



CENTRO UNIVERSITÁRIO FRANCISCANO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Diego de Souza

SÍNTESE ESTEREOSSELETIVA DE COMPOSTOS
CALCOGENOESTERÓIDES

Santa Maria, RS

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Diego de Souza

**SÍNTESE ESTEREOSELETIVA DE COMPOSTOS
CALCOGENOESTERÓIDES**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Curso de Mestrado em Nanociências, área de Ciências Naturais e Tecnológicas, do Centro Universitário Franciscano – Unifra, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Nanociências.

Orientador: Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues

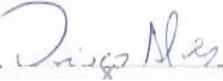
Santa Maria, RS
2009

**SÍNTESE ESTEREOSELETIVA DE COMPOSTOS
CALCOGENOESTERÓIDES**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Curso de Mestrado em Nanociências, área de Ciências Naturais e Tecnológicas, do Centro Universitário Franciscano – Unifra, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Nanociências.



Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues – Orientador (UFSM)



Diego Alves (UNIFRA)



Wolmar Alípio Severo Filho (UNISC)

Aprovado em 27 de fevereiro de 2009.



Biblioteca

Termo de autorização

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* Mestrado Acadêmico em Nanociências.

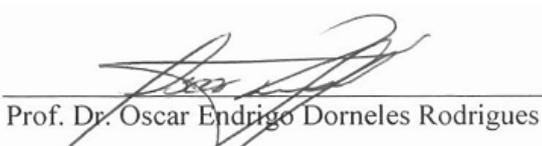
Título da Dissertação: SÍNTESE ESTEREPSSELETIVA DE COMPOSTOS CALCOGENOESTERÓIDES

Orientador: OSCAR ENDRIGO DORNELES RODRIGUES

Eu, DIEGO DE SOUZA, R. G. n° 2075807939, autor da Dissertação acima citada, autorizo ao Centro Universitário Franciscano – UNIFRA - a disponibilizar, gratuitamente, sem ressarcimento dos direitos autorais, o documento, em meio eletrônico, na Rede Mundial de Computadores (Internet) para fins de leitura e/ou impressão e para divulgação da produção científica gerada na Instituição, a partir desta data.



Diego de Souza



Prof. Dr. Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues

27/03/2009

Aos meus pais e irmão, que sempre foram o grande pilar das minhas conquistas e fizeram parte dessa caminhada desde o início. Por isso, essa conquista é de vocês também.

À Dalila, minha noiva, que mesmo nos momentos mais difíceis esteve ao meu lado, como minha amiga e companheira que sempre foi, me passando calma e energia para continuar a realizar o melhor de mim. Fica aqui meu muito obrigado.

Ao Prof. Oscar meus sinceros agradecimentos
pela orientação, paciência, amizade e todo
conhecimento passado durante o mestrado.

AGRADECIMENTOS

Aos professores e colegas de mestrado: Prof. Solange Fagan, Prof. Giovani, Prof. Marta, Mirkos, Henrique, Estevan, Luciano, Argleydson, Daniel, Isabel, Luciana, Rafaella e outros, fica registrado aqui meu muito obrigado pelas horas infindáveis de cafezinho no bar para discutir os inúmeros seminários e Ψ da Estrutura da Matéria, e os conselhos dados uns aos outros para nunca desistir dos nossos objetivos.

Aos colegas do Laboratório de Síntese Orgânica da Unifra: Prof. Helmoz, Prof. Márcio, Cláudio, Anália, Elisiane, Mariana e demais, vocês merecem todo meu agradecimento, pois vocês fizeram parte da minha vida durante todo mestrado.

Aos meus atuais colegas e amigos do Laboratório do Prof. Braga: Letiére, Eduardo, Cabelo, Devender, Graci, Ana Maria, Cris, Ricardo, Senthil, Kashif, Salman, Paulinho, Josimar, Rafael, Juliano e Vanessa, pela amizade e companheirismo nestes mais de quatro meses com vocês.

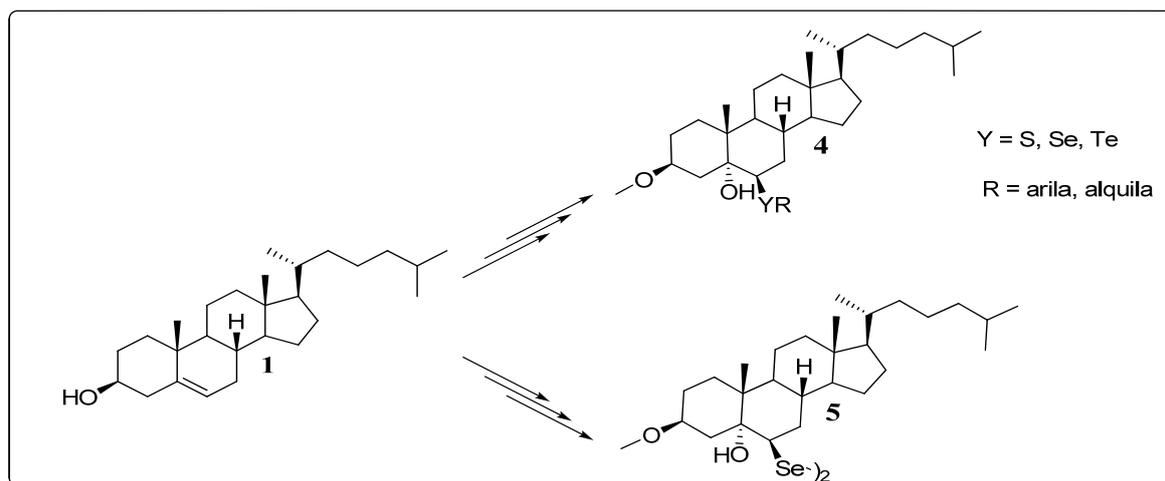
Aos colegas do Laboratório do Prof. Gilson: Flávia, Carol, Dani, Ricardo Schumacher, que se tornaram grandes companheiros em pouco tempo desde minha chegada ao Laboratório.

Ao Diego, que assumiu a bronca de ser meu co-orientador, meu muito obrigado pelo conhecimento passado, pelas conversas, pelos puxões de orelha, e principalmente pelo pastelzinho e a cerveja da quinta-feira.

À Unifra e a CAPES pelas bolsas e auxílios concedidos.

RESUMO

No presente trabalho, desenvolveu-se uma metodologia inédita para obtenção de derivados calcogenoesteróides à partir da abertura régio e estereosseletiva de epóxidos, empregando espécies nucleofílicas de calcogênios, conforme esquema 1.



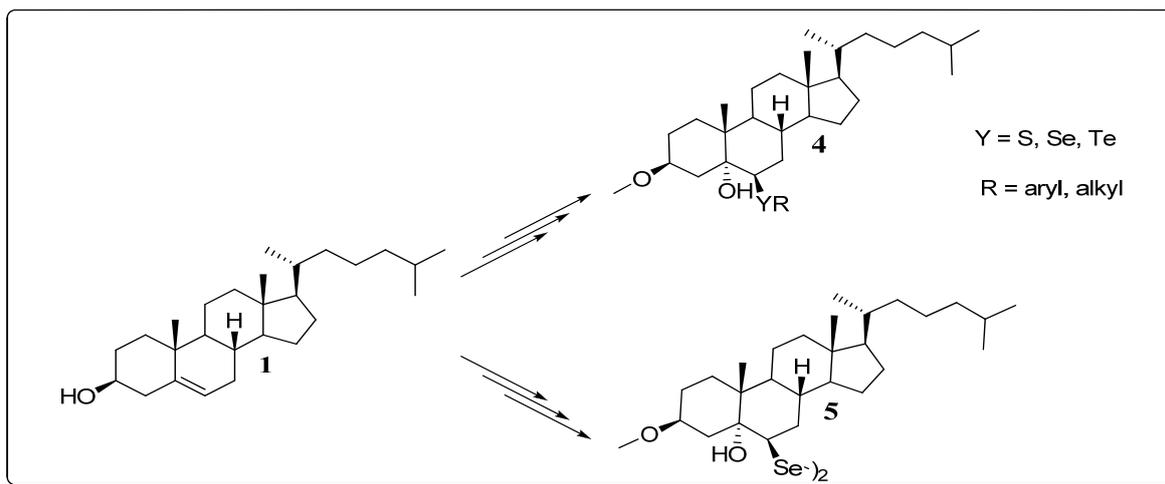
Esquema 1: Preparação de compostos calcogenoesteróides.

Para tanto, escolhemos o colesterol como matéria prima básica, por se tratar de um composto de fácil aquisição, custo relativamente baixo e por apresentar centros quirais definidos, que é importante do ponto de vista biológico e sintético. A inserção de calcogênios aos esteróides foi realizada por 2 caminhos reacionais distintos, dependendo da estrutura desejada. Para a obtenção dos calcogenetos **4**, foi realizada a inserção via clivagem das ligações dicalcogenetos sob condições redutoras, levando a formação dos respectivos calcogenolatos. Para o composto **5**, a incorporação foi realizada empregando Li_2Se_2 como espécie nucleofílica de selênio.

Os calcogenoesteróides foram obtidos com rendimentos razoáveis, apresentando uma influência eletrônica significativa com relação aos rendimentos do produto obtido e empregando reações simples.

ABSTRACT

In this work was developed a new methodology to obtain chalcogenosteroids derivatives from a regio and stereoselective epoxide ring opening employing nucleophilic chalcogenium species (scheme 1).



Scheme 1: Preparation of chalcogenosteroids compound

To this, cholesterol was chosen as starting material due to the characteristics of this compound: easy acquisition, relatively cheap and with defined stereochemistry. The insertion of chalcogenides to the steroid moiety was performed employing two methodologies. To obtain the compounds **4**, the chalcogenium addition was performed by cleavage of dichalcogenides bonds under reducing conditions, leading to the formation of the chalcogenolates species. For the compound **5**, the incorporation was performed using Li_2Se_2 as a nucleophilic selenium species.

The chalcogenosteroids were obtained with reasonable yields, showing a significant electronic influence and employing simple reactions.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	viii
RESUMO.....	Ix
ABSTRACT.....	x
LISTAS DE FIGURAS.....	xiii
LISTAS DE TABELAS.....	xv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xvi
Capítulo 1: INTRODUÇÃO.....	1
Capítulo 2: REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO.....	5
2.2 ESTERÓIDES.....	6
2.2.1 Estrutura – Atividade dos esteróides.....	7
2.3 CALCOGÊNIOS.....	11
2.3.1 Selênio.....	11
2.3.2 Telúrio.....	13
2.3.3 Papel do selênio como antioxidante.....	13
2.3.2 Toxicidade.....	14
2.4 REATIVIDADE DE COMPOSTOS ESTEROIDAIIS E DE COMPOSTOS ORGANOCALCOGÊNIOS.....	19
2.4.1 Preparação de compostos organoesteroidais.....	19
2.4.2 Preparação de compostos organo-selênio.....	23
Capítulo 3: MATERIAIS E METODOLOGIA.....	27
3.1 MATERIAIS.....	28
3.1.1 Ressonância Magnética Nuclear.....	28

3.1.2 Espectroscopia de Infravermelho.....	28
3.1.3 Rota-Evaporadores.....	28
3.1.4 Solventes e Reagentes.....	29
3.2 METODOLOGIA.....	29
3.2.1 Preparação do metil-colesterol (2)	29
3.2.2 Preparação do epóxido metil-colesterol (3).....	30
3.2.3 Procedimento geral para preparação dos compostos calcogenoesteróides (4).....	30
3.2.4 Preparação do disseleneto de dicolesterol (5).....	31
Capítulo 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1 SÍNTESE DE SELENOESTERÓIDES QUIRAIS.....	34
4.1.1 Discussão sobre a obtenção dos calcogenoesteróides.....	34
Capítulo 5: CONCLUSÃO.....	52
ESPECTROS SELECIONADOS.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Posições estratégicas na estrutura esteroidal (1); Estrutura do 3 α , 17 β -dihidroxi-5 α androstano (2)	7
Figura 2: Derivados glicocorticóides a partir da Hidrocortisona.....	8
Figura 3: Estrutura dos mais novos e potentes agentes anti-inflamatórios (4-7).....	9
Figura 4: Estrutura do 7 α -Hidroxi oxisteróides (8).....	9
Figura 5: Estruturas do estradiol (9), 2-metoxiestradiol (10) e fulvestrant (11).....	10
Figura 6: Derivados de chalconas na estrutura esteroidal.....	10
Figura 7: Estrutura do 25-Hidroxicolesterol.....	11
Figura 8: Compostos com importância biológica.....	16
Figura 9: Compostos de baixo peso molecular incluindo disselenetos de diorganila e organosselenois.....	17
Figura 10: Disselenetos de diarila com atividade anticonvulsante.....	18
Figura 11: Relação neurotoxicológica dos Disselenetos alifáticos x tamanho da cadeia.....	19
Figura 12: Glutaselenona (GSeSeG), análogo de selênio do dímero da glutatona (GSSG).....	26
Figura 13: Mecanismo de oxidação da glutaselenona.....	26
Figura 14: Otimização da geometria molecular: (a) isômero <i>cis</i> ; (b) isômero <i>trans</i>	36
Figura 15: Abertura Régio e estereossseletiva do epóxido.....	37
Figura 16: Bandas características no espectro de IV composto 4i	46
Figura 17: Espectros de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 do composto 4h	47
Figura 18: Estudo teórico RMN ^{13}C do selenoesteróide 4h	48
Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 do composto 4h	49
Figura 20: Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 do composto 5	50
Figura 21: Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 do composto 5	51
Figura 22: Espectro de RMN ^1H do composto 4a em CDCl_3 a 400 MHz.....	55
Figura 23: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4a em CDCl_3 a 100 MHz.....	55
Figura 24: Espectro de RMN ^1H do composto 4b em CDCl_3 a 400 MHz.....	56

Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4b em CDCl_3 a 100 MHz.....	56
Figura 26: Espectro de RMN ^1H do composto 4c em CDCl_3 a 400 MHz.....	57
Figura 27: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4c em CDCl_3 a 100 MHz.....	57
Figura 28: Espectro de RMN ^1H do composto 4d em CDCl_3 a 400 MHz.....	58
Figura 29: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4d em CDCl_3 a 100 MHz.....	58
Figura 30: Espectro de RMN ^1H do composto 4e em CDCl_3 a 400 MHz.....	59
Figura 31: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4e em CDCl_3 a 100 MHz.....	59
Figura 32: Espectro de RMN ^1H do composto 4f em CDCl_3 a 400 MHz.....	60
Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4f em CDCl_3 a 100 MHz.....	60
Figura 34: Espectro de RMN ^1H do composto 4g em CDCl_3 a 400 MHz.....	61
Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4g em CDCl_3 a 100 MHz.....	61
Figura 36: Espectro de RMN ^1H do composto 4h em CDCl_3 a 400 MHz.....	62
Figura 37: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4h em CDCl_3 a 100 MHz.....	62
Figura 38: Espectro de RMN ^1H do composto 4i em CDCl_3 a 400 MHz.....	63
Figura 39: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4i em CDCl_3 a 100 MHz.....	63
Figura 40: Espectro de RMN ^1H do composto 4j em CDCl_3 a 400 MHz.....	64
Figura 41: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4j em CDCl_3 a 100 MHz.....	64
Figura 42: Espectro de RMN ^1H do composto 4k em CDCl_3 a 400 MHz.....	65
Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4k em CDCl_3 a 100 MHz.....	65
Figura 44: Espectro de RMN ^1H do composto 4l em CDCl_3 a 400 MHz.....	66
Figura 45: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4l em CDCl_3 a 100 MHz.....	66
Figura 46: Espectro de RMN ^1H do composto 5 em CDCl_3 a 400 MHz.....	67
Figura 47: Espectro de RMN ^{13}C do composto 5 em CDCl_3 a 100 MHz.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estado de Oxidação do Selênio.....	12
Tabela 2: Rendimentos obtido dos calcogenesteróides.....	41
Tabela 3: Dados espectrais de RMN ¹ H e RMN ¹³ C.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C: Graus Celsius

***m*-CPBA:** Ácido metacloroperbenzóico

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

IV: Infravermelho

t.a. : Temperatura ambiente

THF: Tetrahidrofurano

TMS: Tetrametilsilano

DCC: Diciclohexilcarbodiimida

MeOH: Metanol

EDCI: Hidrocloro de etil-dimetil-aminopropil carbodiimida

DMAP: *p*-dimetil aminopiridina

siRNAs: RNA silenciador

TsCl: Cloreto de tosila

NaBH₄: Boro hidreto de sódio

Boc: *tert*-butoxicarbonil

CAPÍTULO 1

Introdução

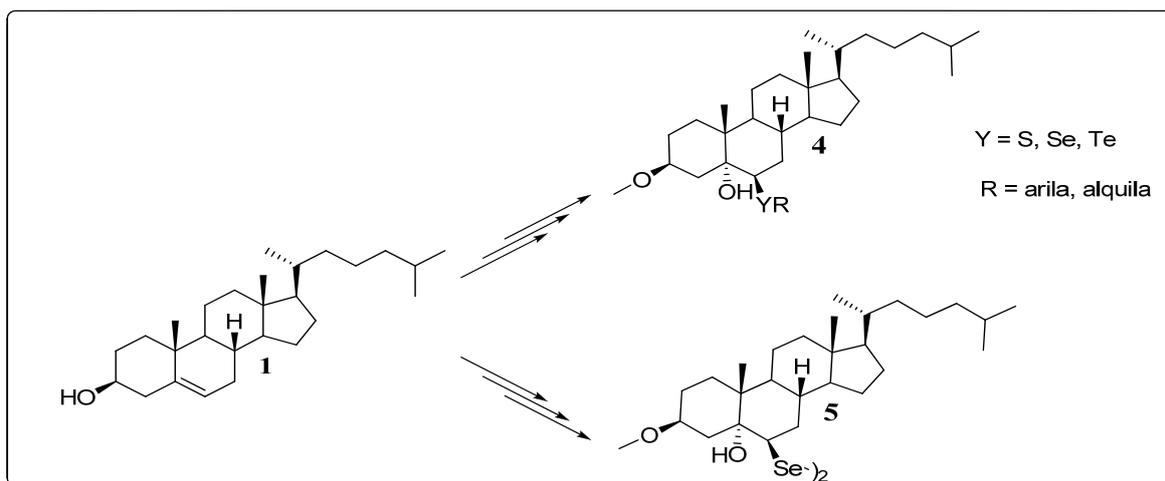
1. INTRODUÇÃO

A síntese e o estudo dos esteróides continua sendo um assunto de grande interesse. Estes são uma classe fundamental na sinalização biológica de moléculas com significância química, clínica e científica (QUALI, 2008). Além disso, os esteróides mostram diversas ações biológicas através de diferentes grupos funcionais localizados em sua estrutura.

Diversos trabalhos demonstram que compostos contendo moléculas esteroidais apresentam potencial farmacológico e que pequenas alterações na estrutura destes esteróides afetaria a afinidade e atividade biológica sobre a ligação com determinados receptores esteroidais (MCLACHLAN, 1980).

A incorporação de átomos de calcogênio em moléculas orgânicas permite a preparação de inúmeros compostos, com propriedades já reconhecidas. Adicionalmente, compostos organocalcogenios têm atraído considerável atenção em síntese orgânica devido a sua utilidade em um amplo número de reações, incluindo a formação de novas ligações carbono-carbono (NOGUEIRA, 2003). Um outro ponto importante sobre os compostos organocalcogenio é a sua habilidade em mimetizar a atividade *in vitro* da enzima glutationa peroxidase (GSHPx) (FLOHÉ, 2002). Diversos trabalhos estão descritos na literatura, reportando uma ampla variedade de compostos organocalcogenios, com diversas atividades biológicas: antivirais, antitumorais e antioxidantes são algumas delas.

Sendo assim, devido ao grande interesse de grupos de pesquisa na síntese, reatividade, avaliação toxicológica e farmacológica destes compostos, planejou-se neste trabalho a obtenção de derivados esteroidais contendo uma unidade organocalcogenio em sua molécula (Esquema 1). Para isso, baseou-se a partir de uma matéria-prima barata, de fácil acesso e com potencial biológico conhecido. Assim, escolhemos o colesterol como fonte esteroidal para o desenvolvimento desta série de compostos.



Esquema 1: Preparação de compostos calcogenoesteróides.

Estes derivados calcogenoesteróides, uma vez obtidos, do ponto de vista sintético, tornam-se compostos potenciais para serem avaliados biologicamente, principalmente com relação à atividade antioxidante.

De modo a situar o leitor, a presente dissertação está dividida apresentando primeiramente um referencial teórico, onde será abordado uma breve revisão sobre a importância da química dos esteróides e de compostos organocalcogênios, seguido pelos materiais e metodologias empregadas. Posteriormente, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos durante a realização do trabalho e finalizando apresentaremos a conclusão do trabalho.

CAPÍTULO 2

Referencial Teórico

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas normalmente durante o metabolismo celular. As EROs incluem radicais livres, como radicais hidroxil (OH^\cdot) e ânion superóxido (O_2^\cdot), bem como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) entre outros. Os radicais livres possuem uma grande reatividade, causando lipoperoxidação e oxidações de proteínas e DNA (HALLIWELL, 1990).

As membranas celulares, que contém grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados, podem sofrer danos mediados por radicais livres. A lipoperoxidação é iniciada por algum radical, que ao reagir com os lipídios insaturados das biomembranas resulta na formação de hidro ou lipoperóxidos, que são altamente reativos e podem seguir uma cascata oxidativa, com severas conseqüências a integridade da membrana, liberando no meio produtos da degradação de ácidos graxos tais como, o malonildialdeído. A quantificação de tal composto tem sido utilizada para avaliar a extensão do dano oxidativo (McKENZIE, 1998).

Os antioxidantes são substâncias que direta ou indiretamente protegem os sistemas celulares dos efeitos tóxicos produzidos por radicais oxidativos (HALLIWELL, 1990). Existem diversos compostos com ação biológica e importante função antioxidante, entre eles: vitamina C, glutathione, glutathione peroxidase, superóxido dismutase e catalase (HALLIWELL, 1990; McKENZIE, 1998; JOURD'HEUIL, 1998).

Sob condições normais, os sistemas antioxidantes celulares minimizam os danos causados pelas EROs, porém, quando a produção de radicais livres excede a capacidade protetora da célula, tem-se o estresse oxidativo. As espécies reativas de oxigênio podem ser tóxicas, e determinantes do tempo de vida celular. Entretanto, já está demonstrado que os metabólitos das espécies reativas de oxigênio estão associados com muitos processos degenerativos. Alterações no status oxidativo do organismo têm sido implicadas em diversas desordens, tais como câncer, catarata, isquemia, enfisema pulmonar, diabetes mellitus, envelhecimento, doenças neurodegenerativas e cirrose hepática (FLOYD, 1990).

Entre as peroxidases que contém selênio, destaca-se a glutathiona peroxidase (GSH-Px). Essa enzima catalisa a redução de hidroperóxidos utilizando-se de grupos tiólicos (principalmente glutathiona) como doador de elétrons (agente redutor), protegendo dos danos oxidativos (MATES, 2000). Os peróxidos são um importante passo na formação de espécies reativas de oxigênio e conseqüente propagação da lipoperoxidação, portanto, a remoção de peróxidos atenua os danos oxidativos nas membranas celulares. Além da glutathiona peroxidase, outras selenoenzimas contendo selenocisteína ou selenometionina podem manter uma linha de defesa dependente de glutathiona contra processos oxidativos, como por exemplo a peroxinitrito redutase (SIES, 1993).

2.2 ESTERÓIDES

Uma das principais classes de lipídeos são os esteróides, que apresentam estruturas totalmente diferentes das outras classes de lipídeos. Os esteróides incluem compostos conhecidos como colesterol, hormônios sexuais, cortisona e esteróides anabólicos (OUALI, 2008).

O mais conhecido e mais abundante esteróide em nosso corpo é o colesterol, sendo formado no tecido cerebral, no tecido nervoso e no fluxo sangüíneo. Nos humanos o colesterol presente no organismo pode ter vários destinos diferentes: fazer parte de membranas biológicas; ser transportado por lipoproteínas para outros tecidos; ser precursor de ácidos (sais) biliares; formar hormônios esteroidais; ser precursor da vitamina D e auxiliar no metabolismo de vitaminas lipossolúveis.

Por ser uma molécula anfipática (possuir uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica), o colesterol é um componente estrutural importante de membranas, influenciando a sua fluidez. Quanto mais colesterol presente na membrana, mais rígida ela é. Recentemente, o colesterol tem sido relacionado a processos de sinalização celular. Sabe-se também que ele reduz a permeabilidade da membrana plasmática aos íons de hidrogênio e sódio. Para ser transportado no sangue, o colesterol é esterificado a uma molécula de ácido graxo para aumentar a sua hidrofobicidade, e em seguida englobado por uma lipoproteína.

2.2.1 Estrutura – Atividade dos esteróides

A incorporação de grupamentos em certas posições da estrutura esteroidal (Figura1) continua sendo uma das maiores estratégias na pesquisa de novos análogos do colesterol biologicamente ativos (QUALI, 2008). O principal alvo das pesquisas hoje é a preparação de novas moléculas esteroidais com reações químicas mais simples e de fácil preparação.

O esqueleto básico dos esteróides consiste de três anéis ciclohexanos fundidos e um anel ciclopentano (“estrutura do ciclopentano perhidrofenantreno”): anéis A, B, C, D respectivamente (1). Em muitos casos, há dois grupos metil nas posições angulares C10 e C13. Os substituintes, no mesmo lado, como estes grupos metil são β substituintes, os outros são α substituintes. Os hidrogênios nos centros estereogênicos são nas posições 5α , 8β , 9α e 14α . (FÖLDES, 2003)

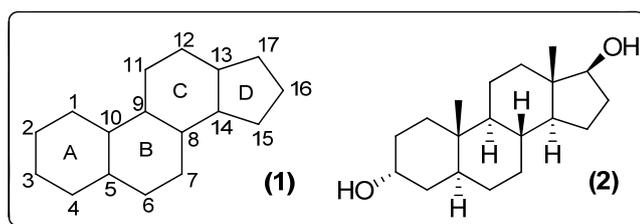
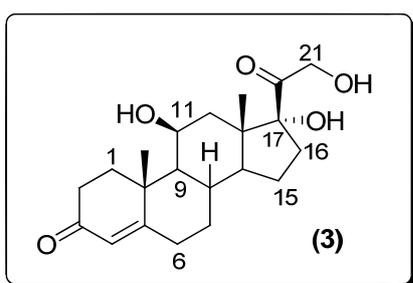


Figura 1: Posições estratégicas na estrutura esteroidal (1); estrutura do 3α , 17β -dihidroxi- 5α -androstano (2).

Em 1977, Baran e colaboradores, demonstrou um homólogo 11- β -metil do diacetato de etanodiol que seria 10-25 vezes mais progestacional do que o fármaco utilizado na época. A mudança direcional na atividade biológica de um homólogo é imprevisível, podendo resultar em potente agonista, um agonista mais seletivo ou um antagonista. A posição C-11 de um anel esteroidal tem o principal efeito nas propriedades biológicas, tais como as atividades corticóides (BAZZINI, 2006).

Os glicocorticóides, derivados esteroidais, possuem diversos efeitos benéficos no tratamento de doenças inflamatórias tais como a asma, artrite reumatóide, distúrbios autoimunes e outros efeitos, estes observados nos mais de 50 anos de sua existência, mas não sem sérias complicações, o que tem imposto certas limitações na utilização clínica desta classe de drogas. A supressão na atividade no eixo hipotálamo- pituitária-

adrenal (HPA), a agravação da diabetes, hipertensão, osteoporose, diminuição da resposta imunológica e o retardamento do crescimento em crianças, são um pouco dos diversos efeitos colaterais. A introdução de fluoreto na posição 9 α na hidrocortisona (**3**) natural aumenta a afinidade de ligação aos receptores glicocorticóides e retarda a oxidação do grupo OH na posição C11, por exemplo, a fluorcortisona (**a**). A introdução de uma dupla ligação no carbono 1 (Δ^1) como na prednisolona (**b**), leva ao aumento na potência com redução na atividade de retenção de sais. A incorporação de um grupamento metil em C6 α , para prevenir a hidroxilação como visto em 6 α – metilprednisolona (**c**), resultou no aumento tanto da potência como da duração do fármaco. A incorporação de um grupo metila na posição C16, além do flúor na posição 9 α e uma dupla ligação em Δ^1 , resulta no aumento na potência antiinflamatória, como visto na dexametasona (**e**) e betametasona (**f**) (Figura 2) (KHAN, 2008)



Fármacos	Grupos Funcionais			
	Δ^1	C6	C9	C16
Hidrocortisona (3)	-	H	H	H
Fluorcortisona (a)	-	H	F	H
Prednisolona (b)	+	H	H	H
6-metilprednisolona (c)	+	CH ₃	H	H
Triancinolona (d)	+	H	F	OH
Dexametasona (e)	+	H	F	CH ₃
Betametasona (f)	+	H	F	CH ₃

Figura 2: Derivados glicocorticóides a partir da Hidrocortisona.

A modificação nas posições C16, C17 e a esterificação de grupos OH em C17 e/ou C21 aumentam a lipofilicidade dos glicocorticóides podendo ser úteis na preparação de aplicações tópicas. Outras mudanças mais significantes do ponto de vista químico e que podem influenciar na farmacoterapêutica é a troca dos OH de C21 e C11 por cloreto e a incorporação de anéis fundidos fenilpirazólicos em C2 e C3 ou de anéis oxazólicos em C16 e C17, C15, C16. Os mais novos e mais potentes agentes anti-inflamatórios como a fluorandrenolona (**4**), fluormetalona (**5**) e flucinolona (**6**),

presentes na figura 3, são usados somente topicamente para o tratamento de psoríase devido a suas toxicidades sistêmicas (KHAN, 2008).

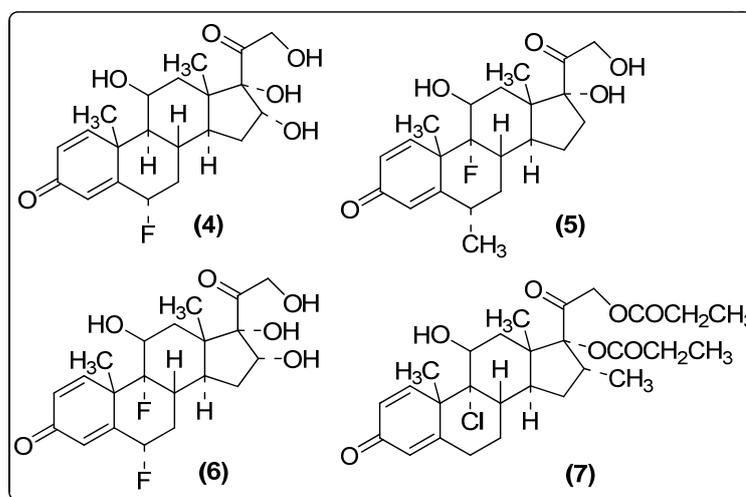


Figura 3: Estrutura dos mais novos e potentes agentes anti-inflamatórios (4-7).

Alguns trabalhos enfatizam a importância que a posição 7 do anel esteroidal pode ter com relação a atividade biológica, exemplo disso são os derivados 7α -hidroxi oxisteróides **8** (Figura 4). Estes compostos mostram estar envolvidos na regulação do metabolismo dos colesteróis. Além disso, a adição de um grupo hidroxila na posição 7 do anel esteroidal, mostra ter seletividade citotóxica em culturas *in vitro* de células tumorais e possuir propriedades imunossupressoras (BRUNEL, 2005).

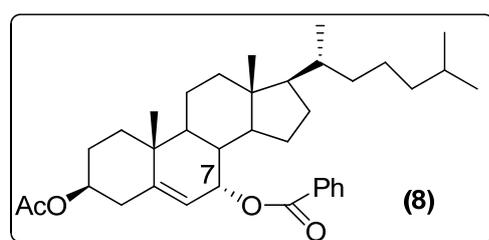


Figura 4: Estrutura do 7α -hidroxi oxisteróide.

Outra aplicação importante dos esteróides é com relação ao câncer de mama. Devido a várias razões, os receptores de estrogênio são expressos em maior quantidade nas células com esses tumores, por isso, a estrogenicidade está relacionada muitas vezes a excessiva proliferação (JORDAN, 2003). Atualmente, duas novas moléculas derivadas

do estradiol **9** têm emergido como agentes com potencial antitumoral contra o câncer de mama, o 2-metoxiestradiol **10** e fulvestrant **11** (Figura 5) (SEEGER, 2003).

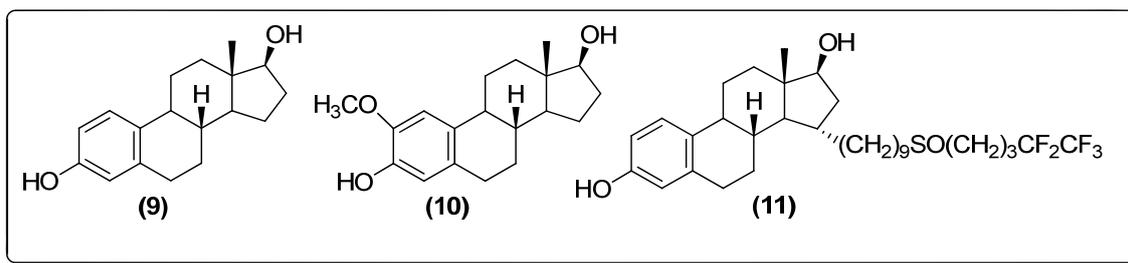


Figura 5: Estruturas do estradiol (9), 2-metoxiestradiol (10) e fulvestrant (11).

Recentemente, Saxena e colaboradores, demonstraram a síntese de vários derivados de chalconas na estrutura esteroidal. Alguns deles mostraram potente citotoxicidade contra células do câncer de mama dependentes do hormônio MCF-7. Os efeitos destas chalconas também foram estudados na fragilidade osmótica em eritrócitos, modelo este usado para elucidar os efeitos das chalconas na estabilidade da membrana de uma célula na mesma concentração em que é observado na atividade anticâncer (SAXENA, 2007). Os resultados foram bastante satisfatórios principalmente com relação aos compostos **12**, **13** e **14** (Figura 6).

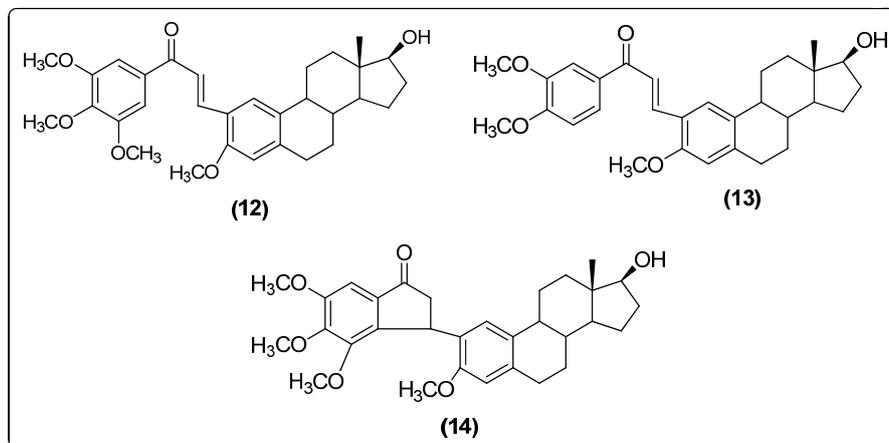


Figura 6: Derivados de chalconas na estrutura esteroidal.

O 25-Hidroxicolesterol **15** (Figura 7) tem sido relacionado a importantes processos biológicos, incluindo a homeostase celular do colesterol, aterosclerose e apoptose. Em 1970, estudos *in vitro* mostraram que o 25-Hidroxicolesterol era muito mais potente do que o colesterol em células acionados pela HMG CoA redutase na resposta a níveis elevados de esteróides e aumentava a esterificação do colesterol, além

de diminuir a síntese e aumentar o armazenamento de colesterol. Desde então, o 25-Hidroxicolesterol tem sido usado em numerosos estudos na regulação celular do colesterol (WESTOVER, 2006).

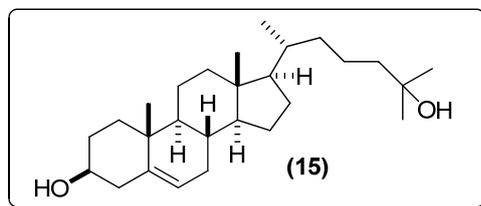


Figura 7: Estrutura do 25-Hidroxicolesterol.

Hoje, sabe-se que o 25-Hidroxicolesterol pode ser formado a partir da auto-oxidação do colesterol ou enzimaticamente por uma proteína contendo ferro, mas sem o grupamento heme (WESTOVER, 2006).

2.3 CALCOGÊNIOS

2.3.1 Selênio

O selênio foi descoberto em 1817 por Berzelius e o nome foi dado em homenagem à deusa grega da Lua *Selene*, é um elemento que pertence ao grupo VI da tabela periódica (FLOHÉ, 2002). Já no século XIII, Marco Polo relatou que cavalos na região de Succuir, no oeste da China apresentavam perda de cascos e pelos após a ingestão de certas plantas venenosas. Seis séculos após os relatos de Marco Polo, foram descritos os mesmos sintomas em animais que se alimentaram da vegetação nativa próxima ao Rio Missouri, nos Estados Unidos. A descoberta do agente etiológico destes efeitos tóxicos data do ano de 1928, quando Dr. Kurt Franke estudou estas plantas e seus grãos, concluindo que se tratava do selênio.

Como um típico calcogênio, muitas de suas propriedades são próximas as do enxofre. A semelhança com este elemento ocorre nos estados de oxidação -2 , 0 , $+2$, $+4$, e $+6$, o que mostra que está propenso a liberar ou doar pares de elétrons (Tabela 1) (BAYER, 1974). Esse elemento foi durante muito tempo unicamente considerado como tóxico, até a descoberta de que o mesmo atuava como micronutriente para bactérias, mamíferos e pássaros (FLOHÉ, 2002). Após cerca de 15 anos de estudos empíricos em

síndromes de deficiência de selênio em cobaias, a bioquímica do selênio emergiu em 1973 quando descobriu-se que duas enzimas bacterianas, formato desidrogenase e glicina redutase (ROTRUCK, 1973) continham selênio em suas estruturas. Concomitantemente, o papel bioquímico do selênio em mamíferos foi claramente estabelecido pelo descobrimento de que ele faz parte do sítio ativo da enzima antioxidante glutathione peroxidase (STADTMAN, 1996).

Estrutura Química	Estado de Oxidação	Nome do Ácido	Nome do Sal
H_2Se	-II	Seleneto de Hidrogênio	Seleneto
$R-SeH$	-II	Selenol	Seleneto
Se	0	Selênio	Seleneto
$R-Se-OH$	0	Ácido Selenênico	Selenenato
$\begin{array}{c} O \\ \\ R-Se-OH \end{array}$	+II	Ácido Seleninico	Seleninato
$\begin{array}{c} O \\ \\ HO-Se-OH \end{array}$	+IV	Ácido Selenioso	Selenito (SeO_3^{2-})
$\begin{array}{c} O \\ \\ HO-Se-OH \\ \\ O \end{array}$	+VI	Ácido Selênico	Selenato (SeO_4^{2-})

Tabela 1: Estado de Oxidação do Selênio

Após esse período, inúmeros relatos têm surgido na literatura onde diversas funções biológicas de compostos orgânicos de selênio têm sido descritas, desempenhando funções importantes na prevenção do câncer, imunologia, envelhecimento, reprodução humana bem como em outros processos fisiológicos (WIRTH, 2000). Esses compostos também têm surgido como importantes agentes terapêuticos, que variam de agentes anti-virais e anti-câncer a suplementos alimentares naturais.

2.3.2 Telúrio

O primeiro composto organotelúrio foi descrito a mais de 150 anos atrás com a síntese dos dietil teluretos por Wöhler em 1840. Os grupos organotelúrios podem ser facilmente introduzidos em uma variedade de substratos orgânicos por espécies nucleofílicas ou eletrofílicas de telúrio. As espécies orgânicas de telúrio nucleófilas podem ser produzidas a partir do telúrio elementar através da reação com organolítio ou reagentes de Grignard (ZENI, 2000). Organoteluróis podem ser preparados pela redução de diteluretos de diorganoíla. Por outro lado, as espécies orgânicas de telúrio eletrofílicas podem ser preparadas pela reação de um substrato orgânico com tetracloreto de telúrio ou por halogenólise de diteluretos de diorganoíla. A aplicação dos compostos orgânicos de telúrio na síntese orgânica tem atraído diversos grupos de pesquisa, devido a sua quimio, regio e estereosseletividade reacional. Muitas transformações sintéticas usando compostos organotelúrio tem envolvido o uso de teluretos vinílicos. Uma das mais importantes reações dos teluretos vinílicos é a transmetalção (MARINO, 2003). O organometálico vinílico obtido pode reagir com compostos carbonílicos, sistemas α , β – insaturados, ou epóxidos. Recentemente, uma nova aplicação destes teluretos vinílicos foi descrito, utilizando paládio como catalizador de acoplamento, em reações de formação de ligação carbono-carbono (ZENI, 2003).

2.3.3 Papel do selênio como antioxidante

O selênio possui várias funções biológicas. A mais conhecida é sua ação antioxidante, por formar selenocisteína, que faz parte do centro ativo da enzima glutationa peroxidase (GSH-Px) (ROTRUCK, 1973), que é responsável pela remoção de peróxidos. Inicialmente a selenocisteína presente no sítio ativo da enzima reage com um hidroperóxido orgânico para formar ácido selenênico, a seguir ocorre uma redução seqüencial (duas etapas) da enzima com oxidação da glutationa (GSH) (SIES, 1993). Devido a essa função na GSH-Px, o selênio provavelmente interage com qualquer nutriente que afete o balanço anti e pró-oxidante celular.

Desde sua descoberta o selênio tem sido considerado um elemento essencial, as maiores discussões são com relação a este ser constituinte da defesa biológica antioxidante. Algumas idéias remetem que o selênio não pode exercer um simples papel

como um antioxidante, mas teria uma ação catalítica, ou seja, agiria como “um cofator” dos processos enzimáticos. Essa idéia foi comprovada com a descoberta de que a sensibilidade dos eritrócitos a H_2O_2 , provenientes de ratos deficientes de selênio, foi associada com o declínio da atividade da glutathiona (GSH) peroxidase; por estabelecer uma relação entre o selênio e a glutathiona peroxidase (GPx); pela sua queda na atividade após a eliminação do selênio, e por demonstrar o papel catalítico do selênio na enzima pelo direcionamento ao sítio específico (FLOHÉ, 2002).

O selênio tem sido identificado em várias proteínas. Muitas destas proteínas são oxidoreduzoras, e assim o relevante papel como elemento biológico na defesa antioxidante em mamíferos tem sido geralmente aceito (FLOHÉ, 2002). Isso, entretanto, parece tentar redefinir o selênio como um antioxidante biológico. Além disso, a superexposição ou a administração de dosagens farmacológicas de alguns compostos de selênio está associada com um fenômeno biológico pró-oxidante do elemento ao invés de auxiliar na defesa biológica antioxidante (NOGUEIRA, 2004).

2.3.4 Toxicidade

Os mecanismos pelos quais os compostos organosselênio exercem sua toxicidade não encontram-se totalmente elucidados. Vários estudos sugerem que os efeitos tóxicos do mesmo estão associados a sua habilidade em catalisar a oxidação de tiois endógenos e com a gênese de radicais livres (NOGUEIRA, 2003). De fato, selenito (Se^{4+}) é oxidado por grupos sulfidrilas, produzindo dissulfetos e um intermediário chamado selenodissulfeto, que subsequente mente pode decompor para selênio elementar. Painter propôs que a reação entre Se^{4+} e os grupos tiois pode ser realizada em três passos distintos, como pode ser visto no esquema 2 (PAINTER, 1941). Contudo Painter foi incapaz de isolar compostos do tipo RS-Se-SR (**16**), provenientes dos dissulfetos devido à instabilidade deste intermediário. Somente anos mais tarde, outros grupos demonstraram a formação de selenodissulfeto, **16**, que tem significância biológica (NOGUEIRA, 2004).

interessante notar que Se^{4+} é ao mesmo tempo gerador de espécies reativas de oxigênio podendo oxidar grupos $-\text{SH}$.

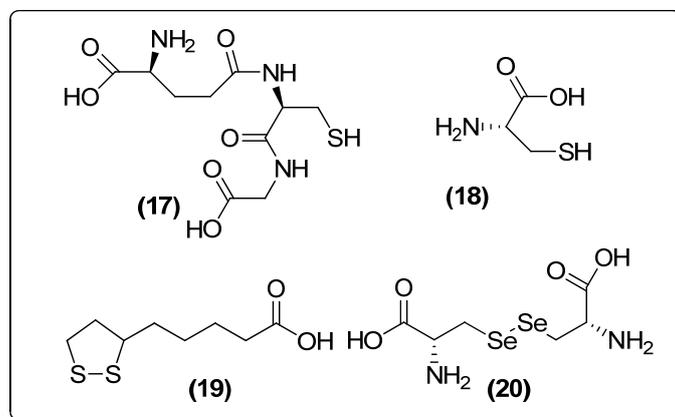


Figura 8: Compostos com importância biológica.

Anos mais tarde, em 1992 Chaudière e colaboradores demonstraram um estudo que a atividade das tios oxidases podem ajudar a explicar a maioria dos efeitos tóxicos dos disselenetos de diorganoila e organoselenois. Uma série de compostos de baixo peso molecular foram estudados incluindo a selenocisteína, selenocistamina **21**, ebselen **22**, disselenetos contendo oxigênio **23-27** e derivados nitrogenados de disselenetos de diorganoila tais como **28** e **29** (CHAUDIÈRE, 1992). O estudo de Chaudière ilustra a facilidade de transferir um elétron de RSe^- para uma variedade de substratos redutíveis em que selenocistamina **21** eficientemente cataliza a redução de oxigênio na presença de excessos de grupos tios vindos de ditiotreitól **30**, GSH, e mercaptosuccinato **31** (Figura 9).

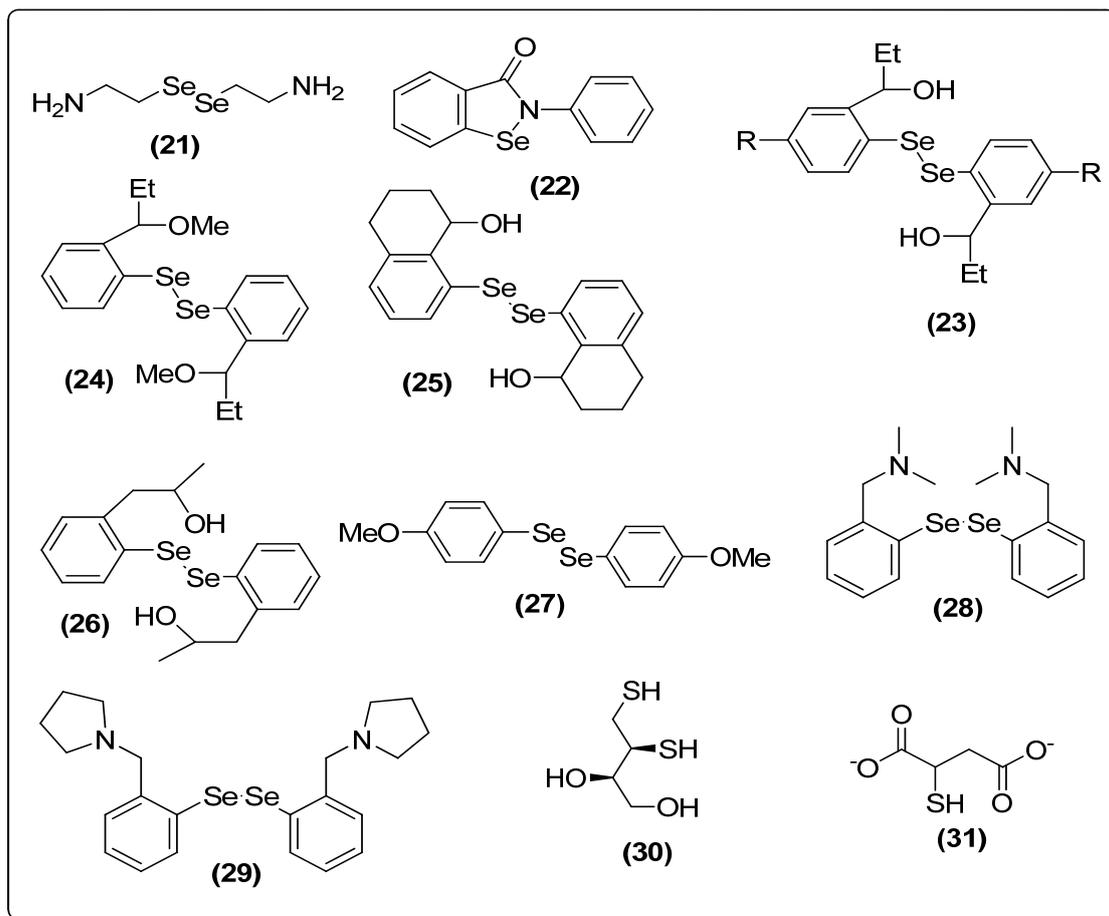


Figura 9: Compostos de baixo peso molecular incluindo diorganoil disselenetos e organosselenóis.

A toxicidade de compostos contendo selênio não é somente dependente de sua forma química e do consumo quantitativo do elemento, mas também o fato de uma variedade de outros fatores estarem incluídos: espécie, idade, estado fisiológico, interação nutricional e a rota de administração. Alguns trabalhos demonstram que a toxicidade dos compostos organoselênio *in vivo* é dependente da estabilidade da ligação selênio-carbono. Sobre isso, a ligação $\text{Se}-\text{C}_{\text{sp}^3}$ é mais fraca que a ligação $\text{Se}-\text{C}_{\text{sp}^2}$, e isso reflete na alta toxicidade dos alquil disselenetos em comparação aos aril disselenetos *in vivo*.

Nogueira e colaboradores, demonstrou que a exposição por 2 meses de altas doses de disseleneto difenila aumenta em 3 vezes o total de selênio contido no cérebro de ratos. Isto também evidencia que o disseleneto difenila ultrapassa a barreira hematoencefálica e aumenta os níveis de selênio no cérebro de ratos após exposições crônicas e agudas deste. Assim, o resultado tem suportado a hipótese que o cérebro é

um alvo em potencial para a alta toxicidade dos compostos organoselênio lipofílicos e possivelmente com ações farmacológicas e terapêuticas. Outro dado relevante pelo grupo foi que compostos organoselênio simples estariam presentes na atividade convulsionante, no entanto esse fato é observado conforme a rota de administração. Além disso, no mesmo trabalho foi demonstrado que a introdução de grupos funcionais nos anéis aromáticos dos disselenetos (**32**, **33**, **34**, **35**) aboliram o efeito convulsivo em ratos (Figura 10). A diminuição ou a ausência de neurotoxicidade aguda destes disselenetos substituídos não poderia ser atribuída a mudanças na entalpia de dissociação da ligação química de Se-Se, já que a introdução de outros grupos retiradores ou doadores de elétrons poderia causar uma resposta similar. Então, a possibilidade da introdução de grupos substituintes causaria mudanças na toxicidade pela modificação do metabolismo destes compostos (NOGUEIRA, 2004).

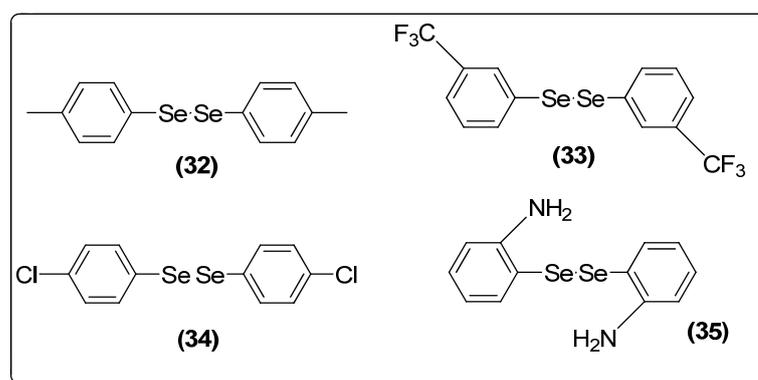


Figura 10: Disselenetos de diarila com atividade anticonvulsante.

A diminuição da neurotoxicidade de disselenetos alifáticos **36**, **37**, **38** (Figura 11) com o aumento da cadeia alifática não pode ser explicada somente com base nas mudanças na entalpia de dissociação da ligação de Se-Se, já que pequenas modificações neste parâmetro surgem quando as cadeias alifáticas passam de dois a três carbonos ou mais. Então, outros fatores como volatilidade, metabolismo, e tamanho molecular interferem com as propriedades neurotóxicas destes compostos (NOGUEIRA, 2003).

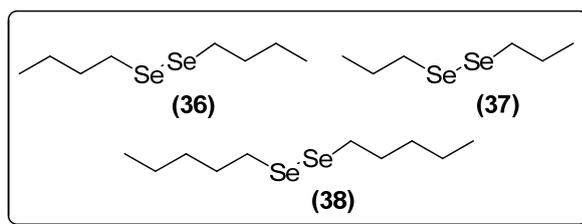
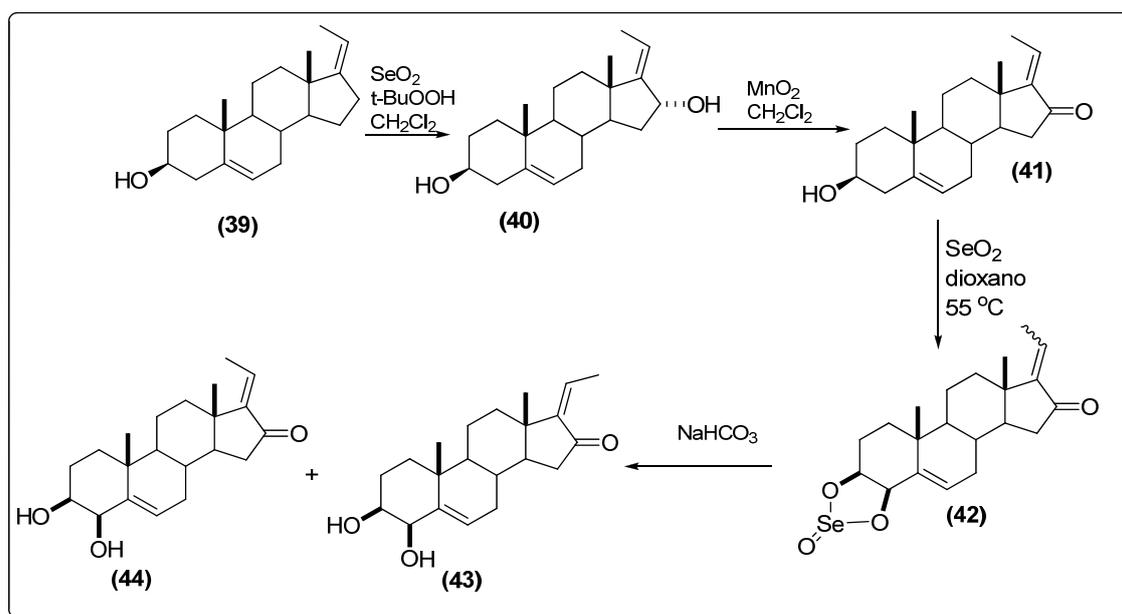


Figura 11: Relação neurotoxicológica dos Disselenetos alifáticos x tamanho da cadeia.

2.4 REATIVIDADE DE COMPOSTOS ESTEROIDAIS E DE COMPOSTOS ORGANOCALCOGÊNIOS

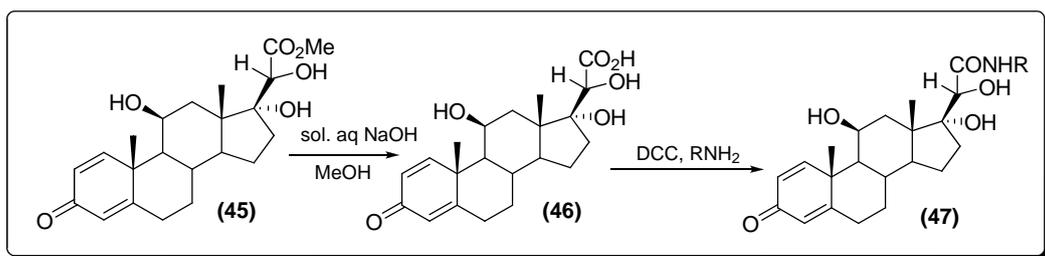
2.4.1 Preparação de compostos organo-esteroidais

Em 1999, Snider e colaboradores, demonstraram uma nova e eficiente rota sintética de compostos estereoisômeros (**43**, **44**) com caráter antitumoral, usando oxidação alílica com SeO_2 e *t*-BuOOH para introduzir o grupo 4 β -hidroxi e 16-cetona, a partir de dehidroisoandrosterona, **39** (Esquema 4).



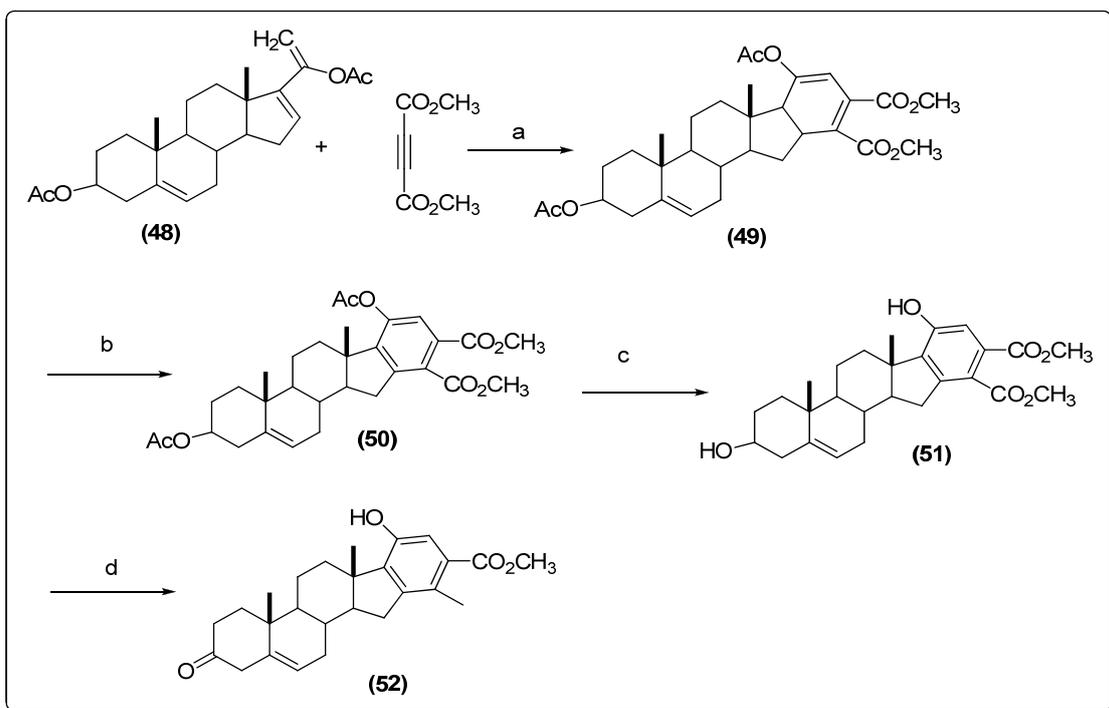
Esquema 4: Rota sintética de compostos estereoisômeros com caráter antitumoral

Lewbary e Mattox e colaboradores, modificaram o antiinflamatório prednisolona, prolongando a oxidação por 1 semana, levando ao éster (**45**), que após hidrólise, fornece o respectivo ácido (**46**). Em seguida, utilizou-se DCC para acoplamento do ácido (**46**) com aminas, levando a formação das respectivas amidas (**47**), como mostra o esquema 5 (KHAN, 2008).



Esquema 5: Modificação do antiinflamatório esteroide Prednisolona.

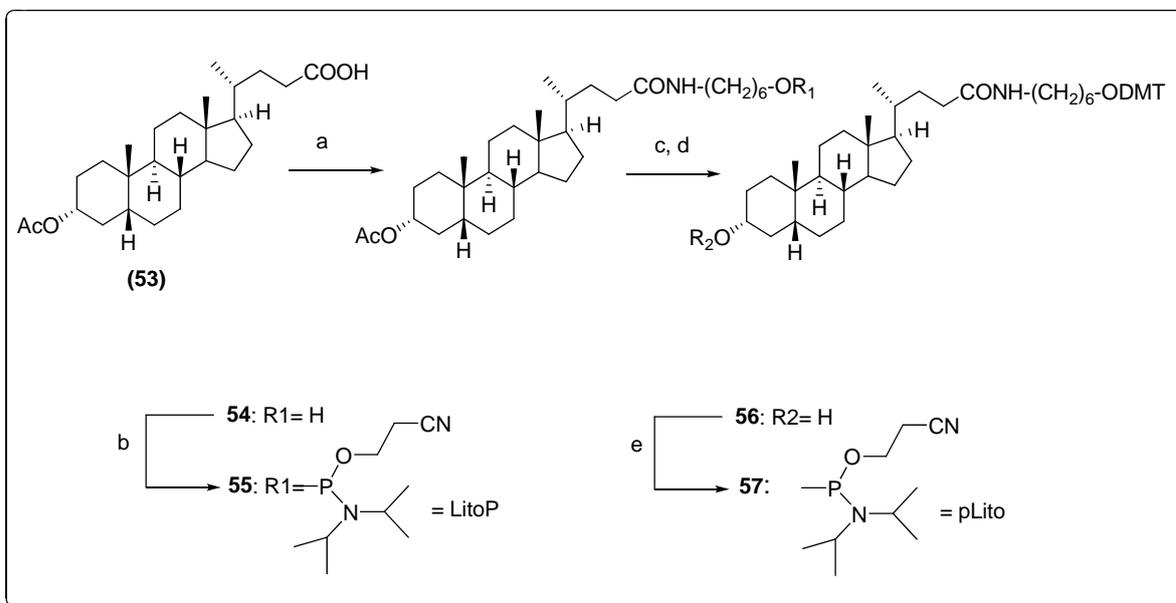
Há muitos exemplos de derivados esteróides pentacíclicos com importância farmacológica e biológica. Em 1963, Eudy e colaboradores descreveram derivados esteróides pentacíclicos contendo um anel 16,17-butanoandrostano, **52** (Esquema 6), empregando uma reação Diels-Alder, para a formação do anel fundido ao anel D (QUALI, 2008).



Esquema 6 : Condições da reação: (a) C₆H₅, Δ, 16h, 43%; (b) CH₃NO₂, Δ, 68%; (c) NaOMe, MeOH, 25 °C, 54h, 77%; (d) ciclohexano, alumínio, isopropóxido, tolueno, 2h, Δ, 88%.

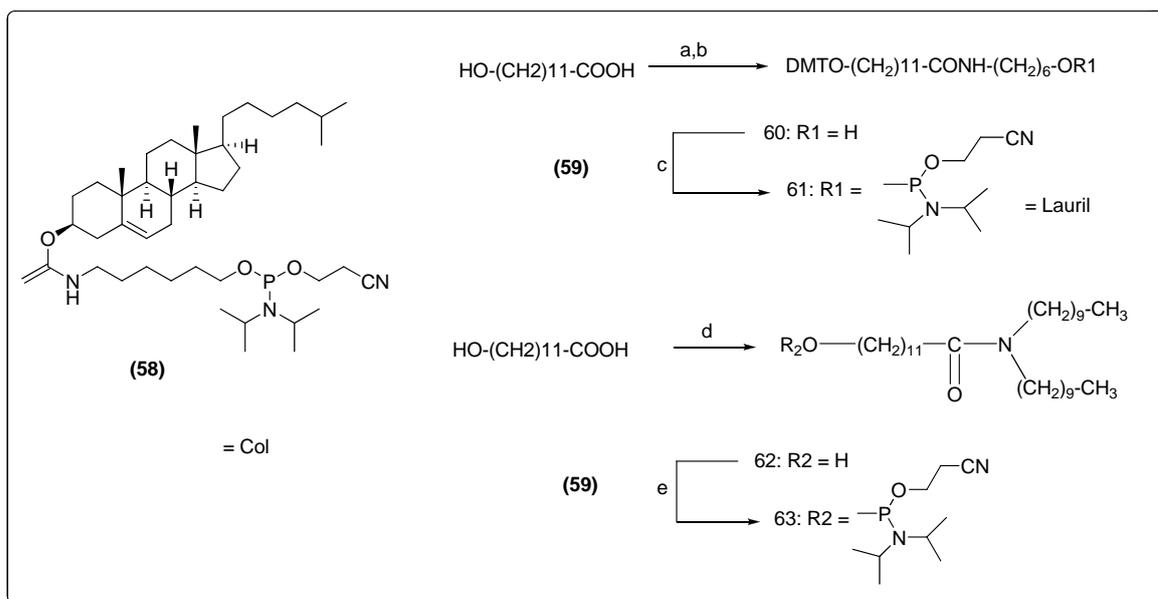
Lorenz e colaboradores, sintetizaram 2 séries lipofílicas de siRNAs conjugados com derivados de colesterol, ácido litocólico ou ácido lauril. A idéia desta modificação química em siRNAs é para inibir a expressão gênica (LORENZ, 2004). A primeira série

(Esquema 7) baseada no uso do ácido lítico, tem como passo inicial a introdução de um ligante no C6 através de um acoplamento quimiosseletivo de 6-amino hexanol com hidrocloreto de etil-dimetil-aminopropil carbodiimida (EDCI) e *p*-dimetil aminopiridina (DMAP) em diclorometano, com 67% de rendimento.



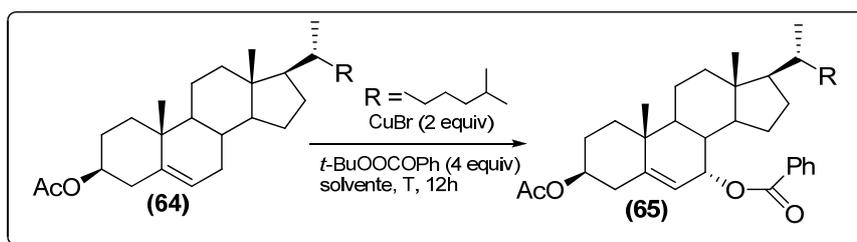
Esquema 7: Síntese de **55** (LitoP) e **57** (pLito). Reagentes e condições: (a) 6-aminohexanol, DMAP, EDCI, CH_2Cl_2 (67%); (b) 2-cianoetil-*N,N*-diisopropilclorofosforamidita, DIPEA, CH_2Cl_2 (35%); (c) DMT-Cl, piridina; (d) K_2CO_3 , $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (c + d: 83%); (e) 2-cianoetil-*N,N*-diisopropilclorofosforamidita, DIPEA, CH_2Cl_2 (76%).

A segunda série realiza a síntese de dois compostos (**61**, **63**) capazes de mimetizar a membrana lipídica, como visto no esquema 8. A reação quimiosseletiva do éter dimetoxitritil do ácido 12-hidroxi lauril (**59**) com 6-aminohexanol dá uma amina (**58**). A modificação da função OH do composto **60**, dá o composto **61** (lauril). Para obter, o segundo derivado, ácido 12-hidroxi lauril (**59**) reagiu com di-*n*-decilamina, que foi acrescentada em excesso, resultando na amina ramificada. A conversão final da função hidroxila de **62** para o grupo fosforamidita leva ao composto **63** (LORENZ, 2004).



Esquema 8: Fosforamidita **58** (Col); síntese de Lauril **61** e C32 **63**, Reagentes e condições: (a) DMT-Cl, piridina; (b) 6-aminohexanol, DMAP, EDCI, CH_2Cl_2 ; (a + b: 97%); (c) 2 cianoetil- *N,N*-diisopropilclorofosforamidita, DIPEA, CH_2Cl_2 (43%); (d) di *n* decilamina, DMAP, EDCI, CH_2Cl_2 (90%); (e) 2 cianoetil- *N,N*- diisopropilclorofosforamidita, DIPEA, CH_2Cl_2 (54%).

Uma nova metodologia para a hidroxilação alílica estereosseletiva de derivados de colesterol, foi descrita por Brunel e colaboradores. O sucesso desta metodologia é a síntese de 7 α -hidroxi colesterol (**65**) em 2 passos sintéticos com altos rendimentos (77% e 61%) (BRUNEL, 2005).

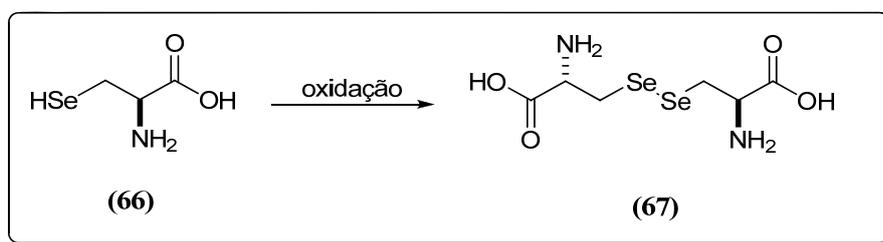


Esquema 9: Hidroxilação alílica estereosseletiva de derivados de colesterol

2.4.2 Preparação de compostos organo-selênio

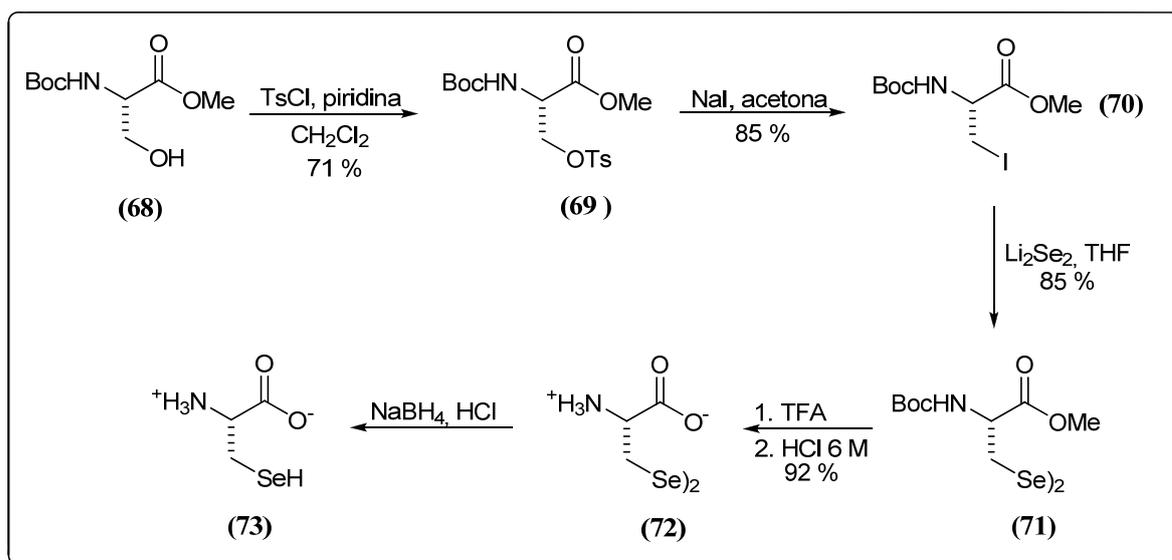
A incorporação biosintética de aminoácidos contendo selênio em biomacromoléculas tem sido usada para produzir derivados contendo átomos pesados e marcadores para ressonância magnética nuclear (SILKS, 1998). Esses derivados de selênio desempenham um papel importante na elucidação de estruturas localizadas ou globais de muitas biomacromoléculas. Em particular, substituição de resíduos de cisteína por selenocisteína em sítios ativos fornece informações funcionais baseadas nas diferenças de propriedades redox dos grupos tiol e selenol (MÜLLER, 1994). A substituição de resíduos de cisteína por selenocisteína também têm sido utilizada como uma abordagem para estudar conformações preferenciais de peptídeos e proteínas (PEGORARO, 1998).

O aminoácido contendo selênio mais amplamente utilizado é a selenocisteína (**66**). Sua síntese muitas vezes é dificultada devido ao fato de que ela é rapidamente oxidada ao ar para formar seu dímero, a selenocistina (**67**), como visto no esquema 10.



Esquema 10: Reação de oxidação da selenocisteína (**66**) para selenocistina (**67**).

Um método que se apresenta com certa eficiência para a preparação de selenocisteína (**73**) foi descrito por Silks e colaboradores (SILKS, 1998). Nesta rota sintética (Esquema 11), parte-se do aminoácido *L*-serina (**68**) convenientemente protegido, e, através de tosilação e substituição nucleofílica do tosionato resultante com NaI, obtêm-se a β-iodo-alanina (**70**). A etapa chave envolve a substituição do iodo por selênio empregando disseleneto de lítio, resultando na selenocistina (**71**) em 85 % de rendimento. A desproteção dos grupos amino e éster levam à selenocistina (**72**). A selenocisteína (**72**) opticamente ativa é então obtida mediante redução com boridreto de sódio.



Esquema 11: Rota para a preparação de selenocisteína (73) a partir de L-serina (68).

Estratégias para contornar o problema referente à oxidação rápida da selenocisteína para a sua forma dimérica vêm sendo desenvolvidas e estão centradas principalmente na preparação de derivados que posteriormente podem ser convertidos *in situ* em selenocisteína (GIESELMAN, 2002).

A incorporação de aminoácidos não-naturais ou outras estruturas em peptídeos naturais e enzimas permite uma maior diversidade e precisão na interação com substratos. Peptídeos e enzimas sintéticas contendo selenocisteína, selenocistina ou selenometionina em suas estruturas são particularmente importantes, uma vez que a incorporação do átomo de selênio fornece propriedades químicas e atividades biológicas importantes (SCHEUFLER, 2000).

A síntese de vários peptídeos contendo selênio em suas estruturas já foi descrita especialmente em casos onde um fragmento do aminoácido cisteína foi substituído por seu análogo de selênio, como por exemplo a apamina, oxitocina e somastatina (PEGORARO, 1999; FIORI, 2000). A síntese do selenopeptídeo, chamado de glutaselenona **74** (Figura 12), análogo de selênio do dissulfeto da glutatona, foi descrito utilizando-se um método de síntese em fase líquida (TAMURA, 1993), onde os diastereoisômeros *LL*, *DL*, *LD* e *DD* exibiram significativa atividade sobre a enzima Glutathione Peroxidase (GPx). O estereoisômero *LL* apresentou a maior atividade da série, para vários hidroperóxidos, seguido pelos isômeros *DL*, *LD* e *DD*.

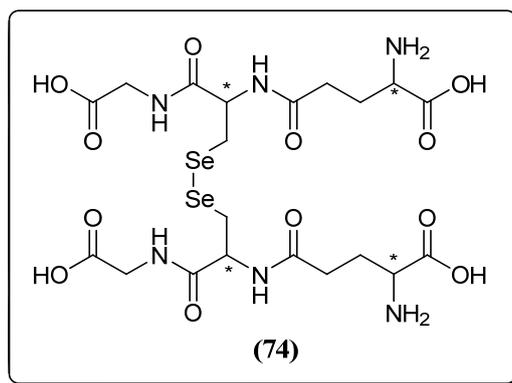


Figura 12: Glutaselenona (GSeSeG), análogo de selênio do dímero da glutatona.

O mecanismo envolve a oxidação de GSeH pelo hidróperóxido para formar GSeOH (figura 13), que é reduzido por GSH para regenerar GSeH através do aduto glutatona-glutaselenona (75). A diferença entre os desempenhos dos quatro isômeros é explicada por uma diferença no modo de interação entre GSeOH e GSH.

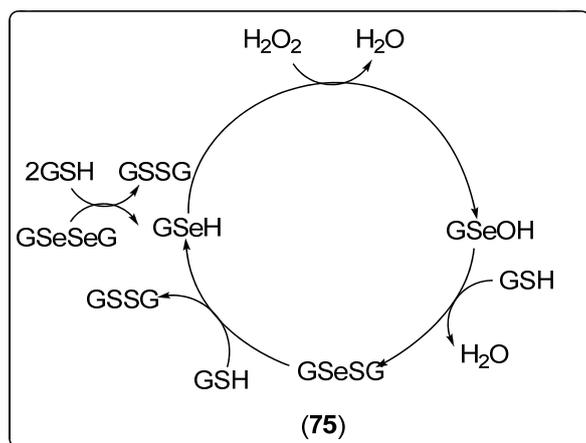
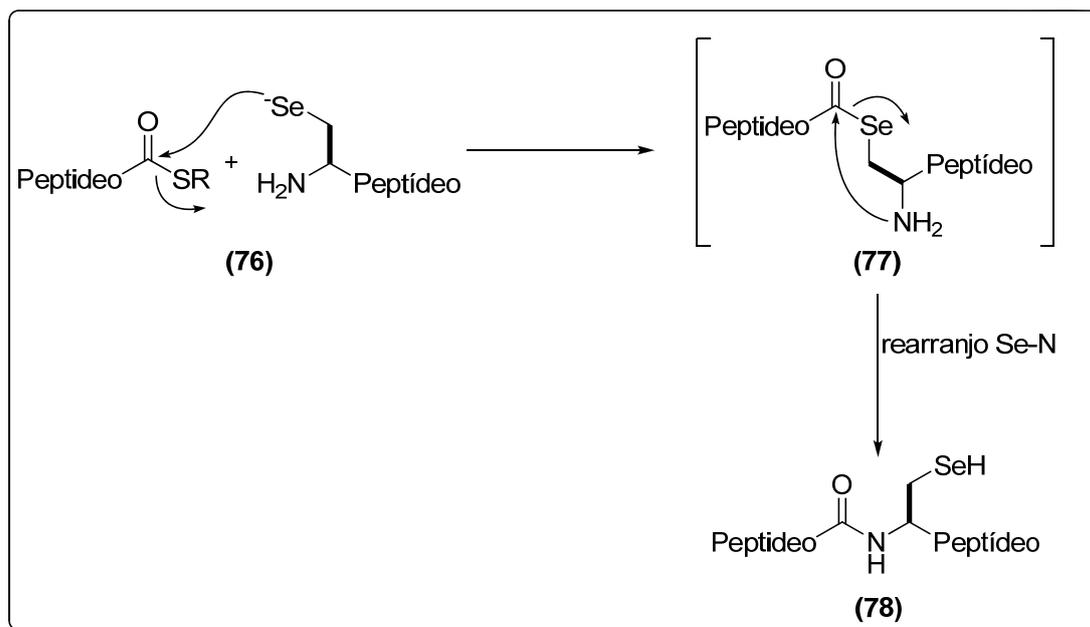


Figura 13: Mecanismo de oxidação da glutaselenona.

A incorporação de selenocisteína em peptídeos (78) e proteínas é obtida mediante a técnica de ligação química nativa, para incorporação de tióis e dissulfetos em peptídeos (DAWSON, 1994). Analogamente, é possível introduzir-se sinteticamente um selenol ou disseleneto permitindo a incorporação de selenocisteína em proteínas (Esquema 12).

A versão para selenocisteína dessa técnica, consiste na reação entre um peptídeo com um grupo tioéster terminal com um outro peptídeo contendo um resíduo de selenocisteína ou selenocistina e também o grupo amino livre (76), na presença de um agente redutor. Inicialmente ocorre uma reação de trans selenoesterificação, formando o selenoéster (77). Este intermediário rearranja-se através de um rearranjo Se-N para formar a ligação peptídica nativa, termodinamicamente mais estável (HONDAL, 2001).



Esquema 12: Reação para incorporação de selenocisteína em peptídeos.

CAPÍTULO 3

Materiais e Metodologia

3. MATERIAIS E METODOLOGIA

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN ^1H , RMN ^{13}C , foram obtidos em espectrômetros Bruker DPX, que operam na frequência de 200 MHz e 400 MHz, (Departamento de Química – UFSM). Os deslocamentos químicos (δ) estão relacionados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS, utilizado como padrão interno para os espectros de RMN ^1H) e CDCl_3 (para os espectros de RMN ^{13}C), colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s = singleto, d = duplete, t = tripleto, qua = quarteto, qui = quinteto, sex = sexteto, m = multiplete, dd = duplo duplete, sl = singleto longo), o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa e a constante de acoplamento (J) expressa em Hertz (Hz).

3.1.2 Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros de IV, foram obtidos em um Spectrum One - Perkin Elmer com transformada de Fourier, modelo 100N. Os espectros foram obtidos na região de 400-4000 cm^{-1} para análise de transmitância e reflectância difusa. O branco utilizado neste equipamento foi brometo de potássio (KBr).

3.1.3 Rota-Evaporadores

Para a remoção dos solventes das soluções orgânicas foram utilizados:

- Rota Evaporador Heidolph VV 2000
- Rota Evaporador – M Büchi HB - 140
- Linha de vácuo equipada com uma bomba de alto-vácuo Vacuumbrand modelo RD 4, 4,3 m^3/h .

3.1.4 Solventes e Reagentes

Os solventes foram purificados e secos antes de serem utilizados, conforme técnicas usuais. Os reagentes restantes foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação.

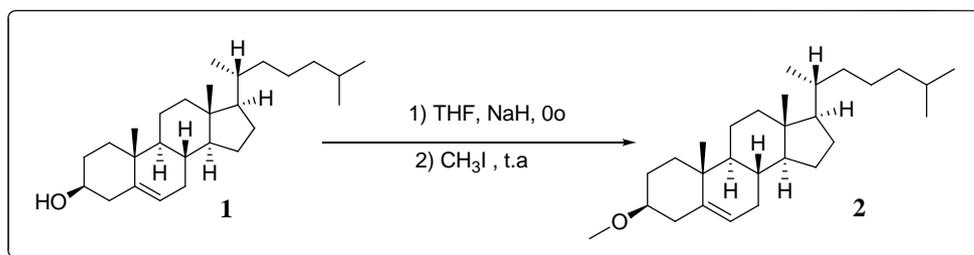
O THF foi refluxado sobre sódio metálico, utilizando como indicador a benzofenona e destilado imediatamente antes do uso.

As placas de cromatografia em camada delgada foram obtidas de fontes comerciais; Sílica G/UV₂₅₄ (0,20mm). Utilizou-se como método de revelação, cuba de iodo, luz ultravioleta e solução ácida de vanilina.

Para os produtos purificados utilizando cromatografia em coluna, o material utilizado foi uma coluna de vidro, gel de sílica 60 (230-400 mesh – MERCK) e como eluente um solvente ou mistura de solventes adequados.

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 Preparação do metil-colesterol (2)

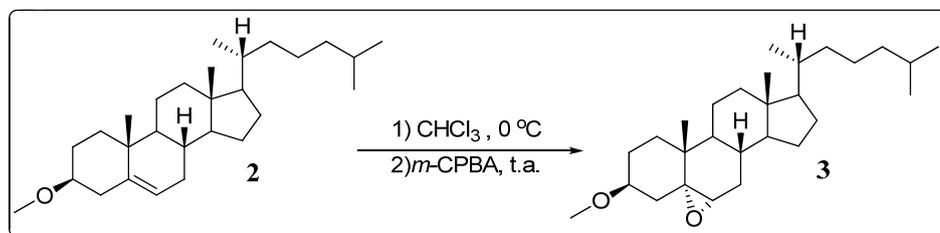


Esquema 13: Metilação do colesterol.

Em um balão de duas bocas sob atmosfera de argônio, foi adicionado o colesterol (10 mmol) em THF seco (20 mL). Após o sistema foi resfriado a 0 °C e foi adicionado lentamente NaH (12,5 mmol). Em seguida, o banho de gelo foi retirado e deixou-se o sistema reagir por 90 minutos à temperatura ambiente, logo após foi adicionado CH₃I (12,5 mmol). O sistema foi agitado por aproximadamente 24 horas. Após esse período a reação foi extraída com uma solução saturada de NaCl (~ 20 mL), e a fase aquosa extraída com diclorometano (3x 20 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com MgSO₄, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto foi purificado em coluna cromatográfica em gel de sílica, utilizando uma

mistura de hexano/acetato (70:30) como eluente. Os rendimentos obtidos foram na faixa de 60-65%.

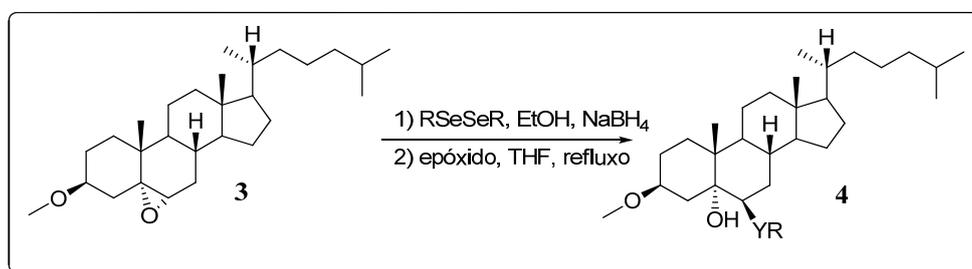
3.2.2 Preparação do epóxido metil-colesterol (3)



Esquema 14: Epoxidação do metil colesterol.

Em um balão de uma boca foi adicionado metil-colesterol (6 mmol) em clorofórmio (10 mL), o sistema foi resfriado à 0 °C e durante 1 hora foi adicionado em pequenas frações *m*-CPBA (7,2 mmol). Após, deixou-se o sistema reagir por aproximadamente 2 horas a temperatura ambiente. Em seguida foi acrescentada uma solução saturada de NaHCO₃ (4 mL) e NaCl (4 mL) e a fase aquosa extraída com diclorometano (3x 20mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com MgSO₄, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica em gel de sílica, utilizando uma mistura de hexano/acetato (80:20) como eluente. Os rendimentos obtidos foram na faixa de 85-92%.

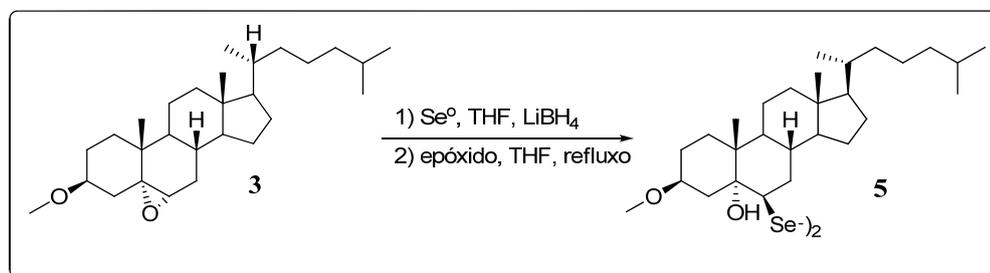
3.2.3 Procedimento geral para preparação dos compostos calcogenoesteróides (4)



Esquema 15: Preparação dos compostos calcogenoesteróides

Em um balão de duas bocas, munido de condensador e agitação magnética, à temperatura ambiente, sob atmosfera de argônio, adicionou-se o disseleneto apropriado (0,32 mmol) em álcool etílico PA (2 mL), após solubilização do disseleneto utilizado foi adicionado lentamente uma solução de NaBH₄ (0,32 mmol), solubilizado em álcool etílico PA, até o desaparecimento da cor amarela da reação, até esta ganhar opacidade ou formar uma solução incolor. Logo após, foi adicionado ao sistema reacional uma solução do epóxido do colesterol (0,25 mmol), solubilizado em THF seco. Na sequência, esta foi colocada sob refluxo de 12-48h, dependendo do disseleneto empregado. A reação foi acompanhada por placas cromatográficas, a fim de verificar o consumo do epóxido e a formação do produto. Após esse tempo, a reação foi extraída com NH₄Cl e lavada com diclorometano (3x 20 mL), as fases orgânicas foram combinadas e secas com MgSO₄, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica em sílica de gel, utilizando inicialmente hexano, hexano/acetato (80:10) e hexano/acetato (80:20) como eluente. Os rendimentos obtidos variaram conforme o disseleneto.

3.2.4 Preparação do disseleneto de dicolesterol (5).



Esquema 16: Preparação do disseleneto de dicolesterol (5).

Em um balão de duas bocas sob atmosfera de argônio, munido de agitação magnética à temperatura ambiente, adicionou-se o selênio elementar (0,6 mmol) e THF seco (10 mL). Em seguida, adicionou-se 0,6 mmol de superhidreto de lítio, deixando sob agitação por cerca de 20 minutos, para a formação do ânion de selênio. Ainda sob temperatura ambiente, adicionou-se 0,5 mmol do epóxido do colesterol, solubilizando primeiramente este em 2-3 mL de THF seco. Depois disto, esta foi colocada sob refluxo por aproximadamente 12h. Para acompanhar a reação foram utilizadas placas cromatográficas, a fim de verificar o consumo do epóxido e a formação do produto.

Após esse tempo, a reação foi extraída com NH_4Cl e lavada com diclorometano (3x 20 mL), as fases orgânicas foram combinadas e secas com MgSO_4 , o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica em gel de sílica, utilizando inicialmente hexano, hexano/acetato (80:10) e hexano/acetato (80:20) como eluente.

CAPÍTULO 4

Apresentação e Discussão dos Resultados

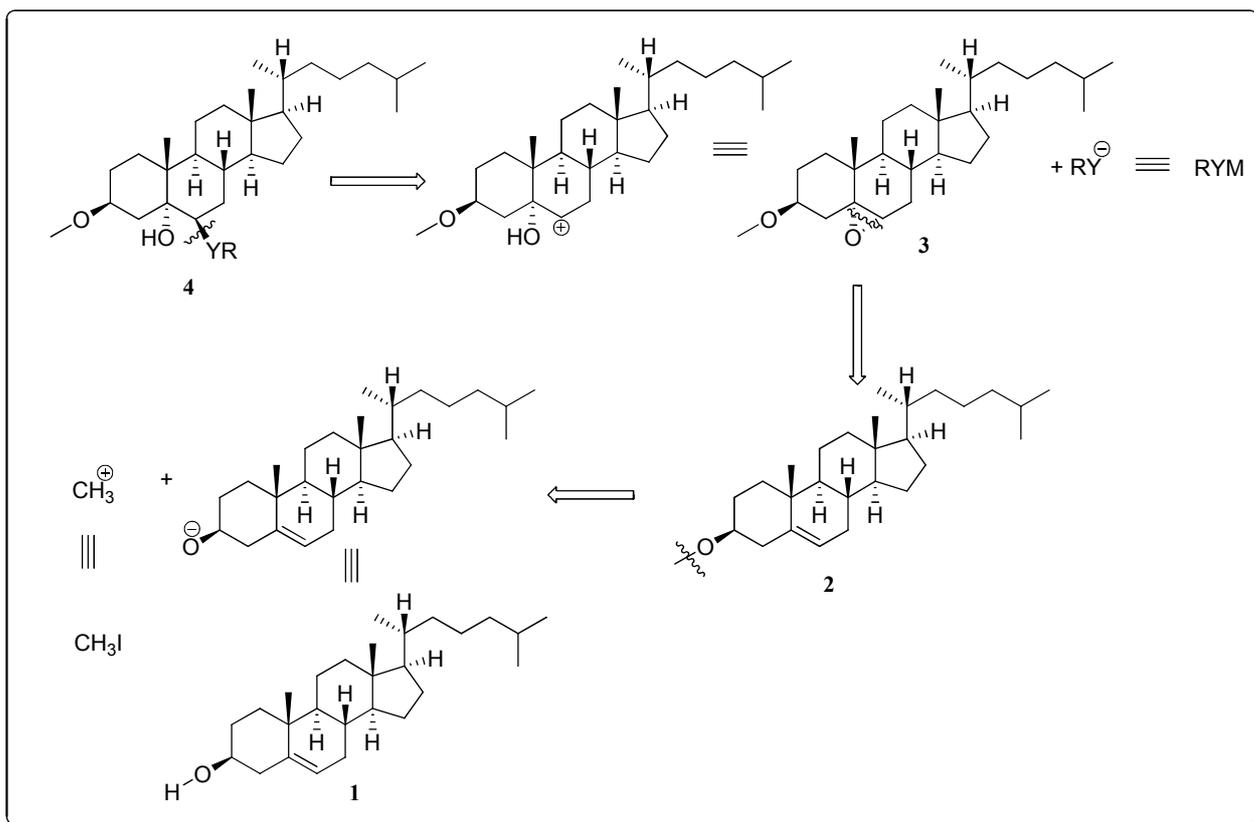
4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1- SÍNTESE DE SELENOESTERÓIDES QUIRAIS

Neste item, apresentaremos e comentaremos os dados obtidos relativos à preparação dos calcogenoesteróides **4** e **5** preparados a partir do colesterol.

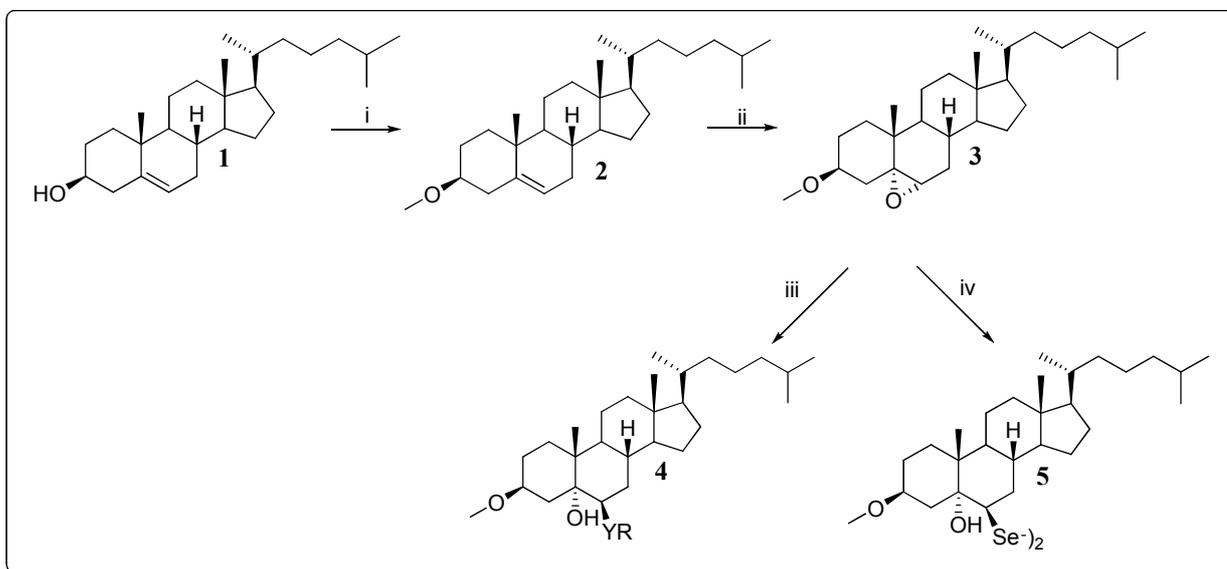
4.1.1- Discussão sobre a obtenção dos calcogenoesteróides.

Primeiramente através de uma análise retrossintética do composto desejado, podemos observar que o calcogenoesterol **4** poderia ser obtido através da abertura régio- e estereosseletiva do epóxido derivado do colesterol **3**. Este epóxido do colesterol por sua vez, poderia ser obtido através de uma reação de epoxidação seletiva do metoxi colesterol **2**, sendo este obtido a partir da proteção do colesterol com iodeto de metila, onde o colesterol foi obtido de fontes comerciais (Esquema 17).



Esquema 17: Análise retrógrada dos calcogenoesteróides.

Baseado nesta análise planejou-se a preparação dos selenoesteróides **4** e **5** partindo-se de um material de partida simples e de fácil obtenção, o colesterol e empregando etapas reacionais simples (Esquema 18).



Esquema 18: Síntese de esteróides contendo selênio: (i) (a) THF, NaH, (b) CH₃I, t.a.; (ii) CHCl₃, *m*-CPBA, t.a.; (iii) (a) EtOH/THF, (RSe)₂, NaBH₄, (b) epóxido **3**, refluxo; (iv) (a) THF, Se⁰, superhidreto, (b) epóxido **3**, refluxo.

Como pode ser visto no Esquema 18, inicialmente realizamos a proteção do grupamento hidroxila no C3, na forma de metil éter, empregando hidreto de sódio como base e em seguida, alquilação do alcóxido formado com iodeto de metila, levando a formação do respectivo metil-éter com 62% de rendimento. O passo seguinte consistiu na epoxidação enantiosseletiva da ligação dupla do anel esteroidal nas posições C5-C6. Para isso, empregou-se metodologia descrita por Marson colaboradores, empregando *m*-CPBA como agente oxidante, levando a formação do epóxido com 91% de rendimento e com alta seletividade na face menos impedida da ligação dupla (MARSON, 2003)

Para evidenciar a preferência pela epoxidação na posição menos impedida da dupla ligação do anel esteroidal, foram realizados cálculos de modelagem molecular, com a otimização da geometria, empregando MM2 como base de cálculo. Os resultados demonstraram que há uma energia total menor com relação ao epóxido *trans* em relação ao epóxido *cis*, como pode ser visto na figura 14.

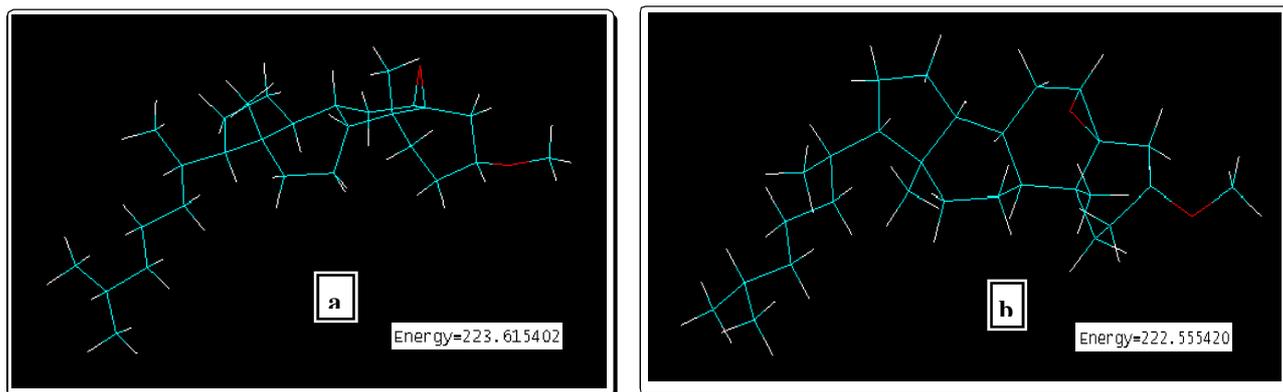


Figura 14: Otimização da geometria molecular: (a) isômero *cis*; (b) isômero *trans*.

O próximo passo consistiu na inserção dos respectivos grupos organocalcogênios no anel esteroidal. Para isso, realizou-se a abertura régio e estereosseletiva do epóxido anteriormente formado. Com relação à regioquímica, a abertura do anel poderia ocorrer no C5 ou no C6, que são os carbonos do epóxido. Dependendo do mecanismo empregado, pode-se realizar o controle da regioquímica desta reação. O C5 pode ser o carbono a ser atacado nucleofílicamente, caso a reação siga um mecanismo do tipo SN_1 , devido à formação de um carbocátion terciário estável. Ao contrário, o carbono C6 é o menos substituído sendo mais acessível a realizar reações do tipo SN_2 . Analisando a metodologia empregada, a condição para a geração dos respectivos calcogenolatos consiste em uma forma básica, levando a abertura do epóxido seletivamente no carbono C6. Com relação à estereoquímica, a abertura do epóxido ocorre de forma *anti*. A abertura *cis* do epóxido leva a uma alta repulsão eletrônica, devido a maior proximidade entre átomos com carga negativa: o oxigênio do epóxido e o ânion calcogenolato do nucleófilo, conforme figura 15.

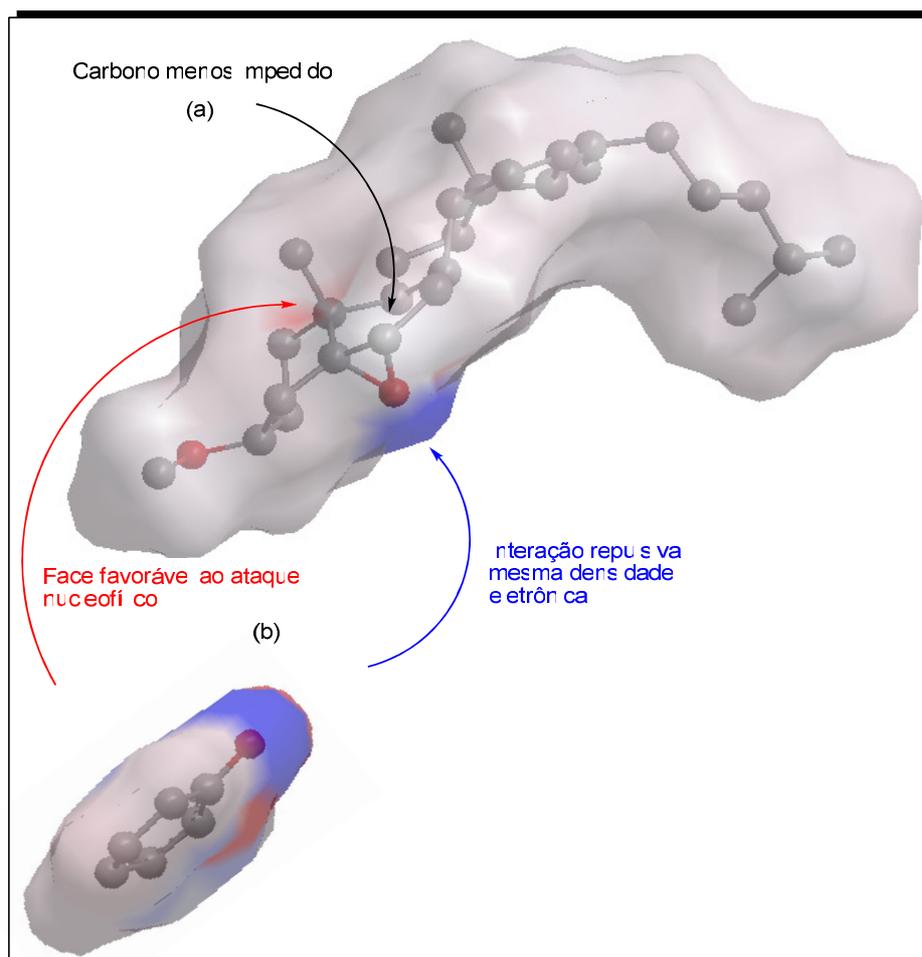
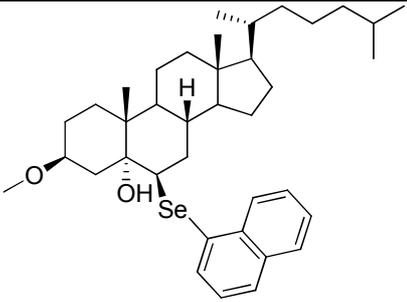
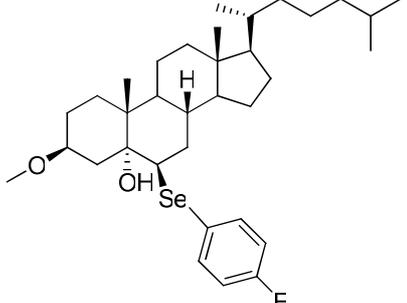
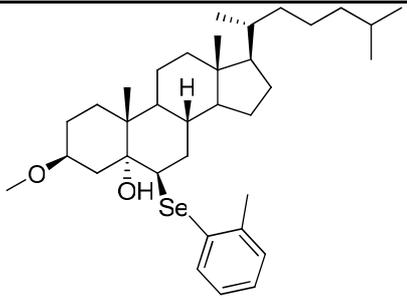
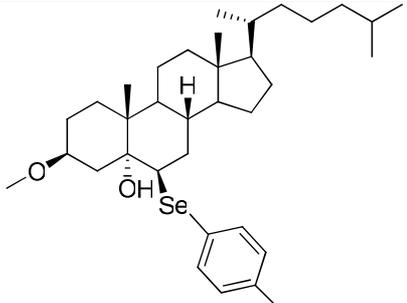


Figura 15: Abertura Régio e estereosseletiva do Epóxido

Os dados referentes aos rendimentos dos respectivos calcogenesteróides sintetizados encontram-se listados na tabela 2.

Continuação da Tabela 2: Rendimentos obtidos dos calcogenoesteróides.

4e		68%	48h
4f		48%	48h
4g		63%	24h
4h		52%	24h

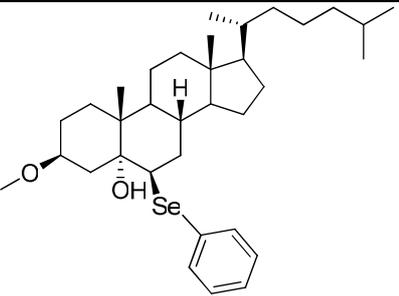
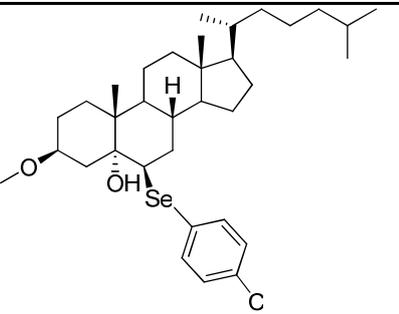
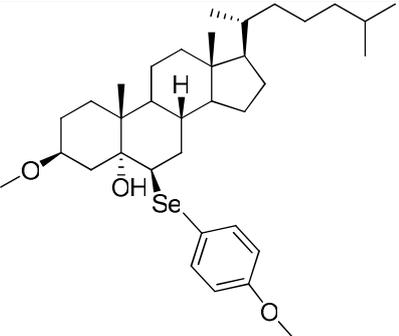
4i		35%	48h
4j		55%	12h
4k		79%	12h
4l		53%	24h
5		82%	12h

Tabela 2: Rendimentos obtidos dos calcogenesteróides.

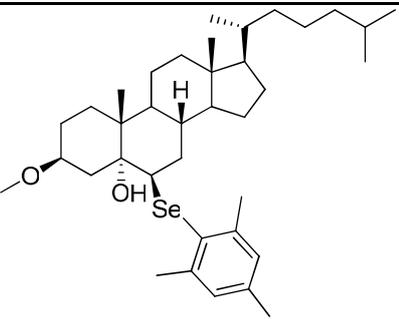
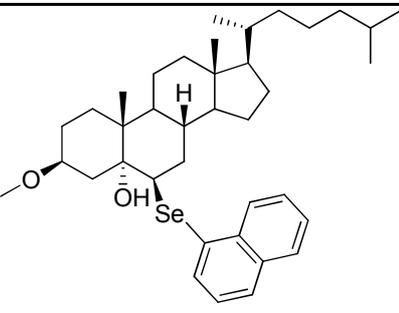
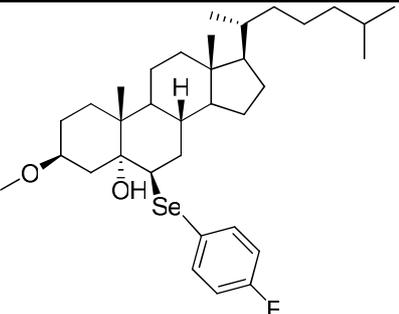
Analisando os dados da tabela 2 podemos verificar que a abertura do epóxido é sensível aos efeitos eletrônicos no anel aromático ligado ao átomo de selênio. Esta observação pode ser evidenciada na síntese dos compostos selenoesteróides. Analisando o rendimento de 84% do composto **4d**, onde o grupo R do seleneto é o mesitila, podemos relacionar o efeito indutivo positivo dos três grupos metila ligados ao anel aromático sobre a densidade eletrônica, aumentando a nucleofilicidade do selenolato, e conseqüentemente permitindo a obtenção seleneto **4d** um bom rendimento. Contudo, o composto **4i** (Tabela 2) onde grupo R é o *m*-CF₃, tem um efeito indutivo negativo, diminuindo a densidade eletrônica no anel aromático e, conseqüentemente, diminuindo a densidade eletrônica do ânion selenolato. O efeito da baixa nucleofilicidade deste selenolato nos dá um rendimento baixo, de 35%, para o respectivo selenoesteróide (**4i**). Dessa forma, podemos racionalizar o fato de maior rendimento aos compostos que apresentam grupos ativantes como substituintes, devido ao aumento da nucleofilicidade dos ânions gerados e, conseqüentemente, um baixo rendimento, relativo aos grupos desativantes, que diminuem a nucleofilicidade dos selenolatos.

A abertura do epóxido empregando diferentes espécies de calcogênios também foi estudada. Observando os dados da tabela 2, para os compostos **4a**, **4k** e **4l**, podemos verificar um maior rendimento para a espécie nucleofílica de enxofre. A espécie nucleofílica de telúrio apresentou o menor rendimento da série. Este fato pode ser compreendido com base na menor estabilidade do teluroesteróide **4l** e da menor estabilidade da espécie telurolato no meio reacional.

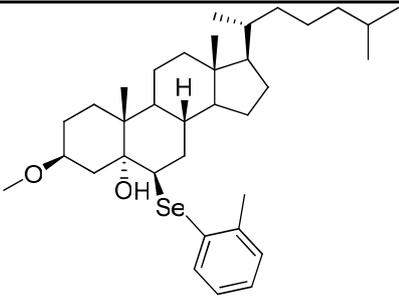
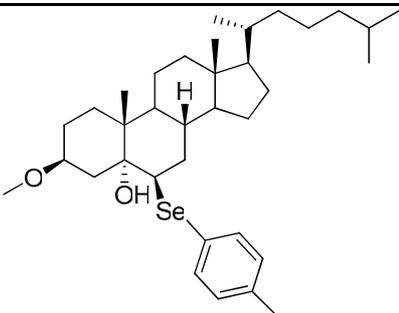
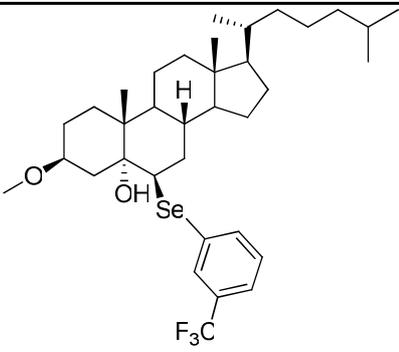
Todos os compostos preparados **4 - 5** são estáveis e podem ser armazenados por vários dias sob refrigeração. Todos eles foram identificados por RMN ¹H e RMN ¹³C (tabela 3), além de IV, no entanto este foi realizado apenas em alguns compostos selecionados.

#	Composto	RMN ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm) <i>J</i> (Hz) / 400 MHz	RMN ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm) <i>J</i> (Hz) / 100 MHz
4a		7,89 – 7,52 (m, 2H); 7,52 – 7,23 (m, 3H); 3,82 – 3,43 (m, 1H); 3,36 (d, <i>J</i> =10,8, 3H); 3,11 (d, <i>J</i> =2,7, 1H); 2,40 (dd, <i>J</i> =13,4, 11,1, 1H); 2,29 – 1,90 (m, 4H); 1,90 – 1,12 (m, 28H); 1,12 – 0,85 (m, 13H); 0,72 (d, <i>J</i> =18,1, 3H).	134,06; 132,73; 129,04; 127,37; 77,94; 76,68; 56,30; 55,80; 55,51; 54,07; 46,19; 42,80; 40,78; 39,98; 39,53; 39,52; 36,18; 35,82; 34,54; 32,41; 31,26; 28,21; 28,01; 26,97; 24,18; 23,88; 22,83; 22,57; 21,29; 18,66; 17,55; 12,25.
4b		7,47 (d, <i>J</i> =7,4, 2H); 7,38 (t, <i>J</i> =7,4, 2H); 3,59 (s, 1H); 3,36 (s, 3H); 3,05 (s, 1H); 2,45 – 2,23 (m, 1H); 2,11-1,72 (m, 7); 1,67 – 0,66 (m, 37).	135,42; 133,70; 130,80; 129,20; 77,85; 76,37; 68,90; 68,78; 68,76; 68,73; 56,26; 55,83; 55,42; 54,49; 46,14, 42,77; 40,78; 39,92; 39,50, 36,15; 35,79; 34,39; 32,35, 31,23; 28,18; 28,00; 26,89, 24,17; 23,85; 22,82; 22,55, 21,26; 18,63; 17,51, 12,22.
4c		7,53-7,51 (m, 2H); 6,87 – 6,1 (m, 2H); 3,82 (s, 3H); 3,67 – 3,55 (m, 1H); 3,42 – 3,32 (s, 3H); 2,94 (s, 1H), 2,44-2,38 (m, 1H); 2,08 – 1,75 (m, 6H); 1,67 – 1,24 (m, 14H); 1,22 – 0,96 (m,	160,06; 140,87; 136,71; 135,43; 122,96; 121,59; 114,72; 80,37; 76,68; 56,79; 56,16; 55,83; 55,59; 55,25; 55,12; 50,21; 46,23; 42,80; 40,84; 39,98; 38,70; 37,19; 36,90; 35,83; 34,20; 32,40; 31,96; 28,99; 28,02; 26,95;

Continuação Tabela 4: Dados espectrais de RMN ¹H e RMN ¹³C.

	11H); 0,94 – 0,85 (m, 9H); 0,77-0,69 (m, 3H).	24,30; 23,88; 22,84; 22,57; 21,29; 19,38; 18,73; 17,55; 12,26; 11,87.
<p>4d</p> 	6,94 (s, 2H); 3,62 (s, 1H); 3,38 (s, 3H); 2,90 (s, 1H); 2,66 – 2,57 (s, 9H); 2,47 – 2,18 (m, 33H); 2,13 – 0,53 (m, 41H)	143,30; 138,20; 129,54; 128,56; 78,07; 76,55; 56,27; 55,76; 55,51; 52,33; 46,60; 42,79; 40,32; 40,03; 39,63; 39,50; 36,16; 35,82; 33,26; 32,44; 31,43; 28,22; 28,00; 26,83; 24,69; 24,16; 23,87; 22,81; 22,56; 21,33; 20,95; 18,68; 17,90; 12,19.
<p>4e</p> 	8,03 (s, 3H); 7,88 – 7,40 (m, 4H); 3,62 (s, 1H); 3,45 – 3,14 (m, 3H); 2,44 (s, 1H); 2,28 – 2,13 (m, 1H); 2,12 – 0,55 (m, 43H).	133,85; 132,75; 132,40; 131,36; 130,07; 128,44; 127,70; 127,39; 126,41; 126,13; 77,97; 76,71; 56,26; 55,83; 55,51; 53,98; 46,22; 42,72; 42,35; 40,84; 39,98; 39,51; 39,04; 36,18; 35,82; 34,72; 32,42; 31,33; 28,21; 28,01; 26,98; 23,87; 22,82; 22,56; 21,31; 18,66; 17,39; 16,19; 15,88; 12,7.
<p>4f</p> 	7,72 - 7,42 (m, 2H); 7,04 – 6,80 (m, 2H); 3,77 – 3,49 (m, 1H); 3,35 (s, 3H); 2,98 (s, 1H); 2,50 – 2,27 (m, 1H); 2,12 – 1,78 (m, 7H); 1,62 – 0,60 (m, 36H)	136,68; 136,60; 127,21; 116,29; 116,08; 77,84; 76,71; 56,30; 55,82; 55,45; 54,97; 46,17; 42,79; 39,95; 39,53; 39,51; 36,17; 35,81; 34,27; 32,37; 31,21; 28,19; 28,01; 24,18; 23,87; 22,82; 22,56; 21,28; 18,65; 17,52; 12,23.

Continuação Tabela 3: Dados espectrais de RMN ¹H e RMN ¹³C.

<p>4g</p> 	<p>7,62 – 7,10 (m, 4H); 3,87 – 3,47 (m, 1H); 3,40 (s, 3H); 3,09 (s, 1H); 2,56 – 2,23 (m, 4H); 2,12 – 1,68 (m, 7H); 1,58 – 0,61 (m, 36H).</p>	<p>155,3; 140,71; 134,43; 133,23; 131,30; 131,10; 129,93; 128,30; 128,04; 127,61; 126,50; 77,99; 76,38; 56,26; 55,77; 55,45; 52,77; 46,24; 42,78; 40,59; 39,95; 39,56; 39,49; 36,15; 35,80; 34,09; 32,40; 31,37; 28,20; 28,01; 26,95; 24,17; 23,86; 23,04; 22,81; 22,55; 21,27; 18,65; 17,69; 12,22.</p>
<p>4h</p> 	<p>7,46 (d, <i>J</i>=8,1, 2H); 7,08 (d, <i>J</i>=8,1, 2H); 3,70 – 3,53 (m, 1H), 3,46 – 3,25 (m, 3H); 3,04 (s, 1H); 2,36 (d, 3H); 2,10 – 1,74 (m, 8H); 1,48 – 0,88 (m, 33H); 0,75 – 0,59 (m, 3H).</p>	<p>137,46; 134,54; 129,85; 129,04; 77,89; 76,72; 56,32; 55,78; 55,52; 54,48; 46,19; 42,80; 40,82; 40,00; 39,52; 36,19; 35,82; 34,43; 32,42; 31,22; 28,22; 28,01; 26,97; 24,19; 23,89; 22,83; 22,57; 21,30; 21,14; 18,67; 17,54; 12,26.</p>
<p>4i</p> 	<p>7,44-7,22 (m, 4H); 3,74 – 3,56 (m, 1H); 3,42 – 3,29 (s, 3H), 3,16 (s, 1H); 2,43 – 2,30 (m, 1H); 2,10 – 1,93 (m, 3H); 1,91 – 1,78 (m, 4H); 1,66 – 1,05 (m, 23H); 0,96-0,82 (m, 10H); 0,75 (s, 3H).</p>	<p>131,55 (q, <i>J</i>=31Hz); 129,69; 128,60; 126,41; 123,68 (q, <i>J</i>=274Hz); 77,85; 76,40; 56,29; 55,83; 55,41; 54,11; 46,13; 42,82; 42,73; 40,77; 39,93; 39,55; 39,47; 36,16; 35,80; 34,40; 32,37; 31,29; 28,18; 28,01; 26,92; 24,12; 23,87; 22,81; 22,55; 21,27; 18,65; 18,62; 17,54; 16,72; 12,23; 11,99.</p>

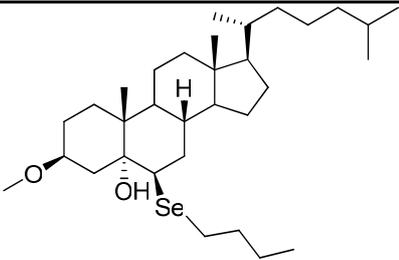
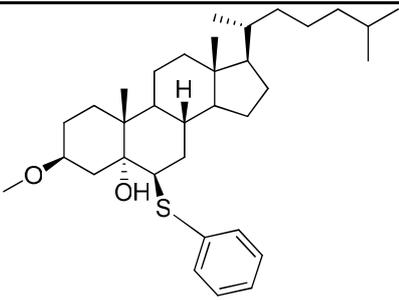
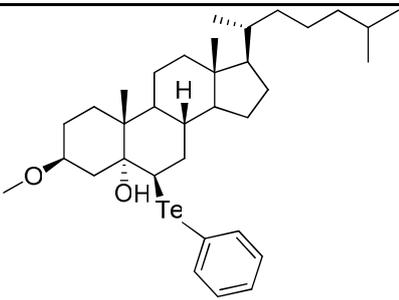
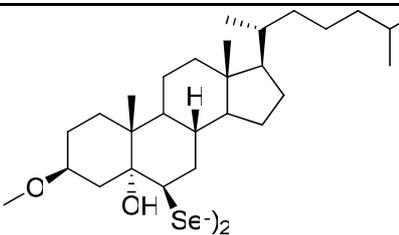
<p>4j</p> 	<p>3,64 – 3,51 (m, 1H); 3,36 (s, 3H); 2,73 – 2,70 (m, 1H); 2,52 (t, $J=8,00$, 2H); 2,36 – 2,27 (m, 1H); 2,05 – 1,89 (m, 3H); 1,86 – 1,71 (m, 4H); 1,66 – 1,09 (m, 29H); 0,98 – 0,81 (m, 12H); 0,71 (s, 3H)</p>	<p>78,00; 76,69; 56,32; 55,76; 55,62; 48,49; 46,42; 42,80; 40,64; 40,02; 39,52; 39,49; 36,18; 35,80; 35,11; 32,43; 31,33; 28,21; 28,00; 27,20; 26,94; 24,17; 23,86; 23,03; 22,81; 22,55; 21,28; 18,65; 17,70; 13,61; 12,24.</p>
<p>4k</p> 	<p>7,57 – 7,15 (m, 4H); 3,74 – 3,50 (m, 1H); 3,45 – 3,28 (m, 3H); 3,07 (s, 1H); 2,46 – 2,30 (m, 1H); 2,10 – 0,59 (m, 44H).</p>	<p>138,02; 131,46; 128,93; 126,73; 77,80; 76,62; 57,38; 56,32; 55,76; 55,58; 46,14; 42,79; 39,99; 39,65; 39,53; 39,51; 36,20; 35,82; 33,46; 32,47; 30,76; 28,21; 28,01; 26,97; 24,20; 23,90; 22,84; 22,59; 21,27; 18,68; 17,42; 12,24.</p>
<p>4l</p> 	<p>7,92 – 7,66 (m, 5H); 4,46 (s, 1H); 4,10 – 3,85 (m, 3H); 2,18 (d, $J=14,8$, 1H); 2,10 – 0,80 (m, 40H); 0,65 (s, 3H).</p>	<p>138,00; 137,61; 129,33; 128,05; 115,81; 77,61; 76,69; 56,29; 56,22; 56,12; 43,39; 42,72; 42,47; 39,96; 39,48; 38,98; 38,49; 37,85; 36,12; 35,69; 34,00; 28,16; 28,00; 26,30; 23,82; 23,79; 23,42; 22,80; 22,55; 21,80; 18,62; 16,87; 11,99.</p>
<p>5</p> 	<p>3,64 (s, 2H), 3,38 (s, 6H); 3,25 (s, 2H); 2,19 (d, $J= 11,8$, 1H); 1,95 (m, 8H); 1,63 – 1,25 (m, 17H); 1,13 (m, 18H), 0,93 (m, 35H); 0,71 (s, 6H).</p>	<p>77,82; 76,80; 58,39; 56,73; 56,12; 46,73; 43,38; 41,79; 40,48; 40,04; 36,68; 36,29; 35,47; 32,73; 31,74; 28,72, 27,23; 24,82; 23,27; 21,85; 18,17; 15,05; 12,23.</p>

Tabela 3: Dados espectrais de RMN ^1H e RMN ^{13}C .

A seguir, discutiremos a atribuição de sinais vibracionais na Espectroscopia de Infravermelho, para o composto **4i**, como representante dos calcogenoesteróides.

No espectro **4i** (Figura 16), podemos atribuir alguns sinais característicos de certas regiões para indicar a presença dos principais grupos funcionais destas moléculas. As bandas características de grupamentos alcoóis observadas no espectro são devido a presença de grupos OH na molécula sintetizada. Sabe-se que os modos vibracionais de OH não são independentes como em alguns grupos, pois estes sofrem influência de vibrações dos grupos adjacentes. Esses estiramentos de OH (**1**) são característicos da região de 3500-3400 cm^{-1} , no espectro esse sinal pode ser vista na região de 3436,66 cm^{-1} . A presença do Se (**2**) na molécula pode ser vista no estiramento de 1718,73 cm^{-1} , já que o modo vibracional do Se ligado a carbono Sp^3 é característico na região de 1800-1700 cm^{-1} , confirmando a presença deste grupamento na molécula.

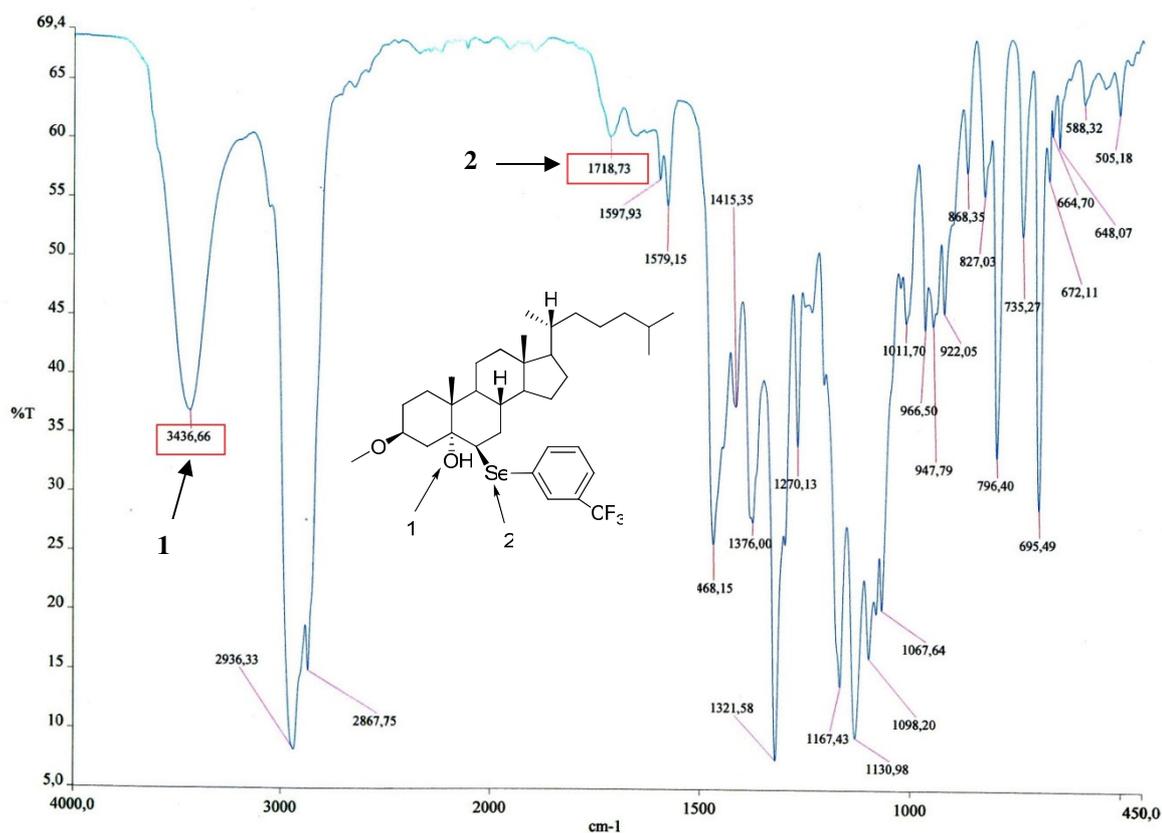


Figura 16: Bandas características no espectro de IV composto **4i**.

A seguir, discutiremos, a título de exemplo, a atribuição de sinais nos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C , para os compostos **4h**, como representante dos calcogenoesteróides e do disseleneto **5**.

No espectro de RMN ^1H (Figura 17), podemos observar, nas regiões 7.46 e 7.08 ppm, dois dubletos, cada um com integral relativa a 2H ($J= 8.1$ e $J= 8.1$, respectivamente), característico de hidrogênios aromáticos, denominados **H-1** na figura 17. Na região entre 3,70 e 3,53 podemos observar um multipletto com integral relativa a 1H, que corresponde aos hidrogênios do carbono C3 do anel esteroidal, denominado **H-5**. Na região compreendida entre 3,46 e 3,25 ppm, aparece um multipletto com relativa a 3H, que corresponde aos hidrogênios da metoxila da posição C3 do anel esteroidal, denominado **H-3**. Em 3,04 ppm, podemos observar um singletto, com integral relativa a 1H, correspondente ao hidrogênio da hidroxila ligada à posição C5 do anel esteroidal (**H-2**). Em 2,36 ppm, aparece um novo dubleto com integral relativa de 3H ($J= 14,1$), que corresponde aos hidrogênios da metila na posição *para* do anel aromático **H-4**.

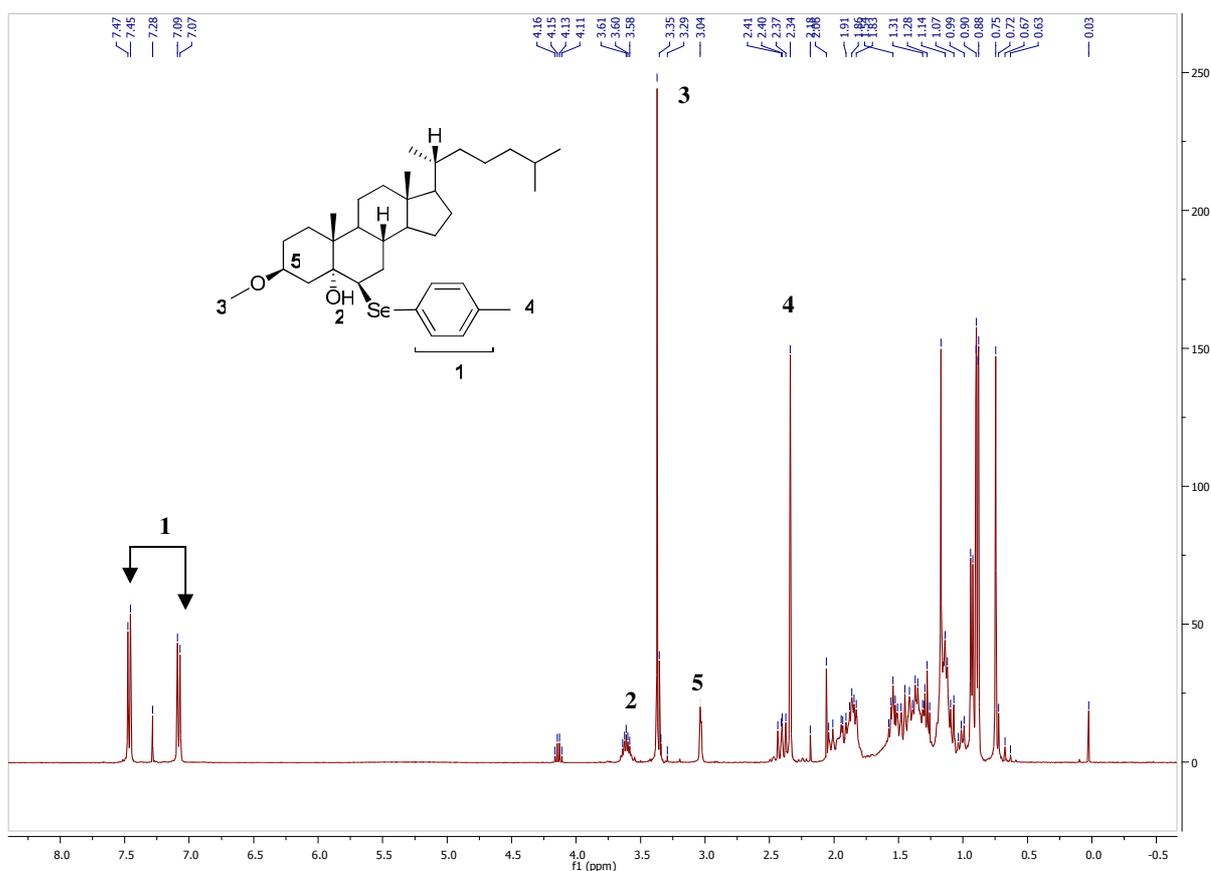


Figura 17: Espectros de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 do composto **4h**.

O ataque exclusivamente dos calcogenolatos em C₆ do epóxido pode ser evidenciado ao analisarmos os RMN ¹³C dos respectivos calcogenoesteróides. Ao empregarmos técnicas teóricas para prever um possível espectro RMN ¹³C, confirmamos a regioquímica da abertura no epóxido. Um exemplo representativo, é o composto **4h** (Tabela 2) o grupo hidroxila ligado ao carbono C₅ mostra um sinal relativo em 76.08 ppm, referente ao álcool terciário. O ataque nucleofílico do respectivo selenolato em C₅ nos daria um álcool secundário no C₆, com um deslocamento químico de 63,86 ppm, como podemos ver na figura 18.

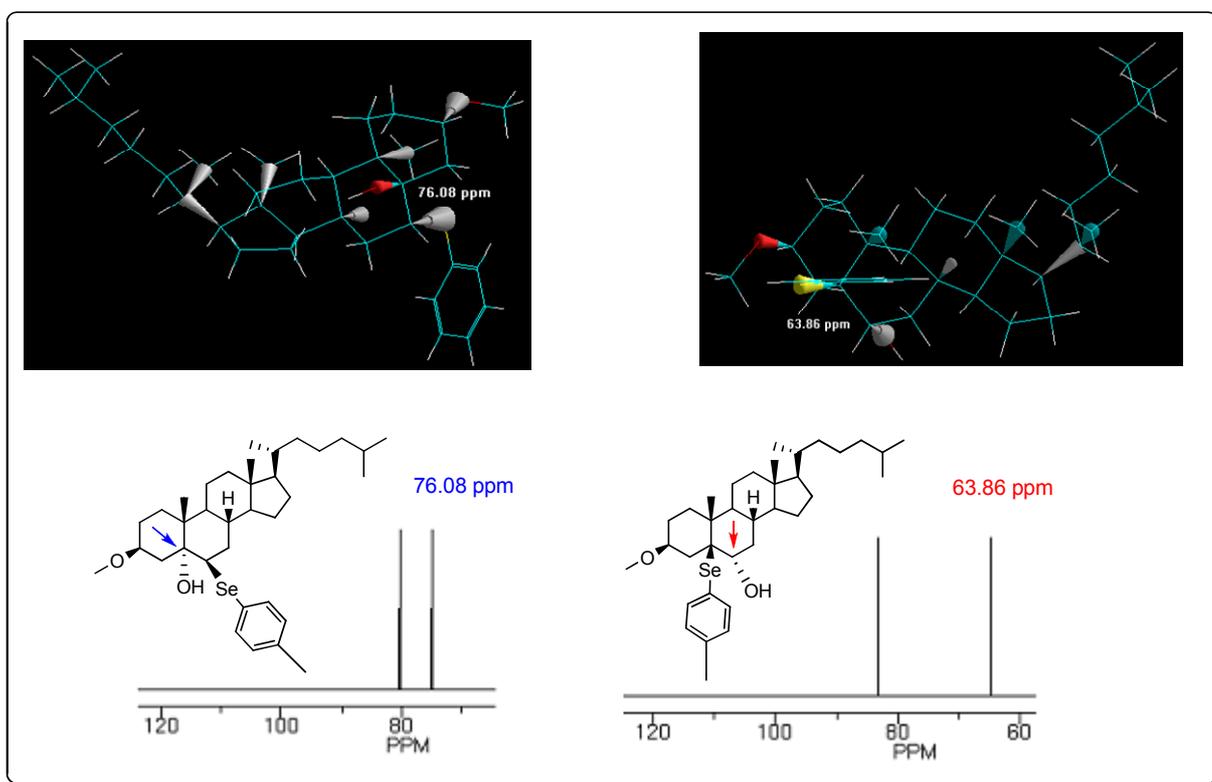


Figura 18: Estudo teórico RMN ¹³C do selenoesteróide **4h**.

Comparando nosso estudo teórico com os resultados experimentais, foi possível observar que os cálculos foram bastante precisos e o sinal presente no espectro de RMN ¹³C do composto **4h** mostra um sinal igual em 76,73 ppm (Figura 19), confirmando a regioseletividade da abertura do epóxido no C₆.

No espectro de RMN ^{13}C , (Figura 19), podemos observar, em 21,14 ppm, sinal referente ao carbono ligado a posição *para* do anel aromático **C-2**. Os sinais referentes aos carbonos aromáticos encontram-se em 137,46, 134,54, 129,85, 129,04 ppm (**C-1**). Em 55,78 ppm, podemos observar o sinal referente ao carbono da metoxila ligada a posição C3 do anel esteroidal (**C-4**). Em 76,73 ppm, temos o sinal relativo ao carbono ligado a grupo álcool (-OH) ligado a posição C5 do anel esteroidal (**C-3**).

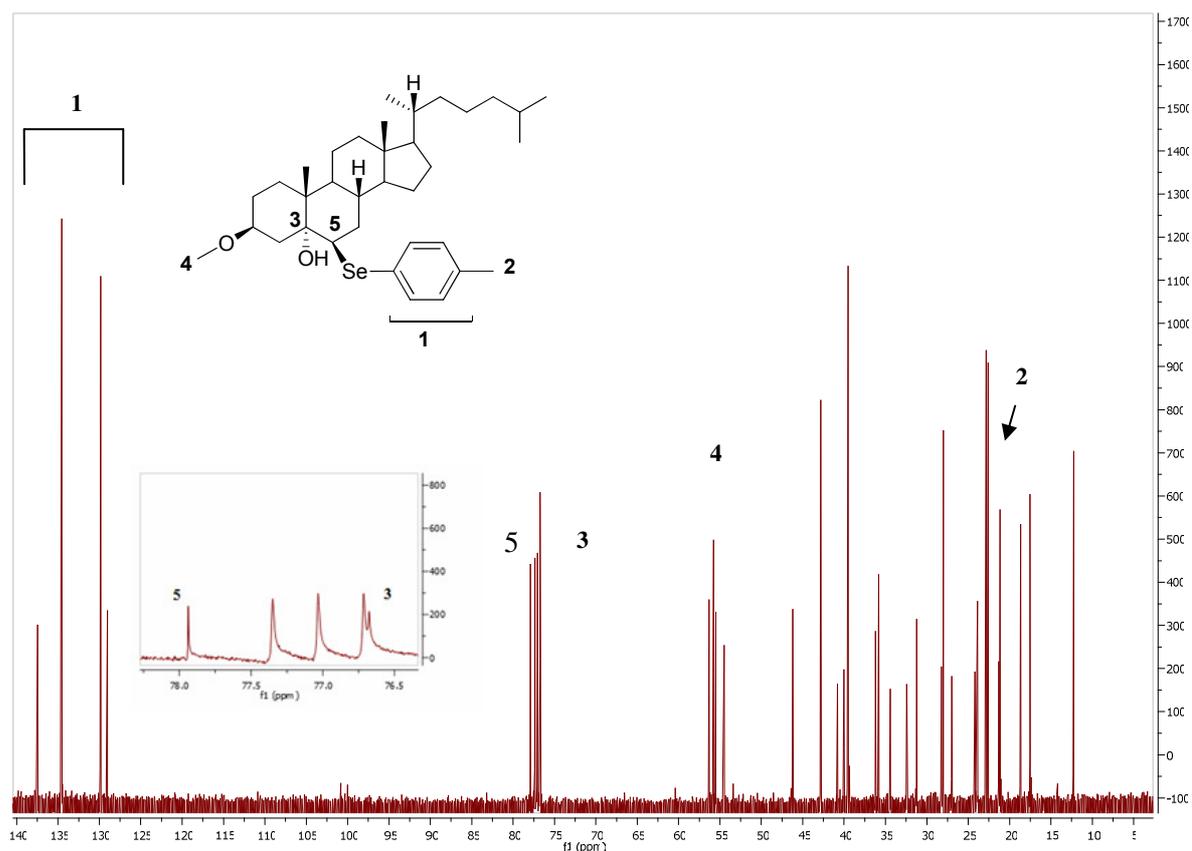


Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 do composto **4h**.

No espectro de RMN ^1H (Figura 20) do disseleneto **5**, podemos observar, na região de 3,64 ppm, um multipletto com integral relativa a 2H, referente aos hidrogênios do carbono C3 do anel esteroidal, denominado **H-1**. Na região 3,38 ppm, temos um singletto de com integral relativa a 6H, referente aos hidrogênios da metoxila ligada ao carbono C3 do anel esteroidal (**H-2**). A região de 3,25, apresenta um novo singletto, com integral relativa a 2H, que pode ser atribuído aos hidrogênios da hidroxila ligada a posição C5 do anel esteroidal (**H-3**).

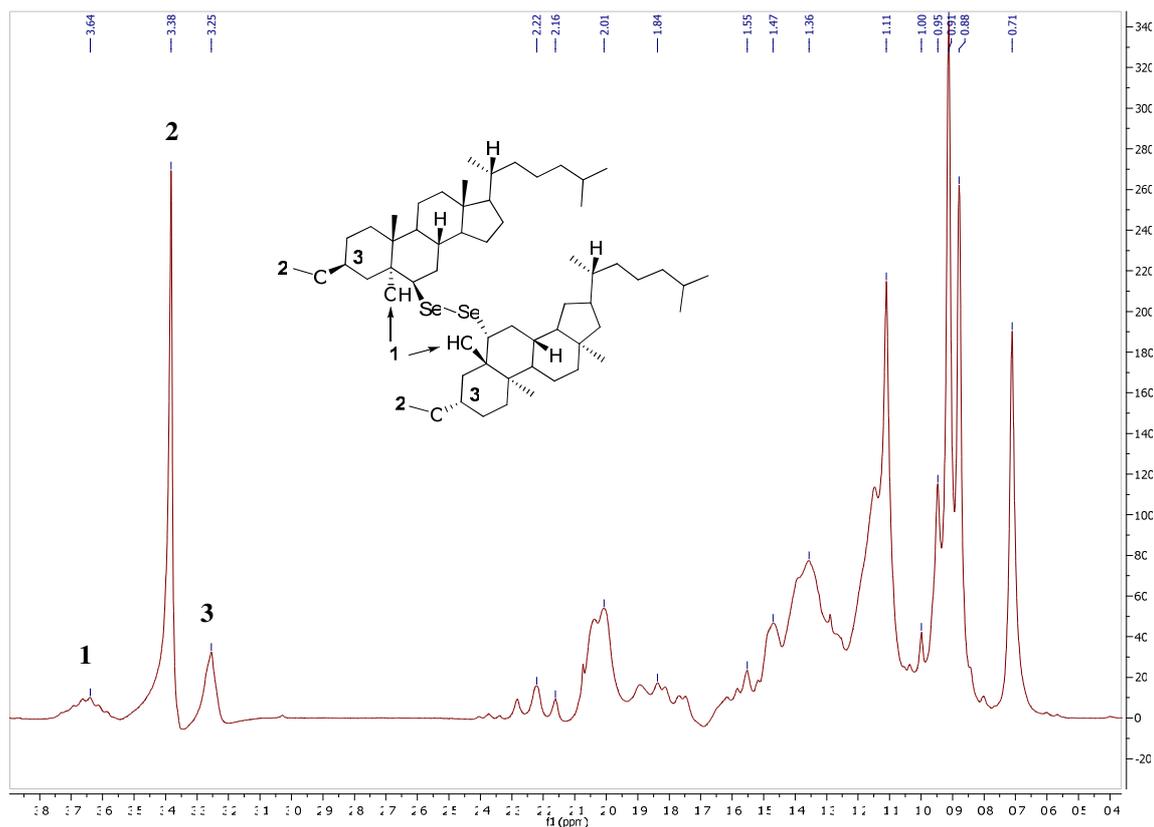


Figura 20: Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 do composto **5**.

No espectro de RMN ^{13}C (Figura 21) do disseleneto **5** podemos observar em 77,82 ppm, um sinal referente ao carbono 3 (C-1) do anel estereoidal. O sinal referente ao carbono ligado a hidroxila (-OH) encontra-se em 76,80 ppm (C-2). Em 58,39 ppm, podemos observar o sinal referente aos carbonos a metoxila ligada ao carbono 3 do anel estereoidal C-3. Em 56,73 e 56,12 ppm, aparecem os sinais referentes aos carbonos ligados a posição 14 e 17 do anel estereoidal (C-4).

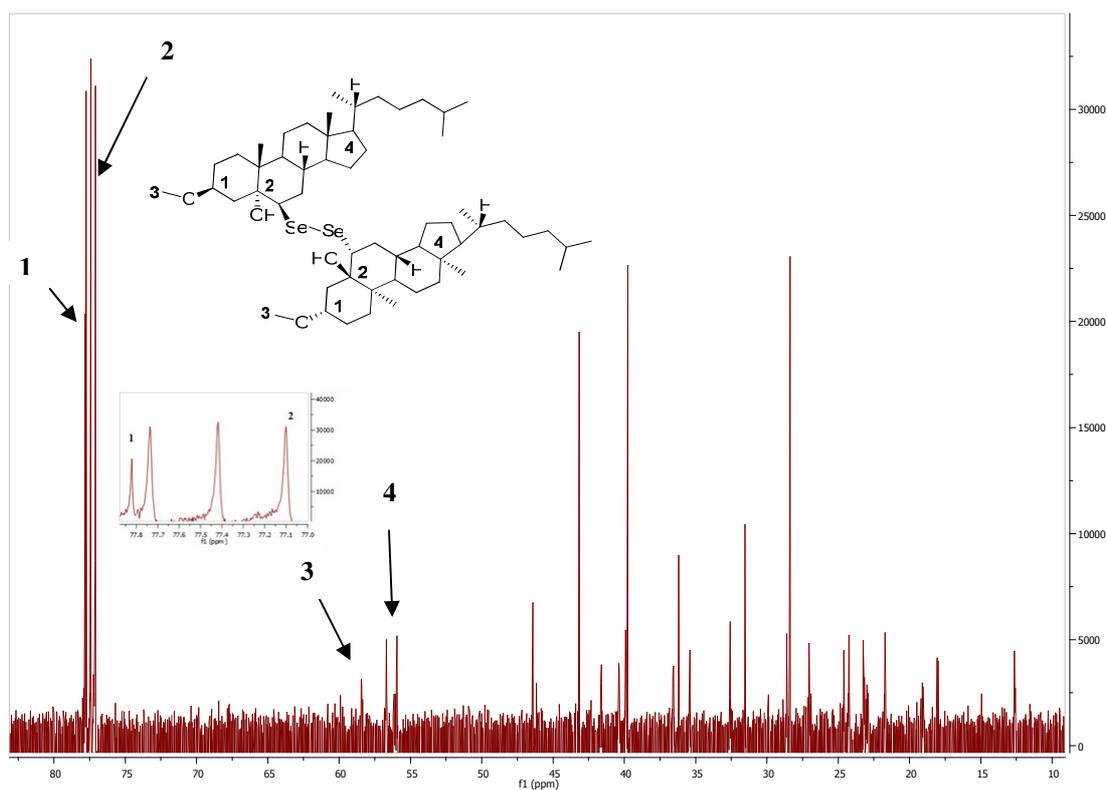


Figura 21: Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 do composto **5**.

CAPÍTULO 5

Conclusão

5. CONCLUSÃO

Considerando-se os objetivos propostos para o presente trabalho e analisando-se os resultados obtidos, é possível fazer algumas conclusões pertinentes frente ao estudo realizado.

Foi desenvolvida uma nova e eficiente metodologia para a preparação de calcogenoesteróides, partindo-se de um material de partida de fácil obtenção, baixo custo e com centros quirais definidos. A estratégia apresentou um controle com relação à regioquímica, levando a formação exclusiva dos produtos de abertura do anel na posição menos substituída do epóxido. Com relação à estereoquímica, o produto apresentou uma alta estereosseletividade, pois a abertura ocorreu de forma anti ao epóxido de maneira estereosseletiva, levando a formação dos produtos *trans*.

A metodologia se mostrou versátil, pois foi possível a preparação de diferentes calcogenoesteróides (selênio, telúrio e tioesteróides), além do emprego de diferentes tipos de substituintes presentes nos nucleófilos empregados: grupos ativantes, desativantes e alquílicos foram empregados.

Os produtos apresentam potencial biológico, pois contêm sistemas que possuem bioatividade: esteróides e calcogênios. Estudos para determinar a atividade destes compostos estão em andamento e, baseado em resultados iniciais, podemos observar que o disseleneto de dicolesterol **5** apresentou uma atividade pró-oxidante.

Espectros Seleccionados

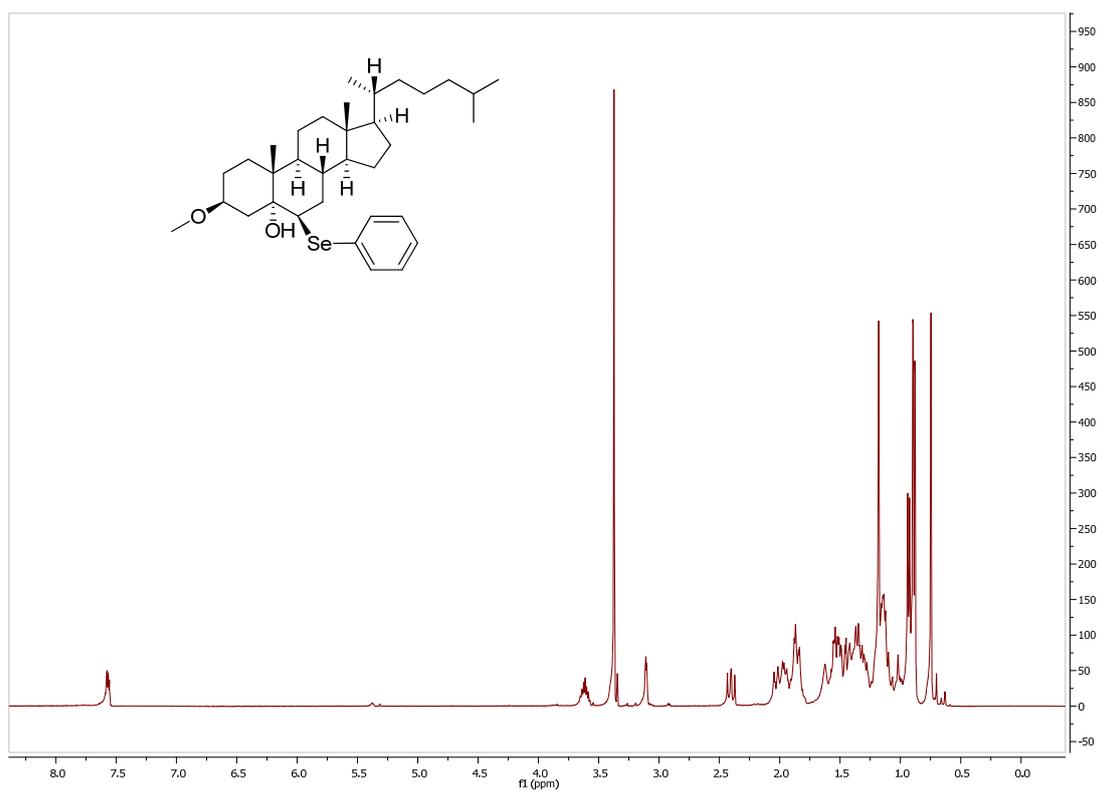


Figura 22: Espectro de RMN ^1H do composto 4a em CDCl_3 a 400 MHz

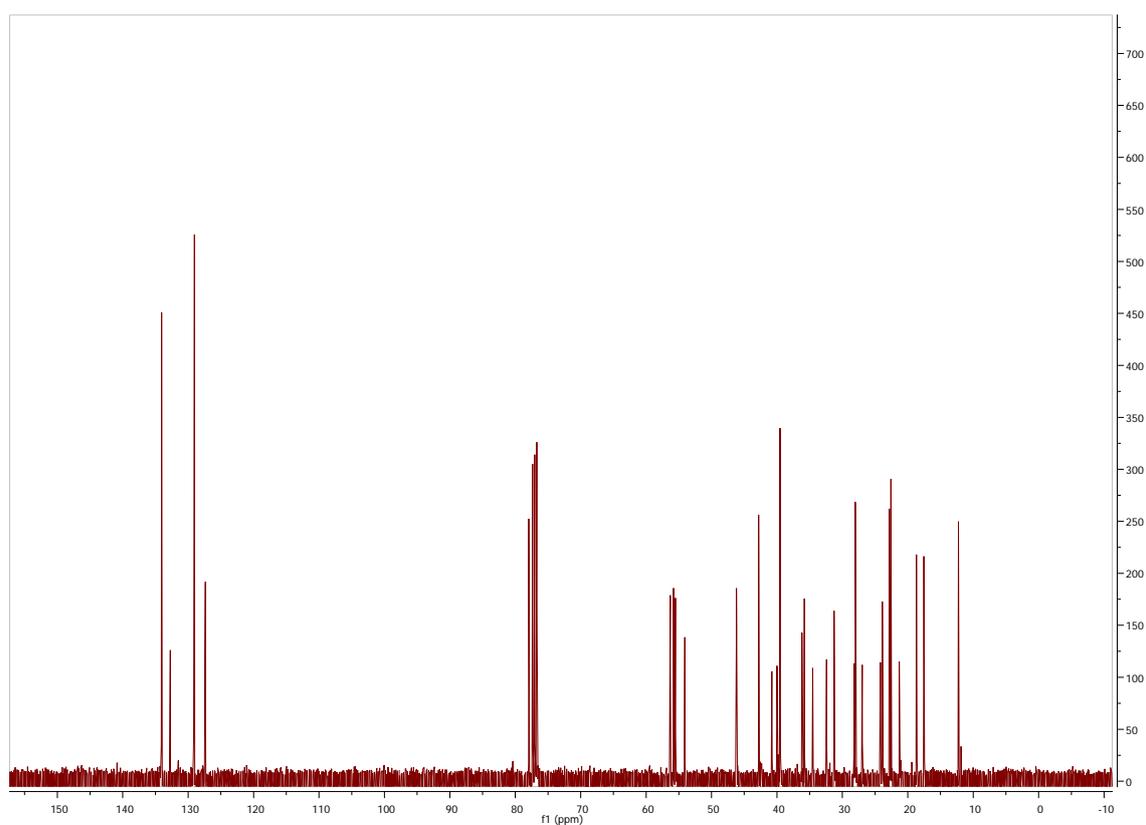


Figura 23: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4a em CDCl_3 a 100 MHz

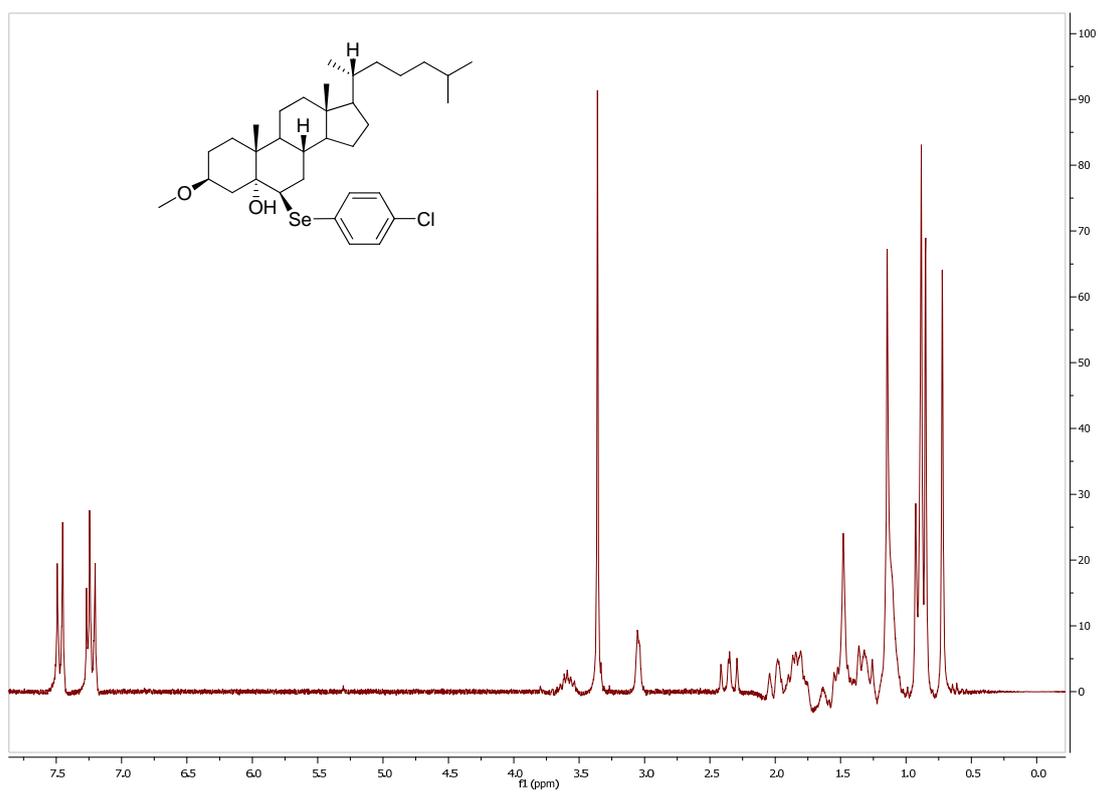


Figura 24: Espectro de RMN ^1H do composto 4b em CDCl_3 a 400 MHz

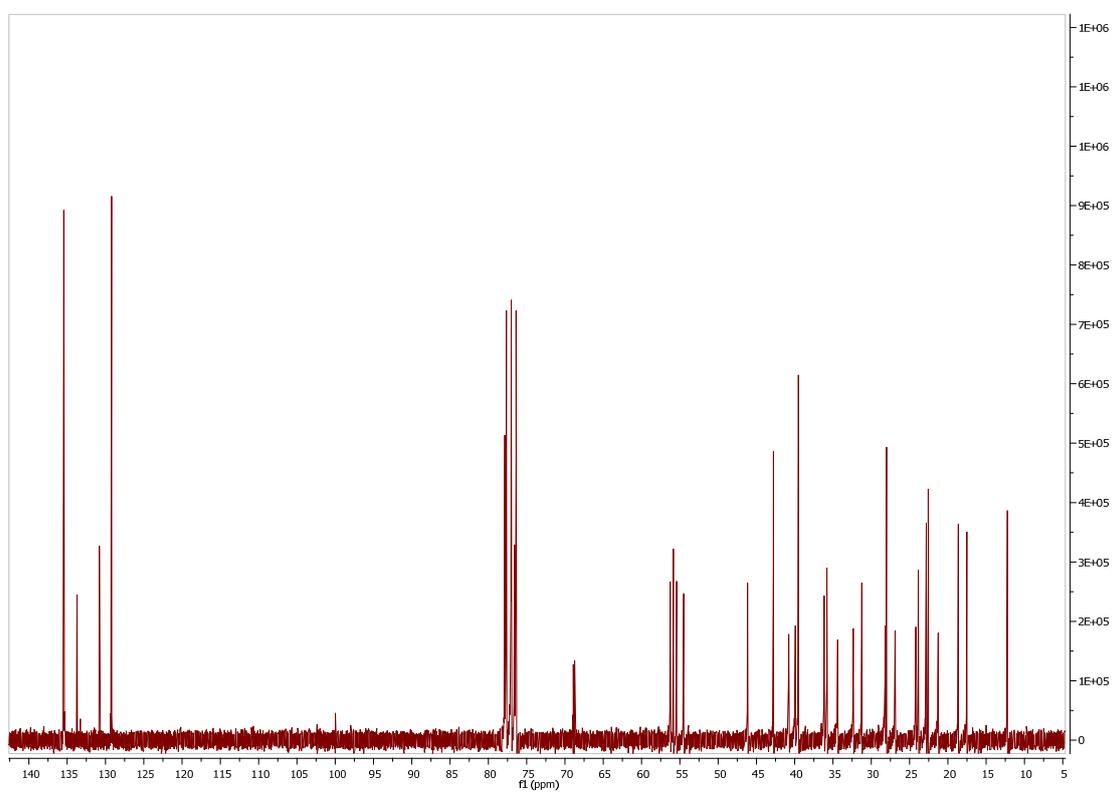


Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4b em CDCl_3 a 100 MHz

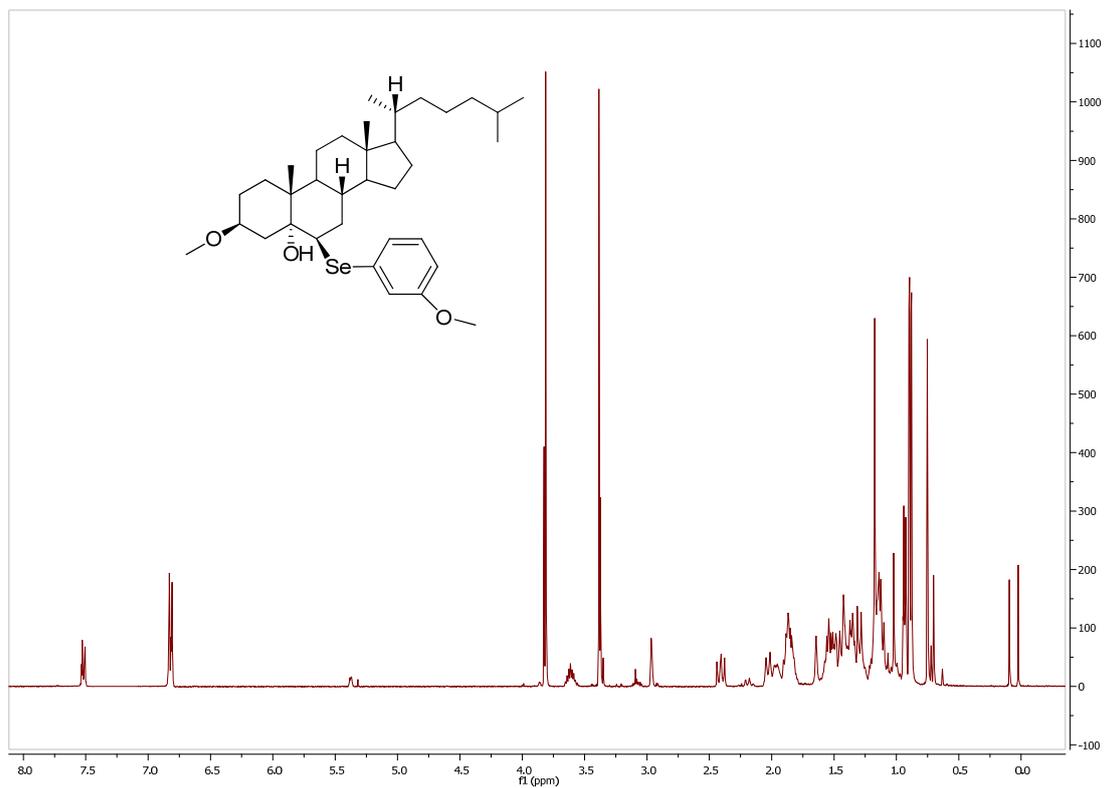


Figura 26: Espectro de RMN ^1H do composto 4c em CDCl_3 a 400 MHz

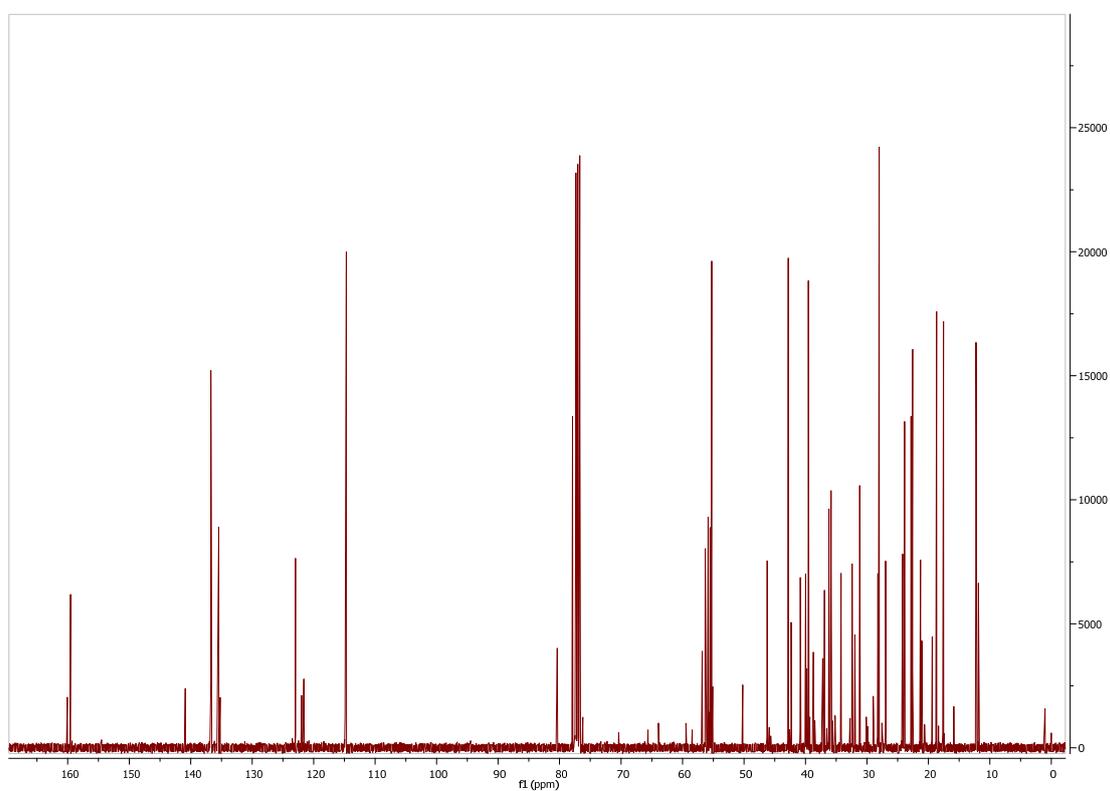


Figura 27: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4c em CDCl_3 a 100 MHz

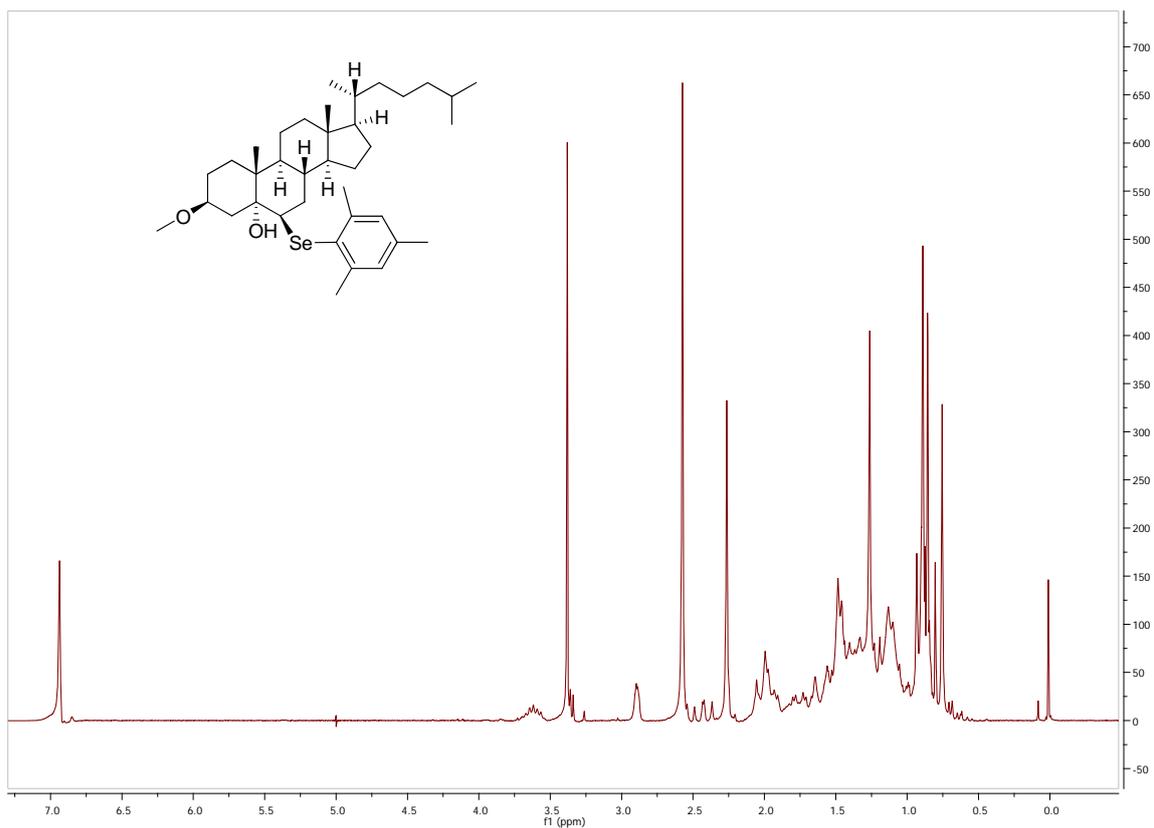


Figura 28: Espectro de RMN ^1H do composto 4d em CDCl_3 a 400 MHz

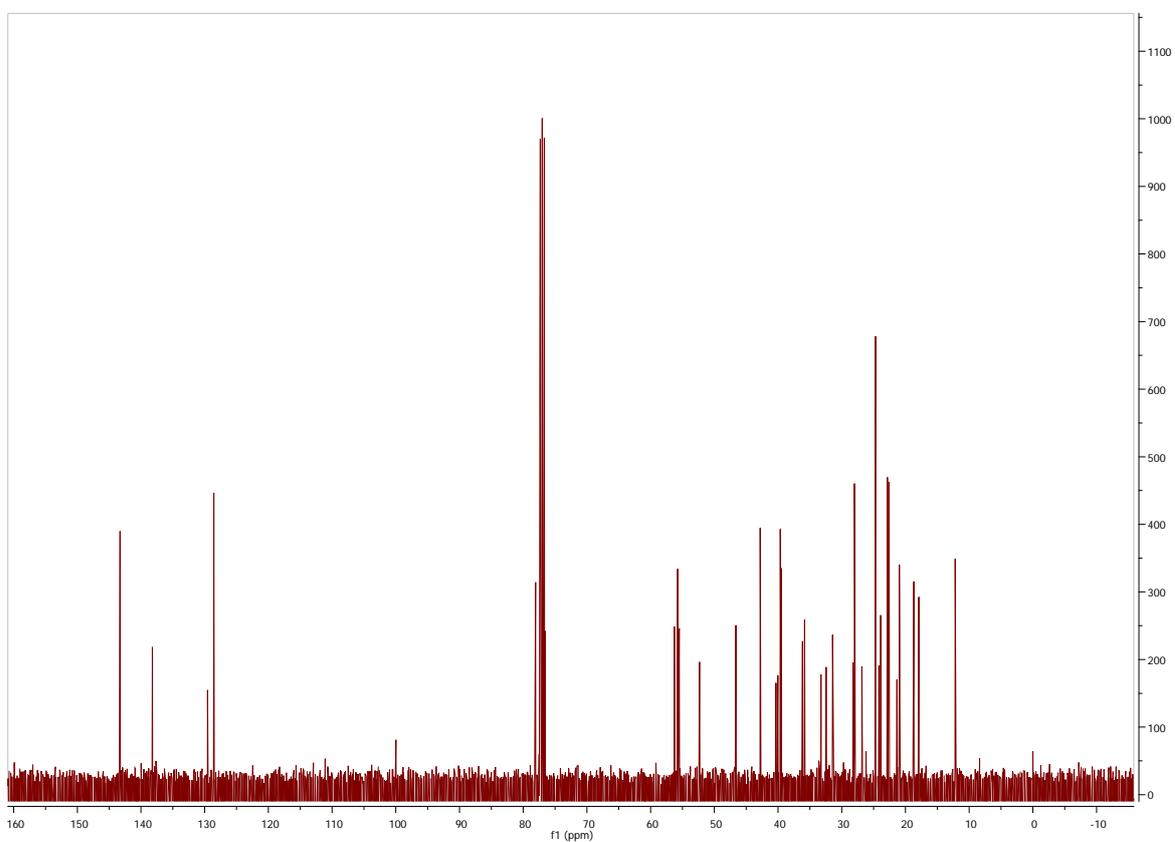


Figura 29: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4d em CDCl_3 a 100 MHz

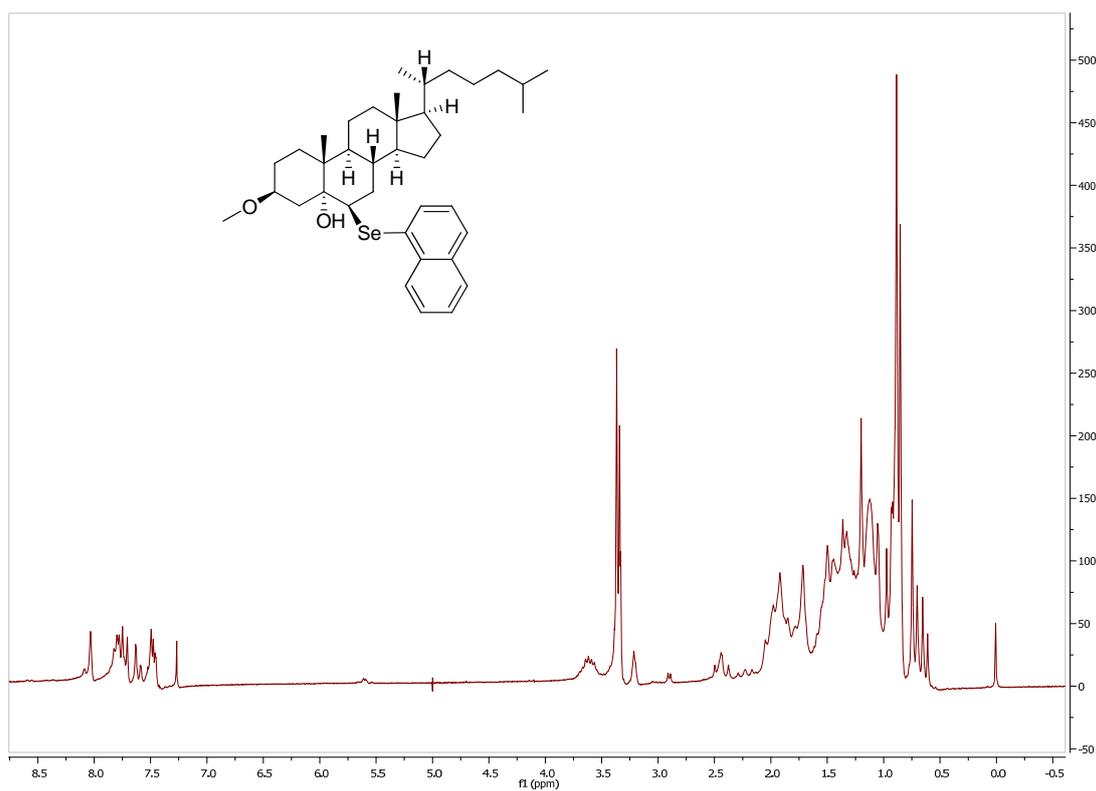


Figura 30: Espectro de RMN ^1H do composto 4e em CDCl_3 a 400 MHz

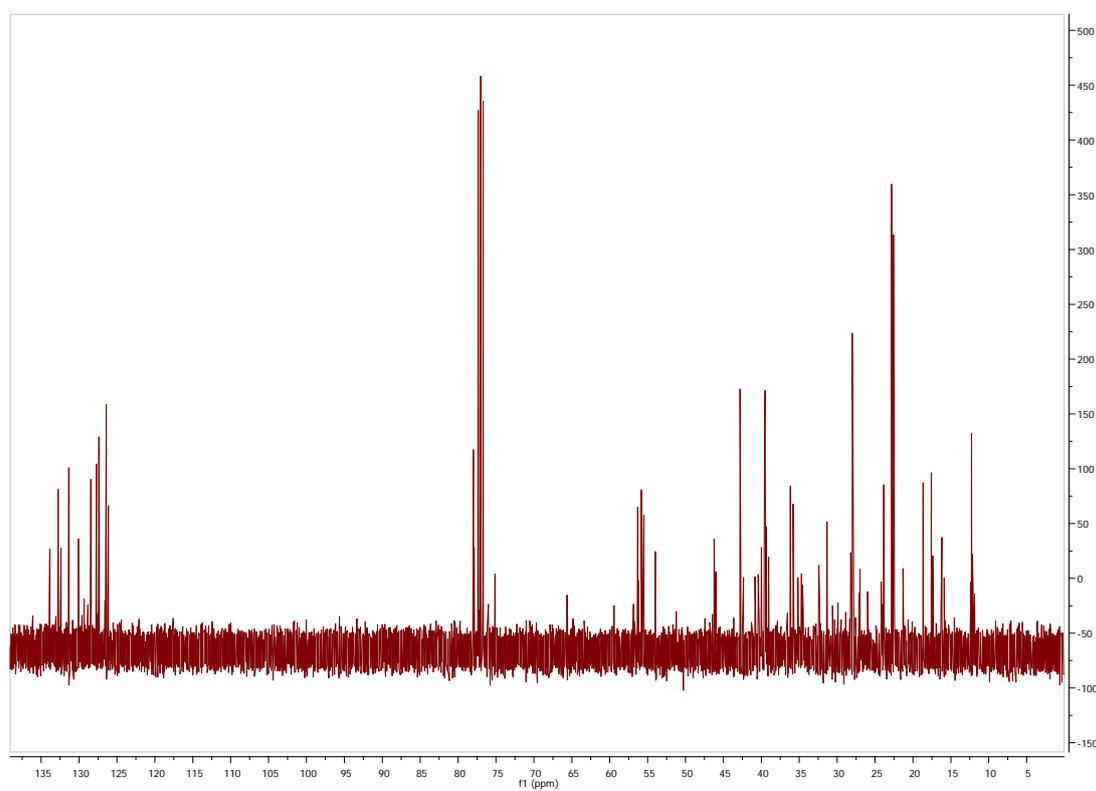


Figura 31: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4e em CDCl_3 a 100 MHz

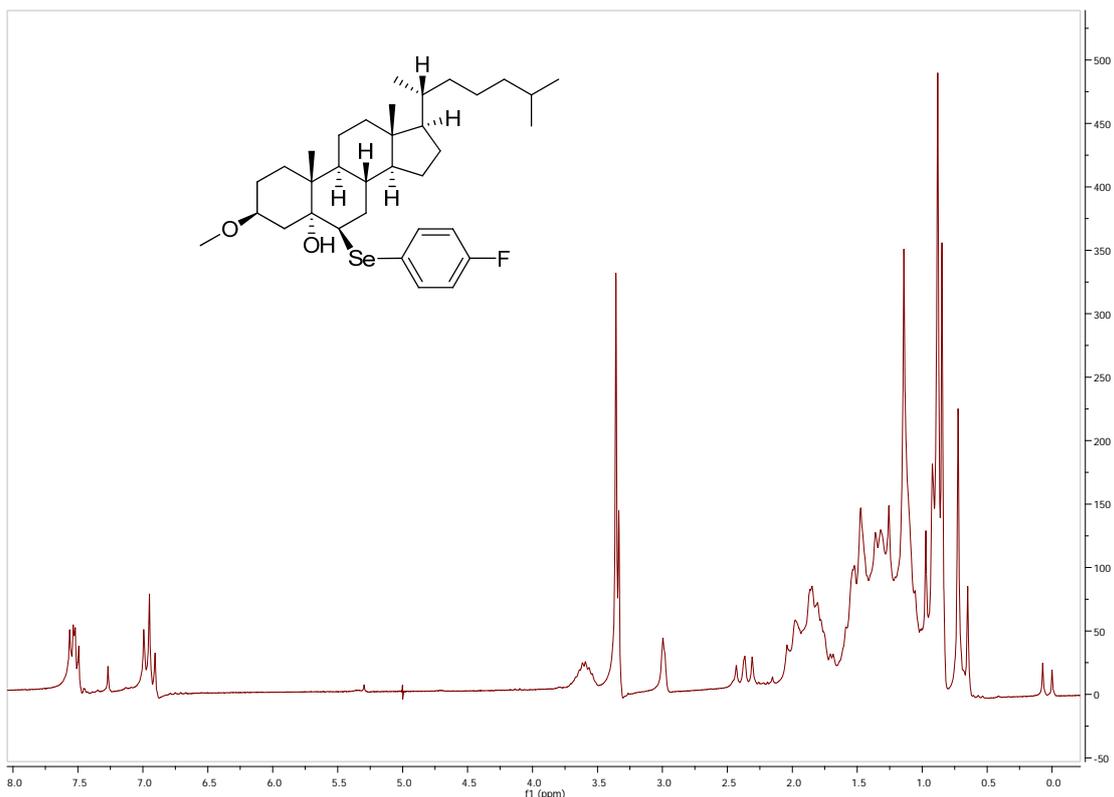


Figura 32: Espectro de RMN ^1H do composto 4f em CDCl_3 a 400 MHz

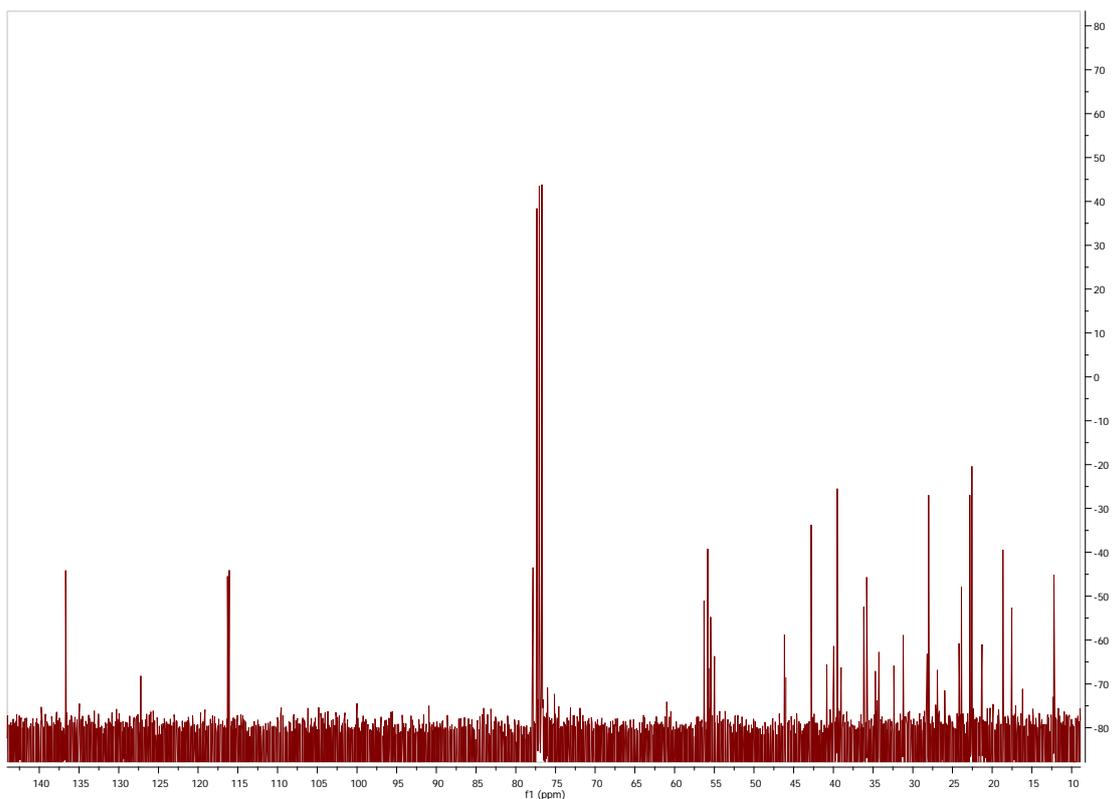


Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4f em CDCl_3 a 100 MHz

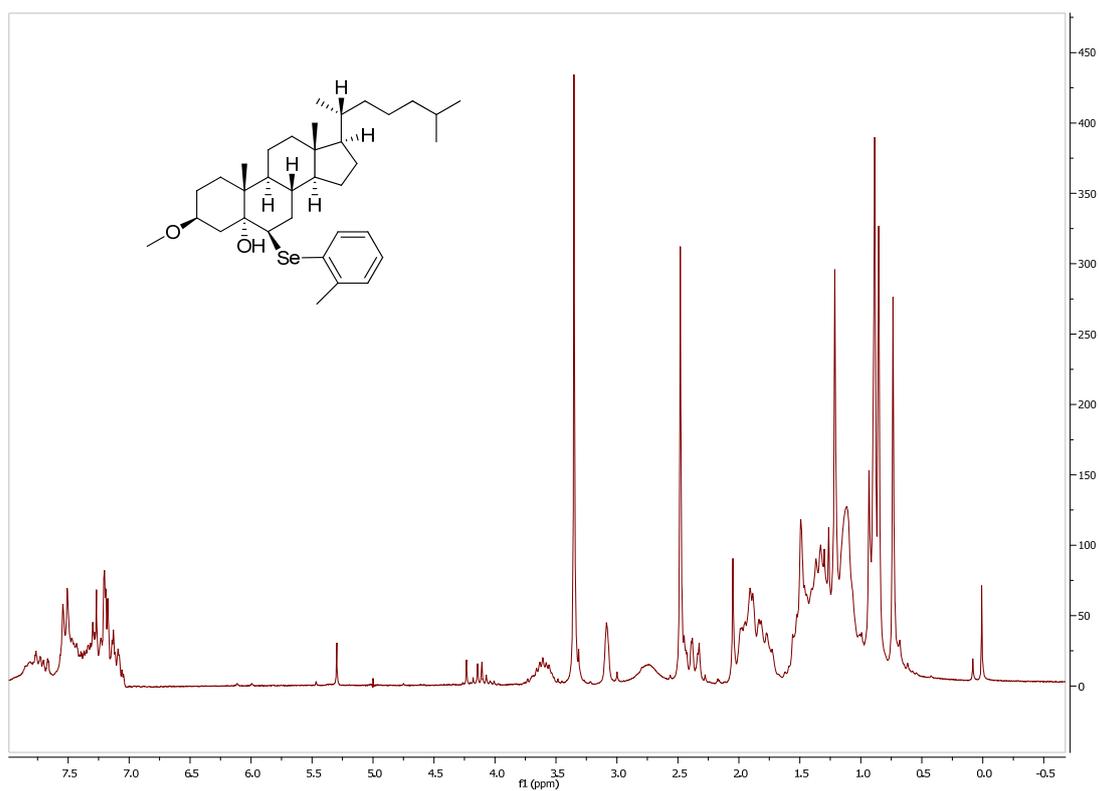


Figura 34: Espectro de RMN ^1H do composto 4g em CDCl_3 a 400 MHz

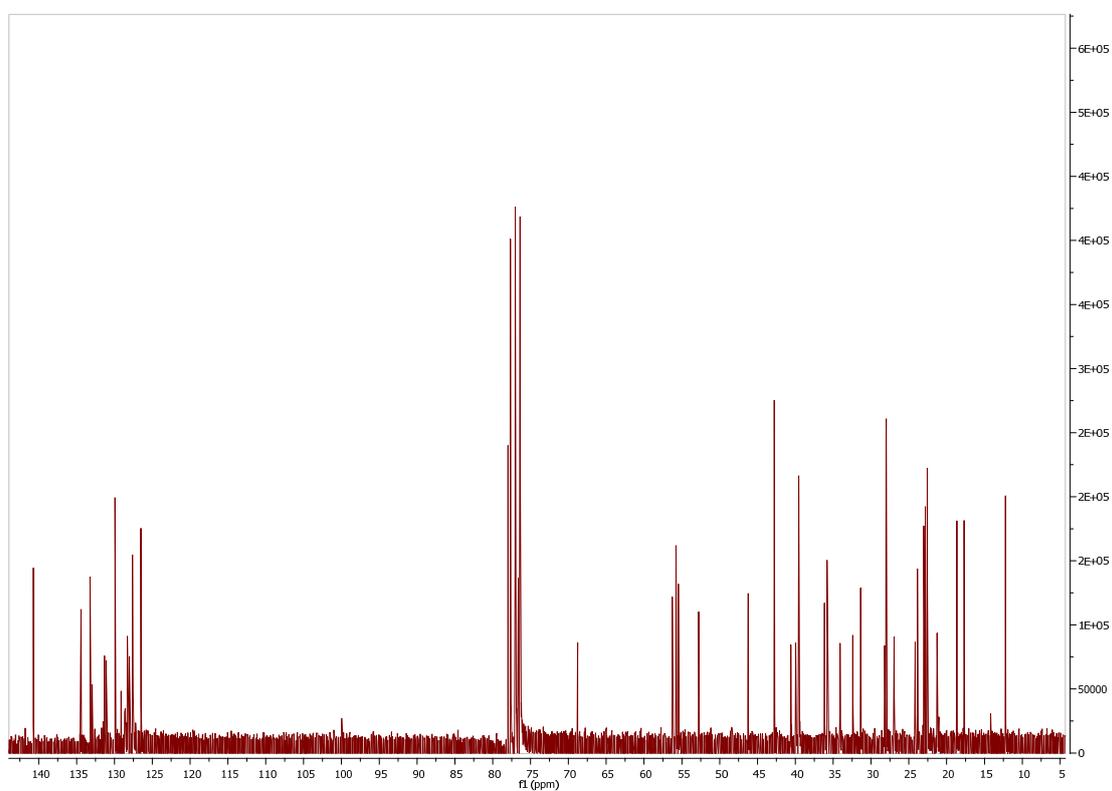


Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4g em CDCl_3 a 100 MHz

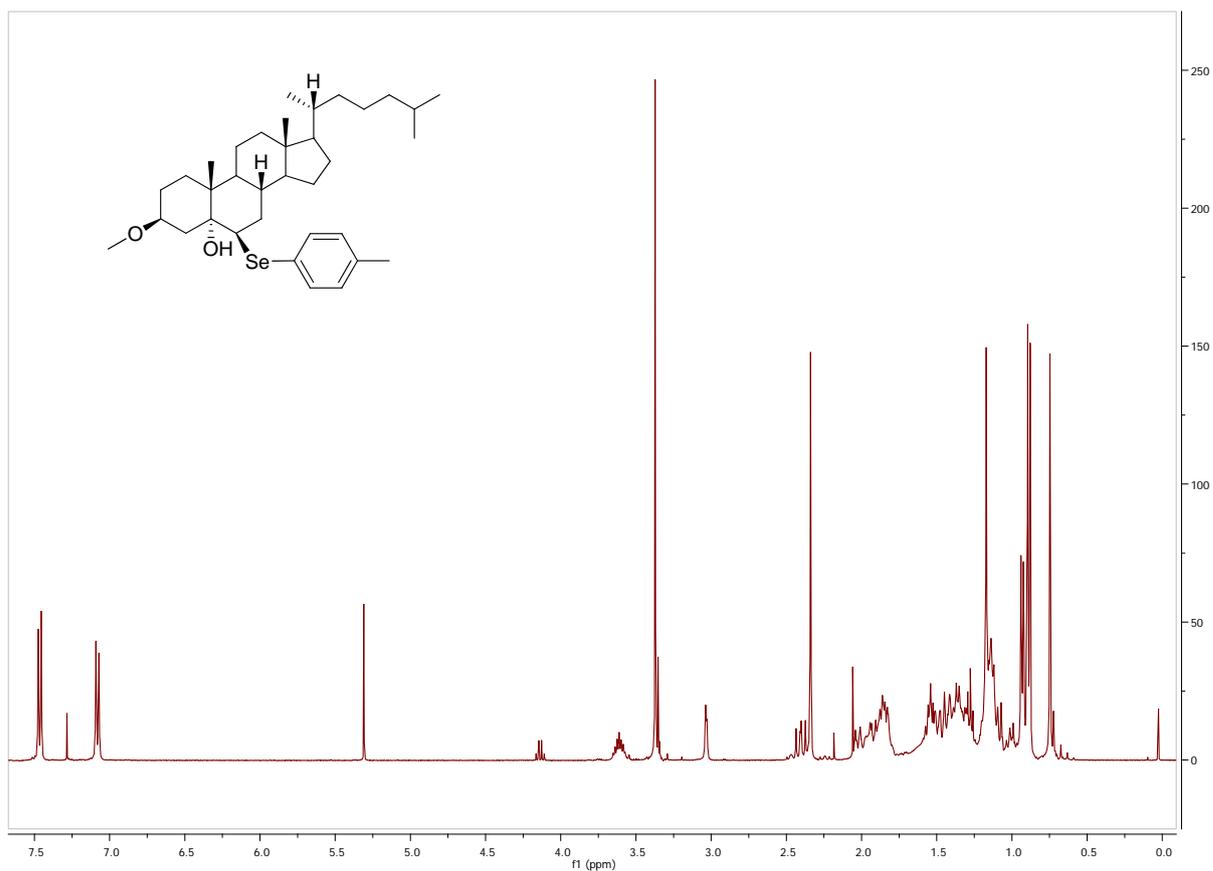


Figura 36: Espectro de RMN ^1H do composto 4h em CDCl_3 a 400 MHz

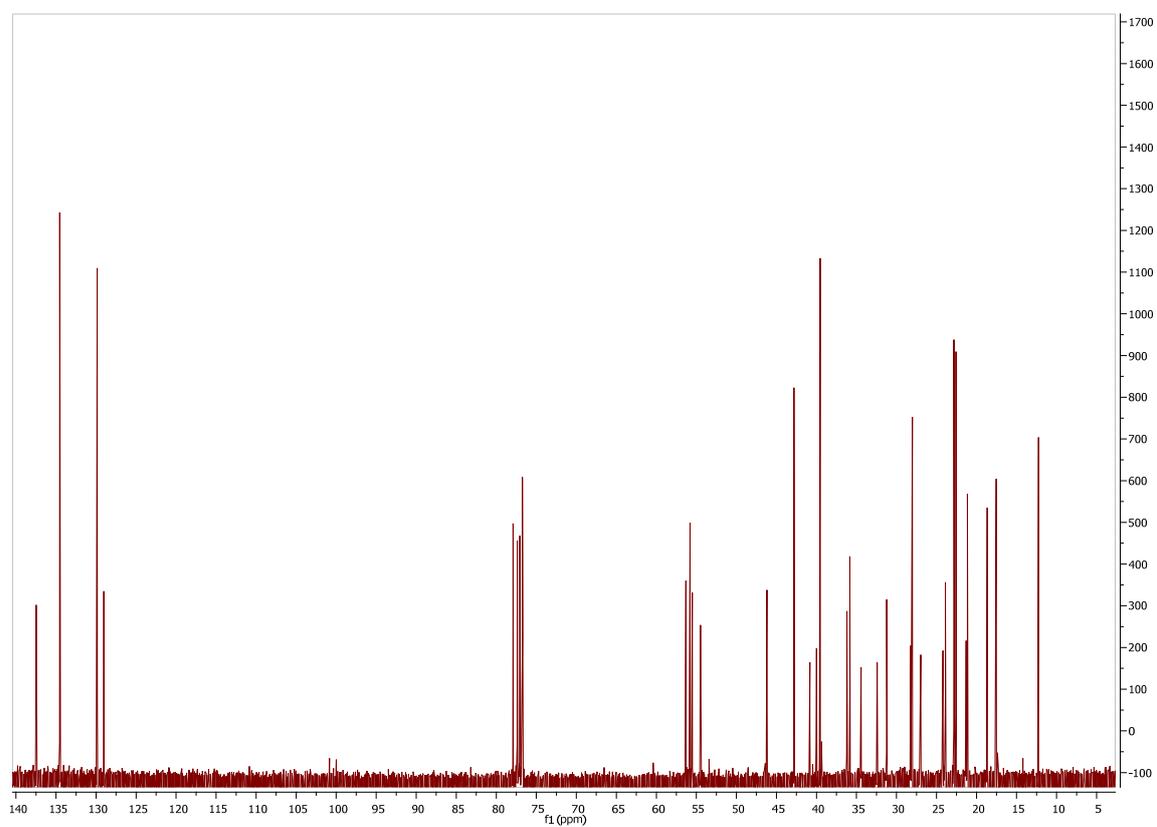


Figura 37: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4h em CDCl_3 a 100 MHz

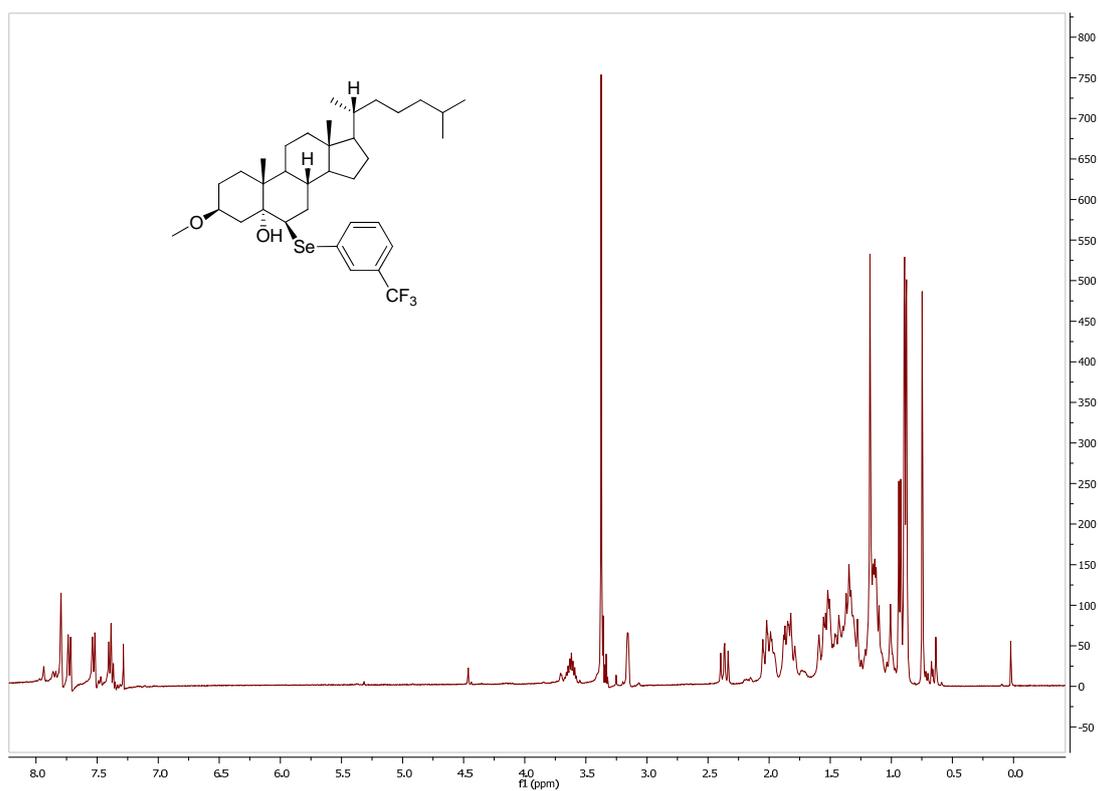


Figura 38: Espectro de RMN ^1H do composto 4i em CDCl_3 a 400 MHz

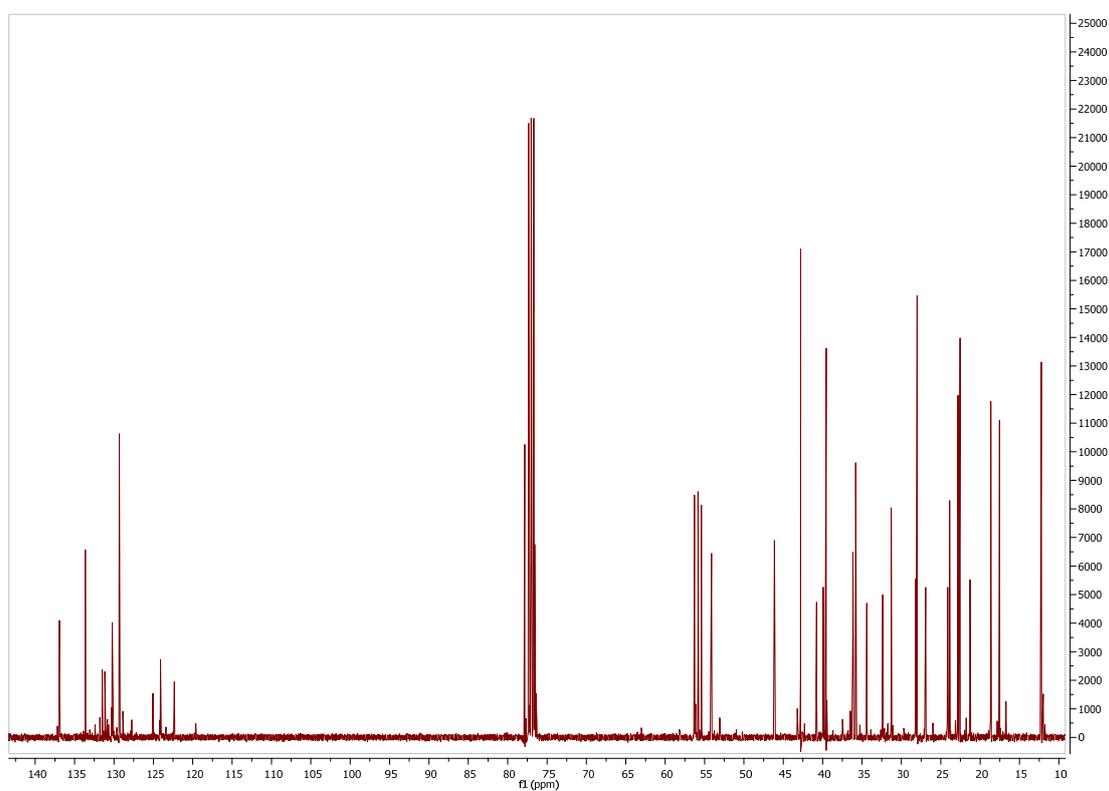


Figura 39: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4i em CDCl_3 a 100 MHz

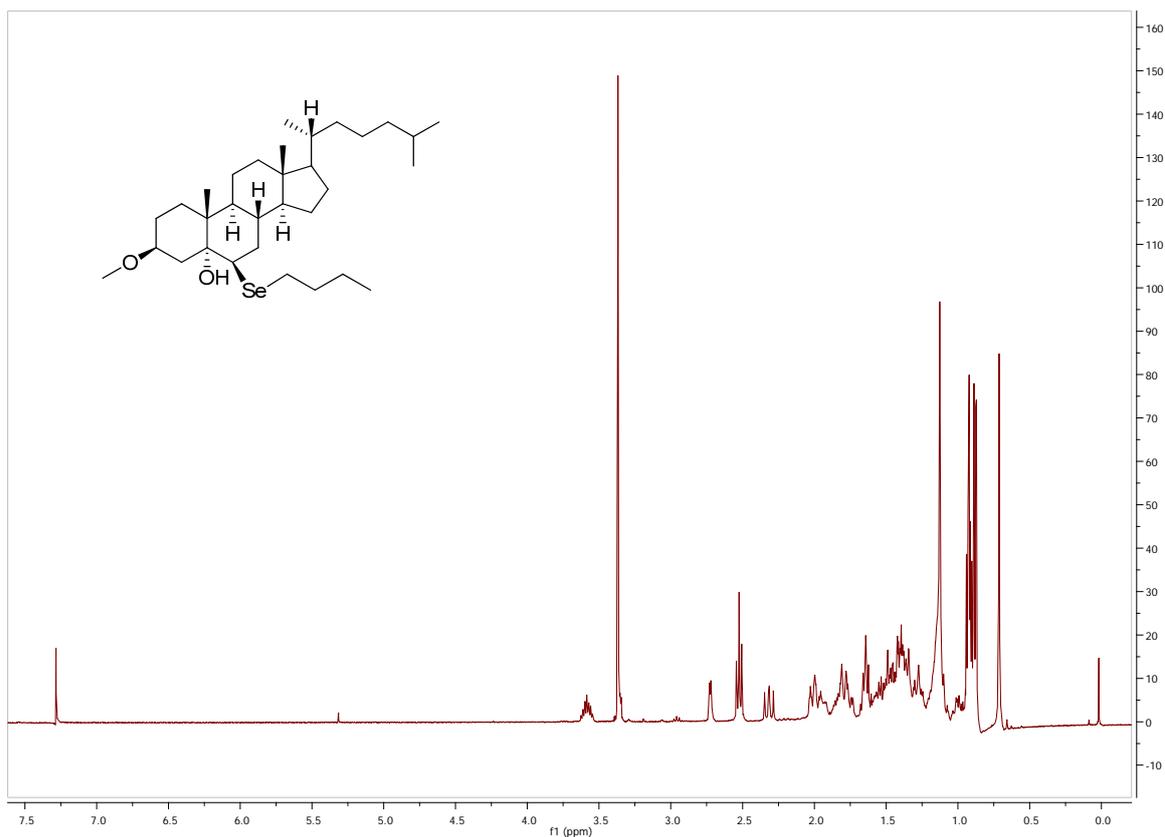


Figura 40: Espectro de RMN ^1H do composto 4j em CDCl_3 a 400 MHz

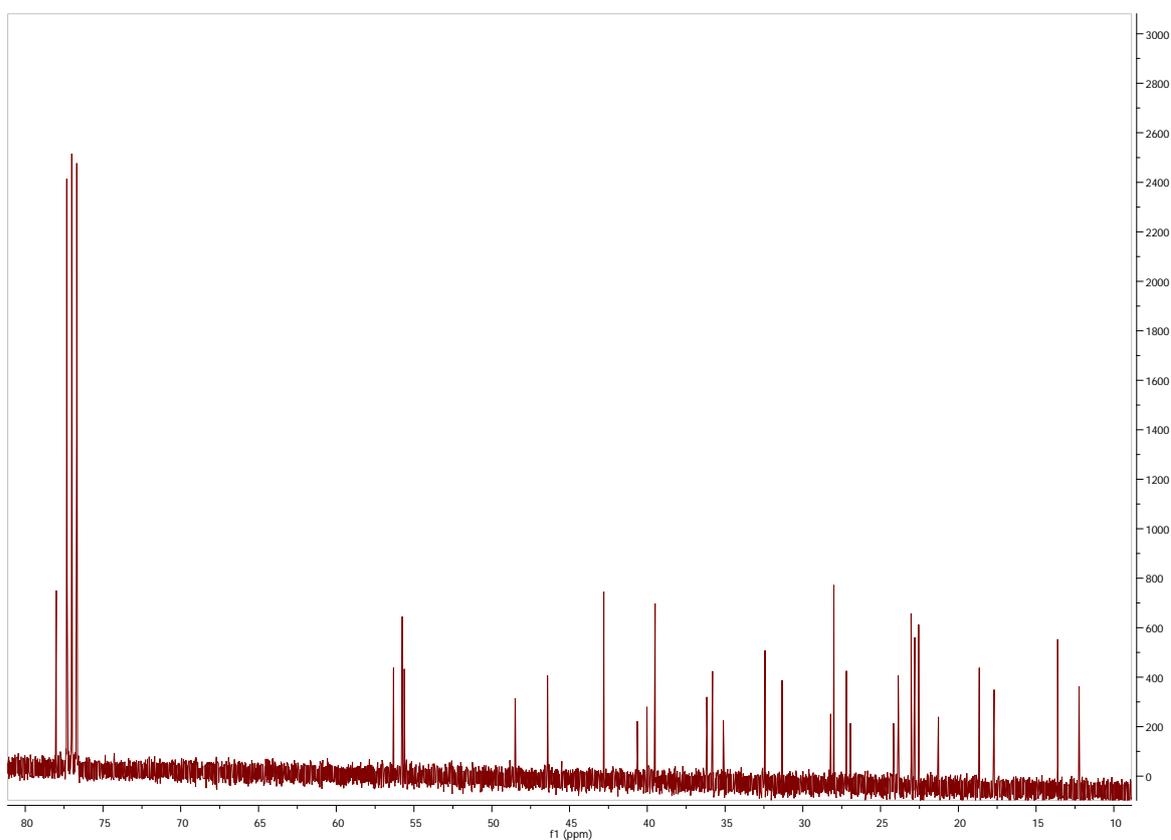


Figura 41: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4j em CDCl_3 a 100 MHz

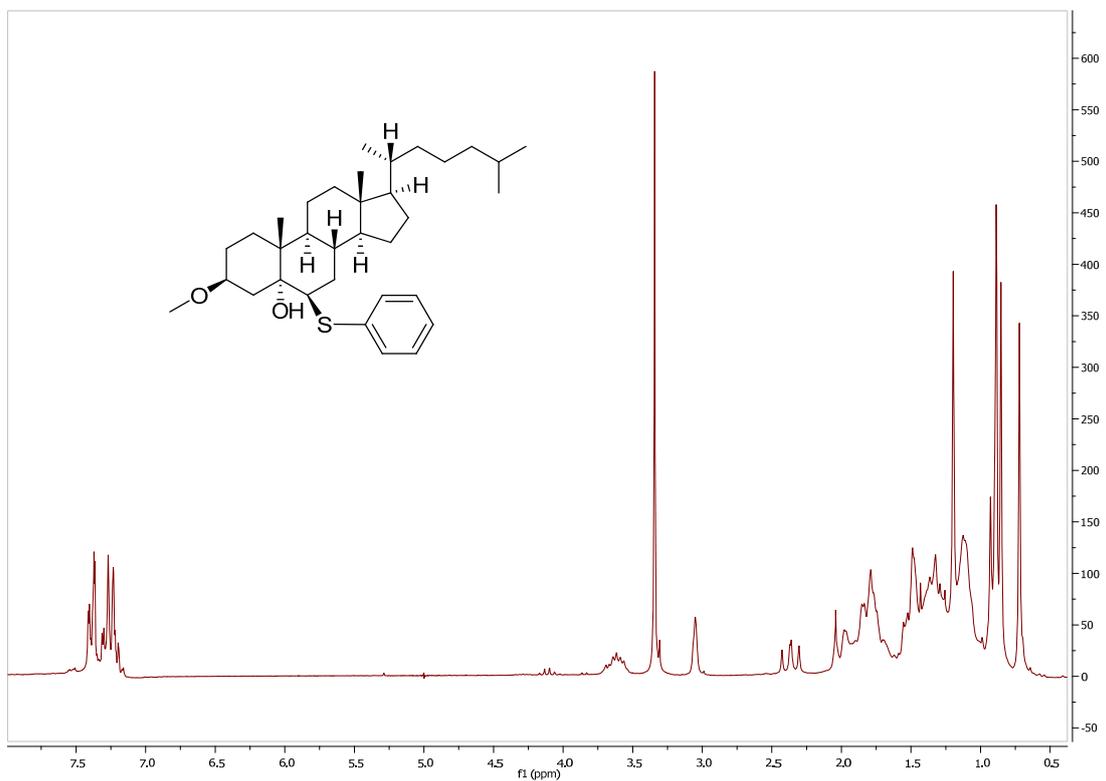


Figura 42: Espectro de RMN ^1H do composto 4k em CDCl_3 a 400 MHz

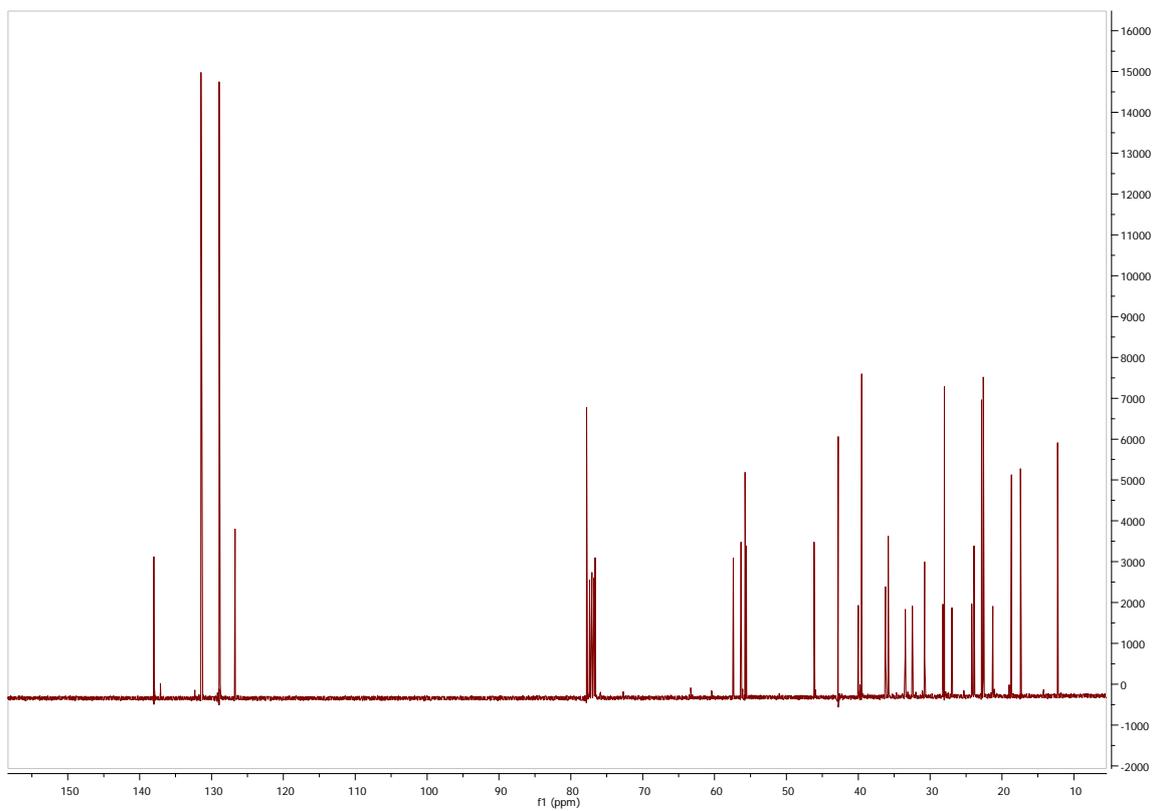


Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C do composto 4k em CDCl_3 a 100 MHz

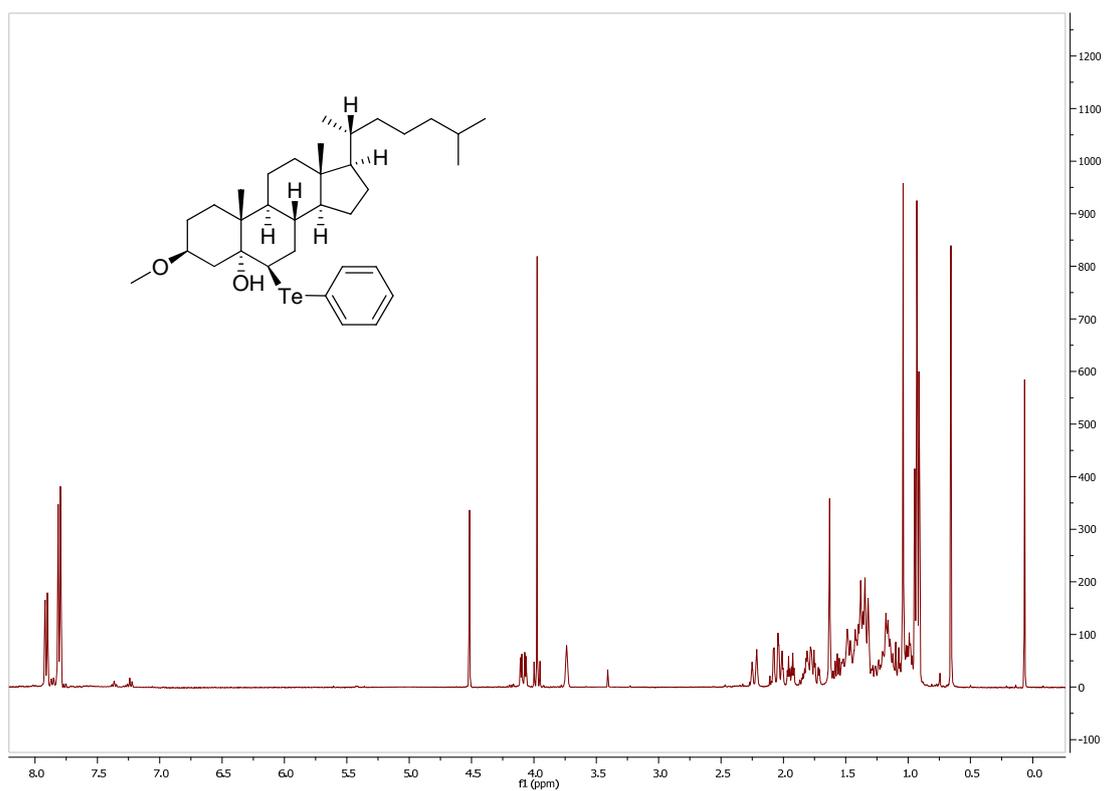


Figura 44: Espectro de RMN ^1H do composto 4l em CDCl_3 a 400 MHz

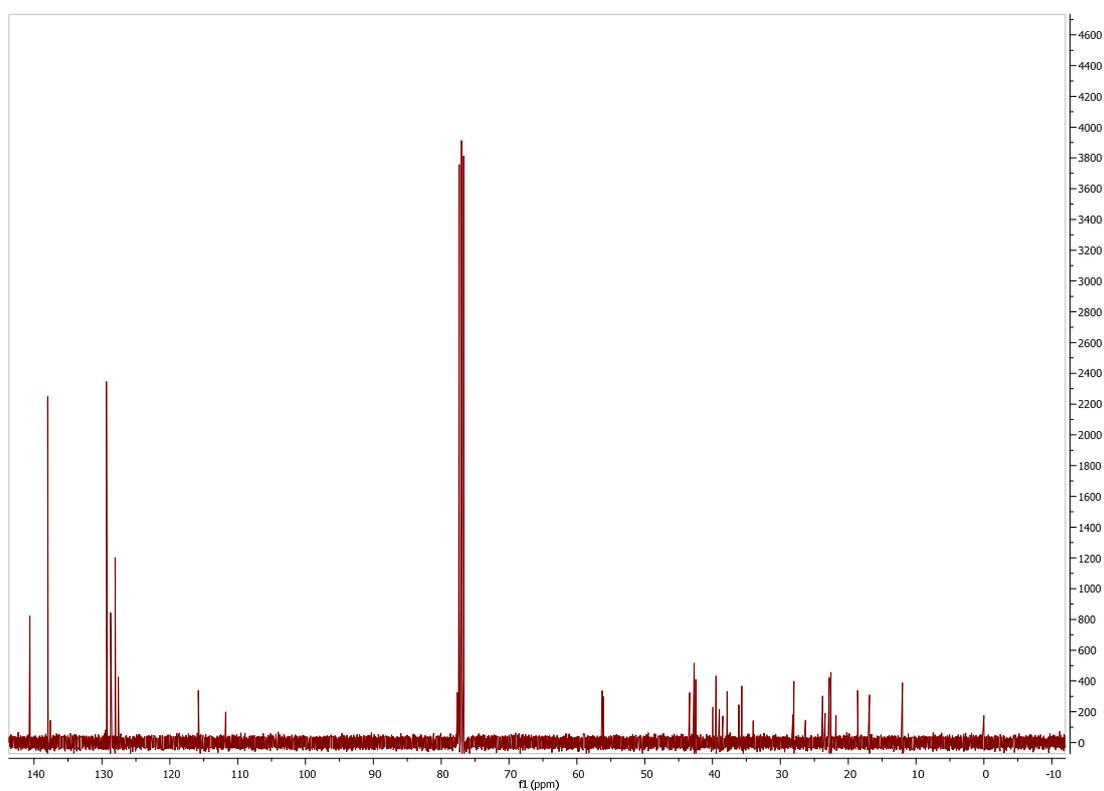


Figura 45 Espectro de RMN ^{13}C do composto 4l em CDCl_3 a 100 MHz

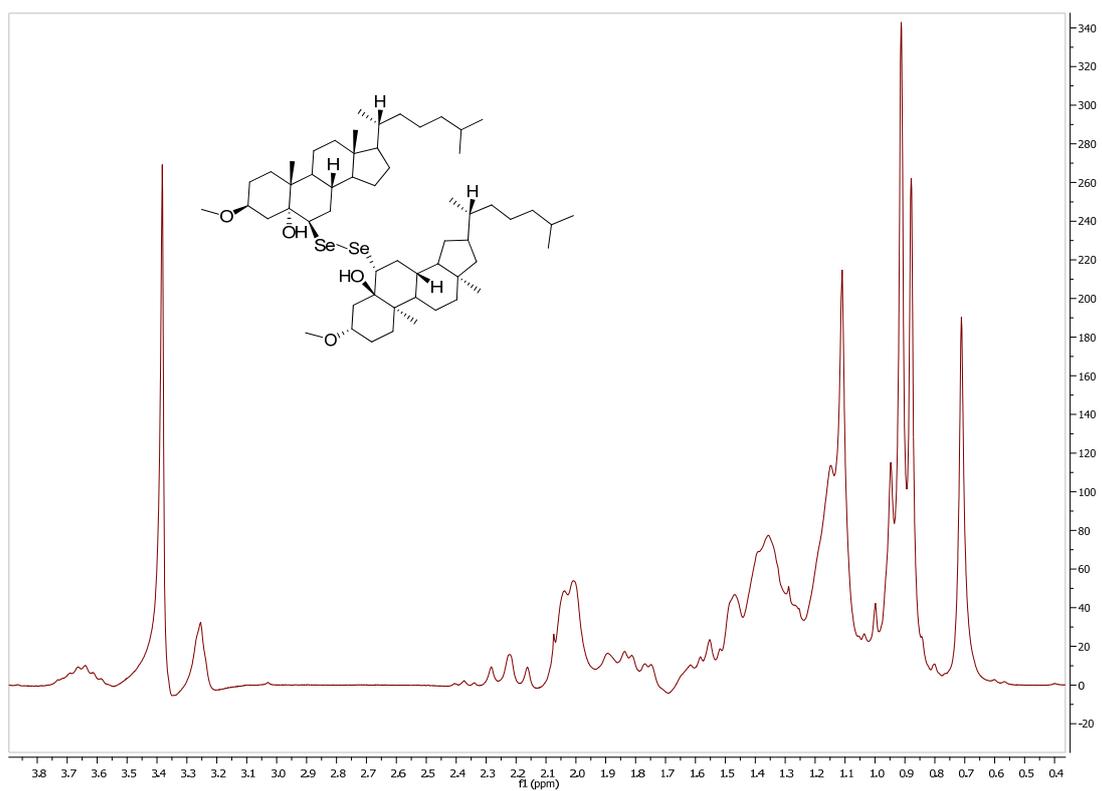


Figura 46: Espectro de RMN ^1H do composto 5 em CDCl_3 a 400 MHz

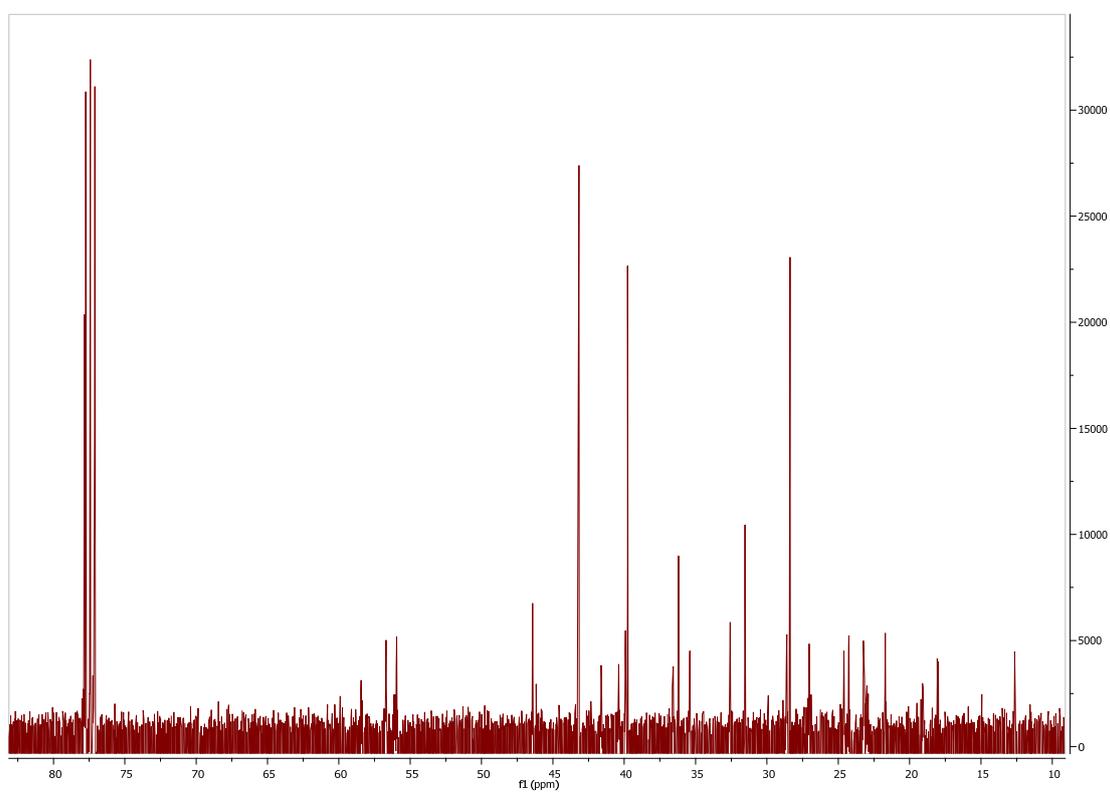


Figura 47: Espectro de RMN ^{13}C do composto 5 em CDCl_3 a 100 MHz

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRY B. SNIDER AND BO SHI. **Syntheses of (E)- and (Z)-Volkendousin.** *Tetrahedron* 55 (1999) 14823-14828

BAYER E, GIESECKE H, KRAUSS P, RÖDER A. **Transition metal complexes of thiol compounds;** 1974. In: FLOHÉ L, BENÖHR HC, SIES H, WALLER HD, WENDEL A, eds. *Glutathione*. Stuttgart: Georg Thieme, 2001 pp. 34–44.

BAZZINI, PATRICK; OUALI, MALIKA IBRAHIM PELLISSIER, MAURICE SANTELLI. **Efficient synthesis of C-11 functionalized steroids.** *Steroids* 71, 2006 459–468.

BRUNEL, JEAN MICHEL, BILLOTTET, LUDOVIC AND LETOURNEUX, YVES. **New efficient and totally stereoselective copper allylic benzoyloxylation of sterol derivatives.** *Tetrahedron: Asymmetry* 16; 2005; 3036–3041.

CHAUDIÈRE, J.; COURTIN, O.; Leclaire, J. *Arch. Biochem. Biophys.* **1992**, 296, 328.

D'AMATO RJ, LIN CM, FLYNN E, FOLKMAN J, HAMEL E. **2-Methoxyestradiol, an endogenous mammalian metabolite, inhibits tubulin polymerisation by interacting at the colchicine site.** *Proc Natl Acad Sci* 1994;91:3964–8.

DAUVOIS S, WHITE R, PARKER MG. **The antiestrogen ICI 182780 disrupts estrogen receptor nucleocytoplasmic shuttling.** *J Cell Sci* 1993;106:1377–88.

DAWSON, P. E.; MUIR, T. W.; CLARK-LEWIS, S. B.; KENT, S. B. *Science* 1994, 266, 776-779.

FIORI, S.; PEGORARO, S.; RUDOLPH-BÖHNER, S.; CRAMER, J.; MORODER, L. *Biopolymers* 2000, 53, 550-654.

FLOHÉ, R., FLOHÉ, L., URSINI, F. **Handbook of Antioxidants: Selenium an antioxidant?** *Copyright; Taylor & Francis Group, LLC* 2002.

FLOYD, R.A. **Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia.** *FASEB J* 4: 2587-2597, 1990.

FÖLDES, RITA SKODA; KOLLÁR, LÁSZLÓ. **Transition-Metal-Catalyzed Reactions in Steroid Synthesis.** *Chem. Rev.* 2003, 103, 4095-4129

GIESELMAN, M. D.; ZHU, Y.; ZHOU, H.; GALONIC, D.; VAN DER DONK, W. A. *ChemBioChem* 2002, 3, 709-716.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview.** *Met Enzimol* 186: 1-5, 1990.

HONDAL, R. J.; NILSSON, B. D.; RAINES, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 5140-5141.

JORDAN VC. **Antiestrogens and selective estrogen receptor modulators as multifunctional medicines.** Receptor interactions. *J Med Chem* 2003;46:883–907.

JOURD'HEUIL, D.; MILLS, L.; MILES, A.M.; GRISHAM, M.B. **Effect of nitric oxide on hematoxylin-catalyzed oxidative reactions.** *Nitric Oxide* 2: 37-42,1998.

KHAN, M. OMAR F. AND LEE, HENRY J. **Synthesis and Pharmacology of Anti-Inflammatory Steroidal Antedugs.** *Chem. Rev.*, 2008, 108 (12), 5131-5145

LORENZ, CHRISTINA; HADWIGER, PHILIPP; JOHN, MATTHIAS; VORNLOCHER, HANS-PETER AND UNVERZAGT, CARLO. **Steroid and lipid conjugates of siRNAs to enhance cellular uptake and gene silencing in liver cells.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14, 2004, 4975–4977

MARINO, J. P.; TUCCI, F. C.; COMASSETO, J. V. *Synlett* 1993, 761.

MARSON, CHARLES M.; RIOJA, ALPHONSO S.; SMITH, KELVIN E., EHAN, JOHN M. B. **The First Syntheses of Multiply Hydroxylated 16,17-Ene-Sterols Possessing the Androst-16-ene-3 β ,5 α -diol Motif.** *Synthesis* 2003, No. 4, Print: 18 03 2003.

MATES, J.M. **Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology.** *Toxicol* 153: 83-104. 2000.

McKENZIE, R.C.; RAFFERTY, T.S.; BECKETT, G.J. **Selenium: an essential element for immune function.** *Immunol Today* 19: 324-345. 1998.

MCLACHLAN JA. **The chemistry of estrogens and antiestrogens, relationships between structure, receptor binding and biological activity.** In: McLachlan JA (ed) *Estrogens in the environment.* Elsevier, New York, pp 46–49, 1980.

MÜLLER, S.; SENN, H.; GSELL, B.; VETTER, W.; BARON, C.; BÖCK, A. *Biochemistry*, 1994, 33, 3404-3412.

NOGUEIRA C.W., ZENI G., ROCHA J.B.T. **Organoselenium and organotellurium compounds: pharmacology and toxicology.** *Chem. Rev.* 104: 6255–86., 2004.

NOGUEIRA, C. W., QUINHONES, E. B., JUNG, E. A., ZENI, G., ROCHA, J. B. T. **Anti-inflammatory and antinociceptive activity of diphenyl diselenide.** *Inflamm. Res.*, 52, 56-63, 2003.

OUALI, MALIKA IBRAHIM. **Synthesis of pentacyclic steroids.** *Steroids* 73; 2008; 775–797.

PAINTER, E. P. *Chem. Rev.* 1941, 28, 179.

PEGORARO, S.; FIORI, S.; CRAMER, J.; RUDOLPH-BÖHNER, S.; MORODER, L. *Protein Sci.* 1999, 8, 1605-1613.

PEGORARO, S.; FIORI, S.; RUDOLPH-BÖHNER, S.; WATANABLE, T. X.; MORODER, L. *J. Mol. Biol.* 1998, 284, 779-792.

ROTRUCK JT, POPE AL, GANTHER HE, SWANSON AB, HAFEMAN DG, HOEKSTRA WG. **Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase.** *Science*, 1973, 179:588–590.

SAXENA, HARI OM; FARIDI, UZMA; KUMAR, J.K.; LUQMAN, SUAIB; DAROKAR, M.P.; SHANKER, KARUNA; CHANOTIYA, CHANDAN S.; GUPTA, M.M.; NEGI, ARVIND S. **Synthesis of chalcone derivatives on steroidal framework and their anticancer activities.** *Steroids* 72; 2007; 892–900.

SCHEUFLER, C.; BRINKER, A.; BOURENKOV, G.; PEGORARO, S.; MORODER, L.; BARTUNIK, H.; HARTL, F. U.; MOAREFI, I. *Cell* 2000, 101, 199-210.

SEEGER H, DIESING D, GUCKEL B, WALLWIENER D, MUECK AO, HUOBER J. **Effect of tamoxifen and 2-methoxyestradiol alone and in combination on human breast cancer cell proliferation.** *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;84:255–7.

SEKO, Y.; SAITO, Y.; KITAHARA, J.; IMURA, N. In: WENDEL, A. **Selenium in Biology and Medicine**; Ed. Springer-Verlag: Berlin, 1989

SIES, H. **Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic.** *Free Radic. Biol Med* 14: 313-323. 1993.

SILKS, L. A. *Phosphorus, Sulphur and Silicon* 1998, 136, 611-616.

SPALLHOLZ, J.E. **Generation of reactive oxygen species from the reaction of selenium compounds with thiols and mammary tumor cells.** *Biochem Pharmacol* 45; 2: 429-437. 1993.

STADTMAN, TC. **Selenocysteine.** *Annu Rev Biochem*, 1996, 65:83–100.

STOCKING, E. M.; SCHWARTZ, J. N.; SENN, H.; SALZMANN, M.; SILKS, L. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1997, 2443-2447

TAMURA, T.; OIKAWA, T.; OHTAKA, A.; FUJII, N.; ESAKI, N.; SODA, K. *ANAL. Biochem.* 1993, 208, 151-154

TSEN, C.C.; COLLIER, H.B. **Selenite as a relatively weak inhibitor of some sulfhydryl enzyme systems.** *Nature*. 183: 1327. 1959.

WESTOVER, EMILY J.; COVEY, DOUGLAS F. **Synthesis of ent-25-hydroxycholesterol,** *Steroids* 71; 2006; 484–488.

WIRTH, T. **Topics in Current Chemistry: Organoselenium Chemistry,** Modern Developments in Organic Synthesis; Ed. Springer: Berlin, Germany, 2000.

ZENI, G.; FORMIGA, H. B.; COMASSETO, J. V. *Tetrahedron Lett.* 2000, 41, 1311.

ZENI, G.; BRAGA, A. L.; STEFANI, H. A. *Acc. Chem. Res.* 2003, 36 (10), 731

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](#)