

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL – UFMS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA – CCET
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQI

**PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE XANTONA E DEPSIDONA
E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Ana Camila Micheletti

Orientadora: Profª. Drª. Neli Kika Honda

Co-orientador: Prof. Dr. Adilson Beatriz

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química – curso de Mestrado em Química, área de concentração em Química Orgânica, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Química.

Campo Grande, MS, Brasil

Abril de 2007

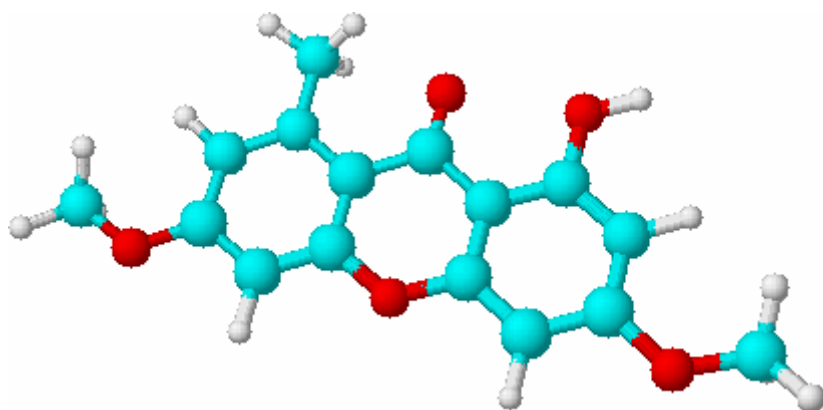
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL – UFMS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA – CCET
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQI

- Data da defesa: 16/ 04/ 2007

- Local: Departamento de Química - UFMS

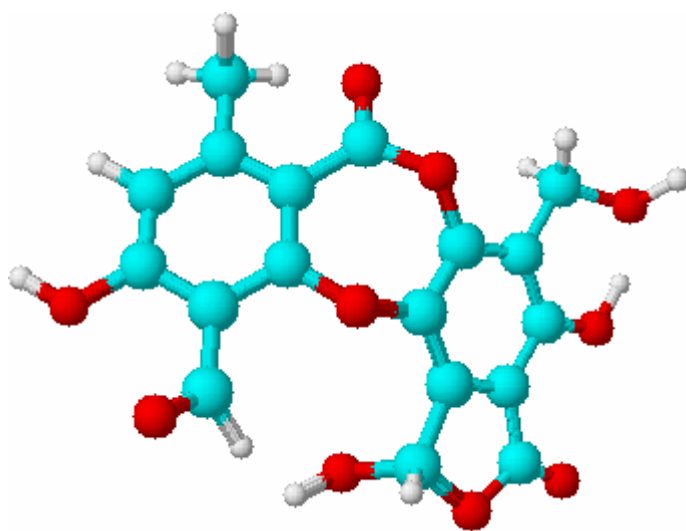
- Banca Examinadora:

- Prof^a. Dr^a. Neli Kika Honda (orientadora)**
- Prof^a. Dr^a. Lourdes Campaner dos Santos (Instituto de Química de Araraquara - UNESP)**
- Prof^a. Dr^a. Rosenei Louzada Brum (DQI – UFMS)**
- Prof. Dr. Adilson Beatriz (DQI – UFMS)**
- Prof^a. Dr^a. Maria Helena Costa (Suplente - DQI – UFMS)**



Liquexantona

Ácido salazínico



AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as graças concedidas ao longo da vida.

À Nossa Senhora, Mãe do Perpétuo Socorro, e a Santo Agostinho, pela intercessão.

À minha família, João, Neide e Valéria, pelo amor, pelo apoio, pela alegria do convívio.

À Professora Neli, pela orientação, em todos estes anos de graduação e pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Adilson Beatriz, pela co-orientação, pela grande ajuda.

A todos os professores do Departamento de Química da UFMS, que colaboraram de alguma forma para a minha formação profissional e pessoal.

À Prof^a. Dr^a. Lourdes Campaner dos Santos, à Prof^a. Dr^a. Rosenei Louzada Brum e à Prof^a. Dr^a. Maria Helena Costa, que gentilmente aceitaram participar da banca examinadora deste trabalho.

À FUNDECT, pela bolsa de pós-graduação concedida e pelo apoio financeiro.

Às companheiras de laboratório, bancada, mesa de estudos e vida, Aline S. Gianini e Luciana M. Ravaglia. Infinitas horas de trabalho, estudo e muitas e boas risadas.

Aos “meninos” do LP4, Edson dos Anjos dos Santos, Euzébio Guimarães Barbosa e Felicia M. Ito. Bons amigos e ótimos em me ensinar todos os detalhes experimentais da síntese orgânica.

A todos os colegas do mestrado, Aline, Luciana, Edson, Euzébio, Felicia, Cristiane, Nídia, Deizeluci (Prof^a. Deize), Vanderléa, Sebastião, Simone e Márcio. Com vocês a vida de mestranda ficou mais divertida.

A todos os amigos, do DQI ou não, obrigada pelo companheirismo.

Aos alunos de iniciação científica Jhon Enio Leite e Marcelo Y. Misutsu, que tiveram uma participação muito especial no desenvolvimento deste trabalho.

A todos do LP2, com quem convivo com muita alegria: Roberta, Isabel, Gláucia, Thiago, José Ricardo, e aos outros que não estão mais por lá: Sâmya, Aparecida, Márcio e Maxwell. O LP2 não é simplesmente o meu local de trabalho, é minha segunda casa.

Às professoras Cláudia do Ó Pessoa e Letícia Veras Lotufo, e ao Dr. Manoel Odorico de Moraes e Hemerson Yuri Ferreira Magalhães, do Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará/ UFC, pela realização dos ensaios de atividade citotóxica.

Às professoras Maria Rita Marques, pela realização dos ensaios de atividade antifúngica, e Nádia C. P. Carvalho, pela avaliação da atividade antibiótica.

Ao Dr. Marcelo P. Marcelli e ao Msc. Adriano Afonso Spielmann, pela identificação do líquen.

Um agradecimento especial ao técnico Luiz Leonardo S. Viana, e Edilene Delphino Rodrigues e Lucinéia Vizzotto, Maria Otávia e Celestino.

Ao Departamento de Química da UFMS, por oferecer todas as condições necessárias para o desenvolvimento de um bom trabalho.

A todas as pessoas que colaboraram de alguma forma para a realização deste trabalho, meu agradecimento sincero.

ÍNDICE

1- INTRODUÇÃO	1
2- OBJETIVOS	11
3 - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	12
Reações para modificação estrutural do ácido salazínico (7) (HUNECK e TABACCHI 1987)	15
Reações para modificação estrutural da liquexantona (15)	29
Reações de Demetilação	29
Reações de Prenilação	34
Reações para modificação estrutural da norliquexantona (24)	44
Reação de metilação da norliquexantona (24)	44
Obtenção da 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi- 8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (HUNTER <i>et al.</i> 1984)	49
Reações de prenilação	51
Obtenção da 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1- hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (MA e KIM 2003)	62
Reação de benzilação da 3-O-metilnorliquexantona (17) (VENUTI <i>et al.</i> 1988)	66
Reação de prenilação da 3-O-metilnorliquexantona com brometo de 3,3-dimetilalila (27) (O-prenilação) (TCHAMO <i>et al.</i> 2000)	68
Ensaio de Atividades Biológicas	70
Avaliação da atividade tóxica sobre <i>Artemia salina</i> do ácido salazínico (7) e seus derivados	70

Avaliação da atividade citotóxica <i>in vitro</i> da liquexantona (15), do ácido salazínico (7) e derivados	72
Avaliação da atividade antibiótica	74
Avaliação da atividade antifúngica	76
4- METODOLOGIA	77
Material e Equipamentos Utilizados	77
Fracionamentos Cromatográficos	78
Tratamento de Solventes	79
Obtenção de liquexantona (15) e ácido salazínico (7)	80
(MICHELETTI <i>et al.</i> 2005)	
Preparação da amostra	80
Extração	80
Purificação de liquexantona (15) e ácido salazínico (7)	80
<u>Extrato Clorofórmico (EC)</u>	80
<u>Extrato Acetônico (EA)</u>	81
Reações para modificação estrutural do ácido salazínico (7)	82
(HUNECK e TABACCHI 1987)	
Reações para modificação estrutural da liquexantona (15)	85
Reações de Demetilação	85
Reação de demetilação total com BBr₃ – obtenção da norliquexantona (24) (ELIX <i>et al.</i> 1993)	85
Reação de demetilação da liquexantona (15) utilizando KOH e dietilenoglicol (DEG) (CAVALHERI <i>et al.</i> 2004)	87
Reações de Prenilação	88
Reação de prenilação da liquexantona (15) com brometo de 3,3-dimetilalila (27) (O-prenilação) (TCHAMO <i>et al.</i>, 2000)	88
Reação de prenilação da liquexantona (15) com 2-metil-3-buten-2-ol (28) e BF₃.EtO₂ (C-prenilação) (JAIN <i>et al.</i> 1970)	89

Reações para modificação estrutural da norliquesantona (24)	92
Reação de metilação da norliquesantona (24)	92
Obtenção da 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (HUNTER <i>et al.</i> 1984)	93
Reações de prenilação	94
Reação de prenilação da norliquesantona (24) com brometo de 3,3-dimetilalila (27) (O-prenilação) (TCHAMO <i>et al.</i>, 2000)	94
Reação de prenilação da norliquesantona (24) com 2-metil-3-buten-2-ol (28) e BF₃.EtO₂ – (C-prenilação) (JAIN <i>et al.</i> 1970)	96
Outras Modificações	97
Obtenção da 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (MA e KIM 2003)	97
Reação de benzilação da 3-O-metilnorliquesantona (25) (VENUTI <i>et al.</i> 1988)	98
Reação de prenilação da 3-O-metilnorliquesantona (25) com brometo de 3,3-dimetilalila (27) (O-prenilação) (TCHAMO <i>et al.</i> 2000)	99
Reação de rearranjo de Claisen da 3,6-di-O-prenilnorliquesantona (31) (TCHAMO <i>et al.</i> 2000)	99
Ensaio de Atividades Biológicas	108
Avaliação da atividade tóxica sobre <i>Artemia salina</i> do ácido salazínico (7) e seus derivados (MEYER <i>et al.</i> 1982)	108
Avaliação da atividade citotóxica <i>in vitro</i> da liquexantona (15), do ácido salazínico (7) e derivados	110

Avaliação da atividade antibiótica	111
Avaliação da atividade antifúngica	112
5 - CONCLUSÃO	114
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
ANEXO I - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS REAGENTES UTILIZADOS (Lenga, 1988)	125
ANEXO II - ESPECTROS DE RMN DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E DAS OBTIDAS POR MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL	130

ÍNDICE DE SUBSTÂNCIAS

Substâncias	Páginas
Laurentixantona B (1)	3
Afzeliixantona (2)	3
Macluraxantona B (3)	4
Symphonina (4)	4
5,6-dimetil-xantona-4-ácido acético (DMXAA) (5)	5
Psorospermina (6)	5
Ácido salazínico (7)	7, 14, 19, 100
Atrovirisidona (8)	7
Etoposídeo (9)	9
Podofilotoxina (10)	9
Predinisona (11)	9
Cortizol (12)	9
Metadona (13)	9
Morfina (14)	9
Liquexantona (15)	12, 29, 31, 32, 47, 85, 87, 92, 104
Atranorina (16)	13
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	19, 100
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> -isopropil salazínico (SALIP) (18)	19, 101
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	19, 101
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>sec</i> -butil salazínico (SALSB) (20)	19, 102
ácido 9'- <i>O</i> - <i>terc</i> -butil salazínico (SALTB) (21)	19, 102
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	19, 103

ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	19, 20, 103
Norliquexantona (24)	29, 30, 31, 47, 57, 85, 92, 93, 105
3- <i>O</i> -metilnorliquexantona (25)	29, 32, 33, 44, 47, 66, 87, 92, 104
6- <i>O</i> -metilnorliquexantona (26)	29, 32, 44, 47, 48, 66, 87, 92,
Brometo de 3,3-dimetilalila (27)	34
2-metil-3-buten-2-ol (28)	34
1-hidróxi-3,6-dimetóxi-8-metil-4-(3-metilbut-2-en-1-il)- 9H-xanten-9-ona (29)	38
3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H- xanten-9-ona (30)	50, 93, 105
3,6-di- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (31)	53, 57, 97, 106
3- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (32)	55, 57
6- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (33)	55, 57
3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil- 9H-xanten-9-ona (34)	64, 97, 106
6-[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-3-[(3- metilbut-2-en-1-il)óxi]-9-H-xante-9-ona (35)	66
3-[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-6-[(3- metilbut-2-en-1-il)óxi]-9-H-xante-9-ona (36)	66
6-(benzilóxi)-1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (37)	67
3- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (38)	69, 107

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a liquexantona (15).	12
Tabela 2 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a atranorina (17).	13
Tabela 3 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para o ácido salazínico (7).	14
Tabela 4 – Informações experimentais das reações de modificação estrutural do ácido salazínico (7).	15
Tabela 5 – Condições cromatográficas para fracionamento dos derivados do ácido salazínico (7).	16
Tabela 6 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para o ácido salazínico (7) e para a fração HEX-F10 (ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -hexil salazínico (23)).	21
Tabela 7 – Deslocamentos químicos (δ , expressos em ppm) de ^1H e ^{13}C associados a correlações de longa distância (obtidos por espectros de HMBC) para o derivado ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -hexil salazínico (23).	22
Tabela 8 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H das cadeias alquílicas inseridas e dos H 8'e 9' derivados do ácido salazínico (7) (δ em ppm).	23
Tabela 9 - Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C das cadeias alquílicas inseridas e dos H 8'e 9' derivados do ácido salazínico (7) (δ em ppm).	24
Tabela 10 - Massas dos derivados obtidos e rendimentos relativos das reações de modificação estrutural do ácido salazínico (7) na condição 1 .	27
Tabela 11 – Comparação entre os tempos e rendimentos de reação para obtenção dos derivados do ácido salazínico (7), nas condições 1 e 3 .	28
Tabela 12 - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a norliquexantona (24)	30
Tabela 13 - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 3- <i>O</i> -metilnorliquexantona (25).	33
Tabela 14 - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 6- <i>O</i> -	48

metilnorliquexantona (26).	
Tabela 15. Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30).	50
Tabela 16 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 3,6-di-O-prenil-norliquexantona (31).	53
Tabela 17 – Deslocamentos químicos de ^{13}C (δ , expresso em ppm) para a 6-O-prenil-norliquexantona (32) e da 3-O-prenil-norliquexantona (33).	56
Tabela 18 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34).	64
Tabela 19 - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 6-(benzilóxi)-1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (37)	68
Tabela 20 - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 3-O-metil-6-O-prenil-norliquexantona (38).	69
Tabela 21 – Resultado do ensaio de toxicidade sobre <i>Artemia salina</i> .	71
Tabela 22 – Percentual de inibição do crescimento celular obtido com as amostras nas diferentes linhagens de células tumorais em dose única de 25 $\mu\text{g/mL}$.	72
Tabela 23 - Atividade citotóxica – CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) – dos derivados 19, 22 e 23 do ácido salazínico (7).	73
Tabela 24 – Resultados da atividade antibiótica	74
Tabela 25 – Resultado do ensaio de atividade antifúngica sobre o fungo <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	76
Tabela 26 – Condições cromatográficas para fracionamento de TDMLIQ (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).	86
Tabela 27 – Informações experimentais das reações de demetilação da liquexantona (15) com BBR_3 .	86
Tabela 28 - Condições cromatográficas para fracionamento de DMLIQDEG (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).	87
Tabela 29 - Condições cromatográficas para fracionamento de P2-LIQ (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).	89
Tabela 30 - Condições cromatográficas para fracionamento de P1-NOR2 (em	95

sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).	
Tabela 31 - Condições cromatográficas para fracionamento de P1-NOR3 (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).	96
Tabela 32 - Condições cromatográficas para fracionamento de EPX-2B (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:75).	98
Tabela 33 – concentração das substâncias/ misturas avaliadas no ensaio de toxicidade sobre <i>Artemia salina</i> .	108
Tabela 34 – Concentrações das substâncias utilizadas no ensaio de atividade antifúngica sobre o fungo <i>Cladosporium sphaerospermum</i> .	113

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição da origem das novas entidades químicas (NCEs) entre 1981 e 2002 (Cragg, <i>et al.</i> 2005).	8
Figura 2. Representação esquemática da reação do ácido salazínico (7) com álcoois, dando os 8', 9'-di- <i>O</i> -alquil ácido salazínico, e o 9'- <i>O</i> - <i>t</i> -butil ácido salazínico (21).	19
Figura 3 - Representação esquemática do mecanismo proposto para a reação de substituição das hidroxilas alifáticas do ácido salazínico (7) por um álcool.	26
Figura 4. Representação esquemática do mecanismo proposto para a reação de demetilação da liquexantona (15) com BBr ₃ .	31
Figura 5. Representação esquemática da reação de prenilação com 2-metil-3-buten-2-ol (28).	34
Figura 6. Deslocamentos químico de ¹ H; ¹³ C dos grupos <i>C</i> -prenila e <i>O</i> -prenila.	35
Figura 7. Espectro de RMN de ¹ H de P1-LIQ, em CDCl ₃ , com ampliação da região entre 3 e 6 ppm.	36
Figura 8. Espectro de RMN de ¹ H de A) P1-LIQ-2 e B) P1-LIQ-4, em CDCl ₃ .	37
Figura 9. Espectro de RMN de ¹ H de P2-LIQ-16, em CDCl ₃ .	39
Figura 10. Espectro de RMN de ¹³ C P2-LIQ-16, em CDCl ₃ .	39
Figura 11. Espectro de RMN de ¹ H de P2-LIQ-9, em CDCl ₃ .	40
Figura 12. Espectro de RMN de ¹ H de P2-LIQ2-5, em CDCl ₃ .	41
Figura 13. Espectro de RMN de ¹³ C de P2-LIQ2-5, em CDCl ₃ .	41
Figura 14. Cromatograma de CLAE (modo preparativo) da fração P2-LIQ3	42
Figura 15. Espectro de RMN de ¹ H de P2-LIQ3-CL14M, em CDCl ₃ com ampliação da região entre 2,7 e 5,3 ppm.	43
Figura 16. Espectro de RMN de ¹ H de ME-NOR-2, em acetona-d ₆ , com ampliação da região entre 6 e 7 ppm.	45
Figura 17. Espectro de RMN de ¹³ C de ME-NOR-2, em acetona-d ₆ , com ampliação da região entre 75 e 125 ppm.	46
Figura 18. Representação esquemática da reação de metilação da	47

norliquexantona (24) com iodeto de CH ₃ I, seguindo um mecanismo do tipo Sn2.	
Figura 19. Espectro de RMN de ¹ H de P1-NORLIQ-2, em CDCl ₃ .	54
Figura 20. Espectro de RMN ¹³ C de P1-NORLIQ-2, em CDCl ₃ .	55
Figura 21. Espectro de RMN de ¹ H de P1-NOR2-7, em CDCl ₃ .	58
Figura 22. Espectro de RMN de ¹ H de P1-NOR2-14, em acetona-d ₆ .	59
Figura 23. Espectro de RMN de ¹ H de P1-NOR3-9, em CDCl ₃ .	60
Figura 24. Representação esquemática do rearranjo de Claisen	61
Figura 25. Espectro de RMN de ¹ H de P1-NOR3P-CLA, em CDCl ₃ .	62
Figura 26. Espectro de RMN de ¹ H de EPX-2B-1, em CDCl ₃ .	65
Figura 27. Representação esquemática da rota de transformações para obtenção da 6- <i>O</i> -metilnorliquexantona (26) a partir da 3- <i>O</i> -metilnorliquexantona (25).	66
Figura 28. Espectro de RMN de ¹ H de BENZIL, em acetona-d ₆ .	67
Figura 29. Espectro de RMN de ¹ H de 3-OMEPRE, em CDCl ₃ .	69
Figura 30. Cromatograma de CLAE da fração P2-LIQ3.	90

ÍNDICE DE ESPECTROS

(Anexo II)

-
- E-1. Espectro de RMN de ^1H da liquexantona (15) (CDCl_3)
- E-2. Espectro de RMN de ^{13}C da liquexantona (15) (CDCl_3)
- E-3. Espectro de RMN de DEPT-135 liquexantona (15) (CDCl_3)
- E-4. Espectro de RMN de ^1H da atranorina (16) (CDCl_3)
- E-5. Espectro de RMN de ^{13}C da atranorina (16) (CDCl_3)
- E-6. Espectro de RMN de DEPT-135 atranorina (16) (CDCl_3)
- E-7. Espectro de RMN de ^1H do ácido salazínico (7) (DMSO-d_6)
- E-8. Espectro de RMN de ^{13}C do ácido salazínico (7) (DMSO-d_6)
- E-9. Espectro de RMN de ^1H da fração PROP-F3 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-propil salazínico (17) (CDCl_3)
- E-10. Espectro de RMN de ^{13}C da fração PROP-F3 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-propil salazínico (17) (CDCl_3)
- E-11. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração PROP-F3 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-propil salazínico (17) (CDCl_3)
- E-12. Espectro de RMN de ^1H da fração ISOPROP-F5 - ácido 8', 9'-di-*O*-isopropil salazínico (18) (CDCl_3)
- E-13. Espectro de RMN de ^{13}C da fração ISOPROP-F5 - ácido 8', 9'-di-*O*-isopropil salazínico (18) (CDCl_3)
- E-14. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração ISOPROP-F5 - ácido 8', 9'-di-*O*-isopropil salazínico (18) (CDCl_3)
- (CDCl_3)
-

E-15. Espectro de RMN de ^1H da fração BUT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-butil salazínico (19) (CDCl_3)

E-16. Espectro de RMN de ^{13}C da fração BUT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-butil salazínico (19) (CDCl_3)

E-17. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração BUT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-butil salazínico (19) (CDCl_3)

E-18. Espectro de RMN de ^1H da fração SEC-BUT-F1 - ácido 8', 9'-di-*O-sec*-butil salazínico (20) (CDCl_3)

E-19. Espectro de RMN de ^{13}C da fração SEC-BUT-F1 - ácido 8', 9'-di-*O-sec*-butil salazínico (20) (CDCl_3)

E-20. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração SEC-BUT-F1 - ácido 8', 9'-di-*O-sec*-butil salazínico (20) (CDCl_3)

E-21. Espectro de RMN de ^1H da fração T-BUT-F15 - 8', 9'-di-*O-terc*-butil ácido salazínico (21) (CDCl_3)

E-22. Espectro de RMN de ^{13}C da fração T-BUT-F15 - 8', 9'-di-*O-terc*-butil ácido salazínico (21) (CDCl_3)

E-23. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração T-BUT-F15 - 8', 9'-di-*O-terc*-butil ácido salazínico (21) (CDCl_3)

E-24. Espectro de RMN de gHMBC da fração T-BUT-F15 - 8', 9'-di-*O-terc*-butil ácido salazínico (21) (acetona- d_6)

E-25. Espectro de RMN de ^1H da fração PENT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-pentil salazínico (22) (CDCl_3)

E-26. Espectro de RMN de ^{13}C da fração PENT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-pentil

salazínico (22) (CDCl₃)

E-27. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração PENT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-pentil salazínico (22) (CDCl₃)

E-28. Espectro de RMN de ¹H da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (23) (CDCl₃)

E-29. Espectro de RMN de ¹³C da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (23) (CDCl₃)

E-30. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (23) (CDCl₃)

E-31. Espectro de RMN de HMQC da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (23) (CDCl₃)

E-32. Espectro de RMN de HMBC da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (23) (CDCl₃)

E-33. Espectro de RMN de ¹H da fração TDMLIQ - 18 - norliquexantona (24) (acetona-d₆)

E-34. Espectro de RMN de ¹³C da fração TDMLIQ - 18 -norliquexantona (24) (acetona -d₆)

E-35. Espectro de RMN de ¹H da fração TDMLIQ - 18 -norliquexantona (24) (DMSO-d₆)

E-36. Espectro de RMN de ¹³C da fração TDMLIQ - 18 -norliquexantona (24) (DMSO -d₆)

E-37. Espectro de RMN de ¹H da fração DMLIQDEG-4 -3-*O*-metilnorliquexantona (25) (acetona-d₆)

E-38. Espectro de RMN de ^{13}C da fração DMLIQDEG-4 - 3-*O*-metilnorliquexantona (25) (acetona- d_6)

E-39. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração DMLIQDEG-4 - 3-*O*-metilnorliquexantona (25) (acetona- d_6)

E-40. Espectro de RMN de ^1H da fração N-NOR - 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (acetona- d_6)

E-41. Espectro de RMN de ^{13}C da fração N-NOR - 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (acetona- d_6)

E-42. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração N-NOR - 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (acetona- d_6)

E-43. Espectro de RMN de gHSQC da fração N-NOR - 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (acetona- d_6)

E-44. Espectro de RMN de ^1H da fração EPX-2B-8 - 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (CDCl_3)

E-45. Espectro de RMN de ^{13}C da fração EPX-2B-8 - 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (CDCl_3)

E-46. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração EPX-2B-8 - 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (CDCl_3)

E-47. Espectro de RMN de ^1H da fração P1-NORLIQ-3- 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (31) (CDCl_3)

E-48. Espectro de RMN de ^{13}C da fração P1-NORLIQ-3- 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (31) (CDCl_3)

E-49. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração P1-NORLIQ-3 - 3,6-di-*O*-prenil-

norliquexantona (31) (CDCl₃)

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS

λ	Comprimento de onda
1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
Acetona-d ₆	Acetona deuterada
AQ	Tempo de aquisição (segundos)
BBI	“Broad Band Inverse”
BnCl	Cloreto de benzila
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CI ₅₀	Concentração que causa 50% de inibição do crescimento de células tumorais
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
d	Dublete
d1	Tempo de espera entre o final de AQ e um novo pulso de rádio frequência
DEG	Dietilenoglicol
DL ₅₀	Dose letal para 50% dos indivíduos
DMF	N, N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EA	Extrato acetônico
EC	Extrato clorofórmico
FID	Decaimento livre de indução
gHMBC	“Heteronuclear multiple-bond connectivity” com utilização de gradiente de campo pulsado na coordenada z
gHSQC	“Heteronuclear single quantum coherence” com utilização de gradiente de campo pulsado na coordenada z
HMBC	“Heteronuclear multiple-bond connectivity”
HMQC	“Heteronuclear multiple-quantum coherence”

HPLC	“High performance liquid chromatography”
J	Constante de acoplamento (Hz)
LB	“line-broadening”- grau de aplicação da função de multiplicação exponencial do FID
m	Multiplete
MCPBA	Ácido <i>m</i> -cloroperbenzóico
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium
Me	Metila
NCE	Nova entidade química
ns	Número de transientes
pKa	-log de Ka
ppm	Parte por milhão
Rf	Fator de retenção
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de ^{13}C
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de ^1H
RMN de DEPT-135	Ressonância magnética nuclear de DEPT-135
s	Singlete
SFO1	Frequência central (MHz)
SI	“Data size”- número de pontos após a transformada de Fourier
sl	Singlete largo
SWH	Tamanho da janela espectral
t	Triplete
TBAF	Fluoreto de tetrabutylamônio
TBDMSCl	Cloreto de <i>tert</i> -butildimetilsilano
TD	“Time domain” – número de pontos utilizados na aquisição
tl	Triplete largo
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico

RESUMO

Xantonas e depsidonas são compostos de origem natural ou sintética de grande importância, principalmente com relação as atividades biológicas que muitos representantes destas classes apresentam.

Do líquen *Parmotrema lichexantonicum* Eliasaro e Adler foram isoladas a xantona liquexantona e a depsidona ácido salazínico, com cerca de 5% de rendimento cada uma. Estas duas substâncias foram submetidas a reações de modificação estrutural e, juntamente com os derivados produzidos, foram avaliados quanto a algumas atividades biológicas, como tóxica sobre o microcrustáceo *Artemia salina*, citotóxica, antibiótica e antifúngica.

O ácido salazínico, reagindo com álcoois lineares (*n*-propanol a *n*-hexanol) e ramificados (isopropanol, *sec*- e *terc*-butanol), produziu os ácido 8', 9'-di-*O*-alquil salazínico e o ácido 9'-*O*-*terc*-butil salazínico, que são produtos de substituição das hidroxilas benzílicas do substrato. O ácido e seus derivados foram testados com relação a sua atividade tóxica sobre *Artemia salina*, citotóxica frente a linhagens de células tumorais, antibiótica e antifúngica, sendo que o resultado mais promissor obtido foi com relação a atividade citotóxica. Este ensaio mostrou que o alongamento da cadeia alquílica causou um aumento na atividade citotóxica dos derivados do ácido salazínico – os compostos ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-pentil salazínico e ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico se mostraram potencialmente citotóxicos para a linhagem de células HCT-8 (CI₅₀ de 4,28 e 1,73 µg/ mL, respectivamente).

Com a liquexantona foram testadas principalmente metodologias de demetilação, obtendo-se a norliquexantona e a 3-*O*-metilnorliquexantona, e de prenilação. A partir da norliquexantona foram obtidos os derivados 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona, por *O*-prenilação, e, a partir dele a 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona, por epoxidação. Foi ainda obtida uma xantona nitrogenada, a 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona. A liquexantona, bem como os derivados obtidos foram avaliados quanto às atividades citotóxica frente a linhagens de células tumorais (percentuais de inibição do crescimento celular entre 30 e 88%), antibiótica (halos de inibição no ensaio de disco entre 8 e 20 mm) e antifúngica. O derivado mais ativo foi a xantona nitrogenada, que mostrou atividade antibiótica moderada sobre *S. aureus*.

ABSTRACT

Xanthones and depsidones are compounds from natural or synthetic origin of great importance, mainly related to biological activities that many members of these classes present.

From the lichen *Parmotrema lichexanthonicum* Eliasaro and Adler, were isolated the xanthone lichexanthone and the depsidone salazinic acid, with 5% yield each. These two substances were submitted to structural modification reactions and, with produced derivatives, were evaluated for some of their biological activities.

Salazinic acid, reacting with linear (*n*-propanol to *n*-hexanol) and ramified (isopropanol, *sec*- and *tert*-butanol) alcohols, gave 8', 9'-di-*O*-alkyl salazinic acid and 9'-*O*-*tert*-butyl salazinic acid, that are products from benzylic hydroxyls substitution. The acid and its derivatives were tested to evaluate their toxic activity against *Artemia salina*, cytotoxic activity against tumor cell lines, antibiotic and antifungic activities, but the most significant result was related to cytotoxic activity. In this assay, the results showed that chain elongation of alkylic chains causes a rise in the cytotoxic activity of salazinic derivatives - the compounds 8', 9'-di-*O*-*n*-pentyl salazinic acid and 8', 9'-di-*O*-*n*-hexyl salazinic acid were potentially cytotoxic on the HCT-8 cells (IC₅₀ of 4,28 and 1,73 µg/ mL, respectively)

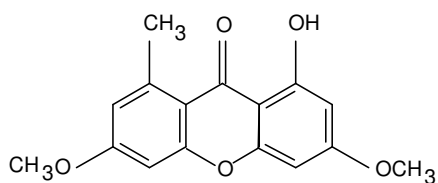
With lichexanthone were tested mainly demethylation methodologies, that gave norlichexanthone and 3-*O*-methylnorlichexanthone, and prenylation ones. From norlichexanthone were obtained 3,6-di-*O*-prenyl-norlichexanthone, by *O*-prenylation, and 3,6-bis[(3,3-dimethoxyran-2-yl)methoxy]-1-hydroxy-8-methyl-9H-xanten-9-one, by epoxidation of the last. It was also obtained a nitrogenated xanthone, 3,6-bis[3-(dimethylamino)propoxy]-1-hydroxy-8-methyl-9H-xanten-9-one. Lichexanthone and its derivatives were evaluated for their cytotoxic activity against tumor cell lines (growth cellular inhibition percentual between 30 and 88%), antibiotic (inhibition zone between 8 and 20 mm, determined by disc diffusion method) and antifungic activities. The most active compound was the nitrogenated xanthone, that showed moderate antibiotic activity against *S. aureus*.

Introdução

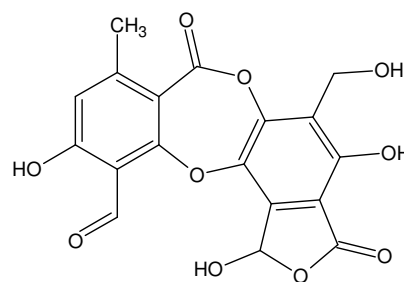
1 - INTRODUÇÃO

Os líquens, associações simbióticas entre fungos e algas verdes ou cianofíceas, apresentam um metabolismo secundário muito característico, sendo que alguns dos metabólitos podem ser produzidos apenas pelo fungo ou pela alga, enquanto os demais são produzidos apenas pela interação dos dois organismos, e a maioria deles é considerada exclusiva de líquens (MÜLLER 2001).

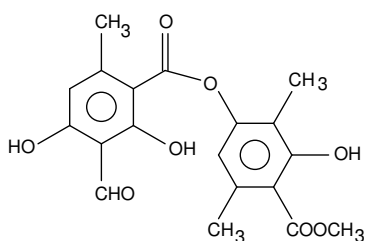
Estes compostos são xantonas, depsidonas, *meta*- e *para*- depsídeos, ácidos alifáticos, ésteres benzílicos, dibenzofuranos, ácidos úsnicos, antraquinonas, terpenos e derivados do ácido pulvínico (HONDA e VILEGAS 1998).



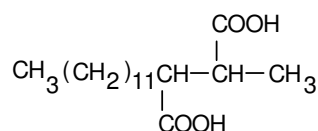
Liquexantona
(xantona)



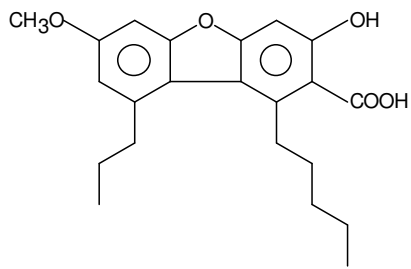
ácido salazínico
(depsidona)



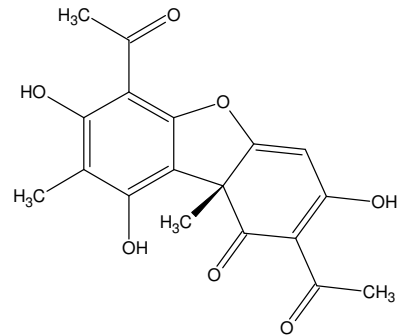
Atranorina
(*p*-depsídeo)



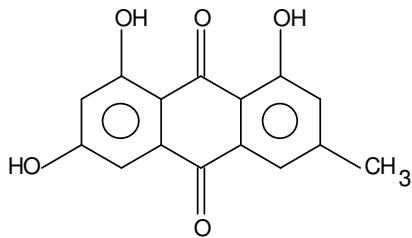
Ácido rocélico
(ácido alifático)



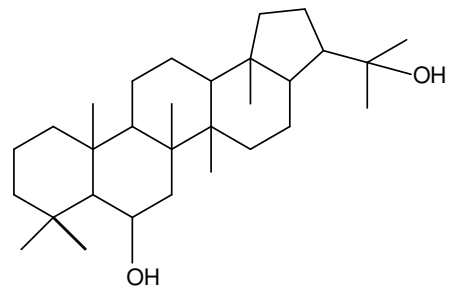
Ácido didímico
(dibenzofurano)



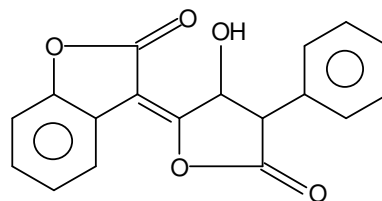
(+)-(12R)-ácido úsnico
(ácido úsnico)



1,6,8-triidróxi-3-metil-antraquinona
(antraquinona)



Zeorina
(triterpeno)



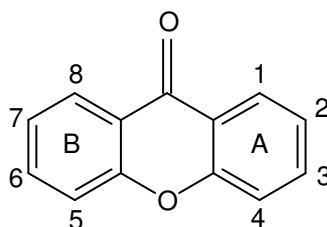
Calicina
(derivado do ácido pulvínico)

Os compostos produzidos por líquens apresentam atividades biológicas de grande interesse. Algumas das atividades que estas substâncias apresentam são antiviral, antibiótica, analgésica, antipirética, antitumoral, alergênica, alelopática, além de apresentarem-se ativas para a inibição de algumas enzimas (HUNECK 1999, MÜLLER 2001).

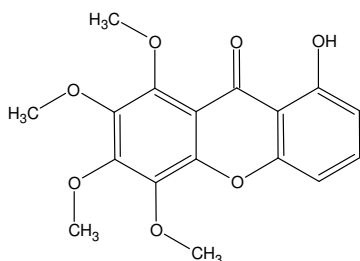
Dentre as várias classes de metabólitos secundários, as xantonas (dibenzo- γ -pironas ou 9H-xanten-9-onas) possuem grande valor taxonômico e propriedades farmacológicas. São comumente encontradas em plantas superiores, especialmente nas famílias Gentianaceae e Clusiaceae, fungos e líquens, sendo que até 2004 eram conhecidas por volta de mil estruturas de origem natural (VIEIRA e KIJJOA, 2005).

Com relação à classificação, esta classe de substâncias se divide em 6 grupos principais: xantonas simples, oxigenadas ou não; glicosiladas, preniladas, xantolignóides, com unidades fenil-propânicas ligadas ao esqueleto xantônico; bis-xantonas e miscelâneas, substituídas por exemplo com grupos carboxila, lactama ou furano (VIEIRA e KIJJOA, 2005).

Xantonas naturais têm mostrado acentuadas atividades biológicas, entretanto, são relativamente limitadas com relação aos tipos e posições dos substituintes (PEDRO *et al.* 2002). Assim, a síntese de novos compostos utilizando o núcleo xantônico como substrato, utilizando inclusive ferramentas computacionais para o *design* de moléculas que possam mostrar atividade sobre alvos conhecidos, pode ser uma alternativa para o desenvolvimento de novos compostos bioativos.

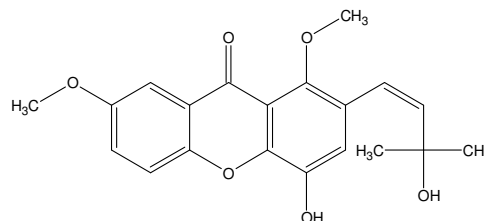


Núcleo Xantônico



Laurentixantona B (1)

(atividade antibiótica – NGUEMEVING *et al.* 2006)

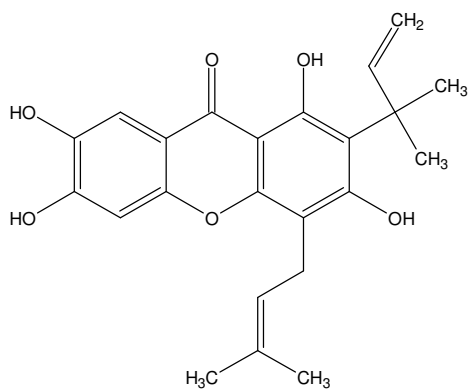


Afzeliixantona B (2)

(atividade antioxidante – WAFFO *et al.* 2006)

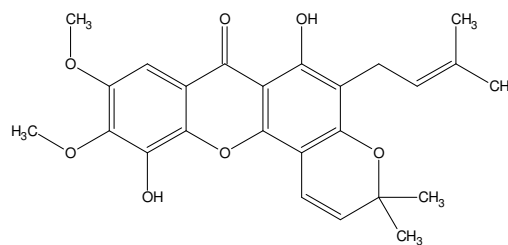
As xantonas, tanto naturais quanto sintéticas, apresentam atividades de grande interesse, dentre as quais se destacam, por exemplo, as atividades de modulação de enzimas importantes como alvos no desenvolvimento de fármacos, como a proteína cinase C (PKC), importante em funções celulares como apoptose; da topoisomerase II, que participa dos processos de transcrição e replicação do DNA (GOODELL *et al.* 2006), da acetilcolinesterase, das ciclooxigenases, relacionadas ao processo inflamatório; e da monoamino-oxidase, ligada ao metabolismo de neurotransmissores (NÚÑEZ *et al.* 2004); entre inúmeras outras. Também são descritas as atividades antiretroviral, antimicrobiana, antifúngica, antimalárica, analgésica, anti-hipertensiva, anti-ulcerogênica, antioxidante, antidiabética, anti-inflamatória, antialérgica, imunomoduladora, atividade citotóxica e antitumoral. Na maioria dos casos, o esqueleto xantônico pertence ao resíduo farmacofórico da substância, ou seja, de forma mais geral, a parte responsável para a atividade biológica. Mas o núcleo xantônico pode apenas ser um substituinte que modula a atividade de substâncias de outras classes (HAY *et al.* 2004, PINTO *et al.* 2005).

Em muitos destes estudos, dados quali ou quantitativos sobre a correlação entre a estrutura e a atividade biológica das substâncias isoladas/ sintetizadas são obtidos, a fim de definir quais os substituintes e posições são mais interessantes para tais respostas biológicas. O que se observa de maneira geral é que as mais ativas, em termos no número de atividades, são as poliidroxiladas, e/ou substituídas com radicais prenila (3-metil-2-butenila ou 3,3-dimetil-1-butenila), mostrando que, no caso deste núcleo básico, esses substituintes têm grande importância, e merecem destaque.



Macluraxantona B (3)

(atividade antiretroviral – GROWEISS *et al.* 2000)

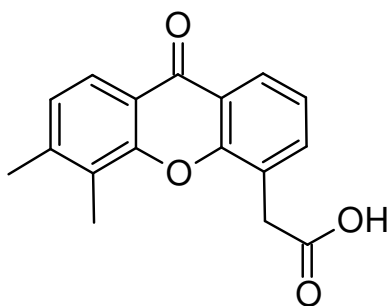
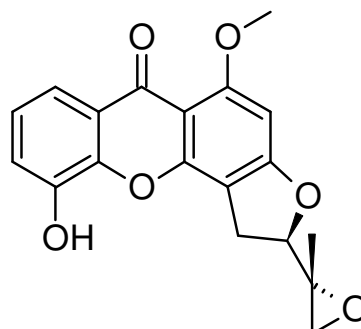


Symphonina (4)

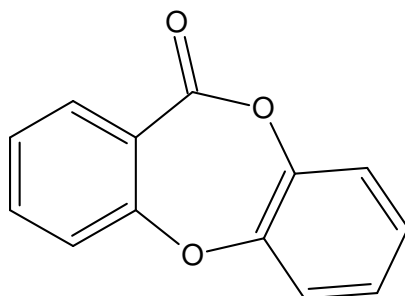
(atividade antiplasmodial – NGOUELA *et al.* 2006)

Apesar de apresentar esta gama variada de atividades biológicas, os pesquisadores têm investido grandes esforços na elucidação do mecanismo de ação e otimização das estruturas das substâncias para potencialização das atividades antimalárica e antitumoral das xantonas. No caso da primeira, o mecanismo de ação das xantonas já está claro, e o alvo bem definido. O composto complexa com o grupo heme da hemoglobina, liberado durante a digestão da biomolécula pelo protozoário *P. falciparum* e não permite a sua precipitação, que é a via de detoxificação do plasmódio. Substâncias quase tão ativas quanto a cloroquina já foram sintetizadas, com a vantagem da possibilidade de desenvolvimento de resistência ser pequena, devido ao alvo imutável (RISCOE *et al.* 2005).

Já para a atividade antitumoral, algumas xantonas já se encontram em estágio avançado de desenvolvimento pré-clínico ou clínico para utilização como fármacos, como a 5,6-dimetil-xantona-4-ácido acético (DMXAA) (**5**), que causa colapso vascular e necrose tumoral; e a psorospermina (**6**), também com ação antitumoral (PINTO *et al.* 2005).

DMXAA (**5**)psorospermina (**6**)

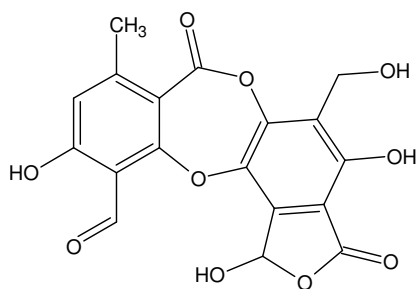
Outra classe de substâncias também encontrada tanto em líquens quanto em plantas superiores, embora produzidas por vias biossintéticas diferentes, que tem apresentando várias atividades biológicas interessantes, são as depsidonas. Neste caso, os líquens são as maiores fontes deste tipo de substância (XU *et al.* 2000).



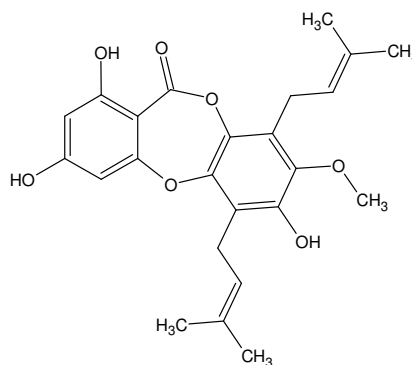
Esqueleto básico de uma depsidona

Entre as atividades biológicas apresentadas pelas depsidonas isoladas de líquens pode-se destacar contra micobactérias, bactérias Gram-positivas, insetos e nematóides, anti-inflamatória, analgésica, antipirética, antitumoral e antiviral (NEAMATI *et al.* 1997), além de moderada atividade anti-oxidante (HIDALGO *et al.* 1994). Uma das depsidonas de líquens que tem importância biológica é o ácido salazínico (**7**), que apresenta atividade na inibição da enzima HIV-1 integrase (NEAMATI *et al.* 1997) e atividade antitumoral contra sarcoma 180 e carcinoma de Ehrlich, sem apresentar acentuada atividade citotóxica (LIMA *et al.* 1996), atividade apoptótica (CORRECHE *et al.* 2004), contribuição na indução de efeitos de imunomodulação (SANTOS *et al.* 2004), além de atividade antimicobacteriana (INGOLFSDOTTIR *et al.* 1998) e antibiótica sobre a bactéria Gram-negativa *E. coli* (MICHELETTI *et al.* 2005).

Em plantas superiores há predominância de depsidonas preniladas, sendo que uma grande parte das substâncias descritas na literatura é encontrada em plantas do gênero *Garcinia*. Elas também apresentam uma série de atividades biológicas, tais como citotóxica (XU *et al.* 2000, PERMANA *et al.* 2005), antibacteriana, frente a bactérias Gram-positivas (PERMANA *et al.* 2001), inibição da ativação do vírus Epstein-Barr (ITO *et al.* 2001) e inibição da enzima fosfolipase A2 (HAMANO *et al.* 1992).



Ácido salazínico (7)



Atrovirisdona B (8)

(atividade citotóxica – PERMANA *et al.* 2005)

Assim como para as xantonas, as depsidonas também têm a variedade de estruturas limitada pela rota biossintética. Entretanto, de maneira diferente, há pouquíssimos trabalhos na literatura de reações de modificação estrutural ou síntese total para esta classe de substâncias (SALA e SARGENT 1981).

Como pôde ser observado nesta breve discussão sobre estas duas classes de produtos naturais, a natureza tem se mostrado uma fonte riquíssima de compostos bioativos (VERPOORTE 1998), onde os produtos do metabolismo secundário de plantas, fungos, liquens, algas e bactérias têm um papel de destaque. Desde a antiguidade até os dias atuais, ervas e plantas superiores têm sido usadas como agentes medicinais, primeiramente apenas numa base folclórica, e, mais recentemente, desenvolvidas numa base científica em drogas com princípios ativos isolados (LEE 2004). Atualmente, organizações internacionais de saúde e agências governamentais como a World Health Organization (WHO) e o U.S. Drug and Food Administration (FDA), têm reconhecido a importância dos produtos naturais, e um grande número de compostos derivados da natureza ou seus produtos de modificação se encontram em diferentes estágios de testes clínicos em vários centros de pesquisa (DOBHAL *et al.* 2004).

Uma análise dos produtos indicados como fontes de novas drogas no período entre 1981 e 2002, indica que mais de 60% das novas entidades químicas (NCEs) estão relacionadas aos produtos naturais de alguma forma, mesmo sendo produzidas sinteticamente, conforme relacionado na **figura 1**. No ano de 1993, das 150 drogas mais prescritas, segundo o National Prescription Audit of the United States, 55% eram produtos naturais ou tinham estruturas baseadas em farmacóforos de moléculas naturais (CRAGG, *et al.* 2005).

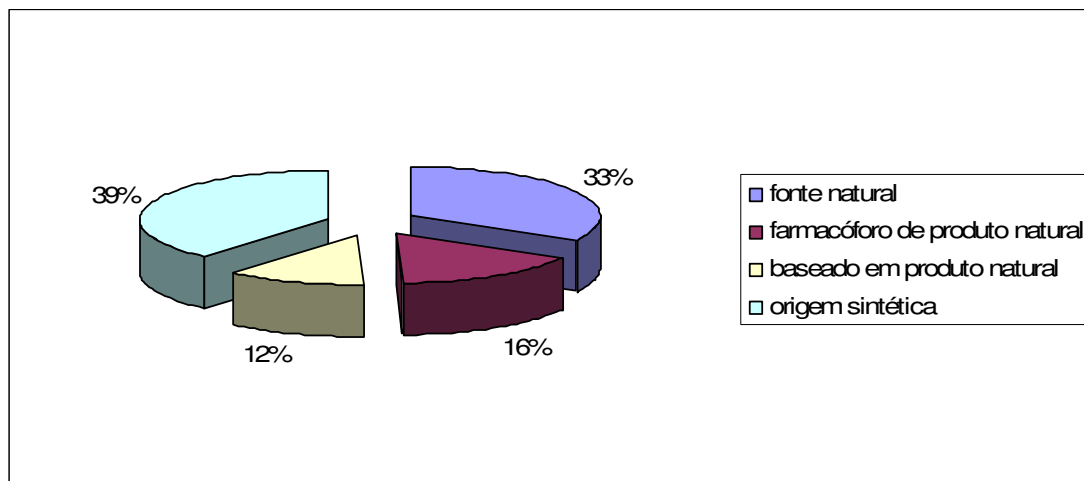
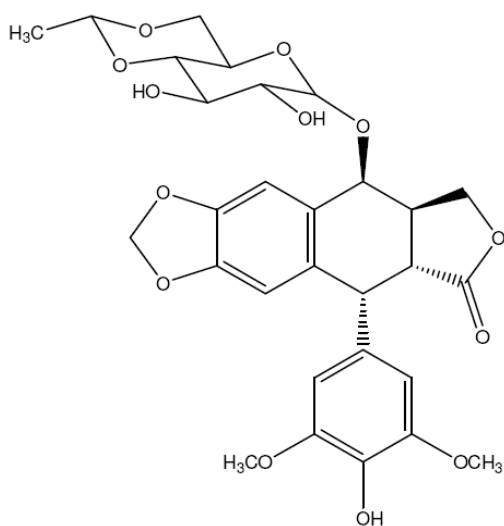


Figura 1. Distribuição da origem das novas entidades químicas (NCEs) entre 1981 e 2002 (CRAGG *et al.* 2005).

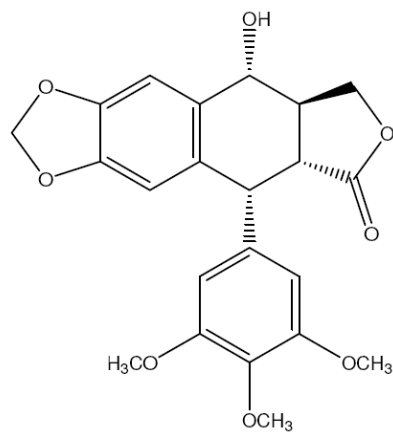
Isso mostra o papel de grande destaque do estudo dos produtos fornecidos pelos organismos vivos no desenvolvimento de novos fármacos, tanto diretamente quanto como modelos para a obtenção de substâncias sintéticas ou produtos de modificações por semi-síntese. O objetivo principal é potencializar as atividades, minimizar a toxicidade e obter características físico-químicas satisfatórias para um candidato a fármaco.

Um passo importante no desenvolvimento de novos fármacos a fim de tornar os protótipos mais adequados são os estudos de correlação estrutura-atividade biológica (SAR), que geralmente são realizados fazendo-se pequenas alterações na estrutura de um protótipo. Estas alterações podem ser classificadas convenientemente como: (1) a dimensão e a conformação do esqueleto carbônico, que podem incluir homologação de cadeias alquílicas, alteração do grau de insaturação, introdução ou remoção de um anel; (2) a natureza e o grau de substituição e (3) a estereoquímica do protótipo (THOMAS 2003).

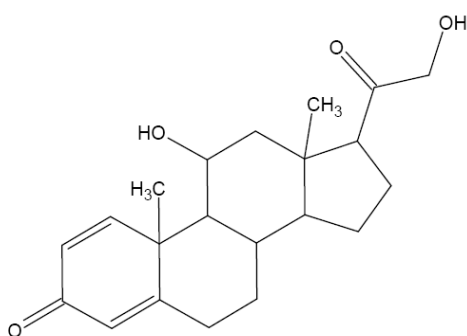
Alguns exemplos que ilustram o sucesso destas modificações são o etoposídeo (**9**), agente antineoplásico utilizado na terapêutica, derivado semi-sintético da podofilotoxina (**10**) (LEE 2004); a prednisona (**11**), fármaco derivado do cortisol (**12**), cerca de 30 vezes mais potente; e a metadona (**13**), que possui o farmacóforo da morfina (**14**), mas com estrutura muito mais simples, com menos efeitos colaterais (THOMAS 2003).



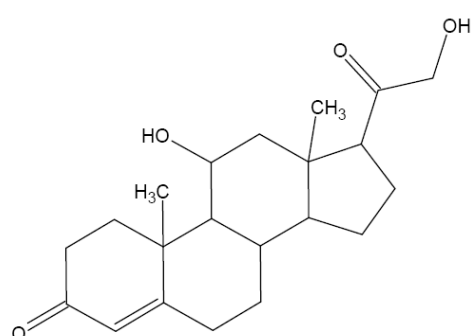
etoposídeo (9)



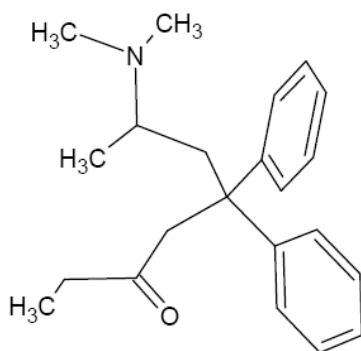
podofilotoxina (10)



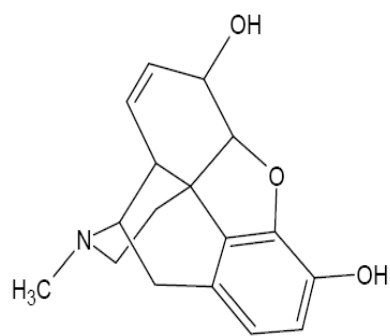
Predinisona (11)



cortizol (12)



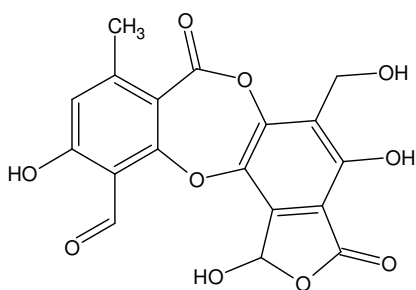
Metadona (13)



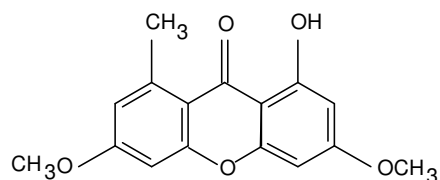
morfina (14)

Assim, a modificação estrutural de produtos naturais para a obtenção de novos compostos de potencial farmacológico é um campo extremamente promissor, com grandes desafios, que se mostra como ferramenta valiosa para a produção de medicamentos.

Há algum tempo, o grupo de Química de Líquens do Departamento de Química da UFMS vem desenvolvendo uma linha de pesquisa voltada para a modificação estrutural de compostos de líquens, visando a busca de novos compostos bioativos. Este trabalho se insere nesta linha, com a preparação de derivados da depsidona ácido salazínico (**7**) e da xantona liquexantona (**15**) com o objetivo de testá-los frente a algumas atividades biológicas e tentar, de alguma forma, relacionar os resultados dessas avaliações com as estruturas dos compostos produzidos.



Ácido salazínico (**7**)



Liquexantona (**15**)

Objetivos

2 - OBJETIVOS

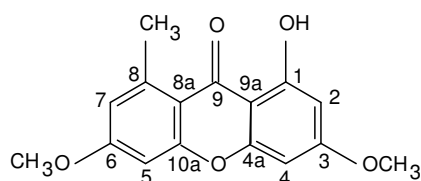
Os objetivos gerais deste trabalho foram:

- Isolar a xantona liquexantona e a depsidona ácido salazínico do líquen *Parmotrema lichexantonicum*;
- Submeter essas duas substâncias a reações de modificação estrutural;
- Isolar os produtos destas modificações e elucidar suas estruturas;
- Testar os compostos isolados ou obtidos via semi-síntese quanto a suas atividades citotóxica, tóxica sobre *Artemia salina*, antibiótica e antifúngica.

Discussão dos Resultados

3 - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Do extrato clorofórmico do líquen *Parmotrema lichexantonicum*, foram isolados a xantona liquexantona (**15**) e o depsídeo atranorina (**16**). Através da comparação dos fatores de retenção (R_f) com substância padrão e da análise espectral de RMN confirmou-se a estrutura da liquexantona (**15**) (HUNECK e YOSHIMURA 1996). A **tabela 1** apresenta os deslocamentos químicos de RMN de ¹H e ¹³C para a liquexantona (**15**).



Liquexantona (**15**)

Tabela 1 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a liquexantona (**15**) (espectros **E-1** a **E-3**, páginas 130-132).

C	H	Observado		Literatura ^a	
		RMN ¹ H ^b	RMN ¹³ C ^c	RMN ¹ H ^d	RMN ¹³ C ^e
C1	OH, s	13,36	163,7	13,21	162,6
C2	1H, d, <i>J</i> =2,2 Hz	6,26	96,7	6,78	96,3
C3			165,7		165,2
C4	1H, d, <i>J</i> =2,2 Hz	6,28	92,0	6,78	91,5
C5	1H, d, <i>J</i> =2,6 Hz	6,63	98,4	6,29; 6,41	98,3
C6			163,7		162,7
C7	1H, sl	6,62	115,4	6,29; 6,41	114,3
C8			143,4		141,9
C9			182,3		181,1
C4a			156,9		156,1
C8a			112,8		111,7
C9a			104,1		102,8
C10a			159,3		158,1
C3-OCH ₃	3H, s, OMe	3,85	55,7	3,89	55,0
C6-OCH ₃	3H, s, OMe	3,87	55,6	3,92	55,0
C8-CH ₃	3H, s	2,81	23,4	2,87	21,4

^aHUNECK e YOSHIMURA 1996; ^b 300 MHz, CDCl₃; ^c 75 MHz, CDCl₃; ^d 60 MHz, DMSO-d₆; ^e 25,05 MHz, DMSO-d₆

A estrutura do depsídeo **16** foi elucidada através da comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C com aqueles expressos na literatura (HUNECK e YOSHIMURA 1996). Estes dados são apresentados na **tabela 2**.

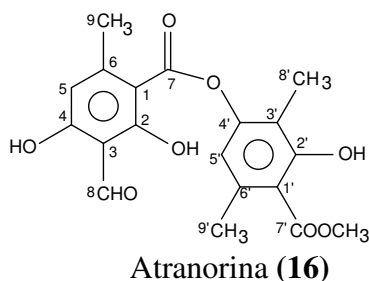


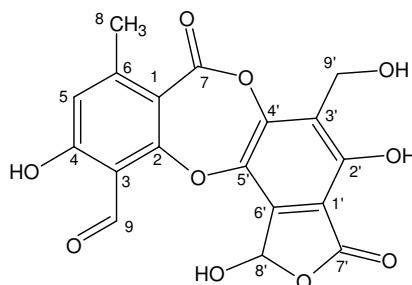
Tabela 2 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a atranorina (**26**) (espectros **E-4** a **E-6**, páginas 133-135).

C	H	Observado		Literatura ^a	
		RMN $^1\text{H}^b$	RMN $^{13}\text{C}^c$	RMN $^1\text{H}^d$	RMN $^{13}\text{C}^e$
C1			102,9		103,0
C2	OH, s	12,49	169,1	12,51	169,0
C3			108,6		108,7
C4	OH, s	12,54	167,5	12,56	167,5
C5	1H, s	6,39	112,9	6,40	112,8
C6			152,4		152,3
C7			169,7		169,6
C8	1H, s	10,35	193,8	10,36	193,6
C9	3H, s	2,68	25,6	2,69	24,4
C1'			116,8		116,8
C2'	OH, s	11,93	162,9	11,96	162,8
C3'			110,3		110,4
C4'			151,9		152,1
C5'	1 H, s	6,50	116,0	6,51	116,0
C6'			139,9		139,8
C7'			172,2		172,1
C8'	3H, s	2,08	24,0	2,09	23,8
C9'	3H, s	2,54	9,4	2,69	9,4
COOCH ₃	3H, s, OMe	3,98	52,3	3,99	52,2

^aHUNECK e YOSHIMURA 1996; ^b 300 MHz, CDCl₃; ^c 75 MHz, CDCl₃; ^d 400 MHz, CDCl₃; ^e 25,05 MHz, CDCl₃

* Sinais em 1,24, 1,55 (RMN de ^1H) e 29,7 (RMN de ^{13}C) ppm referentes a impurezas presentes na amostra.

Do extrato acetônico foi isolada a depsidona ácido salazínico (**7**). Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C para o ácido salazínico (**7**) se encontram na **tabela 3** (EIFLER-LIMA e KIM 2000).



Ácido salazínico (**7**)

Tabela 3 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para o ácido salazínico (**7**) (espectros **E-7** a **E-8**, páginas 136-137).

C	H	Observado		Literatura ^a	
		RMN $^1\text{H}^b$	RMN $^{13}\text{C}^c$	RMN $^1\text{H}^d$	RMN $^{13}\text{C}^e$
C1			111,9		111,9
C2			163,6		163,9
C3			110,6		110,3
C4	OH-4, s	12,04	164,0	12,12	164,9
C5	1H, s	6,87	117,4	6,84	117,5
C6			152,2		152,8
C7			160,4		160,0
C8	3H, s, Me	2,44	21,4	2,47	21,9
C9	1H, s	10,44	192,7	10,50	193,5
C1'			109,7		109,6
C2'	OH-2', s		152,8	10,38	153,3
C3'			123,4		122,5
C4'			148,1		147,9
C5'			138,0		137,6
C6'			137,3		137,5
C7'			165,9		166,3
C8'	1H, s/ OH-8', s	6,82/ 8,28	94,8	6,78/ 8,30	95,2
C9'	2H, s	4,64	52,7	4,70	54,2

^aEIFLER-LIMA e KIM 2000; ^b 400 MHz, DMSO- d_6 ; ^c 100 MHz, DMSO- d_6 ; ^d 300 MHz, CDCl_3 / DMSO- d_6 (1:3); ^e 75 MHz, CDCl_3 / DMSO- d_6 (1:3).

Reações para modificação estrutural do ácido salazínico (7) (HUNECK e TABACCHI 1987)

As reações para modificação da estrutura do ácido salazínico (7) seguiram uma adaptação da metodologia sugerida por HUNECK e TABACCHI (1987). O tempo de reação foi definido através do acompanhamento das reações por CCD, sendo elas interrompidas quando, visualmente, não era possível identificar mudanças de concentração dos produtos e do reagente. A **tabela 4** contém as informações sobre as proporções dos reagentes e tempo de reação. Para cada produto obtido, os dados referentes à separação cromatográfica também se encontram na **tabela 5**.

Tabela 4 – Informações experimentais das reações de modificação estrutural do ácido salazínico (7).

Álcool Reagente	Nº de mmols de álcool	Ácido salazínico (7)		Tempo de reação (h)	mistura reacional	
		Massa (mg)	mmols		Massa (mg)	Código
Metanol	617	149,6	0,38	~160	151,7	MET
Etanol	429	151,1	0,39	~160	153,3	ET
Propanol	333,3	148,2	0,38	144	151,4	PROP
Isopropanol	325	149,6	0,38	200	215,8	ISO-PROP
<i>n</i> -butanol	274	149,8	0,38	115	178,7	BUT
<i>sec</i> -butanol	273	140,1	0,35	155	161,3	SEC-BUT
<i>terc</i> -butanol	260	147,9	0,38	176	134,2	T-BUT
<i>n</i> -pentanol	230	148,5	0,38	50	191,7	PENT
<i>n</i> -hexanol	200	145,5	0,37	50	195,4	HEX

Tabela 5 – Condições cromatográficas para fracionamento dos derivados do ácido salazínico (**7**)

Mistura reacional	Eluente	Codificação das frações	Fração para análise espectroscópica	
			Código (massa em mg)	Eluente
PROP	gradiente hexano/ CHCl ₃	PROP-F1 a PROP-F65	PROP-F3 (8,9)	hexano/ CHCl ₃ (4:6 v/v)
IPROP	gradiente CHCl ₃ / acetona	ISOPROP-F1 a ISOPROP-F42	ISO-PROP-F5 (11,9)	CHCl ₃
BUT	gradiente CHCl ₃ / acetona	BUT-F1 a BUT-F31	BUT-F2 (36,7)	CHCl ₃
SECBUT	gradiente hexano/ acetato de etila	SECBUT-F1 a SECBUT-F11	SEC-BUT-F1 (9,3)	hexano/ acetato de etila (1:1 v/v)
TERCBUT	gradiente hexano/ CHCl ₃	TERCBUT-F1 a TERCBUT-F27	T-BUT-F15 (4,4)	hexano/ CHCl ₃ (6:4 v/v)
PENT	gradiente CHCl ₃ / acetona	PENT-F1 a PENT-F28	PENT-F2 (13,6)	CHCl ₃
HEX	gradiente CHCl ₃ / acetona	HEX-F1 a HEX-F30	HEX-F10 (~10)	CHCl ₃

As misturas reacionais provenientes das reações do ácido salazínico (**7**) com metanol e etanol se apresentaram muito complexas e de alta polaridade, e as condições testadas para sua separação e obtenção dos produtos não foram satisfatórias.

Todas as frações obtidas foram avaliadas por CCD, no eluente tolueno/ acetato de etila/ ácido acético (6:4:1 v/v/v), e aquelas que apresentaram o mesmo comportamento (R_f) foram reunidas.

As frações escolhidas para análise espectroscópica de RMN de ¹H, ¹³C (1D e 2D- apenas HEX-F10), em CDCl₃ ou acetona-d₆, foram aquelas que se apresentaram mais puras na análise cromatográfica e se constituíram as frações de maior massa.

De acordo com HUNECK e TABACCHI (1987) nas depsidonas que apresentam em sua estrutura um anel lactol, resultado de uma reação entre uma carboxila de ácido e uma carbonila de aldeído, este grupo se comporta como um ψ - ácido (ψ = pseudo). Em presença de álcoois, há a formação de ψ -ésteres, resultados da substituição da hidroxila do anel lactol. Além disso, há outro ponto de reação possível na estrutura do ácido salazínico (**7**): o carbono carbinólico, em posição benzílica 9'. Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C (espectros **E-9** a **E-32**, páginas 138 a 161) de todas as frações majoritárias obtidas das misturas reacionais da

condição 1 de reação mostram que, concordando com a literatura, houve substituição das hidroxilas benzílicas do ácido salazínico (**7**) por cadeias alquílicas.

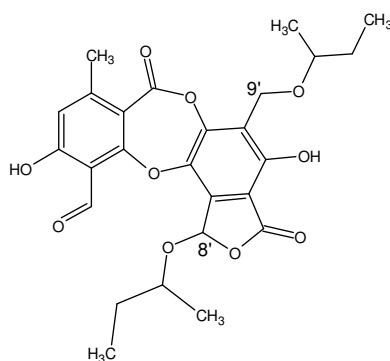
Nos espectros de RMN de ^1H (espectros **E-9**, página 138; **E-12**, página 141; **E-15**, página 144; **E-18**, página 147; **E-21**, página 150; **E-25**, página 154; **E-28**, página 157), verificou-se a presença dos sinais característicos do ácido salazínico (**7**) e ainda sinais adicionais, referentes aos hidrogênios das cadeias alquílicas introduzidas na região entre 0,80 e aproximadamente 2 ppm, onde as integrações das áreas dos picos indicavam a presença de duas dessas cadeias. Outro fator que sugeriu a presença de duas cadeias alquílicas foi a observação de dois tripletes (para álcoois lineares) na região de 3,5 ppm, atribuíveis a dois grupos metileno ligados a oxigênio, pertencentes à cadeia do álcool que foi inserida. Houve também uma proteção de aproximadamente 2 ppm do sinal do hidrogênio da hidroxila ligada ao carbono 2', que sugeriu a introdução de uma das cadeias alquílicas nas proximidades desse grupo, o que poderia causar essa proteção devido a efeitos estéricos.

Pelos espectros de ^{13}C (espectros **E-10**, página 139; **E-13**, página 142; **E-16**, página 145; **E-19**, página 148; **E-26**, página 155; **E-29**, página 158) foi possível confirmar a introdução de duas cadeias alquílicas do álcool na estrutura do ácido salazínico (**7**), e ainda localizar estas modificações. Estes espectros apresentam todos os sinais das cadeias alquílicas provenientes do álcool duplicados, com valores de δ muito próximos, com 2 sinais de grupos $-\text{CH}_2-\text{O}-$ na faixa de 70 ppm, que seriam os grupos diretamente ligados à molécula do ácido salazínico (**7**), provenientes do álcool. Os espectros apresentam ainda os mesmos sinais do espectro do ácido salazínico (**7**), com leves alterações de cerca de 1 a 2 ppm, com exceção de dois sinais: um em aproximadamente 100 ppm (metino) e outro em aproximadamente 60 ppm (metileno), que podem ser atribuídos, respectivamente, aos carbonos 8' e 9' dos derivados. Os sinais referentes a estes carbonos no espectro do material de partida têm valores de deslocamento químico de 94,9 e 52,7 ppm, respectivamente, que não aparecem nos espectros dos derivados. A desproteção desses sinais pela substituição de um hidrogênio por uma cadeia alquílica é facilmente explicada pelo surgimento de efeitos β de desproteção. Assim, apenas por esses dados, já foi possível determinar que a inserção das cadeias alquílicas na molécula do ácido salazínico (**7**) se dá nas posições 8' e 9', produzindo produtos de substituição das hidroxilas benzílicas como derivados majoritários.

A única exceção foi a reação do ácido salazínico (**7**) com *terc*-butanol. O espectro de RMN de ^1H da fração T-BUT-F15 (espectro **E-21**, página 150) mostra que houve a inserção de uma cadeia alquílica apenas, apresentando um sinal para as metilas do resíduo *terc*-butila com

o valor da integração cerca de três vezes a do sinal referente à metila 8 do esqueleto da depsidona. No espectro de RMN de ^{13}C (espectro **E-22**, página 151) foi observada a presença de apenas um sinal de carbono tetrassubstituído, referente ao grupo inserido, em 76,2 ppm, e um sinal de um grupo metileno em 56,04 ppm, juntamente com a manutenção do sinal em 95,3 ppm, sugeriu que a modificação ocorreu, neste caso, apenas em C-9'. Isso foi confirmado pelo espectro de RMN de gHMBC (espectro **E-24**, página 153), no qual foi possível observar a correlação entre este sinal em 76 ppm e o sinal do H-9', em 4,79 ppm.

Ainda foi possível observar, através das análises espectrais de RMN, que a fração SEC-BUT-F1 é composta por duas substâncias, praticamente idênticas, com alguns dos sinais, tanto do espectro de RMN de ^1H quanto de ^{13}C (espectros **E-18** e **E-19**, páginas 1147-148), aparecendo duplicados. Levando em conta estas informações, supõe-se que nesta fração encontram-se dois diastereoisômeros do derivado *sec*-butílico do ácido salazínico (**7**). Como o derivado possui 3 centros quirais na sua estrutura, a produção de diastereoisômeros já era esperada.



Principalmente pelo fato de os compostos estarem em mistura, experimentos de RMN bidimensionais que visam a observação de interações espaciais entre os átomos não dariam uma contribuição efetiva para a atribuição da configuração relativa dos centros quirais das moléculas dos derivados.

Assim, os derivados do ácido salazínico (**7**) obtidos através de sua reação com álcoois foram os éteres **17 a 23**, como mostra a **figura 2**.

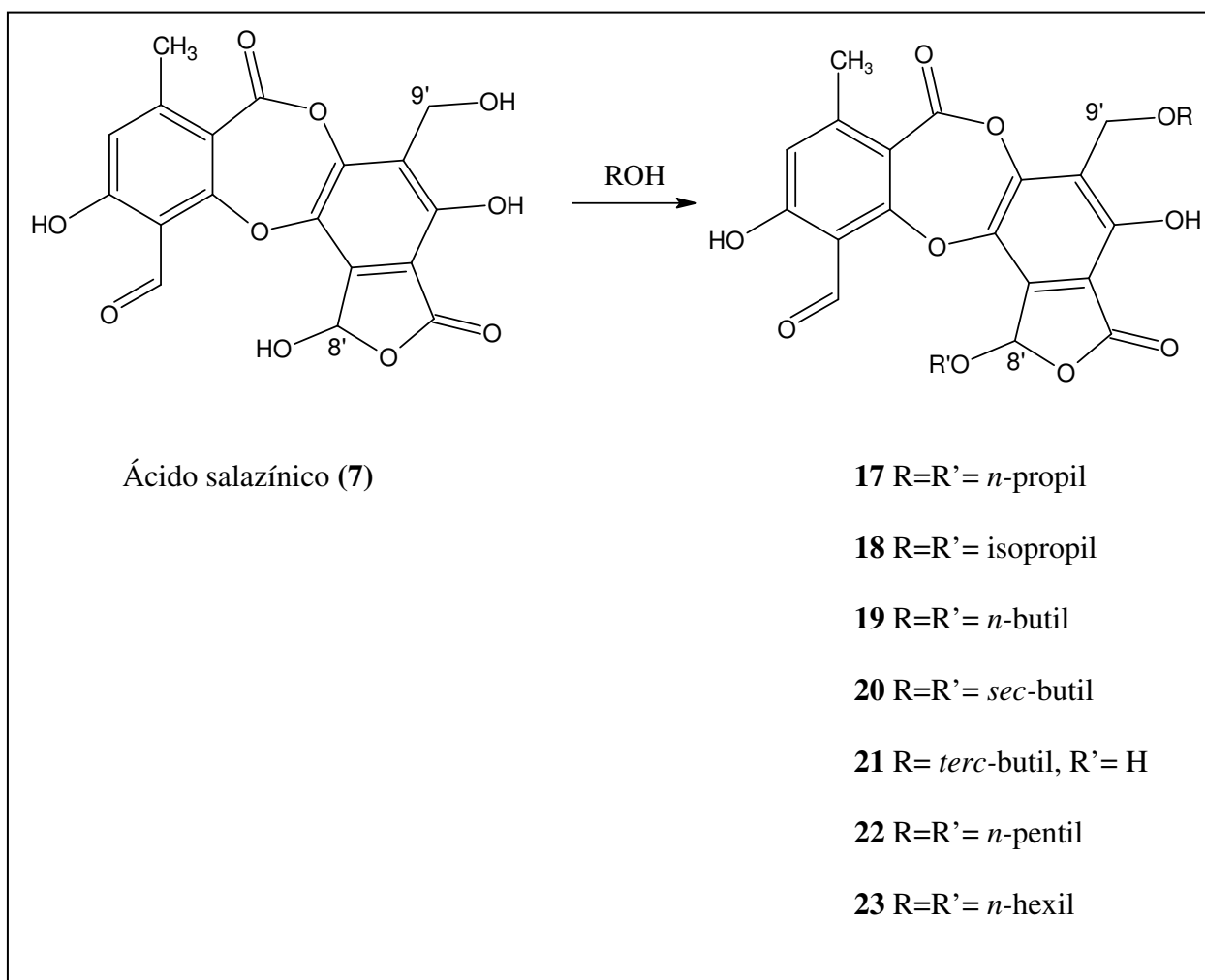
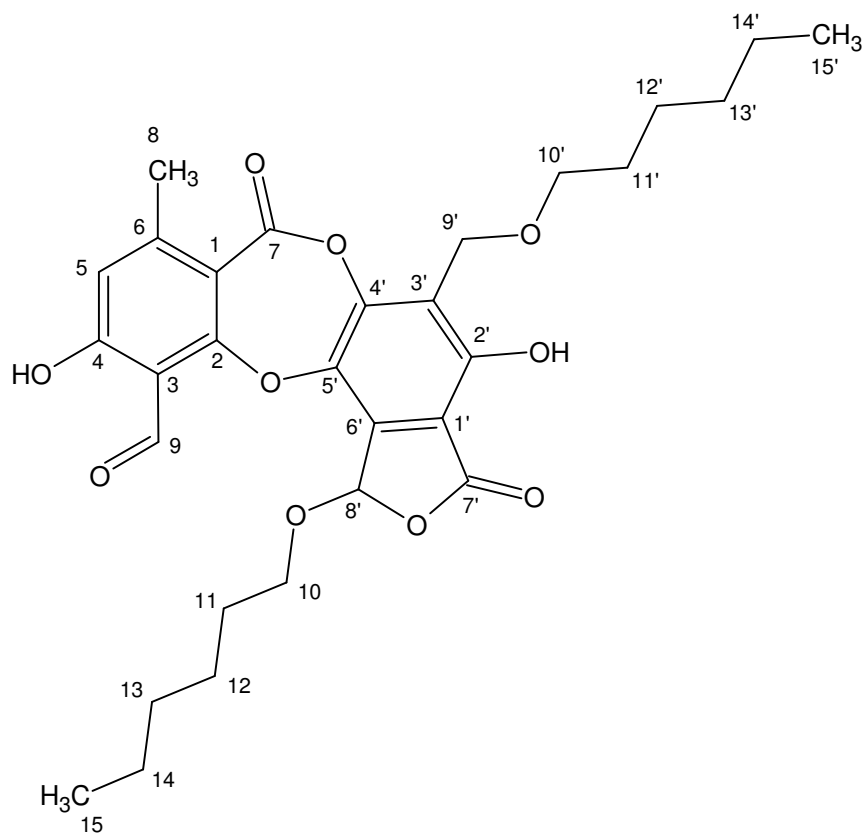


Figura 2. Representação esquemática da reação do ácido salazínico (**7**) com álcoois, dando os ácido 8', 9'-di-*O*-alquil salazínico, e o ácido 9'-*O-terc*-butil salazínico (**21**).

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C da fração HEX-F10, ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (**23**), juntamente com os do ácido salazínico (**7**) estão dispostos na **tabela 6**. Para atribuir de maneira correta, principalmente, os sinais dos carbonos das cadeias alifáticas, em especial quais seriam os carbonos e hidrogênios metilênicos das cadeias normais diretamente ligados às posições de substituição, foram obtidos espectros bidimensionais de HMBC e HMQC (espectros **E-31** e **E-32**, páginas 160-161). A fração escolhida foi HEX-F10, que contem o derivado ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (**23**), já que é o derivado que apresenta cadeia alquílica mais longa, e, assim, as observações que colaboraram para a atribuição dos sinais de carbonos e hidrogênios desta molécula, puderam ser aplicadas aos demais derivados da série. As correlações de longa distância entre hidrogênio e carbono são relatadas na **tabela 7**. Como as sinais dos hidrogênios das duas cadeias alquílicas estão sobrepostos, não foi

possível atribuir com certeza quais dos sinais são da cadeia ligada à posição 9' e quais são os da cadeia ligada à posição 8' . Apenas o sinal dos carbonos e hidrogênios dos grupos metileno diretamente ligados aos oxigênios destas duas posições puderam ser diferenciados a partir das informações contidas nos espectros bidimensionais.

Os dados espectroscópicos relacionados ao esqueleto básico da depsidona em todos os derivados são muito parecidos entre si. Desta maneira, as informações relevantes, ou seja, os deslocamentos químicos de H e C das cadeias alquílicas inseridas e dos C8' e 9' dos demais derivados da série, são apresentados nas **tabelas 8 e 9**.



ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (**23**)

Tabela 6 – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para o ácido salazínico (**7**) e para a fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (**23**)

C	H	Ácido salazínico (7)*		HEX-F10 (derivado <i>n</i> -hexílico)	
		RMN $^1\text{H}^a$	RMN $^{13}\text{C}^b$	RMN $^1\text{H}^c$	RMN $^{13}\text{C}^d$
C1			112,04		111,7
C2			163,7		164,2
C3			110,7		110,3
C4	OH-4, s	12,04	164,1	12,12	165,6
C5	1H, s	6,87	117,5	6,74	118,2
C6			152,4		153,9
C7			160,4		159,7
C8	3H, s, Me	2,44	21,5	2,51	22,5
C9	1H, s	10,45	192,8	10,45	192,9
C10	2H, t, J= 5,9 Hz	-	-	3,76	70,1
C11	4H, m	-	-	~1,5	29,1 ou 29,6
C12		-	-		31,4 ou 31,6
C13	12H, sl	-	-	1,25	25,3 ou 25,7
C14		-	-		22,3 ou 22,5
C15	6H, m	-	-	~0,86	14,0
C1'			109,7		109,2
C2'	OH-2', s	10,50	152,9		153,9
C3'			123,6		120,2
C4'			148,3		149,2
C5'			138,2		138,0
C6'			137,4		134,9
C7'			166,0		167,6
C8'	1H, s/ OH-8', s	6,80/ 8,33	94,9	6,47	100,1
C9'	2H, s**	4,64	52,7	4,78	62,8
C10'	2H, t, J= 6,9 Hz	-	-	3,59	71,9
C11'	4H, m	-	-	~1,5	29,1 ou 29,6
		-	-		31,4 ou 31,6
C12'	12H, sl			1,25	
C13'		-	-		25,3 ou 25,7
C14'		-	-		22,3 ou 22,5
C15'	6H, m	-	-	~0,86	14,0

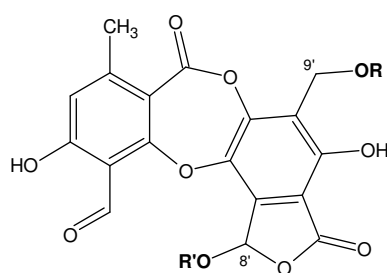
* EIFLER-LIMA e KIM 2000 a 300 MHz, DMSO- d_6 ; b 75 MHz, DMSO- d_6 (1:3); c 300 MHz, CDCl $_3$; d 75 MHz, CDCl $_3$.

** No derivado, os H 9' aparecem como 2d, com J= 11,8 Hz.

Tabela 7 – Deslocamentos químicos (δ , expressos em ppm) de ^1H e ^{13}C associados a correlações de longa distância (obtidos por espectros de HMBC) para o derivado ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (23)

C	H	RMN $^{13}\text{C}^b$	RMN $^1\text{H}^a$	Correlações ^1H - ^{13}C de longa distância (Espectro de HMBC)
C1		111,7		
C2		164,2		
C3		110,3		
C4	OH-4, s	165,6	12,10	
C5	1H, s	118,2	6,75	22,5; 110,3; 111,7; 165,6
C6		153,7		
C7		159,7		
C8	3H, s, Me	22,5	2,50	111,7; 118,2; 153,9
C9	1H, s	192,9	10,44	118,2; 165,6
C10	2H, t, J= 6,3 Hz	70,1	3,76	~25; ~29; 100,1
C11/11'	4H, m	~29	~1,5	~31,4; ~25; 71,9
C12/12'		~31,4		
C13/13'	12H, sl	~25	1,24	14,0; ~31,4
C14/14'		~22		
C15/15'	6H, m	~14	~0,85	~22; ~31,4
C1'		109,2		
C2'		153,9		
C3'		120,2		
C4'		149,2		
C5'		138,0		
C6'		134,9		
C7'		167,6		
C8'	1H, s	100,1	6,45	70,1 ; 167,6; 134,9; 149,2
C9'	2H, s	62,8	4,70	71,9 ; 120,2; 149,2; 153,9
C10'	2H, t, J= 6,6 Hz	71,9	3,57	~25; ~29; 62,8

^a 300 MHz, DMSO- d_6 ; ^b75 MHz, DMSO- d_6



Derivados do ácido salazínico. Dados espectrais nas **tabelas 8 e 9**.

Tabela 8 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H das cadeias alquílicas inseridas e dos H 8' e 9' derivados do ácido salazínico (**7**) (δ em ppm).

Derivado	Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ em ppm)											
	8'	9'	10	10'	11	11'	12	12'	13	13'	14	14'
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-<i>n</i>-propil salazínico (25) $\begin{matrix} 10' & 11' & 12' \\ \text{R} = & -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{matrix}$ $\begin{matrix} 10 & 11 & 12 \\ \text{R}' = & -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{matrix}$	6,48 (s, 1H)	4,78 (2d, J= 11,9 Hz, 2H)	3,74 (t, J= 6,9 Hz, 2H)	3,56 (t, J= 6,9 Hz, 2H)	1,62 (m, 4H)		0,89 e 0,92 (2t, J= 7,8 Hz, 6H)		-	-	-	-
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-isopropil salazínico (26) $\begin{matrix} 10' & 11' \\ \text{R} = & -\text{CH}-(\text{CH}_3)_2 \end{matrix}$ $\begin{matrix} 10 & 11 \\ \text{R}' = & -\text{CH}-(\text{CH}_3)_2 \end{matrix}$	6,54 (s, 1H)	4,77 (s, 2H)	4,26 (m, J= 6,4 Hz, 1H)	3,88 (m, J= 5,9 Hz, 1H)	1,25 – 1,40 (3d, J= 5,9 e 6,4 Hz, 12H)		-	-	-	-	-	-
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-<i>n</i>-butil salazínico (27) $\begin{matrix} 10' & 11' & 12' & 13' \\ \text{R} = & -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{matrix}$ $\begin{matrix} 10 & 11 & 12 & 13 \\ \text{R}' = & -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{matrix}$	6,47 (s, 1H)	4,77 (2d, J= 11,9 Hz, 2H)	3,77 (t, J= 6,9 Hz, 2H)	3,60 (t, J= 6,4 Hz, 2H)	1,56 (m, 4H)		1,34 (m, 4H)		0,89 e 0,90 (2t, J= 7,3 Hz, 6H)		-	-
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-<i>sec</i>-butil salazínico (28) $\begin{matrix} 10' & 13' & 11' & 12' \\ \text{R} = & -\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2-\text{CH}_3) \end{matrix}$ $\begin{matrix} 10 & 13 & 11 & 12 \\ \text{R}' = & -\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2-\text{CH}_3) \end{matrix}$	6,53 e 6,56 (s, 2H)	4,78 (2d, J= 11,5 Hz, 4H)	~4,0 (m, 2H)	3,6 (m, 2H)	1,44 (m, 8H)		0,90 (m, 12H)		1,23 – 1,40 (m 12H)		-	-
ácido 9'-<i>O</i>-<i>terc</i>-butil salazínico (29) $\begin{matrix} 10' & 11' \\ \text{R} = & -\text{C}(\text{CH}_3)_3 \end{matrix}$ $\text{R}' = \text{H}$	6,64 (s, 1H)	4,79 (s, 2H)	-	-	-	1,36 (s, 9H)	-	-	-	-	-	-
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-<i>n</i>-pentil salazínico (30) $\begin{matrix} 10' & 11' & 12' & 13' & 14' \\ \text{R} = & -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{matrix}$ $\begin{matrix} 10 & 11 & 12 & 13 & 14 \\ \text{R}' = & -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{matrix}$	6,47 (s, 1H)	4,77 (2d, J= 11,9 Hz, 2H)	3,76 (t, J= 6,9 Hz, 2H)	3,59 (t, J= 6,9 Hz, 2H)	1,58 (m, 4H)		1,29 (m, 8H)				0,87 (m, 6H)	

Tabela 9 - Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C das cadeias alquílicas inseridas e dos H 8' e 9' derivados do ácido salazínico (7) (δ em ppm).

Derivado	Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δ em ppm)											
	8'	9'	10	10'	11	11'	12	12'	13	13'	14	14'
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-<i>n</i>-propil salazínico (25) $\begin{array}{c} 10' \quad 11' \quad 12' \\ \text{R} = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$ $\begin{array}{c} 10 \quad 11 \quad 12 \\ \text{R}' = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$	100,1	62,6	71,6	73,4	22,3 e 22,8		10,1 e 10,5		-	-	-	-
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-isopropil salazínico (26) $\begin{array}{c} 10' \quad 11' \\ \text{R} = -\text{CH}-(\text{CH}_3)_2 \end{array}$ $\begin{array}{c} 10 \quad 11 \\ \text{R}' = -\text{CH}-(\text{CH}_3)_2 \end{array}$	98,3	60,3	72,8		20,9 – 22,9		-	-	-	-	-	-
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-<i>n</i>-butil salazínico (27) $\begin{array}{c} 10' \quad 11' \quad 12' \quad 13' \\ \text{R} = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$ $\begin{array}{c} 10 \quad 11 \quad 12 \quad 13 \\ \text{R}' = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$	100,1	62,7	69,7	71,5	31,2 e 31,6		18,9 e 19,2		13,7 e 13,8		-	-
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-<i>sec</i>-butil salazínico (28) $\begin{array}{c} 10' \quad 13' \quad 11' \quad 12' \\ \text{R} = -\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2-\text{CH}_3) \end{array}$ $\begin{array}{c} 10 \quad 13 \quad 11 \quad 12 \\ \text{R}' = -\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2-\text{CH}_3) \end{array}$	97,9 e 99,1	60,5 e 60,6	78,0 e 78,4		28,6 – 29,7 (4 sinais)		9,6 e 9,7		17,8 – 20,0 (3 sinais)		-	-
ácido 9'-<i>O</i>-<i>terc</i>-butil salazínico (29) $\begin{array}{c} 10' \quad 11' \\ \text{R} = -\text{C}(\text{CH}_3)_3 \end{array}$ $\text{R}' = \text{H}$	95,4	56,0	-	76,2	-	27,3	-	-	-	-	-	-
ácido 8', 9'-di-<i>O</i>-<i>n</i>-pentil salazínico (30) $\begin{array}{c} 10' \quad 11' \quad 12' \quad 13' \quad 14' \\ \text{R} = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$ $\begin{array}{c} 10 \quad 11 \quad 12 \quad 13 \quad 14 \\ \text{R}' = -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$	100,1	62,8	70,0	71,9	28,8 e 29,3		27,8 e 28,1		22,3		13,9	

- Rotação Ótica

Foi medida a rotação ótica do ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (**23**) em um polarímetro Perkin-Elmer modelo 341, em solução de metanol, à concentração de 4,14 mg/mL, caminho ótico de 1 dm e comprimento de onda (λ) de 589 nm, na tentativa de obter algum indício a mais sobre o mecanismo da reação. As medidas da rotação variaram entre +0,001 e +0,004, enquanto que a rotação ótica do ácido salazínico (**7**) é de - 0,6 (DMSO, 0,5%) (EIFLER-LIMA e KIM 2000). Este valor já é muito pequeno, e diminui no derivado. Desta forma, não foi possível chegar a qualquer conclusão a partir deste dado experimental.

- Proposta de mecanismo

Sugeriu-se, então, devido principalmente às características do substrato e da reação (solvolise), que estas reações de substituição devem seguir um mecanismo do tipo substituição nucleofílica unimolecular (Sn1), ilustrado na **figura 3**, com a formação de carbocátions benzílicos estáveis nas posições 8' e 9' com a saída das hidroxilas na forma de água. Isto seria possível por meio de auto catálise ácida, já que as hidroxilas fenólicas do ácido salazínico (**7**) têm acidez relativamente elevada, com valores de pKa de 5,23 e 6,13, calculados pelo programa ACD/ pKa DB. Uma vez formados estes cátions, nenhum outro carbono seria mais eletrofílico para ser atacado pelo oxigênio do álcool, que agiria como nucleófilo da reação, com posterior saída de H⁺.

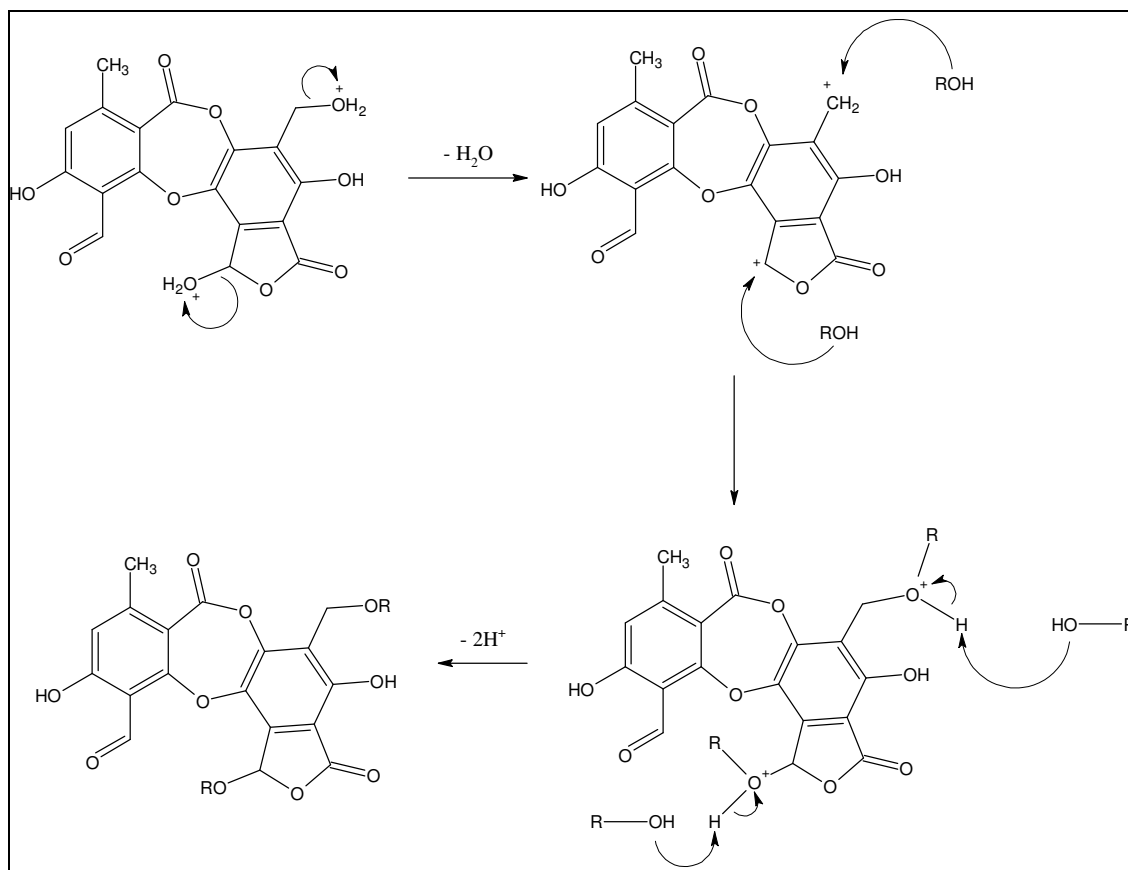


Figura 3 - Representação esquemática do mecanismo proposto para a reação de substituição das hidroxilas alifáticas do ácido salazínico (7) por um álcool.

O rendimento das reações foi relativamente baixo, especialmente dos derivados dos álcoois ramificados. A **tabela 10** mostra as massas obtidas dos derivados purificados e os rendimentos relativos das reações na **condição 1**, já que uma pequena parte desses produtos ainda se encontra em frações impuras.

Tabela 10 - Massas dos derivados obtidos e rendimentos relativos das reações de modificação estrutural do ácido salazínico (**7**) na **condição 1**.

Derivado	Massa obtida (mg)	Rendimento relativo (%)
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	46,3	23,68
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> -isopropil salazínico (SALIP) (18)	11,9	6,58
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	48,3	25,26
ácido 8', 9'-di- <i>O-sec</i> -butil salazínico (SALSB) (20)	9,3	5,31
ácido 9'- <i>O-terc</i> -butil salazínico (SALTB) (21)	10,7	6,31
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	80,2	39,76
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	85,0	40,00

O material de partida que não reagiu não pôde ser recuperado, permanecendo aderido na sílica utilizada para a purificação dos produtos.

As reações do ácido salazínico (**7**) com *n*-hexanol, *n*-pentanol, *sec*-butanol e *terc*-butanol foram repetidas utilizando ácido acético como catalisador (**condição 2**), já que, pelo mecanismo proposto, a catálise ácida é necessária. As duas primeiras foram completadas em 23 horas, a terceira com 135 horas, e a última em 255 horas. Praticamente não houve diminuição dos tempos de reação e as misturas reacionais se apresentaram mais complexas para purificação.

Outra condição testada visando favorecer as reações de modificação estrutural do ácido salazínico (**7**) foi o aumento da temperatura, de 60°C (**condição 1**) para 90°C (**condição 3**). Os tempos de reação e rendimentos, nas duas condições, se encontram na **tabela 11**.

Tabela 11 – Comparação entre os tempos e rendimentos de reação para obtenção dos derivados do ácido salazínico (7), nas **condições 1 e 3**.

Derivados	Condição 1 (60°C, s/ catalisador)		Condição 3 (90°C, s/ catalisador)	
	Tempo (h)	Rendimento (%)	Tempo (h)	Rendimento (%)
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	144	23,7	72	35,2
ácido 8', 9'-di- <i>O-isopropil</i> salazínico (SALIP) (18)	200	6,6	100	6,4
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	115	25,3	46	28,3
ácido 8', 9'-di- <i>O-sec</i> -butil salazínico (SALSB) (20)	155	5,3	80	9,3
ácido 9'- <i>O-terc</i> -butil salazínico (SALTB) (21)	176	6,3	150	15,6
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	50	39,7	30	35,4
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	50	40,0	23	21,3

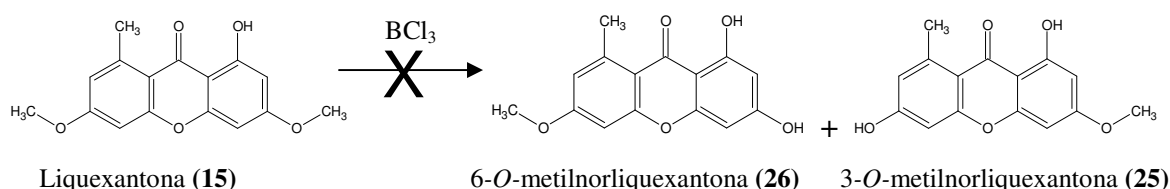
A partir dos dados da **tabela 11** é possível observar que a elevação da temperatura diminui sensivelmente o tempo necessário para que as reações ocorram e, em geral, mantém ou aumentam os seus rendimentos. Além disso, o comportamento cromatográfico das misturas reacionais, nas duas condições, se mostraram equivalentes, diferentes, portanto, da mistura obtida na **condição 2**. Os produtos obtidos nas duas condições (**1 e 3**) são os mesmos, o que foi confirmado através de análises espectroscópicas de RMN, e foram reunidos a fim de obter massas suficientes para a realização dos testes biológicos. Desta maneira a **condição 3** seria a mais apropriada para a obtenção dos derivados do ácido salazínico (7), produtos de substituição de suas hidroxilas alifáticas por grupos alquila.

Reações para modificação estrutural da liquexantona (15)

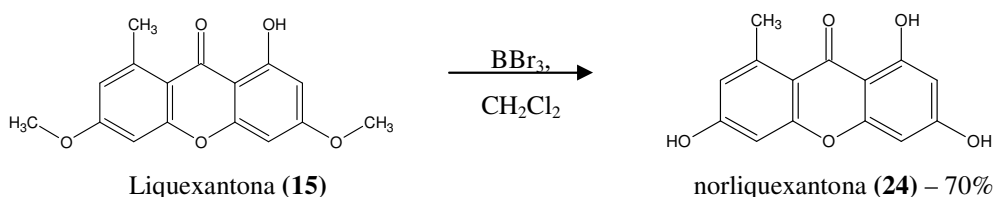
Reações de Demetilação

As reações de demetilação da liquexantona (15) foram realizadas com o objetivo de produzir o derivado totalmente demetilado, a norliquexantona (24), e os derivados mono-metilados, a 3-*O*-metil (25) e a 6-*O*-metilnorliquexantona (26).

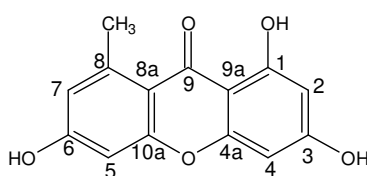
Na reação da liquexantona (15) com BCl_3 (ELIX *et al.* 1993), os produtos esperados não foram obtidos. Houve apenas a recuperação do material de partida.



No caso da reação com BBr_3 , realizada a fim de obter a norliquexantona (24), foi observado um produto principal, bastante polar, codificado como TDMLIQ-18. O espectro de RMN de ^1H (espectro E-33, página 162) da fração em acetona- d_6 apresentou sinais para uma metila aromática em 2,76 ppm e um sinal para uma hidroxila fenólica em 13,40 ppm. Para definição da estrutura do componente da fração, entretanto, o mais importante foi a ausência dos sinais das metoxilas, na região de aproximadamente 3,5 ppm, e a diferença de deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos, que na liquexantona (15) aparecem como 2 grupos de 2 dubletes com *J* de aproximadamente 2 Hz cada um. No espectro de TDMLIQ-18 os hidrogênios aromáticos aparecem como 2 dubletes com *J* de aproximadamente 2 Hz, entre 6,2 e 6,3 ppm, e um singlete, na região de 6,7 ppm. A partir destas informações foi possível atribuir a estrutura da substância presente em TDMLIQ-18 como sendo a da norliquexantona (24).



O espectro de ^{13}C da fração (espectro **E-34**, página 163) confirma a estrutura da norliquexantona (**24**), apresentando basicamente os mesmos sinais do espectro de ^{13}C da liquexantona (**15**), com exceção dos sinais das metoxilas, na região de 55 ppm, que não aparecem, e uma pequena desproteção dos sinais dos metinos aromáticos. Isto acontece pois a presença das metilas ligadas aos oxigênios vizinhos a estes carbonos na liquexantona (**15**) causa um efeito γ de proteção, que não é mais observado. Os dados espectroscópicos da norliquexantona (**24**) se encontram na **tabela 12**.



Norliquexantona (**24**)

Tabela 12 - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a norliquexantona (**24**) (espectros **E-33** a **E-36**, páginas 162-165).

C	H	Observado				Literatura ^a	
		RMN ^1H		RMN ^{13}C		RMN $^1\text{H}^f$	RMN $^{13}\text{C}^g$
C1	OH, s	13,4 ^b	13,4 ^c	164,7 ^d	163,0 ^e	13,44	163,2
C2	1H, d, J=2,2 Hz	6,17	6,11	99,2	97,8	6,19	97,9
C3	1H, OH	-	10,83	166,0	164,7		164,4
C4	1H, d, J=2,2 Hz	6,29	6,26	94,5	93,2	6,32	93,3
C5	1H, sl	6,70	6,64	102,0	100,5	6,71	100,6
C6	1H, OH	-	10,83	164,0	162,8		162,5
C7	1H, sl	6,70	6,63	117,4	116,2	6,71	116,0
C8				144,9	142,8		142,7
C9				183,4	181,4		181,3
C4a				158,5	156,4		156,6
C8a				113,1	110,9		111,0
C9a				104,2	102,1		102,2
C10a				160,7	158,8		158,6
C8-CH ₃	3H, s, Me	2,76	2,71	23,9	23,0	2,79	21,4

^aHUNECK e YOSHIMURA 1996; ^b 300 MHz, acetona -d₆; ^c 300 MHz, DMSO -d₆; ^d 75 MHz, acetona -d₆; ^e 75 MHz, DMSO -d₆; ^f 100 MHz, DMSO-d₆; ^g 25,05 MHz, DMSO-d₆

* Sinais em 2,03 e 2,04 ppm (RMN de ^1H , acetona -d₆) referentes a impurezas presentes na amostra.

Pode ser observado que há uma diferença significativa dos deslocamentos químicos, especialmente dos carbonos, da norliquexantona (**24**), dependendo do solvente no qual o experimento de RMN foi realizado. Em acetona- d_6 os sinais são mais desprotegidos se comparados aos sinais obtidos em DMSO- d_6 . Apenas no espectro de RMN de 1H (espectro E-35, página 164) em DMSO- d_6 foi possível observar o sinal das hidroxilas das posições 3 e 6, em 10,83 ppm.

Nesta reação, possivelmente o átomo de boro interage com o oxigênio da metoxila, polarizando a ligação O-C, deixando o carbono da metila com uma menor densidade eletrônica, como mostra a **figura 4**. Isso possibilita o ataque do brometo a este carbono, que é retirado na forma de brometo de metila, dando lugar a um hidrogênio, capturado do meio. O rendimento médio da reação foi de aproximadamente 70%.

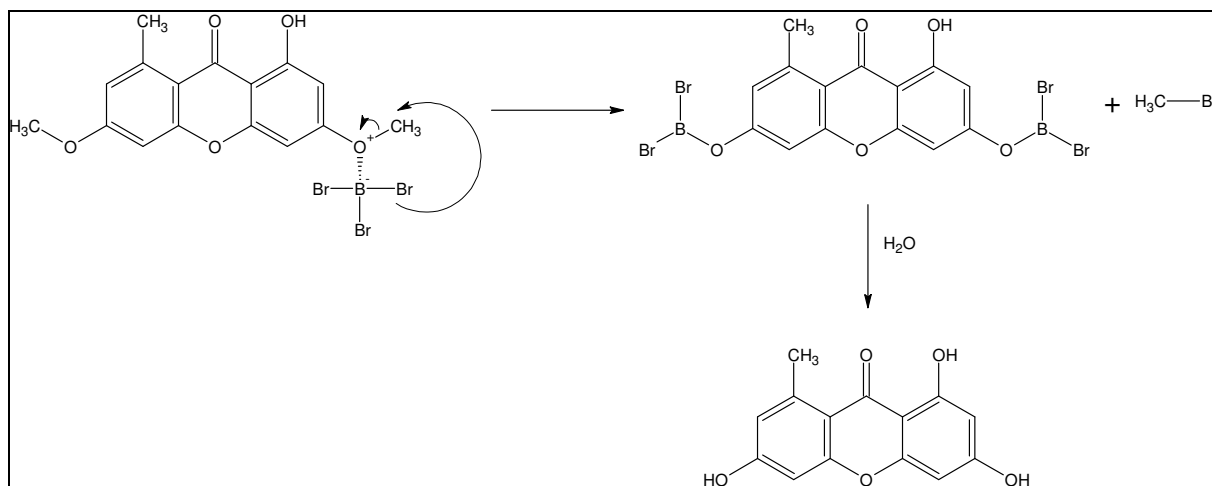
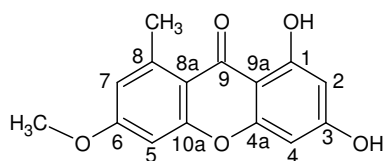
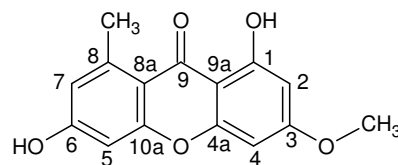
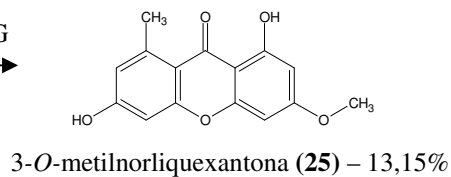
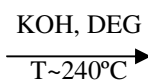
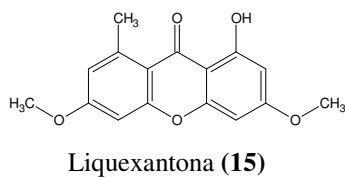


Figura 4. Representação esquemática do mecanismo proposto para a reação de demetilação da liquexantona (**15**) com BBr_3 .

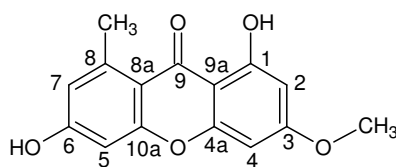
Como não foram observados os produtos de demetilação parcial da liquexantona (**15**), a tentativa de uma reação alternativa foi realizada, utilizando cloridrato de piridina, auxiliada por microondas, segundo o procedimento descrito por KULKARNI e colaboradores (1999). Entretanto, mesmo com um longo tempo de reação, não houve a formação de nenhum produto, e a metodologia não foi eficiente, para este caso. Ainda neste intuito, outra tentativa também realizada foi a metodologia descrita por JOSHI e colaboradores (1997), utilizando HBr dissolvido em ácido acético. Também esta reação não teve resultados satisfatórios.

6-*O*-metilnorliquexantona (**26**)3-*O*-metilnorliquexantona (**25**)

Outra alternativa para a obtenção destes derivados monometilados foi a reação com KOH em dietilenoglicol (DEG), a uma temperatura de aproximadamente 240°C. Nesta reação, foi obtida a norliquexantona (**24**), que compunha a fração DMLIQDEG-8, e uma outra fração, menos polar, codificada como DMLIQDEG-4. O espectro de ^1H desta fração (espectro **E-37**, página 166) mostrou-se muito semelhante ao da norliquexantona (**24**) no mesmo solvente, inclusive nos deslocamentos químicos dos sinais dos hidrogênios aromáticos. Entretanto, apresentou um sinal para uma metoxila, na região de 3,9 ppm, o que indicou que a fração era composta por um dos derivados monometilados da norliquexantona (**24**). Pelo espectro de ^{13}C da fração (espectro **E-38**, página 167) foi possível atribuir a metoxila à posição 3, e não à 6, do esqueleto xantônico devido, principalmente, aos deslocamentos químicos de alguns carbonos aromáticos. No espectro da fração, observou-se sinais de metinos aromáticos em 93,0; 98,0; 102,0 e 117,5 ppm, atribuídos respectivamente aos carbonos 4, 2, 5 e 7 do núcleo xantônico. Considerando os deslocamentos químicos dos mesmos carbonos no espectro da norliquexantona (**24**), no mesmo solvente, acetona- d_6 , é possível observar uma pequena proteção nos sinais dos carbonos 2 e 4, que seriam resultado de um efeito γ de proteção da metila ligada ao oxigênio da posição 3. Se a metoxila estivesse ligada ao carbono 6, este efeito se concentraria nos sinais dos carbonos 5 e 7. Assim, a fração DMLIQDEG-4 corresponde a 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**), obtida, seletivamente, com um rendimento de 13,15%.



Os dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C da 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**) se encontram na **tabela 13**.

3-*O*-metilnorliquexantona (**25**)**Tabela 13** - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**) (espectros **E-37** a **E-39**, páginas 166-168).

C	H	Observado		Literatura ^a	
		RMN ¹ H ^b	RMN ¹³ C ^c	RMN ¹ H ^d	RMN ¹³ C ^e
C1	OH, s	13,40	164,2	13,42	162,6
C2	1H, d, J=2,4 Hz	6,24	98,0	6,27	96,3
C3			167,5		165,2
C4	1H, d, J=2,4 Hz	6,39	93,0	6,43	91,5
C5	1H, sl	6,70	102,0	6,72	100,2
C6			164,2		162,5
C7	1H, sl	6,70	117,5	6,70	116,0
C8			145,0		142,5
C9			183,6		181,1
C4a			158,4		156,1
C8a			113,1		110,6
C9a			104,9		102,8
C10a			160,8		158,6
C3-OCH ₃	3H, s, OMe	3,90	56,8	3,92	55,5
C8-CH ₃	3H, s, Me	2,77	23,9	2,78	22,5

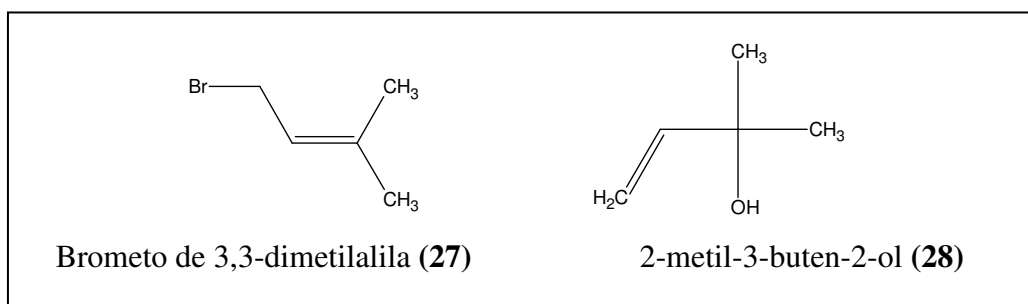
^aHUNECK e YOSHIMURA 1996; ^b 300 MHz, acetona -d₆; ^c 75 MHz, acetona -d₆; ^d 60 MHz, acetona-d₆; ^e 25,05 MHz, DMSO-d₆

Esta reação foi repetida por diversas vezes, com o objetivo de acumular massa do derivado para os testes de avaliação de atividades biológicas e para outras reações.

Nesta reação, é possível que haja uma ataque nucleofílico do ânion OH⁻ no carbono aromático 6, e a saída de metóxido. Esta posição seria mais favorável que a posição 3, já que há menos oxigênios ligados ao anel, que estaria, dessa forma, menos rico em elétrons e mais propenso a esse tipo de reação, sem descartar, no entanto, a possibilidade de ataque nucleofílico do OH⁻ ao carbono da metoxila.

Reações de Prenilação

A fim de obter derivados prenizados da liquexantona (**15**), várias condições de reação foram testadas. Todas elas podem ser consideradas como substituições nucleofílicas, onde um anel aromático (C-prenilação) ou um oxigênio (O-prenilação) são os nucleófilos que atacam espécies eletrofílicas. Os dois reagentes utilizados foram o brometo de 3,3-dimetilalila (**27**) e o 2-metil-3-buten-2-ol (**28**).



Na reação com o brometo **27**, o grupo metileno ligado diretamente ao bromo é atacado pelo nucleófilo com subsequente deslocamento do brometo, seguindo um mecanismo do tipo Sn2. Como o átomo de oxigênio é melhor nucleófilo, há preferência para a formação de produtos O-prenilados. Na reação com o álcool **28**, utiliza-se BF_3 , que polariza a ligação dupla, deixando o carbono terminal passível de ser atacado por um nucleófilo (**figura 5**). Desta maneira, o par de elétrons da ligação dupla se desloca e há a eliminação de HO^- . Já nesta reação, como o BF_3 complexa com os oxigênios, o melhor nucleófilo é o anel aromático, e por isso há preferência de formação de produtos C-prenilados.

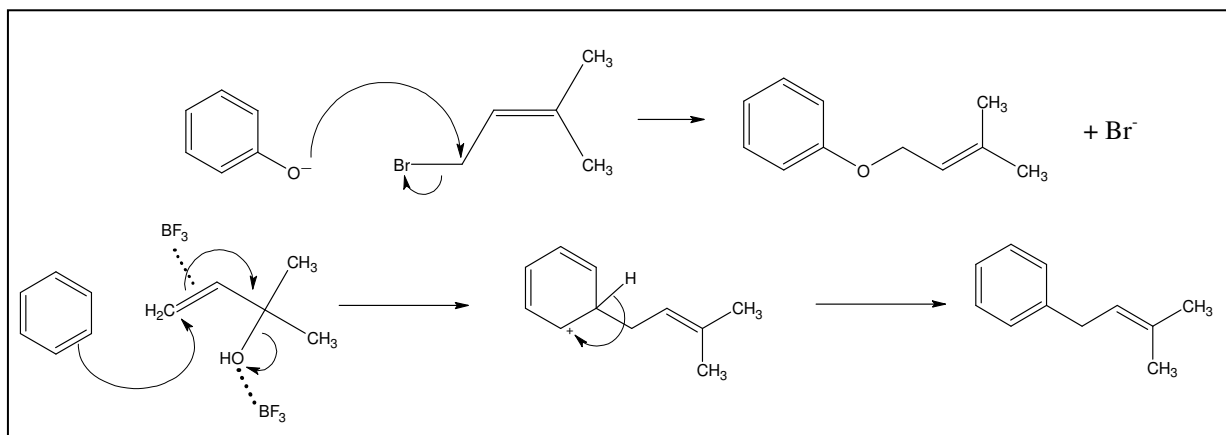


Figura 5. Representação esquemática das reações de prenilação com brometo de 3,3-dimetilalila (**27**) e com 2-metil-3-buten-2-ol (**28**).

Foram realizadas duas reações com brometo de 3,3-dimetilalila (**27**), em meio básico, sendo uma delas realizada em meio aquoso e outra em acetona. No caso da reação realizada em meio aquoso visando a *C*-prenilação do substrato (HELESBEUX *et al.* 2004), é provável que a reação não tenha ocorrido pela baixa solubilidade da liquexantona (**15**) na solução aquosa, mesmo em pH elevado. Já em acetona, com a solubilidade mais adequada, pôde-se observar, pelo espectro RMN de ^1H da mistura reacional, codificada como P1-LIQ, que houve reação de prenilação, pelo aparecimento de sinais na região de 3,3 ppm e 5,2 ppm, que poderiam ser atribuídos a produtos *C*-prenilados, e sinais na região de 4,7 e 5,5 ppm, atribuíveis a produtos *O*-prenilados (**figura 6**).

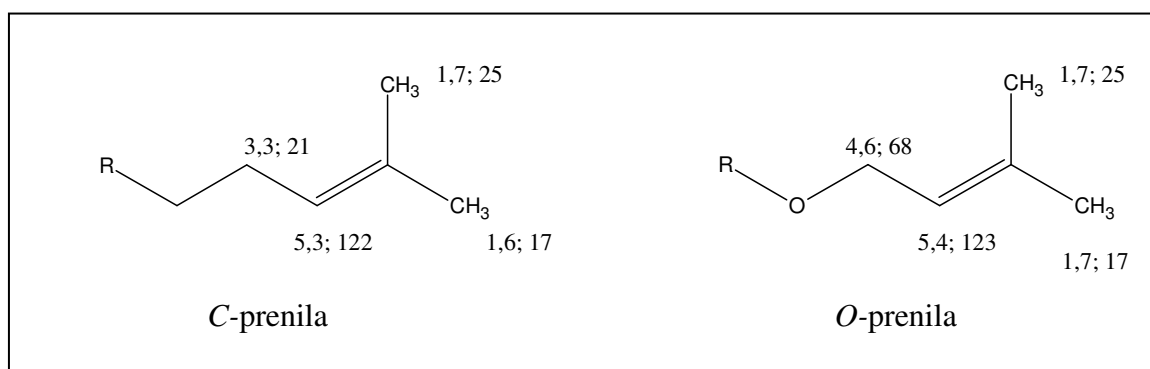


Figura 6. Deslocamentos químico de ^1H ; ^{13}C dos grupos *C*-prenila e *O*-prenila.

Entretanto, puderam ainda ser observados no espectro os sinais da liquexantona (**15**), em maior proporção com relação aos sinais dos grupos prenila, como mostra a **figura 7**.

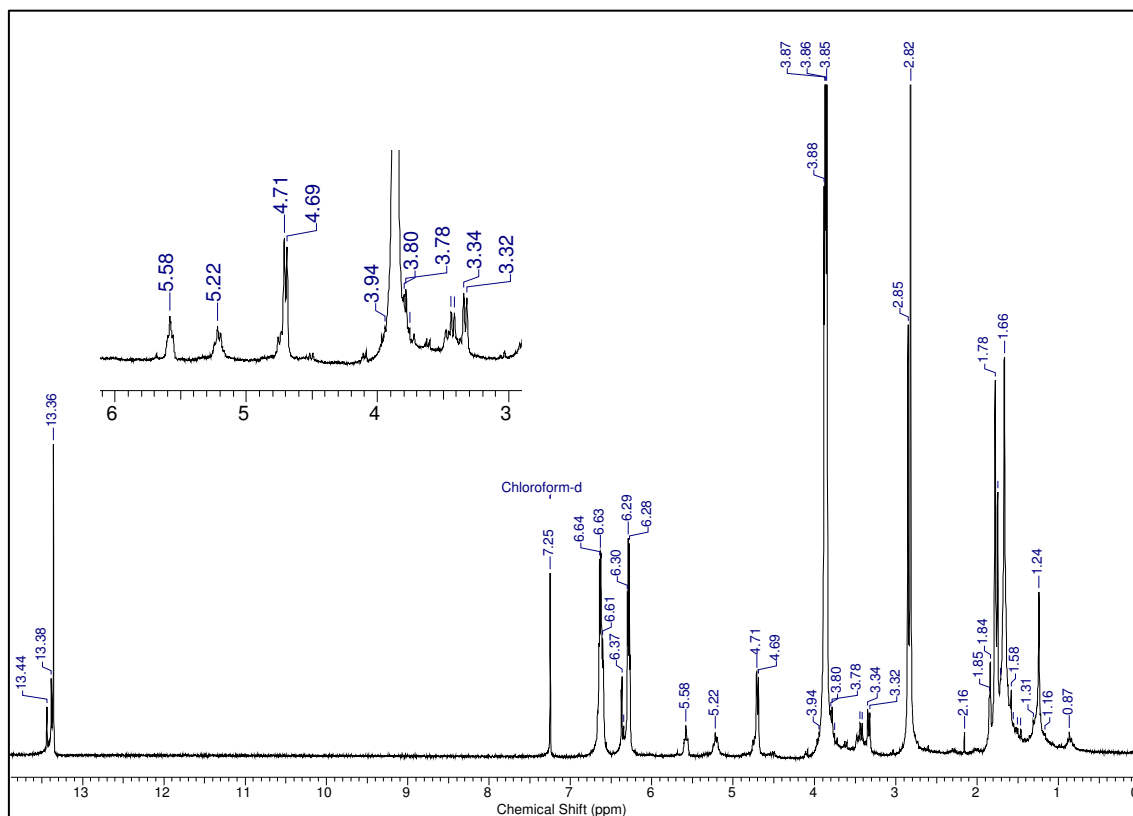


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H de P1-LIQ, em CDCl_3 , com ampliação da região entre 3 e 6 ppm.

Na tentativa de identificar os derivados, a mistura foi fracionada, e as frações analisadas por RMN de ^1H . O espectro da fração P1-LIQ-2 (**figura 8 A**), mais polar que a liquexantona (**15**), mostrou sinais pouco intensos, compatíveis com a inserção de grupos prenila em oxigênio (4,74 ppm), enquanto que P1-LIQ-4 (**figura 8 B**), mostrou sinais que sugeriram a inserção de grupos prenila apenas em carbono (3,42 ppm). Porém, nesta última todos os sinais, inclusive os da liquexantona (**15**) que está presente na mistura, se apresentaram muito pequenos com relação aos sinais de material graxo, entre 0 e 1,5 ppm, prejudicando a observação dos sinais com mais detalhes.

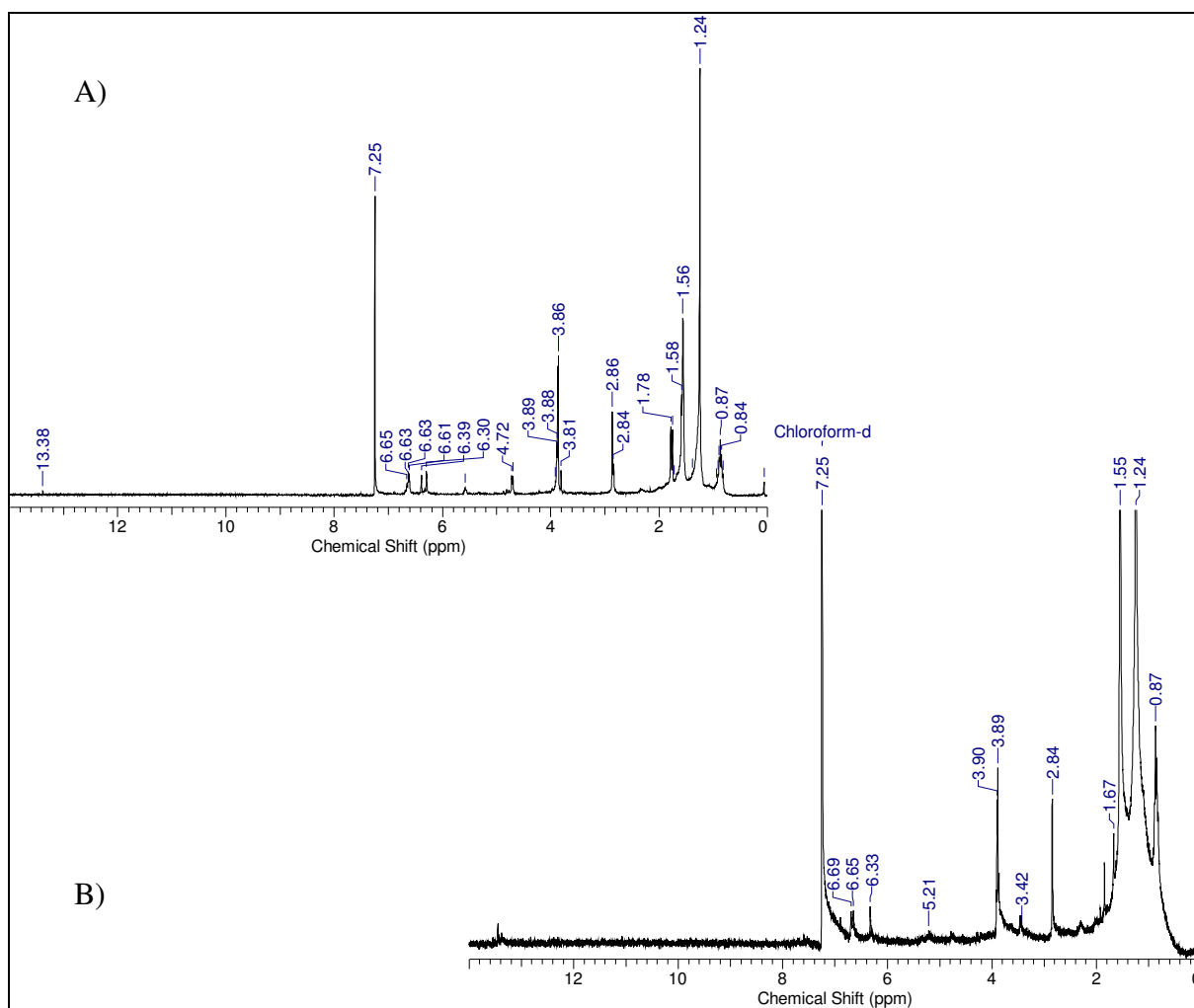
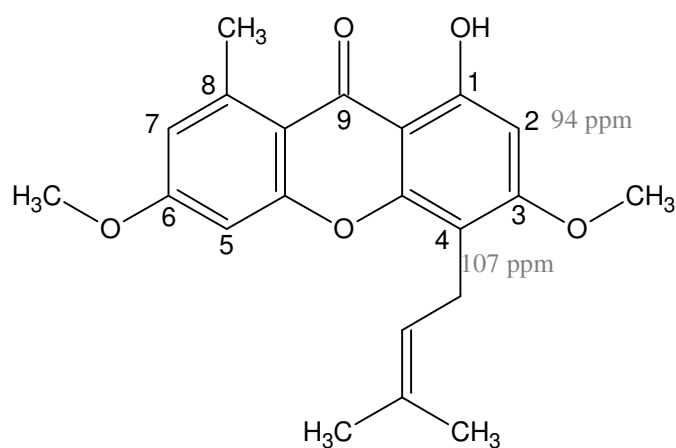


Figura 8. Espectro de RMN de ^1H de A) P1-LIQ-2 e B) P1-LIQ-4, em CDCl_3 .

Também foi testado o método descrito por JAIN e colaboradores (1970), com o objetivo de obter derivados *C*-prenilados da liquexantona (**15**), utilizando 2-metil-3-buten-2-ol (**28**). A mistura reacional (P2-LIQ), como nos casos anteriores, constituiu-se majoritariamente pelo material de partida, e no seu processo de fracionamento, apenas duas frações obtidas foram selecionadas para análise espectral. No espectro de RMN de ^1H da fração P2-LIQ-16, os sinais principais são os da liquexantona (**15**), mas é possível observar sinais de baixa intensidade para um grupo *C*-prenila (**figura 9**).

No espectro de RMN ^{13}C (**figura 10**), é possível observar os sinais da liquexantona, muito intensos, e ainda sinais para um derivado *C*-prenilado (17,8 e 21,5 (CH_3); 25,8 (CH_2) e 122,4 (CH), característicos para o grupo). Para tentar determinar a posição de substituição deste grupo é necessário observar os sinais na região dos carbonos aromáticos. Há um sinal de metino em 94 ppm, de intensidade bem menor que a dos sinais dos metinos da liquexantona, que poderia ser atribuído ao derivado, e um sinal muito pouco intenso, na faixa de 107 ppm,

de um carbono tetrasubstituído, no qual teria sido inserido o grupo prenila. Como o sinal do metino está entre os sinais dos carbonos nas posições 2 e 4 do esqueleto da xantona, o substituinte deve ter sido inserido no anel A. Deste modo, as duas posições possíveis são exatamente a 2 ou a 4. Na liquexantona, o carbono 4 é mais protegido, com deslocamento químico no valor de aproximadamente 92 ppm, e o carbono 2, na faixa de 96 ppm. Como a inserção de um grupo em uma dessas posições causaria um efeito γ de proteção na outra, é possível que o grupo prenila tenha sido inserido no carbono 4, protegendo o carbono 2, deslocando seu sinal em 2 ppm. Desse modo, um dos derivados produzidos nesta reação seria a 1-hidróxi-3,6-dimetóxi-8-metil-4-(3-metilbut-2-en-1-il)-9H-xanten-9-ona (**29**).



1-hidróxi-3,6-dimetóxi-8-metil-4-(3-metilbut-2-en-1-il)-9H-xanten-9-ona (**29**)

Também no espectro da fração P2-LIQ-9, fração mais apolar que a descrita anteriormente, pôde-se observar sinais de pelo menos dois grupos prenila ligados a carbonos, em proporções diferentes (**figura 11**) sugerindo uma mistura de componentes. Entretanto, não foi possível determinar a posição de inserção dos grupos no esqueleto da xantona.

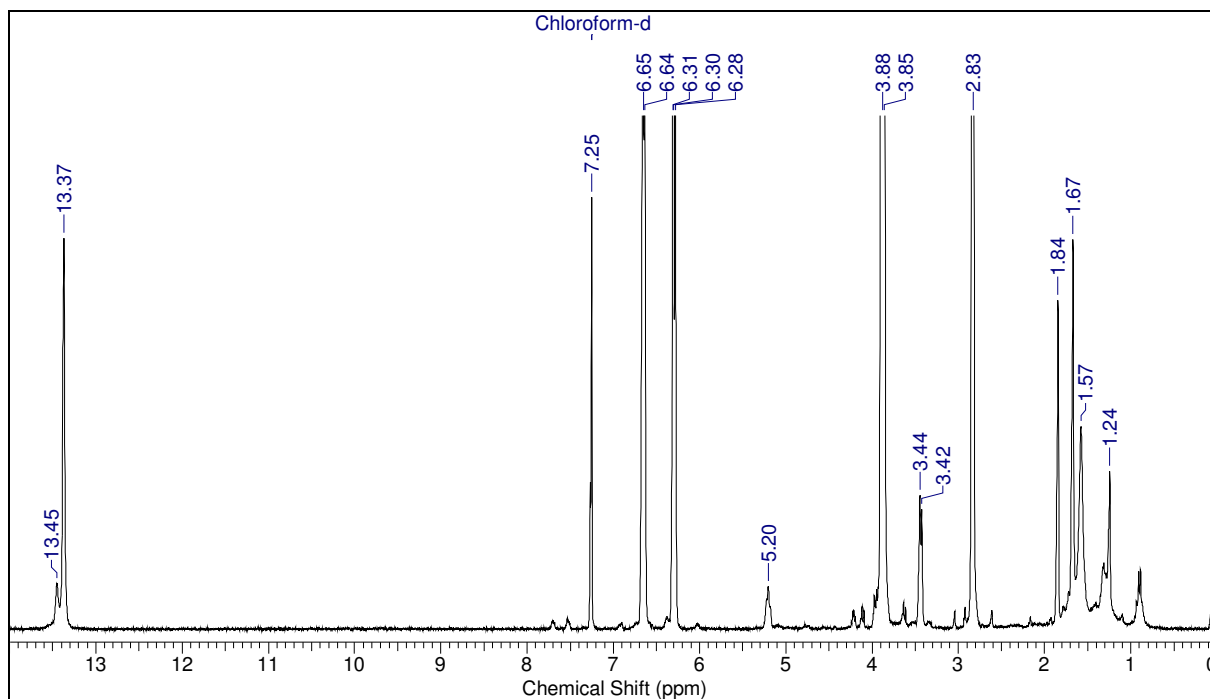


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H de P2-LIQ-16, em CDCl_3 .

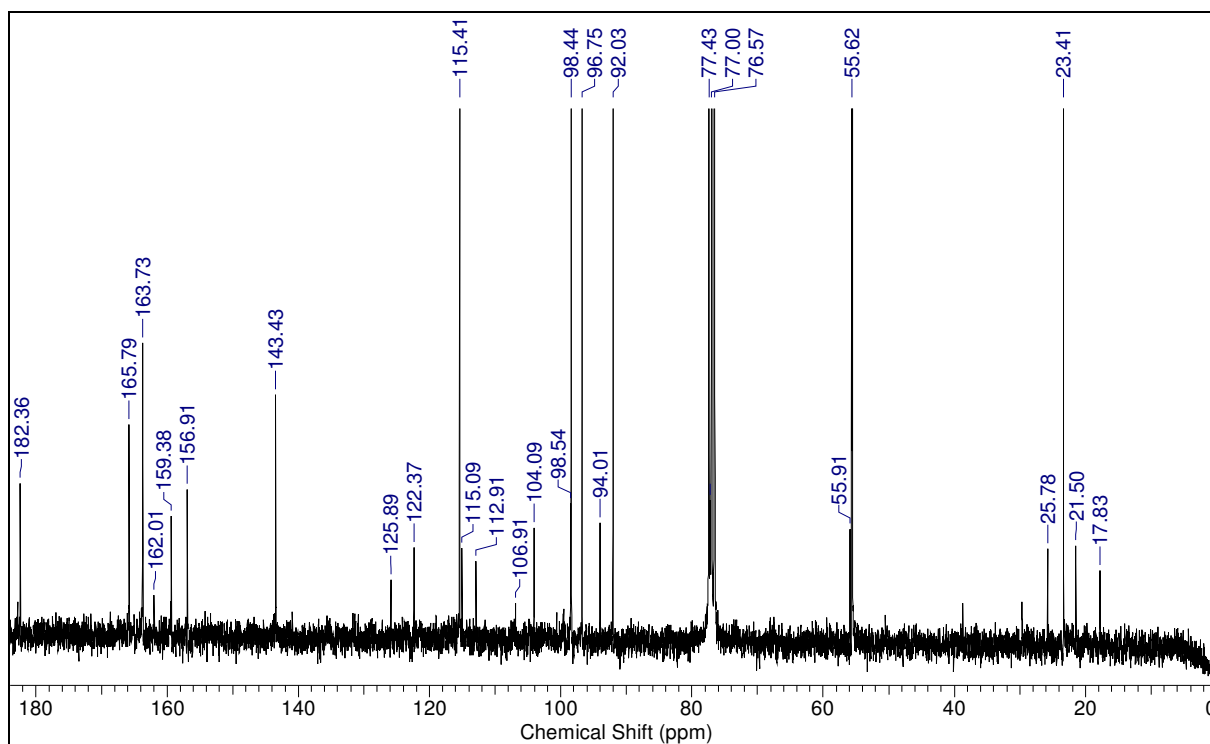


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C P2-LIQ-16, em CDCl_3 .

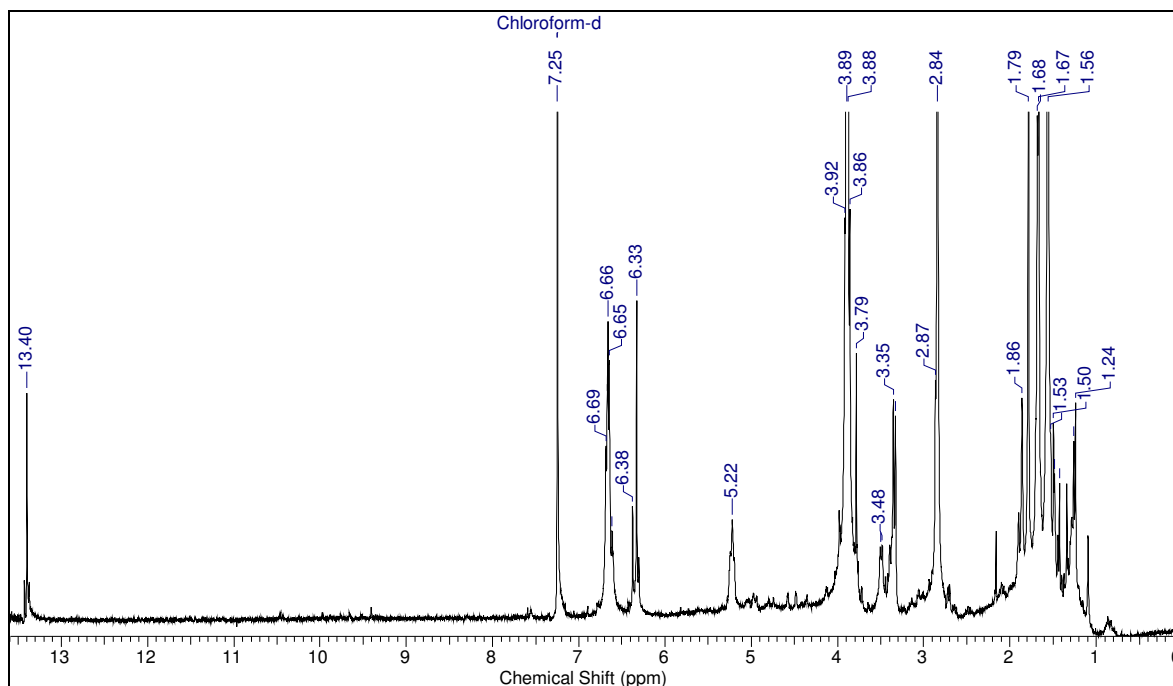


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H de P2-LIQ-9, em CDCl_3 .

Na segunda tentativa de reação de prenilação com o álcool, a mistura P2-LIQ2 foi fracionada e apenas uma fração contendo algum composto diferente da liquexantona (**15**) foi obtida: P2-LIQ2-5. No espectro de ^1H da fração (**figura 12**) observou-se os sinais do material de partida, bastante intensos, e sinais de baixa intensidade, em 3,4 (d) e 5,2 (tl) ppm, compatíveis com os sinais de um grupo C-prenila. O espectro de RMN de ^{13}C (**figura 13**) se mostrou bastante semelhante ao de P2-LIQ-16, porém com sinais mais intensos para o derivado. Desta maneira, concluiu-se que a fração era composta de liquexantona (**15**) e também de 1-hidróxi-3,6-dimetóxi-8-metil-4-(3-metilbut-2-en-1-il)-9H-xanten-9-ona (**29**), em menor proporção.

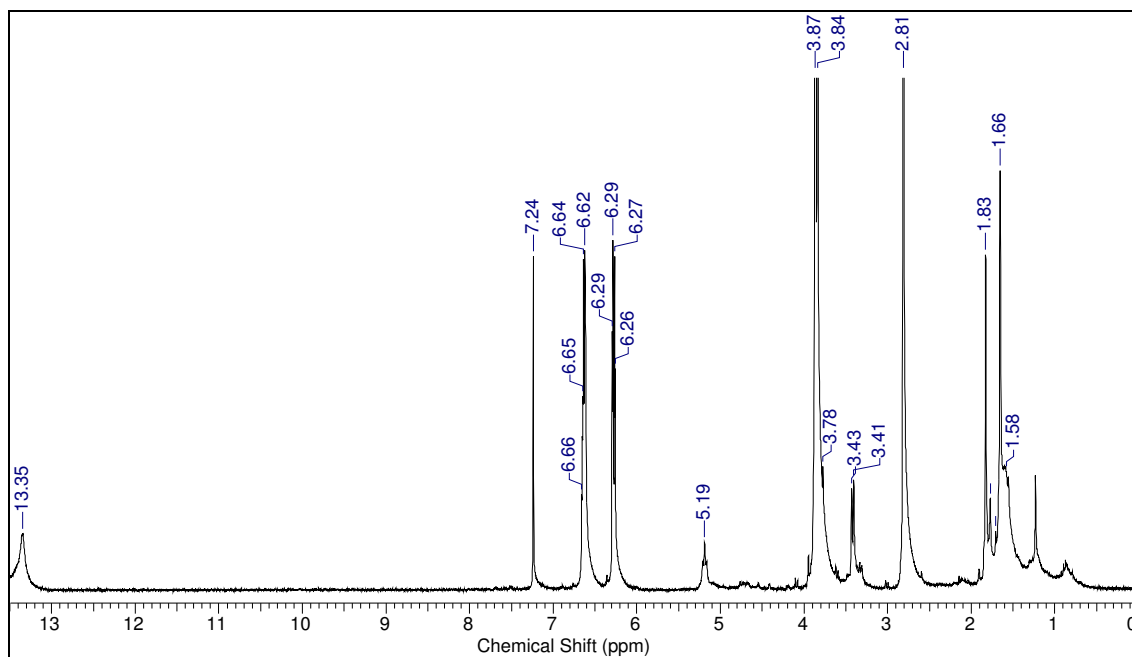


Figura 12. Espectro de RMN de ^1H de P2-LIQ2-5, em CDCl_3 .

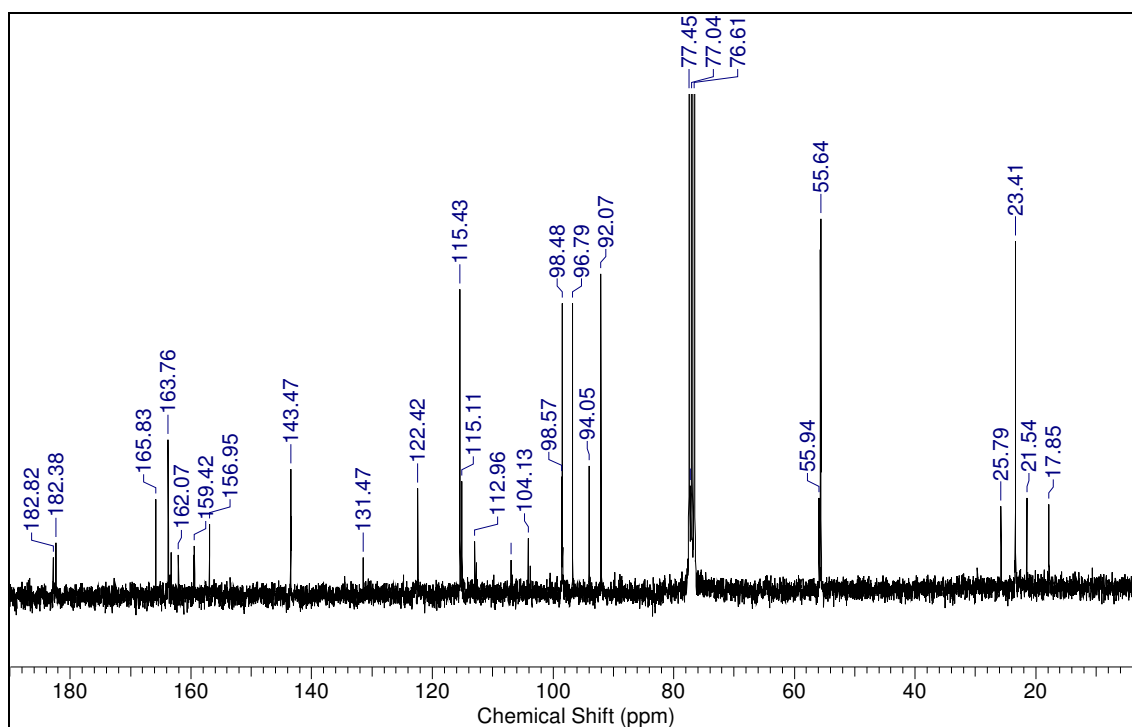


Figura 13. Espectro de RMN de ^{13}C de P2-LIQ2-5, em CDCl_3 .

Pelos resultados destas duas reações pode-se perceber que há uma preferência de substituição na posição 4 do esqueleto xantônico, mostrando que este carbono deve ter um caráter nucleofílico um pouco mais acentuado que os outros, nos quais a reação poderia também ocorrer.

Como, nas duas tentativas anteriores, houve a formação de pequenas quantidades de produtos, que formaram misturas relativamente complexas, optou-se pela repetição da reação, desta vez em alta temperatura.

A mistura reacional desta reação realizada sob refluxo (P2-LIQ3) foi fracionada por CLAE (**figura 14**). Das duas frações coletadas, uma em 10 minutos (pico 2, **figura 14** - P2-LIQ3- CL10M), outra em 14 minutos (pico 3, **figura 14** - P2-LIQ3- CL14M) foram obtidos espectros de RMN de ^1H , e pela sua análise preliminar pôde-se constatar que a primeira se constituía apenas de liquexantona (**15**).

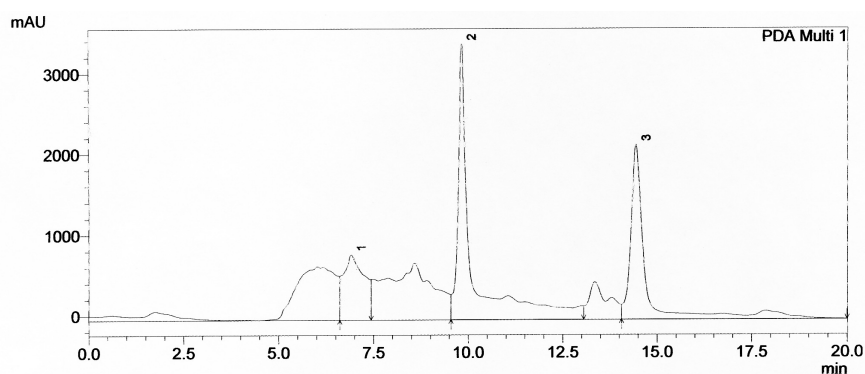


Figura 14. Cromatograma de CLAE (modo preparativo) da fração P2-LIQ3

O espectro de RMN de ^1H de P2-LIQ3-CL14M (pico 3, **figura 14**) se mostrou muito interessante. Por ele foi possível observar que a fração se tratava de uma mistura, mas o componente majoritário era a própria liquexantona (**15**). Entretanto a fração anterior a ela, P2-LIQ3- CL10M (pico 2, **figura 14**) já se constituía desta substância, e a liquexantona (**15**) não poderia estar presente em uma segunda fração com um tempo de retenção diferente. Observando-se o espectro (**figura 15**), pode-se notar que o sinal do hidrogênio da hidroxila fenólica, em aproximadamente 13 ppm, praticamente não aparece, o que sugeriu que possa ter ocorrido a formação de um complexo com o átomo de boro do reagente (BF_3) que não tenha sido degradado na etapa de elaboração da reação.

Neste espectro pode-se observar também a presença minoritária de sinais que correspondem a produtos *O*- e *C*-prenilados.

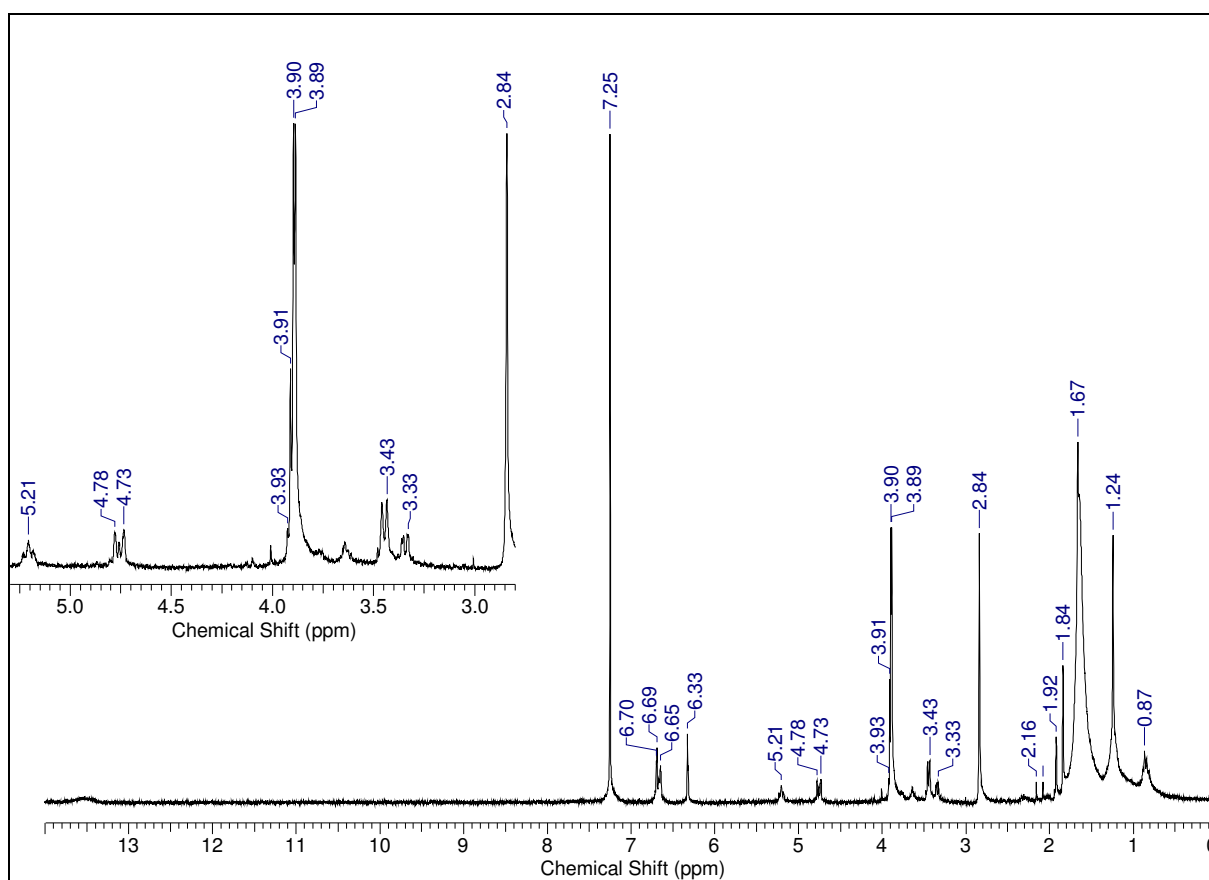
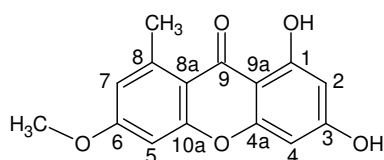


Figura 15. Espectro de RMN de ^1H de P2-LIQ3-CL14M, em CDCl_3 com ampliação da região entre 2,7 e 5,3 ppm.

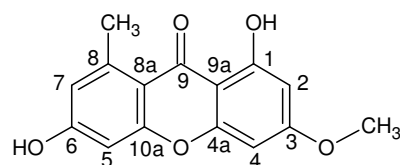
Reações para modificação estrutural da norliquesantona (24)

Reação de metilação da norliquesantona (24)

Como não foi possível obter os dois derivados monodemetilados da liquexantona (15), uma opção foi a metilação da norliquesantona (24) com CH_3I , em meio básico. Completada a reação, a mistura reacional (ME-NOR) apresentou-se composta de pelo menos 3 substâncias, sendo uma delas a norliquesantona (24), outra a liquexantona (15), e de mais uma substância, de polaridade intermediária com relação às outras duas. A mistura reacional foi fracionada e a fração contendo este componente de R_f intermediário (ME-NOR-2) foi analisada pela técnica espectroscópica de RMN. Já pelo seu espectro de RMN de ^1H (figura 16) foi possível constatar que a fração se constituía de uma mistura de duas substâncias em proporção de aproximadamente 2:1, e não de um único produto. Foram observados dois sinais para hidroxilas fenólicas na região de 13 ppm, e mais um na região de 9 ppm; dois sinais de metoxilas, entre 3,8 e 3,9 ppm, sinais de metilas aromáticas e dois grupos de sinais de hidrogênios aromáticos, na região de 6 ppm. Os deslocamentos químicos destes hidrogênios foram compatíveis com os sinais para a 6-*O*-metilnorliquesantona (26) e a 3-*O*-metilnorliquesantona (25), que são os outros produtos esperados para a reação. Foram observados sinais em 6,20 (d); 6,33 (d), 6,72 (sl) e 6,83 (d) ppm atribuíveis aos hidrogênios 2, 4, 7 e 5, respectivamente, da 6-*O*-metilnorliquesantona (26), e sinais em 6,25 (d), 6,40 (d) e 6,77 (2H, d) ppm, referentes aos hidrogênios 2, 4, 7 e 5 da 3-*O*-metilnorliquesantona (25) (figura 16) (HUNECK e YOSHIMURA 1996).



6-*O*-metilnorliquesantona (26)



3-*O*-metilnorliquesantona (25)

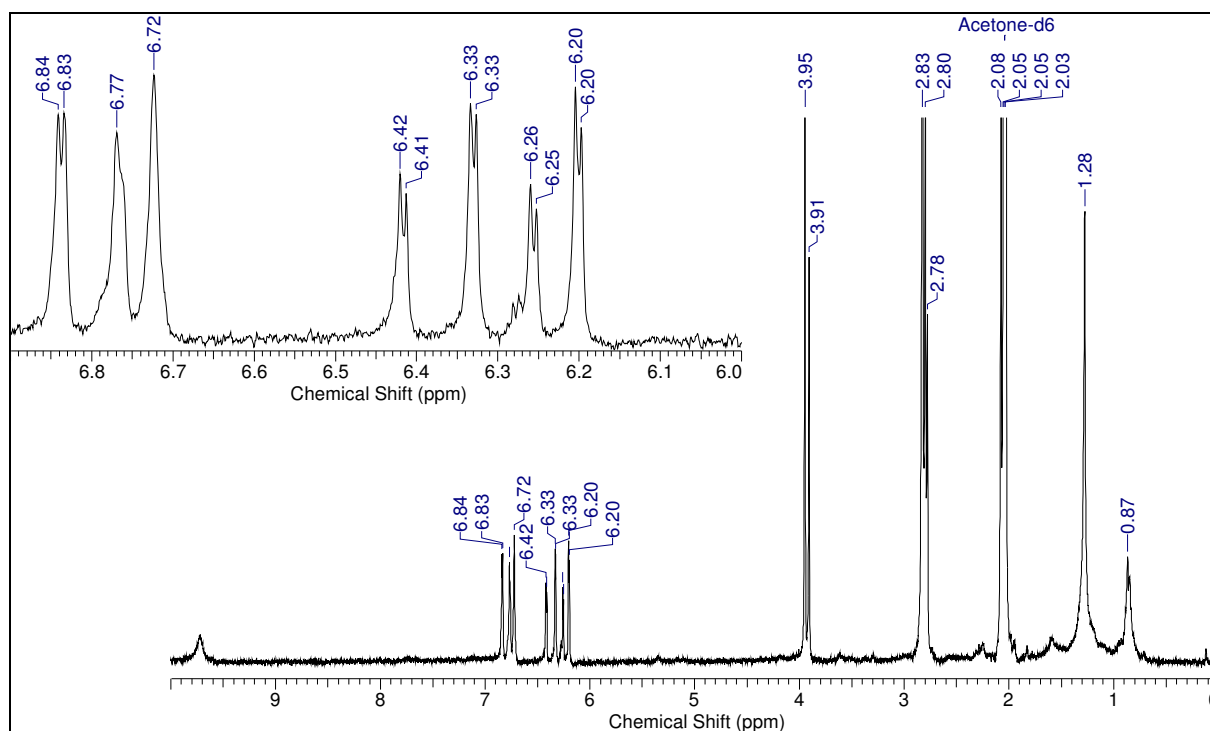


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H de ME-NOR-2, em acetona- d_6 , com ampliação da região entre 6 e 7 ppm.

Pelo espectro de ^{13}C (**figura 17**), observando-se especialmente os sinais dos hidrogênios aromáticos, foi possível atribuir com maior clareza qual das duas substâncias se apresentava em maior proporção. Espera-se que a metila ligada ao oxigênio na posição 6 do anel A do núcleo xantônico exerça um efeito γ de proteção sobre os deslocamentos químicos dos carbonos 5 e 7, enquanto que se a metila está ligada ao oxigênio na posição 3, observa-se este efeito de proteção sobre os carbonos 2 e 4.

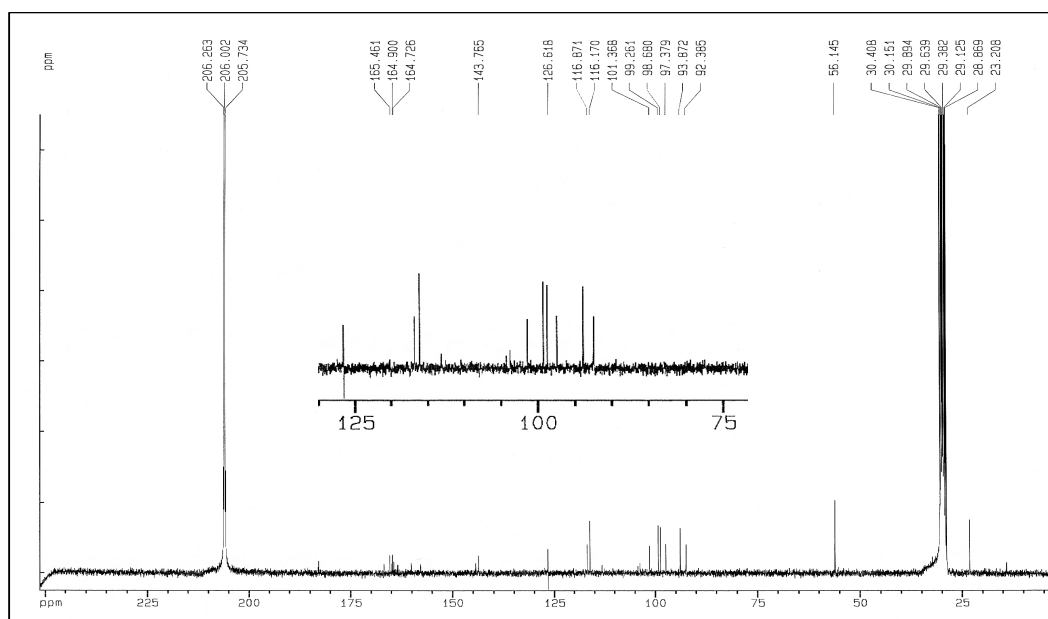


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C de ME-NOR-2, em acetona- d_6 , com ampliação da região entre 75 e 125 ppm.

No espectro de ME-NOR-2 (**figura 17**) observou-se sinais de metinos aromáticos em 92,4, 97,4, 101,4 e 116,9 ppm e, sinais com intensidade aproximadamente duas vezes superior, em 93,9, 98,7, 99,2 e 116,2 ppm. Os dois primeiros valores de cada grupo se referem aos sinais de deslocamento químico dos carbonos 2 e 4, e pode-se constatar que os sinais do primeiro grupo, de menor intensidade, estão mais protegidos. E o inverso é observado para os valores de deslocamento químico dos carbonos 5 e 7, que foram mais protegidos no segundo grupo de sinais, mais intensos. Por estas informações, pôde-se concluir que a 6-*O*-metilnorliquexantona (**26**) e a 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**) (HUNECK e YOSHIMURA 1996), sendo **26** o componente majoritário. Os dois componentes foram obtidos em uma proporção de aproximadamente 2:1, e, como o rendimento total foi de 21%, (**26**) e (**25**) foram obtidos com rendimentos aproximados de 14 e 7%, respectivamente.

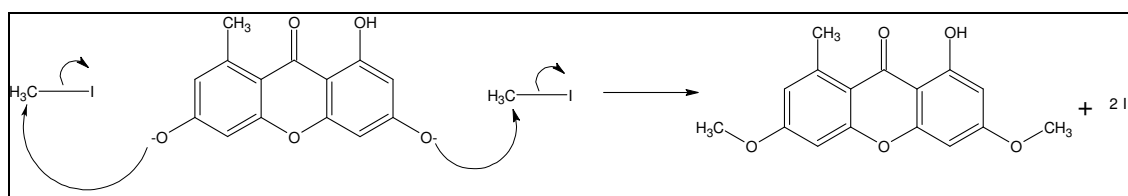
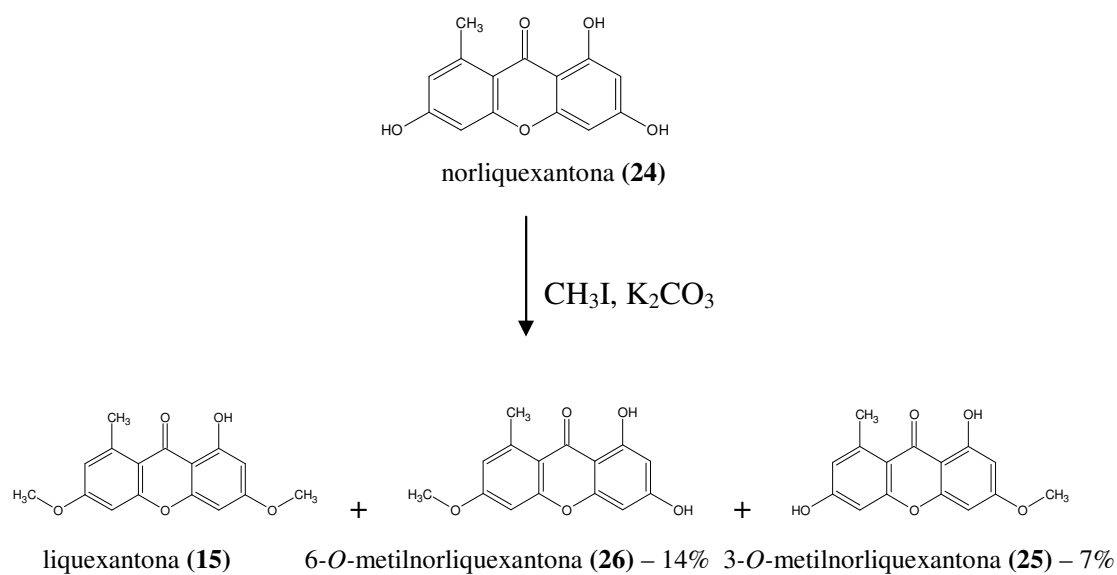
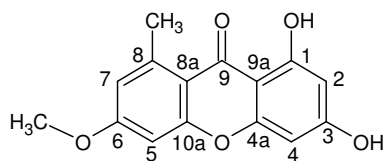


Figura 18. Representação esquemática da reação de metilação da norliquexantona (**24**) com iodeto de CH_3I , seguindo um mecanismo do tipo $\text{S}_\text{N}2$.

A **tabela 13** apresenta os dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C da 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**) e os sinais de deslocamento químico para a 6-*O*-metilnorliquexantona (**26**) se encontram na **tabela 14**.

6-*O*-metilnorliquexantona (**26**)**Tabela 14** - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 6-*O*-metilnorliquexantona (**26**).

C	H	Observado		Literatura ^a	
		RMN ¹ H ^b	RMN ¹³ C ^c	RMN ¹ H ^d	RMN ¹³ C ^e
C1	OH, s	13,36	164,9	13,36	163,0
C2	1H, d, J=2,1 Hz	6,20	98,7	6,20	97,6
C3			165,5		164,2
C4	1H, d, J=2,0 Hz	6,33	93,9	6,32	92,8
C5	1H, J=2,2 Hz	6,83	99,3	6,80	98,3
C6			164,7		162,7
C7	1H, sl	6,72	116,2	6,73	114,3
C8			143,8		141,9
C9			183,3		180,7
C4a			157,9		156,1
C8a			113,2		111,7
C9a			103,4		102,2
C10a			160,0		158,1
C3-OCH ₃	3H, s, OMe	3,95	56,3	3,94	55,0
C8-CH ₃	3H, s, Me	2,80	23,2	2,79	21,6

^aHUNECK e YOSHIMURA 1996; ^b 300 MHz, acetona -d₆; ^c 75 MHz, acetona -d₆; ^d 60 MHz, acetona-d₆; ^e 25,05 MHz, DMSO-d₆

Inúmeras tentativas foram realizadas, entretanto, como os dois componentes da mistura são muito semelhantes, não foram separados. Assim, este método não se mostrou eficaz para a obtenção dos derivados monometilados da norliquexantona (**24**), devido à obtenção de mistura de difícil separação e em baixo rendimento.

Obtenção da 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (HUNTER *et al.* 1984)

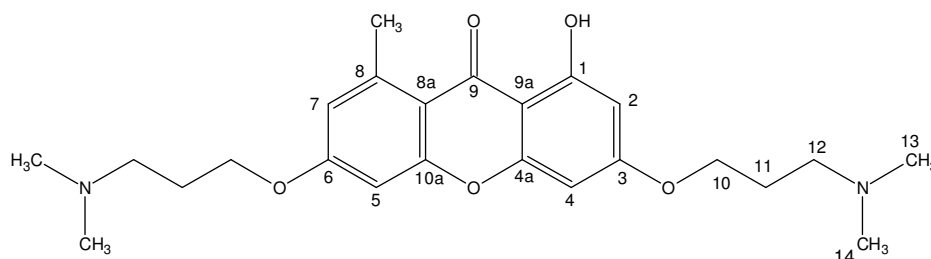
Xantonas também são conhecidas por sua atividade antimalárica, que tem sua base na complexação destas moléculas com o grupo heme que é liberado pelo plasmódio, parasita causador da doença, durante o metabolismo da hemoglobina no seu organismo. Este grupo é tóxico ao parasita, que tem uma via de detoxificação baseada na polimerização do heme. Drogas que complexam com o grupo heme, deixando-o solúvel, impossibilitam esta via, e tem a ação tóxica desejada. Estudos mostraram que substituintes nitrogenados nas posições 3 e 6 do esqueleto xantônico são importantes para interação da molécula com o grupo heme, e também para a entrada eficaz da substância no vacúolo digestivo do parasita, que é ácido (RISCOE *et al.* 2005).

Como os oxigênios ligados aos carbonos 3 e 6 da norliquexantona (**24**) podem agir como nucleófilos, uma reação de substituição com hidrocloreto de (3-cloropropil)dimetilamônio, a fim de obter a 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**30**) foi realizada.

Pela análise espectral do produto obtido na reação (N-NOR) pôde-se concluir que o produto esperado realmente foi obtido. O primeiro indício de substituição foi a observação, no espectro de ^1H (espectro **E-40**, página 169) de dois tripletes na região de 4,2 ppm, que podem ser atribuídos a grupos metileno ligados a oxigênio, indicando que houve a inserção de dois grupos. A atribuição correta dos sinais do espectro de ^1H pôde ser realizada a partir dos dados do espectro de gHSQC (espectro **E-43**, página 172), já que o espectro de RMN de ^{13}C se mostrou de mais fácil interpretação, e o espectro de 2D de correlação direta foi suficiente para a atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios.

No espectro de ^{13}C (espectro **E-41**, página 170), além dos sinais do esqueleto da xantona, foi possível observar sinais de 3 grupos metileno: um em 67,6 ppm, compatível com um $-\text{CH}_2-$ ligado a oxigênio, um em 56,5, atribuível a metileno ligado a nitrogênio, e o terceiro em 27,9 ppm, que poderia estar ligado aos outros 2 metilenos. Também foi observado um sinal de grupo metila, cerca de 4 vezes mais intenso que o sinal da metila ligada diretamente ao núcleo xantônico em 23,4 ppm, em 45,6 ppm, característico de metila ligada a nitrogênio. Estas informações, associadas àquelas obtidas pelo espectro de RMN de ^1H , permitiram confirmar o produto da reação como sendo a 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-

hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**30**), obtida com 62,5% de rendimento. A atribuição dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C desta substância é apresentada na **tabela 15**.



3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**30**)

Tabela 15. Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**30**) (espectros **E-40** a **E-42**, páginas 169-171).

C	H	Observado		Literatura ^a	
		RMN ^1H ^b	RMN ^{13}C ^c	RMN ^1H ^d	RMN ^{13}C ^e
C1	OH, s	13,35	164,6	13,21	162,6
C2	1H, d, J=2,2 Hz	6,26	97,9	6,78	96,3
C3			166,5		165,2
C4	1H, d, J=2,1 Hz	6,39	93,1	6,78	91,5
C5	1H, sl	6,80	99,9	6,29; 6,41	98,3
C6			164,6		162,7
C7	1H, sl	6,76	116,7	6,29; 6,41	114,3
C8			143,9		141,9
C9			183,0		181,1
C4a			157,9		156,1
C8a			113,6		111,7
C9a			104,4		102,8
C10a			157,9		158,1
C8-CH ₃	3H, s, Me	2,80	23,4	2,87	21,4
C10	4H, 2t, J= 6,4 Hz	4,18; 4,21	67,6	-	-
C11	4H, m	1,96	27,9	-	-
C12	4H, 2t, J=7,0 Hz	2,43	56,5	-	-
C13 e 14	12H, sl	2,21	45,6	-	-

^aHUNECK e YOSHIMURA 1996; ^b300 MHz, acetona-d₆; ^c75 MHz, acetona-d₆; ^d60 MHz, DMSO-d₆; ^e25,05 MHz, DMSO-d₆.

* Sinais não relatados na tabela (RMN de ^1H) são referentes a impurezas presentes na amostra.

Reações de prenilação

As reações de prenilação da norliquexantona (**24**) foram realizadas seguindo as metodologias descritas por TCHAMO e colaboradores (2000) e JAIN e colaboradores (1970), sendo a primeira destinada a *O*-prenilação, e a segunda a *C*-prenilação.

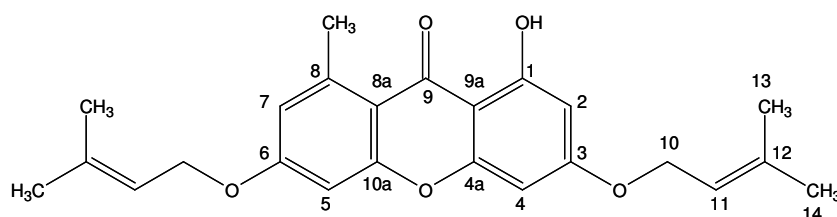
Na reação utilizando brometo de 3,3-dimetilalila (**27**) (TCHAMO *et al.*, 2000), a mistura reacional, P1-NOR, foi fracionada por CCDP e as frações analisadas por RMN. Foram obtidas três frações, sendo a mais polar a própria norliquexantona (**24**).

A fração mais apolar obtida foi P1-NORLIQ-3. O espectro de RMN de ^1H desta fração (espectro **E-47**, página 176) apresentou sinais que podem ser atribuíveis a dois grupos *O*-prenila, com sinais de metilas em aproximadamente 1,7 ppm, um sinal na região de 4,5 ppm parecido com um triplete, compatível com dois grupos metileno ligados ao oxigênio, e um sinal largo, na região de 5,5 ppm, que poderia ser atribuído aos hidrogênios olefínicos dos substituintes. O sinal dos prótons metilênicos foi importante para a suposição da presença de dois grupos prenila, primeiro pelo valor do seu deslocamento químico, compatível com uma substituição no oxigênio, e também pelo padrão de desdobramento do sinal. Estes hidrogênios acoplam somente com o H olefínico, logo, o sinal se desdobra em um dublete. O aparecimento de um sinal parecido com um triplete em 4,5 ppm no espectro da fração levou a crer que se tratava de dois dubletes parcialmente sobrepostos, indicando a presença de dois substituintes.

O espectro de RMN de ^{13}C (espectro **E-48**, página 177) também confirmou a presença de duas unidades, pois os sinais característicos para o grupo se apresentaram dobrados: 65 ppm (metileno), 118 ppm (metino) e 139 ppm (carbono tetrassubstituído), além das metilas, em 18 e 25 ppm. Os sinais dos hidrogênios aromáticos (6,2 a 6,7 ppm) também se mostraram muito importantes para a definição da estrutura do derivado. Nos derivados monosubstituídos nos oxigênios até agora obtidos, e na norliquexantona (**24**), estes sinais se apresentavam como dois dubletes e mais um singlete, referente a dois hidrogênios. Somente na liquexantona (**15**) estes sinais aparecem como dois grupos de dois dubletes. Assim, o aparecimento do mesmo padrão com que aparecem os sinais para os hidrogênios aromáticos indicou que a substituição dos grupos prenila poderia ter ocorrido nos dois oxigênios, nas posições 3 e 6 do esqueleto da norliquexantona (**24**). Além disso, os deslocamentos dos metinos aromáticos no espectro de RMN de ^{13}C apresentaram-se muito parecidos com aqueles da liquexantona (**15**), em 92,7,

97,3, 99,1 e 115,9 ppm, mostrando os efeitos γ exercidos pelos substituintes nos dois anéis aromáticos, confirmando a substituição nos dois oxigênios.

Pela análise dos dados espectrais foi possível concluir que a fração P1-NORLIQ-3 era composta pelo derivado di-*O*-prenilado da norliquexantona (**31**), obtido com um rendimento de aproximadamente 55%. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C de 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**) se encontram na **tabela 16**.

3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**)**Tabela 16** – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**) (espectros **E-47** a **E-49**, páginas 176-178).

C	H	Observado		Literatura	
		RMN $^1\text{H}^a$	RMN $^{13}\text{C}^b$	RMN ^1H	RMN ^{13}C
C1	OH, s	13,37	163,6	13,21 ^c	162,6 ^d
C2	1H, d, J=2,2Hz	6,28	97,3	6,78	96,3
C3			165,1		165,2
C4	1H, d, J=2,2Hz	6,31	92,7	6,78	91,5
C5	1H, sl	6,65, 6,66	99,1	6,29; 6,41	98,3
C6			163,0		162,7
C7	1H, sl	6,65, 6,66	115,9	6,29; 6,41	114,3
C8			143,3		141,9
C9			182,3		181,1
C4a			156,9		156,1
C8a			112,8		111,7
C9a			104,0		102,8
C10a			159,3		158,1
C8-CH ₃	3H, s, Me	2,81	23,4	2,87	21,4
C10	4H, 2d, J= 6,4 Hz	4,56	65,2, 65,3	4,60 ^e	65,3 ^f
C11	2H, tl	5,47	118,6, 118,8	5,49	119,1
C12	-	-	139,1, 139,3	-	138,2
C13	6H, sl		25,8		25,7
C14	6H, sl	1,75-1,81	18,2	1,74 e 1,79	18,2

^a 300 MHz, CDCl₃; ^b 75 MHz, CDCl₃; ^c 60 MHz, DMSO-d₆; ^d 25,05 MHz, DMSO-d₆ (HUNECK e YOSHIMURA 1996);^e 250MHz, CDCl₃; ^f 62,9 MHz, CDCl₃ (PISCO *et al.* 2006)

A fração P1-NORLIQ-2, de Rf intermediário entre a fração que continha o derivado di-*O*-prenilado (**31**) e a norliquesantona (**24**) que foi recuperada, também foi analisada por RMN. O espectro de RMN de ^1H (**figura 19**) mostrou sinais para duas hidroxilas fenólicas, na região de 13 ppm, indicando a presença de pelo menos duas substâncias na fração. Foram observados ainda os sinais da metila, em 2,80 ppm e dos hidrogênios aromáticos, entre 6,2 e 6,7 ppm. No que diz respeito à substituição com grupos prenila, novamente foi observado que o sinal do grupo metileno aparecia na região de 4,5 ppm, indicando *O*-substituição, e se assemelhava a um triplete, o que leva a sugerir a presença de dois grupos. Observou-se ainda os sinais do grupo metino, em 5,5 ppm e os sinais das metilas em aproximadamente 1,7 ppm.

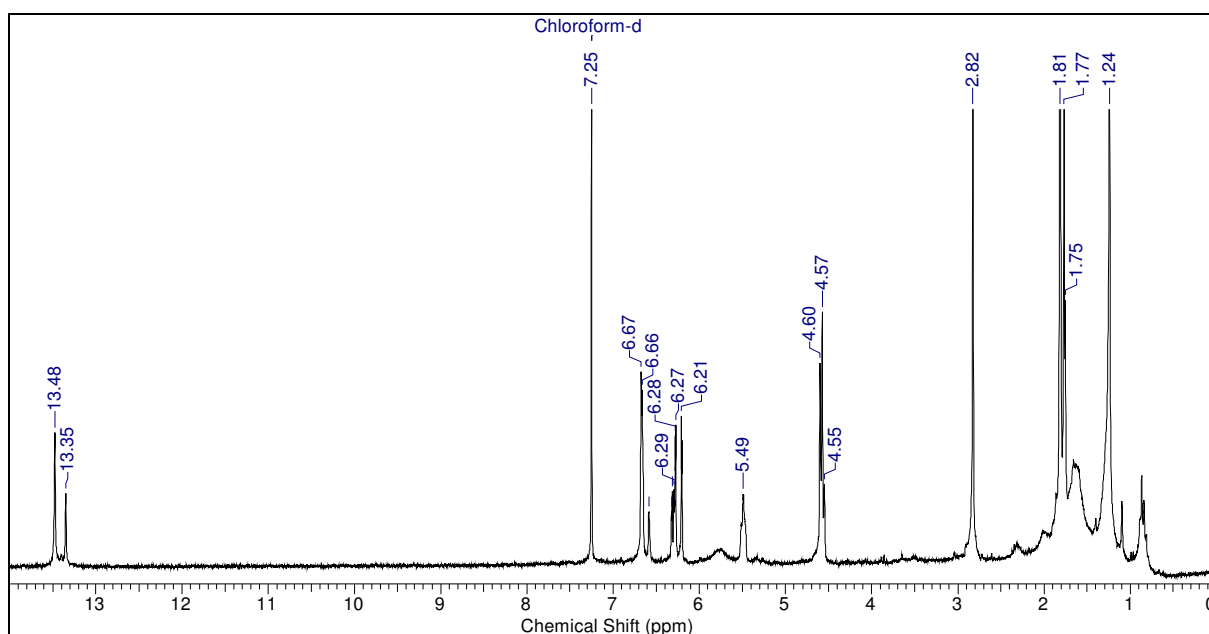


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H de P1-NORLIQ-2, em CDCl_3 .

Pelo espectro de ^{13}C da fração (**figura 20**) confirmou-se a presença de dois grupos prenila, com todos os sinais apresentando-se dobrados. Novamente, observando-se especialmente os deslocamentos químicos dos metinos aromáticos foi possível determinar que a fração se tratava de uma mistura dos dois derivados monoprenilados. A exemplo do que ocorreu com a mistura dos derivados monometilados, observou-se proteção dos metinos aromáticos quando a substituição ocorre no oxigênio vizinho a eles. O espectro mostrava sinais em 93,4, 98,2, 99,1 e 116,1 ppm e, com menos da metade da intensidade, sinais em 92,7, 97,4, 101,1 e 115,7 ppm, sendo possível concluir que o derivado com o grupo prenila inserido no oxigênio ligado à posição 6 foi produzido em maior proporção, como ocorreu na

reação de metilação. Apenas para os sinais na região de 116 ppm houve inversão do comportamento esperado, e o sinal mais desprotegido foi atribuído ao derivado substituído na posição 6. Como tanto nesta reação quanto na de metilação o derivado 6-substituído foi produzido em maior proporção, o oxigênio ligado à posição 6 parece ser mais nucleofílico que o da posição 3.

Os dados espectrais de RMN de ^{13}C da 6-*O*-prenil-norliquexantona (**32**) e da 3-*O*-prenil-norliquexantona (**33**) se encontram na **tabela 17**. Não foi possível atribuir os sinais dos hidrogênios de cada molécula separadamente, principalmente os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos.

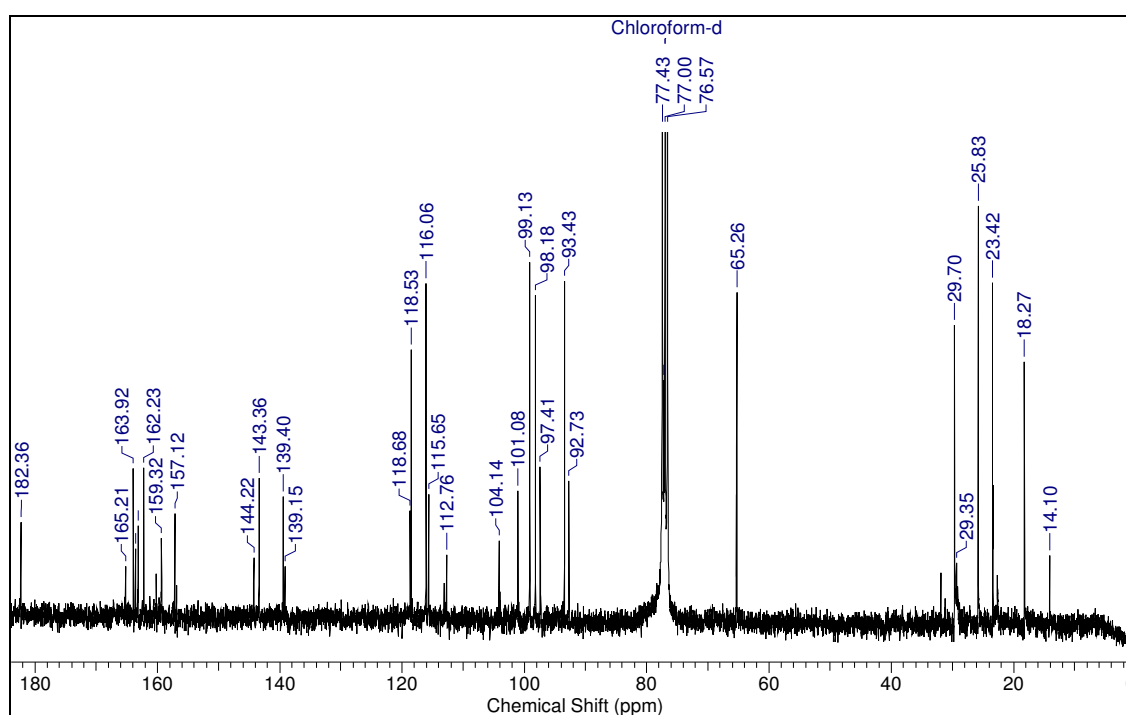
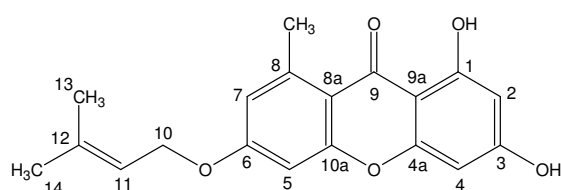
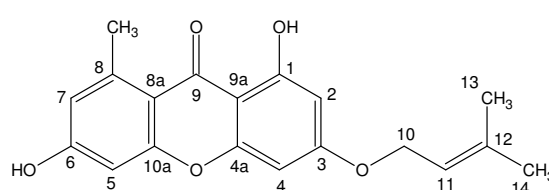


Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C de P1-NORLIQ-2, em CDCl_3 .



6-*O*-prenil-norliquexantona (**32**)



3-*O*-prenil-norliquexantona (**33**)

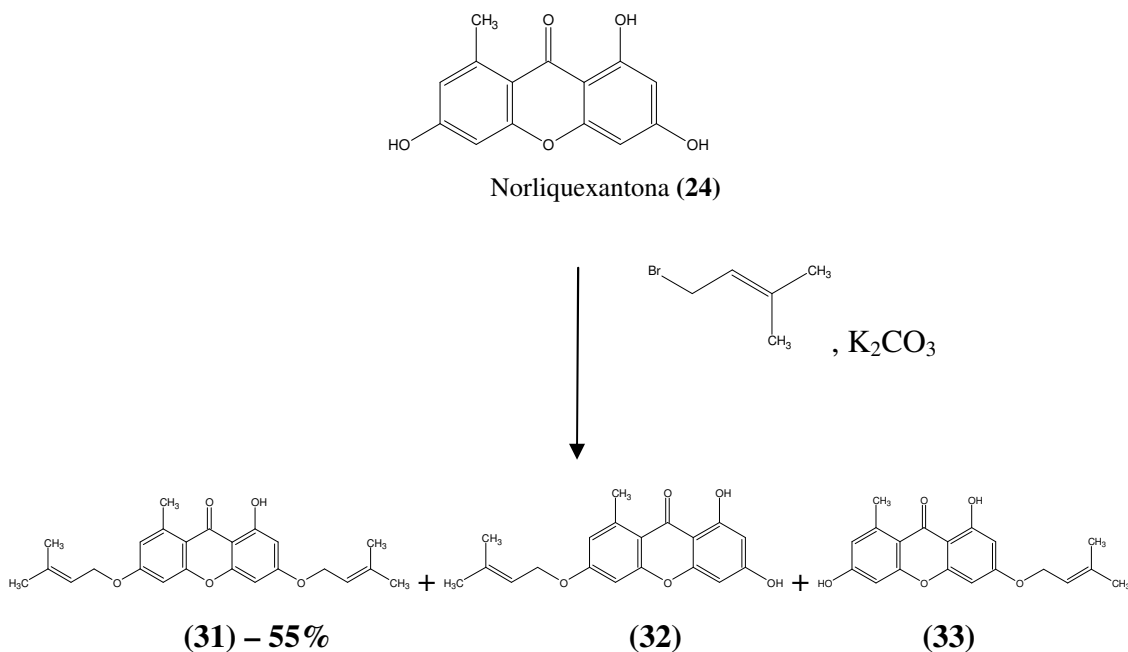
Tabela 17 – Deslocamentos químicos de ^{13}C (δ , expresso em ppm) para a 6-*O*-prenil-norliquesantona (**32**) e da 3-*O*-prenil-norliquesantona (**33**).

C	6- <i>O</i> -prenil-norliquesantona (32)	3- <i>O</i> -prenil-norliquesantona (33)
	RMN $^{13}\text{C}^*$	RMN $^{13}\text{C}^*$
C1	163,9	163,9
C2	99,13	101,8
C3	165,2	165,2
C4	93,4	92,7
C5	98,2	97,4
C6	163,0	163,0
C7	116,1	115,7
C8	143,4	144,2
C9	182,4	182,4
C4a	157,1	157,1
C8a	112,8	112,8
C9a	104,1	104,1
C10a	159,3	159,3
C8-CH ₃	23,4	23,3
C10	65,3	65,4
C11	118,5	118,7
C12	139,4	139,2
C13	25,8	25,8
C14	18,3	18,3

*75 MHz, CDCl₃

Várias tentativas de separação dos dois componentes foram realizadas, sem sucesso. Foi realizada, então, a acetilação dos componentes com anidrido acético e piridina. A mistura acetilada foi cromatografada por CCD, em vários eluentes, até que houve uma leve separação da manchas dos dois componentes no eluente hexano/ CHCl₃ 90%. Foi realizada a tentativa de separação da mistura por CCDP, em sílica GF₂₅₄, no eluente hexano/ CHCl₃, mas a separação não foi eficiente para obtenção dos dois componentes puros.

Assim, a reação de prenilação da norliquesantona (**24**) com brometo de 3,3-dimetilalila (**27**) tem como produtos principais os derivados mono- e di-*O*-prenilados.



A reação foi repetida com uma maior quantidade de substrato, e a mistura reacional (P1-NOR2), foi fracionada, obtendo-se, além dos produtos descritos acima, frações compostas por misturas de produtos minoritários, sendo estes avaliados através de seus espectros de RMN de ^1H .

A fração codificada como P1-NOR2-7, de R_f intermediário entre o composto **(31)** e a mistura de **(32)** e **(33)**, apresentou-se como mistura de compostos *O*- e *C*-prenilados. Isso pôde ser observado pelos espectros de RMN de ^1H , com sinais na região de 3,5 ppm (dobletes) e 4,5 ppm (**figura 21**).

P1-NOR2-7 parece ser de pelo menos duas substâncias, pois é possível observar dois sinais para grupos hidroxila na faixa de 13 ppm, um bem mais intenso com relação ao outro, e também 2 grupos de sinais de grupos *C*-prenila, na região de 3,5 ppm, de diferentes intensidades. Observando os sinais entre 3,5 e 5,5 ppm, pode-se propor que a fração seja composta majoritariamente por um composto prenilado tanto nos oxigênios quanto em um de seus carbonos, sendo possível observar os dois dubletes em forma de triplete (pseudo-triplete) na região de 4,5 ppm, que indica a presença do grupo prenila nos oxigênios das posições 3 e 6, e um dublete, com aproximadamente a mesma intensidade, na região de 3,5 ppm, que indica um substituinte *C*-prenila, ale dos dois sinais, entre 5,2 e 5,5 ppm, também com intensidades parecidas, para grupos *C*- e *O*-prenila, respectivamente.

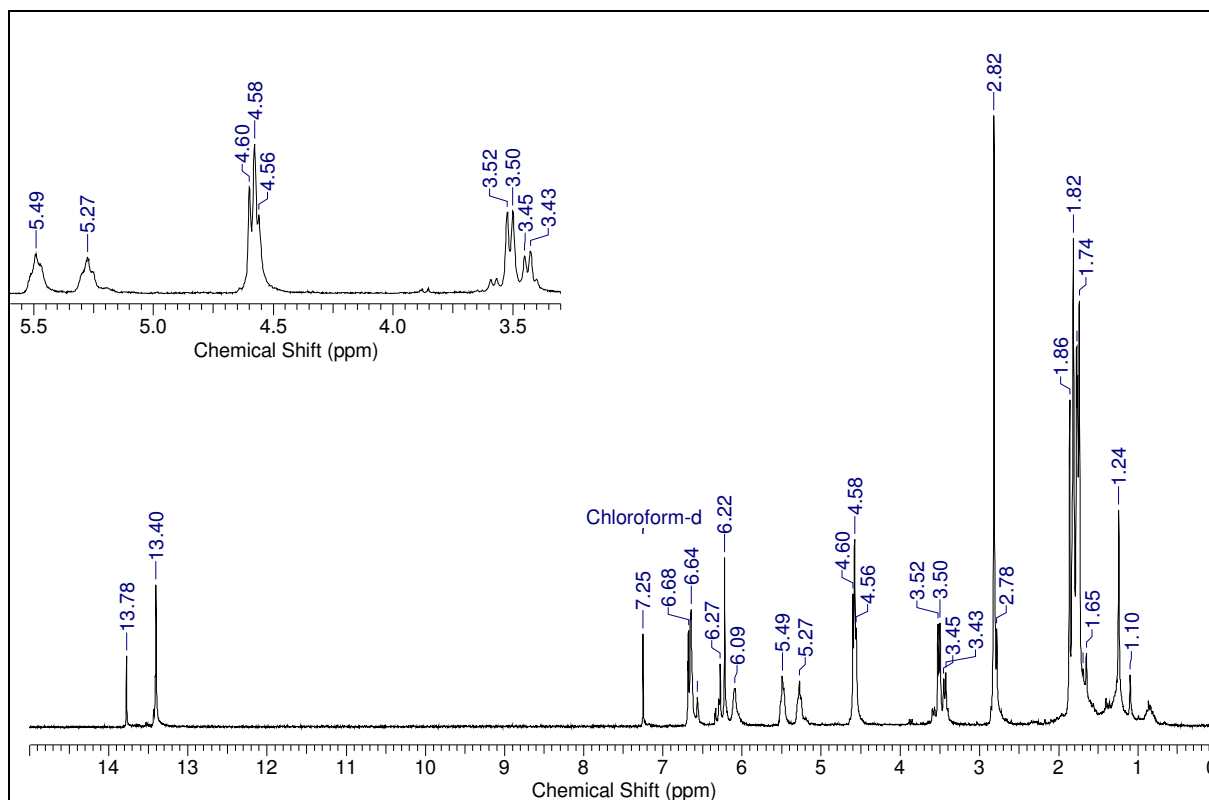


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H de P1-NOR2-7, em CDCl_3 .

Já a fração P1-NOR2-14, de R_f intermediário entre a mistura de (32) e (33) e a norliquexantona (24), ou seja, mais polar que P1-NOR2-7, se apresentou como uma mistura de compostos C-prenilados, como é possível observar pelo seu espectro de ^1H (figura 22), com sinais característicos para estes grupos na região entre 3 e 5,5 ppm.

Portanto, estas duas frações se apresentaram como misturas de pequena massa, optando-se por não fracioná-las novamente.

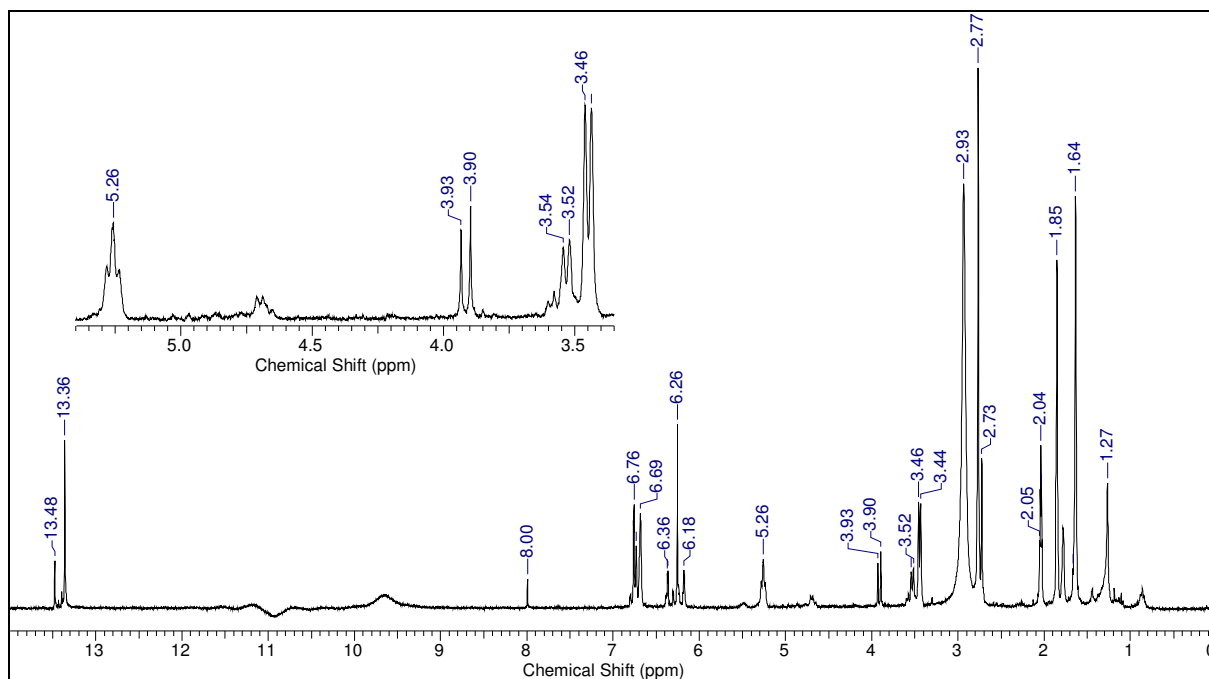


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H de P1-NOR2-14, em acetona- d_6 .

Como foi obtida uma pequena massa destes compostos intermediários para que fosse possível uma análise mais detalhada, a reação foi repetida uma terceira vez, e a mistura codificada como P1-NOR3. Das 4 frações selecionadas para análise espectral (11, 12 e 13), 3 eram compostas majoritariamente pela mistura dos compostos mono-prenilados (**32**) e (**33**). A última delas, mais apolar (P1-NOR3-9) se mostrou composta por uma mistura mais complexa de compostos, com substituintes *O*- e *C*-prenila (**figura 23**).

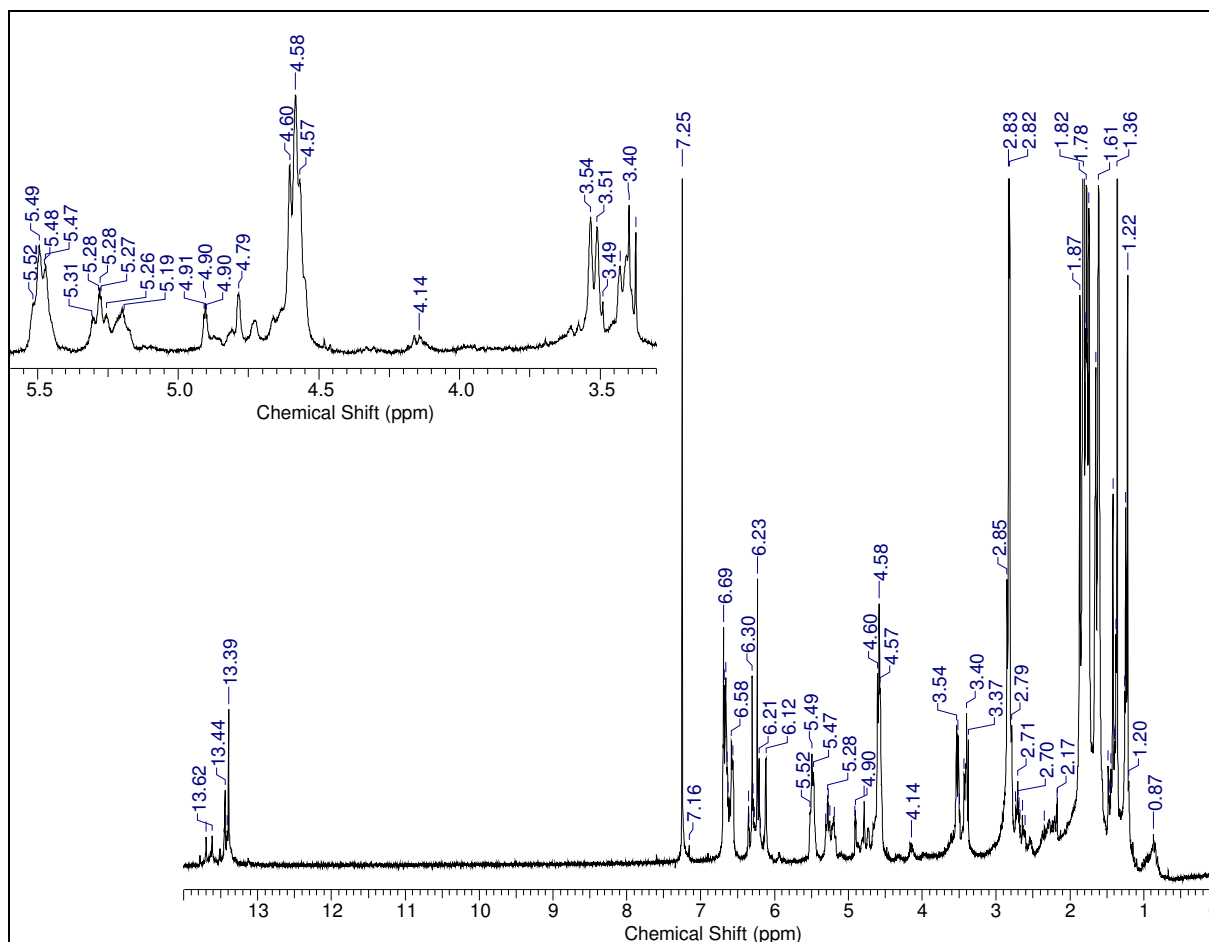


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H de P1-NOR3-9, em CDCl_3 .

Na tentativa de aumentar o rendimento da reação, ela foi novamente realizada, desta vez sob aquecimento, a uma temperatura de aproximadamente 40°C (P3-NOR). Entretanto, o que se observou foi uma queda brusca no rendimento, recuperando-se praticamente toda a norliquexantona (**24**) utilizada.

Outra reação de prenilação testada foi a descrita por JAIN e colaboradores (1970), utilizando 2-metil-3-buten-2-ol (**28**), catalisada por $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Entretanto, a mistura reacional (P2-NOR), após a separação cromatográfica, se mostrou bastante complexa, com frações de perfis muito diferentes, de pequena massa, impossibilitando novo fracionamento para isolamento dos componentes.

Assim, como produtos das reações de prenilação da norliquexantona (**24**) foram obtidos apenas os derivados *O*-prenilados, a partir de reações com brometo de 3,3-dimetilalila (**27**).

O produto di-prenilado **31** foi submetido a uma reação de rearranjo de Claisen (**figura 24**), a fim de obter os derivados *C*-prenilados. O rearranjo de Claisen é um tipo de reação

pericíclica (que ocorre por um processo concertado e um estado de transição cíclico) classificado como rearranjo sigmatrópico. Neste processo, um substituinte em ligação σ migra através de um sistema de elétrons π , e uma nova ligação σ se forma no produto. O rearranjo de Claisen, juntamente com o rearranjo de Cope e a reação de Diels-Alder, é uma das reações pericíclicas mais úteis em sínteses orgânicas (McMURRY 1997).

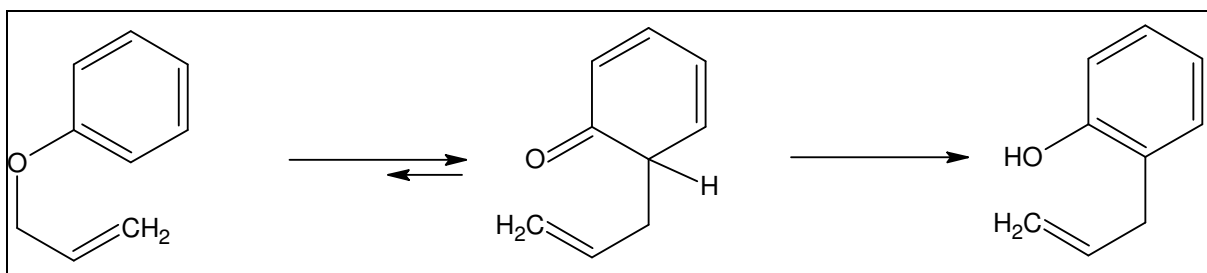


Figura 24. Representação esquemática do rearranjo de Claisen

A primeira tentativa foi feita com o uso de DMF como solvente, a refluxo ($T \sim 153^{\circ}\text{C}$) durante 12 horas, utilizando-se um volume grande de solvente em relação à massa do material de partida, a fim de favorecer a reação intramolecular. A mistura reacional (P1-NOR3P-CLA) foi analisada por RMN de ^1H (**figura 25**) e pôde-se observar que houve o aparecimento de sinais compatíveis com a presença de grupos C-prenila, porém em uma proporção extremamente pequena.

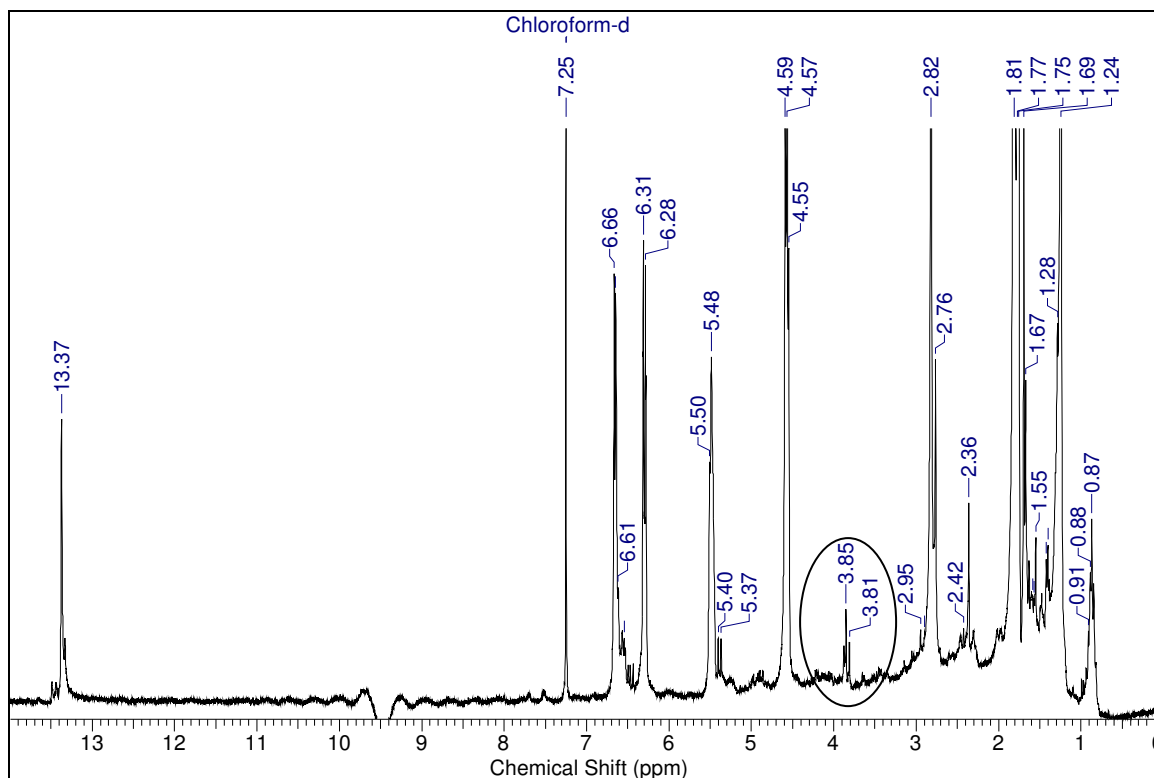


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H de P1-NOR3P-CLA, em CDCl_3 .

Como os derivados C-prenilados não foram produzidos em quantidades satisfatórias, uma nova reação foi realizada, desta vez em quinolina, que tem uma temperatura de ebulição acima dos 200°C . Não ocorreu nenhuma mudança do perfil cromatográfico da mistura, indicando que não houve o rearranjo mesmo nestas condições mais drásticas.

Obtenção da 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (MA e KIM 2003)

Outra reação também realizada com o derivado di-prenilado foi a epoxidação das ligações duplas dos dois grupos prenila, pelo tratamento do composto **31** com MCPBA.

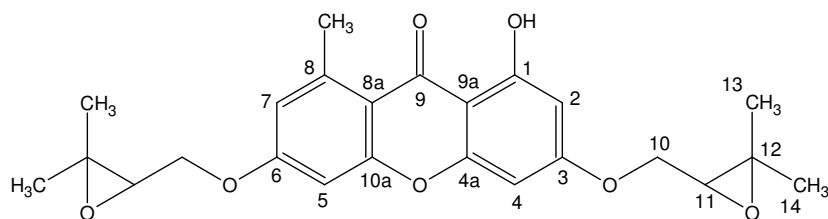
Muitos compostos epoxidados são relatados como antitumorais (TAUTON 1997, EILON *et al.* 2000, XIE *et al.* 2005), sendo que muitas vezes o anel epóxido é um sítio eletrofílico que permite a formação de ligações covalentes com proteínas, resultando em uma inibição irreversível do alvo molecular (EILON *et al.* 2000). Um exemplo é a xantona natural psorospermina (**6**), que apresenta significativa atividade antitumoral. A psorospermina (**6**), já em desenvolvimento pré-clínico, apresenta em sua estrutura um anel epóxido que age como

eletrófilo em uma reação de alquilação do DNA, se intercalando covalentemente a esta macro-molécula. Estudos mostram que o mecanismo de ação antitumoral desta substância estaria associado à formação de um complexo entre ela, o DNA e a enzima topoisomerase II (HANSEN *et al.* 1996), uma enzima de extrema importância no processo de transcrição e replicação celular (GOODELL *et al.* 2006).

Nesta reação, duas frações obtidas na separação da mistura reacional foram analisadas por RMN: EPX-2B-1 e EPX-2B-8.

No espectro de RMN de ^1H da fração EPX-2B-8 (espectro **E-44**, página 173) observou-se apenas um sinal para a metila na posição 8, em 2,87 ppm e um sinal de grande intensidade para uma hidroxila fenólica na faixa de 13 ppm, o que evidencia a presença de apenas uma substância. O espectro também apresentou os quatro dubletes para os hidrogênios aromáticos, padrão que é geralmente observado para moléculas substituídas nas posições 3 e 6. Além desses sinais foram observados um triplete, em 3,2 ppm, dois grupos complexos de sinais na região entre 4 e 4,3 ppm, e quatro sinais em aproximadamente 1,4 ppm. Estes sinais são compatíveis com a inserção de um oxigênio, sob a forma de um anel epóxido, na dupla ligação de um grupo prenila do material de partida. Uma informação importante fornecida por este espectro foi o desaparecimento do sinal dos hidrogênios olefínicos dos grupos prenila, em 5 ppm. Isto sugeriu que a reação aconteceu nos dois pontos possíveis, e o produto seria a substância di-epoxidada.

Pelo espectro de RMN de ^{13}C (espectro **E-45**, página 174) constatou-se realmente a ausência de sinais referentes aos carbonos das ligações duplas dos grupos prenila, e como não houve duplicação de nenhum dos sinais do esqueleto xantônico confirmou-se o que foi previsto no espectro de ^1H , que os dois substituintes foram epoxidados. Foram observados sinais em 67,7 ppm, atribuível a um grupo metileno ligado a oxigênio, 60,8 ppm, metino e 58,3 ppm, carbono tetrassubstituído, ambos no anel epóxido. Os sinais das metilas ligadas ao anel oxirano são observadas em 19 e 24,6 ppm. Todos estes dados reunidos (**tabela 18**) confirmaram que um dos produtos obtidos na reação foi a 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**34**), com 17% de rendimento.

3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**34**)**Tabela 18** – Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**34**) (espectros **E-44** a **E-46**, páginas 173-175).

C	H	Observado		Literatura	
		RMN $^1\text{H}^a$	RMN $^{13}\text{C}^b$	RMN ^1H	RMN ^{13}C
C1	OH, s	13,33	163,8	13,21 ^c	162,6 ^d
C2	1H, d, J=2,3 Hz	6,31	97,4	6,78	96,3
C3			164,7		165,2
C4	1H, d, J=2,3 Hz	6,37	92,7	6,78	91,5
C5	1H, d, J=2,3 Hz	6,72	99,3	6,29; 6,41	98,3
C6			162,7		162,7
C7	1H, sl	6,70	115,8	6,29; 6,41	114,3
C8			143,7		141,9
C9			182,4		181,1
C4a			157,0		156,1
C8a			113,6		111,7
C9a			104,4		102,8
C10a			159,4		158,1
C8-CH ₃	3H, s, Me	2,84	23,4	2,87	21,4
C10	4H, m	4,19	67,6	4,10 ^e	68,0 ^f
C11	2H, t	3,15	60,8	3,03	60,7
C12	-	-	58,3		57,8
C13	6H, sl	1,40; 1,41	24,6	1,36	24,4
C14	6H, sl	1,37; 1,39	19,0	1,33	18,7

^a 300 MHz, CDCl₃; ^b 75 MHz, CDCl₃; ^c 60 MHz, DMSO-d₆; ^d 25,05 MHz, DMSO-d₆ (HUNECK e YOSHIMURA 1996); ^e^f valor calculado no programa ACDLABS – HNMR DB e CNMR DB.

É possível que parte do produto tenha sido degradada na fase de fracionamento da mistura reacional, realizada por coluna cromatográfica de sílica, pois o perfil das frações separadas se mostrou muito mais complexo do que o da mistura reacional antes da separação.

Uma segunda fração isolada nesta reação foi EPX-2B-1. Esta fração também foi

analisada por RMN e em seu espectro de ^1H (**figura 26**), os sinais mais importantes para sugerir a composição da fração se concentram na região entre 2,5 e 5,5 ppm. Pode-se observar um triplete em 5,48 ppm e dois dubletes, parecidos com um triplete, em 4,57 ppm, o que indica ainda a presença de dois grupos prenila. Porém, há neste espectro sinais em aproximadamente 4,2 ppm (multiplete), e em 3,15 ppm (tripleto), atribuíveis aos hidrogênios do metileno e do metino do anel epóxido. Outro dado importante é o aparecimento de dois sinais de mesma intensidade em 2,82 e 2,83 ppm, correspondente à metila do esqueleto da xantona, e também em 13 ppm, correspondente a hidroxila fenólica, o que sugere a presença de duas substâncias na fração. A partir destas informações chegou-se a conclusão que EPX-2B-1 tratava-se de uma mistura dos dois derivados monoepoxidados (**35**) e (**36**), já que há tanto a presença de grupos prenila, quanto a de anéis epóxido. A mistura foi obtida com um rendimento de 26 % sendo, como observado pelo espectro abaixo, que as duas substâncias foram produzidas aproximadamente na mesma proporção.

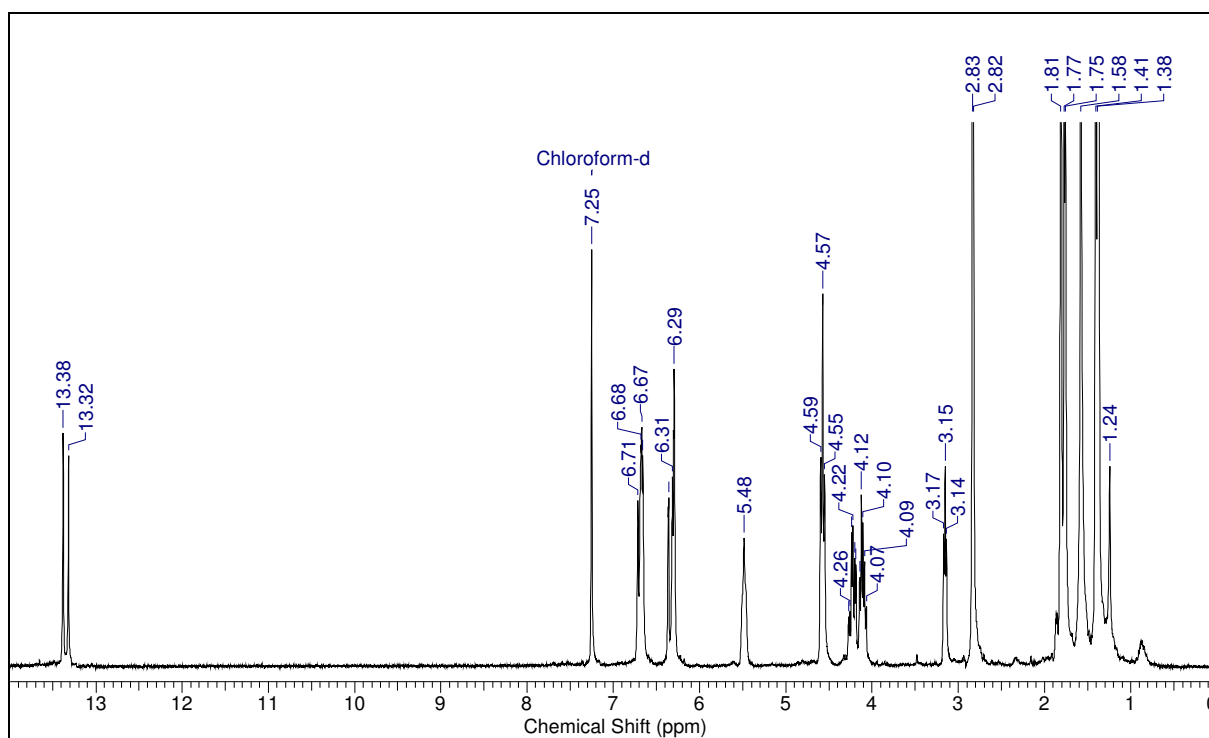
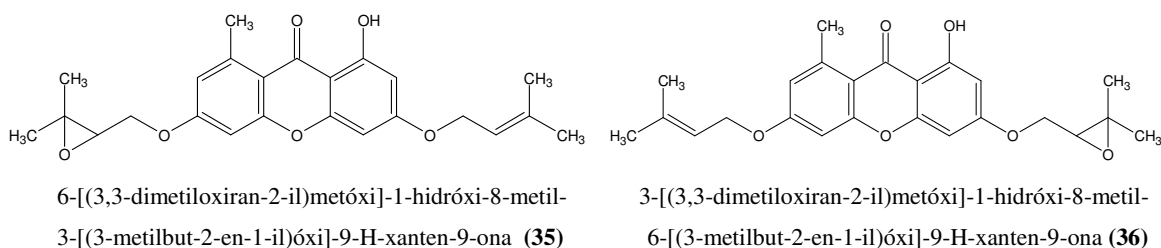


Figura 26. Espectro de RMN de ^1H de EPX-2B-1, em CDCl_3 .



Reação de benzilação da 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**) (VENUTI *et al.* 1988)

Com o objetivo de obter a 6-*O*-metilnorliquexantona (**26**) a partir do derivado (**25**), 3-*O*-metilnorliquexantona, foi proposta uma rota de transformações, esquematizada abaixo, na **figura 27**.

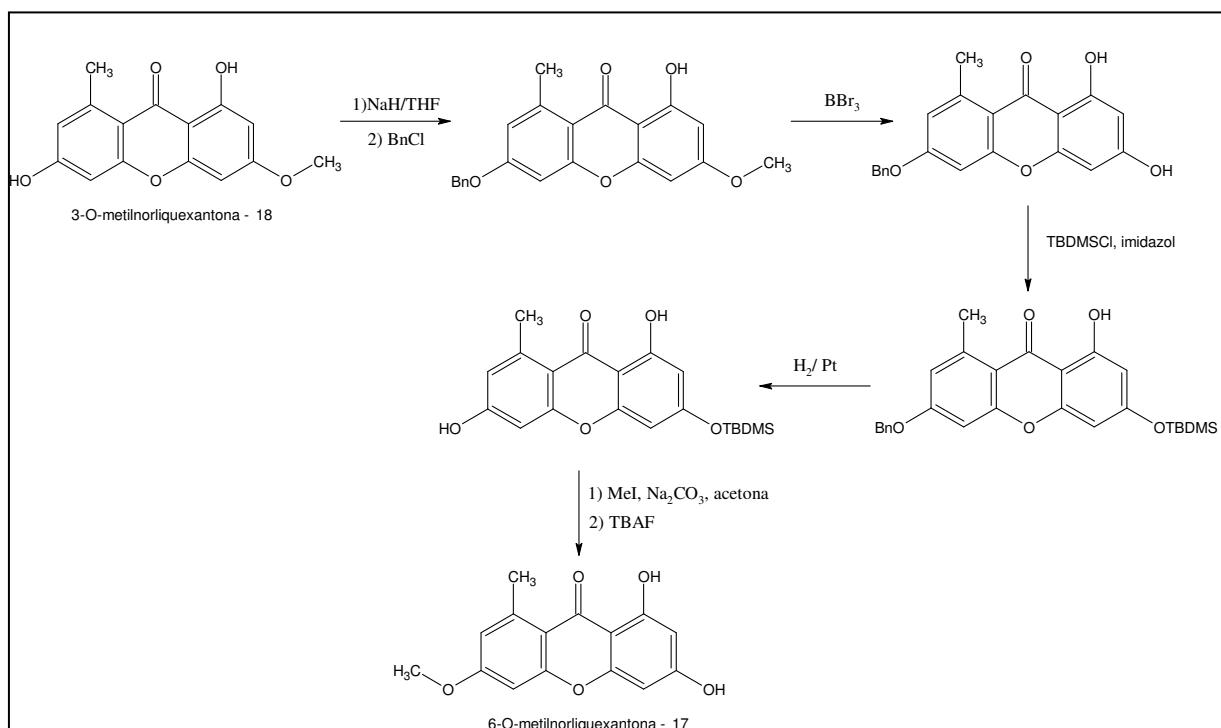
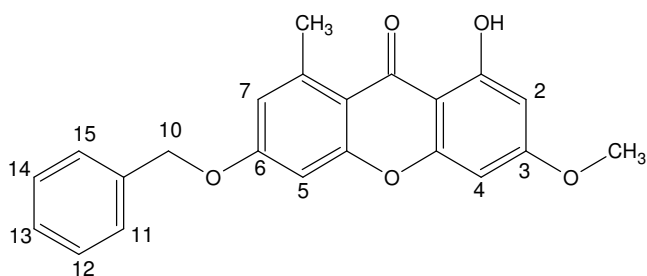


Figura 27. Representação esquemática da rota de transformações para obtenção a 6-*O*-metilnorliquexantona (**26**) a partir da 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**).

Assim, o primeiro passo dessa sequência de reações é a benzilação de 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**).

O espectro de RMN de ^1H da mistura reacional, codificada como BENZIL, foi analisado, e chegou-se a conclusão de que houve realmente a inserção do grupamento benzila no oxigênio da posição 6. Pode-se observar na **figura 28** os sinais para o anel aromático, como um multiplete na faixa de 7,4 ppm, e o sinal em 5,3 ppm, para o metileno ligado ao oxigênio nessa posição, que confirmaram a presença da 6-(benzilóxi)-1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**37**). Um detalhe importante é o aparecimento de um sinal pequeno em 3,95 ppm, que indica, confirmando o que foi observado por CCD, que o material de partida ainda estava presente na fração.



6-(benzilóxi)-1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**37**)

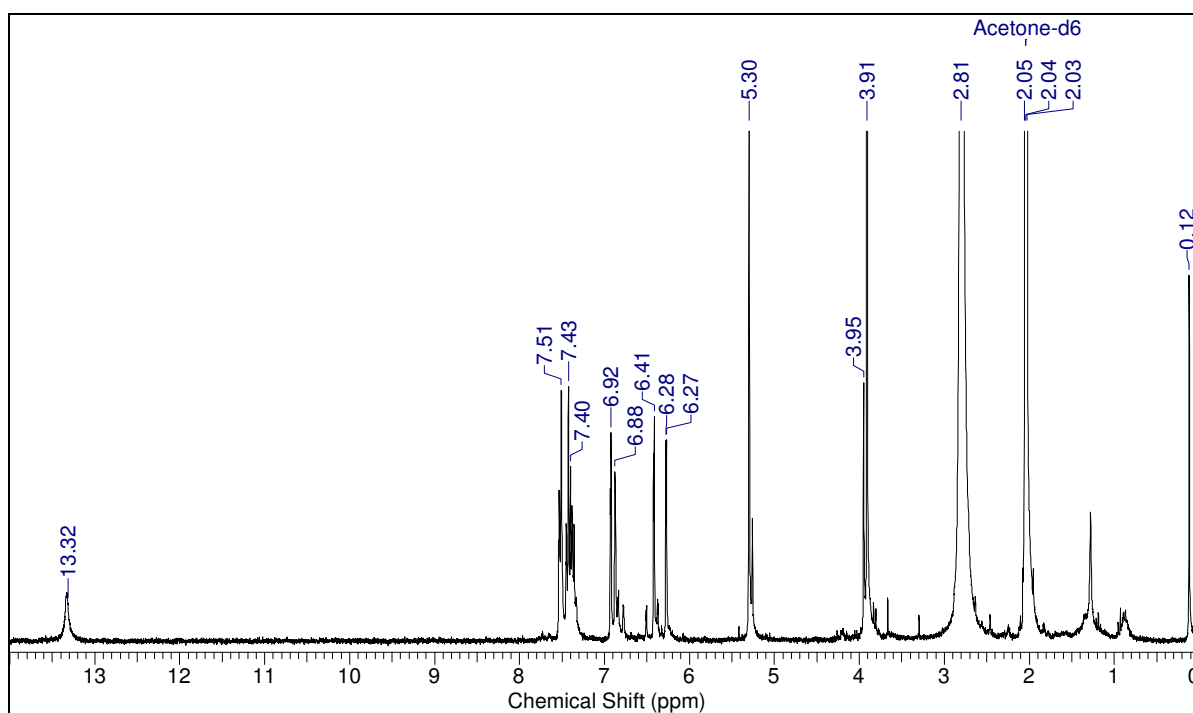


Figura 28. Espectro de RMN de ^1H de BENZIL, em acetona- d_6 .

Como a reação foi realizada com uma pequena massa do substrato, e, por consequência, foi obtida uma pequena quantidade de produto, não foi possível dar continuidade à série de reações para obtenção de **26**. Os dados espectrais de RMN de ^1H da 6-(benzilóxi)-1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**37**) se encontram na tabela.

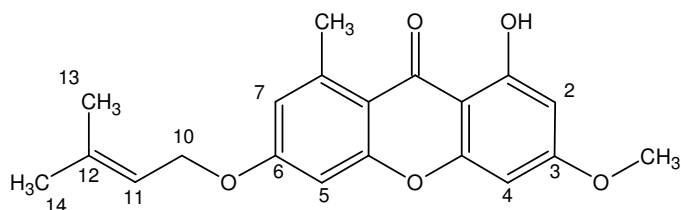
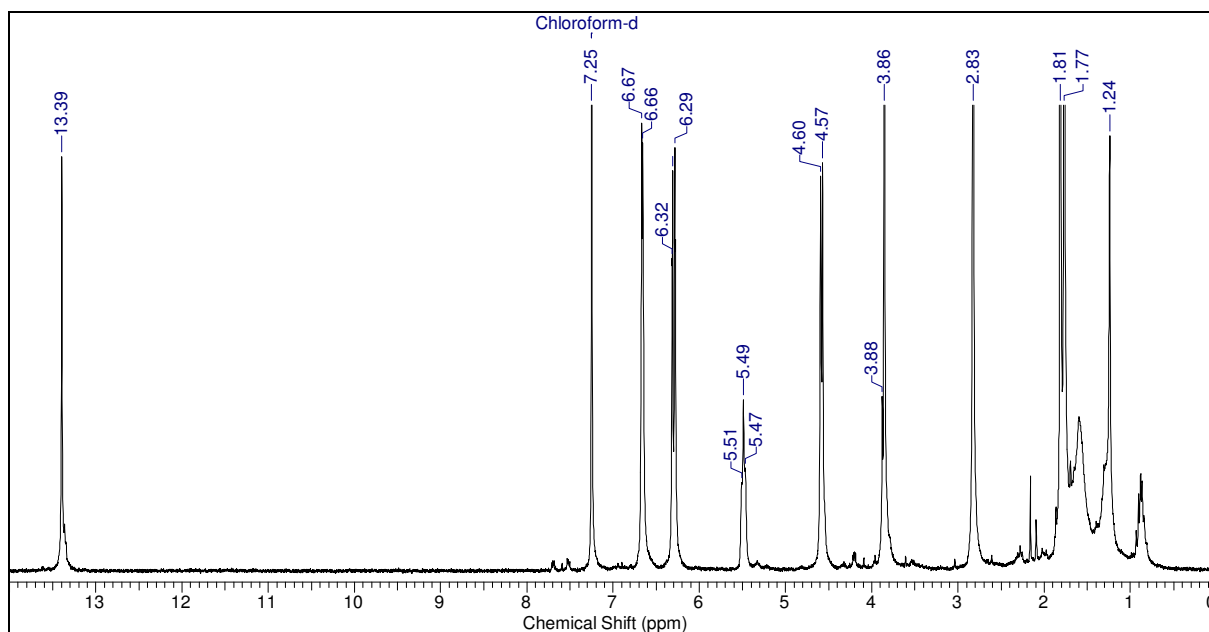
Tabela 19 - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 6-(benzilóxi)-1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**37**)

H	6-(benzilóxi)-1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (37)
	RMN $^1\text{H}^*$
H-2	6,27 (1H, d, J= 2,2 Hz)
H-4	6,42 (1H, d, J= 2,2 Hz)
H-5	6,92 (1H, sl)
H-7	6,88 (1H, d, J= 2,1 Hz)
H-10	5,30 (2H, s)
H-11 a 15	7,44 (5H, m)
C3-O-CH ₃	3,91 (3H, s)
C8-CH ₃	2,81 (3H, s)

* 300 MHz, acetona-d₆

Reação de prenilação da 3-O-metilnorliquexantona (**25**) com brometo de 3,3-dimetilalila (**20**) (O-prenilação) (TCHAMO *et al.* 2000)

Uma vez obtido o derivado monodemetilado da liquexantona, a 3-O-metilnorliquexantona (**25**), foi realizada a reação de prenilação com brometo de 3,3-dimetilalila (**27**), com o objetivo de obter a 3-O-metil-6-O-prenil-norliquexantona (**38**). A mistura reacional, codificada como 3-OMEPRE, foi submetida a análise espectral de RMN de ^1H (**figura 29**). Neste espectro observou-se, além dos sinais do material de partida, o aparecimento dos sinais do grupo O-prenila inserido, um triplete em 5,49 ppm e um dublete em 4,58 ppm, confirmando que o produto esperado foi obtido.

3-*O*-metil-6-*O*-prenil-norliquexantona (**38**)**Figura 29.** Espectro de RMN de ^1H de 3-OMEPRE, em CDCl_3 .**Tabela 20** - Deslocamentos químicos (δ , expresso em ppm) para a 3-*O*-metil-6-*O*-prenil-norliquexantona (**38**).

3- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (38)	
H	RMN $^1\text{H}^*$
H-2	6,28 (1H, d, J= 1,9 Hz)
H-4	6,31 (1H, d, J= 2,0 Hz)
H-5	6,66 (1H, sl)
H-7	6,87 (1H, sl)
H-10	4,58 (2H, d, J=6,7 Hz)
H-11	5,49 (1H, t, J=6,7 Hz)
H-13	1,81 (3H, s)
H-14	1,77 (3H, s)
C3-O-CH ₃	3,86 (3H, s)
C8-CH ₃	2,83 (3H, s)

* 300 MHz, CDCl_3

Ensaio de Atividades Biológicas

Avaliação da atividade tóxica sobre *Artemia salina* do ácido salazínico (7) e seus derivados

O ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* pode ser considerado como um bom método preliminar de pesquisa de atividade antineoplásica de compostos, para posterior avaliação mais refinada (MEYER *et al.* 1982).

SOLIS e colaboradores (1993) testaram a toxicidade de 21 compostos sobre *Artemia salina*, e, dos compostos ativos, praticamente todos se apresentaram tóxicos a células KB (carcinoma humano nasofaríngeo), mostrando que há uma relação entre toxicidade da substância ao microcrustáceo e a sua citotoxicidade frente a células tumorais.

Visando uma avaliação preliminar do potencial citotóxico do ácido salazínico (7) e seus derivados, produzidos a partir da reação do ácido com álcoois, foram realizados ensaios de toxicidade sobre *Artemia salina*.

Para a realização do teste, as substâncias devem ser solubilizadas em solução salina, com 1 ou 2% de DMSO. Entretanto, substâncias muito lipofílicas têm uma restrição com relação à sua solubilidade na solução do ensaio, e nem sempre é possível testá-las nas concentrações desejadas. E é o que acontece com os derivados do ácido salazínico (7). O próprio ácido já tem uma solubilidade reduzida na solução salina, e a tendência de seus derivados é a de que quanto maior o tamanho das cadeias alquílicas inseridas, mais apolares os compostos e menor a solubilidade na solução salina. Deste modo, as concentrações máximas testadas de cada uma das substâncias foi imposta pelo seu limite de solubilidade em solução salina contendo 2% de DMSO.

Nenhum dos compostos testados apresentou-se tóxico ao microcrustáceo nas concentrações máximas testadas, indicadas na **tabela 21**.

Tabela 21 – Resultados do ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina*.

Substância/ mistura	Concentrações limite (µg/ mL)
Salazínico (7) (SAL)	385
Mistura reacional-reação com metanol (SALM)	236
Mistura reacional-reação com etanol (SALE)	414
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	259
ácido 8', 9'-di- <i>O-isopropil</i> salazínico (SALIP) (18)	353
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	132
ácido 8', 9'-di- <i>O-sec</i> -butil salazínico (SALSB) (20)	233
ácido 9'- <i>O-terc</i> -butil salazínico (SALTB) (21)	286
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	181
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	160

Os derivados da liquexantona (15) não foram testados neste ensaio devido à falta de material suficiente, já que em alguns casos os rendimentos das reações foram baixos, ou pela baixa polaridade dos compostos na solução salina. A liquexantona (15) tem uma solubilidade máxima de 104 ppm, e muitos dos derivados obtidos são mais apolares. Prevendo-se uma solubilidade ainda menor desses compostos do que a da própria liquexantona (15), optou-se por não realizar o ensaio.

Avaliação da atividade citotóxica *in vitro* da liquexantona (15) e do ácido salazínico (7)

A liquexantona (15), o ácido salazínico (7), e alguns dos derivados destas duas substâncias produzidos neste trabalho, foram testados com relação ao seu potencial citotóxico frente a linhagens de células tumorais: MDA/ MB-435 (mama-humano), HCT-8 (cólon – humano) e SF-295 (glioblastoma – humano). Os resultados do percentual de inibição do crescimento das células tumorais são apresentados na **tabela 22**.

Tabela 22 – Percentual de inibição do crescimento celular obtido com as amostras nas diferentes linhagens de células tumorais em dose única de 25µg/mL.

Substâncias	MDA/ MB-435	HCT-8	SF-295
	Media	Media	Media
Liquexantona (15)	30,72	38,95	26,46
3- <i>O</i> -metilnorliquexantona (25)	67,46	81,87	54,63
Norliquexantona (24)	43,21	88,35	70,51
3,6-di- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (31)	41,84	34,96	40,24
Ácido salazínico (7)	14,69	-1,63	13,01
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	79,75	93,12	72,02
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	96,92	93,01	101,39
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	54,77	102,91	100,09
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	7,66	99,65	101,22

Os resultados indicam que a liquexantona (15) e seus derivados não apresentam potencial citotóxico, revelando valores de inibição menores que 90%, que é o valor considerado como *cut-off* para o *screening* de novas substâncias com potencial antitumoral. É, porém, possível observar que para as linhagens HCT-8 e SF-295, há um aumento na citotoxicidade que segue o aumento do número de hidroxilas livres no esqueleto xantônico, concordando com o que é comumente descrito pela literatura em geral (PINTO *et al.* 2005). A exceção é com relação à linhagem MDA/ MB-435, onde o derivado monometilado foi mais ativo que o totalmente demetilado. Com relação ao derivado di-prenilado (31), também confirmou-se que o substituinte prenila tem certo papel de destaque, já que as duas hidroxilas, da posições 3 e 6, continuam substituídas como na liquexantona (15).

Para os derivados do ácido salazínico (**7**), de modo geral, foi observado que, quanto maior o número de carbonos da cadeia alquílica inserida, maior o potencial citotóxico das substâncias testadas. A exceção é para as células da linhagem MDA-MB435, onde o derivado *n*-butílico (**19**) apresenta-se mais ativo, havendo um decréscimo drástico desta atividade, até chegar ao derivado *n*-hexílico (**23**), que é menos ativo que o próprio ácido salazínico (**7**).

Apenas as substâncias que apresentaram atividade de inibição do crescimento das células tumorais maiores que 90% no ensaio preliminar com dose única de 25 µg/mL foram selecionadas para a determinação do valor da CI₅₀. Os valores são apresentados na **tabela 23**.

Tabela 23 - Atividade citotóxica – CI₅₀ (µg/ mL) – dos derivados **19**, **22** e **23** do ácido salazínico (**7**).

Substâncias	CI ₅₀ (µg/mL)		
	MDA/ MB-435	HCT-8	SF-295
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	18,32	8,00	17,12
	12,28 – 27,34	5,07 – 12,62	10,27 – 28,55
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	21,66	4,28	11,93
	21,66 – 53,49	3,07 – 5,98	7,93 – 17,94
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	7,45	1,73	5,69
	4,83 – 11,50	1,30 – 2,31	3,14 – 10,30

As células foram cultivadas em placas de 96 poços em estufa a 5% de CO₂, a 37°C, por 72h, na presença das concentrações das substâncias puras (0,04 - 25µg/mL). Cada concentração foi testada em triplicata, e as análises foram realizadas em duas determinações. A CI₅₀ corresponde à concentração que inibe 50% do crescimento celular (Intervalo de confiança).

Confirmou-se a tendência geral de aumento da atividade citotóxica de acordo com o aumento das cadeias inseridas no esqueleto da depsidona. O derivado ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (**23**) foi o mais ativo em todas as linhagens testadas, mas especialmente para HCT-8. Tanto este derivado quanto o ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-pentil salazínico (**22**) foram considerados como potencialmente citotóxicos para esta linhagem de células tumorais.

Avaliação da atividade antibiótica

A **tabela 24** apresenta o resultado da avaliação da atividade antibiótica do ácido salazínico (**7**) e seus derivados, e as misturas reacionais das reações com metanol e etanol, juntamente com a liquexantona (**15**) e alguns de seus derivados, além do antibiótico padrão amicacina, frente a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* e a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*.

Tabela 24 – Resultados da atividade antibiótica

Substância/ mistura	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)
Salazínico (7) (SAL)	8	-
Mistura reacional-reação com metanol (SALM)	10	10
Mistura reacional-reação com etanol (SALE)	8	9
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	9	10
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> -isopropil salazínico (SALIP) (18)	9	10
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	10	11
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>sec</i> -butil salazínico (SALSB) (20)	9	11
ácido 9'- <i>O</i> - <i>terc</i> -butil salazínico (SALTB) (21)	10	10
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	10	10
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	8	10
Liquexantona (15)	8	-
3- <i>O</i> -metilnorliquexantona (25)	12	11
Norliquexantona (24)	10	-
3,6-di- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (31)	10	-
3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9h-xanten-9-ona (30)	12	20
Amicacina	30	30

mm=Diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano, em milímetros.

Pôde-se observar que a atividade do ácido salazínico (**7**) e seus derivados é baixa em relação ao antibiótico padrão. O ácido salazínico (**7**) apresenta atividade apenas sobre *E. coli*, enquanto que os seus derivados são ativos tanto frente a *E. coli* quanto à *S. aureus*. Uma

hipótese é a de que a mudança na estrutura e o aumento da lipofilicidade interfere na maneira de interação dos compostos com as diferentes paredes celulares.

No caso da liquexantona (**15**) e seus derivados, a xantona nitrogenada (**30**) se mostrou a mais ativa entre as substâncias testadas, especialmente frente a *S. aureus*, com um halo de inibição de 20 mm. Os demais compostos apresentaram atividades baixas sendo, em sua maioria, ativos apenas sobre a *E. coli*.

Avaliação da atividade antifúngica

O ácido salazínico (**7**) e seus derivados, bem como a liquexantona (**15**), a norliquexantona (**24**), a mistura de 6-*O*-prenil-norliquexantona (**33**) e 3-*O*-prenil-norliquexantona (**32**) e a 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**), foram testados com relação a sua atividade sobre o fungo *Cladosporium sphaerospermum*. Os resultados são mostrados na **tabela 25**.

Tabela 25 – Resultados do ensaio de atividade antifúngica sobre o fungo *Cladosporium sphaerospermum*

Substância/ fração	Quantidade mínima inibitória (µg)
Salazínico (7) (SAL)	-
Mistura reacional-reação com metanol (SALM)	600, 750
Mistura reacional-reação com etanol (SALE)	600, 750
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	600
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> -isopropil salazínico (SALIP) (18)	600, 750
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	400
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>sec</i> -butil salazínico (SALSB) (20)	600
ácido 9'- <i>O</i> - <i>terc</i> -butil salazínico (SALTB) (21)	400
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	400
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> - <i>n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	400
Liquexantona (15)	-
Norliquexantona (24)	-
6- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (33) e 3- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (32)	-
3,6-di- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (31)	-

O produto da reação do ácido salazínico (**7**) com *n*-pentanol (**22**) foi o que apresentou um halo de inibição de crescimento do fungo mais evidente, mostrando-se, portanto, o mais ativo dos derivados.

A liquexantona (**15**), ou qualquer de seus derivados, não se mostrou ativa neste ensaio.

Metodologia

4 - METODOLOGIA

Material e Equipamentos Utilizados

Foram utilizados em todas as etapas deste trabalho solventes de grau P.A (Dinâmica, Merck, Quimex, Synth e Vetec) ou HPLC da marca J. T. Baker.

Todas as substâncias foram pesadas em balança SCIENTECH, com precisão $\pm 0,0001$ g, ou balança MARTE, precisão de $\pm 0,01$ g.

Os solventes foram evaporados em evaporador rotativo, da marca Fisatom, modelo 802.

Nas reações de modificação estrutural foram utilizados reagentes das marcas Merck, Sigma-Aldrich e Acros Organics.

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas em aparelho Shimadzu LC 6AD, pré-coluna Shim-pack (25 x 4,6 mm), coluna C18 CLC ODS M (250 x 4,6 mm) para o modo analítico, e Shim-pack PREP ODS (H) (250 x 20 mm), detector de arranjo de diodos, para UV e visível. Os volumes de injeção e fluxo foram de 20 μ L a 1 mL/minuto para o modo analítico e 300 μ L a 10 mL/minuto para o modo preparativo.

Os pontos de fusão/ decomposição das substâncias isoladas foram medidos em aparelho Uniscience do Brasil, modelo 498.

As medidas de rotação ótica foram realizadas em um polarímetro Perkin Elmer 341, com caminho ótico de 1 decímetro.

Todos os experimentos de RMN foram realizados em um espectrômetro da marca BRUKER de 7,05 Tesla, modelo DPX300 (300,13 MHz para a frequência do hidrogênio). Foram utilizadas sondas com 5 mm de diâmetro interno, com detecção no modo direto (dual) e no modo inverso (BBI), esta equipada com uma bobina geradora de gradiente de campo na coordenada z (para o caso de experimentos gHSQC e gHMBC), utilizando o sinal do solvente deuterado como referência. Os espectros de ^1H (SFO1=300,13 MHz) foram obtidos utilizando-se a sequência de pulso zg, largura espectral (SWH) média de 21 ppm, tempo de aquisição (AQ) 5,19s, tempo de espera entre cada aquisição (d1) 1,2 s, sendo acumulados (ns) 8 FIDs. Eles foram processados sem zero-filling (SI < TD) e com multiplicação exponencial (LB=0,3 Hz). Os espectros de ^{13}C (SFO1=75,48 MHz) foram obtidos utilizando-se a

sequência de pulso zgpg30, largura espectral (SWH) média de 250 ppm, tempo de aquisição (AQ) e número de FIDs acumulados (ns) variável, tempo de espera entre cada aquisição (d1) 0,15s. Eles foram processados também sem zero-filling (SI < TD) e com multiplicação exponencial (LB=1 Hz). Todos os espectros de ^{13}C apresentam um sinal na faixa de 125 ppm, referente ao meio da janela espectral. Os espectros de DEPT 135 (SFO1=75,48 MHz) foram obtidos utilizando-se a sequência de pulso dept135, largura espectral (SWH) média de 250 ppm, tempo de aquisição (AQ) e número de FIDs acumulados (ns) variável, tempo de espera entre cada aquisição (d1) 2s. Eles foram processados sem zero-filling (SI < TD) e com multiplicação exponencial (LB=1 Hz).

Os espectros de HMQC (^1H SFO1=300,13 e ^{13}C SFO2=75,48 MHz) foram obtidos utilizando-se o programa inv4prtp, e para os espectros de gHSQC o programa de pulsos utilizado foi hsqcedetgp. A largura espectral em F2 (SWH2) foi variável e em F1 (SWH1) de aproximadamente 250 ppm, tempo de aquisição (AQ) e número de FIDs acumulados (ns) variáveis, tempo de espera entre cada aquisição (d1) de 2 e 1,5 s respectivamente. No processamento, o número de pontos utilizados (SI 1 e SI 2) também variou e utilizou-se a multiplicação de seno quadrado (QSINE) com seno (SSB) igual a 2 em F2 e seno quadrado com seno (SSB) igual a 2 em F1. Para os espectros de HMBC o programa de pulsos utilizado foi inv4lplrnd, e para gHMBC, hmbcgpndqf, largura espectral em F2 (SWH2) variável e em F1 (SWH1) de aproximadamente 250 ppm, tempo de aquisição (AQ) e número de FIDs acumulados (ns) variáveis, tempo de espera entre cada aquisição (d1) de 2 e 1,5s, respectivamente. No processamento dos espectros de RMN de HMBC foi utilizada multiplicação de seno quadrado (QSINE) com seno (SSB) igual a 3 em F2 e seno quadrado com seno (SSB) igual a 3 em F1, e nos espectros de gHMBC, uma multiplicação seno (SINE).

Fracionamentos Cromatográficos

As cromatografias em coluna foram realizadas utilizando-se sílica gel (230-400) mesh em proporções (g de amostra para g de sílica) 1:50 ou 1:75.

As cromatografias de camada delgada preparativa (CCDP) foram realizadas em placas de vidro de 20 x 20cm, recobertas com sílica gel PF₂₅₄₊₃₆₆ da Merck.

As cromatografias em camada fina (CCD) foram desenvolvidas em cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ sobre alumínio (Merck), utilizando como eluente, em geral, misturas de

hexano/ acetato de etila em várias proporções.

Para a revelação química das substâncias as placas foram pulverizadas com metanol/ ácido sulfúrico 9:1 v/v e aquecidas em chapa elétrica a $\pm 100^{\circ}\text{C}$. O segundo revelador (*p*-anisaldeído/ ácido sulfúrico) foi aplicado após o aparecimento das manchas. Nas placas de CCDP as placas foram reveladas com luz ultravioleta, no comprimento de onda de 254 nm.

Tratamento de solventes

O CH_2Cl_2 anidro utilizado nas reações de demetilação foi previamente tratado com hidreto de cálcio (CaH_2) e aquecimento durante 4 horas, e destilado após este período (PERRIN e ARMAREGO 1998).

O 1,4-dioxano utilizado em algumas reações de prenilação foi previamente seco com KOH, tratado com sódio metálico e aquecimento durante 12 horas, e destilado (PERRIN e ARMAREGO 1998).

Os solventes utilizados nos fracionamentos cromatográficos foram destilados e secos com Na_2SO_4 .

Obtenção de liquexantona (15) e ácido salazínico (7) (MICHELETTI *et al.* 2005)

Preparação da amostra

Para assegurar a homogeneidade da amostra, de cada talo liquênico de *Parmotrema lichexanthonicum* Eliasaro e Adler, selecionado de acordo com características morfológicas, foi retirado um pequeno fragmento (aproximadamente 50 mg) e submetido à extração com acetona. Os extratos foram cromatografados em camada fina de sílica gel e aqueles de mesma composição foram reunidos.

Extração

Tomou-se, então, 35,0 g do líquen *Parmotrema lichexanthonicum*, fragmentado, e submeteu-se a extrações exaustivas com CHCl_3 e, posteriormente, com acetona, em banho-maria com temperatura aproximada de 40°C, obtendo-se, após evaporação do solvente em evaporador rotativo, 3,63 g de extrato clorofórmico (EC) e 2,80 g de extrato acetônico (EA).

Purificação de liquexantona (15) e ácido salazínico (7)

Extrato clorofórmico (EC)

O EC foi purificado com a adição de pequenas porções de CHCl_3 gelado e centrifugado, obtendo-se um pó amarelo (1,95g) e um sobrenadante, que após evaporação pesou 1,69 g. O pó amarelo foi analisado por CCD, no eluente tolueno/ acetato de etila/ ácido acético (6:4:1 v/v/v) juntamente com uma amostra de liquexantona da coleção de substâncias isoladas, purificadas e estruturalmente elucidadas, disponíveis no laboratório LP2 e também por RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135 (espectros **E-1** a **E-3**, páginas 130-132) , em CDCl_3 . Através da comparação dos fatores de retenção (Rf) e da análise espectral de RMN confirmou-se que esta fração era constituída apenas por liquexantona (**15**).

RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3): 2,81 (3H, s), 3,85 (3H, s), 3,87 (3H, s), 6,26 (1H, d, J= 2,6 Hz), 6,28 (1H, d, J= 2,2 Hz), 6,62 (1H, sl), 6,63 (1H, d, J= 2,6 Hz), 13,36 (1H, s). **RMN de**

^{13}C (δ em ppm, CDCl_3): 23,4; 55,6; 55,7; 92,0; 96,7; 98,4; 104,1; 112,8; 115,4; 143,4; 156,9; 159,3; 163,7; 165,7; 182,3. Rendimento: 5,6%.

O sobrenadante foi submetido a separação cromatográfica em coluna de sílica gel 70-230 mesh, eluída com CHCl_3 . Uma das frações eluídas da coluna, que continha o menor número de componentes, foi novamente fracionada por cromatografia de camada delgada preparativa (CCDP), utilizando a mistura CHCl_3 / tolueno (4:1 v/v) como eluente. Nestas condições, foi isolado o depsídeo atranorina (**16**), sendo a sua estrutura elucidada através da comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C (espectros **E-4** a **E-6**, páginas 133-135) com aqueles expressos na literatura (HUNECK e YOSHIMURA 1996).

RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3): 2,08 (3H, s), 2,54 (3H, s), 2,68 (3H, s), 3,98 (3H, s), 6,39 (1H, s), 6,50 (1H, s), 10,35 (1H, s), 11,93 (1H, s), 12,49 (1H, s), 12,54 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 9,4; 24,0; 25,6; 52,3; 102,9; 108,6; 110,3; 112,9; 116,0; 116,8; 139,9; 151,9; 152,4; 162,9; 167,5; 169,1; 169,7; 172,2; 193,8.

Extrato acetônico (EA)

O EA foi centrifugado, com pequenas porções de acetona mantida em banho de gelo para a retirada de pigmentos, obtendo-se, então um pó branco com massa total de 1,87 g. Este pó foi analisado por CCD no eluente tolueno/ acetato de etila/ ácido acético (6:4:1 v/v/v), juntamente com um padrão de ácido salazínico (**7**) da coleção de substâncias isoladas, purificadas e estruturalmente elucidadas, disponíveis no laboratório LP2 e apresentou o mesmo comportamento cromatográfico do padrão. Então, foi submetido a análise espectral de RMN de ^1H e ^{13}C (espectros **E-7** a **E-8**, páginas 137-138), em DMSO-d_6 para confirmação estrutural.

RMN de ^1H (δ em ppm, DMSO-d_6): 2,44 (3H, s), 4,64 (2H, s), 6,82 (1H, s), 6,87 (1 H, s), 8,28 (1H, s), 10,44 (1H, s), 12,04 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, DMSO-d_6):** 21,4; 52,7; 94,8; 109,7; 110,6; 111,9; 117,4; 123,4; 137,3; 138,0; 148,1; 152,2; 152,8; 160,4; 163,6; 164,0; 165,9; 192,7. Rendimento 5,3%.

Reações para modificação estrutural do ácido salazínico (7) (HUNECK e TABACCHI 1987)

Procedimento Geral

A uma massa de aproximadamente 150 mg de ácido salazínico (7) adicionou-se, em um balão de fundo redondo, 25 mL do álcool P.A (metanol, etanol, propanol, isopropanol, *n*-butanol, *sec*-butanol, *terc*-butanol, *n*-pentanol e *n*-hexanol). Em manta de aquecimento a mistura foi aquecida até a temperatura de aproximadamente 60°C, e após não haver mais nenhuma modificação aparente no perfil cromatográfico, a mistura foi resfriada e o solvente foi evaporado. Em cada reação, o resíduo obtido após a evaporação do solvente foi submetido à cromatografia em coluna de sílica gel 230-400 mesh, na proporção de 1g da amostra para 50g de sílica, para isolamento do derivado majoritário.

Visando obter informações sobre qual seria a melhor condição para as reações de modificação da estrutura do ácido salazínico (7), as reações foram repetidas em mais duas condições, além daquela descrita acima (**condição 1**). São elas:

- **condição 2** - mantendo as proporções utilizadas na **condição 1**, utilizando ácido acético como catalisador (cerca de 1 mL), mantendo a temperatura em 60°C. Foram repetidas apenas as reações com *n*-hexanol, *n*-pentanol, *sec*-butanol e *terc*-butanol
- **condição 3** - mantendo as proporções utilizadas na **condição 1**, elevando a temperatura da mistura reacional para 90°C, exceto para isopropanol e *sec*-butanol, para os quais as misturas reacionais foram aquecidas sob refluxo.

Temperaturas mais elevadas não foram testadas uma vez que havia risco de degradação do substrato.

Na **condição 3** foram repetidas as reações com todos os álcoois, e as misturas reacionais foram purificadas nas mesmas condições cromatográficas utilizadas para as misturas obtidas na **condição 1**.

(17) - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-propil salazínico (espectros **E-9** a **E-11**, páginas 138-140). **RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3):** 0,89 e 0,92 (6H, 2t, $J = 7,5$ Hz), 1,62 (4H, m), 2,51 (3H, s), 3,56 (2H, t, $J = 6,6$ Hz), 3,74 (2H, t, $J = 6,8$ Hz), 4,78 (2H, 2d, $J = 11,6$ Hz), 6,48 (1H, s), 6,73 (1H, s), 8,61 (1H, s), 10,46 (1H, s), 12,11 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 10,1; 10,5; 22,3; 22,5; 22,8; 62,6; 71,6; 73,4; 100,1; 109,2; 110,3; 111,7; 118,2; 120,2; 134,9; 138,4; 149,3; 153,6; 153,9; 159,7; 164,2; 165,6; 167,6; 192,9. Rendimento: 35,2%.

(18) - ácido 8', 9'-di-*O*-isopropil salazínico (espectros **E-12** a **E-14**, páginas 141-143). **RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3):** 1,25 – 1,40 (12H, 3d, $J = 5,9$ e 6,4 Hz), 2,52 (3H, s), 3,80 (1H, m, $J = 5,9$ Hz), 4,26 (1H, m, $J = 6,4$ Hz), 4,77 (2H, s), 6,54 (1H, s), 6,74 (1H, s), 8,74 (1H, s), 10,53 (1H, s), 12,12 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 20,9; 22,0; 22,4; 22,8; 60,3; 72,8; 98,3; 109,3; 110,4; 111,8; 118,2; 120,5; 135,2; 138,6; 149,2; 153,6; 154,1; 159,7; 164,4; 165,6; 167,7; 193,1. Rendimento: 6,4%.

(19) - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-butil salazínico (espectros **E-15** a **E-17**, páginas 144-146). **RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3):** 0,89 e 0,90 (6H, 2t, $J = 7,3$ Hz), 1,34 (4H, m), 1,56 (4H, m), 2,51 (3H, s), 3,60 (2H, t, $J = 6,4$ Hz), 3,77 (2H, t, $J = 6,9$ Hz), 4,77 (2H, 2d, $J = 11,9$ Hz), 6,47 (1H, s), 6,73 (1H, s), 8,61 (1H, s), 10,45 (1H, s), 12,11 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 13,7; 13,8; 18,9; 19,2; 22,3; 31,2; 31,6; 62,7; 69,7; 71,5; 100,1; 109,2; 110,3; 111,7; 118,2; 120,1; 134,9; 138,4; 149,2; 153,6; 153,9; 159,7; 164,2; 165,6; 167,5; 192,9. Rendimento: 28,3%.

(20) - ácido 8', 9'-di-*O*-*sec*-butil salazínico (espectros **E-18** a **E-20**, páginas 147-149). **RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3):** 0,90 (12H, m), 1,23 – 1,40 (12H, m), 1,44 (8H, m), 2,51 (3H, s), 3,60 (2H, m), 4,0 (2H, m), 4,78 (2H, 2d, $J = 11,5$ Hz), 6,53 (1H, s), 6,56 (1H, s), 6,73 (1H, s), 8,79 (1H, s), 10,52 (1H, s), 12,10 (1H, s), 12,13 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 9,6; 9,7; 17,8; 19,0; 20,0; 22,3; 28,6; 28,9; 29,5; 29,7; 60,5; 78,0; 78,4; 97,9; 99,1; 109,3; 110,3; 111,8; 118,1; 120,3; 135,3; 138,5; 149,2; 153,7; 154,0; 159,7; 164,3; 165,6; 167,7; 193,1. Rendimento: 9,3%.

(21) - ácido 9'-*O*-*terc*-butil salazínico (espectros **E-21** a **E-24**, páginas 150-153). **RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3):** 1,36 (9H, s), 2,46 (3H, s), 4,79 (2H, s), 6,64 (2H, s), 9,13 (1H, s), 10,52 (1H, s), 12,12 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 22,3; 27,4; 56,0; 76,2; 95,4;

109,0; 110,2; 111,9; 118,0; 119,8; 136,3; 138,1; 148,8; 153,7; 154,0; 159,8; 164,0; 165,6; 167,2; 193,2. Rendimento: 15,6%.

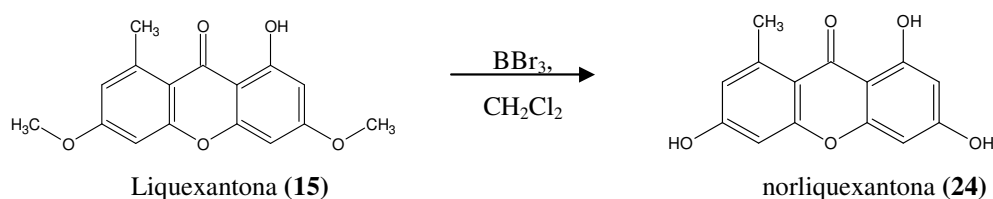
(22) - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-pentil salazínico (espectros **E-25** a **E-27**, páginas 1154-156). **RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3):** 0,87 (6H, m), 1,29 (8H, m), 1,58 (4H, m), 2,51 (3H, s), 3,59 (2H, t, $J= 6,9$ Hz), 3,76 (2H, t, $J= 6,9$ Hz), 4,77 (2H, 2d, $J= 11,9$ Hz), 6,47 (1H, s), 6,73 (1H, s), 8,62 (1H, s), 10,45 (1H, s), 12,11 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 13,9; 22,3; 22,4; 22,5; 27,8; 28,1; 28,8; 29,3; 62,8; 70,0; 71,9; 100,1; 109,2; 110,3; 111,7; 118,2; 120,2; 134,9; 138,0; 149,3; 153,6; 153,9; 159,7; 164,2; 165,6; 167,6; 192,9. Rendimento: 35,4%.

(23) - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (espectros **E-28** a **E-32**, páginas 157-161). **RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3):** 0,86 (6H, m), 1,25 (12H, sl), 1,50 (4H, m), 2,51 (3H, s), 3,59 (2H, t, $J= 6,9$ Hz), 3,76 (2H, t, $J= 5,9$ Hz), 4,78 (2H, 2d, $J= 11,8$ Hz), 6,47 (1H, s), 6,74 (1H, s), 10,45 (1H, s), 12,12 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 14,0; 22,3; 22,4; 22,5; 25,3; 25,7; 29,1; 29,6; 31,4; 31,6; 62,8; 70,0; 71,9; 100,1; 109,2; 110,3; 111,7; 118,2; 120,2; 134,9; 138,0; 149,3; 153,6; 153,9; 159,7; 164,2; 165,6; 167,6; 192,9. Rendimento: 21,3%.

Reações para modificação estrutural da liquexantona (15)

Reações de Demetilação

Reação de demetilação total com BBr_3 – obtenção da norliquexantona (24) (ELIX *et al.* 1993)



53,7 mg (0,19 mmol) de liquexantona (15) foram dissolvidas em 10mL de CH_2Cl_2 anidro, tratado com hidreto de cálcio (CaH_2) e destilado, sob agitação em atmosfera de N_2 e a solução foi mantida em banho de gelo com NaCl , a uma temperatura de aproximadamente -5°C por 30 minutos. Foram, então, adicionadas 0,4mL de BBr_3 (4,17 mmol), e a temperatura foi sendo gradativamente elevada, até atingir a ambiente (aproximadamente 30°C). A reação foi acompanhada por CCD e após 18 horas foi interrompida, adicionando-se água à mistura reacional e realizando-se a extração dos componentes primeiramente com CH_2Cl_2 e depois com acetato de etila. A fase aquosa foi filtrada e o resíduo insolúvel foi dissolvido em acetona e as três frações orgânicas foram secas com Na_2SO_4 e concentradas em evaporador rotativo. Por apresentarem o mesmo perfil cromatográfico foram reunidas.

O ácido bórico (H_3BO_3) formado na reação foi retirado adicionando-se várias porções de metanol à mistura reacional a fim de formar o éster borato de metila, que, sendo volátil, foi removido juntamente com o excesso de metanol em evaporador rotativo.

O resíduo obtido, pesando 72,6 mg, codificado como TDMLIQ apresentou na análise por CCD ser constituído de uma substância principal e mais duas outras em menor proporção. Assim, a mistura foi purificada por cromatografia em coluna de sílica gel, usando como eluente uma mistura inicial de hexano/ acetato de etila 10%, sendo feito um gradiente de polaridade do eluente, e obtidas 23 frações de 15 mL, como relatado na **tabela 26**.

Tabela 26 – Condições cromatográficas para fracionamento de TDMLIQ (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).

Fração TDMLIQ	Eluente
1-6	Hexano/ acetato de etila 10%
7-10	Hexano/ acetato de etila 15%
11-16	Hexano/ acetato de etila 20%
17-22	Hexano/ acetato de etila 50%
23	Acetona

As frações com comportamento cromatográfico semelhante foram reunidas, obtendo-se duas frações principais: TDMLIQ -11 (1,8 mg), composta pelas frações 11 a 17 e TDMLIQ-18 (28,2 mg), mais polar, composta pelas frações 18 a 20. Estas duas frações foram então submetidas à análises espectroscópicas de RMN (espectros **E-33** a **E-36**, páginas 162-165).

Esta reação foi repetida, nas mesmas condições, por mais duas vezes, variando-se apenas a quantidade de liquexantona (**15**) utilizada, sendo mantida a proporção molar do reagente. Os processos de purificação das misturas reacionais foram iguais ao descrito acima. As massas de substrato utilizadas, tempos de reação e massas das misturas reacionais obtidas, bem como a massa das frações com o mesmo comportamento cromatográfico de TDMLIQ-18, majoritárias em todos os casos, são relacionadas na **tabela 27**.

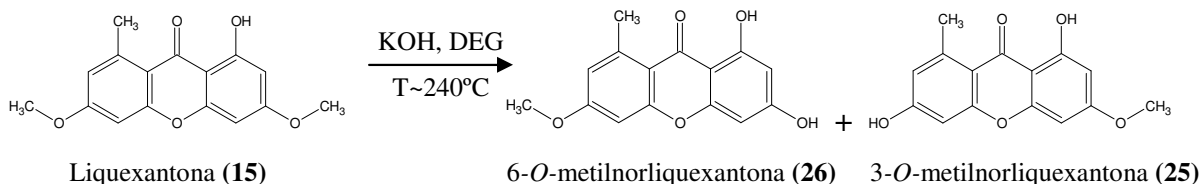
Tabela 27 – Informações experimentais das reações de demetilação da liquexantona (**15**) com BBr₃

Reação	Massa de liquexantona (mg)	Tempo de reação (horas)	Massa da mistura reacional (mg)	Massa da fração majoritária (mg)
TDMLIQ2	1000,0	16	840,0*	654,3
TDMLIQ3	518,0	14	581,0	325,6

*Perdas por adsorção da mistura no recipiente da reação

RMN de ¹H (δ em ppm, DMSO-d₆): 2,71 (3H, s), 6,11 (1H, d, *J*= 2,2 Hz), 6,26 (1H, d, *J*= 2,2 Hz), 6,63 (1H, sl), 6,64 (1H, sl), 13,4 (1H, s). **RMN de ¹³C (δ em ppm, DMSO-d₆):** 23,0; 93,2; 97,8; 100,5; 102,1; 110,9; 116,2; 142,8; 156,4; 158,8; 162,8; 163,0; 164,7; 181,4. Rendimento 70%.

Reação de demetilação da liquexantona (15) utilizando KOH e dietilenoglicol (DEG)
(CAVALHERI *et al.* 2004)



A 55,1 mg (0,19 mmol) de liquexantona (**15**) foram adicionados 41,8 mg (0,75 mmol) de KOH e 5 mL de DEG, sendo a mistura mantida em refluxo (temperatura de aproximadamente 240°C) por 4 horas. Após este período, o excesso de base foi neutralizado com uma solução 1M de HCl e em seguida realizou-se uma extração com acetato de etila em funil de separação. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e o solvente evaporado em evaporador rotativo, sendo a massa da mistura de 80,4 mg. A mistura reacional, codificada como DMLIQDEG, composta por duas substâncias, foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando como eluente a mistura hexano/ acetato de etila 10%, aumentando-se a polaridade da mistura em gradiente, sendo obtidas 18 frações de 15 mL, como mostrado na **tabela 28**.

Tabela 28 - Condições cromatográficas para fracionamento de DMLIQDEG (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).

Fração DMLIQDEG	Eluente
1	Hexano/ acetato de etila 10%
2-4	Hexano/ acetato de etila 20%
5-11	Hexano/ acetato de etila 30%
12-16	Hexano/ acetato de etila 40%
17	Acetato de etila
18	metanol

As frações de comportamento semelhante foram reunidas. A fração que continha a substância menos polar, codificada como DMLIQDEG-4 (6,8 mg), formada pelas frações 4 e 5, foi submetida a análise espectral de RMN de ¹H e ¹³C em acetona-d₆ (espectros **E-37** a **E-39**, páginas 166-168).

RMN de ^1H (δ em ppm, acetona- d_6): 2,80 (3H, s), 3,90 (3H, s), 6,24 (1H, d), 6,39 (1H, d), 6,70 (2H, sl), 13,40 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, acetona- d_6):** 23,9; 56,8; 93,0; 98,0; 102,0; 104,9; 113,1; 117,5; 145,0; 158,4; 160,8; 164,2; 167,5; 183,6. Rendimento: 13,15%.

A fração contendo a substância mais polar, codificada como DMLIQDEG-8 (10,0 mg), composta pelas frações 8 a 10, teve seu comportamento cromatográfico comparado com derivados já obtidos para sua identificação.

Reações de Prenilação

Reação de prenilação da liquexantona (15) com brometo de 3,3-dimetilalila (27) em acetona (O-prenilação) (TCHAMO *et al.*, 2000)

29,0 mg (0,10 mmol) de liquexantona (**15**) foram solubilizados em 10mL de acetona, sendo adicionados à solução 56,4 mg (0,41 mmol) de K_2CO_3 e 30 μL (0,26 mmol) de brometo de 3,3-dimetilalila (**27**), mantendo-se a mistura sob refluxo, por um período de 24 horas. Após este tempo, o solvente foi evaporado e a reação interrompida, sendo a mistura codificada como P1-LIQ (32,0 mg), e submetida à análise espectroscópica de RMN de ^1H em CDCl_3 .

A mistura reacional P1-LIQ, quando cromatografada no eluente hexano/ acetato de etila 10%, se mostrava composta por 4 substâncias, sendo uma delas a própria liquexantona (**15**). Assim, a mistura foi fracionada por CCDP, no eluente citado acima, e as frações obtidas codificadas de P1-LIQ-1 a P1-LIQ-4, em ordem decrescente de polaridade. As frações P1-LIQ-2 e P1-LIQ-4 foram submetidas a análise de RMN de ^1H em CDCl_3 .

Reação de prenilação da liquexantona (15) com 2-metil-3-buten-2-ol (21) e $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$ (C-prenilação) (JAIN *et al.* 1970)

1,4-dioxano foi preliminarmente seco com excesso de KOH e, em seguida, tratado com Na metálico e destilado. À 10 mL de dioxano anidro foram adicionadas 51,5 mg (0,18 mmol) de liquexantona (15) e aproximadamente 50 μL (1,23 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$ 48%, sob atmosfera de N_2 . Após a mudança de cor da mistura, foi adicionado 0,1 mL (1,86 mmol) de 2-metil-3-buten-2-ol (28), sendo a reação acompanhada por CCD. Após 40 horas de reação adicionou-se água à mistura reacional, realizando-se em seguida uma extração em funil de separação, com CHCl_3 . A fase orgânica foi seca e o solvente evaporado, restando um sólido com massa de 172,0 mg, codificado como P2-LIQ.

A mistura P2-LIQ, que parecia ser composta por 3 componentes majoritários, foi fracionada por cromatografia em coluna, iniciando-se a eluição com a mistura hexano/ CHCl_3 30%, aumentando-se a polaridade do solvente em gradiente, obtendo-se 37 frações de 15 mL, como mostrado pela **tabela 29**.

Tabela 29 - Condições cromatográficas para fracionamento de P2-LIQ (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).

Fração P2-LIQ	Eluente
1-8	Hexano/ CHCl_3 30%
9-13	Hexano/ CHCl_3 40%
14-19	Hexano/ CHCl_3 50%
20-26	Hexano/ CHCl_3 60%
27-32	Hexano/ CHCl_3 70%
33-35	Hexano/ CHCl_3 90%
36	Acetona
37	Metanol

As frações de comportamento cromatográfico semelhante foram reunidas, sendo a maioria delas composta apenas pela liquexantona, recuperando-se 9,5 mg do material de partida. A fração P2-LIQ-9 (4,1 mg), composta pelas frações de 9 a 11, e a fração P2-LIQ-16

(25,0 mg), combinação das frações 16 a 20, composta por uma mistura de liquexantona (**15**) e mais um componente, foram analisadas por RMN de ^1H em CDCl_3 .

A reação foi repetida, com 50,3 mg (0,17 mmol) de liquexantona (**15**), nas mesmas condições, entretanto com maior excesso dos outros reagentes: 150 μL (3,7 mmol) de $\text{BF}_3\cdot\text{EtO}_2$ 48% e 0,2 mL (3,72 mmol) de 2-metil-3-buten-2-ol (**28**), em 20 mL de dioxano. Após aproximadamente 40 horas a reação foi interrompida, com a adição de água, e a mistura submetida a extração em funil de separação com CHCl_3 . Depois de seca, a mistura foi codificada como P2-LIQ2 (84,5 mg).

P2-LIQ2 foi fracionada em coluna de sílica gel utilizando-se como eluente um gradiente de hexano e CHCl_3 , partindo-se de hexano/ CHCl_3 35%. Apenas as primeiras frações apresentaram-se compostas por substâncias diferentes do material de partida, sendo que a única fração selecionada para análise espectral foi P2-LIQ2-5 (16,4 mg), por apresentar-se de composição mais simples. Esta fração mostrou-se composta pelo material de partida e pelo menos mais um componente, e foi submetida a análise espectral de RMN de ^1H e ^{13}C .

Uma outra tentativa foi a realização d reação sob refluxo. Foram utilizadas as mesmas quantidades de reagentes empregadas na reação descrita acima. A mistura foi refluxada por um período aproximado de 40 horas, depois do qual foi elaborada também da mesma forma que a reação anterior, e codificada como P2-LIQ3.

Por se apresentar ainda mais complexa, optou-se pelo fracionamento de P2-LIQ3 por CLAE. Realizou-se primeiramente a injeção da amostra em modo analítico, a fim de obter um perfil preliminar, com o eluente metanol/ H_2O / ácido acético (93:4:3) (modo isocrático). O comprimento de onda utilizado pelo detector foi 275 nm, e o tempo de análise de 50 minutos.

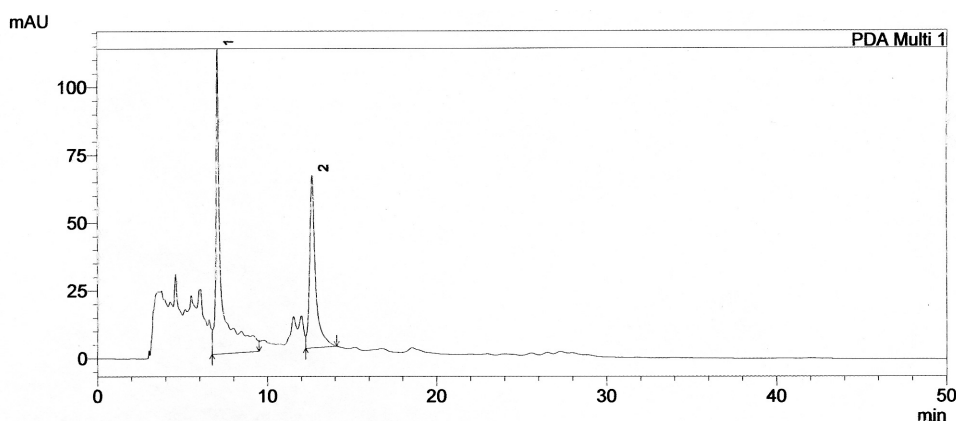
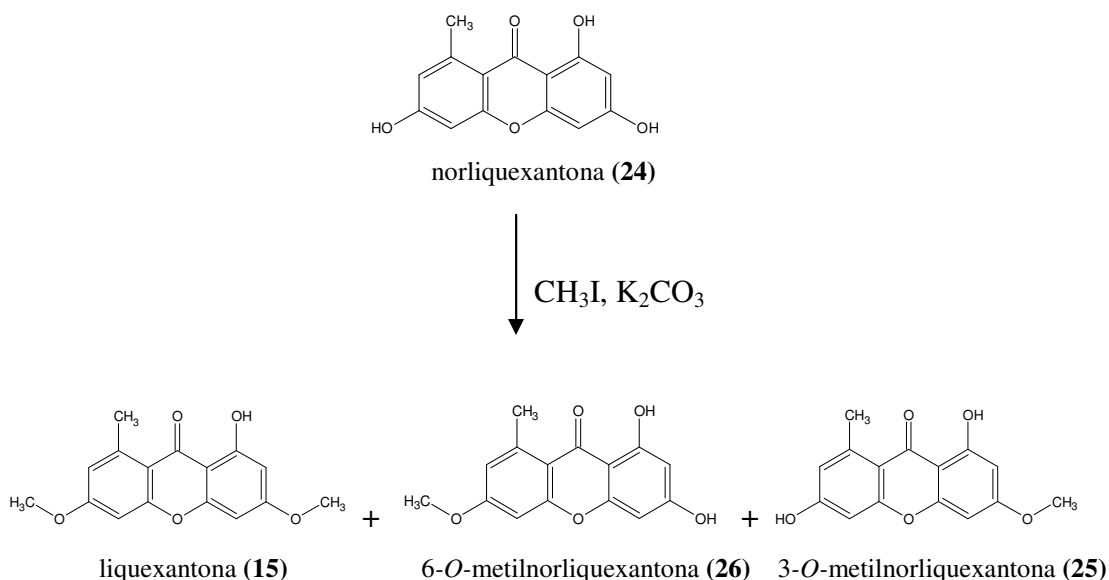


Figura 30. Cromatograma de CLAE da fração P2-LIQ3.

Depois desta análise preliminar, a amostra foi submetida a uma análise em modo preparativo, com metanol puro. O comprimento de onda selecionado foi 254 nm. Foram realizadas 8 injeções da solução de concentração de aproximadamente 2 mg/ mL, sendo coletados 2 picos principais: um no tempo de 9,904 minutos (P2-LIQ3-CL10M – 3,5 mg) e outro em 14,611 minutos (P2-LIQ3-CL14M – 3,1 mg). As duas amostras foram submetidas a análise espectral de RMN.

Reações para modificação estrutural da norliquexantona (24)

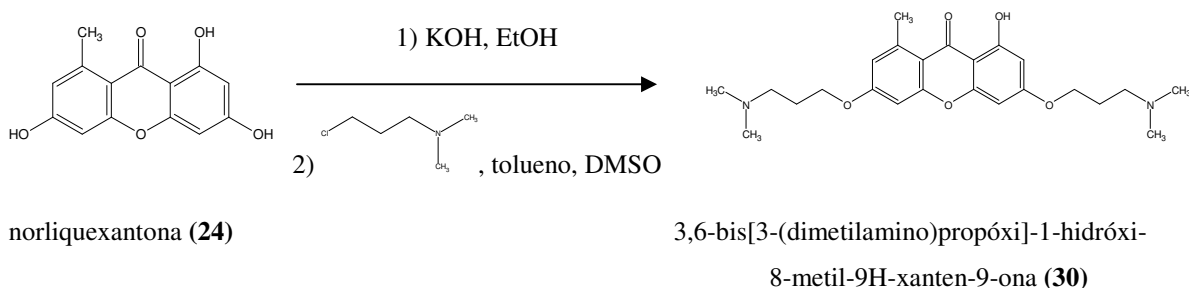
Reação de metilação da norliquexantona (24) (BERTILSSON *et al.* 1968)



Com o objetivo de obter derivados monometilados da norliquexantona, esta xantona foi metilada com iodeto de metila (CH₃I). A 24,3 mg (0,085 mmol) de norliquexantona, dissolvidos em 10 mL de acetona, foram adicionados 19 mg (0,14 mmol) de K₂CO₃ e 10 µL de CH₃I. A solução foi mantida sob agitação e banho de gelo, por aproximadamente 30 minutos, e depois à temperatura ambiente, por mais 23 horas. O solvente foi, então, evaporado e a mistura codificada como ME-NOR.

Analisando-se a mistura reacional por CCD no eluente hexano/ acetato de etila 20%, observou-se 3 componentes, e por comparação do comportamento cromatográfico, pôde-se atribuir que o de menor R_f era a norliquexantona (24), e o de maior R_f, a liquexantona (15). Havia ainda um componente de R_f intermediário, que poderia se tratar de um derivado monometilado. ME-NOR foi assim submetida a um fracionamento por CCDP, no eluente hexano/ acetato de etila 25%, e as três frações foram separadas. A fração de R_f intermediário, codificada como ME-NOR-2 (4,9 mg), foi analisada por RMN de ¹H e ¹³C em acetona-d₆.

Obtenção da 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (HUNTER *et al.* 1984)



Para preparar o fenóxido de potássio da norliquexantona (**24**) adicionou-se 31,6 mg (0,57 mmol) de KOH a uma solução de 30,8 mg (0,12 mmol) de norliquexantona (**24**) em etanol absoluto. A solução permaneceu sob agitação durante aproximadamente 30 minutos, e, ao final deste tempo, o solvente foi evaporado.

Uma massa de 86,9 mg (0,55 mmol) de hidrocloreto de (3-cloropropil)dimetilamônio foi dissolvida em 4 mL de uma solução saturada de NaOH e posteriormente extraída com tolueno em funil de separação. O reagente dissolvido em tolueno (~20 mL) foi adicionado ao fenóxido em um balão de fundo redondo, e a dissolução completa do sal da norliquexantona (**24**) se deu pela adição de aproximadamente 10 mL de DMSO.

A mistura foi refluxada por 48 horas, e a reação foi interrompida com a adição de uma solução aquosa saturada de Na_2CO_3 . A mistura reacional foi extraída com acetato de etila, por várias vezes, e a fase orgânica foi lavada com uma solução de HCl 1M. A fase orgânica ácida foi alcalinizada com Na_2CO_3 e os componentes extraídos com acetato de etila. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e o solvente evaporado, sendo o resíduo codificado como N-NOR (32,1 mg) e submetido a análise espectral de RMN (espectros **E-40** a **E-43**, páginas 169-172).

RMN de ^1H (δ em ppm, acetona- d_6): 2,08 (4H, s), 2,21 (6H, sl), 2,43 (4H, 2t, $J=7,0$ Hz), 2,80 (3H, s), 4,18 – 4,21 (4H, t, $J=6,4$ Hz), 6,26 (1H, d, $J=2,2$ Hz), 6,39 (1H, d, $J=2,1$ Hz), 6,76 (1H, sl), 6,80 (1H, sl), 13,35 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, acetona- d_6):** 23,4; 27,9; 45,6; 56,5; 67,6; 93,1; 97,9; 99,9; 104,4; 113,6; 116,7; 143,9; 157,9; 164,6; 166,5; 183,0. Rendimento: 62,5%.

Reações de prenilação

Reação de prenilação da norliquexantona (**24**) com brometo de 3,3-dimetilalila (**27**) (O-prenilação) (TCHAMO *et al.*, 2000)

50,0 mg (0,19 mmol) de norliquexantona (**24**) e 43,0 mg (0,31mmol) de K₂CO₃ foram dissolvidos em 10mL de acetona. À solução foram adicionados 40μL (0,35 mmol) de brometo de 3,3-dimetilalila (**27**), mantendo-se sob agitação e temperatura ambiente (aproximadamente 30°C). A reação foi acompanhada por CCD e após 23 horas foi interrompida, evaporando-se o solvente. A mistura reacional, codificada como P1-NORLIQ (150,6 mg), apresentou 3 componentes quando cromatografada no eluente hexano/ acetato de etila 30%, sendo o mais polar deles, localizado na base da placa, o material de partida.

A fim de isolar os componentes da mistura, P1-NORLIQ foi fracionada por CCDP, no eluente citado acima, e as frações codificadas como P1-NORLIQ-1 [norliquexantona (**24**)] a P1-NORLIQ-3, em ordem decrescente de polaridade. As frações P1-NORLIQ-2 (7,0 mg) e P1-NORLIQ-3 (38,0 mg) foram analisadas por RMN de ¹H e ¹³C em CDCl₃.

P1-NORLIQ-3 (espectros **E-47** a **E-49**, páginas 176-178) - **RMN de ¹H (δ em ppm, CDCl₃):** 1,75 – 1,81 (12H, sl), 2,81 (3H, s), 4,56 (4H, 2d, *J*= 6,4 Hz), 5,47 (2H, tl), 6,28 (1H, d, *J*= 2,2 Hz), 6,31 (1H, d, *J*= 2,2 Hz), 6,65 – 6,66 (2H, sl), 13,37 (1H, s). **RMN de ¹³C (δ em ppm, CDCl₃):** 18,2; 23,4; 25,8; 65,2 – 65,3; 92,7; 97,3; 99,1; 104,0; 112,8; 115,9; 143,3; 156,9; 159,3; 163,0; 163,6; 165,1; 182,3. Rendimento: 55%.

A reação foi repetida, nas mesmas condições, com 247 mg (0,96 mmol) de norliquexantona (**24**), em 50 mL de acetona, 79,7 mg (0,58 mmol) K₂CO₃ e 200μL de brometo de 3,3-dimetilalila (**27**). Após 28 horas de reação, adicionou-se mais 100μL de reagente e após 47 horas interrompeu-se o seu desenvolvimento. A mistura reacional foi codificada como P1-NOR2 (362,5 mg) e purificada por cromatografia em coluna de sílica gel, iniciando-se a eluição com a mistura hexano/ acetato de etila 5%, aumentando-se a polaridade do eluente em gradiente. Foram obtidas 27 frações de 50mL, como apresentado na **tabela 30**.

Tabela 30 - Condições cromatográficas para fracionamento de P1-NOR2 (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).

Fração P1-NOR2	Eluente
1-4	Hexano/ acetato de etila 5%
5-9	Hexano/ acetato de etila 10%
10-16	Hexano/ acetato de etila 20%
17-22	Hexano/ acetato de etila 30%
23-25	Hexano/ acetato de etila 50%
26	Acetato de etila
27	metanol

Observou-se a presença das mesmas substâncias que foram produzidas na primeira reação, sendo estas P1-NOR2-2 (73,8 mg), reunião de 2 e 3, semelhante a P1-NORLIQ-3, e P1-NOR2-12 (43,4 mg), semelhante a P1-NORLIQ-2. A reunião das frações 7 a 10, codificada como P1-NOR2-710 (14,0 mg) e a das frações 14-19, codificada como P1-NOR2-1419 (16,5 mg), ambas compostas por misturas, foram submetidas a RMN de ^1H e ^{13}C .

A mesma reação foi repetida pela terceira vez, com o objetivo de obter uma maior quantidade destes produtos minoritários. Para isso, à 102,4 mg (0,39 mmol) de norliquexantona (**24**) foi adicionado 0,5 mL (4,4 mmol) de brometo de 3,3-dimetilalila (**27**), 65,1 mg (0,57 mmol) de K_2CO_3 em 15 mL de acetona. Após 48 horas, evaporou-se o solvente, e o resíduo foi codificado como P1-NOR3 (130,9 mg). A seguir, a mistura foi fracionada em coluna cromatográfica de sílica, iniciando-se a eluição com a mistura hexano/acetato de etila 5%, aumentando-se a polaridade do eluente em gradiente. Foram obtidas 21 frações de aproximadamente 15mL, como apresentado na **tabela 31**.

Tabela 31 - Condições cromatográficas para fracionamento de P1-NOR3 (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:50).

Fração P1-NOR3	Eluente
1-6	Hexano/ acetato de etila 5%
7-10	Hexano/ acetato de etila 10%
11-14	Hexano/ acetato de etila 15%
15-17	Hexano/ acetato de etila 20%
18-20	Hexano/ acetato de etila 30%
21	Acetato de etila

As frações 9 (P1-NOR3-9, 6,5 mg), 10 (P1-NOR3-10, 4,9 mg), 11 (P1-NOR3-11, 6,9 mg), 12 (P1-NOR3-12, 8,6 mg) e 13 (P1-NOR3-13, 4,0 mg) foram analisadas por RMN de ^1H .

Na tentativa de aumentar o rendimento da reação, ela foi repetida com aquecimento a uma temperatura de aproximadamente 40°C. Foram dissolvidos 98,8 mg (0,38 mmol) de norliquexantona (**24**) e 62,0 mg (0,45 mmol) de K_2CO_3 em 20mL de acetona, e a esta solução, adicionados 80 μL (0,70 mmol) de brometo de 3,3-dimetilalila (**27**). Após 48 horas, o solvente foi evaporado, obtendo-se uma mistura reacional de massa 103,6 mg, codificada como P3-NOR. A mistura, quando analisada por CCD, apresentou-se composta basicamente por norliquexantona (**24**), mostrando traços de alguns componentes menos polares. Dessa forma, foi fracionada por cromatografia em coluna de sílica gel, iniciando-se a eluição com a mistura hexano/ acetato de etila 30%, a fim de recuperar a norliquexantona (**24**) que não reagiu. Foram obtidas 14 frações de 25mL, das quais apenas as duas primeiras continham substâncias diferentes do material de partida. Foram recuperados 63 mg de norliquexantona (**24**), além do que permaneceu em mistura com os componentes minoritários menos polares.

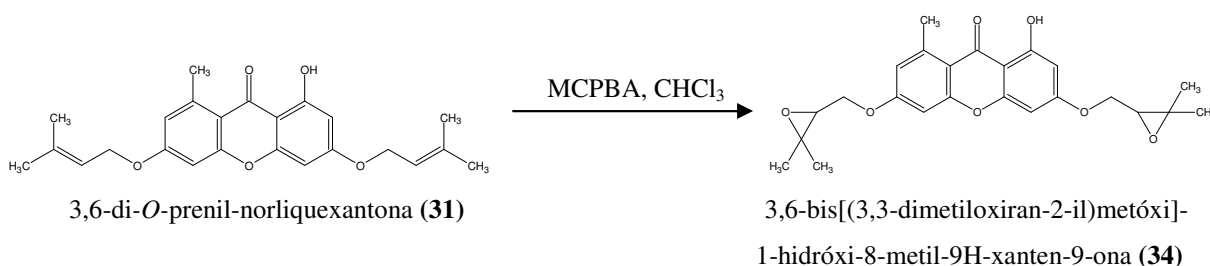
Reação de prenilação da norliquexantona (24**) com 2-metil-3-buten-2-ol (**28**) e $\text{BF}_3\cdot\text{EtO}_2$ – (C-prenilação) (JAIN *et al.* 1970)**

A 50,0 mg (0,19 mmol) de norliquexantona (**24**) foram adicionados 10 mL de dioxano anidro e aproximadamente 50 μL (1,23 mmol) de $\text{BF}_3\cdot\text{EtO}_2$ 48%, sob agitação e atmosfera de N_2 . Após alguns minutos foram adicionados 0,1 mL (1,86 mmol) de 2-metil-3-buten-2-ol

(28), sendo o desenvolvimento da reação acompanhado por CCD. Depois de um período de 22 horas, a reação foi interrompida com a adição de água, e os componentes recuperados por extração com acetato de etila em funil de separação. A mistura reacional, codificada como P2-NOR (80,7 mg) foi fracionada por cromatografia em coluna de sílica gel, iniciando-se a eluição com a mistura hexano/ acetato de etila 10%, obtendo-se 28 frações de 15mL. As frações desta coluna apresentaram-se bastante complexas, com perfis diferentes, que impossibilitaram a reunião de frações para que pudessem ser novamente fracionadas.

Outras Modificações

Obtenção da 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (MA e KIM 2003)



A uma solução de 31,2 mg (0,085 mmol) de 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**24**), P1-NORLIQ-3, em 15 mL de CHCl₃ foram adicionadas 47,6 mg (0,31 mmol) de ácido *m*-cloroperbenzóico (MCPBA). A solução permaneceu sob agitação por aproximadamente 170 horas, sendo interrompida pela adição de água. Foi adicionada uma solução saturada de Na₂CO₃ e a mistura reacional foi extraída em funil de separação com CHCl₃. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e o solvente evaporado, sendo o resíduo codificado como EPX-2B (30,7 mg) e submetido a separação por cromatografia em coluna de sílica, iniciando-se a eluição com a mistura hexano/ acetato de etila 5%, aumentando-se a polaridade do eluente em gradiente. Foram obtidas 15 frações de aproximadamente 15mL, como apresentado na **tabela 32**.

Tabela 32 - Condições cromatográficas para fracionamento de EPX-2B (em sílica gel 230-400 mesh, na proporção 1:75).

Fração EPX-2B	Eluente
1-4	Hexano/ acetato de etila 5%
5-12	Hexano/ acetato de etila 10%
13	Hexano/ acetato de etila 20%
14	acetato de etila
15	acetona

As frações que apresentaram comportamento cromatográfico semelhante foram reunidas, sendo que as frações 1 e 2 (EPX-2B-1, 7,5 mg) e 8-10 (EPX-2B-8, 6,2 mg) foram analisadas por RMN de ^1H e ^{13}C (espectros **E-44** a **E-46**, páginas 173-175).

EPX-2B-8 - RMN de ^1H (δ em ppm, CDCl_3): 1,37 – 1,39 (6H, sl), 1,40 – 1,41 (6H, sl), 2,84 (3H, s), 3,15 (2H, t), 4,19 (4H, m), 6,31 (1H, d, $J = 2,3$ Hz), 6,37 (1H, d, $J = 2,3$ Hz), 6,70 (1H, sl), 6,72 (1H, d, $J = 2,3$ Hz), 13,33 (1H, s). **RMN de ^{13}C (δ em ppm, CDCl_3):** 19,0; 23,4; 24,6; 58,3; 60,8; 67,6; 92,7; 97,4; 99,3; 104,4; 113,6; 115,8; 143,7; 157,0; 159,4; 162,7; 163,8; 164,7; 182,4. Rendimento: 17%.

Reação de benzilação da 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**) (VENUTI *et al.* 1988)

A uma solução em acetona (15mL) de 13,5 mg (0,05 mmol) de 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**), DMLIQDEG-4, foram adicionados 10 μL (0,075 mmol) de cloreto de benzila (BnCl) e , aproximadamente, 14 mg (0,1 mmol) de K_2CO_3 , sob agitação e temperatura ambiente, sendo a mistura reacional acompanhada por CCD. Após um período de 7 dias, a reação foi interrompida, apesar de ainda apresentar material de partida. O solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em acetato de etila e extraído com água, em funil de separação. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e o solvente evaporado, sendo codificada como BENZIL (14,2 mg) e submetida a análise de RMN de ^1H .

Como a massa da mistura reacional era pequena, e ainda continha material de partida, decidiu-se não dar continuidade à sequência de reações descrita na **figura 26** ela qual seria obtido (**26**) a partir de (**25**).

Reação de prenilação da 3-*O*-metilnorliquexantona com brometo de 3,3-dimetilalila (27) (O-prenilação) (TCHAMO *et al.*, 2000)

A uma solução em acetona (5mL) de 5,8 mg (0,02 mmol) de 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**), DMLIQDEG-4, foram adicionados 50 μ L (0,44 mmol) de brometo de 3,3-dimetilalila (**27**) e 5,4 mg (0,04 mmol) de K_2CO_3 , sob agitação e temperatura ambiente. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD e após um período de aproximadamente 60 horas, a reação foi interrompida com a adição de água seguido de extração com $CHCl_3$, em funil de separação. A fase orgânica, codificada como 3-OMEPRE, foi seca com Na_2SO_4 e o solvente evaporado. O resíduo (5,8 mg) foi analisado por RMN de 1H .

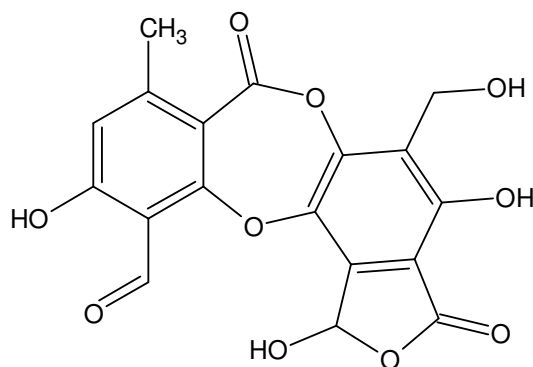
RMN de 1H (δ em ppm, $CDCl_3$): 1,77 (3H, sl), 1,81 (3H, sl), 2,83 (3H, s), 3,86 (3H, s), 4,58 (2H, d), 5,49 (1H, tl), 6,29 (1H, d), 6,32 (1H, d), 6,66 – 6,67 (2H, d), 13,39 (1H, s).

Reação de rearranjo de Claisen da 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (31) (TCHAMO *et al.* 2000)

É possível obter compostos *C*-prenilados a partir de compostos *O*-prenilados, através do rearranjo de Claisen.

Aproximadamente 11,0 mg da 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**) (P1-NORLIQ-3) foram dissolvidos em 20 mL de DMF, e a solução foi mantida sob refluxo durante 12 horas. Após este período, a reação foi interrompida com a adição de água, realizando-se várias extrações com $CHCl_3$, em funil de separação, para retirar a DMF. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e o solvente evaporado. A mistura reacional foi codificada como P1-NOR3P-CLA e analisada por RMN de 1H .

Como não houve mudanças significativas no comportamento cromatográfico de P1-NOR3P-CLA, com relação ao material de partida, a mistura foi submetida a uma nova tentativa de rearranjo, utilizando quinolina como solvente, também por 12 horas em refluxo. Adicionou-se à mistura uma solução aquosa diluída de HCl e extraiu-se em funil de separação com $CHCl_3$. O perfil cromatográfico da mistura continuou inalterado, mostrando que não houve reação.



ÁCIDO SALAZÍNICO (7)

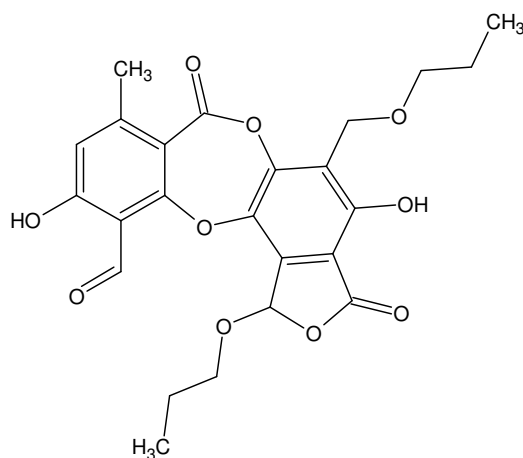
Nome IUPAC: 1,4,10-triidróxi-5-hidroximetil-8-metil-3,7-dióxo-1,3-diidro-7*H*-benzo[6,7][1,4]dioxepino[2,3-*e*]isobenzofuran-11-carbaldeído.

característica física : sólido amorfo (acetona), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₁₈H₁₃O₁₀

Peso molecular: 389,05

Ponto de fusão: degradação a partir de 200°C



ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-propil salazínico (17)

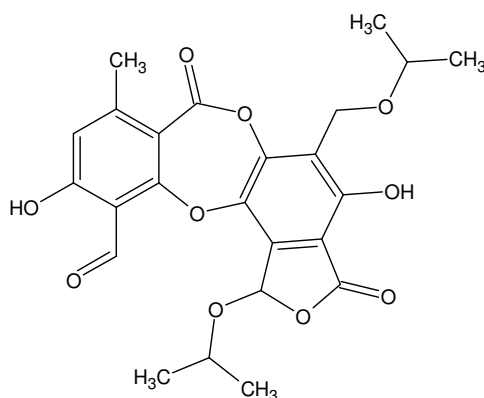
Nome IUPAC: 4,10- diidróxi-8-metil-3,7-dióxo-1-propóxi-5-propoximetil-1,3-diidro-7*H*-benzo[*e*]furo[3', 4':3, 4]benzo[*b*][1, 4]dioxepino-11-carbaldeído

característica física : sólido cristalino (hexano), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₂₄H₃₆O₁₀

Peso molecular: 472,44

Ponto de fusão: 150 - 152°C



ácido 8', 9'-di-*O*-isopropil salazínico (18)

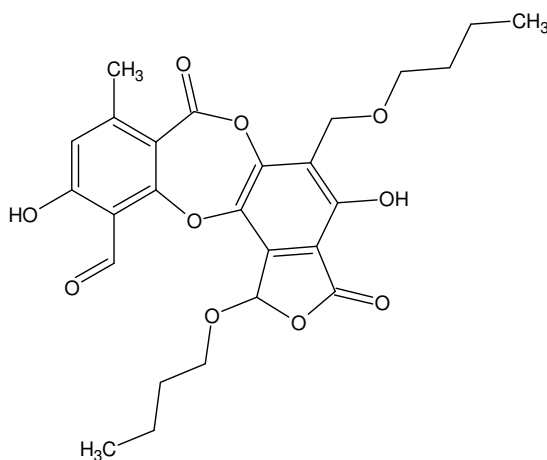
Nome IUPAC: 4,10- diidróxi-8-metil-3,7-dióxio-1-isopropóxi-5-isopropoximetil-1,3-diidro-7*H*-benzo[*e*]furo[3', 4':3, 4]benzo[*b*][1, 4]dioxepino-11-carbaldeído

característica física : sólido amorfo (hexano), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₁₈H₁₃O₁₀

Peso molecular: 389,05

Ponto de fusão: 202 - 204°C



ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-butil salazínico (19)

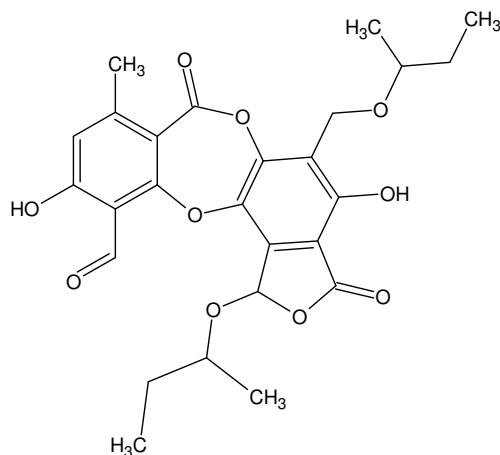
Nome IUPAC: 1-butóxi-4,10- diidróxi-8-metil-3,7-dióxio-5-butóximetil-1,3-diidro-7*H*-benzo[*e*]furo[3', 4':3, 4]benzo[*b*][1, 4]dioxepino-11-carbaldeído

característica física : sólido cristalino (hexano), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₂₆H₂₈O₁₀

Peso molecular: 500,49

Ponto de fusão: 120 - 122°C



ácido 8', 9'-di-*O*-sec-butil salazínico (20)

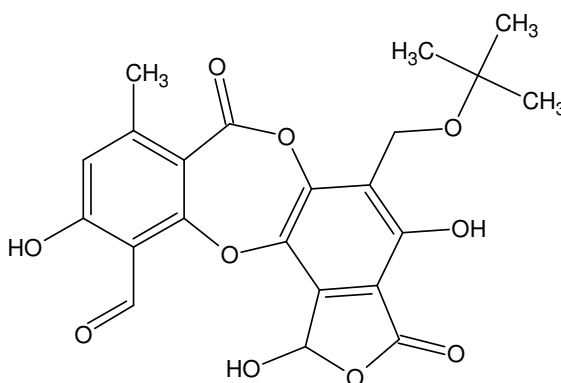
Nome IUPAC: 1-sec-butóxi-4,10- diidróxi-8-metil-3,7-dióxo-5-sec-butóximetil-1,3-diidro-7*H*-benzo[*e*]furo[3', 4':3, 4]benzo[*b*][1, 4]dioxepino-11-carbaldeído

característica física : sólido amorfo (hexano), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₂₆H₂₈O₁₀

Peso molecular: 500,49

Ponto de fusão: 162 - 164°C



ácido 9'-*O*-tert-butil salazínico (21)

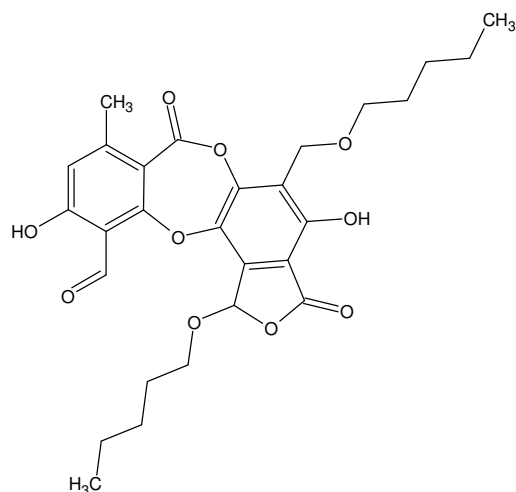
Nome IUPAC: 5-(tert-butoximetil)-1,4,10-triidróxi-8-metil-3,7-dióxo-1,3-diidro-7*H*-2,6,12-trioxabenzo[5,6]ciclohepta[1,2-*e*]indene-11-carbaldeído

característica física : sólido amorfo (hexano), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₂₂H₂₀O₁₀

Peso molecular: 444,39

Ponto de fusão: degradação a partir de 150°C



ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-pentil salazínico (22)

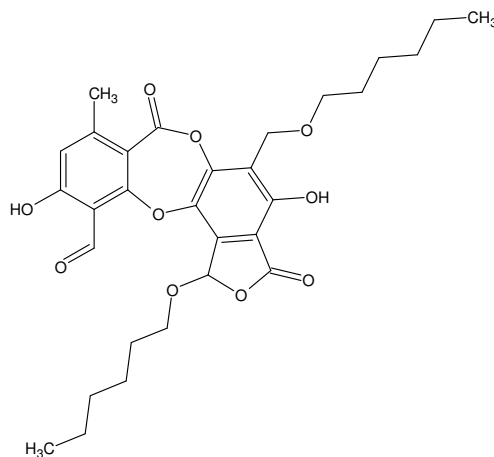
Nome IUPAC: 5-pentiloximetil-4,10- diidróxi-8-metil-3,7-dióxo-1-pentilóxi-1,3-diidro-7*H*-benzo[*e*]furo[3', 4':3, 4]benzo[*b*][1, 4]dioxepino-11-carbaldeído

característica física : sólido cristalino (hexano), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₂₈H₃₂O₁₀

Peso molecular: 528,60

Ponto de fusão: 96 - 98°C



ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (23)

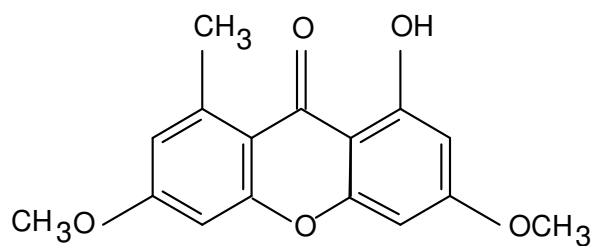
Nome IUPAC: 5-hexiloximetil-1-hexilóxi-4,10- diidróxi-8-metil-3,7-dióxo -1,3-diidro-7*H*-benzo[*e*]furo[3', 4':3, 4]benzo[*b*][1, 4]dioxepino-11-carbaldeído

característica física : sólido cristalino (hexano), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₃₀H₃₆O₁₀

Peso molecular: 556,60

Ponto de fusão: 92 - 94°C



LIQUEXANTONA (15)

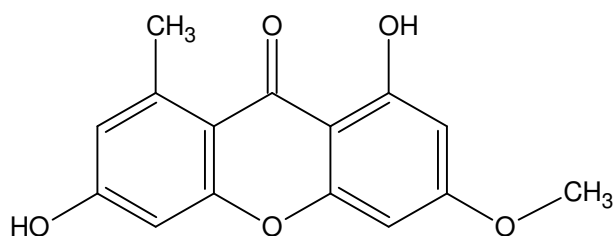
Nome IUPAC: 1-hidróxi-3,6-dimetóxi-8-metil-9*H*-xanten-9-ona

característica física : sólido cristalino (CHCl₃), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₁₆H₁₄O₅

Peso molecular: 286,27

Ponto de fusão: 188°C – 190°C



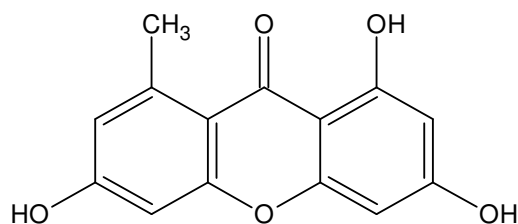
3-*O*-METILNORLIQUEXANTONA (25)

Nome IUPAC: 1,6-diidróxi-3-dimetóxi-8-metil-9*H*-xanten-9-ona

característica física : sólido amorfo (acetona), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₅

Peso molecular: 272,25

**NORLIQUEXANTONA (24)**

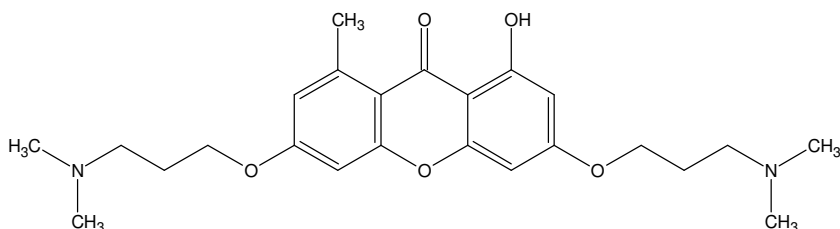
Nome IUPAC: 1,3,6-triidróxi-8-metilxanten-9-ona

característica física : sólido amorfo (acetona), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₁₄H₁₀O₅

Peso molecular: 258,27

Ponto de fusão: degradação a partir de 275°C

**3,6-BIS[3-(DIMETILAMINO)PROPÓXI]-1-HIDRÓXI-8-METIL-9H-XANTEN-9-ONA
(30)**

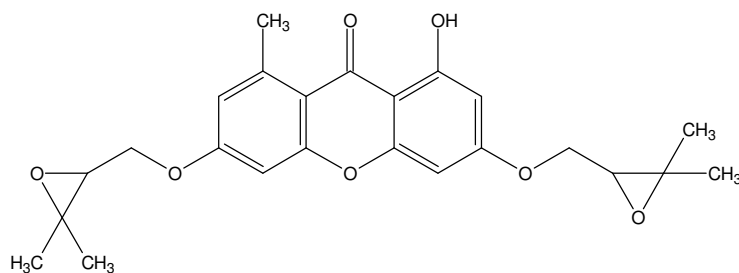
Nome IUPAC: 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona

característica física : sólido amorfo (acetona), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₂₄H₃₂N₂O₅

Peso molecular: 428,52

Ponto de fusão: 154 - 156°C



3,6-BIS[(3,3-DIMETILOXIRAN-2-IL)METÓXI]-1-HIDRÓXI-8-METIL-9H-XANTEN-9-ONA (34)

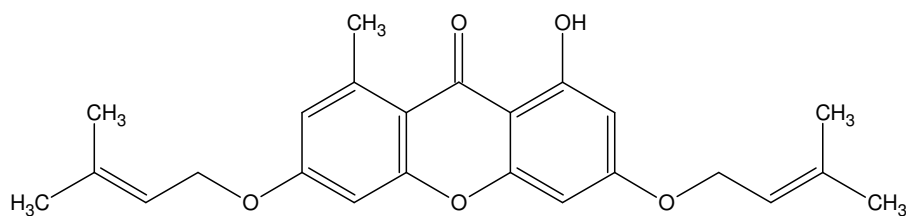
Nome IUPAC: 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona

característica física : sólido amorfo (CHCl_3), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_7$

Peso molecular: 426,46

Ponto de fusão: 91 - 92°C



3,6-DI-O-PRENIL-NORLIQUEXANTONA (31)

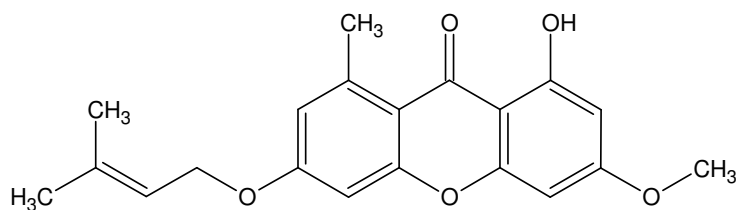
Nome IUPAC: 1-hidróxi-8-metil-3,6-bis[(3-metilbut-2-em-1-il)oxi]-9H-xanten-9-ona

característica física : sólido amorfo (CHCl_3), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_5$

Peso molecular: 394,46

Ponto de fusão: 105 - 106°C

**3-O-METIL-6-O-PRENIL-NORLIQUEXANTONA (38)**

Nome IUPAC: 1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-6-[(3-metilbut-2-em-1-il)oxi]-9*H*-xanten-9-ona

característica física : sólido amorfo (acetona), a temperatura ambiente

Fórmula molecular: C₂₀H₂₀O₅

Peso molecular: 340,37

Ponto de fusão: 77 - 79°C

Ensaio de Atividades Biológicas

Avaliação da atividade tóxica sobre *Artemia salina* do ácido salazínico (7) e seus derivados (MEYER *et al.* 1982)

O ácido salazínico (7) e seus derivados foram testados com relação a sua atividade tóxica frente às larvas do micro crustáceo *Artemia salina*. Todas as substâncias testadas foram solubilizadas em solução salina 38 g/ L, contendo 2% de DMSO, nas concentrações indicadas na **tabela 33**.

Os ovos de *Artemia salina* foram colocados em solução salina saturada, sob luz e oxigenação, por 48 horas. Após a eclosão dos ovos, aproximadamente 10 larvas foram colocadas em cada um dos recipientes contendo a solução das substâncias a serem testadas, com um volume final de 3 mL. Cada concentração foi feita em triplicata, além de um branco, contendo apenas a solução salina contendo DMSO.

Após 24 horas de contato das larvas com as soluções, foi contado o número de larvas mortas, com o objetivo de calcular o valor da DL₅₀ das substâncias testadas, com o auxílio do programa computacional PROBITOS.

Tabela 33 – concentração das substâncias/ misturas avaliadas no ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina*.

Substância/ mistura	Concentrações testadas (ppm)
Salazínico (7) (SAL)	385, 192,5; 96,25
Mistura reacional-reação com metanol (SALM)	236, 118, 59
Mistura reacional-reação com etanol (SALE)	414, 207, 103,5
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	259, 129,5; 64,75
ácido 8', 9'-di- <i>O-isopropil</i> salazínico (SALIP) (18)	353, 176,5; 88,25
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	132, 66, 33
ácido 8', 9'-di- <i>O-sec</i> -butil salazínico (SALSB) (20)	233
ácido 9'- <i>O-terc</i> -butil salazínico (SALTB) (21)	286
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	181, 90,5; 45,25
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	160, 80, 40

Estas concentrações foram determinadas pelo limite de solubilidade de cada substância ou mistura reacional na solução salina, contendo 2% de DMSO.

Como os componentes das misturas reacionais provenientes das reações do ácido salazínico (**7**) com metanol e etanol não puderam ser separados, mas as misturas foram testadas a fim de obter um perfil preliminar.

Avaliação da atividade citotóxica *in vitro* da liquexantona (15), do ácido salazínico (7) e derivados

Com o objetivo de avaliar a citotoxicidade da liquexantona (15), do ácido salazínico (7), e de alguns dos derivados destas duas substâncias, foram realizados testes *in vitro* frente a 3 linhagens de células tumorais. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará/ UFC, sob a coordenação das professoras Cláudia do Ó Pessoa e Letícia Veras Lotufo, utilizando o método do MTT, análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas.

As linhagens de células utilizadas foram MDA/ MB-435 (mama-humano), HCT-8 (côlon-humano) e SF-295 (glioblastoma-humano), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

As células foram plaqueadas na concentração de 0,1x10⁶ cél/ mL para as linhagens MDA/ MB-435 e SF-295, e 0,7x10⁵ cél/ mL para HCT-8. Os compostos foram adicionados em concentração única de 25µg/mL, sendo as placas encubadas por 72 horas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO₂. Ao término deste tempo, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante removido. Em seguida, adicionou-se 150 µL da solução de MTT, e as placas foram incubadas por 3 horas. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO em espectrofotômetro de placa a 590 nm. Compostos que apresentaram mais de 90% de inibição do crescimento celular foram novamente testados para o cálculo da CI₅₀ em um intervalo de concentração que variou entre 0,04 e 25 µg/ mL.

Os experimentos foram analisados segundo a média ± desvio padrão da média (DPM) da inibição do crescimento celular usando o programa GraphPad Prism. Cada amostra foi analisada a partir de dois experimentos realizados em triplicata.

As substâncias testadas foram: liquexantona (15), 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (31), norliquexantona (24), 3-*O*-metilnorliquexantona (25), ácido salazínico (7), e os seus derivados obtidos nas reações com álcoois lineares *n*-propanol (17), *n*-butanol (19), *n*-pentanol (22) e *n*-hexanol (23).

Avaliação da atividade antibiótica

O ácido salazínico (**7**) e seus derivados, a liquexantona (**15**) e os derivados 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**), norliquexantona (**24**), 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**) e 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**30**) também foram testados com relação a sua atividade antibiótica sobre as bactérias *S. aureus* (Gram-positiva) e *E. coli* (Gram-negativa).

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário/ UFMS sob a responsabilidade da professora Nádia C. P. Carvalho.

Um inóculo bacteriano foi preparado com 3-5 colônias em caldo MÜLLER-Hinton e em seguida incubado por 5 horas a 37°C. Após esse período, foi diluído em solução salina 0,45% e semeado, com auxílio de *swab* estéril em placas de Petri contendo agar MÜLLER-Hinton com sangue de carneiro a 5% (*S. aureus*) e sem sangue (*E. coli*).

As amostras foram solubilizadas em DMSO a uma concentração média de 10 mg/mL e aplicadas sobre papel de filtro autoclavados (espessura de 0,38 mm e diâmetro de 6 mm) com pipeta automática de 20µL, sendo aplicadas 200µg de cada substância. Na mesma placa foram colocados discos com DMSO e o antibiótico Amicacina, usado como padrão positivo. Após 24 horas de incubação a 37°C a atividade foi avaliada através da medida do halo de inibição (mm).

Avaliação da atividade antifúngica

O ácido salazínico (7) e seus derivados, bem como a liquexantona (15), a norliquexantona (24), e os derivados di- [(31)] e mono-*O*-prenilados [mistura de (32) e (33)], foram testados com relação a atividade antifúngica sobre o fungo *Cladosporium sphaerospermum*.

Os ensaios foram realizados do Laboratório de Bioquímica do Departamento de Morfofisiologia/ CCBS/ UFMS, sob a responsabilidade da professora Maria Rita Marques.

O fungo foi cultivado em meio BDA a 28°C, na ausência de luz, até a esporulação adequada. A manutenção dos inóculos foi realizada em água destilada estéril.

Foram realizados testes de bioautografia, com a aplicação das substâncias em placas cromatográficas de celulosa sobre Al, juntamente com um padrão positivo, Fungizon. A placa foi pulverizada com uma suspensão dos esporos do fungo em solução nutriente contendo glicose e encubadas em câmara úmida por 48 horas, na ausência de luz e em estufa, a aproximadamente 30°C. Devido a degradação do ácido salazínico e seus derivados na placa de sílica, os ensaios foram repetidos em placas de celulose sobre poliéster.

A avaliação da atividade antifúngica foi realizada observando-se o aparecimento, ou não, de zonas de inibição do desenvolvimento do fungo. As concentrações aplicadas de cada substância são apresentadas na **tabela 34**.

Tabela 34 – Massas das substâncias utilizadas no ensaio de atividade antifúngica sobre o fungo *Cladosporium sphaerospermum*

Substância/ fração	Massas aplicadas (µg)
Salazínico (7) (SAL)	600, 750
Mistura reacional-reação com metanol (SALM)	600, 750
Mistura reacional-reação com etanol (SALE)	600, 750
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -propil salazínico (SALP) (17)	600, 750
ácido 8', 9'-di- <i>O</i> -isopropil salazínico (SALIP) (18)	600, 750
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -butil salazínico (SALB) (19)	400, 450, 500, 600, 750
ácido 8', 9'-di- <i>O-sec</i> -butil salazínico (SALSB) (20)	600, 750
ácido 9'- <i>O-terc</i> butil salazínico (SALTB) (21)	400, 450, 500, 600, 750
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -pentil salazínico (SALPE) (22)	400, 450, 500, 600, 750
ácido 8', 9'-di- <i>O-n</i> -hexil salazínico (SALH) (23)	400, 450, 500, 600, 750
Liquexantona (15)	500
Norliquexantona (24)	400, 450, 500, 600, 750
6- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (33) e	Qualitativo
3- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (32)	
3,6-di- <i>O</i> -prenil-norliquexantona (31)	Qualitativo

Conclusão

5 - CONCLUSÃO

Os compostos fenólicos majoritários isolados do líquen *Parmotrema lichexantonicum* foram a liquexantona (**15**) e o ácido salazínico (**7**). Devido à grande importância biológica das classes químicas às quais estas substâncias pertencem, a das xantonas e das depsidonas, respectivamente, esses dois compostos foram selecionados para sofrerem reações de modificação estrutural, buscando novos compostos bioativos.

O ácido salazínico, reagindo com álcoois, produziu derivados por substituição de suas hidroxilas benzílica pela cadeia alquílica do álcool correspondente. Esse compostos (**17** a **23**) tiveram sua estruturas elucidadas por análises espectrais de RMN, 1D e 2D, e apresentam em sua estrutura funções éter e ψ -éster. O possível mecanismo pelo qual a reação ocorre é do tipo Sn1, com a formação de cátions benzílicos e posterior ataque nucleofílico do oxigênio do álcool correspondente.

Dos derivados do ácido salazínico (**17** a **23**), foram testadas as atividades citotóxica (apenas dos derivados de cadeias alquílicas lineares), tóxica sobre *Artemia salina*, antibiótica e antifúngica.

Nenhum dos compostos testados foi tóxico ao microcrustáceo *Artemia salina* até as concentrações testadas, havendo ainda uma grande dificuldade de realização do ensaio com as substâncias na concentração desejada, devido a sua baixa solubilidade na solução do teste. No caso das atividades antibiótica e antifúngica, as atividades de todos os derivados se mostraram baixas, sendo que para a atividade antifúngica o derivado mais ativo foi o ácido 8', 9'-di-*O-n*-pencil salazínico (**22**), com uma concentração mínima inibitória de 400 μ g. No ensaio de avaliação da atividade antibiótica, o ácido salazínico (**7**) apresenta atividade apenas sobre a bactéria Gram-negativa *E. coli*, enquanto que os sua derivados são ativos tanto frente a *E. coli* quanto à bactéria Gram-positiva, *S. aureus*.

Já para a atividade citotóxica, os resultados foram bastante interessantes. De modo geral, foi observado que, quanto maior o número de carbonos da cadeia alquílica inserida, maior o potencial antitumoral das substâncias testadas. Todos os derivados testados apresentaram um percentual de inibição do crescimento celular para linhagens de células tumorais maior que 90%, no ensaio com dose única de 25 μ g/mL, em pelo menos uma das linhagens testadas. Pelo cálculo da CI₅₀ foi possível concluir que realmente há uma tendência geral de aumento de citotoxicidade com a diminuição da polaridade dos compostos, e que os

derivados ácido 8', 9'-di-*O-n*-pentil salazínico (**22**) e ácido 8', 9'-di-*O-n*-hexil salazínico (**23**) são potencialmente citotóxicos para a linhagem de células HCT-8,

Para a liquexantona, as propostas principais de reações para a modificação de sua estrutura foram as de demetilação, para a obtenção dos derivados mono-metilados 6-*O*-metilnorliquexantona (**26**) e 3-*O* metilnorliquexantona (**25**), e o derivado totalmente demetilado, norliquexantona (**24**), e reações de prenilação.

Entre todas as metodologias de demetilação testadas, as únicas que se mostraram eficientes foram aquelas utilizando BBr₃, pela qual foi possível obter a norliquexantona com rendimento de 70%, e uma segunda, utilizando KOH em DEG, através da qual se obteve a 3-*O*-metilnorliquexantona (**25**), seletivamente, com rendimento aproximado de 13%.

Como não foi possível obter os derivados (**26**) e (**25**) por demetilação, foi realizada a metilação da norliquexantona, que gerou uma mistura dos derivados monometilados que, devido a extrema similaridade dos dois componentes, não pode ser separada. Foi elaborada uma rota para a obtenção de (**26**) a partir de (**25**), com várias etapas, onde a primeira reação se constituía de uma benzilação, pela qual foi obtida a 6-(benzilóxi)-1-hidróxi-3-metóxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**37**). Entretanto, não foi possível dar continuidade a essa rota, já que a reação não foi quantitativa, e a quantidade de material de partida disponível era muito pequena.

Para a obtenção de derivados prenilados da liquexantona, foram realizadas inúmeras tentativas, entretanto, nenhuma delas foi eficiente. Na maioria dos casos, em condições brandas, o material de partida foi recuperado em grande proporção, mostrando a baixa reatividade da substância frente aos reagentes empregados. Quando a condição utilizada foi mais enérgica, a mistura reacional se mostrou muito complexa, não sendo possível fracioná-la. O único produto identificado foi a 1-hidróxi-3,6-dimetóxi-8-metil-4-(3-metilbut-2-en-1-il)-9H-xanten-9-ona (**29**), com o esqueleto xantônico prenilado na posição 4, identificada em mistura, em baixa proporção. A partir deste dado, concluiu-se que há uma preferência, ainda que pequena, de inserção do grupo prenila, por via de substituição eletrofílica aromática, no carbono 4 da xantona, o que pode indicar uma maior nucleofilicidade deste átomo.

Foram ainda realizadas reações de prenilação da norliquexantona. A reação de *O*-prenilação foi bem sucedida, obtendo-se a 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**), com bom rendimento, além de uma mistura dos derivados mono-*O*-prenilados, 6-*O*-prenil-norliquexantona (**32**) e 3-*O*-prenil-norliquexantona (**33**), que também não puderam ser separados. Já nas tentativas de *C*-prenilação foram obtidas misturas complexas, onde o fracionamento não foi eficiente, e nenhum produto foi isolado. O derivado mono-metilado, 3-

O-metilnorliquexantona (**25**), também sofreu uma reação de *O*-prenilação, dando a 3-*O*-metil-6-*O*-prenil-norliquexantona (**38**), quantitativamente.

Outras reações também foram realizadas, visando a obtenção de produtos com estruturas baseadas em xantonas bioativas, descritas na literatura. Uma delas foi a epoxidação das duplas ligações da 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**), com ácido *m*-cloroperbenzóico, que produziu o derivado di-epoxidado 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**34**), com cerca de 17% de rendimento, além da mistura dos mono-epoxidados, 6-[(3,3-dimetiloxiran-2-il) metóxi] -1-hidróxi-8-metil-3- [(3-metilbut-2-en-1-il)óxi]-9-H-xanten-9-ona (**35**) e 3-[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-6-[(3-metilbut-2-en-1-il)óxi]-9-H-xanten-9-ona (**36**).

Uma outra reação realizada foi para a obtenção da 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**30**), a partir da norliquexantona e hidrocloreto de (3-cloropropil)dimetilamônio. Esta é uma reação de substituição do tipo Sn2, onde grupos propil-dimetilamina foram inseridos nos oxigênios das posições 3 e 6 do material de partida. O produto foi obtido com cerca de 63% de rendimento.

A liquexantona (**15**) e seus derivados também foram testados com relação a algumas atividades biológicas. Foram testadas as atividades citotóxica, antibiótica e antifúngica. A atividade tóxica sobre *Artemia salina* não foi testada devido a baixíssima solubilidade dos compostos na solução do ensaio.

No ensaio de avaliação da atividade antibiótica, a xantona nitrogenada 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (**30**) se mostrou a substância mais ativa entre todas as testadas, apresentando um halo de inibição do crescimento bacteriano de 20 mm frente à bactéria Gram-positiva, *S. aureus*.

Quanto a atividade antifúngica sobre o fungo *Cladosporium sphaerospermum*, a liquexantona (**15**), a norliquexantona (**24**), a 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**), e a mistura de 6-*O*-prenil-norliquexantona (**33**) e 3-*O*-prenil-norliquexantona (**32**) foram testadas, nas concentrações máximas de 500 µg para a liquexantona (**15**), 400µg para a norliquexantona (**24**) e qualitativamente para as outras substâncias. Os compostos não apresentaram atividade neste ensaio.

Já no ensaio de atividade citotóxica, foram testadas a liquexantona (**15**), a 3-*O*-metilnorliquexantona (**18**), a norliquexantona (**24**) e a 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (**31**). Nenhuma substância apresentou percentual de inibição do crescimento celular para linhagens de células tumorais maior que 90%, no ensaio com dose única de 25 µg/mL, que é o valor

considerado como *cut-off* para o *screening* de novas substâncias com potencial antitumoral. Entretanto, é possível observar um perfil geral de leve aumento na atividade com o aumento do número de oxigênios livres no esqueleto da xantona, e o mesmo acontece com a inserção dos grupos *O*-prenila.

Os outros derivados não foram testados ou pela falta de massa suficiente da substância, como no caso do epóxido (34), ou pela falta de tempo hábil, como para a amina (30), que foi o último composto obtido.

Durante este trabalho, foram obtidos 7 derivados do ácido salazínico (7), e identificados 13 derivados da liquexantona (15), dentre os quais 6 foram isolados puros. As grandes dificuldades encontradas foram principalmente os baixos rendimentos de algumas reações, especialmente para a obtenção dos derivados nas reações do ácido salazínico com álcoois ramificados, a complexidade de algumas misturas reacionais ou a grande semelhança estrutural de alguns isômeros que não possibilitaram o isolamento dos seus componentes e a baixa reatividade da liquexantona (15) para as reações de prenilação. Entretanto, foram obtidos resultados promissores, com a implementação de técnicas de semi-síntese que proporcionam conhecimento e experiência para a linha de pesquisa de modificação estrutural de compostos de liquens.

Pretende-se dar continuidade a este trabalho, entretanto, ampliando cada vez mais a nossa linha de pesquisa. Estudos de eletroredução da liquexantona (15) mostram que é possível obter uma benzofenona a partir desta xantona, sendo que esta outra classe de compostos também apresenta várias substâncias grande importância biológica. Desta forma, há um interesse na obtenção de benzofenonas a partir tanto da liquexantona (15) quanto da norliquexantona (24), e continuar os estudos de modificação estrutural destes compostos obtidos eletroquimicamente, através de reações químicas.

Referências Bibliográficas

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTILSSON, L. WACHTMEISTER, C. A. Metilation and racemisation studies on usnic acid. *Acta Chemica Scandinavica* **22**: 1791-1800, 1968.

CAVALHERI, P. S., OIKAWA, C. M. M., NOBRE, J. A. V. S., SEVERINO, E. A., MUZZI, R. M. Desmetilação seletiva de éteres metílicos de compostos alquilresorcinólicos. XXVI Congresso Latino Americano de Química, 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004.

CORRECHE, E. R., ENRIZ, R. D., PIOVANO, M., GARBARINO, J., GOMEZ-LECHON, M. J. Cytotoxic and apoptotic effects on hepatocytes of secondary metabolites obtained from lichens. *ATLA, Alternatives to Laboratory Animals* **32** (6): 605 – 615, 2004.

CRAGG, G. M., NEWMAN, D. J., YANG, S. S. Natural product extracts of plants and marine origin having antileukemia potential. The NCI experience. *Journal of Natural Products* **69**: 488 – 498, 2006.

DOBHAL, M. P., LI, G., GRYSHUK, A., GRAHAM, A., BHATANAGER, A. K., KHAJA, S. D., JOSHI, Y. C., SHAMA, M. C., OSEROFF, A., PANDEY, R. K. Structural modifications of plumieride isolated from *Plumeria bicolor* and effect of these modifications on *in vitro* anticancer activity. *Journal of Organic Chemistry* **69**: 6165 – 6172, 2004.

EILON, G. F., GU, J., SLATER, L. M., HARA, K., JACOBS, J. W. Tumor apoptosis induced by epoxide-containing piperazines, a new class of anti-cancer agents. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* **45**: 183 – 191, 2000.

ELIX, J. A., GAUL, K. L., JIAN, H. The structure and synthesis of some minor xanthenes from the lichen *Rinodina thiomelo*. *Australian Journal of Chemistry* **46**: 95 – 110, 1993.

EIFLER-LIMA, V. L., SPERRY, A., SIMBANDHIT, S., BOUSTIE, J., TOMASI, S., SCHENKEL, E. NMR spectral data of salazinic acid isolated from some species of *Parmotrema*. *Magnetic Ressonance in Chemistry* **38**: 472-474, 2000.

GOODELL, J. R., MADHOK, A. A., HIASA, H., FERGUSON, D. M. Synthesis and evaluation of acridine- and acridone-based anti-herpes agents with topoisomerase activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **14**, 5467 - 5480, 2006.

GROWEISS, A., CARDELLINA II, J. H., BOYD, M. R. HIV-Inhibitory prenylated xanthenes and flavones from *Maclura tinctoria*. *Journal of Natural Products* **60**: 1537 – 1539, 2000.

HAMANO, K., KINOSHITAOKAMI, M., HEMMI, A., SATO, A., HISAMOTO, M., MATSUDA, K., YODA, K., HARUYAMA, H., HOSOYA, T., TANZAWA, K. Folipastatin, a new depsidone compound from *Aspergillus ungüis* as an inhibitor of phospholipase A-2 – taxonomy, fermentation, isolation, structure determination and biological properties. *Journal of Antibiotics* **45** (8): 1195-1201, 1992.

HAY, A., AUMOND, M., MALLET, S., DUMONTET, V., LITAUDON, M., RONDEAU, D., RICHOMME, P. Antioxidant xanthenes from *Garcinia vieillardii*. *Journal of Natural Products* **67**: 707 - 709, 2004.

HELESBEUX, J., DUVAL, O., DARTIGUELONGUE, C., SÉRAPHIN, D., OGER, J., RICHOMME, P. Synthesis of 2-hydroxy-3-methylbut-3-enyl substituted coumarins and xanthenes as natural products. Application of the Schenck ene reaction of singlet oxygen with *ortho*- prenylphenol precursors. *Tetrahedron*, **60**: 2293-2300, 2004.

HIDALGO, M. E., FERNANDEZ, E., QUILHOT, W., LISSI, E. Antioxidant activity of depsides and depsidones. *Phytochemistry* **37** (6): 1585-1587, 1994.

HONDA, N. K. e VILEGAS, W. A química dos liquens. *Química Nova* **21** (6): 110 - 125, 1998.

HUNECK, S. The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften* **86**: 559 – 570, 1999.

HUNECK, S. e TABACCHI, R. Ψ -Esters of depsidones with a lactole ring. *Phytochemistry* **26** (4): 1131-1138, 1987.

HUNECK, S. e YOSHIMURA, I. Identification of lichen substances. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1996.

HUNTER, D. H., PONCE, Y. Z. BROWN, G. W., CHAMBERLAIN, M. J., DRIEDGER, A. A., MORRISSEY, G. 4-iodophenylcholine - a potential myocardial imaging agent. *Canadian Journal of Chemistry* **62**: 2015, 1984.

INGOLFSDOTTIR, K., CHUNG, G. A. C., SKULASON, V. G., GISSURARSON, S. R., VILHELMSDOTTIR, M. Antimycobacterial activity of lichen metabolites in vitro. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **6** (2): 141 – 144, 1998.

ITO, C., ITOIGAWA, M., MISHINA, Y., TOMIYASU, H., LITAUDON, M., COSSON, J., MUKAINAKA, T., TOKUDA, H., NISHINO, H., FURUKAWA, H. Cancer chemopreventive agents. New depsidones from *Garcinia* plants. *Journal of Natural Products* **64**: 147-150, 2001.

JAIN, A. C., LAL, P. SESHADRI, T. R. A study of nuclear prenylation of β -resacetophenone – II – synthesis of bavachalcone, 4'-O-methylbavachalcone and bavachin. *Tetrahedron*, **26**: 2631-2635, 1970.

JOSHI, B. S., SRIVASTAVA, S. K., BARBER, A. D., DESAI, H. K., PELLETIER, S. W. Selective demethylation of some aconitine-type norditerpenoid alkaloids. *Journal of Natural products* **60**: 439 – 443, 1997.

KULKARNI, P. P, KADAM, A. J., MANE, R. B., DESAI, U. V., WADGAONKAR, P. P. Demethylation of methyl aryl ethers using pyridine hydrochloride in solvent-free conditions under microwave irradiation. *Journal of Chemical Research (S)*: 394 – 395, 1999.

LEE, K. Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product leads. *Journal of Natural Products* **67**: 273 – 283, 2004.

LENGA, R. E. *The Sigma-Aldrich Library of Chemical Safety Data, 2nd Edition*. Sigma-Aldrich Corporation, 1988.

LIMA, R. M. C., NASCIMENTO, S. C., PEREIRA, E. C., SILVA, N. H., HONDA, N. K., DEVINCENZIE, I. A. A., ALVES, R. C. Estudo preliminar da ação antineoplásica de substâncias líquênicas. *XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*: 131, 1996.

MA, E. e KIM, J. Epoxidation of diosgenin, 25(R)-1,4,6-spirostatrien-3-one e 25 (R)-4,6-spirostadien-3 β -ol. *Molecules* **8**: 886 – 893, 2003.

McMURRY, J. Traduzido por Santos, J. P. C., Souza, J. A., Oliveira, L. C., Silva, L. M. P., Almeida, L. C. R., Hess, S. C. *Química Orgânica, volume 1, 4^a edição*. LTC - Livros Técnicos e Científicos S. A. 1997.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAM, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp - a convenient general bioassay for active-plant constituents. *Planta Medica* **45** (1): 31-34, 1982.

MICHELETTI, A. C., HONDA, N. K., CARVALHO, N. C. P., ALCÂNTARA, G. B. Metabólitos secundários de *Parmotrema* sp. (líquen). *28^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2005.

MÜLLER, K. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Applied Microbiology and Biotechnology* **56**: 9 - 16, 2001.

NEAMATI, N., HONG, H., MAZUMDER, A., WANG, S., SUNDER, S., NICKLAUS, M. C., MILNE, G. W. A., PROSKA, B., POMMIER, Y. Depsides and depsidones as inhibitors of HIV-1 integrase: discovery of novel inhibitors through 3D database searching. *Journal of Medicinal Chemistry* **40**: 942 - 951, 1997.

NGOUELA, S. LENTA, B. N., NOUNGOUE, D. T., NGOUPAYO, J., BOYOM, F. F., TSAMO, E., GUT. J., ROSENTHAL, P. J., CONNOLLY, J. D. Anti-plasmodial and antioxidant activities of constituents of the seed shells of *Symphonia globulifera* Linn f. *Phytochemistry* **67**: 302 – 306, 2006.

NGUEMEVING, J. R., AZEBAZE, A. G. B., KUETE, V., CARLY, N. N. E., BENG, V. P., MEYER, M., BLOND, A., BODO, B., NKENGFACK, A. E. Laurentixanthonones A and B, antimicrobial xanthonones from *Vismia laurentii*. *Phytochemistry* **67**: 1341 – 1346, 2006.

NÚÑEZ, M. B., MAGUNA, F. P., OKULIKA, N. B., CASTRO E. A. QSAR modeling of the MAO inhibitory activity of xanthonones derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **14**: 5611–5617, 2004.

PEDRO, M., CERQUEIRA, F., SOUSA, M. E., NASCIMENTO, M. S. J., PINTO, M. Xanthonones as inhibitors of growth of human cancer cell lines and their effects on the proliferation of human lymphocytes in vitro. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **10**: 3725 - 3730, 2002.

PERMANA, D., LAJIS, N. H., MACKEEN, M. M., ALI, A. M., KITAJIMA, M., TAKAYAMA, H. Isolation and bioactivities of constituents of the roots of *Garcinia atroviridis*. *Journal of Natural Products* **64**: 976 - 979, 2001.

PERMANA, D., ABAS, F., MAULIDIANI, SHAARI, K., STANSLAS, J., ALI, A. M., LAJIS, N. H. Atroviridione B, a new prenylated depsidone with cytotoxic property from the roots of *Garcinia atroviridis*. *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences* **60** (7/8): 523-526, 2005.

PERRIN, D. D. e ARMAREGO, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd edition. Pergamon Press, 1998.

PINTO, M. M. M., SOUSA, M. E., NASCIMENTO, M. S. J. Xanthone derivatives: new insights in biological activities. *Current Medicinal Chemistry* **12** (21): 2517-2538, 2005.

RISCOE, M., KELLY, J. X., WINTER, R. Xanthones as antimalarial agents: discovery, mode of action and optimization. *Current Medicinal Chemistry* **12** (21): 2539-2549, 2005.

SALA, T. e SARGENT, M. V. Depsidone synthesis. Part 16. Benzophenone-grisa-3',5'-diene-2', 3-dione - Depsidone interconversion: a new theory of depsidone biosynthesis. *Journal of the American Chemical Society – Perkin I* **3**: 855 – 869, 1981.

SALA, T. e SARGENT, M. V. Depsidone synthesis. Part 17. The photochemistry of grisa-3',5'-diene-2', 3-dione. *Journal of the American Chemical Society – Perkin I* **3**: 870 – 873, 1981.

SALA, T. e SARGENT, M. V. Depsidone synthesis. Part 18. Diidronidulin. *Journal of the American Chemical Society – Perkin I* **3**: 874 – 876, 1981.

SALA, T. e SARGENT, M. V. Depsidone synthesis. Part 19. Some β -orcinol depsidones. *Journal of the American Chemical Society – Perkin I* **3**: 877 – 882, 1981.

SANTOS, L. C., HONDA, N. K., CARLOS, I. Z., VILEGAS, W. Intermediate reactive oxygen and nitrogen from macrophages induced by Brazilian lichens. *Fitoterapia* **75**: 473 – 479, 2004.

SOLIS, P. N. A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (Brine shrimp). *Planta Medica*, **59**: 250-252, 1993.

TAUTON, J. How to starve a tumor. *Chemistry and Biology* **4**: 493 – 496, 1997.

TCHAMO, D. N., DIJOUX-FRANCA, M., MARIOTTE, A., TSAMO, E., DASKIEWICZ, J. B., BAYET, C., BARRON, D., CONSEIL, G., DI PIETRO, A. Prenylated xanthones as potential P-glycoprotein modulators. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **10**: 1343-1345, 2000.

THOMAS, G. Traduzido por Rumjaneck, F. D. *Química Medicinal – Uma Introdução*. Editora Guanabara Koogan S. A. 2003.

VENUTI, M. C., LOE, B. E., JONES, G. H., YOUNG, J. M. Topical nonsteroidal antipsoriatic agents. 2. 2,3-(alkylidenedioxy)naphthalene analogues of lonapalene. *Journal of Medicinal Chemistry* **31**: 2132 – 2136, 1988.

VERPOORTE, R. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug Discovery Today* **3** (5): 232 - 238, 1998.

VIEIRA, L. M. M. e KIJJOA, A. Naturally-Occuring xanthones: recent developements. *Current Medicinal Chemistry* **12** (21): 2413-2446, 2005.

WAFFO, A. F. K., MULHOLLAND, D., WANSI, J. D., MBAZE, L. M., POWO, R., MPONDO, T. N., FOMUM, Z. T., KONIG, W., NKENGFACK, A. E. Afzeliixanthones A and B, two new xanthones from *Garcinia afzelli* Engl. (Guttiferae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **54**: 488 – 451, 2006.

XIE, X., LEMCKE, T., GUSSIO, R., ZAHAREVITZ, D. W., LEOST, M., MEIJER, L., KUNICK, C. Epoxid-containing side chains enhance antiproliferative activity of paullones. *European Journal of Medicinal Chemistry* **40**: 655 – 661, 2005.

XU, Y., CHIANG, P., LAI, Y., VITTAL, J. J., WU, X., TAN, B. K. H., IMIYABIR, Z., GOH, S. Cytotoxic prenylated depsidones from *Garcinia parvifolia*. *Journal of Natural Products* **63**: 1361 - 1363, 2000.

Anexo I

ANEXO I
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS REAGENTES UTILIZADOS
(LENGA, 1988)

BCl₃ em diclorometano (1M)

- *Nome*: tricloreto de boro
- *Densidade*: 1,467 g/cm³
- *Estado físico e aparência*: líquido vermelho pálido transparente
- *Peso molecular*: 117,17
- *Incompatibilidade*: a agentes fortemente oxidantes (bases fortes, álcoois), reage violentamente com água.
- *Produtos de decomposição*: Gases tóxicos: CO, CO₂, SO₂, HCl_g e óxidos de boro.
- *Método de descarte*: Misturar com solvente combustível e queimar em um incinerador.
- ☠ *Perigos à saúde*: Prejudicial se inalado, ingerido ou absorvido.
- *Primeiros-socorros*: - Em caso de contato lavar imediatamente com água durante 15 minutos. Se inalado permanecer em um local com ar fresco e, se preciso, entubar com oxigênio. Se ingerido lavar a boca se estiver consciente.

BBr₃

- *Nome*: tribrometo de boro
- *Densidade*: 1,460 g/cm³
- *Estado físico e aparência*: líquido incolor ou amarelo claro
- *Peso molecular*: 250,52
- *Incompatibilidade*: com ácidos, álcoois, metais alcalinos. Reage violentamente com água e é sensível a luz.
- *Produtos de decomposição*: Gases tóxicos: CO, CO₂, SO₂, HCl_(g) e óxidos de boro.
- *Método de descarte*: Em pequenas quantidades, adicionar grande quantidade de água sob agitação e ajustar o pH a neutro. Separar qualquer sólido ou líquido insolúvel e armazenar. A solução aquosa pode ser descartada sob grande fluxo de água.
- ☠ *Perigos à saúde*: Prejudicial se inalado, ingerido ou absorvido. Possivelmente carcinogênico. Pode causar distúrbios no sistema nervoso central.
- *Primeiros-socorros*: - Em caso de contato lavar imediatamente com água durante 15 minutos. Se inalado permanecer em um local com ar fresco e, se preciso, entubar com oxigênio. Se ingerido lavar a boca se estiver consciente.

BF₃.EtO₂

- *Nome*: eterato de trifluoreto de boro
- *Densidade*: 1,12 g/cm³
- *Estado físico e aparência*: líquido incolor ou amarelo claro
- *Peso molecular*: 141,93
- *Incompatibilidade*: com ácidos, álcoois, metais alcalinos. Reage violentamente com água e é sensível a luz. Evitar contato com metais
- *Produtos de decomposição*: Gases tóxicos: CO, CO₂, HF e óxidos de boro.
- *Método de descarte*: Dissolver cuidadosamente em água. Neutralizar imediatamente com Na₂CO₃. Adicionar CaCl₂ em excesso para precipitar o fluoreto e ou carbonato. Separar a parte insolúvel e enterrar.
- ☠ *Perigos*: Prejudicial se inalado, ingerido ou absorvido.
- *Primeiros-socorros*: - Em caso de contato lavar imediatamente com água durante 15 minutos. Se inalado permanecer em um local com ar fresco e se preciso entubar com oxigênio. Se ingerido lavar a boca com grande quantidade de água.

2-metil-3-buten-2-ol (26)

- *Densidade*: 0,82 g/cm³
- *Estado físico e aparência*: líquido incolor
- *Peso molecular*: 86,16
- *Incompatibilidade*: agentes oxidante fortes
- *Produtos de decomposição*: CO, CO₂
- *Método de descarte*: Queimar em incinerador químico
- ☠ *Perigos à saúde*: Prejudicial se inalado ou ingerido. Causa irritação nos olhos. O material é irritante às membranas e mucosas e ao trato respiratório superior.
- *Primeiros-socorros*: - Em caso de contato lavar imediatamente com água durante 15 minutos. Se inalado permanecer em um local com ar fresco e, se preciso, entubar com oxigênio.

brometo de 3,3-dimetilalila (15)

- *Densidade:* 1,28 g/cm³
- *Estado físico e aparência:* líquido incolor
- *Peso molecular:* 149,64
- *Incompatibilidade:* agentes oxidante fortes
- *Produtos de decomposição:* CO, CO₂ e HBr_(g)
- *Método de descarte:* Queimar em incinerador químico. Cuidado: muito inflamável
- ☠ *Perigos à saúde:* Prejudicial se inalado ou ingerido. Extremamente destrutivo às membranas e mucosas e ao trato respiratório superior olhos e pele. Inalação pode ser fatal.
- *Primeiros-socorros:* - Em caso de contato lavar imediatamente com água durante 15 minutos. Se inalado permanecer em um local com ar fresco e, se preciso, entubar com oxigênio. Se ingerido, lavar a boca com grande quantidade de água.

Cloreto de benzila

- *Densidade:* 1,10 g/cm³
- *Estado físico e aparência:* líquido incolor
- *Peso molecular:* 243,75
- *Incompatibilidade:* agentes oxidantes, ferro ou sais de ferro, alumínio, bronze. Decompõe na exposição à água.
- *Produtos de decomposição:* CO, CO₂ e HCl_(g)
- *Método de descarte:* Queimar em incinerador químico
- ☠ *Perigos à saúde:* Pode ser fatal se inalado, engolido ou absorvido pela pele. Material extremamente destrutivo aos tecidos das mucosas e trato respiratório superior, olhos e pele. Sintomas incluem sensação de queimadura, tosse, dor de cabeça, náusea e vômito.
- *Primeiros-socorros:* - Em caso de contato lavar imediatamente com água durante 15 minutos. Se inalado permanecer em um local com ar fresco e, se preciso, entubar com oxigênio.

Ácido *m*-cloroperbenzóico

- *Estado físico e aparência:* sólido branco
- *Peso molecular:*
- *Incompatibilidade:* agentes oxidantes fortes, bases fortes, agentes redutores fortes e materiais orgânicos.
- *Produtos de decomposição:* CO, CO₂ e HCl_(g)
- ☠ *Perigos à saúde:* Pode ser prejudicial se inalado, engolido ou absorvido pela pele. Irritante aos tecidos das mucosas e trato respiratório superior, olhos e pele.
- *Primeiros-socorros:* - Em caso de contato lavar imediatamente com água durante 15 minutos. Se inalado permanecer em um local com ar fresco e, se preciso, entubar com oxigênio. Se ingerido, lavar a boca com água. Em caso de contato, lave a pele com sabão e grande quantidade de água.

cloreto de (3-cloropropil)dimetilamônio

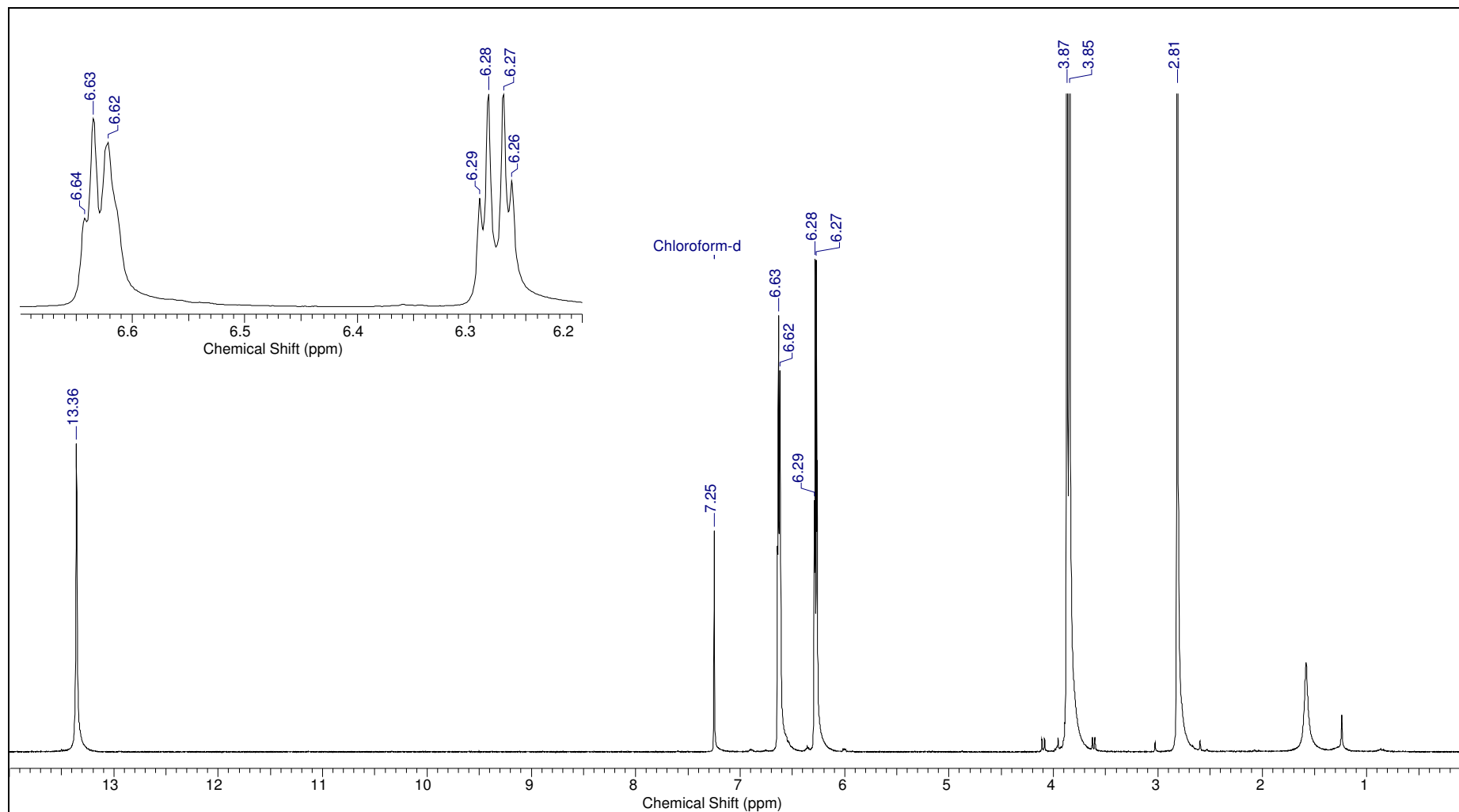
- *Estado físico e aparência:* sólido branco
- *Peso molecular:* 158,07
- *Incompatibilidade:* agentes oxidantes fortes.
- *Produtos de decomposição:* CO, CO₂, óxidos de nitrogênio e HCl_(g)
- ☠ *Perigos à saúde:* Pode ser prejudicial se inalado, engolido ou absorvido pela pele. Irritante aos tecidos das mucosas e trato respiratório superior, olhos e pele.
- *Primeiros-socorros:* - Em caso de contato lavar imediatamente com água durante 15 minutos. Se inalado permanecer em um local com ar fresco e, se preciso, entubar com oxigênio. Se ingerido, lavar a boca com água. Em caso de contato, lave a pele com sabão e grande quantidade de água.

CH₃I

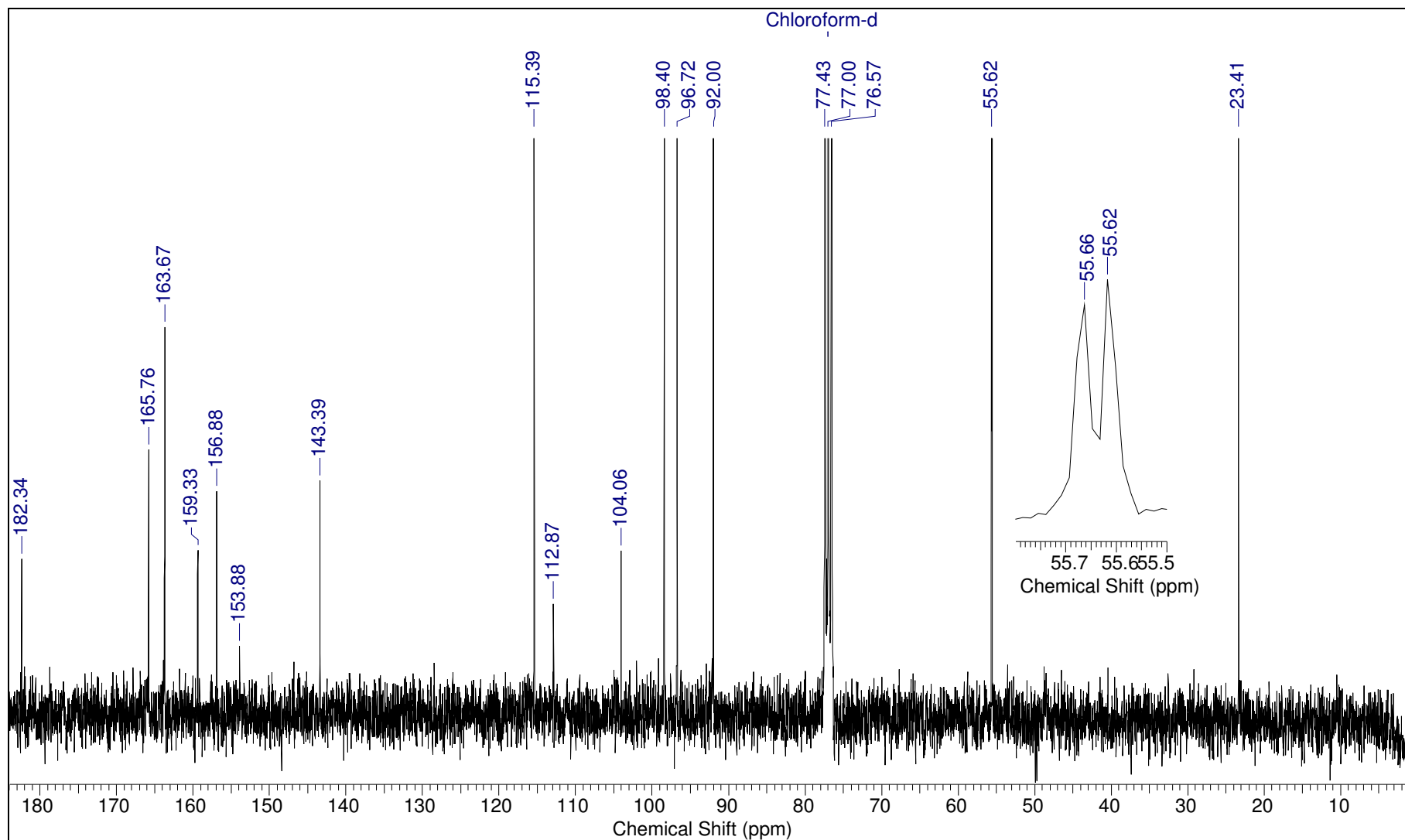
- *Nome:* Iodeto de metila
- *Densidade:* 2,28g/cm³
- *Estado físico e aparência:* líquido incolor
- *Peso molecular:* 141,95
- ☠ *Perigos à saúde:* Em caso de contato prolongado pode causar queimadura e se exposto pode levar a edema pulmonar.

Anexo II

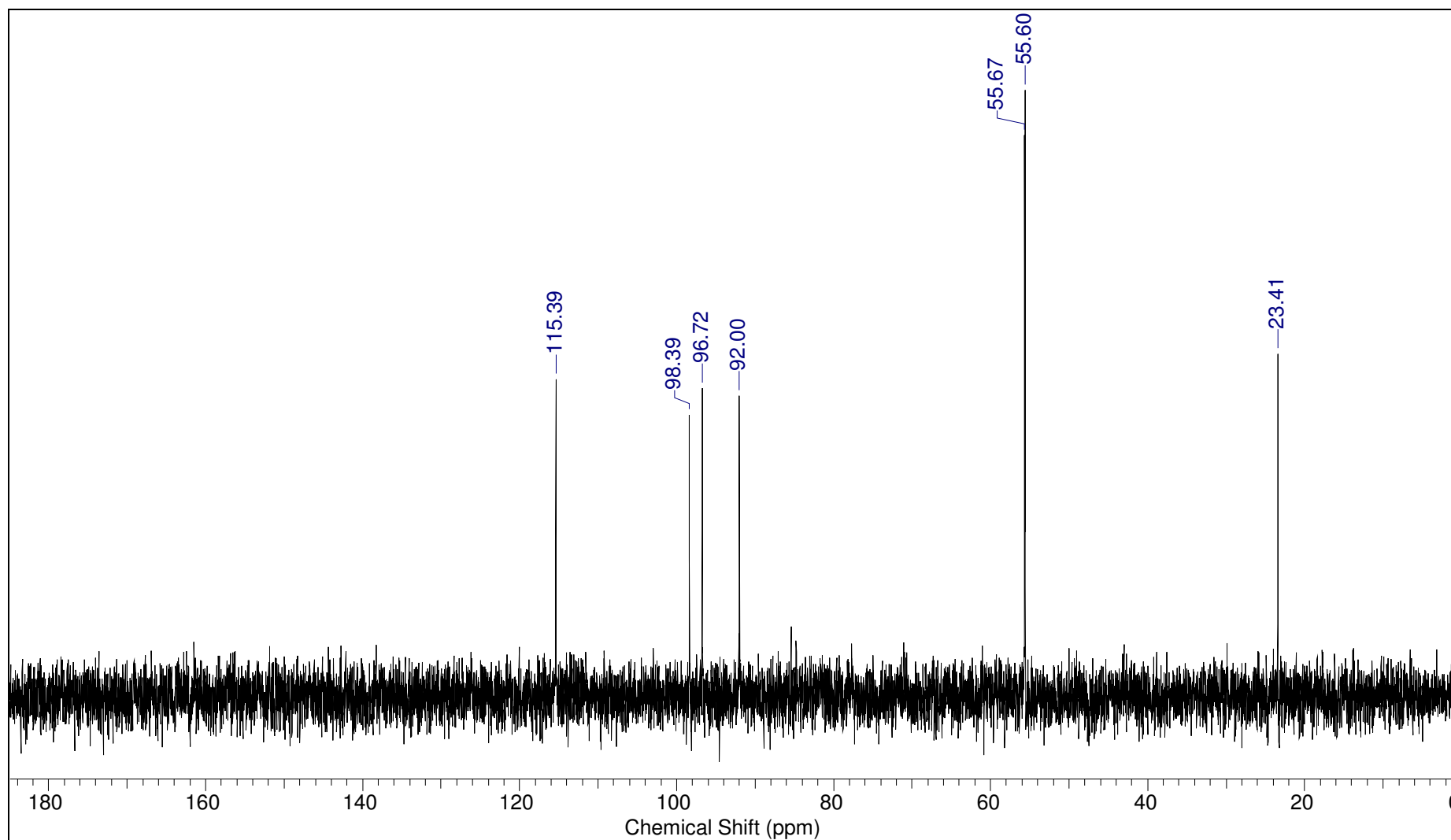
ANEXO II
ESPECTROS DE RMN DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E DAS
OBTIDAS POR MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL



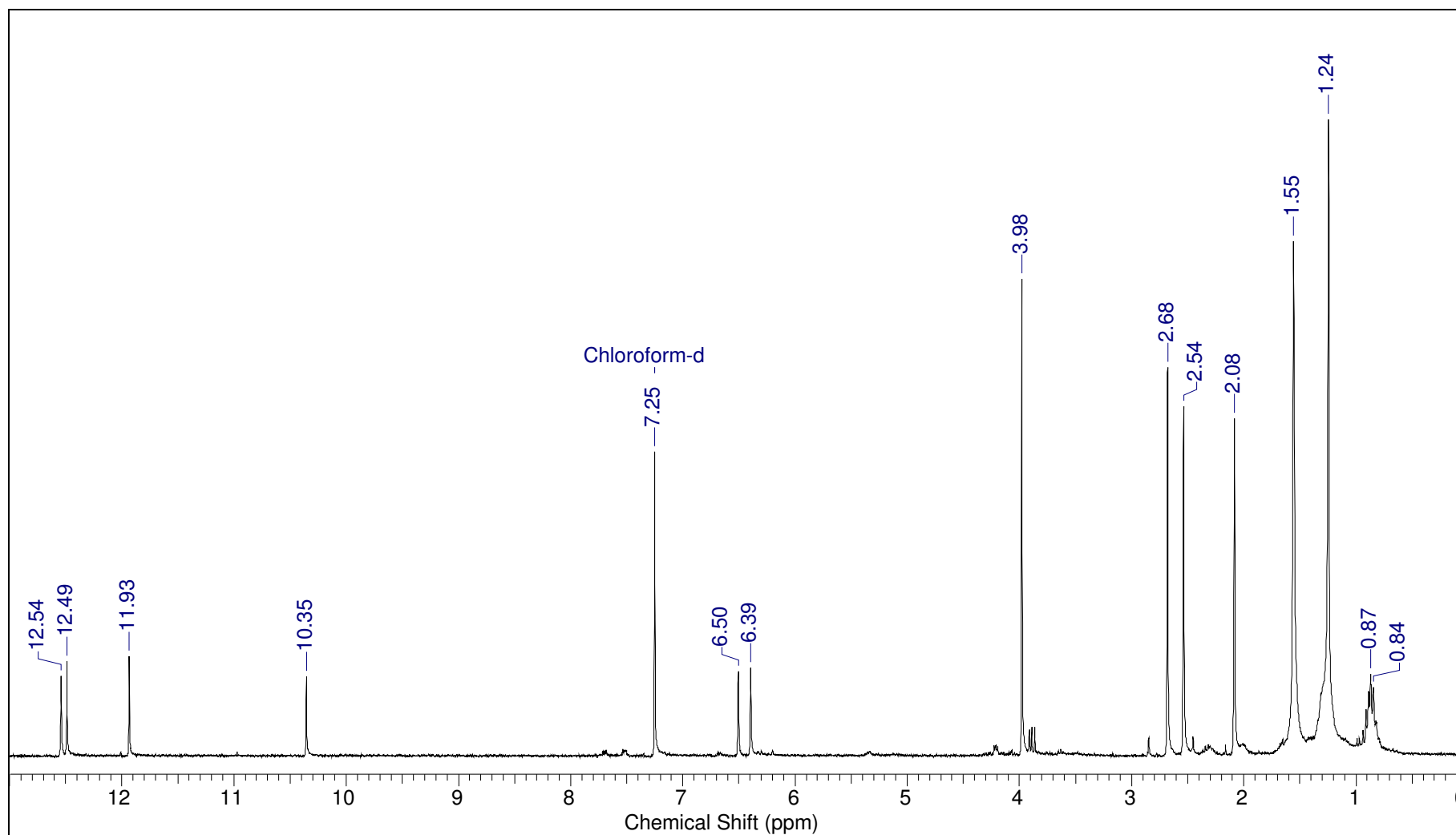
E-1. Espectro de RMN de ^1H da liquexantona (15) (CDCl_3)



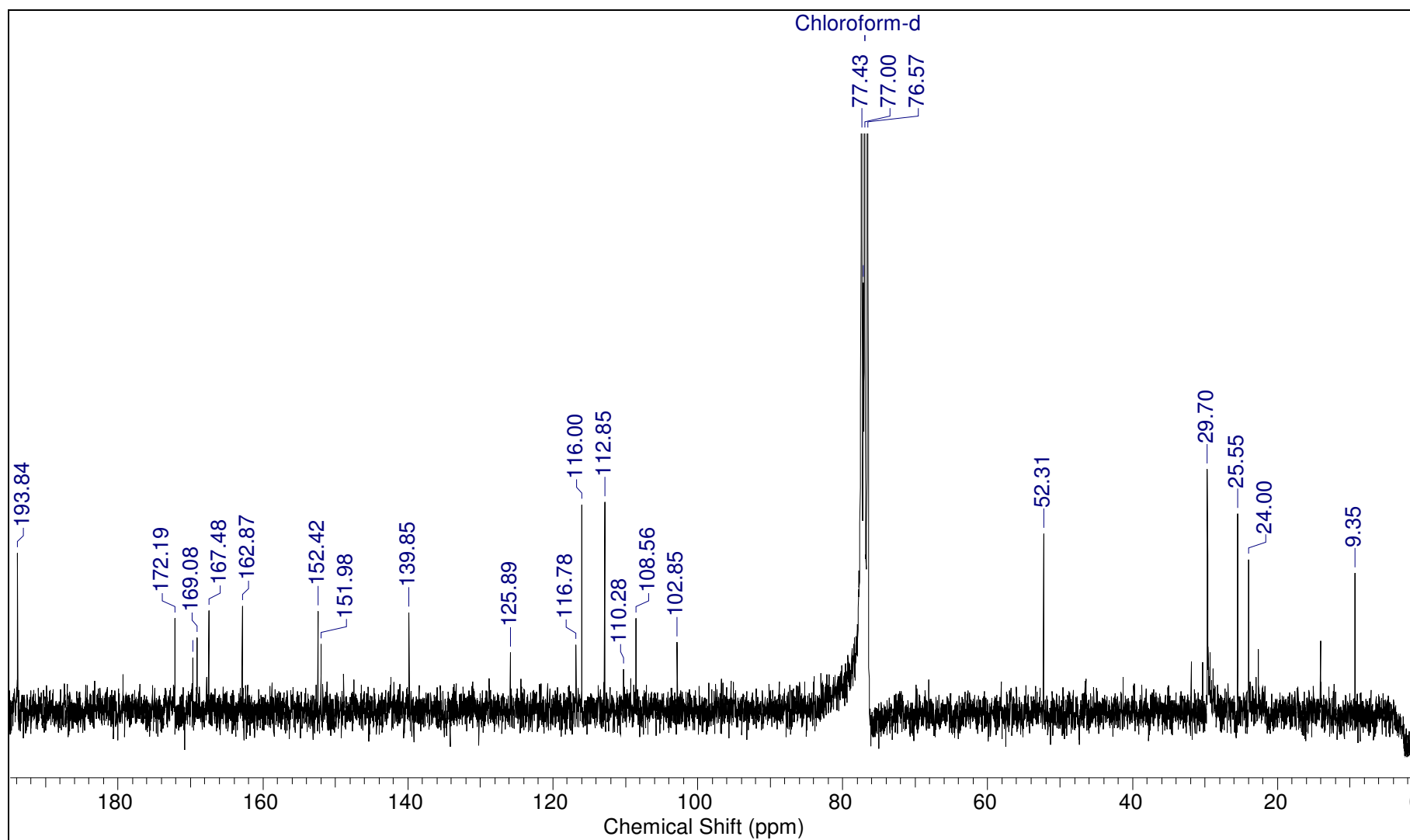
E-2. Espectro de RMN de ^{13}C da liquexantona (15) (CDCl_3)



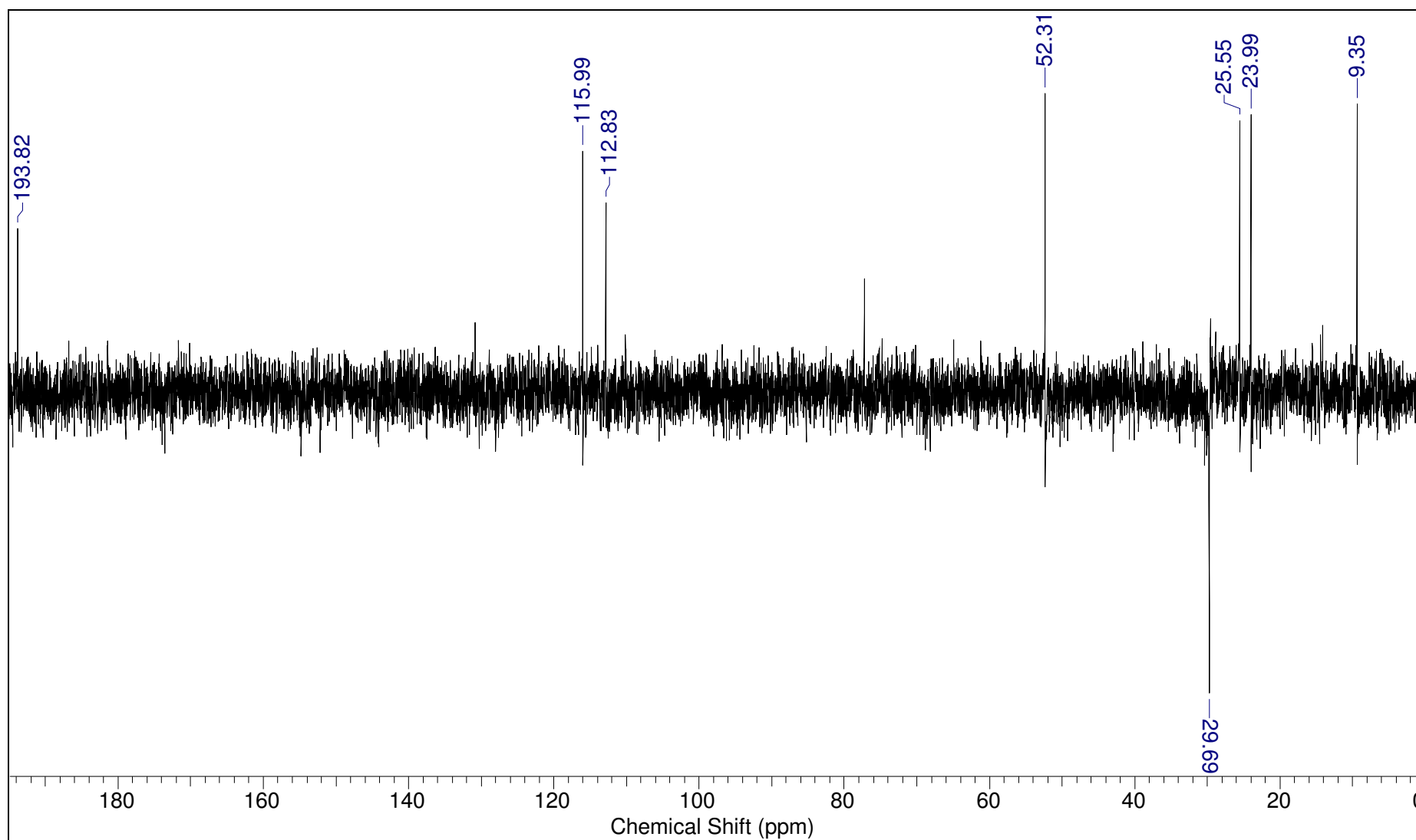
E-3. Espectro de RMN de DEPT-135 liquexantona (15) (CDCl_3)



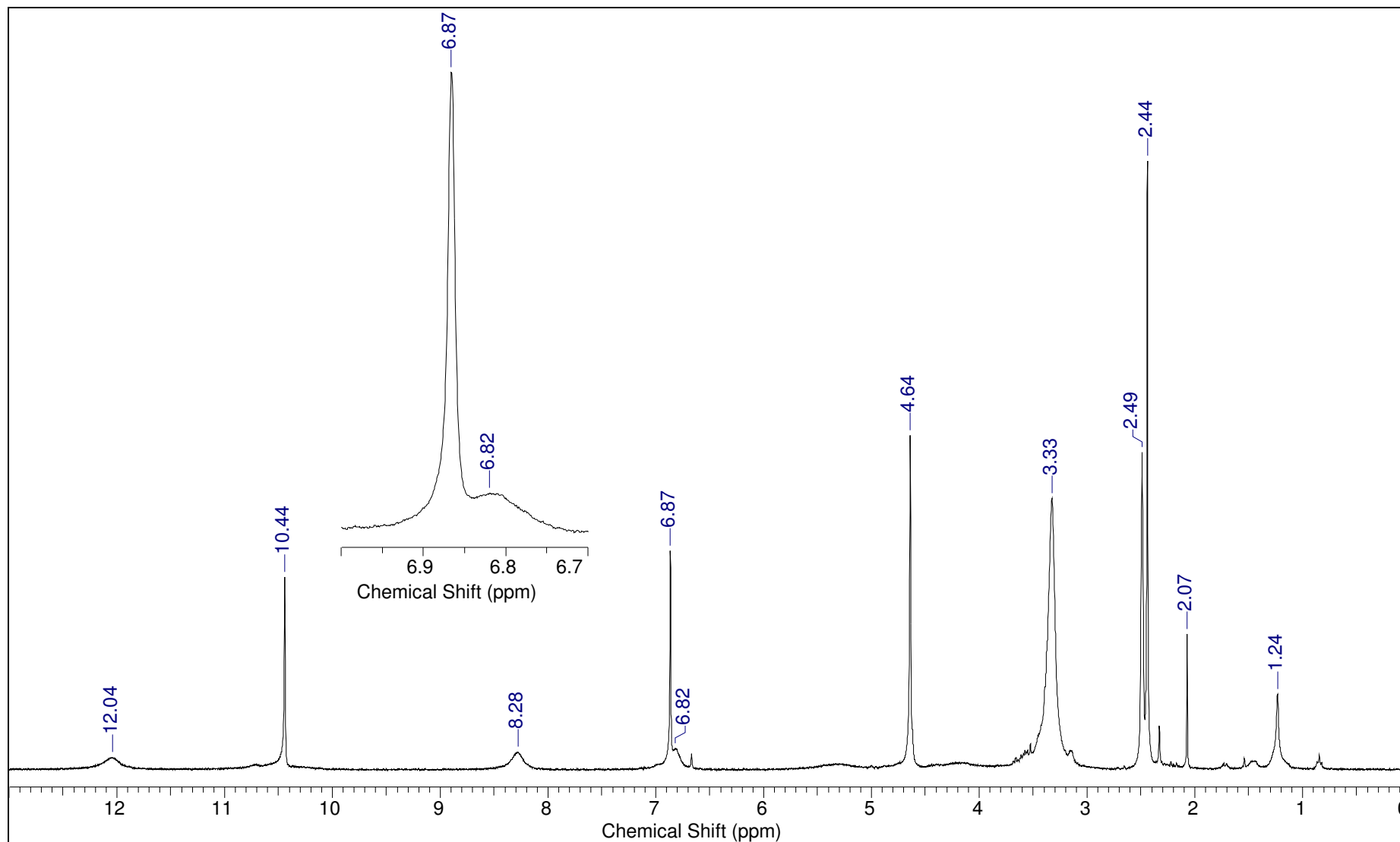
E-4. Espectro de RMN de ^1H da atranorina (16) (CDCl_3)



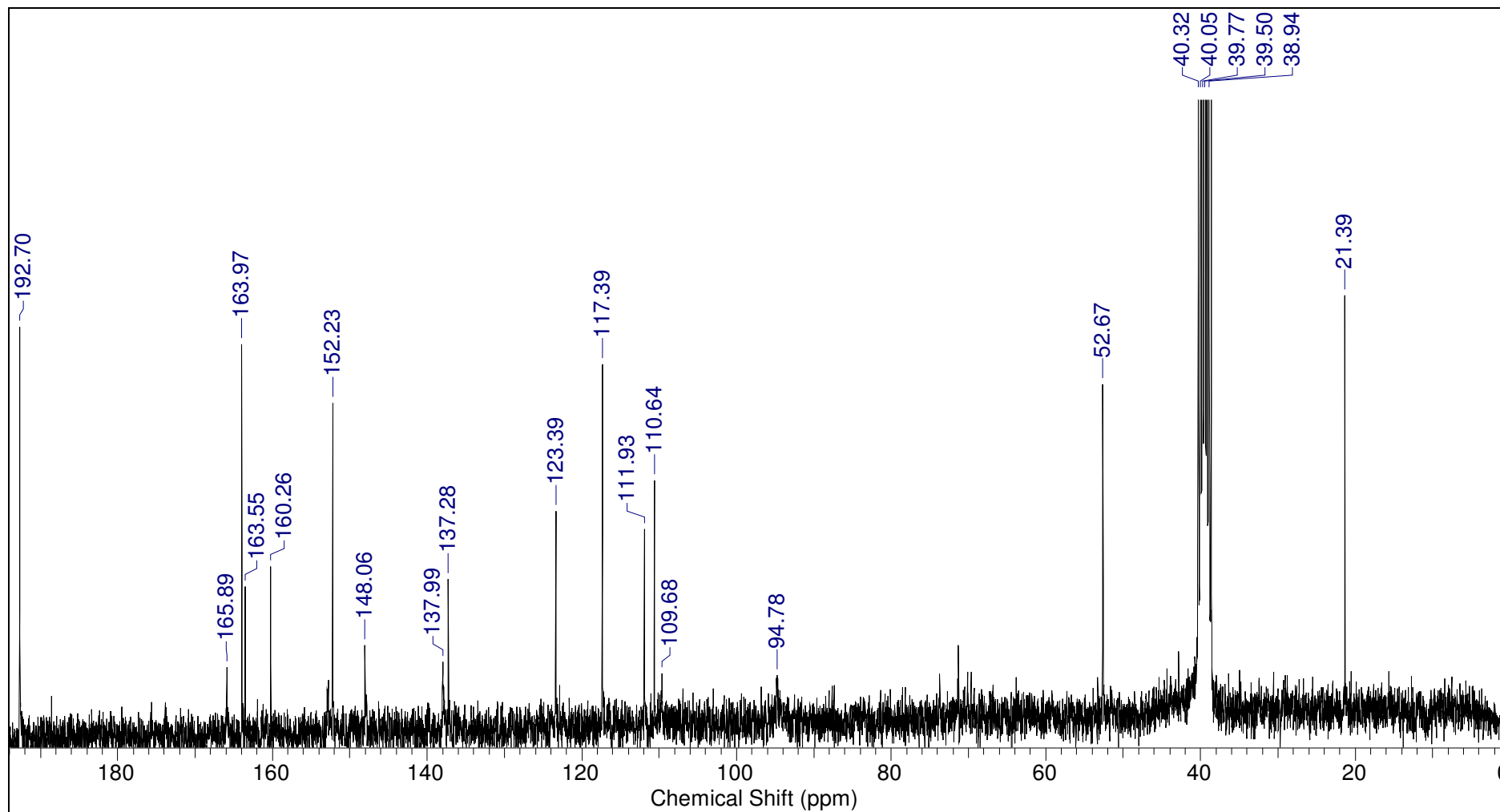
E-5. Espectro de RMN de ^{13}C da atranorina (16) (CDCl_3)



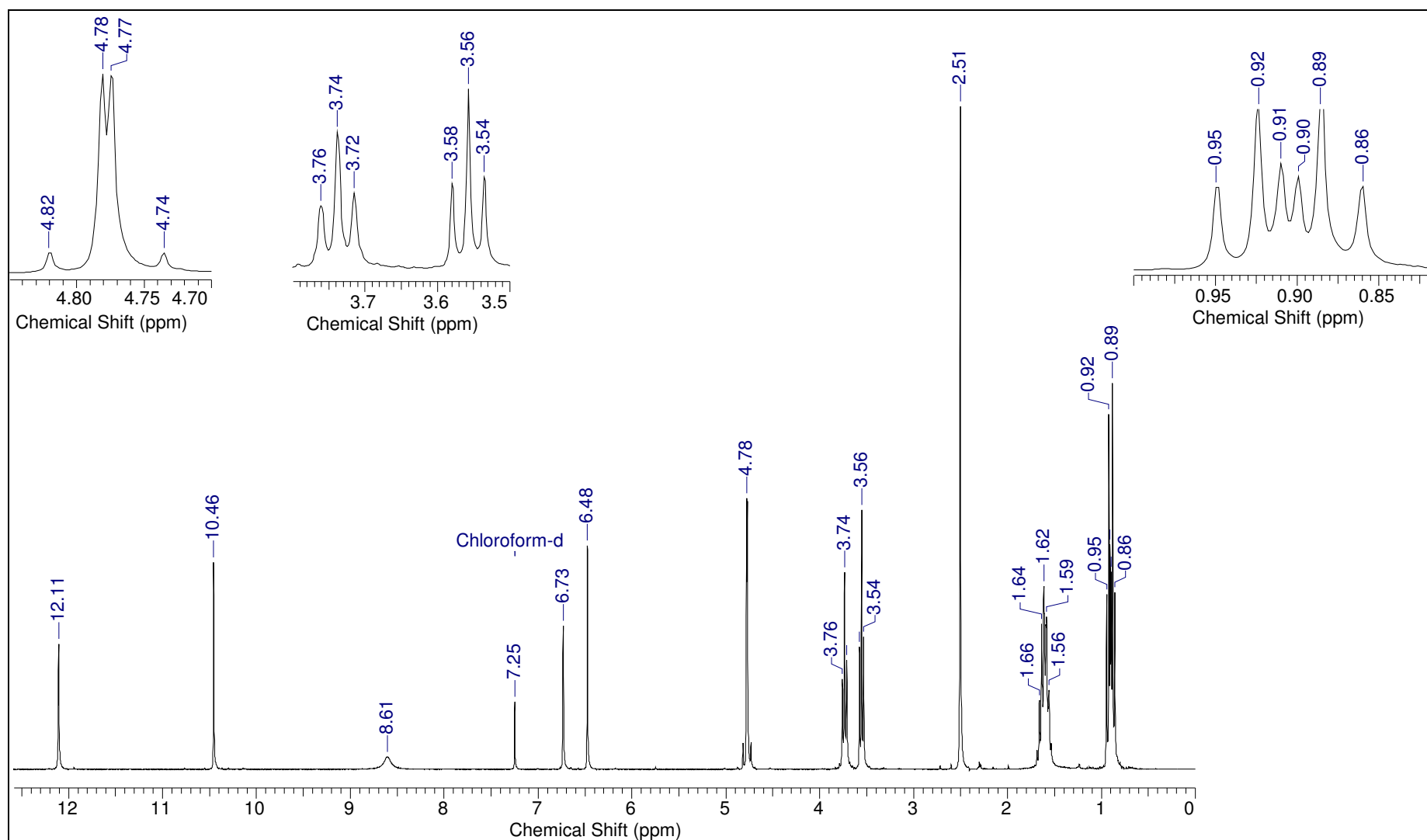
E-6. Espectro de RMN de DEPT-135 atranorina (16) (CDCl_3)



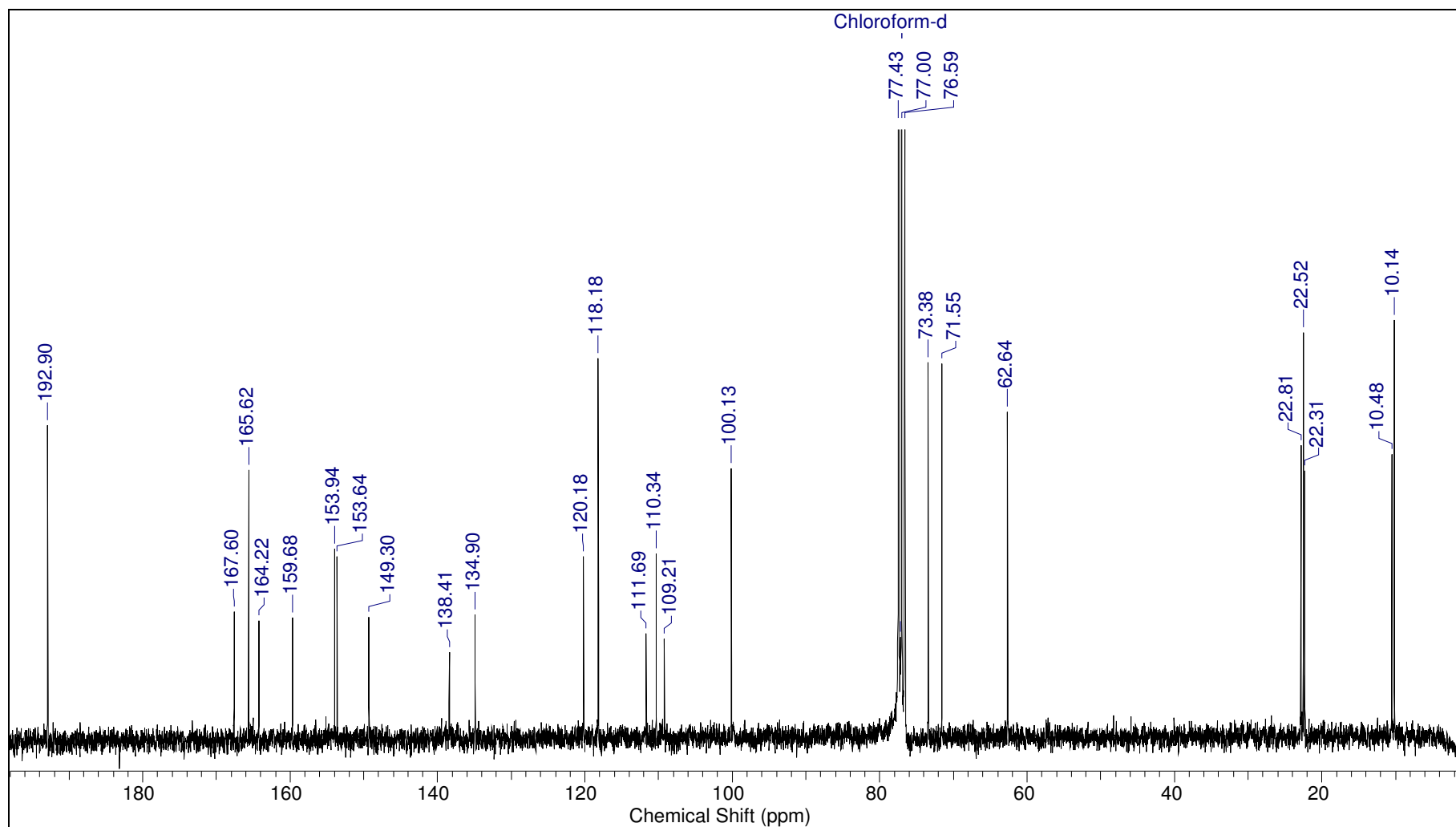
E-7. Espectro de RMN de ^1H do ácido salazínico (7) (DMSO-d_6)



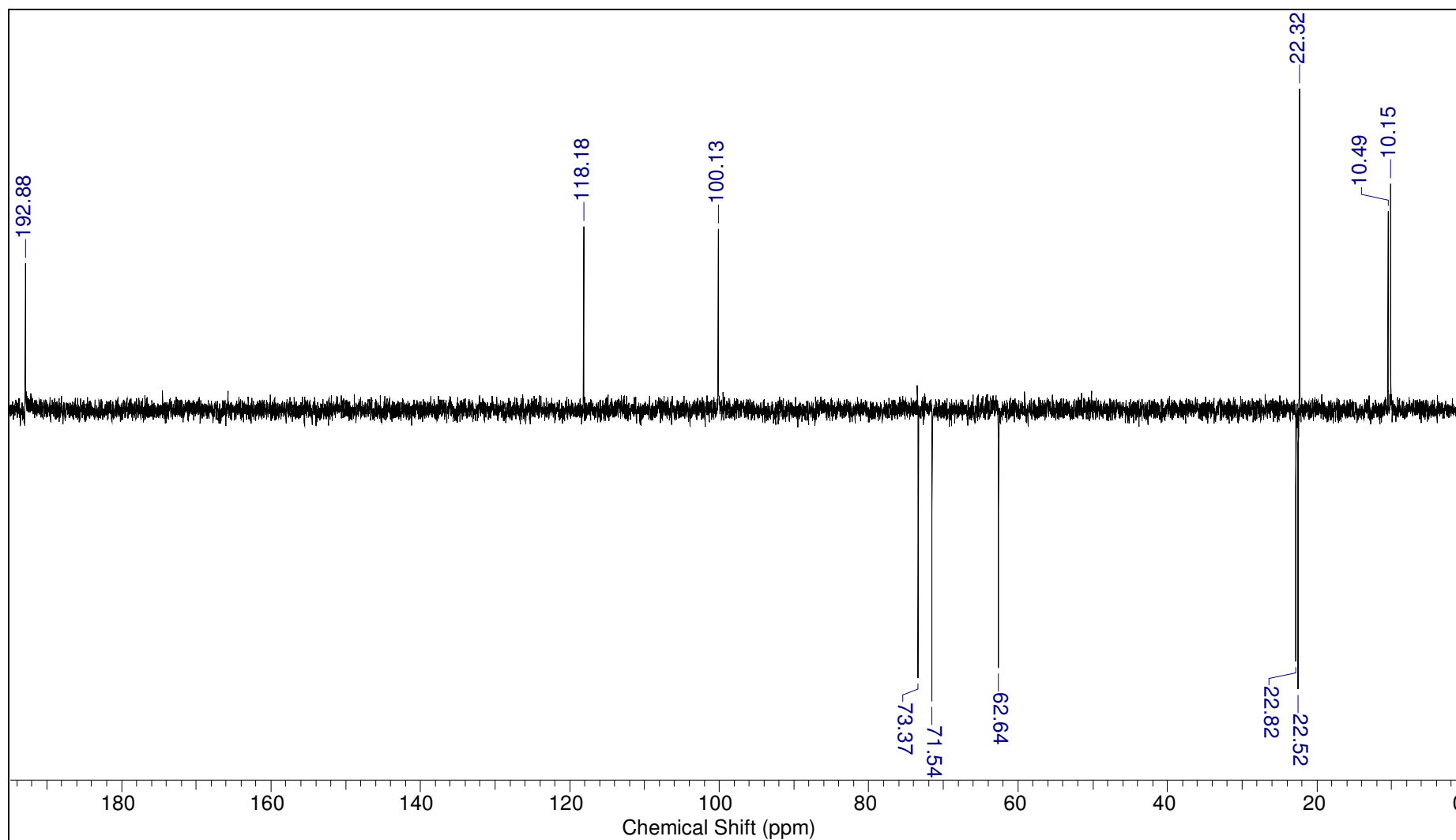
E-8. Espectro de RMN de ^{13}C do ácido salazínico (7) (DMSO-d_6)



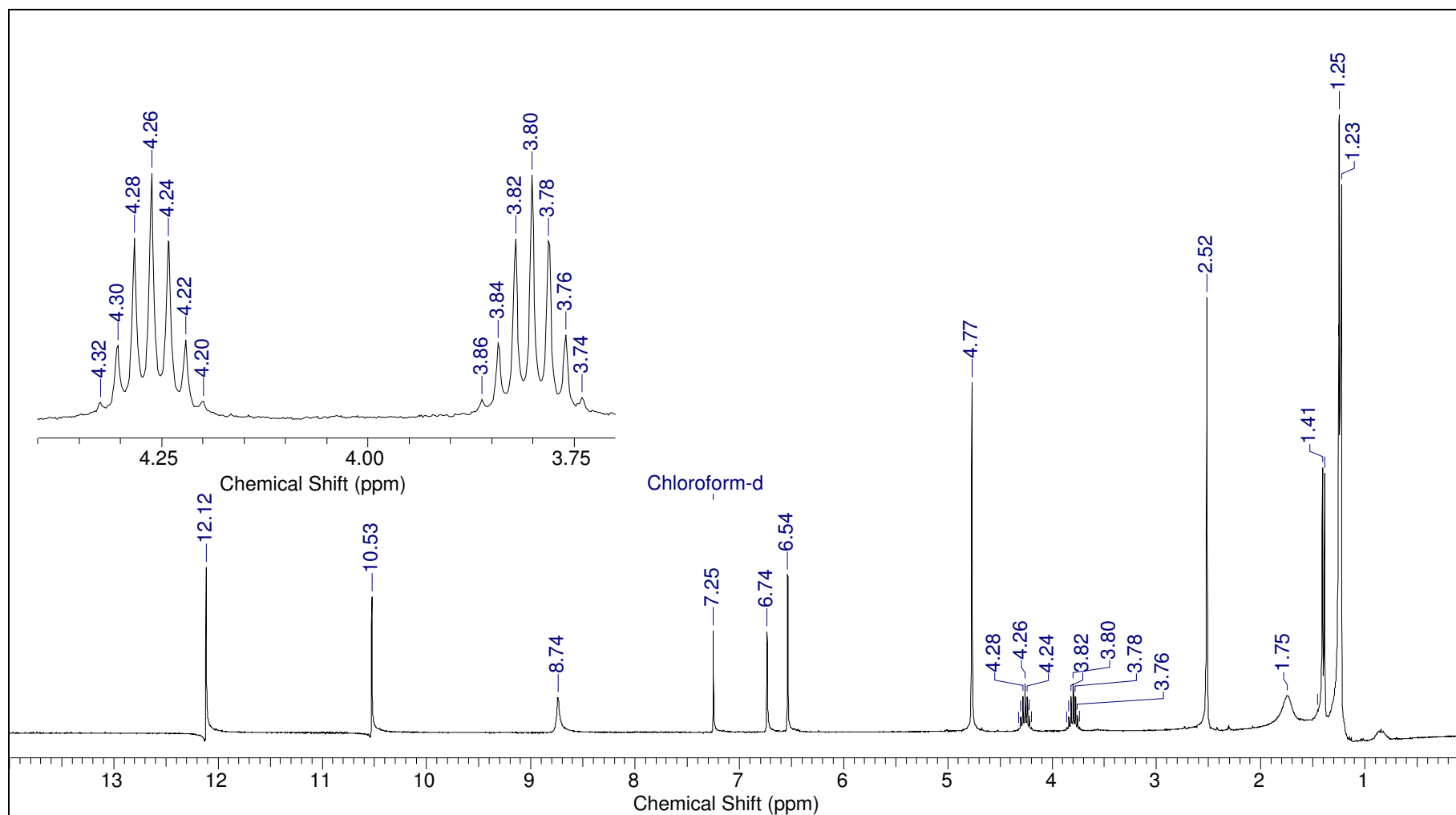
E-9. Espectro de RMN de ^1H da fração PROP-F3 - ácido 8', 9'-di-O-n-propil salazínico (17) (CDCl_3)



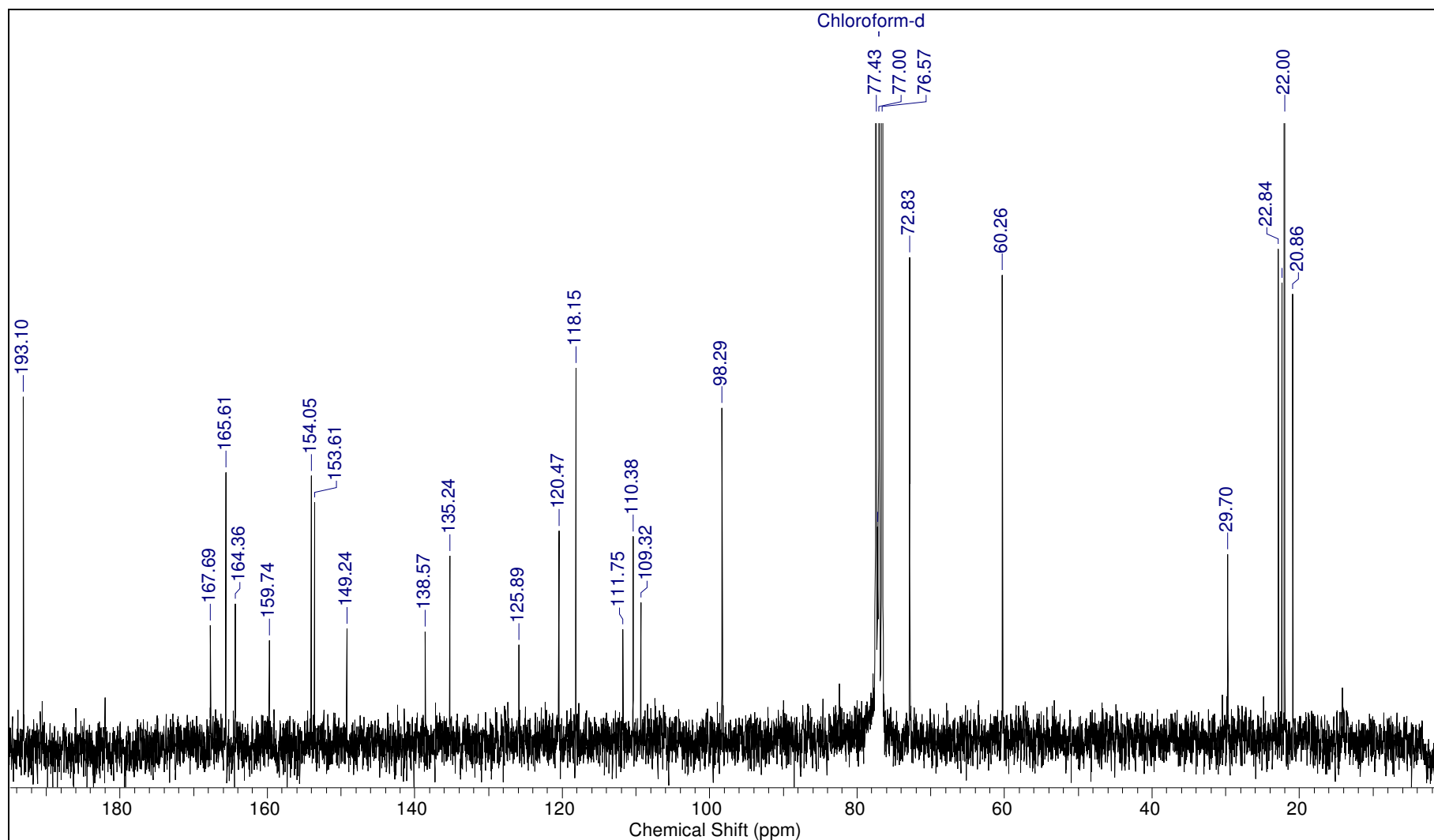
E-10. Espectro de RMN de ^{13}C da fração PROP-F3 - ácido 8', 9'-di-*O-n*-propil salazínico (17) (CDCl_3)



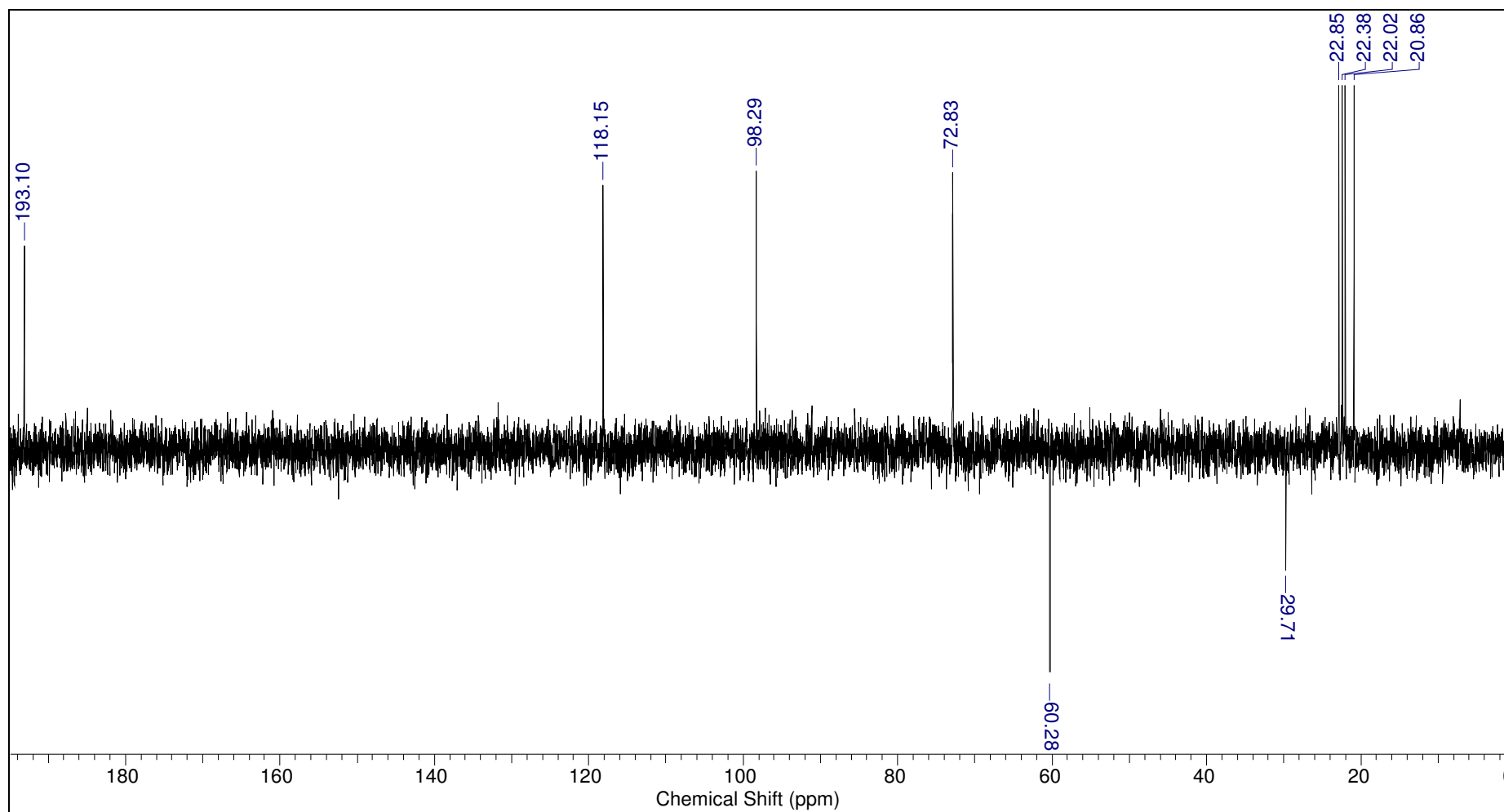
E-11. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração PROP-F3 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-propil salazínico (17) (CDCl₃)



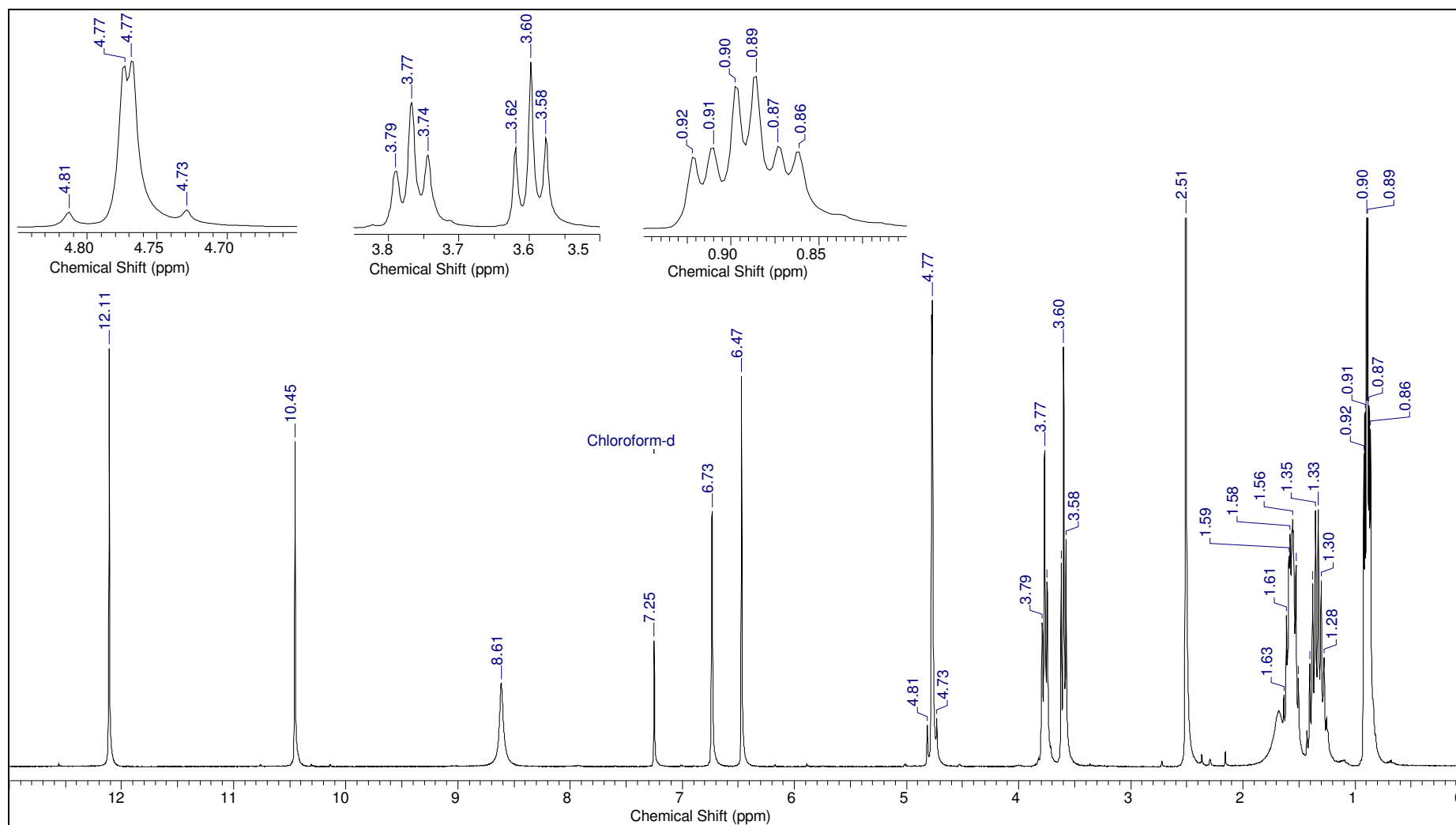
E-12. Espectro de RMN de ^1H da fração ISOPROP-F5 - ácido 8', 9'-di-*O*-isopropil salazínico (18) (CDCl_3)



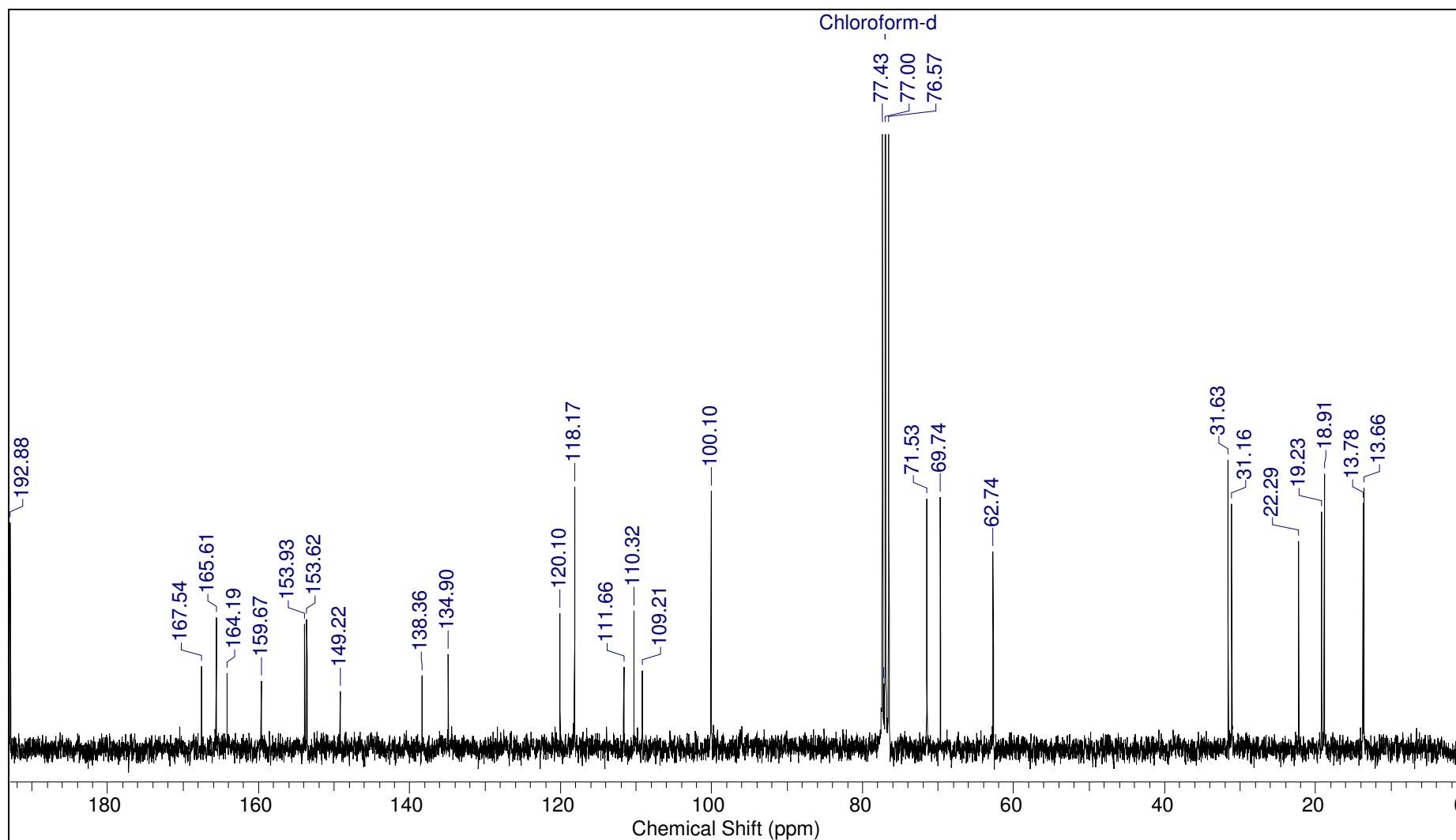
E-13. Espectro de RMN de ^{13}C da fração ISOPROP-F5 - ácido 8', 9'-di-*O*-isopropil salazínico (18) (CDCl_3)



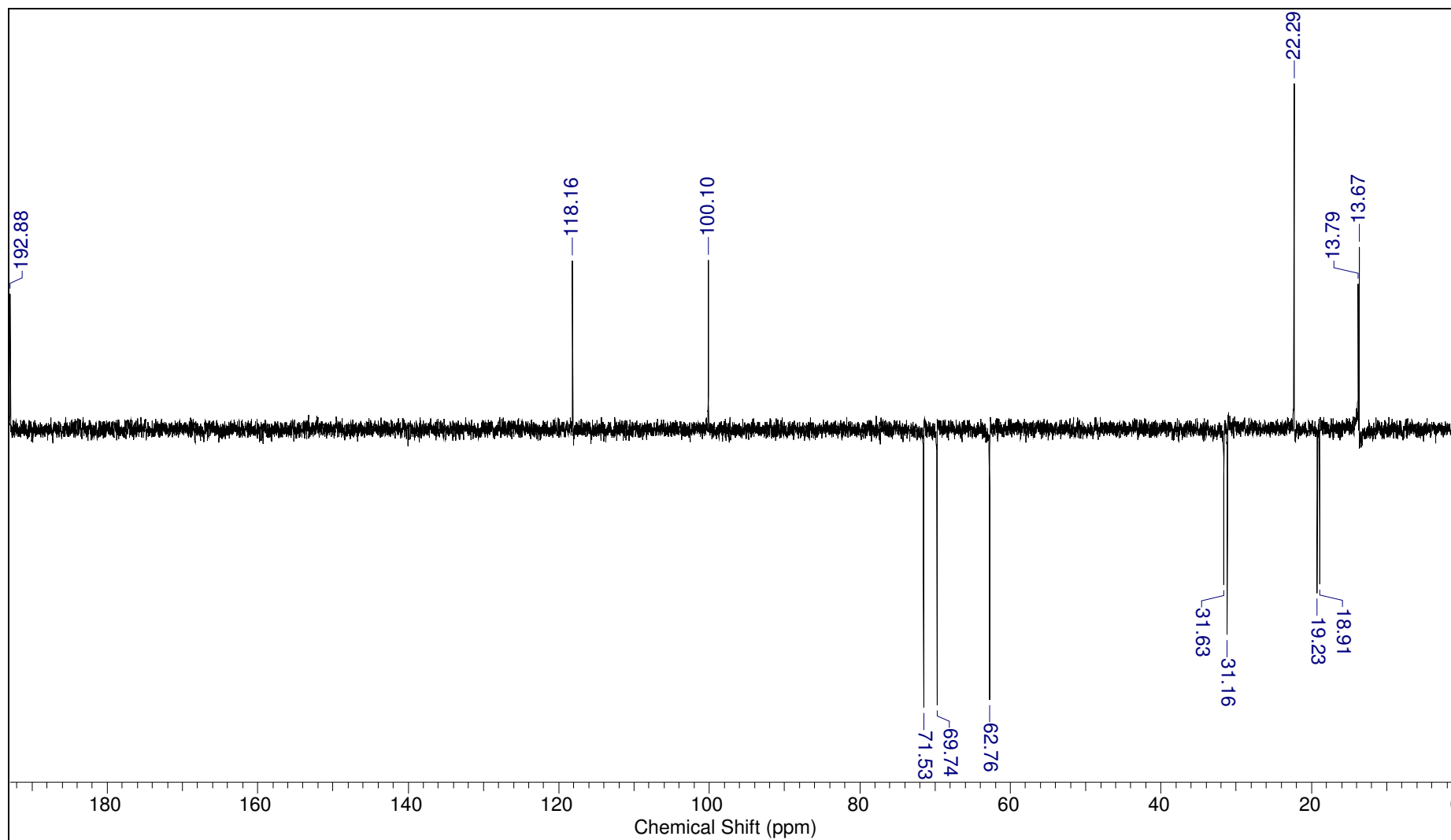
E-14. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração ISOPROP-F5 - ácido 8', 9'-di-*O*-isopropil salazínico (18) (CDCl₃)



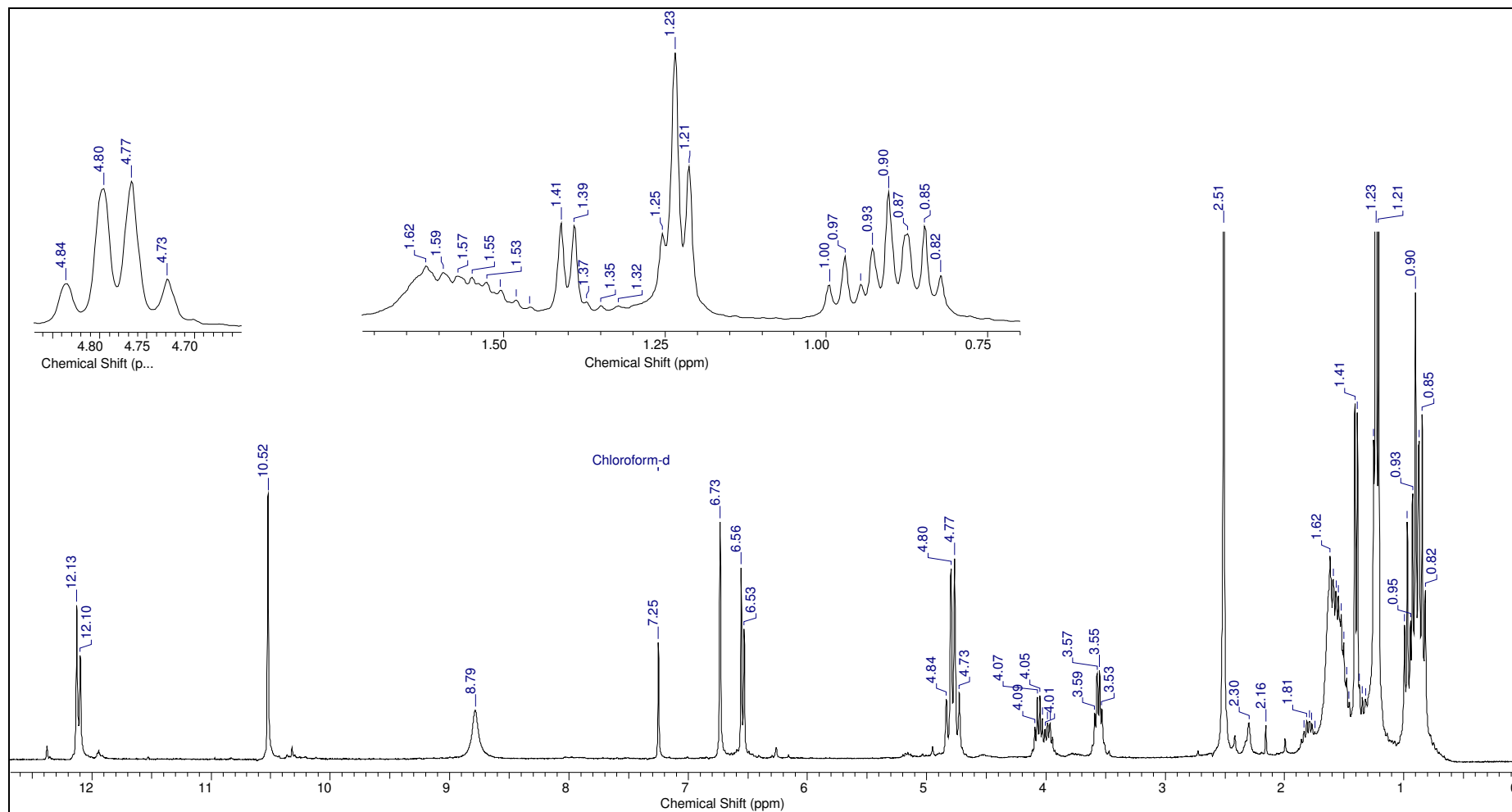
E-15. Espectro de RMN de ^1H da fração BUT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-butil salazínico (19) (CDCl_3)



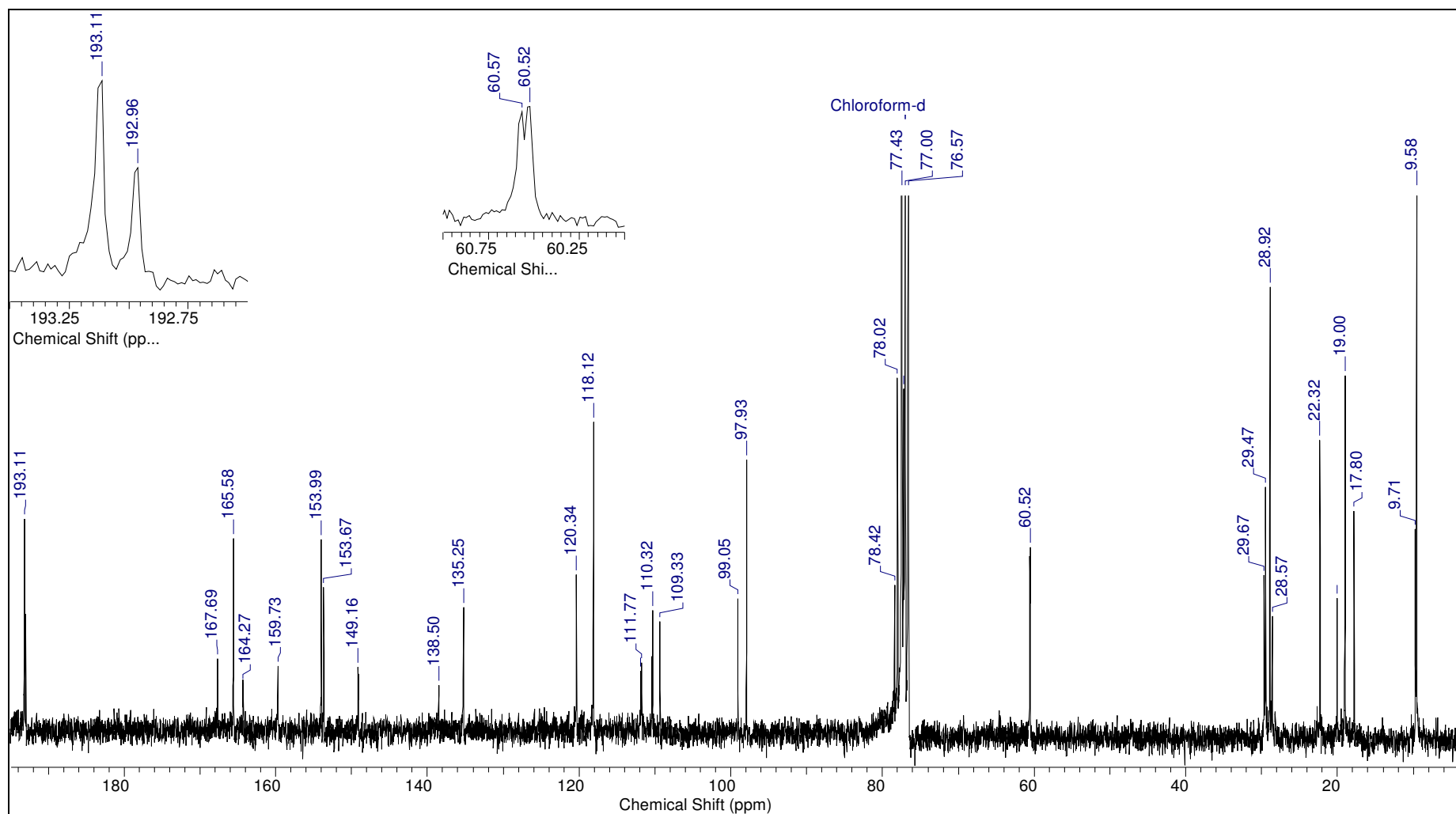
E-16. Espectro de RMN de ^{13}C da fração BUT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-butil salazínico (19) (CDCl_3)



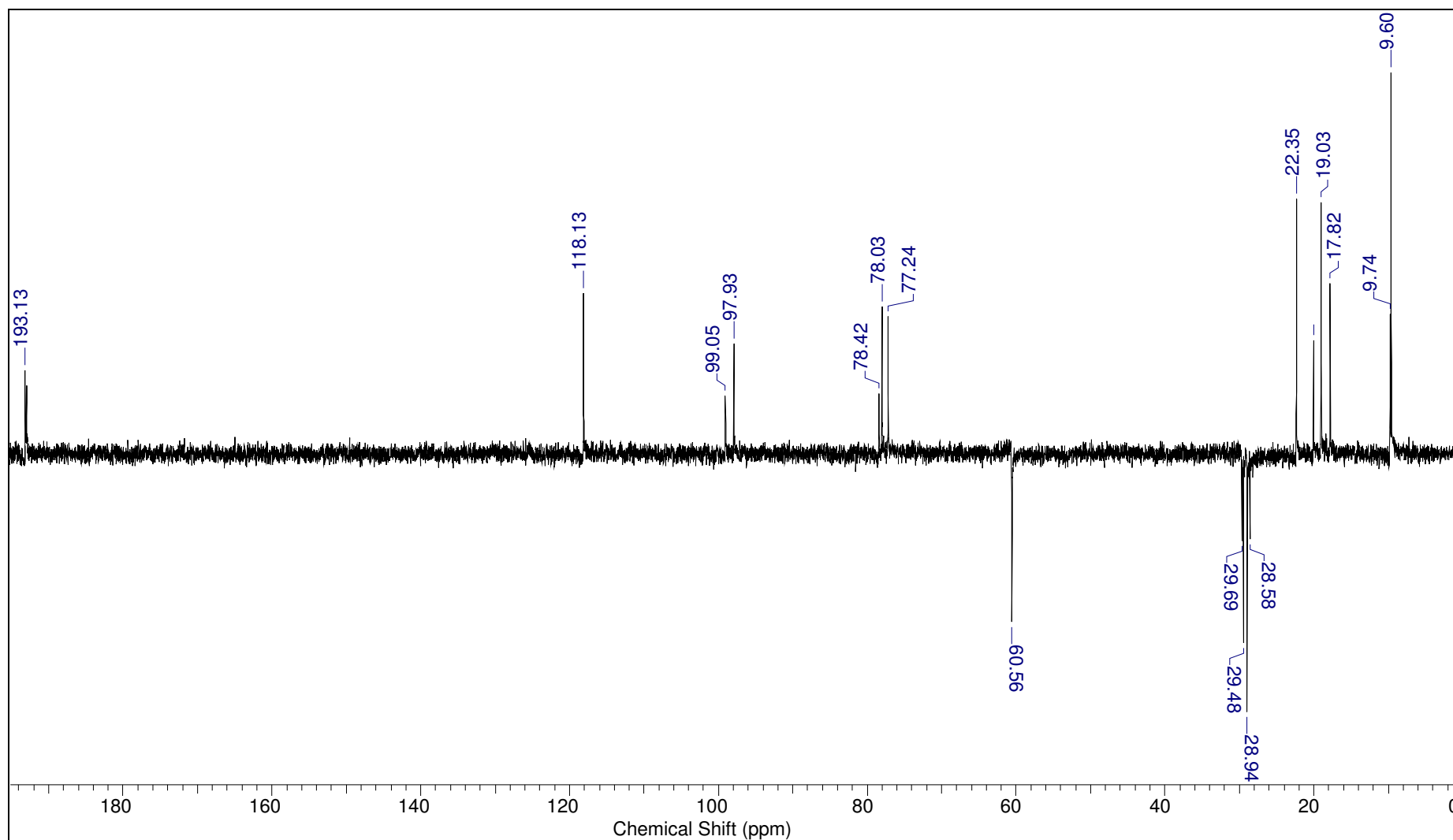
E-17. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração BUT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-butil salazínico (19) (CDCl₃)



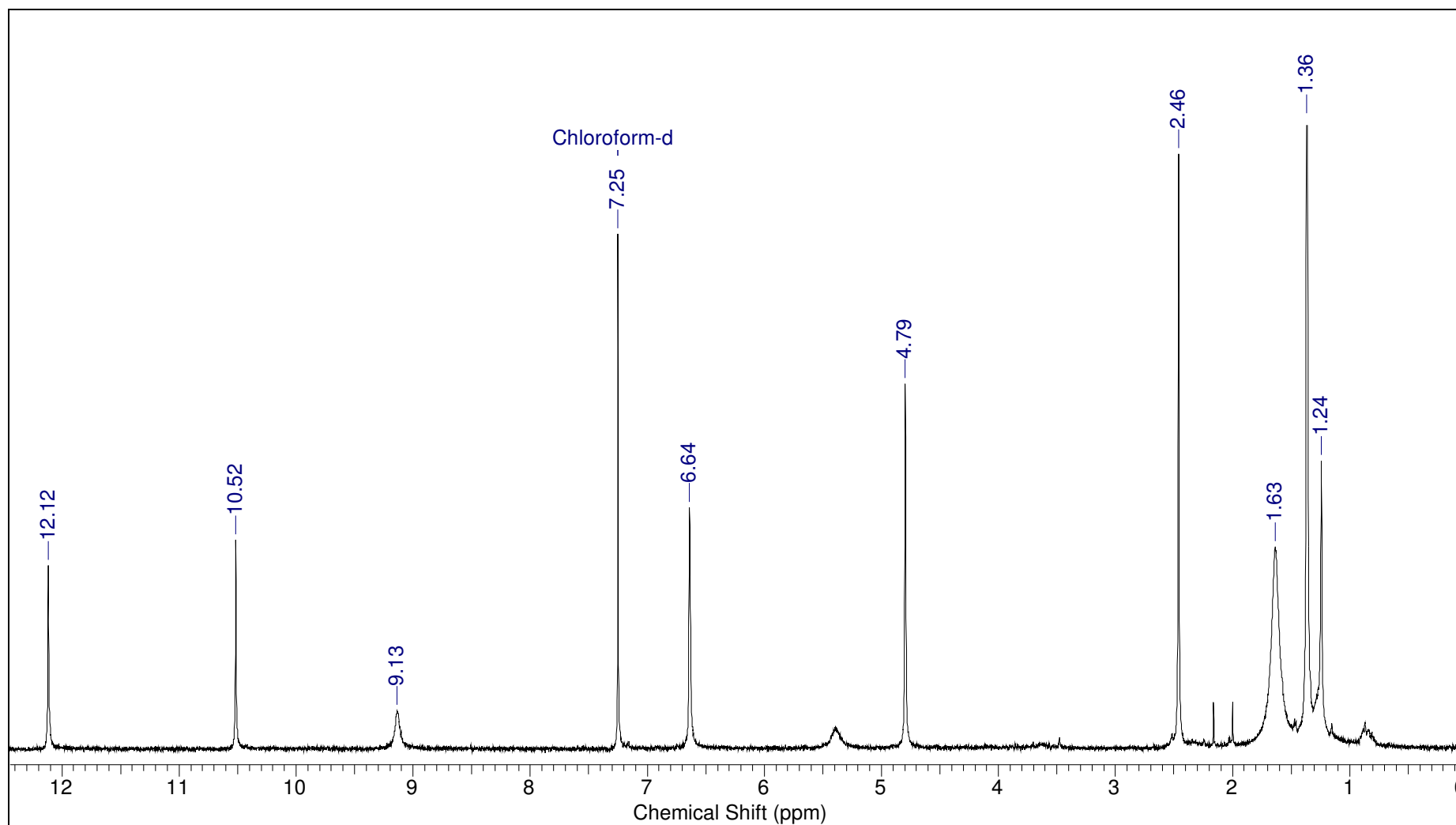
E-18. Espectro de RMN de ^1H da fração SEC-BUT-F1 - ácido 8', 9'-di-*O*-*sec*-butil salazínico (20) (CDCl_3)



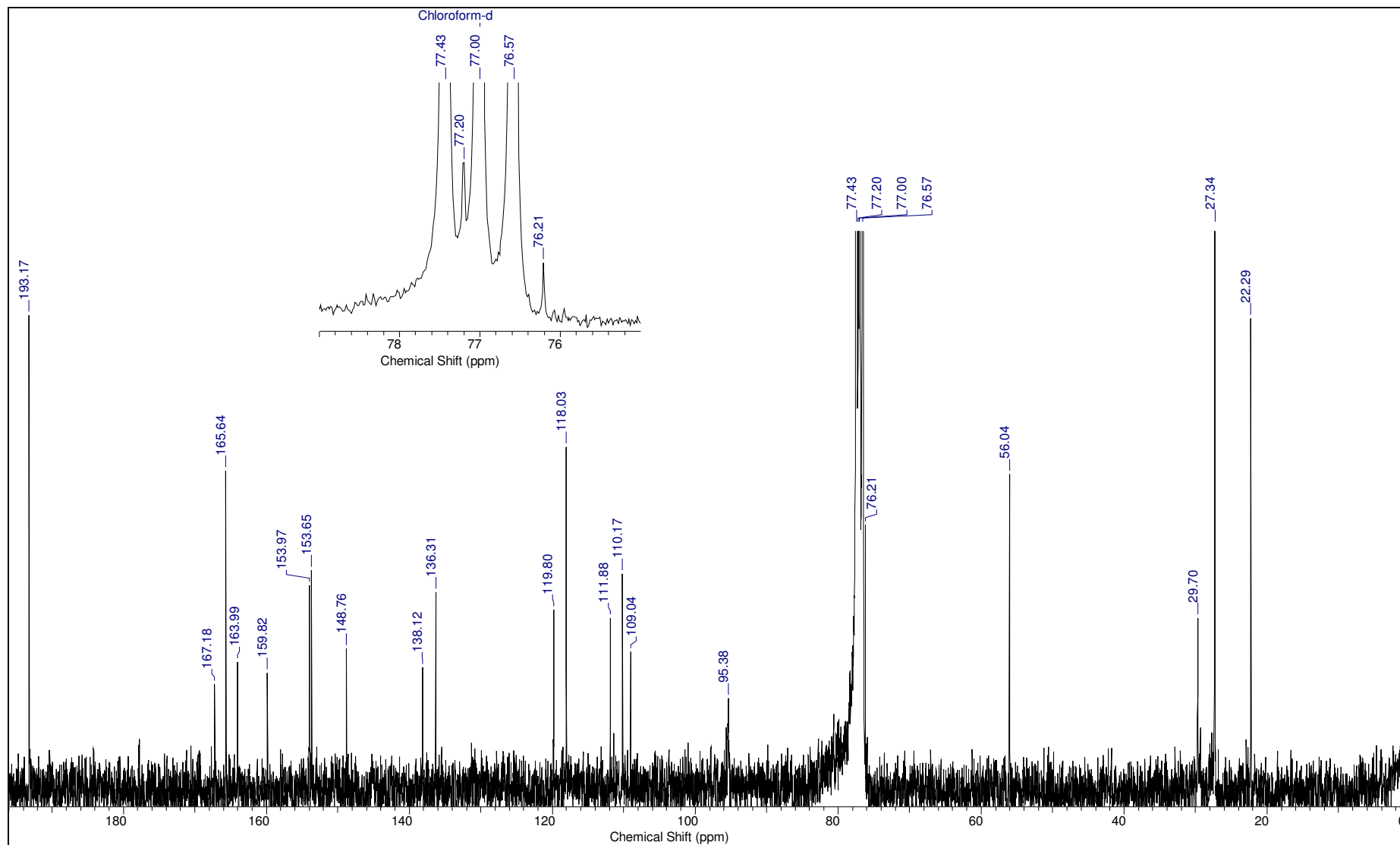
E-19. Espectro de RMN de ^{13}C da fração SEC-BUT-F1 - ácido 8', 9'-di-*O*-*sec*-butil salazínico (20) (CDCl_3)



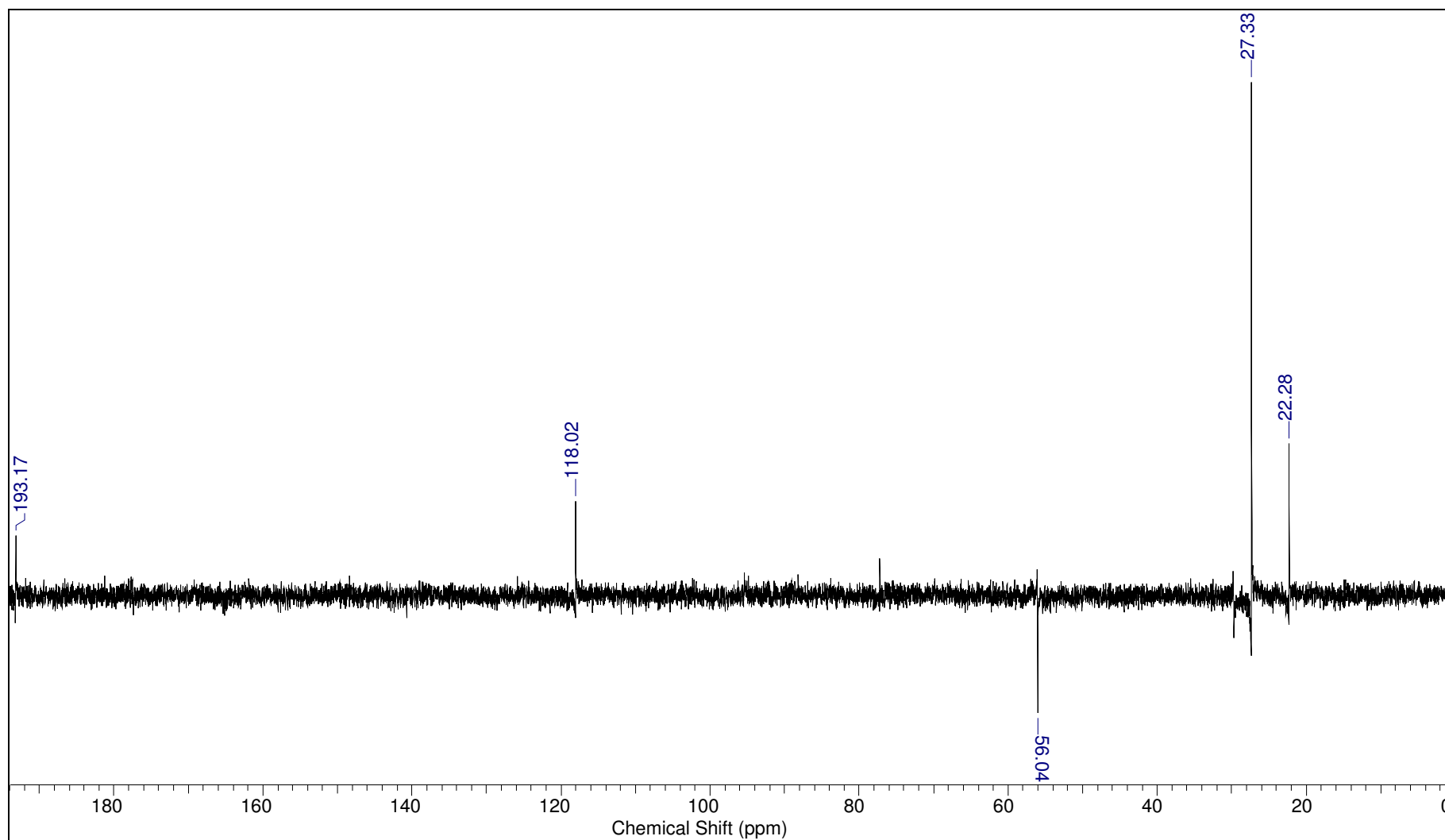
E-20. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração SEC-BUT-F1 - ácido 8', 9'-di-*O*-sec-butil salazínico (20) (CDCl₃)



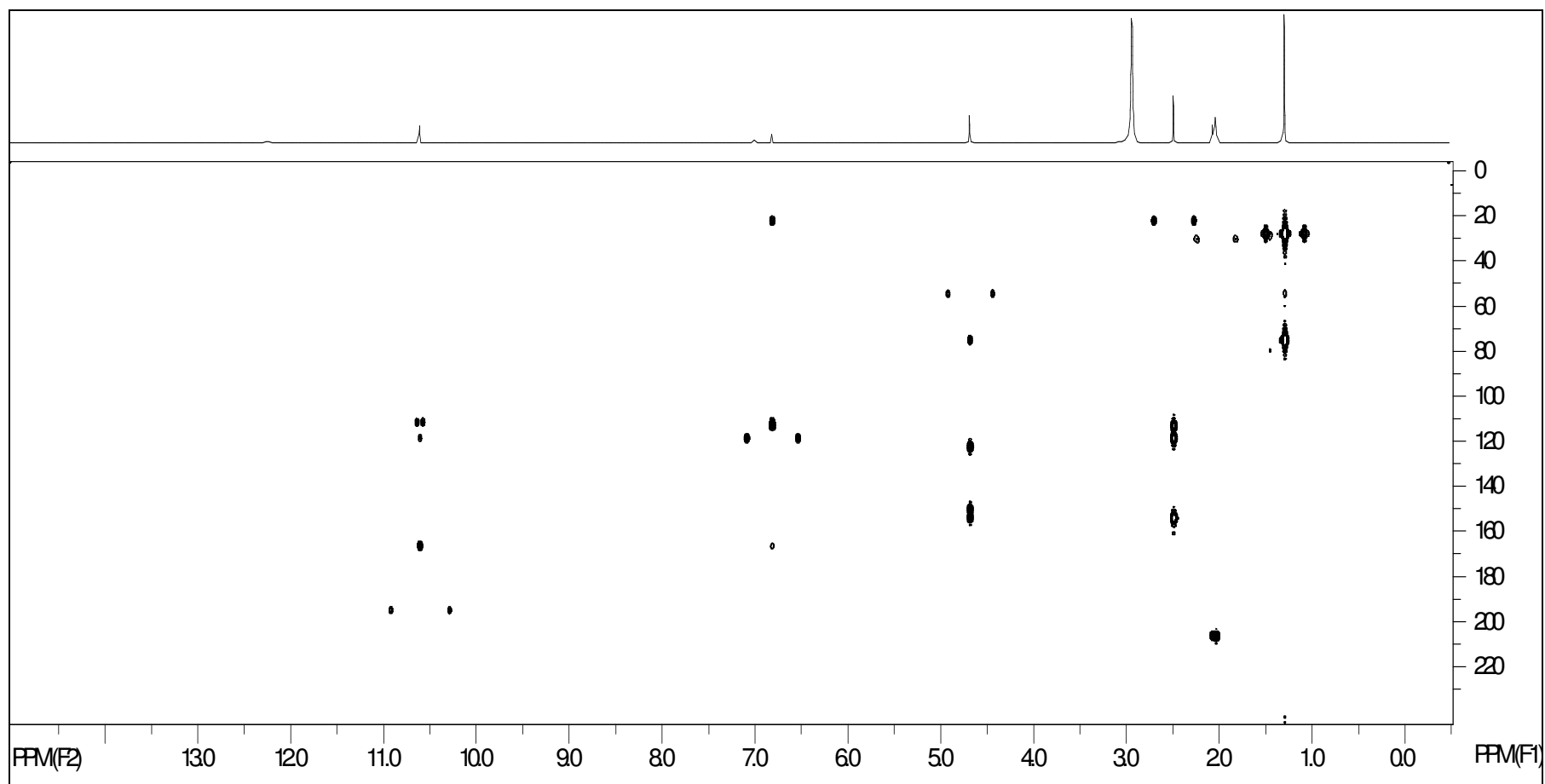
E-21. Espectro de RMN de ^1H da fração T-BUT-F15 - 8', 9'-di-*O*-*terc*-butil ácido salazínico (21) (CDCl_3)



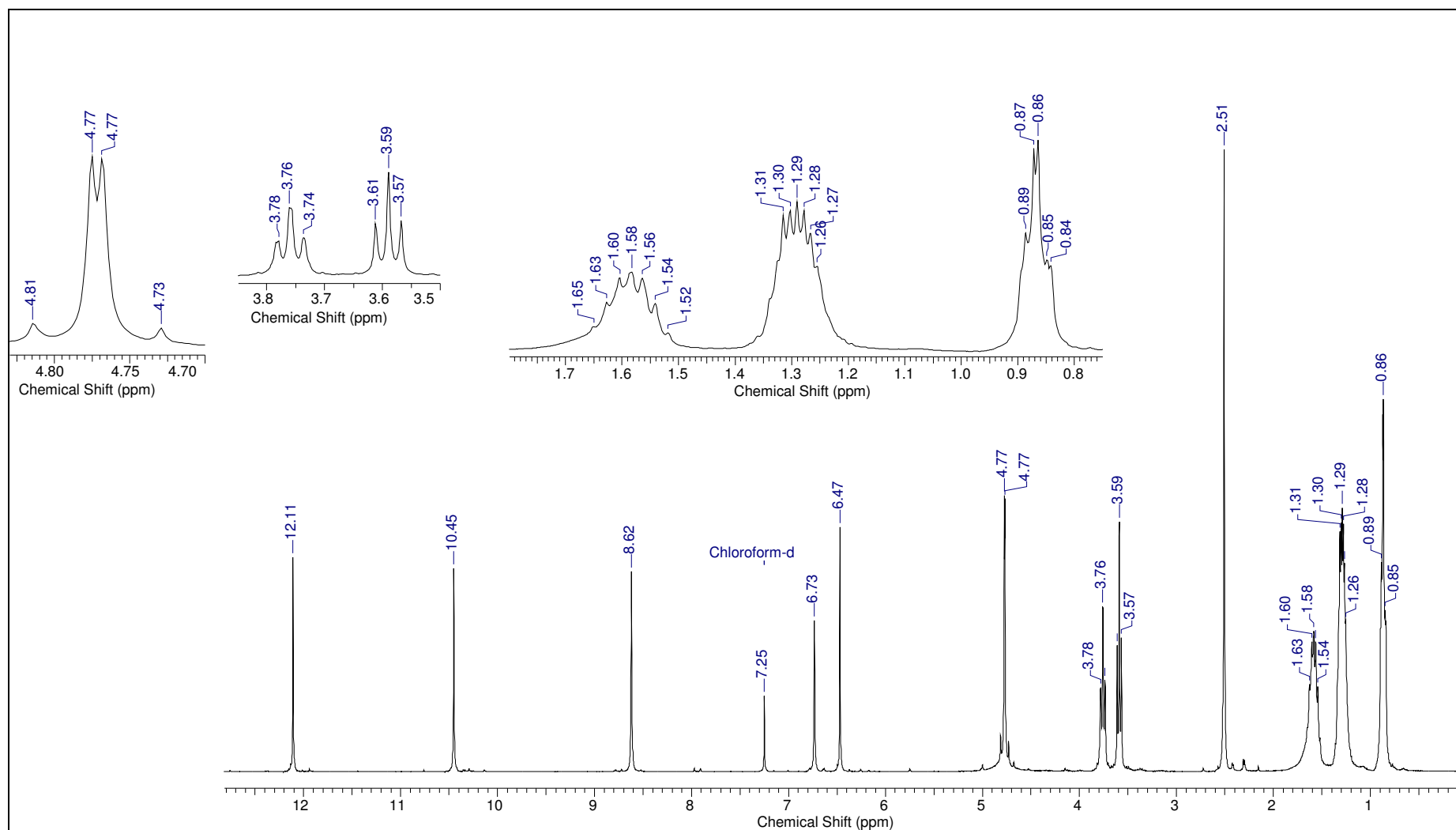
E-22. Espectro de RMN de ^{13}C da fração T-BUT-F15 - 8', 9'-di-*O*-*terc*-butil ácido salazínico (21) (CDCl_3)



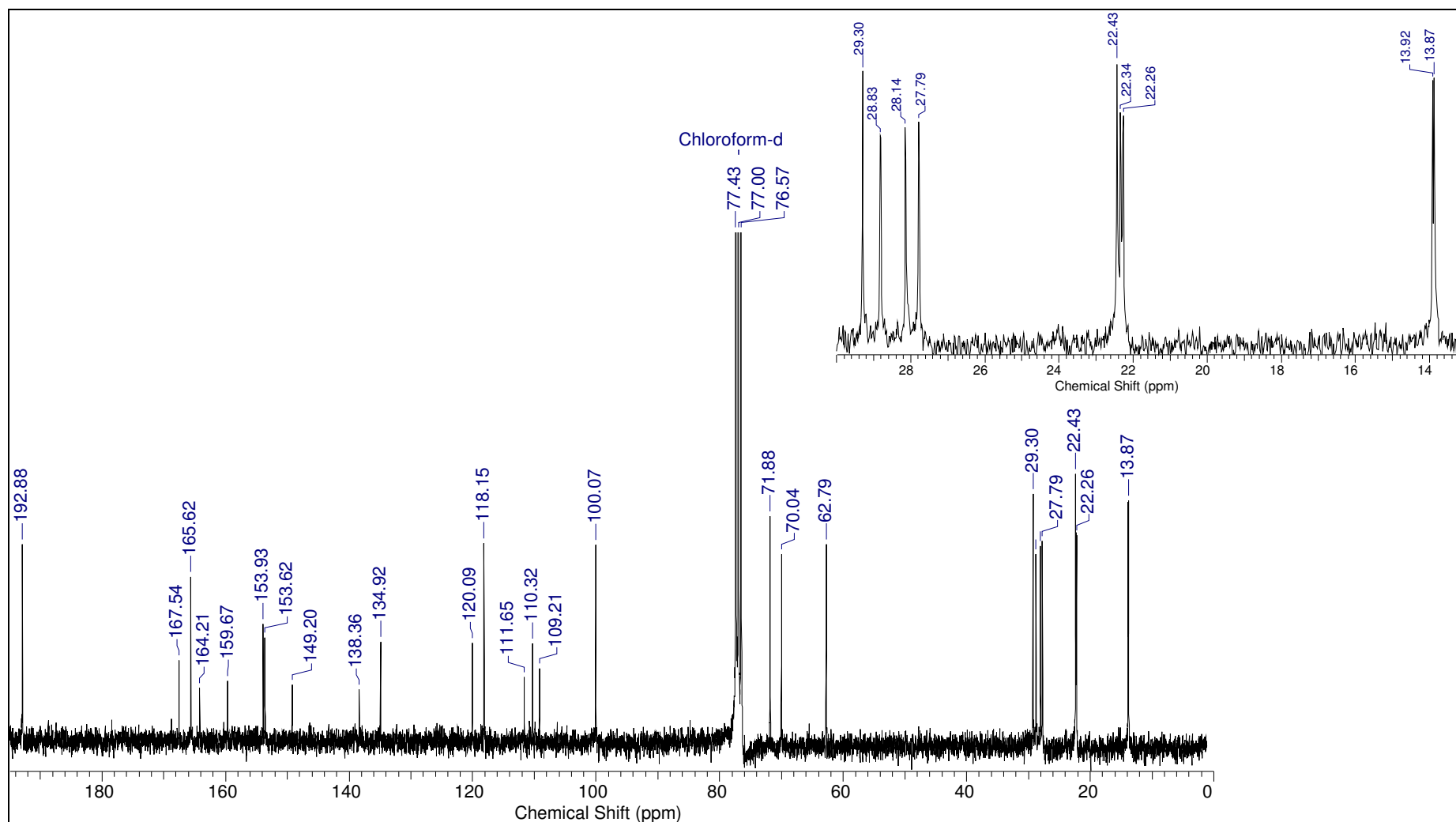
E-23. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração T-BUT-F15 - 8', 9'-di-*O-terc*-butil ácido salazínico (21) (CDCl₃)



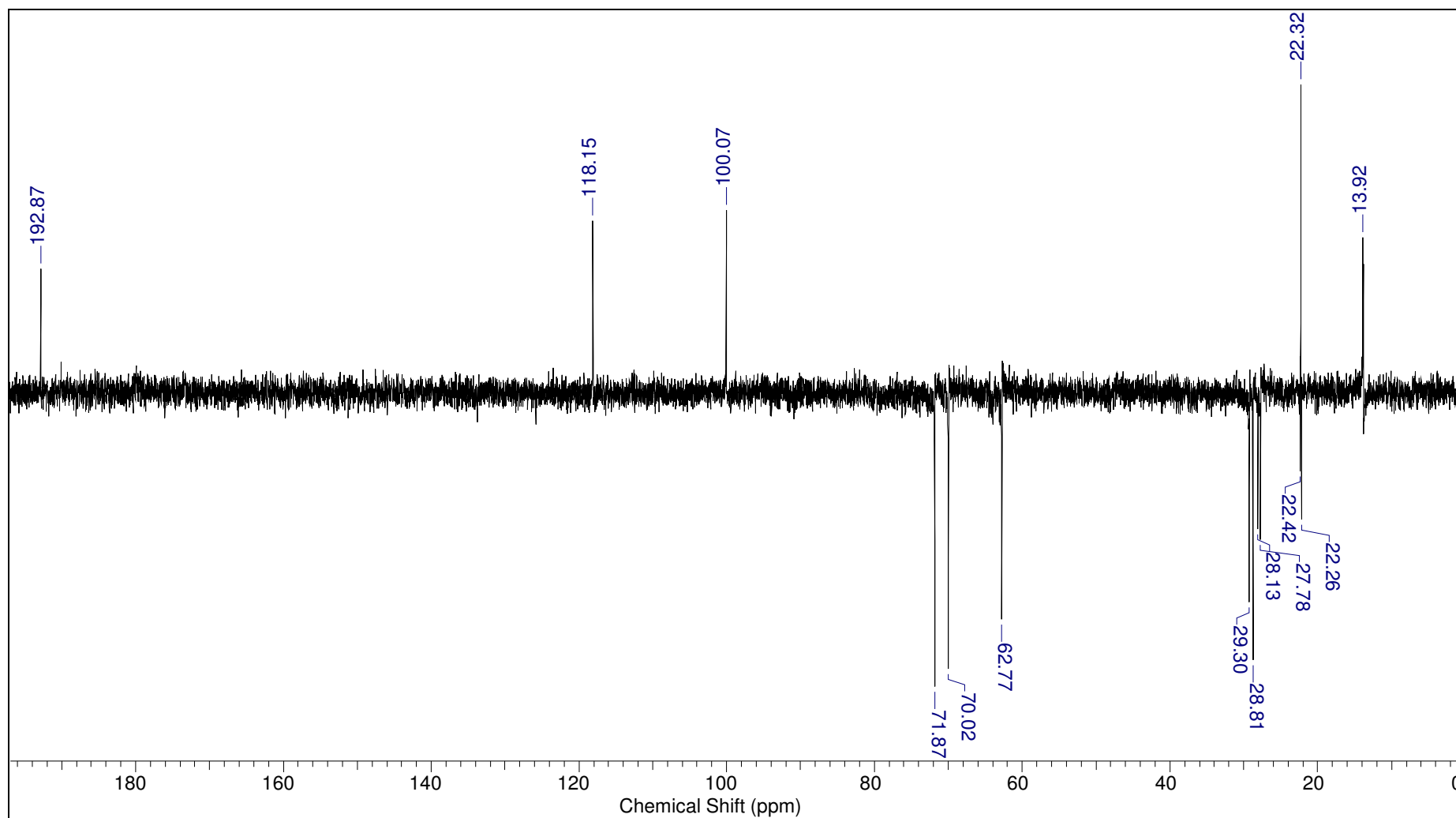
E-24. Espectro de RMN de gHMBC da fração T-BUT-F15 - 8', 9'-di-*O-terc*-butil ácido salazínico (21) (acetona- d_6)



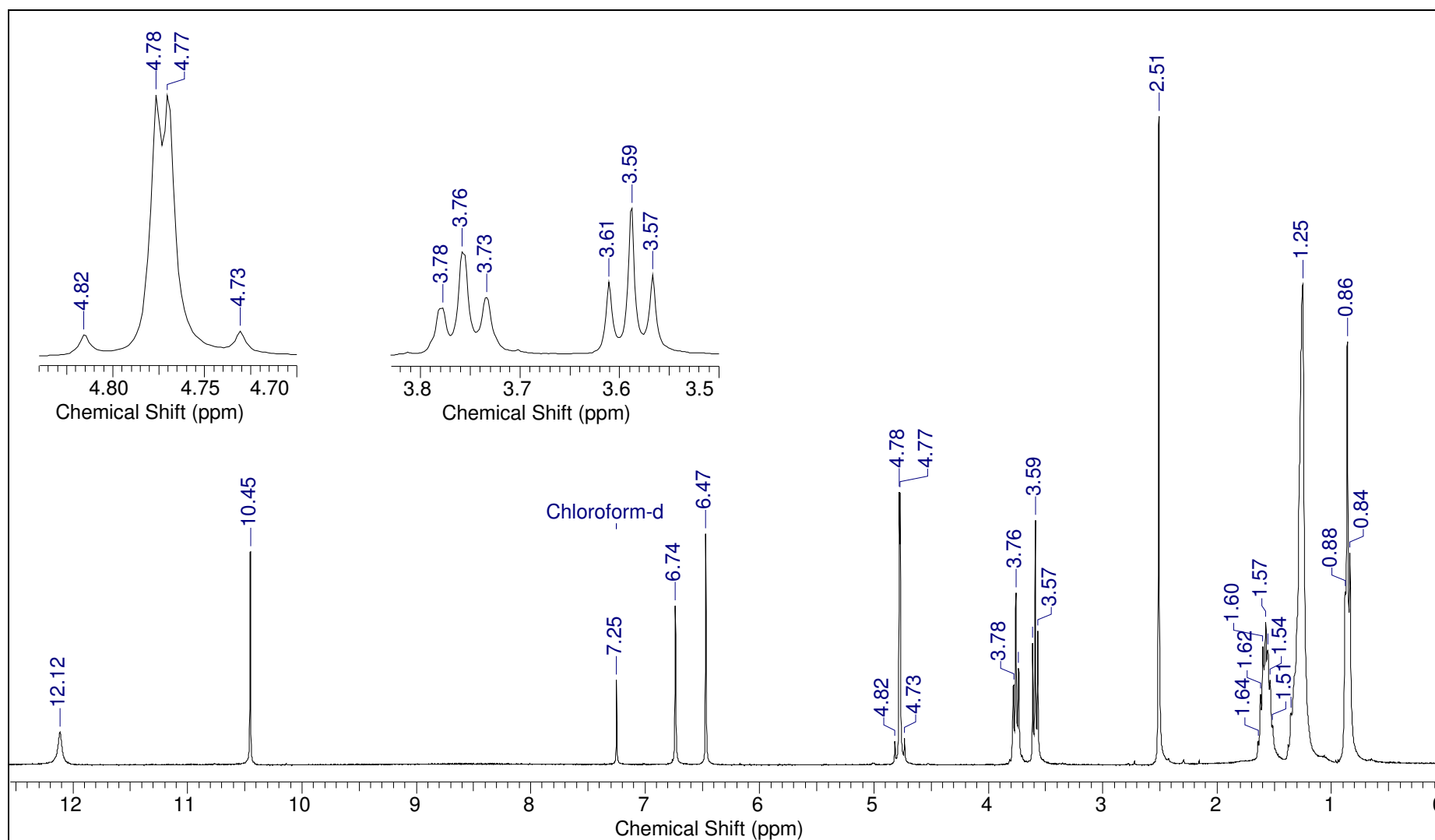
E-25. Espectro de RMN de ^1H da fração PENT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-pentil salazínico (22) (CDCl_3)



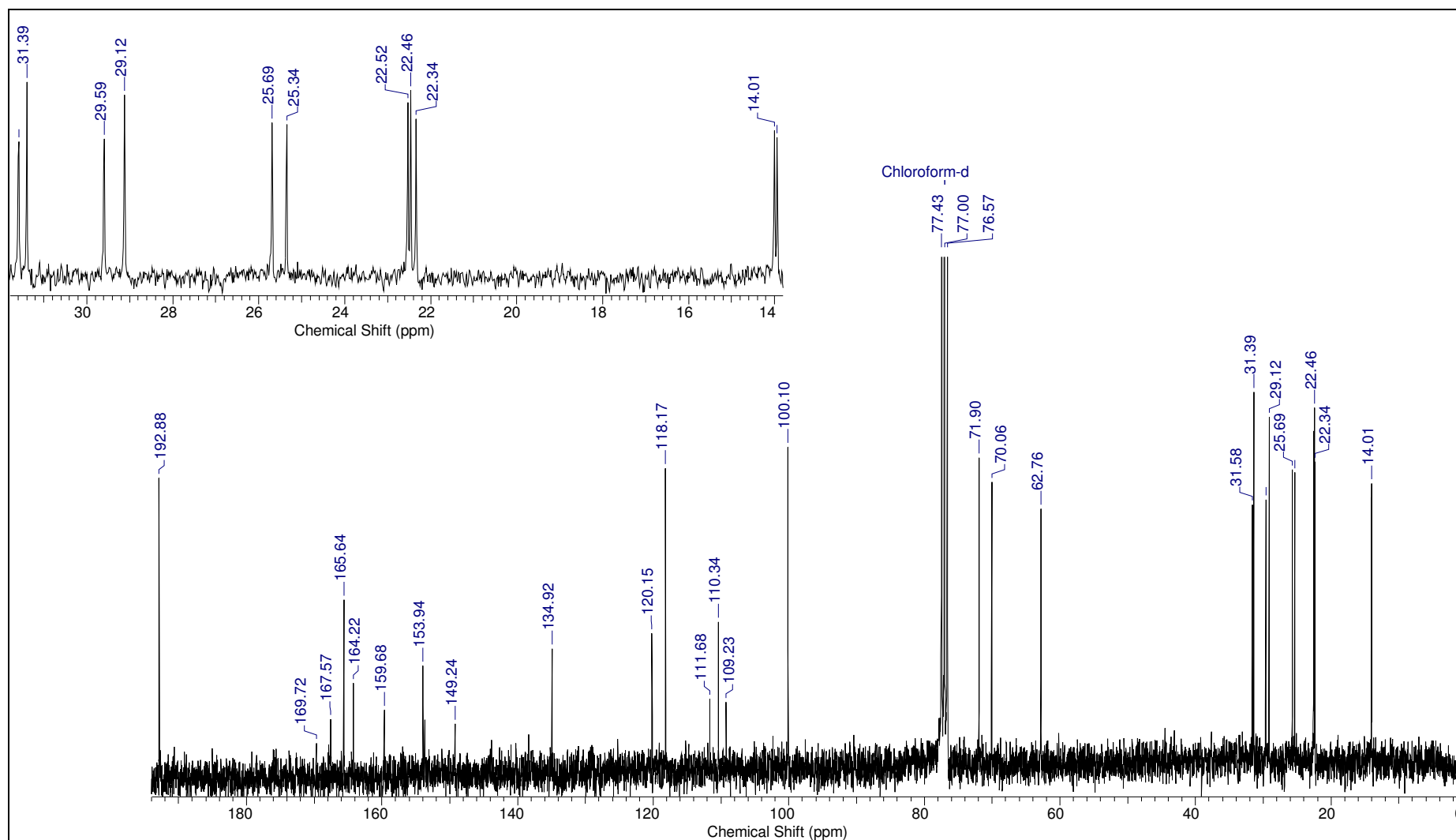
E-26. Espectro de RMN de ^{13}C da fração PENT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O*-pentil salazínico (22) (CDCl_3)



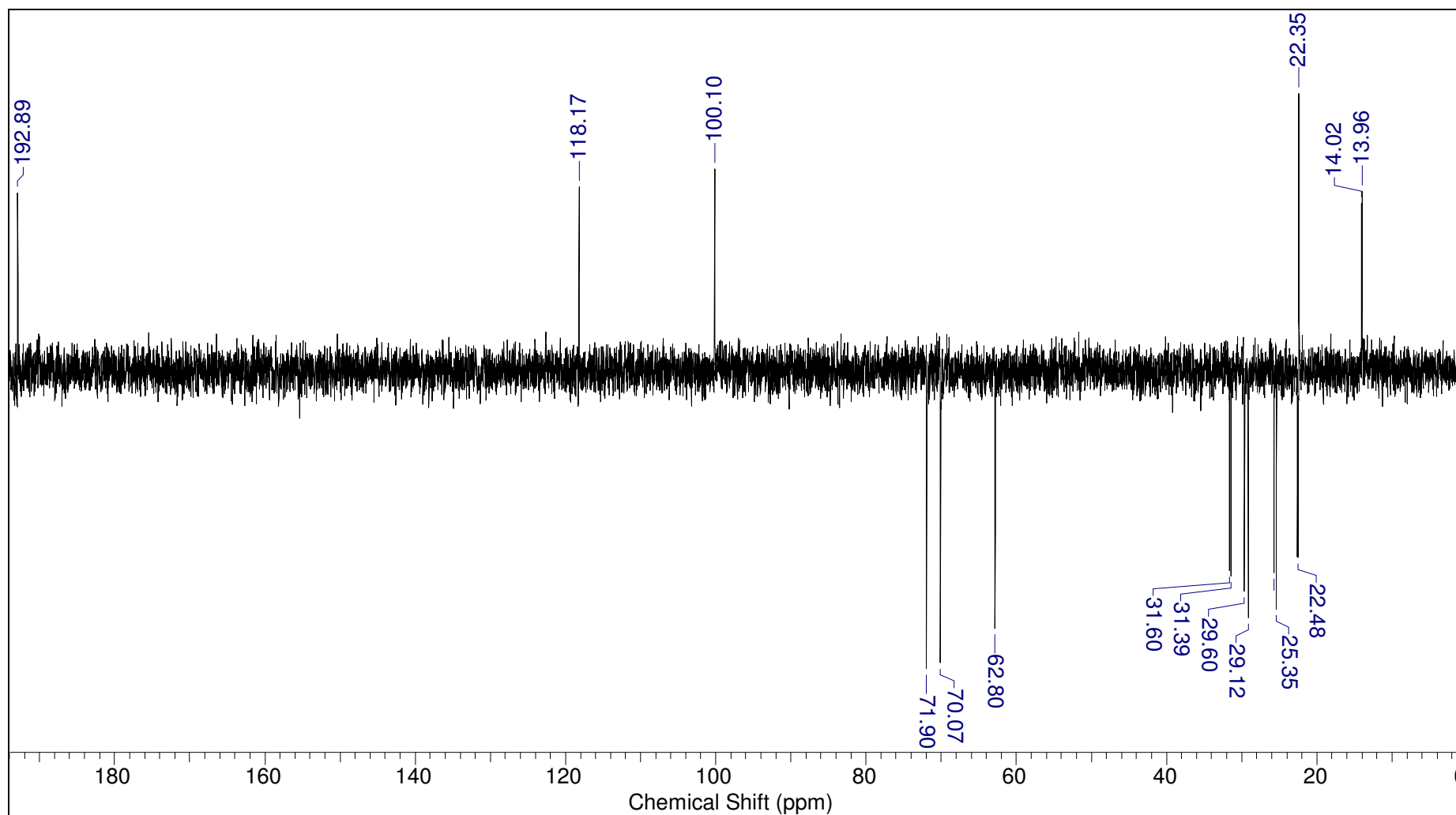
E-27. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração PENT-F2 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-pentil salazínico (22) (CDCl₃)



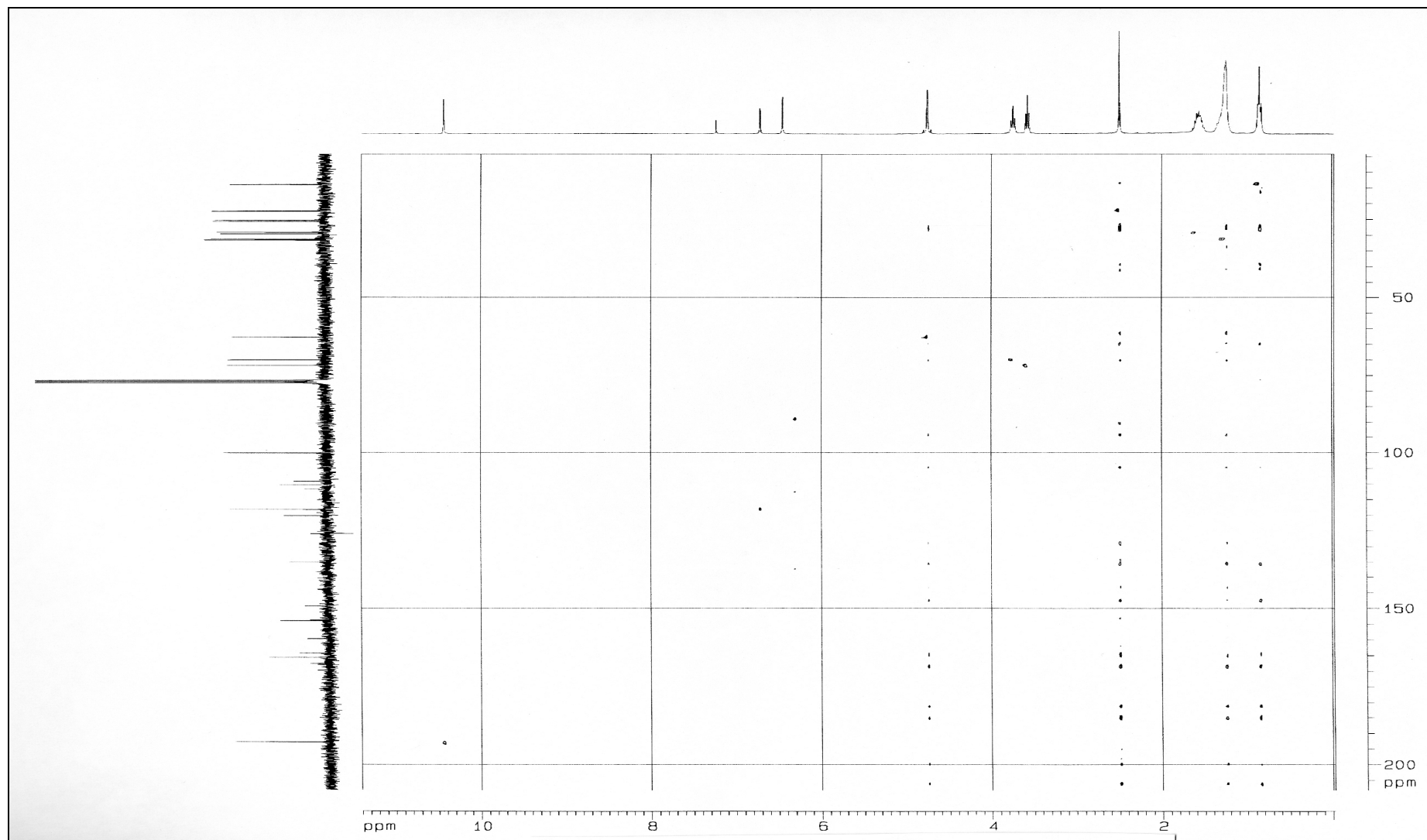
E-28. Espectro de RMN de ^1H da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (23) (CDCl_3)



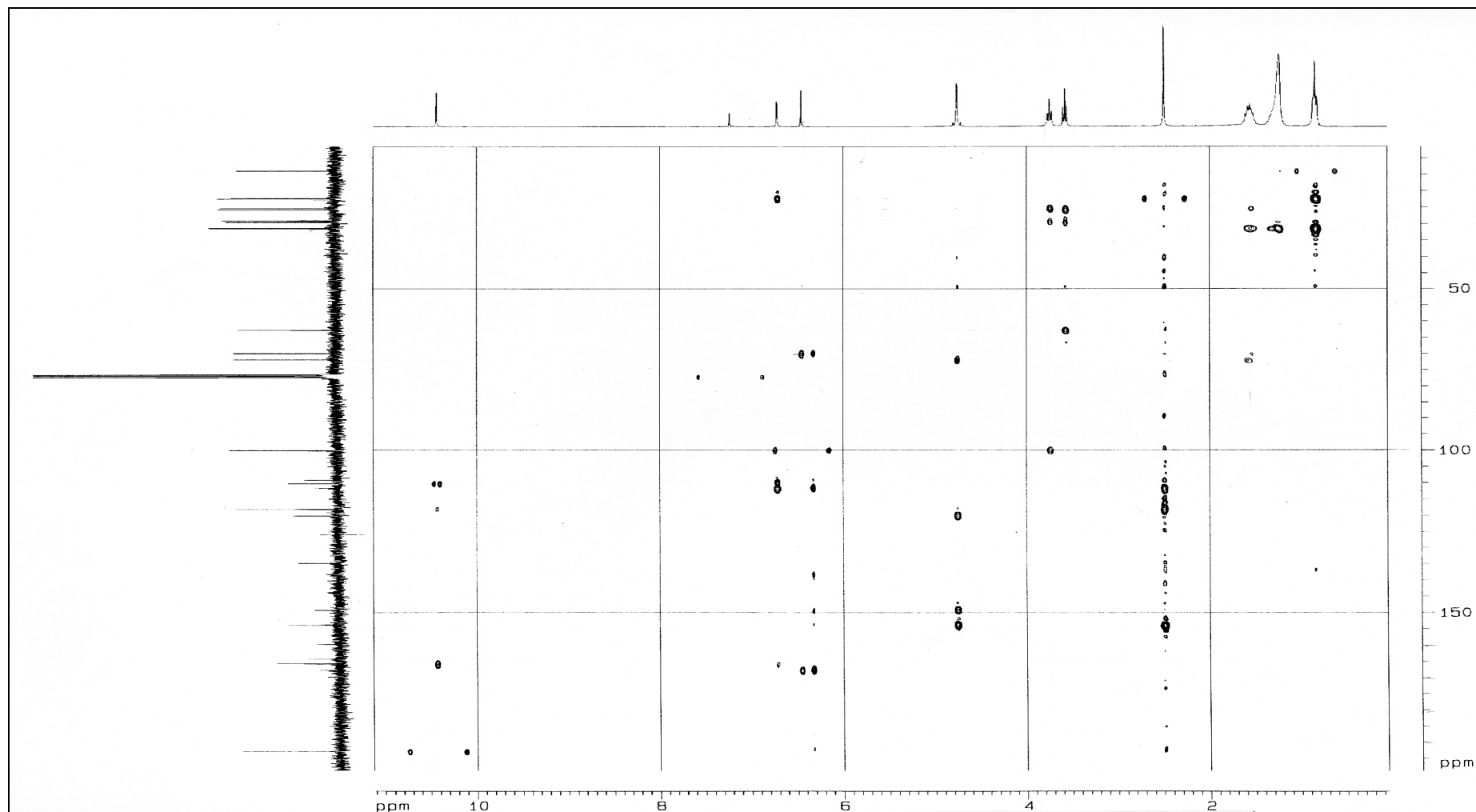
E-29. Espectro de RMN de ^{13}C da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (23) (CDCl_3)



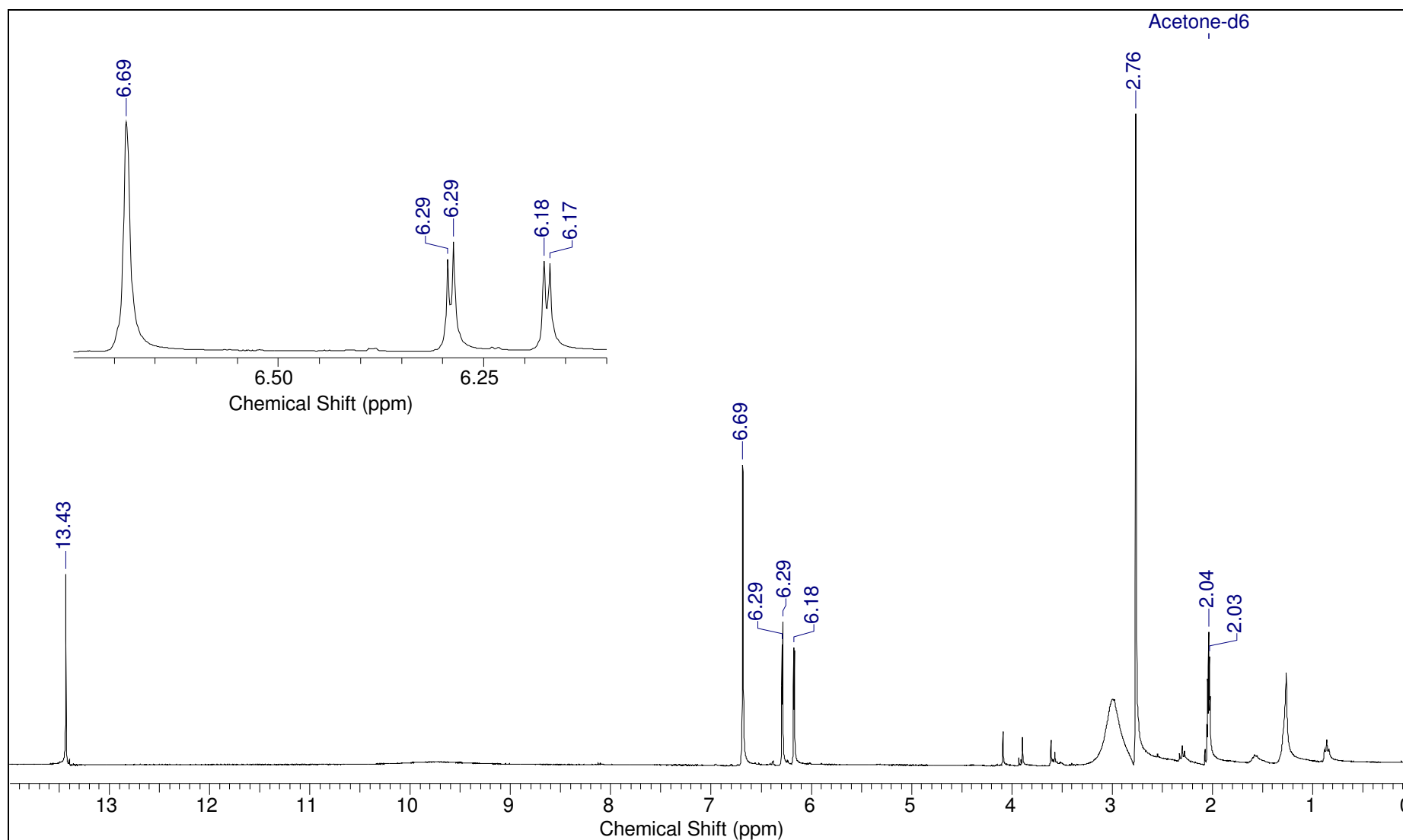
E-30. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (23) (CDCl₃)



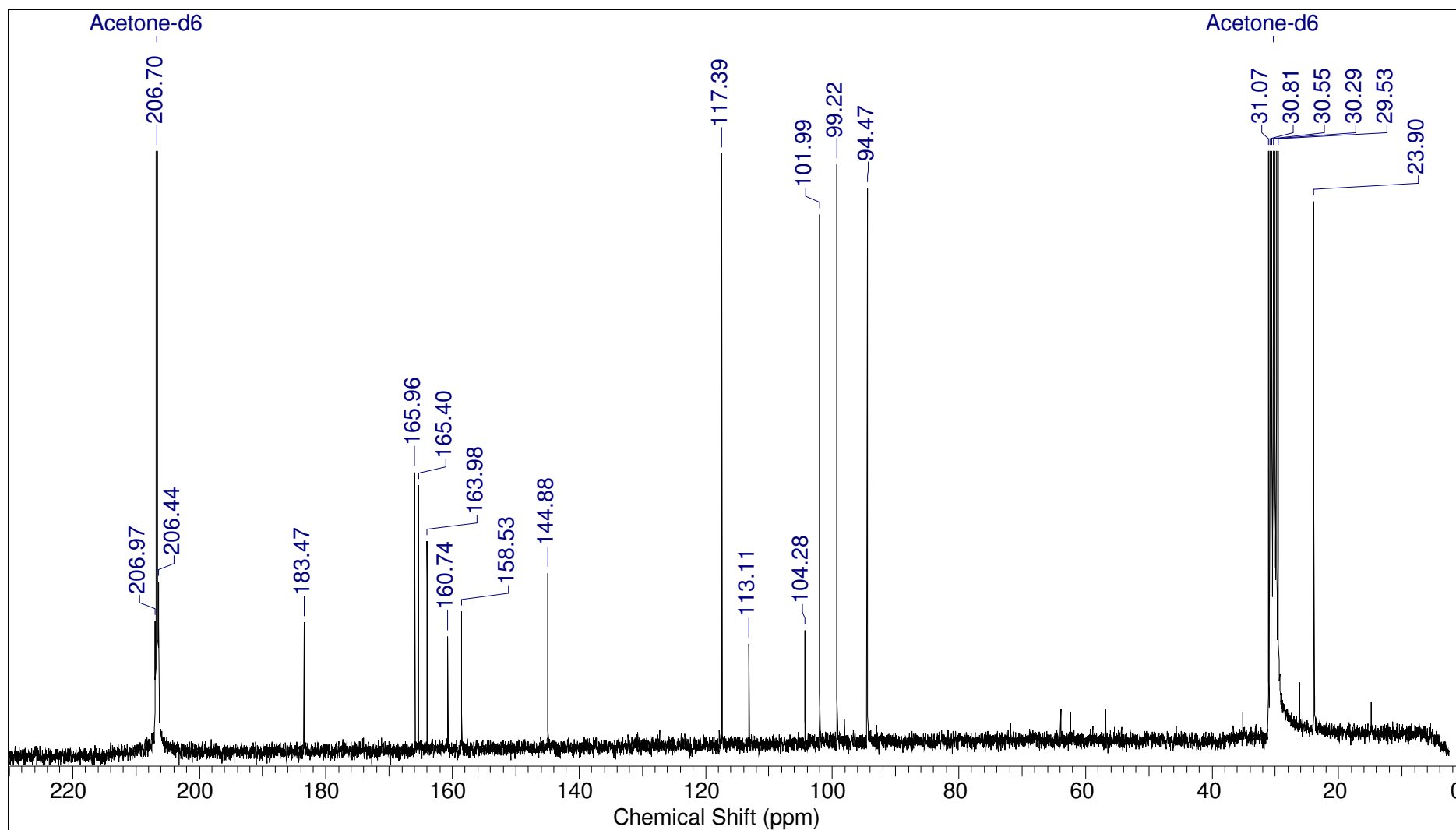
E-31. Espectro de RMN de HMQC da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (23) (CDCl₃)



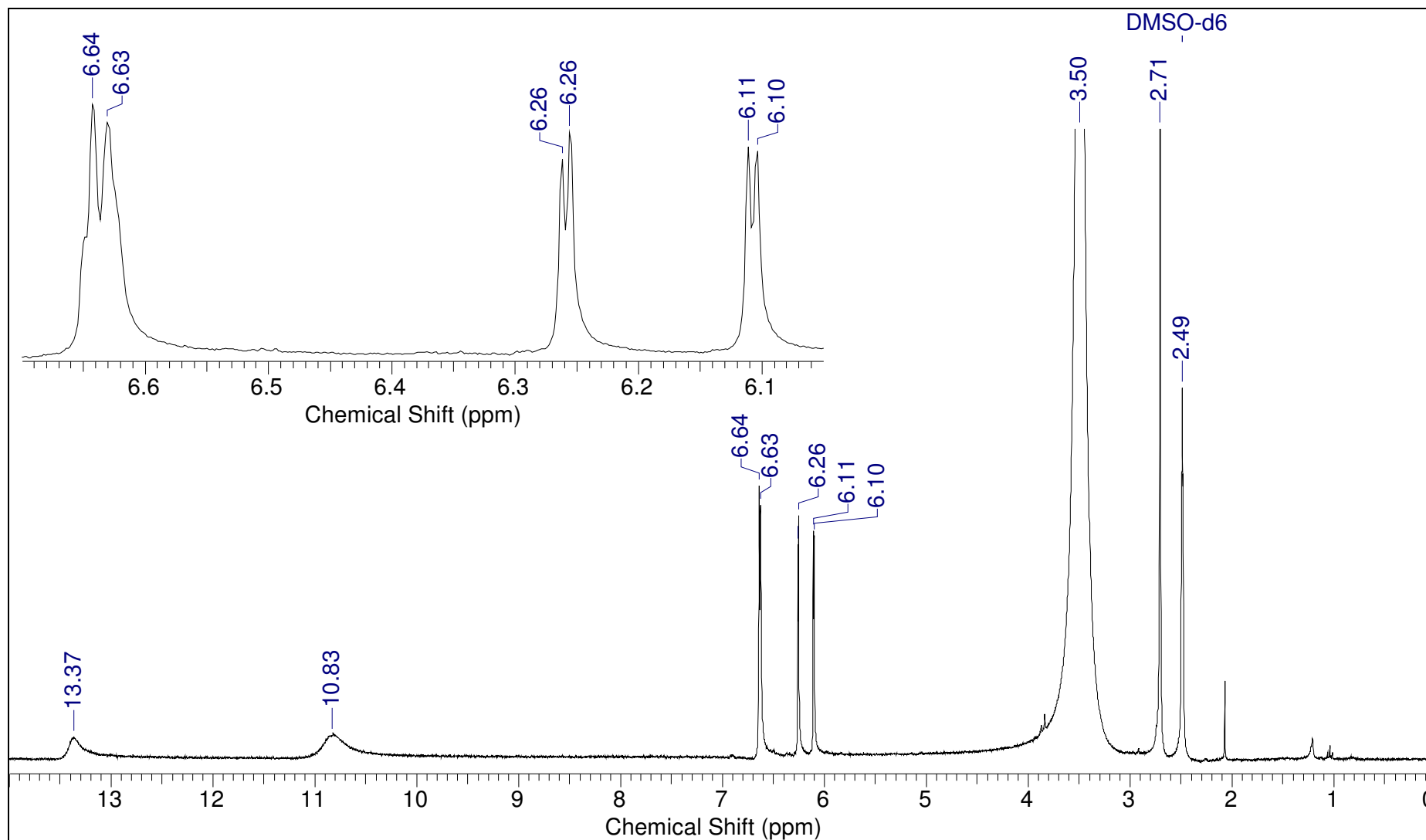
E-32. Espectro de RMN de HMBC da fração HEX-F10 - ácido 8', 9'-di-*O*-*n*-hexil salazínico (23) (CDCl₃)



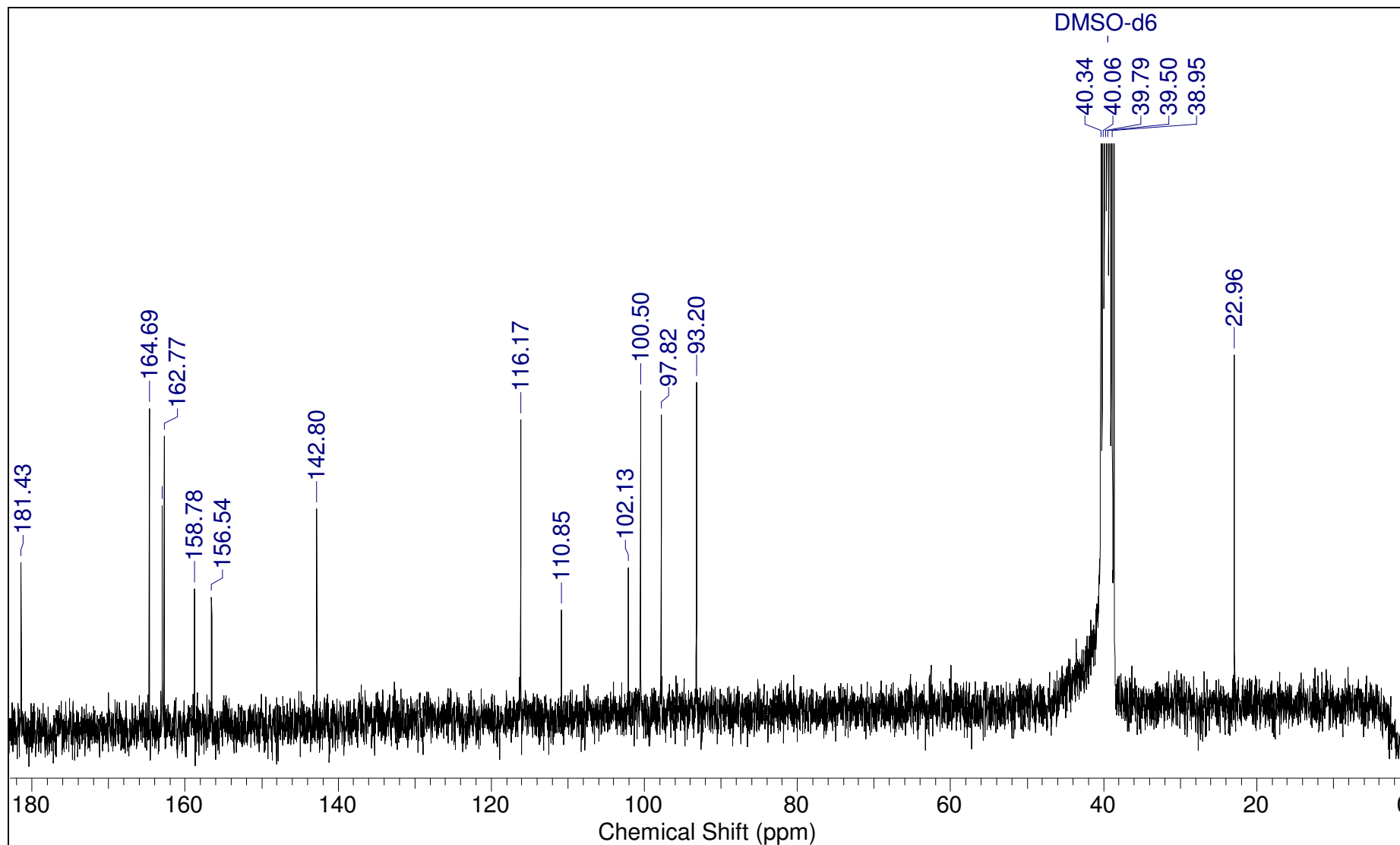
E-33. Espectro de RMN de ^1H da fração TDMLIQ - 18 - norliquexantona (24) (acetona- d_6)



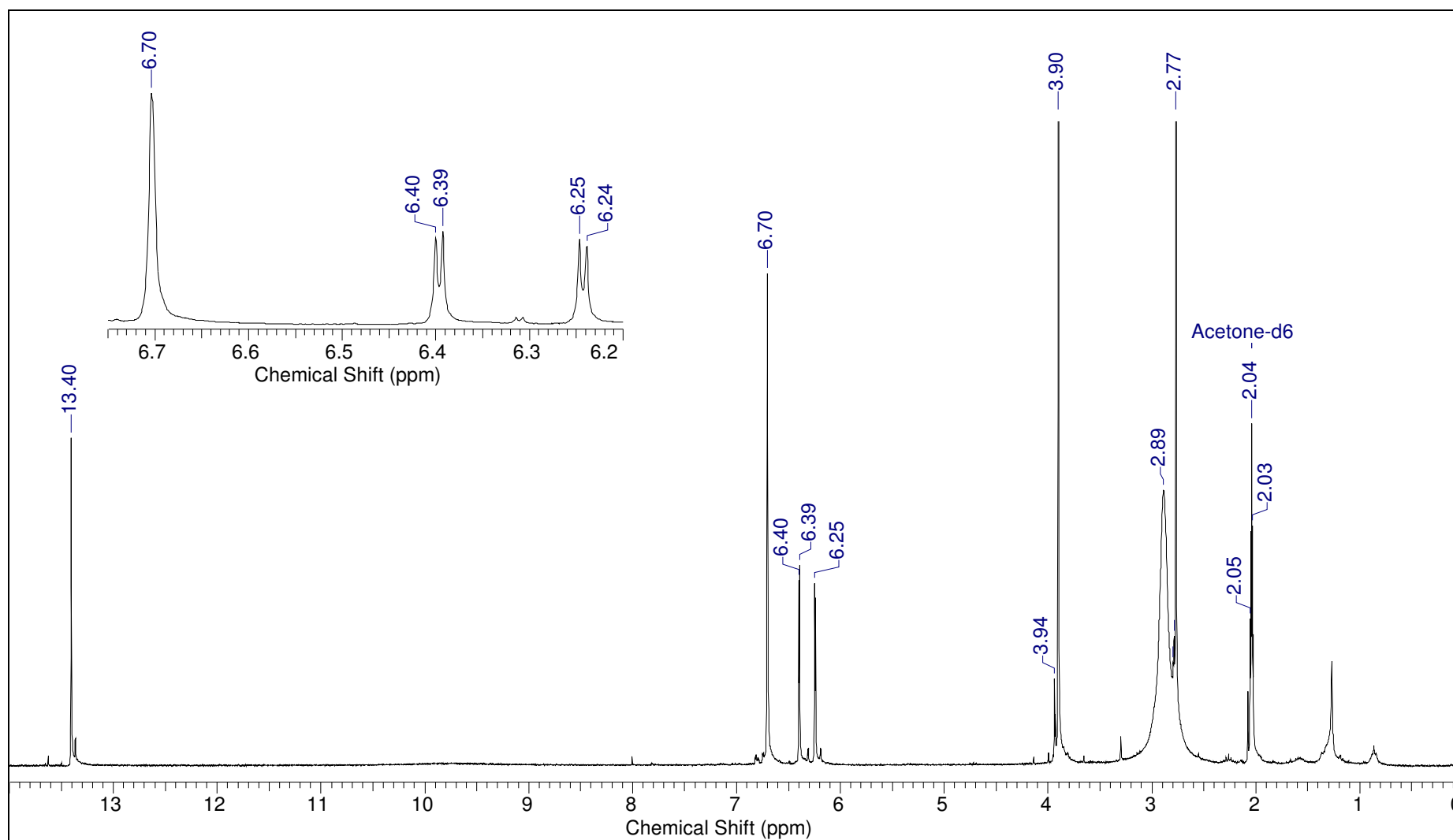
E-34. Espectro de RMN de ^{13}C da fração TDMLIQ - 18-norliquexantona (24) (acetona - d_6)



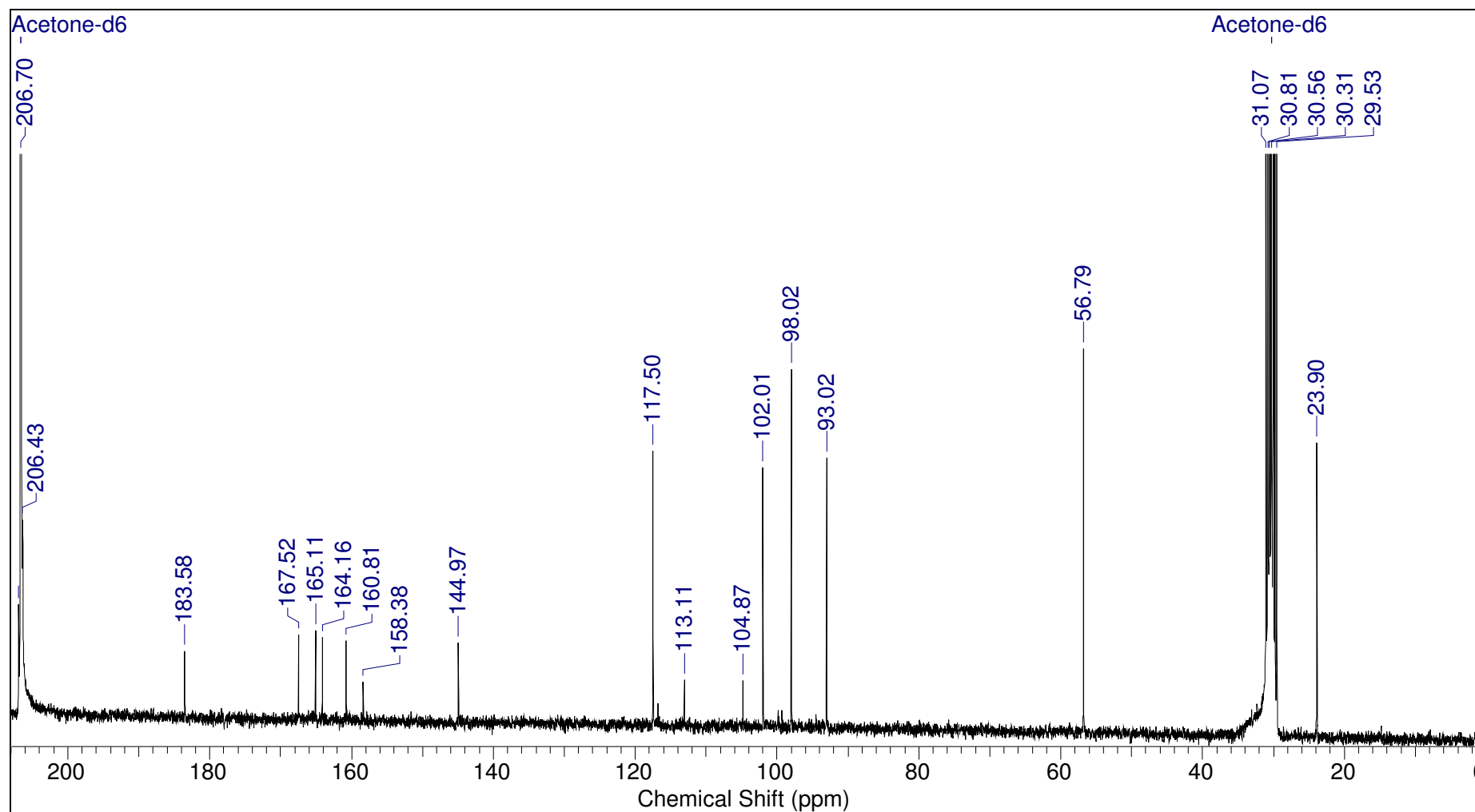
E-35. Espectro de RMN de ^1H da fração TDMLIQ - 18 -norliquexantona (24) (DMSO-d_6)



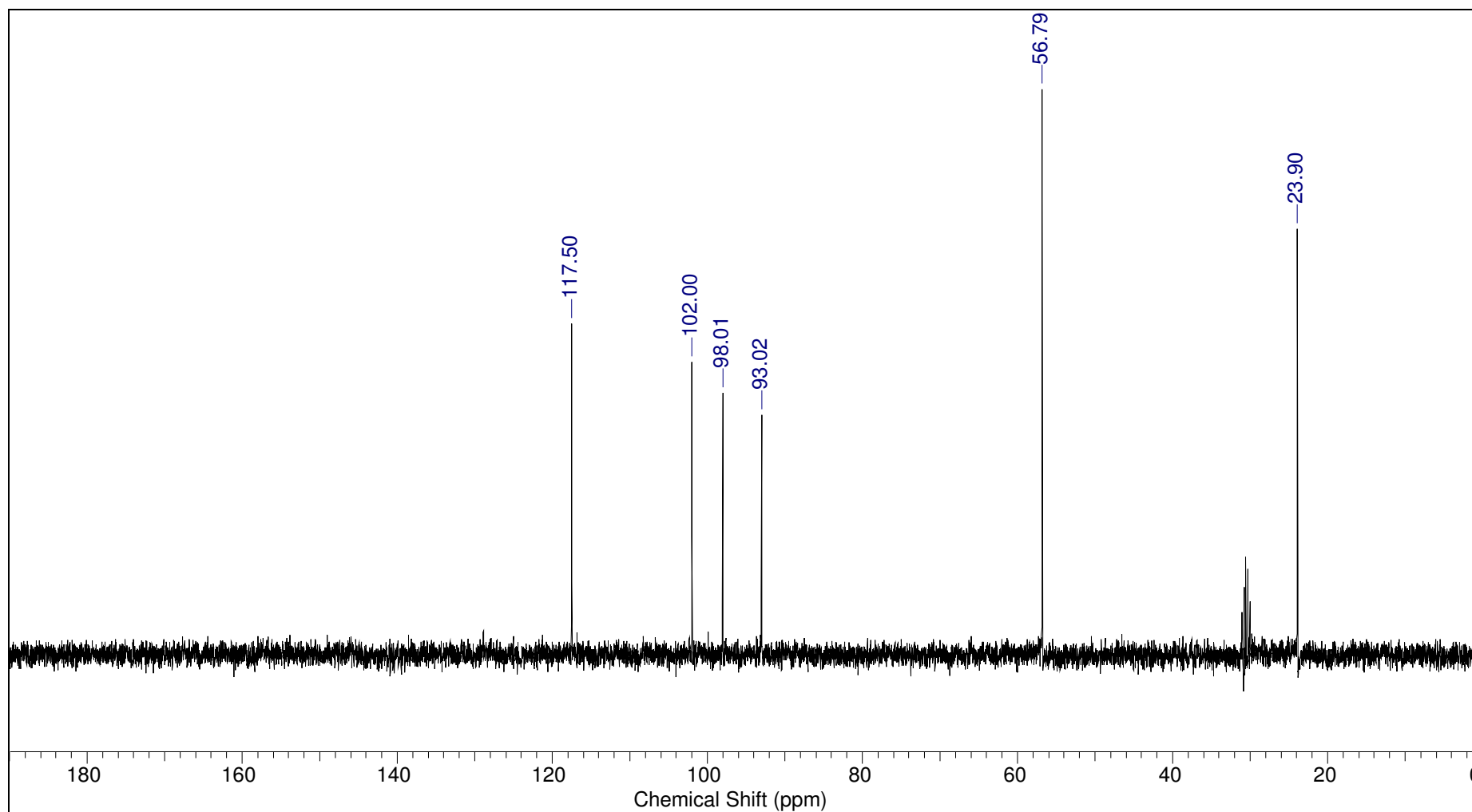
E-36. Espectro de RMN de ^{13}C da fração TDMLIQ - 18 -norliquexantona (24) (DMSO - d_6)



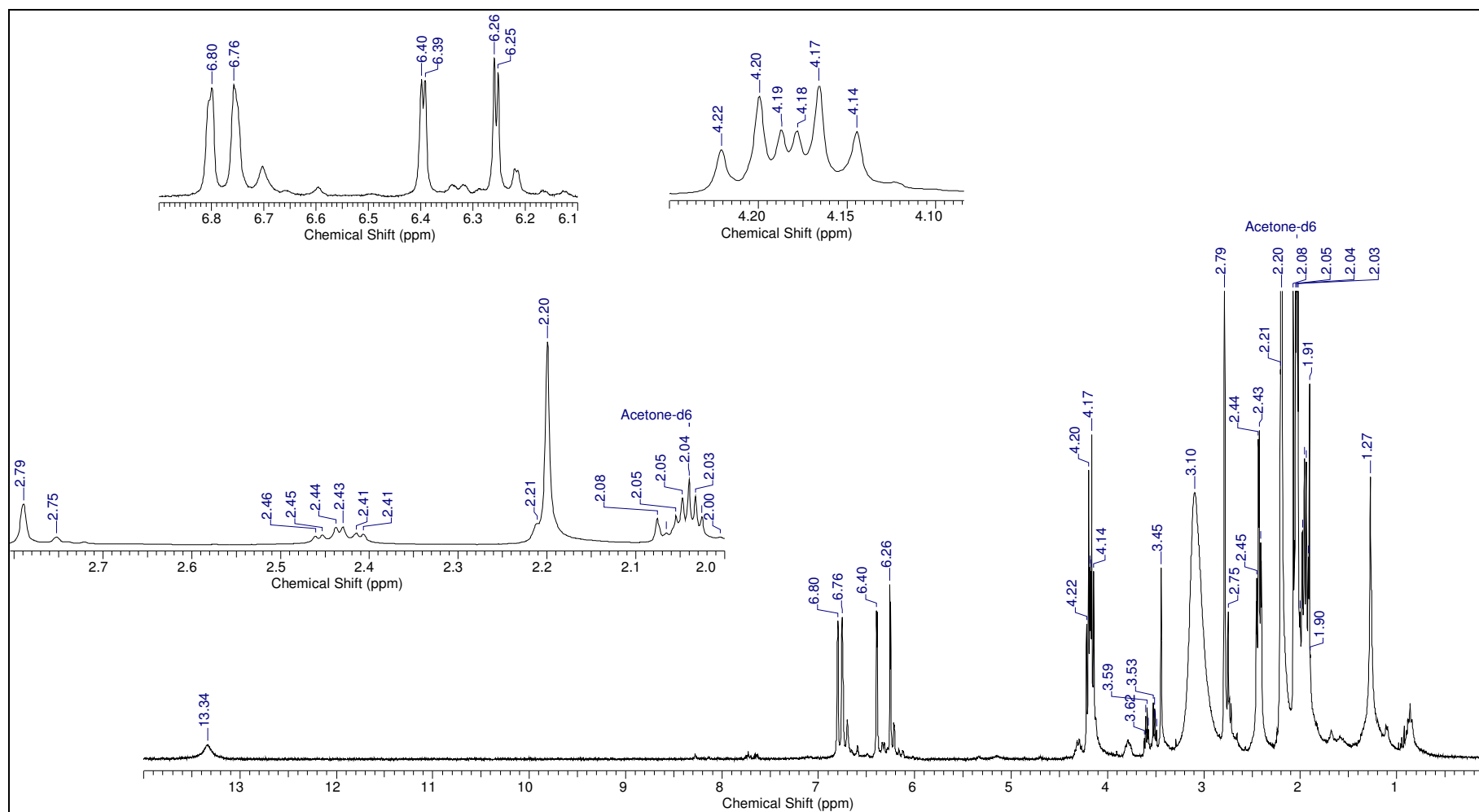
E-37. Espectro de RMN de ^1H da fração DMLIQDEG-4 -3-*O*-metilnorliquexantona (25) (acetona- d_6)



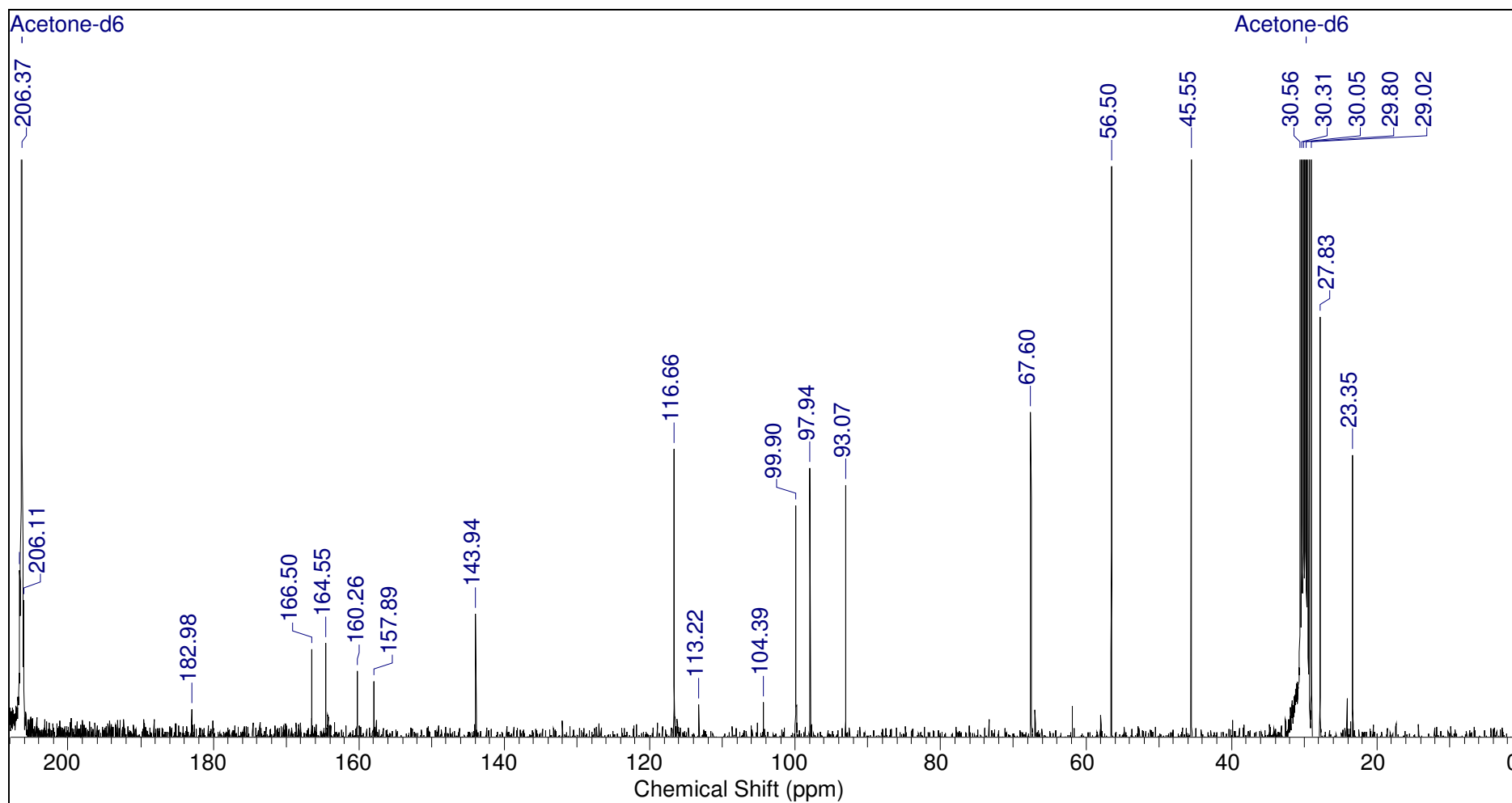
E-38. Espectro de RMN de ^{13}C da fração DMLIQDEG-4 - 3-O-methylnorliquexantona (25) (acetona- d_6)



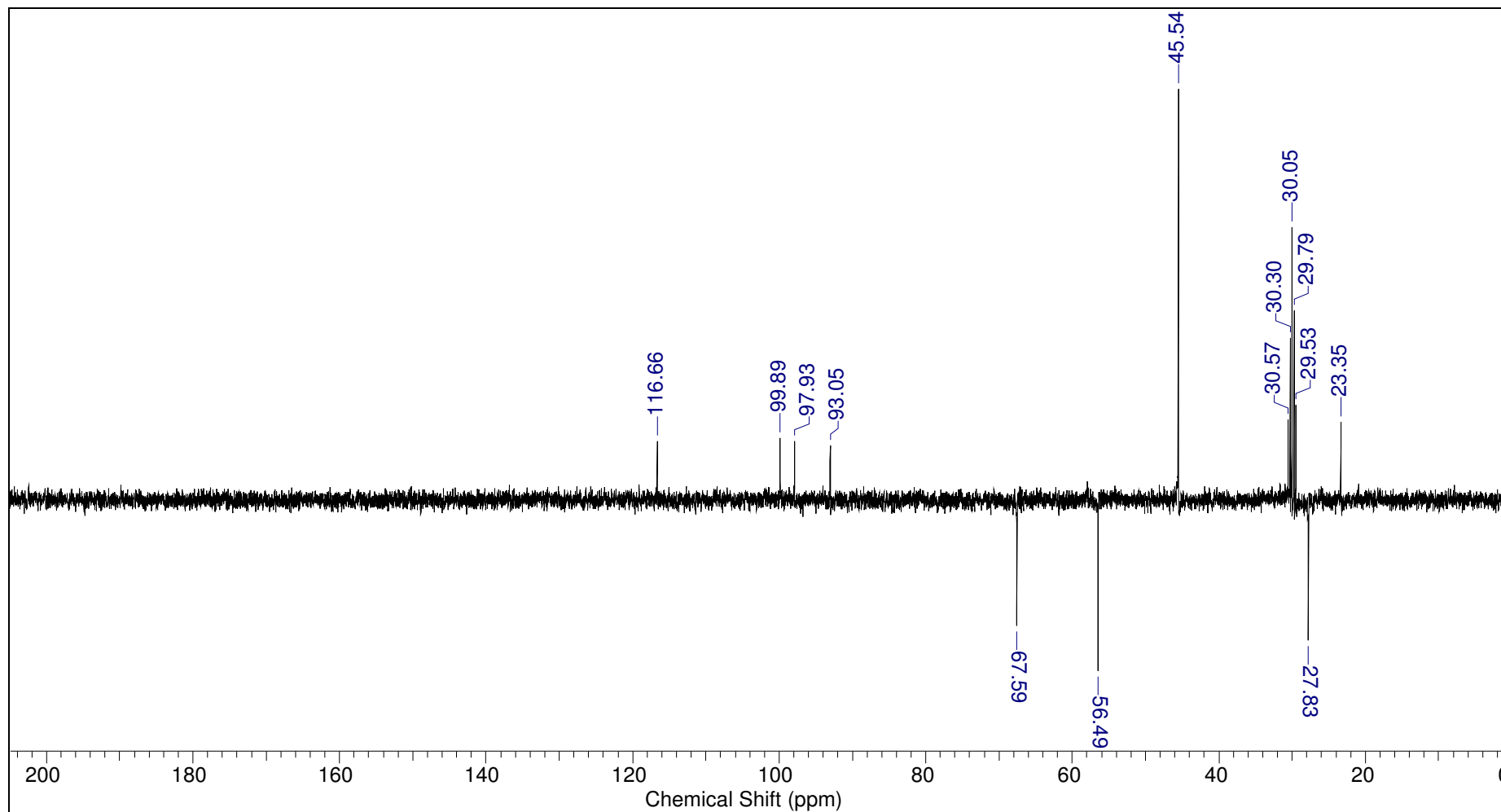
E-39. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração DMLIQDEG-4 - 3-*O*-metilnorliquesantona (25) (acetona- d_6)



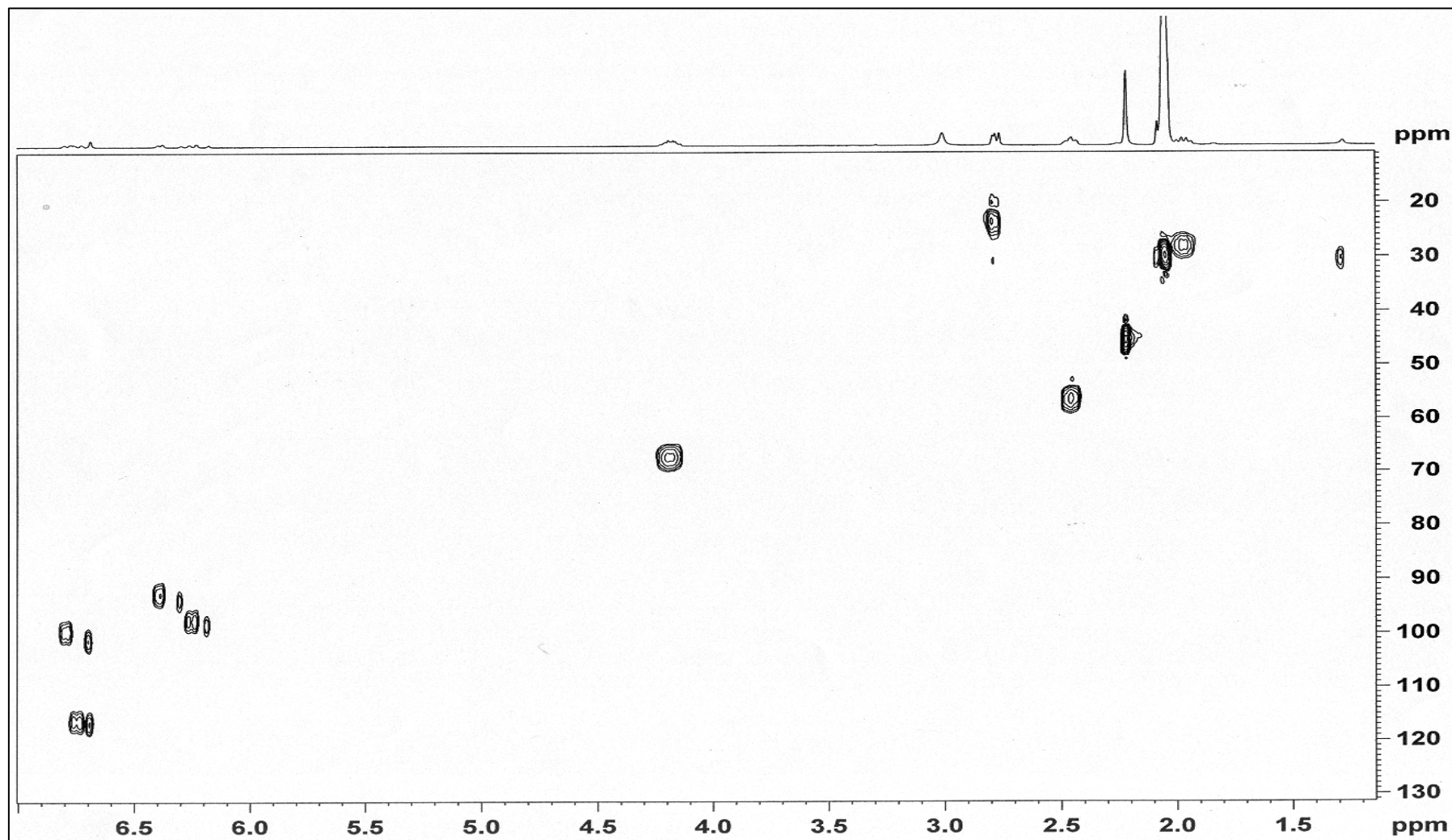
E-40. Espectro de RMN de ^1H da fração N-NOR - 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (acetona-d₆)



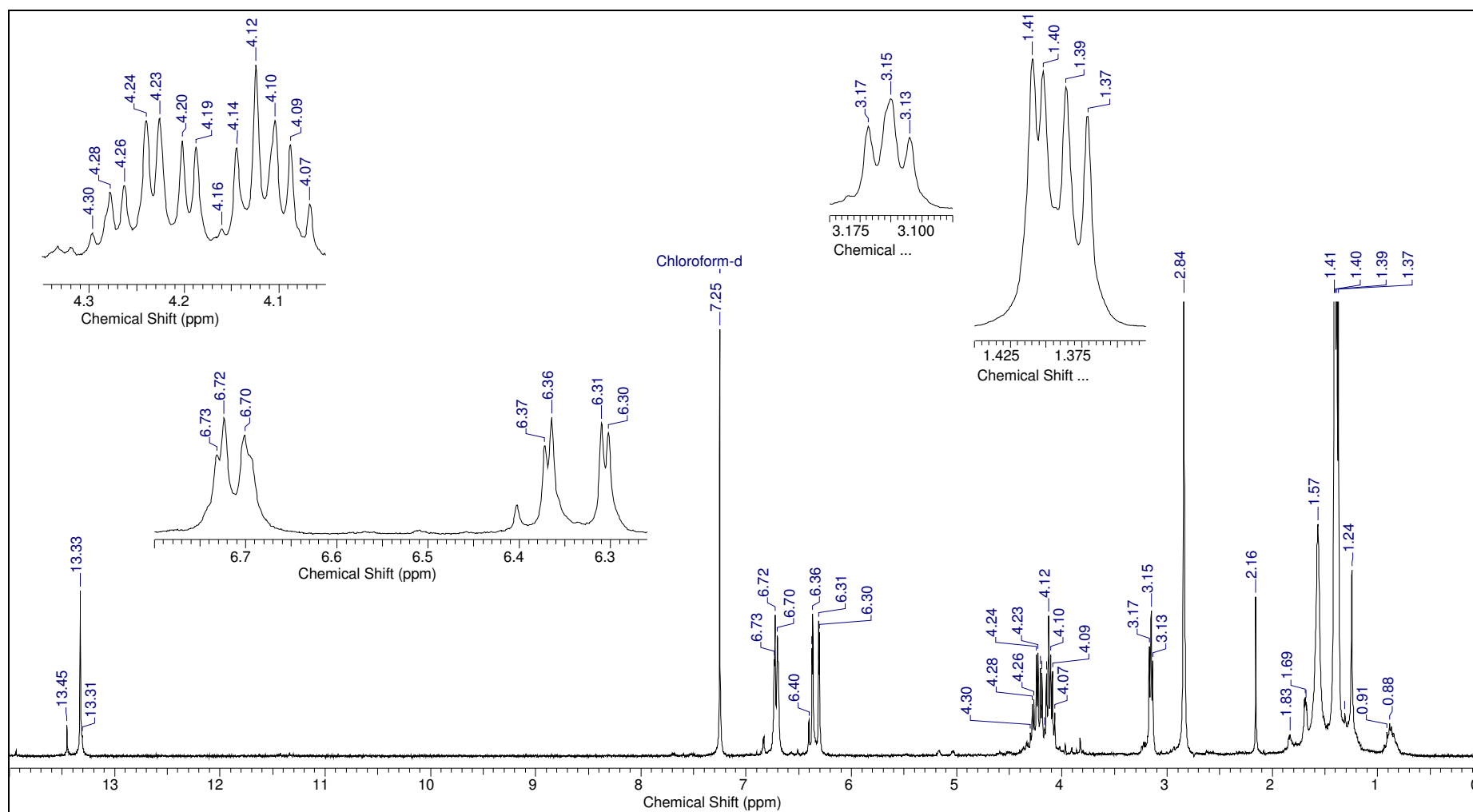
E-41. Espectro de RMN de ^{13}C da fração N-NOR - 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (acetona- d_6)



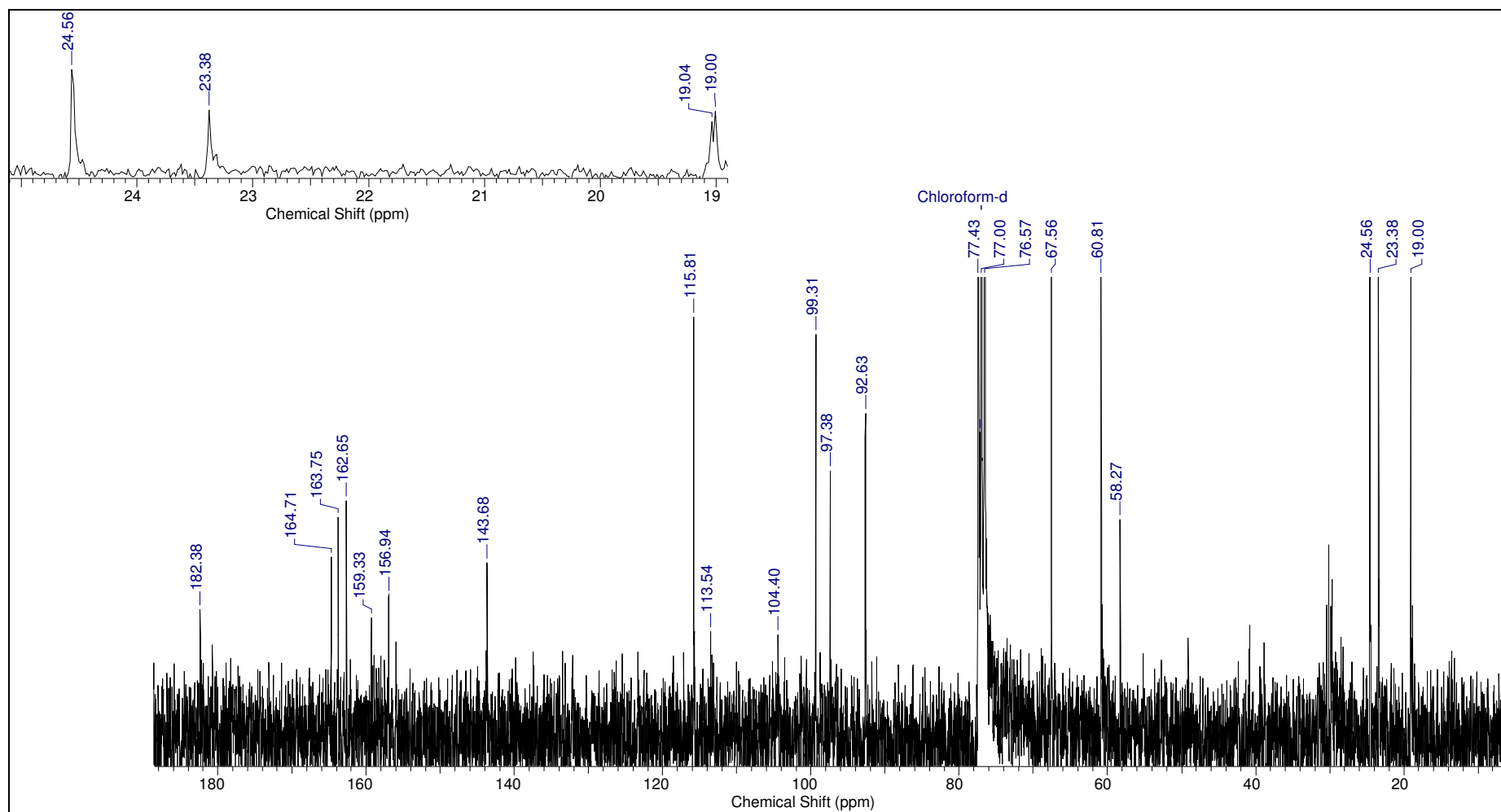
E-42. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração N-NOR - 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (acetona-d₆)



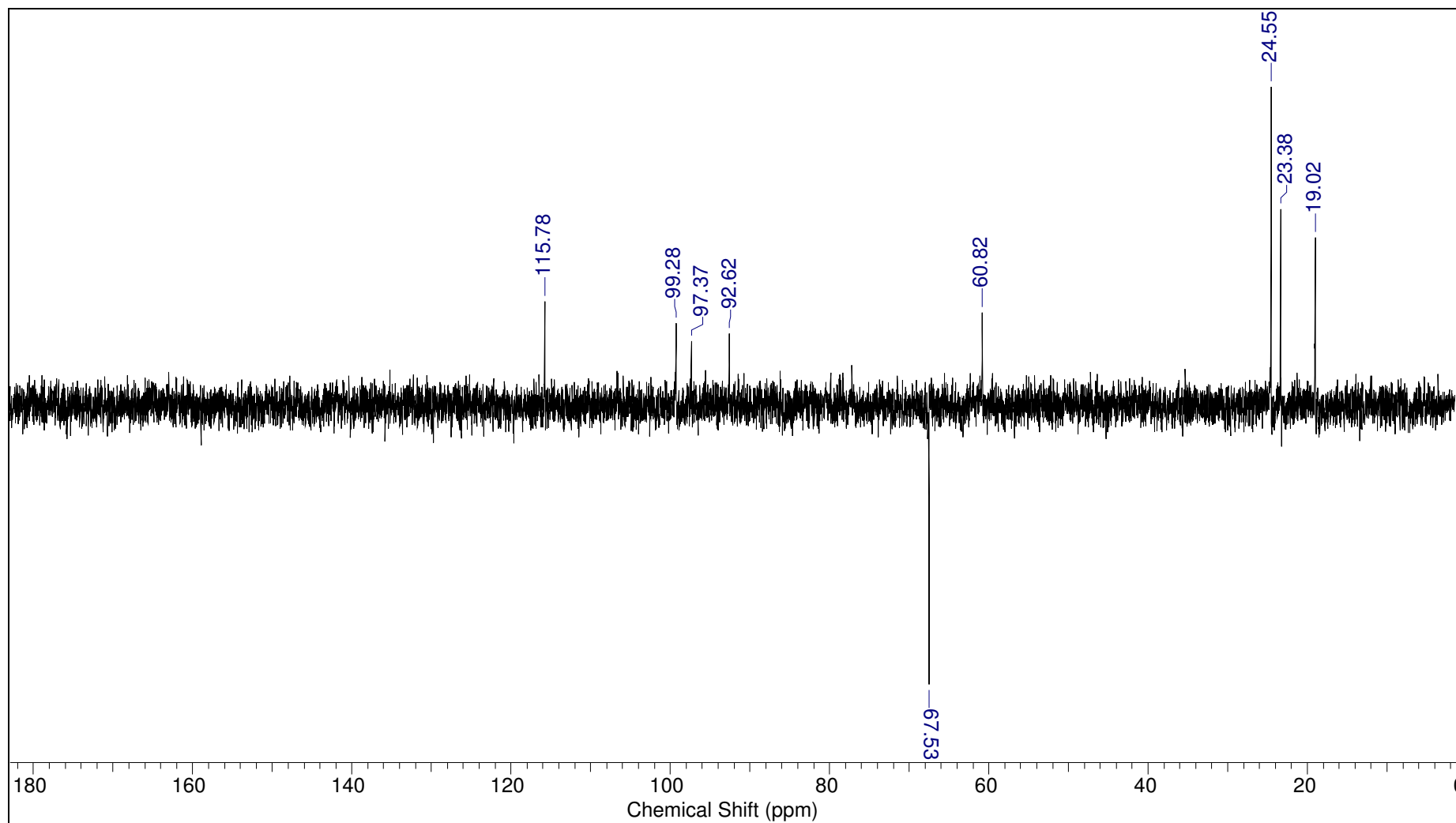
E-43. Espectro de RMN de gHSQC da fração N-NOR - 3,6-bis[3-(dimetilamino)propóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (30) (acetona-d₆)



E-44. Espectro de RMN de ^1H da fração EPX-2B-8 - 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (CDCl_3)

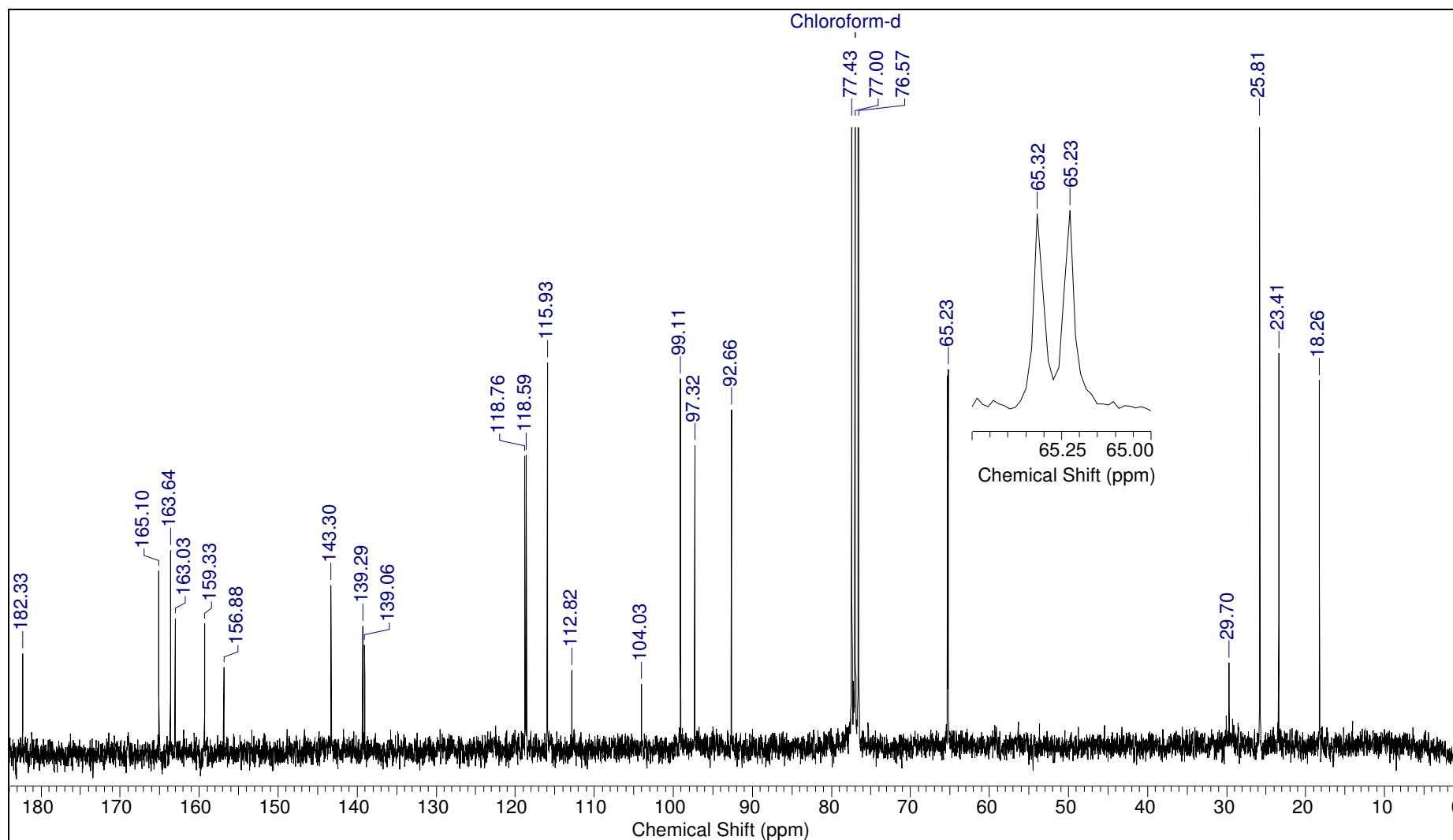


E-45. Espectro de RMN de ^{13}C da fração EPX-2B-8 - 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (CDCl_3)

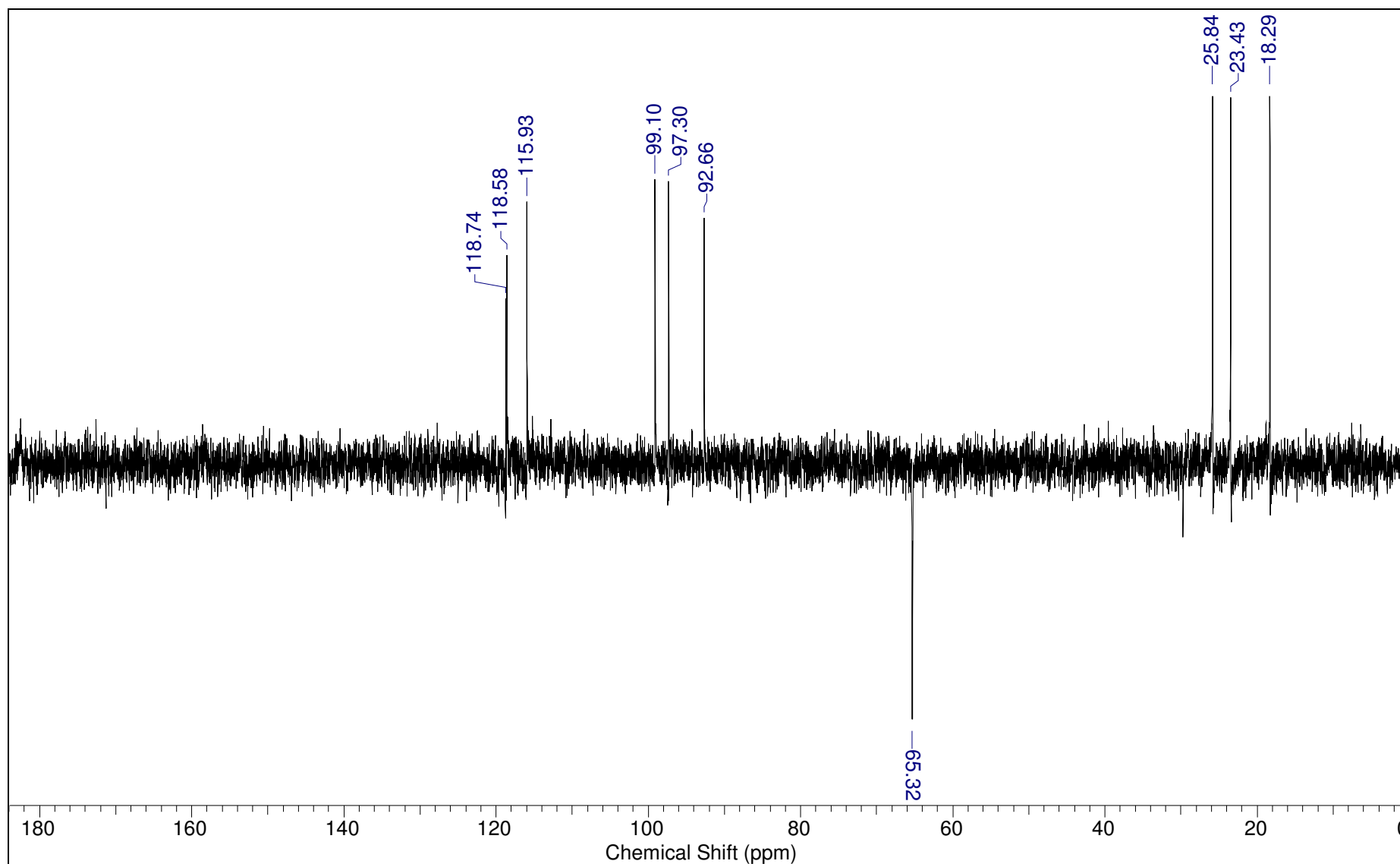


E-46. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração EPX-2B-8 - 3,6-bis[(3,3-dimetiloxiran-2-il)metóxi]-1-hidróxi-8-metil-9H-xanten-9-ona (34) (CDCl₃)





E-48. Espectro de RMN de ^{13}C da fração P1-NORLIQ-3- 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (31) (CDCl_3)



E-49. Espectro de RMN de DEPT-135 da fração P1-NORLIQ-3 - 3,6-di-*O*-prenil-norliquexantona (31) (CDCl₃).

