



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Síntese, caracterização e avaliação antineoplásica de novos derivados 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos**

**GILMAR FELICIANO DOS SANTOS**

**JOÃO PESSOA**

**2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

## **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Síntese, caracterização e avaliação antineoplásica de novos derivados 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos**

**Gilmar Feliciano dos Santos\***

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito Parcial para obtenção do título de Mestre em Química Orgânica pela Universidade Federal da Paraíba.

**Orientador: Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos  
Co-Orientador: Cláudio Gabriel Lima Junior**

**\*Bolsista (CNPq)**

**JOÃO PESSOA**

**2017**

S237s Santos, Gilmar Feliciano dos.  
Síntese, caracterização e avaliação antineoplásica de novos derivados 3-  
hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos / Gilmar Feliciano dos Santos. – João  
Pessoa, 2017.  
93 f. : il.

Orientador: Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos.  
Co-orientador: Cláudio Gabriel Lima Junior  
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN/PPGQ

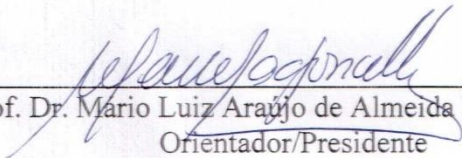
1. Química Orgânica. 2. Núcleo indólico. 3. Estruturas privilegiadas - novos  
agentes anticâncer. 4. Quimioterapia - Câncer. 5. Reação de Morita-Baylis-  
Hillman (RMBH). 6. Atividade antineoplásica. I. Título.

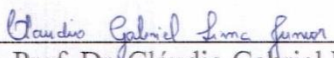
UFPB/BC

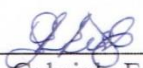
CDU - 547(043)

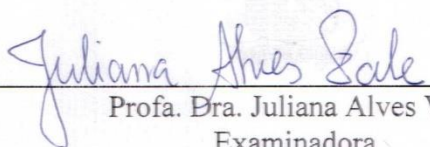
**Síntese, caracterização e avaliação antineoplástica de novos derivados 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos.**

Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Gilmar Feliciano dos Santos e aprovada pela banca examinadora em 06 de outubro de 2017.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Mario Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos  
Orientador/Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Cláudio Gabriel Lima Júnior  
2º. Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Gabriela Fehn Fiss  
Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Juliana Alves Vale  
Examinadora

Aos meus pais por sempre lutarem por mim,  
possibilitando que eu chegasse até aqui.

Ao prof. Claudio Gabriel pela orientação,  
incentivo e amizade durante os dois anos de  
convivência.

## AGRADECIMENTOS

Ao criador pela vida e pelas oportunidades que coloca em meu caminho.

A meus familiares, que torceram para eu além de ser o primeiro formado em toda uma família humilde, fosse o primeiro mestre.

Aos meus amigos, em especial Alan Ferreira e Jandiellison Souza, que deram forças e estiveram presentes desde a seleção ao término do mestrado e aos amigos que a Finlândia me deu, Alcione e Rafaela, que tanto torcem por mim.

A gestora Cida, da Escola Estadual de Ensino de Médio José Paulo de França, que fez de tudo para flexibilizar os horários e facilitar minha ida diária ao curso.

Aos meus alunos que tanto torceram por minha ascensão pessoal e profissional.

Aos professores Cláudio Gabriel e Mário Vasconcellos pela orientação, conselhos e oportunidade durante esta caminhada.

A professora Gardênia Carmen Gadelha Militão (UFPE) pela realização dos testes biológicos dos compostos presentes nesta dissertação.

Aos meus colegas de laboratório Allana, Danilo, Luciana, Jackson, Joyce, Tayna, Rhuan, João Paulo, Thayza e Sandro pela paciência e contribuição direta ou indireta para realização deste trabalho.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa.

## RESUMO

O número crescente de casos de câncer, as estatísticas que apontam para milhões de novos casos nos próximos anos, como também as limitações no tratamento tornam a busca por novos candidatos a fármacos antineoplásicos uma necessidade atual. O núcleo indólico, presente em alguns produtos naturais, vem sendo considerado uma estrutura privilegiada apresentando diversas atividades biológicas, inclusive antineoplásica. Neste trabalho, apresentamos inicialmente a síntese e caracterização de 21 derivados 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos, obtidos via reação de Morita-Baylis-Hillman, onde 12 são inéditos, utilizando isatina (**1**) e seus derivados como eletrófilos e acrilonitrila, acrilato de metila e *p*-nitro-fenilacrilamida, como aceptores de Michael. A maioria dos adutos foi obtida em bons a excelentes rendimentos (92-99%). Os tempos reacionais variaram de acordo com o aceptor utilizado, onde para os adutos contendo o grupo nitrila, as reações demonstraram ser mais rápidas (1h – 24h). A avaliação preliminar da atividade citotóxica foi realizada em 5 linhagens tumorais e análise dos dados mostrou que os compostos com maiores atividades ( $CI_{50} < 3\mu M$ ) **3a**, **3c**, **3d**, **3e**, **3f**, **3g**, **3h**, **3i** são aqueles que continham o grupo nitrila, dentre os quais os compostos **3f** ( $CI_{50} = 42$  nM) e **3i** ( $CI_{50} = 48$  nM) apresentaram resultados muito promissores, contra a linhagem HL60 (leucemia promielocítica). O composto **3f** apresentou um excelente índice de seletividade ( $IS = 967,14$ ), muito superior ao fármaco de referência doxorrubinina ( $IS = 12,73$ ). A caracterização estrutural dos compostos foi realizada por espectroscopia de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  e massa de alta resolução.

**Palavras-chave:** Núcleo indólico. Estruturas privilegiadas. Reação de Morita-Baylis-Hillman. Atividade antineoplásica.

## ABSTRACT

The growing number of cancer cases, statistics that indicate millions of new cases in the next years and treatment limitations as well make the search for new antineoplastic drug a current necessity. The 3-Substituted-3-hydroxyindolin-2-ones nucleus, present in some natural products, has been considered a privileged structure with several biological activities, including antineoplastic. In this work, it is presented the synthesis and characterization of 21 3-Substituted-3-hydroxyindolin-2-ones derivatives obtained by Morita-Baylis-Hillman reaction; 12 of them are unpublished, and it was used isatin and your derivatives such as electrophilic and acrylonitrile, Acrylate and p-nitrophenylacrylamide as Michael acceptors. Most of the adducts were obtained in good to excellent yields (92-99%). The reaction times varied according to the acceptor used, in those adducts containing nitrate group, the reactions were faster (1h - 24h). The preliminary evaluation of cytotoxic activity was executed in 5 tumoral lines and data analysis showed that the compounds with the greatest activities ( $IC_{50} < 3\mu M$ ) **3a**, **3c**, **3d**, **3e**, **3f**, **3g**, **3h**, **3i** are those containing nitrile group, among these compounds, **3f** ( $IC_{50} = 42$  nM) and **3i** ( $IC_{50} = 48$  nM) showed very promising results, against the HL60 line (promyelocytic leukemia). The Compound **3f** presented an excellent selectivity index (IS = 967.14), much higher than the reference drug doxorubicin (IS = 12.73). The structural characterization of the compounds was performed by spectroscopy of  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR and high resolution mass.

**Keywords:** 3-Substituted-3-hydroxyindolin-2-ones nucleus. Privileged structures. Morita-Baylis-Hillman reaction. Antineoplastic activity

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Exemplos de fármacos utilizados no tratamento quimioterápico .....	16
<b>Figura 2:</b> Estrutura privilegiada e fármacos com núcleo em comum e sua atividade biológica	17
<b>Figura 3:</b> Estrutura Privilegiada e atividade biológica de fármacos contendo o núcleo indólico em comum.....	17
<b>Figura 4:</b> Isatina ( <b>1</b> ) e alguns derivados - estruturas privilegiadas.....	18
<b>Figura 5:</b> Produtos naturais com potencial antineoplásico contendo o núcleo indólico.....	19
<b>Figura 6:</b> Esquema geral para a síntese das séries congêneres.....	29
<b>Figura 7:</b> Análise retrossintética dos adutos propostos para as séries congêneres das acrilonitrilas e dos ésteres de acrilatos .....	30
<b>Figura 8:</b> Análise retrossintética dos adutos propostos para a séries congêneres das acrilamidas .....	31
<b>Figura 9:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto <b>3g</b> .....	40
<b>Figura 10:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto <b>4g</b> .....	41
<b>Figura 11:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto <b>5a</b> .....	42
<b>Figura 12:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1b</b> .....	67
<b>Figura 13:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1b</b> .....	67
<b>Figura 14:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1c</b> .....	68
<b>Figura 15:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1c</b> .....	68
<b>Figura 16:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1d</b> .....	69
<b>Figura 17:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1d</b> .....	69
<b>Figura 18:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1e</b> .....	70
<b>Figura 19:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1e</b> .....	70
<b>Figura 20:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1h</b> .....	71
<b>Figura 21:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1h</b> .....	71
<b>Figura 22:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1i</b> .....	72
<b>Figura 23:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>1i</b> .....	72
<b>Figura 24:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>2</b> .....	73
<b>Figura 25:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de <b>2</b> .....	73
<b>Figura 26:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>3f</b> .....	74
<b>Figura 27:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>3f</b> .....	74
<b>Figura 28:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>3f</b> .....	75
<b>Figura 29:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>3g</b> .....	75
<b>Figura 30:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>3g</b> .....	76
<b>Figura 31:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>3g</b> .....	76
<b>Figura 32:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>3h</b> .....	77
<b>Figura 33:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>3h</b> .....	77
<b>Figura 34:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>3h</b> .....	78
<b>Figura 35:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>3i</b> .....	78
<b>Figura 36:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>3i</b> .....	79
<b>Figura 37:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>3i</b> .....	79
<b>Figura 38:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>4d</b> .....	80
<b>Figura 39:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>4d</b> .....	80
<b>Figura 40:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>4f</b> .....	81
<b>Figura 41:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto <b>4f</b> .....	81

<b>Figura 42:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>4f</b> .....	82
<b>Figura 43:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>4g</b> .....	82
<b>Figura 44:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>4g</b> .....	83
<b>Figura 45:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>4g</b> .....	83
<b>Figura 46:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>4h</b> .....	84
<b>Figura 47:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>4h</b> .....	84
<b>Figura 48:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>4h</b> .....	85
<b>Figura 49:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>5a</b> .....	85
<b>Figura 50:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>5a</b> .....	86
<b>Figura 51:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>5a</b> .....	86
<b>Figura 52:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>5b</b> .....	87
<b>Figura 53:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>5b</b> .....	87
<b>Figura 54:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>5b</b> .....	88
<b>Figura 55:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>5c</b> .....	88
<b>Figura 56:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>5c</b> .....	89
<b>Figura 57:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>5c</b> .....	89
<b>Figura 58:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>5d</b> .....	90
<b>Figura 59:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do aduto <b>5d</b> .....	90
<b>Figura 60:</b> Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto <b>5d</b> .....	91

## Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
1.1	CÂNCER	14
1.1.1	Aspectos e Classificação	14
1.2	QUIMIOTERAPIA E SUAS LIMITAÇÕES	15
<b>2</b>	<b>ESTRUTURAS PRIVILEGIADAS: DEFINIÇÃO E APLICAÇÕES RECENTES NO DESIGN DE NOVOS CANDIDATOS A FÁRMACOS</b>	16
2.1	COMPOSTOS 3-HIDROXI-INDOLIN-2-ONAS-3-SUBSTITUÍDOS COMO ESTRUTURA PRIVILEGIADA PARA A BUSCA POR NOVOS AGENTES ANTICÂNCER.	18
2.2	SÍNTESE DE 3-HIDROXI-INDOLIN-2-ONAS-3-SUBSTITUÍDOS	20
2.3	REAÇÃO DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN	22
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b>	27
4.1	OBJETIVO GERAL	27
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
<b>5</b>	<b>ESTRATÉGIAS</b>	29
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	33
6.1	PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DA ISATINA	33
6.2	SÍNTESE DOS ADUTOS MBH DERIVADOS DA ISATINA <b>3a – 3i</b>	34
6.3	SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DE ISATINA <b>4a – 4h</b>	35
6.4	SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DE ISATINA <b>5a – 5d</b>	37
6.5	TRATAMENTO ESPECTROCÓPICO DOS AMBH DERIVADOS DA ISATINA	39
6.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS	42
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b>	47
7.1	CONCLUSÕES	47
7.2	PERSPECTIVAS	47
<b>8</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	49
8.1	MATERIAIS E MÉTODOS	49
8.2	PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE <b>1b</b>	49
8.3	PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE <b>1c</b>	50
8.4	PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE <b>1h</b>	50
8.5	PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE <b>1i</b>	51
8.6	PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DE <b>1d E 1e</b>	51

8.7 PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE DE <b>1f</b> E <b>1g</b> -----	52
8.8 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE <b>2</b> -----	53
8.9 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DA ISATINA <b>3a</b> – <b>3i</b> -----	53
8.10 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DA ISATINA <b>4a</b> – <b>4h</b> -----	56
8.11 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DA ISATINA <b>5a</b> – <b>5d</b> -----	58
<b>REFERÊNCIAS</b> -----	62
<b>ESPECTROS</b> -----	67

# INTRODUÇÃO

---

## 1 INTRODUÇÃO

Além de ser uma enfermidade que mata milhões de pessoas por ano, o câncer vem apresentando estimativas cada vez mais preocupantes. Nos países em desenvolvimento é esperado nas próximas décadas um impacto de câncer na população que corresponde a 80% dos mais de 20 milhões de casos mundiais estimados para 2025. A estimativa para o Brasil, biênio 2016-2017, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil novos casos de câncer. Excetuando-se o câncer de pele não-melanoma (aproximadamente 180 mil casos novos), ocorrerão cerca de 420 mil casos novos de câncer. Os cânceres de próstata (61 mil) em homens e mama (58 mil) em mulheres serão os mais frequentes. (INCA, 2016)

Os fármacos antineoplásicos utilizados no tratamento do câncer apresentam limitações devido ao seu mecanismo de ação, o qual interfere diretamente nas funções de reprodução celular. O grande obstáculo continua sendo o fato de tais drogas atuar não apenas sobre células tumorais, mas também em células saudáveis. Mesmo em doses terapêuticas, os quimioterápicos podem ocasionar severas toxicidades, fato este que motiva a busca por novos fármacos que minimizem ou até mesmo acabem com estas limitações. (SIMÃO et al., 2012)

No desenvolvimento de novos fármacos para combater o câncer e inúmeras enfermidades, aparecem na literatura cada vez mais relatos sobre o uso de estruturas privilegiadas, isto é, pequenas moléculas orgânicas que podem interagir com mais de um tipo de bioreceptor. (FERNANDES, TIRITAN, PINTO 2015). Compostos que apresentam o núcleo indólico, por exemplo, vêm apresentado diversas atividades biológicas. (SINGH; DESTA, 2012)

Derivados 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos são compostos heterocíclicos, cujo núcleo indólico pode ser considerado uma estrutura privilegiada, uma vez que estão presentes em várias unidades nucleares de muitos produtos naturais e compostos farmacologicamente ativos, tornando-se assim alvos sintéticos interessantes para o planejamento de novos candidatos a fármacos. (YAN et al., 2013)

Diversos produtos naturais e análogos sintéticos, que apresentam o núcleo indólico, vêm apresentando um amplo espectro de atividades biológicas, como por exemplo: alto potencial anti-oxidante, anti-câncer, anti-HIV e neuroprotetoras. (PEDDIBHOTLA, 2009)

Para a síntese de derivados 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos, diversas reações podem ser empregadas, tais como as reações aldólicas catalisadas por arginina (YAN et al., 2013) e reação de Henry (MESHRAM et al., 2013). Uma via sintética também conveniente é o emprego das reações de Morita-Baylis-Hillman (RMBH) entre isatina (1) e alcenos ativados, catalisadas por amina terciária (LIMA-JUNIOR et al., 2016)

Em relato na literatura (LIMA-JUNIOR, 2012) foram sintetizados e bioavaliados frente a linhagem cancerígena HL-60 (leucemia promielocítica) 40 adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH), onde foi observado que os derivados que apresentavam o núcleo indólico foram os mais ativos da série congênere.

Com base no exposto, o presente trabalho tem como finalidade a síntese de uma nova série congênere de derivados 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos via reação de Morita-Baylis-Hillman com derivados de isatina e aceptores de Michael e a sua bioavaliação frente a linhagens de células tumorais.

# **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

---

## 1.1 CÂNCER

### 1.1.1 Aspectos e Classificação

Um conceito formal utilizado na contemporaneidade é que é uma doença caracterizada pelo crescimento desordenado de células que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos. Considerada uma doença genética, pode ser transmitida a uma célula normal, através da transferência de genes tumorais (cópias de genes normais que sofreram mutações). (INCA,2016)

Na transcrição, há a síntese de proteínas que mostra perda ou ganho de sua função biológica e as mutações que ocorrem durante esta etapa são modificações transmitidas no material genético e acontecem em qualquer célula e são ocasionadas por agentes físicos e químicos do meio ambiente ou por produtos tóxicos da própria célula (radicais livres, por exemplo). (FURTADO; NEPOMUCENO, 2012)

Em termos de tipos de câncer, pode-se dizer que há relatos de mais de 200 tipos, que se pode desenvolver em qualquer órgão de nosso corpo. Biologicamente falando, os órgãos são constituídos por diferentes tipos de células estruturadas em camadas, por exemplo, de tecidos. Os tecidos são constituídos de tipos específicos de célula. O câncer pode se desenvolver a partir de quase quaisquer tipos de célula no corpo. (INSTITUTO ONCOGUAIA, 2015).

A classificação do câncer não se dá de acordo com os tecidos para os quais se espalhou, mas sim com o tipo de célula normal. Sendo assim temos de acordo com esta classificação, que é denominada primária, que os vários tipos de câncer podem ser colocados em um dos seguintes grupos: carcinomas (tecidos epiteliais); sarcomas (tecidos conjuntivos); linfomas (sistema linfático); leucemia (células da medula óssea); mielomas (malignidade nas células plasmáticas da medula óssea que produz os anticorpos); melanomas (melanócitos); gliomas (tecidos de suporte cerebral ou da medula espinhal) e neuroblastomas, atribuído a tumor pediátrico derivado de células malignas resultantes de células neuronais primordiais. (ALMEIDA et al., 2005)

Há uma distribuição epidemiológica que sugere aumento de casos e tipos de câncer com o status socioeconômico da população. Ainda segundo este estudo, câncer de mama, próstata, cólon, reto e, simultaneamente, a presença de taxas de incidência persistentemente elevadas de tumores geralmente são associados com a pobreza, juntamente com o câncer de colo de útero, pênis, estômago e cavidade oral. Esta

distribuição certamente resulta de exposição a um grande número de diferentes fatores de risco ambientais relacionados ao processo de industrialização – agentes químicos, físicos e biológicos - e de exposição a outros fatores relacionados às disparidades sociais. (VIERO; LARA, 2015)

## 1.2 QUIMIOTERAPIA E SUAS LIMITAÇÕES

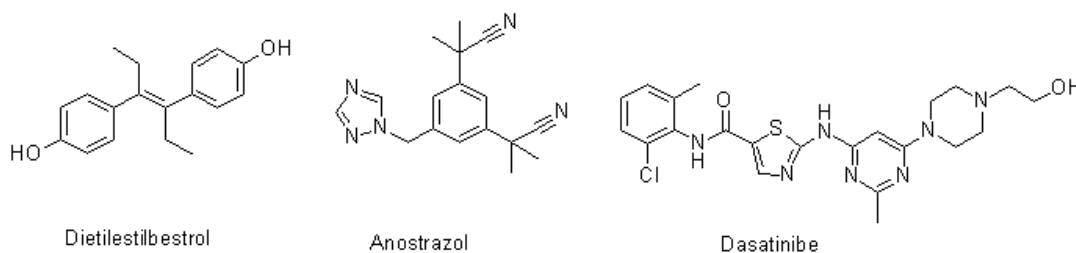
O tratamento do câncer pode ser realizado basicamente por quatro abordagens: a cirurgia e a radioterapia, como tratamentos locais; a quimioterapia e a terapia com agentes biológicos (como hormônios, anticorpos ou fatores de crescimento) como tratamentos sistêmicos. A quimioterapia é uma modalidade terapêutica importante para o câncer, representada pelo emprego de substâncias químicas isoladas ou em combinação. Essas drogas interferem no processo de crescimento e divisão celular, destruindo as células tumorais, mas também agredindo as células normais que possuem características semelhantes. (ROSAS et al., 2013)

A quimioterapia consiste na aplicação de medicamentos para combater as células que formam os tumores dos cânceres. Trata-se de uma abordagem sistêmica e torna possível a cura de alguns tumores, além de permitir o tratamento precoce de metástases não detectáveis, essa modalidade de tratamento traz inúmeros efeitos colaterais, os quais se relacionam ao fato de não afetarem exclusivamente as células tumorais. Frequentes incluem mielossupressão, náuseas, vômitos, diarreia e alopecia. (RODRIGUES; POLIDORI, 2012)

A frequência dos efeitos colaterais pode variar de acordo com o diagnóstico, o paciente, a pré-medicação, a função hepática, a dose e o tratamento utilizado. Geralmente, a incidência de efeitos adversos é maior em pacientes com provas de função hepática elevadas. (FREITAS; NEVES, 2013)

A figura 1 apresenta a estrutura de alguns fármacos utilizados no tratamento quimioterápico.

**Figura 1:** Exemplos de fármacos utilizados no tratamento quimioterápico



Alcançar o objetivo primário da quimioterapia, que é destruir as células neoplásicas preservando as normais, ainda é um desafio. Grande parte dos agentes quimioterápicos atua com baixa seletividade atingindo não só as células malignas quanto as saudáveis, particularmente as células de rápido crescimento, como as gastrointestinais, capilares e as do sistema imunológico. Isto explica a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia: náuseas, perda de cabelo e susceptibilidade maior às infecções. (ALMEIDA, et al., 2005)

Com base no exposto, observa-se que a busca por novos candidatos a fármacos mais seletivos para o tratamento do câncer ainda configura-se um desafio nos dias atuais, fato que vêm impulsionando vários grupos de pesquisa tanto no cenário nacional quanto internacional. (WELSCH; SNYDER; STOCKWELL, 2010)

## 2 ESTRUTURAS PRIVILEGIADAS: DEFINIÇÃO E APLICAÇÕES RECENTES NO DESIGN DE NOVOS CANDIDATOS A FÁRMACOS

O desenho de candidatos a fármacos multialvos tem crescido nos últimos anos e se baseiam em uma unidade estrutural que possua atributos para interação com os receptores preconizados. Neste contexto, a utilização de estruturas privilegiadas, subunidades com pontos farmacofóricos para mais de um receptor, devem ser consideradas para o desenvolvimento racional e triagem de novos compostos com perfil multialvo. (MORPHY et al., 2004, *apud in* SILVA, 2013)

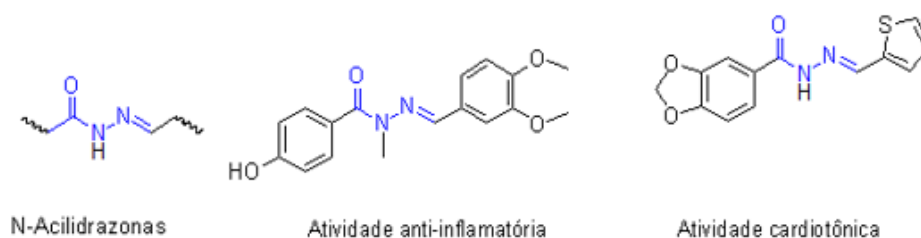
O conceito de estruturas privilegiadas, entre os quais os produtos naturais com bioatividades conhecidas e que estendem esta definição à maioria dos metabólitos secundários, foi sugerido inicialmente por Evans e colaboradores (1988) como uma estrutura com mais de um bioreceptor podendo ser a estrutura base para demais

compostos, e em seguida, estendidas a estruturas de produtos naturais tais como indoles e outros. (NEWMAN, 2008)

Estruturas privilegiadas são pequenas moléculas orgânicas que podem ser ferramentas poderosas, impactando áreas como biologia e medicina, atuando em macromoléculas que regulam processos biológicos. (WELSCH, SNYDER, STOCKWELL, 2010)

A figura 2 apresenta a N-acilidrazona, uma estrutura privilegiada presente em alguns compostos farmacologicamente ativos, e atividade de compostos com esta subunidade.

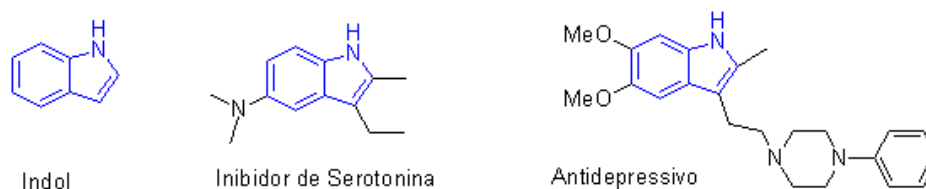
**Figura 2:** Estrutura privilegiada e fármacos com núcleo em comum e sua atividade biológica



O processo para identificação de uma estrutura privilegiada está envolto de muitos desafios. A correlação apenas à frequência de ocorrência de certas subunidades e coleções de moléculas bioativas não é o suficiente para se definir que uma estrutura é privilegiada, pois necessitam de estudos criteriosos que confirmem a importância das subunidades para interação fármaco-receptor. (SILVA, 2013)

A figura 3 apresenta mais alguns exemplos de estruturas privilegiadas e derivados que apresentam tais núcleos com suas respectivas atividades.

**Figura 3:** Estrutura Privilegiada e atividade biológica de fármacos contendo o núcleo indólico em comum



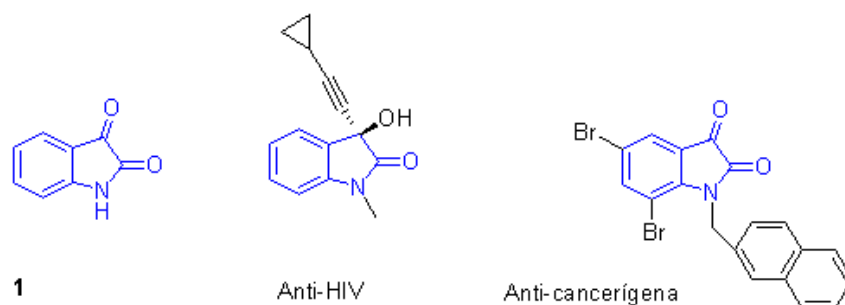
Os derivados da isatina são exemplos de estrutura privilegiada de significativa importância na área de química medicinal. A maioria desses compostos apresentam

atividades biológicas e farmacêuticas e despertam grande atenção dos químicos nos últimos anos. (MORADI; ZIARANI; LASHGARI, 2017).

Encontra-se na literatura estudos acerca de sua grande variedade de atividades biológicas, relevantes para aplicação como inseticidas e fungicidas e em uma vasta gama de terapias farmacológicas, incluindo medicamentos anticancerosos, antibióticos e antidepressivos. (PAKRAVAN et al., 2013)

A figura 4 apresenta a isatina (1) e alguns derivados com suas respectivas atividades biológicas.

**Figura 4:** Isatina (1) e alguns derivados - estruturas privilegiadas

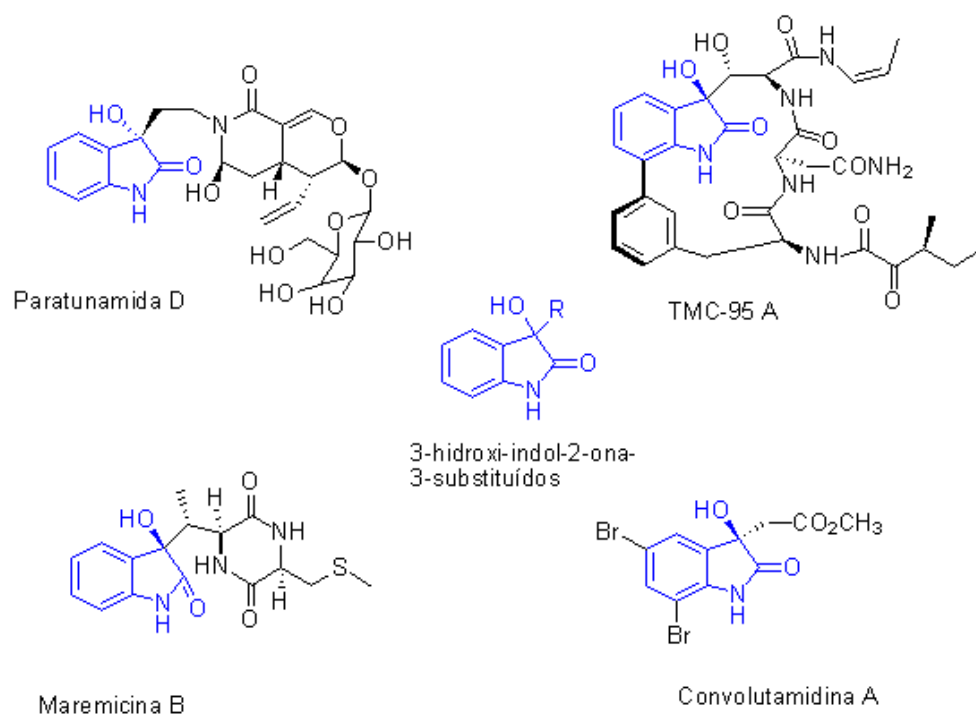


## 2.1 COMPOSTOS 3-HIDROXI-INDOLIN-2-ONAS-3-SUBSTITUÍDOS COMO ESTRUTURA PRIVILIEGIADA PARA A BUSCA POR NOVOS AGENTES ANTICÂNCER.

Derivados 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos tornaram-se alvos sintéticos importantes, uma vez que suas estruturas formam as unidades centrais de muitos produtos naturais e compostos farmacêuticamente conhecidos, por exemplo a Convolutamidina e Paratunamida D, que se encontram na figura 5. A Convolutamidina é uma substância que apresenta atividade na diferenciação de células de leucemia promielocítica humanas HL-60, e a Paratunamida D apresenta atividade biológica contra células de carcinoma epidermóide. (YAN et al., 2013)

A figura 5 mostra alguns produtos naturais que apresentam o núcleo indólico, e que possuem potencial antineoplásico.

**Figura 5:** Produtos naturais com potencial antineoplásico contendo o núcleo indólico



Adutos de Morita-Baylis-Hillman vêm apresentando atividade contra Linhagens de células tumorais humanas. Expandindo assim a diversidade de atividade biológica que os AMBH podem apresentar. (LIMA-JUNIOR; VASCONCELLOS, 2012)

Em trabalho publicado em 2006 (KOHN et al., 2006) dos 18 adutos sintetizados, alguns apresentaram atividade contra 8 linhagens celulares tumorais, dentre elas: UACC62, MCF7, NCIADR, 786-0, NCI460. Este não é o trabalho pioneiro de AMBH com atividade biológica, mas pôde mostrar para a ciência o potencial antineoplásico que AMBH podem apresentar. Em seus estudos, porém, não se utilizou da estrutura privilegiada isatina (1), o que coube a outros pesquisadores, sintetizarem via RMBH, uma vez que a literatura não apresentava muitos relatos.

Os compostos que contêm o núcleo indólico presente em muitos produtos naturais e farmacêuticos, tem apresentado significativa atividade biológica contra várias enfermidades, dentre as quais, um potencial anti-câncer. (PEDDIBHOTLA, 2009)

Compostos derivados da isatina que possuíam este mesmo núcleo, apresentaram significativa atividade biológica contra a linhagem HL-60 (leucemia promielocítica), apresentando bons índices de seletividade, atuando na indução de apoptose celular. (LIMA-JUNIOR et al., 2016)

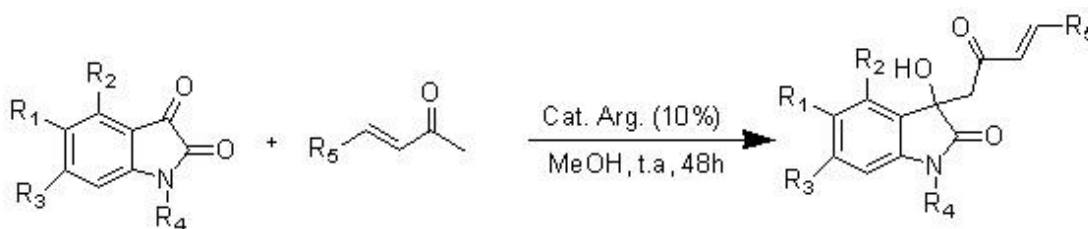
## 2.2 SÍNTESE DE 3-HIDROXI-INDOLIN-2-ONAS-3-SUBSTITUÍDOS

Encontra-se na literatura vários métodos para a preparação de compostos contendo o grupo 3-hidroxi-indol-2-ona 3-substituídos, dentre os quais podemos citar as reações aldólicas catalisadas por arginina (YAN et al., 2013) e reação de Henry (MESHRAM et al., 2013). Estas reações utilizam isatina (1) e derivados como substrato, uma vez que há a presença de uma carbonila cetônica eletrofílica.

Desde que a síntese de compostos 3-hidroxi-indol-2-ona 3-substituídos por via aldólica foi realizada usando a prolina como catalisador, outros organocatalisadores baseados em aminoácidos têm sido desenvolvidos como imitadores de enzimas para reações adversas. O mecanismo nas reações mediadas por prolina baseia-se na formação inicial de um imina entre o átomo de nitrogênio da arginina e o grupo carbonila do substrato e depois a conversão para uma enamina. Uma imina pode ser formada por outros aminoácidos e assim os outros aminoácidos poderia catalisar reações semelhantes, a exemplo da arginina. Reações utilizando a arginina apresentaram rendimentos variando de 88% - 98%, sendo portanto um bom catalisador. O produto foi obtido como uma mistura racêmica. (YAN et al., 2013)

O esquema 1 apresenta a o esquema geral da síntese do núcleo indólico por via aldólica catalisada por arginina.

**Esquema 1:** Metodologia de síntese de 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos por via aldólica

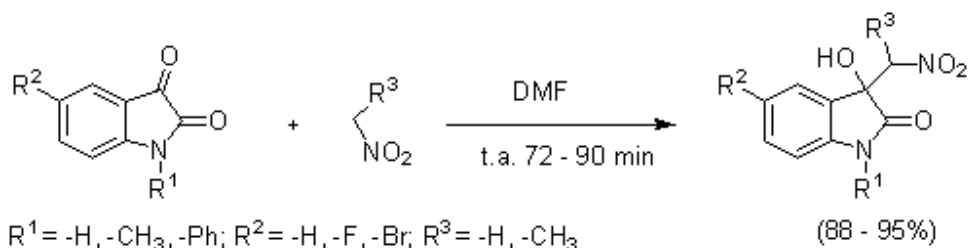


Quando  $R_1=R_2=R_3=R_4= H$  e  $R_5$  um composto fenílico, os produtos obtidos apresentaram o rendimento variando de 95% – 98%.

A reação de Henry mostrou-se eficiente para a reação de síntese de compostos 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos pela reação de isatina (1) com nitroalcanos em DMF, sob condições anidridas (MESHRAM, et al., 2013). Entre as vantagens mencionadas na pesquisa, encontram-se o fato deste método proporcionar altos rendimentos, apresentar economia de átomos por ser realizada em uma única etapa e aplicável a uma variedade de derivados da isatina, bem como nitroalcanos. O esquema 2

apresenta a metodologia geral para a síntese dos compostos, bem como a variação de rendimento dos produtos obtidos.

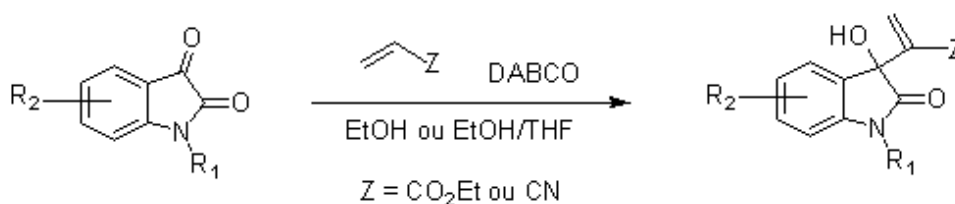
**Esquema 2:** Metodologia para a síntese de compostos 3-hidroxi-indol-2-ona 3-substituídos via reação de Henry



Há, no entanto, outra via sintética que vem ganhando destaque na literatura, para a obtenção do 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos realizada a partir da isatina (1) com aceptores de Michael, por meio da Reação de Morita-Baylis-Hillman (RMBH). (GARDEN; SKAKLE, 2002; KHALAFI-NEZHAD; MOHAMMADI, 2012)

A literatura já vem apresentando muitas RMBH envolvendo a utilização de aldeídos como eletrófilo. No entanto, o emprego de cetonas é bem menor. Uma das vantagens dessa via sintética está no potencial biológico que os AMBH vêm apresentando como também quantitativos rendimentos (CHUNG; IM; KIM, 2002; GARDEN; SKAKLE, 2002). O esquema 3 apresenta a metodologia empregada por Garden e Skakle (2002).

**Esquema 03:** Metodologia para a síntese de compostos 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos via RMBH



### 2.3 REAÇÃO DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN

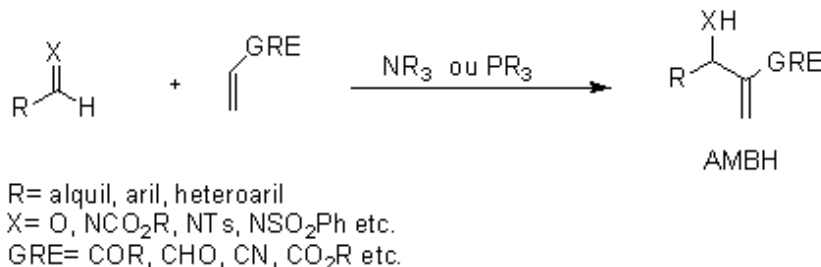
A reação de Morita-Baylis-Hillman teve sua origem em 1968, quando Morita descreveu a reação de um aldeído com compostos acrílicos catalisada por tricicloexilfosfina. Morita nomeou a transformação como adição carbinólica. No entanto, o rendimento da reação foi extremamente baixo (20%). (SANTOS et. al., 2015)

A reação ganhou o nome Baylis-Hillman devido os estudos feitos por A. B. Baylis e M. E. D. Hillman no qual utilizaram uma amina terciária bicíclica DABCO como catalisador na reação de aldeídos com alcenos ativados.

A RMBH é uma reação de formação de ligação C – C entre um carbono eletrofílico (aldeídos, cetonas ou iminas) e a posição  $\alpha$  de um alceno (ou Alcino) ligado a grupos retiradores de elétrons (GRE) catalisada por aminas terciárias ou alquil (aril) fosfinas, sendo o DABCO o catalisador mais utilizado. (LIMA-JUNIOR et al., 2016).

O esquema 4 apresenta a metodologia utilizada na RMBH.

**Esquema 4:** A reação de Morita-Baylis-Hillman



A RMBH é indiscutivelmente um método sintético orgânico poderoso e versátil de formação da ligação carbono – carbono gerando produtos multifuncionalizados conhecidos como AMBH, sendo obtidos numa reação *one pot* catalisada por aminas terciárias, sendo o DABCO a mais utilizada. As etapas mecanísticas para a formação destes adutos envolvem adição de Michael seguida por uma etapa de adição aldólica e eliminação (SINGH; BHARADWAJ; TIWARI, 2014).

Há inúmeras vantagens na utilização desta de reação. Uma delas está relacionada a total economia de átomos, como também a possibilidade de ser realizada em meio aquoso ou até mesmo na ausência de solventes, além de ser organocatalisada. Tais características têm recebido grande atenção dos químicos orgânicos sintéticos atualmente

devido a busca pelo desenvolvimento de processos voltados para a química verde. (LIMA-JUNIOR et al., 2016).

Uma das limitações que encontramos para esta reação é o seu alto tempo reacional e baixos rendimentos. No Brasil, alguns grupos de pesquisa têm dedicado seus esforços para o desenvolvimento de metodologias para melhorar os rendimentos e velocidade da reação MBH. Um exemplo é a utilização de 4- ( N , N - dimetilamino ) piridina ( DMAP ), como um catalisador para a reação de Morita - Baylis - Hillman entre aldeídos aromáticos e de acrilato de metila sob condições brandas, que apresentou menores tempos reacionais. (SANTOS et al.,2015)

Nas últimos trinta anos os AMBH têm sido utilizados para síntese de vários heterociclos e carbociclos. Além do alto potencial sintético os adutos obtidos vêm apresentando significativo potencial biológico, o que faz com que a RMBH torne-se cada vez mais utilizada no campo medicinal, atividades como antimalarial, leishmanicida, antitumoral, antifúngica e antibacteriana, são exemplos de atividades já relatadas de AMBH. Em trabalhos mais recentes AMBH têm apresentado atividade anticancerígena, estendendo assim o potencial biológico desses compostos. (LIMA-JUNIOR et al., 2016)

Os AMBH obtidos a partir de derivados de isatina vêm apresentando potencial anticâncer (PEDDIBHOTLA, 2009; LIMA-JUNIOR, 2012). As primeiras sínteses de AMBH com derivados de isatina foram realizadas pela primeira vez por RMBH em 2002, apresentando bons rendimentos. (GARDEN; SKAKLE, 2002; CHUNG et al., 2002).

A síntese de 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos, vem apresentando bons resultados nas taxas de reações de Morita-Baylis-Hillman entre derivados de isatina e ésteres acrílicos ou acrilonitrila, sob condições isentas de solventes. (RAD-MOGHADAM; YOUSEFTABAR-MIRI, 2011)

Encontra-se na literatura também relatos da síntese de acrilamidas 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos via RMBH. Numa mistura de solvente 1: 1 de dioxano / H<sub>2</sub>O, a acrilamida pode sofrer a reação de Baylis-Hillman com aldeídos aromáticos ativados sob pressão atmosférica e à temperatura ambiente. A água foi pensada para favorecer a formação dos intermediários zwitterionicos e, assim, promover a reação. (GUO et al., 2005).

Recentemente a reação usando derivados de isatina com acrilamida, DABCO como promotor e fenol como aditivo em acetonitrila como solvente, gerou AMBH em bons rendimentos. Tais compostos apresentam entre suas vantagens, o fato de oferecer

átomo de nitrogênio livre para alquilações, diversificando ainda mais a estrutura do composto base. (SINGH; BHARADWAJ; TIWARI, 2014)

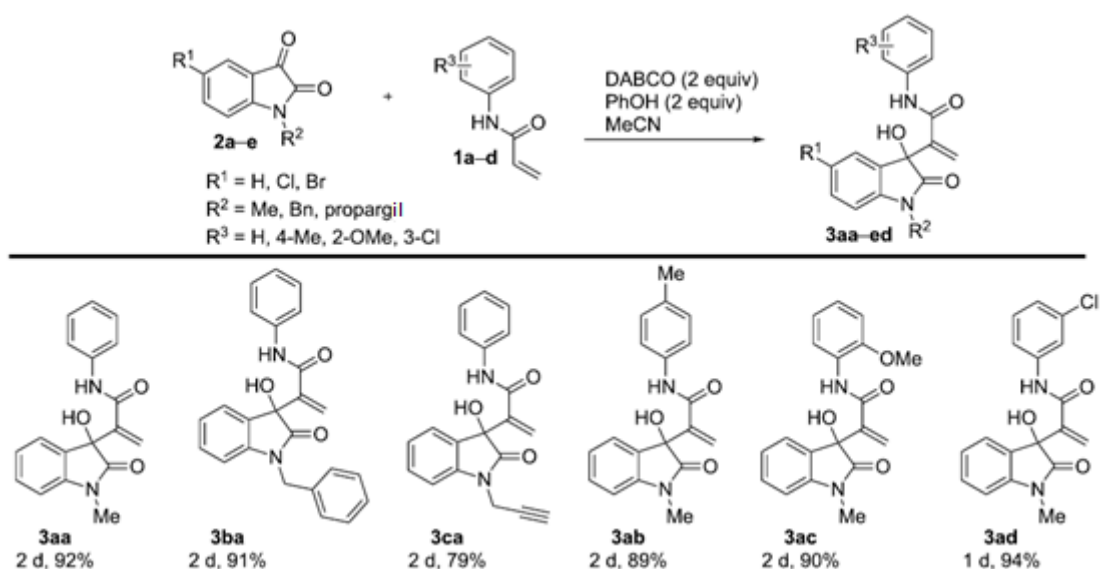
As acrilamidas estão entre os compostos que têm sido avaliados como quimioterápicos contra o câncer, uma vez que afetam a concentração de glutathione (GSH), proteína presente em maior concentração em células de linhagens cancerígenas do que em células normais. (TEW, 1994).

Independentemente da substituição em *orto*, *meta* ou *para*, algumas acrilamidas substituídas apresentaram significativo potencial inibidor das taxas de reação de GSH. (CEE et al., 2015)

Adicionalmente, embora compostos derivados de acrilamidas apresentem significativa atividade biológica (WU et al., 2003), nenhuma atenção vem sendo dada a AMBH derivados de isatina e acrilamidas. Até o presente momento, nenhuma investigação foi realizada.

O esquema 5 apresenta a metodologia empregada na síntese de AMBH derivados de arilacrilamidas.

**Esquema 5:** Metodologia para a síntese de acrilamidas 3-hidroxi-indolin-2-onas-3-substituídos e alguns adutos obtidos



**Fonte:** Adaptada de Singh e colaboradores (2014)

Com base no exposto este trabalho buscou além da síntese de alguns derivados 3-hidroxi-indol-2-onas-3-substituídos a partir de derivados de isatina com ésteres acrílicos ou acrilonitrila, também a síntese de acrilamidas. Para isto, foi utilizado como acceptor de

Michael 4-nitrofenil acrilamida, sendo a reação promovida por DABCO. A escolha deste acceptor se baseia no fato de que em trabalhos anteriores, AMBH contendo grupo nitro foram fortemente ativos frente a linhagens de câncer (KOHN et al., 2006; MOHAN et al., 2006).

## **OBJETIVOS**

---

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Ampliar o estudo acerca de estruturas privilegiadas, sintetizando novos derivados que apresentam o núcleo indólico, via reação de Mortita-Baylis-Hillman, e que possam apresentar significativa contribuição no combate às linhagens de células cancerígenas e tornarem-se novos candidatos a fármacos.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar sínteses de intermediários da isatina (1);
- Desenvolver melhores condições reacionais na obtenção de compostos 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos, via RMBH entre isatina (1) e seus derivados e aceptores de Michael;
- Discutir a bioavaliação, a ser realizada, dos compostos sintetizados frente às linhagens cancerígenas;

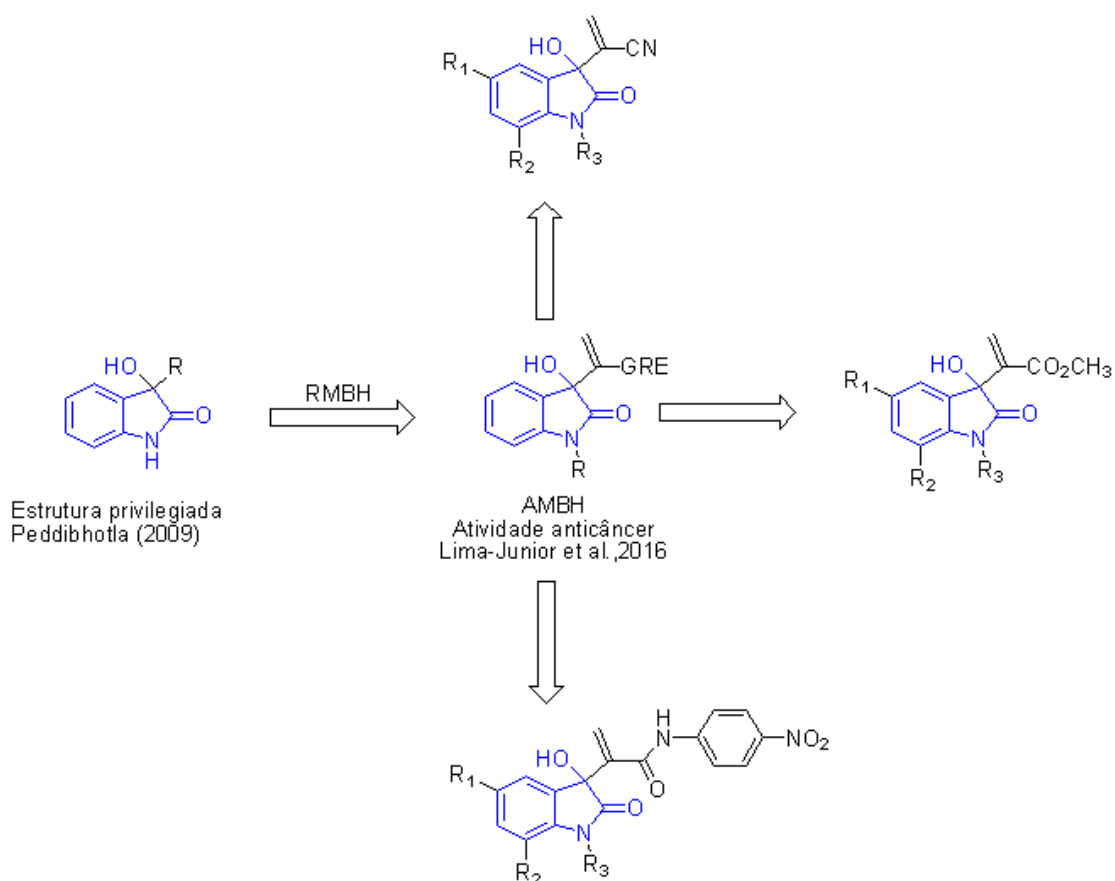
## **ESTRATÉGIAS**

---

## 5 ESTRATÉGIAS

Baseado em relatos na literatura (PEDDIBHOTLA, 2009; LIMA-JUNIOR et al., 2016) acerca do potencial anticâncer de compostos que apresentam o núcleo indólico, onde os AMBH derivados da isatina apresentaram forte atividade citotóxica frente a células de HL-60 (leucemia), nossa estratégia inicial consistirá na síntese de novas séries congêneres de 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos derivados da isatina, via reação de Morita-Baylis-Hillman com aceptores de Michael. A figura 6 apresenta o esquema geral para a síntese das séries congêneres.

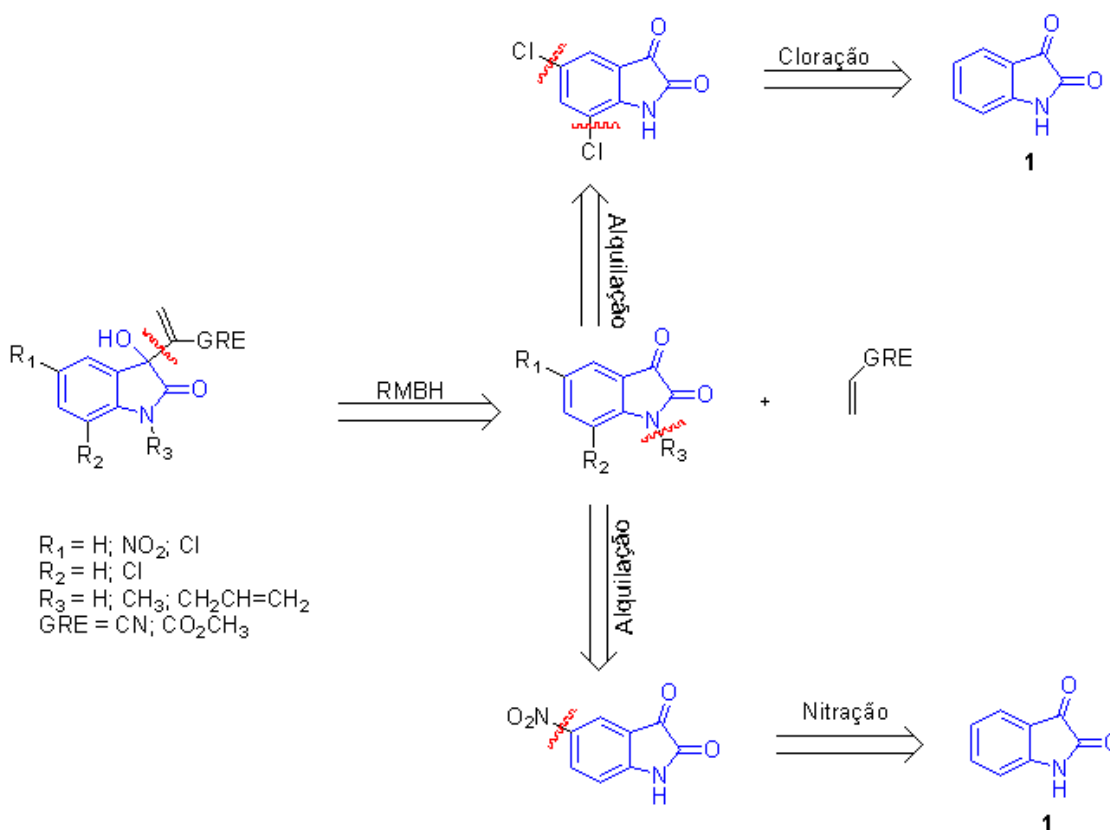
**Figura 6:** Esquema geral para a síntese das séries congêneres



Para a síntese das séries congêneres dos AMBH de acrilonitrilas e acrilato de metila serão utilizados como material de partida a isatina (1), que após a síntese de seus

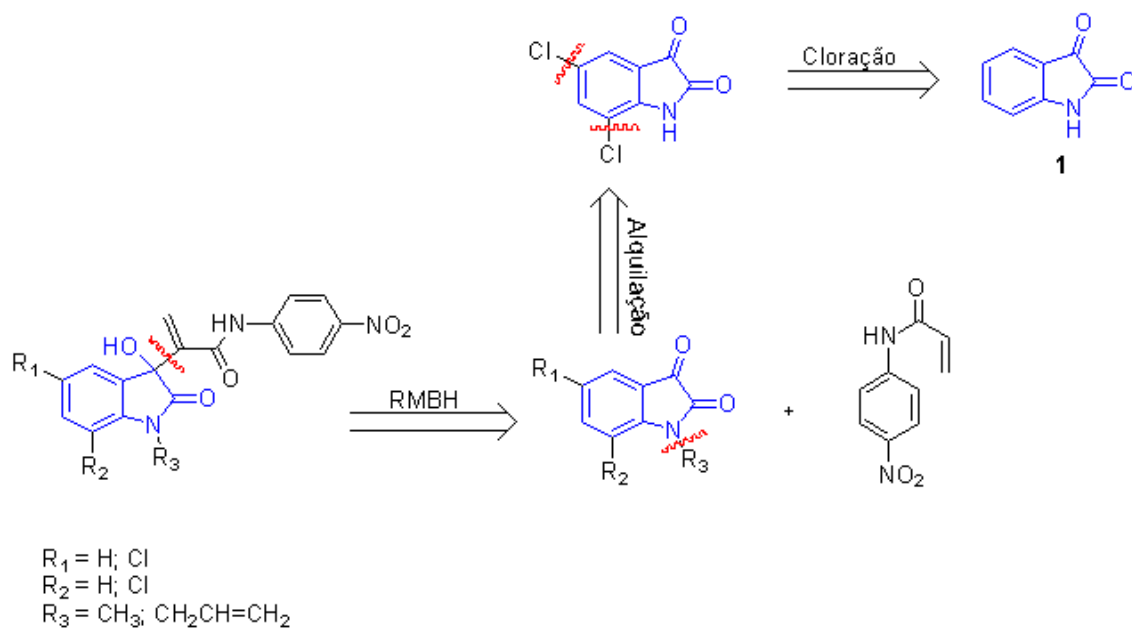
derivados por meio de reações de nitração, cloração e alquilação, os derivados obtidos reagirão com os alcenos ativados acrilonitrila e acrilato de metila. A figura 7 mostra a análise retrossintética para a síntese dos adutos propostos nestas séries.

**Figura 7:** Análise retrossintética dos adutos propostos para as séries congêneres da acrilonitrila e do acrilatos de metila



Para a síntese da série congênera dos AMBH de acrilamidas serão utilizados com material de partida derivados da isatina, que após a síntese de seus derivados por meio de reações, cloração e alquilação, os derivados obtidos reagirão com o aceptor de Michael *p*-nitrofenilacrilamida. A figura 8 apresenta a análise retrossintética para adutos propostos nesta série.

**Figura 8:** Análise retróssintética dos adutos propostos para a séries congêneres das acrilamidas



## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

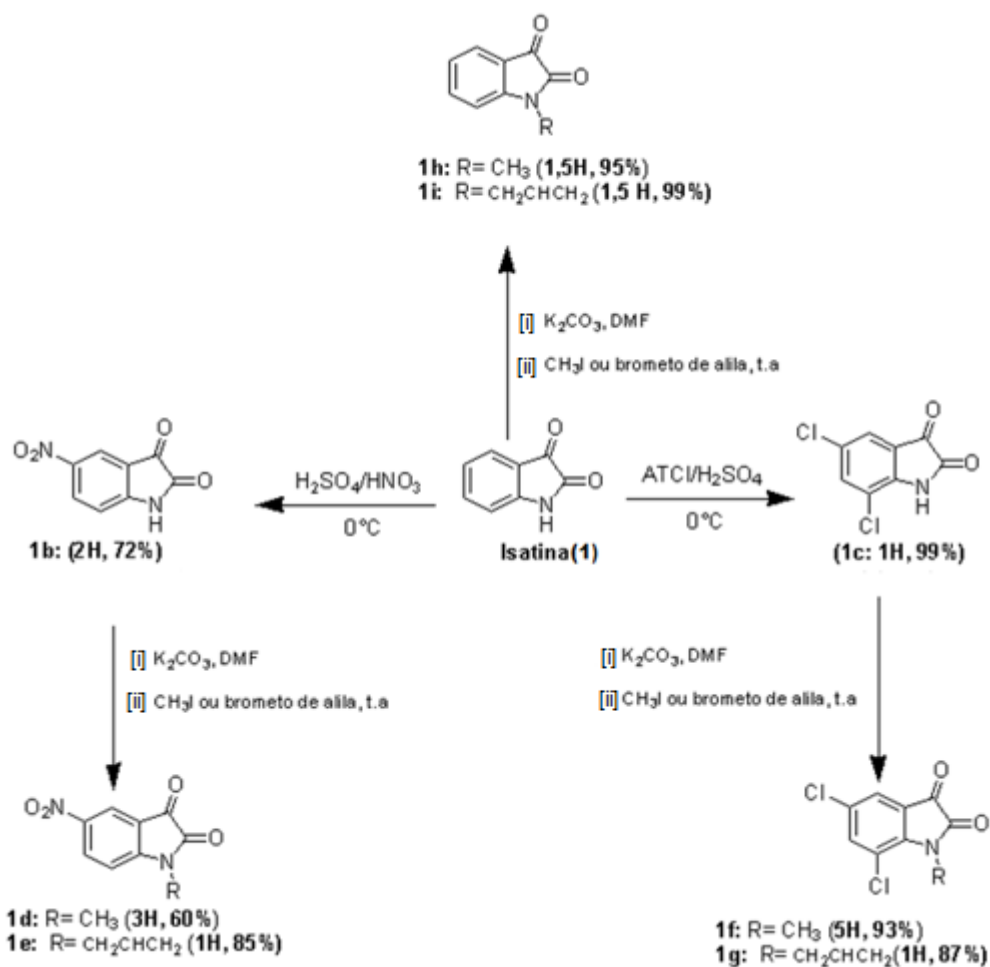
## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DA ISATINA

O presente trabalho foi iniciado pela preparação dos derivados da isatina. Estes, por sua vez foram sintetizados via reação de nitração e cloração (SILVA et al., 2010). De forma breve, para a síntese do derivado nitrado (**1b**), empregou-se uma mistura de ácido nítrico em ácido sulfúrico. Já o derivado diclorado (**1c**) foi obtido usando uma mistura de ácido tricloroisocianúrico (ATCI) em ácido sulfúrico. Os derivados apresentaram rendimentos, 72 % e 99%, respectivamente.

Posteriormente, os derivados nitrados e clorados foram submetidos a reação de alquilação usando iodeto de metila e brometo de alila (PERIYARAJA, SHANMUGAM E MANDAL, 2013) fornecendo os derivados (**1d-1g**) com rendimentos (45 – 93%). A própria isatina (**1**) também foi alquilada seguindo mesmo protocolo gerando derivados **1h** e **1i** com rendimentos que variaram entre 95 e 99%. O esquema 6 sumariza o caminho sintético para a preparação destes intermediários sintéticos derivados da isatina.

**Esquema 6:** Rotas sintéticas para a preparação dos derivados da isatina.



Os intermediários foram caracterizados por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e suas estruturas foram confirmadas baseadas na comparação com a literatura (SILVA et al., 2010; KHALAFI-NEZHAD; MOHAMMAD, 2012)

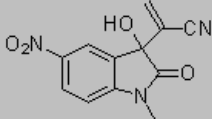
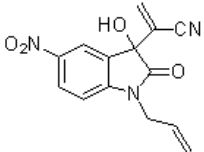
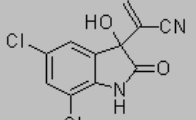
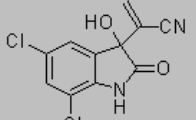
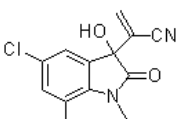
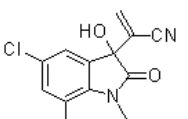
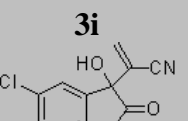
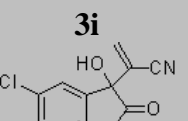
## 6.2 SÍNTESE DOS ADUTOS MBH DERIVADOS DA ISATINA **3a – 3i**

Para a síntese dos compostos **3a – 3i** foi realizada reação de Morita-Baylis-Hillman (RMBH) utilizando acrilonitrila como aceptor de Michael e isatina (1) e seus derivados como substrato eletrofílico.

Todas as reações foram realizadas usando DABCO como promotor, usando THF como solvente e a temperatura ambiente. Cabe ressaltar que os compostos **3f**, **3g**, **3h** e **3i** são inéditos, os compostos já existentes na literatura foram sintetizados para realização da análise biológica. Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 1

**Tabela 1:** Rendimentos e tempos reacionais da reação de preparação dos compostos **3a – 3i**

Entrada	AMBH	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Tempo (h)	Rendimento isolado
1	<b>3a</b> 	H	H	H	2,5	99%
2	<b>3b</b> 	H	H	CH <sub>3</sub>	1,5	95%
3	<b>3c</b> 	H	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	2	99%
4	<b>3d</b> 	NO <sub>2</sub>	H	H	18	93%
5	<b>3e</b>	NO <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	19	82%

						
<b>6</b>		NO <sub>2</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	5	98%
						
<b>7</b>		Cl	Cl	H	24	95%
						
<b>8</b>		Cl	Cl	CH <sub>3</sub>	1	99%
						
<b>9</b>		Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	2	97%

Pode-se observar na tabela 1 que a condição experimental empregada foi satisfatória, formando produtos em tempos reacionais que variaram de 1 a 24 horas e excelentes rendimentos (82 – 99%), não havendo formação de coprodutos.

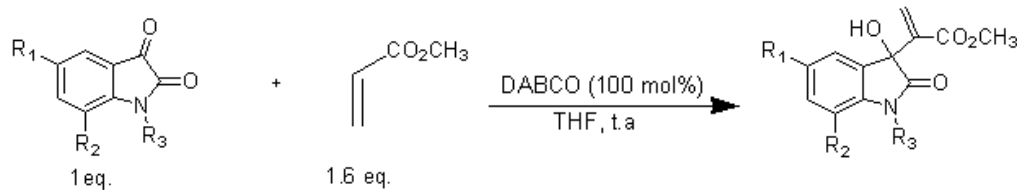
Em se tratando dos compostos com o grupo nitro esperava-se que o mesmo por ser grupo retirador de elétron diminuísse o tempo reacional, no entanto pelos resultados apresentados há um aumento nos tempos reacionais e uma diminuição nos rendimentos em comparação com os compostos sem este grupo retirador de elétrons. Pode-se observar ainda que os compostos alquilados na presença do grupo cloro apresentam menores tempos reacionais que os seus respectivos nitrados.

### 6.3 SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DE ISATINA **4a** – **4h**

Para a síntese dos compostos **4a** – **4h** foi realizada reação de Morita-Baylis-Hillman utilizando acrilato de metila como acceptor de Michael e isatina (1) e seus derivados como substrato eletrofílico.

As condições experimentais empregadas foram semelhantes a aplicada na série anterior. A tabela 2 apresenta os valores de tempo e rendimento para a preparação de **4a** – **4h**

**Tabela 2:** Resultados obtidos na síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman derivados do acrilato de metila.



Entrada	AMBH	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Tempo (h)	Rend. isolado
<b>4a</b>						
1		H	H	H	18	93%
<b>4b</b>						
2		H	H	CH <sub>3</sub>	120	93%
<b>4c</b>						
3		H	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	120	92%
<b>4d</b>						
4		NO <sub>2</sub>	H	H	2	67%
<b>4e</b>						
5		NO <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	48	98%
<b>4f</b>						
6		NO <sub>2</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	23	99%
<b>4g</b>					96	56%

7		Cl	Cl	H		
8		Cl	Cl	CH <sub>3</sub>	2,5	99%

Pela tabela 2 acima, pode-se observar que os compostos **4a** – **4h** foram obtidos em tempo reacionais que variaram de 2 a 120 horas com rendimentos (56-99%). A utilização de irradiação de micro-ondas (80 °C) em um reator de micro-ondas CEM Discover-System, equipado com um sistema de irradiação contínua de  $\mu$ W com potência programável no intervalo de 0 a 300 W, foi empregada para a preparação de **4g**, mas não se observou melhora no rendimento reacional. Cabe ressaltar que os adutos **4f**, **4g** e **4h** são inéditos na literatura, os compostos já existentes na literatura foram sintetizados para realização da análise biológica.

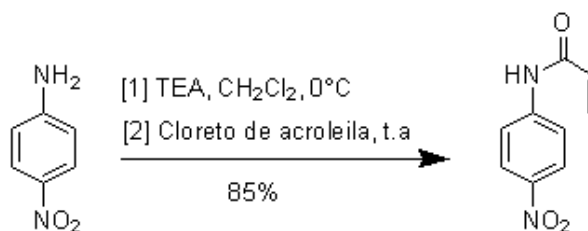
Observa-se ainda que a presença de grupos nitro nos compostos reduziu os tempos de reações e aumentou o rendimento dos compostos alquilados, fato este que era esperado devido a presença de grupos retiradores de elétrons ligado ao anel aromático que proporcionam um aumento na velocidade da reação. Em se tratando do composto metilado pode-se observar que a presença do grupo cloro reduziu o tempo reacional e aumentou o rendimento.

Houve necessidade de separação cromatográfica para o isolamento dos produtos **4d** e **4g**, tendo em vista que houve formação de coprodutos. Para realizar a purificação foi utilizada uma coluna cromatográfica (Eluente 25% - AcOEt / Hexano).

#### 6.4 SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DE ISATINA **5a** – **5d**

Para sintetizar os compostos **5a** – **5d** foi utilizado como acceptor de Michael 4-nitro-fenilacrilamida. Este, por sua vez foi sintetizado seguindo protocolo da literatura (CEE et al.,2015). Sua preparação envolveu a reação entre 4-nitroanilina e cloreto de acroleína como mostrado no esquema abaixo. O acceptor foi obtido em 85% de rendimento e caracterizado por métodos físicos. O esquema 7 apresenta a metodologia de síntese de **2**.

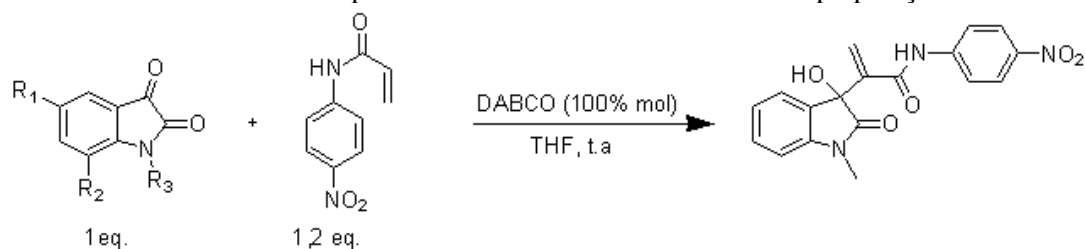
**Esquema 7:** Metodologia de síntese do derivado **2**



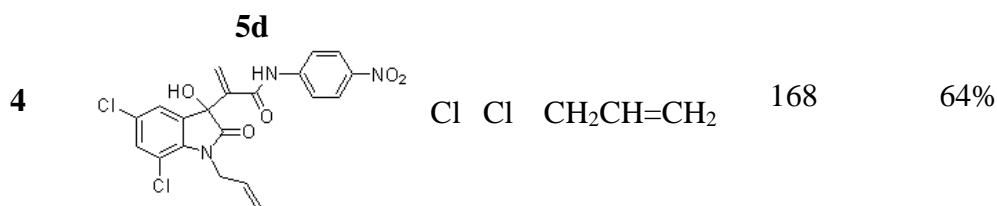
Após a preparação de **2**, iniciou-se a preparação dos AMBH. Todos os compostos pertencentes a esta série são inéditos.

O protocolo sintético utilizado para a síntese destes compostos foi o mesmo aplicado nas séries anteriores, usando THF como solvente e DABCO como promotor. Foi utilizado 1.2 equivalentes do aceptor de Michael e a reação foi conduzida a temperatura ambiente. Os resultados de tempo reacional e rendimento estão sumarizados na Tabela 3.

**Tabela 3:** Resultados de tempo e rendimentos reacionais obtidos na preparação de **5a – 5d**.



Entrada	AMBH	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Tempo (h)	Rendimento isolado
<b>1</b>	<b>5a</b> 	H	H	CH <sub>3</sub>	168	62%
<b>2</b>	<b>5b</b> 	H	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	96	48%
<b>3</b>	<b>5c</b> 	Cl	Cl	CH <sub>3</sub>	168	22%



Pode-se observar pela tabela 3 que os tempos reacionais foram mais longos quando comparado as séries sintetizadas anteriormente. Isto deve-se a baixa reatividade de acrilamidas quando comparada com acrilonitrila e acrilato de metila. Observa-se também que os rendimentos obtidos são mais baixos (22 -64%).

A literatura apresenta poucos relatos de sucesso na síntese desta classe de compostos via RMBH. Em se tratando de reações usando derivados de isatina, somente um relato é presente na literatura até o presente momento, sendo de total relevância a investigação de novos protocolos experimentais para esta classe de moléculas.

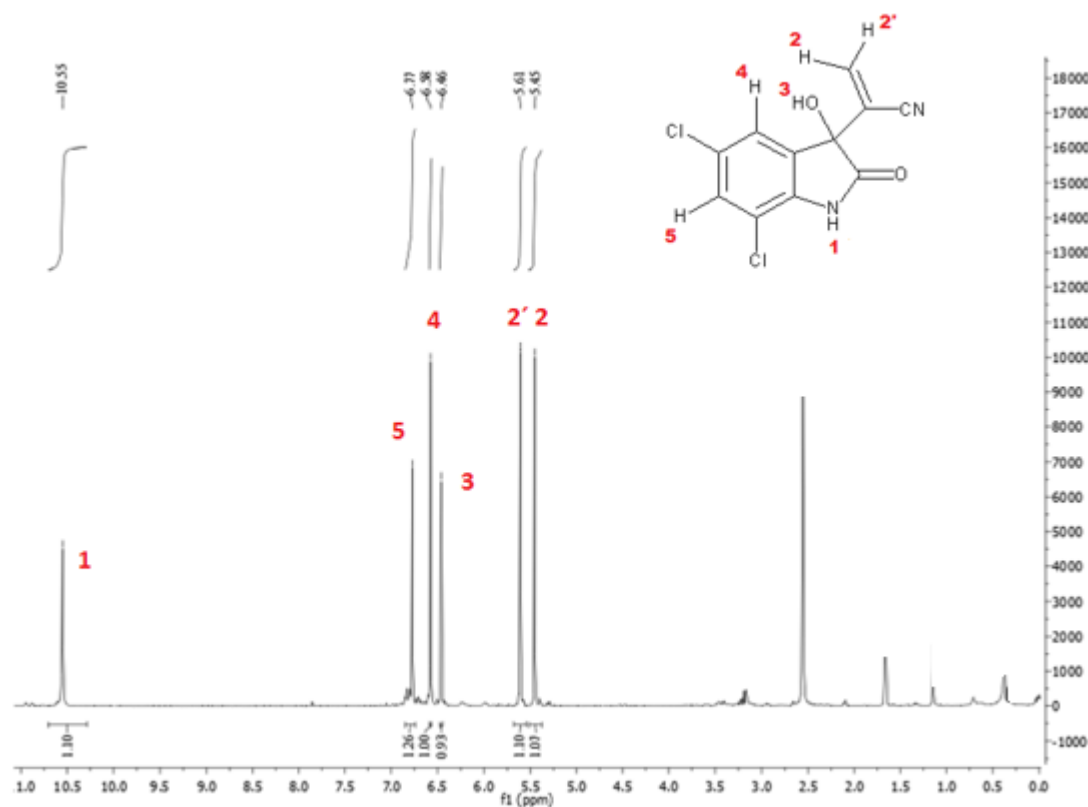
## 6.5 TRATAMENTO ESPECTROCÓPICO DOS AMBH DERIVADOS DA ISATINA

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por técnicas espectroscópicas (RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C). Para os compostos inéditos, foi realizada análise de massas de alta resolução. As estruturas dos compostos **3a**, **3b**, **4c** e **4e** foram confirmadas de acordo com a literatura (CHUNG et al., 2012; KHALAFI-NEZHAD e MOHAMMADI, 2012). As estruturas dos compostos **4a** e **4b** foram confirmadas de acordo com a literatura (LIMA-JUNIOR, 2012). Os compostos **3f**, **3g**, **3h**, **3i**, **4d**, **4f**, **4g**, **4h**, **5a**, **5b**, **5c** e **5d** são inéditos e destacaremos um composto pertencente a cada série sintetizada.

Podemos observar na Figura 9 o espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **3g**. De forma geral, um singlete é observado em 10.55 ppm relacionado ao hidrogênio amídico e os picos relacionados aos hidrogênios aromáticos se apresentam como singlete. Os picos relacionados aos hidrogênios vinílicos geminais aparecem em deslocamento químico de 5.45 e 5.61 ppm. Atribui-se ao hidrogênio da hidroxila um deslocamento de 6.46 ppm, (valor que difere do deslocamento geralmente atribuído a este hidrogênio, 0,5 – 5,0 ppm) devido ao efeito indutivo (SILVA et al., 2008; KHALAFI-NEZHAD; MOHAMMADI, 2012). Uma segunda proposta de explicação para o fato deste sinal do hidrogênio da hidroxila em 6.46 ppm estar em forte desblindagem, parte do princípio que devido a

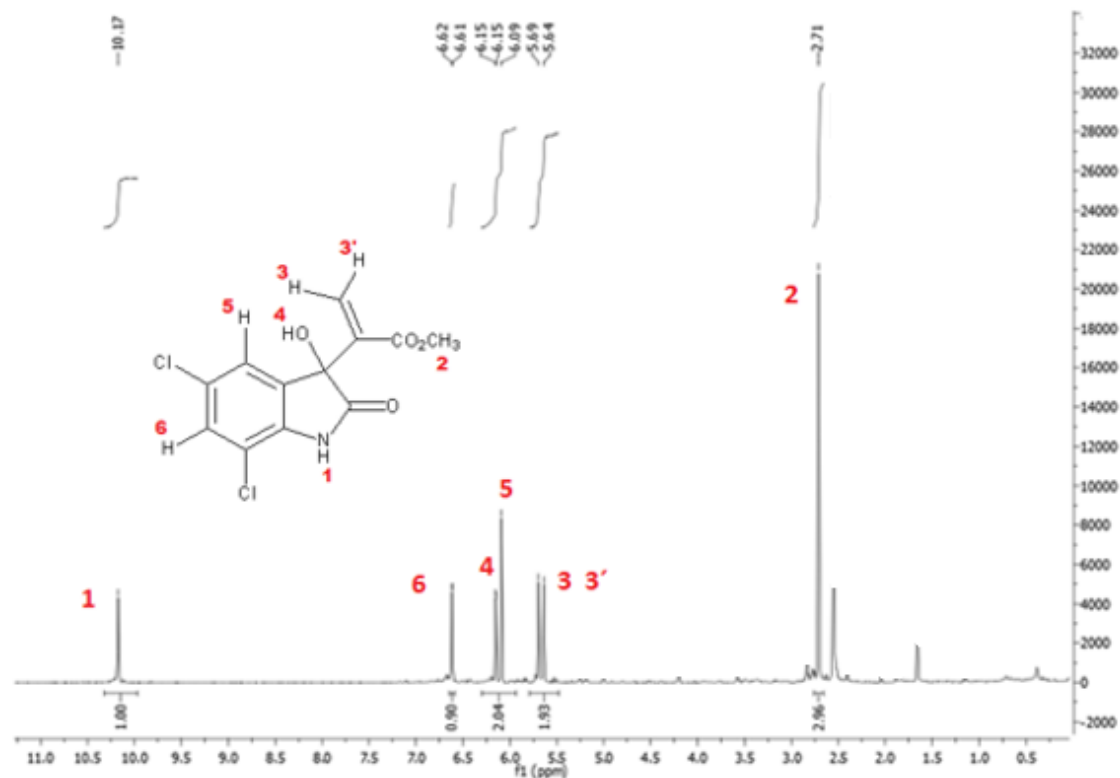
fatores conformacionais, a hidroxila pode se colocar numa posição que faça com o sistema aromático uma ligação de hidrogênio não clássica, desblindando o hidrogênio da hidroxila. (OLIVEIRA; ARAUJO, 2011)

**Figura 9:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3g**



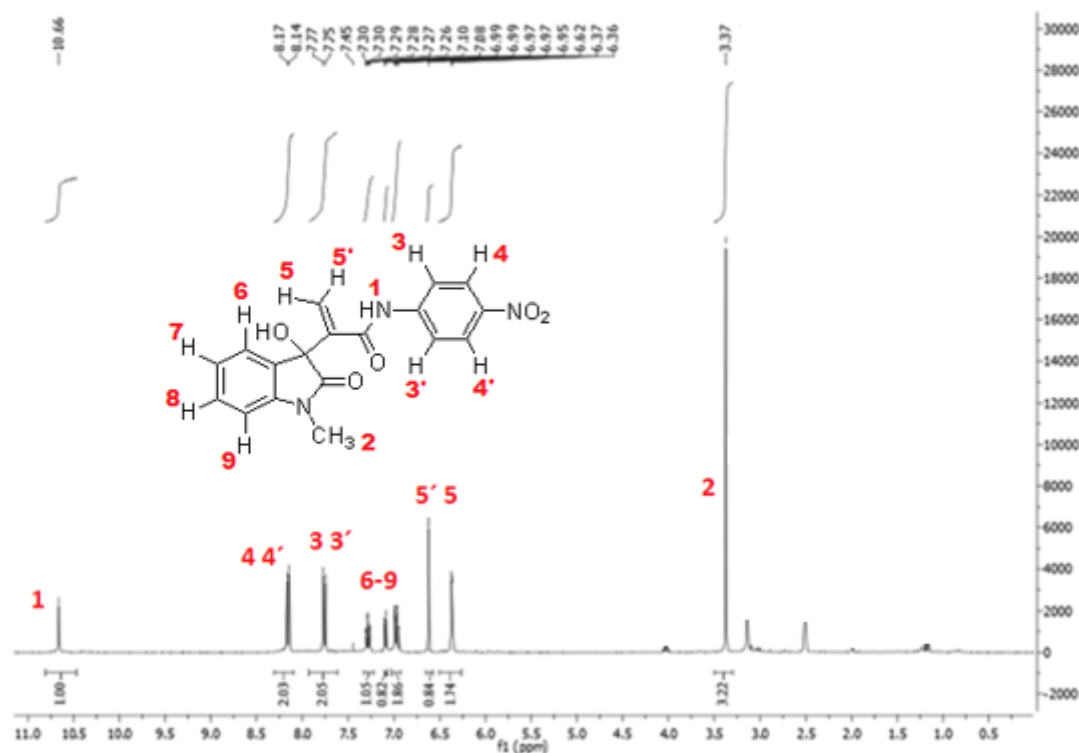
Já na figura 10, podemos observar o espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **4g** onde se pode observar um singlete relativo aos hidrogênios metílicos e em 5.64 e 5.69 ppm dois singletos referentes aos hidrogênios olefínicos. Em campo alto, observa-se os dois singletos referentes aos hidrogênios aromáticos e ao hidrogênio da hidroxila. O singlete em 10.17 ppm é atribuído ao hidrogênio amídico.

**Figura 10:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **4g**



Na figura 11 apresenta-se o espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **5a**. Nele é possível observar um pico em deslocamento químico de 10.66 ppm referente a presença do próton amídico. Observa-se também a presença em 3.37 ppm dos prótons metílicos da porção carboximetiléster e na região entre 6.35 e 6.60 ppm dois singletos referentes aos prótons olefínicos. Neste espectro o sinal do hidrogênio da hidroxila não pôde ser observado. Dois dupletos na região entre 7.75 e 8.15 ppm corresponde a presença do sistema AA'BB' da porção da 4-nitrofenil acrilamida (PAVIA et al., 2010).

**Figura 11:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto **5a**



## 6.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

Após a síntese e caracterização das substâncias propostas neste trabalho, a etapa posterior consistiu no envio destas moléculas para a avaliação citotóxica. Estas por sua vez foram realizadas no Laboratório de Proliferação Celular, coordenada pela professora Dra. Gardenia Carmen Gadelha Militão, pesquisadora do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

As substâncias propostas foram avaliadas frente a 5 linhagens tumorais: HL60 (leucemia promielocítica), MCF-7 (carcinoma de mama-humano), NCI-H292 (carcinoma de pulmão – humano), HEP-2 (carcinoma de colo uterino – humano) e HEPG2 (hepatocarcinoma).

A partir dos experimentos realizados foi obtido a Concentração Inibitória em 50% ( $\text{CI}_{50}$ ) e o intervalo de confiança (IC) foi calculado por regressão não linear. Os compostos com  $\text{CI}_{50} < 3\mu\text{M}$  foram julgados como muito ativos, enquanto que compostos com valores de  $\text{CI}_{50}$  entre  $3\text{--}6\mu\text{M}$  foram considerados com boa atividade. Por outro lado, os compostos com  $\text{CI}_{50}$  entre  $6\mu\text{M}$  e  $12\mu\text{M}$  foram considerados moderadamente ativos, enquanto que

compostos com  $CI_{50}$  entre 12-24  $\mu$ M foram considerados como tendo baixa atividade in vitro. Finalmente, os compostos que exibem  $CI_{50} > 24$  foram considerados inativos (FORTES et al., 2016)

A tabela 4 abaixo sumariza os resultados da avaliação citotóxica dos adutos sintetizados.

**Tabela 4** - Concentração inibitória em 50% ( $CI_{50}$ ) e intervalo de confiança (IC) das amostras em 5 linhagens tumorais e seu intervalo de confiança. Doxorrubinina foi usada como controle positivo. \* NT=não testado

AMBH	MCF-7	HEP-2	NICIH292	HL60	HEP G2
3a	6 <b>5.0-7.0</b>	3,4 <b>2.85-4.00</b>	2,4 <b>1.75-3.35</b>	3,6 <b>2.65-3.05</b>	17,45 <b>13.70 – 22.19</b>
3b	11,59 <b>7.36- 18.86</b>	4,06 <b>3.27 – 5.05</b>	5,05 <b>4.67 – 6.31</b>	1,77 <b>3.70 – 5.19</b>	29,25 <b>22.99 -37.29</b>
3c	4,2 <b>3.92 – 4.50</b>	2,33 <b>1.96 – 2.79</b>	3,42 <b>3.00 – 3.88</b>	1,83 <b>1.59 – 2.13</b>	19,58 <b>14.60 -25.88</b>
3d	>50	>50	>50	>50	>50
3e	6,49 <b>5.95- 7.03</b>	5,79 <b>5.02-6.56</b>	3,86 <b>3.67-4.48</b>	2,93 <b>2.70 –3.17</b>	11,78 <b>9.34 – 14.83</b>
3f	6,88 <b>5.93 –8.04</b>	5,96 <b>4.91-7.37</b>	3,51 <b>3.26-4.21</b>	0,042 <b>0,035-0,052</b>	8,04 <b>6.28– 10.32</b>
3g	8,39 <b>6.82– 9.10</b>	5,22 <b>4.10-6.72</b>	3,50 <b>2.95-4.18</b>	1,3 <b>1.16- 1.45</b>	2,54 <b>2.09– 3.06</b>
3h	9,57 <b>8.65 –10.60</b>	2,1 <b>1.81–2.41</b>	1,77 <b>1.63-1.95</b>	1,42 <b>1.28-1.52</b>	12,34 <b>10.43-14.18</b>
3i	3,9 <b>3.27 -4.84</b>	3,9 <b>3.25-4.55</b>	2,69 <b>2.37-3.25</b>	0,048 <b>0,035-0,063</b>	9,81 <b>8.34-11.56</b>
4a	>50	48,8 <b>40.30– 59.06</b>	NT	27,51 <b>21.67-34.98</b>	>50
4b	25,18 <b>21.21-29.92</b>	38,22 <b>29.15 –50.17</b>	28,9 <b>21.25 –39.23</b>	17,25 <b>11.54 –25.83</b>	>50
4c	18,02 <b>12.60-25.82</b>	32,42 <b>26.04– 40.40</b>	45,2 <b>40.59– 50.37</b>	16,08 <b>12.93 –20.00</b>	>50
4d	>50	>50	>50	>50	>50
4e	34,25 <b>31.93-46.60</b>	21,37 <b>18.30 –31.70</b>	20,34 <b>14.59– 31.97</b>	6,27 <b>5.48– 9.11</b>	48,7 <b>44.28 - 66.49</b>
4f	7,55 <b>5.50– 10.37</b>	30,72 <b>24.94 – 37.83</b>	20,22 <b>15.82– 25.85</b>	5,42 <b>4.34 –6.76</b>	40,89 <b>33.84 – 49.43</b>
4g	7,52 <b>5.35 – 10.60</b>	6,68 <b>5.55-8.04</b>	14,63 <b>12.19 –17.54</b>	4,76 <b>3.92- 5.75</b>	34,75 <b>27.14 - 44.45</b>
4h	30,32 <b>25.97– 35.43</b>	>50	43,9 <b>39.30– 49.05</b>	4,2 <b>3.40 –5.14</b>	31,08 <b>26.57 - 36.41</b>
5a	66,4 <b>43.80– 100.68</b>	18,79 <b>12.49 –29.24</b>	34,2 <b>27.82– 42.07</b>	18,04 <b>12.66 –27.72</b>	NT
5b	41,98 <b>36.41– 48.36</b>	18,73 <b>11.87– 26.60</b>	38,52 <b>31.21– 47.55</b>	5,38 <b>3.43 –8.42</b>	NT
5c	38,88	>50	13,92	5,49	NT

	<b>30.80 –49.05</b>		<b>11.43 –16.96</b>	<b>3.73- 8.03</b>	
<b>5d</b>	>50	42,19	24,2	14,14	NT
		<b>23.85 - 74.68</b>	<b>18.95 –30.92</b>	<b>8.90 –22.50</b>	
	0.37	1.3	0.55	0.11	0.6
<b>DOX</b>	<b>0.18-0.92</b>	<b>0.55-2.6</b>	<b>0.37-0.92</b>	<b>0.1-0.33</b>	<b>0.51-0.81</b>

Ao analisar os resultados apresentados na tabela 4, observa-se que dos 21 compostos avaliados, 9 são considerados muito ativos. De forma geral, os compostos que possuem o grupo nitrila foram os mais ativos frente a pelo menos uma das 5 linhagens tumorais investigadas, sendo os adutos **3f** e **3i** os mais que apresentaram atividade na linhagem HL60 na escala de nanomolar.

Pode-se observar que os compostos das séries congêneres dos adutos MBH alquilados nitrilados e seus respectivos ésteres apresentaram maiores atividades contra a linhagem HL60 quando continham os grupos nitro em comparação com os adutos que não continham grupos retiradores de elétrons. Fato este já relatado na literatura (KOHN et al., 2006; MOHAN et al., 2006)

Os compostos contendo o grupo cloro apresentaram maiores atividades frente a linhagem HL60 do que seus respectivos compostos sem este grupo retirador de elétrons, a única exceção foi em relação ao composto alilado com o grupo nitro. Há relatos na literatura (VINE, et al., 2008) que evidenciam este mesmo fato atribuído ao fato dos compostos derivados da isatina diclorados exercem um efeito citostático inibindo o crescimento celular em valores quantitativos.

Para cada linhagem avaliada o composto mais ativo foi o pertencente a série das nitrilas. Seguindo a ordem das linhagens na tabela 4 iniciando por carcinoma de mama humano (MCF-7) temos como adutos com maiores atividades **3i**, **3h**, **3f** e **3g**.

Há alguns anos já se destacava o aumento na atividade de fármacos contendo o grupo nitrila como farmacofórico, sendo uma importante porção que pode atuar como acceptor de Michael em meio biológico. (FLEMING et al., 2010)

Observa-se também que os compostos amídicos se apresentaram inativos frente a maioria das linhagens investigadas. Somente os adutos **5b** e **5c** apresentaram uma boa atividade frente a HL60.

Após esta investigação inicial, os compostos mais ativos foram investigados frente a sua atividade citotóxica em células mononucleares do sangue periférico (CMSP). O objetivo desta avaliação foi de observar a seletividade dos compostos frente a células

sadias. Sendo assim, os adutos **3b**, **3c**, **3e**, **3f**, **3g**, **3h** e **3i** foram avaliados e os resultados estão apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5** – Concentração que causa 50% de inibição do crescimento em CMSP e índice de seletividade (IS) frente a HL60.

<b>Entrada</b>	<b>Composto</b>	<b>CH<sub>50</sub> (μM)</b>	<b>IS<sup>b</sup></b>
<b>1</b>	<b>3b</b>	14.72	8.32
<b>2</b>	<b>3c</b>	2.75	1.50
<b>3</b>	<b>3e</b>	11.16	3.80
<b>4</b>	<b>3f</b>	13.54	967.14
<b>5</b>	<b>3g</b>	6.79	5.22
<b>6</b>	<b>3h</b>	8.40	5.92
<b>7</b>	<b>3i</b>	7.14	549.23
<b>8</b>	<b>DOX</b>	1.4	12.73

<sup>a</sup> Doxorrubinina (DOX) 5 μM foi usada como controle positivo.

<sup>b</sup> IS = CH<sub>50</sub>/CI<sub>50</sub>

A partir dos dados apresentados na tabela acima, observa-se que todos os compostos mais ativos frente a HL60 possuem baixa citotoxicidade frente a células mononucleares do sangue periférico, sendo os compostos **3f** e **3i** os mais promissores, tendo em vista que apresenta maiores índices de seletividade (entradas 4 e 7).

## **CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

---

## 7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

### 7.1 CONCLUSÕES

De posse ao trabalho, podemos concluir que:

- ✓ Todos os derivados 3-hidroxi-indol-2-ona-3-substituídos propostos neste trabalho (12 inéditos) foram sintetizados via reação de Morita-Baylis-Hillman em rendimentos quantitativos;
- ✓ Compostos contendo o grupo nitrila apresentaram em sua maioria maior eficiência sintética com menores tempos reacionais (1 – 24 H)
- ✓ Dentre os 21 adutos sintetizados 17 apresentaram atividade contra algumas linhagens de células cancerígenas;
- ✓ Compostos contendo o grupo nitrila mostraram-se mais ativos do que seus respectivos ésteres e amidas;
- ✓ O composto **3f** apresentou a maior atividade citotóxica frente a linhagem de células HL-60 (leucemia) e com baixa toxicidade em glóbulos vermelhos do sangue humano (IS>960).

### 7.2 PERSPECTIVAS

- ✓ Investigar a síntese dos compostos mais ativos neste trabalho usando irradiação de micro-ondas, buscando diminuir tempo reacional assim como também aumentar seus rendimentos.
- ✓ Avaliar o composto **3f** em modelos experimentais *in vivo*, a fim de se obter índice terapêutico e outras informações relevantes acerca da toxicidade e possíveis mecanismos de ação.
- ✓ Realizar estudo quantitativo da relação estrutura-atividade (QSAR)

## **PARTE EXPERIMENTAL**

---

## 8 PARTE EXPERIMENTAL

### 8.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os solventes e reagentes foram obtidos comercialmente e utilizados sem purificação prévia. A formação dos produtos foi acompanhada pela técnica de CCD, onde foram utilizadas cromatofolhas de alumínio suportadas em gel de sílica 60 (fase estacionária), contendo indicador de fluorescência a 254nm, e uma mistura de acetato de etila/hexano ou apenas acetato de etila como fase móvel, sendo irradiadas em câmara de ultravioleta. A purificação dos produtos foi feita utilizando a técnica de cromatografia em coluna do tipo *flash*, utilizando gel de sílica (fase estacionária) de granulometria 0.035 - 0.070 mm, e uma mistura acetato de etila/hexano como fase móvel.

As colunas cromatográficas foram realizadas usando sílica gel 300-400 mesh. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos usando um espectrômetro Varian Mercury 400, operando a 400 MHz para RMN  $^1\text{H}$  e a 100 MHz para RMN  $^{13}\text{C}$ , disponível na Central Analítica da Universidade Federal do Vale do São Francisco –UNIVASF, campus Petrolina – PE. Ainda foi utilizado para os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) um espectrômetro Varian Mercury 200, operando a 200 MHz para RMN  $^1\text{H}$  e a 50 MHz para RMN  $^{13}\text{C}$ , disponível na Central Analítica da Universidade Federal da Paraíba -UFPB.

As amostras foram solubilizadas em DMSO-*d*<sub>6</sub> e usando o tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram obtidos em parte por milhão (ppm). Os desdobramentos químicos referentes a cada acoplamento dos hidrogênios foram expressos da seguinte forma: singlete (s), dubleto (d), tripleto (t), duplo dubleto (dd), triplo dubleto (td) e multiplete (m).

Os espectros de Massas de alta resolução foram realizados no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LACEM) na Universidade Federal de Goiás usando um espectrômetro Q-Exactive (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha) tendo como fonte de ionização electrospray (-).

As faixas de fusão foram obtidas em aparelho digital Fisatom Modelo 431D.

### 8.2 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE **1b**

A um erlenmeyer adicionou-se 19 mmol de  $\text{NaNO}_3$  em 10 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sendo esta mistura deixada a  $0^\circ\text{C}$ . Em outro erlenmeyer adicionou-se 20 mmol de isatina (1) e 20 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. O sistema foi mantido a banho de gelo, a  $0^\circ\text{C}$ , até a solubilização da isatina (1). Em seguida adicionou-se o conteúdo da mistura nitrante no erlenmeyer contendo a isatina (1), e a mistura permaneceu no banho de gelo a  $0^\circ\text{C}$  por 2 h. Após isso a mistura foi vertida em gelo picado num outro erlenmeyer, e o precipitado formado foi filtrado. Esta reação foi encerrada após 2 h, fato este confirmado por análise via CCD. Após filtração, foi obtido um sólido amarelo com 72% de rendimento.

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  7.09 (d, 1H, Ar-H), 8.21 (d, 1H, Ar-H), 8.45 (m, 1H, Ar-H) 11.7 (s, 1H, NH)

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (50 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  116.8, 122.5, 123.9, 137.4, 146.9, 159.5, 164.2  
186.7

### 8.3 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE **1c**

Adicionou-se a um erlenmeyer de 250 mL 0,3945 g de TICA (1,7 mmols) em 1 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , em banho de gelo a  $0^\circ\text{C}$ . Em seguida adicionou-se 0,25 g de isatina (1) (1,7 mmols) e após a adição a mistura foi submetida a agitação magnética nas condições ambiente e acompanhada por CCD. Após o término da reação, foi realizada extração líquido-líquido, onde a fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Após filtração e evaporação do solvente, foi obtido um sólido preto com 99% de rendimento.

**RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  7.56 (d, 1H, Ar-H), 7.84 (d, 1H, Ar-H), 11.6 (s, 1H, NH)

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (50 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  177.1, 120.8, 122.9, 127.1, 135.9, 146.6, 159.5,  
182.4

### 8.4 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE **1h**

Em um balão de 125 mL foram adicionados 5 mL de DMF seco, 5 mmol de isatina (1) e  $K_2CO_3$  (1.5 equivalente). A mistura obtida foi submetida à agitação magnética, a temperatura ambiente, sob atmosfera de argônio. Posteriormente foi adicionado de forma gotejada lentamente 0,40 mL de iodeto de metila (1.5 equivalente). Após o término da reação foi realizado extração líquido-líquido usando acetato de etila e água destilada, e foi realizada cromatografia em coluna para purificar o produto (Eluente 25% - AcOEt / Hexano). A fase orgânica foi evaporada obtendo-se um sólido vermelho com 95% de rendimento.

**RMN  $^1H$**  (200 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  3.13 (s, 3H,  $CH_3$ ), 7.11 (m, 2H, Ar-H), 7.60 (m, 2H, Ar-H)

**RMN  $^{13}C$**  (50 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  26.1, 38.7, 39.1, 39.5, 39.9, 40.3, 110.5, 117.4, 123.2, 124.3, 138.3, 151.4

#### 8.5 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE **1i**

Em um balão de 250 mL foram adicionados 5 mL de DMF seco, 2,3 mmol de isatina (1) e NaH (1,2 equivalente). A mistura obtida foi submetida à agitação magnética e deixada a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio. Posteriormente foi adicionado de forma gotejada e lenta o brometo de alila (1.2 equiv.). Após o término desta reação, foi realizado extração líquido-líquido usando acetato de etila e água destilada. A fase orgânica foi tratada com  $Na_2SO_4$  anidro e filtrada. Após isolamento, foi obtido um sólido vermelho em 99% de rendimento.

**RMN  $^1H$**  (200 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  4.31 (d, 2H,  $CH_2$ ), 5.27 (m, 2H, = $CH_2$ ), 5.85 (m, 1H, =CH), 7.09 (m, 1H, Ar-H), 7.60 (m, 1H, Ar-H)

**RMN  $^{13}C$**  (50 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  41.7, 111.1, 117.6, 123.2, 124.4, 131.3, 138.0, 150.5, 157.9, 183.2

#### 8.6 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DE **1d** E **1e**

Em um balão de 125 mL foram adicionados 5 mL de DMF seco, 5 mmol de 5-nitro-isatina e  $K_2CO_3$  (1.5 equivalentes). A mistura obtida foi deixada a temperatura ambiente sob agitação magnética. Posteriormente foi adicionado de forma gotejada 0,20 mL de iodeto de metila ou 0,62 mL de brometo de alila (1.5 equiv.) e as reações foram acompanhadas por CCD. Após o término da reação foi realizada uma extração líquido-líquido usando acetato de etila e água destilada. Foram obtidos dois produtos em ambas as reações sendo utilizada, e em seguida uma cromatografia em coluna para purificar o produto (Eluente 20% - AcOEt / Hexano), obtendo-se após tal procedimento **1d** como um óleo marrom com 85% de rendimento e **1e** em 45% se apresentando como um sólido amarelo alaranjado.

#### Dados espectroscópicos de **1d**

**RMN  $^1H$**  (200 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  3.21 (s, 3H,  $CH_3$ ), 7.34 (d, 1H, Ar-H), 8.20 (s, 1H, Ar-H), 8.53 (dd, 1H, Ar-H)

**RMN  $^{13}C$**  (50 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  111.0, 119.0, 131.2, 142.9, 148.3, 155.7, 158.9, 181.3

#### Dados espectroscópicos de **1e**

**RMN  $^1H$**  (200 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  4.40 (d, 2H,  $CH_2$ ), 5.30 (dd, 2H,  $=CH_2$ ), 5.85 (m, 1H,  $=CH$ ), 7.26 (d, 1H, Ar-H), 8.26 (d, 1H, Ar-H), 8.51 (dd, 1H, Ar-H)

**RMN  $^{13}C$**  (50 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  42.1, 111.4, 117.7, 118.2, 119.1, 130.8, 132.8, 143.0, 154.8, 158.7, 181.0

### 8.7 PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE DE **1f** E **1g**

Em um balão de 125 mL adicionou-se 1,5 mmol de isatina (1) diclorada,  $K_2CO_3$  (1,5 equivalente) e 5 mL de DMF seco. A mistura obtida foi deixada a temperatura ambiente sob agitação magnética e atmosfera de argônio. Posteriormente foi adicionado iodeto de metila ou brometo de alila (1.5 equiv.) de forma gotejada e a reação foi acompanhada por CCD. Após o término da reação, foi realizada extração líquido-líquido,

após foi utilizada cromatografia em coluna para purificar o produto (Eluente 20% - AcOEt / Hexano obtendo-se 93% de rendimento de **1f** e 87% de **1g**).

## 8.8 PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DE **2**

Em balão de 125 mL foi adicionado 1.38 g de p-nitroanilina e 50 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Posteriormente, foi adicionado a esta solução 2,8 mL de trietilamina (TEA). Esta mistura foi deixada sob agitação magnética e banho de gelo até atingir aproximadamente 0 °C. Foi adicionado a esta mistura 1,2 mL de cloreto de acroleína de forma gotejada. Após a adição total do cloreto de acroleína, a reação foi deixada a temperatura ambiente por 2 dias sob agitação. Após o término da reação, observou-se a formação de um sólido que foi lavado com água destilada e deixado para secar. Foi obtido um sólido com rendimento de 85%.

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 5.88 (dd, J = 10 / 2 Hz, 1H); 6.36 (dd, J = 16 Hz / 4Hz, 1H); 6.5 (dd, J = 18 Hz / 10 Hz, 1H); 7.93 (d, J = 10 Hz, 2H); 8.25 (d, J = 8 Hz, 2H); 10.75 (s, 1H, *NH*).

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 123.4, 129.3, 132.9, 135.5, 136.1, 146.7, 149.5, 168.2

## 8.9 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DA ISATINA **3a – 3i**

Pesou-se em um balão de 125 mL, 56 mg de DABCO e posteriormente adicionou-se 0,5 mmol da isatina (**1**) ou derivado da isatina. A esta mistura foi adicionado 1 mL de THF e 0,1 mL do acrilonitrila. A mistura reacional foi deixada a temperatura ambiente sob agitação magnética e acompanhada por CCD. Após o término da reação, foi realizada evaporação do solvente e extração líquido-líquido usando acetato de etila e água destilada, e em seguida uma filtração na sílica com acetato de etila puro. Os AMBH foram obtidos em rendimentos satisfatórios (82 – 99%).

**Dados espectroscópicos de 3a** - Estrutura confirmada na literatura (CHUNG et al., 2012; KHALAFI-NEZHAD e MOHAMMADI, 2012)

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 6.21 (s, 1H), 6.32 (s, 1H), 7.09 (m, 4H), 10.67 (s, 1H).

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 76.1, 110.3, 116.3, 122.4, 122.8, 124.5, 129.0, 130.4, 132.1, 142.0, 175.2

**Dados espectroscópicos de 3b** - Estrutura confirmada na literatura (CHUNG et al., 2012; KHALAFI-NEZHAD e MOHAMMADI, 2012)

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 3.17 (s, 3H), 6.23 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.36 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.27 (m, 4H).

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 26.2, 75.8, 109.4, 116.3, 122.6, 123.2, 124.3, 128.4, 130.7, 132.5, 143.3, 173.5.

**Dados espectroscópicos de 3c** - Estrutura confirmada na literatura (KHALAFI-NEZHAD; MOHAMMADI, 2012)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 4.30 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.20 (t, 2H, =CH<sub>2</sub>), 5.84 (m, 1H, =CH), 6.30 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.41 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 7.03 (d, 1H, Ar-H), 7.13 (t, 1H, Ar-H), 7.26 (s, 1H, OH) 7.32 (d, 1H, Ar-H), 7.40 (t, 1H, Ar-H)

**RMN <sup>13</sup>C** : δ 75.9, 109.9, 116.4, 116.9, 122.6, 123.2, 124.4, 128.4, 130.6, 131.4, 132.6, 142.5, 173.5

**ASPECTOS FÍSICOS:** Óleo marrom

**Dados espectroscópicos de 3d** - Estrutura confirmada na literatura (KIM et al., 2006)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 6.33 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>) 6.48 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 7.14 (d, 1H, Ar-H), 7.49 (s, 1H, OH), 8.10 (d, 1H, Ar-H), 8.31 (dd, 1H, Ar-H) 11.48 (s, 1H, NH)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 75.7, 110.9, 116.1, 120.3, 121.4, 127.7, 129.9, 133.8, 142.1, 148.4, 175.5.

**Dados espectroscópicos de 3e** - Estrutura confirmada na literatura (SHANMUGAM; VAITHIYANATHAN, 2009)

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 3.28 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.32 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.49 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 7.40 (d, 1H, Ar-H), 7.55 (s, 1H, OH), 8.14 (s, 1H, Ar-H), 8.42 (dd, 1H, Ar-H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  26.9, 75.2, 110.0, 116.1, 119.2, 121.3, 121.8, 129.2, 134.2, 143.2, 149.3, 174.0

#### Dados espectroscópicos de 3f

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  4.45 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.21 (t, 2H,  $=\text{CH}_2$ ), 5.86 (m, 1H,  $=\text{CH}$ ), 6.39 (s, 1H,  $=\text{CH}_2$ ), 6.52 (s, 1H,  $=\text{CH}_2$ ), 7.31 (d, 1H, Ar-H), 7.64 (s, 1H, OH) 8.16 (d, 1H, Ar-H), 8.39 (dd, 4 Hz, 12Hz, 1H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO-*d*6): 42.3, 75.3, 110.5, 116.1, 117.1, 119.9, 121.1, 127.7, 129.3, 130.8, 134.2, 143.2, 148.5, 173.8

MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-): (M/Z -1) = 284,06760

ASPECTOS FÍSICOS: Sólido marrom

PF $^\circ$ : 115,2 - 117  $^\circ\text{C}$

#### Dados espectroscópicos de 3g

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  5.45 (s, 1H,  $=\text{CH}_2$ ) 5.61 (s, 1H,  $=\text{CH}_2$ ), 6.46 (d, 1H, Ar-H), 6.58 (s, 1H, OH), 6.77 (d, 1H, Ar-H), 10.55 (s, 1H, NH)

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  76.7, 115.7, 116.0, 121.4, 123.7, 127.1, 130.0, 132.2, 133.6, 139.0, 175.0

MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-): (M/Z -1) = 266,97333

ASPECTOS FÍSICOS: Sólido preto

PF $^\circ$ : 181,3 – 183,2  $^\circ\text{C}$

#### Dados espectroscópicos de 3h

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  2.13 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ) 3.27 (s, 1H, OH), 5.19 (s, 1H,  $=\text{CH}_2$ ), 5.27 (s, 1H,  $=\text{CH}_2$ ), 6.22 (d, 1H, Ar-H), 6.45 (d, 1H, Ar-H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  76.0, 116.5, 116.7, 122.3, 124.2, 128.7, 132.4, 133.5, 133.5, 133.9, 139.0, 174.5, 207.7

MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-): (M/Z -1) = 280,98914

ASPECTOS FÍSICOS: Sólido preto

PF $^\circ$ : 117,1 – 118,7  $^\circ\text{C}$

**Dados espectroscópicos de 3i**

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, DMSO-*d*6): δ 3.39 (t, 2H, CH<sub>2</sub>) 3.92 (m, 2H, =CH<sub>2</sub>), 7.73 (m, 1H, =CH), 5.14 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 5.28 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.18 (d, 1H, Ar-H), 6.41 (t, 2H, Ar-H)

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, DMSO-*d*6): δ 43.3, 75.3, 115.6, 115.6, 121.2, 123.9, 128.0, 132.0, 132.9, 134.1, 137.6, 173.7

**MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-):** (M/Z -1) = 307,00476

**ASPECTOS FÍSICOS:** Sólido marrom

**PF°:** 93 – 95,4 °C

### 8.10 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DA ISATINA **4a** – **4h**

Pesou-se em um balão de 125 mL, 56 mg de DABCO e posteriormente adicionou-se 0,5 mmol da isatina (1) ou derivado da isatina. A esta mistura foi adicionado 1 mL de THF e 0,15 mL de acrilato de metila. A mistura reacional foi deixada a temperatura ambiente sob agitação magnética e acompanhada por CCD. Após o término da reação, foi realizada evaporação do solvente e extração líquido-líquido usando acetato de etila e água destilada. Para a purificação dos AMBH **4c**, **4d** e **4g** foi necessária utilizar cromatografia em coluna (Eluente 25% - AcOEt / Hexano), e para os demais foi realizado uma filtração em sílica com acetato de etila puro. Os AMBH foram obtidos em rendimentos que variaram de 56 a 99%.

**Dados espectroscópicos de 4a** - Estrutura confirmada na literatura (LIMA-JUNIOR, 2012)

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 3.54 (s, 3H); 6.53 (s, 1H); 6.57 (s, 1H); 7.06 (m, 4H).

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 52.2, 77.3, 111.3, 123.4, 124.6, 128.1 130.9, 132.7, 141.1, 144.2, 166.4, 180.6.

**Dados espectroscópicos de 4b** - Estrutura confirmada na literatura (LIMA-JUNIOR, 2012)

**RMN <sup>1</sup>H** (200 MHz, DMSO-*d*6): δ 3.13 (s, 3H); 3.48 (s, 3H); 6.44 (d, J = 1.2 Hz, 1H); 6.46 (d, J = 1.2 Hz, 1H); 6.93-7.04 (m, 3H); 7.30 (m, 1H).

**RMN <sup>13</sup>C** (50 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  31.2, 56.9, 80.1, 113.7, 127.2, 128.1, 132.5, 134.7, 136.0, 144.9, 149.7, 169.6, 180.6.

**Dados espectroscópicos de 4c**- Estrutura confirmada na literatura (CHUNG et al., 2012; KHALAFI-NEZHAD e MOHAMMADI, 2012)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  2.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.05 (m, 2H, =CH<sub>2</sub>), 3.96 (dd, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.60 (m, 1H, =CH), 5.27 (dd, 2H, =CH<sub>2</sub>), 5.46 (s, 1H, OH), 5.71 (m, 2H, Ar-H), 5.80 (dd, 1H, Ar-H), 6.03 (td, 1H, Ar-H)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6):

$\delta$  41.7, 51.9, 74.9, 109.3, 117.2, 122.1, 123.1, 127.7, 129.5, 130.9, 143.7, 164.5, 175.3

**Dados espectroscópicos de 4d**

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  3.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.55 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.60 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 7.00 (s, 1H, OH), 7.05 (d, 1H, Ar-H), 7.79 (d, 1H, Ar-H), 8.21 (dd, 1H, Ar-H), 11.17 (s, 1H, NH)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  52.03, 74.8, 109.9, 118.8, 126.9, 128.8, 132.8, 138.5, 141.9, 149.9, 164.5, 177.3

**ASPECTOS FÍSICOS:** Óleo amarelo

**Dados espectroscópicos de 4e** - Estrutura confirmada na literatura (CHUNG et al., 2012; KHALAFI-NEZHAD e MOHAMMADI, 2012)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  3.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.53 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.60 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.62 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 7.09 (s, 1H, OH), 7.29 (d, 1H, Ar-H), 7.85 (d, 1H, Ar-H), 8.33 (dd, 1H, Ar-H)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  26.6, 52.1, 74.3, 109.0, 118.3, 127.0, 128.9, 131.9, 138.4, 142.4, 150.6, 164.4, 175.8

**Dados espectroscópicos de 4f**

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 3.54 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) 4.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.23 (dd, 1H, =CH<sub>2</sub>), 5.40 (dd, 1H, =CH<sub>2</sub>) 5.85 (m, 1H, =CH), 6.63 (d, 2H, =CH<sub>2</sub>), 7.14 (s, 1H, OH), 7.19 (d, 1H, Ar-H), 7.85 (d, 1H, Ar-H), 8.30 (dd, 1H, Ar-H)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6): δ 42.0, 52.1, 74.3, 109.6, 117.6, 118.4, 126.8, 129.2, 131.2, 132.0, 138.2, 149.7, 164.4, 175.5

**MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-):** (M/Z -1) = 317,07785

**ASPECTOS FÍSICOS:** Sólido marrom

**PF°:** 129 – 131 °C

#### **Dados espectroscópicos de 4g**

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 2.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) 5.64 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 5.69 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.09 (s, 1H, Ar-H) 6.15 (d, 1H, Ar-H), 10.17 (s, 1H, NH)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6): δ 52.0, 75.7, 114.5, 122.3, 125.9, 128.5, 128.8, 135.0, 138.5, 140.2, 164.5, 176.6

**MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-):** (M/Z -1) = 299,98352

**ASPECTOS FÍSICOS:** Sólido laranja

**PF°:** 121 – 123 °C

#### **Dados espectroscópicos de 4h**

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 3.45 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.55 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) 6.54 (d, 2H, =CH<sub>2</sub>), 7.00 (s, 1H, Ar-H) 7.05 (s, 1H, Ar-H), 7.49 (s, 1H, OH)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6):

δ 29.3, 52.1, 74.3, 114.9, 122.5, 126.7, 128.8, 130.6, 135.5, 138.4, 139.3, 164.4, 175.5

**MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-):** (M/Z -1) = 313,99927

**ASPECTOS FÍSICOS:** Sólido preto

**PF°:** 72,3 – 73,5 °C

### **8.11 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS AMBH DERIVADOS DA ISATINA 5a – 5d**

Pesou-se em um balão de 125 mL, 56 mg de DABCO e posteriormente adicionou-se 0,5 mmol da isatina (1) ou derivado da isatina. A esta mistura foi adicionado 1 mL de THF e 1.2 equivalentes de 4-NO<sub>2</sub>-fenil acrilamida (115,2mg). A mistura reacional foi

deixada a temperatura ambiente sob agitação magnética e acompanhada por CCD. Após o término da reação, foi realizada evaporação do solvente e extração líquido-líquido usando acetato de etila e água destilada. Para os AMBH **5a** -**5c** realizou-se uma filtração em sílica com acetato de etila 25%. Para a purificação do AMBH **5d** foi necessário realização de cromatografia em coluna (Eluente 25% - AcOEt / Hexano). Os AMBH foram obtidos em rendimentos que variaram de 22 a 64%.

#### Dados espectroscópicos de **5a**

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  3.37 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.37 (d, 2H, =CH<sub>2</sub>) 6.62 (s, 1H, OH), 6.97 (m, 2H, Ar-H), 7.09 (d, 1H, Ar-H) 7.29 (td, 1H, Ar-H), 7.75 (s, 1H, Ar-H), 7.77 (s, 1H, Ar-H), 8.14(s, 1H, Ar-H), 8.17 (s, 1H, Ar-H), 10.66 (s, 1H, NH)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6):

$\delta$  26.2, 75.3, 108.5, 119.5, 122.0, 122.8, 123.0, 124.8, 129.5, 131.1, 142.3, 143.8, 144.6, 144.9, 165.3.

**MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-):** (M/Z -1) = 352,09406

**ASPECTOS FÍSICOS:** Sólido preto

**PF°:** 133 – 137 °C

#### Dados espectroscópicos de **5b**

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  4.31 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.19 (dd, 1H, =CH<sub>2</sub>) 5.40 (dd, 1H, =CH<sub>2</sub>), 5.85 (m, 1H, =CH), 6.39 (d, 2H, =CH<sub>2</sub>) 6.68 (s, 1H, OH), 6.94 (m, 2H, Ar-H), 7.12 (dd, 1H, Ar-H), 7.24 (td, 1H, Ar-H), 7.77 (d, 2H, Ar-H), 8.17 (d, 2H, Ar-H), 10.68 (s, 1H, NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6):

$\delta$  41.7, 75.3, 109.2, 116.9, 119.5, 122.0, 122.9, 123.1, 124.8, 129.4, 131.1, 132.0, 142.4, 143.7, 143.8, 145.0, 165.4, 175.2.

**MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-):** (M/Z -1) = 378,10947

**ASPECTOS FÍSICOS:** Sólido laranja

**PF°:** 126 – 128,7 °C

#### Dados espectroscópicos de **5c**

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  3.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.44 (s, 1H, OH) 6.47 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.52 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>) 7.79 (d, 2H, Ar-H), 8.18 (m, 4H, Ar-H), 10.69 (s, 1H, NH)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  74.5, 113.9, 114.8, 119.6, 119.7, 122.2, 124.8, 126.5, 127.5, 130.5, 135.9, 139.4, 142.4, 142.5, 144.7, 156.3, 164.9, 175.6

**MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-):** (M/Z -1) = 420,01599

**ASPECTOS FÍSICOS:** Sólido marrom

**PF°:** 125,7 – 128 °C

#### **Dados espectroscópicos de 5d**

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  4.60 (d, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.18 (d, 1H, =CH<sub>2</sub>) 5.32 (d, 1H, =CH<sub>2</sub>), 5.97 (m, 1H, =CH), 6.51 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>) 6.56 (s, 1H, =CH<sub>2</sub>), 7.03 (s, 1H, OH), 7.12 (d, 1H, Ar-H), 7.46 (d, 1H, Ar-H), 7.81 (d, 2H, Ar-H), 8.19 (d, 2H, Ar-H), 10.73 (s, 1H, NH)

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-*d*6):

$\delta$  43.1, 74.5, 114.7, 115.8, 119.7, 122.3, 124.5, 124.9, 126.6, 130.6, 133.5, 136.1, 138.7, 142.4, 142.5, 144.7, 164.9, 175,5.

**MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO ESI(-):** (M/Z -1) = 446,03162

**ASPECTOS FÍSICOS:** Sólido marrom

**PF°:** 187,5 – 190 °C

## **REFERÊNCIAS**

---

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p.118-129, 2005
- CEE, V. J.; VOLAK, L. P.; CHEN, Y.; BARTBERGER, M. D.; TEGLEY, C.; ARVEDSON, T.; MCCARTER, J.; TASKER, A. S.; FOTSCH, C. Systematic Study of the Glutathione (GSH) Reactivity of N-Arylacrylamides: 1. Effects of Aryl Substitution. **J. Med. Chem.**, v. 58, p. 9171-9178, 2015. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01018
- SANTOS, S. M.; COELHO, F.; LIMA-JUNIOR, C. G.; VASCONCELLOS, M. A. A. The Morita-Baylis-Hillman Reaction: Advances and Contributions from Brazilian Chemistry. **Current Organic Synthesis**, v. 12, p. 830-852, 2015
- CHUNG, Y. M.; IM, Y. J.; KIM, J. N. Baylis-Hillman Reaction of Isatin Derivatives: Isatins as a New Entry for the Baylis-Hillman Reaction. **Bull. Korean Chem. Soc.** v. 23, n.11, p.1651-1654, 2002
- FERNANDES, C.; TIRITAN, M. E.; PINTO, M. M. M. Derivados xantônicos quirais: aplicações em Química Medicinal e uma nova abordagem em Cromatografia Líquida. **Chromatographica**, v. 7, n. 3, p. 223-226, 2015.
- FLEMING, F. F.; YAO, L.; RAVIKUMAR, P. C., FUNK, L.; SHOOK, B. C. Nitrile-Containing Pharmaceuticals: Efficacious Roles of the Nitrile Pharmacophore. **J. Med. Chem.** v. 53, p.7902-7917, 2010.
- FORTES, M. P.; SILVA, P. B. N.; SILVA, T. G., KAUFMAN, T. S.; MILITAO, G. C. G.; SILVEIRA, C. C. Synthesis and preliminary evaluation of 3-thiocyanato-1H-indoles as potential anticancer agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 118, p. 21-26, 2016.
- FREITAS, B. N.; NEVES, J. B. Efeitos colaterais da quimioterapia: os sentimentos apresentados pelos homens em tratamento. **Enfermagem Integrada**, v. 6, n. 1, p. 1064-1073, 2013.
- FURTADO, S. G.; NEPOMUCENO, J. C.; Redução de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster*, pela enzima metaloprotease isolada da peçonha da serpente *Bothrops pauloensis*, por meio de teste wts (warts). **Perquirere**, v. 9, n. 1, p. 224-240, 2012.
- GARDEN, S. J.; SKAKLE, J. M. S. Isatin derivatives are reactive electrophilic components for the Baylis-Hillman reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 43, p. 1969-1972, 2002.
- INCA (Brasil). **ABC do câncer**: abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2012.
- INCA (Brasil). **Estimativa / 2016**: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2016.

INSTITUTO ONCOGUIA. **Tipos de Câncer**.2015. Disponível em: <  
<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/tipos-de-cancer/83/1/>> Acesso em 17 jun. 2017

KHALAFI-NEZHAD, A.; MOHAMMADI, S. Highly Efficient Synthesis of Novel Morita–Baylis–Hillman Adducts from Activated Ketones Using a DABCO-Based Hydroxy Ionic Liquid (HIL) as a Recyclable Catalyst-Solvent. **Synthesis**, v. 44, p. 1725-1735, 2012.

KIM, S. C.; LEE, K. Y.; GOWRISANKAR, S.; KIM, J. N. Synthesis of 3-Aryl-3-hydroxypyrrolidin-2-ones and 2-Benzyl-9b-hydroxy-3,3a,5,9b-tetrahydro-2H-pyrrolo[3,4-c]quinoline-1,4-dione Derivatives from the Baylis-Hillman Adducts of Isatins. **Bull. Korean Chem. Soc.**, v. 27, n. 8, p. 1133-1139, 2006.

KOHN, L. K.; PAVAM, C. H.; VERONESE, D.; COELHO, F.; CARVALHO, J. E.; ALMEIDA, W. P. Antiproliferative effect of Baylis–Hillman adducts and a new phthalide derivative on human tumor cell lines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, n. 6, p. 738-744, 2006.

LIMA-JUNIOR, C. G. **Investigação da reação de Morita-Baylis-Hillman em reator de micro-ondas usando aldeídos aromáticos e isatina como eletrófilos: avaliação da atividade citotóxica em linhagem de células de leucemia promielocítica humanas (HL-60)**. 2012. 245 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

LIMA-JUNIOR, C. G.; VASCONCELLOS, M. L. A. A. Morita–Baylis–Hillman adducts: Biological activities and potentialities to the discovery of new cheaper drugs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 3954-3971, 2012.

LIMA-JUNIOR, C. G.; MARTINS, G. V. F.; BOMFIM, C. C. B.; DANTAS, B. B.; SILVA, E. P.; ARAUJO, D. A. M.; FILHO, E. B. A.; VASCONCELLOS, M. L. A. A. Synthesis, Cytotoxic Activity on Leukemia Cell Lines and Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) Studies of Morita-Baylis-Hillman Adducts. **Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 602-612, 2016.

MESHARAM, H. M.; THAKUR, P. B.; BANGADE, M. B. B.; BANGADE, V. M. DMF mediated Henry reaction of isatins: na efficient synthesis of 3-hydroxy-2-oxindole. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 6, n.1, 19-43, 2013.

MOGHADAM, K. R.; YOUSEFTABAR-MIRI, L. Quick and efficient synthesis of Morita-Baylis-Hillman adducts of isatin derivatives. **Arkivoc**, v. 11, p. 43-50, 2011.

MORADI, R.; ZIARANI, G. M.; LASHGARI, N. Recent applications of isatin in the synthesis of organic compounds. **Arkivoc**, part i, p. 148-201, 2017

NETO, M.C.; Hamerschlak, N.; RIBEIRO, A. A. F.; GUENDELMANN, R.A.K.; SANTOS, V. A. **Guia de Protocolos e Medicamentos para Tratamento em Oncologia e Hematologia**. São Paulo, Hospital Albert Einstein, 2013

NEWMAN, D. J. Natural Products as Leads to Potential Drugs: An Old Process or the New Hope for Drug Discovery? **J. Med. Chem.**, v. 51, p. 2589-2599, 2008.

OLIVEIRA, B. G.; ARAUJO, R. C. M. U. The topology of  $\pi \cdots H$  hydrogen bonds. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, v. 142, p. 861–873, 2011.

PAKRAVAN, P.; KASHANIAN, S.; KHODAEI, M. M.; HARDING, F. J. Biochemical and pharmacological characterization of isatin and its derivatives: from structure to activity. **Pharmacological Reports**, v. 65, p. 313-335, 2013.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S., VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PEDDIBHOTLA, S. 3-Substituted-3-hydroxy-2-oxindole, an Emerging New Scaffold for Drug Discovery with Potential Anti-Cancer and other Biological Activities. **Current Bioactive Compounds**, v. 5, p. 20-38, 2009.

PERIYARAJA, S.; SHANMUGAM, P.; MANDAL, A. B. A copper-catalyzed one-pot, three-component diastereoselective synthesis of 3-spiroazetidinimine-2-oxindoles and their synthetic transformation into fluorescent conjugated indolones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 2014, n. 5, p. 954–965, 2014. doi: 10.1002/ejoc.201301244

RODRIGUES, F. S. S.; POLIDORI, M. M. Enfrentamento e Resiliência de Pacientes em Tratamento Quimioterápico e seus Familiares. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 58, n. 4, p. 619-627, 2012.

ROSAS, M. S. L.; SILVA, B. N. M.; PINTO, R. G. M. P.; SILVA, B. V., SILVA, A. R.; GUERRA, L. R.; SOARES, G. C. M. T.; CASTRO, H. C.; LIONE, V. O. F. Incidência do Câncer no Brasil e o Potencial Uso dos Derivados de Isatina na Cancerologia Experimental. *Rev. Virtual Quim.*, v. 5, n. 2, p. 243-265, 2013.

SHANMUGAM, P. VAITHIYANATHAN, V. Activation of the NC–H bond of Morita–Baylis–Hillman adducts of N-substituted isatins with cerium ammonium nitrate (CAN) and alcohol (ROH). **Can. J. Chem.**, v. 87, p. 591–599, 2009.

SINGH, G. S.; DESTA, Z. Y. Isatins As Privileged Molecules in Design and Synthesis of Spiro-Fused Cyclic Frameworks. American Chemical Society. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 6104-6155, 2012.

SINGH, R. M.; BHARADWAJ, K. C.; TIWARI, D. K. Morita–Baylis–Hillman reaction of acrylamide with isatin derivatives. *Beilstein. J. Org. Chem.*, v. 10, p. 2975-2980, 2014.

SILVA, B. N. M.; BASTOS, R. S.; SILVA, B. V.; PINTO, A. C. Síntese de 5-nitro-isatina e 5-cloro-isatina a partir da isonitrosoacetanilida. **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2279-2282, 2010.

SILVA, T. F. Abordagens da química medicinal para o planejamento de protótipos de fármacos. *Rev. Virtual Quim.*, v. 5, n. 5, p. 921-933, 2013.

SILVA, R. B.; TORRES, J. C.; GARDEN, S. J.; VIOLANTE, F. A.; REZENDE, M. J. C.; SILVA, B. V.; PINTO, A. C. Do isolamento à síntese da convolutamidina A. **Quim. Nova**, v. 31, n. 4, p. 924-929, 2008.

SIMÃO, D. A. S.; LIMA, E. D. R. P.; SOUZA, R. S.; ALVES, K. R.; MAIA, W. M. Instrumentos de avaliação da neuropatia periférica induzida por quimioterapia: revisão integrativa e implicações para a prática de enfermagem oncológica. **REME – Rev. Min. Enferm.**, v. 16, n. 4, p. 609-615, 2012.

TEW, K. D. Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. **Cancer Research**, v. 54, p. 4313, 1994.

VIERO, F. T.; LARA, J. M. Perfil socioeconômico e clínico de pacientes em tratamento oncológico em um município do norte do Rio Grande do Sul. **Revista de Iniciação Científica da Ulbra**, v.1, p. 80, 2015.

VINE, K. L.; MATESIC, L.; LOCKE, J. M.; RANSON, M.; SKROPETA, D.; Cytotoxic and Anticancer Activities of Isatin and Its Derivatives: A Comprehensive Review from 2000-2008. **Bentham Science Publishers Ltd**, v. 9, n. 4, p. 397-414, 2009.

WELSCH, M. E.; SNYDER, S. A.; STOCKWELL, B. R. Privileged scaffolds for library design and drug Discovery. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 14, p. 1-15, 2010.

WU Y.; DAVIS, C. D.; DWORETZKY, S.; FITZPATRICK, W. C.; HARDEN, D.; He, H.; KNOX, R. J.; NEWTON, A. E.; PHILIP, T.; POLSON, C.; SIVARAO, D. V.; SUN, L.; TERTYSHNIKOVA, S.; WEAVER, D.; YEOLA, S.; ZOECKLER, M.; SINZ, M. W. Fluorine substitution can block CYP3A4 metabolism-dependent inhibition: Identification of (S)-N-[1-(4-fluoro-3-morpholin-4-yl phenyl)ethyl]-3-(4-fluorophenyl)acrylamide as an orally bioavailable KCNQ2 opener devoid of CYP3A4 metabolismdependent inhibition. **J. Med. Chem.** v. 46, p. 3778, 2003.

GUO, W.; WU, W.; FAN, N.; W, Z.; XIA, C. Synthesis of  $\alpha$ -Substituted N-Aryl Acrylamide Derivatives Through Baylis–Hillman Reaction. **Synthetic Communications**. V. 35, p. 1239-1251, 2005. doi: 10.1081/SCC-200054850

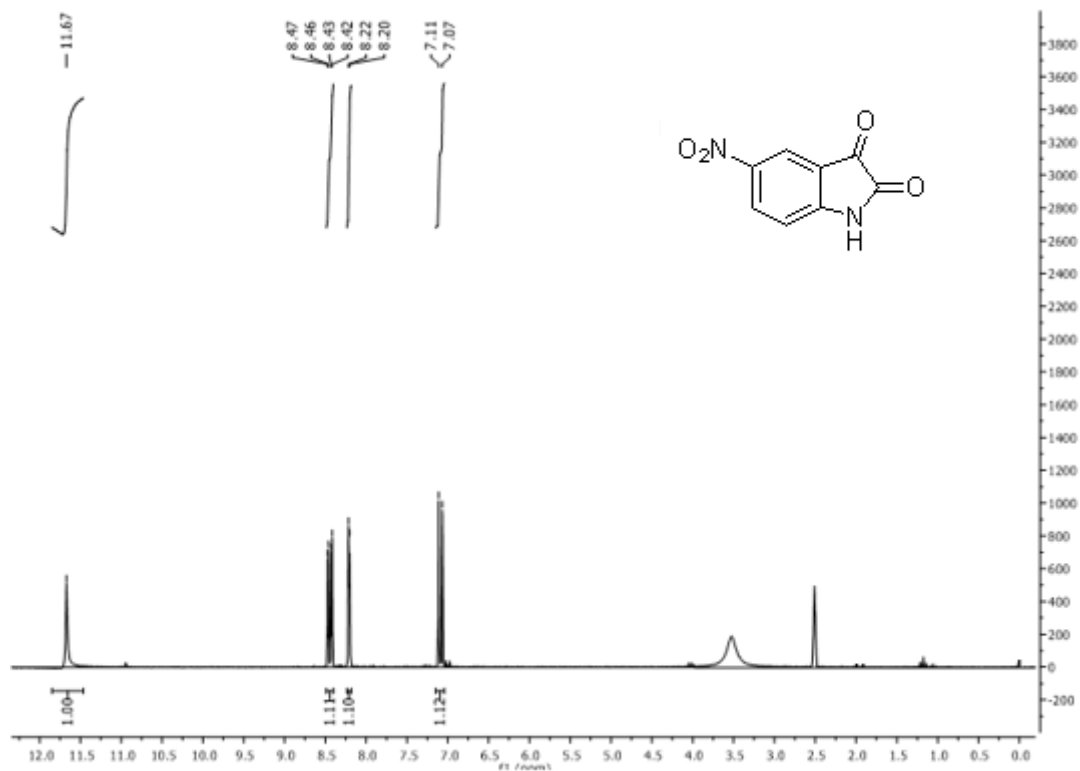
YAN, T.; WANG, X.; SUN, H.; LIU, J.; XIE, Y. Facile Creation of 3-Substituted-3-Hydroxy-2-Oxindoles by Arginine-Catalyzed Aldol Reactions of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones with Isatins. **Molecules**, v. 18, p. 14505-14518, 2013. doi:10.3390/molecules181214505

## **ESPECTROS**

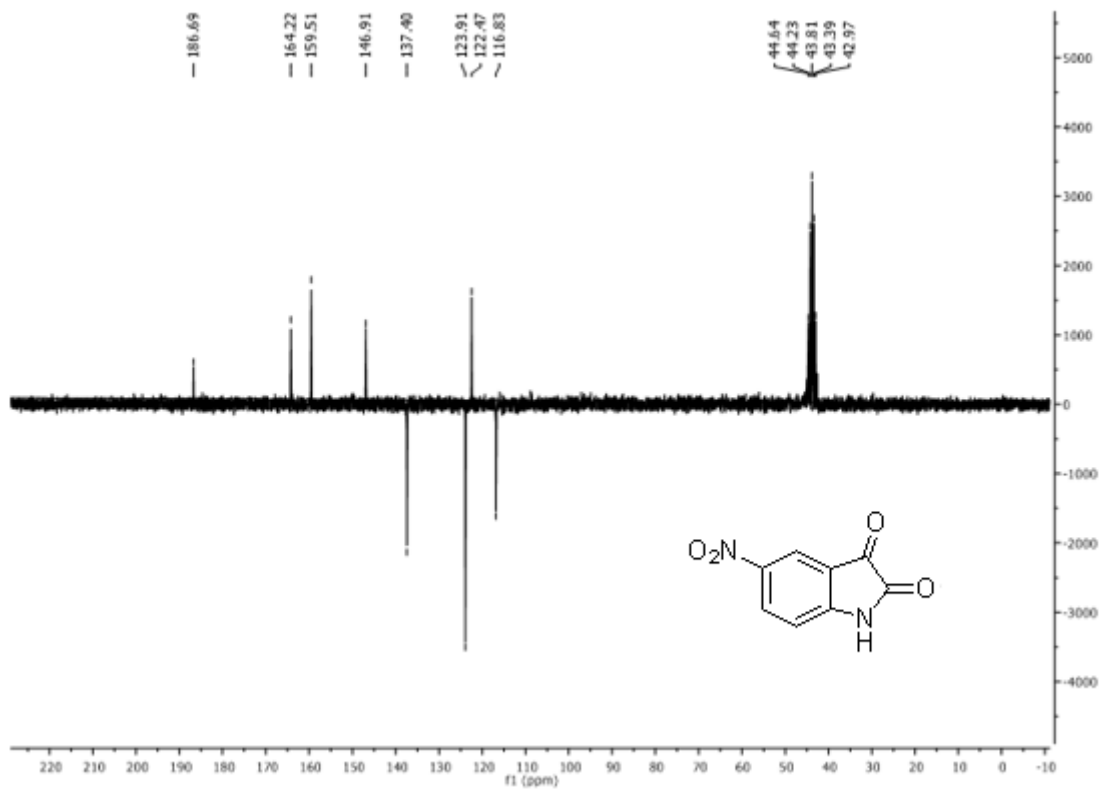
---

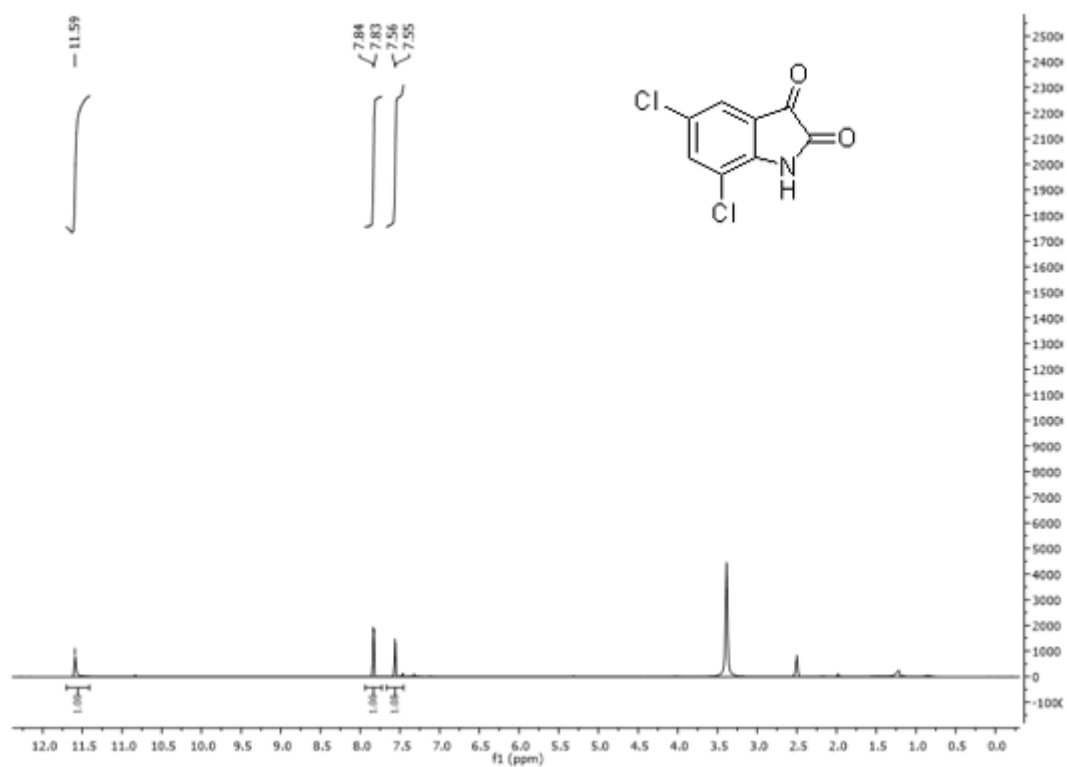
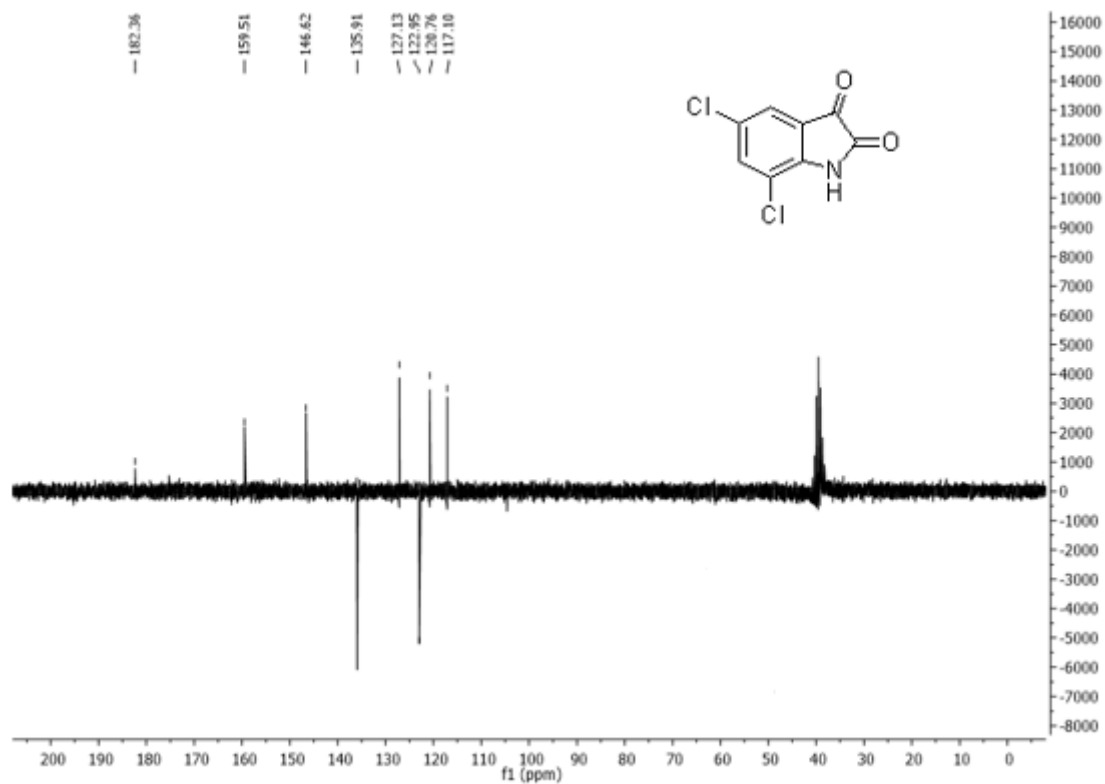
## ESPECTROS

**Figura 12:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1b**

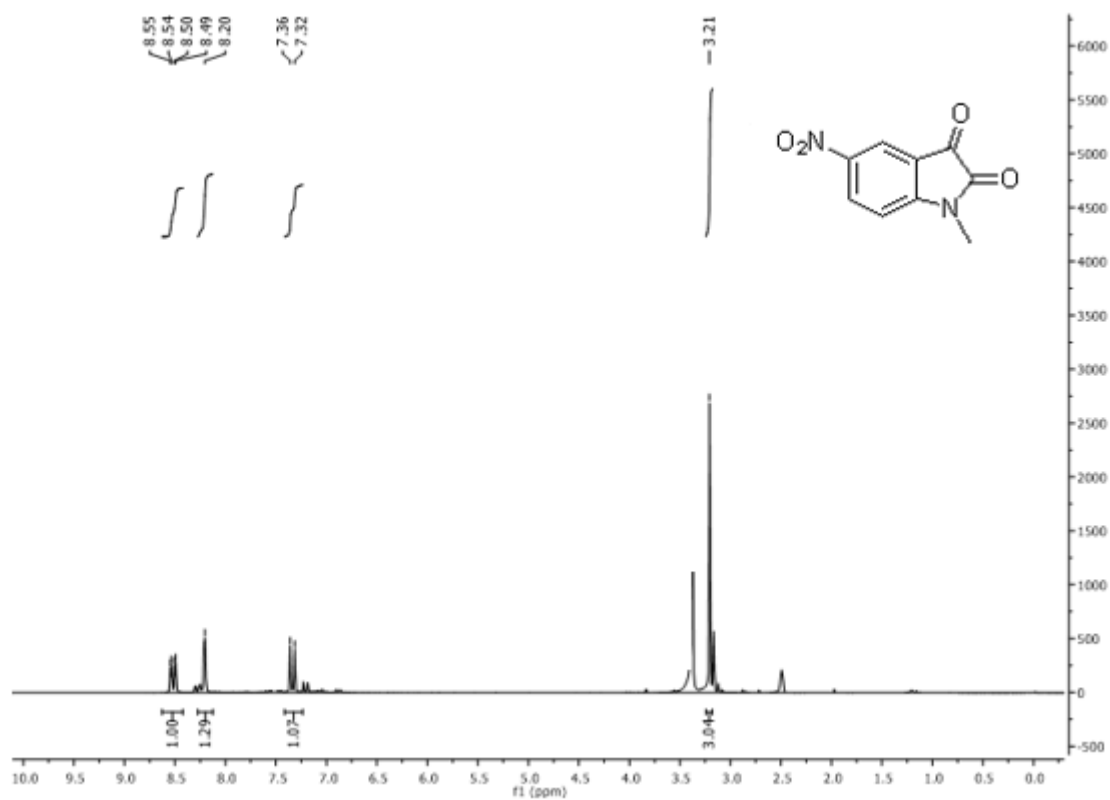


**Figura 13:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1b**

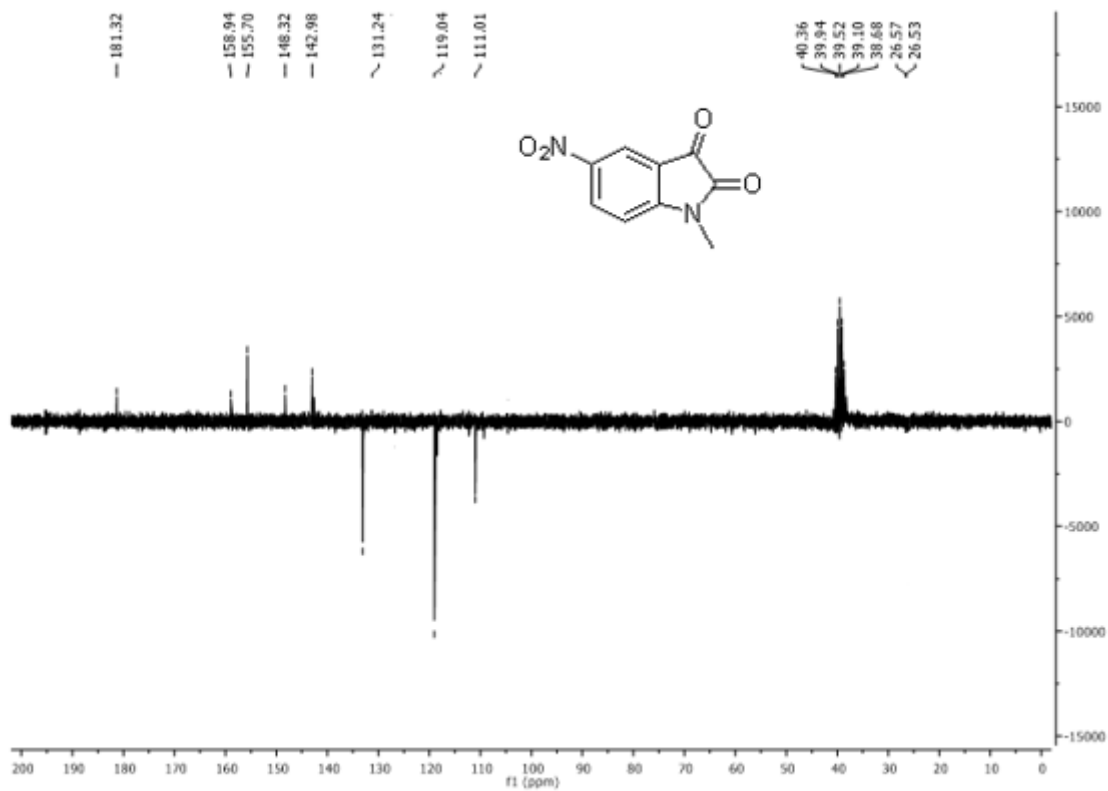


**Figura 14:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1c****Figura 15:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1c**

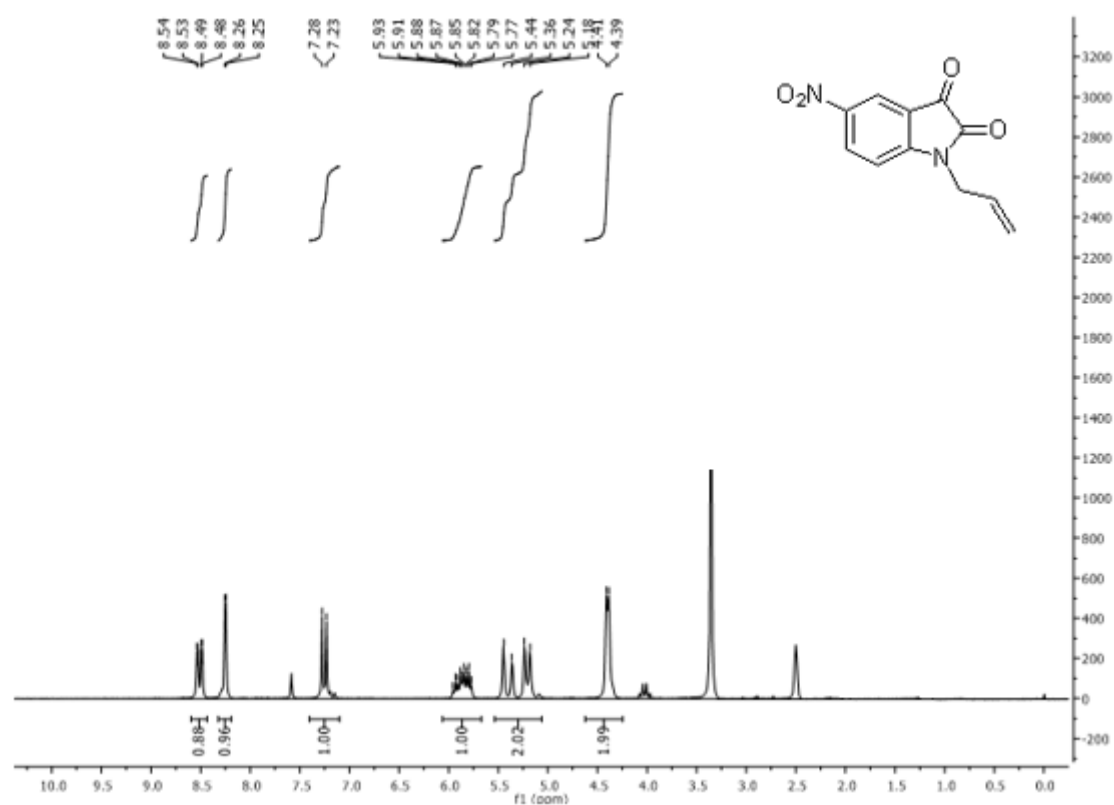
**Figura 16:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1d**



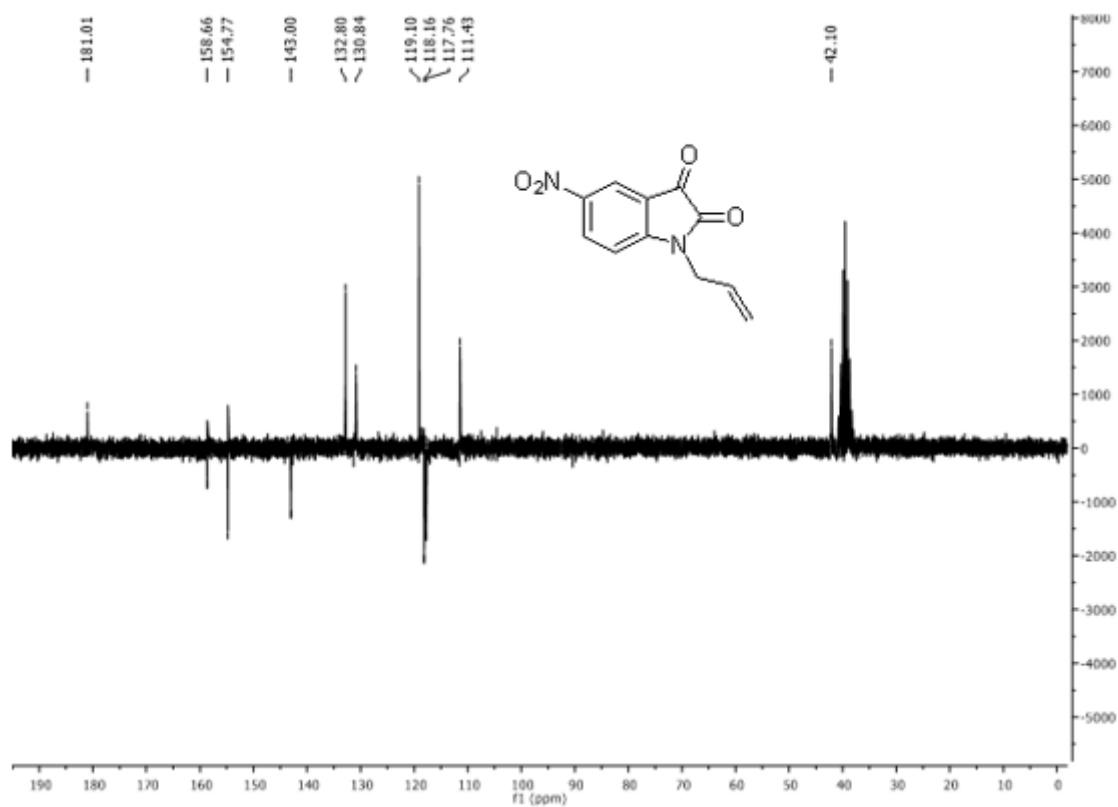
**Figura 17:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1d**



**Figura 18:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) de **1e**

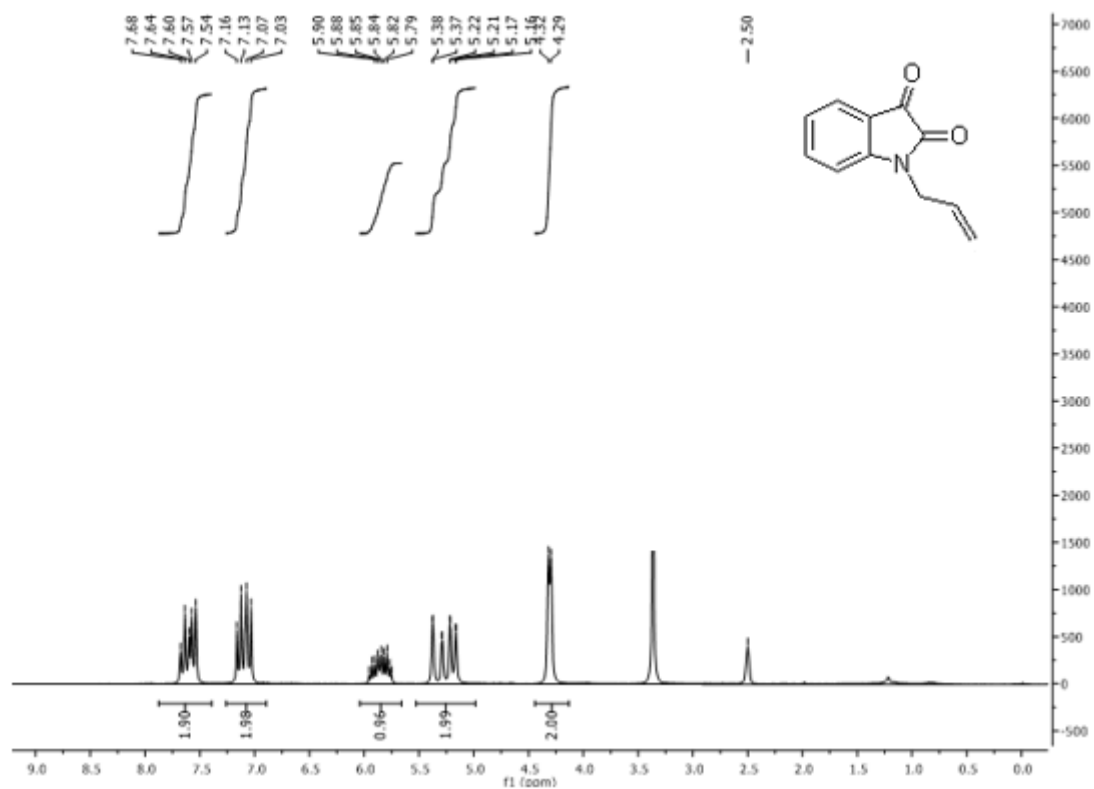


**Figura 19:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) de **1e**

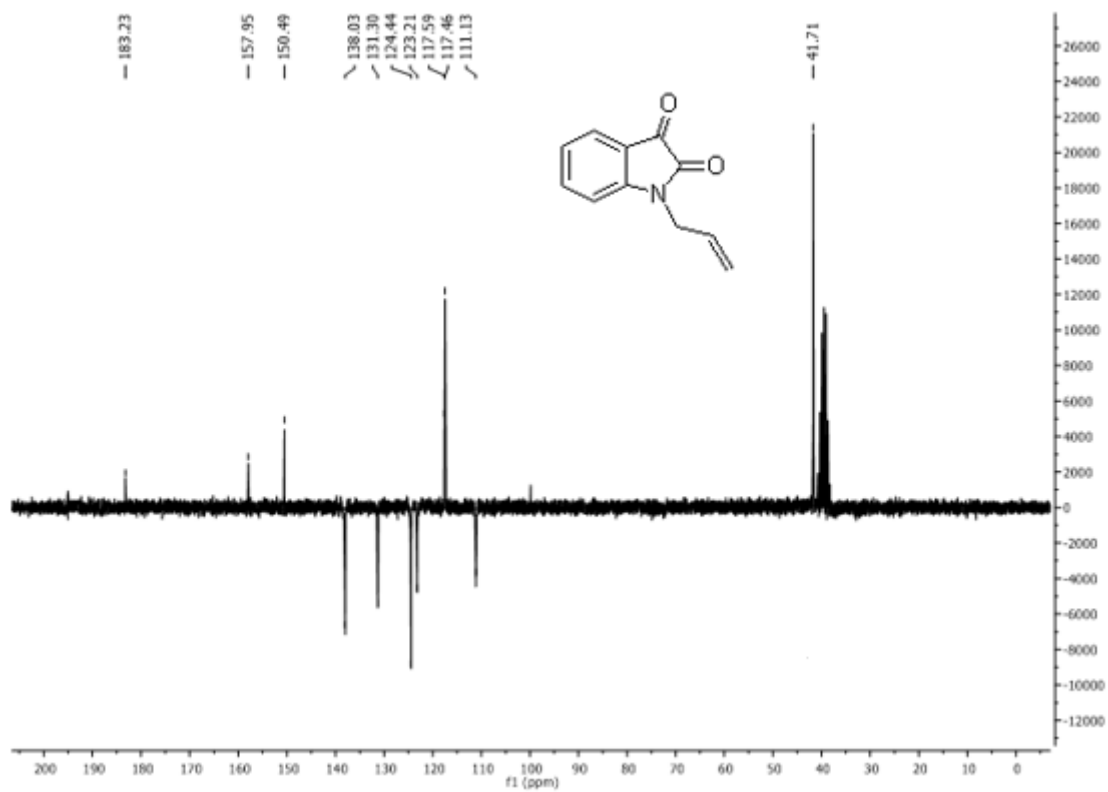


**Figura 20:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1h****Figura 21:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1h**

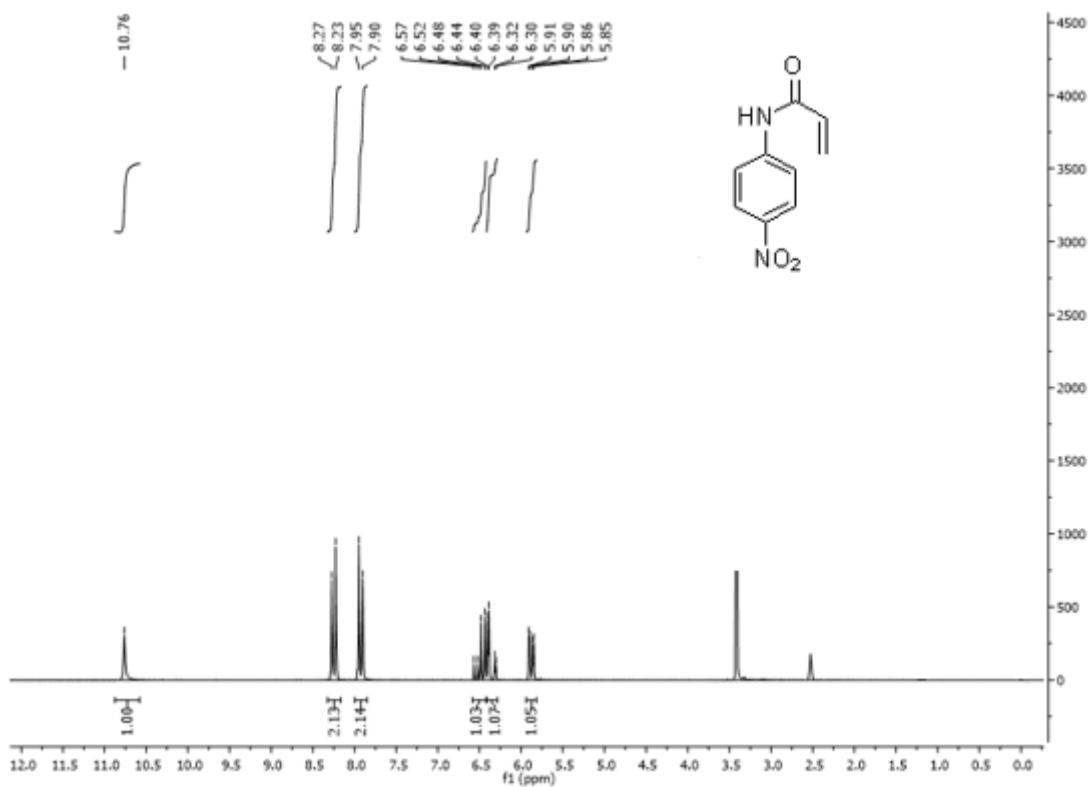
**Figura 22:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1i**



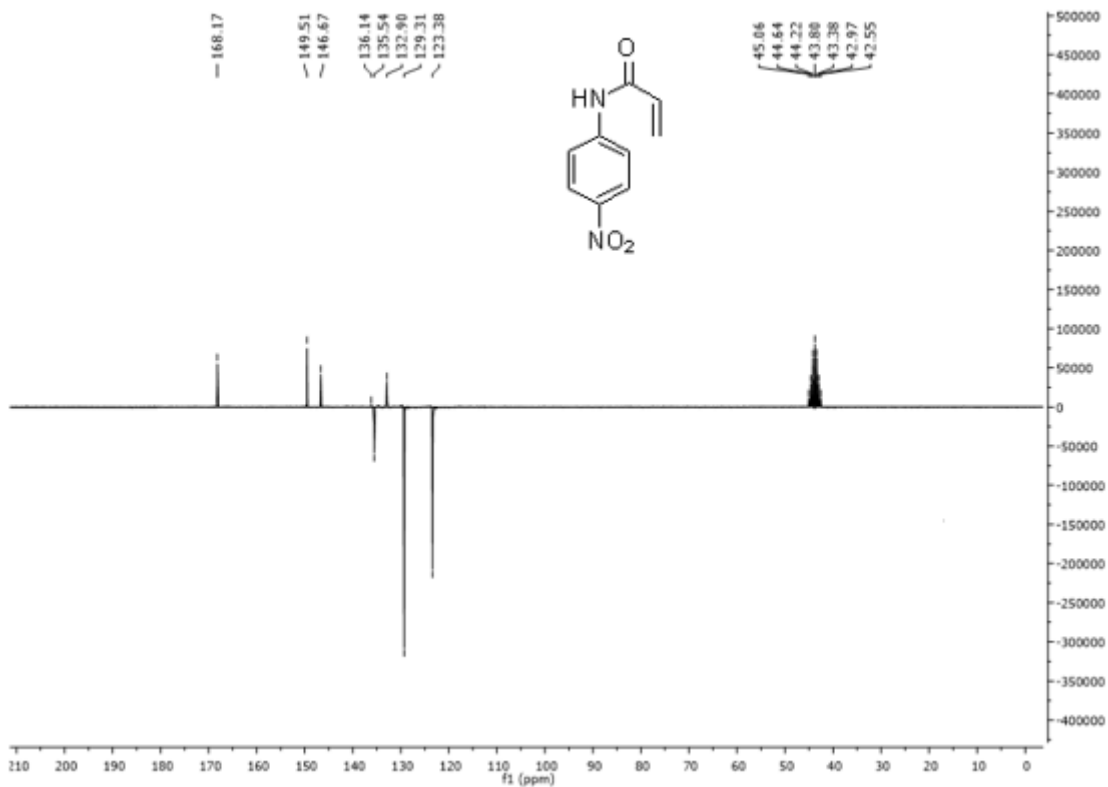
**Figura 23:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **1i**



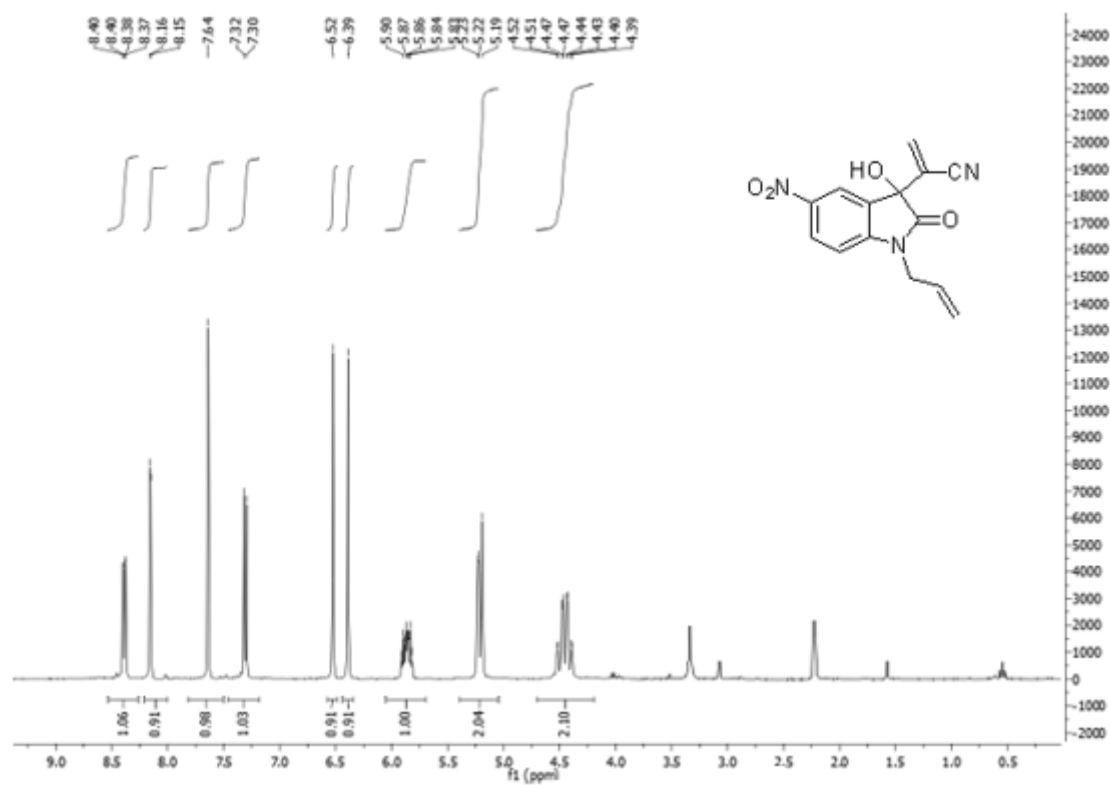
**Figura 24:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **2**



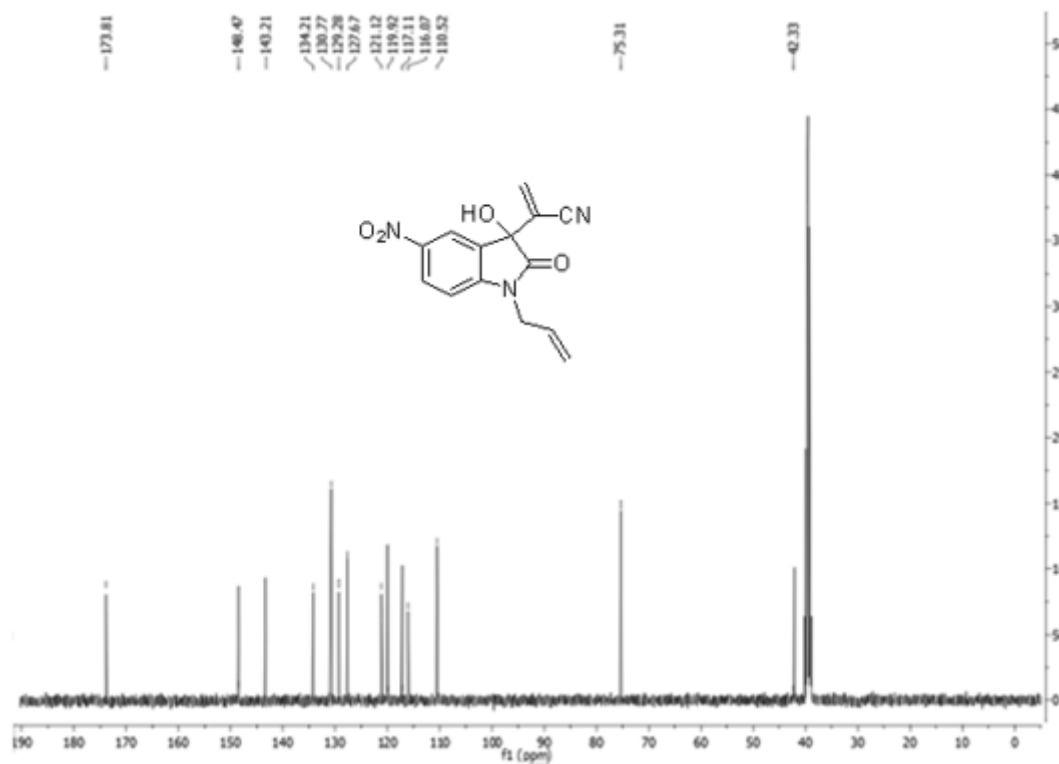
**Figura 25:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO- $d_6$ ) de **2**

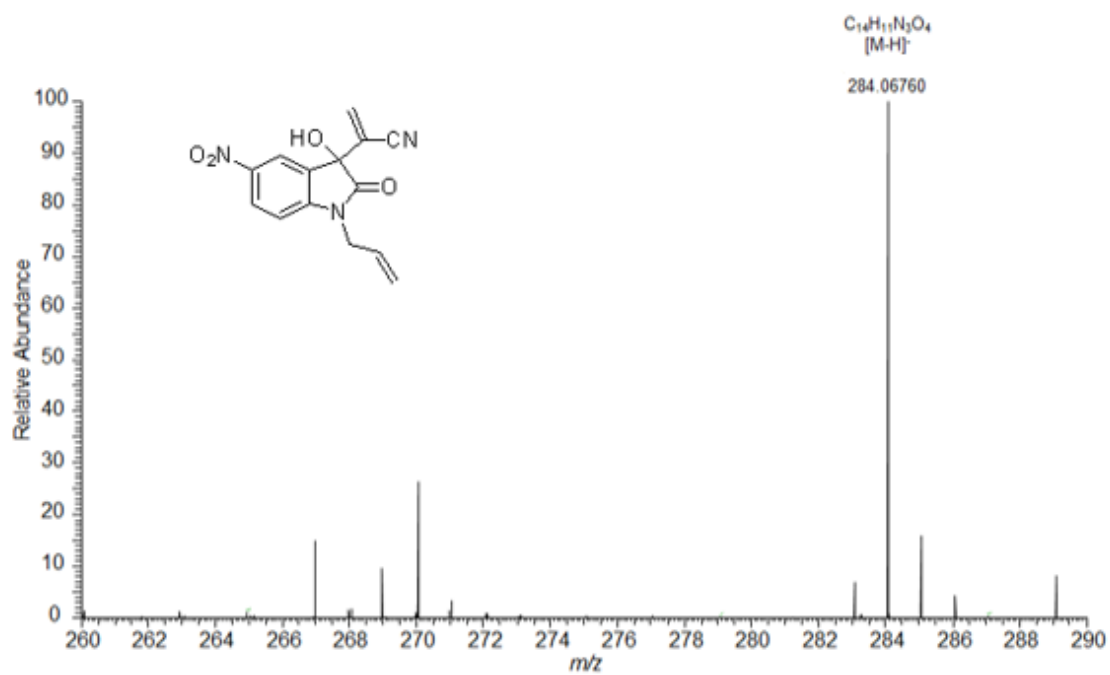
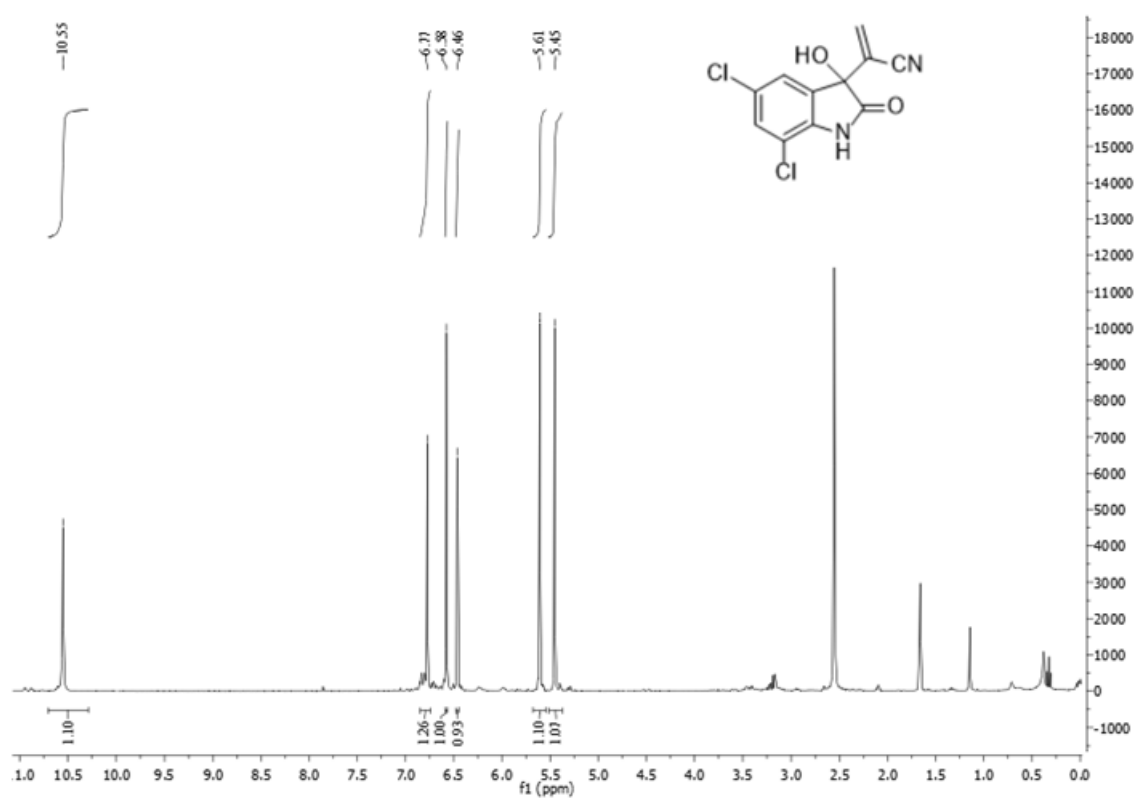


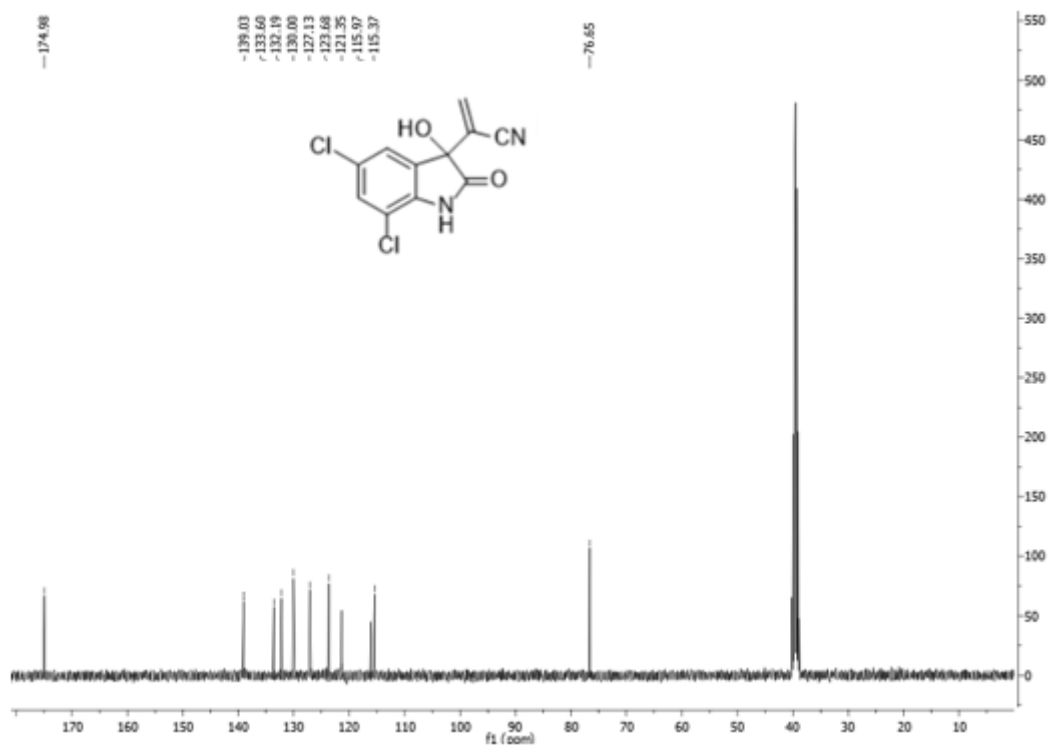
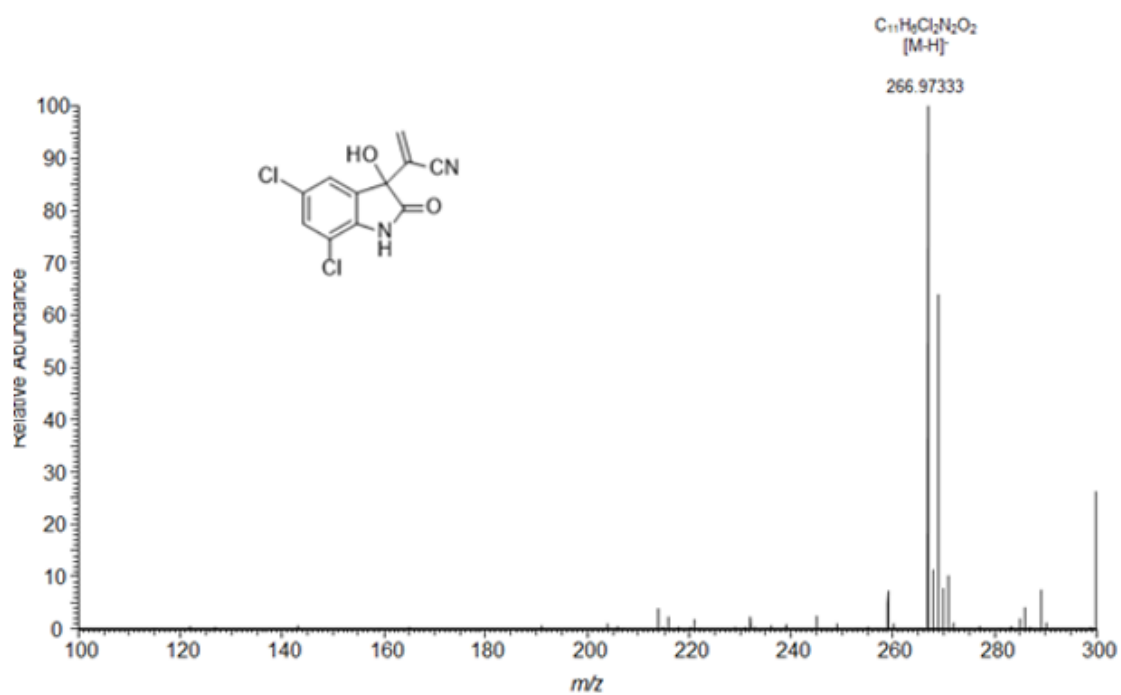
**Figura 26:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **3f**



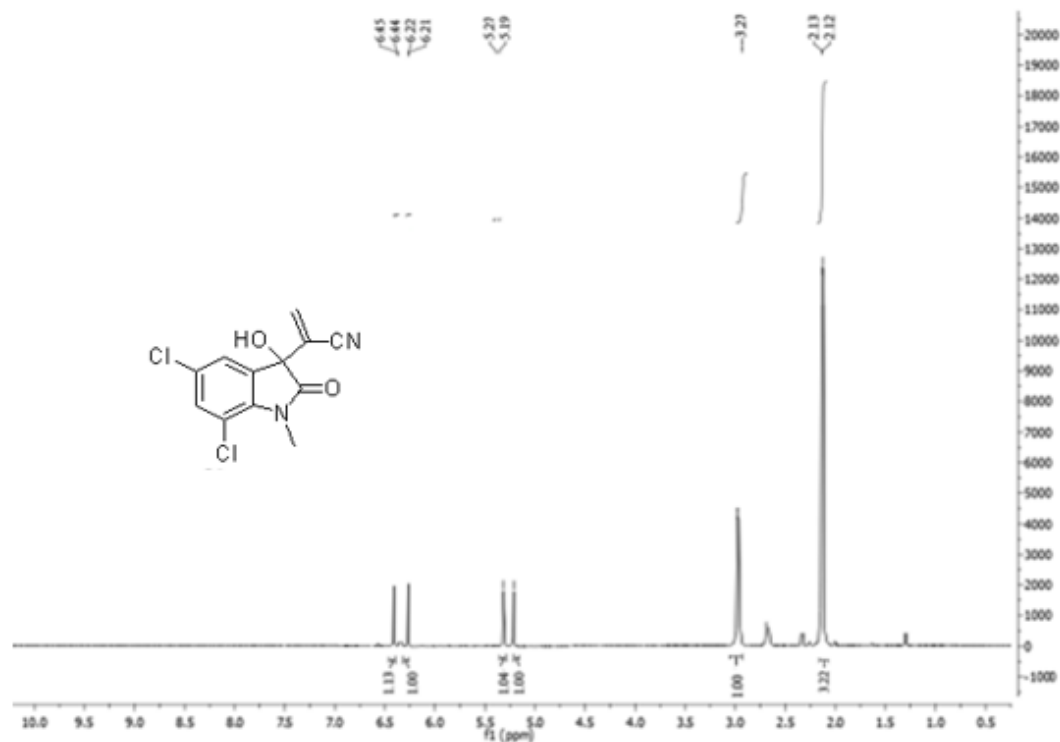
**Figura 27:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **3f**



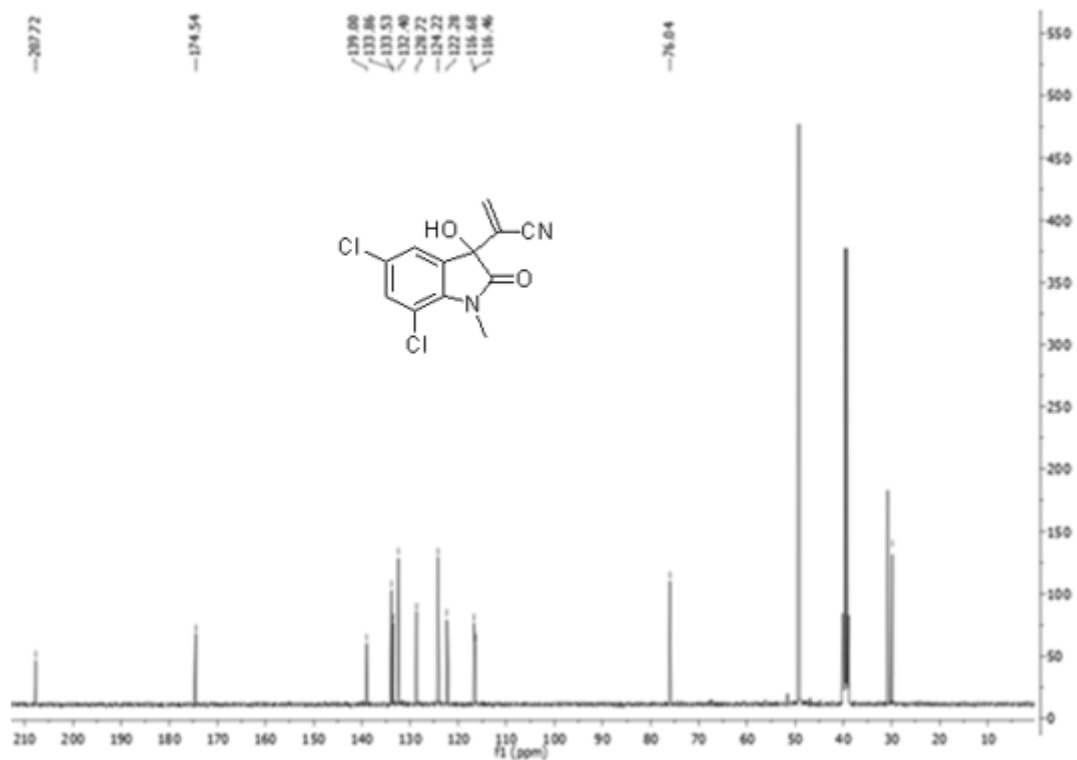
**Figura 28:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **3f****Figura 29:** Espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **3g**

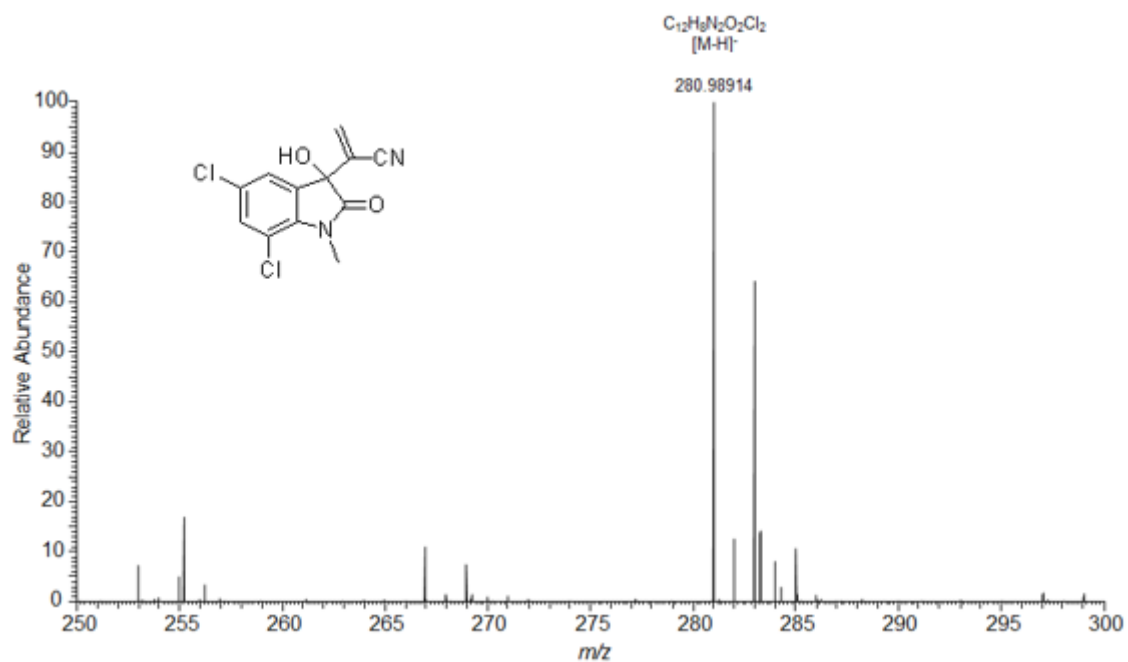
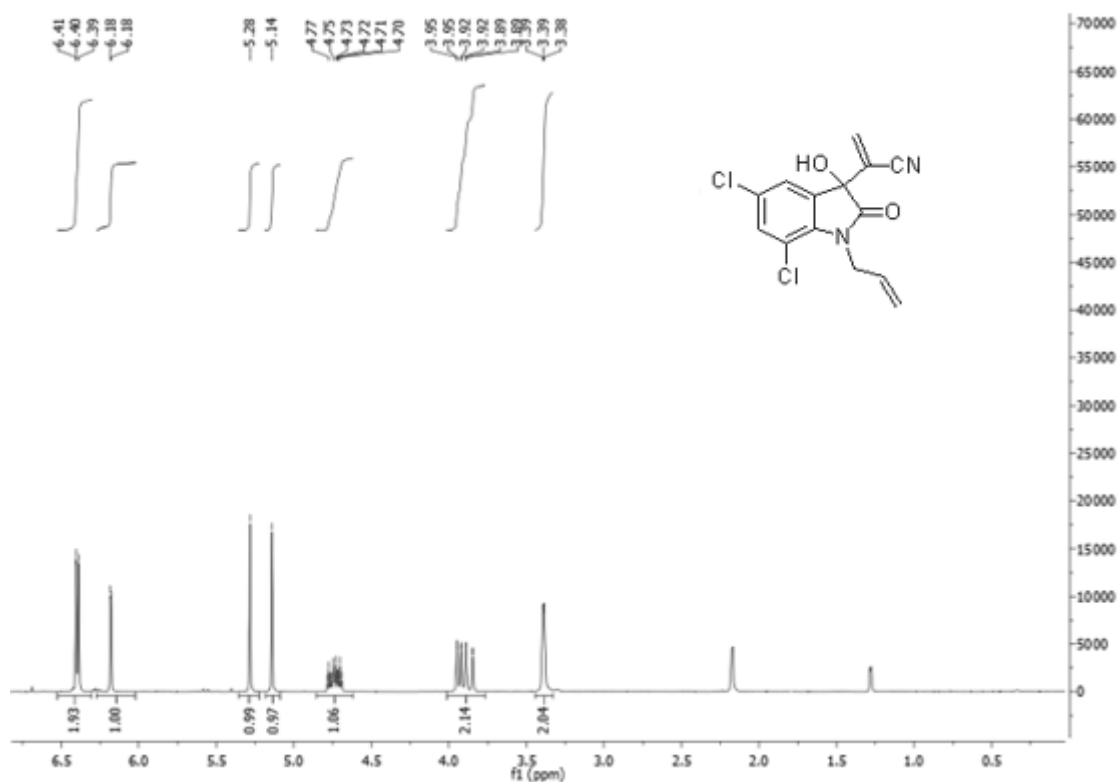
**Figura 30:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **3g****Figura 31:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **3g**

**Figura 32:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **3h**

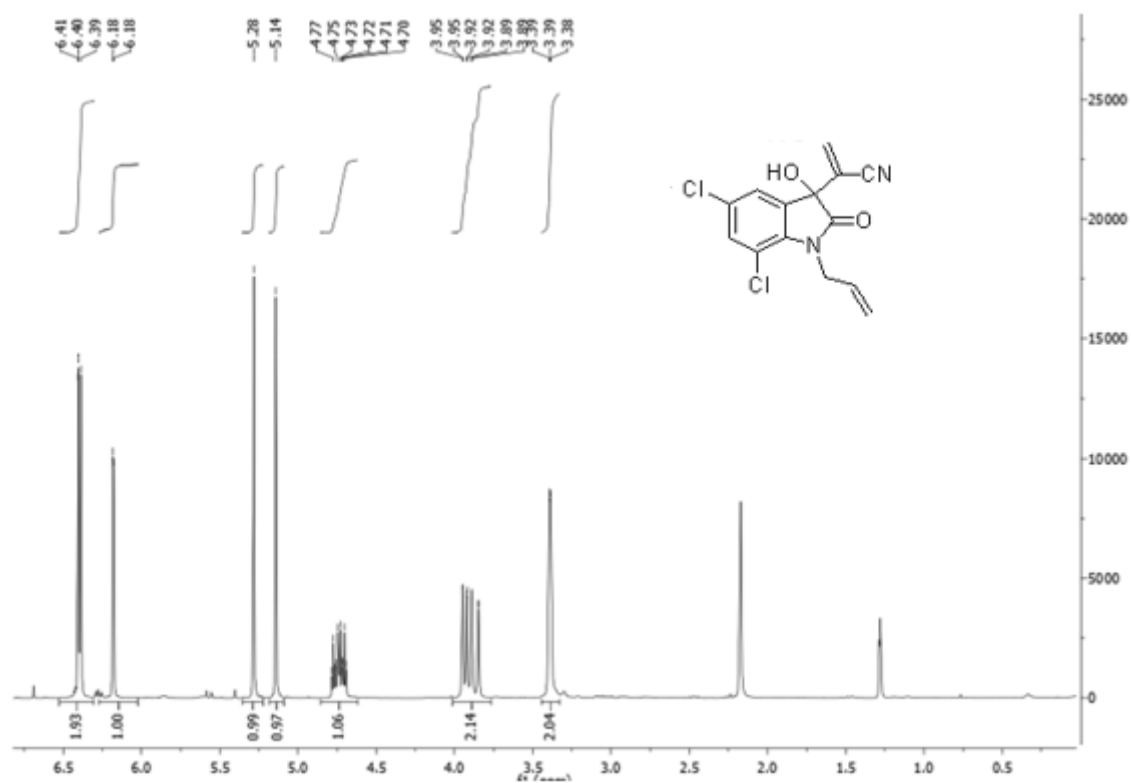


**Figura 33:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **3h**

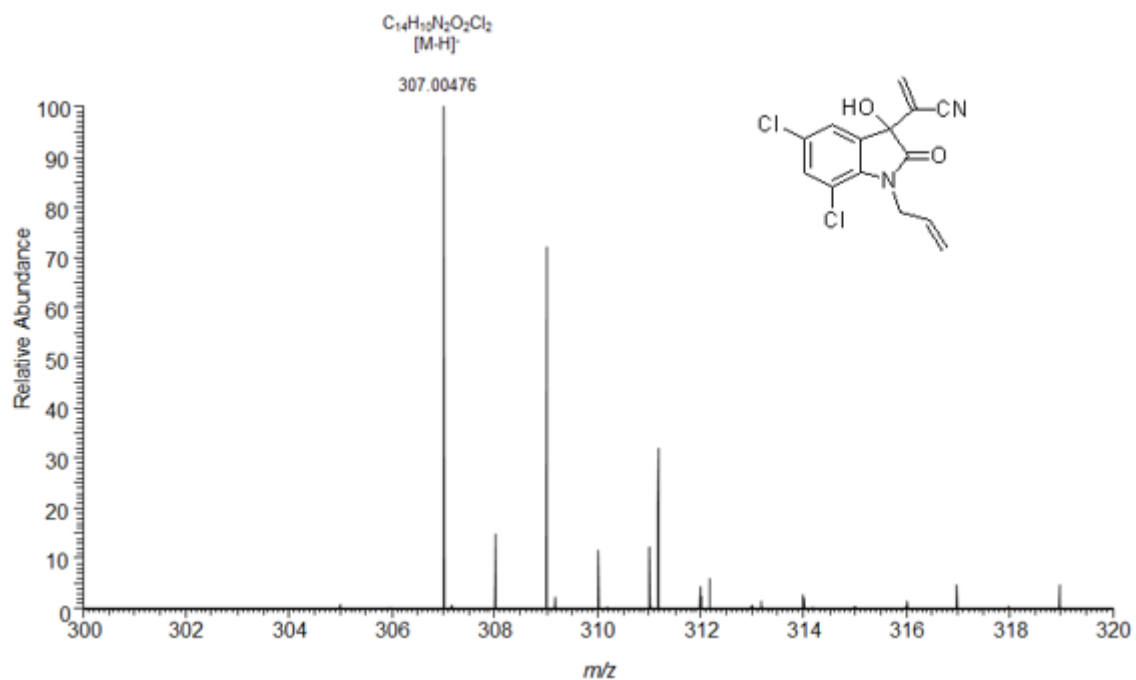


**Figura 34:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **3h****Figura 35:** Espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **3i**

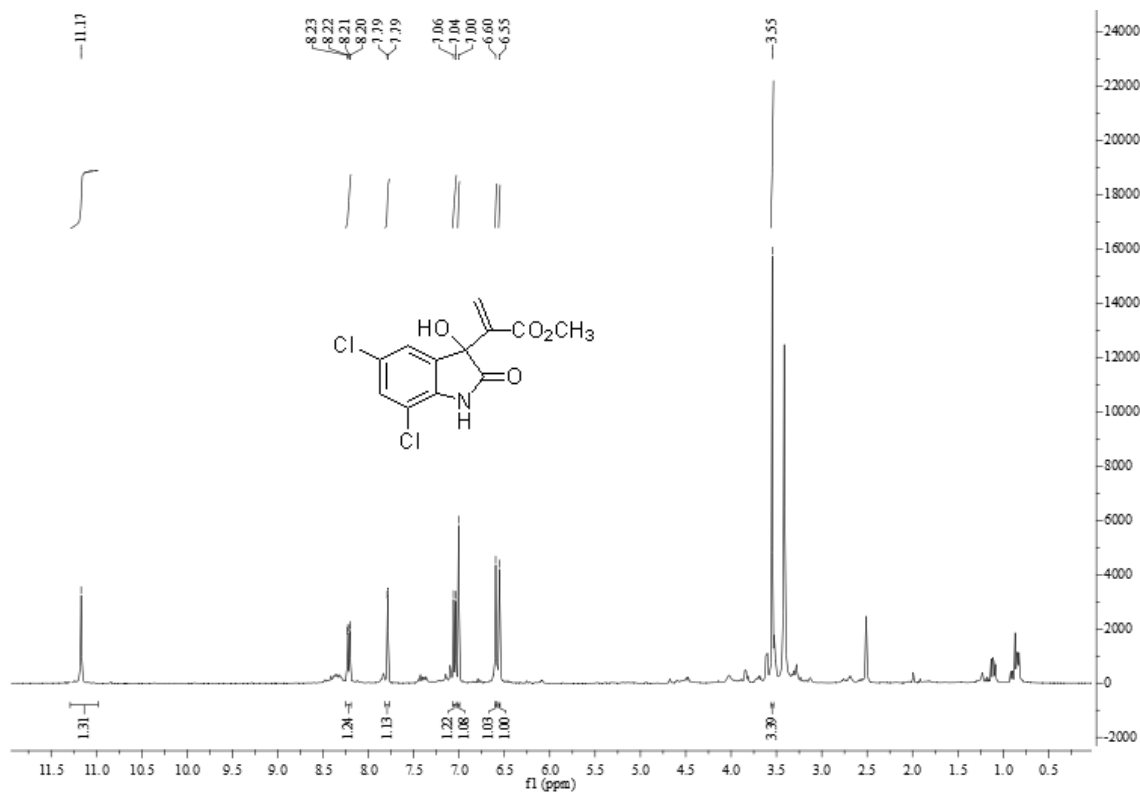
**Figura 36:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) do aduto **3i**



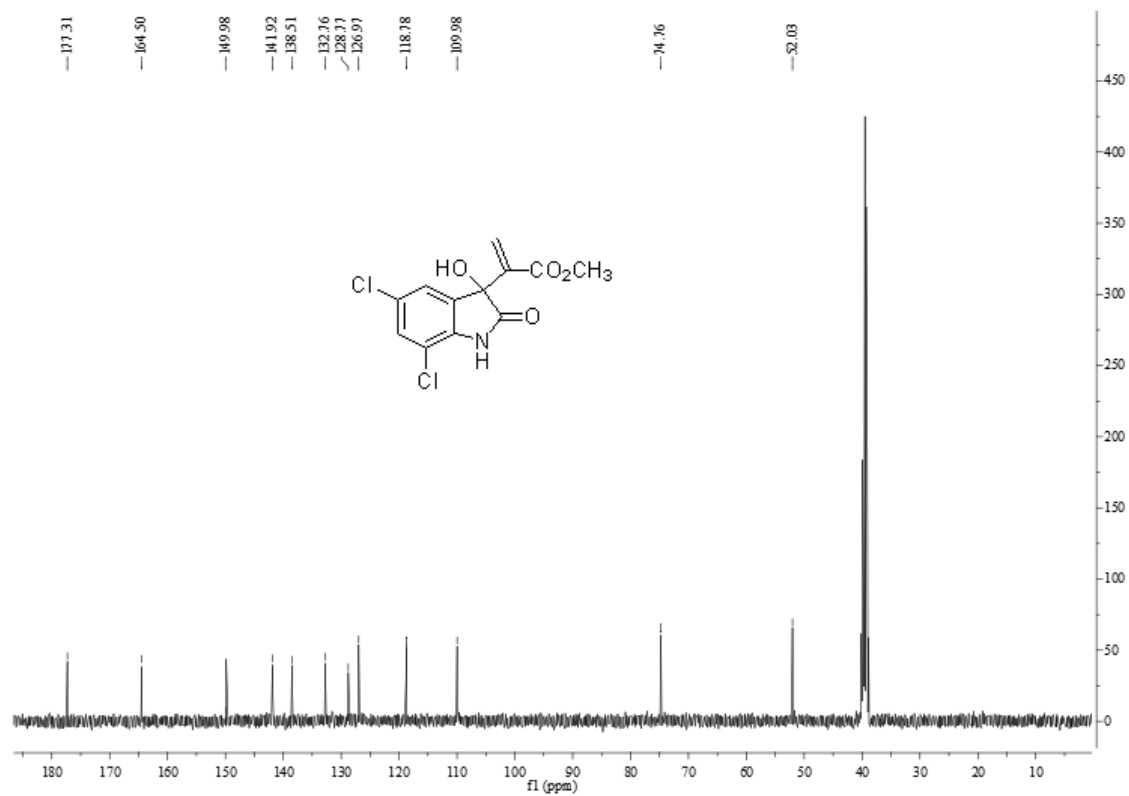
**Figura 37:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **3i**



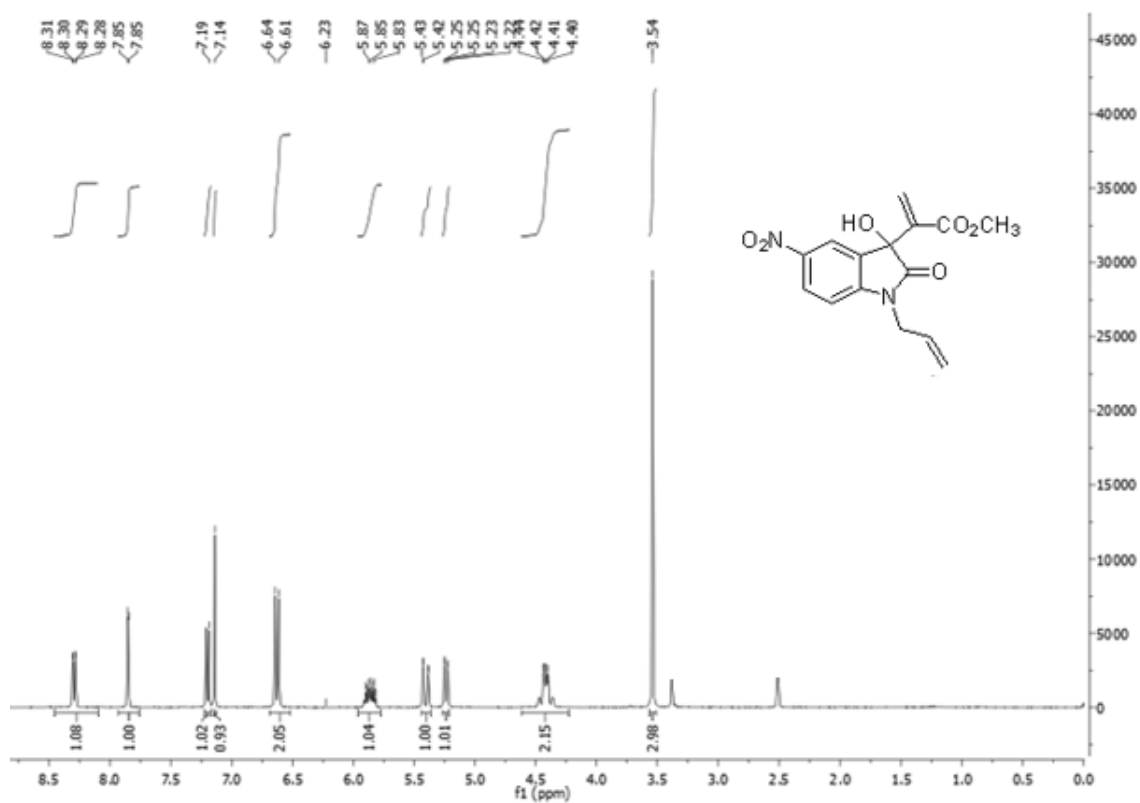
**Figura 38:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **4d**



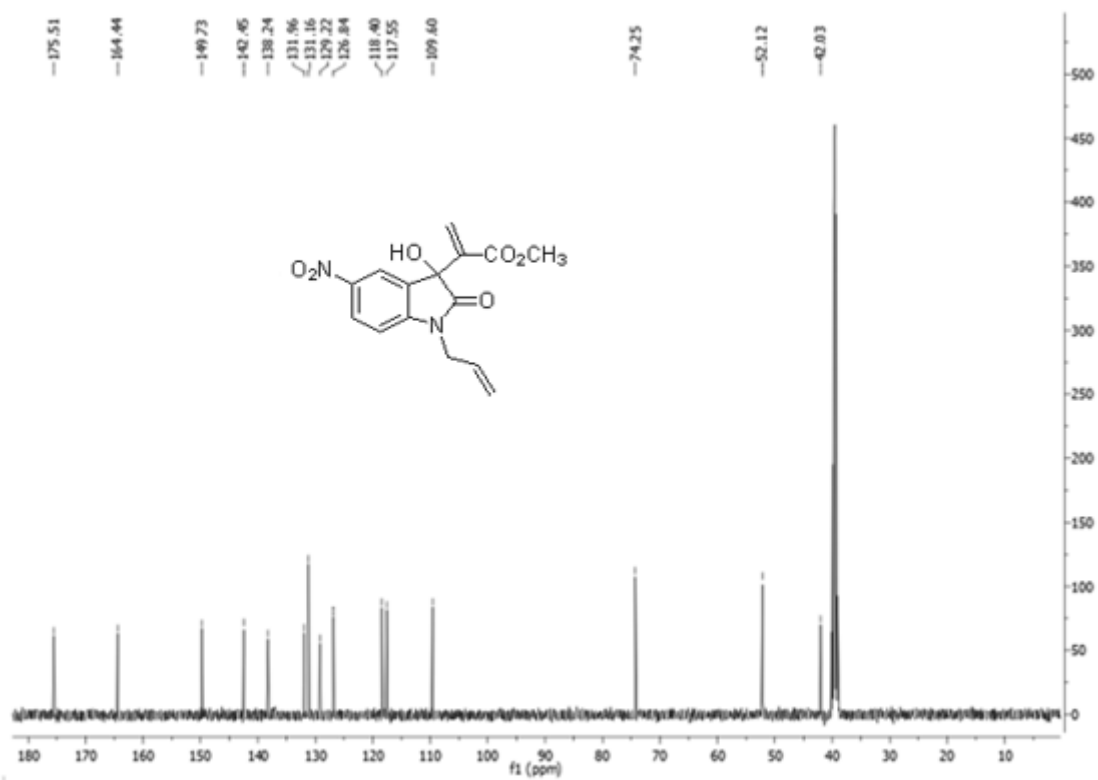
**Figura 39:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **4d**



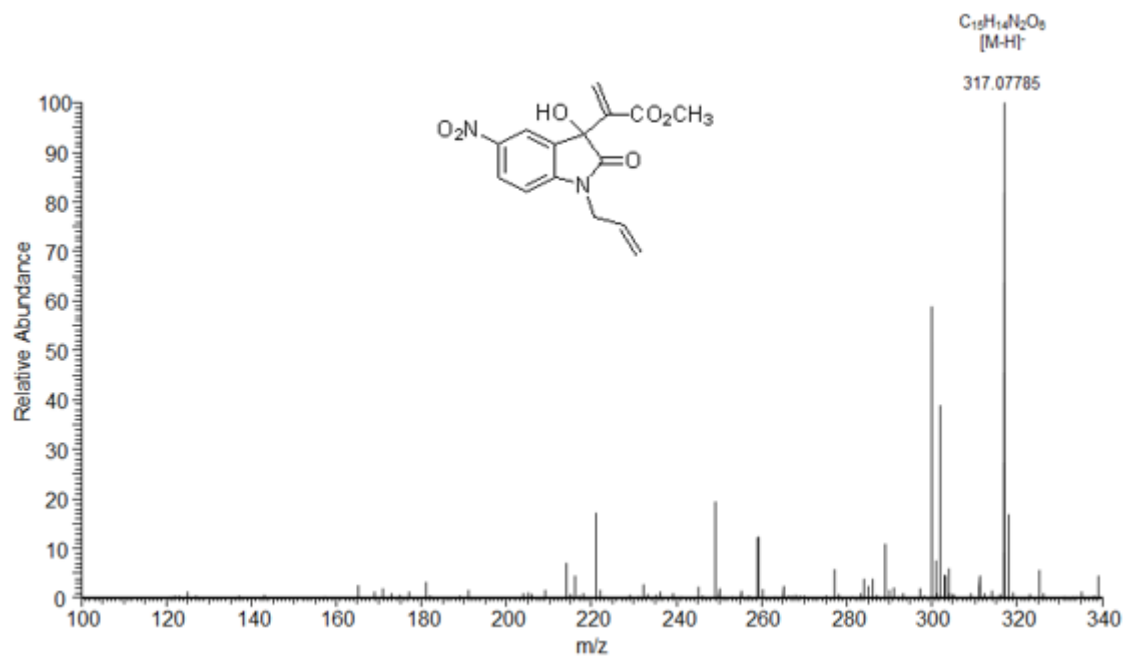
**Figura 40:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **4f**



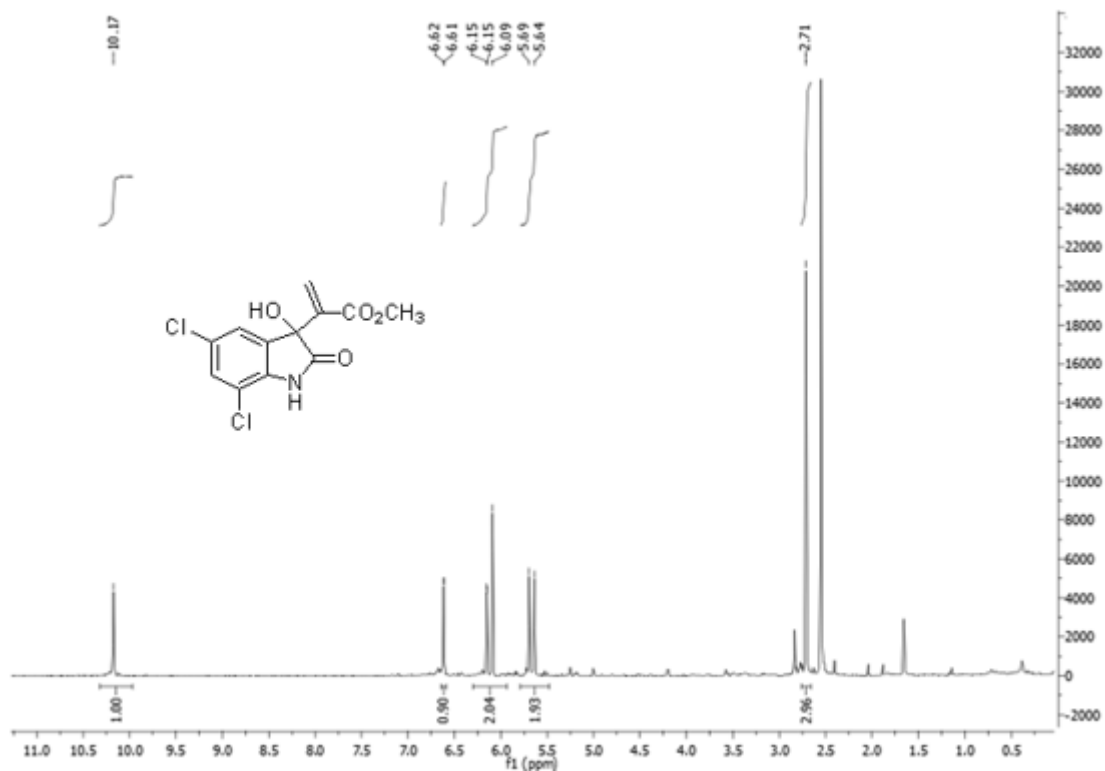
**Figura 41:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **4f**

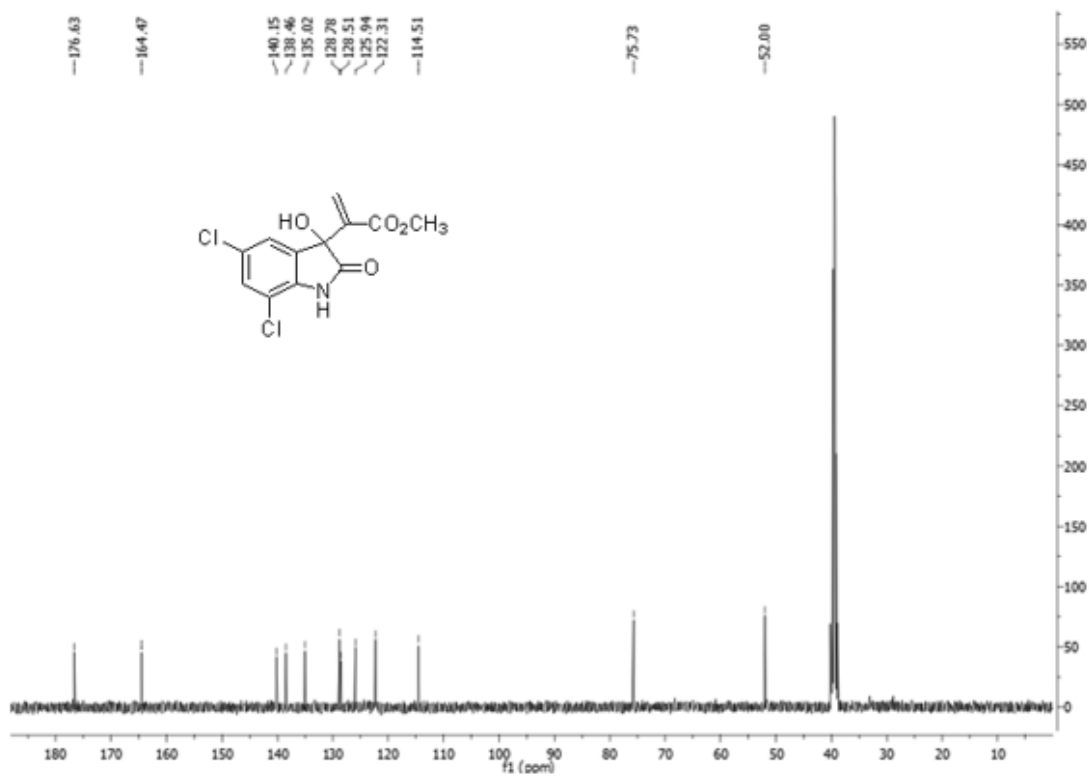
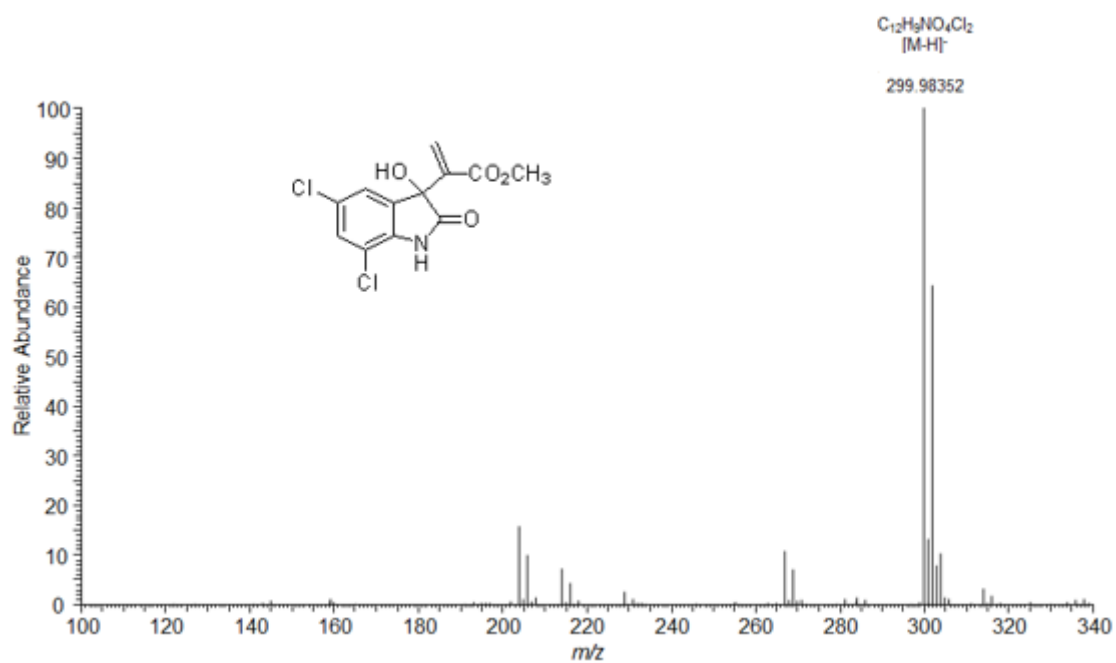


**Figura 42:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **4f**

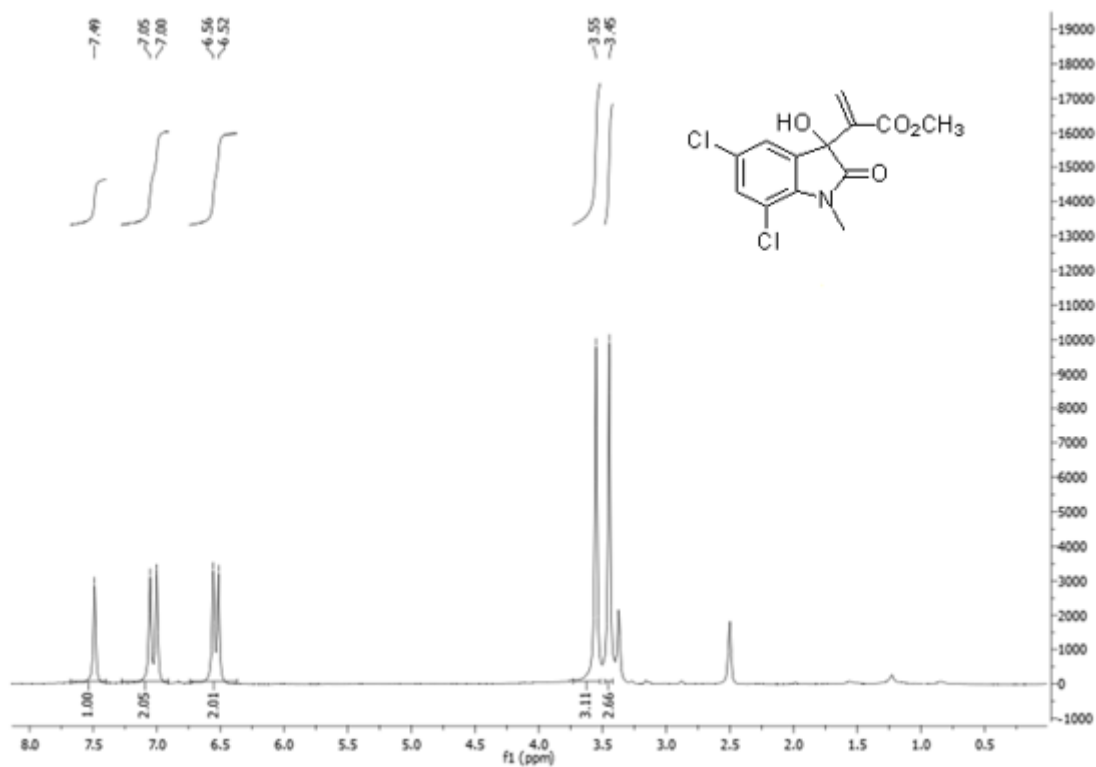


**Figura 43:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **4g**

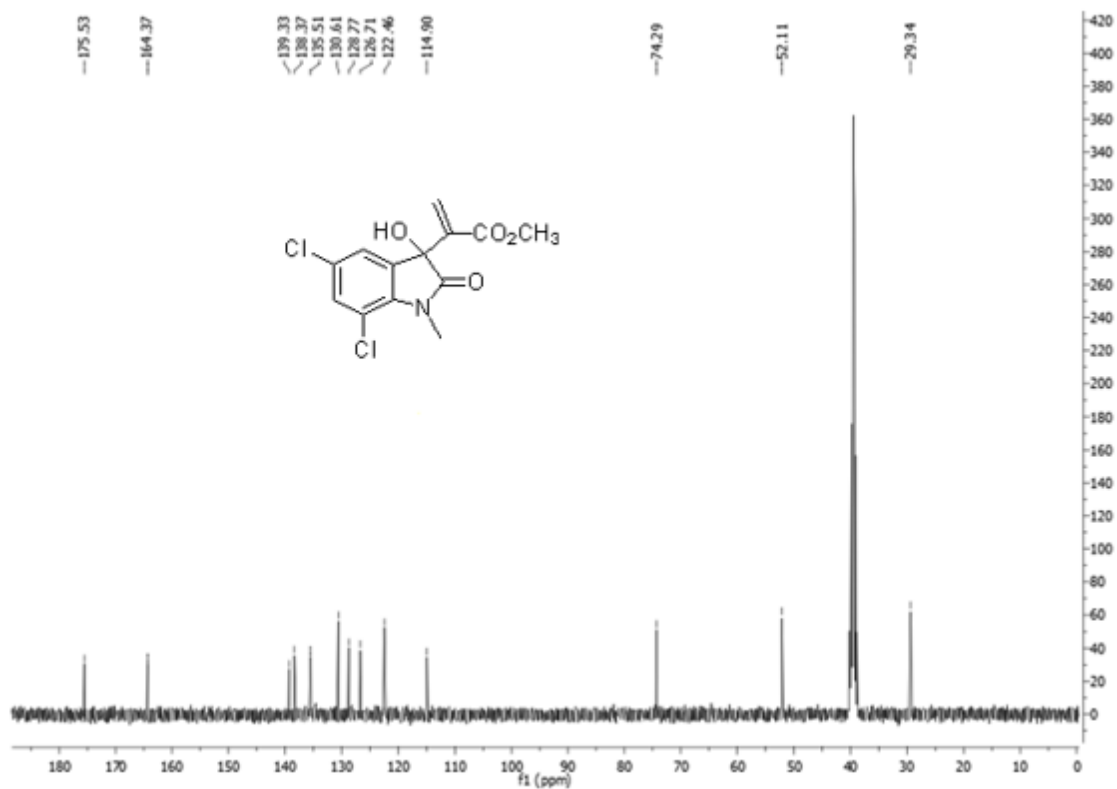


**Figura 44:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **4g****Figura 45:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **4g**

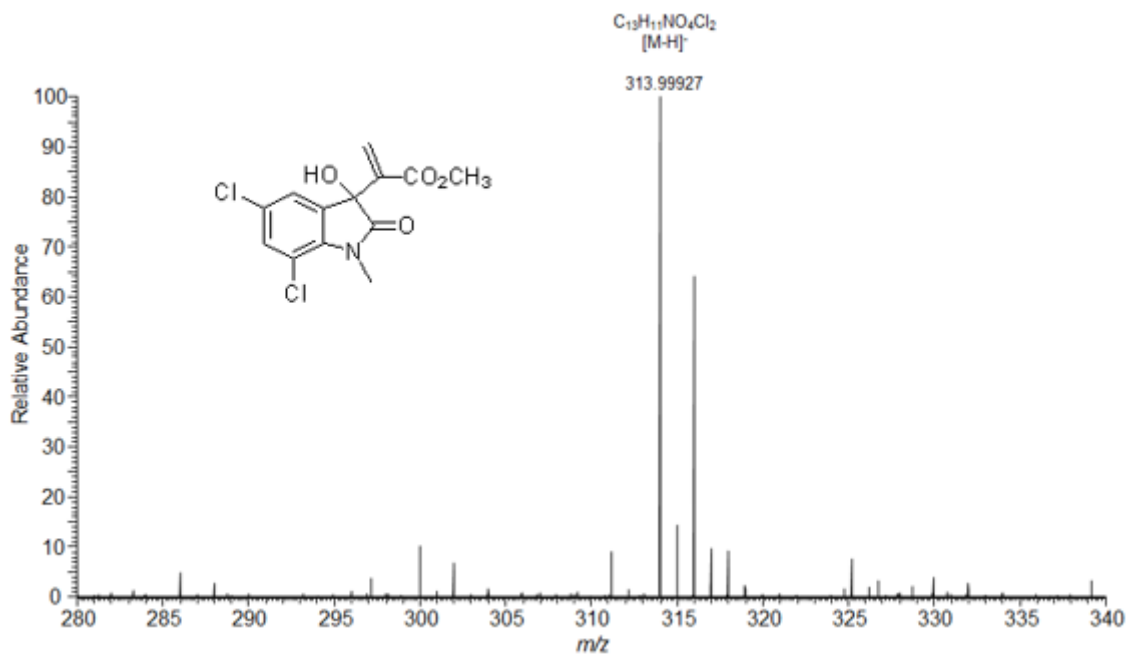
**Figura 46:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **4h**



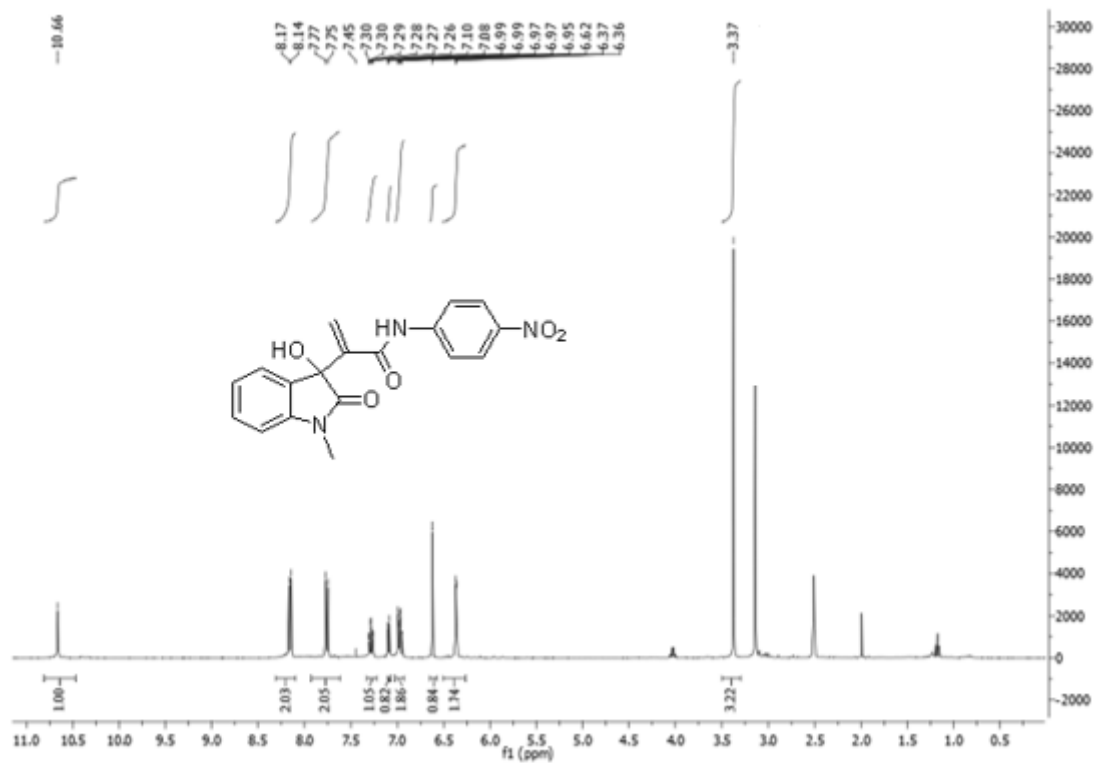
**Figura 47:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **4h**

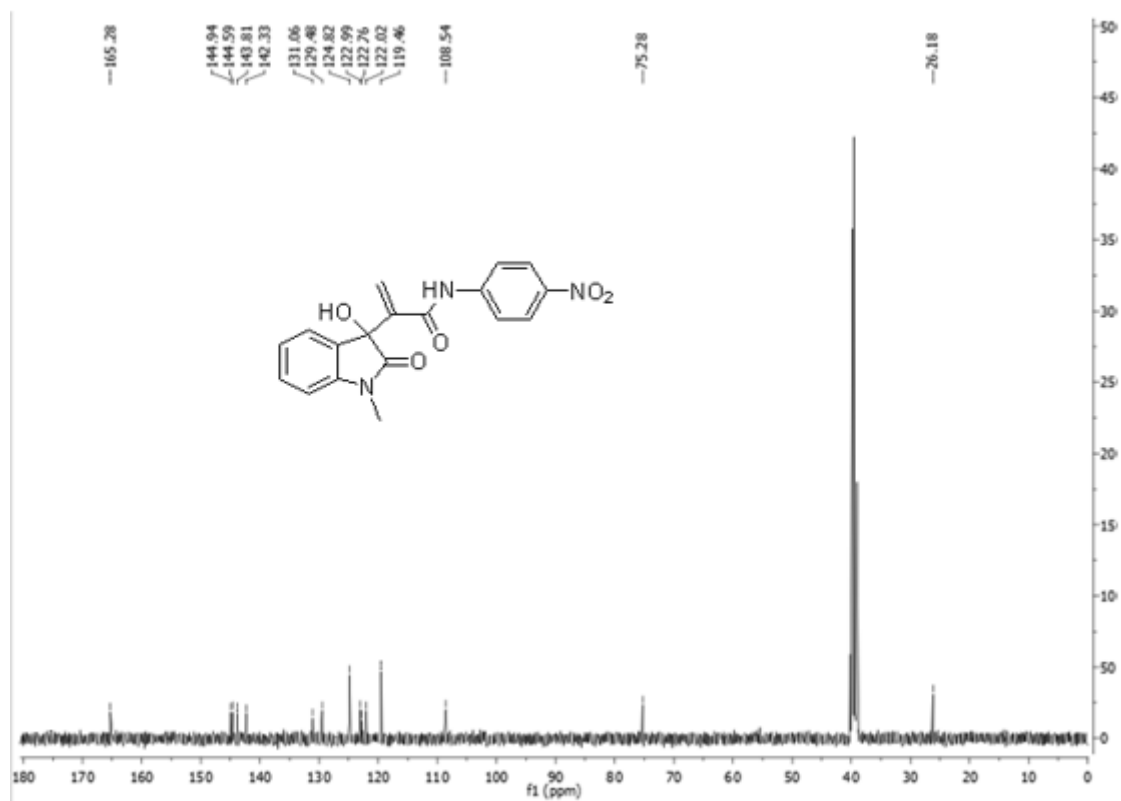
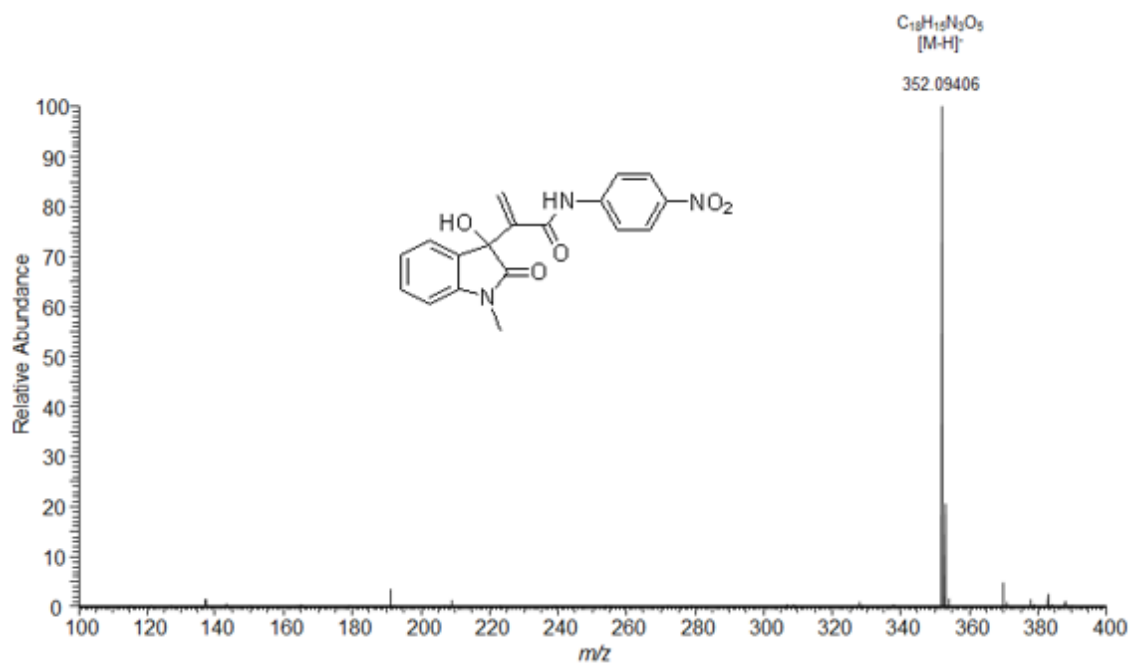


**Figura 48:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **4h**

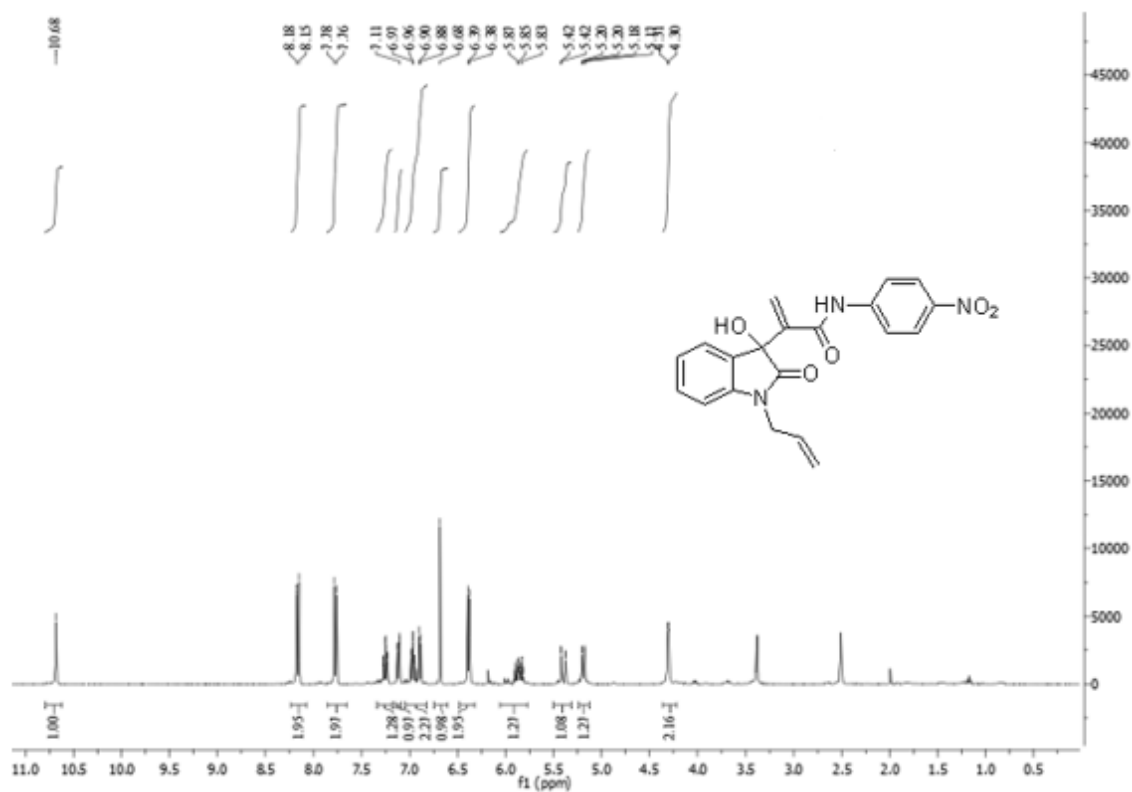


**Figura 49:** Espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **5a**

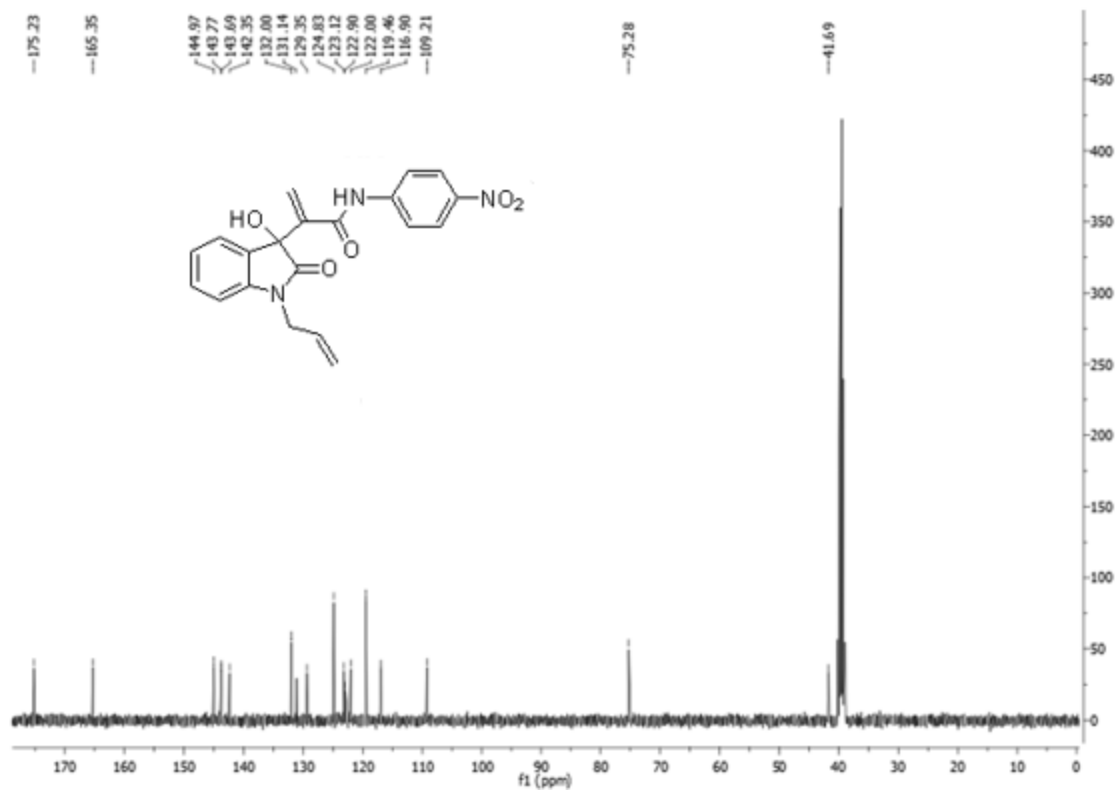


**Figura 50:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **5a****Figura 51:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **5a**

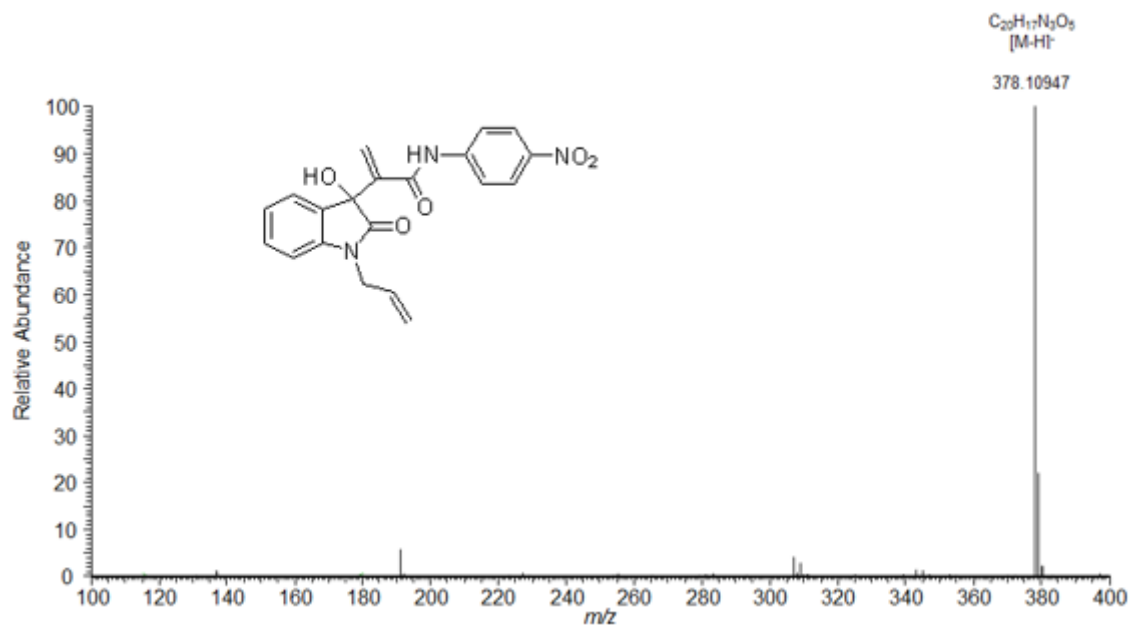
**Figura 52:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **5b**



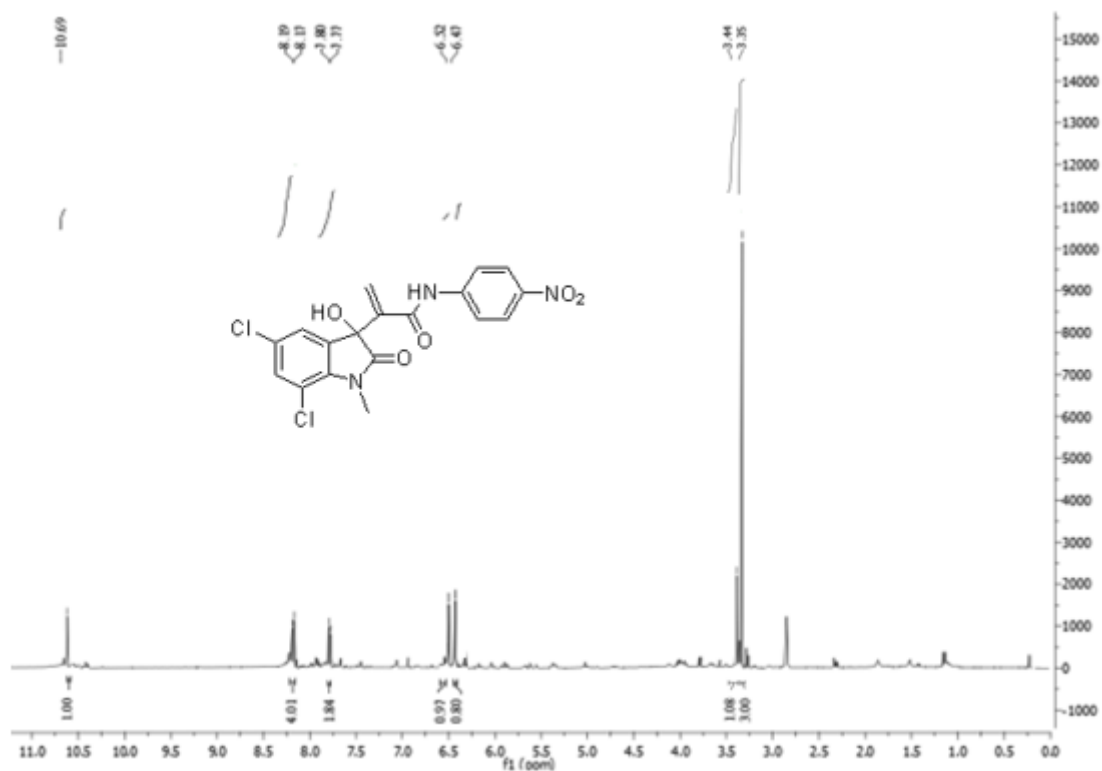
**Figura 53:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **5b**



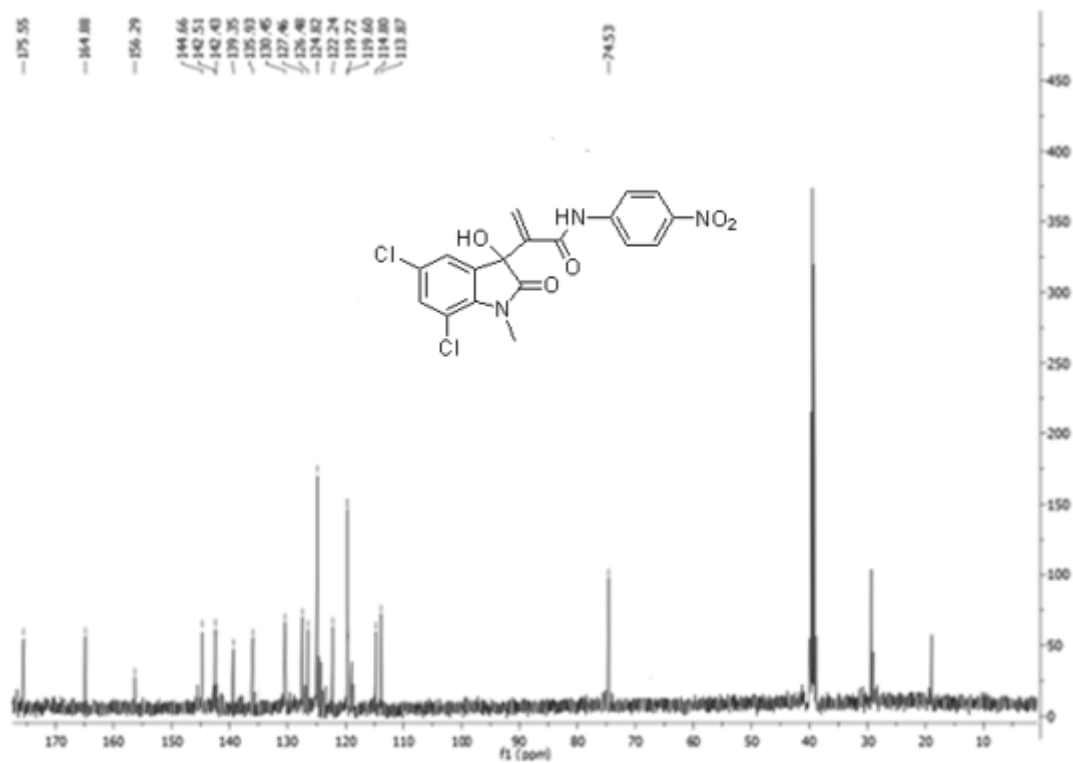
**Figura 54:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **5b**



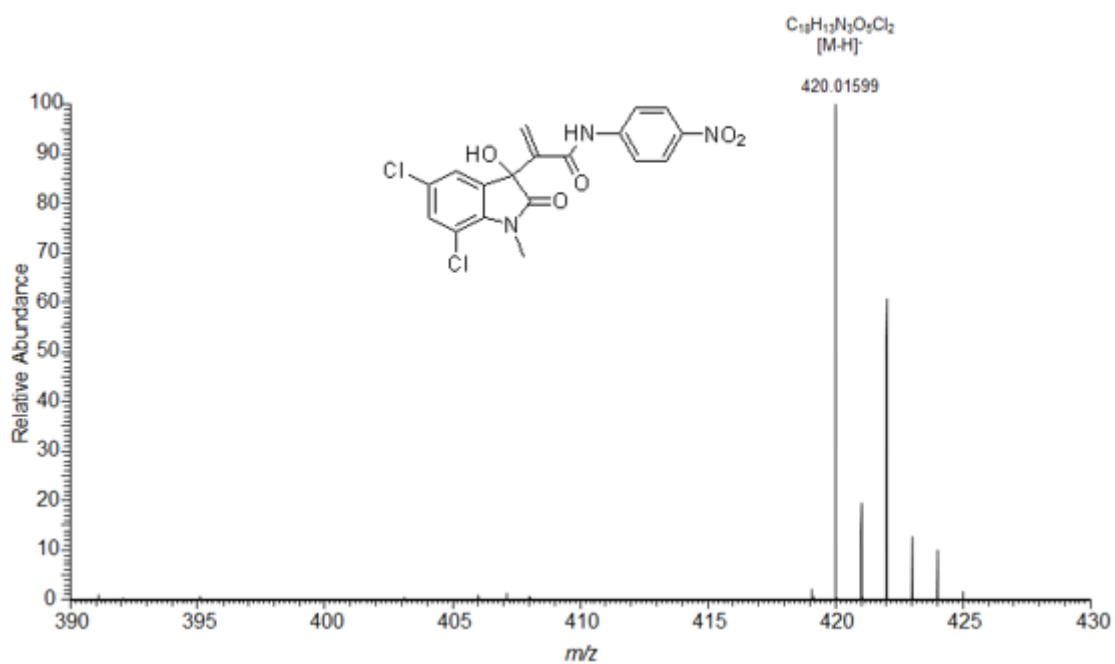
**Figura 55:** Espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **5c**



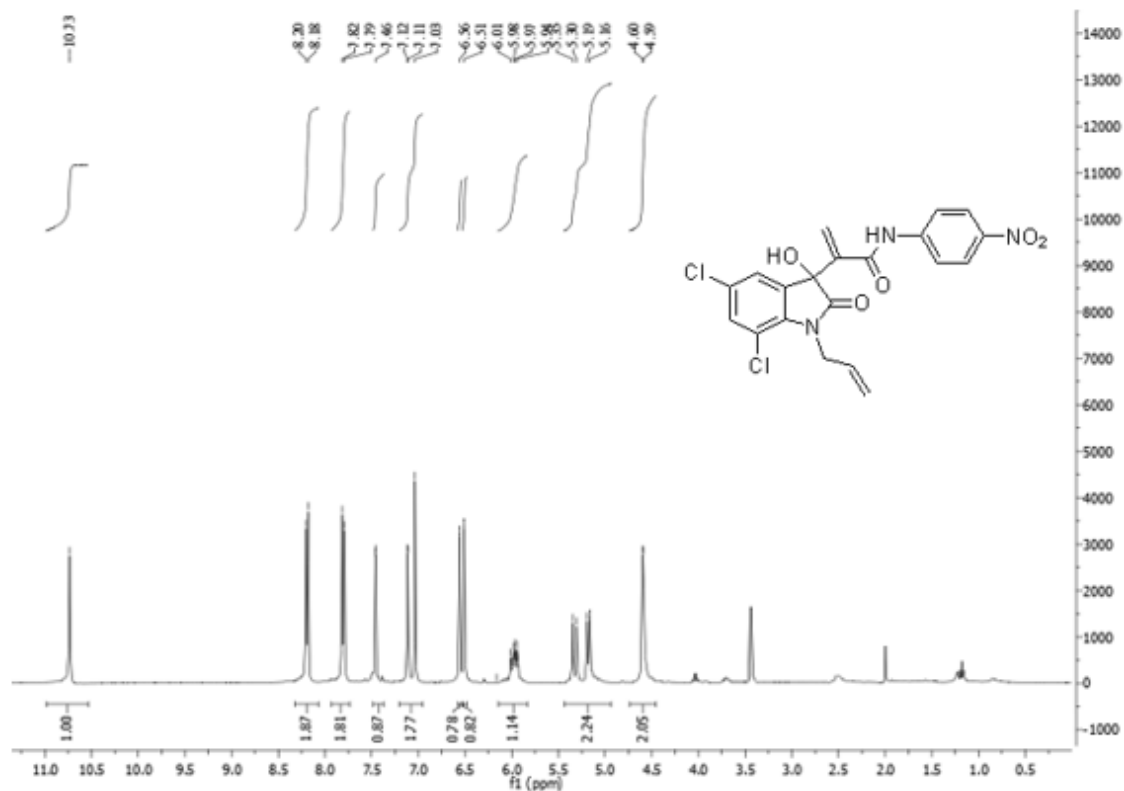
**Figura 56:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **5c**



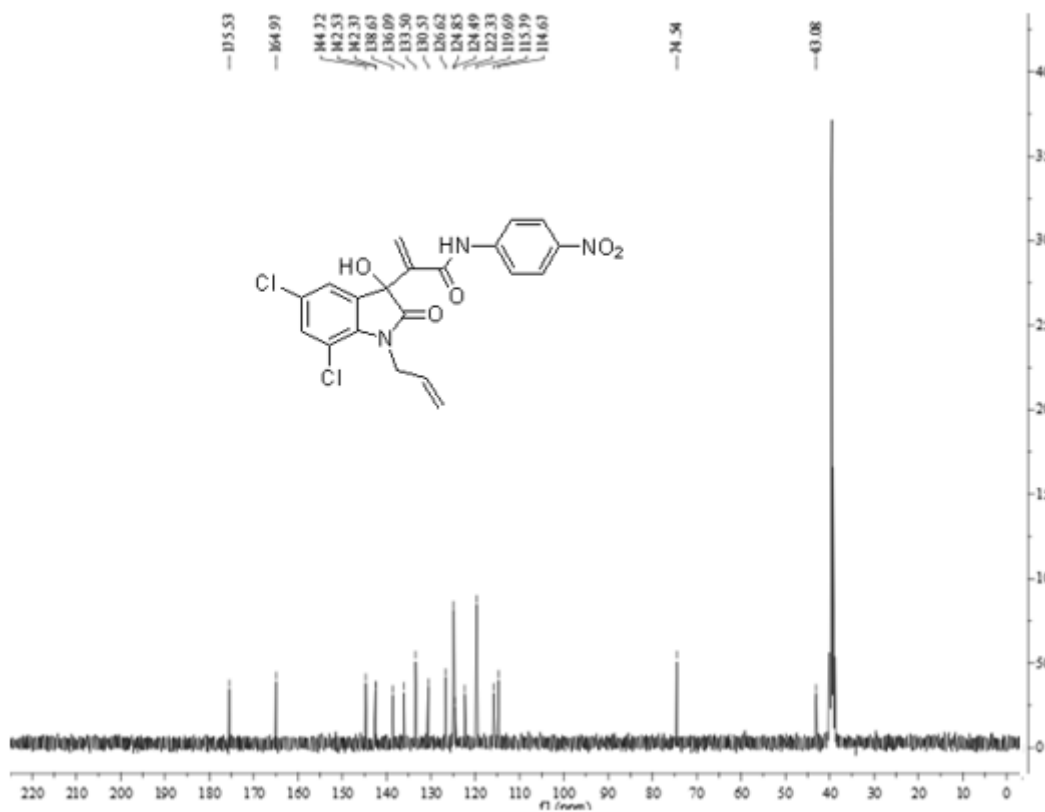
**Figura 57:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **5c**



**Figura 58:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **5d**



**Figura 59:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do aduto **5d**



**Figura 60:** Espectro de massas de alta resolução ESI(-) do aduto **5d**