



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

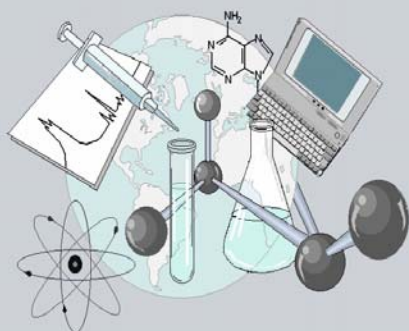
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

“Síntese e avaliação da atividade antiproliferativa e da citotoxicidade frente a *Artemia salina* de derivados do *R-(+)-limoneno* contendo unidades tiouréia e guanidina”

Dissertação apresentada por **Luciane Vieira dos Santos** ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

CEE



Centro de
Ciências Exatas

MARINGÁ, JANEIRO/2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

*Dedico este trabalho especialmente a Deus,
que me deu força e amor
para superar todas as barreiras que necessitei enfrentar.*

*Aos meus pais José Francisco e Maria José,
meu marido Junior
e meu irmão José Carlos,
por estarem sempre comigo me apoiando e ajudando.*

Sem eles este trabalho não existiria.

AGRADECIMENTOS

À prof. Dra. Maria Helena Sarragiotto, pela orientação, compreensão, paciência e verdadeira amizade.

Ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá e a todos os professores que de certa forma contribuíram para a minha formação.

À Lílian, minha amiga, pela grande ajuda, carinho e compreensão.

À Anelise, grande amiga, pela ajuda, amizade e carinho.

À Gisele, Bárbara e Cleverson, pela sincera amizade e boa vontade em sempre ajudar.

Ao prof Dr. Willian, pela amizade, ajuda e apoio.

À Ivânia, minha companheira, pela amizade, ajuda e realização dos espectros de RMN.

À Ana pelos espectros de massas e IV.

Ao Moacir e Frimel pela colaboração.

À profa. Dra. Cleuza, pela ajuda e colaboração com este trabalho.

Aos professores do grupo de produtos naturais, Clara, Silvana, Gentil e Vilma, pelo aprendizado, incentivo e agradável convivência,

Ao professor Dr. Ernani, pelos reagentes , linha de N₂ e compreensão.

À Ana Paula, Ana Paula Tanaka, Suziane, Franciele, Fábio, Alex, Anderson e Júlio pelo apoio, ajuda e compreensão.

Ao pessoal do CPQBA e ao prof. Dr. João Ernesto de Carvalho pelos testes antiproliferativos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	I
ABSTRACT.....	VI
ABREVIÇÕES E SÍMBOLOS.....	VIII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO DOS PRINCIPAIS MÉTODOS DE SÍNTESE DE TIOURÉIAS E GUANIDINAS.....	5
3.1 Métodos de síntese de tiouréias.....	5
3.2 Métodos de síntese de alcalóides guanidínicos.....	7
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
4.1 Preparação e caracterização de derivados do limoneno contendo a unidade tiouréia.....	11
4.2 Preparação de derivados do limoneno contendo uma unidade guanidínica substituída.....	25
4.3 Ensaio Farmacológicos.....	41
4.3.1 Avaliação da toxicidade dos compostos sintetizados frente a <i>Artemia</i> <i>salina</i>	41
4.3.2 Avaliação da atividade antiproliferativa.....	44

5. PARTE EXPERIMENTAL.....	52
5.1. Instrumentação e material cromatográfico.....	52
5.2. Solventes e Reagentes.....	53
5.3 Síntese do isotiocianomonoterpeno (33)	53
5.3.1 Preparação do ácido tiocinâmico (HSCN).....	53
5.3.2 Síntese do isotiocianomonoterpeno (33) a partir do limoneno (1).....	54
5.4 Síntese das tiouréias (35-46)	54
5.4.1 Síntese das S-metiltiouréias (47-55)	59
5.4.2 Síntese das guanidinas (56-61)	63
5.5 Ensaios Farmacológicos.....	65
5.5.1 Bioensaio da letalidade da <i>Artemia salina</i>	65
5.5.2 Atividade Antiproliferativa.....	66
5.5.2a) Células.....	66
5.5.2b) Ensaio para a determinação da atividade antiproliferativa dos compostos.....	67
5.5.2c) Análise dos resultados.....	68
6. CONCLUSÕES.....	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

ANEXOS

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, CDCl_3) para produto 33	13
Tabela 2: Condições e rendimentos das reações de obtenção das tiouréias (35-46).....	15
Tabela 3: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para as tiouréias (35-46).....	18
Tabela 4: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 35 e 36	19
Tabela 5: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 37 e 38	20
Tabela 6: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 39 e 40	21
Tabela 7: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 41 e 42	22
Tabela 8: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 43 e 44	23
Tabela 9: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 45 e 46	24
Tabela 10: Valores de <i>m/z</i> , para o íon molecular e F_1 das S-metil tiouréias (47-55).	27

Tabela 11: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para as S-metiltiouréias (47-55).....	28
Tabela 12: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 47 e 48.....	29
Tabela 13: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 49 e 50.....	30
Tabela 14: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 51 e 52.....	31
Tabela 15: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 53 e 54.....	32
Tabela 16: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para o produto 55.....	33
Tabela 17: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 56 e 57.....	38
Tabela 18: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 58 e 59.....	39
Tabela 19: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, <i>multiplicidade</i> , J em Hz, CDCl_3) para os produtos 60 e 61.....	40
Tabela 20: Porcentagem de animais vivos no ensaio de toxicidade dos compostos sintetizados frente a <i>Artemia salina</i> , na concentração de $10\mu\text{g}/\text{ml}$	42
Tabela 21: Dados da dose letal de 50% (DL_{50}) para alguns compostos sintetizados.....	43

Tabela 22: Dados de GI ₅₀ (μM) obtidos para as tiouréias (35-46) e S-metiltiouréias (48-49), 51, 52 e 54.....	47
Tabela 23: Valores de TGI e LC ₅₀ (valores em parênteses), com concentrações em μM, para os compostos (37; 43-46; 49 e 52).....	50
Tabela 24: Linhagens celulares utilizadas nos ensaios antiproliferativo.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Gráfico das curvas de inibição obtidas para o composto 43.....	45
Figura 02: Gráfico das curvas de inibição obtidas para o composto 51.....	45
Figura 03: Gráfico das curvas de inibição obtidas para o composto 56.....	51

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Análise retrossintética para derivados I e II.....	2
Esquema 2: Síntese de tiouréias a partir de isotiocianatos glicosilados.....	5
Esquema 3: Síntese de tiouréias derivadas de nitrosotiouréias.....	6
Esquema 4: Síntese de tiouréias para autocondensação de isotiocianatos.....	6
Esquema 5: Síntese de tiouréias em fase sólida.....	7
Esquema 6: Síntese de guanidinas via S-metiltiouréias.....	7
Esquema 7: Sínteses de guanidinas na presença de sais de cobre ou mercúrio	8
Esquema 8: Síntese de guanidinas utilizando o reagente de Mukayama.....	8
Esquema 10: Síntese de guanidinas via reação de Mitsunobu.....	9
Esquema 11: Síntese de guanidinas em fase sólida.....	10
Esquema 12: Síntese de tiouréias a partir de isotiocianatos.....	11
Esquema 13: Síntese de isotiocianato monoterpênico a partir do limoneno (1)..	12
Esquema 14: Tiouréias 35-46 obtidas a partir do isotiocianato 33	14
Esquema 15: Mecanismos propostos para a formação dos fragmentos m/z 58 e F ₁	16
Esquema 16: Síntese dos derivados guanidínicos a partir de tiouréias.....	25
Esquema 17: Fragmentações típicas para as S-metiltiouréias sintetizadas.....	26
Esquema 18: Obtenção do composto 62	34
Esquema 19: mecanismo para a fragmentação de 62	35
Esquema 20: Obtenção das guanidinas 56-61	36

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectros no Infravermelho

EIV-1: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	35	75
EIV-2: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	36	81
EIV-3: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	37	87
EIV-4: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	38	93
EIV-5: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	39	99
EIV-6: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	40	105
EIV-7: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	41	112
EIV-8: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	42	116
EIV-9: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	43	122
EIV-10: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	44	126
EIV-11: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	45	133
EIV-12: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	46	138
EIV-13: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	47	145
EIV-14: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	48	151
EIV-15: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	49	158
EIV-16: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	50	164
EIV-17: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	51	171
EIV-18: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	52	177
EIV-19: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	53	184

EIV-20: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	54.....	190
EIV-21: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	55.....	197
EIV-22: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	56.....	204
EIV-23: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	57.....	210
EIV-24: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	59.....	220
EIV-25: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	60.....	227
EIV-26: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	61.....	233
EIV-27: Espectro no IV (pastilha de KBr) do composto	33.....	239

Espectros de Massas

EM AR-1: Espectro de massas (elétron spray) do composto	35.....	76
EM AR-2: Espectro de massas (elétron spray) do composto	36.....	82
EM-3: Espectro de massas (70 eV) do composto	37.....	88
EM AR-4: Espectro de massas (elétron spray) do composto	38.....	94
EM AR-5: Espectro de massas (elétron spray) do composto	39.....	100
EM-6: Espectro de massas (70 eV) do composto	40.....	106
EM-7: Espectro de massas (70 eV) do composto	42.....	117
EM-8: Espectro de massas (70 eV) do composto	43.....	123
EM-9: Espectro de massas (70 eV) do composto	44.....	127
EM-10: Espectro de massas (70 eV) do composto	46.....	139
EM-11: Espectro de massas (70 eV) do composto	47.....	146

EM-12: Espectro de massas (70 eV) do composto 48	152
EM-13: Espectro de massas (70 eV) do composto 49	159
EM-14: Espectro de massas (70 eV) do composto 50	165
EM-15: Espectro de massas (70 eV) do composto 51	172
EM-16: Espectro de massas (70 eV) do composto 52	178
EM-17: Espectro de massas (70 eV) do composto 53	185
EM-18: Espectro de massas (70 eV) do composto 54	191
EM-19: Espectro de massas (70 eV) do composto 55	198
EM-20: Espectro de massas (70 eV) do composto 56	205
EM-21: Espectro de massas (70 eV) do composto 57	211
EM-22: Espectro de massas (70 eV) do composto 58	215
EM-23: Espectro de massas (70 eV) do composto 59	221
EM-24: Espectro de massas (70 eV) do composto 60	228
EM-25: Espectro de massas (70 eV) do composto 61	234
EM-26: Espectro de massas (70 eV) do composto 62	242

Espectros de RMN de Hidrogênio

ER ¹H-1: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) do composto 35 em CDCl ₃	77
ER ¹H-2: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) do composto 36 em CDCl ₃	83
ER ¹H-3: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) do composto 37 em CDCl ₃	89
ER ¹H-4: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) do composto 38 em CDCl ₃	95

ER ¹H-5:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 39 em CDCl₃.....	101
ER ¹H-6:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 40 em CDCl₃.....	107
ER ¹H-7:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 41 em CDCl₃.....	113
ER ¹H-8:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 42 em CDCl₃.....	118
ER ¹H-9:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 43 em CDCl₃.....	124
ER ¹H-10:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 44 em CDCl₃.....	128
ER ¹H-11:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 45 em CDCl₃.....	134
ER ¹H-12:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 46 em CDCl₃.....	140
ER ¹H-13:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 47 em CDCl₃.....	147
ER ¹H-14:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 48 em CDCl₃.....	153
ER ¹H-15:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 49 em CDCl₃.....	160
ER ¹H-16:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 50 em CDCl₃.....	166
ER ¹H-17:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 51 em CDCl₃.....	173
ER ¹H-18:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 52 em CDCl₃.....	179
ER ¹H-19:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 53 em CDCl₃.....	186
ER ¹H-20:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 54 em CDCl₃.....	192
ER ¹H-21:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 55 em CDCl₃.....	199
ER¹H-22:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 56 em CDCl₃	206
ER ¹H-23:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 57 em CDCl₃.....	212
ER ¹H-24:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 58 em CDCl₃.....	216
ER¹H-25:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 59 em CDCl₃	222
ER ¹H-26:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 60 em CDCl₃.....	229
ER ¹H-27:	Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto 61 em CDCl₃.....	235

ER ¹H-28: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto **33** em CDCl₃.....**240**

ER ¹H-29: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz) do composto **62** em CDCl₃.....**243**

Espectros de RMN de Carbono treze /DEPT

ER ¹³C-1: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **35** em CDCl₃..... **78**

ER ¹³C-2: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **36** em CDCl₃..... **84**

ER ¹³C-3: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **37** em CDCl₃..... **90**

ER ¹³C-4: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **38** em CDCl₃..... **96**

ER ¹³C-5: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **39** em CDCl₃.....**102**

ER ¹³C-6: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **40** em CDCl₃.....**108**

ER ¹³C-7: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **41** em CDCl₃.....**114**

ER ¹³C-8: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **42** em CDCl₃.....**119**

ER ¹³C-9: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) do composto **43** em CDCl₃.....**125**

ER ¹³C-10: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 44 em CDCl ₃	129
ER ¹³C-11: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 45 em CDCl ₃	135
ER ¹³C-12: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 46 em CDCl ₃	141
ER ¹³C-13: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 47 em CDCl ₃	148
ER ¹³C-14: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 48 em CDCl ₃	154
ER ¹³C-15: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 49 em CDCl ₃	161
ER ¹³C-16: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 50 em CDCl ₃	167
ER ¹³C-17: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 51 em CDCl ₃	174
ER ¹³C-18: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 52 em CDCl ₃	180
ER ¹³C-19: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 53 em CDCl ₃	187
ER ¹³C-20: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 54 em CDCl ₃	193

ER ¹³C-21: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 55 em CDCl ₃	200
ER ¹³C-22: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 56 em CDCl ₃	207
ER ¹³C-23: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 57 em CDCl ₃	213
ER ¹³C-24: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 58 em CDCl ₃	217
ER ¹³C-25: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 59 em CDCl ₃	223
ER ¹³C-26: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 60 em CDCl ₃	230
ER ¹³C-27: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 61 em CDCl ₃	236
ER ¹³C-28: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 33 em CDCl ₃	241
ER ¹³C-29: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) do composto 62 em CDCl ₃	244

Experimento COSY

ER COSY-1: Experimento ¹ H x ¹ H-COSY do composto 35 em CDCl ₃	79
ER COSY-2: Experimento ¹ H x ¹ H-COSY do composto 36 em CDCl ₃	85

ER COSY-3: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 37 em CDCl_3	91
ER COSY-4: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 39 em CDCl_3	103
ER COSY-5: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 40 em CDCl_3	109
ER COSY-6: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 44 em CDCl_3	130
ER COSY-7: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 45 em CDCl_3	136
ER COSY-8: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 46 em CDCl_3	142
ER COSY-9: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 47 em CDCl_3	149
ER COSY-10: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 48 em CDCl_3	155
ER COSY-11: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 49 em CDCl_3	162
ER COSY-12: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 50 em CDCl_3	168
ER COSY-13: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 51 em CDCl_3	175
ER COSY-14: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 52 em CDCl_3	181
ER COSY-15: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 53 em CDCl_3	188
ER COSY-16: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 54 em CDCl_3	194
ER COSY-17: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 55 em CDCl_3	201

ER COSY-18: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 56 em CDCl_3	208
ER COSY-19: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 58 em CDCl_3	218
ER COSY-20: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 59 em CDCl_3	224
ER COSY-21: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 60 em CDCl_3	231
ER COSY-22: Experimento ^1H x ^1H -COSY do composto 61 em CDCl_3	237

Experimento de HMQC

ER HMQC-1: Experimento de HMQC do composto 35 em CDCl_3	80
ER HMQC-2: Experimento de HMQC do composto 37 em CDCl_3	92
ER HMQC-3: Experimento de HMQC do composto 38 em CDCl_3	97
ER HMQC-4: Experimento de HMQC do composto 39 em CDCl_3	104
ER HMQC-5: Experimento de HMQC do composto 40 em CDCl_3	110
ER HMQC-6: Experimento de HMQC do composto 41 em CDCl_3	115
ER HMQC-7: Experimento de HMQC do composto 42 em CDCl_3	120
ER HMQC-8: Experimento de HMQC do composto 44 em CDCl_3	131
ER HMQC-9: Experimento de HMQC do composto 45 em CDCl_3	137
ER HMQC-10: Experimento de HMQC do composto 46 em CDCl_3	143

ER HMQC-11: Experimento de HMQC do composto 47 em CDCl ₃	150
ER HMQC-12: Experimento de HMQC do composto 48 em CDCl ₃	156
ER HMQC-13: Experimento de HMQC do composto 49 em CDCl ₃	163
ER HMQC-14: Experimento de HMQC do composto 50 em CDCl ₃	169
ER HMQC-15: Experimento de HMQC do composto 51 em CDCl ₃	176
ER HMQC-16: Experimento de HMQC do composto 52 em CDCl ₃	182
ER HMQC-17: Experimento de HMQC do composto 53 em CDCl ₃	189
ER HMQC-18: Experimento de HMQC do composto 54 em CDCl ₃	195
ER HMQC-19: Experimento de HMQC do composto 55 em CDCl ₃	202
ER HMQC-20: Experimento de HMQC do composto 56 em CDCl ₃	209
ER HMQC-21: Experimento de HMQC do composto 58 em CDCl ₃	219
ER HMQC-22: Experimento de HMQC do composto 59 em CDCl ₃	225
ER HMQC-23: Experimento de HMQC do composto 60 em CDCl ₃	232
ER HMQC-24: Experimento de HMQC do composto 61 em CDCl ₃	238

RESUMO

Palavras-chave: Limoneno; tiouréias; guanidinas; atividade antiproliferativa; *Artemia salina*.

Os monoterpenos constituem uma classe de compostos orgânicos encontrados em plantas que possuem uma série de propriedades farmacológicas. Vários estudos demonstram a potencialidade desta classe de compostos como agentes anticancer. Dentre os monoterpenos com atividade anticâncer destaca-se o d-limoneno, que apresenta atividade quimioterapêutica e quimiopreventiva em uma variedade de modelos de tumores induzidos em animais. Estudos demonstraram que a administração de d-limoneno causa a completa regressão de carcinomas mamários induzidos por N-nitrosouréia (NMU) e 7,12-dimetilbenzil[a]antraceno (DMBA) com mínima toxicidade. Devido ao seu potente efeito quimioterápico e quimiopreventivo, o d-limoneno encontra-se em triagem para uso clínico, sendo que os estudos realizados comprovam sua atividade e baixa toxicidade e suportam este composto como protótipo de uma nova classe de agentes quimioterapêuticos. O potencial do limoneno como agente anticâncer, bem como a sua disponibilidade como substrato natural nos levaram a propor a síntese e a avaliação da atividade de uma série de derivados contendo esta unidade monoterpênica.

Neste trabalho realizamos a síntese e avaliação da citotoxicidade frente a *Artemia salina* e a atividade antiproliferativa de uma série de derivados do R-(+)-limoneno contendo unidades tiouréia ou guanidínica substituídas.

A obtenção dos derivados contendo unidades tiouréia substituídas (**35-46**) foi realizada a partir da reação do isotiocianato monoterpênico (**33**), obtido pela reação do limoneno (**1**) com HSCN/CHCl₃, com uma série de aminas.

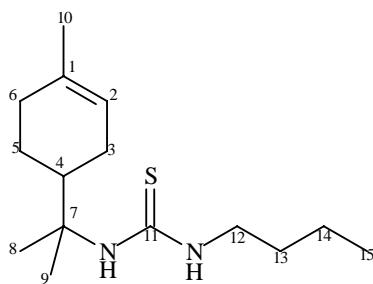
A preparação de derivados do limoneno contendo unidades guanidínicas substituídas foi feita pela reação das S-metiltiouréias, preparadas pela reação das tiouréias obtidas anteriormente com CH₃I, com aminas. A reação das S-metiltiouréias (**48-52**) e (**55**), na sua forma de sal, com n-butilamina e cicloexilamina em atmosfera inerte forneceram os derivados guanidínicos (**56-61**).

As estruturas dos compostos sintetizados foram confirmadas com base na análise dos dados espectrais de IV, EM e RMN ¹H e ¹³C/DEPT e de técnicas bidimensionais de RMN (COSY, HMQC).

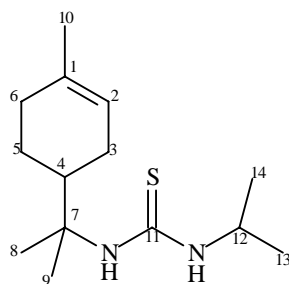
Os compostos sintetizados foram submetidos ao teste de toxicidade frente a *Artemia salina*, onde as tiouréias **35**, **38** e **43** apresentaram melhor atividade frente ao microcrustáceo com uma DL₅₀ < 0,31 µg/mL.

Os compostos (**35-46**), (**48-49**), **51**, **52** e **54** foram submetidos à avaliação da atividade antiproliferativa em culturas de células tumorais humanas de melanoma-UACC62, mama-MCF7, pulmão tipo não pequena células-NCI460, leucemia-K562, ovário-OVCAR, próstata-PC0.3, cólon-HT.29, rim-786.0 e mama resistente-NCIADR, que expressa o fenótipo de resistência a múltiplas drogas. Os resultados mostraram que os compostos testados se mostraram ativos na inibição do crescimento celular, sendo que alguns deles foram capazes de matar 50% das células de algumas culturas.

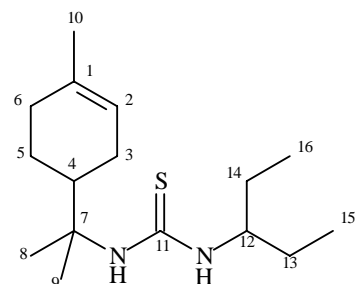
III



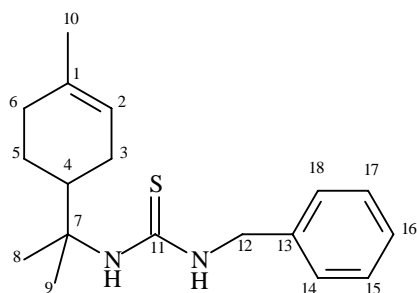
35



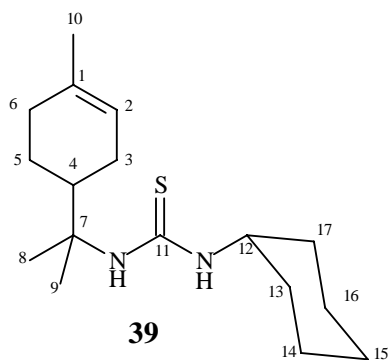
36



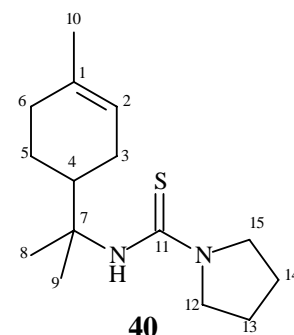
37



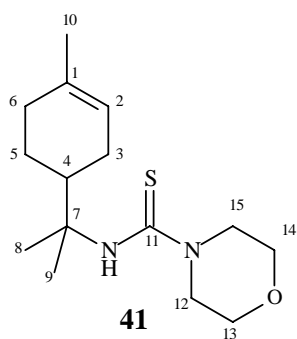
38



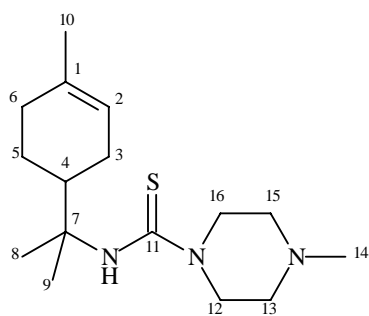
39



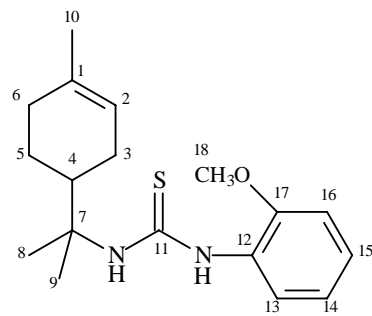
40



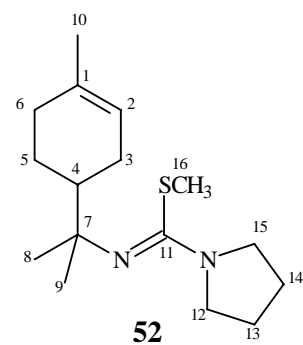
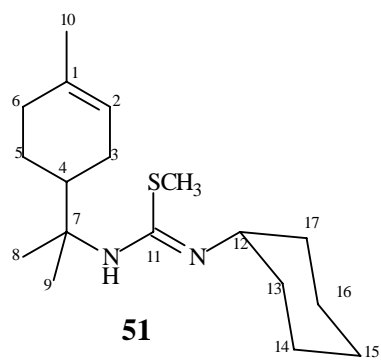
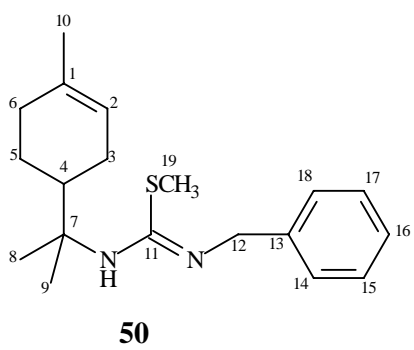
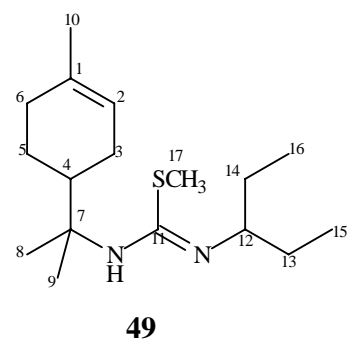
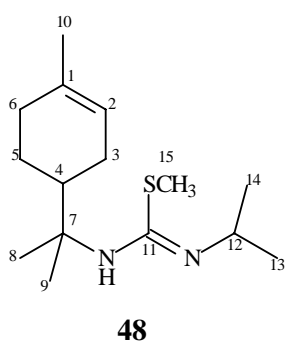
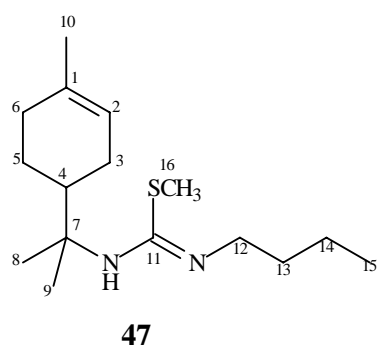
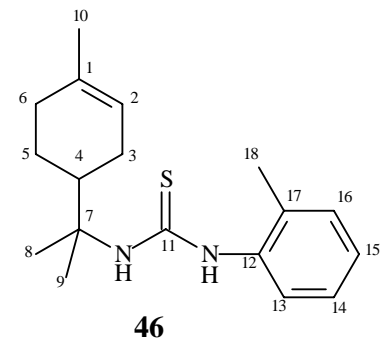
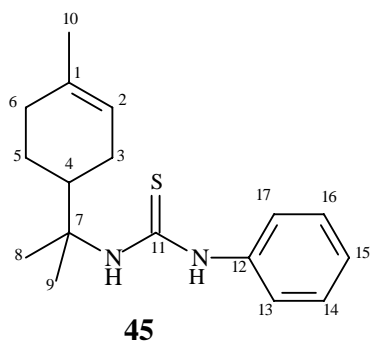
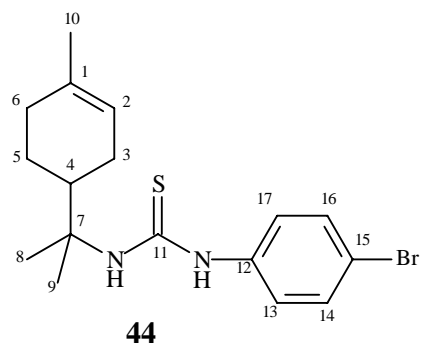
41

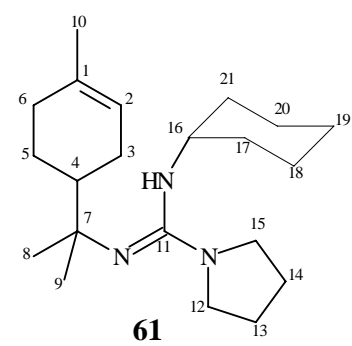
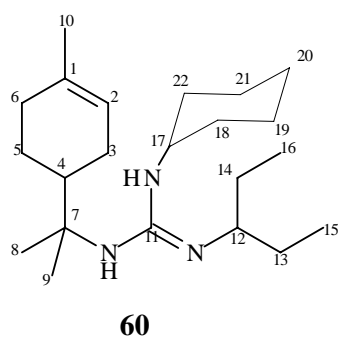
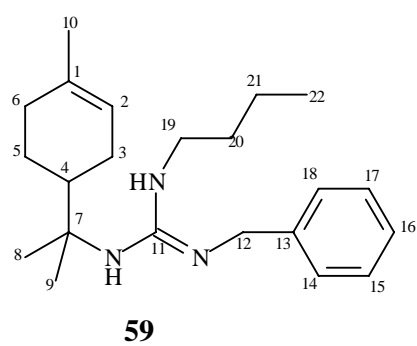
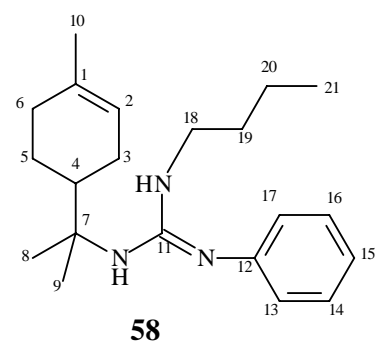
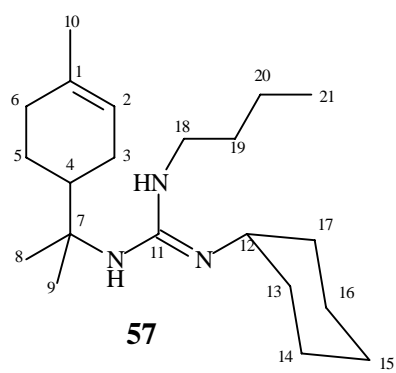
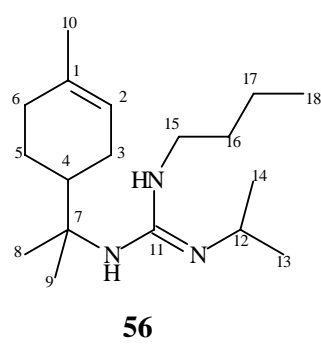
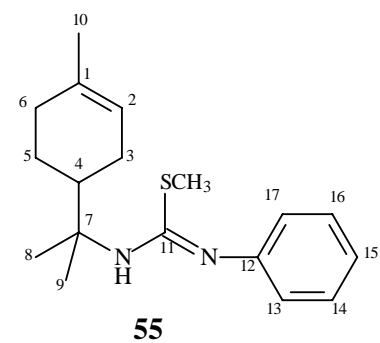
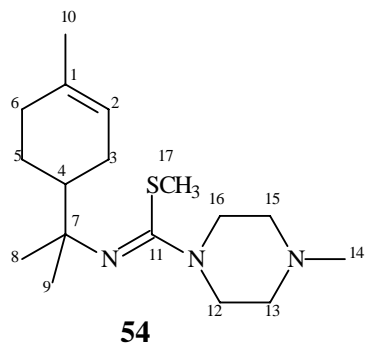
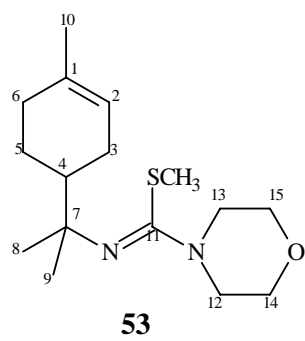


42



43





ABSTRACT

Keywords: Limonene; thioureas; guanidine; antiproliferative evaluation; *Artemia salina* bioassays.

Monoterpenes are a class of naturally occurring plant compounds that possess a range of pharmacological properties. Several studies have demonstrated the efficacy of this class of compounds as potential anticancer agents. d-Limonene, a monoterpene found in a variety of foods and essential oils, has been reported to exert chemopreventive and chemotherapeutic activities in a variety of carcinogen-induced animal tumor models. Dietary administration of d-limonene causes complete regression of N-nitrosourea (NMU)-induced and 7,12-dimethylbenzyl[a]anthracene (DMBA)-induced mammary carcinomas with minimal toxicity. As a result of its chemopreventive and chemotherapeutic potential, limonene is under clinical trials. Phase I and pharmacokinetic study in patients with advanced cancer confirms its low toxicity and support D-limonene as prototype of a novel class of chemotherapeutic drugs. The potential use of limonene as an anticancer agent led us to focus our attention on the synthesis and cytotoxicity against *Artemia salina* and antiproliferative activity evaluation of new limonene derivatives bearing thiourea or guanidine moieties.

The synthesis of the R(+)-limonene derivatives **(35-46)**, containing substituted thiourea moiety, was made from the reaction of the limonene isothiocyanate **(33)** with a series of different classes of amines (primary,

heterocyclic and aromatic). The compound (**33**) was obtained from the HSCN addition on exocyclic double bond of the R-(+)-limonene.

The preparation of the limonene derivatives (**56-61**), bearing the substituted guanidine moiety was carried out by the reaction of S-methylthioureas with different amines. The S-methylthioureas used were prepared from the reaction of the thioureas (**35-42**) e **45** with methyl iodide.

The structures of all obtained compounds were confirmed by spectroscopic data (IR, MS, NMR ^1H and ^{13}C , including ^1H - ^1H COSY and HMQC experiments).

The compounds synthesized were submitted to biossays for the cytotoxicity and antiproliferative activity evaluation. The cytotoxicity was evaluated against *Artemia salina*, and the antiproliferative activity was tested “in vitro” against a nine-cell panel lines consisting of melanoma UACC-62, breast MCF7, lung NCI-460, leukemia K-562, ovarian OVCAR, prostate PCO-3, colon HT29, renal 786-0 and breast resistant NCI/ADR according NCI standard protocol.

ABREVIações E Símbolos

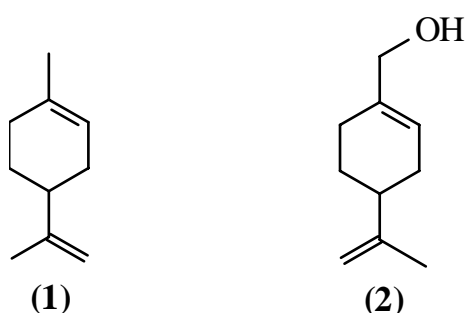
BOC	<i>t</i> -butoxicarbonil
CC	cromatografia em coluna
CCD	cromatografia em camada delgada
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
COSY	H-H correlation spectroscopy
<i>d</i>	dubleto
<i>dd</i>	duplo dubleto
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
DL ₅₀	dose requerida para 50% de morte
EM-AR	espectrometria de massas de alta resolução
EM	espectrometria de massas
GI ₅₀	grau de inibição de 50%
HMQC	heteronuclear quantum correlation
Hz	hertz
IC ₅₀	concentração requerida para 50% de inibição
IV	infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento
LC ₅₀	concentração necessária para matar 50%
<i>m</i>	multiplete
M ⁺	íon molecular
<i>m/z</i>	relação massa/carga
MHz	megahertz

ppm	partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<i>s</i>	singleto
<i>s/</i>	singleto largo
<i>t</i>	tripleto
<i>tdd</i>	tripleto de duplo dubleto
TGI	grau de inibição total
δ	deslocamento químico
δ_H	deslocamento químico de hidrogênio
δ_C	deslocamento químico de carbono-13

1. INTRODUÇÃO

Os monoterpenos constituem uma classe de compostos orgânicos encontrados em plantas e que possuem uma série de propriedades farmacológicas. Alguns estudos demonstram o potencial dos monoterpenos na prevenção do crescimento de tumores em uma variedade de sistemas orgânicos animais, incluindo: pele, mama, pulmão, pâncreas, fígado e cólon^{1, 2, 3}.

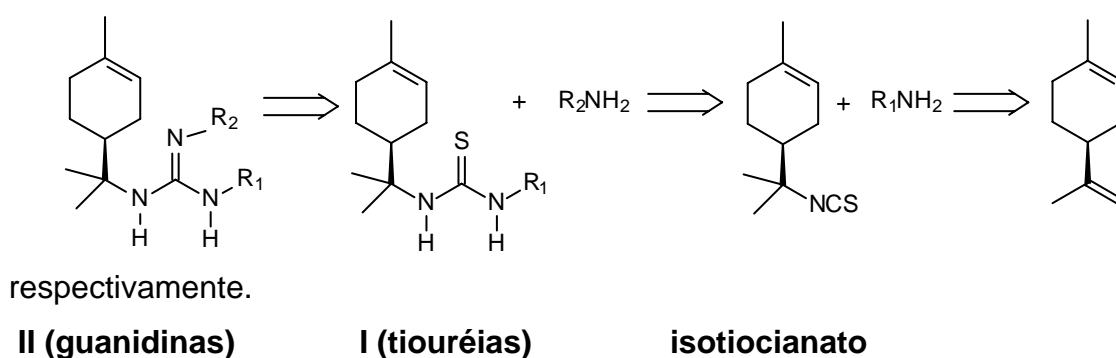
Dentre os monoterpenos estudados destacam-se o limoneno **(1)** e o álcool perílico **(2)**, que apresentam potente atividade antitumoral, resultando na regressão de tumores em diferentes sítios orgânicos⁴⁻⁸. O limoneno foi o primeiro monoterpeno a ser testado como agente anticancerígeno e vem demonstrando atividade na prevenção do desenvolvimento de tumores e na regressão de carcinoma mamária em ratos^{9,10}.



Devido aos resultados positivos dos vários ensaios de atividade antitumoral realizados, os quais demonstraram potente efeito quimioterápico e quimiopreventivo, o limoneno e o álcool perílico encontram-se em triagem para uso clínico como agentes anticâncer¹¹.

O amplo uso do limoneno como agente anticancerígeno, bem como a sua disponibilidade como substrato natural nos levaram a propor a síntese e a avaliação da atividade de uma série de derivados contendo esta unidade monoterpênica. Em trabalhos desenvolvidos anteriormente¹² foram também realizadas tentativas de síntese de derivados guanidínicos, utilizando o limoneno como substrato monoterpênico. No entanto, a metodologia utilizada na etapa de guanilação não forneceu os derivados guanidínicos esperados.

Neste trabalho foi realizada a preparação e avaliação da atividade antiproliferativa de uma série de derivados do limoneno contendo unidades tiouréia ou guanidínica substituídas¹², no entanto a metodologia utilizada na etapa de guanilação não forneceu os derivados guanidínicos esperados. No **Esquema 1** está mostrado a proposta retrossintética para preparação dos derivados do tipo II e I, contendo a unidade guanidina e tiouréia,



Esquema 1. Análise retrossintética para derivados I (guanidínicos) e II (tiouréias).

A proposta de preparação de derivados contendo a unidade tiouréia deve-se aos estudos reportados que demonstram o potencial farmacológico de compostos desta classe como antifúngicos¹³, antivirais, antibacterianos e

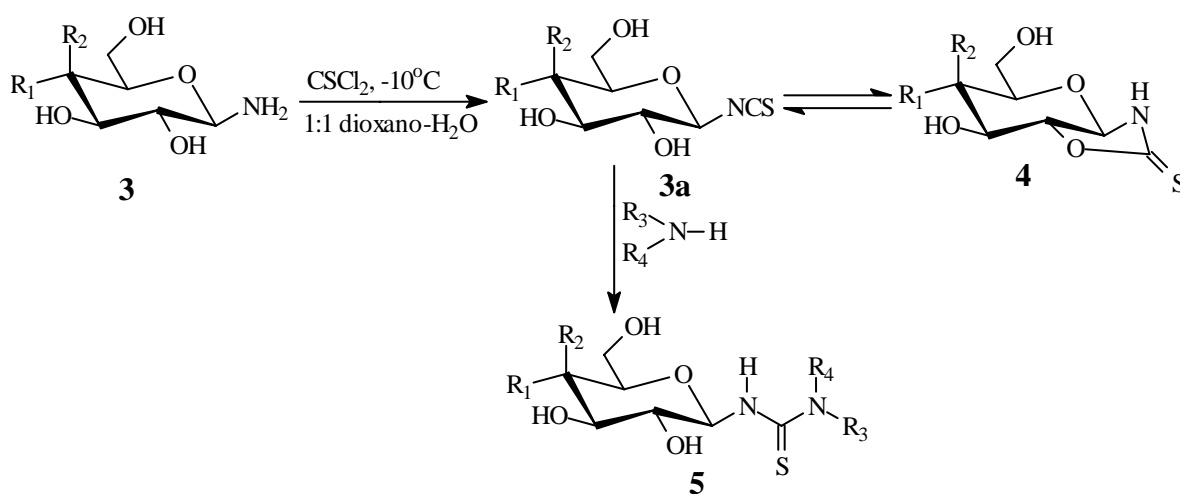
antitumorais¹⁴. Na literatura encontram-se, também, relatos de tiouréias que possuem atividade anti-HIV¹⁵.

O núcleo guanidínico está presente em diversos fármacos sendo responsável por interações específicas entre ligantes e receptores, interações estas favorecidas pela protonação do íon guanidínio em condições fisiológicas. Na literatura encontram-se relatados compostos guanidínicos naturais ou sintéticos, que possuem diversas atividades biológicas e farmacológicas, entre elas propriedades antivirais, antifúngicas, anti-histamínicas, antiinflamatórias, antidiabéticas, analgésica, anti-hipertensivas¹⁶ e antibacterianas. Alcalóides guanidínicos apresentam ainda atividade antiviral frente ao vírus *Herpes simplex* (tipo 1), antifúngica frente ao *Candida albicans*¹⁶, anti-HIV e são ainda potentes inibidores das Na⁺, K⁺, Ca²⁺-ATPases¹⁷.

3. REVISÃO DOS PRINCIPAIS MÉTODOS DE SÍNTESE DE TIOURÉIAS E GUANIDINAS

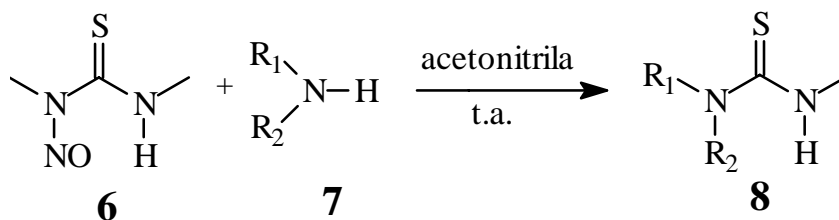
3.1. Principais para a síntese de tiouréias

O método mais utilizado para a síntese de tiouréias é a reação de isotiocianatos com diversas aminas. Dentre as sínteses de tiouréias, a partir de isotiocianatos, pode-se citar a metodologia proposta por Maya¹⁸, onde tiouréias **(5)** são preparadas a partir da reação de isotiocianatos glicosilados **(3a)** com aminas **(Esquema 2)**.



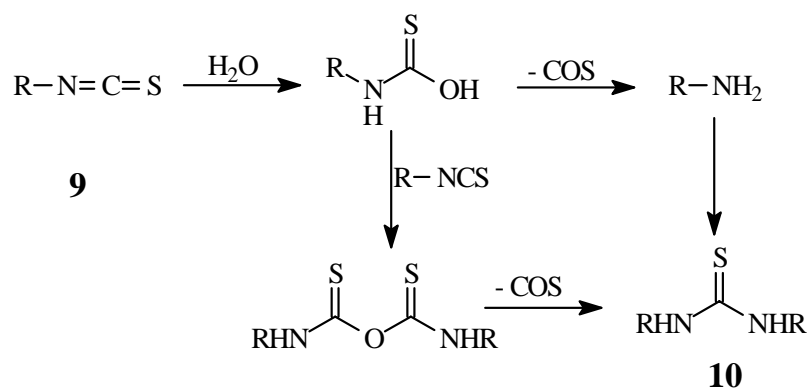
Esquema 2: Síntese de tiouréias a partir de isotiocianatos glicosilados.

Outro método utilizado na síntese de tiouréias, proposto por Xian¹⁹, é baseado na síntese de tiouréias N-substituídas **(8)** por substituição de nitrosotiouréias **(6)** com alquilaminas **(7)**. **(Esquema 3)**.



Esquema 3: Síntese de tiouréias derivadas de nitrosotiouréias.

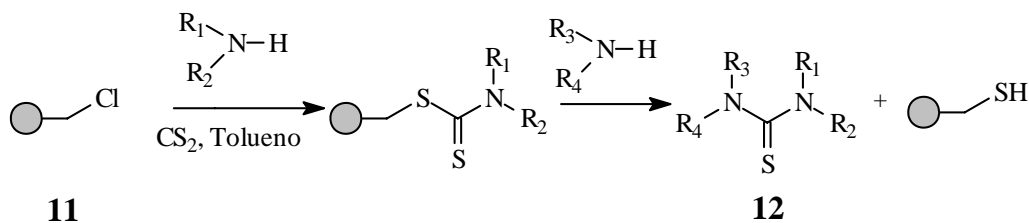
A auto condensação de isotiocianatos (**9**) foi descrita por Blanco²⁰ como outra metodologia, de síntese de tiouréias (**10**). (**Esquema 4**).



Esquema 4: Síntese de tiouréias por autocondensação de isotiocianatos.

A síntese de tiouréias em fase sólida (**12**), utilizando resina clorometilada (Merrifield) (**11**), foi desenvolvida por Gomez e colaboradores²¹, constituindo

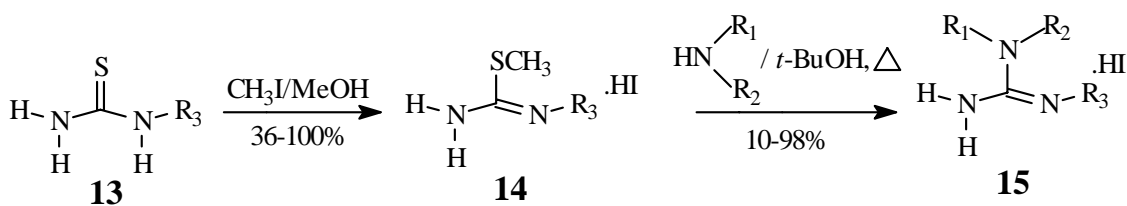
um método eficaz para a eliminação da presença de componentes tóxicos formados durante a reação (**Esquema 5**).



Esquema 5: Síntese de tiouréias em fase sólida.

3.2. Principais métodos para a síntese de alcalóides guanidínicos

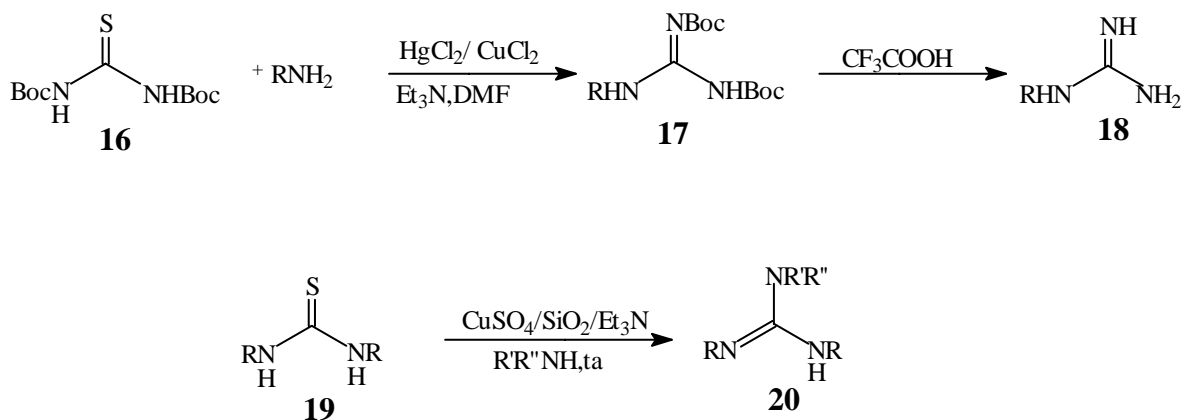
Um dos métodos mais comumente utilizado na síntese de guanidinas (**15**) foi proposto por Rasmussen²² e envolve a presença de S-metiltiouréias (**14**) como intermediários sintéticos (**Esquema 6**).



Esquema 6: Síntese de guanidinas via S-metiltiouréias.

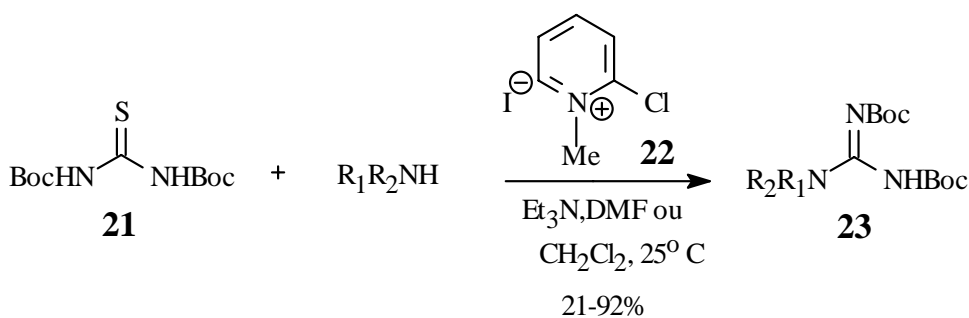
Outros métodos empregam sais de cobre ou mercúrio como agentes guanilantes na síntese das guanidinas (**18**) e (**20**), (**Esquema 7**), utilizando

ácido trifluoracético, para posterior desproteção das guanidinas protegidas (**17**) com N-BOC^{23,24}.



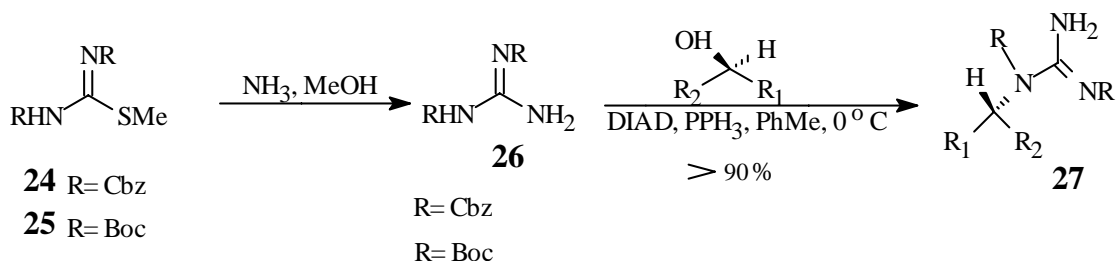
Esquema 7: Sínteses de guanidinas na presença de sais de cobre ou mercúrio.

Lipton²⁵ desenvolveu um método semelhante ao anterior, que evitou o uso de sais de mercúrio. A N,N'-bis-(tercbutoxicarbonil) tiouréia (**21**) foi submetida à reação com diversas aminas primárias e secundárias na presença de reagente de Mukayama (**22**) e trietilamina, em temperatura ambiente, resultando na guanidina bisprotegida (**23**) (**Esquema 8**).



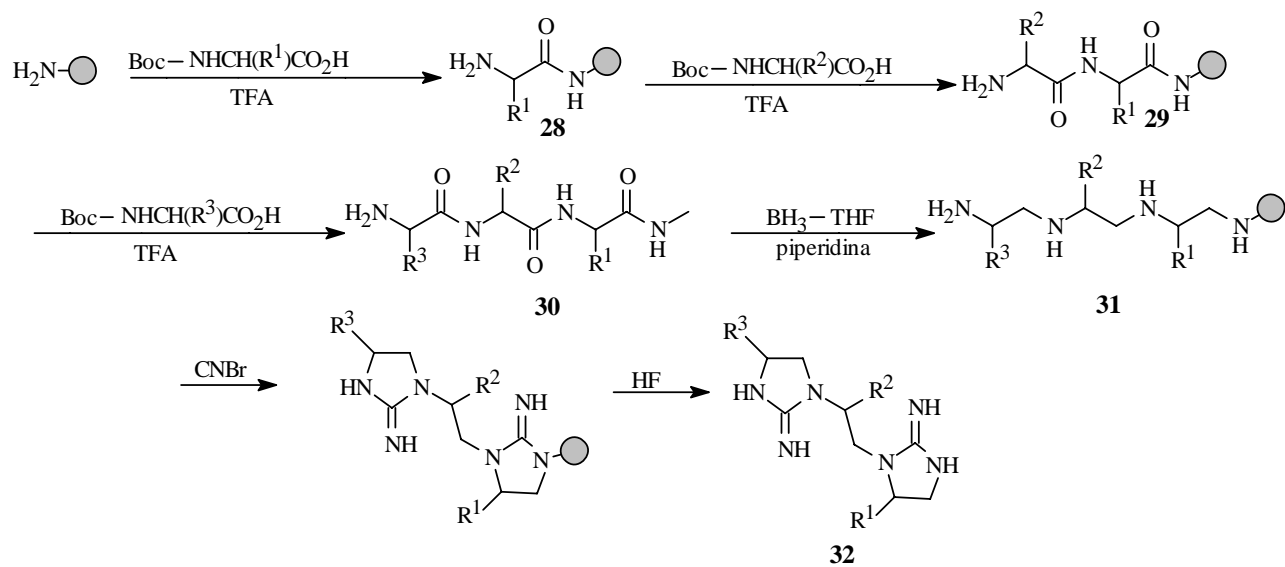
Esquema 8: Síntese de guanidinas utilizando o reagente de Mukayama.

Compostos guanidínicos também foram sintetizados à partir de álcoois, sob condições de Mitsunobu, como no caso da guanidina (**27**), cuja síntese foi desenvolvida por Kozikowski e colaboradores²⁶ (**Esquema 10**).



Esquema 10: Síntese de guanidinas via reação de Mitsunobu.

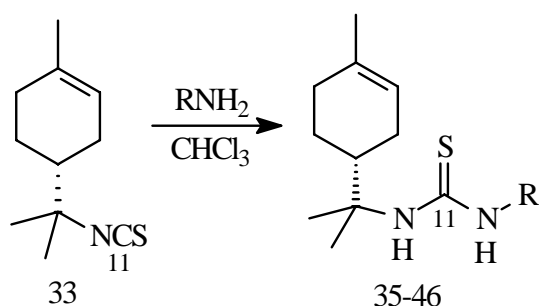
Ultimamente vêm sendo desenvolvidos diversos métodos de síntese de guanidinas em fase sólida. Um destes métodos foi demonstrado por Achyuta²⁷, que sintetizou guanidinas bicíclicas. Inicialmente o ácido bocamínico foi acoplado com a resina 4-metilbenzilhidrilamina (MBHA), seguido pela desproteção do grupo Boc, gerando o composto (**28**). Dois acoplamentos e desproteções subsequentes geraram o tripeptídeo (**30**). A redução das ligações amida do tripeptídeo com $\text{BH}_3\text{-THF}$ resultaram na tetramina (**31**), a qual foi tratada com CNBr , em solvente apolar, gerando a guanidina (**32**) (**Esquema 11**).

**Esquema 11:** Síntese de guanidinas em fase sólida.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

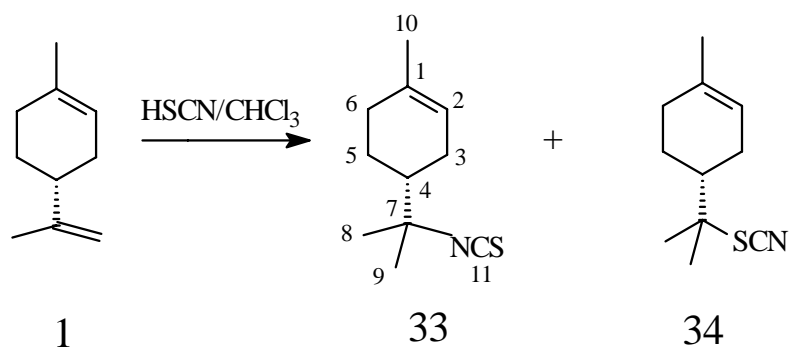
4.1 Preparação e caracterização de derivados do limoneno contendo a unidade tiouréia

Para a preparação dos derivados do R(+)-limoneno contendo a unidade tiouréia optou-se pela utilização do método onde a síntese é feita a partir da reação de isotiocianatos com diversas aminas¹⁸ (**Esquema 12**).



Esquema 12: Síntese de tiouréias a partir do isotiocianato.

O isotiocianato monoterpênico (**33**) foi preparado pela adição de um excesso de HSCN/CHCl₃, à dupla ligação do R(+)-limoneno (**1**) conforme procedimento descrito na literatura²⁸ (**Esquema 13**).



Esquema 13: Síntese do isotiocianato monoterpênico a partir do R(+)-limoneno (**1**).

O controle do andamento da reação por CCD mostrou a formação do isotiocianato (**33**) como produto majoritário e o tiocianato (**34**) como produto minoritário (2:1), sendo o último um produto mais polar.

A obtenção de (**33**) foi confirmada pela análise dos dados espectroscópicos de IV, EM e RMN ¹H e ¹³C (uni e bidimensional).

O produto principal foi obtido em 66% de rendimento e, apresentou no seu espectro de IV (**EIV-27 – Anexo**) uma banda em 2089 cm⁻¹, característica de grupo N=C=S.

O espectro de massas de baixa resolução apresentou íon molecular em *m/z* 195 (100%) e um fragmento em *m/z* 136 correspondente à perda de HSCN.

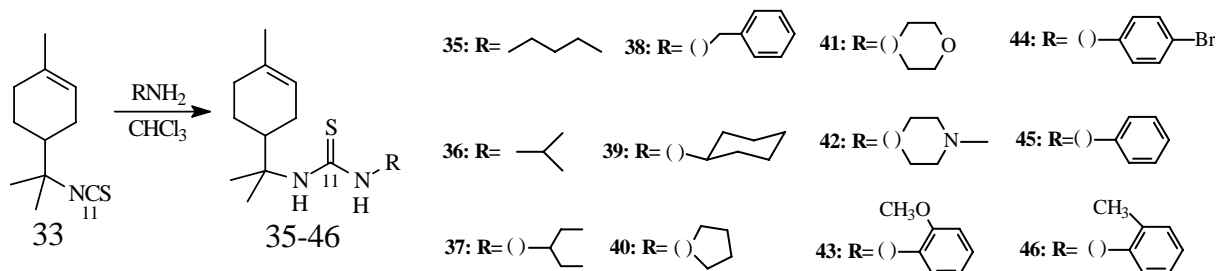
Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C (**ER¹H-28; ER¹³C-28 – Anexo**) mostraram dados concordantes com os relatados na literatura para o isotiocianato **33** e para o produto minoritário (**34**)²⁸. Na **Tabela 1** estão apresentados os deslocamentos químicos de ¹H e ¹³C para (**33**).

Tabela 1: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, CDCl_3) para **33**.

H/C	δ_{H} (mult)	δ_{C}
1	-	134,1
2	5,36 (s)	121,0
3	2,07 (m)	26,6
4	1,60 (m)	44,6
5	1,33; 1,87 (m)	24,3
6	2,01 (m)	30,7
7	-	64,0
8	1,39 (s)	27,2
9	1,37 (s)	26,9
10	1,66 (s)	23,36
11	-	129,0

Observou-se que a adição de HSCN ao *R*-(+)-limoneno (**1**) se deu regio e quimiosseletivamente, à dupla exocíclica. Esta seletividade deve-se, provavelmente, a fatores estéricos que favorecem a adição a esta insaturação, ao invés da dupla ligação trissubstituída (endocíclica).

O isotiocianato (**33**) obtido foi submetido à reação com uma série de aminas (n-butilamina, isopropilamina, pirrolidina, cicloexilamina, morfolina, *o*-anisidina, 3-pentilamina, *p*-bromoanilina, anilina, benzilamina, 1-metilpiperazina e *o*-toluidina), resultando nas tiouréias (**35-46**) conforme mostrado no (**Esquema 14**).



Esquema 14: Tiouréias **35-46** obtidas a partir do isotiocianato **33**.

A reação acima consiste na adição nucleofílica ao C-11 do isotiocianato. As tiouréias alifáticas (**35-39**) e heterocíclicas (**40-42**) foram obtidas com bons rendimentos (cerca de 80%). No entanto, a reação do isotiocianato monoterpênico (**33**) com aminas aromáticas forneceu as tiouréias (**43-46**) em baixos rendimentos (cerca de 30%), conforme mostrado na **Tabela 2**. Para a obtenção destas tiouréias foi necessário a utilização de temperaturas mais elevadas e maior tempo reacional. Os rendimentos foram menores, em relação à formação das tiouréias derivadas de aminas alifáticas, devido à baixa nucleofilicidade da anilina e seus derivados.

Tabela 2: Condições e rendimentos das reações de obtenção das tiouréias (35-46).

Nº	R	Tempo (h)	Temp °C	Rendimento(%)
	alifático			
35	n-butil	15	25	97
36	Isopropil	15	25	84
37	3-pentil	15	25	80
38	Benzil	15	25	95
39	Cicloexil	15	25	80
	Cíclico			
40	pirrolidil	15	25	67
41	Morfolil	15	25	88
42	1-metilpiperazil	08	25	90
	aromático			
43	2-metóxfenil	24	100	31
44	4-bromofenil	24	100	20
45	fenil	24	100	30
46	2-metilfenil	24	100	30

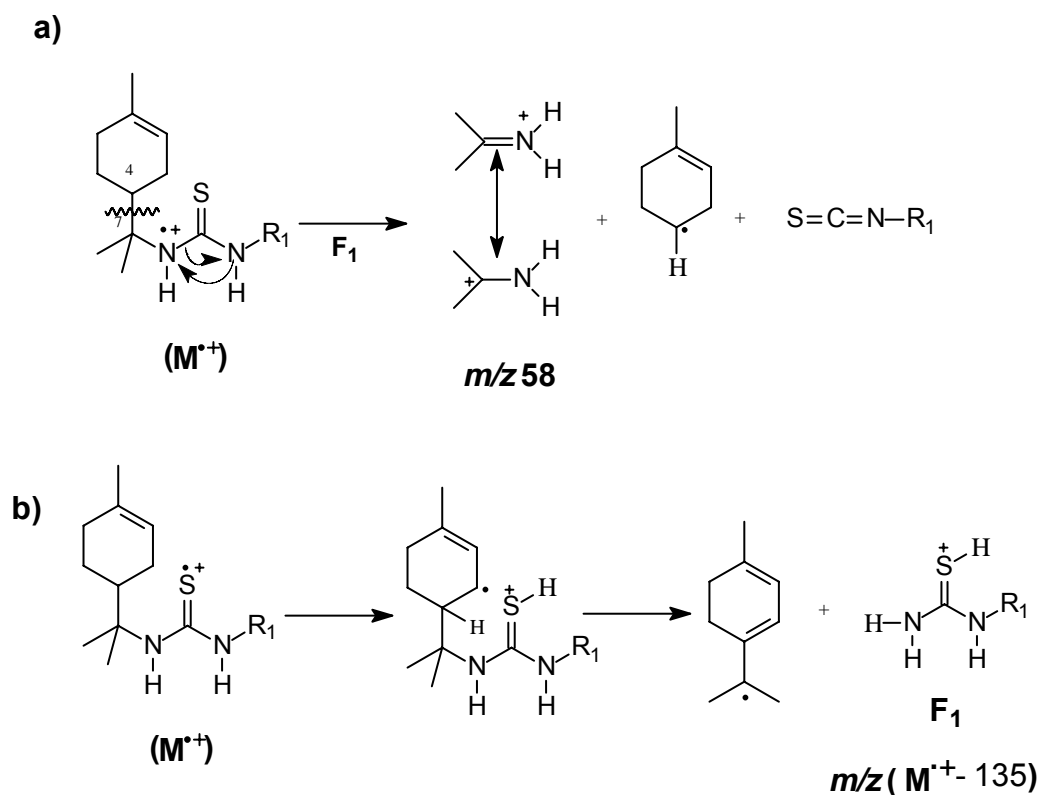
A obtenção das tiouréias (35-46) foi confirmada pela análise de seus dados espectroscópicos de IV, EM e RMN ^1H e ^{13}C (uni e bidimensional).

Os espectros no IV das tiouréias (35-46) apresentaram uma absorção intensa na região de $3250\text{-}3440\text{ cm}^{-1}$, característica de estiramento de N-H de aminas. Foram observadas, também, duas bandas nas regiões de $1523\text{-}1566\text{ cm}^{-1}$ e de $1250\text{-}1410\text{ cm}^{-1}$, características de estiramento C=S de tiouréias (**Espectros EIV 1-12 – Anexo**).

A análise dos espectros de massas (**Espectros EM 1-10 – Anexo**) dos derivados contendo a unidade tiouréia substituída (ver Parte Experimental) mostrou como fragmentos mais comuns para a maioria dos compostos os picos em m/z 58 e aqueles correspondentes ao fragmento denominado F_1 , sendo este último correspondente a perda de 135 unidades a partir do íon molecular ($M^{+•} - 135$).

Conforme sugerido no **Esquema 15 (Caminho a)**, a formação do fragmento m/z 58 envolve uma clivagem homolítica entre C_4 e C_7 e clivagem heterolítica entre o átomo de nitrogênio e o C_{11} . Um provável caminho para a formação do fragmento

denominado F_1 está mostrada no **Caminho b** do **Esquema 15**. Segundo esta nossa proposta, F_1 seria formada a partir da clivagem heterolítica entre C_7-N , com rearranjo do H de C_4 para N e formação de dupla ligação entre C_3-C_4 .



Esquema 15: Mecanismos propostos para a formação dos fragmentos $m/z\ 58$ e F_1 .

Os espectros de RMN ^1H das tiouréias (**espectros ER ^1H 1-12; ER COSY 1-8 – Anexo**) apresentaram sinais característicos da unidade monoterpênica na região de δ_{H} 5,30-5,40, relacionado ao H-2 da dupla endocíclica, e na região de δ_{H} 1,30 - 1,49 e δ_{H} 1,34 -1,55 que foram atribuídos aos hidrogênios dos grupos metilas C-8 e C-9. Os demais sinais correspondentes aos hidrogênios da unidade monoterpênica (H-3, H-4, H-5, H-6) estão presentes na região δ_{H} 1,18 – 2,81. O singlete na região δ_{H} 1,61-1,73 foi atribuído ao hidrogênio metílico H-10. A unidade monoterpênica foi

evidenciada também pelos sinais nas regiões de δ_c 133,5-134,4 e δ_c 119,0 - 120,5 correspondentes à C-1 e C-2 e sinais nas regiões de δ_c 23,8 – 44,5 atribuídos aos carbonos monoterpênicos C-3, C-4, C-5 e C-6, nos espectros de RMN ^{13}C (**espectros ER ^{13}C 1-12; ER HMQC 1-10 - Anexo**).

A confirmação da adição nucleofílica das aminas ao isotiocianato **33** foi verificada, principalmente, pelo efeito de desproteção de aproximadamente 50 ppm no carbono C-11 dos produtos, em relação ao valor de δ para o C-11 (129 ppm) do isotiocianato de partida. Os sinais característicos de C=S das tiouréias formadas apareceram na região de δ_c 177,3 a 181,8. A atribuição dos deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C , para alguns sinais característicos das tiouréias (**35-46**) está apresentada na **Tabela 3**. As atribuições dos demais deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C estão apresentadas nas **Tabelas 4-9**.

Para os derivados contendo aminas alifáticas primárias como substituintes (**35-39**), o hidrogênio H-12 apresentou valores de deslocamentos químicos na região de δ_H 3,53 - 4,72, variando a sua multiplicidade de acordo com a natureza da amina. Os sinais na região de 1,23 – 1,99 foram atribuídos ao H-13. Nos espectros de RMN ^{13}C dos compostos observa-se a presença de sinais nas regiões de δ_c 45,1 – 58,3 e δ_c 22,6 – 137,2, atribuídos ao C-12 e C-13.

Em relação às tiouréias contendo substituintes heterocíclicos (**40-42**), os sinais de H-12 estão presentes na região de δ_H 2,43 – 3,73 e os sinais de H-13 na região de δ_H 1,98 – 3,78. A multiplicidade dos sinais atribuídos as tiouréias com substituintes cíclicos e heterocíclicos, também variam conforme a natureza da amina presente na estrutura. A confirmação da adição das aminas na estrutura das tiouréias (**40-42**) foi evidenciada pela presença de sinais nas regiões de δ_c 46,8 – 49,2 e δ_c 25,5 – 66,3, atribuídos respectivamente ao C-12 e C-13, respectivamente.

Pode-se verificar uma mudança nos deslocamentos de alguns sinais, pertencentes à unidade monoterpênica, das tiouréias heterocíclicas (**40-42**) em comparação com as tiouréias alifáticas (**35-39**). Os espectros de RMN ^1H apresentaram sinais na região de δ_H 1,25 – 2,81, atribuídos aos H-3, H-4, H-5 e H-6,

para as tiouréias heterocíclicas (**40-42**) enquanto que para as tiouréias alifáticas (**35-39**) estes mesmos hidrogênios apresentaram sinais na região de δ_H 1,30 – 1,99.

Os espectros de RMN 1H para as tiouréias aromáticas (**43-46**) apresentaram sinais característicos de hidrogênios aromáticos, confirmando a presença do grupo arila na estrutura. O sinal atribuído ao H-13 das tiouréias aromáticas aparece na região de δ_H 6,94 – 7,28. No espectro de RMN ^{13}C , os sinais relativos ao C-12 e C-13 apareceram na região de δ_C 134,1 – 136,8 e δ_C 121,0 – 127,7.

Tabela 3: Dados de RMN 1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, multiplicidade, *J* em Hz, $CDCl_3$) para as tiouréias (**35-46**).

tiouréias	$\delta_H(2)$	$\delta_C(2)$	$\delta_C(7)$	$\delta_H(8)$	$\delta_C(8)$	$\delta_H(9)$	$\delta_C(9)$	$\delta_C(11)$	$\delta_H(12)$	$\delta_C(12)$
35	5,40(<i>s</i>)	120,0	58,3	1,35(<i>s</i>)	24,8	1,39(<i>s</i>)	25,0	180,8	3,54(<i>q</i> ; 6,0)	45,1
36	5,40(<i>s</i>)	120,0	58,3	1,35(<i>s</i>)	24,9	1,40(<i>s</i>)	25,2	179,8	4,36-4,37(<i>m</i>)	47,2
37	5,36(<i>s</i>)	119,7	58,2	1,34(<i>s</i>)	25,1	1,38(<i>s</i>)	25,4	180,7	4,19-4,27(<i>m</i>)	58,3
38	5,33(<i>s</i>)	119,8	58,4	1,30(<i>s</i>)	24,6	1,34(<i>s</i>)	24,8	180,9	4,65-4,80(<i>m</i>)	49,2
39	5,36(<i>s</i>)	120,0	58,3	1,34(<i>s</i>)	24,9	1,37(<i>s</i>)	25,2	179,7	4,08-4,15(<i>m</i>)	53,9
40	5,37(<i>s</i>)	120,6	58,9	1,49(<i>s</i>)	24,6	1,55(<i>s</i>)	24,6	177,3	3,45-3,60(<i>m</i>)	49,2
41	5,37(<i>s</i>)	119,7	59,5	1,48(<i>s</i>)	24,6	1,54(<i>s</i>)	24,7	181,8	3,60-3,80(<i>m</i>)	47,4
42	5,37(<i>s</i>)	120,3	58,9	1,46(<i>s</i>)	24,3	1,53(<i>s</i>)	24,3	180,8	2,43(<i>t</i> ; 5,1)	46,8
43	5,36(<i>s</i>)	120,5	59,3	1,42(<i>s</i>)	24,6	1,48(<i>s</i>)	24,6	179,3	-	134,1
44	5,36(<i>s</i>)	120,4	59,7	1,42(<i>s</i>)	24,6	1,48(<i>s</i>)	24,6	179,4	-	136,0
45	5,33(<i>s</i>)	120,5	59,5	1,40(<i>s</i>)	24,2	1,45(<i>s</i>)	24,2	179,5	-	136,8
46	5,30(<i>s</i>)	120,5	59,2	1,39(<i>s</i>)	24,1	1,45(<i>s</i>)	24,4	179,9	-	136,0

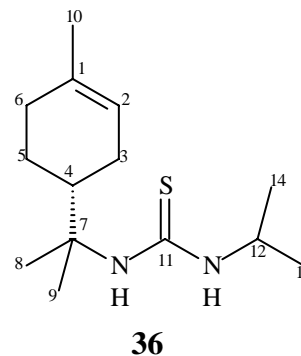
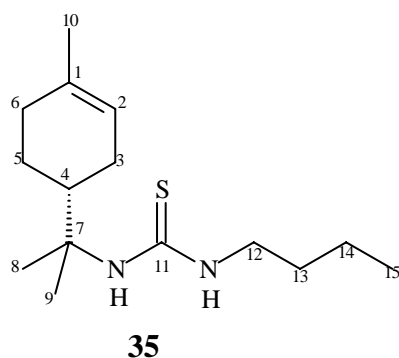


Tabela 4: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, CDCl_3) para os produtos **(35)** e **(36)**.

C/H	Composto 35		Composto 36	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	133,9 (C_0)	-	134,0 (C_0)
2	5,40 (<i>s</i>)	120,0 (CH)	5,40 (<i>s</i>)	120,0 (CH)
3	1,99 (<i>m</i>)	26,5 (CH_2)	1,99 (<i>m</i>)	26,6 (CH_2)
4	1,99 (<i>m</i>)	42,2 (CH)	1,99 (<i>m</i>)	42,5 (CH)
5	1,82 (<i>m</i>)	24,2 (CH_2)	1,33; 1,78 (<i>m</i>)	24,2 (CH_2)
6	1,60 (<i>m</i>)	31,2 (CH_2)	1,99 (<i>m</i>)	30,9 (CH_2)
7	-	58,3 (C_0)	-	58,3 (C_0)
8	1,35 (<i>s</i>)	24,8 (CH_3)	1,35 (<i>s</i>)	24,9 (CH_3)
9	1,39 (<i>s</i>)	25,0 (CH_3)	1,40 (<i>s</i>)	25,2 (CH_3)
10	1,64 (<i>s</i>)	23,2 (CH_3)	1,65 (<i>s</i>)	23,2 (CH_3)
11	-	180,8 (C_0)	-	179,8 (C_0)
12	3,54 (<i>q</i> ; 6,0)	45,1 (CH_2)	4,40 (<i>m</i>)	47,2 (CH)
13	1,99 (<i>m</i>)	30,9 (CH_2)	1,23 (<i>d</i>)	22,6 (CH_3)
14	1,39 (<i>m</i>)	20,1 (CH_2)	1,23 (<i>d</i>)	22,6 (CH_3)
15	0,95 (<i>t</i> ; 7,2)	13,7 (CH_3)	-	-

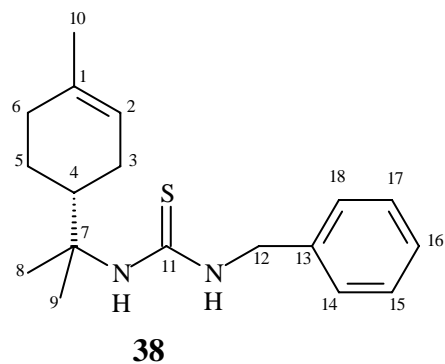
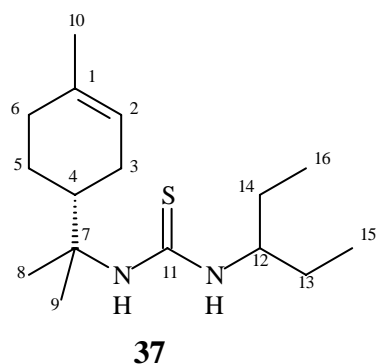


Tabela 5: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, CDCl_3) para os produtos (37) e (38).

C/H	Composto 37		Composto 38	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,1 (C_0)	-	133,8 (C_0)
2	5,36 (<i>s</i>)	119,7 (CH)	5,33 (<i>s</i>)	119,8 (CH)
3	1,61 (<i>m</i>)	26,6 (CH_2)	1,68; 1,94 (<i>m</i>)	26,3 (CH_2)
4	1,99 (<i>m</i>)	42,8 (CH)	1,94 (<i>m</i>)	42,1 (CH)
5	1,30; 1,83 (<i>m</i>)	24,3 (CH_2)	1,68 (<i>m</i>)	23,9 (CH_2)
6	1,99 (<i>m</i>)	31,0 (CH_2)	1,94 (<i>m</i>)	30,7 (CH_2)
7	-	58,2 (C_0)	-	58,4 (C_0)
8	1,34 (<i>s</i>)	25,1 (CH_3)	1,30 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)
9	1,38 (<i>s</i>)	25,4 (CH_3)	1,34 (<i>s</i>)	24,8 (CH_3)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,63 (<i>s</i>)	23,1 (CH_3)
11	-	180,7 (C_0)	-	180,9 (C_0)
12	4,23 (<i>m</i>)	58,3 (CH)	4,72 (<i>s</i>)	49,2 (CH_2)
13	1,51 (<i>m</i>)	27,0 (CH_2)	-	137,2 (C_0)
14	1,51 (<i>m</i>)	26,9 (CH_2)	7,31 (<i>m</i>)	127,3 (CH)
15	0,93 (<i>t</i> ; 7,5)	10,0 (CH_3)	7,31 (<i>m</i>)	128,7 (CH)
16	0,93 (<i>t</i> ; 7,5)	10,1 (CH_3)	7,31 (<i>m</i>)	128,7 (CH)
17	-	-	7,31 (<i>m</i>)	128,7 (CH)
18	-	-	7,31 (<i>m</i>)	127,3 (CH)

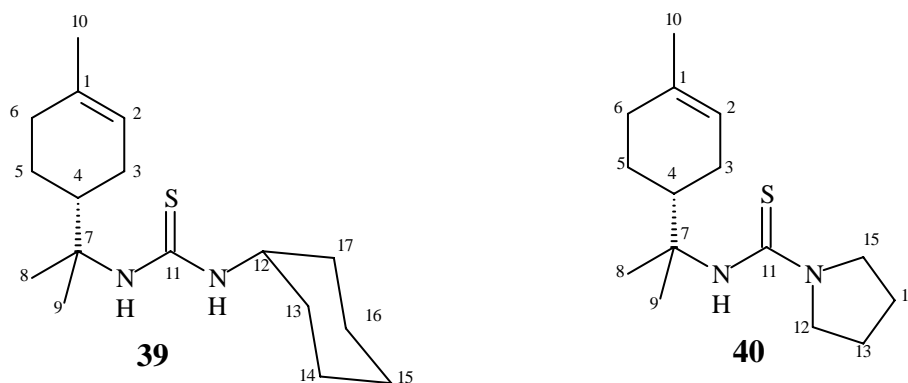


Tabela 6: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, CDCl_3) para os produtos (39) e (40).

C/H	Composto 39		Composto 40	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,0 (C_0)	-	134,0 (C_0)
2	5,36 (<i>sl</i>)	120,0 (CH)	5,37 (<i>sl</i>)	120,6 (CH)
3	1,81 (<i>m</i>)	26,6 (CH_2)	1,77;2,04 (<i>m</i>)	26,6 (CH_2)
4	1,93 (<i>m</i>)	42,7 (CH)	2,70 (<i>ddd</i> ; 12; 2,4;2,1)	40,8 (CH)
5	1,81 (<i>m</i>)	24,2 (CH_2)	1,78;1,25 (<i>m</i>)	24,1 (CH_2)
6	1,80 (<i>m</i>)	31,0 (CH_2)	1,98 (<i>m</i>)	31,1 (CH_2)
7	-	58,3 (C_0)	-	58,9 (C_0)
8	1,34 (<i>s</i>)	24,9 (CH_3)	1,49 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)
9	1,37 (<i>s</i>)	25,2 (CH_3)	1,55 (<i>s</i>)	24,7 (CH_3)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,64 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)
11	-	179,7 (C_0)	-	177,3 (C_0)
12	4,12 (<i>m</i>)	53,9 (CH)	3,55 (<i>m</i>)	49,2 (CH_2)
13	2,02 (<i>m</i>)	32,9 (CH_2)	1,98 (<i>tl</i>)	25,5 (CH_2)
14	1,67 (<i>m</i>)	24,7 (CH_2)	1,98 (<i>tl</i>)	25,5 (CH_2)
15	1,60 (<i>m</i>)	25,4 (CH_2)	3,55 (<i>m</i>)	49,2 (CH_2)
16	1,67 (<i>m</i>)	24,7 (CH_2)	-	-
17	2,02 (<i>m</i>)	32,8 (CH_2)	-	-

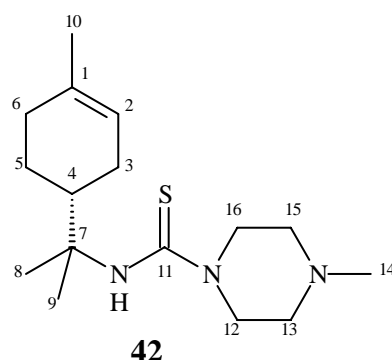
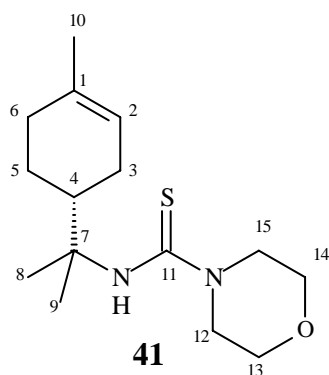


Tabela 7: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade, J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(41)** e **(42)**.

C/H	Composto 41		Composto 42	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,1 (C_0)	-	133,5 (C_0)
2	5,37 (<i>sl</i>)	119,7 (CH)	5,37 (<i>sl</i>)	120,3 (CH)
3	2,02 (<i>m</i>)	26,5 (CH_2)	1,81; 1,96 (<i>m</i>)	26,2 (CH_2)
4	2,75 (<i>m</i>)	44,5 (CH)	2,81 (<i>m</i>)	39,9 (CH)
5	1,65 (<i>m</i>)	24,3 (CH_2)	1,73 (<i>m</i>)	23,8 (CH_2)
6	2,01 (<i>m</i>)	30,7 (CH_2)	1,96 (<i>m</i>)	30,7 (CH_2)
7	-	59,5 (C_0)	-	58,9 (C_0)
8	1,48 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)	1,46 (<i>s</i>)	24,3 (CH_3)
9	1,54 (<i>s</i>)	24,7 (CH_3)	1,53 (<i>s</i>)	24,2 (CH_3)
10	1,73 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,63 (<i>s</i>)	23,0 (CH_3)
11	-	181,8 (C_0)	-	180,8 (C_0)
12	3,73 (<i>m</i>)	47,4 (CH_2)	2,43 (<i>t</i> ; 5,1)	46,8 (CH_2)
13	3,73 (<i>m</i>)	66,3 (CH_2)	3,78 (<i>t</i> ; 4,2)	54,2 (CH_2)
14	3,73 (<i>m</i>)	66,3 (CH_2)	2,30 (<i>s</i>)	45,4 (CH_3)
15	3,73 (<i>m</i>)	47,4 (CH_2)	3,78 (<i>t</i> ; 4,2)	54,2 (CH_2)
16	-	-	2,43 (<i>t</i> ; 5,1)	46,8 (CH_2)

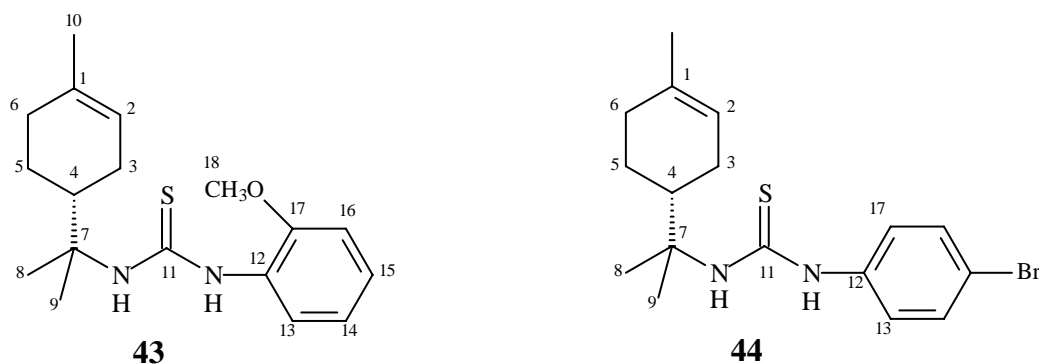


Tabela 8: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade, J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(43)** e **(44)**.

C/H	Composto 43		Composto 44	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,2 (C_0)	-	134,4 (C_0)
2	5,36 (<i>s</i>)	120,5 (CH)	5,36 (<i>s</i>)	120,4 (CH)
3	1,90 (<i>m</i>)	26,7 (CH_2)	1,68; 1,97 (<i>m</i>)	26,7 (CH_2)
4	2,00 (<i>m</i>)	41,7 (CH)	2,59 (<i>m</i>)	40,9 (CH)
5	1,77 (<i>m</i>)	24,3 (CH_2)	1,24; 1,68 (<i>m</i>)	24,4 (CH_2)
6	1,90 (<i>m</i>)	31,2 (CH_2)	1,96 (<i>m</i>)	31,2 (CH_2)
7	-	59,3 (C_0)	-	59,7 (C_0)
8	1,42 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)	1,42 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)
9	1,48 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)	1,48 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)
10	1,63 (<i>s</i>)	23,4 (CH_3)	1,63 (<i>s</i>)	23,5 (CH_3)
11	-	179,3 (C_0)	-	179,4 (C_0)
12	-	134,1 (C_0)	-	136,0 (C_0)
13	6,94 (<i>dd</i> ; 7,8)	121,0 (CH)	7,09 (<i>d</i> ; 8,7)	126,8 (CH)
14	7,24 (<i>dd</i> ; 7,8)	124,5 (CH)	7,54 (<i>td</i> ; 9,3; 3,0; 2,1)	133,4 (CH)
15	6,98 (<i>td</i> ; 7,8)	121,0 (CH)	-	120,6 (C_0)
16	7,20(<i>td</i> ; 7,8)	110,3 (CH)	7,54 (<i>td</i> ; 9,3; 3,0; 2,1)	133,4 (CH)
17	-	154,6 (C_0)	7,09 (<i>d</i> ; 8,7)	126,8 (CH)
18	3,84 (<i>s</i>)	55,8 (CH_3)	-	-

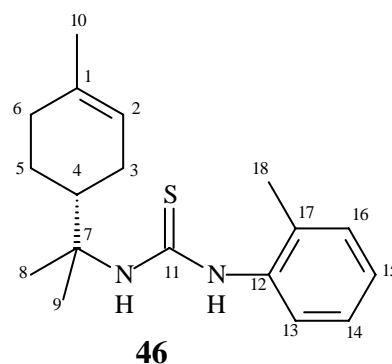
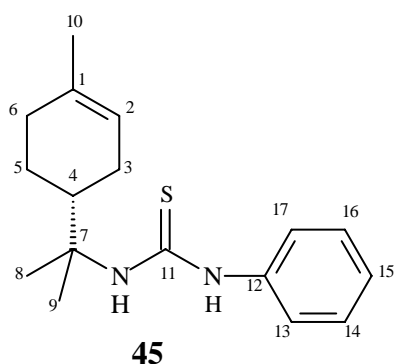
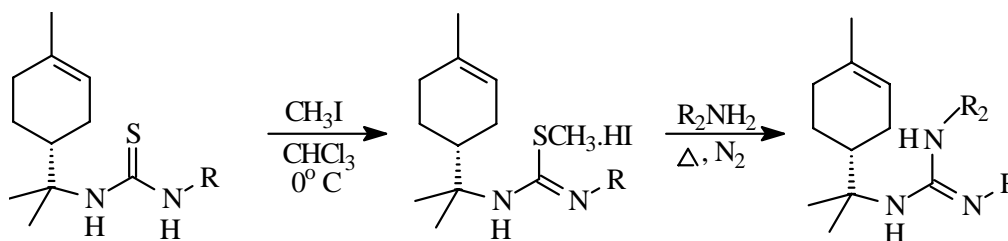


Tabela 9: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, CDCl_3) para os produtos **(45)** e **(46)**.

C/H	Composto 45		Composto 46	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,3 (C ₀)	-	134,3 (C ₀)
2	5,33 (<i>s</i>)	120,5 (CH)	5,30(<i>s</i>)	120,5 (CH)
3	1,84; 1,90 (<i>m</i>)	26,7 (CH ₂)	1,93 (<i>m</i>)	26,6 (CH ₂)
4	2,59 (<i>m</i>)	41,1 (CH)	2,48 (<i>m</i>)	41,4 (CH)
5	1,18; 1,62 (<i>m</i>)	24,3 (CH ₂)	1,75 (<i>m</i>)	24,2 (CH ₂)
6	1,90 (<i>m</i>)	31,2 (CH ₂)	1,93 (<i>m</i>)	31,2 (CH ₂)
7	-	59,5 (C ₀)	-	59,2 (C ₀)
8	1,40 (<i>s</i>)	24,5 (CH ₃)	1,39 (<i>s</i>)	24,1 (CH ₃)
9	1,45 (<i>s</i>)	24,2 (CH ₃)	1,45 (<i>s</i>)	24,4 (CH ₃)
10	1,61 (<i>s</i>)	23,5 (CH ₃)	1,61 (<i>s</i>)	23,5 (CH ₃)
11	-	179,5 (C ₀)	-	179,9 (C ₀)
12	-	136,8 (C ₀)	-	136,0 (C ₀)
13	7,20 (<i>d</i> ; 7,5)	125,2 (CH)	7,28 (<i>m</i>)	127,7 (CH)
14	7,43 (<i>t</i> ; 7,5)	130,2 (CH)	7,28 (<i>m</i>)	131,9 (CH)
15	7,29 (<i>d</i> ; 7,9)	127,1 (CH)	7,28 (<i>m</i>)	127,8 (CH)
16	7,43 (<i>t</i> ; 7,5)	130,2 (CH)	7,28 (<i>m</i>)	128,7 (CH)
17	7,20 (<i>d</i> ; 7,5)	125,2 (CH)	-	127,9 (C ₀)
18	-	-	2,29 (<i>m</i>)	18,1 (CH ₃)

4.2 Preparação de derivados do limoneno contendo uma unidade guanidínica substituída

Para a preparação de derivados do limoneno contendo uma unidade guanidínica substituída utilizou-se a metodologia proposta por Rasmussen²². A proposta é baseada na formação de um intermediário S-metilado, derivado das tiouréias obtidas anteriormente e posterior reação dos intermediários obtidos com aminas (**Esquema 16**).



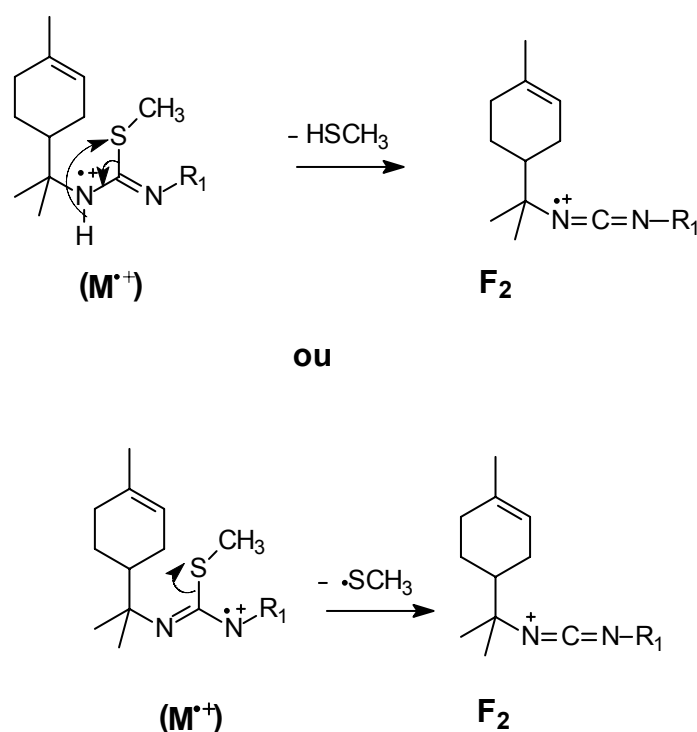
Esquema 16: Síntese dos derivados guanidínicos a partir de tiouréias.

O uso de S-metiltiouréias como intermediários é uma forma de facilitar a posterior formação das guanidinas pela liberação de CH₃SH na reação de substituição. Para a preparação das tiouréias S-metiladas solubilizou-se as tiouréias (**35-42**) e (**45**) em CHCl₃, adicionou-se um excesso de iodeto de metila (CH₃I) e deixou-se sob agitação e temperatura de 0 °C durante 24 horas. Os produtos foram obtidos na forma de sal de S-metiltiouréia (**47- 55**), com rendimento quantitativo.

A confirmação da obtenção das S-metiltiouréias foi feita com base na análise de seus dados espectroscópicos de IV, EM e RMN ¹H e RMN ¹³C (uni e bidimensional).

Os espectros na região do infravermelho (**Espectros EIV 13-21 – Anexo**) dos compostos (**47-55**) apresentaram uma banda na região de 1527- 1638 cm⁻¹ característico de ligação C=N de iminas. Foi observada a ausência das bandas correspondentes à absorção da ligação C=S, e a presença de uma banda na região de 660-700 cm⁻¹ (C-S) o que caracteriza a formação das S-metiltiouréias.

No espectro de massas de baixa resolução (**Espectros EM 11-19 – Anexo**) para as S-metiltiouréias (**47-55**) foi observada a presença de um fragmento **F₂**, com *m/z* característico de cada composto, resultante da clivagem heterolítica da ligação C₁₁-S. Há a liberação de HSCH₃ ou SCH₃, dependendo da natureza da amina presente na estrutura (**Esquema 17**).



Esquema 17: Fragmentações típicas para as S-metiltiouréias sintetizadas.

A **Tabela 10** apresenta os valores do pico do íon molecular ($M^{\bullet+}$) de cada uma das S-metiltiouréias, além do valor do fragmento **F₂** correspondente à perda dos fragmentos $•SCH_3$ ou $HSCH_3$.

Tabela 10: Valores de m/z , para o íon molecular e F_2 das S-metil tiouréias (**47-55**).

Compostos	m/z (M^{*+})	m/z (F_2)
47	282	234
48	268	220
49	296	248
50	316	268
51	308	261
52	280	233
53	296	249
54	304	-
55	302	255

Os espectros de RMN 1H (**espectros ER 1H 13-21; ER COSY 9-17 – Anexo**) das tiouréias S-metiladas (**47-55**) apresentaram um sinal que caracteriza a formação dos produtos desejados, devido à presença de um singlete atribuído ao grupo metila ligado à enxofre na região de δ_H 2,70 a 3,10 ppm. Os sinais na região de δ_H 5,33 a 5,39 ppm são característicos de hidrogênio ligado à dupla ligação da unidade terpênica. Dados espectroscópicos de RMN ^{13}C (**espectros ER ^{13}C 13-21; ER HMQC 11-19 - Anexo**) mostraram um sinal relacionado ao carbono ligado a enxofre na região de δ_C 143,7 a 168,1, para as tiouréias S-metiladas. Os sinais na região de δ_C 17,6 - 18,5, foram atribuídos aos carbonos dos grupos metilas ligados ao enxofre.

Na **Tabela 11** estão apresentados os deslocamentos químicos dos hidrogênios e do carbono da metila ligada ao enxofre das S-metiltiouréias (**47-55**), preparadas a partir das respectivas tiouréias.

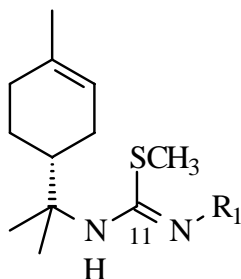


Tabela 11: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para as S-metiltiouréias (**47-55**).

S-metiltiouréias	R ₁	δ ^1H	δ ^{13}C
	alifático		
47	n-butil	2,86 (s)	17,8 (CH ₃)
48	Isopropil	2,85 (s)	18,4 (CH ₃)
49	3-pentil	2,78 (s)	18,4 (CH ₃)
50	Benzil	3,06 (s)	18,0 (CH ₃)
51	Cicloexil	2,83 (s)	18,5 (CH ₃)
	cíclico		
52	Pirrolidil	2,70 (s)	17,6 (CH ₃)
53	Morfolil	2,63 (s)	18,7 (CH ₃)
54	1-metilpiperazil	2,73 (s)	16,9 (CH ₃)
	aromático		
55	Fenil	2,44 (s)	17,3 (CH ₃)

As atribuições dos demais sinais de RMN encontram-se nas **Tabelas 12-16**. Os sinais de carbono e hidrogênio para a S-metiltiouréia (**50**) foram confirmadas com base nos dados de experimento de HMQC.

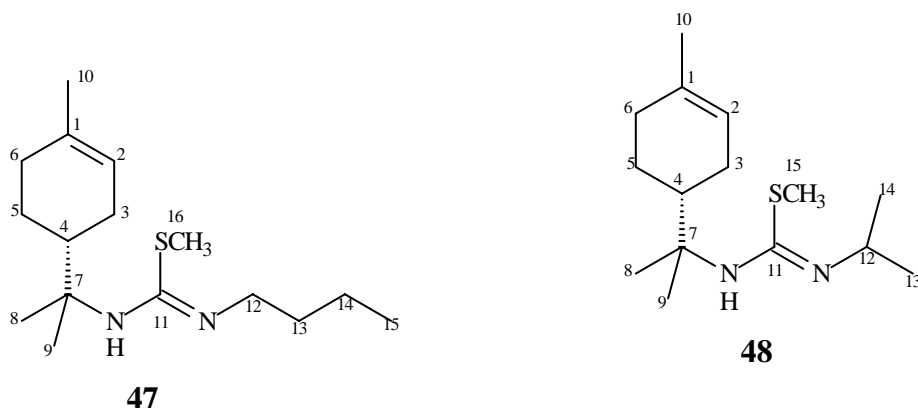


Tabela 12: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(47)** e **(48)**.

C/H	Composto 47		Composto 48	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,5 (C ₀)	-	134,1 (C ₀)
2	5,36 (<i>s</i>)	119,5 (CH)	5,35 (<i>s</i>)	120,1 (CH)
3	1,88 (<i>m</i>)	26,8 (CH ₂)	1,93 (<i>m</i>)	26,7 (CH ₂)
4	2,31 (<i>m</i>)	42,2 (CH)	2,27 (<i>m</i>)	42,7 (CH)
5	1,76 (<i>m</i>)	24,4 (CH ₂)	1,76 (<i>m</i>)	24,4 (CH ₂)
6	1,88 (<i>m</i>)	30,8 (CH ₂)	1,93 (<i>m</i>)	30,8 (CH ₂)
7	-	63,1 (C ₀)	-	57,4 (C ₀)
8	1,55 (<i>s</i>)	25,0 (CH ₃)	1,50 (<i>s</i>)	25,1 (CH ₃)
9	1,59 (<i>s</i>)	25,5 (CH ₃)	1,58 (<i>s</i>)	25,7 (CH ₃)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH ₃)
11	-	167,9 (C ₀)	-	143,7 (C ₀)
12	3,69 (<i>s</i>)	45,9 (CH ₂)	4,30 (<i>s</i>)	51,2 (CH)
13	1,93 (<i>m</i>)	30,8 (CH ₂)	1,49 (<i>d</i> ; 6,6)	22,7 (CH ₃)
14	1,40 (<i>m</i>)	20,1 (CH ₂)	1,49 (<i>d</i> ; 6,6)	22,3 (CH ₃)
15	0,96 (<i>t</i> ; 7,2)	13,8 (CH ₃)	2,85 (<i>s</i>)	18,4 (CH ₃)
16	2,86 (<i>s</i>)	17,8 (CH ₃)	-	-

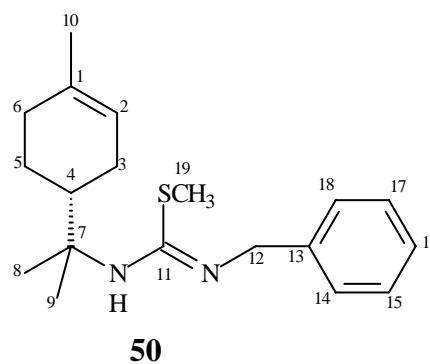
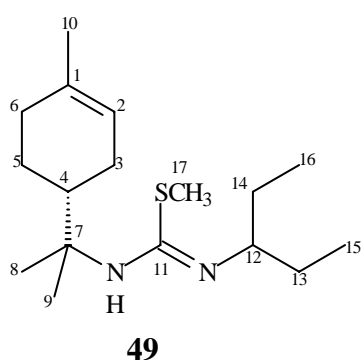


Tabela 13: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, CDCl_3) para os produtos **(49)** e **(50)**.

C/H	Composto 49		Composto 50	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,4 (C_0)	-	134,2 (C_0)
2	5,35 (<i>sl</i>)	119,4 (CH)	5,19 (<i>sl</i>)	119,4 (CH)
3	1,94 (<i>m</i>)	26,7 (CH_2)	1,60 (<i>m</i>)	26,2 (CH_2)
4	2,26 (<i>m</i>)	42,8 (CH)	1,85 (<i>m</i>)	42,2 (CH)
5	1,33; 1,77 (<i>m</i>)	24,4 (CH_2)	0,98 (<i>m</i>)	23,8 (CH_2)
6	2,01 (<i>m</i>)	30,8 (CH_2)	1,85 (<i>m</i>)	30,7 (CH_2)
7	-	61,5 (C_0)	-	62,7 (C_0)
8	1,55 (<i>s</i>)	25,1 (CH_3)	1,26 (<i>s</i>)	24,5 (CH_3)
9	1,58 (<i>s</i>)	25,6 (CH_3)	1,29 (<i>s</i>)	25,0 (CH_3)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,60 (<i>s</i>)	23,2 (CH_3)
11	-	169,2 (C_0)	-	167,9 (C_0)
12	3,78 (<i>m</i>)	63,4 (CH)	5,03 (<i>s</i>)	47,4 (CH_2)
13	1,79 (<i>m</i>)	27,5 (CH_2)	-	134,2 (CH)
14	1,79 (<i>s</i>)	27,5 (CH_2)	7,53 (<i>d</i> ; 6,0)	128,1 (CH)
15	0,99 (<i>t</i> ; 7,3)	10,9 (CH_3)	7,38 (<i>d</i> ; 7,5)	129,6 (CH)
16	0,99 (<i>t</i> ; 7,3)	10,9 (CH_3)	7,38 (<i>d</i> ; 7,5)	129,0 (CH)
17	2,78 (<i>s</i>)	18,4 (CH_3)	7,38 (<i>d</i> ; 7,5)	129,6 (CH)
18	-	134,4 (C_0)	7,53 (<i>d</i> ; 6,0)	128,1 (CH)
19	-	-	3,06 (<i>s</i>)	18,0 (CH_3)

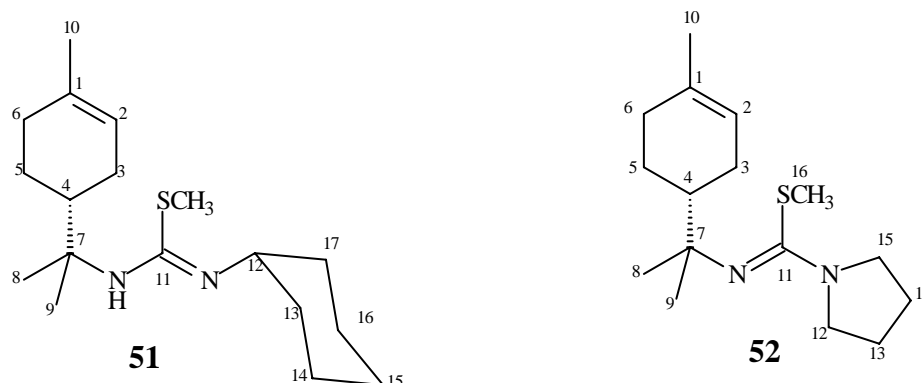


Tabela 14: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, CDCl_3) para os produtos (51) e (52).

C/H	Composto 51		Composto 52	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,3 (C_0)	-	134,4 (C_0)
2	5,35 (<i>sl</i>)	119,4 (CH)	5,37 (<i>sl</i>)	119,9 (CH)
3	1,93 (<i>m</i>)	26,7 (CH_2)	1,96 (<i>m</i>)	27,1 (CH_2)
4	2,25 (<i>m</i>)	42,7 (CH)	2,35 (<i>m</i>)	43,3 (CH)
5	1,81 (<i>m</i>)	24,6 (CH_2)	1,36; 1,82 (<i>m</i>)	24,6 (CH_2)
6	1,34 (<i>dd</i> ; 4,8; 1,2); 1,81 (<i>m</i>)	30,7 (CH_2)	2,01 (<i>m</i>)	31,1 (CH_2)
7	-	63,4 (C_0)	-	64,1 (C_0)
8	1,55 (<i>s</i>)	25,6 (CH_3)	1,62 (<i>s</i>)	26,2 (CH_3)
9	1,57 (<i>s</i>)	25,6 (CH_3)	1,60 (<i>s</i>)	26,6 (CH_3)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,65 (<i>s</i>)	23,5 (CH_3)
11	-	168,1 (C_0)	-	164,2 (C_0)
12	3,88 (<i>m</i>)	56,8 (CH)	4,04 (<i>m</i>)	53,5 (CH_2)
13	1,81 ; 1,93 (<i>m</i>)	32,6 (CH_2)	2,18 (<i>m</i>)	25,4 (CH_2)
14	1,81 (<i>m</i>)	24,8 (CH_2)	2,18 (<i>m</i>)	25,4 (CH_2)
15	1,62 (<i>m</i>)	24,4 (CH_2)	4,04 (<i>sl</i>)	53,5 (CH_2)
16	1,81 (<i>m</i>)	24,8 (CH_2)	2,70 (<i>s</i>)	17,6 (CH_3)
17	1,81; 1,93 (<i>m</i>)	32,6 (CH_2)	-	-
18	2,83 (<i>s</i>)	18,5 (CH_3)	-	-

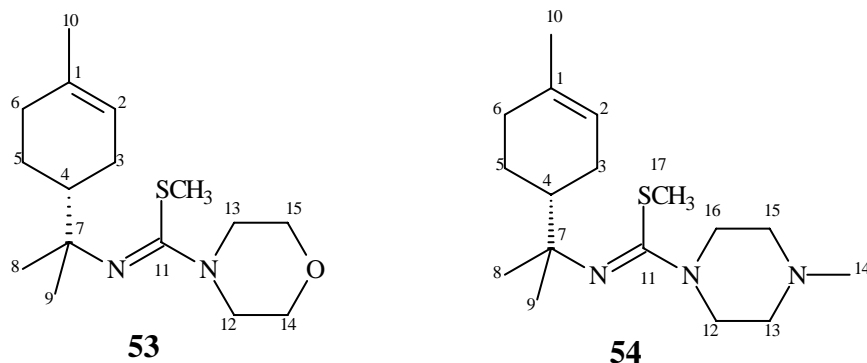


Tabela 15: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3 / CD_3OD) para os produtos (**53**) e (**54**).

Composto 53			Composto 54	
C/H	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,4 (C_0)	-	133,9 (C_0)
2	5,36 (<i>sl</i>)	119,7 (CH)	5,37 (<i>sl</i>)	121,1 (CH)
3	1,93 (<i>dd</i> ; 4,8;2,1)	27,2 (CH_2)	1,80; 1,97 (<i>m</i>)	26,9 (CH_2)
4	2,43 (<i>m</i>)	43,1 (CH)	1,97 (<i>m</i>)	46,2 (CH)
5	1,33; 1,77 (<i>m</i>)	24,7 (CH_2)	1,76 (<i>m</i>)	24,3 (CH_2)
6	2,02 (<i>m</i>)	31,0 (CH_2)	1,97 (<i>m</i>)	31,3 (CH_2)
7	-	65,0 (C_0)	-	58,8 (C_0)
8	1,61 (<i>s</i>)	26,3 (CH_3)	1,27 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)
9	1,64 (<i>s</i>)	25,9 (CH_3)	1,28 (<i>s</i>)	24,8 (CH_3)
10	1,64 (<i>s</i>)	23,4 (CH_3)	1,65 (<i>s</i>)	23,4 (CH_3)
11	-	171,0 (C_0)	-	151,1 (C_0)
12	3,95 (<i>d</i> ; 4,5)	52,8 (CH_2)	3,59 (<i>m</i>)	42,9 (CH_2)
13	4,02 (<i>dd</i> ; 4,5; 2,4)	66,5 (CH_2)	3,70 (<i>m</i>)	61,5 (CH_2)
14	4,02 (<i>dd</i> ; 4,5; 2,4)	66,5 (CH_2)	2,34 (<i>s</i>)	52,2 (CH_3)
15	3,95 (<i>d</i> ; 4,5)	52,8 (CH_2)	3,70 (<i>m</i>)	61,5 (CH_2)
16	2,63 (<i>s</i>)	18,7 (CH_3)	3,59 (<i>m</i>)	42,9 (CH_2)
17	-	-	2,73 (<i>s</i>)	16,9 (CH_3)

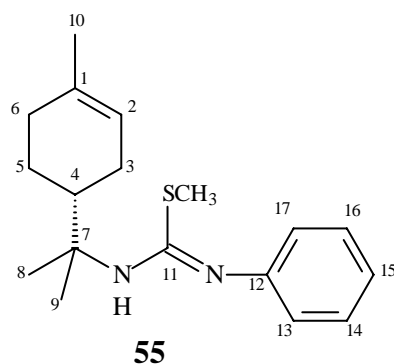


Tabela 16: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$) para o produto (**55**).

Composto 55		
C/H	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,7 (C_0)
2	5,36 (<i>s</i>)	119,6 (CH)
3	1,97 (<i>m</i>)	26,8 (CH_2)
4	2,24 (<i>m</i>)	42,9 (CH)
5	1,78; 1,25 (<i>m</i>)	24,5 (CH_2)
6	2,03 (<i>m</i>)	30,9 (CH_2)
7	-	63,5 (C_0)
8	1,52 (<i>s</i>)	25,3 (CH_3)
9	1,54 (<i>s</i>)	24,8 (CH_3)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,4 (CH_3)
11	-	169,6 (C_0)
12	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	134,7 (C_0)
13	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	124,9 (CH)
14	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	130,5 (CH)
15	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	128,4 (CH)
16	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	130,5 (CH)
17	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	124,9 (CH)
18	2,44 (<i>s</i>)	17,3 (CH_3)

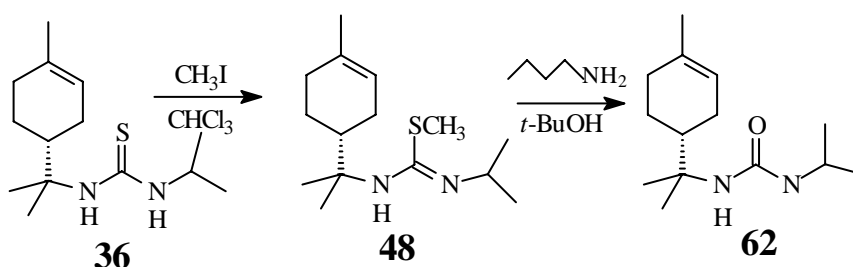
Na etapa de preparação dos derivados guanidínicos a partir das tiouréias S-metiladas, foram testadas diversas condições reacionais.

Inicialmente submeteu-se a S-metiltiouréia (**47**) na forma livre (obtida pelo tratamento com KHCO_3 5%) à reação com isopropilamina, utilizando-se THF como solvente. A reação não forneceu o produto desejado, mas sim uma mistura de produtos, provavelmente devido à decomposição dos compostos presentes na mistura reacional.

Repetiu-se a reação utilizando a isopropilamina como reagente e solvente. O resultado não foi o esperado, novamente fornecendo uma mistura de diversos produtos.

Outra tentativa realizada, sem sucesso, foi utilizou utilizou a enzima lipase²⁹ imobilizada para catalisar a reação com a amina. Testou-se clorofórmio e 1,4 dioxano como solventes, variando-se também a temperatura (t_{ambiente} , 40°C e 60°C). O produto não foi obtido em nenhuma das condições testadas.

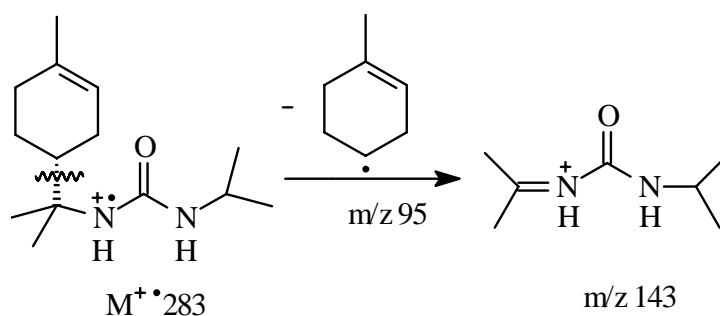
Alternativamente, a tiouréia S-metilada (**48**) na sua forma livre, foi submetida à reação com n-butilamina na presença de $t\text{-BuOH}$ ¹⁰. A reação foi realizada sob atmosfera inerte (N_2) e aquecimento, fornecendo o produto (**62**) (**Esquema 18**). Dados espectroscópicos de RMN ^1H , ^{13}C e espectrometria de massas de baixa resolução, não se mostraram concordantes para o derivado guanidínico esperado.



Esquema 18: Obtenção do composto **62**.

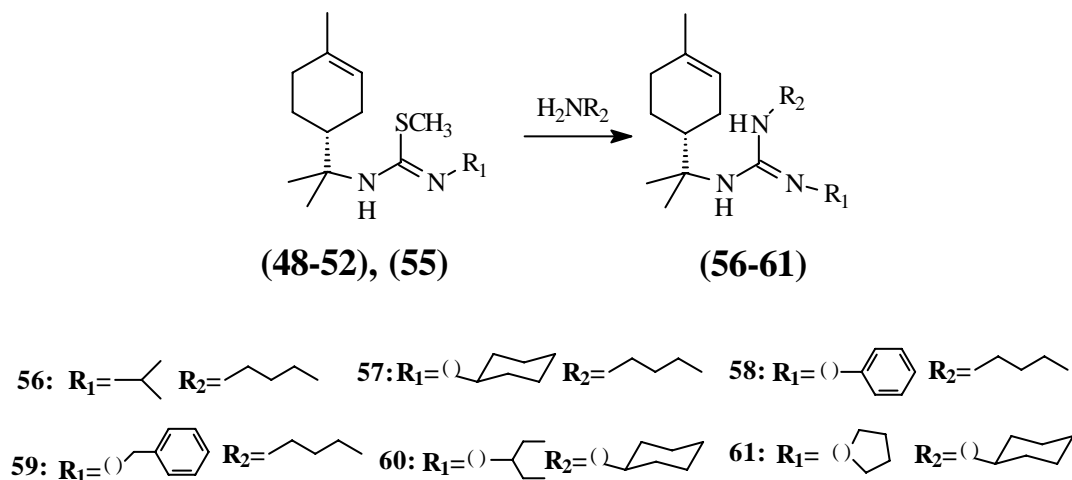
Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C (**ER ^1H -29**; **ER ^{13}C -29** – Anexo) não apresentaram os sinais característicos da substituição nucleofílica da n-butilamina na tiouréia S-metilada (**48**). No espectro de RMN ^{13}C observou-se um deslocamento no sinal atribuído ao C-11 da tiouréia S-metilada (**48**), de δ_{C} 168,5 para 156,9 e ausência do sinal em δ_{C} 18,4 correspondente ao grupo $-\text{SCH}_3$, demonstrando que houve a eliminação de CH_3SH .

No espectro de massas (**EM-26** – Anexo) foi observado o pico do íon molecular em m/z 238, o que está de acordo com a estrutura do produto formado (**Esquema 19**). O pico em m/z 143 corresponde ao fragmento formado pela clivagem homolítica da ligação $\text{C}_4\text{-C}_7$.



Esquema 19: mecanismo para a fragmentação de (**62**).

Após várias tentativas de síntese dos derivados guanidínicos, sem sucesso, resolveu-se optar pela utilização da S-metiltiouréia (**48-52**) e (**55**) na forma de sal, seguindo metodologia proposta por Rasmussen²². Submeteu-se os sais das S-metiltiouréias (**48-52**) e (**55**) à reação com n-butilamina, gerando as guanidinas (**56-59**), ou cicloexilamina que forneceu as guanidinas (**60, 61**), em atmosfera inerte e aquecimento. O tempo reacional foi de 16 horas. A reação forneceu as guanidinas **56-61** (**Esquema 20**).



Esquema 20: Obtenção das guanidinas **56-61**.

Segundo dados da metodologia utilizada os derivados guanidínicos seriam obtidos na forma de sal, devido ao substrato S-metilado encontrar-se na mesma forma. Diferente do que se esperava, os derivados guanidínicos foram obtidos na forma livre, pois se utilizou um excesso de amina como solvente e reagente, ao contrário do que foi feito na literatura, onde o solvente utilizado foi *t*-BuOH e a amina, o nucleófilo.

A confirmação da obtenção das guanidinas (**56-61**) foi feita com base na análise de seus dados espectroscópicos de IV, EM e RMN ^1H e RMN ^{13}C (uni e bidimensional).

Os espectros no IV das guanidinas sintetizadas (**Espectros EIV 22-26 – Anexo**) apresentaram uma absorção intensa na região de 3245-3428 cm^{-1} , características de estiramento de N-H de aminas secundárias. Pode-se observar, também, um sinal na região de 1611-1626 cm^{-1} atribuído à ligação C=N das guanidinas e a ausência da banda na região de 660,4-700,1 cm^{-1} , característica de ligação C-S de S-metiltiouréias.

Os espectros de massas (**Espectros EM 20-25 – Anexo**) de baixa resolução das guanidinas (**56-61**) mostraram íons moleculares compatíveis com os produtos

esperados e a presença do fragmento comum em m/z 58, para a maioria dos compostos preparados (Ver Parte Experimental).

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C (**espectros ER ^1H 22-27; ER COSY 18-22; ER ^{13}C 22-27; ER HMQC 20-24 – Anexo**) apresentaram sinais característicos dos derivados guanidínicos e os valores de deslocamentos químicos estão apresentados na **Tabelas 17-19**.

A formação das guanidinas foi evidenciada por sinais atribuídos ao grupo amina (n-butilamina e cicloexilamina) adicionado na estrutura da S-metiltiouréia. A confirmação da obtenção das guanidinas (**56-61**) foi verificada, principalmente, pelo efeito de proteção de aproximadamente 25 ppm no C-11 das guanidinas, em relação ao C-11 das tiouréias de partida. O sinal na região δ_{C} 154,2 a 156,2 é característico do carbono imínico do grupo C=N de núcleos guanidínicos²¹.

As atribuições dos sinais de carbono e hidrogênio para a guanidina (**23**) foram confirmadas com base nos dados de experimento de HMQC.

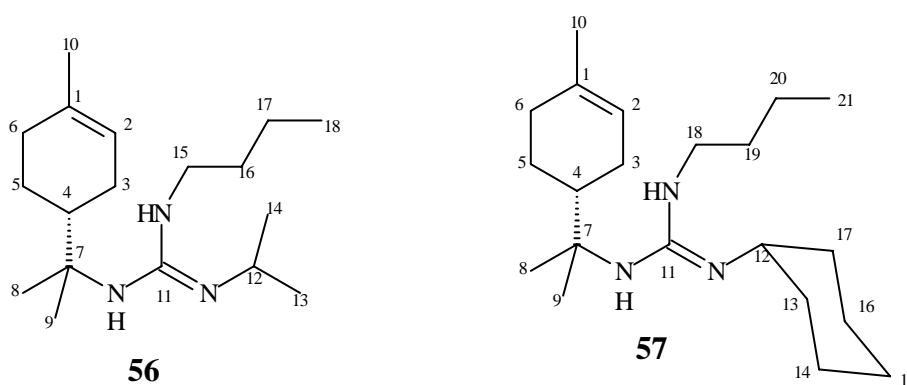


Tabela 17: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, CDCl_3) para os produtos (56) e (57).

C/H	Composto 56		Composto 57	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,4 (C_0)	-	134,6 (C_0)
2	5,36 (<i>s</i>)	119,5 (CH)	5,36 (<i>s</i>)	119,5 (CH)
3	1,84; 2,03 (<i>m</i>)	26,7 (CH_2)	1,84 (<i>m</i>)	26,8 (CH_2)
4	1,79 (<i>m</i>)	43,7 (CH)	2,03 (<i>m</i>)	44,0 (CH)
5	1,35; 1,79 (<i>m</i>)	24,4 (CH_2)	1,84 (<i>m</i>)	24,5 (CH_2)
6	2,03 (<i>m</i>)	30,8 (CH_2)	1,75 (<i>m</i>)	30,9 (CH_2)
7	-	58,9 (C_0)	-	59,1 (C_0)
8	1,42 (<i>s</i>)	25,7 (CH_3)	1,43 (<i>s</i>)	25,8 (CH_3)
9	1,46 (<i>s</i>)	25,9 (CH_3)	1,46 (<i>s</i>)	26,2 (CH_3)
10	1,66 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,66 (<i>s</i>)	23,4 (CH_3)
11	-	154,7 (C_0)	-	154,6 (C_0)
12	4,13 (<i>m</i>)	46,4 (CH)	3,79 (<i>m</i>)	53,1 (CH)
13	1,34 (<i>d</i> ; 6,3)	23,0 (CH_3)	2,03 (<i>m</i>)	33,4 (CH_2)
14	1,35 (<i>d</i> ; 6,6)	23,0 (CH_3)	1,68 (<i>m</i>)	24,8 (CH_2)
15	3,42 (<i>pq</i> ; 6,6)	43,6 (CH_2)	1,68 (<i>m</i>)	25,1 (CH_2)
16	1,69 (<i>m</i>)	31,3 (CH_2)	1,68 (<i>m</i>)	24,8 (CH_2)
17	1,40 (<i>m</i>)	20,0 (CH_2)	2,03 (<i>m</i>)	33,3 (CH_2)
18	0,96 (<i>t</i> ; 7,2)	13,8 (CH_3)	3,43 (<i>dd</i> ; 6,7)	43,7 (CH_2)
19	-	-	2,03 (<i>m</i>)	31,4 (CH_2)
20	-	-	1,40 (<i>m</i>)	20,2 (CH_2)
21	-	-	0,96 (<i>t</i> ; 7,2)	13,9 (CH_3)

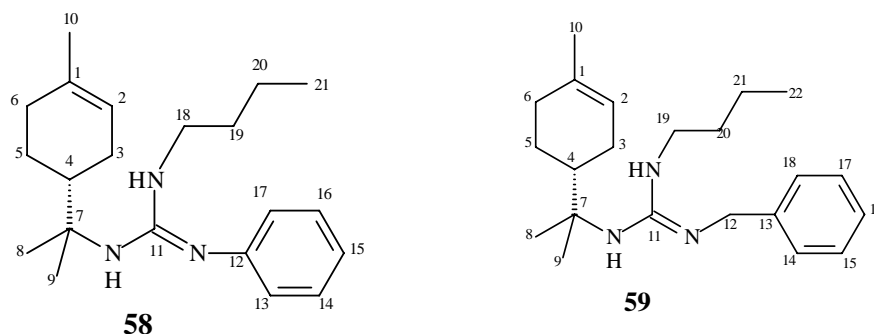


Tabela 18: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos (**58**) e (**59**).

C/H	Composto 58		Composto 59	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,5 (C ₀)	-	134,4 (C ₀)
2	5,34 (<i>s</i>)	119,4 (CH)	5,24 (<i>s</i>)	119,4 (CH)
3	1,83; 2,05 (<i>m</i>)	26,7 (CH ₂)	1,55 (<i>m</i>)	26,3 (CH ₂)
4	1,88; 1,99 (<i>m</i>)	43,7 (CH)	1,64 (<i>m</i>)	43,4 (CH)
5	1,27; 1,83 (<i>m</i>)	24,4 (CH ₂)	1,40 (<i>m</i>)	23,9 (CH ₂)
6	1,56 (<i>t</i> ; 7,3)	30,8 (CH ₂)	1,89 (<i>m</i>)	30,8 (CH ₂)
7	-	60,0 (C ₀)	-	58,7 (C ₀)
8	1,45 (<i>s</i>)	25,2 (CH ₃)	1,27 (<i>s</i>)	25,4 (CH ₃)
9	1,49 (<i>s</i>)	26,0 (CH ₃)	1,32 (<i>s</i>)	25,7 (CH ₃)
10	1,64 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)	1,62 (<i>s</i>)	23,3 (CH ₃)
11	-	154,8 (C ₀)	-	154,2 (C ₀)
12	-	135,8 (C ₀)	4,69 (<i>s</i>)	45,9 (CH ₂)
13	7,25 (<i>dd</i> ; 7,3; 4,2)	123,5 (CH)	-	135,9 (C ₀)
14	7,40 (<i>t</i> ; 7,8)	130,1 (CH)	7,45 (<i>dd</i> ; 7,8; 1,5)	127,9 (CH)
15	7,26 (<i>m</i>)	126,9 (CH)	7,34 (<i>t</i> ; 7,5)	129,4 (CH)
16	7,40 (<i>t</i> ; 7,8)	130,1 (CH)	7,35 (<i>q</i> ; 8,1)	128,7 (CH)
17	7,25 (<i>dd</i> ; 7,3; 4,2)	123,5 (CH)	7,34 (<i>t</i> ; 7,5)	129,4 (CH)
18	3,12 (<i>m</i>)	44,6 (CH ₂)	7,45 (<i>dd</i> ; 7,8; 1,5)	127,9 (CH)
19	1,56 (<i>t</i> ; 7,3)	31,2 (CH ₂)	3,61 (<i>q</i> ; 6,3)	43,7 (CH ₂)
20	1,24 (<i>m</i>)	20,0 (CH ₂)	1,59 (<i>m</i>)	31,3 (CH ₂)
21	0,83 (<i>t</i> ; 7,3)	13,8 (CH ₃)	1,64 (<i>m</i>)	20,1 (CH ₂)
22	-	-	0,93 (<i>t</i> ; 7,3)	13,9 (CH ₃)

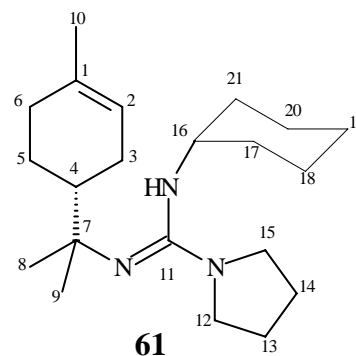
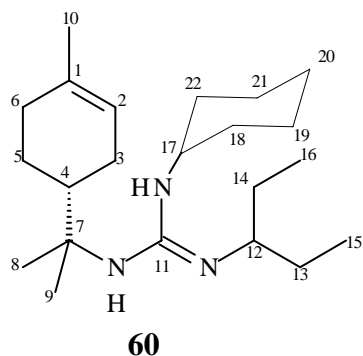


Tabela 19: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade, J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(60)** e **(61)**.

C/H	Composto 60		Composto 61	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,6 (C ₀)	-	134,4 (C ₀)
2	5,37 (<i>sl</i>)	119,5 (CH)	5,37 (<i>sl</i>)	119,8 (CH)
3	1,90 (<i>m</i>)	26,3 (CH ₂)	2,00 (<i>m</i>)	27,1 (CH ₂)
4	1,78 (<i>m</i>)	44,3 (CH)	2,05 (<i>m</i>)	44,1 (CH)
5	1,80 (<i>m</i>)	24,6 (CH ₂)	2,05 (<i>m</i>)	25,5 (CH ₂)
6	2,03 (<i>m</i>)	30,9 (CH ₂)	2,02 (<i>m</i>)	31,1 (CH ₂)
7	-	59,0 (C ₀)	-	59,9 (C ₀)
8	1,42 (<i>s</i>)	25,7 (CH ₃)	1,45 (<i>s</i>)	26,0 (CH ₃)
9	1,43 (<i>s</i>)	26,2 (CH ₃)	1,47 (<i>s</i>)	26,5 (CH ₃)
10	1,66 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)	1,65 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)
11	-	156,2 (C ₀)	-	154,4 (C ₀)
12	3,48 (<i>m</i>)	59,1 (CH)	3,71 (<i>m</i>)	50,9 (CH ₂)
13	1,74 (<i>m</i>)	27,7 (CH ₂)	1,34; 1,74 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)
14	1,74 (<i>m</i>)	27,7 (CH ₂)	1,34; 1,74 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)
15	0,99 (<i>t</i> ; 7,2)	10,9(CH ₃)	3,71 (<i>m</i>)	50,9 (CH ₂)
16	0,99 (<i>t</i> ; 7,2)	10,9(CH ₃)	3,42 (<i>m</i>)	53,8 (CH)
17	3,18 (<i>m</i>)	54,2 (C ₀)	1,55; 1,92 (<i>m</i>)	33,3 (CH ₂)
18	1,46; 2,00 (<i>m</i>)	33,6 (CH ₂)	1,34; 1,74 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)
19	1,34; 1,72 (<i>m</i>)	25,0 (CH ₂)	1,82 (<i>m</i>)	24,6 (CH ₃)
20	1,34; 1,72 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)	1,34; 1,74 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)
21	1,34; 1,72 (<i>m</i>)	25,0 (CH ₂)	1,55; 1,92 (<i>m</i>)	33,3 (CH ₂)
22	1,46; 2,00 (<i>m</i>)	33,6 (CH ₂)	-	-

4.3 Ensaio Farmacológicos

4.3.1 Avaliação da toxicidade dos compostos sintetizados frente a *Artemia salina*

A realização dos bioensaios frente às larvas de *Artemia salina* deve-se ao fato de que trabalhos encontrados na literatura relacionam a toxicidade frente esta espécie de crustáceo com atividades antifúngica, antiviral, antimicrobiana, parasiticida, antitumoral e tripanossomicida^{30,31}, sendo que muitas destas atividades são observadas em tiouréias e compostos guanidínicos.

Realizou-se o bioensaio de letalidade da *Artemia salina* conforme procedimento descrito na literatura³². A avaliação da toxicidade de alguns compostos sintetizados foi realizado em triplicata para nove concentrações diferentes, 100; 20; 15; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,63 e 0,31 µg/mL.

Todos os compostos foram testados nas concentrações de 100, 20, 15 e 10 µg/mL, sendo que para os que mostraram 100% ativos em 10 µg/mL os testes foram repetidos em concentrações menores.

Para a concentração 100 µg/mL observou-se 100% de mortalidade dos naúplios de *Artemia salina* para todos os compostos preparados, demonstrando a alta atividade destes nesta concentração.

Em relação ao teste efetuado na concentração de 10 µg/mL, os resultados preliminares da porcentagem de animais vivos encontram-se na **Tabela 20**.

Tabela 20: Porcentagem de animais vivos no ensaio de toxicidade dos compostos sintetizados frente a *Artemia salina*, na concentração de 10µg/mL.

Composto	R ₁	R ₂	%	Composto	R ₁	R ₂	%
35	n-butil	-	0	57	cicloexil	n-butil	52,2
36	isopropil	-	0	40	pirrolidil	-	61,3
37	3-pentil	-	0	52	pirrolidil	-	78,3
38	benzil	-	0	41	morfolil	-	41,9
48	isopropil	-	0	43	1-metoxifenil	-	0
56	isopropil	n-butil	59,4	50	benzil	-	0
39	cicloexil	-	0	59	benzil	n-butil	51,0
51	cicloexil	-	0	controle	-	-	100

Comparando-se a atividade das tiouréias testadas observa-se que os compostos contendo os substituintes pirrolidil (**40**) e morfolil (**41**) apresentam uma menor atividade.

Observou-se que a formação das guanidinas, derivadas das tiouréias testadas, não favoreceu um aumento na atividade destes compostos frente a *Artemia salina*. As tiouréias e S-metiltiouréias se mostraram mais ativas do que as guanidinas derivadas destas.

Devido aos bons resultados obtidos em relação ao teste frente à *Artemia salina*, na concentração de 10µg/mL, foram determinados os valores da dose letal de 50% (DL₅₀) para os compostos que se mostraram mais ativos no teste efetuado (**Tabela 21**).

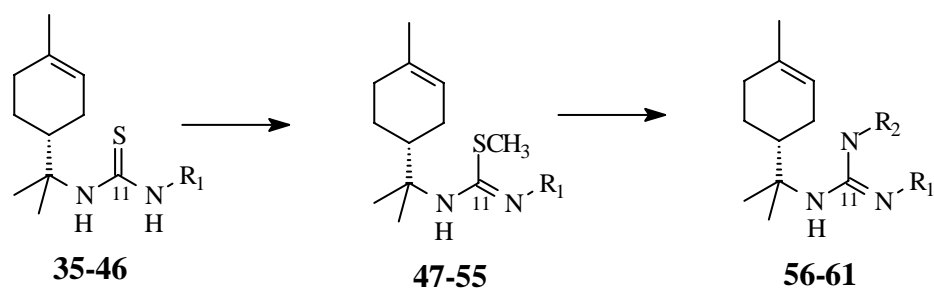


Tabela 21: Dados da dose letal de 50% (DL₅₀) para alguns compostos sintetizados.

Composto	R ₁	R ₂	DL ₅₀ (µg/mL),
35	n-butil	-	0,23
47	n-butil	-	1,61
36	isopropil	-	3,40
48	isopropil	-	3,54
37	3-pentil	-	1,52
49	3-pentil	-	1,84
38	benzil	-	0,31
50	benzil	-	0,65
39	cicloexil	-	1,40
51	cicloexil	-	0,61
43	2-metoxifenil	-	0,25
44	4-bromofenil	-	0,97
46	2-metilfenil	-	5,40

Para o cálculo da DL₅₀ dos compostos testados construiu-se o gráfico do logaritmo da concentração pela porcentagem de letalidade. Os compostos **(35)**, **(38)** e **(43)** apresentaram melhor atividade frente ao microcrustáceo com uma DL₅₀ < 0,31µg/mL.

Na comparação entre as tiouréias testadas e seus derivados S-metilados observou-se que, com exceção do **(51)**, com a formação das S-metiltiouréias correspondentes, houve um decréscimo da atividade.

4.3.2 Avaliação da atividade antiproliferativa

A avaliação da atividade antiproliferativa, realizada no CPQBA (UNICAMP) sob a responsabilidade do professor Dr. João Ernesto de Carvalho, foi feita para os derivados do limoneno contendo unidades tiouréia **(35-46)** e para as S-metiltiouréias **(48-49)**, **(51)**, **(52)** e **(54)** (Tabela 22).

Os compostos foram avaliados em culturas de células tumorais humanas de melanoma-UACC62, mama-MCF7, pulmão tipo não pequena células-NCI460, leucemia-K562, ovário-OVCAR, próstata-PC0.3, cólon-HT.29, rim-786.0 e mama resistente-NCIADR, que expressa o fenótipo de resistência a múltiplas drogas, segundo metodologia descrita por Monks³³.

A atividade antiproliferativa foi determinada através da curva de inibição do crescimento das culturas de células versus a concentração do composto testado.

Nas **Figuras 01** e **02** estão mostrados, a título de ilustração, os gráficos das curvas de inibição obtidas para os compostos **(43)** e **(51)**.

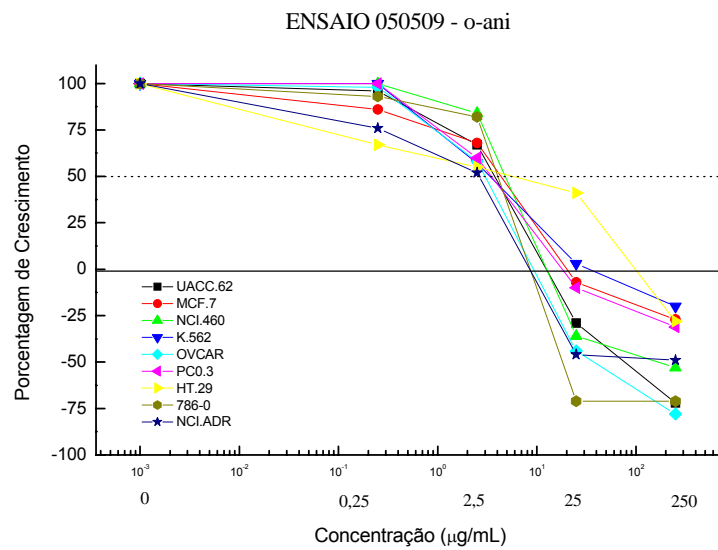


Figura 01: Gráfico das curvas de inibição obtidas para o composto (43).

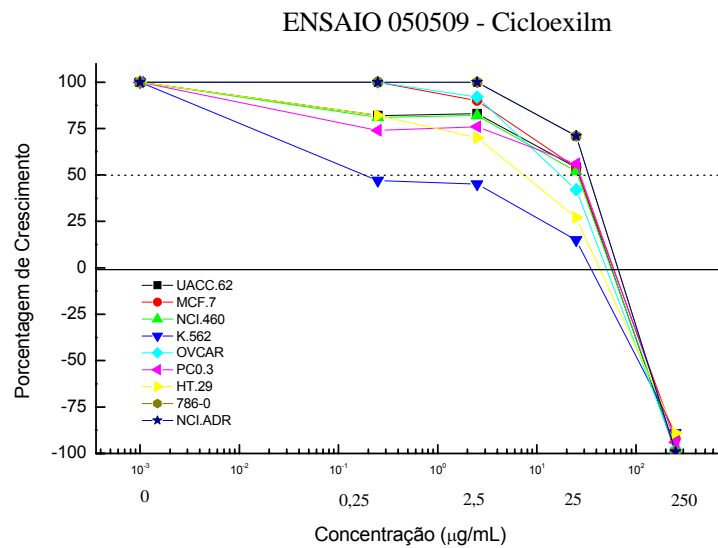


Figura 02: Gráfico das curvas de inibição obtidas para o composto (51).

Através dos resultados obtidos foi possível o cálculo de três parâmetros: GI_{50} , TGI e LC_{50} . O valor de GI_{50} se refere à concentração, de droga, necessária para que haja uma inibição de 50% do crescimento celular (Growth Inhibition), quando comparado à célula de controle. Os parâmetros ITC (Total Growth Inhibition) e LC_{50} (Letal Concentration) referem-se, respectivamente, a concentração de droga necessária para a inibição total do crescimento e para a morte de 50% das células. Na **Tabela 22** estão apresentados os dados de GI_{50} (μM) obtidos para as tiouréias **(35-46)** e S-metiltiouréias **(48-49), (51), (52) e (54)**.

Tabela 22: Dados de GI₅₀ (μM) obtidos para as tiouréias (35-46) e S-metiltiouréias (48-49), 51, 52 e 54.

Compostos	R	Culturas de células								Mama resistente
		Melanoma	Mama	Pulmão	Leucemia	Ovário	próstata	Cólon	Rim	
Tiouréias										
35	n-butil	> 100	> 100	> 100	39,5	98,1	> 100	60,6	92,4	54,1
36	Isopropil	31,8	> 100	> 100	25,4	> 100	> 100	81,8	> 100	85,3
37	3-Pentil	97,7	46,5	54,3	6,6	56,2	62,6	17,5	92,1	32,7
38	Benzil	na	55,2	41,4	na	43,6	> 100	43,6	na	na
39	Cicloexil	na	37,3	33,9	16,3	3,0	12,5	nt	26,5	6,1
40	pirrolidil	53,3	26,1	34,5	23,6	44,3	43,0	36,8	59,6	28,5
41	Morfolil	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
42	1-metil-piperazil	> 100	> 100	> 100	3,0	> 100	> 100	> 100	> 100	88,0
43	2-metóxi-fenil	11,8	13,6	15,0	10,5	9,5	11,0	18,2	12,7	8,0
44	4-bromo-fenil	na	21,5	19,9	20,1	16,7	16,5	14,6	20,9	19,0
45	Fenil	13,9	18,4	17,3	nt	16,6	15,6	24,0	23,2	2,5
46	2-metil-fenil	12,0	21,0	18,3	18,7	17,2	19,8	9,3	16,1	12,4
S-										
metiltiouréias										
48	Isopropil	83,8	> 100	> 100	25,4	> 100	> 100	81,8	> 100	85,3
49	3-Pentil	28,9	16,0	17,6	88,7	91,3	16,2	16,7	14,8	10,3
51	Cicloexil	60,7	60,7	58,9	0,41	39,1	62,5	16,7	75,6	75,6
52	pirrolidil	90,0	> 100	> 100	> 100	60,9	> 100	> 100	> 100	91,3
54	1-metil-piperazil	>100	>100	>100	76,7	>100	>100	>100	>100	>100

na: não apresentou atividade; nt: não testado

Através dos testes efetuados pôde-se observar que os compostos que possuíam substituinte aromático (**43-46**) apresentaram atividade antiproliferativa, com valores de GI_{50} que variam de 2,5-24 μM frente a todas as culturas de células testadas. O composto (**45**), que contém um grupo fenil como substituinte, foi o mais ativo contra a cultura de célula mama resistente-NCIADR, com GI_{50} de 2,5 μM .

Em relação aos compostos que possuíam um substituinte alifático ou cíclico (**35-42**) pôde-se observar que a atividade inibitória, frente às culturas de células, está relacionada com a natureza do grupo substituinte no átomo de nitrogênio.

Comparando os compostos da série alifática com a série aromática verificou-se um aumento na especificidade, dos compostos da série alifática, frente às linhagens de células, onde a maioria dos compostos exibiu um menor valor de GI_{50} , para a cultura de célula leucemia-K562.

Dentre as tiouréias, com substituinte alifático ou cíclico, os compostos (**37**) e (**42**) mostraram potente atividade e particular seletividade frente a linhagem de célula leucemia-K562, com valores de GI_{50} de 6,6 e 3,0 μM respectivamente. A troca do grupo 1-N-metil do composto (**42**) por um oxigênio resultou em um composto inativo (**41**), frente a todas as linhagens de células.

A tiouréia (**39**) exibiu potente atividade antiproliferativa frente às culturas de células ovário-OVCAR e mama resistente-NCIADR, com valores de GI_{50} de 3,0 e 6,1 μM , respectivamente.

A S-metilação das tiouréias contendo substituintes alifáticos, resultou numa mudança no perfil da atividade antiproliferativa destes compostos. A conversão da tiouréia (**39**) na S-metiltiouréia (**51**) resultou no composto mais potente de todas as séries, com GI_{50} de 0,41 μM e alta seletividade frente à linhagem de célula leucemia-K562. Em relação à S-metilação do composto (**37**) ao composto (**49**) observou-se um aumento da atividade antiproliferativa frente à maioria das culturas de células, mas uma diminuição significativa da seletividade deste composto. Os demais compostos S-metilados se mostraram menos ativos e seletivos se comparados com as tiouréias de partida.

Na **Tabela 23** estão apresentados os dados de TGI (inibição total do crescimento) e LC_{50} concentração necessária para matar 50% das células).

Tabela 23: Valores de TGI e LC₅₀ (valores em parênteses), com concentrações em μM , para os compostos (**37**; **43-46**; **49** e **51**).

Compostos	R ₁	R ₂	Culturas de células								
			Melanoma UACC-62	Mama MCF7	Pulmão NCI-460	Leucemia K-562	Ovário OVCAR	Próstata PCO-3	Cólon HT29	Rim 786-0	Mama resistente NCI/ADR
37	3-pentil	H	>100	>100	>100	95.0	>100	>100	>100	>100	>100
43	2-metoxifenil	H	39.2	64.6	39.5	>100	32.0	58.0	>100	26.8 (57.7)	26.9
44	4-Br-fenil	H	>100	>100	71.0	>100	72.0	>100	95.0	71.0	71.0
45	Fenil	H	34.6	55.5	86.6	>100	>100	58.9	>100	86.6	22.5 (76.6)
46	2-Metilfenil	H	29.7 (80.9)	86.9	47.2	>100	49.5	>100	>100	29.8 (65.0)	30.0 (65.0)
49	3-pentil	H	>100	68.3	87.8	>100	>100	>100	87.8	58.0	70.6
51	Cicloexil	H	>100	>100	>100	82.5	>100	>100	93.0	>100	>100

Análises dos dados de TGI e LC₅₀, presentes na **Tabela 24**, mostram que os compostos **(43-46)** possuem alta atividade para a inibição total do crescimento e morte de 50% das células. Para esta série o composto **(45)** se mostrou o mais ativo, com valores de TGI e LC₅₀ de 2,5 e 22,5 μM , respectivamente, contra a linhagem de célula mama resistente.

Com relação à atividade antiproliferativa para os derivados contendo a unidade guanidínica substituída, foram realizados apenas ensaios para dois dos compostos sintetizados: compostos **(56)** e **(57)**. Os gráficos obtidos estão apresentados nas **Figuras 03** e **04**. Devido ao pequeno número de compostos ensaiados não foi possível uma análise para correlação dos efeitos dos substituintes sobre a atividade.

A continuidade deste estudo, visando a síntese de novos derivados e dos já obtidos para a realização dos ensaios de atividade antiproliferativa, encontra-se em andamento por membros de nosso grupo de pesquisa.

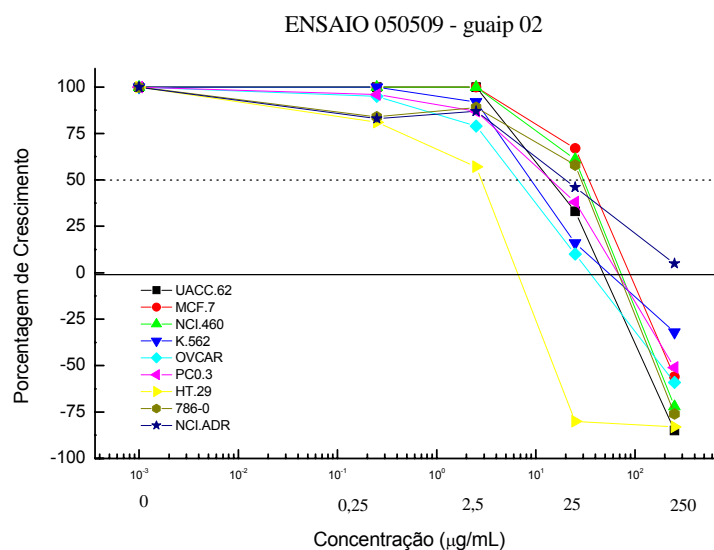


Figura 03: Gráfico das curvas de inibição obtidas para o composto **(56)**.

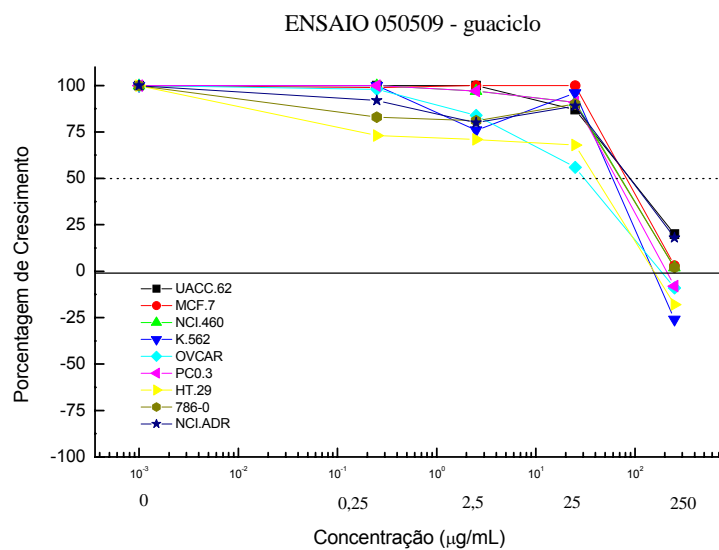


Figura 04: Gráfico das curvas de inibição obtidas para o composto (57).

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Instrumentação e material cromatográfico

Os espectros de absorção na região do IV foram registrados em um espectrofotômetro BOMEM, modelo MB-100, em pastilha de KBr, na região de 400 a 4000 cm^{-1} . Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em espectrômetro SHIMADZU-CG/MS modelo QP 2000A, a 70 eV, equipado com probe para sólidos. Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetro VARIAN modelo Mercury Plus, operando a 300 MHz para ^1H e 75,5 MHz para ^{13}C tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos foram dados em ppm e o solvente utilizado foi o CDCl_3 e mistura de $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$. A interpretação dos dados foi realizada com ajuda da técnica DEPT, em que CH_3/CH = sinal positivo (+), CH_2 = sinal negativo (-), C_0 (não ligado a hidrogênio) = sinal de intensidade zero, e confirmada por HMQC e COSY.

Nas cromatografias em placa preparativa (CCDP) foram utilizadas placas de vidro 20x20 cm, com uma camada de sílica gel 60 GF₂₅₄ e sílica gel 60G da Merck, na proporção de 1:1 e com espessura de 1,0 mm. As eluições foram feitas em solventes orgânicos destilados. As revelações das placas foram obtidas por irradiação com lâmpada ultravioleta em 254/366 nm. Também foram utilizados como reveladores iodo ressublimado e reagente de Dragendorff.

5.2. Solventes e Reagentes

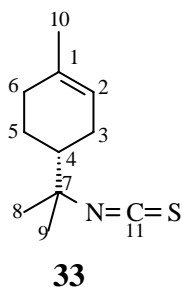
O solvente utilizado nas reações foi clorofórmio (merck). O substrato monoterpênico empregado neste trabalho foi o (*R*)-(+)-limoneno, utilizado sem tratamento prévio (Aldrich, 95%). Os reagentes utilizados foram, *n*-butilamina (Acros Organics, 99,8%), isopropilamina (Acros Organics, 99%), cicloexilamina (Aldrich, 99%), pirrolidina (Aldrich, 99%); benzilamina (Aldrich, 99%); morfolina (Aldrich, 99%); 3-pentilamina (Nissho Iwai Co.); anilina destilada sobre pressão reduzida (Aldrich, 99,5+%); *p*-bromoanilina; *o*-anisidina destilada sobre pressão reduzida; *o*-toluidina destilada sobre pressão reduzida; bissulfato de potássio (KHSO₄, QM); Tiocianato de potássio (KSCN, Merck, 99%); iodeto de metila (Carlo Erba); álcool *terc*-butílico (Synth) destilado sob atmosfera inerte.

5.3 Síntese do isotiocianomonoterpeno (33)

5.3.1 Preparação do ácido tiociânico (HSCN)

Uma suspensão de 1,48 g (0,015 mol) de KSCN, pulverizado, em CHCl₃ (6 ml) foi triturada, em um grau, com 2,10g (0,015 mol) de KHSO₄ por 5 min. Após decantar a solução de HSCN-CHCl₃ adicionou-se mais 2mL de CHCl₃ à mistura sólida e triturou-se por mais 10 min, filtrando-se sobre algodão. A proporção de solução de HSCN-CHCl₃ e substrato utilizado em todas as reações foram de 8:1 mol.

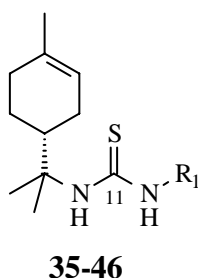
5.3.2 Síntese do isotiocianomonoterpeno (33) a partir do limoneno (1)



Em um balão volumétrico adicionou-se 0,8228g (6,09 mmol) de *R*(+)-limoneno e um excesso de solução de HSCN-CHCl₃. A mistura reacional foi deixada, à temperatura ambiente, sob agitação e protegida da luz por 1 dia. O progresso da reação foi acompanhado por CCD. Após filtração para eliminar os produtos de polimerização, o filtrado foi lavado com água, seco sobre Na₂SO₄ anidro e concentrado em evaporador rotativo. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, com hexano como eluente.

Dados de RMN ¹H e ¹³C: **Tabela 1 (página 13)**

5.4 Síntese das tiouréias (35-46)



Em um balão 0,196g (1 mmol) do isotiocianomonoterpeno **(33)** foi submetido à reação com diversas aminas: n-butilamina, isopropilamina, pirrolidina, cicloexilamina, morfolina, o-anisidina, pentilamina, p-bromoanilina, anilina, benzilamina, o-toluidina e 1-metilpiperazina em CHCl₃, gerando como produtos reacionais as tiouréias **(35-46)**, conforme mostrado na **Tabela 2(página 15 – resultados e discussões)**. A proporção utilizada foi de 1 equivalente do isotiocianomonoterpênico para 2 equivalentes das aminas. O solvente e excesso das aminas utilizadas foram evaporados em evaporador rotativo. As tiouréias foram purificadas em coluna de sílica gel ou sílica flash (200-400 mesh), eluída com hexano, hexano/acetato 20%.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(butil)]tiouréia **(35)**; IV ν /cm⁻¹ (KBr): 3270 (N-H); 1544 e 1343 (C=S); **(espectro EIV-1 - Anexo)**; EI-EM *m/z* (rel. int.): 269 [M + H]⁺, 255 (7,5); 83 (38,8); **(espectro EM-2 – Anexo)**; RMN ¹H: **Tabela 5 (espectro ER¹H-1 – Anexo)**; RMN ¹³C : **Tabela 5 (espectro ER¹³C-1 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(isopropil)] tiouréia **(36)**
IV (KBr) ν / cm⁻¹: 3272 (N-H); 1539 e 1326 (C=S); **(espectro EIV-2 - Anexo)**
EI-EM *m/z* (rel. int.): 255 [M + H]⁺; 139 (3,1); 83 (13,1) ; **(espectro EM-2 – Anexo)**; RMN ¹H: **Tabela 5 (espectro ER¹H-2 – Anexo)**; RMN ¹³C : **Tabela 5 (espectro ER¹³C-2 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(isopentil)] tiouréia (37)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3258 (N-H); 1644 (C=C); 1537 e 1322 (C=S); (**espectro EIV-3 - Anexo**); EI-EM m/z (rel. int.): 282 (M^{+}); 147 (100, $[\text{H}_2\text{NCSNH-isopentil}]^+$); 58 (70,5); 41 (65,1) (**espectro EM-3 – Anexo**); RMN ^1H : Tabela 6 (**espectro ER ^1H -3 – Anexo**); RMN ^{13}C : Tabela 6 (**espectro ER ^{13}C -3 - Anexo**).

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(benzil)] tiouréia (38)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3254 (N-H); 1542 e 1340 (C=S); (**espectro EIV-4 - Anexo**); EI-EM m/z (rel. int.): 303 $[\text{M} + \text{H}]^+$; 301 (4,4) (**espectro EM-4 – Anexo**); RMN ^1H : Tabela 6 (**espectro ER ^1H -4 – Anexo**); RMN ^{13}C : Tabela 6 (**espectro ER ^{13}C -4 - Anexo**).

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(cicloexil)] tiouréia (39)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3258 (N-H); 1541 e 1338 (C=S); (**espectro EIV-5 - Anexo**); EI-EM m/z (rel. int.): 295 $[\text{M} + \text{H}]^+$; 83 (23,8); 41 (13); (**espectro EM-5 – Anexo**); RMN ^1H : Tabela 7 (**espectro ER ^1H -5 – Anexo**); RMN ^{13}C : Tabela 7 (**espectro ER ^{13}C -5 - Anexo**).

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilciclohexenil)]-*N'*-[2-(pirrolidil)] tiouréia (40)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3395 (N-H); 1644 (C=C); 1532 e 1348 (C=S); (**espectro EIV-6 - Anexo**); EI-EM m/z (rel. int.): 266 (M^{+}); 233 (28,3); 131 (100, $M^{+} - 135$; $[\text{H}_2\text{NCSNH-pirrolidil}]^+$); 114 (92,4); 93 (30,4); 58 (38,0); 41 (58,5); (**espectro**

EM-6 – Anexo); RMN ¹H: Tabela 7 (espectro ER¹H-6 – Anexo); RMN ¹³C : Tabela 7 (espectro ER¹³C-6 - Anexo).

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(morfolil)] tiouréia (41)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3409 (N-H); 1523 e 1347 (C=S); **(espectro EIV-7 - Anexo); RMN ¹H: Tabela 8 (espectro ER¹H-7 – Anexo); RMN ¹³C : Tabela 8 (espectro ER¹³C-7 - Anexo).**

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(*N*-metilpiperazil)] tiouréia (42)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3438,4 (N-H); 1629,5 (C=C); 1566,7 e 1410,8 (C=S); **(espectro EIV-8 - Anexo); EI-EM m/z (rel. int.): 295 (M⁺); 195 (20,6); 121 (34,8); 93 (64,1); 58 (100); 41 (97,8); (espectro EM-7 – Anexo); RMN ¹H: Tabela 8 (espectro ER¹H-8 – Anexo); RMN ¹³C : Tabela 8 (espectro ER¹³C-8 - Anexo).**

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(2-metoxifenil)] tiouréia (43)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3370 (N-H); 3048 (C-H arom.); 1664 (C=C arom.); 1600 (C=C); 1461 (C=C arom.); 1536 e 1251 (C=S); 1027 (C-O); 757 (C-H, arom.); **(espectro EIV-9 - Anexo); EI-EM m/z (rel. int.): 318 (M⁺); 183 (27,2; M⁺ - 135 [H₂NCSNH-imetóxifenil]⁺); 123; [H₂N-metóxifenil]⁺); 108 (47,8); 93 (27,1); 58 (100); 41 (43,5); (espectro EM-8 – Anexo); RMN ¹H: Tabela 9 (espectro ER¹H-9 – Anexo); RMN ¹³C : Tabela 9 (espectro ER¹³C-9 - Anexo).**

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(4-bromofenil)] tiouréia (**44**)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3281 (N-H); 3104 (C-H); 1578 (C=C, arom.) ; 1488 (C=C, arom.); 1531 e 1364 (C=S); 1072 (C-Br); 757 (C-H, arom.); **(espectro EIV-10 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 366 (M^+); 215 (23,9); 58 (100); **(espectro EM-9 - Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 9 **(espectro ER ^1H -10 - Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 9 **(espectro ER ^{13}C -10 - Anexo)**.

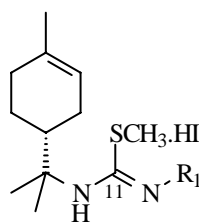
N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(2-fenil)] tiouréia (**45**)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3387 (N-H); 3156 (C-H arom.); 1590 (C=C arom.); 1541 e 1299 (C=S); 759 (C-H arom.); **(espectro EIV-11 - Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 10 **(espectro ER ^1H -11 - Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 10 **(espectro ER ^{13}C -11 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(2-metilfenil)] tiouréia (**46**)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3368 (N-H); 3173 (C-H, arom.); 1644 (C=C, arom.); 1622 (C=C); 1533 e 1252 (C=S); 755 (C-H, arom.); **(espectro EIV-12 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 302 (M^+); 167 (100, $M^+ - 135$; [H_2NCSNH -metilfenil] $^+$); 151 (15,2); 91 (45,1); 58 (70,1); 41 (46,7); **(espectro EM-10 - Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 10 **(espectro ER ^1H -12 - Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 10 **(espectro ER ^{13}C -12 - Anexo)**.

5.4.1 Síntese das S-metiltiouréias (47-55).



47-55

a) Síntese da S-metiltiouréia (47)

A tiouréia (**35**) foi submetida à reação, com um excesso (em torno de 3:1) de iodeto de metila em CHCl_3 . A mistura reacional foi mantida à temperatura de 0°C , durante 24 horas. A formação da tiouréia S-metilada (**47**) foi monitorada por CCD. A evaporação do solvente e excesso do iodeto de metila forneceu as tiouréia S-metilada em rendimento quantitativo.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(butil)] S-metiltiouréia (**47**)

IV (KBr) νcm^{-1} : 3423 (N-H); 1638 (C=N); (**espectro EIV-13 - Anexo**); EI-EM m/z (rel. int.): 282 ($\text{M}^{+\bullet}$); 234 (45,7; $\text{M}^{+\bullet} - \text{CH}_3\text{SH}$); 219 (43,5); 205 (36,9); 128 (89,1); 93 (74,4); 58 (54,3); 41 (100) (**espectro EM-11 - Anexo**); RMN ^1H : **Tabela 13 (espectro ER ^1H -13 - Anexo)**; RMN ^{13}C : **Tabela 13 (espectro ER ^{13}C -13 - Anexo)**.

b) Síntese das S-metiltiouréias (48-55)

Para a síntese das demais S-metiltiouréias, o método utilizado foi o mesmo da síntese da S-metil tiouréia (47), os tempos reacionais também não variaram. A diferença está nas tiouréias utilizadas como substrato. As tiouréias utilizadas, respectivamente para cada S-metiltiouréia formada, foram (36-42) e (45).

A exceção na síntese das S-metiltiouréias está na formação da S-metil tiouréia (54), que devido à baixa solubilidade em CHCl_3 da tiouréia (42), foi adicionado também, como solvente, algumas gotas de MeOH. O tempo reacional não variou.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(isopropil)] S-metiltiouréia (48)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3194 (N-H); 1589 (C=N); 661 (C-S); **(espectro EIV-14 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 268 (M^+); 220 (68,5; $\text{M}^{+\bullet} - \text{CH}_3\text{SH}$); 205 (57,6); 128 (100); 127 (60,1); 93 (77,2); 58 (91,3); 44 (32,6); 43 (95,7); 41 (84,8); **(espectro EM-12 - Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 13 **(espectro ER ^1H -14 - Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 13 **(espectro ER ^{13}C -14 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(isopentil)] S-metiltiouréia (49)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3348 (N-H); 1591 (C=N); 660 (C-S); **(espectro EIV-15 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 296 (M^+); 248 (40,2; $\text{M}^{+\bullet} - \text{CH}_3\text{SH}$); 233 (50,0); 219 (55,4); 178 (32,6); 163 (34,8); 128 (81,5); 127 (48,9); 93 (61,0); 58 (73,9); 43 (100); 41 (85,9); **(espectro EM-13 - Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 14 **(espectro ER ^1H -15 - Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 14 **(espectro ER ^{13}C -15 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(benzil)] *S*-metiltiouréia (50)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3397 (N-H); 3190 (C-H; arom.); 1711 (C=N; 1594 (C=C; arom.); 1462 (C=C; arom.); 700 (C-S); **(espectro EIV-16 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 316 (M^+); 268 (1,63); 225 (1,1); 142 (19,6); 91(33,7); 71 (52,2); 58 (23,9); 57 (42,4); 43 (100); 41 (43,5); **(espectro EM-14 – Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 14 **(espectro ER ^1H -16 – Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 14 **(espectro ER ^{13}C -16 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(cicloexil)] *S*-metiltiouréia (51)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3187 (N-H); 1686 (C=N); 1592 (C=C); 660 (C-S); **(espectro EIV-17 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 308 (M^+); 261 (31,5; $M^+ - \text{CH}_3\text{S}^+$); 178 (25,0); 163 (31,5); 128 (63,0); 127 (39,1); 93 (53,3); 83 (36,9); 58 (55,4); 55 (54,3); 43 (57,6); 41 (100); **(espectro EM-15 – Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 15 **(espectro ER ^1H -17 – Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 15 **(espectro ER ^{13}C -17- Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(pirrolidil)] *S*-metiltiouréia (52)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 1678 (C=N); 1584 (C=C); 673 (C-S); **(espectro EIV-18 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 280 (M^+); 233 (2,72); 142 (52,2); 128 (93,5); 127 (69,6); 84 (44,6); 70 (42,4); 58 (10,9); 57 (42,4); 43 (100); 42 (87); 41 (40,2);); **(espectro EM-16 – Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 15 **(espectro ER ^1H -18 – Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 15 **(espectro ER ^{13}C -18- Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(morfolil)] *S*-metiltiouréia (53)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 1573 (C=N); 1031 (C-O); 693 (C-S); **(espectro EIV-19 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 296 (M^+); 249 (40,2; $M^+ - \text{CH}_3\text{S}^*$); 201 (32,6); 131 (55,4); 113 (61,9); 93 (63,6); 81 (95,7); 69 (53,3); 58 (18,5); 55 (47,8); 44 (100); 43 (44,6); 41 (97,8); **(espectro EM-17 - Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 16 **(espectro ER ^1H -19 - Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 16 **(espectro ER ^{13}C -19- Anexo)**.

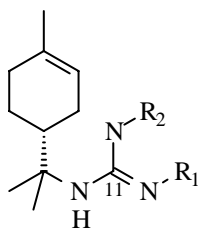
N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(metilpiperazil)] *S*-metiltiouréia (54)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 1676 (C=N); 1611 (C=C); 665 (C-S); **(espectro EIV-20 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 304 (M^+); 195 (43,5); 136 (55,4); 121 (28,3); 93 (100); 81 (53,3); 58(16,3); 44 (56,5); 41 (75););**(espectro EM-18 - Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 16 **(espectro ER ^1H -20 - Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 16 **(espectro ER ^{13}C -20- Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[fenil] *S*-metiltiouréia (55)

IV (KBr) ν/cm^{-1} : 3435 (N-H); 2965 (C-H; arom.); 1621 (C=N); 1589 (C=C arom); 1484 (C=C arom.); 696 (C-S); **(espectro EIV-21 - Anexo)**; EI-EM m/z (rel. int.): 302 (M^+); 255 (14,1; $M^+ - \text{CH}_3\text{S}^*$); 153 (73,4); 93(100); 77 (83,7); 58 (92,4); 41 (81,5); **(espectro EM-19 - Anexo)**; RMN ^1H : Tabela 17 **(espectro ER ^1H -21 - Anexo)**; RMN ^{13}C : Tabela 17 **(espectro ER ^{13}C -21- Anexo)**.

5.4.2 Síntese das guanidinas (56-61)



56-61

As S-metiltiouréias (**48-52**) e **55**, na sua forma de sal, foram submetidas à reação com, um excesso de, n-butilamina ou cicloexilamina, em um balão equipado com agitador magnético e um condensador, sob atmosfera de N₂. A mistura foi mantida sob refluxo durante 15 horas, e o progresso da reação foi monitorado por CCD. O produto formado foi concentrado em evaporador rotativo e purificado por CCDP (sílica gel; CHCl₃/ MeOH 5%, saturado em NH₄OH). As guanidinas foram obtidas com rendimentos em torno de 40%.

Não houve diferenças no método de preparação, tempo reacional e purificação, das guanidinas, não havendo exceções entre elas.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metillcicloexenil)]-*N'*-[2-(isopropil)]-*N''*-[3-(butil)]-guanidina (**56**)

IV (KBr) ν cm⁻¹: 3245 (N-H); 1616 (C=N); (**espectro EIV-22 - Anexo**); EI-EM *m/z* (rel. int.): 293 (M⁺); 210 (27,2); 170 (48,9); 97 (44,6); 83 (38,0); (83,7); 58 (55,4); 43 (96,7); 41 (100); (**espectro EM-20 – Anexo**); RMN ¹H: **Tabela 19 (espectro ER¹H-22 – Anexo)**; RMN ¹³C : **Tabela 19 (espectro ER¹³C-22- Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metillcicloexenil)]-*N'*-[2-(cicloexil)]-*N''*-[3-(butil)]-guanidina (57)

IV (KBr) ν cm⁻¹: 3266 (N-H); 1614 (C=N); (**espectro EIV-23 - Anexo**); EI-EM *m/z* (rel. int.): 333 (M⁺); 280 (23,9); 238 (25,5); 225 (40,2); 198 (100; [M – 135]^{+•}); 185 (32,6); 157 (28,3); 149 (90,2); (**espectro EM-21 – Anexo**); RMN ¹H: **Tabela 19 (espectro ER¹H-23 – Anexo)**; RMN ¹³C : **Tabela 19 (espectro ER¹³C-23 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metillcicloexenil)]-*N'*-[2-(fenil)]-*N''*-[3-(butil)]-guanidina (58)

EI-EM *m/z* (rel. int.): 327 (M⁺); 234 (8,3); 139 (47,8); 93 (39,1); 83 (100); 58 (19,6); 55 (33,7) 43 (32,6); 41 (65,2); (**espectro EM-22 – Anexo**); RMN ¹H: **Tabela 20 (espectro ER¹H-24 – Anexo)**; RMN ¹³C : **Tabela 20 (espectro ER¹³C-24 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metillcicloexenil)]-*N'*-[2-(benzil)]-*N''*-[3-(butil)]-guanidina (59)

IV (KBr) ν cm⁻¹: 3433 (N-H); 3063 (C-H; arom.); 1614 (C=N); 1496 (C=C arom.); (**espectro EIV-24 - Anexo**); EI-EM *m/z* (rel. int.): 341 (M⁺); 128 (39,1); 91 (84,8; [C₇H₇]⁺); 79 (42,4); 58 (69,6); 44 (48,9); 43 (51,1); 41 (100); (**espectro EM-23 – Anexo**); RMN ¹H: **Tabela 20 (espectro ER¹H-25 – Anexo)**; RMN ¹³C : **Tabela 20 (espectro ER¹³C-25 - Anexo)**.

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(3-pentil)]-*N''*-[3-(cicloexil)]-guanidina (**60**)

IV (KBr) ν cm⁻¹: 3412 (N-H); 1626 (C=N); (**espectro EIV-25 - Anexo**); EI-EM *m/z* (rel. int.): 347 (M⁺); 212 (17,4; [M – 135]⁺); 93 (21,7); 83 (78,3); 58 (100); 43 (75); 41 (57,6); (**espectro EM-24 – Anexo**); RMN ¹H: Tabela 21 (**espectro ER¹H-26 – Anexo**); RMN ¹³C : Tabela 21 (**espectro ER¹³C-26 - Anexo**).

N-[1-(4*R*)-(4-isopropil-1-metilcicloexenil)]-*N'*-[2-(pirrolidil)]-*N''*-[3-(cicloexil)]-guanidina (**61**)

IV (KBr) ν cm⁻¹: 3258 (N-H); 1661 (C=N); (**espectro EIV-26 - Anexo**); EI-EM *m/z* (rel. int.): 331 (M⁺); 128 (48,9); 127 (30,4); 98 (56,5); 83 (42,4); 56 (100); 55 (93,5); 43 (96,7); 41 (76,1); (**espectro EM-25 – Anexo**); RMN ¹H: Tabela 21 (**espectro ER¹H-27 – Anexo**); RMN ¹³C : Tabela 21 (**espectro ER¹³C-27 - Anexo**).

5.5 Ensaios farmacológicos

5.5.1 Bioensaio da letalidade da *Artemia salina*

Preparação das amostras: Foram pesados 2,0 mg dos compostos sintetizados (**35-41, 43-44, 46, 47-50, 52, 56-57 e 59**), e dissolvidos em 2,00mL de solução salina (3,8g de NaCl para 1,0L de H₂O). Retirou-se alíquotas de 500,0 μ L, 100 μ L, 75 μ L, 50 μ L, 25 μ L, 12,5 μ L, 6,25 μ L e 1,56 μ L, que foram

transferidas para tubos e completados os volumes com água salina para 5,00mL, perfazendo três concentrações diferentes (10 e 100µg/mL). Os testes foram realizados em triplicata.

Eclosão dos cistos de Artemia: o meio para o cultivo das larvas de *Artemia salina* foi água salina. Para eclosão dos cistos foi utilizado um recipiente contendo divisória, de maneira que apenas um dos lados ficasse iluminado para permitir, por fototropismo, a migração das larvas.

Bioensaio de Letalidade: após 48 horas, dez náuplios de *Artemia salina* foram transferidos para cada um dos tubos contendo água salina e a substância a ser testada. A contagem dos animais vivos e mortos foi realizada 24 horas após.

Os resultados dos testes encontram-se nas **Tabelas 22 e 23**, nos resultados e discussão.

5.5.2 Atividade Antiproliferativa

5.5.2.a) Células

Para a realização dos testes foram utilizadas as tiouréias sintetizadas **(35-46)** e as S-meiltiouréias **(48-49), 51, 52 e 54**. As linhagens de células cedidas pelo National Câncer Institute (NCI) dos EUA, e utilizadas na triagem da atividade antiproliferativa estão relacionadas na **Tabela 24**. Estas foram

cultivadas em meio de cultura denominado RPMI-1640 suplementado com 5% de soro fetal bovino inativado (SFB).

Todos os procedimentos descritos abaixo foram realizados sob condições estéreis, segundo metodologia descrita por Monks e col³³.

Os resultados dos testes estão apresentados nas **Tabelas 22 e 23**, nos resultados e discussão.

Tabela 24: Linhagens celulares utilizadas nos ensaios antiproliferativos.

Tipo celular	Nome	Tipo de cultura
Leucemia	K562	Suspensão
Ovário	OVCAR	Aderida
Renal	786	Aderida
Próstata	PC03	Aderida
Cólon	HT29	Aderida
Pulmão	NCI460	Aderida
Mama	MVF-7	Aderida
Mama Resistente	NCI ADR	Aderida
Melanoma	UACC-62	Aderida

5.5.2.b) Ensaio para a determinação da atividade antiproliferativa dos compostos

Foram plaqueados 100 μ L de células, em meio RPMI/SFB/gentamicina, nas suas respectivas densidades de inoculação em placas de 96 compartimentos. Estas foram incubadas por 24 horas a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂ e 100% de umidade. Para cada linhagem foi utilizado um

número estipulado de placas, além da placa T0 (Placa controle), dependendo da quantidade de células obtidas na contagem.

5.5.2.c) Análise dos resultados

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

Se $T > C$ a droga estimulou o crescimento, não apresenta GI.

Se $T \square T_0$ mas $< C$, a droga foi citostática e a fórmula utilizada é $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$.

Se $T < T_0$ a droga foi citocida e a fórmula utilizada é $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$.

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

6. CONCLUSÕES

No presente trabalho foi realizada a síntese de uma série de derivados do (*R*)-(+)-limoneno contendo a unidade tiouréia (**35-46**) ou a unidade guanidínica (**56-61**) como substituintes. O isotiocianato monterpênico **33** foi utilizado como intermediário em ambas as rotas sintéticas.

Na reação de adição de aminas ao isotiocianato terpênico (**33**), para a obtenção da série de derivados **35-46**, contendo unidades tiouréia, constatou-se que a utilização de aminas primárias ou secundárias alifáticas forneceu os produtos em bons rendimentos e em tempo menores de reação, em comparação ao uso de aminas aromáticas.

Na síntese da série de derivados do limoneno contendo a unidade guanidínica foram testadas diversas condições reacionais. Os derivados guanidínicos (**56-61**) foram obtidos com sucesso a partir da utilização das S-metiltiouréias correspondentes, na forma de sal, como intermediários nas reações com as aminas n-butilamina ou cicloexilamina, em atmosfera inerte e aquecimento.

Os resultados da avaliação da citotoxicidade das tiouréias e guanidinas sintetizadas frente a *Artemia salina* mostraram que os compostos **35**, **38** e **43** foram os mais ativos com uma $DL_{50} < 0,31 \mu\text{g/mL}$. Os compostos contendo os substituintes pirrolidil (**40**) e morfóliil (**41**) foram os menos ativos. Na comparação entre as tiouréias testadas e seus derivados S-metilados observou-se que, com exceção do **52**, as S-metiltiouréias mostraram-se menos ativas.

Os resultados da avaliação da atividade antiproliferativa para as tiouréias e S-metiltiouréias testadas, mostraram uma potente inibição do crescimento celular, frente a todas as linhagens de células tumorais testadas, para as tiouréias contendo substituintes aromáticos (**43-46**), com GI_{50} na faixa de 2,5-24 μM .

Os compostos da série alifática (**35-42**) mostraram dependência da atividade inibitória com a natureza do grupo substituinte no átomo de nitrogênio

e, maior seletividade, com menores valores de GI_{50} para células de leucemia (K-562), que aqueles contendo substituintes aromáticos.

Os compostos **39**, **45** e **51** mostraram potente atividade e particular seletividade frente a diferentes linhagens celulares, com valores de GI_{50} variando na faixa de 0,41 a 3,0 μ M, podendo ser candidatos para ensaios de atividade antiproliferativa “in vivo”.

7. Referências Bibliográficas

1. Carnesecchi, S.; Schneider, Y.; Ceraline, J.; Duranton, B.; Gosse, F.; Seiler, N.; Raul, F. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2001**, 298, 197.
2. Bardon, B.; Foussard, V.; Fournel, S.; Loubat, A. *Cancer Lett.*, **2002**, 8, 187.
3. Xu, M.; Floyd, H. S.; Greth, S. M.; Chang, W-C. L.; Lohman, K.; Stoyanova, R.; Kucera, G. L.; Kute, T. E.; Willingham, M. C.; Miller, M. S. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **2004**, 195, 232.
4. Elegbede, J. A.; Elson, C. E.; Qureshi, A.; Tanner, M. A.; Gould, M. N. *Carcinogenesis*, **1984**, 5, 661.
5. Wattenberg, L. W.; Coccia, J. B. *Carcinogenesis*, **1991**, 12, 115.
6. Crowell, P. L.; Gould, M. N. *Crit. Rev. Oncog.*, **1994**, 5, 1.
7. Mills, J. J.; Chari, R. S.; Boyer, I. J.; Gould, M. N.; Jirtle, R. L. *Cancer Res.*, **1995**, 55, 979.
8. Kawamori, T.; Tanaka, T.; Hirose, Y.; Ohnishi, M.; Mori, H. *Carcinogenesis*, **1996**, 17, 369.
9. Chander S. K.; Lansdown, A. G.; Luqmani, Y. A.; Gomm J. J.; Coope, R. C.; Gould, M. N.; Coombes, R. C. *Br. J. Cancer*, **1994**, 69, 879.
10. Haag, J. D.; Lindstrom, M. J.; Gould, M. N. *Cancer Res.*, **1992**, 52, 4021.
11. Vigushin, D. M.; Poon, G. K.; Boddy, A.; English, J.; Halbert, G. W.; Pagonis, C.; Jarman, M.; Coombes, R.C. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1998**, 42, 111.

12. Figueiredo, I. M., Síntese e atividade antiproliferativa de novas tiouréias e guanidinas monoterpênicas, **2003**, 256 f., Dissertação de Mestrado, Universidade estadual de Maringá.
13. Ramadas, K.; Janarthanan, N.; *J. Chem. Research (S)*, **1998**, 228.
14. Schneider, S. E.; Bishop, P. A.; Salazar, M. A.; Bishop, O. A.; Anslyn, E. V.; *Tetrahedron*, **1998**, 54, 15063.
15. Venkatchalam, T. K.; Sudbeck, E. A.; Mao, C.; Uckun, F. M.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2001**, 11, 523.
16. Houghten, R. A.; Ostrech, J. M.; Acharya, A. N., *Tetrahedron*, **2001**, 57, 9911.
17. Ohizumi, Y.; Sasaki, S.; Kusumi, T.; Ohtani, I. I., *Eur. J. Pharmacol*, **1996**, 310, 95.
18. Maya, I.; López, O.; Bolños, J. G. F.; Robina, I.; Fuentes, J.; *Tetrahedron Letters*, **2001**, 42, 5413.
19. Xian, M.; Zhu, X.; Li, Q.; Cheng, J.; *Tetrahedron Letters*, **1999**, 40, 1957.
20. Blanco, J. L. J.; Barría, C. S.; Benito, J. M.; Mellet, C. O.; Fuentes, J.; González, F. S.; Fernández, J. M. G.; *Syntesis*, **1999**, 11, 1907.
21. Gomez, L.; Gellibert, F.; Wagner, A.; Mioskowski, C.; *J. Comb. Chem.*, **2000**, 2, 75.
22. Rasmussen, C.R.; et al; *Synthesis*, **1988**, 460.
23. Qian, L.; Kim, K.S.; *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, 7677.
24. Srinivsan, N.; Ramadas, K.; *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 2841.
25. Yong, Y. F.; Kowalski, J. A., Lipton, M. A., *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 1540.
26. Dodd, D. S., Kozikowski, A. P., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 977.

-
27. Achyuta, N. A., Houghthen, R. A., Ostresh, J. M.; *Tetrahedron*, **2001**, 57, 9911.
28. Silva, C. C.; Marsaioli, A. J. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, 6720.
29. Faber, K.; *Biotransformations in organic chemistry*, **1997**, New York. Springer-Verlag, York INC.
30. Rault, S.; Miel, H.; *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 1565.
31. Sahpaz, S.; Boris, C.; Loieau, P. M.; Cortes, D.; *Panta Médica*, **1994**, 60, 538.
32. Hostettmann, K.; Dey, P. M.; Harborne, J. B.; *Methods in Plant Biochemistry*, **1991**.
33. Monks, A.D; Skehan, P; Shoemaker, R; Paull, K; Vistica, D; Hose, C; Langley, J; Cronise, P; Vaigro-Wolff, A; Gray-Goodrich, M; Campbell, H; Mayo, J; Boyd, M. *J. Nat. Cancer Inst.*, **1991**, 83, 757.

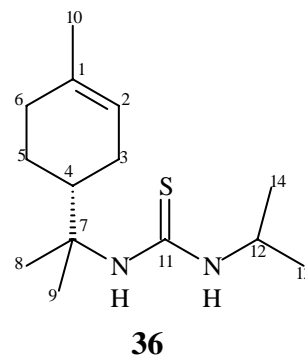
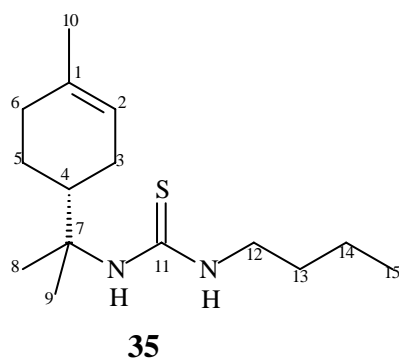


Tabela 4: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(35)** e **(36)**.

C/H	Composto 35		Composto 36	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	133,9 (C ₀)	-	134,0 (C ₀)
2	5,40 (<i>sl</i>)	120,0 (CH)	5,40 (<i>sl</i>)	120,0 (CH)
3	1,99 (<i>m</i>)	26,5 (CH ₂)	1,99 (<i>m</i>)	26,6 (CH ₂)
4	1,99 (<i>m</i>)	42,2 (CH)	1,99 (<i>m</i>)	42,5 (CH)
5	1,82 (<i>m</i>)	24,2 (CH ₂)	1,33;1,78 (<i>m</i>)	24,2 (CH ₂)
6	1,60 (<i>m</i>)	31,2 (CH ₂)	1,99 (<i>m</i>)	30,9 (CH ₂)
7	-	58,3 (C ₀)	-	58,3 (C ₀)
8	1,35 (<i>s</i>)	24,8 (CH ₃)	1,35 (<i>s</i>)	24,9 (CH ₃)
9	1,39 (<i>s</i>)	25,0 (CH ₃)	1,40 (<i>s</i>)	25,2 (CH ₃)
10	1,64 (<i>s</i>)	23,2 (CH ₃)	1,65 (<i>s</i>)	23,2 (CH ₃)
11	-	180,8 (C ₀)	-	179,8 (C ₀)
12	3,54 (<i>q</i> ; 6,0)	45,1 (CH ₂)	4,40 (<i>m</i>)	47,2 (CH)
13	1,99 (<i>m</i>)	30,9 (CH ₂)	1,23 (<i>d</i>)	22,6 (CH ₃)
14	1,39 (<i>m</i>)	20,1 (CH ₂)	1,23 (<i>d</i>)	22,6 (CH ₃)
15	0,95 (<i>t</i> ; 7,2)	13,7 (CH ₃)	-	-

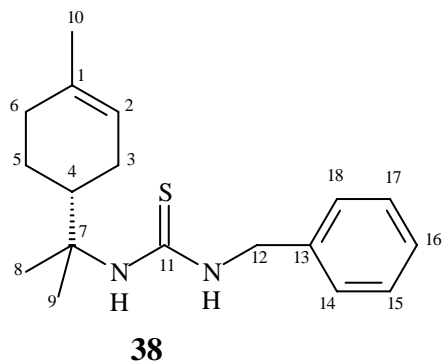
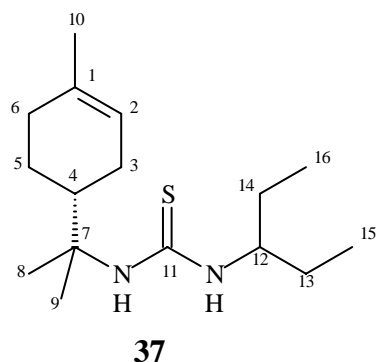


Tabela 5: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(37)** e **(38)**.

C/H	Composto 37		Composto 38	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,1 (C ₀)	-	133,8 (C ₀)
2	5,36 (<i>s</i>)	119,7 (CH)	5,33 (<i>s</i>)	119,8 (CH)
3	1,61(<i>m</i>)	26,6 (CH ₂)	1,68; 1,94 (<i>m</i>)	26,3 (CH ₂)
4	1,99 (<i>m</i>)	42,8 (CH)	1,94 (<i>m</i>)	42,1 (CH)
5	1,30;1,83 (<i>m</i>)	24,3 (CH ₂)	1,68 (<i>m</i>)	23,9 (CH ₂)
6	1,99 (<i>m</i>)	31,0 (CH ₂)	1,94 (<i>m</i>)	30,7 (CH ₂)
7	-	58,2 (C ₀)	-	58,4 (C ₀)
8	1,34 (<i>s</i>)	25,1 (CH ₃)	1,30 (<i>s</i>)	24,6 (CH ₃)
9	1,38 (<i>s</i>)	25,4 (CH ₃)	1,34 (<i>s</i>)	24,8 (CH ₃)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH ₃)	1,63 (<i>s</i>)	23,1 (CH ₃)
11	-	180,7 (C ₀)	-	180,9 (C ₀)
12	4,23 (<i>m</i>)	58,3 (CH)	4,72 (<i>s</i>)	49,2 (CH ₂)
13	1,51 (<i>m</i>)	27,0 (CH ₂)	-	137,2 (C ₀)
14	1,51 (<i>m</i>)	26,9 (CH ₂)	7,31 (<i>m</i>)	127,3 (CH)
15	0,93 (<i>t</i> ; 7,5)	10,0 (CH ₃)	7,31 (<i>m</i>)	128,7 (CH)
16	0,93 (<i>t</i> ; 7,5)	10,1 (CH ₃)	7,31 (<i>m</i>)	128,7 (CH)
17	-	-	7,31 (<i>m</i>)	128,7 (CH)
18	-	-	7,31 (<i>m</i>)	127,3 (CH)

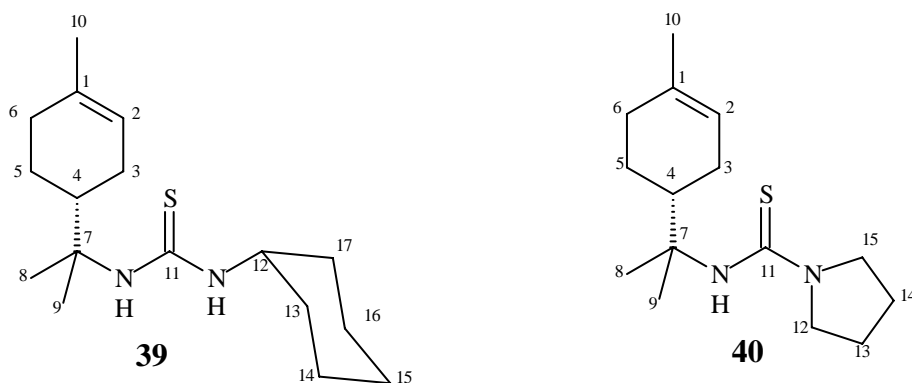


Tabela 6: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(39)** e **(40)**.

Composto 39			Composto 40	
C/H	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,0 (C_0)	-	134,0 (C_0)
2	5,36 (<i>sl</i>)	120,0 (CH)	5,37 (<i>sl</i>)	120,6 (CH)
3	1,81 (<i>m</i>)	26,6 (CH_2)	1,77;2,04 (<i>m</i>)	26,6 (CH_2)
4	1,93 (<i>m</i>)	42,7 (CH)	2,70 (<i>tdt</i> ; 12; 2,4;2,1)	40,8 (CH)
5	1,81 (<i>m</i>)	24,2 (CH_2)	1,78;1,25 (<i>m</i>)	24,1 (CH_2)
6	1,80 (<i>m</i>)	31,0 (CH_2)	1,98 (<i>m</i>)	31,1 (CH_2)
7	-	58,3 (C_0)	-	58,9 (C_0)
8	1,34 (<i>s</i>)	24,9 (CH_3)	1,49 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)
9	1,37 (<i>s</i>)	25,2 (CH_3)	1,55 (<i>s</i>)	24,7 (CH_3)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,64 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)
11	-	179,7 (C_0)	-	177,3 (C_0)
12	4,12 (<i>m</i>)	53,9 (CH)	3,55 (<i>m</i>)	49,2 (CH_2)
13	2,02 (<i>m</i>)	32,9 (CH_2)	1,98 (<i>tl</i>)	25,5 (CH_2)
14	1,67 (<i>m</i>)	24,7 (CH_2)	1,98 (<i>tl</i>)	25,5 (CH_2)
15	1,60 (<i>m</i>)	25,4 (CH_2)	3,55 (<i>m</i>)	49,2 (CH_2)
16	1,67 (<i>m</i>)	24,7 (CH_2)	-	-
17	2,02 (<i>m</i>)	32,8 (CH_2)	-	-

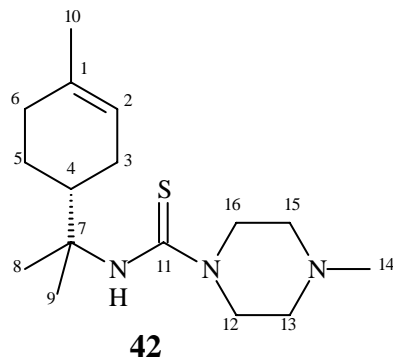
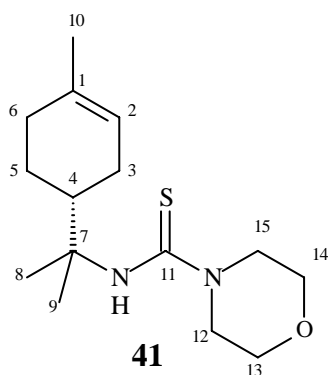


Tabela 7: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(41)** e **(42)**.

C/H	Composto 41		Composto 42	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,1 (C_0)	-	133,5 (C_0)
2	5,37 (<i>s</i>)	119,7 (CH)	5,37 (<i>s</i>)	120,3 (CH)
3	2,02 (<i>m</i>)	26,5 (CH_2)	1,81; 1,96 (<i>m</i>)	26,2 (CH_2)
4	2,75 (<i>m</i>)	44,5 (CH)	2,81 (<i>m</i>)	39,9 (CH)
5	1,65 (<i>m</i>)	24,3 (CH_2)	1,73 (<i>m</i>)	23,8 (CH_2)
6	2,01 (<i>m</i>)	30,7 (CH_2)	1,96 (<i>m</i>)	30,7 (CH_2)
7	-	59,5 (C_0)	-	58,9 (C_0)
8	1,48 (<i>s</i>)	24,6 (CH_3)	1,46 (<i>s</i>)	24,3 (CH_3)
9	1,54 (<i>s</i>)	24,7 (CH_3)	1,53 (<i>s</i>)	24,2 (CH_3)
10	1,73 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,63 (<i>s</i>)	23,0 (CH_3)
11	-	181,8 (C_0)	-	180,8 (C_0)
12	3,73 (<i>m</i>)	47,4 (CH_2)	2,43 (<i>t</i> ; 5,1)	46,8 (CH_2)
13	3,73 (<i>m</i>)	66,3 (CH_2)	3,78 (<i>t</i> ; 4,2)	54,2 (CH_2)
14	3,73 (<i>m</i>)	66,3 (CH_2)	2,30 (<i>s</i>)	45,4 (CH_3)
15	3,73 (<i>m</i>)	47,4 (CH_2)	3,78 (<i>t</i> ; 4,2)	54,2 (CH_2)
16	-	-	2,43 (<i>t</i> ; 5,1)	46,8 (CH_2)

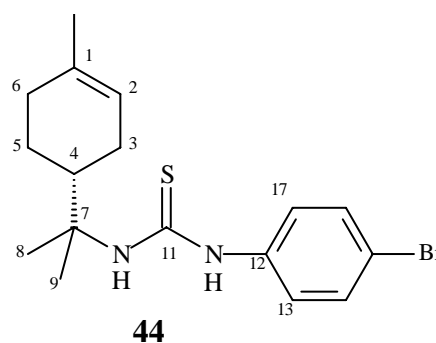
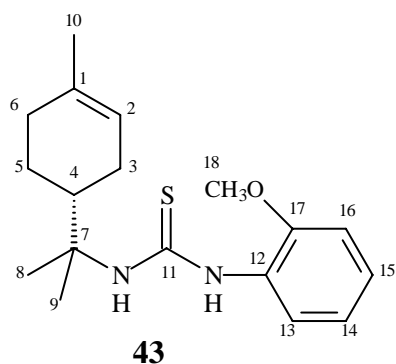


Tabela 8: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(43)** e **(44)**.

C/H	Composto 43		Composto 44	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,2 (C ₀)	-	134,4 (C ₀)
2	5,36 (<i>sl</i>)	120,5 (CH)	5,36 (<i>sl</i>)	120,4 (CH)
3	1,90 (<i>m</i>)	26,7 (CH ₂)	1,68; 1,97 (<i>m</i>)	26,7 (CH ₂)
4	2,00 (<i>m</i>)	41,7 (CH)	2,59 (<i>m</i>)	40,9 (CH)
5	1,77 (<i>m</i>)	24,3 (CH ₂)	1,24; 1,68 (<i>m</i>)	24,4 (CH ₂)
6	1,90 (<i>m</i>)	31,2 (CH ₂)	1,96 (<i>m</i>)	31,2 (CH ₂)
7	-	59,3 (C ₀)	-	59,7 (C ₀)
8	1,42 (<i>s</i>)	24,6 (CH ₃)	1,42 (<i>s</i>)	24,6 (CH ₃)
9	1,48 (<i>s</i>)	24,6 (CH ₃)	1,48 (<i>s</i>)	24,6 (CH ₃)
10	1,63 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)	1,63 (<i>s</i>)	23,5 (CH ₃)
11	-	179,3 (C ₀)	-	179,4 (C ₀)
12	-	134,1 (C ₀)	-	136,0 (C ₀)
13	6,94 (<i>dd</i> ; 7,8)	121,0 (CH)	7,09 (<i>d</i> ; 8,7)	126,8 (CH)
14	7,24 (<i>dd</i> ; 7,8)	124,5 (CH)	7,54 (<i>td</i> ; 9,3; 3,0; 2,1)	133,4 (CH)
15	6,98 (<i>td</i> ; 7,8)	121,0 (CH)	-	120,6 (C ₀)
16	7,20(<i>td</i> ; 7,8)	110,3 (CH)	7,54 (<i>td</i> ; 9,3; 3,0; 2,1)	133,4 (CH)
17	-	154,6 (C ₀)	7,09 (<i>d</i> ; 8,7)	126,8 (CH)
18	3,84 (<i>s</i>)	55,8 (CH ₃)	-	-

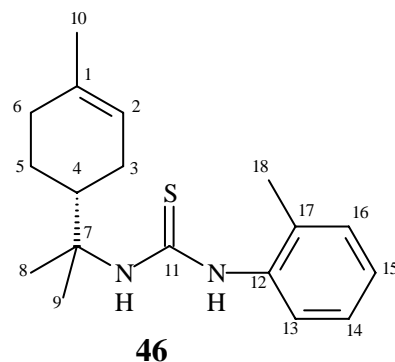
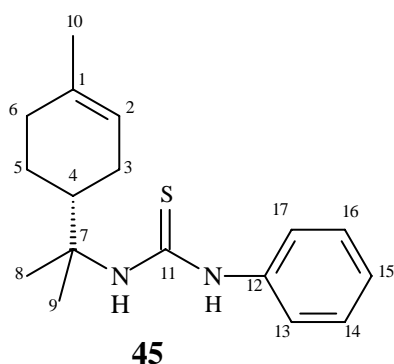
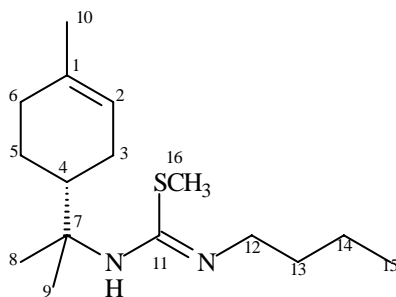
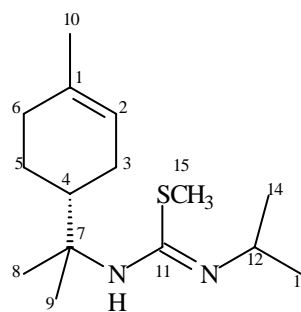


Tabela 9: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade, J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(45)** e **(46)**.

C/H	Composto 45		Composto 46	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,3 (C ₀)	-	134,3 (C ₀)
2	5,33 (<i>s</i>)	120,5 (CH)	5,30 (<i>s</i>)	120,5 (CH)
3	1,84; 1,90 (<i>m</i>)	26,7 (CH ₂)	1,93 (<i>m</i>)	26,6 (CH ₂)
4	2,59 (<i>m</i>)	41,1 (CH)	2,48 (<i>m</i>)	41,4 (CH)
5	1,18; 1,62 (<i>m</i>)	24,3 (CH ₂)	1,75 (<i>m</i>)	24,2 (CH ₂)
6	1,90 (<i>m</i>)	31,2 (CH ₂)	1,93 (<i>m</i>)	31,2 (CH ₂)
7	-	59,5 (C ₀)	-	59,2 (C ₀)
8	1,40 (<i>s</i>)	24,5 (CH ₃)	1,39 (<i>s</i>)	24,1 (CH ₃)
9	1,45 (<i>s</i>)	24,2 (CH ₃)	1,45 (<i>s</i>)	24,4 (CH ₃)
10	1,61 (<i>s</i>)	23,5 (CH ₃)	1,61 (<i>s</i>)	23,5 (CH ₃)
11	-	179,5 (C ₀)	-	179,9 (C ₀)
12	-	136,8 (C ₀)	-	136,0 (C ₀)
13	7,20 (<i>d</i> ; 7,5)	125,2 (CH)	7,28 (<i>m</i>)	127,7 (CH)
14	7,43 (<i>t</i> ; 7,5)	130,2 (CH)	7,28 (<i>m</i>)	131,9 (CH)
15	7,29 (<i>d</i> ; 7,9)	127,1 (CH)	7,28 (<i>m</i>)	127,8 (CH)
16	7,43 (<i>t</i> ; 7,5)	130,2 (CH)	7,28 (<i>m</i>)	128,7 (CH)
17	7,20 (<i>d</i> ; 7,5)	125,2 (CH)	-	127,9 (C ₀)
18	-	-	2,29 (<i>m</i>)	18,1 (CH ₃)



47



48

Tabela 12: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos (**47**) e (**48**).

C/H	Composto 47		Composto 48	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,5 (C ₀)	-	134,1 (C ₀)
2	5,36 (<i>sl</i>)	119,5 (CH)	5,35 (<i>sl</i>)	120,1 (CH)
3	1,88 (<i>m</i>)	26,8 (CH ₂)	1,93 (<i>m</i>)	26,7 (CH ₂)
4	2,31 (<i>m</i>)	42,2 (CH)	2,27 (<i>m</i>)	42,7 (CH)
5	1,76 (<i>m</i>)	24,4 (CH ₂)	1,76 (<i>m</i>)	24,4 (CH ₂)
6	1,88 (<i>m</i>)	30,8 (CH ₂)	1,93 (<i>m</i>)	30,8 (CH ₂)
7	-	63,1 (C ₀)	-	57,4 (C ₀)
8	1,55 (<i>s</i>)	25,0 (CH ₃)	1,50 (<i>s</i>)	25,1 (CH ₃)
9	1,59 (<i>s</i>)	25,5 (CH ₃)	1,58 (<i>s</i>)	25,7 (CH ₃)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH ₃)
11	-	167,9 (C ₀)	-	143,7 (C ₀)
12	3,69 (<i>sl</i>)	45,9 (CH ₂)	4,30 (<i>sl</i>)	51,2 (CH)
13	1,93 (<i>m</i>)	30,8 (CH ₂)	1,49 (<i>d</i> ; 6,6)	22,7 (CH ₃)
14	1,40 (<i>m</i>)	20,1 (CH ₂)	1,49 (<i>d</i> ; 6,6)	22,3 (CH ₃)
15	0,96 (<i>t</i> ; 7,2)	13,8 (CH ₃)	2,85 (<i>s</i>)	18,4 (CH ₃)
16	2,86 (<i>s</i>)	17,8 (CH ₃)	-	-

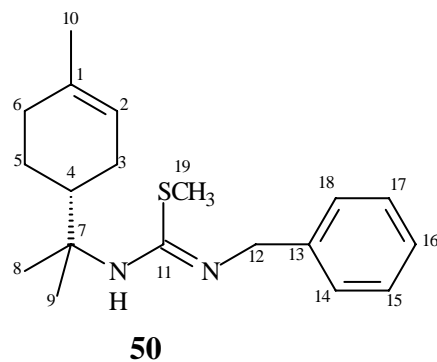
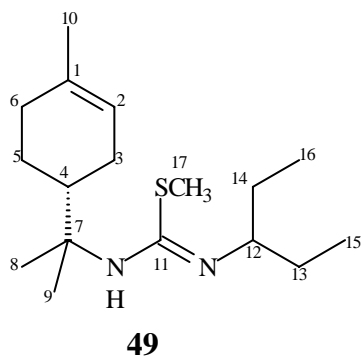


Tabela 13: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade, J* em Hz, CDCl_3) para os produtos **(49)** e **(50)**.

C/H	Composto 49		Composto 50	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,4 (C ₀)	-	134,2 (C ₀)
2	5,35 (<i>sl</i>)	119,4 (CH)	5,19 (<i>sl</i>)	119,4 (CH)
3	1,94 (<i>m</i>)	26,7 (CH ₂)	1,60 (<i>m</i>)	26,2 (CH ₂)
4	2,26 (<i>m</i>)	42,8 (CH)	1,85 (<i>m</i>)	42,2 (CH)
5	1,33; 1,77 (<i>m</i>)	24,4 (CH ₂)	0,98 (<i>m</i>)	23,8 (CH ₂)
6	2,01 (<i>m</i>)	30,8 (CH ₂)	1,85 (<i>m</i>)	30,7 (CH ₂)
7	-	61,5 (C ₀)	-	62,7 (C ₀)
8	1,55 (<i>s</i>)	25,1 (CH ₃)	1,26 (<i>s</i>)	24,5 (CH ₃)
9	1,58 (<i>s</i>)	25,6 (CH ₃)	1,29 (<i>s</i>)	25,0 (CH ₃)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH ₃)	1,60 (<i>s</i>)	23,2 (CH ₃)
11	-	169,2 (C ₀)	-	167,9 (C ₀)
12	3,78 (<i>m</i>)	63,4 (CH)	5,03 (<i>s</i>)	47,4 (CH ₂)
13	1,79 (<i>m</i>)	27,5 (CH ₂)	-	134,2 (CH)
14	1,79 (<i>s</i>)	27,5 (CH ₂)	7,53 (<i>d</i> ; 6,0)	128,1 (CH)
15	0,99 (<i>t</i> ; 7,3)	10,9 (CH ₃)	7,38 (<i>d</i> ; 7,5)	129,6 (CH)
16	0,99 (<i>t</i> ; 7,3)	10,9 (CH ₃)	7,38 (<i>d</i> ; 7,5)	129,0 (CH)
17	2,78 (<i>s</i>)	18,4 (CH ₃)	7,38 (<i>d</i> ; 7,5)	129,6 (CH)
18	-	134,4 (C ₀)	7,53 (<i>d</i> ; 6,0)	128,1 (CH)
19	-	-	3,06 (<i>s</i>)	18,0 (CH ₃)

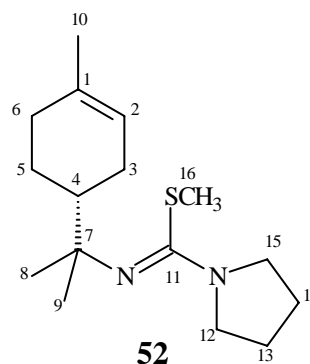
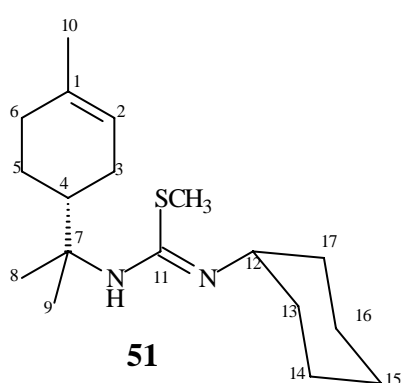


Tabela 14: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade, J* em Hz, CDCl_3) para os produtos (**51**) e (**52**).

C/H	Composto 51		Composto 52	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,3 (C_0)	-	134,4 (C_0)
2	5,35 (<i>s</i>)	119,4 (CH)	5,37 (<i>s</i>)	119,9 (CH)
3	1,93 (<i>m</i>)	26,7 (CH_2)	1,96 (<i>m</i>)	27,1 (CH_2)
4	2,25 (<i>m</i>)	42,7 (CH)	2,35 (<i>m</i>)	43,3 (CH)
5	1,81 (<i>m</i>)	24,6 (CH_2)	1,36; 1,82 (<i>m</i>)	24,6 (CH_2)
6	1,34 (<i>dd</i> ; 4,8; 1,2); 1,81 (<i>m</i>)	30,7 (CH_2)	2,01 (<i>m</i>)	31,1 (CH_2)
7	-	63,4 (C_0)	-	64,1 (C_0)
8	1,55 (<i>s</i>)	25,6 (CH_3)	1,62 (<i>s</i>)	26,2 (CH_3)
9	1,57 (<i>s</i>)	25,6 (CH_3)	1,60 (<i>s</i>)	26,6 (CH_3)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,65 (<i>s</i>)	23,5 (CH_3)
11	-	168,1 (C_0)	-	164,2 (C_0)
12	3,88 (<i>m</i>)	56,8 (CH)	4,04 (<i>m</i>)	53,5 (CH_2)
13	1,81 ; 1,93 (<i>m</i>)	32,6 (CH_2)	2,18 (<i>m</i>)	25,4 (CH_2)
14	1,81 (<i>m</i>)	24,8 (CH_2)	2,18 (<i>m</i>)	25,4 (CH_2)
15	1,62 (<i>m</i>)	24,4 (CH_2)	4,04 (<i>s</i>)	53,5 (CH_2)
16	1,81 (<i>m</i>)	24,8 (CH_2)	2,70 (<i>s</i>)	17,6 (CH_3)
17	1,81; 1,93 (<i>m</i>)	32,6 (CH_2)	-	-
18	2,83 (<i>s</i>)	18,5 (CH_3)	-	-

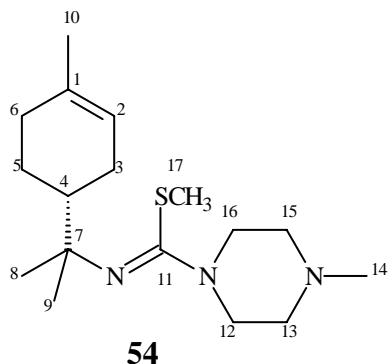
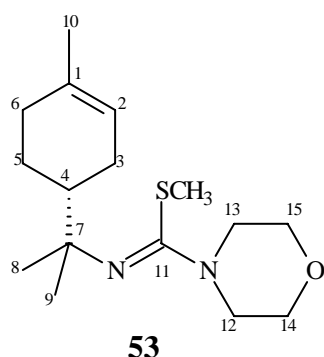


Tabela 15: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3 / CD_3OD) para os produtos **(53)** e **(54)**.

C/H	Composto 53		Composto 54	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,4 (C ₀)	-	133,9 (C ₀)
2	5,36 (<i>sl</i>)	119,7 (CH)	5,37 (<i>sl</i>)	121,1 (CH)
3	1,93 (<i>dd</i> ; 4,8;2,1)	27,2 (CH ₂)	1,80; 1,97 (<i>m</i>)	26,9 (CH ₂)
4	2,43 (<i>m</i>)	43,1 (CH)	1,97 (<i>m</i>)	46,2 (CH)
5	1,33; 1,77 (<i>m</i>)	24,7 (CH ₂)	1,76 (<i>m</i>)	24,3 (CH ₂)
6	2,02 (<i>m</i>)	31,0 (CH ₂)	1,97 (<i>m</i>)	31,3 (CH ₂)
7	-	65,0 (C ₀)	-	58,8 (C ₀)
8	1,61 (<i>s</i>)	26,3 (CH ₃)	1,27 (<i>s</i>)	24,6 (CH ₃)
9	1,64 (<i>s</i>)	25,9 (CH ₃)	1,28 (<i>s</i>)	24,8 (CH ₃)
10	1,64 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)	1,65 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)
11	-	171,0 (C ₀)	-	151,1 (C ₀)
12	3,95 (<i>d</i> ; 4,5)	52,8 (CH ₂)	3,59 (<i>m</i>)	42,9 (CH ₂)
13	4,02 (<i>dd</i> ; 4,5; 2,4)	66,5 (CH ₂)	3,70 (<i>m</i>)	61,5 (CH ₂)
14	4,02 (<i>dd</i> ; 4,5; 2,4)	66,5 (CH ₂)	2,34 (<i>s</i>)	52,2 (CH ₃)
15	3,95 (<i>d</i> ; 4,5)	52,8 (CH ₂)	3,70 (<i>m</i>)	61,5 (CH ₂)
16	2,63 (<i>s</i>)	18,7 (CH ₃)	3,59 (<i>m</i>)	42,9 (CH ₂)
17	-	-	2,73 (<i>s</i>)	16,9 (CH ₃)

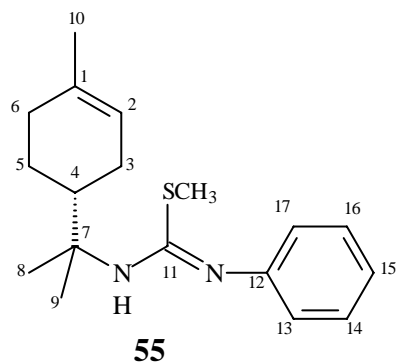


Tabela 16: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, multiplicidade, J em Hz, $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}$) para o produto (**55**).

Composto 55		
C/H	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,7 (C_0)
2	5,36 (<i>s</i>)	119,6 (CH)
3	1,97 (<i>m</i>)	26,8 (CH_2)
4	2,24 (<i>m</i>)	42,9 (CH)
5	1,78; 1,25 (<i>m</i>)	24,5 (CH_2)
6	2,03 (<i>m</i>)	30,9 (CH_2)
7	-	63,5 (C_0)
8	1,52 (<i>s</i>)	25,3 (CH_3)
9	1,54 (<i>s</i>)	24,8 (CH_3)
10	1,65 (<i>s</i>)	23,4 (CH_3)
11	-	169,6 (C_0)
12	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	134,7 (C_0)
13	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	124,9 (CH)
14	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	130,5 (CH)
15	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	128,4 (CH)
16	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	130,5 (CH)
17	7,44 (<i>d</i> ; 6,3)	124,9 (CH)
18	2,44 (<i>s</i>)	17,3 (CH_3)

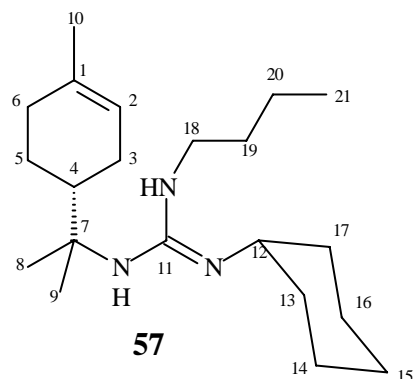
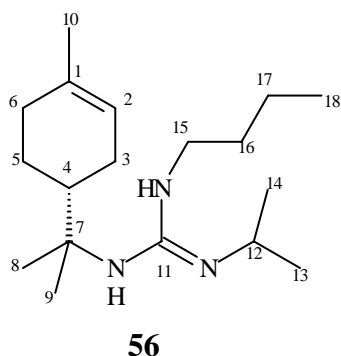


Tabela 17: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade*, *J* em Hz, CDCl_3) para os produtos (**56**) e (**57**).

C/H	Composto 56		Composto 57	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,4 (C_0)	-	134,6 (C_0)
2	5,36 (<i>s</i>)	119,5 (CH)	5,36 (<i>s</i>)	119,5 (CH)
3	1,84; 2,03 (<i>m</i>)	26,7 (CH_2)	1,84 (<i>m</i>)	26,8 (CH_2)
4	1,79 (<i>m</i>)	43,7 (CH)	2,03 (<i>m</i>)	44,0 (CH)
5	1,35; 1,79 (<i>m</i>)	24,4 (CH_2)	1,84 (<i>m</i>)	24,5 (CH_2)
6	2,03 (<i>m</i>)	30,8 (CH_2)	1,75 (<i>m</i>)	30,9 (CH_2)
7	-	58,9 (C_0)	-	59,1 (C_0)
8	1,42 (<i>s</i>)	25,7 (CH_3)	1,43 (<i>s</i>)	25,8 (CH_3)
9	1,46 (<i>s</i>)	25,9 (CH_3)	1,46 (<i>s</i>)	26,2 (CH_3)
10	1,66 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)	1,66 (<i>s</i>)	23,4 (CH_3)
11	-	154,7 (C_0)	-	154,6 (C_0)
12	4,13 (<i>m</i>)	46,4 (CH)	3,79 (<i>m</i>)	53,1 (CH)
13	1,34 (<i>d</i> ; 6,3)	23,0 (CH_3)	2,03 (<i>m</i>)	33,4 (CH_2)
14	1,35 (<i>d</i> ; 6,6)	23,0 (CH_3)	1,68 (<i>m</i>)	24,8 (CH_2)
15	3,42 (<i>pq</i> ; 6,6)	43,6 (CH_2)	1,68 (<i>m</i>)	25,1 (CH_2)
16	1,69 (<i>m</i>)	31,3 (CH_2)	1,68 (<i>m</i>)	24,8 (CH_2)
17	1,40 (<i>m</i>)	20,0 (CH_2)	2,03 (<i>m</i>)	33,3 (CH_2)
18	0,96 (<i>t</i> ; 7,2)	13,8 (CH_3)	3,43 (<i>dd</i> ; 6,7)	43,7 (CH_2)
19	-	-	2,03 (<i>m</i>)	31,4 (CH_2)
20	-	-	1,40 (<i>m</i>)	20,2 (CH_2)
21	-	-	0,96 (<i>t</i> ; 7,2)	13,9 (CH_3)

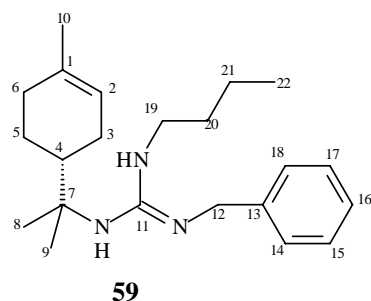
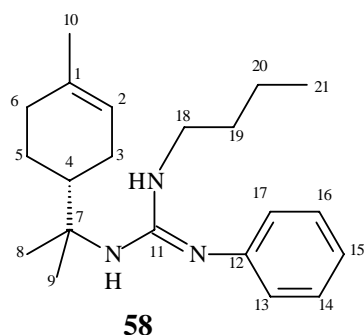


Tabela 18: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade, J* em Hz, CDCl_3) para os produtos (**58**) e (**59**).

Composto 58			Composto 59	
C/H	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,5 (C_0)	-	134,4 (C_0)
2	5,34 (<i>sl</i>)	119,4 (CH)	5,24 (<i>sl</i>)	119,4 (CH)
3	1,83; 2,05 (<i>m</i>)	26,7 (CH_2)	1,55 (<i>m</i>)	26,3 (CH_2)
4	1,88; 1,99 (<i>m</i>)	43,7 (CH)	1,64 (<i>m</i>)	43,4 (CH)
5	1,27; 1,83 (<i>m</i>)	24,4 (CH_2)	1,40 (<i>m</i>)	23,9 (CH_2)
6	1,56 (<i>t</i> ; 7,3)	30,8 (CH_2)	1,89 (<i>m</i>)	30,8 (CH_2)
7	-	60,0 (C_0)	-	58,7 (C_0)
8	1,45 (<i>s</i>)	25,2 (CH_3)	1,27 (<i>s</i>)	25,4 (CH_3)
9	1,49 (<i>s</i>)	26,0 (CH_3)	1,32 (<i>s</i>)	25,7 (CH_3)
10	1,64 (<i>s</i>)	23,4 (CH_3)	1,62 (<i>s</i>)	23,3 (CH_3)
11	-	154,8 (C_0)	-	154,2 (C_0)
12	-	135,8 (C_0)	4,69 (<i>s</i>)	45,9 (CH_2)
13	7,25 (<i>dd</i> ; 7,3; 4,2)	123,5 (CH)	-	135,9 (C_0)
14	7,40 (<i>t</i> ; 7,8)	130,1 (CH)	7,45 (<i>dd</i> ; 7,8; 1,5)	127,9 (CH)
15	7,26 (<i>m</i>)	126,9 (CH)	7,34 (<i>t</i> ; 7,5)	129,4 (CH)
16	7,40 (<i>t</i> ; 7,8)	130,1 (CH)	7,35 (<i>q</i> ; 8,1)	128,7 (CH)
17	7,25 (<i>dd</i> ; 7,3; 4,2)	123,5 (CH)	7,34 (<i>t</i> ; 7,5)	129,4 (CH)
18	3,12 (<i>m</i>)	44,6 (CH_2)	7,45 (<i>dd</i> ; 7,8; 1,5)	127,9 (CH)
19	1,56 (<i>t</i> ; 7,3)	31,2 (CH_2)	3,61 (<i>q</i> ; 6,3)	43,7 (CH_2)
20	1,24 (<i>m</i>)	20,0 (CH_2)	1,59 (<i>m</i>)	31,3 (CH_2)
21	0,83 (<i>t</i> ; 7,3)	13,8 (CH_3)	1,64 (<i>m</i>)	20,1 (CH_2)
22	-	-	0,93 (<i>t</i> ; 7,3)	13,9 (CH_3)

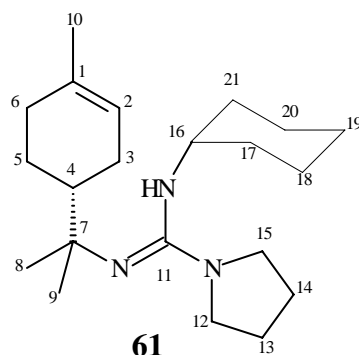
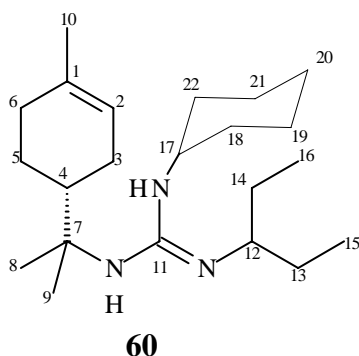


Tabela 19: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,5 MHz, *multiplicidade, J* em Hz, CDCl_3) para os produtos (**60**) e (**61**).

Composto 60			Composto 61	
C/H	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	134,6 (C ₀)	-	134,4 (C ₀)
2	5,37 (<i>sl</i>)	119,5 (CH)	5,37 (<i>sl</i>)	119,8 (CH)
3	1,90 (<i>m</i>)	26,3 (CH ₂)	2,00 (<i>m</i>)	27,1 (CH ₂)
4	1,78 (<i>m</i>)	44,3 (CH)	2,05 (<i>m</i>)	44,1 (CH)
5	1,80 (<i>m</i>)	24,6 (CH ₂)	2,05 (<i>m</i>)	25,5 (CH ₂)
6	2,03 (<i>m</i>)	30,9 (CH ₂)	2,02 (<i>m</i>)	31,1 (CH ₂)
7	-	59,0 (C ₀)	-	59,9 (C ₀)
8	1,42 (<i>s</i>)	25,7 (CH ₃)	1,45 (<i>s</i>)	26,0 (CH ₃)
9	1,43 (<i>s</i>)	26,2 (CH ₃)	1,47 (<i>s</i>)	26,5 (CH ₃)
10	1,66 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)	1,65 (<i>s</i>)	23,4 (CH ₃)
11	-	156,2 (C ₀)	-	154,4 (C ₀)
12	3,48 (<i>m</i>)	59,1 (CH)	3,71 (<i>m</i>)	50,9 (CH ₂)
13	1,74 (<i>m</i>)	27,7 (CH ₂)	1,34; 1,74 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)
14	1,74 (<i>m</i>)	27,7 (CH ₂)	1,34; 1,74 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)
15	0,99 (<i>t</i> ; 7,2)	10,9(CH ₃)	3,71 (<i>m</i>)	50,9 (CH ₂)
16	0,99 (<i>t</i> ; 7,2)	10,9(CH ₃)	3,42 (<i>m</i>)	53,8 (CH)
17	3,18 (<i>m</i>)	54,2 (C ₀)	1,55; 1,92 (<i>m</i>)	33,3 (CH ₂)
18	1,46; 2,00 (<i>m</i>)	33,6 (CH ₂)	1,34; 1,74 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)
19	1,34; 1,72 (<i>m</i>)	25,0 (CH ₂)	1,82 (<i>m</i>)	24,6 (CH ₃)
20	1,34; 1,72 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)	1,34; 1,74 (<i>m</i>)	25,1 (CH ₂)
21	1,34; 1,72 (<i>m</i>)	25,0 (CH ₂)	1,55; 1,92 (<i>m</i>)	33,3 (CH ₂)
22	1,46; 2,00 (<i>m</i>)	33,6 (CH ₂)	-	-

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)