



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO - NÍVEL DE MESTRADO EM QUÍMICA**

**Síntese, Avaliação Biológica e Modelagem Molecular de Bisarilas
Análogas de Compostos Antitubulínicos**

Camila Santos Suniga Tozatti

Orientador: Prof. Dr. Dênis Pires de Lima

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Curso de Mestrado em Química, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

**Campo Grande-MS
2010**

Síntese, Avaliação Biológica e Modelagem Molecular de Bisarilas Análogas de Compostos Antitubulínicos

Agradecimentos

A Deus, pois nada poderia ter sido feito sem o auxílio dele.

Ao meu grande amor (Hudson) meu companheiro, amigo e apoio para todas as horas, obrigado por tudo. Te amo.

Ao meu pai, que sempre se mostrou preocupado com minha formação, que sempre fez questão de que eu estudasse muito e que sempre se orgulhou muito de mim. Nunca se esqueça que você é responsável pela pessoa que sou hoje, foram vocês que me ajudaram a construir a minha vida. Também tenho muito orgulho de você.

À minha mãe, que sempre foi uma grande amiga, companheira constante nas horas difíceis e que sempre esteve presente, a cada minuto, com muitas orações. Obrigado mãe, você é fundamental na minha vida.

Ao meu orientador, Dr. Denis Pires de Lima, pela paciência e auxílio.

A professora Neusa Maria Mazzaro Somera pelo grande apoio e consideração, sendo para mim um grande exemplo de cidadã e de pessoa, pela educação e simplicidade com que lida com a vida.

Aos professores da banca por gentilmente aceitarem o convite

Ao professor Adilson Beatriz por me receber no laboratório e pela amizade.

Ao professor Marcos Serrou do Amaral, que se mostrou muito paciente e prestativo durante o desenvolvimento deste trabalho e que ajudou a resolver os percalços que normalmente surgem durante a pesquisa científica.

Aos meus amigos Edson, Ana Camila e Felícia, que sempre me ajudaram em todas as dificuldades, obrigado pela confiança, pelas lições de laboratório, e principalmente pela amizade. Desejo muito sucesso para vocês!

À minha grande amiga Rejane, que colaborou muito com este trabalho e que trouxe alegria e descontração para o laboratório.

Ao Everton por sempre me ajudar com seus grandes conhecimentos e com suas palavras abençoadas.

Ao Adriano por ser um grande amigo.

Aos meus amigos do departamento de física que me receberam com muito carinho: Marcão, Will e Danilo.

Ao governo brasileiro, representado pela CAPES, pelo apoio financeiro.

A todos os profissionais que colaboraram com este trabalho.

Índice geral

Item	Página
<u>Índice de tabelas</u>	X
<u>Índice de figuras</u>	XIV
<u>Índice de esquemas</u>	XX
<u>Índice de substâncias</u>	XXII
<u>Índice de espectros</u>	XXXI
<u>Índice de clusters</u>	XXXVII
<u>Resumo</u>	XXXIX
<u>Abstract</u>	XL
<u>Abreviaturas e símbolos</u>	XLI
<u>1.0. Introdução</u>	1
1.1. Câncer	1
1.2. Microtúbulos	2
1.3. Combretastatina	5
1.4. Modelagem molecular	8
<u>2.0. Objetivos</u>	11
<u>3.0. Resultados e discussão</u>	12
3.1. Síntese	12
3.1.1. Tentativas de obtenção de metanonas (difenilcetonas) através de reação de Acilação de Friedel-Crafts a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico	12

Item	Página
3.1.2. Tentativas de obtenção de metanonas (difencilcetonas) através de reação de Acilação de Friedel-Crafts a partir do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico	18
3.1.3. Tentativas de obtenção de benzoatos de fenila substituídos através de reação de esterificação a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico	25
3.1.4. Obtenção de benzoatos de fenila através de reação de esterificação a partir do ácido benzóico	32
3.1.5. Tentativas de obtenção de benzoatos de fenila substituídos através de reação de esterificação a partir do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico	35
3.1.6. Tentativas de obtenção de metanonas através do rearranjo de Fries	40
3.1.7. Tentativas de obtenção de tiometanonas	50
3.1.8. Tentativas de obtenção de hidrazonas e oximas	52
3.1.9. Discussão dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135	52
3.2. Estudos de modelagem molecular por <i>docking</i> e comparação do resultado teórico com o teste biológico	56
3.2.1. Estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>)	58
3.2.1.1. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante cristalográfico CN2	60
3.2.1.2. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 46	61
3.2.1.3. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 2	62
3.2.1.4. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 1	62
3.2.1.5. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 41	63
3.2.1.6. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 11	64
3.2.1.7. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 29	65

Item	Página
3.2.1.8. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 26	66
3.2.1.9. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 3	66
3.2.1.10. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 22	67
3.2.1.11. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 27	68
3.2.1.12. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 28	69
3.2.1.13. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 43	70
3.2.1.14. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) do ligante 45	71
3.2.1.15. Resultado do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) para os ligantes: 9, 21, 16, 17, 28, 44 e 42	72
3.2.1.16. Resultado geral para o estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>)	75
3.2.2. Resultados dos testes antitubulínicos	77
3.2.2.1. Concentração inibitória média	77
3.2.3. Comparação do resultado geral do estudo de ancoragem molecular (<i>docking</i>) com o resultado do teste antitubulínico	77
3.3. Análise conformacional	79
<u>4.0. Parte experimental</u>	90
4.1. Síntese	90
4.1.1. Material e métodos	90
4.1.2 Procedimentos experimentais	92
4.1.2.1. Obtenção de 2-Nitroanisol (8)	92
4.1.2.2. Obtenção de 2-Metoxifenol (7)	93

Item	Página
4.1.2.3. Obtenção de 3,4',5-Trimetoxibenzofenona (1)	94
4.1.2.4. Tentativa de obtenção de 4'-Metil 3,5-dimetoxibenzofenona (4)	95
4.1.2.5. Tentativa de obtenção de 3,4',5-Trimetoxi 3'-nitrobenzofenona (5)	96
4.1.2.6. Tentativa de obtenção de 3'-Hidroxi 3,4',5-trimetoxibenzofenona (6)	97
4.1.2.7. Obtenção de 3,5-Dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9)	98
4.1.2.8. Tentativa de obtenção de 3,5-Dimetoxibenzoato de 2-aminofenila (10)	99
4.1.2.9. Obtenção de 3,5-Dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11)	100
4.1.2.10. Tentativa de obtenção de 3,5-Dimetoxibenzoato de 2',4'-dinitrofenila (12)	101
4.1.2.11. Obtenção de Benzoato de 4-clorofenila (13)	102
4.1.2.12. Obtenção de Benzoato de fenila (14)	103
4.1.2.13. Tentativa de tionação de 3,4',5-Trimetoxibenzofenona visando a obtenção da 3,4',5-trimetoxitiobenzofenona (15)	104
4.1.2.14. Tentativa de tionação do éster Benzoato de 4-clorofenila visando à obtenção do tiobenzoato de 4-clorofenila (20)	105
4.1.2.15. Obtenção de 5-Cloro 2-hidroxibenzofenona (16)	106
4.1.2.16. Tentativa de obtenção de 2-Hidroxi 3',5'-dimetoxi 3-nitrobenzofenona (18)	107
4.1.2.17. Obtenção de 2-Hidroxibenzofenona (17)	108
4.1.2.18. Tentativa de obtenção de 2-Amino 3-clorobenzofenona (19)	109
4.1.2.19. Obtenção de 2-Hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (21)	110
4.1.2.20. Tentativa de obtenção de 3,5-Dimetoxibenzoato de fenila (24)	111

Item	Página
4.1.2.21. Tentativa de obtenção de 3,5-Dimetoxibenzoato de fenila (24)	112
4.1.2.22. Obtenção de 3,5-Dimetoxibenzoato de fenila (24)	113
4.1.2.23. Obtenção do éster 3,4,5-Trimetoxibenzoato de metila (30)	114
4.1.2.24. Obtenção do Ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31)	115
4.1.2.25. Obtenção do 3,4,5 Trimetoxicloreto de benzoíla (32)	115
4.1.2.26. Tentativa de obtenção do 4'-Hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (25)	116
4.1.2.27. Obtenção do 3,4,4',5-Tetrametoxibenzofenona (2)	117
4.1.2.28. Obtenção da 4'-Metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3)	118
4.1.2.29. Obtenção do 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29)	119
4.1.2.30. Obtenção do 3,4,5-Trimetoxibenzoato de fenila (28)	120
4.1.2.31. Obtenção do 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26)	121
4.1.2.32. Obtenção do 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27)	122
4.1.2.33. Obtenção da 2'-Hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22)	123
4.1.2.34. Tentativa de obtenção da 2'-Hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (41)	124
4.1.2.35. Tentativa de tionação da Benzofenona visando à obtenção da tiobenzofenona (36)	125
4.1.2.36. Tentativa de tionação da Benzofenona visando à obtenção da tiobenzofenona (36)	126
4.1.2.37. Tentativa de tionação da Benzofenona visando à obtenção da tiobenzofenona (36)	127
4.1.2.38. Tentativa de tionação da Benzofenona visando à obtenção da tiobenzofenona (36)	128

Item	Página
4.1.2.39. Tentativa de obtenção de 5-Cloro 2-hidroxibenzofenona hidrazona (40)	129
4.1.2.40. Tentativa de obtenção de Benzofenona hidrazona (37)	130
4.1.2.41. Tentativa de obtenção de Benzofenona oxima (38)	131
4.1.2.42. Tentativa de obtenção de 3,4,4',5 Tetrametóxibenzofenona oxima (39)	132
4.2. Modelagem molecular	133
4.2.1. Procedimentos experimentais	133
4.2.1.1. Preparação dos ligantes	134
4.2.1.2. Preparação do receptor	135
4.2.1.3. Execução do AutoDock	137
4.2.1.4. Validação da metodologia	137
4.3. Ensaios tubulínicos <i>in vitro</i>	137
4.3.1. Ensaio de ligação a tubulinas	137
<u>5.0. Conclusão</u>	139
<u>6.0. Referências</u>	140
<u>7.0. Seção de espectros</u>	145
7.1. 2-Nitroanisol (8)	145
7.2. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de metila (30)	147
7.3. Ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31)	149
7.4. 3,5-Dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9)	151

Item	Página
7.5. 3,5-Dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11)	154
7.6. Benzoato de 4-clorofenila (13)	157
7.7. Benzoato de fenila (14)	160
7.8. 3,5-Dimetoxibenzoato de fenila (24)	163
7.9. 3,4',5-Trimetoxibenzofenona (1)	166
7.10. 5-Cloro 2-hidroxibenzofenona (16)	171
7.11. 2-Hidroxibenzofenona (17)	176
7.12. 2-Hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxibenzofenona (21)	183
7.13. 3,4,4',5-Tetrametoxibenzofenona (2)	189
7.14. 4'-Metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3)	194
7.15. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de fenila (28)	199
7.16. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26)	204
7.17. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27)	209
7.18. 2'-Hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22)	214
7.19. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29)	220
7.20. 2'-Hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (41)	228
7.21. Benzofenona hidrazona (37)	228
8.0. <u>Seção de clusters</u>	229
8.1. 2-Mercapto-N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il) acetamida (CN2)	229

Item	Página
8.2. Fenstatina (46)	229
8.3. 3,4,4',5-Tetrametoxibenzofenona (2)	230
8.4. 3,4',5-Trimetoxibenzofenona (1)	230
8.5. 2'-Hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (41)	231
8.6. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de fenila (28)	231
8.7. 3,5-Dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11)	232
8.8. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29)	232
8.9. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26)	233
8.10. 4'-Metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3)	233
8.11. 2'-Hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22)	234
8.12. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27)	234
8.13. 3,4',5-Trimetoxitiobenzofenona (43)	235
8.14. 2'-Hidroxi 3,4,5-trimetoxitiobenzofenona (45)	235
8.15. 3,5-Dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9)	236
8.16. 2-Hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (21)	236
8.17. 5-Cloro 2-hidroxibenzofenona (16)	237
8.18. 2-Hidroxibenzofenona (17)	237
8.19. 2-Hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (44)	238
8.20. 3,4,4',5-Tetrametoxibenzofenona hidrazona (42)	238
8.21. 3,4,5-Trimetoxibenzoato de fenila (28)	239

Índice de tabelas

Número da tabela	Título da tabela	Página
1	Análogos da CA4 com grupo espaçador (A) não cíclico e suas atividades antitubulínica relativas a CA4	7
2	Reações feitas nas tentativas de obtenção de metanonas através de reação de Acilação de Friedel-Crafts apartir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico	13
3	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 2-nitro anisol (8). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	14
4	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 2-metoxifenol (7). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	14
5	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	17
6	Dados da literatura de deslocamentos químicos (ppm) Apresentados para o 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	18
7	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	19
8	Dados da literatura para deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	20
9	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	21
10	Dados da literatura para deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	21

Número da tabela	Título da tabela	Página
11	Reações feitas na tentativa de obtenção de metanonas a partir do 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla (32)	23
12	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	23
13	Dados da literatura para deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e o sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	24
14	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 4'-metil-3,4,5-trimetoxibenzofenona (3). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	25
15	Reações para a obtenção de benzoatos de fenila, partindo-se do ácido 3,5-dimetoxibenzóico	27
16	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil-fenila (9). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	27
17	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	28
18	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	30
19	Reações feitas nas tentativas de obtenção de ésteres a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com fenol em meio de AlCl_3 e ZnCl_2	31
20	Reações feitas para obtenção dos ésteres 13 e 14 a partir do ácido benzóico	33
21	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o benzoato de fenila (14). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	33

Número da tabela	Título da tabela	Página
22	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o benzoato de 4-clorofenila (13). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	34
23	Reações para a obtenção de benzoatos de fenila, partindo-se do 3,4,5-Trimetoxicloreto de benzoila (32)	35
24	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	37
25	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	38
26	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metil fenila (26). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	39
27	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	40
28	Rearranjos de Fries de benzoatos de fenila ou benzamidas substituídos na tentativa de obtenção de metanonas	42
29	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	43
30	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 2-hidroxibenzofenona (17). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	45
31	Dados da literatura para deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 2-hidroxibenzofenona (17). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.	45

Número da tabela	Título da tabela	Página
32	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (21) . O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	47
33	Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna	48
34	Tentativas de obtenção de tiometanonas	50
35	Resultado do <i>docking</i> dos ligantes contruídos e do ligante cristalográfico CN2.	60
36	Concentração inibitória média	77
37	Resultado geral para todos os ligantes estudados	78

Índice de figuras

Número da figura	Título da figura	Página
1	Exemplos de alguns VDAs (do inglês: vascular disrupting agents)	5
2	Estrutura molecular da CA4P (combretastatina A4P), CA4 (combretastatina A4) e da Colchicina	6
3	Estrutura da Fenstatina	6
4	Estrutura da RR07	8
5	Derivados do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico e do ácido 3,5-dimetoxibenzóico	53
6	Cetonas sintetizadas através do rearranjo de Fries	55
7	Ésteres derivados do ácido benzóico	56
8	Ligantes propostos e estudados apenas por <i>docking</i> molecular	57
9	Ligantes sintetizados, analisados por meio de ensaio biológico e estudados por <i>docking</i> molecular	58
10	Representação esquemática da proximidade do ligante cristalográfico CN2 (verde) com a fenstatina – 46 (vermelho)	59
11	Representação esquemática das potenciais interações entre o ligante cristalográfico (CN2) e resíduos da β-tubulina	61
12	Representação esquemática das potenciais Interações entre o ligante construído (46) e resíduos da β-tubulina	61
13	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 2 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 2 e resíduos da β-tubulina (B)	62
14	Representação da potencial superposição entre o ligante construído fenstatina - 46 (vermelho) e o ligante construído 1 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 1 e resíduos da β-tubulina (B)	63

Número da figura	Título da figura	Página
15	Representação da potencial superposição entre o ligante construído 41 (azul) e o ligante cristalográfico CN2 (verde) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 41 e resíduos da β-tubulina (B)	64
16	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 11 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 11 e resíduos da β-tubulina (B)	65
17	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído 29 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 29 e resíduos da β-tubulina (B)	65
18	Representação da potencial superposição entre o ligante Cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante Construído 26 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais Interações entre o ligante construído 26 e resíduos da β-tubulina (B)	66
19	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 3 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 3 e resíduos da β-tubulina (B)	67
20	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 22 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 22 e resíduos da β-tubulina (B)	68
21	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído 27 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 27 e resíduos da β-tubulina (B)	69
22	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 28 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 28 e resíduos da β-tubulina (B)	69

Número da figura	Título da figura	Página
23	Representação da potencial superposição entre o ligante 2 (amarelo) e o ligante 43 (azul)	70
24	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina - 46 (vermelho) e o ligante construído 43 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 43 e resíduos da β -tubulina (B)	71
25	Representação da potencial superposição entre o ligante 41 (amarelo) e o ligante 45 (azul)	72
26	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 45 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 45 e resíduos da β -tubulina (B)	72
27	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 9 (azul)	73
28	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído 21 (azul)	73
29	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído 16 (azul)	74
30	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 17 (azul)	74
31	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 44 (azul)	75
32	Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 42 (azul)	75
33	Representação da potencial superposição entre o ligante 41 (amarelo) e o ligante 45 (azul)	76
34	Alguns exemplos de átomos usados para a formação do ângulo diedro, os átomos estão indicados com os números 1, 2, 3 e 4	79

Número da figura	Título da figura	Página
35	Conformação para o ligante 22 com ângulo diedro de 310° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	80
36	Conformação para o ligante 1 com ângulo diedro de 290° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	80
37	Conformações para o ligante 16 com ângulos diedros de 270° e 90° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	81
38	Conformação para o ligante 21 com ângulo diedro de 320° e gráfico do Ângulo diedro versus a energia da conformação	81
39	Conformação para o ligante 29 com ângulo diedro de 190° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	82
40	Conformação para o ligante 27 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	82
41	Conformação para o ligante 42 com ângulos diedros de 50° e 330° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	83
42	Conformação para o ligante 2 com ângulo diedro de 90° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	83
43	Conformação para o ligante 45 com ângulo diedro de 120° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	84
44	Conformação para o ligante 3 com ângulo diedro de 280° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	84
45	Conformação para o ligante 11 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	85
46	Conformações para o ligante 17 com ângulos diedros e 100° e 250° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	85

Número da figura	Título da figura	Página
47	Conformação para o ligante 28 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	86
48	Conformação para o ligante 26 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	86
49	Conformação para o ligante 40 com ângulos diedros de 180° e 50° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	87
50	Conformação para o ligante 44 com ângulo diedro de 30° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	87
51	Conformação para o ligante 43 com ângulo diedro de 120° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	88
52	Conformação para o ligante 41 com ângulo diedro de 220° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	88
53	Conformação para o ligante 24 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	89
54	Conformação para o ligante 9 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação	89
55	Fenstatina, 2-mercapto-N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida (CN2) e N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida (colchicina)	133

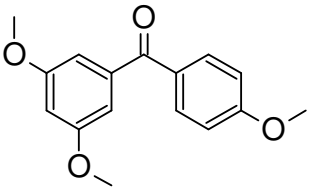
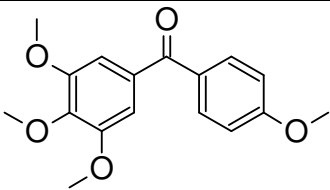
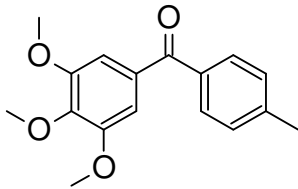
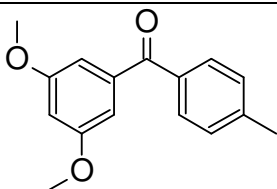
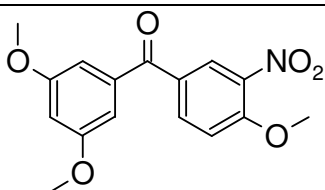
Número da figura	Título da figura	Página
56	Ligantes estudados por docking molecular	134
57	Rede elaborada sobre a região onde se encontra o sítio ativo da β-tubulina	135
58	Resíduos reconstruídos pelo programa SPDBView da cadeia B	136

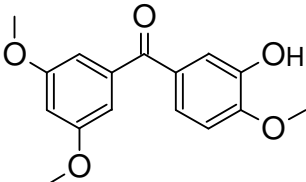
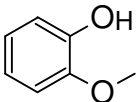
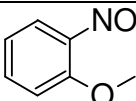
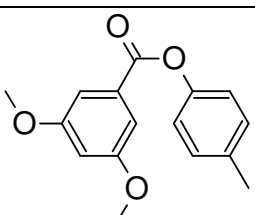
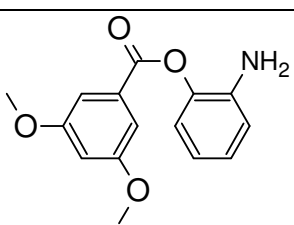
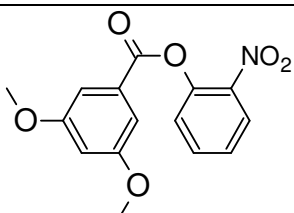
Índice do esquema

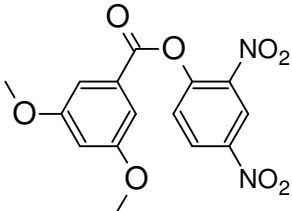
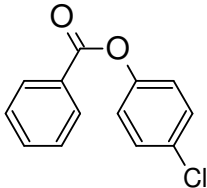
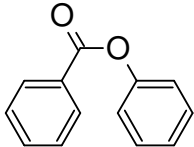
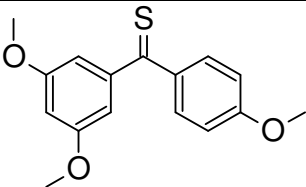
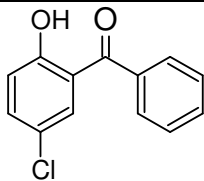
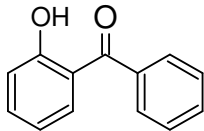
Número do esquema	Título do esquema	Página
1	Protocolo geral de preparação de metanonas (difencilcetonas) a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico	12
2	Resultado teórico para a formação do cloreto de acila do ácido 3,5-dimetoxibenzóico	15
3	Resultado teórico da acilação de Friedel-Crafts para o ácido 3,5-dimetoxibenzóico	16
4	Protocolo geral de preparação de 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoila (32)	19
5	Protocolo geral de preparação de metanonas (difencilcetonas) através de reação de Acilação de Friedel-Crafts a partir do 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoila (32)	22
6	Protocolo geral de preparação de benzoatos de fenila substituídos, a partir do ácido 3,5-dimetóxibenzóico	26
7	Resultado teórico da esterificação do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com o composto aromático 4-metil-fenol para a formação de 9	28
8	Protocolo geral de preparação de 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24), a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com fenol	29
9	Mecanismo proposto para a esterificação do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com o fenol em meio de AlCl_3 e ZnCl_2	32
10	Protocolo geral da preparação de benzoatos de fenila, a partir do ácido	32

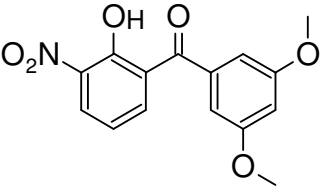
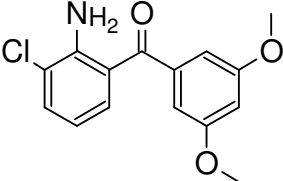
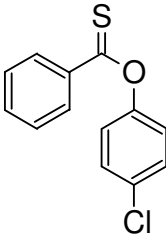
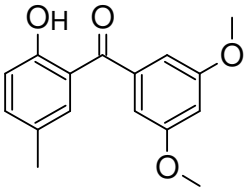
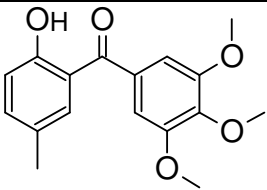
Número do esquema	Título do esquema	Página
11	Protocolo geral de preparação de benzoatos de fenila substituídos, a partir do cloreto de ácido 3,4,5-trimetóxi benzóico (32	35
12	Protocolo geral de preparação de metanonas (difenilcetonas) a partir do rearranjo de Fries	41
13	Resultado teórico da reação de tionação com o reagente de Lawesson	51
14	Protocolo geral de preparação de hidrazonas e oximas	52
15	Protocolo para indicar a semelhança do produto 41 metoxilado na posição 4' com a fentatina	76

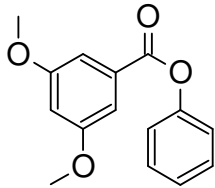
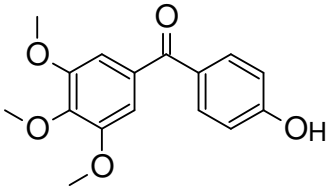
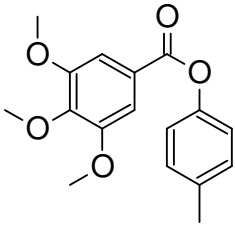
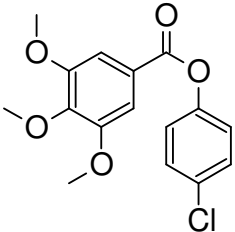
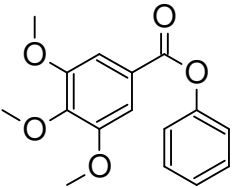
Índice de substâncias

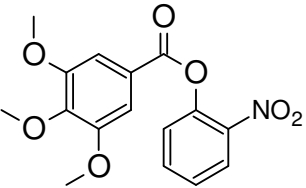
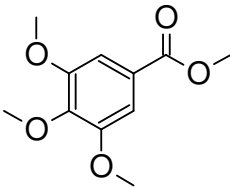
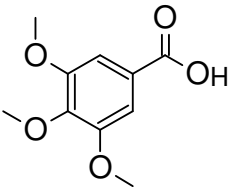
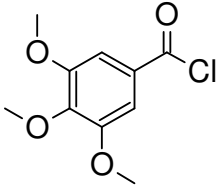
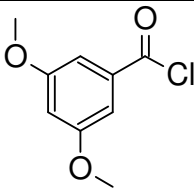
Substância	Páginas
	94; 12; 17; 62; 80; 166; 167; 168; 169; 170; 230
(1): 3,4',5-trimetoxibenzofenona	
	117; 22; 23; 62; 83 ;189; 190; 191; 192; 193; 230
(2): 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona	
	118; 22; 25; 66; 84 ;194; 195; 196; 197; 198; 233
(3): 4'-metil-3,4,5-trimetoxibenzofenona	
	95; 12
(4): 4'-metil-3,5-dimetoxibenzofenona	
	96; 12
(5): 3,4',5-trimetoxi-3'-nitrobenzofenona	

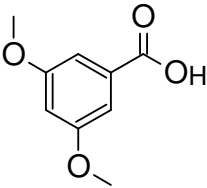
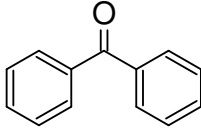
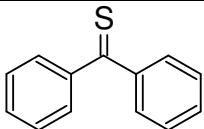
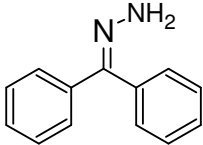
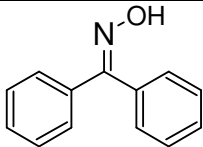
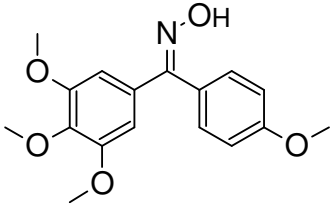
Substância	Páginas
	97; 12
(6): 3-hidroxi-3',4,5'-trimetoxibenzofenona	
	93; 14
(7): 2-metoxifenol	
	92; 13; 145; 146
(8): 2-nitroanisol	
	98;26; 27; 72; 89; 151; 152; 153; 236
(9): 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila	
	99; 26
(10): 3,5-dimetoxibenzoato de 4-amino fenila	
	100; 26; 28; 64; 85; 154; 155; 156; 232
(11): 3,5-dimetoxibenzoato de 4-nitro fenila	

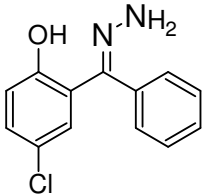
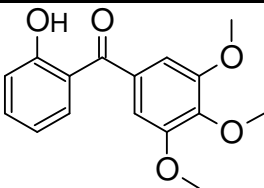
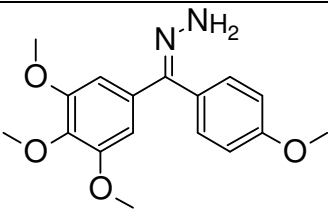
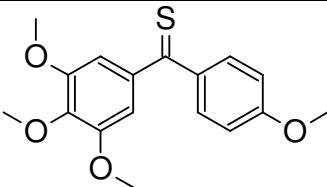
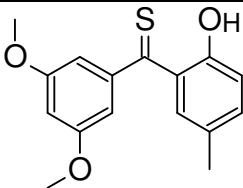
Substância	Páginas
	101; 26
(12): 3,5-dimetoxibenzoato de 2,4-dinitro fenila	
	102; 32; 34; 157; 158; 159
(13): benzoato de 4-clorofenila	
	103; 32; 33; 160; 161; 162
(14): benzoato de fenila	
	104
(15): 3,4',5-trimetoxitiobenzofenona	
	106;41; 43; 72; 81; 171; 172; 173; 174; 175; 237
(16): 5-cloro 2-hidroxibenzofenona	
	108; 41; 45; 72; 85.;176; 177; 178; 179; 180; 181; 182; 237
(17): 2-hidroxibenzofenona	

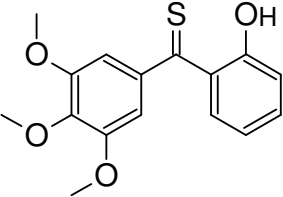
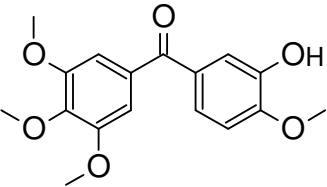
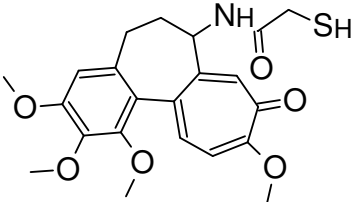
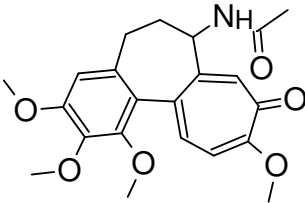
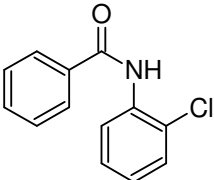
Substância	Páginas
	107; 41
(18): 2-hidroxi 3',5'-dimetoxi 3-nitrobenzofenona	
	109; 41
(19): 2-amino 3-cloro 3',5'-dimetoxibenzofenona	
	105
(20): tiobenzoato de 4-clorofenila	
	110; 41; 47; 72; 81; 183; 184; 185; 186 ;187; 188; 236
(21): 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetoxibenzofenona	
	123; 41; 48; 67; 80; 214; 215; 216; 217; 218; 219; 234
(22): 2-hidroxi 5-metil 3',4',5'-trimetoxibenzofenona	

Substância	Páginas
	111; 112; 113; 29; 30; 89; 163; 164; 165
(24): 3,5-dimetoxibenzoato de fenila	
	116; 22
(25): 4'-hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona	
	121; 35; 39; 66; 86; 204; 205; 206; 207; 208; 233
(26): 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metil fenila	
	122; 35; 37; 68; 82; 209; 210; 211; 212; 213; 234
(27): 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-cloro fenila	
	120; 35; 38; 69; 72; 86; 199; 200; 201; 202; 203; 231; 239
(28): 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila	

Substância	Páginas
 (29): 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila	119; 29; 35; 40 ;65; 82; 220; 221; 222; 223; 224; 225; 226; 227; 232
 (30): 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila	114; 19; 147; 148
 (31): ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico	115; 19; 21; 149; 150
 (32): 3,4,5-trimetoxi-cloreto de benzoíla	115; 19;
 (33): 3,5-dimetoxi-cloreto de benzoíla	12; 29; 94; 95; 96; 97; 98; 99; 100; 101; 111; 112; 113

Substância	Páginas
	12; 29; 94; 95; 96; 97; 98; 99; 100; 101; 111; 112; 113
(34): ácido 3,5-dimetoxibenzóico	
	48- 50, 67, 68, 70, 72, 73, 79- 83, 88- 90, 97, 98 e 124-129
(35): benzofenona	
	125; 126; 127; 128
(36): tiobenzofenona	
	130; 52; 228
(37): benzofenona hidrazona	
	131; 52
(38): benzofenona oxima	
	132; 52
(39): 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona oxima	

Substância	Páginas
	129; 52; 87
(40): 5-cloro 2-hidroxibenzofenona hidrazona	
	124; 41; 63; 88 ; 228; 231
(41): 2-hidroxi 3',4',5'-trimetoxibenzofenona	
	72; 83; 238
(42): 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona hidrazona	
	70; 88; 235
(43): 3,4,4',5-tetrametoxitiobenzofenona	
	72; 87; 238
(44): 2'-hidroxi 5'-metil 3,5-dimetoxitiobenzofenona	

Substância	Páginas
	71; 84; 235
(45): 2'-hidroxi 3,4,5-trimetoxitiobenzofenona	
	59; 61; 229
(46): 3'-hidroxi 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona	
	59; 60; 229
(47): 2-mercapto-N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida	
	5
(48): N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida	
	41
(49): N-2-clorofenil benzamida	

Índice de espectros

Número do espectro	Título do espectro	Página
1	Espectro 1: RMN de ^1H do 2-nitroanisol (8) em CDCl_3	145
2	Espectro 2: RMN de ^{13}C do 2-nitroanisol (8) em CDCl_3	146
3	Espectro 3: RMN de ^1H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30) em CDCl_3	147
4	Espectro 4: RMN de ^{13}C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30) em CDCl_3	148
5	Espectro 5: RMN de ^1H do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31) em CDCl_3	149
6	Espectro 6: RMN de ^{13}C do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31) em CDCl_3	150
7	Espectro 7: RMN de ^1H do 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9) em CDCl_3	151
8	Espectro 8: RMN de ^{13}C do 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9) em CDCl_3	152
9	Espectro 9: DEPT-135° do 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9) em CDCl_3	153
10	Espectro 10: RMN de ^1H do 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11) em CDCl_3	154
11	Espectro 11: RMN de ^{13}C do 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11) em CDCl_3	155
12	Espectro 12: DEPT-135° do 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11) em CDCl_3	156
13	Espectro 13: RMN de ^1H do benzoato de 4-clorofenila (13) em CDCl_3	157
14	Espectro 14: RMN de ^{13}C do benzoato de 4-clorofenila (13) em CDCl_3	158

Número do espectro	Título do espectro	Página
15	Espectro 15: DEPT-135° do benzoato de 4-clorofenila (13) em CDCl ₃	159
16	Espectro 16: RMN de ¹ H do benzoato de fenila (14) em CDCl ₃	160
17	Espectro 17: RMN de ¹³ C do benzoato de fenila (14) em CDCl ₃	161
18	Espectro 18: DEPT-135° do benzoato de fenila (14) em CDCl ₃	162
19	Espectro 19: RMN de ¹ H do 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) em CDCl ₃	163
20	Espectro 20: RMN de ¹³ C do 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) em CDCl ₃	164
21	Espectro 21: DEPT-135° do 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) em CDCl ₃	165
22	Espectro 22: RMN de ¹ H do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) em CDCl ₃	166
23	Espectro 23: RMN de ¹³ C do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) em CDCl ₃	167
24	Espectro 24: DEPT-135° do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) em CDCl ₃	168
25	Espectro 25: Espectro de Massas do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1)	169
26	Espectro 26: HMBC do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) em CDCl ₃	170
27	Espectro 27: RMN de ¹ H do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl ₃	171
28	Espectro 28: RMN de ¹³ C do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl ₃	172
29	Espectro 29: DEPT-135° do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl ₃	173
30	Espectro 30: Espectro de Massas do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16)	173

Número do espectro	Título do espectro	Página
31	Espectro 31: Ampliação do HMBC do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl_3	174
32	Espectro 32 HMQC do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl_3	175
33	Espectro 33: RMN de ^1H do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3	176
34	Espectro 34: RMN de ^{13}C do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3	177
35	Espectro 35: DEPT-135° do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3	178
36	Espectro 36: Espectro de Massas do 2-hidroxibenzofenona (17)	179
37	Espectro 37: Ampliação do HMBC do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3	180
38	Espectro 38: Ampliação do HMBC do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3	181
39	Espectro 39: HMQC do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3	182
40	Espectro 40: RMN de ^1H do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetoxibenzofenona (21) em CDCl_3	183
41	Espectro 41: RMN de ^{13}C do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetoxibenzofenona (21) em CDCl_3	184
42	Espectro 42: DEPT -135° do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetoxibenzofenona (21) em CDCl_3	185
43	Espectro 43: Espectro de Massas do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxibenzofenona (21)	186
44	Espectro 44: HMBC do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxibenzofenona (21) em CDCl_3	187
45	Espectro 45: HMQC do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxibenzofenona (21) em CDCl_3	188
46	Espectro 46: RMN de ^1H do 3,4, 4',5'-tetrametoxibenzofenona (2) em CDCl_3	189

Número do espectro	Título do espectro	Página
47	Espectro 47: RMN de ^{13}C do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2) em CDCl_3	190
48	Espectro 48: DEPT-135° do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2) em CDCl_3	191
49	Espectro 49: Espectro de Massas do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2)	192
50	Espectro 50: HMBC do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2) em CDCl_3	193
51	Espectro 51: RMN de ^1H do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) em CDCl_3	194
52	Espectro 52: RMN de ^{13}C do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) em CDCl_3	195
53	Espectro 53: DEPT-135° do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) em CDCl_3	196
54	Espectro 54: Espectro de Massas do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3)	197
55	Espectro 55: HMBC do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) em CDCl_3	198
56	Espectro 56: RMN de ^1H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) em CDCl_3	199
57	Espectro 57: RMN de ^{13}C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) em CDCl_3	200
58	Espectro 58: DEPT-135° do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) em CDCl_3	201
59	Espectro 59: Espectro de Massas do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28)	202
60	Espectro 60: HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) em CDCl_3	203
61	Espectro 61: RMN de ^1H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) em CDCl_3	204
62	Espectro 62: RMN de ^{13}C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) em CDCl_3	205
63	Espectro 63: DEPT-135° do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) em CDCl_3	206
64	Espectro 64: Espectro de Massas do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26)	207
65	Espectro 65: HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) em CDCl_3	208

Número do espectro	Título do espectro	Página
66	Espectro 66: RMN de ^1H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) em CDCl_3	209
67	Espectro 67: RMN de ^{13}C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) em CDCl_3	210
68	Espectro 68: DEPT-135° do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) em CDCl_3	211
69	Espectro 69: Espectro de Massas do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27)	212
70	Espectro 70: HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) em CDCl_3	213
71	Espectro 71: RMN de ^1H do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl_3	214
72	Espectro 72: RMN de ^{13}C do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl_3	215
73	Espectro 73: DEPT-135° do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl_3	216
74	Espectro 74: Espectro de Massas do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22)	217
75	Espectro 75: HMBC do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl_3	218
76	Espectro 76: HMQC do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl_3	219
77	Espectro 77: RMN de ^1H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl_3	220
78	Espectro 78: RMN de ^{13}C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl_3	221
79	Espectro 79: DEPT-135° do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl_3	222

Número do espectro	Título do espectro	Página
80	Espectro 80: Espectro de Massas do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29)	223
81	Espectro 81: HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl₃	224
82	Espectro 82: Ampliação do HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila em CDCl₃	225
83	Espectro 83: HMQC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl₃	226
84	Espectro 84: Ampliação do HMQC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl₃	227
85	Espectro 85: Espectro de Massas do 2'-hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (41)	228
86	Espectro 86: Espectro de Massas do benzofenona hidrazona (37)	228

Índice de clusters

Número do cluster	Título do cluster	Página
1	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante CN2 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	229
2	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 46 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	229
3	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 2 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	230
4	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 1 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	230
5	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 41 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	231
6	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 28 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	231
7	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 11 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	232
8	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 29 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	232
9	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 26 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	233
10	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 3 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	233
11	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 22 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	234
12	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 27 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	234
13	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 43 dentro do sítio ativo da β-tubulina versus a energia da ligação.	235

Número do cluster	Título do cluster	Página
14	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 45 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.	235
15	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 9 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.	236
16	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 21 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.	236
17	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 16 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.	237
18	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 17 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.	237
19	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 44 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.	238
20	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 42 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.	238
21	Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 28 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.	239

Resumo

A combretastatina A4 fosfato (CA4P) é uma pró-droga que, por desfosforilação *in vivo*, produz a combretastatina A4 (CA4), um produto natural isolado da casca da árvore africana *Combretum caffrum* (Combretaceae) que atua como um inibidor da polimerização da tubulina. A CA4P diminui a vascularização abaixo de um décimo da tolerância máxima por dose, e tem sido combinada com outras terapias ou utilizada de forma única. Em testes clínicos estão sendo observados menores efeitos colaterais e a redução do fluxo de sangue para o tumor. A Fenstatina (3,4,5-trimetoxi 2'-hidroxi 4'-metoxibenzofenona) descoberta por acaso por Pettit e colaboradores em 1998, é um análogo da combretastatina e tem uma atividade antitubulínica comparável com CA4 e atividade citotóxica ligeiramente menor.

Essas substâncias chamadas de VDAs (do inglês: vascular disrupting agents), trabalham para destruir o endotélio do tumor, resultando na morte das suas células por falta de oxigênio e nutrientes, e bloqueiam o transporte de sangue para novos capilares, causando a estabilização do tumor.

O presente trabalho visa à síntese total de análogos da fenstatina (metanonas e ésteres), a realização de testes antitubulínicos *in vitro* e a comparação dos resultados de atividade biológica *in vitro* com resultados obtidos *in silico*, oriundos de simulações computacionais, por docking molecular.

Um conjunto de 20 bisarilas foi submetido aos estudos de modelagem molecular com a estrutura cristalográfica da β -tubulina, dentre estes 20 ligantes, 13 foram sintetizados e analisados também através de teste antitubulínicos *in vitro* pelo *National Câncer Institute* em Frederik, Maryland nos EUA, onde foram realizados testes com a proteína tubulina isolada.

A metodologia empregada para a execução do docking mostrou-se eficiente, apresentando resultados compatíveis com os obtidos no teste *in vitro*.

Foram sintetizados neste trabalho 16 bisarilas, das quais cinco são inéditas e apenas duas já foram testadas em teste antitubulínico *in vitro*, todas as demais substâncias ainda não haviam sido testadas quanto à atividade antitubulínica *in vitro* e nenhuma substância do trabalho já havia sido testada quanto à atividade antitubulínica *in silico*.

Abstract

Combretastatin A4 Phosphate (CA4P) is a prodrug, which dephosphorylates *in vivo* to give combretastatin A4 (CA4), a natural product isolated from *Combretum caffrum* (Combretaceae), that inhibits tubulin polymerization. The CA4P decreases vascularization, and has been combined with other therapies or used as monotherapy. Minor side effects and reduced blood flow to the tumor are observed in clinical trials. Phenstatin (3,4,5-trimethoxy 2'-hydroxy 4'-methoxybenzophenone), discovered by chance by Pettit and coworkers in 1998, is an analogue of combretastatin and has antitubulin activity comparable to CA4, although slightly cytotoxic activity.

These substances, called vascular disrupting agents (VDAs), destroy the tumor endothelium, resulting in cells death for lack of oxygen and nutrients, and block blood transport for new capillaries, causing tumor stabilization.

This work aimed the total synthesis of phenstatin analogues (methanones and esters) for antitubulin testing *in vitro*. Results were compared with data derived from computer simulations by molecular docking.

Twenty bisaryls were subjected to molecular modeling studies with the crystal structure of β -tubulin. Among these twenty binders, thirteen were also synthesized and tested for *in vitro* test antitubulin on the National Cancer Institute, in Frederick, Maryland USA, where tests were performed with the isolated tubulin. The docking methodology was efficient, with results consistent with those obtained for *in vitro* evaluation of antitubulin activity.

In this work we describe the synthesis of sixteen bisaryls, five of them are new compounds and only two already have been tested for *in vitro* antitubulin activity. Molecular modeling results for all assayed substances are described for the first time.

Abreviaturas e símbolos

δ: deslocamento químico

AcOEt: acetato de etila

CCD: cromatografia em camada delgada

CDCl₃: clorofórmio deuterado

d: dubleto

dd: duplo dubleto

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

DMSO: dimetil sulfóxido

EM: Espectrometria de Massas

g: grama (medida de massa); **μg**: micrograma (10⁻⁶g); **mg**: miligrama (10⁻³g)

HMBC: heteronuclear multiple-bond connectivity

HSQC: heteronuclear single quantum coherence

Hz: Hertz

J: constante de acoplamento

m: multipeto

MHz: megahertz

mL: mililitro (medida de volume)

mM: milimolar (medida de concentração)

ppm: partes por milhão

q: quarteto

RMN de ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13

RMN de ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

s: singleto

sl: singleto largo

t: tripleto

PDB: *Protein Data Bank*

ALA: Alanina

GLY: Glicina

Arg: Arginina

ASN: Asparagina

LEU: Leucina

CYS: Cisteína

LEU: Leucina

VAL: Valina

MET: Metionina

t.a : Temperatura ambiente

M.P : Material de partida

Net₃ : Trietilamina

1.0 Introdução

1.1. Câncer

O corpo dos animais funciona como uma sociedade ou ecossistema cujos integrantes são as células, que se reproduzem por divisão celular e organizam-se em conjuntos que colaboram entre si (os tecidos). Cada célula comporta-se de uma maneira socialmente responsável, repousando, dividindo-se, diferenciando-se ou morrendo, quando necessário para o bem estar do organismo. As alterações moleculares que perturbam esta harmonia são problemáticas para a sociedade multicelular (ALBERTS *et al.*, 2004).

A cada dia, em cada corpo humano, bilhões de células sofrem mutações que podem desregular os controles sociais. Mais perigoso ainda, uma mutação pode dar certa vantagem seletiva para uma célula, possibilitando que ela se divida mais vigorosamente que suas vizinhas e venha se tornar a fundadora de um clone mutante que passa a crescer, originando então o câncer, uma doença na qual certos clones mutantes de algumas células passam a prosperar à custa das células vizinhas e, ao fim, leva à completa destruição da sociedade celular (ALBERTS *et al.*, 2004; SOUZA, 2004).

A célula cancerosa é definida por duas propriedades hereditárias: ela e sua descendência (1) reproduzem-se desobedecendo os limites normais da divisão celular e (2) invadem e colonizam regiões normalmente destinadas à outra célula. É a combinação destas duas atividades que faz com o que o câncer seja particularmente perigoso. Uma célula anormal isolada que não prolifere além das suas vizinhanças normais não causa danos significativos, independentemente de qualquer outra propriedade desagradável que ela possa ter. Se, entretanto, sua proliferação estiver fora de controle, ela dará início a um tumor, ou neoplasia, ou seja, uma massa compacta de células anormais continuamente em crescimento. Entretanto, desde que as células neoplásicas permaneçam agregadas formando uma massa única, o tumor é dito ser **benigno**. Normalmente, neste estágio é possível haver cura completa pela remoção cirúrgica da massa. Um tumor é considerado um câncer apenas se for **maligno**, isto é, somente se suas células tiverem adquirido a capacidade de invadir os tecidos adjacentes. Geralmente a invasividade implica na capacidade de desagregação, penetração na corrente sanguínea ou nos vasos linfáticos e formação de tumores secundários, denominados **metástases**, em outros locais do corpo (ALBERTS *et al.*, 2004).

Para que um tumor tenha um bom crescimento, ele, além de todos estes mecanismos, deve conseguir um suprimento de sangue adequado. Assim, para que os tumores primários e os tumores metastáticos cresçam é necessário haver angiogênese, isto é, deve haver a formação de novos vasos sanguíneos. Os tecidos normais têm mecanismos automáticos para atrair e aumentar o suprimento de sangue quando

necessário, e muitos tumores, por outro lado, conseguem um crescimento muito rápido por alterar ou aumentar a produção de sinais angiogênicos. Os novos vasos sanguíneos fornecem nutrientes e oxigênio ao tumor e também podem fornecer um caminho de escape mais fácil para as células metastáticas (ALBERTS *et al.*, 2004).

São mais de 100 tipos de cânceres relatados até o momento e classificados de acordo com o órgão ou tecido atingido e pelos tipos de alterações metabólicas que provocam. Da mesma forma, existem vários tratamentos para os diferentes tipos de tumores (cirurgia, terapia hormonal, radioterapia, quimioterapia e outros). Além do tipo de tumor, outro fator essencial para a escolha do tratamento é o estágio em que o tumor se encontra (AMERICAN CANCER SOCIETY).

Um dos métodos mais amplamente utilizados no tratamento de cânceres é a quimioterapia, que consiste no uso de fármacos para destruir células cancerosas. Existem mais de 50 diferentes tipos de drogas quimioterápicas que podem ser ministradas isoladamente, ou mais freqüentemente de forma combinada, processo conhecido como combinação quimioterápica. O tipo de tratamento que é dado a um indivíduo depende de muitos fatores, tais como o tipo de câncer, tecido de origem, aspecto histopatológico e presença ou ausência de metástase (AMERICAN CANCER SOCIETY).

Drogas quimioterápicas interferem na capacidade de divisão e crescimento de uma célula cancerosa. As drogas quimioterápicas são absorvidas por células em divisão, incluindo células normais. Células saudáveis podem reparar os danos causados pelos quimioterápicos, mas as células cancerosas não o fazem e, eventualmente, morrem. Se uma combinação de drogas é usada, cada droga é escolhida devido aos seus diferentes efeitos. Infelizmente, como estes agentes podem também afetar algumas células normais no organismo, eles podem causar efeitos colaterais indesejáveis. Contudo, o dano às células normais é temporário e muitos destes efeitos desaparecem no final do tratamento. A quimioterapia deve ser cuidadosamente planejada de forma a destruir eficientemente as células tumorais durante o tratamento, e ao mesmo tempo causar efeitos colaterais mínimos sobre as células normais (AMERICAN CANCER SOCIETY).

O câncer é responsável pela morte de mais de 4 milhões de pessoas por ano em todo o mundo. No Brasil as estimativas para o ano de 2008 e 2009, apontam que ocorreram 466.730 casos novos de câncer, sendo 231.860 casos novos para o sexo masculino e 234.870 para o sexo feminino (INCA, 2007).

1.2. Microtúbulos

Os microtúbulos são filamentos do citoesqueleto presentes em quase todas as células eucarióticas, caracterizam-se pelo seu aspecto tubular e por serem notavelmente retilíneos e uniformes, além de apresentarem uma configuração em anel. Os microtúbulos são polímeros compostos por unidades protéicas chamadas tubulinas. Cada tubulina é um heterodímero e estas duas subunidades são proteínas globulares chamadas α -tubulina e β -tubulina.

Apesar de serem diferentes, as duas subunidades de tubulinas tem muita afinidade, o que permite que a subunidade α de cada tubulina não só possa combinar-se com a subunidade β do próprio heterodímero, mas também com a subunidade β de outra tubulina, através de sua extremidade livre. Além disso, os heterodímeros livres podem unir-se entre si pelas extremidades de modo tal que se agrupam em círculo. Tais particularidades levam à formação de uma estrutura tubular cuja parede é formada por vários filamentos conhecidos como protofilamentos, que percorrem o eixo longitudinal do microtúbulo (VIDAL e MELLO, 1987; SOUZA, 2004).

Devido à polaridade das tubulinas, o próprio microtúbulo se torna polarizado, já que em uma de suas extremidades ficam expostas as subunidades α e na outra as subunidades β . Os heterodímeros podem agregar-se (polimerização) ou desagregar-se (despolimerização) por ambas as extremidades, ou seja, durante a polimerização o microtúbulo alonga-se e durante a despolimerização ele encurta-se (ALBERTS *et al.*, 2004; COOPER e HAUSMAN, 2007).

Atualmente os microtúbulos são considerados um importante alvo dos agentes quimioterápicos, por agirem de forma direta no processo de divisão celular. A colchicina uma substância utilizada no tratamento da gota, se une à tubulina e impede sua polimerização, levando ao desaparecimento dos microtúbulos e conseqüentemente atrapalhando o processo de divisão celular (VIDAL e MELLO, 1987; SOUZA, 2004; ALBERTS *et al.*, 2004).

Horwitz e colaboradores (1979), do “Albert Einstein Medical College”, demonstraram que o produto natural paclitaxel era capaz de estabilizar os microtúbulos formados, impedindo sua despolimerização necessária à replicação celular. Tal produto foi o primeiro composto capaz de inibir a divisão celular pela despolimerização dos microtúbulos, um mecanismo de ação até então desconhecido (SOUZA, 2004).

O paclitaxel é um triterpeno poli-hidroxiado extraído de *Taxus brevifolia*, uma árvore do pacífico, que foi isolado pela primeira vez por Wall e colaboradores (1971); no entanto um grande problema na extração do paclitaxel reside no fato de que a espécie *Taxus brevifolia* demora cerca de 100 a 200 anos para atingir a maturidade e encontra-se em extinção. Devido a sua eficácia, este produto natural foi desenvolvido e

comercializado com o nome de Taxol e é usado no tratamento do câncer em pacientes que não apresentam bons resultados com outros tratamentos quimioterápicos (SOUZA, 2004).

Como os microtúbulos são essenciais no processo de divisão celular e, conseqüentemente, na formação do citoesqueleto, atualmente existe uma grande busca por substâncias que estabilizem os microtúbulos, ligando-se na tubulina e formando uma intercalação entre o fármaco e as subunidades α e β tubulina; assim ocorre a ativação do nucleotídeo guanosina trifosfatase, o qual é um coordenador intracelular do citoesqueleto (ALBERTS *et al.*, 2004; LIPPERT, 2006; SOUZA, 2004; VIDAL e MELLO, 1987).

Estas drogas antitubulínicas por terem atividades VTAs (do inglês: vascular targeting agents), são portanto inibidores de angiogêneses. A angiogênese tumoral é essencial para o crescimento dos tumores e para o espalhamento metastático, por isso é um alvo atraente para o planejamento de novos agentes anticâncer. Os VTAs interferem na formação de novos vasos, e portanto tem ação preventiva. Eles diferem dos VDAs (do inglês: vascular disrupting agents) na forma de agir. Os VDAs trabalham para destruir o endotélio do tumor, resultando na morte das células do tumor por falta de oxigênio e nutrientes; eles bloqueiam o transporte de sangue para novos capilares, causando a estabilização do tumor. Acredita-se que as novas drogas a serem desenvolvidas baseadas nos VDAs (Figura 1) são menos tóxicas e mais eficientes, muitas estão em fase de testes clínicos e alguns exemplos são: DMXAA, ZD6126, AVE8062, TZT1027 (LIPPERT, 2006).

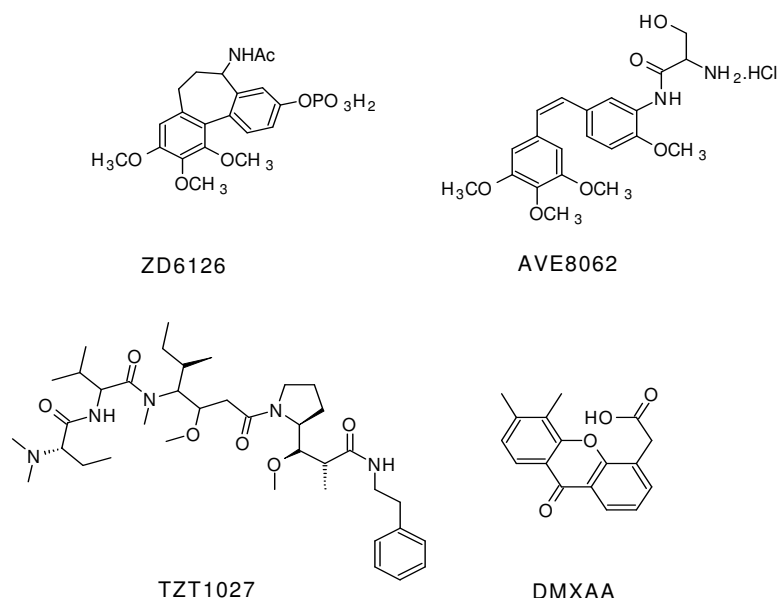


Figura 1. Exemplos de alguns VDAs (do inglês: vascular disrupting agents)

O composto DMXAA apresenta atividade sobre o DNA de células endoteliais (CHING *et al.*, 1991). O composto TZT-1027 é um derivado da dolastatina-10 e age sobre o mesmo sítio de ligação da vimblastina, um alcalóide que inibe a polimerização das tubulinas no fuso mitótico, encontrado na espécie vegetal *Catharanthus roseus* (CHEN e HONG, 2006; THOMSON *et al.*, 2006). O ZD6126 é um análogo da colchicina e age sobre o mesmo sítio de ligação na tubulina (MICHELETTI *et al.*, 2003).

1.3. Combretastatina

A CA4P é uma pró-droga que atua como um ótimo inibidor da polimerização da tubulina; sua desfosforilação, produz a CA4 que também tem ótima afinidade com a tubulina, e pode ser encontrada como um produto natural isolado da casca da árvore africana *Combretum caffrum* (Combretaceae). A CA4P diminui a vascularização abaixo de um décimo da tolerância máxima por dose, e tem sido combinada com outras terapias ou utilizada de forma única. Em testes clínicos estão sendo observados menores efeitos colaterais, melhores maneiras de uso, dosagens adequadas e a redução do fluxo de sangue para o tumor (LAWRENCE *et al.*, 2001; LIPPERT, 2006).

Testes feitos mostram que a CA4 e a CA2 inibem o crescimento celular em baixa concentração, se ligam de maneira muito forte à tubulina, possuem a mesma porcentagem de inibição da polimerização a 0°C e a 37°C, e dissociam mais rápido que a colchicina. Porém existe uma maior busca por compostos que tenham uma maior solubilidade em água, por exemplo a combretastatina A4 fosfato e o derivado difosfato A1 que já se encontram em fase de estudo clínico (KIRWAN *et al.*, 2004; LAWRENCE *et al.*, 2001; LIN, *et al.*, 1989). Essas substâncias agem induzindo mudanças morfológicas no citoesqueleto endotelial que acarretam a retração celular de vasos sanguíneos, ocasionando o desligamento *in vivo* de permeabilidade vascular, levando ao aumento da pressão intersticial, acarretando o bloqueio físico dos capilares e conseqüentemente a morte do tumor, devido à falta de vascularização (GRIGGS *et al.*, 2001).

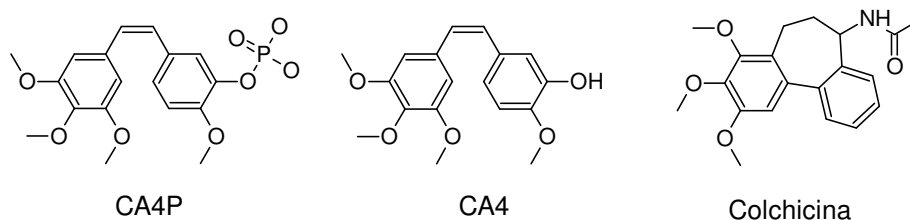


Figura 2. Estrutura molecular da CA4P (combretastatina A4P), CA4 (combretastatina A4) e da colchicina

Vários esforços têm sido direcionados para obtenção de análogos com diferentes grupos espaçadores entre os anéis aromáticos da CA4 (substitutos à dupla ligação). Porque a relação espacial entre os dois anéis aromáticos da combretastatina, colchicina e medicamentos similares é uma característica importante das estruturas em relação às suas habilidades de ligações na tubulina (LAWRENCE *et al.*, 2001; LIN, *et al.*, 1989).

Muitos dos análogos obtidos apresentaram atividade citotóxica e antitubulínica comparáveis com CA4. Substituições isostéricas da dupla ligação espaçadora, no estilbenóide, por metileno (GETAHUN *et al.*, 1992) ou mesmo por funções amina e éter acarretam em redução ou perda da atividade citotóxica e antitubulínica; contudo alguns éteres apresentam atividade antitubulínica comparável com a CA4 (LAWRENCE *et al.*, 2001). No entanto, *de forma curiosa*, a fenstatina (Figura 3), descoberta por acaso por Pettit e colaboradores em 1998 (PETTIT *et al.*, 1998), que também apresenta um átomo de distância entre os anéis, tem uma atividade antitubulínica comparável com CA4 e atividade citotóxica ligeiramente menor (PETTIT *et al.*, 1998).

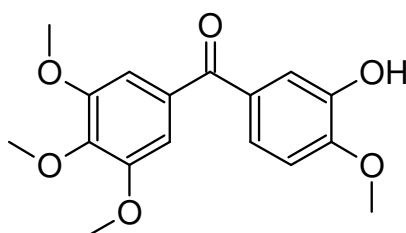
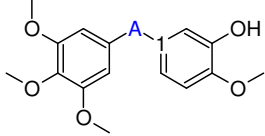


Figura 3. Estrutura da Fenstatina (6)

Esse fato, aparentemente paradoxal, inspira estudos de fatores estruturais importantes para a atividade biológica, por exemplo: a distância entre os anéis aromáticos e a afinidade do grupo separador e dos substituintes em relação aos resíduos adjacentes do sítio de ligação da colchicina (PETTIT *et al.*, 1998).

Na tabela 1 estão indicados diferentes grupos espaçadores entre os anéis aromáticos e suas respectivas atividades biológicas frente a testes *in vitro* de atividade antitubulínica.

Tabela 1: Análogos da CA4 com grupo espaçador (A) não cíclico e suas atividades antitubulínica relativas a CA4.

		
A	Atividade antitubulínica	
	(GETAHUN <i>et al.</i> , 1992)	-
	(GETAHUN <i>et al.</i> , 1992)	+
	(PETTIT <i>et al.</i> , 1998)	+++
	(KAFFY <i>et al.</i> , 2005)	+++
	(DUCKI <i>et al.</i> , 1998)	+++
	(LAWRENCE <i>et al.</i> , 2001)	-
	(LAWRENCE <i>et al.</i> , 2001)	+
	(NAGARATHNAM <i>et al.</i> , 1992)	++
	(LAWRENCE <i>et al.</i> , 2001)	-
	(LAWRENCE <i>et al.</i> , 2001)	-

+++ similar a CA4 ($IC_{50} \sim 1,4 \mu M$), ++ (IC_{50} 3 - 5 μM) moderada, + (IC_{50} 5 - 10 μM) pouco ativo, - ($IC_{50} > 10 \mu M$) inativo.

Estudos iniciais de atividade citotóxica sobre linhagens de células tumorais humanas com a substância previamente preparada (RR07, Figura 4) por nosso grupo, levaram à obtenção de resultados altamente promissores que justifica a continuação do trabalho na busca de novas substâncias líderes com potencial antitumoral baseando em metanonas com similaridade estrutural com a fenstatina e, conseguinte, com RR07.

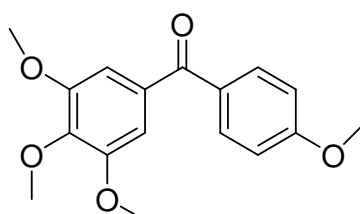


Figura 4. Estrutura da RR07

De acordo com estas informações, neste trabalho foram sintetizados compostos com o grupo cetona ou o grupo éster como espaçador e tentou-se também a síntese de tiocetonas. No entanto não conseguimos obter nenhuma para o envio para os testes biológicos, mas realizamos o *docking* de algumas tiocetonas para avaliar as possíveis atividades biológicas. Paralelo ao trabalho de síntese foi feito um estudo de modelagem molecular de análogos da fenstatina que foram sintetizados ou não.

1.4. Modelagem molecular

O estudo de química teórica tem se mostrado um bom caminho para previsão de protótipos de fármacos. Como os recursos necessários para iniciar pesquisas nessa área são relativamente baixos, devido aos preços dos computadores que diminuem ano após ano, e os programas reconhecidos pela comunidade científica são encontrados gratuitamente, essa ferramenta de pesquisa tem se tornado viável nos laboratórios de síntese e de produtos naturais.

Por meio da modelagem molecular é possível simular atividades farmacofóricas estudando as energias das ligações, conformações e propriedades físico-químicas. É possível estabelecer afinidades entre moléculas por meio de interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo e energia dos orbitais (HINCHLIFFE, 2006).

Desde a concepção do alvo biológico até a descoberta de um novo fármaco, um processo que pode levar em média 11 anos ou mais, a bioinformática, juntamente com a química computacional (ou quimiinformática), vem se tornando, a cada dia, indispensável no planejamento racional de novos fármacos, já com inúmeros casos de sucesso alcançados (MARSHALL, 2004). Para Manuel Peitsch

(2004), da “Novartis Institutes for BioMedical Research”, o processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos é hoje totalmente dependente do emprego de metodologias computacionais.

Através da cristalografia de raio-X e de RMN é possível obter a estrutura das proteínas e das moléculas com as quais elas formam complexos, estes dados são disponibilizados no PDB, que é um banco de dados de estruturas 3D de proteínas. No entanto nem sempre o PDB consegue revelar a totalidade da estrutura molecular da proteína, sendo às vezes necessário recorrer a outras técnicas que complementem as “regiões vazias” das proteínas cristalografadas. Grande parte das proteínas da mesma classe possui similaridade na estrutura, tornando possível a correção de resíduos faltantes ou mal posicionados por meio da sobreposição de diferentes proteínas, completando os vazios existentes (MEHRAN, 2000). Tal técnica é denominada modelagem por homologia.

O *docking* Molecular é um método de simulação computacional, onde é possível encontrar o melhor encaixe entre duas moléculas (macromolécula e ligante). O desafio do docking molecular pode ser definido como se segue: dadas as coordenadas atômicas das duas moléculas, o programa investiga a formação do complexo.

Existem diferentes formas de buscar o “melhor encaixe”. Algumas técnicas consideram o receptor como sendo rígido e o ligante podendo ser rígido ou flexível. Técnicas mais recentes têm possibilitado a mobilidade de alguns resíduos da proteína em especial do sítio ativo. Neste estudo adotou-se a técnica em que o ligante possui mobilidade no receptor rígido e o programa utilizado foi o Autodock 4.2. Este programa diferencia do Autodock 3.0.5 por apresentar a opção de usar resíduos do sítio ativo da proteína flexíveis, porém não fizemos uso deste recurso.

As avaliações a respeito de energias de ligação são conseguidas pelo pré-cálculo dos potenciais de afinidade eletrônica para cada tipo de átomo na molécula do ligante ou proteína. Com o programa Autogrid a proteína é embebida na sua estrutura tridimensional por uma grade e um átomo-sonda é colocado em cada ponto da grade. A energia de interação de cada átomo com a proteína é atribuída a cada ponto da grade. As interações eletrostáticas são avaliadas de maneira similar, pela interpolação dos valores de potencial eletrostático baseando-se na eletronegatividade do átomo. O tempo para cálculo de energia é proporcional ao número de átomos do ligante sendo independente do tamanho da proteína (GOODSELL, MORRIS., 1996).

No experimento estão envolvidos dois processos: o *docking* e o *scoring*. O *docking* gera as várias conformações possíveis para o ligante no sítio ativo, utilizando métodos de amostragem conformacional como o algoritmo genético e as funções *scoring* avaliam a afinidade entre o ligante e a proteína. Essas

funções são importantes porque as conformações finais são selecionadas de acordo com a afinidade. O maior problema deste experimento está nas funções *scoring*. As limitações destas funções podem estar relacionadas à falta de flexibilidade da proteína, ao tratamento inadequado da solvatação e a natureza simplista das funções de energia empregadas (TERAMOTO *et al.*, 2007).

O programa empregado neste trabalho utiliza o algoritmo genético Lamarckiano (LGA) como método de busca conformacional. Os algoritmos genéticos são inspirados na teoria evolucionária de Darwin. Cada busca consiste na geração de uma população de indivíduos na qual cada indivíduo representa uma possível solução para o problema do *docking*, que é a posição do ligante em relação à proteína. Assim, cada conformação do ligante é representada por um cromossomo, constituído por genes que representam os graus de liberdade translacional, orientacional e conformacional. Esses indivíduos são avaliados pela energia de afinidade do complexo macromolecular proteína-ligante e pela energia intramolecular do ligante. A seleção dos indivíduos que irão se reproduzir leva em conta esses parâmetros de energia e, na sequência, mutações e *crossovers* poderão ocorrer para gerar novos indivíduos (MAGALHÃES *et al.*, 2004; THOMSEN, 2003). Usualmente múltiplas análises empregando o LGA são realizadas em cada experimento de *docking*. Cada corrida fornece uma solução, ou seja, um modo de interação previsto. Ao final do experimento do *docking*, o programa AutoDock agrupa as diferentes soluções em *clusters*, de acordo com a similaridade entre as diferentes conformações geradas e ordena os *clusters* de acordo com a menor energia representativa daquele conjunto. No programa AutoDock, a energia de interação (E_{dock}) de um dado ligante é expressa como o somatório das interações intermoleculares entre o complexo e a energia estérica interna do ligante (MORRIS *et al.*, 1998).

2. Objetivos

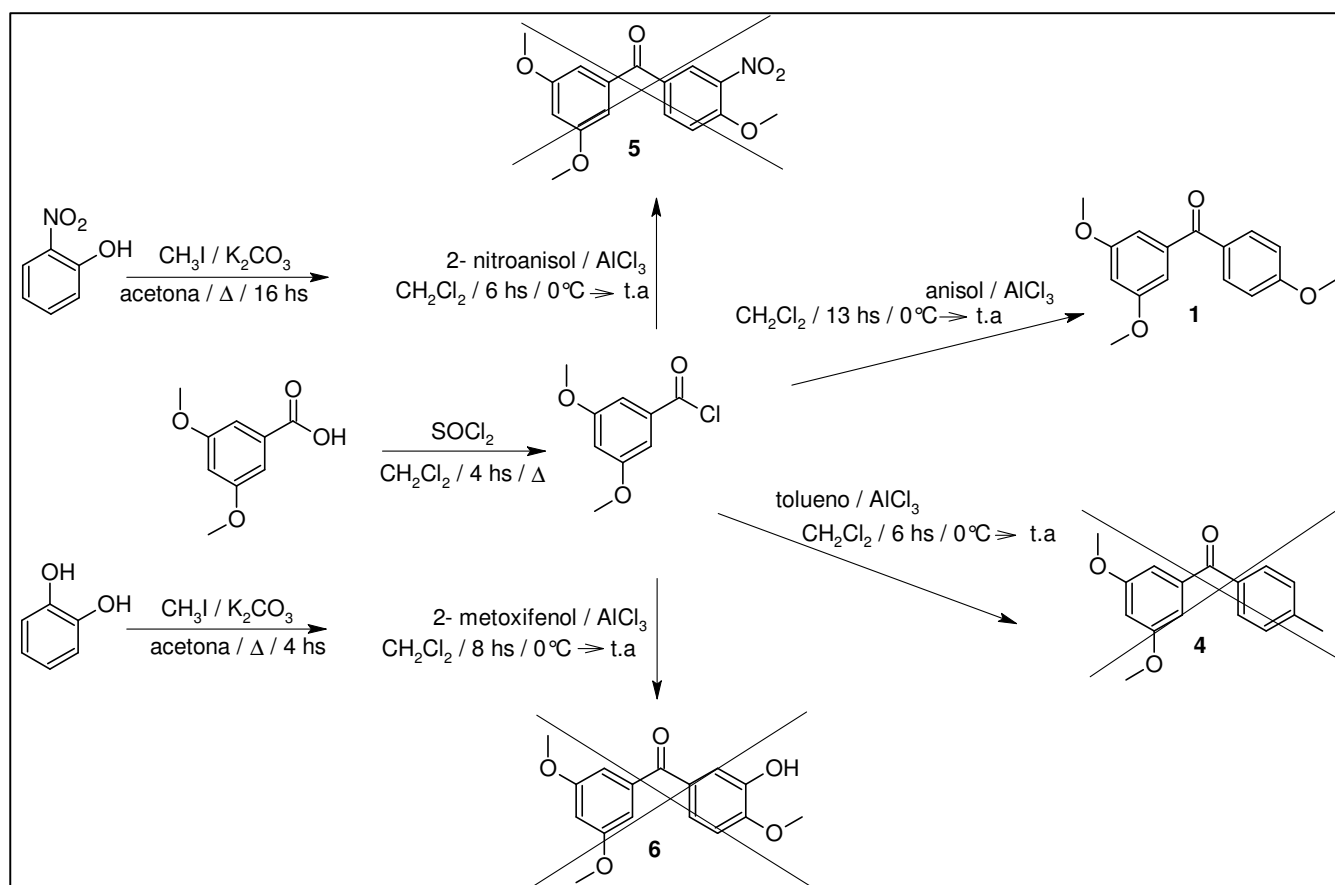
- Síntese de bisarilas análogos da combretastatina A4 e da Fenstatina;
- Avaliação antitubulínica *in vitro* das substâncias sintetizadas;
- Utilização de metodologias computacionais que permitam avaliar melhor a interação entre os ligantes (propostos e sintetizados) e a tubulina, comparando a atividade biológica antitubulínica *in vitro* com estudos de ancoragem molecular (docking).
- Analisar os resíduos da β -tubulina que interagem com os ligantes estudados neste trabalho.
- Auxiliar o desenvolvimento da pesquisa na área de obtenção de novos fármacos para o tratamento de tumores cancerígenos.

3.0. Resultados e discussão

3.1. Síntese

3.1.1. Tentativas de obtenção de metanonas (difenciletonas) através de reação de Acilação de Friedel-Crafts a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico

Com o objetivo de obter algumas metanonas (difenciletonas), análogas a fenstatina, várias acilações de Friedel-Crafts foram feitas a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico. A rota desta síntese é viável devido a grande semelhança dos produtos com a fenstatina (**46**), por ser rápida e por utilizar o ácido 3,5-dimetoxibenzóico que é um material de partida de baixo custo. A tabela 2 mostra alguns dados das reações feitas para a obtenção de metanonas a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico e o esquema 1 indica as reações que foram realizadas:



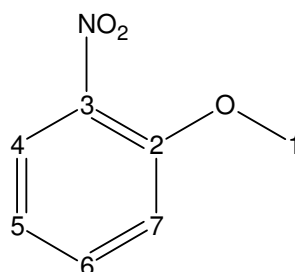
Esquema 1: Protocolo geral de preparação de metanonas (difenciletonas) a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico

Tabela 2: Reações feitas nas tentativas de obtenção de metanonas através de reação de Acilação de Friedel-Crafts a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico

Composto aromático	Procedimento experimental N°	Tempo de reação	Rendimento (%)
Anisol	4.1.2.3	13 horas	17%
Tolueno	4.1.2.4	6 horas	-
2-nitro anisol	4.1.2.5	6 horas	-
2-metoxifenol	4.1.2.6	8 horas	-
2-nitrofenol	4.1.2.1	16 horas	97%
catecol	4.1.2.2	4 horas	44%

Para a realização das reações de acilação de Friedel – Crafts foram preparados dois reagentes utilizando-se reações de metilação através da metodologia descrita em (UOZUMI *et al.*, 2004). O composto 2-nitroanisol (**8**) foi obtido através da metilação do 2-nitrofenol, sendo que a reação ocorreu com um alto rendimento e obteve-se o produto puro que foi confirmado por dados de espectroscopia de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT (Tabela 3). O composto 2-metoxifenol (**7**) foi obtido através da reação de metilação do catecol, o produto foi obtido com um rendimento de 44% e apresentou pequena quantidade do produto totalmente metilado mesmo após o processo de purificação com coluna cromatográfica de sílica de gel 230 – 400 mesh. A reação foi finalizada quando apareceu na placa de CCD uma outra mancha indicando a formação do 2-metoxianisol. A Tabela 4 mostra os valores de deslocamentos químicos observados para este produto.

Tabela 3: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 2-nitro anisol (8**). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.**

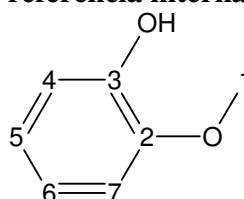


2-Nitroanisol (8**)**

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	56,25	CH ₃	3,87	s (3H)
2	152,70	C	-	-
3	139,42	C	-	-
4	125,35	CH	7,74	d ($J = 8,11\text{Hz}$, 1H)
5	120,39	CH	6,95	t ($J = 7,69\text{Hz}$, 1H)
6	134,14	CH	7,47	t ($J = 7,69\text{Hz}$, 1H)
7	113,36	CH	7,03	d ($J = 8,00\text{Hz}$, 1H)

A formação do composto **8** foi confirmada através dos sinais de metoxila nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C : o sinal em 56,25 ppm (no espectro de RMN ^{13}C) e o sinal em 3,87 ppm (no espectro de RMN de ^1H).

Tabela 4: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 2-metoxifenol (**7**). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



2-Metoxifenol (7)

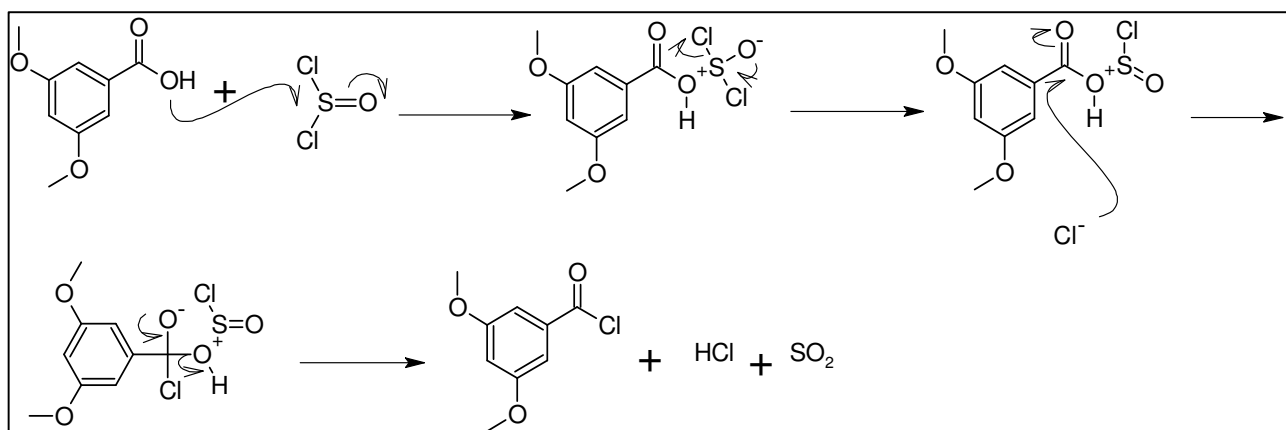
Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	55,85	CH ₃	3,87	s (3H)
2	143,71	C	-	-
3	145,47	C	-	-
4	114,56	CH	6,93	m (1H)
5	120,26	CH	6,87	m (1H)
6	115,43	CH	6,77	m (1H)
7	110,82	CH	6,80	m (1H)

A formação do composto **7** foi confirmada através do sinal de metoxila nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C : o sinal em 55,85 (no espectro de RMN ^{13}C) e o sinal em 3,87 (no espectro de RMN de ^1H). Como pode ser observado no esquema 1, somente na reação com o anisol ocorreu formação da metanona desejada, o procedimento utilizado para a síntese dos compostos **1**, **4**, **5**, **6** segue a metodologia adaptada (MORENO *et al.*, 2001; CUSHMAN *et al.*, 1992).

A acilação com o tolueno teve a formação da cetona, que pode ser comprovada através do sinal do carbono da carbonila no espectro de RMN- ^{13}C . Porém, ocorreu à formação de produtos que não eram passíveis de separação por cromatografia em coluna devido à pequena quantidade em massa. E as reações com os compostos 2-nitroanisol e 2-metoxifenol não formaram o produto desejado.

As reações são do tipo substituição eletrofílica aromática, sendo que a acilação é a etapa chave da síntese das metanonas propostas. Analisando a estrutura dos produtos propostos, podemos observar que a reação que contem o grupo desativador nitro não formou o produto almejado, possivelmente devido ao efeito desativador que causa no anel. Porém, somente este efeito não justifica o insucesso na reação porque no composto aromático com o grupo nitro também temos o grupo metoxila que é um ativador forte. A reação com o 2-metoxifenol (**7**) também não formou o produto de interesse e neste caso podemos considerar que podem ocorrer reações ácido-base devido à presença da hidroxila.

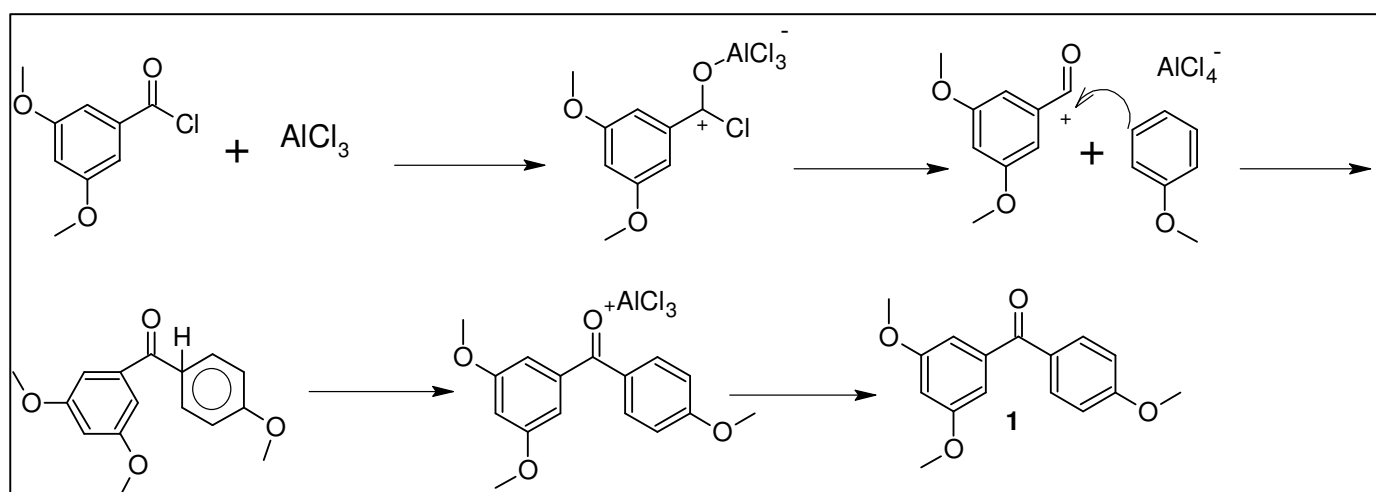
As reações para a formação de cloretos de acila ocorrem em duas etapas: adição nucleofílica seguida de eliminação de um íon cloreto para a formação de um intermediário altamente reativo: um clorossulfito de alquila protonado; este intermediário possui um ótimo grupo abandonador, o que facilita a formação do produto almejado. O esquema 2 ilustra o mecanismo para a formação do cloreto de 3,5-dimetoxibenzóico:



Esquema 2: Mecanismo proposto para a formação do cloreto de acila do ácido 3,5-dimetoxibenzóico

O mecanismo da reação de formação dos produtos acilados é o clássico de reações de acilação de Friedel-Crafts. Inicialmente, o ácido de Lewis (AlCl_3) liga-se ao oxigênio da carbonila do cloreto de ácido e, após a eliminação do cloreto, é formado o eletrófilo da reação, o íon acílio. Na sequência, o substrato aromático ataca o carbono parcialmente positivo do íon acílio. O anel aromático encontra-se deficiente de elétrons, nesse momento, porém a carga é deslocalizada através de formas de ressonância que constituem um híbrido estável. A eliminação de hidrogênio restitui o caráter aromático do anel, mas somente após a elaboração da reação o produto fica livre do ácido de Lewis.

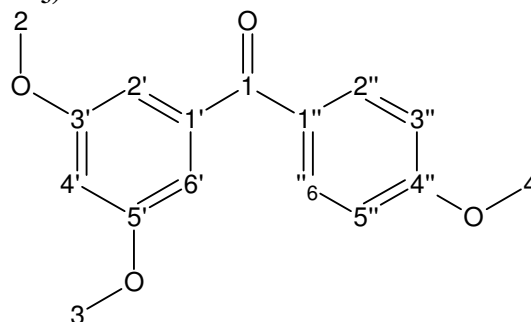
O esquema 3 apresenta o mecanismo de formação do produto 1, válido para todas as reações de acilação descritas neste trabalho. Deve-se levar em consideração o tipo de substituinte existente em cada substrato, isso porque podem ser formados diferentes produtos, dependendo da reatividade e orientação do anel aromático para substituições eletrofílicas (MARCH e SMITH, 2007):



Esquema 3: Mecanismo proposto para a reação de acilação de Friedel-Crafts para o ácido 3,5-dimetoxibenzóico

A mistura obtida da reação com o tolueno apresentou um sinal no RMN ^{13}C próximo de 200,00 ppm; evidenciando a formação do produto. O produto **1** finalmente foi purificado e confirmado por dados de espectroscopia de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT e comparado com resultados da literatura (PETTIT *et al.*, 2002); o sinal mais significativo para a comprovação da formação do produto de interesse é o sinal em 195,18 ppm referente ao carbono de carbonila de cetona. A Tabela 5 mostra os valores de deslocamentos químicos observados para este produto e a Tabela 6 apresenta os dados espectroscópicos da literatura. As análises de espectrometria de massa mostraram o pico do íon molecular com valor corresponde a massa do composto e o pico base indicando que ocorreu uma quebra α a carbonila.

Tabela 5: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



3,4',5-Trimetoxibenzofenona (1)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	195,18	C	-	-
2 e 3	55,60	CH_3	3,80	s (6H)
4	55,51	CH_3	3,86	s (3H)
1'	140,23	C	-	-
2' e 6'	107,59	CH	6,85	d ($J = 2,28$ Hz, 2H)
3' e 5'	160,52	C	-	-
4'	104,26	CH	6,63	t ($J = 2,28$ Hz, 1H)
1''	130,07	C	-	-
2'' e 6''	132,56	CH	7,82	d ($J = 8,68$ Hz, 2H)
3'' e 5''	113,56	CH	6,93	d ($J = 8,68$ Hz, 2H)
4''	163,31	C	-	-

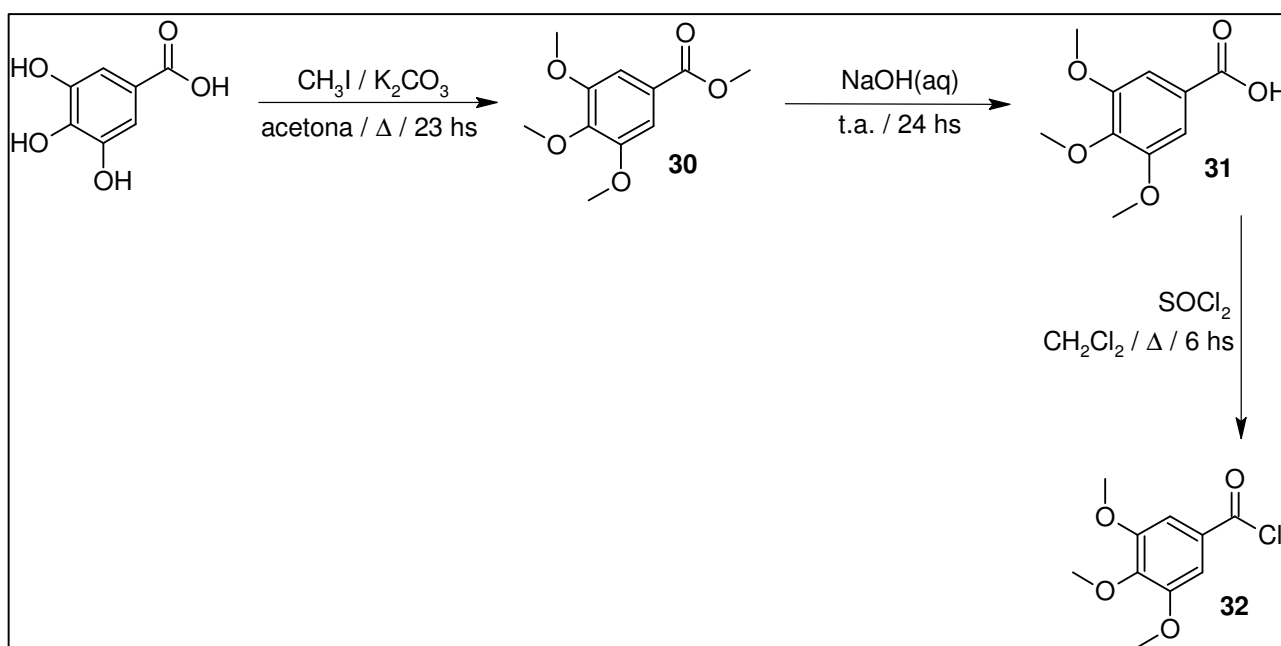
Tabela 6: Dados da literatura de deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	195,20	C	-	-
2 e 3	55,60	CH_3	3,82	s (6H)
4	55,50	CH_3	3,88	s (3H)
1'	140,20	C	-	-
2' e 6'	107,60	CH	6,87	d ($J = 2,00$ Hz, 2H)
3' e 5'	160,50	C	-	-
4'	104,20	CH	6,65	t ($J = 2,00$ Hz, 1H)
1''	130,10	C	-	-
2'' e 6''	132,60	CH	7,84	d ($J = 9,00$ Hz, 2H)
3'' e 5''	113,60	CH	6,95	d ($J = 9,00$ Hz, 2H)
4''	163,30	C	-	-

(PETTIT *et al.*, 2002)

3.1.2. Tentativas de obtenção de metanonas (difencilketonas) através de reação de Acilação de Friedel-Crafts a partir do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico

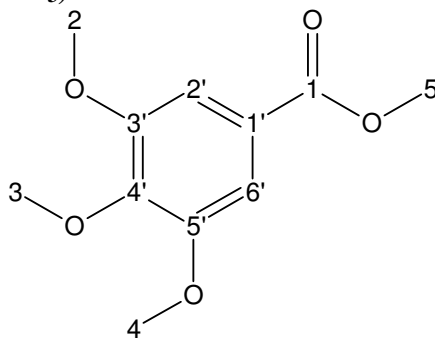
Foram feitas novas reações para tentativa de obtenção de difencilketonas trimetoxiladas a partir do 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoila (**32**), através da metodologia adaptada (CUSHMAN *et al.*, 1992). No entanto, apesar do cloreto de benzoíla trimetoxilado ter sido adquirido comercialmente, este reagente também foi sintetizado para que pudéssemos analisar a dificuldade de realizar a acilação com este reagente, tendo em vista a dificuldade apresentada durante as reações com o cloreto de benzoila dimetoxilado e também devido à diferença em valores destes dois reagentes, sendo o cloreto de benzoila dimetoxilado muito mais caro. A preparação do composto **32** (ilustrada no esquema 4) foi feita através da metilação do ácido gálico com o procedimento experimental adaptado (UOZUMI *et al.*, 2004), posterior hidrólise do éster **30** e da formação do cloreto de ácido através da reação de adição nucleofílica-eliminação do ácido **31** com cloreto de tionila utilizando a metodologia adaptada (MORENO *et al.*, 2001).



Esquema 4. Protocolo geral de preparação de 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoila (32)

A Tabela 7 mostra os valores de deslocamentos químicos observados para o composto **30** e a Tabela 9 mostra os valores de deslocamentos químicos observados para o composto **31**.

Tabela 7: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



3,4,5-Trimetoxibenzoato de metila (30)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	166,73	C	-	-
2 e 4	56,24	CH ₃	3,89	s (12H)
3	60,93	CH ₃	3,89	s (12H)
5	52,23	CH ₃	3,89	s (12H)
1'	125,17	C	-	-
2' e 6'	106,83	CH	7,28	s (2H)
3' e 5'	152,96	C	-	-
4'	142,20	C	-	-

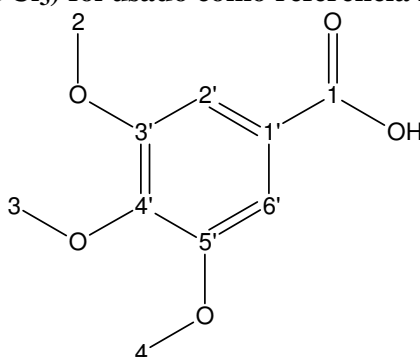
Tabela 8: Dados da literatura para deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	166,68	C	-	-
2 e 4	56,19	CH ₃	3,87	s (12H)
3	58,80	CH ₃	3,87	s (12H)
5	52,19	CH ₃	3,87	s (12H)
1'	125,11	C	-	-
2' e 6'	106,75	CH	7,26	s (2H)
3' e 5'	152,89	C	-	-
4'	142,11	C	-	-

(ROTTA., 2005)

O composto **30** foi confirmado através dos sinais do espectro de RMN ^{13}C em 56,24 ppm referente às metoxilas mais desprotegidas, o sinal em 60,93 ppm referente à metoxila 3 mais protegida (sabe-se que metoxilas protegidas apresentam sinal acima de 60,00 ppm e metoxilas mais desprotegidas apresentam sinal abaixo deste valor) e o sinal da metoxila 5 em 52,23. Quanto ao espectro de RMN ^1H , o sinal referente as metoxilas é apresentado como um singlete com integração referente a 12 átomos de hidrogênio. Os sinais também foram comparados com dados da literatura que são mostrados na tabela 8 (ROTTA., 2005). O composto 30 foi submetido à reação de hidrólise, formando então o composto 31 que possui os dados espectroscópicos indicados nas tabelas 9 e 10.

Tabela 9: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



Ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	171,61	C	-	-
2 e 4	56,28	CH_3	3,91	s (3H)
3	60,97	CH_3	3,91	s (3H)
1'	124,10	C	-	-
2' e 6'	107,46	CH	7,36	s (2H)
3' e 5'	152,99	C	-	-
4'	143,04	C	-	-

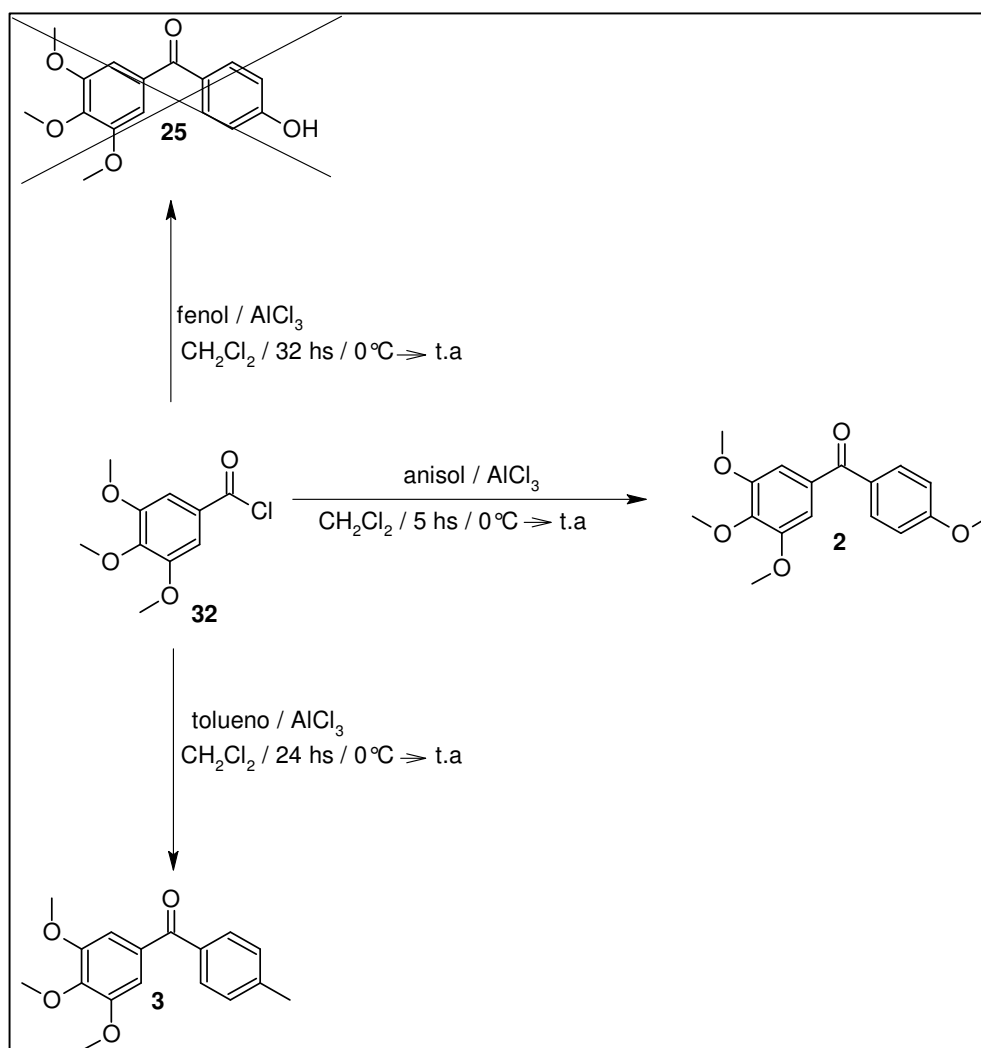
Tabela 10: Dados da literatura para deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	171,80	C	-	-
2 e 4	56,16	CH_3	3,93	s (3H)
3	60,88	CH_3	3,94	s (3H)
1'	124,09	C	-	-
2' e 6'	107,32	CH	7,38	s (2H)
3' e 5'	152,88	C	-	-
4'	142,87	C	-	-

(ROTTA., 2005)

A formação do composto (**31**) foi confirmada através da ausência do sinal em 52,23 ppm no espectro de RMN ^{13}C e pela integração do singlete em 3,91 ppm no espectro de RMN ^1H que foi referente a 9 hidrogênios e não mais a 12. O composto também foi confirmado através da comparação com dados espectroscópicos da literatura que são mostrados na Tabela 10 (ROTTA., 2005).

As reações de acilação com o composto **32** estão representadas no esquema 5 e os resultados estão apresentados na Tabela 11, onde estão indicados os rendimentos de cada reação; pode-se constatar que a única reação que não teve a formação do produto desejado foi à reação com o fenol.



Esquema 5. Protocolo geral de preparação de metanonas (difenilcetonas) através de reação de Acilação de Friedel-Crafts a partir do 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla (32**)**

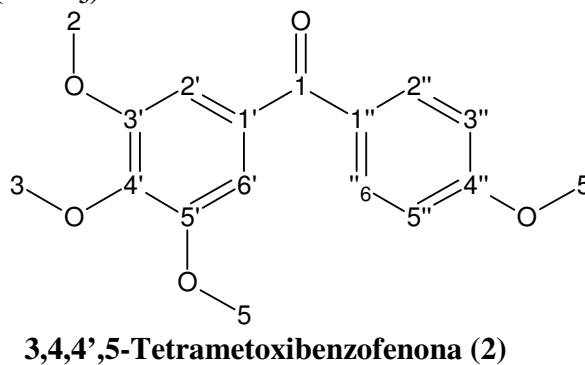
Tabela 11: Reações feitas na tentativa de obtenção de metanonas a partir do 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla (32)

Compostos aromáticos	Procedimento experimental N°	Tempo de reação	Rendimento (%)
Anisol	4.1.2.27	5 horas	80%
Tolueno	4.1.2.28	24 horas	21%
Fenol	4.1.2.26	32 horas	-

As estruturas dos compostos **2** e **3** estão de acordo com os sinais observados nos espectros de RMN de ^1H , de ^{13}C , DEPT-135°. As análises dos espectros mostraram que os compostos estão puros, devido à ausência de sinais de quaisquer outros subprodutos ou reagentes da acilação de Friedel-Crafts. O sinal mais característico da formação dos produtos **2** e **3** é o sinal da carbonila de cetona que fica próximo de 200,00 ppm; no composto **2** o sinal do carbono da carbonila aparece em 195,65 ppm e no composto **3** aparece em 195,56 ppm. Na Tabela 12 estão os valores de deslocamentos químicos observados para o composto **2** e na Tabela 13 estão os dados espectroscópicos da literatura para este composto (CUSHMAN *et al.*, 1992).

A Tabela 14 mostra os valores de deslocamentos químicos observados para o composto **3**. O composto **3** não apresenta dados espectroscópicos detalhados na literatura.

As análises de espectrometria de massa dos produtos **2** e **3** mostram o pico do íon molecular com valor corresponde a massa de cada composto e o pico base indicando que ocorreu uma quebra α a carbonila com eliminação do anel trimetoxilado.

Tabela 12: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.

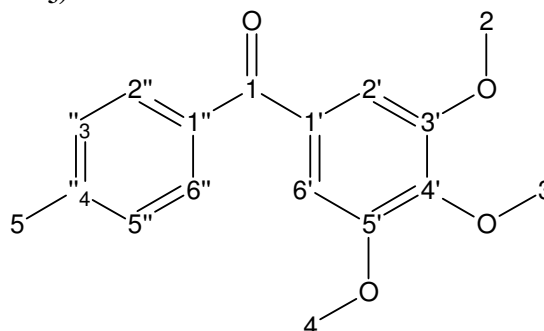
Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	195,65	C	-	-
2 e 4	56,30	CH ₃	3,85	s (6H)
3	60,96	CH ₃	3,90	s (3H)
5	55,49	CH ₃	3,86	s (3H)
1'	130,29	C	-	-
2' e 6'	107,47	CH	6,99	s (2H)
3' e 5'	152,84	C	-	-
4'	141,62	C	-	-
1''	133,35	C	-	-
2'' e 6''	132,39	CH	7,80	d ($J = 8,69$ Hz, 2H)
3'' e 5''	113,56	CH	6,95	d ($J = 8,69$ Hz, 2H)
4''	163,14	C	-	-

Tabela 13: Dados da literatura para deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e o sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.

Posição	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	-	-
2 e 4	3,88	s (6H)
3	3,94	s (3H)
5	3,90	s (3H)
1'	-	-
2' e 6'	7,03	s (3H)
3' e 5'	-	-
4'	-	-
1''	-	-
2'' e 6''	7,83	d ($J = 8,70$ Hz, 2H)
3'' e 5''	6,98	d ($J = 8,70$ Hz, 2H)
4''	-	-

(CUSHMAN *et al.*, 1992)

Tabela 14: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 4'-metil-3,4,5-trimetoxibenzofenona (3). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



4'-Metil-3,4,5-trimetoxibenzofenona (3)

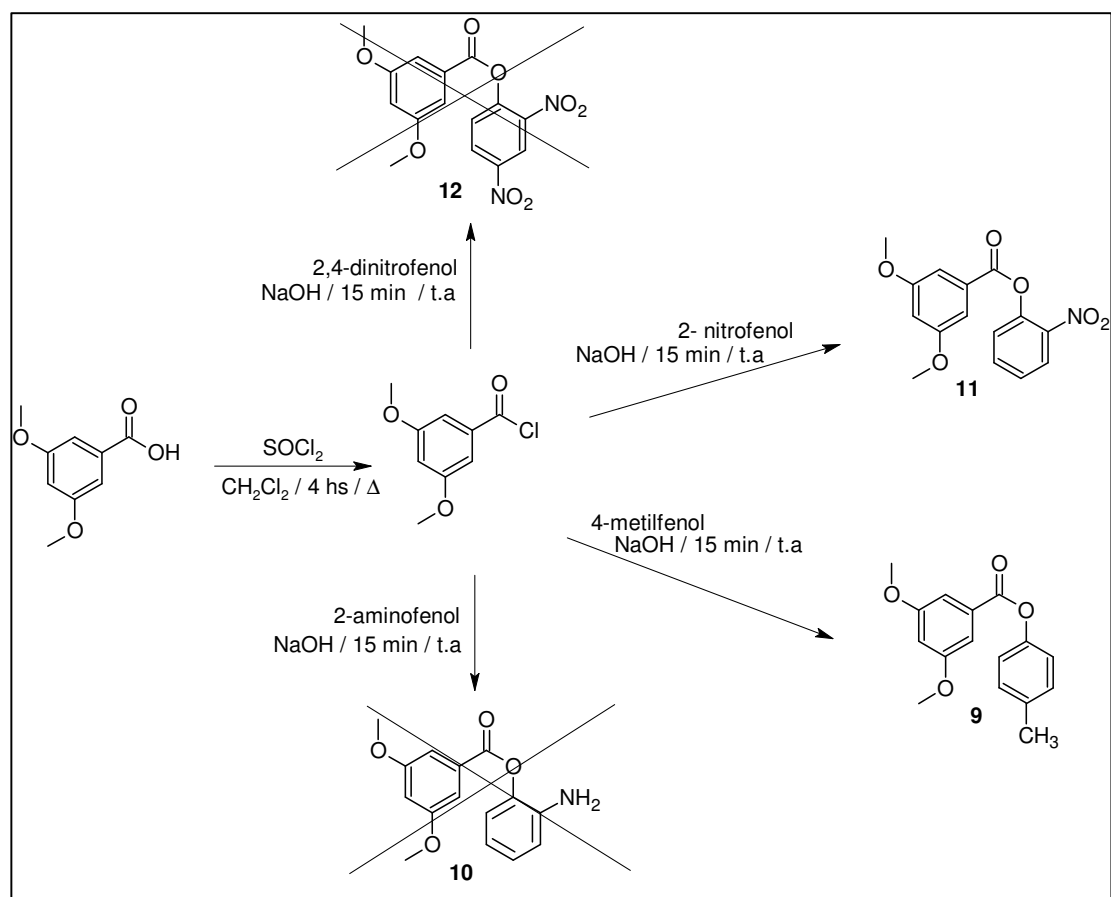
Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	195,56	C	-	-
2 e 4	56,30	CH_3	3,85	s (6H)
3	60,97	CH_3	3,91	s (3H)
5	21,65	CH_3	2,42	s (3H)
1'	132,96	C	-	-
2' e 6'	107,64	CH	7,03	s (2H)
3' e 5'	152,82	C	-	-
4'	143,09	C	-	-
1''	135,04	C	-	-
2'' e 6''	130,15	CH	7,70	d ($J = 8,00\text{Hz}$, 2H)
3'' e 5''	128,96	CH	7,26	d ($J = 8,00\text{ Hz}$, 2H)
4''	141,83	C	-	-

3.1.3. Tentativas de obtenção de benzoatos de fenila substituídos através de reação de esterificação a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico

Devido às dificuldades na formação de metanonas, decidiu-se realizar a preparação de ésteres, as metodologias utilizadas nas reações envolvendo o ácido 3,5-dimetoxibenzóico estão apresentadas abaixo:

1º Método - Reação do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com fenóis substituídos, através da preparação do cloreto de ácido com SOCl_2 e posterior esterificação em meio básico, através da metodologia adaptada

(MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003). O esquema 6 mostra a reação de preparação do 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla e as posteriores reações de esterificação deste cloreto com fenóis substituídos.



Esquema 6. Protocolo geral de preparação de benzoatos de fenila substituídos, a partir do ácido 3,5-dimetóxi-benzóico

Nas reações de esterificação com o 2-nitrofenol e com o 4-metilfenol ocorreu a formação dos produtos desejados sendo que os rendimentos estão apresentados na Tabela 15. No entanto, nas reações com os fenóis, 2,4-dinitrofenol e 2-aminofenol ocorreu a formação de grande mistura de produtos que não foram passíveis de separação por cromatografia em coluna.

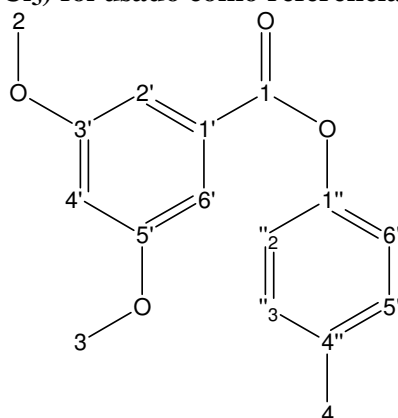
Os compostos 11 e 9 ainda não foram descritos na literatura.

Os dados espectroscópicos dos compostos 9 e 11 estão descritos nas Tabelas 16 e 17 respectivamente, e o mecanismo de esterificação proposto para a formação destes ésteres está ilustrado no esquema 7.

Tabela 15: Reações para a obtenção de benzoatos de fenila, partindo-se do ácido 3,5-dimetoxibenzoico:

Fenol	Procedimento experimental N°	Tempo de reação	Rendimento (%)
4-metilfenol	4.1.2.7	15 min	13%
2-nitrofenol	4.1.2.9	15 min	30%
2,4-dinitrofenol	4.1.2.10	15 min	-
2-aminofenol	4.1.2.8	15 min	-

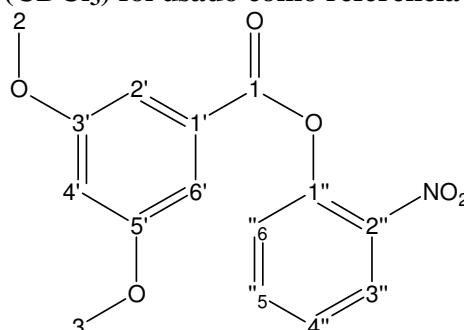
Tabela 16: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil-fenila (9). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



3,5-Dimetoxibenzoato de 4-metil -fenila (9)

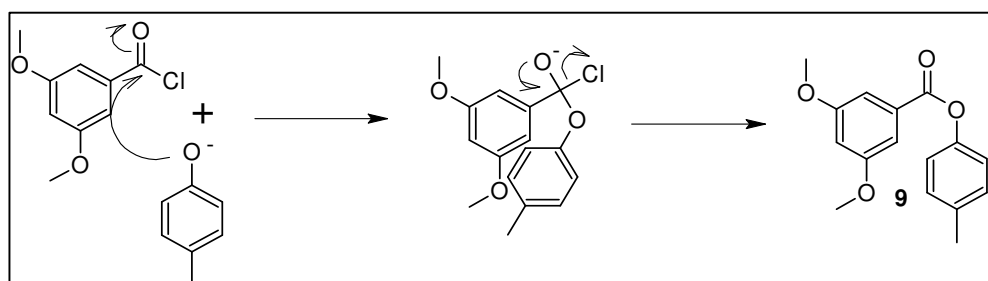
Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	165,09	C	-	-
2 e 3	55,68	CH_3	3,84	s (6H)
4	21,38	CH_3	2,37	s (3H)
1'	131,49	C	-	-
2' e 6'	107,67	CH	7,32	d ($J = 2,13$ Hz, 2H)
3' e 5'	160,76	C	-	-
4'	106,35	CH	6,70	t ($J = 2,13$ Hz, 1H)
1''	150,91	C	-	-
2'' e 6''	122,29	CH	7,06	d ($J = 7,69$ Hz, 2H)
3'' e 5''	129,24	CH	7,28	d ($J = 7,69$ Hz, 2H)
4''	139,73	C	-	-

Tabela 17: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



3,5-Dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11)

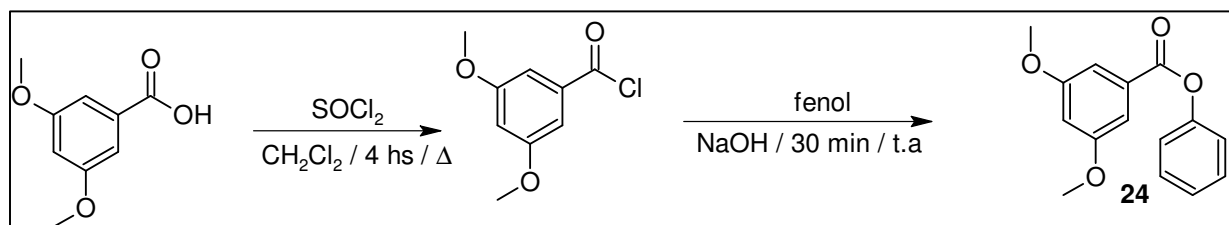
Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	164,14	C	-	-
2 e 3	55,66	CH_3	3,83	s (6H)
1'	130,17	C	-	-
2' e 6'	108,01	CH	7,31	d ($J = 1,70$ Hz, 2H)
3' e 5'	160,84	C	-	-
4'	107,02	CH	6,72	t ($J = 1,70$ Hz, 1H)
1''	144,32	C	-	-
2''	141,95	C	-	-
3''	125,86	CH	8,12	d ($J = 8,25$ Hz, 1H)
4''	126,66	CH	7,42	t ($J = 7,69$ Hz, 1H)
5''	134,67	CH	7,68	t ($J = 7,40$ Hz, 1H)
6''	125,32	CH	7,36	d ($J = 8,12$ Hz, 1H)



Esquema 7: Mecanismo proposto para a esterificação do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com o composto aromático 4-metil-fenol para a formação do composto 9

O mecanismo da reação ocorre através de uma reação de adição nucleofílica seguida de eliminação; para que ocorram reações de esterificações; com a formação de um éster de fenila é necessário um cloreto de acila, porque através do tradicional procedimento de esterificação na presença de um ácido de Bronsted-Lowry a reação de formação de ésteres de fenila não ocorre. O mecanismo se inicia com o ataque nucleofílico do fenolato ao carbono da carbonila, o par de elétrons da ligação dupla carbono-oxigênio se deslocando para o átomo de oxigênio e formação de um intermediário que expelle um íon cloreto através do restabelecimento da ligação dupla.

2º Método - Reação de preparação do cloreto de ácido do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com SOCl_2 e sua esterificação, em meio básico, com fenol, seguindo o procedimento experimental adaptado (MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003). A preparação do composto 24 está ilustrada no esquema 8.



Esquema 8. Protocolo geral de preparação de 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24), a partir do cloreto de ácido do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com fenol

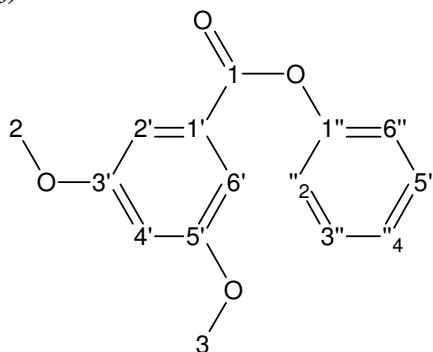
A reação foi realizada três vezes, variando-se a solução básica. Na primeira reação a solução básica foi feita com NaOH em acetona, porém devido a baixa solubilidade do NaOH nesse solvente, a reação não foi bem sucedida. Na segunda tentativa a solução básica foi feita com pouca água, acetona e NaOH adicionando-se o fenolato por gotejamento ao cloreto de ácido; não foi obtido o produto desejado. Em outra tentativa o cloreto de ácido foi adicionado aos poucos à solução aquosa básica, e a mistura manteve-se sob agitação por 30 minutos; ao fim deste período, filtrou-se a solução obtendo-se um sólido marrom.

A placa de ccd apresentou cinco manchas que foram separadas por cromatografia e o produto (24) foi obtido em pouca quantidade. Os dados espectroscópicos do composto 24 estão apresentados na Tabela 18.

As variações nas soluções básicas foram feitas devido aos insucessos nas tentativas de esterificações, tendo em vista que as reações para a formação do cloreto do ácido eram bem sucedidas, formando uma grande quantidade de produto e em um tempo adequado.

Tentou-se adaptar a esterificação para uma reação em solvente orgânico para eliminar o contato da água com o cloreto de ácido. Porém, sabe-se que o ataque nucleofílico quando se tem água e fenolato é feito pelo fenolato por este ser uma base mais forte.

Tabela 18: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



3,5-Dimetoxibenzoato de fenila (24)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	164,99	C	-	-
2 e 3	55,68	CH_3	3,85	s(6H)
1'	131,44	C	-	-
2' e 6'	107,71	CH	7,32	d ($J = 2,27$ Hz, 2H)
3' e 5'	160,80	C	-	-
4'	106,41	CH	6,70	t (1H)
1''	150,98	C	-	-
2'' e 6''	121,71	CH	7,19	d ($J = 8,11$ Hz, 2H)
3'' e 5''	129,52	CH	7,42	t ($J = 7,69$ Hz, 2H)
4''	125,95	CH	7,27	m (1H)

A caracterização do produto foi feita primeiramente através de CCD, onde se observou, após a cromatografia em coluna, uma única mancha e a ausência das manchas características dos materiais de partida. O produto também foi identificado através dos sinais nos espectros RMN de ^1H , de ^{13}C , DEPT-135°.

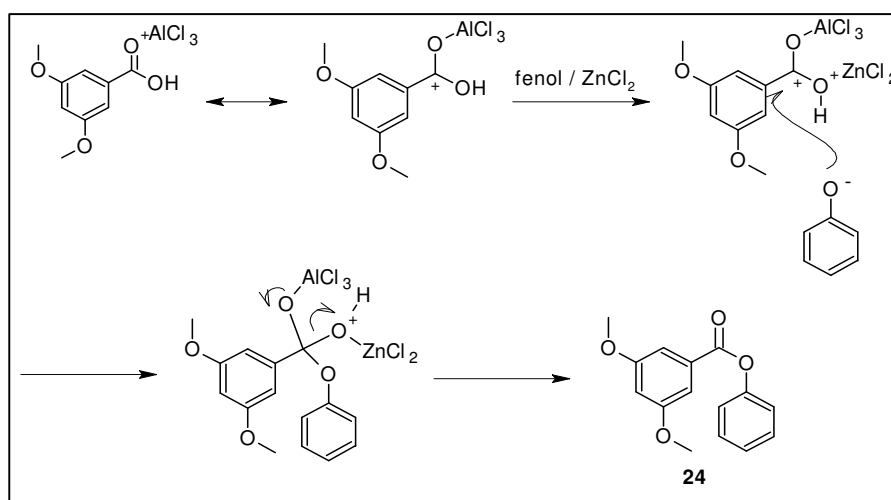
A caracterização do produto através de CCD foi fundamental para a identificação do éster **24**, isso porque os sinais nos espectros de RMN de ^1H , de ^{13}C e DEPT-135° para os materiais de partida (ácido 3,5-dimetoxibenzóico e fenol) são muito semelhantes aos sinais do produto desejado. O composto **24** é inédito na literatura.

3º Método - Tentativa de preparação de ésteres derivados do ácido 3,5-dimetoxibenzóico feita na presença dos ácidos de Lewis, o AlCl_3 e o ZnCl_2 , através do procedimento experimental adaptado (ROY e MAMUN, 2006). A Tabela 19 apresenta alguns dados experimentais das reações de esterificação feitas utilizando como catalisadores o AlCl_3 e ZnCl_2 .

Tabela 19: Reações feitas nas tentativas de obtenção de ésteres a partir do ácido 3,5-dimetoxibenzóico com fenol em meio de AlCl_3 e ZnCl_2

Quantidades	Procedimento experimental N°	Tempo de reação	Produto
Ácido: 5.5 mmol AlCl_3 : 0.20 mmol Fenol: 5.5 mmol ZnCl_2 : 5.5 mmol	4.1.2.20	26 horas	Não formado
Ácido: 5.5 mmol AlCl_3 : 1.60 mmol Fenol: 5.5 mmol ZnCl_2 : 11 mmol	4.1.2.21	16 horas	Não formado

Os resultados dessa terceira tentativa foram insatisfatórios. Ambas as reações não formaram produto algum, recuperando-se o fenol e o respectivo ácido carboxílico. O esquema 9 ilustra uma proposta para o mecanismo da reação:

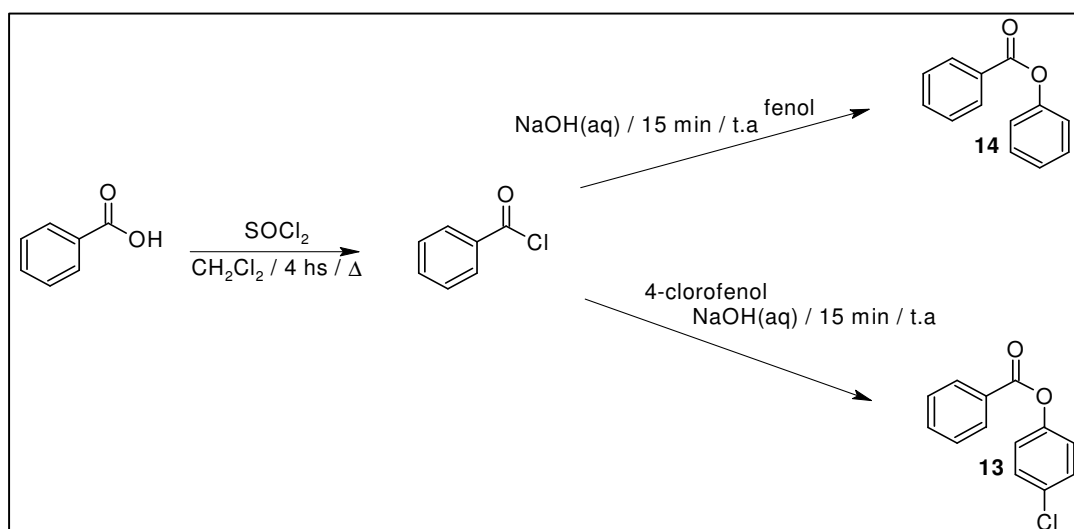


Esquema 9: Mecanismo proposto para a esterificação do ácido 3,5-dimetoxibenzoico com o fenol em meio de AlCl_3 e ZnCl_2

A função do AlCl_3 é tornar o carbono da carbonila mais eletrofílico para o ataque do fenolato e a função do ZnCl_2 é tornar o grupo OH um bom grupo de saída, uma vez que em reações de esterificação com fenolatos não se pode utilizar um ácido para protonar o grupo OH do ácido carboxílico e ter como grupo de saída água, já que o ácido não permitiria a formação do fenolato.

3.1.4. Obtenção de benzoatos de fenila através de reação de esterificação a partir do ácido benzóico

Realizou-se a síntese dos ésteres **13** e **14** (esquema 10) através da preparação do cloreto de ácido com SOCl_2 e posterior esterificação em meio básico, através da metodologia adaptada (MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003). Ambas as reações ocorreram facilmente e com bons rendimentos.



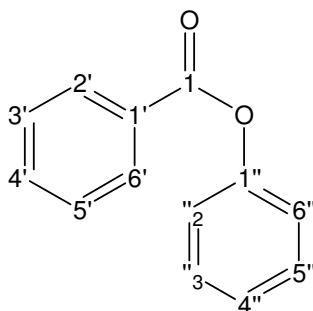
Esquema 10. Protocolo geral da preparação de benzoatos de fenila, a partir do ácido benzóico

A Tabela 20 apresenta informações sobre as reações para a formação dos benzoatos de fenila **13** e **14**. E os dados espectroscópicos dos compostos **14** e **13** estão apresentados nas tabelas 21 e 22, respectivamente.

Tabela 20: Reações feitas para obtenção dos ésteres **13 e **14** a partir do ácido benzóico**

Fenol	Procedimento experimental N°	Tempo de reação	Rendimento (%)
4-clorofenol	4.1.2.11	15 min	90%
Fenol	4.1.2.12	15 min	90%

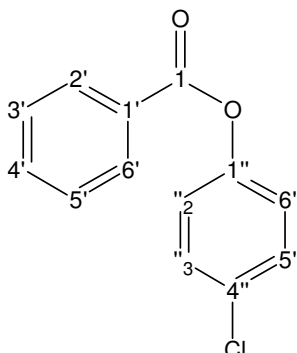
Tabela 21: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o benzoato de fenila (14**). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.**



Benzoato de fenila (14**)**

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	165,19	C	-	-
1'	129,63	C	-	-
2' e 6'	130,18	CH	8,20	d ($J = 7,12$ Hz, 2H)
3' e 5'	128,58	CH	7,50	m (2H)
4'	133,58	CH	7,63	m (1H)
1''	151,00	C	-	-
2'' e 6''	121,73	CH	7,21	d ($J = 7,55$ Hz, 2H)
3'' e 5''	129,50	CH	7,42	m (2H)
4''	125,90	CH	7,27	m (1H)

Tabela 22: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o benzoato de 4-clorofenila (**13**). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



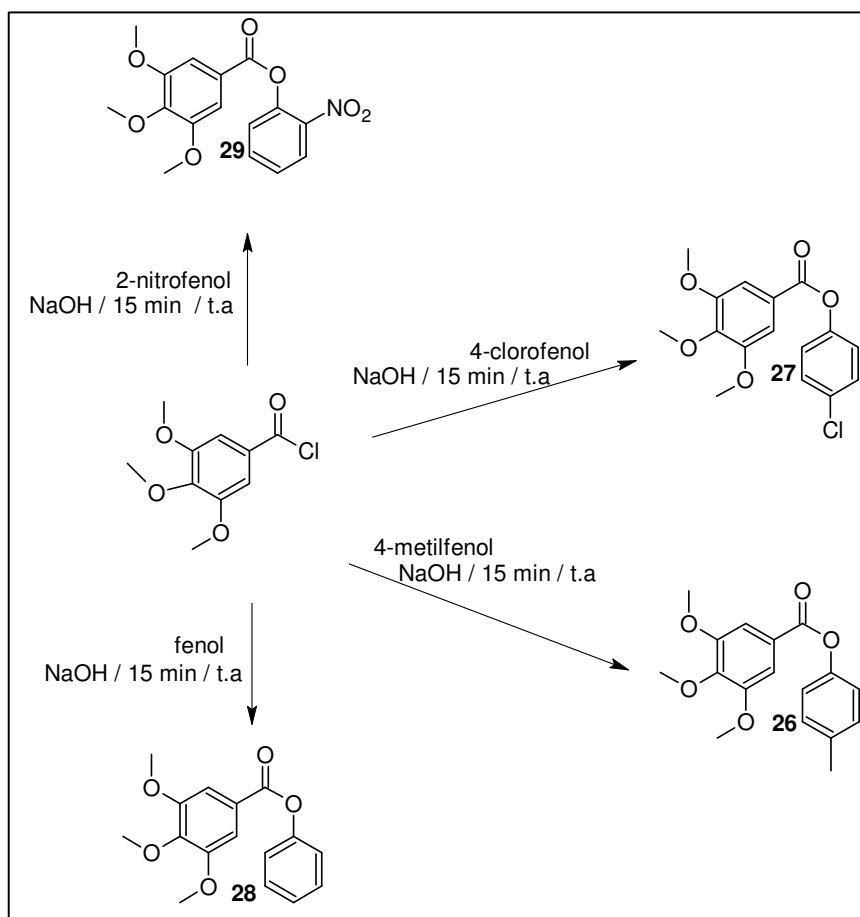
Benzoato de 4-clorofenila (13**)**

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	164,97	C	-	-
1'	129,25	C	-	-
2' e 6'	130,27	CH	8,17	d ($J = 7,40$ Hz, 2H)
3' e 5'	128,72	CH	7,50	t ($J = 7,40$ Hz, 2H)
4'	133,87	CH	7,63	t ($J = 7,40$ Hz, 1H)
1''	149,51	C	-	-
2'' e 6''	123,22	CH	7,15	d ($J = 8,68$ Hz, 2H)
3'' e 5''	129,60	CH	7,37	d ($J = 8,80$ Hz, 2H)
4''	131,29	C	-	-

As caracterizações dos produtos **13** e **14** foram feitas, primeiramente através de CCD, onde se observou a presença de apenas uma única mancha e a ausência das manchas características dos materiais de partida. O produto também foi identificado através dos sinais nos espectros RMN de ^1H , de ^{13}C , DEPT-135°. No entanto, como já comentado, os resultados de RMN para estes ésteres são muito semelhantes aos sinais referentes aos materiais de partida, por isso é necessária a análise conjunta de CCD e RMN. O sinal mais significativo é o referente ao carbono da carbonila que se apresenta mais protegido nos ésteres **13** e **14** do que no respectivo ácido carboxílico. No ácido carboxílico o sinal para este carbono está em 168,00, já no éster **13** o sinal aparece em 164,97 ppm e no éster **14** em 165,19 ppm.

3.1.5. Tentativas de obtenção de benzoatos de fenila substituídos através de reação de esterificação a partir do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico

Outra tentativa de preparação de ésteres foi feita conforme mostrado no Esquema 11, cujos resultados estão apresentados na Tabela 23.



Esquema 11. Protocolo geral de preparação de benzoatos de fenila substituídos, a partir do cloreto de ácido 3,4,5-trimetóxi-benzóico (32)

Tabela 23: Reações para a obtenção de benzoatos de fenila, partindo-se do 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoila (32):

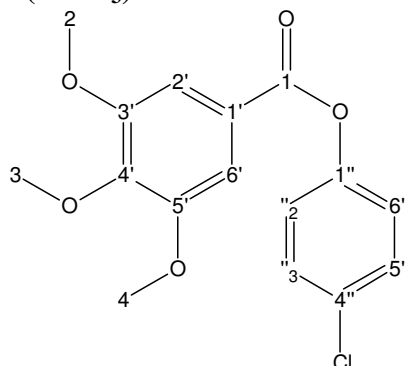
Fenós	Procedimento Experimental N°	Tempo de reação	Rendimento (%)
4-metilfenol	4.1.2.31	15 min	87 %
2-nitrofenol	4.1.2.29	15 min	80 %
Fenol	4.1.2.30	15 min	90 %
4-clorofenol	4.1.2.32	15 min	95 %

As reações de esterificação para a obtenção dos produtos **26**, **27**, **28** e **29** foram realizadas através da metodologia adaptada (ANDREI et al., 2003). Todas ocorreram com bons rendimentos e um alto teor de pureza; no entanto as reações que formaram ésteres substituídos com o grupo nitro e o átomo de cloro (compostos **27** e **29**), devido à presença dos grupos desativadores, originaram, juntamente com o produto desejado o respectivo ácido carboxílico que é produto da hidrólise do cloreto de acila. Neste contexto, lavou-se a mistura com solução de bicarbonato de sódio (pH = 9) até a total remoção do ácido carboxílico. Como todos os ésteres sintetizados neste trabalho, os compostos **26**, **27**, **28** e **29** foram identificados principalmente através de CCD; as reações foram acompanhadas por CCD até que se observasse a ausência do respectivo fenol e do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (**31**). As análises através de RMN de ^1H , de ^{13}C , DEPT-135° confirmaram a formação dos produtos, porém a comparação com dados da literatura não pode ser feita porque estes compostos não foram detalhadamente caracterizados na literatura.

As análises dos espectros de massa dos compostos **26**, **27**, **28** e **29** mostraram que todos os compostos apresentaram o valor do pico do íon molecular com valor corresponde à massa do composto e o pico base referente à quebra característica de ésteres, com perda do anel aromático da parte fenólica.

Nas Tabelas 24, 25, 26 e 27 estão apresentados os dados espectroscópicos dos compostos 27, 28, 26, 29, respectivamente.

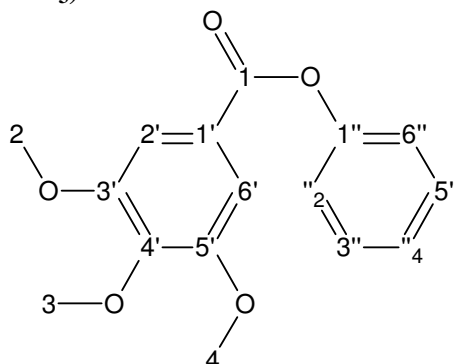
Tabela 24: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



3,4,5-Trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	164,56	C	-	-
2 e 4	56,25	CH_3	3,91	s (6H)
3	60,94	CH_3	3,92	s (3H)
1'	123,92	C	-	-
2' e 6'	107,31	CH	7,40	s (2H)
3' e 5'	153,00	C	-	-
4'	142,85	C	-	-
1''	149,35	C	-	-
2'' e 6''	123,11	CH	7,12	d ($J = 8,70\text{Hz}$, 2H)
3'' e 5''	129,51	CH	7,36	d ($J = 8,70\text{ Hz}$, 2H)
4''	131,24	C	-	-

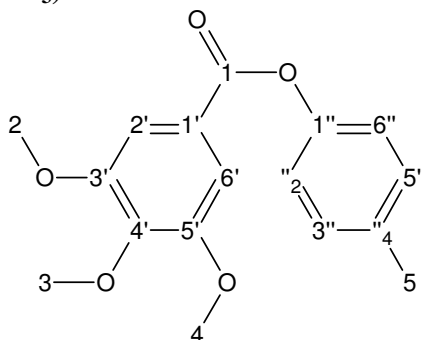
Tabela 25: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



3,4,5-Trimetoxibenzoato de fenila (28)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	164,84	C	-	-
2 e 4	56,35	CH_3	3,92	s (9H)
3	60,99	CH_3	3,92	s (9H)
1'	124,47	C	-	-
2' e 6'	107,31	CH	7,44	s (2H)
3' e 5'	153,09	C	-	-
4'	142,85	C	-	-
1''	151,02	C	-	-
2'' e 6''	121,73	CH	7,18	d ($J = 7,68\text{Hz}$, 2H)
3'' e 5''	129,53	CH	7,41	d ($J = 7,97\text{ Hz}$, 2H)
4''	125,93	CH	7,27	d ($J = 7,26\text{Hz}$, 1H)

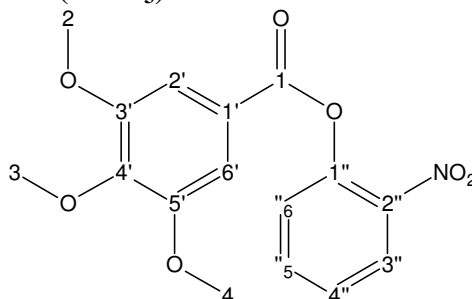
Tabela 26: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metil fenila (26). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



3,4,5-Trimetoxibenzoato de 4-metil fenila (26)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	165,06	C	-	-
2 e 4	56,35	CH_3	3,92	s (9H)
3	61,00	CH_3	3,92	s (9H)
5	20,93	CH_3	2,36	s (3H)
1'	124,60	C	-	-
2' e 6'	107,40	CH	7,43	s (2H)
3' e 5'	153,06	C	-	-
4'	142,75	C	-	-
1''	148,75	C	-	-
2'' e 6''	121,40	CH	7,05	d ($J = 8,11\text{Hz}$, 2H)
3'' e 5''	130,05	CH	7,23	d ($J = 8,11\text{ Hz}$, 2H)
4''	135,58	C	-	-

Tabela 27: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



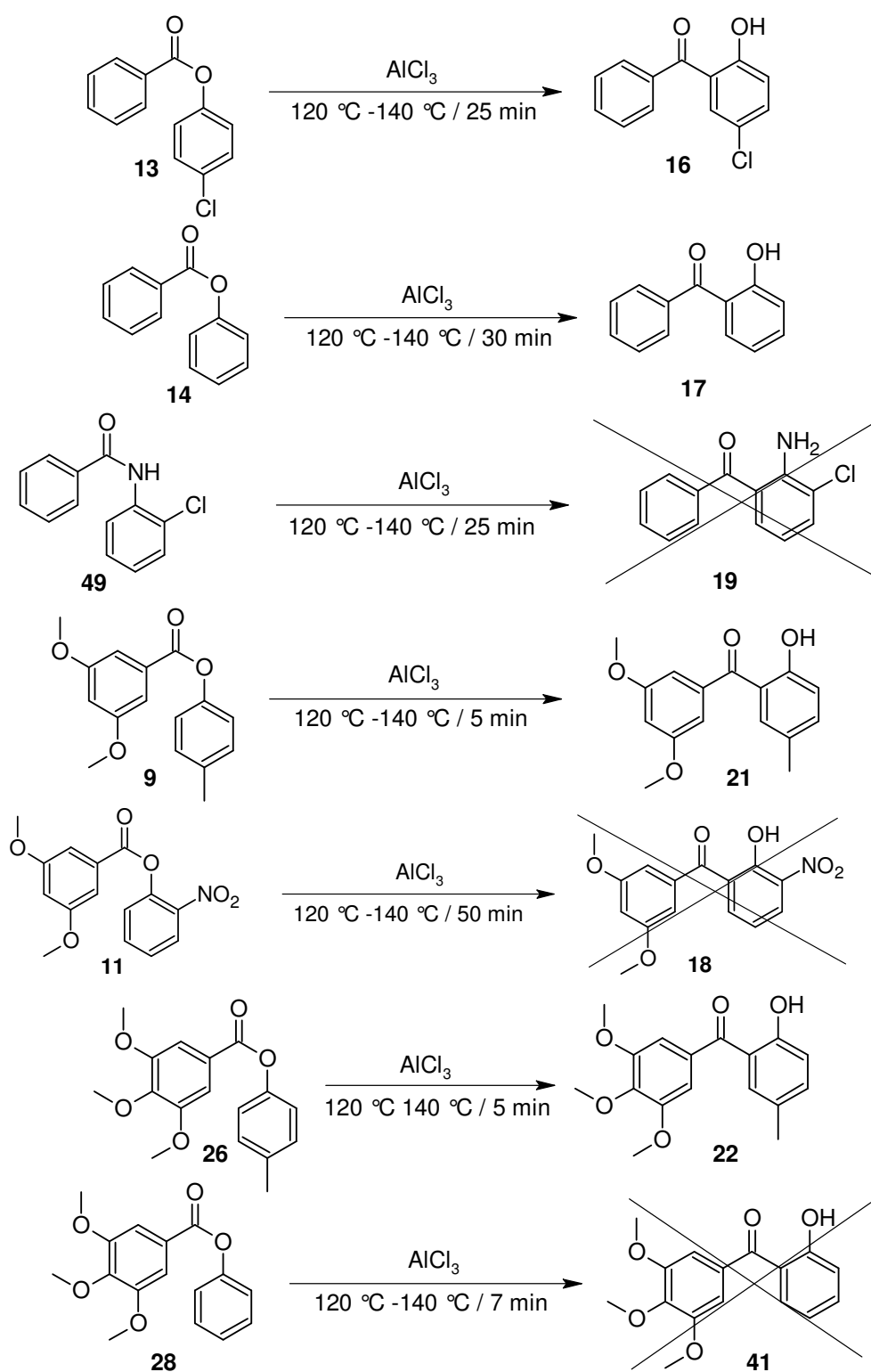
3,4,5-Trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	163,89	C	-	-
2 e 4	56,25	CH_3	3,91	s (6H)
3	60,94	CH_3	3,93	s (3H)
1'	123,14	C	-	-
2' e 6'	107,67	CH	7,42	s (2H)
3' e 5'	153,05	C	-	-
4'	143,20	C	-	-
1''	144,28	C	-	-
2''	141,67	C	-	-
3''	125,80	CH	8,11	d ($J = 8,26$ Hz, 1H)
4''	126,60	CH	7,43	m (1H)
5''	134,68	CH	7,68	m (1H)
6''	125,29	CH	7,37	m (1H)

Devido à proximidade nos valores dos sinais de ^{13}C é possível que os deslocamentos estejam trocados.

3.1.6. Tentativas de obtenção de metanonas através do rearranjo de Fries

Alguns ésteres obtidos foram submetidos ao rearranjo de Fries para a formação das respectivas difenilcetonas através da metodologia adaptada (KHANUM *et al.*, 2003). O rearranjo é uma maneira útil de preparar cetonas através de ésteres e também é uma boa maneira de introduzir um grupo hidroxila no anel aromático, já que o grupo hidroxila não é um grupo fácil de ser adicionado. O esquema 12 ilustra as reações feitas através do rearranjo de Fries, cujos resultados estão apresentados na tabela 28.



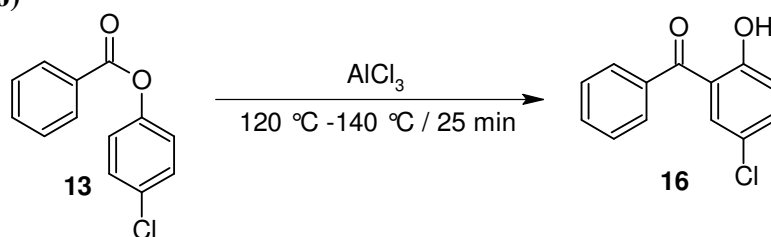
Esquema 12. Protocolo geral de preparação de metanonas (difenilcetonas) a partir do rearranjo de Fries

Tabela 28: Rearranjos de Fries de benzoatos de fenila ou benzamidas substituídos na tentativa de obtenção de metanonas

Material de Partida (MP)	Procedimento experimental Nº	Tempo de reação	Rendimento (%)
Benzoato de 4-clorofenila	4.1.2.15	25 min	30 %
Benzoato de fenila	4.1.2.17	30 min	25 %
N-2-clorofenil benzamida	4.1.2.18	25 min	Degradação do MP
3,5-dimetoxibenzoato de 4-metilfenila	4.1.2.19	5 min	18 %
3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila	4.1.2.16	50 min	Degradação do MP
3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila	4.1.2.33	5 min	5 %
3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila	4.1.2.34	7 min	Degradação do MP

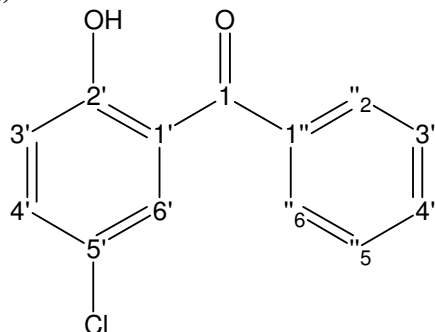
O rearranjo de Fries ocorre somente em altas temperaturas, de 80 – 180 °C e na presença de no mínimo 1 equivalente de ácido de Lewis ou de Bronsted Lowry. As reações podem variar de poucos minutos a diversas horas e o rearranjo é geral para uma grande variedade de estruturas. A reação pode ocorrer também através da irradiação de luz, o que é mais comumente chamado de foto rearranjo de Fries. Os produtos obtidos tanto no foto rearranjo como na reação iônica podem ser controlados, por exemplo, nas reações conduzidas com aquecimento, quando se usa uma temperatura mais alta o produto orto é favorecido e quando se usa uma temperatura mais baixa o produto para é favorecido. A reação também pode ser controlada através da polaridade do solvente, com o aumento da polaridade o produto para acilado aumenta.

As reações de rearranjo de Fries realizadas neste trabalho foram conduzidas a altas temperaturas e todas foram realizadas na ausência de solvente; fez-se apenas uma tentativa de reação com solvente, utilizando-se o hexano. Devido à baixa polaridade desse solvente e a solubilidade de nosso material de partida no mesmo, não ocorreu formação alguma da cetona almejada, recuperando-se o material de partida.

1º Reação – Rearranjo do éster Benzoato de 4-clorofenila (13) para obtenção de 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16)

A reação para a formação do produto **16** ocorreu facilmente formando somente o produto desejado, a presença do átomo de cloro no grupo fenila faz com que o anel fique mais rico em elétrons, mesmo o cloro sendo um grupo desativador, seu efeito indutivo doador de elétrons favorece o rearranjo. O produto foi confirmado através de dados espectroscópicos de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT (tabela 29), no entanto na literatura ainda não foi detalhadamente caracterizado. A análise do espectro de massa mostrou o pico do íon molecular com valor correspondente à massa do composto e o valor do pico base indicando a perda de H.

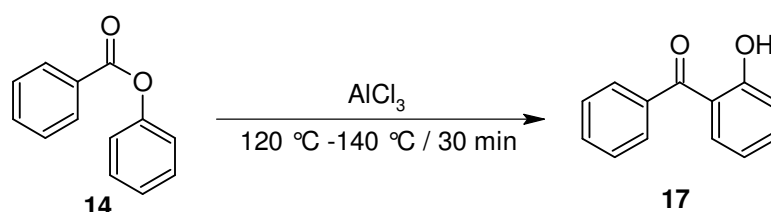
Tabela 29: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para o 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



5-Cloro 2-hidroxibenzofenona (16)

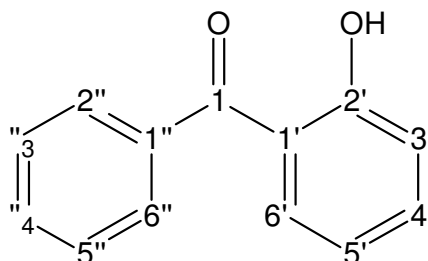
Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	200,60	C	-	-
1'	119,71	C	-	-
2'	161,69	C	-	-
3'	120,08	CH	7,02	d ($J = 8,83$ Hz, 1H)
4'	136,18	CH	7,43	d ($J = 8,85$ Hz, 1H)
5'	123,38	C	-	-
6'	132,38	CH		m (1H)
1''	137,20	C	-	-
2'' e 6''	129,13	CH	7,66	d ($J = 8,25$ Hz, 2H)
3'' e 5''	128,52	CH	7,54	m (2H)
4''	132,38	CH	7,60	m (1H)

2º Reação – Rearranjo do éster Benzoato de fenila (14) para obtenção de 2-hidroxibenzofenona (17)



Devido ao fato do éster **14** não ter nenhum substituinte no grupo fenila a reação ocorre com mais dificuldade, obtendo rendimento mais baixo e mistura de produtos que não são de interesse. Como descrito por KHANUM e colaboradores (2003), muitos ésteres que não possuem substituintes no grupo fenila para ativar a reação de acilação, não sofrem este tipo de rearranjo ou formam apenas uma pequena quantidade do produto. O produto foi confirmado através de dados espectroscópicos de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT (Tabela 30) e através de dados da literatura, que estão apresentados na Tabela 31 (LAMPERT., et al 1997). A análise do espectro de massa mostrou o pico do íon molecular com valor correspondente à massa do composto e o valor do pico base indicando a perda de H.

Tabela 30: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 2-hidroxibenzofenona (17). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



2-Hidroxibenzofenona (17)

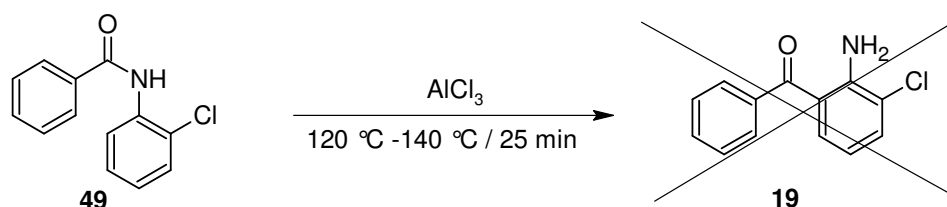
Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	201,63	C	-	-
1'	119,16	C	-	-
2'	163,26	C	-	-
3'	118,43	CH	7,05	d ($J = 8,40\text{Hz}$, 1H)
4'	136,37	CH	7,53	m (1H)
5'	118,70	CH	6,84	m (1H)
6'	131,98	CH	7,57	dd ($^1J = 7,82\text{ Hz}$, $^2J = 1,56\text{ Hz}$, 1H)
1''	137,91	C	-	-
2'' e 6''	129,22	CH	7,63	m (2H)
3'' e 5''	128,39	CH	7,47	m (2H)
4''	133,66	CH	7,66	m (1H)

Tabela 31: Dados da literatura para deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 2-hidroxibenzofenona (17). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	203,81	C	-	-
1'	121,33	C	-	-
2'	165,45	C	-	-
3'	120,61	CH	6,84	d ($J = 8,40\text{Hz}$, 1H)
4'	138,50	CH	7,36	m (1H)
5'	120,80	CH	6,63	m (1H)
6'	135,81	CH	7,26	dd ($^1J = 7,82\text{ Hz}$, $^2J = 1,56\text{ Hz}$, 1H)
1''	139,80	C	-	-
2'' e 6''	132,20	CH	7,57	m (2H)
3'' e 5''	130,51	CH	7,24	m (2H)
4''	134,62	CH	7,34	m (1H)

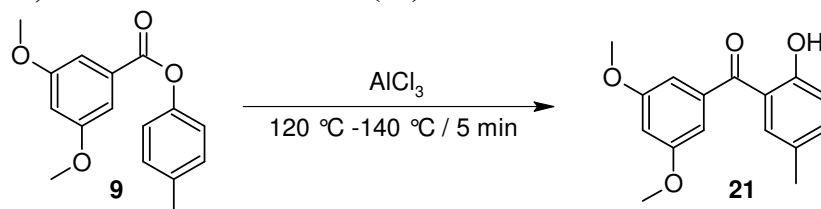
(LAMPERT., et al 1997)

3º Reação – Rearranjo da amida N-2-clorofenil benzamida (49) para obtenção de 2-amino 3-clorobenzofenona (19)



Testou-se a possível formação de metanonas através de amidas utilizando-se também o procedimento do rearranjo de Fries, mas a reação apresentou resultados insatisfatórios.

4º Reação – Rearranjo do éster 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9) para obtenção de 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxiacetofenona (21)

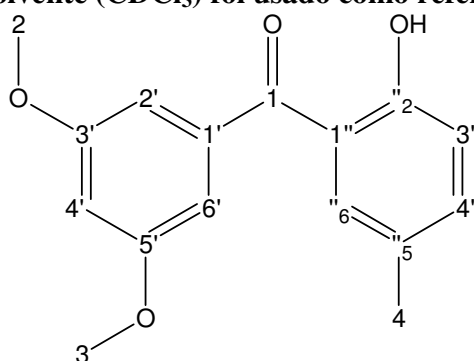


A formação do produto foi rápida devido a presença de vários grupos ativadores no éster **9**; como o tempo da reação foi de cinco minutos não foi possível acompanhar a formação do produto por CCD e a

reação foi interrompida devido a rápida mudança tanto da coloração como do estado físico do meio reacional. A formação do composto 21 foi confirmada através dos dados de espectroscopia de RMN de ^{13}C , ^1H e DEPT, que estão descritos na Tabela 32. Não existe descrição deste composto na literatura.

A análise do espectro de massa mostrou o pico do íon molecular com valor correspondente à massa do composto e o valor do pico base indicando a perda de uma metoxila.

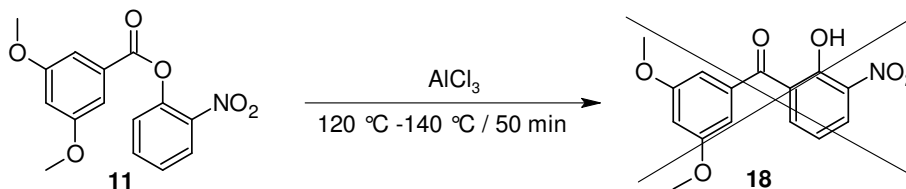
Tabela 32: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (21) . O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



2-Hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (21)

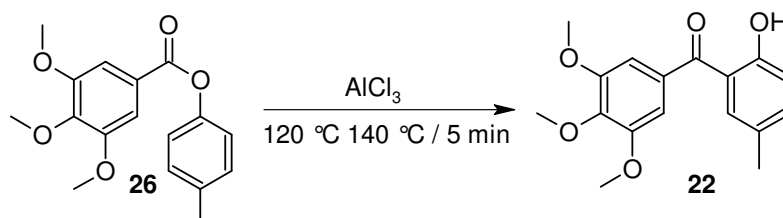
Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT-135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	200,82	C	-	-
2 e 3	55,61	CH_3	3,81	s (6H)
4	22,02	CH_3	2,35	s (3H)
1'	139,91	C	-	-
2' e 6'	106,88	CH	6,74	d ($J = 2,14$ Hz, 2H)
3' e 5'	160,59	C	-	-
4'	103,85	CH	6,63	t (1H)
1''	116,81	C	-	-
2''	163,44	C	-	-
3''	118,45	CH	7,50	d ($J = 8,11$ Hz, 1H)
4''	133,49	CH	6,66	d ($J = 8,11$ Hz, 1H)
5''	148,23	C	-	-
6''	120,01	CH	6,85	sl (1H)

5º Reação – Rearranjo do éster 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11) para obtenção de 2-hidroxi 3',5'-dimetoxi 3-nitrobenzofenona (18)



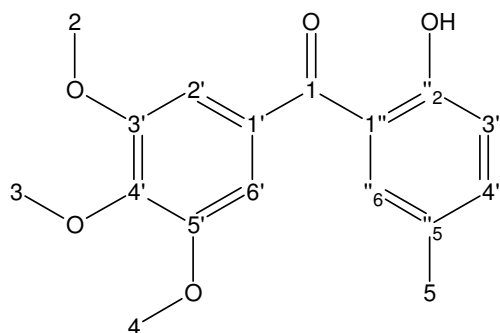
Testou-se o rearranjo com o éster **11** que possui o grupo nitro que é um forte desativador, mas a reação não formou cetona alguma. O grupo nitro desativa o anel e impede a reação de acilação devido à falta de elétrons no anel aromático.

6º Reação – Rearranjo do éster 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metil fenila (26) para obtenção de 2-hidroxi 5-metil 3',4',5'-trimetoxibenzofenona (22)



A reação para obtenção do composto **22** foi realizada várias vezes e apesar de em todas as misturas de produtos se observar a formação da cetona de interesse a quantidade de produto era sempre muito pequena, mesmo quando se usava grande quantidade de material de partida. O tempo da reação era muito curto e quando a reação tinha uma duração maior que cinco minutos, podia-se observar a diminuição da quantidade do produto de interesse. . A formação do composto **22** foi confirmada através dos dados de espectroscopia de RMN de ^{13}C , ^1H e DEPT, que estão descritos na Tabela 33. Não existe descrição deste composto na literatura. A análise do espectro de massa mostrou o pico do íon molecular com valor correspondente à massa do composto e o valor do pico base indicando uma quebra α a carbonila com eliminação do anel aromático com a hidroxila.

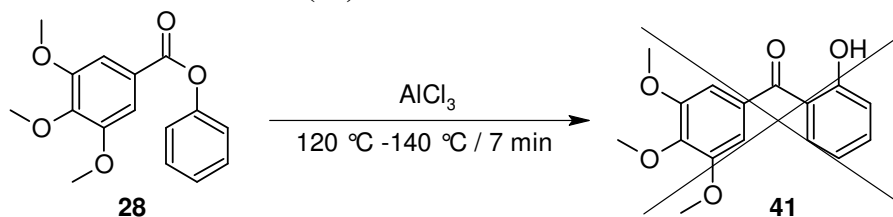
Tabela 33: Deslocamentos químicos (ppm) apresentados para 2-hidroxi 5-metil 3',4',5'-trimetoxibenzofenona (22). O espectro de RMN de ^1H foi obtido a 300 MHz e de ^{13}C a 75 MHz. O sinal residual do solvente (CDCl_3) foi usado como referência interna.



2-Hidroxi 5-metil 3',4',5'-trimetoxibenzofenona (22)

Posição	RMN ^{13}C δ (ppm)	DEPT- 135°	RMN ^1H δ (ppm)	Multiplicidade
1	200,45	C	-	-
2 e 4	56,39	CH ₃	3,88	s (6H)
3	61,04	CH ₃	3,93	s (3H)
5	29,72	CH ₃	2,26	s (3H)
1'	127,77	C	-	-
2' e 6'	106,97	CH	6,90	s (2H)
3' e 5'	152,98	C	-	-
4'	141,51	C	-	-
1''	118,83	C	-	-
2''	161,04	C	-	-
3''	118,23	CH	6,97	d ($J = 8,28$ Hz, 1H)
4''	137,26	CH	7,31	dd ($^1J = 8,28$ Hz, $^2J = 1,35$ Hz, 1H)
5''	138,40	C	-	-
6''	133,01	CH	7,42	sl (1H)

7º Reação – Rearranjo do éster 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) para obtenção de 2-hidroxi 3',4',5'-trimetoxibenzofenona (41)



Como para a obtenção do produto **22**, foram feitas várias reações na tentativa de se obter o produto **41**, porém ele sempre foi obtido em pouca quantidade e não foi possível sua separação para o envio para os testes biológicos; no entanto, sua formação pode ser confirmada através de espectrometria de massa.

3.1.7. Tentativas de obtenção de tiometanonas

Tabela 34: Tentativas de obtenção de tiometanonas

Material de Partida (MP)	Procedimento experimental Nº	Metodologia	Produto
3,4',5-trimetoxibenzofenona	4.1.2.13	(KALETA <i>et al.</i> , 2006)	Não formado
Benzoato de 4-clorofenila	4.1.2.14	(KALETA <i>et al.</i> , 2006)	Não formado
Benzofenona	4.1.2.35	(SHULTZ <i>et al.</i> , 2003)	Não formado
Benzofenona	4.1.2.36	(POLSHETTIWAR <i>et al.</i> , 2004)	Não formado
Benzofenona	4.1.2.37	(POLSHETTIWAR <i>et al.</i> , 2004)	Não formado
Benzofenona	4.1.2.38	(RAJENDER <i>et al.</i> , 1999)	Observado

As reações de tentativas de tionação foram feitas com variados procedimentos, como descrito na Tabela 34, no entanto apenas na reação realizada em microondas ocorreu a formação da tiocetona. Os produtos obtidos nas outras reações foram analisados por técnica de RMN, espectrometria de massa e CCD, porém todos apresentavam somente o material de partida.

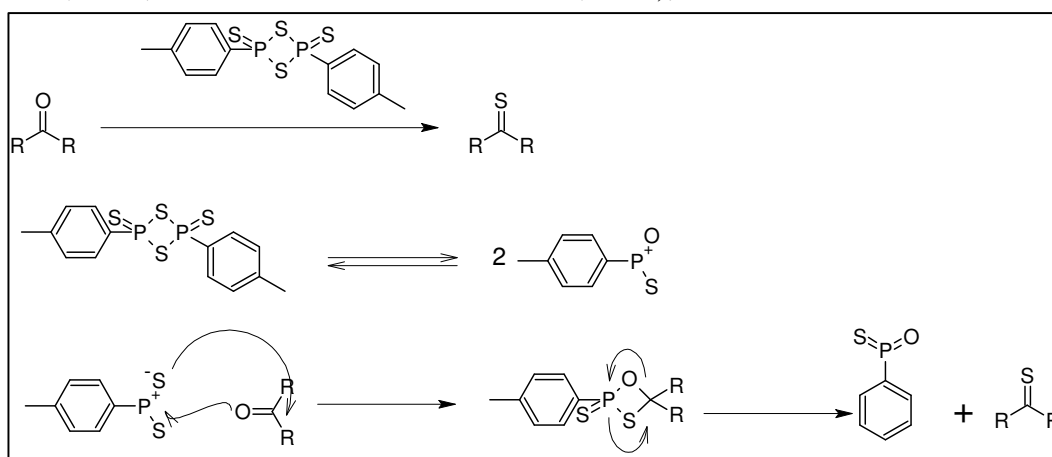
Uma variedade grande de reagentes inorgânicos tem sido relatada como agentes de tionação, os quais possuem em sua estrutura fósforo ou enxofre, alguns exemplos são: $\text{PCl}_5/\text{Al}_2\text{S}_3/\text{Na}_2\text{SO}_4$, $\text{P}_2\text{S}_5/\text{Net}_3$, $\text{RPS}(\text{OR}')_2$, $\text{PSCl}_n(\text{Nme}_2)_3$, mas o mais comumente usado ainda é o P_4S_{10} (McGREGOR e SHERRINGTON, 1993). Esse composto foi pela primeira vez usado na síntese da tiocetona de Michler's em 1886, e a partir desta data foi extensamente usado na síntese de compostos tiocarbonila. O maior problema com este reagente é sua insolubilidade em grande parte dos solventes orgânicos, trazendo, portanto, dificuldade em muitas reações. É muito comum os relatos de sucessos do reagente em solventes como THF, piridina e acetonitrila; nestes solventes se consegue uma boa homogeneidade entre o reagente inorgânico e o meio reacional e bons resultados nas preparações de tiocetonas contendo grupos alquila, alquenila, arila, ou éster substituídos. A maior vantagem do uso deste reagente é o fácil processo de

purificação, onde o produto tionado pode ser separado do P_4S_{10} através de filtragem (POLSHETTIWAR e KAUSHIK, 2004).

Para se obter um reagente de tionação com características mais próximas de compostos orgânicos, usa-se preparar o reagente 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3-ditio-2,4-fosfatano-2,4-disulfito através da reação de P_4S_{10} com anisol, porém o método requer a purificação por cromatografia para a retirada do excesso de anisol (KALETA *et al*, 2006; MCGREGOR e SHERRINGTON, 1993). O reagente é comercializado com o nome de Lawesson e é solúvel em benzeno, tolueno, xileno e THF. Outros compostos análogos ao reagente de Lawesson são preparados através de substâncias que possuem outro grupo substituindo a metoxila. Outra diferença entre o reagente de Lawesson e o P_4S_{10} é que este requer que a reação ocorra em meio básico, usando-se normalmente bicarbonato de sódio no meio reagente (POLSHETTIWAR e KAUSHIK, 2004; KALETA *et al*, 2006).

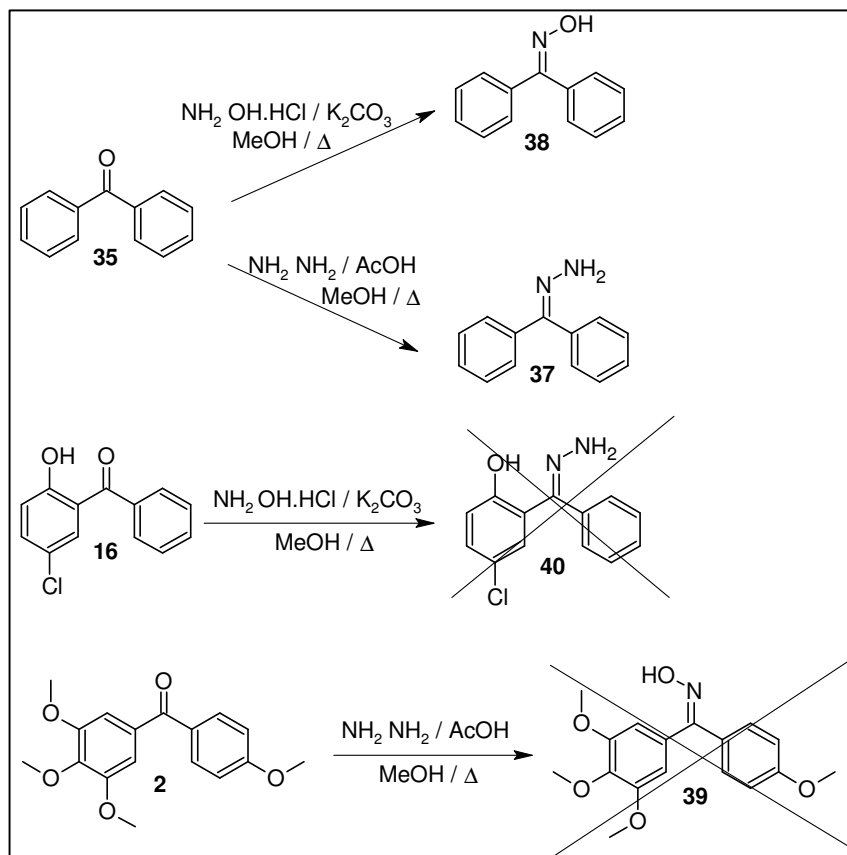
Em ambos os métodos de tionação, a velocidade da reação é dependente da densidade eletrônica existente na carbonila e limitada pela temperatura, em compostos contendo duas ou mais carbonilas, sofrerá mais facilmente tionação aquela que for mais rica em elétrons (POLSHETTIWAR e KAUSHIK, 2004; KALETA *et al*, 2006).

A conversão do grupo carbonila em tiocarbonila, com o reagente de Lawesson, é atribuída a íldeos de ditiofosfina, formados a partir da quebra do anel de quatro membros, contendo átomos de fósforo e enxofre alternados. O mecanismo reacional envolve um intermediário de quatro membros semelhante a oxafosfetana, observada na reação de Witting, para a formação de alcenos a partir de aldeídos e cetonas; no esquema 13 temos a proposta do mecanismo da reação de tionação com o reagente de Lawesson (KALETA *et al*, 2006; MCGREGOR e SHERRINGTON, 1993).



Esquema 13: Mecanismo proposto para a reação de tionação com o reagente de Lawesson

3.1.8. Tentativas de obtenção de hidrazonas e oximas



Esquema 14. Protocolo geral de preparação de hidrazonas e oximas

Foram realizadas reações para a obtenção de hidrazonas e oximas (esquema 14) através da metodologia adaptada (ÁLVAREZ et al., 2008) e foram obtidos os produtos **37** e **38**; no entanto, estas reações foram feitas apenas com o intuito de testar os procedimentos. As reações para a formação de hidrazonas e oximas de interesse degradaram o produto formado sendo que no final da reação foi possível observar a formação de poucos produtos, porém durante a cromatografia em coluna o produto degradava, não sendo possível a sua obtenção.

3.1.9. Discussão dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135

1º grupo de compostos: Cetonas e ésteres derivados do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico e do ácido 3,5-dimetoxibenzóico

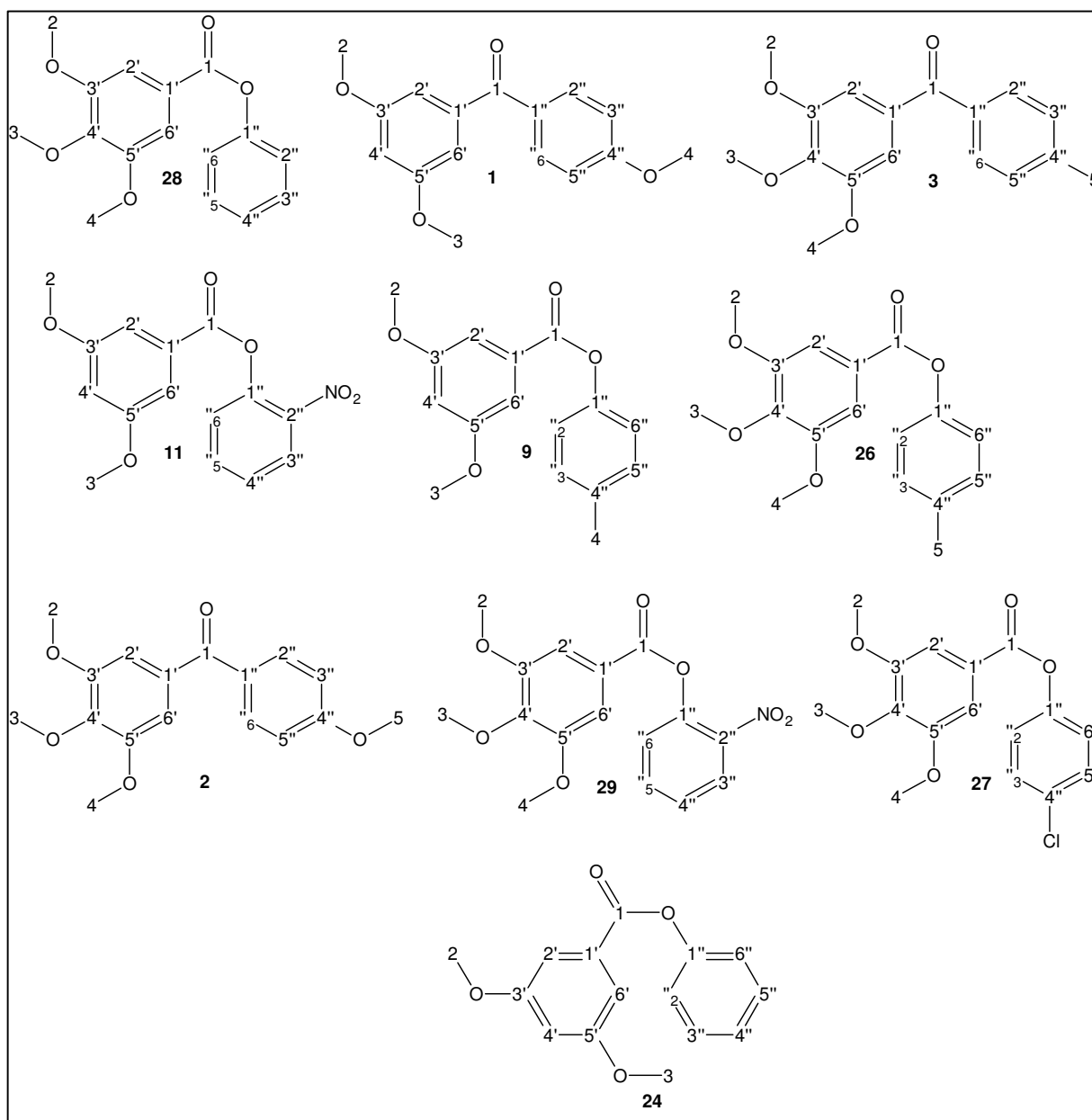


Figura 5: Derivados do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico e do ácido 3,5-dimetoxibenzóico

Os compostos apresentados na Figura 5 apresentam características em comum quanto aos sinais de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135.

O sinal de carbonila de cetona é consideravelmente desprotegido devido ao efeito de ressonância que ocorre, atraindo os elétrons da ligação dupla carbono – oxigênio para o átomo de oxigênio; no entanto os sinais de carbonila das cetonas **1**, **3**, e **2** são relativamente protegidos devido aos grupos metoxilas presente nos anéis aromáticos.

Os sinais de carbonila de ésteres são protegidos pelo efeito de ressonância, e devido a este fato os ésteres **24**, **28**, **26**, **29**, **27**, **9** e **11** apresentam sinais para o carbono da carbonila em torno de 165,00 ppm.

Tanto os sinais referentes à carbonila de cetona como os sinais de carbonila de ésteres são pequenos devido ao efeito *over-noe* quando se irradia o H, aumenta-se o sinal do carbono correspondente e, como o carbono de carbonila não possui substituinte, o sinal é pequeno.

Em relação aos sinais dos carbonos ligados a um átomo de hidrogênio, nos compostos trimetoxilados os carbonos mais protegidos são os 2' e 6' apresentando sinais próximos de 107,00 ppm por estarem orto às metoxilas e devido ao efeito γ . Os compostos dimetoxilados, **1**, **11**, **9** e **24** apresentam o carbono 4' mais protegido ainda que os carbonos 2' e 6', os carbonos 4' estão vizinhos a duas metoxilas e portanto apresentando duas proteções em orto e dois efeitos γ .

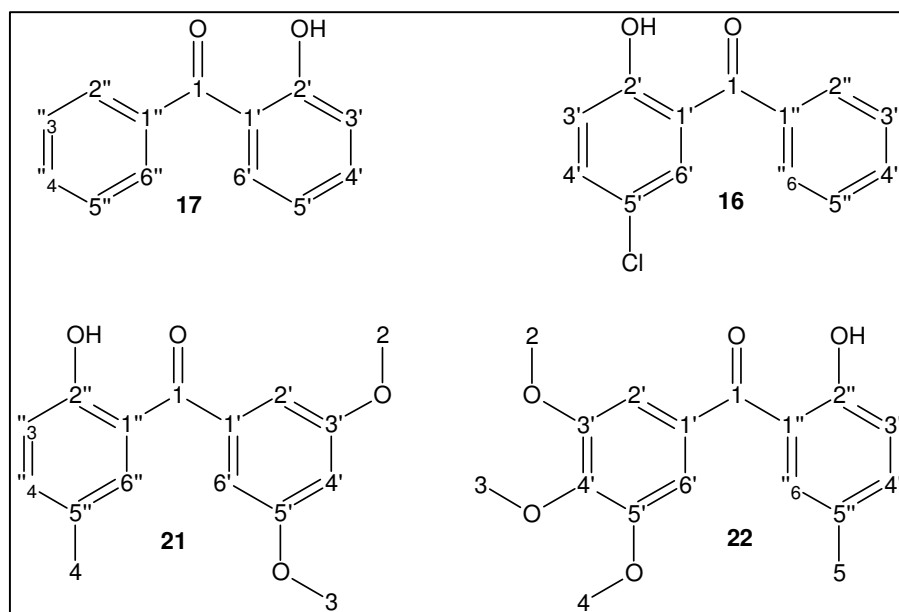
Após os carbonos da carbonila, os mais desprotegidos são os C que estão diretamente ligados a átomos de oxigênio, sendo o sinal dos C 3' e C 5' facilmente identificado por ser mais intenso.

Nas cetonas **1**, **2** e **3** os sinais dos C 1' e C 1'' são diferenciados devido ao efeito de proteção das metoxilas, e portanto o C 1' é mais protegido.

Os carbonos referentes as metoxilas 3 apresentam sinal acima de 60,00 ppm, devido ao impedimento estérico são mais desprotegido que as metoxilas 2 e 4 que possuem apenas um substituinte em orto e aparecem abaixo de 60,0 ppm.

Para os compostos que possuem anel aromático para substituído, **1**, **3**, **9**, **26**, **2** e **27** tem-se dois dubletos facilmente identificados na região dos CH aromáticos no espectro de ^1H .

Os compostos **28** e **24** apresentam padrão de segunda ordem para o anel fenila, por isso a diferenciação dos sinais dos hidrogênios é complicada e os valores de integração não são confiáveis.

2º grupo de compostos: Cetonas provenientes do rearranjo de Fries**Figura 6: Cetonas sintetizadas através do rearranjo de Fries**

Na Figura 6 estão ilustradas as cetonas sintetizadas através do rearranjo de Fries e que possuem sinais semelhantes nos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135. Os sinais de C para as carbonilas dos compostos **17**, **16**, **21** e **22** são desprotegidos por causa do efeito de desproteção causado pela ligação de hidrogênio intramolecular. Após os carbonos da carbonila, os mais desprotegidos são os C que estão diretamente ligados a átomos de oxigênio, sendo o sinal dos C 3' e C 5' facilmente identificado por ser mais intenso.

O carbono da metoxila 3 do composto **22** apresenta sinal acima de 60,00 ppm, devido ao impedimento estérico e as metoxilas 2 e 4, tanto do composto **21** como do composto **22**, apresentam sinal abaixo de 60,00 ppm por possuírem apenas um substituinte em orto.

Os sinais dos C aromáticos dos anéis sem substituintes dos compostos **17** e **16** são identificados devido ao efeito da carbonila, os C 2'' e 6'' são mais desprotegidos que os C 3'' e 5'', já o sinal referente aos C 4' são identificados também pela intensidade. Os átomos de H destes anéis são considerados do padrão de segunda ordem.

O H 1' e 6' do composto **22** aparece como um singlete em 6,90 ppm e no composto **21** os H 1' e 6' aparecem como um dublete em 6,74 ppm.

3º grupo de compostos: Ésteres derivados do ácido benzóico

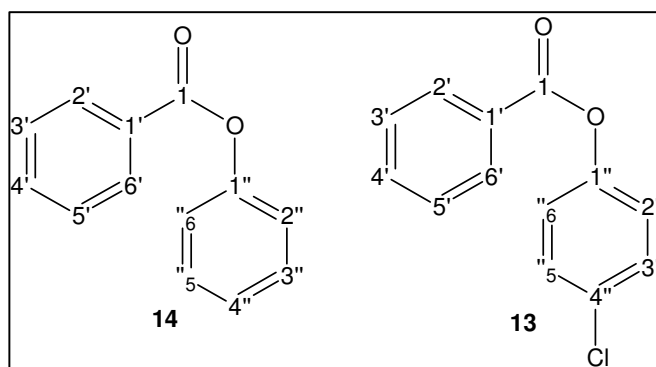


Figura 7: Ésteres derivados do ácido benzóico

Na Figura 7 estão ilustrados os ésteres derivados do ácido benzóico e que possuem sinais semelhantes nos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135.

O carbono 1 dos compostos **14** e **13** apresenta sinal protegido devido ao efeito de ressonância que ocorre nos ésteres, o sinal nestes compostos aparece próximo de 165,00 ppm. Após os carbonos da carbonila, os mais desprotegidos são os C que estão diretamente ligados a átomos de oxigênio, neste caso os carbonos 1''. Os sinais referentes aos C dos CH aromáticos são diferenciados pela intensidade dos sinais referentes a 2 C ou a 1 C e também através da análise dos substituintes que protegem ou desprotegem estes carbonos.

O espectro de ^1H apresenta sinais de segunda ordem para o composto **14** e para o anel benzoato do éster **13**, já os sinais dos hidrogênios da parte fenilica do composto **13** apresentam um padrão de anel aromático para substituído.

3.0 Resultados e discussão

3.2. Estudos de modelagem molecular por *docking* e comparação do resultado teórico com o teste biológico

Os estudos de ancoragem molecular foram realizados utilizando-se o programa Autodock 4.2 (MORRIS et al., 2007). Um conjunto de 20 ligantes, ilustrados nas figuras 8 e 9, foi submetido aos estudos de modelagem molecular com a estrutura cristalográfica da β -tubulina, selecionada no *Protein Data Bank* (entrada no PDB 3DU7). O objetivo deste estudo foi determinar a afinidade e o modo de interação entre a β -tubulina e os potenciais ligantes estudados neste trabalho, através da análise da estrutura do complexo proteína-ligante, da comparação dos resíduos que interagem com o ligante

cristalográfico (CN2) e os resíduos que interagem com os ligantes propostos, através da energia da ligação no complexo e através da sobreposição dos ligantes propostos ao ligante cristalográfico e a fenstatina (46). Dentre 20 ligantes, 13 foram analisados também através de teste biológico para que se pudesse investigar a capacidade das moléculas sintetizadas de serem usadas como agentes antivasculares, interagindo com o sítio de ligação da colchicina (48). Os 13 ligantes podem ser visualizados na Figura 9. As amostras foram enviadas para o *National Câncer Institute* em Frederik, Maryland nos EUA, onde foram realizados testes com a proteína tubulina isolada.

Os outros 7 ligantes remanescentes foram estudados apenas através do *docking* devido a dificuldade de obtê-los no laboratório. Sendo assim, com os 13 ligantes fizemos a comparação do resultado do estudo teórico com o resultado do teste biológico e com os outros 7 ligantes avaliamos suas potenciais atividades biológicas apenas através do *docking*. As estruturas dos sete ligantes podem ser visualizadas na Figura 8.

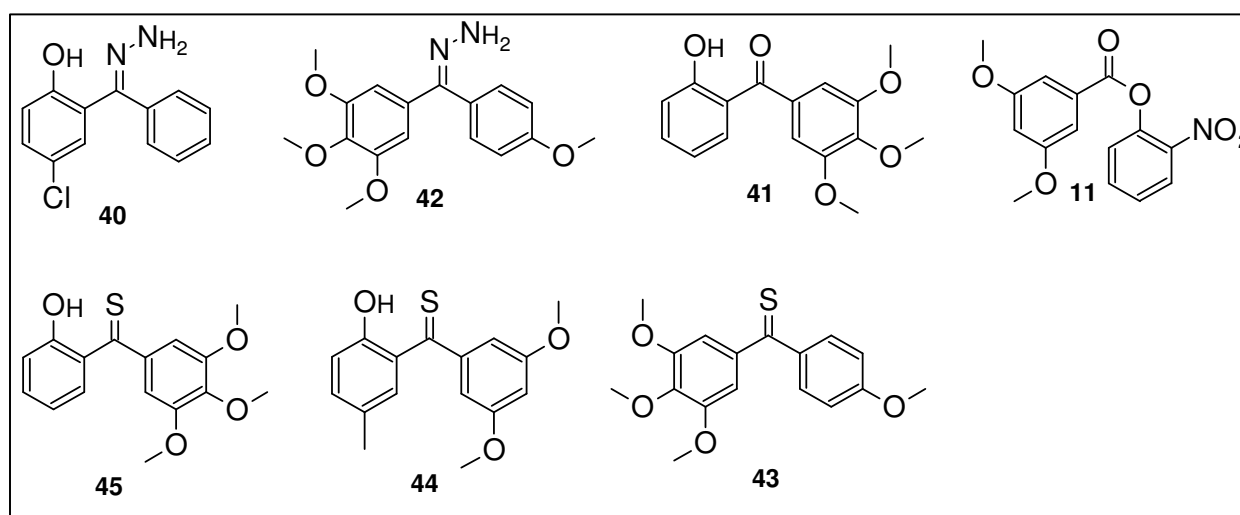


Figura 8: Ligantes propostos e estudados apenas por *docking* molecular

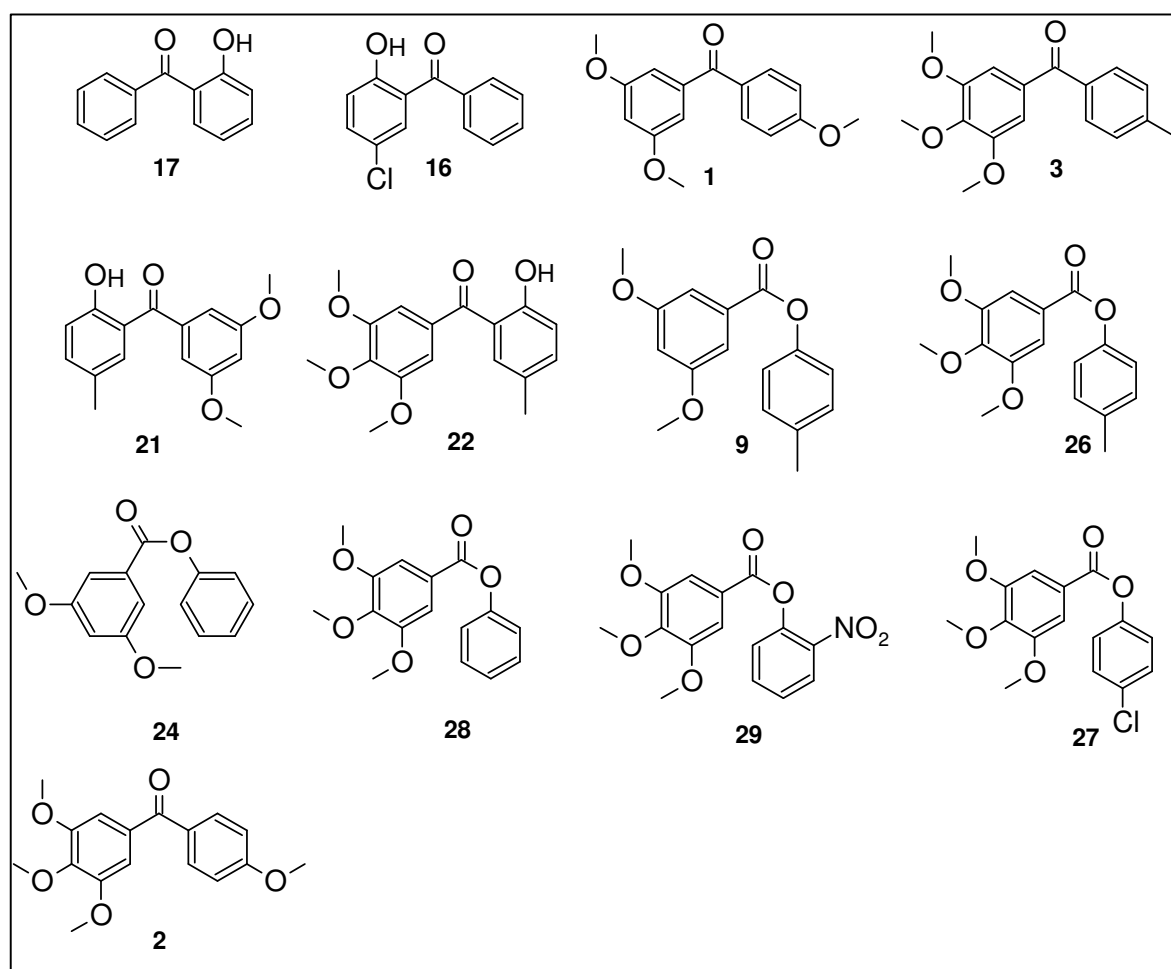


Figura 9: Ligantes sintetizados, analisados por meio de teste biológico e estudados por docking molecular

3.2.1. Estudo de ancoragem molecular (*docking*)

Para cada ligante proposto foram obtidas dez conformações, estas diferentes conformações são produzidas pelo programa baseadas no algoritmo genérico Lamarckiano (THOMSEN *et al.*, 2003). A conformação de interesse é a que possui a menor energia (melhor encaixe), e portanto é provavelmente a conformação obtida no complexo ligante-proteína.

Além dos cálculos de *docking* feito com os ligantes propostos, também foi feito o *docking* com o ligante CN2 cristalografado no PDB - 3DU7 e com a fenstatina (**46**). Analisaram-se quais eram os resíduos que interagiam com estes dois ligantes e como estes resíduos estavam em relação aos ligantes propostos. Os resíduos estudados foram: VAL318, LEU242, ALA250, ASN249, ASN258, LYS254, LEU255, VAL315, MET 259, ASN349, LYS352. Os resíduos VAL315, MET 259 e ASN349 estão

próximos apenas da fenstatina (46), os resíduos ASN258, LYS254, LYS352 e LEU255 interagem com a fenstatina (46) e com o CN2 e os resíduos VAL318, LEU242, ALA250 e ASN249 estão próximos apenas do CN2. Neste contexto podemos observar uma significativa diferença entre os resíduos que estão próximos da fenstatina (46) e os que estão próximos do ligante cristalográfico (CN2). A Figura 10 justifica esta diferença através da não sobreposição entre os compostos. E a Tabela 35 apresenta os resultado do *docking* dos ligantes contruídos e do ligante cristalográfico CN2.

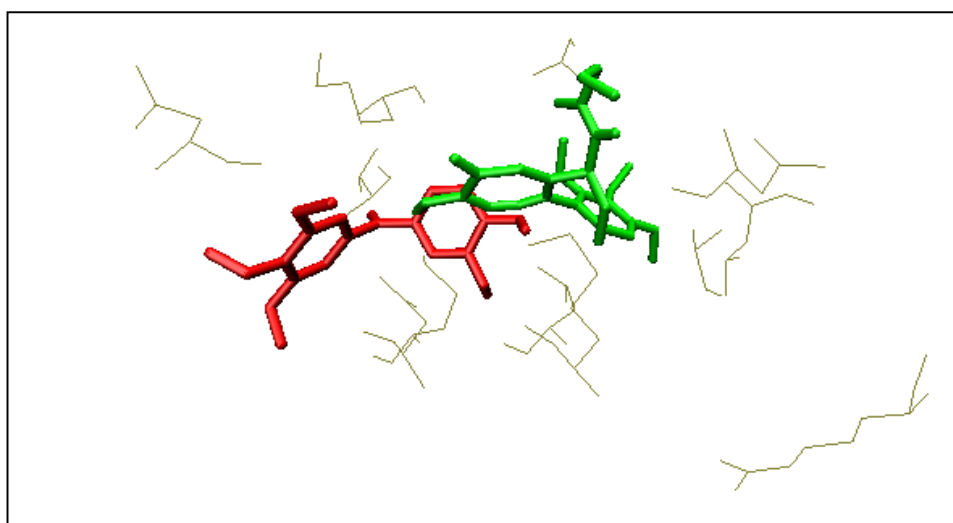


Figura 10: Representação esquemática da proximidade do ligante cristalografado CN2 (verde) com a fenstatina – 46 (vermelho).

Tabela 35: Resultado do *docking* dos ligantes contruídos e do ligante cristalografado CN2.

Ligante	Nc*	Ncc*	Energia da Ligação (Kcal/mol)
CN2	2	2	-9,25
Fentastina	6	1	-7,33
17	5	1	-7,26
16	4	2	-7,23
1	6	1	-6,98
3	5	2	-6,93
21	5	2	-7,44
22	6	3	-7,18
9	5	2	-7,83
26	3	7	-6,96
24	*	*	*
28	4	5	-6,46
29	4	4	-6,60
27	5	4	-7,10
2	5	3	-6,85
41	3	8	-6,95
40	*	*	*
44	6	1	-7,83
43	4	4	-7,11
11	5	2	-6,77
45	4	3	-7,14
42	6	3	-7,86

Nc* = Número de *clusters*; Ncc*= Número de conformações no *clusters* principal

*: os ligantes 24 e 40 não possuem ligações rotacionáveis suficientes para o estudo de ancoragem

3.2.1.1. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante cristalografado CN2.

Para a análise do resultado do experimento de *docking* realizado com o ligante CN2 cristalográfico utilizou-se a conformação de menor energia do *cluster* menos populoso. O resultado obtido mostrou a grande quantidade de resíduos que se encaixam bem com o ligante CN2, a maior parte destes resíduos se encontram localizados entre os substituintes do ligante CN2 ou encaixados entre os anéis ou no grupo

espaçador. A Figura 11 representa esquematicamente as interações entre os resíduos da proteína e o ligante.

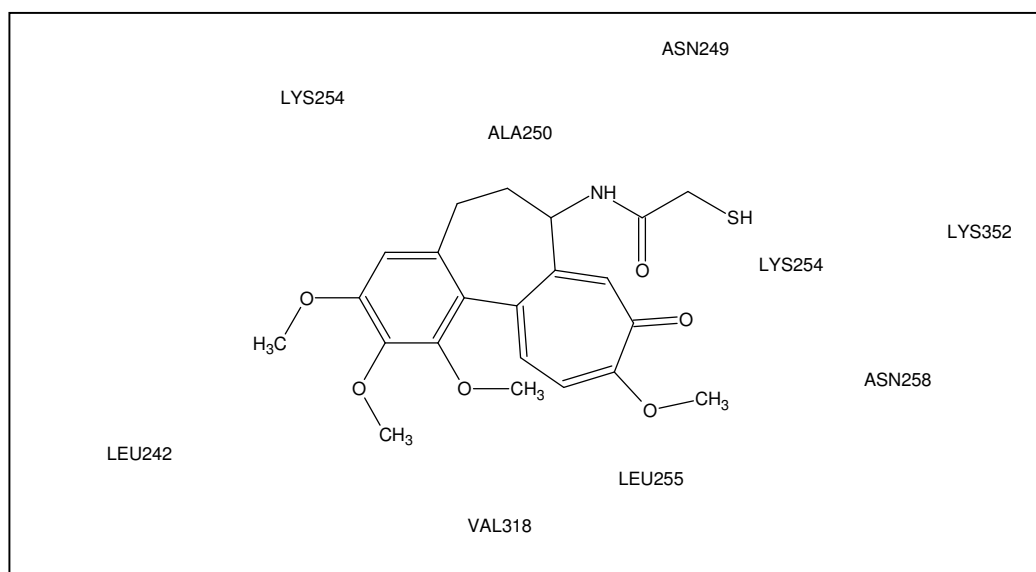


Figura 11: Representação esquemática das potenciais interações entre o ligante cristalográfico (CN2) e resíduos da β -tubulina.

3.2.1.2. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 46.

A conformação de menor energia do *cluster* menos populoso obtida no experimento de *docking* com o ligante contruído fenstatina (46) apresentou uma considerável distância do ligante cristalográfico CN2. A análise da estrutura do complexo ligante-proteína esta representada na Figura 12.

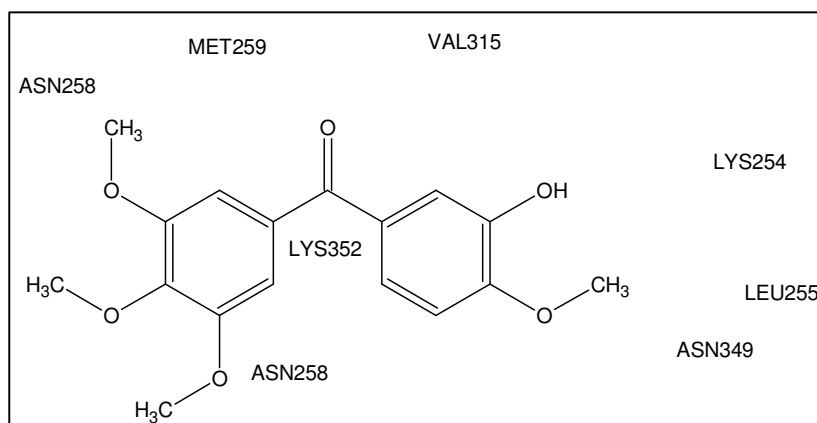


Figura 12: Representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído (46) e resíduos da β -tubulina.

3.2.1.3. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 2

A conformação de menor energia obtida no experimento de *docking* com o ligante **2** apresentou um adequado posicionamento sobre o ligante cristalográfico (CN2) e nenhuma sobreposição sobre a fenstatina (46). A sobreposição no ligante CN2 está representada na Figura 13.

Os resíduos que estão próximos do ligante construído **2** são os mesmos que interagem com o ligante CN2, com exceção do resíduo LYS352 que ocupa o espaço entre a metoxila e a carbonila no anel de sete membros do CN2 e não está próximo do ligante **2**.

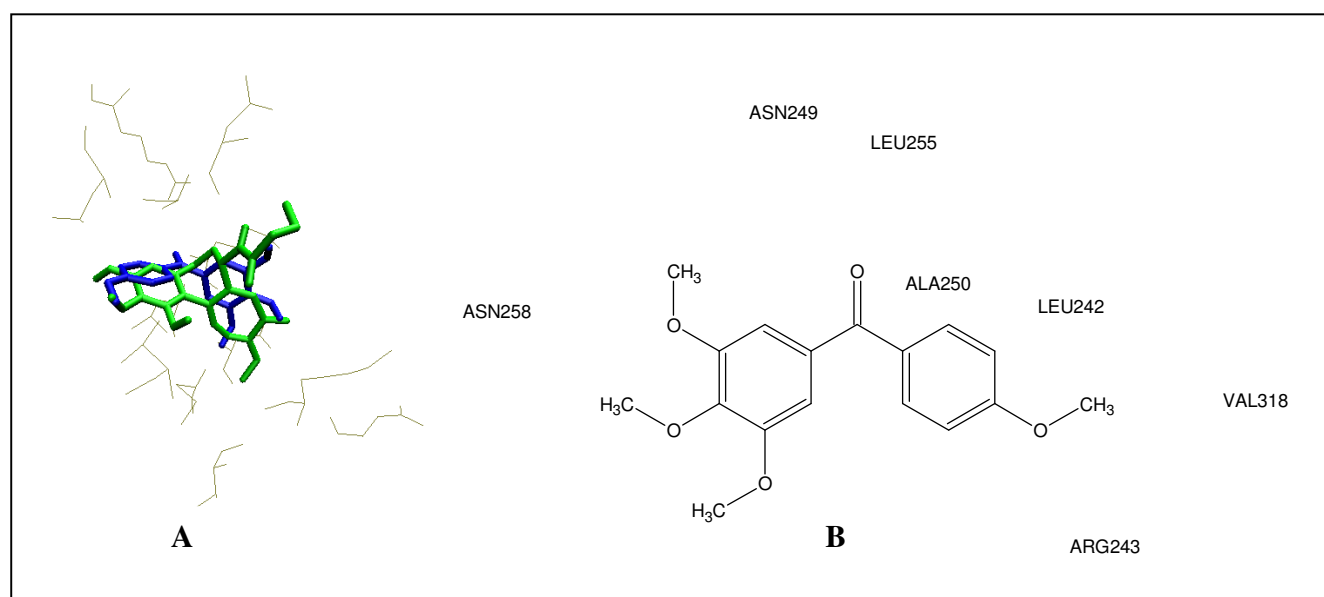


Figura 13: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalografado CN2 (verde) e o ligante construído 2 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 2 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.4. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 1

O ligante **1** se sobrepõe a fenstatina (**46**) de maneira bem efetiva (Figura 14), porém a sobreposição ocorre com o anel mais metoxilado da substância **1** sobre o anel menos metoxilado da fenstatina (**46**). A conformação mostrada na Figura 14 é a referente ao *cluster* de menor energia e menos populoso do resultado do *docking*. Todos os resíduos que se encaixam bem com a fenstatina (**46**) também interagem bem com o composto **1**. A Figura 14 representa as potenciais interações entre o ligante construído **1** e os resíduos da β -tubulina.

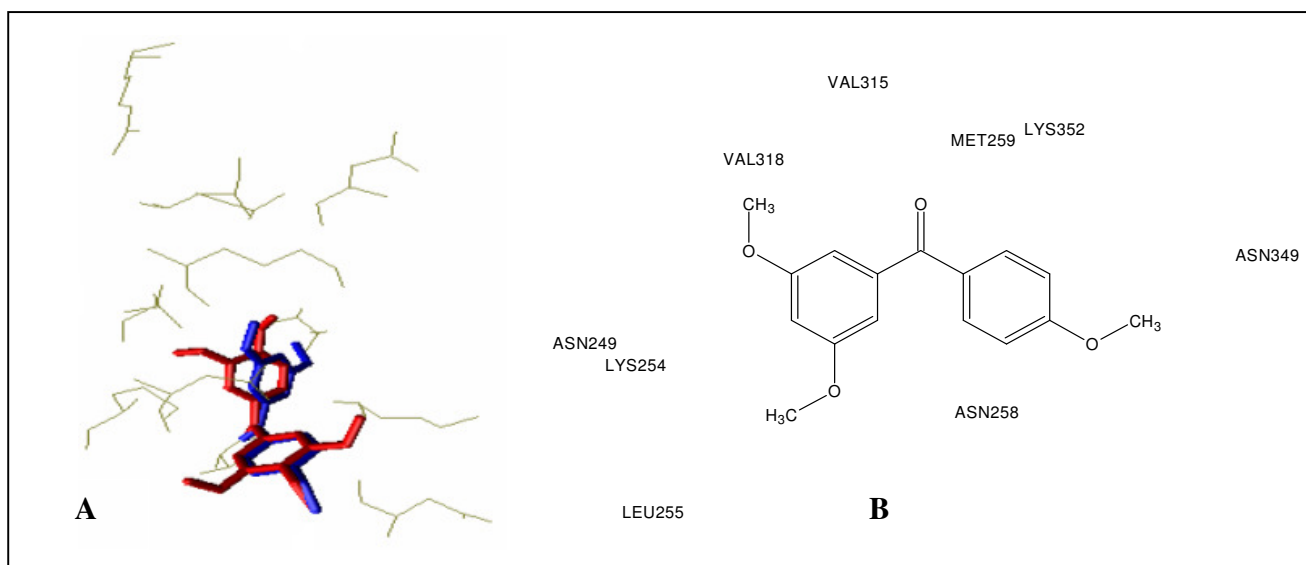


Figura 14: Representação da potencial superposição entre o ligante construído fenstatina - 46 (vermelho) e o ligante construído 1 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 1 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.5. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 41

A conformação observada no complexo de menor energia do *cluster* mais populoso obtido no experimento de *docking* do ligante construído **41** possui uma ótima sobreposição ao ligante cristalográfico CN2, os anéis trimetoxilados dos dois ligantes estão totalmente sobrepostos e por isso interagem com os mesmos resíduos da β -tubulina e o anel do ligante **41** que contém a hidroxila está próximo e paralelo ao anel monometoxilado do ligante CN2, como mostrado na Figura 15. Os resíduos que estão próximos do ligante cristalografado e não interagem com o ligante construído **41** são ASN258 e o LYS352, isso porque o ligante **41** não possui substituinte na posição 3' e 4'. A Figura 15 representa as potenciais interações entre o ligante construído **41** e os resíduos da β -tubulina.

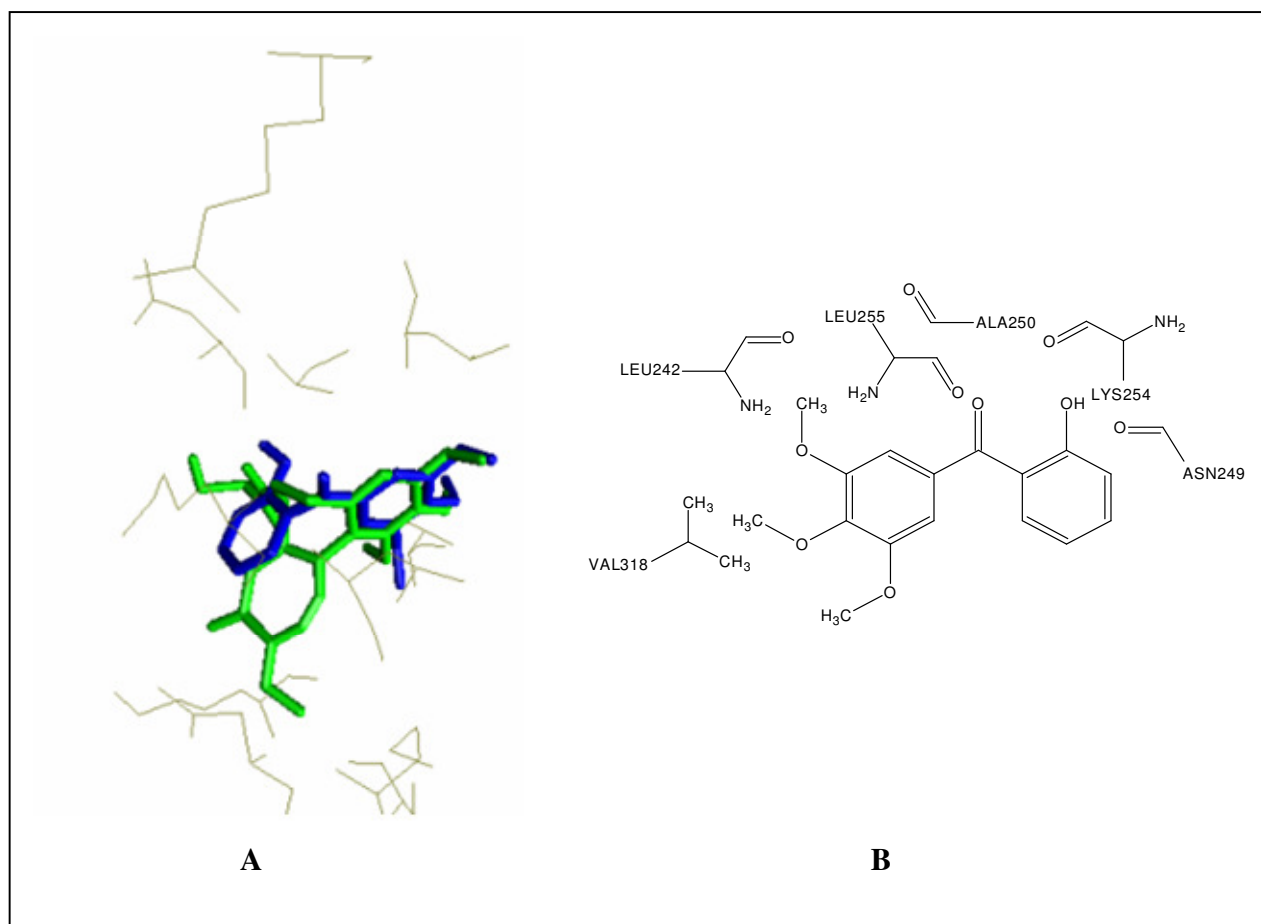


Figura 15: Representação da potencial superposição entre o ligante construído 41 (azul) e o ligante cristalografado CN2 (verde) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 41 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.6. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 11.

Como mostrado na Figura 16 a conformação de menor energia do segundo *cluster* mais populoso do ligante construído 11 não se sobrepõe de maneira efetiva ao ligante cristalográfico CN2, apesar de estar próxima aos resíduos da β -tubulina que interagem com este ligante. Os resíduos que estão mais próximos do ligante 11 estão representados na Figura 16.

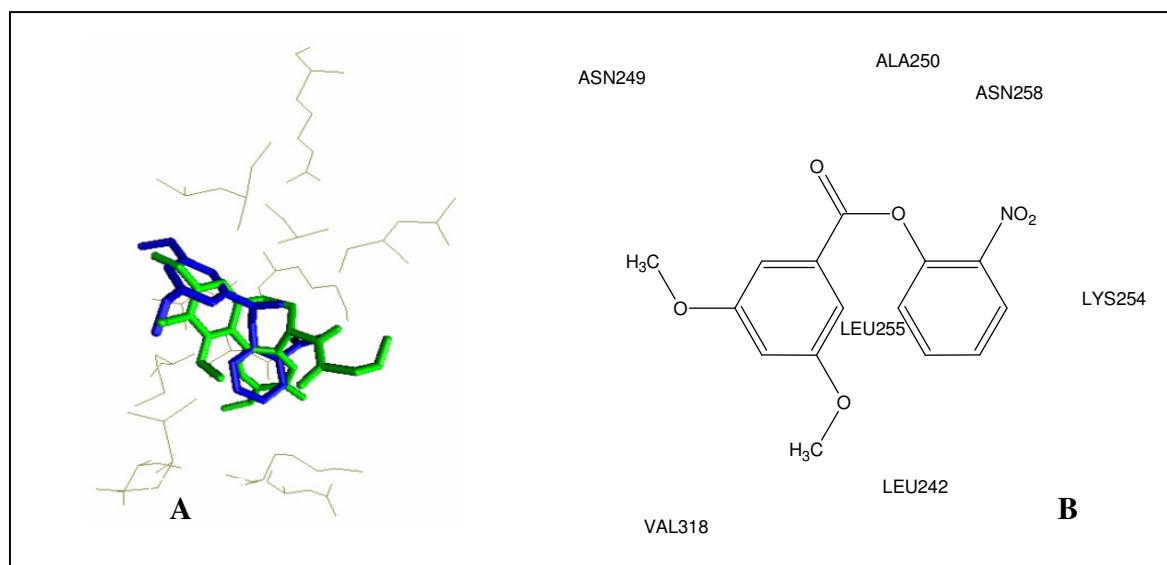


Figura 16: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalografado CN2 (verde) e o ligante construído 11 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 11 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.7. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 29.

Como mostrado na Figura 17 a conformação de menor energia do *cluster* mais populoso do ligante construído 29 não se sobrepõe de maneira efetiva ao ligante cristalográfico CN2 e nem sobre a fenstatina (46), apesar do ligante construído 11 estar próximo de resíduos da β -tubulina que interagem com o ligante CN2 e com a fenstatina. Os resíduos que estão mais próximos do ligante 29 estão representados na Figura 17.

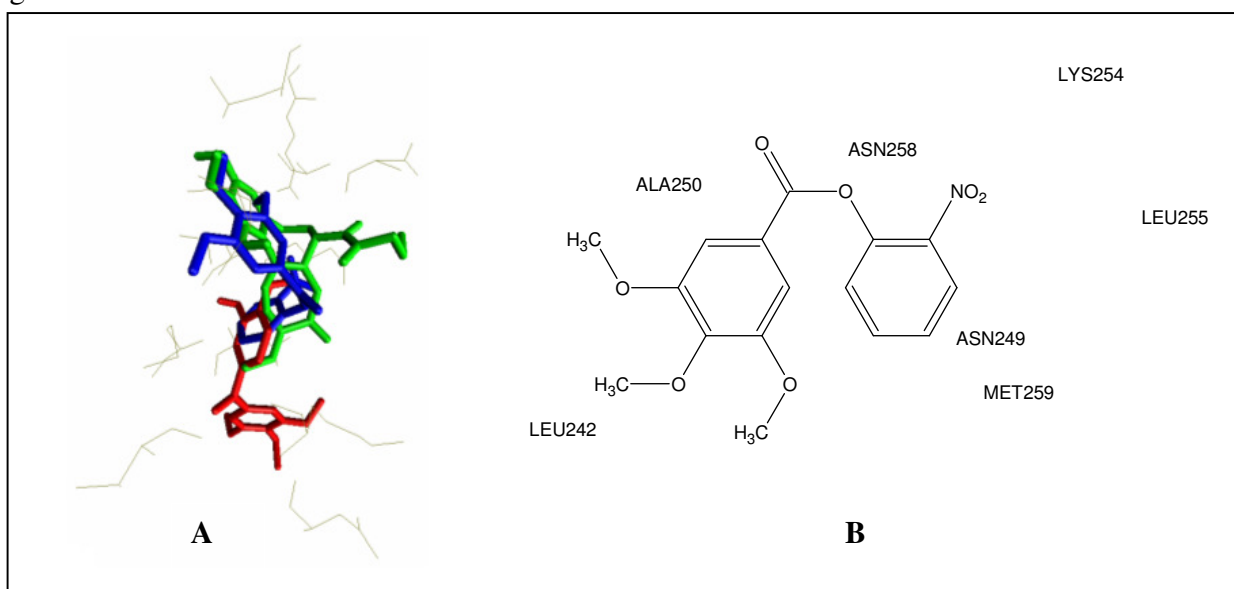


Figura 17: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalografado CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído 29 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 29 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.8. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 26.

A análise do *docking* do ligante construído **26** mostrou a sobreposição do anel trimetoxilado do ligante CN2 com o anel trimetoxilado do ligante **26**, já o grupo fenila não se sobrepõe de maneira efetiva a nenhum anel da fenstatina (46) ou do ligante CN2 (Figura 18). Na Figura 18 estão ilustradas as interações entre os resíduos da β -tubulina e o ligante **26**.

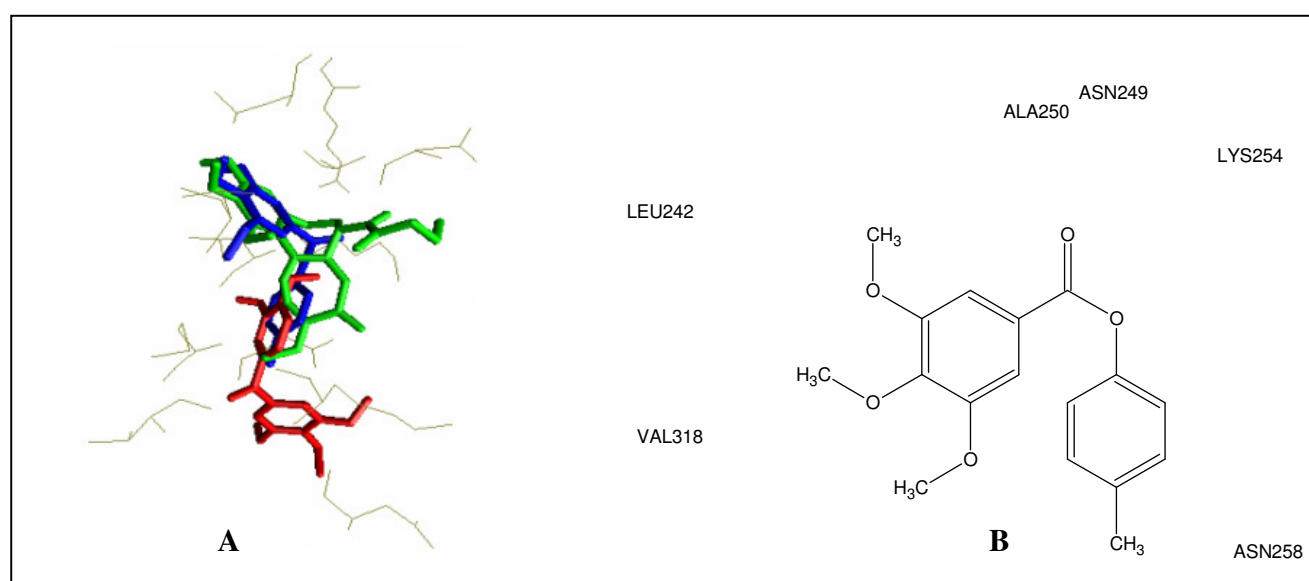


Figura 18: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalografado CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído 26 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 26 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.9. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 3.

A conformação obtida no experimento de docking com o ligante construído **3** apresentou um adequado posicionamento no sítio ativo da β -tubulina. A conformação de menor energia do segundo *cluster* mais populoso apresentou grande sobreposição sobre o ligante CN2 (figura 19). O único resíduo que interage com o ligante cristalográfico e não está próximo do ligante construído **3** é o resíduo LYS352. As potenciais interações entre os resíduos da β -tubulina e do ligante **3** estão representadas na Figura 19.

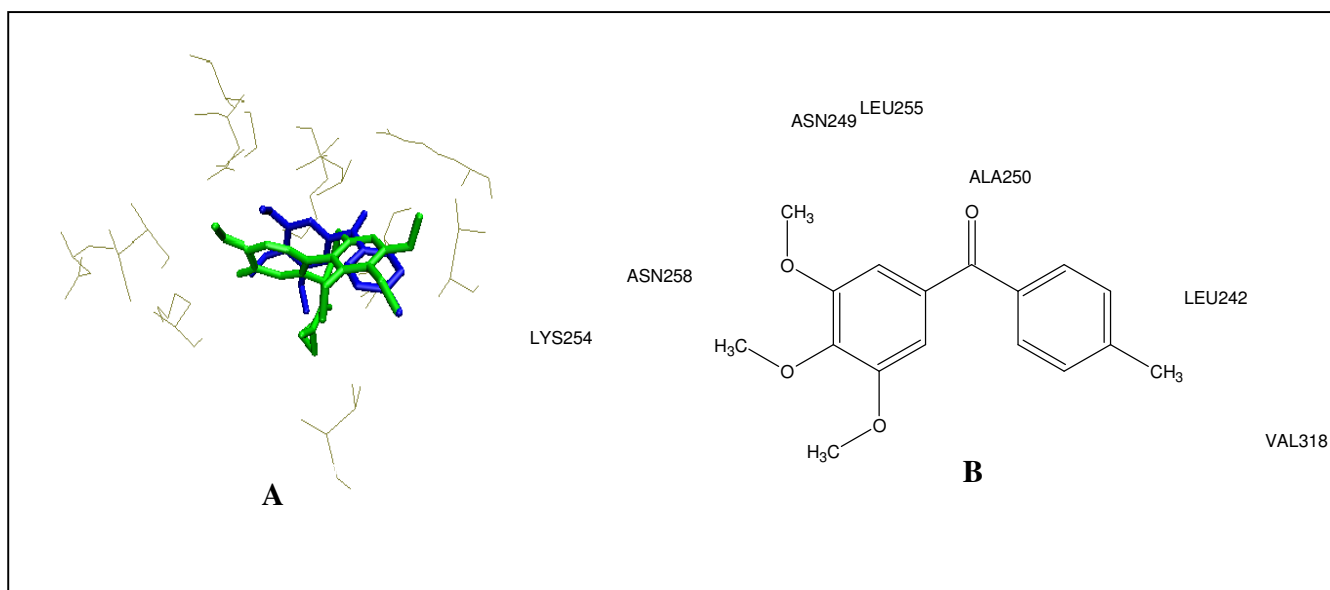


Figura 19: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalografado CN2 (verde) e o ligante construído 3 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 3 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.10. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 22.

O resultado do experimento de *docking* com o ligante construído **22** demonstra que a conformação de menor energia do *cluster* mais populoso se sobrepõe de maneira efetiva ao ligante cristalográfico CN2. O anel trimetoxilado do ligante **22** se sobrepõe ao anel trimetoxilado do ligante CN2 e o anel do ligante **22** que contém a hidroxila está paralelo ao outro anel do ligante CN2 (Figura 20). O único resíduo que interage com o ligante CN2 e não interage com o ligante **22** é o LYS352, este resíduo se localiza afastado do ligante **22** devido a considerável distância entre o anel do ligante **22** que contém a hidroxila e o anel do ligante CN2 que possui a carbonila. As interações entre o ligante **22** e os resíduos da β -tubulina estão representados esquematicamente na Figura 20.

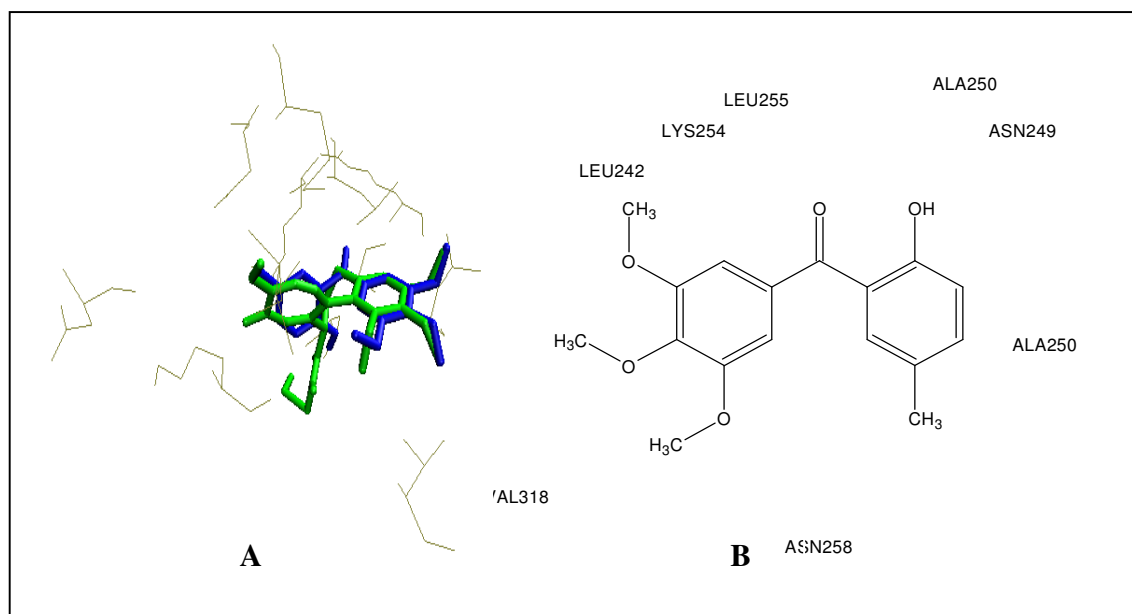


Figura 20: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 22 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 22 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.11. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 27.

A conformação de menor energia do *cluster* mais populoso obtida nos experimentos de *docking* com o ligante construído 27 não apresentou uma sobreposição adequada com a fenstatina (46) e nem com o ligante cristalográfico CN2, apesar da proximidade e considerável sobreposição entre o anel trimetoxilado do ligante construído 27 e o anel trimetoxilado do ligante cristalográfico CN2, o grupo fenila se localiza ao lado do outro anel do ligante CN2 e não sobreposto. O grupo fenila se sobrepõe ao anel que contem a hidroxila na fenstatina, mas a interação não recebe considerável importância devido a grande distância entre os anéis trimetoxilados do ligante 27 e da fenstatina (46). Na Figura 21 está ilustrada a proximidade do composto 27, da fenstatina (46) e do ligante cristalográfico CN2 e temos também a representação do composto 27 com os resíduos mais próximos da β -tubulina.

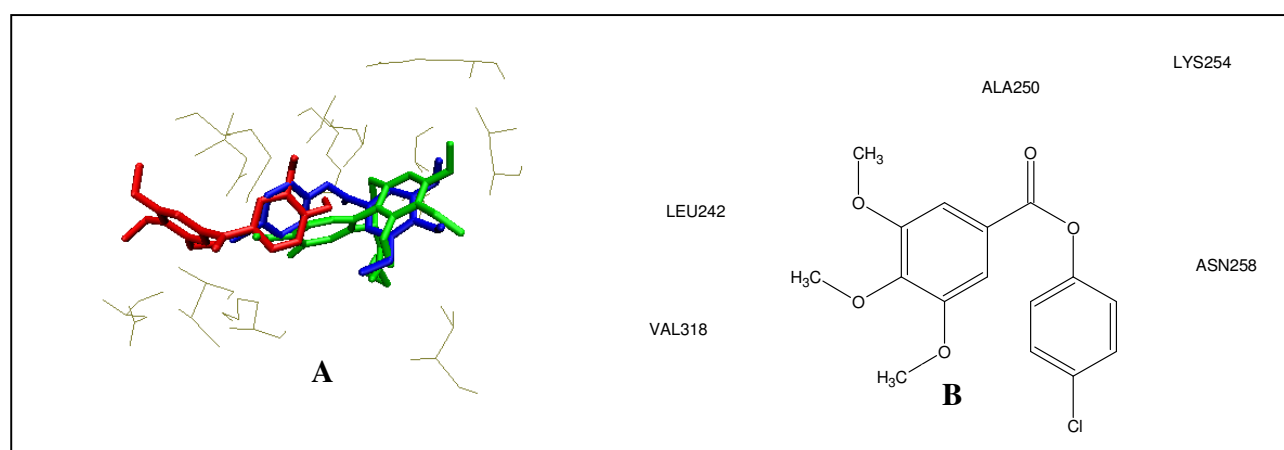


Figura 21: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído 27 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 27 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.12. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 28.

A conformação obtida no experimento de *docking* com o ligante construído **28** apresentou um razoável posicionamento no sítio ativo da β -tubulina. A conformação de menor energia do *cluster* mais populoso apresentou sobreposição sobre o ligante CN2 (Figura 22). O único resíduo que interage com o ligante cristalográfico (CN2) e não está próximo do ligante construído **28** é o resíduo LYS352, este resíduo se aproxima do anel aromático fenila, mas para que ocorresse uma interação favorável seria necessário um substituinte na posição 3 ou 4 deste anel. As potenciais interações entre os resíduos da β -tubulina e do ligante **28** estão representadas na Figura 22.

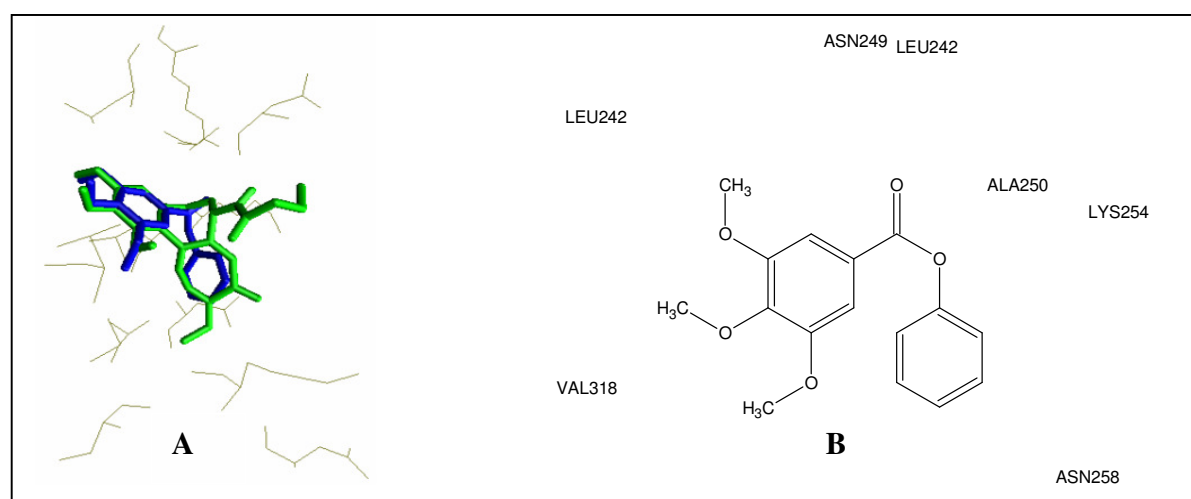


Figura 22: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 28 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 28 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.13. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante **43**.

O complexo de menor energia do *cluster* mais populoso do ligante contruído **43**, que foi obtido no experimento de *docking*, revela o posicionamento favorável do anel trimetoxilado do ligante **43** em relação ao anel trimetoxilado do ligante cristalográfico CN2, porém o anel monometoxilado do ligante **43** não se sobrepõe de maneira adequada ao anel que contém a carbonila no ligante CN2 (Figura 24). Vários resíduos que estão muito próximos do ligante CN2 apresentam-se mais distantes do ligante **43**. Quando o ligante **43** (3,4,4',5-tetrametoxitiobenzofenona) é comparado com o ligante **2** (3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona), dentro do sítio ativo da β -tubulina, podemos notar que os ligantes não ficam sobrepostos e que os resíduos que interagem com o anel trimetoxilado do ligante **43** interagem com o anel monometoxilado do ligante **2**. A diferença significativa entre o ligante **2** e o ligante **43** dentro do sítio ativo da β -tubulina esta representada na Figura 23.

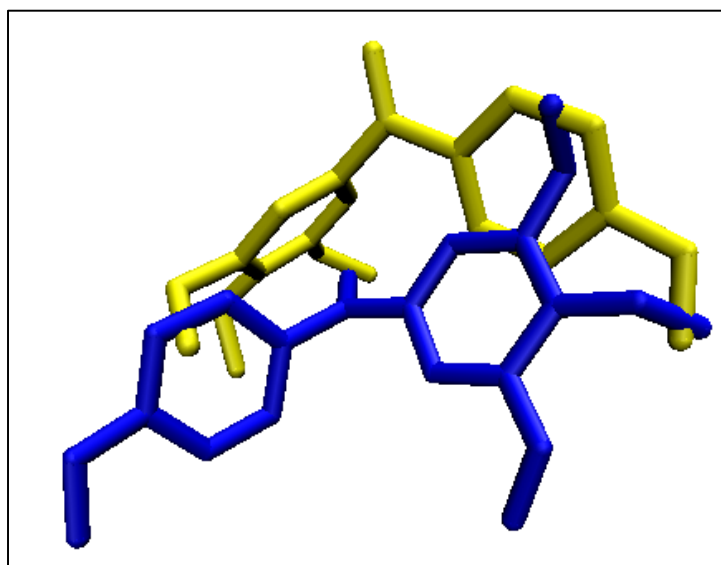


Figura 23: Representação da potencial superposição entre o ligante **2** (amarelo) e o ligante **43** (azul)

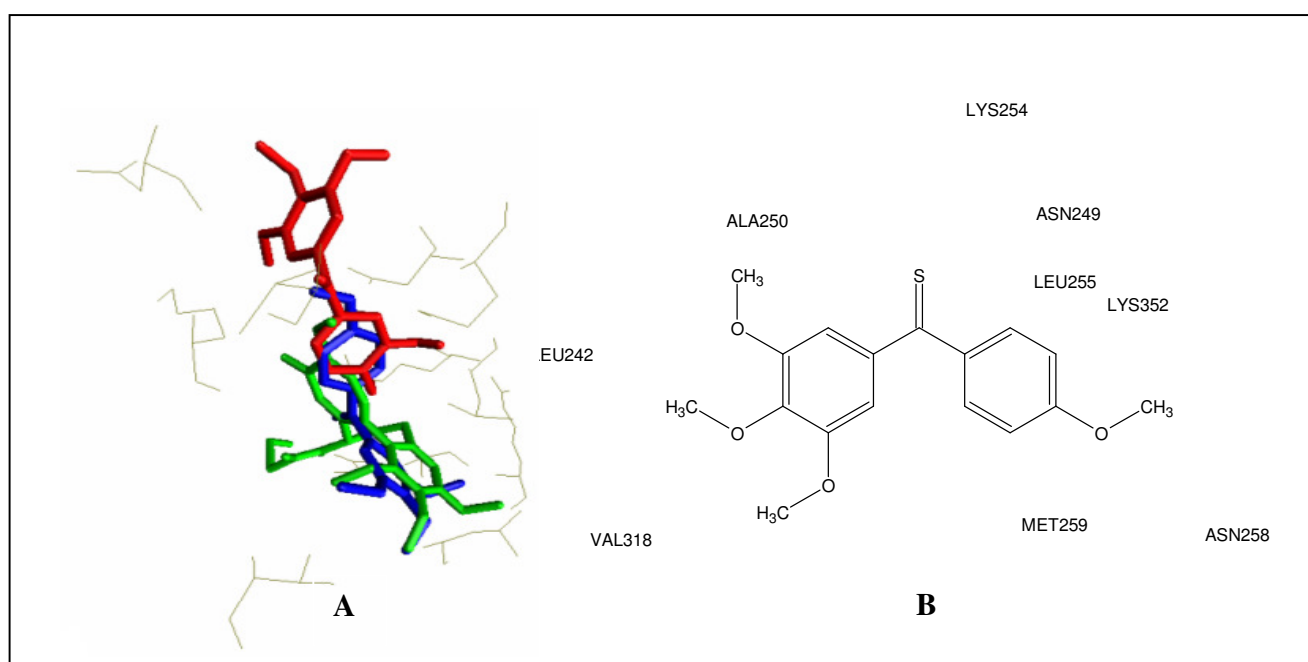


Figura 24: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina - 46 (vermelho) e o ligante construído 43 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 43 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.14. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) do ligante 45.

A conformação observada no complexo de menor energia do *cluster* mais populoso obtido no experimento de *docking* do ligante construído 45 possui uma ótima sobreposição ao ligante cristalográfico CN2, os anéis trimetoxilados dos dois ligantes estão totalmente sobrepostos e por isso interagem com os mesmos resíduos da β -tubulina e o anel do ligante 45 que contém a hidroxila está próximo e paralelo ao anel monometoxilado do ligante CN2, como mostrado na Figura 26. Os resíduos que estão próximos do ligante cristalográfico (CN2) e não interagem com o ligante construído 45 são ASN258 e o LYS352, isso porque o ligante 45 não possui substituinte na posição 3' e 4'. O ligante 45 se sobrepõe totalmente ao ligante 41 e por isso suas potenciais interações com os resíduos da β -tubulina são idênticas às interações do ligante 41 (Figura 25).

A figura 26 representa as potenciais interações entre o ligante construído 45 e os resíduos da β -tubulina.

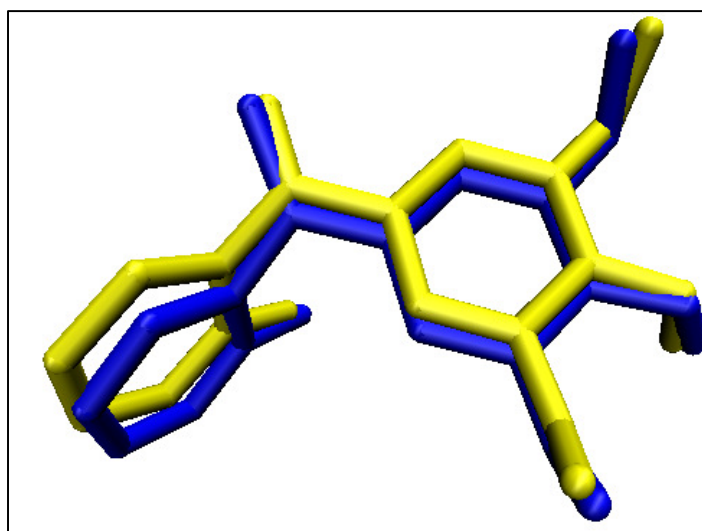


Figura 25: Representação da potencial superposição entre o ligante 41 (amarelo) e o ligante 45 (azul)

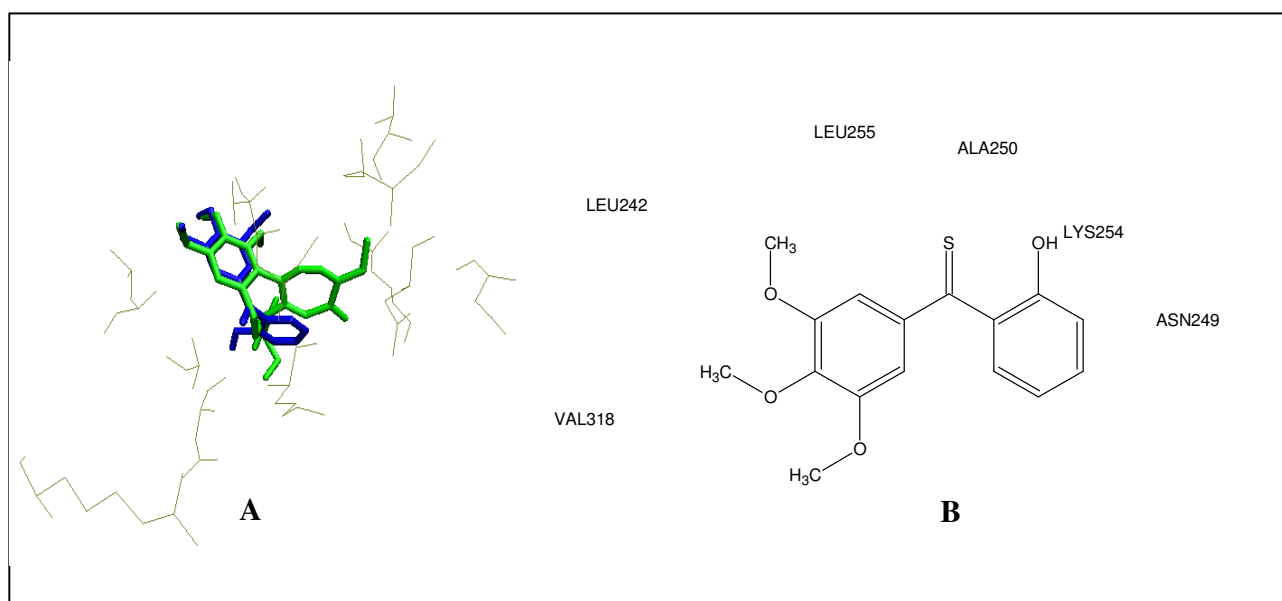


Figura 26: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 45 (azul) (A) e representação esquemática das potenciais interações entre o ligante construído 45 e resíduos da β -tubulina (B).

3.2.1.15. Resultado do estudo de ancoragem molecular (*docking*) para os ligantes: 9, 21, 16, 17, 28, 44 e 42.

As análises do *docking* para os ligantes 9, 21, 16, 17, 44 e 42 apontam a distância entre os ligantes construídos 9, 21, 16, 17, 44 e 42 e o ligante cristalográfico CN2. Nenhum destes ligantes se sobrepôs de uma maneira favorável aos ligantes usados como referência (CN2 e fenstatina). As interações entre os

resíduos da β -tubulina e estes ligantes não foram apresentadas esquematicamente devido a grande variedade de resíduos envolvidos nestes complexos.

Nas Figuras 27, 30, 31 e 32 podemos observar a proximidade entre a conformação de menor energia dos ligantes construídos com o ligante cristalográfico (CN2), nestas figuras a conformação de menor energia da fenstatina (46) não foi mostrada devido a considerável distância dos ligantes construídos **9**, **17**, **44** e **42**. E nas figuras 28 e 29 podemos observar as conformações de menor energia dos ligantes **21** e **16** e a proximidade destes ligantes com a fenstatina (46) e o ligante cristalografado CN2.

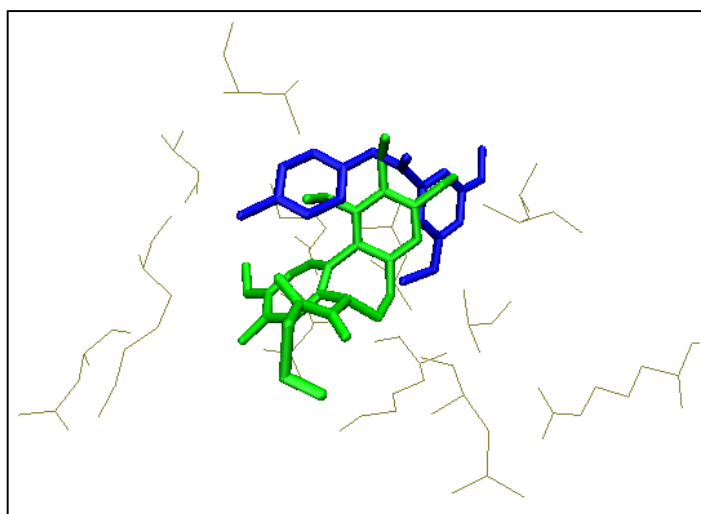


Figura 27: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído **9** (azul).

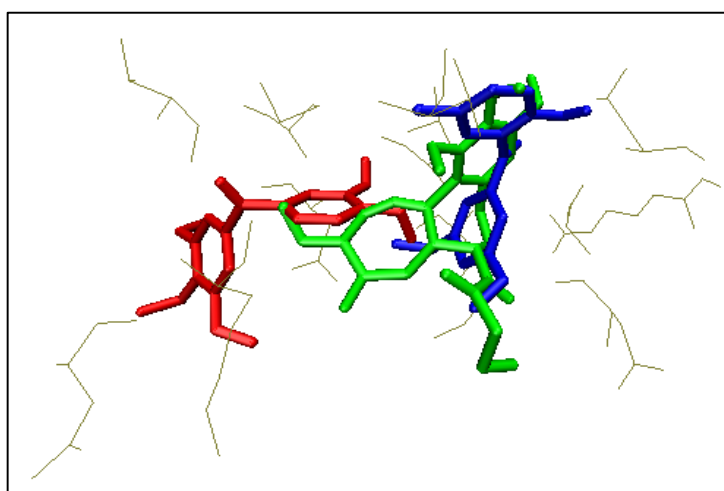


Figura 28: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído **21** (azul).

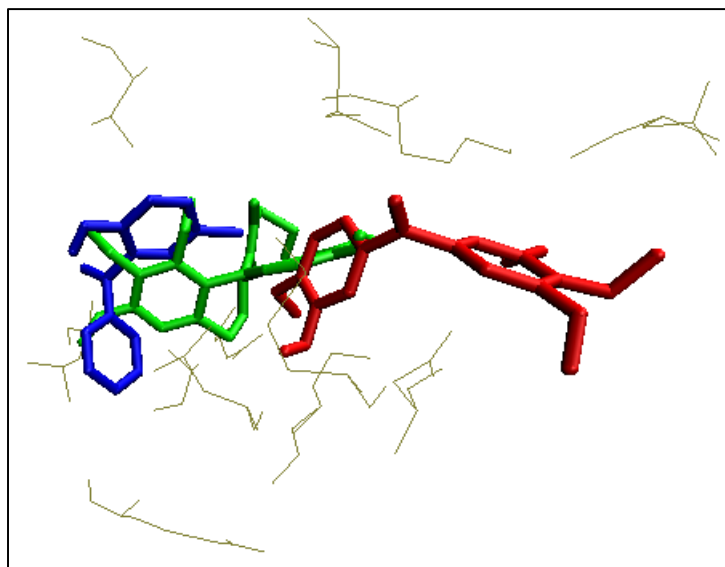


Figura 29: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde), a fenstatina – 46 (vermelho) e o ligante construído 16 (azul).

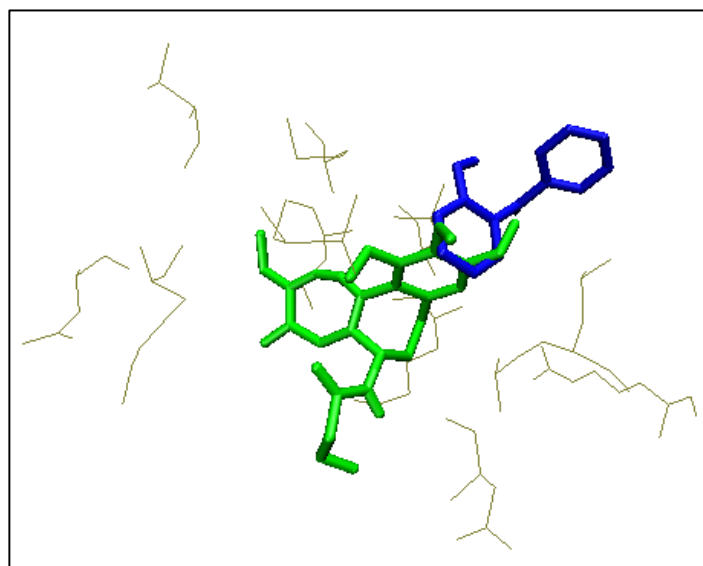


Figura 30: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 17 (azul).

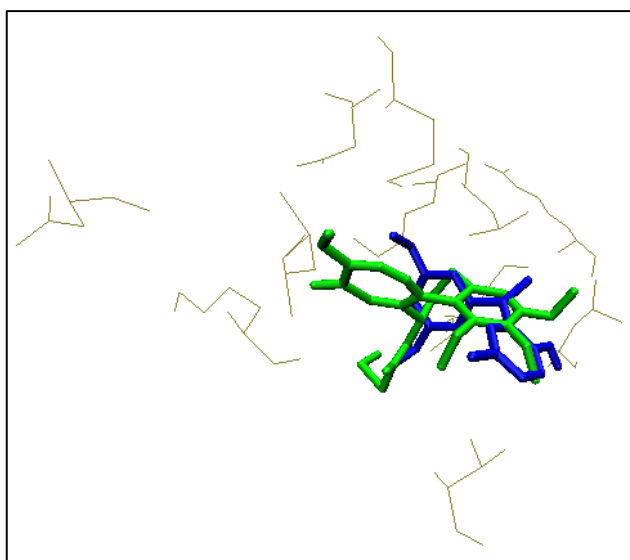


Figura 31: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 44 (azul).

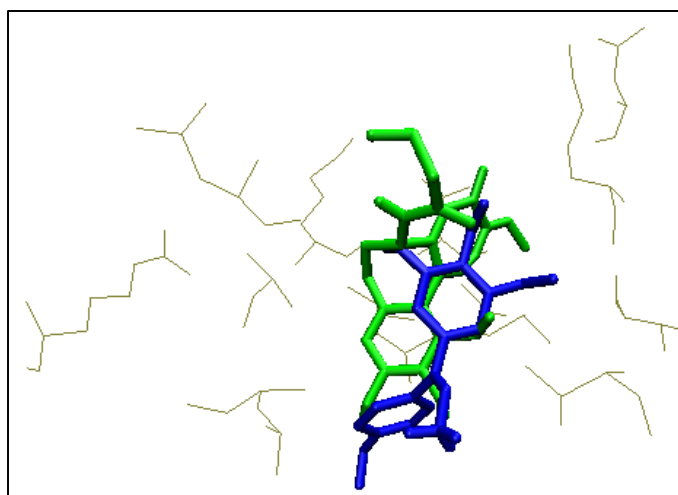
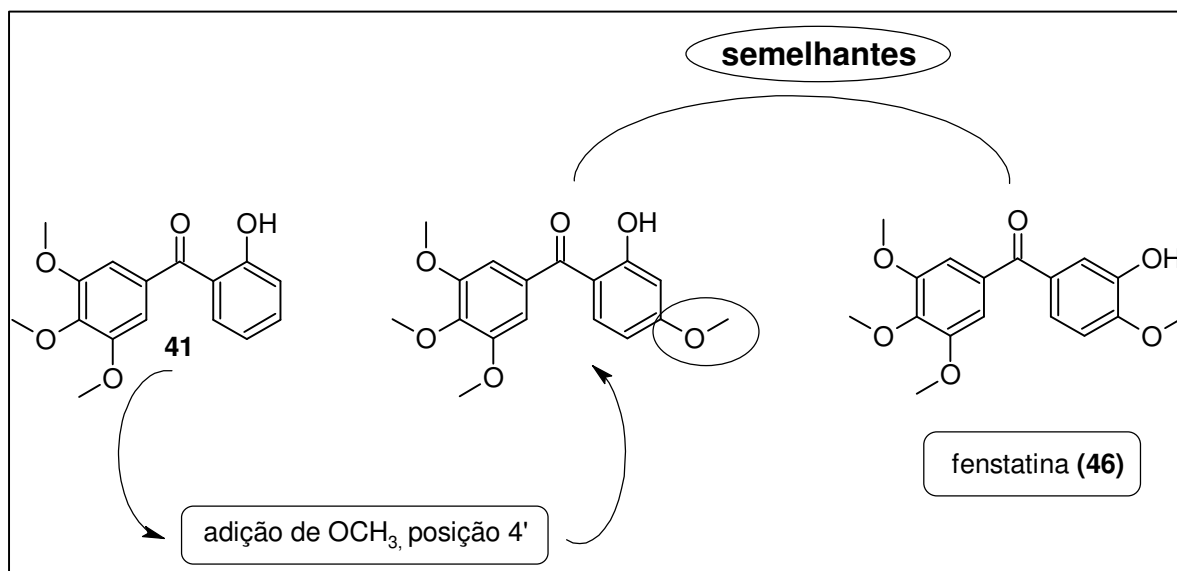


Figura 32: Representação da potencial superposição entre o ligante cristalográfico CN2 (verde) e o ligante construído 42 (azul).

3.2.1.16. Resultado geral para o estudo de ancoragem molecular (*docking*)

Analisando todos os ligantes construídos podemos concluir que os ligantes que apresentam uma melhor interação com a β -tubulina foram **1**, **2** e **22**, entre estes, os ligantes **1** e **2** já são descritos na literatura devido a excelente atividade antitubulínica comprovada através de testes biológicos. Assim, de maneira satisfatória, comprova-se a eficácia do *docking* neste caso. O ligante **22** apresenta além de uma ótima interação visual com a proteína, uma baixa energia de ligação quando é comparado com os outros ligantes que apresentam boa sobreposição com o ligante cristalográfico CN2 ou a fenstatina (46).

Os ligantes **41** e **45** apresentaram uma boa sobreposição com o ligante cristalográfico CN2. No entanto, poderiam aumentar o encaixe com os resíduos da proteína através da adição de um grupo na posição 3' ou 4', podemos fazer esta analogia supondo a adição de uma metoxila, por exemplo na posição 4', como ilustra o esquema 15:



Esquema 15. Protocolo para indicar a semelhança do produto **41** metoxilado na posição **4'** com a fenstatina.

Como o composto **45** apresenta como diferença do composto **41** apenas a substituição do átomo de oxigênio da carbonila por um átomo de enxofre, podemos propor a adição de metoxila na mesma posição também para o composto **45**, visto que ambos compostos se sobrepõem, como indicado na Figura 33 :

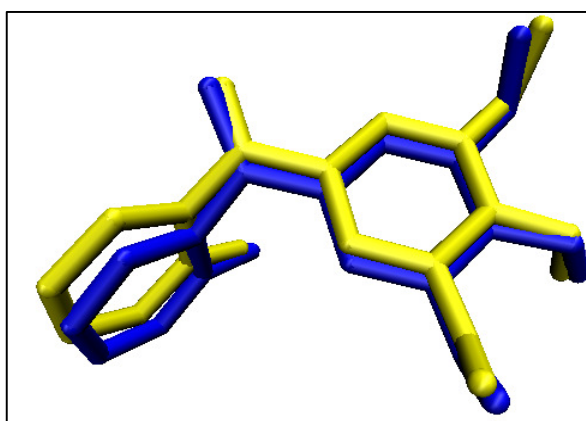


Figura 33: Representação da potencial superposição entre o ligante **41** (amarelo) e o ligante **45** (azul)

O composto **3** se sobrepõe de maneira efetiva ao ligante cristalografado CN2 e ao ligante construído **2**, mas o ligante **2** interage mais efetivamente com os resíduos próximos a metoxila 4' devido ao fato do grupo metoxila ser maior que o grupo metila, o encaixe com os resíduos é maior, enquanto o grupo metila se aproxima apenas do resíduo VAL318.

Os ligantes remanescentes não apresentaram interações favoráveis quanto à formação do complexo.

3.2.2. Resultados dos ensaios antitubulínicos

3.2.2.1. Concentração inibitória média

De modo a investigar a capacidade das moléculas sintetizadas de serem usadas como agentes antivasculares, interagindo com o sítio de ligação da colchicina, foram enviadas amostras para o *National Cancer Institute* em Frederik, Maryland nos EUA, onde foram realizados ensaios com a proteína tubulina isolada.

Os ensaios mostraram que as substâncias **2** e **1** apresentam capacidade de interagir com a tubulina. No entanto, ambas já foram descritas na literatura devido ao potencial antitubulínico. Todos os ésteres **9**, **24**, **26**, **27**, **28**, **29**, bem como os compostos **16** e **17** foram inativos. E as substâncias remanescentes apresentaram os valores que estão descritos na Tabela 36.

Tabela 36: Concentração inibitória média

Molécula	IC ₅₀ * antitubulina (μM)
1	3.2 ± 0.08
2	2.4 ± 0.2
22	11 ± 0.1
21	12 ± 2
3	18 ± 0.4
9, 24, 26, 27, 28, 29, 16, 17	50 > 40 (Inativos)

3.2.3. Comparação do resultado geral do estudo de ancoragem molecular (*docking*) com o resultado do teste antitubulínico.

Na Tabela 37 estão apresentados os resultados do *docking* e do teste biológico.

Tabela 37: Resultado geral para todos os ligantes estudados:

Ligante	Resultado do <i>docking</i>	Resultado do teste biológico
1	++	++
2	++	++
22	+	+
3	+	+
21	-	+
9	-	-
24	-	-
26	-	-
27	-	-
28	-	-
29	-	-
16	-	-
17	-	-
41	+	N.A.
45	+	N.A.
11	-	N.A.
43	-	N.A.
44	-	N.A.
40	-	N.A.
42	-	N.A.

+ +: ativo; +: pouco ativo; -: inativo; N.A.: não avaliado

Tanto no estudo teórico como no teste biológico os ésteres (**9**, **26**, **27**, **28**, **29**) e as cetonas sem metoxilas **16** e **17** não apresentaram bons resultados quanto a formação do complexo com a β -tubulina.

Os ligantes **1** e **2** já foram sintetizados e possuem atividade antitubulínica comprovada em outros trabalhos, com isso o ensaio biológico apresentou valores que corresponde com suas atividades previamente estudada. E de forma satisfatória, no estudo de *docking*, foram os ligantes que apresentaram melhor interação com os resíduos estudados e melhor sobreposição aos ligantes CN2 e a fenstatina.

Apesar da semelhança entre estes ligantes, o ligante **2** se sobrepõe de maneira muito efetiva ao ligante cristalográfico CN2, enquanto o ligante **1** se sobrepõe adequadamente à fenstatina.

Como através do estudo de *docking* não podemos ter como resultado a real atividade do composto, e sim analisar o complexo, fazer comparação e diferenciar compostos que podem ser mais ativos ou menos ativos, no estudo teórico tivemos como conclusão que os ligantes **22** e **3** tinham uma boa interação com os resíduos da proteína, e essa interação era menos favorável que a dos ligantes **1** e **2** e mais favorável que a dos ligantes **9**, **24**, **26**, **27**, **28**, **29**, **16** e **17**. O teste biológico confirmou o estudo teórico, indicando que os compostos **22** e **3** possuem valores de IC maiores do que o dos ligantes **1** e **2** e valores menores que o dos compostos inativos.

O único ligante que não apresentou resultados satisfatórios quanto à comparação dos resultados teóricos e práticos foi o composto **21** que no teste antitubulínico apresentou IC muito próximo ao ligante **22** e o estudo do *docking* indica uma interação mais desfavorável para o ligante **21** do que para o ligante **22**.

3.3. Análise conformacional

A análise conformacional foi feita para todas as substâncias submetidas ao *docking*. No entanto, para se obter uma análise mais precisa é necessário usar uma metodologia mais avançada. O ângulo diedro escolhido para os compostos envolve a carbonila, ou outro átomo do grupo espaçador, os carbonos α -carbonila, ou α ao grupo espaçador e o carbono β -do anel mais substituído, e para os compostos contendo substituintes nos dois anéis aromáticos, foi escolhido o carbono β do anel metoxilado. A Figura 34 ilustra alguns exemplos de átomos usados para a formação do ângulo diedro.

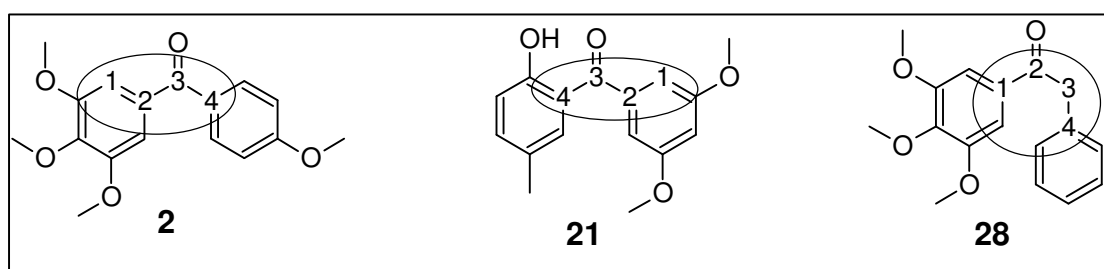


Figura 34: Alguns exemplos de átomos usados para a formação do ângulo diedro, os átomos estão indicados com os números 1, 2, 3 e 4.

A maior parte dos compostos apresentaram diferença entre a conformação de menor energia obtida na análise conformacional e a conformação que o ligante assume no *cluster* de menor energia no sítio ativo da β -tubulina do estudo de *docking*. Os ligantes que apresentam conformações semelhantes no

cluster de menor energia e na análise conformacional são: **2**, **41**, **3**, **43** e **21**. Neste contexto, é importante ressaltar que com exceção ao ligante **43**, estes ligantes estão entre os que apresentaram uma considerável relação com a tubulina.

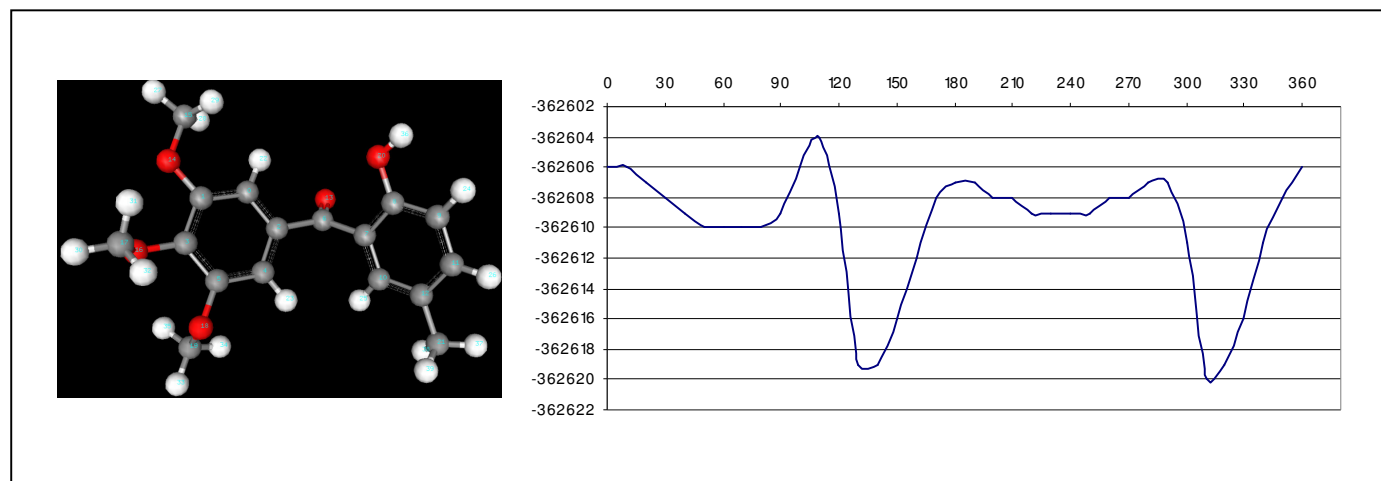


Figura 35: Conformação para o ligante **22** com ângulo diedro de 310° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

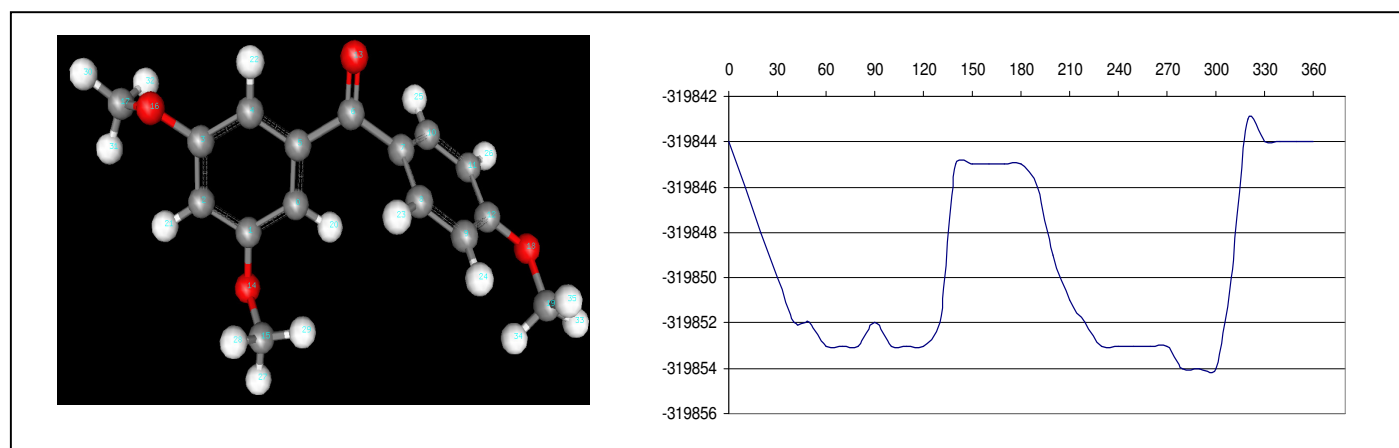


Figura 36: Conformação para o ligante **1** com ângulo diedro de 290° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

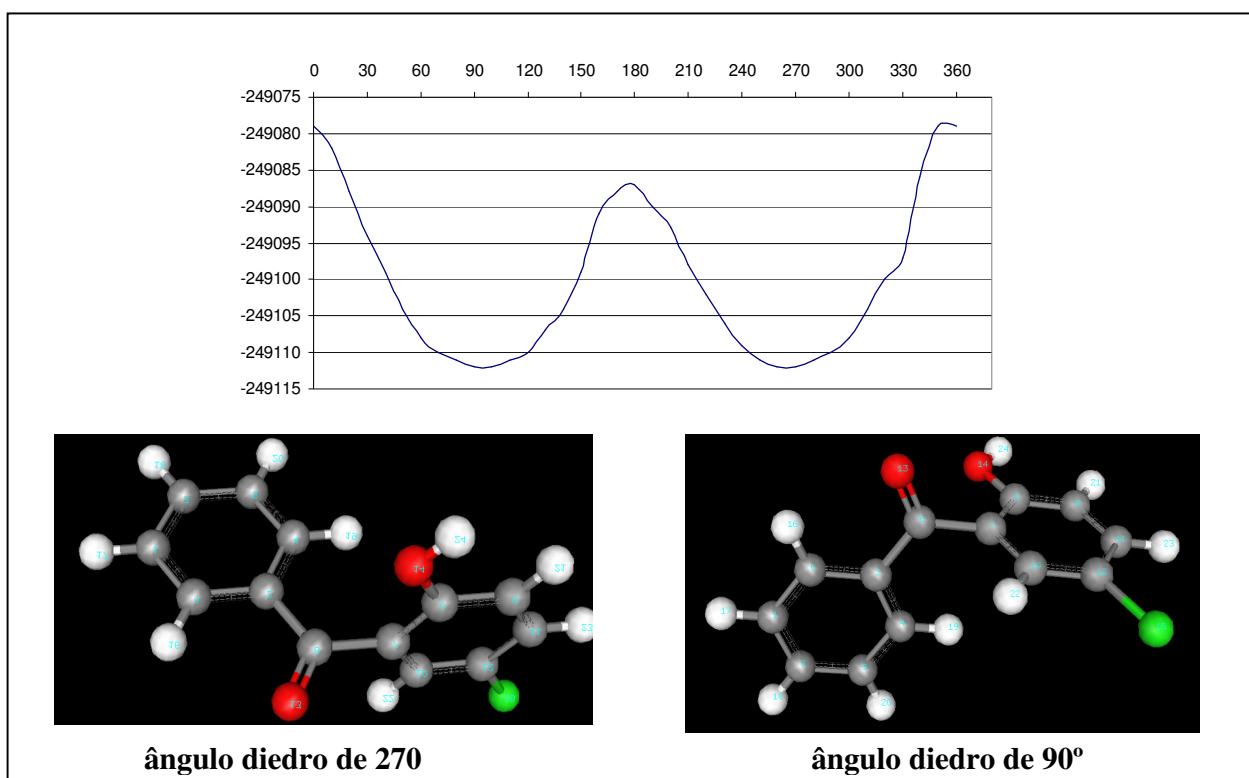


Figura 37: Conformações para o ligante 16 com ângulos diedros de 270° e 90° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

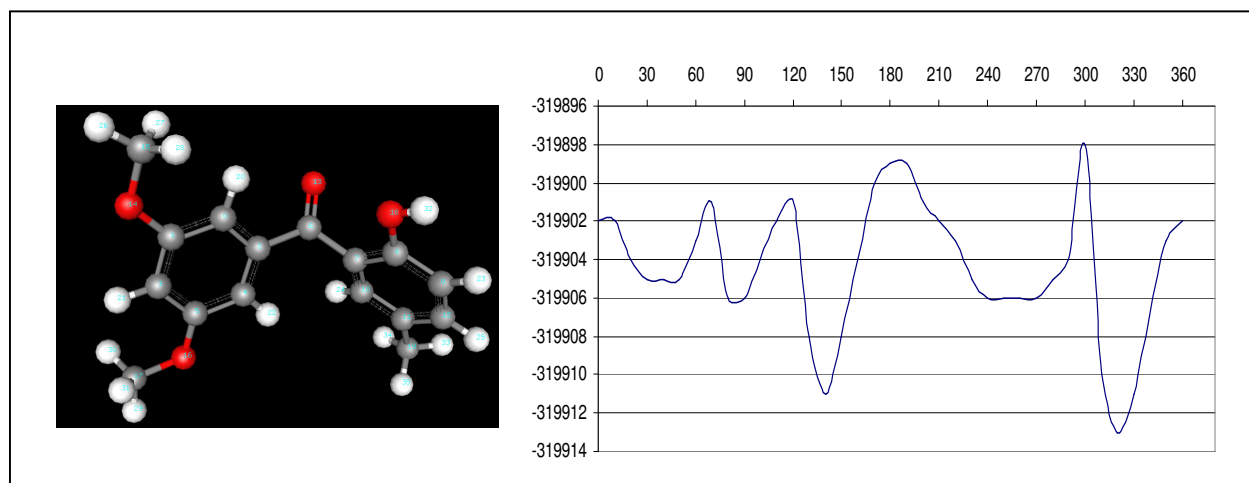


Figura 38: Conformação para o ligante 21 com ângulo diedro de 320° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação

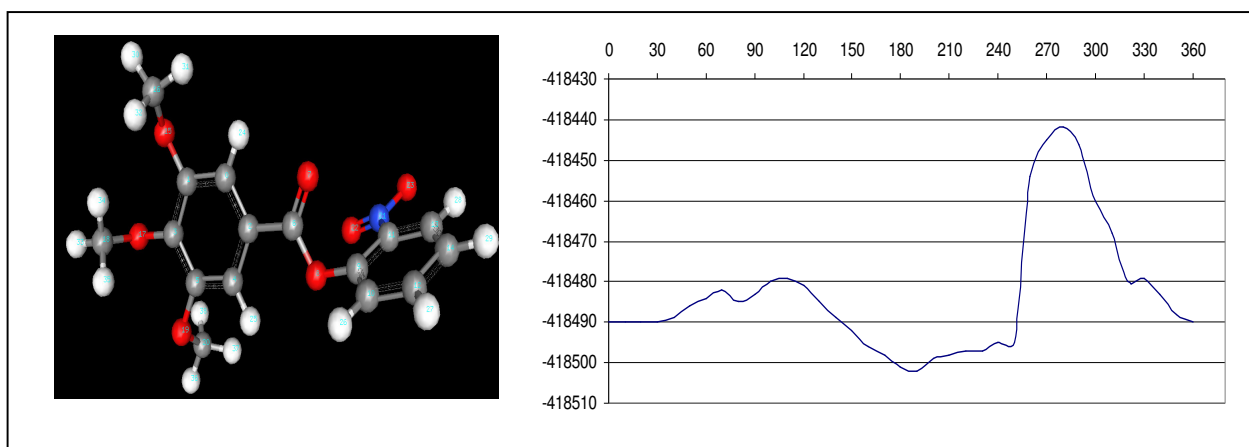


Figura 39: Conformação para o ligante 29 com ângulo diedro de 190° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

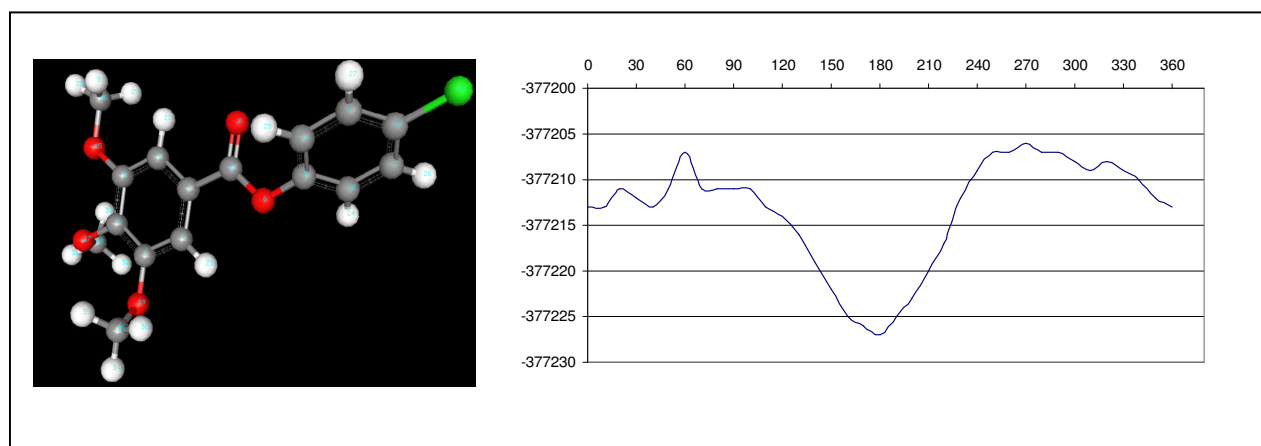


Figura 40: Conformação para o ligante 27 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

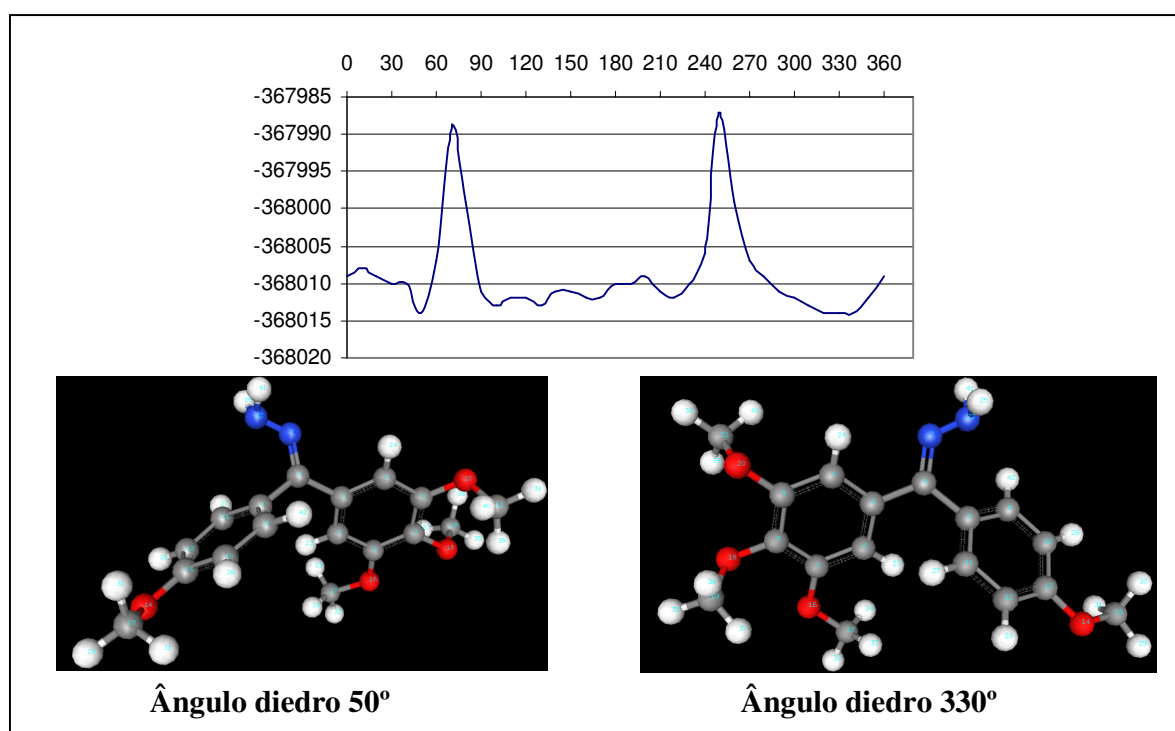


Figura 41: Conformação para o ligante 42 com ângulos diedros de 50° e 330° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

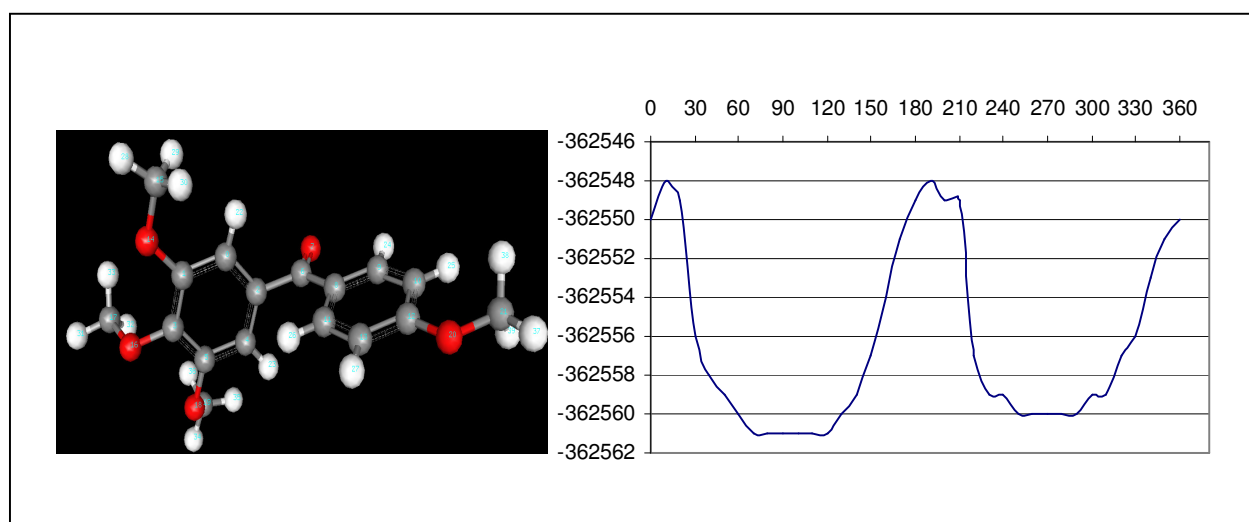


Figura 42: Conformação para o ligante 2 com ângulo diedro de 90° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

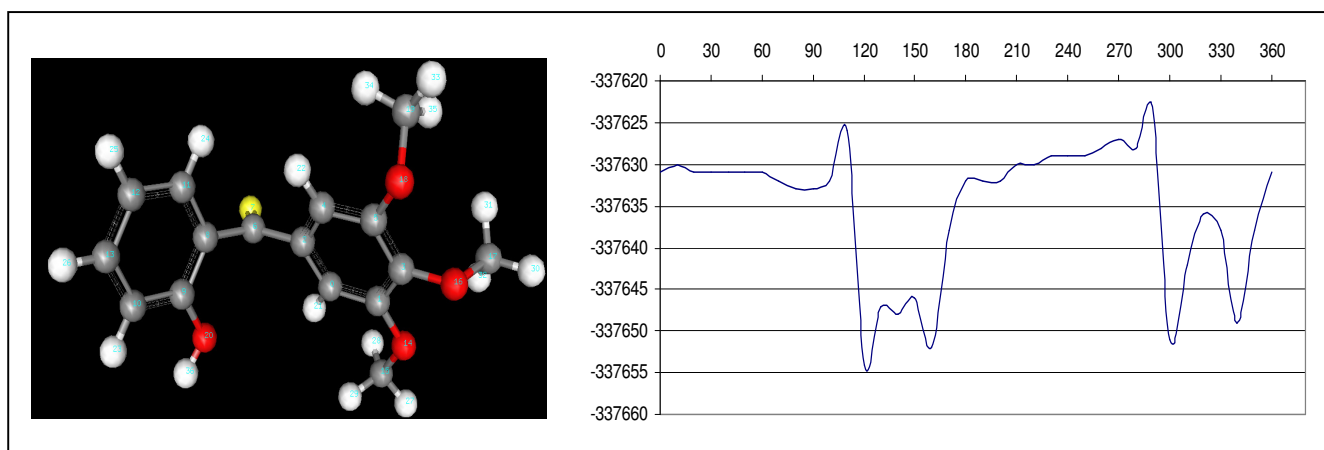


Figura 43: Conformação para o ligante 45 com ângulo diedro de 120° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

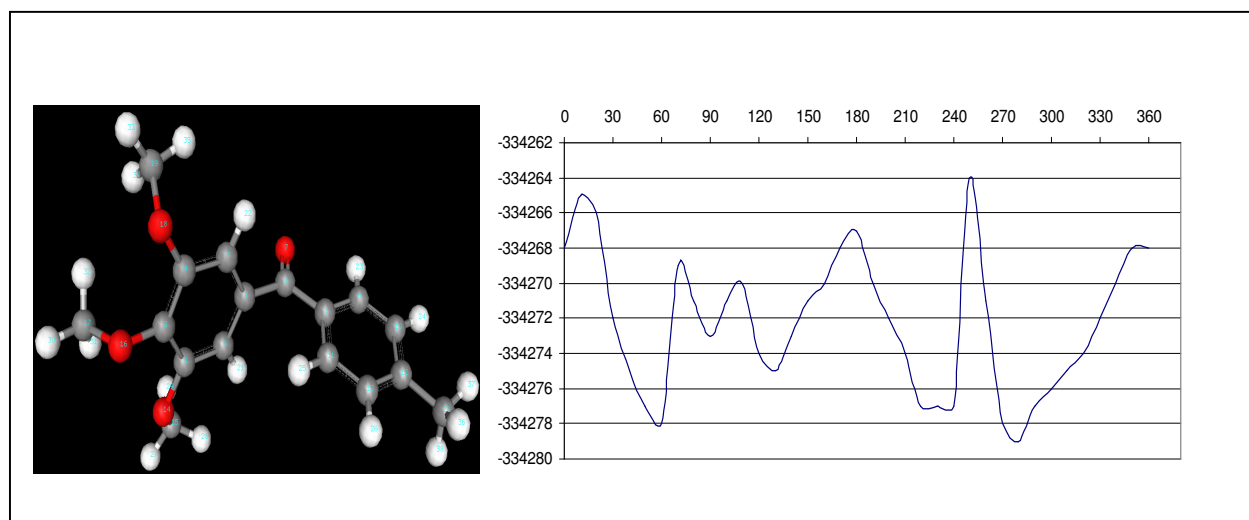


Figura 44: Conformação para o ligante 3 com ângulo diedro de 280° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

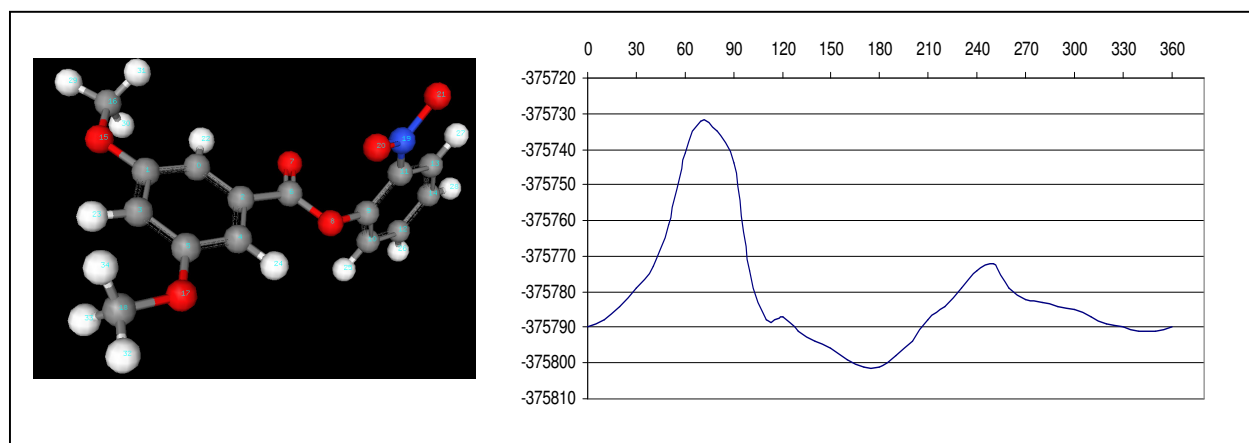


Figura 45: Conformação para o ligante 11 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

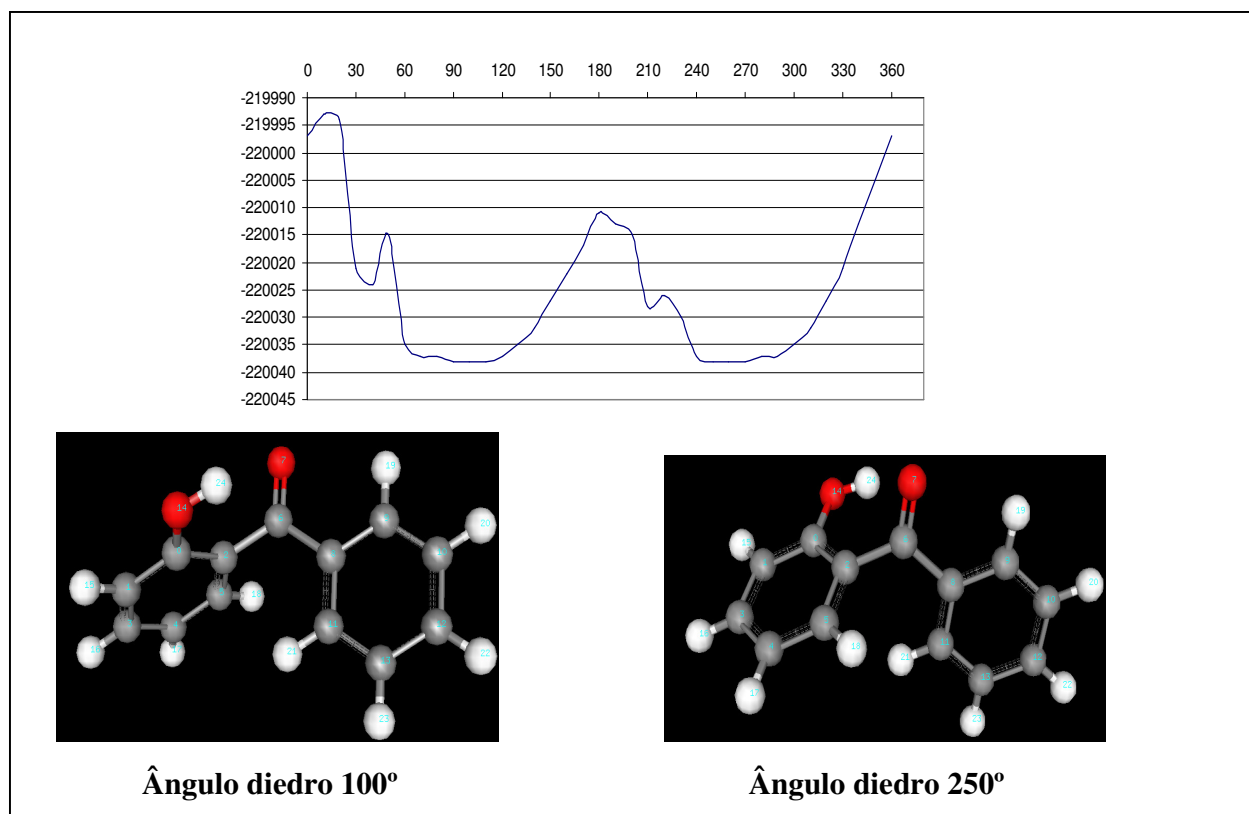


Figura 46: Conformações para o ligante 17 com ângulos diedros de 100° e 250° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

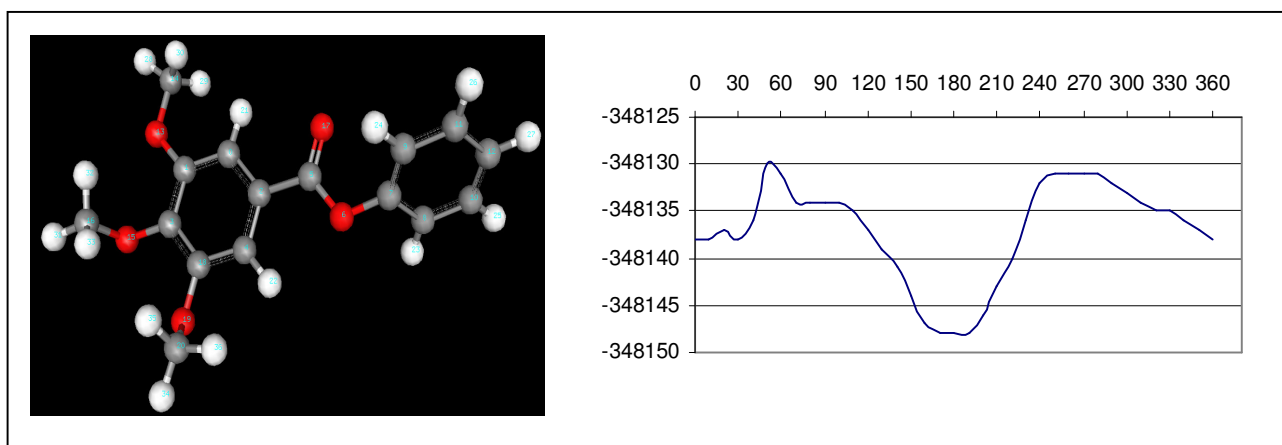


Figura 47: Conformação para o ligante 28 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

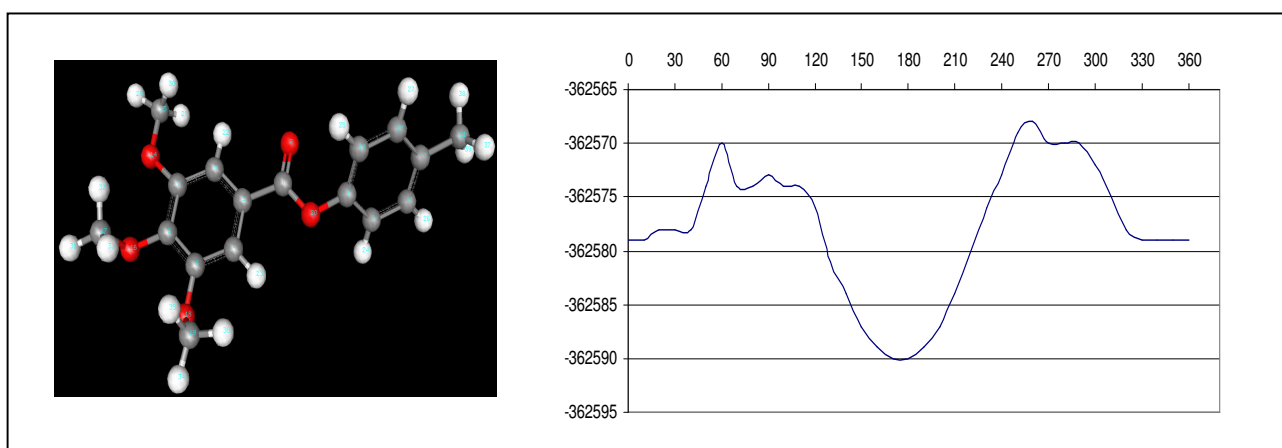


Figura 48: Conformação para o ligante 26 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

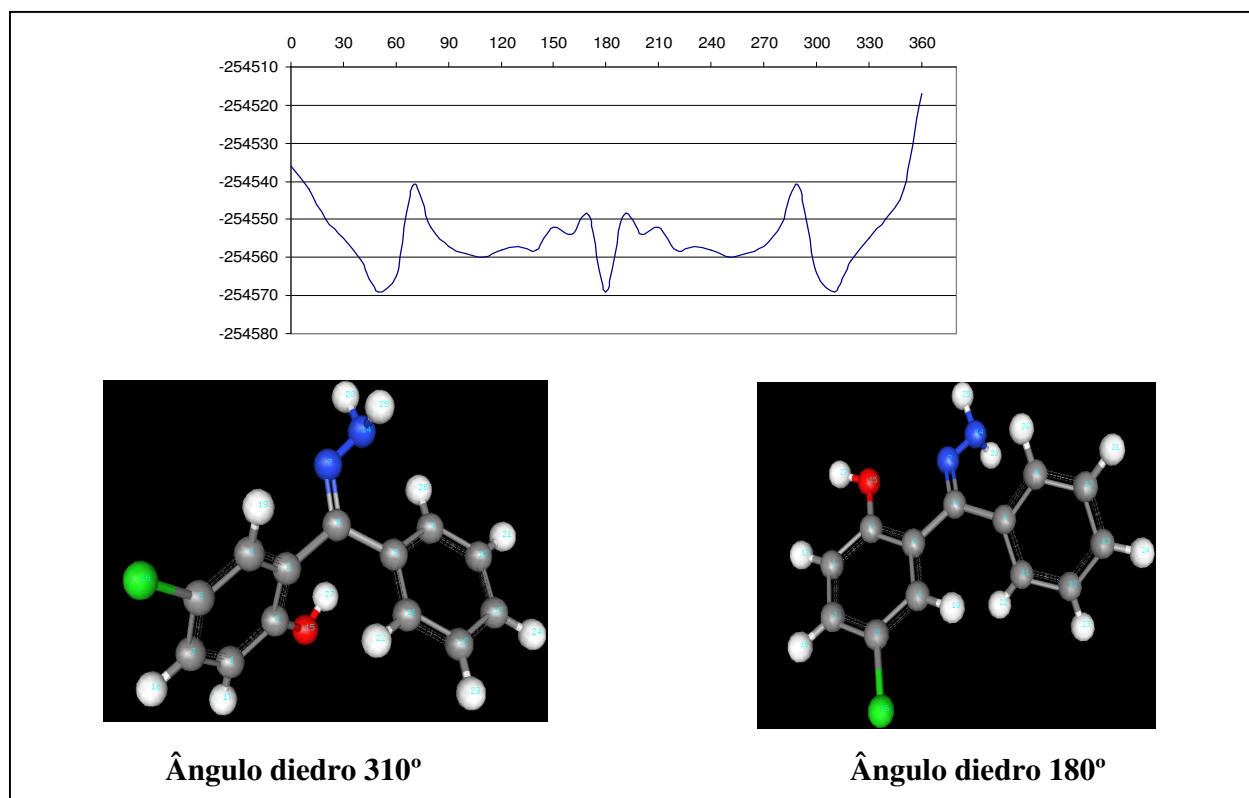


Figura 49: Conformação para o ligante 40 com ângulos diedros de 180° e 50° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

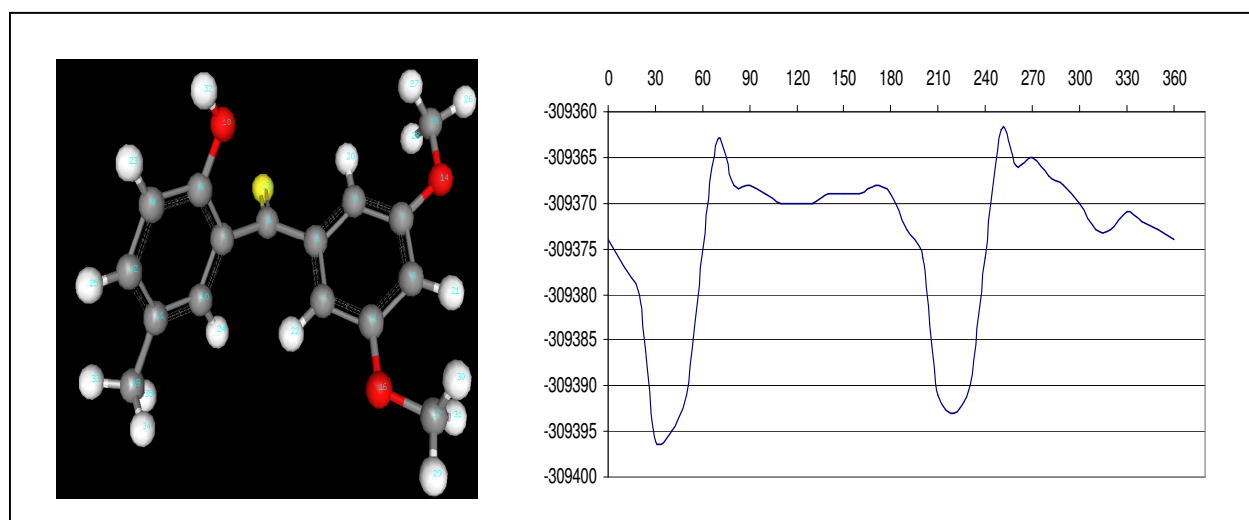


Figura 50: Conformação para o ligante 44 com ângulo diedro de 30° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

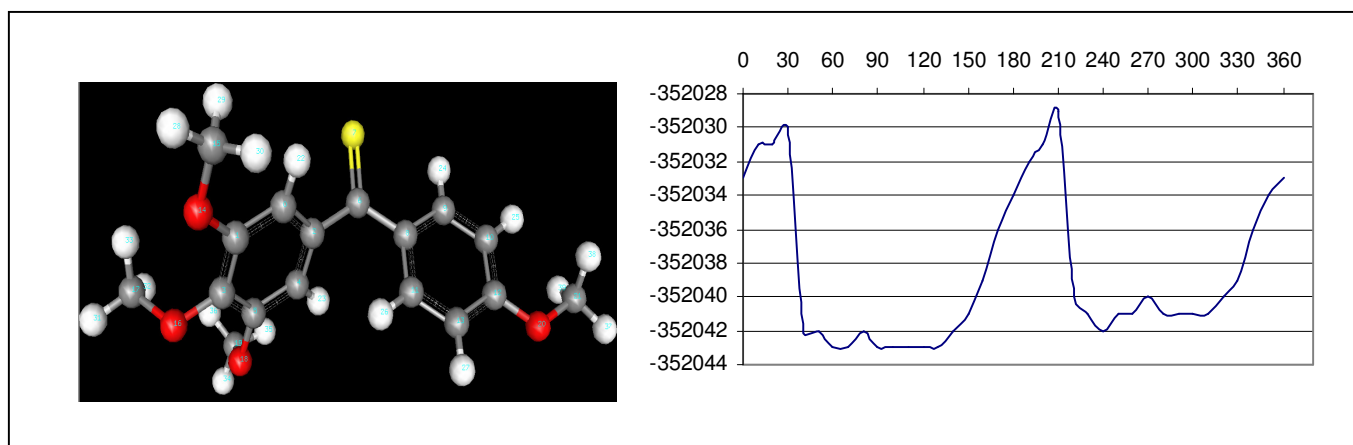


Figura 51: Conformação para o ligante 43 com ângulo diedro de 120° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

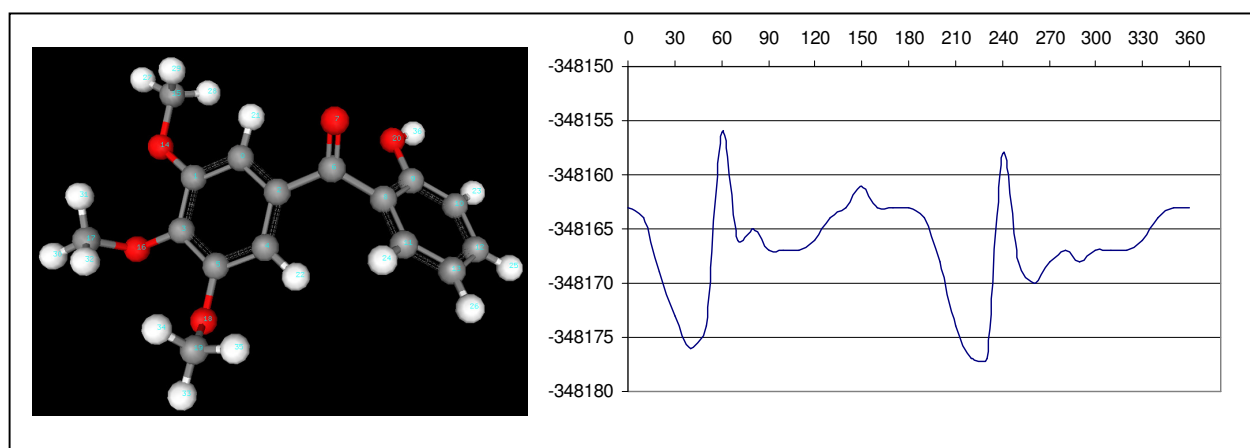


Figura 52: Conformação para o ligante 41 com ângulo diedro de 220° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

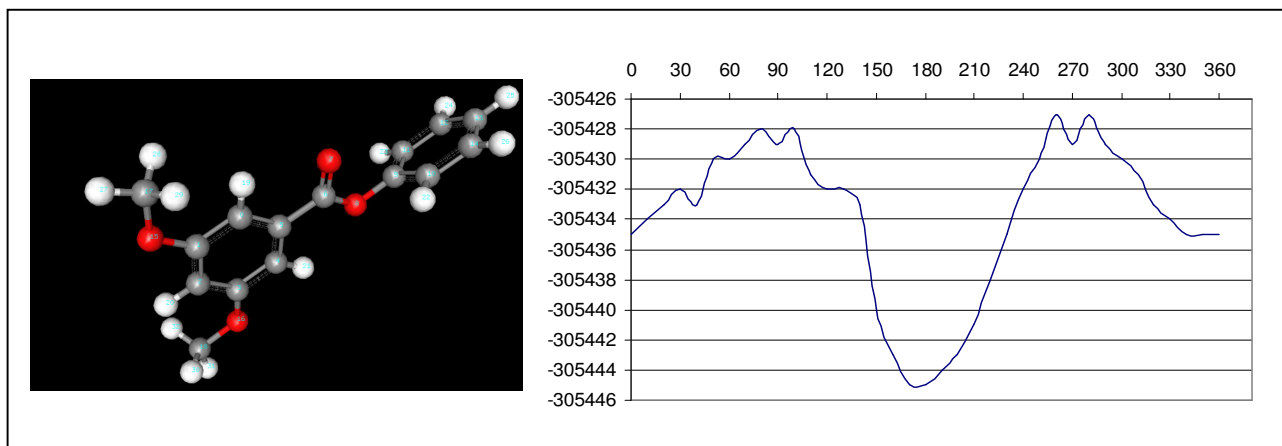


Figura 53 : Conformação para o ligante 24 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

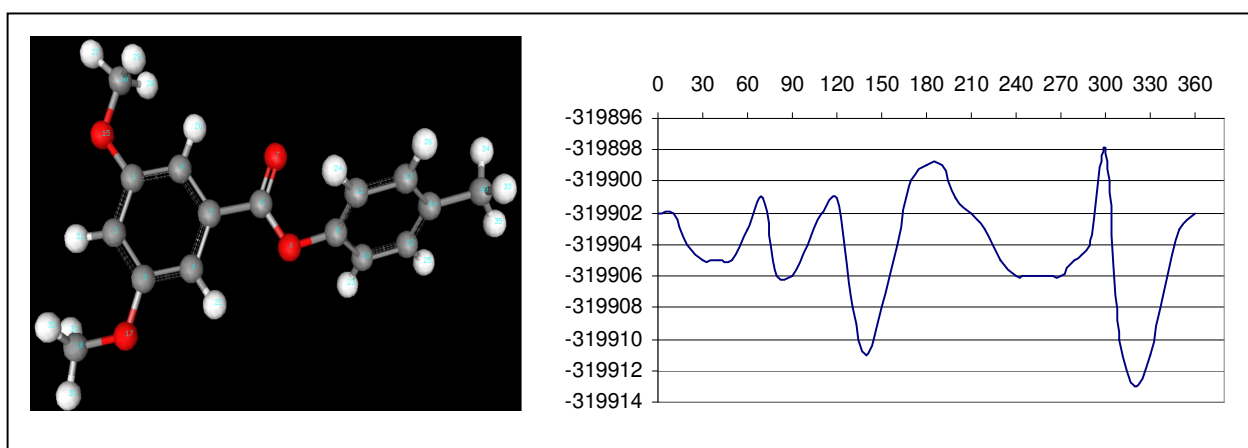


Figura 54: Conformação para o ligante 9 com ângulo diedro de 180° e gráfico do ângulo diedro versus a energia da conformação.

4.0. Parte experimental

4.1. Síntese

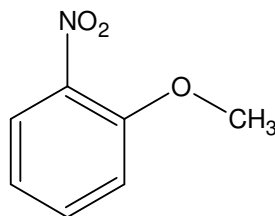
4.1.1. Material e métodos

- Os solventes utilizados foram: acetato de etila, hexano, diclorometano, metanol, tetrahidrofurano, acetonitrila e tolueno. Eles foram evaporados à pressão reduzida em rotavapor Fisaton 802D. Os solventes tratados e recuperados foram destilados no próprio laboratório e outros foram adquiridos das marcas Merck, Synth, Dinâmica e Chemco.
- Os principais reagentes utilizados foram: cloreto de alumínio anidro, cloreto de tionila, ácido 3,5-dimetoxibenzóico, 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla, anisol, pentasulfeto de difósforo, reagente de Lawersson, hidróxido de sódio, ácido clorídrico concentrado, ácido sulfúrico concentrado, cloreto de sódio, e sulfato de magnésio. Todos eles foram adquiridos comercialmente de diversas empresas do setor de produtos químicos, como Acros, Synth e Merck.
- Todas as amostras e reagentes foram pesados na balança BG-100 Gehaka com precisão 0,0001.
- Os espectros de RMN de ^1H foram obtidos em 300 MHz e de ^{13}C em 75 MHz em espectrômetro Bruker AVANCE DPX-300 do Departamento de Química da UFMS. As amostras foram dissolvidas em CDCl_3 e os deslocamentos químicos foram registrados em valores de δ (ppm) e as constantes de acoplamento foram expressas em Hertz (Hz). Os sinais foram caracterizados como: s (singleto), sl (singleto largo), d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (triplete), m (multiplete), q (quarteto) e qt (quinteto).
- As análises cromatográficas em camada delgada (CCD) foram feitas em cromatofolhas em alumínio e sílica gel 60 F₂₅₄, de tamanhos variados, em geral com 1 cm de base e 4 cm de altura. Para a visualização dos componentes, foi utilizada uma lâmpada ultravioleta (254 e 366 nm), mergulho em solução de vanilina e aquecimento a 100°C ou no vapor de iodo (I_2).
- As colunas cromatográficas foram preparadas com gel de sílica 60 (0,040 – 0,063 mm) da Merck. Os eluentes utilizados foram misturas de hexano e acetato de etila, em proporções variadas, dependentes das polaridades relativas das substâncias a serem separadas.
- Os programas computacionais usados foram: ACD Labs LogP dB, para nomear as substâncias de acordo com a nomenclatura IUPAC, ACD Labs 1D (e 2D) NMR Manager para o processamento de espectros de RMN, e ACD Labs ChemSketch para desenhar as estruturas.
- O cromatógrafo líquido utilizado tem a bomba modelo Shimadzu LC6-AD.
- Os solventes utilizados foram tratados conforme metodologia descrita por Perrin & Armarego;

- As reações envolvendo reagentes sensíveis à umidade foram conduzidas sob atmosfera de nitrogênio em vidraria previamente secada e resfriada sob nitrogênio;
- Os critérios de pureza adotados para as substâncias obtidas foram à observação de uma única mancha em CCD, variando-se ou não o sistema de eluição, o ponto de fusão para as substâncias sólidas e pelos sinais dos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT;
- Os espectros de massa foram obtidos usando um cromatografo a gás acoplado a um espectrômetro de massas Shimadzu GCMS - QP2010 Plus.

4.1.2 Procedimentos experimentais

4.1.2.1. Obtenção de 2-nitroanisol (8) [UOZUMI *et al.*, 2004]

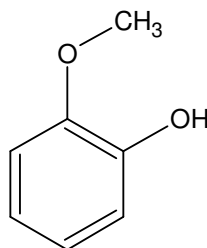


Num balão de 250mL, dotado de sistema de refluxo com trap de secagem, foram adicionados (4,41 g; 31.74 mmol) de 2-nitrofenol, (3.30 mL; 52.91mmol) de iodeto de metila, (9,99 g; 72.35 mmol) de K_2CO_3 em 70 mL de acetona. A mistura reagente foi deixada sob agitação e refluxo por aproximadamente dezesseis horas, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (7/3), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo.

Após este período tratou-se a mistura reacional com solução aquosa de HCl 10%, seguida da separação da fase orgânica que foi seca com sulfato de magnésio. O solvente foi removido por meio de evaporador rotativo e o produto foi submetido à secagem em bomba a vácuo.

O produto 8 obtido foi um líquido viscoso de coloração amarela, que foi confirmado por dados de espectroscopia de RMN de 1H e ^{13}C .

Rendimento: 97%

4.1.2.2. Obtenção de 2-metoxifenol (7) [UOZUMI *et al.*, 2004]

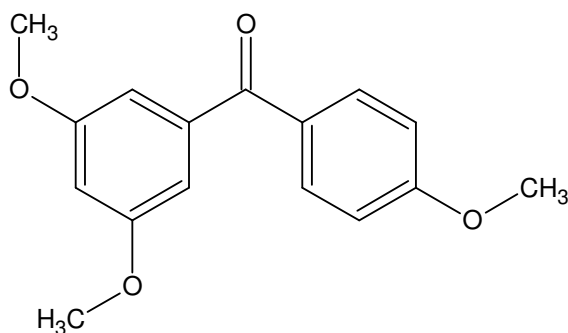
Num balão de 250mL, dotado de sistema de refluxo com trap de secagem, foram adicionados (5.00 g; 45.01 mmol) de catecol, (2.81 mL; 45.01 mmol) de iodeto de metila, (15.20 g; 110.04 mmol) de K_2CO_3 em 70 mL de acetona.

A mistura reagente foi submetida à agitação e refluxo por aproximadamente quatro horas, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (3/1), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Após este período tratou-se a mistura reacional com solução aquosa de HCl 10%, seguida da separação da fase orgânica que foi seca com sulfato de magnésio. O solvente foi removido por meio de evaporador rotativo e o produto foi submetido à secagem em bomba a vácuo.

O produto 7 obtido foi um líquido de coloração amarela, que foi confirmado por dados de espectroscopia de RMN de 1H e ^{13}C .

Rendimento: 44%

4.1.2.3. Obtenção de 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) [MORENO *et al.*, 2001; CUSHMAN *et al.*, 1992]



Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido 3,5-dimetóxi-benzóico (1,20 g; 6,60 mmol) e cloreto de tionila (0,96 mL; 13,20 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após resfriamento o solvente foi removido em evaporador rotativo. Em seguida adicionou-se 25 mL de diclorometano. O balão foi resfriado à temperatura de 0°C e, sob forte agitação, foram adicionados cloreto de alumínio anidro (0,88 g; 6,60 mmol) e anisol (0,71 mL; 6,60 mmol). Então a mistura permaneceu sob agitação até chegar à temperatura ambiente por mais treze horas, com acompanhamento por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/1), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O produto bruto foi colocado em uma mistura de ácido clorídrico 5% (20 mL) e gelo. A fase aquosa foi extraída com 30 mL de diclorometano e separada. As frações de diclorometano foram combinadas e lavadas com solução de bicarbonato de sódio saturado. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo e o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de sílica de gel 230 – 400 mesh, com eluente hexano-acetato de etila (5:1). O produto 1 obtido foi um sólido amarelo, que foi confirmado por dados de espectroscopia de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT, e comparados com resultados na literatura.

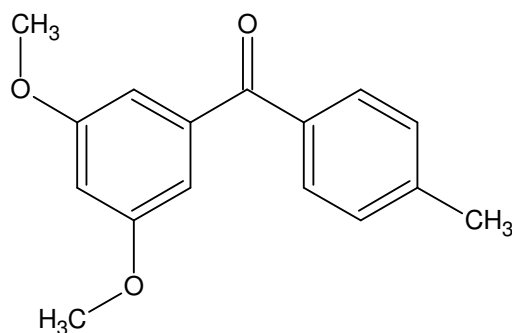
Rendimento: 17%

P.F.89-91°C (observado)

P.F.90-91°C (literatura) (PETTIT *et al.*, 2002)

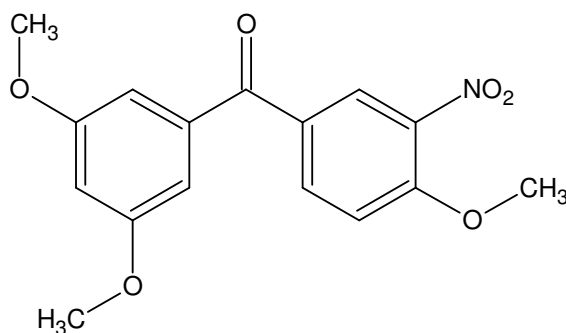
EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$; $[\text{M}^+ = 272]$; $[\text{M}^+ - \text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2 = 135]$

4.1.2.4. Tentativa de obtenção de 4'-metil 3,5-dimetoxibenzofenona (4) [MORENO *et al.*, 2001; CUSHMAN *et al.*, 1992]



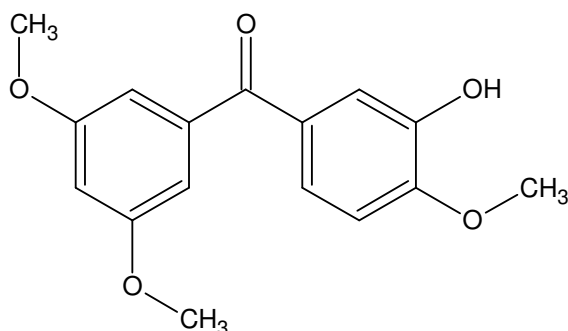
Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido 3,5-dimetóxi-benzóico (1,20 g; 6,60 mmol) e cloreto de tionila (0,96 mL; 13,20 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após resfriamento o solvente foi removido em evaporador rotativo. Em seguida adicionou-se 25 mL de tolueno, o balão foi resfriado à temperatura de 0°C e, sob forte agitação, foi adicionado cloreto de alumínio anidro (0,88 g; 6,60 mmol). Então a mistura permaneceu sob agitação até chegar à temperatura ambiente por mais seis horas, com acompanhamento por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (5/1), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O produto bruto foi colocado em uma mistura de ácido clorídrico 5% (20 mL) e gelo. A fase aquosa foi extraída com 30 mL de diclorometano e separada. As frações de diclorometano foram combinadas e lavadas com solução de bicarbonato de sódio saturado. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. Obteve-se uma mistura de produtos que foi analisada através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. Os espectros mostraram que ocorreu a formação da cetona 4, porém a mistura formada não era passível de separação por cromatografia em coluna e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.1.2.5. Tentativa de obtenção de 3,4',5-trimetoxi 3'-nitrobenzofenona (5) [MORENO *et al.*, 2001; CUSHMAN *et al.*, 1992]



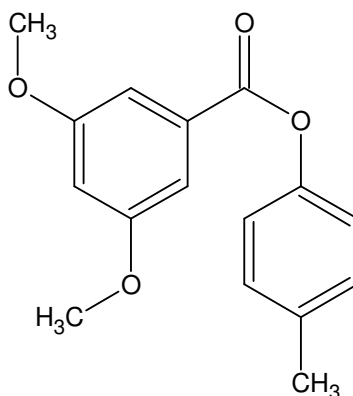
Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido 3,5-dimetóxi-benzóico (1,20 g; 6,60 mmol) e cloreto de tionila (0,96 mL; 13,20 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após resfriamento o solvente foi removido em evaporador rotativo. Em seguida adicionou-se 25 mL de diclorometano. O balão foi resfriado à temperatura de 0°C e, sob forte agitação, foram adicionados cloreto de alumínio anidro (0,88 g; 6,60 mmol) e nitroanisol (1,00 g; 6,60 mmol). Então a mistura permaneceu sob agitação até chegar à temperatura ambiente por mais seis horas, com acompanhamento por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (3/1), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O produto bruto foi colocado em uma mistura de ácido clorídrico 5% (20 mL) e gelo. A fase aquosa foi extraída com 30 mL de diclorometano e separada. As frações de diclorometano foram combinadas e lavadas com solução de bicarbonato de sódio saturado. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. Obteve-se uma mistura de produtos que foi analisada através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. Os espectros mostraram que não houve formação alguma da cetona 5.

4.1.2.6. Tentativa de obtenção de 3-hidroxi 3',4,5'-trimetoxibenzofenona (6) [MORENO *et al.*, 2001; CUSHMAN *et al.*, 1992]



Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido 3,5-dimetóxi-benzóico (1,20 g; 6,60 mmol) e cloreto de tionila (0,96 mL; 13,20 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após resfriamento o solvente foi removido em evaporador rotativo. Em seguida adicionou-se 25 mL de diclorometano. O balão foi resfriado à temperatura de 0°C e, sob forte agitação, foram adicionados cloreto de alumínio anidro (0,88 g; 6,60 mmol) e 2-metoxifenol (0,81 g; 6,60 mmol). Então a mistura permaneceu sob agitação até chegar à temperatura ambiente por mais oito horas, com acompanhamento por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/1), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O produto bruto foi colocado em uma mistura de ácido clorídrico 5% (20 mL) e gelo. A fase aquosa foi extraída com 30 mL de diclorometano e separada. As frações de diclorometano foram combinadas e lavadas com solução de bicarbonato de sódio saturado. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. Obteve-se uma mistura de produtos que foi analisada através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. Os espectros mostraram que não houve formação alguma da cetona 6.

4.1.2.7. Obtenção de 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9) [MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003]



Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido 3,5-dimetóxi-benzóico (1,20 g; 6,60 mmol) e cloreto de tionila (0,96 mL; 13,20 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após o resfriamento da mistura, o solvente foi removido em evaporador rotativo obtendo-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla. Num erlenmeyer de 100 mL foram preparados 15 mL de solução aquosa de NaOH (10%) e neste foi adicionado o 4-metilfenol (0,66 g; 6,05 mmol). A mistura foi submetida à agitação por cerca de quinze minutos, durante a agitação mediu-se o pH da solução para certificar-se de sua alcalinidade e acrescentou-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla (1,32 g; 6,60 mmol), a mistura permaneceu sob agitação por mais dez minutos e foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/1), revelado em luz ultravioleta e vapores de iodo.

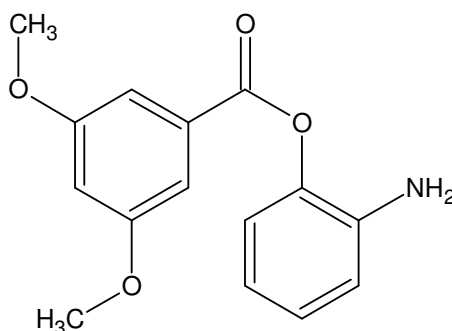
A extração foi feita com diclorometano, à fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl, lavada com água gelada e separada. Após a lavagem, o solvente foi evaporado e o produto purificado em coluna cromatográfica com sílica de baixa granulometria (0,040 mm a 0,063 mm), com eluente hexano-acetato de etila (3:1).

O produto 9 obtido foi um sólido branco, que foi confirmado por dados de espectroscopia de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT.

Rendimento: 13%

P.F.74-76°C (observado)

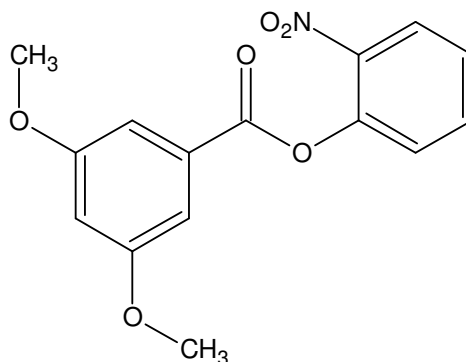
4.1.2.8. Tentativa de obtenção de 3,5-dimetoxibenzoato de 2-aminofenila (10) [MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003]



Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido 3,5-dimetóxi-benzóico (1,20 g; 6,60 mmol) e cloreto de tionila (0,96 mL; 13,20 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após o resfriamento da mistura, o solvente foi removido em evaporador rotativo obtendo-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla. Num erlenmeyer de 100 mL foram preparados 15 mL de solução aquosa de NaOH (10%) e neste foi adicionado o 2-aminofenol (0,73g; 6,05 mmol). A mistura foi submetida à agitação por cerca de quinze minutos, durante a agitação mediu-se o pH da solução para certificar-se de sua alcalinidade e acrescentou-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla (1,32 g; 6,60 mmol), a mistura permaneceu sob agitação por mais dez minutos e foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/1), revelado em luz ultravioleta e vapores de iodo.

A extração foi feita com diclorometano, à fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl, lavada com água gelada e separada. Após a lavagem, o solvente foi evaporado e obteve-se uma mistura de produtos que foi analisada através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. Os espectros mostraram que não houve formação alguma do éster 10.

4.1.2.9. Obtenção de 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11) [MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003]



Num balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado o ácido 3,5-dimetóxi-benzóico (1,20 g; 6,60 mmol) e cloreto de tionila (0,96 mL; 13,20 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após resfriamento o solvente foi removido em evaporador rotativo obtendo-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla. Em um erlenmeyer de 100 mL foi preparada uma solução aquosa de NaOH (15mL, 10%) e neste foi adicionado o 2-nitrofenol (0,84 g; 6,05 mmol) que foi solubilizado em acetona, a mistura foi submetida a agitação por cerca de quinze minutos, durante a agitação mediu-se o pH da solução para certificar-se de sua alcalinidade e acrescentou-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla (1,32 g; 6,60 mmol), a mistura permaneceu sob agitação por mais dez minutos e foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/1), revelado em luz ultravioleta e vapores de iodo.

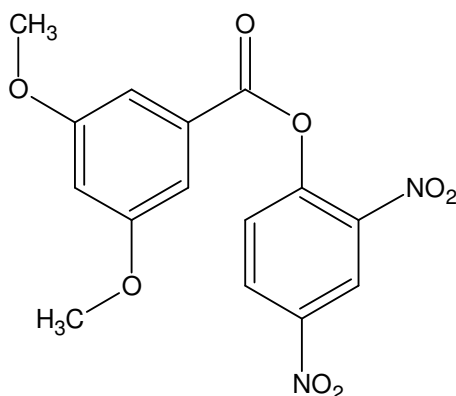
A extração foi feita com diclorometano, à fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl, lavada com água gelada e separada. Após a lavagem, o solvente foi evaporado e o produto purificado em coluna cromatográfica com sílica de baixa granulometria (0,040 mm a 0,063 mm), com eluente hexano-acetato de etila (3:1).

O produto 11 obtido foi um sólido branco, que foi confirmado por dados de espectroscopia de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT.

Rendimento: 30%

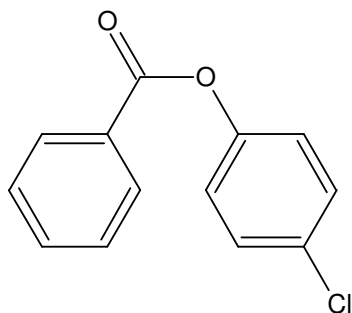
P.F.84-89°C (observado)

4.1.2.10. Tentativa de obtenção de 3,5-dimetoxibenzoato de 2',4'-dinitrofenila (12) [MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003]



Num balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado o ácido 3,5-dimetóxi benzóico (0,25g; 1,41 mmol) e cloreto de tionila (0,20 mL; 2,82 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após resfriamento o solvente foi removido em evaporador rotativo obtendo-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla. Em um erlenmeyer de 100 mL foi preparada uma solução aquosa de NaOH (15mL, 10%) e neste foi adicionado o 2,4-dinitrofenol (0,25g; 1,41mmol) que foi solubilizado em acetona, a mistura foi submetida a agitação por cerca de quinze minutos, durante a agitação mediu-se o pH da solução para certificar-se de sua alcalinidade e acrescentou-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla (0,28g; 1,41mmol), a mistura permaneceu sob agitação por mais dez minutos e foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/1), revelado em luz ultravioleta e vapores de iodo.

A extração foi feita com diclorometano, à fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl, lavada com água gelada e separada. Após a lavagem, o solvente foi evaporado e obteve-se uma mistura de produtos que foi analisada através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. Os espectros mostraram que não houve formação alguma do éster 12.

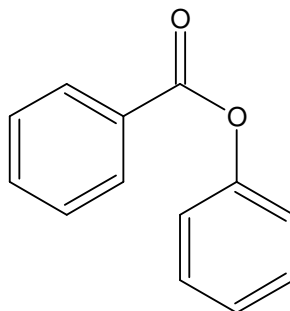
4.1.2.11. Obtenção de benzoato de 4-clorofenila (13) [MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003]

Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido benzóico (0,50 g; 4,09 mmol) e cloreto de tionila (0,59 mL; 8,18 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após o resfriamento da mistura, o solvente foi removido em evaporador rotativo obtendo-se o cloreto de benzoíla. Num erlenmeyer de 100 mL foram preparados 15 mL de solução aquosa de NaOH (10%) e neste foi adicionado o 4-clorofenol (0,52 g; 4,09 mmol). A mistura foi submetida à agitação por cerca de quinze minutos e durante a agitação testou-se o pH da solução para certificar-se de que estava alcalino e em seguida acrescentou-se o cloreto de benzoíla (0,55 g; 4,09 mmol). Após acrescentar o cloreto de benzoíla a mistura permaneceu sob agitação por mais dez minutos, no fim deste período filtrou-se a solução com água gelada, obtendo-se o produto (). Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT e através de cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta e vanilina.

Rendimento: 90%

P.F. 87,5-88,1°C (observado)

P.F. 88-90°C (literatura) (LOPES., 2007)

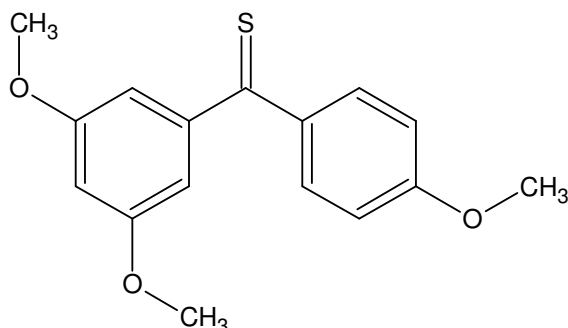
4.1.2.12. Obtenção de benzoato de fenila (14) [MORENO *et al.*, 2001, ANDREI *et al.*, 2003]

Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido benzóico (0,50 g; 4,09 mmol) e cloreto de tionila (0,59 mL; 8,18 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após o resfriamento da mistura, o solvente foi removido em evaporador rotativo obtendo-se o cloreto de benzoíla. Num erlenmeyer de 100 mL foram preparados 15 mL de solução aquosa de NaOH (10%) e neste foi adicionado o fenol (0,38 mL; 4,09 mmol). A mistura foi submetida à agitação por cerca de quinze minutos e durante a agitação testou-se o pH da solução para certificar-se de que estava alcalino e em seguida acrescentou-se o cloreto de benzoíla (0,55 g; 4,09 mmol). Após acrescentar o cloreto de benzoíla a mistura permaneceu sob agitação por mais dez minutos, no fim deste período filtrou-se a solução com água gelada, obtendo-se o produto (). Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta e vanilina.

Rendimento: 90%

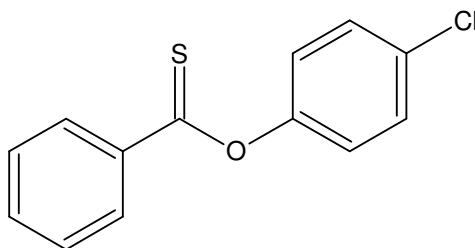
P.F. 71-73°C observado

4.1.2.13. Tentativa de tionação de 3,4',5-trimetoxibenzofenona visando a obtenção da 3,4',5-trimetoxitiobenzofenona (15) [KALETA *et al.*, 2006]

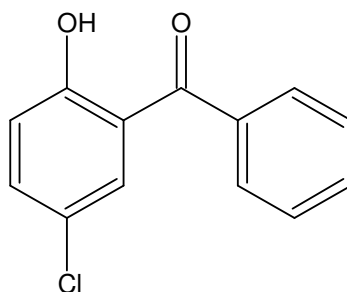


Num balão contendo 30 mL de THF foi adicionado 3,4',5-trimetoxibenzofenona (0.05 g; 0.19 mmol) e reagente de Lawersson (0.04 g; 0.19 mmol). A reação foi realizada em aquecimento sob refluxo em atmosfera de nitrogênio, durante dez horas, com acompanhamento por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/1), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O solvente foi retirado em evaporador rotativo e acrescentou-se 10 mL de acetato de etila. A fração de acetato de etila foi lavada com solução de bicarbonato de sódio saturada e água, a fase orgânica foi separada e concentrada em evaporador rotativo. O produto foi analisado através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT e através de cromatografia em camada delgada (CCD). Porém as análises mostraram que não houve formação do produto 15, recuperando-se o material de partida.

4.1.2.14. Tentativa de tionação do éster benzoato de 4-clorofenila (13) visando à obtenção do tiobenzoato de 4-clorofenila (20) [KALETA *et al.*, 2006]



Num balão contendo 30 mL de THF foi adicionado o benzoato de 4-clorofenila (0.05g; 0.24 mmol) e o reagente de Lawersson (0.10 g; 0.24 mmol). A reação foi realizada em aquecimento sob refluxo em atmosfera de nitrogênio, durante seis horas, com acompanhamento por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/1), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O solvente foi retirado em evaporador rotativo e acrescentou-se 10 mL de acetato de etila. A fração de acetato de etila foi lavada com solução de bicarbonato de sódio saturada e água, a fase orgânica foi separada e concentrada em evaporador rotativo. O produto foi analisado por (CCD) com eluente hexano/AcOEt 3:1, revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo, a análise também foi feita através de RMN de ^1H e ^{13}C e os espectros mostraram que não houve formação do produto 20, recuperando-se o material de partida.

4.1.2.15. Obtenção de 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) [KHANUM *et al.*, 2003]

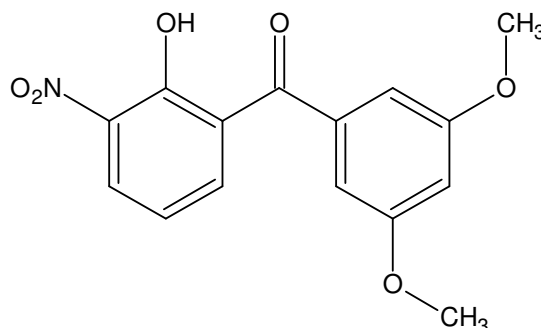
O éster benzoato de 4-cloro fenila (0,55 g; 2,37 mmol) foi colocado em um balão de 100 mL juntamente com cloreto de alumínio anidro (0,58 g; 4,39 mmol). A mistura foi aquecida a 120°C por dez minutos e a 140°C por quinze minutos, depois deste período a solução foi coletada, adicionou-se 10 mL de HCl (10%) gelado e filtrou-se a solução. O resíduo sólido obtido foi um pó fino que foi extraído com solução de NaOH 10% (3 x 30 mL) e a solução aquosa básica foi neutralizada com HCl (10%). Após a neutralização da solução, o produto foi extraído com acetato de etila, a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl, água e seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄). Finalmente o solvente foi evaporado em evaporador rotativo e o produto obtido foi um sólido amarelo escuro. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H, ¹³C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta e vanilina.

Rendimento: 30%

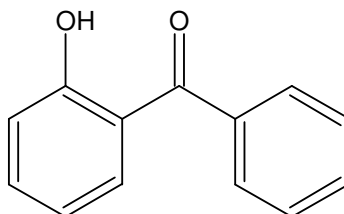
P.F. 98-99°C observado

EM (*m/z*): fórmula molecular calculada C₁₃H₉O₂Cl; [M⁺ = 232]; [M⁺ - H = 231]

4.1.2.16. Tentativa de obtenção de 2-hidroxi 3',5'-dimetoxi 3-nitrobenzofenona (18)
[KHANUM *et al.*, 2003]



O éster 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (0,60 g; 1,98 mmol) foi colocado em um balão de 100 mL juntamente com cloreto de alumínio anidro (0,39 g; 3,06 mmol). A mistura foi aquecida a 120°C por dez minutos e a 140°C por quarenta minutos, depois deste período a solução foi coletada, adicionou-se 10 mL de HCl (10%) gelado e filtrou-se a solução. O resíduo sólido obtido foi um pó fino que foi extraído com solução de NaOH 10% (3 x 30 mL) e a solução aquosa básica foi neutralizada com HCl (10%). Após a neutralização da solução, o produto foi extraído com acetato de etila, a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl, água e seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄). Finalmente o solvente foi evaporado em evaporador rotativo e o produto obtido foi um sólido amarelo escuro. O produto foi analisado por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta e vanilina, e também através das técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H, ¹³C e DEPT, porém não se observou a formação de nenhum produto de interesse, apenas ocorreu a degradação do material de partida.

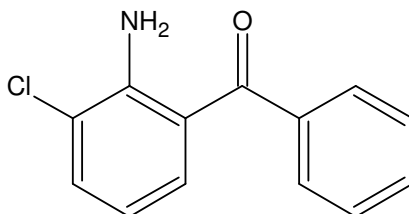
4.1.2.17. Obtenção de 2-hidroxibenzofenona (17) [KHANUM *et al.*, 2003]

O éster benzoato de fenila (0,66 g; 3,33 mmol) foi colocado em um balão de 100 mL juntamente com cloreto de alumínio anidro (0,77 g; 5,87 mmol). A mistura foi aquecida a 120°C por dez minutos e a 140°C por vinte minutos, depois deste período a solução foi coletada e adicionou-se 10 mL de HCl (10%) gelado e filtrou-se a solução. O resíduo sólido obtido foi um pó fino que foi extraído com solução de NaOH 10% (3 x 30) e a solução aquosa básica foi neutralizada com HCl (10%). O produto foi extraído com acetato de etila e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. . Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo.

O produto obtido foi um líquido amarelo.

Rendimento: 25%

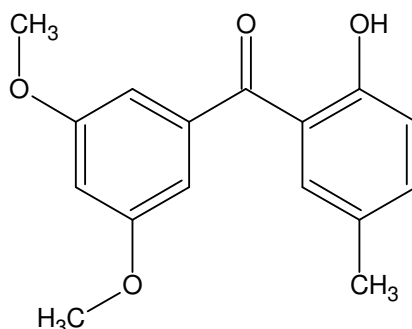
EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$; [M^+ = 198]; [M^+ - H = 197]

4.1.2.18. Tentativa de obtenção de 2-amino 3-clorobenzofenona (19) [KHANUM *et al.*, 2003]

A amida N-2-clorofenil benzamida (0,60 g; 2,59 mmol) foi colocada em um balão de 100 mL juntamente com cloreto de alumínio anidro (0,68 g; 5,18 mmol). A mistura foi aquecida a 120°C por dez minutos e a 140°C por quinze minutos, depois deste período a solução foi coletada e adicionou-se 10 mL de HCl (10%) gelado e filtrou-se a solução. O resíduo sólido obtido foi extraído com solução de NaOH 10% (3 x 30) e a solução aquosa básica foi neutralizada com HCl (10%).

Após a neutralização da solução, o produto foi extraído com acetato de etila, a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl, água e seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO₄). Finalmente o solvente foi evaporado em evaporador rotativo e o produto obtido foi um sólido amarelo escuro. O produto foi analisado por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta e vanilina, e também através das técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H, ¹³C e DEPT, porém não se observou a formação de nenhum produto de interesse, apenas ocorreu a degradação do material de partida.

O produto obtido foi um sólido amarelo.

4.1.2.19. Obtenção de 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxiacetofenona (21) [KHANUM *et al.*, 2003]

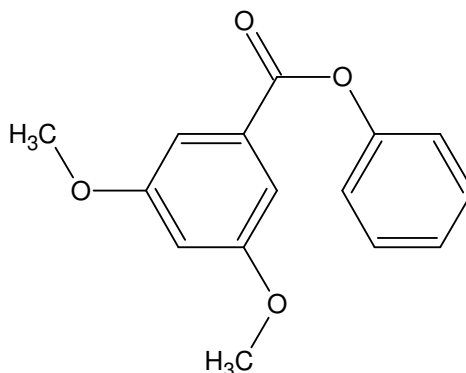
O éster 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (0,17 g; 0,62 mmol) foi colocada em um balão de 100 mL juntamente com cloreto de alumínio anidro (0,13 g; 1,03 mmol). A mistura foi aquecida a 120°C por cinco minutos, depois deste período a solução foi coletada e adicionou-se 10 mL de HCl (10%) gelado e filtrou-se a solução. O resíduo sólido obtido foi um pó fino que foi extraído com solução de NaOH 10% (3 x 30) e a solução aquosa básica foi neutralizada com HCl (10%). O produto foi extraído com acetato de etila e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo.

O produto obtido foi um sólido branco.

Rendimento: 18%

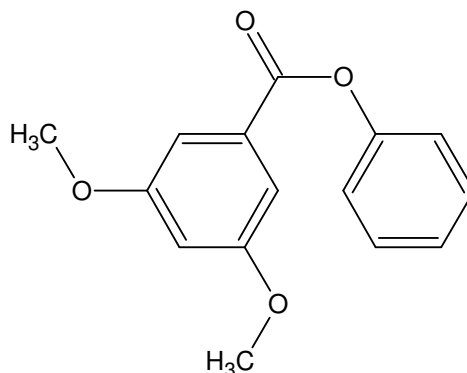
P.F. 90-91°C observado

EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5$; [$\text{M}^+ = 272$]; [$\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{O} = 241$]

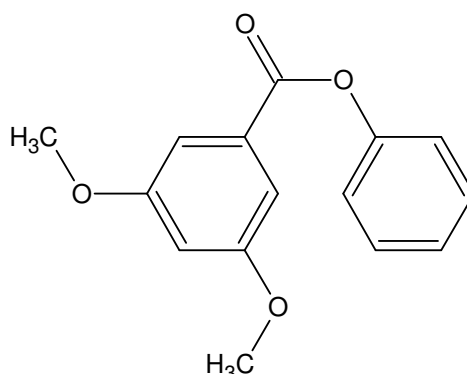
4.1.2.20. Tentativa de obtenção de 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) [ROY e MAMUN, 2006]

Num balão de 100 mL foram adicionados ácido 3,5-dimetoxibenzóico (1,00 g; 5,51 mmol), AlCl_3 (0,02 g; 0,20 mmol) e 20 mL de acetato de etila, a mistura foi submetida a agitação por cerca de cinco minutos a 0°C. Após este tempo adicionou-se a mistura o fenol (0,51 g; 5,51 mmol) e ZnCl_2 (0,55 g; 5,51 mmol).

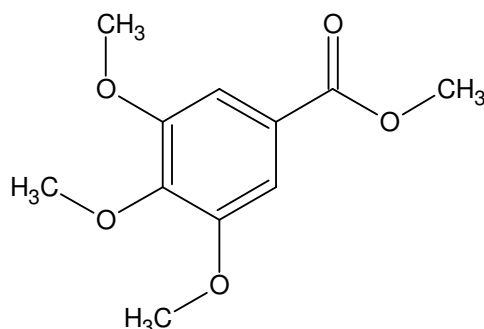
A mistura foi agitada continuamente por duas horas a 0°C e por vinte e quatro horas à temperatura ambiente, sendo a reação monitorada com cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. A mistura foi resfriada pela adição de solução aquosa gelada de HCl a 10%, extraída com AcOEt (3x 30) e, em seguida, lavada com água (3x 30mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. O produto foi analisado por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta e vanilina, e também através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT, porém não se observou a formação de nenhum produto, recuperando-se o material de partida.

4.1.2.21. Tentativa de obtenção de 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) [ROY e MAMUN, 2006]

Em um balão de 100 mL foram adicionados o ácido 3,5- dimetoxibenzóico (0,50 g; 2,74 mmol), AlCl_3 (0,10 g; 8,02 mmol) e 20 mL de acetato de etila, a mistura foi submetida a agitação por cerca de cinco minutos a 0°C . Após este tempo adicionou-se à mistura o fenol (0,25 g; 2,74 mmol) e ZnCl_2 (0,54 g; 5,51 mmol). A mistura foi agitada continuamente por duas horas a 0°C e por quatorze horas com aquecimento sob refluxo. A reação foi monitorada com cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Após o resfriamento da reação adicionou-se uma solução de HCl 10% gelada, e extraiu-se com acetato de etila (3x 30 mL) e em seguida lavou-se com água (3x 30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. O produto foi analisado por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta e vanilina, e também através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT, porém não se observou a formação de nenhum produto, recuperando-se o material de partida.

4.1.2.22. Obtenção de 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) [ROY e MAMUN, 2006]

Em um balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado o ácido 3,5-dimetóxi-benzóico (1,20 g; 6,60 mmol) e cloreto de tionila (0,96 mL; 13,20 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por quatro horas. Após o resfriamento da mistura, o solvente foi removido em evaporador rotativo, obtendo-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla. Em um erlenmeyer de 100 mL foi preparada uma solução aquosa de NaOH (15 mL, 10%), neste foi adicionado fenol (0,62 g; 6,60 mmol), e a mistura foi submetida a agitação por cerca de quinze minutos. Durante este período mediu-se o pH da solução para certificar-se de sua alcalinidade e acrescentou-se o 3,5-dimetoxicloreto de benzoíla (6,60 mmol). A mistura permaneceu em agitação por mais dez minutos e após este período a solução foi filtrada com água gelada, sendo obtido uma mistura de produtos com cor amarronzada. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Os espectros mostraram a formação do éster desejado, porém o produto foi obtido em pouca quantidade. O produto 24 foi obtido como um óleo amarelo claro.

4.1.2.23. Obtenção do éster 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30) [UOZUMI *et al.*, 2004]

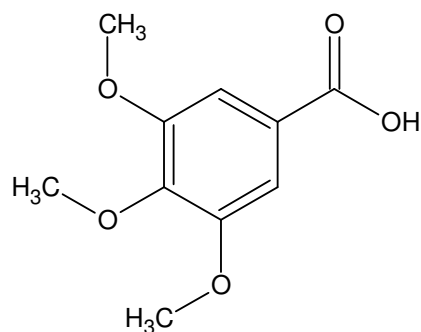
Num balão de 250mL, dotado de sistema de refluxo com trap de secagem, foram adicionados (1,00 g; 5,80 mmol) de ácido gálico, (1,44 mL; 23,20 mmol) de iodeto de metila, (3,20 g; 23,20 mmol) de K_2CO_3 em 70 mL de acetona. A mistura reagente foi deixada sob agitação e refluxo por aproximadamente vinte e três horas, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo.

Após este período tratou-se a mistura reacional com solução aquosa de HCl 10%, seguida da separação da fase orgânica que foi seca com sulfato de magnésio. O solvente foi removido por meio de evaporador rotativo e o produto foi submetido à secagem em bomba a vácuo. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de 1H , ^{13}C e DEPT e os espectros mostraram a formação do éster desejado.

O produto obtido foi um sólido de coloração amarela.

Rendimento: 97%

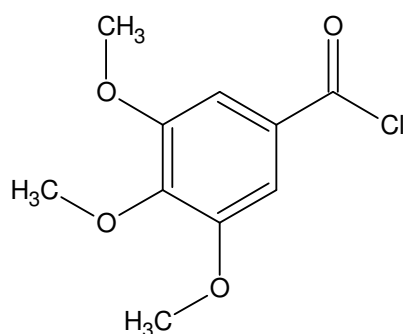
P.F. 78-80°C (observado)

4.1.2.24. Obtenção do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31)

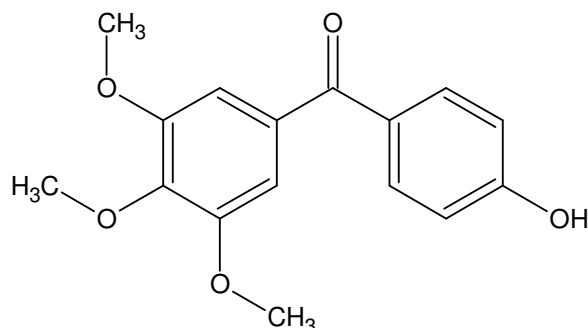
O éster 3,4,5-trimetóxi benzoato de metila (1,27 g; 5,62 mmol) foi adicionado a 20mL de solução de hidróxido de sódio 10%, a mistura foi agitada a temperatura ambiente durante vinte e quatro horas e a reação acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Lavou-se a solução com acetato de etila (3 x 30), e em seguida a solução foi colocada em banho de gelo e a fase aquosa acidificada lentamente com ácido clorídrico concentrado. Filtrou-se em funil de Buchner, lavando-se com água gelada (3 x 30) e obtendo-se um sólido branco.

Rendimento: 99%

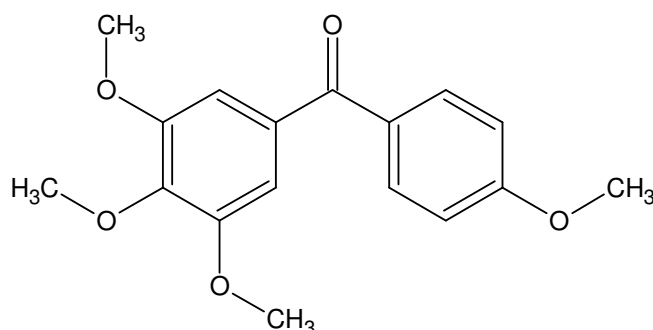
P.F. 166-168°C (observado)

4.1.2.25. Obtenção do 3,4,5 trimetoxicloreto de benzoíla (32) [MORENO *et al.*, 2001]

Em balão contendo diclorometano (20 mL), foi adicionado ácido 3,4,5-trimetóxi benzoíco (1,17 g; 5,57 mmol) e cloreto de tionila (0,81 mL ; 11,14 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por seis horas. Após resfriamento o solvente foi removido em evaporador rotativo e o produto 32 foi obtido.

4.1.2.26. Tentativa de obtenção do 4'-hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (25) [CUSHMAN *et al.*, 1992]

Em um balão de fundo redondo conectado a um condensador e sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados a 0°C e sob forte agitação diclorometano (15 mL), fenol (0,26 g; 2,83 mmol), e cloreto de alumínio (0,43 g; 3,29 mmol). Foi adicionado à mistura o cloreto de 3,4,5-trimetoxibenzóico (0,60 g; 2,60 mmol) por gotejamento e manteve-se a agitação até chegar à temperatura ambiente por vinte e duas horas, após este período a reação prosseguiu sob aquecimento em refluxo por mais dez horas. A reação foi monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O produto bruto foi colocado em uma mistura de ácido clorídrico 5% (20 mL) e gelo. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 30 mL) e separada. As frações de diclorometano foram combinadas e lavadas com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Os espectros mostraram que não ocorreu a formação do produto desejado, obtendo-se o produto da hidrólise do cloreto de ácido e o composto aromático de partida.

4.1.2.27. Obtenção do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2) [CUSHMAN *et al.*, 1992]

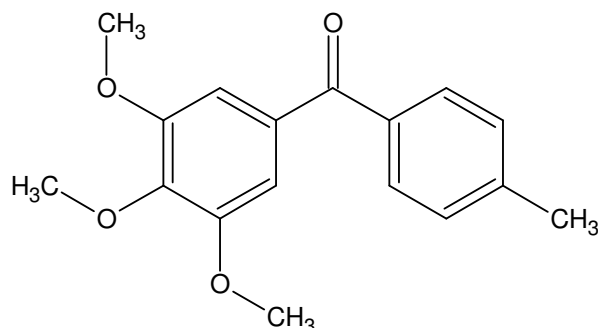
3,4,5 trimetoxicloreto de benzoíla (0,50 g; 2,18 mmol) foi adicionado em um balão contendo 25mL de diclorometano. À temperatura de 0°C e sob forte agitação foram adicionados cloreto de alumínio anidro (0,29 g; 2.20 mmol) e anisol (0,23 mL; 2,19 mmol). A mistura permaneceu sob agitação até chegar à temperatura ambiente e após cinco horas obteve-se como produto uma mistura escura. A reação foi monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O produto bruto foi colocado em uma mistura de ácido clorídrico 5% (20 mL) e gelo. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 30 mL) e separada. As frações de diclorometano foram combinadas e lavadas com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, concentrada em evaporador rotativo e o produto purificado em coluna cromatográfica com sílica de baixa granulometria (0,040 mm a 0,063 mm), eluente hexano/acetato de etila (3/1). Realizou-se a análise dos produtos obtidos através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT.

O produto obtido foi um sólido amarelo claro.

Rendimento: 80%

P.F. 70-72°C (observado)

P.F. 72-73° (literatura) (CUSHMAN *et al.*, 1992)

4.1.2.28. Obtenção da 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) [CUSHMAN *et al.*, 1992]

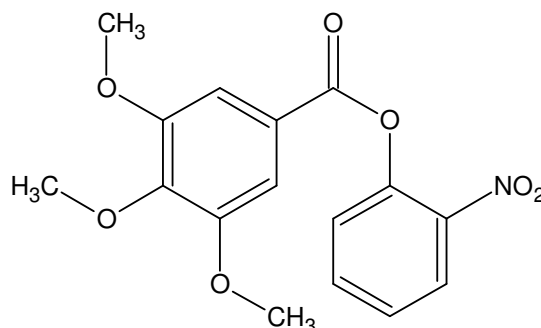
Uma massa de 0,38 g (1,67 mmol) de 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla foi adicionada a um balão contendo 25mL de tolueno e, à temperatura de 0°C e sob forte agitação, foi adicionado cloreto de alumínio anidro (0,21 g; 1,66 mmol). A mistura permaneceu sob agitação até chegar à temperatura ambiente e, após vinte e quatro horas de agitação, obteve-se como produto uma mistura escura. A reação foi monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O produto bruto foi colocado em uma mistura de ácido clorídrico 5% (20 mL) e gelo. A fase aquosa foi extraída com 30 mL de diclorometano e separada. As frações de diclorometano foram combinadas e lavadas com solução de bicarbonato de sódio saturado. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, concentrada em evaporador rotativo e o produto purificado em coluna cromatográfica com sílica de baixa granulometria (0,040 mm a 0,063 mm), eluente hexano/acetato de etila (5/1). Realizou-se a análise dos produtos obtidos através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT.

O produto obtido foi um sólido branco.

Rendimento: 21%

P.F. 87-88°C observado

EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_4$; [M^+ = 286]; [M^+ - $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3$ = 119].

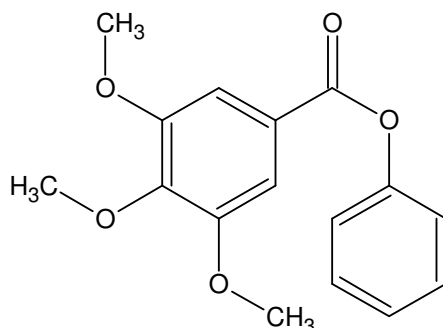
4.1.2.29. Obtenção do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) [ANDREI et al., 2003]

Em um balão de 100 mL foi preparada uma solução aquosa de NaOH (15 mL, 10%) e neste foi adicionado o 2-nitro fenol (0,229 g; 1,64 mmol); a mistura foi submetida à agitação por cerca de quinze minutos, mediu-se o pH da solução para certificar-se de sua alcalinidade e, durante a agitação, acrescentou-se o 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla (0,377 g; 1,64 mmol). Após vinte minutos filtrou-se a solução com água gelada, obtendo-se um sólido branco. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. As análises mostraram que havia presença do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico, neste contexto, lavou-se a mistura de produtos obtidos com solução aquosa básica de bicarbonato de sódio com pH 9, a lavagem foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) até que se observa-se a ausência do ácido.

Rendimento: 80%

P.F. 143-144°C observado

EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_7\text{N}$; [$\text{M}^+ = 333$]; [$\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_4\text{O}_3\text{N} = 195$].

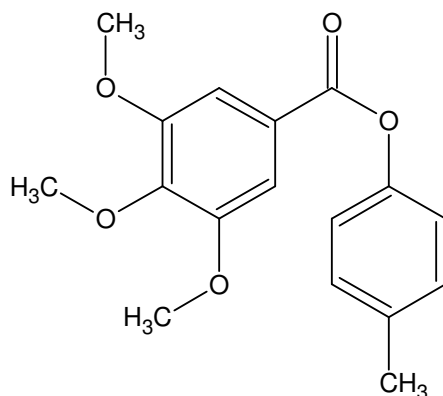
4.1.2.30. Obtenção do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) [ANDREI et al., 2003]

Preparou-se uma solução aquosa de NaOH (15mL, 10%) em um balão de fundo chato, e neste foi adicionado fenol (0,146 mL; 1,64 mmol); a mistura foi submetida a agitação por cerca de quinze minutos e, durante este período, mediu-se o pH da solução para garantir o meio básico. Enquanto a mistura estava sob agitação, acrescentou-se o 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla (0,379 g; 1,64 mmol). Após vinte minutos, filtrou-se a solução com água gelada, obtendo-se o produto 28. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo.

Rendimento: 90%

P.F. 104-105°C observado

EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$; [$\text{M}^+ = 288$]; [$\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_5\text{O} = 195$].

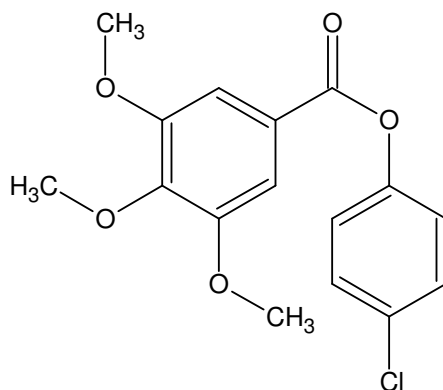
4.1.2.31. Obtenção do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) [ANDREI et al., 2003]

Em um balão de 100 mL foi preparada uma solução aquosa de NaOH (15mL, 10%) e neste foi adicionado p-metil fenol (0,3564 g; 3,28 mmol), a mistura foi submetida a agitação por cerca de quinze minutos e, durante a agitação, acrescentou-se o 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla (0,755 g; 3,28 mmol). Após vinte minutos, filtrou-se a solução com água gelada, obtendo-se o produto 26. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo.

Rendimento: 87%

P.F. 88-89°C observado

EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5$; $[\text{M}^+ = 302]$; $[\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_7\text{O} = 195]$.

4.1.2.32. Obtenção do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) [ANDREI et al., 2003]

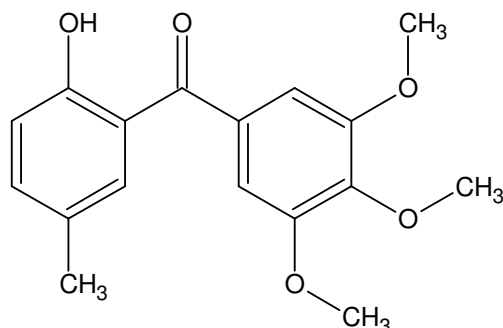
Em um balão de 100 mL foi preparada uma solução aquosa de NaOH (15mL, 10%) e neste foi adicionado p-clorofenol (0,46 g; 3,59 mmol); a mistura foi submetida a agitação por cerca de quinze minutos e mediu-se o pH da solução para certificar-se de sua alcalinidade, durante a agitação acrescentou-se o 3,4,5-trimetoxicloreto de benzoíla (0,76 g; 3,59 mmol). Após vinte minutos filtrou-se a solução com água gelada, obtendo-se um sólido branco. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. As análises mostraram que havia presença do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico, neste contexto, lavou-se a mistura de produtos obtidos com solução aquosa básica de bicarbonato de sódio com pH 9, a lavagem foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) até que se observasse a ausência do ácido.

Rendimento: 95 %

P.F. 91-92°C observado

EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_5\text{Cl}$; [$\text{M}^+ = 322$]; [$\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_4\text{OCl} = 195$].

4.1.2.33. Obtenção da 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) [KHANUM *et al.*, 2003]

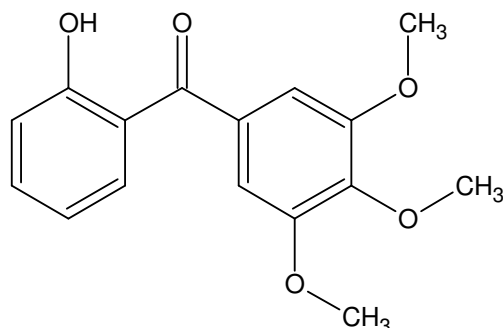


O éster 3,4,5 trimetoxi-2'-hidroxi-4'-metilbenzofenona (0,20 g; $6,62 \cdot 10^{-4}$ mmol) foi colocado em um balão de 100 mL juntamente com cloreto de alumínio anidro (0,10 g; $7,65 \cdot 10^{-4}$ mmol). A mistura foi aquecida entre 120°C e 140°C por cinco minutos; depois deste período a solução foi coletada, adicionou-se 10 mL de HCl (10%) gelado e filtrou-se a solução. O resíduo sólido obtido foi um pó fino que foi extraído com solução de NaOH 10% (3 x 30 mL) e a solução aquosa básica foi neutralizada com HCl (10%). O produto foi extraído com acetato de etila e a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT. A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo.

O produto obtido foi um líquido amarelo escuro contendo o produto em mistura. Essa mistura foi separada em HPLC obtendo-se 6 miligramas do produto 22.

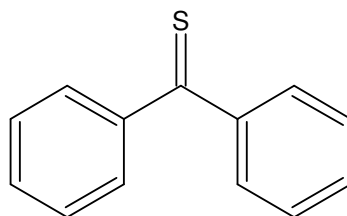
EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5$; $[\text{M}^+ = 302]$; $[\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_7\text{O} = 195]$.

4.1.2.34. Tentativa de obtenção da 2'-hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (41) [KHANUM *et al.*, 2003]



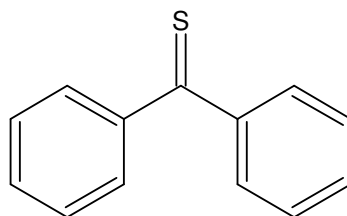
O éster 3,4,5 trimetoxibenzoato de fenila (0,30 g; 1,04 mmol) foi colocado em um balão de 100 mL juntamente com cloreto de alumínio anidro (0,20 g; 1,57 mmol). A mistura foi aquecida durante sete minutos, sendo que os três primeiros minutos a 120°C e os outros quatro minutos a 140°C; depois deste período formou-se um sólido escuro no fundo do balão. Adicionou-se ao sólido 10 mL de HCl (10%) gelado e filtrou-se a solução. O resíduo sólido obtido foi um pó fino que foi extraído com solução aquosa de NaOH 10% (3 x 30 mL) e a solução aquosa básica foi neutralizada com HCl (10%). O produto foi extraído com acetato de etila e a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada em evaporador rotativo. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e de ^{13}C . A análise do produto também foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O produto obtido foi um líquido caramelo, e os espectros mostraram que ocorreu a formação da cetona 41, porém a mistura formada não era passível de separação por cromatografia em coluna e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), devido à baixa quantidade de produto.

EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$; [$\text{M}^+ = 288$]; [$\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_5\text{O} = 195$].

4.1.2.35. Tentativa de tionação da benzofenona visando à obtenção da tiobenzofenona (36)**[SHULTZ *et al.*, 2003]**

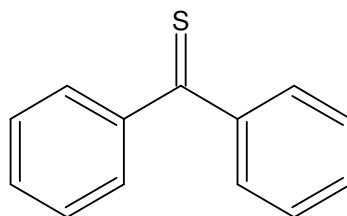
Em um balão de fundo redondo contendo 15 mL de acetonitrila foram adicionados benzofenona (0,03 g; $2,05 \cdot 10^{-4}$ mol), P_4S_{10} (0,15 g; $3,44 \cdot 10^{-4}$ mol) e bicarbonato de sódio (0,10 g; $1,26 \cdot 10^{-3}$ mol). A mistura foi submetida à agitação e refluxo por quatro horas, permanecendo em agitação por mais quinze horas. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. A mistura foi resfriada a 0°C e a elaboração da reação foi feita adicionando-se acetato de etila, lavando-se a mistura uma vez com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio e duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e o solvente foi evaporado em evaporador rotativo. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , de ^{13}C e espectrometria de massa, as análises mostraram a não formação do produto, recuperando-se o material de partida.

4.1.2.36. Tentativa de tionação da benzofenona visando à obtenção da tiobenzofenona (36)
[POLSHETTIWAR *et al.*, 2004]



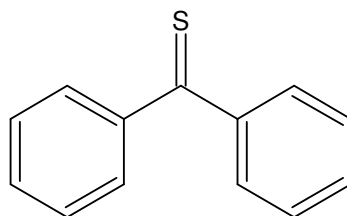
Preparou-se uma mistura de Al_2O_3 – neutro (0,11 g; 1,15 mmol) e P_4S_{10} (0,07 g; $1,59 \cdot 10^{-4}$ mol) que foi macerada por cinco minutos, obtendo-se um pó fino e homogêneo. Adicionou-se a mistura a um balão de 100 mL contendo 20 mL de acetonitrila tratada e benzofenona (0,19 g; 1,07 mmol). A reação foi realizada sob refluxo, em atmosfera de nitrogênio, e foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Após uma hora e trinta minutos obteve-se um líquido azul que foi filtrado para remoção do P_4S_{10} , e o solvente foi evaporado. O produto foi um líquido viscoso que foi extraído com hexano e após a evaporação do solvente obteve-se um sólido branco. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C , espectrometria de massa e cromatografia em camada delgada (CCD), as análises mostraram a não formação do produto, recuperando-se o material de partida.

4.1.2.37. Tentativa de tionação da benzofenona visando à obtenção da tiobenzofenona (36)
[POLSHETTIWAR *et al.*, 2004]



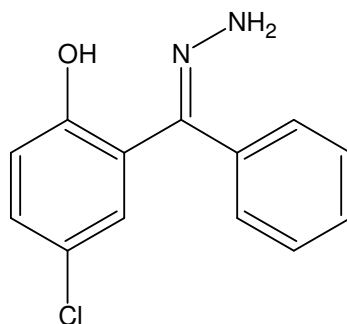
Preparou-se uma mistura de Al_2O_3 – básico (0,11 g; 1,15 mmol) e P_4S_{10} (0,07 g; $1,59 \cdot 10^{-4}$ mol) que foi macerada por cinco minutos, obtendo-se um pó fino e homogêneo. Adicionou-se a mistura a um balão de 100 mL contendo 20 mL de acetonitrila tratada e benzofenona (0,19 g; 1,07 mmol). A reação foi realizada sob refluxo, em atmosfera de nitrogênio, e foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Após cinco horas obteve-se um líquido azul que foi filtrado para remoção do P_4S_{10} , e o solvente foi evaporado. O produto foi um líquido viscoso que foi extraído com hexano e após a evaporação do solvente obteve-se um sólido branco. Realizou-se a análise do produto obtido através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C , espectrometria de massa e cromatografia em camada delgada (CCD), as análises mostraram a não formação do produto, recuperando-se o material de partida.

4.1.2.38. Tentativa de tionação da benzofenona visando à obtenção da tiobenzofenona (36)
[RAJENDER *et al.*, 1999]

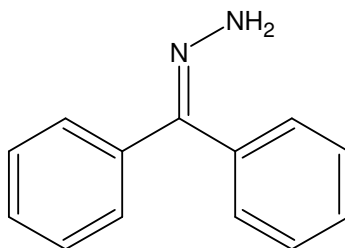


Uma mistura de benzofenona (0,09 g; 0,5 mmol) e reagente de Lawesson (0,07 g; 0,25 mmol) foi colocada em um tubo de ensaio e misturada com uma espátula, o tubo foi colocado em um béquer com alumina e o béquer foi colocado em um forno microondas (900W) e irradiado por três minutos. Após completada a reação, realizou-se a análise do produto por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/5), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo, a análise também foi feita através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e através de espectrometria de massa. As análises mostraram a formação do produto em mistura, porém a mistura formada não era passível de separação por cromatografia em coluna e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.1.2.39. Tentativa de obtenção de 5-cloro 2-hidroxibenzofenona hidrazona (40) [ÁLVAREZ et al., 2008]

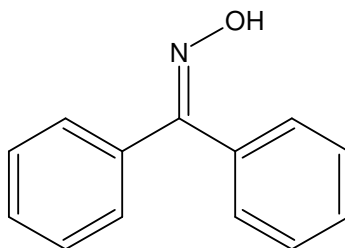


Hidrazina hidratada (0,32 g; 10,00 mmol) e ácido acético (3 gotas) foram adicionados a uma solução de 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (0,23 g; 1,00 mmol) e metanol (25 mL). A mistura foi refluxada por quatro horas. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Durante este tempo um grande excesso de hidrazina (0,32 g; 10,00) foi adicionado à mistura da reação. O solvente foi evaporado em evaporador rotativo e a elaboração da reação foi feita com acetato de etila, lavando-se o produto bruto obtido com água. A fase orgânica foi seca com sulfato e magnésio, o solvente foi evaporado e o produto purificado em coluna cromatográfica com sílica de baixa granulometria (0,040 mm a 0,063 mm), eluente hexano/acetato de etila (3/1). Realizou-se a análise das frações obtidas através da técnica espectroscópica de RMN de ^1H e cromatografia em camada delgada (CCD), a análise através de espectroscopia de RMN de ^{13}C não foi realizada devido à pequena quantidade de massa das amostras e por estas amostras ainda estarem em mistura. Através das análises concluímos que ocorreu a formação do produto de interesse, porém a cromatografia em camada delgada (CCD) mostrou a degradação dos produtos formados durante a cromatografia em coluna.

4.1.2.40. Tentativa de obtenção de benzofenona hidrazona (37) [ÁLVAREZ et al., 2008]

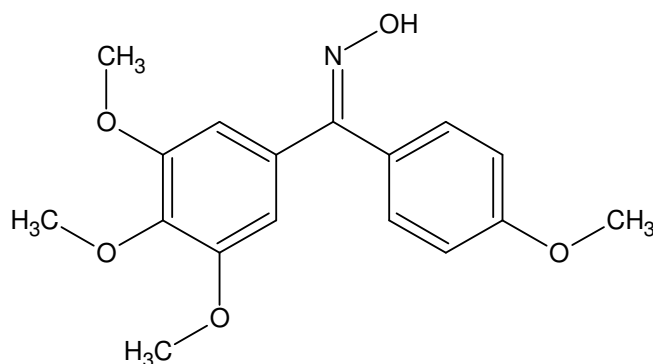
Hidrazina hidratada (0,32 g; 10,00 mmol) e ácido acético (3 gotas) foram adicionados a uma solução de benzofenona (0,18 g; 1,00 mmol) e metanol (25 mL). A mistura foi refluxada por trinta e quatro horas. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. Durante este tempo um grande excesso de hidrazina (0,32 g; 10,00 mmol) foi adicionado à mistura da reação. O solvente foi evaporado em evaporador rotativo e a elaboração da reação foi feita com acetato de etila, lavando-se o produto bruto obtido com água. A fase orgânica foi seca com sulfato e magnésio, o solvente foi evaporado e o produto purificado em coluna cromatográfica com sílica de baixa granulometria (0,040 mm a 0,063 mm), eluente hexano/acetato de etila (5/1). Realizou-se a análise das frações obtidas através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT, espectrometria de massa e cromatografia em camada delgada (CCD). As análises mostraram a formação do produto 37, porém em pouca quantidade.

EM (m/z): fórmula molecular calculada $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2$; $[\text{M}^+ = 196]$; $[\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_7\text{N}_2 = 77]$.

4.1.2.41. Tentativa de obtenção de benzofenona oxima (38) [ÁLVAREZ et al., 2008]

Cloridrato de hidroxilamina (0,33 g; 10,00 mmol), carbonato de potássio (1,38 g; 10,00 mmol) e benzofenona (0,18 g; 1,00 mmol) foram refluxados em metanol por trinta e quatro horas. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O solvente foi evaporado em evaporador rotativo e a elaboração da reação foi feita com acetato de etila, lavando-se o produto bruto obtido com água. A fase orgânica foi seca com sulfato e magnésio, o solvente foi evaporado e o produto purificado em coluna cromatográfica com sílica de baixa granulometria (0,040 mm a 0,063 mm), eluente hexano/acetato de etila (5/1). O produto foi obtido em pequena quantidade, como um óleo amarelo claro.

4.1.2.42. Tentativa de obtenção de 3,4,4',5 tetrametóxi benzofenona oxima (39) [ÁLVAREZ et al., 2008]



Cloridrato de hidroxilamina (0,33 g; 10,00 mmol), carbonato de potássio (1,38 g; 10,00) e 3,4,4',5 tetrametóxi benzofenona (0,30 g; 1,00 mmol) foram refluxados em metanol por trinta e quatro horas . A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), com eluente acetato de etila/hexano (1/3), revelado em luz ultravioleta, vanilina e vapores de iodo. O solvente foi evaporado em evaporador rotativo e a elaboração da reação foi feita com acetato de etila, lavando-se o produto bruto obtido com água. A fase orgânica foi seca com sulfato e magnésio, o solvente foi evaporado e o produto purificado em coluna cromatográfica com sílica de baixa granulometria (0,040 mm a 0,063 mm), eluente hexano/acetato de etila (5/1). Realizou-se a análise das frações obtidas através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT e cromatografia em camada delgada (CCD), as análises mostraram que na mistura de produtos ainda havia grande quantidade de material de partida e que houve degradação dos produtos obtidos durante o processo de purificação.

4.2. Modelagem molecular

4.2.1. Procedimentos experimentais

As análises de interação ligante/receptor podem seguir metodologias sistemáticas ou aleatórias. Como o interesse deste estudo era de encontrar ligantes com boa interação com a tubulina e comparar os resultados de testes biológicos com o estudo teórico, iniciou-se buscando a estrutura do receptor que estivesse complexado com um ligante que tem ótima afinidade com a tubulina e que tem semelhança estrutural com as substâncias analisadas nos testes biológicos. A estrutura cristalográfica da tubulina foi selecionada no *Protein Data Bank* (entrada no PDB-3DU7). Os ligantes para estudo foram elaborados baseados na estrutura da Fenstatina (3'-hidroxi-3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona) que também tem boa afinidade com a tubulina, além de agir no mesmo sítio de ligação e possuir semelhanças estruturais com a colchicina. O ligante CN2 cristalografado com a tubulina no PDB-3DU7 é um análogo da colchicina.

Na Figura 55 temos a 3'-hidroxi-3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (Fenstatina), o 2-mercapto-N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida (CN2) e a N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida (colchicina). Na Figura 56 temos todos os ligantes estudados por *docking* molecular.

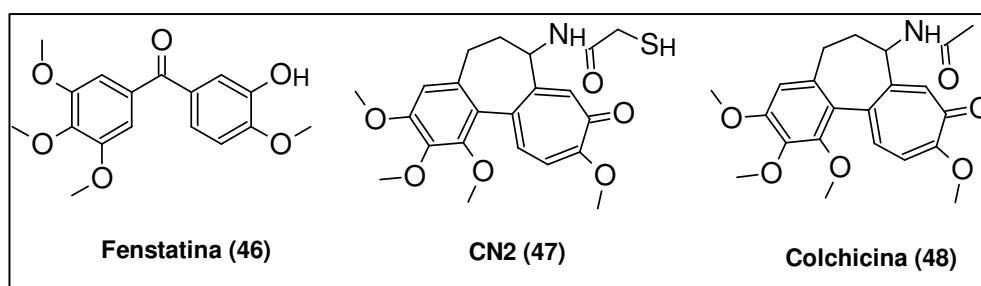
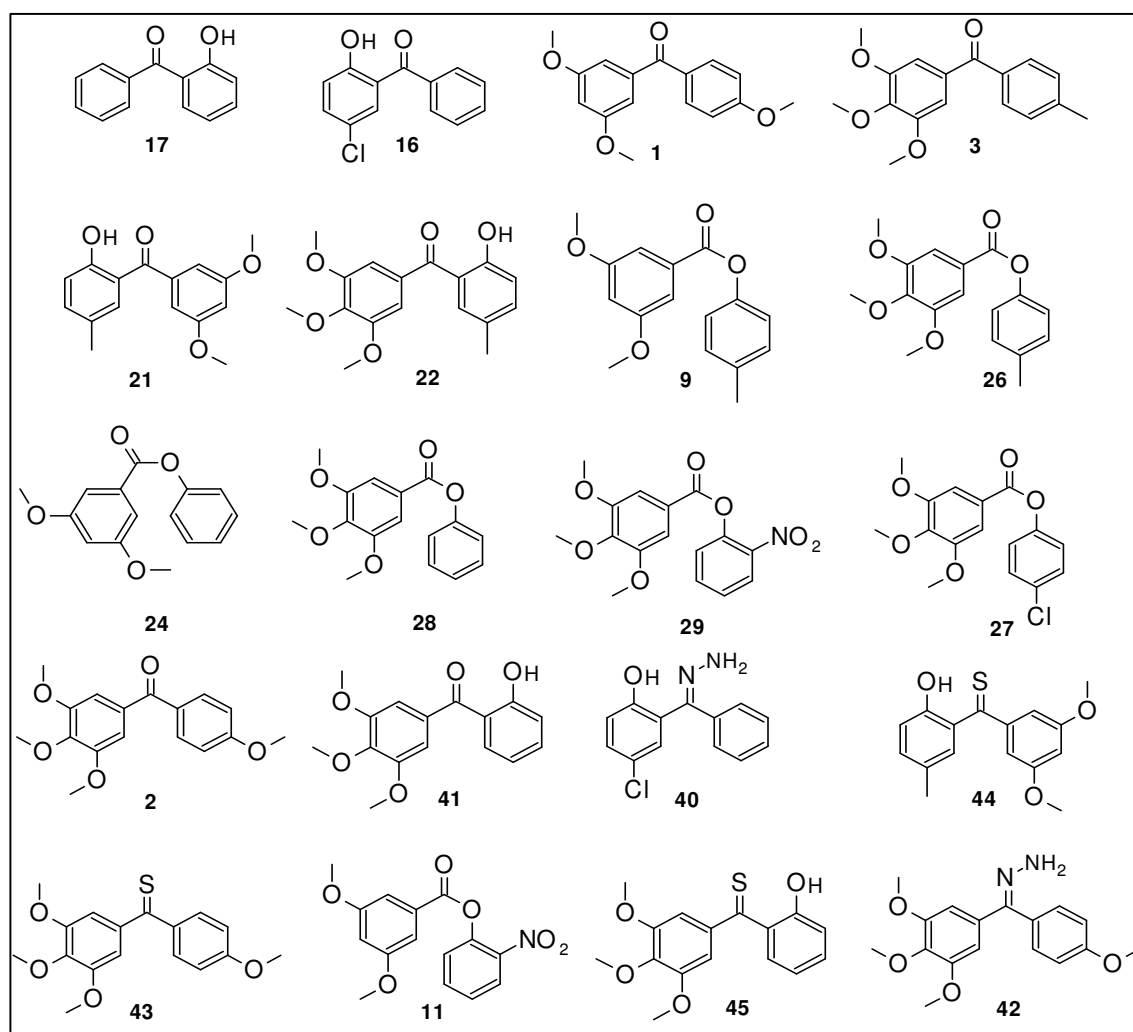


Figura 55: Fenstatina, 2-mercapto-N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida (CN2) e N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida (colchicina)

Figura 56: Ligantes estudados por *docking* molecular

4.2.1.1. Preparação dos ligantes

Para desenhar as moléculas em estudo, utilizou-se o programa Ghemical (HASSINEN & PERAKYLA, 2001) e, com o método semi-empírico PM3, realizou-se as otimizações da geometria. Com o arquivo de saída das otimizações foi feita a análise conformacional das moléculas em estudo. Os programas utilizados na análise conformacional foram o Ghemical (HASSINEN & PERAKYLA, 2001), o Gaussian e o Molden. Após a análise conformacional, com o método semi-empírico PM3, a estrutura de menor energia obtida para cada ligante foi otimizada novamente com o método semi-empírico PM3, em seguida utilizou-se o programa Molden para a criação dos arquivos no formato pdb, e então as

coordenadas dos ligantes foram enviadas para o servidor dundee PRODRG2 (SCHUETTELKOPF & VAN AALTEN, 2004), para obter os arquivos no formato utilizado pelo pacote de programas Autodock.

No pacote de programas Autodock, adicionou-se hidrogênios polares, definindo-se as ligações rotacionáveis, carbonos aromáticos e alifáticos e as cargas dos ligantes foram calculadas pelo método Gasteiger.

A rede utilizada nos cálculos teve dimensões: 118.06Å, 89.195Å e 5.234Å, centrada no sítio ativo da colchicina, respectivamente nas direções x, y e z do sistema de coordenadas (Figura 57). Simulou-se com 300 diferentes interações para cada molécula no sítio ativo, sendo que o desvio selecionado foi de 6 interações para mais e para menos. Para determinar a qualidade da interação ligante-receptor utilizou-se o Algoritmo Genético Lamarkian (MORRIS et al., 1998).

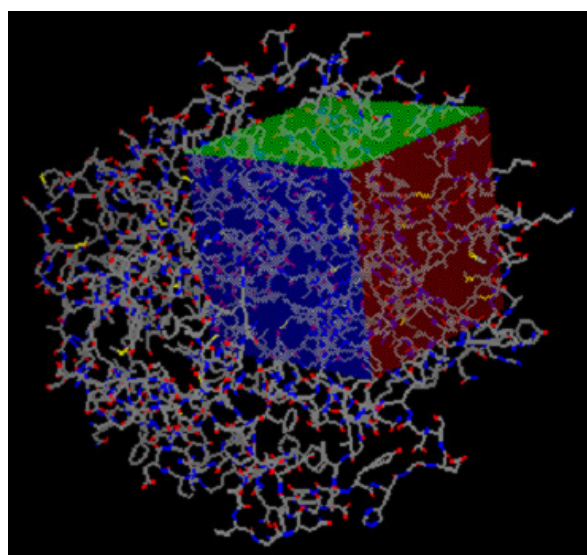


Figura 57: Rede elaborada sobre a região onde se encontra o sítio ativo da β -tubulina

4.2.1.2. Preparação do receptor

Obteve-se a estrutura tridimensional da tubulina (código PDB: 3DU7) através das coordenadas disponíveis no sítio *Protein Data Bank*. A elucidação da tubulina se deu por difração de raios-X com resolução de 4,10Å por CORMIER e colaboradores (2008).

Como a tubulina é um dímero composto pela α -tubulina e a β -tubulina e a estrutura cristalografada possui duas unidades da α -tubulina e duas unidades da β -tubulina intercaladas e formando as cadeias A, B, C e D, somente os dados de coordenadas da cadeia B (β -tubulina) foram retirados do arquivo, salvos como

arquivo no formato pdb e corrigidos pelo programa SPDBView. A figura 58 demonstra em cor róseo resíduos reconstruídos pelo programa SPDBView da cadeia B.

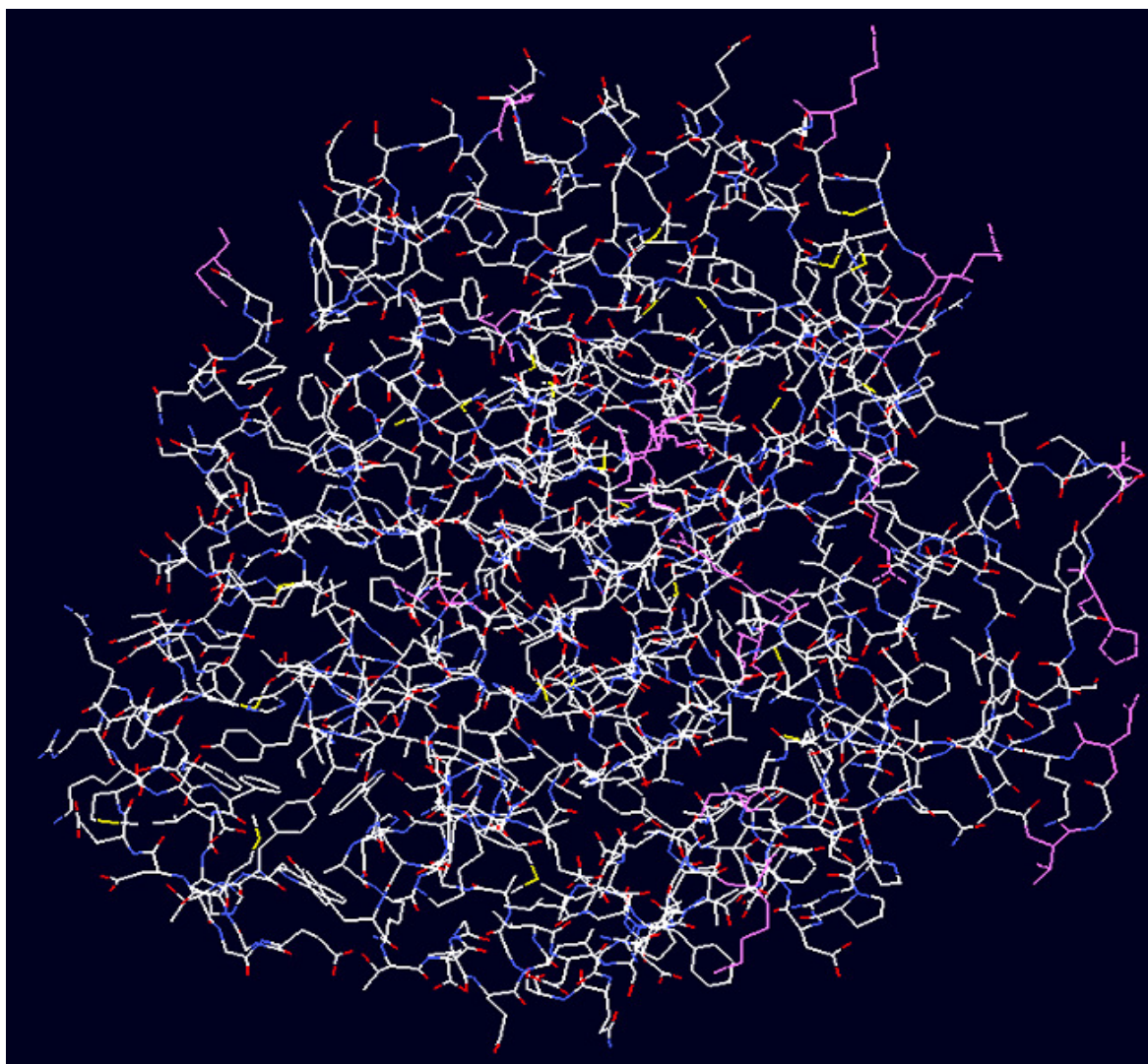


Figura 58: Ilustra em cor róseo resíduos reconstruídos pelo programa SPDBView da cadeia B.

A estrutura da cadeia B está representada por 445 resíduos e o ligante CN2 está localizado no seu sítio ativo da cadeia B (β -tubulina). Os resíduos que faltam ficam a partir do aminoácido ASP437, mas como estes resíduos ficam no final da cadeia B, não se fez necessário o processo de homologia de proteínas.

Os dados de coordenadas da cadeia B (β -tubulina) corrigidos pelo programa SPDBView e com o formato pdb foram utilizados no programa Autodock e de forma semelhante ao ligante, o programa Autodock foi utilizado para acertar parâmetros, adicionando cargas de Kollman, computadas energias de Gasteiger e hidrogênios polares.

4.2.1.3. Execução do AutoDock

Os estudos de ancoragem molécula (*docking*) foram realizados utilizando-se o programa AutoDock 4.2 (MORRIS *et al.*, 1998), com receptor rígido e ligantes flexíveis sem a presença de solvente, para assim obter-se as energias da interação ligante/receptor.

4.2.1.4. Validação da metodologia

Para validar a metodologia realizou-se o *docking* com o ligante cristalográfico, para isso os dados de coordenadas do ligante CN2 foram retirados do arquivo PDB-3DU7 e enviados para o servidor dundee PRODRG2 (SCHUETTELKOPF & VAN AALTEN, 2004), para obter os arquivos no formato utilizado pelo pacote de programas Autodock. No pacote de programas Autodock, realizou-se todos os procedimentos utilizados na preparação dos outros ligantes. O *docking* também foi realizado com o ligante construído fenstatina (**46**) para que também fosse possível a observação de sua interação com os resíduos da proteína, e assim poderíamos comparar os resultados dos ligantes propostos com o resultado do ligante cristalografado CN2 e o ligante construído fenstatina.

4.3. Ensaio tubulínicos *in vitro*

4.3.1. Ensaio de ligação a tubulinas

A habilidade dos compostos de inibir a polimerização de tubulinas foi avaliada em sistemas tubulínicos com suporte glutamato. As reações foram conduzidas com tubulina cerebral bovina purificada (1,0 mg/mL; 10 μ M), 0,8 M de glutamato monossódico (pH 6,6), 0,4 mM de GTP e 4% (v/v) de DMSO variando a concentração dos compostos testados. As misturas reacionais foram encubadas por 15min a 30°C com GTP para permitir a ligação do ligante. As misturas foram colocadas em gelo, com adição de GTP e a mistura reagente foi então transferida para cubetas e mantidas a 0°C para estabilização da linha de base. Depois de estabilizada, a mistura foi aquecida a 30°C, e monitoradas por turbidimetria em espectrofotômetro Beckman DU7400/7500 em 350 nm, equipado com controladores eletrônicos de temperatura (HAMEL, 2003).

ACA4, potente inibidor da ligação de colchicina, foi doada generosamente pelo Dr G. R. Pettit, Universidade do Estado de Arizona, e incluída como controle positivo para os ensaios realizados.

5.0 Conclusão

Neste trabalho realizou-se o estudo de ancoragem molecular e a síntese de compostos análogos a fenstatina com potencial antitubulínico. Um conjunto de 20 ligantes foi submetido aos estudos de modelagem molecular e, entre estes, 13 foram analisados também através de ensaio antitubulínico

Tanto no estudo teórico como no teste biológico os ésteres (**9**, **26**, **27**, **28**, **29**) e as cetonas sem metoxilas **16** e **17** não apresentaram bons resultados quanto a formação do complexo com a β -tubulina.

Os ligantes **1** e **2** já foram sintetizados e possuem atividade antitubulínica comprovada em outros trabalhos, com isso o ensaio biológico apresentou valores que corresponde com suas atividades previamente estudada. E de forma satisfatória, no estudo de *docking*, foram os ligantes que apresentaram melhor interação com os resíduos estudados e melhor sobreposição aos ligantes CN2 e a fenstatina.

Como através do estudo de *docking* não podemos ter como resultado a real atividade do composto, e sim analisar o complexo, fazer comparação e diferenciar compostos que podem ser mais ativos ou menos ativos, no estudo teórico tivemos como conclusão que os ligantes **22** e **3** tinham uma boa interação com os resíduos da proteína, e essa interação era menos favorável que a dos ligantes **1** e **2** e mais favorável que a dos ligantes **9**, **24**, **26**, **27**, **28**, **29**, **16** e **17**. O ensaio biológico confirmou o estudo teórico, indicando que os compostos **22** e **3** possuem valores de IC maiores do que o dos ligantes **1** e **2** e valores menores que o dos compostos inativos.

Ao longo da síntese foram obtidos 13 compostos e entre eles 5 são inéditos: **24**, **9**, **11**, **21** e **22**; os compostos **21** e **22** foram obtidos através de rearranjo de Fries e os compostos **24**, **9** e **11** através de esterificação.

Dentre todos os compostos apenas as substâncias **1** e **2** já haviam sido testadas em ensaios *in vitro* de atividade antitubulínica e quanto a simulação computacional, nenhum dos ligantes deste trabalho já haviam sido estudados por simulação da interação com a tubulina, tendo em vista que existe até o momento apenas um trabalho sobre *docking* com a tubulina.

6.0 Referências

- 1) ALBERTS, B., JOHNSON, A. *et al.*, Biologia Molecular da Célula. 4ª edição., Artmed, Porto Alegre, **2004**.
- 2) ÁLVAREZ, C., ÁVAREZ, R., CORCHETE, P., MELERO, C. P., PELÁEZ, R., MEDARDE, M. Naphtylphenstatins as tubulin ligands: Synthesis and biological evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2008**, v.16, p.8999-9008.
- 3) AMERICAN CANCER SOCIETY: <http://www.cancer.org>
- 4) ANDREI, C. C., FERREIRA, D.T., FACCIONE, M., FARIA, T.J., Da química medicinal à química combinatória e modelagem molecular, 1ª edição. São Paulo, **2003**.
- 5) CHEN, S. H.; HONG, J. *Drugs of the future*. **2006**, v.31, p.123-150.
- 6) CHING, L. M.; JOSEPH, W. R.; ZHUANG, L. ATWELL, G. J.; REWCASTLE, G. W.; DENNY, W. A.; BAGULEY, B. C. *European Journal of Cancer*. **1991**, v.27, p.79.
- 7) COMBES, A.; FINET, J. P.; SIRI, D. *Journal of the Chemical Society, Perkin transitions*. **2002**, v.1, p.38.
- 8) COOPER, G. M. e HAUSMAN, R. E. *A célula*. 3ª edição, artmed. Porto Alegre. **2007**.
- 9) CORMIER, A., MARCHAND, M., RAVELLI, R. B., KNOSSOW, M., GIGANT, B. Receptor 3DU7. PDBV. **2008**.
- 10) CSOMÓS, P., FODOR, L, MÁNDITY,I., BERNATH,G. An efficient route for the synthesis of 2-arylthiazino[5,6-b]indole derivatives. *Tetrahedron Letters*. **2007**, v.63, p.4983-4989.
- 11) CUSHMAN, M., NAGARATHANAM, D., GOPAL, D., HE, HU-M., LIN, C. M., HAMEL, E., *Journal of Medicinal Chemistry*. **1992**, v.35, p.2293.
- 12) DUCKI, S. e FORREST, R. Potent antimitotic and cell growth inhibitory properties of substituted chalcones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **1998**, v.8, p.1051-1056.
- 13) GEORGE R. PETTIT, MATTHEW P. GREALISH, M. KATHERINE JUNG, ERNEST HAMEL, ROBIN K. PETTIT, J. CHARLES CHAPUIS e JEAN M. SCHMIDT. *Antineoplastic Agents*. 465. Structural Modification of Resveratrol: Sodium Resverastatin Phosphate1. *J. Med. Chem*. **2002**, v.45 (12), p.2534-2542.
- 14) GETAHUN, Z., JURD, L., CHU,P. S., LIN, C. M., HAMEL, E. Synthesis of Alkoxy-Substituted Diaryl Compounds and Correlation of Ring Separation with Inhibition of Tubulin Polymerization - Differential Enhancement of Inhibitory Effects under Suboptimal Polymerization Reaction Conditions. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1992**, v.35, p.1058-1067.

- 15) GOODSELL, D. S. e G. M. MORRIS. Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock. *J Mol Recognit*. **1996**, v.9, n.1, Jan-Feb, p.1-5.
- 16) GRIGGS, J., BRINDLE, K. M., METCALFE, J. C. Potent anti-metastatic activity of combretastatin-A4. *International Journal of Oncology*. **2001**, v.19, p.821-825.
- 17) GRIGGS, J., HESKETH, R., SMITH, G. A., BRINDLE, K. M., METCALFE, J. C., THOMAS, G. A., WILLIAMS, E. D. Combretastatin-A4 disrupts neovascular development in non-neoplastic tissue. *British Journal of Cancer*. **2001**, v.84, p.832-835.
- 18) HALPERIN, I. et al. Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins*. **2002**, v.47, n.4, p. 409-43.
- 19) HAMEL, E. Evaluation of antimetabolic agents by quantitative comparisons of their effects on the polymerization of purified tubulin. *Cell Biochem Biophys*. 2003, v.38, n.1, p.1-22.
- 20) HASSINEN, T.; PERAKYLA, M. *J Comput Chem*. **2001**, v.22, p. 1229-1242.
- 21) HEIKE LAMPERT, WERNER MIKENDA, ALFRED KARPFFEN e HANSPETER KHLIG. NMR Shieldings in Benzoyl and 2-Hydroxybenzoyl Compounds. Experimental versus GIAO Calculated Data. *J.Phys.Chem.A*, 1997, v.101, p.9610-9617.
- 22) HINCHLIFFE, ALAN. *Molecular Modelling for Beginners*. Wiley Edit. **2006**, v.3, p.335-340.
- 23) <http://www.cancerbacup.org.uk/info/chemo/chemo-2.htm>
- 24) INCA (Instituto Nacional de Câncer), Estimativas 2008: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, **2007**.
- 25) KAFFY, J. e PONTIKIS, R. Synthesis and biological evaluation of vinylogous combretastatin A-4 derivatives. *Org Biomol Chem*. **2005**, v.3, p.2657-2660.
- 26) KALETA, Z., MAKOWSKI, B. T., SOÓS, T., DEMBINSKI, R. Thionation using fluoros Lawesson's reagent. *Organic Letters*. **2006**, v.8, p.1625-1628.
- 27) KHANUM S. A., SHASHIKANTH S., SUDHA B. S. A Facile Synthesis and Antimicrobial Activity of 3-(2-Aroylaryloxy)methyl-5-Mercapto-4-Phenyl-4H-1,2,4-Triazole and 2-(2-Aroylaryloxy)methyl-5-N-Phenylamino-1,3,4-Thiadiazole Analogues. *ScienceAsia*. **2003**, v.29, p.383-392.
- 28) KIRWAN, G., LOADMAN, P. M. *et al*. The greater antitumour effect of combretastatin A1 phosphate (CA1P, OXI4503) compared to combretastatin A4 phosphate (CA4P) may be explained by differences in pharmacokinetics (PK) and metabolism. *Clinical Cancer Research*. **2003**, v.9, p.6150S-6150S.

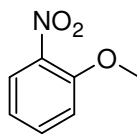
- 29) KIRWAN, I. G., LOADMAN, P. M.. Comparative preclinical pharmacokinetic and metabolic studies of the combretastatin prodrugs combretastatin A4 phosphate and A1 phosphate. *Clinical Cancer Research*. **2004**, v.10, p.1446-1453.
- 30) LAMPERT, H., MIKENDA, W., KARPEN, A., KHLIG, H. NMR Shieldings in Benzoyl and 2-Hydroxybenzoyl Compounds. Experimental versus GIAO Calculated Data. *J.Phys.Chem.A*, **1997**, v.101, p.9610-9617.
- 31) LAWRENCE, N. J., RENNISON, D., WOO, M., MCGOWN, A. T., HADFIELD, J.A. Antimitotic and cell growth inhibitory properties of combretastatin A-4-like ethers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2001**, v.11, p.51-54.
- 32) LIN, C. M., HO. H. H., PETTIT, G. R., HAMEL, E. Antimitotic Natural-Products Combretastatin-a-4 and Combretastatin-a-2 - Studies on the Mechanism of Their Inhibition of the Binding of Colchicine to Tubulin. *Biochemistry*. **1989**, v.28, p.6984-6991.
- 33) LIPPERT, J. W. Vascular disrupting agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. **2006**, v.15, p.605-615.
- 34) LOPES, R. S. Processos de obtenção, identificaçãoespectroscópicas e avaliação de atividades biológicas de benzoatos/ acetatos de benzila e/ou fenila substituídos - estudos de metodologia de síntese. [Dissertação]. Campo Grande: Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Departamento de química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, **2007**.
- 35) MAGALHÃES, C. S.; BARBOSA, H. J. C.; DARDENNE, L. E. A genetic algorithm for the ligand-protein docking problem. *Genetics and Molecular Biology*. **2004**, v.27, p.605-610.
- 36) SMITH, M. B., MARCH, J., March's Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure. 6ª edição., Wiley-Interscience, Canadá, **2007**.
- 37) MARSHALL, G. R. Introduction to chemoinformatics in drug discovery – A personal view. In OPREA, T. I. *Chemoinformatics in drug discovery*. Weinheim: Wiley-VHC, **2004**.
- 38) MCGREGOR, W. M. e SHERRINGTON, D. C. Some Recent Synthetic Routes to Thioketones e Thioaldehydes. *Chemical Society Reviews*. **1993**, v.1, p.199-204.
- 39) MEHRAN, J., and Erickson, J. A. Homology model directed alignment selection for comparative molecular field analysis: Application to photosystem II inhibitors *Journal of Computer-Aided Molecular*. **2000**, v.14, p.181-197.
- 40) MICHELETTI, G.; POLI, M.; BORSOTTI, P.; MARTINELLI, M.; IMBERTI, B.; TARABOLETTI, G.; GIAVAZZI, R. *Cancer Research*. **2003**, v.63, p.1534.

- 41) MORENO, I., TELLITO, I., ETAYO, J., SANMARTÍN, R., DOMÍNGUEZ, E., *Tetrahedron*. **2001**, v.57, p. 5403.
- 42) MORRIS, G. M., GOODSSELL, D. S., HALLIDAY, R. S., HUEY, R.; HART, W. E., BELEW, R. K., OLSON, A. J. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*. **1998**, v.19, p.1639-1662.
- 43) NAGARATHNAM, D. e CUSHMAN, M. Synthesis and evaluation of analogs of (Z)-1-(4-methoxyphenyl)-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethene as potential cytotoxic and antimitotic agents. *J. Med. Chem.* **1992**, v.35, p. 2293-2306.
- 44) PEITSCH, M. C. Manuel Peitsch discusses knowledge management and informatics in drug discovery. *Drug Discovery Today: Biosilico*. **2004**, v. 02, p. 94-96.
- 45) PERRIN, D. D., ARMAREGO, W. L. F.; *Purification of Laboratory Chemicals*; 3th Ed.; Pergamon Press; Oxford; **1988**.
- 46) PETTIT, G. R., SINGH, S. B., BOYD, M.R., HAMEL, E., PETTIT, R.K., SCHMIDT, J.M., HOGAN, F. Antineoplastic Agents .291. Isolation and Synthesis of Combretastatins a-4, a-5, and a-6. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1995**, v.38, p.1666-1672.
- 47) PETTIT, G. R., TEMPLE, C., BOYD, M.R., HAMEL, E., PETTIT, R.K. Antineoplastic Agents-322 - Synthesis of Combretastatin a-4 Prodrugs. *Anti-Cancer Drug Design*. **1995**, v.10, p.299-309.
- 48) PETTIT, G. R., TOKI, B., HERALD, D.L., PINARD, P. V., BOYD, M.R., HAMEL, E., PETTIT, R.K. Antineoplastic agents. 379. Synthesis of phenstatin phosphate. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1998**, v.41, p.1688-1695.
- 49) PILAT, M. J. e LORUSSO. P. Vascular disrupting agents. *Journal of Cellular Biochemistry*. **2006**, v.99, p.1021-1039.
- 50) POLSHETTIWAR, V. Phosphorus pentasulfide (P₄S₁₀). *Synlett*. **2004**, v.2, p.2245-2246.
- 51) POLSHETTIWAR, V. e KAUSHIK, M. P. A new, efficient and simple method for the thionation of ketones to thioketones using P₄S₁₀/Al₂O₃. *Tetrahedron Letters*. **2004**, v.45, p.6255-6257.
- 52) POLSHETTIWAR, V., NIVSARKAR, M. *et al.* Thionation of carbonyl compounds using phosphorus pentasulfide and hexamethyldisiloxane under microwave irradiations. *Journal of Chemical Research-S*. **2004**, v.7, p.474-476.
- 53) RAJENDER S. VARMA e DALIP KUMAR. Microwave-Accelerated Solvent-Free Synthesis of Thioketones, Thiolactones, Thioamides, Thionoesters, and Thioflavonoids. *Organic Letters*. **1999**, v.1, p. 697-700.

- 54) READ, C. E., MARTINS, F. J. C. Thionation of the monoacetal of pentacyclo[5.4.0.0^{2,6}.0^{5,9}] undecane- 8,11- dione. *Tetrahedron Letters*. **2004**, v.45, p.5953-5955.
- 55) ROTTA, R. Preparação e atividade citotóxica sobre células neoplásicas de análogos do tamoxifeno e do resveratrol - protótipos para futuras drogas contra o câncer de mama. [tese]. Campo Grande: Centro de ciências exatas e tecnológicas, Departamento de Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, **2005**.
- 56) ROY, H. N. e MAMUN, A. H. Regiospecific Phenyl Esterification to some organic acids catalyzed by combined Lewis Acids. *Synthetic Communications*, **2006**, v.36, p.2975-2981.
- 57) SANT'ANNA, C. M. R. *Química nova*. **2002**, v.25, p.505.
- 58) SCHUTTELKOPF, A. W. e D. M. Van Aalten. PRODRG: a tool for high-throughput crystallography of protein-ligand complexes. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. **2004**, v.60, p.1355-1363.
- 59) SHULTZ, D. A., FICO, R. M., BODNAR, S. H., KUMAR, R.K., VOSTRIKOVA, K.E., KAMPF, J.W., BOYLE, P. D. Trends in Exchange Coupling for trimethylenemethane-Type Bis(semiquinone) Biradicals and Correlation of Magnetic Exchange with Mixed Valency for Cross-Conjugated Systems. *Journal of the American Chemical Society*. **2003**, v.125, p.11761-11771.
- 60) SINGH, S. B. e PETTIT, G. R. Isolation and Structure Elucidation of a Macrocyclic Lactone from *Combretum-Caffrum*. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*. **1988**, v.195, p.278.
- 61) SOUZA, M.V.N. Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtúbulos, um importante alvo no combate ao câncer. *Química Nova*. **2004**, v.27, p. 308- 312.
- 62) STIIRMER, J.C. Obtenção de diterpenóides tetracíclicos com potencial reguladora de crescimento vegetal. Tese doutorado, UFPR, **2006**.
- 63) TERAMOTO, R.; FURUKUNISHI, H. Supervised Consensus Scoring for Docking and Virtual Screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*. **2007**, 47, 526-534.
- 64) THOMSEN, R. Flexible ligand docking using evolutionary algorithms: investigating the effects of variation operators and local search hybrids. *Biosystems*. **2003**, v.72, p.57-73.
- 65) THOMSON, P.; NAYLOR, M. A.; EVERETT, S. A.; STRATFORD, M. R. L.; LEWIS, G.; HILL, S.; PATEL, K. B.; WARDMAN, P.; DAVIS, P. D. *Molecular Cancer therapeutics*. **2006**, v.5, p.2886.
- 66) UOZUMI, Y. *Organic Synthesis*. **2004**, v. 10, p. 363.
- 67) VIDAL, B. e MELLO, M. L. S. *Biologia Molecular*. **1987**.
- 68) YOUNG, S. L. e CHAPLIN, D. J. Combretastatin A4 phosphate: background and current clinical status. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. **2004**, v.13, p.1171-1182.

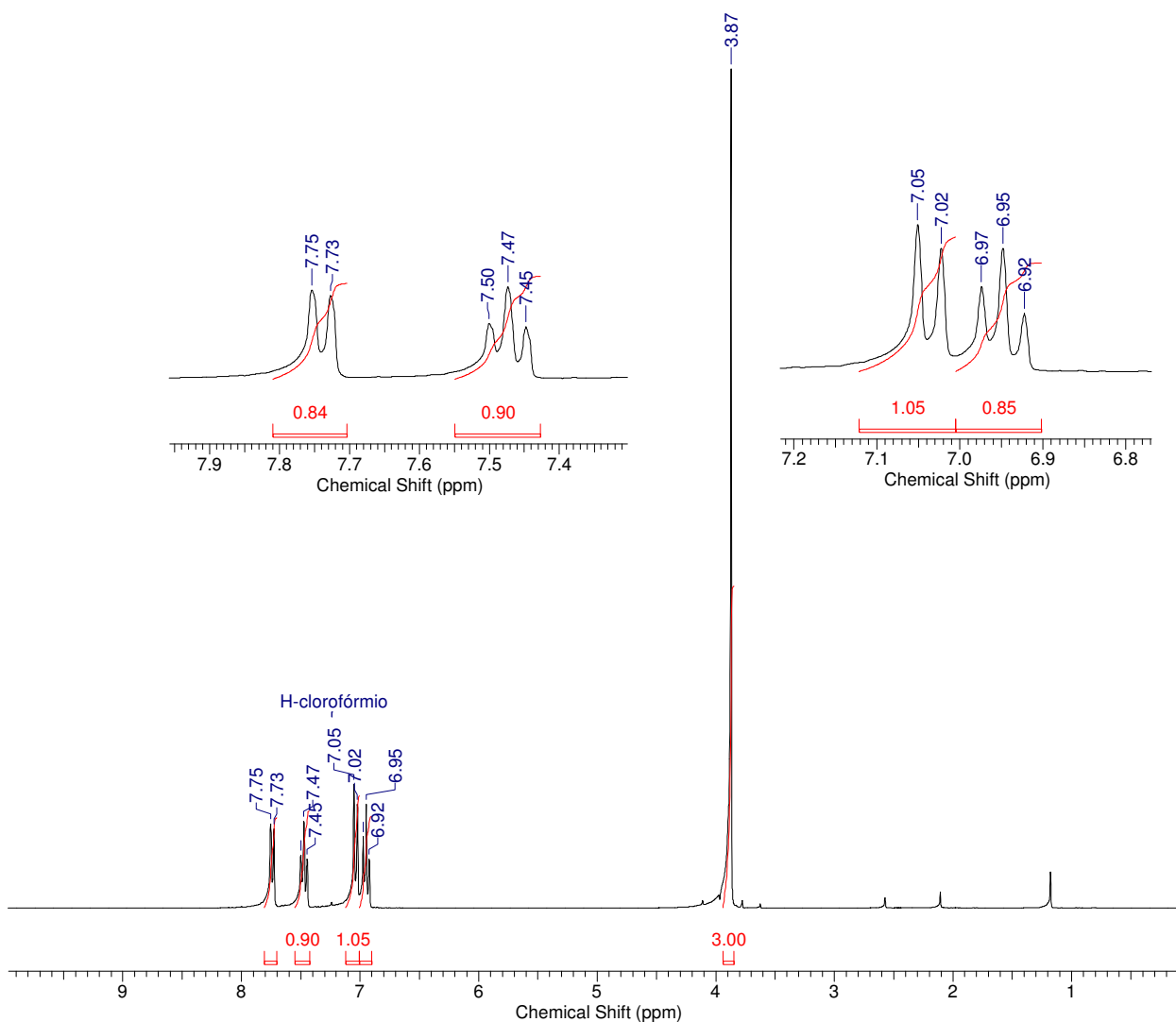
7.0. Seção de espectros

7.1. 2-nitroanisol (8)



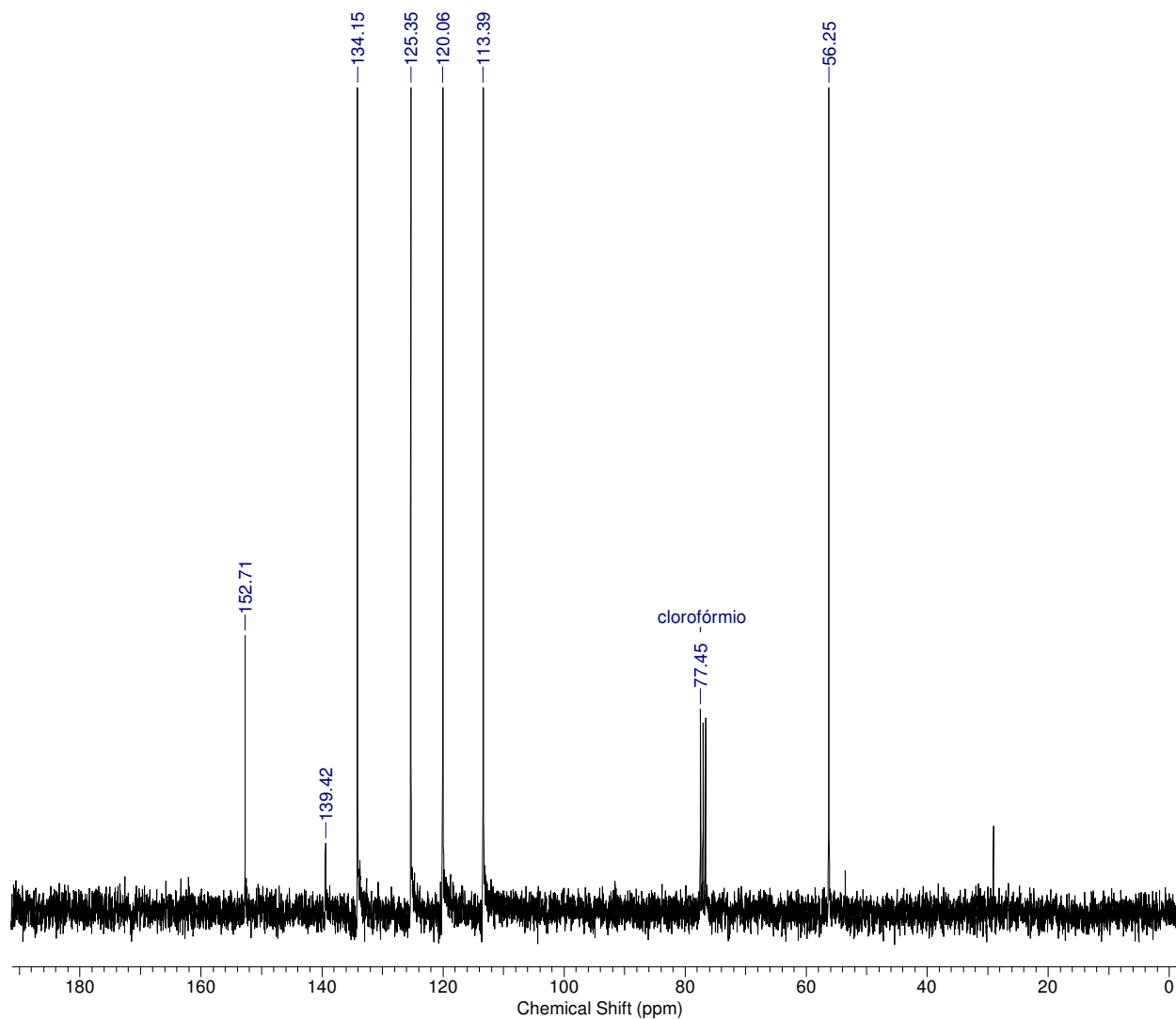
5 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	08 Sep 2008 11:05:36
File Name	G:\DIS_SÍNTESE\FID RMN\CS-30\CS-30_001000fid	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	¹ H	Number of Transients	8
Points Count	32768	Original Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	4664.18	Pulse Sequence	zg
		Solvent	CHLOROFORM-D
		Temperature (degree C)	27.000

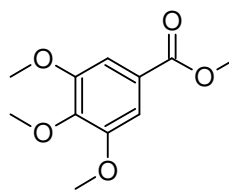
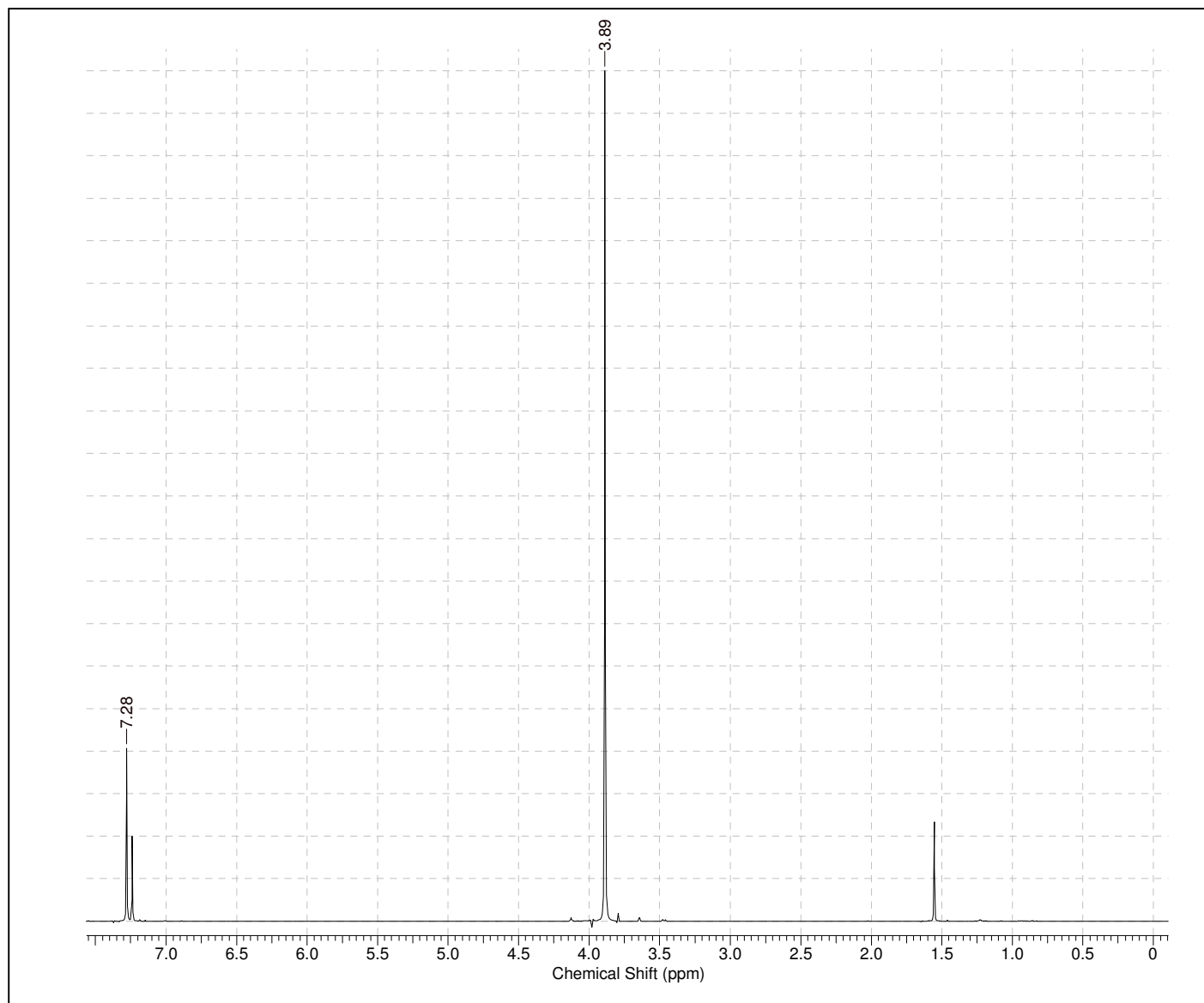
Espectro 1: RMN de ¹H do 2-nitroanisol (8) em CDCl₃

13 Dec 2009

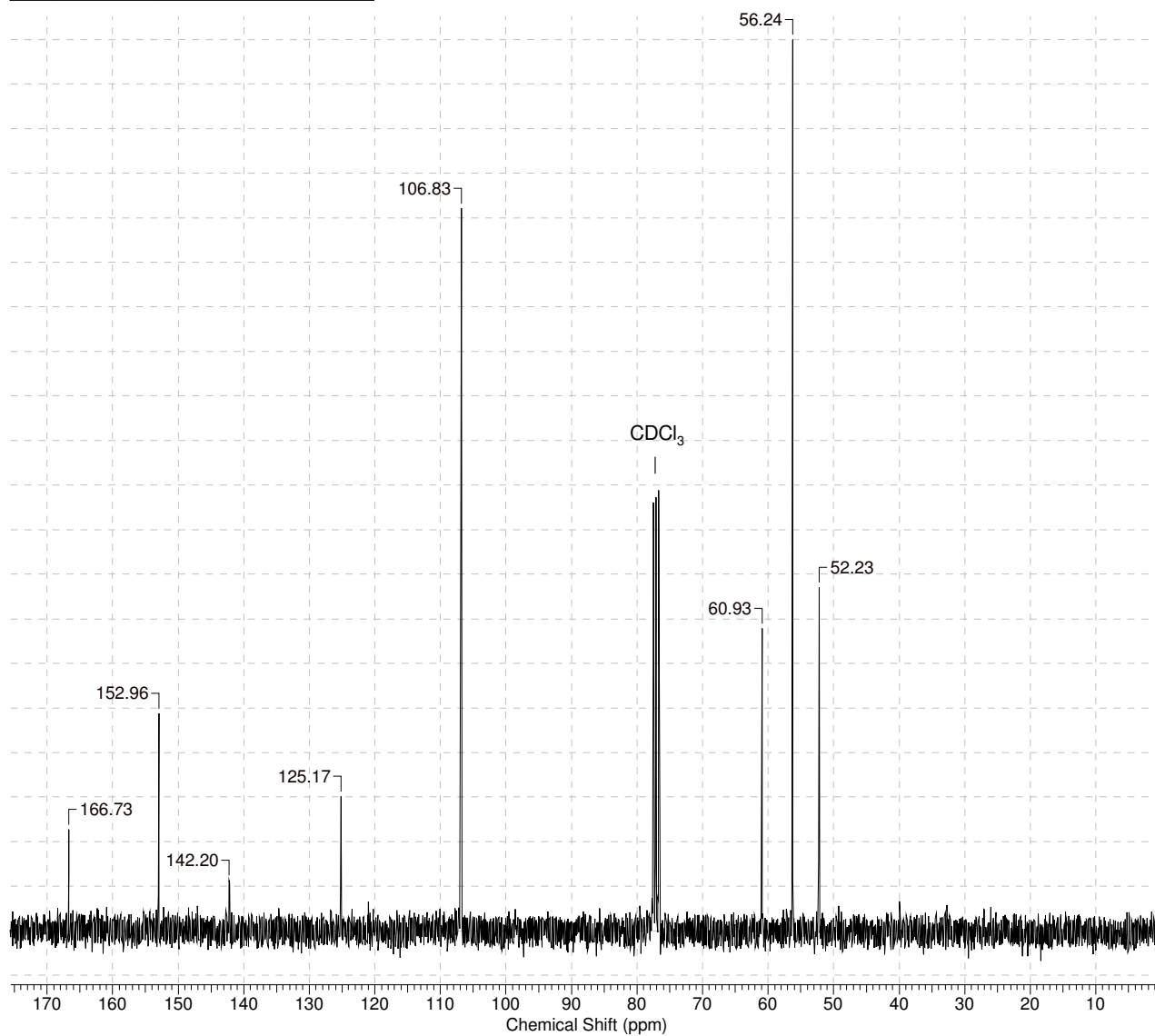
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	08 Sep 2008 11:18:24		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS-30\CS-30_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	125
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 2: RMN de ^{13}C do 2-nitroanisol (8) em CDCl_3

7.2. 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30)

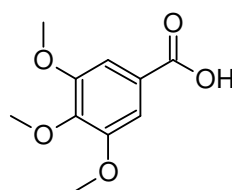
**30****Espectro 3: RMN de ^1H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30) em CDCl_3**

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	29 Aug 2008 10:51:20		
Frequency (MHz)	75.47	Nucleus	13C	Number of Transients	708
Original Points Count	16384	Points Count	32768	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D			Sweep Width (Hz)	18832.39
Temperature (degree C)	27.000				



Espectro 4: RMN de ^{13}C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila (30) em CDCl_3

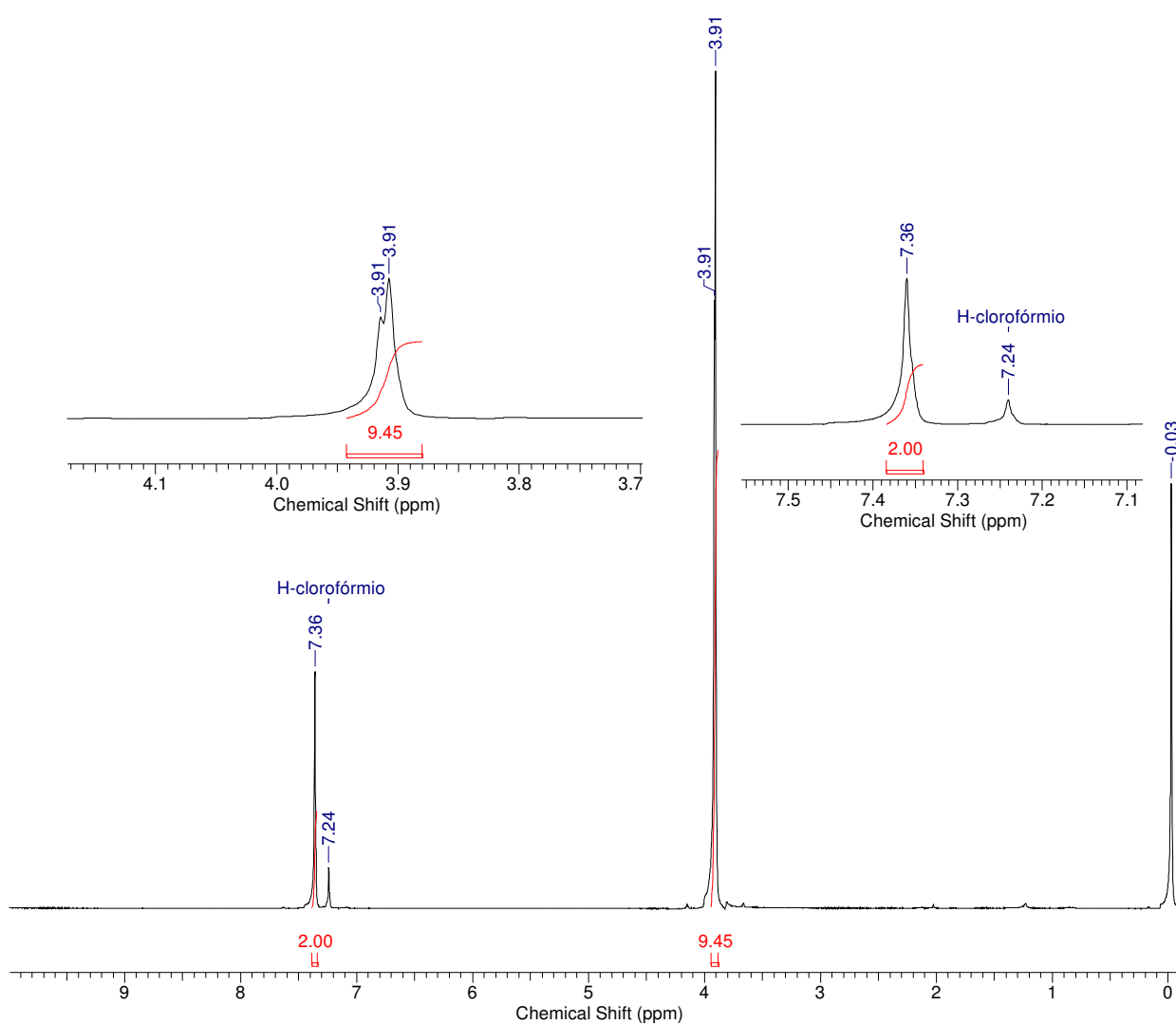
7.3. ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31)



31

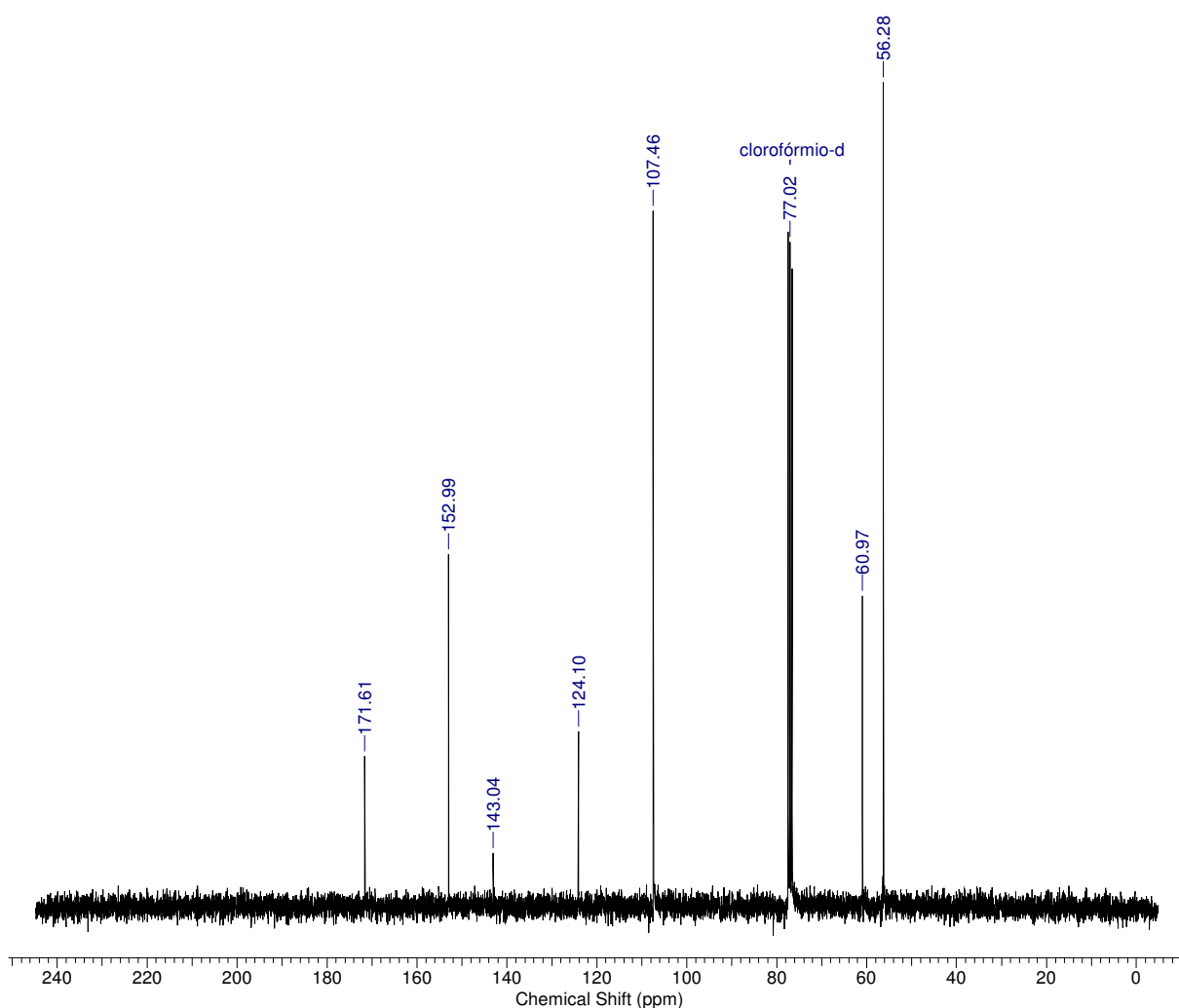
3 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	09 Mar 2009 12:11:44
File Name	G:\CS FID RMN\CS49\CS49_001000fid	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	¹ H	Number of Transients	8
Points Count	32768	Original Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	4664.18	Pulse Sequence	zg
		Solvent	CHLOROFORM-D
		Temperature (degree C)	27.000

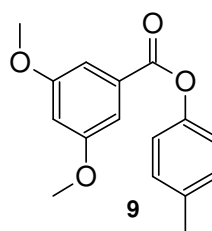
Espectro 5: RMN de ¹H do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31) em CDCl₃

13 Feb 2010

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	18 Mar 2009 13:45:36		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\CS49\CS49_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	872
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D		Sweep Width (Hz)		18832.39
Temperature (degree C)	27.000				

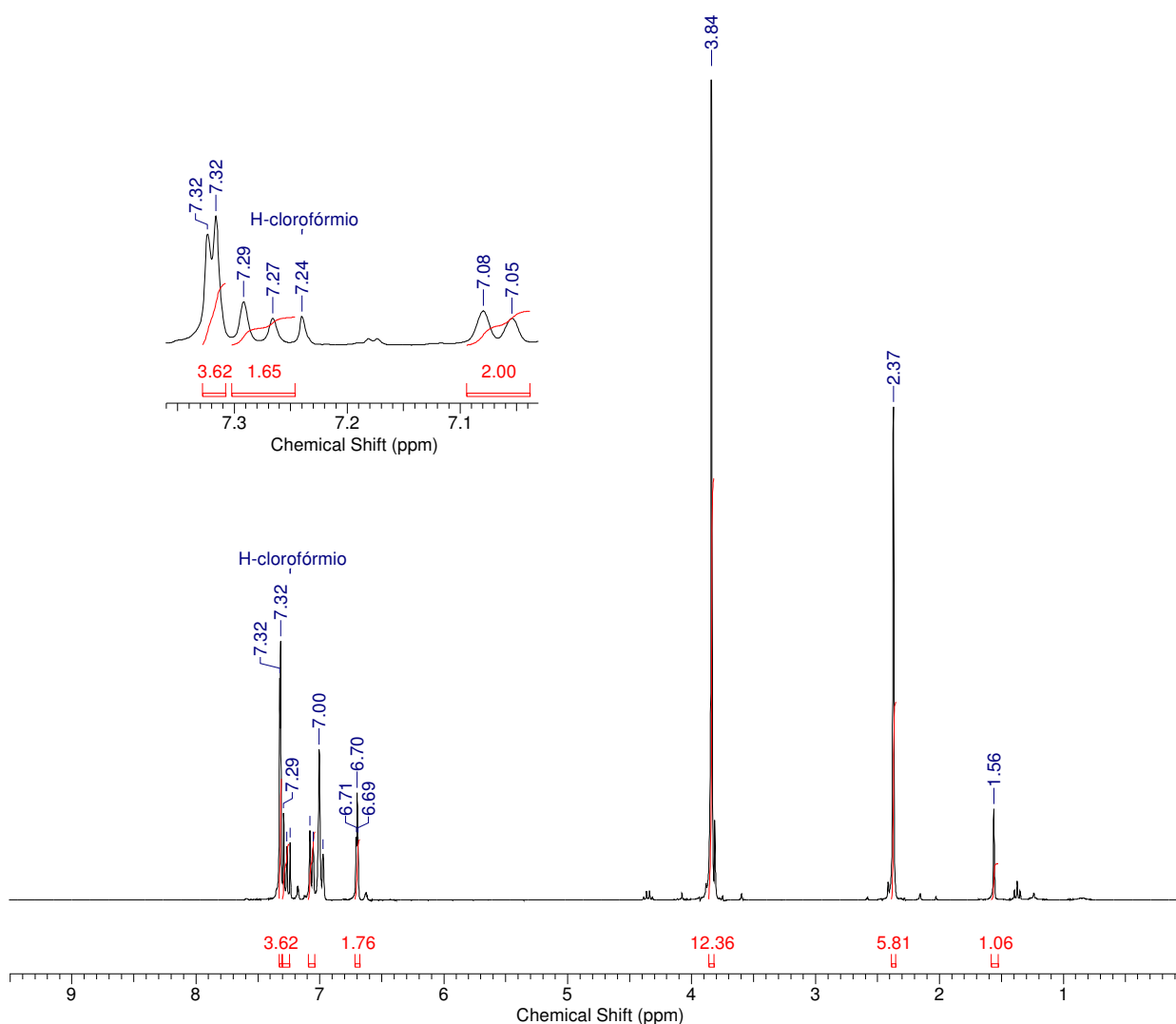
Espectro 6: RMN de ^{13}C do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (31) em CDCl_3

7.4. 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9)



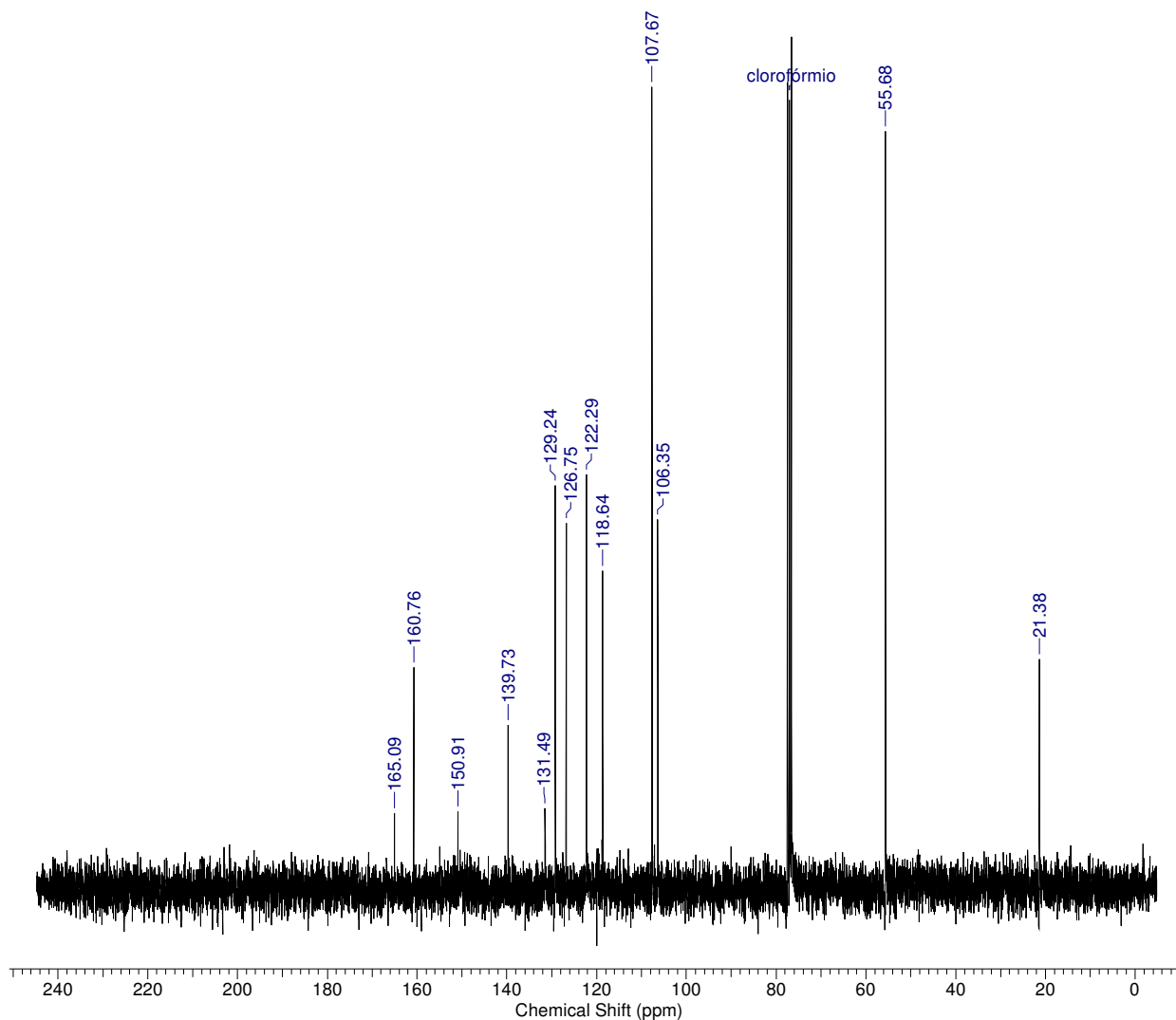
16 Jan 2010

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	22 Jul 2008 12:18:08		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS23\CS23_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 7: RMN de ^1H do 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9) em CDCl_3

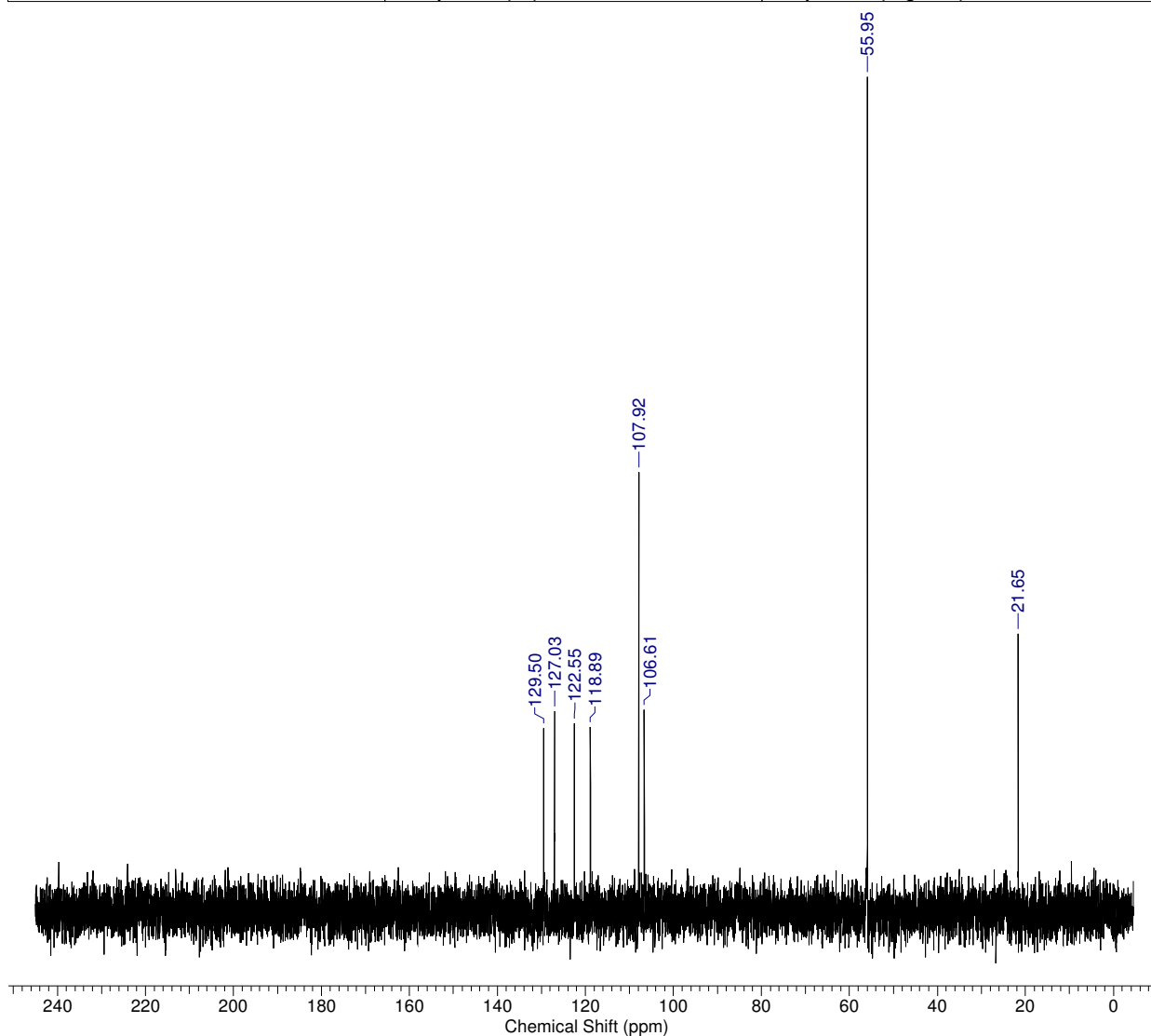
16 Jan 2010

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	30 Jul 2008 12:16:00	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS23\CS23_003000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 432
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

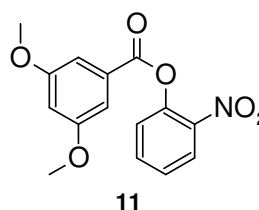
Espectro 8: RMN de ^{13}C do 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9) em CDCl_3

16 Jan 2010

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	30 Jul 2008 12:09:36	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS23\CS23_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 82
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

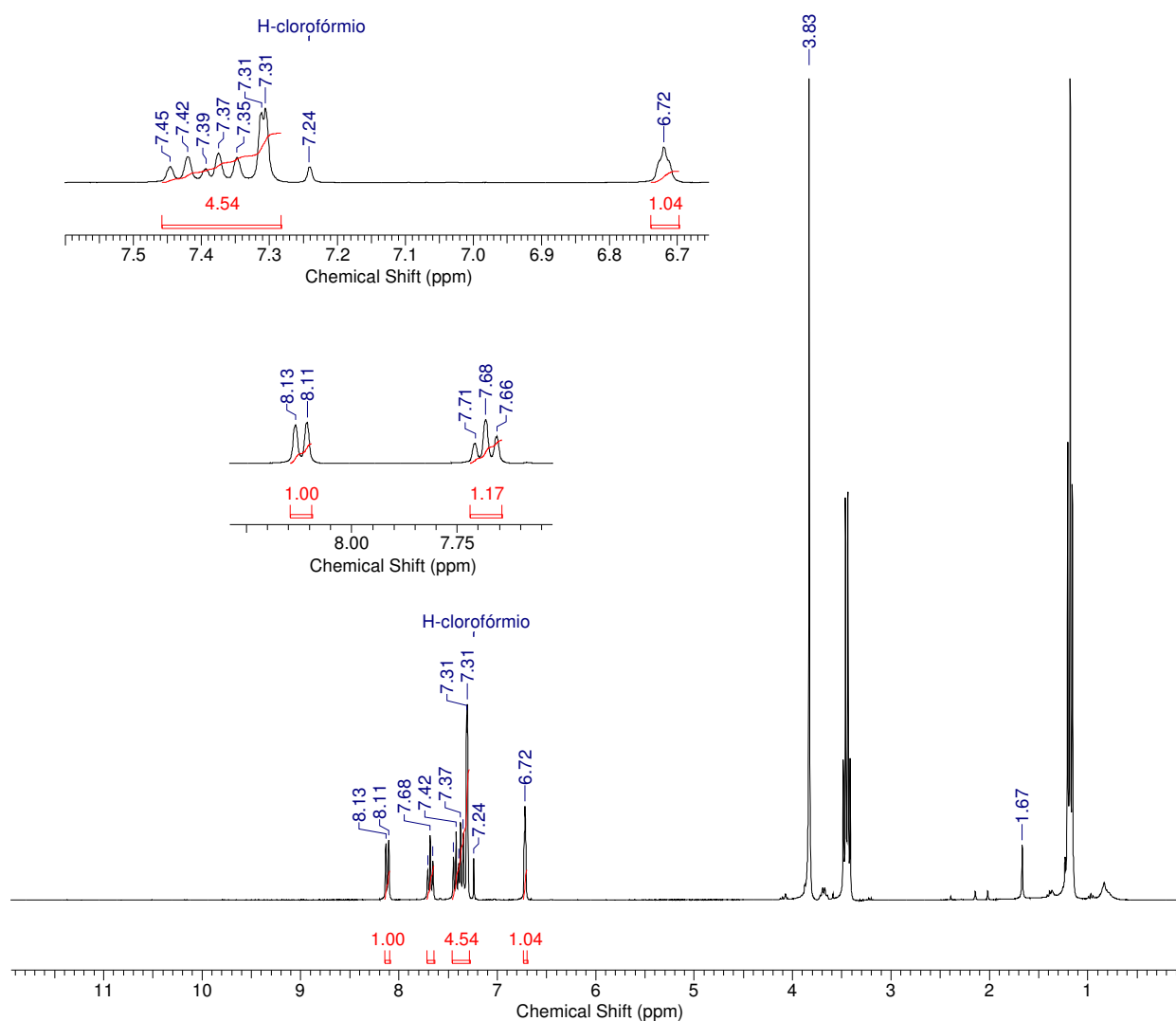
**Espectro 9: DEPT-135° do 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9) em CDCl₃**

7.5. 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11)



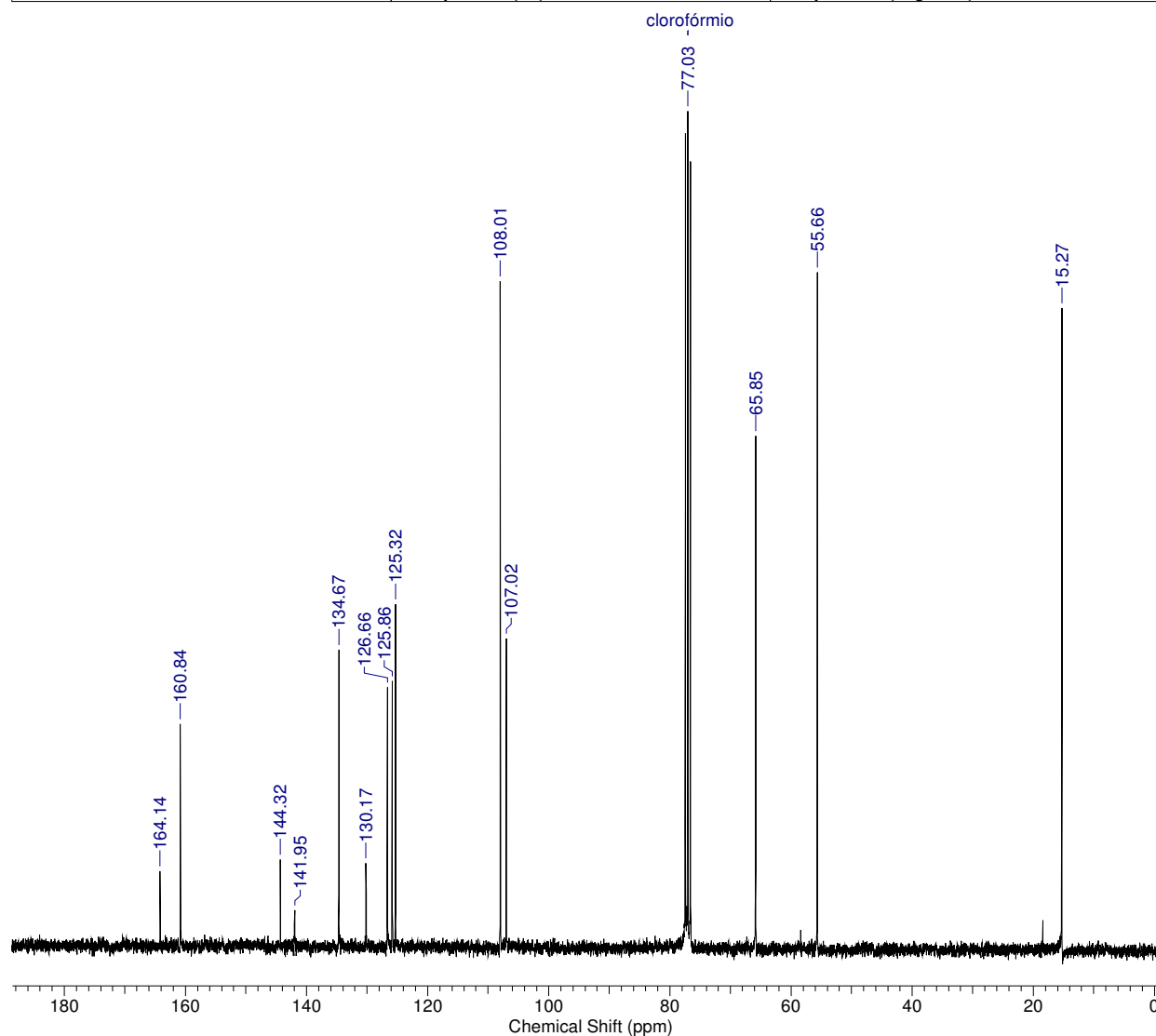
16 Jan 2010

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	15 Aug 2008 17:40:16		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS27\CS27_011000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 10: RMN de ¹H do 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11) em CDCl₃

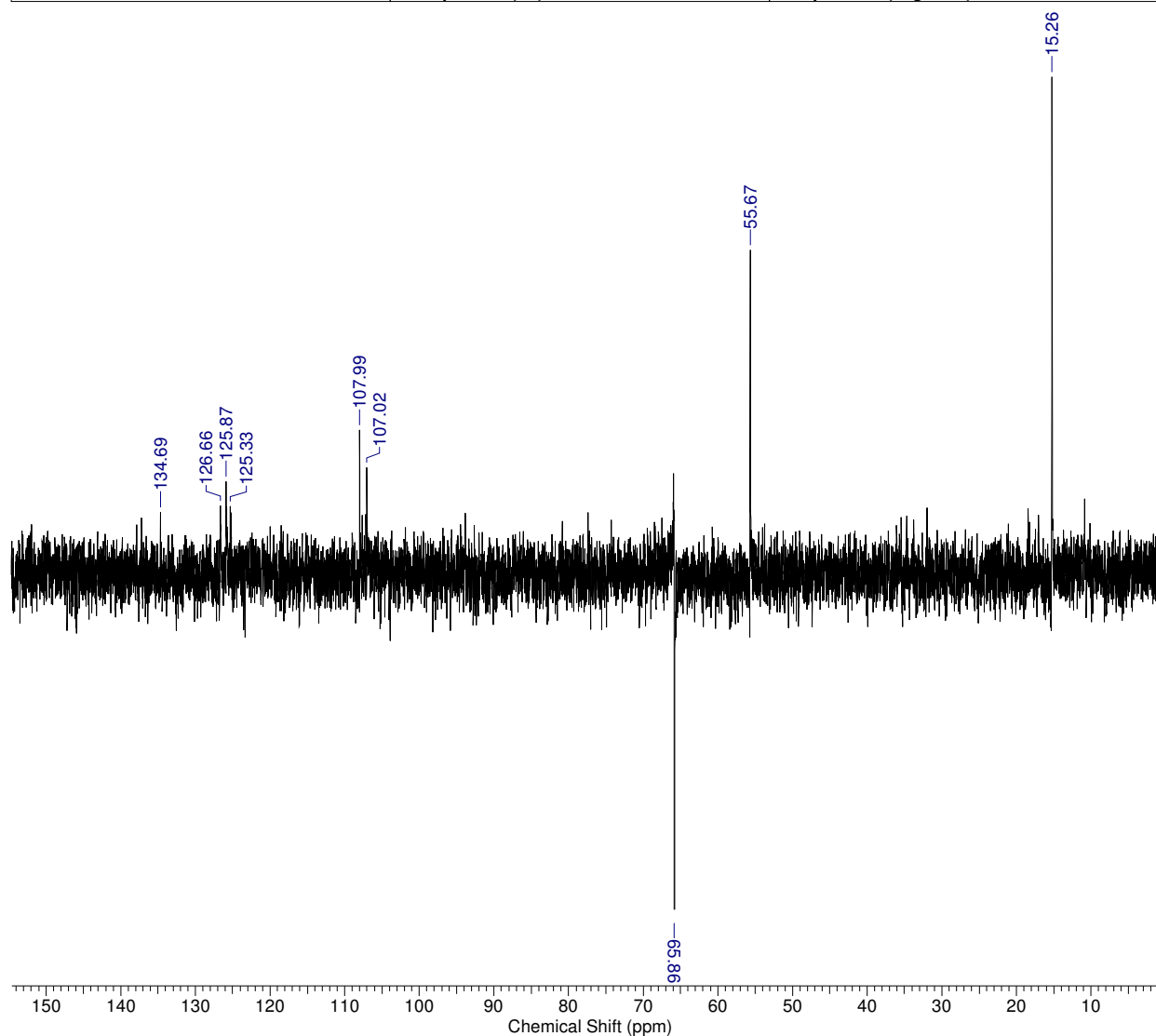
16 Jan 2010

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	07 Aug 2008 18:22:56	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS27\CS27_003000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients 2503
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

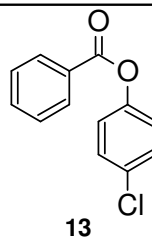
Espectro 11: RMN de ¹³C do 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11) em CDCl₃

16 Jan 2010

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	07 Aug 2008 18:10:08		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS27\CS27_002000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	200
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

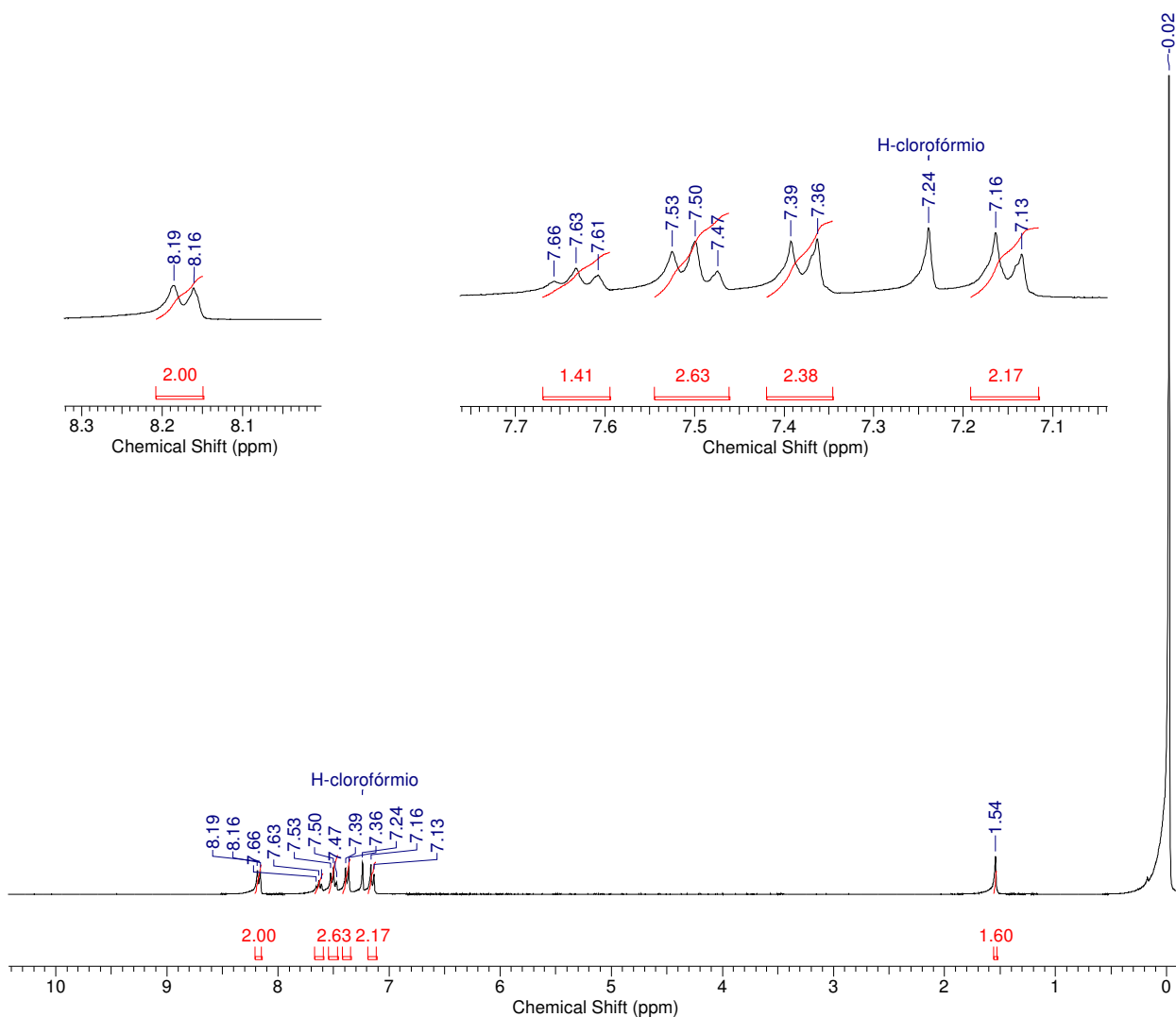
Espectro 12: DEPT-135° do 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11) em CDCl_3

7.6. benzoato de 4-clorofenila (13)



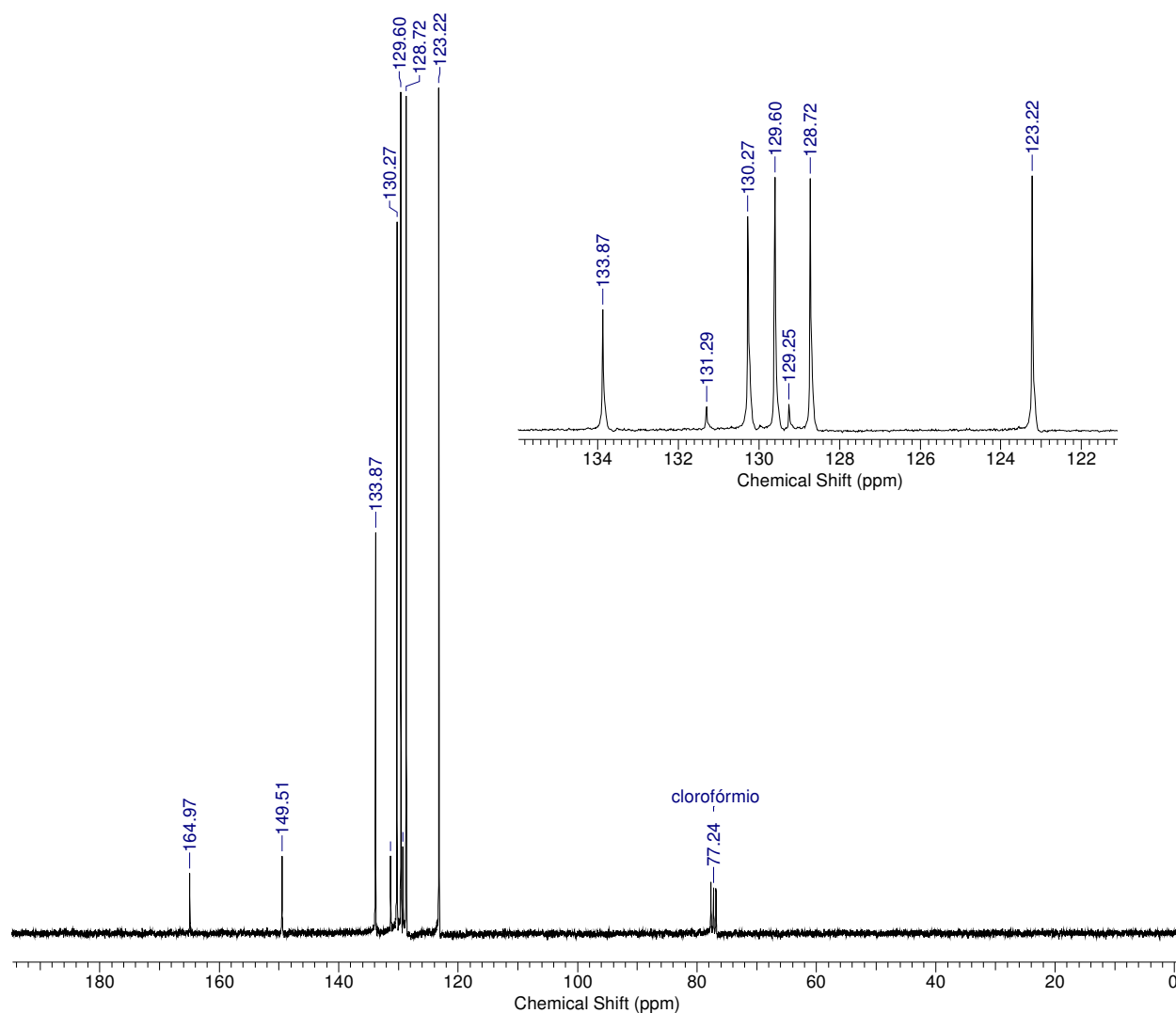
7 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	02 Oct 2008 11:44:00		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS34\CS34_011000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 13: RMN de ^1H do benzoato de 4-clorofenila (13) em CDCl_3

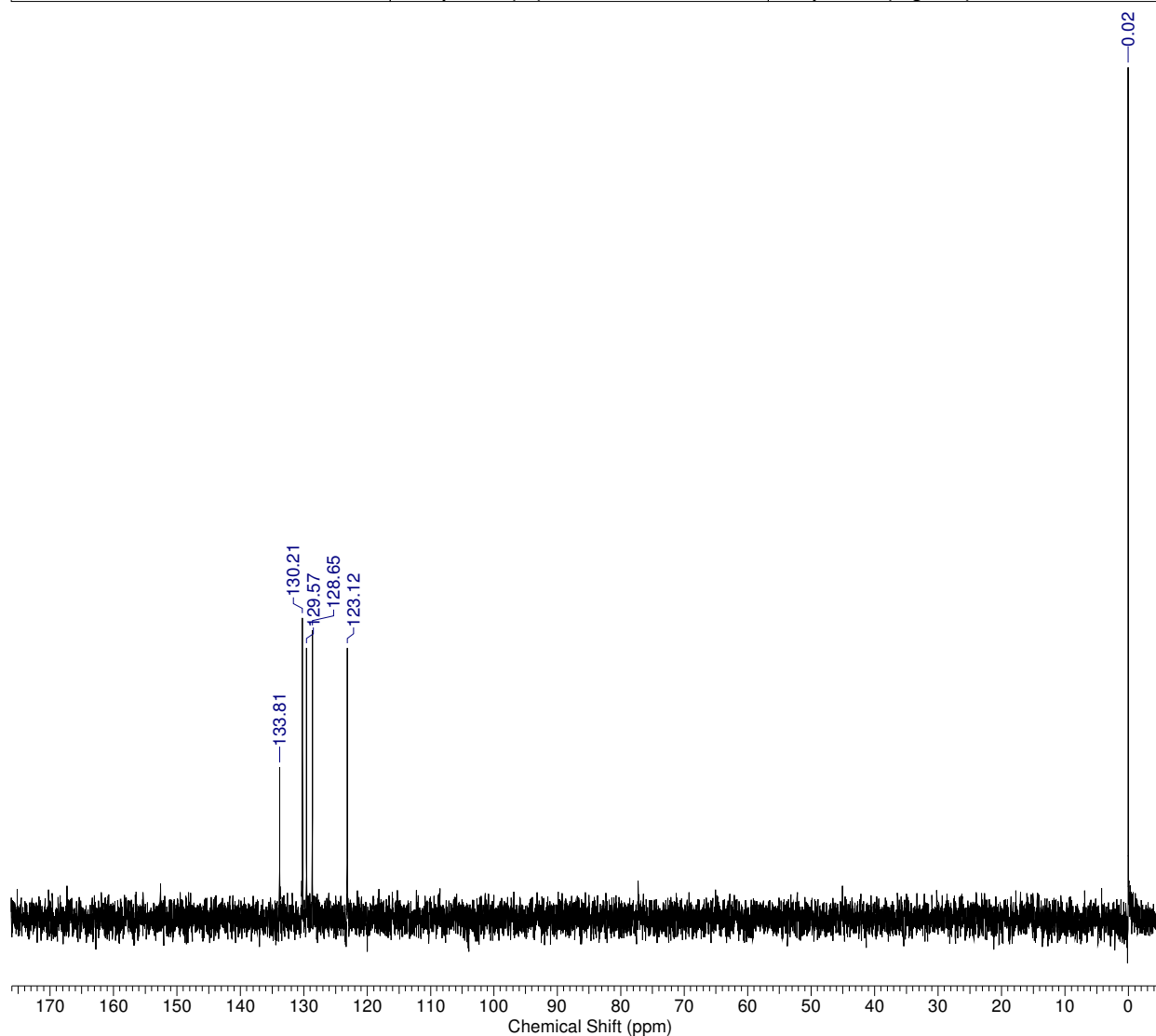
30 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	11 Dec 2009 17:50:56
File Name	G:\CS34-1\CS34-1_003000fid	Frequency (MHz)	75.48
Nucleus	¹³ C	Number of Transients	212
Points Count	16384	Original Points Count	16384
Sweep Width (Hz)	18832.39	Pulse Sequence	zgpg30
		Solvent	CHLOROFORM-D
		Temperature (degree C)	27.000

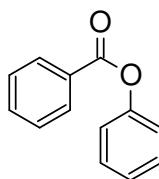
Espectro 14: RMN de ¹³C do benzoato de 4-clorofenila (13) em CDCl₃

13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	02 Oct 2008 12:35:12		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS34\CS34_002000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	840
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

**Espectro 15: DEPT-135° do benzoato de 4-clorofenila (13) em CDCl₃**

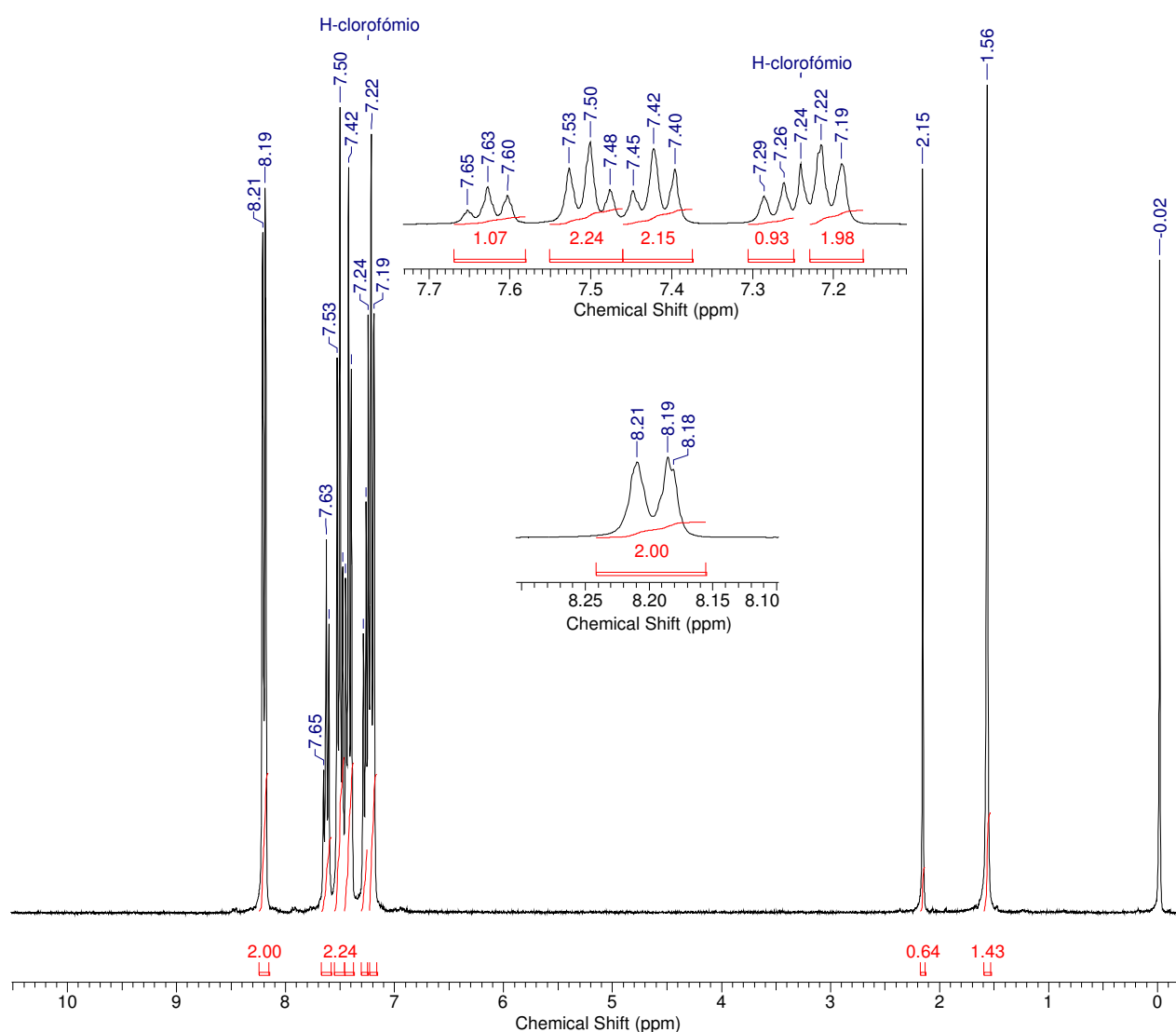
7.7. benzoato de fenila (14)



14

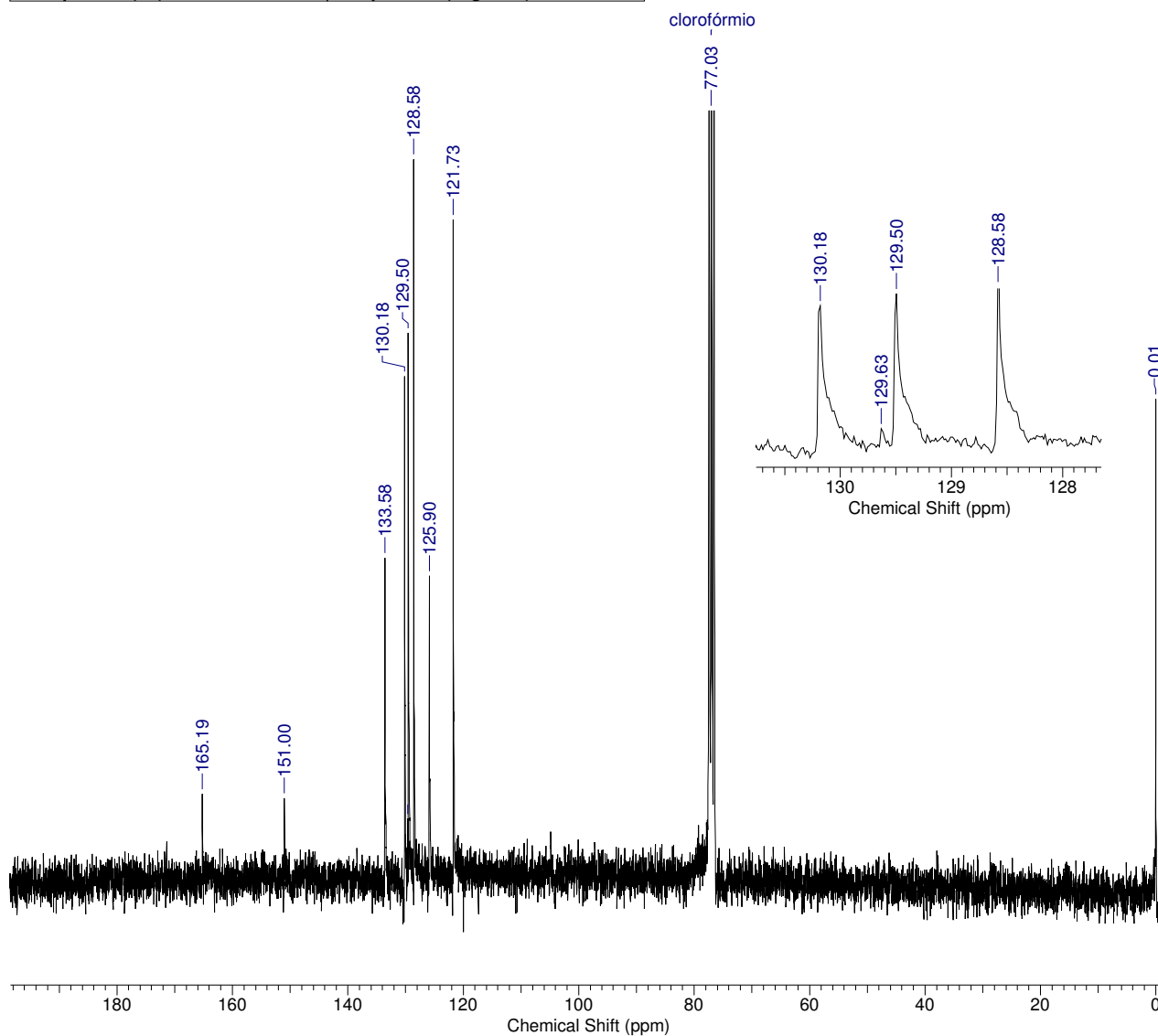
7 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	21 Sep 2009 12:30:56		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS80\CS80_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 16: RMN de ^1H do benzoato de fenila (14) em CDCl_3

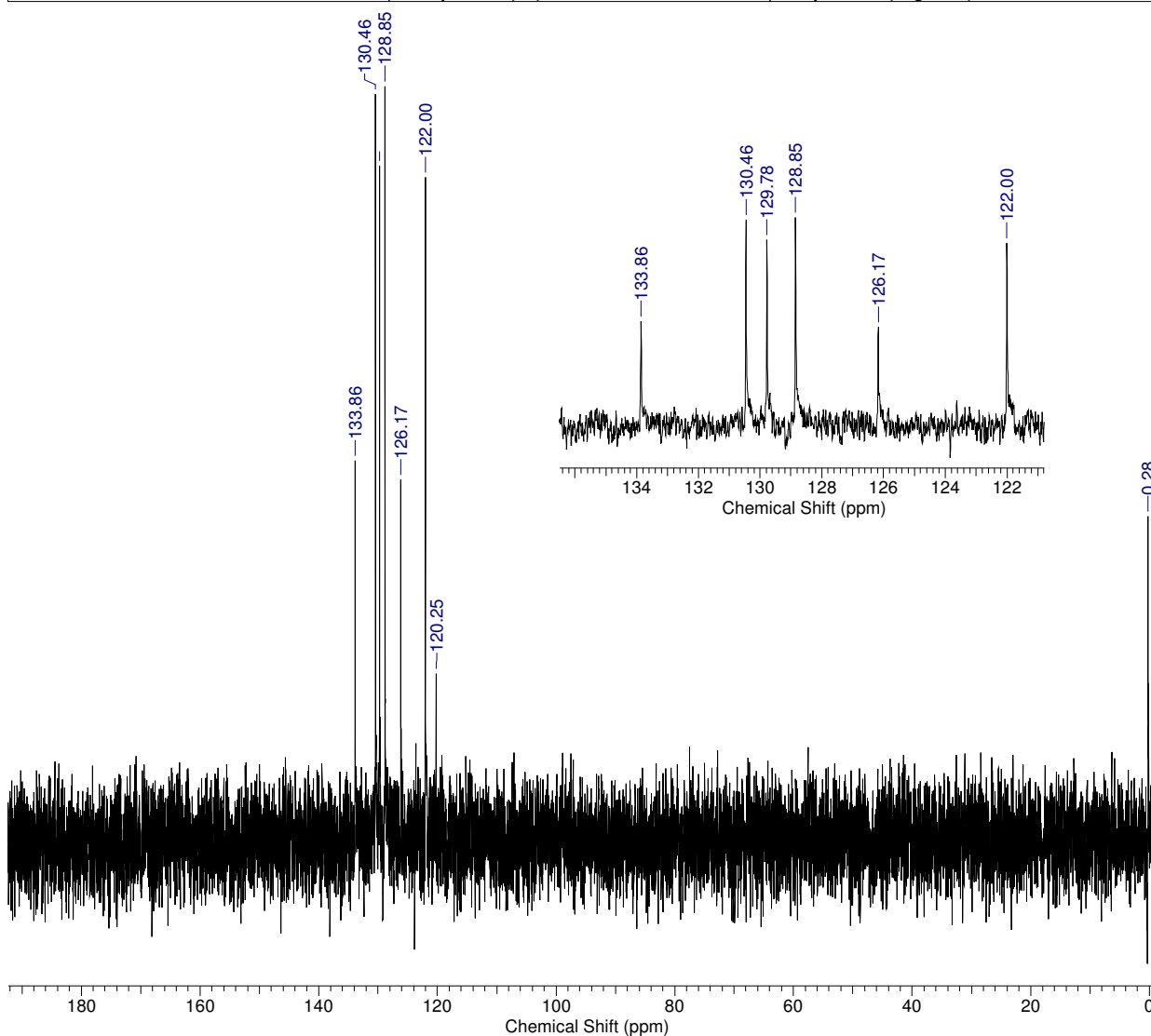
22 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	28 Sep 2009 12:37:20
File Name	G:\CS80\CS80_003000fid	Frequency (MHz)	75.48
Nucleus	^{13}C	Number of Transients	2904
Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Sweep Width (Hz)	18832.39	Solvent	CHLOROFORM-D
		Temperature (degree C)	27.000

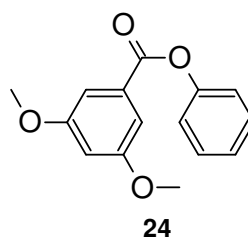
Espectro 17: RMN de ^{13}C do benzoato de fenila (14) em CDCl_3

13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	28 Sep 2009 12:22:24		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS80\CS80_002000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	400
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

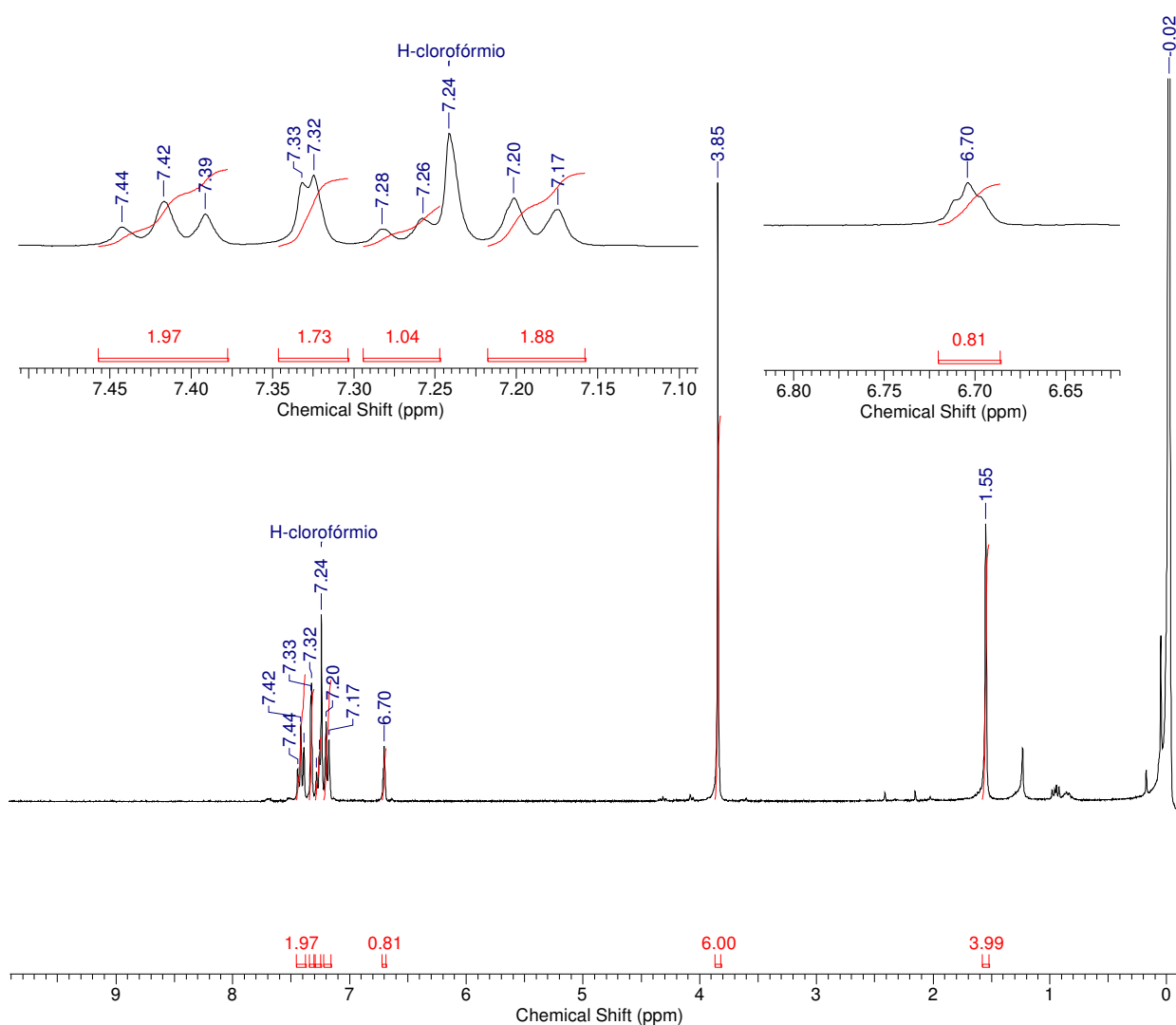
Espectro 18: DEPT-135° do benzoato de fenila (14) em CDCl₃

7.8. 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24)



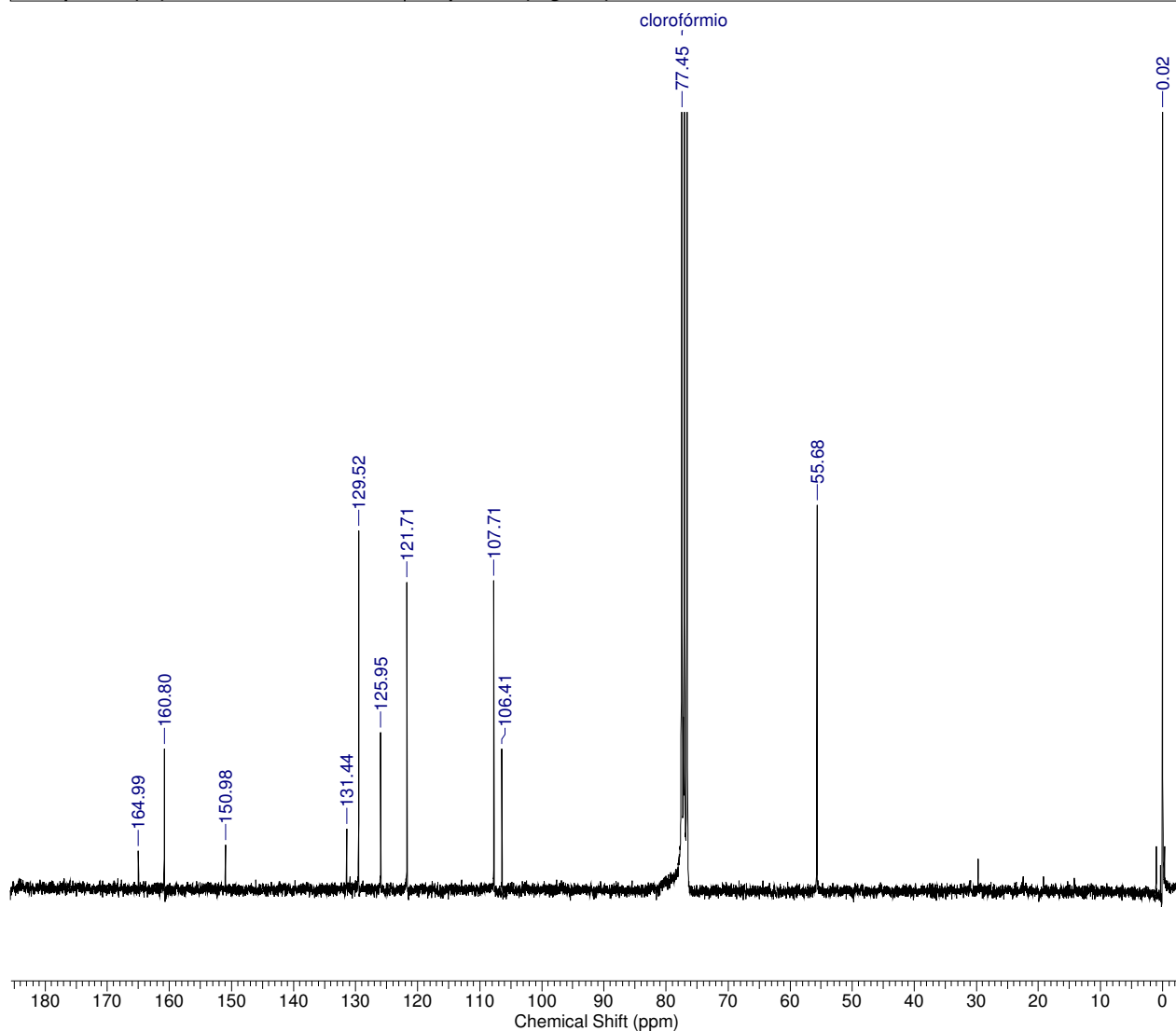
6 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	24 Apr 2009 18:44:16		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS64\CS64_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 19: RMN de ¹H do 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) em CDCl₃

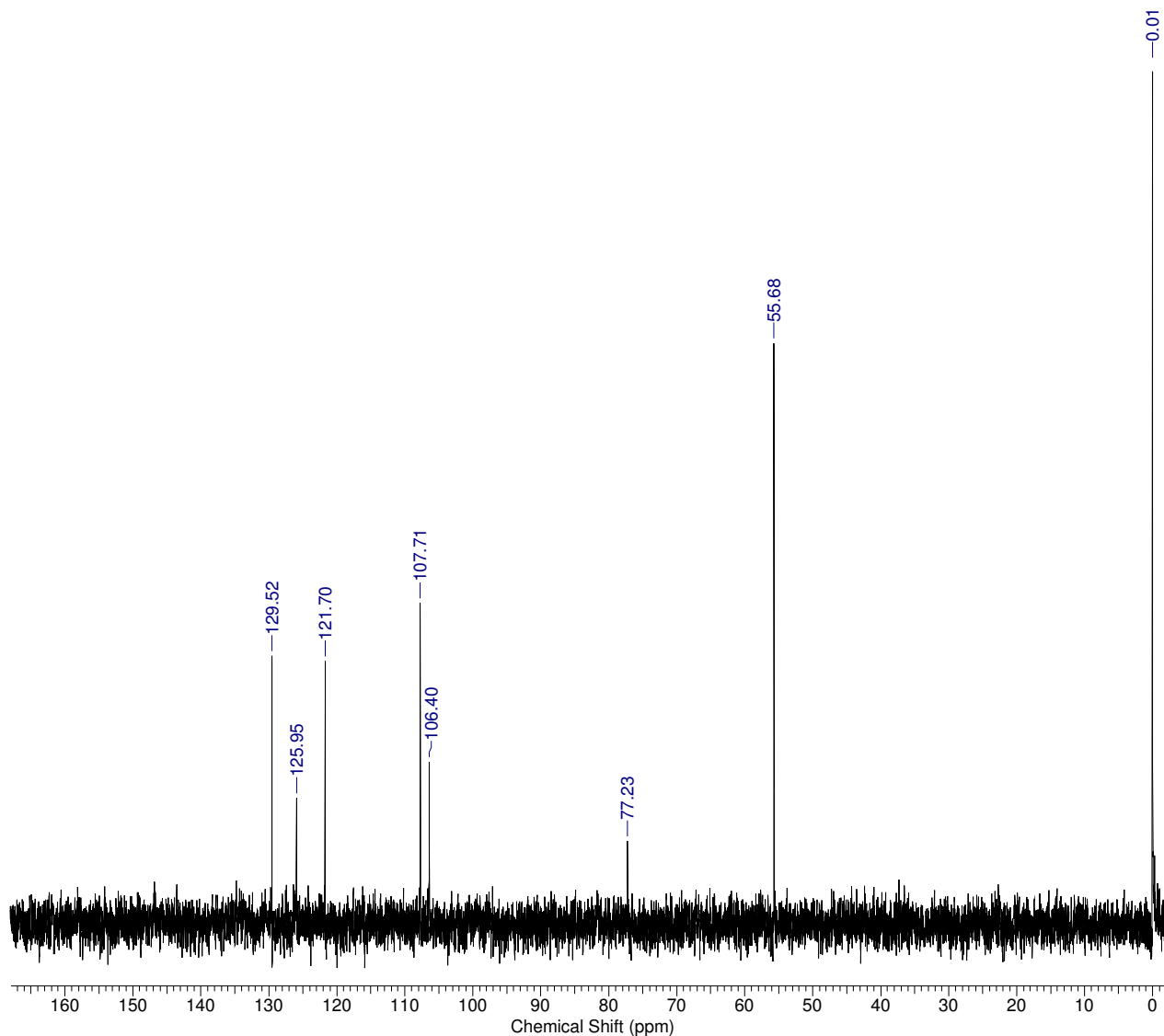
13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	11 Jul 2009 13:32:48
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS64\CS64_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Pulse Sequence	zgpg30	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

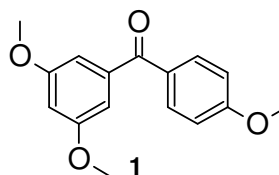
Espectro 20: RMN de ¹³C do 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) em CDCl₃

13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	02 Jul 2009 23:28:00	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS64\CS64_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients 4096
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

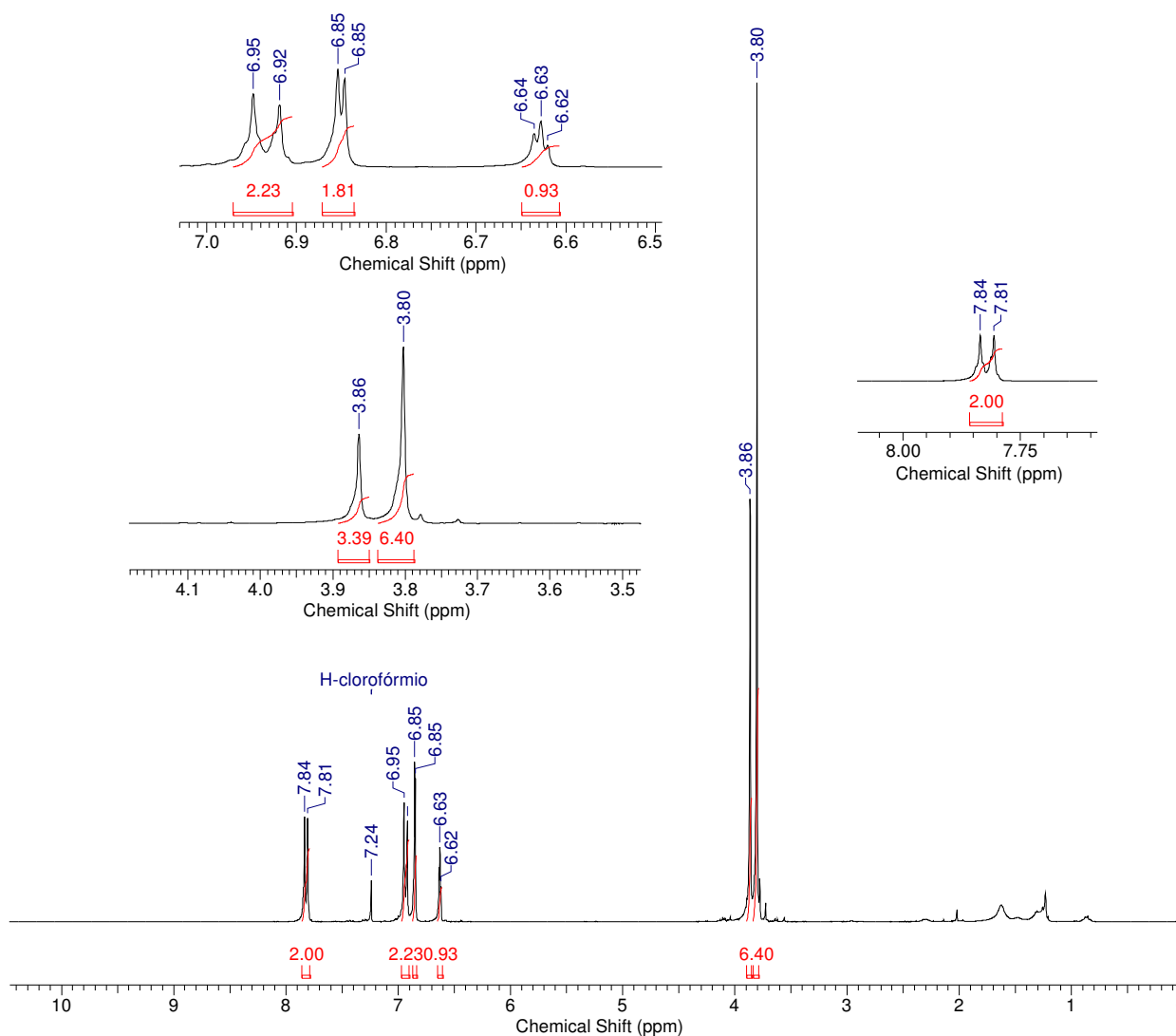
**Espectro 21: DEPT-135° do 3,5-dimetoxibenzoato de fenila (24) em CDCl₃**

7.9. 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1)



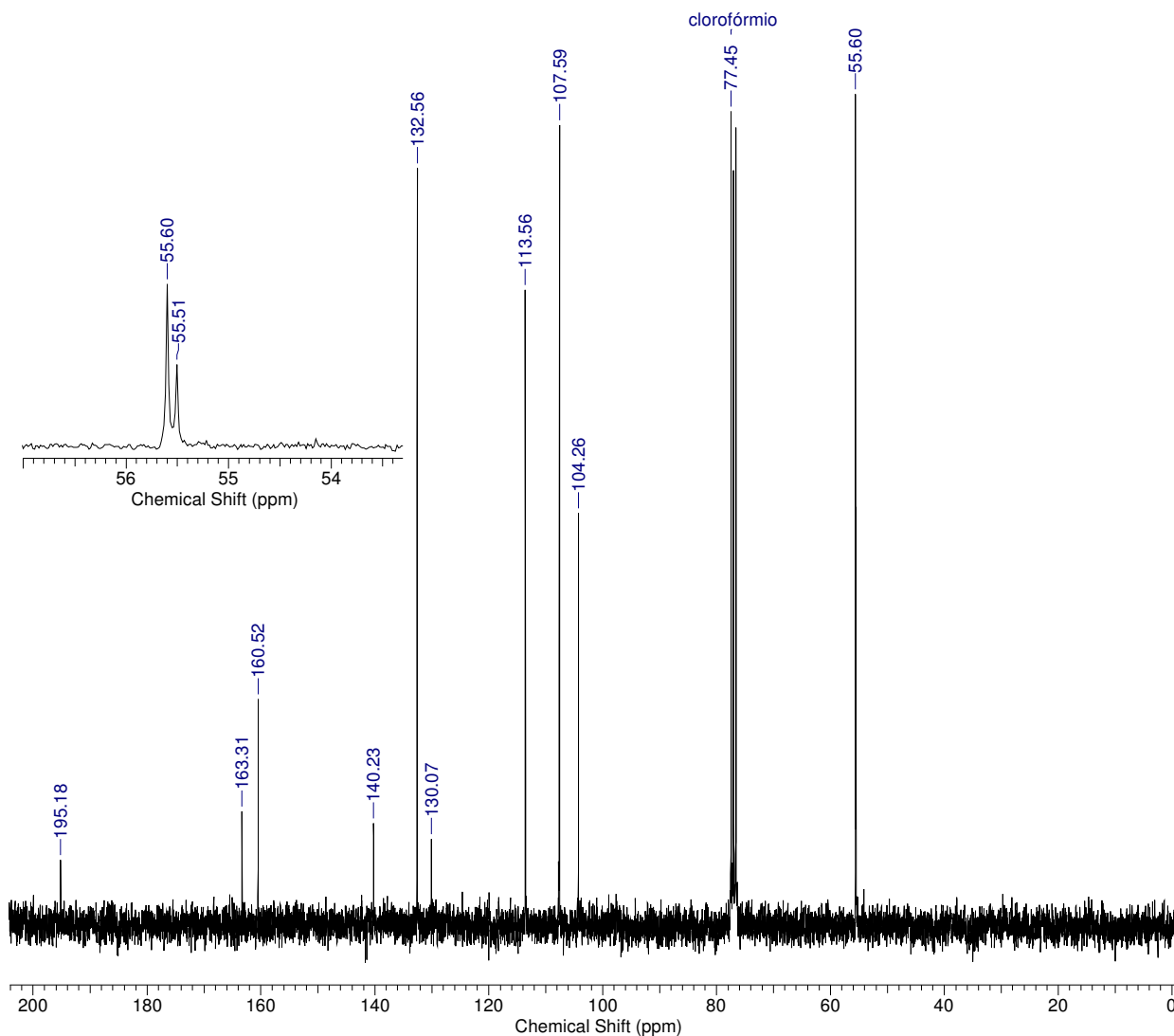
3 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	08 May 2008 13:32:48
File Name	D:\camila (G)\CS FID RMN\CS03\CS03_001000fid	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	¹ H	Number of Transients	8
Points Count	32768	Original Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	4664.18	Pulse Sequence	zg
		Solvent	CHLOROFORM-D
		Temperature (degree C)	27.000

Espectro 22: RMN de ¹H do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) em CDCl₃

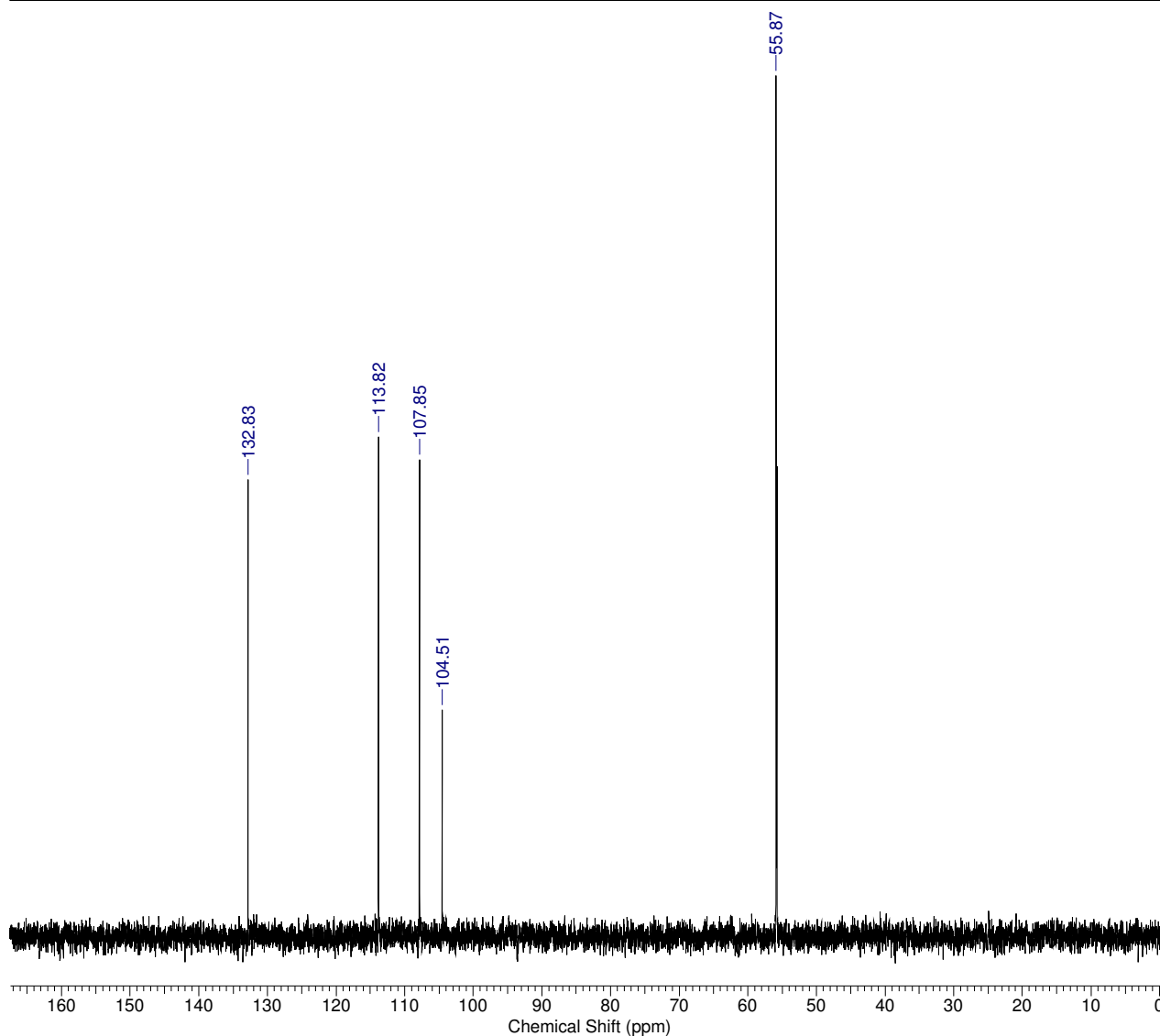
12 Dec 2009

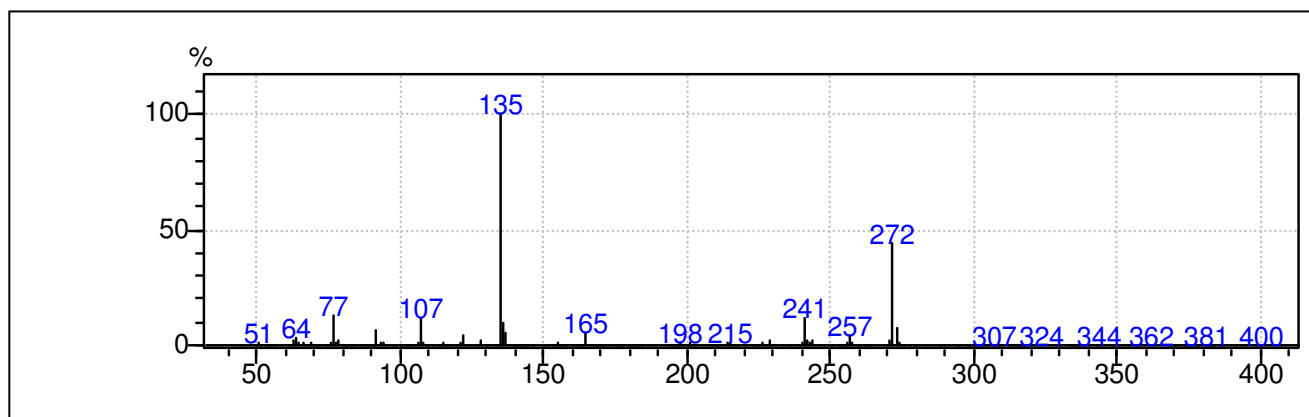
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	08 May 2008 13:58:24		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS03\CS03_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	714
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 23: RMN de ¹³C do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) em CDCl₃

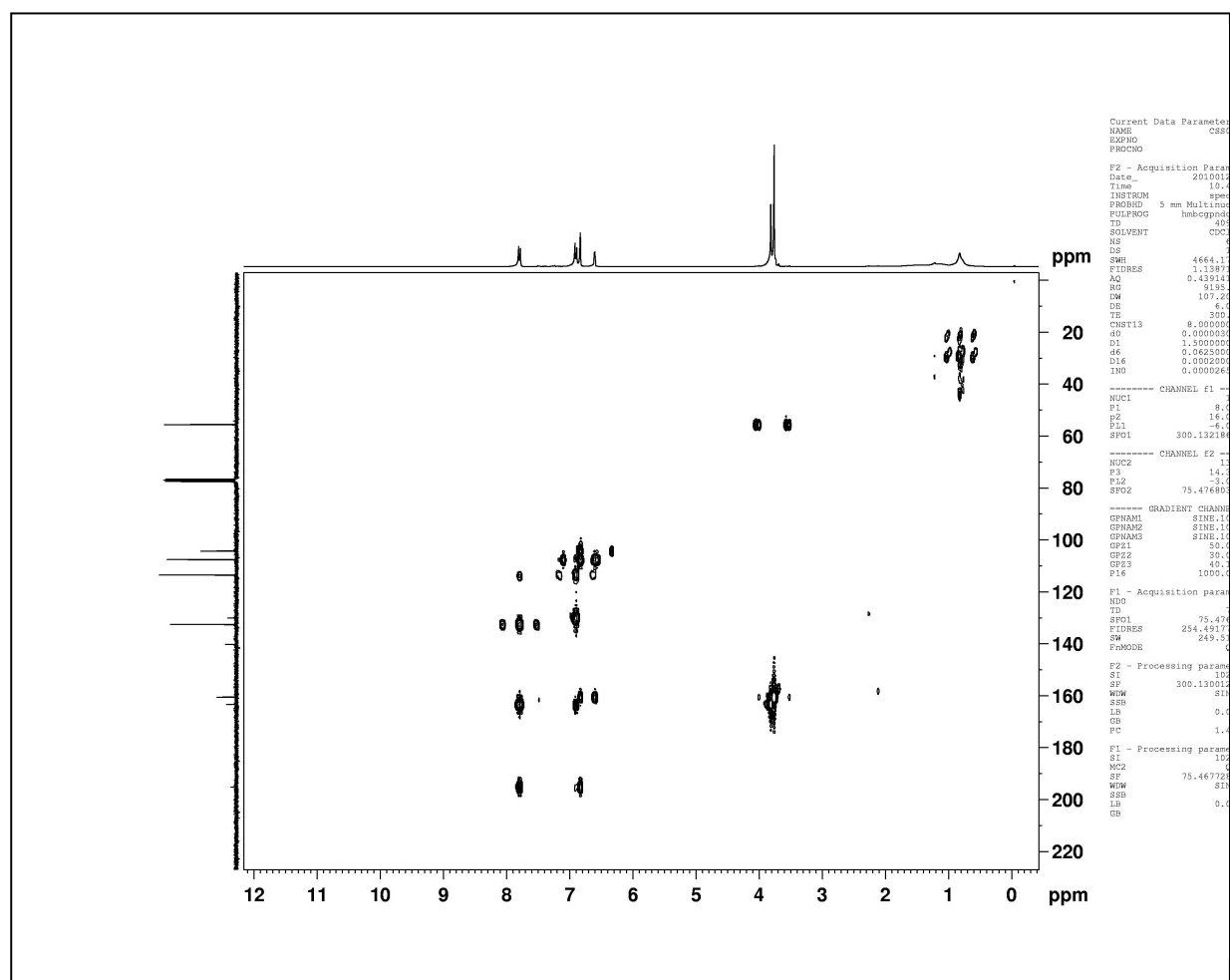
13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	08 May 2008 13:34:56	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS03\CS03_002000.fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 300
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

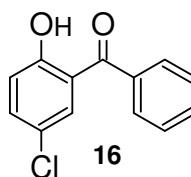
Espectro 24: DEPT-135° do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) em CDCl₃



Espectro 25: Espectro de Massas do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1)

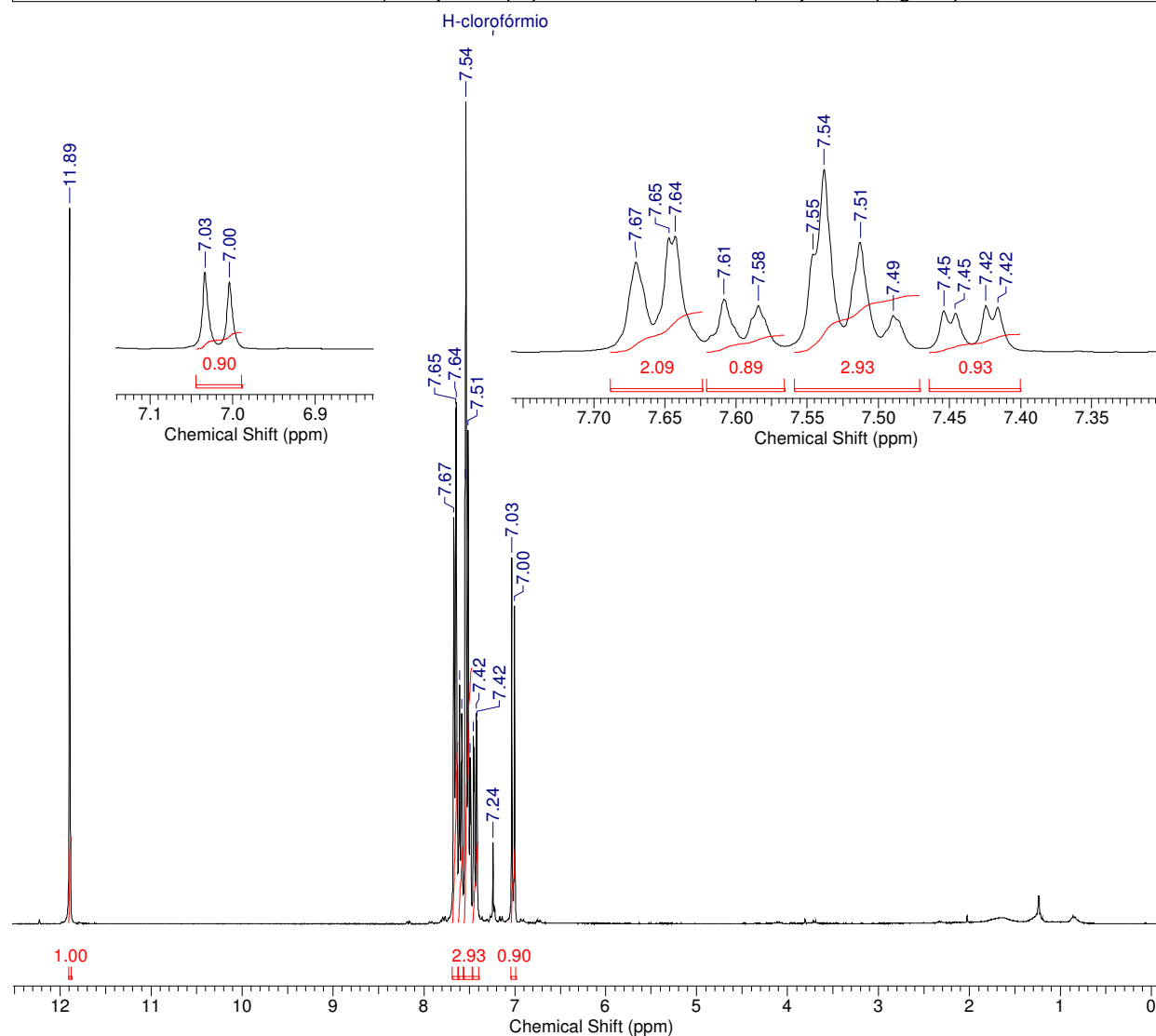
Espectro 26: HMBC do 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1) em CDCl_3

7.10. 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16)



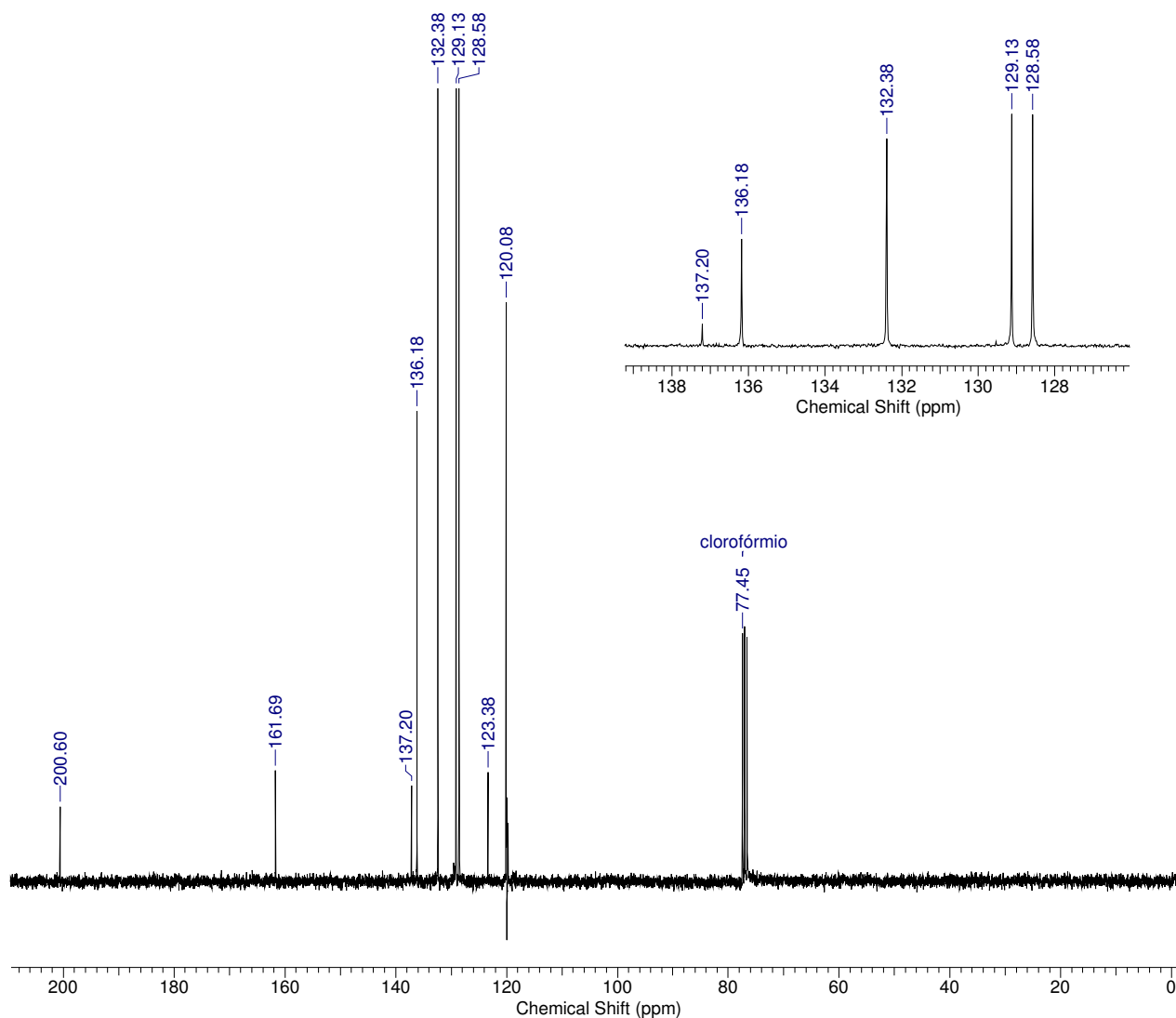
6 Dec 2009

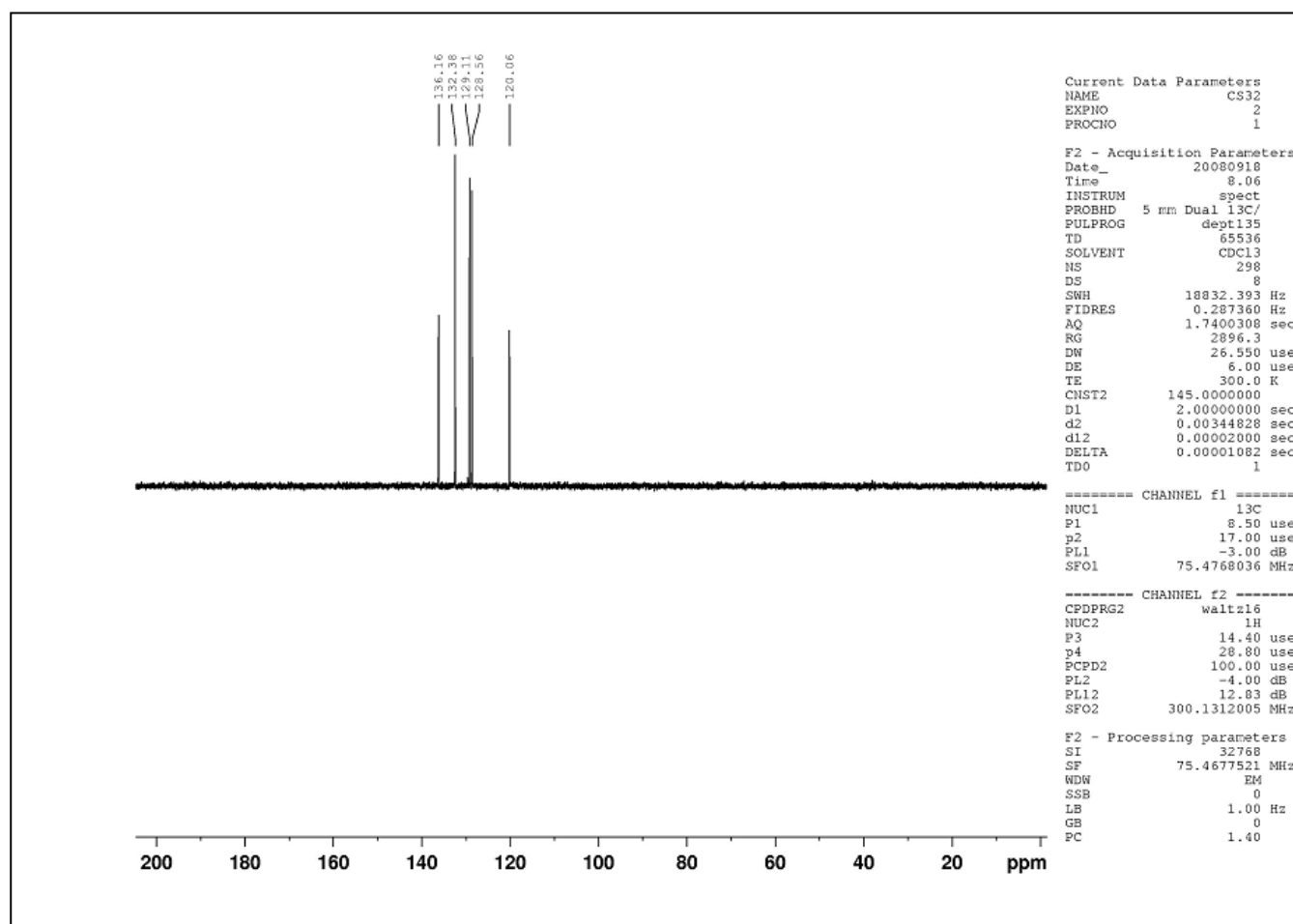
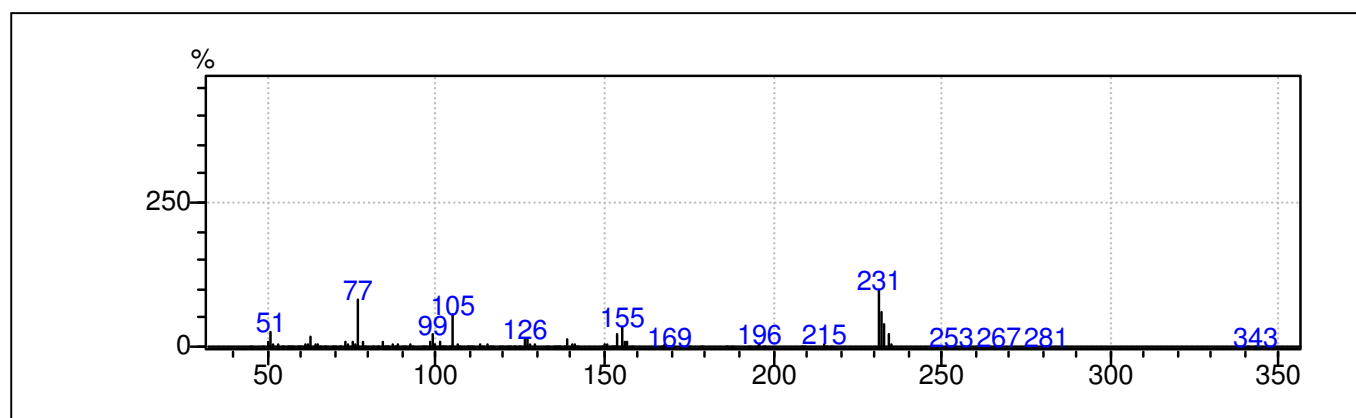
Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	18 Sep 2008 10:52:48
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS32\CS32_001000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18
		Number of Transients	8
		Pulse Sequence	zg
		Temperature (degree C)	27.000

Espectro 27: RMN de ¹H do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl₃

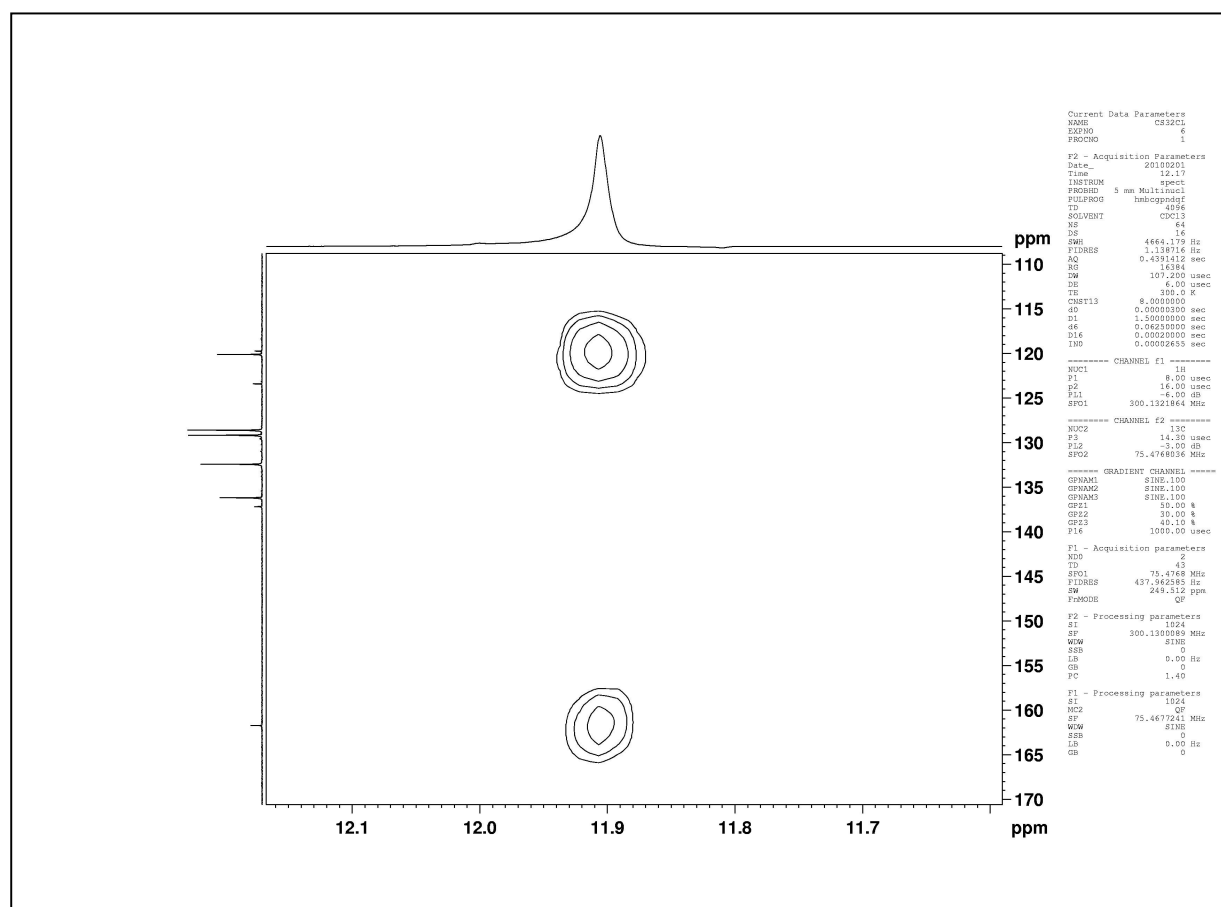
13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	18 Sep 2008 11:22:40	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS32\CS32_003000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients 855
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

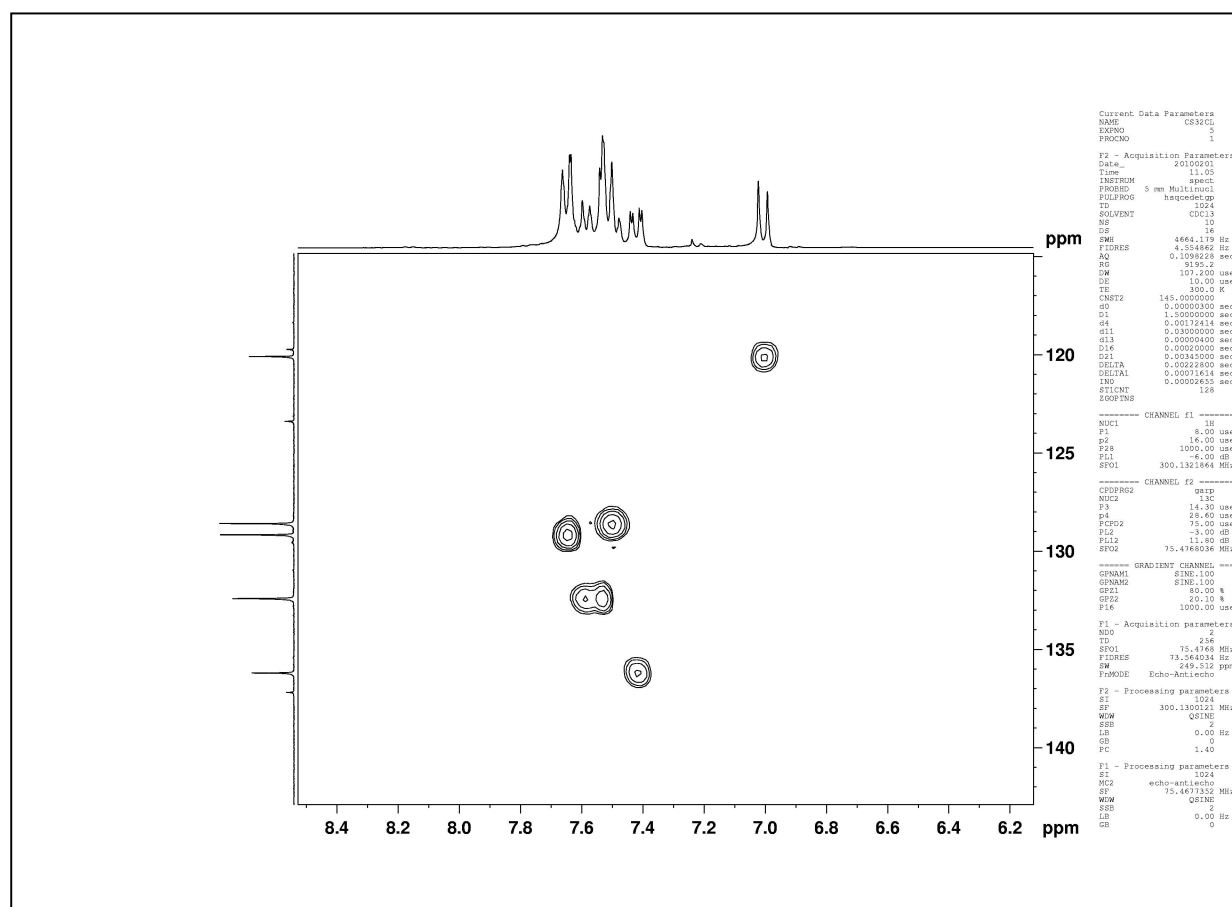
Espectro 28: RMN de ^{13}C do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl_3

Espectro 29: DEPT-135° do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl₃

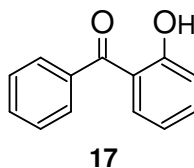
Espectro 30: Espectro de Massas do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16)



Espectro 31: Ampliação do HMBC do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl_3

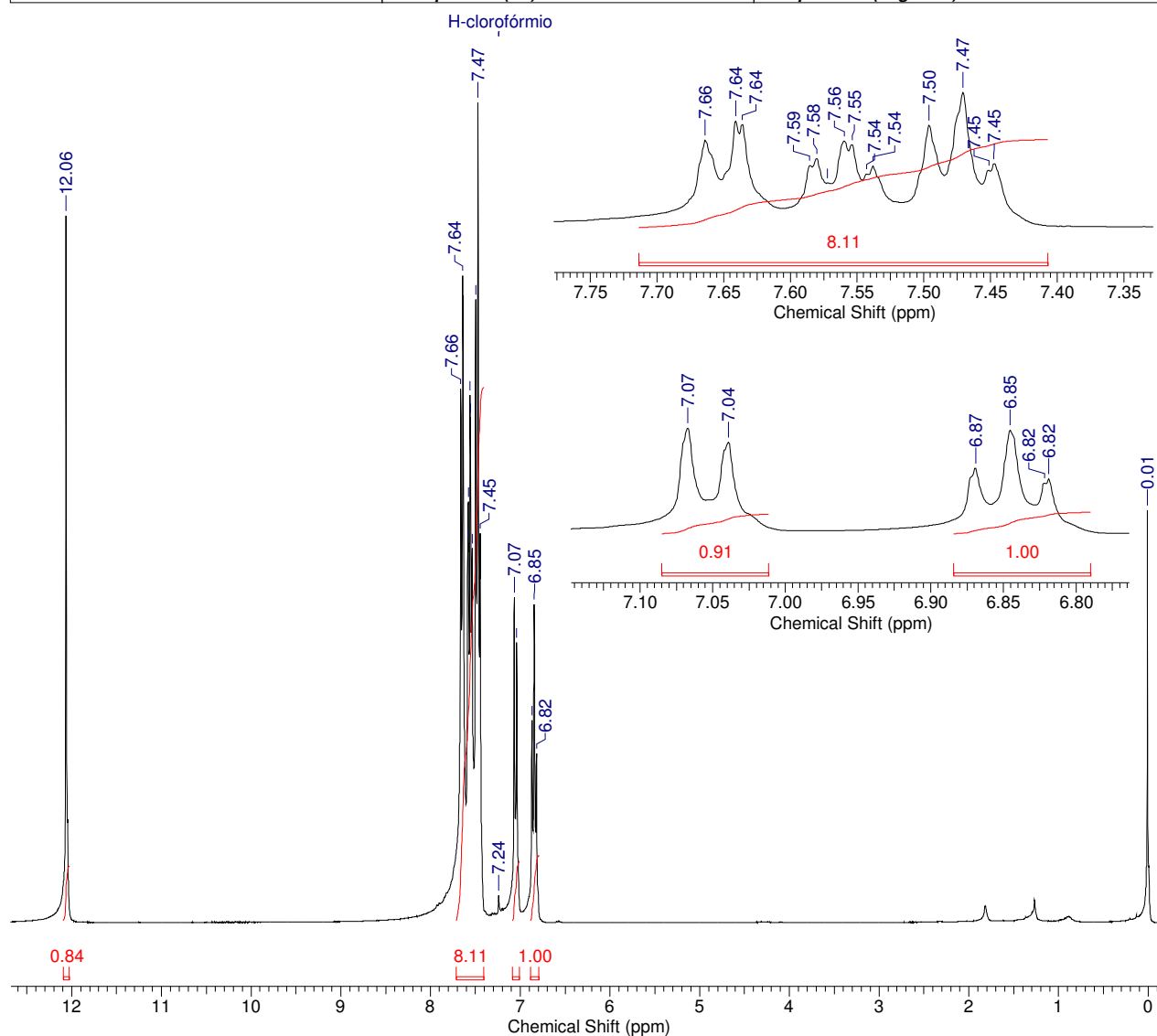
Espectro 32: HMQC do 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16) em CDCl_3

7.11. 2-hidroxibenzofenona (17)



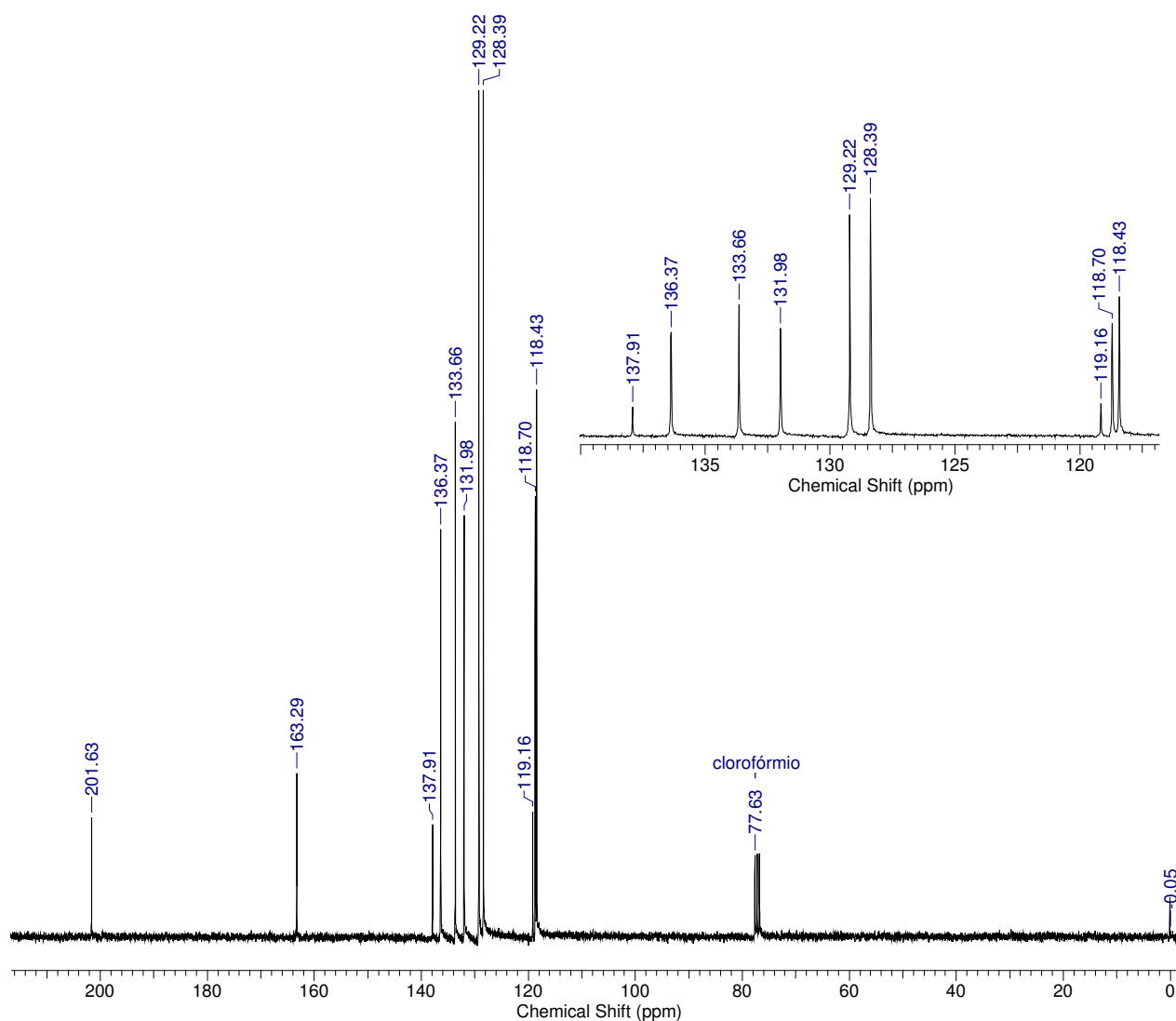
6 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	15 Oct 2008 10:33:36		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS39\CS39_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 33: RMN de ^1H do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3

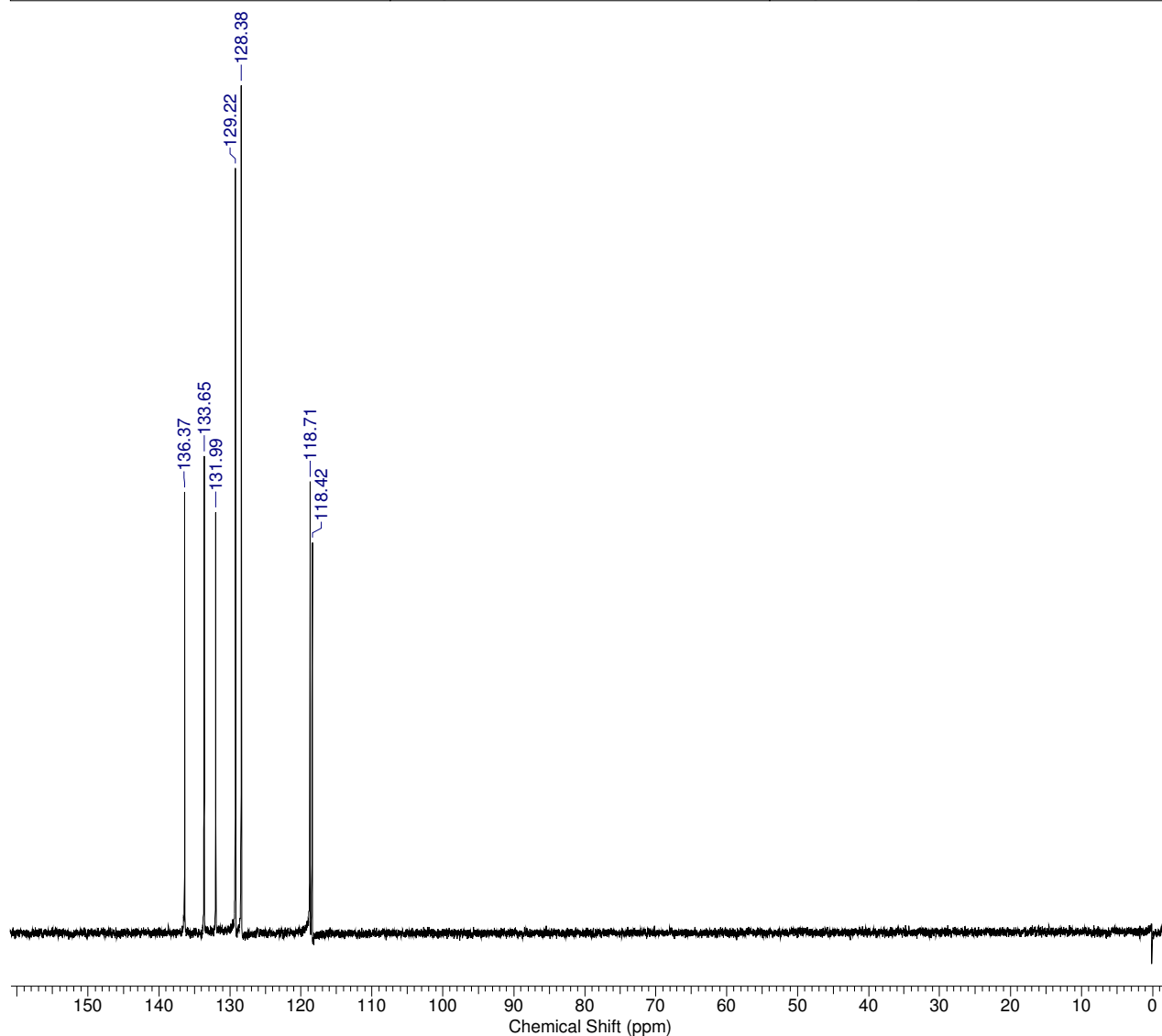
13 Dec 2009

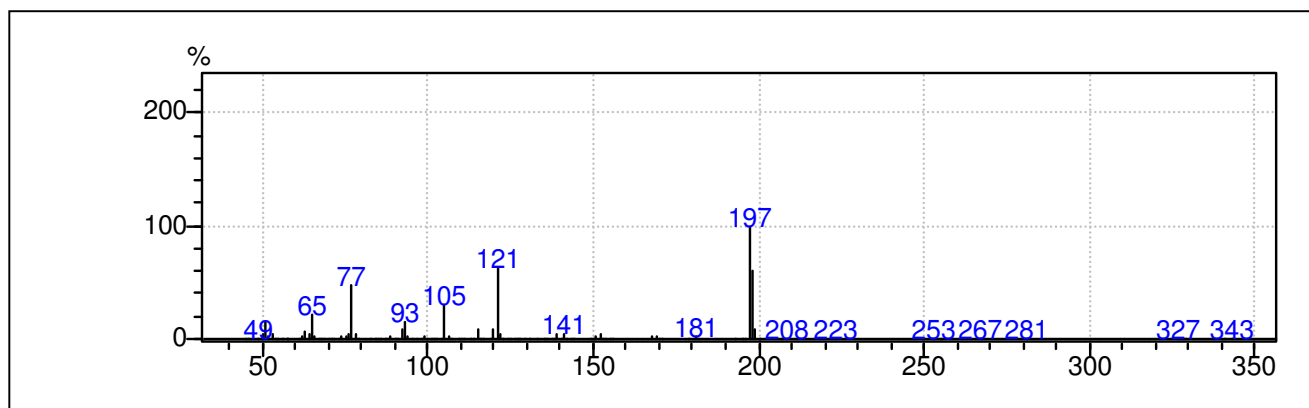
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	15 Oct 2008 10:35:44		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS39\CS39_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	224
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 34: RMN de ^{13}C do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3

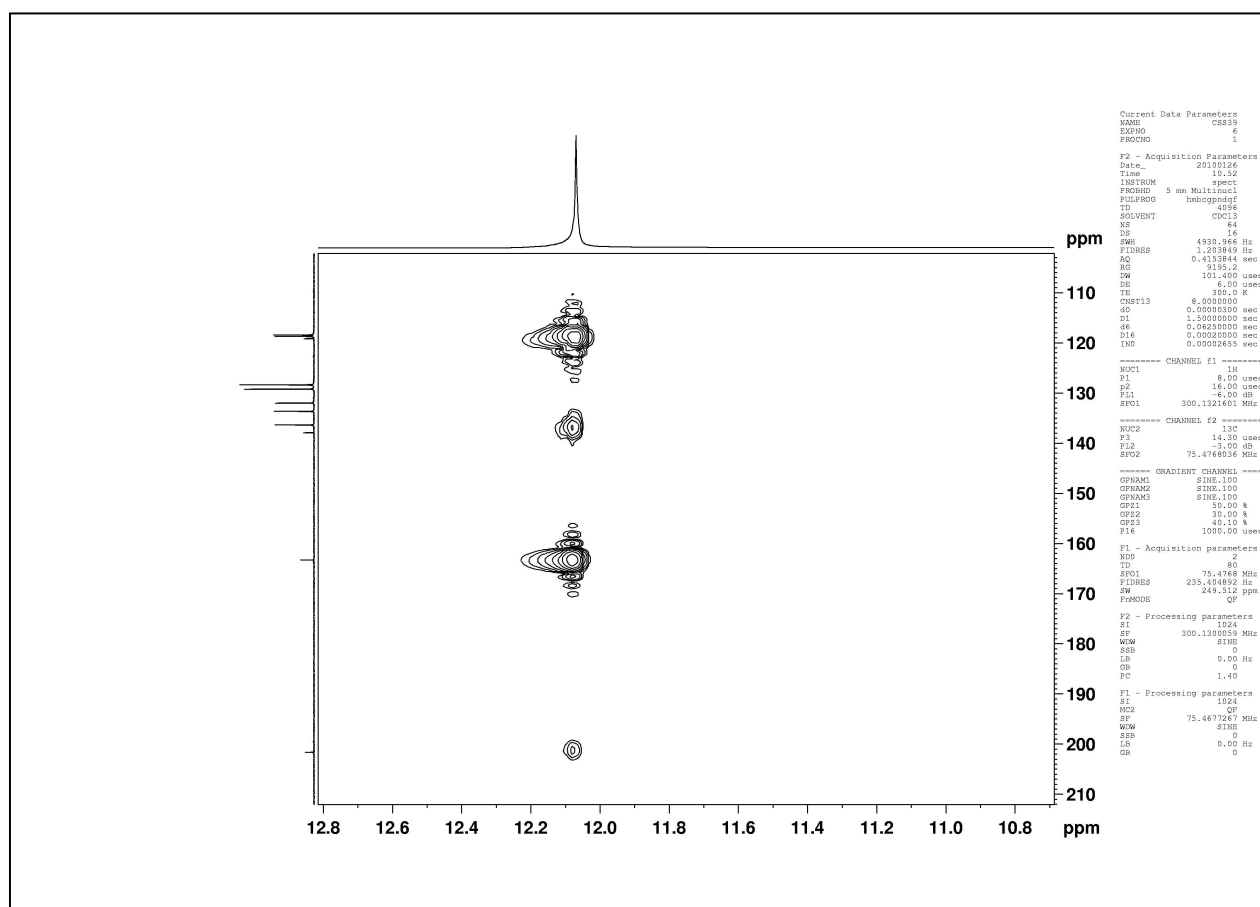
13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	15 Oct 2008 10:46:24	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS39\CS39_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 113
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

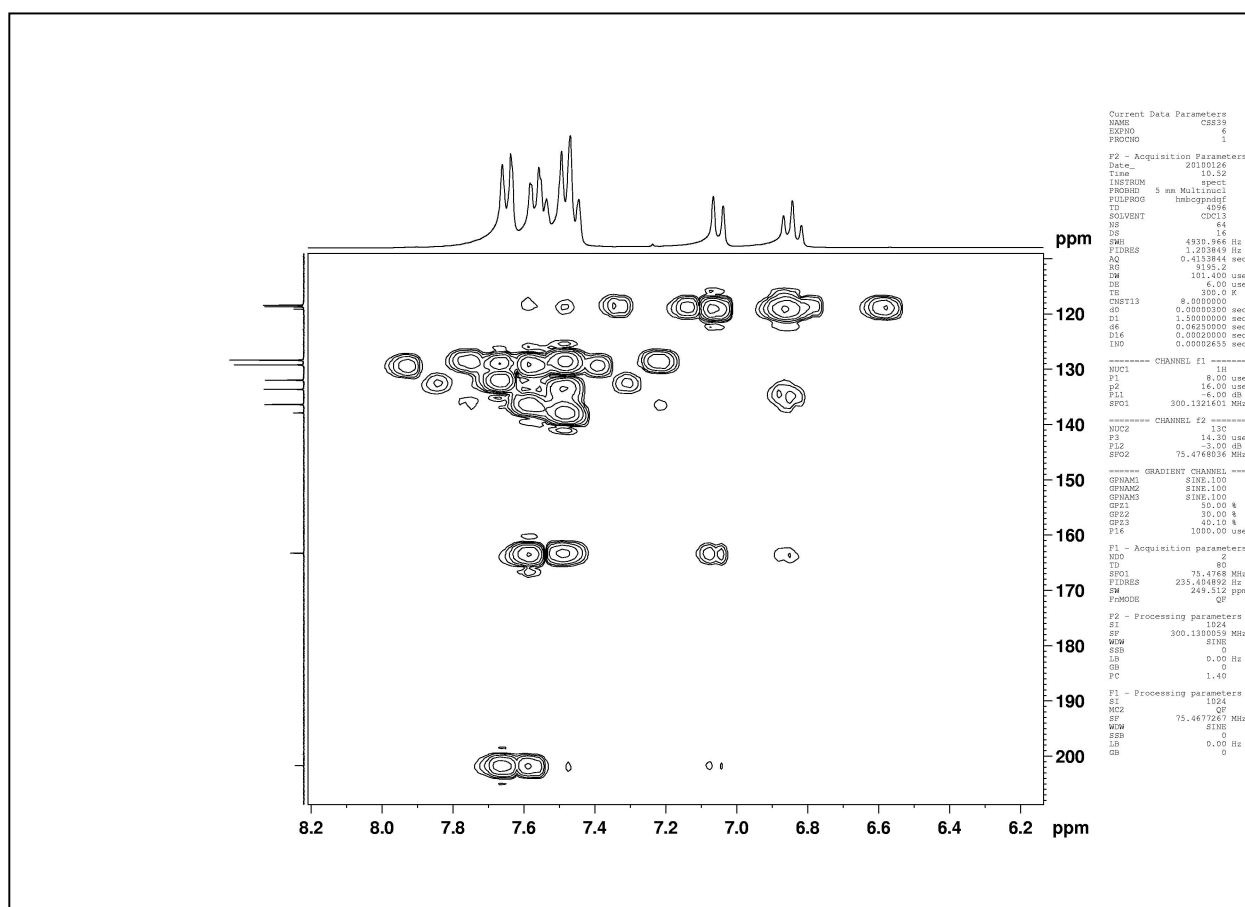
Espectro 35: DEPT-135° do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl₃



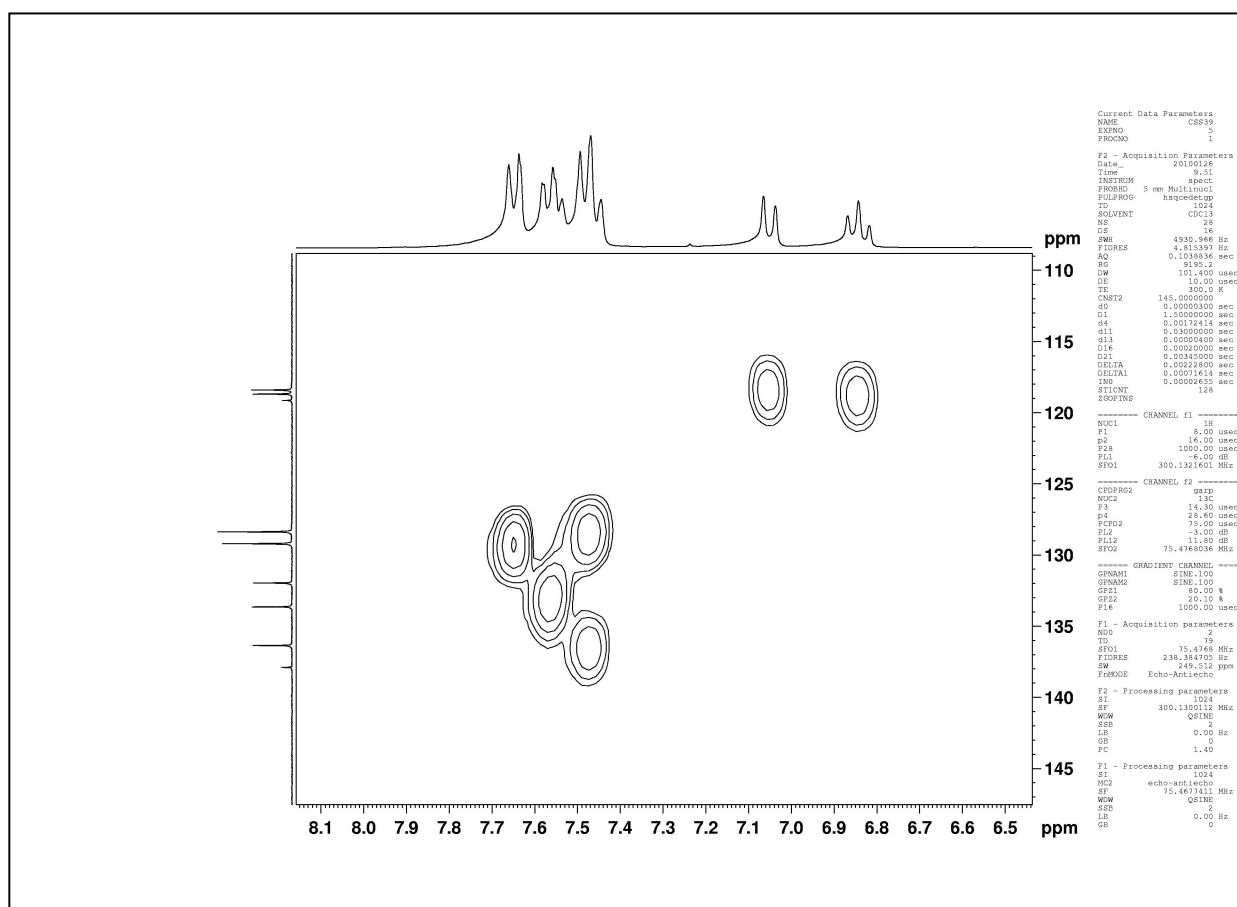
Espectro 36: Espectro de Massas do 2-hidroxibenzofenona (17)



Espectro 37: Ampliação do HMBC do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl₃

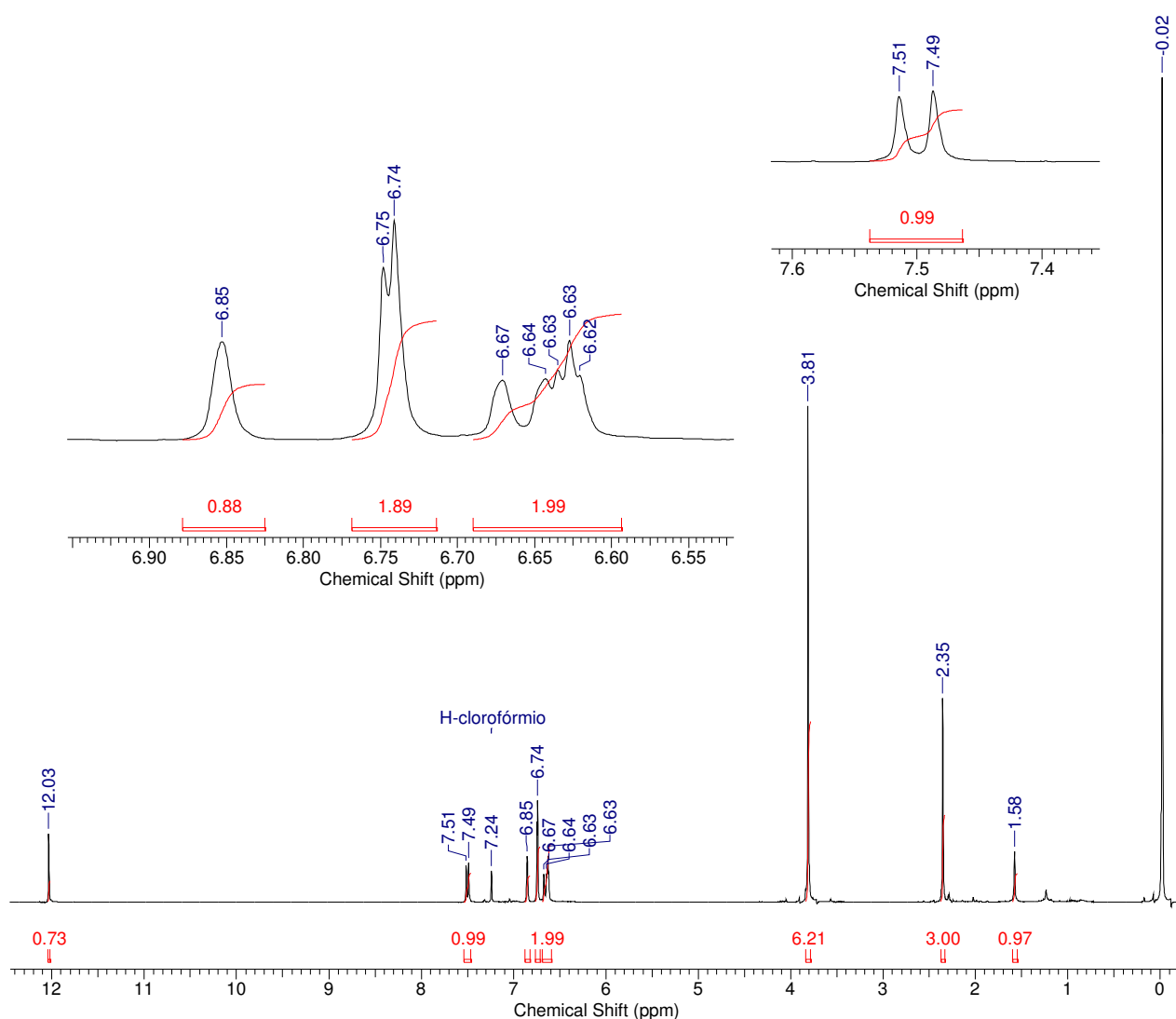


Espectro 38: Ampliação do HMBC do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl₃

Espectro 39: HMQC do 2-hidroxibenzofenona (17) em CDCl_3

COc1ccc(cc1C(=O)c2ccc(O)cc2)OC

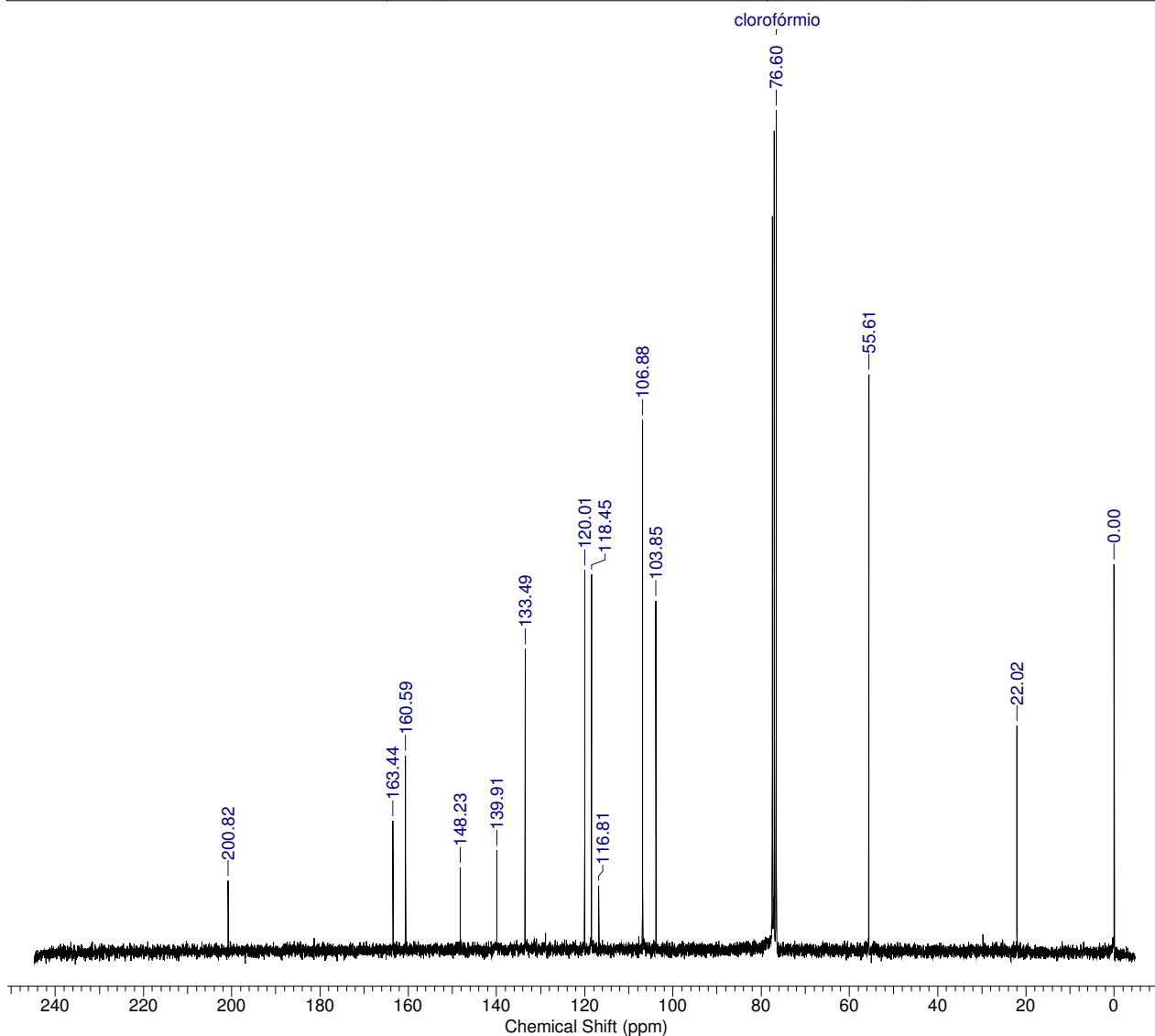
Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	13 Nov 2008 10:37:52		
File Name	G:\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS43\CS43_001000fid		Frequency (MHz)	300.13	
Nucleus	1H	Number of Transients	8	Original Points Count	32768
Points Count	32768	Pulse Sequence	zg	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000		



Espectro 40: RMN de ^1H do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi-benzofenona (21) em CDCl_3

13 Dec 2009

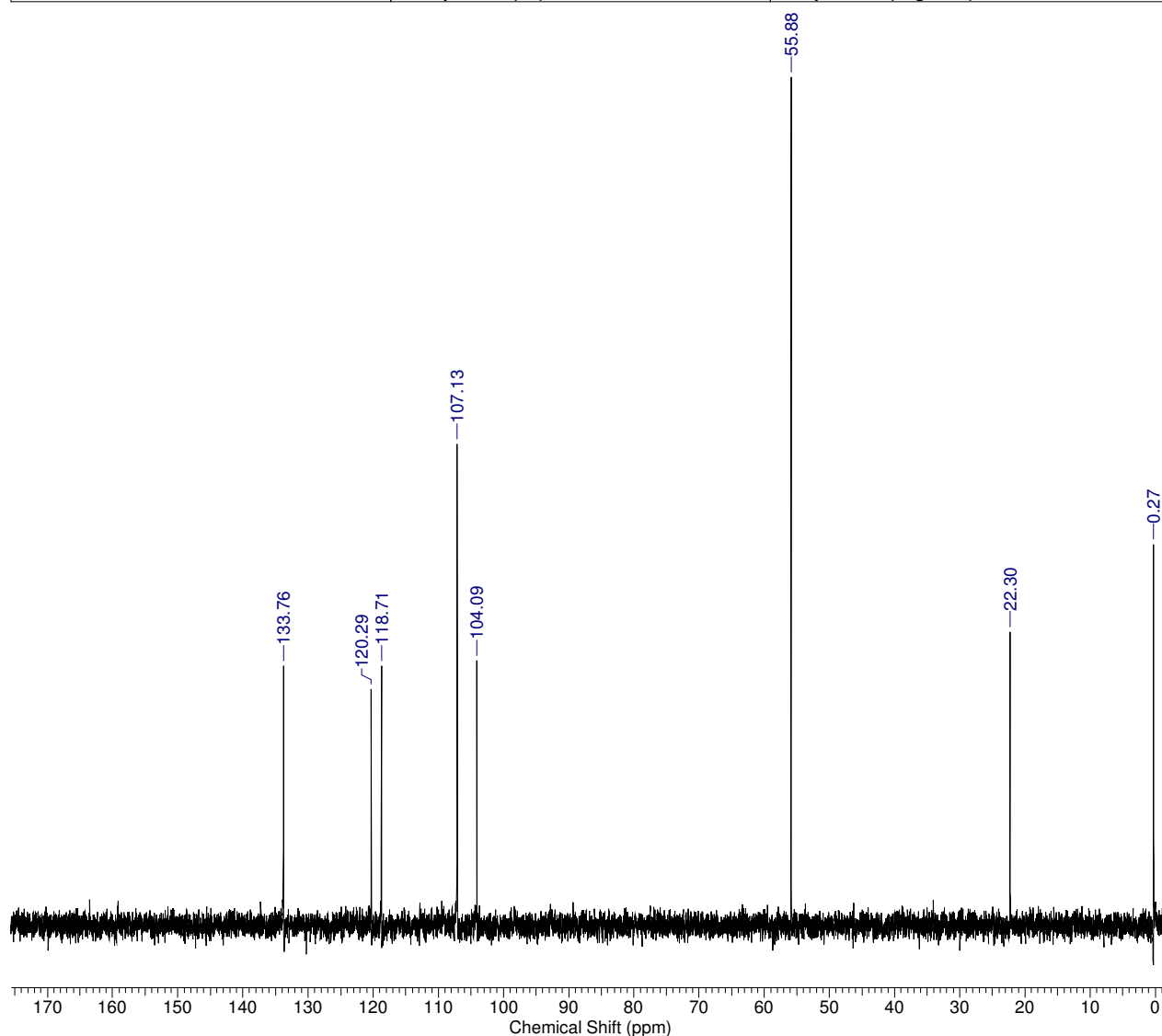
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	13 Nov 2008 11:33:20		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS43\CS43_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	5208
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000



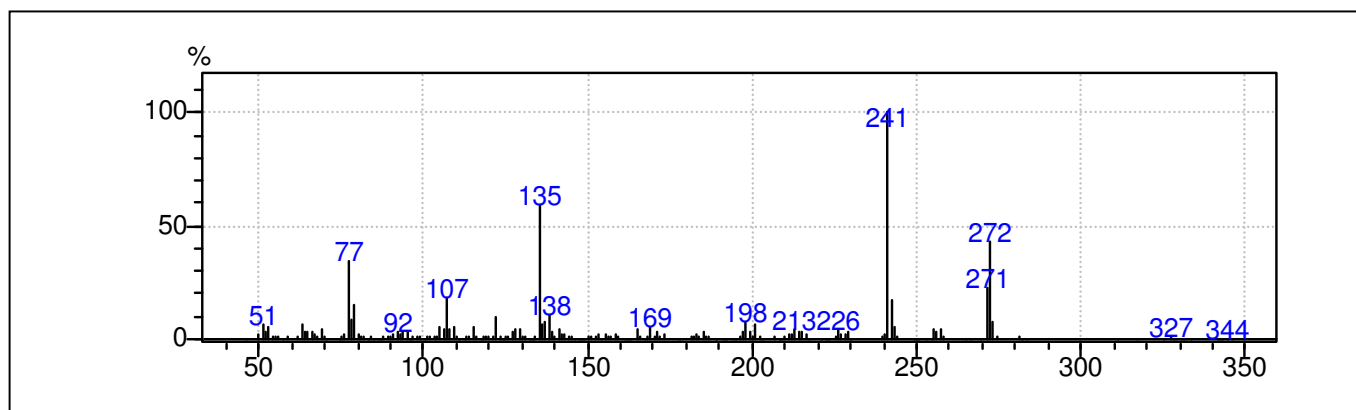
Espectro 41: RMN de ¹³C do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (21) em CDCl₃

13 Dec 2009

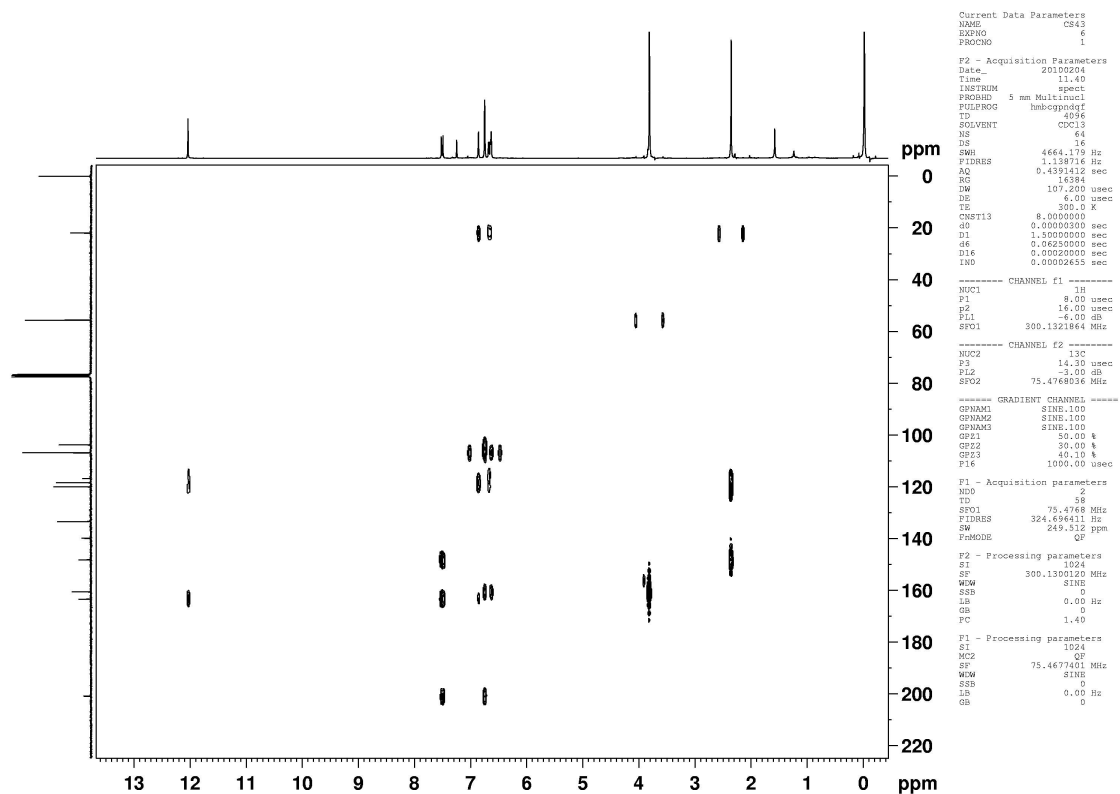
Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	13 Nov 2008 10:42:08	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS43\CS43_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 415
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000



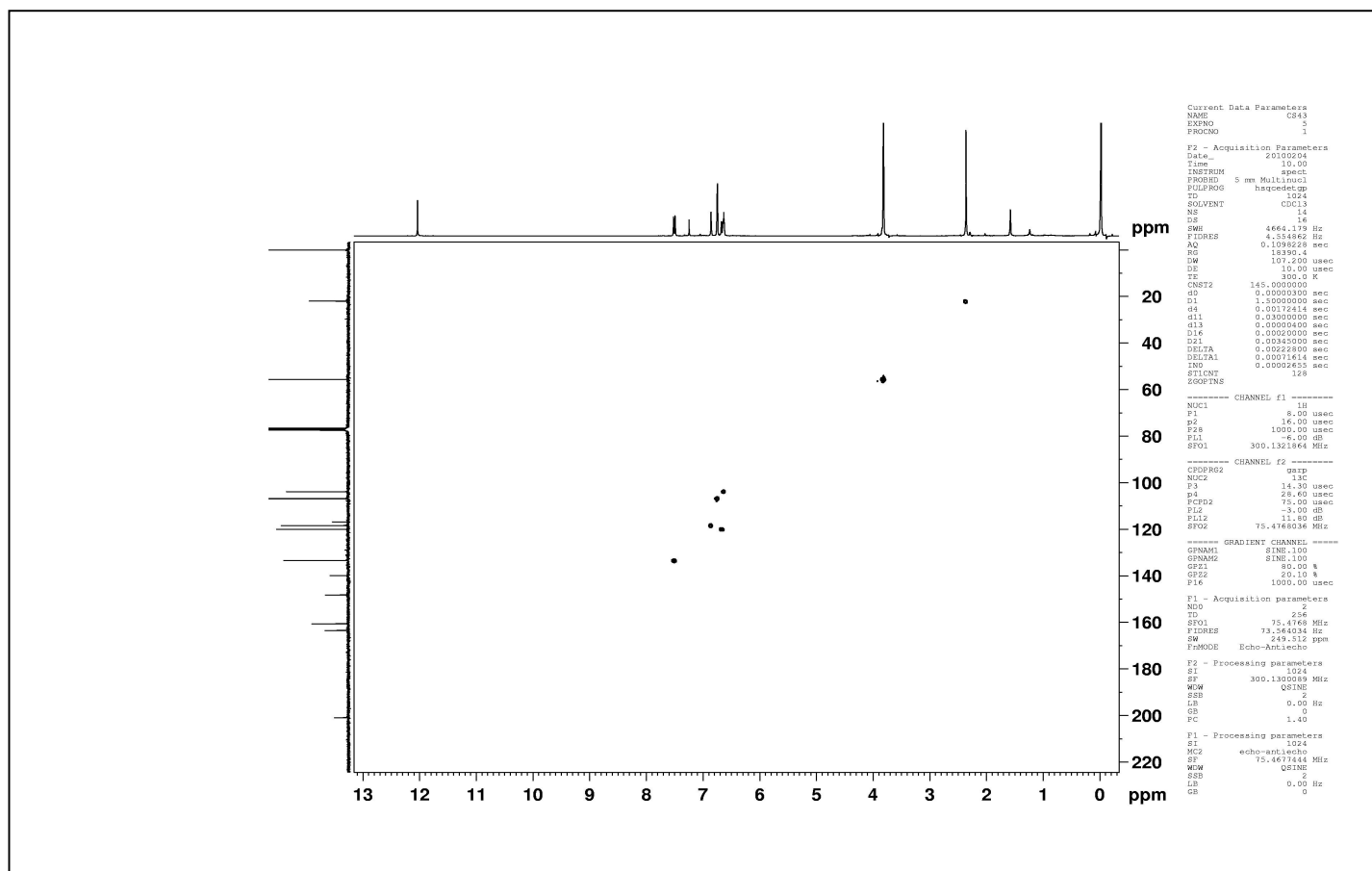
Espectro 42: DEPT-135° do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (21) em CDCl₃



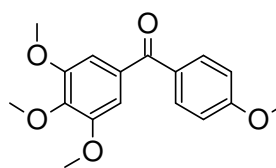
Espectro 43: Espectro de Massas do 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi-benzofenona (21)



Espectro 44: HMBC do . 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxiacetofenona (21) em CDCl₃

Espectro 45: HMQC do . 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (21) em CDCl_3

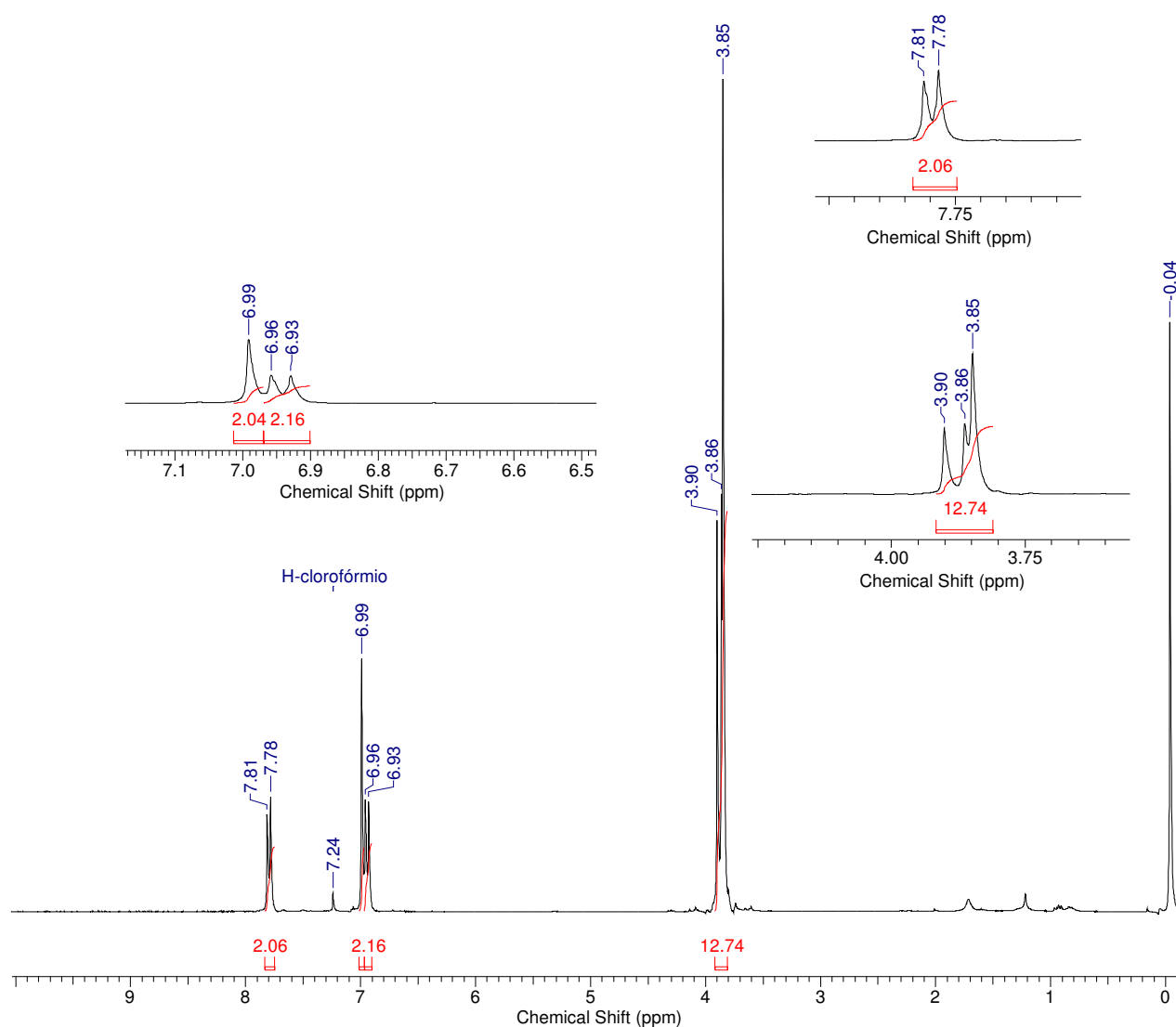
7.13. 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2)



2

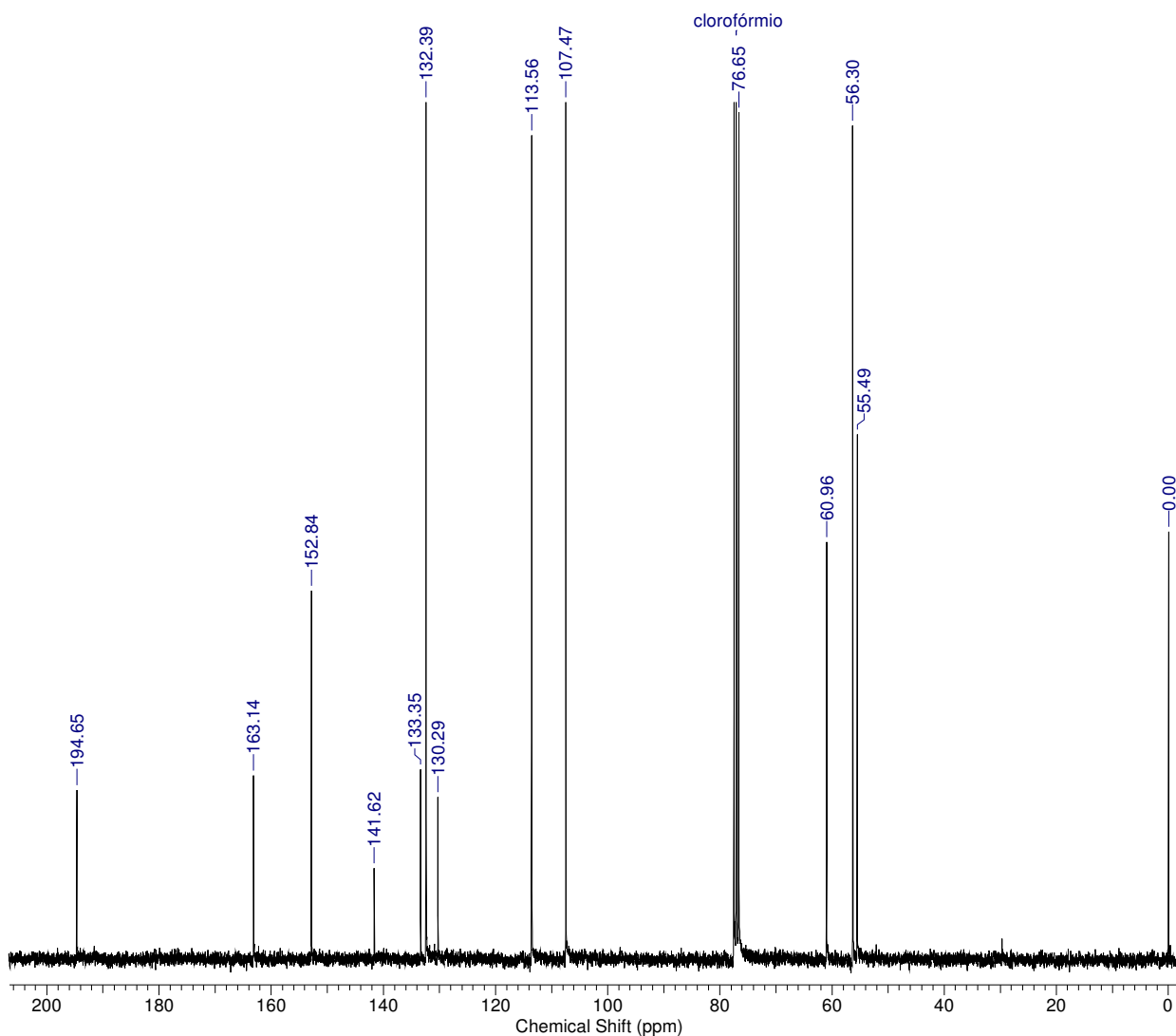
3 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	01 Apr 2009 17:29:36
File Name	G:\CS FID RMN\CS51\CS51_001000fid	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	¹ H	Number of Transients	8
Points Count	32768	Original Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	4664.18	Pulse Sequence	zg
		Solvent	CHLOROFORM-D
		Temperature (degree C)	27.000

Espectro 46: RMN de ¹H do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2) em CDCl₃

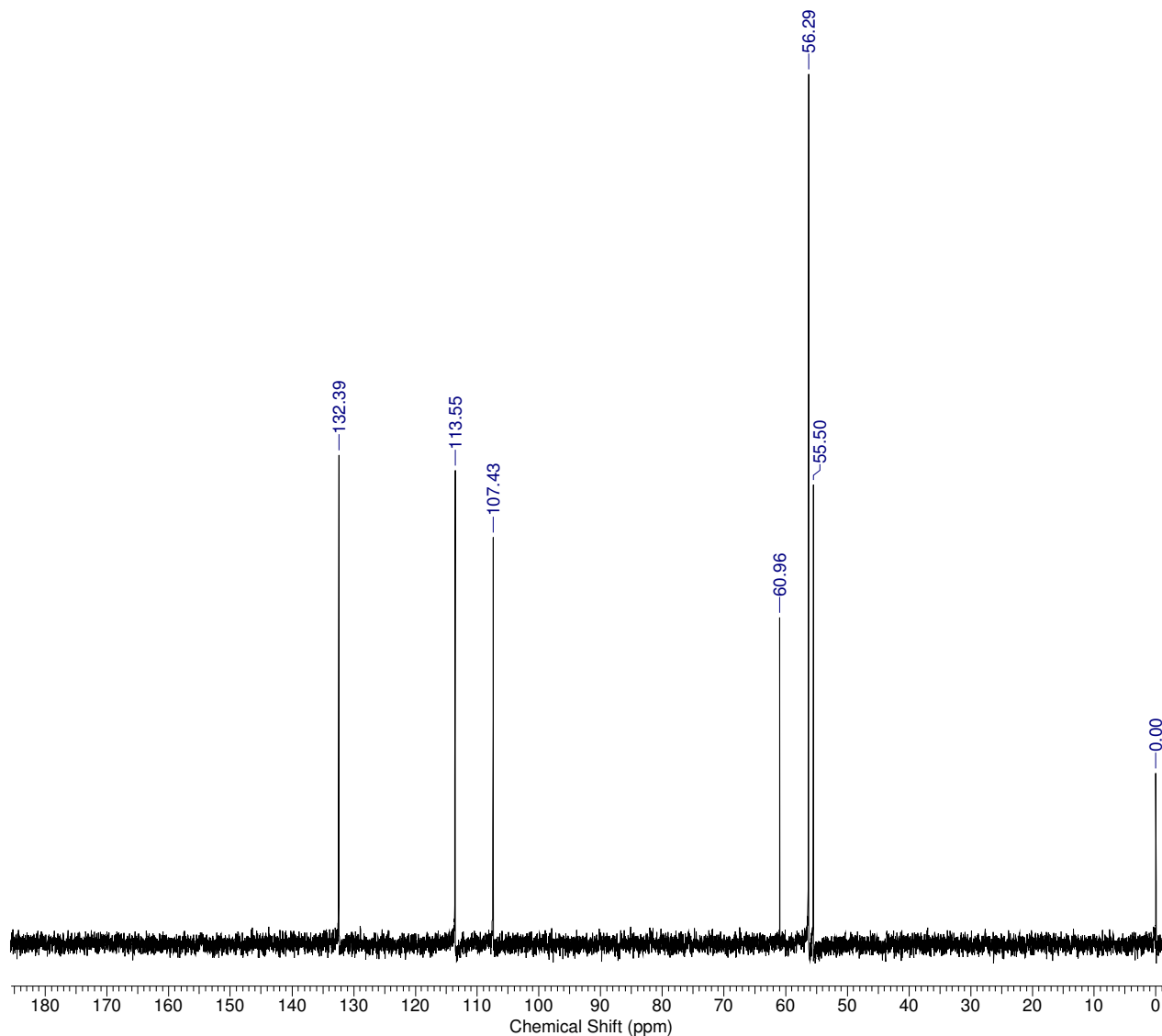
12 Dec 2009

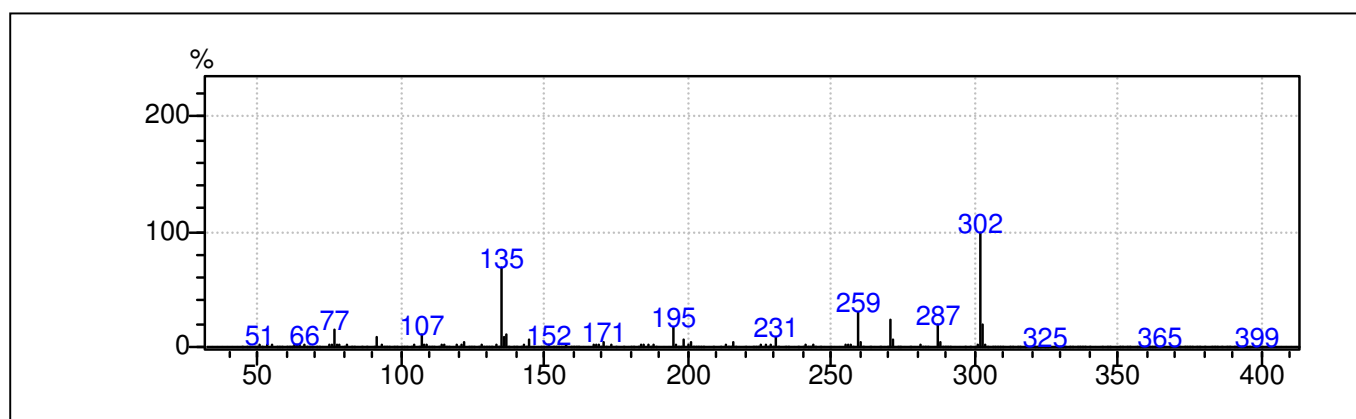
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	03 Apr 2009 18:01:36		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN_2\CS51\CS51_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	1220
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 47: RMN de ^{13}C do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2) em CDCl_3

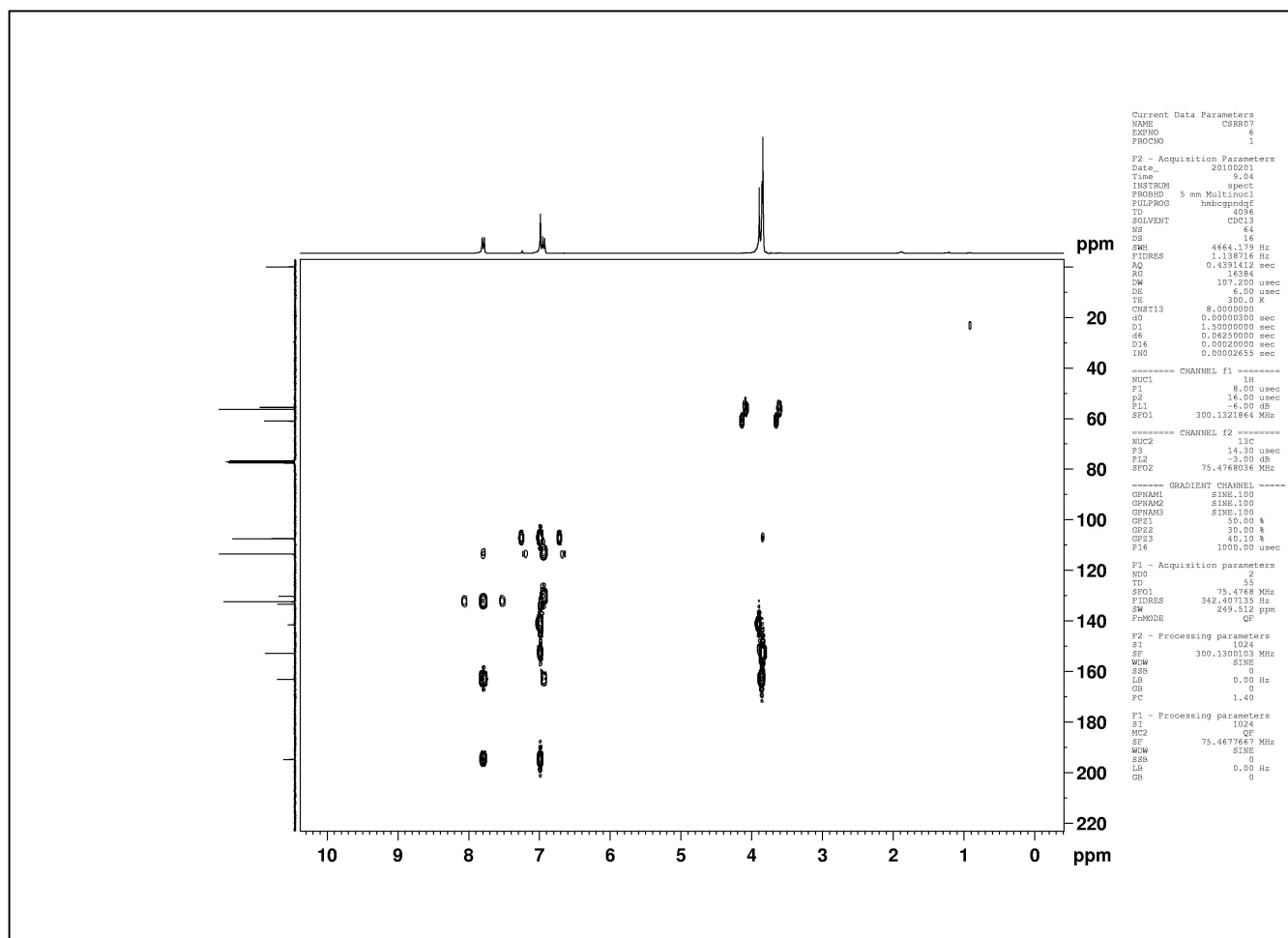
13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	03 Apr 2009 17:31:44		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS51\CS51_002000.fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	182
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

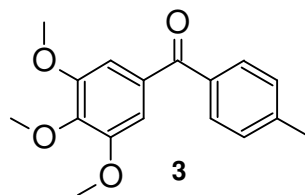
**Espectro 48: DEPT-135° do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2) em CDCl₃**



Espectro 49: Espectro de Massas do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2)

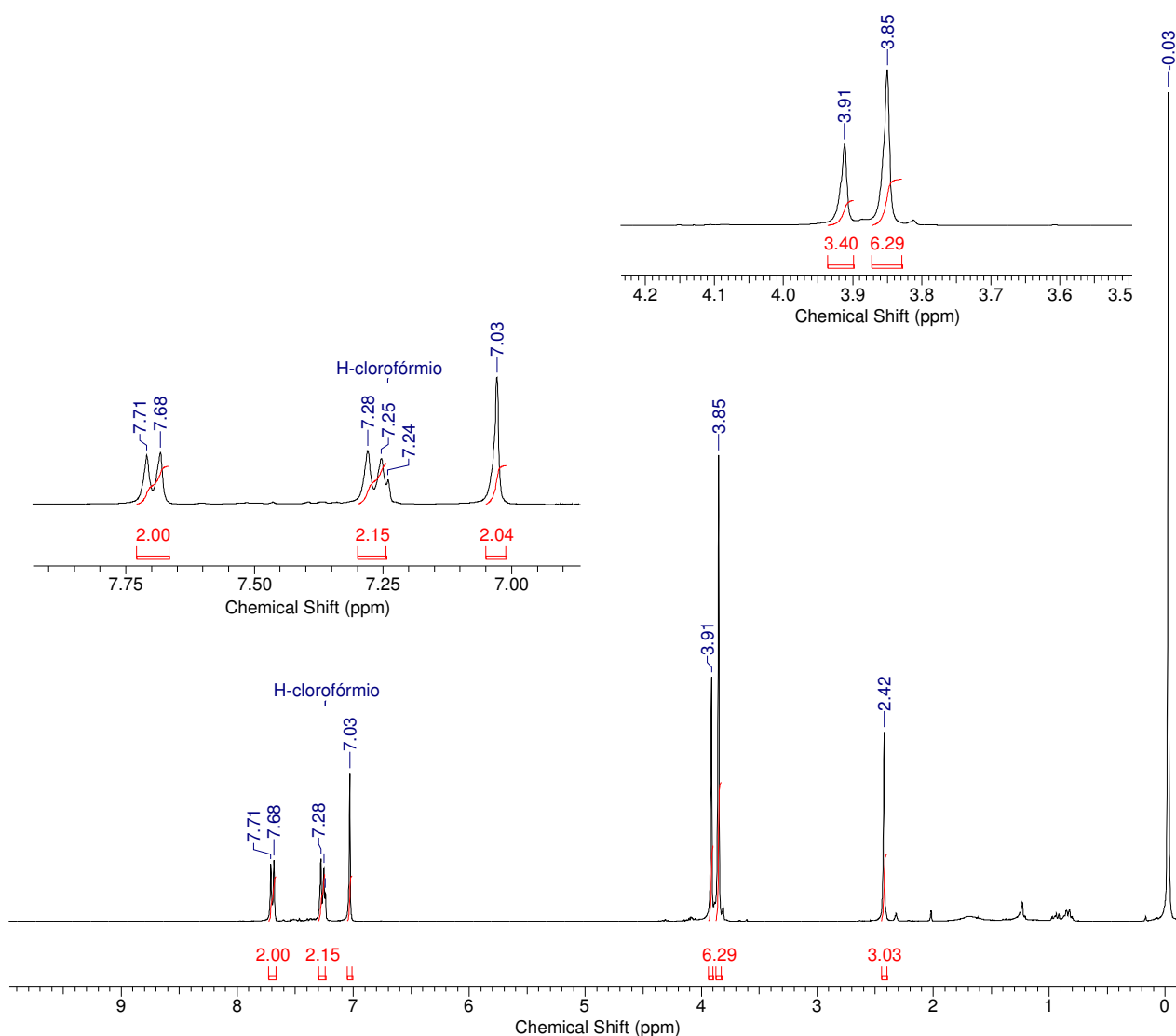
Espectro 50: HMBC do 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2) em CDCl_3

7.14. 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3)



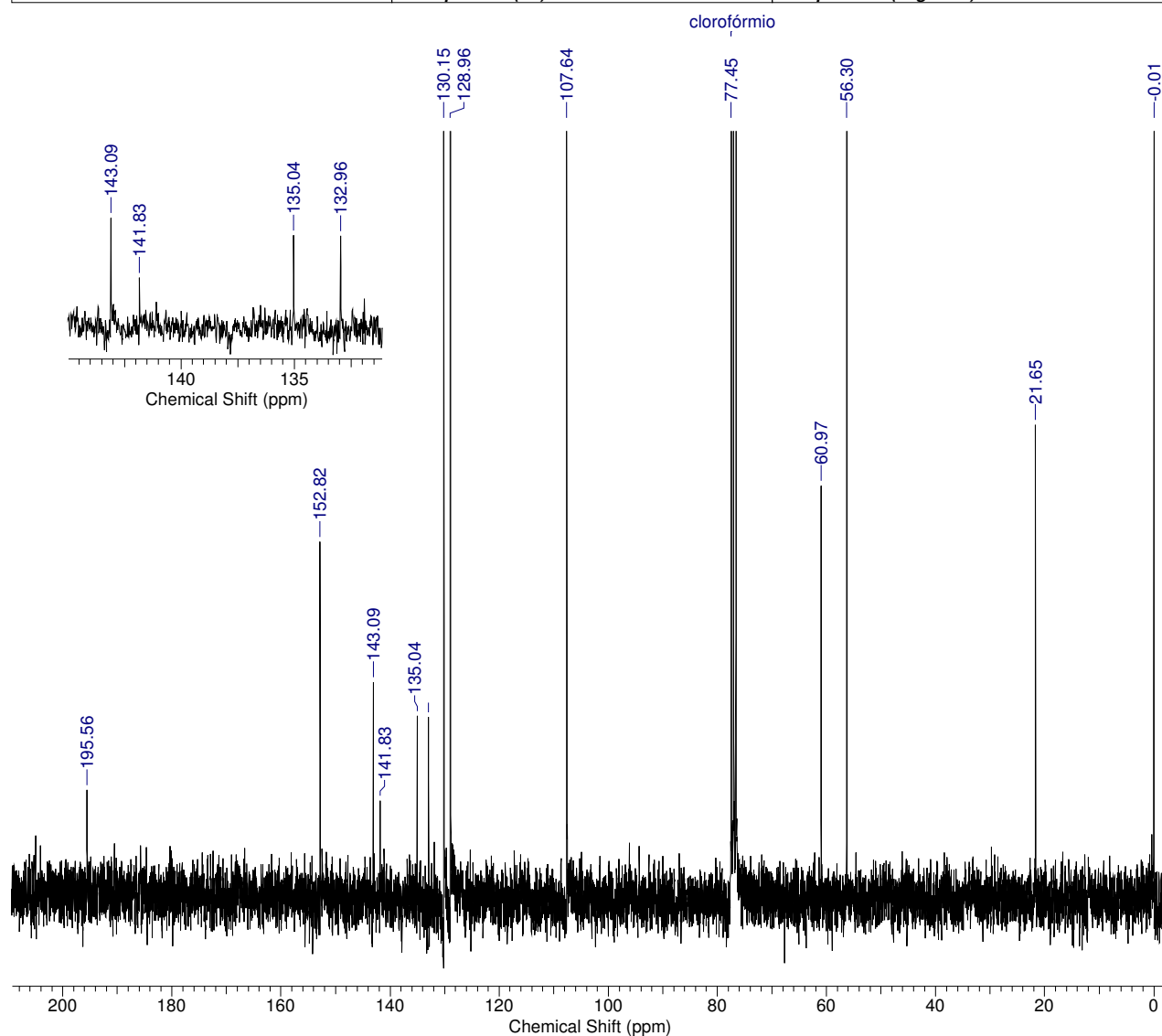
3 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	17 Jun 2009 10:46:24
File Name	D:\camila (G)\CS FID RMN\CS68\CS68_001000fid	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	¹ H	Number of Transients	8
Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000
		Solvent	CHLOROFORM-D

Espectro 51: RMN de ¹H do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) em CDCl₃

13 Dec 2009

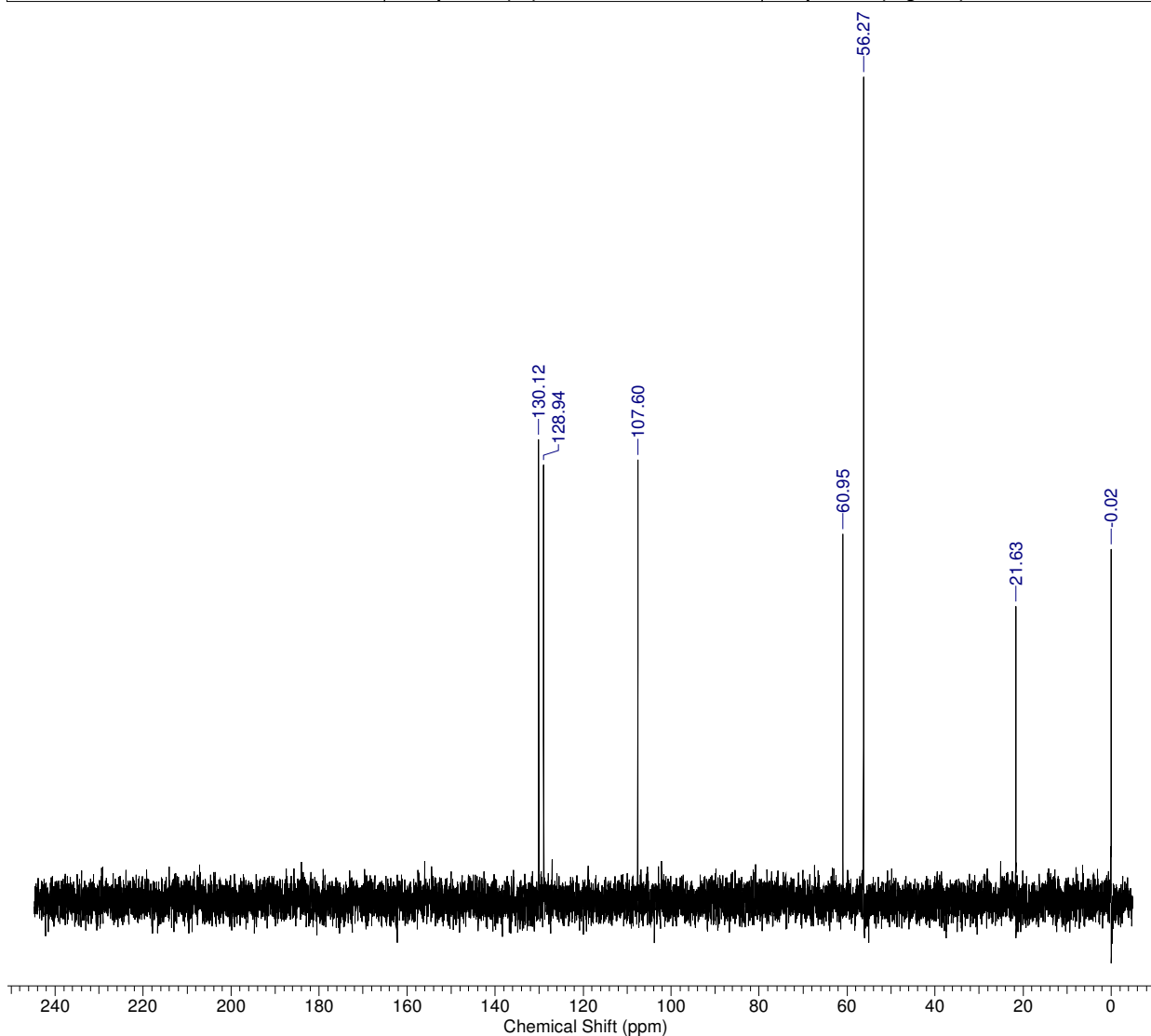
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	17 Jun 2009 11:07:44	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS68\CS68_003000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients 515
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

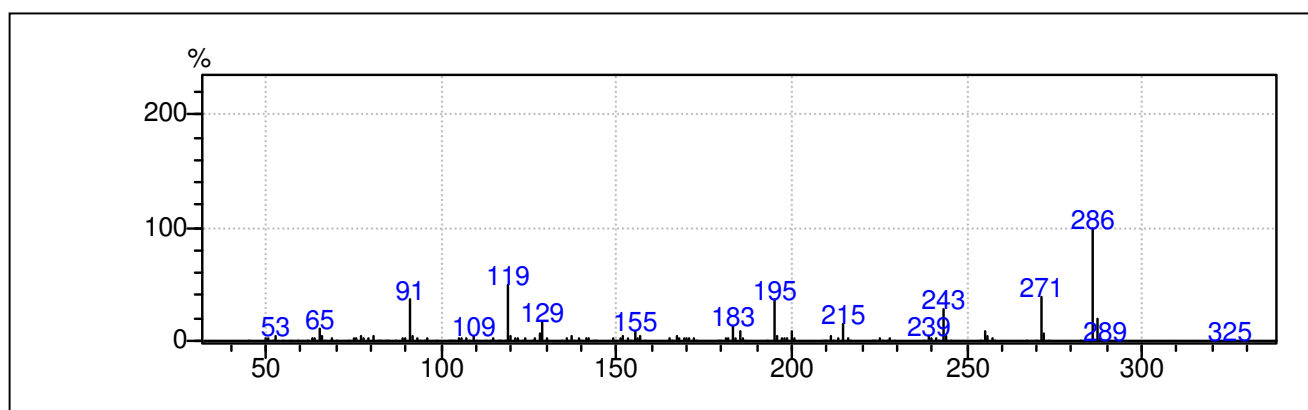


Espectro 52: RMN de ¹³C do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) em CDCl₃

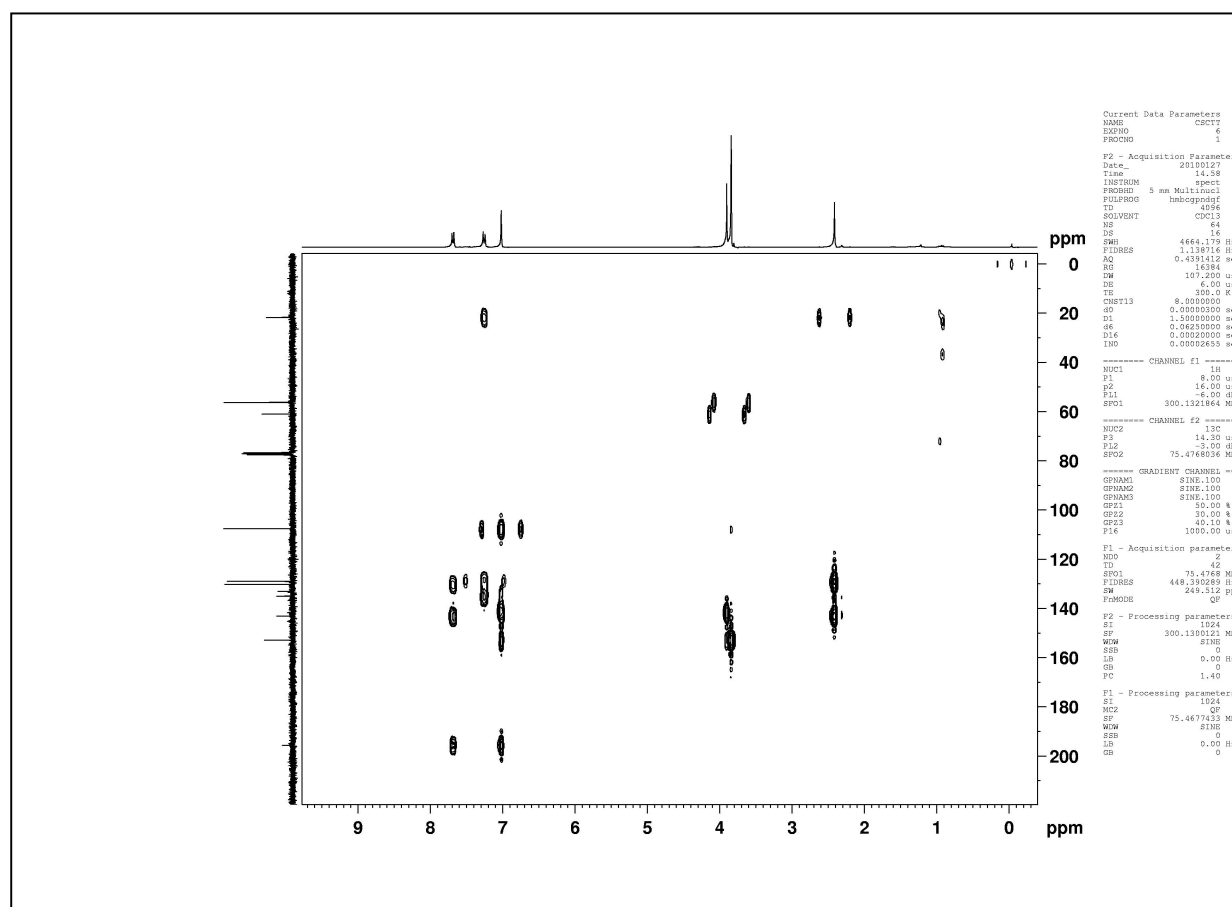
13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	17 Jun 2009 10:54:56		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS68\CS68_002000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	94
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

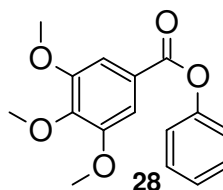
Espectro 53: DEPT-135° do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) em CDCl_3



Espectro 54: Espectro de Massas do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3)

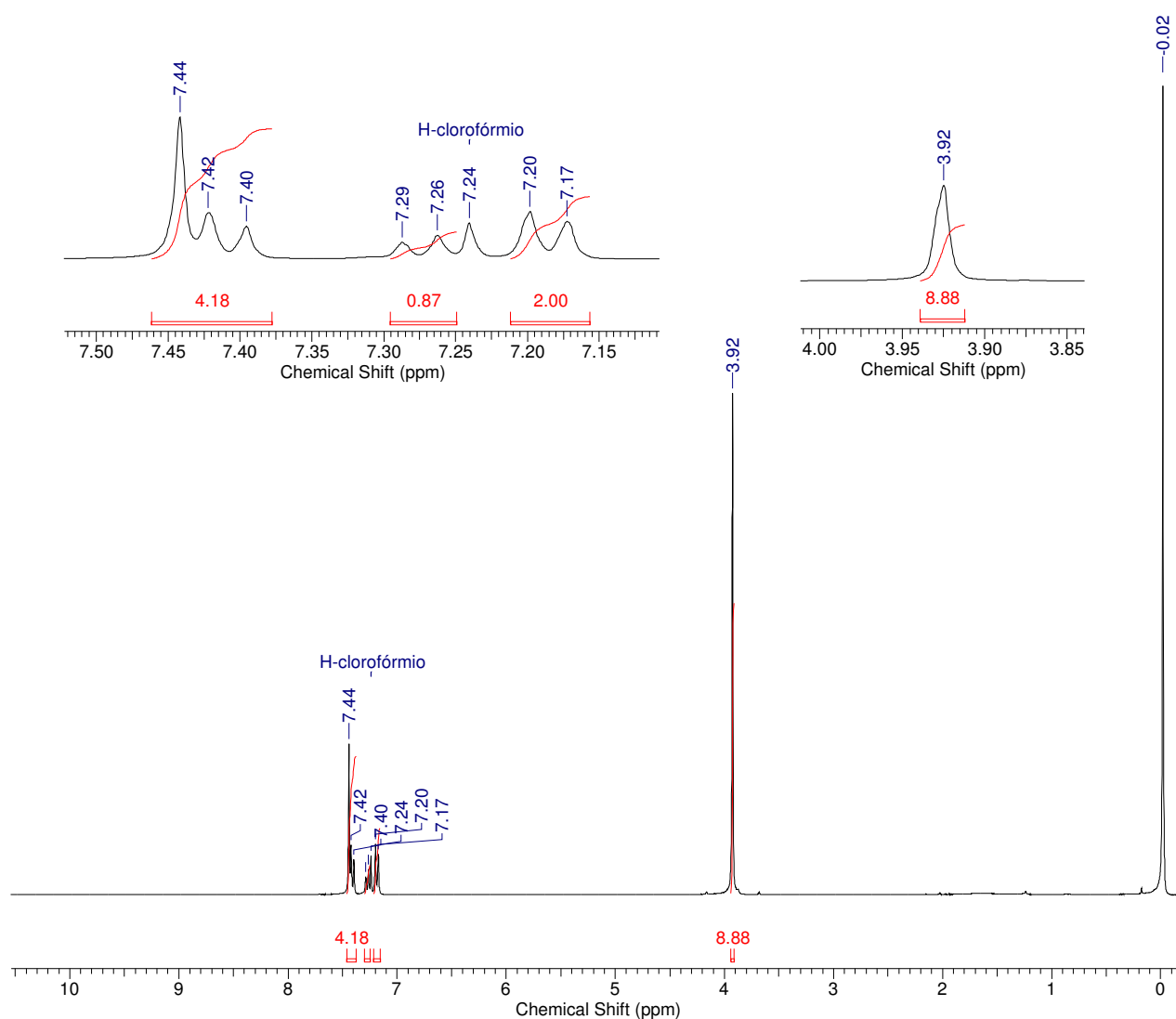
Espectro 55: HMBC do 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3) em CDCl₃

7.15. 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28)



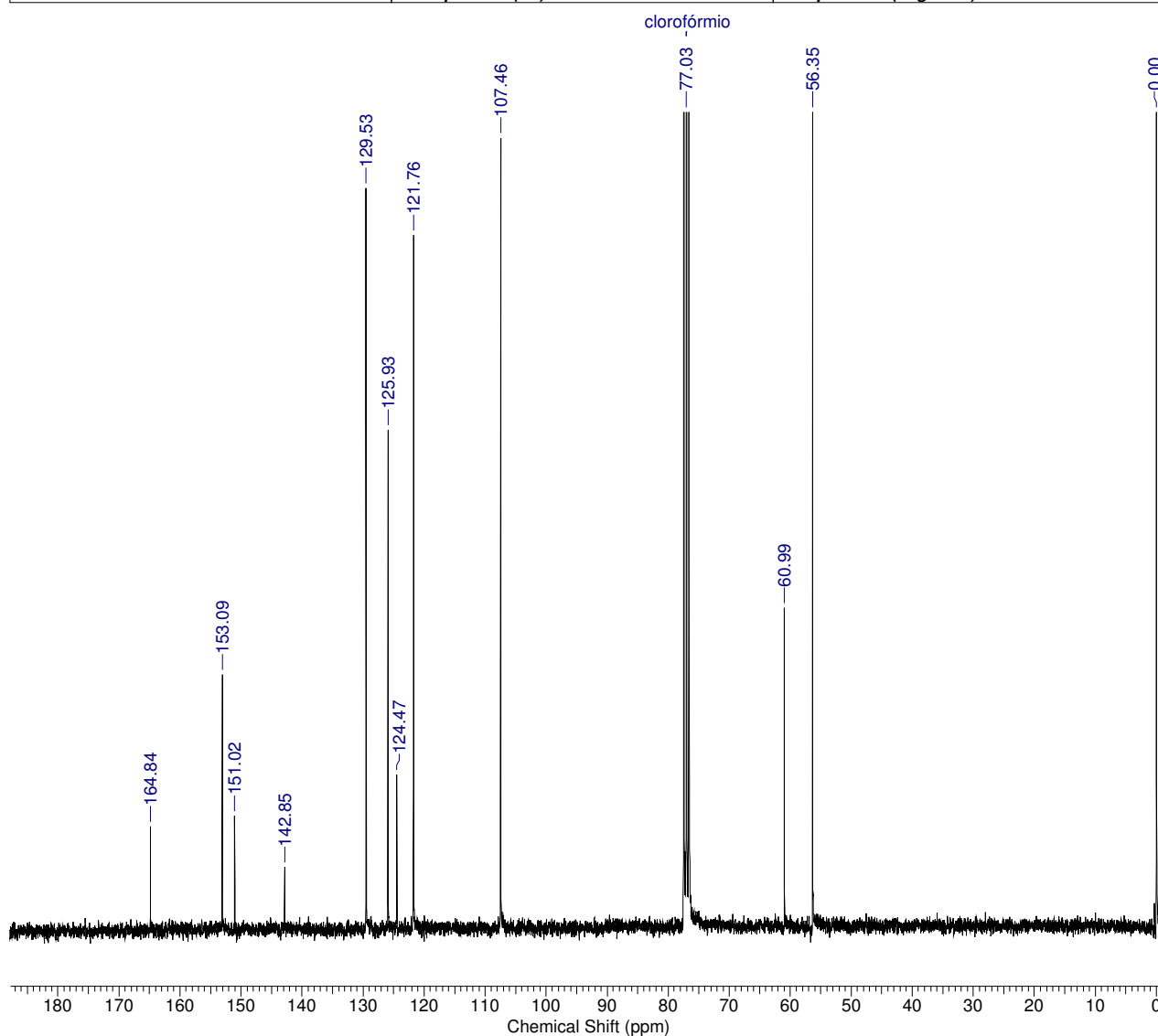
7 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	09 Mar 2009 12:03:12		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS53\CS53_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 56: RMN de ¹H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) em CDCl₃

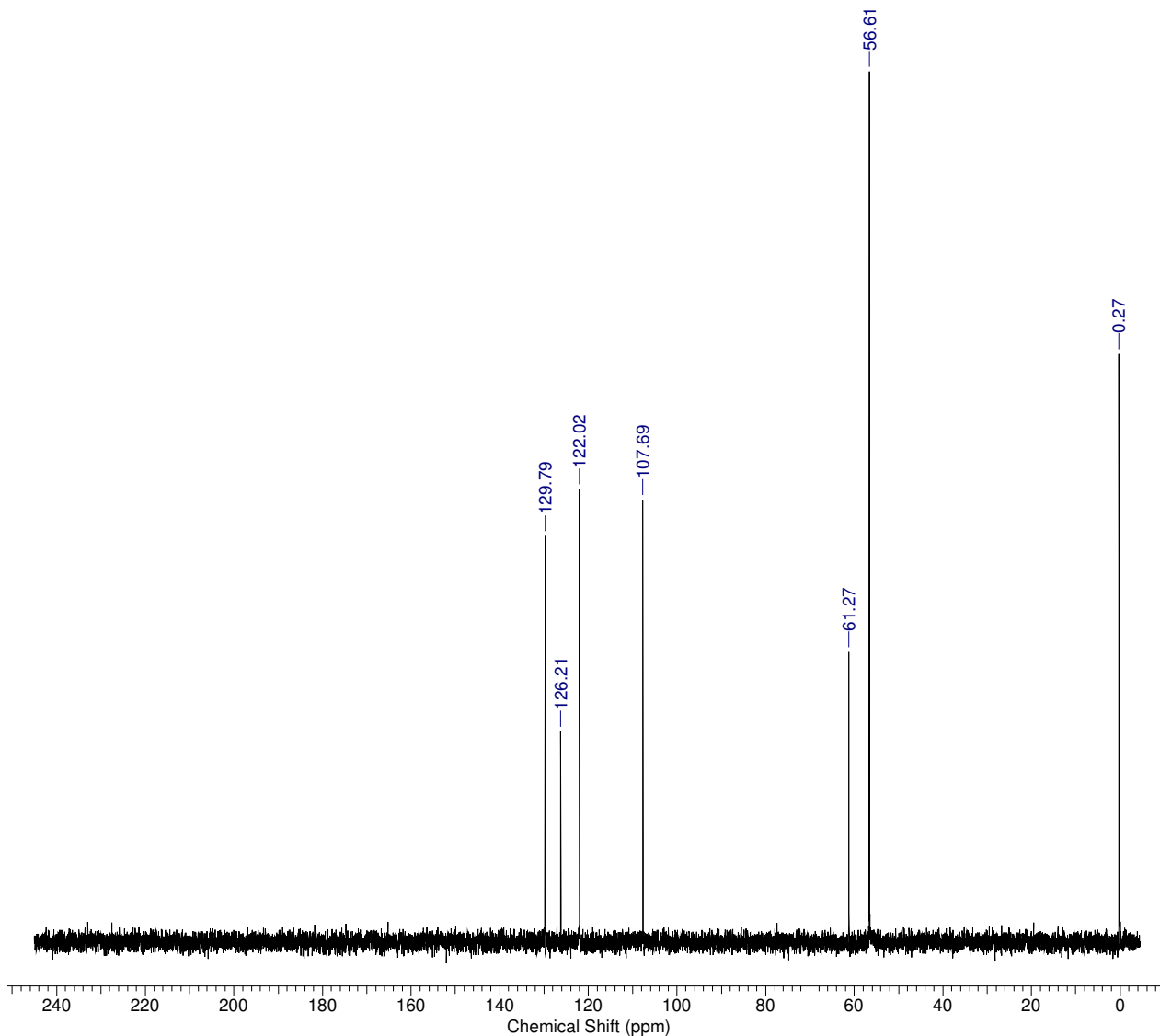
12 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	09 Mar 2009 16:38:24		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS53\CS53_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	7055
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

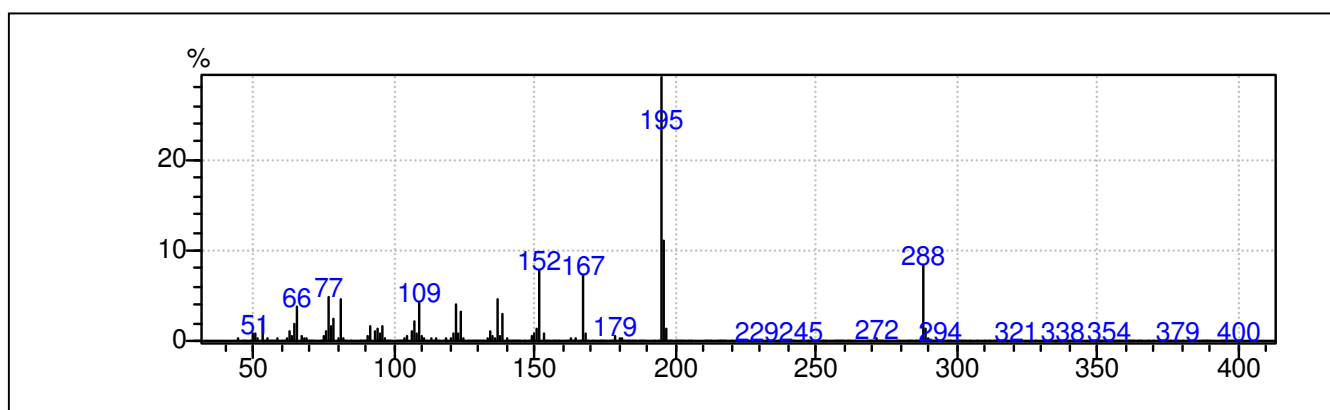
Espectro 57: RMN de ¹³C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) em CDCl₃

13 Dec 2009

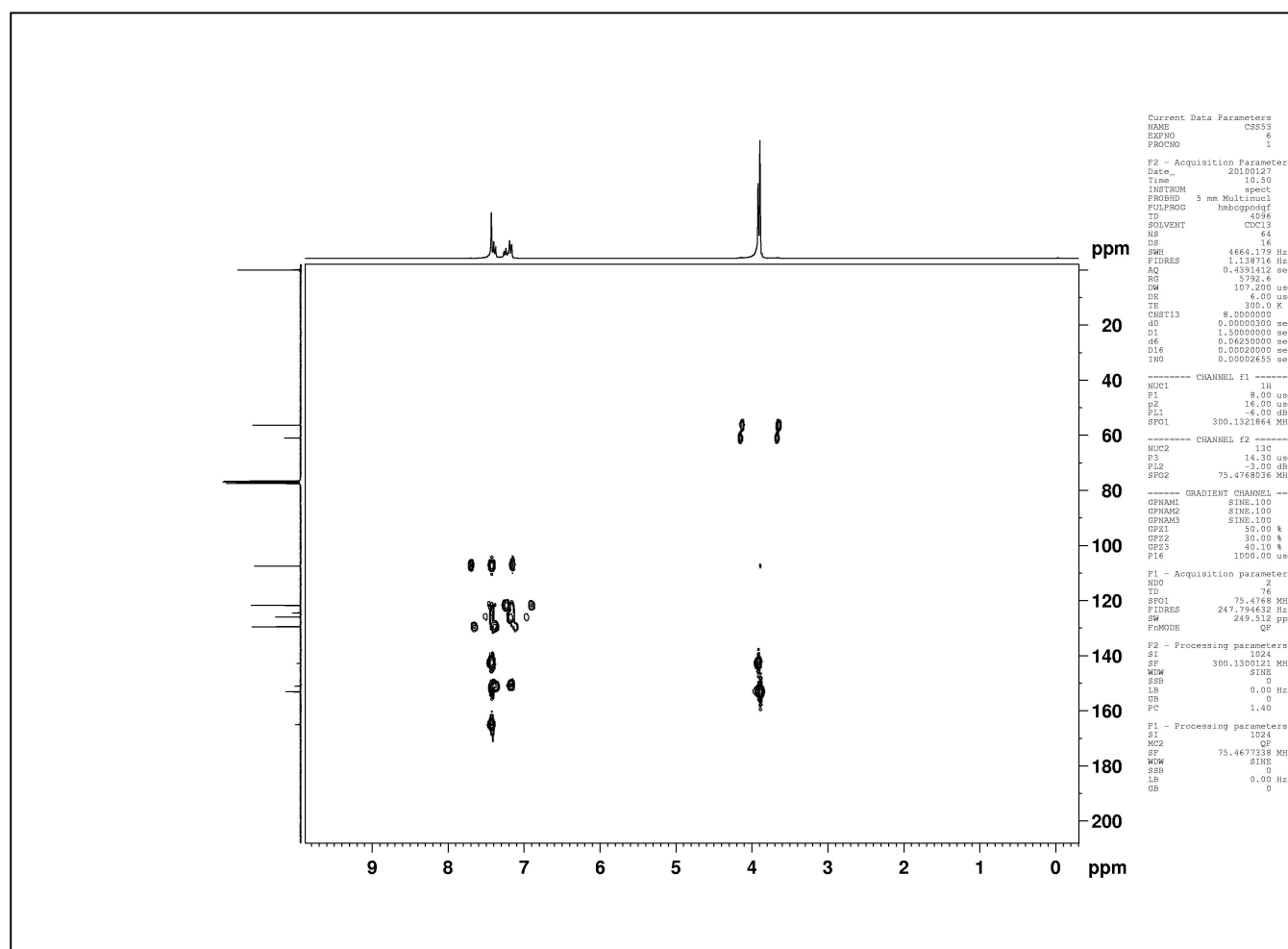
Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	09 Mar 2009 14:34:40	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS53\CS53_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 700
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000



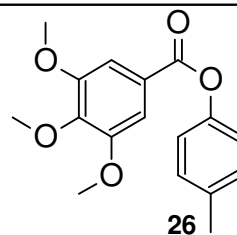
Espectro 58: DEPT-135° do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) em CDCl₃



Espectro 59: Espectro de Massas do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28)

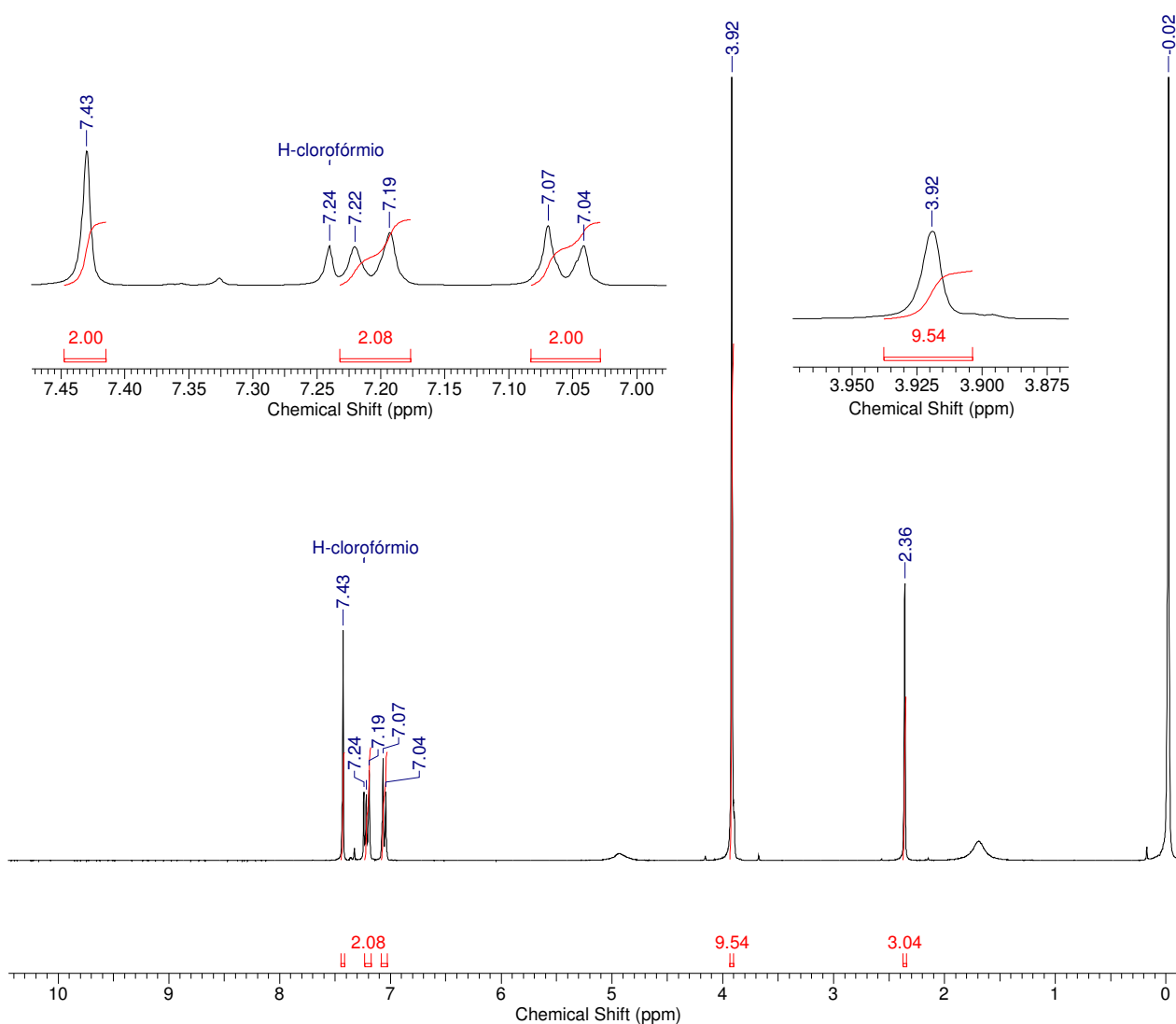
Espectro 60: HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28) em CDCl₃

7.16. 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26)



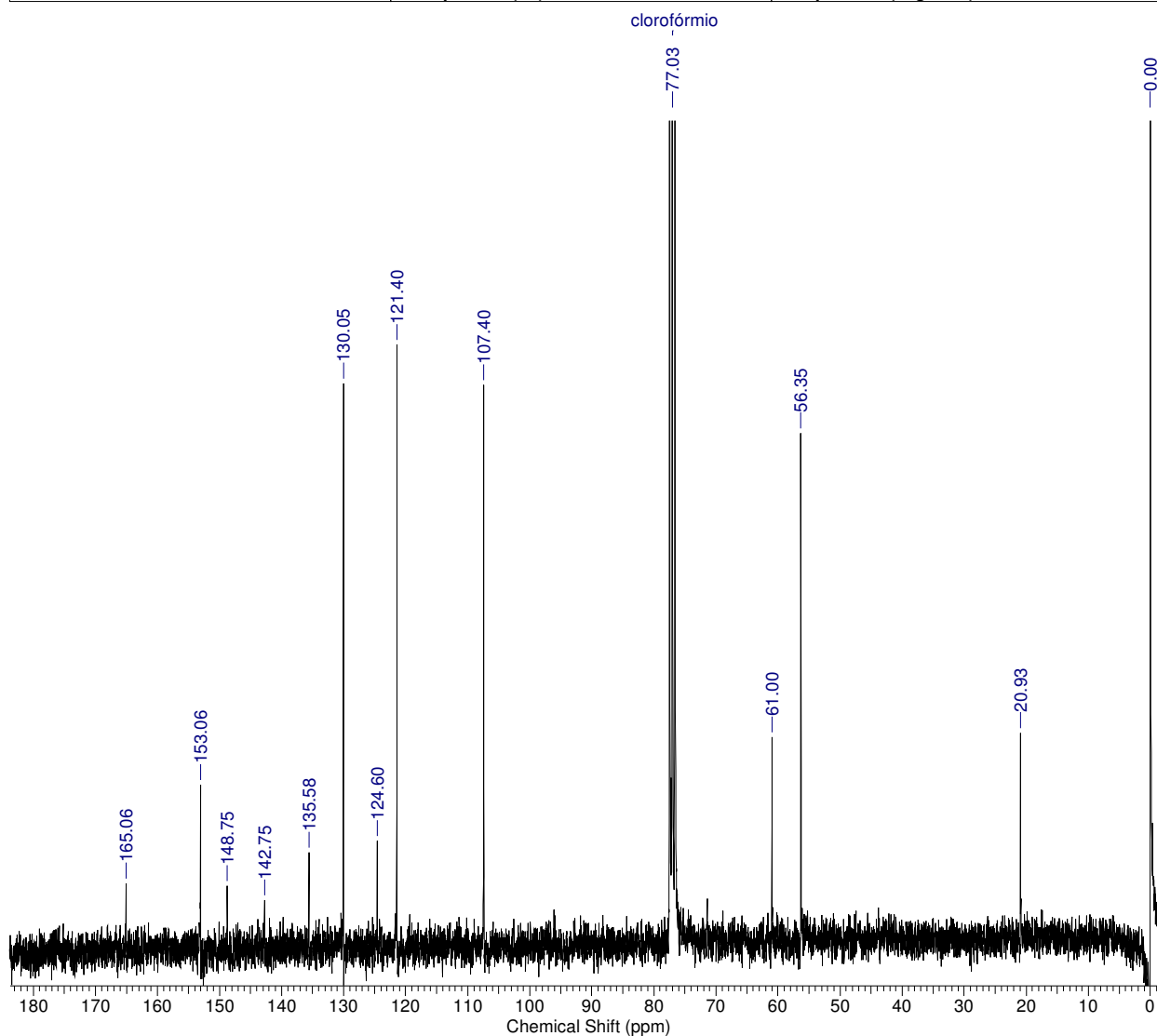
7 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	24 Mar 2009 16:40:32		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS56\CS56_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 61: RMN de ¹H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) em CDCl₃

12 Dec 2009

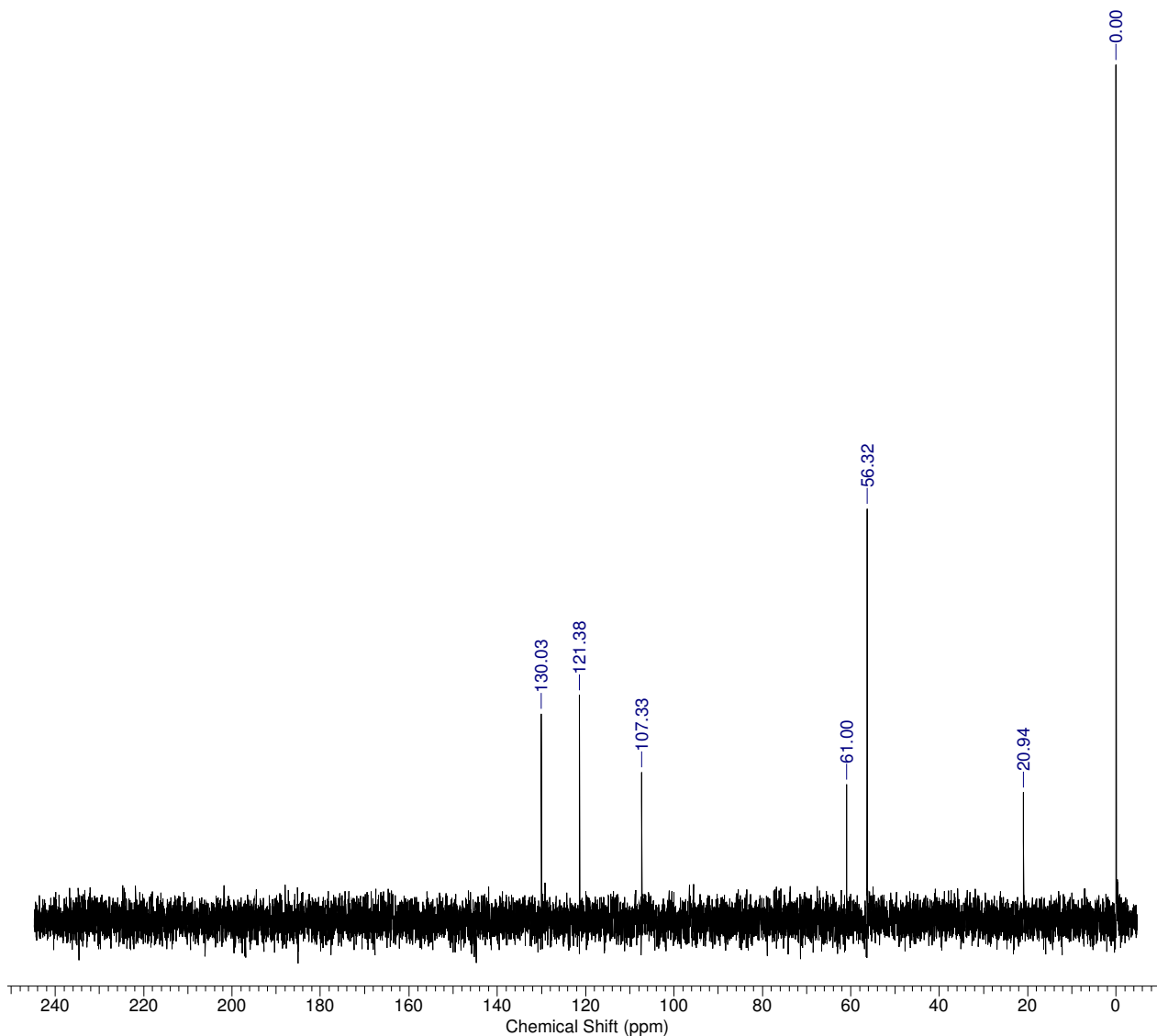
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	15 Apr 2009 12:30:56		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS59\CS59_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	5157
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

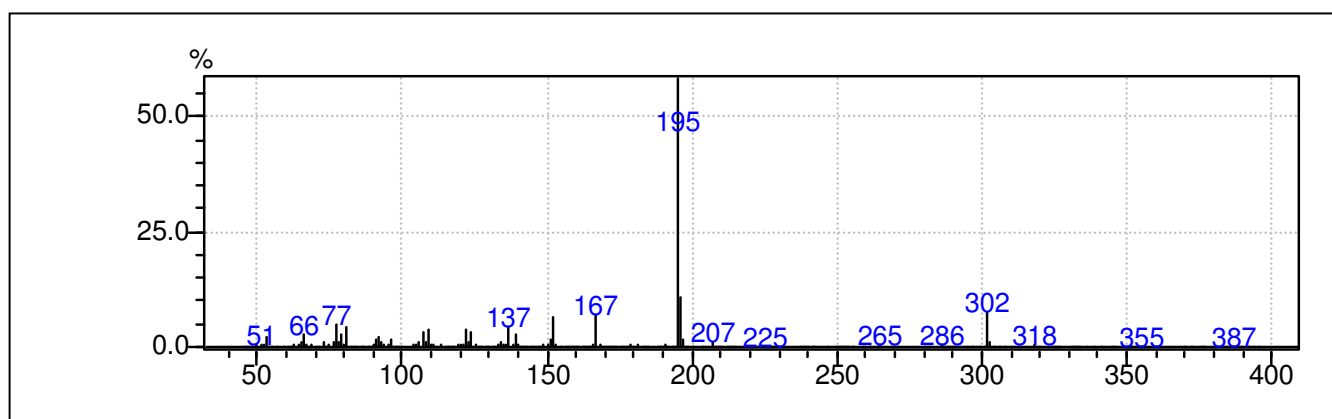


Espectro 62: RMN de ^{13}C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) em CDCl_3

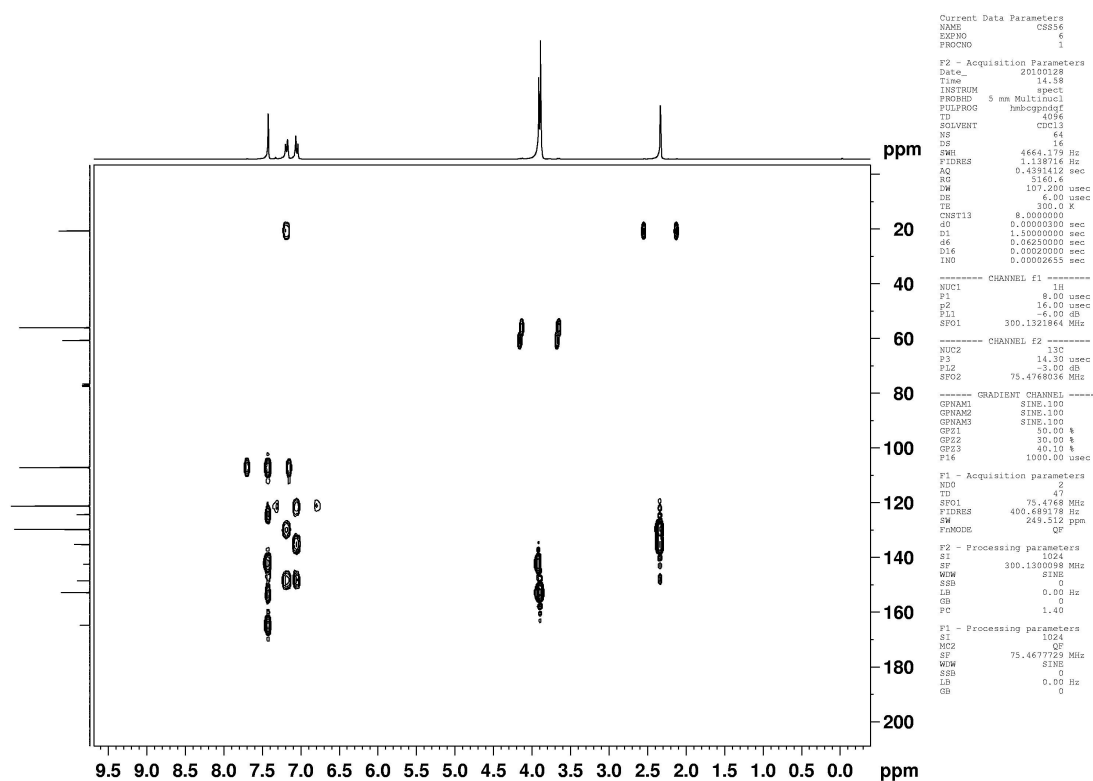
13 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	15 Apr 2009 12:09:36	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS59\CS59_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients 353
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000

**Espectro 63: DEPT-135° do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) em CDCl₃**

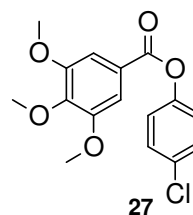


Espectro 64: Espectro de Massas do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26)



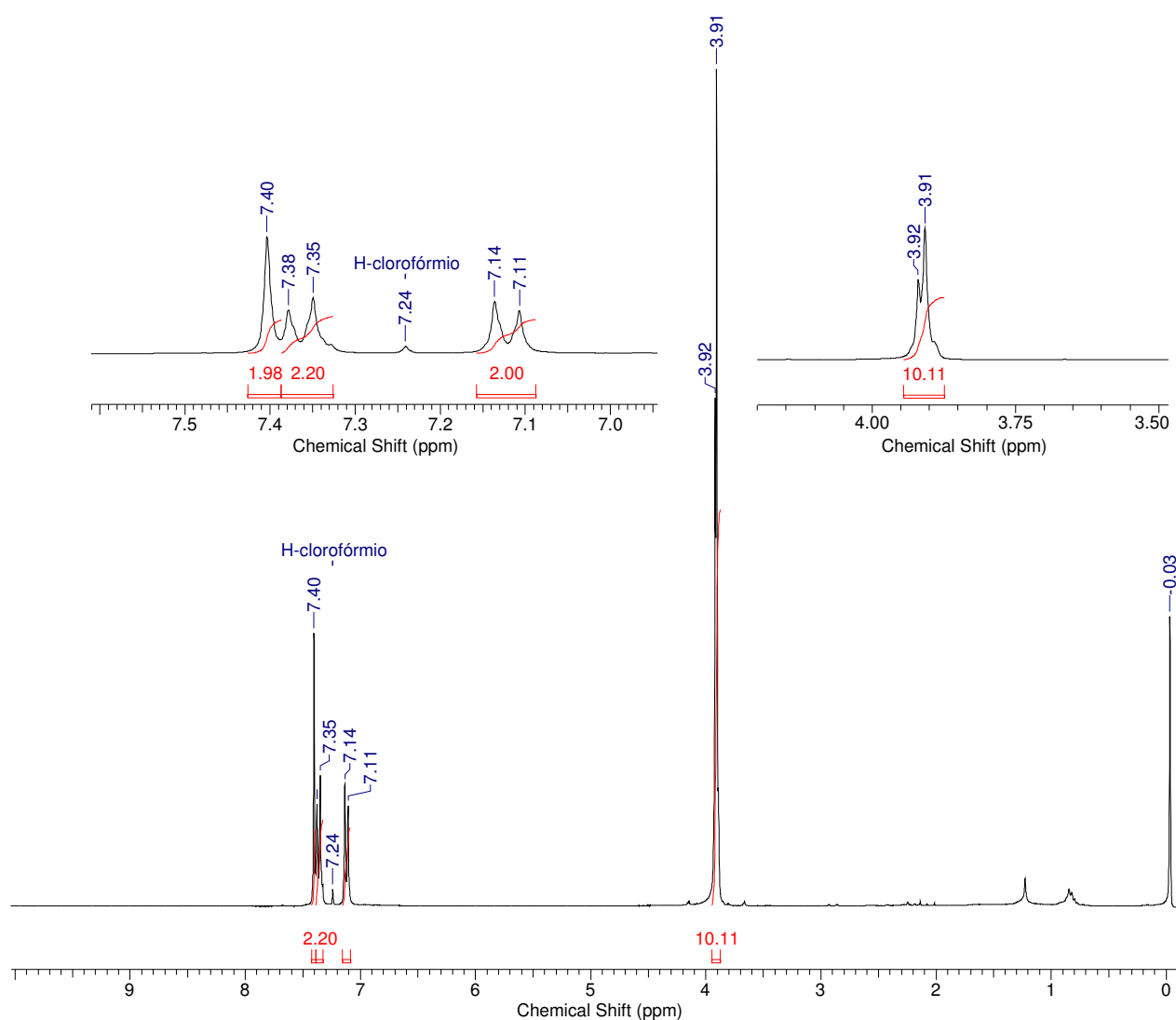
Espectro 65: HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26) em CDCl₃

7.17. 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27)



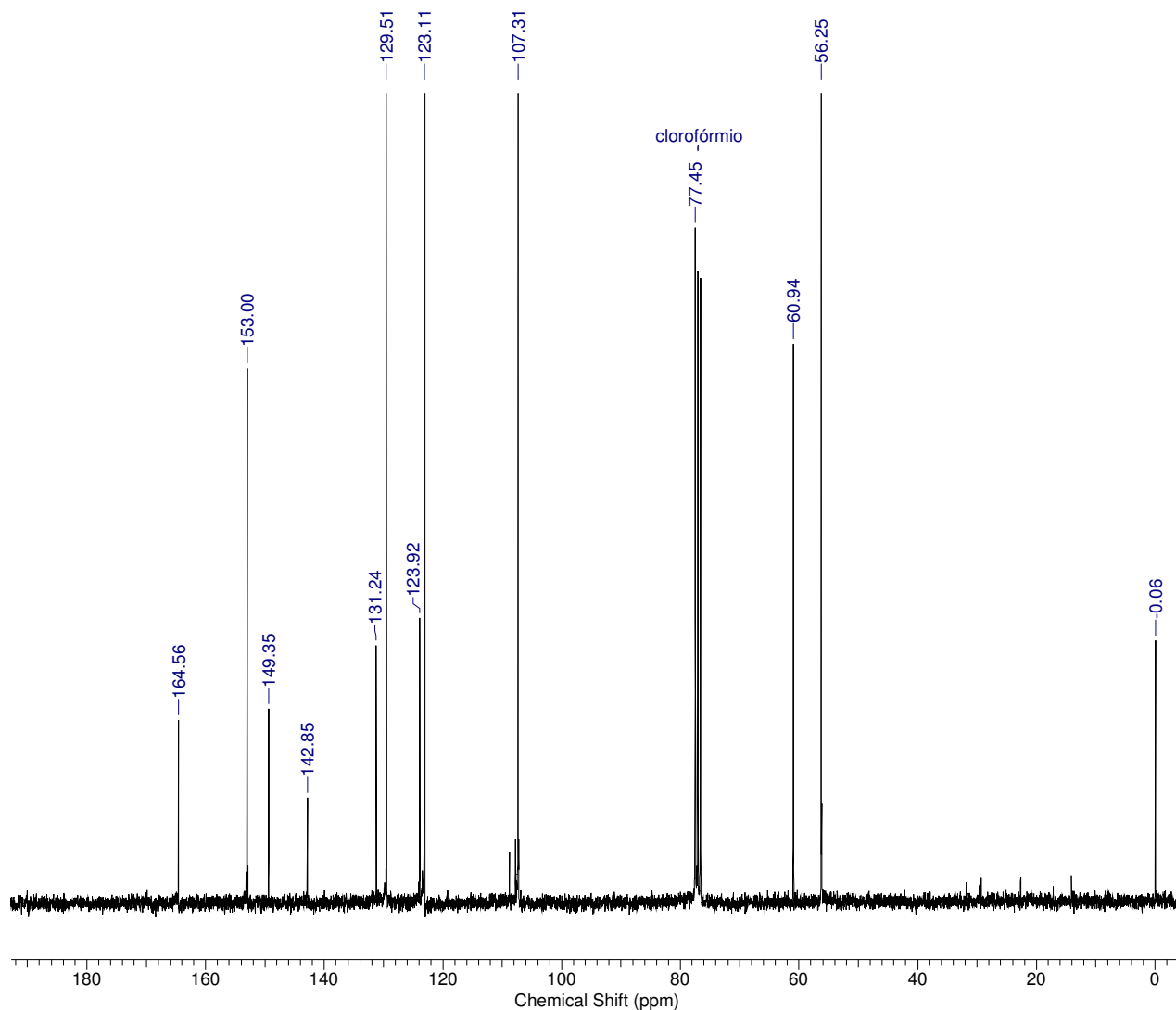
3 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	14 Jul 2009 10:57:04
File Name	D:\camila (G)\CS FID RMN\CS71\CS71_001000fid	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	¹ H	Number of Transients	8
Points Count	32768	Original Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	4664.18	Pulse Sequence	zg
		Solvent	CHLOROFORM-D
		Temperature (degree C)	27.000

Espectro 66: RMN de ¹H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) em CDCl₃

12 Dec 2009

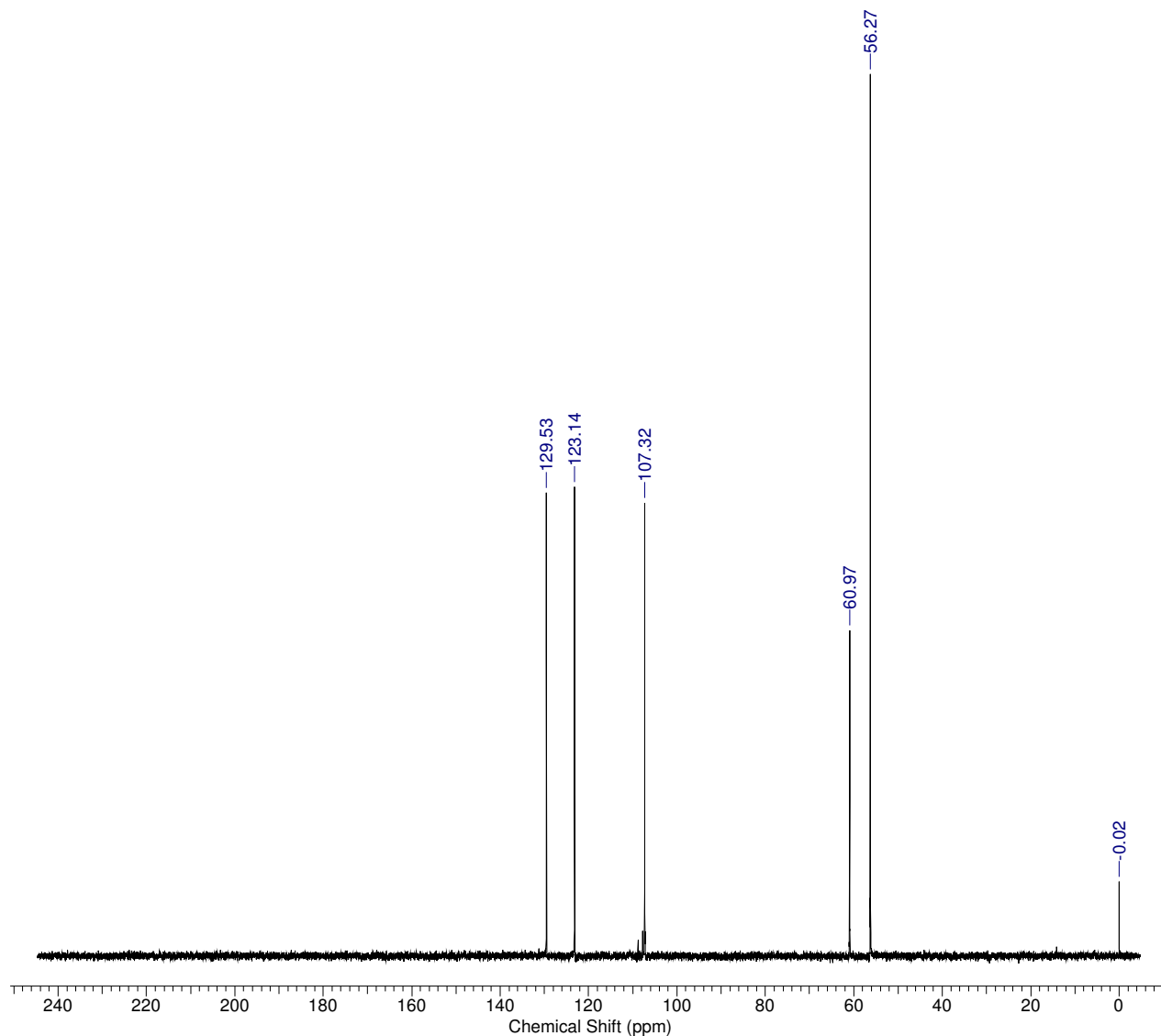
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	14 Jul 2009 11:22:40	
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS71\CS71_003000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 1095
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000



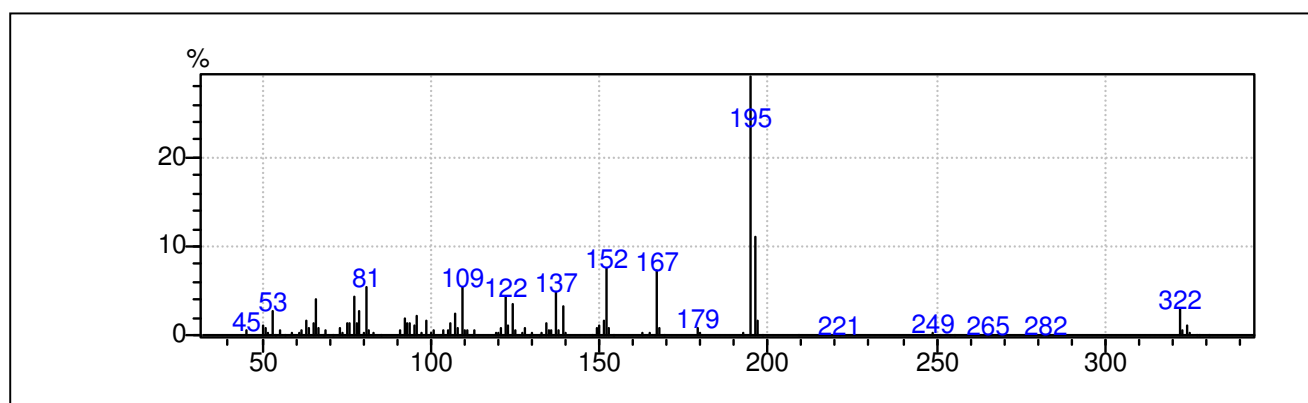
Espectro 67: RMN de ^{13}C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) em CDCl_3

13 Dec 2009

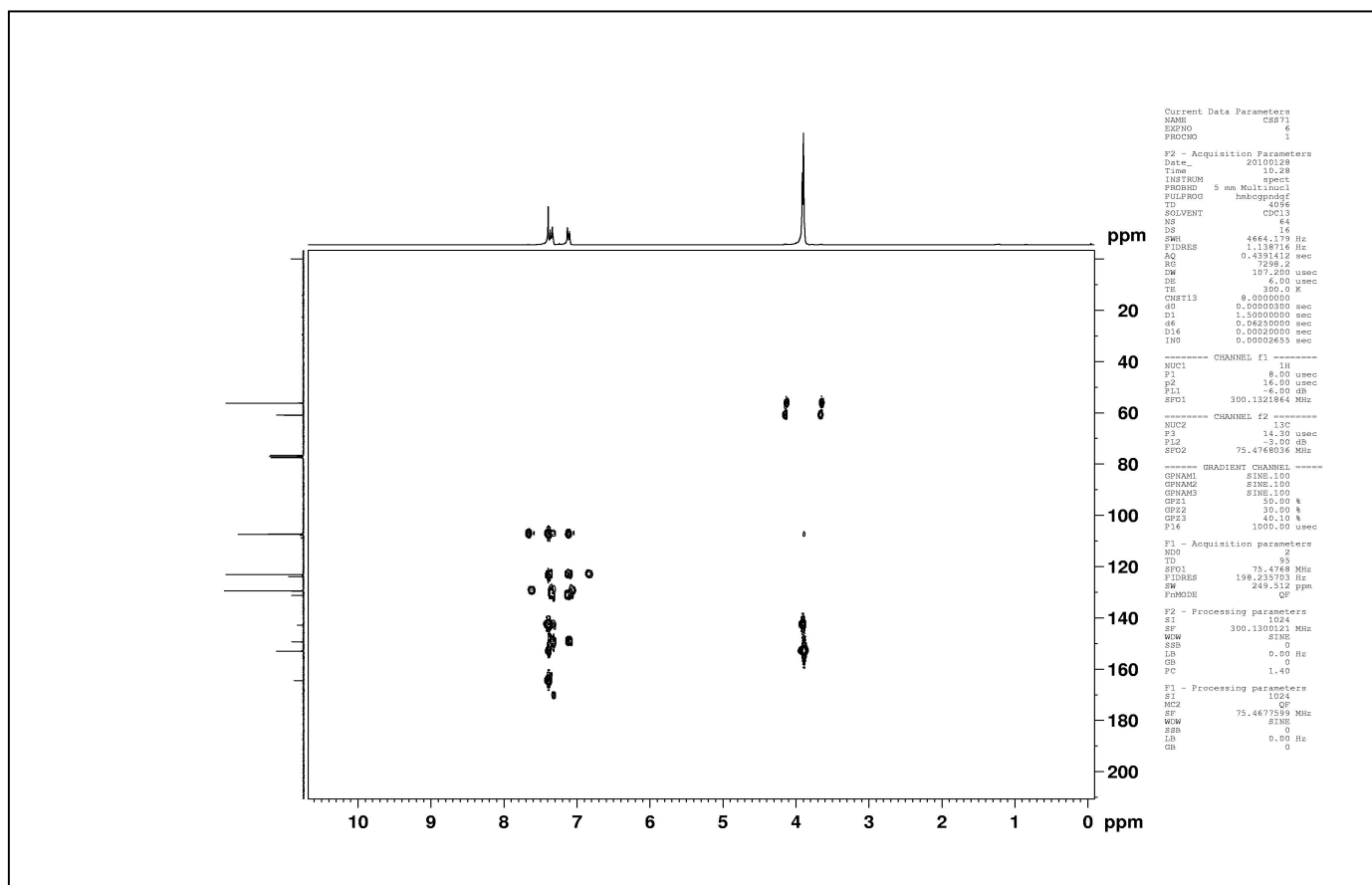
Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	14 Jul 2009 11:18:24		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\CS71\CS71_002000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients	284
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000



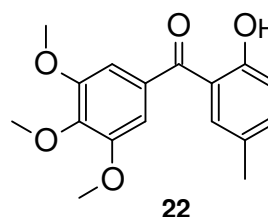
Espectro 68: DEPT-135° do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) em CDCl₃



Espectro 69: Espectro de Massas do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27)

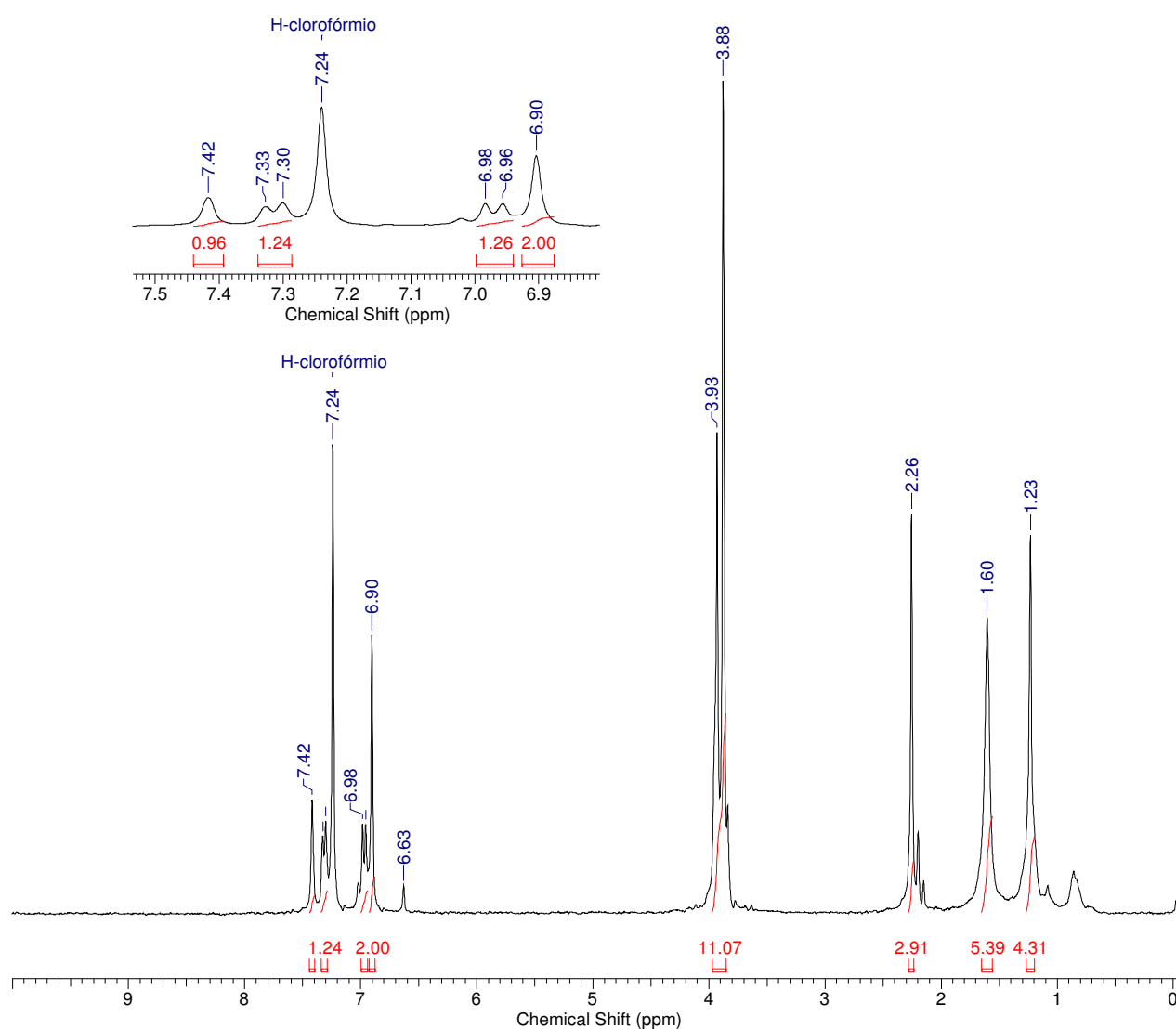
Espectro 70: HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27) em CDCl_3

7.18. 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22)



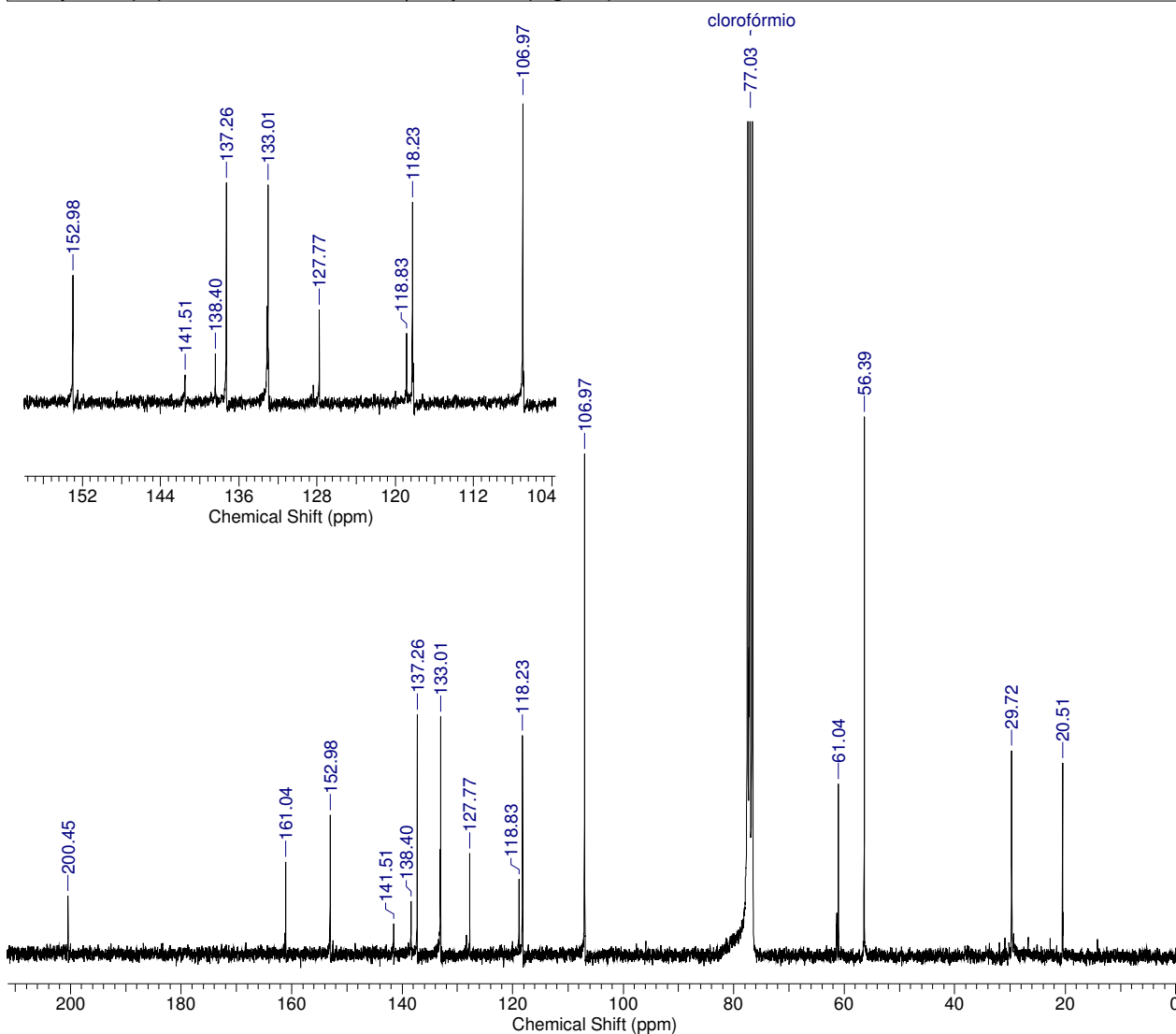
30 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	6.6454	Date	29 Oct 2009 18:12:16		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\FRIES3\FRIES3_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	1
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4930.97	Temperature (degree C)	27.000

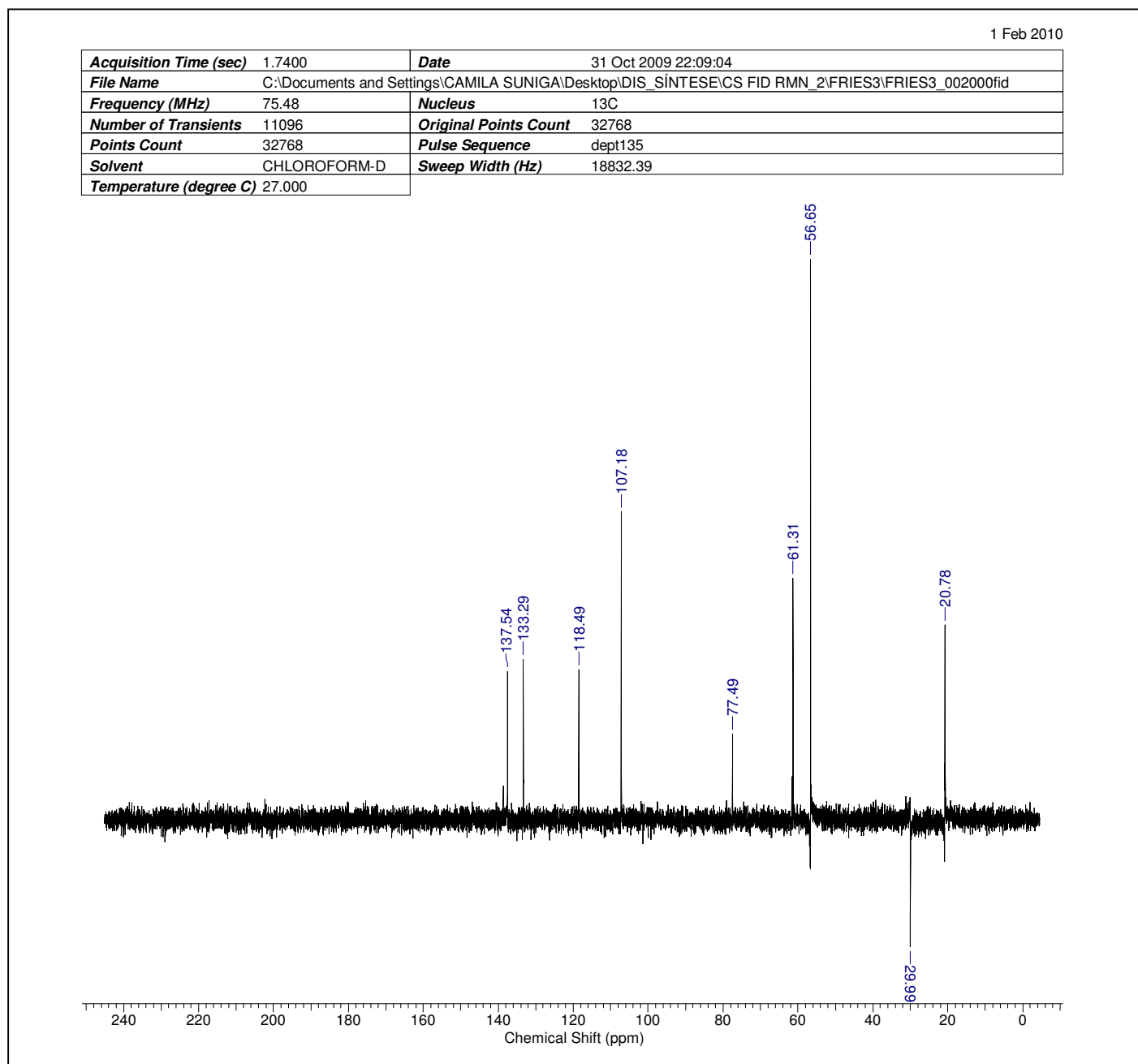
Espectro 71: RMN de ^1H do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl_3

30 Dec 2009

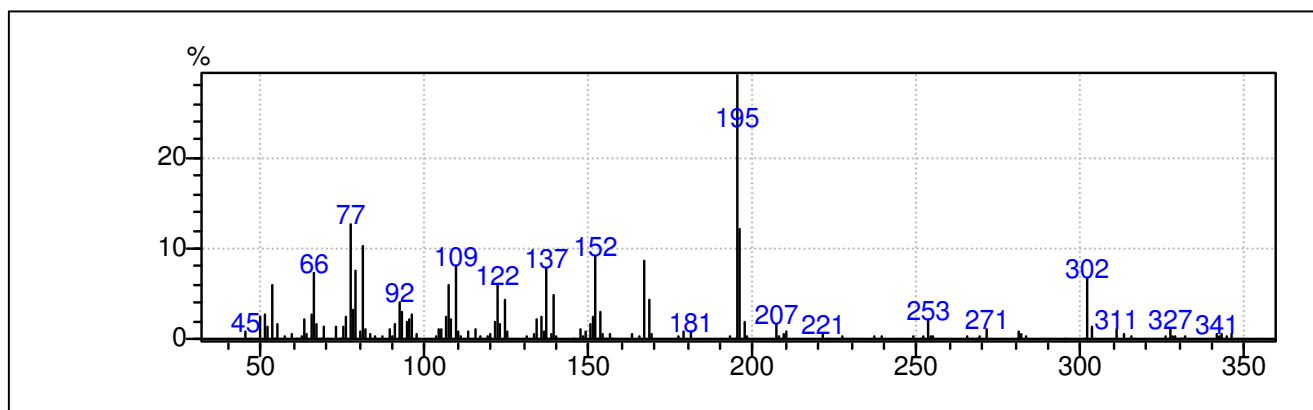
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	02 Nov 2009 11:54:40
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN\FRIES3\FRIES3_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Pulse Sequence	zgpg30	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000



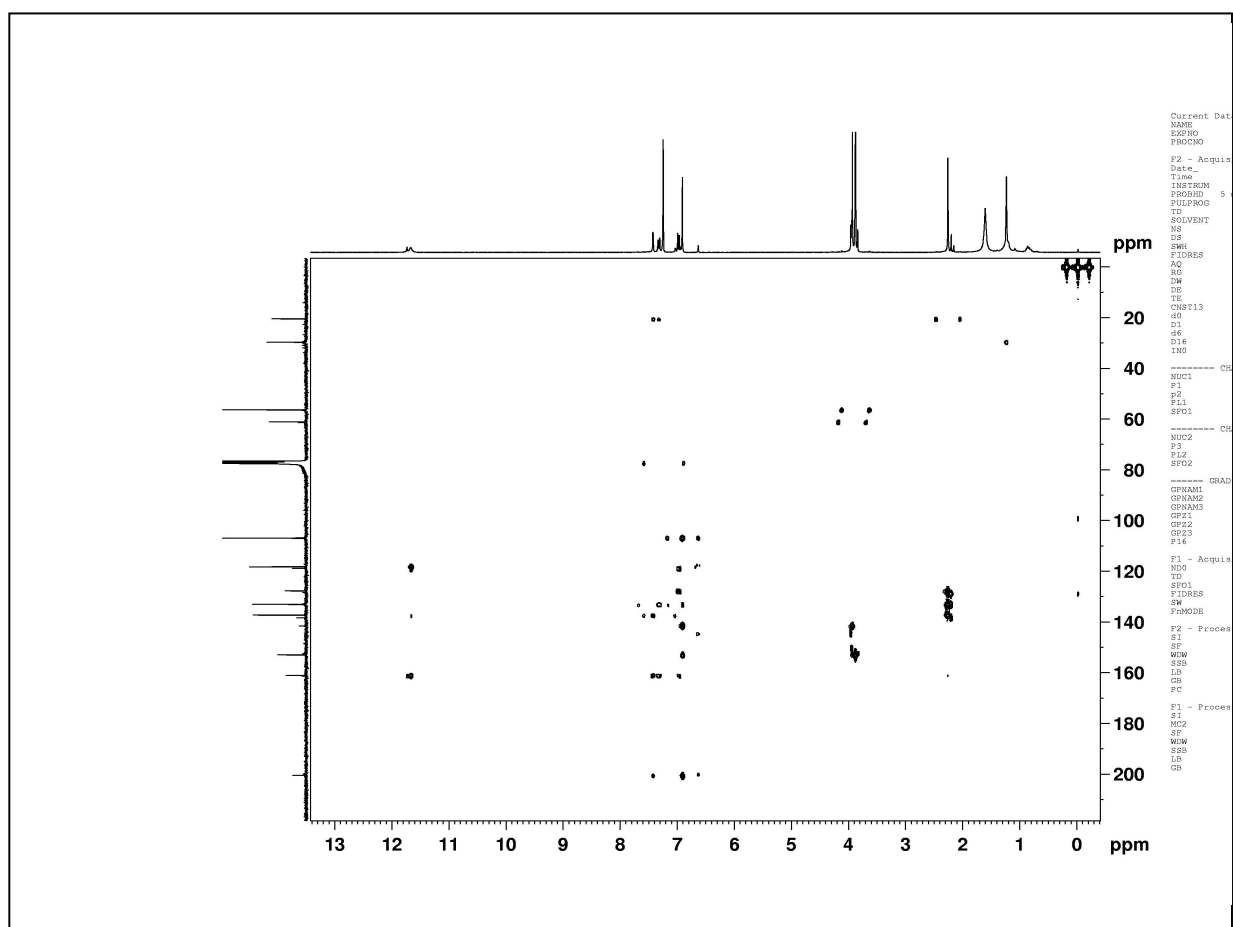
Espectro 72: RMN de ¹³C do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl₃



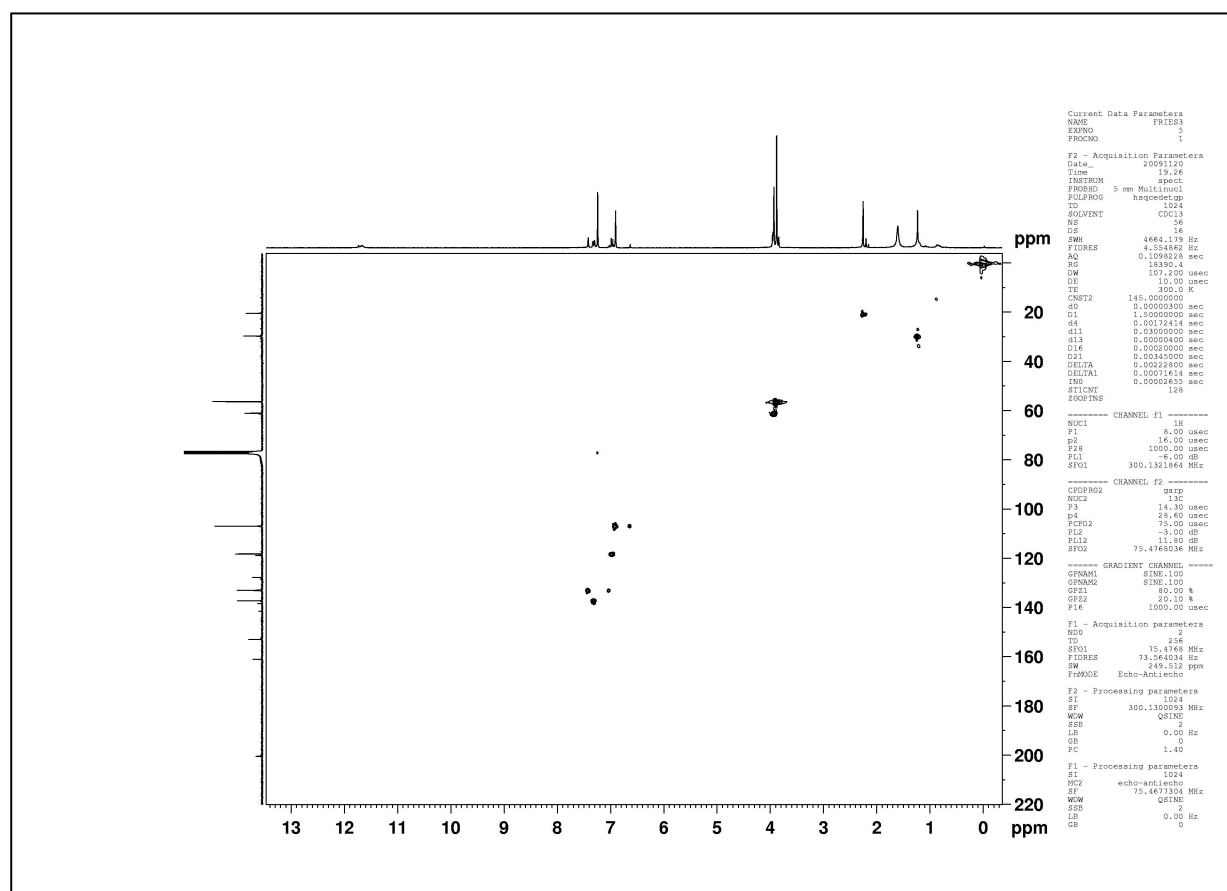
Espectro 73: DEPT-135° do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl₃



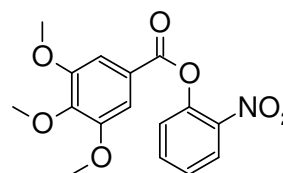
Espectro 74: Espectro de Massas do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22)



Espectro 75: HMBC do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl_3

Espectro 76: HMQC do 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22) em CDCl₃

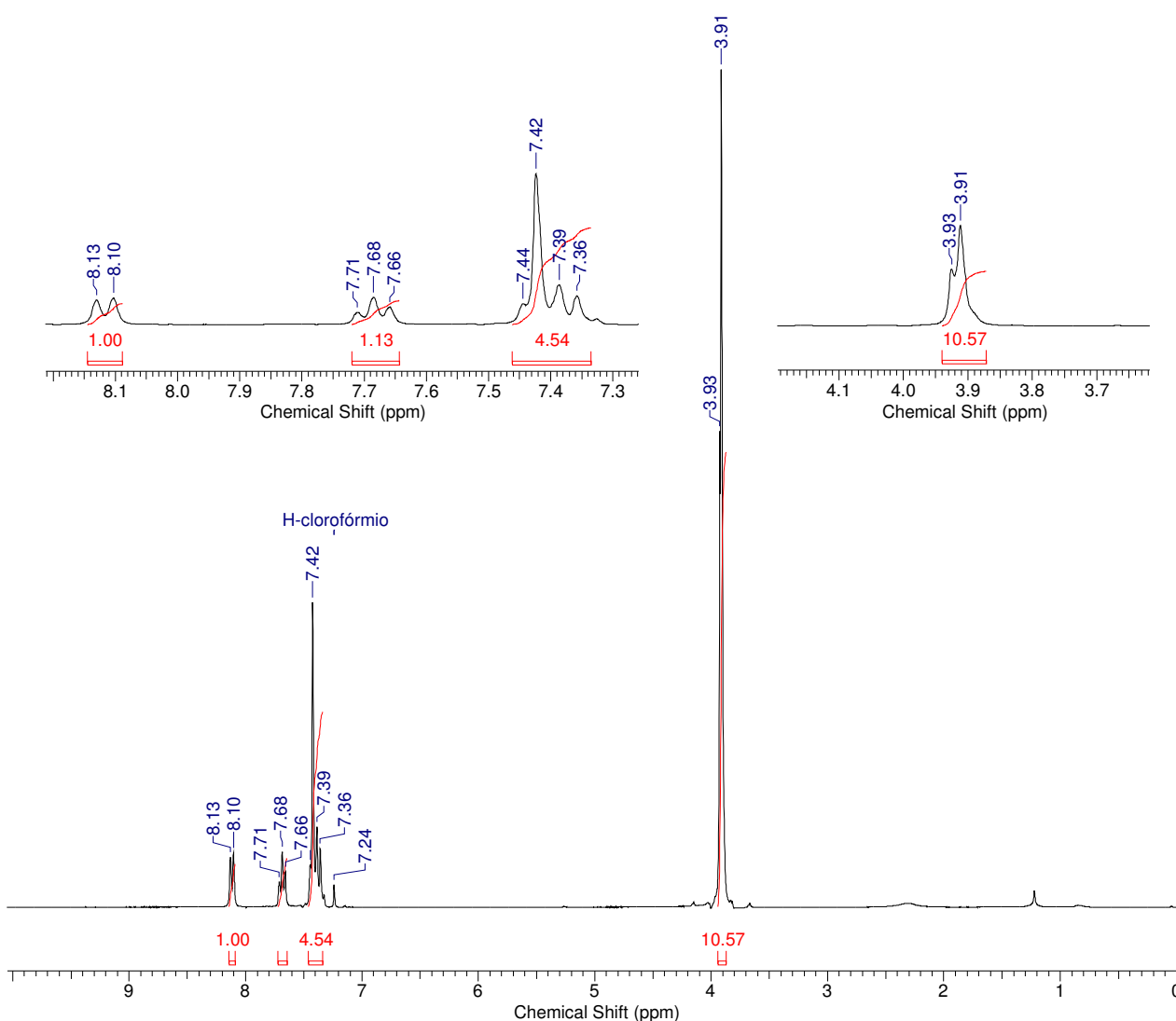
7.19. 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29)



29

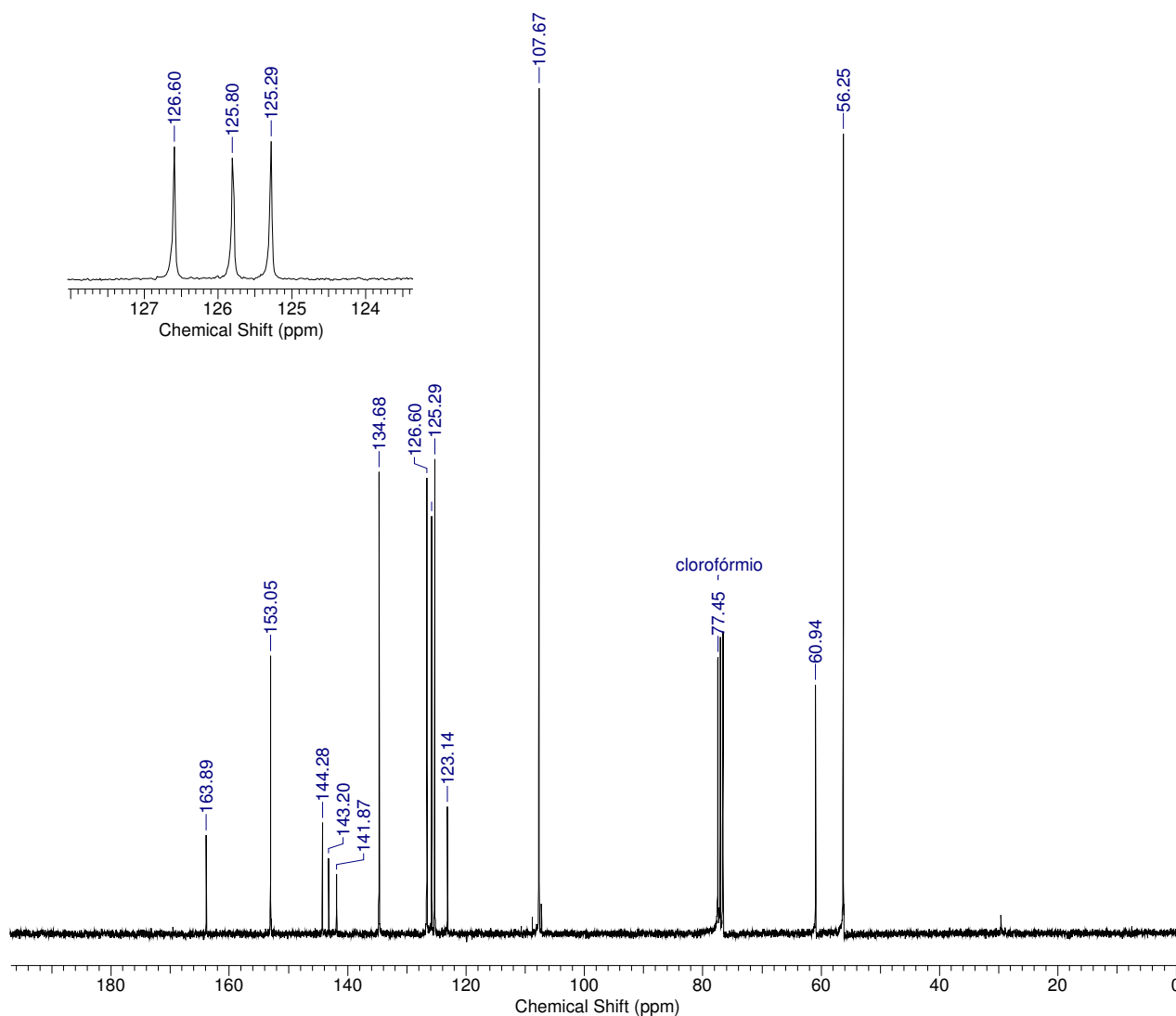
12 Dec 2009

Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	24 Nov 2009 10:29:20		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS SÍNTESE\CS FID RMN 2\CS88\CS88_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18	Temperature (degree C)	27.000

Espectro 77: RMN de ^1H do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl_3

12 Dec 2009

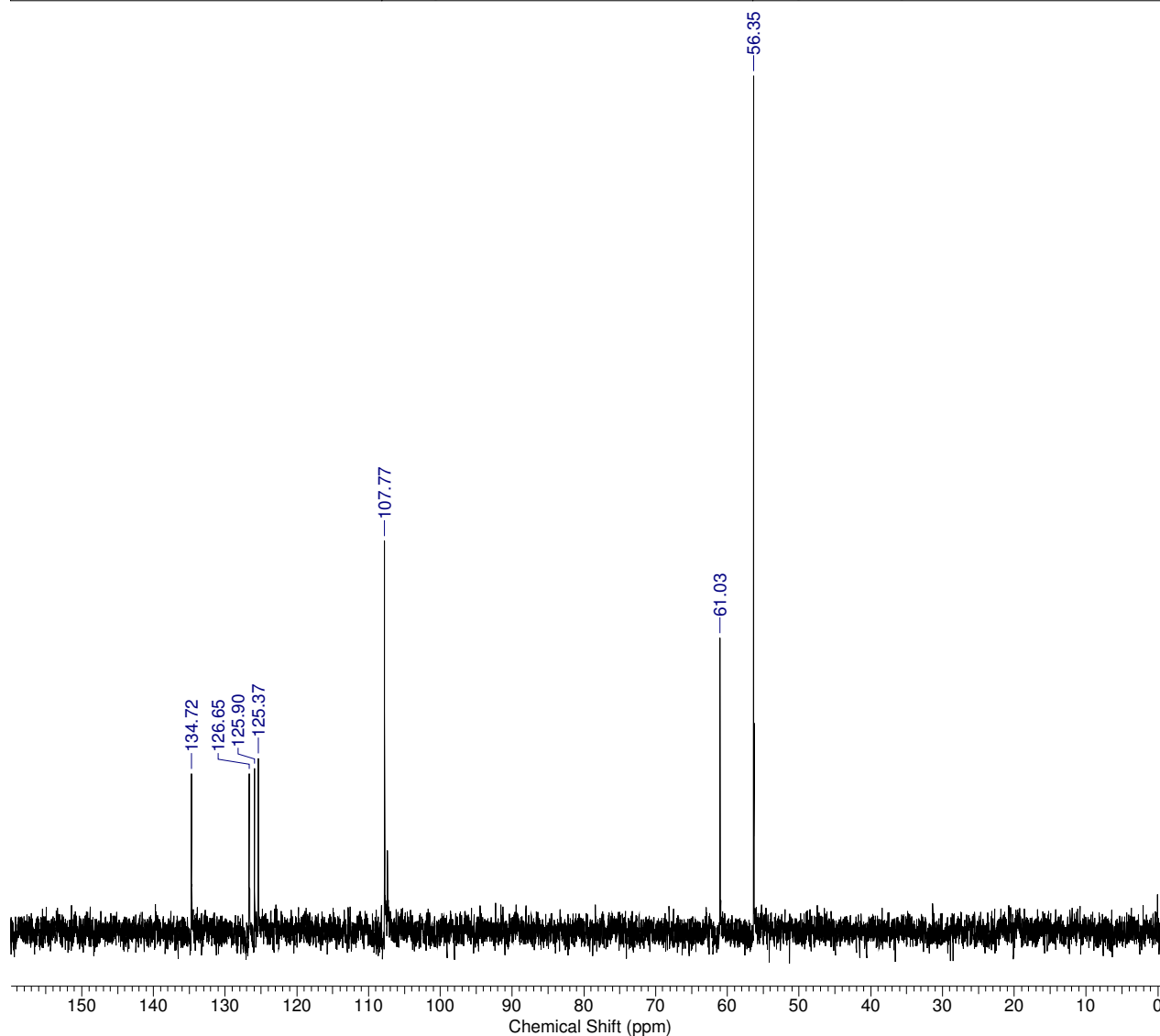
Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	03 Dec 2009 16:53:20		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SÍNTESE\CS FID RMN_2\CS88\CS88_003000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	2867
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

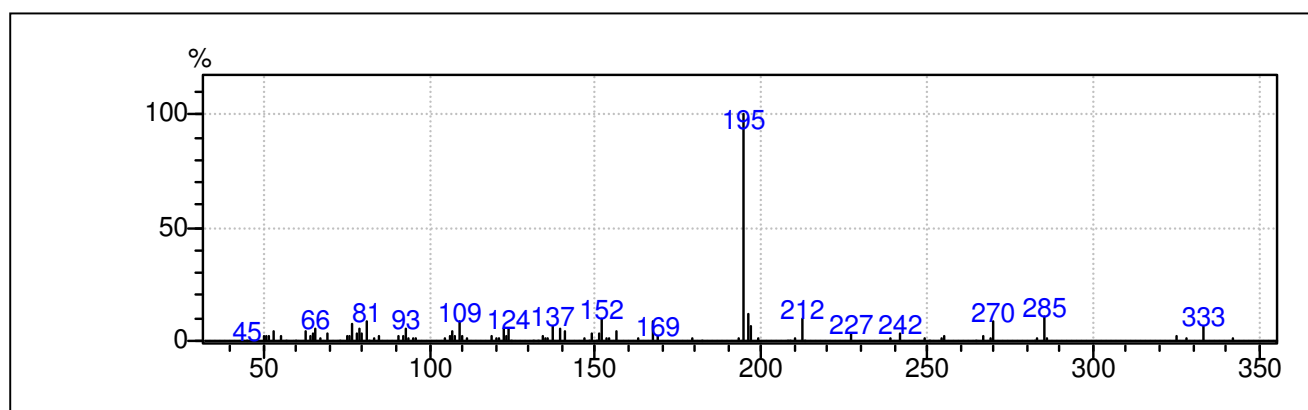


Espectro 78: RMN de ¹³C do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl₃

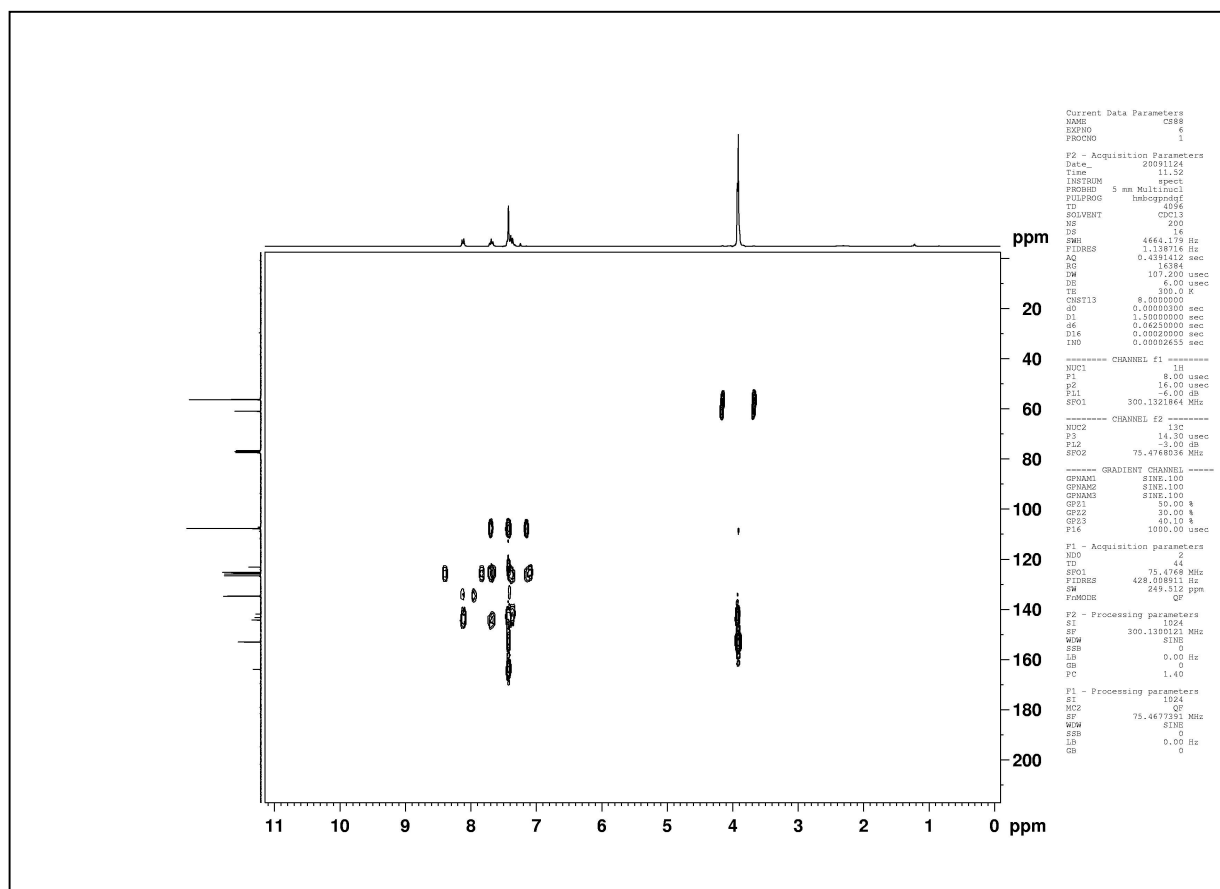
13 Dec 2009

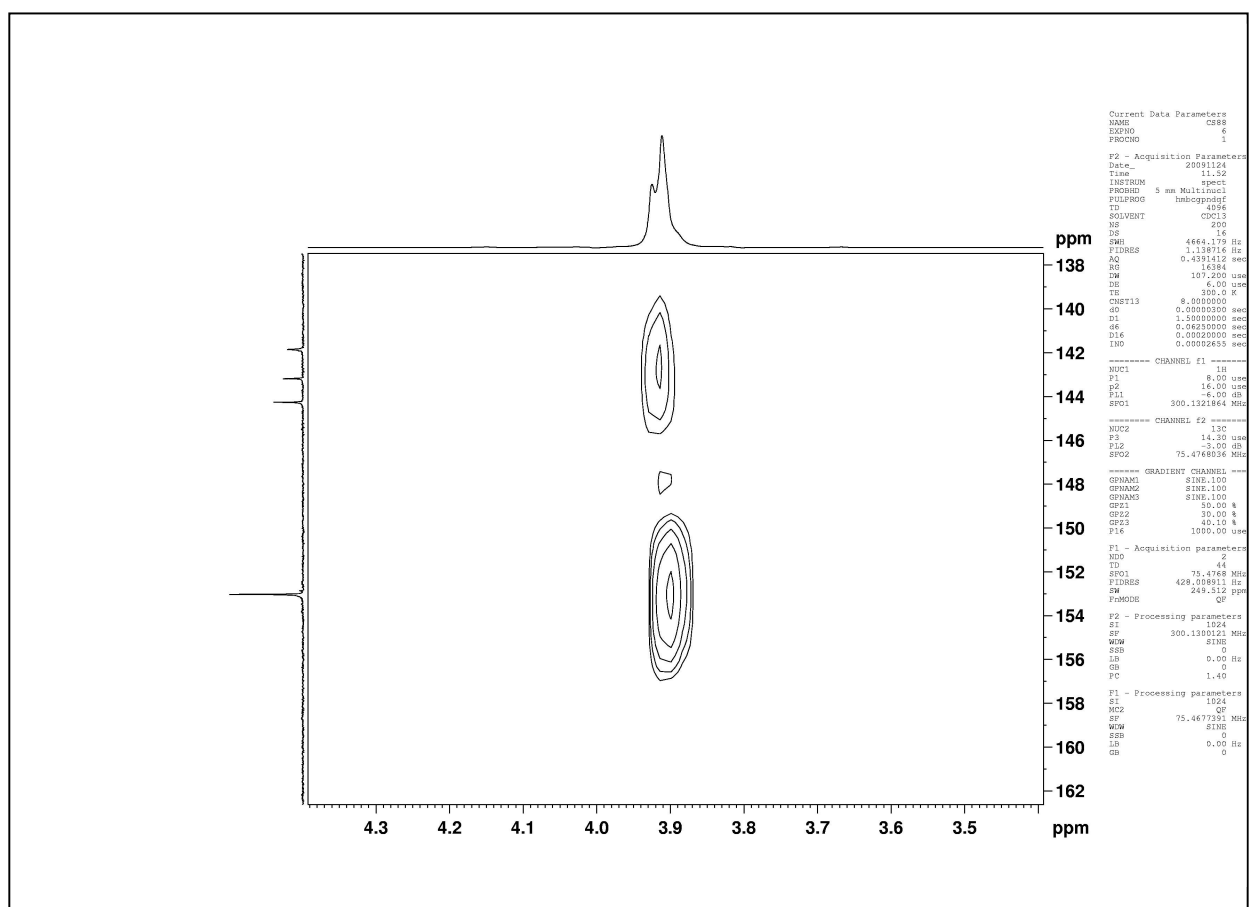
Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	04 Jun 2009 14:49:36		
File Name	C:\Documents and Settings\CAMILA SUNIGA\Desktop\DIS_SINTESE\CS FID RMN\CS65\CS65_002000.fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	1200
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	dept135
Solvent	MeOD	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

**Espectro 79: DEPT-135° do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl₃**

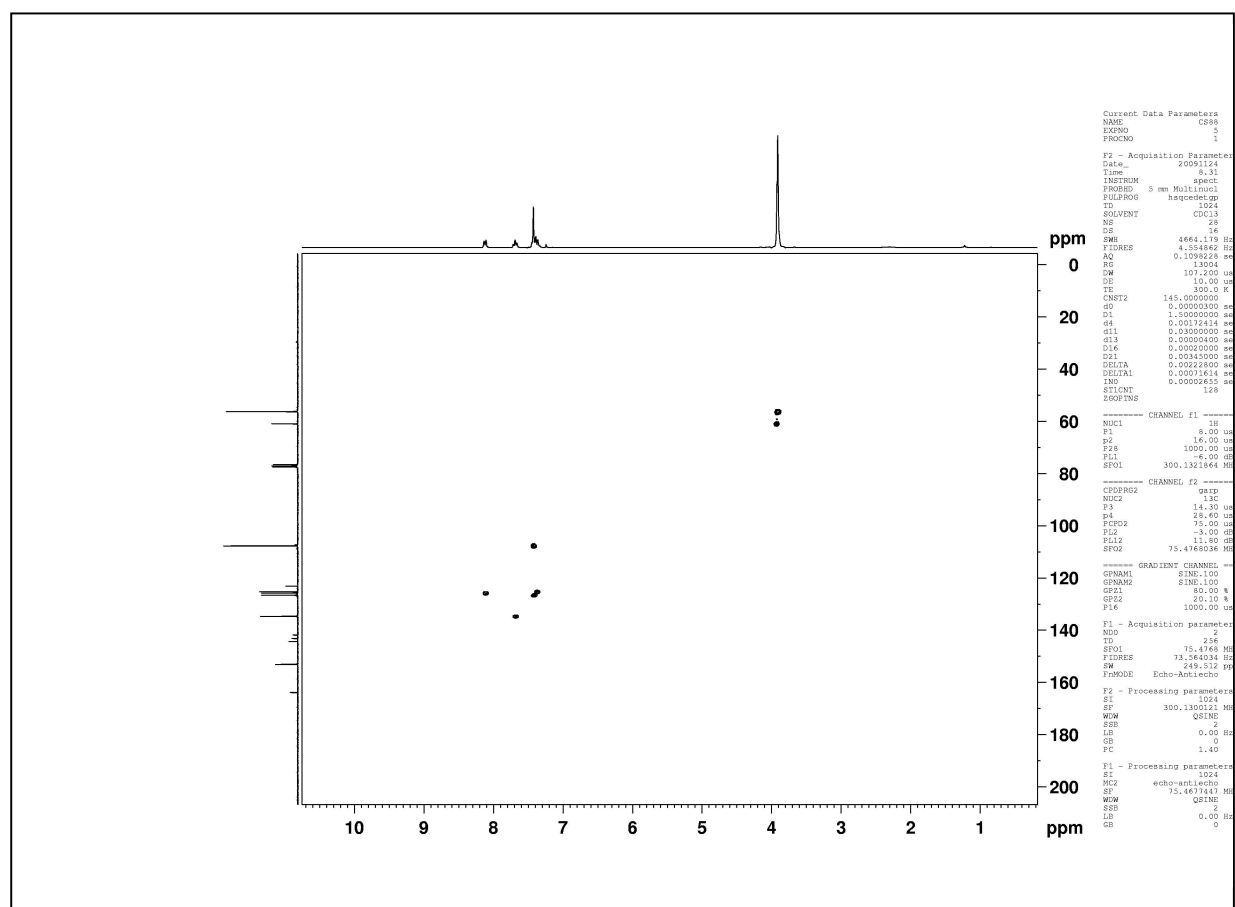


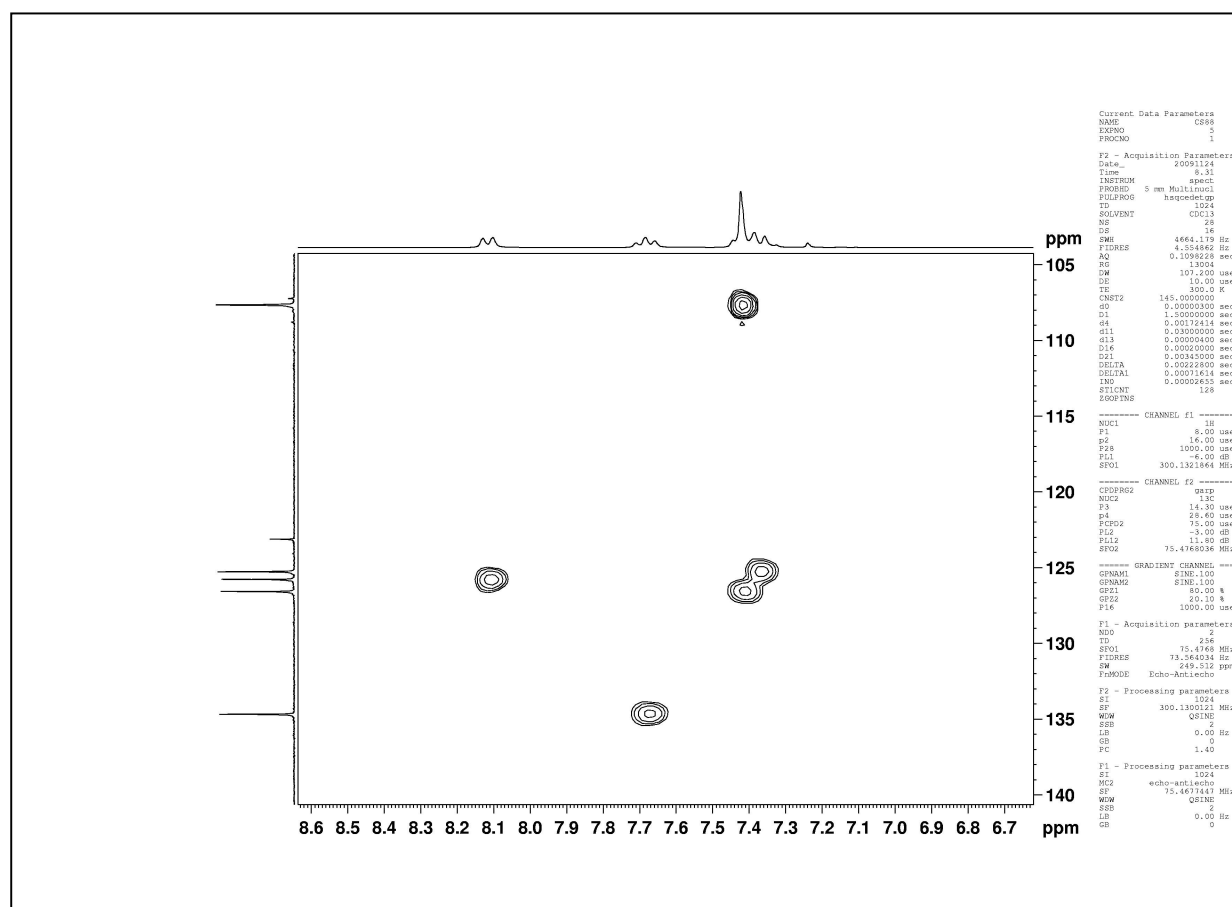
Espectro 80: Espectro de Massas do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29)

Espectro 81: HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl_3

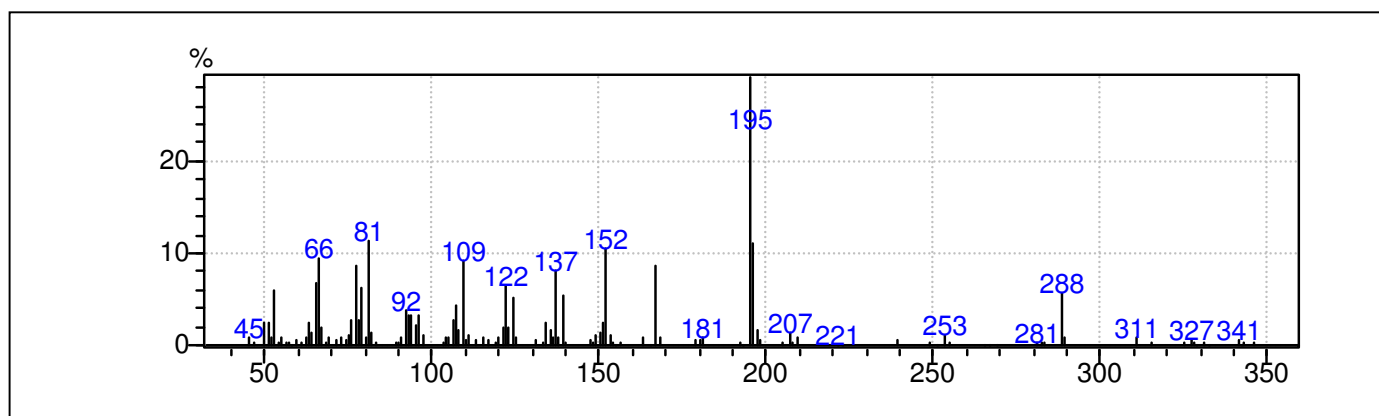
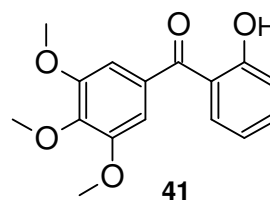
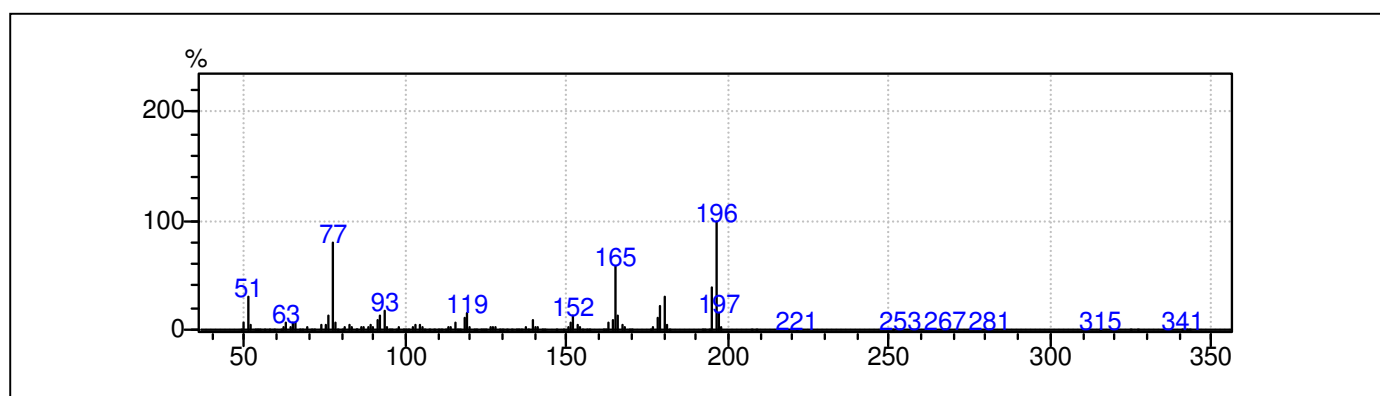
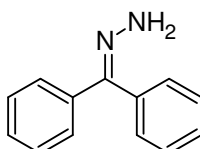


Espectro 82: Ampliação do HMBC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl₃

Espectro 83: HMQC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl_3

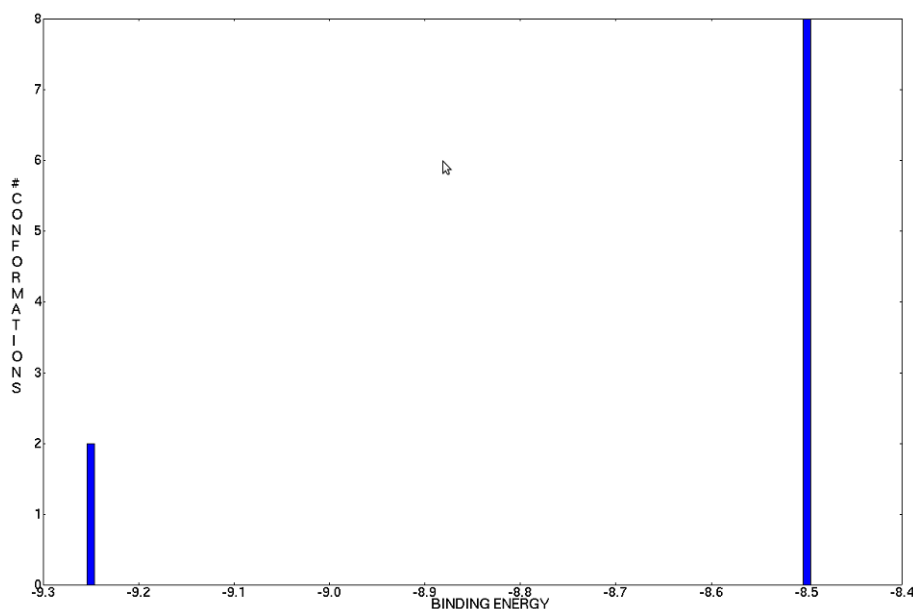


Espectro 84: Ampliação do HMQC do 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29) em CDCl₃

7.20. 2'-hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (41)**Espectro 85: Espectro de Massas do 2'-hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (41)****7.21. benzofenona hidrazona (37)****Espectro 86: Espectro de Massas do benzofenona hidrazona (37)**

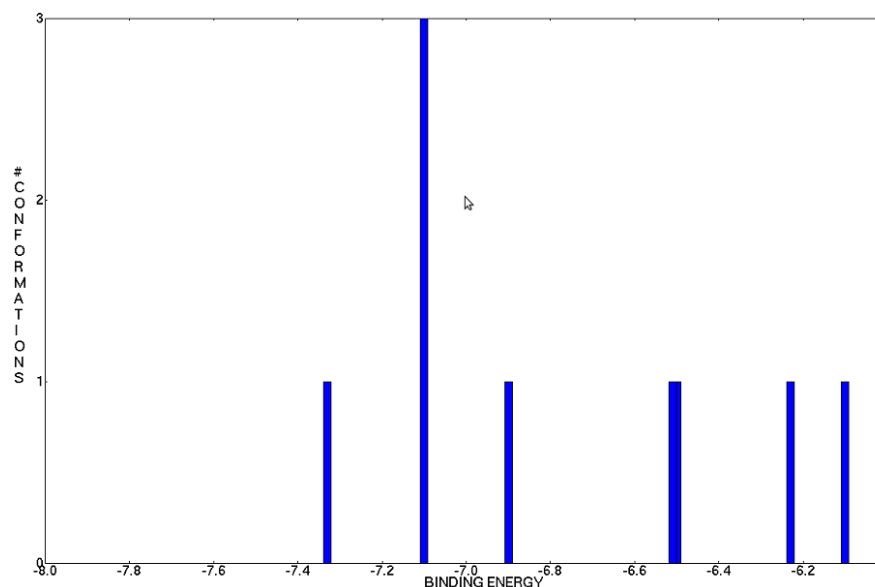
8.0. Seção de clusters

8.1. 2-mercapto-N-(1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxi-5,6,7,9-tetrahidro[a]heptalen-7-il)acetamida (CN2)



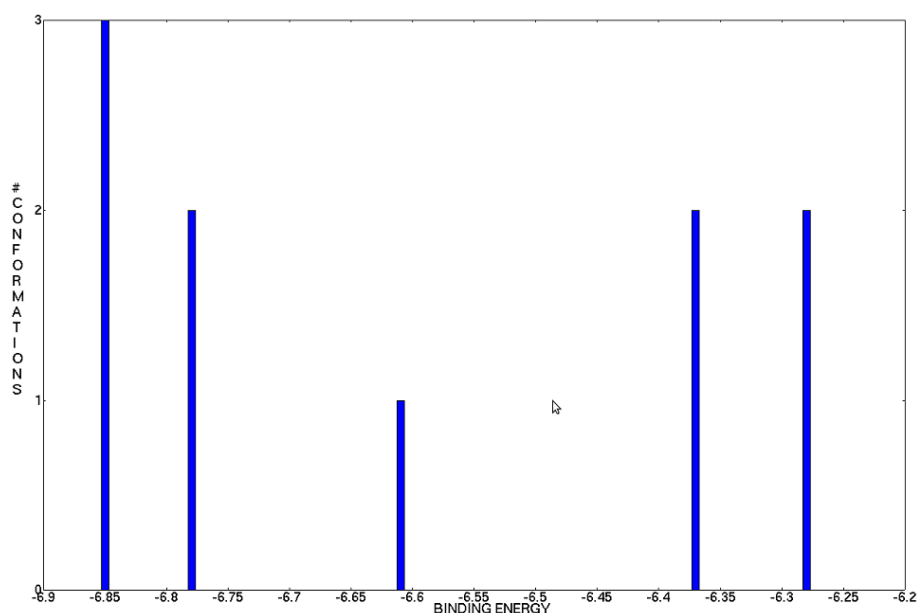
Cluster 1 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante CN2 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.2. Fenstatina (46)



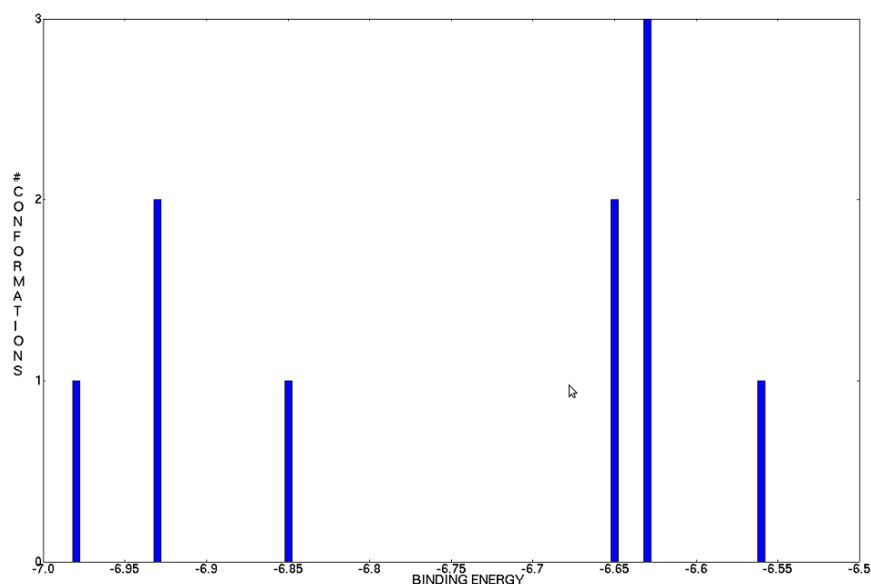
Cluster 2 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 46 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.3. 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona (2)



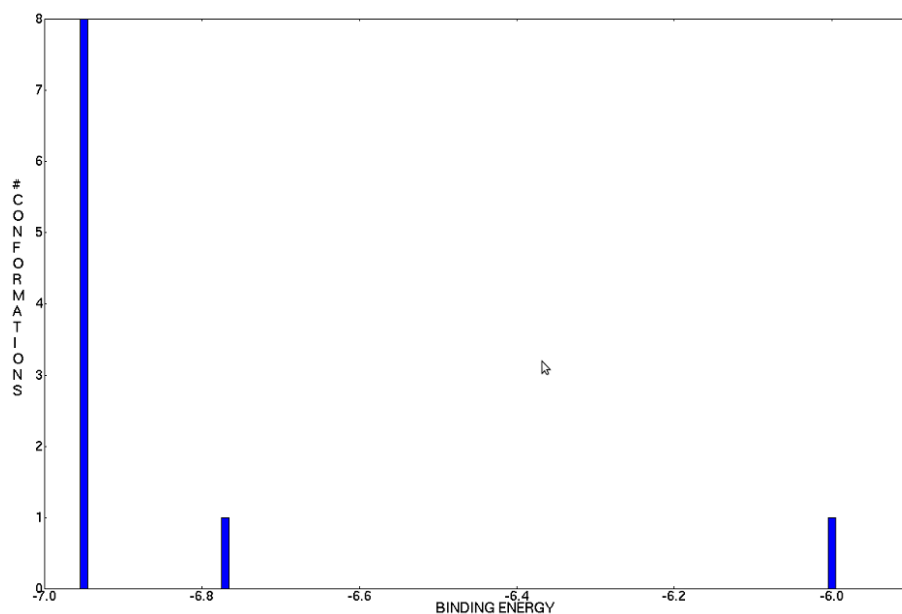
Cluster 3 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 2 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.4. 3,4',5-trimetoxibenzofenona (1)



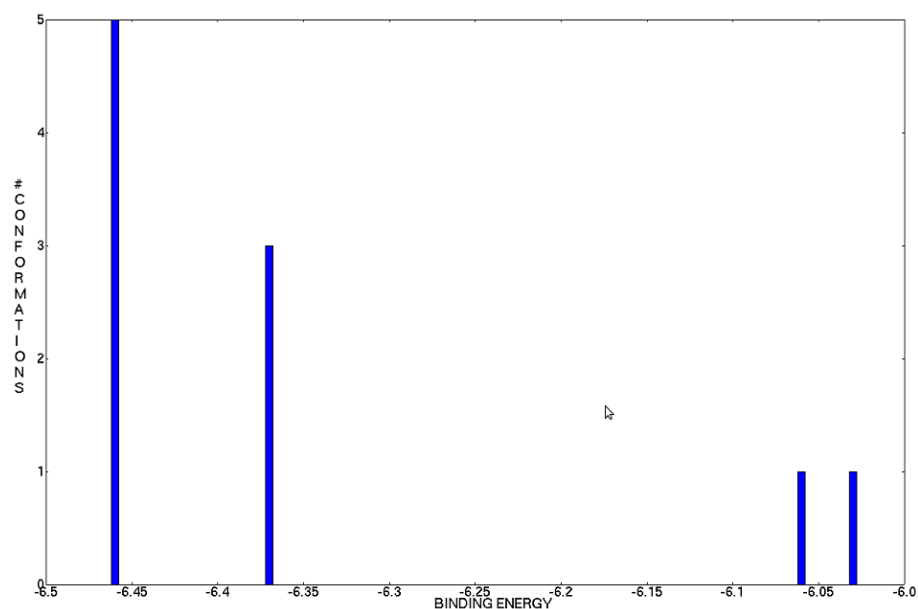
Cluster 4 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 1 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.5. 2'-hidroxi 3,4,5-trimetoxibenzofenona (41)



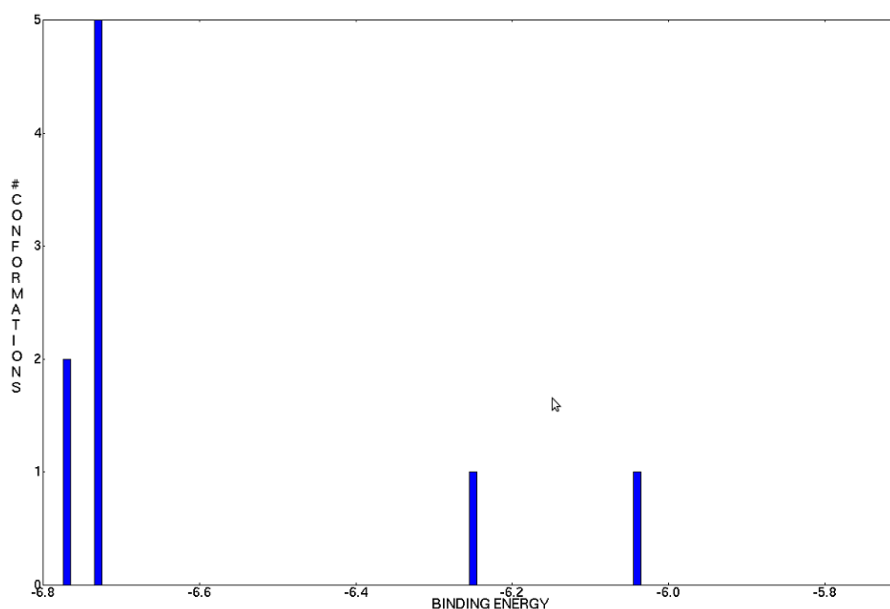
Cluster 5 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 41 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.6. 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28)



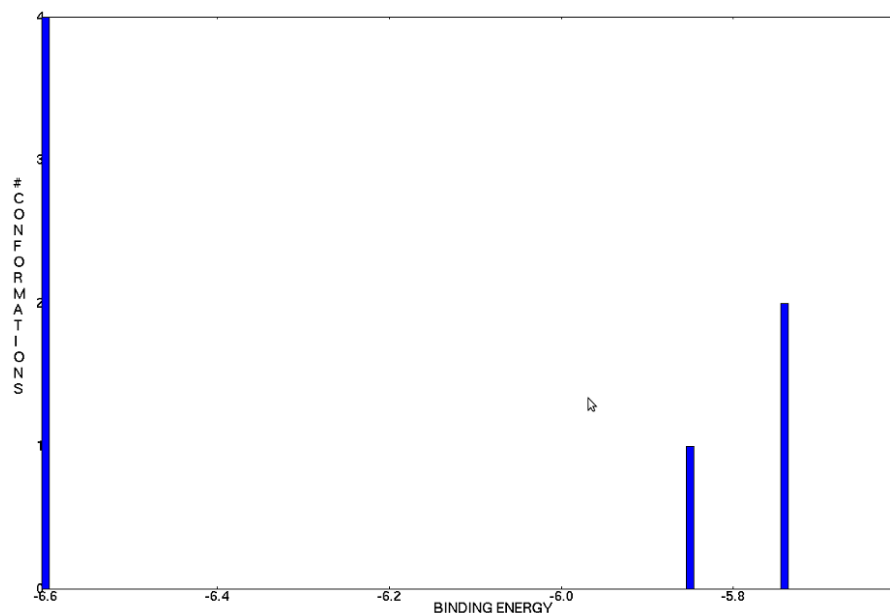
Cluster 6 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 28 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.7. 3,5-dimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (11)



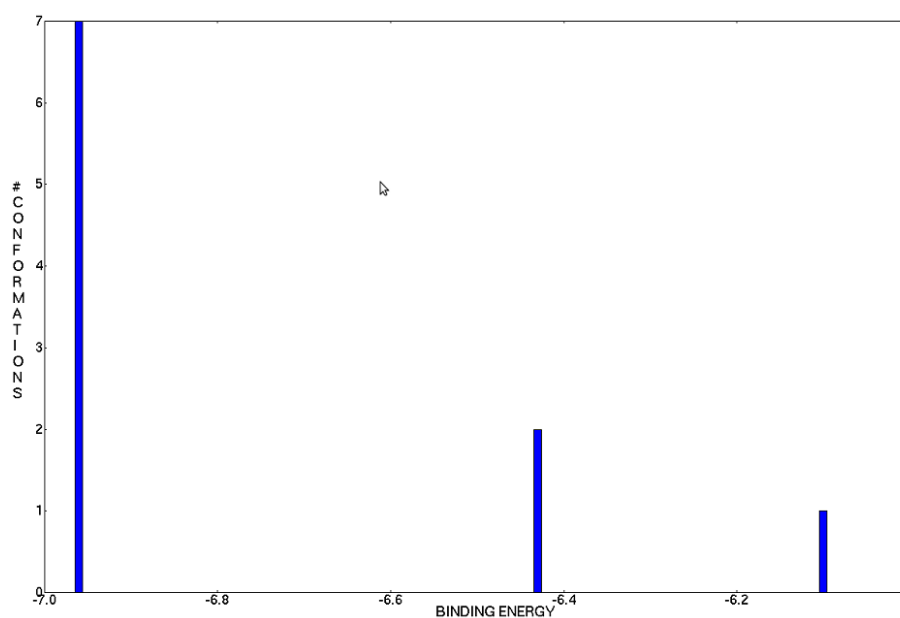
Cluster 7 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 11 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.8. 3,4,5-trimetoxibenzoato de 2-nitrofenila (29)



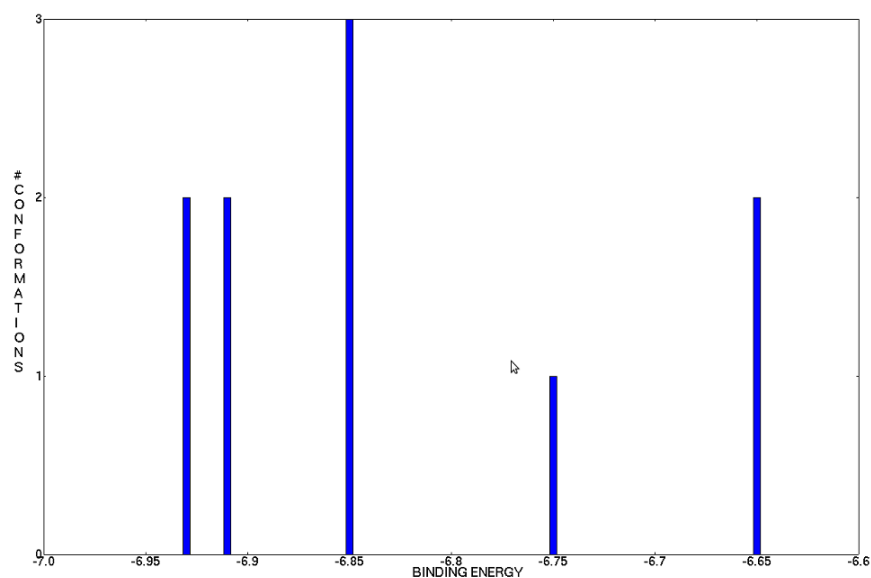
Cluster 8 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 29 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.9. 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-metilfenila (26)

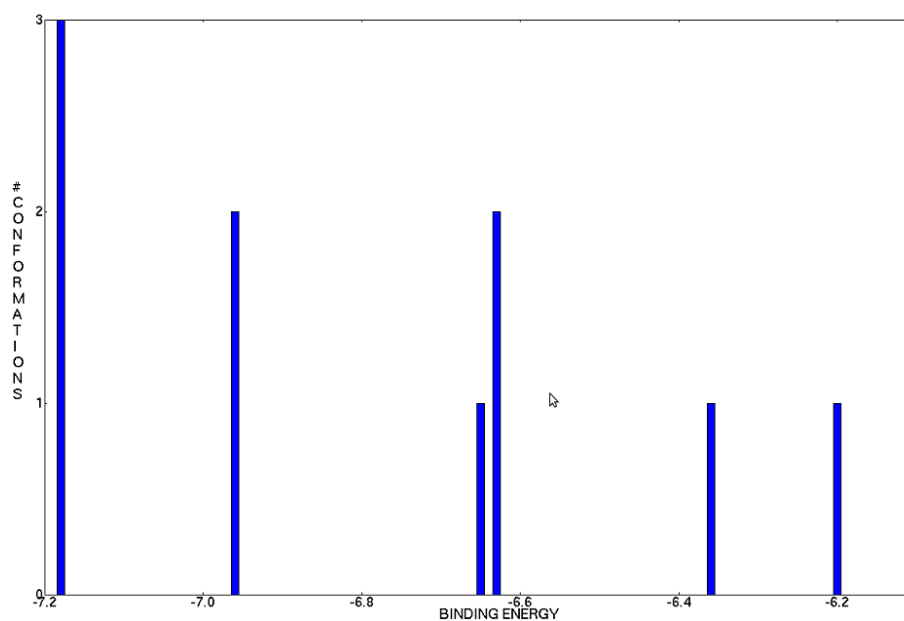


Cluster 9 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 26 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

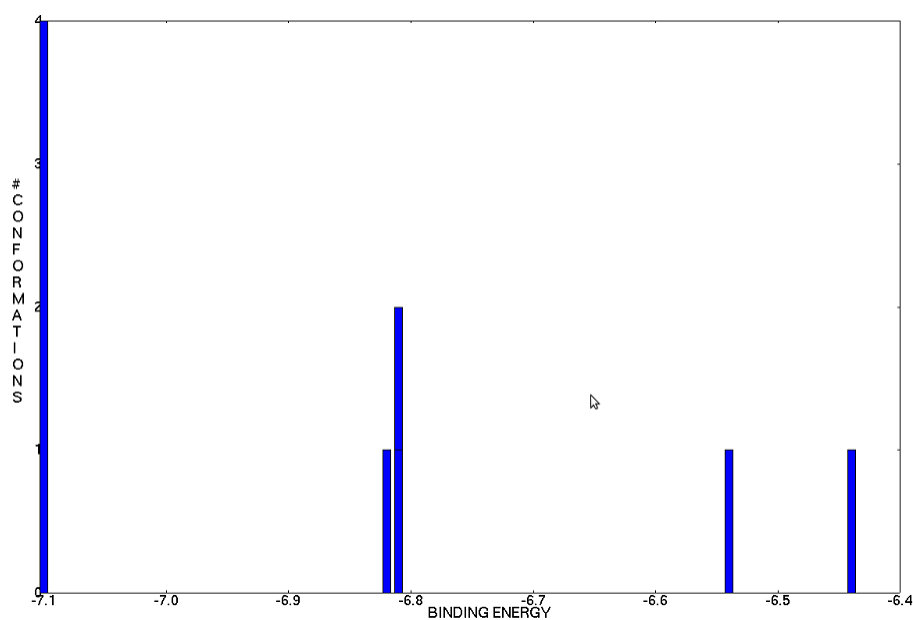
8.10. 4'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (3)



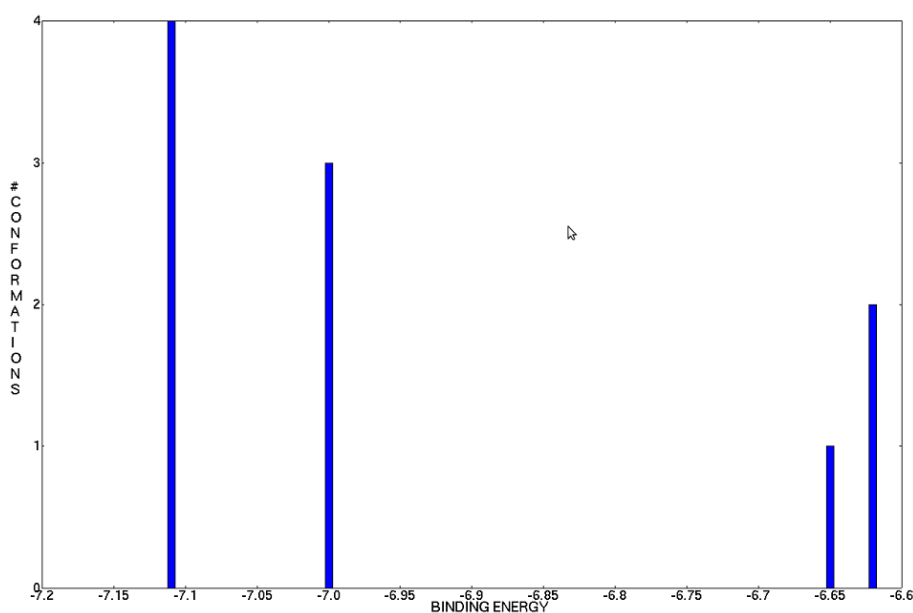
Cluster 10 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 3 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.11. 2'-hidroxi 5'-metil 3,4,5-trimetoxibenzofenona (22)

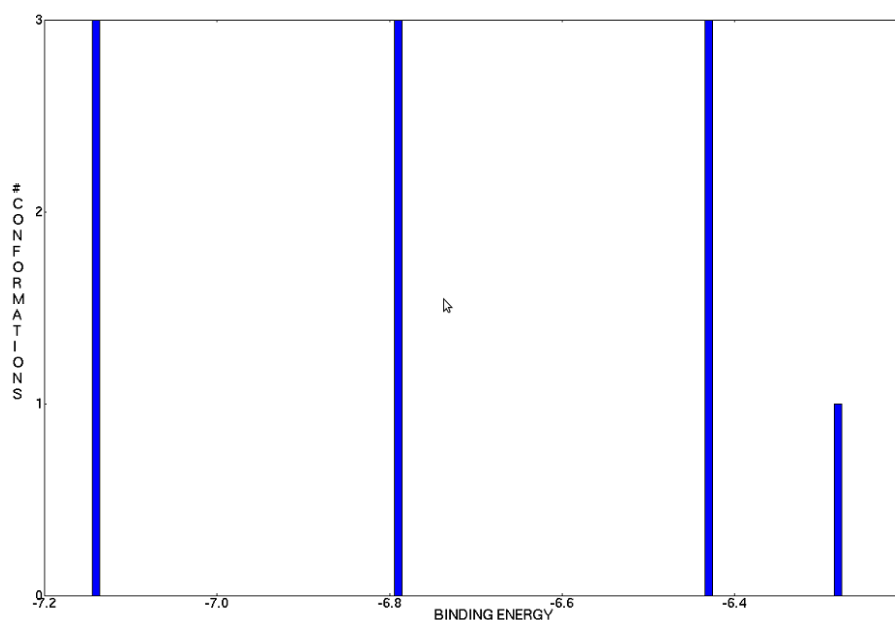
Cluster 11 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 22 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.12. 3,4,5-trimetoxibenzoato de 4-clorofenila (27)

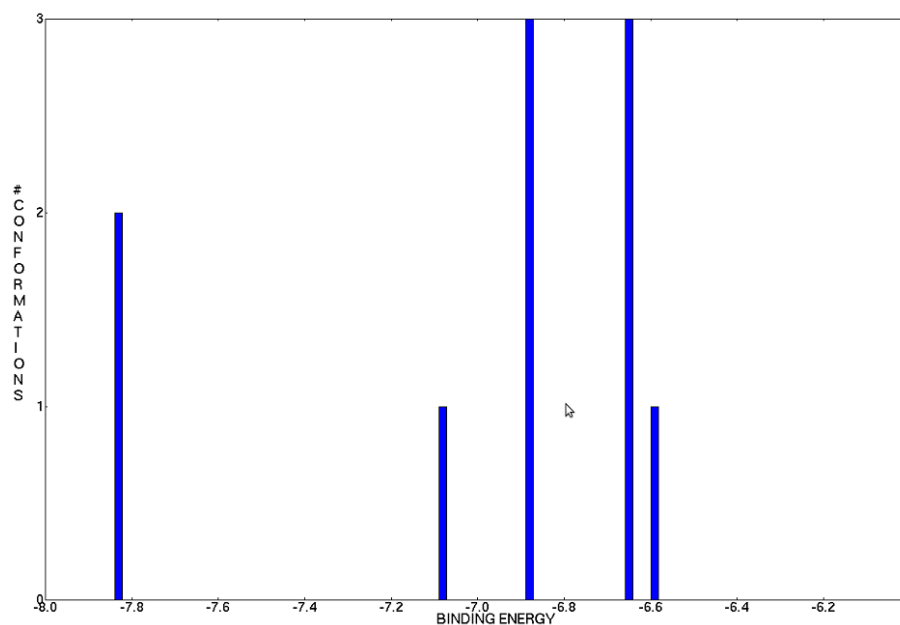
Cluster 12 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 27 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.13. 3,4',5-trimetoxiti benzofenona (43)

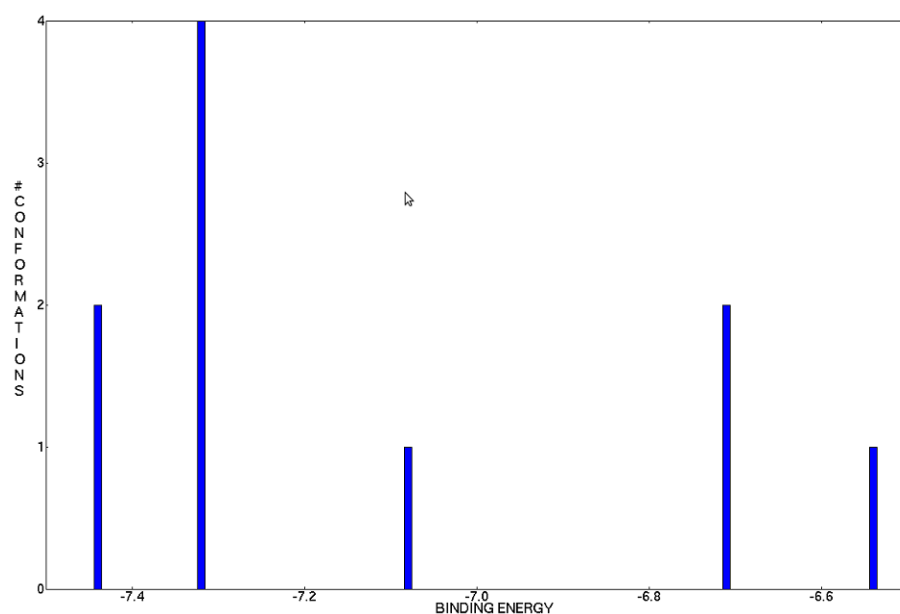
Cluster 13 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 43 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.14. 2'-hidroxi 3,4,5-trimetoxiti benzofenona (45)

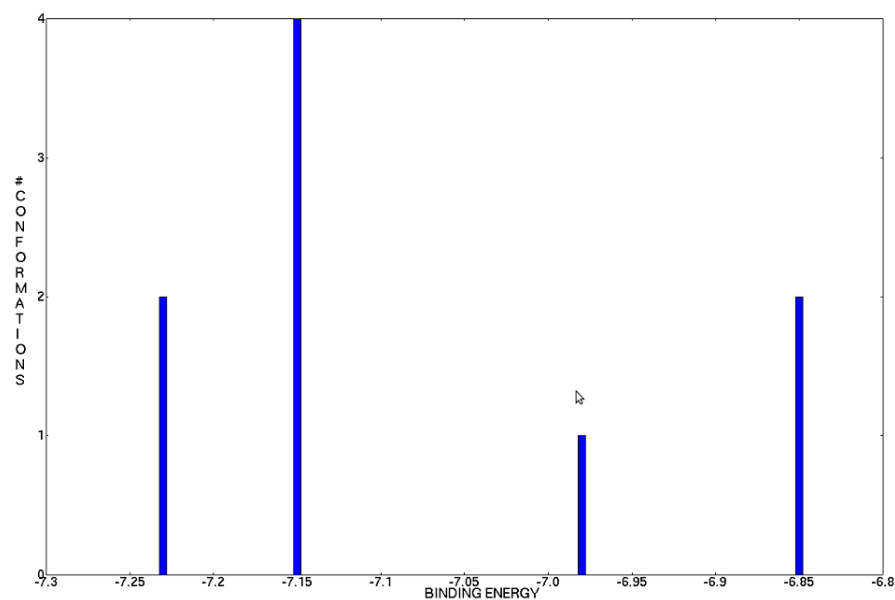
Cluster 14 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 45 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.15. 3,5-dimetoxibenzoato de 4-metil fenila (9)

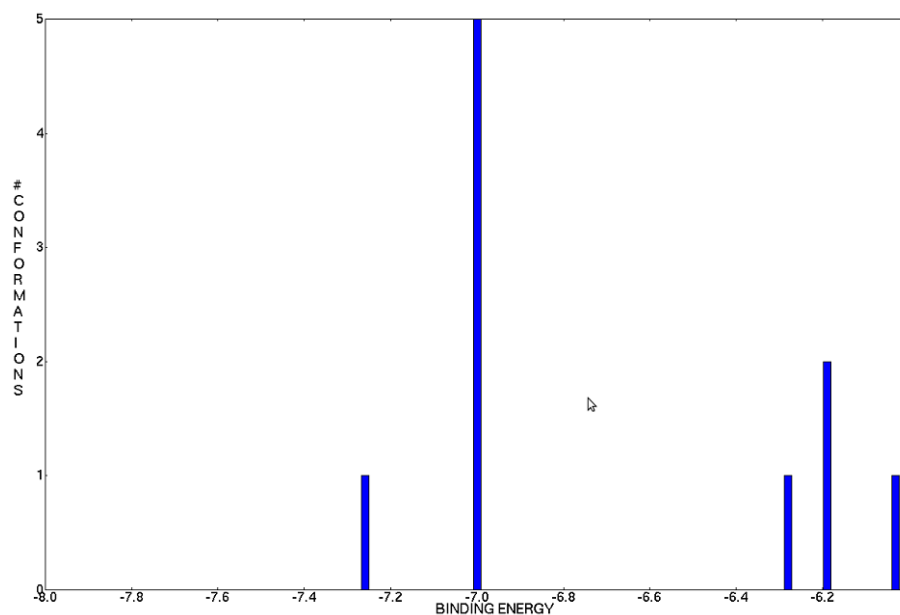
Cluster 15 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 9 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.16. 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxibenzofenona (21)

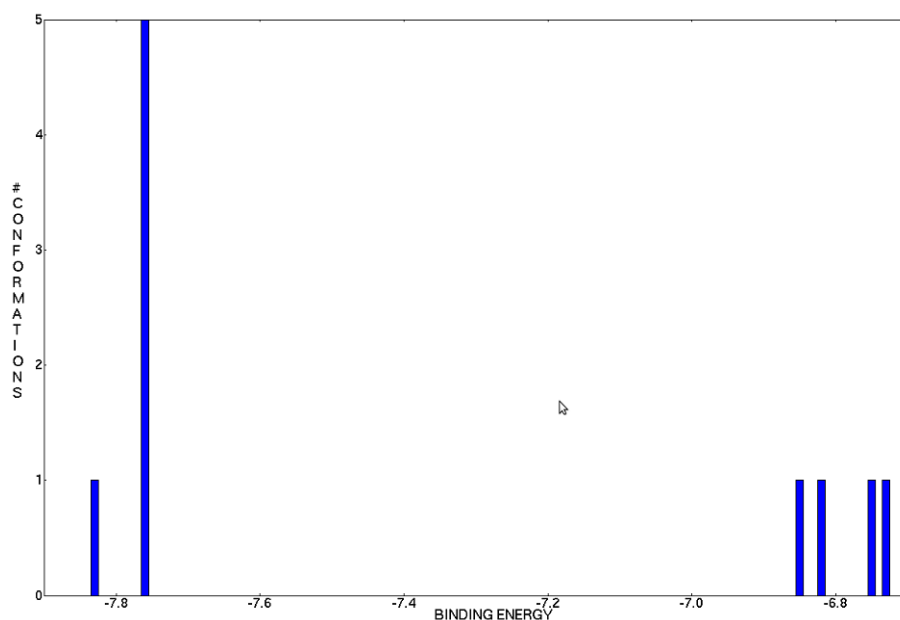
Cluster 16 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 21 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.17. 5-cloro 2-hidroxibenzofenona (16)

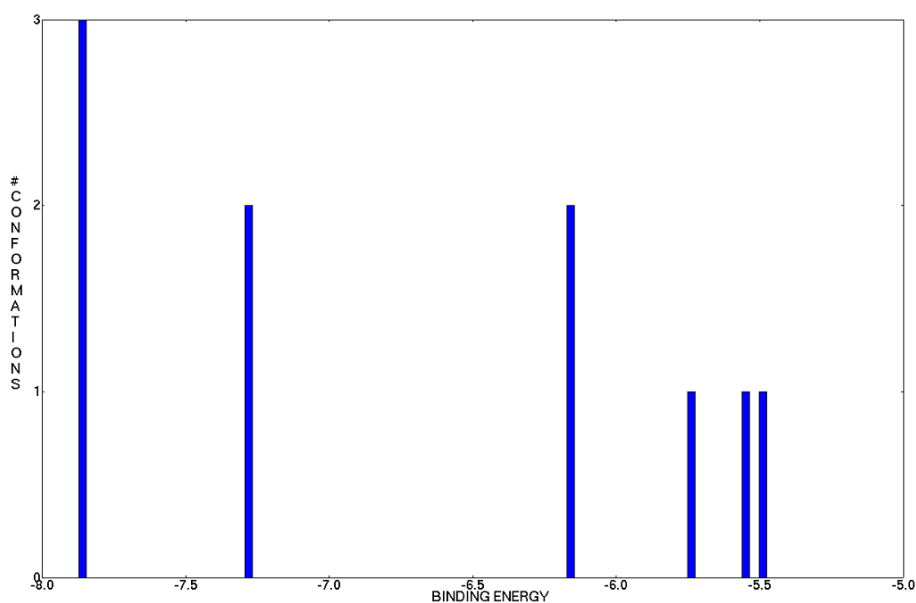
Cluster 17 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 16 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.18. 2-hidroxibenzofenona (17)

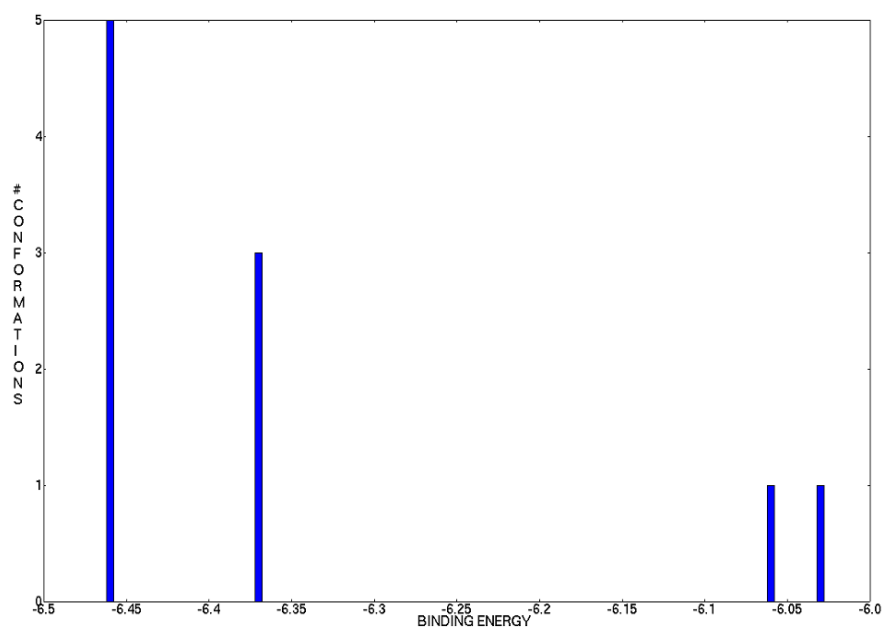
Cluster 18 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 17 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.19. 2-hidroxi 5-metil 3',5'-dimetóxi benzofenona (44)

Cluster 19 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 44 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.20. 3,4,4',5-tetrametoxibenzofenona hidrazona (42)

Cluster 20 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 42 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.

8.21. 3,4,5-trimetoxibenzoato de fenila (28)

Cluster 21 – Gráfico que relaciona o número de conformações do ligante 28 dentro do sítio ativo da β -tubulina versus a energia da ligação.