

PATRÍCIA FONTES PINHEIRO

**ESTUDO DA RELAÇÃO QUANTITATIVA ESTRUTURA QUÍMICA-
ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS ANÁLOGOS AOS
NOSTOCLÍDEOS E SÍNTESE DE
NOVOS *g*-ALQUILIDENOBUTENOLÍDEOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

**ESTUDO DA RELAÇÃO QUANTITATIVA ESTRUTURA QUÍMICA-
ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS ANÁLOGOS AOS
NOSTOCLÍDEOS E SÍNTESE DE
NOVOS *g*-ALQUILIDENOBUTENOLÍDEOS**

Patrícia Fontes Pinheiro
Doctor Scientiae

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

PATRÍCIA FONTES PINHEIRO

**ESTUDO DA RELAÇÃO QUANTITATIVA ESTRUTURA QUÍMICA-
ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS ANÁLOGOS AOS
NOSTOCLÍDEOS E SÍNTESE DE
NOVOS *g*-ALQUILIDENOBUTENOLÍDEOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*

APROVADA: 19 de outubro de 2009

Laurent Frederic Gil

Gelson José Andrade da Conceição

Sergio Antonio Fernandes

Célia Regina Álvares Maltha

Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Orientador)

A Deus.
A meu adorado filho Arthur.
Ao meu amado esposo Carlos Alexandre.
Aos meus queridos pais e irmãos.
Ao meu estimado sogro Luiz Pinheiro (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a vida e estado ao meu lado em todos os momentos.

À Universidade Federal de Viçosa, por meio do Departamento de Química, pela oportunidade de realização do curso.

À Fapemig, pela concessão da bolsa.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pela orientação e amizade em todos os momentos.

Ao professor Róbson Ricardo Teixeira, pelo apoio incondicional e por ter me ajudado constantemente.

Aos professores Célia Regina Álvares Maltha e Antônio Jacinto Demuner, por toda a contribuição dada a este trabalho.

Ao professor José Walkimar de Mesquita Carneiro, da Universidade Federal Fluminense, pela colaboração com os cálculos computacionais.

Aos funcionários José Luiz, Márcio, Marisa, D. Onesina, Irani e Karine, pelas prestações de serviços.

A todos os colegas do Lasa, pela amizade sincera e pela agradável convivência que me proporcionaram.

Ao estagiário Vinícius Paixão, pela colaboração.

A todos os amigos que me apoiaram e estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis.

Ao meu adorado filho Arthur, pelo amor, paciência e tolerância nas minhas ausências para a realização deste trabalho.

Ao meu amado marido Carlos Alexandre, pelo auxílio, pela companhia, compreensão, pelo grande apoio, paciência e carinho em todos os momentos.

Aos meus pais, Carlos Roberto e Maria Amélia, pelo amor e incentivo.

Aos meus irmãos Alexandre, Vinícius e Cristiane, que me apoiaram e incentivaram.

Ao meu estimado sogro Luiz Pinheiro (*in memoriam*), que me apoiou e incentivou no início do percurso para a realização desta árdua tarefa.

BIOGRAFIA

PATRÍCIA FONTES PINHEIRO, filha de Carlos Roberto Rezende Pereira e Maria Amélia Fontes Pereira, nasceu no dia 01 de setembro de 1980, em Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 1999, iniciou o curso de graduação em Química na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, concluindo-o em julho de 2003. No mês de agosto do mesmo ano, iniciou o Mestrado em Agroquímica na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, defendendo a dissertação de Mestrado em julho de 2005.

Iniciou o Doutorado em Agroquímica na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais em outubro de 2006, defendendo a tese de Doutorado em 19 de outubro de 2009.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE ESQUEMAS	xix
LISTA DE ABREVIATURAS	xxiii
RESUMO	xxv
ABSTRACT	xxvii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1. Agricultura no Brasil e o uso de Agroquímicos.....	1
2. A importância dos Herbicidas na Agricultura.....	3
3. Resistência das Plantas Daninhas aos Herbicidas.....	5
4. Novos Herbicidas a partir de Metabólitos Secundários.....	6
5. Atividade Fitotóxica dos Análogos aos Nostoclídeos.....	8
6. Fotossíntese e Reação de Hill.....	13
7. Justificativa do trabalho.....	18

	Página
CAPÍTULO 1.....	20
ESTUDO DA RELAÇÃO QUANTITATIVA ESTRUTURA QUÍMICA- ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS ANÁLOGOS AOS NOSTOCLÍDEOS.....	20
1. Estudo das Relações Quantitativas Estrutura – Atividade de Compostos Bioativos, QSAR: Aspectos Históricos.....	20
2. Modelagem Molecular.....	22
3. <i>Software</i> CODESSA e Estudos de QSAR/QSPR.....	24
4. Materiais e Métodos.....	25
4.1. Cálculos computacionais.....	25
4.2. Síntese das arilidenofuranonas análogas aos nostoclídeos...	26
4.3. Determinação das concentrações inibitórias (IC ₅₀) dos análogos aos nostoclídeos.....	26
4.3.1. Isolamento de cloroplastos.....	26
4.3.2. Determinação dos valores de IC ₅₀	27
5. Resultados e Discussão.....	28
6. Conclusões.....	41
CAPÍTULO 2.....	42
PREPARO DE NOVOS <i>g</i> -ALQUILIDENOBUTENOLÍDEOS E SÍNTESE DOS ANÁLOGOS AOS NOSTOCLÍDES.....	42
1. Métodos Sintéticos Utilizados no Preparo de <i>g</i> - alquilidenobutenolídeos.....	42
2. Rotas Sintéticas Utilizadas no Preparo dos Nostoclídeos I e II.....	48

	Página
3. Material e Métodos.....	54
3.1. Purificação dos solventes.....	54
3.1.1. Purificação do Tetraidrofurano (THF) e do Éter dietílico	54
3.1.2. Purificação do Metanol.....	54
3.1.3. Purificação do diclorometano (DCM).....	55
3.1.4. Purificação do Hexametilfosforamida (HMPA).....	55
3.1.5. Titulação do <i>n</i> -Butilítio (<i>n</i> -BuLi).....	55
3.2. Cromatografia em camada delgada (CCD).....	56
3.3. Técnicas Espectroscópicas.....	56
3.4. Espectrometria de massas.....	56
3.5. Procedimentos sintéticos.....	57
3.5.1. 3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona (67)	57
3.5.2. 3,4-diclorofuran-2(5 <i>H</i>)-ona (82)	58
3.5.3. 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (70).....	59
3.5.4. Determinação de Rendimento de Reações pelo Método do Padrão Interno utilizando-se Cromatografia Gasosa (CG).....	61
3.5.5. 3-cloro-4-isopropilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (83).....	62
3.5.6. 3-bromo-4-isobutilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (84).....	63
3.3.7.3-bromo-4-etilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (85).....	64
3.3.8.3-bromo-4-pentilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (86).....	65
3.3.9. 3-bromo-2-triisopropilsiloxifurano (80).....	65
3.5.10.3-benzil-4-isopropilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (59).....	66
3.5.11.5(<i>Z</i>)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-nitrobenzilideno)furan- 2(5 <i>H</i>)-ona (91).....	71
3.5.12.5(<i>Z</i>)-3-benzil-4-isopropil-5-(3-nitrobenzilideno)furan- 2(5 <i>H</i>)-ona (92).....	73
3.5.13.5(<i>Z</i>)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-trifluorobenzilideno)furan- 2(5 <i>H</i>)-ona (93).....	74

3.5.14. 5(<i>Z</i>)-3-benzil-4-isopropil-5-(3-trifluorobenzilideno)furan-2(<i>5H</i>)-ona (94)	75
3.5.15.5(<i>Z</i>)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-etilbenzilideno)furan-2(<i>5H</i>)-ona (95)	76
3.5.16. 5(<i>Z</i>)-3,4-dibromo-5-benzilidenofuran-2(<i>5H</i>)-ona (96)	77
3.5.17. 5(<i>Z</i>)-3,4-dibromo-5-(3,4-metilenodioxibenzilideno)furan-2(<i>5H</i>)-ona (97)	78
3.5.18. 5(<i>Z</i>)-3,4-dibromo-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(<i>5H</i>)-ona (98)	79
3.5.19. 5(<i>Z</i>)-3,4-dicloro-5-(3,4-metilenodioxibenzilideno)furan-2(<i>5H</i>)-ona (99)	80
3.5.20. 5(<i>Z</i>)-3,4-dicloro-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(<i>5H</i>)-ona (100)	81
4. Resultados e Discussão.....	82
4.1. Síntese dos compostos 3,4-dialofuran-2(<i>5H</i>)-onas.....	82
4.2. Busca por uma Metodologia Alternativa para a Síntese da Substância 3-bromo-4-isopropilfuran-2(<i>5H</i>)-ona (70)	85
4.3. Resultados de otimização da metodologia empregada no preparo de 3-bromo-4-isopropilfuran-2(<i>5H</i>)-ona (70)	89
4.4. Síntese do composto 3-cloro-4-isopropilfuran-2(<i>5H</i>)-ona (83)	99
4.5. Síntese dos compostos 3-bromo-4-alkilfuran-2(<i>5H</i>)-ona e tentativa de síntese dos compostos 3-bromo-4-alkenilfuran-2(<i>5H</i>)-ona e 3-bromo-4-aryl-furan-2(<i>5H</i>)-onas.....	101
4.6. Síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(<i>5H</i>)-ona (59)	108
4.7. Síntese de Análogos aos Nostoclídeos.....	120
4.8. Síntese de 3,4-dialo-5-arylidenofuran-2(<i>5H</i>)-onas.....	130
5. Conclusões.....	134

	Página
CAPÍTULO 3.....	136
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE COMPOSTOS ANÁLOGOS AOS NOSTOCLÍDEOS DE COMPOSTOS DO TIPO 3,4-DIALO-5-ARILIDENOFURAN-(5H)- ONAS E DE SEUS PRECURSORES.....	136
1. Introdução.....	136
1.1. Uso de Antibióticos – Aspectos Históricos.....	136
1.2. Resistência Bacteriana.....	139
1.3. Aspectos Fisiológicos das Bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Bacillus cereus</i>	141
1.4. Testes de Sensibilidade Antimicrobiana por Disco-Difusão.....	142
2. Materiais e Métodos.....	143
2.1. Amostras Bacterianas.....	143
2.2. Preparo dos meios de cultura para os testes de suscetibilidade.....	143
.	143
3. Resultados e Discussão.....	144
4. Conclusão.....	149
CONCLUSÕES GERAIS.....	150
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	151

LISTA DE TABELAS

Página

INTRODUÇÃO GERAL

- 1 Classificação dos agroquímicos quanto às pragas controladas. 3

CAPÍTULO 1

- 1 Avaliação *in vitro* da atividade fitotóxica de lactonas análogas aos nostoclídeos sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacia oleracea*^a 30
- 2 Descritores associados ao melhor modelo de regressão linear contendo os seguintes parâmetros: N=19; R² = 0,83; F = 23,9; s² = 0,0288; R²_{cv} = 0,72..... 31
- 3 Valores Preditos de logIC₅₀..... 32
- 4 Avaliação *in vitro* da atividade fitotóxica de lactonas análogas aos nostoclídeos (contendo o grupo Br na posição *para* do anel benzílico) sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacia oleracea*^a 36

5	Descritores selecionados para o segundo modelo de regressão linear para os compostos análogos aos nostoclídeos, contendo os seguintes parâmetros: $N=23$, $R^2 = 0,81$, $F = 27,3$, $s^2 = 0,0309$ e $R^2_{cv} = 0,65$	37
6	Valores preditos de $\log IC_{50}$ pelo segundo modelo de QSAR e valores experimentais	38

CAPÍTULO 2

1	Síntese de <i>g</i> -alquilidenobutenolídeos segundo metodologia descrita por Lu <i>et al.</i> (1993).....	44
2	Preparação de <i>g</i> -arilidenofuran-2(5 <i>H</i>)-onas (POHMAKOTR <i>et al.</i> , 1998).....	45
3	Dados experimentais das reações realizadas para a otimização da metodologia alternativa utilizada no preparo do composto 70	92
4	Resultados experimentais da reação de síntese dos compostos 3-bromo-4-alquilifuran-2(5 <i>H</i>)-onas (84 , 85 e 86) e tentativa de síntese dos compostos 3-bromo-4-alquenilfuran-2(5 <i>H</i>)-onas e 3-bromo-4-arilfuran-2(5 <i>H</i>)-onas.....	102
5	Dados experimentais da reação de síntese dos análogos aos nostoclídeos 91-95	121
6	Dados experimentais da reação das reações de síntese de 3,4-dialofuran-2(5 <i>H</i>)-onas (96-100).....	131

CAPÍTULO 3

1	Origem das classes de fármacos antimicrobianos disponíveis no mercado.....	138
2	Valores dos halos de inibição dos compostos.....	146

LISTA DE FIGURAS

Página

INTRODUÇÃO GERAL

1	Produção de cereais, leguminosa e oleaginosas no Brasil – Período 1980 a 2008.....	2
2	Estrutura do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e derivados.....	4
3	Estruturas químicas dos monoterpenos 1,4-cineol, 1,8-cineol e derivados.....	7
4	Estruturas das substâncias bialfalos e fosfonotricina.....	8
5	Estrutura dos Nostoclídeos I e II.....	9
6	Estruturas dos butenolídeos (2a e 2b) e estrutura geral dos <i>g</i> -alquilidenobutenolídeos (3).....	9
7	Estrutura da xerulina e derivados.....	10

	Página
8 Estrutura dos Rubrolídeos A-D	10
9 Estrutura do lissoclinolídeo e dos gonoibutenolídeos	11
10 Estrutura da cianobacterina	11
11 Estruturas gerais de diferentes análogos aos nostoclídeos sintetizados.....	12
12 Estrutura dos cloroplastos.....	14
13 Estrutura molecular de alguns pigmentos fotossintéticos.....	14
14 Esquema Z da fotossíntese.....	15
15 Formas oxidada e reduzida do corante 2,6-diclorofenolindolfenol.....	17

CAPÍTULO 1

1 Valores experimentais de $\log IC_{50}$ <i>versus</i> valores preditos de $\log IC_{50}$ obtidos pelo modelo (N=19).....	33
2 Efeito da substância (5Z)-3-(4-bromobenzil)-5-(benzilideno)furan-2-(5H)-ona sobre o transporte de elétrons na reação de Hill.....	34
3 Valores experimentais de $\log IC_{50}$ <i>versus</i> valores preditos de $\log IC_{50}$ obtidos pelo segundo modelo de QSAR para os compostos análogos aos nostoclídeos.....	39
4 Complexação entre um ligante e seu receptor.....	40

CAPÍTULO 2

1	Estruturas químicas das substâncias tetrenolina e lissoclinolídeo.....	46
2	Estruturas dos ácidos mucobrômico (81) e mucoclórico (98) nas formas cíclica e aberta.....	82
3	Espectro no IV (solução de CH ₂ Cl ₂ , NaCl) da lactona (67).....	83
4	Espectro de massas da lactona (67).....	84
5	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) da lactona (67).....	85
6	Curva padrão para o composto 3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona (67). A61 é igual à área do composto 67 e API corresponde à área do padrão interno (pentadecano).....	90
7	Curva padrão para o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (70). A64 é igual à área do composto 70 e API corresponde à área do padrão interno (pentadecano).....	90
8	Espectro no IV (filme, NaCl) do composto (70).....	94
9	Espectro de massas do composto (70).....	95
10	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da lactona (70).....	96
11	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) da lactona (70).....	97
12	Espectro DEPT da lactona (70).....	98
13	Espectro no IV (filme, NaCl) do composto (83).....	99

	Página
14 Espectro de massas para a lactona (83)	100
15 Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona (83)	100
16 Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona (83)	101
17 Espectro de massas para a lactona (84)	103
18 Espectro no IV (filme, NaCl) do composto (84)	103
19 Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona (84)	105
20 Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona (84)	106
21 Espectro de DEPT (75 MHz, CDCl_3) da lactona (84)	107
22 Ciclo catalítico referente ao acoplamento de Negishi.....	112
23 Espectro de massas para a lactona 59	114
24 Espectro no IV (filme, NaCl) do composto 59	115
25 Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona 59	116
26 Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona 59	118
27 Espectro no IV (filme, NaCl) do composto 91	122
28 Espectro de massas do composto 91	123
29 Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 91	125
30 Espectro de NOEDIFF (CDCl_3) para o composto 91	126

	Página
31 Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 91	127
32 Espectro de DEPT para o composto 91	128
33 Mapa de contornos HETCOR para o composto 91	129
34 Espectro no IV (filme, NaCl) do composto 96	132
35 Espectro de massas do composto 96	132
36 Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona 96	133
37 Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona 96	134

CAPÍTULO 3

1 Estrutura de antibióticos de diferentes classes químicas.....	138
2 Locais de ação de diferentes tipos de agentes antimicrobianos.....	139
3 Halos de inibição apresentados pelos compostos dibromados e diclorados frente às bactérias <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>	148

LISTA DE ESQUEMAS

Página

INTRODUÇÃO GERAL

- 1 Regiões da molécula dos nostoclídeos I e II que podem ser modificadas para a obtenção de novas moléculas análogos e o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (1c)..... 19

CAPÍTULO 1

- 1 Etapa chave na síntese dos análogos aos nostoclídeos (BARBOSA *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2008)..... 26

CAPÍTULO 2

- 1 Preparação da protoaneminina a partir do ácido *g*-oxopent-2-enóico 42
- 2 Métodos sintéticos utilizados na síntese de *g*-alquilidenobutenolídeos..... 43

3	Síntese de <i>g</i> -alquilidenofuran-2(5 <i>H</i>)-ona (POHMAKOTR <i>et al.</i> , 1998)	45
4	Obtenção de <i>g</i> -alquilidenobutenolídeos análogos aos antibióticos tetrolina e lissoclinolídeo em estereoquímica definida (GÖRTH <i>et al.</i> , 1998).....	46
5	Preparação de ácidos pulvínicos (HEURTAUX <i>et al.</i> , 2005).....	47
6	Preparação de compostos do tipo 15-ideno andrografolídeo.....	48
7	Síntese do furano 60 (BOUKOUVALAS <i>et al.</i> , 1994).....	49
8	Preparo dos aldeídos 64a,b e etapa final da síntese dos nostoclídeos I e II (BOUKOUVALAS <i>et al.</i> , 1994).....	50
9	Síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (59) a partir do composto 3,4-dibromofuran-2(5 <i>H</i>)-ona (BELLINA e ROSSI, 2002).....	51
10	Preparação do composto 59 partindo do ácido citracrônico (71).....	52
11	Síntese do nostoclídeo I descrita por Kar <i>et al.</i> (2005).....	52
12	Análise retrossintética para o preparo da lactona 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (59).....	53
13	Redução dos ácidos 81 e 98 na presença de NaBH ₄	83
14	Processo de substituição de um grupo bromo presente no composto 76 por um grupo fenila, para a obtenção do composto 77 (KAR <i>et al.</i> , 2005).....	86

	Página
15 Condições usadas na primeira tentativa de preparação de 70	86
16 Síntese de compostos do tipo 2-metil-2-álcool/2-álcool-1-nitroetileno descrita por Terang <i>et al.</i> (1998).....	87
17 Condições de reação empregadas para o preparo de 67 adaptadas Terang <i>et al.</i> (1998).....	88
18 Proposta mecanística de adição-eliminação da S _N V (BERNASCONI e RAPPOPORT, 2009).....	89
19 Tentativa de síntese do composto 59	108
20 Sínteses de compostos butenolídeos α -substituídos realizadas por Boukouvalas e Loach (2008).....	109
21 Reação de acoplamento de Kumada na formação da ligação carbono-carbono.....	110
22 Tentativa de síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona <i>via</i> acoplamento de Kumada, baseada no trabalho de Bonnet <i>et al.</i> (2001).....	110
23 Tentativa de reação entre o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (70), litiado por <i>n</i> -BuLi, e brometo de benzila.....	111
24 Tentativa de reação do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (70), litiado por LDA, e brometo de benzila.....	111
25 Síntese da lactona 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (59) (BELLINA e ROSSI, 2002).....	112
26 Síntese da lactona 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (59).....	113

	Página
27 Síntese da lactona 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5 <i>H</i>)-ona (59), metodologia adaptada de Bellina e Rossi, (2002).....	114
28 Análise retróssintética para a preparação das 3-benzil-4-isopropil-5-benzilidenofuran-2(5 <i>H</i>)-onas	119
29 Síntese dos compostos análogos aos nostoclídeos (91-95).....	120
30 Compostos análogos aos nostoclídeos (16, 19, 30, 34 e 35) sintetizados recentemente.....	121
31 Síntese de compostos do tipo 3,4-dialo-5-alkilidenofuran-2(5 <i>H</i>)-onas.....	130

CAPÍTULO 3

1 Estruturas químicas dos compostos utilizados no teste disco-difusão frente às bactérias <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> e <i>B. cereus</i>	145
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

AIBN	2,2-azobisisobutironitrila
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butilítio
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG-EM	Cromatografia gasosa-Espectrometria de massas
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
qt	Quarteto triplo
<i>d</i>	Deslocamento químico
DBU	1,8-diazobicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
Et	Grupo etila
EtOAC	Acetato de etila
Et ₂ O	Éter dietílico
Equiv	Equivalente
HETCOR	<i>Heteronuclear Correlation</i>
HMPA	Hexametilfosforamida
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
LDA	Diisopropilamideto de lítio
m	Multiplete
Me	Grupo metila
MHz	Megahertz

m/m	Massa por massa
m/v	Massa por volume
NBS	<i>N</i> -bromo succinimida
NMP	1-metil-2-pirrolidinona
NOEDIFF	<i>Nuclear Overhauser Effect Difference</i>
P.A.	Para análise
Pd ₂ (dba) ₃	tris(dibenzilidenacetona)dipaládio (0)
Pd(PPh ₃) ₄	tetrakis(trifenilfosfina)paládio (0)
Ph	Grupo fenila
ppm	Partes por milhão
QSAR	<i>Quantitative Structure-Activity Relationships</i>
R _f	Fator de retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
TBDMSOTf	Trifluorometanossulfonato de <i>tert</i> -butildimetilsilila
T _f	Temperatura de fusão
THF	Tetraidrofurano
TIPSOTf	Trifluorometanossulfonato de triisopropilsilila
v/v	Volume por volume

RESUMO

PINHEIRO, Patrícia Fontes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Outubro de 2009. **Estudo da relação quantitativa estrutura química-atividade biológica de compostos análogos aos nostoclídeos e síntese de novos *g*-alquilidenobutenolídeos.** Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Co-orientadores: Antônio Jacinto Demuner e Célia Regina Álvares Maltha.

Os nostoclídeos são substâncias naturais isolados de uma alga verde-azul, *Nostoc* sp., encontrada em um líquen denominado *Peltigera canina*. Eles pertencem à classe de compostos conhecidos como *g*-alquilidenobutenolídeos. Os nostoclídeos vêm sendo utilizados como compostos-modelo objetivando a descoberta de novos herbicidas. Compostos do tipo 3-benzil-5-arilidenofuran-2-(5*H*)-onas, análogos aos nostoclídeos, desprovidos do grupo isopropila, foram sintetizados, e a atividade fitotóxica dessas substâncias foi avaliada *in vitro* quanto à sua capacidade de interferir no transporte de elétrons, dirigido pela luz da água para o oxidante não-biológico ferricianeto de potássio. Para esse experimento, foram usados cloroplastos isolados de espinafre (*Spinacia oleracea*). No presente trabalho, foram buscados um entendimento dos diferentes parâmetros envolvidos na correlação entre estrutura química de diferentes análogos aos nostoclídeos já descritos na literatura bem como sua atividade biológica (capacidade dos análogos de interferirem com o transporte de elétrons em cloroplastos isolados de espinafre). Para tal propósito, foi usado o *software* CODESSA (*COmprehensive DEscriptores for Structural and Statistical Analysis*). Foram desenvolvidos dois modelos matemáticos, e, em ambos os modelos, o descritor de maior significância estatística selecionado foi o '*Image of the Onasager-Kirkwood solvation energy*' (SE_{OK}), que relaciona de forma indireta a atividade fitotóxica com a polaridade das moléculas. Na presente pesquisa, compostos análogos aos nostoclídeos contendo o grupo isopropila na posição 4 do anel lactônico foram sintetizados, a fim de avaliar o

seu impacto na atividade biológica. Para a síntese desses compostos, o composto 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona foi utilizado como material de partida. Esse composto, na presença de brometo de isopropil magnésio, iodeto de cobre e cloreto de trimetilsilano, propiciou a síntese do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona, com 48% de rendimento. As condições reacionais para a síntese do referido composto foram otimizadas. Os rendimentos foram calculados pelo Método do Padrão Interno utilizando cromatografia gasosa. O composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona, reagente usado na síntese dos análogos aos nostoclídeos, foi sintetizado, a partir da lactona 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona, pelo acoplamento de Negishi, utilizando-se o Pd(PPh)₄ em DMF:THF/1:1, tendo sido o referido composto obtido com 36% de rendimento. Posteriormente, a substância 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona foi submetida a reações de alquilidação com aldeídos aromáticos diferentemente substituídos. As reações foram realizadas na presença de diisopropiletilamina (DIPEA) e trifluorometanossulfonato de *tert*-butildimetilsilila (TBDMSOTf), em temperatura ambiente. Os intermediários aldólicos obtidos foram tratados com 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) sob condições de refluxo, resultando na obtenção de 5 substâncias análogas aos nostoclídeos, com rendimentos variando de 22-86%. Novos β -alquilidenobutenolídeos pertencentes à classe das 3,4-dialo-5-arylidenofuran-2(5*H*)-onas foram preparados a partir das lactonas 3,4-dialofuran-2(5*H*)-onas e diferentes aldeídos aromáticos pela reação de alquilidação já mencionada. Compostos análogos aos nostoclídeos, as 3,4-dialo-5-arylidenofuran-2(5*H*)-onas e diversas lactonas precursoras, foram avaliados *in vitro* quanto à capacidade em inibir o crescimento de três espécies de bactérias, *E. coli*, *S. aureus* e *B. cereus*, pelo teste de disco-difusão. Os análogos aos nostoclídeos testados não apresentaram inibição frente a nenhuma das bactérias testadas. Os compostos pertencentes à classe das 3,4-dialo-5-arylidenofuran-2(5*H*)-onas e as lactonas 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona e 3,4-diclorofuran-2(5*H*)-ona apresentaram inibição frente às distintas bactérias, sendo considerados potenciais agentes antimicrobianos.

ABSTRACT

PINHEIRO, Patrícia Fontes, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, october, 2009. **Study of the quantitative relationship chemical structure-biological activity of analogous compounds to nostoclidides and synthesis of new β -alkylidenebutenolides.** Adviser: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Co-Advisers: Antônio Jacinto Demuner e Célia Regina Álvares Maltha.

Nostoclidides are natural substances isolated from blue-green seaweed, *Nostoc* sp., found in a lichen called *Peltigera canina*. They belong to the class of compounds known as β -alkylidenebutenolides. Nostoclidides have been used as model compounds aimed the discovery of new herbicides. Compounds 3-benzyl-5-arylidenefuran-2-(5H)-ones, analogues to nostoclidides devoid of the isopropyl group were synthesized and phytotoxicity of these compounds was evaluated *in vitro* for their ability to interfere in electron transport directed by light, water to the non-biological oxidant potassium ferricyanide. For this experiment were used chloroplasts isolated from spinach (*Spinacia oleracea*). In this study, we look for an understanding of the different parameters involved in the correlation between chemical structure of different analogues nostoclidides to those described in the literature and biological activity (ability of analogues to interfere with electron transport in chloroplasts isolated from spinach) of these compounds. For this purpose, we used the software CODESSA (COMprehensive DESCriptors for Structural and Statistical Analysis). We developed two mathematical models, in both models, the descriptor of greater significance was selected 'Image of the Onasager-Kirkwood solvation energy' (SE_{OK}), which relates indirectly to phytotoxicity with the polarity of the molecules. In the present investigation, compounds analogues to nostoclidides containing the isopropyl group in position 4 of the lactone ring were synthesized in order to assess the impact of this in the biological activity. For the synthesis

of these compounds, compound 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-one was used as starting material. This compound in the presence of isopropyl magnesium bromide, copper iodide and chloride trimethylsilane, led to the synthesis of compound 3-bromo-4-isopropylfuran-2(5*H*)-one, with 48% yield. The reaction conditions for the synthesis of this compound were optimized. Yields were calculated by the Internal Standard Method using gas chromatography. The compound 3-benzyl-4-isopropylfuran-2(5*H*)-one, reagent used in the synthesis of analogues to nostoclidides, was synthesized from the lactone 3-bromo-4-isopropylfuran-2 (5*H*)-one by Negishi coupling, using Pd(PPh)₄ in DMF:THF/1:1, this compound was obtained with 36% yield. Subsequently, the substance 3-benzyl-4-isopropylfuran-2 (5*H*)-one was subjected to alkylidenation reactions with differently substituted aromatic aldehydes. Reactions were performed in the presence of diisopropylethylamine (DIPEA) and trifluoromethanesulfonate of *tert*-butyldimethylsilile (TBDMSOTf), at room temperature. The aldol intermediate obtained were treated with 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) under reflux conditions, which resulted in 5 analogues nostoclidides substances, with yields ranging from 22-86%. New *g*-alkylidenebutenolides belonging to the class of 3,4-dihalo-5-arylidenefuran-2(5*H*)-ones were prepared from the lactones 3,4-dihalofuran-2(5*H*)-ones and different aromatic aldehydes by alkylidenation reaction already mentioned. Compounds analogues to nostoclidides as 3,4-dihalo-5-arylidenefuran-2(5*H*)-ones and several lactones precursors were evaluated *in vitro* for their ability to inhibit the growth of three species of bacteria, *E. coli*, *S. aureus* and *B. cereus*, testing by disk-diffusion. Analogues to nostoclidides tested showed no inhibition to none of the bacteria tested. The compounds belonging to the class of 3,4-dihalo-5-arylidenefuran-2 (5*H*)-ones and lactones 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-one and 3,4-dichlorofuran-2 (5*H*)-one showed inhibition against the different bacteria and they are considered potential antimicrobial agents.

INTRODUÇÃO GERAL

1. Agricultura no Brasil e o uso de Agroquímicos

O Brasil ocupa posição de destaque no cenário internacional no tocante à produção agrícola. O país é o maior exportador de café, cana, açúcar, álcool e sucos de frutas; o segundo maior produtor de soja, milho, carne e frango, além de possuir o maior rebanho bovino do mundo. O Brasil lidera ainda o *ranking* das vendas externas de soja, carne bovina, carne de frango, tabaco, couro e calçados de couro. Arroz, frutas frescas, cacau, castanhas, nozes, além de suínos e pescados, são outros destaques do agronegócio brasileiro (VELASCO e CAPANEMA, 2006).

Cerca de um terço do PIB brasileiro é gerado pelo agronegócio, um setor responsável pelo emprego de 37% da mão-de-obra economicamente ativa do país, além de corresponder a 40% das exportações nacionais, sustentando um saldo positivo na balança comercial brasileira por vários anos consecutivos (BRITTO, 2009).

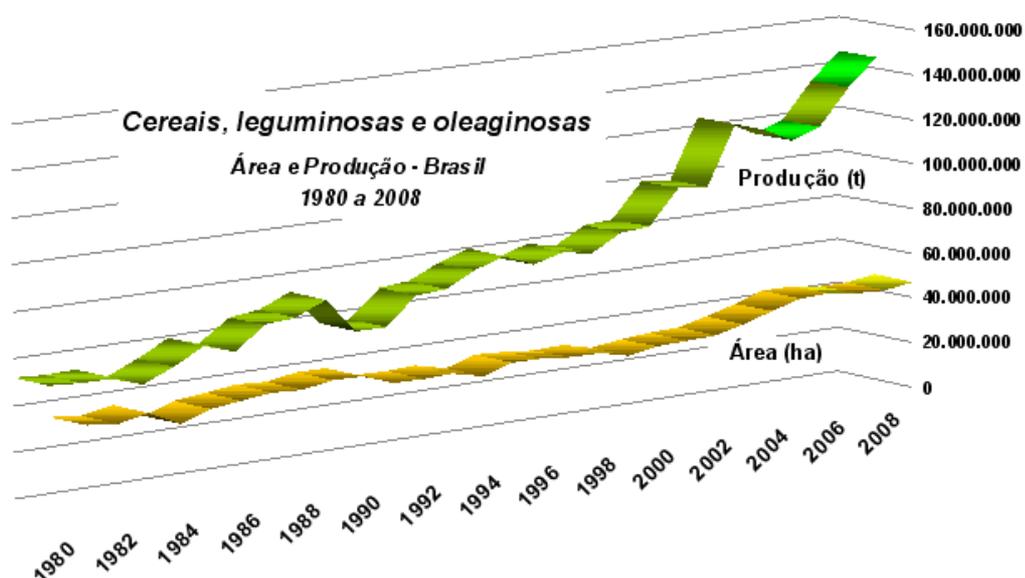
Dados recentes, a respeito da produção brasileira de grãos, apontam recorde histórico de 144,1 milhões de toneladas na safra 2007/08. O resultado foi 8,5% maior que o do ciclo 2006/07, de 131,8 milhões de toneladas (CONAB, 2009).

De acordo com previsões estatísticas, o Brasil colherá na safra 2008/09 quase 10 milhões de toneladas de grãos a menos que no ciclo passado, uma queda de 6,9% na colheita, devido a adversidades climáticas. Contudo, a produção de arroz registrará crescimento, 12,7 milhões de toneladas, um recorde nacional. O melhor resultado até então foi registrado na temporada anterior, com 12,1 milhões de toneladas (CONAB, 2009).

Para estimular o crescimento sustentável da agropecuária brasileira, o governo federal destinará R\$ 107,5 bilhões ao setor por meio do Plano Agrícola e Pecuário (PAP) 2009/2010. O total representa 37% a mais de recursos para o crédito agrícola em relação à safra 2008/2009 (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2009).

A agropecuária do Brasil se converteu numa das mais eficientes e mais competitivas do mundo, graças à modernização verificada nos últimos 30 anos (BRITTO, 2009). O crescimento do país no setor agropecuário pode ser atribuído, em grande parte, ao desenvolvimento científico-tecnológico e ao emprego de técnicas modernas como a utilização de máquinas agrícolas, dos fertilizantes e dos agroquímicos (VELASCO e CAPANEMA, 2006; CONAB, 2009).

A evolução da produção de grãos e da ocupação das terras agrícolas brasileiras com estas culturas, de 1980 a 2008, é apresentada na Figura 1. Neste período, a produção cresceu mais significativamente que a área cultivada com as culturas, evidenciando os avanços tecnológicos que determinaram aumentos nos rendimentos médios da produção (IBGE, 2009).



Fonte: IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística).

Figura 1 - Produção de cereais, leguminosa e oleaginosas no Brasil – Período 1980 a 2008.

O uso de agroquímicos no controle de pragas nas diversas culturas é de fundamental importância na manutenção da produtividade e da

rentabilidade do agronegócio brasileiro. Agroquímico quer dizer o mesmo que defensivo agrícola, agrotóxico, pesticida, praguicida ou biocida. Os termos agroquímicos e defensivos agrícolas são, normalmente, utilizados pelo setor industrial, enquanto os demais são empregados por agricultores, ecologistas e pesquisadores (MARTINS, 2000).

Dependendo do propósito para o qual os agroquímicos são usados, eles são divididos em grupos: acaricidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, entre outros (Tabela 1) (MELNIKOV, 1971).

Tabela 1 - Classificação dos agroquímicos quanto às pragas controladas

Grupo de Agroquímicos	Pragas Controladas
Acaricidas	Ácaro, aranhas, carrapato
Bactericidas	Bactérias
Fungicidas	Fungo
Herbicidas	Planta daninha
Inseticidas	Insetos
Miticidas	Minúsculo parasita
Moluscocidas	Caracol, lesma
Nematicidas	Nematóides
Rodenticidas	Roedores

O consumo de agroquímicos no Brasil, dentro de cada classe, assemelha-se ao verificado no mundo, sendo que os herbicidas respondem por cerca de 51%, os inseticidas, por 24% e os fungicidas, por 18% do total das vendas (VELASCO e CAPANEMA, 2006).

2. A Importância dos Herbicidas na Agricultura

O controle de plantas daninhas é uma prática de elevada importância para a obtenção de altos rendimentos em qualquer exploração agrícola e tão antiga quanto a própria agricultura (EMBRAPA, 2009). Após a fase histórica em que o controle era feito manualmente ou com auxílio de ferramentas, surgiram, no início do século XX, os primeiros relatos da utilização de substâncias químicas para o manejo de plantas daninhas (BARBOSA, 2004).

O controle químico de plantas daninhas teve início em 1900, quando Bonnet (França), Shultz (Alemanha) e Bolley (EUA) evidenciaram a ação dos sais de cobre sobre algumas espécies dicotiledôneas (folhas largas). Em 1908, o sulfato ferroso foi avaliado por Bolley, nos Estados Unidos, para controle de folhas largas na cultura do trigo. A descoberta, em 1942 por Zimmerman e Hitchcock nos Estados Unidos, do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), marcou o início do controle químico de plantas daninhas em escala comercial. Cabe salientar que o 2,4-D serviu de inspiração para a síntese de outros derivados, como, por exemplo, o 2,4-DB e o 2,4,5-T, também usados no controle de plantas daninhas (Figura 2). A partir de 1950, foram descobertos novos grupos químicos de herbicidas como as amidas (1952), os carbamatos (1951) e as triazinas simétricas (1956) (BARBOSA, 2004).

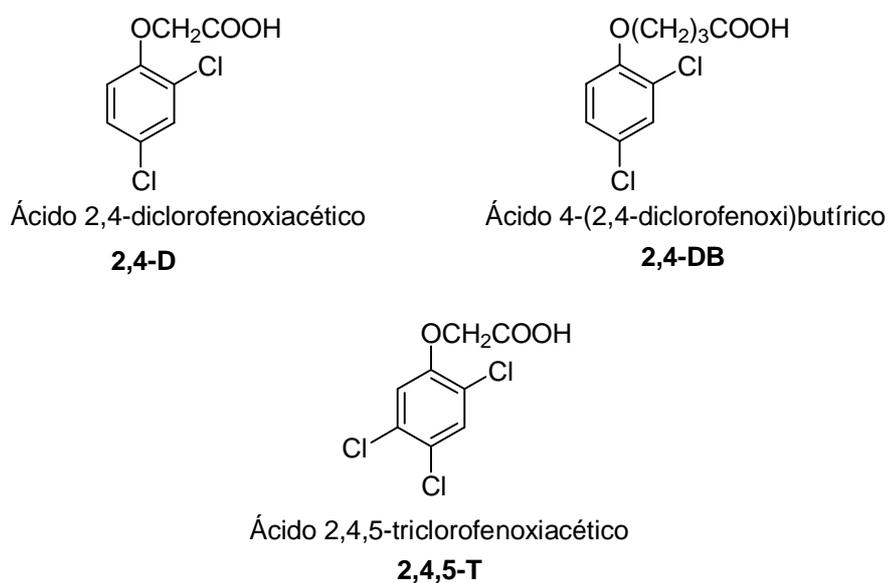


Figura 2 - Estrutura do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e derivados.

Devido ao grande desenvolvimento da área de controle químico de plantas daninhas, em 1956, nos Estados Unidos, foi criada a Weed Science Society of América - WSSA, e em 1963, no Brasil, foi fundada a Sociedade Brasileira de Herbicidas e Plantas Daninhas (SBHPD), hoje Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD), que se reúne de dois em dois anos em congresso nacional para discutir os avanços da área de plantas daninhas e seu controle (SILVA *et al.*, 2007).

As pesquisas desenvolvidas no campo do controle de plantas daninhas objetivam a obtenção de herbicidas que sejam mais eficazes, mais seguros para o homem e para o meio ambiente. Também são áreas de interesse, dentre outras, o controle biológico, a alelopatia, bem como a tecnologia de aplicação de herbicidas, que tem evoluído muito nos últimos anos (SILVA *et al.*, 2007).

A utilização de herbicidas visa a aumentar os rendimentos no setor agrícola, sendo uma componente chave no manejo integrado de plantas daninhas. Sem o uso dos herbicidas, a mão-de-obra corresponderia ao principal custo da produção (MACIAS *et al.*, 2000).

3. Resistência das Plantas Daninhas aos Herbicidas

Devido à maior facilidade no controle de plantas daninhas e por proporcionarem uma diminuição nos custos de produção, os herbicidas têm sido utilizados de forma indiscriminada. Como consequência, o uso inadequado dessas substâncias provocou incidência crescente de resistência nas plantas daninhas (SAXENA e PANDEY, 2001).

A aplicação de um mesmo herbicida repetidas vezes exerce uma pressão de seleção que leva ao aumento do número de indivíduos resistentes na população. Consequentemente, a população de plantas resistentes pode aumentar até o ponto de comprometer o nível de controle (HRAC, 1998).

A Weed Science Society of America (WSSA, 2006) definiu resistência de plantas daninhas a herbicidas como “a habilidade de uma planta sobreviver e reproduzir após exposição a uma dose de herbicida normalmente letal para o biótipo selvagem da planta” Está implícito nesta definição que a característica de resistência a herbicidas de uma planta pode ser de ocorrência natural (selecionada em populações de plantas daninhas de ocorrência natural no campo) ou induzida por técnicas como engenharia genética ou seleção de variantes, produzidas por culturas de tecidos ou mutagenesis (CHRISTOFFOLETI, 2008).

Existem pelo menos três mecanismos gerais que podem explicar o desenvolvimento de resistência a herbicidas e influenciar o modo de ação destes compostos: a) perda de afinidade do herbicida pelo local de ação na enzima; b) desintoxicação ou metabolização do herbicida a substâncias

menos fitotóxicas; c) redução da concentração do herbicida no local de ação, absorção foliar e/ou translocação do herbicida pelo biótipo resistente (sequestro ou compartimentalização). Dentre as pesquisas desenvolvidas sobre este fenômeno no Brasil, são poucos os trabalhos relacionados com as causas fisiológicas e/ou bioquímicas do desenvolvimento de biótipos resistentes de plantas daninhas (CHRISTOFFOLETI, 2008).

O primeiro caso de resistência foi registrado há pouco mais de 50 anos e já existem mais de 311 biótipos de plantas, no mundo, que apresentam resistência a um ou mais herbicidas (SILVA *et al.*, 2007). Os primeiros casos de resistência de plantas daninhas no Brasil foram documentados em 1996, para as espécies *Bidens pilosa*, *Euphorbia heterophylla* e *Brachiaria plantaginea*, envolvendo produtos inibidores das enzimas acetolactato sintase (ALS) e acetilcoenzima A carboxilase (ACCCase). Atualmente, observam-se frequentes relatos sobre manifestações de resistência pelos agentes de assistência técnica. É possível que esteja havendo uma aceleração no processo de disseminação de biótipos resistentes (GAZZIERO *et al.*, 2003).

A resistência de plantas daninhas é um fenômeno em evolução no Brasil e afeta a produção agrícola devido às dificuldades que ela proporciona no manejo das espécies daninhas. A resistência, em certos casos, pode inviabilizar o uso de determinados herbicidas. Desse modo, há necessidade de implantação de outros métodos de controle, que na maioria das vezes são menos eficientes, chegando a afetar a produtividade da cultura e o custo do seu manejo. Portanto, o problema da resistência de plantas daninhas aos herbicidas pode ser minimizado por meio do uso de estratégias alternativas, associadas ao emprego de outros métodos de controle. Somente pelo manejo racional, com emprego de vários métodos de controle, é que a resistência poderá ser combatida, e a probabilidade do surgimento de novos casos minimizada (VARGAS *et al.*, 2007).

4. Novos Herbicidas a partir de Metabólitos Secundários

O problema da resistência de plantas daninhas e as constantes preocupações com o meio ambiente motivam a busca por novos agentes químicos de controle de plantas daninhas (MACÍAS *et al.*, 2000). Dentro deste contexto, os metabólitos secundários podem ser considerados uma

alternativa. Metabólitos secundários produzidos e liberados por plantas, bactérias e fungos estão envolvidos numa variedade de processos ecológicos, nomeadamente como semioquímicos e aleloquímicos. Adicionalmente, além das suas possíveis funções ecológicas, muitos metabólitos secundários são fitotóxicos, constituindo uma fonte relativamente inexplorada de novos herbicidas (DIAS e DIAS, 2007).

Um dos principais atrativos para a utilização dos metabólitos secundários na busca por novos herbicidas reside na possibilidade de obtenção de novas moléculas que atuam sobre novos sítios de ação, alternativos aos dos atuais herbicidas (DUKE *et al.*, 2000a,b). Um exemplo que pode ser usado para corroborar tal afirmação é a cinmetilina, um herbicida análogo aos monoterpenos naturais 1,4-cineol e 1,8-cineol (eucaliptol). Na cinmetilina, a cadeia lateral benzil-éter reduz a volatilidade da substância, comparativamente ao 1,8-cineol, tornando-a mais apropriada como herbicida (Figura 3). O modo de ação da cinmetilina ainda não é completamente conhecido, mas há evidências experimentais de que esta substância pode atuar como um pró-herbicida. Neste caso, a quebra da cadeia lateral origina o derivado hidroxilado 2-hidroxi-1,4-cineol que atua inibindo a enzima asparagina sintetase, que corresponde a um novo sítio de ação dos herbicidas. A pesquisa de compostos do metabolismo secundário com atividade herbicida tem sido geralmente feita através da prospecção de grupos de espécies e cultivares, seguida ou não pelo isolamento e identificação dos compostos ativos (ROMAGNI *et al.*, 2000; DIAS e DIAS, 2007).

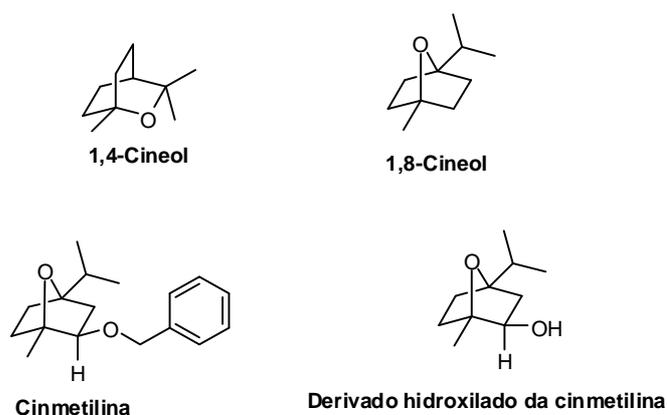


Figura 3 - Estruturas químicas dos monoterpenos 1,4-cineol, 1,8-cineol e derivados.

O organofosforado bialafos (também conhecido como fosfonotriacilalanil alanina) é um tripeptídeo obtido da fermentação do actomiceto *Streptomyces hygroscopicus*, atualmente utilizado como herbicida. O bialafos é um pró-herbicida, sendo convertido nas plantas daninhas no ingrediente ativo L-fosfonotricina (Figura 4). A substância fosfonotricina é também produzida sinteticamente como racemato (L- e D-fosfonotricina) e comercializada em forma de sal de amônio. Essa formulação, conhecida como glufosinato, é comercializada com uma variedade de nomes, tais como: Liberty[®], Basta[®], Ignite[®], Challenge[®], etc (BARBOSA *et al.*, 2008; DAYAN *et al.*, 2009).

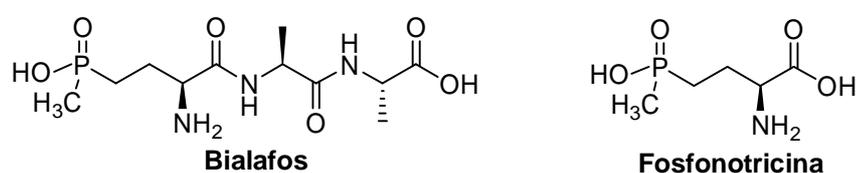


Figura 4 – Estruturas das substâncias bialafos e fosfonotricina.

A relevância ecológica dos metabólitos secundários no tocante à fitotoxicidade está bem estabelecida (DIAS e DIAS, 2007). Assim, eles constituem uma fonte inspiradora para a obtenção de novos herbicidas, quer para uso direto ou como substâncias-modelo para a síntese de novos agroquímicos.

5. Atividade Fitotóxica dos Análogos aos Nostoclídeos

Os nostoclídeos I e II (Figura 5) são metabólitos secundários que vêm sendo utilizados como compostos-modelo na busca por novos herbicidas (TEIXEIRA, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2008; ROCHA, 2007; BARBOSA *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2009).

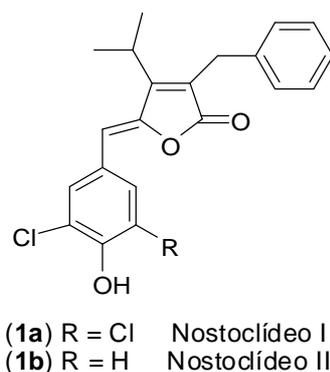


Figura 5 - Estrutura dos Nostoclídeos I e II.

Esses metabólitos foram isolados a partir de uma alga verde-azul, *Nostoc sp.*, encontrada em um líquen denominado *Peltigera canina* (XUEMIN *et al.*, 1993). Eles pertencem a uma família de compostos naturais conhecidos genericamente como *g*-alquilidenobutenólídeos.

Os butenólídeos correspondem a *g*-lactonas insaturadas, podendo apresentar os anéis furan-2(5*H*)-ona (**2a**) e furan-2(3*H*)-ona (**2b**) (Figura 6). Diversos compostos contendo a unidade estrutural furan-2-(5*H*)-ona (**2a**) apresentam diversas atividades biológicas, tais como antioxidante, antiinflamatório, antitumoral, anti-HIV, antimicrobiana, antifúngica, fitotóxica, etc. (SOUZA, 2006).

Dentre os butenólídeos, as substâncias que apresentam a estrutura geral **3** são conhecidas genericamente como *g*-alquilidenobutenólídeos (Figura 6).

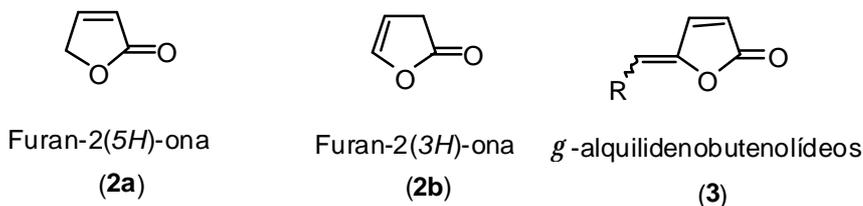


Figura 6 - Estruturas dos butenólídeos (**2a** e **2b**) e estrutura geral dos *g*-alquilidenobutenólídeos (**3**).

Diversos compostos da classe dos *g*-alquilidenobutenólídeos já foram isolados de diferentes fontes naturais e apresentaram importantes atividades biológicas. A xerulina e seus derivados, os rubrolídeos, o lissoclinolídeo, os goniobutenólídeos, além dos nostoclídeos (**1**) mencionados previamente, são exemplos desta classe de compostos.

Os compostos xerulina (**4a**), ácido xerulínico (**4b**) e deidroxerulina (**5**), isoladas a partir de culturas de *Xerula melanotricha*, causam inibição na síntese do colesterol (Figura 7) (KUHNT *et al.*, 1990).

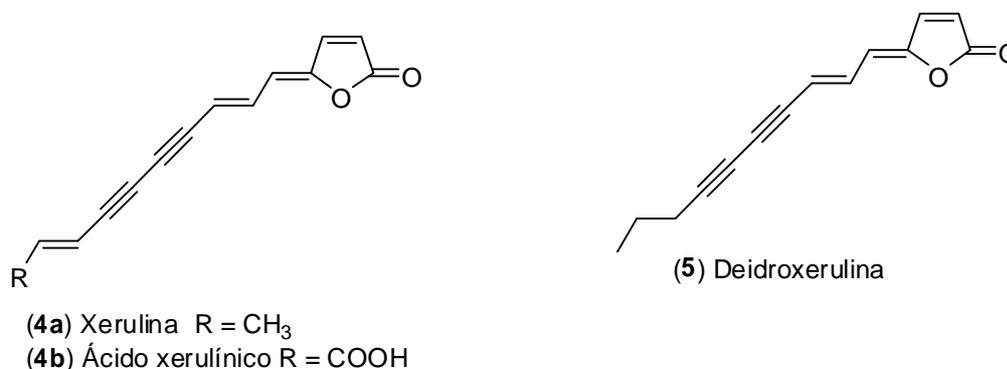
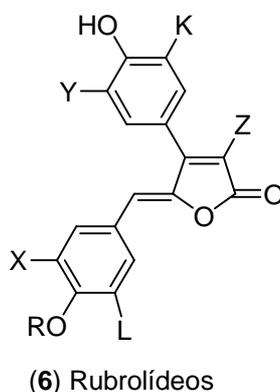


Figura 7 - Estrutura da xerulina e derivados.

Os rubrolídeos (**6a-d**) (Figura 8) são metabólitos secundários isolados das espécies *Ritterella rubra* e *Synoicum blochmanni* e apresentam atividade antimicrobiana (MIAO e ANDERSEN, 1991; BELLINA *et al.*, 2001).



Rubrolídeo A: (**6a**) R=Z=H; K=L=X=Y=Br
 Rubrolídeo B: (**6b**) R=H; K=L=X=Y=Br; Z=Cl
 Rubrolídeo C: (**6c**) R=K=Y=Z=H; L=X=Br
 Rubrolídeo D: (**6d**) R=L=X=Z=H; K=Y=Br

Figura 8 - Estrutura dos rubrolídeos A-D.

O lissoclinólídeo (**7**) foi isolado a partir de *Lissoclinum patella* e exibe atividade antitumoral *in vitro* (RICHARDSON e IRELAND, 2004). Os

compostos goniobutenolídeos A (**8a**) e B (**8b**) apresentam atividade citotóxica (Figura 9) (FANG *et al.*, 1991; KOTORA e NEGISHI, 1996).

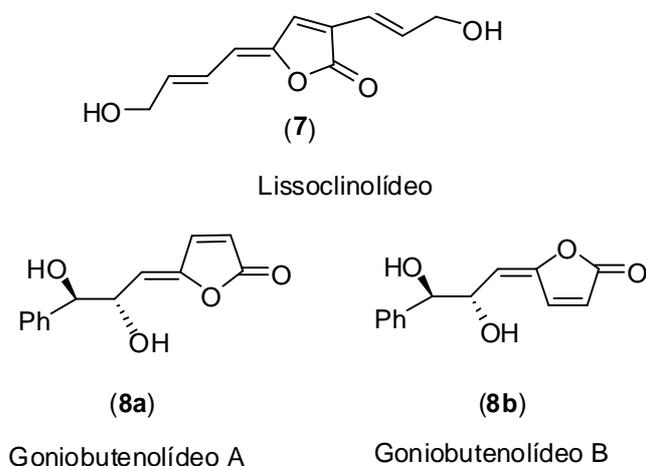


Figura 9 - Estrutura do lissoclinolídeo e dos goniobutenolídeos.

A cianobacterina (**9**) (Figura 10), isolada da alga verde-azul *Scytonema hofmanni*, é um composto fitotóxico (PIGNATELLO *et al.*, 1983) que atua na inibição do transporte de elétrons no fotossistema II da fotossíntese. A cianobacterina apresenta elevada toxicidade para cianobactérias na concentração de $5 \mu\text{mol L}^{-1}$, além de inibir o crescimento de muitas algas eucarióticas e diversas espécies de monocotiledôneas e dicotiledôneas (GLEASON e PORWOLL, 1986; GLEASON, 1990).

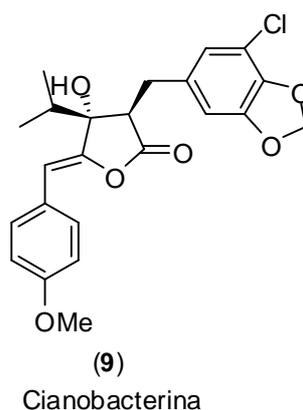


Figura 10 - Estrutura da cianobacterina.

Uma análise da estrutura da cianobacterina e dos nostoclídeos revela que estas substâncias são estruturalmente semelhantes. Considerando-se este fato e a comprovada fitotoxicidade da cianobacterina, decidiu-se

investigar a possível fitotoxicidade relacionada aos nostoclídeos. Trabalhos publicados recentemente na literatura relatam a síntese e a avaliação da atividade fitotóxica de 55 análogos aos nostoclídeos, apresentando as estruturas gerais mostradas na Figura 11 (TEIXEIRA, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2008; ROCHA, 2007; BARBOSA *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2009).

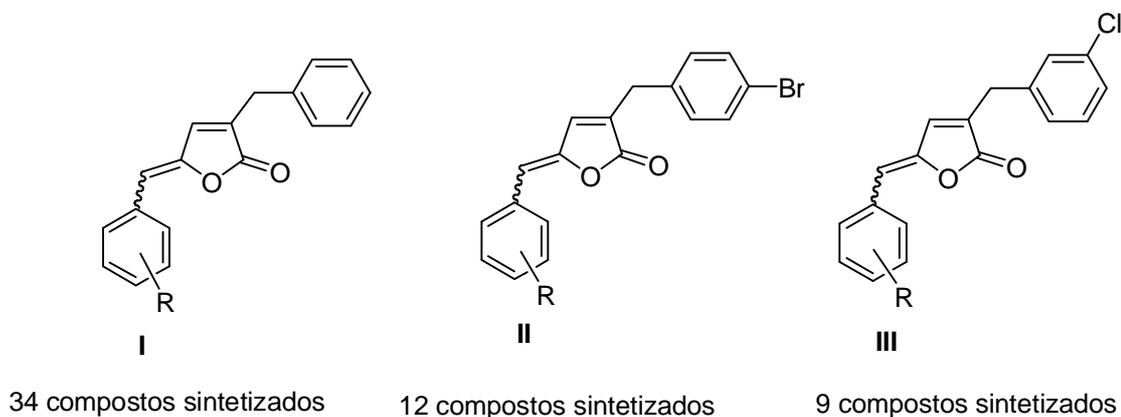


Figura 11 - Estruturas gerais de diferentes análogos aos nostoclídeos sintetizados.

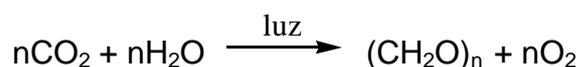
Vários análogos dos tipos **I** e **II** são capazes de inibir o transporte de elétrons *in vitro*, dirigido da água para o aceptor não biológico ferricianeto de potássio ($K_3Fe[CN]_6$), em cloroplastos isolados de espinafre (reação de Hill) (TEIXEIRA, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2008; ROCHA, 2007; BARBOSA *et al.*, 2007). Aspectos relevantes do processo de fotossíntese e da reação de Hill serão discutidos posteriormente. Além disso, demonstrou-se que os compostos do tipo **III** apresentaram efeito inibitório sobre o crescimento de plântulas de *Sorghum bicolor* (sorgo) e *Cucumis sativus* (pepino) (BARBOSA *et al.*, 2009). Cabe destacar que os análogos dos tipos **I**, **II** e **III** já sintetizados e descritos na literatura são desprovidos do grupo isopropila, uma simplificação estrutural em relação aos nostoclídeos (**1**) (Figura 5).

Embora se tenha demonstrado a fitotoxicidade desses vários compostos, um estudo quantitativo da correlação entre sua atividade biológica e sua estrutura química seria relevante a fim de que se possa entender os diferentes parâmetros ligados à atividade fitotóxica dessas substâncias, possibilitando assim um planejamento racional no tocante à síntese de novos compostos que apresentem melhoria da atividade biológica.

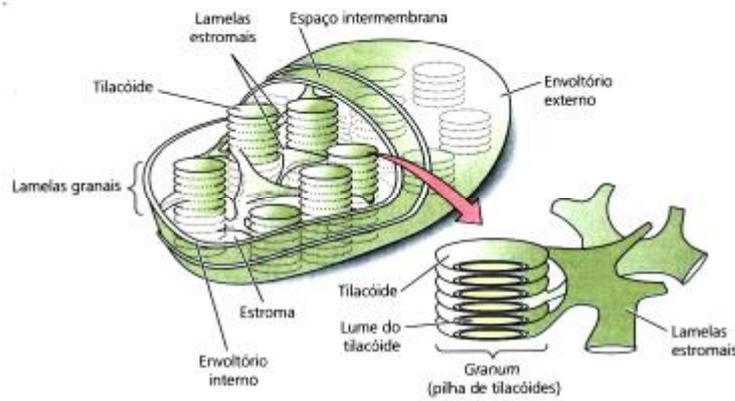
6. Fotossíntese e Reação de Hill

A captação da energia solar pelos organismos fotossintéticos e sua conversão em energia química nos compostos orgânicos reduzidos são a fonte fundamental de quase toda a energia biológica. Os organismos fotossintéticos captam a energia solar e sintetizam ATP e NADPH, que usam como fonte de energia para sintetizar carboidratos e outros compostos orgânicos a partir de CO₂ e H₂O. Simultaneamente, eles liberam O₂ na atmosfera. Os seres heterotróficos aeróbicos usam o O₂ assim formado para degradar os produtos orgânicos energeticamente ricos da fotossíntese até CO₂ e H₂O, gerando ATP para suas próprias atividades. O CO₂ formado pela respiração nos heterotróficos retorna à atmosfera para ser usado novamente pelos organismos fotossintéticos. Dessa forma, a energia solar fornece a força que impulsiona a reciclagem contínua de CO₂ e O₂ atmosféricos através da biosfera e fornece os substratos reduzidos, combustíveis, como a glicose, da qual dependem os organismos que não fazem a fotossíntese (LEHNINGER, 1991).

A equação geral para a fotossíntese nas plantas vasculares descreve uma reação de oxirredução em que a água doa elétrons (como hidrogênio) para a redução do CO₂ até carboidrato (CH₂O)_n:



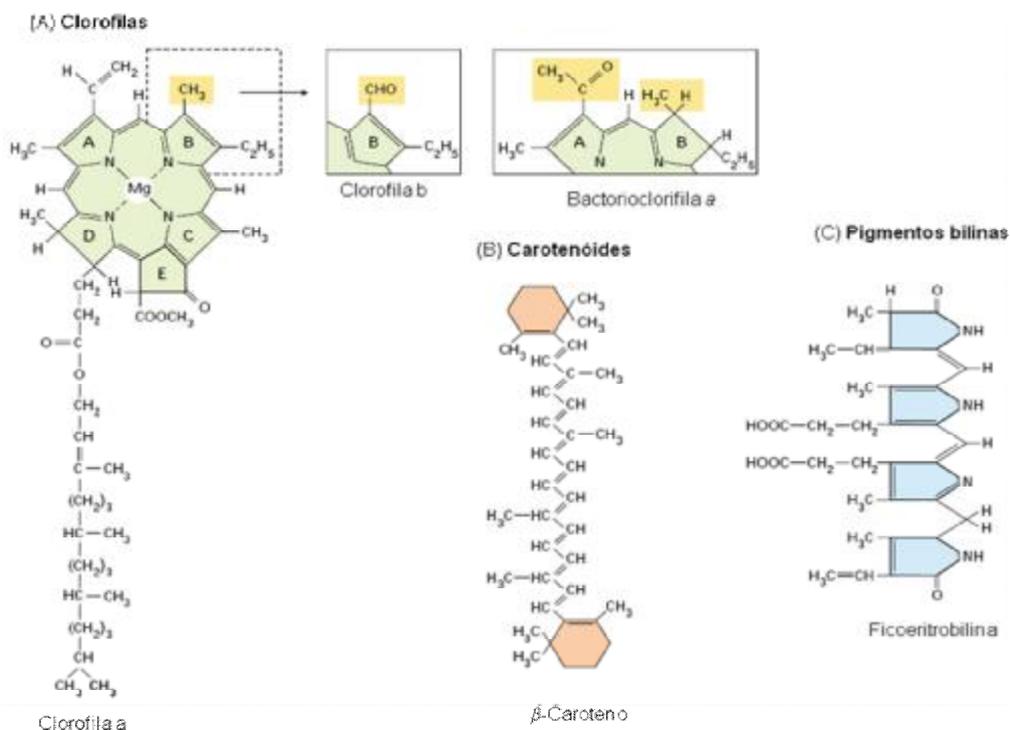
Nas células eucarióticas fotossintéticas, tanto as reações dependentes da luz como as de fixação do carbono ocorrem nos cloroplastos, que são organelas intracelulares (Figura 12). Essas organelas apresentam duas membranas, uma externa, que é permeável a pequenas moléculas e íons, e uma interna, que encerra o compartimento interno, onde se encontram os tilacoides, usualmente arranjados em pilhas denominadas de *granum*. Embebidos nas membranas dos tilacoides estão os pigmentos fotossintéticos e os complexos enzimáticos que promovem a síntese do ATP. O estroma (fase aquosa envolvida pela membrana interna) contém a maioria das enzimas requeridas para as reações de assimilação do carbono (LEHNINGER, 1991).



Fonte: Taiz e Zeiger (2009).

Figura 12 – Estrutura dos cloroplastos.

No processo de fotossíntese, a energia solar é primeiramente absorvida pelos pigmentos da plantas, que se encontram nos cloroplastos, conforme já mencionado. As estruturas de alguns desses pigmentos estão mostradas na Figura 13. As clorofilas *a* e *b* são abundantes nas plantas verdes, os carotenoides são encontrados em todos os organismos fotossintéticos e os pigmentos bilinas são encontrados nas cianobactérias e nas algas vermelhas (TAIZ e ZEIGER, 2009).



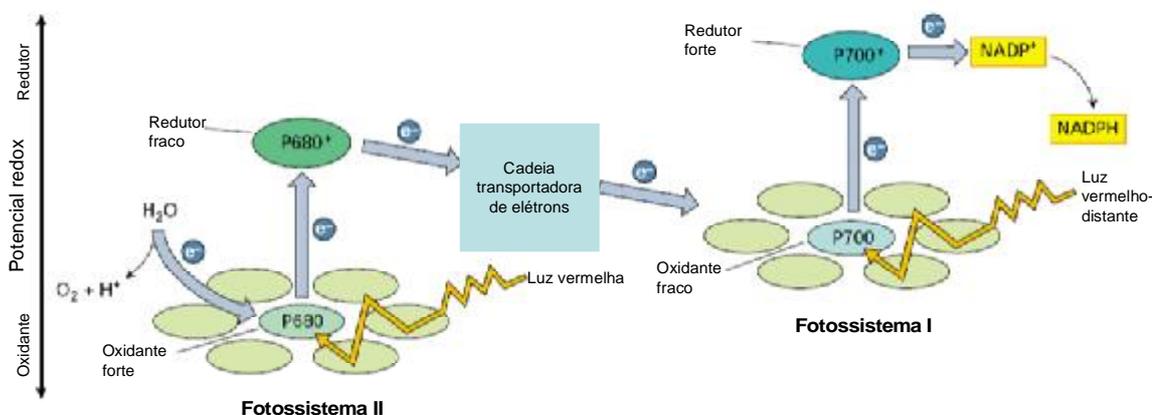
Fonte: Taiz e Zeiger (2009)

Figura 13 – Estrutura molecular de alguns pigmentos fotossintéticos.

O processo global da fotossíntese é uma reação química redox, na qual, elétrons são removidos de uma espécie química oxidando-a, e adicionalmente à outra espécie, reduzindo-a (LEHNINGER, 1991).

Nas plantas, dois centros de reação atuam em sequência para catalisar o movimento dos elétrons impulsionados pela luz da H_2O para o $NADP^+$. As membranas dos cloroplastos apresentam dois tipos diferentes de fotossistemas, cada um com seu próprio centro de reação. Os dois sistemas possuem funções distintas e complementares. O fotossistema II é um sistema de feotina-quinona que contém quantidades iguais de clorofila *a* e *b*. A excitação do centro de reação P680 impulsiona os elétrons através do complexo do citocromo *b₆f* com o movimento concomitante dos prótons através das membranas do tilacoide. O fotossistema I apresenta um centro de reação denominado P700 e uma proporção elevada de clorofila *a* em relação à *b*. O Esquema Z (Figura 14) mostra a via do fluxo de elétrons entre os dois fotossistemas e as relações de energia nas reações luminosas (LEHNINGER, 1991).

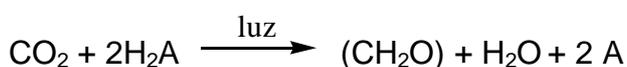
A luz vermelha absorvida pelo fotossistema II produz um oxidante forte e um redutor fraco. A luz vermelho-distante absorvida pelo fotossistema I produz um oxidante fraco e um redutor forte. O oxidante forte gerado pelo fotossistema II oxida a água, enquanto o redutor forte produzido pelo fotossistema I reduz o $NADP^+$. O esquema Z é básico para a compreensão do transporte de elétrons da fotossíntese. O P680 e o P700 referem-se ao comprimento de onda de máxima absorção das clorofilas do centro de reação no fotossistema II e I, respectivamente (TAIZ e ZEIGER, 2009).



Fonte: Taiz e Zeiger (2009).

Figura 14 –Esquema Z da fotossíntese.

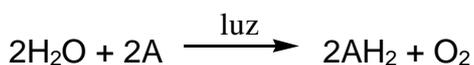
Até por volta de 1930, muitos pesquisadores acreditavam que a reação primária da fotossíntese se iniciava pela quebra do dióxido de carbono pela luz em carbono e oxigênio; subsequentemente, o carbono seria reduzido a carboidratos pela água, numa série de outras reações. Essa ideia foi modificada na década de 30, quando se descobriu que diversas bactérias eram capazes de assimilar CO₂ e sintetizar carboidratos sem o uso de energia luminosa. O microbiologista van Niel fez estudos com bactérias e demonstrou que certas bactérias podem assimilar CO₂ na presença de luz sem liberar O₂. Tais bactérias não cresciam fotossinteticamente a menos que fossem supridas com adequado substrato doador de hidrogênio. De acordo com van Niel, a fotossíntese poderia ser representada pela equação geral (HALL e RAO, 1980):



em que H₂A é o substrato oxidável. Van Niel sugeriu que a fotossíntese das algas e plantas verdes é um caso especial em que H₂A é H₂O e 2A é O₂.

A segunda observação importante foi feita em 1937 por Robert Hill, da Universidade de Cambridge. Esse pesquisador conseguiu isolar cloroplastos de folhas verdes usando centrifugação diferencial. Os cloroplastos de Hill não liberavam O₂ quando iluminados (devido aos possíveis danos aos cloroplastos ocorridos durante o processo de isolamento), mas o faziam se certas substâncias fossem adicionadas à suspensão iluminada. Tais substâncias eram aceptoras de elétrons (oxidantes), como o ferrioxalato de potássio ou o ferricianeto de potássio. Mais tarde, descobriu-se que muitas quinonas e corantes eram reduzidos por cloroplastos iluminados. Entretanto, os cloroplastos deixavam de reduzir o CO₂, o aceptor natural de elétrons da fotossíntese. Esse fenômeno, conhecido como reação de Hill, é definido como uma transferência de elétrons, dirigida pela luz, da água para oxidantes não-fisiológicos (reagentes de Hill). A importância da reação de Hill repousa na demonstração do fato de que na fotossíntese a liberação fotoquímica de O₂ pode ser separada da redução de CO₂ (HALL e RAO, 1980).

A reação de Hill pode ser representada pela equação abaixo:



em que A é o receptor artificial de hidrogênio, ou reagente de Hill.

Um dos reagentes de Hill, o corante 2,6-diclorofenolindofenol, é azul quando oxidado (A) e incolor quando reduzido (AH₂), e seu uso na reação de Hill permite que ela possa ser acompanhada por métodos espectrofotométricos (Figura 15). Quando o extrato de folha suplementado com o corante é iluminado, o corante azul torna-se incolor e ocorre a produção de O₂. No escuro, não ocorre nem a produção de O₂ nem a redução do corante. O progresso da reação de Hill pode também ser monitorado empregando-se um eletrodo capaz de determinar a quantidade de oxigênio liberada (LEHNINGER, 1991).

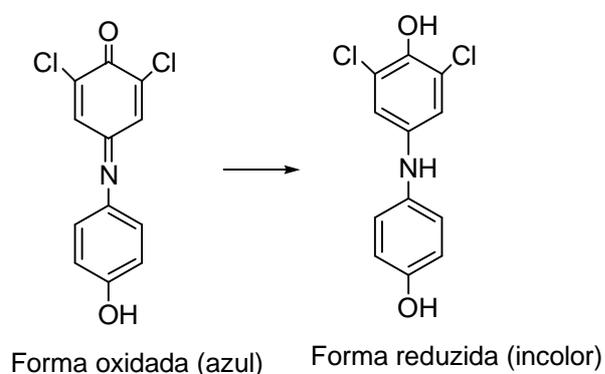


Figura 15 – Formas oxidada e reduzida do corante 2,6-diclorofenolindofenol.

A reação de Hill tem sido utilizada para avaliar a habilidade que certas substâncias possuem de interferir ou não na fotossíntese. Isso porque substâncias que inibem a reação de Hill geralmente provocam inibição do processo de fotossíntese em plantas e podem ser consideradas estruturas-modelo para o desenvolvimento de novos herbicidas (HANSCH e LEO, 1995).

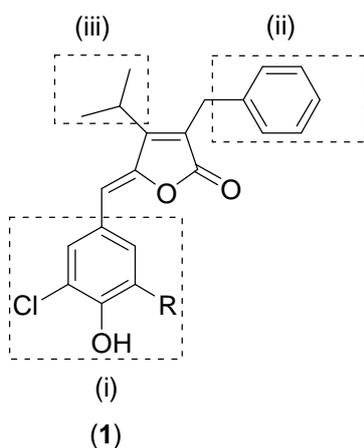
7. Justificativa do trabalho

Conforme destacado anteriormente, os nostoclídeos vêm sendo utilizados como compostos-modelo objetivando a descoberta de novos herbicidas. Na presente pesquisa, buscou-se um entendimento dos diferentes parâmetros envolvidos na correlação entre estrutura de diferentes análogos aos nostoclídeos já descritos na literatura e a atividade biológica (capacidade dos análogos de interferir com o transporte de elétrons em cloroplastos isolados de espinafre) destes compostos. Para tal propósito, foi usado o *software* CODESSA (*COmprehensive DEscriptores for Structural and Statistical Analysis*).

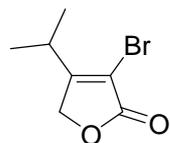
Entretanto, conforme foi também previamente mencionado, os derivados sintetizados apresentam uma simplificação estrutural (ausência do grupo isopropila) em relação aos nostoclídeos (**1**). É um fato conhecido que simplificações estruturais podem, ou não, alterar a atividade biológica. Assim, torna-se relevante a avaliação do impacto do grupo isopropila no tocante à atividade fitotóxica de análogos aos nostoclídeos.

A estrutura dos nostoclídeos (**1**) apresenta três regiões moleculares, denominadas i, ii e iii mostradas no Esquema 1, que podem ser modificadas visando à obtenção de análogos. Neste trabalho, foram também desenvolvidas metodologias para as sínteses dos compostos 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona e 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (Esquema 1). Este último composto, intermediário na síntese dos nostoclídeos I e II (**1a** e **1b**), foi utilizado na síntese de novos α -alquilidenobutenólídeos, variando o padrão de substituição da região (i).

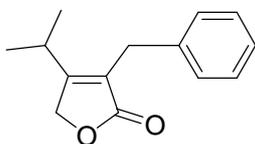
Compostos pertencentes à classe das 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas (Esquema 1) foram também sintetizados com vistas à avaliação da atividade fitotóxica dessas novas substâncias.



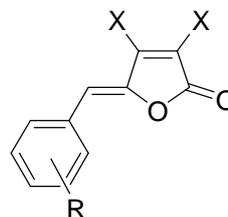
Nostoclídeos I R=Cl; (**1a**)
 Nostoclídeo II R=H; (**1b**)



3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona



3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona



3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas
 X = Cl ou Br

Esquema 1 - Regiões da molécula dos nostoclídeos I e II que podem ser modificadas para a obtenção de novas substâncias análogas e os compostos 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona e 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona. Estrutura geral dos compostos 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas.

CAPÍTULO 1

ESTUDO DA RELAÇÃO QUANTITATIVA ESTRUTURA QUÍMICA- ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS ANÁLOGOS AOS NOSTOCLÍDEOS

1. Estudo da Relação Quantitativa Estrutura-Atividade de Substâncias Bioativas (QSAR): Aspectos Históricos

As pesquisas na área de QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationships*) têm como principal objetivo a construção de modelos matemáticos que relacionem a estrutura química e a atividade biológica de uma série de compostos análogos. Em geral, esses compostos diferem entre si pela presença de um ou mais grupos substituintes em posições definidas da estrutura química comum da série. A construção dos modelos requer a elaboração de um conjunto ou matriz de dados contendo a medida quantitativa da atividade biológica e os parâmetros físico-químicos e estruturais capazes de descrever as propriedades dos compostos (FERREIRA *et al.*, 2002).

O estudo quantitativo da relação estrutura-atividade (QSAR) estabelece uma relação matemática, sob a forma de uma equação, entre a atividade biológica e os parâmetros físico-químicos mensuráveis que influenciam a atividade biológica de uma classe de compostos (NETO *et al.*, 2006).

Nos últimos 40 anos, vêm sendo desenvolvidos estudos de QSAR, sendo descritos na literatura inúmeros trabalhos aplicados na área de agroquímicos, fármacos e estudos de toxicologia (SELASSIE, 2003).

A descrição quantitativa das relações existentes entre a estrutura química de moléculas e sua atividade biológica permite determinar as

propriedades físico-químicas desejadas na obtenção de moléculas potencialmente mais ativas e planejar a síntese dessas novas substâncias.

O estudo de QSAR iniciou-se há mais de um século em 1870, quando Crum-Brown e Fraser propuseram que a resposta biológica de uma determinada substância se relaciona com sua estrutura química. Poucas décadas depois, em 1893, Richet mostrou que a citotoxicidade de diversas moléculas orgânicas demonstraram-se inversamente relacionada com a solubilidade dessas substâncias em água (SELASSIE, 2003).

No início do século 20, Meyer e Overton, independentemente, determinaram o coeficiente de partição óleo/água para substâncias narcóticas. Foi constatada uma relação proporcional entre a intensificação do efeito dos narcóticos e o aumento do coeficiente de partição clorofórmio/água. (KUBINYI, 1993). Ferguson, em 1939, introduziu os conceitos termodinâmicos para fundamentar o conceito de coeficiente de partição, contribuindo para classificar de forma geral o modo de ação de fármacos (KUBINYI, 1993).

Hammett, em seu clássico trabalho “Physical Organic Chemistry: reactions, equilibria and mechanisms”, publicado em 1940, estudou a ionização de ácidos benzoicos *meta* ou *para*-substituídos em água a 25 °C, demonstrando, pela primeira vez, a ocorrência de relação linear entre os logaritmos das constantes de ionização de ácidos benzoicos substituídos e o logaritmo da constante de ionização do ácido benzoico (TAVARES, 2004).

Contudo, grandes avanços na área de QSAR ocorreram a partir de um trabalho publicado em 1964 por Hansch e Fujita. Neste estudo, as relações quantitativas entre estrutura química e atividade biológica foram expressas pela Equação 1, atualmente conhecida como *Análise de Hansch* (SELASSIE, 2003).

$$\text{Log } 1/C = a \text{ Log } P + \rho \sigma + b \quad \text{Equação 1}$$

Em que:

C = concentração em mol L⁻¹ que produz determinado efeito biológico;

Log 1/C = a atividade biológica;

Log P = logaritmo do coeficiente de partição;

σ = constante de grupo; e

a, ρ e b = são coeficientes determinados pela análise de regressão para o conjunto de dados.

O próprio Hansch, revendo seus estudos, propôs a extensão do modelo linear, Equação 1, para o modelo parabólico, Equação 2, pela introdução de termo quadrático relacionado à hidrofobicidade. A ideia envolvida na concepção deste modelo é que a atividade biológica depende linearmente das propriedades físico-químicas somente dentro de certos limites e, por outro lado, moléculas muito hidrofílicas não são capazes de atravessar barreiras muito hidrofóbicas ou vice-versa. Assim, considerando a farmacocinética (dinâmica da absorção, distribuição e eliminação das drogas), este modelo estaria mais próximo do que ocorre na biofase, expressando mais adequadamente o crescimento da atividade biológica com a hidrofobicidade até um máximo, a partir do qual, com o aumento desta propriedade, a atividade biológica tende a decrescer, descrevendo o perfil parabólico da curva (TAVARES, 2004).

$$\text{Log } 1/C = a (\text{Log}P)^2 + b \text{Log } P + \rho\sigma + c \quad \text{Equação 2}$$

A *Análise de Hansch/Fujita* se aplica a estudos de séries de compostos que apresentam estruturas químicas similares, sendo que, em linhas gerais, tais estruturas diferem entre si por variações de grupos substituintes em posições definidas (MASUNARI e TAVARES, 2006). Conforme mencionado anteriormente, a resposta biológica está intrinsecamente relacionada às propriedades físico-químicas dos compostos, sendo as mais importantes a distribuição eletrônica, a hidrofobicidade e a topologia das substâncias sob investigação.

2. Modelagem Molecular

A necessidade de representar a estrutura da matéria no nível molecular levou ao desenvolvimento de uma nova área de pesquisa dentro da física e da química, conhecida como modelagem molecular. O reconhecimento desta nova área de pesquisa pelo mundo científico veio com o prêmio Nobel em Química em 1998 concedido a John Pople e Walter Kohn, pelas contribuições

no desenvolvimento da química computacional e modelagem molecular (SANTOS, 2001).

A modelagem molecular consiste em um conjunto de ferramentas para a construção, edição e visualização, análise e armazenamento de sistemas moleculares complexos. Estas ferramentas podem ser aplicadas, por exemplo, em estratégias de modelagem direta e indireta de novos fármacos e agroquímicos. Na primeira aproximação, faz-se o ajuste da substância bioativa a uma estrutura conhecida do receptor, por exemplo, através de dados de cristalografia de raios-X ou de ressonância magnética nuclear (RMN). Na segunda aproximação, faz-se a análise comparativa das estruturas de moléculas bioativas e de moléculas inativas ao nível de um determinado bioreceptor, utilizando-se o conceito de complementaridade para o desenvolvimento de um modelo topográfico (BARREIRO e RODRIGUES, 1997).

O grande desenvolvimento da modelagem molecular deveu-se, em grande parte, aos avanços dos recursos computacionais em termos de *hardware* (velocidade de cálculo) e *software* (programas de modelagem molecular) (RODRIGUES, 2001).

A modelagem molecular permite a obtenção de propriedades específicas de uma molécula, como, por exemplo, o mapa de potencial eletrostático, o contorno da densidade eletrônica e a energia e os coeficientes dos orbitais de fronteira HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e do LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) etc. Uma maior energia do HOMO está correlacionada com uma maior probabilidade de doar elétrons, enquanto a menor energia do LUMO está relacionada a uma maior facilidade em aceitar elétrons (BARREIRO e RODRIGUES, 1997).

A modelagem molecular também permite a visualização tridimensional (3D) do complexo substância bioativa-receptor, fornecendo informações sobre os requisitos estruturais essenciais que permitem uma interação adequada no seu sítio receptor. Esta ferramenta também tem o potencial de planejar, teoricamente, novas moléculas que satisfaçam as propriedades eletrônicas e estruturais para um perfeito encaixe no sítio receptor (RODRIGUES, 2001).

A maioria dos programas de modelagem molecular é capaz de desenhar a estrutura molecular e realizar os cálculos de otimização geométrica e estudos de análise conformacional (RODRIGUES, 2001).

3. Software CODESSA e Estudos de QSAR/QSPR

Desde os estudos pioneiros de Hansch e Fujita na área de QSAR, várias abordagens foram desenvolvidas para o entendimento da correlação estrutura de compostos bioativos-atividade biológica. Dentre estas diferentes abordagens, menciona-se a utilização do *software* CODESSA (*COmprehensive DEscriptores for Structural and Statistical Analysis*). Desenvolvido graças a uma colaboração entre os grupos de pesquisa do *Center of Heterocyclic Chemistry* (coordenado pelo Dr. Alan Katritzky, University of Florida, Estados Unidos) e do *Institute of Chemical Physics* (coordenado pelo Dr. Mati Karelson, University of Turta, Estônia), este *software* vem sendo amplamente utilizado em estudos de correlação quantitativa estrutura-atividade (QSAR) e correlação quantitativa entre estrutura-propriedade (QSPR). Mais de 200 trabalhos já foram descritos na literatura que utilizaram o *software* CODESSA (SEMICHEM, 2008).

O programa CODESSA é capaz de calcular um número relativamente grande de descritores moleculares (acima de 400) para cada um dos compostos envolvidos no estudo de QSAR/QSPR. Tais descritores podem ser classificados como constitucionais, topológicos, geométricos, eletrostáticos, químico-quânticos e termodinâmicos. Os cálculos dos diferentes descritores moleculares são realizados com base nas informações da geometria molecular e funções termodinâmicas obtidas a partir de outro *software* denominado MOPAC (KATRITZKY *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2008).

Os descritores topológicos contêm informação quanto ao número, tipo e conectividade de átomos na molécula, codificam informações a respeito do tamanho, composição e grau de ramificação. Os descritores geométricos são calculados pelas coordenadas atômicas da molécula em 3D, incluem entre eles o momento de inércia, volume molecular, área superficial da molécula e índices gravitacionais. Os descritores eletrônicos atribuem os aspectos eletrônicos das estruturas e refletem as características de distribuição de cargas na molécula. Os descritores químico-quânticos incluem informações de energias de ligação e formação, cargas atômicas parciais, momento de dipolo e níveis de energia de orbitais moleculares HOMO e LUMO (XIA *et al.*, 2008).

Uma etapa chave no desenvolvimento de um modelo matemático QSAR consiste na otimização das diferentes geometrias moleculares (análise

conformacional) dos compostos investigados. Considerando-se o *software* CODESSA, este processo de otimização pode ser inicialmente feito via cálculos semiempíricos AM1 (Austin Method 1) (DEWAR *et al.*, 1985). Uma vez que o *software* CODESSA utiliza como *input* dados do *software* MOPAC, os resultados dos cálculos semiempíricos AM1 devem ser carregados para este último *software* que realiza uma série de cálculos quanto-mecânicos. As informações referentes às geometrias e dados quanto-mecânicos assim obtidos são, então, usados como *input* no *software* CODESSA para o cálculo de diversos descritores moleculares. De posse dos descritores, métodos de regressão linear são aplicados visando à obtenção de um modelo matemático que melhor descreva a correlação estrutura-atividade (KATRITZKY *et al.*, 2004; LILL *et al.*, 2007).

Neste capítulo, serão descritos os resultados encontrados com respeito a um estudo de QSAR envolvendo compostos análogos aos nostoclídeos.

4. Materiais e Métodos

4.1. Cálculos computacionais

Os cálculos semiempíricos AM1 (DEWAR *et al.*, 1985) foram realizados no programa TITAN^{®1}, para determinação das conformações de menor energia dos compostos análogos aos nostoclídeos usados para o estudo de QSAR (vide Tabelas 1 e 4 para estrutura dos compostos). Em seguida, as estruturas foram reotimizadas empregando-se o *software* MOPAC².

Os resultados dos cálculos implementados no *software* MOPAC foram usados como *inputs* do *software* CODESSA. Mais de 400 descritores foram calculados para os compostos sob investigação no estudo de QSAR aqui descrito. De posse dos descritores e dos valores de IC₅₀ da atividade biológica (vide item 4.3.2), a matriz de dados do modelo foi construída e submetida a um processo de regressão linear, empregando-se o Método Heurístico, implementada pelo *software* CODESSA. O Método Heurístico realiza a pré-seleção dos descritores para construção do modelo linear. Suas vantagens são a alta velocidade e nenhuma limitação do *software* quanto ao tamanho da

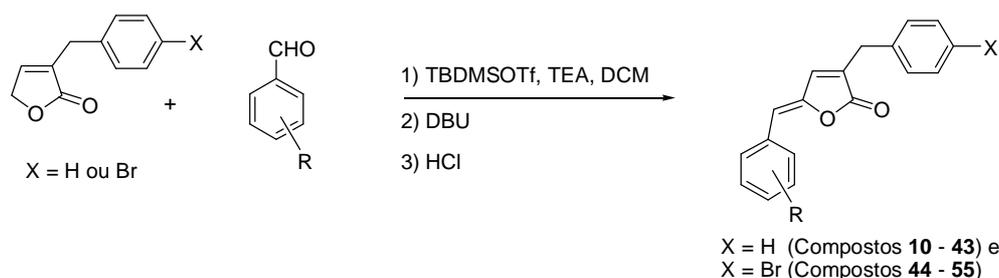
¹ Titan; version 1; Wave function Irvine, 2000.

² STEWART, J. J. P. MOPAC 6.0; QCPE N° 455, 1989.

série de dados. O método Heurístico fornece rapidamente uma boa estimativa da qualidade da correlação dos dados e deriva diversos modelos de regressão. Adicionalmente, elimina os descritores insignificantes e demonstra quais descritores estão altamente relacionados. Esta informação é muito útil, pois reduz o número de descritores nos estudos de QSAR/QSPR (LILL *et al.*, 2007; XIA *et al.*, 2008).

4.2 – Síntese das arilidenofuranonas análogas aos nostoclídeos

Os compostos **10-55**, encontrados disponíveis no laboratório, (Tabelas 1 e 4), foram sintetizados por ROCHA (2007) e TEIXEIRA (2008). A rota sintética para a obtenção destes compostos apresentou como etapa chave a reação de alquilidação entre as lactonas 3-(4-bromobenzil)furan-2(5*H*)-ona e 3-benzilfuran-2(5*H*)-ona e diferentes aldeídos aromáticos (Esquema 1).



Esquema 1 – Etapa chave na síntese dos análogos aos nostoclídeos (BARBOSA *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2008).

4.3. Determinação das concentrações inibitórias (IC₅₀) dos análogos aos nostoclídeos

4.3.1. Isolamento de cloroplastos

Cloroplastos fotossinteticamente ativos foram extraídos de folhas de espinafre (*Spinacea oleracea*), obtidas em supermercados ou feiras livres. Para o processo de extração, folhas livres da nervura central e das extremidades basal e apical foram misturadas com uma solução-tampão 20 mmol L⁻¹ de *N*-tris(hidroximetil)metilglicina (tricina)-NaOH (pH = 8,0; 5 mL de solução/g de material vegetal), previamente resfriada em banho de gelo e contendo 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂ e 0,4 mol L⁻¹ de sacarose.

Esse material foi homogeneizado em um liquidificador doméstico por 30 segundos, empregando-se velocidade máxima. O material macerado foi filtrado através de gaze cirúrgica, e o filtrado, centrifugado a 4 °C (1 minuto, 500 g). O sobrenadante foi submetido a nova centrifugação (10 minutos, 1.500 g). Os cloroplastos, contidos no precipitado, foram então ressuspensos em uma solução não-tamponada de sacarose. A suspensão foi imediatamente diluída (proporção de 1:1) com uma solução tamponada de sacarose. A nova suspensão assim obtida foi mantida em banho de gelo e abrigada da luz, sendo utilizada logo após sua preparação. Para determinação do teor de clorofila, alíquotas dessa suspensão foram pipetadas e convenientemente diluídas com acetona 80% (v/v). Após diluição, medidas de absorvância foram feitas nos comprimentos de onda de 645 e 663 nm. O conteúdo de clorofila foi calculado com base na fórmula de Arnon (HALL, 1980):

$$\text{Clorofila (mg mL}^{-1}\text{)} = 20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663}).$$

4.3.2. – Determinação dos valores de IC₅₀

Alíquotas da suspensão de cloroplastos com 20 mg de clorofila foram incubadas a 24 °C em cubetas de 1 mL contendo solução tamponada de tricina-NaOH (pH = 8,0), 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂, 0,2 mol L⁻¹ de sacarose e 1 mmol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]. A avaliação foi efetuada expondo-se a cubeta a uma luz saturante (800 mmol m⁻² s⁻¹). A taxa de redução do ferricianeto foi medida a 420 nm a cada 30 segundos durante 10 minutos e contra um branco. Atividade foi calculada sobre a porção linear da curva a partir de coeficiente de extinção molar de 1.000 M⁻¹ cm⁻¹. Nas condições adotadas, o valor para controles não-tratados foi 59,3 ± 2,0 nmol de ferricianeto reduzido s⁻¹ (mg de clorofila)⁻¹ em 36 preparações independentes de suspensões de cloroplastos.

As arilidenofuranonas análogas aos nostoclídeos **10-55** (vide Tabelas 1 e 4) foram dissolvidas em DMSO, de modo a obter soluções cujos valores de concentração foram de 25 mmol L⁻¹ ou 50 mmol L⁻¹. Em seguida, essas soluções foram convenientemente diluídas com água. A avaliação do efeito desses compostos, nas concentrações de 1, 2, 5, 10, 20, 50 e 100 μmolL⁻¹, sobre a reação de Hill, foi conduzida via adição desses compostos às

suspensões de cloroplastos preparadas como descrito no item 4.3.1. Para cada valor de concentração utilizado, os experimentos foram feitos em triplicata. Os resultados foram expressos como porcentagem dos controles não-tratados. Os valores de concentração que provocam 50% de inibição do transporte de elétrons na reação de Hill (IC_{50}) foram determinados por meio de uma regressão linear dos valores de atividade plotados contra os valores de concentração. Pelo menos três concentrações contidas na porção linear da curva sigmoide resultante, foram consideradas. Os limites de confiança dos valores de IC_{50} foram determinados segundo SNEDECOR e COCHRAN (1989).

5. Resultados e Discussão

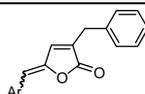
Os valores de IC_{50} e $\log IC_{50}$ obtidos a partir da avaliação *in vitro* da atividade fitotóxica de lactonas análogas aos nostoclídeos - 34 substâncias sintetizadas por Teixeira *et al.* (2008), compostos **10-43** - sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacia oleracea*, são mostrados na Tabela 1.

As substâncias de números **11, 13, 14, 18, 21, 25, 33, 37, 39-43** não apresentaram atividade inibitória significativa (valores de IC_{50} superiores a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Uma vez que valores precisos da atividade biológica não eram conhecidos, estes compostos foram excluídos da matriz de dados utilizada para a construção do modelo matemático QSAR para a descrição da relação estrutura-atividade dos compostos apresentados na Tabela 1. Assim, 21 substâncias e seus correspondentes descritores moleculares e valores de IC_{50} foram utilizados para o desenvolvimento do primeiro modelo matemático QSAR utilizando o *software* CODESSA. Cabe salientar que os descritores moleculares foram calculados com base nos resultados obtidos dos cálculos realizados no *software* MOPAC.

O melhor modelo de regressão linear obtido pelo uso do chamado método Heurístico apresentou os seguintes parâmetros estatísticos: coeficiente de correlação ($R^2 = 0,83$); critério de Fisher ($F = 23,9$); desvio padrão ao quadrado ($s^2 = 0,0288$); e coeficiente de correlação co-validado ($R^2_{cv} = 0,72$). Para a construção deste modelo, foram selecionados 3 descritores, pois para cada grupo de cinco ou seis compostos incluídos no

modelo é permitida a acomodação de uma variável (FERREIRA *et al.*, 2002). Cabe salientar que as arilidenofuranonas **17** e **22** foram selecionadas como *outliners*, ou seja, os dados referentes às estruturas destes compostos foram retirados da planilha da matriz de dados do *software* CODESSA a fim de melhorar sua linearização. Com isso, este primeiro modelo de QSAR foi obtido para um total de 19 compostos análogos aos nostoclídeos.

Tabela 1 - Avaliação *in vitro* da atividade fitotóxica de lactonas análogas aos nostoclídeos sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacia oleracea*^a



Composto	Grupo Arilideno ^c	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹) ^b	logIC ₅₀
10	benzilideno	19,7 ± 3,9	4,706
11	1,3-dioxalanobenzilideno	> 200 *	< 3,699
12	2,4,6-trimetoxibenzilideno	12,7 ± 4,4	4,896
13	4-dimetilaminobenzilideno	> 200 *	< 3,699
14	2-cloro-4-dimetilaminobenzilideno	> 200 *	< 3,699
15	2,5-dimetoxibenzilideno	19,4 ± 5,9	4,712
16	4-nitrobenzilideno	1,7 ± 0,7	5,770
17	3-bromobenzilideno	170 ± 42	3,770
18	4-metilbenzilideno	> 200 *	< 3,699
19	3-nitrobenzilideno	23,1 ± 13,3	4,636
20	3-metilbenzilideno	73,8 ± 43,3	4,132
21	4-clorobenzilideno	> 200 *	< 3,699
22	3-clorobenzilideno	44,7 ± 6,1	4,350
23	4-metoxibenzilideno	53,7 ± 21,2	4,270
24	4-fluorobenzilideno	21,9 ± 5,3	4,660
25	4-bromobenzilideno	> 200 *	< 3,699
26	3-fluorobenzilideno	20,5 ± 5,6	4,688
27	2-fluorobenzilideno	10,1 ± 3,2	4,996
28	2-clorobenzilideno	19,1 ± 7,3	4,719
29	2-metilbenzilideno	23,5 ± 7,2	4,629
30	4-etilbenzilideno	9,1 ± 3,2	5,041
31	2-bromobenzilideno	25,8 ± 7,3	4,588
32	pentafluorobenzilideno	75,1 ± 25,1	4,124
33	4-cianobenzilideno	> 200 *	< 3,699
34	4-trifluorometilbenzilideno	8,3 ± 2,3	5,081
35	3-trifluorometilbenzilideno	10,0 ± 3,6	5,000
36	2-trifluorometilbenzilideno	11,8 ± 4,5	4,928
37	3-cianobenzilideno	> 200 *	< 3,699
38	3-dimetilaminobenzilideno	13,3 ± 5,4	4,876
39	4-fenilbenzilideno	> 200 *	< 3,699
40	4-hidroxibenzilideno	> 200 *	< 3,699
41	3-hidroxibenzilideno	> 200 *	< 3,699
42	2-hidroxibenzilideno	> 200 *	< 3,699
43	3-hidroxi-4-metoxibenzilideno	> 200 *	< 3,699

^a A atividade foi avaliada como descrito no item 4.3; ^b As concentrações que causaram a inibição de 50% (IC₅₀) da atividade *in vitro* foram estimadas utilizando a equação da regressão linear dos valores da atividade *versus* o logaritmo da concentração do inibidor. Os limites de confiança foram computados de acordo com o método de Snedecor e de Cochran (1989); ^c Os compostos foram obtidos como estereoisômeros de configuração *Z* para a ligação dupla exocíclica, exceto o composto **12**, que foi obtido como estereoisômero de configuração *E*; ^d Atividade inibitória não significativa.

A Tabela 2 apresenta os valores de X e ΔX , sendo eles o coeficiente de regressão e os desvios padrão relacionados a estes coeficientes, respectivamente. Os três descritores moleculares selecionados a partir da matriz de dados do *software* CODESSA utilizados para a construção do modelo também se encontram listados nesta tabela.

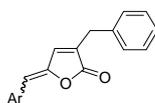
A Tabela 3 apresenta uma comparação entre os valores de $\log IC_{50}$ calculados pelo modelo descrito na Tabela 2 (valores preditos) e os valores experimentais, bem como a diferença entre eles. Conforme pode ser observado, o modelo em questão fornece uma boa concordância entre os valores preditos e aqueles obtidos experimentalmente, e a maior diferença apresentada por eles não chegou a 10%. O gráfico do modelo de regressão linear obtido para os compostos análogos aos nostoclídeos (19 estruturas) está mostrado na Figura 1.

Tabela 2 - Descritores associados ao melhor modelo de regressão linear contendo os seguintes parâmetros: N=19; $R^2 = 0,83$; F = 23,9; $s^2 = 0,0288$; $R^2_{cv} = 0,72$

Nº de Descritores	X	ΔX	Teste T	Descritor
0	4,921e+01	7,820e+00	6,293	<i>Intercept</i>
1	4,069e+00	7,428e-01	5,478	<i>Image of the Onsager-Kirkwood solvation energy</i>
2	-9,353e+00	1,837e+00	-5,092	<i>Avg bond order of a C atom</i>
3	-1,661e+01	3,577e+00	-4,643	<i>Max bonding contribution of a MO.</i>

R^2 : coeficiente de correlação; F: critério de Fisher; s^2 : desvio padrão ao quadrado; R^2_{cv} : coeficiente de correlação co-validado; N: número de substâncias.

Tabela 3 - Valores Preditos de logIC₅₀



Composto	Grupo arilideno	logIC ₅₀	logIC ₅₀	Diferença
		Pred.	Exp.	
10	benzilideno	4,816	4,706	0,110
12	2, 4,6-trimetoxibenzilideno	4,847	4,896	-0,049
15	2,5-dimetoxibenzilideno	4,488	4,712	-0,224
16	4-nitrobenzilideno	5,772	5,770	0,002
19	3-nitrobenzilideno	4,853	4,636	0,217
20	3-metilbenzilideno	4,400	4,132	0,268
23	4-metoxibenzilideno	4,166	4,270	-0,104
24	4-fluorobenzilideno	4,639	4,660	-0,021
26	3-fluorobenzilideno	4,700	4,688	0,012
27	2-fluorobenzilideno	4,970	4,996	-0,026
28	2-clorobenzilideno	4,624	4,719	-0,095
29	2-metilbenzilideno	4,713	4,629	0,084
30	4-etilbenzilideno	4,794	5,041	-0,247
31	2-bromobenzilideno	4,851	4,588	0,263
32	pentafluorobenzilideno	4,280	4,124	0,156
34	4-trifluorometilbenzilideno	4,967	5,081	-0,114
35	3-trifluorometilbenzilideno	5,001	5,000	0,001
36	2-trifluorometilbenzilideno	4,927	4,928	-0,001
38	4-trifluorometilbenzilideno	4,644	4,876	-0,232

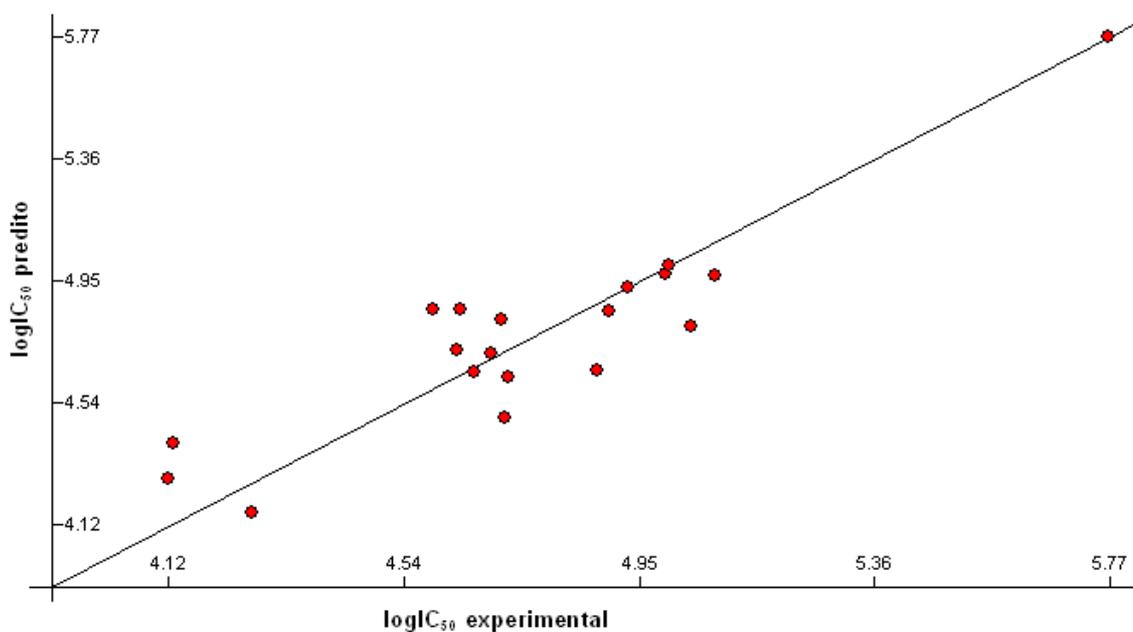


Figura 1 - Valores experimentais de $\log IC_{50}$ versus valores preditos de $\log IC_{50}$ obtidos pelo modelo (N=19).

O descritor '*Image of the Onsager-Kirkwood solvation energy*' (SE_{OK}) é aquele de maior significância estatística para o modelo obtido, sendo definido pela Equação 3 (KATRITZKY *et al.*, 2001).

$$SE_{OK} = \frac{\mu^2}{MW} \quad \text{Equação 3}$$

Em que:

μ^2 = momento de dipolo ao quadrado calculado para cada substância; e
 MW= massa molecular.

O momento de dipolo é uma propriedade da molécula resultante da separação de cargas, sendo um bom indicador da lipofilicidade/hidroflicidade (WANG *et al.*, 2008).

Recentemente, Rocha (2007) sintetizou uma série de 12 substâncias análogas aos nostoclídeos (vide Tabela 4, compostos **44-55** para estrutura dos compostos), apresentando um átomo de bromo na posição *para* do anel aromático do grupo benzila. Um importante aspecto associado ao estudo desenvolvido por Rocha (2007) merece destaque neste ponto. Nos ensaios biológicos de inibição do transporte de elétrons na reação de Hill, observou-se para os compostos biologicamente ativos uma falta de correlação dose-efeito

a partir de uma dada concentração. Em outras palavras, observou-se que o efeito inibitório sobre o transporte de elétrons alcançou um patamar e não mais se alterou. Tal efeito é exemplificado na Figura 2, para a substância (5Z)-3-(4-bromobenzil)-5-(benzilideno)furan-2-(5H)-ona, observando-se que a partir da concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, não se detecta alteração significativa da atividade biológica (ROCHA, 2007).

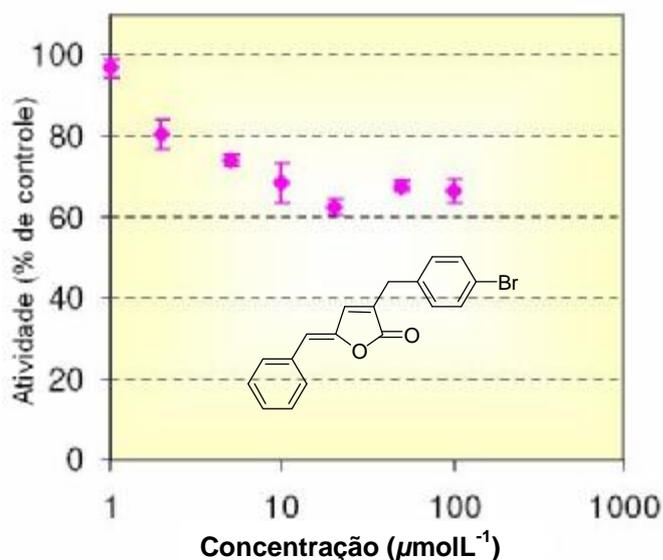


Figura 2 - Efeito da substância (5Z)-3-(4-bromobenzil)-5-(benzilideno)furan-2-(5H)-ona sobre o transporte de elétrons na reação de Hill (ROCHA, 2007).

Essa falta de correlação dose-efeito foi atribuída à baixa solubilidade em água dos compostos avaliados. Além disso, uma comparação entre a resposta biológica apresentada pelos compostos **10-43** (Tabela 1) e as substâncias sintetizadas por Rocha (2007) mostrou que os análogos não bromados são mais ativos em termos de inibição do transporte de elétrons na reação de Hill. Este fato foi atribuído à maior solubilidade dos análogos não bromados comparativamente aos análogos bromados (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

Considerando-se os fatos previamente descritos na literatura e mencionados anteriormente, bem como o descritor molecular '*Image of the Onsager-Kirkwood solvation energy*' (SE_{OK}) que está intimamente relacionado ao momento de dipolo das substâncias incluídas no modelo, é plausível assumir que modificações estruturais que resultem em um aumento da polaridade dos compostos análogos aos nostoclídeos levarão a uma melhoria da atividade biológica. De fato, uma maior solubilidade dos mesmos em água

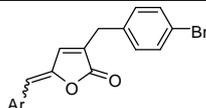
seria benéfica pois o transporte destas substâncias ao sítio de ação seria facilitado uma vez que os processos biológicos ocorrem em meio aquoso.

O segundo descritor '*Average bond order of a C atom*' (Tabela 2) foi relacionado à dependência da atividade biológica de análogos aos nostoclídeos com o padrão de substituição do anel benzilidênico presente na estrutura destes compostos. Como já observado experimentalmente, para os diferentes análogos aos nostoclídeos já sintetizados, aqueles que apresentam grupos retiradores de elétrons no anel benzilidênico apresentam melhor atividade fitotóxica (menores valores de IC_{50}) (TEIXEIRA *et al.*, 2008). Katritzky e colaboradores (2004) desenvolveram um modelo quantitativo que correlacionou a estrutura de 3-ariloxazolidin-2-onas e a concentração inibitória mínima necessária para inibir *in vitro* o desenvolvimento da bactéria *Staphylococcus aureus*. O descritor molecular '*Average bond order of a C atom*' foi selecionado pelo programa CODESSA para a construção do modelo. Neste estudo, o referido descritor foi correlacionado com a dependência existente entre a resposta biológica observada e o padrão de substituição do anel aromático das 3-ariloxazolidin-2-onas.

Para o descritor químico-quântico '*Max bonding contribution of a MO*', ainda não se dispõe de uma interpretação plausível.

Um segundo modelo de QSAR foi desenvolvido no qual, na matriz de dados do *software* CODESSA, foram introduzidas as informações referentes aos compostos **10-43** (Tabela 1) bem como dos análogos aos nostoclídeos contendo o átomo de bromo na posição *para* do anel benzílico (compostos **44-55**). Os dados da avaliação da atividade fitotóxica para os compostos **44-55** encontram-se mostrados Tabela 4.

Tabela 4 - Avaliação *in vitro* da atividade fitotóxica de lactonas análogas aos nostoclídeos (contendo o grupo Br na posição *para* do anel benzílico) sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacia oleracea*^a



Composto	Grupo Arilideno ^c	IC ₅₀ (μM) ^b	logIC ₅₀ (M)
44	1,3-dioxalanobenzilideno	>200	<3,699
45	2,4,6-trimetoxibenzilideno	> 100 *	< 4,000
46	benzilideno	8,2 ± 3,8	5,086
47	3-metilbenzilideno	44,4 ± 17,6	4,353
48	4-fluorobenzilideno	25,1 ± 15,2	4,600
49	4-bromobenzilideno	58,3 ± 18,0	4,234
50	4-clorobenzilideno	> 200	< 3,699
51	2,5-dimetoxibenzilideno	13,3 ± 4,6	4,876
52	3-nitrobenzilideno	35,7 ± 18,9	4,447
53	4-trifluorometilbenzilideno	10,1 ± 3,0	4,996
54	4-cianobenzilideno	> 200 *	< 3,699
55	2-cloro-4-dimetilaminobenzilideno	> 100 *	< 4,000

^a A atividade foi avaliada como descrito no item 4.3; ^b As concentrações que causaram a inibição de 50% (IC₅₀) da atividade *in vitro* foram estimadas utilizando a equação da regressão linear dos valores da atividade *versus* o logaritmo da concentração do inibidor. Os limites de confiança foram computados de acordo com o método de Snedecor e de Cochran (1989); ^c Os compostos foram obtidos como estereoisômeros de configuração *Z* para a ligação dupla exocíclica, exceto o composto **45** que foi obtido como estereoisômero de configuração *E*; * Atividade inibitória não significativa.

Similarmente ao que foi descrito para as substâncias **10-43** (Tabela 1), alguns compostos mostrados na Tabela 4 não apresentaram efeito inibitório significativo sobre o transporte de elétrons na reação de Hill. Estas substâncias foram excluídas da matriz do *software* CODESSA.

Neste segundo modelo, as arilidenofuranonas **20**, **24**, **32**, **46** e **49** foram selecionadas como *outliners*, ou seja, os dados referentes às estruturas destes compostos foram retirados da matriz de dados do *software* CODESSA a fim de melhorar a linearização dos dados. Assim, foram utilizadas ao todo 23 compostos para a construção do segundo modelo de QSAR. Os seguintes parâmetros estatísticos foram obtidos: R² = 0,81; F = 27,3; s² = 0,0309; e R²_{cv} = 0,65.

Os valores de X, ΔX , Teste T e os três descritores selecionados para a construção do segundo modelo de QSAR para os compostos análogos aos nostoclídeos, encontram-se na Tabela 5.

Os valores de $\log IC_{50}$ calculados pelo modelo descrito na Tabela 5 (valores preditos) e os valores experimentais, bem como a diferença entre eles, encontram-se na Tabela 6. Observa-se, mais uma vez, uma boa concordância entre valores preditos e experimentais.

Tabela 5 - Descritores selecionados para o segundo modelo de regressão linear para os compostos análogos aos nostoclídeos, contendo os seguintes parâmetros: N=23, $R^2 = 0,81$, F =27,3, $s^2 = 0,0309$ e $R^2_{cv} = 0,65$

Nº de Descritores	X	ΔX	Teste T	Descritor
0	2,019e+00	3,915e	5,157	<i>Intercept</i>
1	2,119e-02	7,500e	6,099	<i>Image of the Onsager-Kirkwood solvation energy</i>
2	7,549e-01	1,285e	5,875	<i>Vibration entropy (300K)/ number of atoms</i>
3	4,575e+00	4,918e	4,309	<i>Complementary Information content (order 2)</i>

R^2 : coeficiente de correlação

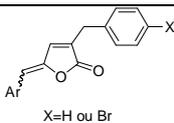
F: critério de Fisher

s^2 : desvio padrão ao quadrado

R^2_{cv} : coeficiente de correlação co-validado

N: número de substâncias

Tabela 6 - Valores preditos de $\log IC_{50}$ pelo segundo modelo de QSAR e valores experimentais



ID	Grupo arilideno	$\log IC_{50}$	$\log IC_{50}$	Diferença
		Pred.	Exp.	
10	Benzilideno	4,820	4,706	0,114
12	2,4,6-trimetoxibenzilideno	4,979	4,896	0,083
15	2,5-dimetoxibenzilideno	4,891	4,712	0,179
16	4-nitrobenzilideno	5,543	5,770	-0,227
17	3-bromobenzilideno	3,766	3,770	-0,004
19	3-nitrobenzilideno	4,800	4,636	0,164
22	3-clorobenzilideno	4,513	4,350	0,163
23	4-metoxibenzilideno	4,528	4,270	0,258
24	4-fluorobenzilideno	4,679	4,660	0,019
26	3-fluorobenzilideno	4,454	4,688	-0,234
28	2-clorobenzilideno	4,521	4,719	-0,198
29	2-metilbenzilideno	4,638	4,629	0,009
30	4-etilbenzilideno	4,756	5,041	-0,285
31	2-bromobenzilideno	4,458	4,588	-0,130
34	4-trifluorometilbenzilideno	5,255	5,081	0,174
35	3-trifluorometilbenzilideno	4,858	5,000	-0,142
36	2-trifluorometilbenzilideno	4,683	4,928	-0,245
38	3-dimetilaminobenzilideno	4,846	4,876	-0,030
47	3-metilbenzilideno*	4,566	4,353	0,213
48	4-fluorobenzilideno*	4,543	4,600	-0,057
51	2,5-dimetoxibenzilideno*	4,903	4,876	0,027
52	3-nitrobenzilideno*	4,532	4,447	0,085
53	4-trifluorometilbenzilideno*	5,059	4,996	0,063

*Compostos que possuem o grupo X = Br; os outros compostos possuem X = H.

A Figura 3 apresenta o gráfico do segundo modelo de regressão linear obtido para os compostos análogos aos nostoclídeos (23 estruturas).

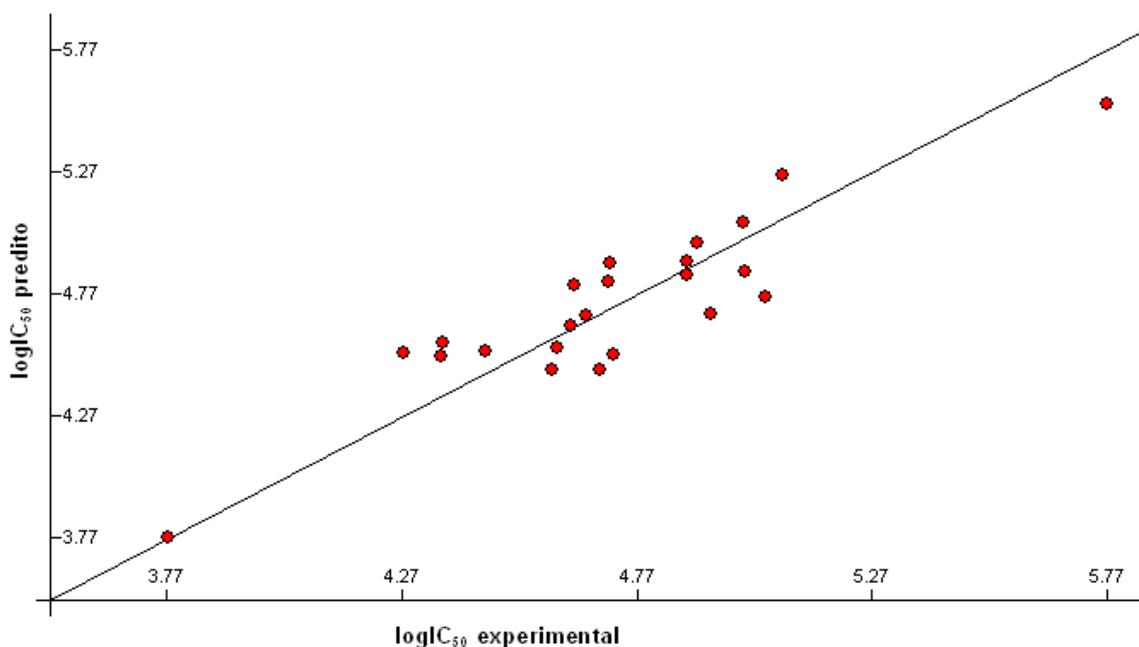


Figura 3 - Valores experimentais de $\log IC_{50}$ versus valores preditos de $\log IC_{50}$ obtidos pelo segundo modelo de QSAR para os compostos análogos aos nostoclídeos.

Novamente o descritor de maior significância estatística para este segundo modelo obtido foi o '*Image of the Onsager-Kirkwood solvation energy*' (SE_{OK}), reforçando o fato de que o fator chave para a melhoria da atividade fitotóxica dos compostos análogos aos nostoclídeos é o aumento da sua polaridade.

O segundo descritor observado para este modelo, o '*Vibration entropy (300K) /number of atoms*' (VE_{300K}/NA), é definido pela equação 4.

$$VE_{300K}/NA = \Delta S_{vib}/N_A \quad \text{Equação 4}$$

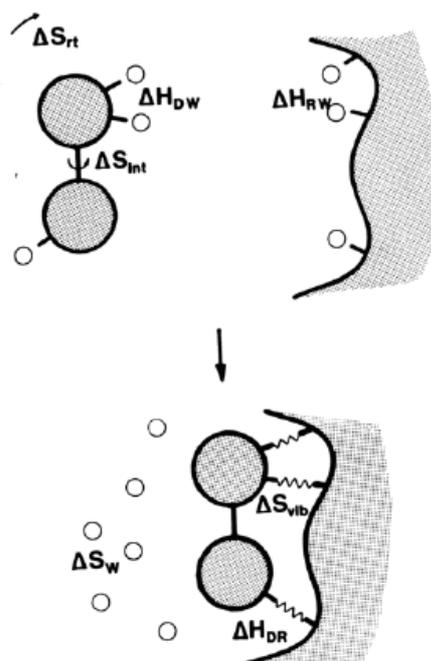
Em que:

ΔS_{vib} = entropia vibracional; e

N_A = número de átomos.

Este descritor está envolvido com as interações físico-químicas entre um ligante e um receptor biológico (Figura 4). O ligante livre possui uma entropia rotacional e translacional (ΔS_{RT}) e uma entropia interna (ΔS_{int}) intrínseca. Quando este ligante se conecta ao receptor, ocorre uma contribuição termodinâmica desfavorável, compensada por um aumento na entropia devido à perda da água (ΔS_W), acompanhada do aumento da entropia

vibracional (menor frequência), associada às ligações não-covalentes ligante-receptora. Enquanto ΔS_{RT} é essencialmente independente do tamanho da substância, os termos entrópicos e entálpicos dependem do número e da natureza dos grupos funcionais presentes no ligante (ANDREWS *et al.*, 1984). Este descritor vem confirmar que os diferentes grupos funcionais presentes nos análogos aos nostoclídeos têm influência em sua atividade biológica.



Fonte: Andrews *et al.* (1984)

Figura 4 - Complexação entre um ligante e seu receptor.

Os pequenos círculos representam moléculas de água;
 ΔH_{DW} – entalpia de hidratação do ligante;
 ΔH_{RW} – entalpia de hidratação do receptor;
 ΔH_{DR} – entalpia de interação ligante-receptor;
 ΔS_{RT} – entropia rotacional e translacional;
 ΔS_{int} – entropia interna;
 ΔS_{vib} – entropia vibracional; e
 ΔS_w – entropia associada à perda de moléculas de água estruturadas.

Para o terceiro descritor, o ‘*Complementary Information content (order 2)*’, ainda não se dispõe de uma interpretação satisfatória.

6. Conclusões

Até o momento, foram desenvolvidos dois modelos de QSAR que levaram a uma melhor compreensão dos fatores que estão envolvidos na correlação estrutura de diferentes análogos aos nostoclídeos-resposta biológica. O primeiro modelo foi construído utilizando-se apenas as informações relacionadas aos compostos 3-benzilarilidenofuran-2(5H)-onas. Os seguintes parâmetros estatísticos foram obtidos: $N=19$, $R^2=0,83$, $F=23,9$, $s^2=0,0288$, $R^2_{cv}=0,72$. Para este modelo, foram selecionados os descritores moleculares '*Image of the Onsager-Kirkwood solvation energy*' (SE_{OK}), '*Average bond order of a C atom*' e o descritor '*Max bonding contribution of a MO*', sendo o de maior significância estatística o SE_{OK} , que de forma indireta relaciona a atividade fitotóxica com a polaridade das moléculas.

O segundo modelo obtido foi construído a partir dos dados relativos às substâncias 3-benzilarilidenofuran-2(5H)-onas e das 3-(4-bromobenzil)arilidenofuran-2(5H)-onas. Os parâmetros estatísticos obtidos foram: $N=23$, $R^2=0,81$; $F=27,3$; $s^2=0,0309$ e $R^2_{cv}=0,65$. Foram selecionados novamente três descritores: '*Image of the Onsager-Kirkwood solvation energy*' (SE_{OK}), '*Vibration entropy (300K) /number of atoms*' e o descritor '*Complementary Information content (order 2)*'. Novamente, o descritor de maior significância estatística foi o SE_{OK} , corroborando o fato de que o fator chave para obter compostos mais ativos, empregando-se os nostoclídeos como compostos-modelos, são as modificações estruturais que resultem no aumento da polaridade de novos derivados a serem sintetizados.

CAPÍTULO 2

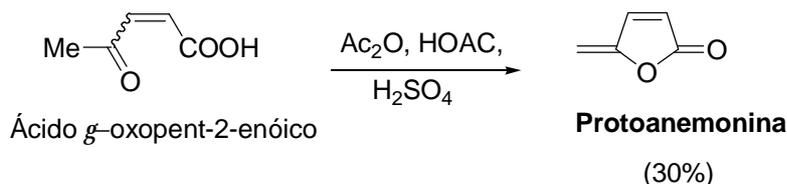
PREPARO DE NOVOS

g-ALQUILIDENOBUTENOLÍDEOS E SÍNTESE DOS ANÁLOGOS AOS NOSTOCLÍDEOS

1. Métodos Sintéticos Utilizados no Preparo de *g*-Alquilidenobutenolídeos

Nas últimas décadas, tem sido relatado um grande número de compostos pertencentes à classe dos *g*-alquilidenobutenolídeos de estereoquímica definida, que foram isolados de fontes naturais. Da mesma forma, na literatura são descritos diversos trabalhos no tocante ao desenvolvimento de metodologias para a síntese desta classe de compostos. O interesse no preparo dessas substâncias deve-se, em grande parte, às diversas atividades biológicas apresentadas por elas, tais como inibição na biossíntese do colesterol (KUHNT *et al.*, 1990; NEGISHI *et al.*, 2005); citotoxicidade (FANG *et al.*, 1991; KOTORA e NEGISHI, 1996) e atividade antibiótica (DAVIDSON e IRELAND, 1990; MIO e ANDERSON, 1991 e LEVY *et al.*, 2003).

Um dos trabalhos pioneiros na síntese de *g*-alquilidenobutenolídeos foi realizado por Shaw em 1946, em que o ácido *g*-oxopent-2-enóico foi convertido na substância protoanemonina (Esquema 1).

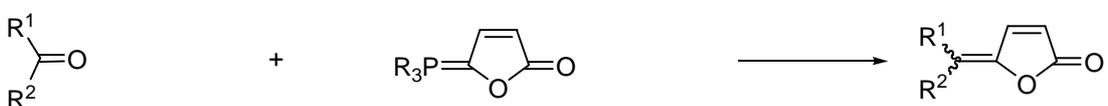
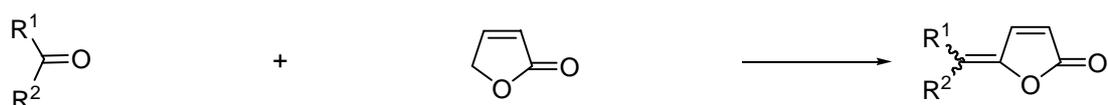


Fonte: Shaw, 1946.

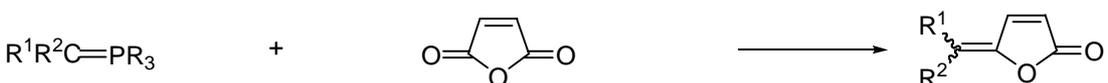
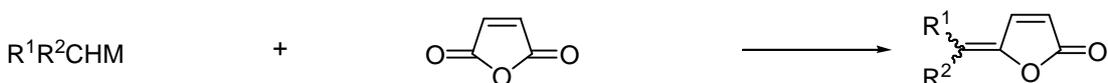
Esquema 1 – Preparação da protoanemonina a partir do ácido *g*-oxopent-2-enóico.

Diversos trabalhos publicados na literatura descrevem a síntese de *g*-alquilidenobutenolídeos, via *g*-lactonas (COHEN *et al.*, 1965), anidrido maleico (BEGLEY *et al.*, 1978) e 2-oxifuranos (SHING *et al.*, 1995) (Esquema 2) (NEGISHI e KOTORA, 1997). Entretanto, essas reações de alquilidenação não são estereosseletivas e levam à formação da mistura dos estereoisômeros de configurações *Z* e *E*.

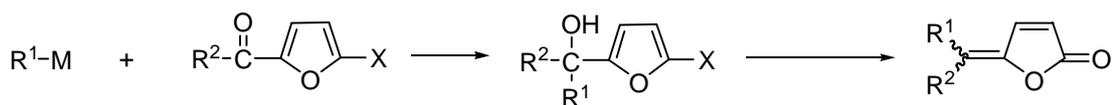
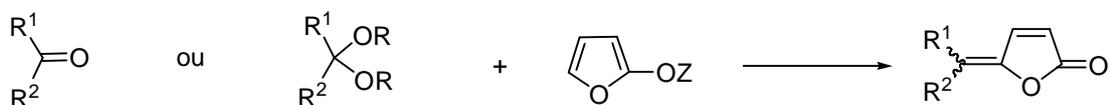
Via *g*-lactonas



Via anidrido maleico



Via 2-oxifuranos



X=Br ou OMe

Fonte: Negishi e Kotora (1997)

Esquema 2 – Métodos sintéticos utilizados na síntese de *g*-alquilidenobutenolídeos.

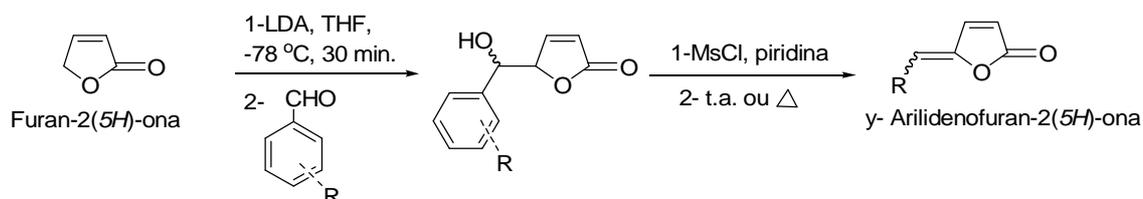
Processos estereosseletivos para síntese de *g*-alquilidenobutenolídeos vêm sendo descritos na literatura. Reações de lactonização catalisadas por metais, como a prata, o paládio, o ródio são empregadas com frequência.

Lu *et al.* (1993) descreveram a síntese estereosseletiva de *g*-(*Z*)-alquilidenobutenolídeos empregando-se como materiais de partida o ácido (*Z*)-3-bromopropenóico e diferentes alquinos terminais. As reações foram conduzidas na presença de PdCl₂(PPh₃)₂ (3 mol%), CuI, Et₃N (2 equiv.) em CH₃CN. A ocorrência do acoplamento de Sonogashira, seguido de um processo de lactonização induzido pelo catalisador de paládio, justifica a formação dos produtos. A diastereosseletividade foi superior a 90% para o estereoisômero *Z* em relação ao estereoisômero *E*. Alguns exemplos são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Síntese de *g*-alquilidenobutenolídeos segundo metodologia descrita por LU *et al.*, 1993.

R	Rendimento (%)	Z/E
Ph	80	>97/3
<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	60	91/9
PhCH(OH)	56	>97/3
Me ₂ C(OH)	86	94/6
MeOCH ₂	62	>97/3

Pohmakotr *et al.* (1998) descreveram a síntese de *g*-arilidenobutenolídeos pela reação regioseletiva entre a furan-2(5*H*)-ona e diferentes aldeídos aromáticos (Esquema 3).



Esquema 3 – Síntese de γ -arilidenofuran-2(5H)-ona (POHMAKOTR *et al.*, 1998)

Os estereoisômeros de configuração *Z* foram obtidos como produtos termodinâmicos como mostrado na Tabela 2 (POHMAKOTR *et al.*, 1998).

Tabela 2 – Preparação de γ -arilidenofuran-2(5H)-ona (POHMAKOTR *et al.*, 1998)

ArCHO	Condições	%, Z/E
benzaldeído	t.a. (11h)	96, 32/68
benzaldeído	t.a. (48h)	100, 70/30
benzaldeído	t.a.(2h) e 80-90 °C (10 h)	87, 97/3
3-metoxibenzaldeído	t.a.(2h) e 80-90 °C (10 h)	85, 98/2
4-metoxibenzaldeído	t.a.(2h) e 80-90 °C (10 h)	84, 99/1
2,3-dimetoxibenzaldeído	t.a.(2h) e 80-90 °C (10 h)	82, 99/1
3,4-dimetoxibenzaldeído	t.a.(2h) e 80-90 °C (10 h)	91, 94/6

A configuração da ligação dupla $C=C_g$ apresenta influência na bioatividade dos γ -alquilidenobutenolídeos, como exemplificado no caso dos respectivos estereoisômeros (*E*)-tetrolina e (*Z*)-lissoclinolídeo (Figura 1). A substância tetrolina apresenta atividade inibitória sobre bactérias Gram positivas, enquanto o composto lissoclinolídeo age como antibiótico frente às bactérias Gram negativas. Görth *et al.* (1998), com base na importância da estereoquímica definida dessas substâncias, apresentaram a síntese estereosseletiva de γ -alquilidenobutenolídeos análogos aos antibióticos lissoclinolídeo e tetrenolina, partindo de açúcares específicos. Como mostrado no esquema 4 (p. 46), a estereoquímica dos açúcares empregados como material de partida determinou a configuração *Z* ou *E* da ligação dupla exocíclica do produto final.

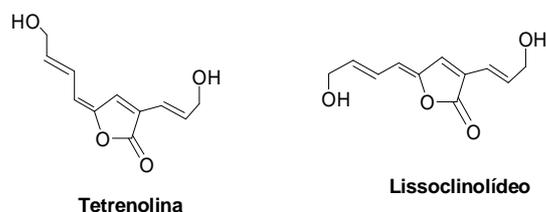
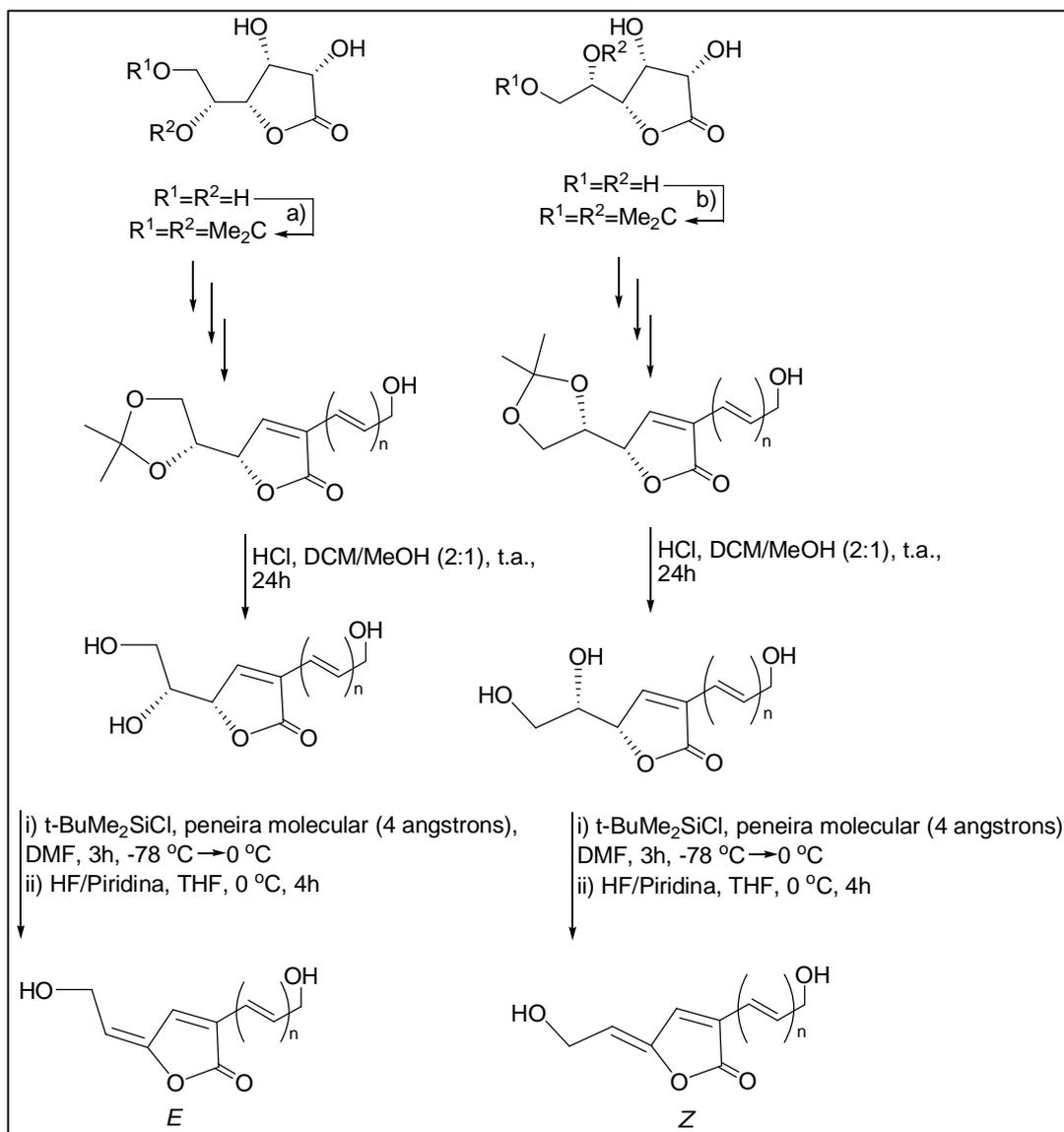


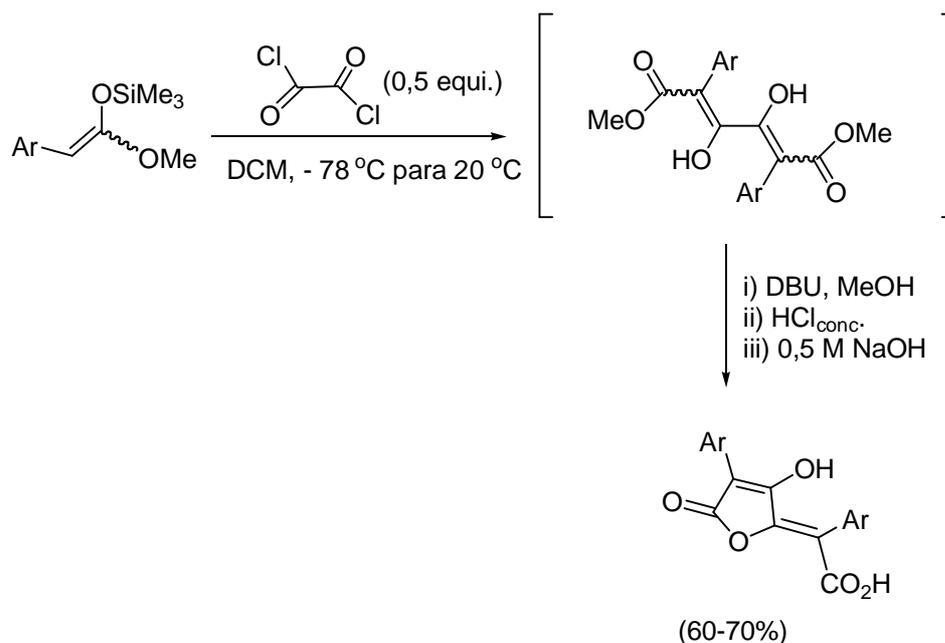
Figura 1 – Estruturas químicas das substâncias tetrenolína e lissoclinolídeo.



a) e b) 2,2-dimetoxipropano, Amberliste-15, DMF, t.a., 24 h; 60 °C, 3h

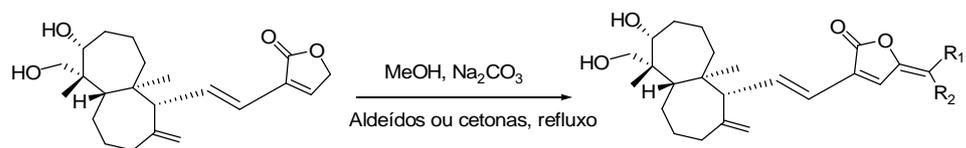
Esquema 4 - Obtenção de *g*-alquilidenobutenolídeos análogos aos antibióticos tetrenolína e lissoclinolídeo com estereoquímica definida (GÖRTH *et al.*, 1998).

Heurtaux *et al.* (2005) reportaram a síntese de diversos ácidos pulvínicos por meio da condensação entre cloreto de oxalila com éteres enólicos de silício, seguida de um processo de lactonização e clivagem hidrolítica (Esquema 5). Procedimentos similares a estes vêm sendo utilizados em outros trabalhos de síntese de *g*-alquilidenobutenólídeos (HAASE e LANGER, 2005; LANGER, 2006).



Esquema 5 – Preparação de ácidos pulvínicos (HEURTAUX *et al.*, 2005).

Uma metodologia simples para síntese de *g*-alquilidenobutenólídeos foi descrita por Xu e colaboradores (2007). Neste trabalho, foram utilizados como material de partida, butenólídeos complexos, α - ou β -substituídos, derivados das classes dos andrografólídeos e das digoxinas. A combinação desses compostos com aldeídos ou cetonas, na presença de metanol e Na_2CO_3 , sob condições de refluxo, propiciou a síntese esterosselativa de diversos derivados pertencentes à classe dos *g*-(*Z*)alquilidenobutenólídeos. Como exemplo, a preparação de compostos do tipo 15-ideno andrografólídeo está mostrada no Esquema 6.



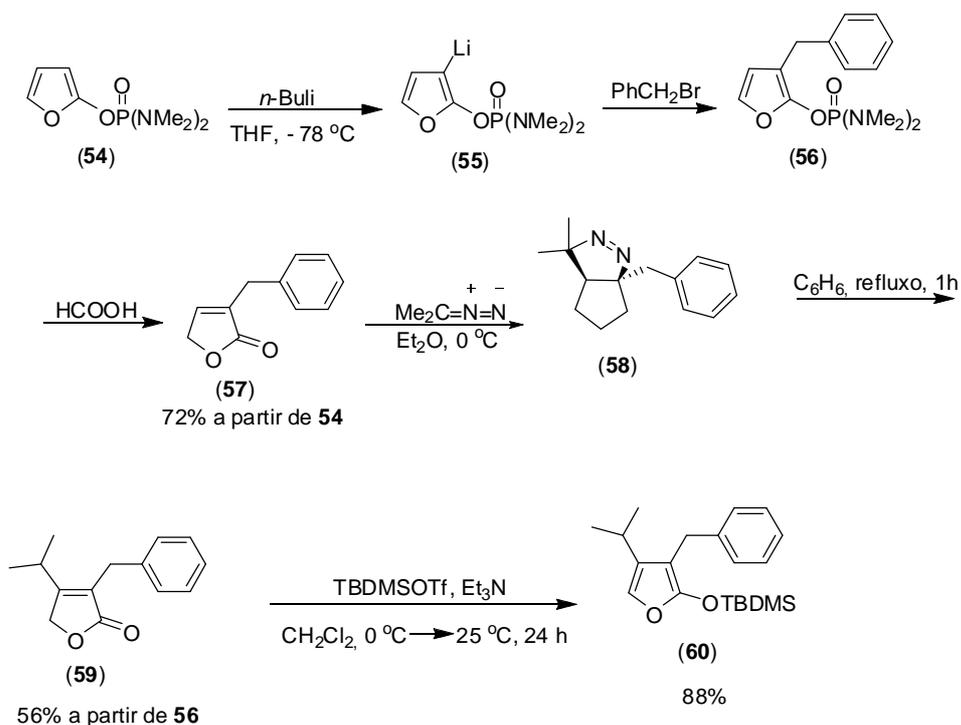
Esquema 6 – Preparação de compostos do tipo 15-idenol andrografolídeos.

Dentre os processos conhecidos para síntese de *g*-alquilidenobutenolídeos, destaca-se a metodologia utilizada por Boukouvalas *et al.* (1994) no preparo dos nostoclídeos I e II que será discutida posteriormente.

2. Rotas sintéticas utilizadas no preparo dos nostoclídeos I e II

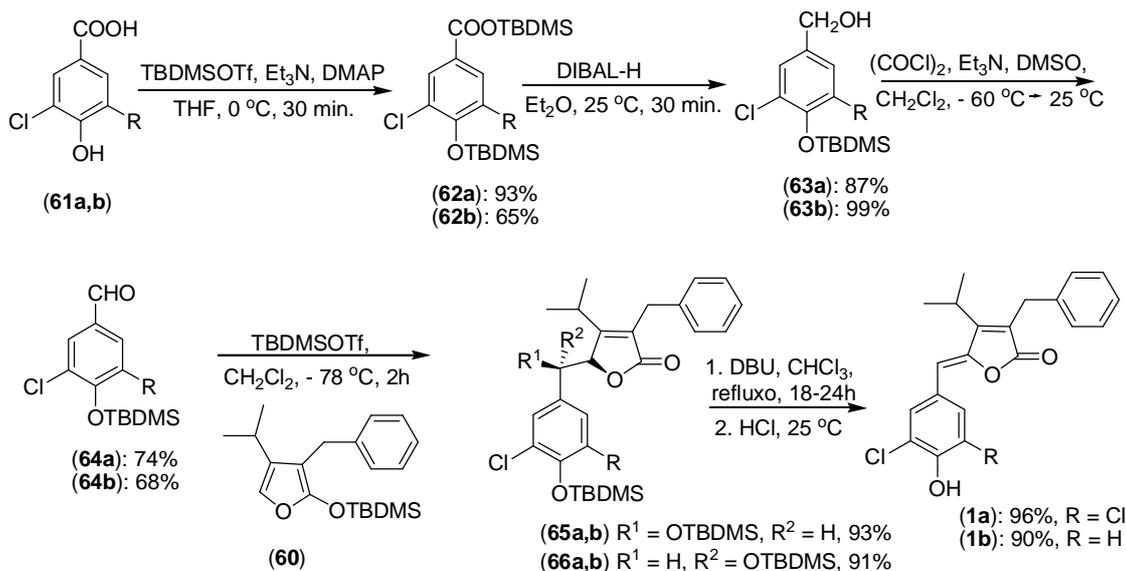
Diversas estratégias sintéticas visando à preparação dos Nostoclídeos I e II são reportadas na literatura.

A primeira síntese total dos nostoclídeos foi realizada por Boukouvalas e colaboradores, em 1994. O material de partida utilizado foi o furan-2-il *N,N,N',N'*-tetrametildiamidofosfato (**54**). A reação deste composto com *n*-butilítio resultou na formação do organolítio **55**, que foi posteriormente capturado *in situ* pelo brometo de benzila. O furano **56** obtido foi tratado com ácido fórmico levando à obtenção do composto **57** com 72% de rendimento para as três etapas relatadas. O grupo isopropila foi introduzido via reação de **57** com 2-diazopropano, resultando na formação do cicloaduto **58** que submetido a refluxo em benzeno por uma hora originou o composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), obtido com 56% de rendimento para as duas etapas. A reação de sililação do composto **59** com TBDMSOTf e trietilamina em DCM propiciou a formação da substância 3-benzil-2-(*tert*-butildimetilsililoxi)-4-isopropilfurano (**60**) com 88% de rendimento (Esquema 7).



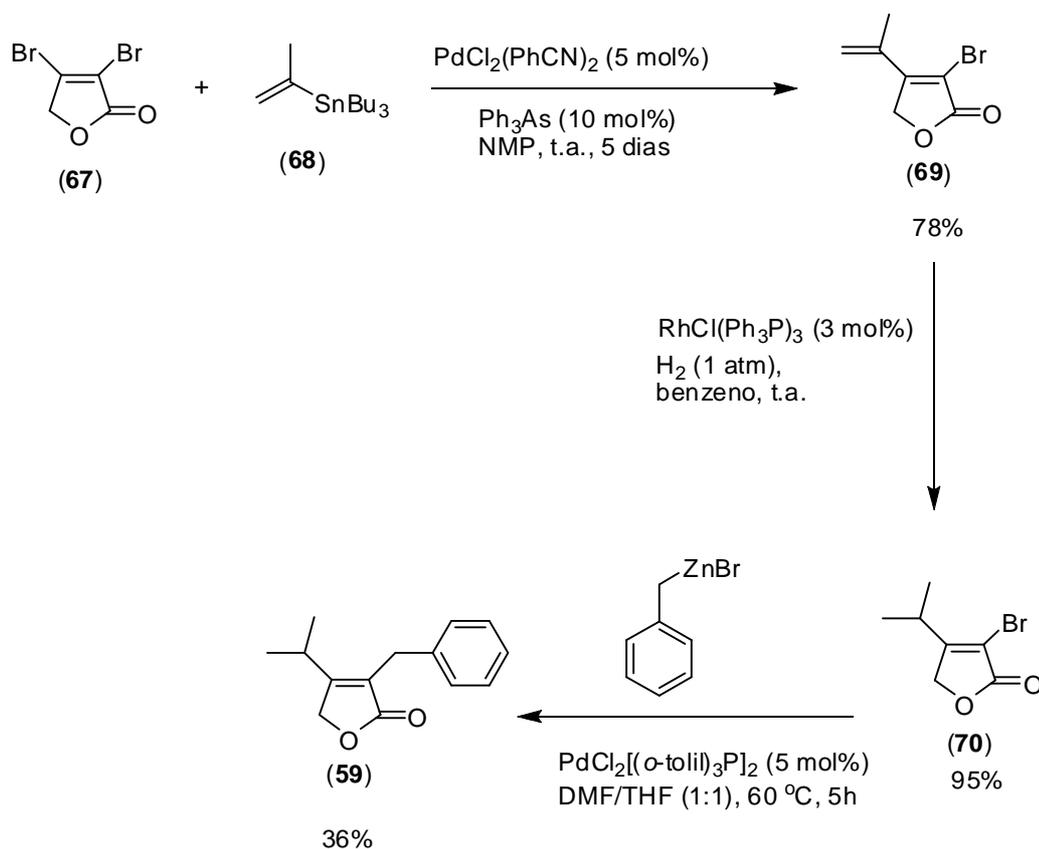
Esquema 7 – Síntese do furano **60** (BOUKOUVALAS *et al.*, 1994).

O furano **60** na presença de TBDMSOTf (ácido de Lewis) e dos aldeídos **64a** e **64b**, sintetizados a partir do ácidos carboxílicos **61a** e **61b**, conforme mostrado no Esquema 8, resultou na formação dos adutos **65a,b** e **66a,b** respectivamente. A eliminação do grupo *tert*-butildimetilsililoxi ocorreu na presença de DBU em clorofórmio. A adição de HCl 3 mol L⁻¹ à mistura reagente propiciou a obtenção dos nostoclídeos (**1**) (Esquema 8, p. 50).



Esquema 8 – Preparo dos aldeídos **64a,b** e etapa final da síntese dos nostoclídeos I e II (BOUKOUVALAS *et al.*, 1994).

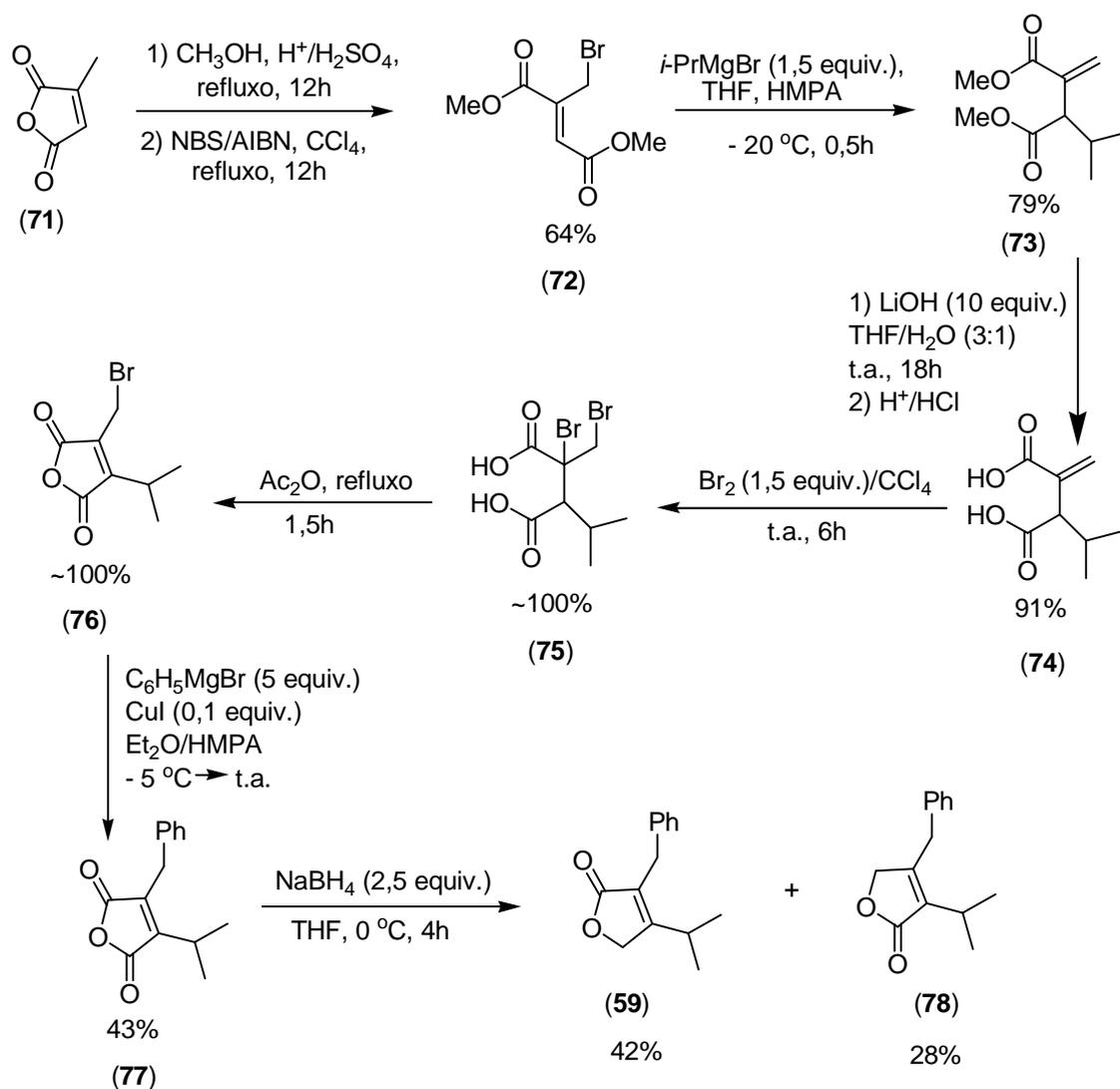
Bellina e Rossi (2002) descreveram outra estratégia para síntese do composto **59**, precursor para a síntese dos nostoclídeos. Neste caso, foi utilizado o composto 3,4-dibromo-furan-2(5*H*)-ona (**67**) como material de partida. A reação do composto **67** com o organoestânico isopropeniltributilestanho (**68**) via acoplamento de Stille resultou na obtenção na lactona **69**, que submetida a uma hidrogenação na presença do catalisador de Wilkinson levou ao composto **70**. Por fim, a reação de acoplamento de Negishi entre **70** e o brometo de benzilzinco resultou na formação de **59**, (Esquema 9, p. 51).



Esquema 9 - Síntese do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**) a partir do composto 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**67**) (BELLINA e ROSSI, 2002).

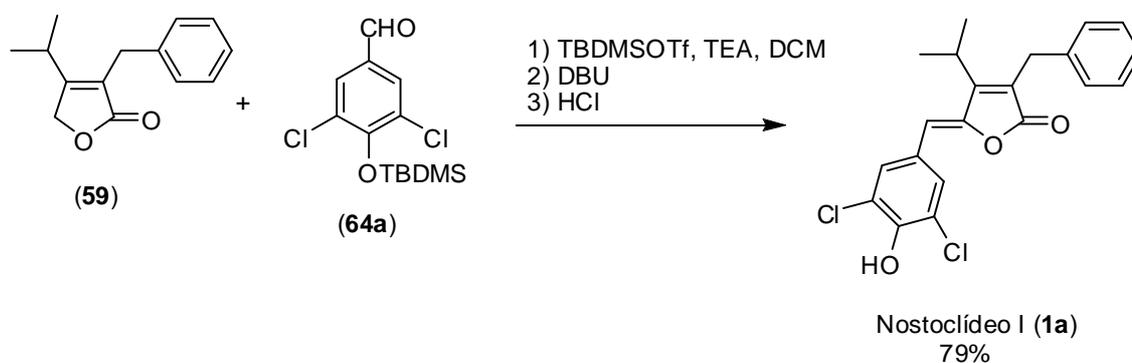
Kar e colaboradores (2005) descreveram a síntese do Nostoclídeo I (**1a**), utilizando como material de partida o anidrido citracrônico (**71**).

Inicialmente, o anidrido **71** tratado com metanol/ H_2SO_4 sob refluxo, originou o correspondente diéster, que após tratamento com NBS/AIBN, sob refluxo em tetracloreto de carbono, levou à formação do bromometilfumarato de dimetila (**72**) (Esquema 10). A reação entre o composto **72** e o brometo de isopropil magnésio originou o diéster **73**. Este diéster foi convertido no diácido correspondente **74**, após reação de saponificação com hidróxido de lítio, seguida por acidificação com HCl. A adição de bromo à ligação dupla resultou na formação do ácido dibromocarboxílico **75**. O ácido **75** foi submetido a condições de refluxo em anidrido acético para a obtenção do composto **76**. A reação entre brometo de fenil magnésio e o anidrido **76** resultou na formação do anidrido **77**. A substância **77** foi tratada com NaBH_4 , levando à formação de uma mistura das lactonas **59** e **78**, que foram separados por cromatografia em coluna.



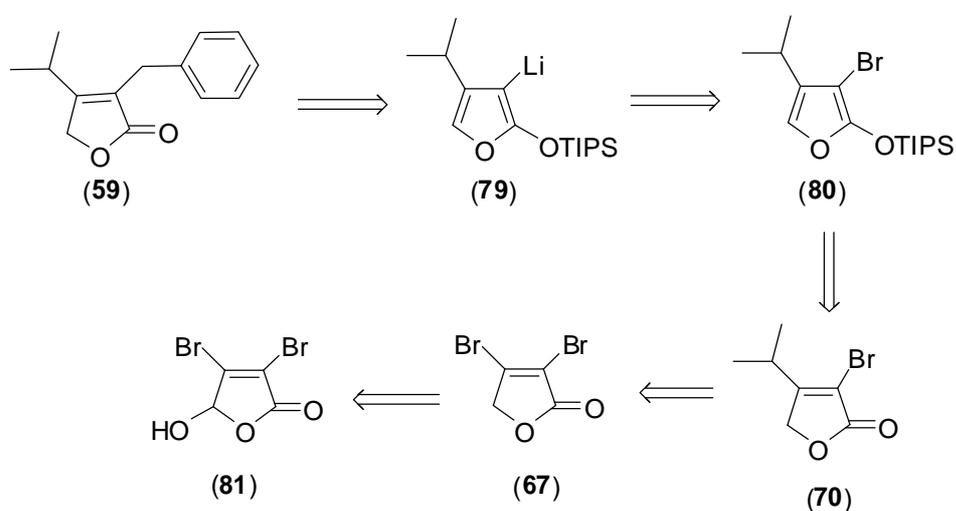
Esquema 10 - Preparação do composto **55** partindo do ácido citracrônico (**65**) (KAR *et al.*, 2005).

O composto **59** foi utilizado na síntese do nostoclídeo I (**1a**) em um processo de três etapas, como mostrado no Esquema 11.



Esquema 11 – Síntese do nostoclídeo I descrita por Kar *et al.* (2005).

As metodologias apresentadas para o preparo da lactona 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**) apresentam algumas desvantagens, como o emprego de reações que requerem longos períodos de tempo, o uso de reagentes tóxicos que resultam na formação de subprodutos de difícil remoção (BELINA e ROSSI, 2002), formação de isômeros constitucionais indesejáveis (KAR *et al.*, 2005), além da necessidade de condições de reação mais rigorosas (BOUKOUVALAS *et al.*, 1994). Diante do exposto, foi planejado o desenvolvimento de uma metodologia alternativa para a síntese do composto **59**, cuja retróssíntese está representada no Esquema 12.



Esquema 12 - Análise retróssintética para o preparo da lactona 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**).

De acordo com a análise retróssintética, o composto **59** poderia ser preparado a partir do alquilídeo **79**, que seria originado do reagente silylado **80**. A lactona **80** poderia ser preparada a partir do composto **70** (3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona). O composto **70**, por sua vez, seria produzido a partir da reação da lactona dibromada **67** (3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona). Para o preparo desta lactona, utilizar-se-ia o ácido mucobromico **81**, disponível comercialmente.

Descreve-se neste capítulo o processo de otimização das condições de reação que culminaram no preparo da lactona **70**. Este processo foi otimizado e subsequentemente utilizado para o preparo de novas lactonas, similares ao composto **70**, mas com diferentes grupos alquila ligados à posição *b* do anel lactônico.

Os métodos utilizados no preparo do composto **59** bem como a síntese de novos análogos aos nostoclídeos são também relatados neste capítulo. Discute-se, ainda, o preparo de novos *g*-alquilidenobutenolídeos pertencentes à classe das 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas.

3. Material e Métodos

Os solventes e reagentes utilizados nas reações foram de grau P.A. Os reagentes foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação.

3.1. Purificação dos solventes

3.1.1. Purificação do Tetraidrofurano (THF) e do Éter dietílico

A secagem do solvente tetraidrofurano (THF) foi realizada adicionando-se hidreto de cálcio ao solvente, aquecendo-se a mistura até a temperatura de ebulição do THF. A mistura foi mantida sob refluxo por 24 horas. Após esse tempo, o solvente foi recolhido por destilação. Em seguida, adicionou-se sódio metálico ao THF, e a mistura foi novamente aquecida até a temperatura de ebulição do solvente e mantida sob refluxo por uma hora. Decorrido esse período de tempo, adicionou-se benzofenona, deixando o sistema sob refluxo até que a mistura adquirisse coloração azul. Ocorrida a mudança de cor, destilou-se o THF seco, que foi armazenado sobre peneira molecular de 4 Å em um recipiente vedado e sob atmosfera de nitrogênio. Procedimento similar foi utilizado na secagem de éter dietílico (PERRIN e ARMAREGO, 1998).

3.1.2. Purificação do Metanol

Em um balão de fundo redondo de 500 mL, adicionaram-se 2,5 g de magnésio em pó, 0,25 g de iodo molecular e 50 mL de metanol. A mistura

foi mantida sob refluxo até seu descolorimento (aproximadamente 1 h). Subsequentemente foram adicionados 250 mL de metanol, mantendo o refluxo por mais 2h, quando o solvente foi destilado e armazenado sobre peneira molecular de 4Å, em um recipiente fechado sob atmosfera de nitrogênio (PERRIN e ARMAREGO, 1998).

3.1.3. Purificação do Diclorometano (DCM)

Em um balão de fundo redondo de 500 mL, adicionaram-se 250 mL de diclorometano e certa quantidade de hidreto de cálcio, a mistura foi deixada sob refluxo por três horas, seguido de destilação. O solvente foi armazenado sobre peneira molecular de 4Å em um recipiente fechado e sob atmosfera de nitrogênio (PERRIN e ARMAREGO, 1998).

3.1.4. Purificação do hexametilfosforamida (HMPA)

Em um balão de 50 mL, adicionaram-se 25 mL de hexametilfosforamida (HMPA) e certa quantidade de peneira molecular de 4Å. A mistura foi mantida sob vácuo por 24h. Decorrido esse tempo, o HMPA foi transferido para um frasco contendo peneira molecular de 4Å onde foi armazenado.

3.1.5. Titulação do *n*-Butillítio (*n*-BuLi)

A um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados *p*-tosilidrazona da 1,3-difenilcetona (0,189 g; 0,50 mmol) e 3 mL de THF anidro. Em seguida, o balão foi resfriado numa mistura de gelo + sal. Com auxílio de uma seringa de 1,0 mL, adicionou-se *n*-butillítio até o término da titulação. Esse procedimento foi realizado em triplicata (LIPTON *et al.*, 1960)

3.2. Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas empregando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio (espessura de 250 μm). As separações por cromatografia em coluna foram feitas utilizando-se sílica-gel (70-230 mesh e 230-400 mesh) como fase estacionária, e os solventes utilizados como eluente foram previamente destilados.

As placas de CCD, depois de observadas sob luz ultravioleta, foram reveladas com solução alcoólica de ácido fosfomolibdico ou solução aquosa de permanganato de potássio.

3.3. Técnicas Espectroscópicas

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000 (Departamento de Química – UFV). As amostras foram analisadas em forma de filme depositado entre placas de brometo de potássio, sendo utilizado diclorometano para dissolução das amostras.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , 300 MHz) e de carbono (RMN de ^{13}C , 75 MHz) foram obtidos em espectrômetro VARIAN MERCURY 300 (Departamento de Química - UFV). Utilizou-se como solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3), e o tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interna ($d_H = 0$). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

3.4. Espectrometria de massas

Amostras de misturas reagentes foram analisadas por cromatografia gasosa e espectrometria de massas (CG-EM), em aparelho marca Shimadzu PQ5050A, usando coluna capilar de sílica fundida DB5 (30m x 0,25 mm de diâmetro; filme de 0,25 μm). O hélio foi usado como gás de arraste, com fluxo de 1,6 mL min^{-1} . A temperatura do injetor foi de 290 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 80 °C por 5 minutos, aumentando de 80 °C a 285 °C na razão de 4 °C /min. A temperatura final permaneceu em 285 °C por 40 minutos. A

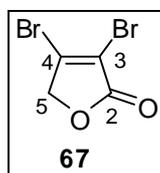
temperatura do detector de massa foi de 290 °C, e a temperatura na interface do sistema CG-EM foi de 290 °C. O detector de massas operou com ionização por impacto de elétrons de 70 eV e varredura de massas entre os intervalos de 30 e 700 Da.

As amostras de substâncias puras foram analisadas por inserção direta no espectrômetro de massas. A temperatura inicial variou de 40 °C min⁻¹ até 60 °C, passou a aumentar 80 °C min⁻¹ até 300 °C, permanecendo nessa temperatura por 25 minutos. A temperatura do detector foi de 300 °C. O detector de massas operou com ionização por impacto de elétrons de 70 eV e varredura de massas entre os intervalos de 50 e 700 Da.

A identificação foi feita por comparação com os espectros de massa da biblioteca Wiley 7 e pelos tipos de fragmentações.

3.5. Procedimentos sintéticos

3.5.1. 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**67**)



A um balão bitubulado de 2L, adicionaram-se ácido mucobrômico (**81**) (28,67 g, 111,2 mmol) e 160 mL de metanol anidro. O sistema foi resfriado a 0 °C, quando foi adicionado boroidreto de sódio (NaBH₄) (6,31 g; 166,7 mmol) em pequenas porções. A mistura resultante foi mantida sob agitação por 15 minutos a 0 °C. Uma solução de ácido sulfúrico (10,89 g; 111,2 mmol) em metanol (55 mL), resfriada a 0 °C, foi adicionada à mistura resultante, que foi mantida sob agitação por 15 minutos. Decorrido esse período, foi adicionado à mistura reagente éter dietílico (1,5 L), e a solução resultante foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio (4 x 200 mL). As fases foram separadas, e a fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O composto 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**67**) foi purificado por recristalização utilizando a mistura hexano e éter dietílico (1:1 v/v) e foi obtido como um sólido branco, com rendimento de 75% (20,26 g; 84,4 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,50$ (DCM-hexano 3:2 v/v).

$T_f = 89,3-90,2$ °C. [(T_f literatura: 90-91 °C); BELINA *et al.*, 2001].

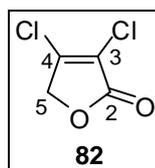
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 1757, 1605, 1338, 1216, 1023, 992, 749, 717.

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) $d(J/Hz)$: 4,90 (s, 2H, **H-5**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) d : 74,4 (**C-5**); 114,9 (**C-3**); 143,8 (**C-4**); 166,8 (**C-2**).

EM, m/z (%): 244 ($C_4H_2Br_2O_2$, $[M+4]^+$, 12); 242 ($[M + 2]^+$, 27); 240 ($[M]^+$, 10); 163 (99); 161 (100); 117 (29); 119 (28); 53 (33); 38 (96).

3.5.2. 3,4-diclorofuran-2(5H)-ona (**82**)



A metodologia utilizada foi similar àquela descrita para o preparo do composto **67**, utilizando-se o ácido mucoclórico como material de partida. A utilização desta metodologia resultou na obtenção da 3,4-diclorofuran-2(5H)-ona (**82**), com rendimento de 60% (10,21 g; 66,7 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,50$ (DCM-hexano 3:2 v/v).

$T_f = 48,9-50,2$ °C. [($T_{f \text{ literatura}}$: 49-50 °C); BELLINA *et al.*, 2003].

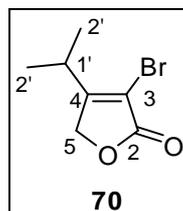
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 1771, 1636, 1444, 1350, 1247, 1037, 919, 751, 724, 599.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) $d(\text{J}/\text{Hz})$: 4,89 (s, 2H, **H-5**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) d : 79,8 (**C-5**); 122,1 (**C-3**); 148,8 (**C-4**); 165,8 (**C-2**).

EM, m/z (%): 156 ($\text{C}_4\text{H}_2\text{Cl}_2\text{O}_2$, $[\text{M} + 4]^{++}$, 4); 154 ($\text{C}_4\text{H}_2\text{Cl}_2\text{O}_2$, $[\text{M} + 2]^{++}$, 21); 152 ($[\text{M}]^{+}$, 36); 125 (65); 123 (100); 117 (56); 87 (42); 73 (90); 61 (44); 60 (46); 59 (24); 53 (24); 52 (11).

3.5.3. 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**70**)



O método descrito a seguir foi aquele que produziu os melhores rendimentos para a síntese da lactona **70**. Toda a discussão do processo de otimização das condições de reação para o preparo desta lactona é detalhada na seção RESULTADOS e DISCUSSÃO.

A um balão bitubulado de 50 mL, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se magnésio metálico (0,248 g; 10,2 mmol) e THF anidro (10 mL). Em seguida, brometo de isopropila (0,836 g; 6,8 mmol dissolvido em 10 mL de THF anidro) foi adicionado gota a gota à mistura reagente. Após essa adição, a mistura resultante foi agitada por cerca de 40 minutos.

A um outro balão bitubulado (125 mL), sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$ (0,349; 1,7 mmol) e 25 mL de THF anidro. O sistema foi resfriado a -78 °C, e a mistura foi vigorosamente agitada por 5

minutos quando, então, com o auxílio de uma seringa, adicionou-se, gota a gota, a solução contendo o reagente de Grignard (brometo de isopropil magnésio) previamente preparada. Em seguida, uma solução de 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**67**) (0,411 g; 1,7 mmol), BF₃.Et₂O (0,482 g; 3,4 mmol) em 15 mL de THF anidro foi adicionada lentamente à mistura reagente. A mistura resultante foi mantida a -78 °C, sob agitação magnética, por 1h. Após esse tempo, permitiu-se que a temperatura da mistura reagente se igualasse à temperatura ambiente e fosse deixada sob agitação por 15 horas. Em seguida, adicionaram-se 50 mL de solução saturada de cloreto de amônio e deixou-se a mistura resultante sob agitação magnética por 30 minutos. As fases foram separadas, e a fase aquosa foi extraída com éter dietílico (3 x 50 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, e a fase orgânica resultante foi seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. A lactona **70** foi obtida como um óleo de coloração amarelada (0,324 g; 1,6 mmol), com rendimento de 93% (determinado pelo Método do Padrão Interno utilizando a técnica de cromatografia gasosa, item 3.5.4).

Característica: óleo amarelado.

CCD: R_f = 0,37 (DCM-hexano 3:2 v/v).

IV (filme em NaCl, cm⁻¹) \bar{n}_{\max} : 2969, 2931, 2873, 1773, 1637, 1458, 1015, 985, 755, 724.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) *d* (J/Hz): 1,20 (d, 6H, J = 7, H-2'); 3,10 (sept, 1H, J = 7, H-1'); 4,80 (s, 2H, H-5).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) *d* 20,1 (C-2'); 29,1 (C-1'); 70,7 (C-5); 107,2 (C-3); 169,2 (C=O e C-4).

EM, m/z (%): 206 (C₇H₉BrO₂, [M + 2]⁺⁺; 6); 204 ([M]⁺⁺, 6); 164 (27); 162 (26); 125 (19); 97 (17); 67 (53); 65 (26); 51 (28); 43 (100).

3.5.4. Determinação de Rendimento de Reações pelo Método do Padrão Interno Utilizando-se Cromatografia Gasosa (CG)

Inicialmente, duas soluções dos compostos 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**67**) e 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**), cada uma numa concentração de 600 ppm, foram analisadas por cromatografia gasosa (CG), em aparelho Shimadzu GC17A com detector de ionização de chama (FID), usando coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm de diâmetro; filme de 0,25 µm) e nitrogênio como gás de arraste. A temperatura do injetor foi de 220 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 100 °C por 2 minutos, aumentando de 100 °C para 240 °C na razão de 3 °C min⁻¹. A temperatura final permaneceu em 240 °C por 12 minutos. A temperatura do detector do sistema foi de 240 °C. Foram assim determinados os tempos de retenção dos compostos supra-mencionados. Para o composto 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**67**), o tempo de retenção observado foi de 7,10 minutos e para o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**), foi de 10,33 minutos.

O método do padrão interno descrito por Harris (2005) foi utilizado para a determinação dos rendimentos do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**) durante o processo de otimização das condições de reação para sua obtenção. Para tal propósito, uma mistura de hidrocarbonetos contendo de 9 a 26 átomos de carbonos foi analisada por cromatografia gasosa empregando-se as condições previamente mencionadas. Foi escolhido o pentadecano (C₁₅H₃₂), com tempo de retenção de 13,01 minutos para ser usado como padrão interno. Foram construídas duas curvas-padrão: uma para a determinação da concentração do composto 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**67**) (material de partida que restou após o término de cada reação) e outra para a determinação da concentração do produto de interesse 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**). Foram preparadas quatro soluções do composto 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**67**) em DCM, cujas concentrações utilizadas foram de 200, 400, 600 e 800 ppm. Em todas as soluções foi adicionado o padrão interno (pentadecano) de forma a obter a concentração de 600 ppm para o mesmo. Estas soluções foram analisadas por cromatografia gasosa sob as condições anteriormente descritas.

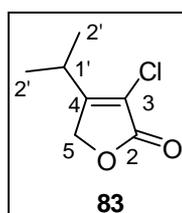
Empregando-se as áreas dos compostos 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**67**)/pentadecano, obtidas pelos cromatogramas, *versus* concentração do

composto 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**67**) em cada solução, foi possível obter uma curva padrão com $R^2 = 0,9997$. A equação da reta obtida foi $y = 0,0002x + 0,0003$, sendo y a razão entre as áreas dos compostos 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**67**)/pentadecano e x a concentração do composto 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**67**). Um procedimento similar foi utilizado para a obtenção da curva padrão da substância 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**70**). Neste caso, foi encontrada uma correlação com $R^2 = 0,9975$. A equação da reta obtida foi $y = 0,0005x - 0,0009$, sendo y a razão entre as áreas dos compostos 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**70**)/pentadecano e x a concentração do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**70**).

Para determinação das quantidades dos compostos **67** e **70**, os extratos orgânicos resultantes das 14 reações foram analisados por cromatografia gasosa (CG). Foram pesados 12 mg de cada amostra, e o material foi dissolvido em DCM (grau HPLC), adicionando-se pentadecano de forma a se obter a concentração de 600 ppm para o mesmo, tendo o volume sido completado com DCM em balão volumétrico de 5 mL. As soluções obtidas foram homogeneizadas e injetadas no cromatógrafo a gás. As concentrações do material de partida (3,4-dibromofuran-2(5H)-ona) (**67**) e do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**70**) foram calculadas pelas curvas padrão determinadas previamente, conforme descrito.

Os compostos **83-86** foram sintetizados *via* metodologia, previamente descrita, para a obtenção do composto **70**. A estrutura dos compostos **83-86** é suportada pelos dados espectroscópicos e espectrométricos apresentados a seguir.

3.5.5. 3-cloro-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**83**)



Característica: óleo amarelado.

Rendimento : 40% (0,104 ; 0,65 mmol) a partir de 1,7 mmol da lactona **82**.

CCD: $R_f = 0,48$ (DCM-hexano 3:2 v/v).

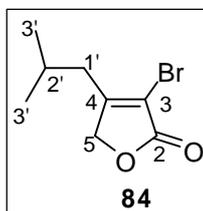
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 2971, 2936, 2876, 1773, 1645, 1351, 1181, 1025, 758.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) $d(J/\text{Hz})$: 1,20 (d, 6H, $J = 7$, **H-2'**); 3,10 (sept, 1H, $J = 7$, **H-1'**); 4,80 (s, 2H, **H-5**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) d : 20,1 (**C-2'**); 27,7 (**C-1'**); 69,4 (**C-5**); 117,8 (**C-3**); 165,1 (**C=O**); 169,2 (**C-4**).

EM, m/z (%): 162 ($\text{C}_7\text{H}_9\text{ClO}_2$, $[\text{M} + 2]^{++}$; 3); 160 ($[\text{M}]^{++}$; 9); 149 (7); 118 (47); 86 (61); 84 (100); 67 (38); 51(81).

3.5.6. 3-bromo-4-isobutillfuran-2(5H)-ona (**84**)



Característica: óleo amarelado.

Rendimento : 45% (0,167 g; 0,76 mmol) a partir de 1,7 da lactona **67**.

CCD: $R_f = 0,48$ (DCM-hexano 3:2 v/v).

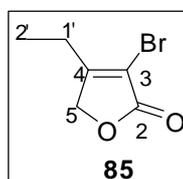
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 2959, 2930, 2871, 1769, 1634, 1456, 1345, 1151, 1027, 995, 755, 722, 669.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) $d(J/\text{Hz})$: 0,98 (d, 6H, $J = 7$, **H-3'**); 1,95 (m, 1H, $J = 7$, **H-2'**); 2,38 (d, 2H, $J = 7$, **H-1'**); 4,75 (s, 2H, **H-5**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) d : 22,8 (**C-3'**); 27,8 (**C-2'**); 37,8 (**C-1'**); 73,2 (**C-5**); 109,9 (**C-3**); 163,5 (**C=O**); 176,5 (**C-4**).

EM, m/z (%): 220 ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{BrO}_2$, $[\text{M} + 2]^+$, 4); 218 ($[\text{M}]^+$, 4); 176 (21); 178 (21); 149 (13); 97 (17); 86 (55); 84 (100); 71 (21); 69 (19); 57 (42); 55 (33); 51 (61).

3.5.7. 3-bromo-4-etilfuran-2(5H)-ona (**85**)



Característica: óleo amarelado.

Rendimento : 50% (0,162 g; 0,85 mmol) a partir de 1,7 mmol da lactona **67**.

CCD: $R_f = 0,48$ (DCM-hexano 3:2 v/v).

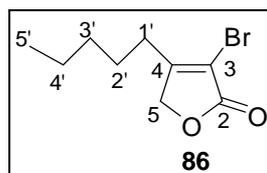
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 2977, 2939, 2881, 1778, 1759, 1644, 1460, 1441, 1154, 1024, 991, 756.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) d (J/Hz): 1,20 (t, 3H, $J = 8$, **H-2'**); 2,55 (qt, 2H, $J = 8$ e $J = 0,9$, **H-1'**); 4,78 (t, 2H, $J = 0,9$, **H-5**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) d : 11,3 (**C-2'**); 22,2 (**C-1'**); 72,4 (**C-5**); 108,3 (**C-3**); 165,4 (**C=O**); 169,6 (**C-4**).

EM, m/z (%): 192 ($\text{C}_6\text{H}_7\text{BrO}_2$, $[\text{M} + 2]^+$, 10); 190 ($[\text{M}]^+$, 11); 163 (29); 161 (30); 149 (9); 135 (7); 133 (7); 86 (57); 84 (97); 57 (54); 53 (100); 51 (78).

3.5.8. 3-bromo-4-pentilfuran-2(5H)-ona (86)



Característica: óleo amarelado.

Rendimento : 33% (0,131 g; 0,56 mmol) a partir da lactona **67**.

CCD: $R_f = 0,48$ (DCM-hexano 3:2 v/v).

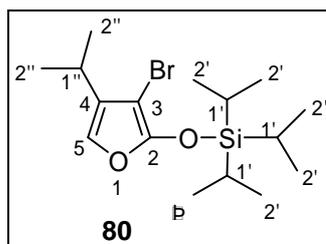
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 2956, 2927, 2858, 1770, 1642, 1030, 985, 755.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) d (J/Hz): 0,92; 1,35; 1,60; 2,26 (4m,8H, **H-1'** à **H-4'**); 2,50 (t, 3H; $J = 7$, **H-5'**); 4,77 (s, 2H, **H-5**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) d : 14,0 (**C-5'**); 22,4 (**CH₂**); 26,7 (**CH₂**); 28,7 (**CH₂**); 31,7(**CH₂**); 72,7 (**C-5**); 105,0 (**C-3**); 165,1 (**C=O**); 168,1 (**C-4**).

EM, m/z (%): 234 ($\text{C}_9\text{H}_{13}\text{BrO}_2$, $[\text{M} + 2]^+$, 1); 232 ($[\text{M}]^+$, 1); 125 (10); 95 (11); 86 (61); 84 (100); 69 (9); 55 (17); 51 (82).

3.5.9. 3-bromo-4-isopropil-2-triisopropilsiloxifurano (80)



Em um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona **70** (0,1060 g; 0,52 mmol) e 2 mL de diclorometano anidro. A solução foi resfriada a 0 °C e, em seguida, adicionaram-se tretilamina anidra (180 μ L; 0,68 mmol.) e TIPSOTf (94 μ L; 0,68 mmol). Após 30 minutos de agitação, adicionou-se uma solução aquosa 5% NaHCO₃ (10 mL), e a extração foi realizada com DCM (3 x 4 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, secou-se com MgSO₄, filtrou-se e concentrou-se sob pressão reduzida. O óleo marrom obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel eluída pela mistura hexano-Et₃N (99:1). O composto **80** foi obtido como um óleo transparente (0,1005 g; 0,25 mmol) e com rendimento de 48%.

Característica: óleo transparente.

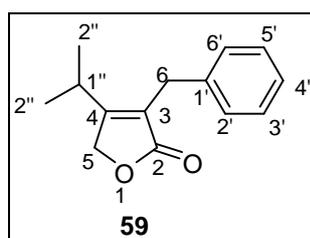
CCD: R_f = 0,88 (hexano-Et₃N 99:1 v/v).

IV (filme em NaCl, cm⁻¹) \bar{n}_{\max} : 2961; 2946; 2893; 2869; 1637; 1464; 1385; 1264; 1116; 1074; 1003.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) *d* (J/Hz): 0,80 (m, 3H, **H-1'**); 1,07(d, 9H, *J* = 8,7, **H-2'**); 1,10 (d, 6H, *J*=7,2; **H-2''**); 2,66 (sept, 1H; *J*=7,2; **H-1''**); 6,93 (d, 1H, *J* = 1,8 ; **H-5**)

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) *d*: 12,2 (**C-1''**); 17,9 (**C-2'**); 20,0 (**C-2''**); 71,0 (**C-3**); 137,0 (**C-5**); 144,0 (**C-4**); 167,0 (**C-2**).

3.5.10. 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**)



TENTATIVA 1 – Baseada no trabalho de Boukouvalas e Loach (2008), tentou-se sintetizar a lactona **59**, partindo-se do composto **80**.

Em um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se 3-bromo-4-isopropil-2-triisopropilsiloxifurano **80** (0,1000 g; 0,25 mmol) e 3 mL de THF anidro. A solução foi resfriada a -78 °C. Após 20 minutos de agitação, adicionaram-se 196 μL de *n*-BuLi (solução previamente titulada; 1,4 mol L⁻¹ em hexano; 0,28 mmol), e a solução foi agitada por 2 horas. Após esse tempo, aumentou-se a temperatura (-10 °C) e adicionou-se brometo de benzila (60 μL ; 0,50 mmol). A mistura resultante foi agitada por mais 2 horas. Após este tempo, adicionaram-se 5 mL de solução de HCl (3 mol L⁻¹) e Et₂O (8 mL). A fase aquosa foi extraída com Et₂O (3 x 5 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, e a fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material obtido foi diluído em DCM (2 mg/mL) e foi analisado por CG-EM, e nenhum sinal indicativo da formação do produto foi detectado.

TENTATIVA 2 – Metodologia baseada no trabalho de BONNET *et al.* (2001).

Em um balão bitubulado de 10 mL, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se magnésio metálico (37,5 mg; 1,5 mmol) e 1 mL de THF anidro. Após 10 minutos de agitação, adicionaram-se uma solução de brometo de benzila (185 mg; 0,13 mL; 1,24 mmol) e 1 mL de THF anidro. O término da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando-se a mistura de solventes DCM-hexano/3:2 (v/v).

A um segundo balão bitubulado (25 mL), sob atmosfera inerte de nitrogênio, adicionaram-se 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona **70** (170 mg; 0,83 mmol), o catalisador tetrakis(trifenilfosfina)paládio (0) [Pd(PPh)₄] (96 mg; 0,083 mmol) e 2 mL de THF anidro. A mistura foi resfriada a -78 °C e mantida sob agitação por 10 minutos. Decorrido esse tempo, adicionou-se gota a gota a solução do reagente de Grignard (brometo de benzil magnésio) (209 mg; 1,24 mmol), preparada previamente. O término da reação foi determinado pela análise em cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando-se a mistura DCM-Hexano/3:2 (v/v). Ao observar o consumo do material de partida, adicionaram-se água destilada (20 mL) e acetato de etila (80 mL). As fases

resultantes foram separadas. A fase aquosa foi extraída com duas porções (2 x 80 mL) de acetato de etila. Os extratos orgânicos foram combinados, e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl (40 mL), seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Uma alíquota da mistura resultante foi diluída em DCM (2 mg/mL) e analisada por CG-EM, não tendo sido detectado nenhum sinal indicativo da formação do produto.

TENTATIVA 3 – Acoplamento carbono-carbono via reação do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**), litiado por *n*-Buli, e o brometo de benzila.

Adicionaram-se a um balão bitubulado de 50 mL, sob atmosfera inerte de nitrogênio, 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona **70** (0,348 g; 1,7 mmol) e 8 mL de THF anidro. A mistura resultante foi resfriada a -78 °C e adicionou-se *n*-BuLi (solução previamente titulada 1,0 mol L⁻¹ em hexano, 2,5 mL; 2,5 mmol) ao longo de um período de 10 minutos. A mistura resultante foi mantida a -78 °C por 60 minutos. Decorrido esse período, adicionou-se gota a gota uma solução de brometo de benzila (0,3 mL; 2,5 mmol) dissolvida em 8 mL de THF. Deixou-se a reação sob agitação magnética até que a temperatura da mistura reagente se igualasse à temperatura ambiente. Então, foram adicionados água (20 mL) e acetato de etila (80 mL). As fases resultantes foram separadas, e a fase aquosa extraída com duas porções (2 x 80 mL) de acetato de etila. Os extratos orgânicos foram combinados, e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl (40 mL), seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O extrato orgânico resultante foi diluído em DCM (2 mg/mL) e analisado por CG-EM, não tendo sido detectado nenhum sinal indicativo da formação do produto.

TENTATIVA 4 – Acoplamento carbono-carbono via reação do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**), litiado por diisopropilamideto de lítio (LDA), e o brometo de benzila.

A um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se diisopropilamina anidra (121 mg; 0,17 mL; 1,2 mmol) e 7 mL de TFH anidro. A solução foi resfriada a -78 °C, e após 15 minutos de agitação

adicionou-se gota a gota *n*-BuLi (solução previamente titulada 1,2 mol L⁻¹ em hexano, 1 mL; 1,2 mmol). A mistura foi mantida sob agitação por 30 minutos, na mesma temperatura.

A um segundo balão bitubulado (50 mL), sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona **70** (205 mg; 1 mmol), hexametilfosforamida (HMPA) (342 mg; 0,33 mmol; 2,0 mmol) e 5 mL de THF anidro. A solução foi resfriada a -78 °C e agitada por 10 minutos. Em seguida, adicionou-se sob gotejamento uma solução de diisopropilamido de lítio (LDA) (7 mL; 1,2 mmol), previamente preparada. A mistura resultante foi agitada por 1 hora. Decorrido esse tempo, adicionou-se uma solução de brometo de benzila (256 mg; 0,18 mL; 1,5 mmol) em 5 mL de THF anidro. A mistura reagente foi mantida a -78 °C até o término da reação. Após 2 horas, observou-se o fim da reação [análise por CCD eluída pela mistura de solventes DCM-Hexano/4:1 (v/v)]. Após esse tempo, a reação foi mantida sob agitação magnética até que a temperatura da mistura reagente se igualasse à temperatura ambiente. Então, foram adicionados água destilada (20 mL) e acetato de etila (80 mL). As fases resultantes foram separadas. A fase aquosa foi extraída com duas porções (2 x 80 mL) de acetato de etila. Os extratos orgânicos foram combinados, e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl (40 mL), seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O extrato orgânico resultante foi diluído em DCM (2 mg/mL) e foi analisado por CG-EM, não tendo sido detectado nenhum sinal indicativo da formação do produto.

Síntese do composto **59** pela metodologia descrita por Bellina e Rossi, (2002).

Uma mistura contendo 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (1,03 g; 5,0 mmol), tris[dibenzilidenacetona]dipaládio (0) [Pd₂(dba)₃] (0,1150 g; 0,125 mmol), trifenilarsina (Ph₃As) (0,1550 g; 0,5 mmol) em DMF (25 mL) e THF (13 mL), sob atmosfera de nitrogênio, foi aquecida a 60 °C. Após 20 minutos de refluxo da solução, adicionou-se gota a gota uma solução de brometo de benzilzinco comercializada pela ALDRICH (0,5 M; 12 mL; 6,0 mmol). A mistura foi agitada sob refluxo por 5 horas, após esse tempo, permitiu-se que a temperatura da mistura reagente se igualasse à temperatura ambiente. A elaboração foi realizada adicionando-se uma solução aquosa saturada de

NH₄Cl (200 mL), e a extração foi feita com acetato de etila (5 x 50 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, lavados com H₂O (6 x 50 mL). A fase orgânica obtida foi seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material marrom (1,320 g) obtido foi fracionado em coluna de sílica-gel eluída com a mistura DCM-hexano (3:2 + 1% EtOAc). O produto foi obtido como um sólido amarelo palha (0,278 g; 25% de rendimento).

Síntese do composto **59** por metodologia adaptada de Bellina e Rossi (2002).

Em um balão bitubulado de 25 mL, adicionaram-se zinco em pedaços (1,178 g; 18 mmol) e 1 mL de THF anidro. Esta mistura foi colocada na presença de ultrassom por 15 minutos, até o escurecimento do zinco (ativação do metal). Após 5 minutos de agitação da mistura à temperatura ambiente, adicionou-se gota a gota uma solução de brometo de benzila (0,71 mL; 6 mmol) em 3 mL de THF anidro. A mistura foi aquecida até iniciar o refluxo. Após 40 minutos de agitação, verificou-se o consumo do brometo de benzila, adicionando-se então 8 mL de THF anidro.

A um segundo balão bitubulado de 300 mL, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona **70** (1,03 g; 5,0 mmol), Pd(PPh₃)₄ (0,290 g; 0,25 mmol), 25 mL de DMF e 13 mL de THF. A mistura foi aquecida a 60 °C. Dez minutos após a solução se encontrar sob refluxo, adicionou-se gota a gota a solução de brometo de benzilzinco (previamente preparada) (0,5 mol L⁻¹; 12 mL; 6,0 mmol). A mistura foi agitada sob refluxo por 5 horas. Decorrido esse tempo, permitiu-se que a temperatura da mistura reagente se igualasse à temperatura ambiente. A elaboração foi realizada adicionando-se uma solução aquosa saturada de NH₄Cl (200 mL), e a extração foi feita com acetato de etila (5 x 50 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, lavados com H₂O (6 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material marrom (1,260 g) obtido foi fracionado em coluna de sílica-gel eluída com a mistura DCM-hexano (3:1 + 1% EtOAc). O produto foi obtido como um sólido amarelo palha (0,390 g; 36% de rendimento).

Característica: sólido amarelo palha.

CCD: $R_f = 0,35$ (DCM-hexano 3:2 v/v).

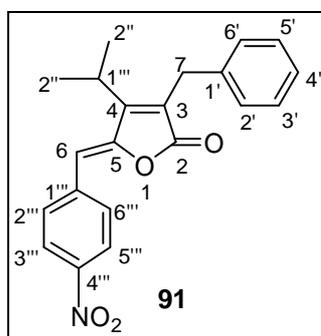
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 3061, 3027, 2963, 2921, 2850, 1750, 1665, 1601, 1494, 1453, 1345, 1173, 1070; 1055, 1010, 699 .

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) d (J/Hz): 1,11 (d, 6H, $J=7$, **H-2''**); 3,07 (sept., 1H, $J=7$, **H-1''**); 3,62 (s, 2H, **H-6**); 4,72 (s, 2H, **H-5**); 7,25 (m, 5H, **H-2'-H-6'**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) d : 21,2 (**C-2''**); 27,5 (**C-1''**); 29,7 (**C-6**); 69,0 (**C-5**); 126,7 (**C-4'**); 128,7 (**C-3'/C-5'**); 128,8 (**C-3**); 128,8 (**C-2'/C-6'**); 138,5 (**C-1'**); 167,1 (**C-4**); 175,3 (**C-2**).

EM, m/z (%): 216 ($\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_2$) (10); 173 (25); 155 (10); 129 (100); 91 (37); 65 (22); 43 (20).

3.5.11. 5(Z)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5H)-ona (**91**)



A um balão bitubulado de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**59**) (0,065 g; 0,30 mmol), 3 mL de DCM anidro, TBDMSOTf (85 μL ; 0,37 mmol), DIPEA (155 μL ; 0,60 mmol) e 4-nitrobenzaldeído (0,091 g; 0,60 mmol). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente por uma hora. Em seguida a mistura reagente foi refluxada e, então, adicionou-se DBU (60 μL ; 0,63 mmol). A mistura reagente foi deixada sob refluxo por uma hora. Após este tempo, transferiu-se a mistura reagente para um funil de separação, empregando-se 35 mL de DCM. A fase orgânica resultante foi lavada com solução aquosa de HCl 3 mol L^{-1} (2 x 15 mL) e solução saturada de NaCl (2 x 15 mL) e, em seguida, seca

com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, resultando num sólido amarelo. Esse foi fracionado em coluna de sílica-gel eluída com hexano-DCM 1:1 (v/v). A grande maioria das frações contendo o composto **88** mostrou-se, pela análise por CCD, contaminada. Estas frações foram, posteriormente, agrupadas e purificadas via recristalização, empregando-se como solvente uma mistura de hexano-DCM 50:1 (v/v). Esse procedimento resultou na obtenção de 38 mg (0,11 mmol) da substância **88**, com 36% de rendimento.

Característica: sólido amarelo.

T_f = 89,8-90,7 °C

CCD: R_f = 0,33 (hexano-DCM 1:1 v/v).

IV (filme em NaCl, cm⁻¹) \bar{n}_{\max} : 3100, 3070, 2925, 2852, 1768, 1518, 1433, 1342, 1110, 1075; 737, 695.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) *d*(J/Hz): 1,34 (d, 6H, *J* = 7, **H-2''**); 3,19 (sept, 1 H, *J* = 7, **H-1''**); 3,83 (simpleto largo, 2H; **H-7**); 6,20 (s, 1H; **H-6**); 7,20-7,33 (m, 5H; , **H-2'-H-6'**); 7,92 (d, 2H, *J* = 9; **H-2'''/H-6'''**); 8,22 (d, 2H, *J* = 9; **H-3'''/H-5'''**).

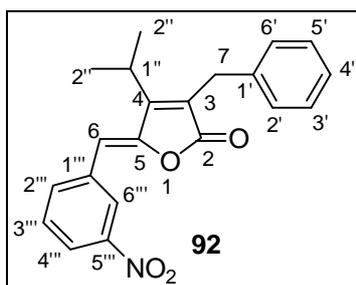
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) *d*: 21,8(**C-2''**); 26,8 (**C-1''**); 30,0 (**C-7**); 107,7(**C-6**); 123,1 (**C-3'''/C-5'''**); 127,0 (**C-4'**); 128,6 (**C-3'/C-5'**)*; 129,0 (**C-2'/C-6'**)*; 131,1 (**C-2'''/C-6'''**); 135,0 (**C-1'''**); 137,8 (**C-1'**); 139,2 (**C-3**); 139,9 (**C-4'''**); 149,9 (**C-4**); 157,6 (**C-5**); 170,0 (**C-2**).

*Essas atribuições podem estar invertidas.

EM, m/z (%): 349 ([M]⁺, C₂₁H₁₉NO₄, 79); 334 (8); 321 (27); 306 (23); 260 (7); 215 (18); 152 (23); 141 (21); 128 (30); 115 (32); 105 (17); 91 (100); 84 (66); 65 (24).

Os demais compostos **92-100** foram sintetizados pelo procedimento descrito na seção 3.5.11.

3.5.12. 5(Z)-3-benzil-4-isopropil-5-(3-nitrobenzilideno)furan-2(5H)-ona (**92**)



Característica: sólido levemente amarelado.

Rendimento: 83% (0,087 g; 0,250 mmol) a partir de 0,300 mmol da lactona **59** e 0,60 mmol de 3-nitrobenzaldeído.

T_f = 124,5–125,2 °C (purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, utilizando-se como eluente hexano-DCM 2:1 v/v e por recristalização usando a mistura de solventes hexano-DCM 50:1 v/v).

CCD: R_f = 0,30 (hexano-DCM 2:1 v/v).

IV (filme em NaCl, cm⁻¹) \bar{n}_{\max} : 3100, 3078, 3038, 1766, 1645, 1614, 1530, 1495, 1350, 1099, 1033, 1005, 910, 726, 700, 677.

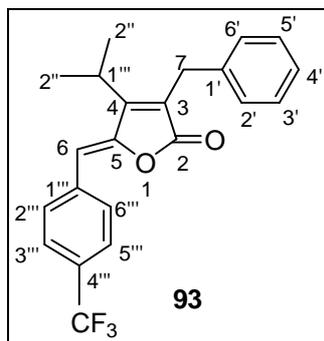
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) *d*(J/Hz): 1,34 (d, 6H, J = 7,0, **H-2''**); 3,19 (sept, 1H, J = 7,0, **H-1''**); 3,83 (s, 2H; **H-7**); 6,20 (s, 1H; **H-6**); 7,20-7,32 (m, 5H; **H-2'-H-6'**); 7,57 (t, 1H, J = 8,0; **H-3'''**); 8,13 (ddd, 1H, J = 2,1; J = 0,9; J = 8,0; **H-4'''**); 8,17 (duplete largo, 1H, J = 8,0; **H-2'''**); 8,44 (t, 1H; J = 2,1; **H-6''**).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) *d* 21,8 (**C-2''**); 26,8 (**C-1''**); 29,9 (**C-7**); 107,7 (**C-6**); 123,1 (**C-4'''**); 125,1 (**C-6'''**); 126,9 (**C-4'**); 128,5 (**C-3'/C-5'**)[†]; 129,0 (**C-2'/C-6'**)[†]; 130,0 (**C-3'''**); 135,1 (**C-1'''**); 136,0 (**C-3**); 138,0 (**C-2'''**); 136,7 (**C-1'**); 139,1 (**C-4**); 157,6 (**C-5**); 149,2 (**C-5''**); 170,0 (**C-2**).

*Essas atribuições podem estar invertidas

EM, *m/z* (%): 349 ([M]⁺, C₂₁H₁₉NO₄, 45); 332 (17); 306 (7); 266 (5); 215 (10); 141 (14); 128 (17); 115 (21); 91 (100); 89 (23).

3.5.13. 5(*Z*)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5*H*)-ona
(93)



Característica: **sólido branco.**

Rendimento: 40% (0,055 g; 0,150 mmol) a partir de 0,370 mmol da lactona **59** e 0,74 mmol de 4-trifluorometilbenzaldeído).

CCD: $R_f = 0,30$ (hexano-DCM 2:1 v/v).

$T_f = 83,3-83,6$ °C (purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se como eluente hexano-DCM 2:1 v/v e por recristalização usando a mistura de solventes hexano-DCM 50:1 v/v).

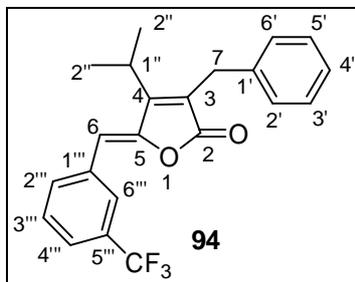
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 3029, 2972, 2932, 1769, 1649, 1615, 1495, 1416, 1324, 1165, 1124, 1069, 964, 699.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) $d(\text{J}/\text{Hz})$: 1,33 (d, 6H, $J = 7,2$; **H-2''**); 3,17 (sept, 1H, $J = 7,2$; **H-1''**); 3,83 (s, 2H; **H-7**); 6,20 (s, 1H; **H-6**); 7,20-7,33 (m, 5H; **H-2'-H-6'**); 7,62 (d, 2H, $J = 8,4$; **H-3'''/H-5'''**); 7,88 (d, 2H, $J = 8,4$; **H-2'''/H-6'''**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $d(\text{J}/\text{Hz})$: 21,8 (**C-2''**); 26,8 (**C-1''**); 29,9 (**C-7**); 108,7 (**C-6**); 125,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$; **C-3'''/C-5'''**); 126,0 (CF_3); 128,5 (**C-2'/C-6'**); 128,9 (**C-3'/C-5'**); 130,6 (**C-4'''**); 130,7 (**C-2'''/C-6'''**); 134,0 (**C-3**); 136,5 (**C-1'''**); 136,8 (**C-1'**); 138,0 (**C-4**); 157,7 (**C-5**); 170,3 (**C-2**).

EM, m/z (%): 372 ($[M]^+$, $C_{22}H_{19}F_3O_2$, 100); 329 (29); 301 (15); 215 (15); 173 (14); 158 (32); 141 (22); 115 (35); 105 (17); 91 (100); 65 (25); 51 (14).

3.5.14. 5(Z)-3-benzil-4-isopropil-5-(3-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5H)-ona (**94**)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 22 % (0,030 g; 0,081 mmol) a partir de 0,370 mmol da lactona **59** e 0,740 mmol de 3-trifluorometilbenzaldeído.

CCD: $R_f = 0,28$ (hexano-DCM 2:1 v/v).

$T_f = 89,9-90,8$ °C (purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se como eluente hexano-DCM 2:1 v/v e por recristalização usando a mistura de solventes hexano-DCM 50:1 v/v).

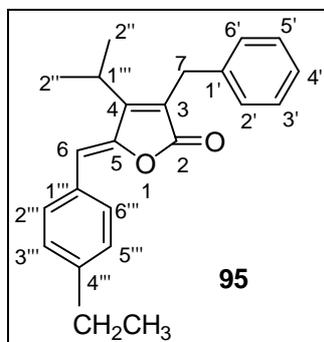
IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 3090, 3060, 2971, 2932, 1775, 1613, 1500, 1464, 1329; 1167, 1127, 1075, 1002; 987, 802, 696; 655.

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) $d(J/Hz)$: 1,33 (d, 6H, $J = 7,2$; **H-2''**); 3,17 (sept, 1H, $J = 7,2$; **H-1''**); 3,82 (simpleto largo, 2H; **H-7**); 6,20 (s, 1H; **H-6**); 7,19-7,32 (m, 5H; **H-2'-H-6'**); 7,48-7,56 (m, 2H; **H-3''' e H-4'''**); 7,88 (simpleto largo, 1H; **H-6'''**); 8,08 (duplete largo, 1H, $J = 6,9$; **H-2'''**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) $d(J/Hz)$: 21,8 (**C-2''**); 25,9 (**C-1''**); 29,9 (**C-7**); 108,8 (**C-6**); 125,0 (q, $J_{C-F} = 3,6$; **C-4'''**); 125,2 (**CF₃**); 126,8 (q, $J_{C-F} = 3,8$; **C-6'''**); 127,1 (**C-4'''**); 128,5 (**C-2'/C-6'**); 128,9 (**C-3'/C-5'**); 129,5 (**C-3'''**); 130,6 (**C-5'''**); 133,2 (**C-2'''**); 133,8 (**C-3**); 133,9(**C-1'''**); 136,9 (**C-1'**); 139,33 (**C-4**); 148,46 (**C-5**); 169,88 (**C-2**).

EM, m/z (%): 372 ($[M]^{+}$, $C_{22}H_{19}F_3O_2$, 30); 344 (8); 330 (100); 289 (29); 155 (28); 115 (16); 91 (50); 84 (30); 65 (12); 51 (17).

3.5.15. 5(*Z*)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-etilbenzilideno)furan-2(*5H*)-ona (**95**)



Característica: sólido branco.

Rendimento: 30% (0,048 g; 0,144 mmol) a partir de 0,490 mmol da lactona **59** e 0,980 mmol de 4-etilbenzaldeído.

CCD: $R_f = 0,28$ (hexano-DCM 2:1 v/v).

$T_f = 87,2-88,4$ °C (purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se como eluente hexano-DCM 2:1 v/v e por recristalização usando a mistura de solventes hexano-DCM 50:1 v/v).

IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 3061, 3027, 2927, 2852, 1755, 1650, 1604, 1494, 1454, 1109, 1039, 863, 699.

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) $d(J/Hz)$: 1,24 (t, 3H, $J = 7,5$; CH_2CH_3); 1,31 (d, 6H, $J = 7,2$; **H-2''**); 2,65 (q, 2H, $J = 7,2$; CH_2CH_3); 3,15 (sept, 1H, $J = 7,2$; **H-1''**); 3,81 (s, 2H; **H-7**); 6,16 (s, 1H; **H-6**); 7,20 (d, 2H, $J = 8,1$; **H-3'''/H-5'''**); 7,25-7,31 (m, 5H; **H-2'-H-6'**); 7,66 (d, 2H, $J = 8,1$; **H-2'''/H-6'''**).

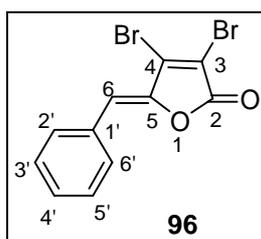
RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) d : 15,6 (CH_2CH_3); 21,9 (**C-2''**); 26,7 (**C-1''**); 29,0 (CH_2CH_3); 29,8 (**C-7**); 110,8 (**C-6**); 126,7 (**C-4'**); 128,5 (**C-3'''/C-5'''**);

128,6 (C-3'/C-5')*; 128,9 (C-2'/C-6')*; 129,1 (C-2'''/C-6'''); 130,8 (C-1'''); 130,9 (C-3); 138,5 (C-1'); 145,6 (C-4); 146,8 (C-4'''); 158,0 (C-5); 171,0 (C-2).

*Essas atribuições podem estar invertidas

EM, m/z (%): 332 ([M]⁺, C₂₃H₂₄O₂, 100); 317 (16); 261 (8); 241 (6); 211 (12); 183 (9); 146 (12); 131 (42); 115 (21); 91 (50); 84 (28); 65 (9); 51 (11).

3.5.16. 5(Z)-3,4-dibromo-5-benzilidenofuran-2(5H)-ona (**96**)



Característica: sólido marrom.

Rendimento: 15% (0,018 g; 0,055 mmol) a partir de 0,370 mmol da lactona **67** e 0,780 mmol de benzaldeído.

CCD: R_f = 0,29 (hexano-DCM 2:1 v/v).

T_f = 100,0-100,6 °C (purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se como eluente hexano-DCM 2:1 v/v e por recristalização usando a mistura de solventes hexano-DCM 50:1 v/v).

IV (filme em NaCl, cm⁻¹) \bar{n}_{\max} : 3057, 1769, 1647, 1556, 1221, 1180, 990, 969, 869, 755, 696.

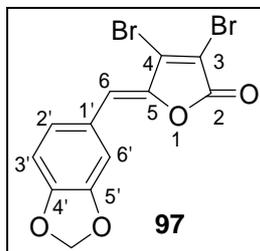
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) $d(J/\text{Hz})$: 6,16 (s, 1H; H-6); 7,39-7,43 (m, 3H, H-3'-H-5'); 7,79-7,82 (m, 2H; H-2'/H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) d : 113,4 (C-3); 114,5 (C-6); 129,3 (C-2'/C-6')*; 130,5 (C-4'); 131,3 (C-3'/C-5')*; 132,1 (C-1'); 137,6 (C-4); 145,8 (C-5); 163,6 (C-2).

*Essas atribuições podem estar invertidas

EM, m/z (%): 332 (C₁₁H₆Br₂O₂, [M+4]⁺, 48); 330 ([M + 2]⁺, 100); 331 ([M]⁺, 12); 328 (49); 249 (11); 193 (39); 118 (65); 90 (83); 61 (70).

3.5.17. 5(Z)-3,4-dibromo-5-(3,4-metilenodioxibenzilideno)furan-2(5H)-ona (**97**)



Característica: sólido amarelo.

Rendimento: 64,5% (0,179 g; 0,477 mmol) a partir de 0,74 0 mmol da lactona **67** e 1,560 mmol de piperonal.

CCD: R_f = 0,30 (hexano-DCM 2:1 v/v).

T_f = 170,5-171,2 °C (purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se como eluente hexano-DCM 2:1 v/v e por recristalização usando a mistura de solventes hexano-DCM 50:1 v/v).

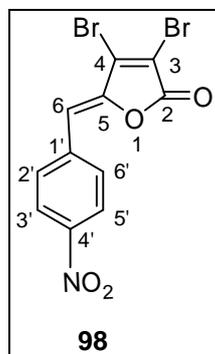
IV (filme em NaCl, cm⁻¹) \bar{n}_{\max} : 3075, 2917, 1768, 1651, 1569, 1502, 1269, 1254, 1106, 1017, 983, 930, 656.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) *d*(J/Hz): 6,04 (s, 2H, -O-CH₂-O-); 6,36 (s, 1H, H-6); 6,84 (d, 1H, J = 8,1; H-3'); 7,21 (dd, 1H, J = 8,1; J = 1,8; H-2'); 7,46 (d, 1H; J = 1,8; H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) *d*: 101,8 (-O-CH₂-O-); 108,5 (C-3'); 109,0 (C-6'); 110,3 (C-6); 125,4 (C-2'); 127,5 (C-3); 129,9 (C-1'); 132,0 (C-4); 148,7 (C-5'); 149,8 (C-4'); 161,1 (C-2'); 162,0 (C-5).

EM, m/z (%): 376 ($C_{12}H_6Br_2O_4$, $[M+4]^+$, 45); 374 ($[M + 2]^+$, 100); 372 ($[M]^+$, 53); 162 (52); 134 (58); 133 (24); 76 (82); 51 (27); 50 (86).

3.5.18. 5(Z)-3,4-dibromo-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5H)-ona (**98**)



Característica: sólido amarelo.

Rendimento: 13% (0,030 g; 0,080 mmol) a partir de 0,147 mmol da lactona **67** 0,730 mmol de 4-nitrobenzaldeído.

CCD: $R_f = 0,23$ (hexano-DCM 2:1 v/v).

$T_f = 188,0-189,0$ °C (purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se como eluente hexano-DCM 2:1 v/v e por recristalização usando a mistura de solventes hexano-DCM 50:1 v/v).

IV (filme em NaCl, cm^{-1}) \bar{n}_{max} : 3041, 1724, 1593, 1609, 1518, 1345, 1108, 1024, 859, 786.

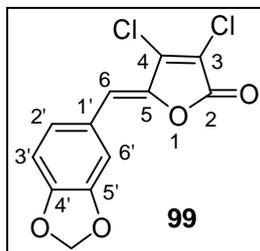
RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) $d(J/Hz)$: 6,77 (s, 1H; **H-6**); 8,00 (d, 2H, $J = 9$; **H-3'/H-5'**); 8,27 (d, 2H; $J = 9$; **H-2'/H-6'**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) d : 105,0 (**C-6**); 119,1 (**C-3**); 123,8 (**C-3'/C-5'**)*; 129,8 (**C-2'/C-6'**)*; 135,3 (**C-4**); 137,0 (**C-1'**); 146,0 (**C-5**); 148,5 (**C-4'**); 158,3 (**C-2**).

*Essas atribuições podem estar invertidas

EM, *m/z* (%): 377 (C₁₁H₅Br₂NO₄, [M+4]⁺, 45); 375 ([M + 2]⁺, 100); 373 ([M]⁺, 53); 162 (52); 134 (58); 133 (24); 76 (82); 51 (27); 50 (86).

3.5.19. 5(*Z*)-3,4-dicloro-5-(3,4-dioxametilbenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (**99**)



Característica: sólido amarelo.

Rendimento: 70 % (0,310 g; 0,829 mmol) a partir de 0,740 mmol da lactona **82** e 1,56 mmol de piperonal.

CCD: R_f = 0,32 (hexano-DCM 2:1 v/v).

T_f = 159,0-160,0 °C (purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, empregando-se como eluente hexano-DCM 2:1 v/v e por recristalização usando a mistura de solventes hexano-DCM 50:1 v/v).

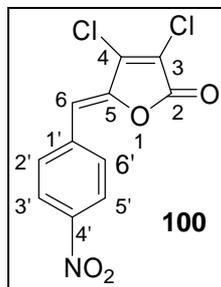
IV (filme em NaCl, cm⁻¹) \bar{n}_{\max} : : 3075, 2916, 1769, 1651, 1618, 1570, 1503, 1453, 1269, 1254, 1108, 1015, 803, 741.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) *d*(*J*/Hz): 6,03 (s, 2H, -O-CH₂-O-); 6,31 (s, 1H, H-6); 6,84 (d, 1H, *J* = 8,1; H-3'); 7,18 (dd, 1H, *J* = 8,1; *J* = 1,8; H-2'); 7,44 (d, 1H; *J* = 1,8; H-6').

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) *d*: 102,0 (-O-CH₂-O-); 109,0 (C-3'); 110,4 (C-6'); 113,0 (C-6); 126,2 (C-2'); 127,4 (C-3); 130,2 (C-1'); 132,3 (C-4); 148,7 (C-5'); 149,8 (C-4'); 161,5 (C-5); 162,4 (C-2).

EM, *m/z* (%): 288 (C₁₂H₆Cl₂O₄, [M + 4]⁺⁺, 11); 286 ([M + 2]⁺⁺, 65); 285 ([M + 1]⁺⁺, 21); 284 ([M]⁺⁺, 100); 162 (37); 51 (16); 50 (26).

3.5.20. 5(Z)-3,4-dicloro-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5H)-ona (**100**)



Característica: sólido amarelo.

Rendimento: 10% (0,017 g; 0,061 mmol) a partir de 0,093 mmol da lactona **82** e 0,730 mmol de 4-nitrobenzaldeído.

CCD: R_f = 0,33 (hexano-DCM 2:1 v/v).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) *d*(J/Hz): 6,44 (s, 1H; **H-6**); 7,92-7,95 (m, 2H, **H-3'**-**H-5'**); 8,26-8,29 (m, 2H; **H-2'**/**H-6'**).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) *d*: 160,0 (**C-2**); 121,7 (**C-3**); 146,4 (**C-4**); 143,9 (**C-5**); 101,0 (**C-6**); 141,0 (**C-1'**); 127,8 (**C-2'**); 123,9 (**C-3'**); 148,1 (**C-4'**); 122,9 (**C-5'**); 126,9 (**C-6'**).

EM, *m/z* (%): 289 (C₁₁H₅Cl₂NO₄, [M + 4]⁺⁺, 12); 288 ([M + 3]⁺⁺, 9); 287 ([M + 2]⁺⁺, 67); 285 ([M]⁺⁺, 100); 255 (50); 163 (13); 133 (70); 51 (88); 50 (33).

3.4. Resultados e Discussão

3.4.1. Síntese dos compostos 3,4-dialofuran-2(5H)-onas

Os ácidos mucobrômico (**81**) e mucoclórico (**98**) (Figura 2) são disponíveis comercialmente e considerados úteis do ponto de vista sintético (ZHANG *et al.*, 2005). Na literatura, são conhecidos diversos exemplos de utilização destes compostos em síntese orgânica. Por exemplo, Bellina e colaboradores (2001) descreveram a síntese de (*Z*)-4-aryl-5-[1-(aryl)metileno]-3-bromo-furan-2(5H)-onas a partir do ácido mucobrômico (**81**). Em 2002, Belina e Rossi utilizaram o mesmo ácido para o preparo do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**59**), precursor dos nostoclídeos I e II, conforme já mencionado. O ácido mucoclórico (**98**) foi utilizado como material de partida para a síntese de diversos compostos: 4-aryl-3-cloro-furan-2(5H)-onas, (*Z*)-4-aryl-5-[1-arylmetileno]-3-cloro-furan-2(5H)-onas e 3,4-diaril-furan-2(5H)-onas (BELLINA *et al.*, 2003). Recentemente, Zhang e colaboradores (2005) descreveram a síntese de diversos novos butenolídeos *g*-substituídos, utilizando como materiais de partida os ácidos **81** e **98**.

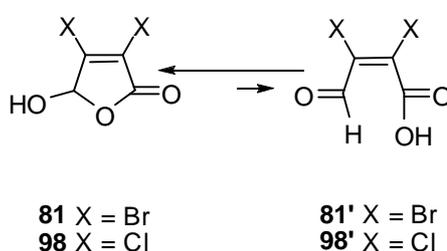
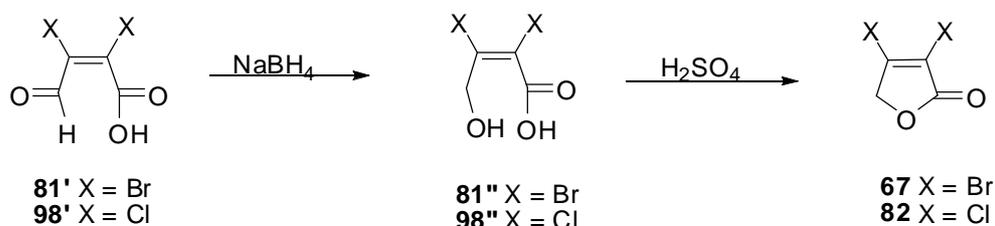


Figura 2 - Estrutura dos ácidos mucobrômico (**81**) e mucoclórico (**98**) nas formas cíclica e aberta.

Conforme mostrado na Figura 2, os ácidos **81** e **98** podem ser interconvertidos nas formas abertas (**81'** e **98'**). Este fato pode explicar a facilidade com que estes ácidos sofrem redução na presença de boridreto de sódio (NaBH₄). O grupo aldeído, presente na forma aberta, sofre redução na presença do boridreto de sódio, levando a formação *in situ* do álcool correspondente, e após acidificação do meio ocorre a ciclização, levando à obtenção dos compostos **67** e **82** (Esquema 13).



Esquema 13 - Redução dos ácidos **81** e **98** na presença de NaBH_4 .

O desenvolvimento deste trabalho teve como ponto de partida o preparo das lactonas **67** e **82**, via redução dos ácidos **81** e **98**. As lactonas **67** e **82** foram obtidas com rendimentos de 75% e 60%, respectivamente.

A caracterização das furanonas **67** e **82** iniciou-se pela análise dos respectivos espectros no IV. No espectro da substância **67**, foram observadas as bandas em 1757 e 1023 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C=O e C-O , respectivamente, e em 749 e 717 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos das ligações C-Br (Figura 3). Para o composto **82**, foram observadas bandas em 1771 cm^{-1} e em 1037 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C=O e C-O , respectivamente.

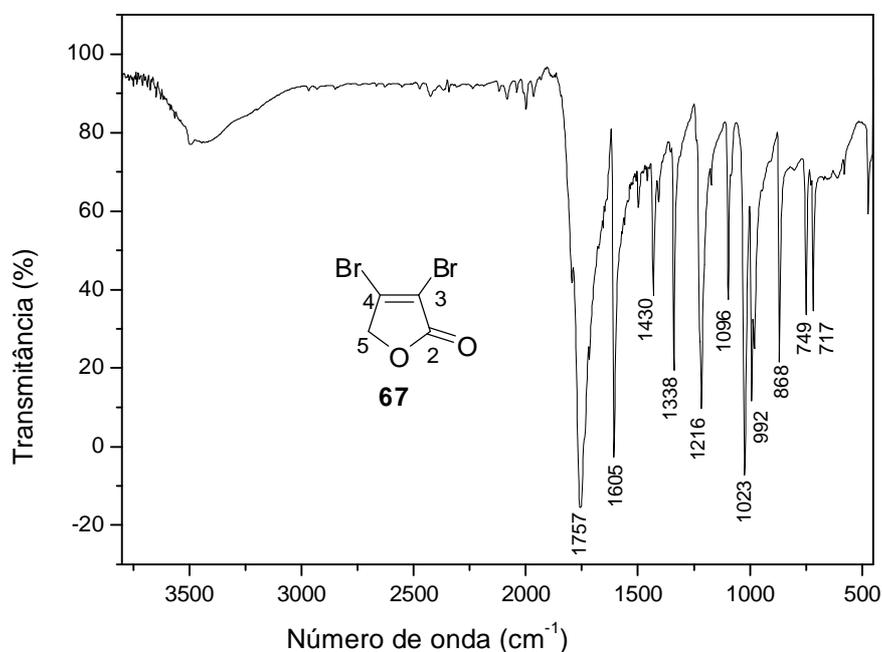


Figura 3 - Espectro no IV (filme, NaCl) da lactona **67**.

No espectro de massas da lactona **67** (Figura 4), a presença do pico em m/z 240 ($[M]^+$) é consistente com a fórmula molecular do composto ($C_4H_2Br_2O_2$), e os picos em m/z 242 ($[M + 2]^+$) e em m/z 244 ($[M + 4]^+$) confirmaram a presença de dois átomos de bromo na molécula. O pico do íon molecular foi também observado para o composto **82** em m/z 152, confirmando a fórmula molecular do composto ($C_4H_2Cl_2O_2$), e os picos em m/z 154 ($[M + 2]^+$) e em m/z 156 ($[M + 4]^+$) comprovaram a presença dos dois átomos de cloro na molécula.

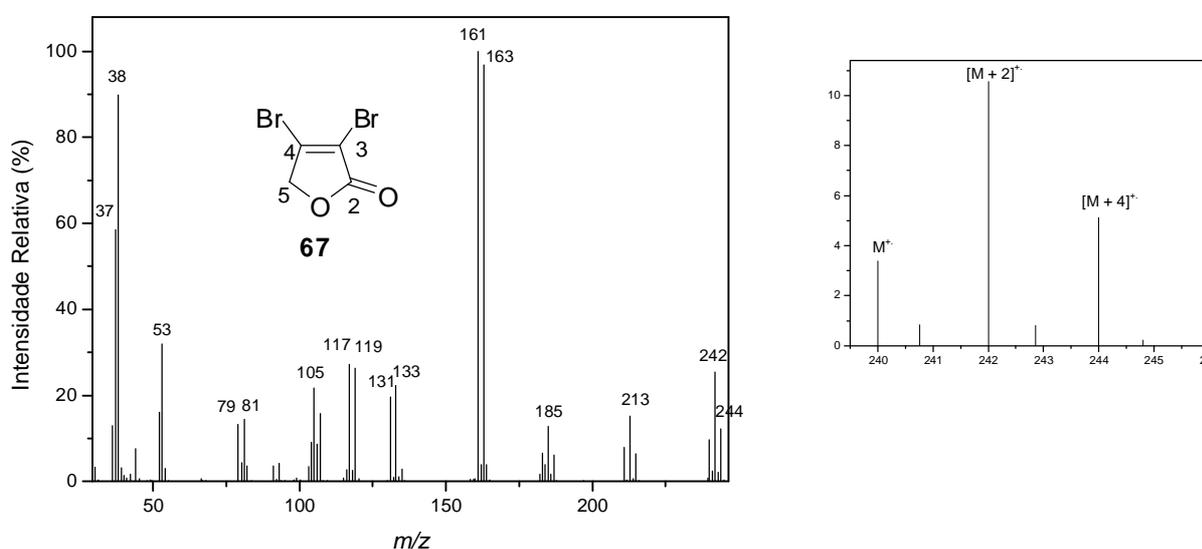


Figura 4 - Espectro de massas da lactona **67**.

O espectro de RMN de 1H da substância **67** apresentou apenas um sinal (simpleto) em d_H 4,90 (H-5). No espectro de ^{13}C da lactona **67** (Figura 5), o sinal em d_C 166,8 corresponde ao grupo carbonila, e os sinais em d_C 143,8 e 114,9 correspondem aos carbonos ligados aos átomos de bromo. Já o sinal em d_C 74,4 foi relacionado ao C-5. Quanto ao composto **82**, no espectro de RMN de 1H , o sinal dos hidrogênios metilênicos foi observado em d_H 4,89, e o espectro de RMN de ^{13}C apresentou os sinais em d_C 79,8; 121,0; 148,8; 165,8.

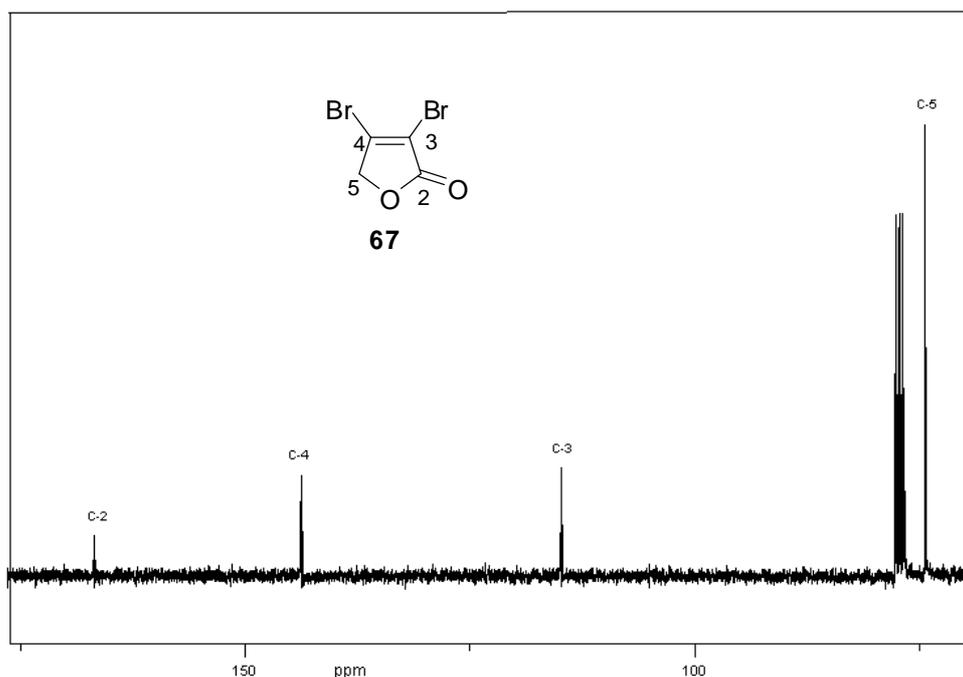


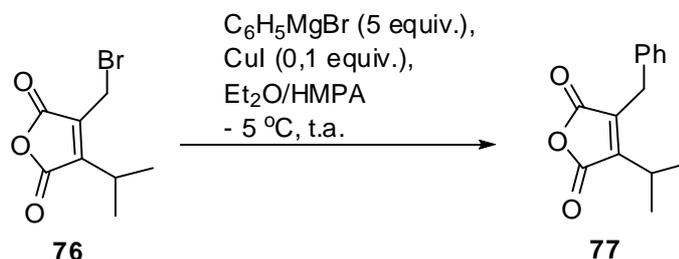
Figura 5 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona **67**.

3.4.2. Busca por uma metodologia alternativa para a síntese da substância 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**70**)

O composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**70**) foi sintetizado por Bellina e Rossi (2002) e não há outros relatos descritos na literatura a respeito da síntese deste composto. Conforme já mencionado (Esquema 14), a metodologia empregada por estes autores utiliza reagentes tóxicos (organoestânicos), de custo elevado (catalisador de paládio e catalisador de Wilkson) e longo tempo de reação (5 dias de reação). Em vista destes fatos, buscou-se o desenvolvimento de uma metodologia alternativa para o preparo do composto **70**. Neste sentido, várias reações químicas foram realizadas para obtenção das melhores condições de reação para o preparo do composto **70**.

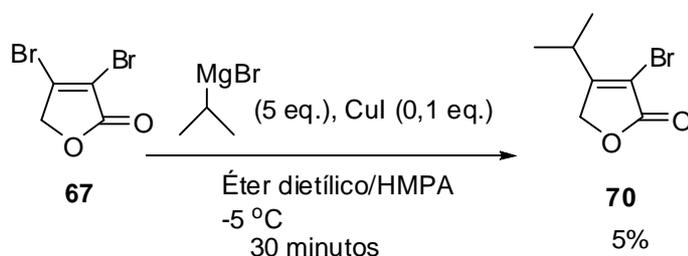
A primeira reação implementada visando à obtenção de **70** foi baseada no trabalho de Kar e colaboradores (2005). Neste trabalho, em uma das etapas da síntese do nostoclídeo I, utilizaram-se o reagente de Grignard (brometo de fenil magnésio) na presença de iodeto de cobre e hexametilfosforamida (HMPA) para a substituição nucleofílica de um átomo de

bromo do composto **76** por um grupo fenila, para a obtenção do composto **77** (Esquema 14).



Esquema 14 - Processo de substituição de um grupo bromo presente no composto **76** por um grupo fenila, para a obtenção do composto **77** (KAR *et al.*, 2005).

Inspirado pelo trabalho de Kar (2005) e considerando-se a possibilidade de substituir-se um átomo de bromo do composto **67** pelo grupo isopropila proveniente do reagente brometo de isopropil magnésio (reagente de Grignard), foi realizada a primeira tentativa de síntese do composto **70** (Esquema 15). A lactona **70** foi obtida com apenas 5% de rendimento e recuperou-se 80% do material de partida (composto **67**).

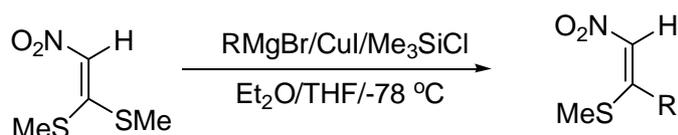


Esquema 15 - Condições usadas na primeira tentativa de preparação de **70**.

Nesta primeira tentativa, o composto **70** foi obtido com um baixo rendimento (5%). Especulou-se que, possivelmente, uma extensão do tempo de reação (30 minutos) poderia ser benéfico para aumentar o rendimento de **70**. Assim, empregando-se as mesmas condições mostradas no Esquema 15, uma nova tentativa de preparação de **70** foi realizada, sendo a reação monitorada por cromatografia em camada delgada por um período de três horas. Neste caso, o composto **70** foi obtido com rendimento de 10%, sendo que 10% do material de partida (**67**) foi recuperado.

Na terceira tentativa de preparo do composto **70**, o éter dietílico e o co-solvente HMPA foram substituídos por THF anidro, sendo o tempo de reação igual a 16 horas. O rendimento obtido para o composto **70** foi de 13%. Com este resultado, presumiu-se que a adição do co-solvente HMPA não era necessária, e que os solventes THF ou éter etílico não apresentaram diferenças consideráveis em termos de rendimento do produto **70**.

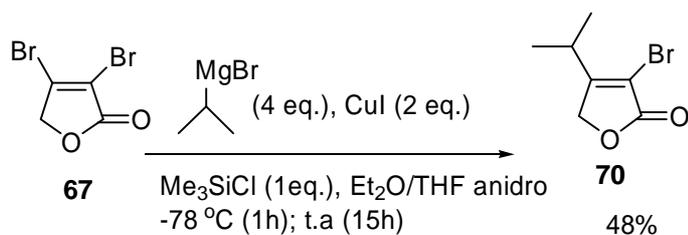
Diante dos resultados descritos anteriormente, na tentativa de sintetizar o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**), decidiu-se utilizar uma adaptação da metodologia descrita por Tereng *et al.* (1998). Estes pesquisadores estudaram uma reação de adição-eliminação conjugada (Esquema 16), em que o cloreto de trimetilsilano, organocupratos e 2-bis(metiltio)nitroetileno foram utilizados, sendo o resultado a síntese de compostos do tipo 2-metiltio-2-alkil/aryl-1-nitroetilenos com alta estereosseletividade.



R	Rendimento (%)
Et	61
<i>n</i> -Pr	72
<i>i</i> -Pr	71
C ₆ H ₅	65
4-MeOC ₆ H ₄	69

Esquema 16 - Síntese de compostos do tipo 2-metiltio-2-alkil/aryl-1-nitroetilenos descrita por TERANG *et al.*, 1998.

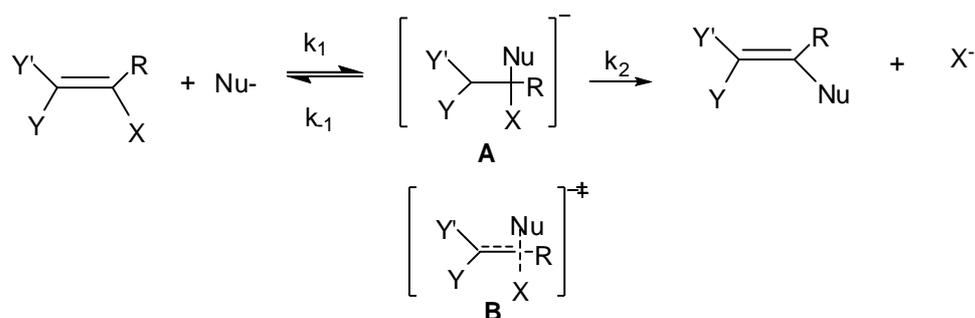
Baseado no trabalho de Terang e colaboradores (1998), as condições reacionais utilizadas na quarta tentativa do preparo de **70** encontram-se mostradas no Esquema 17. A temperatura de -78 °C foi mantida por 1h e após este tempo deixou-se a temperatura da reação igualar-se à temperatura ambiente (t.a), e a mistura reagente foi agitada por 16 horas. Após este tempo, foi observado via análise por cromatografia em camada delgada que todo o material de partida havia sido consumido, e o composto **70** foi obtido um rendimento de 48%.



Esquema 17 - Condições de reação empregadas para o preparo de **70** adaptadas de TERANG *et al.*, (1998).

Esta metodologia empregada para o preparo do composto **70** é totalmente inédita. Comparando-a com a metodologia utilizada por Bellina e Rossi (2002), ela apresenta algumas vantagens, tais como o uso de reagentes de baixo custo, curto tempo de reação e obtenção do composto **70** em uma única etapa. Os resultados promissores alcançados neste ponto motivaram a busca de condições que pudessem melhorar ainda mais os rendimentos da reação de preparo do composto **70**.

Em um recente trabalho, Bernasconi e Rappoport (2009) reportaram os avanços no entendimento do mecanismo de substituição nucleofílica vinílica ($\text{S}_{\text{N}}\text{V}$). As reações $\text{S}_{\text{N}}\text{V}$ apresentam muitas variações mecanísticas, devido às diferenças entre os substituintes, nucleófilos, grupos abandonadores, solventes, entre outros fatores. O mecanismo de reação de adição-eliminação da $\text{S}_{\text{N}}\text{V}$ foi alvo de estudo nesse trabalho. Observações experimentais e cálculos computacionais foram usados para a realização da proposta mecanística mostrada no Esquema 18. Na primeira etapa, ocorre ataque nucleofílico sobre a ligação dupla originando o intermediário carbânion **A**. No estado de transição envolvido nesta etapa (estrutura **B**, Esquema 18), ocorre a formação da ligação C-Nu e a quebra da dupla ligação. Sendo o grupo X um nucleofúgo em potencial, ocorre a etapa de eliminação de X^- com a regeneração da dupla ligação.



Esquema 18 – Proposta mecanística de adição-eliminação da S_NV (BERNASCONI e RAPPOPORT, 2009)

A proposta mecanística de reações de adição-eliminação da S_NV descrita por Bernasconi e Rappoport (2009) é baseada em estudos de reações com íons tiolatos, reações de alcóxidos com íons hidróxidos e reações com aminas. Contudo, as observações descritas nesse trabalho se estendem para o entendimento de outros tipos de reações de adição-eliminação, caso da reação representada no Esquema 17.

3.4.3. Resultados do processo de otimização da metodologia empregada no preparo do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (70)

A otimização das condições da reação mostrada na Tabela 3 (p.92) foi realizada com a variação dos seguintes parâmetros: temperatura (0 ou -78 °C), solvente (éter dietílico ou THF anidro), ácido de Lewis (Me_3SiCl ou $BF_3 \cdot Et_2O$) e sal de cobre (CuI ou $CuBr \cdot Me_2S$).

Foram realizadas 14 reações em duplicata. Para facilitar o trabalho, os rendimentos foram calculados pelo método do padrão interno utilizando-se a técnica de cromatografia gasosa. O padrão interno escolhido foi o pentadecano devido à sua acessibilidade no laboratório e por não interferir no processo de análise com respeito à possibilidade de o mesmo apresentar tempo de retenção idêntico aos compostos de interesse na análise. Este último fato foi determinado com base nas informações dos tempos de retenção obtidos a partir de uma mistura de hidrocarbonetos, que poderiam ser usados como padrão interno, e que foi previamente analisada por cromatografia gasosa (vide seção 3.5.4). Em algumas reações realizadas para a síntese do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (70), verificou-se que o material de partida (composto 67) não era totalmente consumido. Por este motivo,

foram construídas duas curvas-padrão: uma para calcular a porcentagem do material de partida **67** que não foi consumido (Figura 6) e outra para determinar o rendimento do composto **70** (Figura 7).

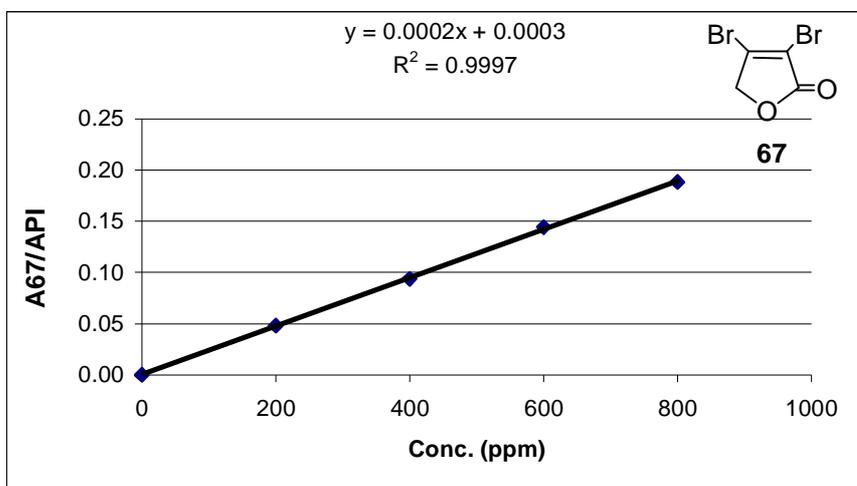


Figura 6 - Curva padrão para o composto 3,4-dibromofuran-2(5H)-ona (**67**). A67 é igual à área do composto **67** e API corresponde à área do padrão interno (pentadecano).

Por meio das equações obtidas pelas curvas padrão (Figuras 6 e 7), foram calculadas as porcentagens de material de partida não consumido (composto **67**) e os rendimentos obtidos para o composto **70**.

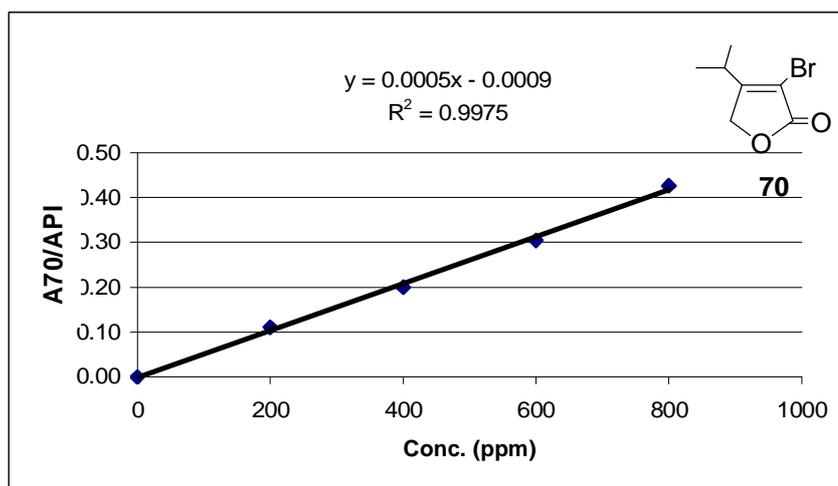
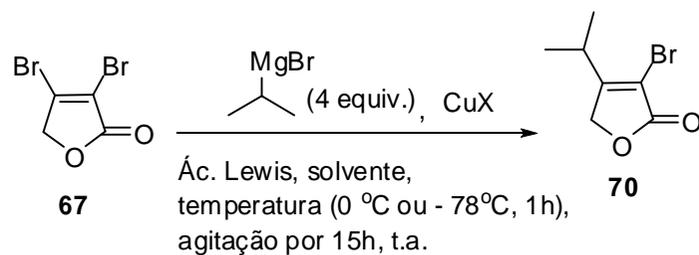


Figura 7 - Curva padrão para o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**70**). A70 é igual à área do composto **70** e API corresponde à área do padrão interno (pentadecano).

Os 14 diferentes experimentos realizados no processo de otimização da reação de preparação de **70** foram realizados em duplicata, as médias dos rendimentos das reações e as porcentagens de material de partida (composto **67**) que não reagiram encontram-se na Tabela 3 (p. 92).

Tabela 3 – Dados experimentais das reações realizadas para a otimização da metodologia alternativa utilizada no preparo do composto **70**



Experimento	CuX	CuX (equiv.)	Ácido de Lewis	Ácido de Lewis (equiv.)	Solvente	Temperatura	% Composto 70	% 67
1	CuI	1	–	–	THF anidro	- 78 °C	2%	–
2	CuI	1	Me ₃ SiCl	2	THF anidro	- 78 °C	63%	11%
3	CuI	1	BF ₃ .Et ₂ O	2	THF anidro	- 78 °C	48%	4%
4	CuBr.Me ₂ S	1	–	–	THF anidro	- 78 °C	11%	–
5	CuBr.Me ₂ S	1	Me ₃ SiCl	2	THF anidro	- 78 °C	27%	–
6	CuBr.Me ₂ S	1	BF ₃ .Et ₂ O	2	THF anidro	- 78 °C	93%	1%
7	CuBr.Me ₂ S	1	BF ₃ .Et ₂ O	1	THF anidro	- 78 °C	55%	–
8	CuBr.Me ₂ S	0,5	BF ₃ .Et ₂ O	1	THF anidro	- 78 °C	28%	–
9	CuI	1	–	–	Et ₂ O anidro	0 °C	4%	–

Cont. Tabela 3

Experimento	CuX	CuX (equiv.)	Ácido de Lewis	Ácido de Lewis (equiv.)	Solvente	Temperatura	% Composto70	% 67
10	CuI	1	Me ₃ SiCl	2	Et ₂ O anidro	0 °C	55%	4%
11	CuI	1	BF ₃ .Et ₂ O	2	Et ₂ O anidro	0 °C	64%	11%
12	CuBr.Me ₂ S	1	–	–	Et ₂ O anidro	0 °C	19%	–
13	CuBr.Me ₂ S	1	Me ₃ SiCl	2	Et ₂ O anidro	0 °C	39%	26%
14	CuBr.Me ₂ S	1	BF ₃ .Et ₂ O	2	Et ₂ O anidro	0 °C	22%	78%

De acordo com os resultados do processo de otimização, o melhor rendimento para a obtenção de **70** foi de 93% (Experimento 6, Tabela 3), e as condições de reação correspondentes foram uso de THF anidro como solvente, temperatura de -78 °C, uso de BF₃.Et₂O como ácido de Lewis e o CuBr.Me₂S como sal de cobre.

A caracterização da lactona **70** foi realizada via espectroscopia no IV, RMN ¹H e ¹³C, DEPT e espectrometria de massas.

No espectro no IV (Figura 8), destacam-se as bandas em 2969-2873 cm⁻¹ referentes aos estiramentos das ligações C-H de carbonos sp³, a banda correspondente ao grupo carbonila em 1773 cm⁻¹ e a banda em 755 cm⁻¹ correspondente ao estiramento C-Br.

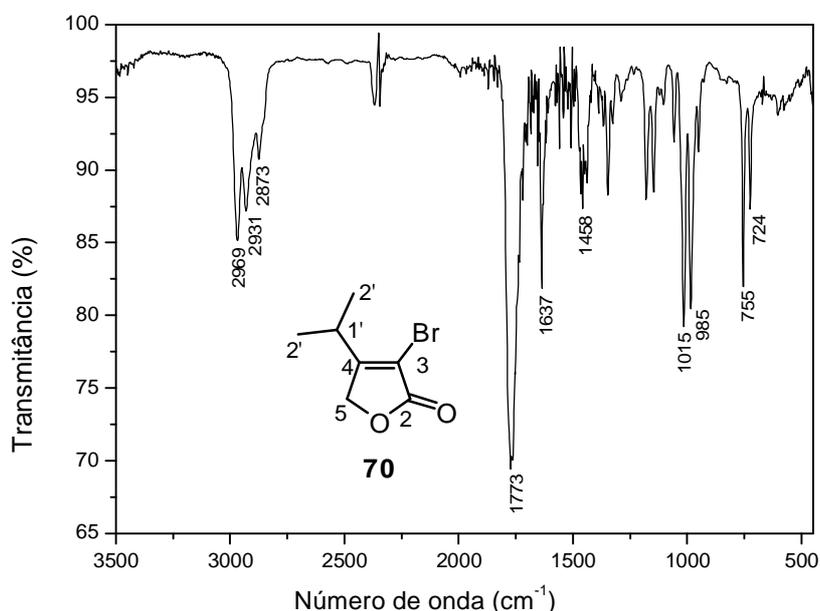


Figura 8 - Espectro no IV (filme, NaCl) do composto **70**.

Pelo espectro de massas (Figura 9), a fórmula molecular do composto (C₇H₉BrO₂) está em acordo com os picos em *m/z* 204 [M⁺] e o pico em *m/z* 206 correspondente ao íon [M⁺ + 2], este último com intensidade relativa em torno de 98% em relação à do íon molecular, comprovando a presença do átomo de bromo na molécula.

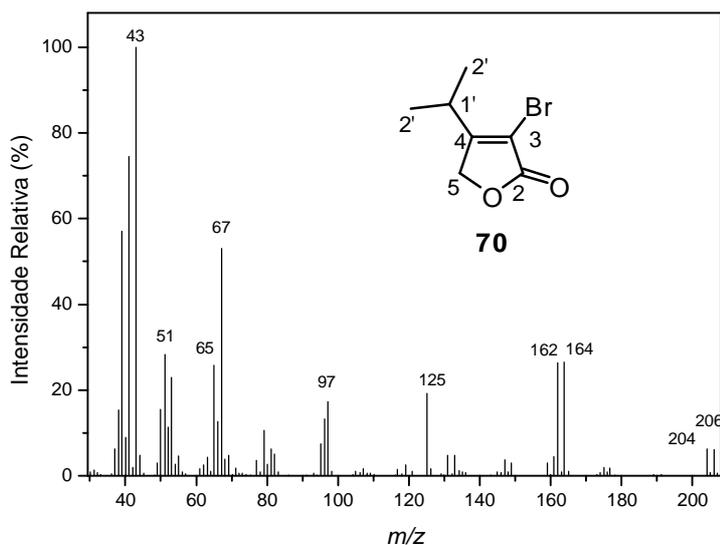


Figura 9 - Espectro de massas do composto **70**.

Com relação ao espectro de RMN ^1H (Figura 10), foram observados sinais em d_{H} 1,20 (duplete, integrado para seis átomos de hidrogênio) referentes aos hidrogênios H-2'; em d_{H} 3,10 (septeto, integrado para um átomo de hidrogênio) referentes ao hidrogênio H-1'; e em d_{H} 4,80 (simpleto, integrado para dois átomos de hidrogênio), referentes aos hidrogênios metilênicos do anel lactônico (H-5).

O sinal observado em d_{C} 169,2 no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 11) foi atribuído ao átomo de carbono do grupo carbonila. Os sinais em d_{C} 169,5 e em d_{C} 107,2 foram atribuídos aos átomos de carbono C-4 e C-3 (ligação dupla conjugada com o grupo carbonila). Os deslocamentos químicos correspondentes aos carbonos C-2' e C-1' foram observados, respectivamente, em d_{C} 20,1 e d_{C} 29,1. Essas atribuições foram confirmadas pelo experimento DEPT (Figura 12).

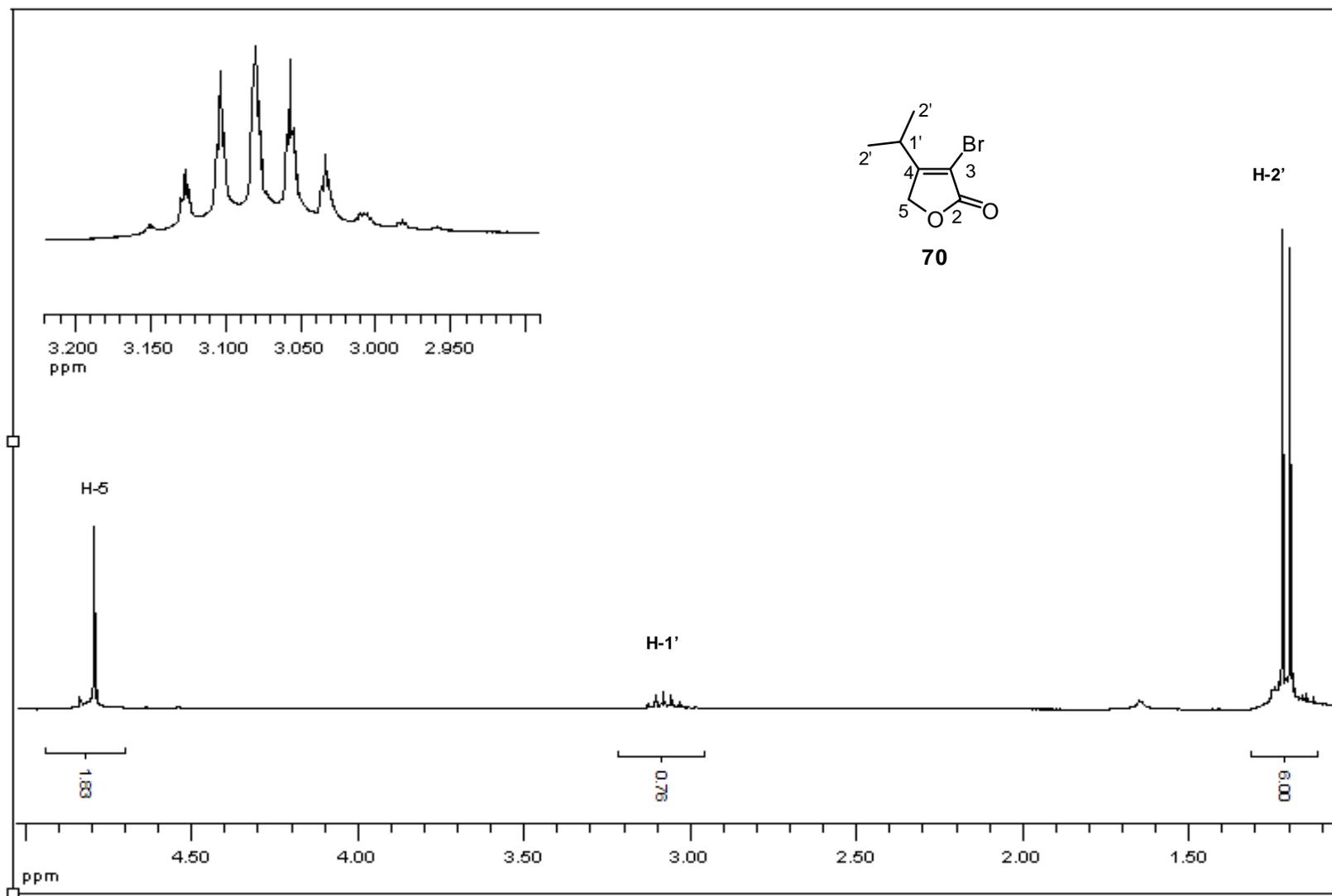


Figura 10 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona **70**.

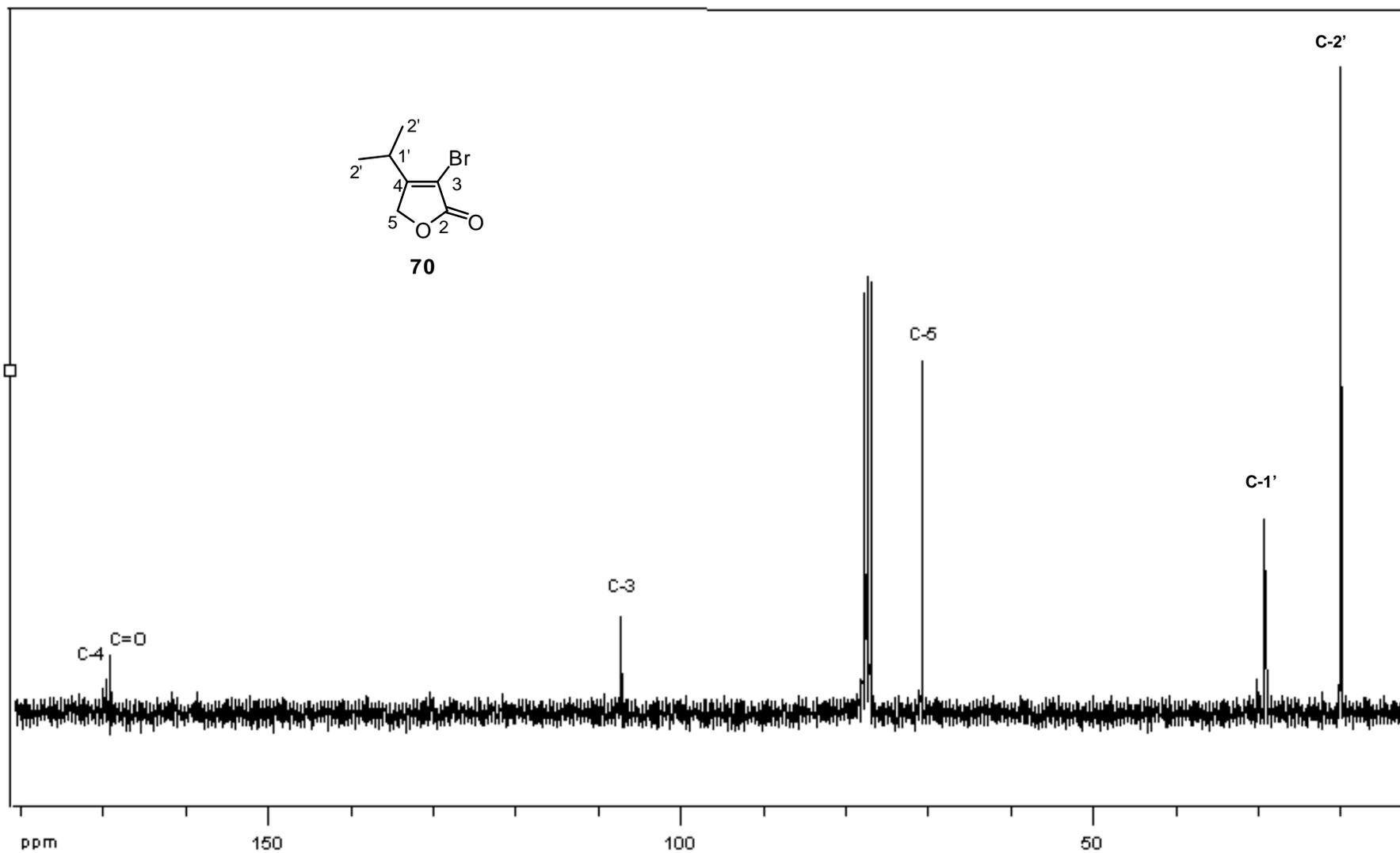


Figura 11 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona **70**.

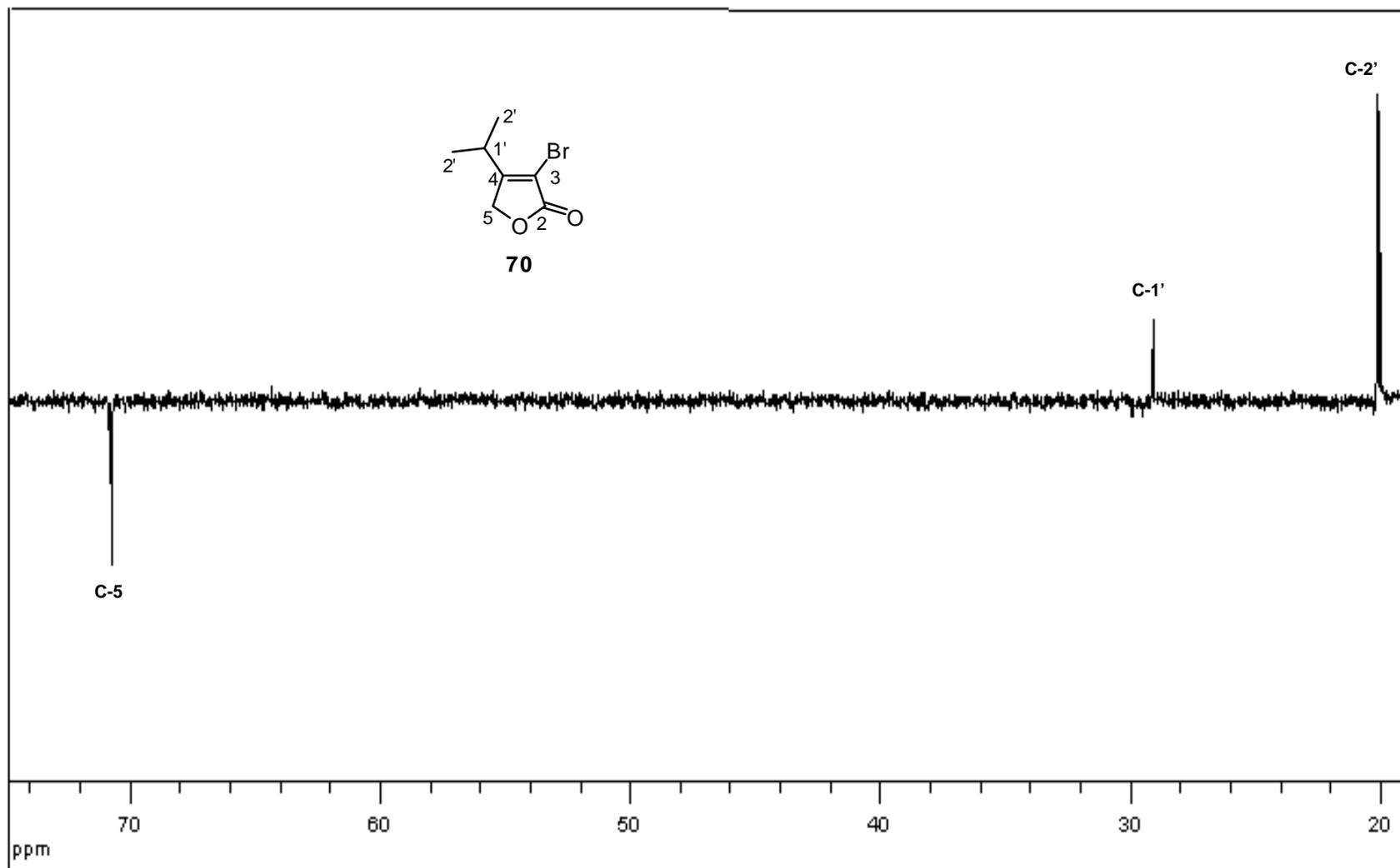


Figura 12 - Espectro DEPT da lactona 70.

4.4. Síntese do composto 3-cloro-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (83)

As condições otimizadas de reação, utilizadas para o preparo do composto **70** (experimento 6; Tabela 3; p. 92), foram empregadas para a síntese da substância **83** que foi obtida com 45% de rendimento. O composto **83** foi sintetizado para ser testado em posteriores procedimentos sintéticos.

A estrutura do composto **83** foi confirmada pelas espectroscopias no IV e de RMN ^1H e RMN ^{13}C e espectrometria de massas. No espectro IV para a lactona **83** (Figura 13), foram observadas bandas em 1773 cm^{-1} referentes ao grupo C=O, e em 758 cm^{-1} , características do estiramento da ligação C-Cl.

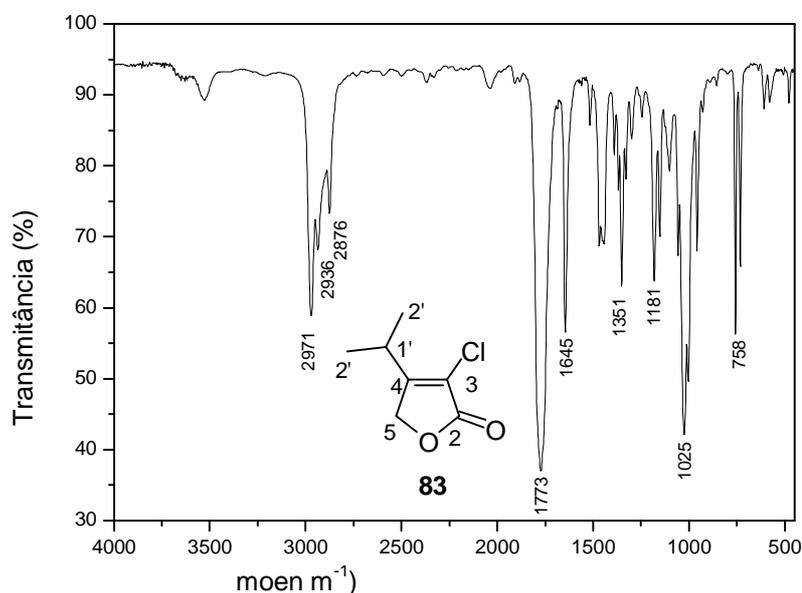


Figura 13 - Espectro no IV (filme, NaCl) do composto **83**.

O espectro de massas para o composto **83** (Figura 14) apresentou os picos em m/z 162 ($\text{C}_7\text{H}_9\text{ClO}_2$, $[\text{M} + 2]^+$, 3%) e em 160 ($[\text{M}]^+$, 9%), confirmando a fórmula molecular do composto e a presença do átomo de cloro.

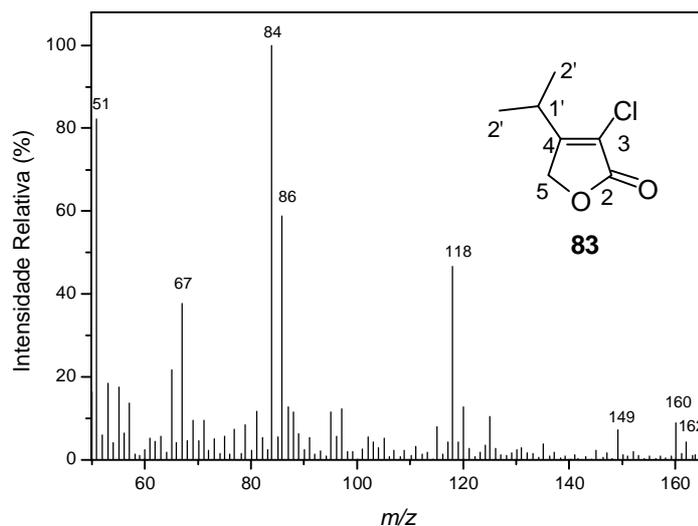


Figura 14 - Espectro de massas para a lactona **83**.

Os sinais observados no espectro de RMN de ^1H para o composto **83** (Figura 15) foram d_H 1,20 (duplete referente a seis átomos de hidrogênio dos grupos metilas H-2'); 3,10 (septeto referente a um átomo de hidrogênio do grupo H-1'); e 4,80 (simpleto, referente a dois átomos de hidrogênios metilênicos do anel lactônico, H-5).

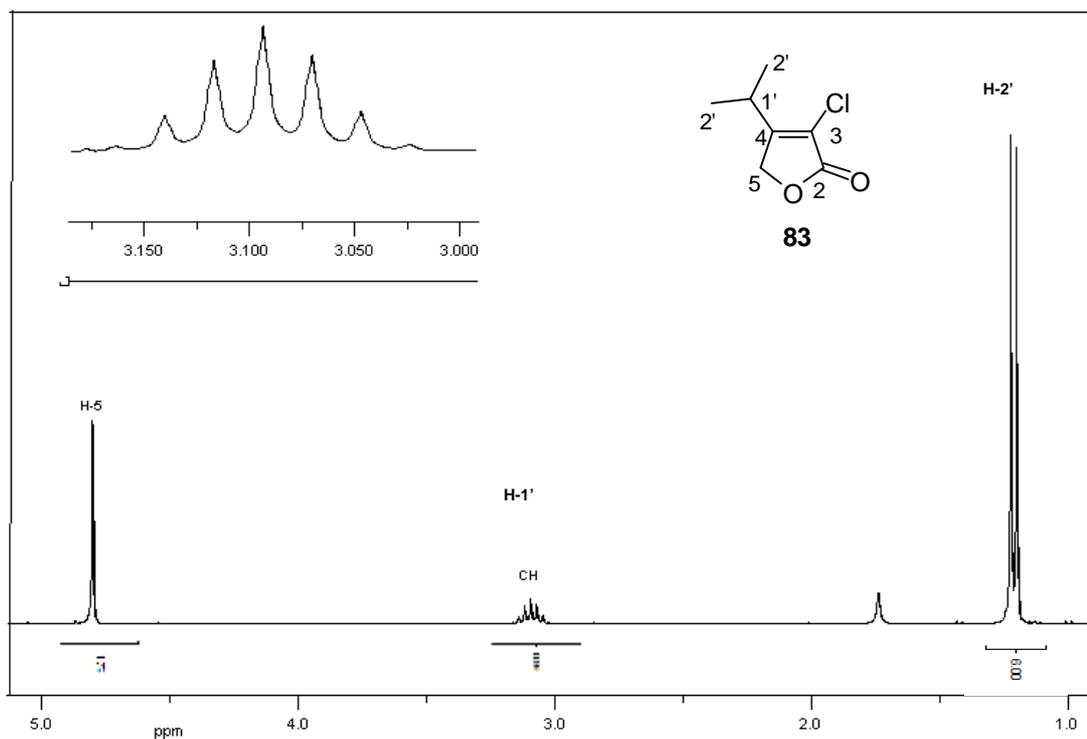


Figura 15 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona **83**.

No espectro de RMN de ^{13}C para a lactona **83** (Figura 16), foram observados os sinais em: δ_{C} 20,1 (C-2'); 27,7 (C-1'); 69,4 (C-5); 117,8 (C-3); 165,1 (C=O); e 169,1 (C-4).

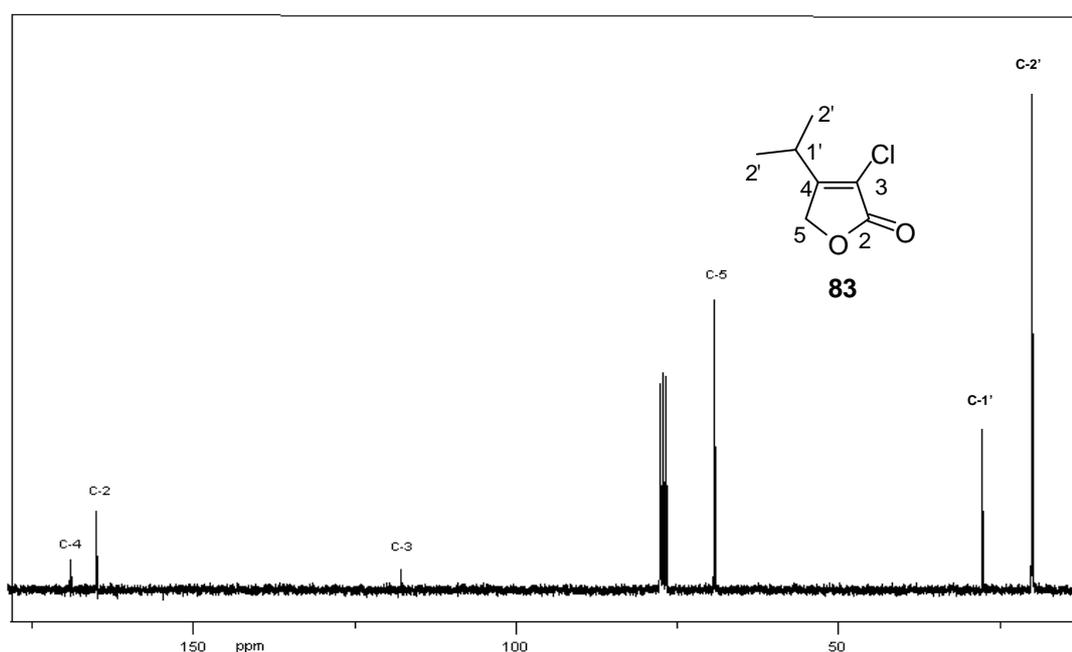


Figura 16 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona **83**.

4.5. Síntese dos compostos 3-bromo-4-alkilfuran-2(5H)-onas e tentativa de síntese dos compostos 3-bromo-4-alkenilfuran-2(5H)-onas e 3-bromo-4-aryl-furan-2(5H)-onas

Para demonstrar a utilidade sintética da nova metodologia de adição-eliminação aqui descrita, tentou-se realizar esta transformação com diferentes tipos de haletos de alquila, arila e alquenila, haletos estes precursores dos correspondentes reagentes de Grignard. Assim, os compostos **84**, **85** e **86** foram sintetizados empregando-se as condições otimizadas para a síntese do composto **70**. Os resultados encontram-se na Tabela 4. Pode ser observado que as lactonas alquiladas foram obtidas com rendimentos moderados. No entanto, a tentativa de produção de lactonas contendo grupos arila ou alquenila foi infrutífera. Na tentativa de reagir o composto **67** com grupos alquenilas, não houve formação de nenhum produto e todo o material de partida foi recuperado. Na tentativa de introduzir grupos fenilas, observou-se formação das correspondentes biarilas, devido ao processo de homoacoplamento.

As informações disponíveis até o presente momento, referentes às reações de adição-eliminação aqui descritas, apontam para o fato de que somente grupos alquila podem ser introduzidos na posição 4 do anel de cinco membros das lactonas dialogenadas empregadas como material de partida (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultados experimentais da reação de síntese dos compostos 3-bromo-4-alkilfuran-2(5H)-onas (**84**, **85** e **86**) e tentativa de síntese dos compostos 3-bromo-4-alkenilfuran-2(5H)-onas e 3-bromo-4-aryl-furan-2(5H)-onas

Composto	Grupo R	% Conversão	% Recuperado
70	isopropil	90*	5
84	isobutila	45	10
85	Etila	50	12
86	Pentila	33	15
87	Vinila	—	60
88	isopentenila	—	65
89	Fenila	—	70
90	2,4-dimetoxifenila	—	63

*Rendimento do composto **70** obtido após sua purificação por cromatografia em coluna.

Os compostos **84**, **85** e **86** foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas no IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e DEPT, bem como pela espectrometria de massas. Uma descrição do processo de caracterização da substância **84** será apresentada a seguir, uma vez que o processo de caracterização dos compostos **85** e **86** foram bastante similares.

Inicialmente, a caracterização do composto **84** deu-se pelo espectro de massas (Figura 17). A fórmula molecular do composto ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{BrO}_2$) está em acordo com o pico em m/z 218 ($[\text{M}]^+$). Além disso, a presença do pico em m/z 220 ($[\text{M}+2]^+$), de intensidade aproximadamente igual à do pico do íon molecular, corrobora a presença do átomo de bromo na molécula.

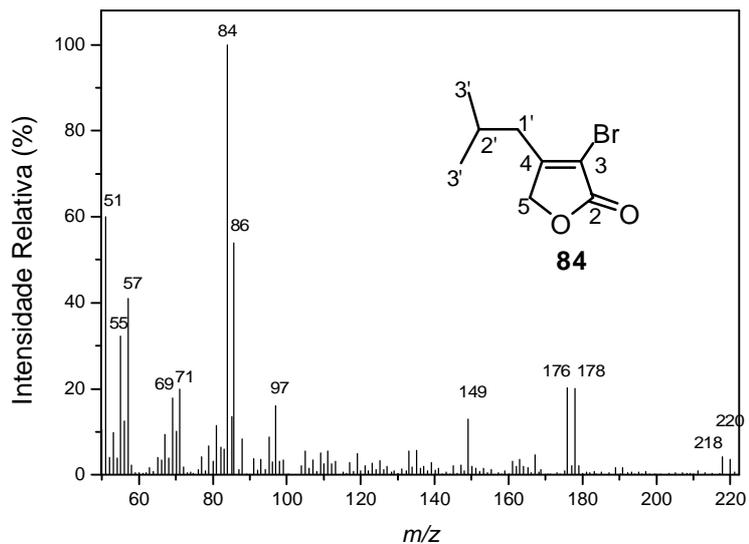


Figura 17 – Espectro de massas para a lactona **84**.

O espectro no IV para o composto **84** (Figura 18) apresentou bandas na região compreendida entre $2959\text{--}2871\text{ cm}^{-1}$, características de estiramento das ligações C-H de carbonos hidribizados sp^3 . Em 1769 cm^{-1} , pôde-se observar uma banda correspondente ao grupo carbonila e em 756 cm^{-1} , uma banda referente ao estiramento da ligação C-Br.

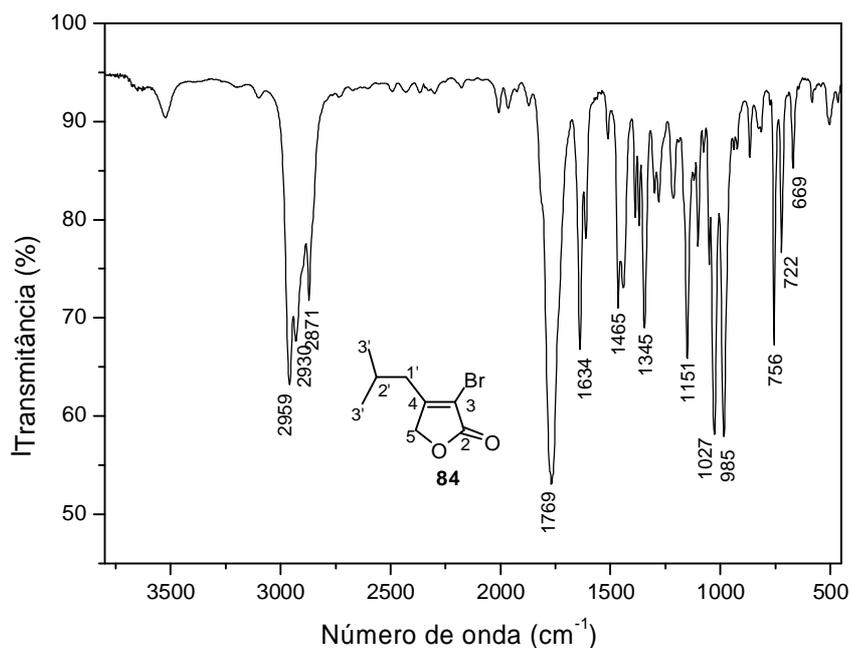


Figura 18 - Espectro no IV (filme, NaCl) do composto **84**.

Com relação ao espectro de RMN de ^1H para a substância **84** (Figura 19), destacam-se os sinais observados em d_{H} 0,98 (duplete, integrado para seis átomos de hidrogênio) referentes aos hidrogênios H-3'; em d_{H} 1,95 (multiplete, integrado para um hidrogênio) referentes ao hidrogênio H-2'; em d_{H} 2,38 (duplete, integrado para dois hidrogênios) referentes aos hidrogênios H-1'; e em d_{H} 4,75 (simpleto, integrado para dois hidrogênios), que correspondem aos hidrogênios metilênicos (H-5) presentes no anel lactônico.

No espectro de RMN ^{13}C para o composto **84** (Figura 20), o sinal observado em d_{C} 163,3 foi atribuído ao átomo de carbono do grupo carbonila (C-2). Os sinais em d_{C} 176,5 e em 109,9 foram atribuídos aos carbonos C-4 e C-3, respectivamente. Os carbonos referentes ao grupo isobutila foram observados em d_{C} 73,2; 37,8; 27,8 e 22,8.

Os sinais observados pelo espectro de DEPT para o composto **84** (Figura 21) vêm comprovar os carbonos metilênicos e o grupo metila do grupo isobutila.

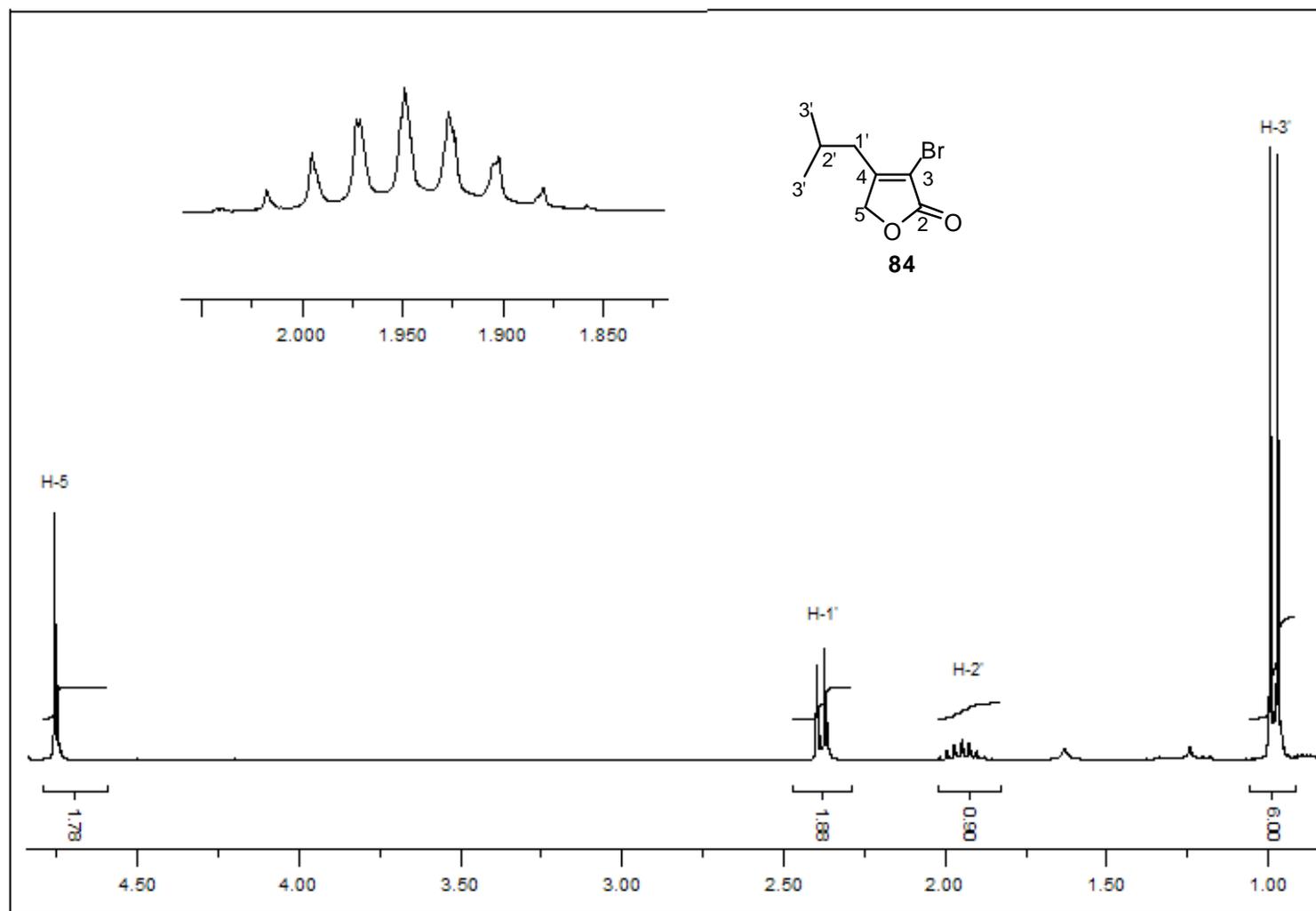


Figura 19 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona **84**.

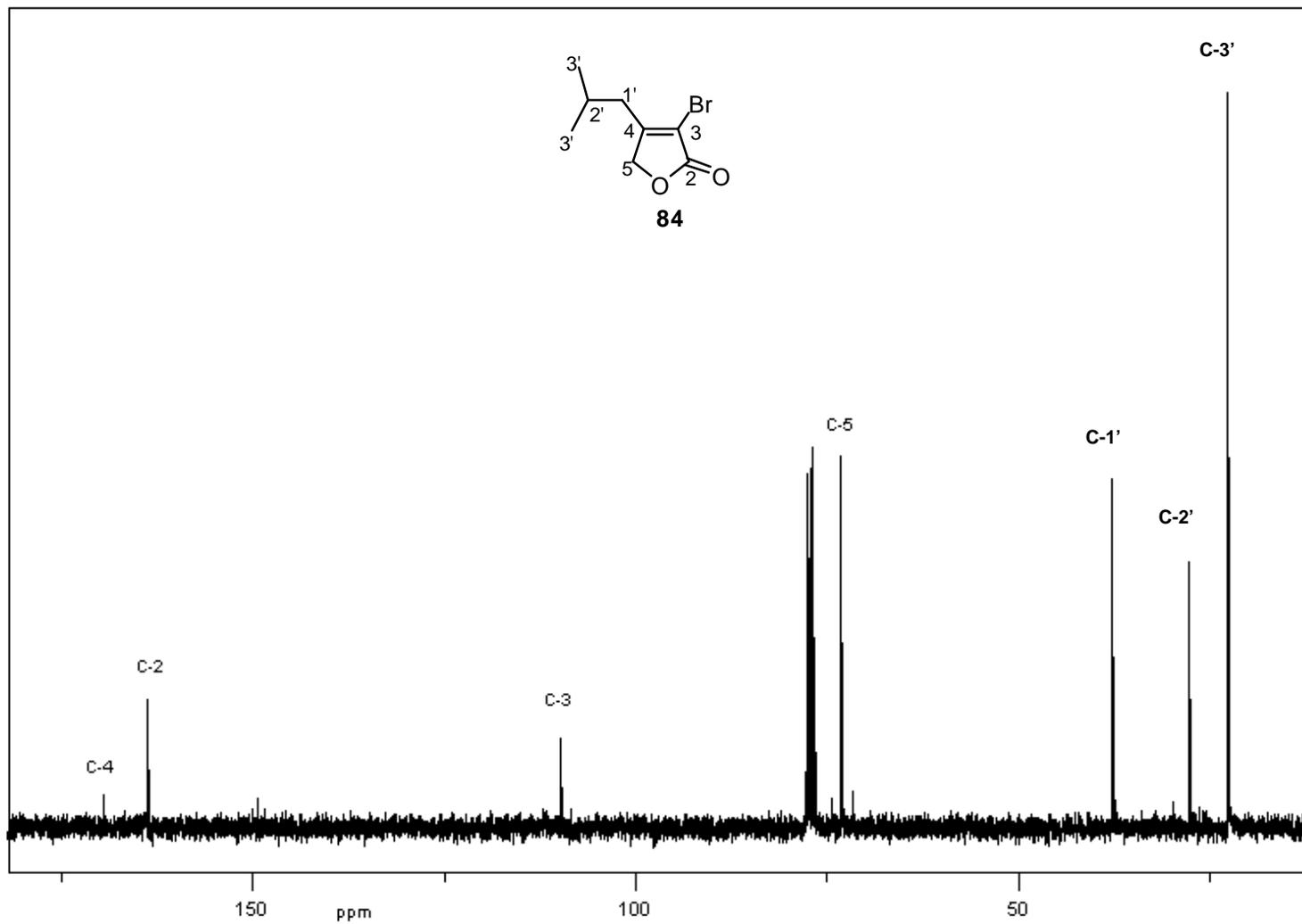


Figura 20 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da lactona **84**.

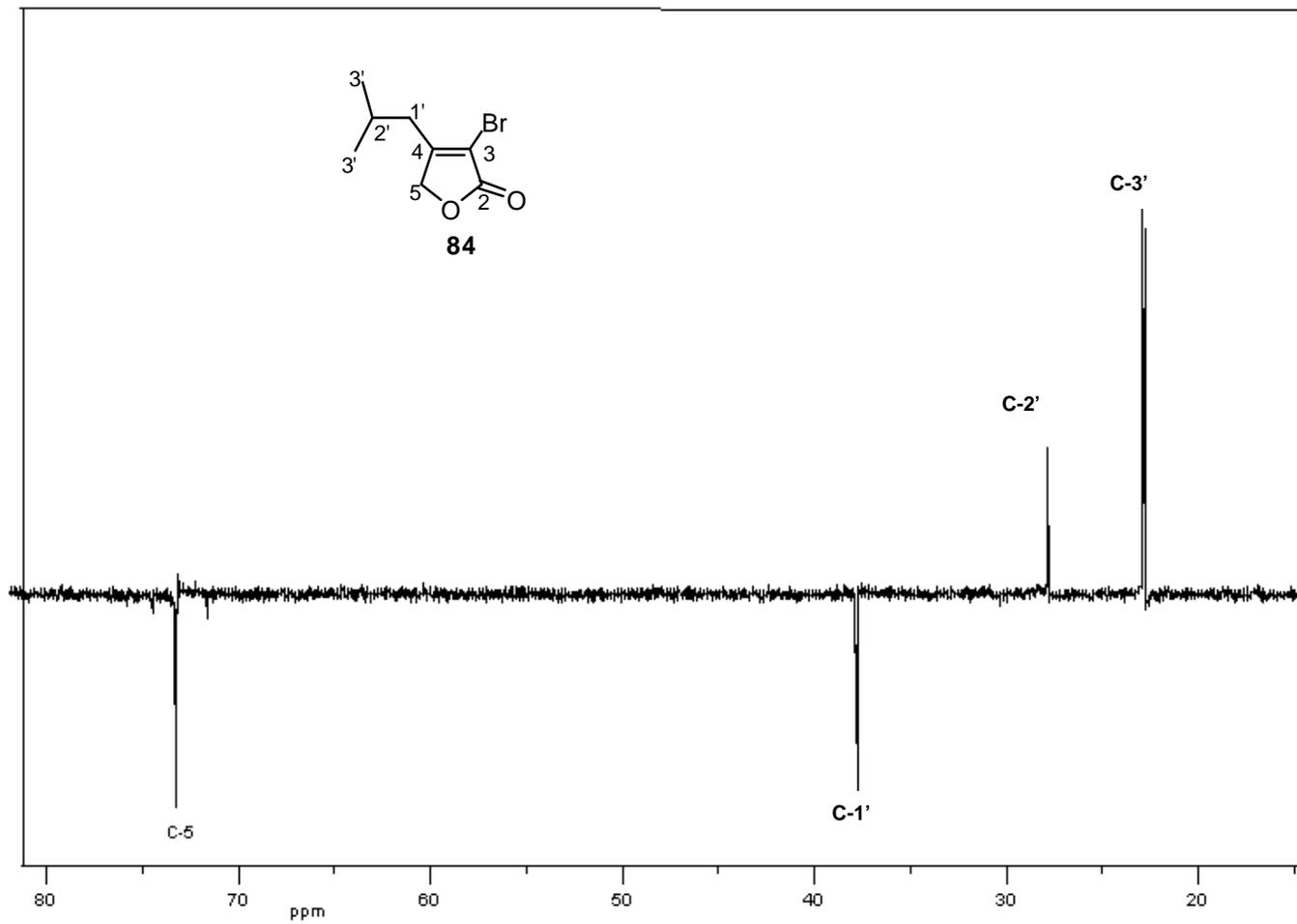


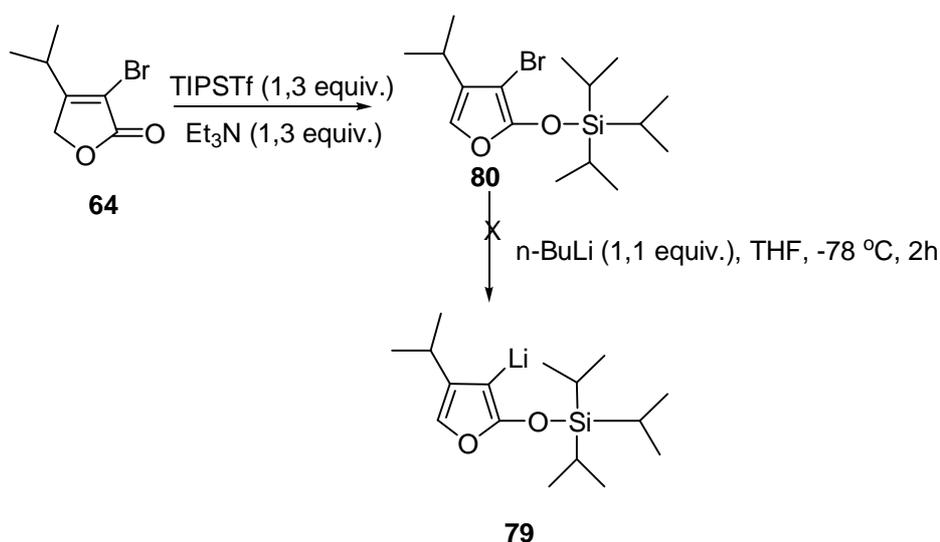
Figura 21 - Espectro de DEPT (75 MHz, CDCl₃) da lactona **84**.

4.6. Síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (59)

Inicialmente, a proposta para a síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona foi baseada no preparo do composto **80** (intermediário sililado) (Esquema 19), que ao reagir com *n*-BuLi produziria o organolítio **79** (*in situ*) e em seguida, reagindo com o brometo de benzila levaria à formação do composto sililado correspondente. Posteriormente, em meio ácido seria obtido o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona **59**.

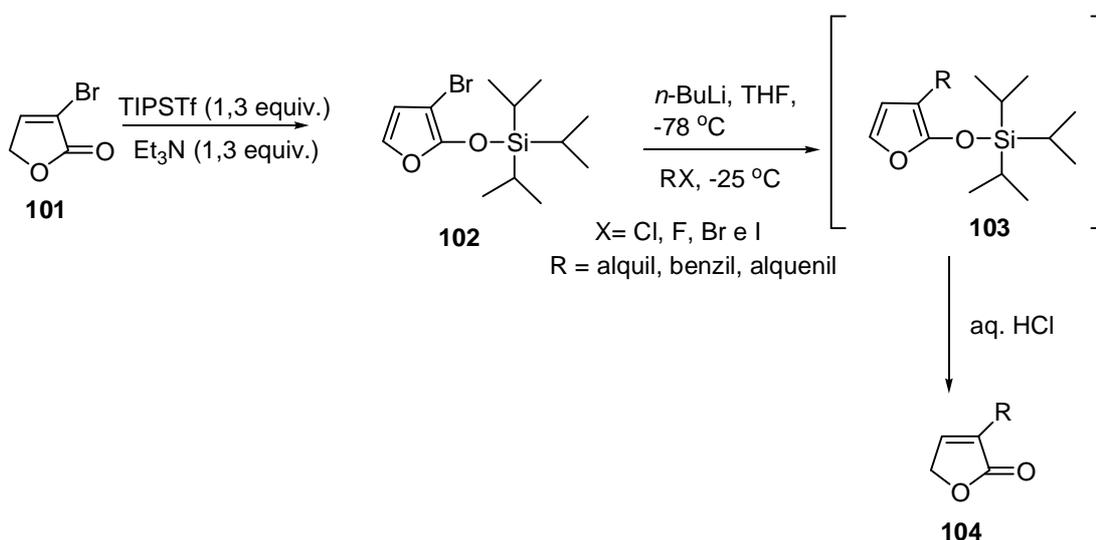
O composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5H)-ona **59** não foi obtido pela metodologia proposta. O material orgânico resultante da reação foi analisado por CG-EM e observou-se a formação do composto 1,2-difeniletano, devido ao homoacoplamento entre dois grupos benzílicos.

Uma hipótese para explicar a não formação do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**59**) pela metodologia proposta (esquema 19) seria, em princípio, a possibilidade de o átomo de bromo do composto **80** estar impedido espacialmente, devido à presença do grupo isopropil na posição 4 do anel lactônico, a ponto de impedir a formação do organolítio **79**, o que pode ter inviabilizado o prosseguimento das outras etapas.



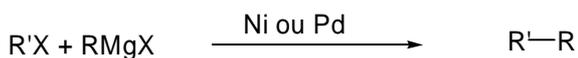
Esquema 19 - Tentativa de síntese do composto **59**.

Em recente trabalho, Boukouvalas e Loach (2008) sintetizaram diversos compostos butenolídeos α -substituídos (compostos do tipo **104**), utilizando o intermediário 3-bromo-2-siloxifurano (**102**) (Esquema 20). Foi possível neste trabalho a obtenção dos compostos 3-metilfuran-2(5*H*)-ona, 3-propenilfuran-2(5*H*)-ona, 3-benzilfuran-2(5*H*)-ona, dentre outras substâncias, com rendimentos de 83%, 84% e 85%, respectivamente. Contudo, o composto **101**, utilizado como material de partida, não possuía grupo substituinte na posição 4 do anel lactônico. Estes resultados apresentados corroboram o fato de que o impedimento do átomo de bromo do intermediário **80** (esquema 19, p. 108), devido à presença do grupo isopropil na posição 4 do anel butenolídeo, seja realmente a causa do não sucesso em obter o composto **59** por esta metodologia.



Esquema 20 - Sínteses de compostos butenolídeos α -substituídos realizadas por Boukouvalas e Loach (2008).

Buscando uma alternativa para a síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), vislumbrou-se a utilização do acoplamento de Kumada, que é um tipo de reação que envolve o acoplamento de reagentes de Grignard com haletos de arila, vinila ou alquila, catalisada por complexos de metais de transição, tais como Ni ou Pd (Esquema 21).

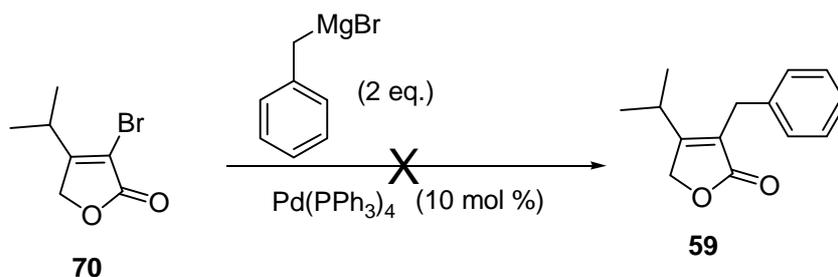


R = aril, vinil ou alquil
 R' = aril, vinil
 X = Cl, Br ou I

Esquema 21 – Reação de acoplamento de Kumada na formação da ligação carbono-carbono.

Na tentativa de síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), via acoplamento de Kumada, utilizou-se uma metodologia adaptada do trabalho de Bonnet *et al.* (2001) (Esquema 22).

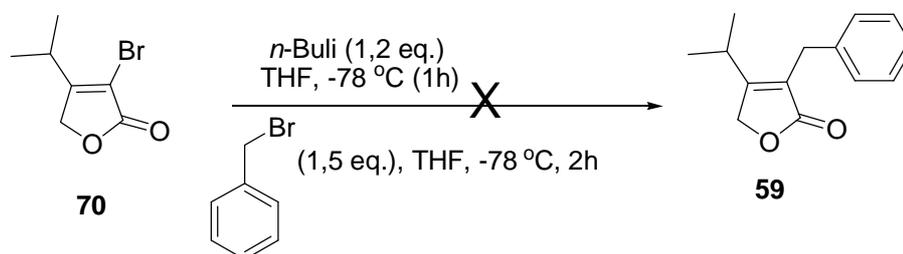
A lactona 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona **70** foi utilizada como material de partida, o catalisador de paládio usado foi o Pd(PPh₃)₄ e o reagente de Grignard correspondeu ao brometo de benzil magnésio. A solução de brometo de benzil magnésio foi preparada previamente pela reação entre magnésio metálico e brometo de benzila em THF anidro. A reação descrita no Esquema 22 foi repetida por 3 vezes consecutivas e em nenhuma das tentativas observou-se a formação do composto (**59**). Pela análise em CG-EM do material bruto da reação, observou-se a formação do composto 1,2-difeniletano. O material de partida, o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**), permaneceu inalterado.



Esquema 22 - Tentativa de síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona via acoplamento de Kumada, baseada no trabalho de Bonnet *et al.* (2001).

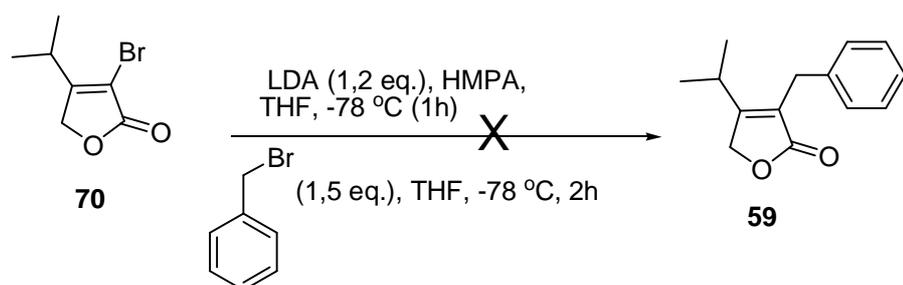
Com vistas ao preparo do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), tentou-se realizar a reação entre o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona com *n*-Buli, levando à formação do organolítio correspondente, que posteriormente reagiria com brometo de benzila (Esquema 23). Novamente o produto obtido foi o composto 1,2-difeniletano.

O composto **59** não foi formado, e o material de partida (composto **70**) foi totalmente degradado conforme observado pela análise da mistura reagente por CG-EM.



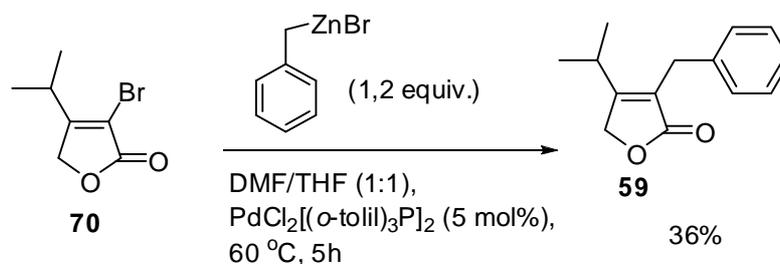
Esquema 23 - Tentativa de reação entre o composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**), litiado por *n*-Buli, e brometo de benzila.

Uma nova tentativa de promover a formação de uma ligação carbono-carbono via reação do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**) litiado (*in situ*), levando à formação do organolítio correspondente, que posteriormente reagiria com brometo de benzila, foi realizada (Esquema 24). A base utilizada nesta reação foi di-isopropilamideto de lítio (LDA), preparado via reação da amina di-isopropilamina e *n*-BuLi. Novamente, o produto obtido foi o composto 1,2-difeniletano. O composto **59** não foi formado, e o material de partida (composto **70**) foi degradado.



Esquema 24 - Tentativa de reação do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**), litiado por LDA, e brometo de benzila.

O composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**) foi sintetizado por Bellina e Rossi (2002) pela reação do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**) com brometo de benzilzinco, na presença do catalisador $\text{PdCl}_2[(\text{o-Tolil})_3\text{P}]_2$. (Esquema 25). Esta reação é conhecida como Acoplamento de Negishi.



Esquema 25 – Síntese da lactona 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**) (BELLINA e ROSSI, 2002).

O acoplamento de Negishi foi desenvolvido em 1977 por Negishi e colaboradores (KING *et al.*, 1977). Derivados organozincos, haletos orgânicos e catalisadores a base de Pd ou Ni são utilizados neste tipo de reação. A utilização de organozincos em relação ao reagente de Grignard (RMgX), utilizado no acoplamento de Kumada, apresenta algumas vantagens, pois esses reagentes possuem maior quimiosseletividade e maior reatividade catalítica (NEGISHI e ANASTASIA, 2003).

O ciclo catalítico do acoplamento de Negishi baseia-se nas etapas de adição oxidativa, transmetalção e eliminação redutiva (Figura 22).

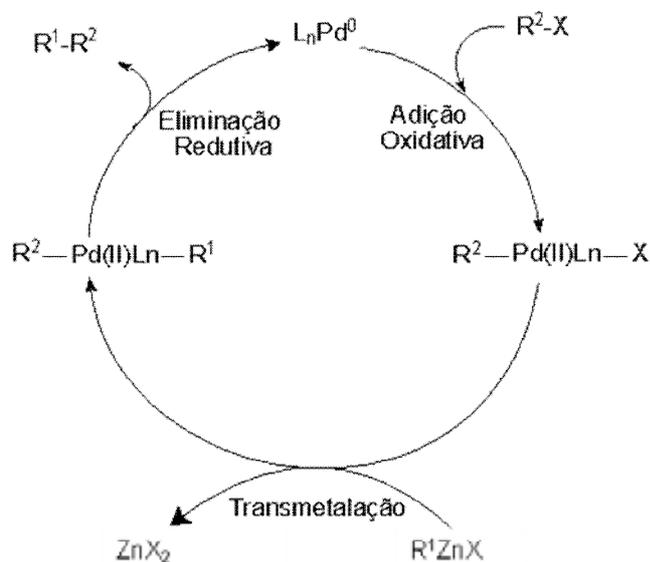
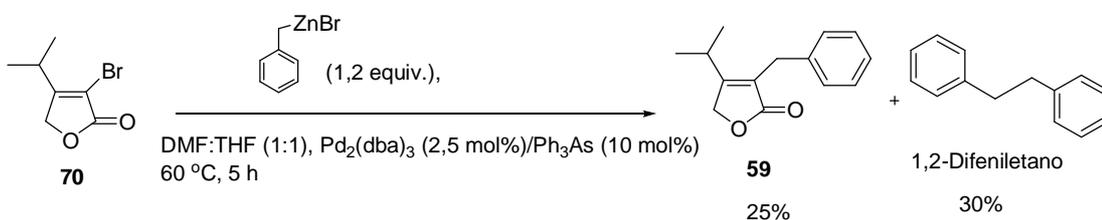


Figura 22 – Ciclo catalítico referente ao acoplamento de Negishi.

Diante das dificuldades apresentadas nas tentativas de síntese do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**) e inspirado na literatura, resolveu-se sintetizar o referido composto via acoplamento de Negishi.

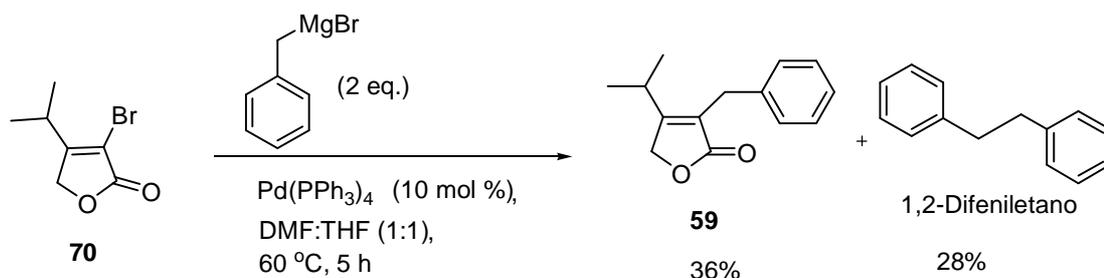
Foram estudadas duas metodologias para a síntese do referido composto, que diferiram entre si pela natureza do catalisador de paládio utilizado, bem como pelo uso de diferentes soluções de brometo de benzilzinco (comercial ou preparada previamente).

Inicialmente, utilizaram-se as condições mostradas no Esquema 26 para a preparação do composto **59**. A reação de acoplamento de Negishi entre o composto **70** e o brometo de benzilzinco (solução comercial da marca ALDRICH) se processou na presença do catalisador $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (2,5 mol%) e 10 mol% de trifenilarsina (Ph_3As), sob condições de refluxo por 5h. O composto **59** foi obtido com 25% de rendimento. Um subproduto da reação caracterizado foi o composto 1,2-difeniletano, formado pela reação de homoacoplamento entre dois grupos benzilas.



Esquema 26 – Síntese da lactona 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**).

Alternativamente, a reação de acoplamento de Negishi foi realizada entre o composto **70** e uma solução de brometo de benzilzinco ($0,5\text{mol L}^{-1}$), preparada previamente, na presença de $\text{Pd}(\text{PPh})_4$ (5 mol%) (Esquema 27). A reação se processou sob temperatura de 60 °C por 5h. O composto **59** foi obtido com um rendimento de 36%, semelhante ao melhor resultado encontrado por Bellina e Rossi (2002). Houve também formação do composto 1,2-difeniletano. Esta metodologia utilizada para o preparo do composto **59** apresenta como vantagem o preparo da solução brometo de benzilzinco que a torna economicamente mais viável, uma vez que esta solução comercial apresenta um elevado custo.



Esquema 27 – Síntese da lactona 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), metodologia adaptada de Bellina e Rossi (2002).

A solução de brometo de benzilzínco foi preparada conforme descrito por Berk *et al.* (1990). A ativação do zinco foi feita em ultrassom por alguns minutos, até observação de escurecimento deste metal. O término da reação foi observado por cromatografia em camada delgada, com o desaparecimento da mancha referente ao brometo de benzila.

O composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**59**) foi caracterizado por espectroscopia no infravermelho, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C , bem como por espectrometria de massas. A fórmula molecular da lactona ($\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_2$) está em acordo com o pico em m/z igual a 216 (10%), presente no espectro de massas da Figura 23.

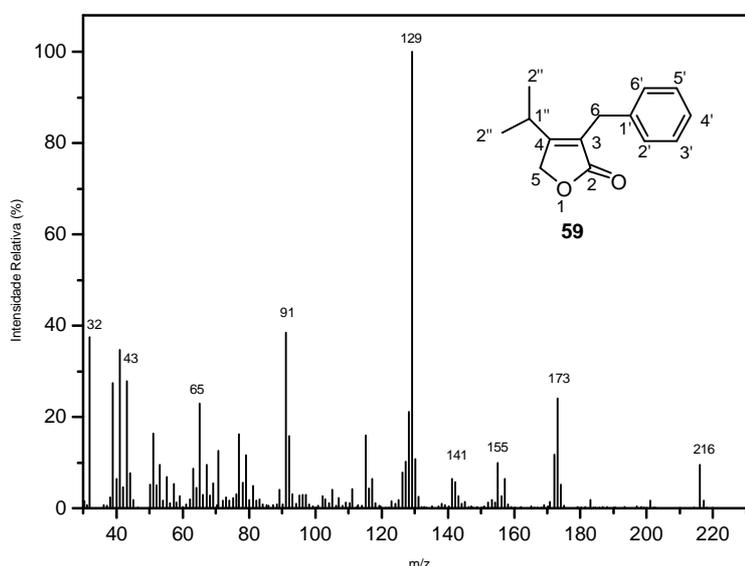


Figura 23 – Espectro de massas para a lactona **59**.

O espectro no IV para o composto **59** (Figura 24) apresentou bandas na região compreendida entre $3061\text{-}3027\text{ cm}^{-1}$ características de estiramento das ligações C-H de carbonos sp^2 de compostos aromáticos. Em $2963\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$, observaram-se bandas referentes a estiramentos de ligações C-H de carbono sp^3 . Em 1750 cm^{-1} , pôde-se observar uma banda correspondente ao grupo carbonila, típica de lactonas *a,b*-insaturadas, apresentando um anel de cinco membros (BARBOSA, 2007) e em $1601, 1494$ e 1453 cm^{-1} , referentes aos estiramentos da ligação C=C de anel aromático.

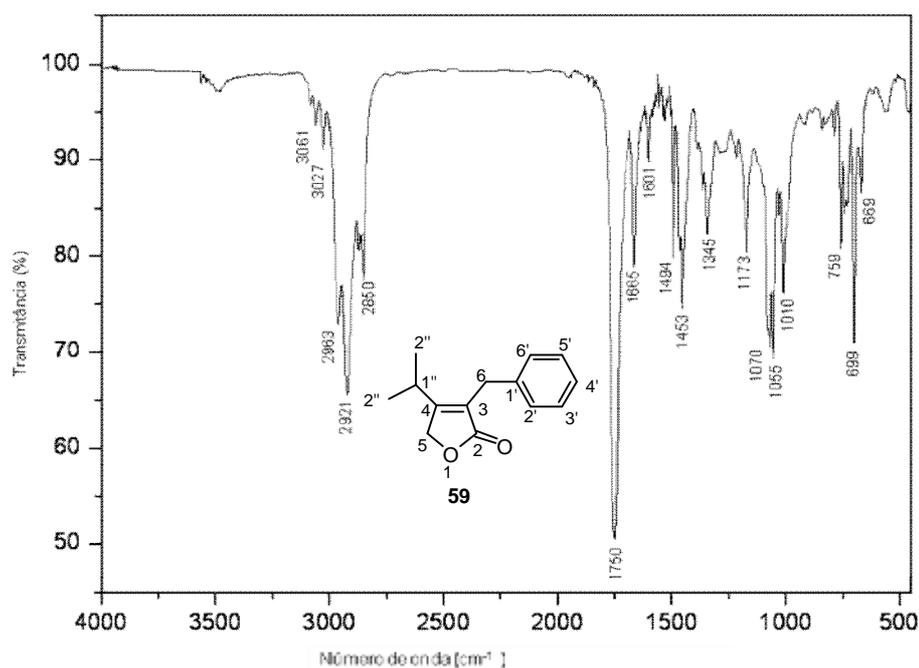


Figura 24 – Espectro no IV (filme, NaCl) do composto **59**.

Com relação ao espectro de RMN ^1H para a substância **59** (Figura 25), destacam-se os sinais observados em d_{H} 1,11 (duplete, integrado para seis átomos de hidrogênio) referentes aos hidrogênios H-2'' e em d_{H} 3,07 (septeto, integrado para um hidrogênio) referentes ao H-1''. Os sinais observados em d_{H} 3,62 (simpleto, integrado para dois hidrogênios) referentes aos hidrogênios H-6 e em d_{H} 4,72 (simpleto, integrado para dois hidrogênios) referentes aos hidrogênios metilênicos H-5 presentes no anel lactônico e um multiplete na região de 7,24-7,26 referente aos hidrogênios do anel aromático (H-2'-H-6'), integrado para cinco átomos de hidrogênio, também foram observados.

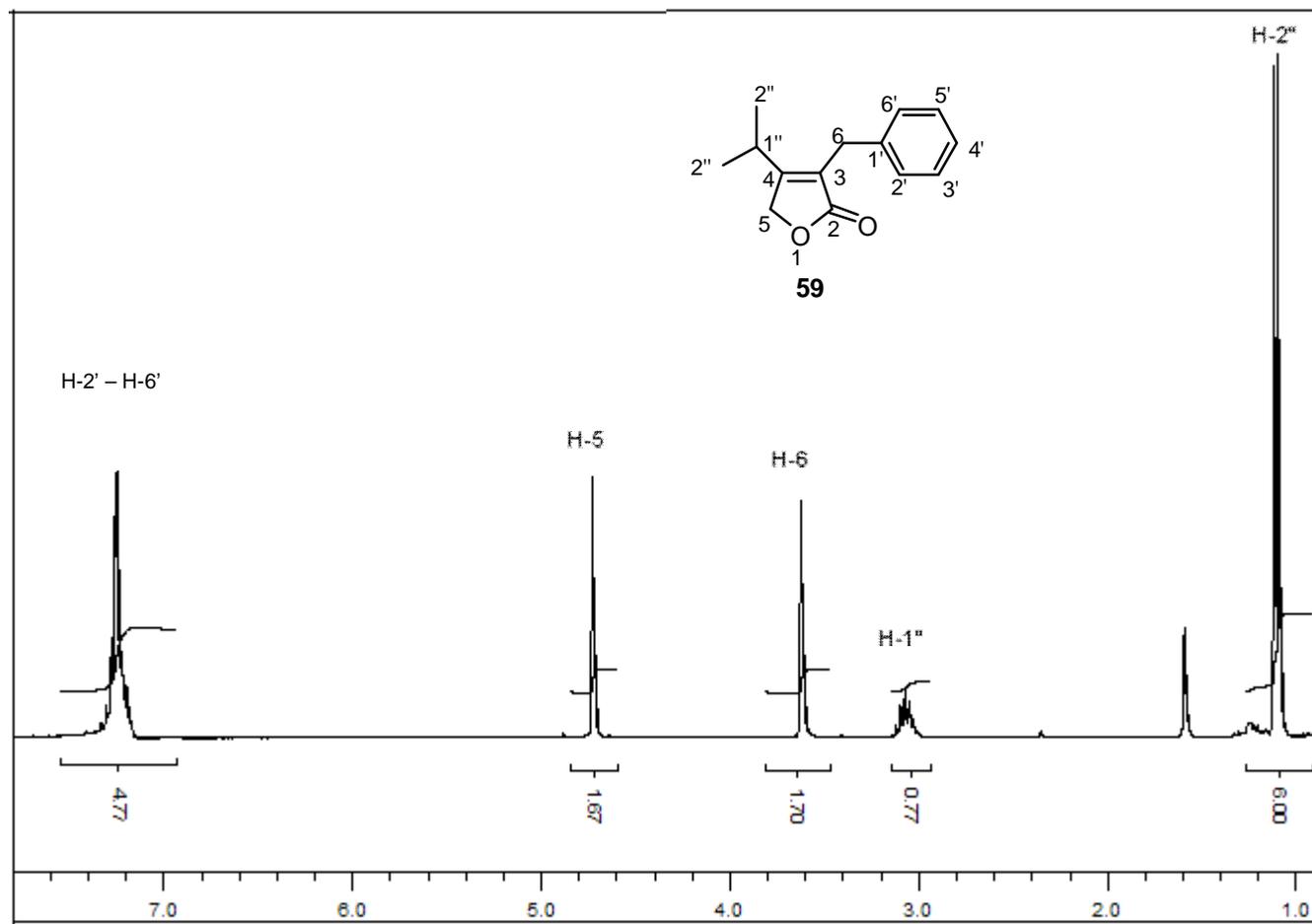


Figura 25 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da lactona **59**.

No espectro de RMN ^{13}C do composto **59** (Figura 26), o sinal observado em d_C 175,3 foi atribuído ao átomo de carbono do grupo carbonila (C-2). Os sinais em d_C 167,1 e em 128,7 foram atribuídos aos carbonos C-4 e C-3, respectivamente. Os carbonos referentes ao grupo isopropila foram observados em d_C 21,1 (C-2'') e em 27,5 (C-1'').

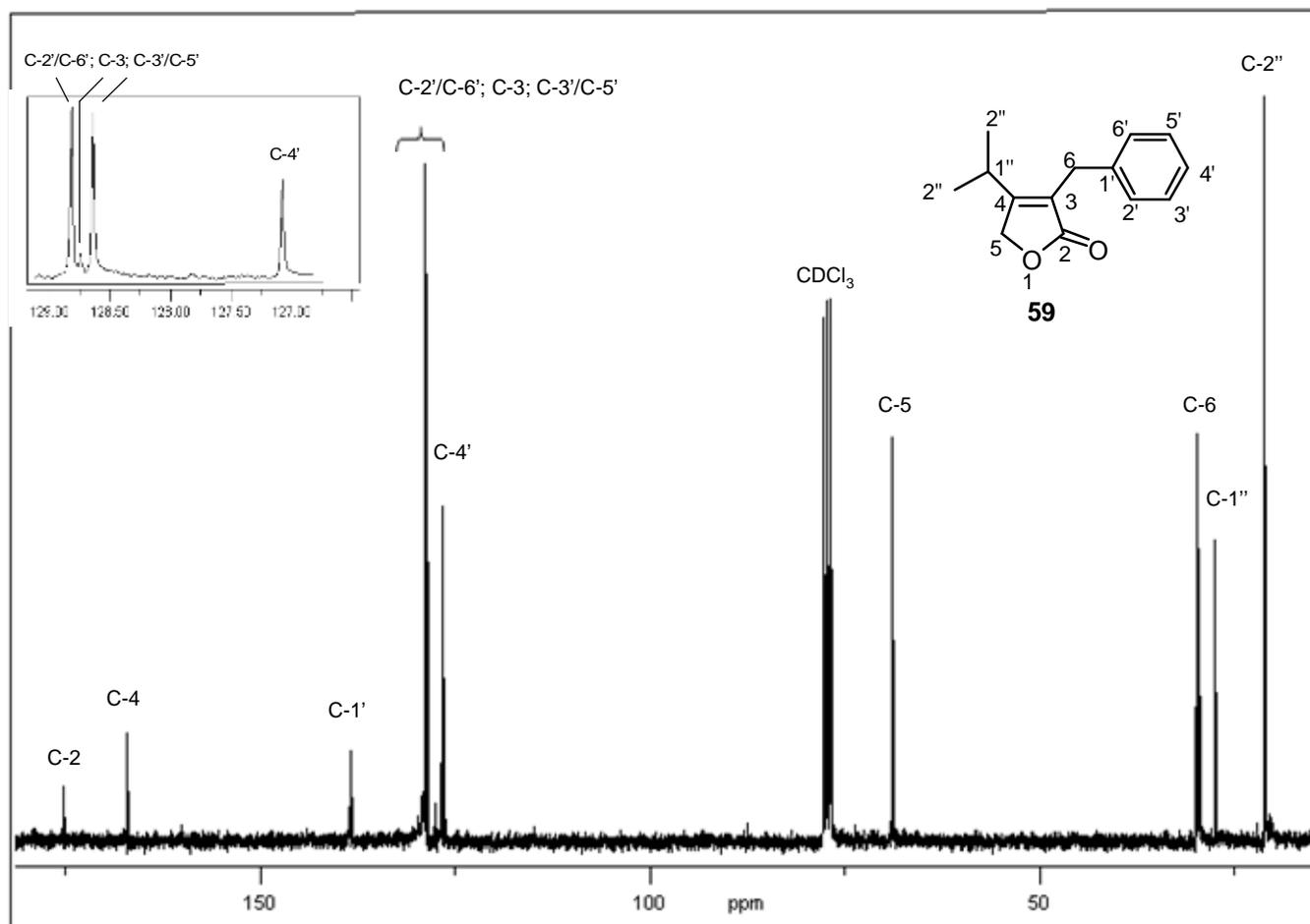
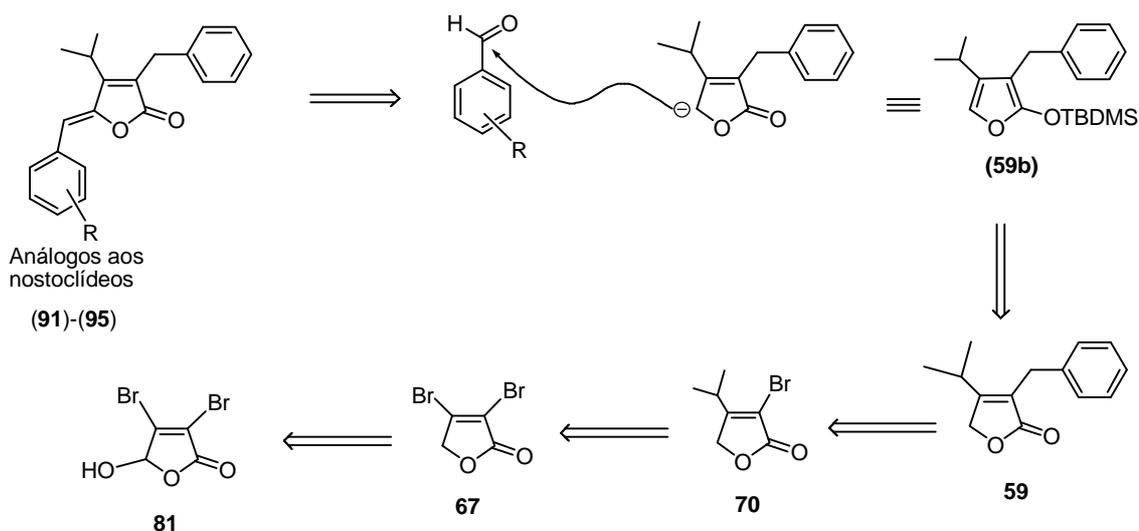


Figura 26 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para a lactona **59**.

Levando-se em consideração os resultados apresentados no preparo do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), intermediário-chave na síntese dos análogos aos nostoclídeos, um novo plano sintético foi determinado para a preparação das 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-onas, cuja etapa determinante na síntese desses compostos, a reação de alquilidação, foi baseada no trabalho de Boukouvalas *et al.* (1994). O plano está retrossinteticamente representado no Esquema 28.

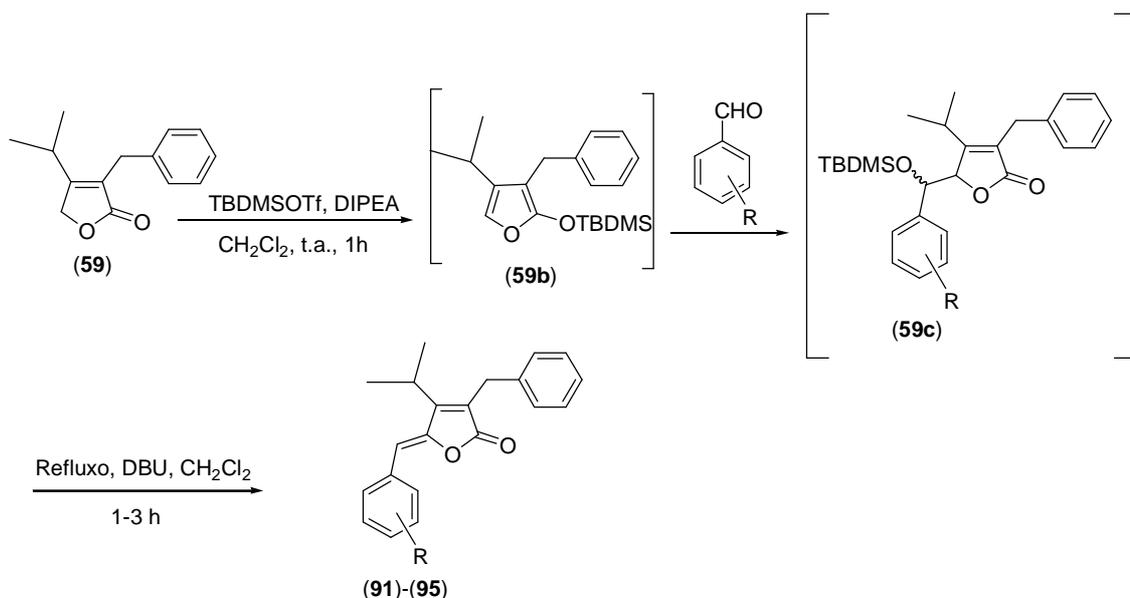


Esquema 28 – Análise retrossintética para a preparação das 3-benzil-4-isopropil-5-benzilidenofuran-2(5*H*)-onas.

De acordo com a análise retrossintética, a etapa-chave na síntese dos análogos aos nostoclídeos baseou-se no preparo do intermediário siliado (**59b**), que pela reação de alquilidação com diferentes aldeídos aromáticos proporcionaria obtenção das lactonas análogas aos nostoclídeos. O composto **59** poderia ser obtido a partir do composto **70**. O composto **70** seria obtido a partir do 3,4-dibromofuran-2(5*H*)-ona (**67**), que por sua vez seria obtido pela redução do ácido mucobrômico (**81**), disponível comercialmente.

4.7. Síntese de Compostos Análogos aos Nostoclídeos

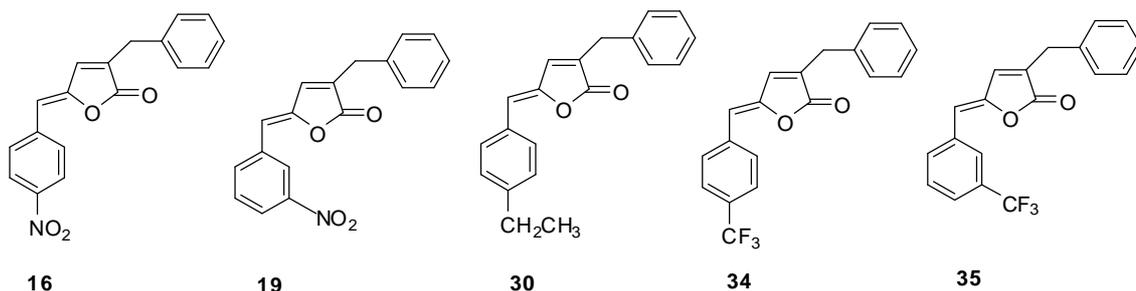
O composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5H)-ona (**59**) foi utilizado como material de partida nas reações de alquilidação, e a metodologia adotada foi baseada no trabalho de Boukouvalas *et al.* (1994). O tratamento da lactona **59** com DIPEA na presença de TBDMSOTf, em DCM e à temperatura ambiente, levou à formação *in situ* do correspondente silylfurano **59b** (Esquema 29). Em seguida, os aldeídos aromáticos foram adicionados, na presença de um excesso do ácido de Lewis TBDMSOTf, levando à formação dos intermediários aldólicos **59c**, que não foram isolados. A mistura reagente foi, então, submetida à condição de refluxo. Subsequentemente, adicionou-se DBU, levando à eliminação do grupo *tert*-butildimetilsililoxi, com consequente formação dos correspondentes análogos aos nostoclídeos **91-95**.



Esquema 29 – Síntese dos compostos análogos aos nostoclídeos (**91-95**).

Os compostos análogos aos nostoclídeos **16**, **19**, **30**, **34** e **35** (Esquema 30) sintetizados por Teixeira (2008) inibiram *in vitro* o transporte de elétrons, dirigido pela luz, da água para o oxidante não-biológico ferricianato de potássio. Contudo, conforme já mencionado, esses compostos foram sintetizados desprovidos do grupo isopropila na posição 4 do anel lactônico. Simplificações estruturais podem, ou não, resultar em compostos com menor atividade biológica, por este motivo, compostos análogos semelhantes aos supramencionados foram sintetizados contendo o grupo isopropila na posição 4

do anel lactônico (compostos **91-95**, Tabela 5) para serem testados quanto à referida atividade.



FONTE: Teixeira *et al.* (2008).

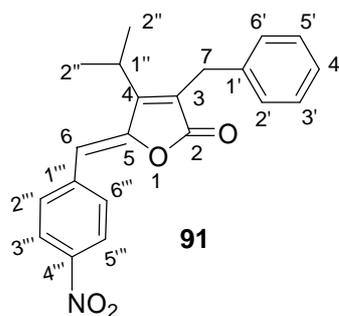
Esquema 30 – Compostos análogos aos nostoclídeos (**16, 19, 30, 34 e 35**) sintetizados recentemente.

Os compostos análogos aos nostoclídeos (**91-95**) foram obtidos com rendimentos semelhantes àqueles relatados na literatura para compostos desta natureza (BARBOSA *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2008) (Tabela 5).

Tabela 5 – Dados experimentais da reação de síntese dos análogos aos nostoclídeos **91-95**

Composto	Grupo Arilideno	Rendimento (%)
91	4-nitrobenzilideno	36(Z)
92	3-nitrobenzilideno	83(Z)
93	4-trifluorometilbenzilideno	40(Z)
94	3-trifluorometilbenzilideno	22(Z)
95	4-etilbenzilideno	30(Z)

A caracterização estrutural dessas substâncias (**91-95**) foi realizada empregando-se espectroscopia no IV, RMN ^1H , ^{13}C , DEPT, técnicas bidimensionais (NOEDIFF e HETCOR), espectrometria de massas e dados da literatura (ROCHA, 2007; TEIXEIRA, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2009).



Uma discussão sobre a caracterização do composto **91** [(5*Z*)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5*H*)-ona] será apresentada a seguir. A caracterização dos compostos **92-95** foi realizada de modo similar àquela descrita para a substância **91**.

No espectro de IV da substância **91**, observam-se as bandas em 3100 e 3070 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação C-H de carbonos sp^2 de compostos aromáticos (Figura 27). A presença de uma banda de forte absorção observada em 1768 cm^{-1} no mesmo espectro e o sinal observado em δ_{C} 170,0 no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 31, p. 127) confirmaram a presença do grupo carbonila (C-2) na estrutura do composto **91**.

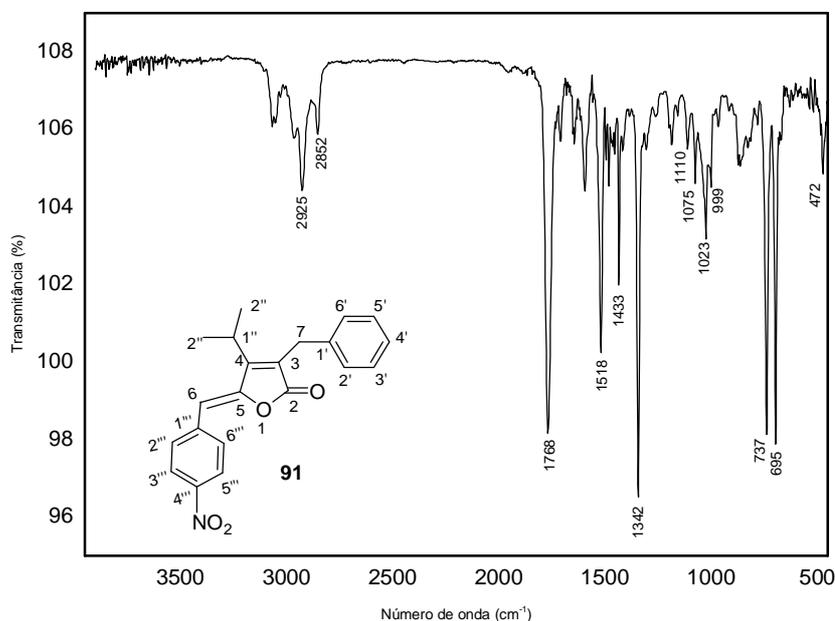


Figura 27 - Espectro no IV (filme, NaCl) do composto **91**.

A fórmula molecular do composto **91** (C₂₁H₁₉NO₄) está em acordo com o pico em *m/z* igual a 349 (79 %), presente no espectro de massas da Figura 28. O pico base (100%), observado em *m/z* igual a 91, está relacionado com a formação do íon tropílio

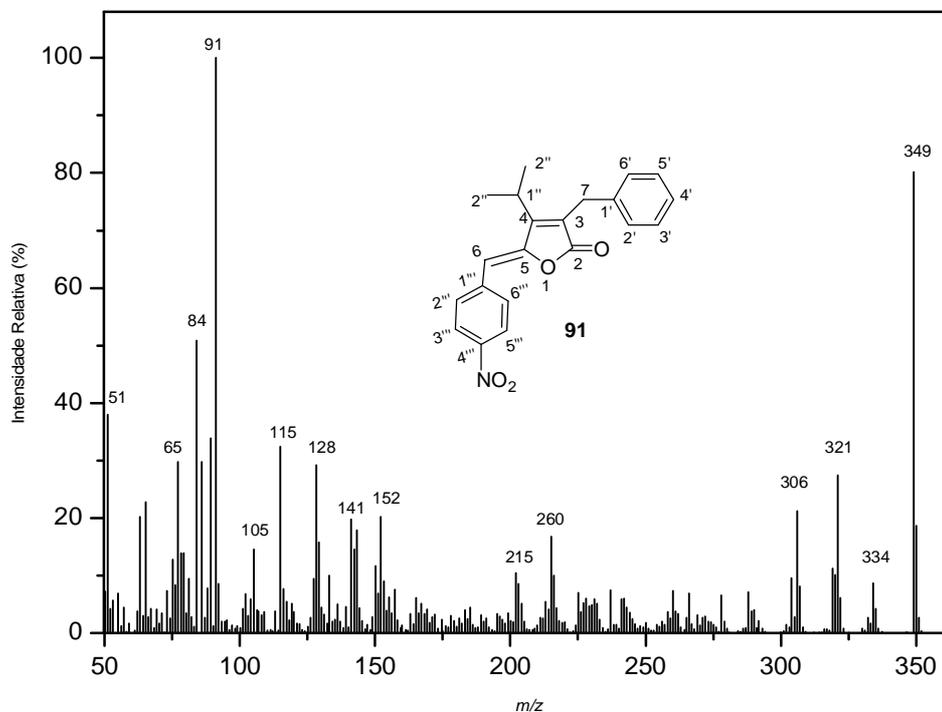


Figura 28 - Espectro de massas do composto **91**.

Com relação ao espectro de RMN ¹H do composto **91** (Figura 29, p. 125), destacam-se os sinais *d_H* 1,34 (duplete, integrado para seis átomos de hidrogênio, H-2'') e em 3,19 (septeto, integrado para um átomo de hidrogênio, H-1''), confirmando a presença do grupo isopropila. O sinal em *d_H* 3,83 (simpleto largo, integrado para dois átomos de hidrogênio), referente ao grupo CH₂- benzílico (H-7), confirmado pelo espectro de DEPT (Figura 32, p. 128), apresenta-se voltado para baixo. Um sinal em *d_H* 6,20 (simpleto, integrado para um átomo de hidrogênio), referente ao H-6, vem confirmar a presença da ligação dupla exocíclica no composto. Os sinais em *d_H* 7,20-7,33 (multiplete, integrado para cinco átomos de carbono) e os dois dupletos em *d_H* 7,92 e 8,22, cada um integrado para dois átomos de hidrogênio, referem-se aos hidrogênios do grupo benzílico (H2'-H6') e do grupo benzilidênico (H-2'''/H-6''' e H-3'''/H-5'''), respectivamente.

Para confirmar a estereoquímica da ligação dupla exocíclica do composto **91**, foi realizado o experimento de NOEDIFF. O sinal em *d_H* 6,20,

referente ao H-6, foi selecionado para ser irradiado. Como resultado, observaram-se no espectro incrementos dos sinais em d_H 1,34 (7,72%); 3,19 (12,31%) e 7,92 (17,54%) (Figura 30, p. 126). Com base neste experimento, foi possível atribuir ao composto **91** configuração *Z* para a ligação dupla, configuração esta observada em vários *g*-alquilidenobutenolídeos providos de fontes naturais, bem como na maioria dos compostos análogos aos nostoclídeos sintetizados por Rocha (2007) e Teixeira (2008).

Os compostos análogos aos nostoclídeos sintetizados (**91-95**) apresentaram, sem exceção, configuração *Z*, como já mostrado na Tabela 5, p. 121.

No espectro de RMN de ^{13}C , (Figura 31), o sinal observado em d_C 30,0 foi atribuído ao carbono benzílico C-7. Os sinais observados em d_C 127,0 e 137,8 foram atribuídos aos C-1' e C-4', respectivamente. Os sinais em d_C 123,1; 131,1; 139,9 e 149,9 foram atribuídos aos carbonos do grupo benzilidênico. As atribuições para os sinais de RMN ^{13}C foram realizadas com base no mapa de contornos HETCOR e dados da literatura (BARBOSA, 2007; TEIXEIRA, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2009).

Pelos sinais observados no mapa de contornos HETCOR (Figura 33), observam-se as correlações entre o C-2'' e o H-2'', C-1'' e H-1'', C-7 e H-7, bem como a correlação entre C-6 e H-6. Observaram-se ainda as correlações entre o C-3'''/H-3''' com os hidrogênios H-3'''/H-5''', C-4 e H-4, C-3'/C-5' e os hidrogênios H-3'/H-5', C-2'/C-6' e os hidrogênios H-2'/H-6', bem como a correlação entre C-2'''/C-6''' e os correspondentes hidrogênios H-2'''/H-6''', confirmando as atribuições realizadas.

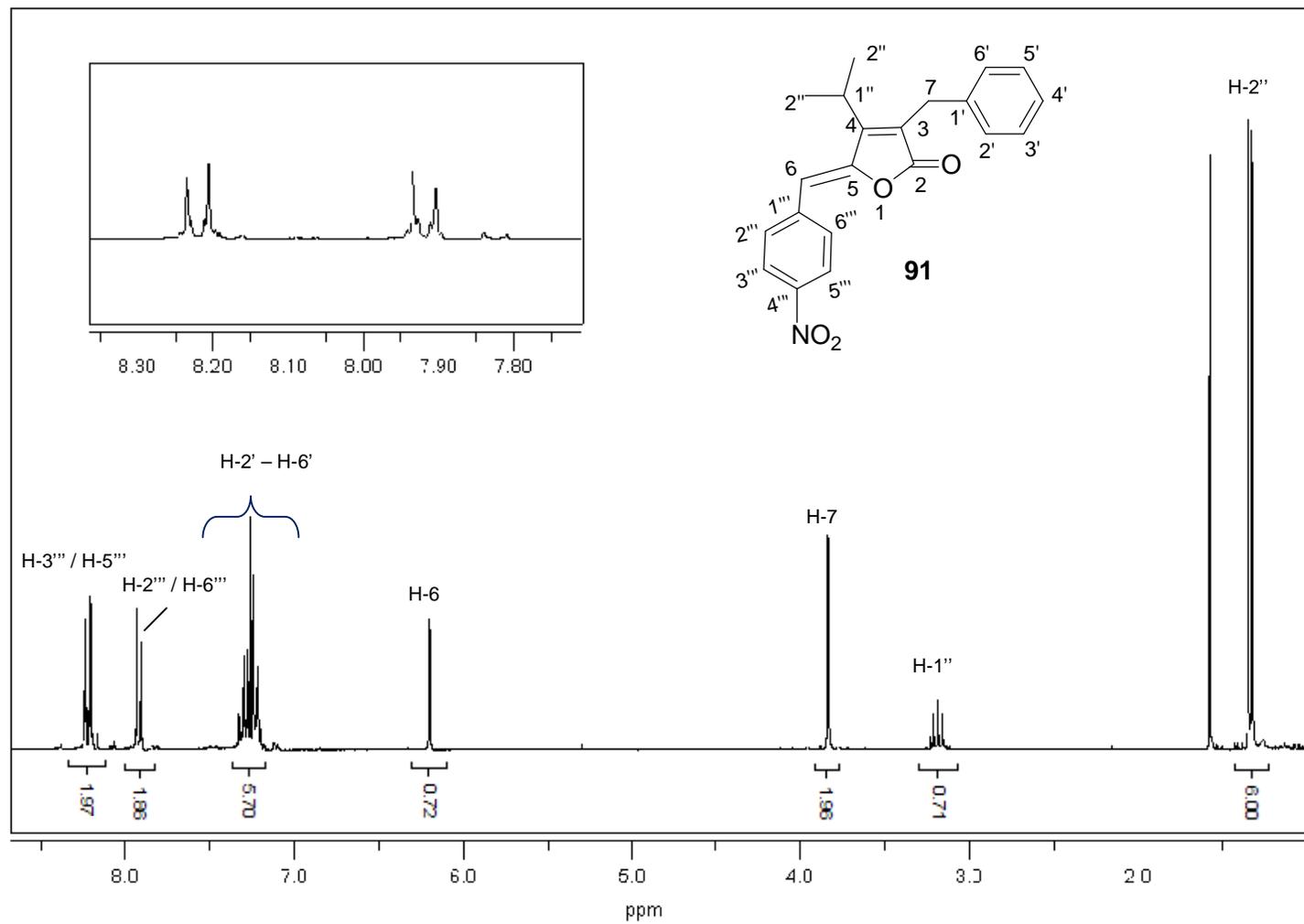


Figura 29 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) para o composto **91**.

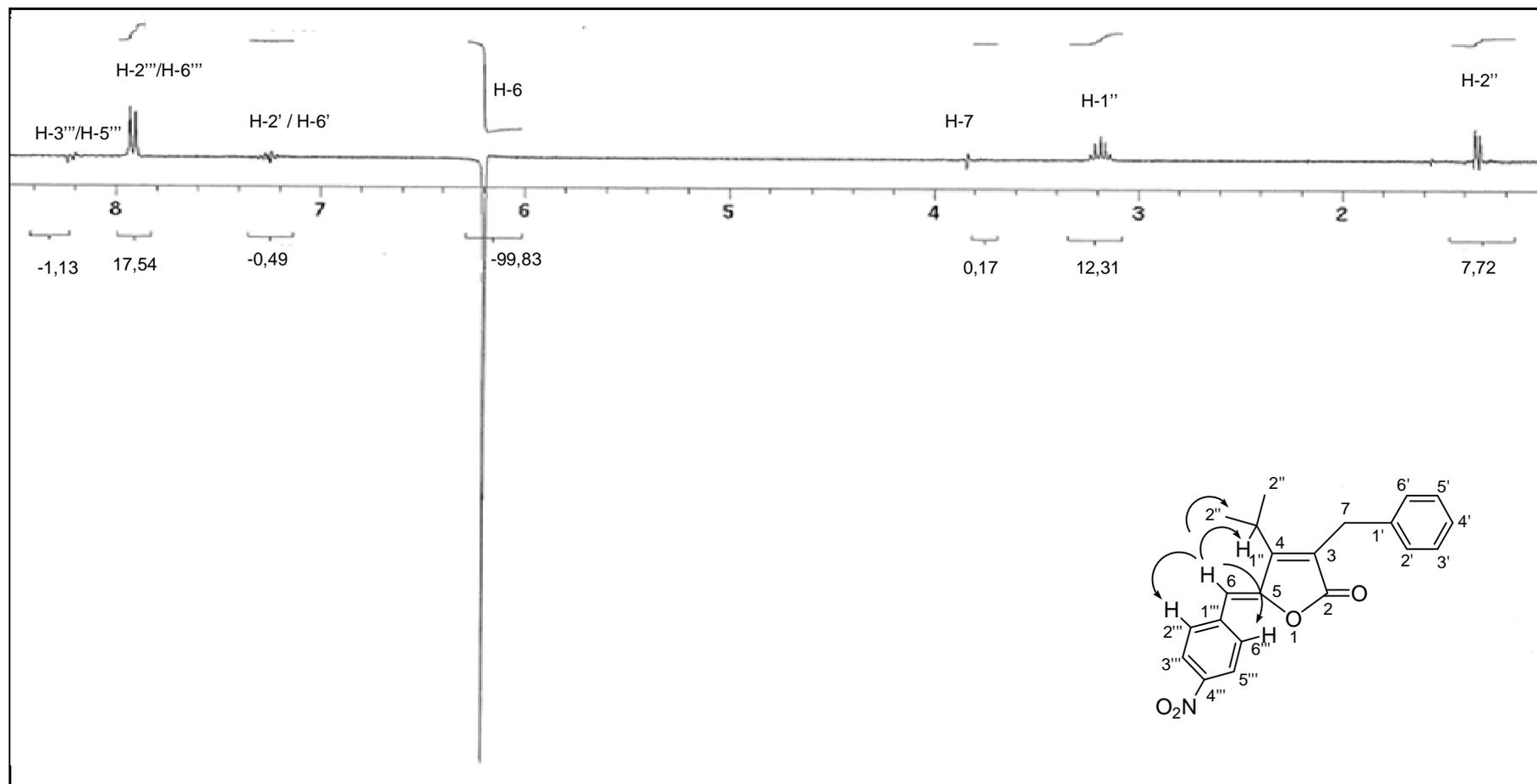


Figura 30 – Espectro de NOEDIFF (CDCl₃) para o composto **91**.

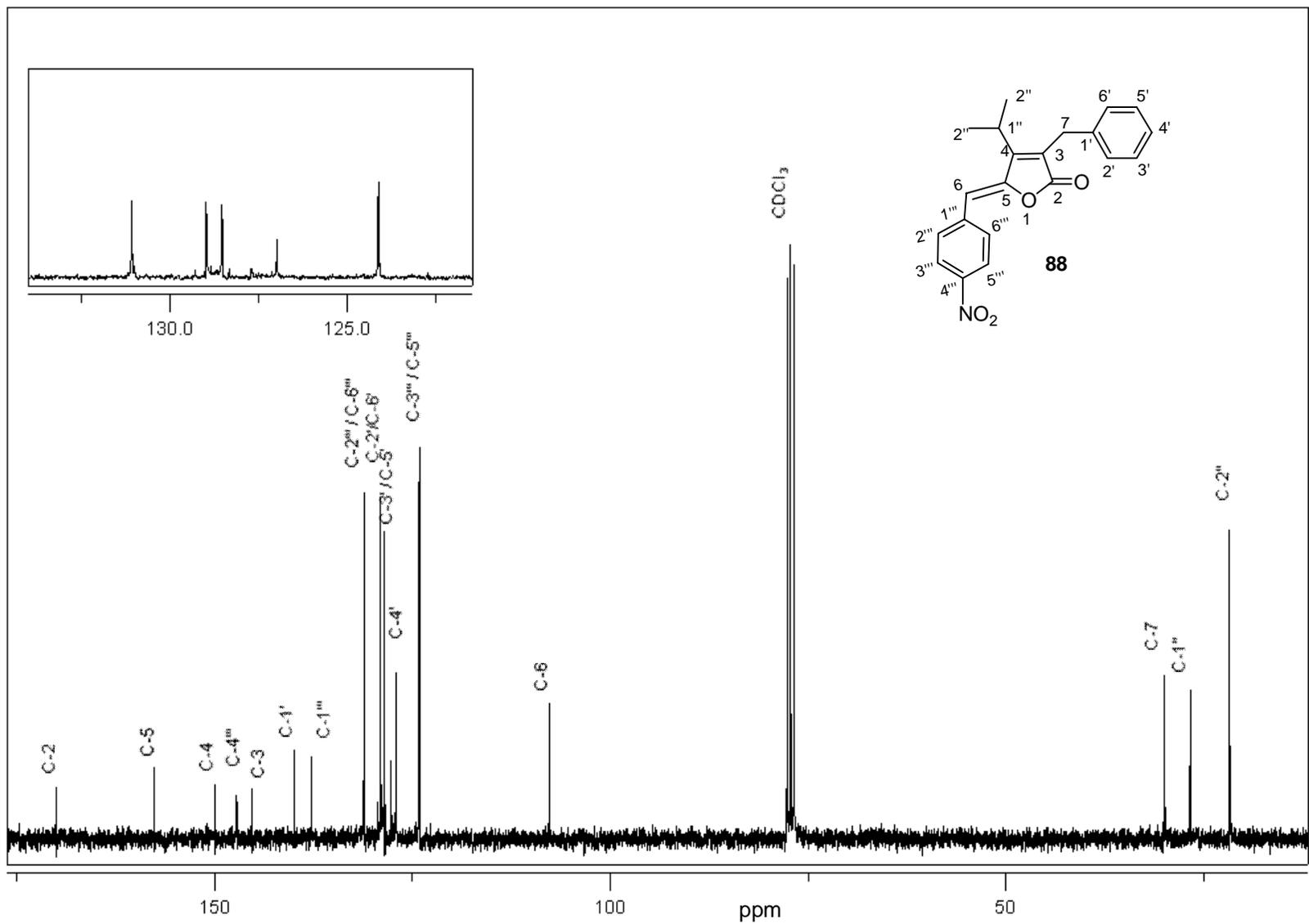


Figura 31 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto **91**.

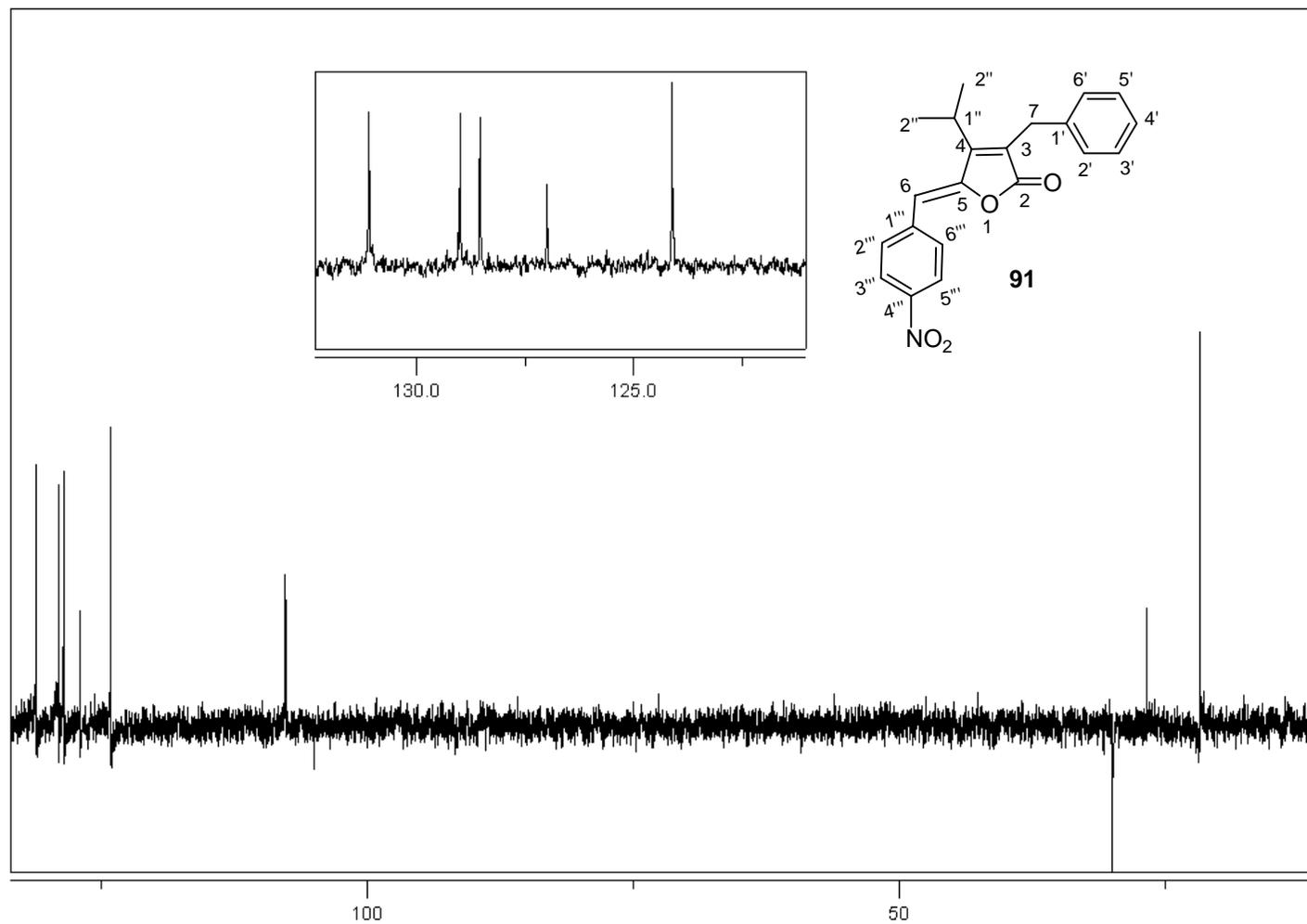


Figura 32 - Espectro de DEPT para o composto 91.

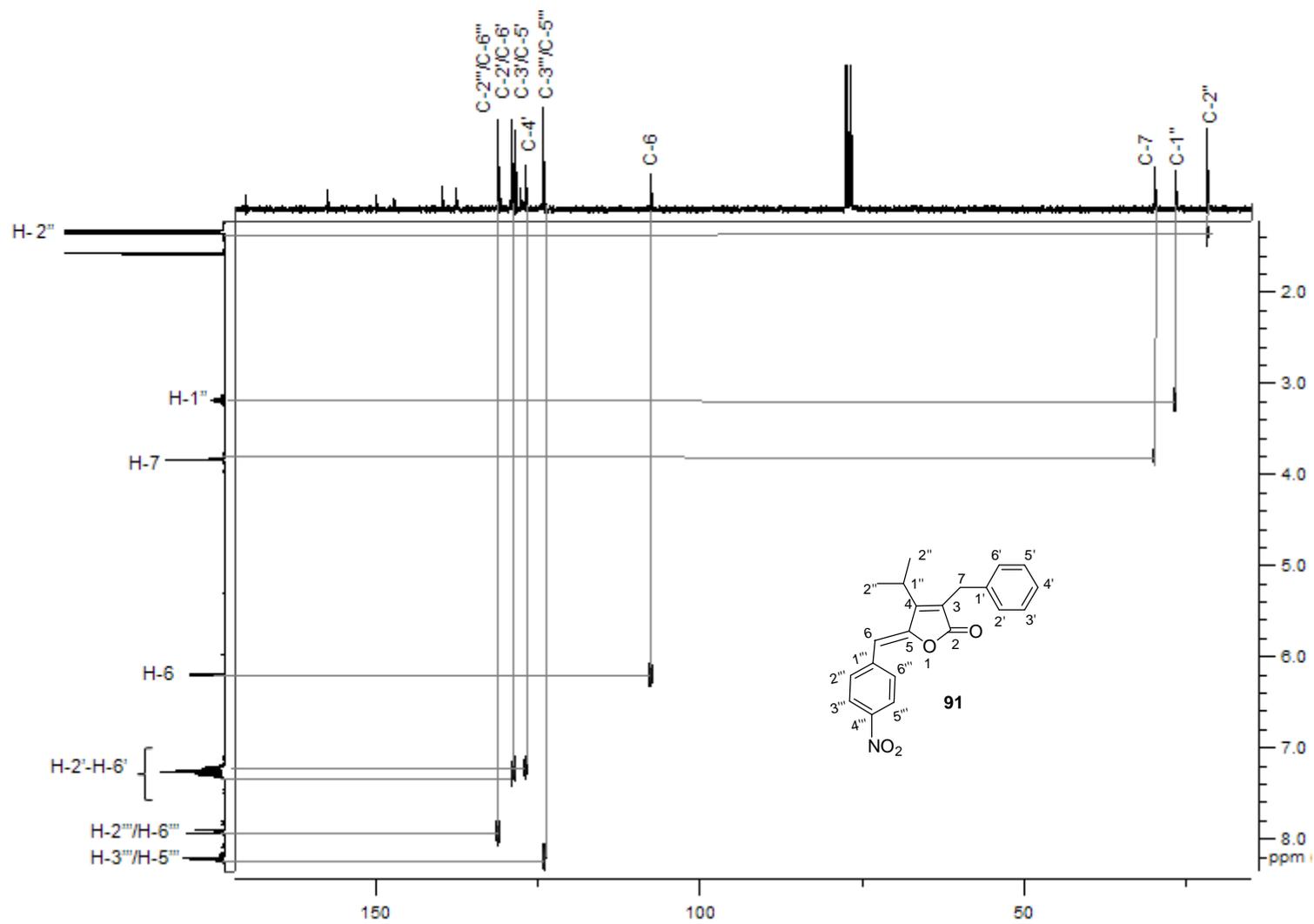
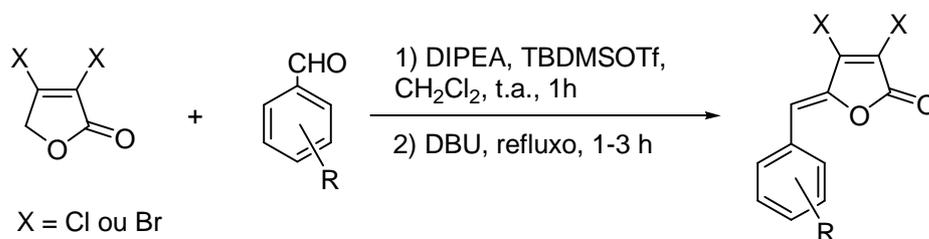


Figura 33 – Mapa de contornos HETCOR do composto **91**.

4.8. Síntese de 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5H)-onas

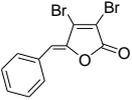
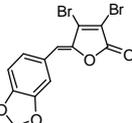
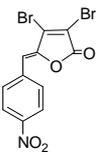
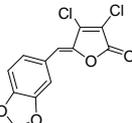
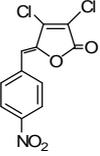
Na busca de novos *g*-alquilidenobutenolídeos com potencial atividade fitotóxica, vislumbrou-se a síntese de compostos do tipo 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5H)-onas. Para o preparo desses compostos, foram utilizados como material de partida os compostos 3,4-dialo-furan-2(5H)-onas (**67**) e (**82**), sintetizados a partir da redução dos ácidos mucoálicos, conforme discutido na seção 3.4.1. A etapa chave na síntese desses compostos foi a reação de alquilidação (BOUKOUVALAS *et al.*, 1994) (Esquema 31). Na literatura, não há relatos da síntese dessa classe de compostos, exceto do composto **97**, que foi obtido por Sarma *et al.* (2007), como um produto de desidratação do derivado aldólico.



Esquema 31 - Síntese de compostos do tipo 3,4-dialo-5-alquilidenofuran-2(5H)-onas.

Os compostos **96-100** sintetizados, bem como os dados experimentais referentes a eles, estão descritos na Tabela 6 (p. 131).

Tabela 6 – Dados experimentais da reação de síntese de 3,4-dialo-5-alquilidenofuran-2(5*H*)-onas **96-100**

Composto	Estrutura	Rendimento (%)
96		15 (Z)
97		64 (Z)
98		13 (Z)
99		70 (Z)
100		10 (Z)

Atribui-se a esses compostos a configuração *Z* para a dupla exocíclica. De acordo com Boukouvalas *et al.* (2007), a eliminação do grupo *tert*-butildimetilsililoxila que ocorre na presença da base DBU é um processo altamente estereosseletivo, sendo que somente estereoisômeros com configuração *Z* são obtidos, e tal fato é atribuído à presença de um grupo volumoso na posição β do anel lactônico.

A caracterização estrutural dessas substâncias (**96-100**) foi realizada empregando-se espectroscopia no IV, RMN de ^1H e ^{13}C .

Os dados de caracterização obtidos para o composto **96** [(*5Z*)-3,4-dibromo-5-(benzilideno)furan-2(5*H*)-ona] serão apresentados a seguir.

No espectro de IV da substância **96**, observa-se uma banda em 3057 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação C-H de carbono sp^2 de composto aromático (Figura 34). A presença de uma banda de forte absorção observada em 1769 cm^{-1} confirma a presença do grupo carbonila na estrutura do

composto

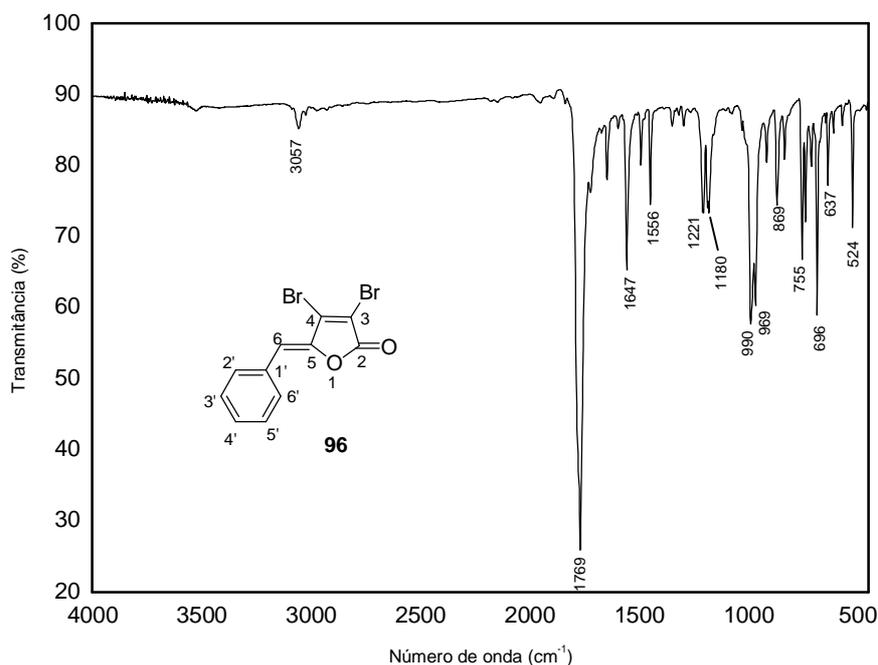


Figura 34 - Espectro no IV (filme, NaCl) do composto **96**.

No espectro de massas da furanona **93** (Figura 35), a presença do pico em m/z 328 ($[M]^+$) é consistente com a fórmula molecular do composto ($C_{11}H_6Br_2O_2$), e os picos em m/z 330 ($[M + 2]^+$) e em m/z 332 ($[M + 4]^+$), confirmaram a presença de dois átomos de bromo na molécula.

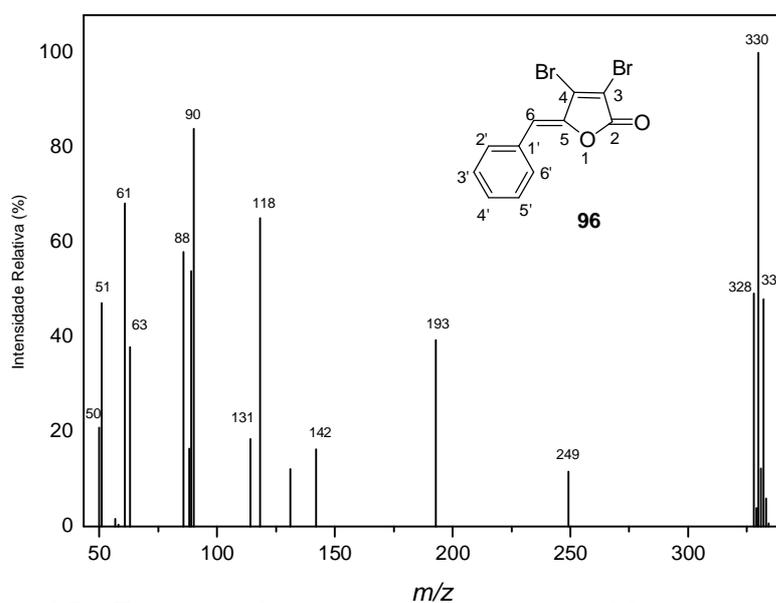


Figura 35 - Espectro de massas do composto **96**.

Com relação ao espectro de RMN ^1H do composto **96** (Figura 36), destacam-se os sinais d_{H} 6,16 (simpleto, integrado para um átomo de hidrogênio) referentes ao H-6, que vêm confirmar a presença da ligação dupla exocíclica no composto. Os sinais em d_{H} 7,39-7,43 (multiplete, integrado para três átomos de hidrogênio) e em 7,79-7,82 (multiplete, integrado para dois átomos de hidrogênio) referem-se aos hidrogênios do anel aromático (H-2' – H-6').

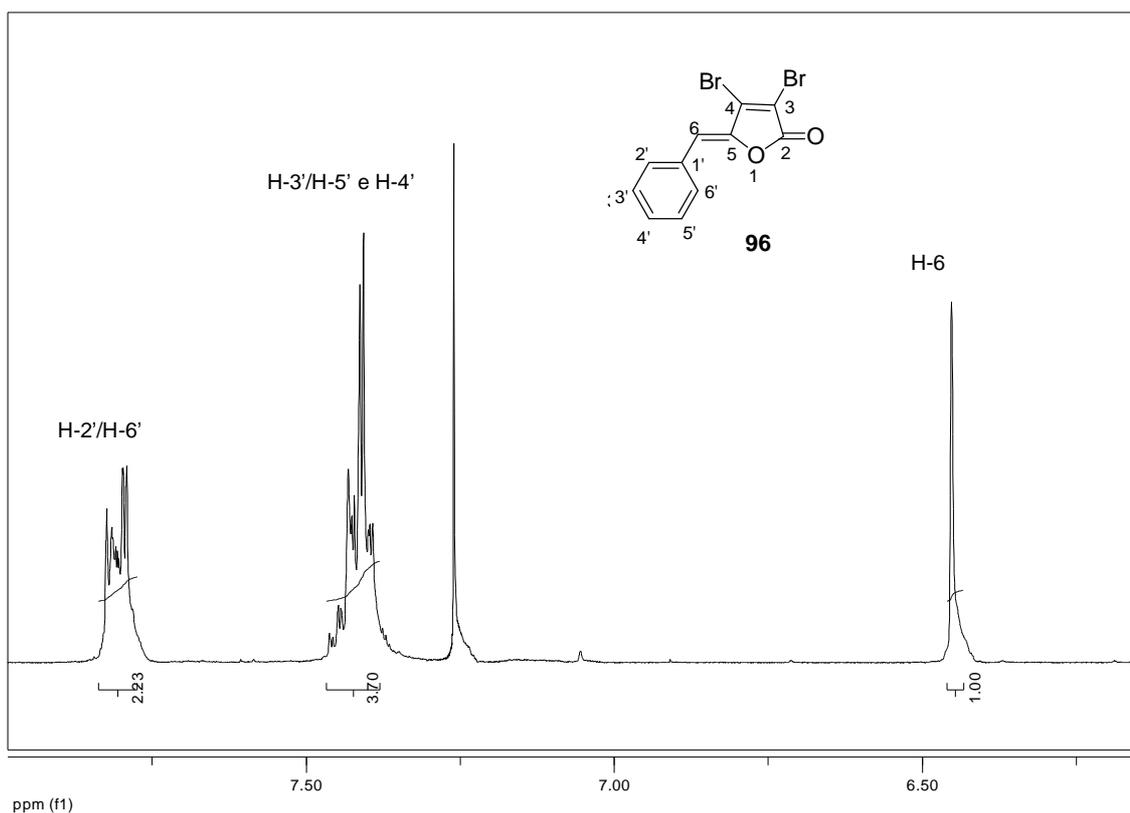


Figura 36 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da lactona **96**.

No espectro de RMN de ^{13}C , (Figura 37), o sinal observado em d_{C} 114,5 foi atribuído ao carbono C-6. Os sinais observados em d_{C} 130,5; 131,3; 132,1 e em 137,6 foram atribuídos aos carbonos do anel aromático. Em d_{C} 163,6, foi observado um sinal referente ao carbono da carbonila.

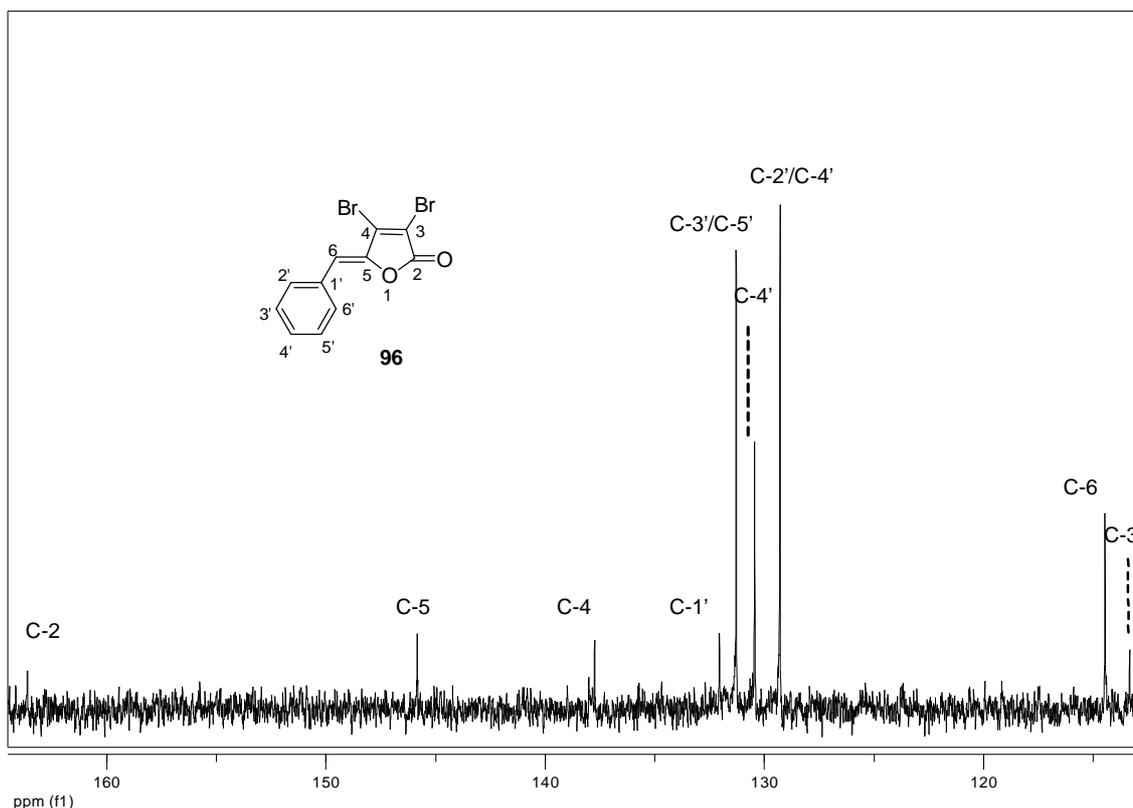


Figura 37 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto **96**.

5. Conclusões

Uma nova metodologia para o preparo do composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**) foi estabelecida, bem como as condições otimizadas para seu preparo. A partir desta metodologia, foram obtidos os compostos **84**, **85** e **86** que se apresentam como precursores para a síntese de novos *g*-alquilidenobutenolídeos.

O composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), intermediário chave na síntese dos nostoclídeos I e II, foi sintetizado via acoplamento de Negishi. O brometo de benzilzinco utilizado na reação foi preparado previamente, e o catalisador utilizado foi o $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. O rendimento obtido (36%) foi semelhante ao descrito na literatura (BELLINA e ROSSI, 2002).

De posse do composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), os compostos análogos aos nostoclídeos, novos *g*-alquilidenobutenolídeos, foram sintetizados. A reação de alquilidenação entre o correspondente sililado do composto **59** e os diferentes aldeídos, com eliminação do grupo siloxi pela base DBU, foi utilizada no preparo dos compostos: 5(*Z*)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-nitrobenzilideno)furan-2(5*H*)-ona (**91**); 5(*Z*)-3-benzil-4-isopropil-5-(3-

nitrobenzilideno)furan-2(5H)-ona (**92**); (*Z*)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5H)-ona (**93**); 5(*Z*)-3-benzil-4-isopropil-5-(3-trifluorometilbenzilideno)furan-2(5H)- onan (**94**) e (*Z*)-3-benzil-4-isopropil-5-(4-etilbenzilideno)furan-2(5H)-ona (**95**), com rendimentos de 36, 83, 40, 22 e 30%, respectivamente.

Compostos do tipo 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas (**96-100**) foram sintetizados com rendimentos de 10 a 70%.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE COMPOSTOS ANÁLOGOS AOS NOSTOCLÍDEOS, DE COMPOSTOS DO TIPO 3,4-DIALO-5-ARILIDENOFURAN-2(5H)-ONAS E DE SEUS PRECURSORES

1. Introdução

1.1. Uso de Antibióticos – Aspectos Históricos

Os primeiros relatos do uso de antibióticos pelo homem são muito antigos, como a descrição do uso de sapatos mofados por chineses para curar feridas infeccionadas nos pés (3000 anos a.C.). Porém, o primeiro metabólito fúngico de notória eficácia foi, sem dúvida, a penicilina, substância produzida pelo fungo *Penicillium chrysogenum*, cuja capacidade de inibir o crescimento bacteriano foi descoberta acidentalmente por Fleming em 1928 (TAKAHASHI e LUCAS, 2008). Não obstante, somente durante a Segunda Guerra Mundial, quando houve a necessidade urgente de curar soldados aliados de infecções de ferimentos, é que a penicilina de Fleming foi valorizada. Por meio do esforço conjunto de muitos microbiologistas da Inglaterra e dos Estados Unidos a penicilina, ela começou a ser obtida em grande quantidade e salvou inúmeras vidas. Em 1945, Fleming, Florey e Chain ganharam o Prêmio Nobel por seus trabalhos com a penicilina (PELCZAR JR. *et al.*, 1996).

Concomitantemente, os quimioterápicos ou substâncias sintéticas empregados no tratamento de doenças vêm sendo utilizados há vários séculos.

No período de 1854 – 1915, Paul Ehrlich fez diversas descobertas e introduziu o conceito de toxicidade seletiva, indicando que determinado agente exibia uma ação danosa aos microrganismos, sem afetar as células do hospedeiro. No século XVIII, Ehrlich e Hata realizaram testes com compostos

arsenicais, em coelhos com sífilis e descobriram que o composto 606, arsfenamida, era ativo. No ano de 1910, foi lançado o medicamento Salvarsan (nome comercial da arsfenamida), para o tratamento da sífilis (PELCZAR JR. *et al.*, 1996).

Desde 1830, os europeus utilizavam a quinina extraída da casca da cinchona para o tratamento da malária. Em 1945, o mercúrio foi utilizado no tratamento da sífilis (PELCZAR JR. *et al.*, 1996). A partir de 1953, a indústria investiu milhares de dólares na busca de novas drogas antimicrobianas, sendo que tal linha de pesquisa perdura até hoje em todo o mundo, empregando diversos tipos de abordagens.

Na década de 70, ocorreu uma expansão do uso dos antibióticos devido à descoberta de substâncias com maior espectro de ação. Além disso, com a descoberta de novas classes de antibióticos (β -lactamas, cefalosporinas, macrolídeos, tetraciclina e amino-glicosídeos), conseguiram-se medicamentos mais potentes, com melhor farmacocinética e maior segurança relacionada ao seu uso (menos efeitos colaterais). A descoberta das cefalosporinas, por exemplo, foi extremamente importante já que não causavam descolorimento de dentes em crianças, efeito colateral típico das tetraciclina, nem geravam tanta resistência, como as penicilinas (TAKAHASHI e LUCAS, 2008).

Diversos agentes microbianos sintéticos foram descobertos e vêm sendo utilizados ao longo dos anos, entre eles, encontram-se as sulfonamidas, o trimetoprim, os nitrofuranos, a isoniazida e o ácido nalidíxico (PELCZAR JR. *et al.*, 1996).

As fórmulas estruturais de alguns antibióticos representando diferentes classes químicas são mostradas na Figura 1.

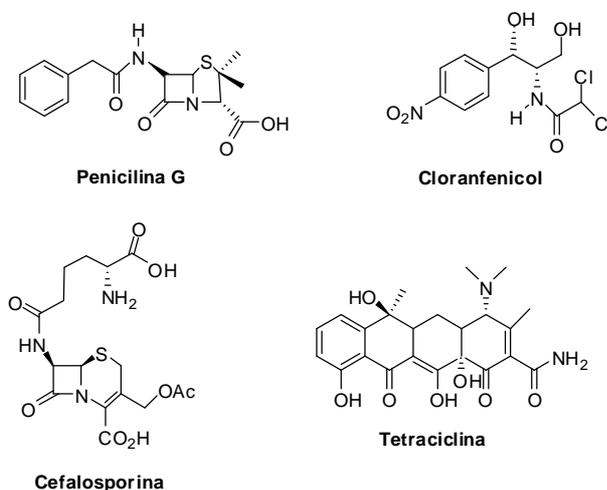


Figura 1 - Estrutura de antibióticos de diferentes classes químicas.

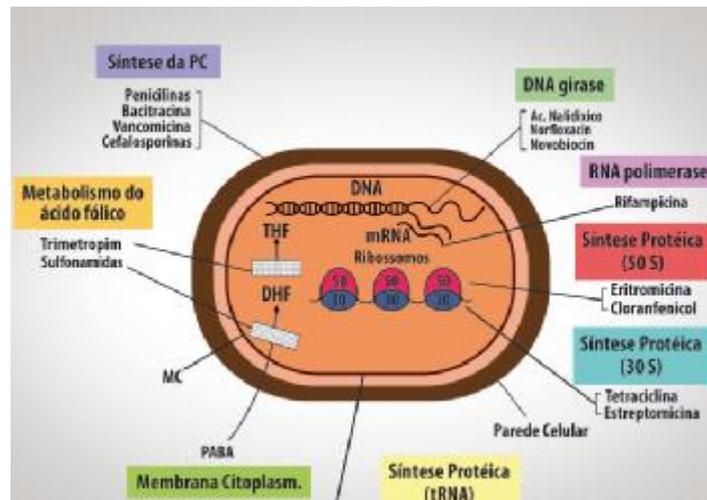
Ao longo dos anos, foram descobertos diversos fármacos antimicrobianos, sendo eles produzidos por fungos, bactérias ou de forma sintética (quimioterápicos). A Tabela 1 apresenta a ordem cronológica em que esses medicamentos entraram no mercado.

Tabela 1 – Origem das classes de fármacos antimicrobianos disponíveis no mercado

Descoberta	Antimicrobiano	Classe	Fonte
1929	Penicilina G	<i>b</i> -lactâmico	<i>Penicillium sp.</i>
1932	Sufapiridina	Sulfonamida	Síntese
1944	Estreptomicina	Aminoglicosídeo	<i>Streptomyces griseus</i>
1945	Cefalosporina	<i>b</i> -lactâmico	<i>Cephalosporium</i>
1947	Cloranfenicol	Fenilpropanoide	<i>Streptomyces venezuelae</i>
1948	Cloritetraciclina	Tetraciclina	<i>Streptomyces rimosus</i>
1950	Eritromicina	Macrolídeo	<i>Streptomyces erytheus</i>
1955	Vancomicina	Glicopeptídeo	<i>Streptomyces orientalis</i>
1955	Virginamicina	Streptogramina	<i>Streptomyces virginiae</i>
1955	Amfotericina	Polieno	<i>Streptomyces nodosus</i>
1955	Lincomicina	Licosamida	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
1959	Rifamicina	Ansamicina	<i>Streptomyces mediterranei</i>
1962	Ácido nalidíxico	Quinolona	Síntese
1969	Fosfomicina	Fosfonato	<i>Streptomyces fradiae</i>
2000	Linezolídeo	Oxazolidinona	Síntese
2003	Daptomicina	Lipopeptídeo	<i>Streptomyces roseosporum</i>

Fonte: Takahashi e Lucas (2008).

Os principais mecanismos de ação de agentes antimicrobianos são classificados como inibidores que atuam na membrana plasmática, inibidores da síntese de ácidos nucleicos, inibidores da síntese da parede celular, inibidores do ácido fólico, inibidores da síntese proteica, etc. (Figura 2).



Fonte: Brock *et al.* (1994).

Figura 2 – Locais de ação de diferentes tipos de agentes microbianos.

Apesar do desenvolvimento de fármacos eficientes no combate às infecções bacterianas ter revolucionado o tratamento médico, a disseminação do uso de antibióticos lamentavelmente fez com que as bactérias também desenvolvessem defesas relativas aos agentes antibacterianos, com o conseqüente aparecimento de resistência. O fenômeno da resistência bacteriana a diversos antibióticos e agentes quimioterápicos impõe sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas, representando uma ameaça para a saúde pública. Esta resistência prolifera-se rapidamente, pela transferência genética, atingindo algumas das principais bactérias Gram-positivas, como enterococos, estafilococos e estreptococos (SILVEIRA *et al.*, 2006).

1.2. Resistência Bacteriana

No início dos anos 60, o problema da resistência antimicrobiana limitava-se aos *Staphylococcus aureus* resistentes à penicilina. Com o decorrer do tempo, nas décadas de 70 e 80, surgiram bactérias com diferentes mecanismos de resistência, de maneira mais comum e avassaladora, tanto em relação aos organismos Gram-positivos, como para os Gram-negativos. Recentemente, o aumento da resistência antimicrobiana levou ao surgimento de microorganismos quase indestrutíveis ou com escassas opções terapêuticas (FILE JR., 1990; WUNDER, 2004).

Dentre as bactérias Gram-positivas, o surgimento de enterococos e estafilococos com mecanismos de resistência a glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina), além do aumento da resistência do *Staphylococcus aureus* à oxacilina, foram algumas das ocorrências. Em relação aos bacilos Gram-negativos, o aumento da prevalência de bactérias produtoras de *b*-lactamases de espectro estendido (ESBL) entre as enterobactérias, principalmente por *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, se destaca como outro importante fenômeno (WUNDER, 2004).

Vários são os mecanismos pelos quais os microrganismos podem escapar dos efeitos dos antimicrobianos, entre eles incluem-se: alteração da estrutura molecular dos antimicrobianos, produção de enzimas que inativam a droga, alteração das proteínas que se ligam na penicilina ou em outros pontos-alvo nas paredes das células, alvos modificados da DNA-girase, mutações de permeabilidade e modificações ribossômicas (FILE JR., 2000).

Na década de 80, acreditava-se que a guerra contra as infecções estava ganha, resultando em um declínio da pesquisa nesta área por parte das indústrias farmacêuticas. Todavia, alguns fatores têm levado a um retorno do interesse em novas classes de substâncias com atividade antibiótica, como, por exemplo, surgimento de novos alvos bacterianos ou evolução de doenças infecciosas nos últimos 20 anos (*Escherichia coli* O157:H7, *Helicobacter pylori*, *Ebola*, *Hantavirus*); desenvolvimento de resistência aos antibióticos existentes pelas bactérias patogênicas, fato diretamente ligado ao extenso uso destes medicamentos, muitas vezes sem prescrição médica, em subdosagens ou por um período de tempo insuficiente; toxicidade de alguns antibióticos em uso clínico, caso da gentamicina, que apresenta elevada nefrotoxicidade e ototoxicidade, limitando seu uso; custo elevado da antibioticoterapia, principalmente para pessoas de baixa renda, que costumam ser mais susceptíveis a doenças infecciosas por estarem frequentemente expostas a condições sanitárias precárias; demanda de novas classes de pacientes ou de melhor adequação da antibioticoterapia a indivíduos imunossuprimidos, portadores do vírus HIV, idosos, recém-nascidos, alérgicos etc. (TAKAHASHI e LUCAS, 2008).

Diante do surgimento de inúmeras linhagens de microrganismos patogênicos resistentes a antibióticos, novos agentes antimicrobianos são necessários. Com vistas à avaliação da atividade antimicrobiana, os compostos

16, 19, 30, 34, 35, 59, 67, 70 82 e 91-100 foram testados “*in vitro*” frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus*. Não há relatos na literatura a respeito da atividade antimicrobiana desses compostos. As bactérias utilizadas neste estudo foram selecionadas por apresentarem elevada resistência a vários agentes antimicrobianos. Suas características fisiológicas seguem descritas abaixo.

1.3. Aspectos Fisiológicos das Bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus*

As bactérias *Staphylococcus aureus* são esféricas (coccus), e no exame microscópico aparecem em pares, cadeias curtas, ou agrupadas como cachos de uva. Estes organismos são bactérias Gram-positivas. Algumas cepas são capazes de produzir uma toxina altamente estável ao calor que causa doença em humanos (FDA).

As manifestações clínicas do *Staphylococcus aureus* podem ser cutâneas ou sistêmicas. As manifestações cutâneas incluem: foliculite, impetigo, furúnculos, carbúnculos e a síndrome estafilocócica da pele escaldada. *Staphylococcus aureus* é, com frequência, isolada em feridas pós-cirúrgicas, sendo, portanto, um grave problema para infecções sistêmicas. Tendo causado uma bacteremia, esta bactéria pode produzir endocardite, osteomielite, piocardite e meningite. A síndrome do choque tóxico, que está relacionada com a produção da toxina de mesmo nome, é caracterizada por febre, hipotensão, vertigem, descamação, vômitos, cefaleia, calafrios e faringite. Dentre os agentes de infecções hospitalares, o *Staphylococcus aureus* é o microrganismo com maior índice de morbimortalidade (KLEIN e GULARD, 2008)

As bactérias *Escherichia coli* são classificadas como bastonetes retos, Gram-negativas, não formadoras de esporos, possuem motilidade através de flagelos ou são imóveis. São anaeróbias facultativas e utilizam *D*-glicose e outros carboidratos com a formação de ácido e gás. É um microrganismo tido como habitante natural da flora microbiana do trato intestinal de humanos e da maioria dos animais de sangue quente, sendo, portanto, normalmente encontrado nas fezes destes animais (FDA).

Atualmente há seis classes de *E. coli* enteropatogênicas reconhecidas, dentre elas a cepa *E. coli* O157:H7, que pertence ao grupo das *E. coli*

enterohemorrágicas (EHEC). A patogenicidade das cepas EHEC parece estar associada a uma série de fatores, incluindo a produção de várias citotoxinas, conhecidas como verotoxinas (VTs) ou “shiga-like” toxinas (SLTs), similares à toxina produzida pela bactéria *Shigella dysenteriae*. As VTs provocam uma doença chamada de colite hemorrágica, sendo os sintomas diarreia sanguinolenta e dores abdominais severas (SILVA *et al.*, 2003).

Bacillus cereus é uma bactéria Gram-positiva, facultativamente anaeróbica, apresenta células em forma de bastonetes, móveis, com esporos termo resistentes, responsável por doenças de origem alimentar. Este bacilo é encontrado no solo e é um contaminante comum de cereais e outros alimentos. Alguns esporos poderão sobreviver à confecção e tomar forma vegetativa que poderão crescer e produzir toxinas (FDA). As toxinas produzidas por *B. cereus* são classificadas em quatro grupos: enterotoxinas, hemolisinas (cereolisina e hemolisina II), fosfolipase C (fosfatidilinositol hidrolase, fosfatidilcolina hidrolase e esfingomielinase) e toxina emética. As enterotoxinas são responsáveis pela síndrome diarreica, doença provocada pela ingestão de cepas de *B. cereus* que, no intestino, produzem as toxinas, embora não existam evidências suficientes para se concluir se essa síndrome é causada pela ingestão da toxina pré-formada no alimento ou se a toxina é produzida no intestino (LAGO *et al.*, 2007)

O teste de disco-difusão foi realizado para os compostos **16, 19, 30, 34, 35, 59, 67, 70, 82 e 91-100** frente às bactérias supramencionadas.

1.4. Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão

Os testes de avaliação antimicrobiana são padronizados pela NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Diversos métodos laboratoriais podem ser utilizados para medir a sensibilidade *in vitro* das bactérias aos agentes antimicrobianos. Em muitos laboratórios de microbiologia clínica no Brasil, utiliza-se rotineiramente o método de disco-difusão em ágar para testar os patógenos mais comuns, de crescimento rápido e determinadas bactérias fastidiosas.

O método de disco-difusão foi inventado por Bauer e colaboradores em 1966. O princípio deste método baseia-se na difusão, através do ágar, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro. A difusão do

antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima (MIC) (BARRY, 1991; JORGENSEN *et al.*; 1999). Esse método é qualitativo, ou seja, de acordo com a NCCLS (2000), ele permite classificar a amostra bacteriana em suscetível (S), intermediária (I) ou resistente (R) ao antimicrobiano (SEJAS *et al.*; 2003).

2. Materiais e Métodos

2.1. Amostras Bacterianas

As suspensões de bactérias foram obtidas no Departamento de Microbiologia da UFV. Os microorganismos usados foram: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* (ATCC 11229). Os organismos foram mantidos em ágar nutriente (Sigma) a 37 °C. Após 24 horas, as culturas foram preparadas no meio nutriente BHIB (Brain Heart Infusion Broth - Sigma) e a concentração ajustada para 10⁵ UFC mL⁻¹.

2.2. Preparação dos meios de cultura para os testes de suscetibilidade

Para o teste de suscetibilidade foi utilizado o meio Mueller-Hinton ágar. As suspensões dos microorganismos (10⁵ UFC mL⁻¹) foram espalhadas de forma homogênea nas placas de Petri.

Os discos de papel de filtro (6 mm de diâmetro) foram impregnados com 200 µg de cada composto (**16, 19, 30, 34, 35, 59, 67, 70, 82 e 91-100**), exceto para o composto **100**, em que os discos foram impregnados com 100 µg da substância. Para tal propósito, os compostos foram dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO). Foram usados 6 mg de cada substância em 300 µL de DMSO, e às soluções foram adicionados 30 discos de papel de filtro, os quais foram impregnados na concentração de 200 µg/disco.

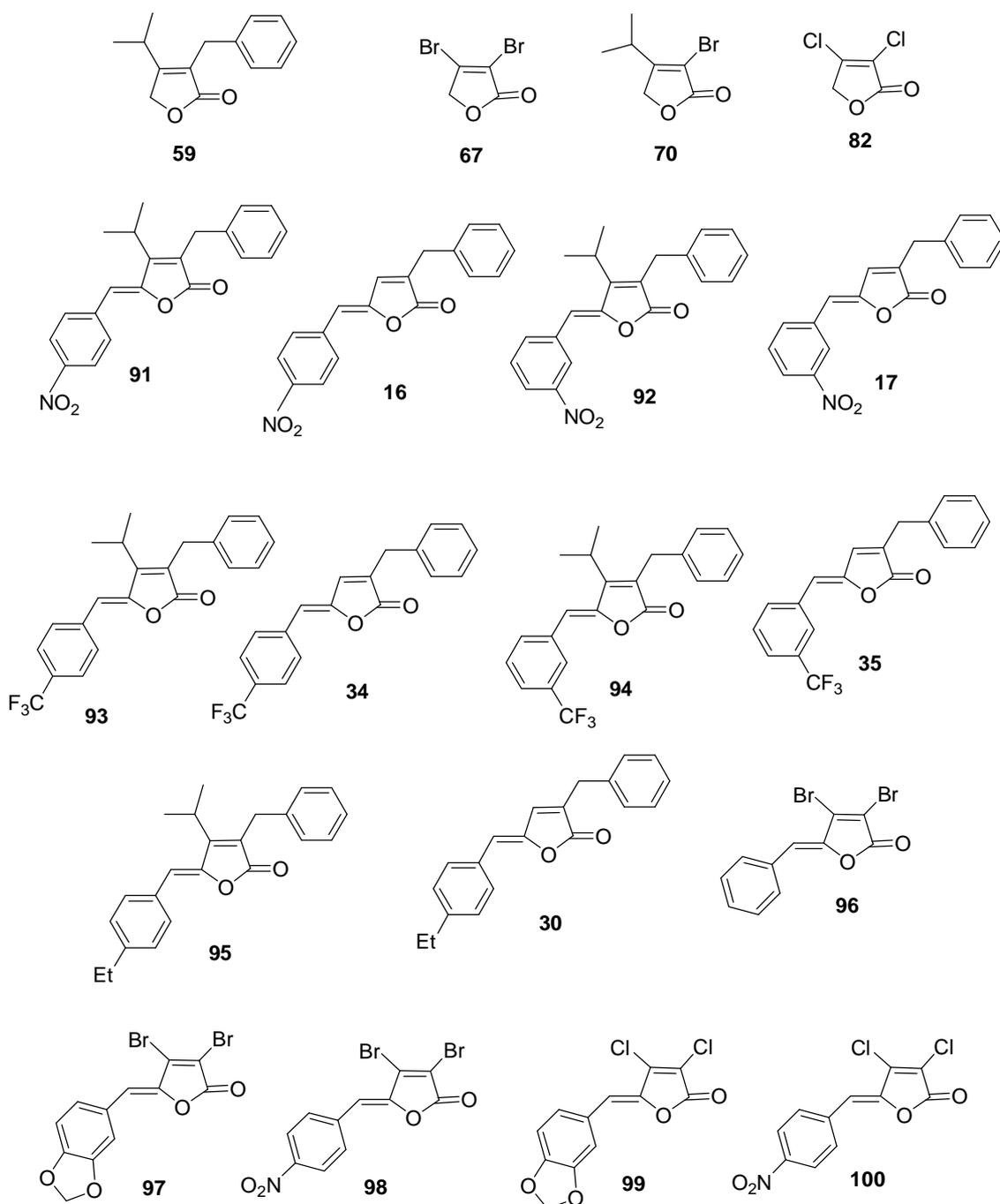
As placas contendo os discos impregnados com os compostos (**16, 19, 30, 34, 35, 59, 67, 70, 82 e 91-100**) foram incubadas por 48 horas a 37 °C nos casos das bactérias *S. aureus* e *E. coli* e a 32 °C para a bactéria *B. cereus*. Os diâmetros das zonas de inibição foram medidos e expressos em milímetros. Os controles positivos e negativos foram incluídos em cada experimento. Os antibióticos Vancomicina (30 µg), Penicillina G (10 UI), Eritromicina (15 µg),

Gentamicina (10 μg), Estreptomicina (10 μg) foram usados como controles positivos, e a água estéril, juntamente com o DMSO, usada no preparo das soluções dos compostos testados que serviram como controles negativos.

Para cada teste, foram realizadas três triplicatas com três repetições. Os resultados foram analisados no *software* GENES (Genetics and Statistical Analysis-UFV), utilizando o teste de Tukey ($P \leq 0.05$). A sensibilidade dos diferentes compostos testados foi classificada pelo diâmetro do halo de inibição: não sensível (-) para diâmetros menos de 8 mm; sensível (+) para diâmetros 9-14 mm; muito sensível (++) para diâmetros 15-19mm; e extremamente sensível (+++) para diâmetros maiores que 20 mm. Os diâmetros foram medidos por régua milimétrica.

3. Resultados e Discussão

Após 48 h de incubação, foi medido o diâmetro do halo de inibição (zona transparente) formado à volta do disco, onde não crescem colônias do microrganismo. Os valores em milímetros dos halos de inibição apresentados pelos compostos **16, 19, 30, 34, 35, 59, 67, 70, 82 e 91-100** (Esquema 1) encontram-se na Tabela 2.



Esquema 1 – Estruturas químicas dos compostos utilizados no teste disco-difusão frente às bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *B. cereus*.

Tabela 2 – Valores dos halos de inibição dos compostos

Microorganismos	Diâmetro da zona de inibição (mm)		
	G(-)	G(+)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
Compostos			
16	6 Ac	6 Ag	6 Ah
17	6 Ac	6 Ag	6 Ah
30	6 Ac	6 Ag	6 Ah
34	6 Ac	6 Ag	6 Ah
35	6 Ac	6 Ag	6 Ah
59	6Ac	8 Aefg	6 Ah
67	17 Ba	7 Cfg	20 Ab
70	6 Ac	8 Aefg	8 Agh
82	16 Aab	7 Bfg	16 Ade
91	6 Ac	6 Ag	6 Ah
92	6 Ac	6 Ag	6 Ah
93	6 Ac	6 Ag	6 Ah
94	6 Ac	6 Ag	6 Ah
95	6 Ac	6 Ag	6 Ah
96	8 Bc	15 Ad	17 Acd
97	6 Bc	10 Ae	10 Afg
98	7 Bc	10 Ae	10 Afg
99	6 Bc	9 Abef	7 Bh
100	6 Bc	6 Bg	11 Afg
Controles			
Vancomicina 30 µg	13 Bb	24 Ac	13Bb
Penicillina G 10 UI	<u>8 Bc</u> *	51 Aa	8 Bgh
Eritromicina 15 µg	<u>6 Cc</u> *	31 Ab	18. Bbcd
Gentamicina 10 µg	16 Ba	18 ABd	20 Abc
Estreptomicina 10 µg	16 Ba	15 Bd	24. Aa
Água estéril	6 Ac	6Ag	6Ah
DMSO	6 Ac	6Ag	6Ah

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$), . **bactérias resistentes.*

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 2, os compostos análogos aos nostoclídeos (**16, 19, 30, 34, 35, 91-100**) não apresentaram atividade frente a nenhuma das cepas bacterianas testadas. A baixa solubilidade desses compostos em água pode ser um dos motivos para explicar este resultado, uma vez que os processos biológicos ocorrem em meio aquoso. Em um recente estudo de correlação da estrutura química de diversos

análogos aos nostoclídeos e a atividade biológica (QSAR), foi demonstrado que para a melhoria da atividade fitóxica desses compostos um fator crucial seria o aumento da sua polaridade (TEIXEIRA *et al.*, *in press*). Apesar de ter sido levada em consideração a atividade fitotóxica apresentada por esses compostos, o resultado possivelmente se estende para o entendimento de outras possíveis atividades biológicas apresentadas por esta classe de compostos.

As lactonas **67** e **82** inibiram consideravelmente o crescimento das bactérias *E. coli* e *B. cereus*, sendo este efeito inibitório comparável ao apresentado pelos antibióticos gentamicina (10 µg) e estreptomicina (10 µg) (controles positivos).

A presença dos halogênios nas posições 3 e 4 do anel lactônico aparentemente influencia a atividade antimicrobiana. Os compostos dialogenados **97-99** inibiram, moderadamente, o crescimento da bactéria *S. aureus*. O composto **96** inibiu o crescimento das bactérias Gram-positivas, *S. aureus* e *B. cereus* de forma semelhante aos antibióticos estreptomicina (10 µg) e eritromicina (15 µg). Dos compostos pertencentes à classe das 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas, o composto **96** foi o que apresentou melhor atividade antimicrobiana, diferindo a estrutura deste composto dos demais pela ausência de grupo substituinte no anel benzilidênico.

Os compostos **97**, **98** e **100** inibiram, de forma moderada, o crescimento da bactéria *B. cereus*. Vale ressaltar que o composto **100** foi testado em uma concentração 50% inferior à dos demais compostos testados. Além dos halogênios, os compostos **98** e **100** apresentam o grupo nitro na estrutura. Deve-se notar que alguns nitrocompostos vêm sendo utilizados como agentes antimicrobianos, sendo eles, o cloranfenicol, o metronidazol, o nitrofural e o nifuroxazida (PAULA *et al.*, 2009).

De forma geral, as lactonas dibromadas apresentaram maior efeito inibitório frente às bactérias testadas do que às correspondentes dicloradas. A substituição do anel benzilidênico pelos grupos nitro (retirador) e dioxametil (doador) não influenciou a atividade antimicrobiana das 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas testadas.

Em outros trabalhos, há relatos da atividade antimicrobiana de compostos lactônicos contendo halogênios na estrutura. Baveja e colaboradores (2004) demonstraram que o composto 3-(1'-bromo-hexil)-5-

dibromometileno-furan-2(5H)-ona é capaz de inibir o crescimento da bactéria *S. epidermidis*. Recentemente, em um estudo de modelagem molecular envolvendo compostos hagenados e não-halogenados derivados da classe das N-acil-3-aminofuran-2(5H)-onas em relação a seu efeito inibitório na síntese de proteínas de bactérias Gram-negativas, foi demonstrado que os compostos halogenados são mais ativos que os não-halogenados, devido a interações específicas com proteínas da família LuxR (ESTEPHANE *et al.*, 2008).

Contudo, o composto **70**, apesar de possuir um átomo de bromo em sua estrutura, não apresentou atividade antimicrobiana relevante frente a nenhuma das bactérias testadas.

O teste de disco-difusão é qualitativo e indica quais compostos apresentam potencial atividade antimicrobiana. A Figura 3 ilustra a atividade antimicrobiana apresentada pelos compostos dibromados e diclorados.

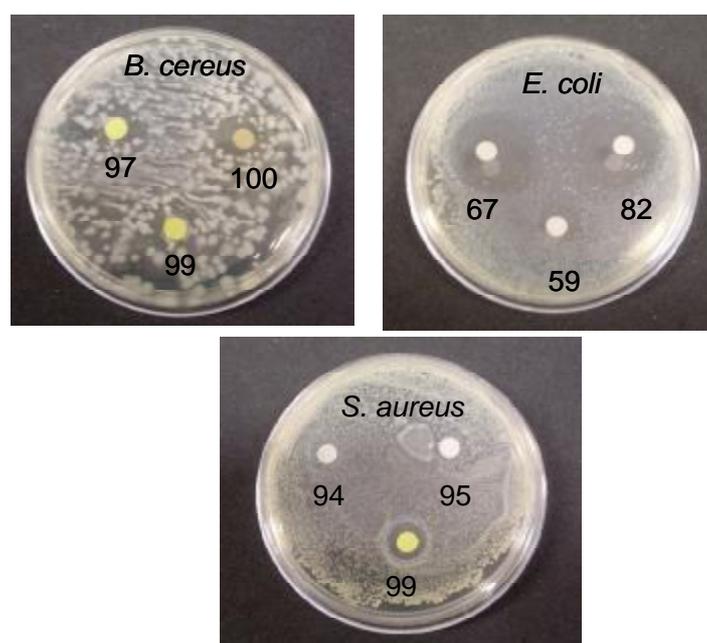


Figura 3 – Halos de inibição apresentados pelos compostos dibromados e diclorados frente às bactérias *B. cereus*, *E. Coli* e *S. aureus*.

4. Conclusão

O teste de disco-difusão, apesar de preliminar e qualitativo, permite concluir que compostos diclorados e dibromados **67, 82, 96-100** apresentaram potencial atividade antimicrobiana. Os compostos **67** e **82** inibiram o crescimento das bactérias *E. coli* (Gram-negativa) e *B. cereus* (Gram-positiva). Os compostos **96-99** inibiram o crescimento somente das bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *B. cereus*). O composto **100** mesmo em concentração inferior aos demais compostos apresentou atividade frente à bactéria *B. cereus*.

Os compostos análogos aos nostoclídeos (**16, 19, 30, 34, 35, 91-95**) não apresentaram atividade antimicrobiana frente a nenhuma das cepas de bactérias testadas.

CONCLUSÕES GERAIS

O estudo de QSAR realizado para o entendimento da correlação estrutura de diferentes análogos aos nostoclídeos e atividade biológica aponta para o fato de que o aumento da polaridade dos compostos poderá acarretar uma melhoria na atividade fitotóxica.

Análogos aos nostoclídeos semelhantes aos cinco compostos de maior potencial atividade fitóxica sintetizados por Teixeira (2008) foram obtidos (**91-95**), contendo o grupo isopropila na posição 4 do anel lactônico, a fim de avaliar seu impacto na atividade biológica.

O composto 3-bromo-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**70**) foi sintetizado por uma nova metodologia, otimizada e utilizada na síntese de outros compostos contendo diferentes grupos alquilas na posição 4 do anel lactônico.

O composto 3-benzil-4-isopropilfuran-2(5*H*)-ona (**59**), precursor na síntese de compostos análogos aos nostoclídeos, foi sintetizado via acoplamento de Negishi.

Novos *g*-alquilidenobutenolídeos pertencentes à classe das 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas foram obtidos (**96-100**).

A atividade antimicrobiana dos compostos análogos aos nostoclídeos, das 3,4-dialo-5-arilidenofuran-2(5*H*)-onas e de suas lactonas precursoras, foi avaliada. O teste de disco-difusão foi realizado para as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *B. cereus*. Os compostos análogos aos nostoclídeos não apresentaram atividade frente a nenhuma das cepas bacterianas testadas. Os compostos dialogenados apresentaram atividade inibitória e podem ser considerados potenciais agentes antimicrobianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, P.R.; CRAIK, D.J.; MARTIN, J. L. Functional Group Contributions to Drug-Receptor Interactions *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 27, p. 1648-1657, 1984.

BARBOSA, L.C.A. *Os pesticidas, o homem e o meio ambiente*. Viçosa, MG: Editora UFV, 2004. 215 p.

BARBOSA, L.C.A. *Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos*. Viçosa, MG: Editora UFV, 2007. 189 p.

BARBOSA, L.C.A.; ROCHA, M.E.; TEIXEIRA, R.R.; MALTHA, C.R.A.; FORLANI, G. Synthesis of 3-(4-bromobenzyl)-5-(arylmethylene)-5H-furan-2-ones and their activity as inhibitors of the photosynthetic electron transport chain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 8562-8569, 2007.

BARBOSA, L.C.A. ; TEIXEIRA, R. R.; MONTANARI, R. M. Phytotoxic natural products as models for the development of crop protection agents. In: Francesco Epifano. (Ed.). *Current Trends in Phytochemistry*. Kerala: Research Signpost, 2008, p. 22-59.

BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A. J.; MALTHA, C. R.; TEIXEIRA, R. R.; SOUZA, K. A. P.; BICALHO, K. U. Phytogrowth activity of 3-(3-chlorobenzyl)-5-arylidene-furan-2(5H)-ones. *Zeitschrift für Naturforschung. B*, v. 64, p. 245-251, 2009.

BARREIRO, E.J.; RODRIGUES, C. R. Modelagem Molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. *Química Nova*, v. 20, p. 1-11, 1997.

BARRY, A.L. Procedures and theoretical considerations for testing antimicrobial agents in agar media. In: Lorian, *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 3. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., Md, 1991, p. 664.

BAUER, A.W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, p. 2413-2425, 1966.

BAVEJA, J.K.; LI, G.; NORDON, R.E.; HUME, E.B.H.; KUMAR, N.; WILLCOX, M.D.P.; WARREN, L.A.P. Biological performance of a novel synthetic furanone-based antimicrobial. *Biomaterials*, v. 25, p. 5013-5021, 2004.

BEGLEY, M.J.; GEDGE, D.R.; PATTENDEN, G. Total synthesis and stereostructure of methyl (*E*)-*o*-methylmulticolanate, a 4-ylidenetetronic acid from *Penicillium multicolor*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communication*, p. 60-61, 1978.

BELLINA, F.; ANSEMI, C.; STÉPHANE, V.; MANNINA, L.; ROSSI, R. Selective synthesis of (Z)-4-aryl-5-[1-(aryl)methylidene]-3-bromo-2-(5H)-furanones. *Tetrahedron*, v. 57, p. 9997-1007, 2001.

BELLINA, F.; ROSSI, R. Synthetic applications of 3,4-dihalo-2-(5H)-furanones: A formal total synthesis of nostoclidides I e II. *Synthesis*, p. 2729-2732, 2002.

BELLINA, F.; ANSELMINI, C.; MARTINA, F.; ROSSI, R. Mucochloric Acid: A useful synthon for the selective synthesis of 4-aryl-3-chloro-2(5H)-furanones, (Z)-4-aryl-5-[1-(aryl)methylidene-3-chloro-2(5H)-furanones and 3,4-diaryl-2(5H)-furanones. *European Journal of Organic Chemistry*, p. 2290-2302, 2003.

BERNASCONI, C.F.; RAPPOPORT, A.Z. Recent advances in our mechanistic understanding of S_NV reactions. *Accounts of chemical research*, publicado dia 12 de junho de 2009.

BERK, S.C.; YEH, M. C.P.; JEONG, N.; KNOCHEL, P. Preparation and reactions of functionalized benzylic organometallics of zinc and copper. *Organometallics*, v. 9, p. 3053-3064, 1990.

BONNET, V.; MONGIN, F.; TRÉ COURT, F.; QUÉ GUINER, G.; KNOCHEL, P. Preparation of polyfunctional pyridines by a palladium(0)-catalyzed cross-coupling of functionalized aryl Grignard reagents. *Tetrahedron Letters*, v. 42, p. 5717-5719, 2001.

BOUKOUVALAS, J.; MALTAIS, F.; LACHANCE, N. Furanolate-based strategy for sequential 2,3,4-trisubstitution of butenolide: Total synthesis of nostoclidides I and II. *Tetrahedron Letters*, v. 35, p. 7897-7900, 1994.

BOUKOUVALAS, J.; BELTRAN, P.P.; LACHANCE, N.; COTE, S.; MALTAIS, F.; POULIOT, M. A new highly stereoselective synthesis of β -unsaturated (Z)- α -alkylidenebutenolides using bromine as a removable stereocontrol element. *Synlett*, p. 219-222, 2007.

BOUKOUVALAS, J.; LOACH, R.P. General, regiodefined access to α -substituted butenolides through metal-Halogen Exchange of 3-Bromo-2-silyloxyfurans. Efficient synthesis of an anti-inflammatory Gorgonian Lipid. *Journal of Organic Chemistry*, v. 73, p. 8109-8112, 2008.

BRITTO, G.F.L. Agronegócio: A resposta do campo. www.agronm.org, acessado dia: 01/07/2009.

CHRISTOFFOLETI, P.J. Aspectos de Resistência de plantas daninhas a herbicidas. Piracicaba: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas, 3^a edição, revisão e atual, HRAC-BR, 2008, 120 p.

CODESSA 2.7.10. Katritsky, A.; Karelson, M.; Lobanov, V.S.; Dennington, R.; Keith, T. Semichem, Inc., Shawnee, KS, 2004.

COHEN, T.; FAGER, J.H. The reactions of 2- and 4-picoline N-oxide with phenylacetic anhydride. *Journal of the American Chemical Society*, v. 87, p. 5701-5710, 1965.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. www.conab.br, acessado dia: 26/06/2009.

DAVIDSON, B.S.; IRELAND, C.M. Lissoclinolide, the first non-nitrogenous metabolite from a Lissoclinum tunicate. *Journal of Natural Products*, v. 53, p. 1036-1038, 1990.

DAYAN, F.E.; CANTRELL, C.L.; DUKE, S.O. Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 17, p. 4022-4034, 2009.

DEWAR, M.J.S.; ZOEBISCH, E.G.; HEALY, E.F.; STEWART, J.J.P. AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model. *Journal of the American Chemical Society*, v. 107, p. 3902-3909, 1985.

DIAS, L.S.; DIAS, A.S. Metabólitos secundários como fontes de bio-herbicidas: situação atual e perspectivas. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 30, p. 510-517, 2007.

DUKE, S.O.; DAYAN, F.E.; ROMAGNI, J.G.; RIMANDO, A.M. Natural products as sources of herbicides: Current status and future trends. *Weed Research*, v. 40, p. 99-111, 2000a.

DUKE, S.O.; ROMAGNI, J.G.; DAYAN, F.E. Natural products as sources for new mechanisms of herbicidal action. *Crop Protection*, v. 19, p. 583-589, 2000b.

EMBRAPA. Tecnologias de Produção de Soja. Região Central do Brasil 2004. www.cnpq.embrapa.br, acessado dia: 01/07/2009.

ESTEPHANE, J.; DAUVERGNE, J.; SOULÈRE, L.; REVERCHON, S. N-Acyl-3-amino-5H-furanone derivatives as new inhibitors of LuxR-dependent quorum sensing: synthesis, biological evaluation and binding mode study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 18, p. 4321-4324, 2008.

FDA – www.fda.gov, acessado dia 21/08/2009

FANG, X.; ANDERSON, J.E.; CHANG, C.; MCLAUGHLIN, J.L. Three new bioactive styryllactones from *Goniothalamus giganteus* (Annonaceae). *Tetrahedron*, v. 47, p. 9751-9758, 1991.

FERREIRA, M.M.C. Multivariate QSAR. *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 13, p. 742-753, 2002.

FILE Jr., T.M. Visão Geral Sobre Resistência Bacteriana nos Anos 90. In: PLE CHEST The Cardiopulmonary and Critical Care Journal (edição em português). Suplemento, p. 3-9, 2000.

GAZZIERO, D.L.P.; PRETE, C.E.C.; SUMIYA, M. Manejo de *Bidens subalternans* resistente aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase. *Planta Daninha*, v.21, p.283-291, 2003.

GLEASON, F.K. The natural herbicide, cyanobacterin, specifically disrupts thylakoid membrane structure in *Euglena gracilis* strain Z. *FEMS Microbiology Letters*, v. 68, p. 77-82, 1990.

GLEASON, F.K.; PORWOLL, J. X-ray structure determination of the naturally occurring isomer of cyanobacterin. *Journal of Organic Chemistry*, v. 51, p. 1615-1616, 1986.

GÖRTH, F.C.; UMLAND, A.; BRÜCKNER, R. From sugar lactones to stereodefined *g*-alkylidenebutenolides – Synthesis of analogs of the *g*-alkylidenebutenolide antibiotics Lissoclinolide and Tetrenolin. *European Journal of Organic Chemistry*, p. 1055-1062, 1998.

HAASE, C.; LANGER, P. Convenient preparation of 5-alkylidene-2,5-dihydropyrrol-2-ones by ring-transformations of *g*-alkylidenebutenolides: formal synthesis of Pukeleimide A. *Synlett*, p. 453-456, 2005.

HALL, D.O. *Fotossíntese*. São Paulo: EPU, 1980. 89 p.

HARRIS, D.C. *Análise Química Quantitativa*, editora LTC, 2005 ed. 6, 912 p.

HANSCH, C.; LEO, A. *Exploring QSAR- Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*. Washington, DC: ACS Professional Reference Book, 1995. 557 p.

HEURTAUX, B.; LION, C.; GALL, T.L.; MIOSKOWSKI, C. Uncatalyzed reaction of silyl ketene acetals with oxalyl chloride: a straightforward preparation of symmetrical pulvinic acid. *Journal of Organic Chemistry*, v. 70, p. 1474-1477, 2005.

HRAC - HERBICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE Guideline to the management of herbicide resistance. 1998. Web: [Http:// www.ncsu.edu/orgs/hrac/guideline.html](http://www.ncsu.edu/orgs/hrac/guideline.html). 13p., acessado dia 01/07/2009.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). www.ibge.gov.br, acessado dia: 26/06/2009.

JORGENSEN, J.H.; TURNIDGE, J.D. & WASHINGTON, J.A. Antimicrobial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. *In: Murray, R.P. et al. Manual of Clinical Microbiology*. 7. ed American Society for Microbiology, Washington DC, 1999, p.1526-43.

KAR, A.; GOGOI, S.; ARGADE, N.P. Synthesis of naturally occurring bioactive butyrolactones: maculactones A-C and nostocides I. *Tetrahedron*, v. 61, p. 5297-5302, 2005.

KATRITZKY, A.R.; PERUMAL, S.; PETRUKHIN, R. A QSRR Treatment of Solvent Effects on the Decarboxylation of 6-Nitrobenzisoxazole-3-carboxylates Employing Molecular. *Journal of Organic Chemistry*, v. 66, p. 4036-4040, 2001.

KATRITZKY, A.R.; FARA, D.C.; KARELSON, M. QSPR of 3-aryloxazolidin-2-one antibacterials. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* v.12, p. 3027–3035, 2004.

KATRITZKY, A.R.; KULSHYIN, V.; STOYANOVA-SLAVOVA, I.; DOBCHEV, D. A.; KUANAR, M.; FARA, D.C.; KARELSON, M. Antimalarial activity: a QSAR

modeling using CODESSA PRO software. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.14, p. 2333-2357, 2006.

KING, A.O.; OKUKADO, N., NEGISHI, E. Highly general stereo-, regio-, and chemo-selective synthesis of terminal and internal conjugated enynes by the Pd-catalysed reaction of alkynylzinc reagents with alkenyl halides". *Journal of the Chemical Society Chemical Communications*, p. 683, 1977.

KLEIN, G.; GOULART, L.S. Prevalência de *Staphylococcus aureus* multirresistentes em amostras biológicas do Laboratório Osvaldo Cruz, Uruguaiana-RS. *Revista Brasileira de Farmacologia*, v. 89, p. 121-124, 2008.

KOTORA, M.; NEGISHI, E. Efficient and diastereoselective synthesis of (+)-goniobutenolide A via palladium-catalyzed ene-yne cross coupling-lactonization cascade. *Tetrahedron Letters*, v. 37, p. 9041-9042, 1996.

KUBINYI, H. *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*. New York: VCH, 1993, 240 p.

KUHNT, D.; ANKE, T.; BESL, H.; BROSS, M.; HERRMANN, R.; MOCEK, U.; STEFFAN, B.; STEGLICH, W. Antibiotics from Basidiomycetes. *Journal of Antibiotics*, v.43, p. 1413-1420, 1990.

LANGER, P. Synthesis of butenolides by one-pot cyclization reaction of silyl enol ethers with oxalyl chloride. *Synlett*, p. 3369-3381, 2006.

LEHNINGER, A. *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 1991. 725 p.

LEVY, L.M.; CABRERA, G.M.; WRIGHT, J.E.; SELDES, A.M. 5H-furan-2-ones from fungal cultures of *aporphium caryae*. *Phytochemistry*, v. 62, p. 239-243, 2003.

LILL, M.A. Multi-dimensional QSAR in drug Discovery. *Drug Discovery Today*, v. 12, p. 1013-1017, 2007.

LIPTON, M.F.; SORENSEN, C.M.; SADLER, A.C.; SHAPIRO, R.H. A convenient method for the accurate estimation of concentrations of alkyllithium reagentes. *Journal of Organometallic Chemistry*, v. 186, p. 155-158, 1980

LIU, H.; YAO, X.; LIU, M.; HU, Z.; FAN, B. Prediction of gas-phase reduced ion mobility constants (K_0) based on the multiple linear regression and projection pursuit regression. *Talanta*, v.71,p.258-263, 2007.

LU, X.; HUANG, X.; MA, S. A convenient synthesis of *g*-alkylidene butenolides. *Tetrahedron Letters*, v. 34, p. 5963-5966, 1993.

MACÍAS, F.A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J.M.G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. selection of standard target species. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 48, p. 2512-2521, 2000.

MARTINS, P.R. Trajetórias tecnológicas e meio ambiente: a indústria de agroquímicos/transgênicos no Brasil. Campinas: Instituto de Filosofia e Ciências Humanas/Unicamp, (Tese de Doutorado em Ciências Sociais), 2000.

MASUNARI, A.; TAVARES, L.C. Aplicação de estudos de QSAR-2D em derivados 5-nitro-2-tiofilidênicos com atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* multiresistente (MRSA). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, p. 203-214, 2006.

MELNIKOV, N.N. Chemistry of Pesticides. NY: Springer-Verlag, 1971, 480p.

MIAO, S.; ANDERSEN, R.J. Rubrolides A-H, metabolites of the colonial tunicate *Ritterella rubra*. *Journal of Organic Chemistry*, v. 56, p. 6275-6280, 1991.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, www.agricultura.gov.br Acessado em: 01/07/2009.

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. Approved standards M7-A5. Wayne, PA, 2000.

NEGISHI, E.; ANASTASIA, L. Palladium-catalyzed alkynylation. *Chemical Review*, v.103, p. 1979-2017, 2003.

NEGISHI, E.; HU, Q.; HUANG, Z.; QIAN, M.; WANG, G. Palladium-catalyzed alkenylation by the Negishi coupling. *Aldrichimica Acta*, v. 38, p. 71-87, 2005.

NEGISHI, E.; KOTORA, M. Regio- and stereoselective synthesis of *g*-alkylidenebutenolides and related compounds. *Tetrahedron*, v. 53, p. 6707-6738, 1997.

NETO, Q.A.L.; NOGUEIRA, M.A.; REIS, R.R.; MELO, E.B. Estudo da relação estrutura-atividade quantitativa de dibenzoilmetanos α -substituídos quanto à atividade anticâncer da mama (linhagem celular MCF7). *Revista Brasileira de Cancerologia*; v. 52: p. 345-357, 2006.

PAULA, F.R.; SERRANO, S.H.P.; TAVARES, L.C. Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. *Química Nova*, v. 32, p. 1013-1020, 2009.

PELCZAR JR., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R.; EDWARDS, D.D.; PELCZAR, M.F. *Microbiologia – Conceitos e Aplicações, Volume II*: Editora MAKRON Books do Brasil, 1996, 517 p.

PERRIN, D.D.; ARMAREGO, W.L.F. Purification of Laboratory Chemicals, Oxford: Pergamon Press, 1998, 391 p.

PHAN, N.T.S.; BROWN, D. H; STYRING, P. A facile method for catalyst immobilization on silica: nickelcatalysed Kumada reactions in mini-continuous flow and batch *Reactors.Green Chemistry* ,v. 6, p. 526-532, 2004.

PIGNATELLO, J.J.; PORWOLL, J.; CARLSON, R.E.; XAVIER, A.; GLEASON, F.K. Structure of the antibiotic cyanobacterin, a chlorine-containing γ -lactone from the freshwater cyanobacterium *Scytonema hofmanni*. *Journal of Organic Chemistry*, v. 48, p. 4035-4038, 1983.

POHMAKOTR, M.; TUCHINDA, P.; PREMKAISORN, P.; REUTRAKUL, V. β -Regioselectivity of lithiaed 2-buten-4-olide towards aromatic aldehydes: a simple synthesis of β -arylidenebutenolides. *Tetrahedron*, v. 54, p. 11297-11304, 1998.

RICHARDSON, A.D., IRELAND, C.M. A profile of the in vitro antitumor activity of lissoclinolide. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 195, p.55-61, 2004.

ROCHA, M.E. Síntese de análogos aos nostoclídeos e avaliação de seus efeitos sobre a inibição de transporte de elétrons na fotossíntese. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2007, 155 p.

RODRIGUES, C.R. Processos Modernos no Desenvolvimento de Fármacos: Modelagem Molecular. *Cadernos Temáticos de Química Nova*, v.3, 2001.

ROMAGNI, J.G., DUKE, S.O.; DAYAN, F.E. Inhibition of plant asparagine synthetase by monoterpene cineoles. *Plant Physiology*, v. 123, p. 725-732, 2000.

SANTOS, H.F.O Conceito da Modelagem Molecular. *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, v. 4, 2001.

SARMA, K.P.; ZHANG, J.; CURRAN, T. T. Novel synthons from mucochoric acid: the first use of α,β -dichoro- β -butenolides and β -butyrolactams for direct vinylogous aldol addition. *Journal of Organic Chemistry*, v. 72, p. 3311-3318, 2007.

SAXENA, S.; PANDEY, A.K. Microbial metabolites as eco-friendly agrochemicals for the next millennium. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 55, p. 395-403, 2001.

SEJAS, L.M.; SILBERT, S.; REIS, A.O.; SADER, H.S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. *Journal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 39, p. 27-35, 2003.

SELASSIE, C.D. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. John Wiley&Sons, Inc., 6^a ed., v. 1, 2003.

SEMICHEM, <http://www.semichem.com/codessa/default.php> Acessado em: 15/11/ 2008.

SHAW, E. A synthesis of protoanemonin. The tautomerism of acetylacrylic acid and of penicilic acid. *Journal of the American Chemical Society*, v. 68, p. 2510, 1946.

SHING, T.K.M.; TSUI, H-C; ZHOU, Z-H. Enantiospecific syntheses of (+)-goniofufurone, (+)-7-epi-goniofufurone, (+)-goniobutenolide A, (-)-goniobutenolide B, (+)-goniopyprone, (+)-altholactone, (+)-1-goniotriol, and (+)-7-acetylgoniotriol *Journal of Organic Chemistry*, v. 60, p. 3121-3130, 1995.

SILVA, A.A.; VARGAS, L.; FERREIRA, E.A. Herbicidas: Resistência de plantas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Eds.). *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Viçosa: Editora UFV, 2007, p. 279-324.

SILVA, N.; SILVEIRA, N.F.A.; YOKOYA, F.; OKAZAKI, M.M. Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, p. 167-173, 2003.

SILVEIRA, G.P.; NOME, F.; GESSER, J.C.; SÁ, M.M. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. *Química Nova*, v. 29, p. 844-855, 2006.

SOUZA, M.V.N. Furanonas: uma importante classe de compostos farmacologicamente ativos, presentes em diversas espécies de produtos naturais. *Revista Brasileira de Farmacologia*, v. 87, p. 30-33, 2006.

SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. Statistical methods. Eighth Edition. The Iowa State University Press: Ames, Iowa, 1989, 503 p.

STEWART, J.J.P. MOPAC 6.0; QCPE N° 455, 1989.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.

TAKAHASHI, J.A.; LUCAS, E.M.F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. *Química Nova*, v. 31, p. 1807-1813, 2008.

TAVARES, L.C. QSAR: A Abordagem de Hansch. *Química Nova*, v. 27, p. 631-639, 2004.

TEIXEIRA, R.R.; BARBOSA, L.C.A. ; SANTANA, J.O. ; VELOSO, D.P. ; ELLENA, J. ; DORIGUETTO, A.C. ; DREW, M.G.B. ; ISMAIL, F.M.D. Synthesis and structural characterization of two nostoclides analogues. *Journal of Molecular Structure*, v. 837, p. 197-205, 2007.

TEIXEIRA, R.R.; BARBOSA, L.C.A.; MALTHA, C.R.A.; ROCHA, M.E.; BEZERRA, D.P.; LOTUFO, L.V.C.; PESSOA, C.; MORAES, M.O. Synthesis and cytotoxic activity of some 3-benzil-5-arylidenefuran-2(5H)-ones. *Molecules*, v. 12, p. 1101-1116, 2007.

TEIXEIRA, R.R. Síntese e Avaliação das Atividades Fitotóxica e Citotóxica de Compostos Análogos aos Nostoclídeos. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2008, 222 p.

TEIXEIRA, R.R.; BARBOSA, L.C.; FORLANI, G.; PILÓ-VELOSO, D.; WALKIMAR, J.; CARNEIRO, M. Synthesis of Photosynthesis-Inhibiting

Nostoclide Analogues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 2321-2329, 2008.

TEIXEIRA, R.R. ; BARBOSA, L.C.A.; CARNEIRO, J.W.M. ; CORRÊA, R.S. ; ELLENA, J. ; DORIGUETTO, A.C. Synthesis, structural characterization and conformational aspects of nostoclide analogues. *Journal of Molecular Structure*, v. 917, p. 1-9, 2009.

TEIXEIRA, R.R.; PINHEIRO, P.F.; BARBOSA, L.C.A.; CARNEIRO, J.W.. FORLANI, G. QSAR modeling of photosynthesis-inhibiting nostoclide derivatives. *Pest Management Science*, in press. DOI 10.1002/ps. 1855.

TERANG, N.; MEHTA, B.K., HÁ, H; . JUNJAPPA, H. Trimethylsilyl chloride assisted conjugate addition-elimination of organocopper reagents to 2-bis(methylthio)nitroethylene: an efficient and highly stereoselective synthesis of 2-methylthio-2-alkyl/aryl-I-nitroethylenes and their application for synthesis of nitroheterocycles. *Tetrahedron*, v. 54, p. 12973-12984, 1998.

VARGAS, L.; RIZZARDI, M.; BIANCHI, M.A. Manejo e controle de espécies tolerantes ou resistentes ao glifosato. *Revista Plantio Direto*, ed. 98, 2007.

VELASCO, L.O.M.; CAPANEMA, L.X.L. O Setor de Agroquímicos. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 24, p. 69-96, 2006.

XIA, B.; MA, W.; ZHENG, B.; ZHANG, X.; FAN, B. Quantitative structure-activity relationship studies of a series of non-benzodiazepine structural ligands binding to benzodiazepine receptor. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 43 p. 1489-1498, 2008.

XU, H-W; WANG, J-F; LIU, G-Z; HONG, G-F; LIU, H-M. Facile synthesis of γ -alkylidenebutenolides. *Organic biomolecular chemistry*, v.5, p. 1247-1250, 2007.

XUEMIN, Y.; YUZURU, S.; STEINER, J.R.; CLARDY, J. Nostoclide I and II, extracellular metabolites from a symbiotic cyanobacterium, *Nostoc sp.*, from the lichen *Peltigera canina*. *Tetrahedron Letters*, v. 34, p. 761-764, 1993.

ZHANG, J.; SARMA, K.; CURRAN, T.T.; BELMONT, D.T.; DAVIDSON, J.G. Efficient synthesis of novel γ -substituted γ -butenolides by Lewis acid catalysed addition of metal enolates of active methylene compounds to mucohalic acids. *Journal of Organic Chemistry*, v. 70, p. 5890-5895, 2005.

WANG, Z.; SONG, J.; CHEN, J.; SONG, Z.; SHANG, S.; JIANG, Z.; HAN, Z. QSAR study of mosquito repellents from terpenoid with a six-member-ring. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 18, p. 2854-2859, 2008.

WEED SCIENCE. International survey of herbicide resistant weeds. Disponível em: <http://www.weedscience.org/in.asp>. Acesso em: 25/06/2009.

WUNDER, R.S. Principais Patógenos Bacterianos em UTI: Avaliação da Resistência em cinco anos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Naval*, v. 65, p. 7-21, 2004.

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](#)