



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SÍNTESE, ESTUDOS CONFORMACIONAIS E AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE BIOLÓGICA FRENTE *TRYPANOSOMA CRUZI* E
***ARTEMIA SALINA* DE TETRAIDRO- β -CARBOLINAS-3-**
CARBOMETÓXI E 3-AMIDO-1-BENZOSSUBSTITUÍDAS

Mestranda: LILIAN TATIANI DÜSMAN
Orientadora: PROFA. DRA. MARIA HELENA SARRAGIOTTO

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

*Dedico este trabalho ao meu noivo Roberto
pelo amor, carinho, compreensão e incentivo.*

*A minha família, meu pai Osmar,
minha mãe Maria Bernadete
e a minha irmã Elisângela,
por estarem sempre carinhosamente ao meu lado,
me apoiando e me aconselhando.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida.

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

À CAPES pela bolsa de estudo.

Ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá, pela disponibilidade de concretização deste trabalho.

Ao prof. Dr. Ernani e ao Cleverson pela grande colaboração nos cálculos computacionais e pela amizade.

À minha amiga Florângela, pela companheirismo, amor e força em todos os momentos da minha vida.

À Anelise e ao Fred, pela amizade, alegria e companheirismo.

A Luciane pelo apoio, ajuda e carinho.

À profa. Dra Cleuza e ao prof. Dr. Willian, pela amizade e valiosa contribuição durante o curso.

Ao Anderson, Isis, Tereza e Conceição meus eternos amigos, pela alegria e ótimos conselhos.

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

A Ana pelos espectros de massas e IV.

Ao Moacir e Frimel pela colaboração.

A Bárbara e a Gisele pela amizade e disposição em sempre ajudar.

Ao pessoal do laboratório pelo carinho e amizade.

SUMÁRIO

RESUMO.....	I
ESTRUTURAS DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS.....	III
ABSTRACT.....	VII
ÍNDICE DE TABELAS.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
ÍNDICE DE ESPECTROS.....	XII
Espectros de Infravermelho.....	XII
Espectros de Massas.....	XII
Espectros de RMN de Hidrogênio.....	XIII
Espectros de RMN de Carbono-13.....	XIV
Espectros de COSY.....	XV
Espectros de NOESY.....	XVI
LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS.....	XVII
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Importância de alcalóides β -carbolínicos e tetraidro- β -carbolínicos..	2
1.2. Cálculos computacionais.....	8
1.3. Atividades biológicas.....	10
1.3.1. Testes de toxicidade frente a <i>Artemia salina</i>	10
1.3.2. Testes de atividade biológica frente <i>Trypanosoma cruzi</i>	11
2. OBJETIVOS.....	15
3. PRINCIPAIS MÉTODOS UTILIZADOS NA SÍNTESE DE β-CARBOLINAS E TETRAIDRO-β-CARBOLINAS	16

3.1. Condensação de Pictet-Spengler.....	16
3.2. Reação de Mannich viníloga.....	18
3.3. Condensação de Bischler-Napieralski.....	19
3.4. Eletrociclicização de intermediários do tipo azatrieno.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1. Preparação e caracterização dos derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-carbometóxi-1-benzossustituídos.....	21
4.2. Preparação e caracterização dos derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos.....	39
4.3. Estudos conformacionais a partir de cálculos computacionais para os derivados tetraidro- β -carbolínicos (37a) e (37b)	52
4.4. Ensaio biológicos.....	60
4.4.1. Avaliação da toxicidade dos compostos sintetizados frente a <i>Artemia salina</i>	60
4.4.2. Avaliação da atividade tripanomissida.....	61
4.4.2.1. Teste de inibição das formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i>	61
4.4.2.2. Inibição da enzima GAPDH glicossomal de <i>T. cruzi</i> ..	63
5. PARTE EXPERIMENTAL.....	64
5.1 Instrumentação e material cromatográfico.....	64
5.2. Solventes e reagentes.....	65
5.3. Síntese do triptofano metil éster (16)	65
5.4. Procedimento geral para síntese das tetraidro- β -carbolinas-3-carbometóxi-1-benzossustituídas (34a-40a) e (34b-40b)	66

5.5. Síntese da tetraidro- β -carbolina (42).....	67
5.6. Procedimento geral para síntese das tetraidro- β -carbolinas-3- amido-1-benzossustituídas (43 - 48) e (49a+49b - 56a+56b).....	67
5.7. Bioensaio de letalidade da <i>Artemia salina</i>	68
5.8. Atividade biológica em <i>Trypanosoma cruzi</i>	68
5.8.1. Inibição das formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i>	68
5.8.2. Inibição da enzima gliceraldeído-3-fosfato- desidrogenase glicossomal de <i>T. cruzi</i>	69
6. CONCLUSÕES.....	71
7. BIBLIOGRAFIA.....	74
ANEXOS	

RESUMO

Palavras-chave: tetraidro- β -carbolinas, estudo conformacional, atividade tripanossomicida

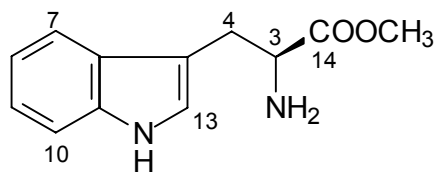
Alcalóides β -carbolínicos e tetraidro- β -carbolínicos naturais e sintéticos têm sido alvo de vários estudos químicos e biológicos. Devido a gama de propriedades farmacológicas, a potencialidade de compostos tetraidro- β -carbolínicos, principalmente como agentes tripanossomicidas e à importância da busca de novos agentes terapêuticos no combate desta doença, realizamos neste trabalho a preparação de uma série de derivados contendo o núcleo tetraidro- β -carbolínico e avaliamos a atividade destes frente às formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* e frente à enzima GAPDH glicosomal de *T. cruzi*. Foram realizados também ensaios de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*.

Os derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-carbometóxi-1-benzossustituídos foram preparados pela reação de condensação de Pictet-Spengler, catalisada por ácido, do L-triptofano esterificado (**16**) com uma série de aldeídos. Para cada uma das reações foi obtida a mistura dos isômeros *cis* (1S, 3S) (**34a-40a**) e *trans* (1R, 3S) (**34b-40b**). A reação destes compostos, na forma pura ou como mistura de isômeros *cis/trans*, com as aminas butilamina, isopropilamina, cicloexilamina e pirrolidina forneceu os derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos (**43-48**) e (**49a+49b** a **56a+56b**). Além dos derivados esperados foram obtidos também as β -carbolinas **41**, **57**, **58**, **59** e **60** resultantes da aromatização do anel piperidínico.

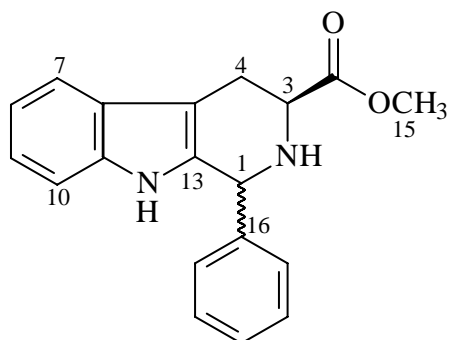
As estruturas dos compostos sintetizados foram confirmadas com base na análise dos dados espectrais de IV, EM e RMN ^1H e $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ e de técnicas bidimensionais de RMN (COSY, HMQC e NOESY).

Constitui-se parte do nosso trabalho ainda, o estudo conformacional dos compostos **(37a)** e **(37b)** através de cálculos computacionais. As estruturas foram otimizadas utilizando a teoria do funcional de densidade (TFD), e o nível de teoria empregado foi o B3LYP/6-311+G(d). Os cálculos foram realizados através do programa Gaussian 98. As análises de NBO foram feitas utilizando o nível de teoria HF/6-31G.

ESTRUTURAS DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

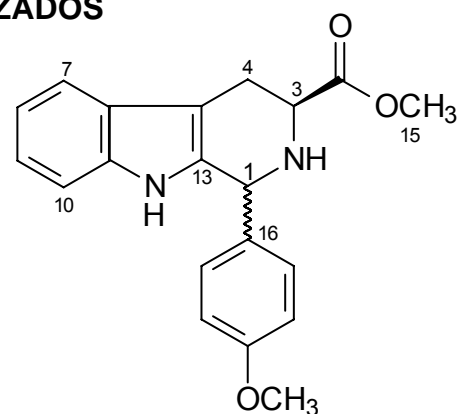


(16)



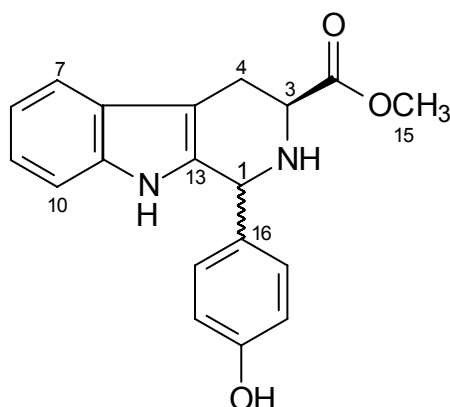
(34a) H1- α

(34b) H1- β



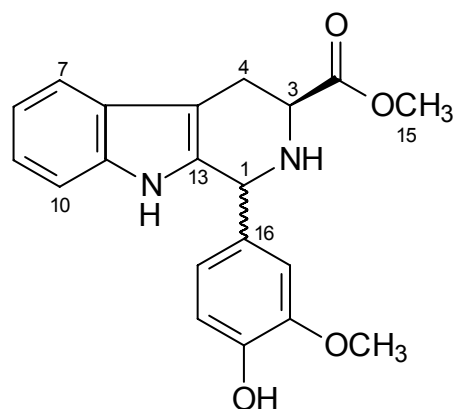
(35a) H1- α

(35b) H1- β



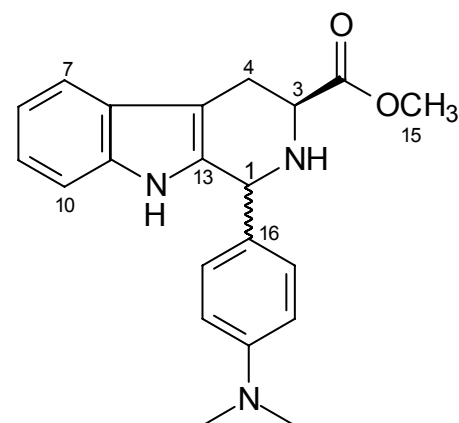
(36a) H1- α

(36b) H1- β



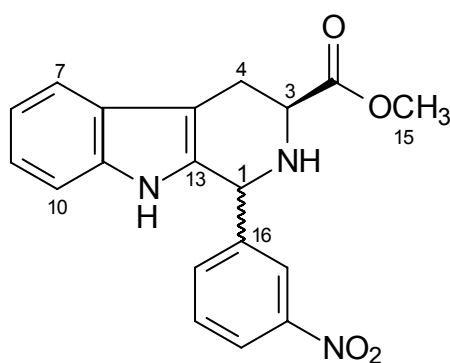
(37a) H1- α

(37b) H1- β



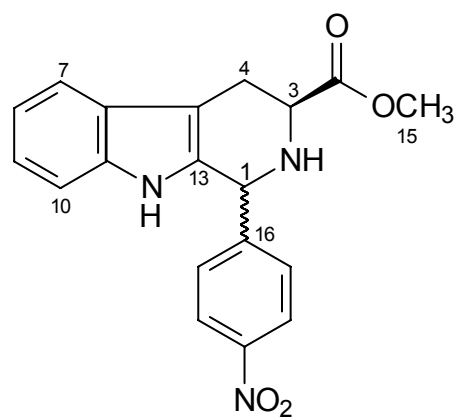
(38a) H1- α

(38b) H1- β



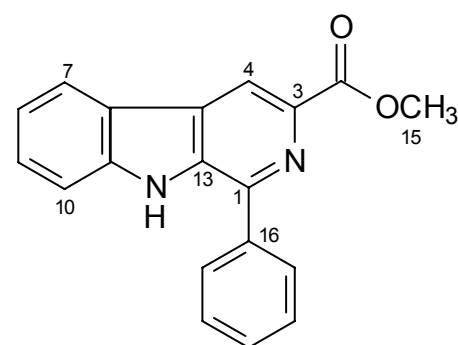
(39a) H1- α

(39b) H1- β

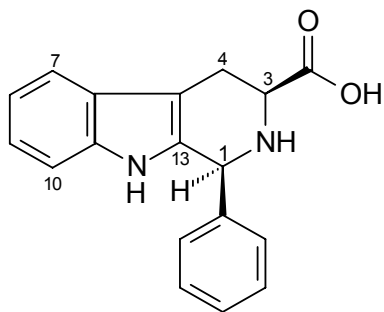


(40a) H1- α

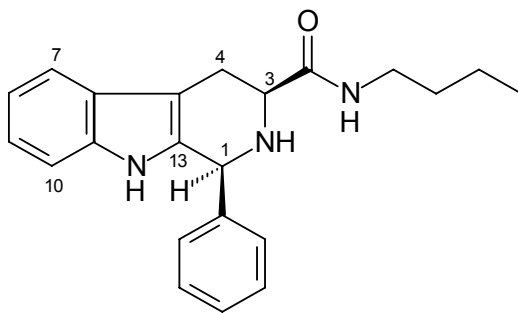
(40b) H1- β



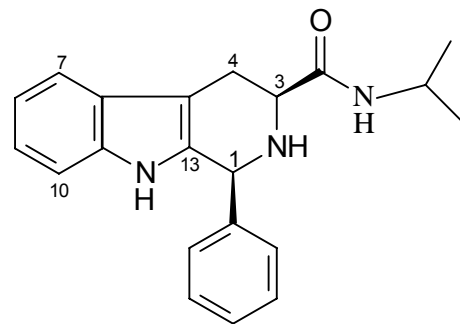
(41)



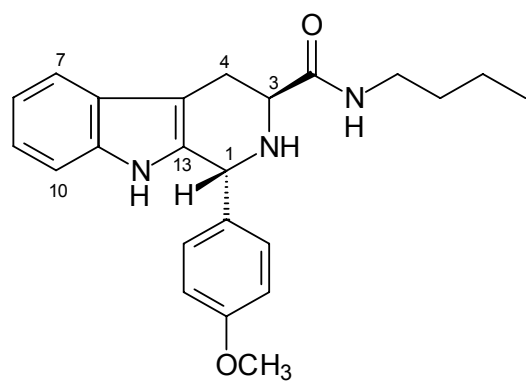
(42)



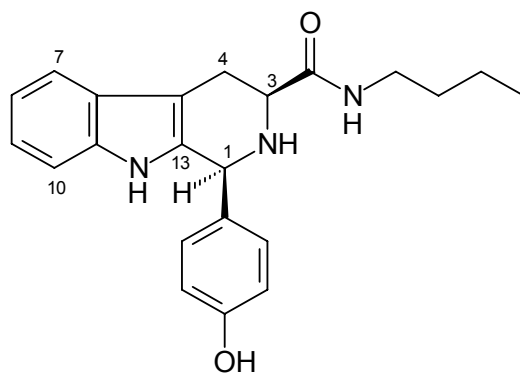
(43)



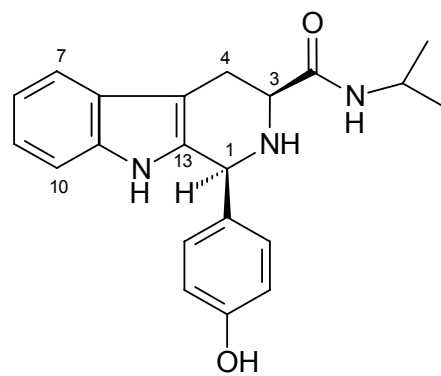
(44)



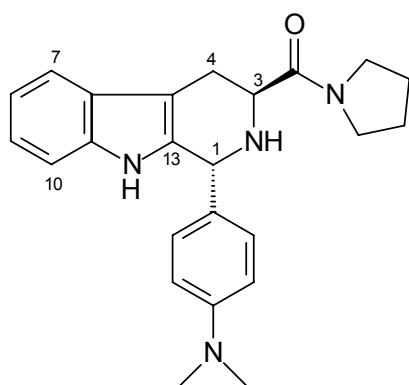
(45)



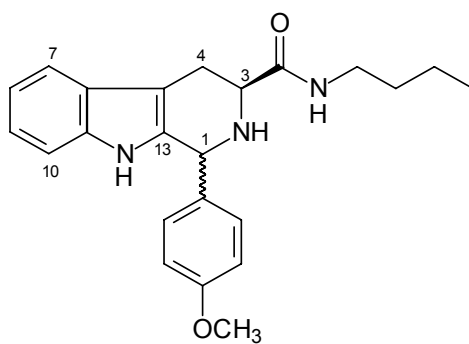
(46)



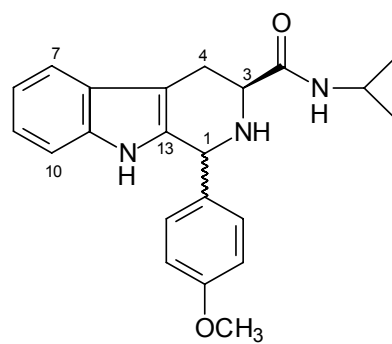
(47)



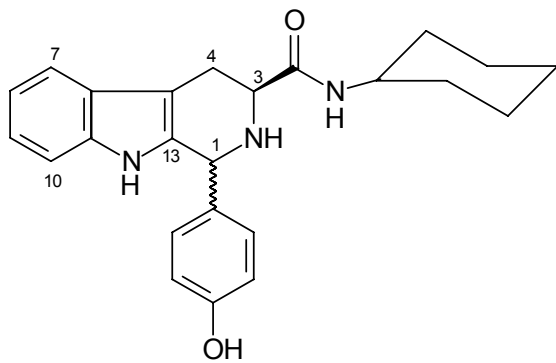
(48)



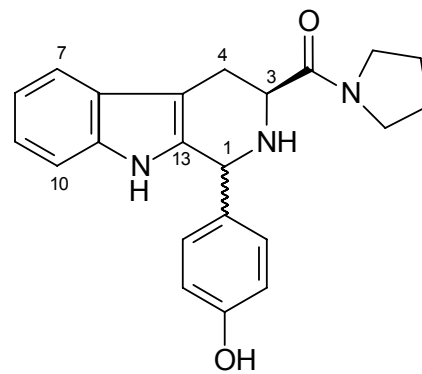
(49a+49b)



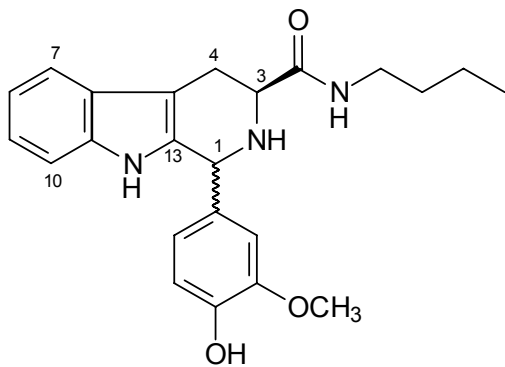
(50a+50b)



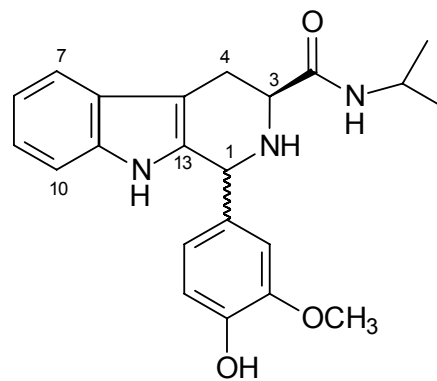
(51a+51b)



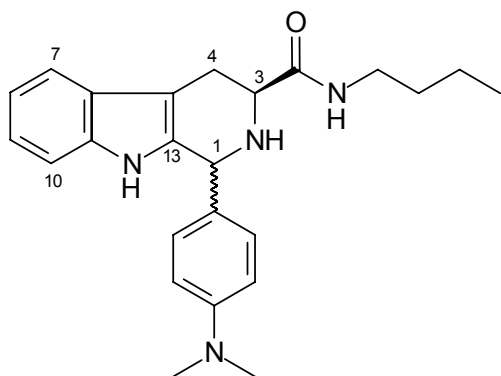
(52a+52b)



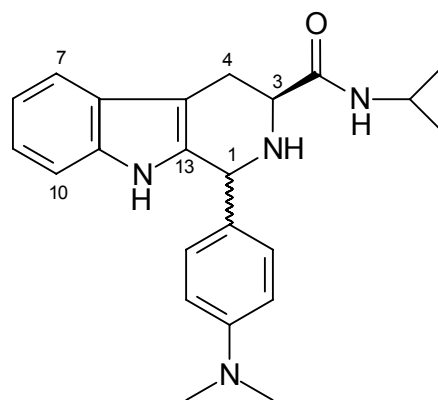
(53a+53b)



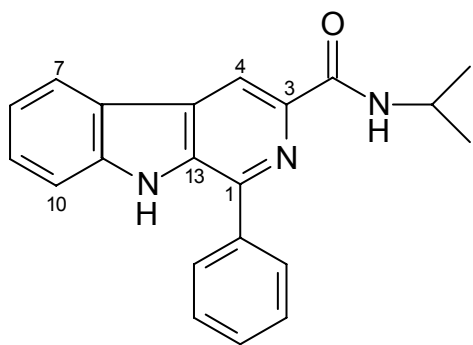
(54a+54b)



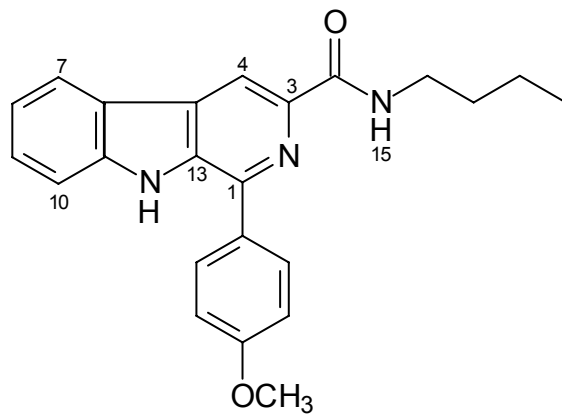
(55a+55b)



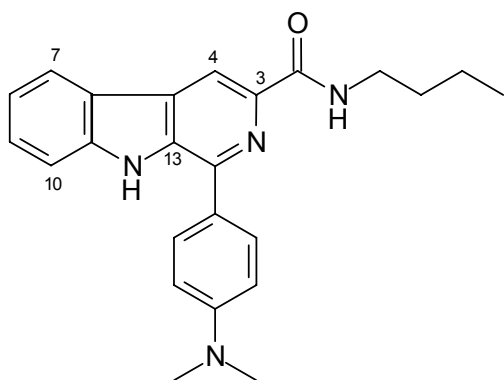
(56a+56b)



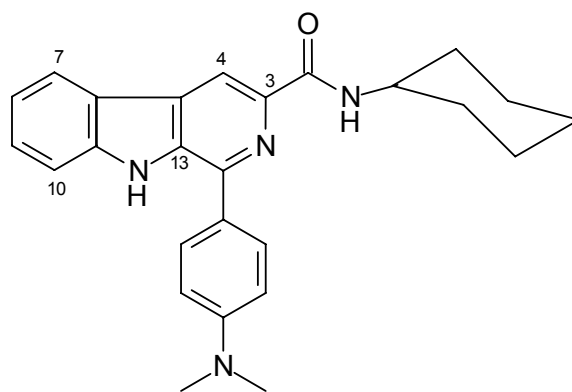
(57)



(58)



(59)



(60)

ABSTRACT

Keywords: *tetrahydro- β -carbolinic derivatives, conformational analysis, trypanocidal activity*

Natural and synthetic β -carbolinic and tetrahydro- β -carbolinic alkaloids have been object of several chemical and biological studies due to their large spectrum of pharmacological proprieties. The importance of this class of compounds and, specifically its tripanocidal activity, led us to synthesize a series of tetrahydro- β -carbolinic derivatives and to evaluate their activity against the epimastigote forms of *Trypanosona cruzi* and against the enzyme GAPDH of *T. cruzi*. Additionally, the toxicity against *Artemia salina* was tested.

The tetrahydro- β -carbolinic 3-carbomethoxy-1-benzosubstituted derivatives were prepared by the condensation of Pictet-Splenger, under acid catalysis, of the L-tryptophan methyl ester (**16**) with a series of aldehydes to afford a mixture of isomers *cis* (1R, 3S) (**47a-40a**) and *trans* (1R, 3S) (**34b-40b**). The reaction of these compounds, in the pure form or as mixture of isomers, with the amines butylamine, *i*-propylamine, cyclohexylamine and pyrrolidine produced the tetrahydro- β -carbolinic 3-amide-1-benzosubstituted derivatives (**43-48**) and (**49a+49b to 56a+56b**). Some unexpected products from aromatization (**41**, **57**, **58**, **59** and **60**) were also observed. The synthesized compounds structure were confirmed on the basis of their spectral data (IR, MS, ^1H and ^{13}C NMR, COSY and HMQC).

In order to explain some aspects related to the NMR data from *cis* and *trans* isomers conformational studies by computational methods were carried out. The structures were optimized using density functional theory. The B3LYP hybrid functional was used in this investigation. The 6-311+G(d) basis set was used in these calculations. The natural bond orbital (NBO) calculation was performed using HF/6-31G level of theory.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para (16).....	23
Tabela 02: Tempo, razão diastereoisomérica e rendimentos para as reações de obtenção das tetraidro- β -carbolinas (34a-40a) e (34b-40).....	24
Tabela 03: Valores de m/e para o íon molecular e fragmento F_1 para (34a-40a).....	27
Tabela 04: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para (34a) e (34b).....	28
Tabela 05: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para (35a) e (35b).....	29
Tabela 06: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) para (36a) e (36b).....	30
Tabela 07: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz) para (37a) (CDCl_3) e (37b) ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$).....	31
Tabela 08: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para (38a) e (38b).....	32
Tabela 09: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para (39a) e (39b).....	33
Tabela 10: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para (40a) e (40b).....	34
Tabela 11: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para (41).....	36
Tabela 12: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, DMSO-d_6) para (42).....	38
Tabela 13: Derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos.....	40
Tabela 14: Valores de m/e para o íon molecular e fragmento F_1 para 43-48	41
Tabela 15: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para 43 e 44.....	43
Tabela 16: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para 45....	44
Tabela 17: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para 46 e	

47	45
Tabela 18: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (300,06/75,45 MHz, CDCl ₃) para 48	46
Tabela 19: Derivados β-carbolínicos-3-amido-1-benzossustituído.....	48
Tabela 20: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (300,06/75,45 MHz, CDCl ₃) para 57	49
Tabela 21: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (300,06/75,45 MHz, CDCl ₃) para 58 e 59	50
Tabela 22: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (300,06/75,45 MHz, CDCl ₃) para 60	51
Tabela 23: Dados de RMN de ¹ H de H-1, H-3, H-4β e H-4α e RMN ¹³ C de C-1, C-3 e C-4 (300,06/75,45 MHz, CDCl ₃) para 34a-40a e 34b-40b	52
Tabela 24: Valores das cargas de Mülliken para os confômeros mais estáveis dos isômeros <i>cis</i> (37a) e <i>trans</i> (37b).....	56
Tabela 25: Energias de interação entre orbitais pelo método NBO para o confômero mais estável A	57
Tabela 26: Energias de interação entre orbitais pelo método NBO para o confômero mais estável C	58
Tabela 27: Dados da IC ₅₀ e da porcentagem de inibição da <i>Artemia salina</i> tratada com os compostos sintetizados.....	60
Tabela 28: Dados de IC ₅₀ obtidos para as tetraidro-β-carbolinas no teste de inibição das formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i>	62
Tabela 29: Porcentagem de inibição da enzima g-GAPDH de <i>T. cruzi</i>	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Artemia salina</i> na fase adulta.....	10
Figura 2: Formas amastigotas de <i>T. cruzi</i> circulantes no sangue, geralmente com aspecto das letras "S" ou "C".....	12
Figura 3: <i>T. cruzi</i> - forma sanguínea tripomastigota , medem de 20x2 mm...	12
Figura 4: <i>T. cruzi</i> - forma epimastigota.....	13
Figura 5: Conformações dos isômeros <i>cis</i> e <i>trans</i> obtidas por modelo molecular.....	53
Figura 6: Conformações otimizadas (B3LYP/6-311G+d) para o isômero <i>trans</i>	55
Figura 7: Conformações otimizadas (B3LYP/6-311G+d) para o isômero <i>cis</i> ..	55
Figura 8: Representação esquemática das interações hiperconjugativas para os isômeros <i>trans</i> (a) e <i>cis</i> (b)	59

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectros de Infravermelho

EIV-1: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (16)	81
EIV-2: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (34a)	86
EIV-3: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (35a)	94
EIV-4: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (36a)	101
EIV-5: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (37a)	111
EIV-6: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (38a)	121
EIV-7: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (39a)	131
EIV-8: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (40a)	141
EIV-9: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (43)	154
EIV-10: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (44)	160
EIV-11: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (45)	166
EIV-12: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (46)	172
EIV-13: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (47)	178
EIV-14: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (48)	184
EIV-15: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (57)	205
EIV-16: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (58)	208
EIV-17: Espectro de IV (pastilha de KBr) de (59)	211

Espectros de Massas

EM-1: Espectro de massas (70 eV) de (16)	82
EM-2: Espectro de massas (70 eV) de (34a)	87
EM-3: Espectro de massas (70 eV) de (35a)	95
EM-4: Espectro de massas (70 eV) de (36a)	102
EM-5: Espectro de massas (70 eV) de (37a)	112
EM-6: Espectro de massas (70 eV) de (38a)	122
EM-7: Espectro de massas (70 eV) de (39a)	132
EM-8: Espectro de massas (70 eV) de (40a)	142
EM-9: Espectro de massas (70 eV) de (43)	155

EM-10: Espectro de massas (70 eV) de (44)	161
EM-11: Espectro de massas (70 eV) de (45)	167
EM-12: Espectro de massas (70 eV) de (46)	173
EM-13: Espectro de massas (70 eV) de (47)	179
EM-14: Espectro de massas (70 eV) de (48)	185

Espectros de RMN de Hidrogênio

ER ¹H-1: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (16) em CDCl ₃	83
ER ¹H-2: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (34a) em CDCl ₃	88
ER ¹H-3: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (34b) em CDCl ₃	92
ER ¹H-4: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (35a) em CDCl ₃	96
ER ¹H-5: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (35b) em CDCl ₃	98
ER ¹H-6: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (36a) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.....	103
ER ¹H-7: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (36b) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.....	107
ER ¹H-8: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (37a) em CDCl ₃	113
ER ¹H-9: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (37b) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.....	117
ER ¹H-10: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (38a) em CDCl ₃	123
ER ¹H-11: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (38b) em CDCl ₃	127
ER ¹H-12: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (39a) em CDCl ₃	133
ER ¹H-13: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (39b) em CDCl ₃	137
ER ¹H-14: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (40a) em CDCl ₃	143
ER ¹H-15: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (40b) em CDCl ₃	146
ER ¹H-16: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (41) em CDCl ₃	149
ER ¹H-17: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (42) em DMSO-d ₆	151
ER ¹H-18: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (43) em CDCl ₃	156
ER ¹H-19: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (44) em CDCl ₃	162
ER ¹H-20: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (45) em CDCl ₃	168
ER ¹H-21: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (46) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.....	174
ER ¹H-22: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (47) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.....	180
ER ¹H-23: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (48) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.....	186
ER ¹H-24: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (49a+49b) em CDCl ₃	189

ER ¹ H-25: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (50a+50b) em CDCl ₃	191
ER ¹ H-26: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (51a+51b) em DMSO-d ₆	193
ER ¹ H-27: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (52a+52b) em CDCl ₃	195
ER ¹ H-28: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (53a+53b) em CDCl ₃	197
ER ¹ H-29: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (54a+54b) em CDCl ₃	199
ER ¹ H-30: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (55a+55b) em CDCl ₃	201
ER ¹ H-31: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (56a+56b) em CDCl ₃	203
ER ¹ H-32: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (57) em CDCl ₃	206
ER ¹ H-33: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (58) em CDCl ₃	209
ER ¹ H-34: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (59) em CDCl ₃	212
ER ¹ H-35: Espectro de RMN ¹ H (300,06 MHz) de (60) em CDCl ₃	214

Espectros de RMN de Carbono-13

ER ¹³ C-1: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (16) em CDCl ₃	84
ER ¹³ C-2: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (34a) em CDCl ₃	89
ER ¹³ C-3: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (34b) em CDCl ₃	93
ER ¹³ C-4: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (35a) em CDCl ₃	97
ER ¹³ C-5: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (35b) em CDCl ₃	99
ER ¹³ C-6: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (36a) em CDCl ₃ /CD ₃ OD	104
ER ¹³ C-7: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (36b) em CDCl ₃ /CD ₃ OD	108
ER ¹³ C-8: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (37a) em CDCl ₃	114
ER ¹³ C-9: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (37b) em CDCl ₃ /CD ₃ OD	118
ER ¹³ C-10: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (38a) em CDCl ₃	124
ER ¹³ C-11: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (38b) em CDCl ₃	128
ER ¹³ C-12: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (39a) em CDCl ₃	134
ER ¹³ C-13: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (39b) em CDCl ₃	138
ER ¹³ C-14: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (40a) em CDCl ₃	144
ER ¹³ C-15: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (40b) em CDCl ₃	147
ER ¹³ C-16: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (41) em CDCl ₃	150
ER ¹³ C-17: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (42) em DMSO-d ₆	152
ER ¹³ C-18: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (43) em CDCl ₃	157

ER ¹³ C-19: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (44) em CDCl ₃	163
ER ¹³ C-20: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (45) em CDCl ₃	169
ER ¹³ C-21: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (46) em CDCl ₃ /CD ₃ OD	175
ER ¹³ C-22: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (47) em CDCl ₃ /CD ₃ OD	181
ER ¹³ C-23: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (48) em CDCl ₃ /CD ₃ OD	187
ER ¹³ C-24: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (49a+49b) em CDCl ₃ ...	190
ER ¹³ C-25: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (50a+50b) em CDCl ₃ ...	192
ER ¹³ C-26: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (51a+51b) em DMSO- d ₆	194
ER ¹³ C-27: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (52a+52b) em CDCl ₃ ...	196
ER ¹³ C-28: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (53a+53b) em CDCl ₃ ...	198
ER ¹³ C-29: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (54a+54b) em CDCl ₃ ...	200
ER ¹³ C-30: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (55a+55b) em CDCl ₃ ...	202
ER ¹³ C-31: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (56a+56b) em CDCl ₃ ...	204
ER ¹³ C-32: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (57) em CDCl ₃	207
ER ¹³ C-33: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (58) em CDCl ₃	210
ER ¹³ C-34: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (59) em CDCl ₃	213
ER ¹³ C-35: Espectro de RMN ¹³ C/DEPT (75,5 MHz) de (60) em CDCl ₃	215

Mapa de contornos COSY

ER COSY-1: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (16) em CDCl ₃	85
ER COSY-2: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (34a) em CDCl ₃	90
ER COSY-3: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (35b) em CDCl ₃	100
ER COSY-4: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (36a) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.	105
ER COSY-5: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (36b) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.	109
ER COSY-6: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (37a) em CDCl ₃	115
ER COSY-7: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (37b) em CDCl ₃ /CD ₃ OD.	119
ER COSY-8: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (38a) em CDCl ₃	125
ER COSY-9: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (38b) em CDCl ₃	129
ER COSY-10: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (39a) em CDCl ₃	135
ER COSY-11: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (39b) em CDCl ₃	139
ER COSY-12: Mapa de contornos ¹ H x ¹ H - COSY de (40a) em CDCl ₃	145

ER COSY-13: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de (40b) em CDCl_3	148
ER COSY-14: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de (42) em DMSO-d_6	153
ER COSY-15: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de (43) em CDCl_3	158
ER COSY-16: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de (44) em CDCl_3	164
ER COSY-17: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de (45) em CDCl_3	170
ER COSY-18: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de (46) em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.	176
ER COSY-19: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de (47) em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.	182
ER COSY-20: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de (48) em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.	188

Mapa de contornos NOESY

ER NOESY-1: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (34a) em CDCl_3	91
ER NOESY-2: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (36a) em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	106
ER NOESY-3: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (36b) em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	110
ER NOESY-4: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (37a) em CDCl_3	116
ER NOESY-5: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (37b) em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	120
ER NOESY-6: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (38a) em CDCl_3	126
ER NOESY-7: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (38b) em CDCl_3	130
ER NOESY-8: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (39a) em CDCl_3	136
ER NOESY-9: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (39b) em CDCl_3	140
ER NOESY-10: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (43) em CDCl_3	169
ER NOESY-11: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (44) em CDCl_3	165
ER NOESY-12: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (45) em CDCl_3	171
ER NOESY-13: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (46) em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	177
ER NOESY-14: Mapa de contornos $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de (47) em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	183

LISTA DE ABREVIÇÕES E SÍMBOLOS

CCDA	cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
COSY	H-H correlation spectroscopy
<i>d</i>	dubleto
<i>dd</i>	duplo dubleto
<i>ddd</i>	duplo duplo dubleto
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
DL ₅₀	concentração requerida para 50% de morte
EM	espectrometria de massas
HETCOR	heteronuclear correlated spectroscopy
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
Hz	hertz
IC ₅₀	concentração requerida para 50% de inibição
IV	infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento
<i>m</i>	multiplete
M ⁺	íon molecular
<i>m/z</i>	relação massa/carga
MHz	megahertz
NOESY	nuclear overhauser effect spectroscopy
ppm	partes por milhão
RMN	Ressonancia Magnética Nuclear
<i>s</i>	singleto
<i>sl</i>	singleto largo
<i>t</i>	tripleto
<i>td</i>	tripleto de dubleto
TFA	ácido trifluoroacético
δ	deslocamento químico
δ_H	deslocamento químico de hidrogênio
δ_C	deslocamento químico de carbono-13

1. INTRODUÇÃO

Devido a potencialidade terapêutica de compostos β -carbolínicos e tetraidro- β -carbolínicos várias pesquisas têm sido desenvolvidas para a obtenção destes, seja pela síntese ou pelo isolamento a partir de produtos naturais. Muitos dos trabalhos envolvendo síntese situam-se na área de Química Medicinal tendo como enfoque a preparação de derivados contendo diferentes substituintes, principalmente no C-1, e a avaliação de atividade dos compostos obtidos. Das diversas atividades testadas está aquela frente o protozoário *Trypanosoma cruzi* causador da doença de Chagas, que é um dos sérios problemas de saúde pública em países tropicais. Esta doença atinge cerca de 18 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo cerca de 8 milhões no Brasil.

A unidade tetraidro- β -carbolínica faz parte do esqueleto básico de uma imensa gama de alcalóides farmacologicamente ativos, sendo então importante os estudos da estereoquímica e conformação desta classe de compostos. A utilização de cálculos computacionais para estes estudos constitui uma ferramenta importante que fornece, entre outros, parâmetros que auxiliam na interpretação de dados espectroscópicos.

Neste trabalho será abordada a síntese de uma série de derivados contendo o núcleo tetraidro- β -carbolínico, análise conformacional pela utilização de cálculos computacionais e a avaliação da atividade tripanossomicida de derivados 1-benzossustituídos contendo o grupo carbometóxi ou amido no C-3.

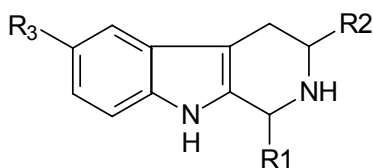
1.1. Importância de alcalóides β-carbolínicos e tetraidro-β-carbolínicos

Alcalóides β-carbolínicos e tetraidro-β-carbolínicos naturais e sintéticos têm sido alvo de vários estudos químicos e biológicos. O interesse biológico por esta classe de compostos deve-se a ocorrência destes, sob condições fisiológicas, em tecidos e fluidos biológicos¹⁻⁶. Tetraidro-β-carbolinas (**1a-c**), por exemplo, foram encontradas em cérebro, urina, plaquetas e em outros tecidos de mamíferos⁷.

Além disto, esta classe de compostos apresenta uma gama de propriedades farmacológicas, tais como ansiolítica, hipnótica, anticonvulsante⁸⁻¹⁰, parasiticida¹¹, antiviral¹² e antimicrobiana¹³.

Alcalóides β-carbolínicos têm atraído a atenção dos neuroquímicos que tem especulado o suposto papel destes no sistema nervoso central, onde funcionariam como neuromoduladores. Tais compostos são ainda potentes inibidores das enzimas topoisomerase e monoaminoxidase (MAO) e interagem com sistemas neurotransmissores, tais como receptores benzodiazepínicos, ácido γ-aminobutírico (GABA) e serotonina^{1, 14-17}.

Além da ocorrência em sistemas biológicos, tetraidro-β-carbolinas e β-carbolinas têm sido encontradas também em alimentos, como carne defumada, pão, queijo, iogurte e bebidas alcoólicas, como cerveja, vinho e destilados¹⁸.



1a R₁ = H R₂ = H R₃ = H

1b R₁ = H R₂ = H R₃ = OH

1c R₁ = H R₂ = H R₃ = OCH₃

2a R₁ = CH₃ R₂ = H R₃ = OH

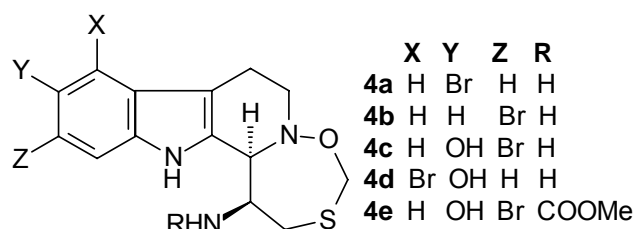
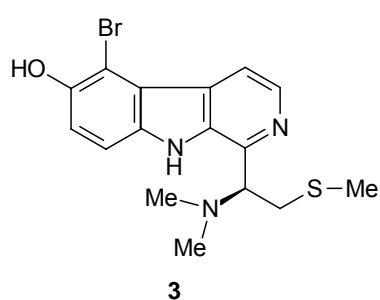
2b R₁ = H R₂ = COOH R₃ = H

2c R₁ = CH₃ R₂ = COOH R₃ = H

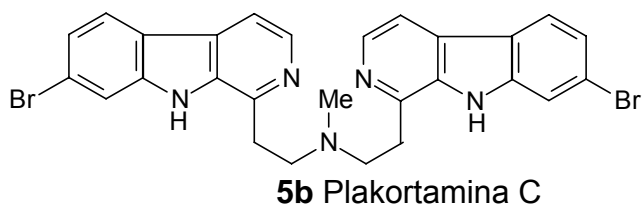
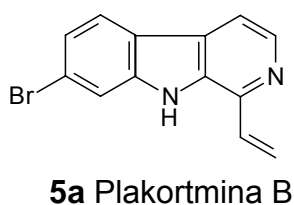
2d R₁ = CH₃ R₂ = H R₃ = H

Herraiz e Galisteo¹⁹ reportaram a presença de compostos tetraidro- β -carbolínicos (**2a-d**) em frutas e seus sucos. Estes compostos ocorrem em baixas concentrações e apareceram nos frutos e sucos de tomate, kiwi, banana, abacaxi. Em outros ensaios, atividades antioxidantes mais forte que a do ácido ascórbico, foram verificadas para estes alcalóides sugerindo que podem agir como antioxidantes quando absorvidos e acumulados no corpo.

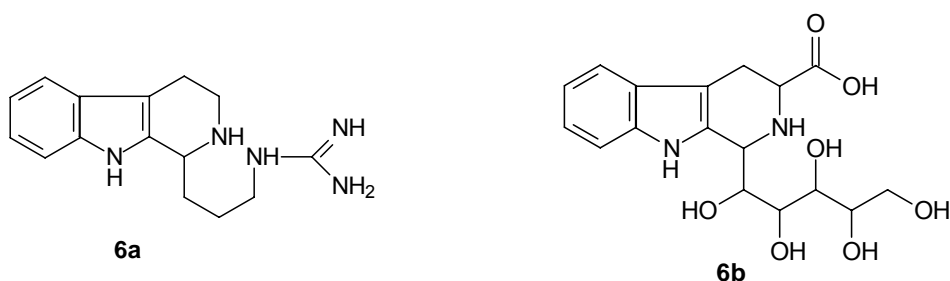
Outras fontes de alcalóides tetraidro- β -carbolínicos e β -carbolínicos incluem produtos naturais marinhos e terrestres. Do organismo marinho *Eudistoma gilboverde* (Polycitoridae) foram isolados vários alcalóides β -carbolínicos, dentre eles o 14-metileudistomidina C (**3**) que exibe potente atividade citotóxica, com IC₅₀ menor que 1,0 μ g/mL, frente às linhas de células tumorais humanas LOX (melanoma), OVCAR-3 (ovário), COLO-205 (côlon) e MOLT-4 (leucemia)²⁰. Uma série de potentes compostos antivirais, as eudistominas L, K, C, E, F (**4a-e**), foram isoladas da espécie *Eudistoma olivaceum*^{21, 22}.



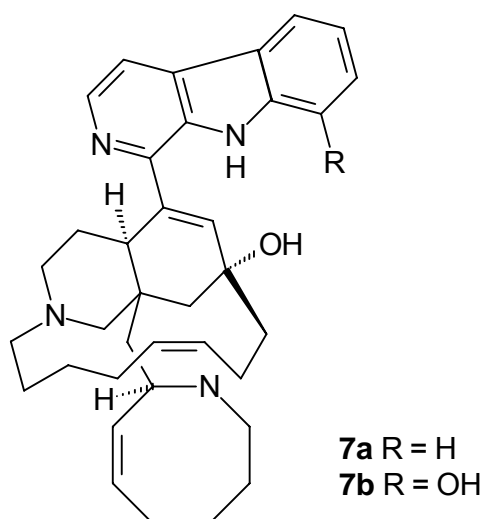
Os compostos (**5a**) e (**5b**) foram isolados da esponja *Plakortis nigra* e apresentaram atividade citotóxica contra células do cólon humana HCT-116²³.



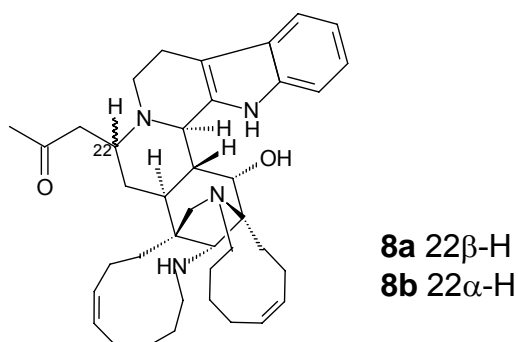
Ireland e col.²⁴ descreveram o isolamento do composto β -carbolínico tripargina (**6a**), também isolada de sapos *Kassina senegalensis*²⁵, e de dois novos derivados deste da espécie *Eudistoma* sp., além da β -carbolina tetraidropentoxilina (**6b**), previamente isolada da urina humana²⁶. A tripargina tem sido reportada como tóxica quando administrada em ratos por via intravenosa (DL₅₀ 16,9mg/Kg)²⁷, e como bloqueadora das correntes de sódio em membranas²⁵.



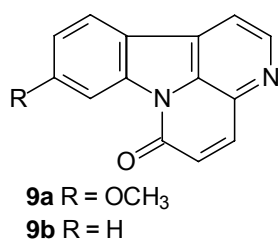
Um outro exemplo importante a ser citado, é a classe das manzaminas, isoladas de vários gêneros marinhos como *Haliclona*, *Pellina*, *Pachypellina*, *Xestospongia*, *Ircinia*, e *Amphimedon*. As manzaminas são potentes agentes anticâncer e, especificamente, a manzamina A (**7a**) e a 8-hidroxi-manzamina A (**7b**) exibem potencial atividade de inibição do parasita da malária, *Plasmodium berghei*, sugerindo que estes podem ser usados como novos agentes antimaláricos²⁸.



Dois novos alcalóides, nomeados manadomanzamina A (**8a**) e B (**8b**), foram isolados da esponja *Acanthostrongylophora* sp.. Estes compostos apresentaram forte atividade frente *Mycobacterium tuberculosis*, agente causador da tuberculose, além disso, exibiram atividade frente ao vírus da imunodeficiência humana (HIV-1)²⁹.



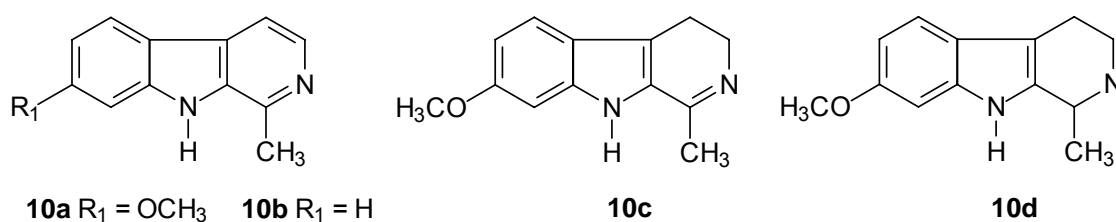
Diversos compostos β -carbolínicos foram isolados das raízes da planta *Eurycoma longifolia*, sendo que os compostos 9-metóxicantin-6-ona (**9a**) e cantin-6-ona (**9b**) demonstraram significativa citotoxicidade frente às linhas de célula humana de câncer de pulmão (A-549) e de câncer de mama (MCF-7)³⁰.



Dentre os alcalóides β -carbolínicos presentes na planta *Banisteriopsis caapi* estão a harmina (**10a**), a harmalina (**10c**) e a tetraidro-harmina (**10d**). A harmalina (**10c**) possui efeitos de vasoconstrição, provavelmente por interagir com sítios de sódio na ATPase (Na/K)³¹, e ainda exerce uma forte atividade antileishmania frente o parasita *Leishmania infantum*³². Alguns compostos β -carbolínicos foram

sintetizados e testados quanto a sua atividade leishmanicida, apresentando-se como drogas efetivas frente ao parasita *Leishmania donovani*^{33, 34}.

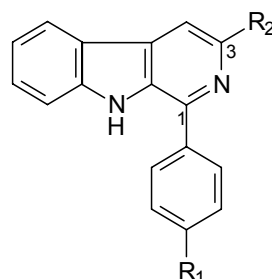
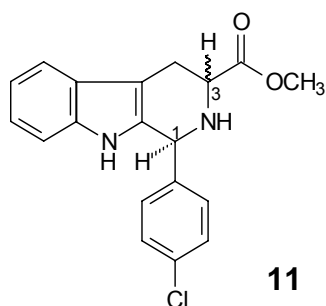
Harmina (**10a**) e alguns de seus análogos apresentam significativa atividade anti-tumoral^{35, 36}. Lee e col.³⁷ isolaram o alcalóide harmana (**10b**) da planta *Symplocos serchuensis* e observaram uma expressiva atividade anti-HIV deste composto.



O uso de *Alstonia angustifolia* na medicina popular para o tratamento da malária e da disenteria amebiana e de *Picrasma javanica* no tratamento da malária, pode ser explicado pela presença de compostos β-carbolínicos nestas plantas, os quais apresentaram atividades *in vitro* frente *Entamoeba histolytica* e *Plasmodium falciparum*^{38, 39}. Ihara e col.⁴⁰ sintetizaram uma série de β-carbolinas e seus correspondentes sais os quais apresentaram uma forte atividade antimalária *in vitro* frente ao parasita *Plasmodium falciparum*.

Uma série de compostos β-carbolínicos e tetraidro-β-carbolínicos foram sintetizados por Chauhan e col.⁴¹ e testados quanto a sua atividade frente a filariose linfática, ou elefantíase, uma doença causada por vermes nematóides (as filárias) que vivem no sistema linfático, causando obstrução do mesmo no tecido conjuntivo e em outras partes do organismo humano. Foi observado que a presença do grupo carbometóxi na posição 3 e substituintes arila na posição 1

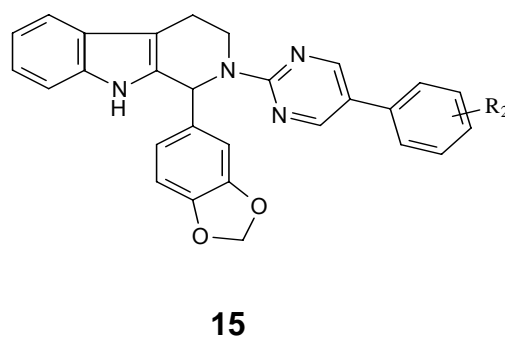
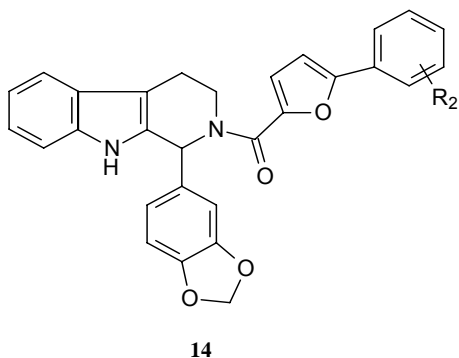
aumentam a atividade antifilarial. Da série testada os compostos **(11)**, **(12)** e **(13)** apresentaram-se mais ativos.



12 R₁ = CH₃ R₂ = COOCH₃
13 R₁ = Cl R₂ = CH₂OH

Peng e col.⁴², sintetizaram compostos contendo a unidade β -carbolina com atividade antitrombótica, e Adams e col.⁴³ sintetizaram compostos com atividade de inibição do IKK (complexo I κ B-quinase, par de enzimas catalíticas), que podem ser usados no tratamento de doenças inflamatórias bem como do câncer. Estudos têm demonstrado que estes alcalóides são potenciais agentes tripanossomicidas contra o protozoário *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas⁴⁴.

Uma série de N²-furoil **(14)** e N²pirimidinil **(15)** β -carbolicas foram sintetizadas por Sui e col.⁴⁵ e exibiram uma potente ação inibitória sobre a atividade enzimática de fosfodiesterase tipo 5 (PDE5). A inibição da PDE5 é importante no tratamento da disfunção erétil, já que esta enzima participa do mecanismo fisiológico para a ereção do pênis.



1.2. Cálculos computacionais

Os fundamentos teóricos para a compreensão do comportamento eletrônico e nuclear em sistemas moleculares e da formação de ligações químicas foram estabelecidos nas três primeiras décadas deste século, com o advento da mecânica quântica.

A equação de Schrödinger foi de fundamental importância para fornecer subsídios necessários à investigação de sistemas microscópicos, outrora considerados incógnitas para muitos cientistas.

A química computacional baseia-se justamente na teoria de que, a partir da função de onda ψ é possível obter toda a informação física de um determinado sistema. É utilizada quando um método matemático (MQ) é suficientemente bem desenvolvido, podendo ser automatizado para implementação em um computador. Cálculos computacionais podem fornecer as seguintes informações sobre uma molécula⁴⁶: a geometria mais estável, comprimentos de ligação, ângulos diedros, barreiras de rotação interna sobre uma ligação simples, frequências vibracionais, distribuição eletrônica, potenciais de ionização, afinidades eletrônicas, momentos de dipolo, constantes de acoplamento, entre outras.

Dentre os métodos de cálculos computacionais, está o *ab initio*, o qual é derivado diretamente de princípios teóricos, não incluindo parâmetros experimentais. Um exemplo de método *ab initio* é o chamado Hartree-Fock (HF). Uma das limitações dos cálculos HF é não incluir a correlação eletrônica, levando em conta somente o efeito médio da repulsão eletrônica, onde as funções de onda de cada elétron são independentes.

Outro método de cálculo computacional é o baseado na *Teoria do Funcional de Densidade* (TFD), o qual leva em conta as correlações eletrônicas. Tanto neste método, como no de HF, a energia de uma determinada molécula pode ser obtida da função de onda originária da densidade eletrônica.

A exatidão dos resultados fornecidos pelos cálculos baseados na TFD depende da escolha do conjunto de base e do método do funcional de densidade. O mais utilizado para cálculos moleculares é um funcional híbrido denominado B3LYP.

Na performance de um cálculo, juntamente com o método deve-se utilizar um conjunto de bases⁴⁷. Um conjunto de base é um conjunto de funções utilizadas para representar os orbitais moleculares. Possuem algumas funções definidas (gaussianas) que podem ser combinadas de maneira diferente para representar um orbital.

Para a realização de um determinado cálculo, escolhemos um nível de teoria (método e conjunto de bases) apropriado para um determinado sistema em questão. Geralmente quanto maior o nível de teoria utilizado, maior a exatidão obtida no cálculo; em contrapartida, maior será o tempo de máquina, principalmente para moléculas complexas.

Outra técnica importante relacionada com cálculos computacionais é a investigação dos orbitais naturais de ligação⁴⁸ (NBO – Natural Bond Orbitals), os quais podem fornecer informações importantes a respeito dos possíveis efeitos eletrônicos existentes em uma determinada molécula, como por exemplo, efeitos hiperconjugativos. Os NBOs são orbitais localizados na molécula existentes entre determinadas ligações, diferentemente dos orbitais moleculares que se estendem por toda molécula. Este método proporciona a investigação das interações dos

orbitais entre determinadas ligações. O método descreve a estrutura molecular semelhantemente a descrição de Lewis em termos de ligações com pares de elétrons e pares de elétrons não ligantes, o que torna fácil à compreensão e utilização.

1.3. Atividades biológicas

1.3.1. Testes de toxicidade frente a *Artemia salina*

A *Artemia salina* (**Figura 1**) é um microcrustáceo, que vive em águas salgadas, tem a propriedade de reproduzir-se facilmente e quando recém-nascidos tem a cor laranja e mais ou menos 1mm de comprimento⁴⁹.



Figura 1: *Artemia salina* na fase adulta

A forma mais comum de se encontrar são na forma de ovos, que eclodem como minúsculas larvas, chamadas náuplios. O náuplio da *Artemia salina* pode duplicar seu tamanho corporal em menos de 24 horas, devido à presença de um hormônio de crescimento em seu organismo.

É a presa viva mais adequada para alimentação de muitas espécies de peixes e crustáceos marinhos. As vantagens que apresenta como alimento são:

seu pequeno tamanho (8-13mm quando adultos), elevado teor de proteínas (50-60% quando náuplios; 40-50% quando adultos) e vitaminas A e B, provitamina A e caroteno⁴⁹.

A realização dos bioensaios frente às larvas de *Artemia salina* deve-se ao fato de que trabalhos encontrados na literatura relacionam a toxicidade sobre esta espécie de microcrustáceo com atividades, como antifúngica, antiviral, antimicrobiana, parasiticida, antitumoral e tripanossomicida⁵⁰, atividades estas observadas para compostos tetraidro- β -carbolínicos. Além disso, os bioensaios são de fácil execução e podem ser realizados sem a necessidade de equipamentos especiais.

O primeiro trabalho relativo ao uso de camarão marinho em bioensaios foi publicado em 1956. O ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade geral e, portanto é considerado essencial como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial atividade biológica⁵¹.

1.3.2. Testes de atividade biológica frente *Trypanosoma cruzi*

A doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e representa um grave problema de saúde pública em países tropicais. Cerca de 18 milhões de pessoas estão infectadas em todo mundo, sendo que no Brasil o número de casos chega a cerca de 8 milhões, atingindo principalmente as regiões Nordeste, Sudeste e Sul. Como não existe nenhuma quimioterapia que seja efetiva no combate a este mal, leva à morte centenas de milhares de pessoas por ano⁵².

Descrita em 1909 por Carlos Chagas, a doença de Chagas também é conhecida como tripanossomíase por *Trypanosoma cruzi* ou tripanossomíase americana. Diz-se tripanossomíase qualquer enfermidade causada por protozoários flagelados do gênero *Trypanosoma*, que parasitam o sangue e os tecidos de vertebrados. O *Trypanosoma* geralmente é transmitido de um hospedeiro a outro por insetos – no caso humano, o principal vetor é um percevejo popularmente conhecido como barbeiro ou chupão (insetos das espécies *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*). Os parasitas ficam alojados no sangue dos barbeiros onde se desenvolvem. Estes depositam na pele ou mucosas do homem fezes contendo as formas tripomastigotas metacíclicas do *T. cruzi*. No hospedeiro vertebrado (definitivo) interagem as formas amastigotas (**Figura 2**) no interior de células do tecido muscular e de defesa, e tripomastigotas (**Figura 3**), no sangue, enquanto no hospedeiro invertebrado (intermediário), as formas tripomastigotas ingeridas do sangue dos vertebrados se tornarão formas arredondadas e epimastigotas (**Figura 4**), que se alojam no tubo digestivo ou poderão se alojar como tripomastigotas no reto. Outras formas de contágio são da gestante para seu feto e pela transfusão de sangue contaminado^{52, 53}.

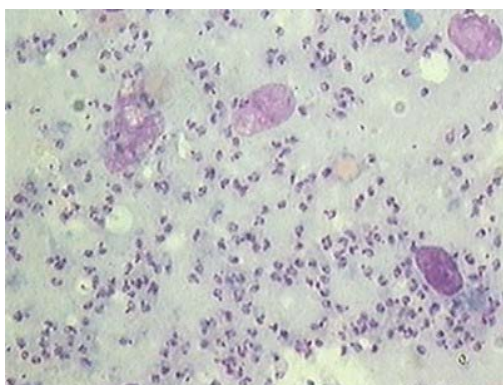


Figura 2: Formas amastigotas de *T. cruzi* circulantes no sangue, geralmente com aspecto das letras "S" ou "C"

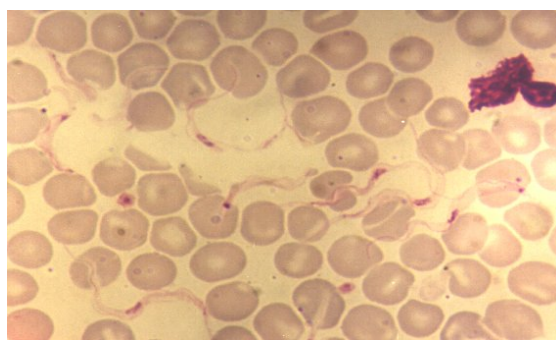


Figura 3: *T. cruzi* - forma sanguínea tripomastigota, medem de 20x2 mm



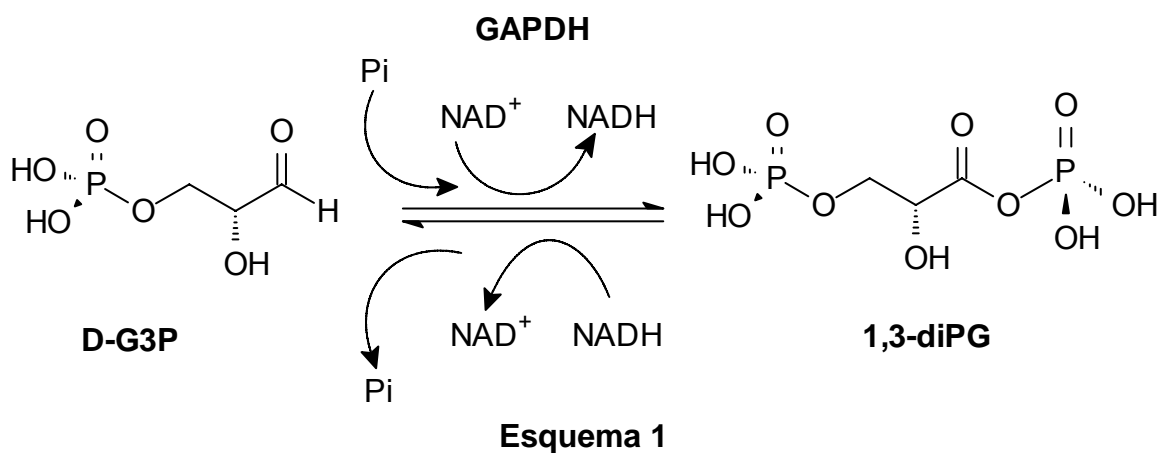
Figura 4: *T. cruzi* - forma epimastigota

Tripanossomas são responsáveis ainda por uma série de doenças parasitárias em humanos, animais domésticos, peixes e plantas. As doenças causadas por tripanossomas são tidas como incuráveis. As vacinas são ineficazes, pois este parasita tem um notável mecanismo de fuga do sistema imunológico do hospedeiro⁵⁴.

Algumas abordagens modernas para o tratamento das doenças foram desenvolvidas baseadas na compreensão do metabolismo do parasita e no isolamento e elucidação estrutural de algumas de suas proteínas. E, em pelo menos um caso, isso envolve agentes farmacêuticos projetados como inibidores de enzimas baseados no mecanismo da ação enzimática⁵⁴.

A enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase glicossomal (gGAPDH) de *T. cruzi*, é responsável pela via glicolítica do parasita e essencial para sua obtenção de energia. Uma das abordagens modernas para desenvolvimento de fármacos está baseada no conhecimento tridimensional do sítio de uma enzima com uma atividade biológica conhecida e no planejamento racional de substâncias que se liguem seletivamente a este sítio, inibindo uma atividade essencial a uma determinada via metabólica que garante a progressão de uma doença⁵⁴.

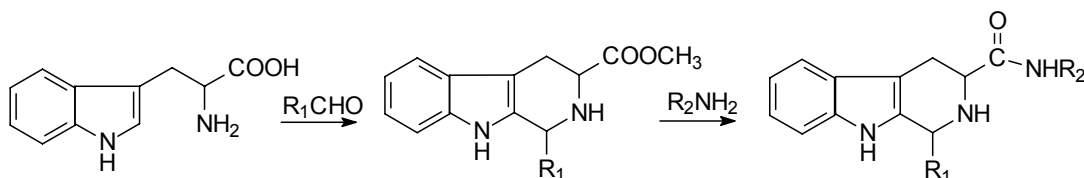
Estudos mostram que a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase glicossomal (gGAPDH, EC EC 1.2.1.12) de *T. cruzi* é estável e não possui um *turnover* rápido, ao contrário da homóloga nas células dos mamíferos que é rapidamente reciclada, isto é, ela é continuamente degradada e uma enzima nova é sintetizada para repô-la. O fato de que a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase de mamíferos é constantemente reciclada, assegura que a utilização de um agente inibidor no organismo do indivíduo infectado será prejudicial, somente, ao metabolismo do parasita⁵⁵. A gGAPDH tem sido considerada importante para o desenvolvimento de drogas tripanossomicidas. Esta enzima catalisa reversivelmente a fosforilação oxidativa do D-gliceraldeído-3-fosfato (D-G3P) em 1,3-bifosfoglicerato (1,3-diPG) na presença do cofator NAD⁺ (nicotinamida adenina dinucleotídeo – forma oxidada) e fosfato inorgânico (Esquema 1)⁵⁶.



2. OBJETIVOS

Em função da importância da: a) busca de novos agentes tripanossomicidas; b) potencialidade terapêutica relatada para compostos tetraidro- β -carbolínicos contra *Trypanosoma cruzi*; c) ausência de estudos conformacionais utilizando cálculos computacionais para tetraidro- β -carbolinas-3-carbometóxi-1-benzossustituídos, constituiu-se objetivos de nosso trabalho a:

- Preparação de uma série de derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-carbometóxi-1-benzossustituídos, pela reação de condensação de Pictet-Spengler do L-triptofano com uma série de aldeídos.
- Preparação de uma série de derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos pela reação dos produtos de condensação com aminas (**Esquema 2**).



Esquema 2

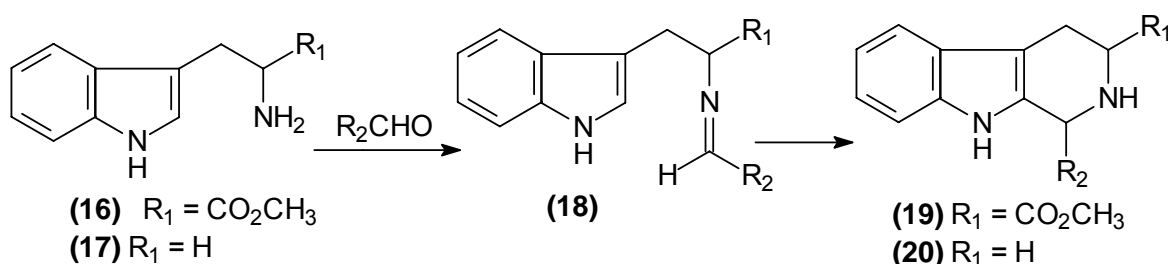
- Realização de ensaios biológicos para a avaliação da atividade dos compostos sintetizados frente às formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* e à enzima GAPDH glicossomal de *T. cruzi*.
- Avaliação da toxicidade dos derivados preparados frente a *Artemia salina*.
- Realização de estudos conformacionais de tetraidro- β -carbolinas-3-carbometóxi-1-benzossustituídas utilizando cálculos computacionais.

3. PRINCIPAIS MÉTODOS UTILIZADOS NA SÍNTESE DE β -CARBOLINAS E TETRAIDRO- β -CARBOLINAS

3.1. Condensação de Pictet-Spengler

O método mais utilizado para a síntese de compostos β -carbólicos é a reação de Pictet-Spengler, a qual envolve a condensação do triptofano metil éster **(16)** ou da triptamina **(17)** com aldeídos, originando tetraidro- β -carbólicas do tipo **(19)** ou **(20)**, respectivamente **(Esquema 3)**.

Experimentalmente, a condensação ocorre de duas maneiras distintas: em benzeno ou tolueno sobre refluxo ou conduzida a 0°C em CH₂Cl₂ e ácido trifluoroacético⁵⁷. No caso do emprego do triptofano metil éster **(16)**, é obtida uma mistura de diastereoisômeros de **(19)**, via a formação de uma imina **(18)** como intermediário da reação⁵⁸.



Esquema 3

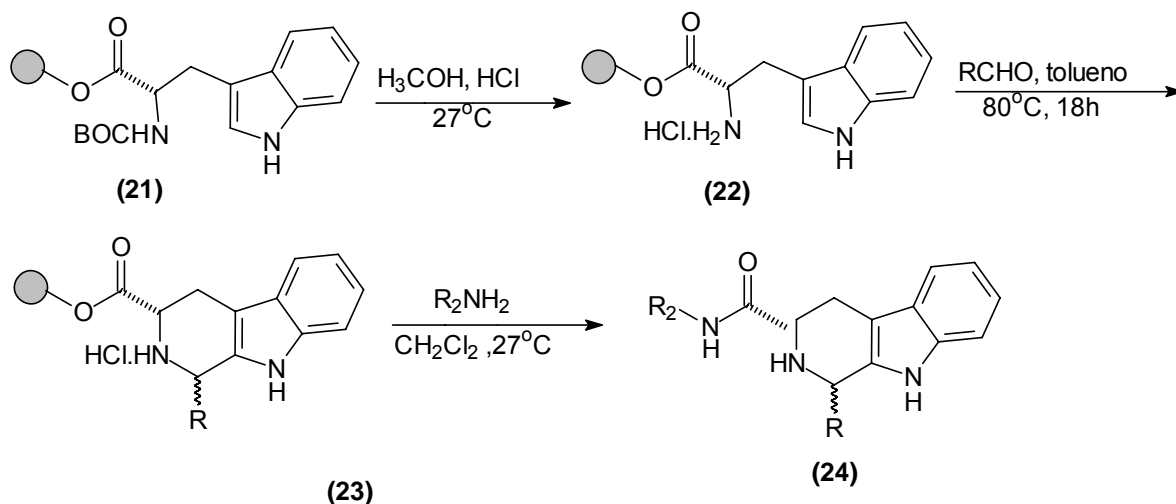
Jackson e col.⁵⁹, realizaram estudos mecanísticos para a reação de Pictet-Spengler entre derivados da triptamina **(17)** e compostos carbonílicos e mostraram que a natureza eletrofílica da dupla ligação da imina **(18)** é a guia da força de ciclização. Por exemplo, o intermediário imínico contendo o grupo

carbometóxi é mais eletrofílico que a imina formada a partir da triptamina. Este resultado pode ser examinado quanto aos valores de pK_a da triptamina, $pK_a = 10,2$, e do triptofano metil éster, $pK_a = 7,29$.

Srinivasan e Ganesan⁶⁰ demonstraram que a ciclização de Pictet-Spengler para tetraidro- β -carbolinas podem ser catalisadas por uma variedade de ácidos de Lewis, obtendo-se bons rendimentos tanto para aldeídos aromáticos com substituintes doadores como captosres de elétrons. Observaram ainda que a reação de ciclização acontecia mais rapidamente com irradiação de microondas.

Czarnocki e col.⁶¹ reportaram que os aminoácidos L-alanina, L-valina, L-fenilalanina e L-prolina podem ser usados na reação de condensação de Pictet-Spengler para a síntese diastereosseletiva de derivados tetraidro- β -carbolínicos sob condições brandas.

A reação de Pictet-Spengler já foi também empregada na síntese em fase sólida de compostos tetraidro- β -carbolínicos. Fantauzzi e Yager⁶² sintetizaram diversas tetraidro- β -carbolinas-3-amido (**24**) e -2,3-bis-lactamas utilizando a resina Merrifield. Como mostrado no **Esquema 4**, primeiramente faz-se a acilação da resina com L-BOC-triptofano, seguida pela desproteção e ciclização de Pictet-Spengler com uma variedade de aldeídos. A clivagem da resina com aminas primárias fornece as amidas na posição 3.



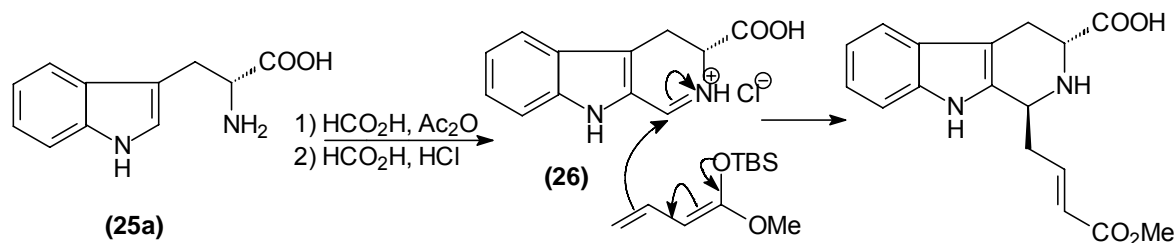
3.2. Reação de Mannich viníloga

A reação de Mannich viníloga tem sido usada na síntese estereosseletiva de vários alcalóides contendo o núcleo tetraidro- β -carbolínic-1-substituído e consiste na formação de um íon imínio (a partir do triptofano), seguido da adição de um silil enol éter insaturado ao C-1.

A formação do íon imínio **(26)** ocorre em apenas uma etapa de reação, e segundo a metodologia de Previero e col.⁶³ a reação se dá inicialmente pelo tratamento do D-triptofano **(25a)** com anidrido acético em ácido fórmico, seguido pela adição de uma solução de ácido fórmico com 10% de HCl (v/v) e aquecimento e separação do produto na forma de sal.

A vantagem de se formar o íon imínio na síntese de alcalóides tetraidro- β -carbolínicos é a alta diastereosseletividade da etapa de adição do substituinte ao C-1, onde apenas o diastereoisômero *trans* é obtido. Martin e col.⁶⁴ utilizaram esta estratégia sintética para a síntese enantiosseletiva do alcalóide (+)-

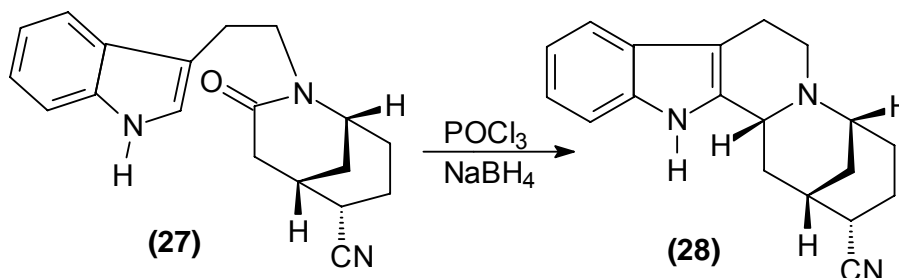
geissoschizina, na qual o ataque do vinil cetenoacetal ao C-1 se dá pela face oposta ao grupo ácido carboxílico do C-3 (**Esquema 5**).



Esquema 5

3.3. Condensação de Bischler-Napieralski

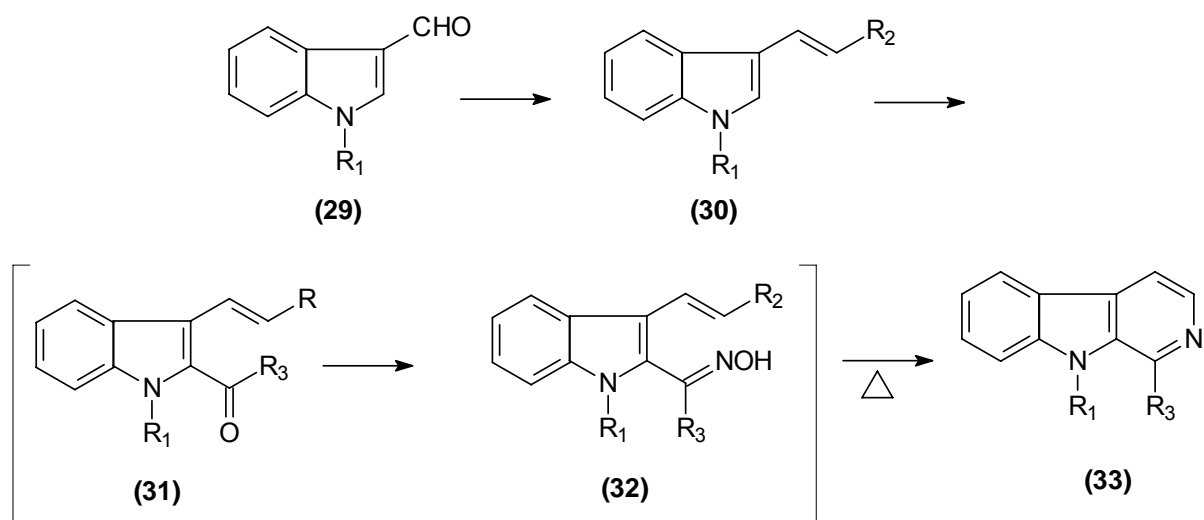
A condensação de Bischler-Napieralski também é um outro método utilizado para a síntese de alcalóides β -carbolínicos. Bonjoch e col.⁶⁵ utilizaram esta metodologia para formar a tetraidro- β -carbolina (**28**), fazendo o tratamento da lactama (**27**) com POCl_3 , seguido por redução com NaBH_4 , conforme ilustrado no **Esquema 6**. O uso de radiação de microondas para catalisar este tipo de reação tem sido reportado⁶⁶ para a síntese de alcalóides β -carbolínicos diméricos.



Esquema 6

3.4. Eletrociclicização de intermediários do tipo azatrieno

Recentemente algumas rotas têm usado a reação de eletrociclicização de intermediários do tipo azatrieno (**32**) para a síntese de alcalóides β -carbolínicos⁶⁸ (**Esquema 7**). Esta metodologia envolve inicialmente a funcionalização do indol na posição-3, o qual é convertido no 3-vinil indol (**30**) utilizando-se $(\text{Ph})_3\text{PCH}_3\text{I}/t\text{-BuOK/THF}$. A subsequente funcionalização da posição-2 foi realizada pelo tratamento de (**30**) com LDA/THF e N,N-dimetilacetamida fornecendo (**31**); este por sua vez foi tratado com $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}/\text{AcONa}$ e refluxado com o-diclorobenzeno para fornecer a β -carbolina (**33**).



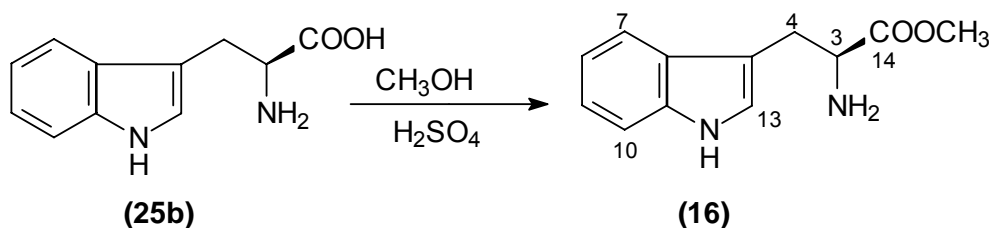
Esquema 7

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Preparação e caracterização dos derivados tetraidro-β-carbolínicos-3-carbometóxi-1-benzossubstituídos

Para a obtenção dos alcalóides tetraidro β-carbolínicos desejados, optamos pela utilização da reação de Pictet-Spengler catalisada por ácido.

Inicialmente preparou-se o triptofano metil éster (**16**), a partir da reação do L-triptofano comercial (**25b**) com metanol e ácido sulfúrico sob refluxo por 7 horas⁶⁸. (**Esquema 8**). Após neutralização com solução aquosa de Na₂CO₃ e extração com acetato de etila o composto (**16**) foi obtido em 87% de rendimento.



Esquema 8

Uma outra tentativa de síntese de (**16**) foi realizada utilizando-se iodeto de metila (H₃Cl) em meio básico (NaHCO₃), seguindo a metodologia de Shioiri e col.⁶⁹. A reação foi acompanhada por CCDA e uma mistura complexa de produtos foi observada.

A obtenção de (**16**) foi confirmada pela análise dos dados espectroscópicos de EM, IV e RMN ¹H e RMN ¹³C (uni e bidimensional).

O triptofano esterificado apresentou no seu espectro de IV (**EIV-1 - ANEXO**) uma banda de absorção em 1731 cm⁻¹ característica de C=O de éster. O

espectro de massas de baixa resolução (**EM-1 - ANEXO**) apresentou o pico do íon molecular em m/z 218 e um fragmento em m/z 159 resultante da perda do radical COOCH_3 . Os dados de RMN ^1H e ^{13}C de **(16)** estão indicados na **Tabela 01**. No espectro de RMN de ^1H (**ER $^1\text{H-1}$ - ANEXO**) do composto **(16)**, o singlete em δ_{H} 3,68 (3H) foi atribuído aos hidrogênios da metoxila do éster H-15, confirmando a esterificação do L-triptofano **(25b)**. Os duplos dubletos em δ_{H} 3,01 ($J = 14,4; 4,8\text{Hz}$), δ_{H} 3,26 ($J = 14,4; 7,8\text{Hz}$) e δ_{H} 3,82 ($J = 7,8; 4,8\text{Hz}$) foram atribuídos aos hidrogênios H-4 e H-3 respectivamente. O dubleto em δ_{H} 6,88 ($J = 2,1\text{Hz}$) foi atribuído ao hidrogênio H-13 e os demais sinais aos hidrogênios do anel aromático. Pelo espectro de COSY (**ER COSY-1 - ANEXO**) observa-se a correlação entre o hidrogênio H-12 com H-13 e de H-3 com os hidrogênios H-4. O espectro de RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (**ER $^{13}\text{C-1}$ - ANEXO**) deste composto apresentou um sinal em δ_{C} 52,1 (CH_3) atribuído ao carbono C-15, e sinais em δ_{C} 30,8 (CH_2) e 54,9 (CH) referentes aos carbonos C-4 e C-3, respectivamente. Um sinal em δ_{C} 175,8 característico de carbonila de éster (C-14), e os demais sinais da unidade indólica confirmaram a obtenção de **(16)**.

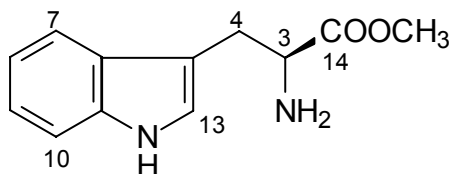


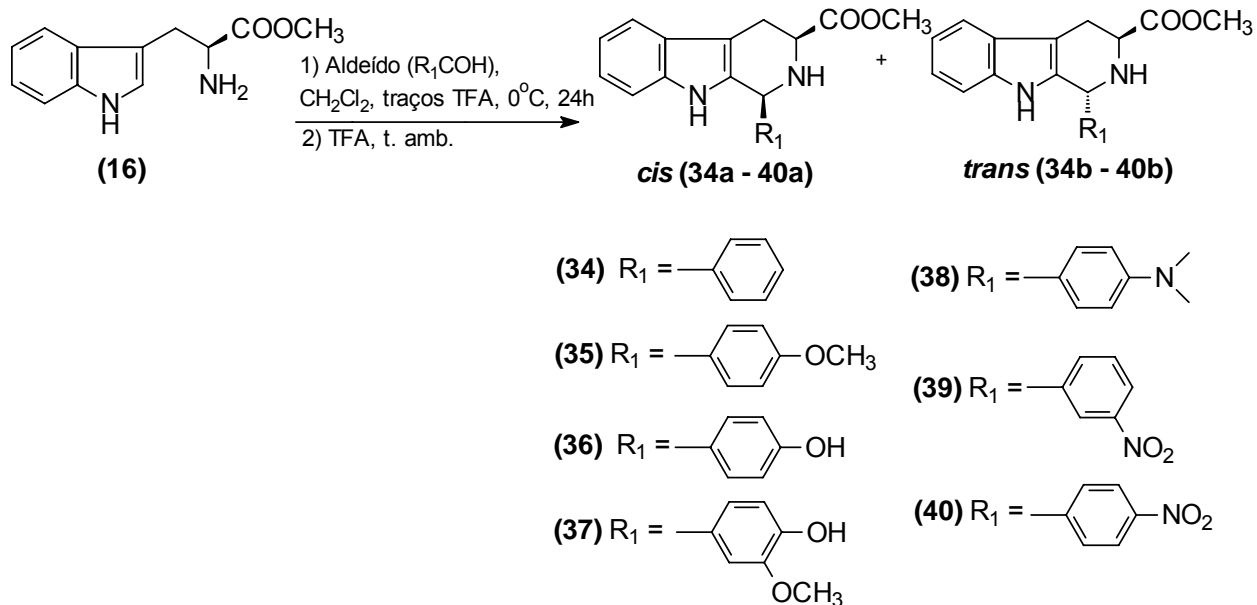
Tabela 01: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **(16)**

C/H	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
3	3,82 (<i>dd</i> , 7,8; 4,8, 1H)	54,9 (CH)
4a	3,01 (<i>dd</i> , 14,4; 4,8, 1H)	30,8 (CH_2)
4b	3,26 (<i>dd</i> , 14,4; 7,8, 1H)	-
5	-	110,5 (C_0)
6	-	127,4 (C_0)
7	7,58 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	118,6 (CH)
8	7,08 (<i>td</i> , 7,3; 1,0, 1H)	119,4 (CH)
9	7,14 (<i>td</i> , 7,3; 1,0, 1H)	122,0 (CH)
10	7,24 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	111,4 (CH)
11	-	136,4 (C_0)
12	8,90 (<i>sl</i> , 1H)	-
13	6,88 (<i>d</i> , 2,1, 1H)	123,3 (CH)
14	-	175,8 (C_0)
15	3,68 (<i>s</i> , 3H)	52,1 (CH_3)

Na segunda etapa da reação, o triptofano metil éster **(16)** foi condensado com aldeídos aromáticos, via reação de Pictet-Spengler, catalisada por ácido⁵⁷.

O composto **(16)** foi solubilizado em CH_2Cl_2 e à solução então adicionou-se uma proporção equimolar de aldeído e traços de ácido trifluoroacético (TFA). Esta mistura foi mantida sob agitação, a 0°C . Após 24 horas foi adicionado no mesmo balão um excesso do TFA (2,2 mol equivalente) e a reação acompanhada por CCDA (**Esquema 9**). Na **Tabela 02** estão descritos os tempos de reação para cada aldeído. Observou-se a formação da mistura dos diastereoisômeros (*cis*; 1S, 3S) **(34a-40a)** e (*trans*; 1R, 3S) **(34b-40b)**, obtendo-se o composto *cis*

preferencialmente, os quais foram separados através de CCDP em sílica gel eluídas com hexano/AcOEt 40%.



Esquema 9

Na **Tabela 2** consta o tempo das reações, as razões diastereoisoméricas e os rendimentos para todas as reações.

Tabela 02: Tempo, razão diastereoisomérica e rendimentos para as reações de obtenção das tetraidro- β -carbolinas (**34-40**)

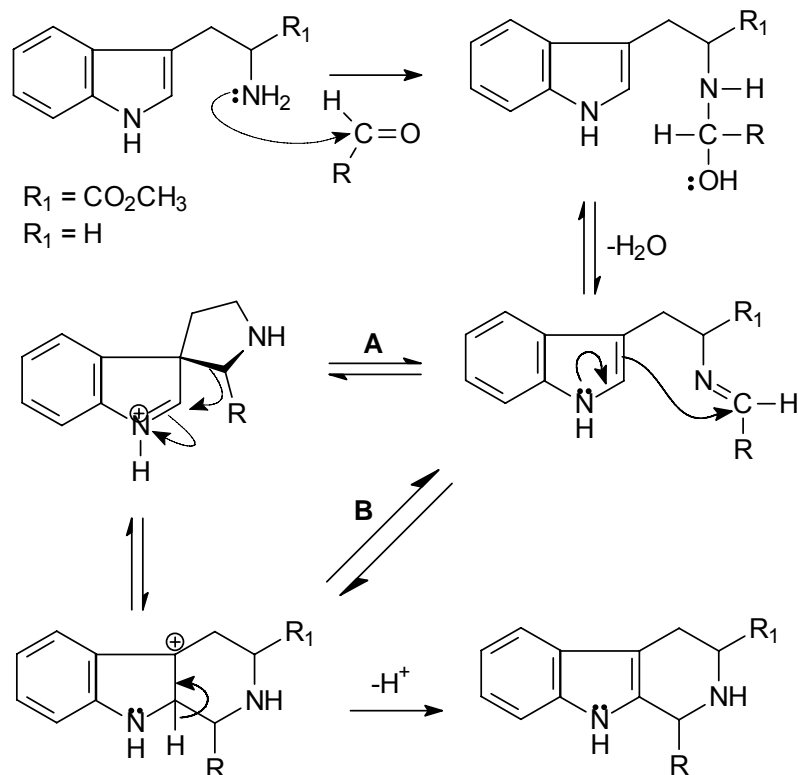
Composto	R_1	Tempo (hs)	Rendimento (%)	% <i>cis</i>	% <i>trans</i>
34	fenil	5	82	80	20
35	<i>p</i> -metóxfenil	8	85	82	18
36	<i>p</i> -hidróxfenil	9	89	83	17
37	3-metóxi-4-hidróxfenil	6	90	80	20
38	<i>p</i> -dimetilaminofenil	9	88	78	22
39	<i>m</i> -nitrofenil	3	93	82	18
40	<i>p</i> -nitrofenil	4	90	78	22

Para todas as reações os rendimentos foram bons, predominando a formação do isômero *cis* sobre o *trans*.

Comparando-se os tempos de reação obtidos para os diferentes aldeídos utilizados na condensação de Pictet-Spengler (**Tabela 02**), pode-se observar que para o *m*-nitrobenzaldeído e *p*-nitrobenzaldeído a reação de ciclização ocorre mais rapidamente, enquanto que para os aldeídos contendo substituintes doadores de elétrons a reação ocorre em maior tempo. Isto pode ser explicado com base no mecanismo proposto para a formação de tetraidro- β -carbolinas.

Conforme descrito na literatura, o mecanismo de condensação da reação de Pictet-Spengler pode ser proposto por dois caminhos diferentes. Um deles envolve um intermediário do tipo spiroindolenina⁷⁰ como apresentado no **Esquema 10 (caminho A)**. Contudo, Casnati⁷¹ mostrou que a ciclização pode ocorrer por ataque direto do C-2 do indol ao carbono imínico (**caminho B**). Ambos os caminhos propõe a formação de uma imina como intermediário. Assim, a presença de substituintes captadores de elétrons no anel do aldeído torna o carbono imínico mais eletrofílico levando a um menor tempo de reação.

Quanto a estereoquímica de ciclização, tanto o caminho **A** como **B** podem ser considerados, uma vez que em ambos os caminhos forma-se uma mistura de diastereoisômeros.

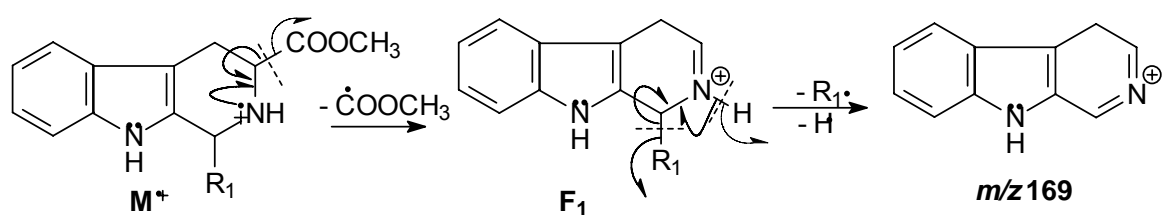


Esquema 10

Os produtos obtidos foram caracterizados com base na análise de seus dados espectroscópicos de IV, EM, RMN ^1H e RMN ^{13}C (uni e bidimensionais).

Os espectros na região do IV dos compostos **34a-40a (EIV-2 a -8 - ANEXO)** apresentaram bandas de absorção de C=O de éster na região de 1730 cm^{-1} .

Os espectros de massa de baixa resolução dos compostos **34a-40a (EM-2 a 8 - ANEXO)** mostraram um mesmo padrão de fragmentação, com a presença do fragmento comum em m/z 169. Conforme proposto no **Esquema 11** a fragmentação do íon molecular ($\text{M}^{+\bullet}$) envolve uma quebra homolítica do grupo carbometóxi formando o fragmento F_1 com m/e característico para cada grupo substituinte (**Tabela 3**); este por sua vez sofre cisão homolítica de duas ligações, resultando no fragmento em m/z 169.



Esquema 11

A **Tabela 03** apresenta os valores do pico do íon molecular ($M^{+\bullet}$) de cada um destes compostos, além do valor do fragmento m/e correspondente à perda do radical $COOCH_3$.

Tabela 03: Valores de m/e para o íon molecular e fragmento F_1 para (34a-40a)

Composto	$m/z (M^{+\bullet})$	$m/z (F_1)$
34a	306	247
35a	336	277
36a	322	263
37a	352	293
38a	349	290
39a	351	292
40a	351	292

Os dados de RMN 1H e ^{13}C dos produtos estão apresentados nas **Tabelas 04-10**. Os espectros de RMN 1H (**ER 1H -2 a -15 - ANEXO**) apresentaram sinais na região de δ_H 5,10 a 5,82 ppm, atribuído ao hidrogênio H-1, além dos sinais dos hidrogênios aromáticos do substituinte R_1 na região de 6,64-8,23 ppm.

Os espectros de RMN ^{13}C (**ER ^{13}C -2 a -15 - ANEXO**) destes compostos apresentaram sinais em torno de δ_C 131,8-135,7 e 51,9-58,9 referente ao carbono

C-13 (C₀) e C-1 (CH) confirmando a ciclização do anel C. Além destes, foram observados sinais de carbonos na região de 110,9-135,1 ppm (CH) e 128,3-160,0 ppm (C₀) atribuídos aos carbonos aromáticos do substituinte R₁.

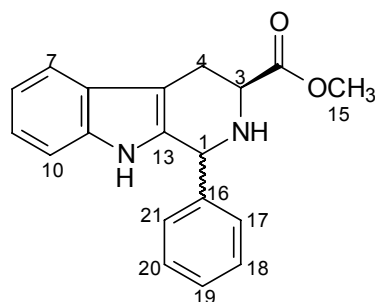


Tabela 04: Dados de RMN ¹H e ¹³C (300,06/75,45 MHz, CDCl₃) para **(34a)** e **(34b)**

C/H	34a (H1-α)		34b (H1-β)	
	δ _H (multiplicidade, J = Hz)	δ _C	δ _H (multiplicidade, J = Hz)	δ _C
1	5,81 (<i>sl</i> , 1H)	58,4 (CH)	5,36 (<i>s</i> , 1H)	55,1 (CH)
3	4,19 (<i>dd</i> , 10,7; 5,7, 1H)	56,7 (CH)	3,94 (<i>dd</i> , 6,9; 5,4, 1H)	52,7 (CH)
4β	3,27 (<i>m</i> , 1H)	25,6 (CH ₂)	3,11 (<i>ddd</i> , 15,3; 6,9; 1,5, 1H)	24,9 (CH ₂)
4α	3,36 (<i>m</i> , 1H)	-	3,26 (<i>ddd</i> , 15,3; 5,4; 1,0, 1H)	-
5	-	108,2 (C ₀)	-	108,6 (C ₀)
6	-	126,7 (C ₀)	-	127,2 (C ₀)
7	7,53 (<i>d</i> , 7,5, 1H)	117,8 (CH)	7,54 (<i>m</i> , 1H)	118,4 (CH)
8	7,17 (<i>dd</i> , 6,6; 1,8, 1H)	119,1 (CH)	7,11 (<i>m</i> , 1H)	119,7 (CH)
9	7,22 (<i>dd</i> , 8,3; 1,8, 1H)	121,6 (CH)	7,13 (<i>m</i> , 1H)	122,1 (CH)
10	7,27 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	111,0 (CH)	7,18 (<i>m</i> , 1H)	111,1 (CH)
11	-	136,4 (C ₀)	-	136,4 (C ₀)
12	8,16 (<i>sl</i> , 1H)	-	-	-
13	-	134,1 (C ₀)	-	133,4 (C ₀)
14	-	173,4 (C ₀)	-	174,3 (C ₀)
15	3,72 (<i>s</i> , 3H)	52,2 (CH ₃)	3,69 (<i>s</i> , 3H)	52,3 (CH ₃)
16	-	140,5 (C ₀)	-	142,2 (C ₀)
17	7,32 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	128,8 (2CH)	7,30 (<i>m</i> , 2H)	128,9 (2CH)
18	7,16 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	128,6 (2CH)	7,24 (<i>m</i> , 2H)	128,6 (2CH)
19	7,27 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	128,5 (C ₀)	7,34 (<i>m</i> , 1H)	129,2 (C ₀)
20	7,16 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	128,6 (2CH)	7,24 (<i>m</i> , 2H)	128,6 (2CH)
21	7,32 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	128,8 (2CH)	7,30 (<i>m</i> , 2H)	128,9 (2CH)

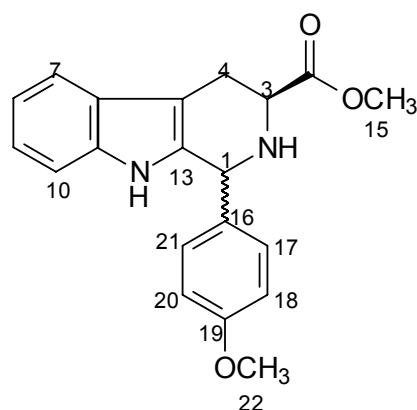


Tabela 05: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **(35a)** e **(35b)**

	35a (H1-α)		35b (H1-β)	
C/H	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
1	5,17 (<i>sl</i> , 1H)	58,1 (CH)	5,34 (<i>sl</i> , 1H)	54,5 (CH)
3	3,95 (<i>dd</i> , 11,1; 4,2, 1H)	57,0 (CH)	3,95 (<i>t</i> , 6,0, 1H)	52,8 (CH)
4 β	2,99 (<i>m</i> , 1H)	25,9 (CH ₂)	3,11 (<i>ddd</i> , 15,4; 6,8; 1,5, 1H)	24,8 (CH ₂)
4 α	3,21 (<i>m</i> , 1H)	-	3,25 (<i>ddd</i> , 15,4; 5,4; 1,2, 1H)	-
5	-	109,0 (C ₀)	-	108,6 (C ₀)
6	-	127,3 (C ₀)	-	127,2 (C ₀)
7	7,52 (<i>d</i> , 7,2, 2H)	118,4 (CH)	7,54 (<i>dd</i> , 6,3; 2,1, 1H)	118,5 (CH)
8	7,12 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	119,8 (CH)	7,12 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	119,7 (CH)
9	7,16 (<i>d</i> , 7,0, 1H)	122,1 (CH)	7,13 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	122,1 (CH)
10	7,52 (<i>d</i> , 7,2, 2H)	111,1 (CH)	7,22 (<i>d</i> , 6,0, 1H)	111,1 (CH)
11	-	136,3 (C ₀)	-	136,4 (C ₀)
12	-	-	7,63 (<i>sl</i> , 1H)	-
13	-	135,1 (C ₀)	-	134,2 (C ₀)
14	-	173,4 (C ₀)	-	174,3 (C ₀)
15	3,79 (<i>s</i> , 6H)	52,4 (CH ₃)	3,70 (<i>s</i> , 3H)	52,3 (CH ₃)
16	-	132,9 (C ₀)	-	132,7 (C ₀)
17	7,27 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	130,0 (2CH)	7,17 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,8 (2CH)
18	6,87 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	114,5 (2CH)	6,84 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	114,3 (2CH)
19	-	160,0 (C ₀)	-	159,7 (C ₀)
20	6,87 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	114,5 (2CH)	6,84 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	114,3 (2CH)
21	7,27 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	130,0 (2CH)	7,17 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,8 (2CH)
22	3,79 (<i>s</i> , 6H)	55,4 (CH ₃)	3,78 (<i>s</i> , 3H)	55,5 (CH ₃)

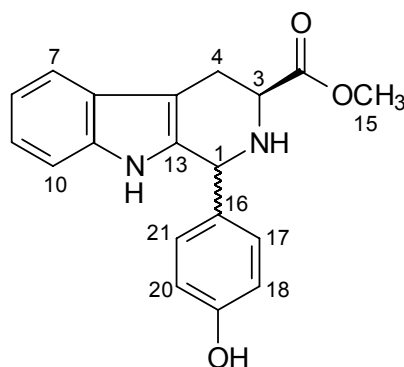


Tabela 06: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) para **(36a)** e **(36b)**

C/H	36a (H1-α)		36b (H1-β)	
	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
1	5,17 (<i>t</i> , 2,1, 1H)	57,6 (CH)	5,19 (<i>sl</i> , 1H)	54,5 (CH)
3	3,95 (<i>dd</i> , 11,3; 4,5, 1H)	56,5 (CH)	3,79 (<i>dd</i> , 8,3; 5,4, 1H)	51,7 (CH)
4 β	2,98 (<i>ddd</i> , 15,2; 11,3; 2,4, 1H)	25,4 (CH_2)	2,93 (<i>ddd</i> , 15,5; 8,4; 1,5, 1H)	24,7 (CH_2)
4 α	3,24 (<i>ddd</i> , 15,2; 4,5; 1,8, 1H)	-	3,13 (<i>ddd</i> , 15,5; 5,4; 1,0, 1H)	-
5	-	107,8 (C_0)	-	107,7 (C_0)
6	-	126,7 (C_0)	-	126,7 (C_0)
7	7,51 (<i>dd</i> , 6,5; 1,5, 1H)	117,6 (CH)	7,40 (<i>d</i> , 6,9, 1H)	117,9 (CH)
8	7,10 (<i>dd</i> , 6,9; 1,5, 1H)	118,9 (CH)	6,97 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	119,0 (CH)
9	7,12 (<i>dd</i> , 6,9; 1,5, 1H)	121,4 (CH)	7,02 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	121,6 (CH)
10	7,25 (<i>d</i> , 7,2, 2H)	110,8 (CH)	7,14 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	111,0 (CH)
11	-	136,1 (C_0)	-	136,4 (C_0)
13	-	134,4 (C_0)	-	133,1 (C_0)
14	-	173,2 (C_0)	-	174,0 (C_0)
15	3,82 (<i>s</i> , 6H)	52,0 (CH_3)	3,61 (<i>s</i> , 3H)	52,1 (CH_3)
16	-	131,1 (C_0)	-	132,6 (C_0)
17	7,19 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,6 (2CH)	6,91 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,6 (2CH)
18	6,82 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	115,3 (2CH)	6,63 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	115,4 (2CH)
19	-	157,0 (C_0)	-	156,8 (C_0)
20	6,82 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	115,3 (2CH)	6,63 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	115,4 (2CH)
21	7,19 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,6 (2CH)	6,91 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,6 (2CH)

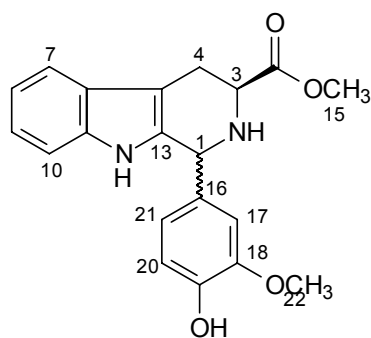


Tabela 07: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz) para **(37a)** e **(37b)**

C/H	37a (H1-α) (CDCl_3)		37b (H1-β) ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$)	
	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}
1	5,16 (<i>t</i> , 2,1, 1H)	58,9 (CH)	5,33 (<i>sl</i> , 1H)	54,8 (CH)
3	3,96 (<i>dd</i> , 11,1; 4,2, 1H)	57,2 (CH)	3,96 (<i>dd</i> , 7,8; 5,4, 1H)	51,9 (CH)
4 β	3,00 (<i>ddd</i> , 15,2; 11,1; 2,7, 1H)	25,8 (CH_2)	3,09 (<i>ddd</i> , 15,5; 7,8; 1,5, 1H)	24,5 (CH_2)
4 α	3,22 (<i>ddd</i> , 15,2; 4,2; 1,8, 1H)	-	3,28 (<i>ddd</i> , 15,5; 5,4; 1,0, 1H)	-
5	-	108,9 (C_0)	-	107,6 (C_0)
6	-	127,4 (C_0)	-	126,7 (C_0)
7	7,52 (<i>d</i> , 6,6, 1H)	118,4 (CH)	7,54 (<i>dd</i> , 6,8; 1,5, 1H)	117,9 (CH)
8	7,12 (<i>d</i> , 6,0, 1H)	119,8 (CH)	7,09 (<i>td</i> , 7,1; 1,5, 1H)	119,0 (CH)
9	7,14 (<i>d</i> , 6,0, 1H)	122,1 (CH)	7,14 (<i>td</i> , 7,1; 1,5, 1H)	121,6 (CH)
10	7,22 (<i>d</i> , 6,9, 1H)	111,2 (CH)	7,28 (<i>dd</i> , 6,8; 1,5, 1H)	111,0 (CH)
11	-	136,3 (C_0)	-	136,4 (C_0)
13	-	135,2 (C_0)	-	133,2 (C_0)
14	-	173,5 (C_0)	-	174,1 (C_0)
15	3,79 (<i>s</i> , 6H)	52,5 (CH_3)	3,74 (<i>s</i> , 3H)	52,1 (CH_3)
16	-	132,7 (C_0)	-	133,0 (C_0)
17	6,88 (<i>s</i> , 1H)	110,9 (CH)	6,81 (<i>d</i> , 2,1, 1H)	111,4 (CH)
18	-	147,3 (C_0)	-	147,5 (C_0)
19	-	146,2 (C_0)	-	145,9 (CH)
20	6,87 (<i>d</i> , 7,0, 1H)	114,5 (CH)	6,78 (<i>d</i> , 8,1, 1H)	114,7 (CH)
21	6,86 (<i>dd</i> , 7,0; 1,5, 1H)	121,8 (CH)	6,65 (<i>dd</i> , 8,1; 2,1, 1H)	121,2 (CH)
22	3,81 (<i>s</i> , 3H)	56,2 (CH_3)	3,80 (<i>s</i> , 3H)	55,8 (CH_3)

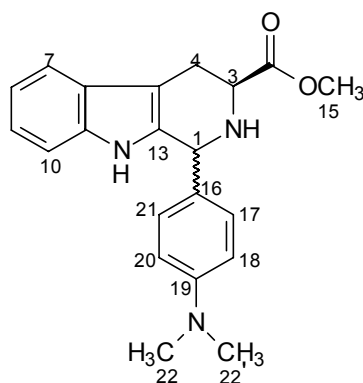


Tabela 08: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **(38a)** e **(38b)**.

C/H	38a (H1- α)		38b (H1- β)	
	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
1	5,10 (<i>t</i> , 2,1, 1H)	58,2 (CH)	5,27 (<i>sl</i> , 1H)	54,6 (CH)
3	3,93 (<i>dd</i> , 11,1; 4,2, 1H)	57,2 (CH)	3,95 (<i>dd</i> , 7,2; 5,4, 1H)	52,6 (CH)
4 β	2,99 (<i>m</i> , 1H)	26,0 (CH_2)	3,08 (<i>ddd</i> , 15,3; 7,2; 3,1, 1H)	24,9 (CH_2)
4 α	3,19 (<i>ddd</i> , 15,2; 4,2; 1,8, 1H)	-	3,24 (<i>ddd</i> , 15,3; 5,4; 3,2, 1H)	-
5	-	108,8 (C_0)	-	108,4 (C_0)
6	-	127,4 (C_0)	-	127,3 (C_0)
7	7,51 (<i>d</i> , 7,0, 2H)	118,3 (CH)	7,54 (<i>d</i> , 6,6, 1H)	118,3 (CH)
8	7,10 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	119,6 (CH)	7,12 (<i>d</i> , 6,9, 1H)	119,5 (CH)
9	7,12 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	121,9 (CH)	7,13 (<i>d</i> , 6,0, 1H)	121,9 (CH)
10	7,13 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	111,1 (CH)	7,19 (<i>d</i> , 6,9, 1H)	111,1 (CH)
11	-	136,2 (C_0)	-	136,3 (C_0)
12	7,59 (<i>sl</i> , 1H)	-	7,72 (<i>sl</i> , 1H)	-
13	-	135,7 (C_0)	-	134,2 (C_0)
14	-	173,5 (C_0)	-	174,4 (C_0)
15	3,78 (<i>s</i> , 3H)	52,3 (CH_3)	3,69 (<i>s</i> , 3H)	52,2 (CH_3)
16	-	128,3 (C_0)	-	129,8 (C_0)
17	7,19 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	129,6 (2CH)	7,08 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,4 (2CH)
18	6,68 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	112,8 (2CH)	6,64 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	112,6 (2CH)
19	-	150,9 (C_0)	-	150,6 (C_0)
20	6,68 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	112,8 (2CH)	6,64 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	112,6 (2CH)
21	7,19 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	129,6 (2CH)	7,08 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,4 (2CH)
22/22'	2,93 (<i>s</i> , 6H)	40,7 (CH_3)	2,91 (<i>s</i> , 6H)	40,7 (2 CH_3)

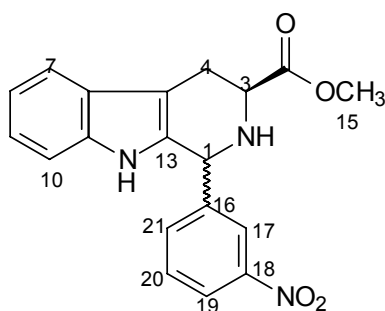


Tabela 09: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **(39a)** e **(39b)**.

	39a (H1-α)		39b (H1-β)	
C/H	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
1	5,36 (<i>t</i> , 2,0, 1H)	58,0 (CH)	5,57 (<i>sl</i> , 1H)	54,4 (CH)
3	3,96 (<i>dd</i> , 11,1; 4,2, 1H)	56,7 (CH)	3,97 (<i>t</i> , 5,9, 1H)	52,9 (CH)
4 β	3,02 (<i>ddd</i> , 15,3; 11,1; 2,7, 1H)	25,6 (CH_2)	3,17 (<i>dd</i> , 15,6; 6,0, 1H)	24,6 (CH_2)
4 α	3,24 (<i>ddd</i> , 15,3; 4,2; 1,8, 1H)	-	3,31 (<i>dd</i> , 15,6; 5,4, 1H)	-
5	-	109,7 (C_0)	-	109,1 (C_0)
6	-	127,0 (C_0)	-	127,0 (C_0)
7	7,52 (<i>m</i> , 1H)	118,6 (CH)	7,56 (<i>m</i> , 1H)	118,7 (CH)
8	7,12 (<i>m</i> , 1H)	120,1 (CH)	7,16 (<i>t</i> , 6,9, 1H)	120,1 (CH)
9	7,17 (<i>m</i> , 1H)	122,6 (CH)	7,17 (<i>t</i> , 6,9, 1H)	122,7 (CH)
10	7,22 (<i>m</i> , 1H)	111,3 (CH)	7,25 (<i>m</i> , 1H)	111,3 (CH)
11	-	136,6 (C_0)	-	136,6 (C_0)
13	-	133,1 (C_0)	-	131,8 (C_0)
14	-	173,1 (C_0)	-	174,1 (C_0)
15	3,81 (<i>s</i> , 3H)	52,6 (CH_3)	3,73 (<i>s</i> , 3H)	52,5 (CH_3)
16	-	143,2 (C_0)	-	144,4 (C_0)
17	8,23 (<i>t</i> , 1,8, 1H)	123,8 (CH)	8,22 (<i>sl</i> , 1H)	123,5 (CH)
18	-	148,6 (CH)	-	148,8 (CH)
19	8,15 (<i>ddd</i> , 8,1; 2,4; 1,2, 1H)	123,8 (CH)	8,17 (<i>d</i> , 8,1; 1H)	123,6 (CH)
20	7,48 (<i>m</i> , 1H)	130,1 (C_0)	7,51 (<i>m</i> , 1H)	129,9 (C_0)
21	7,69 (<i>m</i> , 1H)	135,1 (CH)	7,64 (<i>m</i> , 1H)	134,8 (CH)

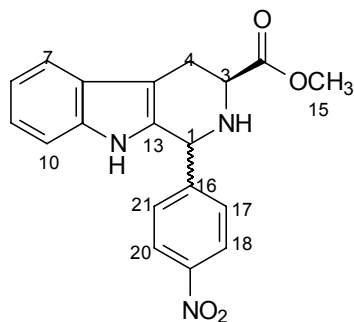


Tabela 10: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **(40a)** e **(40b)**.

	40a (H1-α)		40b (H1-β)	
C/H	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
1	5,38 (<i>t</i> , 2,1, 1H)	58,2 (CH)	5,53 (<i>sl</i> , 1H)	54,4 (CH)
3	3,98 (<i>dd</i> , 11,1; 4,2, 1H)	56,7 (CH)	3,93 (<i>t</i> , 5,9, 1H)	52,8 (CH)
4 β	3,02 (<i>ddd</i> , 15,2; 11,1; 2,7, 1H)	25,7 (CH_2)	3,16 (<i>dd</i> , 15,0; 6,0, 1H)	24,7 (CH_2)
4 α	3,26 (<i>ddd</i> , 15,2; 4,2; 1,8, 1H)	-	3,28 (<i>dd</i> , 15,5; 5,6, 1H)	-
5	-	109,7 (C_0)	-	109,1 (C_0)
6	-	127,1 (C_0)	-	127,0 (C_0)
7	7,54 (<i>m</i> , 1H)	118,6 (CH)	7,56 (<i>d</i> , 7,5, 1H)	118,7 (CH)
8	7,13 (<i>m</i> , 1H)	120,2 (CH)	7,14 (<i>m</i> , 1H)	120,1 (CH)
9	7,16 (<i>m</i> , 1H)	122,7 (CH)	7,19 (<i>m</i> , 1H)	122,7 (CH)
10	7,21 (<i>m</i> , 1H)	111,3 (CH)	7,22 (<i>m</i> , 1H)	111,3 (CH)
11	-	136,6 (C_0)	-	136,5 (C_0)
12	7,50 (<i>s</i> , 1H)	-	7,62 (<i>s</i> , 1H)	-
13	-	133,1 (C_0)	-	131,9 (C_0)
14	-	173,1 (C_0)	-	174,2 (C_0)
15	3,83 (<i>s</i> , 3H)	52,6 (CH_3)	3,72 (<i>s</i> , 3H)	52,5 (CH_3)
16	-	148,0 (C_0)	-	147,9 (C_0)
17	7,58 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,8 (2CH)	7,49 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,6 (2CH)
18	8,19 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	124,3 (2CH)	8,17 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	124,1 (2CH)
19	-	148,3 (C_0)	-	149,5 (C_0)
20	8,19 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	124,3 (2CH)	8,17 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	124,1 (2CH)
21	7,58 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,8 (2CH)	7,49 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,6 (2CH)

Observa-se que a multiplicidade dos hidrogênios H-4 α e H-4 β trata-se de um duplo duplo dubleto (*ddd*). No mapa de contornos COSY (**ER COSY-2 a -13**) são observadas as correlações de H-4 α com H-4 β , e destes dois hidrogênios com H-3 e H-1 para a maioria dos compostos sintetizados. O acoplamento a longa distância de H-1 com os hidrogênios 4 (5J) resulta em valores pequenos de constante de acoplamento, em torno de 1 a 3 Hz, por isso, H-1 não aparece como um duplo dubleto, mas como um singleto largo ou um tripleto aparente.

Vale ressaltar que a principal diferença dos espectros de NOESY (**ER NOESY-1 a -9**) dos isômeros *cis* e *trans* é a correlação do H-1 com H-3 presente no isômero *cis* e ausente no *trans*.

Como discutido acima, a reação de condensação com os aldeídos utilizados, forneceu misturas diastereoisoméricas. A reação com o benzaldeído forneceu os produtos **34a** e **34b** e ainda um produto β -carbolínico **41**.

A análise dos dados espectroscópicos de RMN 1H (**ER 1H -16 - ANEXO**) deste produto indicou a aromatização do anel piperidínico, evidenciada pela ausência dos sinais na região de δ_H 3,11-4,19 correspondente aos hidrogênios H-3 e H-4, e do sinal em δ_H 5,20-5,80 atribuído ao hidrogênio H-1, além da presença do singleto em δ_H 8,89, atribuído ao H-4. O espectro de RMN ^{13}C (**ER ^{13}C -16 - ANEXO**) confirmou a aromatização, pela presença dos sinais em δ_C 117,2 (CH), 140,7 (C₀) e 143,2 (C₀) correspondentes aos carbonos C-4, C-3 e C-1, respectivamente. Os dados de RMN 1H e ^{13}C encontram-se na **Tabela 11**.

Cook e col.⁷² também observaram a formação de um produto de aromatização quando condições de prolongado aquecimento e forte acidez foram empregadas. Um mecanismo que leve a este produto ainda não foi estabelecido.

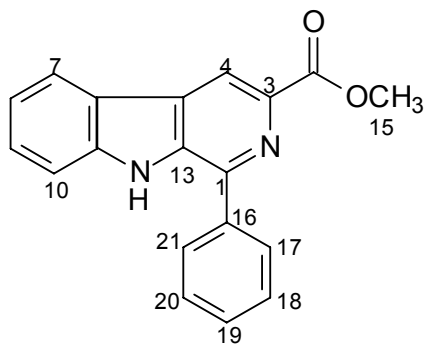


Tabela 11: Dados de RMN ¹H e ¹³C (300,06/75,45 MHz, CDCl₃) para **(41)**

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1	-	140,7 (C ₀)
3	-	138,6 (C ₀)
4	8,89 (s, 1H)	117,2 (CH)
5	-	130,0 (C ₀)
6	-	122,4 (C ₀)
7	8,23 (d, 8,1, 1H)	122,3 (CH)
8	7,39 (d,8,1, 1H)	121,4 (CH)
9	7,60 (d,8,1, 1H)	129,5 (CH)
10	7,59 (d, 8,1, 1H)	112,1 (CH)
11	-	138,0 (C ₀)
12	8,77 (sl, 1H)	-
13	-	135,6 (C ₀)
14	-	167,1 (C ₀)
15	4,06 (s, 3H)	53,0 (CH ₃)
16	-	143,2 (C ₀)
17	7,95 (dd, 7,8; 1,5, 2H)	128,6 (2CH)
18	7,53 (d, 7,8, 2H)	129,6 (2CH)
19	7,40 (d, 7,8, 1H)	129,3 (CH)
20	7,53 (d, 7,8, 2H)	129,6 (2CH)
21	7,95 (dd, 7,8; 1,5, 2H)	128,6 (2CH)

Uma rota alternativa¹⁹ para a preparação dos derivados tetraidro- β -carbolínicos-1,3-dissubstituídos, partindo-se diretamente do L-triptofano, foi também por nós empregada com o objetivo de melhorar o rendimento dos produtos. Para isso, solubilizou-se o L-triptofano (**25b**) em uma solução 0,5N de H₂SO₄, adicionou-se o benzaldeído e deixou-se sob agitação por 9 (nove) dias a temperatura ambiente. O produto foi obtido como um sólido branco após tratamento com uma solução aquosa de Na₂CO₃ a 10% com um rendimento de 70%. Os dados de RMN ¹H (**ER ¹H-17 - ANEXO**) e RMN ¹³C/DEPT (**ER ¹³C-17 - ANEXO**) foram obtidos e a análise dos valores de deslocamento químico (**Tabela 12**) confirmaram a formação do composto tetraidro- β -carbolínico-3-carbóxi-1-fenil esperado (**42**). Esta metodologia não foi empregada para os demais aldeídos uma vez que o tempo de reação é demasiadamente longo e o rendimento da reação inferior ao obtido anteriormente.

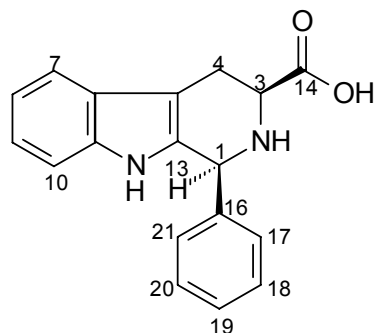
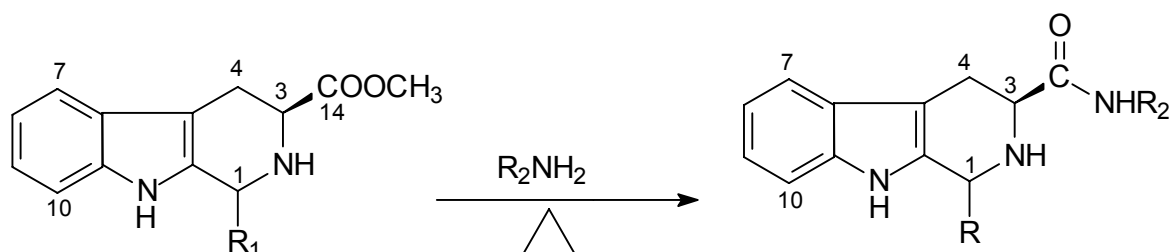


Tabela 12: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, DMSO- d_6) para **(42)**

C/H	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
1	5,43 (s, 1H)	57,9 (CH)
3	3,87 (m, 1H)	56,8 (CH)
4 β	2,90 (t, 13,0, 1H)	24,3 (CH ₂)
4 α	3,14 (dd, 15,5; 3,0, 1H)	-
5	-	107,8 (C ₀)
6	-	128,5 (C ₀)
7	7,46 (d, 6,9, 1H)	118,1 (CH)
8	6,96 (m, 1H)	118,9 (CH)
9	6,98 (m, 1H)	121,4 (CH)
10	7,21 (d, 7,5, 1H)	111,6 (CH)
11	-	136,8 (C ₀)
13	-	126,4 (C ₀)
14	-	172,1 (C ₀)
16	-	132,7 (C ₀)
17	7,40 (m, 5H)	129,7 (2CH)
18	7,40 (m, 5H)	128,6 (2CH)
19	7,40 (m, 5H)	129,0 (CH)
20	7,40 (m, 5H)	128,6 (2CH)
21	7,40 (m, 5H)	129,7 (2CH)

4.2. Preparação e caracterização dos derivados tetraidro-β-carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos (43 a 48 e 49a+49b a 56a+56b)

Conforme mostrado no **Esquema 12** a preparação dos derivados tetraidro-β-carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos propostos envolve a reação dos compostos tetraidro-β-carbolínicos-3-carbometóxi-1-benzossustituídos com diferentes aminas.



Esquema 12

A primeira tentativa de síntese dos derivados tetraidro-β-carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos foi realizada, sem sucesso, através da reação das tetraidro-β-carbolinas-3-carbometóxi-1-benzossustituídas com uma amina, na proporção de 1:8, utilizando tolueno como solvente e conduzida a 140°C⁷³.

Numa segunda tentativa, também sem sucesso, utilizou-se a enzima lipase 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 esperado não foi obtido em nenhuma das condições testadas⁷⁴.

Experimentalmente, a reação de substituição nucleofílica foi realizada com sucesso pelo aquecimento dos compostos tetraidro-β-carbolínicos-3-

carbometóxi-1-benzossustituídos com as aminas a 110°C. As reações foram monitoradas por CCDA, até completo desaparecimento do composto de partida.

Esta metodologia⁷⁵ foi aplicada aos compostos 1-benzossustituídos-3-carbometóxi puros (**34a**, **35b**, **36a** e **38a**) ou como mistura *cis/trans* (**35a+35b**, **36a+36b**, **37a+37b** e **38a+38b**) utilizando-se como aminas a butilamina, isopropilamina, cicloexilamina e pirrolidina, conforme consta na **Tabela 13**.

Tabela 13: Derivados tetraidro-β-carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos

Composto de partida	Produtos	R ₁	R ₂	Tempo (hs)
34a	43	fenil	butil	4
34a	44	fenil	isopropil	19
35b	45	p-metóxi-fenil	butil	17
36a	46	p-hidróxi-fenil	butil	3
36a	47	p-hidróxi-fenil	isopropil	5
38a	48	p-dimetilaminofenil	pirrolidil	8
35a + 35b	49a + 49b	p-metóxi-fenil	butil	4
35a + 35b	50a + 50b	p-metóxi-fenil	isopropil	9
36a + 36b	51a + 51b	p-hidróxi-fenil	cicloexil	7
36a + 36b	52a + 52b	p-hidróxi-fenil	pirrolidil	7
37a + 37b	53a + 53b	3-metóxi-4-hidróxi-fenil	butil	9
37a + 37b	54a + 54b	3-metóxi-4-hidróxi-fenil	isopropil	9
38a + 38b	55a + 55b	p-dimetilaminofenil	butil	3
38a + 38b	56a + 56b	p-dimetilaminofenil	isopropil	8

Todos os produtos foram identificados por IV, EM e RMN ¹H e ¹³C (uni e bidimensional).

O espectro na região do infravermelho (**EIV-9 a -14 - ANEXO**) dos compostos **43** a **48** apresentou uma banda próximo a 1650 cm⁻¹ característico de C=O de amida.

Foram obtidos os espectros de massa dos compostos **43-48 (EM-9 a -14 - ANEXO)** e novamente observou-se um padrão de fragmentação semelhante ao ilustrado no **Esquema 11** com o fragmento comum em m/z 169.

Na **Tabela 14** são mostrados os dados de m/z do pico do íon molecular (M^{+}) de cada um destes compostos, além do valor do fragmento F_1 correspondente à perda do radical $CONHR_2$.

Tabela 14: Valores de m/e para o íon molecular e fragmento F_1 para **43-48**

Composto	m/z (M^{+})	m/z (F_1)
43	347	247
44	333	247
45	378	278
46	363	263
47	349	263
48	388	290

Os espectros de RMN 1H (**ER 1H -18 a -23-ANEXO**) e RMN ^{13}C (**ER ^{13}C -18 a -23-ANEXO**) dos compostos **43-48** foram obtidos e os valores de deslocamento químico para os hidrogênios e carbonos estão apresentados nas **Tabelas 15-18**.

Os espectros de RMN 1H (**ER 1H -18, -20 e -21 - ANEXO**) dos compostos **43, 45 e 46** apresentaram sinais referentes à presença do grupo butil em δ_H 0,91-0,95 correspondente aos hidrogênios da metila; na região de δ_H 1,32-1,38, δ_H 1,48-1,52 e δ_H 3,22-3,27 referente aos hidrogênios metilênicos, este último ligado diretamente ao nitrogênio. Os espectros de RMN ^{13}C (**ER ^{13}C -18, -20 e -21 - ANEXO**) destes compostos apresentaram sinais do grupo butil na região de δ_C

13,7-14,0 atribuídos ao carbono metílico; δ_C 20,1-20,5; δ_C 31,6-31,9 e δ_C 38,8-39,6 atribuídos aos CH₂, sendo este último ligado diretamente ao nitrogênio.

Os espectros de RMN ¹H (**ER ¹H-19 e -22 - ANEXO**) dos compostos **44** e **47** apresentaram sinais referentes à presença do grupo isopropil em δ_H 1,15/1,17 e 1,12/1,14 correspondente aos hidrogênios das metilas e em δ_H 4,12 e 4,00 referente ao hidrogênio metínico, respectivamente de **44** e **47**. O espectro de RMN ¹³C (**ER ¹³C-19 e -22 - ANEXO**) destes compostos apresentaram sinais do grupo isopropil em δ_C 22,9/23,0 e 22,1 atribuídos aos carbonos das metilas, e em δ_C 41,2 atribuído ao CH ligado diretamente ao nitrogênio.

O espectro de RMN ¹H (**ER ¹H-23**) do composto **48** apresentou sinais referentes à presença do grupo pirrolidil em δ_H 1,85 correspondente aos hidrogênios metilênicos ligados ao carbono; em δ_H 3,23 e 3,43 referente aos hidrogênios metilênicos ligados ao nitrogênio. O espectro de RMN ¹³C (**ER ¹³C-23**) apresentou sinais do grupo pirrolidil em δ_C 24,0, 25,8, 45,9 e 46,3, os dois últimos atribuídos aos carbonos ligados diretamente ao nitrogênio.

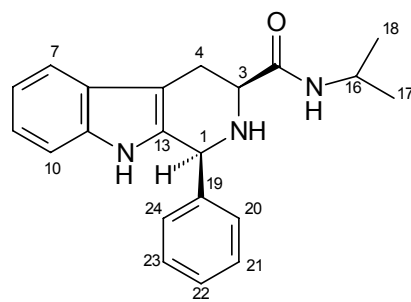
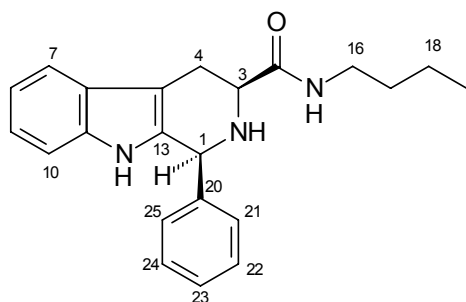


Tabela 15: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **43** e **44**

	43		44	
C/H	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}
1	5,16 (<i>t</i> , 2,1,1H)	59,0 (CH)	5,19 (<i>t</i> , 2,1, 1H)	59,3 (CH)
3	3,71 (<i>dd</i> , 11,3; 4,5, 1H)	58,1 (CH)	3,72 (<i>dd</i> , 11,1; 4,5, 1H)	58,4 (CH)
4 β	2,83 (<i>ddd</i> , 15,7; 11,3; 2,7, 1H)	25,6 (CH_2)	2,84 (<i>ddd</i> , 15,9; 11,1; 2,7, 1H)	25,9 (CH_2)
4 α	3,38 (<i>ddd</i> , 15,7; 4,5; 2,1, 1H)	-	3,39 (<i>ddd</i> , 15,9; 4,5; 2,1, 1H)	-
5	-	110,1 (C_0)	-	110,5 (C_0)
6	-	127,1 (C_0)	-	127,4 (C_0)
7	7,55 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	118,3 (CH)	7,56 (<i>dd</i> , 7,2; 2,1, 1H)	118,7 (CH)
8	7,11 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	119,6 (CH)	7,12 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	119,9 (CH)
9	7,12 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	122,0 (CH)	7,13 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	122,3 (CH)
10	7,19 (<i>d</i> , 7,4, 1H)	110,9 (CH)	7,21 (<i>d</i> , 7,2, 2H)	111,1 (CH)
11	-	136,1 (C_0)	-	136,9 (C_0)
12	-	-	7,48 (<i>sl</i> , 1H)	-
13	-	134,4 (C_0)	-	134,7 (C_0)
14	-	172,5 (C_0)	-	171,9 (C_0)
15	6,97 (<i>t</i> , 5,7, 1H)	-	6,78 (<i>dl</i> , 8,1, 1H)	-
16	3,26 (<i>m</i> , 2H)	38,8 (CH_2)	4,12 (<i>m</i> , 1H)	41,2 (CH)
17	1,48 (<i>m</i> , 2H)	31,6 (CH_2)	1,17 (<i>d</i> , 6,6, 3H)	22,9 (CH_3)
18	1,33 (<i>sext</i> , 7,5, 2H)	20,1 (CH_2)	1,15 (<i>d</i> , 6,6, 3H)	23,0 (CH_3)
19	0,91 (<i>t</i> , 7,5, 3H)	13,7 (CH_3)	-	140,9 (C_0)
20	-	140,7 (C_0)	7,34 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	129,3 (2CH)
21	7,36 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	129,0 (2CH)	7,40 (<i>d</i> , 6,9, 2H)	128,8 (2CH)
22	7,37 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	128,4 (2CH)	7,33 (<i>d</i> , 6,0, 1H)	128,9 (C_0)
23	7,32 (<i>d</i> , 7,5, 1H)	128,6 (CH)	7,40 (<i>d</i> , 6,9, 2H)	128,8 (2CH)
24	7,37 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	128,4 (2CH)	7,34 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	129,3 (2CH)
25	7,36 (<i>d</i> , 7,5, 2H)	129,0 (2CH)	-	-

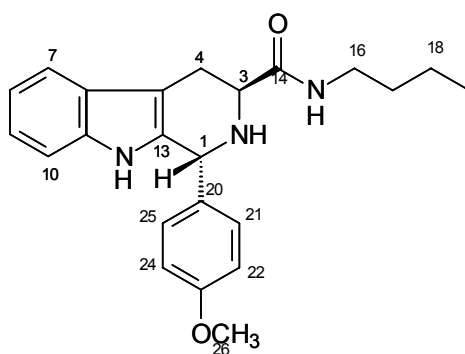


Tabela 16: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **45**

C/H	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
1	5,23 (<i>sl</i> , 1H)	55,0 (CH)
3	3,63 (<i>dd</i> , 9,8; 5,1, 1H)	52,5 (CH)
4 β	2,91 (<i>dd</i> , 16,0; 9,8, 1H)	24,9 (CH_2)
4 α	3,31 (<i>m</i> , 1H)	-
5	-	110,4 (C_0)
6	-	127,3 (C_0)
7	7,58 (<i>dl</i> , 6,9, 1H)	118,7 (CH)
8	7,15 (<i>dd</i> , 7,2; 1,8 1H)	119,8 (CH)
9	7,20 (<i>d</i> , 7,2; 1,2, 1H)	122,4 (CH)
10	7,28 (<i>dd</i> , 8,7; 1,2, 1H)	111,1 (CH)
11	-	136,4 (C_0)
13	-	133,6 (C_0)
14	-	173,1 (C_0)
16	3,22 (<i>m</i> , 2H)	39,1 (CH_2)
17	1,48 (<i>m</i> , 2H)	31,9 (CH_2)
18	1,32 (<i>m</i> , 2H)	20,3 (CH_2)
19	0,92 (<i>t</i> , 7,2, 3H)	14,0 (CH_3)
20	-	133,6 (C_0)
21	7,13 (<i>d</i> , 8,6, 2H)	129,8 (2CH)
22	6,84 (<i>d</i> , 8,6, 2H)	114,1 (2CH)
23	-	159,6 (C_0)
24	6,84 (<i>d</i> , 8,6, 2H)	114,1 (2CH)
25	7,13 (<i>d</i> , 8,6, 2H)	129,8 (2CH)
26	3,79 (<i>s</i> , 3H)	55,5 (CH_3)

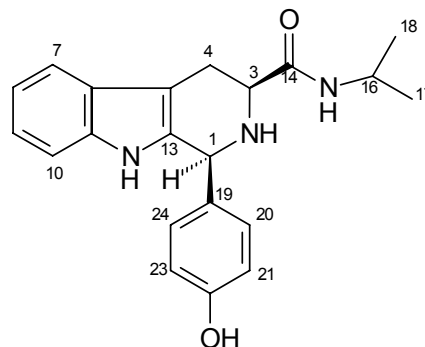
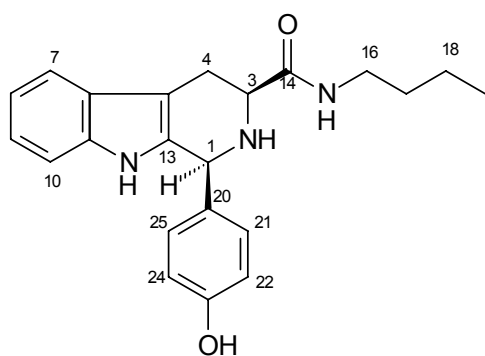


Tabela 17: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **46 e 47**

	46		47	
C/H	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (multiplicidade, J = Hz)	δ_{C}
1	5,14 (<i>t</i> , 2,1, 1H)	58,5 (CH)	5,07 (<i>t</i> , 2,1, 1H)	57,9 (CH)
3	3,74 (<i>dd</i> , 11,1; 4,5, 1H)	58,4 (CH)	3,64 (<i>dd</i> , 11,1; 4,2, 1H)	57,9 (CH)
4 β	2,90 (<i>ddd</i> , 15,0; 11,2; 2,4, 1H)	26,5 (CH_2)	2,81 (<i>ddd</i> , 15,4; 11,1; 2,7, 1H)	25,7 (CH_2)
4 α	3,22 (<i>m</i> , 1H)	-	3,18 (<i>ddd</i> , 15,4; 4,2; 2,1, 1H)	-
5	-	109,1 (C_0)	-	108,9 (C_0)
6	-	127,5 (C_0)	-	126,9 (C_0)
7	7,51 (<i>d</i> , 6,9, 1H)	118,3 (CH)	7,47 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	117,9 (CH)
8	7,07 (<i>m</i> , 1H)	119,4 (CH)	7,03 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	119,0 (CH)
9	7,12 (<i>dd</i> , 1,5, 7,2, 1H)	121,9 (CH)	7,05 (<i>d</i> , 7,8, 1H)	121,5 (CH)
10	7,26 (<i>d</i> , 7,2, 1H)	111,6 (CH)	7,20 (<i>d</i> , 7,2, 2H)	110,9 (CH)
11	-	137,1 (C_0)	-	136,3 (C_0)
13	-	135,4 (C_0)	-	134,7 (C_0)
14	-	174,4 (C_0)	-	172,7 (C_0)
16	3,27 (<i>m</i> , 1H)	39,6 (CH_2)	4,00 (<i>m</i> , 1H)	41,2 (CH)
17	1,52 (<i>m</i> , 1H)	31,9 (CH_2)	1,14 (<i>t</i> , 6,0, 3H)	22,1 (CH_3)
18	1,38 (<i>m</i> , 1H)	20,5 (CH_2)	1,12 (<i>t</i> , 6,6, 3H)	22,1 (CH_3)
19	0,95 (<i>t</i> , 7,2, 3H)	13,9 (CH_3)	-	131,5 (C_0)
20	-	131,8 (C_0)	7,11 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,7 (2CH)
21	7,17 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	130,3 (2CH)	6,77 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	115,6 (2CH)
22	6,82 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	116,3 (2CH)	-	157,2 (C_0)
23	-	158,4 (C_0)	6,77 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	115,6 (2CH)
24	6,82 (<i>d</i> , 8,4, 2H)	116,3 (2CH)	7,11 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	129,7 (2CH)
25	7,17 (<i>d</i> , 8,7, 2H)	130,3 (2CH)	-	-

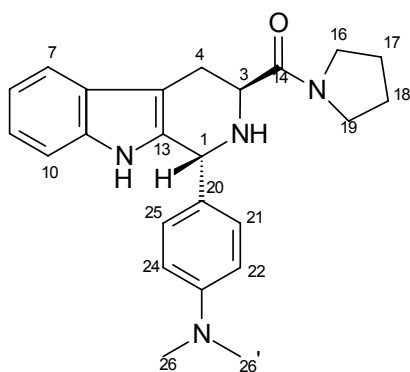


Tabela 18: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **48**

C/H	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}
1	5,21 (s, 1H)	54,3 (CH)
3	3,84 (t, 7,5, 1H)	49,7 (CH)
4	2,98 (m, 2H)	24,5 (CH_2)
5	-	108,3 (C_0)
6	-	126,8 (C_0)
7	7,52 (d, 7,2, 1H)	117,7 (CH)
8	7,12 (m, 1H)	118,9 (CH)
9	7,15 (m, 1H)	121,5 (CH)
10	7,29 (d, 7,8, 1H)	111,0 (CH)
11	-	136,2 (C_0)
13	-	133,6 (C_0)
14	-	172,1 (C_0)
16	3,23 (m, 2H)	46,3 (CH_2)
17	1,85 (m, 4H)	24,0 (CH_2)
18	1,85 (m, 4H)	25,8 (CH_2)
19	3,43 (m, 2H)	45,9 (CH_2)
20	-	128,1 (C_0)
21	7,05 (d, 8,7, 2H)	129,5 (2CH)
22	6,67 (d, 8,7, 2H)	112,5 (2CH)
23	-	150,2 (C_0)
24	6,67 (d, 8,7, 2H)	112,5 (2CH)
25	7,05 (d, 8,7, 2H)	129,5 (2CH)
26	2,91 (m, 6H)	40,5 (2 CH_2)

Da mesma forma, observa-se que a multiplicidade dos hidrogênios H-4 α e H-4 β trata-se de um duplo duplo dubleto (*ddd*) podendo ser justificada através da análise do mapa de contornos COSY (**ER COSY-14 a -20**).

A diferença dos espectros de NOESY (**ER NOESY-10 a -14**) dos isômeros *cis* e *trans* é a correlação do H-1 com H-3 presente no isômero *cis* e ausente no *trans*.

A análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos produtos da reação, partindo-se da mistura *cis/trans* dos compostos tetraidro- β -carbolínicos-3-carbometóxi-1-benzossustituídos, mostrou a formação das tetraidro- β -carbolinas-3-amido-1-benzossustituídas correspondentes (**Tabela 13**). Isto pode ser observado pelos sinais no espectro de RMN ^1H (**ER ^1H -24 a -31**) na região de 5,00 a 5,20 ppm atribuídos aos hidrogênios H-1 dos isômeros e aos sinais correspondentes aos hidrogênios do substituinte do C-3. Nos espectros de RMN ^{13}C (**ER ^{13}C -24 a -31**) os sinais dos C-1 e C-3 na região de 50,0 a 59,0 ppm e dos carbonos do substituinte do C-3 confirmaram a obtenção da mistura dos compostos.

Além dos derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-amido mostrados na **Tabela 19** as reações dos compostos **34a**, **35b** e **38a** com a butilamina, isopropilamina e cicloexilamina resultaram nas β -carbolinas **57**, **58**, **59** e **60**.

Tabela 19: Derivados β -carbolínicos-3-amido-1-benzossustituído

Composto de partida	Produtos	R ₁	R ₂	Tempo (hs)
34a	57	fenil	isopropil	19
35b	58	p-metóxfenil	butil	17
38^a	59	p-dimetilaminofenil	butil	17
38^a	60	p-dimetilaminofenil	cicloexil	16

Os espectros na região do infravermelho (**EIV-15 a -17**) apresentaram uma banda na região de 1649cm^{-1} , característico de C=O de éster α - β -insaturado.

Para estes compostos os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (**ER ^1H -32 a -35**) apresentaram além dos sinais correspondentes ao hidrogênio H-4 como um singleto na região de 8,79-8,92 e aos carbonos C-1 em 140,6-141,2 (C_0); C-3 em 140,5-140,8 (C_0) e C-4 em 112,4-113,7 (CH) sinais referentes ao grupo isopropil para **57**, ao grupo butil para **58** e **59** e sinais para o grupo cicloexil para **60** (**Tabelas 20-22**).

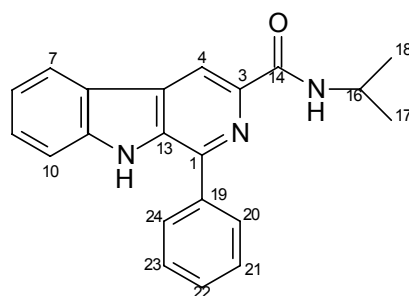


Tabela 20: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **57**.

C/H	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}
1	-	141,2 (C_0)
3	-	140,8 (C_0)
4	8,92 (<i>s</i> , 1H)	113,7 (CH)
5	-	130,9 (C_0)
6	-	122,6 (C_0)
7	8,24 (<i>d</i> , 8,0, 1H)	122,5 (CH)
8	7,37 (<i>ddd</i> , 8,0; 6,8; 1,2, 1H)	121,2 (CH)
9	7,56 (<i>m</i> , 1H)	129,4 (CH)
10	7,54 (<i>m</i> , 1H)	111,9 (CH)
11	-	138,2 (C_0)
13	-	134,9 (C_0)
14	-	164,8 (C_0)
15	8,10 (<i>d</i> , 8,1, 1H)	-
16	4,38 (<i>m</i> , 1H)	41,6 (CH)
17	1,33 (<i>d</i> , 6,3, 6H)	23,2 (CH_3)
18	1,33 (<i>d</i> , 6,3, 6H)	23,2 (CH_3)
19	-	141,2 (C_0)
20	7,99 (<i>dd</i> , 8,2; 1,2, 2H)	128,4 (2CH)
21	7,65 (<i>t</i> , 7,5, 2H)	129,6 (2CH)
22	7,58 (<i>m</i> , 1H)	129,1 (CH)
23	7,65 (<i>t</i> , 7,5, 2H)	129,6 (2CH)
24	7,99 (<i>dd</i> , 8,2; 1,2, 2H)	128,4 (2CH)

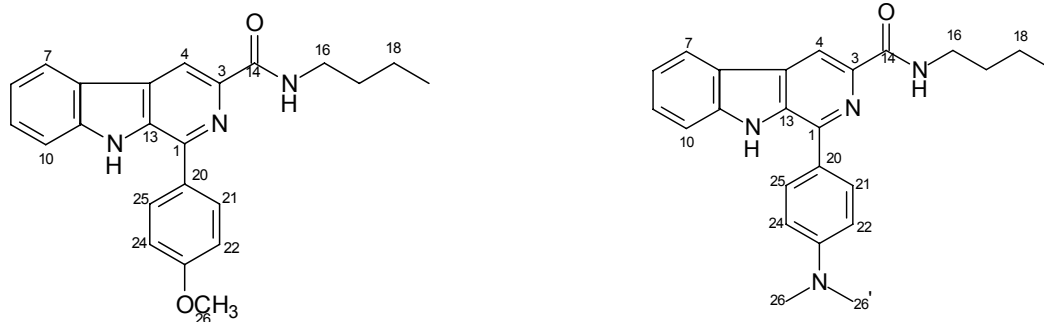


Tabela 21: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **58** e **59**

C/H	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}
1	-	141,0 (C ₀)	-	140,6 (C ₀)
3	-	140,8 (C ₀)	-	140,5 (C ₀)
4	8,88 (s, 1H)	113,3 (CH)	8,79 (s, 1H)	112,4 (CH)
5	-	130,7 (C ₀)	-	125,6 (C ₀)
6	-	122,7 (C ₀)	-	122,5 (C ₀)
7	8,23 (d, 7,8, 1H)	122,5 (CH)	8,18 (d, 7,8, 1H)	122,1 (CH)
8	7,36 (ddd, 8,0; 6,8; 1,5, 1H)	121,2 (CH)	7,31 (ddd, 8,0; 6,0; 2,0, 1H)	120,7 (CH)
9	7,57 (dd, 6,8; 1,2, 1H)	129,0 (CH)	7,53 (d, 6,0, 1H)	128,5 (CH)
10	7,53 (d, 7,5, 1H)	111,6 (CH)	7,54 (d, 6,0, 1H)	111,6 (CH)
11	-	140,8 (C ₀)	-	134,5 (C ₀)
12	8,60 (sl, 1H)	-	-	-
13	-	134,8 (C ₀)	-	130,1 (C ₀)
14	-	165,7 (C ₀)	-	165,7 (C ₀)
15	8,28 (t, 6,0, 1H)	-	8,32 (tl, 6,0, 1H)	-
16	3,55 (quart, 6,9, 2H)	39,5 (CH ₂)	3,52 (quart, 7,2, 2H)	39,2 (CH ₂)
17	1,67 (m, 2H)	32,6 (CH ₂)	1,64 (m, 2H)	32,0 (CH ₂)
18	1,46 (sext, 7,2, 2H)	20,5 (CH ₂)	1,44 (sext, 7,2, 2H)	20,2 (CH ₂)
19	0,98 (t, 7,2, 3H)	14,1 (CH ₃)	0,95 (t, 7,2, 3H)	13,8 (CH ₃)
20	-	141,1 (C ₀)	-	141,6 (C ₀)
21	7,93 (d, 8,9, 2H)	129,7 (2CH)	7,87 (d, 9,0, 2H)	129,0 (2CH)
22	7,16 (d, 8,9, 2H)	115,0 (2CH)	6,90 (d, 9,0, 2H)	112,6 (2CH)
23	-	160,7 (C ₀)	-	151,0 (C ₀)
24	7,16 (d, 8,9, 2H)	115,0 (2CH)	6,90 (d, 9,0, 2H)	112,6 (2CH)
25	7,93 (d, 8,9, 2H)	129,7 (2CH)	7,87 (d, 9,0, 2H)	129,0 (2CH)
26	3,94 (s, 3H)	55,7 (CH ₃)	3,04 (s, 6H)	40,4 (2CH ₃)

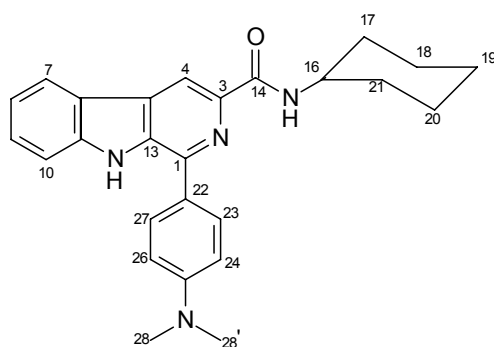


Tabela 22: Dados de RMN ^1H e ^{13}C (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **60**

C/H	δ_{H} (<i>multiplicidade</i> , J = Hz)	δ_{C}
1	-	140,9 (CH)
3	-	140,8 (CH)
4	8,81 (s, 1H)	112,6 (CH)
5	-	125,9 (C_0)
6	-	122,7 (C_0)
7	8,20 (d, 8,1, 1H)	122,4 (CH)
8	7,33 (m, 1H)	120,1 (CH)
9	7,54 (m, 1H)	128,7 (CH)
10	7,54 (m, 1H)	111,9 (CH)
11	-	134,7 (C_0)
13	-	130,3 (C_0)
14	-	164,9 (C_0)
15	8,25 (d, 8,7, 1H)	-
16	4,05 (m, 1H)	48,3 (CH)
17	2,06 (m, 2H)	33,5 (CH_2)
18	1,79 (m, 2H)	25,2 (CH_2)
19	1,64 (m, 2H)	26,0 (CH_2)
20	1,33 (m, 2H)	25,2 (CH_2)
21	1,40 (m, 2H)	33,5 (CH_2)
22	-	141,7 (C_0)
23	7,90 (d, 8,7, 2H)	129,2 (2CH)
24	6,91 (d, 9,0, 2H)	112,8 (2CH)
25	-	151,2 (C_0)
26	6,91 (d, 9,0, 2H)	112,8 (2CH)
27	7,90 (d, 8,7, 2H)	129,2 (2CH)
28	3,05 (s, 6H)	40,6 (2 CH_3)

4.3. Estudos conformacionais a partir de cálculos computacionais para os derivados tetraidro- β -carbolínicos (37a) e (37b)

Os estudos conformacionais para os derivados 3-carbometóxi-1-benzossustituídos foram baseados nos dados de RMN para os hidrogênios e carbonos envolvidos na análise e mostrados na **Tabela 23**.

Tabela 23: Dados de RMN de ^1H de H-1, H-3, H-4 β e H-4 α e RMN ^{13}C de C-1, C-3 e C-4 (300,06/75,45 MHz, CDCl_3) para **34a-40a** e **34b-40b**.

Composto	H (1)	C (1)	H (3)	C (3)	H (4 β)	H (4 α)	C (4)
34a cis	5,81 (<i>sl</i>)	58,4	4,19 (<i>dd</i>)	56,7	3,27 (<i>m</i>)	3,36 (<i>m</i>)	25,6
34b trans	5,36 (<i>s</i>)	55,1	3,94 (<i>dd</i>)	52,7	3,11 (<i>ddd</i>)	3,26 (<i>ddd</i>)	24,9
35a cis	5,17 (<i>s</i>)	58,1	3,95 (<i>dd</i>)	57,0	2,99 (<i>m</i>)	3,21 (<i>m</i>)	25,9
35b trans	5,34 (<i>sl</i>)	54,5	3,95 (<i>t</i>)	52,8	3,11 (<i>ddd</i>)	3,25 (<i>ddd</i>)	24,8
36a cis	5,17 (<i>t</i>)	57,6	3,95 (<i>dd</i>)	56,5	2,98 (<i>ddd</i>)	3,24 (<i>ddd</i>)	25,4
36b trans	5,19 (<i>sl</i>)	54,5	3,79 (<i>dd</i>)	51,7	2,93 (<i>ddd</i>)	3,13 (<i>ddd</i>)	24,7
37a cis	5,16 (<i>t</i>)	58,9	3,96 (<i>dd</i>)	57,2	3,00 (<i>ddd</i>)	3,22 (<i>ddd</i>)	25,8
37b trans	5,33 (<i>sl</i>)	54,8	3,96 (<i>dd</i>)	51,9	3,09 (<i>ddd</i>)	3,28 (<i>ddd</i>)	24,5
38a cis	5,10 (<i>t</i>)	58,2	3,93 (<i>dd</i>)	57,2	2,99 (<i>m</i>)	3,19 (<i>ddd</i>)	26,0
38b trans	5,27 (<i>sl</i>)	54,6	3,95 (<i>dd</i>)	52,6	3,08 (<i>ddd</i>)	3,24 (<i>ddd</i>)	24,9
39a cis	5,36 (<i>t</i>)	58,0	3,96 (<i>dd</i>)	56,7	3,02 (<i>ddd</i>)	3,24 (<i>ddd</i>)	25,6
39b trans	5,57 (<i>sl</i>)	54,4	3,97 (<i>t</i>)	52,9	3,17 (<i>dd</i>)	3,31 (<i>dd</i>)	24,6
40a cis	5,38 (<i>t</i>)	58,2	3,98 (<i>dd</i>)	56,7	3,02 (<i>ddd</i>)	3,26 (<i>ddd</i>)	25,7
40b trans	5,53 (<i>s</i>)	54,4	3,93 (<i>t</i>)	52,8	3,16 (<i>dd</i>)	3,28 (<i>dd</i>)	24,7

Como observado na **Tabela 23** as principais diferenças entre os dados dos isômeros *cis* e *trans* trata-se do deslocamento químico de C-1 e C-3. Os sinais de deslocamento químico dos carbonos C-1 e C-3 para o isômero *cis* são mais desblindados que àqueles do diastereoisômero *trans*.

Este mesmo comportamento foi observado por Cook e col.⁷⁶ para compostos análogos. Para explicar a razão desta diferença, Cook e col.⁷⁶ estudaram pelo uso de modelos moleculares a conformação dos diastereoisômeros *cis* e *trans* para o composto contendo um grupo fenil no C-1 e um grupo carbometóxi no C-3. Produtos estes da condensação de Pictet-Spengler do D-triptofano com o benzaldeído. No caso do diastereoisômero *trans*, Cook e col.⁷⁶ atribuíram ao confôrmero I (**Figura 5**) maior estabilidade que a do confôrmero II (**Figura 5**), já que neste último ocorreria uma interação 1,4-gauche entre o H-1 e o grupo carbometóxi do C-3, além de uma interação desfavorável entre o grupo fenil (C-1) e o N-H indólico. Já para o isômero *cis* o confôrmero III (**Figura 5**) predominaria sobre o confôrmero IV (**Figura 5**) devido à interação desfavorável entre o fenil-axial e o grupo carbometóxi-axial no confôrmero IV.

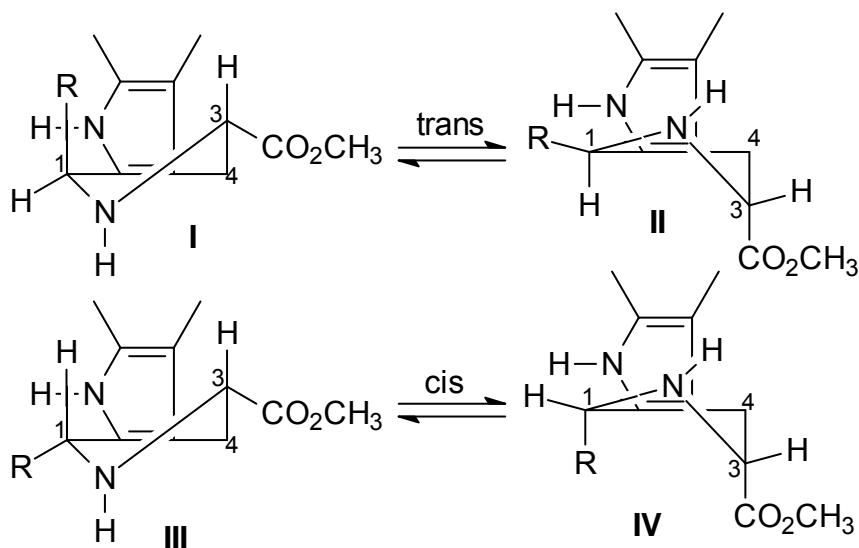


Figura 5: Conformações dos isômeros *cis* e *trans* obtidas por modelo molecular

A explicação da proteção dos carbonos C-1 e C-3 do isômero *trans* em relação ao *cis*, seria devido ao efeito γ -gauche do grupo carbometóxi que protege

o carbono C-1 (na conformação II) e do efeito γ -*gauche* do grupo fenil que protege o C-3 (na conformação I).

Em estudos mais recentes, Aimi e col.⁷⁷ utilizaram cálculos computacionais para otimizar as conformações para tetraidro- β -carbolinas contendo um grupo carbóxi no C-3 e um grupo etila (-CH₂CH₃) no C-1. Observaram que a diferença de energia potencial entre as duas conformações possíveis do isômero *cis* era de 2,63 kcal.mol⁻¹, indicando uma proporção de 98,9 (1eq-etil-3eq-carboxil) : 1,1 (1ax-etil-3ax-carboxil) entre os dois confôrmeros. No caso do diastereoisômero *trans*, a diferença de energia potencial entre eles é 0,752 kcal.mol⁻¹, sugerindo que este existe como uma mistura de confôrmeros na proporção de 78 (1eq-etil-3ax-carboxil) : 22 (1ax-etil-3eq-carboxil).

Devido à ausência de estudos conformacionais mais detalhados de derivados 1-benzossustituídos e, com base no trabalho de Aimi e col.⁷⁷, realizamos cálculos computacionais para os compostos **(37a)** e **(37b)**. As estruturas foram otimizadas utilizando a teoria do funcional de densidade (TFD), com método híbrido B3LYP e o conjunto de base 6-311+G(d). Os cálculos foram realizados através do programa Gaussian 98.

As conformações otimizadas, a 298K, para cada um dos isômeros encontram-se nas **Figuras 6 e 7**.



Figura 6: Conformações otimizadas (B3LYP/6-311G+d) para o isômero *trans*

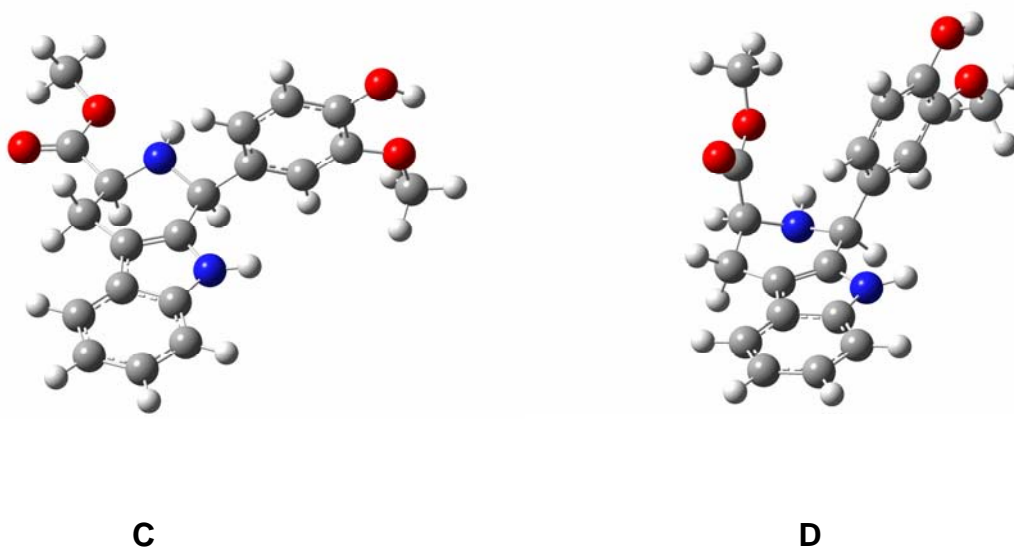


Figura 7: Conformações otimizadas (B3LYP/6-311G+d) para o isômero *cis*

A diferença de energia calculada entre os confôrmeros **A** e **B** (isômero *trans*) é de $1,94 \text{ kcal.mol}^{-1}$, indicando uma proporção de 96% de **A** e 4% de **B**.

Esta proporção pode ser atribuída à presença de um grupo volumoso na posição C-1, o qual assume uma situação mais estável na posição equatorial, favorecendo assim a presença majoritária de apenas um conformero. No caso do estudo de Aimi e col⁷⁷ a presença de mistura conformacional é favorecida porque o grupo etil ligado ao C-1 é um grupo menor, e desta forma as interações existentes serão bem menos significativas que no caso do grupo fenil.

Para os conformeros **C** e **D** (isômero *cis*) a diferença de energia é de 26,57 kcal.mol⁻¹, indicando uma proporção de praticamente 100% de **C**, sendo o mesmo observado no estudo de Aimi e col⁷⁷.

A leitura das cargas de Mülliken vem comprovar a blindagem dos carbonos C-1 e C-3 do isômero *trans* em relação ao *cis* (**Tabela 24**).

Tabela 24: Valores das cargas de Mülliken para os conformeros mais estáveis dos isômeros *cis* (**37a**) e *trans* (**37b**)

C	Carga de Mülliken (e)
C-1 <i>trans</i>	-0,0901
C-3 <i>trans</i>	-0,146
C-1 <i>cis</i>	-0,0620
C-3 <i>cis</i>	-0,134

Para os dois diastereoisômeros, foi observada praticamente apenas um dos conformeros, assim a blindagem do C-3 no isômero *trans* não pode ser atribuída a um efeito γ -gauche. Isso nos leva a crer que exista outro tipo de efeito envolvido na blindagem deste carbono.

Com o intuito de investigarmos os possíveis efeitos envolvidos neste fenômeno, aplicamos cálculos de NBO (Natural Bond Orbital) para os

confôrmeros mais estáveis **A** e **C**, os quais nos possibilitam uma investigação detalhada das interações existentes entre determinados orbitais (efeitos hiperconjugativos).

Este cálculo mostrou uma grande energia de interação (**Tabelas 25 e 26**) entre o par de elétrons não ligante do nitrogênio e o orbital sigma anti-ligante (σ^*) dos carbonos C-1 e C-3, sendo esta a mais efetiva dentre todas as outras possíveis interações. Os valores encontrados para as demais interações existentes também estão compilados nas **Tabelas 25 e 26**.

Tabela 25: Energias de interação entre orbitais pelo método NBO para o confôrmero mais estável **A**

NBO doador	NBO acceptor	E (kcal/mol)
σ_{C4-H}	σ^*_{C3-C14}	4,45
n_{LN2}	σ^*_{C3-C14}	10,29
σ_{C4-C5}	σ^*_{C3-H}	1,51
σ_{N2-C1}	σ^*_{C3-H}	1,57
n_{LN2}	σ^*_{C1-H}	5,98
σ_{C13-C5}	σ^*_{C1-C16}	0,98
π_{C13-C5}	σ^*_{C1-C16}	2,33
σ_{N2-C3}	σ^*_{C1-C16}	2,11
σ_{C4-C3}	$\pi^*_{C=O}$	2,93
σ_{C4-C3}	$\sigma^*_{C=O}$	2,06
σ_{C3-H}	$\pi^*_{C=O}$	5,64
σ_{C3-H}	$\sigma^*_{C=O}$	2,29
σ_{C13-C1}	$\pi^*_{C16-C17}$	2,33
σ_{C13-C1}	$\sigma^*_{C16-C17}$	0,76
σ_{N2-C1}	$\pi^*_{C16-C17}$	0,96
σ_{N2-C1}	$\sigma^*_{C16-C17}$	1,76

Tabela 26: Energias de interação entre orbitais pelo método NBO para o confômero mais estável **C**

NBO doador	NBO acceptor	E (kcal/mol)
σ_{C4-H}	σ^*_{C3-H}	3,56
n_{LN2}	σ^*_{C3-H}	10,57
σ_{C4-C5}	σ^*_{C3-C14}	2,66
σ_{N2-C1}	σ^*_{C3-C14}	2,49
n_{LN2}	σ^*_{C1-H}	10,25
σ_{C13-C5}	σ^*_{C1-C16}	1,21
π_{C13-C5}	σ^*_{C1-C16}	2,75
σ_{N2-C3}	σ^*_{C1-C16}	2,25
σ_{N2-C3}	$\pi^*_{C=O}$	1,42
σ_{N2-C3}	$\sigma^*_{C=O}$	2,15
σ_{C3-C4}	$\pi^*_{C=O}$	8,19
σ_{C3-C4}	$\sigma^*_{C=O}$	1,81
σ_{C13-C1}	$\pi^*_{C16-C17}$	1,97
σ_{C13-C1}	$\sigma^*_{C16-C17}$	1,14
σ_{N2-C1}	$\pi^*_{C16-C17}$	1,04
σ_{N2-C1}	$\sigma^*_{C16-C17}$	1,49

O efeito hiperconjugativo observado juntamente com o efeito γ -gauche do grupo carbometóxi axial (confômero **A**) pode explicar a maior proteção do carbono C-1 no isômero *trans*, uma vez que no isômero *cis* apenas o efeito de hiperconjugação está presente.

Para o C-3 não existe o efeito γ -gauche em nenhum dos isômeros, estando presente apenas o efeito hiperconjugativo. Assim, para justificar a blindagem do C-3 no isômero *trans* em relação ao *cis* outras interações foram consideradas. Os cálculos de NBO mostraram que quando o grupo carbometóxi

está na axial (confômero **A** -*trans*) ocorre interação hiperconjugativa entre a ligação σ_{C3-C4} e σ_{C3-H} com o orbital pi antiligante (π^*) da carbonila (**Figura 8a**).

Por outro lado, quando o grupo carbometóxi encontra-se na equatorial (confômero **C** -*cis*) as interações hiperconjugativas existentes são entre a ligação σ_{N2-C3} e σ_{C3-C4} com o orbital pi antiligante (π^*) da carbonila (**Figura 8b**), ou seja, existe interação direta entre a densidade eletrônica sobre o átomo de nitrogênio com o sistema π carbonílico. Isto acarreta uma transferência eletrônica direta para o sistema π , gerando uma menor densidade eletrônica sobre o C-3 proveniente do átomo de nitrogênio. Provavelmente, este efeito seja o diferencial na blindagem deste carbono no isômero *trans*, justificando assim, a diferença nas cargas de Mülliken. Vale ressaltar que a carga líquida sentida pelo núcleo atômico do carbono C-3 é produzida pelo efeito líquido das interações hiperconjugativas, mas as mais significativas são as citadas acima.

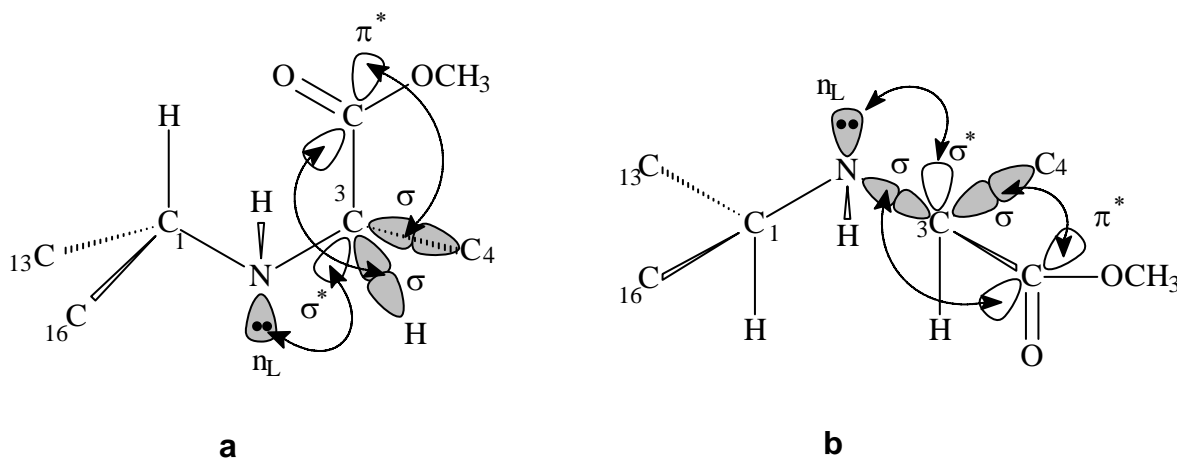


Figura 8: Representação esquemática das interações hiperconjugativas para os isômeros *trans* (a) e *cis* (b)

4.4. Ensaios Biológicos

4.4.1. Avaliação da toxicidade dos compostos sintetizados frente a *Artemia salina*

Realizou-se o bioensaio de letalidade da *Artemia salina* conforme procedimento descrito na literatura⁷⁸. A avaliação da toxicidade de alguns dos compostos sintetizados foi realizada em duplicata para três concentrações diferentes, 500, 250 e 100µg/mL. Através das porcentagens de inibição foi possível prever a IC₅₀ para os compostos frente o microcrustáceo (**Tabela 27**).

Tabela 27: Dados da IC₅₀ e da porcentagem de inibição da *Artemia salina* tratada com os compostos sintetizados

Composto	C =500 µg/mL	C = 250 µg/mL	C = 100µg/mL	IC ₅₀ (mM)
34a	55	17	2	0,44
35a+35b	100	100	71	<0,30
49a+49b	33	26	14	>1,33
36a	8	5	0	>1,55
52a+52b	46	29	7	>1,33
43	18	8	5	>1,44
44	38	10	8	>1,50
37a+37b	15	12	5	>1,42
54a+54b	5	3	0	>1,32
38a	50	43	8	1,43
55a+55b	0	0	0	>1,28
39a	12	0	0	>1,42
controle	100% vivo			

A maioria dos compostos apresentou uma IC_{50} frente a *Artemia salina* superior a 1,28 mM. Os compostos **34a** e **35a+35b** apresentaram IC_{50} igual a 0,44 mM e menor que 0,30 mM, respectivamente. Para o cálculo da IC_{50} do composto **34a** construiu-se o gráfico do logaritmo da concentração pela porcentagem de inibição.

A mistura dos isômeros **35a+35b** apresentaram melhor atividade frente o microcrustáceo. Na comparação dos compostos contendo o grupo carbometóxi, observou-se que, com exceção do **36a**, com a formação das amidas correspondentes houve um decréscimo na atividade.

Comparando-se os compostos **36a**, **43** e **44** observa-se que a presença de um substituinte cíclico ligado ao nitrogênio da amida aumenta a porcentagem de inibição da *Artemia salina* em comparação a substituintes alifáticos.

4.4.2. Avaliação da atividade tripanossomicida

4.4.2.1. Teste de inibição das formas epimastigotas de *T. cruzi*

Para os testes de inibição das formas epimastigotas de *T. cruzi*⁷⁹ foram selecionados alguns dos compostos sintetizados. Para que um fosse possível um estudo da relação estrutura-atividade, selecionou-se compostos contendo o grupo 3-carbometóxi contendo grupos doadores ou captos de elétrons no anel benzênico ligado ao C-1. Comparou-se também a atividade de alguns compostos contendo o grupo carbometóxi com derivados destes contendo o grupo amido no C-3.

Os resultados da concentração requerida para 50% de inibição (IC_{50}) das formas epimastigotas de *T. cruzi* estão apresentados na **Tabela 28**.

Tabela 28: Dados de IC₅₀ obtidos para as tetraidro-β-carbolinas no teste de inibição das formas epimastigotas de *T. cruzi*.

Composto	IC ₅₀ (mM)
38a	>0,29
55a+55b	0,06
34a	0,22
43	0,02
37a	0,21
39a	<0,03
36a	>0,31
46	>0,28
51a+51b	0,18

Dentre os compostos contendo o grupo carbometóxi no C-3, o composto contendo um grupo captor de elétrons, **39a** apresentou melhor atividade frente o parasita causador da doença de chagas, com uma IC₅₀ menor que 0,03 mM.

Não foi possível calcular a IC₅₀ para o composto **39a** devido ao fato que a atividade foi testada nas concentrações de 100, 50 e 10 µg/mL.

Comparando-se os compostos contendo o substituinte carbometóxi na posição 3 (**34a**, **36a** e **38a**) com àqueles contendo um grupo amido (**43**, **46**, **51a+51b** e **55a+55b**), observa-se que com a presença do grupo amido há um aumento na atividade frente a *T. cruzi*, sendo o melhor resultado observado para o composto **43**, com uma IC₅₀ de 0,02 mM.

Quanto aos compostos **46** e **51a+51b** observa-se que a presença de um substituinte cíclico ligado ao nitrogênio da amida aumenta a atividade em comparação a substituintes alifáticos.

4.4.2.2. Inibição da enzima GAPDH glicossomal de *T. cruzi*

O teste de inibição da enzima GAPDH⁸⁰ foi realizado com alguns dos compostos preparados e estes não mostraram-se bons inibidores, já que inibidores potentes inibem 80 a 100% da atividade enzimática na concentração utilizada para os testes (200 µg/mL).

Dos resultados obtidos para os compostos testados (**Tabela 29**) o **37a** apresentou maior porcentagem de inibição da enzima glicossomal de *T. cruzi*.

Tabela 29: Porcentagem de inibição da enzima g-GAPDH de *T. cruzi*

Composto	% de inibição
Controle	0
34a	11
35a	<0
36a	2
37a	15
38a	7
46	9
47	<0

A comparação deste teste de inibição da enzima glicossomal de *T. cruzi*, com o descrito anteriormente, não foi possível já que não foram testados os mesmos compostos. Este estudo será realizado posteriormente.

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 4000cm^{-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, COSY e NOESY.

As estruturas foram otimizadas utilizando a teoria do funcional de densidade (TFD), com método híbrido B3LYP e o conjunto de base 6-311+G(d). Os cálculos foram realizados através do programa Gaussian 98⁸¹. As análises de NBO foram feitas utilizando o nível de teoria HF/6-31G.

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

Os solventes utilizados nas reações foram metanol (Aldrich, 99,9%) e diclorometano (Carlo Erba, 99,5%). Os ácidos empregados foram o ácido sulfúrico (Dinâmica 95-98%) e o ácido trifluoroacético (Carlo Erba). Os reagentes utilizados foram, o L-triptofano (Vetec, 98,5%); benzaldeído (Acros Organics, 99%), *p*-anisaldeído (Aldrich, 98%), *p*-hidroxibenzaldeído (Acros Organics, 99%), vanilina (Acros Organics, 99%), *p*-dimetilaminobenzaldeído (Merck, 98,5%), *m*-nitrobenzaldeído (Acros Organics, 99%), *p*-nitrobenzaldeído (Acros Organics, 99%), *m*-clorobenzaldeído (Acros Organics, 99%); *n*-butilamina (Acros Organics, 99,8%), isopropilamina (Acros Organics, 99%), cicloexilamina (Aldrich, 99%), pirrolidina (Aldrich, 99%).

5.3. Síntese do triptofano metil éster (16)

Em um balão equipado com um agitador magnético e um condensador, foram adicionados 1,051 g (5,15 mmol) de L-triptofano, 10 mL de MeOH e 1,0 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi mantida sob refluxo e agitação por 7 horas. Após evaporação de todo metanol, o produto bruto foi neutralizado com uma solução de carbonato de sódio a 10% e posteriormente extraído com acetato de etila (3 x 10mL). A fase orgânica foi lavada com água (3 x 10 mL), seca com

sulfato de sódio anidro e, após filtragem do secante, o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi obtido puro com um rendimento de 87%.

Dados de RMN ^1H e ^{13}C : **Tabela 1.**

5.4. Procedimento geral para a síntese das tetraidro- β -carbolinas-3-carbometóxi-1-benzossustituídas (34a-40a) e (34b-40b)

Em um balão equipado com um agitador magnético foram adicionados 100,3 mg (0,46 mmol) de triptofano metil éster, previamente solubilizado em CH_2Cl_2 , 0,46 mmol do aldeído e traços de ácido trifluoroacético. A mistura reacional foi mantida a 0°C por 24 horas. A seguir foi adicionado 1,01 mmol de ácido trifluoroacético e a mistura foi agitada a temperatura ambiente. A reação foi monitorada por CCDA até o desaparecimento do material de partida. Após evaporação do CH_2Cl_2 e do ácido trifluoroacético remanescente o produto bruto foi neutralizado com uma solução de carbonato de sódio a 10% e posteriormente extraído com acetato de etila (3 x 10 mL). A fase orgânica foi lavada com água (3 x 10mL), seca com sulfato de sódio anidro e, após filtragem, o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi submetido a CCDP (sílica gel; hexano/acetato de etila 40%) fornecendo os produtos puros.

Dados de EM: **Tabela 3**

Dados de RMN ^1H e ^{13}C : **Tabelas 4 a 10.**

5.5. Síntese da tetraidro- β -carbolina (42)

Em um balão equipado com um agitador magnético foram adicionados 102,0 mg (0,50 mmol) de L-triptofano, solubilizado em 5,0 mL de uma solução aquosa de H₂SO₄ 0,05 N e 56,7 μ L (0,55 mmol) de benzaldeído. A mistura reacional foi mantida a temperatura ambiente e o andamento da reação monitorado por CCDA. Após o consumo do material de partida (9 dias) o produto bruto foi neutralizado com uma solução de carbonato de sódio a 10% e a formação de um precipitado branco foi observada. O produto foi obtido em 70% de rendimento após filtração.

Dados de RMN ¹H e ¹³C: **Tabela 12.**

5.6. Procedimento geral para a síntese das tetraidro- β -carbolinas-3-amido-1-benzossustituídas (43-48) e (49a+49b – 56a+56b)

Em um balão equipado com um agitador magnético e um condensador foram adicionados 0,15 mmol da tetraidro- β -carbolina-3-carbometóxi-1-benzossustituída pura ou como mistura *cis/trans* e aproximadamente 2,0 mL da amina (até a completa solubilização do composto de partida). A mistura foi mantida sob agitação a 110°C e o desenvolvimento da reação acompanhado por CCDA. Após evaporação da amina, quando necessário, o produto bruto foi submetido a CCDP (hexano/AcOEt 50%) para obtenção do produto puro.

Dados de EM: **Tabela 14**

Dados de RMN ¹H e ¹³C: **Tabelas 15 a 18.**

5.7. Bioensaio de letalidade da *Artemia salina*

Preparação das amostras: foram pesados 9,0 mg dos compostos sintetizados e dissolvidos em 9,0 mL de solução salina (solução aquosa de NaCl 3,8%). Alíquotas de 2,5 mL, 1,25 mL e 0,5 mL foram transferidas para tubos e os volumes completados com água salina para 5,00 mL, perfazendo três concentrações diferentes (500, 250 e 100 µg/mL). Para cada substância testada e controle foram preparadas duas réplicas.

Eclosão dos cistos de Artemia salina: 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 a vinte 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 após 24 horas.

5.8. Atividade biológica em *Trypanosoma cruzi*

5.8.1. Inibição das formas epimastigotas de *T. cruzi*

Os ensaios foram realizados no Departamento de Análises Clínicas da UEM, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Celso Vataru Nakamura.

Microorganismos: foram utilizadas cepas Y de formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* cultivadas em meio LIT contendo 10% de soro bovino fetal a 28°C em tubos de 16 x 150 mm com tampa de rosca, contendo alíquotas de 5,0 ml de meio, e esterelizados por autoclavação a 121°C por 20 minutos. Após crescimento por 96 a 120 horas, as culturas foram submetidas a repiques.

Experiências de Crescimento: Para avaliar o efeito no crescimento de *Trypanosoma cruzi*, várias concentrações das substâncias foram adicionadas em meio LIT, distribuídos em placas de 24 wells com volume final de 1ml. O inóculo utilizado nos experimentos foi obtido a partir de culturas das células em LIT após o crescimento por 96 horas a 28°C. A padronização do inóculo em 1×10^6 células/ml foi feita através da contagem em câmara hematocimétrica de Neubauer (Improved Double Neubauer Ruling), previamente diluídas em solução de formalina a 5%. Após a inoculação dos protozoários as placas foram incubadas a 28°C, por um período de até 168 horas. Após 48 e 96 horas o crescimento foi avaliado através da contagem das células em câmara hematocimétrica de Neubauer (Improved Double Neubauer Ruling).

5.8.2. Inibição da enzima gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase glicossomal de *T. cruzi*

Os ensaios foram realizados no Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, pelo Pós-graduando Aderson Zottis, sob orientação do Prof. Dr. Glaucius Olivo.

O ensaio enzimático consiste em verificar espectrofotometricamente, a 340 nm num intervalo de 30 segundos a 25⁰C, a quantidade de NADH produzida durante a reação de catálise pela enzima GAPDH. Mede-se a porcentagem de inibição da atividade enzimática após a adição da substância a ser testada. O meio reacional foi 100mM de tampão trietanolamina (pH 7,5), 1mM de β-mercapto-etanol, 1mM de EDTA, 30 nM de Arseniato de Sódio (Na₂HAsO₄), 300 μM de D-gliceraldeído-3-fosfato (D-G3P), 400 μM de NAD⁺. A reação foi iniciada pela adição de 5 nM da enzima GAPDH glicossomal de *T. cruzi*. Os testes foram realizados em duplicata, na concentração de 200 mM para cada substância.

6. CONCLUSÕES

A reação de condensação de Pictet-Spengler, catalisada por ácido, do L-triptofano esterificado (**16**) com uma série de aldeídos aromáticos forneceu os alcalóides tetraidro- β -carbolínicos-3-carbometóxi-1-benzossustituídos como mistura dos isômeros *cis* (1S, 3S) (**37a-40a**) e *trans* (1R, 3S) (**37b-40b**). O diastereoisômero *cis* foi obtido preferencialmente em todas as reações.

As reações de ciclização com aldeídos contendo substituintes captadores de elétrons, como o *m*-nitrobenzaldeído e o *p*-nitrobenzaldeído, ocorreram mais rapidamente que para os aldeídos contendo substituintes doadores de elétrons. Isto foi explicado com base no mecanismo proposto para a formação de tetraidro- β -carbolinas, que envolve a formação de uma imina como intermediário. Assim, a presença de substituintes captadores de elétrons no anel do aldeído aumenta a eletrofilicidade do carbono imínico, levando a um menor tempo de reação.

A reação de substituição nucleofílica dos alcalóides tetraidro- β -carbolínicos-3-carbometóxi-1-benzossustituídos, na forma pura ou como mistura de isômeros *cis/trans*, com as aminas butilamina, isopropilamina, cicloexilamina e pirrolidina forneceu uma série de derivados tetraidro- β -carbolínicos-3-amido-1-benzossustituídos (**43-48**) e (**49a+49b a 56a+56b**).

Além dos derivados esperados, foram obtidos também as β -carbolinas **41**, **57**, **58**, **59** e **60** resultantes da aromatização do anel C.

A análise dos dados espectrais possibilitou a confirmação das estruturas dos compostos sintetizados. As principais diferenças observadas entre os valores de deslocamento químico de RMN dos isômeros *cis* e *trans* trata-se da

blindagem dos carbonos C-1 e C-3 do isômero *trans* quando comparado com àqueles do isômero *cis*.

A utilização de cálculos computacionais na análise conformacional dos compostos **(37a)** e **(37b)** mostrou a presença majoritária de um dos confôrmeros para cada diastereoisômero, sendo o 1eq-fenil-3eq-carbometóxi para o *cis* e 1eq-fenil-3ax-carbometóxi para o *trans*. Pelas análises de NBO para os confôrmeros mais estáveis dos isômeros *cis* e *trans* conclui-se que o efeito hiperconjugativo, juntamente com o efeito γ -gauche do grupo carbometóxi axial, pode explicar a maior proteção do carbono C-1 no isômero *trans*, uma vez que no isômero *cis* apenas o efeito de hiperconjugação está presente. Para o C-3 a blindagem pode ser explicada apenas pelo efeito hiperconjugativo, uma vez que, para o isômero *cis* existe interação direta entre a densidade eletrônica sobre o átomo de nitrogênio com o sistema π carbonílico, acarretando uma transferência eletrônica direta para o sistema π , gerando uma menor densidade eletrônica sobre o C-3 proveniente do átomo de nitrogênio.

A avaliação da atividade de inibição frente a *Artemia salina* mostrou uma IC₅₀ superior a 500 μ g/mL para a maioria dos compostos testados. Os compostos **34a** e **35a+35b** apresentaram IC₅₀ igual a 0,44 mM e menor que 0,30 mM, respectivamente. Com exceção do **36a**, a substituição do grupo carbometóxi, no C-3, pelo grupo amido resultou numa diminuição da porcentagem de inibição. Comparando-se os compostos **36a**, **43** e **44** observou-se que a presença de um substituinte cíclico ligado ao nitrogênio da amida aumentou a porcentagem de inibição da *Artemia salina* em comparação a substituintes alifáticos.

O teste de inibição da enzima GAPDH glicossomal de *T. cruzi* foi realizado com alguns dos compostos sintetizados, e estes não mostraram-se bons inibidores da atividade enzimática na concentração testada (200 µg/mL).

Foi realizado ainda, o teste de inibição das formas epimastigotas de *T. cruzi* com alguns dos compostos testados. O composto **39a**, apresentou melhor atividade, com um IC₅₀ menor que 0,03 mM. Diferentemente do teste com *Artemia salina*, a presença do grupo 3-amido levou a um aumento da atividade. Para derivados contendo o grupo 3-amido, o melhor resultado obtido foi para o composto **43** (IC₅₀ = 0,02 mM). Estes resultados demonstram a potencialidade de alguns dos derivados preparados neste trabalho e a importância da continuidade dos estudos com esta classe de compostos.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Buckholtz, N. S.; *Life Science* **1980**, *27*, 893.
2. Airaksinen, M. M.; Kari, I.; *Med. Biol.* **1981**, *59*, 21.
3. Fekkes, D.; Tuiten, A.; Bom, I.; Pepplinkhuizen, L.; *Life Science* **2001**, *69*, 2113.
4. Peura, P.; Johnson, J. V.; Yost, R. A.; Faull, K. F.; *J. Neurochem.* **1989**, *52*, 847.
5. Rommelspacher, H.; May, T.; Susilo, R.; *Planta Med.* **1991**, *57*, S85.
6. Braestrup, C.; Nielsen, M.; Olsen, C. E.; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1980**, *77*, 2288.
7. Shimizu, M.; Ishikawa, M.; Komoda, Y.; Nakajima, T.; *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, *30*, 909.
8. Braestrup, C.; Nielsen, M.; Olsen, C. E.; *Poc. Natl. Acad. Sci.* **1980**, *77*, 2288.
9. Schlecker, W.; Huth, A.; Ottow, E.; Mulzer, J.; *Synthesis* **1995**, 1225.
10. Batch, A.; Dodd, R. H.; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 872.
11. Rivas, P.; Cassels, B. K.; Morello, A.; Repetto, Y.; *Comp. Biochem. Physiol.* **1999**, *122*, 27.
12. Molina, P.; Fresnda, P. M.; Garcia-Zafra, S.; *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3581.
13. Molina, P.; Fresneda, P. M.; Garcia-Zafra, S.; Almendros, P.; *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8851.
14. Airaksinen, M. M.; Kari, I.; *Med. Biol.* **1981**, *59*, 190.
15. Glennon, R. A.; Dukat, D. M.; Grella, B.; Hong, S.; Constantino, L.; Teitler, M.; Smith, C.; Egan, C.; Davis, K.; Mattson, M. V.; *Drug Alcohol Depend.* **2000**, *60*, 121.
16. Baum, S. S.; Hill, R.; Rommelspacher, H.; *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *314*, 75.

17. Husbands, S. M.; Glennon, R. A.; Gorgerat, S.; Gough, R.; Tyacke, R.; Crosby, J.; Nutt, D. J.; Lewis, J. W.; Hudson, A. L.; *Drug Alcohol Depend.* **2001**, *64*, 203.
18. Herraiz, T.; *Journal of Chromatography A* **2000**, *881*, 483.
19. Herraiz, T.; Galisteo, J.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7156.
20. Rashid, M. A.; Gustafson, K. R.; Boyd, M. R.; *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1454.
21. Nakagawa, M.; Liu, J.-J.; Hino, T.; Tsuruoka, A.; Harada, N.; Ariga, M.; Asada, Y.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 3477.
22. Maarseveen, J. H. v.; Scheeren, H. W.; Clercq, E. D.; Balzarini, J.; Kruse, C. G.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1997**, *5*, 955.
23. Sandler, J. S.; Colin, P. L.; Hooper, J. N. A.; Faulkner, D. J.; *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1258.
24. Wagoner, R. M. V.; Jompa, J.; Tahir, A.; Ireland, C. M.; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 794.
25. Shimizu, M.; Ishikawa, M.; Komoda, Y.; Nakajima, T.; Yamaguchi, K.; Sakai, S.; *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 1313
26. Horiuchi, K.; Yonekawa, O.; Iwahara, K.; Kanno, T.; Kurihara, T.; Fujise, Y.; *J. Biochem.* **1994**, *115*, 362.
27. Seyama, I.; Yakehiro, M.; Nakajima, T.; *Japan. J. Physiolol.* **1985**, *35*, 367.
28. Ang, K. K. H.; Michael, J. H.; Higa, T.; Hamann, M. T.; Kara, U. A. K.; *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2000**, *44*, 1645.
29. Peng, J.; Hu, J.-F.; Kazi, A. B.; Li, Z.; Avery, M.; Peraud, O.; Hill, R. T.; Franzblau, S. G.; Zhang, F.; Schinazi, R. F.; Wirtz, S. S.; Tharnish, P.; Kelly, M.; Wahyuono, S.; Hamann, M. T.; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13382.

30. Kuo, P-C.; Shi, L-S.; Damu, A. G.; Su, C-R.; Huang, C-H.; Ke, C-H.; Wu, J-B.; Lin, A-J.; Bastow, K. F.; Lee, K-H; Wu, T-S.; *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1324.
31. McKenna, D. J.; *J. Ethnol. Pharmacol.* **1984**, *10*, 195.
32. Di Giorgio, C.; Delmas, F.; Ollivier, E.; Elias, R.; Balansard, G.; Timon-David, P.; *Exp. Parasitol.* **2004**, *106*, 67.
33. Dodd, R. H.; Ouannes, C.; Robert-Géro, M.; Potier, P.; *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1272.
34. Jaisankar, P.; Pal, B.; Manna, R. K.; Pradhan, P. K.; Medda, S.; Basu, M. K.; Giri, V. S.; *Arkivoc* **2003**, *ix*, 150.
35. Cao, R.; Chen, Q.; Hou, X.; Chen, H.; Guan, H.; Ma, Y.; Peng, W.; Xu, A.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2004**, *12*, 4613.
36. Ishida, J.; Wang, H-K.; Bastow, K. F.; Hu, C-Q.; Lee, K-H.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, *9*, 3319.
37. Ishida, J.; Wang, H-K.; Oyama, M.; Cosentino, M. L.; Hu, C-Q.; Lee, K-H.; *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 958.
38. Wright, C. W.; Allen, D.; Cai, Y.; Phillipson, J. D.; Said, I. M.; Kirby, G. C.; Warhurst, D. C.; *Phytother. Res.* **1992**, *6*, 121.
39. Bi, Y.; Hamaker, L. K.; Cook, J. M.; *Studies in Natural Products Chemistry* **1993**, *13*, 383.
40. Takasu, K.; Shimogama, T.; Saiin, C.; Kim, H-S.; Wataya, Y.; Ihara, M.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, *14*, 1689.
41. Srivastava, S. K.; Agarwal, A.; Chauhan, P. M. S.; Agarwal, S. K.; Bhaduri, A. P.; Singh, S. N.; Fatima, N.; Chatterjee, R. K.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1999**, *7*, 1223.

42. Lin, N.; Zhao, M.; wang, C.; Peng, S.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, *12*, 585.
43. Castro, A. C.; Dang, L. C.; Soucy, F.; Grenier, L.; Mazdiyasi, H.; Hottel, M.; Parent, L.; Pien, C.; Palombella, V.; Adams, J.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, *13*, 2419.
44. Rivas, P.; Cassels, B. K.; Morello, A.; repetto, Y.; *Comparative Biochemistry and Physiology C* **1999**, *122*, 27.
45. Sui, Z.; Guan, J.; Macielag, M. J.; Jiang, W.; Qiu, Y.; Kraft, P.; Bhattacharjee, S.; John, T. M.; Craig, E.; Haynes-Johnson, D.; Clancy, J.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, *13*, 761.
46. Grant, G. H.; Richards, W. G.; *Computacional Chemistry* Ed. Oxford University Press Inc. New York, **1995**.
47. <http://www.ccl.nrt.cca/documents/basis-sets/basis.html>. Acessado em 18/011/2004.
48. Weinhold, F.; Landis, C. R.; *Chemistry Education: Research and Practice in Europe*. **2001**, Vol 2 (2).
49. <http://www.drpez.com/dralil.htm> Acessado em 02/02/05.
50. McRae, W. D.; Hudson, J. B.; *J. of Ethnopharm.* **1988**, *22*, 143.
51. Cavalcante, M. F.; Oliveira, M. C. C.; Velandia, J. R.; Echevarria, A.; *Química Nova* **2000**, *23* (1).
52. <http://www.ufrgs.br/para-site/Imagensatlas/Protozoa/Trypanosomacruzi.htm> Acessado em 01/03/05.
53. <http://www.fiocruz.br/ccs/glossario/chagas.htm> Acessado em 01/03/05.
54. Souza, D. H. F.; Garratt, R. C.; Araújo, A. P. U.; Guimarães, B. G.; Jesus, W. D. P.; Michels, P. A. M.; Hannaert, V.; Oliva, G.; *FEBS Letters* **1998**, *424*, 131.

55. Castilho, M. S.; Pavão, F.; Oliva, G.; *Biochemistry* **2003**, *42*, 7143.
56. Ladame, S.; Bardet, M.; Périé, Jacques, Willson, M.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2001**, *9*, 773.
57. Bailey, P. D.; Hollinshead, S.; McLay, N. R.; *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 5177.
58. Cox, E. D.; Cook, J. M.; *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1797.
59. Jackson, A. H.; Smith, A. E.; *Tetrahedron* **1968**, *24*, 403.
60. Srinivasan, N.; Ganesan, A.; *Chem. Commun.* **2003**, 916.
61. Siwicka, A.; Wojtasiewicz, K.; Leniewski, A.; Maurin, J. K.; Czarnocki, Z.; *Tetrahedron Asymmetry* **2002**, *13*, 2295.
62. Fantauzzi, P. P.; Yager, K. M.; *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 1291.
63. Previero, A.; Previero, M-A. C.; Barry, L-G; *Canadian Journal of Chemistry* **1968**, *46*, 3404.
64. Martin, S. F.; Chen, K. X.; Eary, T.; *Organic Letters* **1999**, *1*, 79.
65. Quirante, J.; Escolano, C.; Merino, A.; Bonjoch, J.; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 968.
66. Pal, B.; Jaisankar, P.; Giri, V. S.; Mondal, S.; Mukherjee, M.; *Tetrahedron Letters* **2004**, *45*, 6489.
67. Kusurkar, R. S.; Goswami, S. K.; Vyas, S. M.; *Tetrahedron Letters* **2003**, *44*, 4761.
68. Vogel, A.; *Vogel's Practical organic chemistry*, 3^a ed., **1978**, 843.
69. http://www.arkat-usa.org/ark/journal/2003/Zhi-Tang_Huang/ZH-636D/636D.asp Acessado em 13/05/04.

70. Bailey, P. D.; Hollinshead, S. P.; McLay, N. R.; Morgan, K.; Palmer, S. J.; Prince, S. N.; Reynolds, C. D.; Wood, S. D.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 431.
71. Casnati, G.; Dossena, A.; Pochini, A.; *Tetrahedron Lett.* **1972**, 5277.
72. Soerens, D.; Sandrin, J.; Ungemach, F.; Mokry, P.; Wu, G. S.; Yamanaka, E.; Hutchins, L.; DiPierro, M.; Cook, J. M.; *J. Org. Chem.* **1979**, 535.
73. Goujon, J-Y.; Shipman, M.; *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 9573.
74. Faber, K.; *Biotransformations in organic chemistry*, **1997**, New York. Springer-Verlag, York INC.
75. Chou, W-C.; Tan, C-W.; Chen, S-F.; Ku, H.; *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 10015.
76. Ungemach, F.; Soerens, D.; Weber, R.; DiPierro, M.; Campos, O.; Mokry, P.; Cook, J. M.; Silverton, J. V.; *J. A. Chem. Soc.* **1980**, 102, 6976.
77. Yokoya, M.; Masubuchi, K.; Kitajima, M.; Takayama, H.; Aimi, N.; *Heterocycles* **2003**, 59, 521.
78. Hostettmann, K.; Dey, P. M.; Harborne, J. B.; *Methods in Plant Biochemistry* **1991**, 6, 9.
79. Camargo, E. P.; *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, **1964**, 6, 93.
80. Bracht, A.; Ishei-Iwamoto, E. L.; *Métodos de Laboratório em Bioquímica*, Ed. Manole, **2002**.
81. Gaussian 98, Revision A.7, Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Zakrzewski, V. G.; Montgomery, J. A.; Stratmann, R. E.; Burant, J. C.; Dapprich, S.; Millam, J. M.; Daniels, A. D.; Kudin, K. N.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Tomasi, J.; Barone, V.; Cossi, M.; Cammi, R.; Mennucci, B.; Pomelli, C.; Adamo, C.; Clifford, S.;

Ochterski, J.; Petersson, G. A.; Ayala, P. Y.; Cui, Q.; Morokuma, K.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Cioslowski, J.; Ortiz, J. V.; Baboul, A. G.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Gomperts, R.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Gonzalez, C.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Andres, J. L.; Gonzalez, C.; Head-Gordon, M.; Replogle, E. S.; Pople, J. A. Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 1998.

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](#)