

Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Química e Biotecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia

**Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas**

Laura Cristiane de Souza

Laura Cristiane de Souza

**Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutora em Química

Orientador: Prof. Dr. Dennis de Oliveira Imbroisi

Maceió – AL
Dezembro de 2007

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

S729s Souza, Laura Cristiane de.
Síntese e investigação de atividades biológicas de diidro-piran-2,4-dionas /
Laura Cristiane de Souza. – Maceió, 2007.
xvii, 176 f. : il. tabs., graf.

Orientador: Dennis de Oliveira Imbroisi.
Tese (doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de
Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2007.

Bibliografia: f. 163-176.

1. Síntese orgânica. 2. Atividades biológicas – Investigação. 3. DPPH.
4. Diidro-piran-2,4-dionas. 5. Moluscicida. 6. Antiúlceras. 7. Acetilcolinesterase.
I. Título.

CDU: 547.057



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas
Tel. 55 82 3214-1384 Fax. 55 82 3214-1389
www.cpgqb@qui.ufal.br

Campus A. C. Simões
Tabuleiro dos Martins
57072-970
Maceió-AL
Brasil

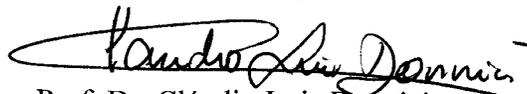
Membros da Comissão Julgadora de Defesa de Tese da doutoranda Laura Cristiane de Souza, intitulada: **“Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de Diidro-piran-2,4-dionas”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 18 de dezembro de 2007, às 15h no Espaço Cultural da UFAL.

COMISSÃO JULGADORA


Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
Presidente ad-hoc – PPGQB/IQB/UFAL.


Prof.ª Dr.ª Adriana Santos Ribeiro
Arapiraca/UFAL


Prof.ª Dr.ª Fabiane Caxico de Abreu Galdino
PPGQB/IQB/UFAL


Prof. Dr. Cláudio Luis Donnici
DQ/UFMG


Prof. Dr. Marcelo Navarro
DQF/UFPE

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Dennis de Oliveira Imbroisi pela orientação e pela oportunidade de trabalhar no LaSO.

À Profa. Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart pela atenção, incentivo, apoio e confiança.

Ao Prof. Dr. Domingos Tabajara de Oliveira Martins, da Universidade Federal do Mato Grosso, pela realização dos ensaios para verificação da atividade antiúlcera.

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, da Universidade Federal de Alagoas, pela realização dos ensaios para verificação da atividade moluscicida.

Ao Prof. Dr. Eudes da Silva Velozo e ao Prof. Dr. Silvio do Desterro Cunha, da Universidade Federal da Bahia, pela obtenção dos espectros de RMN em 300 e 75 MHz.

Ao Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Jr, da Universidade Federal do Mato Grosso, pela obtenção dos espectros de RMN em 300 e 75 MHz.

Ao técnico Wilson Rodrigues de Oliveira, da Universidade de Brasília, pelos espectros na região do infravermelho.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto de Simone do Laboratório de Cristalografia da Universidade Federal de Alagoas, pelos estudos cristalográficos.

Aos Professores Dra. Fabiane Caxico Abreu, Dr. João Xavier de Araújo Jr., Dra. Maria Cristina Caño de Andrade e Dra Marília Oliveira Fonseca Goulart pelas valiosas sugestões dadas no exame de qualificação.

Aos Professores Dra. Adriana Ribeiro dos Santos, Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, Dr. Cláudio Luis Donnici, Dra. Fabiane Caxico Abreu e Dr. Marcelo Navarro e pelas valiosas sugestões dadas na defesa desta tese.

À coordenação, professores e funcionários do PPGQB, em especial ao Prof. Dr. Josealdo Tonholo e Profa. Dra. Simoni Meneghetti por todo apoio e compreensão.

À Profa. Dra. Teresa Trevisan pela disposição em ajudar sempre.

Aos alunos de iniciação científica que trabalharam ao meu lado no LaSO, Stella, Gabriela, Poliana e Wilson, não só pela colaboração na realização dos experimentos, mas também por terem, durante seu aprendizado, mesmo sem perceber, me ensinado tanto e contribuído para a formação da profissional que sou hoje.

Ao Dr. Valber Pedrosa pela disponibilidade em conseguir as referências bibliográficas mais raras.

À UNEAL, em especial à Profa. Cristina Maria Bezerra de Oliveira, e aos professores do Departamento de Química, pela compreensão, pelo apoio e por estarem sempre aptos a colaborar.

Aos meus pais, Francisca e Geraldo, aos quais não tenho palavras para expressar a minha eterna gratidão e admiração, que souberam entender a minha ausência e perceberam a importância deste trabalho, em especial à minha mãe exemplo de luta, sensibilidade e fé.

Aos meus irmãos, André e Teresa, às minhas sobrinhas, Clara e Bia, e aos meus avós, Marcos e Terezinha, por todo o carinho.

Ao João Paulo, meu melhor amigo, meu companheiro, por estar sempre presente em minha vida, por dividir angústias e sonhos, pela paciência, por todo apoio e incentivo, pelo amor, pela mão estendida incondicionalmente.

Às minhas amigas, Rita, Rejane, Karla, Nadja, Francine e Yara, pelo incentivo e por todo o carinho, seja na forma de uma conversa, de um abraço, de um sorriso, de um email ou mesmo de uma bronca. Obrigada por ficarem ao meu lado no momento mais difícil da minha caminhada.

Aos meus tão queridos alunos e ex-alunos do curso de Química da UNEAL que me permitem ensinar e aprender novas lições, não apenas de Química Orgânica como também de vida, diariamente.

A todos os meus amigos, próximos ou distantes, pela torcida constante.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

À CAPES, FAPEAL, BNB e CNPq pelo suporte financeiro.

À sociedade brasileira por todos os anos de formação em Universidade pública.

Enfim, agradeço a Deus que me deu forças para superar todos os momentos mais difíceis e chegar até aqui.

Tudo Passa

Certo dia um sacerdote percebeu a seguinte frase em um pergaminho pendurado aos pés da cama de seu mestre:

"Isso também passa."

Com a curiosidade de cada ser humano resolveu perguntar:

- "Mestre, o que significa essa frase?"

E o mestre sem titubear lhe respondeu:

- A vida nos prega muitas peças, que podem ser boas ou não. Mas tudo significa aprendizado. Recebi esta mensagem de um anjo protetor num desses momentos de dor onde quase perdi a fé. Ela é para que todos os dias antes de me levantar e de me deitar possa ler e refletir. Para que quando tiver um problema, antes de me lamentar eu possa me lembrar que "isso também passa". E para quando estiver exaltado de alegria, que tenha moderação e possa encontrar o equilíbrio, pois "isso também passa". Tudo na vida é passageiro assim como a própria vida, tanto as tristezas como também as alegrias. Praticar a paciência e perseverar no bem e nas boas ações ter simplicidade, fé e pensamentos positivos mesmo perante as mais difíceis situações é saber viver e fazer da nossa vida um constante aprendizado. É ter a consciência de que todas as pessoas erram, de que o ser humano ainda é um ser imperfeito em busca da perfeição e por isso até saber que se muitas vezes nos decepcionamos com pessoas é porque esperamos mais do que elas estão preparadas para dar, dentro de seu contexto e grau de compreensão. Deste modo, meu amigo, toda vez que olho para essa frase, meu coração se aquieta e a paz me invade, pois sei que "isso também passa".

Sumário

Índice de Esquemas	<i>i</i>
Índice de Figuras	<i>vii</i>
Índice de Gráficos	<i>ix</i>
Índice de Tabelas	<i>x</i>
Abreviaturas	<i>xii</i>
Resumo	<i>xvi</i>
Abstract	<i>xvii</i>
1 Introdução	1
1.1. Considerações Gerais	1
1.2. Atividades Biológicas de Diidro-piran-2,4-dionas	4
1.3. Métodos para a preparação de diidro-piran-2,4-dionas	8
1.3.1. A partir de δ -hidroxi- β -cetoésteres.....	8
1.3.2. A partir de carboidratos.....	16
1.3.3. A partir de reações de cicloadição.....	21
1.3.4. A partir de outras reações.....	23
2 Objetivos	36
2.1. Objetivos	36

3 Resultados e Discussão	37
3.1. Tentativas de Síntese do Núcleo 4-Cromanônico.....	37
3.1.1. Síntese da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona.....	37
3.1.2. Tentativa de condensação da fenil-diidro-piran-2,4-diona com o acetoacetato de etila.....	38
3.1.3. Síntese do etilenoacetal do acetoacetato de etila.....	40
3.1.4. Tentativa de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o etilenoacetal do acetoacetato de etila.....	40
3.2. Síntese da 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona.....	42
3.3. Síntese da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona.....	43
3.4. Síntese da 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona e da 6-(3,4- dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona.....	43
3.5. Avaliação da Atividade Moluscicida das Diidro-piran-2,4- dionas.....	44
3.6. Avaliação Preliminar da atividade antiúlcera das diidro-piran-2,4- dionas.....	46
3.7. Avaliação da Atividade Antioxidante de Diidro-piran-2,4-dionas.....	50
3.7.1. Avaliação Qualitativa da Atividade Antioxidante de Diidro- piran-2,4-dionas.....	56
3.7.2. Avaliação Quantitativa da Atividade Antioxidante de Diidro- piran-2,4-dionas.....	57
3.8. Síntese da 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona.....	66
3.9. Tentativa de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona.....	67
3.10. Avaliação da Atividade Antioxidante de Diidro-piran-2,4-dionas.....	71
3.11. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas análogas com grupos retiradores de elétrons em C-5.....	73
3.11.1. Síntese do difenilmetano.....	74
3.11.2. Tentativa de fenilação do malonato de dietila utilizando difenilmetano.....	76

3.11.3. Síntese do iodobenzeno.....	77
3.11.4. Tentativa de fenilação do acetoacetato de etila utilizando iodobenzeno.....	77
3.11.5. Síntese do cloreto de difeniliodônio.....	78
3.11.6. Tentativa de fenilação do acetoacetato de etila utilizando cloreto de difeniliodônio.....	78
3.11.7. Síntese do ácido de Meldrum.....	80
3.11.8. Síntese do cloreto de fenilacetila.....	81
3.11.9. Tentativa de síntese do 4-fenil-acetoacetato de etila a partir do ácido de Meldrum.....	82
3.11.10. Síntese do 4-fenil-3-oxo-butanoato de etila através da reação de Blaise.....	82
3.11.11. Síntese da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona.....	84
3.12. Avaliação da atividade antioxidante da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona.....	85
3.13. Síntese do 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona.....	87
3.14. Síntese do 2-oxo-ciclohexanoato de metila.....	87
3.15. Avaliação da atividade antioxidante da 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona e do 2-oxo-ciclohexanoato de metila.....	88
3.16. Avaliação Preliminar da atividade anticolinesterásica de diidro-piran-2,4-dionas.....	93
<hr/>	
4 Procedimento Experimental	101
4.1. Considerações Gerais.....	101
4.2. Procedimentos de síntese	
4.2.1. Síntese da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona	102
4.2.2. Síntese do etileno acetal do acetoacetato de etila	103
4.2.3 Síntese da 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona	104
4.2.4 Síntese do 3-oxo-pentanoato de etila	105
4.2.5. Síntese da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona	106
4.2.6 Síntese da 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona.....	107
4.2.7. Síntese da 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona..	108

4.2.8. Síntese da 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona.....	110
4.2.9. Síntese do iodeto de metila	111
4.2.10. Síntese do 2,2-dimetil-acetoacetato de etila	111
4.2.11. Síntese da 6-fenil-4-metóxi-diidro-piran-2-ona	111
4.2.12. Síntese do difenilmetano a partir do brometo de benzila.....	112
4.2.13. Síntese do cloreto de benzila.....	112
4.2.14. Síntese do difenilmetano a partir do cloreto de benzila.....	113
4.2.15. Síntese do difenilmetano a partir do diclorometano.....	113
4.2.16. Síntese do iodobenzeno.....	114
4.2.17. Síntese do cloreto de difeniliodônio.....	114
4.2.18. Síntese do ácido malônico.....	115
4.2.19. Síntese do ácido de Meldrum.....	116
4.2.20. Síntese do cianeto de benzila.....	116
4.2.21. Síntese do ácido fenilacético.....	117
4.2.22. Síntese do cloreto de fenilacetila.....	117
4.2.23. Síntese do bromoacetato de etila.....	118
4.2.24. Síntese do 4-fenil-3-oxo-pentanoato de etila.....	119
4.2.25. Síntese da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona.....	119
4.2.26. Síntese da 1-oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona.....	121
4.2.27. Síntese do éster metílico do ácido 2-oxo-ciclohexanoíco.....	122
4.3. Ensaio para a verificação da atividade moluscicida.....	123
4.4. Ensaio para a verificação da atividade antiúlcera.....	123
4.4.1. Modelos de úlceras induzidas por indometacina.....	123
4.4.2. Modelos de úlceras induzidas por etanol.....	124
4.5. Ensaio para a verificação da atividade antioxdante.....	124
4.6. Ensaio para a verificação da atividade anticolinesterásica.....	125
4.7. Análise Estatística.....	126
<hr/>	
5 Conclusões e Perspectivas	127
<hr/>	
6 Anexos	131
6.1. Espectros Seleccionados.....	131
6.1.1. Infravermelho.....	131

6.1.2. RMN.....	137
-----------------	-----

7 Referências Bibliográficas	163
-------------------------------------	-----

Índice de Esquemas

Esquema 1. _____	4
Proposta para a síntese de 4-cromanonas	
Esquema 2. _____	5
Equilíbrio ceto-enólico das diidro-piran-2,4-dionas	
Esquema 3. _____	8
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de δ -hidróxi- β -ceto-ésteres	
Esquema 4. _____	10
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas quirais a partir de δ -hidroxi- β -cetoésteres	
Esquema 5. _____	11
Preparação de δ -hidroxi- β -cetoésteres quirais a partir do Dieno de Chan	
Esquema 6. _____	11
Desproteção do sililéter	
Esquema 7. _____	12
Resolução cinética de δ -hidroxi- β -cetoésteres empregando CRL	
Esquema 8. _____	13
Preparação de diidro-piran-2,4-dionas quirais	
Esquema 9. _____	13
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de enolatos de zinco	
Esquema 10. _____	14
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de derivados acilados do Ácido de Meldrum	
Esquema 11. _____	15
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas quirais a partir de derivados acilados do Ácido de Meldrum	
Esquema 12. _____	16
Diidro-piran-2,4-dionas a partir do cloreto de oxalila	
Esquema 13. _____	16
Conversão do 3,4- <i>O</i> -isopropilideno- <i>L</i> -treonato de metila ao 2- <i>O</i> -acetil- <i>L</i> -treonato de metila	

Esquema 14.	<u>17</u>
2- <i>O</i> -acetil- <i>L</i> -treonato de metila como matéria-prima para a síntese de diidro-piran-2,4-dionas	
Esquema 15.	<u>18</u>
Síntese diidro-piran-2,4-dionas a partir de monossacarídeos	
Esquema 16.	<u>19</u>
Síntese do estereoisômero (<i>S,R</i>) diidro kavain-5-ol	
Esquema 17.	<u>20</u>
Síntese do estereoisômero (<i>R,R</i>) diidro kavain-5-ol	
Esquema 18.	<u>20</u>
Síntese do estereoisômero (<i>S,S</i>) do diidro kavain-5-ol	
Esquema 19.	<u>21</u>
Síntese do estereoisômero (<i>R,S</i>) do diidro kavain-5-ol	
Esquema 20.	<u>21</u>
Preparação de diidro-piran-2,4-diona a partir de cetenos	
Esquema 21.	<u>22</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas através da cicloadição intramolecular de carbinóis.	
Esquema 22.	<u>24</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de bromodióésteres	
Esquema 23.	<u>25</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas através de Condensação de Dieckman	
Esquema 24.	<u>25</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas através de Condensação de Dieckman	
Esquema 25.	<u>25</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas através de Condensação de Dieckman	
Esquema 26.	<u>27</u>
Esquema geral para a reação de hetero - Diels - Alder entre o dieno de Brassard e um composto carbonílico.	
Esquema 27.	<u>27</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard suportado em resina	
Esquema 28.	<u>29</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard	

Esquema 29.	<u>30</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard	
Esquema 30.	<u>31</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard	
Esquema 31.	<u>32</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard	
Esquema 32.	<u>33</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard, empregando um catalisador quirál.	
Esquema 33.	<u>34</u>
Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de ciclopenteno	
Esquema 34.	<u>35</u>
Reação de metátese do ciclopenteno	
Esquema 35.	<u>37</u>
Proposta para a síntese da pinocembrina	
Esquema 36.	<u>38</u>
Síntese da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 37.	<u>39</u>
Tentativa de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o acetoacetato de etila	
Esquema 38.	<u>40</u>
Outras tentativas de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o acetoacetato de etila	
Esquema 39.	<u>40</u>
Síntese do etilenoacetal do acetoacetato de etila	
Esquema 40.	<u>41</u>
Tentativa de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o etilenoacetal do acetoacetato de etila.	
Esquema 41.	<u>42</u>
Tentativa de ativação da carbonila do acetaléster	
Esquema 42.	<u>42</u>
Síntese da 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 43.	<u>43</u>
Síntese da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona	

Esquema 44.	44
Síntese da 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona e da 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 45.	55
Redução do radical DPPH	
Esquema 46.	66
Posições reativas nas diidro-piran-2,4-dionas para a reação com o radical DPPH via a transferência de um átomo de hidrogênio.	
Esquema 47.	67
Síntese da 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 48.	68
Proposta de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 49.	68
Proposta de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 50.	68
Síntese do iodeto de metila	
Esquema 51.	69
Preparação do 2,2-dimetil-acetoacetato de etila	
Esquema 52.	70
Tentativa de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 53.	71
Tentativa de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 54.	74
Retrossíntese da 5,5,6-trifenil-diidro-piran-2,4-diona	
Esquema 55.	74
Síntese do difenilmetano	
Esquema 56.	75
Síntese do difenilmetano	
Esquema 57.	75
Síntese do cloreto de benzila	
Esquema 58.	75
Síntese do difenilmetano	
Esquema 59.	76
Síntese do difenilmetano	

Esquema 60.	<u>76</u>
Tentativa de fenilação do malonato de dietila utilizando difenilmetano	
Esquema 61.	<u>76</u>
Reação entre malonato de dietila, difenilmetano e iodeto de metila	
Esquema 62.	<u>77</u>
Síntese do iodobenzeno	
Esquema 63.	<u>78</u>
Tentativa de fenilação do acetoacetato de etila utilizando iodobenzeno	
Esquema 64.	<u>78</u>
Síntese do cloreto de difeniliodônio	
Esquema 65.	<u>79</u>
Tentativa de fenilação do acetoacetato de etila utilizando cloreto de difeniliodônio	
Esquema 66.	<u>80</u>
Síntese do 4-fenilacetoacetato de etila a partir do derivado acilado do ácido de Meldrum	
Esquema 67.	<u>80</u>
Hidrólise do malonato de dimetila	
Esquema 68.	<u>81</u>
Síntese do ácido malônico	
Esquema 69.	<u>81</u>
Preparação do ácido de Meldrum	
Esquema 70.	<u>82</u>
Síntese do cloreto de fenilacetila	
Esquema 71.	<u>82</u>
Tentativa de síntese do 4-fenil-acetoacetato de etila a partir do ácido de Meldrum	
Esquema 72.	<u>82</u>
Reação de Blaise	
Esquema 73.	<u>83</u>
Obtenção do bromoacetato de etila	
Esquema 74.	<u>83</u>
Síntese do 4-fenil-3-oxo-butanoato de etila	
Esquema 75.	<u>84</u>
Preparação da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona	

Esquema 76.	<u>87</u>
Síntese da 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona	
Esquema 77.	<u>88</u>
Síntese do éster metílico do ácido 2-oxo-ciclohexanóico	
Esquema 78.	<u>89</u>
A variação energia de ionização de compostos dicarbonílicos cíclicos e acíclicos	
Esquema 79.	<u>93</u>
Possível mecanismo de reação entre o radical livre DPPH e os compostos β -dicarbonílicos	
Esquema 80.	<u>97</u>
Ensaio de Ellman	

Índice de Figuras

Figura 1. _____	2
Estruturas básicas dos principais ácidos isolados de <i>Calophyllum sp.</i>	
Figura 2. _____	2
Estrutura dos ácidos isolados da <i>C. verticillatum</i>	
Figura 3. _____	3
Estruturas dos ácidos isolados da <i>C. brasiliense.</i>	
Figura 4. _____	3
Estruturas dos novos ácidos isolados da <i>C. brasiliense.</i>	
Figura 5. _____	5
Exemplos de 4-hidróxi-diidro-piran-2-onas com atividade inibidora da protease do HIV	
Figura 6. _____	6
4-hidróxi-diidro-piran-2-ona com atividade antifúngica	
Figura 7. _____	6
Diidro-piran-2,4-diona com atividade antibacteriana	
Figura 8. _____	6
Estrutura das Kava lactonas	
Figura 9. _____	7
Protótipo obtido a partir de HTS	
Figura 10. _____	10
Estrutura do dieno de Chan	
Figura 11. _____	27
Estruturas dos dienos de Brassard	
Figura 12. _____	34
Diidro-piran-2,4-diona com atividade anti HIV	
Figura 13. _____	43
Estrutura molecular da diidro-piran-2,4-diona em sua forma enólica.	
Figura 14. _____	52
Efeito das EROs sobre os componentes celulares	
Figura 15. _____	53
Estrutura dos principais antioxidantes sintéticos utilizados industrialmente	

Figura 16.	54
Principais ensaios empregados para avaliação da atividade antioxidante	
Figura 17.	56
Diferença de coloração entre a solução de DPPH· e DPPH-H	
Figura 18.	56
Resultado do ensaio antioxidante qualitativo	
Figura 19.	57
Antioxidantes de cinética rápida	
Figura 20.	58
Antioxidantes de cinética intermediária	
Figura 21.	58
Antioxidantes de cinética lenta	
Figura 22.	66
Diidro-piran-2,4-dionas com padrões de substituição diferentes	
Figura 23.	67
Estrutura determinada por difração de raios-X para 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona	
Figura 24.	71
Enolato na conformação em U quelado a um metal	
Figura 25.	71
Estrutura determinada por difração de raios-X para o composto (353)	
Figura 26.	73
Modelo escolhido para estudar a relação estrutura-atividade antioxidante	
Figura 27.	84
Estrutura determinada por difração de raios-X para a 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona	
Figura 28.	88
Ácido de Meldrum e seus análogos	
Figura 29.	92
Conformações adotadas por compostos 1,3-dicarbonílicos e suas ligações de hidrogênio	
Figura 30.	95
Estrutura da acetilcolina e dos principais fármacos anticolinesterásicos	
Figura 31.	96
Estrutura da arisugacina A	

Índice de Gráficos

Gráfico 1.	<u>59</u>
Curva de calibração	
Gráfico 2.	<u>60</u>
Comparação do comportamento cinético das diidro-piran-2,4-dionas avaliadas a 20mM	
Gráfico 3.	<u>60</u>
Comparação do comportamento cinético das diidro-piran-2,4-dionas avaliadas a 2mM	
Gráfico 4.	<u>61</u>
Porcentagem do radical DPPH remanescente na mistura reacional após 30 minutos como função da concentração de antioxidante testada	
Gráfico 5.	<u>63</u>
Atividade antioxidante determinada em função da porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 30 min, por diferentes concentrações das diidro-piran-2,4-dionas	
Gráfico 6.	<u>64</u>
Atividade antioxidante determinada em função da porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 60 min, por diferentes concentrações das diidro-piran-2,4-dionas	
Gráfico 7.	<u>72</u>
Atividade antioxidante determinada em função da porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 60 min, por diferentes concentrações das diidro-piran-2,4-dionas	
Gráfico 8.	<u>85</u>
Atividade antioxidante determinada em função da porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 60 min, por diferentes concentrações das diidro-piran-2,4-dionas	
Gráfico 9.	<u>90</u>
PR da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 30 e 60 min. Compostos avaliados a 20 mmol/L	
Gráfico 10.	<u>101</u>
Porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 60 min, dos compostos avaliados a 2 mmol/L	

Índice de Tabelas

Tabela 1.	<u>7</u>
Diidro-piran-2,4-dionas com atividade inibidora da polimerase do HCV	
Tabela 2.	<u>9</u>
Diidro-piran-2,4-dionas sintetizadas a partir da reação do diânion do acetoacetato de etila com um aldeído/cetona com seus respectivos rendimentos	
Tabela 3.	<u>14</u>
Rendimentos obtidos para diidro-piran-2,4-dionas sintetizadas a partir de enolatos de zinco	
Tabela 4.	<u>22</u>
Diidro-piran-2,4-dionas preparadas a partir da reação de acil cetenos (obtidos a partir de derivados acilados do ácido de Meldrum) com éteres vinílicos	
Tabela 5.	<u>23</u>
Aldeídos empregados, produtos obtidos e os respectivos rendimentos da síntese mostrada no esquema 21	
Tabela 6.	<u>24</u>
Outras diidro-piran-2,4-dionas sintetizadas a partir de bromo diésteres	
Tabela 7.	<u>28</u>
Aldeídos e cetonas usados na reação de HDA (esquema 27) com a resina e as diidropironas obtidas	
Tabela 8.	<u>30</u>
Condições para a reação mostrada no esquema 28	
Tabela 9.	<u>30</u>
Rendimentos obtidos para as diidropironas preparadas de acordo com o esquema 29	
Tabela 10.	<u>31</u>
Produtos da reação de HDA assimétrica entre o dieno e aldeídos aromáticos	
Tabela 11.	<u>32</u>
Ácidos de Lewis quirais empregados na reação entre o dieno e o heptanal	
Tabela 12.	<u>33</u>
Produtos da reação de HDA assimétrica entre o dieno e aldeídos aromáticos	

Tabela 13.	45
Comparação dos potenciais moluscicida das substâncias avaliadas frente à desova de <i>B. glabrata</i> após 96 horas de exposição	
Tabela 14.	46
Comparação dos potenciais moluscicida das substâncias avaliadas frente à desova de <i>B. glabrata</i> após 96 horas de exposição	
Tabela 15.	48
Critérios para atribuição de pontos às lesões gástricas.	
Tabela 16.	50
Resultados da avaliação da atividade antiúlcera de diidro-piran-2,4-dionas	
Tabela 17.	62
Eficiência dos compostos testados como antioxidantes frente ao radical DPPH	
Tabela 18.	86
Valores de pKa calculados para modelos de diidropironas com diferentes substituintes nas posições C-3 e C-6	
Tabela 19.	99
Atividade da AChE medida durante a realização do ensaio de Ellman para a avaliação das diidro-piran-2,4-dionas (20mM em EtOH) como inibidores da AChE.	

Abreviaturas e Siglas

5,6-DPDP – 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona

6,6-DPDP – 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona

AA – atividade antioxidante

Abs – Absorbância

Ac - Acetila

Acac – Acetilacetona

Ar – Arila

AROM – Assymmetric Ring-Opening Methatesis (Abertura do Anel por Metátese Assimétrica)

BHA – 2-t-butil-p- hidroxianisol

BHT - 2,6-di-t-butil-p-hidroxitolueno

BINAP – 2,2'-bis-(difenilfosfina)-1,1' -binaftila

Binol - 1,1'-Bi-2-naftol

Bn - Benzila

Bu – Butila

cat - catalisador

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CL – Concentração Letal

COM – 2-oxo-cicloexanoato de metila

CRL – *Candida rugosa* Lipase (Lipase de *Candida rugosa*)

d – Dupleto

DBU – 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno

DCC – 1,3-Dicicloexilcarbodiimida

dd – Duplo Dupleto

DDQ – 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

DFT – Density Functional Theory (Teoria do Funcional de Densidade)

DL – Dose Letal

DMAP – 4-Dimetilaminopiridina

DMPDP - 6-(3,4-dimetoxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona
DMPU - Dimetil-propil-uréia
DMS - Dimetilsulfeto
DMSO - Dimetilsulfóxido
DNA - Ácido Desoxirribonucléico
DPPH - 2,2-difenil-1-picrilidrazila
e. e. - Excesso Enantiomérico
EC - Concentração Efetiva
EDP - 1-oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona
ERN - Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO - Espécies Reativas de Oxigênio
Et - Etila
FOH - Fenóis
GDE - Grupos Doadores de Elétrons
GRE - Grupos Retiradores de Elétrons
HCV - Vírus da Hepatite C
HDA - Hetero-Diels-Alder
HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana
HMPA - Hexametilfosforotriamida
HMSD - Hexametildisalazida
HTS - Triagem de Alta Velocidade (High-throughput screening)
i - iso
IC₅₀ - Concentração necessária para inibir em 50% uma enzima
IV - Infravermelho
J - Constante de Acoplamento
K_i - Constante de inibição
LDA - Diisopropilamideto de Lítio
m - Meta
M - Metal
m - Multiplete
Me - Metila
Min - minutos

MPDP - 6-(4-metoxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona
n - Normal
Ni-Ra - Níquel de Raney
o - Orto
OPDP - 6-fenil-4-metoxi-diidro-piran-2-ona
p - Para
PAR - Potência anti-radicalar
PCC - Pyridinium Chloro Chromate (Clorocromato de piridínio)
PDP - 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona
PE - Ponto de Ebulição
PF - Ponto de Fusão
Ph - Fenila
Piv - Pivaloíla
PMP - p-metoxifenil
ppm - partes por milhão
PPTs - Tosilato de Piridínio
PR - Porcentagem de Redução
Pr - Propila
PrDP - 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona
p-TSA - Ácido p-toluenossulfônico
Py - Piridina
q - Quarteto
RCM - Ring Closure Methatesis (Metátese de fechamento de anel)
rem - remanescente
RMN C¹³ - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN H¹ - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s - Simpleto
sec - Secundário
Sia - siamil
SOD - Superóxido Dismutase
t - Terciário
t - Tripleto

T.A. – Temperatura Ambiente
TBHQ – 2-t-butil-hidroquinona
TESCI – Trietilclorossilano
Tf – Trifluorometanossulfonila (triflato)
TFA – Ácido Trifluoroacético
TFAA – Anidrido Trifluoroacético
THF – Tetraidrofurano
Tr - Tritila
TMS – Tetrametilsilano
 δ - Deslocamento Químico

Souza, L.C. *Síntese e Investigação das Atividades Biológicas de Diidro-piran-2,4-dionas* [Synthesis and Investigation Dihydro-pyran-2,4-dione's Biological Activities]. Maceió, 2007, 177 p. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Instituto de Química e Biotecnologia - UFAL

Resumo

Este trabalho apresenta a síntese de sete diidro-piran-2,4-dionas e a investigação de algumas de suas atividades biológicas (moluscicida, antiúlcera, antioxidante e anticolinesterásica). Estes compostos foram obtidos, em rendimentos que variaram de moderados a bons (50 – 85%), através da condensação aldólica do diânion de um β -cetoéster com um aldeído ou uma cetona, seguido de hidrólise básica do éster e lactonização em meio ácido. Na primeira investigação sobre suas atividades biológicas, as diidro-piran-2,4-dionas foram inativas frente ao caramujo adulto da espécie *Biomphalaria glabrata*, apresentando-se ativo apenas frente à sua desova. Os estudos sobre atividade antiúlcera não foram satisfatórios pois os resultados obtidos para as diidro-piran-2,4-dionas não foram significativamente diferentes daqueles observados no grupo controle. Para a determinação da atividade antioxidante escolheu-se o ensaio espectrofotométrico com o radical estável DPPH. Os resultados obtidos para as diidro-piran-2,4-dionas, neste ensaio, foram similares aos observados para o controle positivo utilizado, BHT, e mostram que estas se constituem numa promissora classe de antioxidantes sintéticos. Os resultados obtidos apontam ainda para uma possível correlação entre a concentração da forma enólica no equilíbrio, o pKa da hidroxila deste enol e a capacidade de redução do radical livre DPPH. Verificou-se que grupos retiradores de elétrons ligados ao anel aumentam a atividade, enquanto que a introdução de grupos doadores de elétrons causa uma redução da atividade. Ao estender os ensaios para outros compostos 1,3-dicarbonílicos acíclicos, verificou-se que estes não apresentam atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH. Este fato indica que a conformação também pode ser decisiva para a manifestação da atividade estudada. A investigação da atividade anticolinesterásica ainda não apresentou dados conclusivos, mas os ensaios preliminares mostraram resultados bastante promissores, com porcentagem de inibição da enzima acetilcolinesterase entre 50% - 60%.

Palavras-chave: diidro-piran-2,4-diona, moluscicida, antiúlcera, DPPH, acetilcolinesterase

Souza, L.C. *Synthesis and Investigation Dihydro-pyran-2,4-dione's Biological Activities* [Síntese e Investigação das Atividades Biológicas de Diidro-piran-2,4-dionas]. Maceió, 2007, 177 p. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Instituto de Química e Biotecnologia - UFAL

Abstract

This work presents synthesis of seven dihydro-pyran-2,4-diones and investigation of some of its biological activities (moluscicidal, antiulcer, antioxidant and anticholinesterasic). These compounds were prepared - in yields that had varied of moderate to good (50 - 85%) - through the aldol condensation of β -ketoester's diânion with an aldehyde or a ketone, basic hydrolysis, followed of lactonization in acid medium. In the first investigation about its biological activities, dihydro-pyran-2,4-diones had been inactive on *Biomphalaria glabrata* adult, presenting active only on its egg masses. Studies about antiulcer activity were not satisfactory therefore results obtained for dihydro-pyran-2,4-diones were not significantly different of those observed in the control group. For determination of the antioxidant activity, the spectrophotometric assay with stable radical DPPH was chosen. The results obtained for dihydro-pyran-2,4-diones, in this assay, were similar to the observed ones for the positive control used, BHT, and show that these compounds constitute in a promising synthetic antioxidants. Results obtained still point with respect to a possible correlation between enol concentration in the equilibrium, and the capacity of reduction of free radical DPPH. It was verified that electron withdrawing groups increase the activity, whereas introduction of electron donators groups cause a reduction of the activity. When assays were extended for other acyclic 1,3-dicarbonilic compounds, was verified that these don't present antioxidant activity on free radical DPPH. This fact indicates that conformation also can be decisive for manifestation of the studied activity. The inquiry of the anticholinesterasic activity not yet presented results conclusive, but the preliminary assays showed resulted sufficiently promising, with percentage of inhibition of the enzyme acetylcholinesterase between 50% - 60%.

Key words: dihydro-pyran-2,4-dione, moluscicidal, antiulcer, DPPH, acetylcholinesterase

Laura C. de Souza

Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas

Introdução

Introdução

1

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A busca do homem por soluções que pudessem aliviar suas dores e doenças é uma constante desde os tempos mais remotos. Para este fim, a Natureza sempre foi a principal fonte de substâncias terapêuticas.

O desenvolvimento da Química durante o século XIX levou ao isolamento dos princípios ativos responsáveis pela atividade biológica observada em plantas ou animais. Posteriormente, os avanços da Síntese Orgânica tornaram possível a obtenção de substâncias antes provenientes apenas de fontes naturais e também de outras não encontradas na natureza.

Atualmente, os fármacos são desenvolvidos como parte de um esforço organizado para descobrir novos tratamentos para doenças específicas. Vários métodos são empregados com esta finalidade. Dentre estes podemos destacar:

- ✦ Triagem aleatória de produtos naturais ou sintéticos em bioensaios;
- ✦ Isolamento e purificação dos princípios ativos de fontes naturais;
- ✦ Preparação de novos compostos baseado na estrutura de substâncias de ocorrência natural;
- ✦ Preparação de análogos estruturais de substâncias sintéticas com atividades biológicas interessantes;
- ✦ Planejamento racional de uma droga específica para atuar num determinado alvo terapêutico.

As propriedades biológicas que um composto apresenta são determinadas pela sua estrutura química. Logo, uma variação na sua estrutura deve provocar também uma mudança nas suas propriedades biológicas

(AUSTEL, 1989). Por isto, até o momento, a estratégia mais produtiva para a síntese de novos fármacos consiste na modificação molecular de um composto protótipo que apresente uma atividade farmacológica. A atividade apresentada pelo protótipo pode ser baixa e podem existir efeitos colaterais indesejáveis, mas ele fornecerá o ponto de partida. A modificação molecular pode aumentar a atividade farmacológica apresentada pelo protótipo ou reduzir efeitos colaterais indesejados, através da obtenção de substâncias análogas (GANELLIN, 1992).

Dentro do contexto da busca por novos fármacos, o núcleo 4-cromanônico (**1**) merece destaque, uma vez que é encontrado em uma grande variedade de produtos naturais biologicamente ativos (SOUZA, 2002). Dentre estes produtos, destacam-se cerca de vinte ácidos isolados da casca de diferentes espécies de *Calophyllum*, **Figura 1**, (SAMARAWEERA *et al*, 1983; NOLDIN *et al*, 2006).

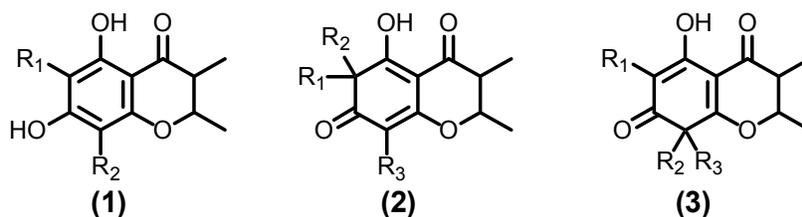


FIGURA 1. Estruturas básicas dos principais ácidos isolados de *Calophyllum sp.*

Os ácidos isolados de *Calophyllum* possuem diversas atividades biológicas. A mistura de ácidos calovercíclicos A (**4**), B (**5**) e C (**6**), **Figura 2**, isolados de *Calophyllum verticillatum*, exibem atividade moluscicida frente a *Biomphalaria glabrata* (RAVENLOJATO *et al*, 1987).

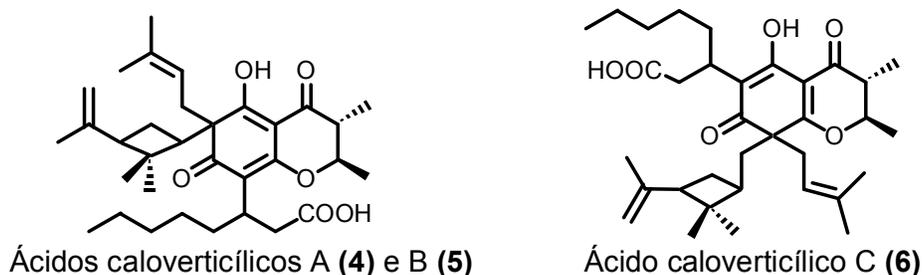


FIGURA 2. Estrutura dos ácidos isolados da *C. verticillatum*.

Da *Calophyllum brasiliense* foram isolados os Ácidos inofiloídico (7), brasiliênsico (8) e isobrasiliênsico (9), **Figura 3** (STOUT & BRECK, 1970). Testes farmacológicos demonstraram que frações contendo uma mistura destes ácidos apresentaram atividade gastroprotetora, em modelos de úlceras induzidas por etanol, indometacina e estresse hipotérmico (MARTINS *et al*, 1994). Além disso, também se verificou que estes compostos apresentam ação analgésica periférica (OLIVEIRA & MARTINS, 1994) e baixa toxicidade por via oral (OLIVEIRA *et al*, 1994).

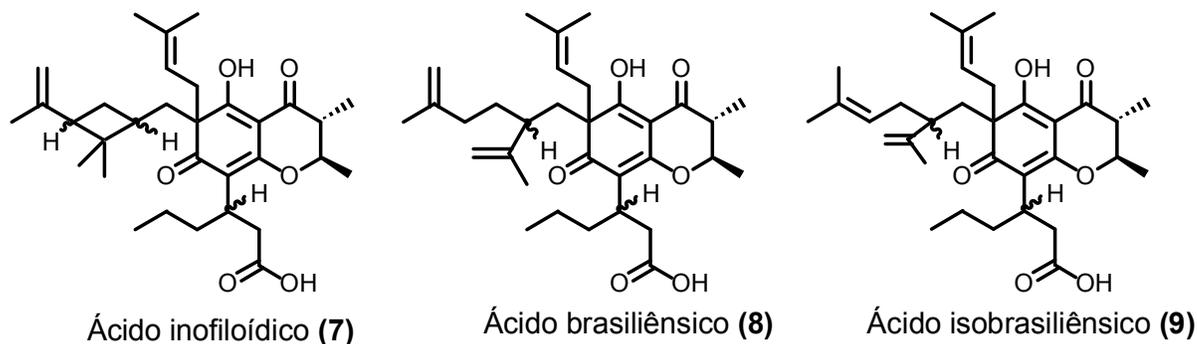


FIGURA 3. Estruturas dos ácidos isolados da *C. brasiliense*.

Recentemente foram isolados quatro novos ácidos de *C. brasiliense*, **10** – **13**. Estes ácidos demonstraram atividade antibacteriana frente a *Bacillus cereus* e *Staphylococcus epidermitis*, **Figura 4** (NOLDIN *et al*, 2006).

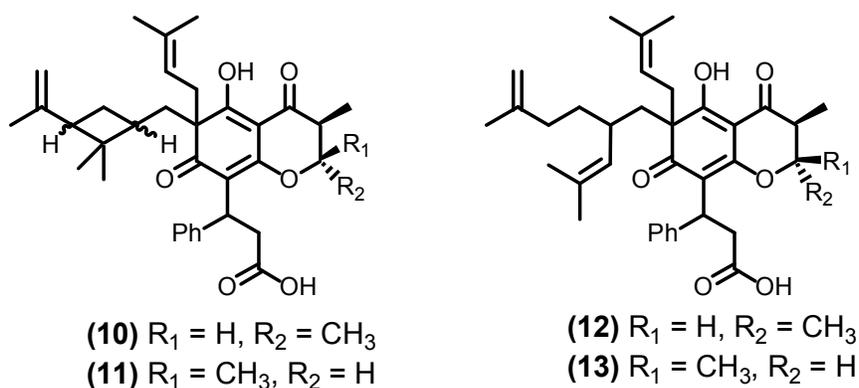
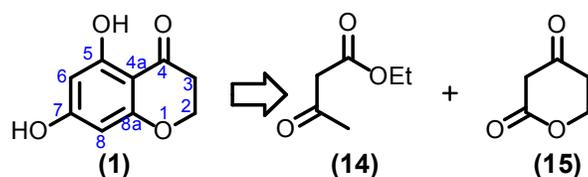


FIGURA 4. Estruturas dos novos ácidos isolados da *C. brasiliense*.

O presente trabalho tem como propósito desenvolver uma nova metodologia geral para a preparação do núcleo 1, através da condensação de

um β -cetoéster e uma diidro-piran-2,4-diona, **Esquema 1**. A principal vantagem deste estudo reside no fato de que a nova metodologia proposta permitirá a preparação regiosseletiva de 4-cromanonas com diferentes padrões de substituição nos carbonos C-6 e C-8 tais como aparecem nos ácidos isolados de *Calophyllum*. Os métodos encontrados, até o momento, na literatura para a síntese destas substâncias são limitados, pois não podem ser estendidos para a obtenção de 4-cromanonas mono-, di- ou trissubstituídas nas posições C-6 e C-8 regiosseletivamente (JAIN *et al*, 1969; JOSHI & RANE, 1967; FARKAS *et al*, 1966; YANG *et al*, 2006; XU *et al*, 2003; REHDER & KEPLER, 1996).

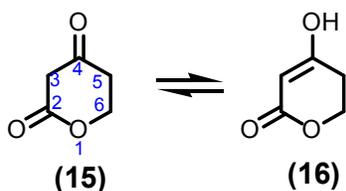


ESQUEMA 1. Proposta para a síntese de 4-cromanonas

Além deste aspecto, a estratégia de síntese proposta acima é bastante atraente, pois prevê a preparação de diidro-piran-2,4-dionas (15), unidades estruturais importantes encontradas também em um grande número de outros produtos naturais (KIM *et al*, 1997; DOUGLAS *et al*, 1999). Por isto, também faz parte da proposta deste trabalho a preparação de várias diidro-piran-2,4-dionas, a fim de avaliar o seu potencial biológico. Através dos resultados obtidos, tentar estabelecer uma relação entre a estrutura química e a atividade biológica destes.

1.2 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONAS

O núcleo diidro-piran-2,4-diona (15) é uma β -ceto- δ -lactona, também conhecida como β -ceto-valerolactona. Ele existe em equilíbrio tautomérico com a correspondente forma enólica, 4-hidróxi-5,6-diidro-piran-2-ona (16), **Esquema 2**, e é uma unidade estrutural encontrada em uma variedade de substâncias terapeuticamente importantes (DOUGLAS *et al*, 1999).



ESQUEMA 2. Equilíbrio ceto-enólico das diidro-piran-2,4-dionas

O femprocoumon (**17**), uma 4-hidróxicumarina, atua como um inibidor da protease do HIV (K_i 1 μM e IC_{50} 100 – 300 μM) (THAISRIVONGS *et al*, 1994). Quando o anel 4-hidróxicumarínico deste protótipo foi substituído pelo sistema 4-hidróxipirona como em **18** ou pelo núcleo 4-hidróxi-diidro-pirona como em **19** e **20**, **Figura 5**, a atividade biológica mencionada foi otimizada. Os seguintes resultados foram observados para a interação entre estes compostos e a protease do HIV (K_i 38 nM e IC_{50} 3 μM), (K_i 15 nM e IC_{50} 5 μM) e (1,2nM e IC_{50} 0,5 μM), respectivamente (WATENPAUGH *et al*, 1996).

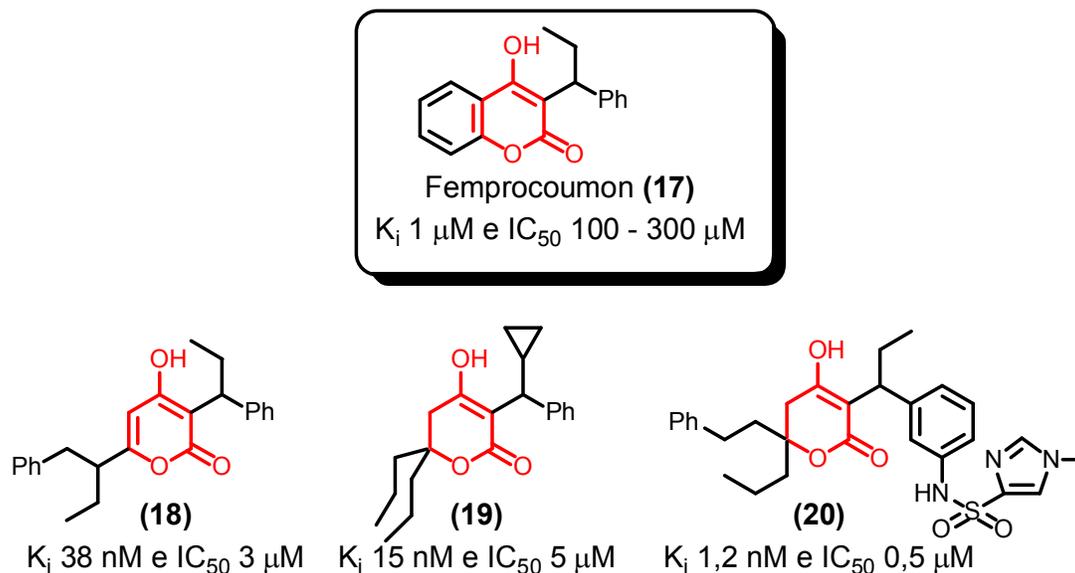
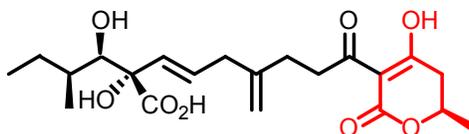


FIGURA 5. Exemplos de 4-hidróxi-diidro-piran-2-onas com atividade inibidora da protease do HIV

Outro importante produto natural no qual se observa o esqueleto 4-hidróxi-diidro-pirona é o ácido alternárico (**21**), **Figura 6**, isolado em 1949 de *Alternaria solani* (TABUCHI *et al*, 1994). Esta substância exibe alta especificidade para a inibição da germinação em certas cepas de fungos a

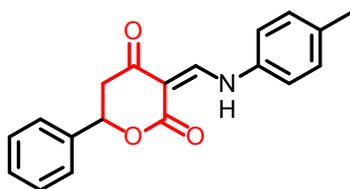
concentrações de 100 nM (TABUCHI *et al*, 1994). Além desta atividade, o ácido alternárico (**21**) mostra seletiva atividade fitotóxica (TABUCHI *et al*, 1994).



Ácido Alternárico (**21**)

FIGURA 6. 4-hidróxi-diidro-piran-2-ona com atividade antifúngica

Diidro-piran-2,4-dionas também apresentam atividade bactericida. Fang *et al* (2002) verificaram que a 3-anilino-6-fenil-5,6-dihidro-piran-2,4-diona (**22**), **Figura 7**, possui atividade antibacteriana.



3-anilino-6-fenil-5,6-dihidropiran-2,4-diona (**22**)

FIGURA 7. Diidro-piran-2,4-diona com atividade antibacteriana.

Outras diidro-pironas que têm atraído o interesse da indústria farmacêutica são (+)-diidro-kavain-5-ol (**23**), (+)-kavaína (**24**), diidro-kavaína (**25**) e a metisticina (**26**), **Figura 8**. Elas são os principais constituintes da espécie vegetal conhecida como kava-kava (*Piper methysticum*), por isso são conhecidas genericamente como kavalactonas. Elas apresentam uma série de propriedades biológicas entre as quais, anticonvulsivantes (GLEITZ *et al*, 1996), sedativas, ansiolíticas e analgésicas (SINGH & SINGH, 2004).

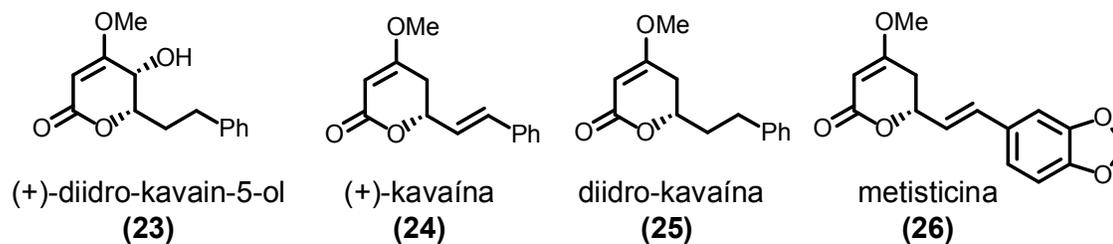


FIGURA 8. Estrutura das Kavalactonas

A diidro-piran-2,4-diona **27** foi identificada como um inibidor da RNA polimerase do vírus da hepatite C (HCV) com atividade apenas moderada (IC_{50} 0,93 μ M). Experimentos realizados posteriormente demonstraram que **27** é um inibidor específico reversível da polimerase NS5B do HCV. Uma série de diidro-piran-2,4-dionas análogas à **27** foram preparadas e os resultados observados nos ensaios de inibição da enzima NS5B do HCV são mostrados na **Tabela 1** (LI *et al*, 2006).

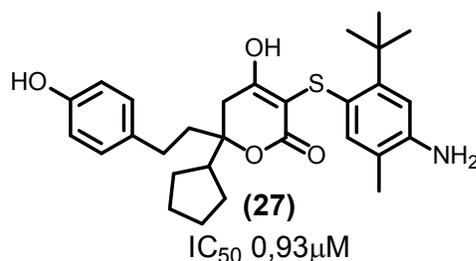


FIGURA 9. Protótipo obtido a partir de HTS

TABELA 1. Diidro-piran-2,4-dionas com atividade inibidora da polimerase do HCV

	R_1	R_2	IC_{50}		R_1	R_2	IC_{50}	R	IC_{50}	
(28)	Me	OH	>100	(33)	H	H	48	(37)	Ph	0,56
(29)	<i>n</i> -Pr	MeO	>50	(34)	H	MeO	9,7	(38)	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₄	0,13
(30)	Ciclobutila	OH	93	(35)	Cl	MeO	1,0	(39)		0,28
(31)	Ciclopentila	OH	8,2	(36)	F	MeO	0,89	(40)		0,14
(32)	Ciclo-hexila	OH	52					(41)		0,038

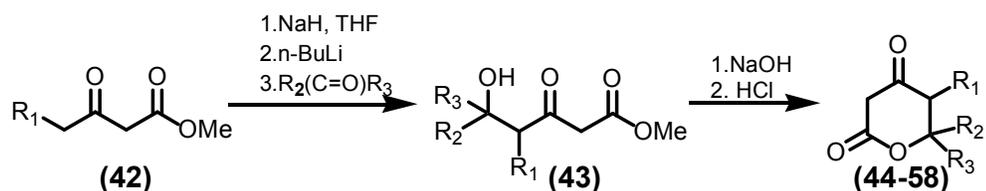
A seguir serão mostradas as principais estratégias para a síntese deste núcleo.

1.3. MÉTODOS PARA A PREPARAÇÃO DE DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONAS

1.3.1. A partir de δ -hidróxi- β -cetoésteres

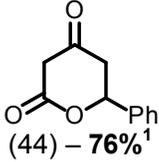
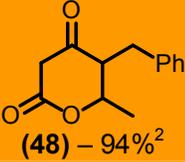
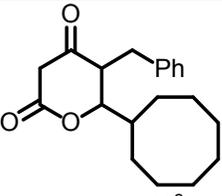
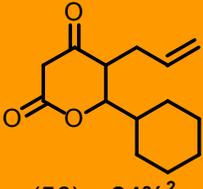
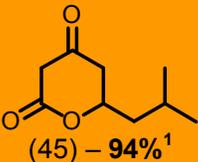
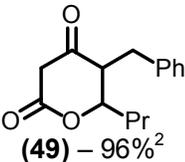
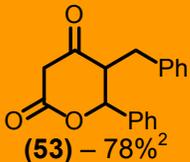
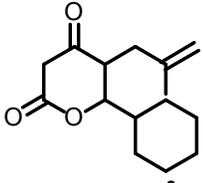
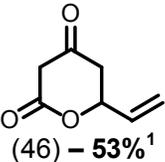
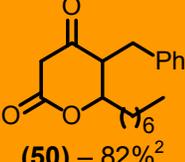
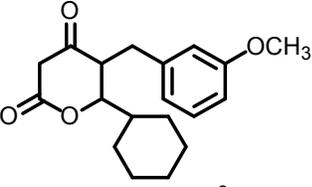
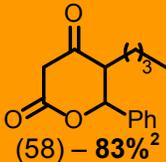
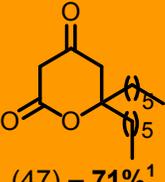
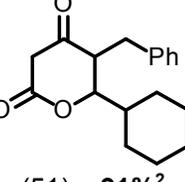
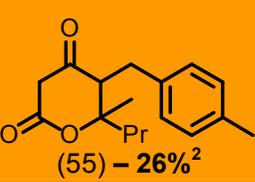
Devido ao grande interesse na investigação das propriedades biológicas de diidro-piran-2,4-dionas, vários grupos de pesquisa têm se dedicado à síntese deste núcleo. Uma análise retrossintética destes compostos revela uma topografia molecular derivada de compostos δ -hidróxi- β -dicarbonílicos. Os δ -hidróxi- β -cetoésteres podem ser facilmente obtidos, em bons rendimentos, como produto da condensação aldólica regioespecífica de diânions de β -cetoésteres com aldeídos ou cetonas, em meio básico (PETERSON *et al*, 1988; KASHIHARA *et al*, 1986).

Deste modo, a metodologia de síntese mais comumente empregada para a obtenção de diidro-piran-2,4-dionas, consiste na condensação do diânion de um β -cetoéster com um composto carbonílico (aldeído ou cetona), seguido de hidrólise do aldol obtido, empregando hidróxido de sódio a temperatura ambiente e ciclização espontânea em meio ácido (HCl), **Esquema 3**. A literatura mostra que os melhores rendimentos na síntese das diidro-piran-2,4-dionas foram obtidos quando a mistura saponificada foi resfriada a 0 °C antes da etapa de lactonização. Na síntese de **44** observou-se uma diminuição no rendimento de 76% para 52%, com a formação do produto de descarboxilação, quando a acidificação foi conduzida a 23 °C (PETERSON *et al*, 1988).



ESQUEMA 3. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de δ -hidróxi- β -cetoésteres

TABELA 2. Diidro-piran-2,4-dionas sintetizadas a partir da reação do diânion do acetoacetato de etila com um aldeído/cetona com seus respectivos rendimentos

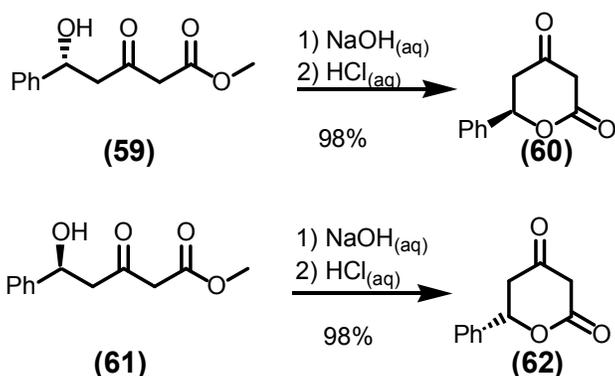
Composto	Composto	Composto	Composto
 (44) – 76% ¹	 (48) – 94% ²	 (52) – 85% ²	 (56) – 84% ²
 (45) – 94% ¹	 (49) – 96% ²	 (53) – 78% ²	 (57) – 94% ²
 (46) – 53% ¹	 (50) – 82% ²	 (54) – 21% ²	 (58) – 83% ²
 (47) – 71% ¹	 (51) – 91% ²	 (55) – 26% ²	

Como pode ser observado pela análise dos dados fornecidos na Tabela 2, este método converte aldeídos ou cetonas às correspondentes diidro-piran-2,4-dionas, em bons rendimentos e com um reduzido número de etapas. Por estas características, esta estratégia se constitui num dos melhores métodos de síntese de diidro-piran-2,4-dionas, principalmente se o objetivo do estudo for estabelecer relações entre estrutura química e atividade biológica (TURNER *et al*, 1998), pois ele proporciona a síntese de uma série de análogos, num tempo relativamente curto.

¹ PETERSON *et al*, 1988

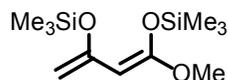
² KASHIHARA *et al*, 1986

Diidro-piran-2,4-dionas 6-substituídas, com elevada pureza enantiomérica, podem ser obtidas a partir de δ -hidróxi- δ -aril- β -oxo-pentanoatos opticamente ativos, tais como **59** e **61**, **Esquema 4** (XU & YUAN, 2005). A seqüência de reações utilizadas para esta conversão é similar à empregada por Peterson *et al* (1988) descrita anteriormente: hidrólise com hidróxido de sódio seguido de acidificação com ácido clorídrico.



ESQUEMA 4. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas quirais a partir de δ -hidróxi- β -cetoésteres

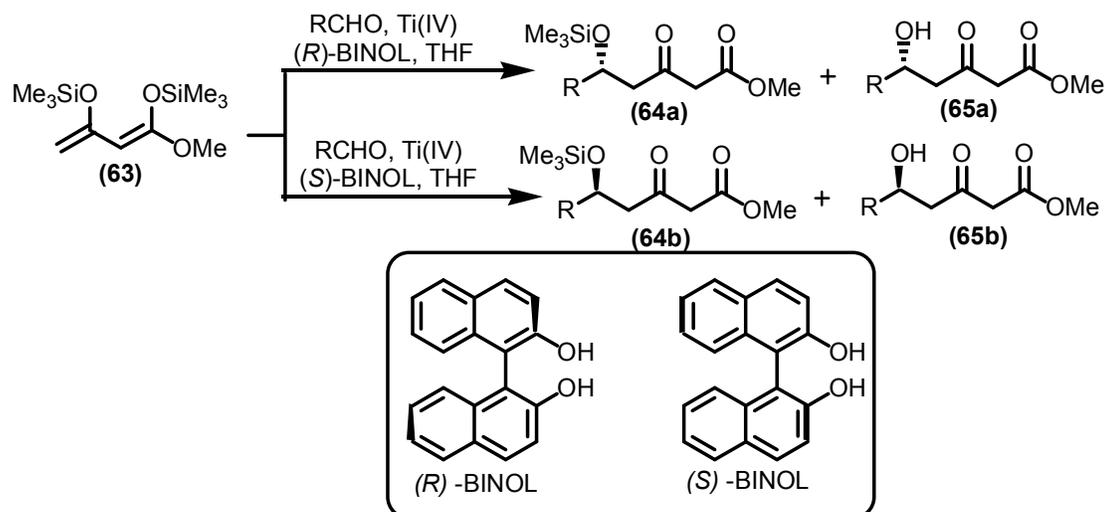
Uma das principais estratégias para a obtenção de δ -hidróxi- β -oxo-pentanoatos opticamente ativos parte do dieno de Chan (**63**), o diânion do éster acetoacético protegido sob a forma de vinilsilil éster, **Figura 10**. O dieno de Chan é facilmente obtido a partir do 3-trimetilsililoxicrotonoato de metila disponível comercialmente (SORIENTE *et al* 2000; SORIENTE *et al* 2001).



Dieno de Chan (**63**)

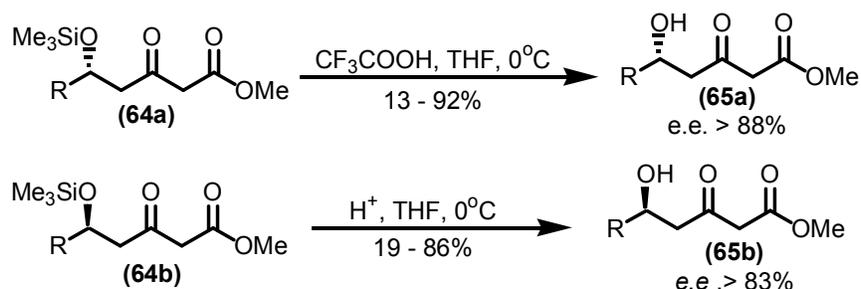
FIGURA 10. Estrutura do dieno de Chan

A adição enantiosseletiva do dieno de Chan (**63**) a aldeídos na presença de quantidades catalíticas de complexos de $\text{Ti}(\text{OiPr})_4/(R)\text{-BINOL}$ (8 mol%) e peneira molecular ativada leva a aldóis sililados **64** como produto predominante ou exclusivo. Em alguns casos, o aldol livre **65** também é detectado (SORIENTE *et al* 2001), **Esquema 5**.



ESQUEMA 5. Preparação de δ -hidróxi- β -cetoésteres quirais a partir do Dieno de Chan

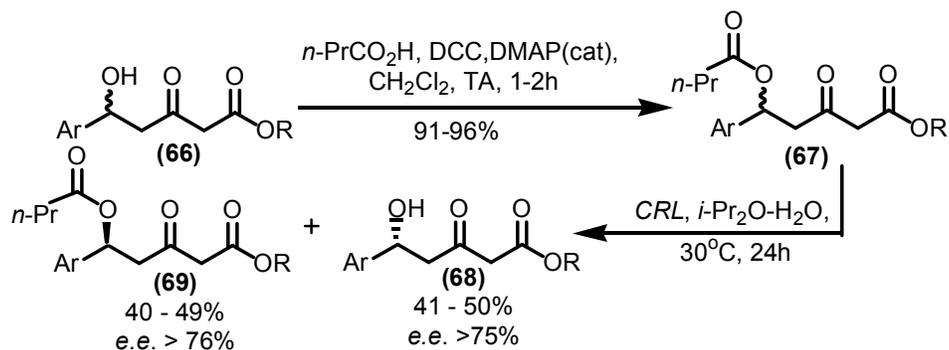
O aldol livre **65** pode ser obtido em bons rendimentos e com satisfatórios e.e. a partir de **64** após tratamento com ácido, **Esquema 6** (SORIENTE *et al* 2000; SORIENTE *et al* 2001). No entanto, os aldóis livres obtidos diretamente de **63**, embora em baixos rendimentos, mostraram excessos enantioméricos significativamente superiores do que aqueles observados para os aldóis obtidos após a clivagem do grupo trimetilsilila de **64** em meio ácido, o que sugere uma baixa enantiosseletividade durante a etapa de desproteção de **64** (SORIENTE *et al* 2001).



ESQUEMA 6. Desproteção do siliéter

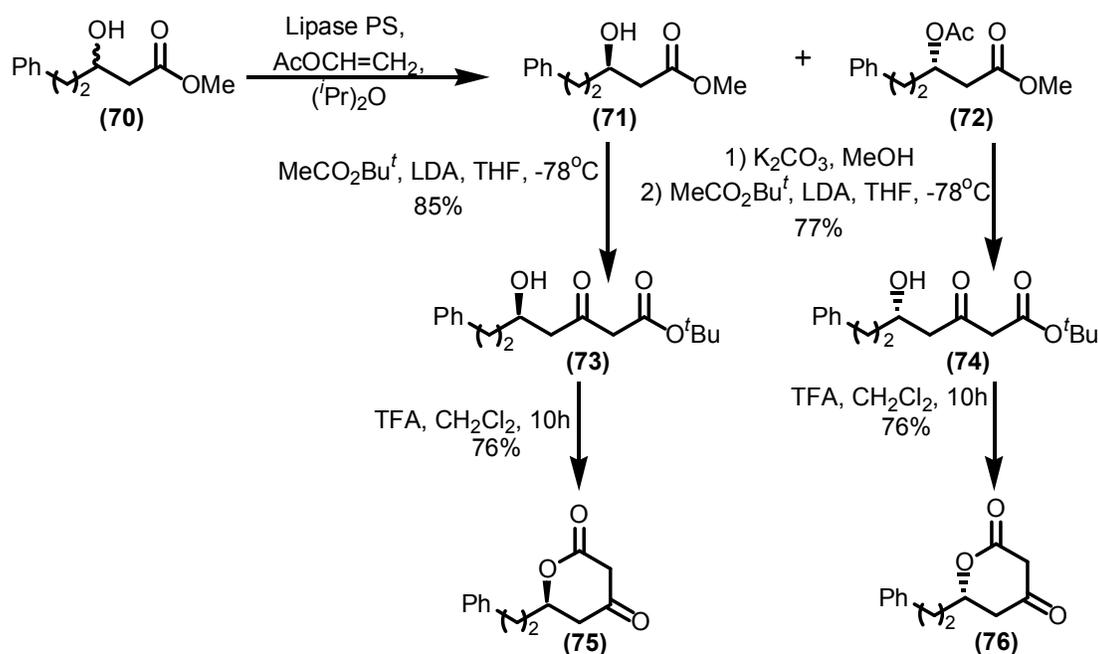
Um método alternativo para a preparação de δ -hidróxi- β -oxo-pentanoatos opticamente ativos consiste na resolução cinética biocatalítica (XU *et al*, 2004; XU & YUAN, 2005). A biocatálise tem atraído a atenção dos químicos orgânicos sintéticos devido às elevadas regio- e

estereosseletividades alcançadas (XU & YUAN, 2005). Para a obtenção de δ -aril- δ -hidróxi- β -oxo-pentanoatos **68** com elevados excesso enantiomérico, Xu *et al* (2004) têm empregado a lipase B de *Candida antarctic* (CALB) e a lipase de *Candida rugosa* (CRL), **Esquema 7**. As lipases catalisam a resolução cinética de álcoois secundários racêmicos em meio orgânico superando algumas limitações dos procedimentos tradicionais tais como a instabilidade das enzimas e o elevado tempo consumido no procedimento experimental (XU *et al*, 2004).



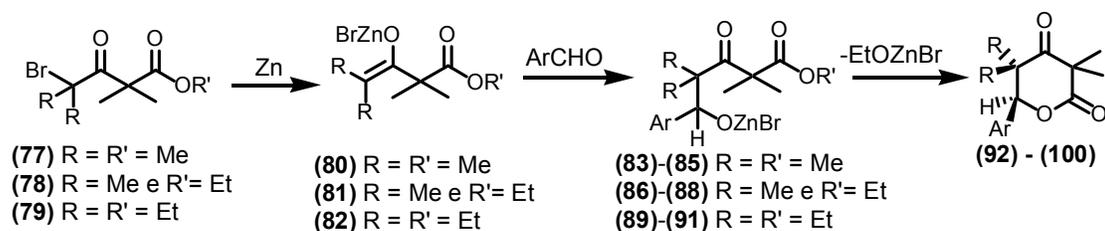
ESQUEMA 7. Resolução cinética de δ -hidróxi- β -cetoésteres empregando CRL

Kamal *et al* (2006) empregaram a lipase de *Pseudomonas cepacia* (PS) para a resolução enzimática de δ -hidróxi- β -cetoésteres. A resolução do β -hidróxi-éster **70** empregando a lipase PS forneceu o álcool (*R*) **71** e o acetato de configuração (*S*) **72**. Após a separação, o álcool **71** foi tratado com LDA e em seguida com acetato de *t*-butila para fornecer o δ -hidróxi- β -cetoéster **73**. Este foi lactonizado com TFA para gerar a (*R*)-diidro-piran-2,4-diona (**75**) (o ee não foi especificado). A (*S*)-diidro-piran-2,4-diona (**76**) foi obtida seguindo a mesma seqüência de reações após a hidrólise do acetato **72**, **Esquema 8** (KAMAL *et al*, 2006).



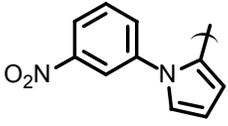
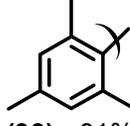
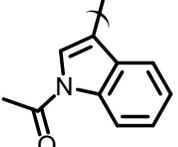
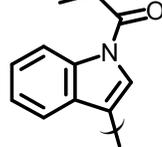
ESQUEMA 8. Preparação de diidro-piran-2,4-dionas quirais

Outra maneira de empregar β-cetoésteres como matéria-prima para a obtenção de diidro-piran-2,4-dionas é através da utilização de enolatos de zinco. Recentemente, Shchepin *et al* (2004) demonstraram a aplicabilidade da reação entre enolatos de zinco e diversos aldeídos aromáticos para a obtenção de 6-aryl-diidro-piran-2,4-dionas. Os enolatos de zinco **80** - **82** foram preparados a partir da reação de bromo-β-cetoésteres **77** - **79** com zinco metálico. A condensação do enolato de zinco obtido com diferentes aldeídos forneceu os intermediários **83** - **91**, que após ciclização intramolecular espontânea levou às diidro-piran-2,4-dionas desejadas como produto final, **Esquema 9** (SHCHEPIN *et al* 2002 e 2004).

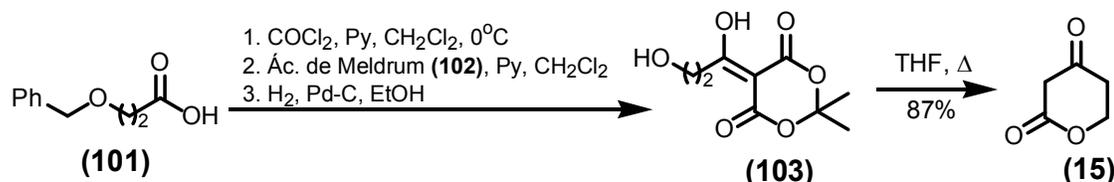


ESQUEMA 9. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de enolatos de zinco

TABELA 3. Rendimentos obtidos para diidro-piran-2,4-dionas sintetizadas a partir de enolatos de zinco

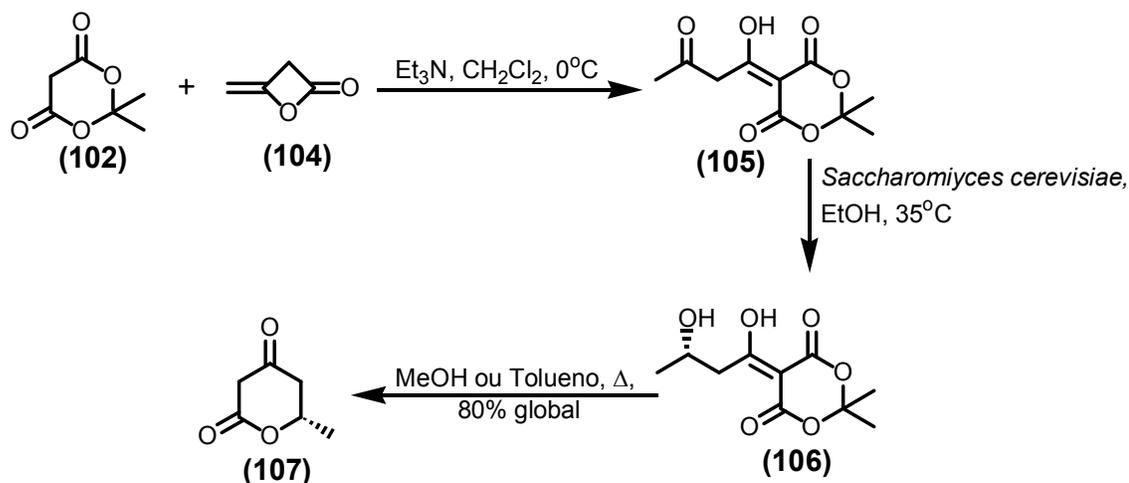
R = R' = Me	R = Me e R' = Et	R = R' = Et
Ar	Ar	Ar
 (92) - 89%	 (95) - 51%	 (98) - 86%
 (93) - 91%	 (96) - 70%	 (99) - 76%
 (94) - 93%	 (97) - 60%	 (100) - 60%

Derivados acilados do ácido de Meldrum (2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona) (**102**) também podem ser empregados como matéria-prima na síntese de diidro-piran-2,4-dionas (SATO *et al*, 1990; LERMER *et al*, 1992). Lerner *et al* (1992) aplicaram o derivado (**103**) do ácido de Meldrum (**102**), um equivalente sintético de δ -hidróxi- β -cetoésteres, como matéria-prima para a síntese da diidro-piran-2,4-diona (**15**). Nesta metodologia o derivado **103** é preparado através da conversão do ácido benziloxipropanóico (**101**) ao seu cloreto, o qual reage com o enolato do ácido de Meldrum (**102**) que após sofrer uma hidrogenólise para a remoção do grupo benzila levará ao composto desejado **103**. A lactonização de **103** ocorre através da solvólise intramolecular, sob refluxo de THF, da bis-lactona (**103**), **Esquema 10**.



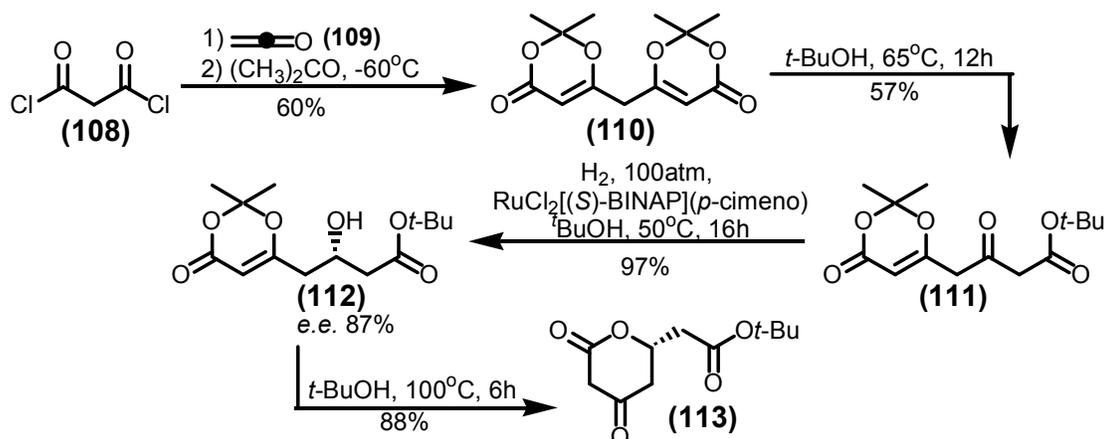
ESQUEMA 10. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de derivados acilados do Ácido de Meldrum

Derivados acilados de **102** também podem ser utilizados com sucesso na obtenção de diidro-piran-2,4-dionas opticamente ativas. Quando o ácido de Meldrum (**102**) é tratado com o diceteno **104**, em presença de trietilamina, o derivado acetoacetilado **105** é produzido. A redução de **105** com *Saccharomyces cerevisiae*, leva ao álcool de configuração (S), (**106**). O álcool (**106**) sob refluxo de metanol ou tolueno, é convertido, em bons rendimentos, à 6-me til-2,4-diona (**107**), **Esquema 11** (SATO *et al*, 1994).



ESQUEMA 11. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas quirais a partir de derivados acilados do Ácido de Meldrum (o excesso enantiomérico não foi especificado)

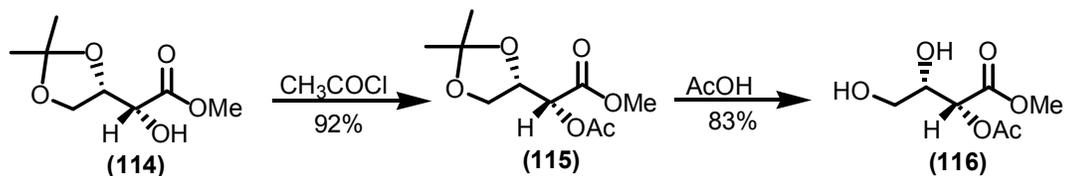
Diidro-piran-2,4-dionas também podem ser obtidas a partir da bisdioxinona **110** (KIEGIEL *et al* 2000). A bisdioxinona **110** é obtida a partir da reação de cloreto de oxalila (**108**) com o ceteno (**109**) em presença de acetona a -60°C . O aquecimento da dioxinona **110** a 65°C em presença de *t*-BuOH levou ao éster mono *t*-butílico **111**. A hidrogenação assimétrica de **111** levou ao álcool **112** em excelentes rendimentos e elevada enantiosseletividade. O álcool **112** foi convertido à diidro-piran-2,4-diona **113** após aquecimento com *t*-BuOH, **Esquema 12** (KIEGIEL *et al* 2000).



ESQUEMA 12. Diidro-piran-2,4-dionas a partir do cloreto de oxalila

1.3.2. A partir de carboidratos.

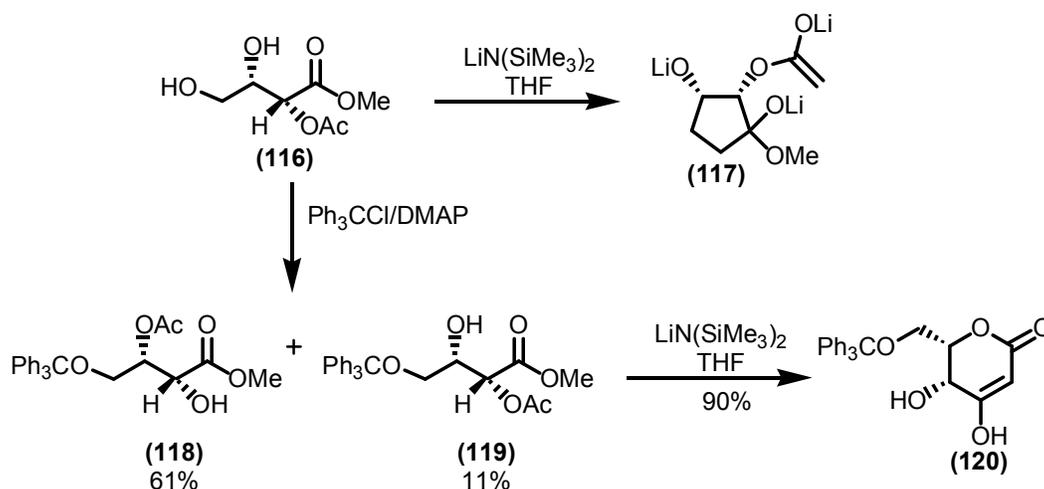
Muitos grupos vêm empregando com sucesso carboidratos como material de partida para a síntese de β -ceto- δ -lactonas enantiomericamente puras (GE & KIRK, 1996; BARTOLOZZI *et al* 2003). A utilização de carboidratos tem como principal vantagem o emprego de fontes quirais, comercialmente disponíveis. Ge e Kirk (1996) prepararam a diidro-piran-2,4-diona **120** a partir do 3,4-O-isopropilideno-L-treonato de metila (**114**). O composto **114** foi tratado com cloreto de acetila para fornecer o derivado 2-acetilado **115**. O tratamento de **115** com ácido levou ao 2-O-acetil-L-treonato de metila (**116**), Esquema 13 (GE e KIRK, 1996).



ESQUEMA 13. Conversão do 3,4-O-isopropilideno-L-treonato de metila ao 2-O-acetil-L-treonato de metila

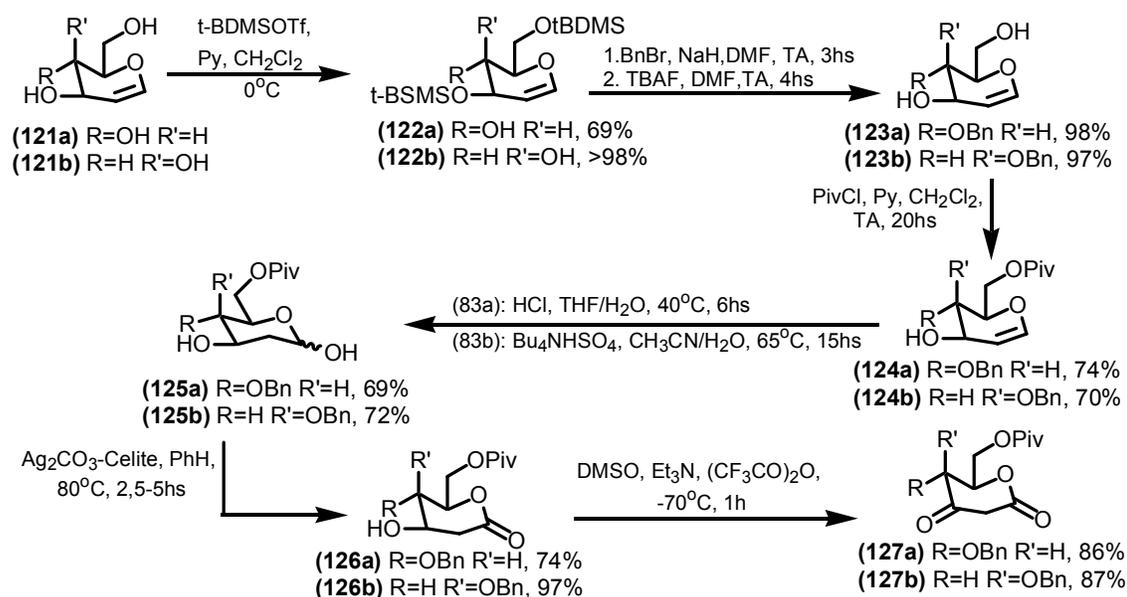
O tratamento de **116** com LHMDS para gerar a diidro-piran-2,4-diona **120**, levou à formação do produto **117**, resultante da adição nucleofílica da hidróxila em C-4 à carbonila. Para impedir esta adição, a hidróxila em C-4 foi protegida na forma de tritil éter. Entretanto quando **116** foi tratado com cloreto

de tritila em presença de DMAP observou-se que além do produto desejado **119**, também houve a formação de **118** resultante da migração do grupo 2-O-acetila. A ciclização de ambos produtos, **118** e **119**, mediada por LHMDs levou, majoritariamente, à diidro-piran-2,4-diona **120**, **Esquema 14**, (GE e KIRK, 1996).



ESQUEMA 14. 2-O-acetil-L-treonato de metila como matéria-prima para a síntese de diidro-piran-2,4-dionas

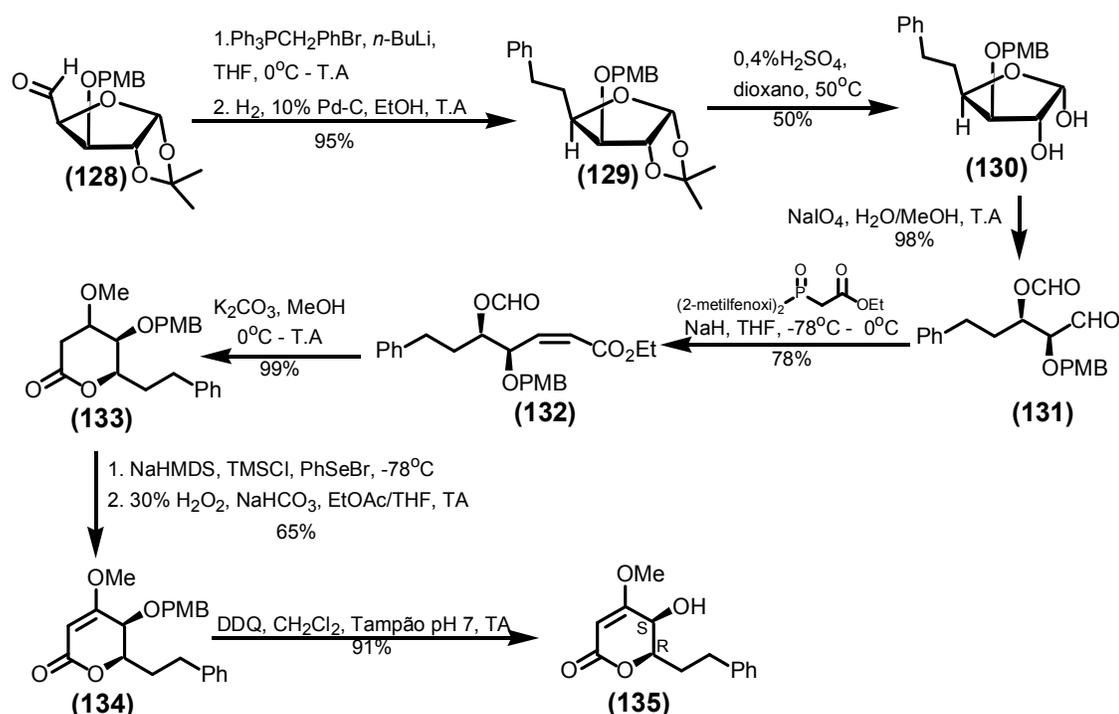
Bartolozzi *et al* (2003) desenvolveram um método eficiente para a conversão de monossacarídeos em β -ceto- δ -lactonas, a partir do glicial **121**. O glicial **121** foi seletivamente protegido na forma do siliéter **122**, o qual foi convertido ao álcool benzílico **123**. O álcool **123** em presença de cloreto de pivaloila forneceu **124**, o intermediário-chave para a obtenção da lactona **127**, **Esquema 15**.



ESQUEMA 15. Síntese diidro-piran-2,4-dionas a partir de monossacarídeos

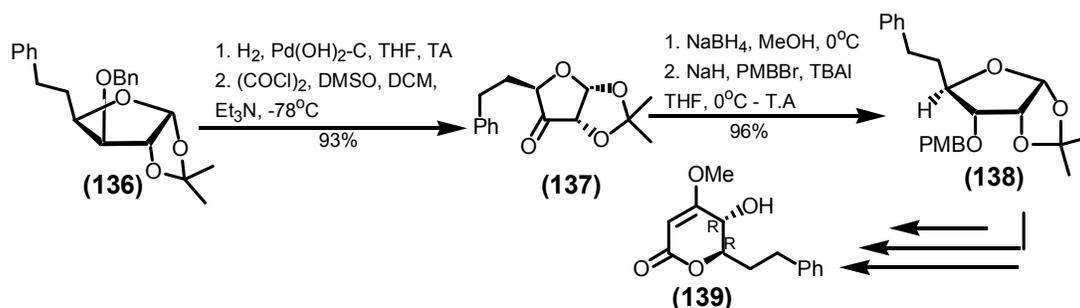
Ainda como exemplo do emprego de monossacarídeos como matéria-prima para a preparação de diidro-piran-2,4-dionas, o trabalho de Singh e Singh (2004) mostra a síntese de todos os estereoisômeros do diidro-kavain-5-ol a partir da α -D-glicose. Para a síntese do estereoisômero (*S,R*) **135**, a α -D-pentodialdose **128** foi utilizada como material de partida, **Esquema 16**.

O aldeído **128** foi convertido em **129** via uma olefinação de Wittig, seguida da hidrogenação da dupla ligação formada. O hemiacetal **130** foi obtido após a desproteção de **129** com ácido sulfúrico diluído em dioxano. Em seguida o hemiacetal **130** foi submetido a uma clivagem oxidativa com NaIO_4 para fornecer o aldeído **131**. O éster α,β -insaturado **132** foi obtido a partir do aldeído **131**, via reação de Horner-Wadsworth-Emmons. O tratamento de **132** com carbonato de potássio em metanol levou à lactona **133** em rendimentos quantitativos. A dupla ligação em **134** foi introduzida através da reação de fenilselenação de **133** com NaHMDS e TMSCl , seguida de eliminação oxidativa *syn*. A última etapa da síntese consistiu na desproteção do grupo éter em **134**, que foi realizada com DDQ , levando ao produto **135** em 91% de rendimento, **Esquema 16** (SINGH & SINGH, 2004).



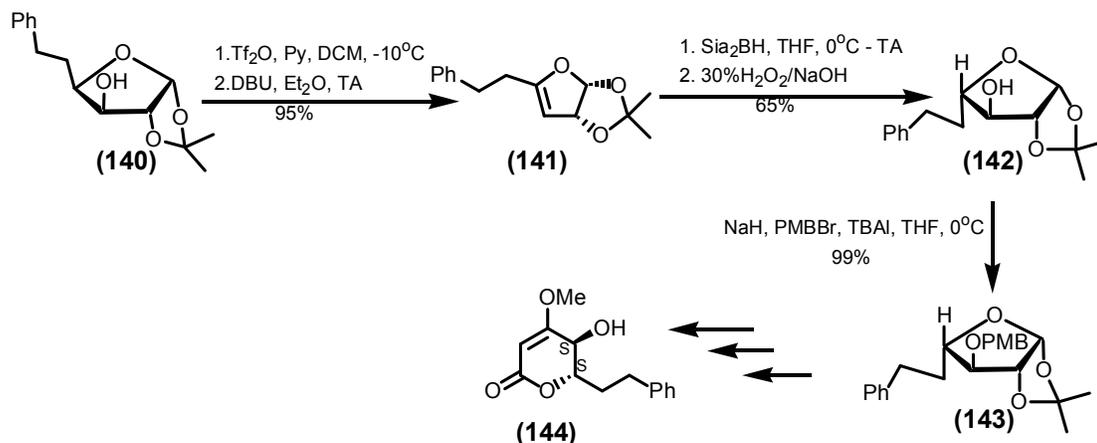
ESQUEMA 16. Síntese do estereoisômero (*S,R*) do diidro-kavain-5-ol

Para sintetizar o estereoisômero (*R,R*) do diidro-kavain-5-ol **139**, utilizando a mesma rota aplicada na síntese de **135** foi necessário apenas inverter a configuração do p-metóxibenzil éter (PMB) em **129** e seguir a mesma seqüência de reações. Para isto escolheu-se o composto **136** como material de partida. A hidrogenólise do éter benzílico em **136**, seguida de oxidação do álcool obtido, levou à cetona **137**. A redução da cetona **137** com boroidreto de sódio, pela face menos impedida, levou a formação de um único produto que foi protegido sob a forma do p-metóxibenzil éter **138**, o isômero de **129**. Após a obtenção de **138**, todas as outras reações aplicadas foram semelhantes àquelas utilizadas na síntese do isômero (*S,R*), **Esquema 17**.



ESQUEMA 17. Síntese do estereoisômero (*R,R*) do diidro-kavain-5-ol

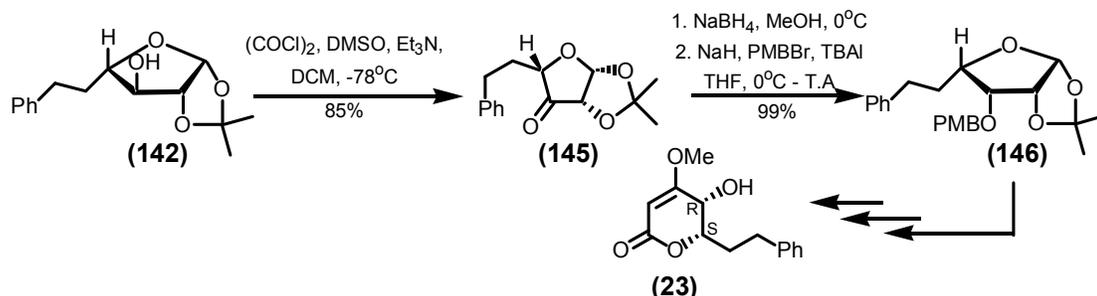
Na preparação do estereoisômero do diidro-kavain-5-ol com configuração (*S,S*) **144** foi modificada a orientação da cadeia lateral alquílica em **129**. O material de partida escolhido para conseguir isto foi o álcool **140**. Este foi convertido na olefina **141** após preparação do triflato e posterior eliminação deste grupo. A reação da olefina com diisoamil-borano seguida de oxidação com peróxido de hidrogênio levou ao álcool **142** como produto exclusivo. A hidróxila em **142** foi protegida, levando ao álcool protegido **125** que apresenta estereoquímica oposta ao composto **129**. A partir daí foi empregada a mesma seqüência de reações descritas para a preparação do isômero (*R,R*), **Esquema 18**.



ESQUEMA 18. Síntese do estereoisômero (*S,S*) do diidro-kavain-5-ol

Para a obtenção do produto natural, o estereoisômero (5*R*,6*S*) do diidro-kavain-5-ol (**23**), Singh e Singh (2004) inverteram a configuração do carbono que sustenta o grupo PMB em **143**. Isto foi conseguido através da oxidação do álcool **142** à cetona **145** e posterior redução da carbonila com boroidreto de

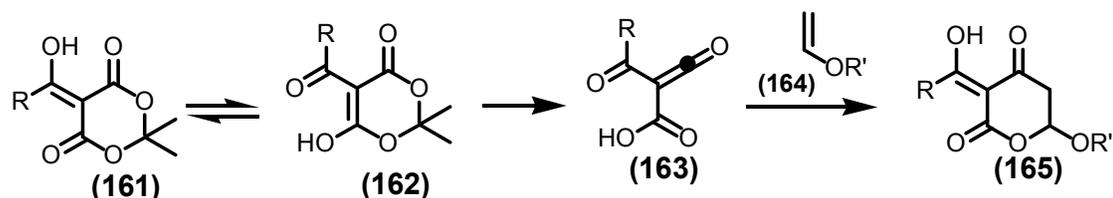
sódio. O álcool com a configuração desejada foi protegido e, empregando as mesmas reações já discutidas, foi transformado em **(23)** Esquema 19.



ESQUEMA 19. Síntese do estereoisômero (R,S) do diidro-kavain-5-ol

1.3.4. A partir de reações de cicloadição.

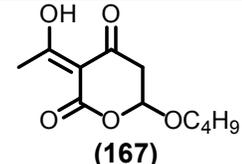
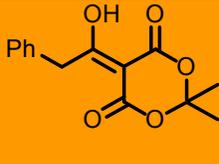
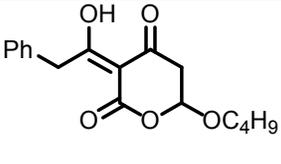
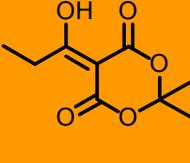
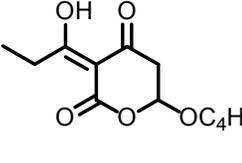
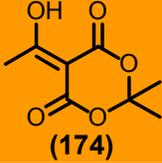
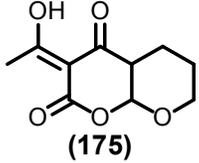
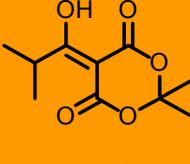
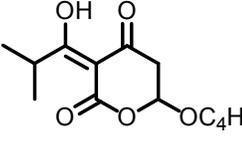
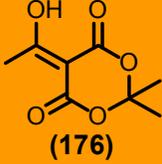
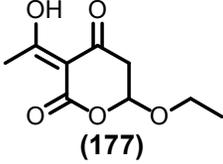
Diidro-piran-2,4-dionas do tipo geral **165** podem ser formadas a partir de α -oxocetenos conjugados tal como o acil ceteno **163** através da adição [4+2] a éteres vinílicos **164** (CRIMMINS *et al* 2004). O ceteno **163** pode ser obtido pela ciclorreversão de 4-H-1,3-dioxin-4-onas (**161**). A obtenção do ceteno **163** a partir de **161** ocorre em condições neutras e é induzida térmica- ou fotoquimicamente Esquema 20 (SATO *et al* 1997).



ESQUEMA 20. Preparação de diidro-piran-2,4-diona a partir de cetenos

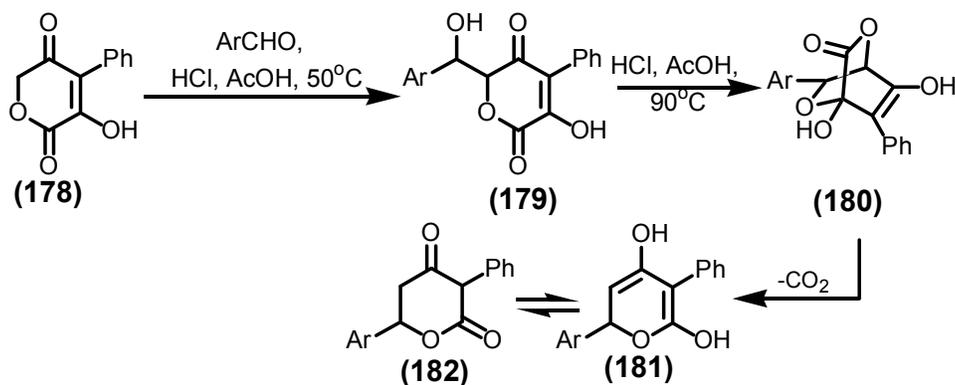
Várias diidro-piran-2,4-dionas foram preparadas por este método, como ilustrado na Tabela 4.

TABELA 4. Diidro-piran-2,4-dionas preparadas a partir da reação de acil cetenos (obtidos a partir de derivados acilados do ácido de Meldrum) com éteres vinílicos.

Ácido de Meldrum acilado	Diidro-piran-2,4-diona ^a	Ácido de Meldrum acilado	Diidro-piran-2,4-diona ^a
 (166)	 (167)	 (172)	 (173)
 (168)	 (169)	 (174)	 (175)
 (170)	 (171)	 (176)	 (177)

a. Os rendimentos não foram especificados

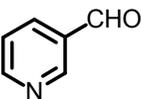
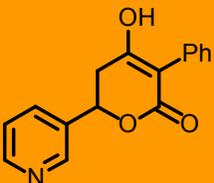
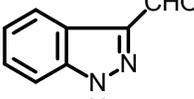
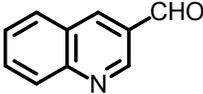
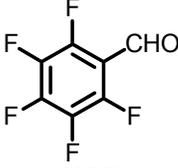
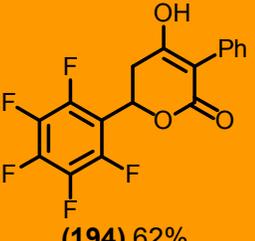
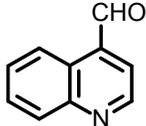
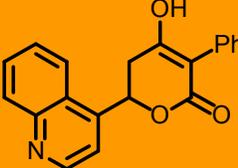
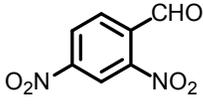
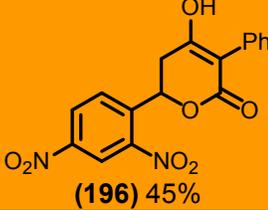
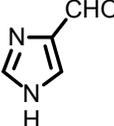
Liu e Xu (2000) descreveram um método para a síntese de diidro-piran-2,4-dionas que consiste na cicloadição intramolecular de carbinóis **179** seguida de descarboxilação do bicyclo gerado **180**. O intermediário carbinol **179** é resultado da reação entre a pirandiona **178** com aldeídos aromáticos, **Esquema 21**.



ESQUEMA 21. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas através da cicloadição intramolecular de carbinóis.

A **Tabela 5** a seguir mostra a grande aplicabilidade desta reação e sua versatilidade, já que pode ser empregada para a síntese de inúmeros compostos (LIU & XU, 2000).

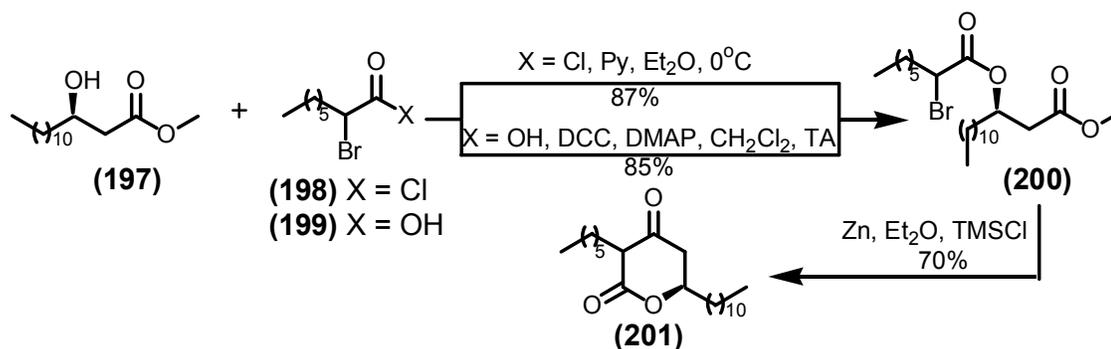
TABELA 5. Aldeídos empregados, produtos obtidos e os respectivos rendimentos da síntese mostrada no **Esquema 21**.

ArCHO	Produto	ArCHO	Produto
 (183)	 (184) 75%	 (191)	 (192) 86%
 (185)	 (186) 72%	 (193)	 (194) 62%
 (187)	 (188) 70%	 (195)	 (196) 45%
 (189)	 (190) 80%		

1.3.5. A partir de outras reações.

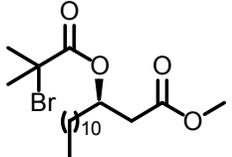
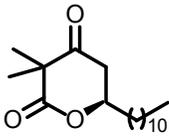
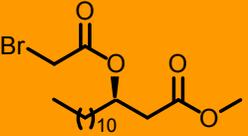
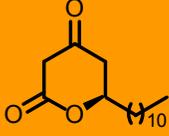
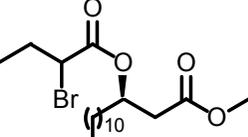
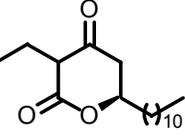
A (*R*)-3-hexil-5,6-diidro-4-hidróxi-6-undecil-2H-piran-2-ona (**201**) é um intermediário-chave na síntese da tetra-hidrolipstatina, uma substância empregada no tratamento da obesidade. Landi *et al* (1993) reportaram a síntese da (*R*)-3-hexil-5,6-diidro-4-hidróxi-6-undecil-2H-piran-2-ona (**201**) a partir de outra estratégia de ciclização mais acessível para preparações comerciais em larga escala.

Landi *et al* (1993) prepararam a diidro-piran-2,4-diona **201** a partir da esterificação do (R)-3-hidróxi-tetradecanoato de metila (**197**) com o cloreto de 2-bromooctanoíla (**198**) que leva ao bromodíéster **200**. O hidróxi-éster **197** também pode ser convertido a **200** após tratamento com o ácido 2-bromooctanóico (**199**). O bromodíéster **200** forneceu a diidro-piran-2,4-diona **201** após tratamento com Zn em presença de éter etílico e cloreto de trimetilsilano, **Esquema 22**. Na **Tabela 6** são mostradas outras diidro-piran-2,4-dionas preparadas através desta mesma rota (LANDI *et al*, 1993).

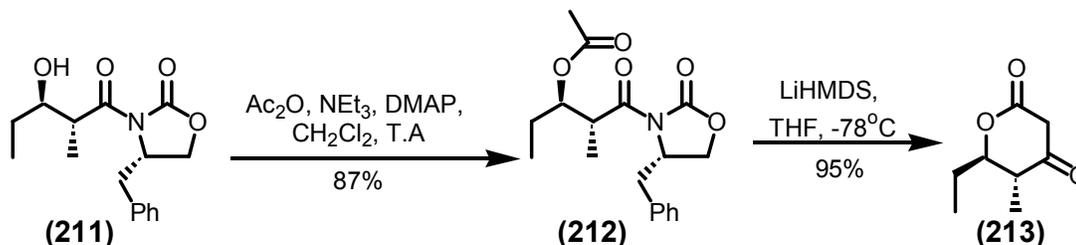


ESQUEMA 22. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de bromodíésteres

TABELA 6. Outras diidro-piran-2,4-dionas sintetizadas a partir de bromo diésteres.

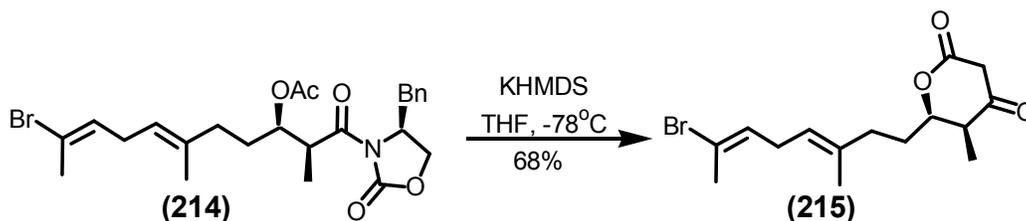
Reagentes	Bromodíéster (rendimento)	Diidro-piran-2,4-diona (rendimento)
Brometo de 2-bromoisobutirila (202) + hidróxi-éster 197	 (203) - 55%	 (204) - 53%
Brometo de bromoacetila (205) + hidróxi-éster 197	 (206) - 90%	 (207) - 22%
Brometo de 2-bromobutirila (208) + hidróxi-éster 197	 (209) - 72%	 (210) - 62%

Um método que vem sendo empregado com sucesso na obtenção de diidro-piran-2,4-dionas quirais consiste na condensação de Dieckman seguida de clivagem da oxazolidona de Evans (VANDERWAL *et al*, 1999; VANDERWAL *et al* 2001; HINTERDING *et al* 2001). Hinterding *et al* (2001) prepararam a diidro-piran-2,4-diona **213** a partir do aldol *anti* **211**. O aldol **211** foi convertido ao acetato correspondente e submetido a tratamento com LiHMDS para fornecer como produtos a diidro-piran-2,4-diona **213** e a oxazolidona livre, **Esquema 23**.



ESQUEMA 23. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas através de Condensação de Dieckman

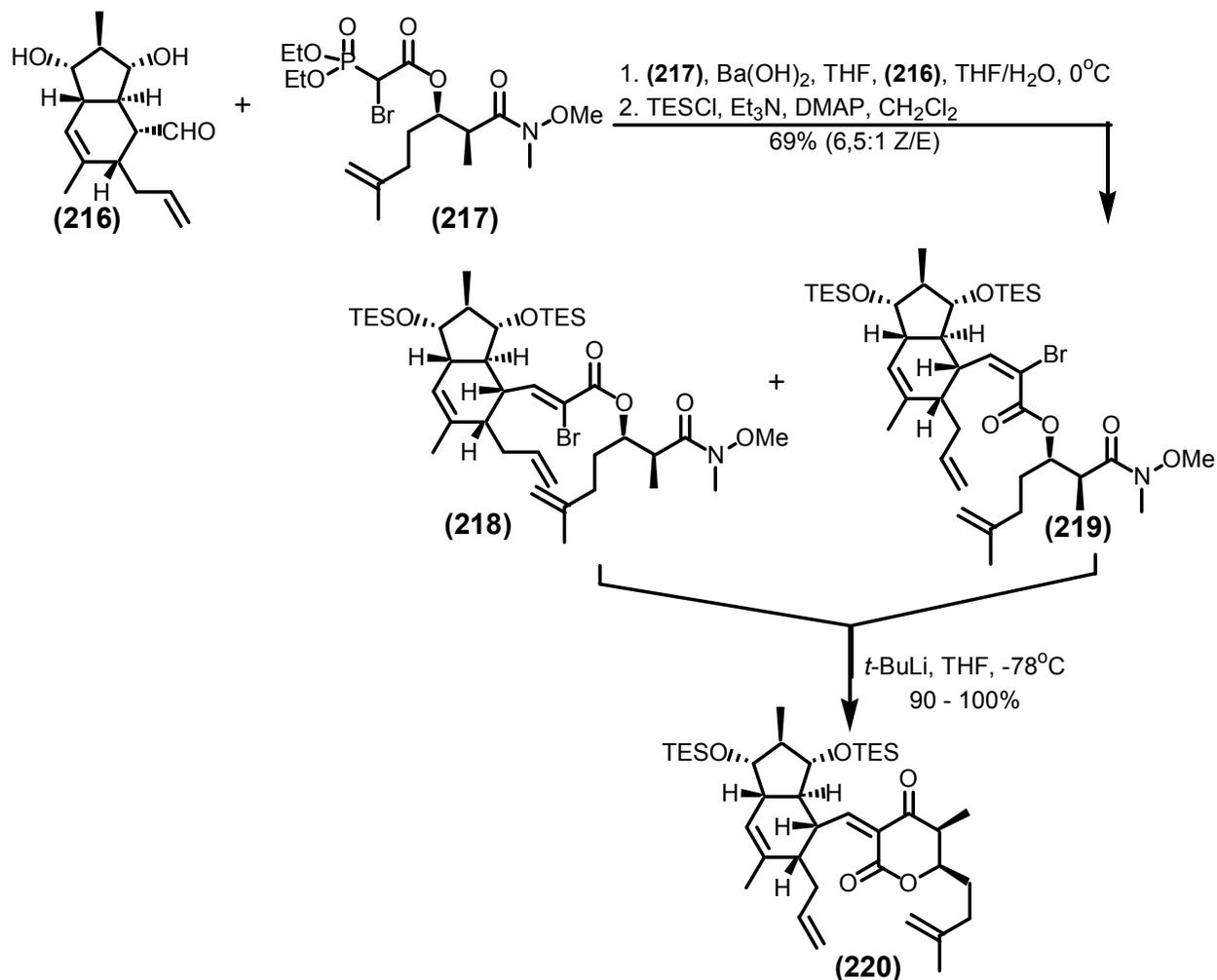
Esta estratégia de ciclização intramolecular, confiável e facilmente executável, já havia sido empregada por Vanderwal *et al* (1999) na síntese da diidro-piran-2,4-diona **215**. A diidro-piran-2,4-diona **215** foi obtida a partir do acetato **214**, após seu tratamento com hexametildissalazida de potássio a -78°C , **Esquema 24** (VANDERWAL *et al* 1999).



ESQUEMA 24. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas através de Condensação de Dieckman

Vanderwal *et al* (2001) sintetizaram a α -alquilideno diidro-piran-2,4-diona **220** a partir do α -bromoenoato **218**, que possui em sua estrutura uma carbonila fortemente eletrofílica, através de uma estratégia de ciclização intramolecular até então inédita. Quando uma solução de **218** em THF a -78°C foi tratada com *t*-Butil Lítio, ocorreu rapidamente a ciclização que levou à formação de **220** com

uma geometria inesperada. Este processo é estereosseletivo, mas não estereoespecífico, pois a exposição do bromoenoato **219**, estereoisômero de **218**, às mesmas condições, também resulta na formação do composto **220**, **Esquema 25** (VANDERWAL *et al* 1999).



ESQUEMA 25. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas através de Condensação de Dieckman

Outra reação de grande aplicabilidade para a construção do esqueleto diidro-pirona é a reação de hetero Diels-Alder (HDA) entre o dieno de Brassard rico em elétrons **221** e **222**, **Figura 11**, e aldeídos ou cetonas apropriados em presença de ácido de Lewis, **Esquema 26** (PIERRES *et al*, 2003; FAN *et al* 2004, WINKLER & OH, 2005).

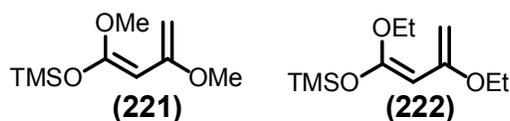
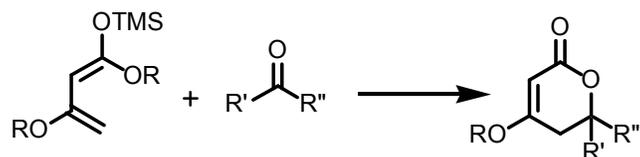
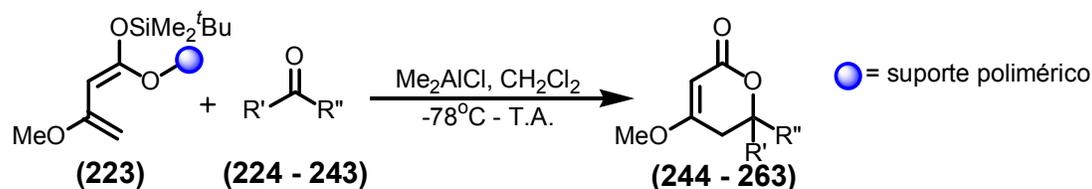


FIGURA 11. Estruturas dos dienos de Brassard



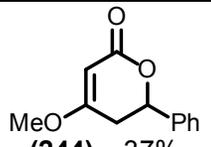
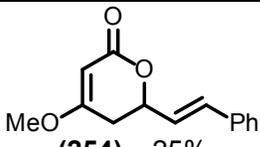
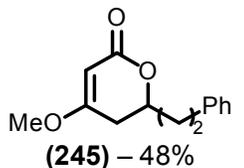
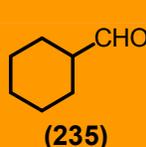
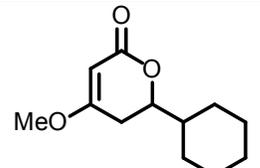
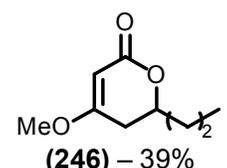
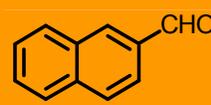
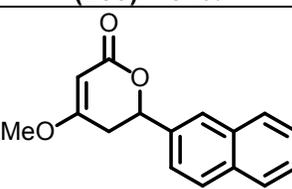
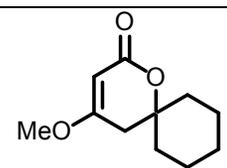
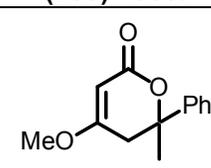
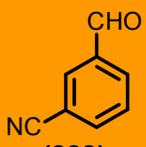
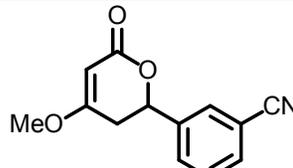
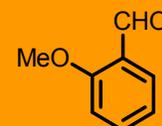
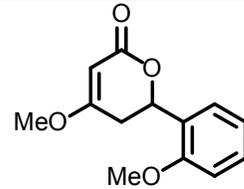
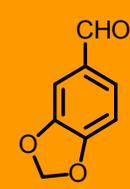
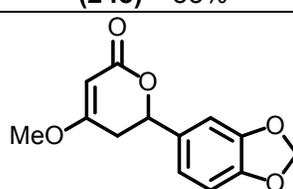
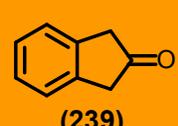
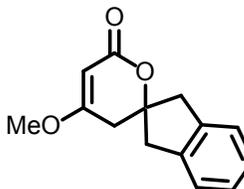
ESQUEMA 26. Esquema geral para a reação de hetero – Diels – Alder entre o dieno de Brassard e um composto carbonílico.

A reação entre o dieno de Brassard e aldeídos foi primeiro reportada por Midland *et al* (1984), mais recentemente, entretanto, foi mostrado um exemplo de cicloadição empregando o dieno suportado sobre um polímero (resina de Merrifield modificada), uma vez que ele é um reagente muito sensível à manipulação (PIERRES *et al*, 2003), **Esquema 27**. Pierre *et al* não conseguiram reproduzir as condições descritas na literatura em trabalhos anteriores (MIDLAND *et al* 1990; WALDMANN *et al* 1991) para a reação de HDA entre **221** e aldeídos, para a obtenção de diidro-piran-2,4-dionas, em bons rendimentos. Além disso, a reação com cetonas ocorreu lentamente e com baixos rendimentos (PIERRES *et al*, 2003). Na **Tabela 7** são mostradas as diidro-pironas que foram obtidas, **244 – 263**, com vários tipos de aldeídos ou cetonas, **224 – 243**.



ESQUEMA 27. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard suportado em resina

TABELA 7. Aldeídos e cetonas usados na reação de HDA (Esquema 27) e as respectivas diidro-pironas obtidas.

Matéria-prima	Diidro-pirona Rendimento (%)	Matéria-prima	Diidro-pirona Rendimento (%)
PhCHO (224)	 (244) – 37%	Ph-CH=CH-CHO (234)	 (254) – 25%
Ph-CH2-CH2-CHO (225)	 (245) – 48%	 (235)	 (255) – 51%
CH3-CH2-CHO (226)	 (246) – 39%	 (236)	 (256) – 39%
 (227)	 (247) – 55%	Ph-CO-CH3 (237)	 (257) – 24%
 (228)	 (248) – 55%	 (238)	 (258) – 20%
 (229)	 (249) – 20%	 (239)	 (259) – 32%

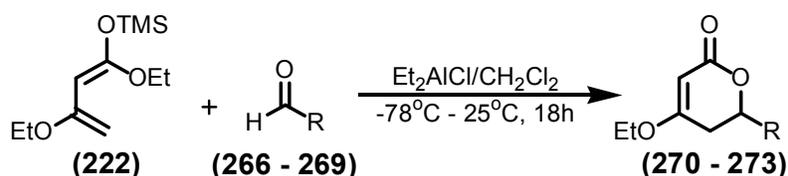
Continua...

Matéria-prima	Diidro-pirona	Matéria-prima	Diidro-pirona
---------------	---------------	---------------	---------------

Ácido de Lewis (mol%)	Tempo de reação (h)	Rendimento (%)
Ti(<i>i</i> -PrO) ₄ (100)	18	2
BF ₃ .OEt ₂ (100)	18	7
ZnCl ₂ (100)	18	11
Et ₂ AlCl (100)	18	56
Yb(OTf) ₃ (5)	48	48
Sc(OTf) ₃ (5)	48	3
In(OTf) ₃ (5)	48	8

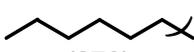
Os melhores resultados no trabalho de Winkler e Oh (2005) foram obtidos usando cloreto de dietilalumínio ou triflato de ytérbio como catalisadores. Devido ao longo período exigido para que a reação ocorresse, o cloreto de dietilalumínio foi considerado o melhor mediador para a cicloadição de dienófilos carbonílicos ao dieno de Brassard **222** (WINKLER & OH 2005).

Após encontrar as melhores condições para a reação de HDA de **222**, Winkler e Oh (2005) testaram a reação, utilizando uma série de aldeídos, **Esquema 29**. Como pode ser verificada na **Tabela 9**, a condição aplicada por Winkler e Oh (2005) fornecem as respectivas diidro-pironas em rendimentos superiores aos obtidos por Pierres *et al* (2003).

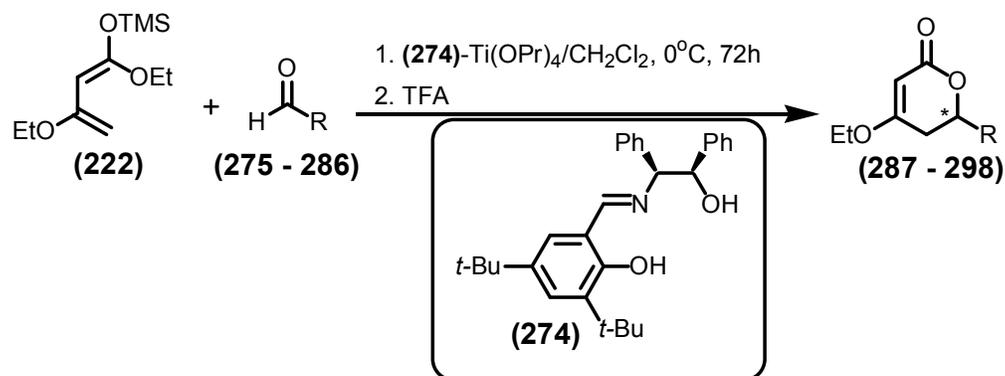


ESQUEMA 29. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard

TABELA 9. Rendimentos obtidos para as diidro-pironas preparadas de acordo com o Esquema 29.

R	Rendimento (%)	R	Rendimento (%)
 (270)	68	 (272)	83
 (271)	79	 (273)	96

A reação HDA entre o dieno de Brassard e dienófilos carbonílicos também pode ser utilizada para a obtenção de diidro-pironas opticamente ativas (FAN *et al* 2004; WINKLER & OH, 2005; FIN *et al*, 2006). Fan *et al* (2004) descreveram a reação entre o dieno de Brassard **222** e aldeídos aromáticos com alta enantiosseletividade empregando como catalisador um complexo de titânio (IV)-base de Schiff (catalisador de Feng), **Esquema 30**.



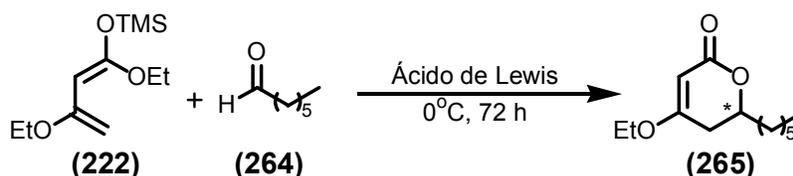
ESQUEMA 30. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard

TABELA 10. Produtos da reação ilustrada no Esquema 30.

R	Rendimento	e.e	R	Rendimento	e.e
	71%	93%		70%	90%
	45%	96%		87%	97%
	24%	92%		53%	93%
	53%	93%		61%	90%
	36%	90%		56%	91%
	70%	99%		61%	96%

(292)

Winkler e Oh (2005) empregaram uma série de catalisadores quirais na cicloadição utilizando aldeídos alifáticos, **Esquema 31**. Apesar de fornecer elevados excessos enantioméricos para a reação de HDA entre o dieno **222** e aldeídos aromáticos, o catalisador de Feng forneceu as diidro-pironas com substituintes alifáticos em C-6 em baixos rendimentos e mostrou enantiocontrole insignificante, **Tabela 11** (WINKLER & OH, 2005).

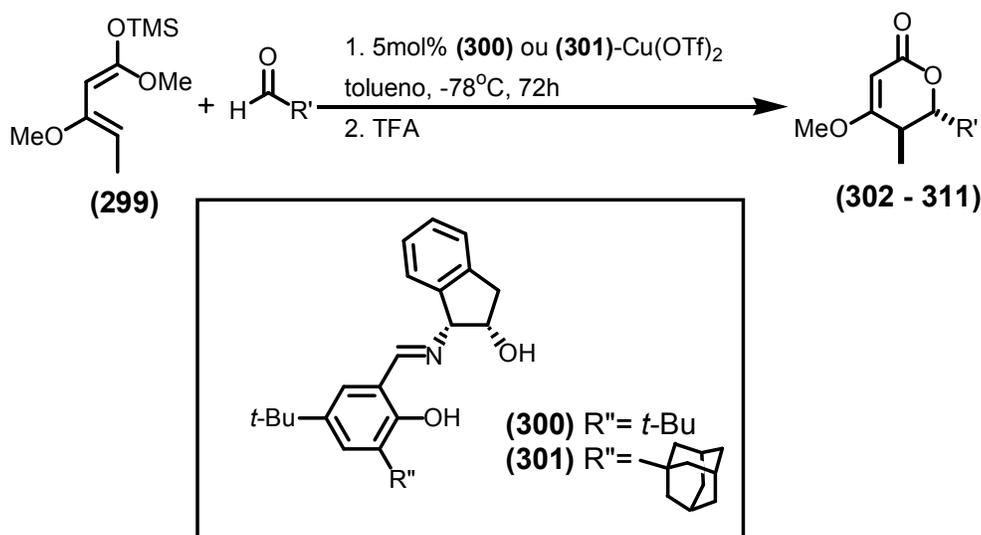


ESQUEMA 31. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard

TABELA 11. Ácidos de Lewis quirais empregados na reação entre o dieno **222** e o heptanal

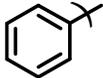
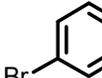
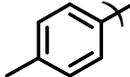
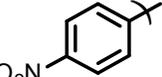
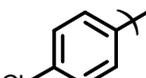
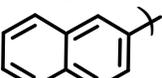
Ácido de Lewis (mol %)	Rendimento	e.e
Catalisador de Feng (10)	14%	8,0%
(+)-Eu(hfc) ₃ (5)	39%	6,5%
Catalisador de Jacobsen (1,5)	14%	4,5%

O dieno de Brassard **221** pode ser modificado pela adição de um grupo metila adicional para gerar o dieno **299**. Lin *et al* (2006) empregaram a reação de HDA entre o dieno **299** com aldeídos para gerar diidro-pironas 5,6-dissubstituídas com elevada enantio- e diastereosseletividade, **Tabela 12**, utilizando como catalisador complexos de Cu (III)-base de Schiff quiral **300** e **301**, **Esquema 32**.



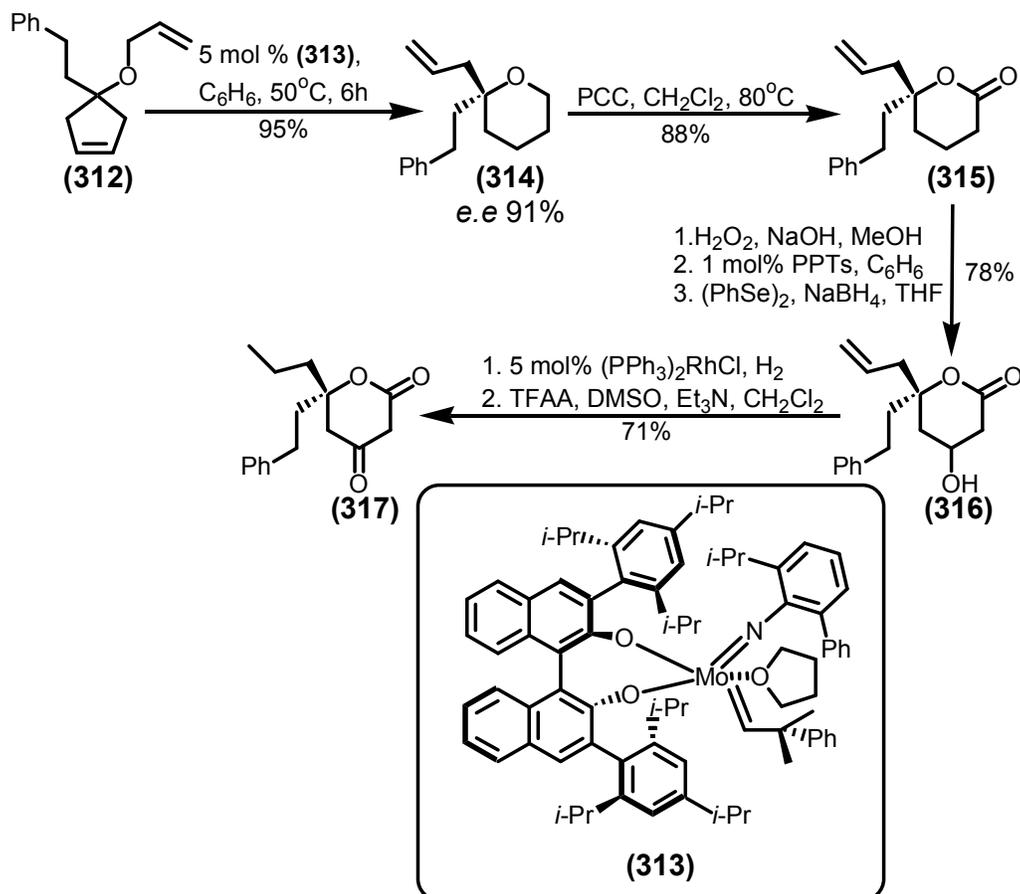
ESQUEMA 32. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir do dieno de Brassard, empregando um catalisador quiral.

TABELA 12. Produtos da reação de HDA assimétrica entre o dieno **299** e aldeídos aromáticos promovida pelo ligante **300** ou **301**-Cu(OTf)₂, Esquema 32.

R' - Rendimento	Ligante	e.e (anti) anti:syn	R' - Rendimento	Ligante	e.e (anti) anti:syn
 (302) - 70%	(301)	98% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) 95:5	 (307) - 65%	(301)	>91% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) >94:6
 (303) - 52%	(300)	94% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) 99:1	 (308) - 53%	(301)	90% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) 88:12
 (304) - 40%	(301)	96% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) 98:2	 (309) - 64%	(301)	94% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) 89:11
 (305) - 60%	(301)	97% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) 97:3	 (310) - 57%	(300)	92% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) 98:2
 (306) - 55%	(301)	>94% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) >95:5	 (311) - 63%	(301)	>97% (5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>) >97:3

Cefalo *et al* (2001) prepararam a diidro-piran-2,4-diona **317**, uma unidade estrutural presente no agente anti-HIV tipranavir (**318**), **Figura 12**, a partir do ciclopenteno **312**. O ciclopenteno **312** foi rearranjado

enantiosseletivamente, através de uma metátese catalisada pelo complexo de molibdênio **313**, para formar o pirano insaturado **314**. Após uma seqüência de seis etapas, o pirano **314** foi convertido à diidro-piran-2,4-diona **317**, **Esquema 33**.



ESQUEMA 33. Síntese de diidro-piran-2,4-dionas a partir de ciclopenteno

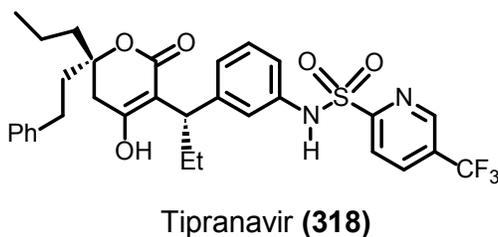
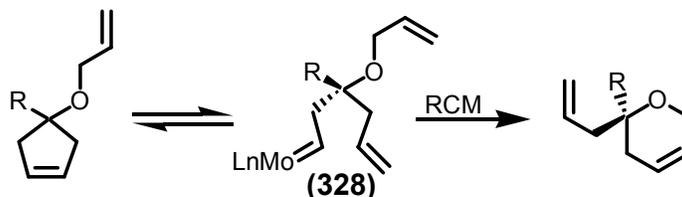


FIGURA 12. Diidro-piran-2,4-diona com atividade anti HIV

A conversão do ciclopenteno **312** no pirano insaturado **314** ocorre de acordo com o mecanismo ilustrado no **Esquema 34**. O ciclopenteno **312** após sofrer abertura do anel por metátese assimétrica (AROM) leva preferencialmente a formação de **319**, o qual sofre uma metátese de fechamento de anel (RCM) para gerar o pirano **314** (Cefalo *et al* 2001).



ESQUEMA 34. Reação de metátese do ciclopenteno

Apesar de ser uma estrutura conhecida há muitos anos, observou-se após este levantamento bibliográfico que a quantidade de estudos sobre este núcleo ainda é muito reduzida. Os diversos produtos obtidos a partir de diidro-piran-2,4-dionas, no entanto, apontam para a grande reatividade desta classe de compostos e mostra que elas podem ser empregadas nas reações clássicas de compostos β -dicarbonílicos, dando origem a uma série de compostos heterocíclicos.

Laura C. de Souza

Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas

Objetivos

Objetivos

2

2.0 OBJETIVOS

- Sintetizar diferentes diidro-piran-2,4-dionas.
- Investigar as atividades biológicas das diidro-piran-2,4-dionas sintetizadas.
- Avaliar a influência da estrutura química (padrão de substituição, natureza do substituinte) nas atividades biológicas observadas em diidro-piran-2,4-dionas.
- Desenvolver uma nova metodologia segura e eficiente para a preparação de 5,7-diidroxi-4-cromanonas.

Laura C. de Souza

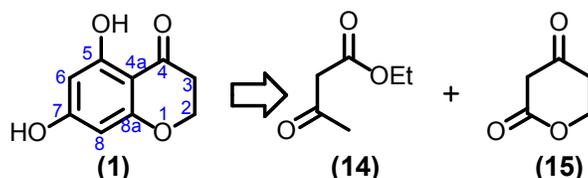
Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas

Resultados e Discussões

Resultados e Discussão 3

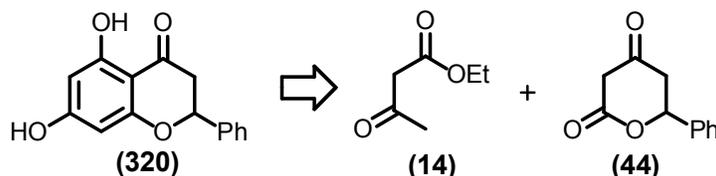
3.1 TENTATIVAS DE SÍNTESE DO NÚCLEO 4-CROMANÔNICO

No Esquema 1 mostrado na página 4 e reproduzido abaixo, está representada a proposta inicial de trabalho que visa a síntese do núcleo 4-cromanônico (1). Num primeiro momento, estava prevista a reação de condensação do acetoacetato de etila (14) com a diidro-piran-2,4-diona (15).



ESQUEMA 1. Proposta para a síntese de 4-cromanonas

Para realizar esta primeira etapa fez-se necessário a obtenção da diidro-piran-2,4-diona (15). No entanto, devido às dificuldades encontradas na purificação e isolamento da diidro-piran-2,4-diona (15) por apresentar baixa solubilidade em solventes orgânicos, elevada instabilidade em sílica-gel ou alumina e decompor-se a temperaturas elevadas (SOUZA, 2002), decidiu-se preparar a pinocebrina (320), um análogo de (1), que utiliza como matéria-prima a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (44), Esquema 35.

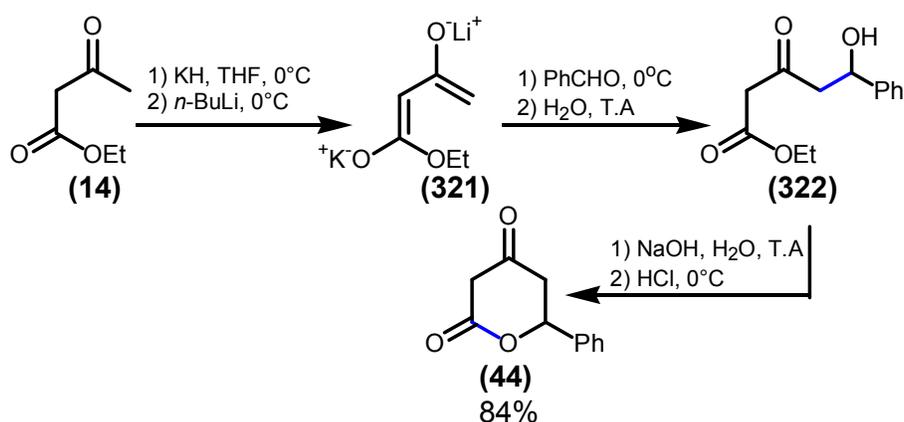


ESQUEMA 35. Proposta para a síntese da pinocebrina

3.1.1 Síntese da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona

Numa etapa anterior deste trabalho (SOUZA, 2002) várias estratégias para a síntese e a purificação de 44 foram testadas. Após inúmeras tentativas, verificou-se que os melhores rendimentos eram obtidos quando o 5-hidróxi-3-oxo-5-fenil-pentanoato de etila (322), preparado através da condensação do

diânion do acetoacetato de etila (**321**) com benzaldeído, foi hidrolisado sob condições de alta diluição (500 mL de solução 0,1 mol/L de NaOH : 5 mmol do β -cetoéster). Os subprodutos foram separados da mistura reacional através de extração com éter etílico. O hidróxi-ácido, extraído da fase aquosa, foi lactonizado usando HCl concentrado até atingir pH 6, a 0°C. Durante a reação de lactonização a diidro-piran-2,4-diona (**44**) pode decompor-se em meio ácido, levando ao produto de descarboxilação. Para contornar este problema, adicionou-se éter etílico, como co-solvente na etapa de lactonização. Deste modo, à medida que a lactona fosse formada, passaria para a fase orgânica e diminuiria o risco de decomposição em meio ácido. A 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**) foi obtida como um sólido amorfo incolor, após sucessivas lavagens do produto bruto com éter etílico a 0°C, seguida de secagem sob vácuo, em 84% de rendimento, **Esquema 36**.



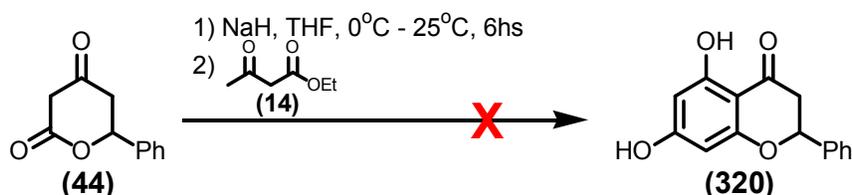
ESQUEMA 36. Síntese da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona

A metodologia acima descrita já foi utilizada em outros trabalhos. Peterson *et al* (1988) sintetizaram a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**), em 76% de rendimento, usando as mesmas condições empregadas acima.

3.1.2 Tentativa de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o acetoacetato de etila.

Após a obtenção da diidro-piran-2,4-diona **44**, iniciou-se o estudo da sua condensação com o acetoacetato de etila (**14**). A primeira tentativa de síntese do núcleo cromanônico **320** foi realizada usando como base NaH em THF a 0°C, para a desprotonação da diidro-piran-2,4-diona **44**, seguido de adição do

acetoacetato de etila (**14**). A mistura reacional foi lentamente aquecida até a temperatura ambiente, durante seis horas. Após este período, toda a matéria-prima havia sido consumida, com formação de um produto principal com R_f superior ao de **44** conforme pode ser observado via análise em CCD (30%AcOEt/Hexano). Através da comparação do espectro de RMN H^1 em 60 MHz do material bruto com espectros previamente reportados na literatura para **320** (JUNG & McLAUGHLIN, 1990; HANAWA *et al*, 2001), infelizmente, não foi possível identificar o produto desejado, **320**, Esquema 37.

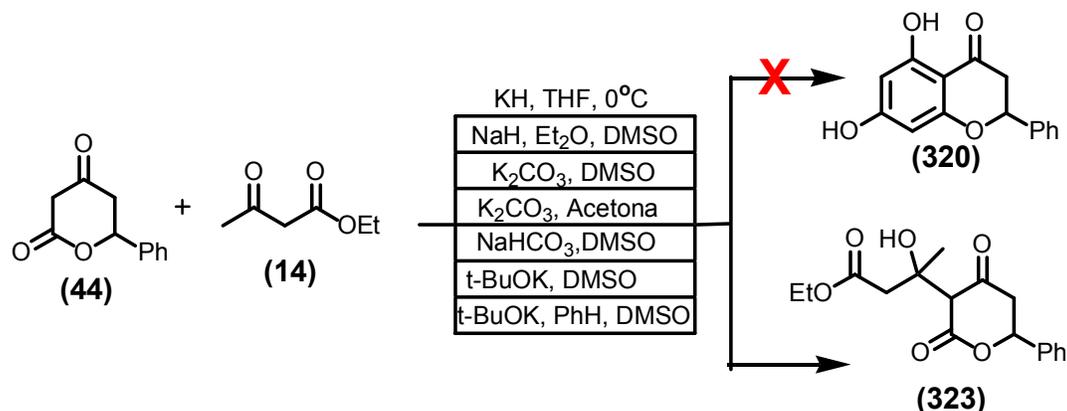


ESQUEMA 37. Tentativa de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o acetoacetato de etila

Numa tentativa de aumentar a solubilidade de **44** no meio reacional, foi empregado um co-solvente de elevada polaridade, DMSO, entretanto, neste caso também não foi possível identificar o produto desejado **320**. Várias outras tentativas de condensação em meio básico foram realizadas, KH/THF, NaH/Et₂O/DMSO, K₂CO₃/DMSO ou em acetona, NaHCO₃/DMSO, t-BuOK/DMSO ou em uma mistura de PhH/DMSO. Em todas elas observou-se, via análise em CCD, que havia a formação de mais de um produto. Como a reação era realizada em escala de mmol, não foi possível o isolamento de cada um dos produtos formados em quantidades suficientes para que fossem identificados via RMN H^1 em 60 MHz. Entretanto na análise do espectro do produto bruto, em nenhuma dessas condições foi possível identificar a formação de **320**.

Em todas as reações verificou-se, via RMN H^1 em 60 MHz, que um mesmo produto parecia ser formado. Este produto era caracterizado pela presença de um simpleto de três hidrogênios em δ 1,3 e um simpleto de dois hidrogênios em δ 2,4. De posse desta informação, imaginou-se que o produto

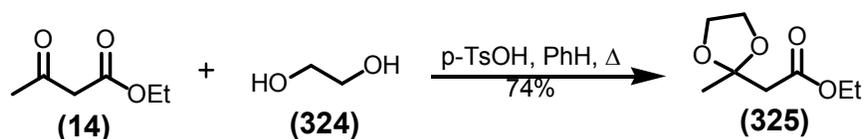
formado seria **323**, resultante da alquilação da carbonila cetônica do acetoacetato de etila (**14**) pelo ânion de **44**, **Esquema 38**.



ESQUEMA 38. Outras tentativas de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o acetoacetato de etila

3.1.3 Síntese do etilenoacetal do acetoacetato de etila

Com estes resultados, resolveu-se proteger a carbonila cetônica do acetoacetato de etila (**14**) na forma do etilenoacetal **325** para evitar a reação de alquilação. Para isto, uma mistura de etilenoglicol (**324**), acetoacetato de etila (**14**) e ácido *p*-toluenossulfônico em benzeno foi aquecida sob refluxo em um aparelho de Dean-Stark, para remoção da água, até que não fosse observada mais a formação de água. Sob estas condições, o acetal **325** foi obtido, após destilação, em 74% de rendimento, **Esquema 39**.



ESQUEMA 39. Síntese do etilenoacetal do acetoacetato de etila

3.1.4 Tentativa de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o etilenoacetal do acetoacetato de etila.

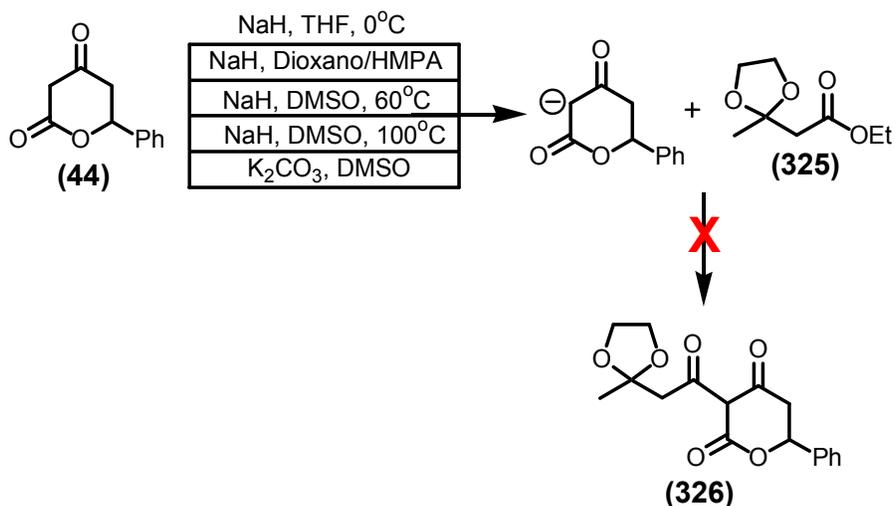
Após a obtenção do acetal **325**, foi realizada uma nova tentativa de síntese de **320**. O ânion da diidro-piran-2,4-diona **44** foi gerado usando três procedimentos diferentes:

i) NaH em THF a 0°C;

ii) NaH em dioxano/HMPA 0°C e em seguida sob refluxo

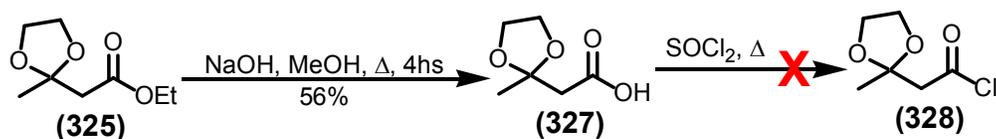
iii) NaH em DMSO a 60°C e a 100°C

Em seguida, foi adicionado o acetaléster **325** em HMPA. Tentou-se também a condensação empregando K_2CO_3 , como base, em DMSO. Infelizmente, sob estas condições, o produto de acoplamento entre **44** e **325** desejado, **326**, não pode ser observado. Após elaboração da mistura reacional, só foi possível identificar via RMN H^1 60 MHz os materiais de partida, **Esquema 40**.



ESQUEMA 40. Tentativa de condensação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona com o etilenoacetal do acetoacetato de etila.

Numa tentativa de ativação da carbonila do acetaléster **325** para o ataque nucleofílico, preparou-se o correspondente cloreto de acila. O éster foi hidrolisado em meio básico, NaOH aquoso em MeOH. O ácido assim obtido foi tratado com cloreto de tionila a fim de convertê-lo no cloreto de acila correspondente **328**. Quando foi adicionado o cloreto de tionila ao ácido **329**, a mistura reacional ficou inicialmente castanha passando para preto. A tentativa de purificação do produto bruto por destilação foi mal-sucedida, pois não foi possível isolar o composto desejado, o cloreto **328**, **Esquema 41**.

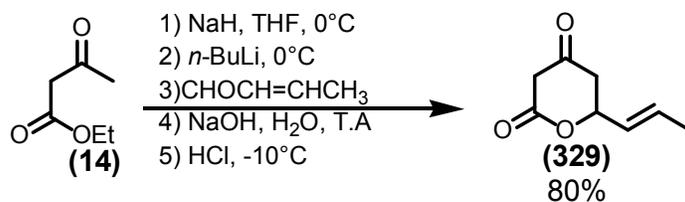


ESQUEMA 41. Tentativa de ativação da carbonila do acetaléster

Após estes sucessivos resultados negativos na tentativa de condensação entre o β -cetoéster e a diidro-piran-2,4-diona, decidiu-se investigar as atividades biológicas das diidro-piran-2,4-dionas. Para a realização destas investigações, outras diidro-piran-2,4-dionas 6-substituídas foram preparadas.

3.2 SÍNTESE DA 6-PROPENIL-DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONA

Um dos modelos escolhidos foi a 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona (**329**). A estratégia usada para síntese de **329** foi a mesma empregada na síntese de **44**: geração do diânion do acetoacetato de etila (**14**), reação com o crotonaldeído seguido da hidrólise básica do hidróxi-éster e lactonização em meio ácido. O produto bruto foi recristalizado em CHCl_3 para se obter a diidro-piran-2,4-diona **329**, desejada, como cristais amarelos, em 80% de rendimento, **Esquema 42**.



ESQUEMA 42. Síntese da 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona

Os cristais de **329** foram analisados e sua estrutura foi confirmada por difração de raios X. Como resultado da análise cristalográfica, verificou-se que a diidro-piran-2,4-diona **329** cristalizou na forma enólica e que o anel tem uma conformação de meia cadeira, com o grupo propenila em C-6 na equatorial. Os átomos C-6, C-7, C-8 e C-9 estão contidos num mesmo plano, **figura 13**.

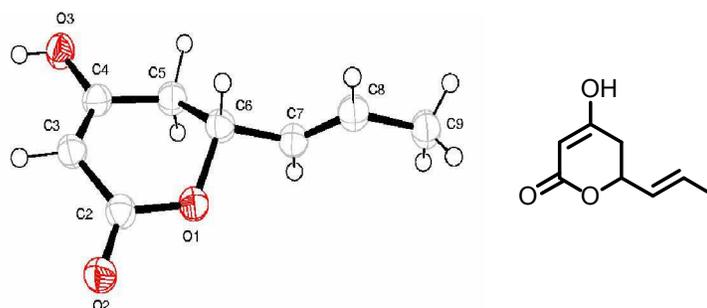
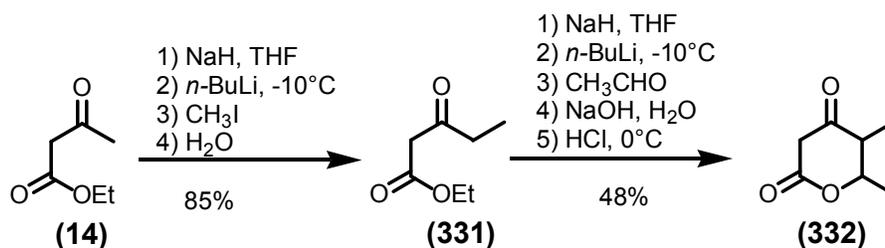


FIGURA 13. Estrutura molecular da diidro-piran-2,4-diona **329** em sua forma enólica.

3.3 SÍNTESE DA 5,6-DIMETIL-DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONA

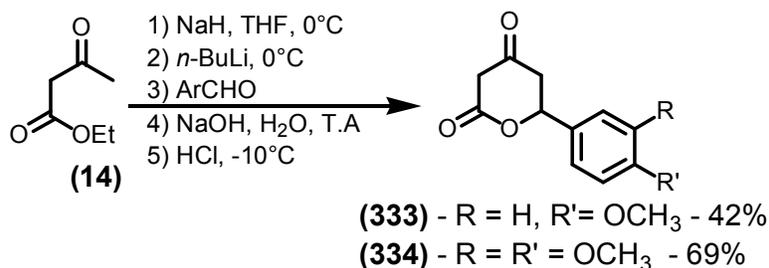
Outra diidro-piran-2,4-diona sintetizada foi a 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona (**332**). Ela foi preparada a partir do 3-oxo-pentanoato de etila (**331**), seguindo a mesma seqüência de reações descritas para a síntese de **44** e **329**, **Esquema 43**. A diidro-piran-2,4-diona **332** foi obtida como um sólido amorfo incolor em 48% de rendimento.



ESQUEMA 43. Síntese da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona

3.4 SÍNTESE DA 6-(4-METÓXI-FENIL)- E DA 6-(3,4-DIMETÓXI-FENIL)-DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONA

Além das diidro-piran-2,4-dionas **44**, **329** e **332**, a 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona (**333**) e a 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona (**334**) também foram sintetizadas. Estes compostos foram preparados usando a mesma metodologia utilizada anteriormente nas sínteses de **44**, **329** e **332**: condensação do diânion do acetoacetato de etila (**14**) com aldeído, hidrólise do hidróxi-éster em meio básico e lactonização em meio ácido aquoso. O produto bruto foi recristalizado em CHCl_3 para se obter como um sólido amorfo a 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona (**333**) em 42% de rendimento e a 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona (**334**) em 69% de rendimento, **Esquema 44**.



ESQUEMA 44. Síntese da 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona e da 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona

3.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MOLUSCICIDA DAS DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONAS.

Com cinco diferentes diidro-piran-2,4-dionas disponíveis, foram iniciados estudos para a determinação de possíveis atividades biológicas. Inicialmente, motivados pela atividade moluscicida apresentada pelos ácidos Calovercídicos A, B e C, **(4)**, **(5)** e **(6)**, respectivamente, decidiu-se investigar o potencial moluscicida das diidro-piran-2,4-dionas sintetizadas. Para estes ensaios foram utilizados caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro intermediário no ciclo de vida do parasita causador da esquistossomose mansônica, criados no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da Universidade Federal de Alagoas.

O caramujo *Biomphalaria glabrata* tem sido freqüentemente utilizado como alvo de bioensaios em laboratórios que visam a obtenção de novos agentes moluscicidas que possam combatê-lo. A utilização de substâncias moluscicidas impedem o desenvolvimento das fases larvais (esporocistos) e as fases larvais de vida livre (cercárias e miracídios) do *Schistosoma mansoni*, o agente transmissor da esquistossomose mansônica.

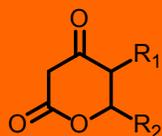
Os ensaios moluscicidas foram realizados utilizando a desova do caramujo *Biomphalaria glabrata*. Em ensaios preliminares, as diidro-piran-2,4-dionas mostraram-se inativas frente aos caramujos adultos (SOUZA *et al*, 2004).

O ensaio biológico para avaliação da atividade moluscicida sobre a desova do caramujo consistiu na imersão da desova do caramujo nas soluções

em teste por 24 horas. Decorrido este período, as desovas foram colocadas em água desclorada, permanecendo em observação pelas 72 horas seguintes, com registro dos exemplares mortos. Foi utilizada uma desova por solução-teste. As desovas foram recortadas de folhas de polietileno incolor colocadas previamente nos aquários. A temperatura da água foi registrada no início e ao final de cada experimento, variando de 24-25°C, tendo pH entre 6 e 7. Paralelamente a cada experimento foi realizado controle negativo com água desclorada e água desclorada a 1% de DMSO (v/v).

As desovas foram examinadas e contadas com o auxílio de microscópio estereoscópico, sendo consideradas mortas quando suas células tornavam-se opacas ou desagregavam-se. Os resultados obtidos são mostrados na **Tabela 13**.

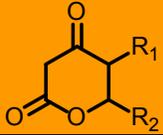
TABELA 13. Comparação dos potenciais moluscicida das substâncias avaliadas frente à desova de *B. glabrata* após 96 horas de exposição.

Substância 	Porcentagem de mortalidade (%)						
	100 ppm	80 ppm	70 ppm	60 ppm	50 ppm	40 ppm	30 ppm
$R_1 = H; R_2 = Ph$ PDP - (44)	100	100	100	100	100	97,6	100
$R_1 = H; R_2 = CH=CHCH_3$ PrDP - (329)	100	100	100	100	89	81	78,7
$R_1 = R_2 = Me$ DMDP - (332)	100	100	59	15	----	----	----
$R_1 = H; R_2 = 4-(MeO)-C_6H_4$ MPDP - (333)	100	100	100	100	100	48,7	1,9
$R_1 = H; R_2 = 3,4-(MeO)_2-C_6H_4$ DMPDP - (334)	25,8	9,5	----	0	----	----	----

Dentre as diidro-piran-2,4-dionas avaliadas, a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**) foi aquela que apresentou maior atividade moluscicida ($CL_{90} = 39,40$ ppm)*, não diferindo significativamente ($p < 0,05$) da atividade exibida pela 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona (**329**) ($CL_{90} = 40,26$ ppm). A 5,6-dimetil-diidro-

piran-2,4-diona (**332**) e a 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona (**334**) foram consideradas inativas frente a desova do *B. glabrata*, **Tabela 14**.

TABELA 14. Comparação dos potenciais moluscicida das substâncias avaliadas frente à desova de *B. glabrata*.

Substância 	Atividade frente ao <i>B. glabrata</i> após 96 horas		
	CL₁₀ ppm	CL₅₀ ppm	CL₉₀ ppm
R ₁ = H; R ₂ = Ph PDP - (44)	15,486	24,700	39,399
R ₁ = H; R ₂ = CH=CHCH ₃ PrDP - (329)	13,175	23,031	40,262
R ₁ = R ₂ = Me DMDP - (332)	40,417	62,599	96,954
R ₁ = H; R ₂ = 4-(MeO)-C ₆ H ₄ MPDP - (333)	36,918	45,030	54,924
R ₁ = H; R ₂ = 3,4-(MeO) ₂ -C ₆ H ₄ DMPDP - (334)	Inativo	Inativo	Inativo

Este é o primeiro relato de atividade moluscicida encontrado na literatura para diidro-piran-2,4-dionas. Para a obtenção de resultados mais conclusivos a respeito dessa atividade biológica, novos ensaios com outros modelos de diidro-piran-2,4-dionas deveriam ter sido realizados, entretanto, um problema na criação dos caramujos do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais impediu o prosseguimento desse estudo.

3.6 AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIÚLCERA DAS DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONAS

Martins *et al* (1994) verificaram que os ácidos inofiloídico (**7**), brasiliênsico (**8**) e isobrasiliênsico (**9**) apresentam atividade antiulcerogênica. A fim de verificar a influência da unidade pirona na manifestação desta atividade, as diidro-piran-2,4-dionas **44**, **329** e **332** foram submetidas a ensaios para a

verificação da atividade antiúlcera. Os ensaios foram realizados na Universidade Federal do Mato Grosso pela equipe do Prof. Domingos Tabajara.

Os principais modelos de úlceras utilizados para medir a capacidade de prevenção das lesões são os modelos de úlceras agudas induzidas por antiinflamatórios não esteróides (AINEs) e por etanol. Nestes ensaios foram utilizados modelos de úlceras induzidas por indometacina (AINE) ou etanol.

As úlceras induzidas por AINEs, como a indometacina, ocorrem por múltiplos mecanismos, incluindo ação irritante local, aumento da secreção ácida gástrica e, principalmente, devido à inibição, não seletiva, das enzimas ciclooxygenases, responsáveis pela síntese das prostaglandinas. As prostaglandinas têm efeito citoprotetor da mucosa gástrica, principalmente, por aumentar a quantidade de muco (ROBERT, 1979).

O modelo de úlcera induzida por etanol é um dos testes mais comuns aplicados para a avaliação de atividade antiúlcera/citoprotetora. O etanol provoca as lesões por solubilização do muco protetor e desta forma a mucosa fica vulnerável à ação hidrolítica e proteolítica do ácido clorídrico e da pepsina, respectivamente. O contato com o álcool também leva ao aumento da secreção ácida e alteração da rede vascular local, por rompimento dos vasos sanguíneos que irrigam a mucosa gástrica (OATES & HAKKINEN, 1988).

Para os testes em modelos de úlceras induzidas por indometacina, *Rattus norvegicus* (10/grupo), em jejum por 16 horas, receberam, por via oral, veículo ou a diidro-piran-2,4-diona a ser avaliada. Após uma hora, todos os animais receberam o agente ulcerogênico indometacina (Sigma®) (30 mg/kg), pela mesma via. Três horas após a administração do agente lesivo, repetiu-se o tratamento.

Os animais foram sacrificados, por deslocamento cervical, seis horas após a primeira administração. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior, lavados com solução de cloreto de sódio 0,9%. Estes foram inspecionados para atribuição de pontos às lesões, obtendo-se um

índice mediano de úlcera (IU), conforme a pontuação descrita na **Tabela 15** (DJAHANGUIRI, 1969).

TABELA 15. Critérios para atribuição de pontos às lesões gástricas.

Coloração da mucosa	Normal	0 ponto
	Hiperêmica	1 ponto
	Descorada	1 ponto
Petéquias	Leve	1 ponto
	Moderado	2 pontos
	Intenso	3 pontos
Edema	Leve	1 ponto
	Moderado	2 pontos
	Intenso	3 pontos
Hemorragia	Leve	1 ponto
	Moderado	2 pontos
	Intenso	3 pontos
Perda de muco	Leve	1 ponto
	Moderado	2 pontos
	Intenso	3 pontos
Lesões necro-hemorrágicas (úlceras)	Até 1 mm	1 ponto
	> 1 mm	1,5 pontos x mm
	Perfuradas	5 pontos x mm
Perda de pregas da mucosa		1 ponto

No grupo controle, nos testes com a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona **44** e com a 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona (**329**), as ulcerações induzidas por indometacina apresentaram índice de úlcera igual a 12. A diidro-piran-2,4-diona **44**, na dose de 50 mg/kg, via oral, reduziu o índice de úlcera para 5,5. Com 10 mg/kg de 6-fenil-diidro-piran-2,4diona (**44**), o valor observado foi de 6,5.

Na dose de 50 mg/kg v.o., a 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona (**329**) reduziu o índice de úlcera para 5,1. Usando-se 10 mg/kg de **329**, o valor da

obtido para o índice de úlcera foi de 7,6, não diferindo significativamente do grupo controle ($p < 0,01$).

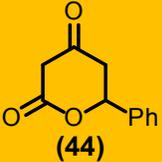
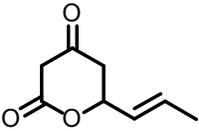
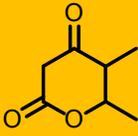
O índice de úlcera por indometacina no grupo tratado com 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona (**332**) foi de 9,5 e no grupo controle foi de 33,5. Isto significa que na úlcera induzida por indometacina, a diidro-piran-2,4-diona **332** reduziu em 72% as lesões gástricas.

Nos estudos com modelos de úlceras induzidas por etanol, camundongos *Mus musculus* ($n=10$ /grupo), mantidos em jejum por 16 h, foram tratados, por via oral, com veículo ou com as diidro-piran-2,4-diona avaliadas. Uma hora após os tratamentos, os animais receberam, pela mesma via, etanol 75% (1 mL/100 g) e, uma hora depois, foram sacrificados. Os estômagos foram retirados e atribuídos pontos às lesões, conforme pontuação descrita anteriormente, **Tabela 15**. A mediana do índice de úlcera por etanol no grupo controle foi de 78, não diferindo do grupo tratado com **332**, cuja mediana do índice de úlcera foi de 53 ($p > 0,05$).

Na avaliação da atividade antiúlcera da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**) ou 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona (**329**), os estômagos foram removidos, abertos ao longo da maior curvatura, lavados com uma solução de cloreto de sódio 0,9% e a área da úlcera medida através de planimetria (mm^2). Os resultados foram expressos em porcentagem em relação à área total do estômago. A área ulcerada nas lesões gástrica induzida por etanol foi $10 \pm 1\%$ no controle.

A área ulcerada nas lesões foi de $8 \pm 1\%$ e $5 \pm 0,5\%$ nos grupos em que se administrou a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**) em doses de 10 e 50 mg/kg, respectivamente. Nos grupos em que foi administrada a 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona (**329**) a área ulcerada observada foi de $8 \pm 1\%$ e $6 \pm 1\%$, para as doses de 10 e 50 mg/kg, respectivamente. Em ambas avaliações, os valores obtidos não foram significativamente diferentes do controle. Os dados obtidos na avaliação da atividade antiúlcera são resumidos na **Tabela 16**, mostrada a seguir.

TABELA 16. Resultados da avaliação da atividade antiúlcera de diidro-piran-2,4-dionas

Substância	Dose	Redução no índice de úlcera induzida por	
		Indometacina	EtOH
 (44)	10mg/kg	45%	20%
	50mg/kg	54%	50%
 (329)	10mg/kg	37,5%	20%
	50mg/kg	58%	40%
 (332)	100mg/kg	72%	33%

As lesões induzidas pelo etanol são ocasionadas pelo dano direto às células da mucosa gástrica, resultando no desenvolvimento de radicais livres. Compostos antioxidantes podem ser ativos neste modelo experimental, complexando-se com os radicais livres e, assim, produzindo efeitos antiulcerogênicos (AL-HARBI *et al*, 1997; MATSUDA *et al*, 1999; PARK *et al*, 2000; GONZALEZ *et al*, 2001; OLIVEIRA *et al*, 2004). Deste modo, é interessante investigar a capacidade de seqüestrar radicais livres das diidro-piran-2,4-dionas, uma vez que estas podem agir como agentes antioxidantes no modelo de úlcera induzida por etanol.

3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONAS

Os radicais livres são produzidos continuamente no organismo, via a ação de enzimas durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fontes exógenas. A grande maioria dos radicais livres, devido à presença de elétrons desemparelhados,

possui como característica uma meia-vida muito curta, indo de minutos a nanossegundos. Eles são capazes de reagir rapidamente com vários compostos ou atingir alvos celulares como proteínas, lipídeos, carboidratos e moléculas de DNA. O seu alvo celular está relacionado ao seu sítio de formação (SHAMI e MOREIRA, 2004).

No organismo são produzidos radicais livres de oxigênio, carbono, enxofre e nitrogênio, mas dentre todos estes, os radicais derivados do oxigênio ganham maior destaque, devido à reatividade e aos danos que podem causar (VASCONCELOS *et al* 2000). Embora uma pequena quantidade de radicais livres seja necessária para a manutenção das funções vitais, sua produção excessiva, maior do que a velocidade com que é consumido, pode levar a diversas formas de dano celular.

Em condições fisiológicas, os radicais livres gerados no processo normal do metabolismo formam-se em proporções controladas pelos mecanismos defensivos celulares. Mas em algumas condições patológicas, eles podem ser produzidos em excesso. Quando há uma falta de equilíbrio dinâmico entre a produção de oxidantes e a concentração de defesas antioxidantes, como uma diminuição nos níveis das enzimas antioxidantes, por exemplo, ocorre um processo conhecido como estresse oxidativo (SHAMI e MOREIRA, 2004).

O estresse oxidativo pode conduzir à oxidação maciça de substratos biológicos. A cronicidade desse estresse oxidativo, no ambiente celular, pode causar severos problemas metabólicos e estar envolvida na origem e no desenvolvimento de numerosas doenças (SHAMI e MOREIRA, 2004). Dentre os processos patológicos relacionados ao distúrbio do equilíbrio entre a formação e a remoção de EROs, pode-se citar por exemplo câncer, isquemia, arteriosclerose, diabetes, mal de Alzheimer entre outras desordens neurológicas e não-patológicas, como, por exemplo, o envelhecimento, **Figura 14** (HERMES-LIMA & STOREY, 1998; PAWLAK *et al.*, 1998; BECKMAN & AMES, 1998; SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

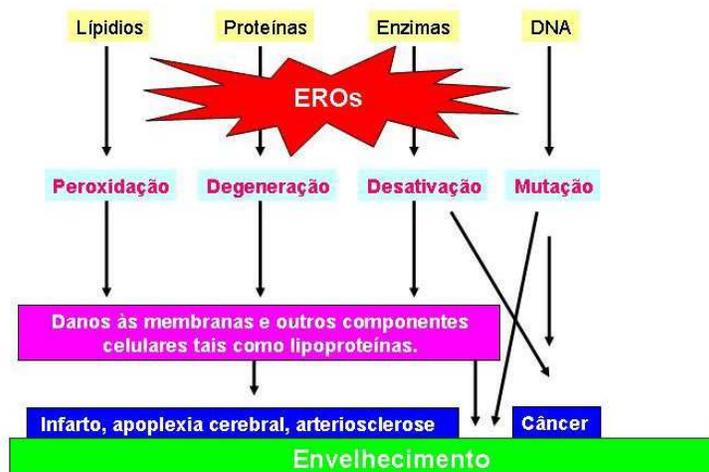


FIGURA 14. Efeito das EROs sobre os componentes celulares.

Um dos meios de proteger o organismo dos efeitos do estresse oxidativo consiste na utilização de substâncias antioxidantes (ELLNAIN-WOJTASZEK, *et al*, 2003). Os antioxidantes são substâncias que, presentes em baixas concentrações, quando comparada a um substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz (AUST *et al* 2001). Estas substâncias desempenham um papel importante na prevenção e tratamento das doenças associadas à superprodução de radicais livres, tais como, câncer, hipertensão, infartos, reumatismo, cataratas e outras (SOLER-RIVAS *et al*, 2000), através da redução dos danos causados aos componentes celulares por espécies oxidantes reativas (HOLLMAN, 2001).

O mecanismo de ação dos antioxidantes permite ainda classificá-los como antioxidantes de prevenção (impedem a formação de radicais livres), varredores (impedem o ataque de radicais livres às células) e de reparo (favorecem a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas) (KOURY e DONANGELO, 2003).

A pesquisa por substâncias antioxidantes é de grande interesse não só por seus efeitos na saúde humana, mas também devido ao seu envolvimento em processos industriais importantes. Na indústria, principalmente a alimentícia, a autooxidação de óleos e gorduras implica na deterioração de seus produtos durante o processamento e a armazenagem, o que leva à formação

de derivados que podem iniciar processos oxidativos *in vivo* (WANG *et al*, 1999).

Alguns antioxidantes sintéticos têm sido amplamente utilizados na indústria, para a preservação de alimentos ou cosméticos. Entre os que têm sido mais comumente utilizados pode-se citar: 2-t-butil-*p*-hidróxi-anisol - BHA (335), 2,6-di-t-butil-*p*-hidróxi-tolueno - BHT (336), 2-t-butil-hidroquinona - TBHQ (337) os quais são adicionados à substâncias oleosas para impedir a peroxidação lipídica, **Figura 15**. No entanto, existem relatos que apontam propriedades carcinogênicas nestes antioxidantes (CHEUNG *et al*, 2003). Assim, pesquisas que busquem por novos antioxidantes sintéticos têm recebido atenção da comunidade científica.

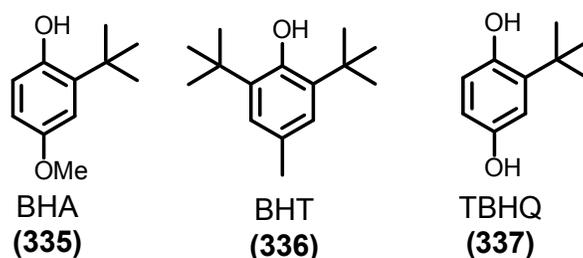


FIGURA 15. Estrutura dos principais antioxidantes sintéticos utilizados industrialmente

A avaliação da atividade antioxidante, de produtos naturais ou de substâncias sintéticas, *in vitro* vem sendo efetuada por diferentes ensaios (ARUOMA, 2003), **Figura 16**, no entanto, este tipo de investigação é repleto de desafios e dificuldades (ANDERSON e PHILLIPS, 1999). As reações envolvidas em processos de oxi-redução são extremamente sensíveis ao meio no qual elas ocorrem, particularmente, à concentração de oxigênio (ANDERSON e PHILLIPS, 1999). Apesar de a maioria dos ensaios realizados *in vitro* não serem válidos para a realização em modelos *in vivo*, os resultados dos métodos *in vitro* podem permitir a avaliação da potencial eficácia *in vivo* (ARUOMA, 2003).



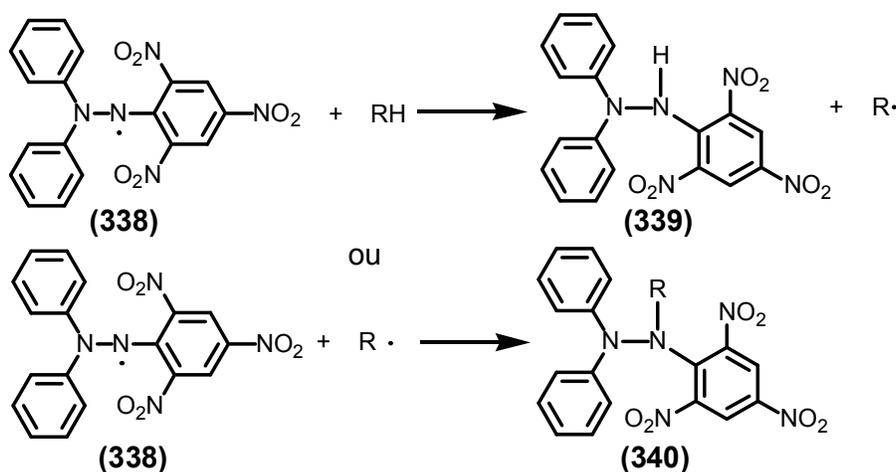
FIGURA 16. Principais ensaios empregados para avaliação da atividade antioxidante

Apesar de existirem tantos ensaios para a avaliação da atividade antioxidante, não existe um método universal pelo qual a atividade antioxidante possa ser mensurada qualitativa e quantitativamente, pois a eficácia de substâncias seqüestradoras de radicais livres é determinada não apenas pela sua reatividade mas também pela concentração na qual é testada. Além disso, a eficácia do antioxidante também depende de sua localização. Por exemplo, a vitamina C é um potente seqüestrador de radicais hidrofílicos, mas não atua tão bem frente a radicais lipofílicos (NIKI, 2002).

Alguns dos ensaios mais aplicados para a avaliação da atividade antioxidante *in vitro* investigam a eficiência dos compostos testados em seqüestrar um determinado radical livre, considerado estável, como, por exemplo, o DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) (338), ou “gerado” *in vitro*, como

resultado da decomposição térmica de azo iniciadores, tais como ABAP, AMVN, AAPH. Estes ensaios são genericamente designados de “ensaios armadilha” (*Trap Assay*) (SILVA *et al*, 1999).

O ensaio com o radical livre DPPH (**338**) tem recebido muita atenção e é um dos mais amplamente utilizados para a determinação preliminar da atividade antioxidante *in vitro* devido à sua rapidez, facilidade de execução e elevada reprodutibilidade, aliado ao fato de não envolver condições drásticas de temperatura e oxigenação quando comparado a outras técnicas (BRAND-WILLIAMS *et al*, 1995). O modelo para avaliação da atividade antioxidante utilizando DPPH• (**338**) é baseado na sua capacidade em reagir com substâncias doadoras de átomos de hidrogênio, **Esquema 45**.



ESQUEMA 45. Redução do radical DPPH

O consumo de DPPH• é, portanto, um índice para estimar a capacidade antioxidante na captura de radicais livres presentes no meio. Neste ensaio a atividade antioxidante é avaliada espectrofotometricamente através do monitoramento do decréscimo da absorbância a 515 nm resultante da transformação do radical DPPH• (**338**), coloração púrpura, em sua forma reduzida, DPPH-H (**339**), coloração amarela, **Figura 17**.

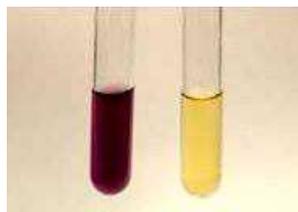


FIGURA 17. Diferença de coloração entre a solução de DPPH• e DPPH-H

3.7.1 Avaliação qualitativa da atividade antioxidante de diidro-piran-2,4-dionas

O ensaio antioxidante qualitativo, baseado no método descrito por Soler-Rivas *et al* (2000), foi realizado para três diidro-piran-2,4-dionas, **44**, **329** e **332**, **Figura 18**. Inicialmente 2 μ L de solução etanólica 1mg/mL das diidro-piran-2,4-dionas foram aplicadas em placas de CCD de sílica gel, eluídas com uma mistura 40% de AcOEt em Hexano e imersas durante dez segundos em uma solução 0,4 mM do radical livre DPPH em metanol. Após evaporação do solvente (cerca de 5 min), a atividade antioxidante foi verificada através do aparecimento de manchas amareladas sob fundo violeta, de acordo com a **Figura 18**. O ensaio qualitativo revelou que todas as amostras testadas reagiram com o radical DPPH• semelhante ao controle positivo, catequina.

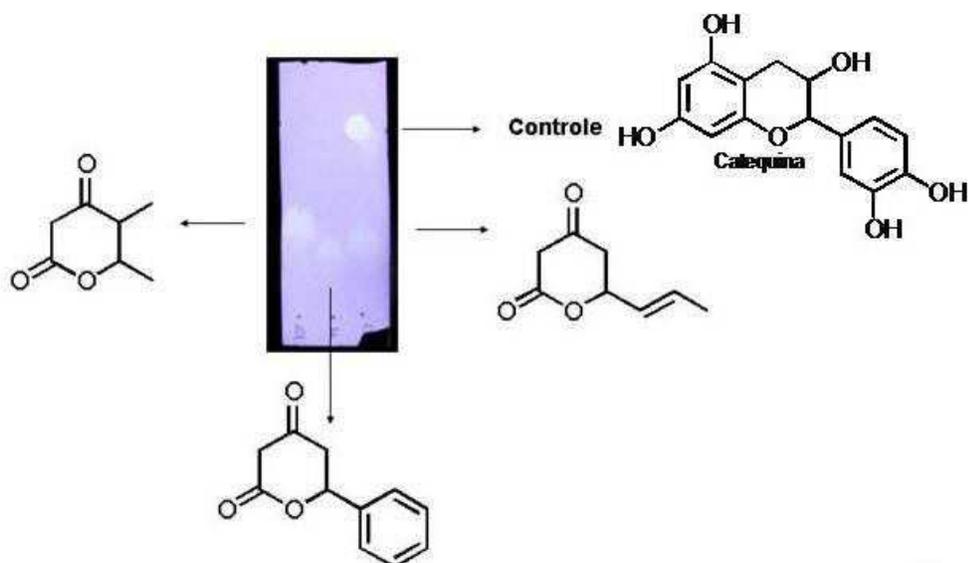


FIGURA 18. Resultado do ensaio antioxidante qualitativo

3.7.2 Avaliação quantitativa da atividade antioxidante das diidro-piran-2,4-dionas

Após o sucesso no ensaio qualitativo, foram realizados ensaios quantitativos com todas as diidro-piran-2,4-dionas disponíveis em nosso laboratório. A avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Brand-Williams *et al* (1995) e Sanchez-Moreno *et al* (1998), com algumas modificações.

As diidro-piran-2,4-dionas foram avaliadas como solução etanólica em diferentes concentrações (2, 4, 8, 10, 16 e 20 mM). Os níveis de inibição da descoloração do DPPH pelo BHT (**336**), um dos antioxidantes sintéticos mais empregados na indústria cosmética e alimentícia, foi aplicado como controle positivo para comparação com as amostras e para a validação do método. Os ensaios foram realizados numa solução 0,1 mM de DPPH· em EtOH anidro, recém-preparada e acondicionada em recipiente protegido da luz. Todos os resultados são apresentados como média de três experimentos.

Em primeiro lugar decidiu-se analisar a cinética da reação entre os compostos avaliados e o radical estável DPPH. Segundo Bondet *et al* (1997), existem três comportamentos cinéticos diferentes para a reação com o radical DPPH, cuja evolução depende da natureza do antioxidante testado. Os antioxidantes de cinética rápida, reagem com o radical DPPH, atingindo o equilíbrio em menos de um minuto. Como exemplo pode-se citar o ácido ascórbico (**341**), ácido isoascórbico (**342**) e isoeugenol (**343**), **Figura 19**.

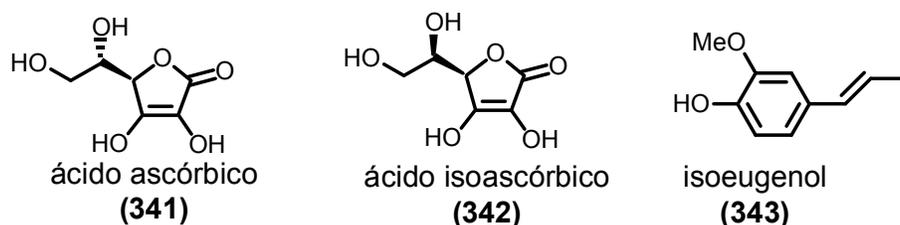


FIGURA 19. Antioxidantes de cinética rápida

Nas reações com o segundo tipo de cinética, intermediária, o equilíbrio é alcançado entre cinco e trinta minutos. São classificados como antioxidantes de

cinética intermediária, o ácido rosmarínico (344) e o δ -tocoferol (345), Figura 20, (BRAND-WILLIAMS *et al* 1995).

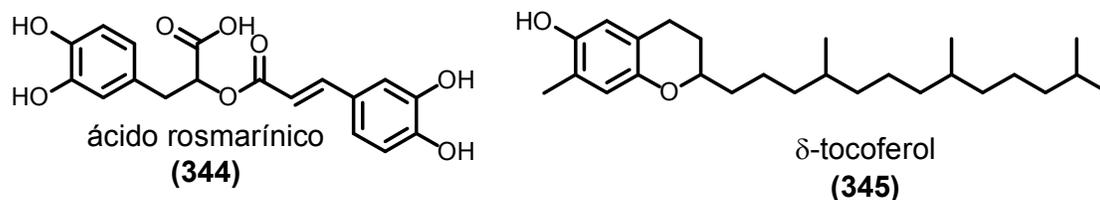


FIGURA 20. Antioxidantes de cinética intermediária

Todos os compostos que levam mais de trinta minutos para alcançar o equilíbrio são classificados como de cinética lenta (ISHIKAWA *et al*, 1997). Dentre os antioxidantes de cinética lenta, pode-se citar o BHT (336), o controle positivo utilizado em nossos ensaios, e o eugenol (346), Figura 21 (BRAND-WILLIAMS *et al* 1995).

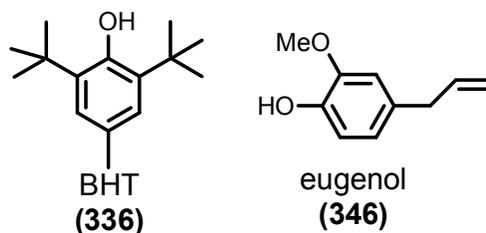


FIGURA 21. Antioxidantes de cinética lenta

O comportamento cinético da reação pode ser verificado observando-se a diminuição da absorbância em função do tempo numa determinada concentração. Entretanto uma análise mais detalhada da cinética da reação pode ser alcançada se plotarmos a concentração de DPPH remanescente no sistema em função do tempo. Deste modo, pode-se visualizar não apenas o momento em que se atinge o equilíbrio, mas também o consumo do radical DPPH. A porcentagem de radical DPPH remanescente na mistura reacional (% DPPH_{rem}) após um tempo t é calculada de acordo com a **Equação 1**.

$$\%DPPH_{rem} = \frac{[DPPH]_t}{[DPPH]_{t_0}} \times 100$$

[DPPH]_t = concentração do radical livre DPPH no tempo t
[DPPH]_{t₀} = concentração inicial do radical livre DPPH

EQUAÇÃO 1

A concentração do radical livre DPPH na mistura reacional foi calculada a partir da curva de calibração $A_{515\text{ nm}} = 10,10591 [\text{DPPH}]_t + 0,05942$ ($R = 0,99895$). Esta equação foi determinada por regressão linear usando medidas em triplicata, onde $[\text{DPPH}]_t$ é expressa em mmol/L, **Gráfico 1**. Após a obtenção da curva de calibração, determinou-se a concentração do radical livre DPPH a partir dos valores de absorbâncias determinados nos experimentos.

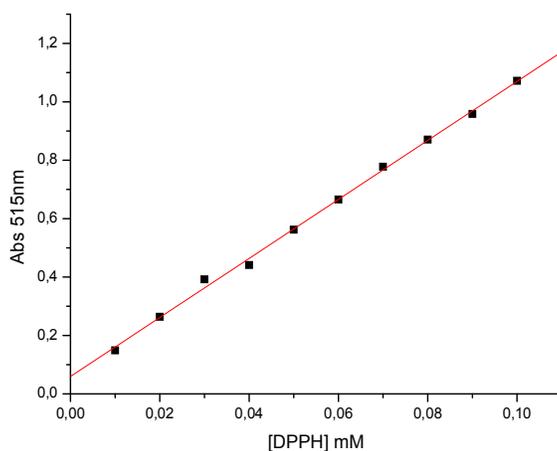


GRÁFICO 1. Curva de calibração

A fim de traçar o perfil cinético da reação entre o radical DPPH (**338**) e os compostos avaliados, calculou-se a %DPPH remanescente no sistema reacional na maior, **Gráfico 2**, e na menor concentração, **Gráfico 3**, de antioxidante testada, 20mM e 2mM, respectivamente, a cada cinco minutos, durante uma hora.

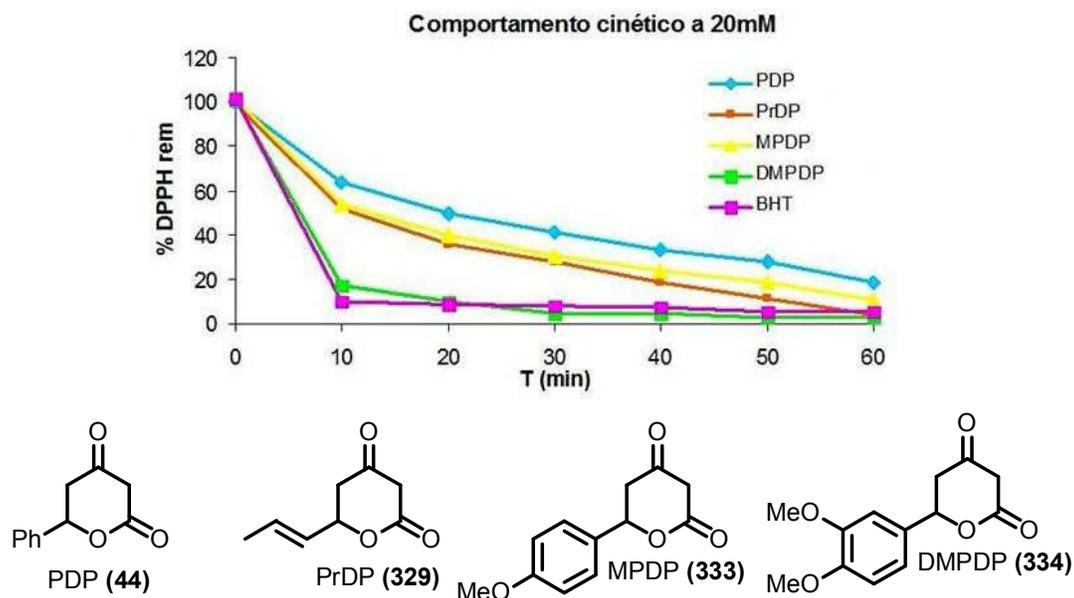


GRÁFICO 2. Comparação do comportamento cinético das diidro-piran-2,4-dionas avaliadas a 20mM

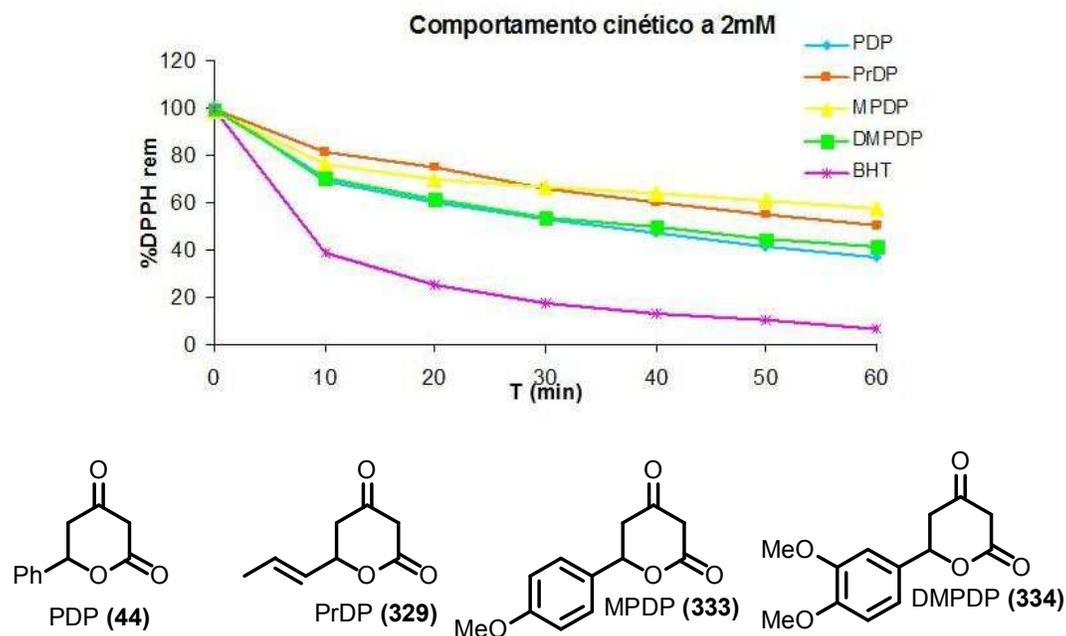


GRÁFICO 3. Comparação do comportamento cinético das diidro-piran-2,4-dionas avaliadas a 2mM

Dentre os três diferentes tipos de cinéticas previamente descritas (BRAND-WILLIAMS *et al* 1995), as diidro-piran-2,4-dionas enquadram-se no

grupo das substâncias que apresentam um mecanismo reacional lento pois levaram mais de trinta minutos para alcançar o equilíbrio, **Gráficos 2 e 3**. A cinética da reação entre o radical DPPH e o BHT (**336**) ou com a diidro-piran-2,4-diona **334** é muito influenciada pela concentração, pois quando os ensaios foram realizados utilizando-se os antioxidantes na concentração 20 mmol/L, a reação atingiu o equilíbrio aos dez e trinta minutos, respectivamente. Deste modo, eles seriam classificados como compostos de cinética intermediária. Para as diidro-piran-2,4-dionas **44**, **329** e **333** o equilíbrio só foi atingido após 50 minutos de reação.

Para a comparação entre a atividade antioxidante das diidro-piran-2,4-dionas e o padrão, a atividade antioxidante (**AA**) foi expressa em função da *potência anti-radical* (**PAR**). Este parâmetro mostra a eficiência de um composto como antioxidante e o inverso da EC_{50} (concentração de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH· em 50% após um período de tempo). Os valores de EC_{50} foram obtidos plotando a porcentagem de DPPH remanescente após trinta minutos *versus* a concentração de antioxidante, **Gráfico 4**.

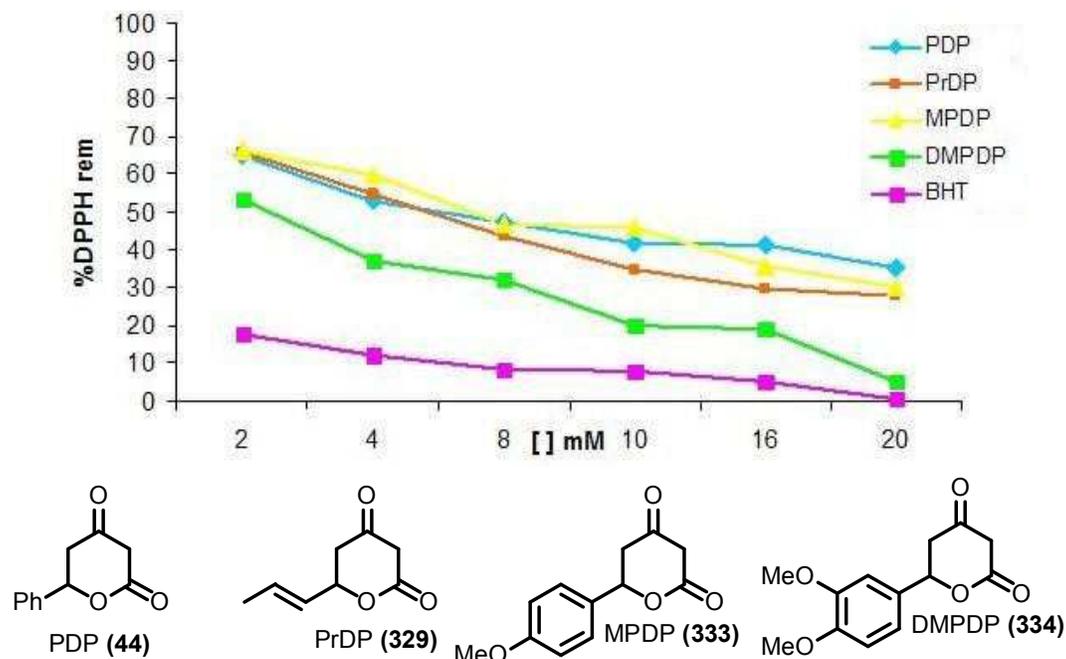


GRÁFICO 4. Porcentagem do radical DPPH remanescente na mistura reacional após 30 minutos como função da concentração de antioxidante testada.

Pela **Equação 2** mostrada anteriormente, se pode notar que quanto menor o termo EC_{50} , mais eficiente será o antioxidante (maior PAR). A **Tabela 17** a seguir mostra os valores de EC_{50} e da PAR obtidos para as diidro-piran-2,4-dionas nos testes utilizando o radical DPPH.

TABELA 17. Eficiência dos compostos testados como antioxidantes frente ao radical DPPH

Composto	EC_{50}^a (mM)	PAR (mM ⁻¹)
PDP (44)	8,248	0,121
PrDP (329)	6,806	0,147
MPDP (333)	8,714	0,115
DMPDP (334)	1,361	0,735

^a Média ($n = 3$)

Nenhum dos dois valores se prestou à comparação entre a atividade antioxidante das diidro-piran-2,4-dionas e a atividade do padrão, que apresentou $EC_{50} < 0,0$ neste ensaio. Não é confiável utilizar para fins de comparação valores de EC_{50} encontrados na literatura, pois a representação do EC_{50} varia de um trabalho para outro, visto que depende da concentração inicial do radical DPPH e das concentrações do antioxidante testado. Por isto, a comparação do EC_{50} encontrados por outros pesquisadores pode ser inconsistente. Logo, a maneira mais adequada seria representar a atividade antioxidante pela quantidade de radical DPPH reduzido pela amostra testada.

Deste ponto em diante, a atividade antioxidante será expressa através da porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH resultante da reação com o composto testado. A porcentagem de redução (**PR**) do radical DPPH é calculada empregando a **Equação 3**.

$$PR = \frac{(Abs_{t_0} - Abs_{t_{60min}})}{Abs_{t_0}} \times 100$$

Abs_{t_0} = absorbância medida a 515 nm, com o branco (1mL de EtOH + 1mL da solução 1mM de DPPH)

Abs_t = absorbância medida a 515 nm, num tempo t qualquer, com a mistura reacional (1mL da solução do antioxidante na concentração especificada + 1mL da solução de DPPH 1mM)

EQUAÇÃO 3

A **PR** pode ser calculada após trinta minutos de reação ou apenas quando a reação alcançar o equilíbrio (BRAND-WILLIAMS *et al* 1995). Inicialmente verificou-se a **PR** das diidro-piran-2,4-dionas após trinta minutos de reação, **Gráfico 5**.

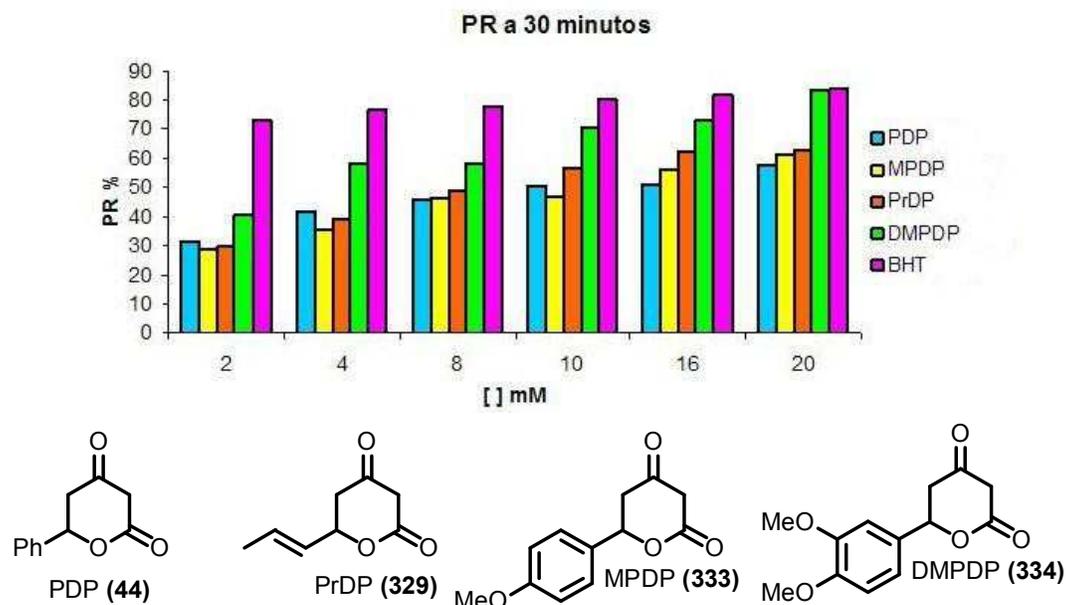


GRÁFICO 5. Atividade antioxidante determinada em função da porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 30 min, por diferentes concentrações das diidro-piran-2,4-dionas. (O BHT foi usado como controle positivo; os dados mostrados são relativos à média de três experimentos e já corrigidos em relação à decomposição natural do radical DPPH).

Através da análise dos dados fornecidos pelo **Gráfico 4**, pode-se notar que após trinta minutos de reação, a 2mM, todas as diidro-piran-2,4-dionas avaliadas são bem menos ativas do que o BHT (controle positivo), apresentando apenas atividade moderada (**PR** < 40%). É interessante notar que a atividade seqüestradora de radicais livres das diidro-piran-2,4-dionas após os trinta primeiros minutos de reação é bastante influenciada por variações na concentração. Este fato pode ser claramente observado no aumento da **AA** de todas as diidro-piran-2,4-dionas avaliadas à medida que se aumenta a concentração. Por outro lado, variações na concentração do BHT não alteraram significativamente ($p < 0,05$) sua **AA**.

O efeito da concentração sobre a **PR** é bastante evidente na diidro-piran-2,4-diona **334**. Em concentrações > 10 mmol/L este composto apresenta **PR** > 60%, não diferindo significativamente do controle positivo, BHT ($p < 0,05$).

Apesar da maioria dos autores determinarem a **PR**, e também outros parâmetros que expressam a atividade seqüestradora de radicais livres, após trinta minutos, é importante ressaltar que estas medidas podem não levar a resultados errôneos em compostos que reagem rapidamente com o DPPH (**338**). Entretanto, em compostos que apresentam um comportamento cinético lento, podem acarretar diferenças significativas quando comparadas a análises feitas após intervalos de tempos maiores, pois a reação ainda poderia estar em curso. A fim de evitar este problema, calculou-se a **PR** do radical DPPH frente as diidro-piran-2,4-dionas após sessenta minutos de reação, **Gráfico 6**.

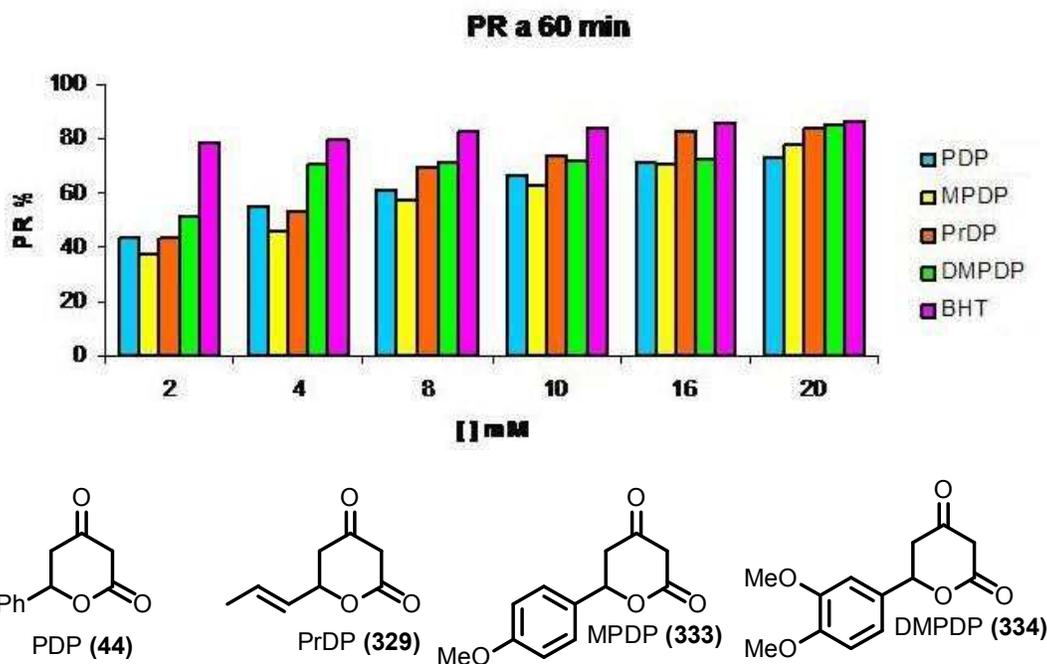


GRÁFICO 6. Atividade antioxidante determinada em função da porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 60 min, por diferentes concentrações das diidro-piran-2,4-dionas. (O BHT foi usado como controle positivo; os dados mostrados são relativos à média de três experimentos e já corrigidos em relação a decomposição natural do radical DPPH).

Após 60 minutos de reação, os compostos estudados exibiram atividade inibidora de radicais livres comparável ao BHT em concentrações > 16,0 mmol/L. Em concentrações < 16,0 mmol/L apenas a 6-propenil-diidro-piran-2,4-

diona (**329**) e 3,4-dimetóxi-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**334**) apresentaram atividade comparável ao BHT.

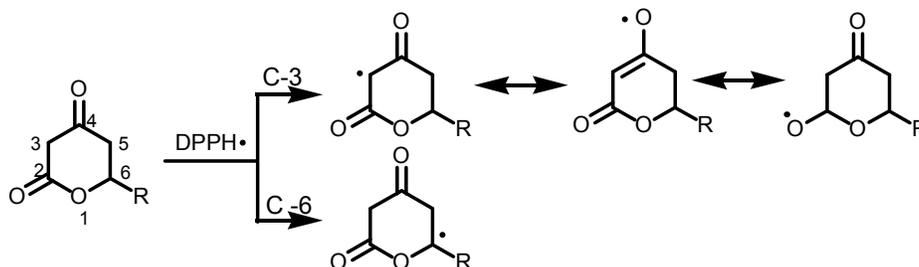
Na concentração 2 mmol/L, as diidro-piran-2,4-dionas **44**, **329** e **333** apresentaram baixa atividade antioxidante (PR < 40%), mesmo após sessenta minutos. Em concentrações superiores a 4,0 mM, as diidro-piran-2,4-dionas causaram uma redução da absorbância inicial > 50% o que representa uma atividade apenas moderada. Um fato que merece destaque, é o aumento na atividade exibido pela 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona **329** com o passar do tempo, conforme se verifica ao comparar os **Gráficos 4 e 5**. Este fato fortalece a hipótese de que as análises, a fim de fornecerem resultados mais próximos da realidade, devem ser feitas, sempre que possível, após a reação ter atingido o seu equilíbrio, ao invés de se tomar valores num tempo t qualquer.

Nesta segunda análise os valores da **PR** foram pouco afetados pelas variações na concentração dos antioxidantes. Para cada composto testado não se alcançou a inibição completa após 60 minutos nem mesmo nas maiores concentrações testadas.

De acordo com a análise das informações sobre a cinética da reação, dos dados fornecidos na **Tabela 17** e da porcentagem de redução, pode-se observar que os diferentes substituintes localizados em C-6 não alteram significativamente a atividade antioxidante das diidro-piran-2,4-dionas avaliadas, exceto pela 3,4-dimetóxi-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**334**) que mostrou um comportamento diferente, sendo tão ativa quanto o controle positivo.

Ao observar o esqueleto das diidro-piran-2,4-dionas na tentativa de explicar sua capacidade em atuar como seqüestrador de radicais livres, verifica-se que as posições C-3 e C-6 são bastante reativas se considerarmos que a reação entre as diidro-piran-2,4-dionas e o radical DPPH ocorre via a transferência de um átomo de hidrogênio. Pois os radicais formados em C-3 seriam mais estabilizados por ressonância e em C-6, pelo átomo de oxigênio

adjacente. Assim sendo, têm-se então duas possibilidades para a ocorrência desta reação, **Esquema 46**.



ESQUEMA 46. Posições reativas nas diidro-piran-2,4-dionas para a reação com o radical DPPH via a transferência de um átomo de hidrogênio.

Com o objetivo de determinar em que posição da diidro-piran-2,4-diona ocorre a abstração de hidrogênio pelo radical DPPH, decidiu-se sintetizar diidro-piran-2,4-dionas com padrões de substituição diferentes daquelas que foram testadas inicialmente. Os compostos escolhidos para o prosseguimento da investigação deveriam ser capazes de mostrar se a abstração do átomo de hidrogênio ocorre em C-3 ou C-6. Os modelos escolhidos para o prosseguimento do estudo foram a 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**347**) e a 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**348**), **Figura 22**.

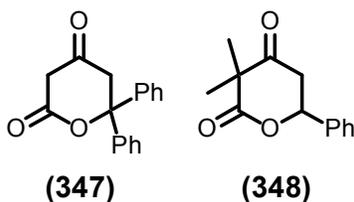
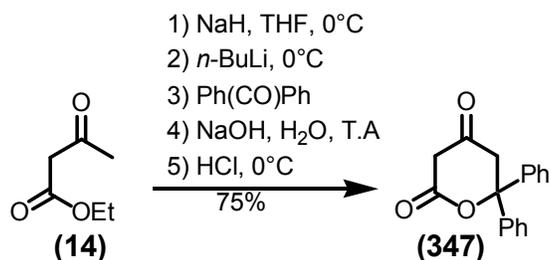


FIGURA 22. Diidro-piran-2,4-dionas com padrões de substituição diferentes

3.8 SÍNTESE DA 6,6-DIFENIL-DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONA

A escolha da diidro-piran-2,4-diona **347** forneceu um excelente modelo para a verificação da hipótese delineada anteriormente, ela foi prontamente obtida pela adição da benzofenona ao diânion do acetoacetato de etila, seguido de hidrólise básica e lactonização em meio ácido, **Esquema 47**. A diidro-piran-2,4-diona **347** foi obtida após sucessivas lavagens do produto bruto com éter etílico a 5°C e posterior secagem a pressão reduzida, como um sólido amorfo incolor, de ponto de fusão 131 °C, em 75% de rendimento.



ESQUEMA 47. Síntese da 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**347**)

Após a obtenção do produto puro **347**, este foi submetido à recristalização, utilizando como solvente éter etílico. A diidro-piran-2,4-diona **347** foi solubilizada a temperatura ambiente e em seguida resfriada até -18°C. Foram obtidos cristais incolores de **347**. A determinação estrutural por difração de raios-X mostrou que a diidro-piran-2,4-diona **347** cristalizou na forma enólica, **Figura 23**.

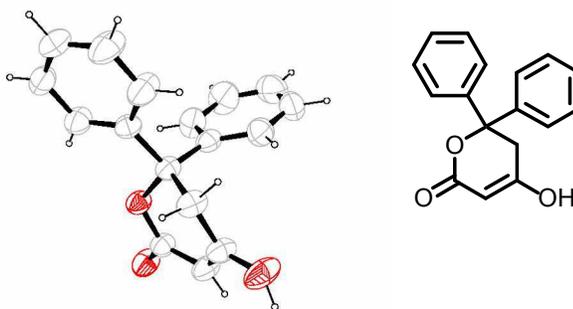
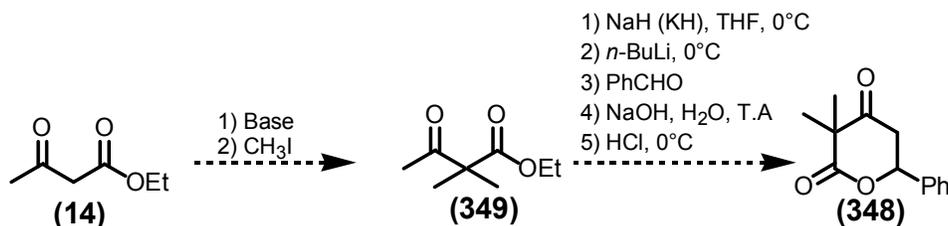


FIGURA 23. Estrutura determinada por difração de raios-X para **347**

3.9 TENTATIVA DE SÍNTESE DA 3,3-DIMETIL-6-FENIL-DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONA

Após a obtenção de **347** em bons rendimentos, a etapa seguinte consistiu na obtenção da diidro-piran-2,4-diona **348**. Através de um rápido exame na estrutura de **348** imaginou-se em duas estratégias possíveis que poderiam ser empregadas em sua síntese:

a. Dimetilação do acetoacetato de etila (**14**) e posterior síntese de **348** empregando este como matéria-prima, seguindo a mesma seqüência de reações previamente utilizada para a obtenção das outras diidro-piran-2,4-dionas, **Esquema 48**.



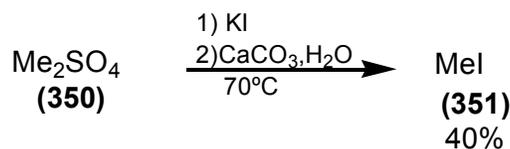
ESQUEMA 48. Proposta de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**348**)

b. Dimetilação da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**), **Esquema 49**.



ESQUEMA 49. Proposta de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**348**)

Como a alquilação do enolato do acetoacetato de etila (**14**) com haletos de alquila, é um método bem estabelecido para a formação de ligações C-C, o método descrito no item (a) acima foi a primeira escolha a fim de obtermos a diidro-piran-2,4-diona **348**. Antes de iniciar a alquilação do acetoacetato de etila (**14**), preparou-se o iodeto de metila (**351**), o agente alquilante escolhido para esta reação. O iodeto de metila (**351**) foi sintetizado a partir da reação do dimetilsulfato (**350**) com iodeto de potássio na presença de carbonato de cálcio e água destilada em um intervalo de temperatura de 60 - 70°C, **Esquema 50**. O produto bruto foi continuamente destilado da mistura reacional e após o término da reação, destilado sob pentóxido de fósforo e armazenado em presença de cobre metálico. O iodeto de metila (**351**) foi obtido em baixos rendimentos, 40%, provavelmente devido a sua alta volatilidade (PE 41° C).

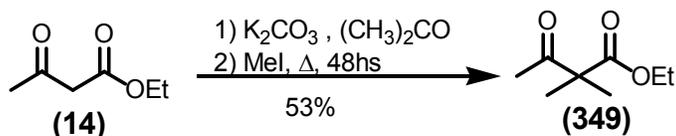


ESQUEMA 50. Síntese do iodeto de metila

Após obtenção do iodeto de metila (**351**), preparou-se o 2,2-dimetil-acetoacetato de etila (**349**), matéria prima da diidro-piran-2,4-diona (**348**), a

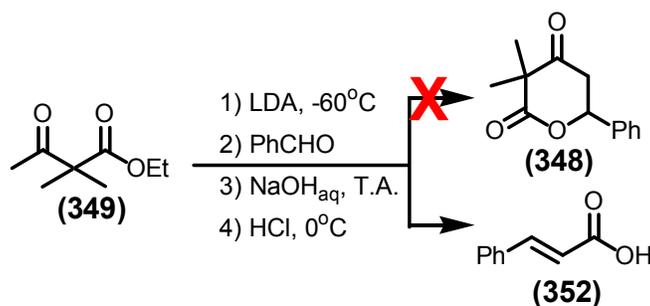
partir da dialquilação do ânion do acetoacetato de etila (**14**), usando carbonato de potássio como base e o iodeto de metila (**351**) como agente alquilante e acetona como solvente. Quando a reação foi realizada à temperatura ambiente, mesmo após longos períodos, observou-se, via cromatografia gasosa, a formação de uma mistura de produtos mono e dialquilados. Tentou-se separar cada um dos componentes desta mistura por meio de técnicas de destilação fracionada ou cromatografia em coluna de sílica gel, mas infelizmente, observou-se através de RMN H^1 e CG que não houve separação.

Na tentativa de aumentar a velocidade da reação e favorecer a formação do produto de dialquilação, a reação foi conduzida sob refluxo de acetona. Nesta situação verificou-se por cromatografia gasosa que durante o processo estava ocorrendo uma perda contínua de iodeto de metila devido a sua alta volatilidade (PE 41°C). Para contornar esta situação, decidiu-se utilizar doze equivalentes de iodeto de metila (**351**). Com estas modificações o composto desejado, **349**, foi obtido após 48 horas e destilação do produto bruto em 53%, **Esquema 51**.



ESQUEMA 51. Síntese do 2,2-dimetil-acetoacetato de etila

Após a obtenção do 2,2-dimetil-acetoacetato de etila (**349**), este foi utilizado para a obtenção de **348** através da reação com LDA, gerada *in situ*, adição ao benzaldeído, seguida de hidrólise básica do hidróxi-éster e posterior lactonização do hidróxi-ácido, em HCl concentrado. O produto bruto foi submetido a purificação em coluna cromatográfica de sílica gel, no entanto, através da análise via RMN H^1 , das frações recolhidas, não foi possível detectar em nenhuma delas a formação do produto desejado **348** e sim do ácido α,β -insaturado **352**, **Esquema 52**.



ESQUEMA 52. Tentativa de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona

Após este resultado negativo, decidiu-se preparar a pirona **348** através da alquilação direta de **44**. Como o produto desejado **348** era o resultante de C-alquilação da diidro-piran-2,4-diona **44**, a primeira tentativa de síntese empregou condições que favorecessem a formação deste produto. Deste modo, o iodeto de metila foi escolhido como agente alquilante. Como solvente, empregou-se THF, que também favorece a C-alquilação pois diminui a dissociação do par iônico. Contrariando todas as expectativas, infelizmente, nas condições testadas observou-se apenas a formação do produto de O-alquilação **353** em 68% de rendimento, **Esquema 53**.

Além desta, outras condições (K_2CO_3 /DMSO; K_2CO_3 /Acetona; K_2CO_3 /THF/HMPA; NaH/THF) foram testadas, mas em nenhuma delas foi possível identificar o produto de C-alquilação **348**. A principal explicação para a formação do produto O-alkilado na alquilação da diidro-piran-2,4-diona **44** mesmo sob condições que favorecem a formação de produtos C-alkilados pode estar relacionada ao efeito da conformação sobre a reação de alquilação. Os enolatos de diidro-piran-2,4-dionas apresentam-se, exclusivamente, na conformação em W (E,E), enquanto os enolatos de compostos β -dicarbonílicos acíclicos podem se apresentar em três conformações distintas: U (Z,Z); foice (Z,E) e W (E,E). Na conformação U (Z,Z), o cátion metálico está muito mais associado ao enolato, devido à quelação, **Figura 24**, logo, a carga fica menos deslocalizada, favorecendo a ocorrência de C-alquilação. Por outro lado, na conformação em W não há a possibilidade de formação de quelatos. Deste modo, o ânion estará mais livre e, conseqüentemente, há uma predominância na formação de produtos O-alkilados.

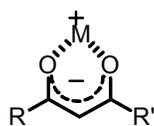
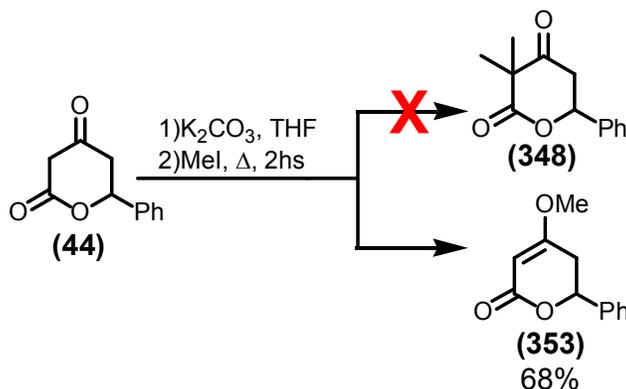


FIGURA 24. Enolato na conformação em U quelado a um metal



ESQUEMA 53. Tentativa de síntese da 3,3-dimetil-6-fenil-diidro-piran-2,4-diona

A 6-fenil-4-metóxi-5,6-diidro-piran-2,4-diona (**353**) foi obtida como cristais incolores após recristalização em clorofórmio, a 25°C, **Figura 25**. Através da análise da estrutura obtida por difração de raios-X pode-se observar que **353** encontra-se numa conformação em barco.

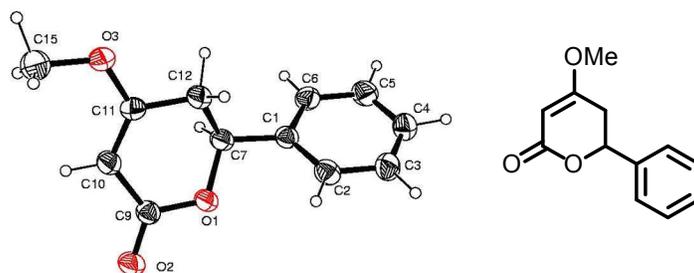


FIGURA 25. Estrutura determinada por difração de raios-X para o composto **353**

3.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONAS **347** E **353**

A obtenção do produto O-alkilado **353** não inviabilizou a possibilidade de investigação do mecanismo de abstração de átomo de H pelo radical livre DPPH. Como as diidro-piran-2,4-dionas existem em equilíbrio com a correspondente forma enólica, o composto **353** trata-se da forma enólica de **44**, protegida como um metilvinil éter, que também é um bom modelo para estudos

sobre o mecanismo da reação, já que pode fornecer informações à cerca da importância da hidroxila enólica na manifestação da atividade antioxidante.

A fim de comprovar as hipóteses levantadas a respeito do mecanismo da reação entre as diidro-piran-2,4-dionas e o radical DPPH, iniciou-se o estudo da reação dos compostos **347** e **353** com o radical estável DPPH. Preparou-se uma solução 20,0mM de **347** e **353** em etanol e a partir desta preparou-se soluções nas concentrações 2,0; 4,0; 8,0; 10,0 e 16,0 mM. O radical DPPH foi utilizado sob a forma de solução etanólica a 0,1 mM. A atividade antioxidante dos compostos avaliados foi determinada como porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH pelo composto testado, após 60 minutos, de acordo com a **Equação 3**, os resultados são mostrados no **Gráfico 7** a seguir.

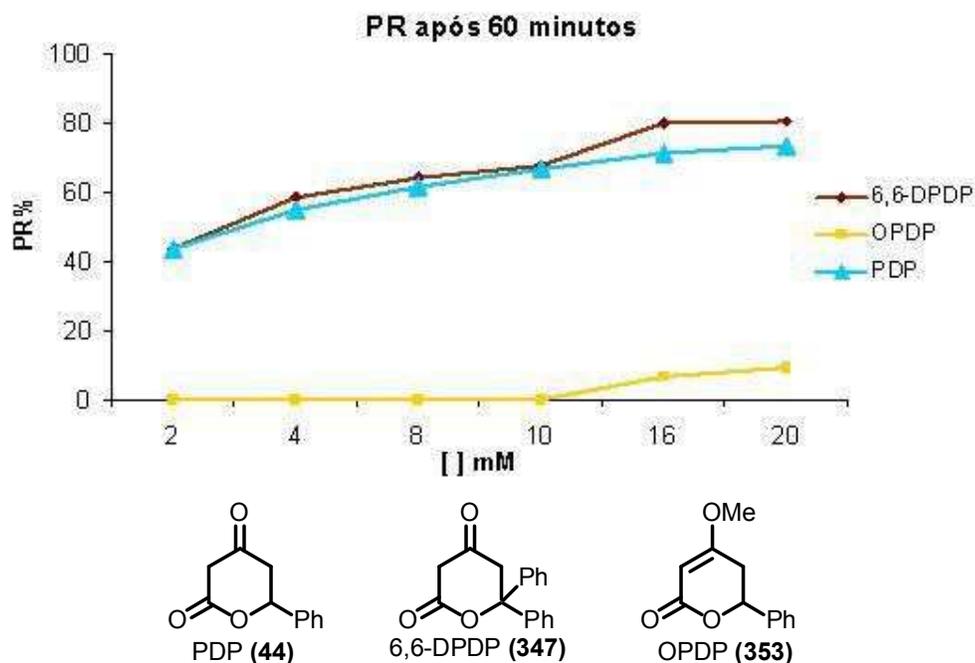


GRÁFICO 7. Atividade antioxidante das diidro-piran-2,4-dionas. (Os dados mostrados são relativos à média de três experimentos e já corrigidos em relação a decomposição natural do radical DPPH)

Através da análise dos dados fornecidos pelo Gráfico 7, observa-se que a inclusão de um grupo fenila adicional na posição C-6 da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**) não altera significativamente sua atividade antioxidante. Logo, a reação com o radical DPPH não ocorre através da abstração do hidrogênio

ligado ao C-6 do heterociclo. Por outro lado, a proteção da hidroxila em C-4 sob a forma de metiléter, causa uma redução drástica da atividade. A partir deste resultado, surgiu a hipótese de que uma maior concentração da forma enólica no equilíbrio ceto-enólico das diidro-piran-2,4-dionas favoreceria a reação com o radical estável DPPH e que esta reação ocorre com a abstração do hidrogênio da hidroxila enólica.

Para confirmar a hipótese acima, um bom modelo que poderia ser empregado seria diidro-piran-2,4-dionas com grupos retiradores de elétrons em C-5, **Figura 26**, desta forma, no equilíbrio a forma enolizada predominaria devido ao aumento do caráter ácido do hidrogênio ligado a C-3. Se a hipótese proposta for verdadeira, espera-se então um aumento da atividade antioxidante observada. Assim, espera-se correlacionar o pKa destas espécies com a reatividade frente ao radical livre estável DPPH.

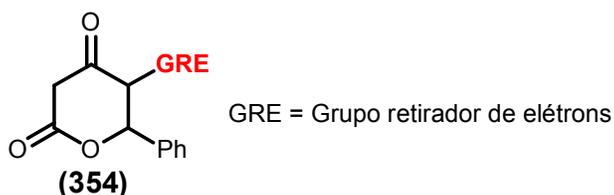
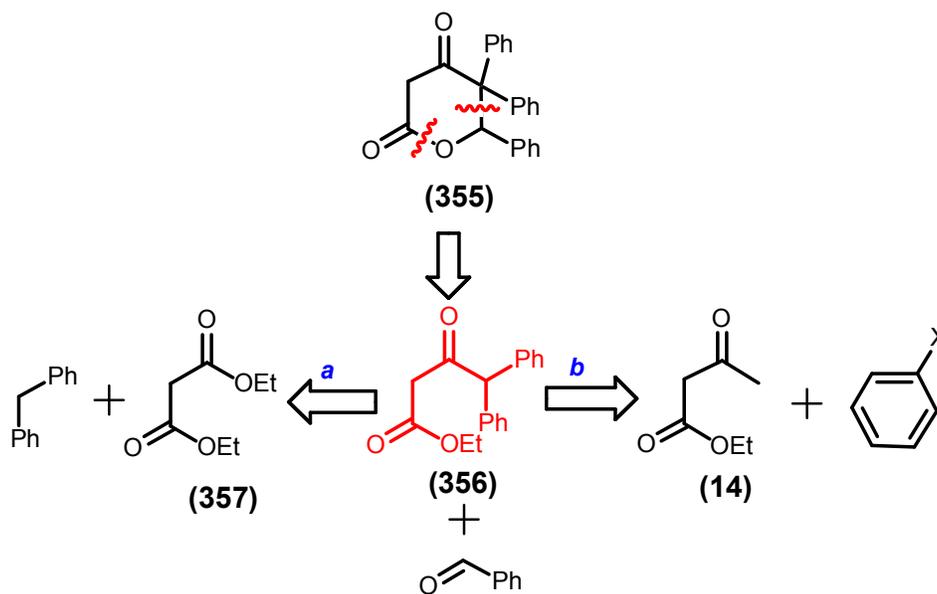


FIGURA 26. Modelo escolhido para estudar a relação estrutura-atividade antioxidante

3.11 SÍNTESE DE DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONAS COM GRUPOS RETIRADORES DE ELÉTRONS EM C-5

O primeiro modelo análogo a **354** escolhido foi a 5,5,6-trifenil-diidro-piran-2,4-diona (**355**). Uma rápida análise no esqueleto do composto **355** revela duas possíveis rotas de síntese, **a** e **b**, ambas partindo da mesma matéria-prima, o 4,4-difenil-acetoacetato de etila **356**, **Esquema 54**.

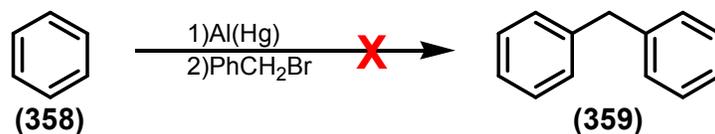


ESQUEMA 54. Retrossíntese da 5,5,6-trifenil-diidro-piran-2,4-diona

A rota (**a**), que em primeira análise parece ser a mais simples, consiste na substituição nucleofílica de uma das etoxilas do malonato de dietila pelo ânion do difenilmetano (**359**). Deste modo, esta rota foi escolhida para a síntese de **355**.

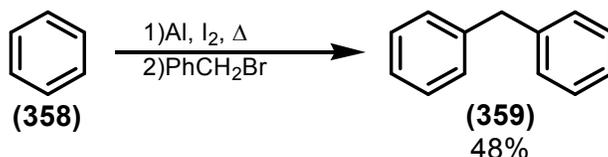
3.11.1 Síntese do difenilmetano

A primeira tentativa de síntese do difenilmetano (**359**) foi através da reação do benzeno (**358**) com brometo de benzila, usando alumínio amalgamado como catalisador, de acordo com a literatura (HARTMAN & PHILLIPS, 1943). O amalgama de alumínio foi preparado agitando-se, por cerca de cinco minutos, alumínio metálico em uma solução de cloreto mercúrico a 5%, então lavado com água destilada e em seguida com metanol. O benzeno foi aquecido junto com o amalgama, quando o sistema entrou em ebulição, adicionou-se lentamente brometo de benzila. Infelizmente, sob estas condições não foi possível detectar a formação do produto desejado, o difenilmetano (**359**), **Esquema 55**.



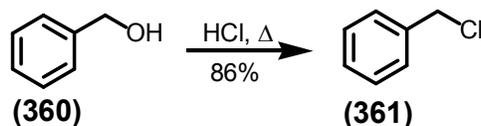
ESQUEMA 55. Síntese do difenilmetano

Aplicou-se então outra metodologia alternativa que utiliza papel alumínio e iodo como catalisador. Nestas condições, o difenilmetano (**359**) foi obtido em 48% de rendimento, após destilação do material bruto, **Esquema 56**.



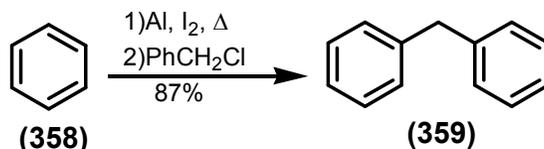
ESQUEMA 56. Síntese do difenilmetano

A fim de preparar o difenilmetano em maiores quantidades, houve a necessidade de sintetizar mais haleto de benzila, uma vez que não havia mais brometo de benzila no laboratório. O cloreto de benzila (**361**) foi preparado a partir da reação do álcool benzílico (**360**) com ácido clorídrico, sob refluxo, em 86% de rendimento, após destilação, **Esquema 57**.



ESQUEMA 57. Síntese do cloreto de benzila

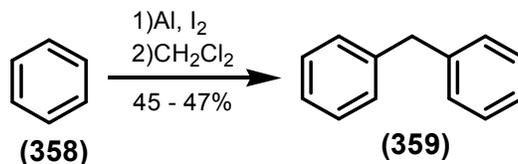
Na segunda tentativa, agora empregando o cloreto de benzila (**361**), o rendimento da reação aumentou consideravelmente. O rendimento bruto da reação foi de 98%. O difenilmetano (**359**) foi obtido em 87% de rendimento, após destilação a pressão reduzida, em elevada pureza, 98%, conforme análise em CG, **Esquema 58**.



ESQUEMA 58. Síntese do difenilmetano

Numa tentativa de suprimir a necessidade de utilização do cloreto de benzila na síntese do difenilmetano (**359**) a reação foi realizada empregando benzeno e diclorometano usando alumínio e iodo como catalisador. Nesta tentativa, o difenilmetano foi obtido, após destilação do produto bruto, em

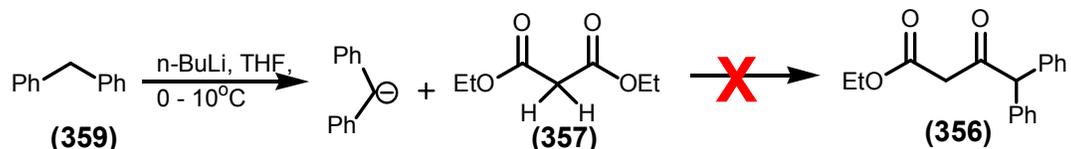
rendimentos moderados, 45 – 47%, com pureza de 97%, verificada através de CG, **Esquema 59**.



ESQUEMA 59. Síntese do difenilmetano

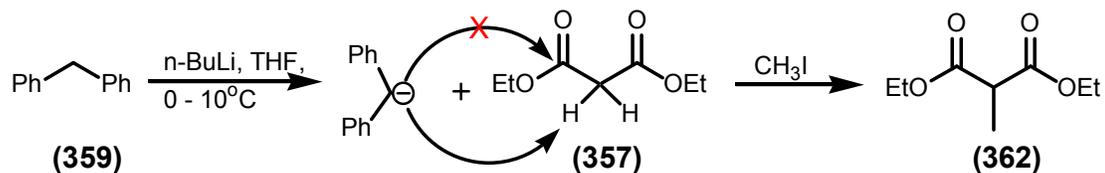
3.11.2 Tentativa de fenilação do malonato de dietila utilizando difenilmetano

Após a obtenção do difenilmetano (**359**) foi dado início à síntese do 4,4-difenil-acetoacetato de etila (**356**). Para isto, o primeiro passo consistiu na síntese do ânion de **359**, usando *n*-BuLi como base. O ânion gerado foi levado a reagir com malonato de dietila (**357**). Através da análise do produto bruto via RMN H^1 não foi possível detectar a formação do produto desejado **356**, **Esquema 60**.



ESQUEMA 60. Tentativa de fenilação do malonato de dietila utilizando difenilmetano

Com o objetivo de compreender por que motivo a reação não funcionou, decidiu-se repetir o mesmo procedimento, sob as mesmas condições e ao seu término adicionar iodeto de metila. Neste experimento identificou-se como produto majoritário o 2-metil malonato de dietila (**362**). Isto mostra que o ânion do difenilmetano (**359**), frente ao malonato de dietila (**357**), age preferencialmente como base, abstraindo um hidrogênio de C-2, ao invés de atuar como um nucleófilo e atacar a carbonila, **Esquema 61**.

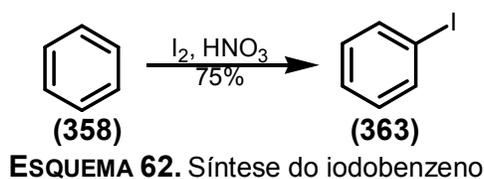


ESQUEMA 61. Reação entre malonato de dietila, difenilmetano e iodeto de metila

Após constatar a inviabilidade da aplicação desta estratégia sintética (rota **a**) para a obtenção 4,4-difenil-acetoacetato de etila (**356**), decidiu-se estudar a rota sintética (**b**), que consiste em duas fenilações consecutivas. Esta estratégia consiste na dupla fenilação do acetoacetato de etila (**14**). Para isto, decidiu-se empregar o iodobenzeno (**363**) como agente de fenilação. A fenilação empregando o iodobenzeno (**363**) ocorre via a formação do intermediário benzino (**364**).

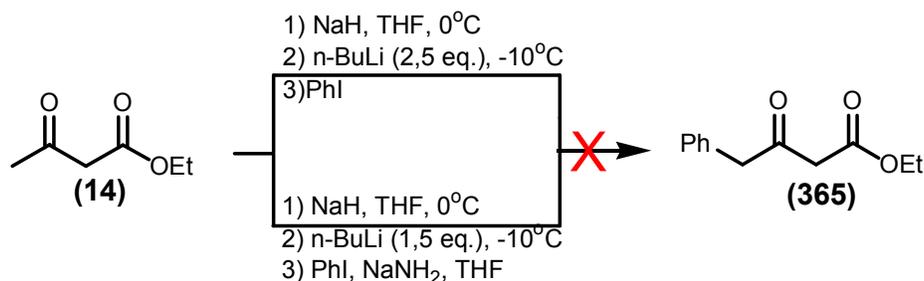
3.11.3 Síntese do iodobenzeno

O iodobenzeno (**363**) foi rapidamente preparado refluxando-se benzeno (**358**) com iodo em presença de ácido nítrico. Sob estas condições, o iodobenzeno foi obtido em 75 % de rendimento após destilação do material bruto, **Esquema 62**.



3.11.4 Tentativa de fenilação do acetoacetato de etila utilizando iodobenzeno

Na tentativa de fenilar o acetoacetato de etila (**14**), empregou-se NaH e *n*-BuLi como bases, para a obtenção do mono- e do diânion de **14**. Nesta reação, o *n*-BuLi foi utilizado em excesso (2,5 equivalentes) para gerar o intermediário benzino (**364**) a partir do iodobenzeno (**363**), **Esquema 63**. Observou-se, entretanto, que sob estas condições, mesmo por longos períodos à temperatura ambiente, não ocorreu mono- nem difenilação. Num outro experimento, tentou-se gerar o intermediário benzino (**364**) num sistema separado, utilizando NaNH₂ como base, infelizmente, sob estas condições, também não foi possível detectar via RMN H¹ em 60 MHz o produto de fenilação **365**, **Esquema 63**.

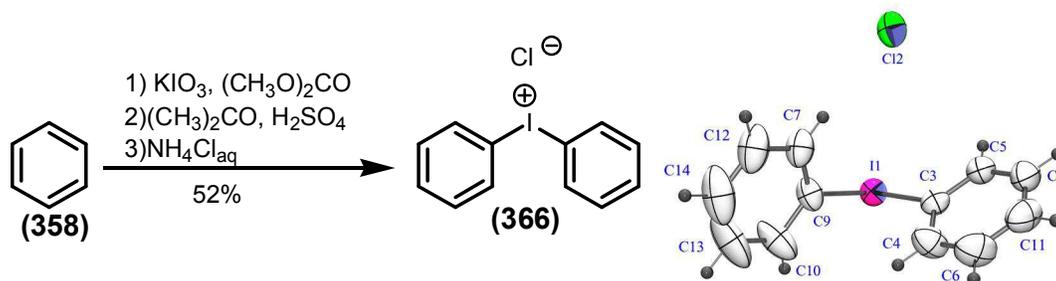


ESQUEMA 63. Tentativa de fenilação do acetoacetato de etila utilizando iodobenzeno

Não sendo possível fenilar o acetoacetato de etila (**14**) empregando o iodobenzeno (**363**), decidiu-se utilizar outro método de fenilação que consiste no tratamento do enolato com cloreto de difeniliodônio (**366**).

3.11.5 Síntese do cloreto de difeniliodônio

O cloreto de difeniliodônio (**366**) tem sido empregado com sucesso na fenilação de compostos β -dicarbonílicos. O mecanismo da fenilação neste caso é mais complexo e envolve radicais livres. O cloreto de difeniliodônio (**366**) foi preparado através da reação entre benzeno (**358**), anidrido acético e iodato de potássio, em presença de ácido sulfúrico. O produto desejado foi obtido após recristalização em acetona em 52% de rendimento, **Esquema 64**.



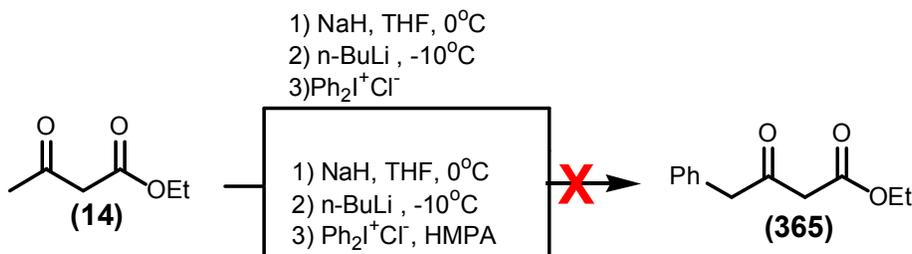
ESQUEMA 64. Síntese do cloreto de difeniliodônio

3.11.6 Tentativa de fenilação do acetoacetato de etila utilizando cloreto de difeniliodônio

A maioria dos relatos encontrados na literatura mostra a reação de fenilação de compostos β -dicarbonílicos com cloreto de difeniliodônio (**366**) sendo realizadas na presença de sódio metálico em amônia líquida. Devido à

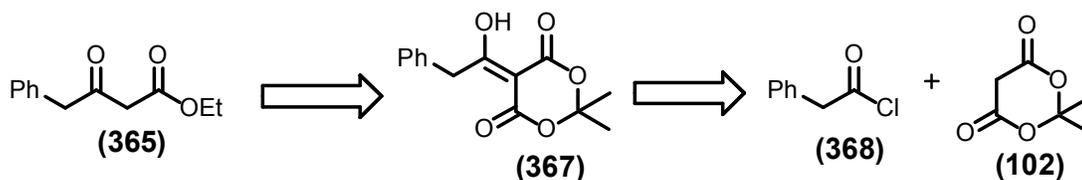
indisponibilidade deste reagente em nosso laboratório e ao alto custo necessário para a aquisição de um cilindro de amônia e da válvula adequada para este gás, tentamos realizar a reação empregando n-BuLi em THF, **Esquema 65**. Inicialmente a reação de fenilação do acetoacetato de etila, empregando o cloreto de difeniliodônio (**366**) como agente de arilação, foi realizada em THF. Entretanto verificou-se que o cloreto de difeniliodônio (**366**) não apresenta solubilidade apreciável neste solvente. Deste modo, o fracasso na tentativa de fenilação foi atribuído à baixa solubilidade de **366** na mistura reacional.

Para contornar o problema da solubilidade do cloreto de difeniliodônio em THF, decidiu-se utilizar um co-solvente de polaridade mais elevada, HMPA. Infelizmente o cloreto de difeniliodônio (**366**) também não apresentou solubilidade apreciável a temperatura ambiente na misturas de solventes utilizada (THF:HMPA, 5:1) e com o aquecimento pode-se verificar o escurecimento da suspensão, cloreto de difeniliodônio (**366**) em HMPA. Deste modo, em nenhuma das duas tentativas foi possível identificar o produto de fenilação **365**, **Esquema 65**.



ESQUEMA 65. Tentativa de fenilação do acetoacetato de etila utilizando cloreto de difeniliodônio

Como não foi possível fenilar o acetoacetato de etila (**14**) por nenhuma das rotas propostas, decidiu-se prepará-lo através de outras metodologias alternativas. Uma análise retrossintética mostra que o β-cetoéster **365** pode ser obtido a partir do derivado acilado do ácido de Meldrum (**102**), de acordo com a retrossíntese a seguir, **Esquema 66**.

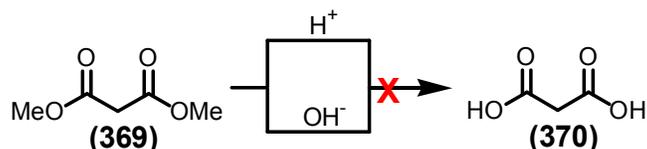


ESQUEMA 66. Síntese do 4-fenil-acetoacetato de etila a partir do derivado acilado do ácido de Meldrum

3.11.7 Síntese do ácido de Meldrum

A fim de aplicar a estratégia acima para a síntese de **365**, foi necessário preparar ambos reagentes, ácido de Meldrum (**102**) e o cloreto de fenilacetila (**491**). Verificou-se na literatura que o ácido de Meldrum (**102**) é preparado a partir da reação do ácido malônico (**370**) com acetona na presença de uma mistura de anidrido acético e ácido sulfúrico a 20°C (DAVIDSON e BERNHARD, 1948). Deste modo, foi necessário preparar o ácido malônico (**370**), uma vez que não dispúnhamos do mesmo em laboratório.

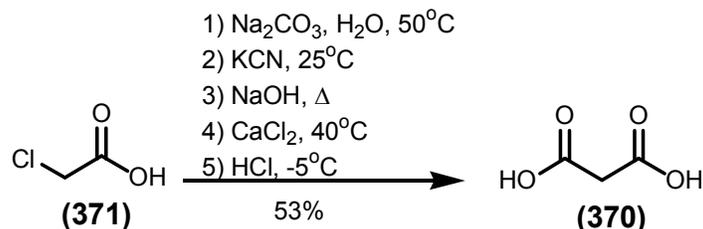
Inicialmente tentou-se obter o composto (**370**) a partir do malonato de dimetila (**369**) através da hidrólise básica. O malonato de dimetila (**369**) foi deixado sob agitação numa solução de NaOH, a temperatura ambiente. Entretanto, após dezesseis horas de reação não foi possível identificar a formação do produto desejado, **Esquema 67**. A hidrólise sob condições ácidas também foi testada. Uma solução de malonato de dimetila (**369**) e ácido sulfúrico foi aquecida a 40°C durante quatro horas, sob agitação. No entanto nesta tentativa também não foi possível isolar o composto desejado (**370**), **Esquema 67**.



ESQUEMA 67. Hidrólise do malonato de dimetila

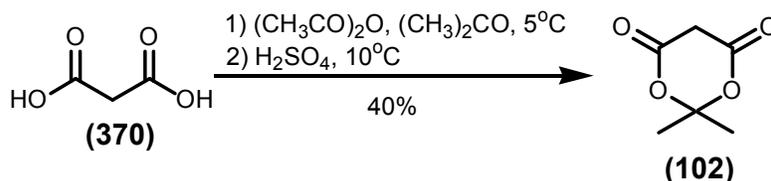
Após esta tentativa, a síntese do ácido malônico (**370**) foi realizada a partir da conversão do ácido monocloroacético (**371**), em presença de carbonato de sódio, seguido de adição de cianeto. O ácido cianoacético obtido

nesta etapa foi submetido à hidrólise básica e tratado com cloreto de cálcio e ácido clorídrico para fornecer o produto desejado **370** em 53% de rendimento, **Esquema 68**.



ESQUEMA 68. Síntese do ácido malônico

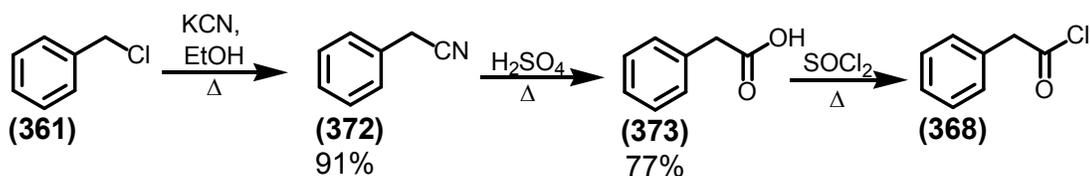
Com a obtenção do ácido malônico (**370**), a etapa seguinte consistiu na síntese do ácido de Meldrum (**102**), a partir da reação de **370** com anidrido acético e acetona em meio ácido. O ácido de Meldrum (**102**) foi obtido, após recristalização em acetona, em 40% de rendimento **Esquema 69**.



ESQUEMA 69. Síntese do ácido de Meldrum

3.11.8 Síntese do cloreto de fenilacetila

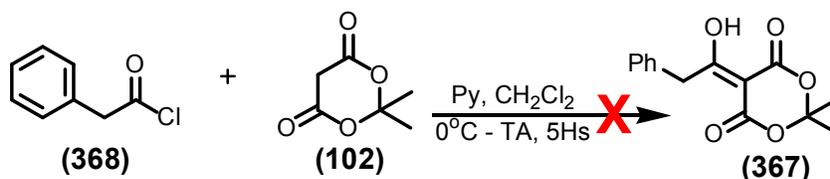
Após a obtenção do ácido de Meldrum (**102**), a etapa seguinte do trabalho consistiu na síntese do cloreto de fenilacetila (**368**). O cloreto de fenilacetila (**368**) foi preparado a partir do cloreto de benzila (**361**), o qual foi convertido à nitrila correspondente **372** após tratamento com cianeto de potássio em etanol. O cianeto de benzila (**372**) foi filtrado da mistura reacional, lavado com etanol e sem purificação prévia, foi aquecido durante três horas em presença de ácido sulfúrico levando ao produto de hidrólise, o ácido fenilacético (**373**), em 77% de rendimento. Após destilação, o ácido fenilacético (**373**) foi prontamente convertido ao cloreto de fenilacetila (**368**) ao ser refluxado com cloreto de tionila, **Esquema 70**.



ESQUEMA 70. Síntese do cloreto de fenilacetila

3.11.9 Tentativa de síntese do 4-fenil-acetoacetato de etila a partir do ácido de Meldrum

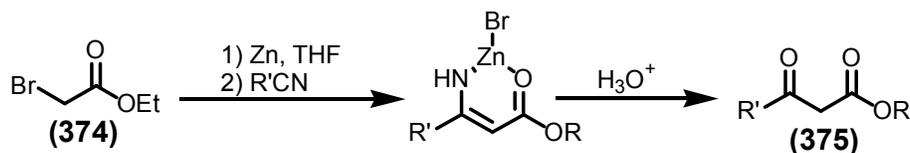
Na tentativa de síntese do β -cetoéster **365**, utilizando-se como matéria-prima o ácido de Meldrum (**102**), este foi tratado com o cloreto de fenilacetila (**368**) em presença de piridina e diclorometano a 0°C. Infelizmente, sob estas condições não foi possível identificar a formação do derivado acilado **367**, via RMN H^1 em 60 MHz, **Esquema 71**.



ESQUEMA 71. Tentativa de síntese do 4-fenil-acetoacetato de etila a partir do ácido de Meldrum

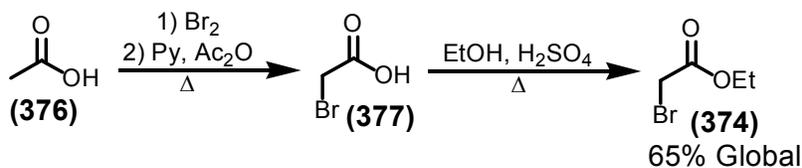
3.11.10 Síntese do 4-fenil-acetoacetato de etila através da reação de Blaise

Uma alternativa que pareceu bastante atraente para a síntese de **365** é a Reação de Blaise, um método em uma única etapa, que utiliza materiais de partida estáveis e acessíveis. Esta metodologia consiste na condensação de uma nitrila a um enolato, resultante da reação de um bromoéster **374** com zinco, através de um mecanismo análogo ao da reação de Reformatsky, seguido de hidrólise em meio ácido, **Esquema 72**.



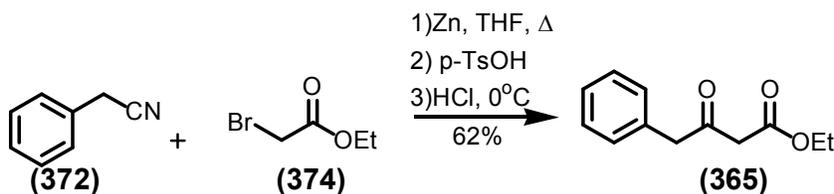
ESQUEMA 72. Reação de Blaise

Para sintetizar o 4-fenil-3-oxo-butanoato de etila (**365**) através da reação de Blaise foi necessário preparar inicialmente o bromoacetato de etila (**374**). O bromoacetato de etila (**374**) foi preparado a partir da reação do ácido acético (**376**) com bromo na presença de piridina e anidrido acético, seguido de esterificação do ácido bromo acético (**377**) em meio ácido, em 65% de rendimento, **Esquema 73**.



ESQUEMA 73. Obtenção do bromoacetato de etila

Após a obtenção do bromoacetato de etila (**374**), prosseguiu-se com a síntese do 4-fenil-3-oxo-butanoato de etila (**365**). Seguindo o procedimento descrito por Choi *et al* (2005), preparou-se uma suspensão de zinco metálico, cianeto de benzila (**372**) e *p*-TsOH em THF. A utilização do *p*-TsOH proporciona a ativação do zinco *in situ* eliminando a etapa de ativação em solução aquosa de HCl. A suspensão foi aquecida até o refluxo e então se adicionou muito lentamente o bromo éster para evitar a ejeção da mistura reacional. Após a adição do bromo éster, a reação foi mantida sob refluxo por quatro horas. O produto bruto foi resfriado a 0°C e tratado com HCl, para fornecer após destilação sob pressão reduzida o β-cetoéster desejado **365** em 62% de rendimento, **Esquema 74**.

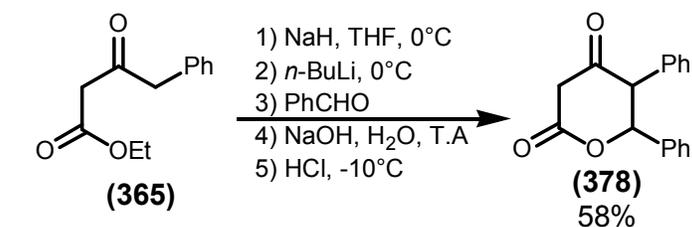


ESQUEMA 74. Síntese do 4-fenil-3-oxo-butanoato de etila

3.11.11 Síntese da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona

Com o 4-fenil-3-oxo-butanoato de etila (**365**) em mãos, a etapa seguinte consistiu na síntese da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**378**), através da condensação do diânion de **365** com benzaldeído, usando as mesmas condições empregadas anteriormente nas preparações com o acetoacetato de etila (**14**), seguida de saponificação do hidróxi-éster em hidróxido de sódio e lactonização em meio ácido aquoso a -10°C . Após recristalização em éter etílico, a diidro-piran-2,4-diona desejada **378** foi obtida em 58% de rendimento,

Esquema 75.



ESQUEMA 75. Síntese da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona

A diidro-piran-2,4-diona **378** foi recristalizada em acetona deuterada, de onde se obtiveram cristais incolores de **378**. Os cristais de **378** foram analisados e sua estrutura foi confirmada por difração de raios X, **Figura 27**. Apresentando um comportamento diferente das outras diidro-piran-2,4-dionas que tiveram suas estruturas determinadas por difração de raios X, 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona (**329**) e 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**347**), a 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**378**) cristalizou na forma cetônica.

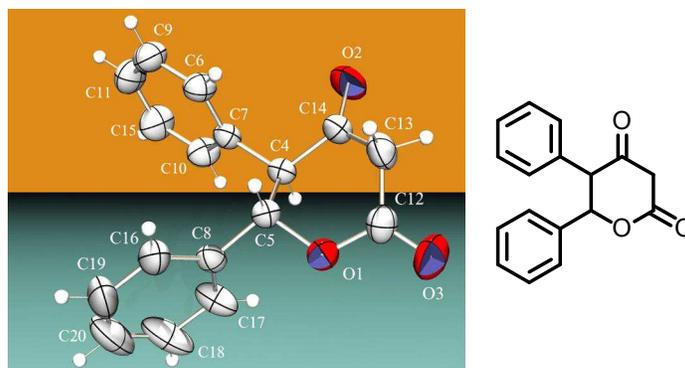


FIGURA 27. Estrutura determinada por difração de raios-X para a 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona

3.12 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA 5,6-DIFENIL-DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONA

Tendo sintetizado a diidro-piran-2,4-diona (**378**) com um GRE em C-5, foram realizados os ensaios para a verificação de seu potencial antioxidante. Nestes testes observou-se que frente ao radical DPPH, a 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**378**) apresentou um comportamento cinético similar ao das diidro-piran-2,4-dionas previamente testadas, sendo mais ativado que a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**). Quando comparada à 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**347**), a 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**378**) apresenta valores de PR significativamente superiores apenas em concentrações < 10 mmol/L ($p < 0,05$). Estes resultados podem ser comprovados pela comparação dos dados mostrados a seguir, **Gráfico 8**.

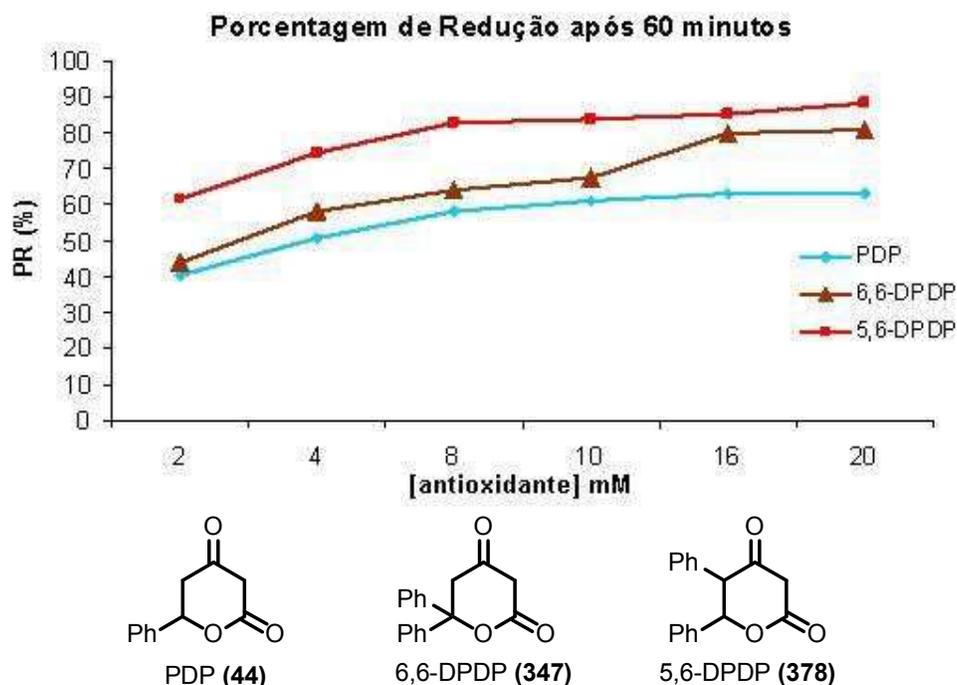


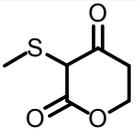
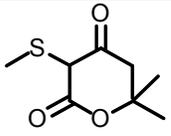
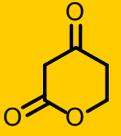
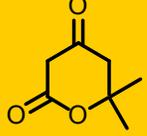
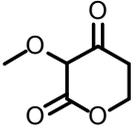
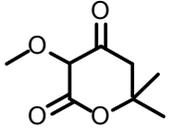
GRÁFICO 8. Atividade antioxidante determinada em função da porcentagem de redução da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 60 min, por diferentes concentrações das diidro-piran-2,4-dionas. (Os dados mostrados são relativos à média de três experimentos e já corrigidos em relação a decomposição natural do radical DPPH)

Conforme prevíamos, a introdução de um GRE em C-5 causou um aumento significativo na atividade sequestradora de radicais livres de diidro-piran-2,4-dionas. A fim de confirmar a hipótese de que a maior atividade antioxidante apresentada por **378** em relação à outras diidro-piran-2,4-dionas

avaliadas está associada a presença de um GRE em C-5 aumenta a acidez da hidroxila enólica, decidiu-se testar outros compostos 1,3-dicarbonílicos, utilizando modelos que fossem capazes de apontar uma possível relação entre o pKa e a reatividade frente ao radical DPPH.

Topol *et al* (2000) investigaram o efeito dos substituintes sobre os valores de pKa do grupo hidroxila para uma série de diidropironas. Os valores de pKa foram obtidos usando a Teoria do Funcional da Densidade. Os resultados mostram que os substituintes na posição C-6 influenciam os valores de pKa da hidroxila ligada ao C-4, **Tabela 18** (TOPOL *et al* 2000).

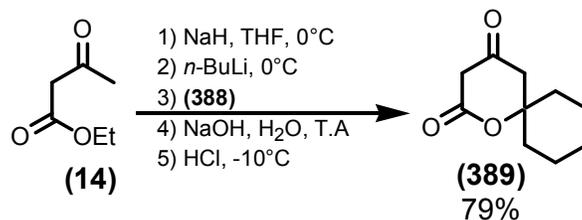
TABELA 18. Valores de pKa calculados para modelos de diidropironas com diferentes substituintes nas posições C-3 e C-6.

Diidropirona	pKa	Diidropirona	pKa
 (380)	2,7	 (381)	3,6
 (382)	3,5	 (383)	4,5
 (384)	3,9	 (385)	4,8
 (386)	4,2	 (387)	5,8

De acordo com os valores encontrados por Topol *et al* (2000), a introdução de GDE em C-6 causa uma elevação no pKa da hidroxila enólica de aproximadamente uma unidade. Como até todas as diidro-piran-2,4-dionas investigadas possuíam GRE em C-6, decidiu-se sintetizar um análogo com GDE em C-6 a fim de verificar a influência desta modificação na atividade antioxidante. Desta forma, decidiu-se sintetizar a 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona (**389**).

3.13 SÍNTESE DA 1-OXA-ESPIRO[5.5]UNDECANO-2,4-DIONA

A 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona (**389**) foi sintetizada através da condensação do diânion do acetoacetato de etila (**14**) com a ciclohexanona (**388**), usando as mesmas condições empregadas anteriormente nas preparações das demais diidro-piran-2,4-dionas, saponificação do hidróxi-éster em hidróxido de sódio e lactonização em meio ácido aquoso a -10°C . Após recristalização em clorofórmio, a diidro-piran-2,4-diona desejada (**389**) foi obtida como um sólido amorfo incolor em 78% de rendimento, **Esquema 76**.



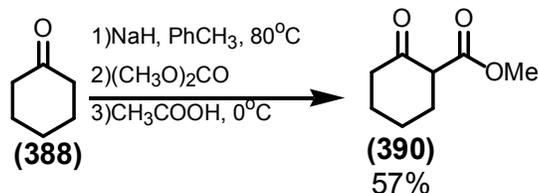
ESQUEMA 76. Síntese da 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona

3.14 SÍNTESE DO 2-OXO-CICLOHEXANOATO DE METILA

A fim de traçar um perfil da atividade antioxidante de β -cetoésteres em função dos três tipos estruturais possíveis para estes compostos, decidiu-se preparar o éster metílico do ácido 2-oxo-ciclohexanóico (**390**) e também utilizá-lo nas investigações da capacidade antioxidante dos compostos β -dicarbonílicos.

O β -cetoéster **390** foi preparado através da reação da ciclohexanona (**388**) com hidreto de sódio em tolueno, seguido de adição ao dimetilcarbonato.

O material bruto obtido foi submetido à destilação sob pressão reduzida, fornecendo o composto desejado **390** em 57% de rendimento, **Esquema 77**.



ESQUEMA 77. Síntese do éster metílico do ácido 2-oxo-ciclohexanóico

3.15 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA 1-OXA-ESPIRO[5.5]UNDECANO-2,4-DIONA, DO 2-OXO-CICLO-HEXANOATO DE METILA E DE OUTROS MODELOS.

Após a obtenção de **389** e **390**, uma nova bateria de ensaios antioxidante foi realizada. Além de **389** e **390**, outro modelo escolhido para a investigação devido a sua extraordinária acidez foi o ácido de Meldrum (**102**). A acidez do ácido de Meldrum é anormalmente superior a de outros compostos β-dicarbonílicos. Por exemplo, o seu pKa em DMSO é 7,32, mas o pKa da dimedona (**391**) e do dimetil malonato (**369**), a dicetona e o análogo acíclico correspondente é respectivamente 15,87 e 11,16, **Figura 28**. Em água, a acidez do ácido de Meldrum, pKa = 4,83 – 4,93, é comparável ao ácido acético, pKa = 4,75 (LEE *et al* 2003).

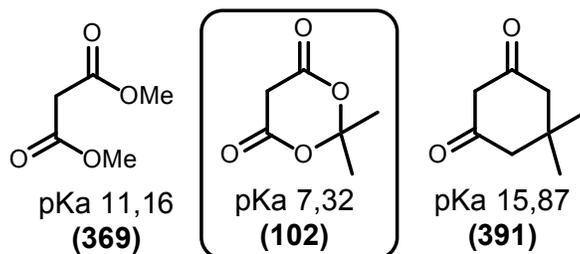


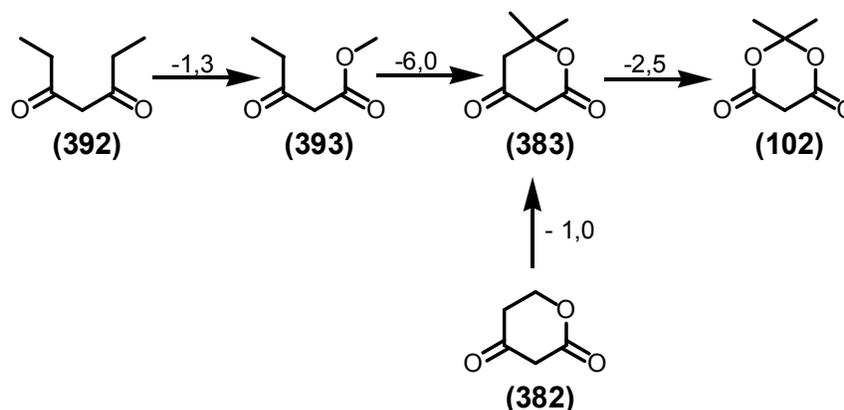
FIGURA 28. Ácido de Meldrum e seus análogos

Lee *et al* (2003) estudaram o processo de ionização em fase gasosa de uma série de compostos dicarbonílicos cíclicos e acíclicos, determinando a energia de ionização em fase gasosa (ΔG°) através dos métodos DFT. A variação na energia de ionização ($\delta\Delta G^\circ$), **Esquema 78**, indica que:

i. A acidez é aumentada (ΔG° é reduzido) consideravelmente pela ciclização, **393 > 383**.

ii. A introdução do heteroátomo causa uma redução na ΔG° , **392 > 393** e **383 > 102**.

iii. A dimetilação causa uma elevação da acidez (ΔG° diminui), **382 > 383**.



ESQUEMA 78. A variação energia de ionização de compostos dicarbonílicos cíclicos e acíclicos

Devido à existência dessa relação entre os valores de pKa destas espécies, além do ácido de Meldrum (**102**), foram incluídos nos testes os compostos acíclicos, comercialmente disponíveis, acetoacetato de etila (**14**) e acetilacetona (**394**). Nesta nova bateria de ensaios, comparou-se a atividade das diidro-piran-2,4-dionas **44**, **347**, **378** e **389** com a lactona **102**, o acetoacetato de etila (**14**), o 2-oxo-ciclo-hexanoato de metila (**390**) e a acetilacetona (**394**). Os resultados obtidos são mostrados a seguir, **Gráfico 9**.

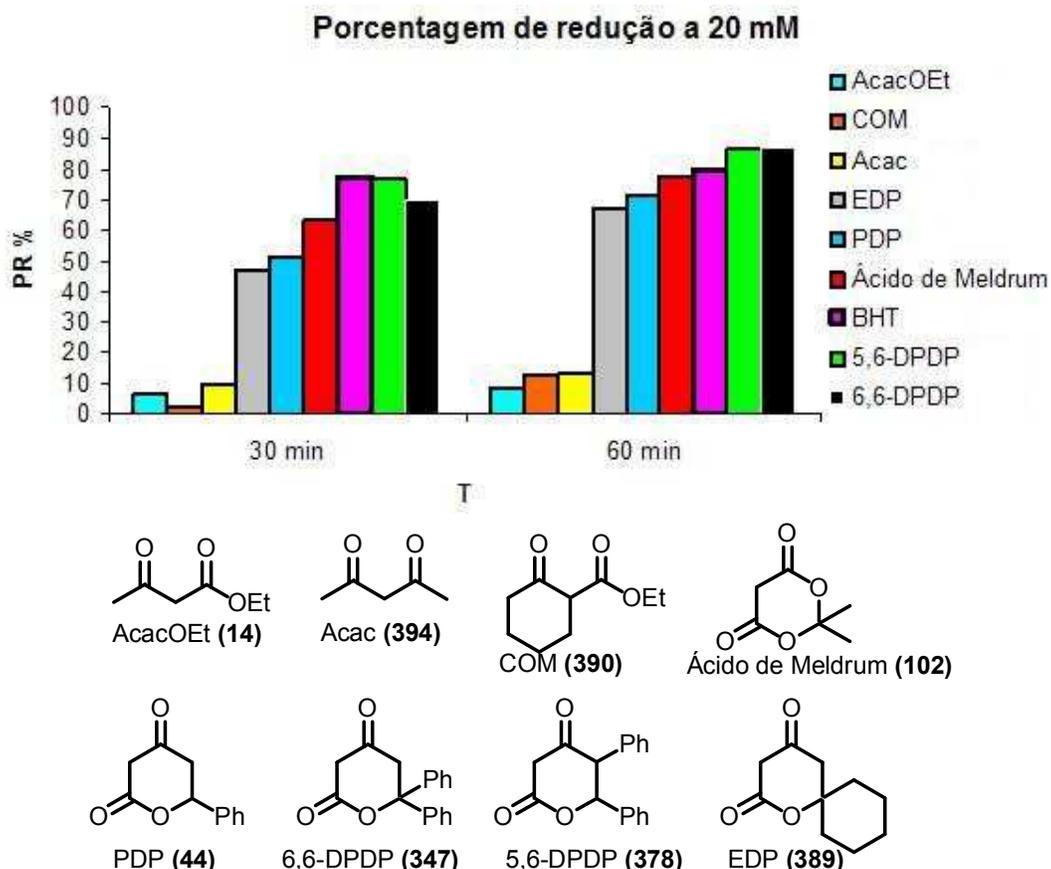


GRÁFICO 9. PR da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 30 e 60 min. Compostos avaliados a 20 mmol/L. (Os dados mostrados são relativos à média de três experimentos e já corrigidos em relação a decomposição natural do radical DPPH)

Inicialmente, pode-se verificar que os compostos acíclicos mostraram baixa capacidade de seqüestrar o radical livre DPPH, $PR_{60} < 20\%$ a 20 mmol/L, sendo portanto, considerados inativos. O ácido de Meldrum mostrou atividade antioxidante comparável à 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**). A 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**347**) e a 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**378**) apresentaram o melhor desempenho na verificação da atividade antioxidante. Os valores de **PR** observados para a 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**347**) e para a 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**378**) foram bastante similares entre si e não diferiram significativamente daquele observado para o controle positivo, BHT (**336**).

Quando as substâncias foram analisadas na concentração 2 mmol/L, pode-se verificar que dentre todos os compostos sintetizados, aquele que

apresentou maior eficiência na captura do radical livre DPPH foi a 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**378**). Nesta concentração, o ácido de Meldrum (**102**) apresentou atividade antioxidante equivalente às demais diidro-piran-2,4-dionas avaliadas. A 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona (**389**) foi, conforme o esperado, a que teve o menor desempenho no ensaio, **Gráfico 10**.

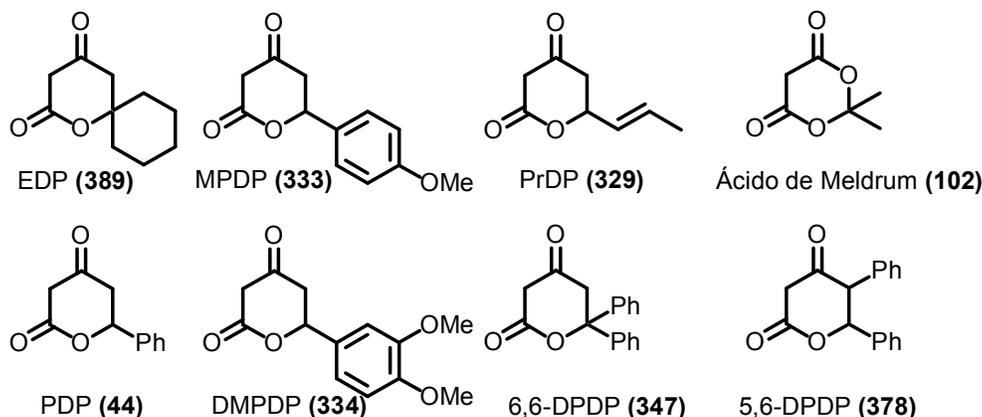
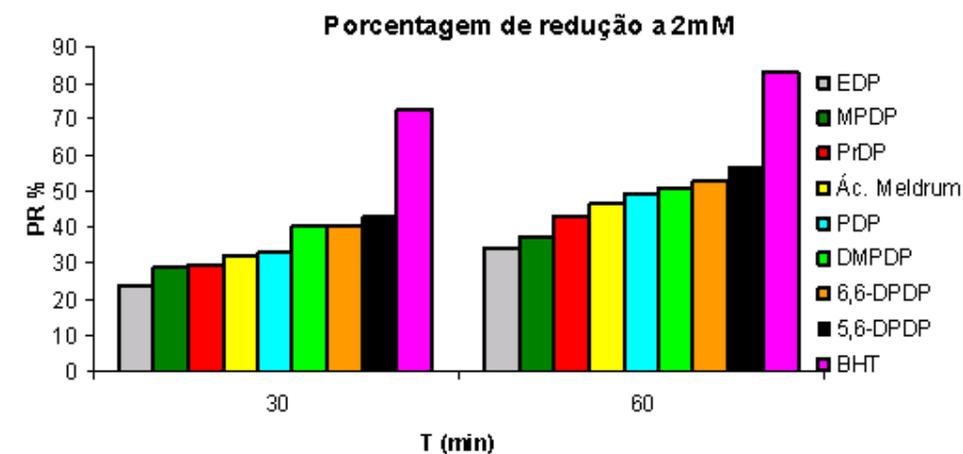


GRÁFICO 10. PR da absorção inicial do radical DPPH, a 515 nm, após 60 min, dos compostos avaliados a 2 mmol/L. (Os dados mostrados são relativos à média de três experimentos e já corrigidos em relação à decomposição natural do radical DPPH)

Os resultados obtidos ao longo da investigação da atividade antioxidante de diidro-piran-2,4-dionas sugerem que existe uma relação entre a atividade observada e o pKa da hidroxila enólica em C-4. Ao tomar como padrão a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (**44**), verifica-se que a introdução de um grupo fenila adicional em C-6, para gerar a 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**347**), causa uma pequena elevação da atividade seqüestradora de radicais livres,

entretanto quando a introdução do grupo fenila dá-se em C-5, 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**378**) pode-se observar uma maior elevação na **PR**. Também corrobora com a hipótese delineada o fato de que a diidro-piran-2,4-diona **389**, que possui GDE em C-6, apresenta atividade antioxidante inferior às demais.

Para os compostos acíclicos testados também se encontrou relação entre os valores de **PR** com o pKa. A acetilacetona (**394**) (pKa 9,0) apresentou valores de **PR** um pouco superiores aos observados para o acetoacetato de etila (**14**) (pKa 11).

Ainda em relação à investigação da atividade antioxidante dos compostos acíclicos, já se esperava que os mesmos apresentassem valores de **PR** inferiores aos observados para as diidro-piran-2,4-dionas uma vez que existe uma grande diferença de ΔG° entre os compostos acíclicos e seus análogos cíclicos, **Esquema 78**, o que acarreta uma menor acidez em relação às diidropironas. Entretanto não imaginávamos que os mesmos fossem inativos. Uma provável explicação para este comportamento é que a atividade antioxidante de compostos 1,3-dicarbonílicos está relacionada não apenas à fatores eletrônicos mas também à fatores conformacionais.

Na nossa proposta para explicar a atividade antioxidante dos compostos avaliados o radical livre DPPH reage com átomo de hidrogênio da hidroxila enólica, pois com a 6-fenil-4-metóxi-5,6-diidro-piran-2-ona (**353**) não houve redução. Logo, este hidrogênio deve estar disponível para ser transferido ao radical livre DPPH. Os compostos **14** e **394**, podem se apresentar em qualquer uma dentre as três conformações possíveis para compostos 1,3-dicarbonílicos: U (Z,Z); foice (Z,E) e W (E,E), enquanto que **390** pode assumir as formas em U (Z,Z) e foice (Z,E). Na conformação U (Z,Z) ou foice (Z,E) o hidrogênio ácido está muito menos disponível devido à formação de ligações de hidrogênio intramolecular, **Figura 29**.

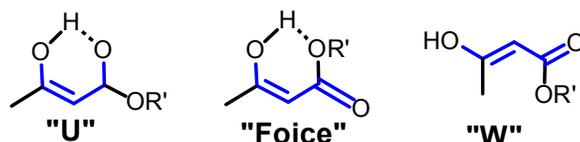
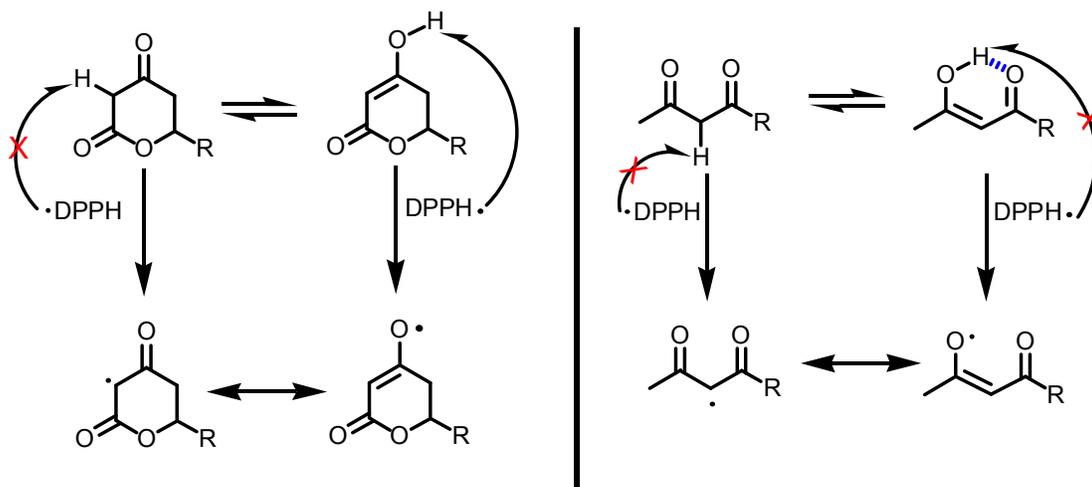


FIGURA 29. Conformações adotadas por compostos 1,3-dicarbonílicos e suas ligações de hidrogênio

Através dos estudos realizados, pode-se observar que, para reagir com o radical livre DPPH, os compostos β -dicarbonílicos devem estar na conformação W (E, E) já que quando se apresentam em outras conformações (U ou foice) há a possibilidade de formação de ligação de hidrogênio intramolecular. Deste modo, o hidrogênio estaria menos disponível para a reação com o DPPH, o que explica a baixa atividade apresentada pelos compostos **14**, **390** e **394** testados, **Esquema 79**.



ESQUEMA 79. Possível mecanismo de reação entre o radical livre DPPH e os compostos β -dicarbonílicos

3.16 AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA DE DIIDRO-PIRAN-2,4-DIONAS.

Os anticolinesterásicos são substâncias que inibem a enzima acetilcolinesterase (AChE), presente no cérebro. A função da (AChE) é interromper a ação da acetilcolina (ACh) nas junções das várias terminações nervosas colinérgicas nos seus órgãos efetores ou locais pós-sinápticos, sendo responsável por sua degradação (JUNIOR *et al* 2004).

A utilização de inibidores da AChE reduz a hidrólise de ACh, aumentando seu tempo de meia-vida, as substâncias que possuem atividade anticolinesterásica provocam um acúmulo de ACh nos receptores colinérgicos. Desse modo, todos os receptores colinérgicos (muscarínicos e nicotínicos) são

intensamente estimulados pela ACh que normalmente seria metabolizada pela AChE, se esta não estivesse inibida (JUNIOR *et al* 2004).

A AChE é um importante alvo terapêutico e atualmente inibidores reversíveis dessa enzima têm sido utilizados para o tratamento de desordens cognitivas como na Doença de Alzheimer (DA) (INGKANINAN *et al* 2000). A DA é uma desordem neurodegenerativa responsável por cerca de 50-60% do número total de casos de demência dentre pessoas acima dos 65 anos (JUNIOR *et al* 2004). Atualmente sabe-se que DA é caracterizada por uma redução nos níveis de acetilcolina (ACh) **(395)** no córtex cerebral e no hipocampo (DECKER, 2005).

Novos inibidores da AChE têm sido sintetizados e testados, com o objetivo de descobrir drogas com maior afinidade e seletividade na ação farmacológica. Os anticolinesterásicos também são empregados para combater desordens neuromusculares, tais como a *miastenia gravis* e o glaucoma (ROTUNDO *et al*, 2005).

Assim como os inibidores reversíveis da AChE são amplamente utilizados na clínica para o tratamento de várias patologias, os inibidores irreversíveis também possuem aplicação comercial como inseticidas e herbicidas (RAY, 1998; MURRAY *et al*, 2005). A AChE dos insetos é o alvo primário dos inseticidas organofosforados, os quais inibem irreversivelmente a enzima devido a uma ligação estável estabelecida entre um grupo hidroxila do sítio ativo da enzima com o átomo de fósforo desses compostos. Os carbamatos também são empregados como pesticidas, entretanto, por se ligarem reversivelmente à AChE, são considerados menos tóxicos do que os organofosforados (MURRAY *et al* 2005).

Como os carbamatos são inibidores reversíveis da AChE e apresentam elevada afinidade na ligação com a enzima, diversas moléculas contendo o grupo carbamato têm sido sintetizadas e empregadas terapeuticamente. A rivastigmina (Exelon ®) **(396)** é o protótipo mais promissor dessa classe,

produzido pela Novartis®, é amplamente utilizado na clínica para o tratamento da DA (JUNIOR *et al* 2004).

A tacrina (THA, Cognex ®) (**397**) foi o primeiro inibidor da AChE sintético aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos para uso terapêutico, em 1993, e pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) em 1994. Indicada para o alívio dos sintomas da DA de intensidade, média e leve, a tacrina tem sua aplicação limitada devido aos sérios efeitos colaterais que apresenta, tais como hepatotoxicidade (JUNIOR *et al* 2004). Além da rivastigmina (**396**) e da tacrina (**397**), outros fármacos anticolinesterásicos para o tratamento da DA são comercializados: donepezil (Aricept ®) (**398**) e a galantamina (Reminyl ®) (**399**) (RHEE *et al* 2001).

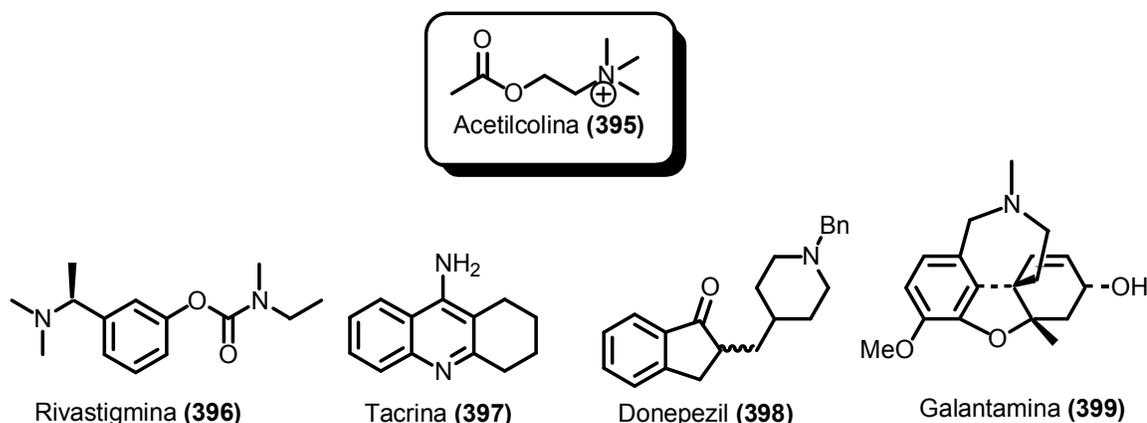


FIGURA 30. Estrutura da acetilcolina e dos principais fármacos anticolinesterásicos

A arisugacina A (**400**), **Figura 31**, um produto natural isolado de *Penicillium sp*, mostrou em testes *in vitro* uma atividade como inibidor da AChE (IC₅₀ de 1,0 nM) superior ao de agentes terapêuticos, usados para o tratamento da doença, tais como a rivastigmina (**396**), tacrina (**397**), donepezil (**398**) e galantamina (**399**) (DOUGLAS *et al* 1999). A arisugacina A (**400**) também apresentou elevada seletividade para a AChE (seletividade BuChE/AChE > 21.000) (OTOGURO *et al*, 1997). Estudos de modelagem molecular mostraram que a unidade 6-aryl-4-hidróxi-pirona (anéis D-E) é decisiva para a manifestação da atividade anticolinesterásica e para a seletividade da Arisugacina A (**400**) frente à enzima AChE (OTOGURO *et al* 1997).

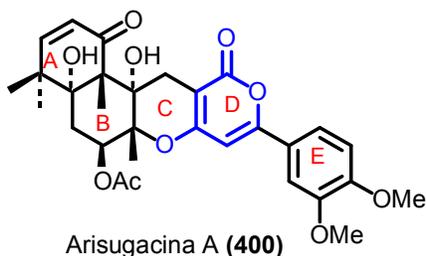
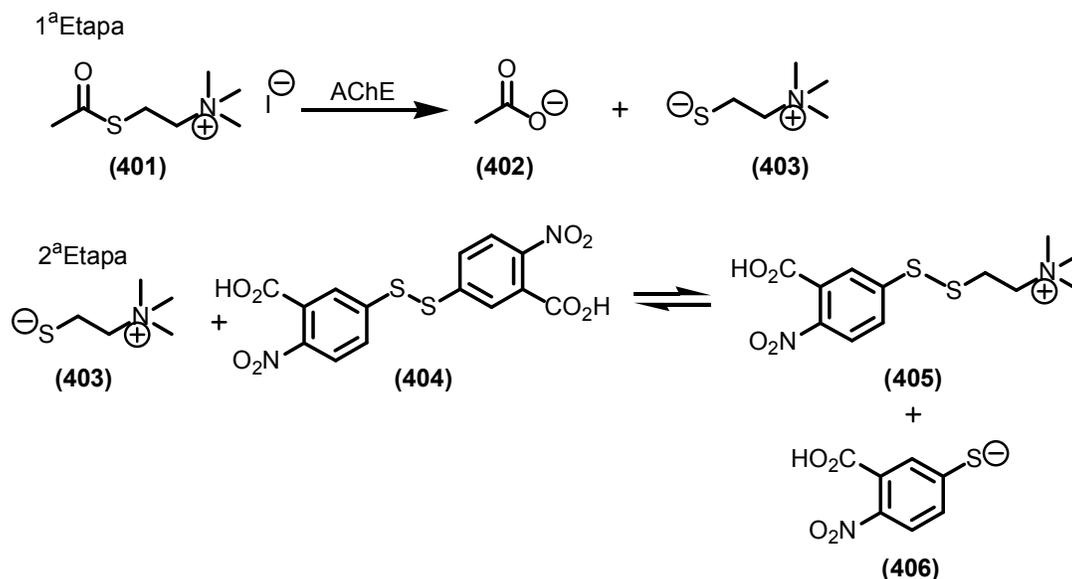


FIGURA 31. Estrutura da arisugacina A

Estes resultados encontrados para a atividade anticolinesterásica da arisugacina A (**400**) nos motivaram a avaliar o potencial de diidro-piran-2,4-dionas como inibidores da AChE, já que ela é estruturalmente relacionada às 4-hidróxi-pironas, tais como a arisugacina A (**400**).

O método empregado para determinação da inibição da AChE foi baseado no ensaio enzimático descrito por Ellman *et al.* (1961). Este é um método colorimétrico e pode ser utilizado de forma qualitativa e quantitativa. Para a realização do ensaio utilizou-se a enzima AChE (*Electric eel*) fornecida pela Sigma®, iodeto de acetiltiocolina (ATCI) (**401**) como substrato e o ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) (**404**) como indicador da hidrólise da acetiltiocolina.

O DTNB é utilizado para a determinação colorimétrica de grupos tióis em amostras biológicas. A solução de DTNB é levemente amarelada, porém em presença de tióis, o DTNB é convertido ao ácido 5-mercapto-2-nitrobenzóico (**405**), o qual possui coloração amarela. A razão da produção da cor amarela é medida a 412 nm (ensaio quantitativo) ou visualizada em CCD (ensaio qualitativo) (RHEE *et al.*, 2001). A reação na qual se fundamenta o ensaio de Ellman é mostrada a seguir no **Esquema 80**.



ESQUEMA 80. Ensaio de Ellman

Inicialmente realizou-se um ensaio qualitativo preliminar com a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona. Em uma placa para CCD aplicou-se aproximadamente 2,0 μL deste composto. Borrifou-se a placa com uma solução 1 mM DTNB (404) e uma solução 1 mM de ATCI (401), deixando 3 min. Após secar, borrifou-se a enzima AChE 3 U/mL e, em 10 min, apareceu um halo branco sobre a coloração amarela da placa, indicação da inibição enzimática. O halo de inibição da fenil-diidro-piran-2,4-diona foi superior ao da cafeína, usada como padrão. Este resultado nos motivou a investigar mais detalhadamente a capacidade de diidro-piran-2,4-dionas como inibidores da AChE, através de ensaios espectrofotométricos.

Para a realização do ensaio quantitativo, foram preparadas as seguintes soluções:

- (a) 50 mM Tris/HCl pH 8;
- (b) 1 mM DTNB (reagente de Ellman);
- (c) 1 mM de iodeto de acetilcolina (ATCI).

A enzima AChE liofilizada (Sigma® - 394 U/mg de sólido) foi dissolvida na solução-tampão (a) para obter uma solução estoque 1000 U/mL. Para o

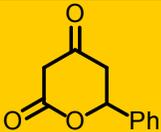
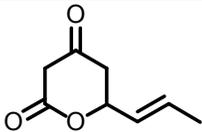
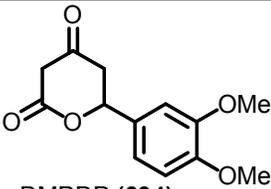
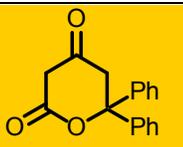
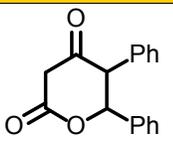
ensaio, esta solução estoque foi diluída até a concentração de 3 U/mL. Estas soluções foram mantidas sob refrigeração até o momento de realização dos testes.

As amostras das diidro-piran-2,4-dionas a serem avaliadas não apresentaram solubilidade apreciável em água. A partir daí, surgiu a necessidade de utilização de um solvente orgânico. O solvente escolhido para a síntese das soluções-estoque (20mM) das diidro-piran-2,4-dionas foi o etanol absoluto, pois este solvente não influencia a atividade da enzima AChE (DECKER, 2005). Como controle, utilizou-se uma solução de cafeína 20mM em etanol. O sistema de referência utilizado consistiu de 300 μ L da solução do tampão Tris-HCl pH 8, 42 μ L de AChE (3U/mL), 20 μ L de etanol, 500 μ L de DTNB (1mM) e 750 μ L de ATCI (1mM).

O ensaio empregou 300 μ L da solução do tampão Tris-HCl pH 8, 42 μ L de AChE (3U/mL) e 20 μ L da amostra avaliada ou do controle (cafeína). Este sistema permaneceu em repouso à temperatura ambiente por cinco minutos e então se adicionou 500 μ L de DTNB (1mM) e 750 μ L de ATCI (1mM). A absorbância a 412 nm foi verificada a cada 3 minutos, durante 15 minutos, utilizando um espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo Lambda 2. As análises foram realizadas em triplicata, empregando o método 6, previamente programado no espectrofotômetro, o qual fornece os valores de atividade enzimática em U/mL, com o devido desvio-padrão.

Os resultados da atividade anticolinesterásica foram expressos em função da redução da atividade enzimática na presença das substâncias-teste quando comparados ao sistema de referência. Os valores referem-se à medias de três experimentos, **Tabela 19**.

TABELA 19. Atividade da AChE medida durante a realização do ensaio de Ellman para a avaliação das diidro-piran-2,4-dionas (20mM em EtOH) como inibidores da AChE.

Substância	Atividade Enzimática (U/mL) + desvio padrão	Inibição da atividade enzimática
Referência	0,082 + 0,075	0%
 PDP (44)	0,041 + 0,082	50,61%
 PrDP (329)	0,043 + 0,133	48,17%
 MPDP (333)	0,034 + 0,030	59,15%
 DMPDP (334)	0,035 + 0,007	57,32%
 6,6-DPDP (347)	0,060 + 0,050	27,44%
 5,6-DPDP (378)	0,040 + 0,084	51,22%
Cafeína (Controle)	0,015 + 0,044	81,71%

Nesta primeira tentativa de identificar atividade anticolinesterásica em diidro-piran-2,4-dionas, os compostos **44**, **329**, **333**, **334** e **378** apresentaram porcentagem de inibição da AChE apenas moderada, com valores similares entre si. Apesar da similaridade estrutural, a 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona (**347**) não mostrou atividade anticolinesterásica significativa.

A única diferença estrutural entre a diidro-piran-2,4-diona **347** e as demais é a presença de dois substituintes no carbono C-6. O impedimento estérico, causado pelos dois grupos fenila na mesma posição, pode ser o responsável pela diminuição da atividade, dificultando a aproximação de **347** ao sítio ativo da AChE. Como se trata de uma avaliação preliminar e estudos de relação estrutura-atividade ainda não foram realizados, não é possível explicar inteiramente como as diidro-piran-2,4-dionas se ligam a AChE.

A apreciação de todos esses dados de atividade biológica encontrados em diidro-piran-2,4-dionas tornam de grande relevância a síntese de novos modelos e a avaliação dessas moléculas, abrindo a possibilidade de obtenção de um novo protótipo para o desenvolvimento de fármacos cada vez mais específicos.

Laura C. de Souza

Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas

Procedimento Experimental

Procedimento Experimental 4

4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Toda vidraria utilizada, incluindo seringas, foi previamente lavada com etanol, seca em estufa a 150°C por, no mínimo, uma hora e resfriada em dessecador. As reações sensíveis à umidade foram conduzidas sob atmosfera de nitrogênio. O THF usado nas reações de formação do diânion do acetoacetato de etila foi sempre recém-destilado sob sódio e benzofenona. Todos os outros solventes e reagentes empregados nos procedimentos de síntese, ou de purificação, foram previamente tratados, empregando-se as técnicas-padrão de purificação (AMAREGO e PERRIN, 1997). As colunas cromatográficas foram preparadas utilizando como fase estacionária sílica-gel (70-230 mesh) sob pressão atmosférica.

As reações foram realizadas sob agitação magnética em placa de agitação, sendo aquecidas, quando necessário, em banho de óleo mineral. As soluções de produtos elaborados foram concentradas em evaporador rotatório e os resíduos removidos em sistema de alto vácuo.

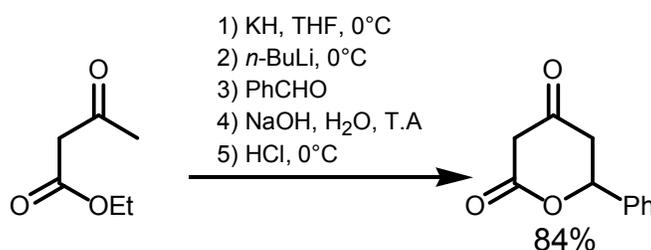
O andamento das reações foi acompanhado por cromatografia em camada delgada, utilizando folhas de alumínio recobertas de sílica-gel 60 F₂₅₄. A visualização dos compostos foi realizada, de acordo com cada caso, com um dos seguintes reveladores: iodo, solução etanólica de ácido fosfomolibdico ou luz ultravioleta. Em alguns casos, empregou-se a cromatografia gasosa para o acompanhamento da reação.

A verificação estrutural dos compostos sintetizados foi realizada primordialmente através da análise dos espectros de IV, RMN de H¹ e C¹³ e, em alguns casos, difração de raios-X. Os espectros de RMN foram registrados nos espectrômetros Varian EM-360A, Varian Gemini 300, Bruker DRX-400 e DRX-500,

respectivamente, utilizando TMS ou solvente deuterado como padrão interno. Os espectros na região do IV foram registrados em espectrofômetro Perkin-Elmer 1600 Série FT IR ou FT/IR Bomem Hartmann & Braun-Micxelson MB-100. As análises espectrofotométricas foram realizadas em espectrômetro Perkin-Elmer Lambda 2 UV/VIS.

4.2. PROCEDIMENTOS DE SÍNTESE

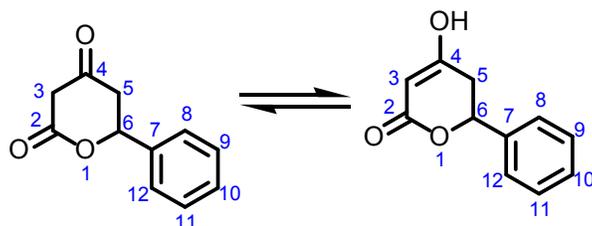
4.2.1 Síntese da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona



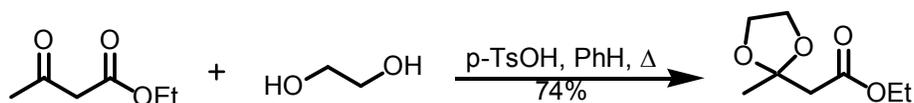
A uma suspensão, sob agitação, de KH 35% (1,346 g – 11,78 mmol) em THF a –10°C, sob atmosfera de nitrogênio, adicionou-se lentamente acetoacetato de etila (1,0 mL – 7,85 mmol). A esta solução foi adicionado, gota a gota, *n*-BuLi 2,0 mol/L (5,89 mL – 11,78 mmol). A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por quinze minutos. Adicionou-se então benzaldeído (1,32 mL – 12,96 mmol). A solução permaneceu sob agitação por 30 minutos, durante este período de tempo a temperatura variou de –10°C à temperatura ambiente, e então se adicionou, lentamente, água (1 mL). A mistura reacional foi diluída com NaOH (500mL, 0,1 mol/L). O sistema foi deixado sob vigorosa agitação à temperatura ambiente por duas horas. A mistura reacional foi então dissolvida em Et₂O (50 mL) e água (100 mL) destilada. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram descartadas. À fase aquosa adicionou-se éter etílico (30 mL) e resfriou-se a –10°C, quando, adicionou-se HCl concentrado lentamente até pH 6. O produto obtido foi dissolvido em AcOEt (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com AcOEt (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100 mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50 mL), seca

sob Na_2SO_4 , filtrada e o solvente evaporado. O produto bruto obtido foi recristalizado em CHCl_3 para obter-se como um sólido incolor a 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (1,25 g – 6,59 mmol; 84%); **Ponto de Fusão:** 129 – 131°C. **IV** (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ 3036, 2898, 2554, 1719, 1592, 1498, 1460, 1399, 1372, 1289, 1207, 1186, 1162, 1059, 1012, 817, 756 e 696 cm^{-1} ; **RMH H^1** (500 MHz, $\text{DMSO } d_6$) δ 2,59 (dd, 1H, J = 3,5 e 17,0 Hz, H5), 2,85 (dd, 1H, J = 11,9 e 17,0 Hz, H5), 5,07 (s, 1H, H3), 5,45 (dd, 1H, J = 3,5 e 11,9 Hz, H6), 7,35 – 7,48 (m, 5H, H7-H12); **RMN C^{13}** (125 MHz, $\text{DMSO } d_6$) δ 34,1 (C5); 76,1 (C6); 90,8 (C3); 126,3 (CH, Ar); 128,2 (CH, Ar); 128,4 (CH, Ar); 139,1; 166,7 (C2); 172, 7 (C4).*

*RMN H^1 e C^{13} referentes à forma enólica.

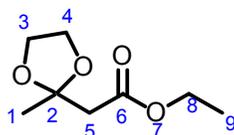


4.2.2 Síntese do etileno acetal do acetoacetato de etila

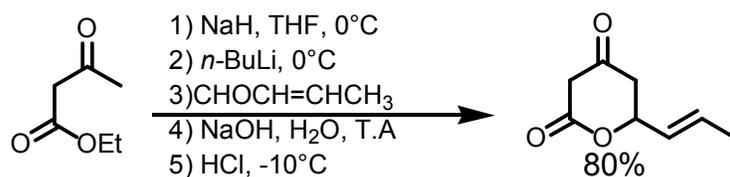


A uma solução de acetoacetato de etila (5,0 mL – 39,25 mmol) em benzeno, adicionou-se 2,0 mL de etileno glicol (46,1 mmol) e 12,5 mg de ácido p-toluenossulfônico. A mistura reacional foi mantida sob refluxo de benzeno e a água formada durante o processo foi continuamente destilada, usando-se um aparelho de Dean-Stark. Quando não mais se observou a formação de água o sistema foi resfriado até 25°C, lavado com solução de hidróxido de sódio (0,05 mol/L). O produto bruto foi seco sob carbonato de potássio e destilado, para fornecer como um óleo incolor o produto desejado em 74% de rendimento (20,23 g – 0,116 mmol). **IV** (filme) $\nu_{\text{máx}}$ 3534, 2985, 2887, 1736, 1375, 1188, 1111, 1045, 949, 869, 670, 597, 511. **RMH H^1** (300 MHz, CDCl_3) δ 1,13 (t, 3H, J = 6,0 Hz,

H9); 1,34 (s, 3H, H1); 2,49 (s, 2H, H5); 3,83 (s, 4H, H3 e H4); 4,01 (q, 2H, J = 6,0 Hz, H8).

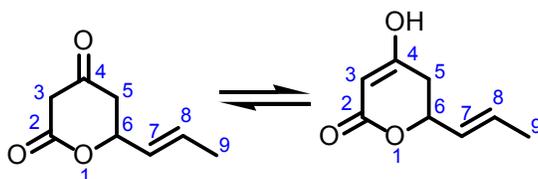


4.2.3 Síntese da 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona

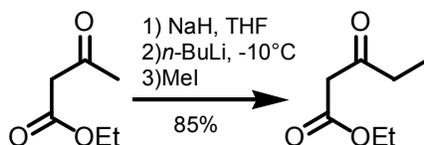


A uma suspensão, sob agitação, de NaH 80% (0,306 g – 11,78 mmol) em THF, a –10°C, adicionou-se lentamente acetoacetato de etila (1,0 mL – 7,85 mmol). A este sistema foi adicionado, gota a gota, *n*-BuLi 2,0 mol/L (5,89 mL – 11,78 mmol). A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por mais quinze minutos. Adicionou-se então crotonaldeído (0,72mL – 8,63 mmol). A solução permaneceu sob agitação por trinta minutos, durante este período a temperatura variou de 0°C a temperatura ambiente. A mistura reacional foi diluída em NaOH (500mL, 0,1 mol/L). O sistema foi deixado sob agitação à temperatura ambiente por duas horas. A mistura reacional foi dissolvida em Et₂O (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram descartadas. A fase aquosa foi diluída em éter etílico (30 mL), resfriada a –10°C. Em seguida, adicionou-se HCl concentrado lentamente até pH 6. O produto obtido foi dissolvido em AcOEt (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com AcOEt (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100 mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50 mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto bruto obtido foi recristalizado em CHCl₃ para obterem-se como cristais amarelados a 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona (0,968g – 6,28mmol; 80%). **Ponto de fusão:** 122 – 124°C;

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ 3080, 2963, 2640, 1886, 1841, 1690, 1587, 1449, 1418, 1370, 1357, 1276, 1256, 1186, 1100, 1057, 1012, 965, 937, 894, 875, 745 e 567 cm^{-1} ; **RMN H^1** (500 MHz, DMSO d_6) δ 1,70 (d, 3H, J = 6,5 Hz, H9), 2,38 – 2,24 (m, 2H, H5), 2,48 – 2,54 (m, 2H, H3), 4,96 (s, 1H, H6), 5,60 (dd, 1H, J = 6,5 e 15,4 Hz, H7), 5,77 – 5,84 (m, 1H, H8); **RMN C^{13}** (125 MHz, DMSO d_6) δ 17,4 (C9); 32,7 (C5); 75,09 (C6); 90,8 (C3); 128,9 (C7); 129,0 (C8); 166,7 (C2) ; 172,3 (C4).

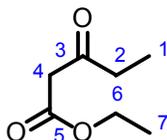


4.2.4 Síntese do 3-oxo-pentanoato de etila

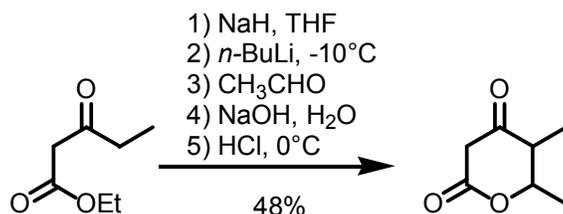


A uma suspensão, sob agitação, de NaH 80% (0,706 g – 23,56 mmol) em THF a – 10°C, sob atmosfera de nitrogênio, adicionou-se lentamente acetoacetato de etila (2,0 mL – 15,70 mmol). A esta solução foi adicionado, gota a gota, *n*-BuLi 2,0 mol/L (11,78 mL – 23,56 mmol). A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por quinze minutos. Adicionou-se então iodeto de metila (2,41 mL – 25,92 mmol). A solução permaneceu sob agitação por 30 minutos, durante este período de tempo a temperatura variou de –10°C à temperatura ambiente, e então se adicionou, lentamente, água (~1 mL). O produto obtido foi dissolvido em Et₂O (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100 mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50 mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto bruto obtido foi destilado (85°C – 12 mmHg) para obter-se como um óleo incolor o 3-oxo-pentanoato de etila (1,924 g – 13,35 mmol; 85%). **IV** (filme): $\nu_{\text{máx}}$ 2981, 2931, 1743, 1717, 1628, 1459, 1413, 1368, 1311, 1249, 1160, 1107, 1062 e 1028 cm^{-1} ; **RMN H^1** (60MHz, CCl₄): δ

0,8 – 1,5 (m, 6H), 2,5 (q, 2H, J = 8 Hz, H₂), 3,4 (s, 1H, H₄), 4,2 (q, 2H, J = 6 Hz, H₆), 4,9 (s, H₄ – forma enólica).

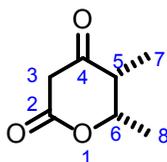


4.2.5 Síntese da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona

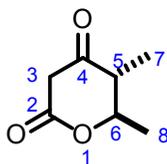


A uma suspensão de NaH 80% (0,327 g – 10,91 mmol) em THF, a –10°C, sob atmosfera de N₂, adicionou-se lentamente 3-oxo-pentanoato de etila (1,0 mL – 7,27 mmol). A esta solução foi adicionado, gota a gota, *n*-BuLi 1,2 mol/L (9,3 mL – 10,91 mmol). A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por mais quinze minutos. Adicionou-se então acetaldeído (0,43 mL – 7,73 mmol). A mistura reacional permaneceu sob agitação por 30 minutos, durante este período a temperatura variou de 0°C até a temperatura ambiente, quando se adicionou, lentamente, água (1 mL). A mistura reacional foi hidrolisada com NaOH (50mL, 50%), sob vigorosa agitação a temperatura ambiente por duas horas. O sistema foi resfriado a –10°C. Em seguida, adicionou-se HCl concentrado lentamente até pH 6. O produto obtido foi dissolvido em AcOEt (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com AcOEt (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100 mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50 mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto bruto foi purificado através de coluna cromatográfica em sílica gel usando como eluente 50% de acetato de etila em hexano, para se obter uma mistura 1:1 dos isômeros *cis-trans* da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona. Após cristalização em CCl₄, obteve-se a diidro-piran-2,4-diona como cristais incolores (0,496g – 3,49 mmol; 48%). **Cis: Ponto de Fusão:** 112 – 114°C ; **IV (KBr):** $\nu_{\text{máx}}$ 2980, 2668, 1649, 1572, 1383, 1284, 1227, 1087, 819

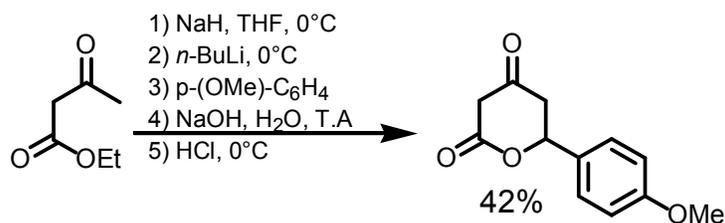
e 607 cm^{-1} ; **RMN H^1** (400 MHz, CDCl_3): δ 1,15 (d, 3H, $J = 7,3\text{ Hz}$, H7)), 1,39 (d, 3H, $J = 6,7\text{ Hz}$, H8), 2,68 – 2,74 (m, 1H, H5), 3,40 (d, 1H, $J = 19,9\text{ Hz}$, H3), 3,54 (d, 1H, $J = 19,9\text{ Hz}$, H3) e 4,80 – 4,86 (m, 1H, H6); **RMN C^{13}** (100 MHz, CDCl_3): δ 9,1 (C7); 16,6 (C8); 45,5 (C3); 46,6 (C5); 74,9 (C6); 167,3 (2); 203,0 (C4);



Trans: Ponto de Fusão: $85 - 87^\circ\text{C}$; **IV** (KBr): $\nu_{\text{máx}}$ 3375 (H_2O), 2997, 2984, 2942, 2886, 2688, 2587, 2550, 1626, 1598, 1501, 1452, 1384, 1326, 1298, 1233, 1049, 1005 e 826 cm^{-1} ; **RMN H^1** (400 MHz, CDCl_3): δ 1,19 (d, 3H, $J = 7,3\text{ Hz}$, H7), 1,53(d, 3H, $J = 6,7\text{ Hz}$, H8), 2,30 – 2,38 (m, 1H, H5), 3,44 (d, 1H, $J = 19,1\text{ Hz}$, H3), 3,56 (d, 1H, $J = 19,1\text{ Hz}$, H3) e 4,41 – 4,48 (m, 1H, H6); **RMN C^{13}** (100 MHz, CDCl_3): δ 10,6 (C7); 19,0 (C8); 45,8 (C3); 48,5 (C5); 76,9 (C6); 167,0 (C2); 202,4 (C4).

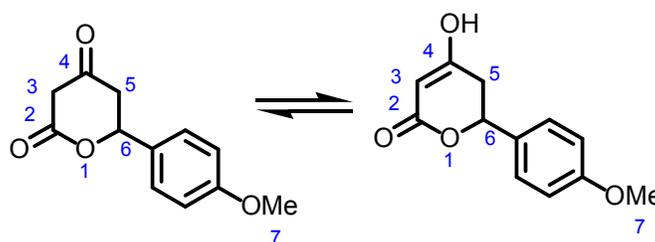


4.2.6 Síntese da 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona

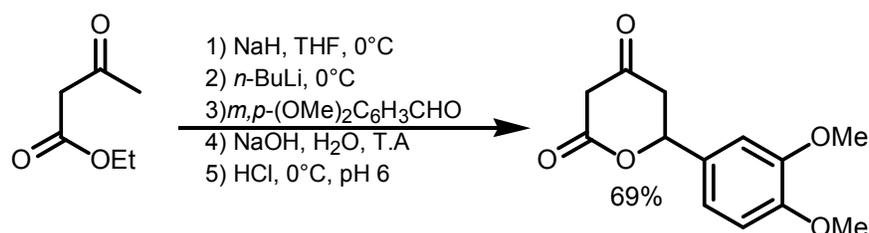


A uma suspensão de NaH 80% (0,353 g – 11,78 mmol) em THF, a -10°C , sob atmosfera de N_2 , adicionou-se lentamente acetoacetato de etila (1,0 mL – 7,85 mmol). A esta solução foi adicionado, gota a gota, *n*-BuLi 1,2 mol/L (10 mL – 11,78 mmol). A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por mais quinze minutos. Adicionou-se então *p*-anisaldeído (1,05 mL – 8,64 mmol). A mistura reacional permaneceu sob agitação por 30 minutos, durante este período a temperatura variou de 0°C até a temperatura ambiente, quando se adicionou,

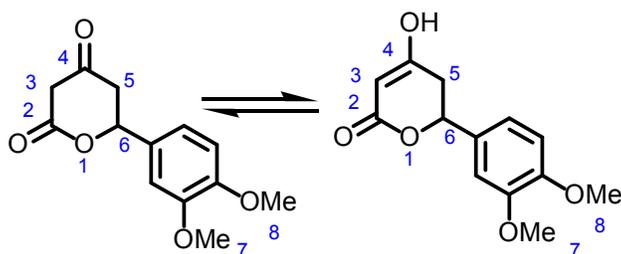
lentamente, água (1 mL). A mistura reacional foi diluída com NaOH (500mL, 0,1 mol/L). O sistema foi deixado sob vigorosa agitação à temperatura ambiente por duas horas. A mistura reacional foi dissolvida em Et₂O (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram descartadas. A fase aquosa foi diluída em éter etílico (30 mL), resfriada a -10°C. Em seguida, adicionou-se HCl concentrado lentamente até pH 6. O produto obtido foi dissolvido em AcOEt (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com AcOEt (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100 mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50 mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto obtido foi recristalizado em CHCl₃ para obter-se como um sólido amorfo a 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona (0,731g – 3,32 mmol; 42%). **Ponto de fusão:** 181 – 183°C; **IV** (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ 3059; 2949; 2839; 2545; 1881; 1712,5; 1608; 1427; 1390; 1345; 1172; 1012; 945; 911; 842; 771 e 662 cm⁻¹; **RMN H¹** (300 MHz, DMSO *d*₆) δ 2,56 (dd, 1H, J = 3,0 e 17,0 Hz, H5); 2,89 (dd, 1H, J = 12,0 e 17,0 Hz, H5); 3,80 (s, 3H, H7); 5,12 (s, 1H, H3); 5,42 (dd, 1H, J = 3,0 e 12,0, H6); 6,98 – 7,07 (m, 2H, H Ar); 7,42 – 7,45 (m, 2H, H Ar); **RMN C¹³** (75 MHz, DMSO *d*₆) δ 55,2 (C7); 76,1 (C6); 90,9 (3); 113,8 (C Ar); 127,9 (C Ar); 131,0 (C Ar); 131,4 (C Ar); 159,3 (C Ar); 166,9 (C2); 172,8 (C4).



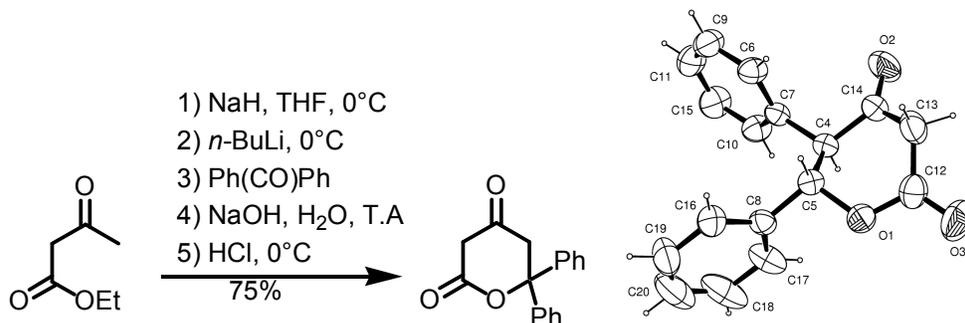
4.2.7 Síntese da 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona



A uma suspensão, sob agitação, de NaH 80% (0,353 g – 11,78 mmol) em THF, a -10°C , adicionou-se lentamente acetoacetato de etila (1,0 mL – 7,85 mmol). A este sistema foi adicionado, gota a gota, *n*-BuLi 1,2 mol/L (10 mL – 11,78 mmol). A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por mais quinze minutos. Adicionou-se então 3,4-dimetóxi-benzaldeído (1,434g – 8,64 mmol). A solução permaneceu sob agitação por 30 minutos, durante este período a temperatura variou de 0°C à temperatura ambiente. A mistura reacional foi diluída em NaOH (500mL, 0,1 mol/L). O sistema foi deixado sob vigorosa agitação a temperatura ambiente por duas horas. A mistura reacional foi dissolvida em Et₂O (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram descartadas. A fase aquosa foi diluída em éter etílico (30 mL), resfriada a -10°C . Em seguida, adicionou-se HCl concentrado lentamente até pH 6. O produto obtido foi dissolvido em AcOEt (50 mL) e água destilada (100 mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com AcOEt (2 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100 mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50 mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto bruto obtido foi recristalizado em CHCl₃ para obter-se como um sólido amorfo a 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona (1,355g – 5,41 mmol; 69%). **Ponto de fusão:** 150 – 153°C; **IV** (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ 3080, 3006, 2944, 2842, 1852, 1727, 1594, 1518, 1443, 1383, 1340, 1270, 1154, 1054, 1030, 1004, 925, 893, 846, 773, 754, 660 e 639 cm⁻¹; **RMN H¹** (500 MHz, DMSO *d*₆) δ 2,88 – 2,93 (m, 2H, H5), 3,76 (s, 3H, H7); 3,78 (s, 3H, H8), 5,35 – 5,37 (m, 2H, H3 e H6), 6,96 (d, 1H, J = 8,3 Hz, H Ar), 6,98 (dd, 1H, J = 1,5 Hz e 8,3 Hz, H Ar), 7,07 (d, 1H, J = 1,5 Hz, H Ar); **RMN C¹³** (125 MHz, DMSO *d*₆) δ 55,5 (C7 e C8); 76,3 (C6); 90,8 (C3); 118,9 (C Ar); 131,4 (C Ar); 148,8 (C Ar); 166,9 (C2); 172,9 (C4).

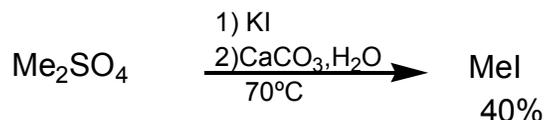


4.2.8 Síntese da 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona



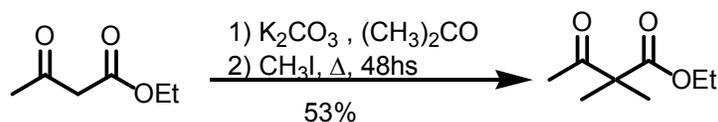
A uma suspensão de hidreto de sódio, NaH (0,56g – 11,78 mmols), em THF, sob atmosfera de N₂ a 0°C adicionou-se lentamente acetoacetato de etila (1mL – 7,85 mmols). Resfriou-se a mistura reacional a -10°C sendo adicionado, gota a gota, *n*-BuLi (9,5mL – 11,78 mmols) sem deixar que ultrapassasse 0°C. A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por quinze minutos. Adicionou-se então benzofenona (1,57g- 8,635mmols) dissolvida em THF. A solução permaneceu sob agitação por 15 minutos e então se adicionou lentamente água destilada. A mistura reacional foi diluída com NaOH (500ml – 0,05mols). O sistema foi deixado sob vigorosa agitação à temperatura ambiente por duas horas. A mistura reacional foi então dissolvida em Et₂O (50mL) e água destilada (100mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50mL). As fases orgânicas foram descartadas. À fase aquosa adicionou-se éter etílico (30mL) e resfriou-se a -10°C, quando, adicionou-se HCl concentrado lentamente até pH 6. O produto obtido foi dissolvido em AcOEt (50mL) e água destilada (100mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com AcOEt (2 x 50mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. Os produtos brutos obtido foram recristalizados em Et₂O, filtrados e secos sob vácuo, para obter-se, em 75% de rendimento, como cristais incolores o composto (2,35g - 8,83 mmol). **Ponto de fusão:** 133° - 135°C; **IV** (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ 3085, 2797, 2717, 1952, 1874, 1805, 1678, 1616, 1467, 1428, 1341, 1258, 1237, 1206, 1168, 1109, 1063, 1009, 981, 891, 845, 753, 736, 698, 660, 642, 617, 579, 547, 513 cm⁻¹;

4.2.9 Síntese do iodeto de metila



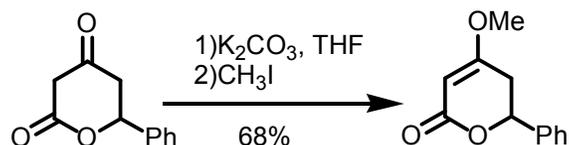
A uma mistura de iodeto de potássio (80g – 480mmols) e carbonato de cálcio (6g – 60mmols) em água destilada, sob agitação, aquecida a 60-65°C, adicionou-se lentamente, dimetilsulfato (47,84mL – 505mmols), a uma velocidade de adição, tal que o iodeto de metila formado foi destilado continuamente. Após a adição de todo dimetilsulfato a temperatura foi mantida em torno de 65 – 70°C por cerca de cinco minutos para completar a destilação do iodeto de metila. O iodeto de metila destilado da mistura reacional foi seco pentóxido de fósforo e destilado para fornecer o produto puro em 40% de rendimento (27,25g – 192 mmol).

4.2.10 Síntese do 2,2-dimetil-acetoacetato de etila



Uma solução de acetoacetato de etila (10mL – 77mmol), carbonato de potássio (53,13g – 385mmol) e iodeto de metila (21,4mL – 346,5mmol) em acetona foi mantida sob refluxo por 48 horas, com banho de óleo a 40° C. A mistura reacional foi filtrada, o solvente evaporado. O produto bruto foi destilado para se obter como um óleo incolor o 2,2-dimetil-acetoacetato de etila em 53% de rendimento (6,41g - 40,57mmol). **RMN H¹** (60MHz, CCl₄) δ 1,2 – 1,6 (m, 9H); 2,2 (s, 3H); 4,25 (q, 2H, J = 6Hz).

4.2.11 Síntese da 6-fenil-4-metóxi-5,6-diidro-piran-2-ona



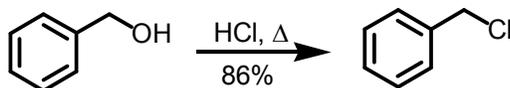
Uma solução de 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona (234 mg – 1,232 mmol), carbonato de potássio (255,02 mg – 1,848 mmol) e iodeto de metila (0,83mL – 1,355mmol) em THF foi mantida sob refluxo por 2 horas e a temperatura ambiente por 12 horas. A mistura reacional foi filtrada, o solvente evaporado. O produto bruto, um sólido amorfo incolor, foi recristalizado em clorofórmio para se obter como cristais incolores a 6-fenil-4-metóxi-5,6-diidro-piran-2-ona em 68% de rendimento (172 mg - 0,84mmol). **IV** (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ 3078, 2982, 2908, 2360, 1960, 1901, 1713, 1620, 1456, 1384, 1285, 1234, 1117, 1067, 1023, 993, 921, 853, 757, 699, 673, 561, 525, 492 cm^{-1} ; **RMH H^1** (60 MHz, CDCl_3) δ 2,70 – 2,90 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 5,30 (s, 1H), 5,30 – 5,60 (m, 1H), 7,35 – 7,48 (m, 5H).

4.2.12 Síntese do difenilmetano a partir do brometo de benzila



A 150 mL de benzeno, seco sob sódio metálico, adicionou-se aproximadamente 1,0 g de papel alumínio, uma ponta de espátula de iodo e PhCH₂Br (15 mL – 126 mmol) gota a gota. A mistura reacional foi deixada sob agitação e refluxo de benzeno por duas horas. Após este período o produto bruto foi lavado com uma solução saturada de Na₂S₂O₃, concentrado e destilado sob vácuo. O produto desejado foi obtido como um óleo incolor em 50% de rendimento (10,16 g – 60,48 mmol).

4.2.13. Síntese do cloreto de benzila



A 150 mL de HCl concentrado a 0°C, adicionou-se lentamente álcool benzílico (100 mL – 0,966 mol). A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por 24 horas. A mistura reacional foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio, a fase orgânica foi separada e destilada, para fornecer, como um

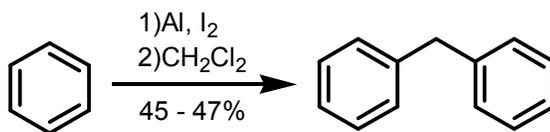
óleo incolor, o cloreto de benzila em 86% de rendimento (105,64 g – 0,83 mol).
RMN H¹ (60 MHz, CCl₄) δ 4,64 (s, 2H), 7,2 – 7,5 (m, 5H).

4.2.14 Síntese do difenilmetano a partir do cloreto de benzila



Preparou-se uma solução contendo 100 mL de benzeno (seco sob sódio), 0,5 de papel alumínio e 0,1g de iodo. Este sistema foi aquecido até o refluxo por quinze minutos, e em seguida resfriado num banho de gelo e sal. Após o resfriamento da mistura reacional, adicionou-se ao sistema, lentamente, cloreto de benzila (20 mL – 173 mmol). Ao fim da liberação de HCl, a reação foi lavada com uma solução 5% de NaOH e com solução saturada de Na₂S₂O₃ e em seguida extraída três vezes com hexano e seca sob sulfato de sódio anidro. O material bruto foi destilado sob pressão reduzida, para fornecer o produto desejado em 87% de rendimento (20,02g – 119,19 mmol). **IV** (filme): ν_{\max} : 4047, 3026, 2911, 2837, 1947, 1879, 1801, 1654, 1599, 1493, 1450, 1331, 1178, 1075, 1029, 732, 698, 552 cm⁻¹; **RMN H¹** (60 MHz, CCl₄) δ 3,8 (s, 2H), 7,0 – 7,3 (m, 10H).

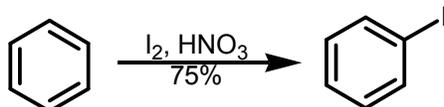
4.2.15. Síntese do difenilmetano a partir do diclorometano



A 44 mL de benzeno, seco sob sódio metálico, adicionou-se aproximadamente 1,2g de alumínio, uma ponta de espátula de iodo e após breve agitação, adicionamos diclorometano (10mL – 156,0 mmol). A mistura foi deixada sob agitação e refluxo de benzeno (sendo utilizada água gelada no condensador devido ao baixo ponto de ebulição do H₂CCl₂, 38°C) por aproximadamente uma hora. Após este período o produto bruto foi lavado com uma solução saturada de Na₂S₂O₃. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (3 x

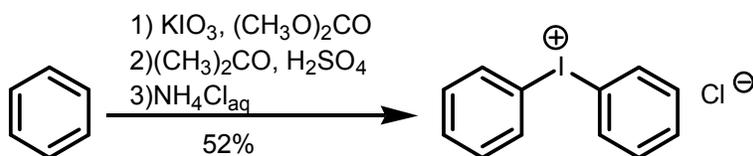
50mL). As fase orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 50mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto desejado foi obtido como um óleo incolor, após destilação a vácuo em 47% de rendimento (12,31 g - 73 mmol).

4.2.16 Síntese do iodobenzeno



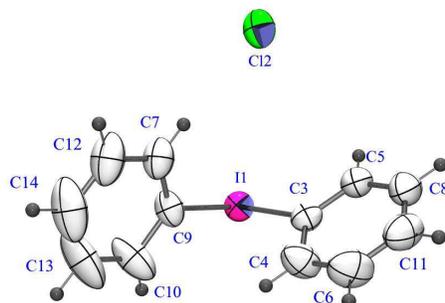
Preparou-se uma solução de iodo (19,05g – 75mmol) em benzeno (22,75mL – 255mmol) que foi aquecida até 50°C, então se adicionou lentamente HNO₃ (aproximadamente 25mL). A mistura reacional foi deixada por agitação e refluxo de benzeno até que a coloração do iodo desaparecesse. O produto obtido foi dissolvido em Et₂O e água destilada. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50mL). As fase orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 50mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto foi obtido, após destilação a vácuo, como o óleo de coloração rósea em 75% de rendimento (11,52g – 56,47mmol). **RMN H¹** (60 MHz, CCl₄) δ 7,0 – 7,2 (m, 2H); 7,3 -7,5 (m, 1H; 7,6 – 7,8 (m, 2H)

4.2.17. Síntese do cloreto de difeniliodônio

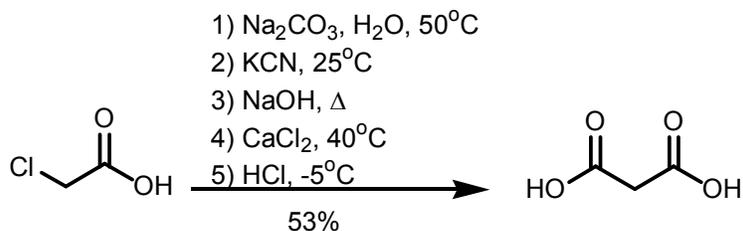


Uma solução de H₂SO₄ (14 mL – 260 mmol) em anidrido acético (20 mL – 210 mmol), preparada a 10°C, foi adicionada a uma suspensão de iodato de potássio (20g – 93mmol) em anidrido acético (20 mL – 210 mmol) e benzeno (18 mL - 200 mmol) sob agitação vigorosa entre 0°C – 10°C. A mistura reacional foi então deixada sob agitação a temperatura ambiente por 48 horas. Após este período o sistema foi resfriado a 5°C e foram adicionados cuidadosamente 40 mL

de água e 15 mL de Et₂O. Após cinco minutos sob agitação a temperatura ambiente, a solução foi filtrada. A água-mãe foi lavada com Et₂O (2 x 50mL) e hexano (1x 50mL). À fase aquosa resultante adicionou-se 10,0g de NH₄Cl. O precipitado formado, foi filtrado e recristalizado em MeOH a quente para fornecer o produto desejado, cloreto de difeniliodônio, em 52% de rendimento. **Ponto de fusão:** 230° - 233° C



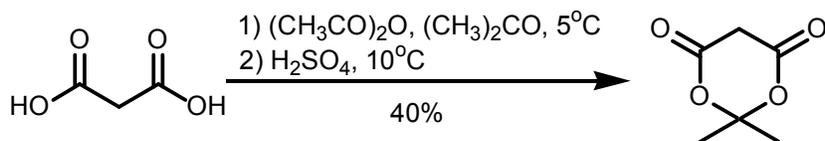
4.2.18. Síntese do ácido malônico



A uma solução aquosa de ácido monocloroacético (25,0 g – 264,5 mmol) a 50°C adicionou-se Na₂CO₃ (15,0 g – 141,5 mmol). A mistura reacional foi resfriada até 5°C, e então se adicionou uma solução aquosa de KCN (15,0g – 230,4mmol em 38mL de água a 50°C). A mistura reacional foi aquecida durante uma hora a 95°C. Após este período adicionou-se NaOH (12,0g – 300mmol) e aqueceu-se o sistema por sete horas. Em seguida, adicionou-se lentamente uma solução aquosa de CaCl₂ (30g – 270 mmol em 90mL de água a 40°C). O precipitado formado foi filtrado a vácuo e dissolvido em Et₂O. Esta solução foi resfriada e logo após foram adicionados, lentamente, 45 mL de HCl concentrado. Após a acidificação O produto obtido foi dissolvido em Et₂O e água destilada. A fase

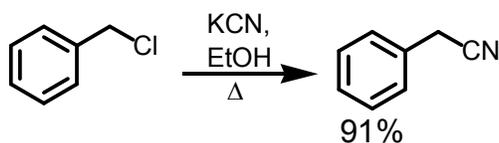
orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x) e solução saturada de NaCl (2 x), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto foi obtido como cristais incolores em 53% de rendimento (14,56g – 140 mmol). **Ponto de fusão:** 131° - 132° C

4.2.19 Síntese do ácido de Meldrum



Preparou-se uma solução de ácido malônico (15,04g – 140mmol) em anidrido acético (17 mL – 170 mmol) a 5°C e, sob agitação, adicionou-se, gota a gota, H₂SO₄(0,4mL). Após a adição de H₂SO₄ adicionou-se lentamente acetona (11,5 mL – 154 mmol). A mistura reacional foi resfriada a -18°C. O precipitado formado foi filtrado, lavado com água gelada e seco sob vácuo. O produto foi recristalizado com acetona para fornecer o produto desejado como cristais incolores em 40% de rendimento (8,064g – 56 mmol). **Ponto de fusão:** 97 ° C; **RMN H¹** (300 MHz, CDCl₃) δ 1,62(s, 6H); 3,58 (s, 2H); **RMN C¹³** (300 MHz, CDCl₃) δ 27,48; 36,32; 106,47; 163,62

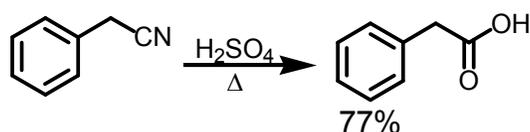
4.2.20 Síntese do cianeto de benzila



Foram preparadas duas soluções, uma solução de KCN (49,65g – 0,762 mol) em 13,3 mL de água e outra de PhCH₂Cl (68,62 mL – 0,61 mol) em 100 mL de EtOH. A solução de PhCH₂Cl foi lentamente adicionada à solução de KCN à temperatura ambiente e sob agitação. A mistura reacional foi então aquecida até o refluxo durante 4 horas e sob agitação, resfriada e filtrada para remover o cloreto de sódio formado. O sal filtrado foi lavado com EtOH para remover o cianeto de benzila que pode ter ficado preso junto com o cloreto de sódio. O EtOH foi

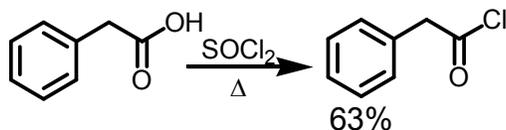
destilado a pressão atmosférica, o resíduo desta destilação foi submetido a destilação fracionada sob pressão reduzida, na primeira fração foi destilada uma mistura de EtOH e água, o cianeto de benzila foi recolhido na segunda fração destilada, como um óleo incolor em 91% de rendimento (64,40 g - 0,55 mol). **IV** (filme) $\nu_{\text{máx}}$ 3530, 3033, 2251, 1960, 1602, 1496, 1420, 1350, 1150, 1070, 736, 730, 630, 478 cm^{-1} ; **RMN H^1** (60 MHz, CCl_4) δ 3,70 (s, 2H), 7,2 – 7,4 (m, 5H)

4.2.21 Síntese do ácido fenilacético



Preparou-se uma solução contendo 12 mL de água, 9 mL de ácido sulfúrico e cianeto de benzila (80mmol – 9,36g), a qual foi mantida sob agitação e refluxo por três horas. Após este período, a mistura reacional foi lentamente resfriada, então se adicionou 20 mL de água a 16° C e manteve-se a agitação até a formação de um precipitado. O sólido formado foi filtrado, destilado sob vácuo para fornecer o produto desejado como um sólido amorfo incolor em 77% de rendimento (8,33g – 61mmol). **Ponto de fusão:** 72° - 74° C; **IV** (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ 3080, 2830, 1580, 1496, 1010 cm^{-1} ; **RMN H^1** (60 MHz, CCl_4) δ 3,50 (s, 2H), 7,0 – 7,15 (m, 5H)

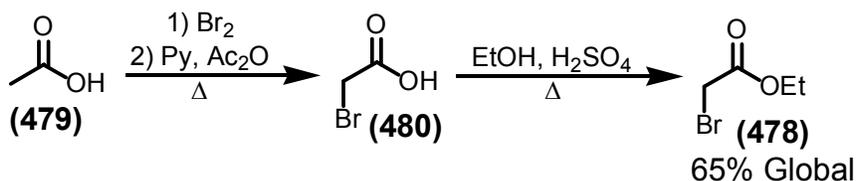
4.2.22 Síntese do cloreto de fenilacetila



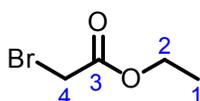
Um sistema contendo ácido fenilacético (61mmol – 8,33g) e cloreto de tionila (91,5mmol – 17,75mL) foi aquecido até o refluxo, sob agitação por três horas. Passado este período, a mistura reacional foi submetida à destilação, sob pressão atmosférica, para a retirada do excesso de cloreto de tionila. O resíduo desta etapa foi destilado sob vácuo, para fornecer o produto desejado como um óleo de coloração rósea em 65% de rendimento (5,92g – 38,43mmol). **IV** (KBr)

$\nu_{\text{máx}}$ 3070, 2930, 1800, 1620, 1010 cm^{-1} ; **RMN H^1** (60 MHz, CCl_4) δ 4,20 (s, 2H), 7,0 – 7,15 (m, 5H)

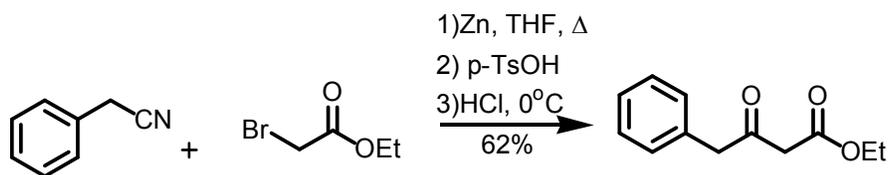
4.2.23 Síntese do bromoacetato de etila



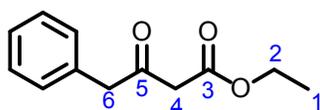
Preparou-se uma solução contendo ácido acético glacial (100 mL – 1,75 mol), anidrido acético (21,6 g – 0,21 mol) e piridina (0,1 mL – 0,001 mol). Esta solução foi gradualmente aquecida até atingir o refluxo, quando adicionou-se bromo (0,1 mL – 0,002 mol). Após vinte minutos, sob agitação e refluxo, a temperatura do sistema foi diminuída e lentamente adicionou-se bromo (35 mL – 0,68 mol), numa velocidade tal que o refluxo fosse mantido. A mistura reacional foi aquecida até que tivesse cessado a liberação de HBr. Em seguida, a mistura reacional foi resfriada a temperatura ambiente e foram adicionados 7,5 mL de água. O produto bruto desta reação foi destilado a fim de remover a água e o excesso de ácido acético que não reagiu. O resíduo da destilação, ácido bromoacético, foi diluído em benzeno, a esta solução foram adicionados 61 mL de EtOH e 0,15 mL de H_2SO_4 . O sistema foi aquecido e a água formada durante o processo foi continuamente destilada. Após a remoção de toda a água do sistema foram adicionados outros 7,4 mL de EtOH e o aquecimento prosseguiu até não mais se separar água. O produto bruto foi lavado com água e solução de NaHCO_3 1%, seco sob H_2SO_4 e destilado sob pressão reduzida para fornecer o bromoéster como um óleo incolor em 65% de rendimento (73,81 g – 0,44 mol). **IV** (filme) $\nu_{\text{máx}}$ 3515, 2983, 2647, 1737, 1415, 1284, 1175, 1026, 894, 666, 552 cm^{-1} ; **RMN H^1** (400 MHz, Acetona d_6) δ 1,26 (t, 3H, J = 6Hz, H1); 3,90 (s, 2H, H4); 4,23 (q, 2H, J = 6Hz, H2)



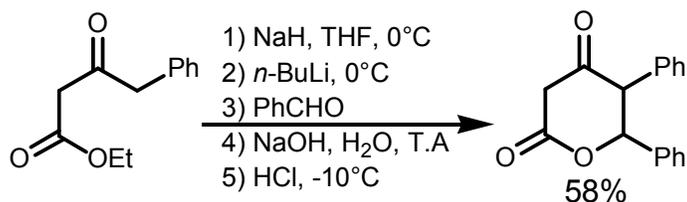
4.2.24 Síntese do 4-fenil-3-oxo-pentanoato de etila



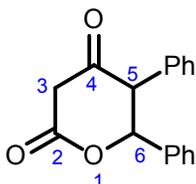
A uma suspensão de zinco em pó (63 μm ; 11,5g – 175,9 mmol) e cianeto de benzila (13,5 mL – 117,26 mmol) em THF adicionou-se ácido p-toluenossulfônico (1,12g – 5,86 mmol). A mistura foi aquecida até o refluxo por aproximadamente dez minutos e então foi adicionado, gota a gota, bromoacetato de etila (17 mL – 152,44 mmol), mantendo-se o refluxo. Após três horas sob aquecimento, a mistura reacional foi resfriada em banho de gelo, adicionou-se HCl (57 mL – 6 mol/L) e em seguida 10 mL de água. A mistura reacional foi deixada sob agitação a temperatura ambiente por uma hora. O produto bruto desta reação foi lavado com água destilada várias vezes, até que o pH da solução se igualasse ao pH da água. O produto foi seco sob sulfato de sódio, filtrado e concentrado em evaporador rotatório. O produto desejado foi obtido após destilação sob pressão reduzida como um óleo incolor em 62% de rendimento (14,78 g – 72,70 mmol). **IV** (filme) $\nu_{\text{máx}}$ 3030, 1956, 1707, 1602, 1496, 1453, 1356, 1228, 1157, 1077, 1030, 732, 699, 633, 542, 480; **RMN H^1** (400 MHz, Acetona d_6) δ 1,20 (t, 3H, J = 6Hz, H1); 3,60 (s, 2H, H4); 3,90 (s, 2H, H6); 4,15 (q, 2H, J = 6Hz); 7,20 – 7,40 (m, 5H, H Ar)



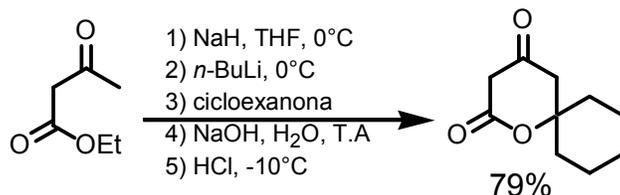
4.2.25 Síntese da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona



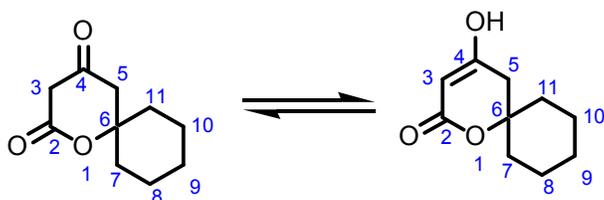
A uma suspensão de hidreto de sódio, NaH (0,72g – 15,00 mmol), em THF, sob atmosfera de N₂ a 0°C adicionou-se lentamente o β-cetoéster (2mL – 10,00 mmol). Resfriou-se a mistura reacional a -10°C sendo adicionado, gota a gota, n-BuLi (15 mL – 15,00 mmol) sem deixar que ultrapassasse 0°C. A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por quinze minutos. Adicionou-se então benzaldeído (1,10 mL – 11,00 mmol). A solução permaneceu sob agitação por 15 minutos e então se adicionou lentamente água destilada. A mistura reacional foi diluída com NaOH (500mL – 0,05mol). O sistema foi deixado sob vigorosa agitação à temperatura ambiente por duas horas . A mistura reacional foi então dissolvida em Et₂O (50mL) e água destilada (100mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50mL). As fases orgânicas foram descartadas . À fase aquosa adicionou-se éter etílico (30mL) e resfriou-se a -10°C , quando, adicionou-se HCl concentrado lentamente até pH 6. O produto obtido foi dissolvido em AcOEt (50mL) e água destilada (100mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com AcOEt (2 x 50mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto obtido foi recristalizado em acetona deuterada, filtrado e seco sob vácuo, para obter-se, em 58% de rendimento, como cristais incolores o composto desejado (2,35g - 8,83 mmol). **Ponto de fusão:**153° - 156° C; **IV** (KBr) ν_{\max} 3417, 3065, 3029, 2893, 1959, 1892, 1796, 1717, 1497, 1456, 1384, 1339, 1314, 1264, 1245, 1223, 1150, 1013, 958, 922, 893, 847, 764, 750, 697, 628, 560, 525, 486 cm⁻¹; **RMN H¹** (300 MHz, CDCl₃) δ 3,68 (d, 1H, J = 18 Hz, H3), 3,88 (d, 1H, J = 10 Hz, H5), 3,93 (d, 1H, J = 18 Hz, H3), 5,78 (d, 1H, J = 10 Hz, H6), 6,9 – 7,2 (m, 10H, H Ar); **RMN C¹³** (75 MHz, CDCl₃) δ 47,54 (C3); 60,82 (C5); 82,23 (C6); 128,43 (C Ar); 128,85 (C Ar); 129,21 (C Ar); 129,31 (C Ar); 129,37 (C Ar); 166,80 (C2); 200,79 (C4)



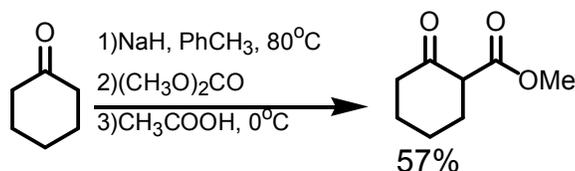
4.2.26 Síntese da 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona



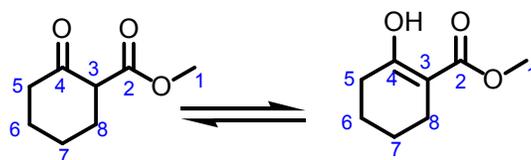
A uma suspensão de hidreto de sódio, NaH (1,13g – 23,55 mmol), em THF, sob atmosfera de N₂ a 0°C adicionou-se lentamente acetoacetato de etila (2 mL – 15,70 mmol). Resfriou-se a mistura reacional a -10°C sendo adicionado, gota a gota, *n*-BuLi (20 mL – 20,00 mmol) sem deixar que ultrapassasse 0°C. A solução alaranjada formada ficou sob agitação a 0°C por quinze minutos. Adicionou-se então ciclohexanona (1,80 mL – 17,27 mmol). A solução permaneceu sob agitação por 15 minutos e então se adicionou lentamente água destilada. A mistura reacional foi diluída com NaOH (500mL – 0,05mol). O sistema foi deixado sob vigorosa agitação à temperatura ambiente por duas horas. A mistura reacional foi então dissolvida em Et₂O (50mL) e água destilada (100mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com Et₂O (2 x 50mL). As fases orgânicas foram descartadas. À fase aquosa adicionou-se éter etílico (30mL) e resfriou-se a -10°C, quando, adicionou-se HCl concentrado lentamente até pH 6. O produto obtido foi dissolvido em AcOEt (50mL) e água destilada (100mL). A fase orgânica foi separada e a fase aquosa extraída com AcOEt (2 x 50mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água destilada (2 x 100mL) e solução saturada de NaCl (2 x 50mL), seca sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O produto obtido foi recristalizado em acetona deuterada, filtrado e seco sob vácuo, para obter-se, em 79% de rendimento, como um sólido amorfo incolor, o composto desejado (2,26g – 12,40 mmol). **Ponto de fusão:** 114° - 116° C; **RMN H¹** (400 MHz, Acetona d₆) δ 0,8 - 1,30 (m, 10H, H7 –H11); 1,99 (s, 2H, H5); 4,99 (s, 1H, H3).



4.2.27 Síntese do éster metílico do ácido 2-oxo-ciclo-hexanocarboxílico



A uma suspensão de hidreto de sódio (5,28 g - 110 mmol) em tolueno, sob atmosfera de nitrogênio e agitação a temperatura ambiente, adicionou-se dimetil carbonato (13,9 mL - 165 mmol). A mistura foi aquecida até 80°C e então adicionou-se lentamente cicloexanona (5,7 mL - 55 mmol). Após ter cessado a evolução de hidrogênio, o sal de sódio resultante foi resfriado a 0°C quando adicionou-se cuidadosamente ácido acético glacial. Uma mistura de água-gelo e HCl 2mol/L foi adicionada ao sistema, a fase aquosa foi separada e lavada com tolueno (3x). A fase orgânica foi lavada com bicarbonato de sódio e água, seca sob sulfato de sódio e concentrada sob vácuo. O produto bruto foi destilado sob pressão reduzida para fornecer o produto desejado como um óleo incolor em 57% de rendimento (4,89 g - 31,35 mmol). **RMN H^1** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1,46 – 1,64 (m, 4H, H6 e H7), 2,10 – 2,22 (m, 4H, H5 e H8), 3,65 (s, 3H, H1), 12,06 (s, 1H, hidroxila enólica); **RMN C^{13}** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 23,45; 27,22; 29,17; 41,61; 51,34; 52,11; 57,24; 97,67; 172,25; 206, 07



4.3 ENSAIO PARA VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE MOLUSCICIDA

Para estes ensaios foram utilizados caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, criados no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da Universidade Federal de Alagoas.

Os ensaios moluscicidas foram realizados utilizando a desova do caramujo *Biomphalaria glabrata*. A desova do caramujo foi imersa nas soluções em teste por 24 horas. Decorrido este período, as desovas foram colocadas em água desclorada, permanecendo em observação pelas 72 horas seguintes, com registro dos exemplares mortos. Foi utilizada uma desova por solução-teste. As desovas foram recortadas de folhas de polietileno incolor colocadas previamente nos aquários.

A temperatura da água foi registrada no início e ao final de cada experimento, variando de 24-25°C, tendo pH entre 6 e 7. Paralelamente a cada experimento foi realizado controle negativo com água desclorada e água desclorada a 1% de DMSO (v/v).

As desovas foram examinadas e contadas com o auxílio de microscópio estereoscópico, sendo consideradas mortas quando suas células tornavam-se opacas ou desagregavam-se.

4.4 ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIÚLCERA

4.4.1. Modelos de úlceras induzidas por indometacina

Rattus norvegicus (10/grupo), em jejum por 16 h, receberam, por via oral, veículo ou a diidro-piran-2,4-diona a ser avaliada. Após uma hora, todos os animais receberam o agente ulcerogênico indometacina (Sigma®) (30 mg/kg), pela mesma via. Três horas após a administração do agente lesivo, repetiu-se o tratamento.

Os animais foram sacrificados, por deslocamento cervical, seis horas após a primeira administração. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior, lavados com solução de cloreto de sódio 0,9%. Estes foram inspecionados para atribuição de pontos às lesões.

4.4.2 Modelos de úlceras induzidas por etanol

Camundongos *Mus musculus* (n=10/grupo), mantidos em jejum por 16 h, foram tratados, por via oral, com veículo ou com as diidro-piran-2,4-diona avaliadas. Uma hora após os tratamentos, os animais receberam, pela mesma via, etanol 75% (1 mL/100 g) e, uma hora depois, foram sacrificados. Os estômagos foram retirados e atribuídos pontos às lesões.

4.5. ENSAIO PARA VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.5.1. Construção da curva de calibração para o DPPH

Preparou-se 25 mL de uma solução etanólica 0,1 mM do radical DPPH a partir da qual obteve-se, por diluição, soluções 0,09 a 0,01 mM. As soluções preparadas foram armazenadas em recipiente âmbar, protegidos contra a ação da luz e imediatamente utilizadas.

Para a construção da curva de calibração, mediu-se a absorbância de cada uma das soluções de DPPH a 515 nm, utilizando cubetas de poliestireno, com percurso óptico de 1 cm. Para zerar o aparelho, foi utilizado etanol. As medidas foram realizadas em triplicata.

Após a obtenção dos valores de absorbância, estes foram plotados num gráfico em função da concentração de DPPH. Utilizando o programa Microcal Origin 6.0 foi obtida a equação matemática da curva de calibração através de regressão linear.

4.5.2. Avaliação das amostras

Foram preparadas soluções etanólicas para todos os compostos avaliados

na concentração de 20,0 mM. A partir desta solução, por diluição, foram preparadas outras soluções-teste nas concentrações 16,0; 12,0; 10,0; 8,0; 4,0 e 2,0. Utilizou-se como controle positivo solução etanólica de 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (BHT) nas mesmas concentrações acima mencionadas (GADOW *et al*, 1997), enquanto que como controle negativo foi utilizado etanol absoluto.

Uma alíquota (1,0 mL) da solução teste foi adicionada a 1,0 mL da solução 0,1 mM do radical DPPH e incubada a 25°C. A absorbância da mistura reacional a 515 nm foi determinada imediatamente e a cada 10 min durante 60 min. Foi utilizado etanol para zerar o espectrofotômetro UV-VIS (Perkin Elmer, modelo *Lambda 2*).

4.6. ENSAIO PARA VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA

Foram preparadas as seguintes soluções em água Milipore:

- (a) 50 mM Tris/HCl pH 8;
- (b) 1 mM DTNB (reagente de Ellman);
- (c) 1 mM de iodeto de acetilcolina (ATCI).

A enzima AChE (*Electric eel*) liofilizada, fornecida pela Sigma® (394 U/mg de sólido), foi dissolvida na solução-tampão (a) para obter uma solução estoque 1000 U/mL. Para o ensaio, esta solução estoque foi diluída até a concentração de 3 U/mL. Estas soluções foram mantidas sob refrigeração até o momento de realização dos testes.

Preparou-se soluções-estoque (20mM) das diidro-piran-2,4-dionas e da cafeína em etanol absoluto. Como sistema de referência utilizou-se 300µL da solução do tampão Tris-HCl pH 8, 42 µL de AChE (3U/mL), 20 µL de etanol, 500 µL de DTNB (1mM) e 750 µL de ATCI (1mM).

Em uma cubeta de poliestireno, com percurso óptico de 1 cm, adicionou-se

300 μ L da solução do tampão Tris-HCl pH 8, 42 μ L de AChE (3U/mL) e 20 μ L da amostra avaliada ou do controle (cafeína). Após cinco minutos em repouso à temperatura ambiente, adicionou-se ao sistema 500 μ L de DTNB (1mM) e 750 μ L de ATCl (1mM). A absorbância da mistura reacional a 412 nm foi verificada imediatamente e a cada 3 minutos, durante 15 minutos, utilizando o método pré-programado (METH 6) do espectrofotômetro UV-VIS Perkin-Elmer, modelo Lambda 2. Foi utilizado o sistema de referência para zerar o espectrofotômetro. As análises foram realizadas em triplicata.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a quantificação dos resultados foi utilizado o software Microsoft Excel pertencente ao pacote Microsoft Office XP. As análises estatísticas foram realizadas através do teste t ($p < 0,05$) usando o programa Microcal Origin 6.0.

Laura C. de Souza

Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas

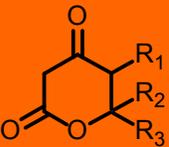
Conclusões e Perspectivas

Conclusões e Perspectivas 5

Após a realização, apresentação e discussão dos resultados e tendo como parâmetros os objetivos inicialmente propostos para o desenvolvimento deste trabalho, concluímos que:

- As tentativas de síntese do núcleo 4-cromanônico a partir da condensação de diidro-piran-2,4-dionas com β -cetoésteres, em meio básico, falharam principalmente devido às dificuldades encontradas no isolamento e identificação da mistura de produtos obtida. Na época em que esta reação foi estudada, o único aparelho disponível no IQB-UFAL para a identificação dos produtos era um RMN 60 MHz. Como as reações eram realizadas em escala de 1mmol, todas as tentativas de análises fracassaram devido à baixa concentração de produtos disponível.
- Algumas diidro-piran-2,4-dionas foram sintetizadas e suas atividades biológicas investigadas. Os resultados obtidos são mostrados na **Tabela 20**.
- As diidro-piran-2,4-dionas exibiram atividade antiúlcera em modelos de úlcera induzida por indometacina ou etanol. A investigação da atividade antiúlcera não prosseguiu, pois como os testes apresentaram resultados apenas moderados e para a realização destes necessita-se de elevadas quantidades de amostra concluímos que a continuação dos mesmos seria inviável.
- As diidro-piran-2,4-dionas exibiram atividade moluscicida frente à desova do caramujo *Biomphalaria glabrata*. Entretanto mostraram-se inativas diante do caramujo adulto. Para que estas substâncias possam ser consideradas bons agentes moluscicidas, elas devem ser capazes de atingir o *Biomphalaria glabrata* em qualquer estágio de vida, logo, devem ser planejados novos modelos que sejam eficientes frente à espécie na fase adulta.

TABELA 20. Sumário dos resultados encontrados na investigação de atividades biológicas de diidro-piran-2,4-dionas.

	Atividades Investigadas			
	Moluscicida	Antiúlcera (redução no índice de úlcera causada por indometacina e por etanol, respectivamente)	Antioxidante (PR a 2mM após 60 min)	Anticolinesterásica (Inibição da atividade enzimática)
R ₁ =R ₂ =H; R ₃ = Ph PDP (44)	Ativa até 30 ppm	54% e 50% (50mg/kg)	50%	50,61%
R ₁ =R ₂ =H; R ₃ = CH=CHCH ₃ PrDP (329)	Ativa até 50 ppm	58% e 40% (50mg/kg)	< 50%	48,17%
R ₁ =R ₂ = CH ₃ ; R ₃ = H DMDP (332)	Ativa até 80 ppm	72% e 33% (100mg/kg)	Não foi testada	Não foi testada
R ₁ =R ₂ =H; R ₃ = 4-(OMe)-C ₆ H ₄ MPDP (333)	Ativa até 50 ppm	Não foi testada	< 40%	59,15%
R ₁ =R ₂ =H; R ₃ = 3,4-(OMe) ₂ -C ₆ H ₃ DMPDP (334)	Inativa	Não foi testada	> 50%	57,32%
R ₁ = H; R ₂ =R ₃ = Ph 6,6-DPDP (347)	Não foi testada	Não foi testada	> 50%	27,44%
R ₁ =R ₂ = Ph; R ₃ = H 5,6-DPDP (378)	Não foi testada	Não foi testada	60%	51,22
R ₁ =R ₂ =H; R ₃ = Ciclo-hexila EDP (389)	Não foi testada	Não foi testada	< 40%	Não foi testada

- As diidro-piran-2,4-dionas constituem-se numa nova e promissora classe de agentes antioxidantes. No ensaio de captura do radical DPPH, as diidro-piran-2,4-dionas apresentaram alta porcentagem de redução sendo, em alguns casos, mais ativas do que o controle positivo empregado, o antioxidante sintético BHT. Durante

a investigação da reação entre as diidro-piran-2,4-dionas com o radical DPPH observou-se que a natureza do substituinte em C-5 ou C-6 influencia na manifestação da atividade. A presença de grupos retiradores de elétrons em C-5, que favorecem a forma enólica, aumentou a atividade antioxidante. Por outro lado, grupos doadores de elétrons ligados a C-6 causaram uma diminuição na atividade. A proteção da hidroxila em C-4 sob a forma de metoxila causou uma redução drástica na manifestação da atividade. Este fato indica que é fundamental a presença da hidroxila enólica em C-4, pois a reação com o radical DPPH ocorre, provavelmente, com a transferência do átomo de hidrogênio do enol. Isto justifica a influência positiva dos grupos retiradores de elétrons sobre a atividade antioxidante.

- Os compostos dicarbonílicos de cadeia aberta ou mista análogos às diidro-piran-2,4-dionas, não reagem com o radical DPPH, provavelmente, devido à formação de ligações de hidrogênio intramoleculares que ocorre quando estes compostos adotam a conformação U e diminuem a reatividade do hidrogênio da hidroxila enólica. Como as diidro-piran-2,4-dionas possuem restrição conformacional, conformação em W, a sua hidroxila da forma enólica é mais reativa. A fim de confirmar todas estas hipóteses a respeito da atividade antioxidante frente ao radical DPPH, estudos adicionais de modelagem molecular devem ser realizados posteriormente. Estes estudos devem buscar a determinação do mecanismo da reação com o DPPH (transferência de elétrons ou de átomos de hidrogênio), bem como a determinação dos valores de pKa e das energias de dissociação das diidro-piran-2,4-dionas a fim de verificar se existe correlação entre a acidez e a atividade antioxidante.

- As diidro-piran-2,4-dionas foram submetidas a ensaios preliminares para a determinação da atividade anticolinesterásica. Os resultados de inibição enzimática obtidos foram de 50% a 60%, bastante animadores, uma vez que nenhuma das estruturas avaliada foi otimizada. Estes estudos devem ser continuados, através do planejamento de novos modelos, empregando a

estratégia de combinar características estruturais de inibidores da acetilcolinesterase já conhecidos no sentido de otimizar a atividade.

Laura C. de Souza

Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas

Anexos

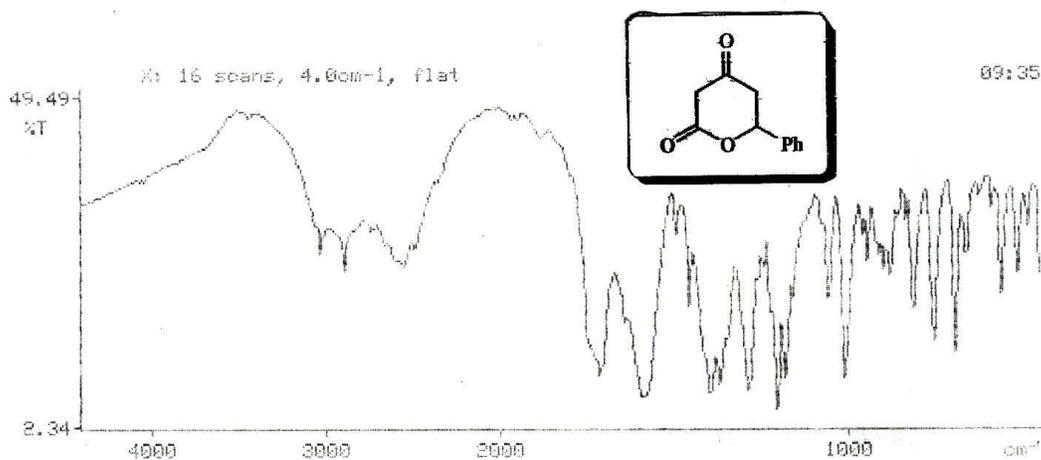
Anexos

6

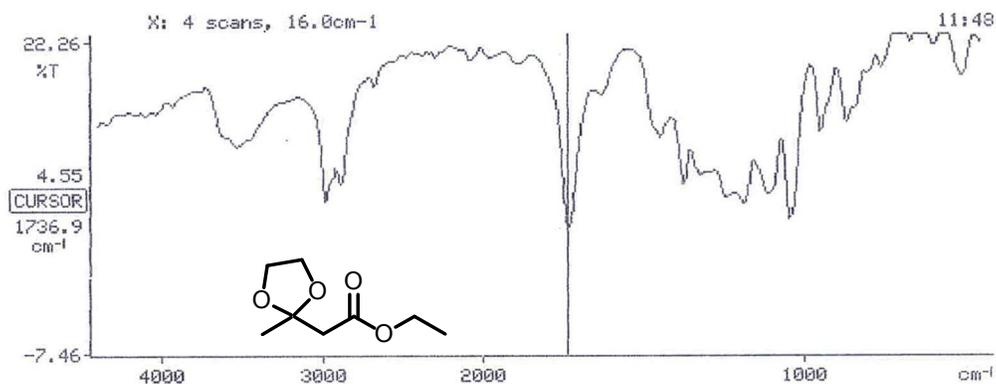
6.1. ESPECTROS SELECIONADOS

6.1.1. Infravermelho

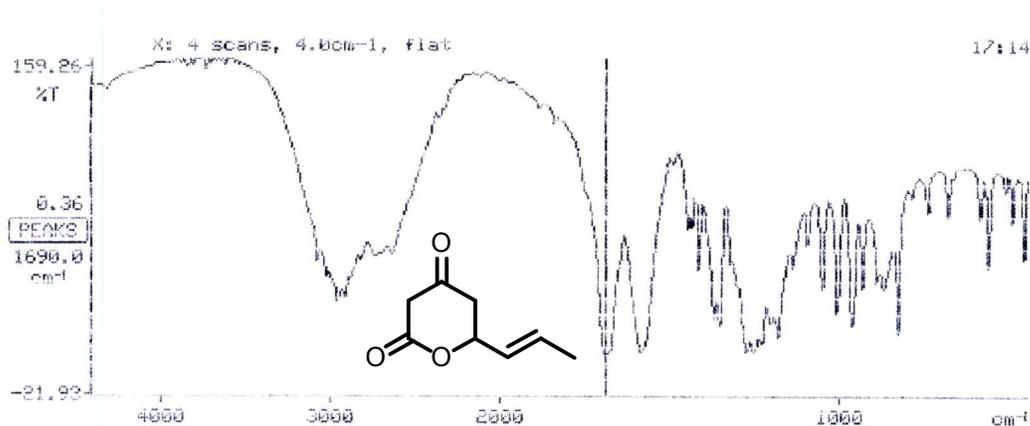
IV (KBr) da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona



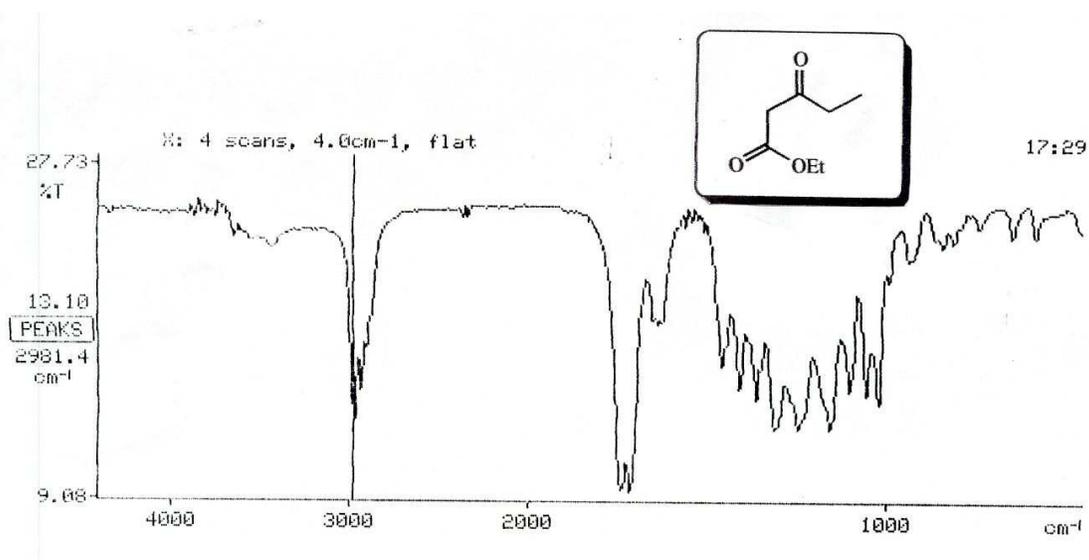
IV (filme) do etileno acetal do acetoacetato de etila



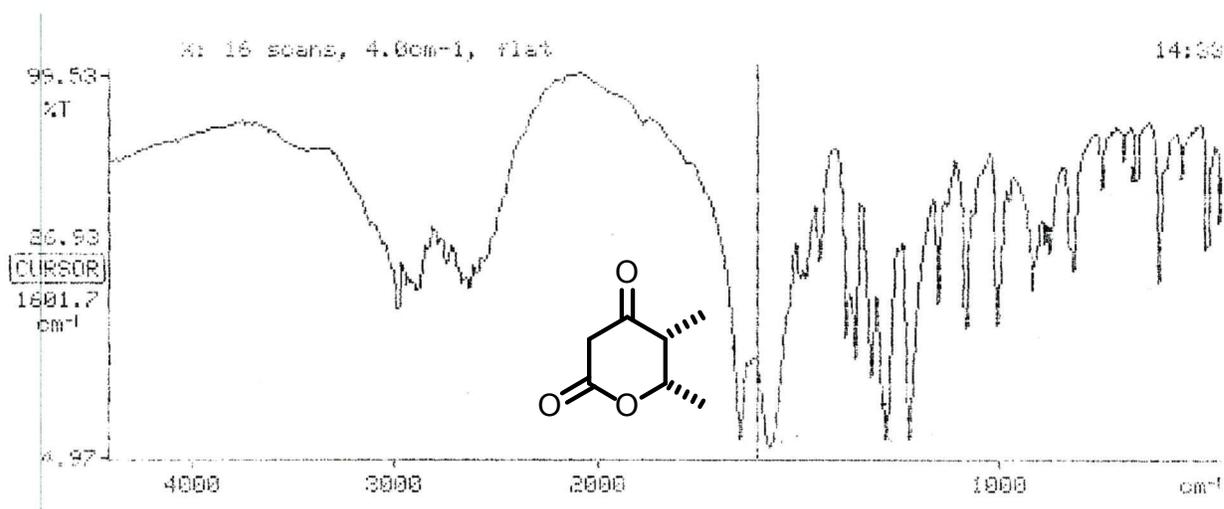
IV (KBr) da 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona



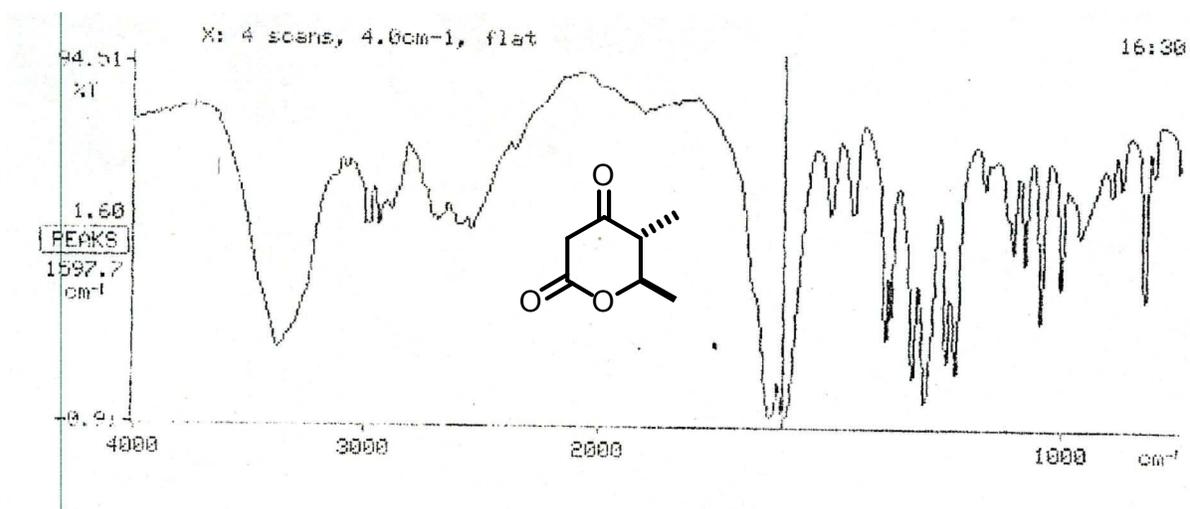
IV (filme) do 3-oxo-pentanoato de etila



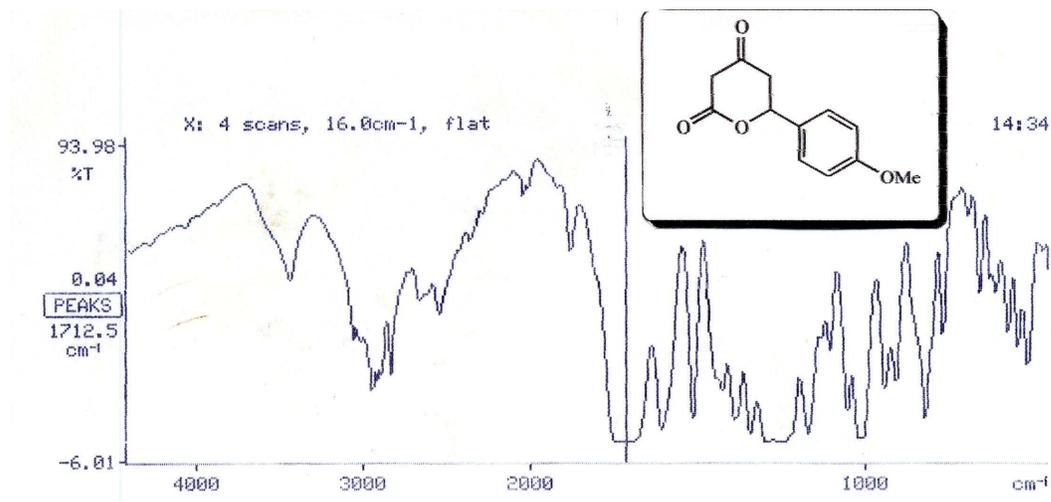
IV (KBr) do isômero *cis* da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona



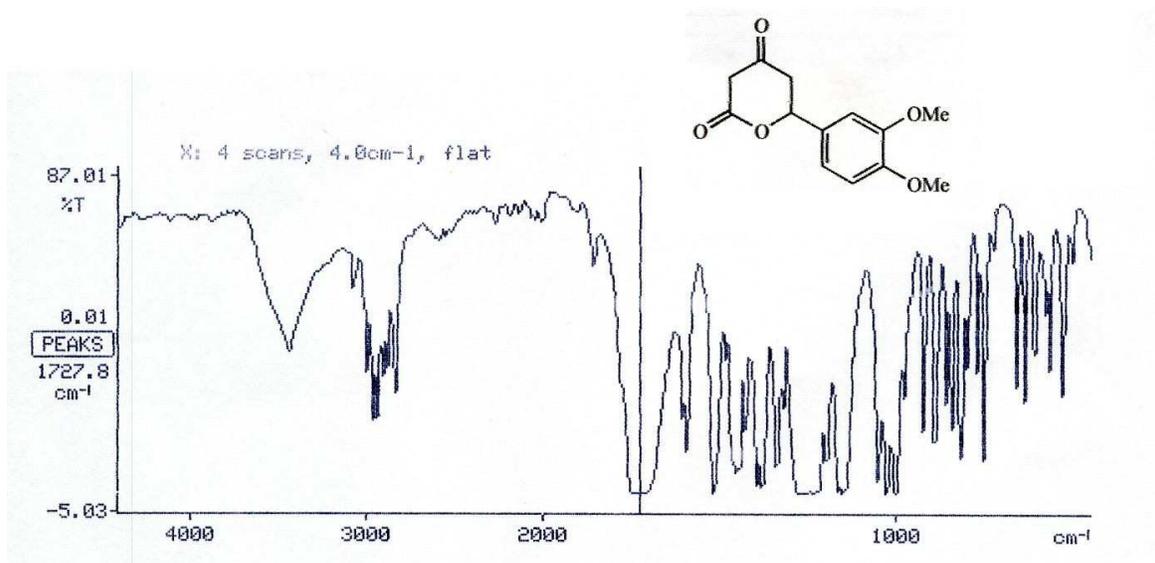
IV (KBr) do isômero *trans* da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona



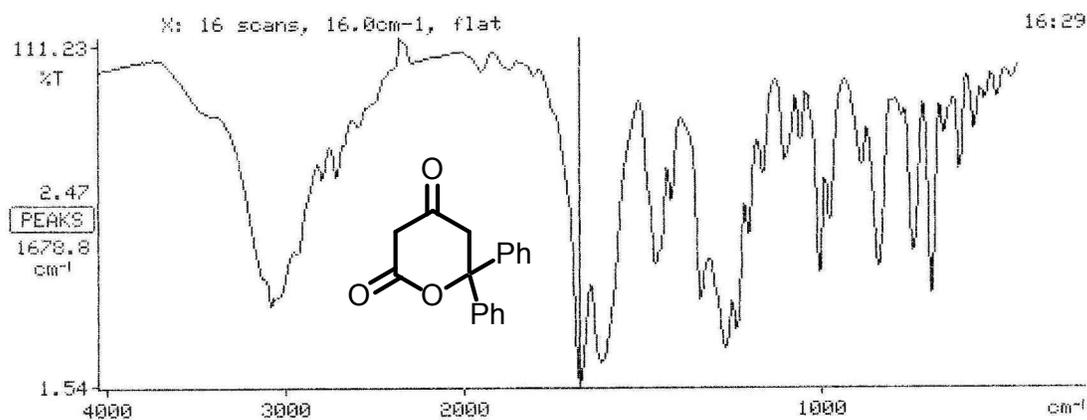
IV (KBr) da 6-(4-metóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona



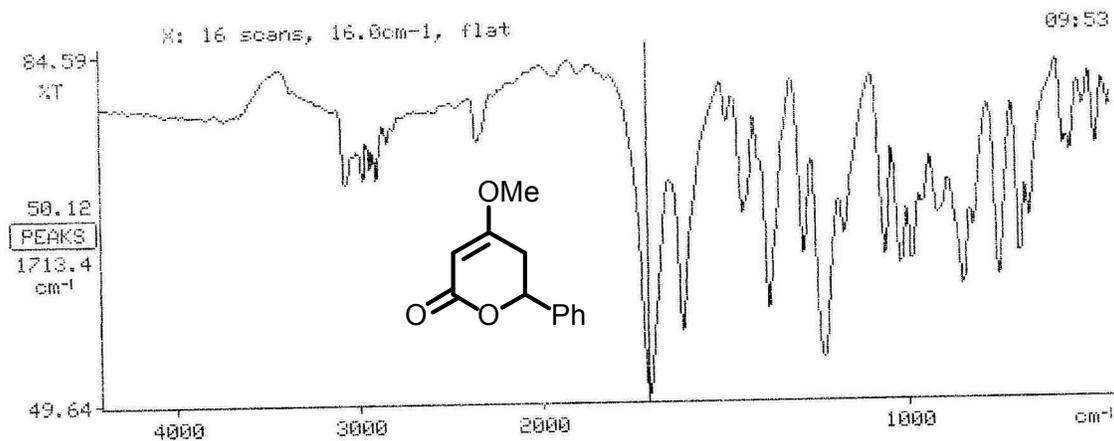
IV (KBr) da 6-(3,4-dimetóxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona



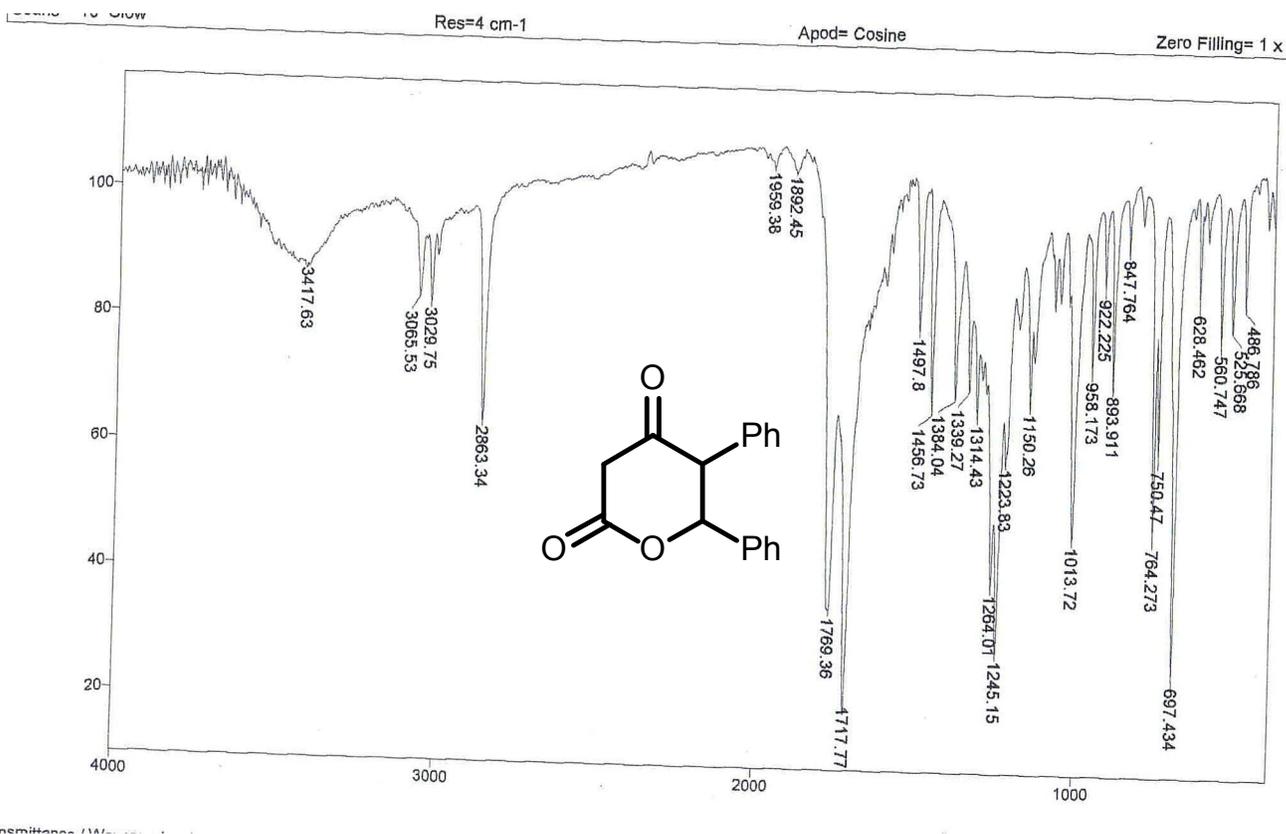
IV (KBr) da 6,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona



IV (KBr) da 6-fenil-4-metóxi-diidro-piran-2,4-diona

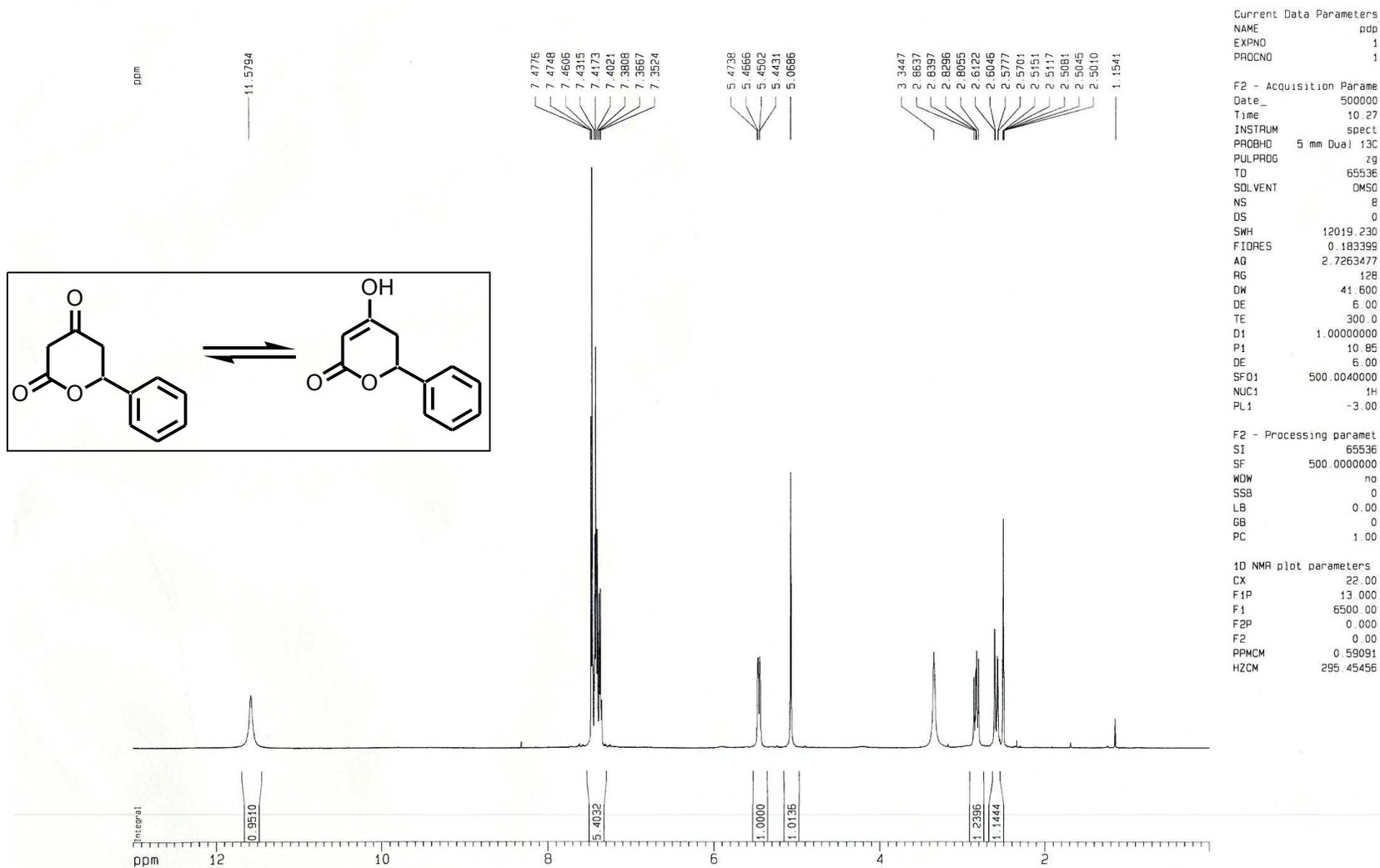


IV (KBr) da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona

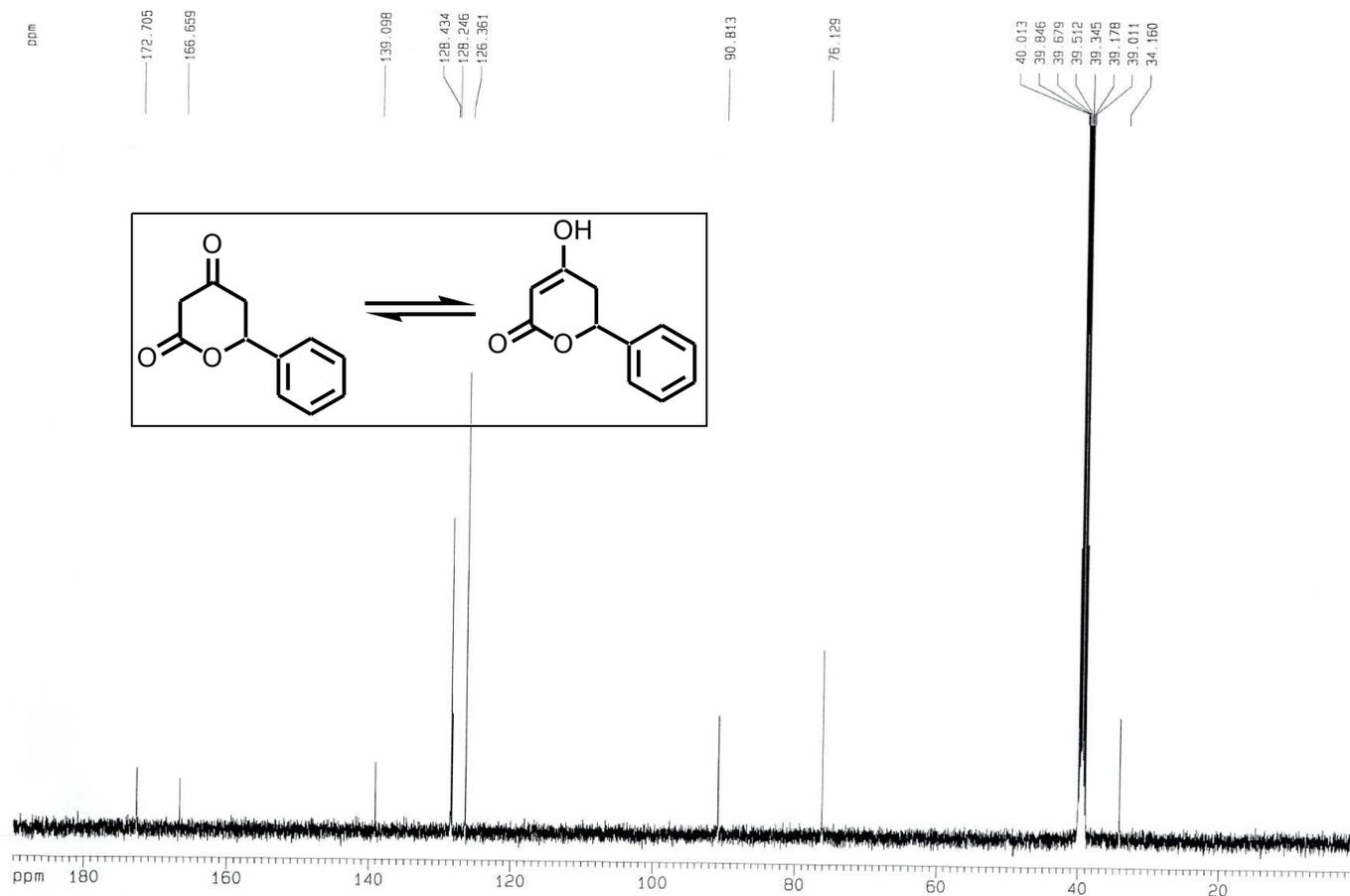


6.2.2. RMN

RMN H¹ em 500 MHz (DMSO d₆) da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona



RMN C¹³ em 125 MHz (DMSO d₆) da 6-fenil-diidro-piran-2,4-diona



Current Data Parameters
 NAME pdp
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parame
 Date_ 500000
 Time 10.34
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT DMSO
 NS 244
 DS 0
 SWH 32679.738
 FIDRES 0.498653
 AQ 1.0027508
 RG 16384
 DW 15.300
 DE 4.50
 TE 300.0
 D12 0.00002000
 PL13 16.00
 D1 1.00000000
 CPDPRG2 waltz16
 PCPD2 85.00
 SFO2 500.0025000
 NUC2 1H
 PL2 0.00
 PL12 16.00
 P1 5.95
 DE 4.50
 SFO1 125.7401370
 NUC1 13C
 PL1 0.00
 D11 0.03000000

F2 - Processing paramet.
 SI 131072
 SF 125.7251627
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00
 GB 0
 PC 1.40

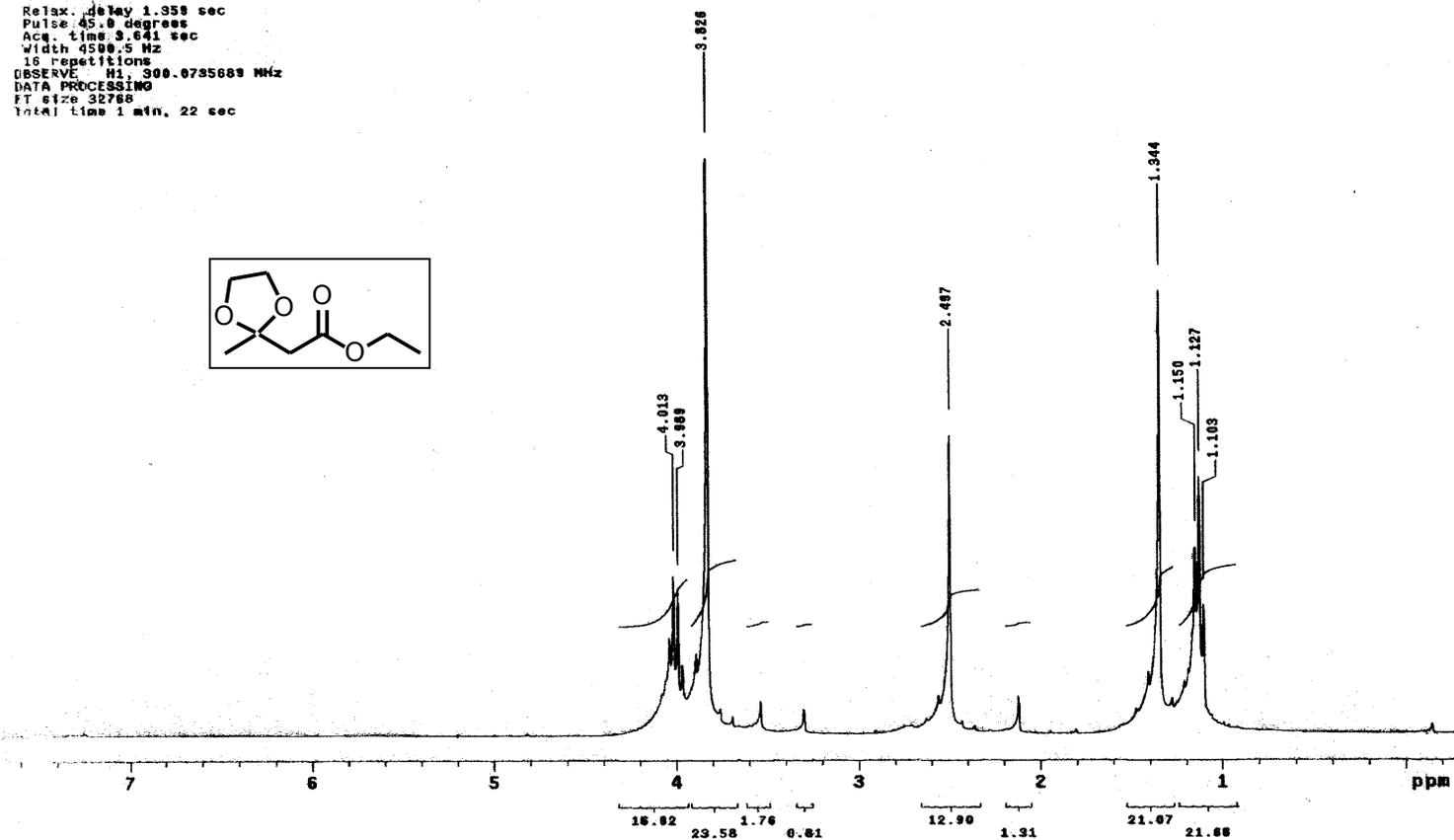
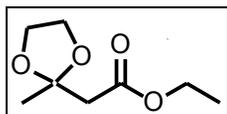
1D NMR plot parameters
 CX 22.00
 F1P 190.000
 F1 23887.78
 F2P 0.000
 F2 0.00
 PPMCM 8.63636
 HZCM 1085.80823

RMN H¹³ em 300 MHz (CDCl₃) do etileno acetal do acetoacetato de etila

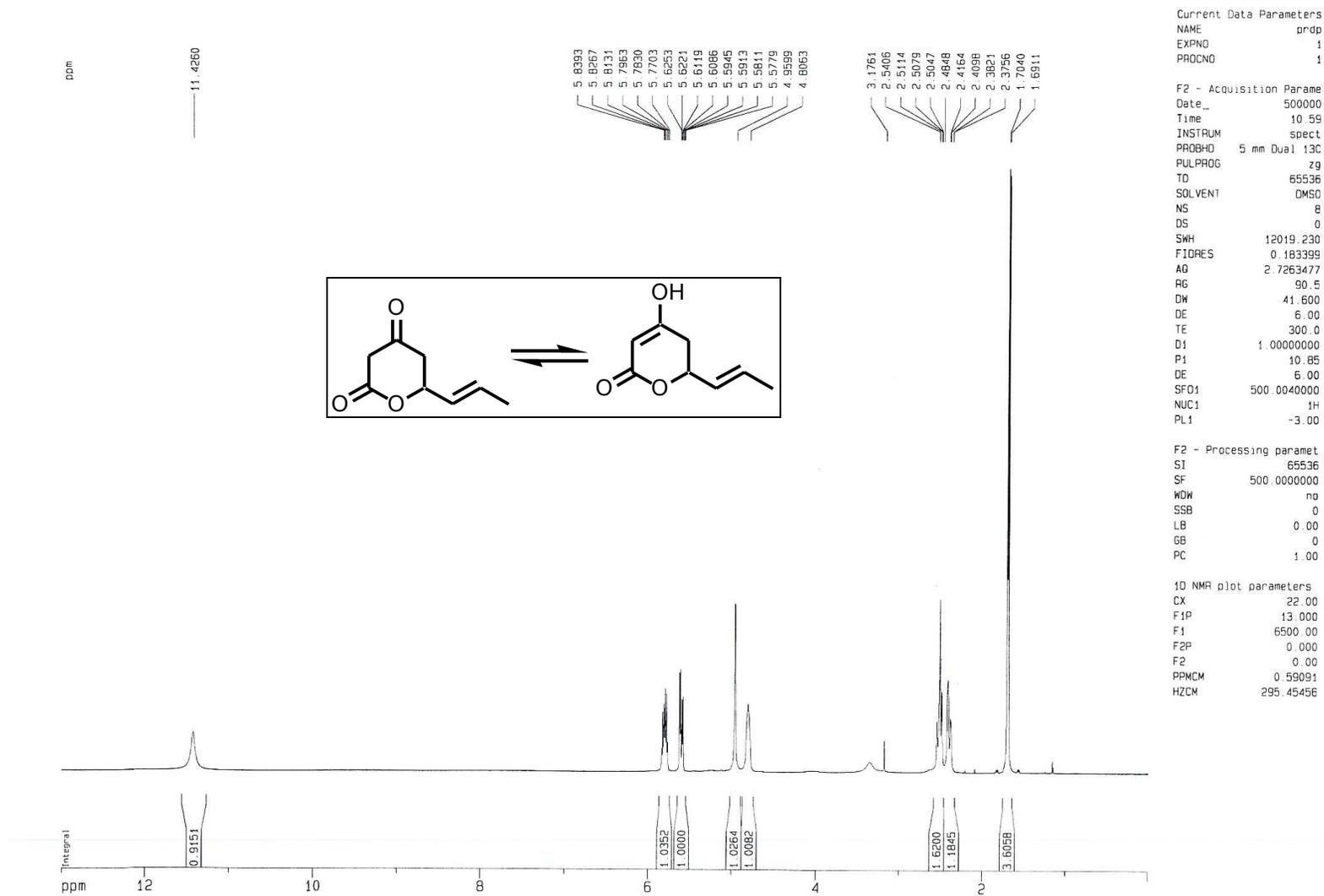
Denis LCS 75

Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
File: DenisLCS75H1
Mercury-30000 "mercury300"

Relax. delay 1.353 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.641 sec
Width 4500.5 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1 300.0735683 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min, 22 sec



RMN H¹ em 500 MHz, (DMSO d₆) da 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona



RMN C¹³ em 125 MHz, (DMSO d₆) de da 6-propenil-diidro-piran-2,4-diona



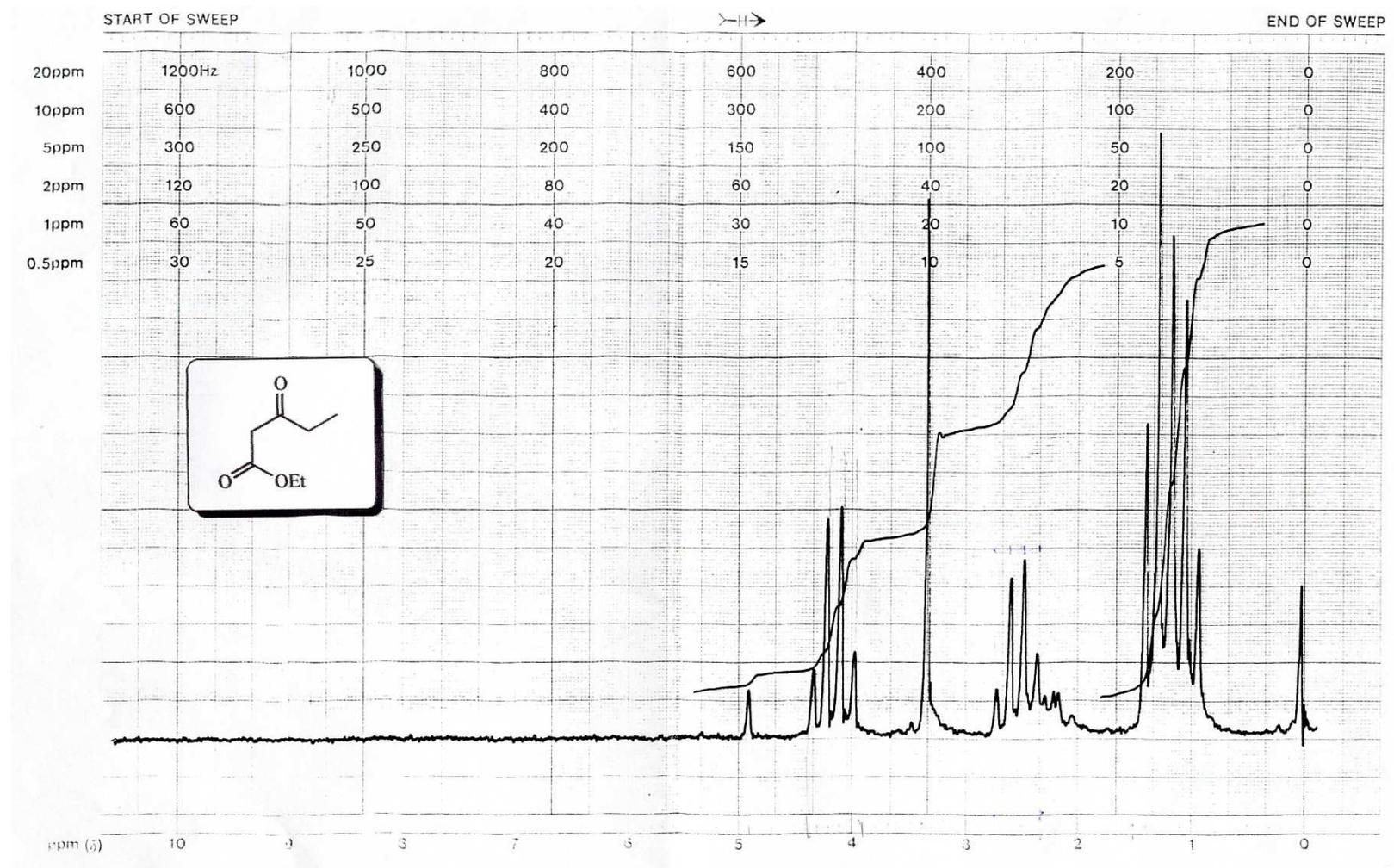
Current Data Parameters
 NAME prdp
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Param
 Date_ 500000
 Time 11.08
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dual 13C
 PULPROG zgpg30
 TO 65536
 SOLVENT DMSO
 NS 256
 DS 0
 SWH 32679.738
 FIDRES 0.498653
 AQ 1.0027508
 RG 16384
 DW 15.300
 DE 4.50
 TE 300.0
 D12 0.00002000
 PL13 16.00
 D1 1.00000000
 CPDPRG2 waltz16
 PCPD2 85.00
 SFO2 500.0025000
 NUC2 1H
 PL2 0.00
 PL12 16.00
 P1 5.95
 DE 4.50
 SFO1 125.7401370
 NUC1 13C
 PL1 0.00
 D11 0.03000000

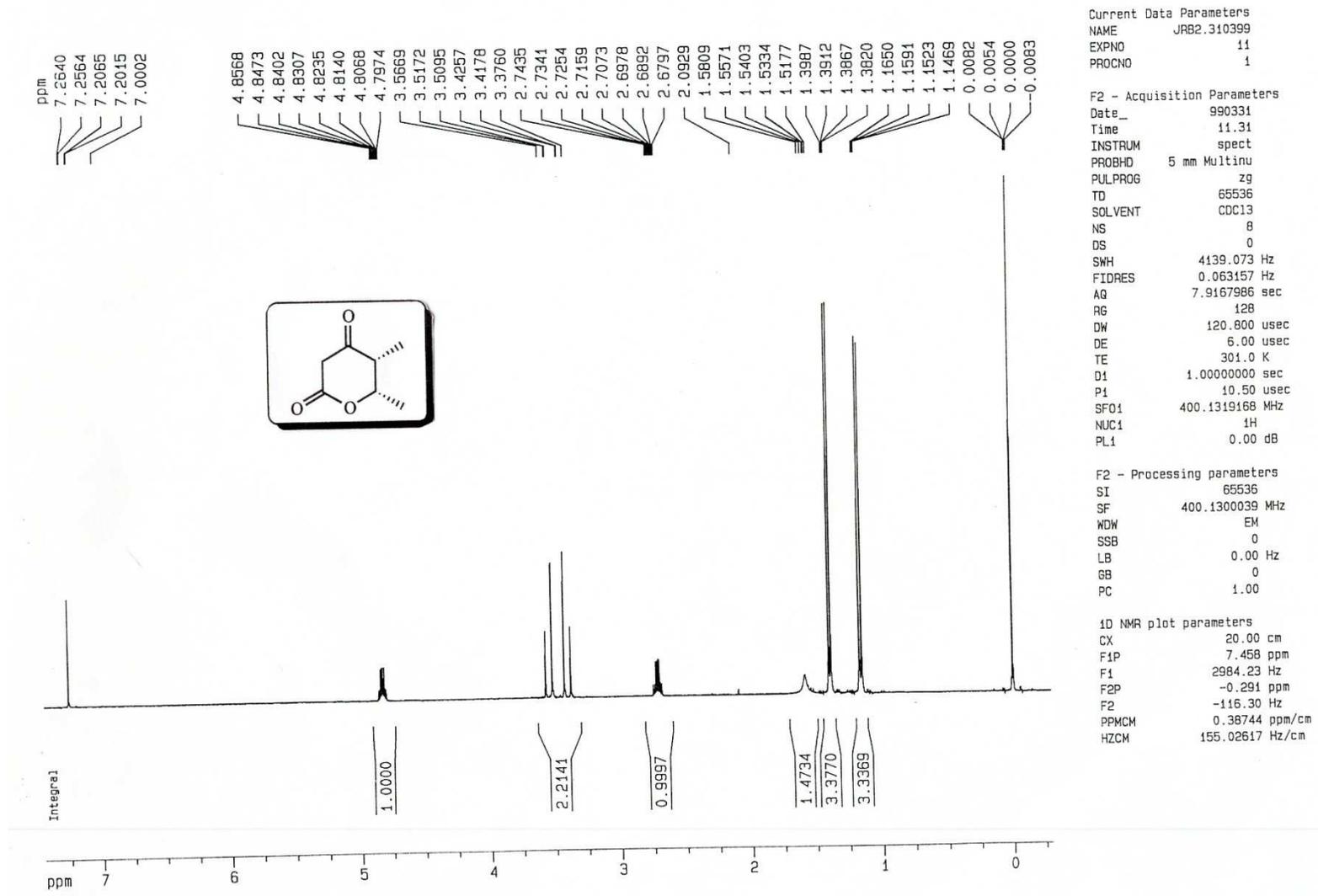
F2 - Processing paramet.
 SI 131072
 SF 125.7251619
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00
 GB 0
 PC 1.40

1D NMR plot parameters
 CX 22.00
 F1P 190.000
 F1 23887.78
 F2P 0.000
 F2 0.00
 PPMCM 8.63636
 HZCM 1085.80823

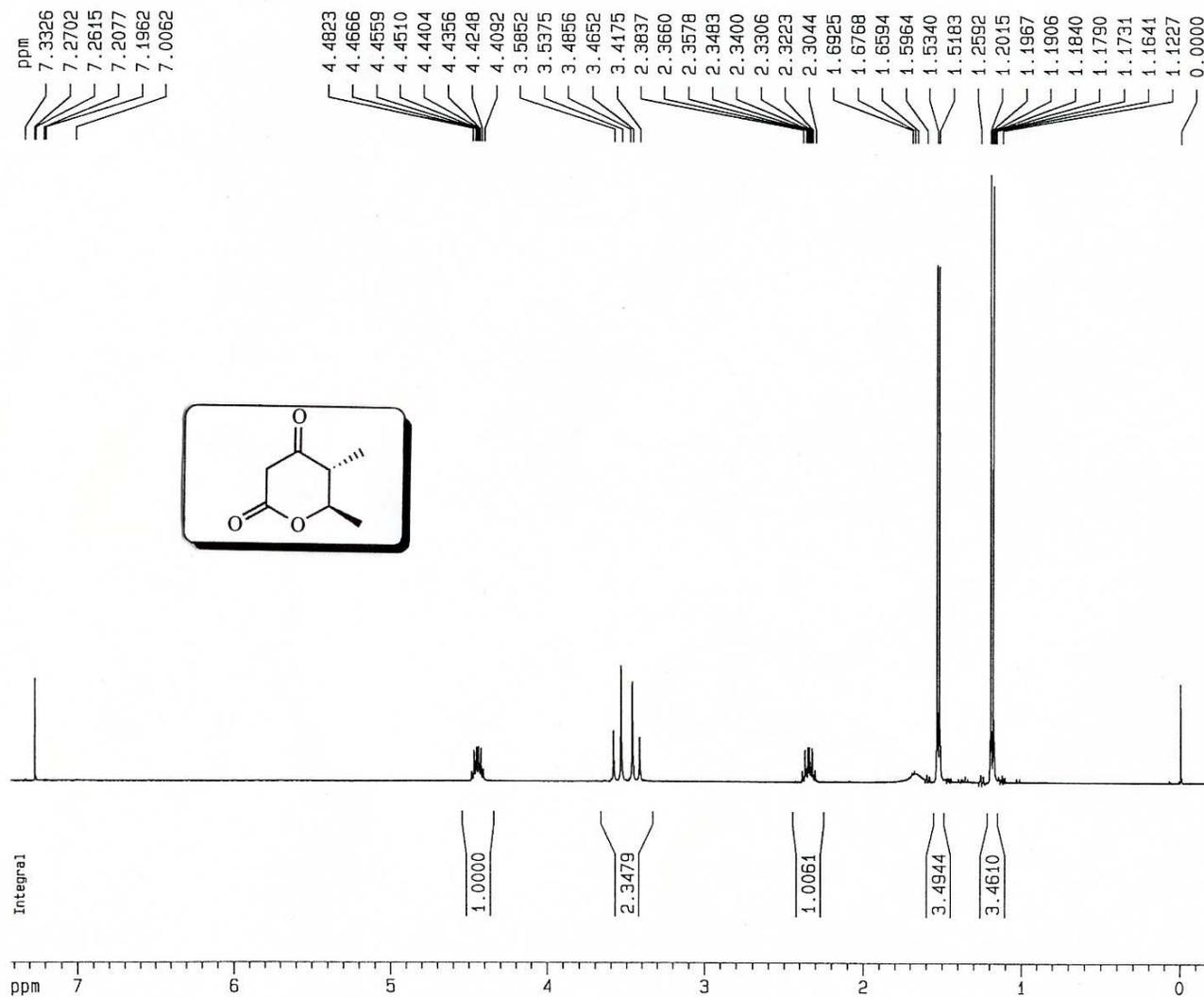
RMN H¹ em 60 MHz (CCl₄) do 3-oxo-pentanoato de etila



RMN H¹ em 400 MHz (CDCl₃) do isômero *cis* da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona



RMN H¹ em 400 MHz (CDCl₃) do isômero *trans* da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona



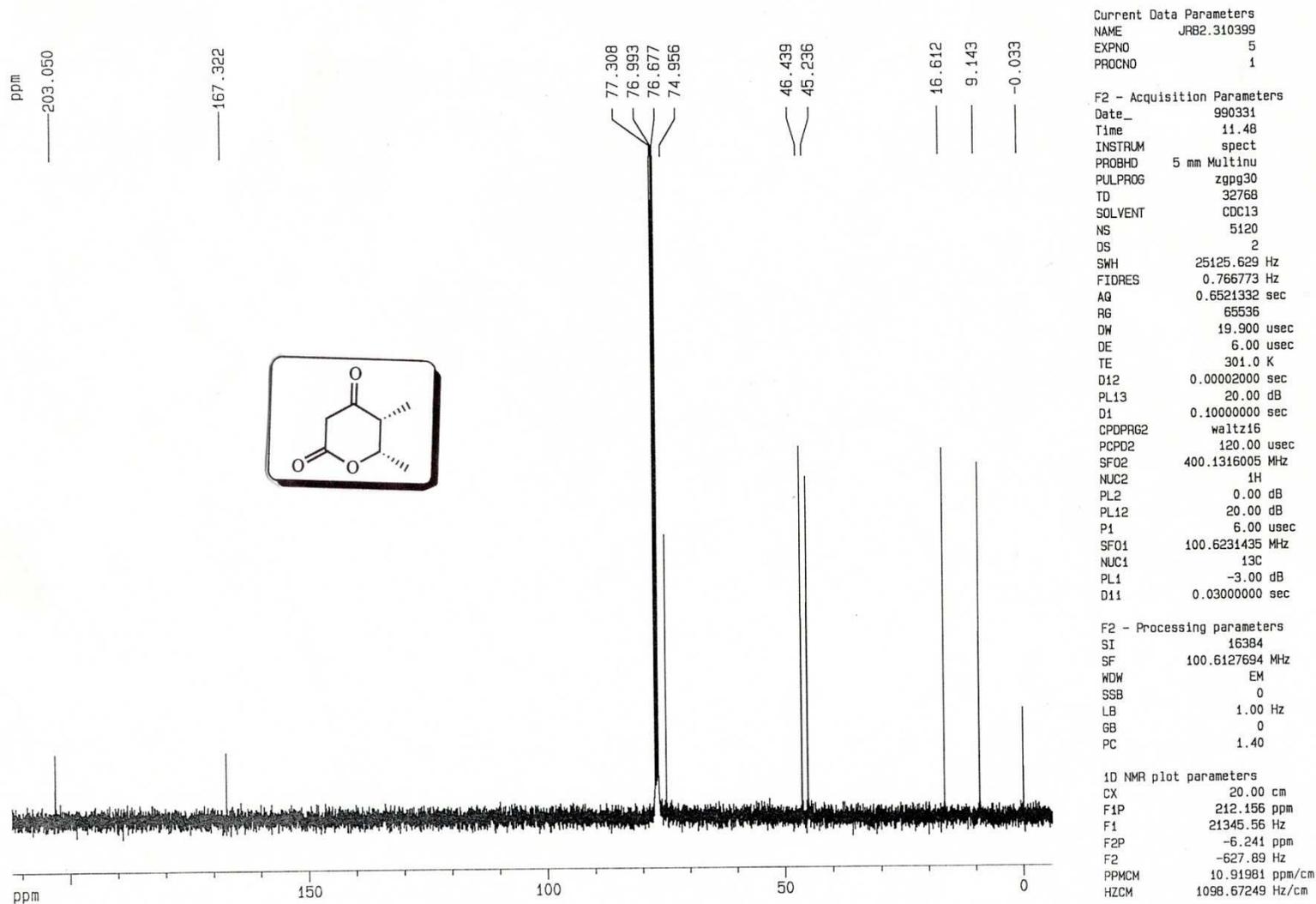
Current Data Parameters
 NAME JRB1.310399
 EXPNO 11
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 990331
 Time 10.29
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinu
 PULPROG zg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 8
 DS 0
 SWH 4139.073 Hz
 FIDRES 0.063157 Hz
 AQ 7.9167986 sec
 RG 128
 DW 120.800 usec
 DE 6.00 usec
 TE 301.0 K
 D1 1.00000000 sec
 P1 10.50 usec
 SFO1 400.1319168 MHz
 NUC1 1H
 PL1 0.00 dB

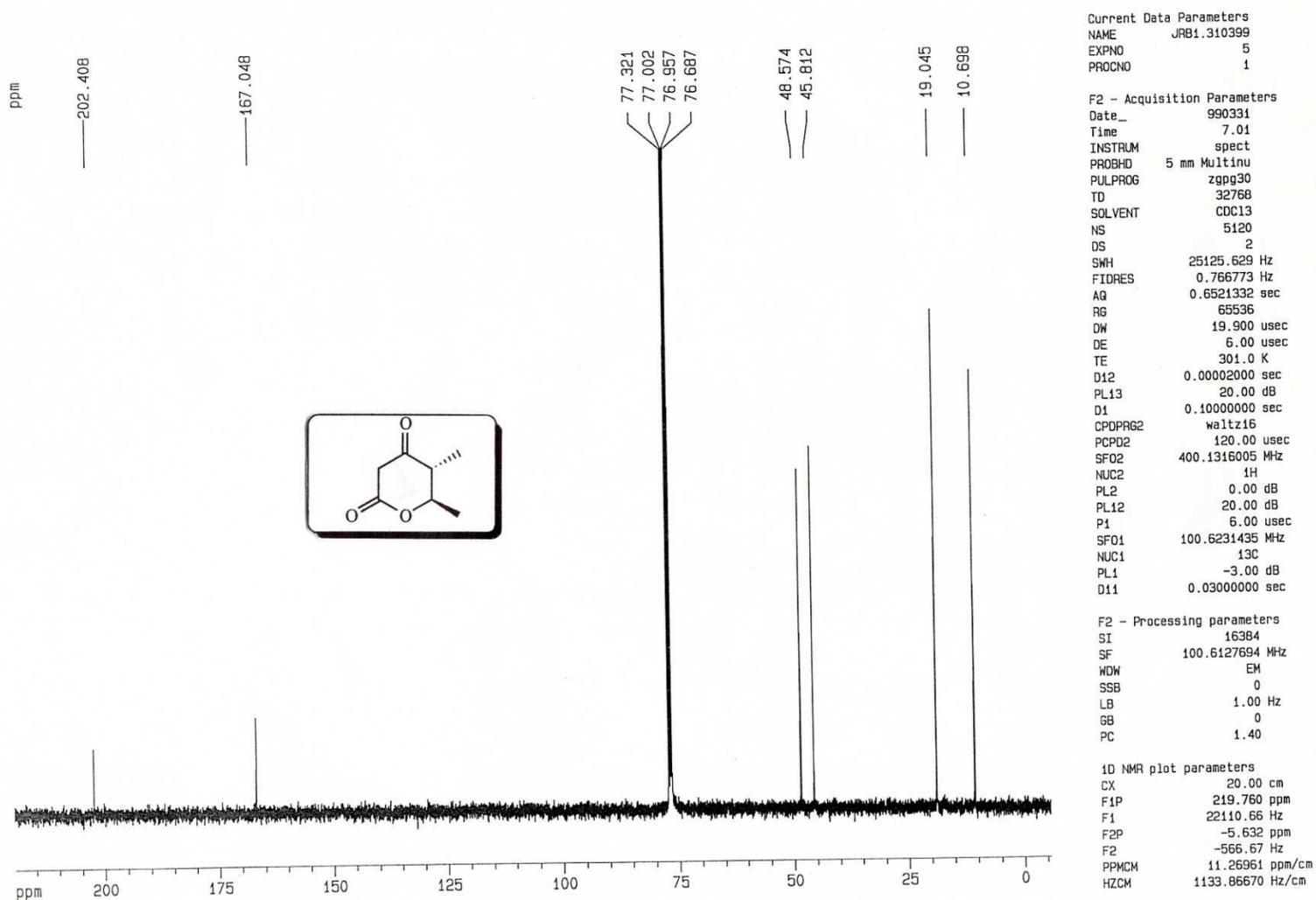
F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 400.1300014 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 F1P 7.427 ppm
 F1 2971.63 Hz
 F2P -0.171 ppm
 F2 -68.40 Hz
 PPMCH 0.37988 ppm/cm
 HZCM 152.00130 Hz/cm

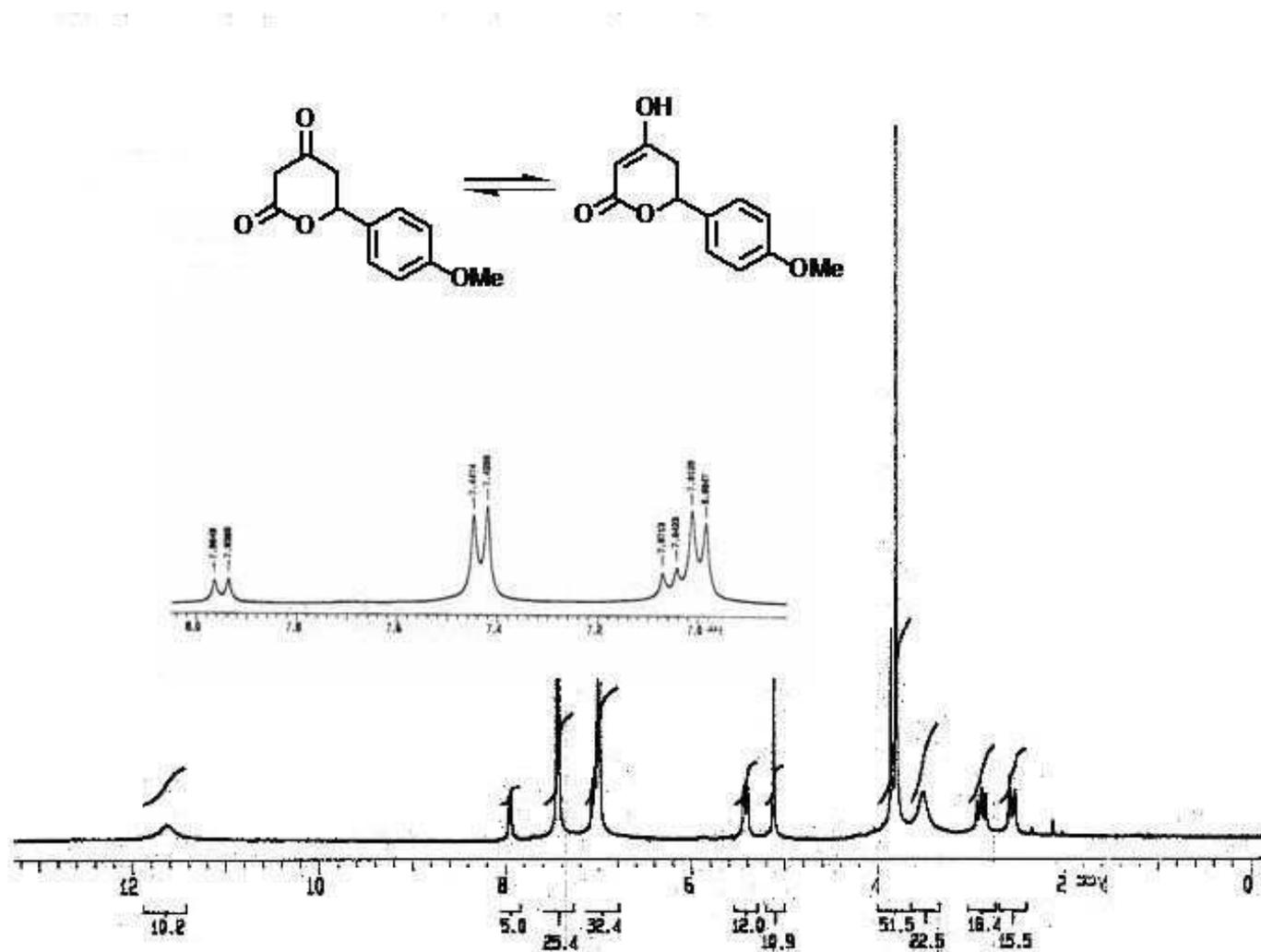
RMN C¹³ em 100 MHz (CDCl₃) do isômero *cis* da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona



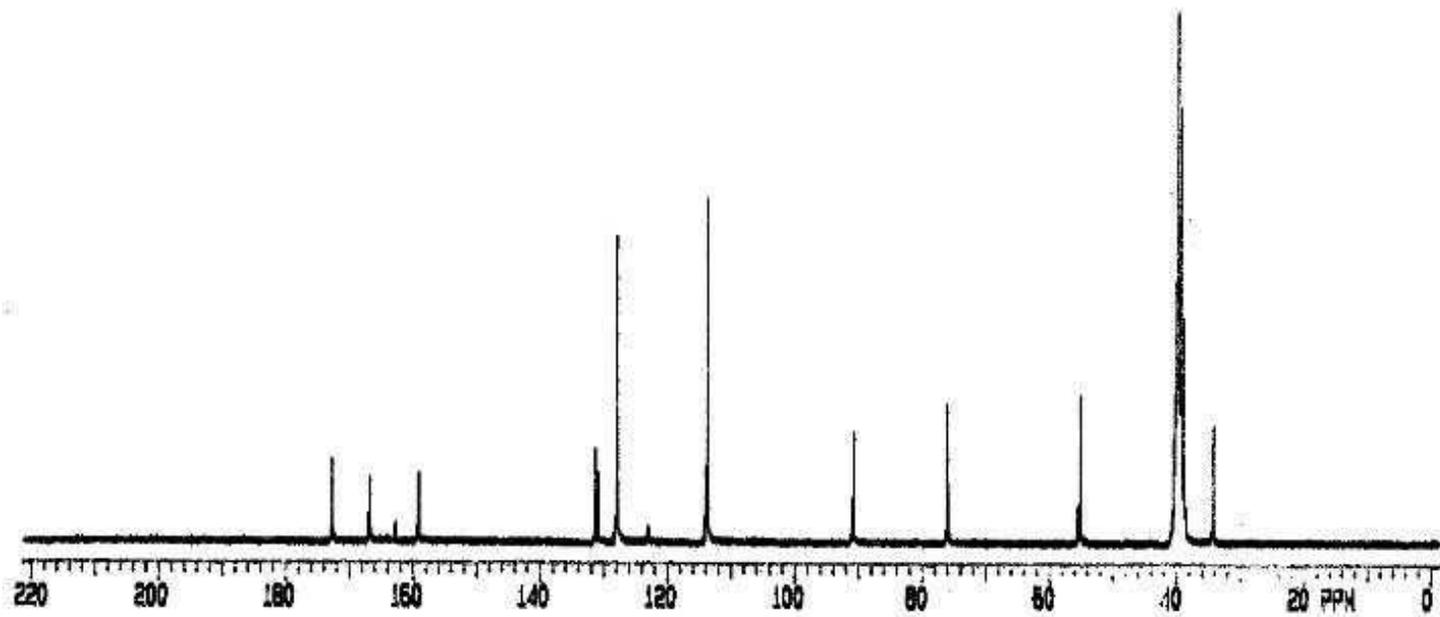
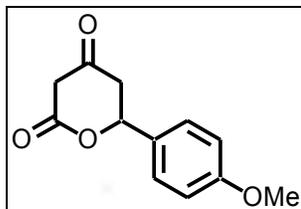
RMN C¹³ em 100 MHz (CDCl₃) do isômero *trans* da 5,6-dimetil-diidro-piran-2,4-diona



RMN H¹ em 300 MHz (DMSO d₆) da 6-(4-metoxi-fenil)-dihidro-piran-2,4-diona



RMN C¹³ em 75 MHz (DMSO d₆) da 6-(4-metoxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona



RMN H¹ em 500 MHz, (DMSO d₆) da 6-(3,4-dimetoxi-fenil)-dihidro-piran-2,4-diona



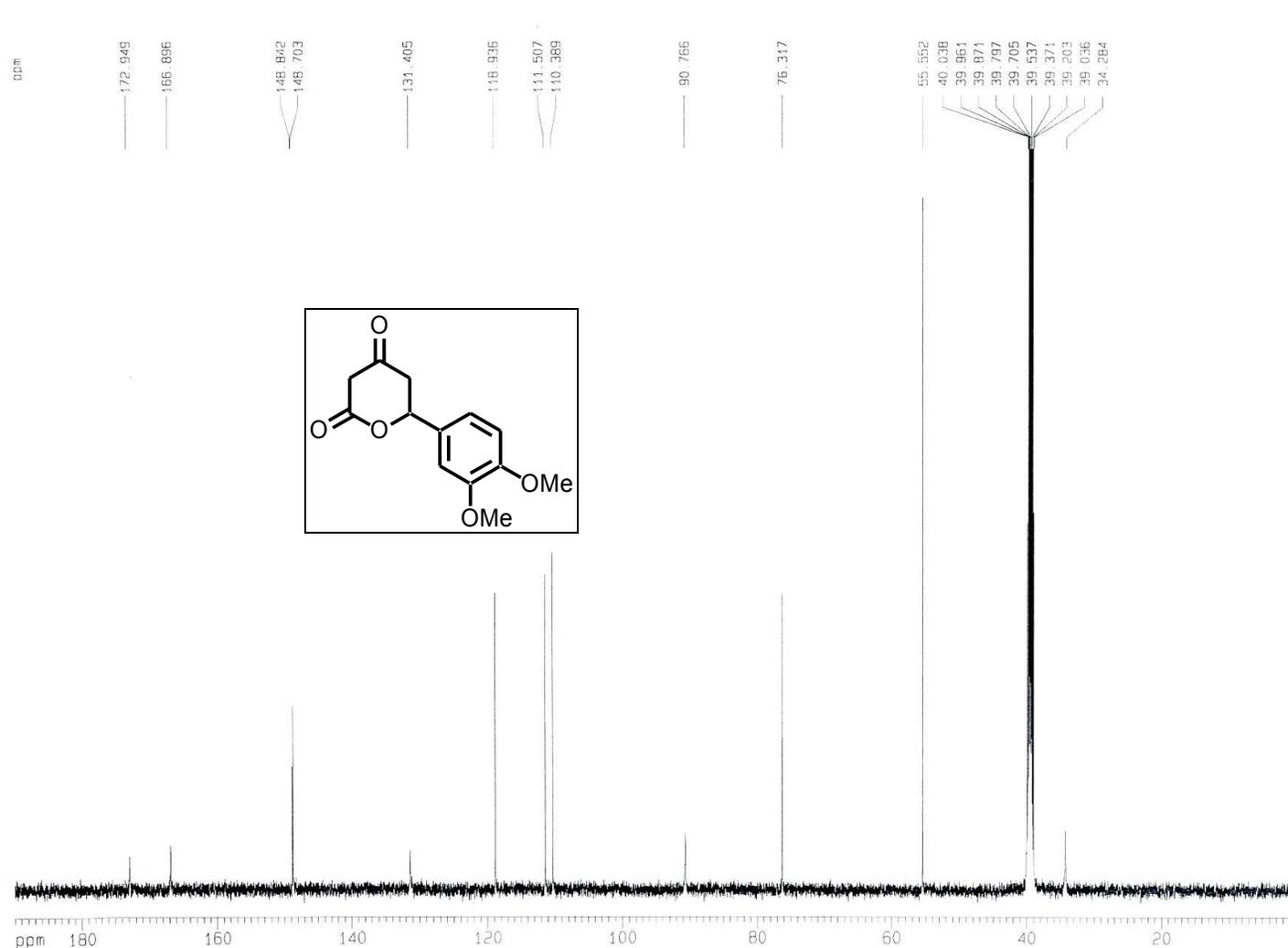
Current Data Parameters
 NAME dfpp
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 500000
 Time 9.01
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Dui 13C
 PULPROG zg
 TD 65536
 SOLVENT DMSO
 NS 8
 DS 0
 SHW 12019.230
 FIDRES 0.183399
 AQ 2.7263477
 RG 128
 DW 41.600
 DE 6.00
 TE 300.0
 D1 1.00000000
 P1 10.85
 DE 6.00
 SFO1 500.0040000
 NUC1 1H
 PL1 -3.00

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 500.0000000
 WDW no
 SSB 0
 LB 0.00
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters
 CX 22.00
 F1P 13.000
 F1 6500.00
 F2P 0.000
 F2 0.00
 PPMCM 0.59091
 HZCM 295.45456

RMN C¹³ em 125 MHz, (DMSO d₆) da 6-(3,4-dimetoxi-fenil)-diidro-piran-2,4-diona



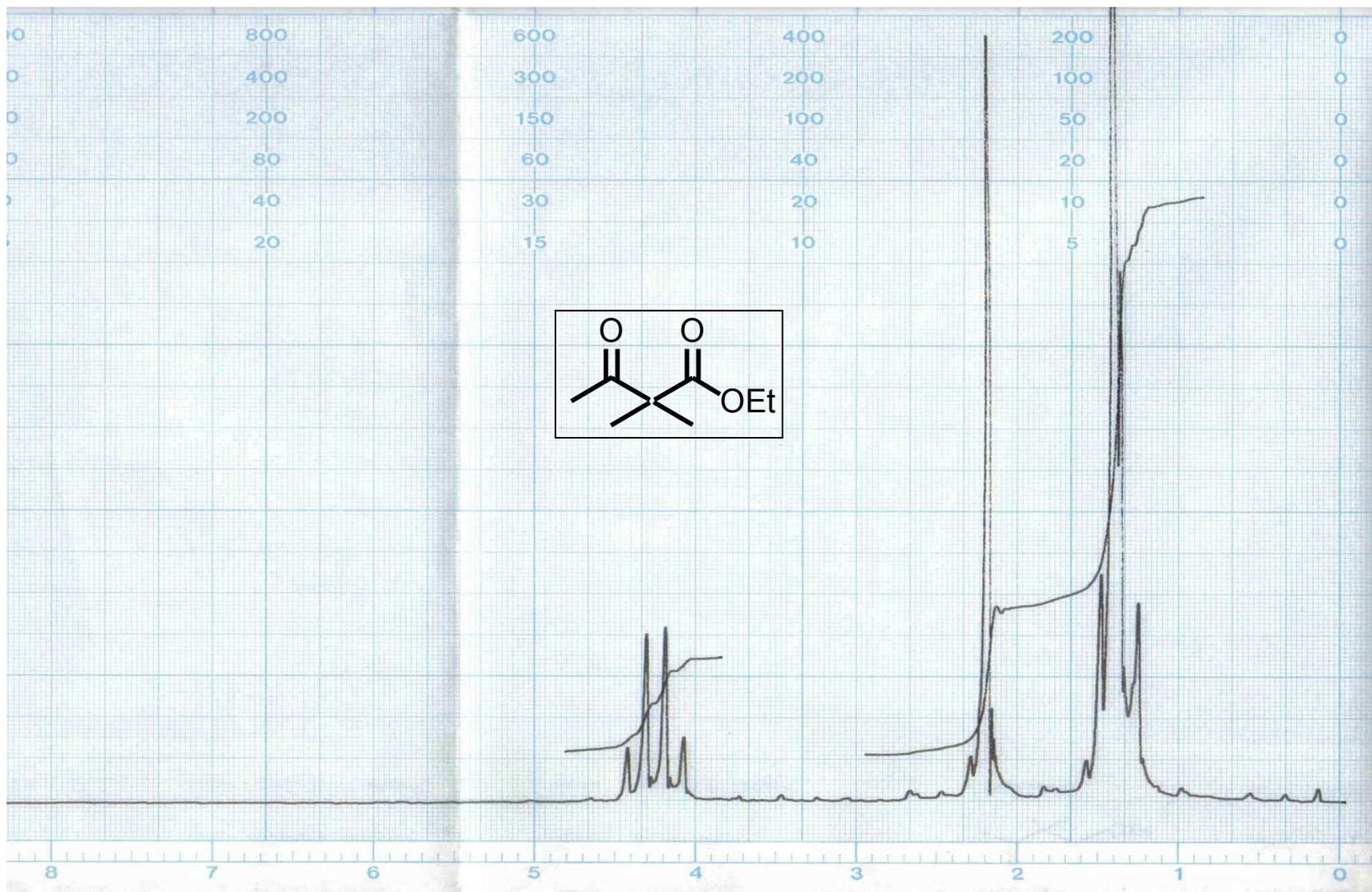
```

Date_      500000
Time       10.20
INSTRUM    spect
PROBHD     5 mm Dui1 13C
PULPROG    zgpg30
TD         65536
SOLVENT    DMSO
NS         632
DS         0
SWH        32679.738
FIDRES     0.498653
AQ         1.0027508
RG         16384
DW         15.300
DE         4.50
TE         300.0
D12        0.00002000
PL13       16.00
D1         1.00000000
CPOPRG2    waltz16
PCPD2      85.00
SF02       500.0040000
NUC2       13C
PL2         0.00
PL12       16.00
P1         5.95
DE         4.50
SF01       125.7401370
NUC1       13C
PL1         0.00
D11        0.03000000

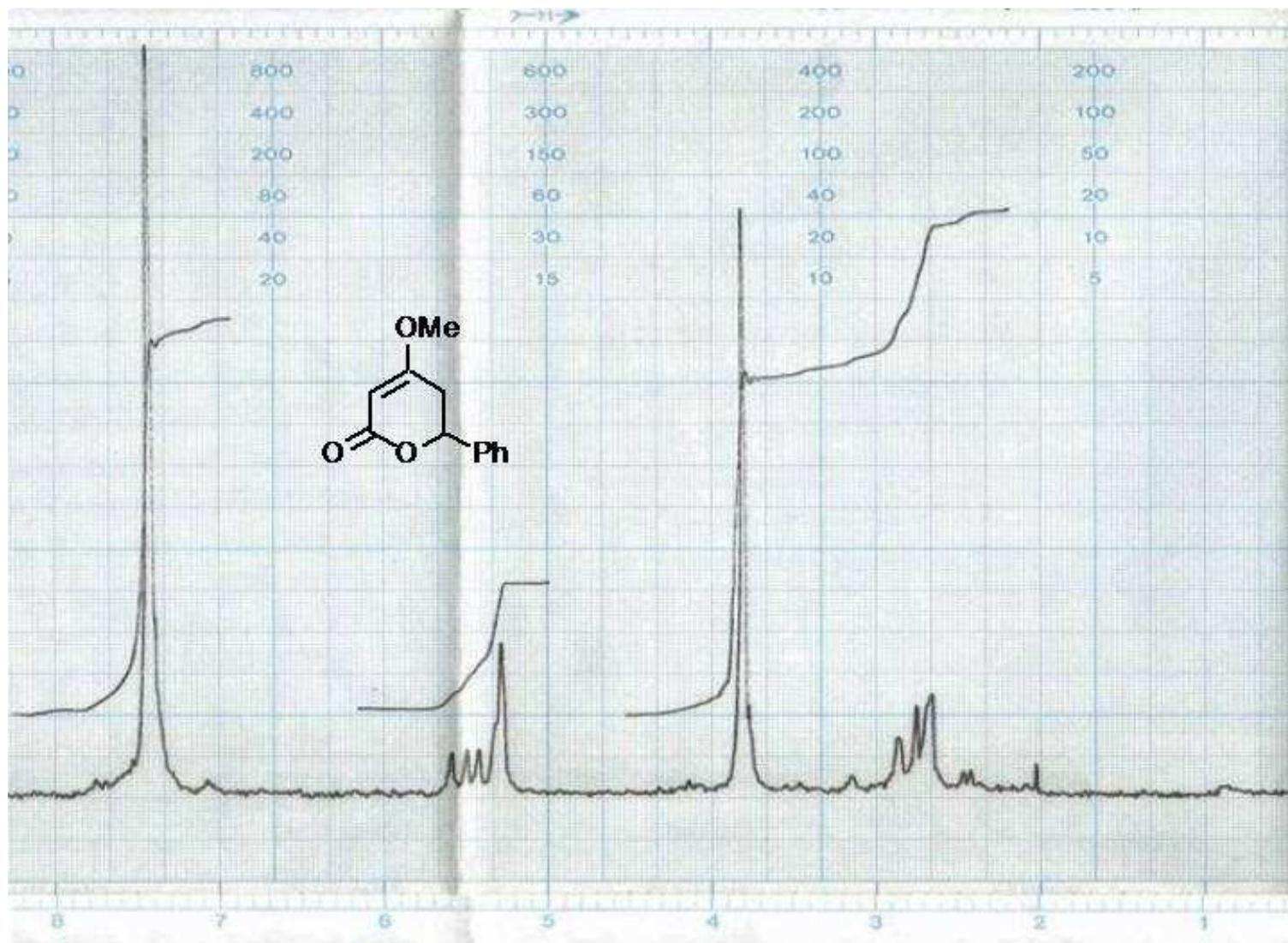
F2 - Processing paramet
S1         131072
SF         125.7251582
WDW        EM
SSB        0
LB         1.00
GB         0
PC         1.40

1D NMR plot parameters
CX         22.00
F1P        190.000
F1         23887.78
F2P        0.000
F2         0.00
PPMCM      8.63636
HZCM       1085.80825
    
```

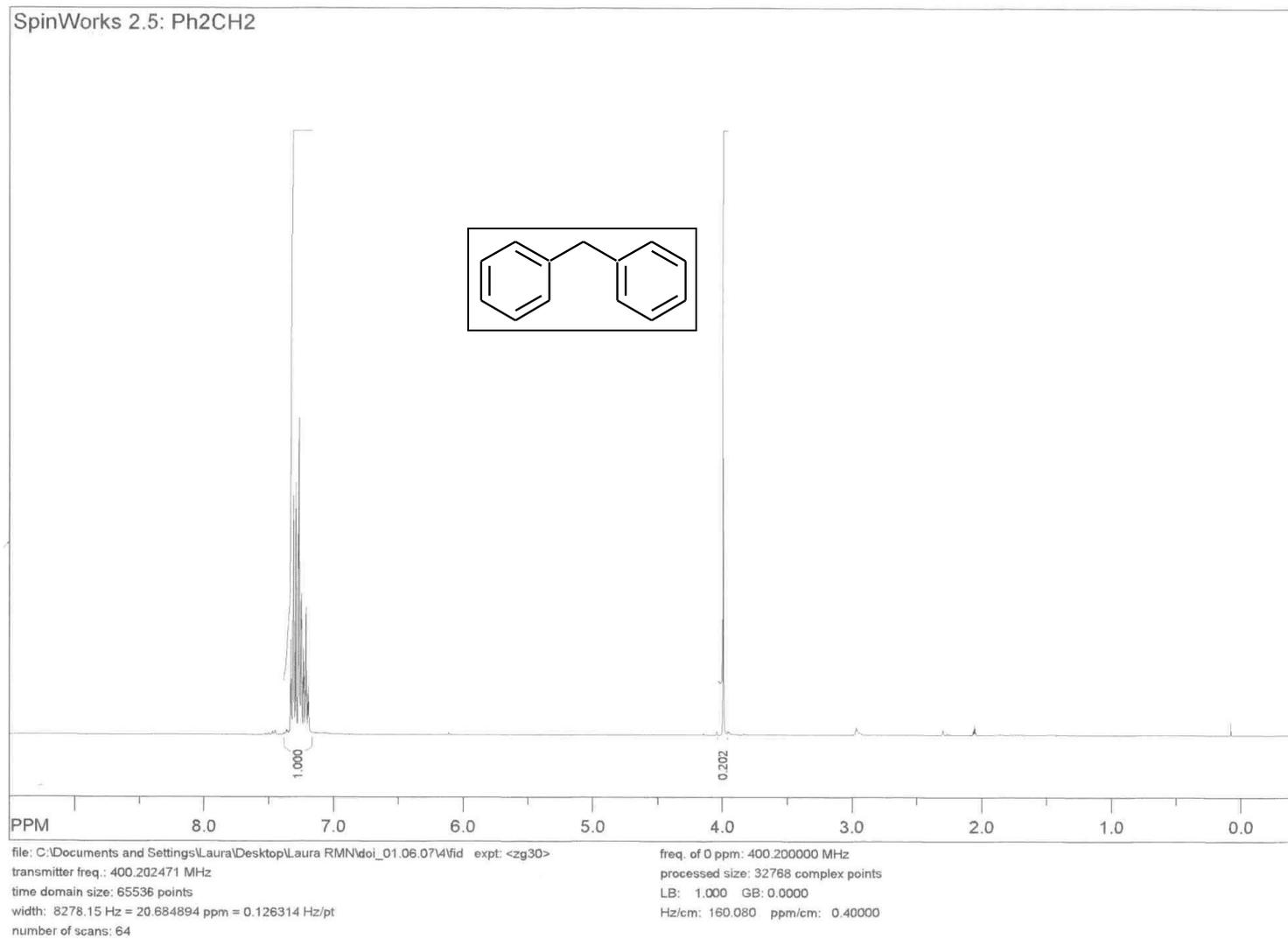
RMN H¹ (CCl₄) do 2,2-dimetil-acetoacetato de etila



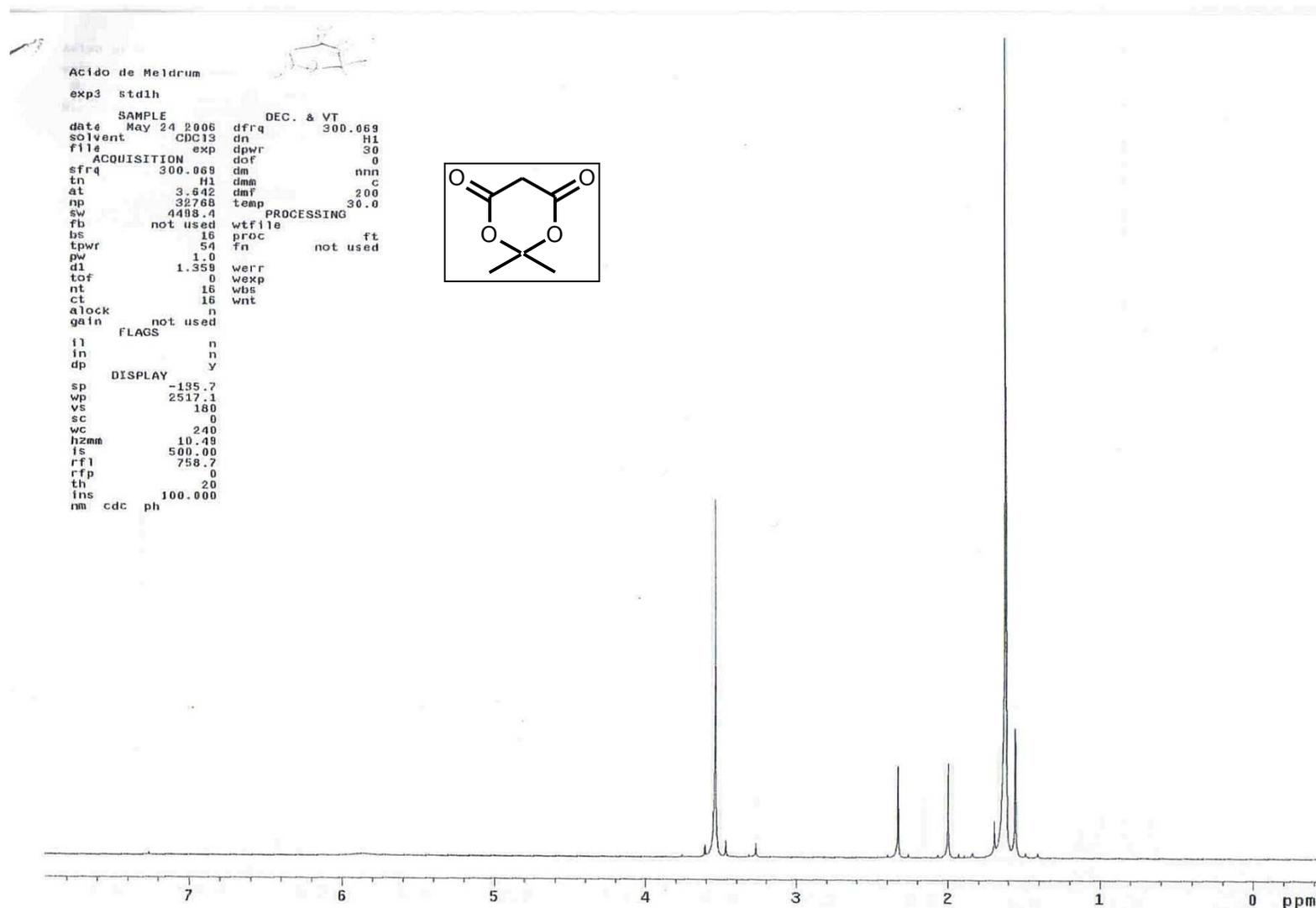
RMN H¹ (60 MHz, CDCl₃) da 6-fenil-4-metoxi-5,6-diidro-piran-2-ona



RMN H¹ (400MHz, acetona d₆) do Difenilmetano

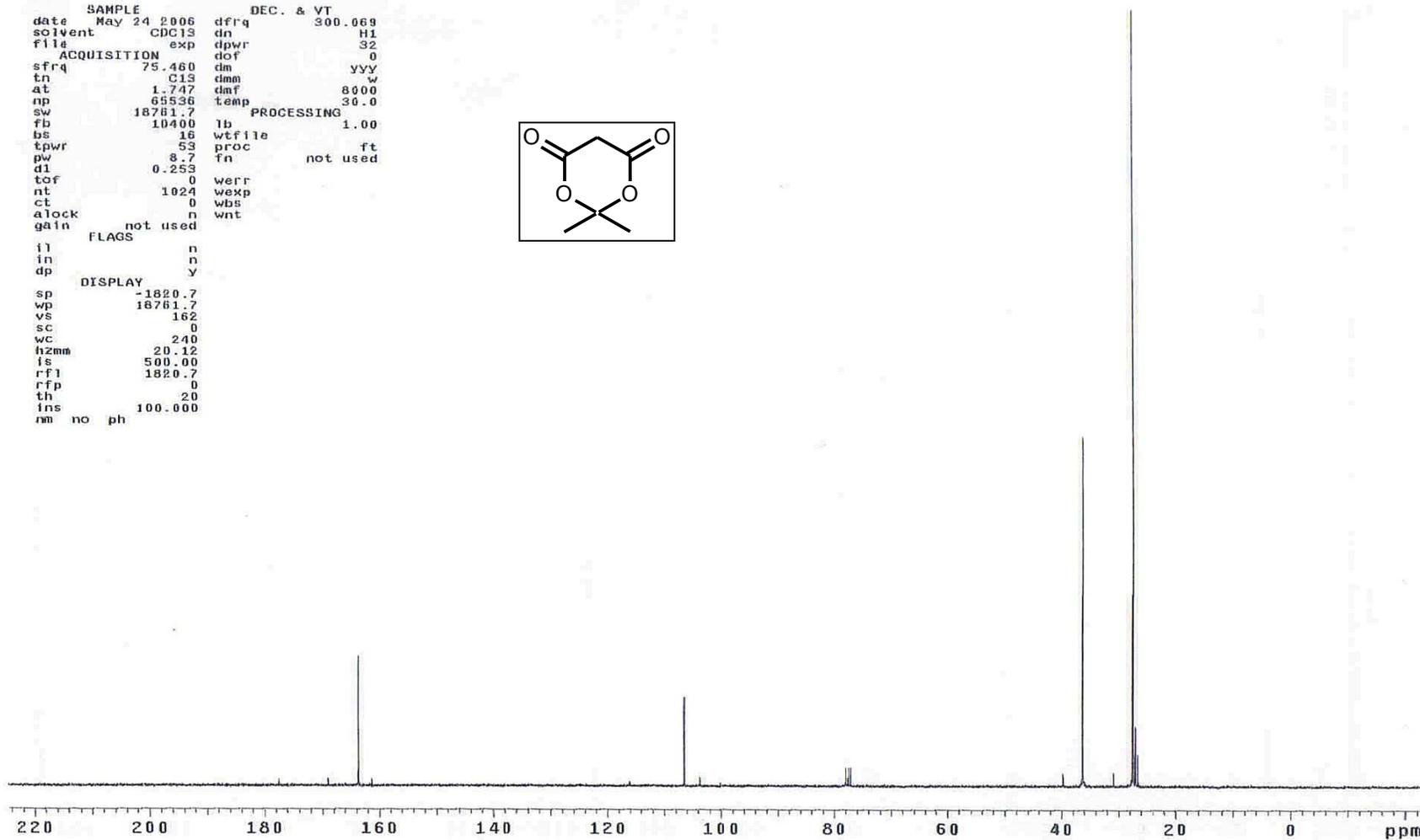
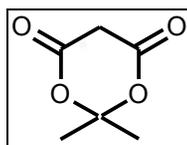


RMN H¹ (300MHz, CDCl₃) do ácido de Meldrum

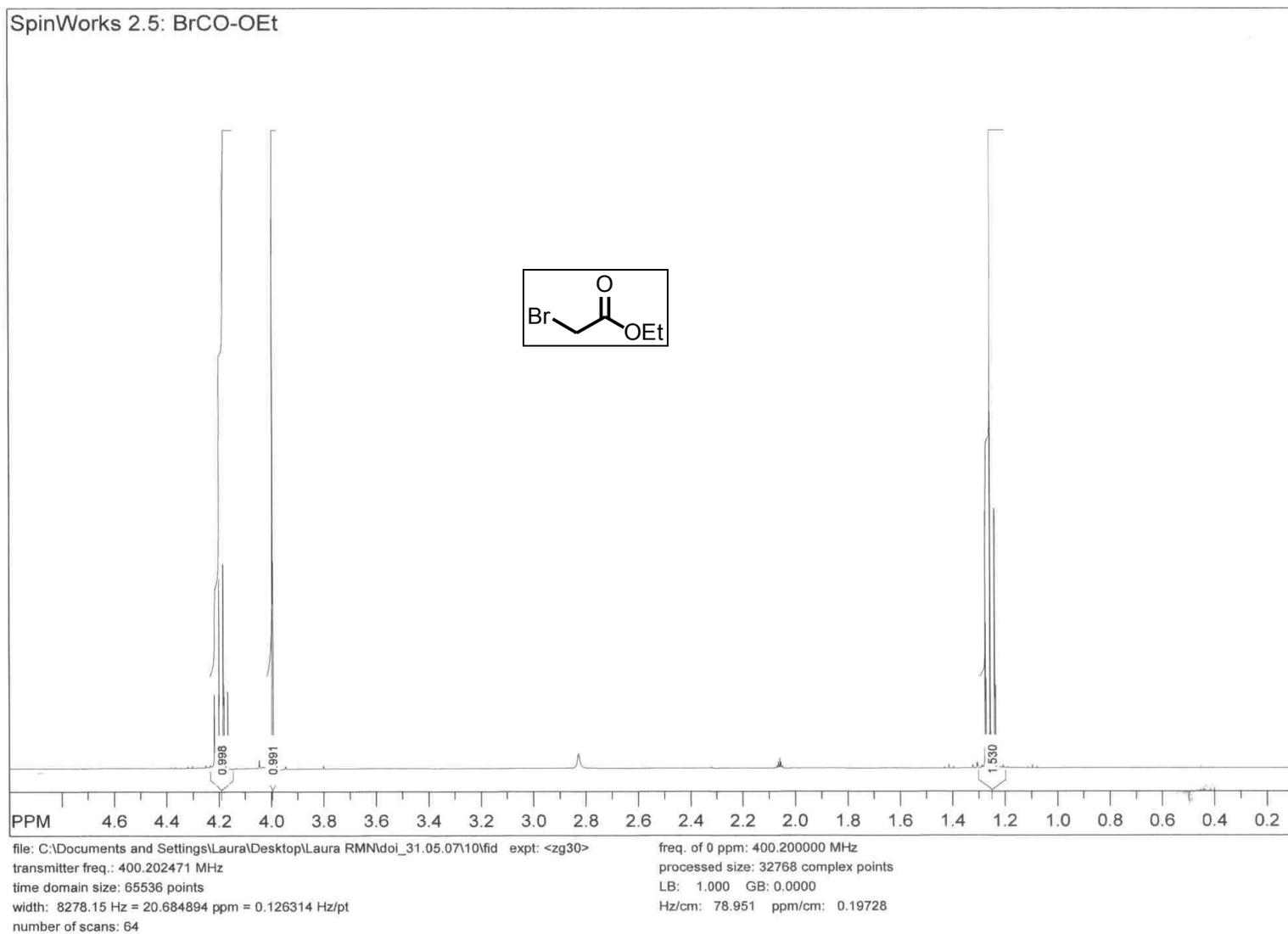


RMN C¹³ (300MHz, CDCl₃) do ácido de Meldrum

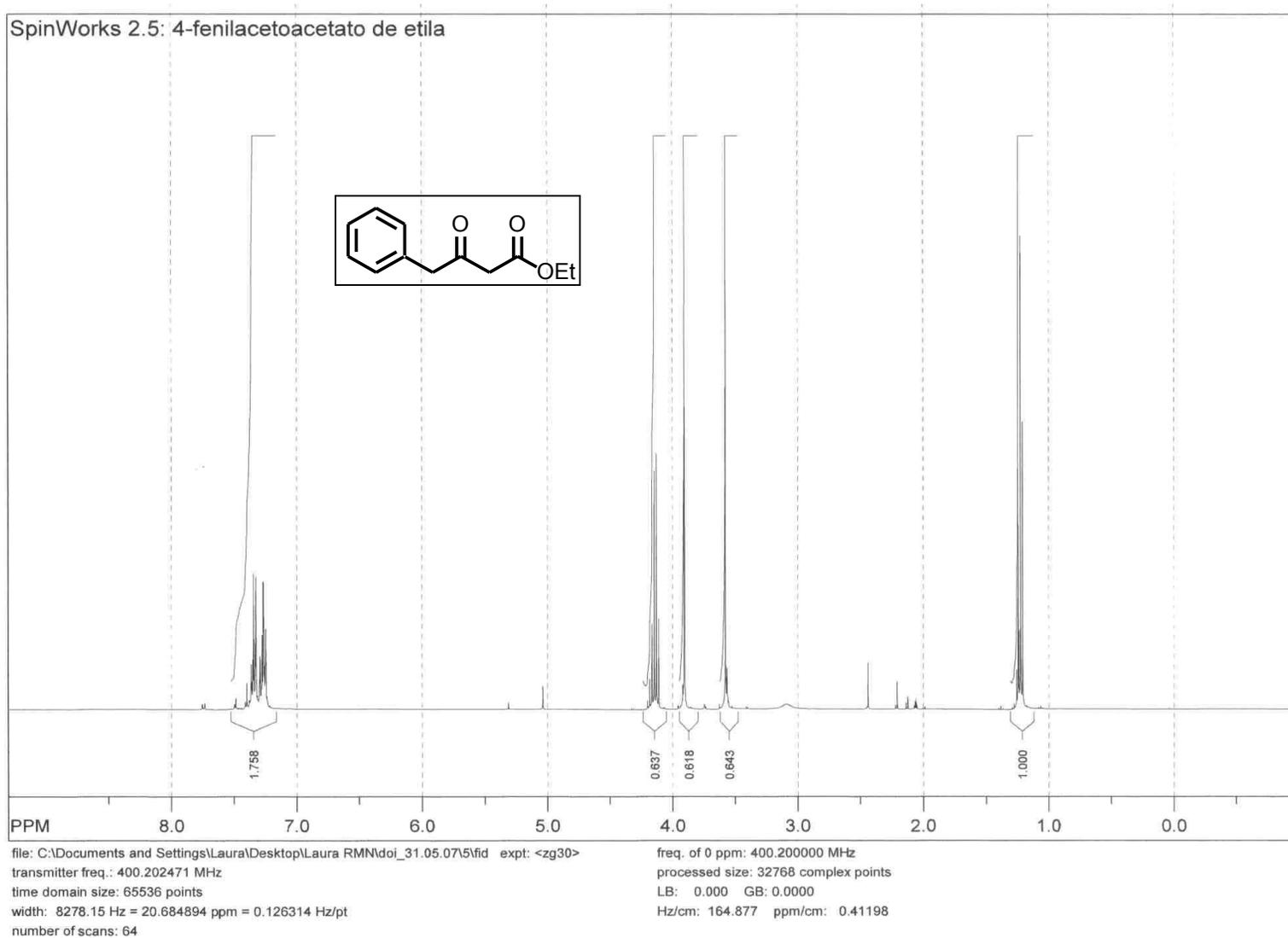
```
Acido de Meldrum
exp4 std13c
SAMPLE
date May 24 2006 dfrq 300.069
solvent CDCl3 dn H1
file exp dpwr 32
ACQUISITION dof 0
sfrq 75.460 dm yyy
tn C15 dmm w
at 1.747 dmf 8000
np 65536 temp 30.0
sw 18781.7 PROCESSING lb 1.00
fb 10400 wtfile
bs 16 wtf file
tpwr 53 proc
pw 8.7 fn not used
d1 0.253
tof 0 werr
nt 1024 wexp
ct 0 wbs
alock n wnt
gain not used
FLAGS
il n
in n
dp y
DISPLAY
sp -1820.7
wp 18781.7
vs 162
sc 0
wc 240
hzmm 20.12
is 500.00
rf1 1820.7
rfp 0
th 20
ins 100.000
nm no ph
```



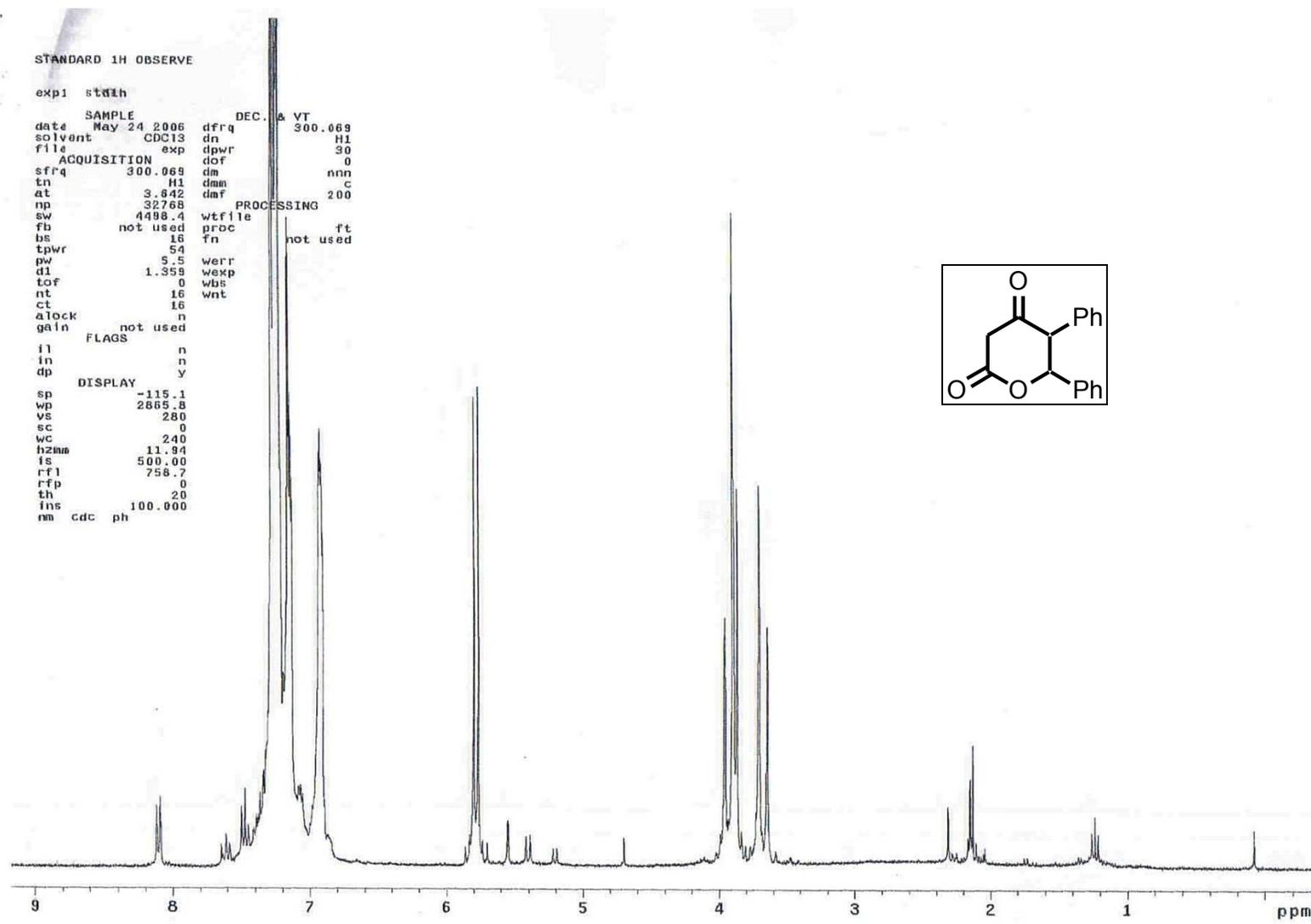
RMN H¹ (400MHz, acetona d₆) do Bromoacetato de etila



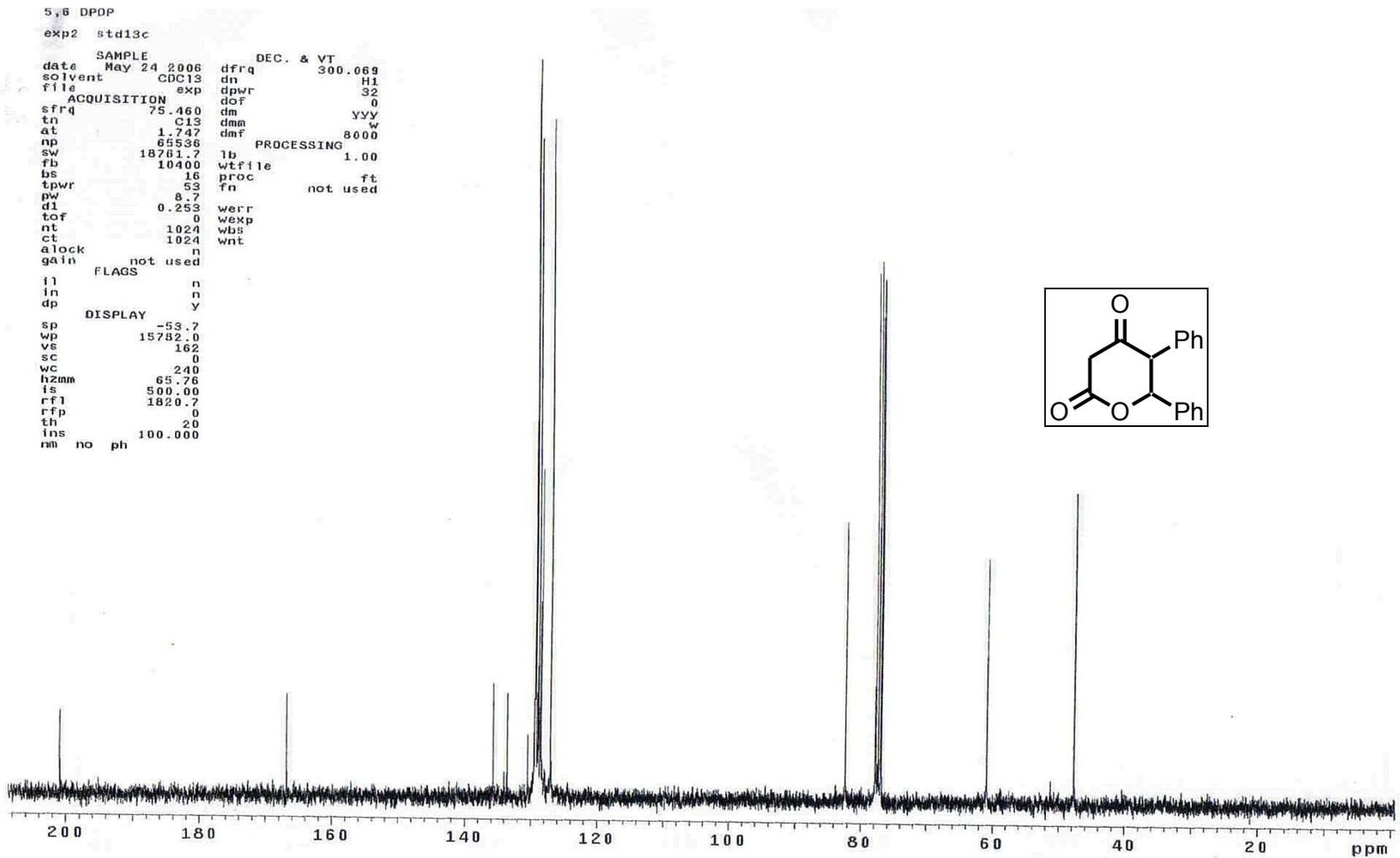
RMN H¹ (400MHz, acetona d₆) do 4-fenil-3-oxo-pentanoato de etila



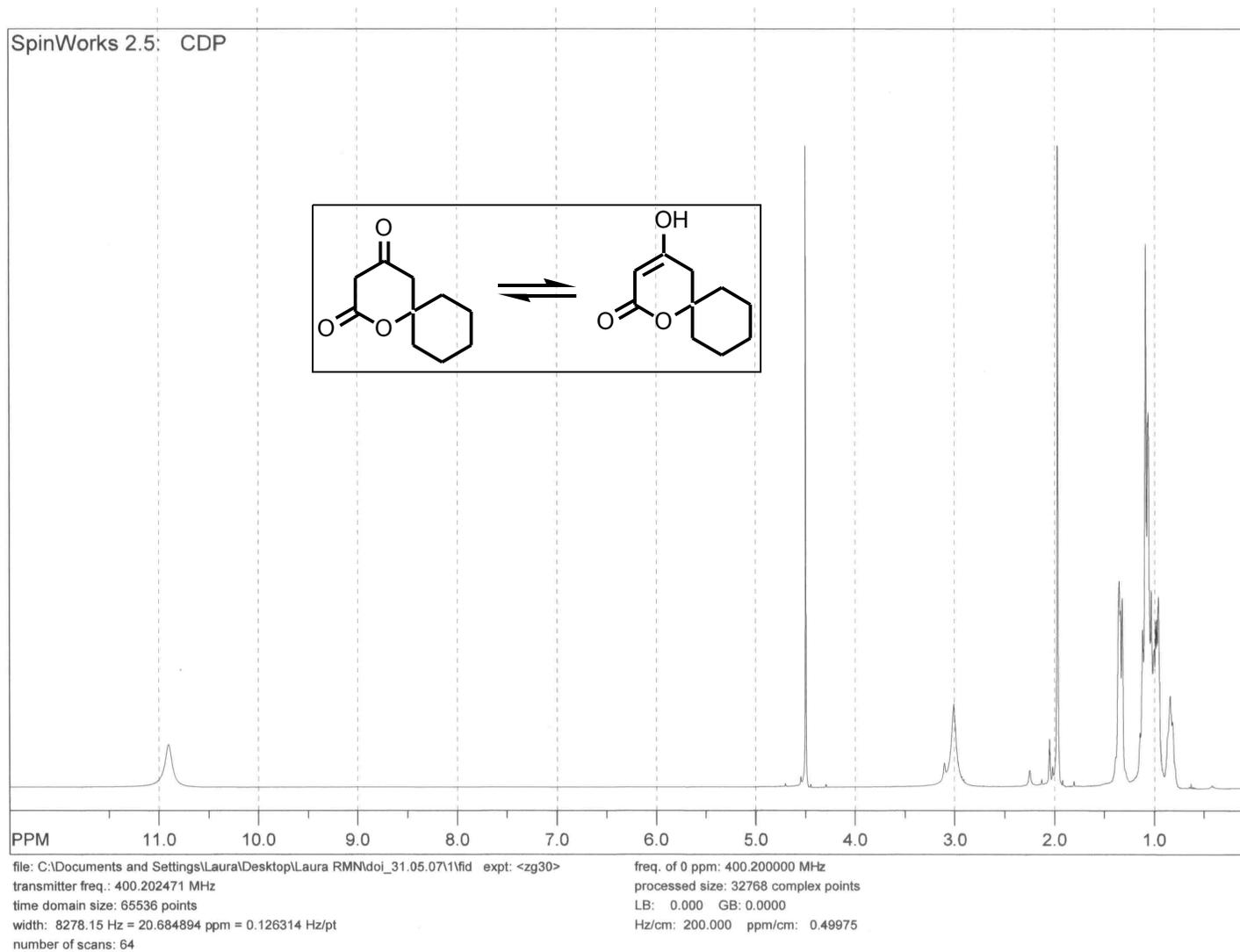
RMN H¹ (300MHz, CDCl₃) da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona



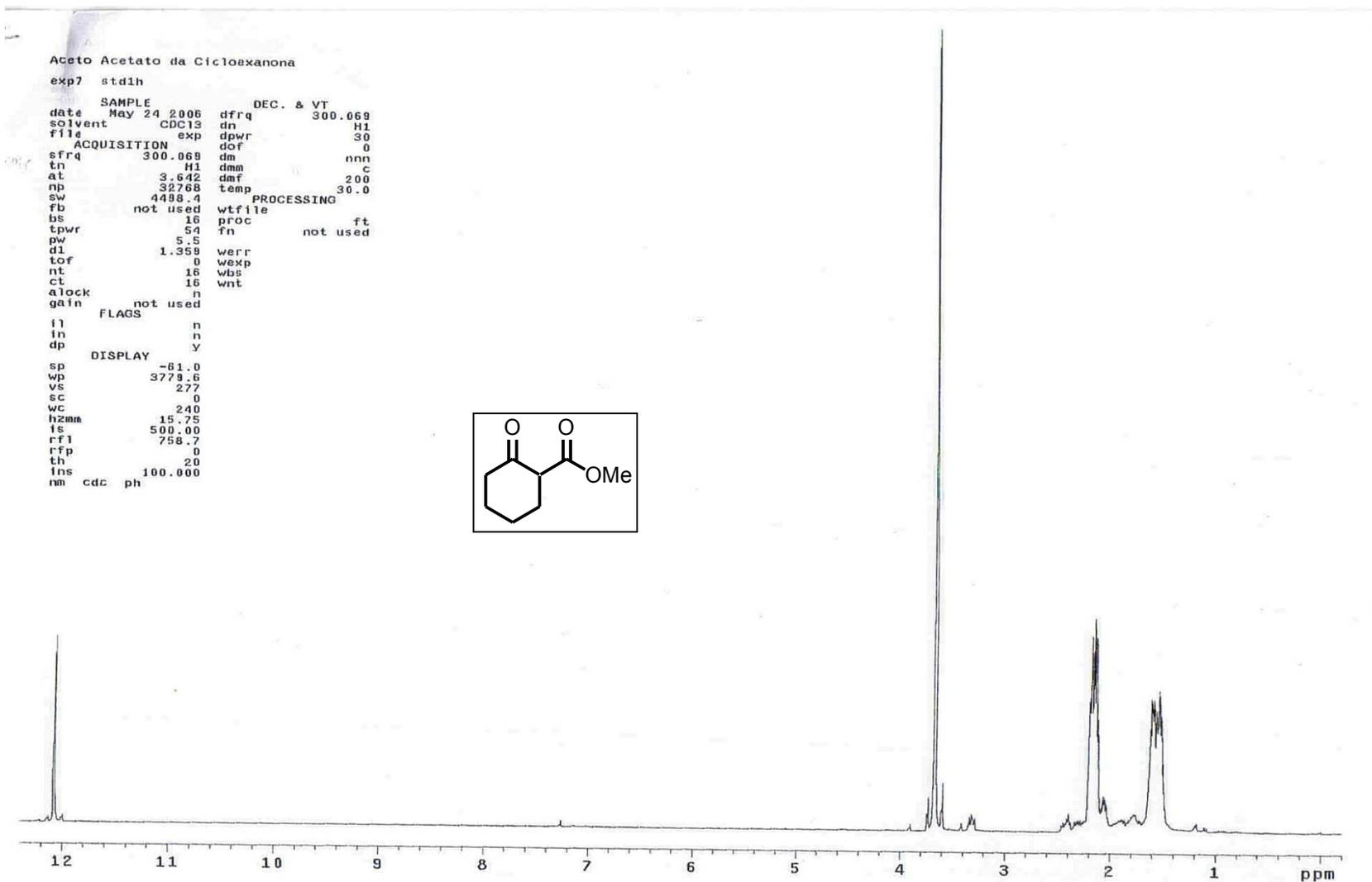
RMN C¹³ (300MHz, CDCl₃) da 5,6-difenil-diidro-piran-2,4-diona



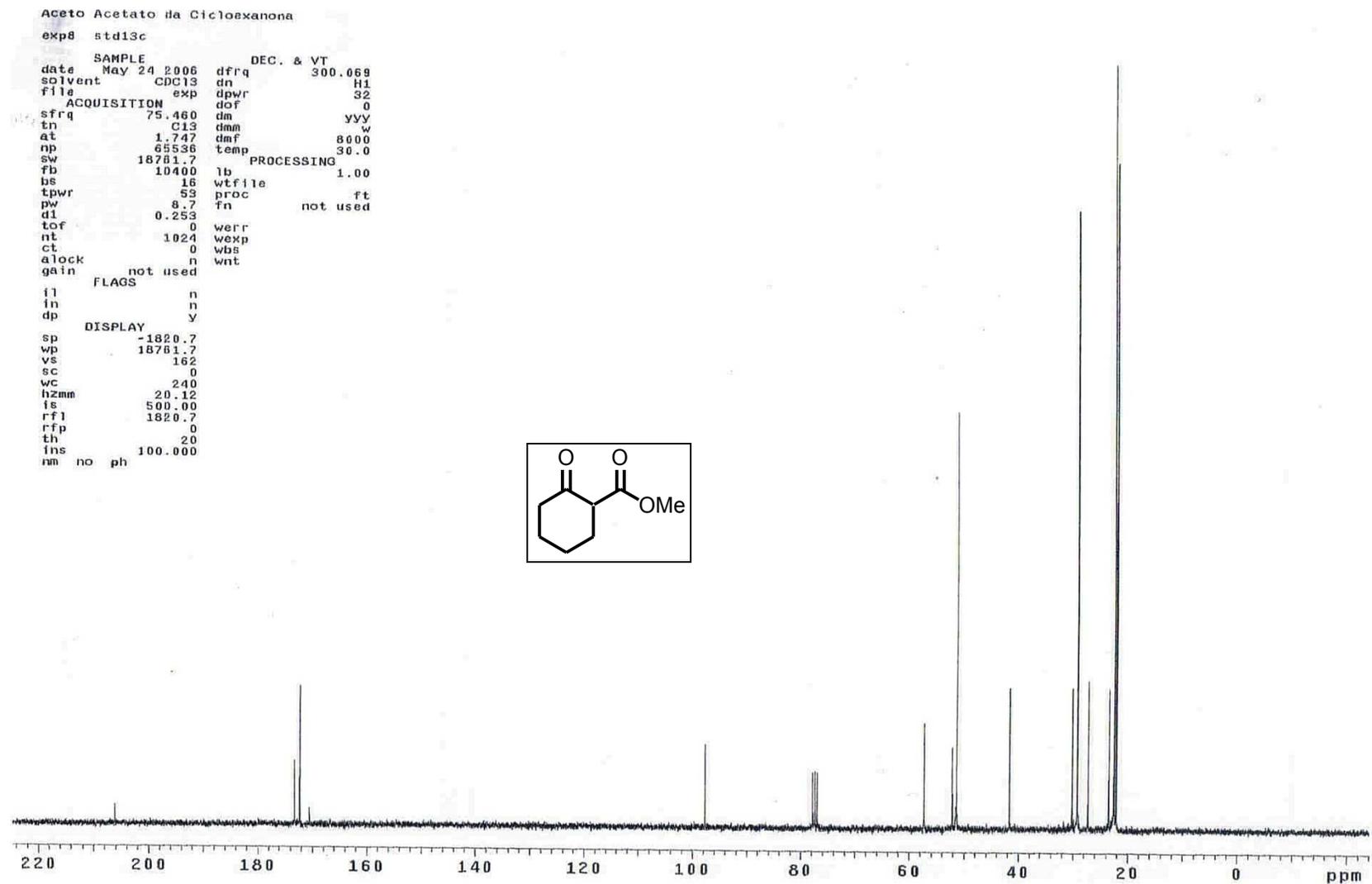
RMN H¹ (400MHz, Acetona-d₆) da 1-Oxa-espiro[5.5]undecano-2,4-diona



RMN H¹ (300MHz, CDCl₃) do 2-oxo-ciclohexanoato de metila



RMN C¹³ (75 MHz, CDCl₃) do 2-oxo-cicloexanoato de metila



Laura C. de Souza

Síntese e Investigação de Atividades Biológicas de
Diidro-piran-2,4-dionas

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas 7

AL-HARBI, M. M.; QURESHI, S.; RAZA, M.; AHMED, M. M.; AFZAL M.; SHAH, A. H. Gastric antiulcer and cytoprotective effect of *Commiphora molmol* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **1997**, *55*, 141-150.

ANDERSON, D.; PHILLIPS, J.B.; Comparative *in vitro* and *in vivo* effects of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, **1999**, *37*, 1015-1025.

ARNETT, E.M.; MAROLDO, S.G.; SCHRIVER, G.W.; SCHILLING, S.L. TROUGHTON, E.B. Ion Pairing and Reactivity of Enolate Anions. 6. Kinetics and Thermodynamics for Reaction of Alkali Acetylacetonates with Alkyl Halides in Dimethyl Sulfoxide. *Journal of the American Chemical Society*, **1985**, *107*, 2091-2099.

ARUOMA, O.I.; Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research /Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **2003**, *523-24*, 9-20.

AUST, O., SIES, H., STAHL, W., POLIDORI, M.C.; Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids. *Journal of Chromatography*, **2001**; *936*, 83-93.

AUSTEL, V. *The Medicinal Chemist's Approach*. In: *Modern Drug Research. Paths to Better and Safer Drugs* Vol. 12, Nova York, **1989**

BACARDIT, R.; MANAS, M.M. Hydrogenations of Triacetic Acid Lactone. A New Synthesis of the Carpenter Bee (*Xylocopa hirsutissima*) Sex Pheromone. *Tetrahedron Letters*, **1980**, *21*, 551-554.

BARTOLOZZI, A.; PACCIANI, S.; BENVENUTI, C.; CACCIARINI, M.; LIGUORI, F.; MENICHETTI, S.; NATIVI, C. Totally Stereoselective Synthesis of 1,3-Disaccharides through Diels-Alder Reactions. *Journal of Organic Chemistry*, **2003**, *68*, 8529 – 8533.

BECKMAN, K.B., AMES, B. N. The free theory of aging matures. *Physiology Review*, **1998**, *78*, 547-581.

BELMONT, J.A.; SOTO, J.; KING, R.F.; DONALDSON, A.J.; HEWES, J.D.; HAWTHORNE, M.F. Metallocarboranes in Catalysis. 8. I: Catalytic Hydrogenolysis of Alkenyl Acetates. II: Catalytic Alkene Isomerization and Hydrogenation Revisited, *Journal of the American Chemical Society*, **1989**, *111*, 7475-7486.

BENETTI, S.; ROMAGNOLI, R.; RISI, C.; SPALLUTO, G.; ZANIRATO, V. Mastering β -Keto Esters. *Chemical Review*, **1995**, *95*, 1065-1114.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, **1997**, *30*, 609-615.

BRACA, A.; SORTINO, C.; POLITI, M.; MORELLI, I.; MENDEZ, J.; Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, **2002**, *79*, 379-381.

BRANDANGE, S.; FARNBACK, M.; LEIJONMARCK, H.; SUNDIN, A. Highly Diastereoselective Hydrogenations Leading to β -Hydroxy δ -lactones in Hydroxy-Protected Form. A Modified View of δ -Lactone Conformations. *Journal of the American Chemical Society*, **2003**, *125*, 11942-11955.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C.; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, **1995**, *28*, 25-30.

BROWER, K.R.; ERNST, R.L.; CHEN, J.S. The Volume of Activation in the Alkylation of Ambident Anions. *The Journal of Physical Chemistry*, **1964**, *68*, 3814.

CAREY, F.A.; SUNDBERG, R. J. Advanced Organic Chemistry: Structure and Mechanisms (Parte B). 4^a Ed., Plenum Press, New York, USA, **2001**.

CEFALO, D.R.; KIELY, A.F.; WUCHRER, M.; JAMIESON, J.Y.; SCHROCK, R.R.; HOVEYDA, A.H.; Enantioselective Synthesis of Unsaturated Cyclic Tertiary Ethers by Mo-Catalyzed Olefin Metathesis. *Journal of the American Chemical Society*, **2001**, *123*, 3139 – 3140.

CHEUNG, L.M.; CHEUNG, P.C.K.; OOI, V.E.C.; Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, **2003**, *80*, 249-255.

CHOI, B.S.; CHANG, J.H.; CHOI, H.W.; KIM, Y.K.; LEE, K.K.; LEE, K.W., LEE, J.H.; HEO, T.; NAM, D.H.; SHIN, H. Efficient and Scalable Synthesis of Ethyl 2,6-Dichloro-5-Fluoronicotinoyl Acetate Using the Blaise Reaction as a Key Step. *Organic Process Research & Development*, **2005**, *9*, 311-313.

CRIMMINS, M.T.; WASHBURN, D.G.; ZAWACKI, F.J. The synthesis of 2-alkyl-4-pyrone from Meldrum's acid. *Organic Synthesis*, **2004**, *10*, 355.

DAVIDSON, D.; BERNHARD, S.A.; The Structure of Meldrum's Supposed β -Lactonic Acid. *Journal of the American Chemical Society*, **1948**; *70*; 3426-3428.

DECKER, M. Novel inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase derived from the alkaloids dehydroevodiamine and rutaecarpine. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, *40*, 305 – 313.

DJAHANGUIRI, B.; The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rats. *Journal of Gastroenterology*, **1969**, *4*, 265-267.

DOUGLAS, C.J.; SKLENICKA, H.M.; SHEN, H.C.; MATHIAS, D.S.; DEGEN, S.J.; GOLDING, G.M.; MORGAN, C.D.; SHIH, R.A.; MUELLER, K.L.; SEURER, L.M.; JOHNSON, E.W.; HSUNG, R.P.; Synthesis and UV Studies of A Small Library of 6-

Aryl-4-hydroxy-2-pyrones. A Relevant Structural Feature for the Inhibitory Property of Arisugacin Against Acetylcholinesterase. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 13683-13696.

ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **1961**, *7*, 88-95.

ELLNAIN-WOJTASZEK, M.; KRUCZYNSKI, Z.; KASPRZAK, J. Investigation of the free radical scavenging activity of *Ginkgo biloba* L. leaves. *Fitoterapia*, **2003**, *74*, 1-6.

FAN, Q.; LIN, L.; LIU, J.; HUANG, Y.; FENG, X.; ZHANG, G.; Highly Enantioselective Hetero-Diels-Alder Reaction of Brassard Diene with Aromatic Aldehydes. *Organic Letters*, **2004**, *6*, 2185 – 2188.

FANG, Y.Y., SHEN, R.X., SUN, H.W., YUAN, M.X., LIU, J., LI, Z.M., LAI, C.M. Mechanism Analysis of Catalytic Hydrogenation of 3-anilinomethylidene-6-alkyl-5,6-2H-dihydropyran-2,4-diones. *Journal of Molecular Structure (THEOCHEM)*, **2002**, *578*, 71-78.

FARKAS, L.; NOGRADI, M.; SUDARSANAM, V.; HERZ, W. Constituents of *Iva* Species. V. Isolation, Structure, and Synthesis of Nevadensin, a New Flavone from *Iva Nevadensis* M. E. Jones and *Ivu Acerosa* (Nutt.) Jackson. *Journal of Organic Chemistry*, **1966**, *31*, 3228-3232.

FEDORYNSKI, M.; WOJCIECHOWSKI, K.; MATA CZ, M.; MAKOSKA, Z. Reactions of organic anions. 86. Sodium and Potassium Carbonates: Efficient Strong Bases in Solid-Liquid Two-Phase Systems. *Journal of Organic Chemistry*, **1978**, *43*, 4682 - 4684.

FEHR, M.J.; CONSIGLIO, G.; SCALONE, M.; SCHMID, R. Assymmetric Hydrogenation of Substituted 2-Pyrones. *Journal of Organic Chemistry*, **1999**, *64*, 5768 – 5776.

FERRIS, J.P.; SULLIVAN, C.E.; WRIGHT, B.G. Steric Effects in Ambident Ions. The Acylation of Cyclic β -keto Esters. *Journal of Organic Chemistry*, **1964**, *29*, 87 - 91.

GANELLIN, C.R. *Past Approaches to Discovering New Drugs In: Medicinal Chemistry for the 21st Century*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1992**.

GARST, M.E.; MCBRIDE, B.J. Alkylation of Enolates from β -dicarbonyl Compounds with Sulfonium Salt Electrophiles. *Journal of Organic Chemistry*, **1983**, *48*, 1362-1364.

GE, P.; KIRK, K. Synthesis of 2-Deoxy-L-ascorbic Acid. *Journal of Organic Chemistry*, **1996**, *61*, 8671 – 8673.

GLEITZ, J.; FRIESE, J.; BEILE, A.; AMERI, A.; PETERS, T. Anticonvulsive action of (\pm)-kavain estimated from its properties on stimulated synaptosomes and Na⁺ channel receptor sites. *European Journal of Pharmacology*, **1996**, *315*, 89-97.

GONZALEZ, F.G.; PORTELA, T.Y.; STIPP, E.J.; DI STASI, L.C. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, **2001**, *77*, 41-47.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3.ed. Oxford, New York, 2000.

HANAWA, F.; YAMADA, T.; NAKASHIMA, T.; Phytoalexins from *Pinus strobes* Bark Infected with Pinewood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Phytochemistry*, **2001**, *57*, 223 – 228.

HARTMAN, W.W.; PHILLIPS, R.; Diphenylmethane, *Organic Syntheses, Coll.*, **1943**, *2*, 232 – 234.

HERMES-LIMA, M., STOREY, K.B. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **1998**, *120 B*, 437-448.

HINTERDING, K.; SINGHANAT, S.; OBERER, L.; Stereoselective Synthesis of Polyketide Fragments Using a Novel Intramolecular Claisen-like Condensation/Reduction Sequence. *Tetrahedron Letters*, **2001**, *42*, 8463-8465.

HOLLMAN, P.C.H.; Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2001**, *81*, 842-852.

HUCK, W.R.; BURGI, T.; MALLAT, T.; BAIKER, A. Asymmetric Hydrogenation of 4-Hydroxy-6-methyl-2-pyrone: Role of Acid-Base Interactions in the Mechanism of Enantiodifferentiation. *Journal of Catalysis*, **2001**, *200*, 171-180.

HUCK, W.R.; BURGI, T.; MALLAT, T.; BAIKER, A. Palladium-catalyzed Enantioselective Hydrogenation of 2-pyrones: Evidence for Competing Reactions Mechanisms. *Journal of Catalysis*, **2003**, *219*, 41-51.

HUCKIN, S.N.; WEILER, L. Alkylation of Dianions of a β -keto esters. *Journal of the American Chemical Society*, **1974**, *96*, 1082-1087.

IBRAHIMI, S.; SAUVÉ, G.; ESSASSI, E.M. C-versus O-Arylation of an Enol-Lactone Using Potassium Tert-Butoxide. *International Journal of Molecular Sciences*, **2003**, *4*, 371-378.

INGKANINAN, K.; BEST, C.M.; HEIJDEN, R.; HOFTE, A.J.P.; KARABATAK, B.; IRTH, H.; TJADEN, U.R., GREEF, J.; VERPOORTE, R. High-performance liquid chromatography with on-line coupled UV, mass spectrometric and biochemical detection for identification of acetylcholinesterase inhibitors from natural products. *Journal of Chromatography A*, **2000**, *872*, 61-73.

ISHIKAWA, H.; HARAGUCHI, H.; SANCHEZ, Y.; OGURA, T.; KUBO, Y., KUBO, I. Antioxidative constituents in *Heterotheca inuloides*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **1997**, *5*, 865-871.

JAIN, A.C.; KHANNA, V.K.; SESHADRI, T.R. Synthesis and study of 2-C and 4-C methylxanthenes, *Tetrahedron*, **1969**, *25*, 275-282

JANAKIRAMAN, M.N.; WATENPAUGH, K.D.; TOMICH, P.K.; CHONG, K.T.; TURNER, S.R.; TOMMASI, R.A.; THAISRIVONGS, S.; STROHBACH, J.W. Non-Peptidic HIV Protease Inhibitors: C₂-Symmetry-Based Design of bis-Sulfonamide Dihydropyrones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **1998**, *8*, 1237-1242.

JOSHI, B.S.; RANE, D.F.; The structure and synthesis of corymbosin, a flavone from *Webera corymbosa* willd. *Tetrahedron Letters*, **1967**, *8*, 4579-4581.

JUNG, J.H.; MCLAUGHLIN, J.L.; ¹³C-¹H NMR Long-Range Coupling and Deuterium Isotope Effects of Flavanones. *Phytochemistry*, **1990**, *29*, 1271 – 1275.

Junior, C.V.; Bolzani, V.S.; Furlan, M. Fraga, C.A.M.; Barreiro, E.J. Produtos Naturais como Candidatos a Fármacos úteis no Tratamento do Mal de Alzheimer, *Química Nova*, **2004**, *27*, 655-660.

KAMAL, A.; KRISHNAJI, T.; KHANNA, G.B. Chemoenzymatic Synthesis of Enantiomerically Enriched Kavalactones. *Tetrahedron Letters*, **2006**, *47*, 8657 – 8660.

KASHIHARA, H.; SHINOKI, H.; SUEMUNE, H.; SAKAI, K. Novel Synthesis of Indan Derivatives. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **1986**, *34*, 4527-4532.

KIEGIEL, J.; JÓZMIK, J.; WOZNIAK, K.; JURCZAK, J. Synthesis and Asymmetric hydrogenation of 3,5-dioxoheptanedionates. Preparation of Enantiomerically Pure Substituted δ -valerolactones. *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*, 4959 – 4963.

KOURY, J.C.; DONANGELO, C.M.; Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Revista de Nutrição*, **2003**, *16*, 433-441.

KURTS, A.L.; GENKINA, N.K.; MACIAS, A.; BELETSKAYA, L.P.; REUTOV, O.A. Reactivity of Ambident Anions : Hardness of Alkyl Groups and Symbiotic Effect in Alkylation of Ambident Anions, *Tetrahedron*, **1971**, *27*, 4777-4785.

LANDI, J. J.; GAROFALO, L.M.; RAMING, K. A New Route to β -keto- δ -lactones: Practical Preparation of (R)-3-hexyl-5,6-dihydro-4-hydroxy-6-undecyl-2H-pyran-2-one, a Key Intermediate in the Asymmetric Synthesis of Tetrahydrolipstatin. *Tetrahedron Letters*. **1993**, *34*, 277-280.

LE NOBLE, W.J. *Highlights of Organic Chemistry, an Advanced Textbook*, New York, ed. Dekker. 1974; p 822.

LE NOBLE, W.J.; MORRIS, H.F.; O vs. C Alkylation of Ethyl Acetoacetate. *Journal of Organic Chemistry*, **1969**, *34*, 1969.

LEE, I.; HAN, I.S.; KIM, C.K.; LEE, H.W. Theoretical Studies on the Structure and Acidity of Meldrum's Acid and Related Compounds. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **2003**, *24*, 1141-1149.

LERMER, L.; NEELAND, E.G.; OUNSWORTH, J.P.; SIMS, R.J.; TISCHLER, S.A.; WEILER, L. The Synthesis of β -keto Lactones via Cyclization of β -keto Ester Dianions or the Cyclization of Meldrum's Acid Derivatives. *Canadian Journal of Chemistry*, **1992**, *70*, 1427 – 1445.

LI, H.; TATLOCK, J.; LINTON, A.; GONZALEZ, J.; BORCHARDT, A.; DRAGOVICH, P.; JEWELL, T.; PRINS, T.; ZHOU, R.; BLAZEL, J.; PARGE, H.; LOVE, R.; HICKEY, M.; DOAN, C.; SHI, S.; DUGGAL, R.; LEWIS, C.; FUHRMAN, S. Identification and Structure-based Optimization of Novel Dihydropyrones as Potent HCV RNA Polymerase Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, *16*, 4834-4838.

LIN, L.; FAN, Q.; QIN, B.; FENG, X.; Highly Enantio- and Diastereoselective Brassard Type Hetero-Diels-Alder Approach to 5-Methyl-Containing α,β -Unsaturated δ -Lactones, *Journal of Organic Chemistry*, **2006**, *71*, 4141 – 4146.

LIU, K.; XU, L.; Synthesis of 5,6-dihydro-4-hydroxy-2-pyrones via Formal Cycloaddition Reactions. *Tetrahedron Letters*. **2000**, *41*, 3299 – 3302.

MARTINS, D.T.O.; SARTORI, N.T.; OLIVEIRA, J.C. Avaliação da atividade antiulcerogênica de *Calophyllum brasiliense* Camb (Guanandi). In: XIII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, Fortaleza, Brasil, 1994. **Resumos**. Fortaleza, **1994**.

MATSUDA, H.; LI, Y.; YOSHIKAWA, M. Gastroprotections of escins Ia, Ib, IIa, and IIb on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats, *European Journal of Pharmacology*, **1999**, *373*, 63-70.

MIDLAND, M.M; GRAHAM, R.S. High Threo Diastereoselectivity via Europium(III)-Catalyzed Cyclocondensation of a Silyloxy Diene with α -Alkoxy Aldehydes. Synthesis of (-) –Pestalotin. *Journal of the American Chemical Society*, **1984**, *106*, 4294 – 4296.

MIDLAND, M.M; KOOPS, R.W.; Asymmetric Hetero-Diels-Alder Reaction of α -Alkoxy Aldehydes with Activated Dienes. The Scope of Lewis Acid Chelation-Controlled Cycloadditions. *Journal of Organic Chemistry*, **1990**, *55*, 5058-5065.

Murray, A.; Rathbone, A.J.; Ray, D.E.; Novel protein targets for organophosphorus pesticides in rat brain. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **2005**, *19*, 451-454.

NIKI, E.; Antioxidant activity: are we measuring it correctly? *Nutrition*, **2002**, *18*, 524-525.

NOLDIN, V.F.; ISAIAS, D.B.; FILHO, V.C. Gênero *Calophyllum*: Importância Química e Farmacológica. *Química Nova*, **2006**, *29*, 549 – 554.

OATES, P.J.; HAKKINEN, J.P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterology*, **1988**, *94*, 10-21.

OLIVEIRA, F.A.; VIEIRA-JÚNIOR, G.M.; CHAVES, M.H.; ALMEIDA, F.R.C.; FLORÊNCIO, M.G.; LIMA, R.C.P. SILVA, RM.; SANTOS, F.A.; RAO,V.S. N. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. *Pharmacological Research*, **2004**, *49*, 105-111.

OLIVEIRA, J.C. & MARTINS, D.T.O. Avaliação da atividade analgésica da *Calophyllum brasilienses*. In: XIII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, Fortaleza, Brasil, 1994. **Resumos**. Fortaleza, **1994**.

OLIVEIRA, J.C.; MORETO, D.R. & MARTINS, D.T.O. Propriedades farmacológicas gerais da *Calophyllum brasilienses* Camb (Guanandi). In: XIII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, Fortaleza, Brasil, 1994. **Resumos**. Fortaleza, **1994**.

OTOGURO, K.; KUNO, F.; OMURA, S. Arisugacins, selective acetylcholinesterase inhibitor of microbial origin. *Pharmacological & Therapeutics*, **1997**, *76*, 45-54.

PARK, J.S.; CHOI, M.A.; KIM, B.S.; HAN, I.S.; KURATA, T. YU, R. Capsaicin protects against ethanol-induced oxidative injury in the gastric mucosa of rats, *Life Sciences*, **2000**, *67*, 3087-3093.

PAWLAK, W., KEDZIORA, J., ZOLYNSKI, K., KEDZIORA-KOMATOWSKA, K., BLASZAZYK, J., WITKNOWSKI, P., ZICLENIEWSKI, J. Effect of long term bed rest in man on enzymatic antioxidative defence and lipid peroxidation in eritrocytes. *Journal of Gravitational Physiology*, **1998**, 163-164.

PETERSON, J.R.; WINTER, T.J.; MILLER, C.P. Efficacious Entry Into Substituted 5,6-dihydro-4-hydroxy-2H-pyran-2-ones and 2,3-didhydro-4H-pyran-4-on Utilizing Ketonic Dianions. *Synthetic Communications*, **1988**, *18*, 949-963.

PIERRES, C.; GEORGE, P.; HIJFTE, L.; DUCEP, J.B.; HIBERT, M.; MANN, A.; Polymer-supported Electron-rich Diene for Hetero-Diels-Alder Reaction. *Tetrahedron Letters*, **2003**, *44*, 3645 – 3647.

RACHEDI, Y., HAMDY, M., SPÉZIALE, V. New Condensation Products from 5,6-dihydro-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone. *Synthetic Communications*, **1990**, *20*, 2827-2836.

RAVELONJATO, B.; KUNESCH, N. & POISSON, J. E. Neoflavonoids from the stem bark of *Calophyllum verticilatum*. *Phytochemistry*. **1987**, *26*, 2973-2976.

RAY, D.E. Chronic effects of low level exposure to anticholinesterases: a mechanistic review. *Toxicology Letters*, **1998**, *102-103*, 527-533.

REHDER, K.S.; KEPLER, J.A. Total synthesis of Calanolide A. *Synthetic Communications*, **1996**, *26*, 4005-4021.

RHEE, I.K.; MEENT, M.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from *Amaryllidaceae* using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of Chromatography A*, **2001**, *915*, 217-223.

RHOADS, S.J.; HASBROUCK, R.W. A Kinetic Study of C- and O-alkylation of Some Cyclic β -keto esters. *Tetrahedron*, **1966**, *22*, 3557-3570.

ROBERT, A.; NEZAMIS, J. E.; LANCASTER, C.; HANCHAR, A. J. Cytoprotection by Prostaglandins in Rats. *Gastroenterology*, **1979**, *77*, 433-443.

ROTUNDO, R.L.; ROSSI, S.G.; KIMBELL, L.M.; RUIZ, C.; MARRERO, E. Targeting acetylcholinesterase to the neuromuscular synapse. *Chemical-biological Interactions*, **2005**, *157-158*, 15-21.

SALVADOR, M., HENRIQUES, J.A.P. *Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo*. 1a Ed. Editora da ULBRA, Canoas, **2004**, 200.

SAMARAWEEERA, U.; SOTHEESWARAN, S. & SULTANBAWA, M.U.S. Bark acids of seven *Calophyllum* species (Guttiferae). *Journal of the Chemical Society: Perkin Transactions I*. **1983**, 703-706.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **1998**, *76*, 270-276.

SATO, M.; SAKAKI, J.; SUGITA, Y.M.; NAKANO, T.; KANEKO, C. Highly Enantioselective Reduction of Acetoacetylated Meldrum's Acid with Fermenting Baker's Yeast. *Tetrahedron Letters*, **1990**, *31*, 7463 - 7466.

SATO, M.; SUNAMI, S.; KANEKO, C.; SATOH, S.; FURUYA, T. 6-Methyl-3-benzylidene-5,6-dihydropyran-2,4-dione: Synthesis and Diastereoselectivity. *Tetrahedron Asymmetry*, **1994**, *5*, 1665-1668.

SATO, M.; BAN, H.; KANEKO, C. An Efficient Method for Generation of α -Oxoketenes: Cycloreversion of Enolized Meldrum's Acid Derivatives. *Tetrahedron Letters*, **1997**, *38*, 6689-6692.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutrição*, **2004**, *17*, 227-236.

SHCHEPIN, V.V.; KORZUN, A.E.; NEDUGOV, A.N.; SAZHNEVA, Y.K.; SHUROV, S.N.; Synthesis of 6-Aroyl-3,3,5,5-tetramethyl-2,3,5,6-tetrahydropyran-2,4-diones and their Reactions with Phenylhydrazine. *Russian Journal of Organic Chemistry*, **2002**, *38*, 248 – 250.

SHCHEPIN, V.V.; KORZUN, A.E.; SAZHNEVA, Y.K.; Synthesis of 6-Hetaryl-5,5-dialkyl-3,3-dimethyl-tetrahydropyran-2,4-diones by Reformatsky Reaction. *Russian Journal of Organic Chemistry*, **2004**, *40*, 1500 – 1502.

SIK, K.J.; SHIN-YA, K.; FURIHATA, K.; HAYAKAWA, Y.; SETO, H. Structure of Mescengricin, a Novel Neuronal Cell Protecting Substance Produced by *Streptomyces griseoflavus*. *Tetrahedron Letters*, **1997**, *38*, 3431-3434.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A.; Métodos para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante. *Química Nova*, **1999**, *22*, 94 – 103.

SINGH, R.; SINGH, V. K. Facile One-Step Synthesis of β -alkoxy Lactone via Sequential Lactonization and 1,4-addition of Alkoxide Group: Total Synthesis of all Stereoisomers of Dihydrokawain-5-ol. *Journal of Organic Chemistry*, **2004**, *69*, 3425-3430.

SOLER-RIVAS, C.; ESPIN, J.C.; WICHERS, H.J.; An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analysis*, **2000**, *11*, 1-9.

SORIENTE, A.; DE ROSA, M.; STANZIONE, M.; VILLANO, R.; SCETTRI, A. An efficient asymmetric aldol reaction of Chan's diene promoted by chiral Ti(IV)-BINOL complex, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, *12*, 959-963

SORIENTE, A.; DE ROSA, M.; STANZIONE, M.; SCETTRI, A. Enantioselective aldol condensation of 1,3-bis-(trimethylsilyloxy)-1-methoxy-buta-1,3-diene promoted by chiral Ti(IV)/BINOL complex, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2000**, *11*, 2255-2258.

SOUZA, L.C. Síntese e Avaliação das Atividades Antiúlcera e Moluscicida da 5,6-Dimetil-diidro-piran-2,4-diona e Análogos 6-Substituídos, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas, **2002**.

SOUZA, L.C.; ARAÚJO, S.M.S.; PEREIRA, D.S.T.; LOPEZ, A.M Q.; IMBROISI, D.O.; Avaliação farmacológica da 6-FDPD, precursor na síntese da pinocembrina. In 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, **2003**.

STOUT, G.H. & BRECK, G.D. *Calophyllum* products VI. The side chains of the *Calophyllum inophyllum* acids. *Tetrahedron Letters*. **1970**, *23*, 1999-2002.

TABUCHI, H.; HAMAMOTO, T.; MIKI, S.; TEJIMA, T.; ICHIHARA, A. Total Synthesis and Stereochemistry of Alternaric Acid. *Journal of Organic Chemistry* **1994**, *59*, 4749-4759

THAISRIVONGS, S.; TOMICH, P.K.; WATENPAUGH, K.D.; CHONG, K.T.; HOWE, W.J.; YANG, C.P.; STROHBACH, J.W.; TURNER, S.R.; MCGRATH, J.P.;

BOHANON, M.J.; LYNN, J.C.; MULICHAK, A.M.; SPINELLI, P.A.; HINSHAW, R.R.; PAGANO, P.J.; MOON, J.B.; RUWART, M.J.; WILKINSON, K.F.; RUSH, B.D.; ZIPO, G.L.; DALGA, R.J.; SCHWENDE, F.J.; HOWARD, G.M.; PADBURY, G.E.; TOTH, L.N.; ZHAO, Z.; KOEPLINGER, K.A.; KAKUK, T.J.; COLE, S.L.; ZAYA, R.M.; PIPER, R.C.; JEFFREY, P. Structure-Based Design of HIV Protease Inhibitors: 4-Hydroxycoumarins and 4-Hydroxy-2-pyrones as Nonpeptidic Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1994**, *37*, 3200-3204.

TOPOL, I.A.; BURT, S.K.; RASHIN, A.A.; ERICKSON, J.W.; Calculation of Substituent Effects on pK_a Values for Pyrone and Dihydropyrone Inhibitors of HIV-1 Protease. *Journal of Physical Chemistry A*, **2000**, *104*, 866 – 872.

TURNER, S.R.; STROHBACH, J.W.; TOMMASI, R.A.; ARISTOFF, P. A.; JOHNSON, P.D.; SKULNICK, H.I.; DOLAK, L.A.; SEEST, E.P.; TOMICH, P.K.; BOHANON, M.J.; HORNG, M.M.; LYNN, J.C.; CHONG, K.T.; HINSHAW, R.R.; WATENPAUGH, K.D.; JANAKIRAMAN, M.N.; THAISRIVONGS, S. Tipranavir (PNU-140690): A Potent, Orally Bioavailable Nonpeptidic HIV Protease Inhibitor of the 5,6-Dihydro-4-hydroxy-2-pyrone Sulfonamide Class. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1998**, *41*, 3467-3476.

VANDERWAL, C.D; VOSBURG, D.A.; WEILER, S.; SORENSEN, E.J. Postulated Biogenesis of WS9885B and Progress toward an Enantioselective Synthesis. *Organic Letters*, **1999**, *1*, 645-648.

VANDERWAL, C.D; VOSBURG, D.A.; WEILER, S.; SORENSEN, E.J. Intramolecular Allenolate Acylations in Studies toward a Synthesis of FR182877. *Organic Letters*, **2001**, *3*, 4307-4310.

VASCONCELOS, G.R.; ALVES, A.L.; LIMA, M.H. Radicais livres, antioxidantes e a adaptabilidade animal. In: EL-HANI, C.N.; VIDEIRA, A.A.P. (Org.). O Que é Vida ? Para Entender a Biologia do Século XXI. Rio de Janeiro: Editora Relume Dumará, 2000, v. , p. 209-231.

WALDMANN, H.; BRAUN, M.; DRÄGER, M. Asymmetric aza Diels-Alder reactions of amino acid ester imines with Brassard's diene. *Tetrahedron Asymmetry*, **1991**, *2*, 1231-1246.

WANG, M.; SHAO, Y.; LI, J.; ZHU, N.; RANGARAJAN, M.; LAVOIE, E.J.; HO, C.T. Antioxidative Phenolic Glycosides from Sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Natural Products*, **1999**, *62*, 454 -456,

WATENPAUGH, K.D.; THAISRIVONGS, S.; ROMERO, D.L.; TOMMASI, R.A.; JANAKIRAMAN, M.N.; STROHBACH, J.W.; TURNER, S.R.; BILES, C.; MORGE, R.R.; JOHNSON, P.D.; ARISTOFF, P.A.; TOMICH, P.K.; LYNN, J.C.; HORNG, M.M.; CHONG, K.T.; HINSHAW, R.R.; HOWE, W.J.; FINZEL, B.C. Structure-Based Design of HIV Protease Inhibitors:5,6-Dihydro-4-Hydroxy-2-Pyrones as Effective Nonpeptidic Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1996**, *39*, 4630-4642.

WEST, F.G.; FISHER, P.V.; ARIF, A.M. Intramolecular alkene trapping of pyran-4-one-derived Zwitterions: a novel synthesis of diquinanes and hydrindans. *Journal of the American Chemical Society*, **1993**, *115*, 1595-1597.

WINKLER, J.D.; OH, K.; A One-step Synthesis of 2,3-dihydro-4H-pyran-4-one from 3-Ethoxy α,β -Unsaturated Lactones, *Organic Letters*, **2005**, *7*, 2421 - 2423

XU, C.; YUAN, C.; *Candida Rugosa* Lipase-Catalyzed Kinetic Resolution of β -hydroxy- β -arylpropionates and δ -hydroxy- δ -aryl- β -oxo-pentanoates. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 2169-2186

XU, C.; ZHANG, Y.; YUAN, C. A Chemoenzymatic Approach to Optically Active 5-Hydroxy-3-oxo-carboxylates. *Synlett*, **2004**, *3*, 485-488.

YANG, X.; SUN, Y.; XU, Q.; GUO, Z. Synthesis and immunosuppressive activity of L-rhamnopyranosyl flavonoids. *Organic Biomolecular Chemistry*, **2006**, *4*, 2483 – 2491.