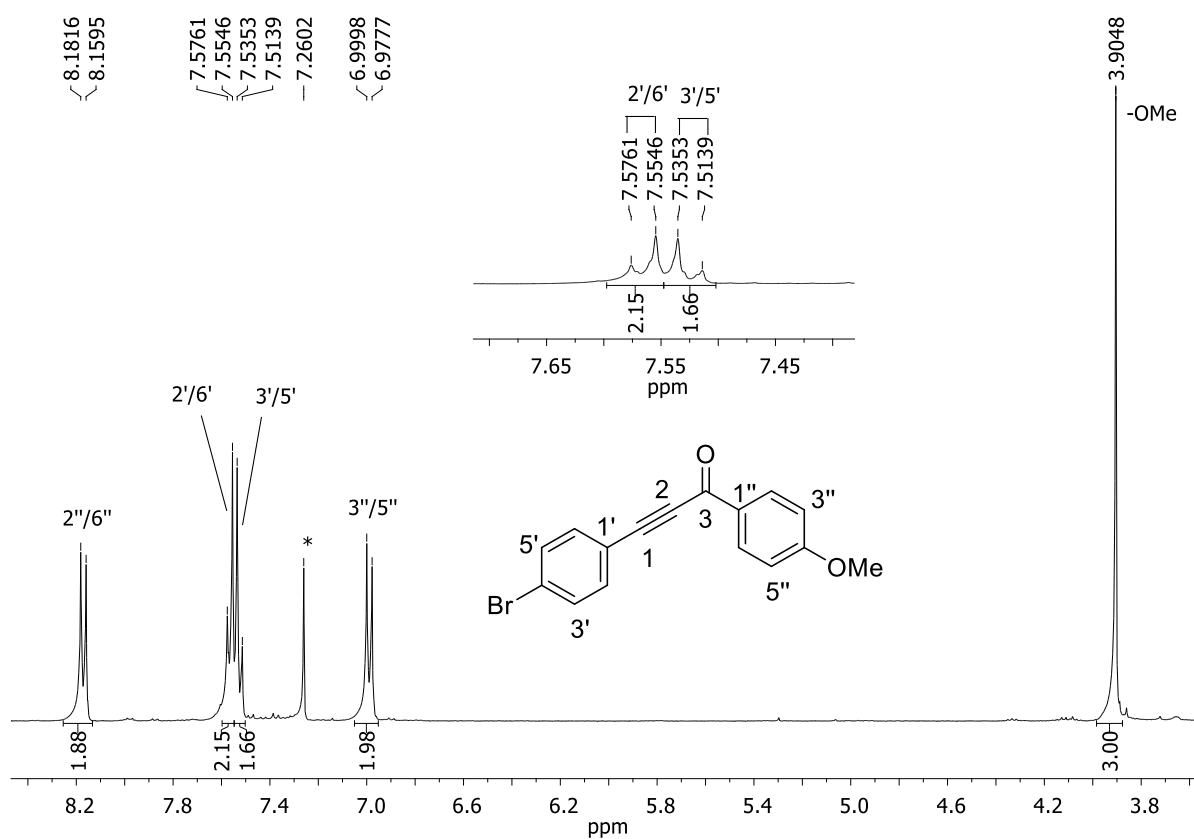


Figura A2.32 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **52f**.

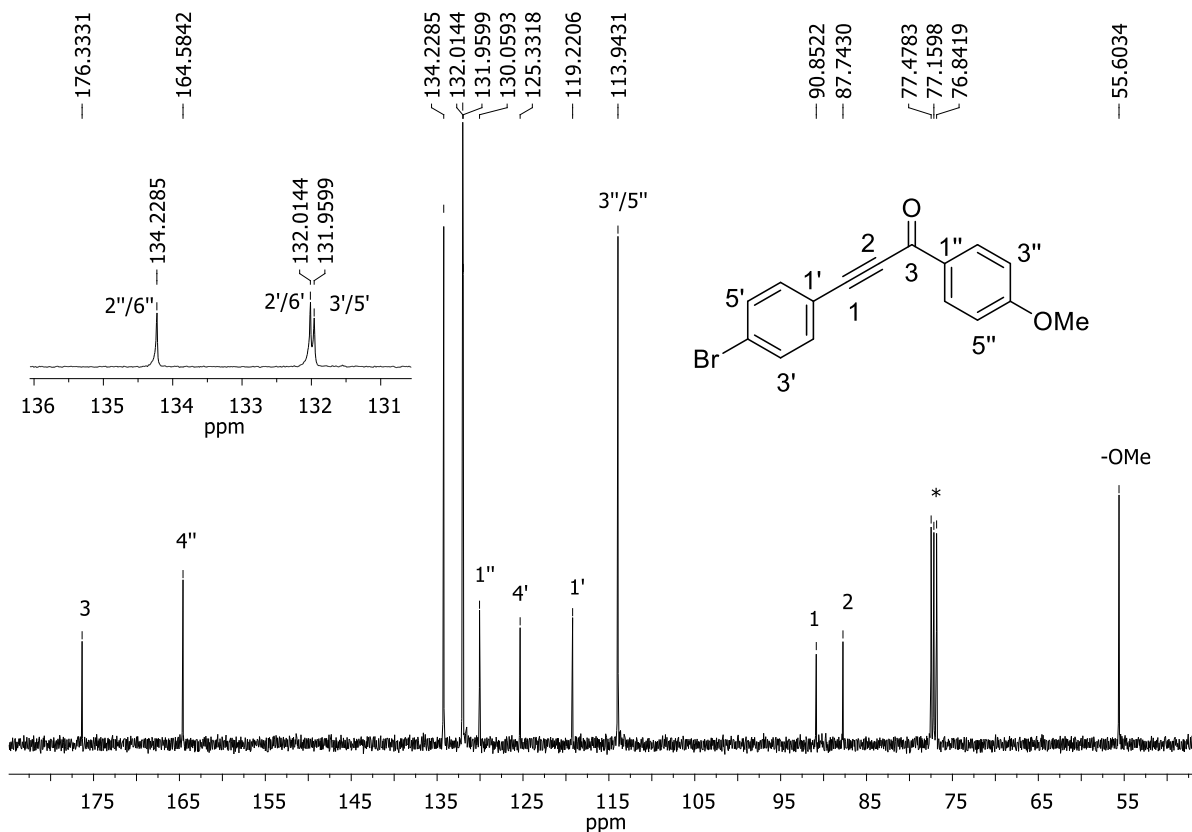


Figura A2.33 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 52f.

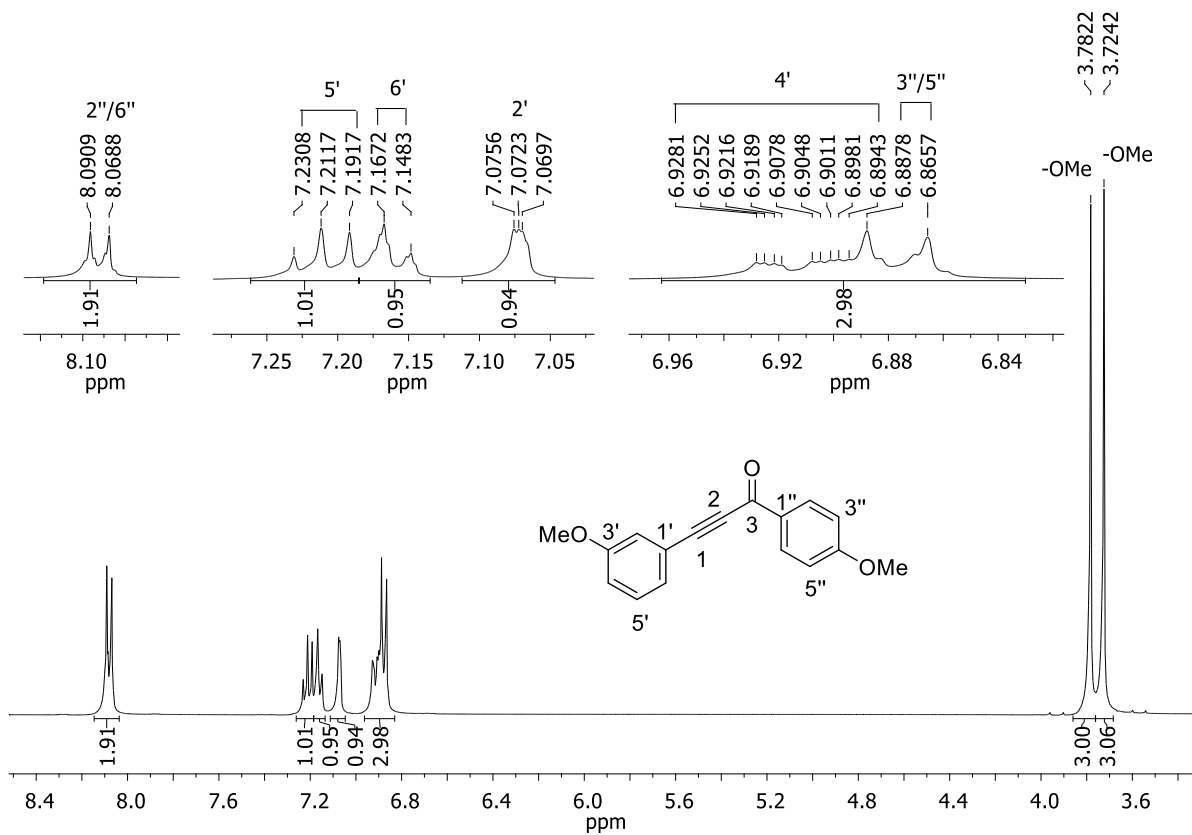


Figura A2.34 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 52g.

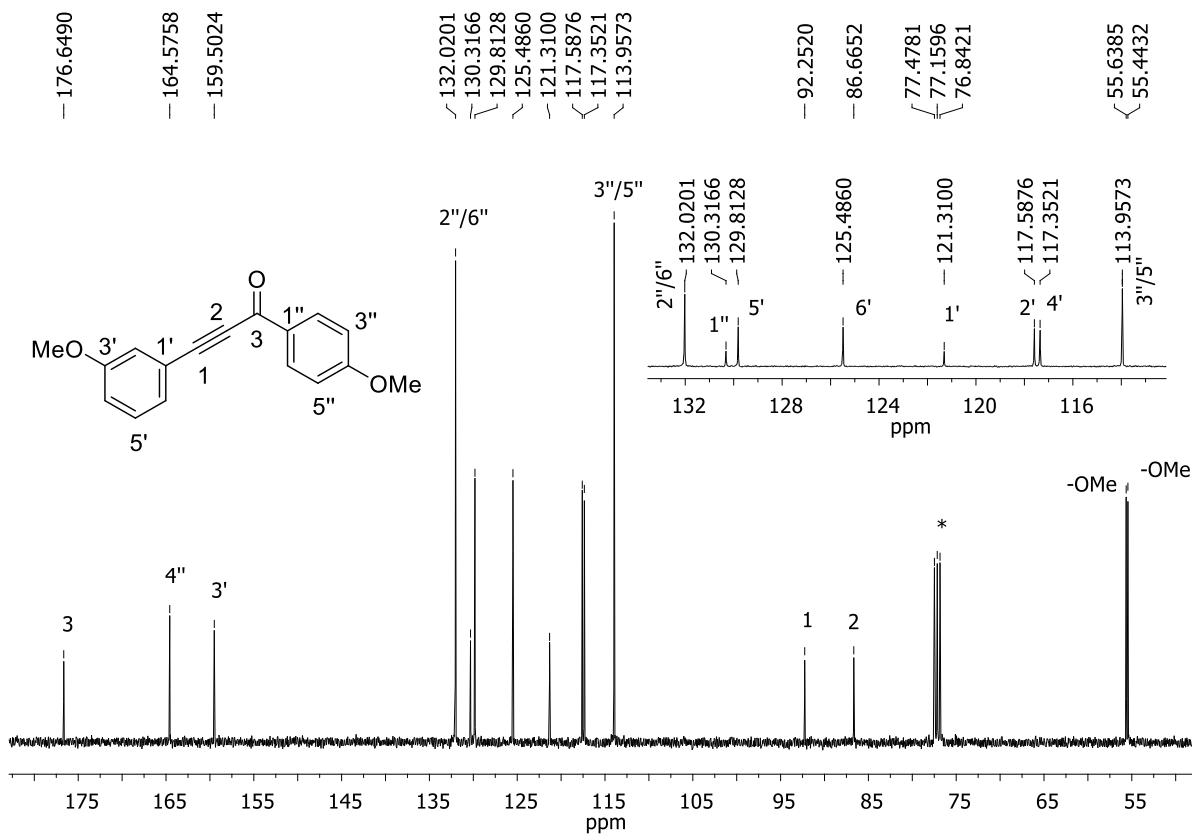


Figura A2.35 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **52g**.

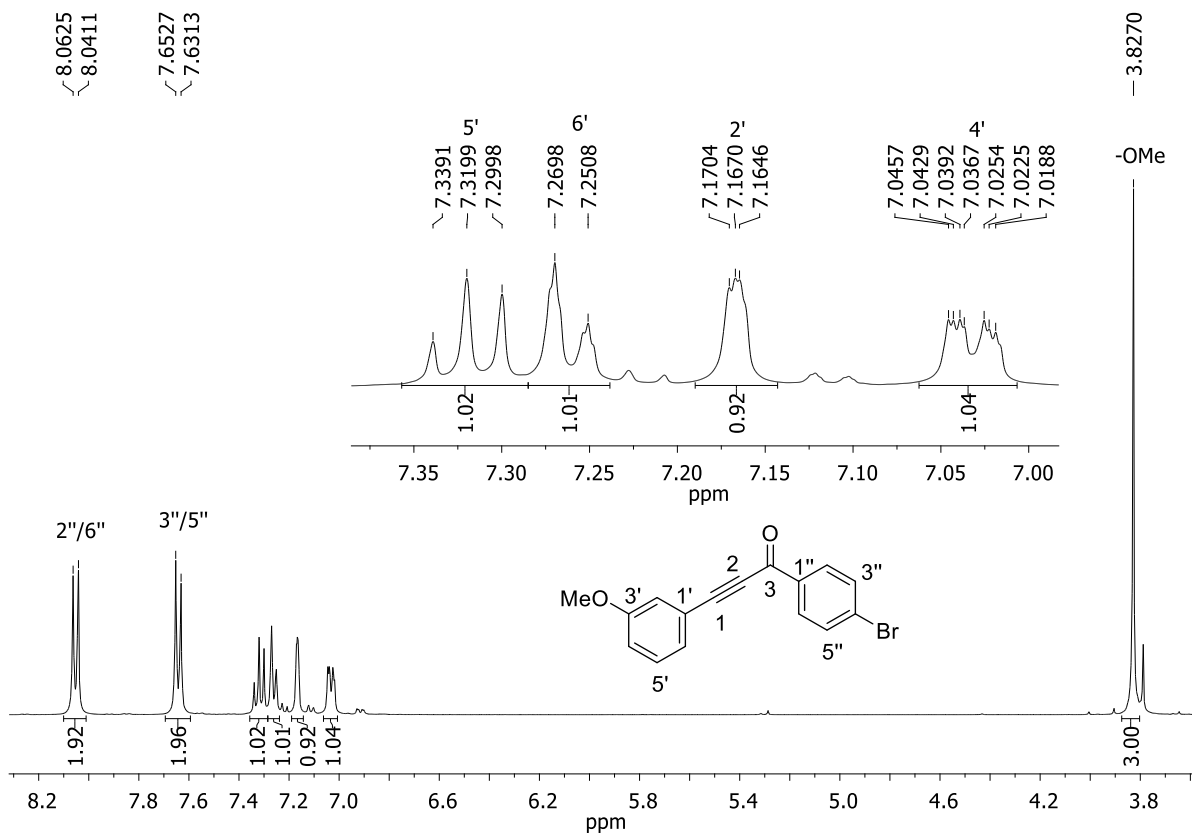


Figura A2.36 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **52h**.

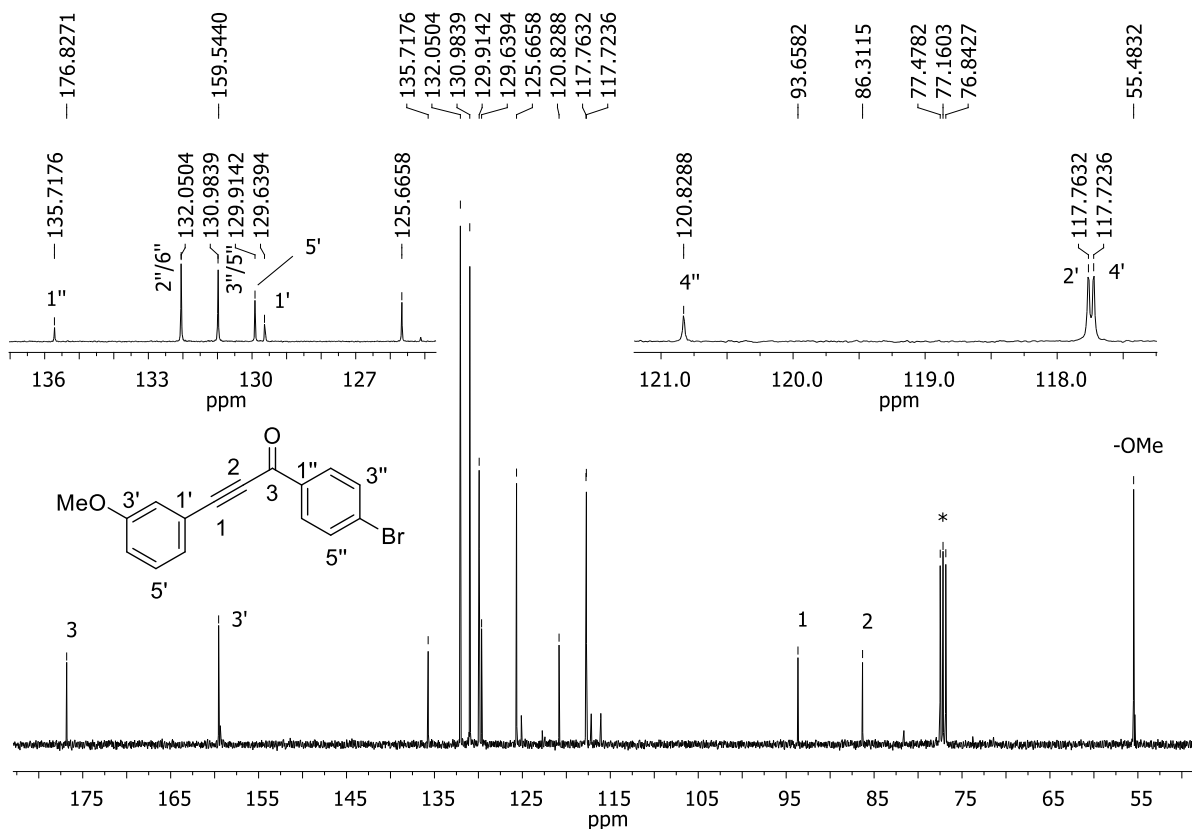


Figura A2.37 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto 52h.

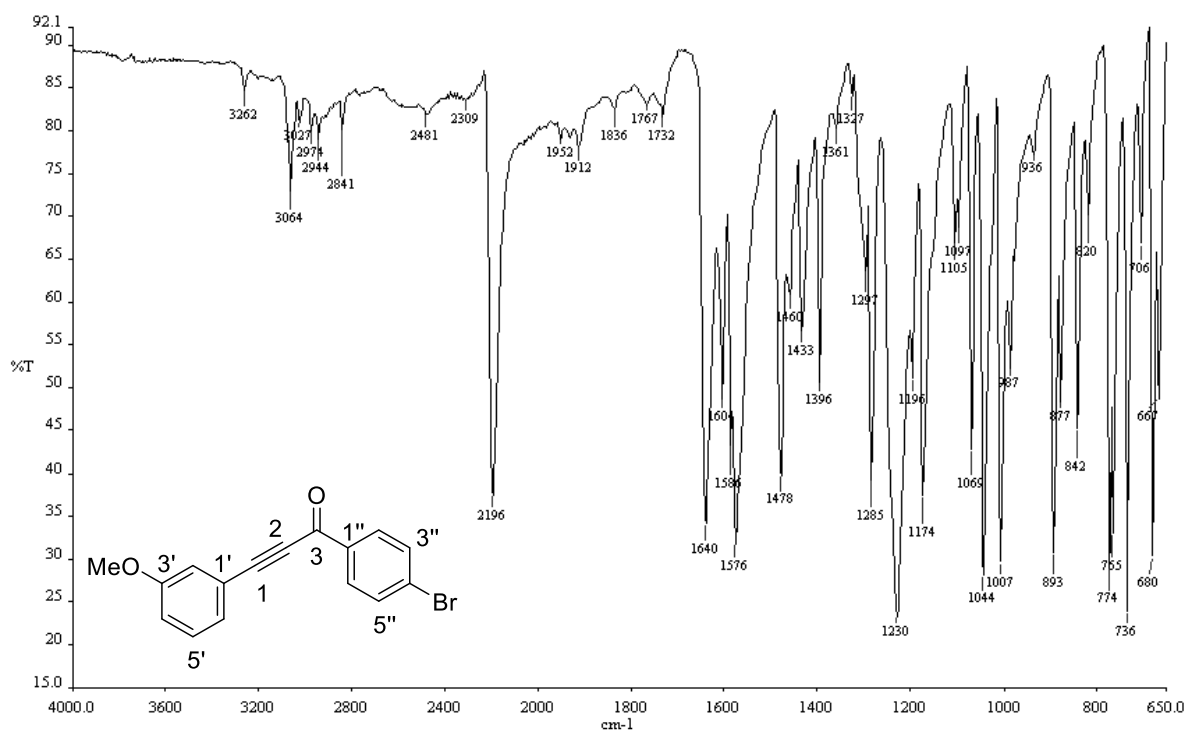


Figura A2.38 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto 52h.

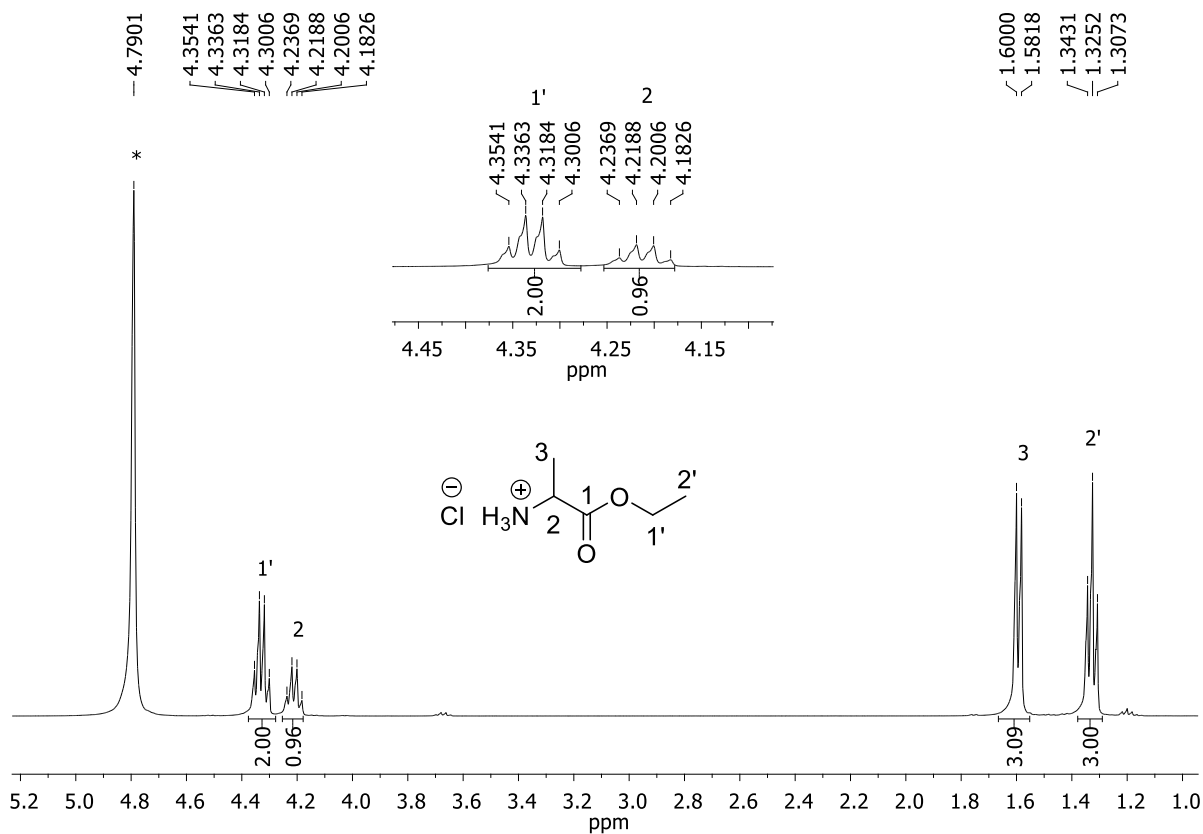


Figura A2.39 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) do composto **73a**.

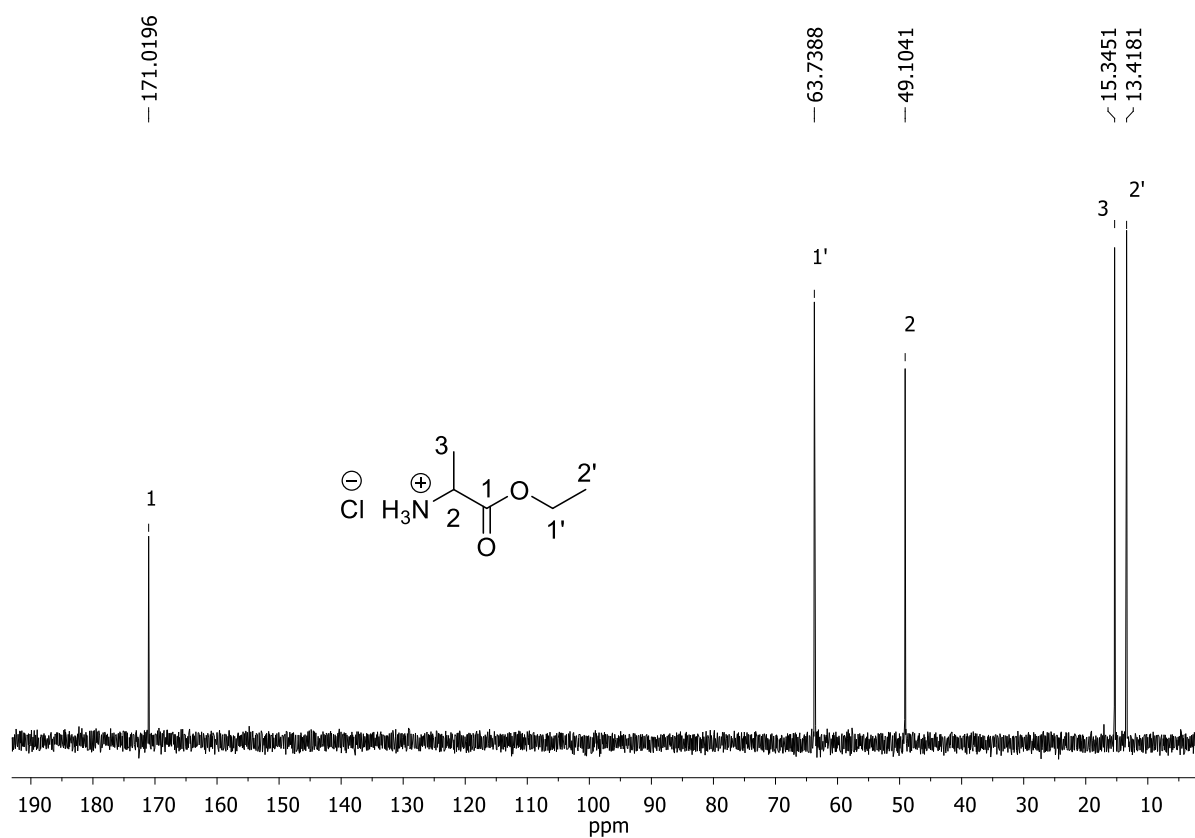


Figura A2.40 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) do composto **73a**.

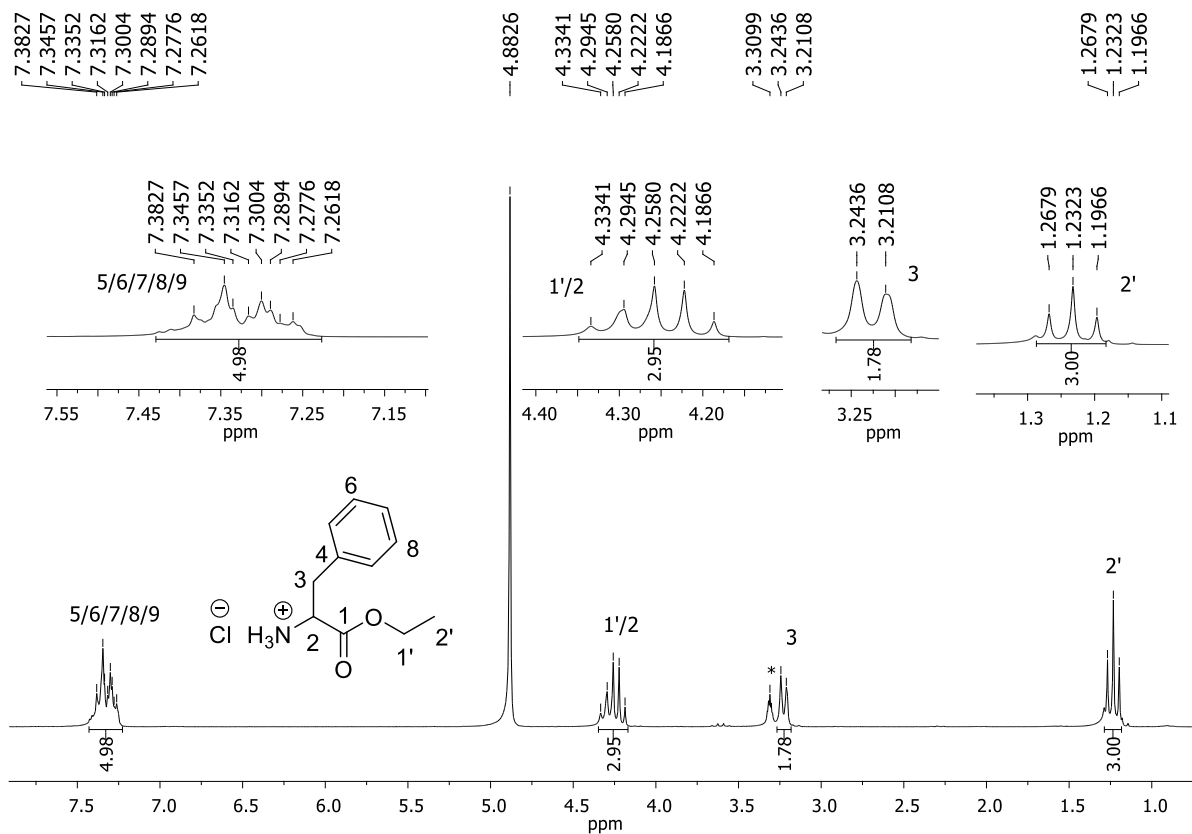


Figura A2.41 - Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CD₃OD) do composto **73b**.

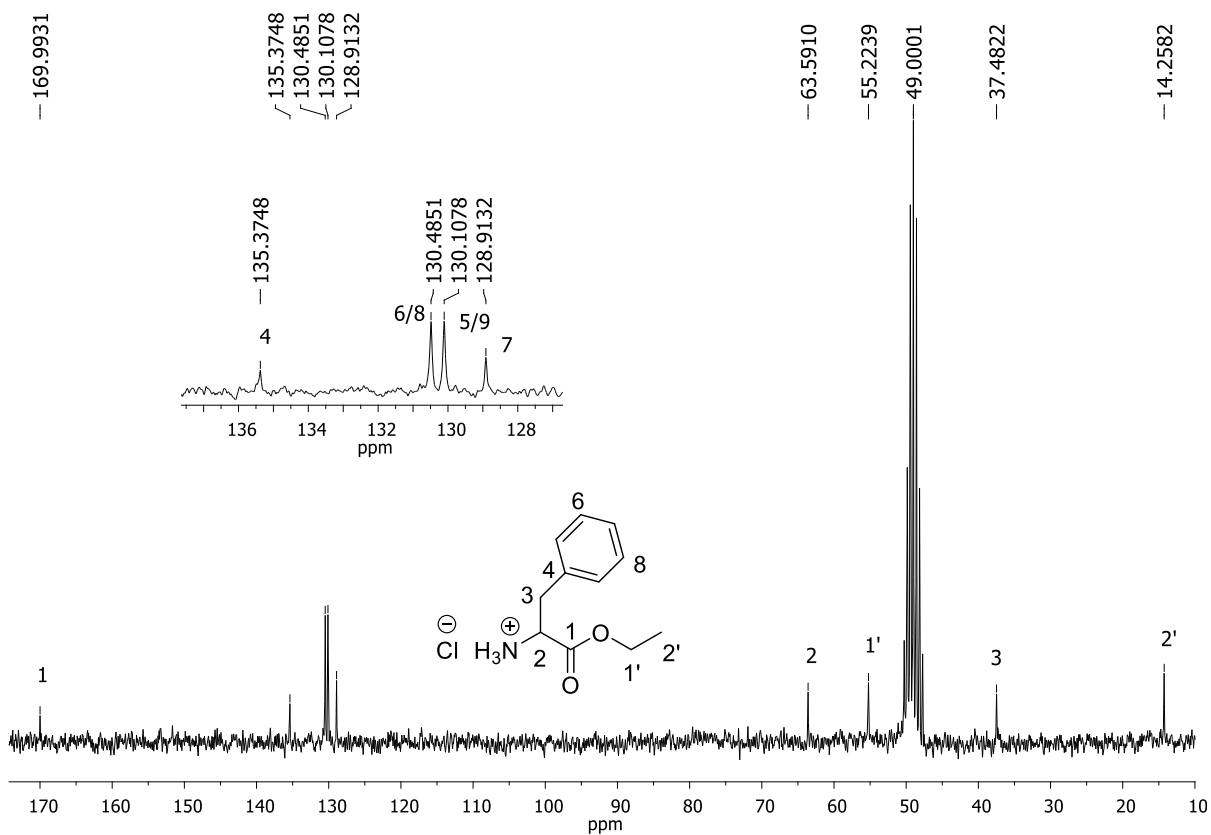


Figura A2.42 - Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CD₃OD) do composto **73b**.

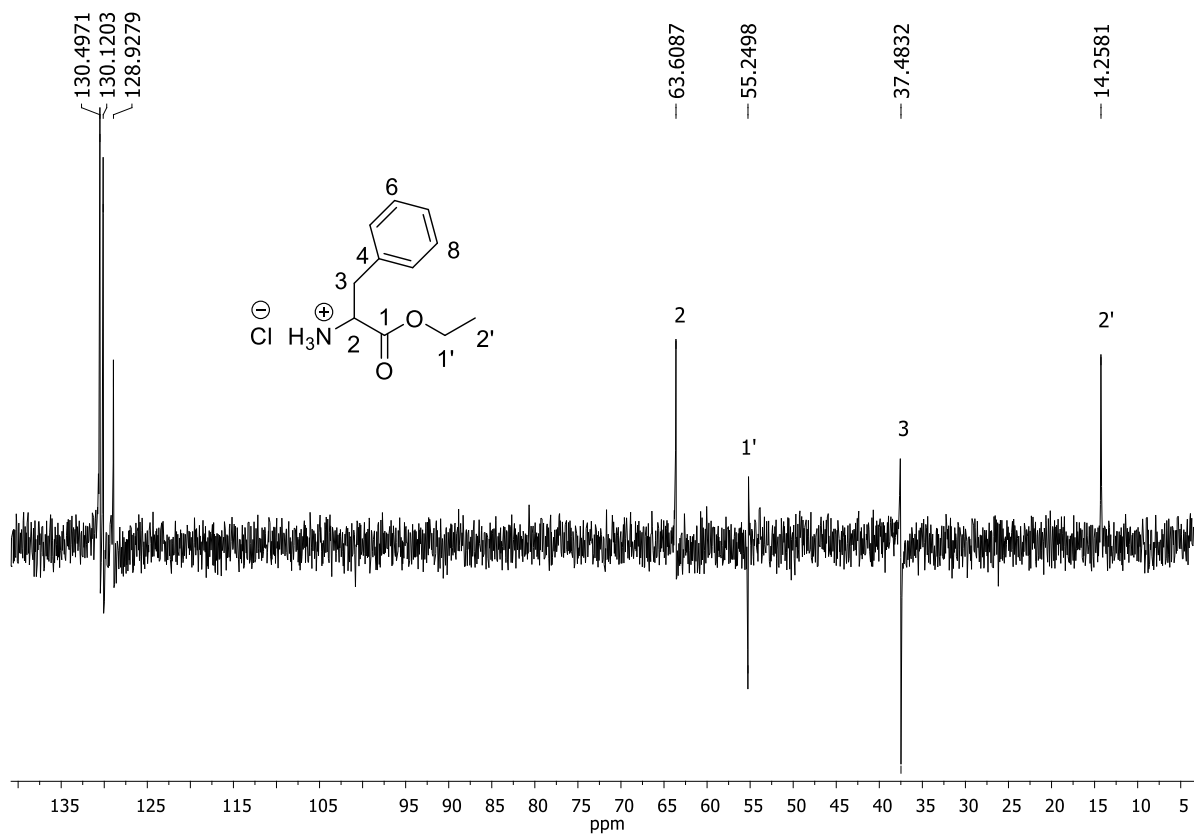


Figura A2.43 - Espectro DEPT 135 (200 MHz, CD₃OD) do composto **73b**.

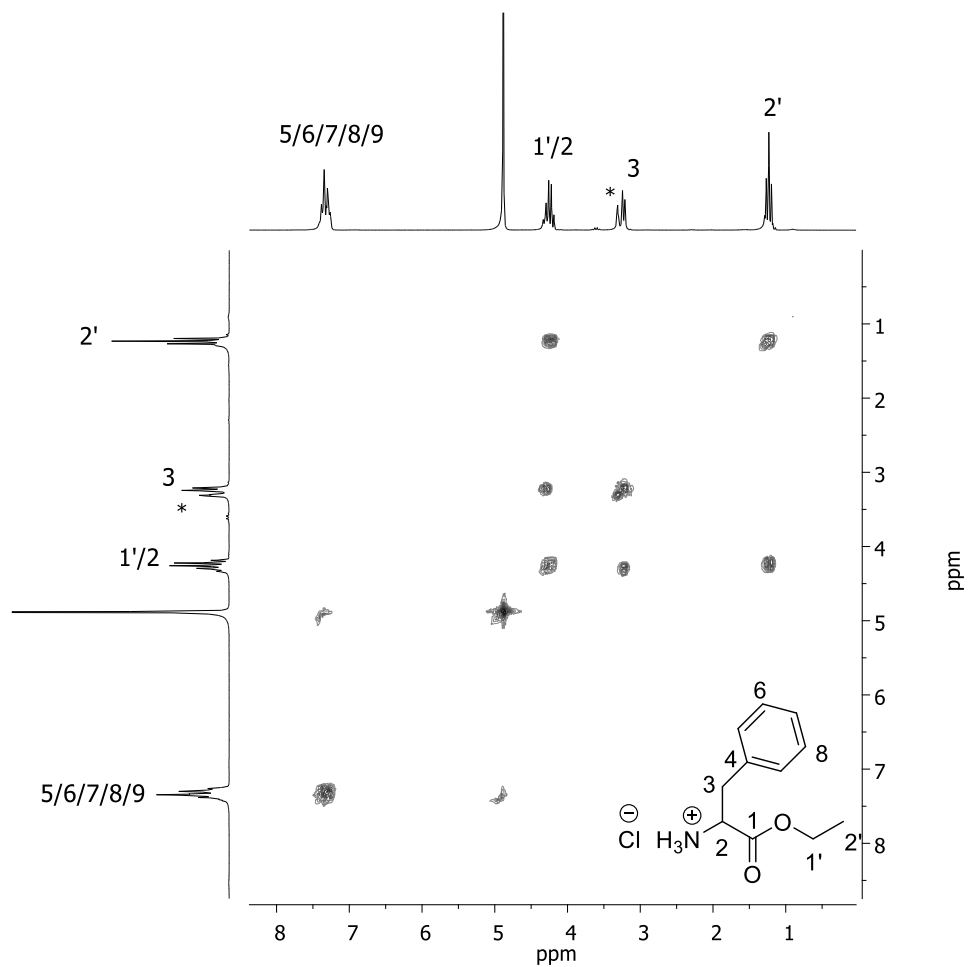


Figura A2.44 - Mapa de contornos COSY (200 MHz, CD₃OD) do composto **73b**.

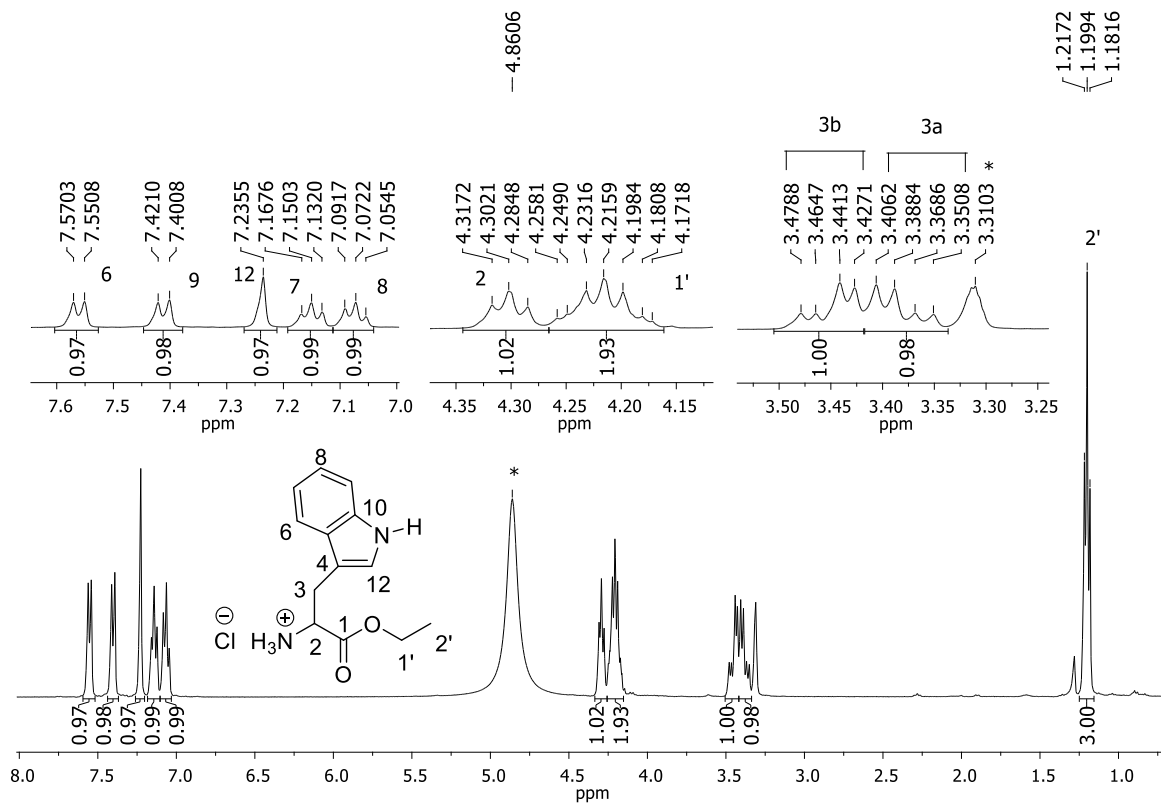


Figura A2.45 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) do composto **73c**.

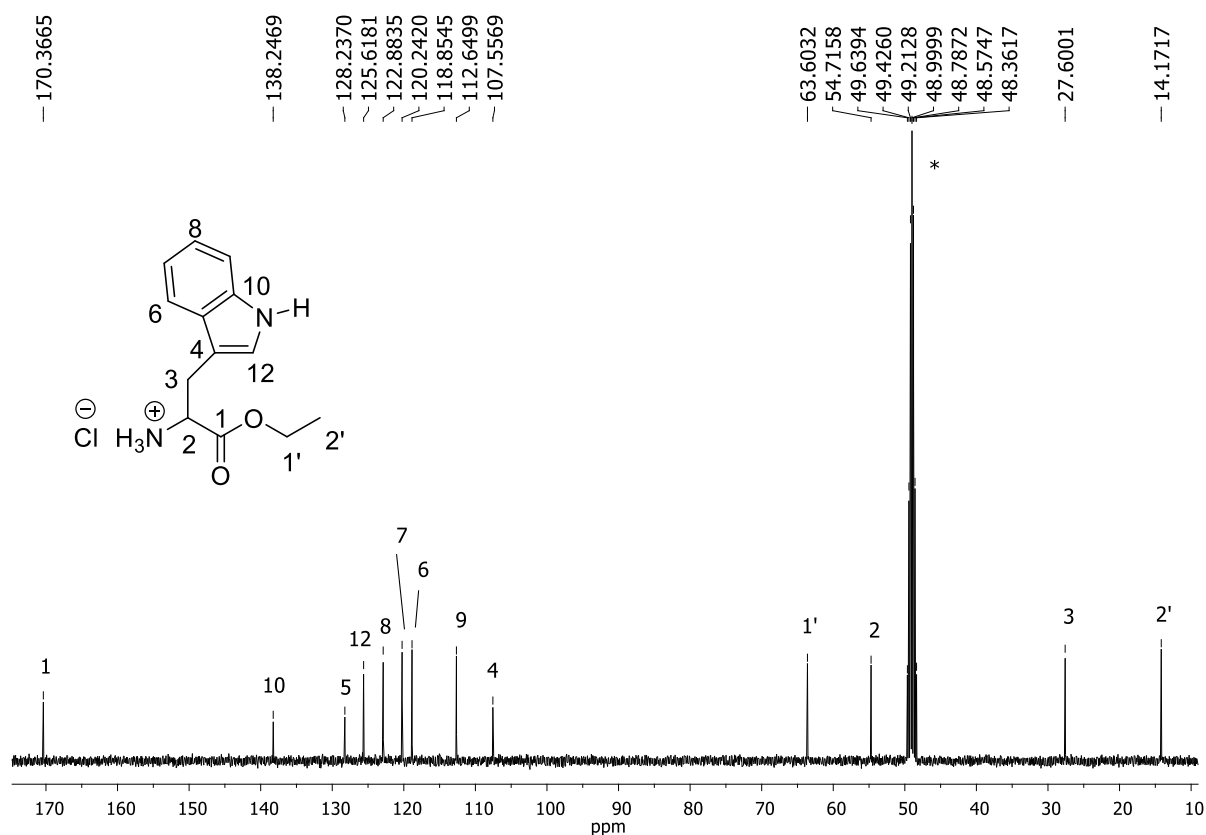


Figura A2.46 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) do composto **73c**.

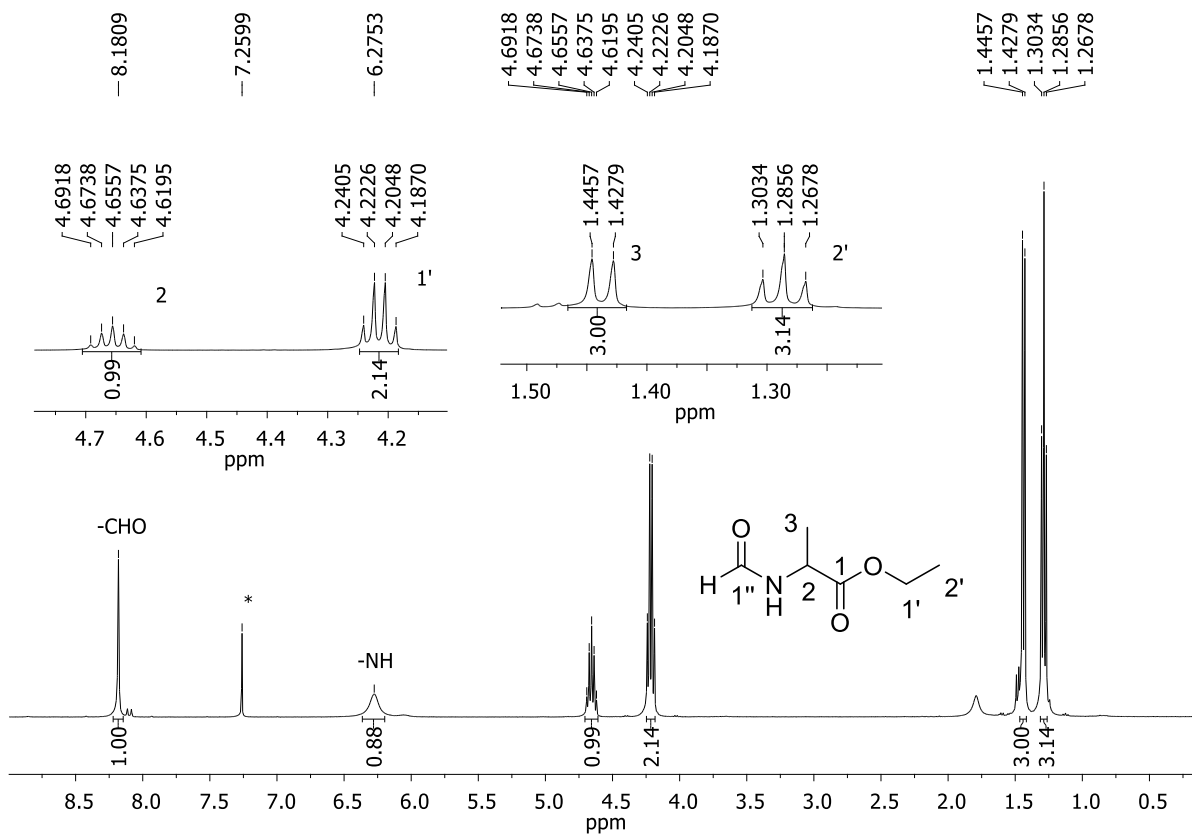


Figura A2.47 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **74a**.

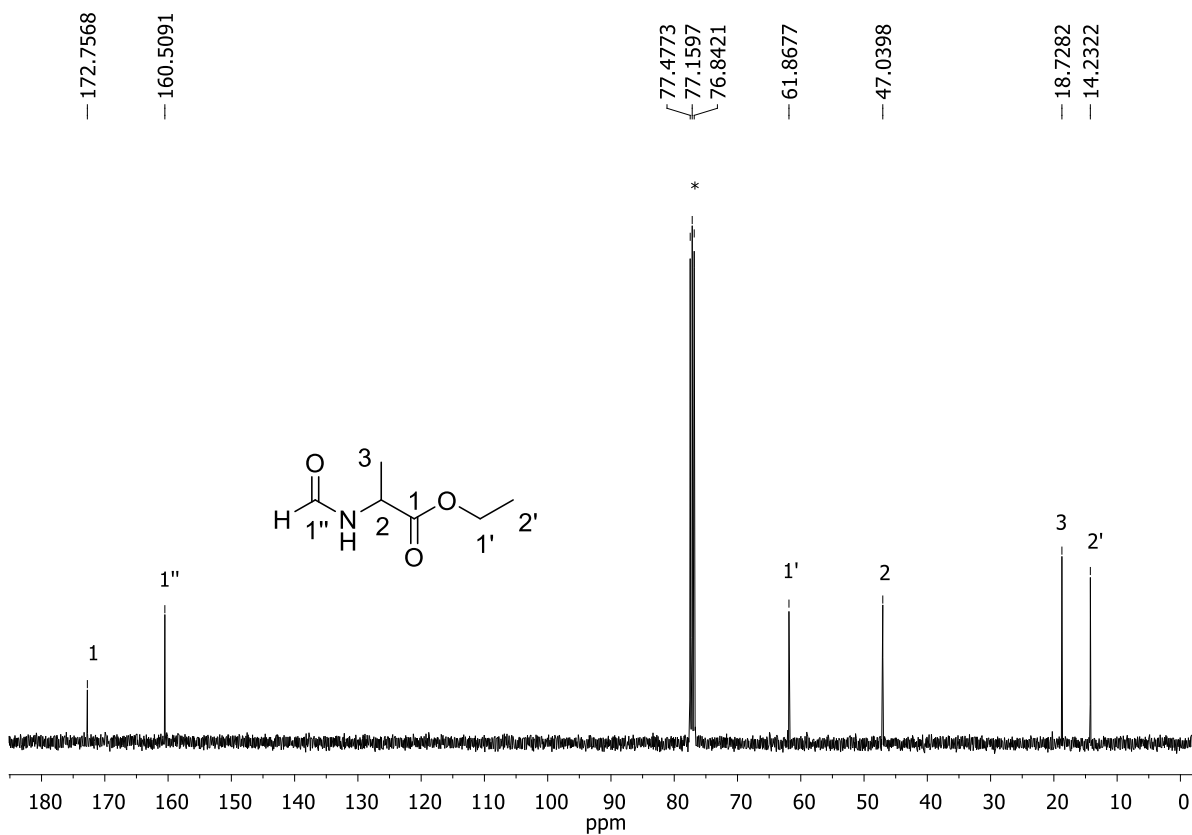


Figura A2.48 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **74a**.

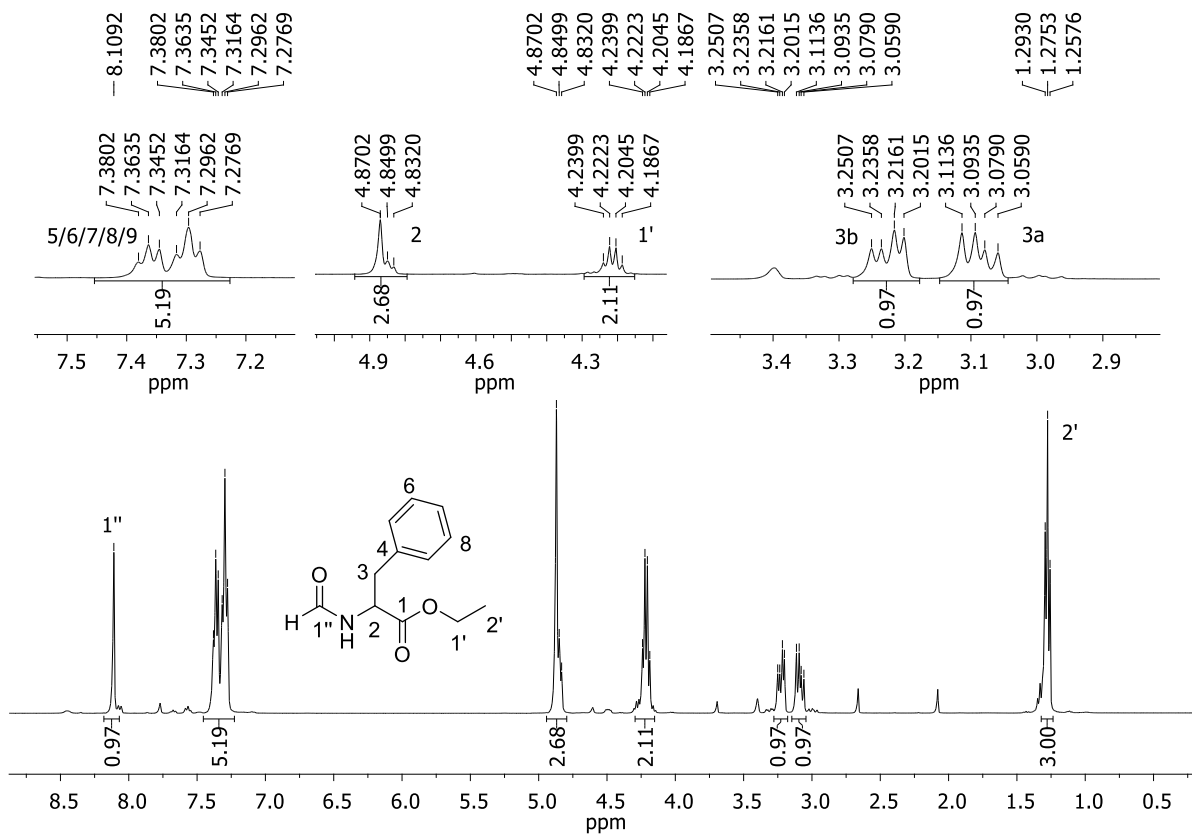


Figura A2.49 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto **74b**.

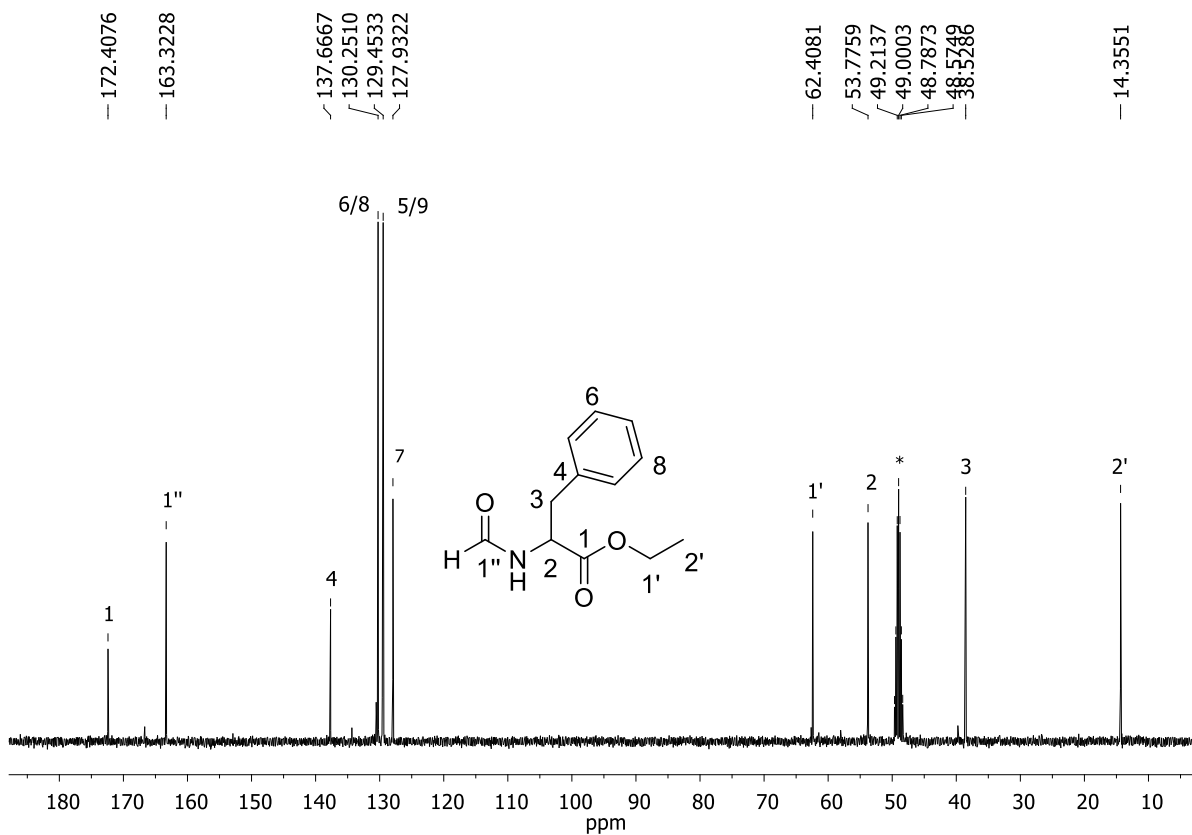


Figura A2.50 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto **74b**.

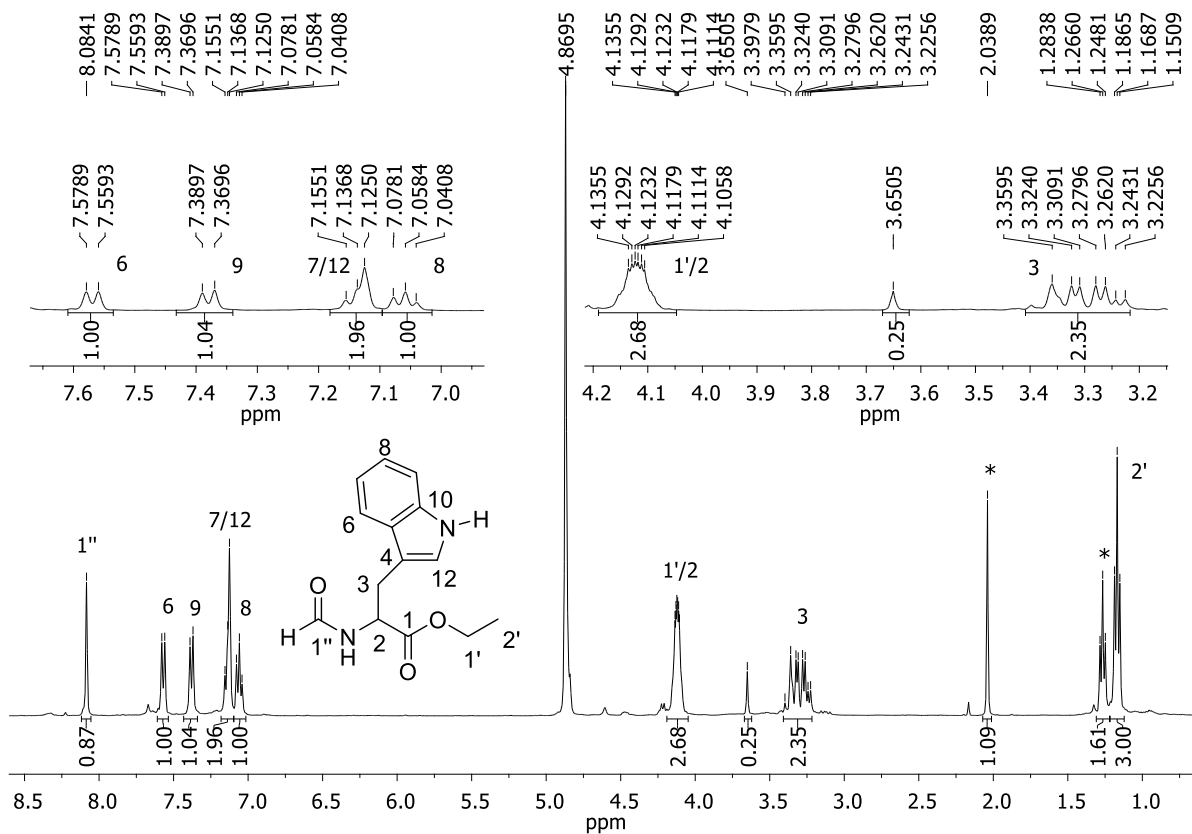


Figura A2.51 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) do composto 74c.

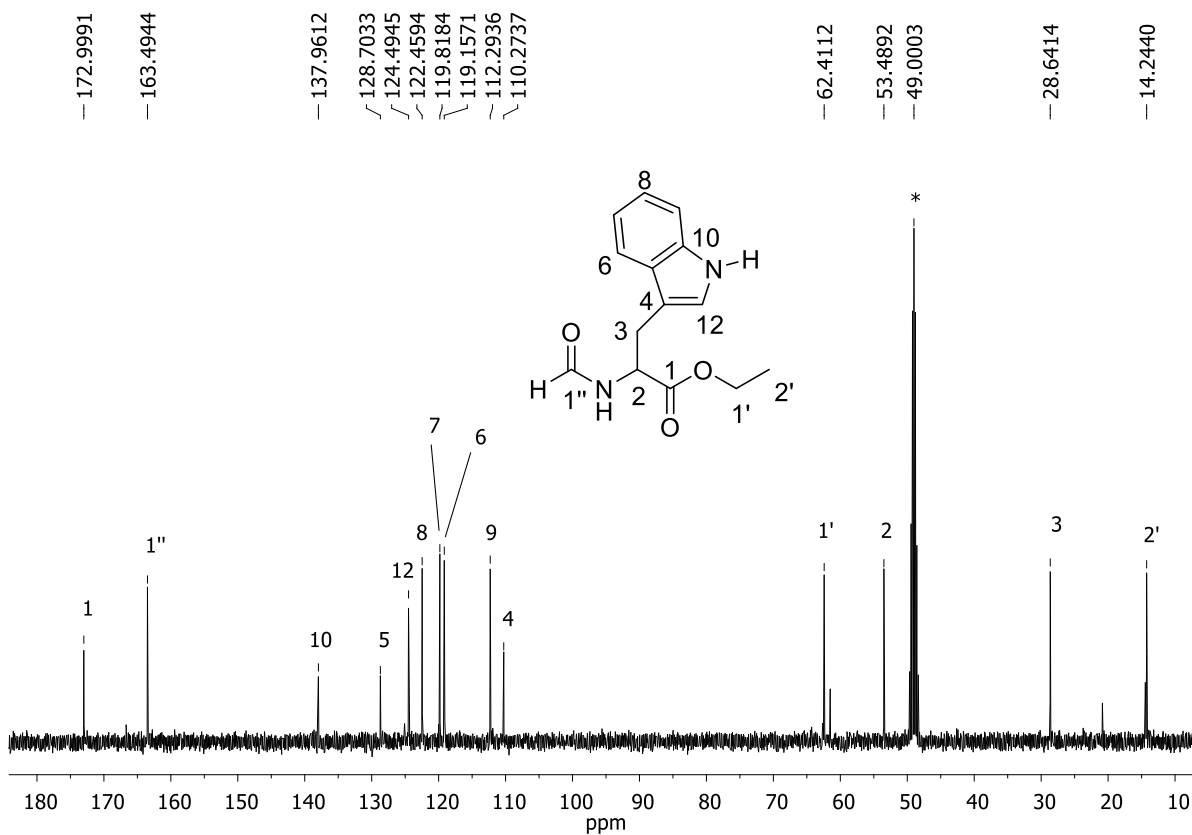


Figura A2.52 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) do composto 74c.

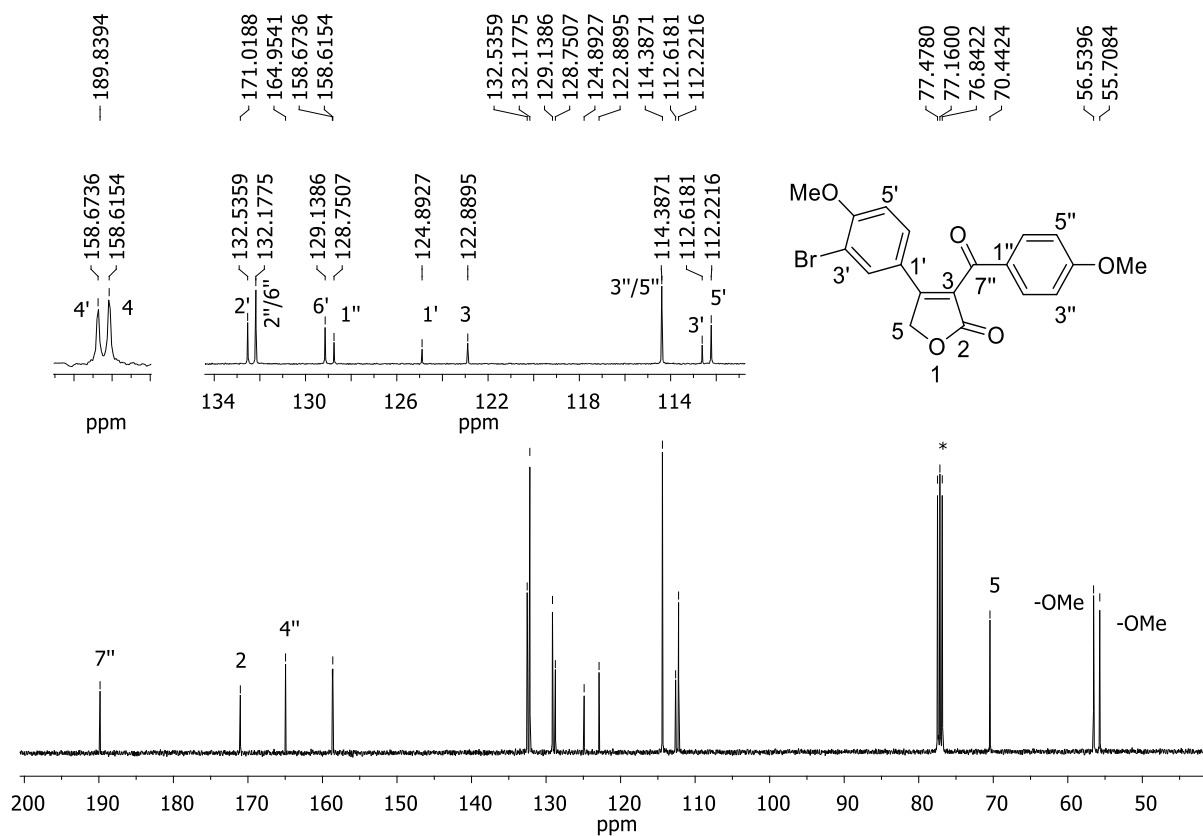


Figura A2.55 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **53b**.

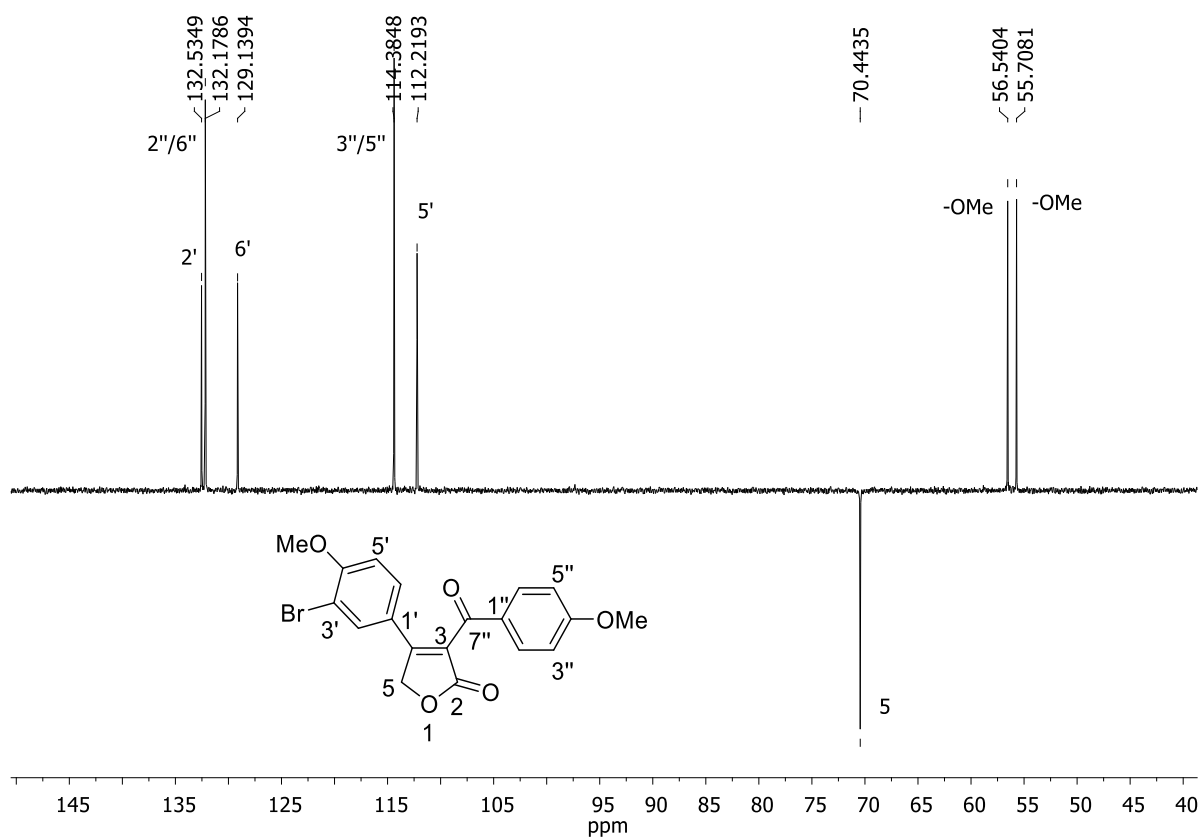


Figura A2.56 - Espectro DEPT 135 (400 MHz, CDCl_3) do composto **53b**.

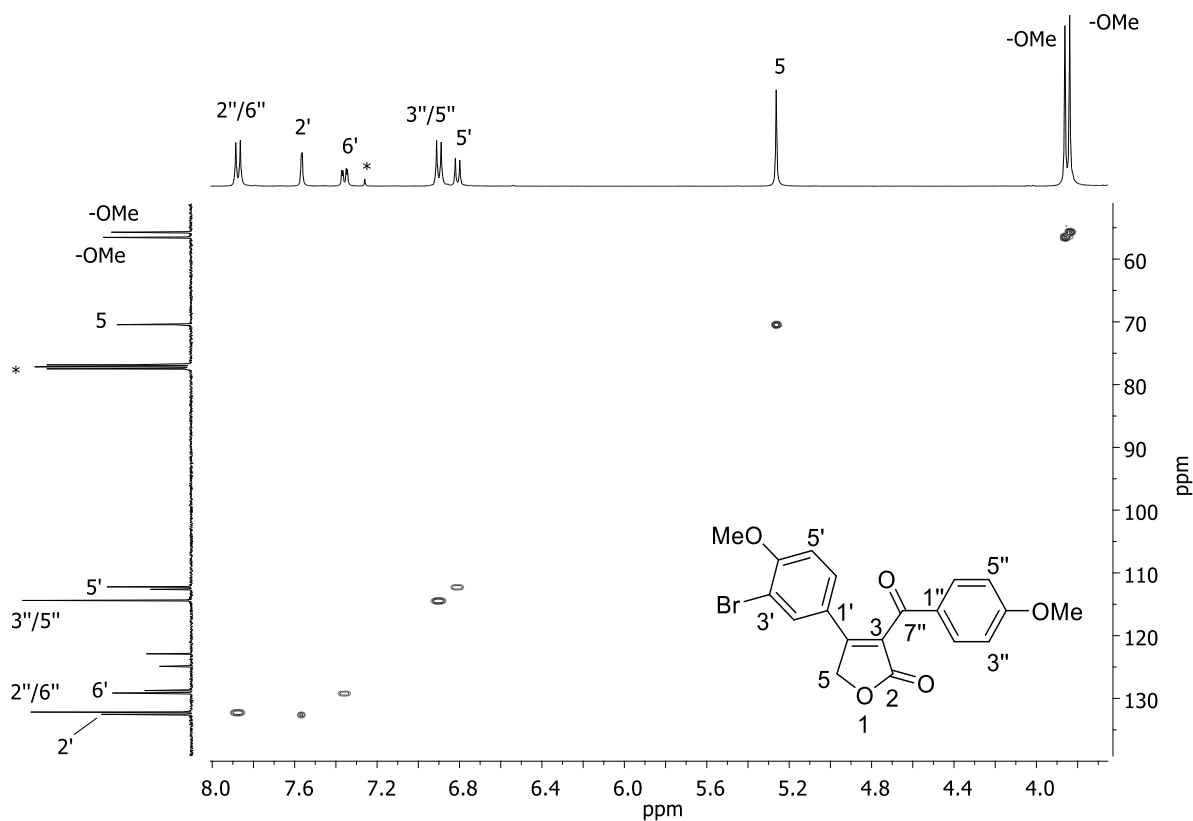


Figura A2.57 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) do composto **53b**.

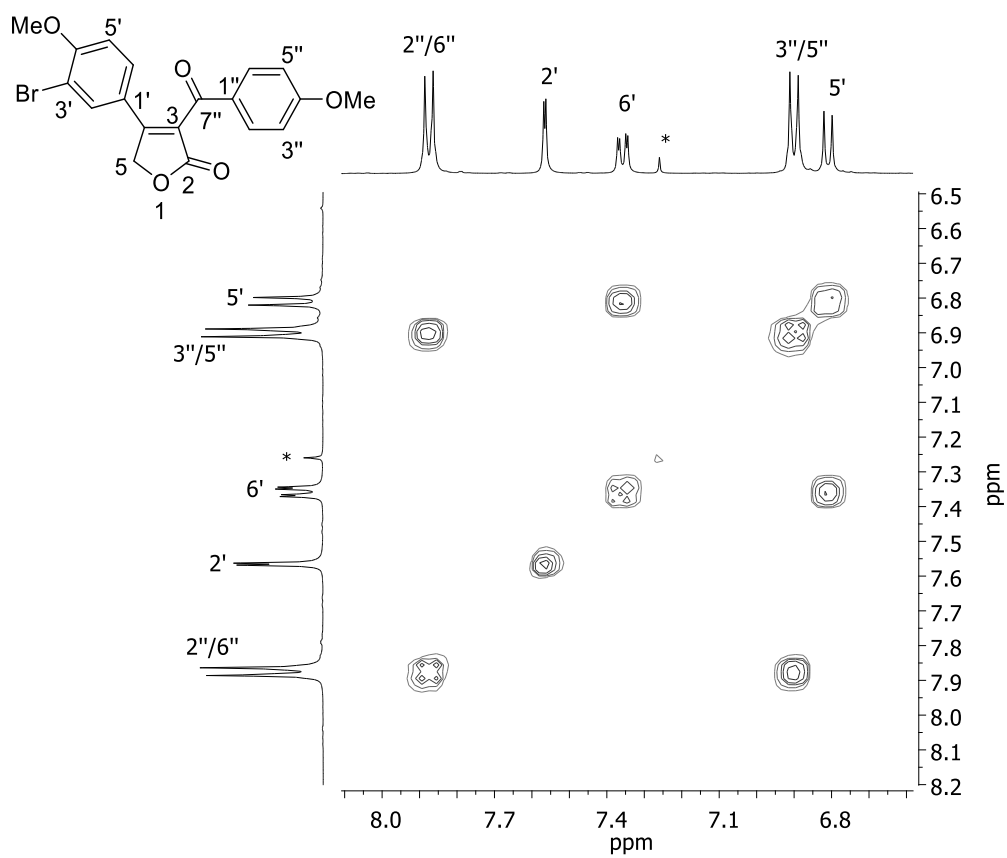


Figura A2.58 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **53b**.

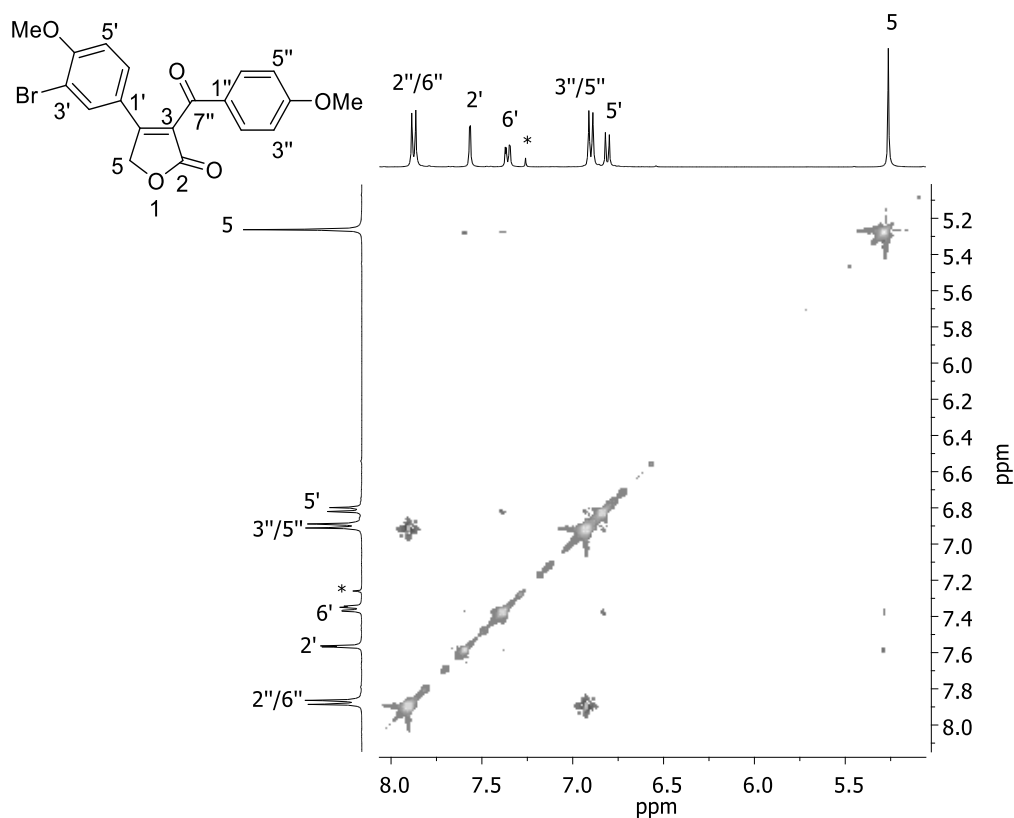


Figura A2.59 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) do composto **53b**.

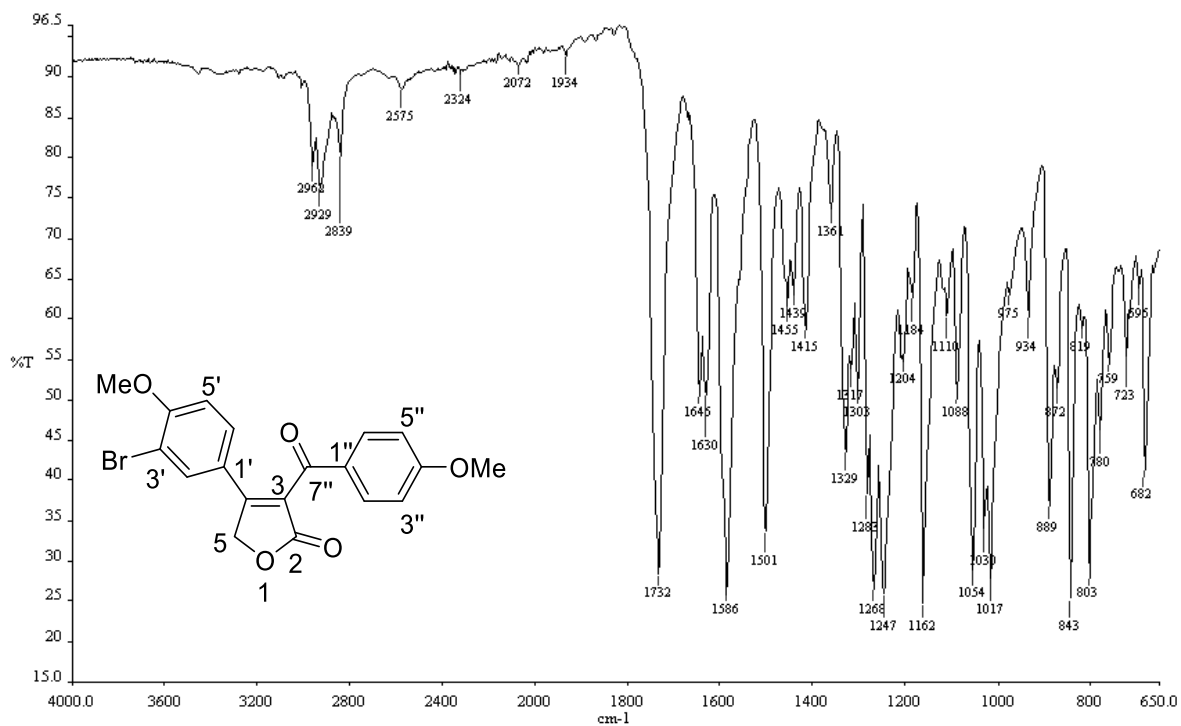


Figura A2.60 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **53b**.

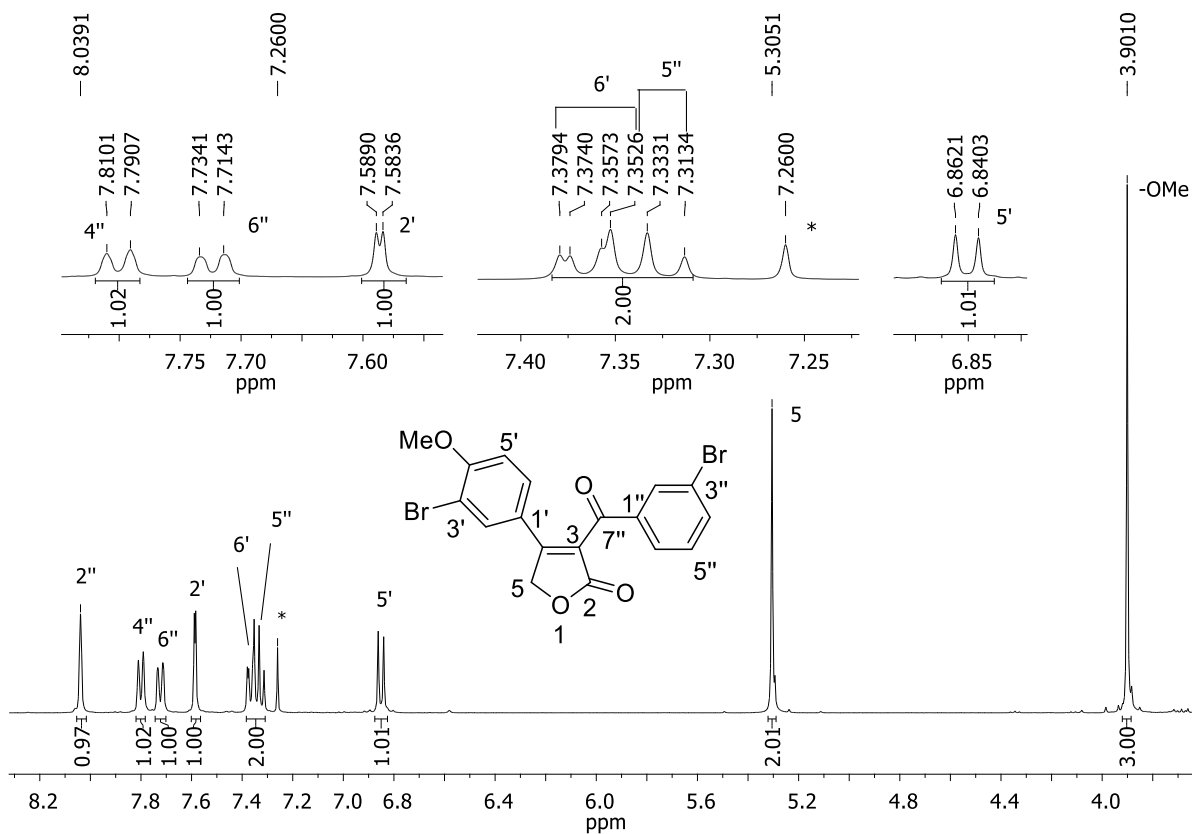


Figura A2.61 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **53c**.

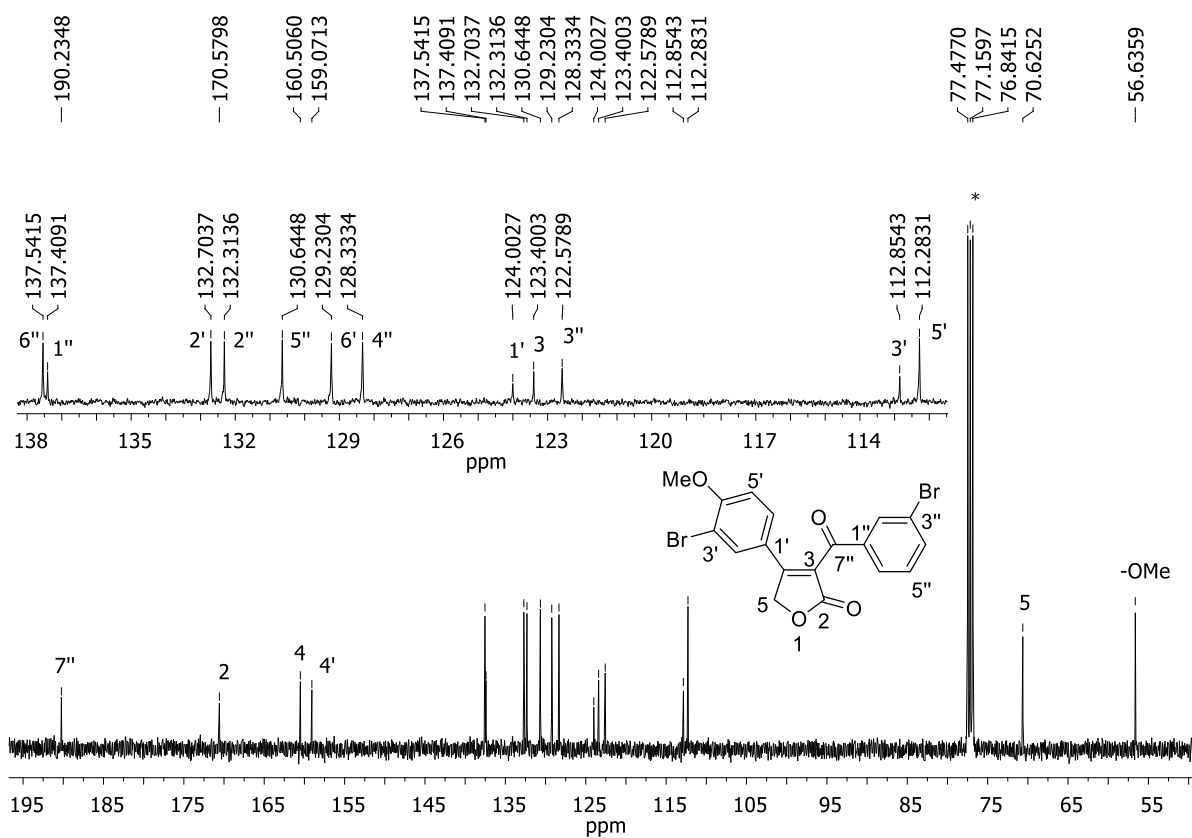


Figura A2.62 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **53c**.

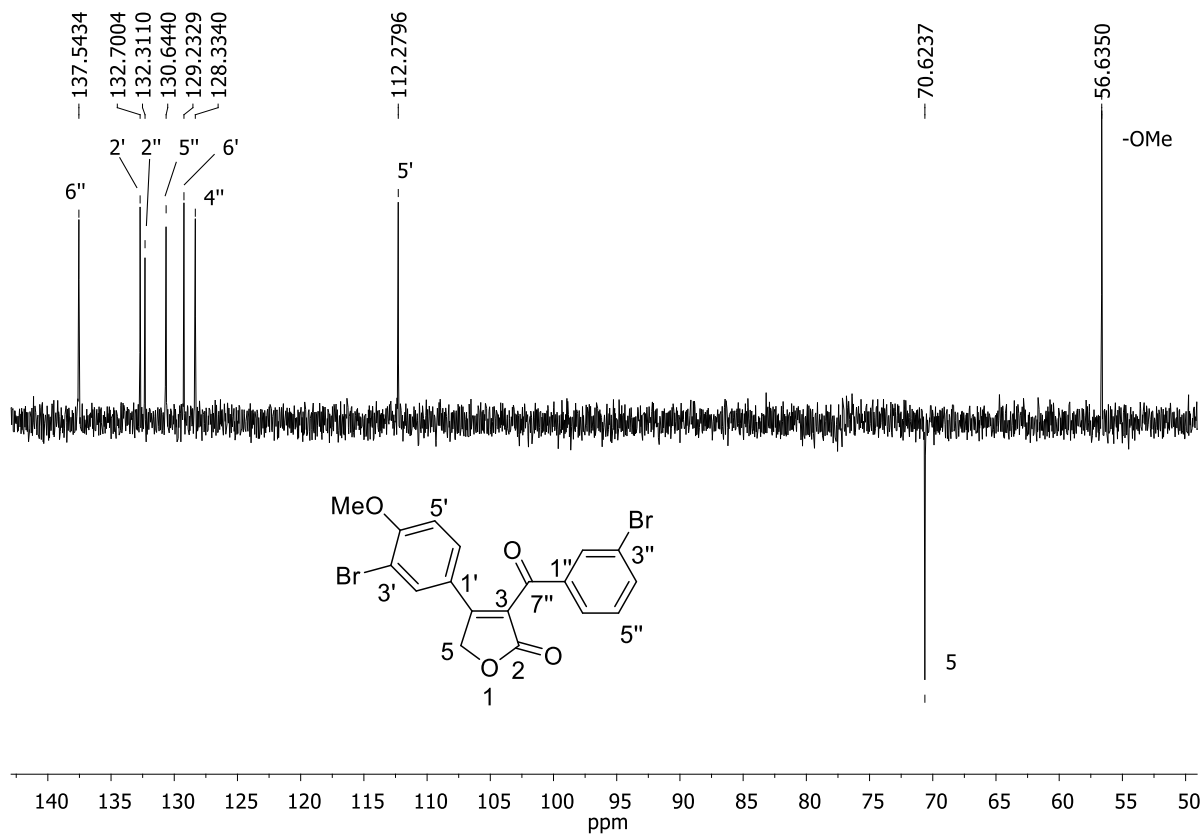


Figura A2.63 - Espectro DEPT 135 (400 MHz, CDCl_3) do composto **53c**.

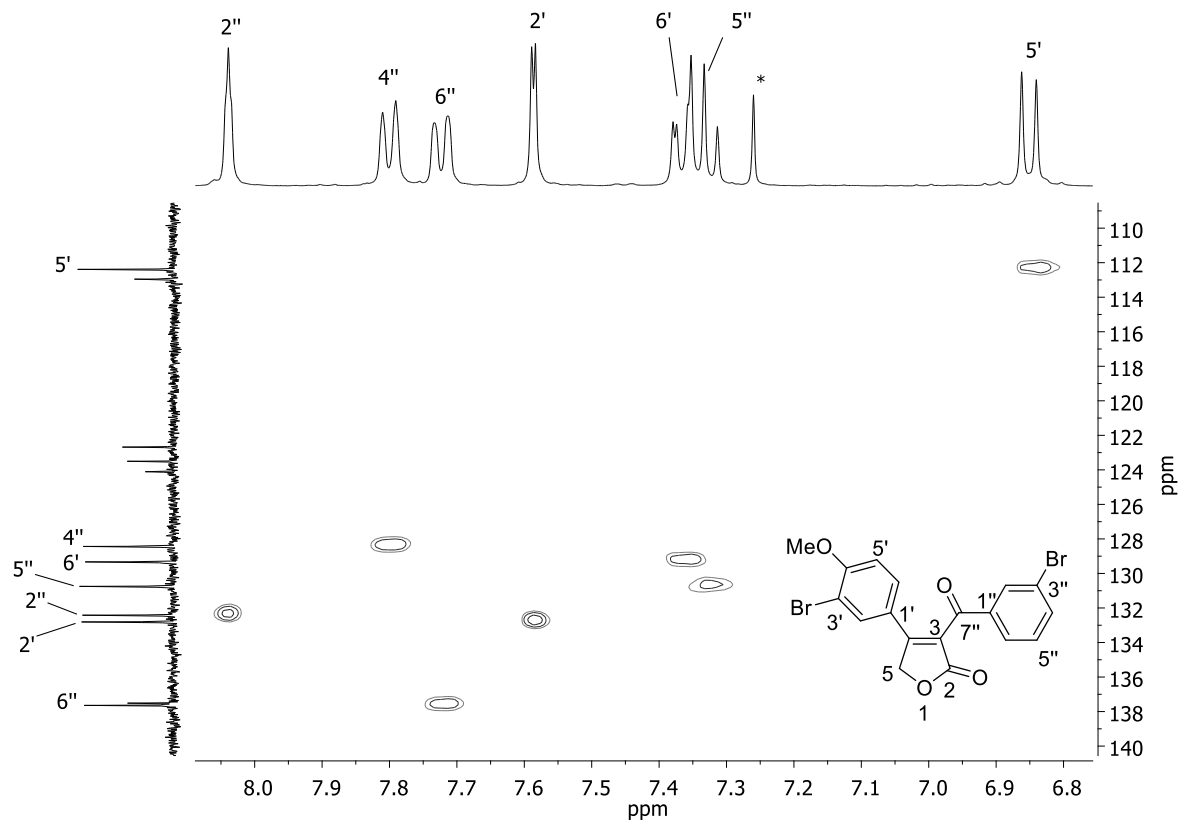


Figura A2.64 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) do composto **53c**.

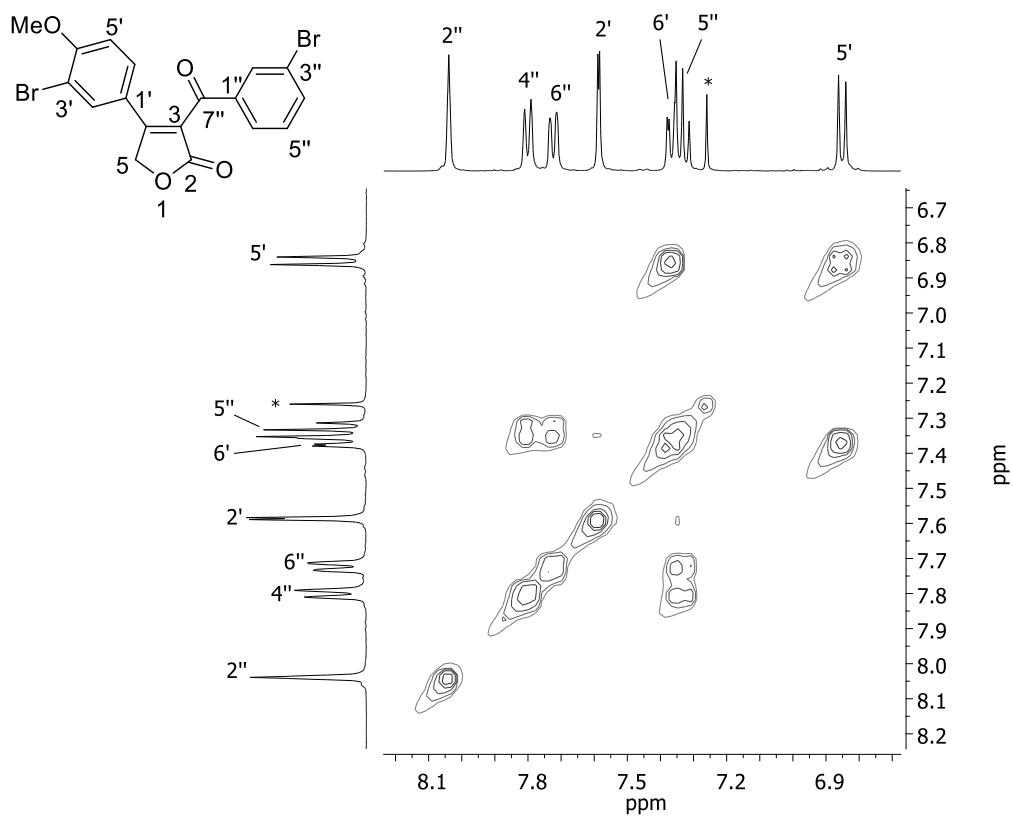


Figura A2.65 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **53c**.

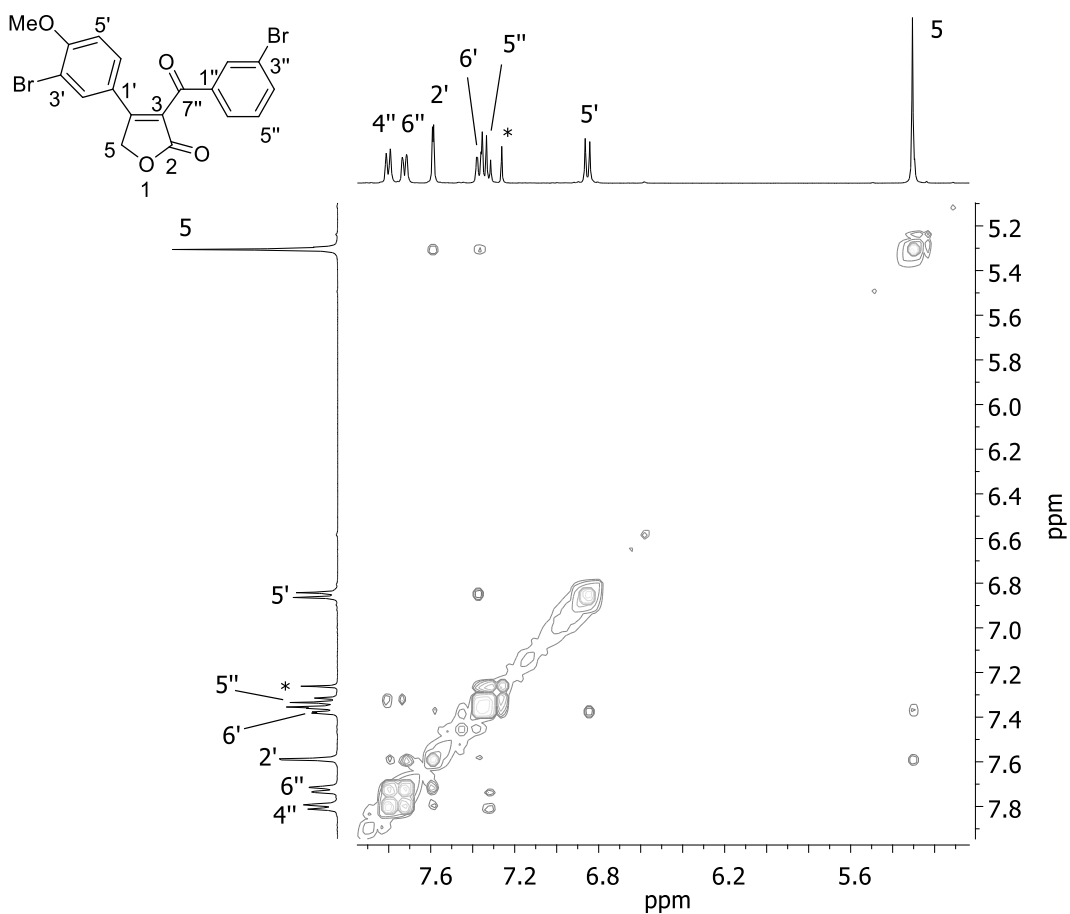


Figura A2.66 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl₃) do composto **53c**.

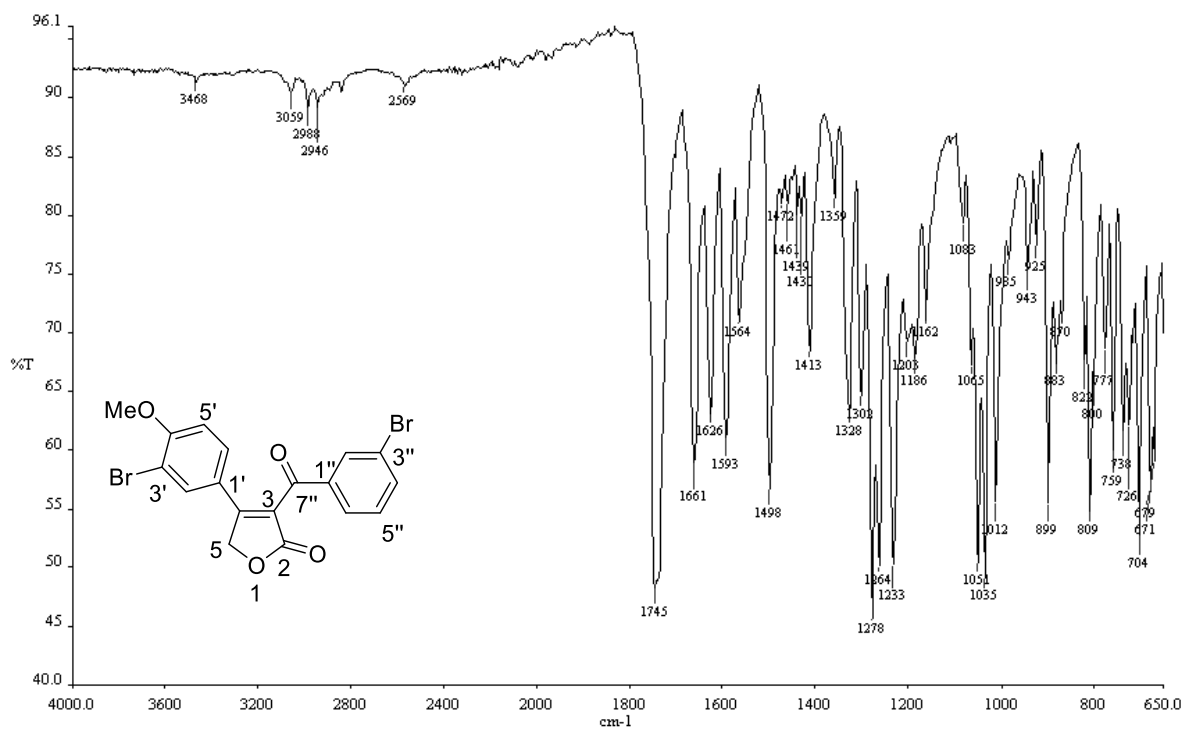


Figura A2.67 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **53c**.

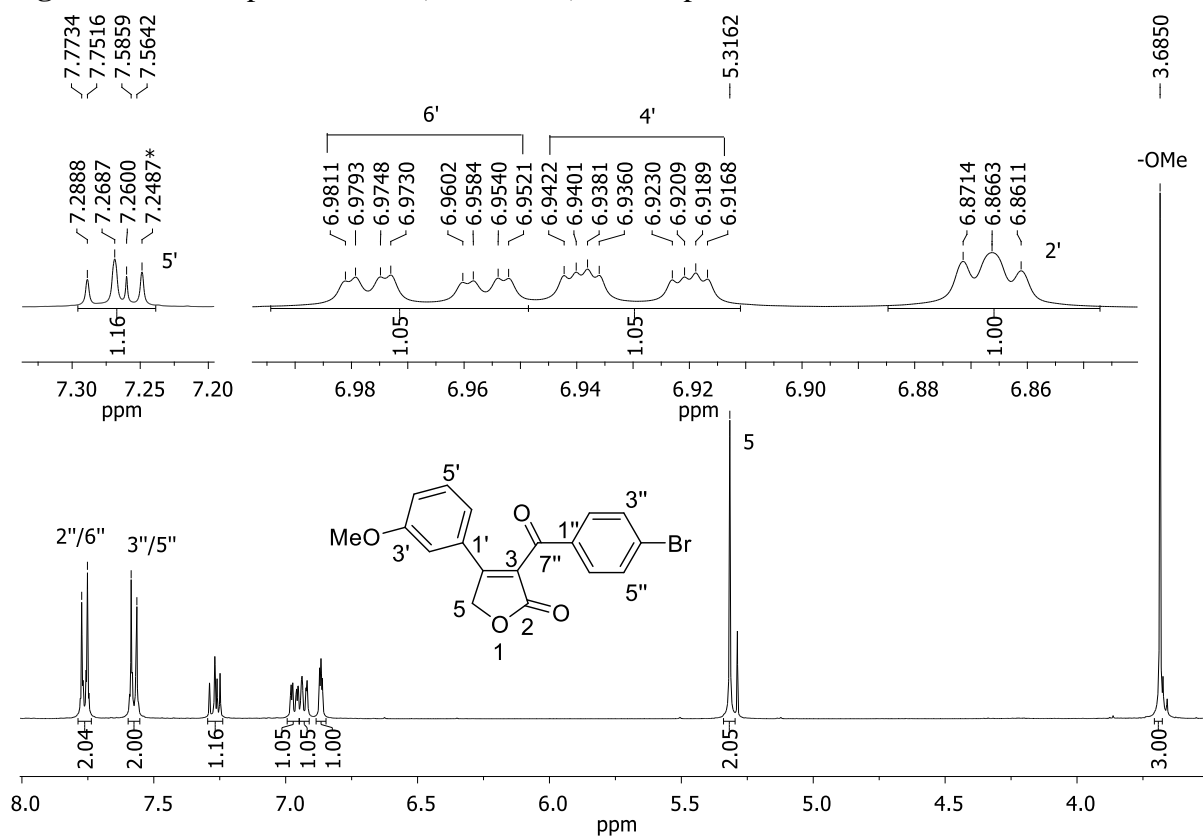


Figura A2.68 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **53d**.

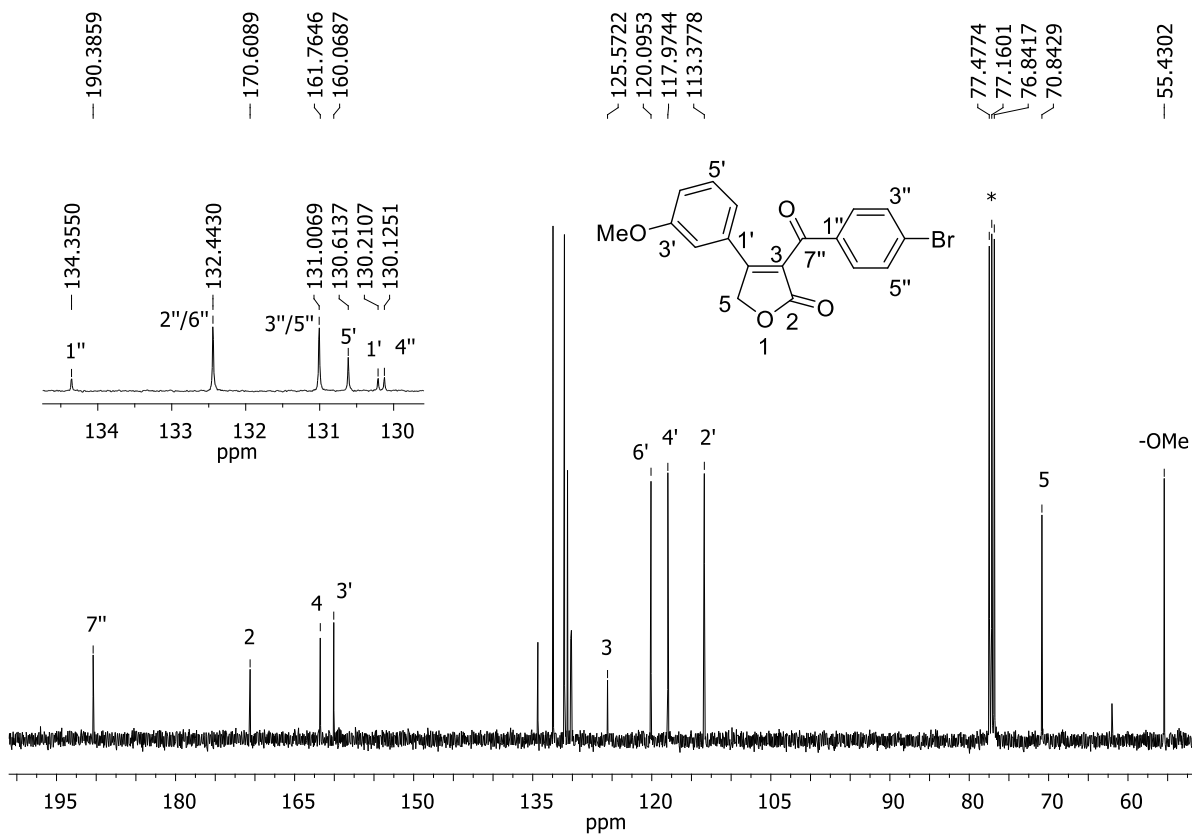


Figura A2.69 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **53d**.

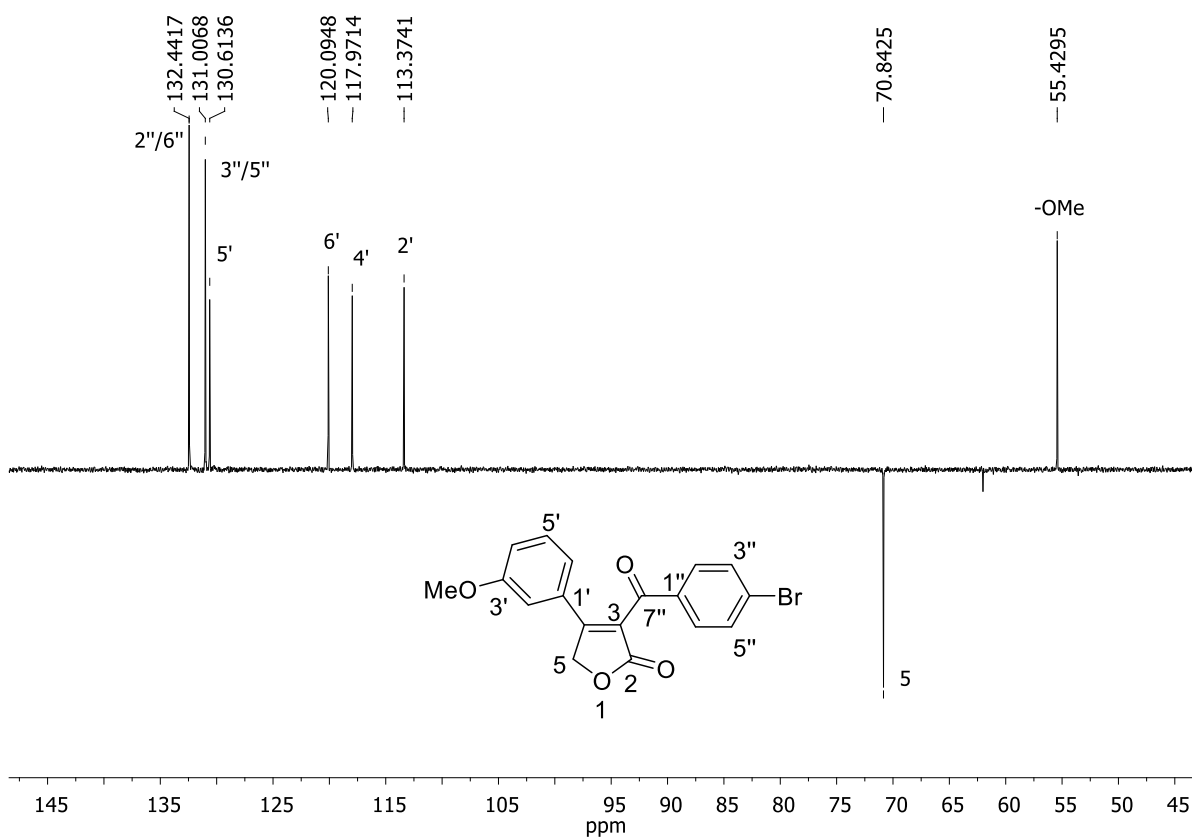
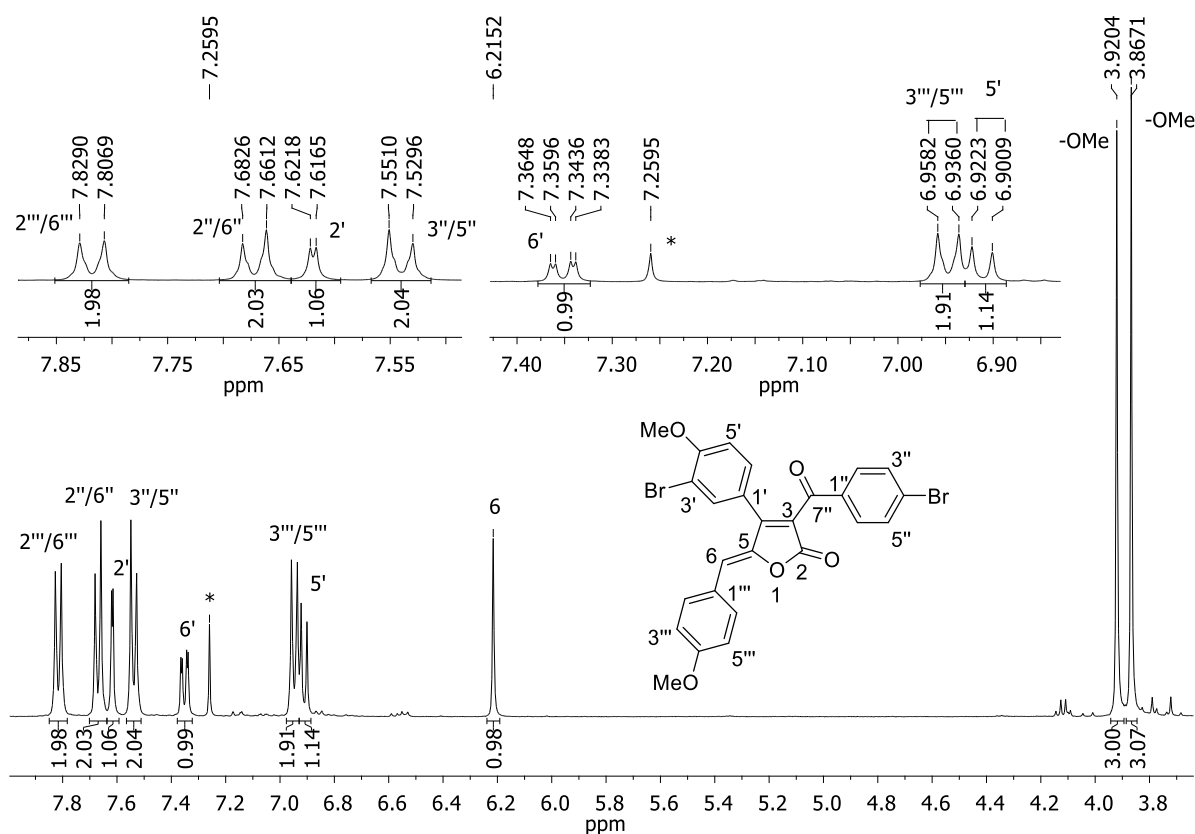
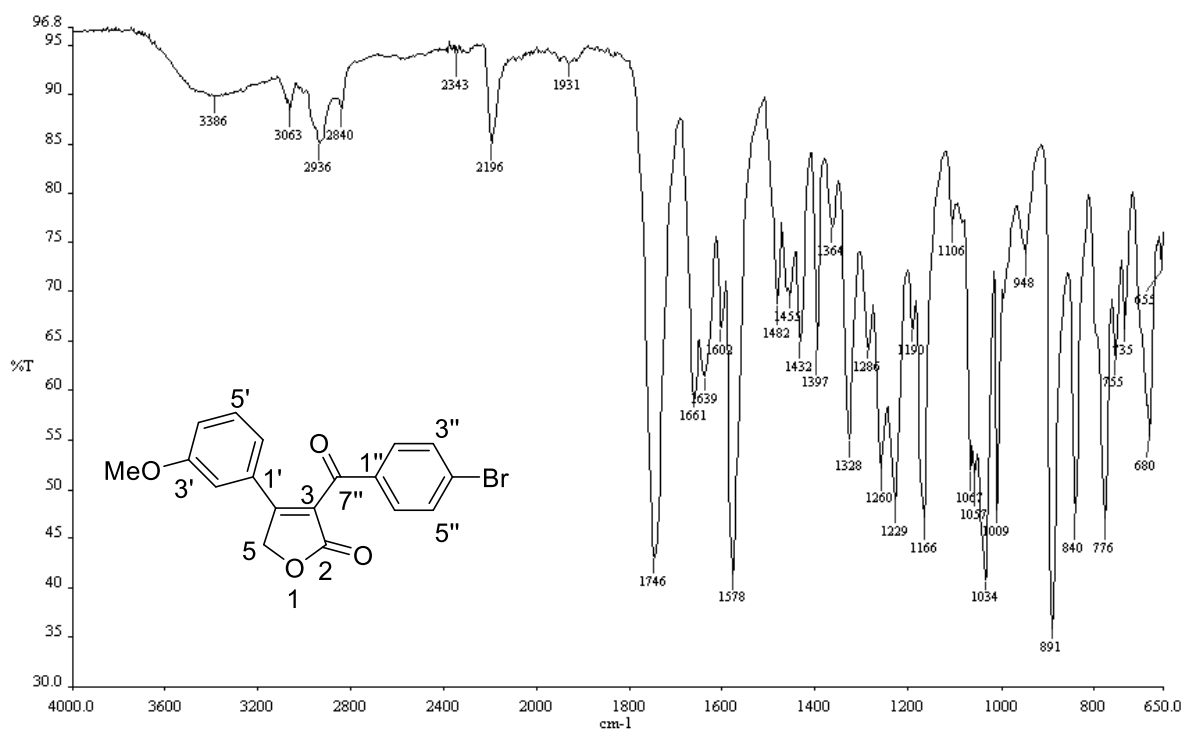


Figura A2.70 - Espectro DEPT 135 (400 MHz, CDCl_3) do composto **53d**.



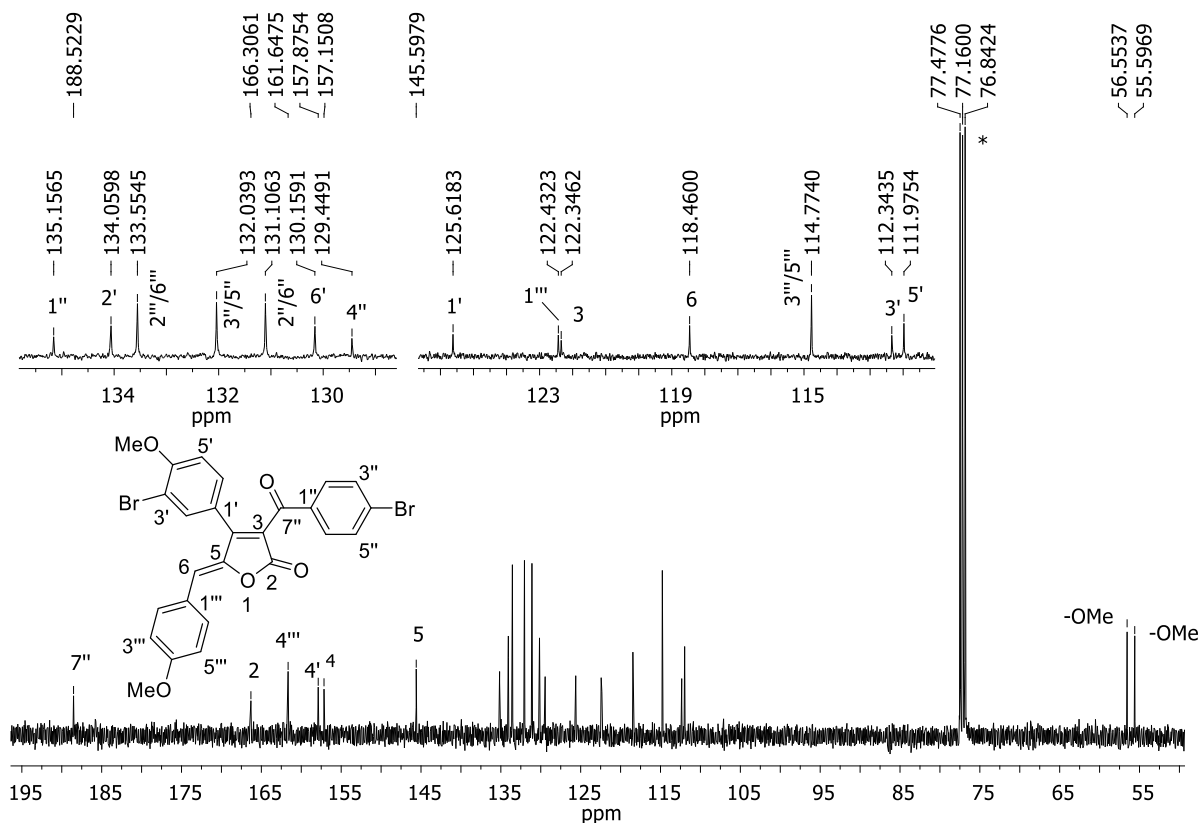


Figura A2.73 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54b**.

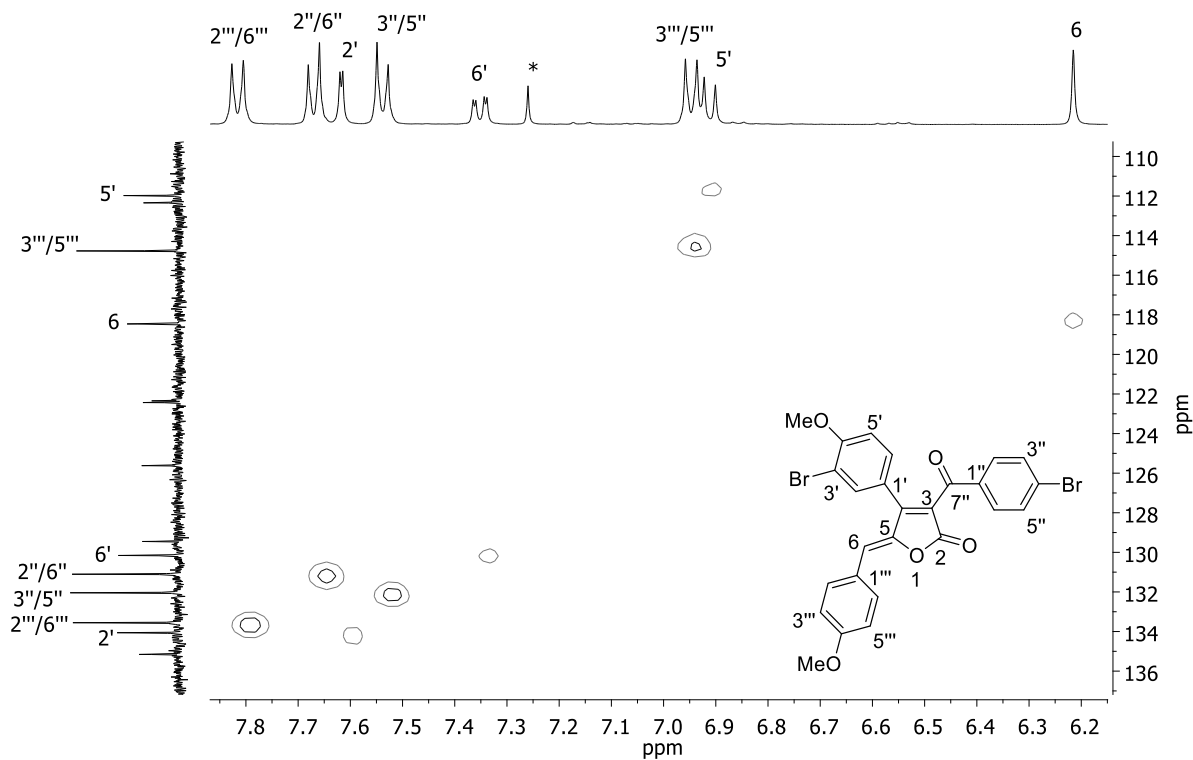


Figura A2.74 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, CDCl_3) (ampliado) do composto **54b**.

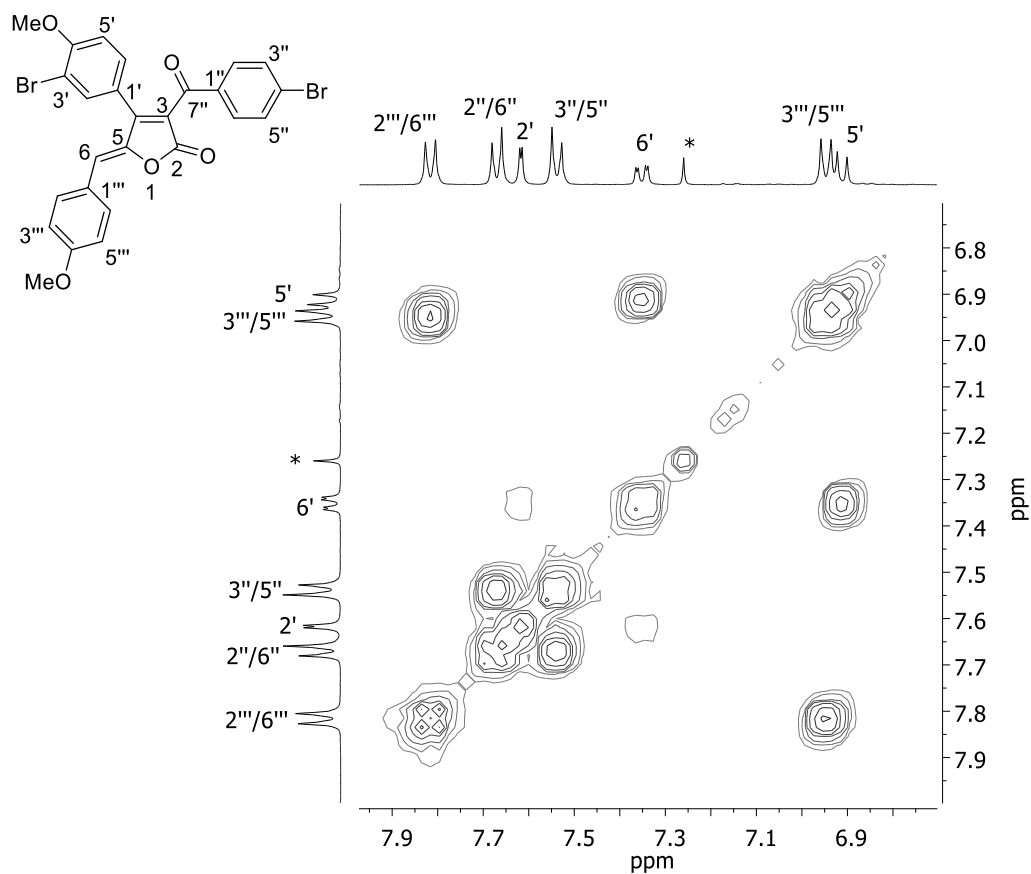


Figura A2.75 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **54b**.

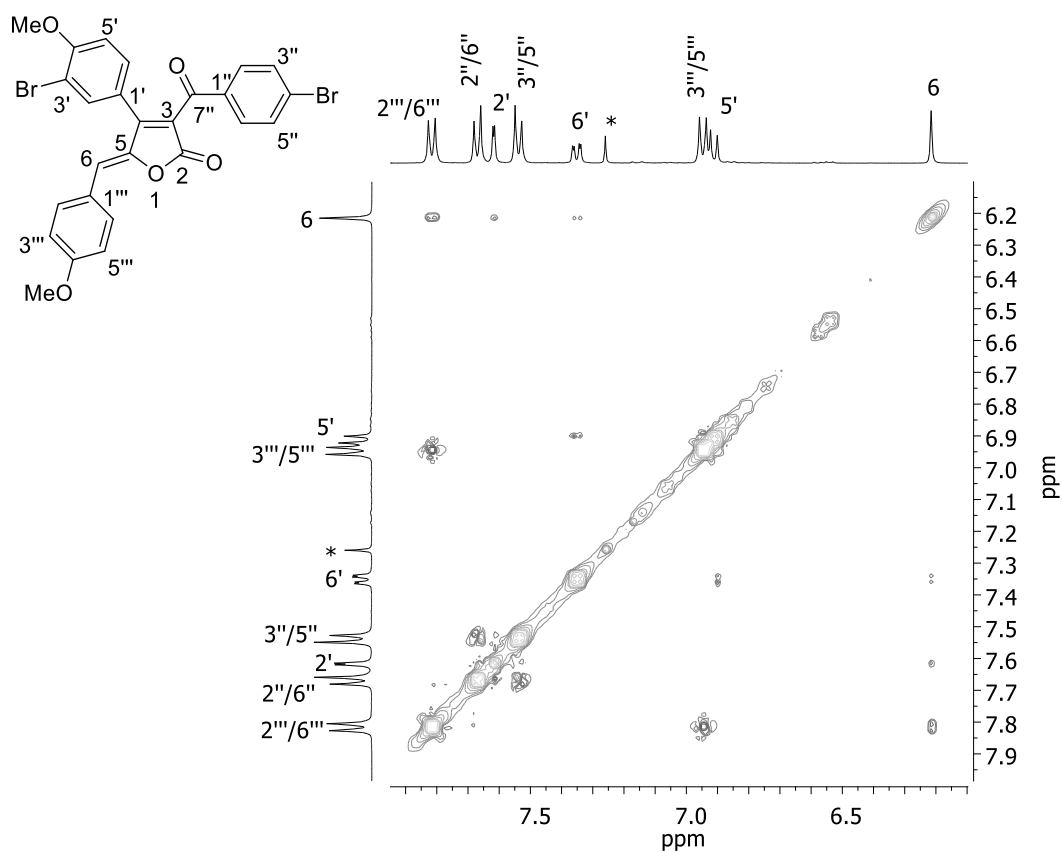


Figura A2.76 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) do composto **54b**.

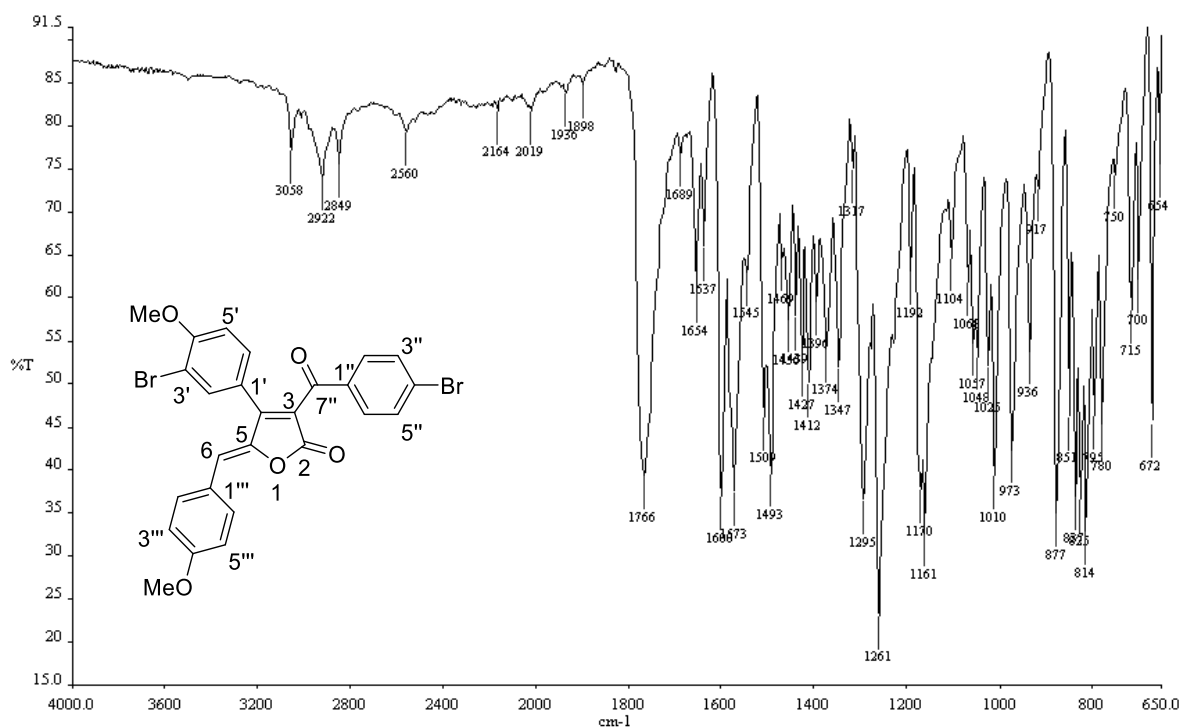


Figura A2.77 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54b**.

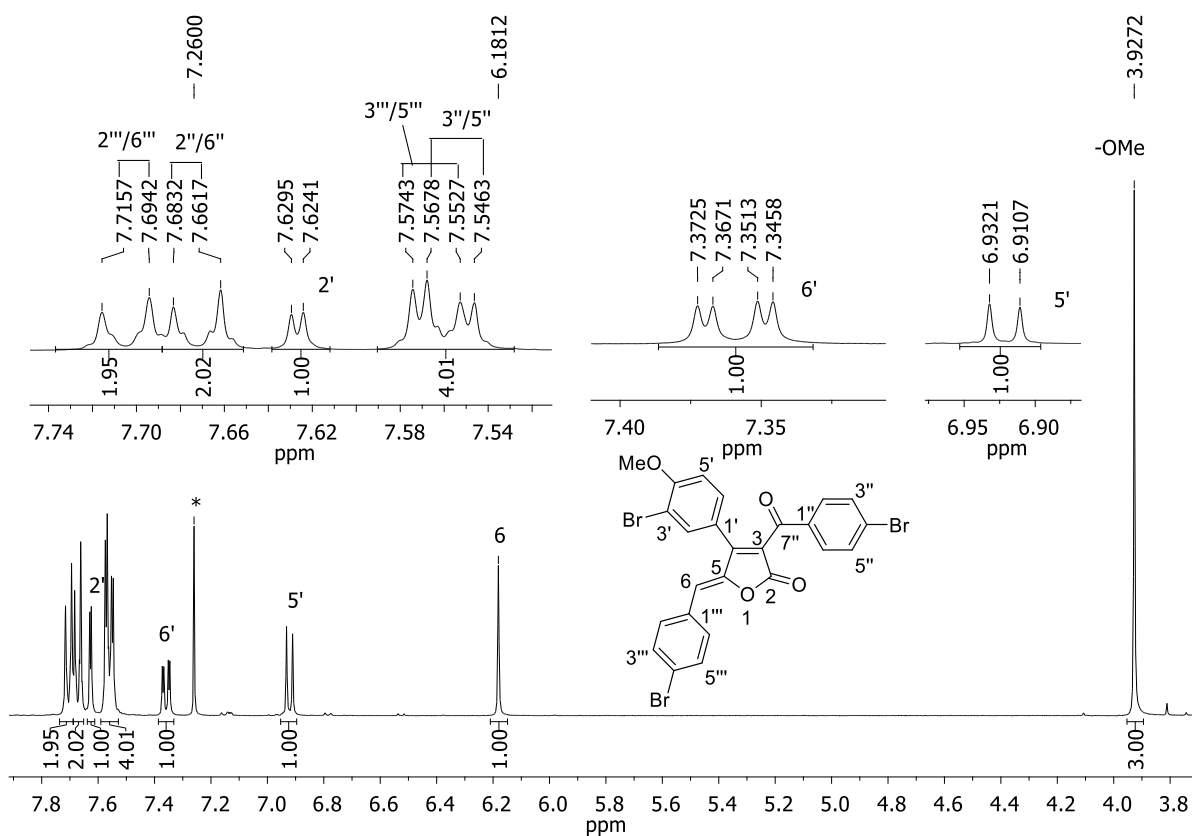


Figura A2.78 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **54c**.

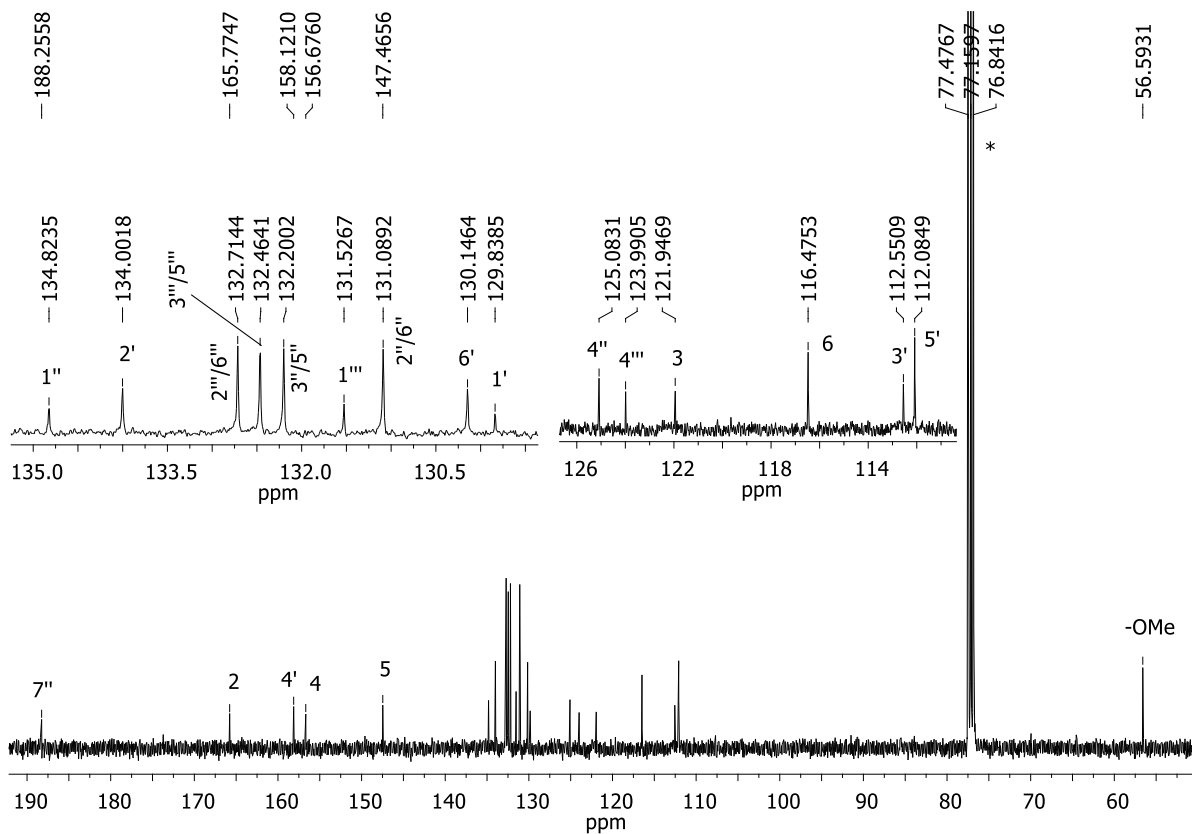


Figura A2.79 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54c**.

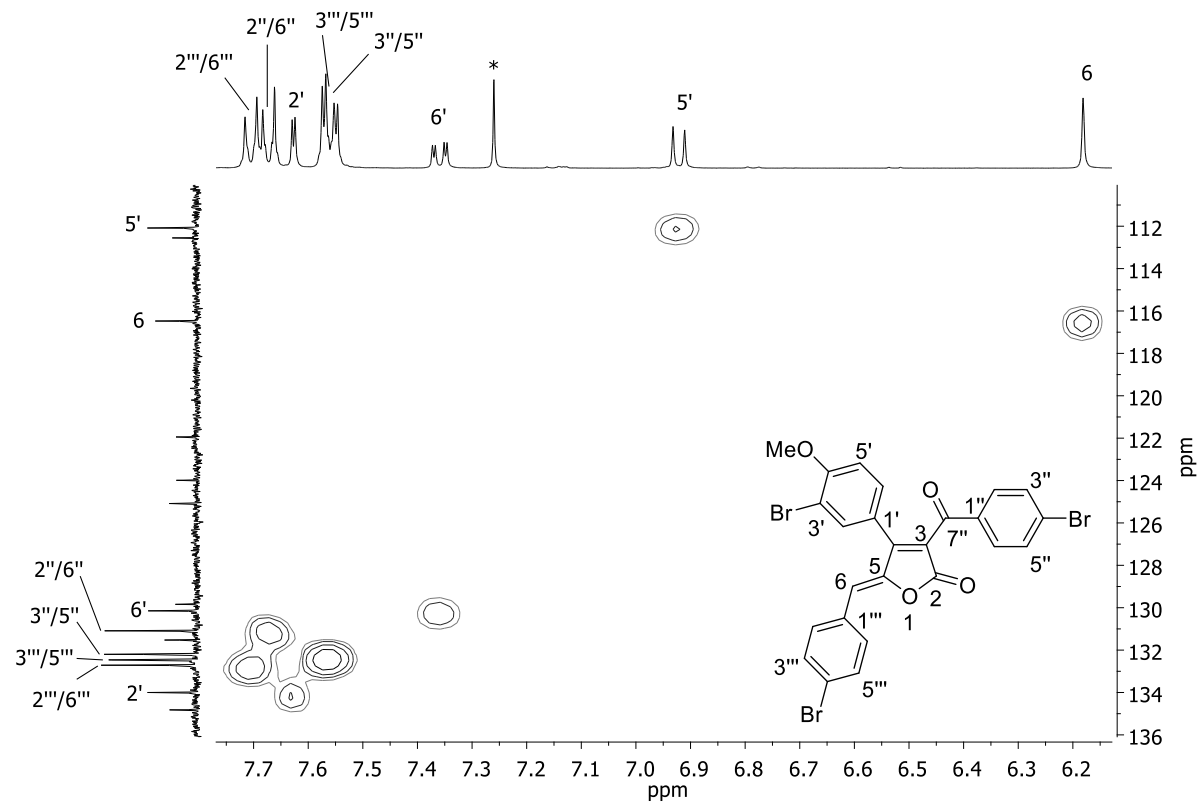


Figura A2.80 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) (ampliado) do composto **54c**.

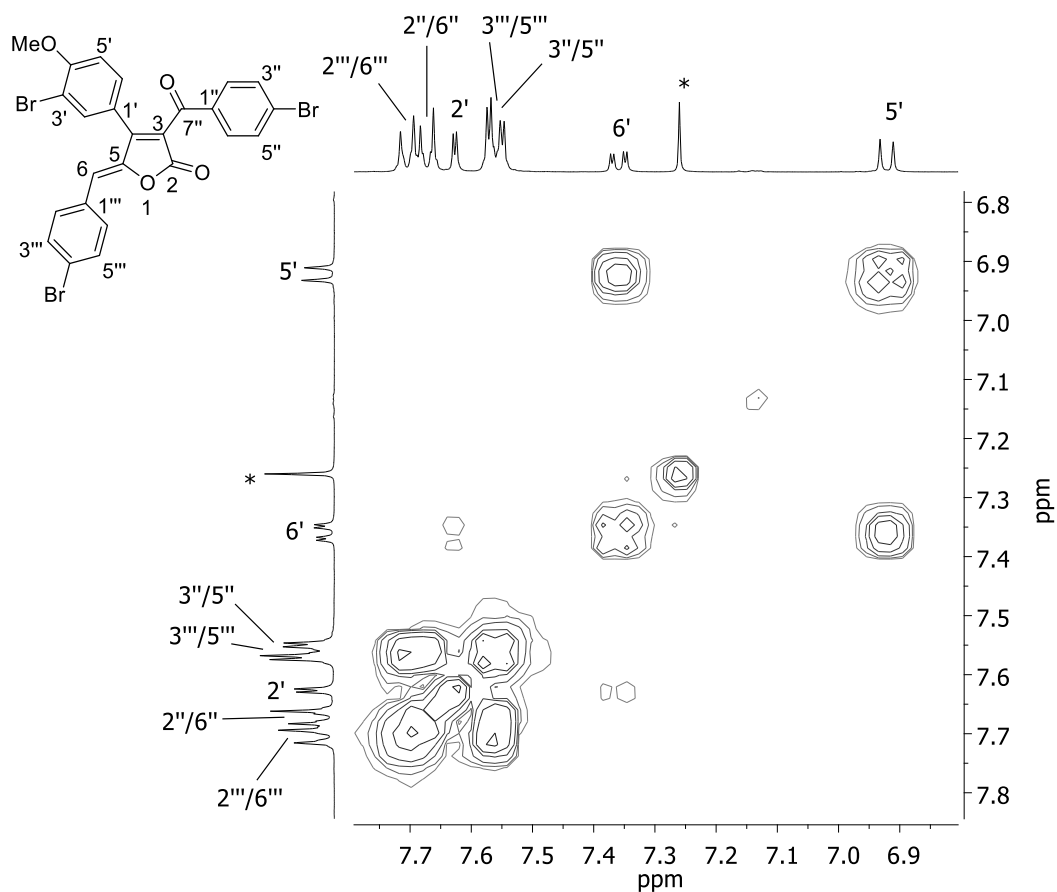


Figura A2.81 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto 54c.

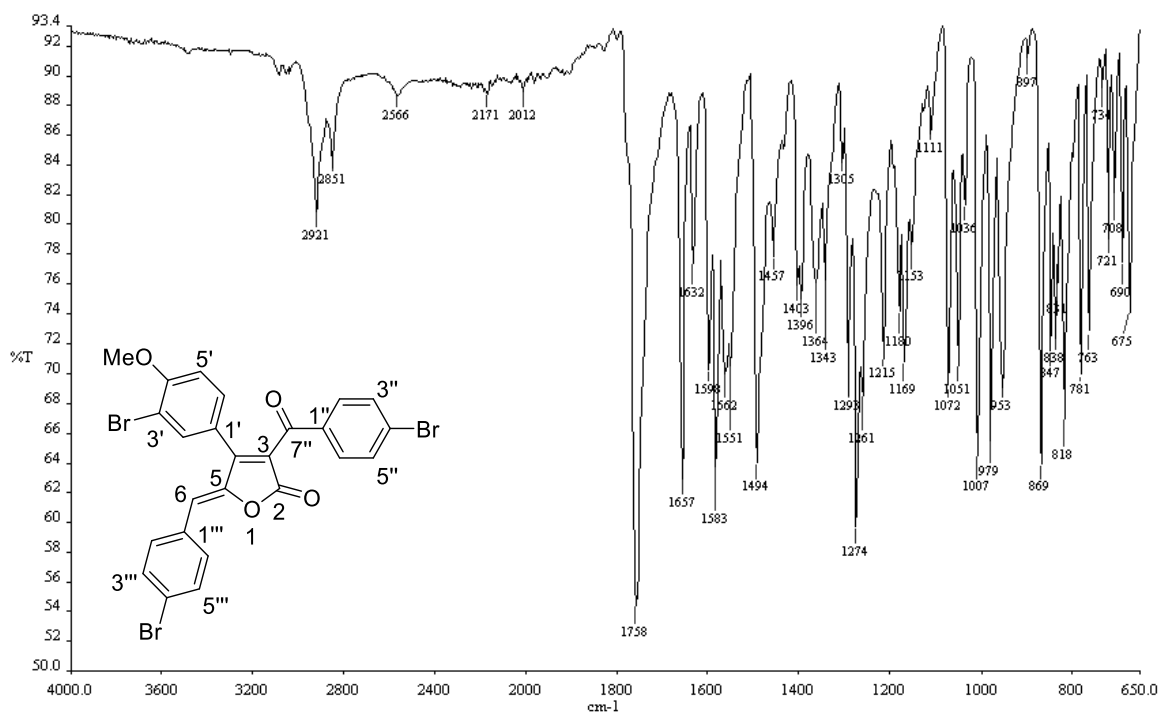


Figura A2.82 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto 54c.

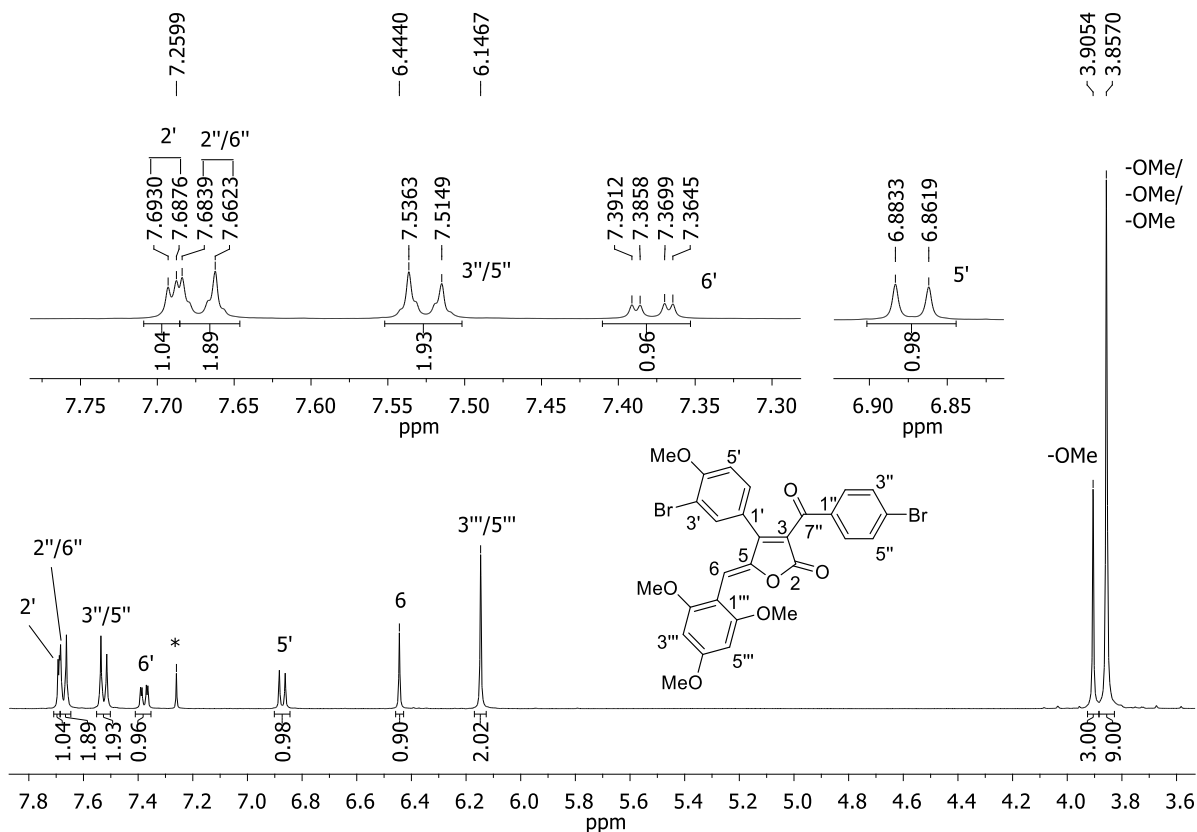


Figura A2.83 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **54d**.

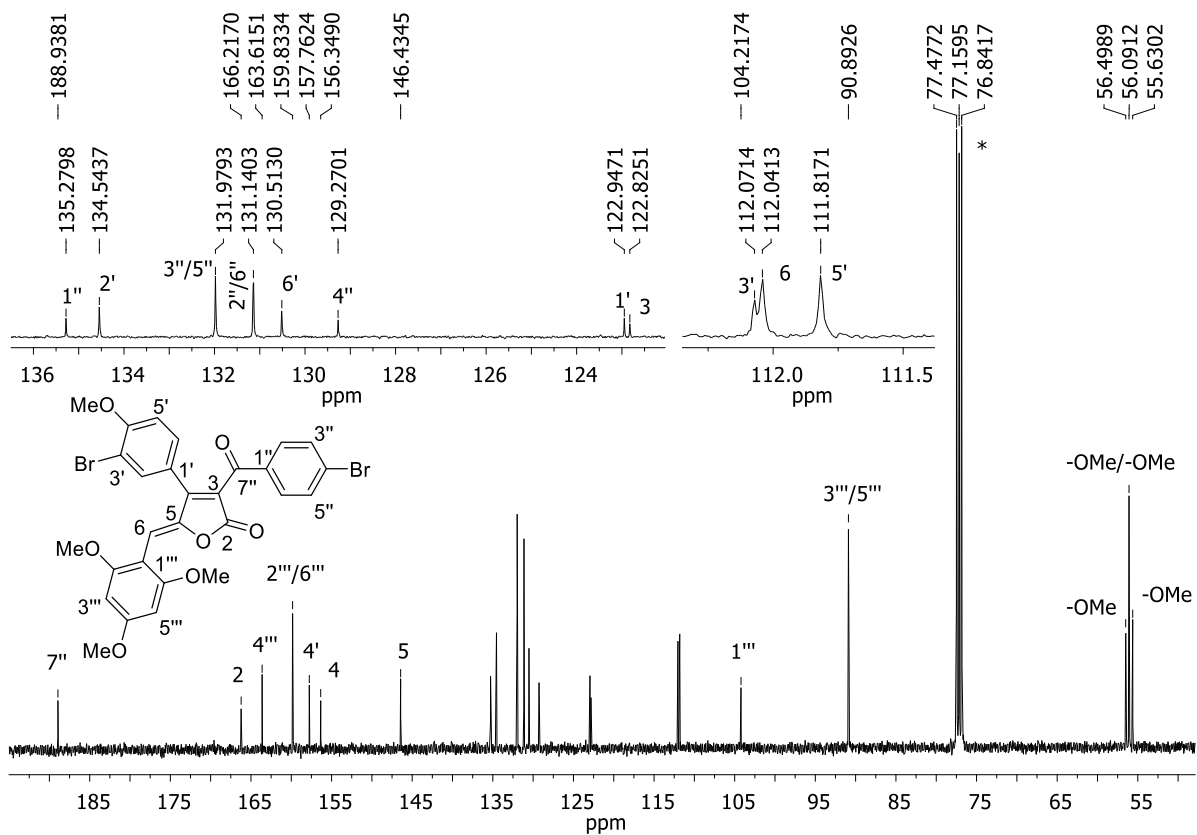


Figura A2.84 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54d**.

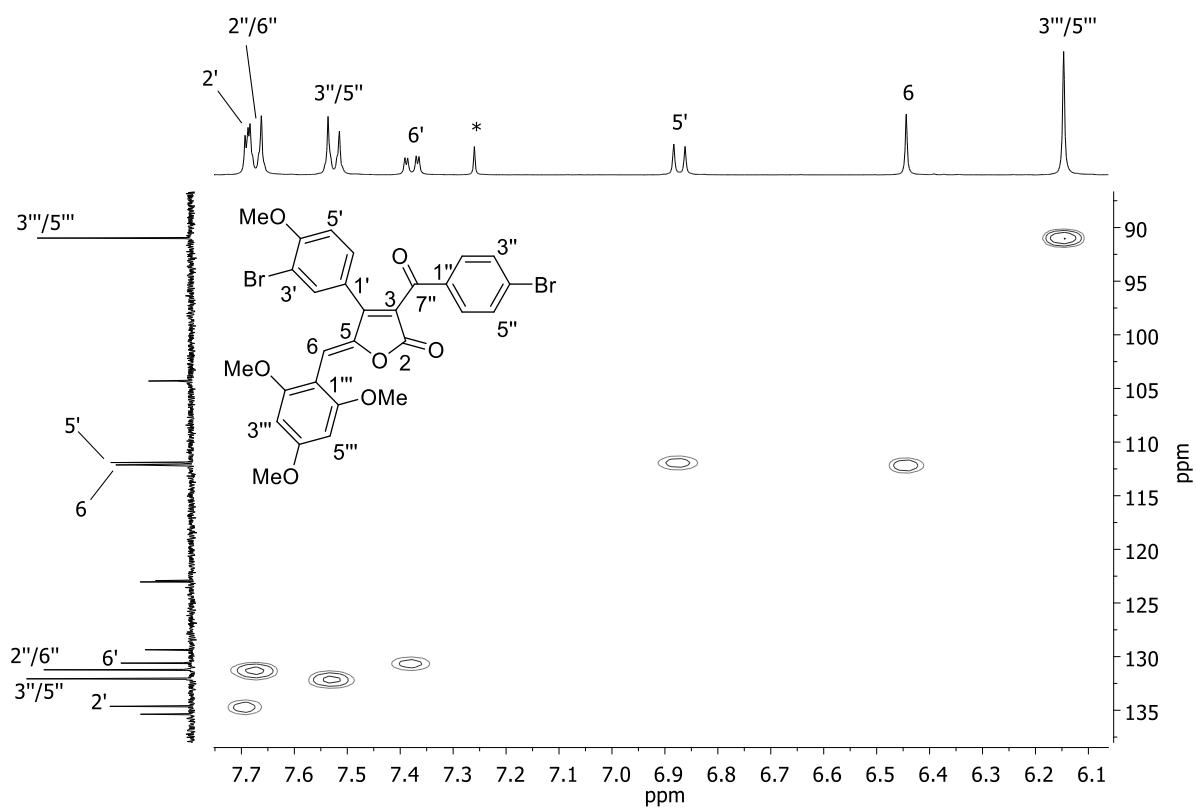


Figura A2.85 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) (ampliado) do composto 54d.

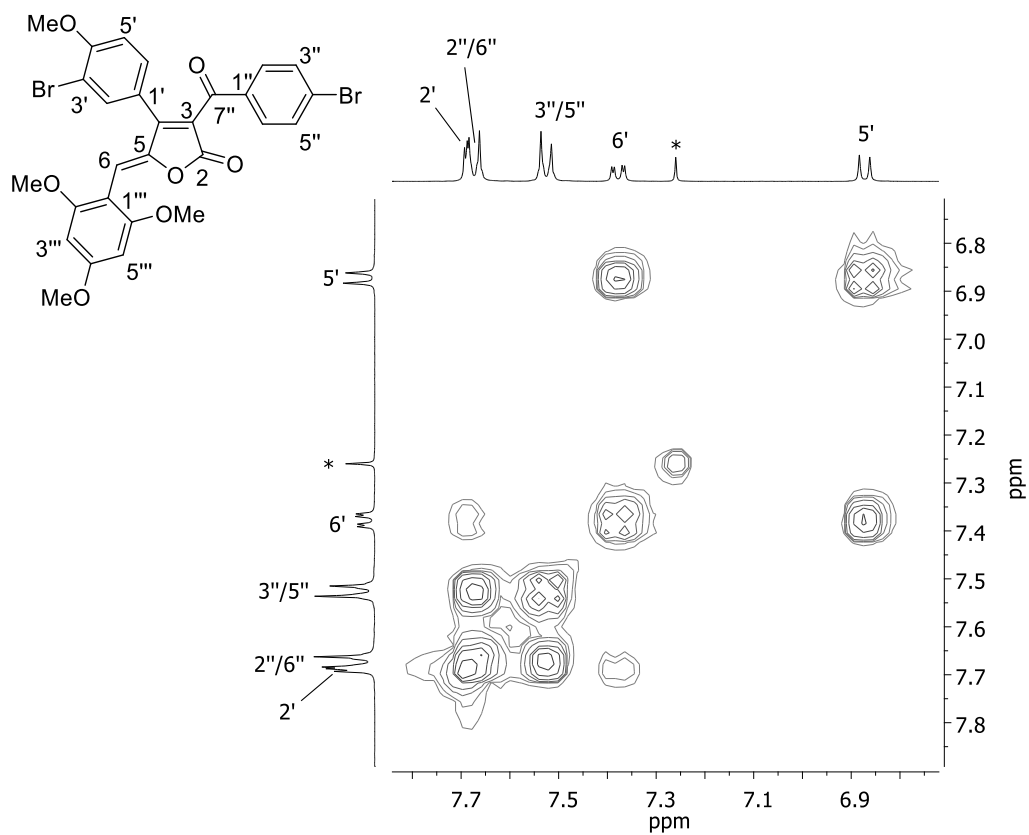


Figura A2.86 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto 54d.

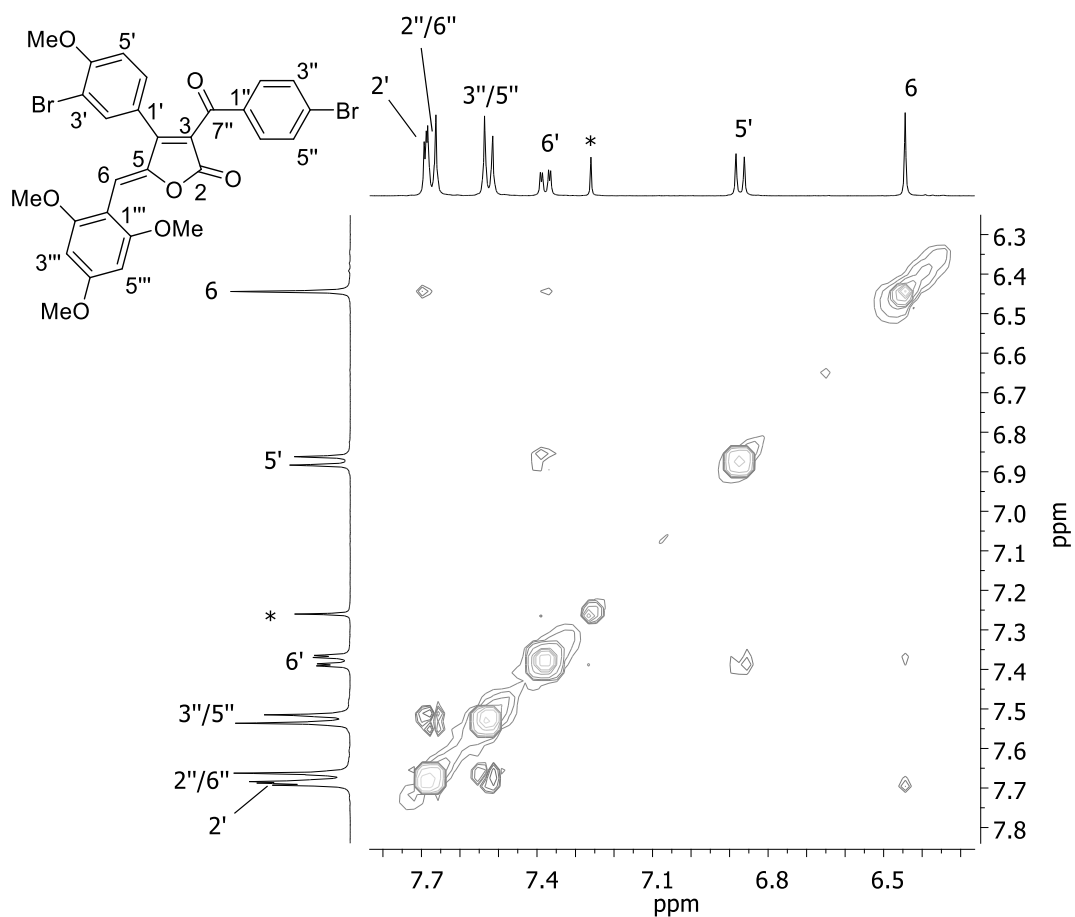


Figura A2.87 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54d**.

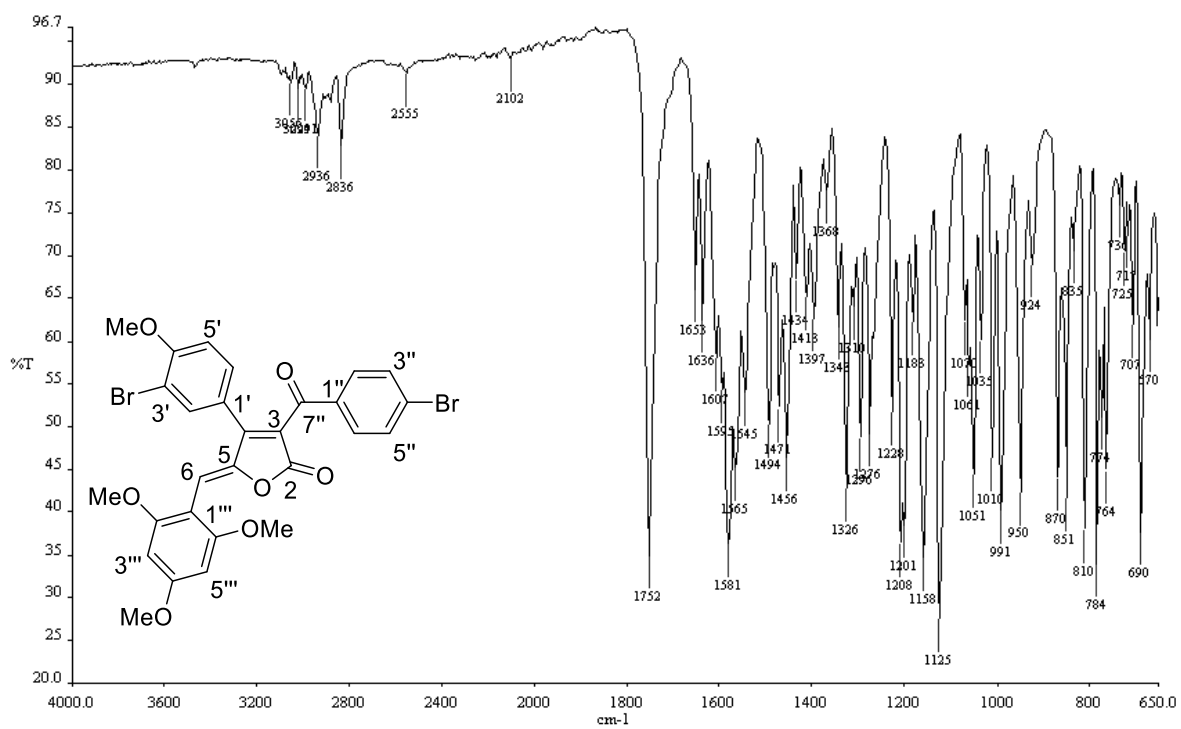


Figura A2.88 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54d**.

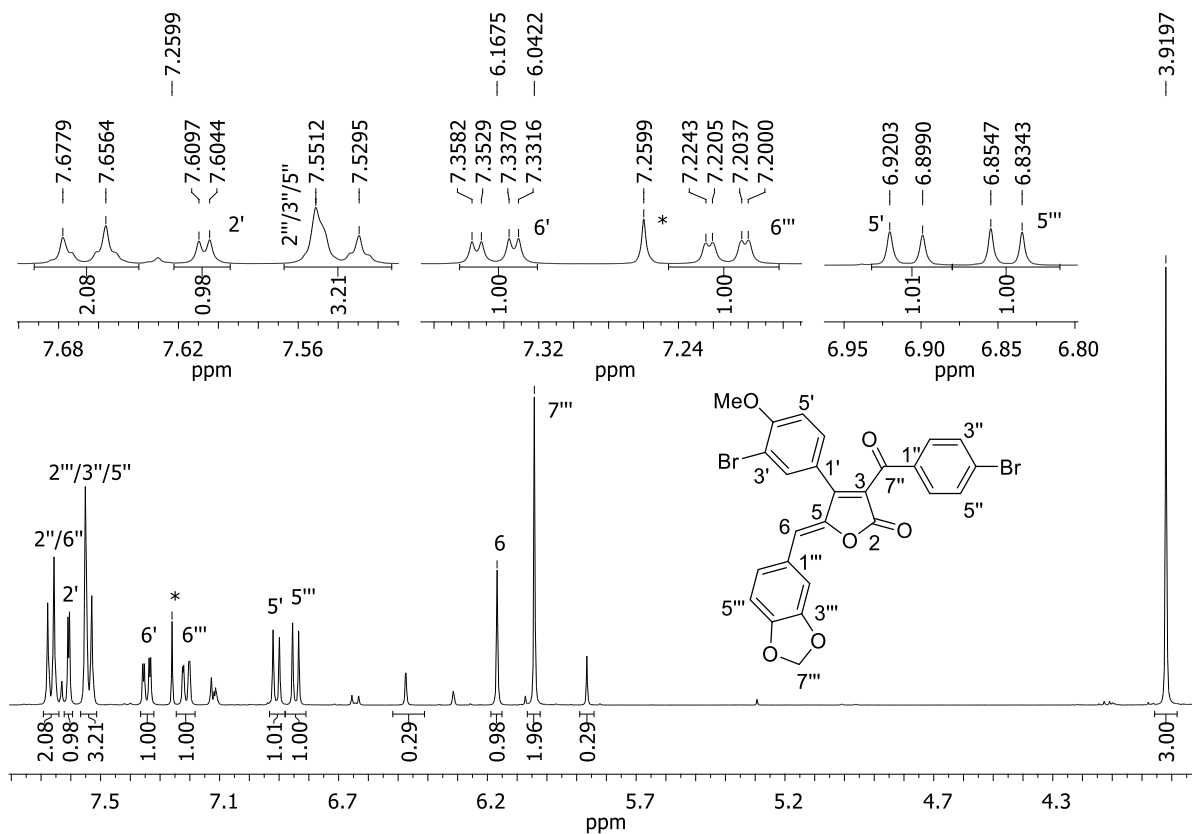


Figura A2.89 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **54e**.

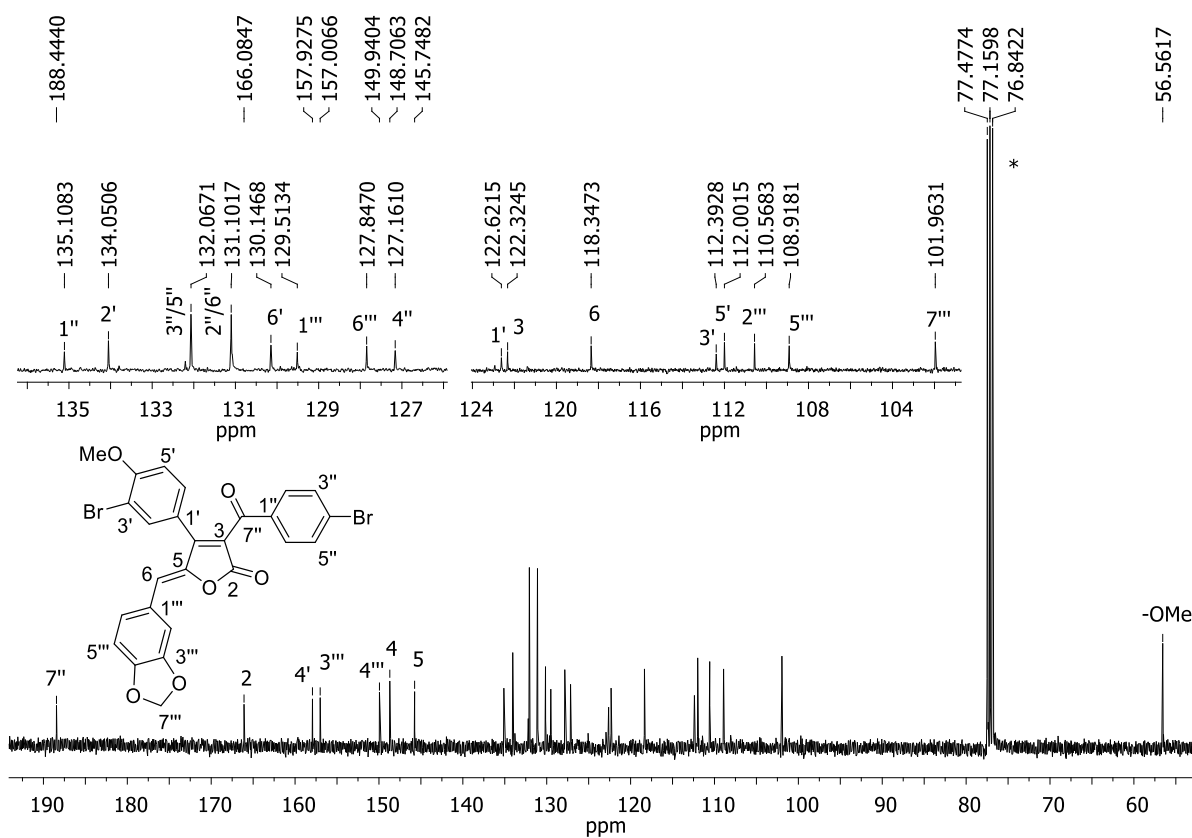


Figura A2.90 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **54e**.

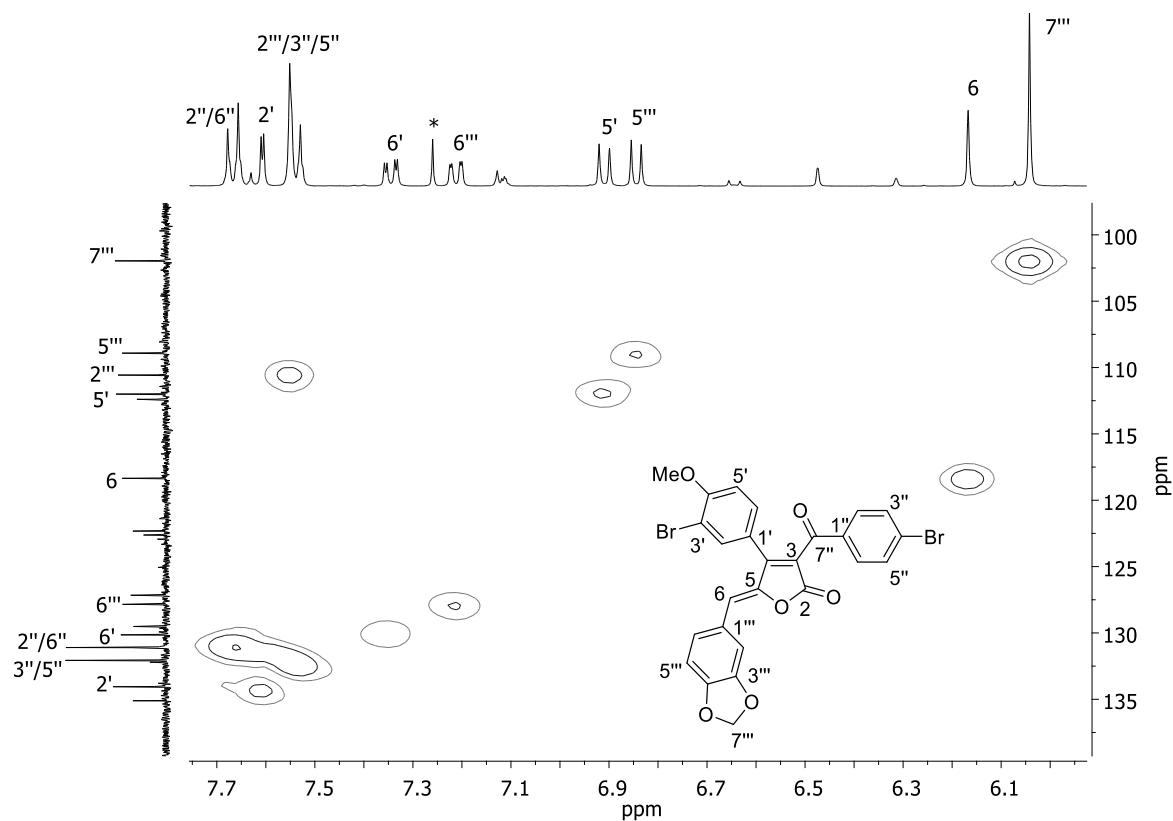


Figura A2.91 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) (ampliado) do composto 54e.

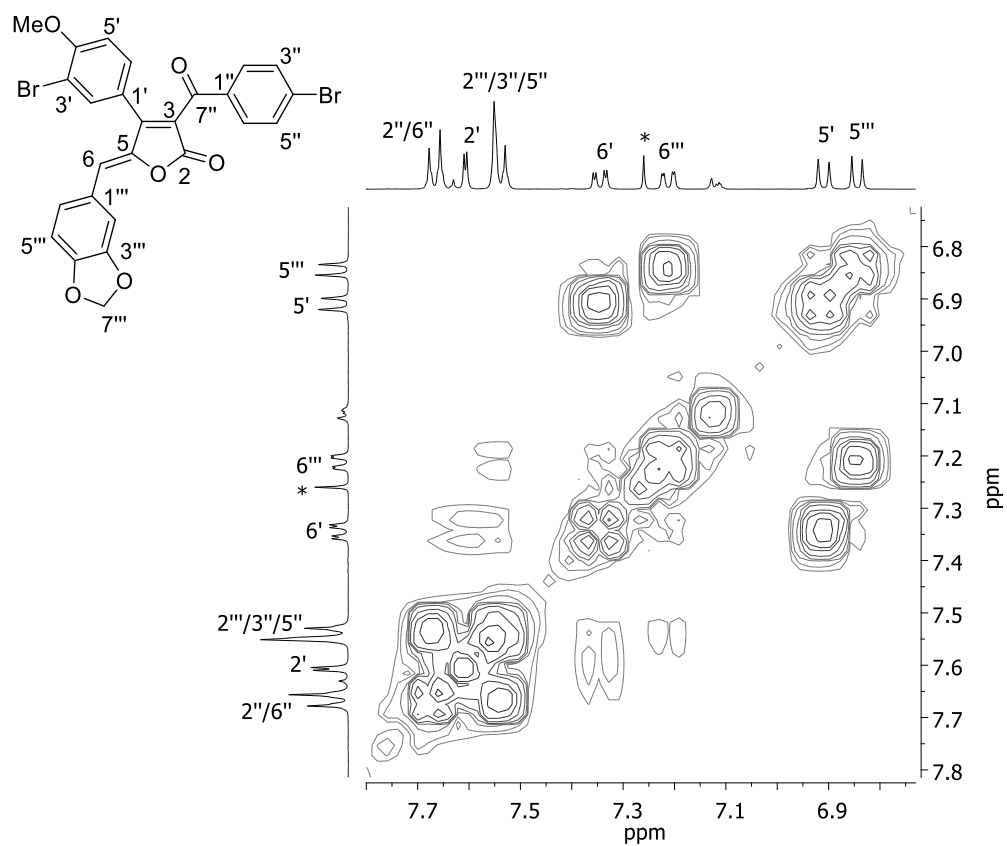


Figura A2.92 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto 54e.

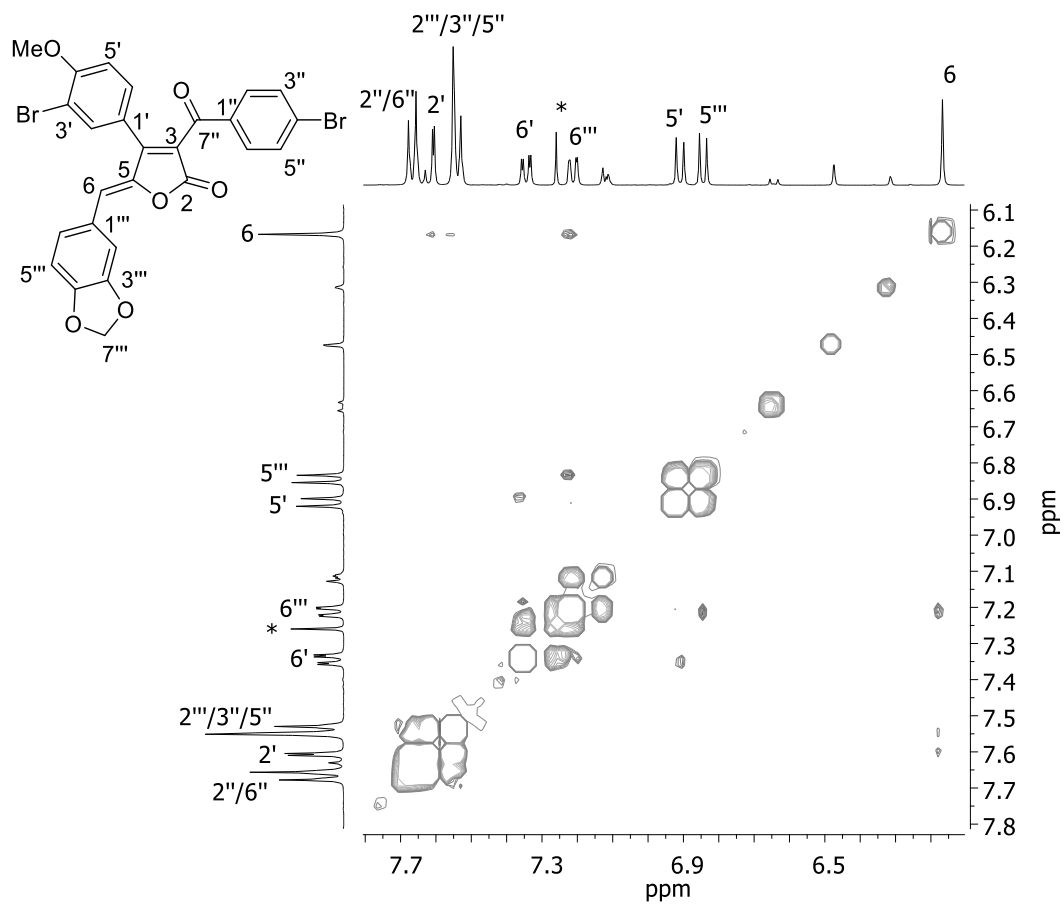


Figura A2.93 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) do composto **54e**.

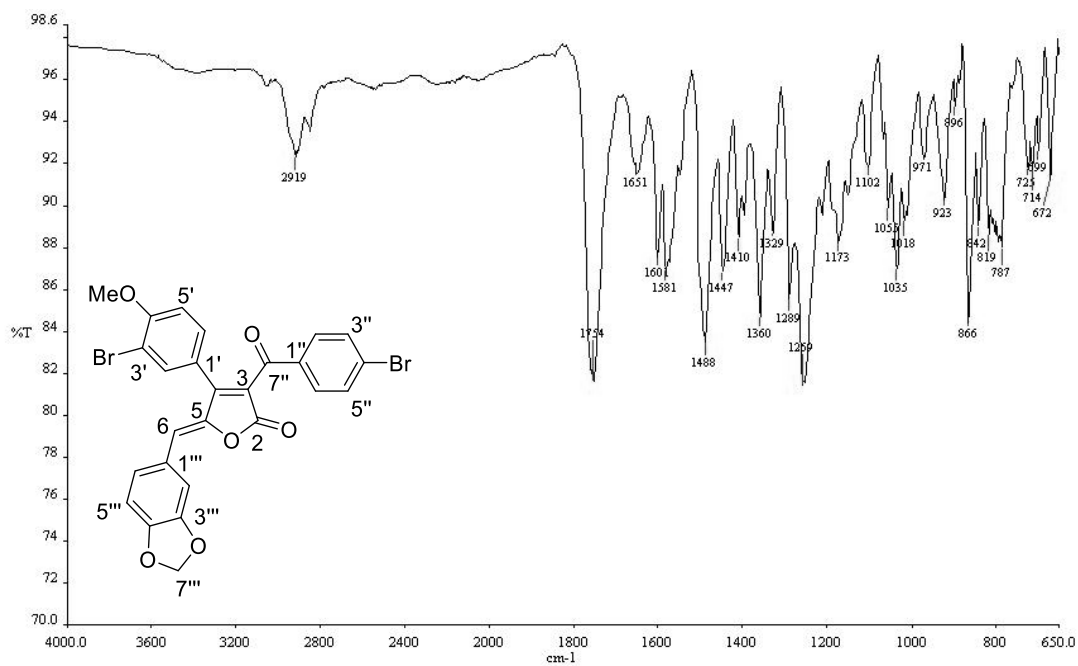


Figura A2.94 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54e**.

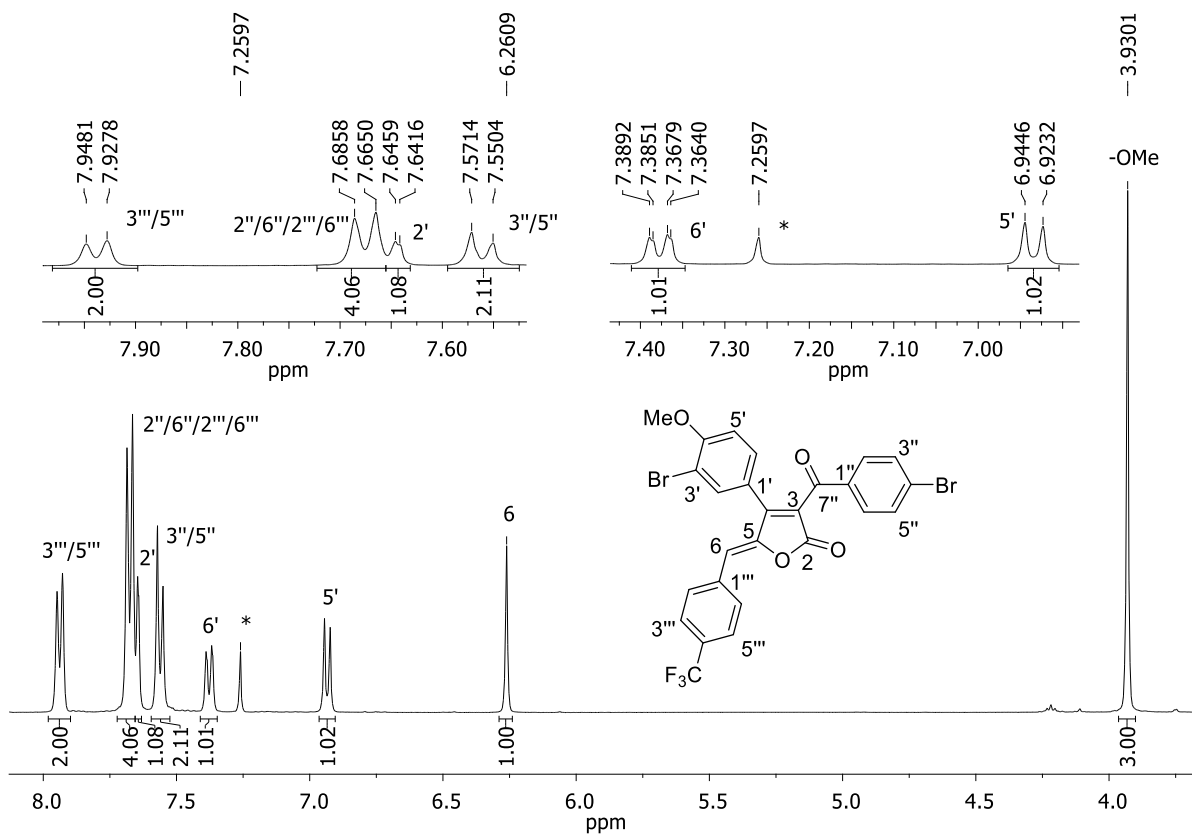


Figura A2.95 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **54f**.

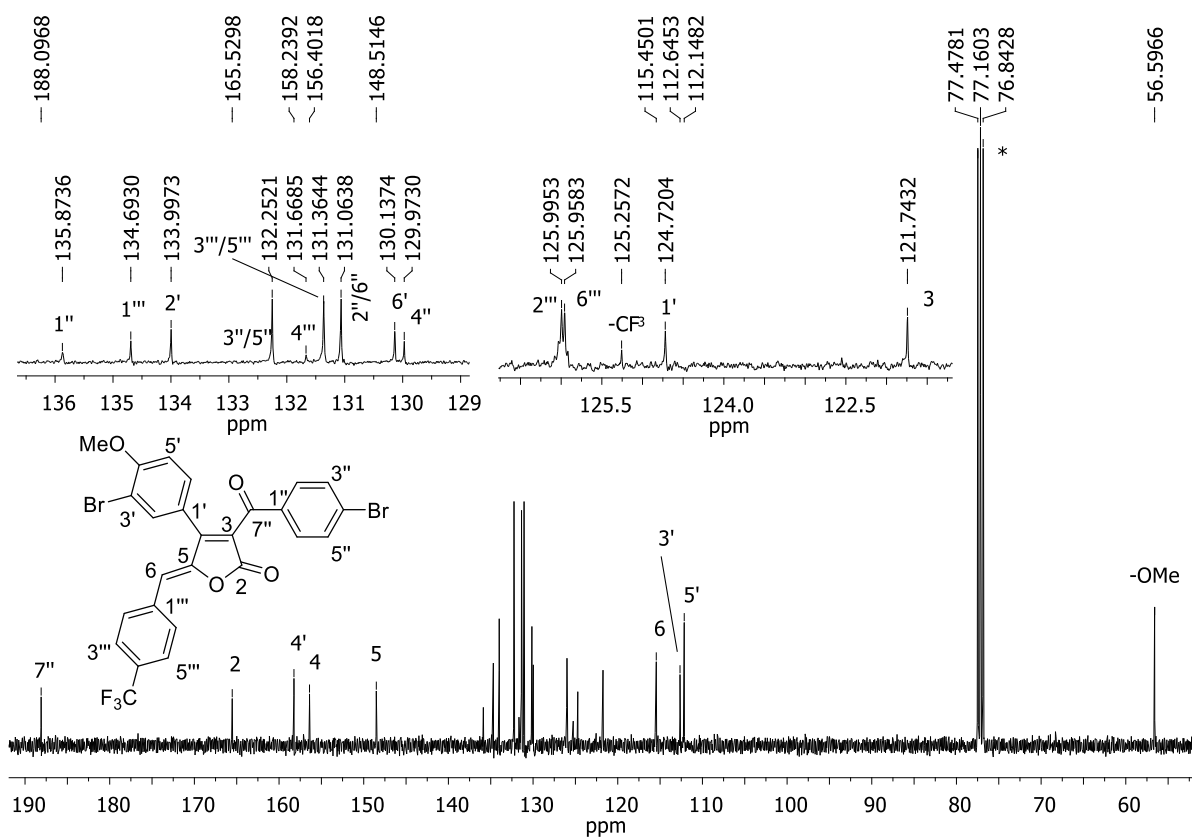


Figura A2.96 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **54f**.

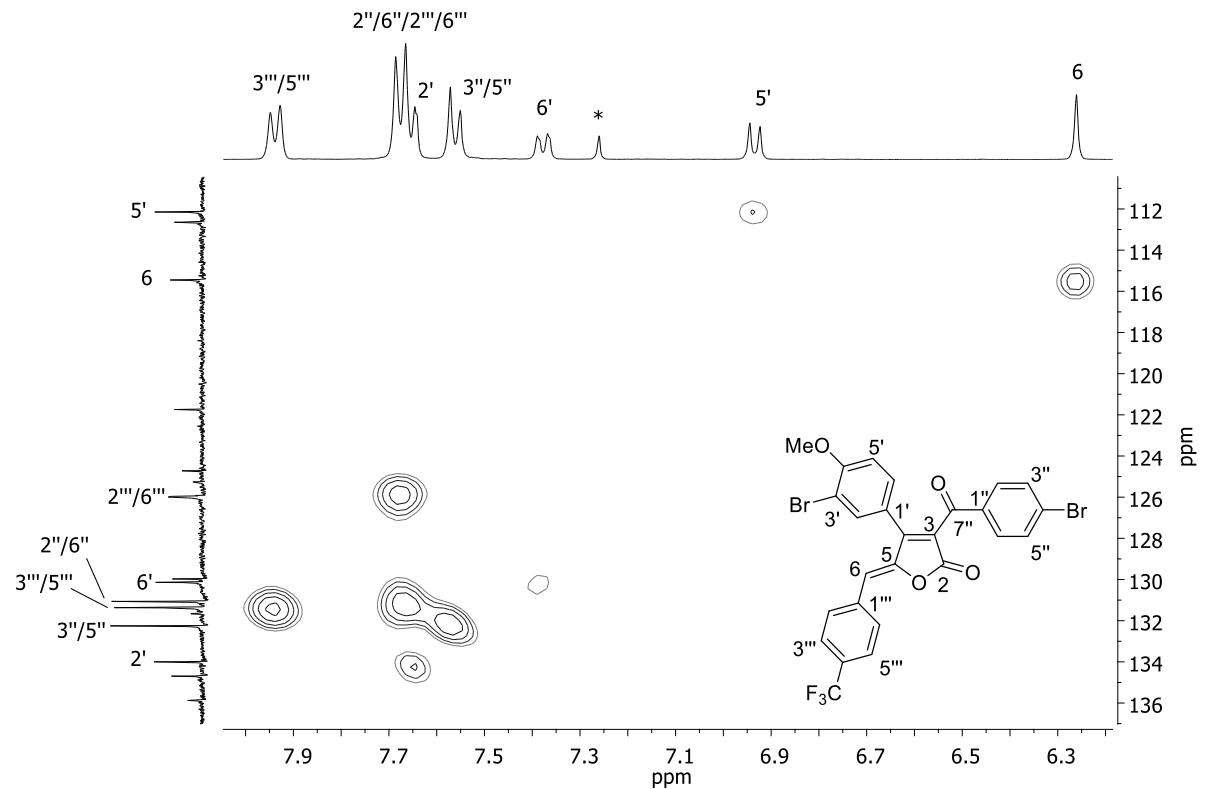


Figura A2.97 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) (ampliado) do composto **54f**.

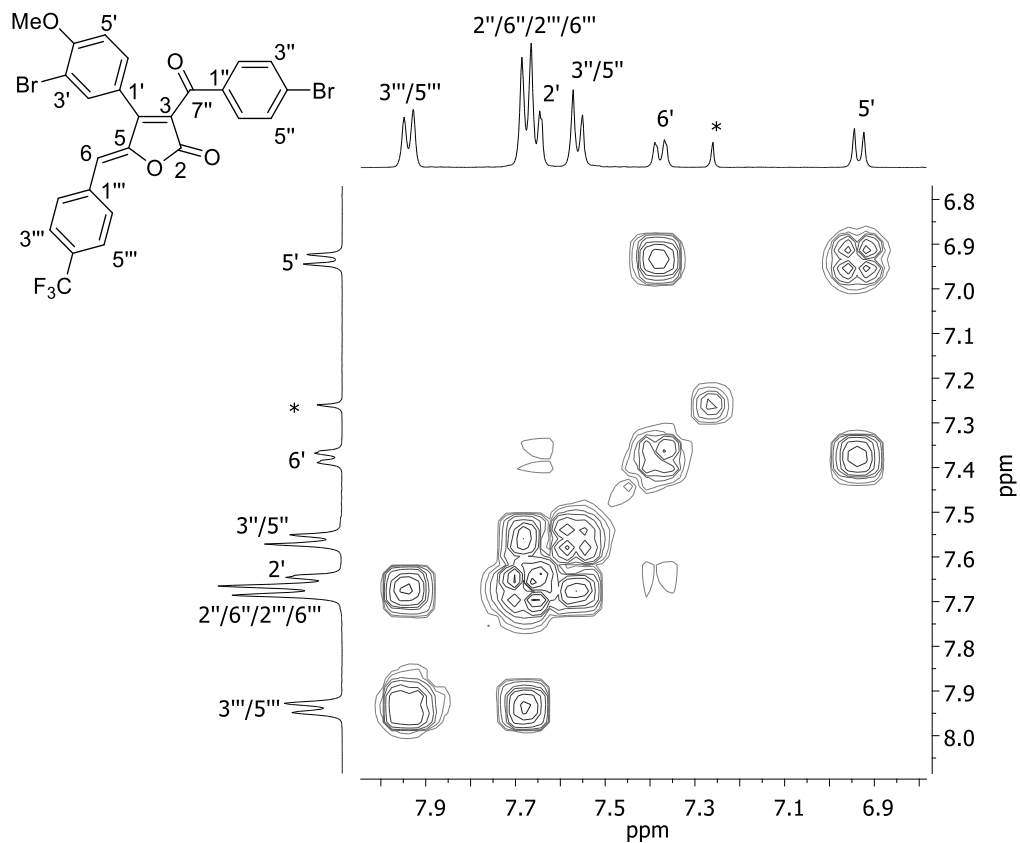


Figura A2.98 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54f**.

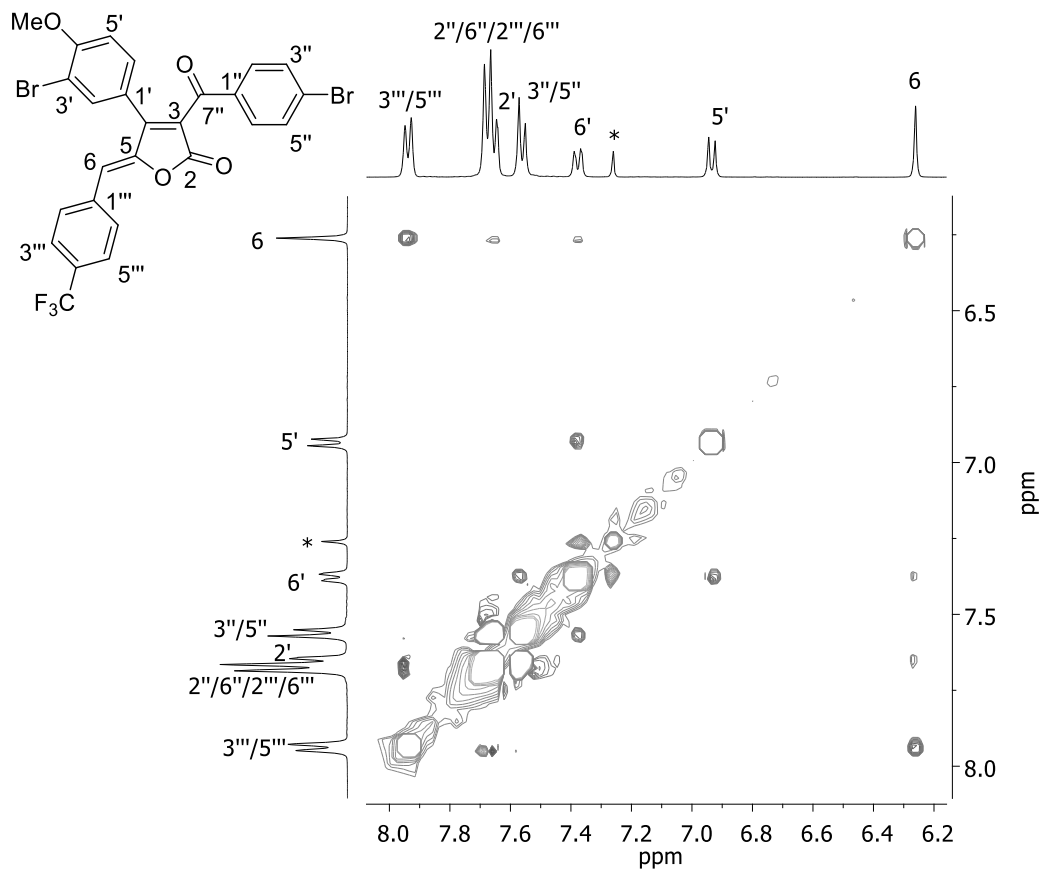


Figura A2.99 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54f**.

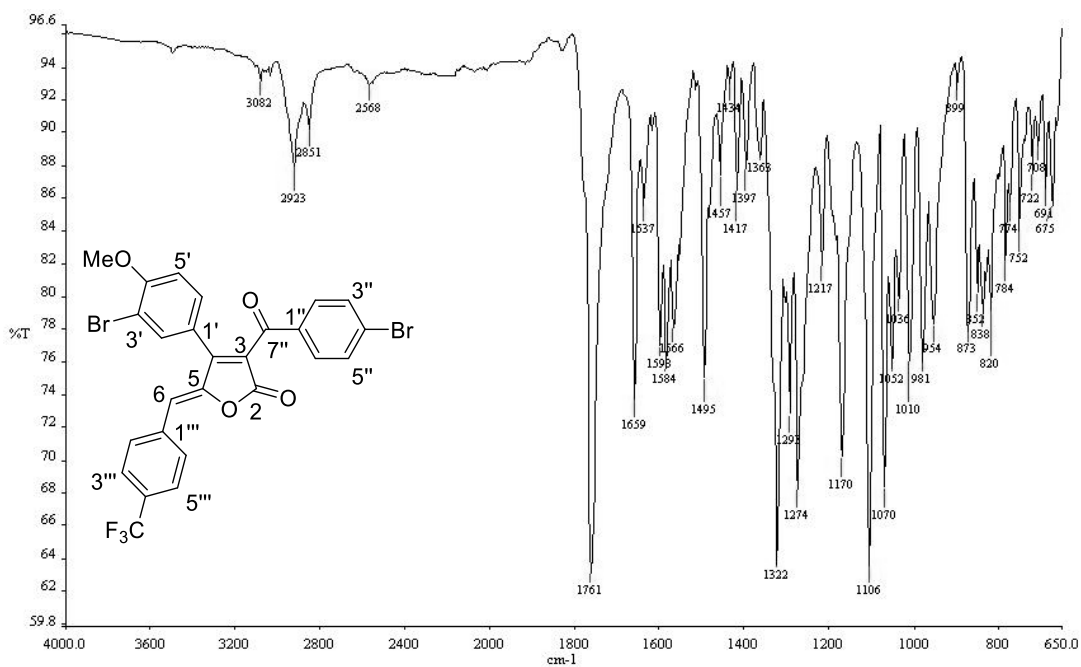


Figura A2.100 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54f**.

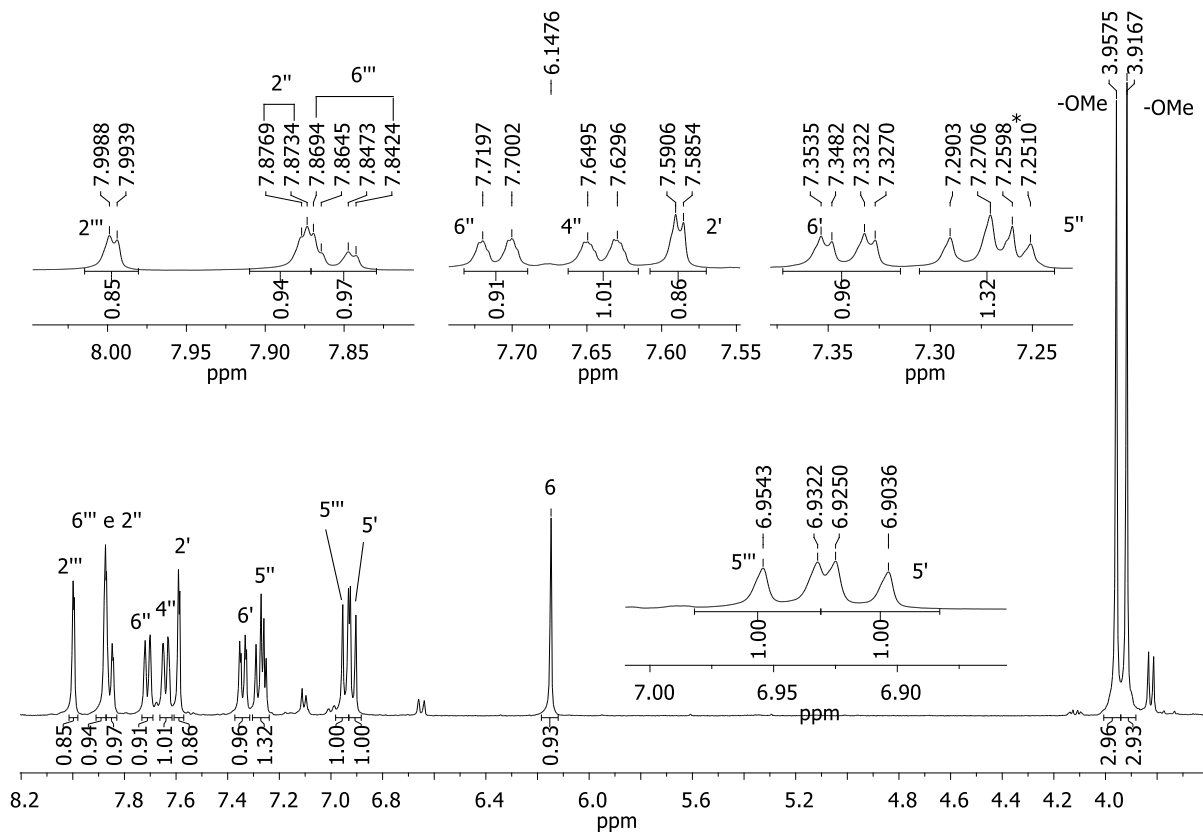


Figura A2.101 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **54g**.

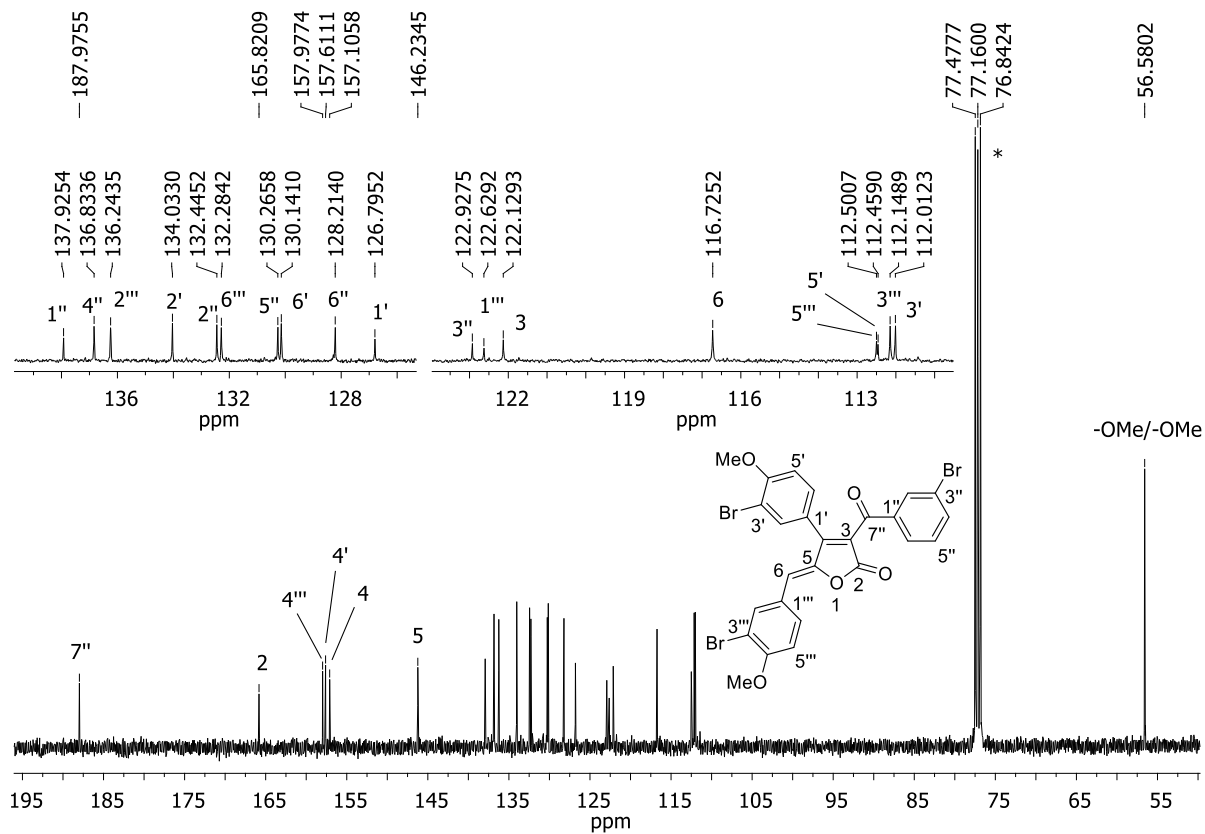


Figura A2.102 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54g**.

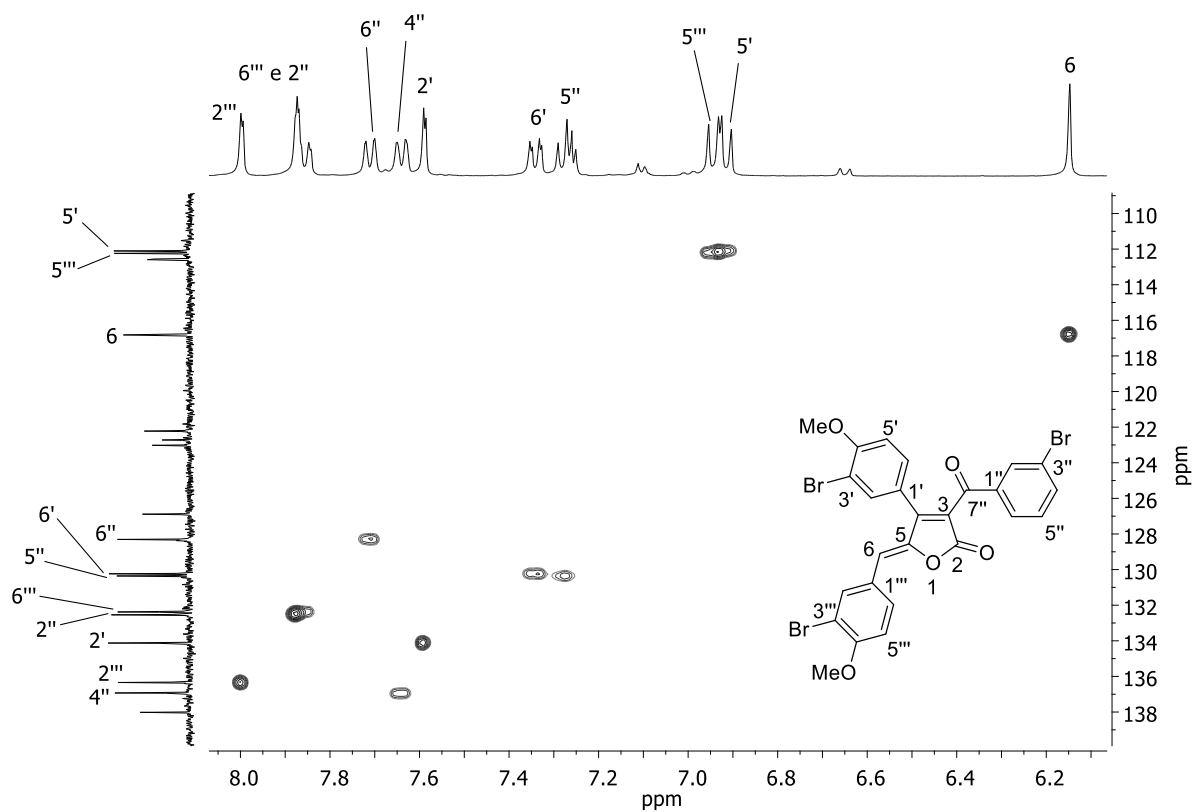


Figura A2.103 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) (ampliado) do composto **54g**.

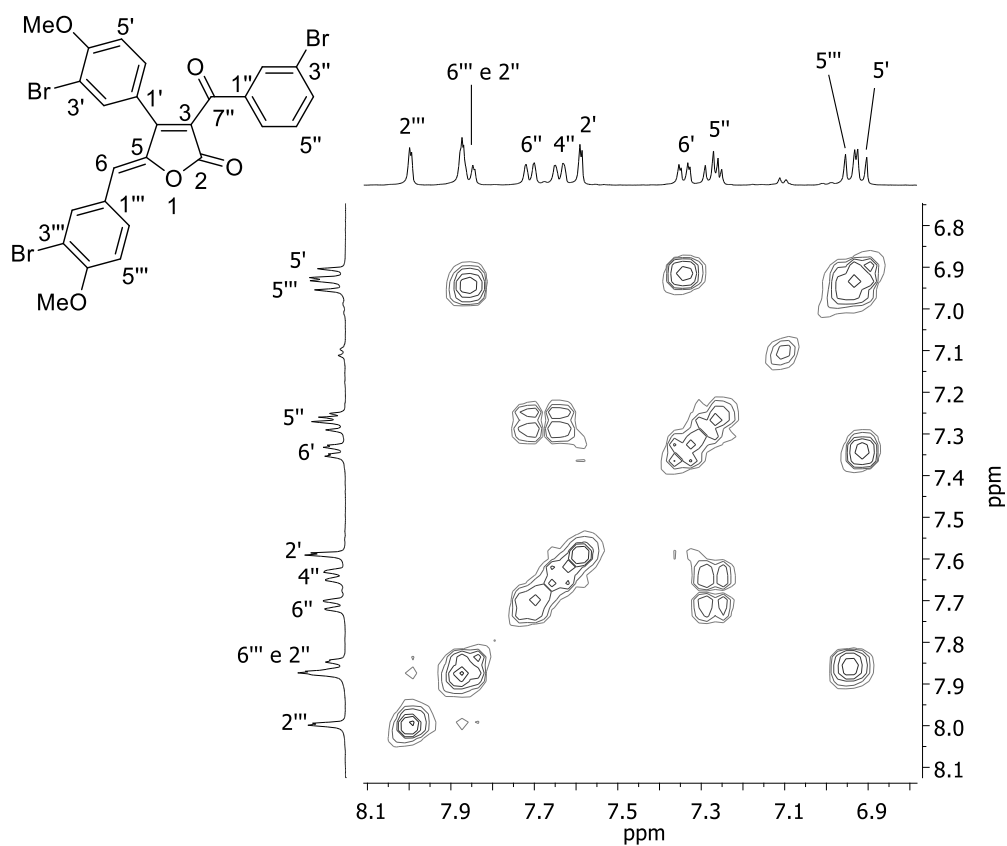


Figura A2.104 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54g**.

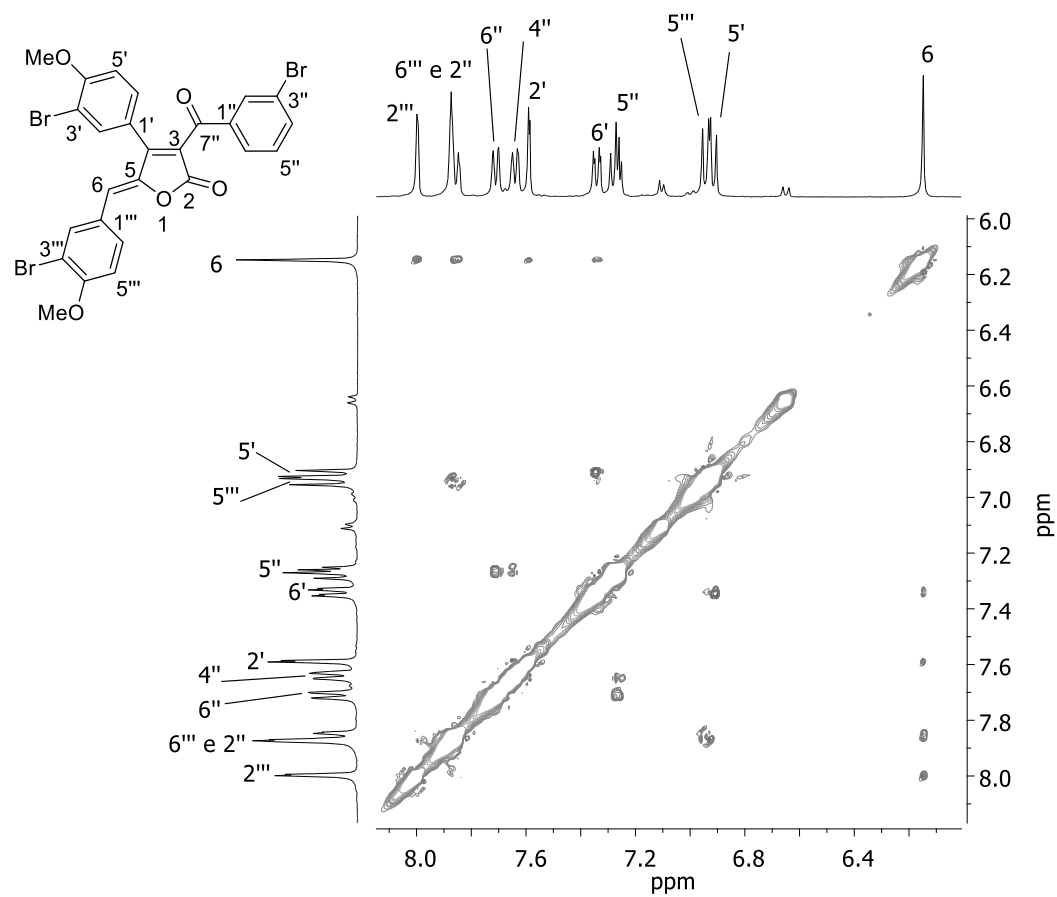


Figura A2.105 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) do composto **54g**.

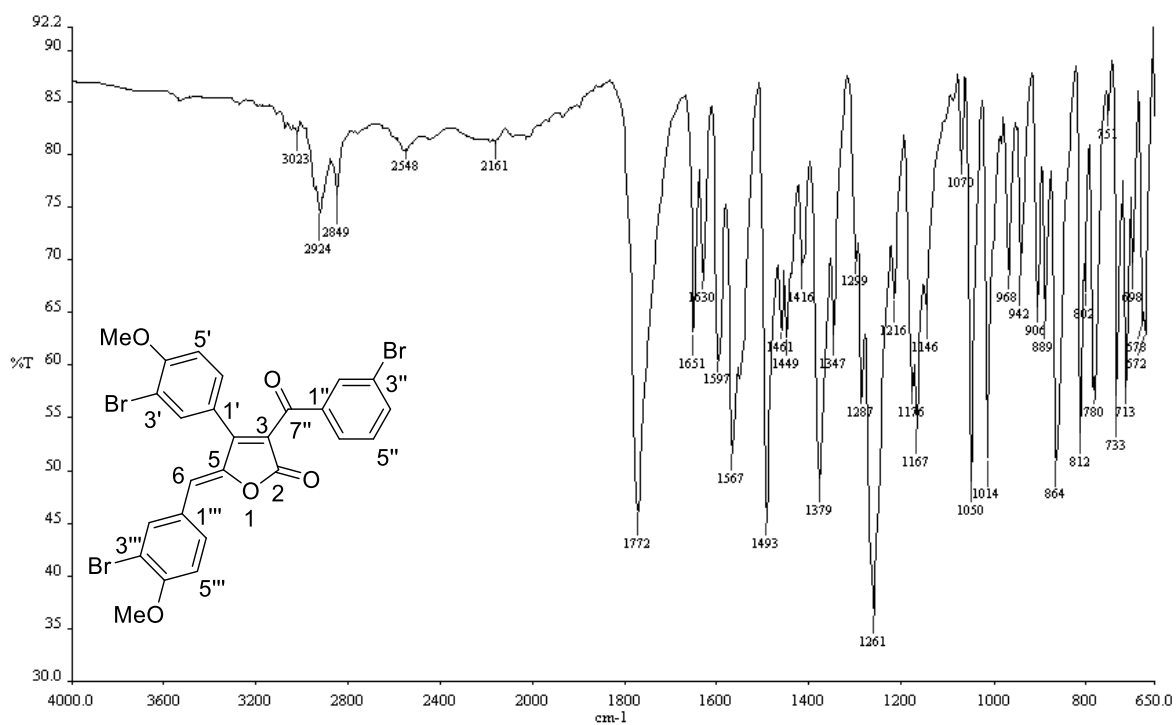


Figura A2.106 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54g**.

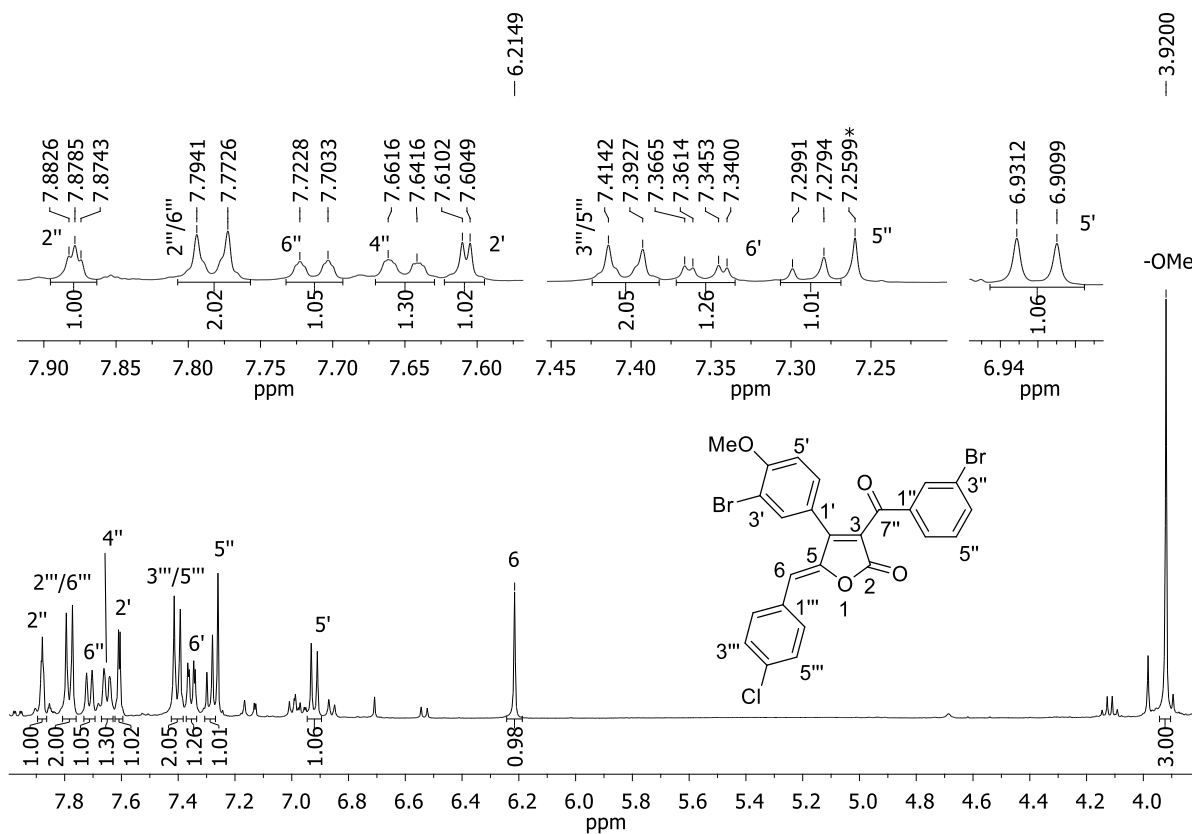


Figura A2.107 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **54h**.

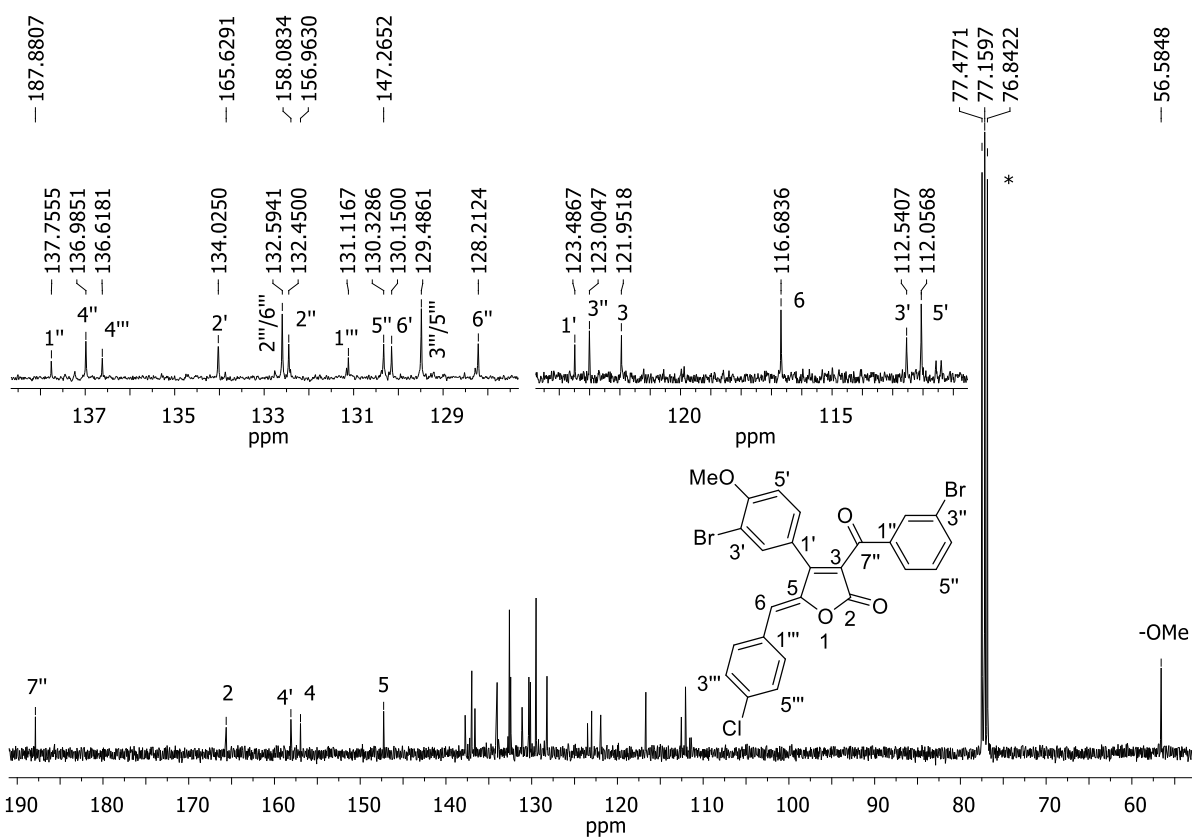


Figura A2.108 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **54h**.

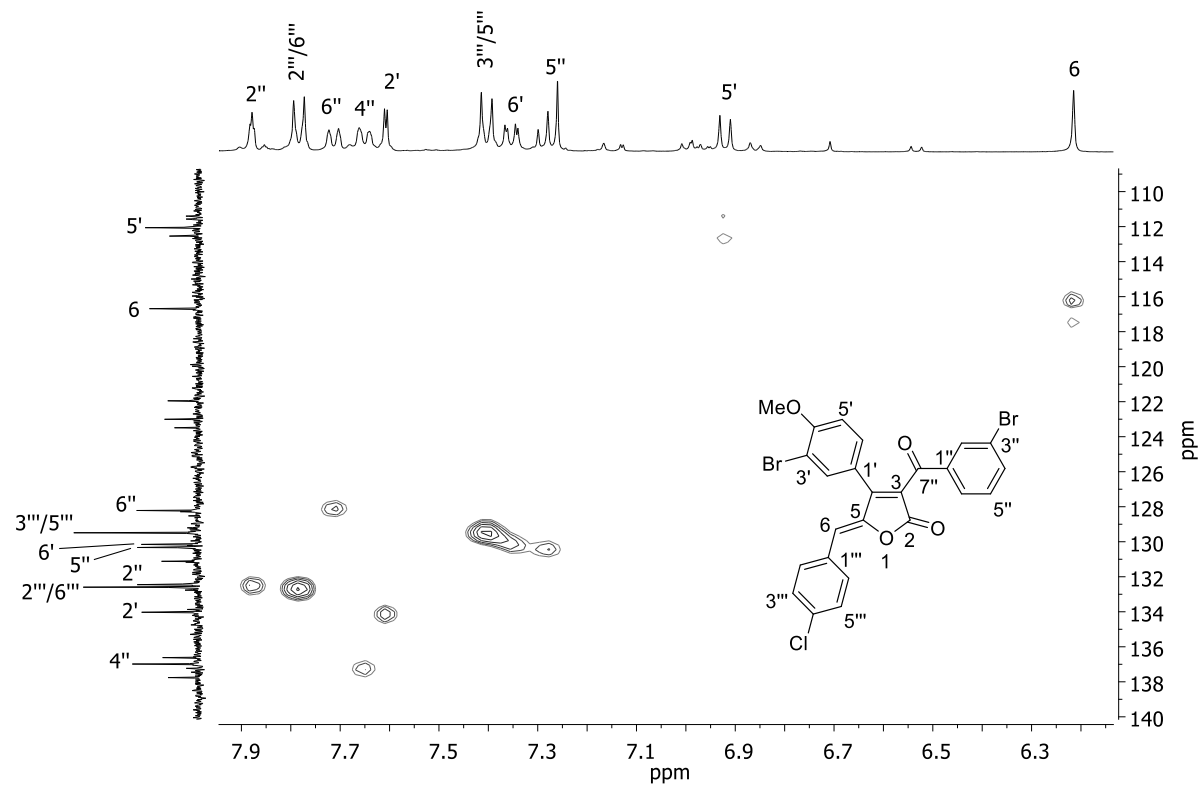


Figura A2.109 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) (ampliado) do composto **54h**.

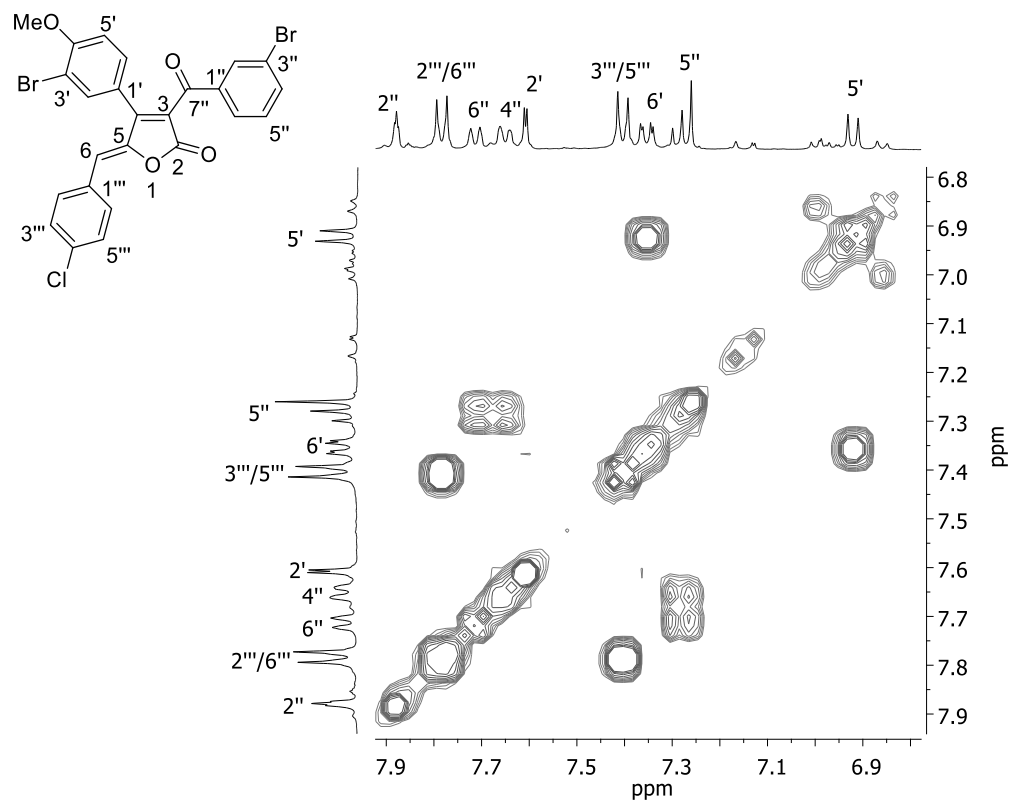


Figura A2.110 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54h**.

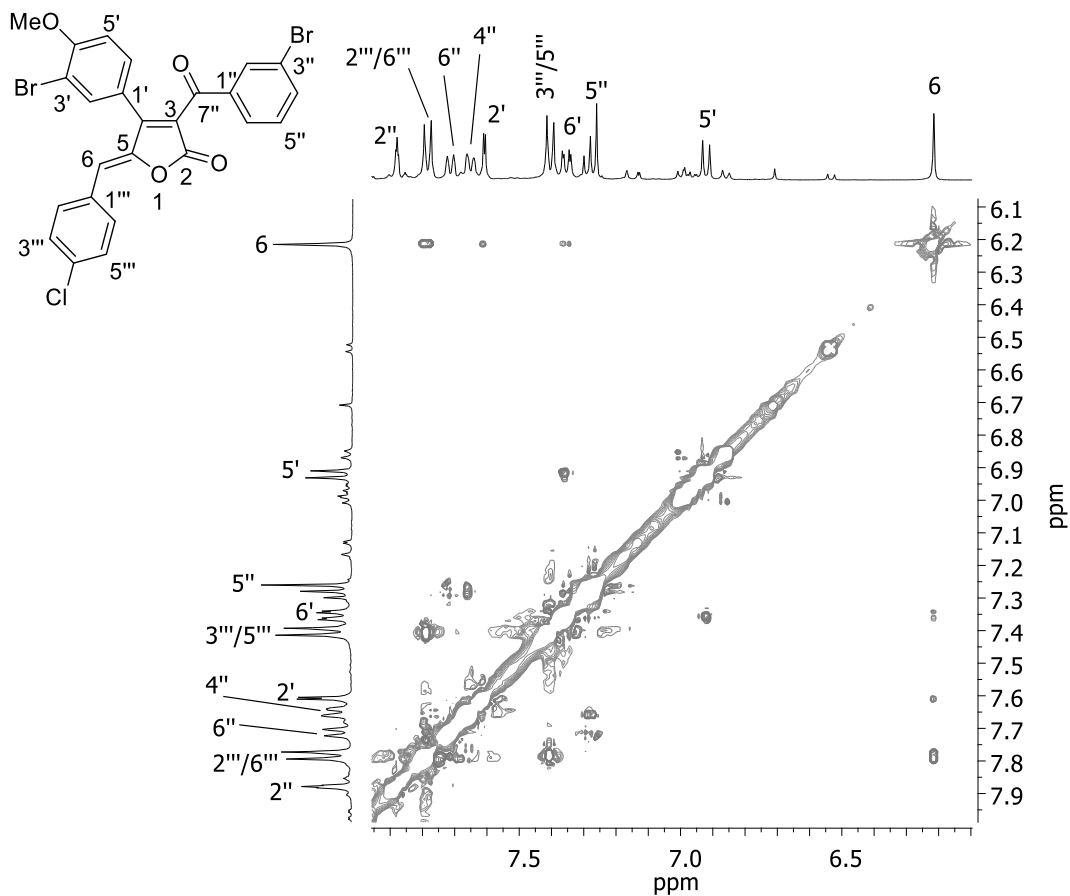


Figura A2.111 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54h**.

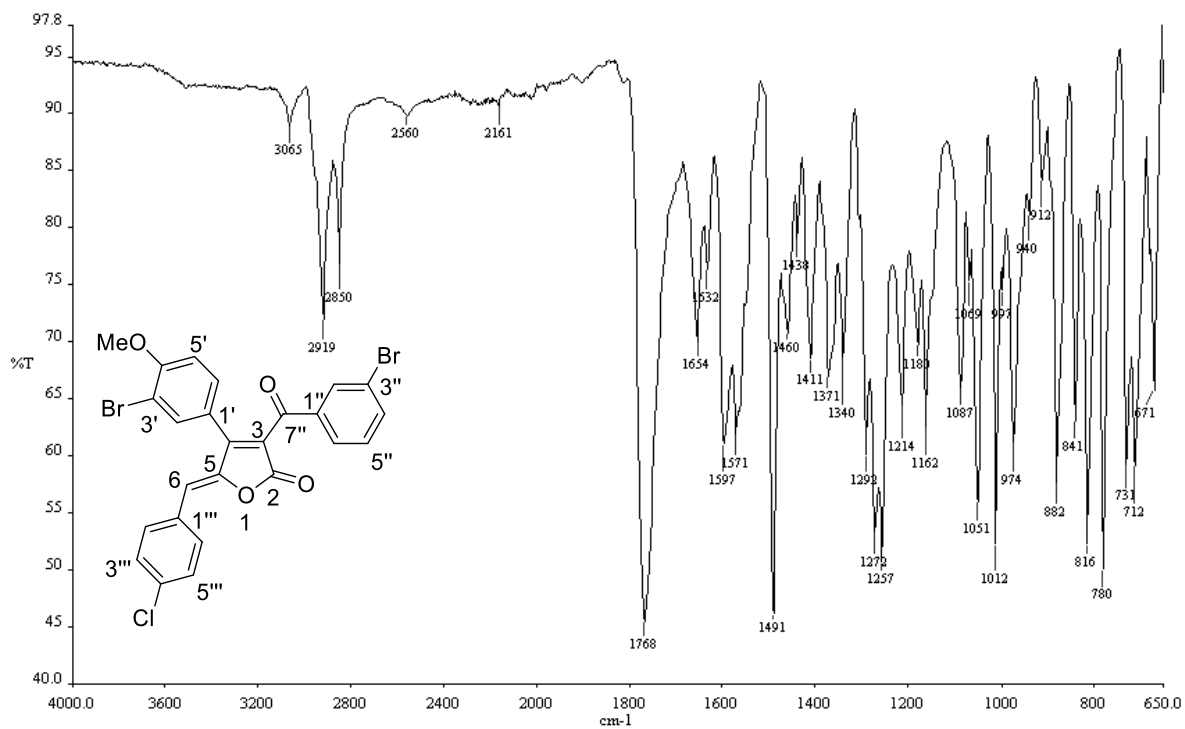


Figura A2.112 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54h**.

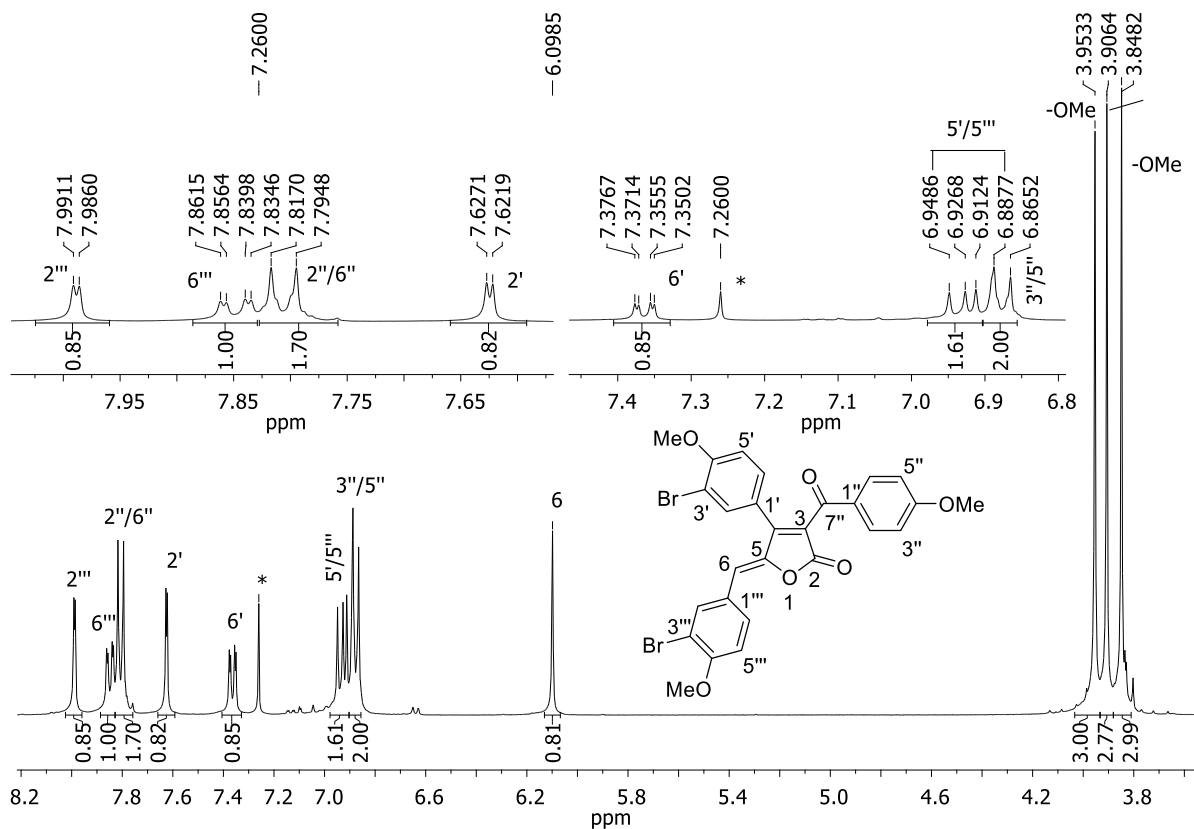


Figura A2.113 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **54i**.

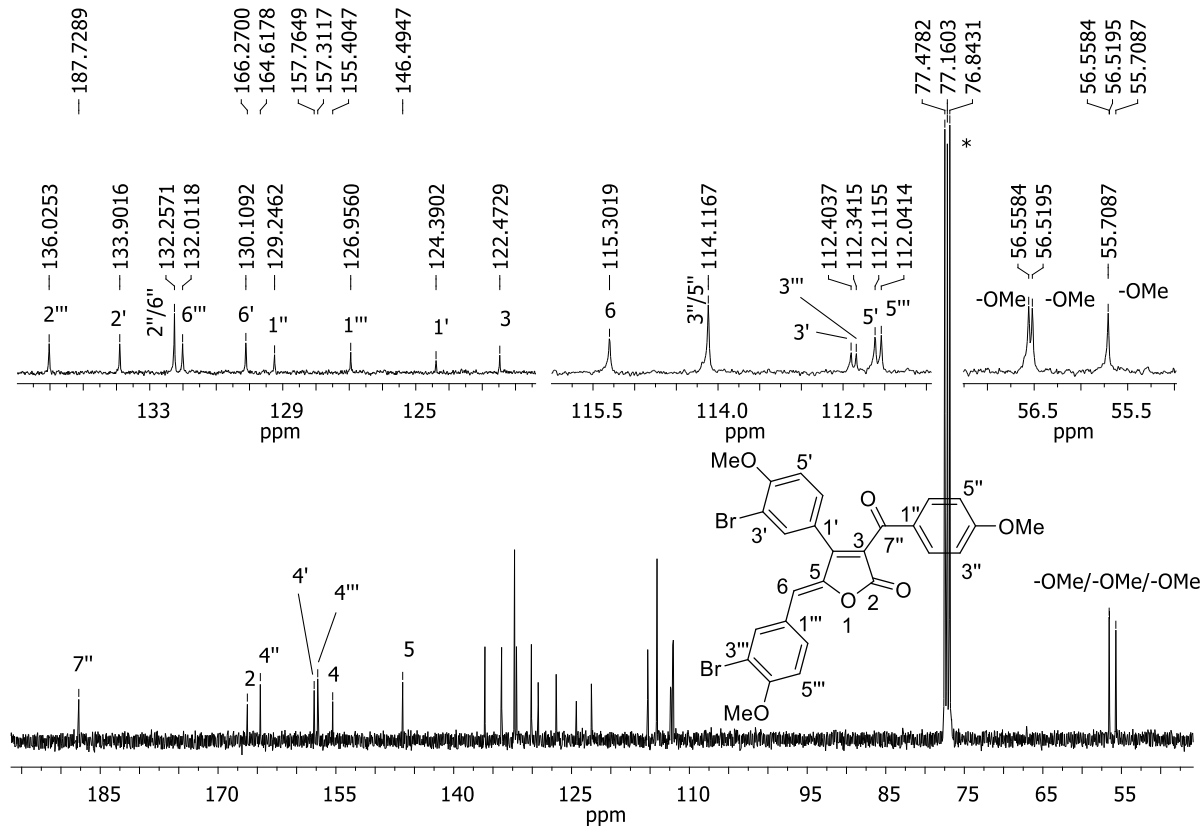


Figura A2.114 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54i**.

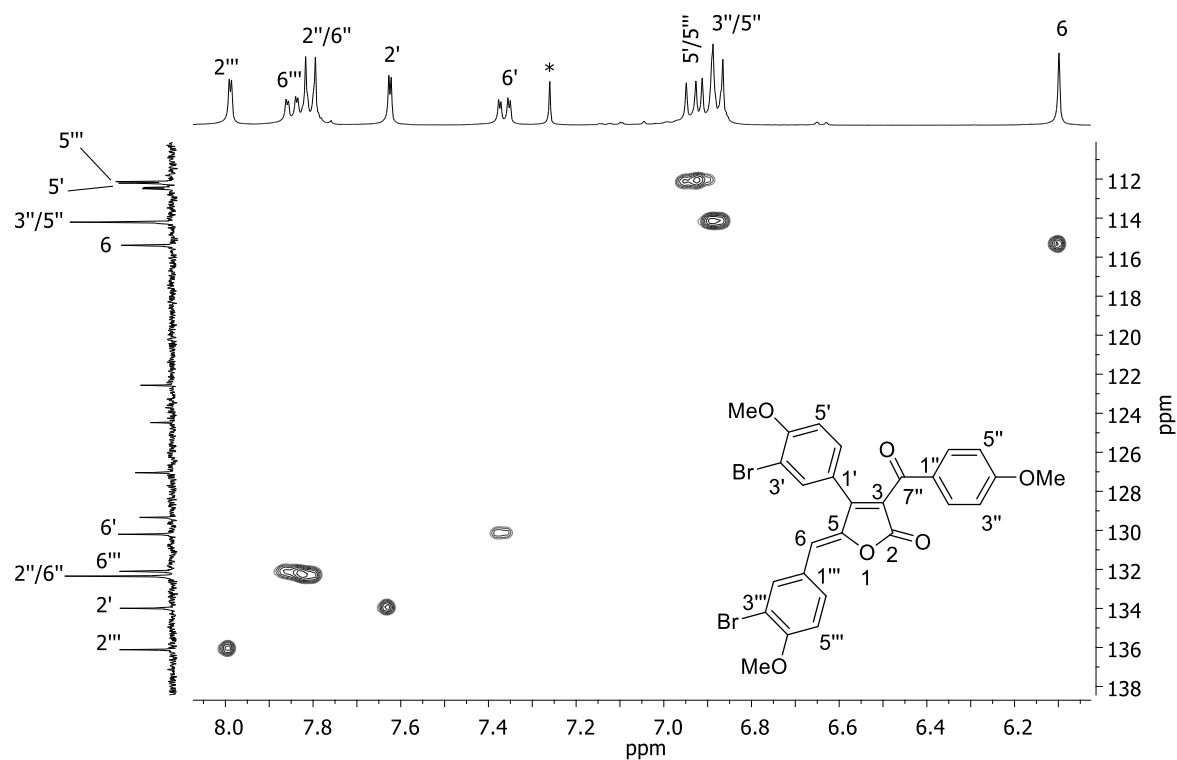


Figura A2.115 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) do composto **54i**.

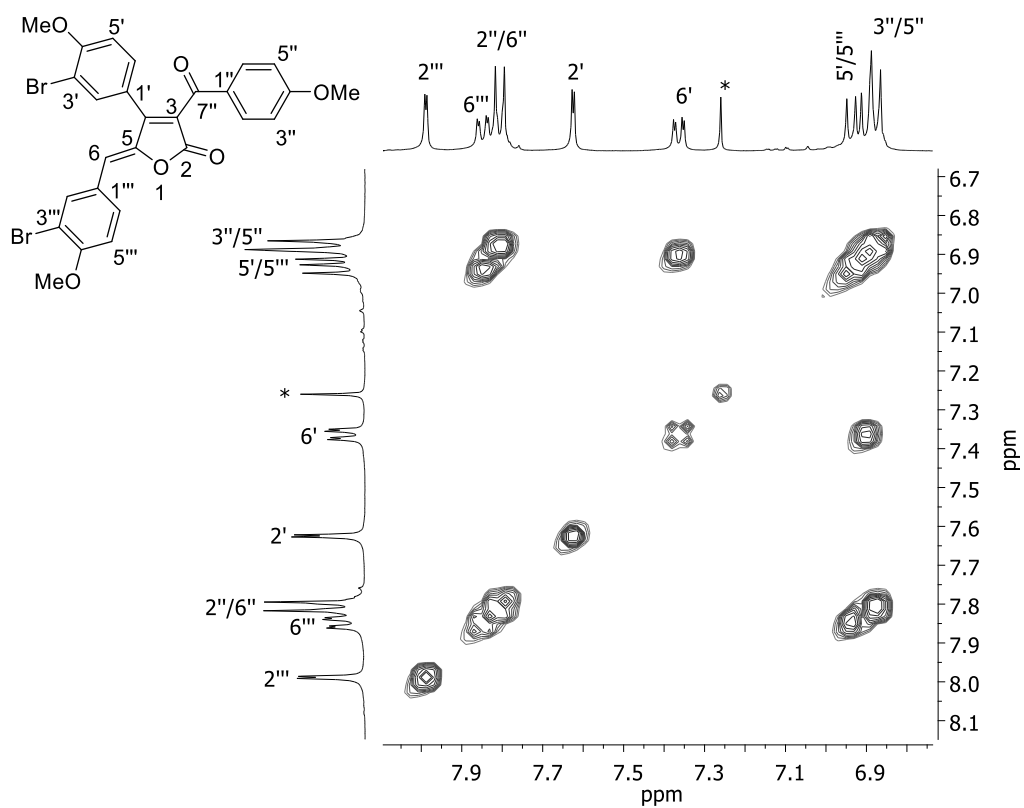


Figura A2.116 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54i**.

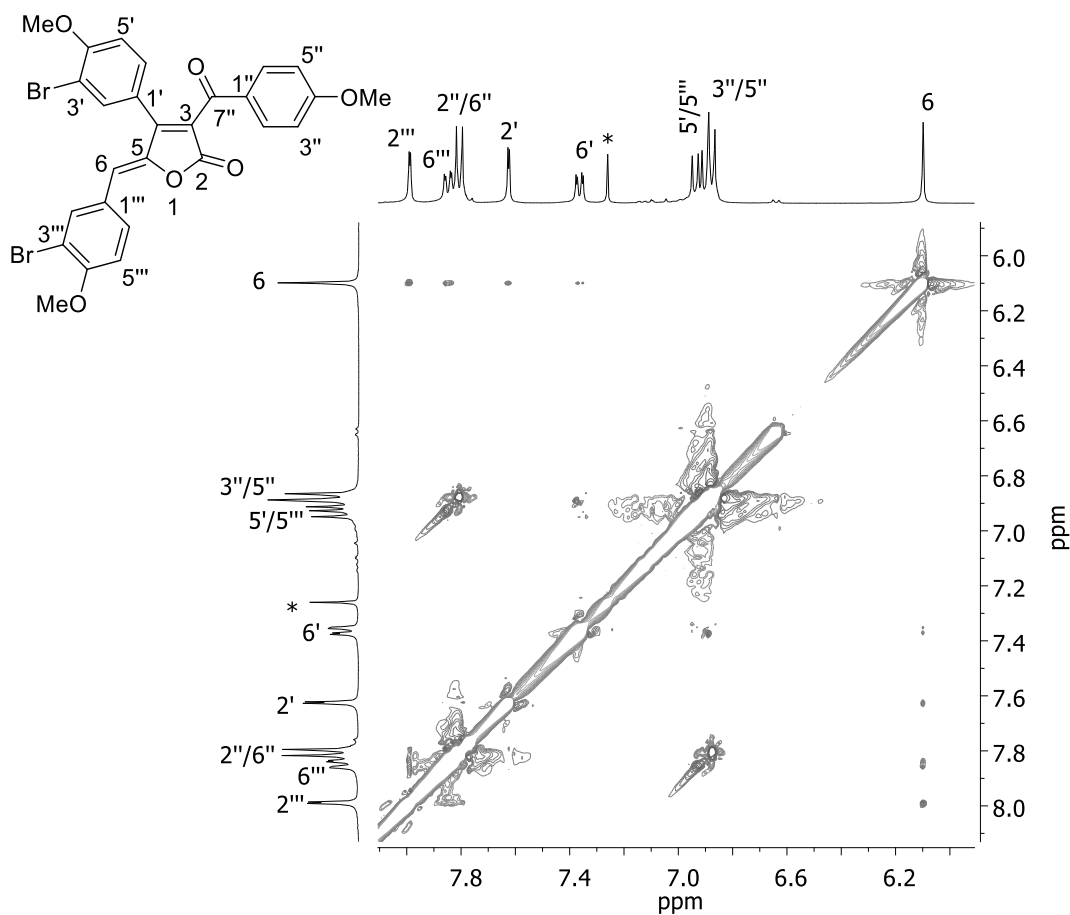


Figura A2.117 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) do composto **54i**.

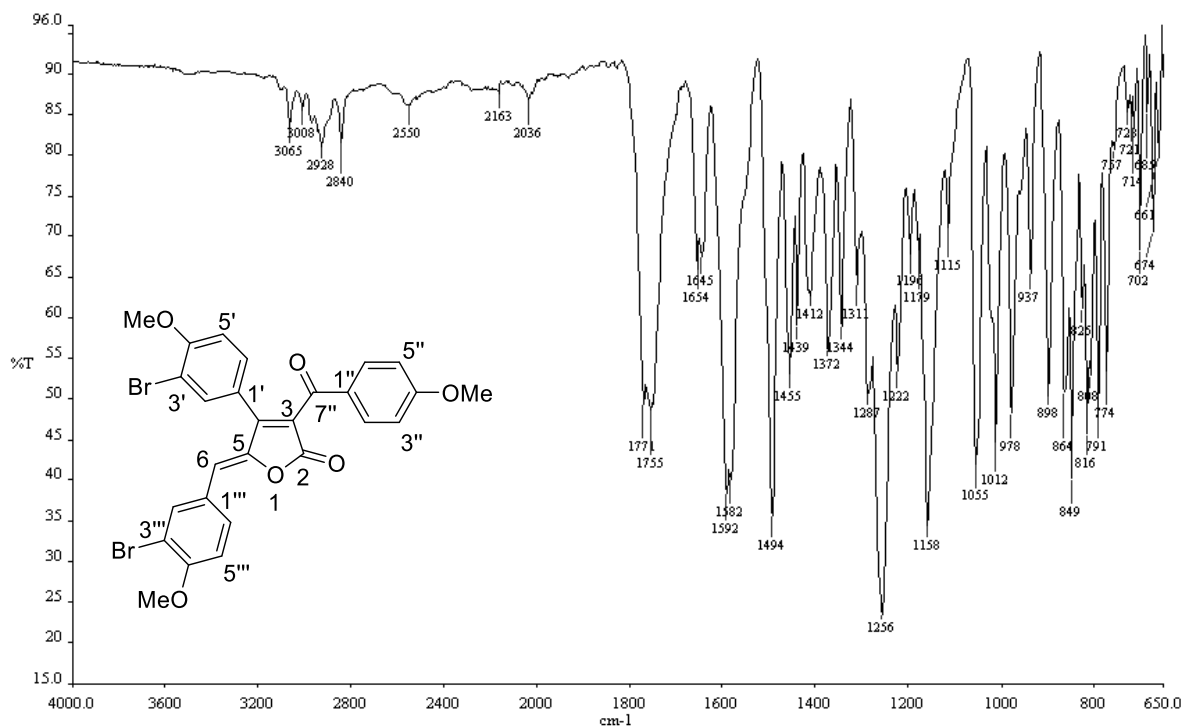


Figura A2.118 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54i**.

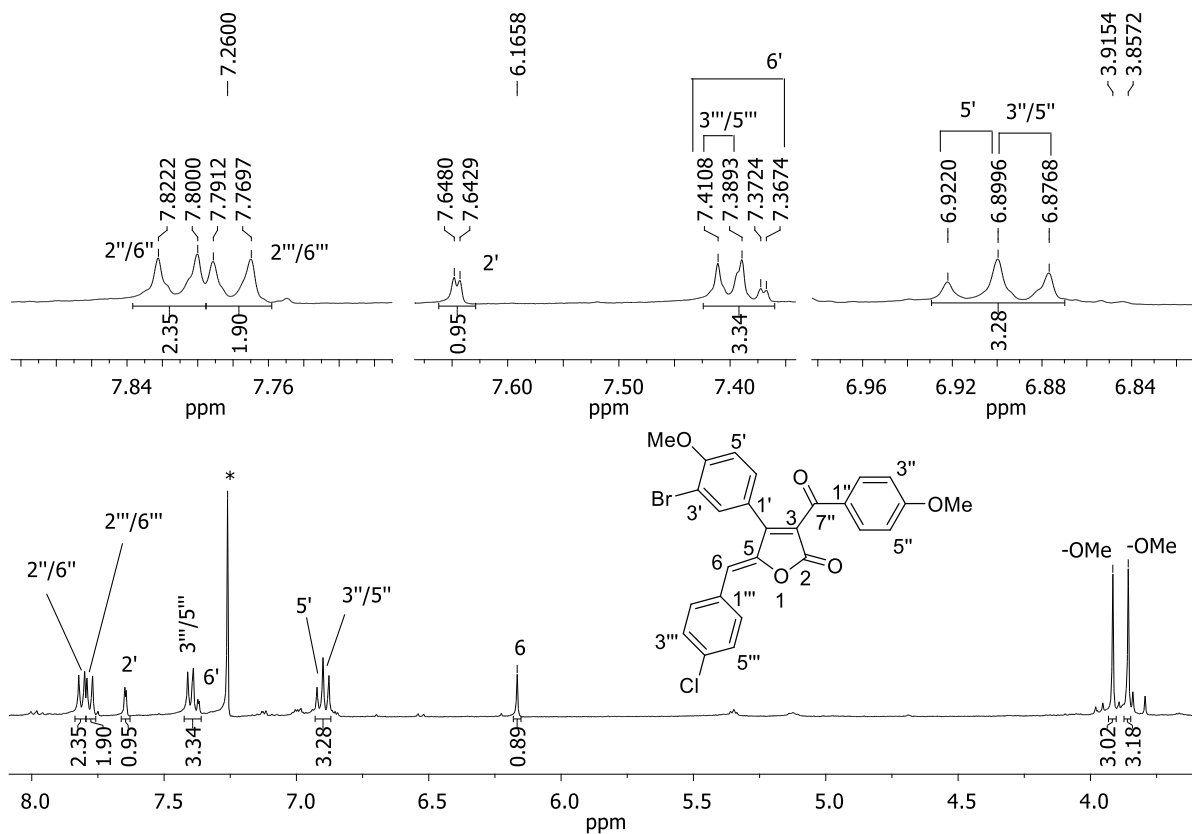


Figura A2.119 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **54j**.

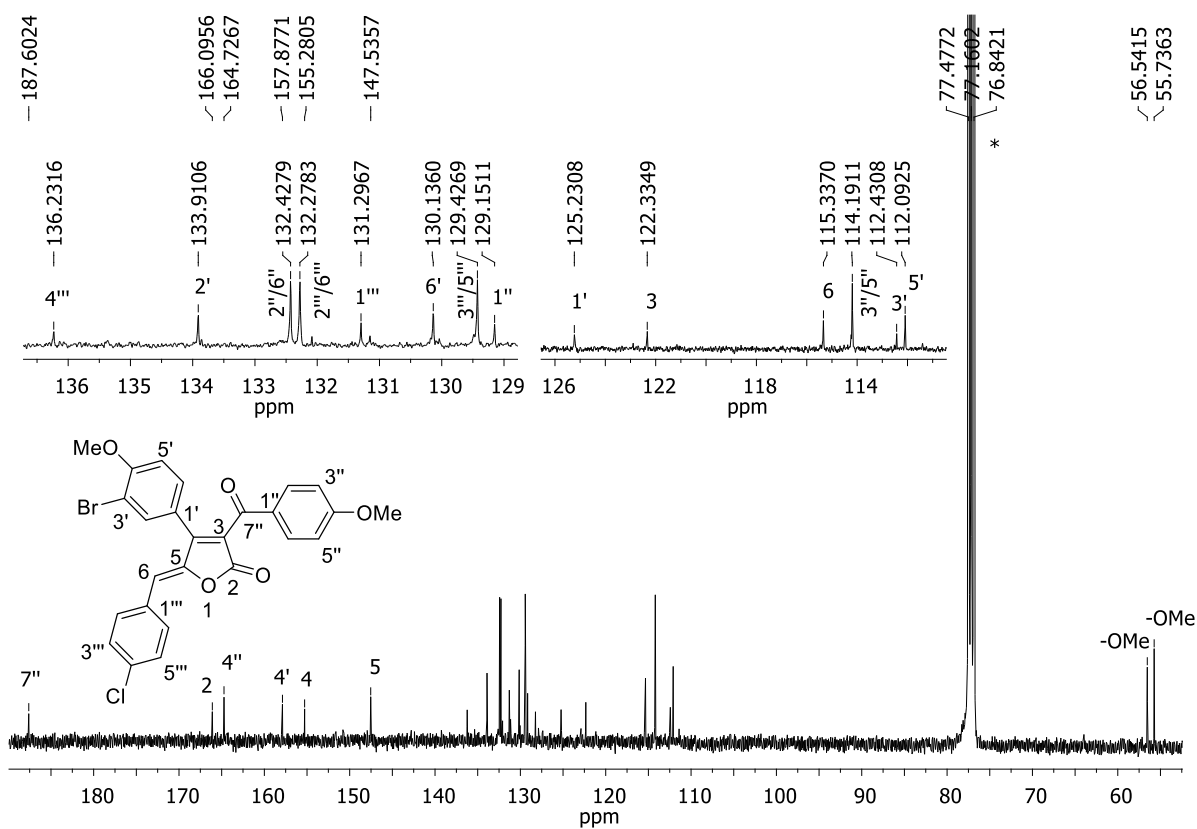


Figura A2.120 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54j**.

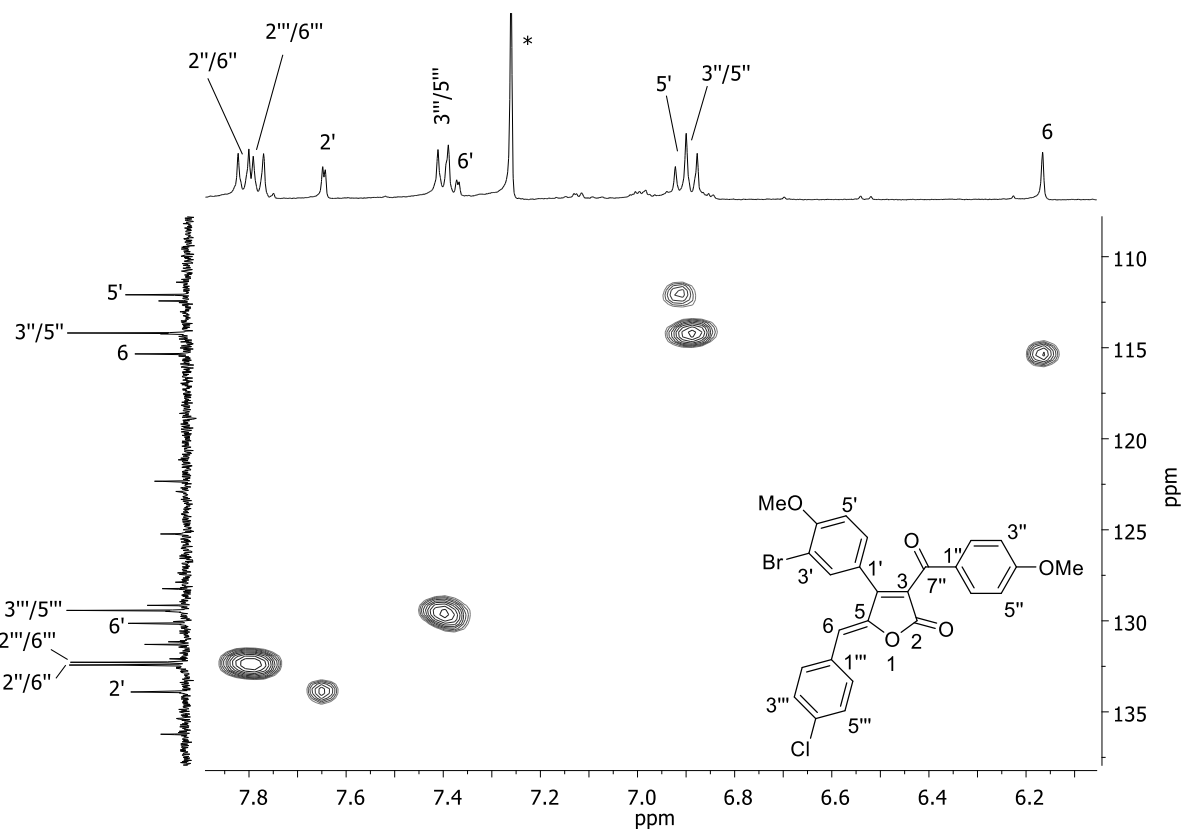


Figura A2.121 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) (ampliado) do composto **54j**.

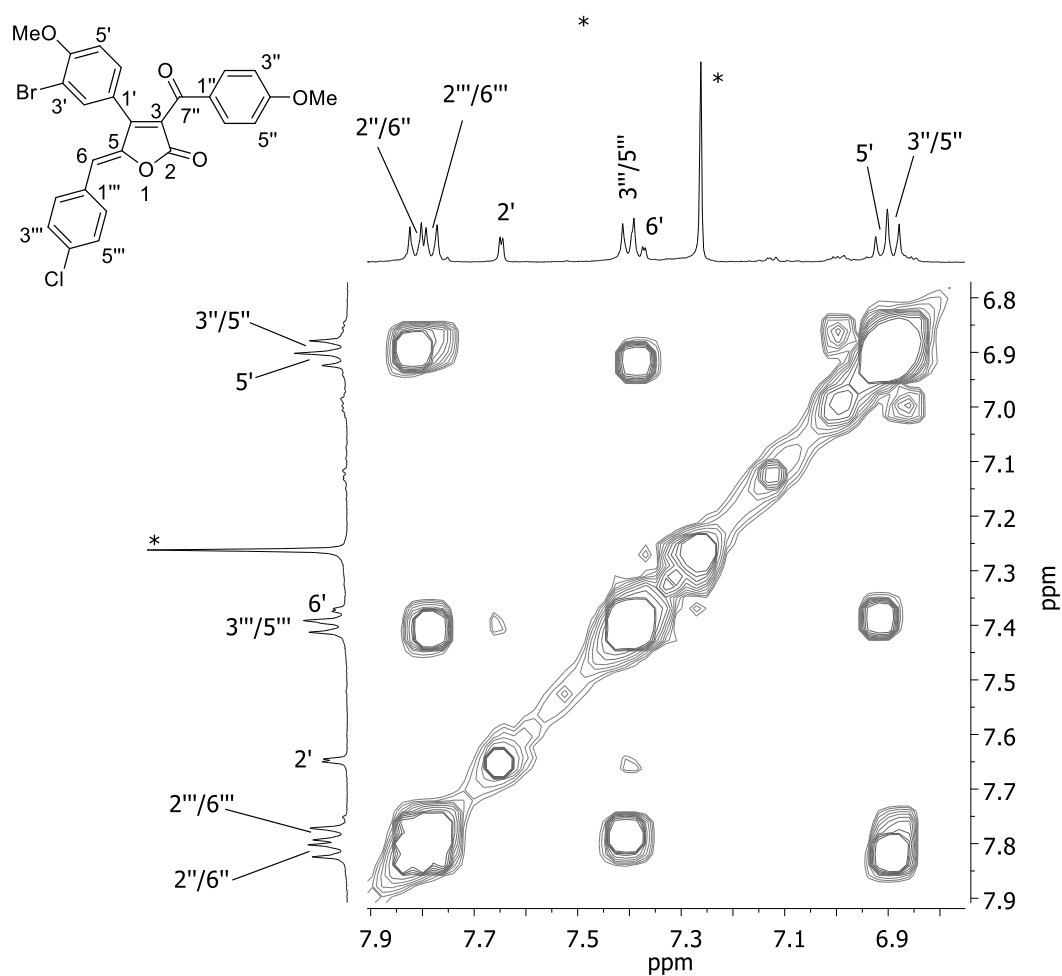


Figura A2.122 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) do composto **54j**.

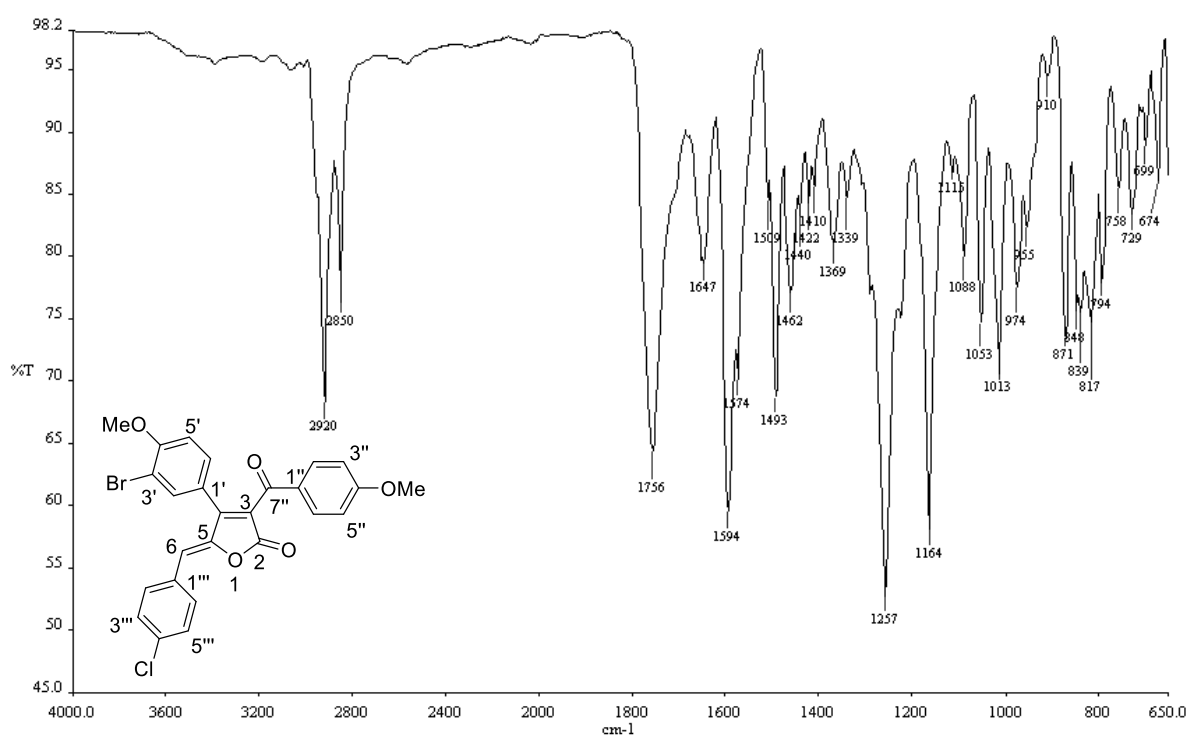


Figura A2.123 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54j**.

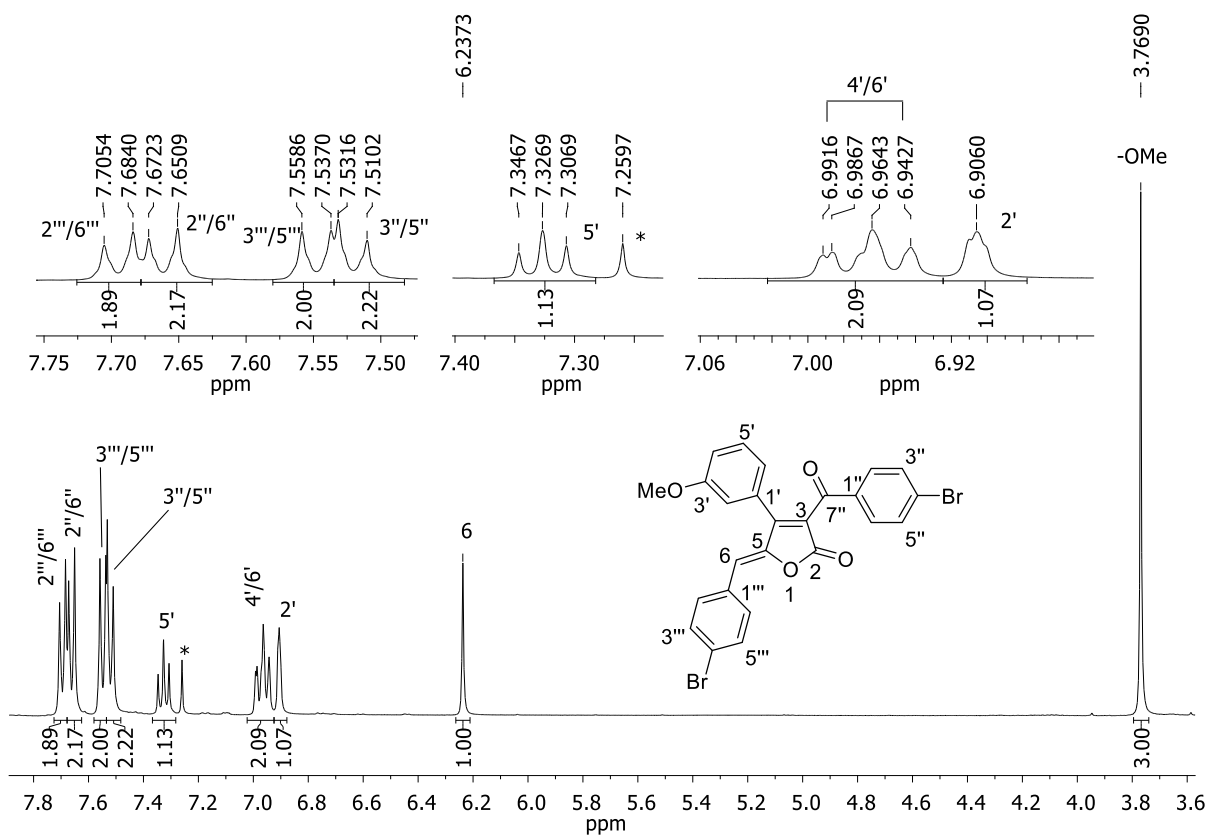


Figura A2.124 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **54k**.

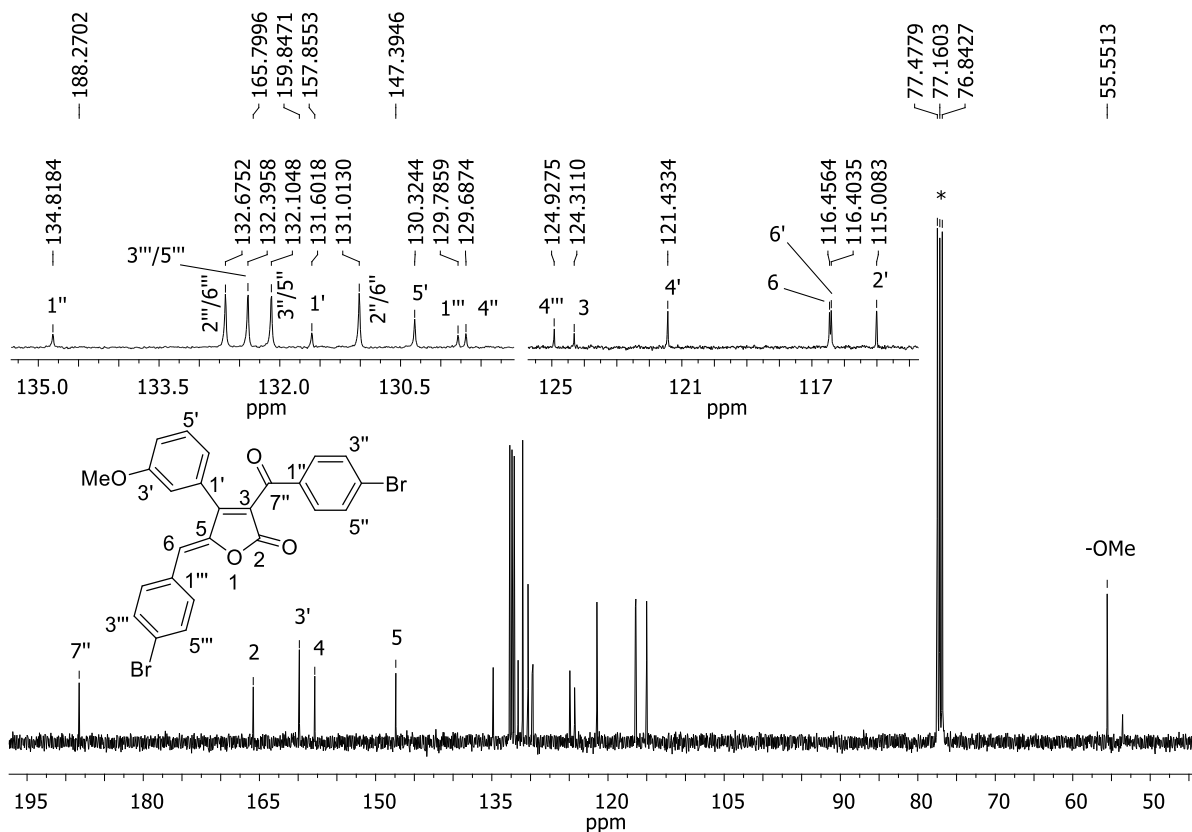


Figura A2.125 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54k**.

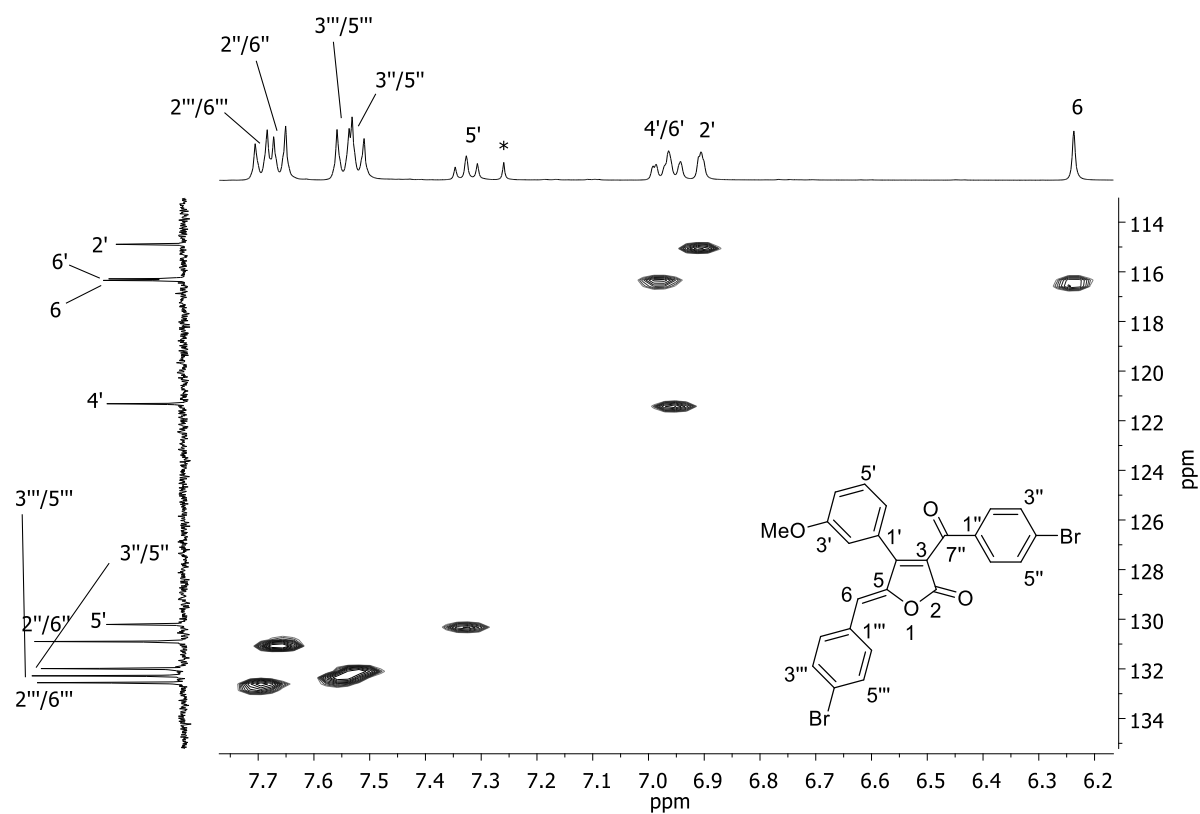


Figura A2.126 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, CDCl_3) (ampliado) do composto **54k**.

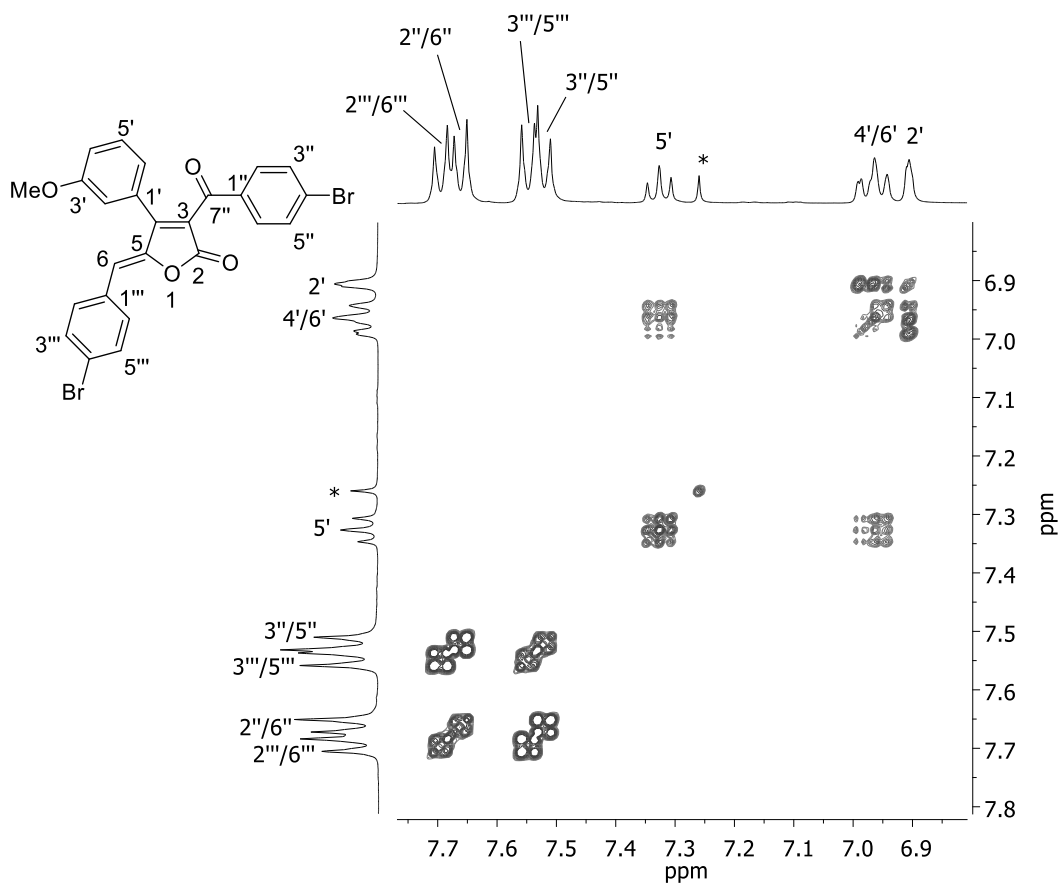


Figura A2.127 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **54k**.

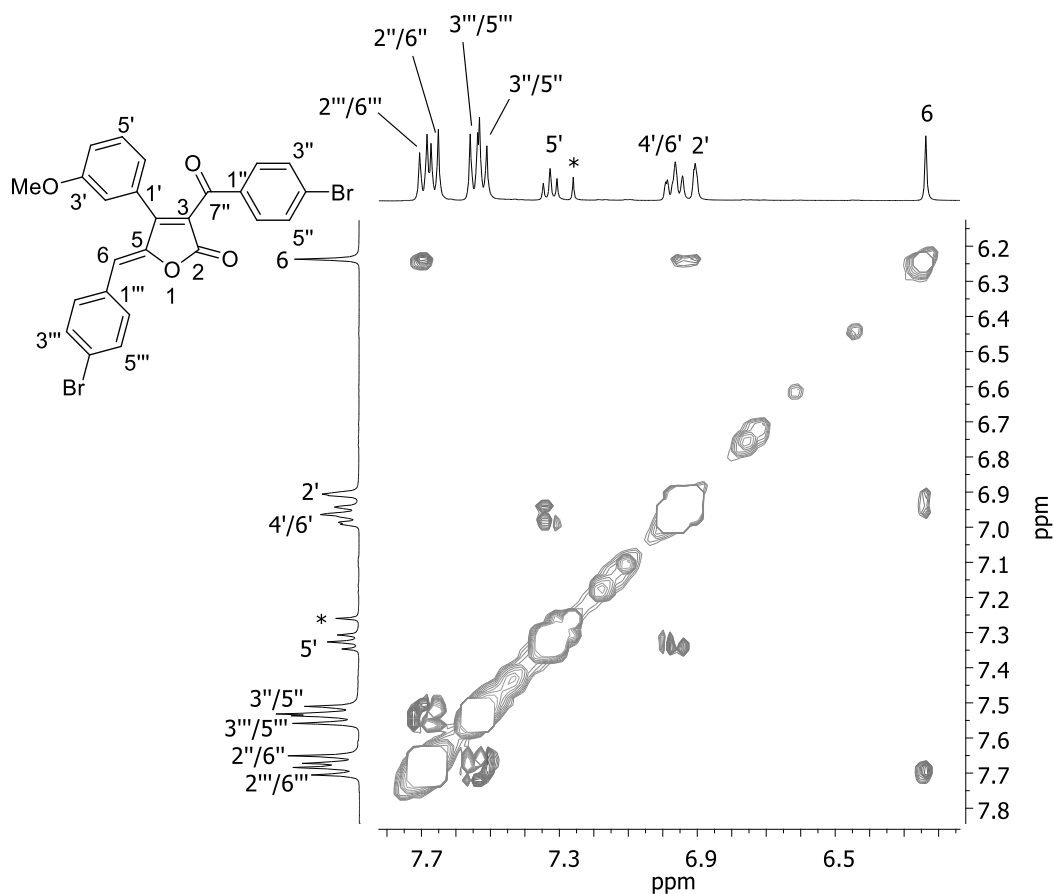


Figura A2.128 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) do composto **54k**.

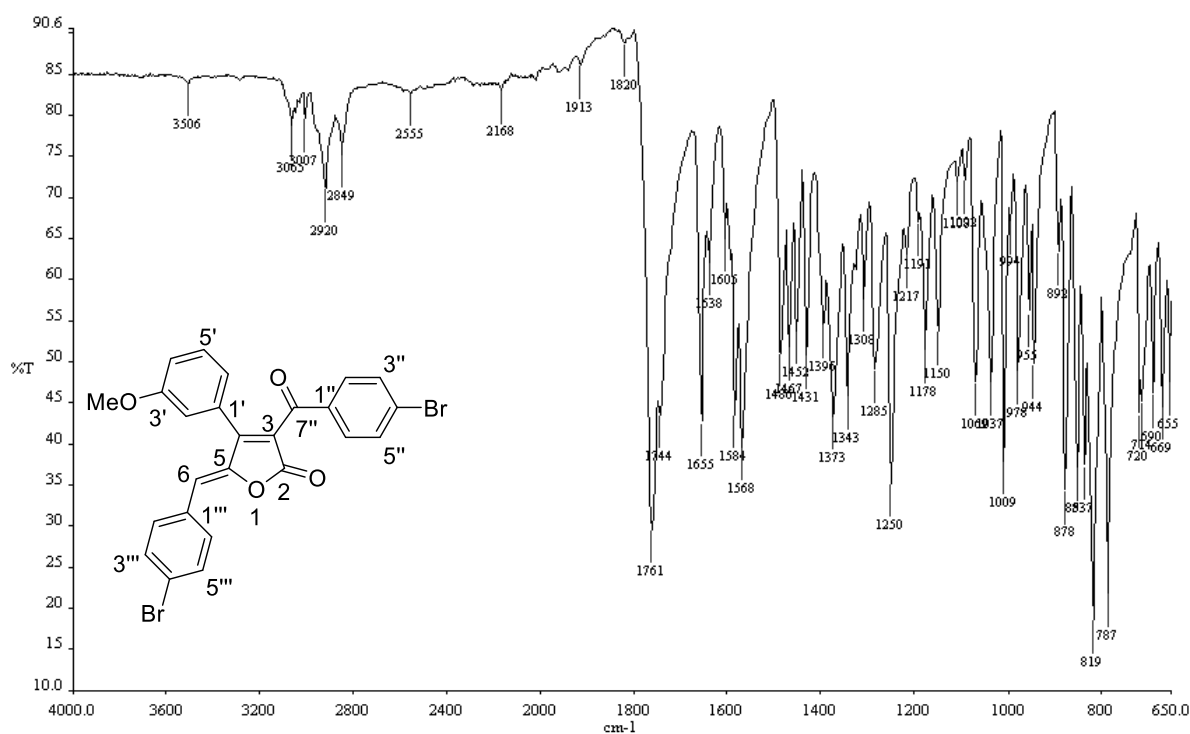


Figura A2.129 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54k**.

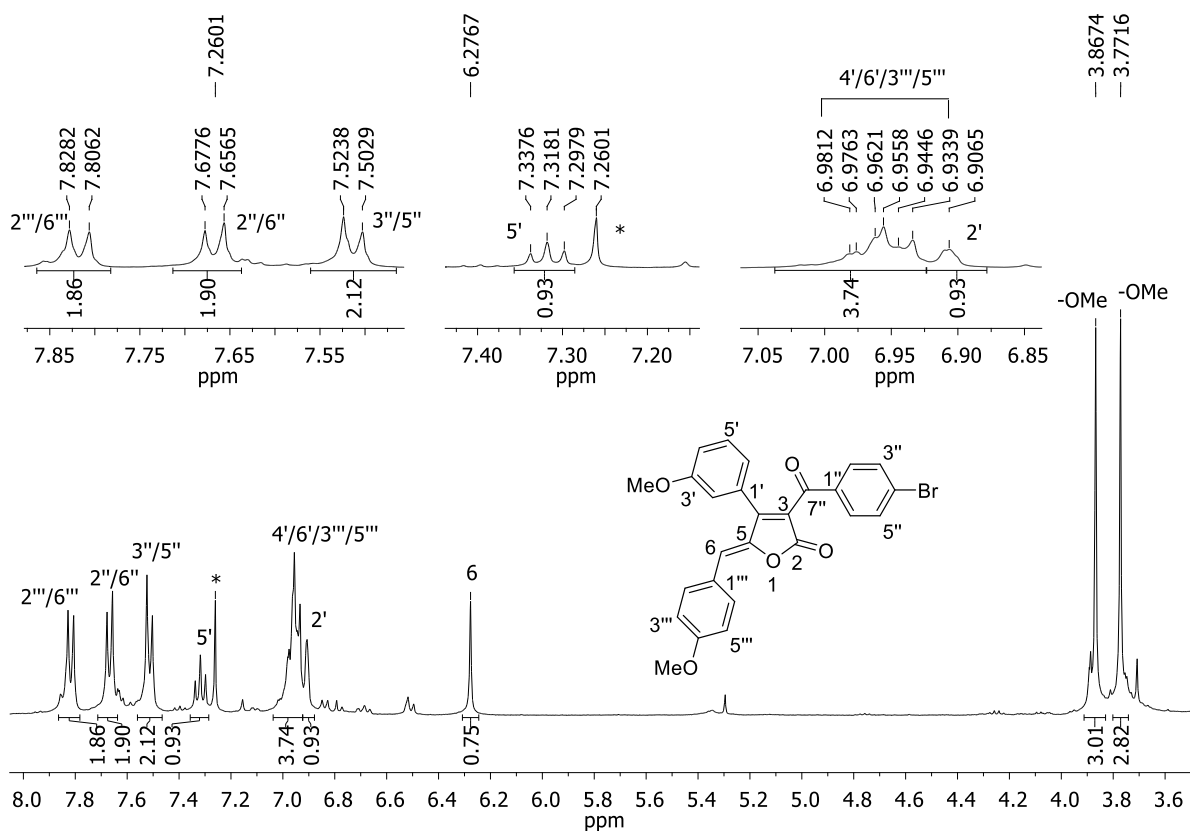


Figura A2.130 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **54l**.

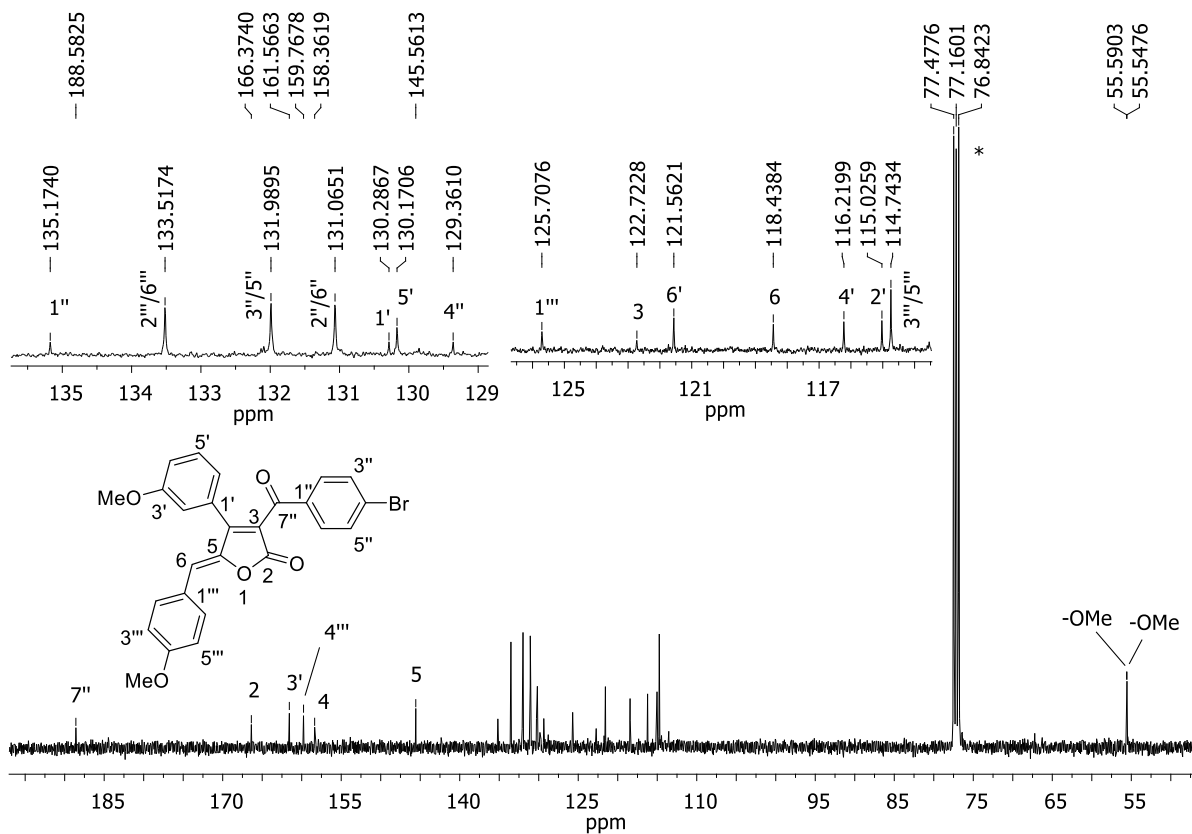


Figura A2.131 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **54l**.

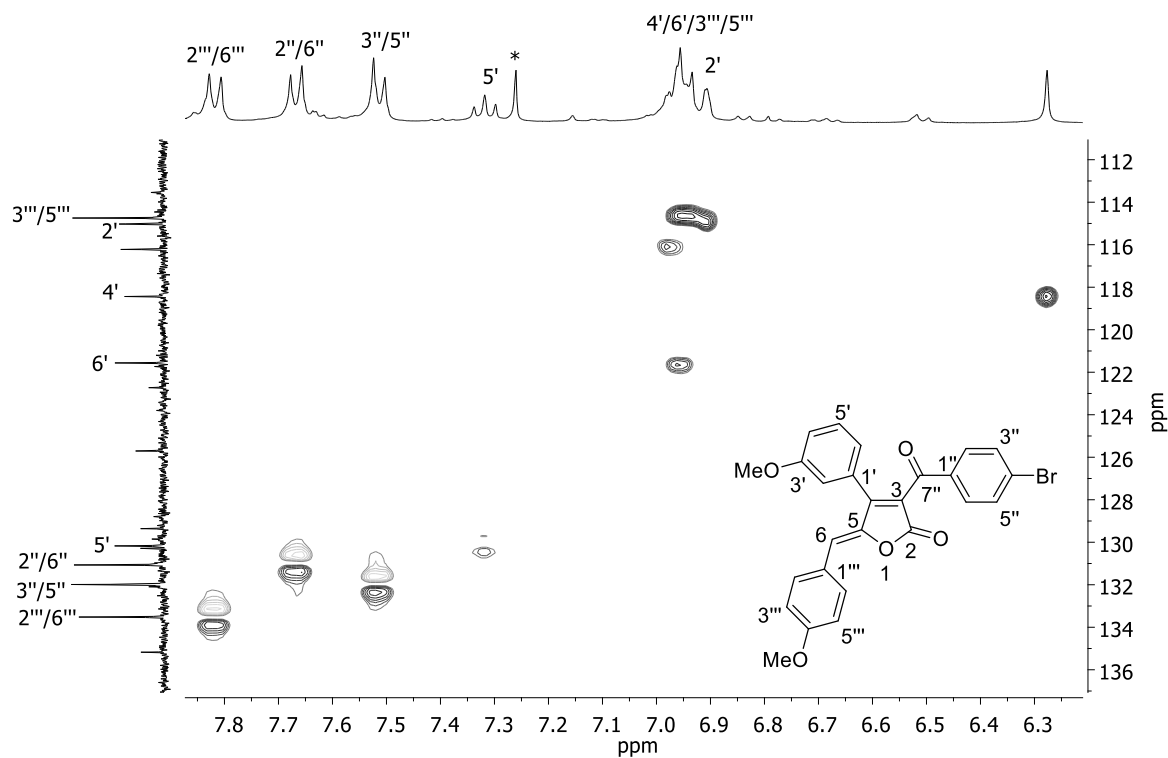


Figura A2.132 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) (ampliado) do composto **54l**.

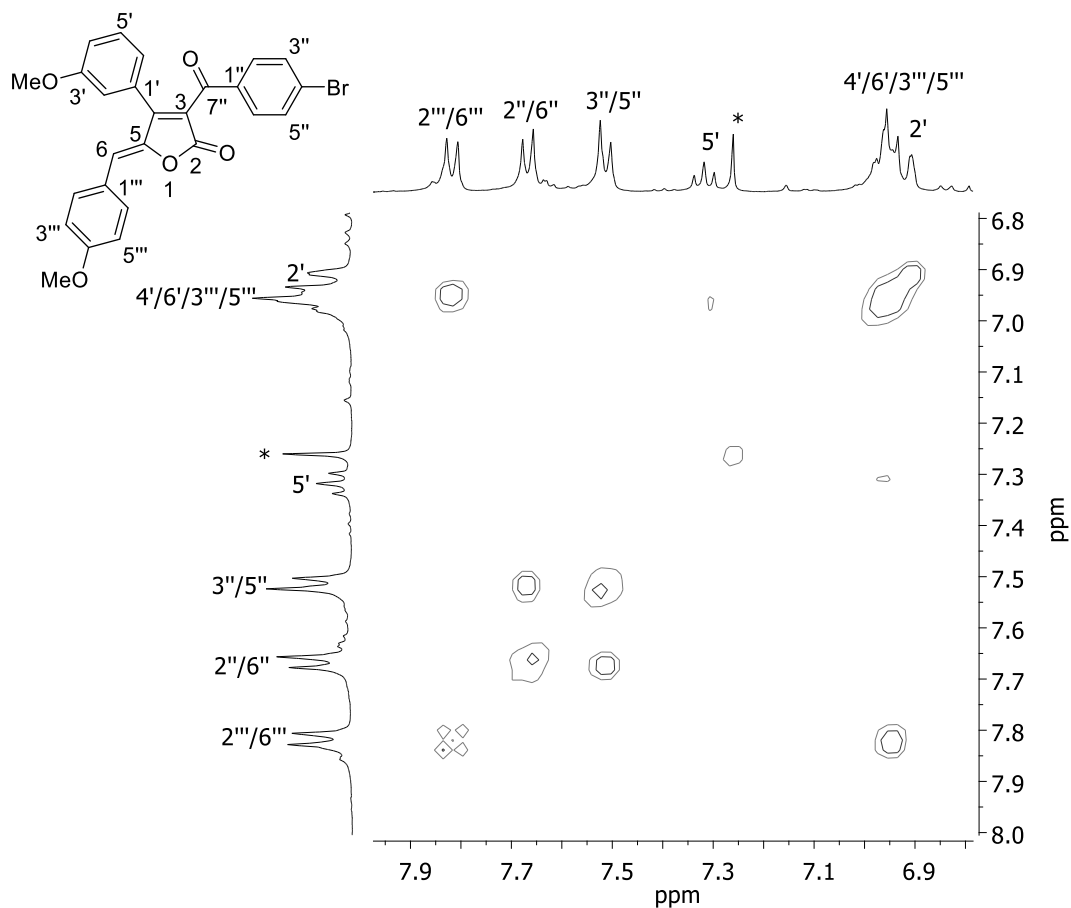


Figura A2.133 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **54I**.

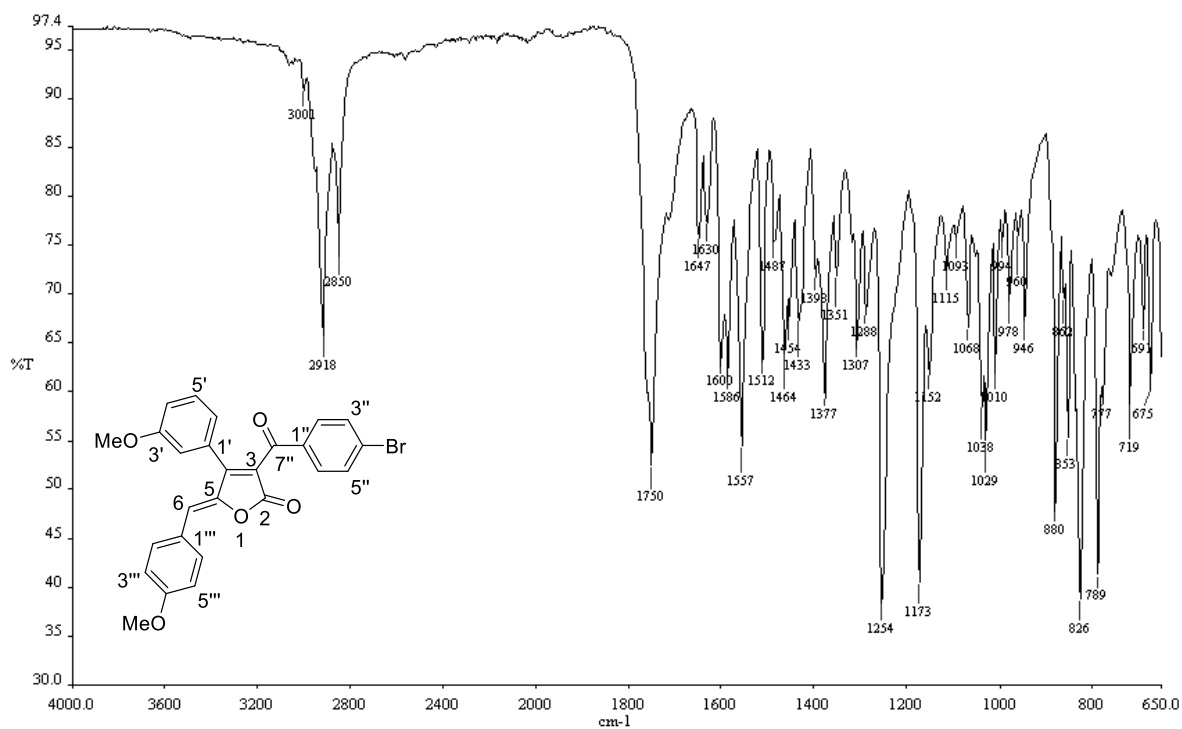


Figura A2.134 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54I**.

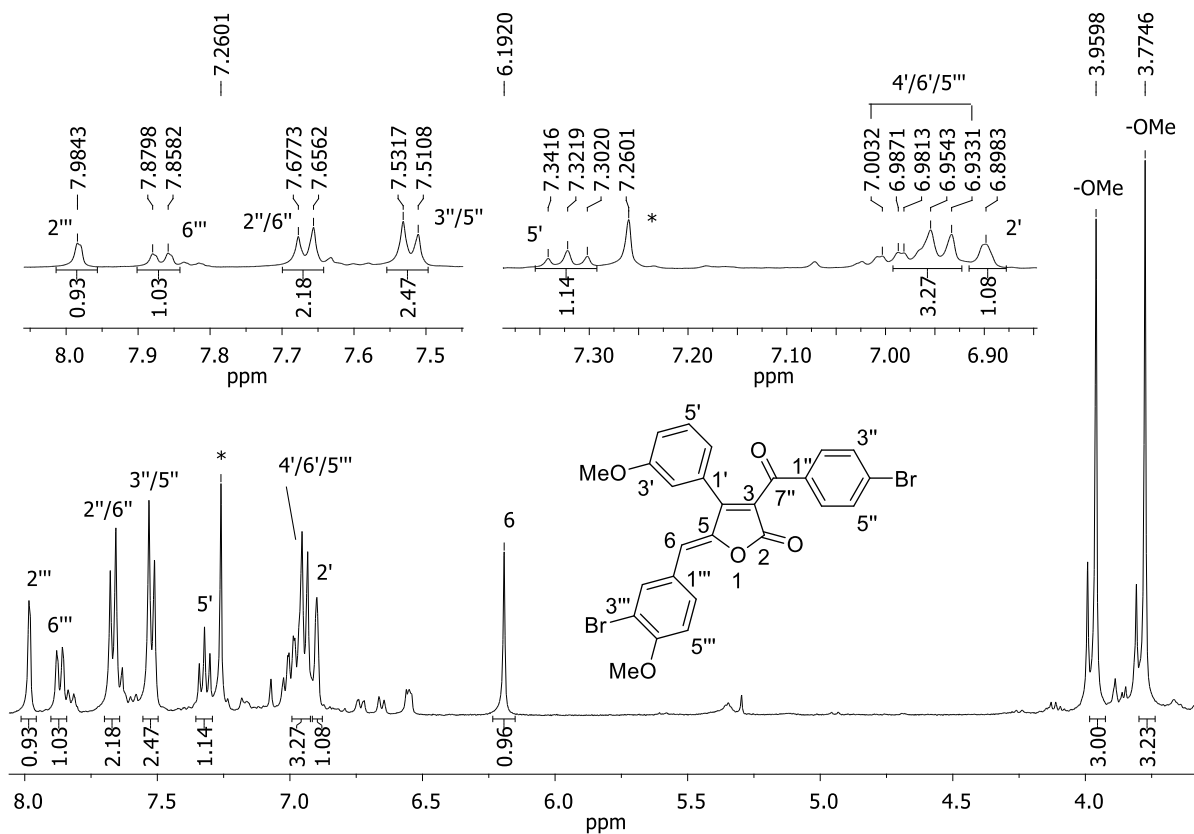


Figura A2.135 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **54m**.

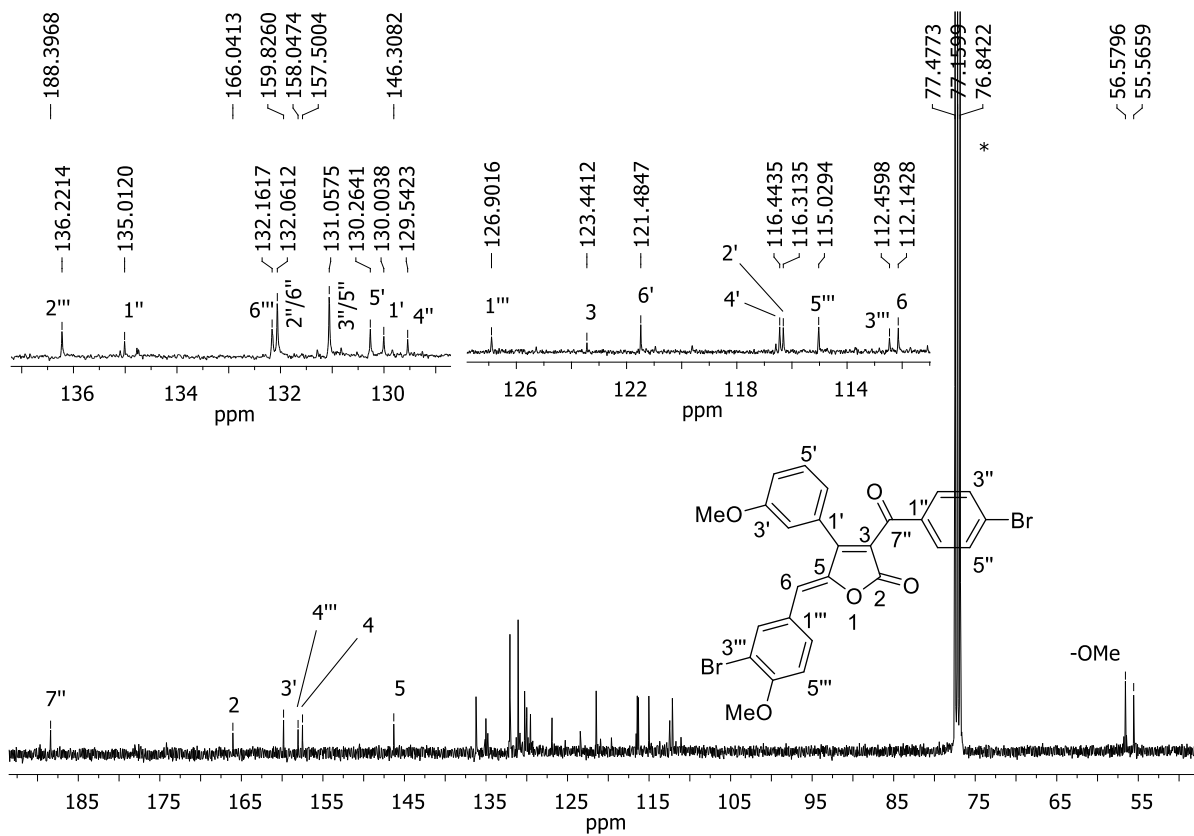


Figura A2.136 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **54m**.

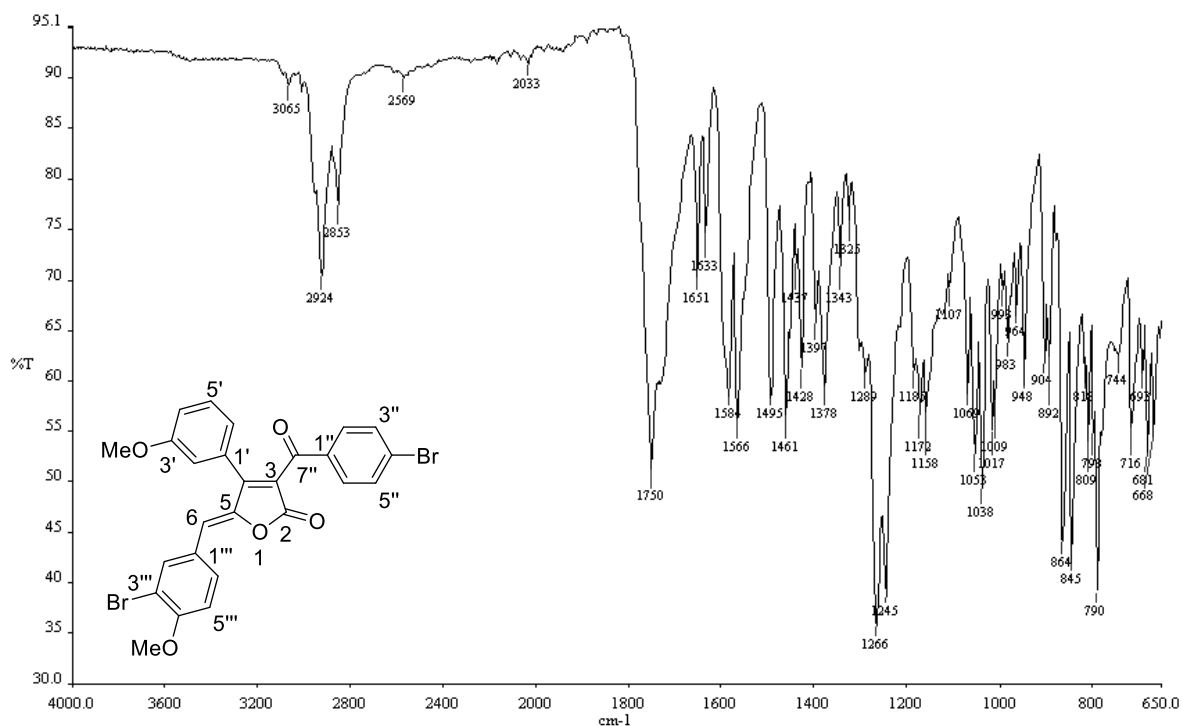


Figura A2.137 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **54m**.

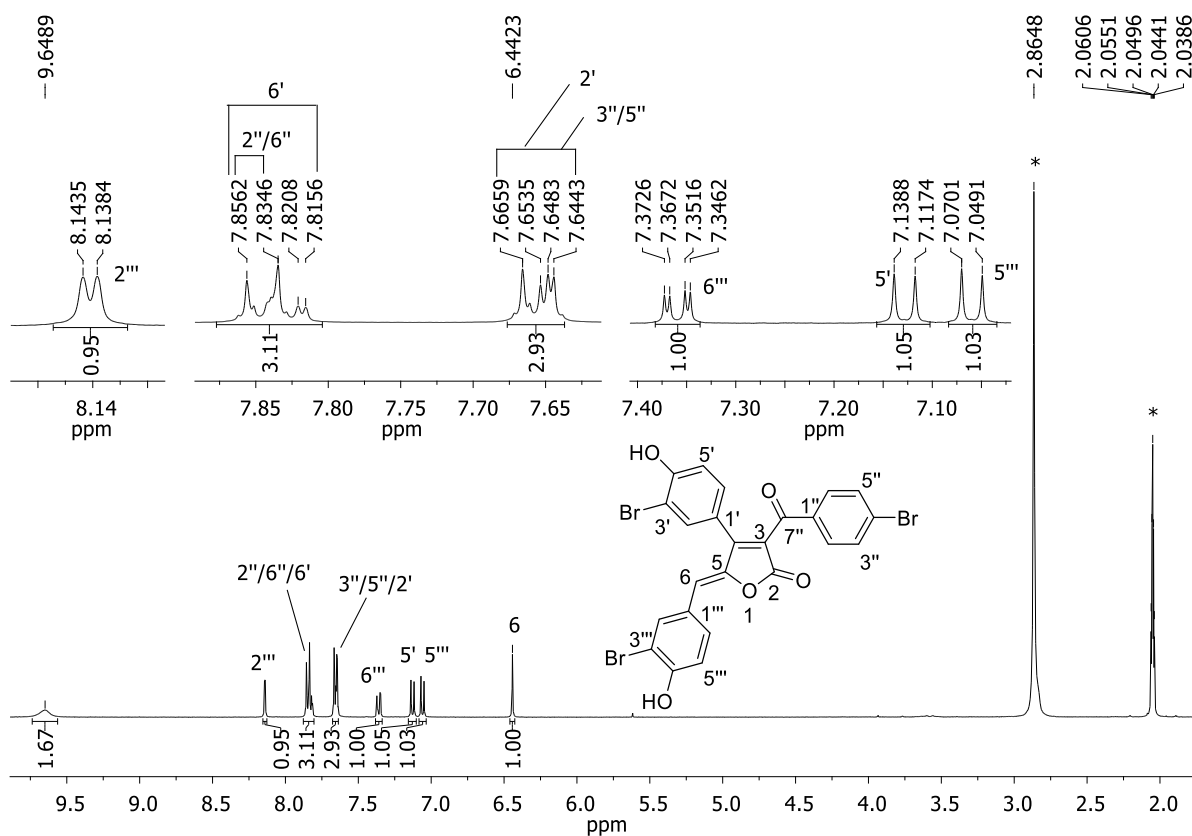


Figura A2.138 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55a**.

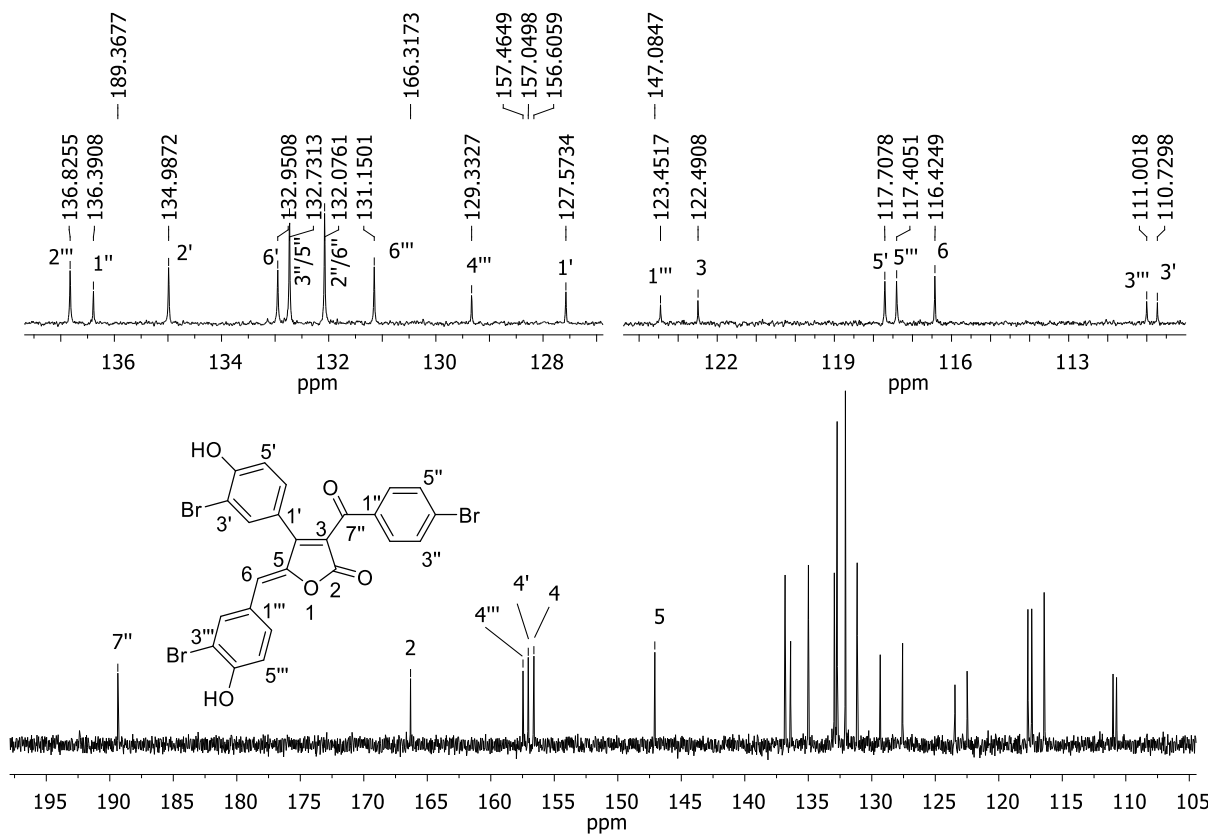


Figura A2.139 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55a**.

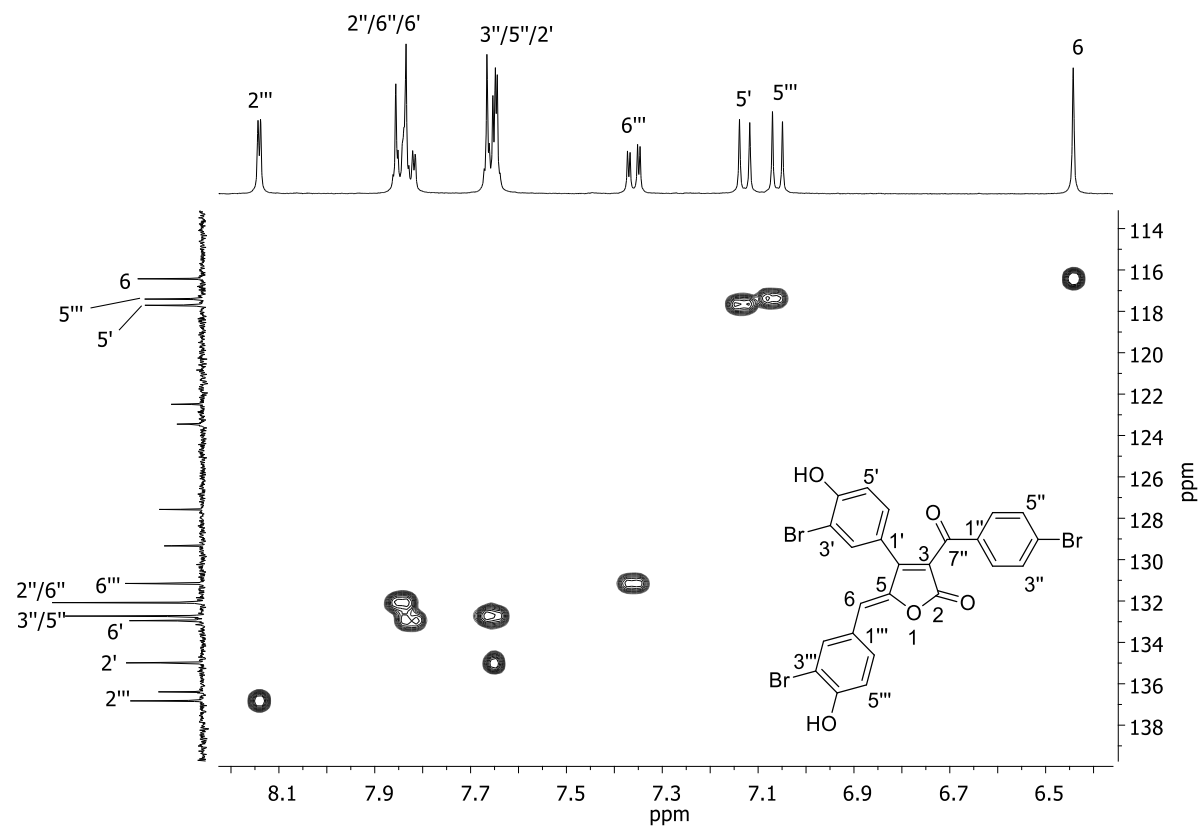


Figura A2.140 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55a**.

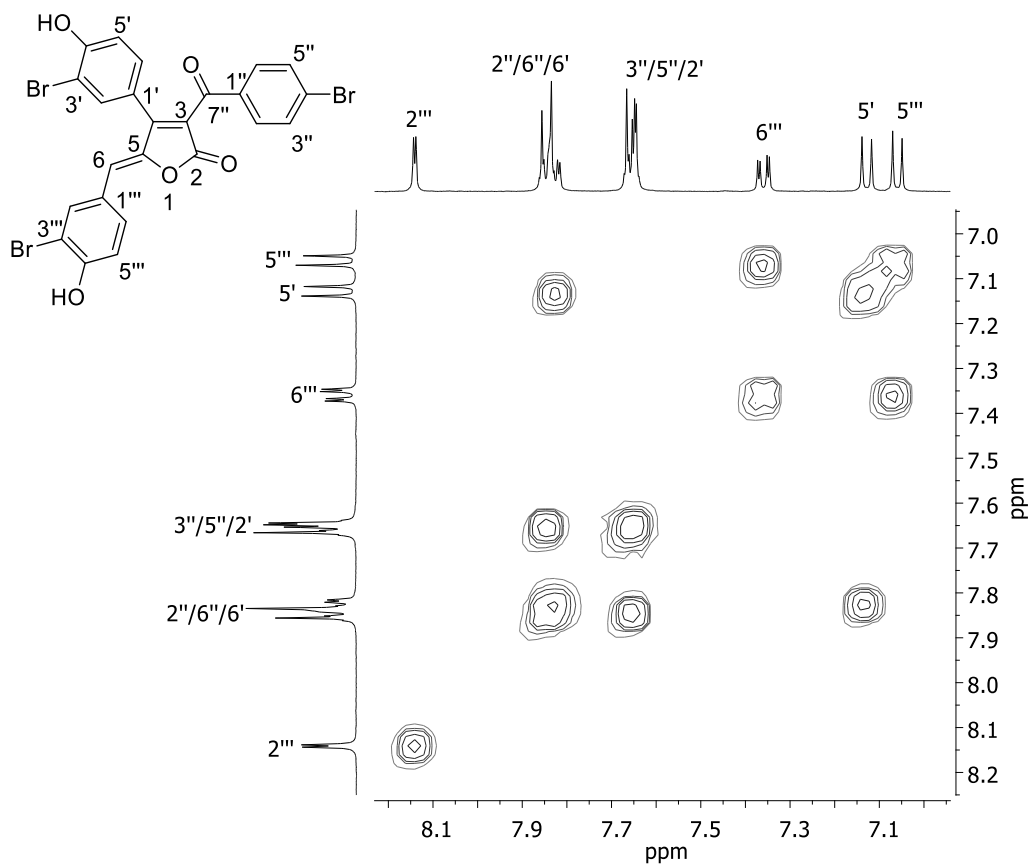


Figura A2.141 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55a**.

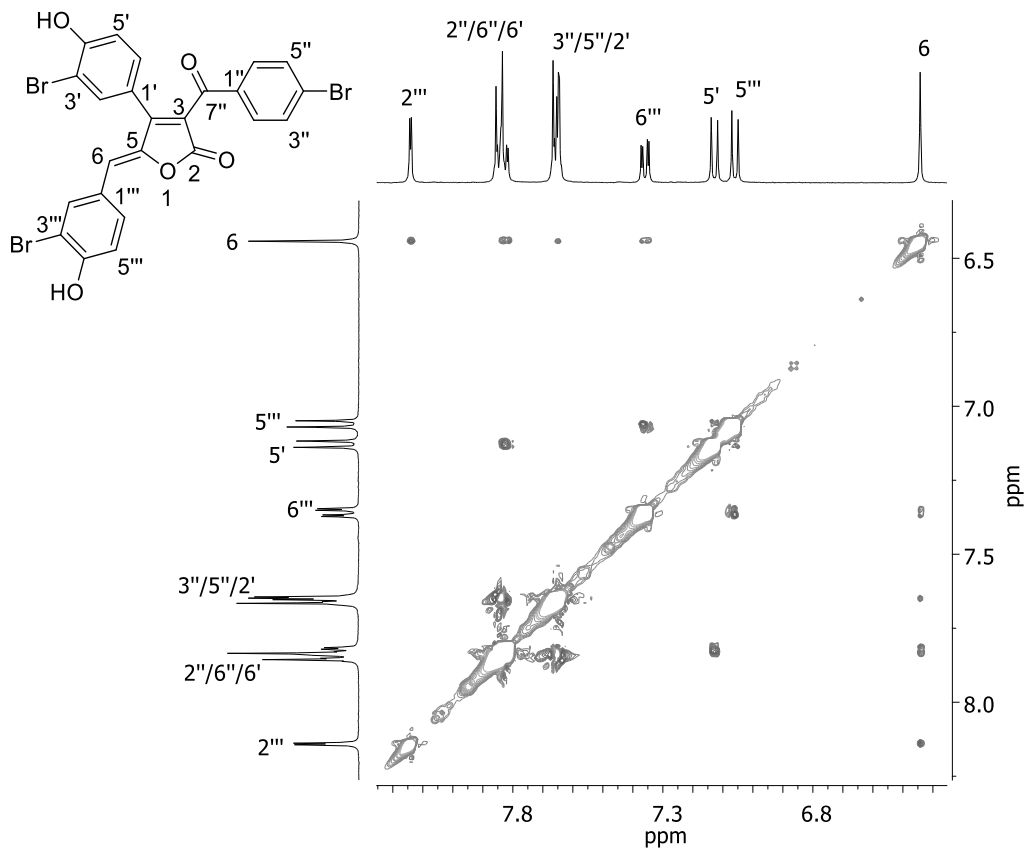


Figura A2.142 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55a**.

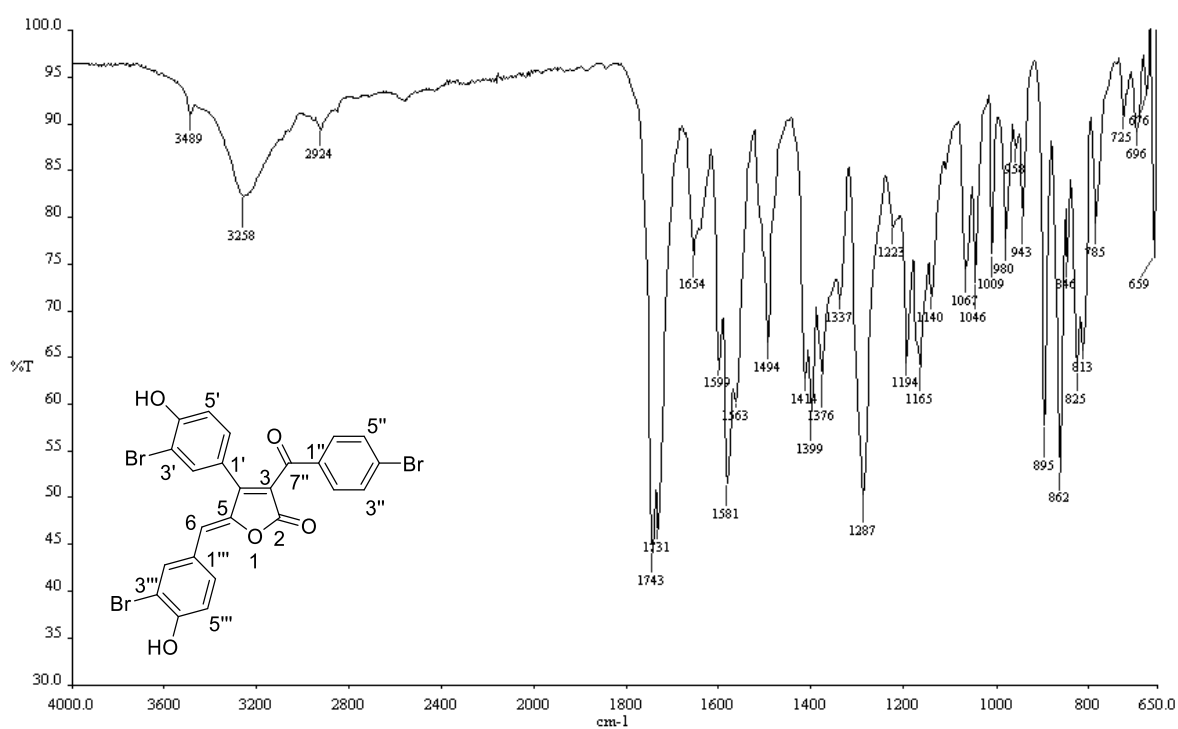


Figura A2.143 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **55a**.

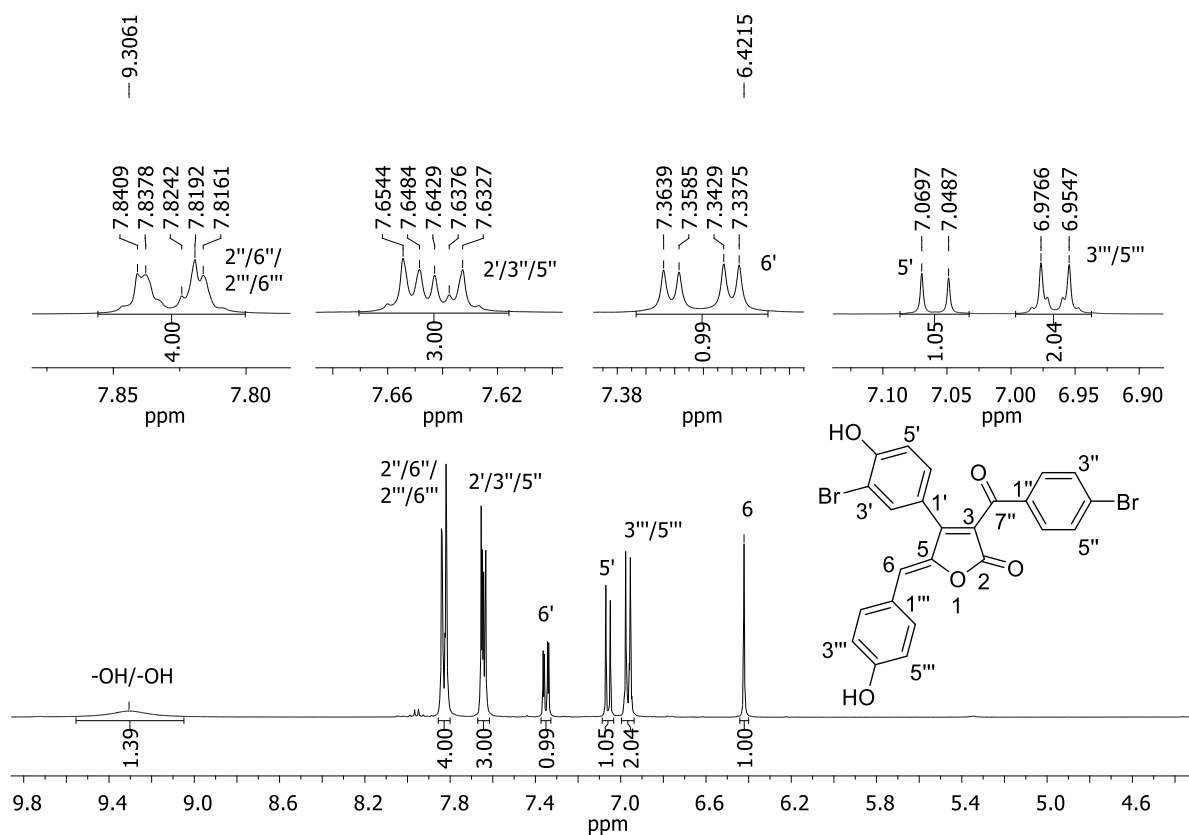


Figura A2.144 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55b**.

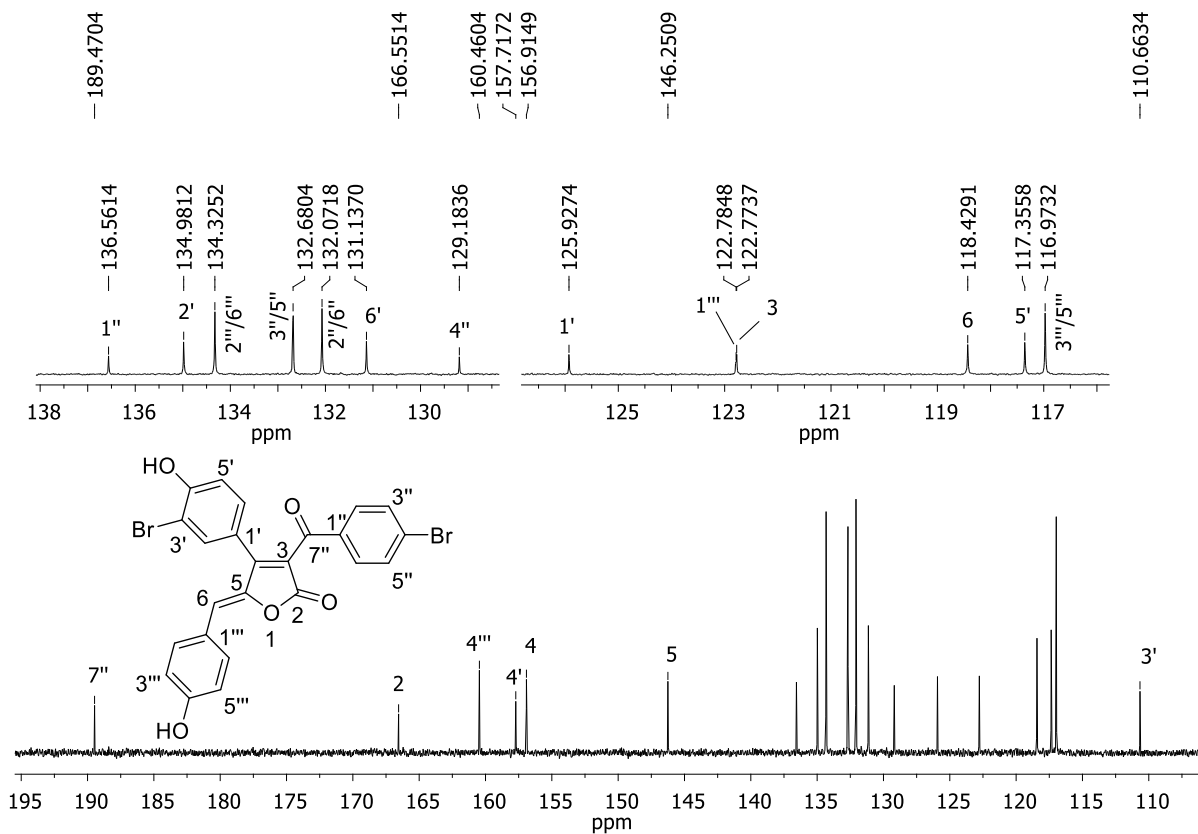


Figura A2.145 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, (CD₃)₂CO) do composto **55b**.

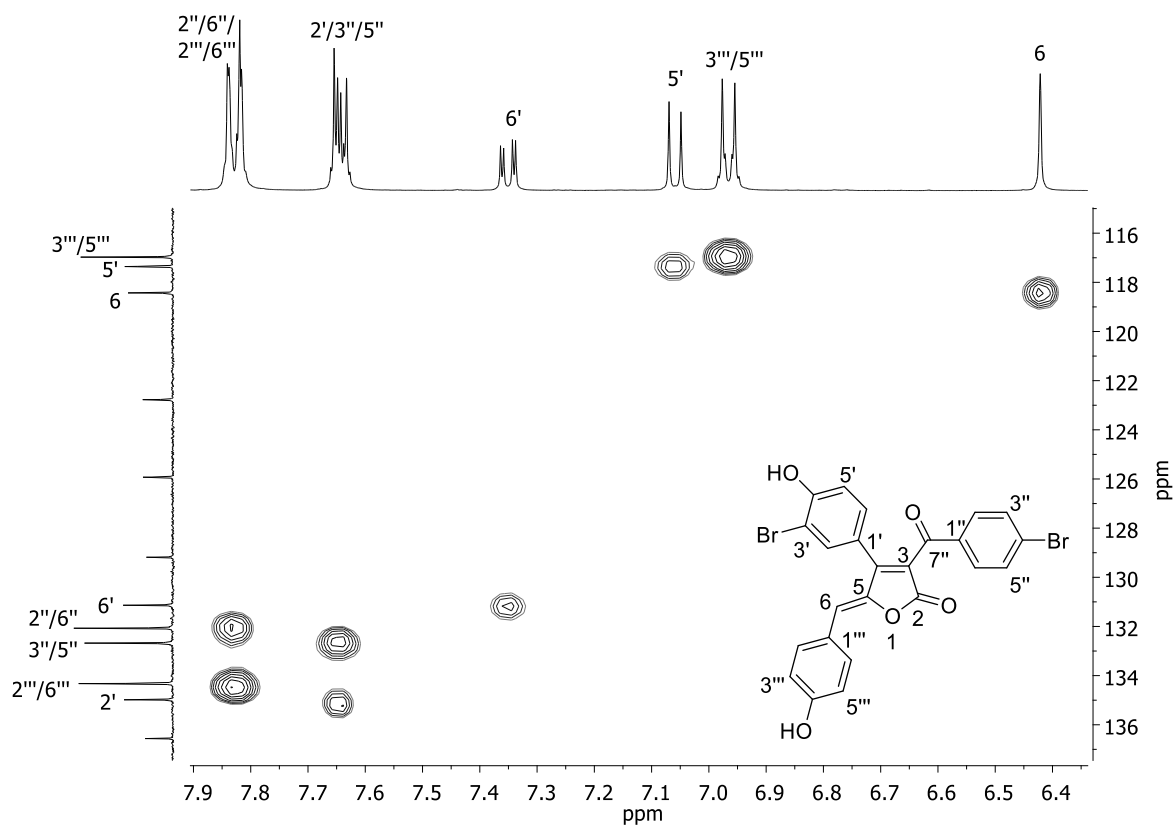


Figura A2.146 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, (CD₃)₂CO) do composto **55b**.

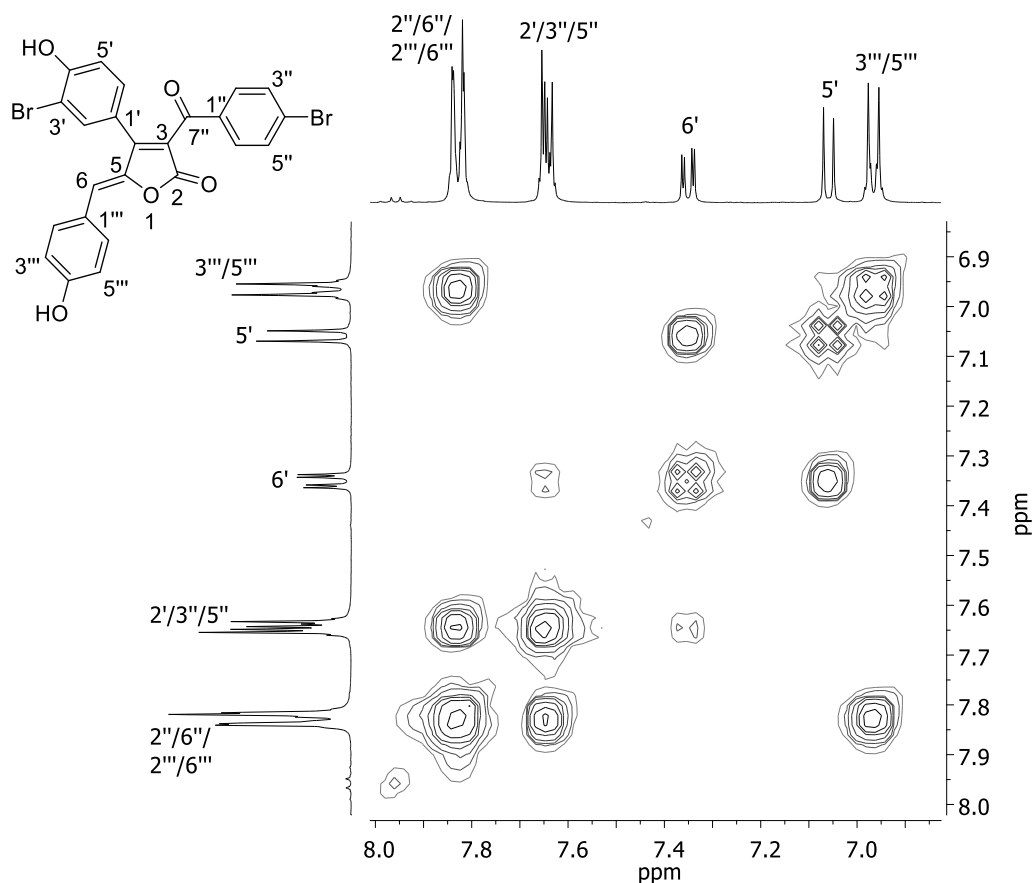


Figura A2.147 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55b**.

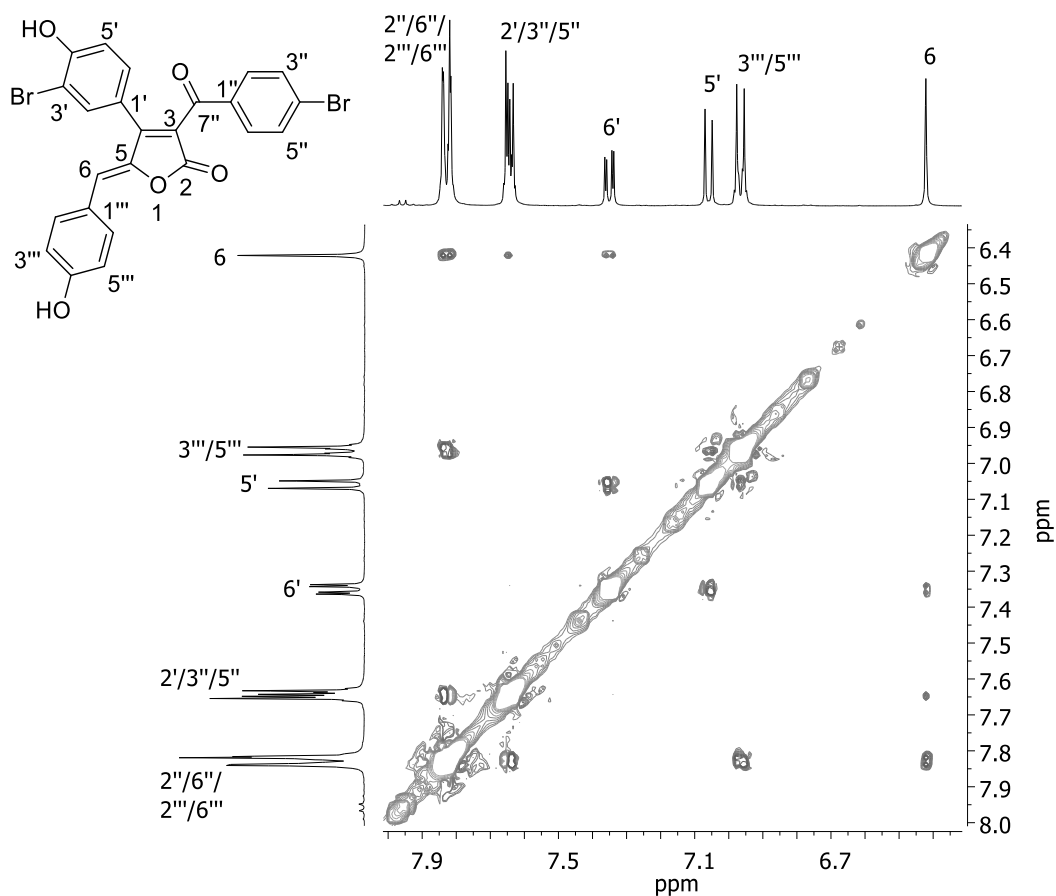


Figura A2.148 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55b**.

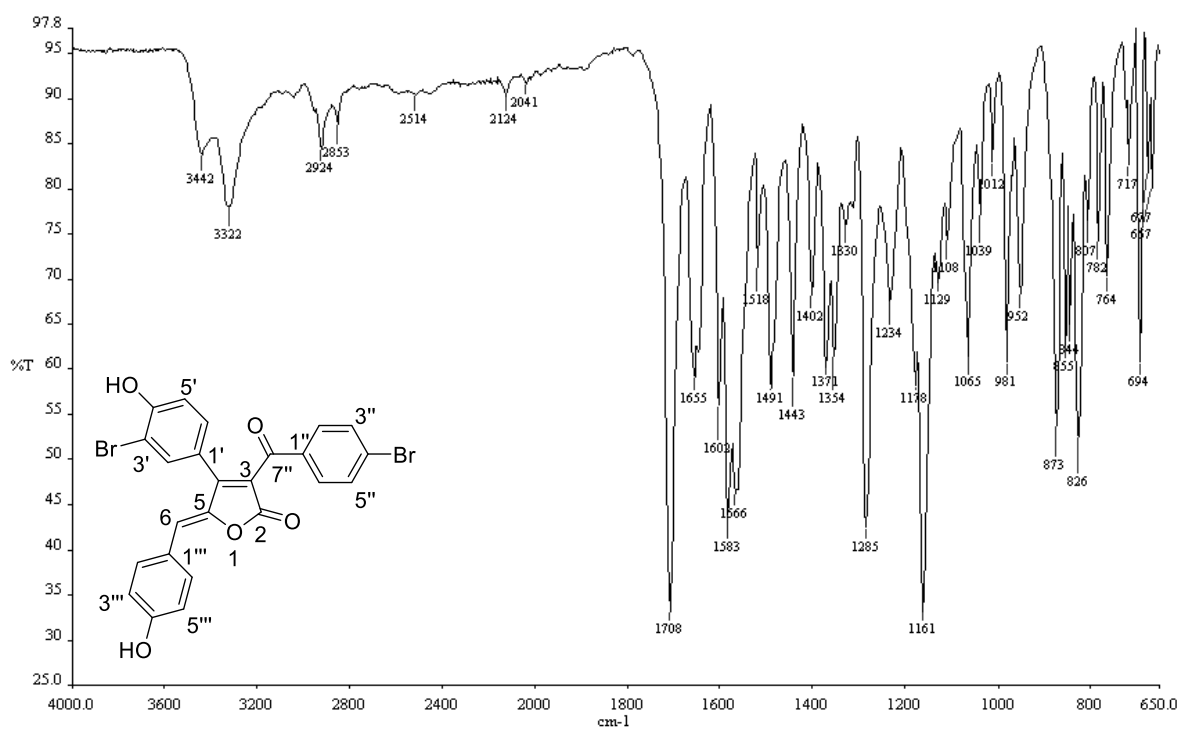


Figura A2.149 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto 55b.

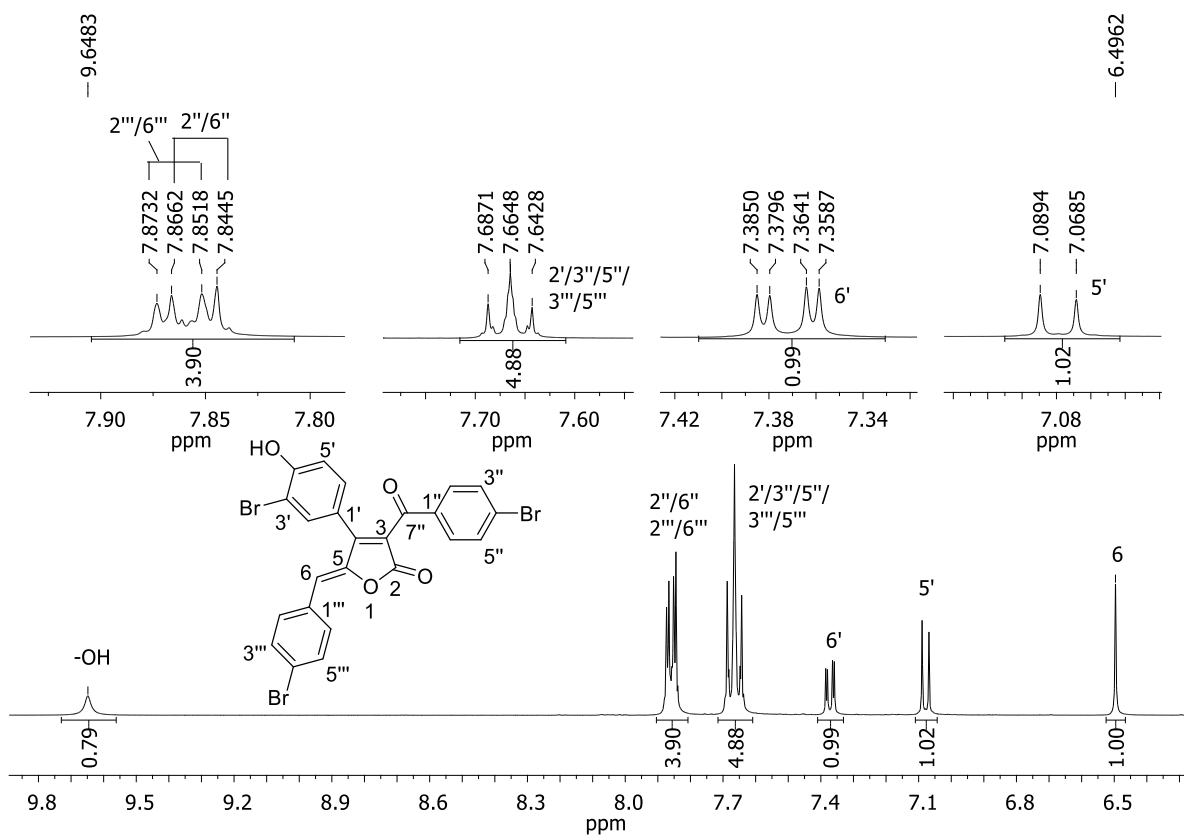


Figura A2.150 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO) do composto 55c.

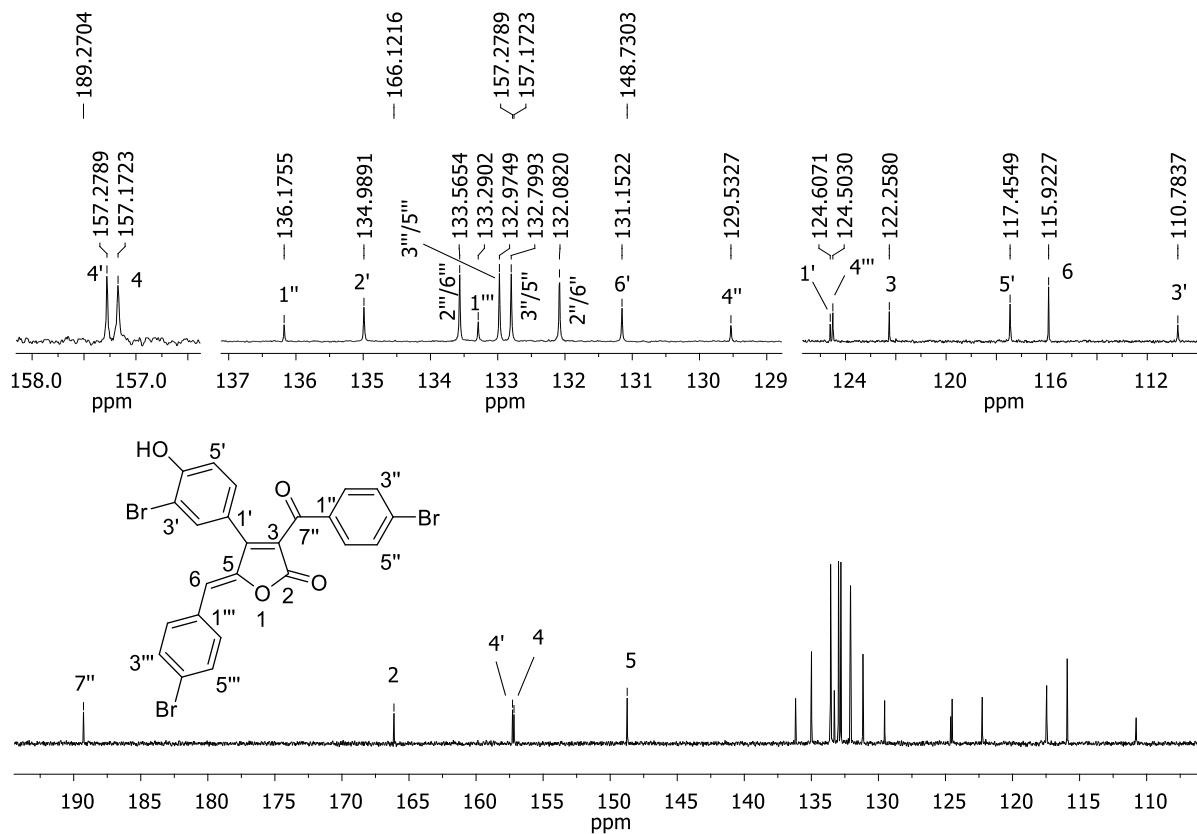


Figura A2.151 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55c**.

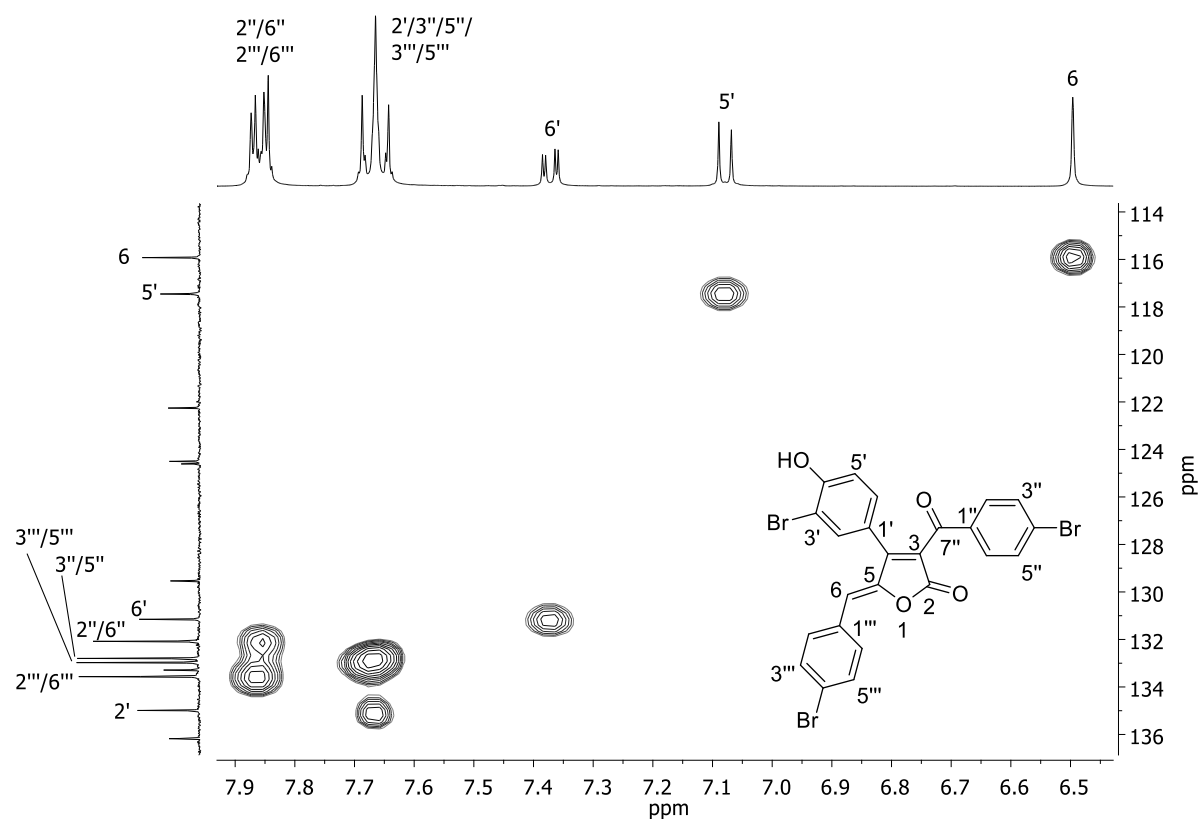


Figura A2.152 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55c**.

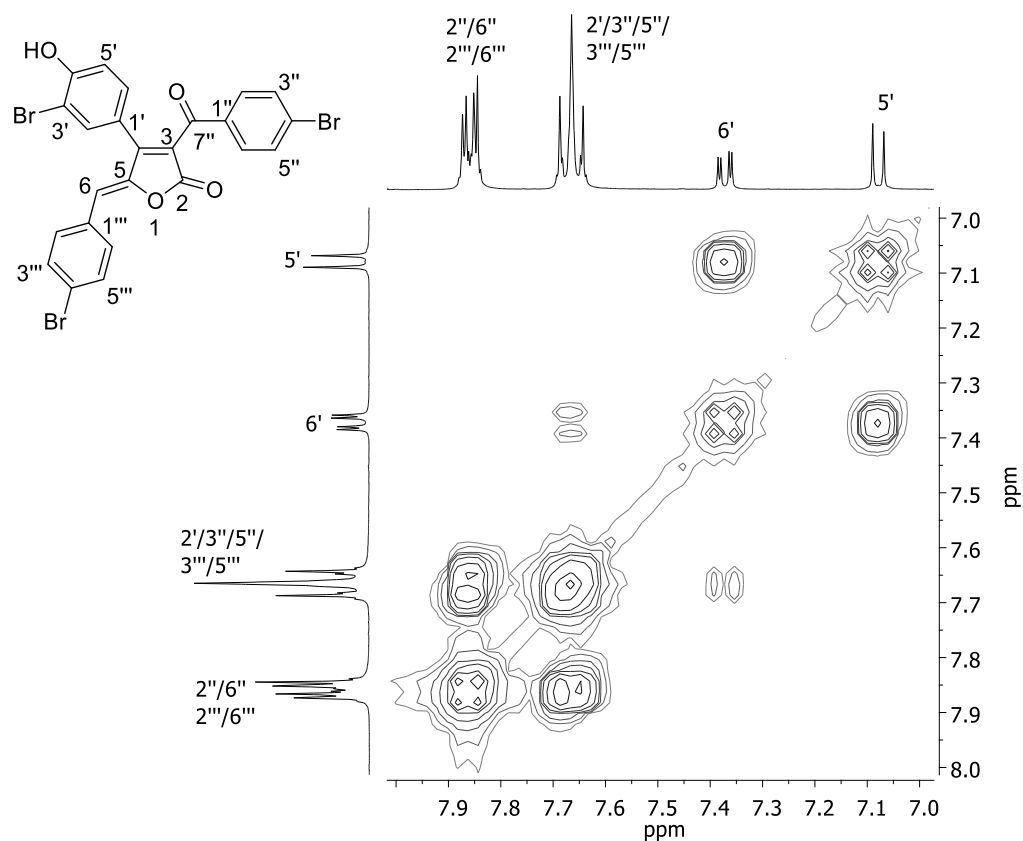


Figura A2.153 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55c**.

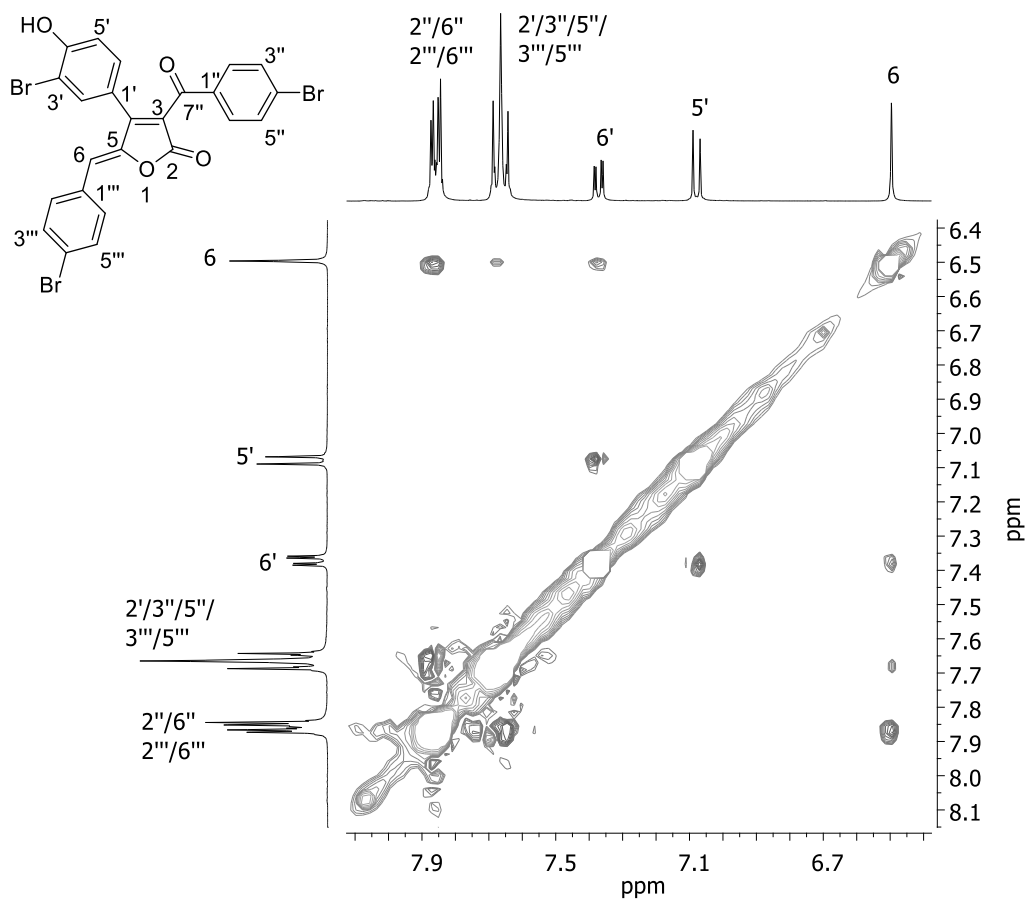


Figura A2.154 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55c**.

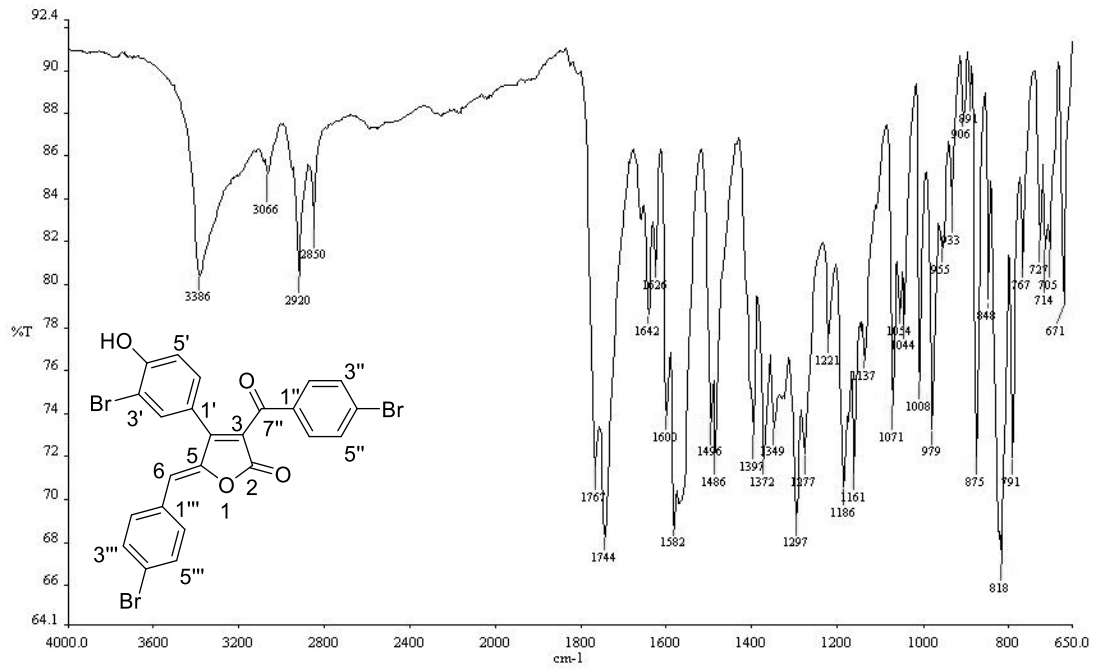


Figura A2.155 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **55c**.

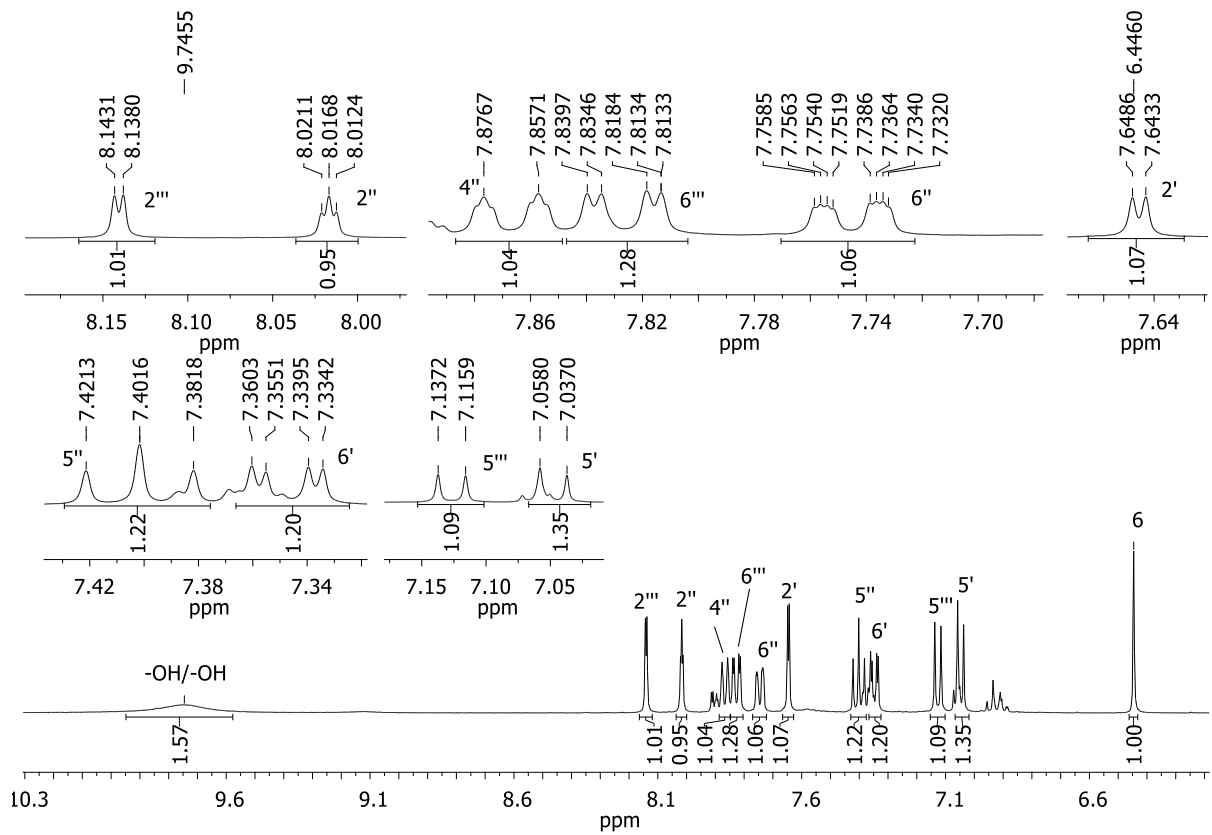


Figura A2.156 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55d**.

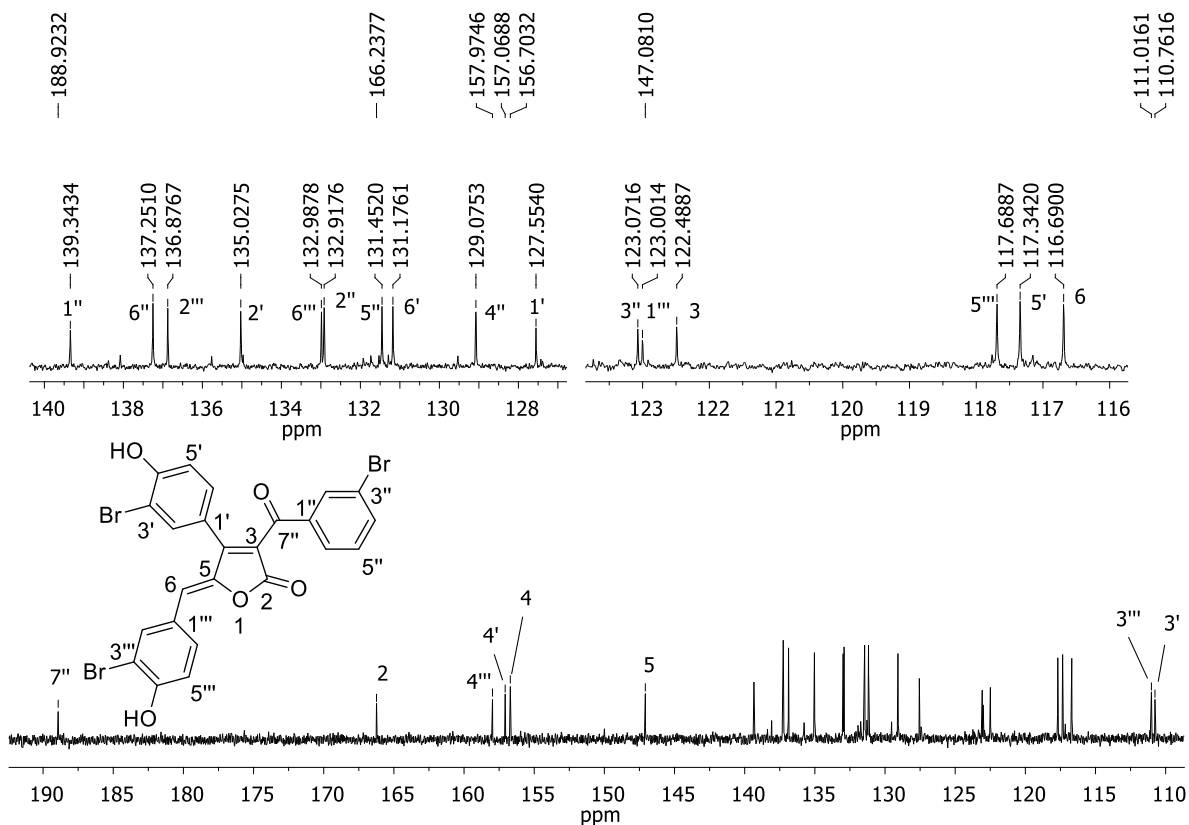


Figura A2.157 - Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, (CD₃)₂CO) do composto 55d.

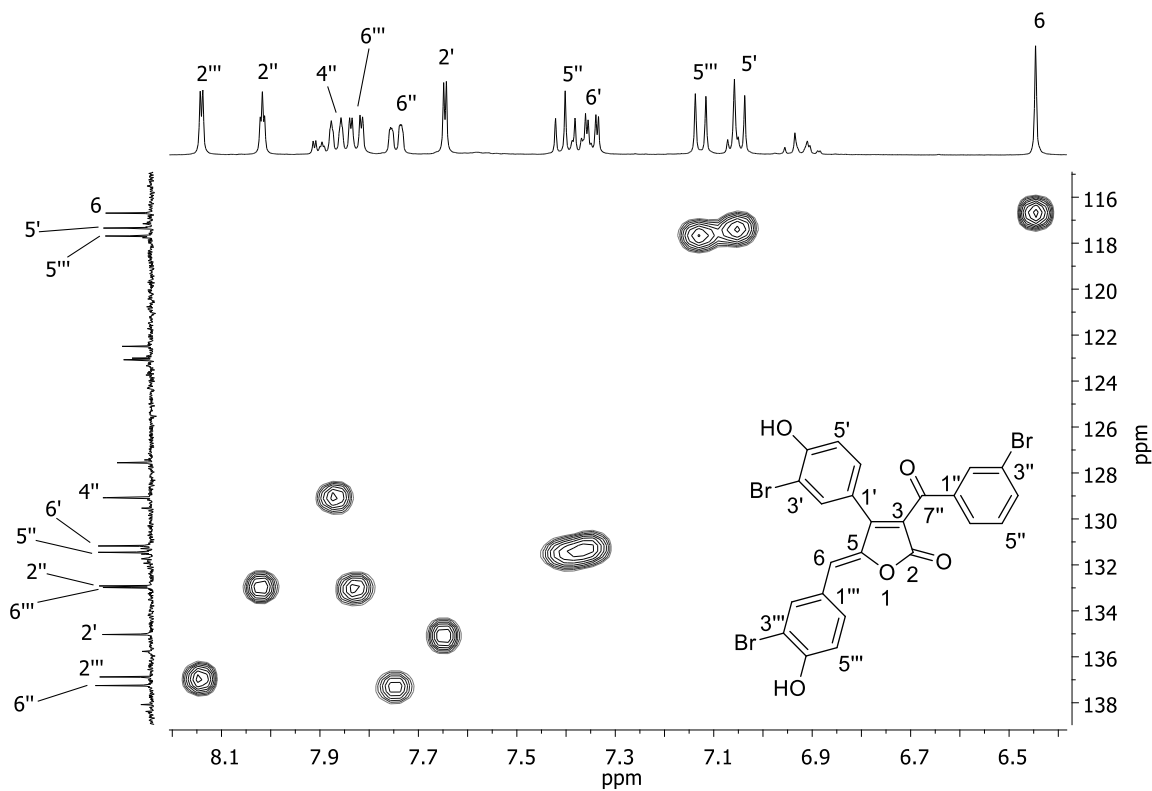


Figura A2.158 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, (CD₃)₂CO) do composto 55d.

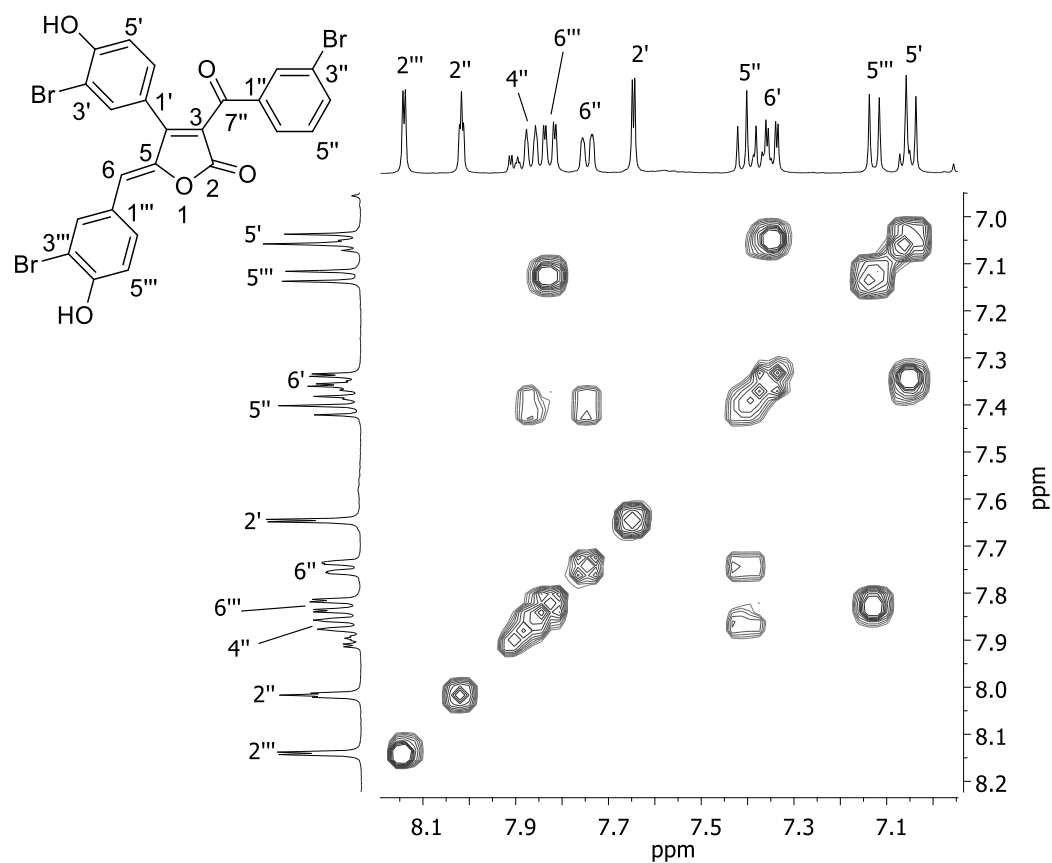


Figura A2.159 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, (CD₃)₂CO) do composto **55d**.

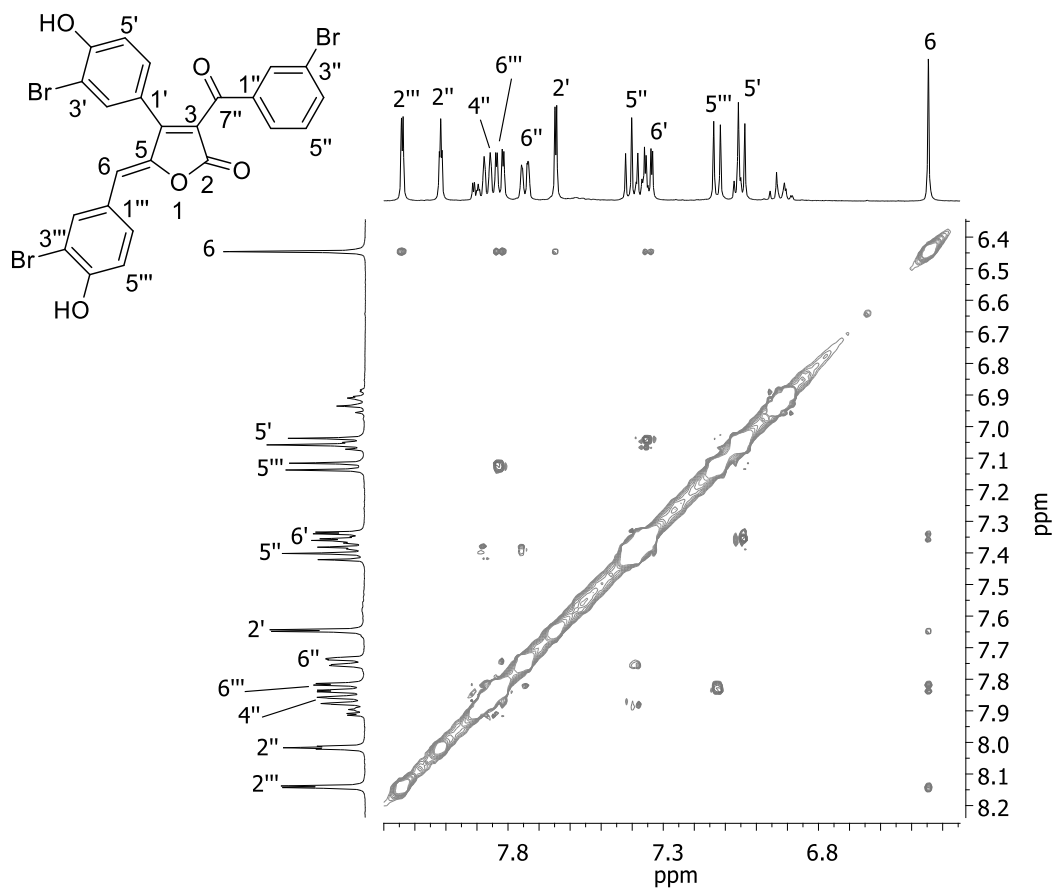


Figura A2.160 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, (CD₃)₂CO) do composto **55d**.

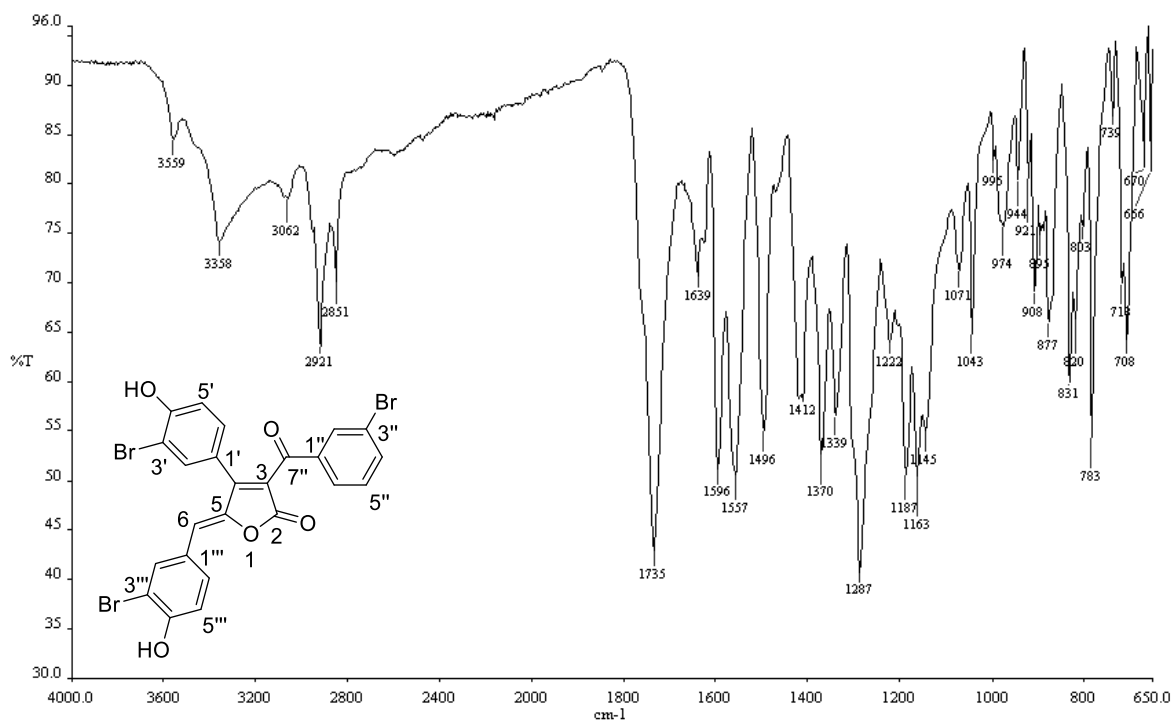


Figura A2.161 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **55d**.

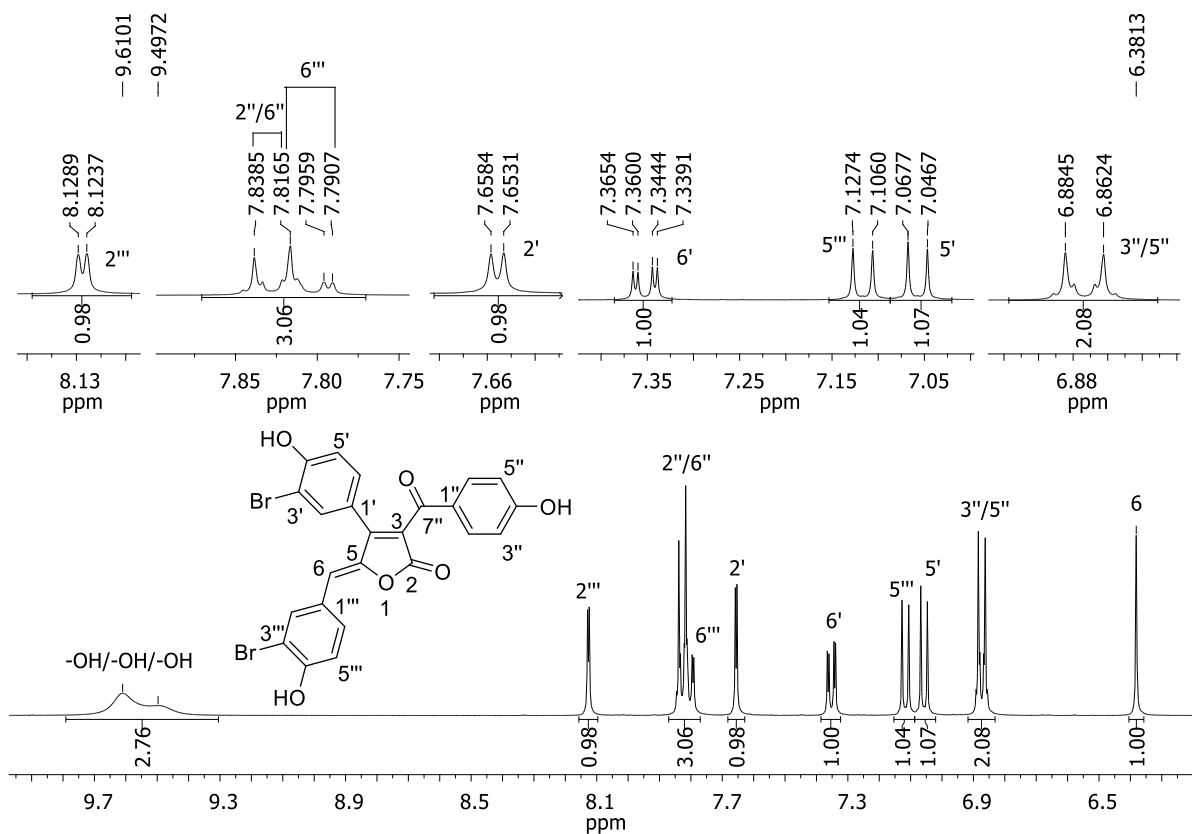


Figura A2.162 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55e**.

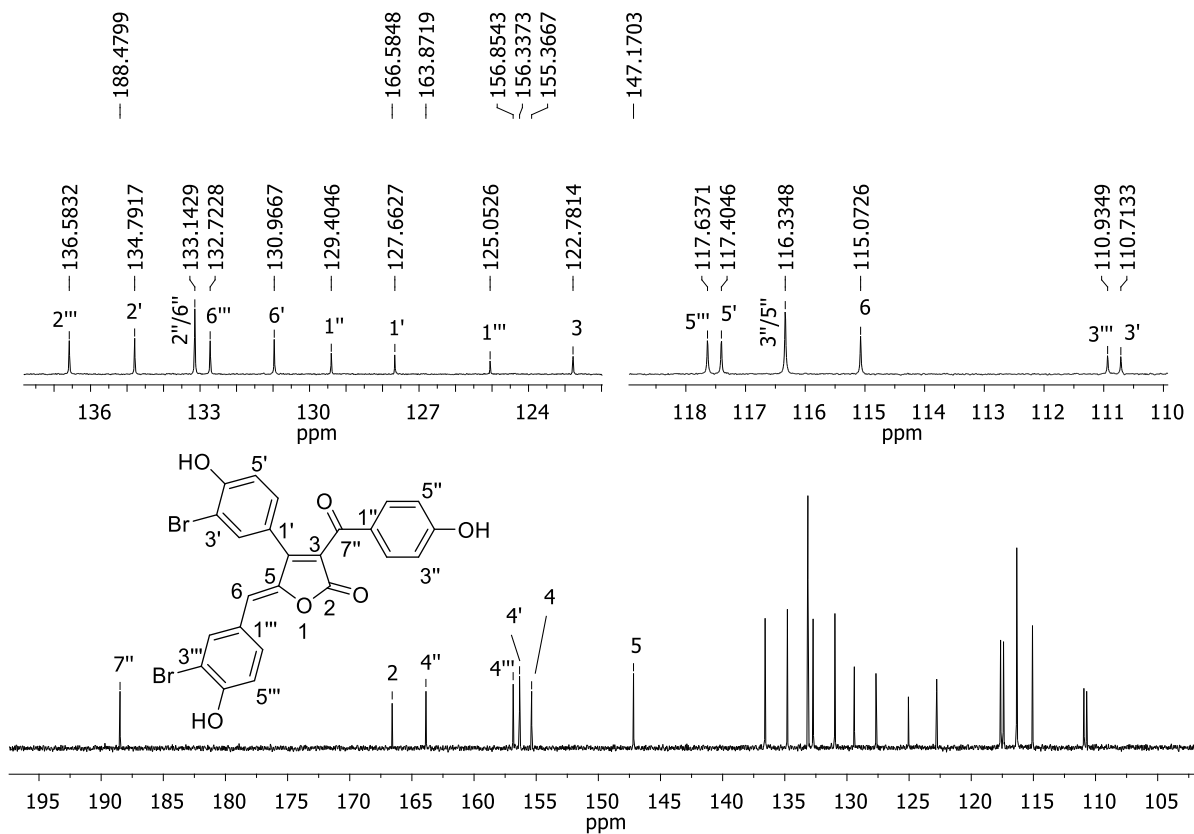


Figura A2.163 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55e**.

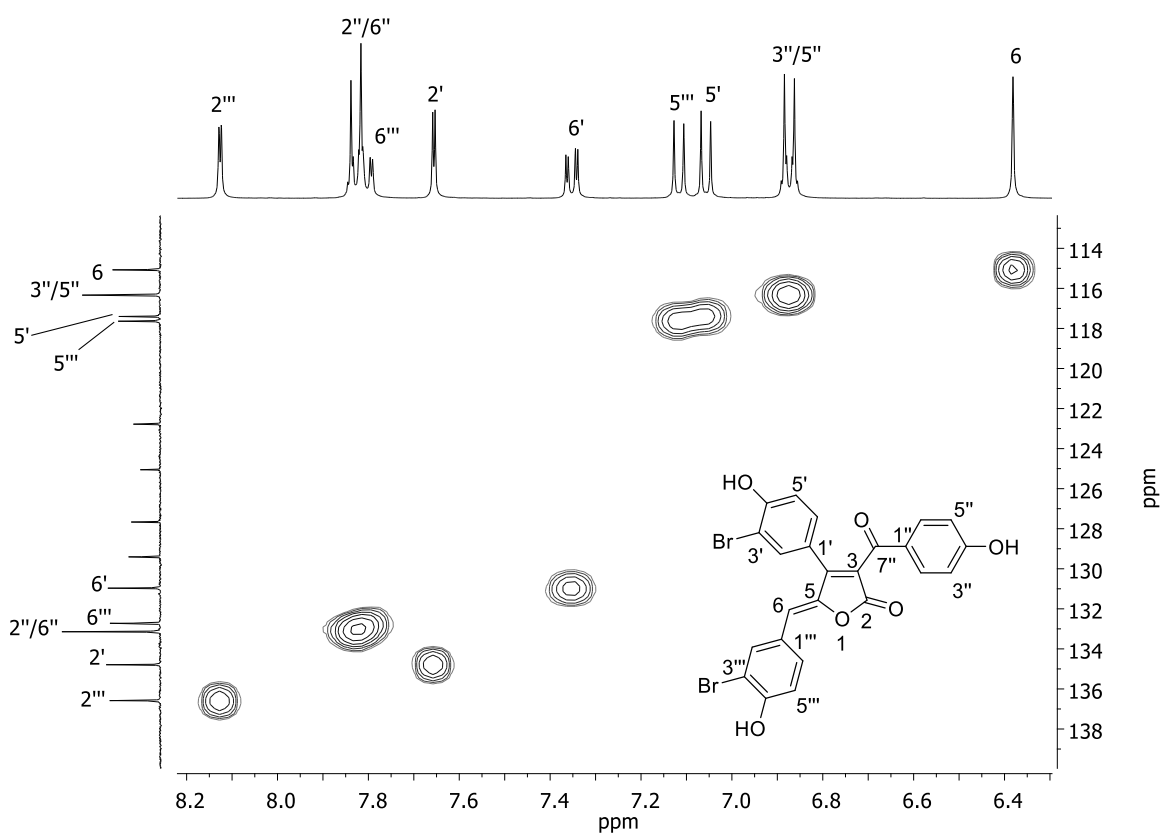


Figura A2.164 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55e**.

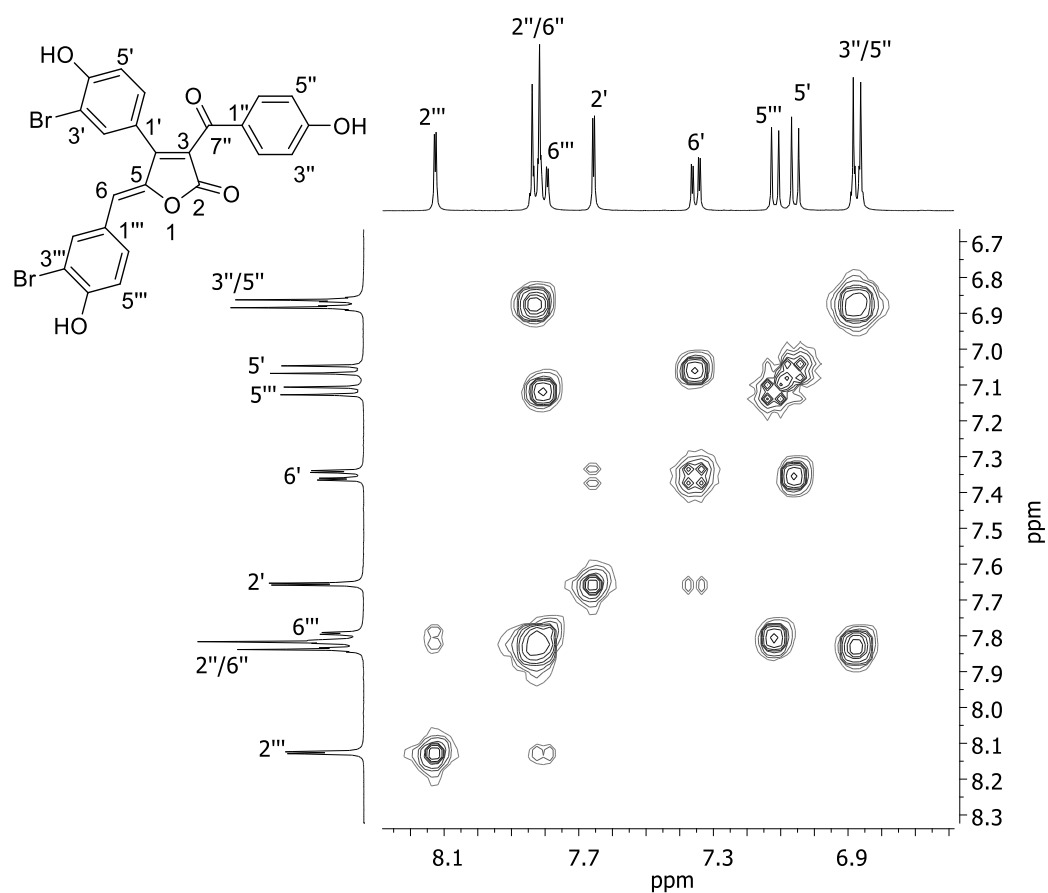


Figura A2.165 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55e**.

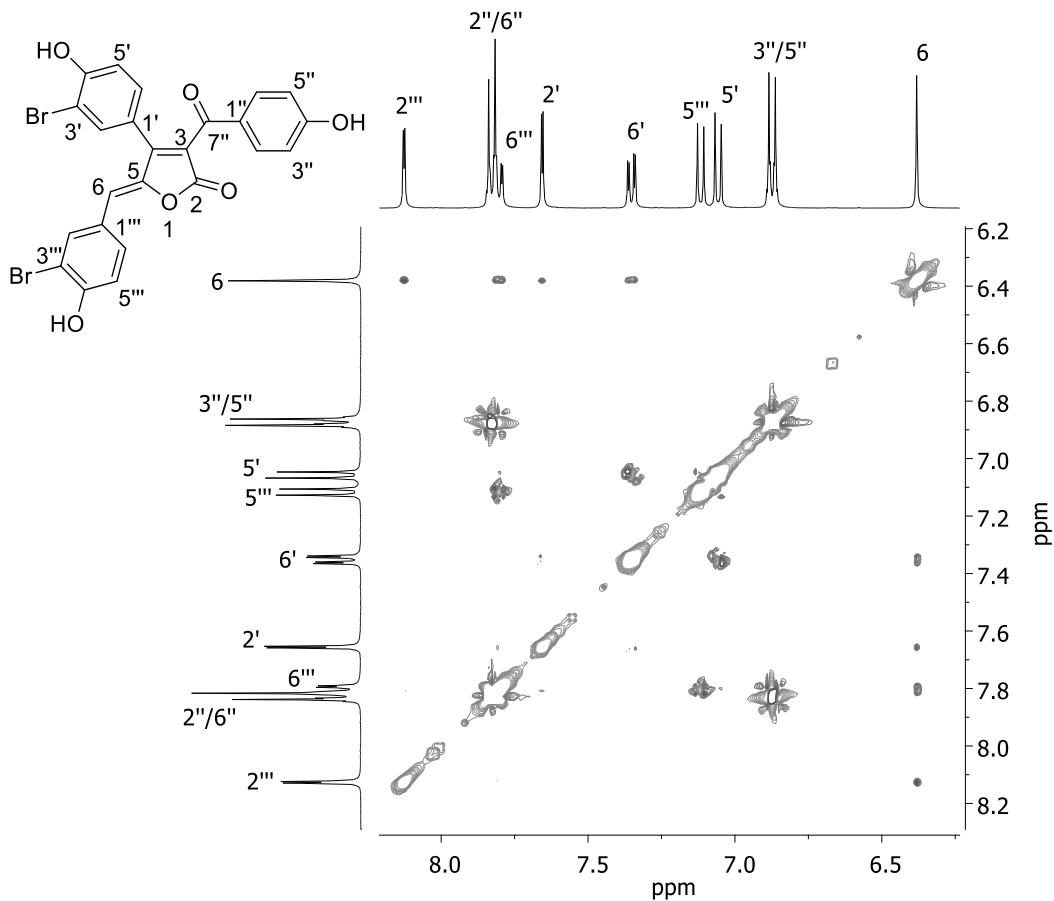


Figura A2.166 - Mapa de contornos NOESY (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) do composto **55e**.

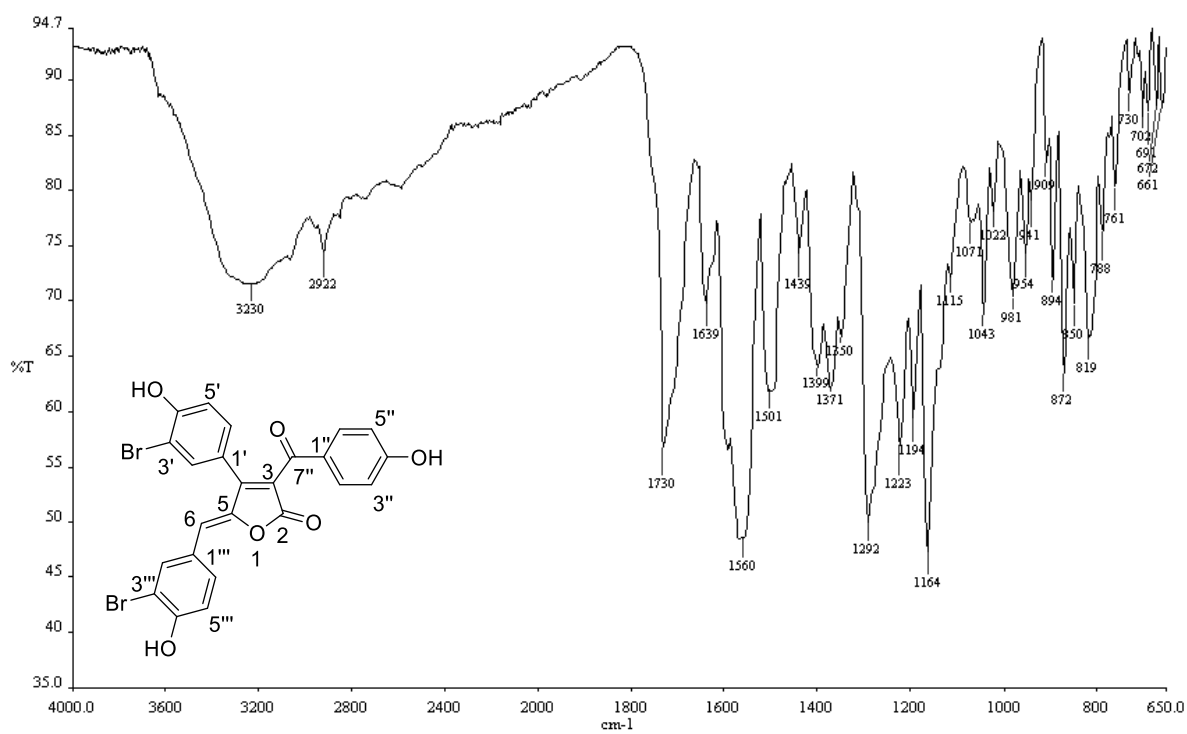


Figura A2.167 - Espectro no IV (ATR/FTIR) do composto **55e**.