

Universidade Federal de Santa Catarina  
Curso de Pós-Graduação em Química  
Departamento de Química

LEANDRO ESPÍNDOLA

SÍNTESE DE ANÁLOGOS E ISÓSTEROS DA ESCOPOLETINA,  
UMA CUMARINA BIOATIVA ISOLADA DA ESPÉCIE VEGETAL  
*POLYGALA SABULOSA A. W. BENNETT*

Dissertação submetido (a) ao Programa de  
.Pós-Graduação em Química.. da  
Universidade Federal de Santa Catarina  
para a obtenção do Grau de mestre em  
química

Orientador: Prof. Dr. Moacir G. Pizzolatti

FLORIANÓPOLIS-SC

2012

Catálogo na fonte elaborada pela biblioteca da  
Universidade Federal de Santa Catarina

E77s Espíndola, Leandro

Síntese de análogos e isósteros da escopoletina, uma cumarina bioativa isolada da espécie vegetal *Polygala Sabulosa* A. W. Bennett [tese] / Leandro Espíndola ; orientador, Moacir Geraldo Pizzolatti. - Florianópolis, SC, 2012.

81 p.: il., grafs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Escopoletina. 3. Ervas - Brasil, Sul. 4. Cumarinas. I. Pizzolatti, Moacir Geraldo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

Leandro Espíndola

SÍNTESE DE ANÁLOGOS E ISÓSTEROS DA ESCOPOLETINA,  
UMA CUMARINA BIOATIVA ISOLADA DA ESPÉCIE VEGETAL  
*POLYGALA SABULOSA A. W. BENNETT*

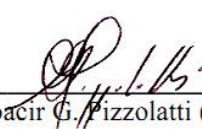
Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do título de  
**Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química** da  
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, março de 2012

---

Prof. Dr. Almir Spinelli  
Coordenador do Programa

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Moacir G. Pizzolatti (Orientador)

---

Prof. Dr. Vanderlei G. Machado (UFSC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Beatriz G. Mendes Borba (UFSC-Curitiba)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lilian Sibelle C. Bernardes (UFSC)



## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Departamento de Química pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao CNPQ e a Capes pelo apoio financeiro.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti, pela orientação, incentivo e liberdade de trabalho, que proporcionou todas as condições pra o eu desenvolvimento intelectual.

Ao amigo Dr. Cristian Soldi, por todo apoio, orientação e incentivo durante todas as etapas deste trabalho, sem o qual nada disso seria possível.

Aos professores Dr. Vanderlei Gageiro Machado, Dra. Beatriz Mendes Borba, e Dra. Lilian Sibelle Campos Bernardes membros da banca examinadora por gentilmente aceitar o convite para avaliar e contribuir com o nosso trabalho.

Aos demais Professores do Departamento de Química.

À Central de Análises do Departamento de Química da UFSC.

Aos meus pais Ivólvir Espíndola e Osmarino Marino Espíndola pela educação, apoio e incentivo durante toda a minha vida.

À minha irmã Patrícia Espíndola, minha grande incentivadora, pelo auxílio durante toda minha vida escolar, e pela grande amiga que sempre foi.

Ao meu irmão Marcelo Espíndola, pelos momentos de descontração, que foram muito importantes durante toda jornada.

Palavras são pouco para agradecer todo carinho, compreensão e companheirismo que Evelyn Ribas de Andrade teve comigo durante todos os momentos.

Aos amigos do Laboratório de Química de Produtos Naturais Heros, Luciana (Luci), Liza, Fran, Aldo, Mauro, Henrique, Gustavo (Baiano), Tiago, Suellen, Guilherme, Ana Paula, Ingrid, Rafael com certeza todos deixaram importantes contribuições e aprendizados para minha vida.

Aos amigos Daniel Alfonso Spudeit, Thiago Guimarães Costa, Janh Rodrigues, Alex Latino, Carlos Geovanni Alvez Ledra, Jonatta

Pereira, Diogo Brati, Waléria Karine Pinheiro, André Manoel Rogério, Giulliani, Rodrigo, Claudir, Luna, e a todos os grandes amigos de todos os momentos e de todos os lugares.

## RESUMO

A espécie *Polygala sabulosa*, conhecida popularmente como “Timuto Pinheirinho” é uma pequena erva que cresce nas montanhas do sul do Brasil. As plantas do gênero *Polygala* são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de algumas patologias, incluindo distúrbios renais e intestinais, e são usados também como analgésico e expectorante. Recentemente, nosso grupo de pesquisa relatou a presença das cumarinas 6-metoxi-7-preniloxicumarina e escopoletina as quais exibiram interessante efeito analgésico e tripanocida. Agora nosso interesse está na preparação de derivados análogos da escopoletina bem como a síntese de uma quinolinona isótere da escopoletina, para futura avaliação dos efeitos que estas modificações causarão na atividade biológica. Com isso 5 derivados benzoilados *p*-substituídos da escopoletina foram preparados através da metodologia que utiliza cloreto de benzoíla em piridina sob refluxo. Para a síntese da quinolinona isótere da escopoletina foi utilizado como material de partida a vanilina, por esta apresentar o mesmo padrão de substituição da escopoletina. A primeira etapa foi a benzilação da vanilina utilizando brometo de benzila e  $K_2CO_3$  em acetona, em seguida, foi realizada a nitração utilizando-se uma solução  $HNO_3/H_2SO_4$  com temperatura próxima a  $0^\circ C$ . A seqüência do trabalho se deu através da redução do grupo nitro utilizando ferro em uma mistura de etanol/ácido acético e água. Posteriormente, foi feita a ciclização utilizando malonato de dietila e piperidina em etanol, a hidrólise do grupo éster foi feita utilizando  $HCl$  2 mol/L, e a debenzilação através da reação com  $HBr$  e aquecimento. Por fim, foram testados 5 metodologias para a descarboxilação do produto final, e assim obter a quinolinona com o mesmo padrão de substituição da escopoletina, porém esta etapa ainda não foi alcançada e continua sendo alvo de estudo. Os compostos foram caracterizados através de análise espectrométrica de IV, RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  e análises elementares. Os rendimentos obtidos ficaram entre 53-97%.





## ABSTRACT

The species *Polygala sabulosa*, mostly known as “Timuto Pinheirinho” is a little plant that grows in mountains of southern Brazil. The plants of genus *Polygala* are used in traditional medicine for the treatment of some pathologies, including kidney and intestinal and they are also used as an analgesic and an expectorant. Recently our research group reported the presence of coumarins 6-methoxy-7-preniloxycoumarin and scopoletin which has exhibited interesting effect analgesic and trypanocidal. Now our interest is in the preparation of similar derivatives of scopoletin as well as the synthesis of a quinolinone isoster of scopoletin, for further evaluation of the effects that cause these changes in biological activity. With that 5 derivatives benzoylates p-replaced of scopoletin were prepared through a methodology that uses benzoyl chloride in pyridine under reflux. For the synthesis of quinolinone isoster of scopoletin was utilized as starting material vanillin, by this present the same substitution pattern of scopoletin. The first step was the benzilation of vanillin using benzyl bromide and  $K_2CO_3$  in acetone, then, we had held the nitration using a solution of  $H_2SO_4/HNO_3$  with temperature near  $0^\circ C$ . The sequence of work is given by reduction of nitro group using iron powered in a mixture of ethanol/acetic acid and water. It has subsequently made the cyclization using diethylmalonate and piperidine in ethanol, the hydrolysis of ester group was made using  $HCl$  2 mol/L, and the debenzilation by reaction with  $HBr$  and heating. We had finally tested five methodologies for decarboxylation of the final product and thus obtain the quinolinone isoster with the same substitution pattern of scopoletin, however this step has not yet been achieved and remains the focus of studies. The compounds were characterized by analyses of IR,  $^1H$  NMR and  $^{13}C$  NMR and elemental analyses. The yields obtained were among 53 -97%.



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do paracetamol (5), aspirina (4), escopoletina (1) e derivados (3), (2).....	20
Figura 2: Estruturas moleculares de compostos isolados de <i>P. sabulosa</i> . .....	23
Figura 3: Estrutura dos antibióticos nibomicina (9) e desoxinibomicina (10). .....	28
Figura 4: Estrutura dos compostos estudados por Kalkhambkar e colaboradores. ....	29
Figura 5: Estrutura dos compostos estudados por Barraja e colaboradores. ....	29
Figura 6: Estrutura do aril-3-(3-aril-1-oxo-2-propenil)-2-quinolinonas	30
Figura 7: Estrutura dos derivados estudados por Chen e colaboradores. .....	31
Figura 8: Estrutura do TA-270.....	31
Figura 9: Estruturas do cilostazol (20), cilostamida (21) e 6-[3-[3-ciclopropil-3-[(1R,2R)-2-hidroxicicloexil]ureia]propoxi]-2-quinolinona (22).....	32
Figura 10: Espectro de infravermelho da escopoletina (1).....	52
Figura 11: Espectro de RMN <sup>1</sup> H da escopoletina (1). ....	53
Figura 12: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do composto <i>p</i> -clorobenzoilescopoletina (33). ....	56
Figura 13: Espectro de IV do composto BVAN (36).....	61
Figura 14: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do composto BVAN (36).....	61
Figura 15: Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do composto BVAN (36).....	62
Figura 16: Espectro de IV do composto NBVAN (37) .....	64

Figura 17: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto NBVAN (37) .....	64
Figura 18: Espectro de IV do composto ABVAN (38) .....	66
Figura 19: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto ABVAN (38) .....	66
Figura 20: Espectro de IV do composto MBCEQ (39) .....	69
Figura 21: Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto MBCEQ (39).....	69
Figura 22: Espectro de IV do composto MBCQ (40) .....	71
Figura 23: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto (40) MBCQ .....	72
Figura 24: Espectro de IV do composto MCQ (41) .....	74
Figura 25: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto MCQ (41). .....	74
Figura 26: Estrutura do composto 7-hidróxi-6-metoxi-2-quinolinona (42).....	75
Figura 27: Estrutura do composto 4-amino-3-carboxi-2-quinolinona ..	76
Figura 28: Estrutura base da série de quinolinona estudada por Fossa et al.....	79

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Atividade antinociceptiva de alguns compostos no modelo de dor induzida pelo ácido acético.....	20
Tabela 2: regra do deslocamento de hidreto abaixo do átomo em cada coluna, seus pseudoátomos. ....	27
Tabela 3: Análise elementar de CHN do composto ABVAN (38) .....	67
Tabela 4: Resultados obtidos na debenzilação do 41 (MCQ) .....	73

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Síntese de quinolinona estudada por Darque et al <sup>38</sup> .....	33
Esquema 2: Síntese do 4,4-bis(etoxicarbonil)-3,4-dihidro-2-quinolinonas .....	33
Esquema 3: Representação da reação estudada por Minville e colaboradores <sup>25</sup> .....	34
Esquema 4: Síntese do 4-hidroxi-2-quinolinona .....	34
Esquema 5: Síntese estudada por Hoon Kin e colaboradores <sup>41</sup> .....	35
Esquema 6: Síntese do composto <i>O</i> -benzilvanilina .....	42
Esquema 7: Síntese do 4-benzilóxi-6-nitrovanilina .....	43
Esquema 8: Síntese do 4-benziloxi-6-aminovanilina .....	44
Esquema 9: Rota sintética do composto (39) (MBCEQ) .....	45
Esquema 10: Rota sintética do composto (40) (MBCQ).....	46
Esquema 11: Rota sintética do composto (41) (MCQ) .....	47
Esquema 12: Mecanismo de hidrólise da 6-metoxi-7-preniloxicumarina (7).....	51
Esquema 13 : Estrutura dos derivados de escopoletina preparados .....	54
Esquema 14: Mecanismo de formação dos derivados benzoilados da escopoletina.....	55
Esquema 15: Retroanálise da quinolinona isóstere da escopoletina.....	57
Esquema 16: Estruturas de ressonância da vanilina frente a ativação pelo grupo metoxila .....	58
Esquema 17: Estruturas de ressonância da vanilina frente a ativação pelo grupo hidroxila .....	59
Esquema 18: Mecanismo de reação de benzilação da vanilina.....	60
Esquema 19: Mecanismo de nitração do <i>O</i> -benzilvanilina .....	63

Esquema 20: Mecanismo de reação para formação do produto MBCEQ (39).....	68
Esquema 21: Mecanismo de reação de hidrólise do grupo éster.....	70
Esquema 22: Mecanismo de hidrólise ácida de éter .....	73
Esquema 23: Mecanismo de descarboxilação catalisado por base.....	77
Esquema 24: Descarboxilação de um $\beta$ -cetoácido.....	78
Esquema 25: Equilíbrio entre as formas ceto-enólica da molécula de quinolinona .....	79
Esquema 26: Mecanismo de descarboxilação de ácidos aromáticos com ácido sulfúrico.....	81
Esquema 27: Mecanismo de descarboxilação na presença de um grupo doador de elétrons orto ao grupo carboxílico.....	84
Esquema 28: Ressonância do par de elétrons do nitrogênio com a carbonila do anel lactâmico.....	84
Esquema 29: Árvore de decisão de Topliss .....	85
Esquema 30: Tentativa futura de descarboxilação.....	86
Esquema 31: Fusão do composto MBCQ (40) com uma aminoxantona .....	87

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABVAN = 4-benziloxi-6-aminovanilina

AcOEt= acetato de etila

AcOH = ácido acético

AX = amino xantona

BVAN = *O*-benzilvanilina

CCD = cromatografia em camada delgada

CQX = composto formado pela fusão do núcleo quinolinônico com a amino xantona

DMF = dimetilformamida

EDC= 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

EtOH = etanol

ID<sub>50</sub> = dose ideal para 50% da população

IV= infravermelho

MBCEQ = 6-metoxi-7-benziloxi-3-carboxietil-2-quinolinona

MBCQ = 6-metoxi-7-benziloxi-3-carboxi-2-quinolinona

MCQ = 6-metoxi-7-hidroxi-3-carboxi-2-quinolinona

NBVAN = 4-benziloxi-6-nitrovanilina

R<sub>f</sub> = índice de retenção

RMN de <sup>1</sup>H = ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN de <sup>13</sup>C = ressonância magnética nuclear de carbono

SAE = substituição aromática eletrofílica

S<sub>N</sub>1 = substituição nucleofílica aromática unimolecular

S<sub>N</sub>2 = substituição nucleofílica aromática bimolecular

TA 270 = 4-hidroxi-1-metil-3-octiloxi-7-sinapinoilamino-2-quinolinona





## SUMÁRIO

1.	Introdução e justificativa.....	19
2.	Revisão bibliográfica.....	23
2.1.	<i>Polygalasabulosa</i> .....	23
2.2.	Escopoletina.....	24
2.3.	Modificação estrutural.....	25
2.4.	Isóstero.....	25
2.4.1.	Regra do deslocamento do hidreto.....	26
2.4.2.	Bioisóstero.....	27
2.5.	Quinolinonas.....	28
3.	Objetivos.....	37
3.1.	Objetivos específicos.....	37
4.	Materiais e métodos.....	39
4.1.	Métodos para purificação dos compostos.....	39
4.2.	Identificação dos compostos.....	39
4.3.	Obtenção de derivados semi-sintéticos da escopoletina.....	40
4.3.1.	Procedimento geral para obtenção da escopoletina a partir da 6-metóxi-7-reniloxicumarina.....	40
4.3.2.	Metodologia geral para obtenção da escopoletina.....	40
4.4.	Síntese de quinolinonas isósteros de cumarinas.....	42
4.4.1.	Síntese do precursor <i>O</i> -benzilvanilina.....	42
4.4.2.	Síntese do 4-benzilóxi-6-nitrobenzilvanilina.....	43
4.4.3.	Síntese do 4-benzilóxi-6-aminobenzilvanilina.....	44
4.4.4.	Síntese do 6-metóxi-7-benzilóxi-3-carboxietil-2-quinolinona.....	45
4.4.5.	Síntese do 6-metóxi-7-benzilóxi-3-carboxi-2-quinolinona.....	46
4.4.6.	Síntese do 6-metóxi-7-hidróxi-3-carboxi-2-quinolinona.....	47
4.4.7.	Descarboxilação do composto MCQ.....	47
5.	Resultados e discussão.....	51
5.1.	Obtenção da escopoletina a partir da 6-metóxi-7-preniloxicumarina.....	51

5.2.	Obtenção de derivados da escopoletina.....	53
5.2.1.	Derivados benzilados da escopoletina.....	54
5.3.	Síntese de quinolinonas isósteros da escopoletina.....	56
5.3.1.	Benzilação da vanilina.....	59
5.3.2.	Nitração do composto <i>O</i> -benzilvanilina.....	62
5.3.3.	Redução do grupo nitro.....	64
5.3.4.	Etapa de ciclização.....	67
5.3.5.	Hidrólise do grupo éster.....	70
5.3.6.	Debenzilação.....	72
5.3.7.	Etapa de descarboxilação.....	75
6.	Conclusões.....	83
7.	Perspectivas.....	85
7.1.	Preparo de novos derivados da escopoletina.....	85
7.2.	Síntese de novos isósteros análogos da escopoletina incluindo benzil e acil derivados com a avaliação do biososterismo.....	85
8.	Referências bibliográficas.....	89

## 1. Introdução e justificativa

A busca pelo alívio da dor e cura de doenças através da utilização de plantas e ervas nas suas mais diversas formas foi possivelmente um dos primeiros modos de utilização dos produtos naturais. E ainda hoje o conhecimento sobre plantas medicinais é muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos.<sup>1,2</sup>

A presença de moléculas bioativas em plantas de interesse medicinal tem sido amplamente estudada nos últimos anos, devido à crescente popularidade dos medicamentos fitoterápicos.<sup>3</sup>

Além de ter fornecido compostos biologicamente ativos por muitos anos, os produtos naturais vem desempenhando um papel importantíssimo, o de fornecer novas moléculas as quais nenhum químico sonhou em sintetizar. Quando as estruturas dos compostos naturais são muito complexas, a síntese em laboratório torna-se inviável. Porém, estas substâncias podem servir como base para a semi-síntese de compostos biologicamente ativos. Um estudo realizado entre os anos de 1981 e 2006 revelou que 37% dos fármacos existentes são de origem puramente sintética, 17% são compostos sintéticos com um farmacóforo de origem natural, 12% são sintéticos baseados em um modelo de inibidor natural, 28% são produtos naturais com alguma modificação estrutural e 6 % são produtos obtidos diretamente de fontes naturais.<sup>4</sup>

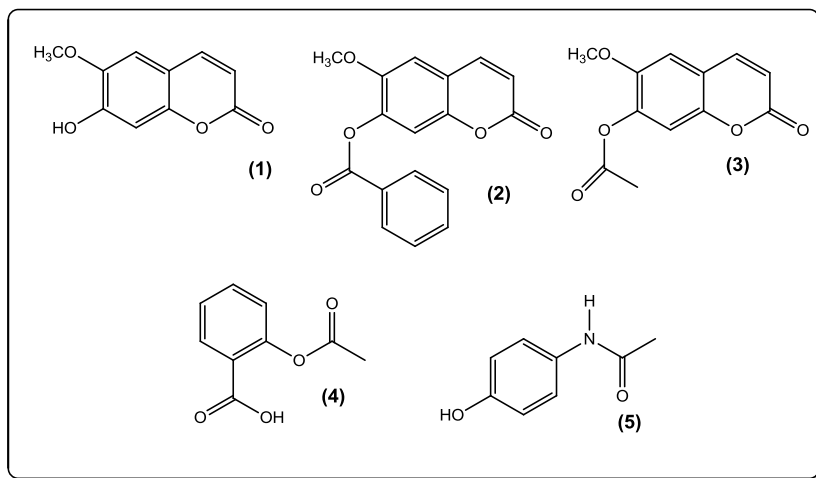
Os compostos naturais que possuem um esqueleto mais simples podem ser sintetizados em laboratório evitando assim o problema de obter pequenas quantidades, em massa, de cada composto isolado da planta. A síntese de produtos naturais é um ótimo caminho para a obtenção de substâncias com potencial atividade biológica.

Estudos realizados anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa<sup>5</sup> mostraram que a escopoletina (**1**) possui um interessante perfil de atividade antinociceptiva no modelo de dor induzida pelo ácido acético com uma  $ID_{50}$  de 0,313  $\mu\text{mol/kg}$  e uma porcentagem de inibição da dor de 96%. Já o seu derivado benzilado (**2**), mostrou um significativo aumento da atividade com uma  $ID_{50}$  de 0,108  $\mu\text{mol/Kg}$  enquanto o derivado acetilado (**3**) mostrou um decréscimo na atividade

antinociceptiva com uma  $ID_{50}$  de 6,75  $\mu\text{mol/kg}$ . Porém, como pode ser observado na **tabela 1**, ainda assim são atividades mais pronunciadas no referido molelo experimental que a de fármacos amplamente comercializados como o paracetamol (**4**) e a aspirina (**5**).

**Tabela 1:** Atividade antinociceptiva de alguns compostos no modelo de dor induzida pelo ácido acético.

Composto	$ID_{50}$ (mg.kg <sup>-1</sup> )	$ID_{50}$ ( $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ )	Inibição (%)
Escopoletina [1]	0,06	0,313	96
Benzoilescopoletina [2]	0,032	0,108	81
Acetilescopoletina [3]	1,56	6,75	83
Paracetamol [4]	18,8	124	88
Aspirina [5]	24,0	133	83



**Figura 1:** Estrutura do paracetamol (**5**), aspirina (**4**), escopoletina (**1**) e derivados (**3**), (**2**).

Em um estudo recente do nosso grupo de pesquisa em parceria com laboratório de neurociência do departamento de bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina, foram efetuados experimentos através do modelo de suspensão da cauda e campo aberto com a

finalidade de testar o potencial antidepressivo da escopoletina (**1**) e alguns derivados benzoilados *p*-substituídos, os resultados mostraram-se excelentes. Isso mostra claramente o alto potencial que a síntese de novos derivados da escopoletina **1** pode trazer para o desenvolvimento de protótipos para estudos de relação estrutura atividade.

Esses dados mostram o grande potencial da escopoletina como molécula modelo para a síntese de novos compostos ativos. Além disso, a escopoletina pode ser facilmente obtida da espécie vegetal *Polygala sabulosa* tornando-se um material de partida acessível para a obtenção de compostos análogos através de simples transformações estruturais. A estrutura molecular da escopoletina (**1**) inspirou a síntese de quinolinonas bioisómeros o que permitirá um estudo mais amplo das relações estrutura-atividade, acrescentando aos efeitos hidrofóbicos, estéricos e eletrônicos, a análise do efeito resultante da troca de um oxigênio heterocíclico (presente na cumarina) por um nitrogênio (presente na quinolinona) sobre a atividade biológica.

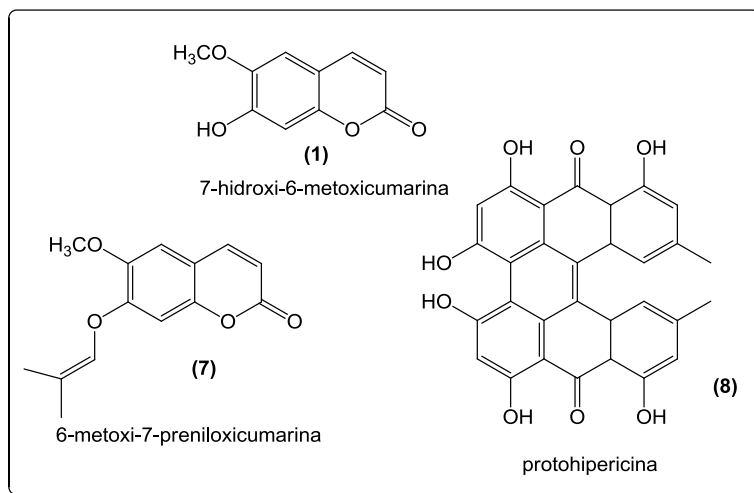


## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. *Polygala sabulosa*

A *Polygala sabulosa* A. W. Bennett popularmente conhecida como “timuto pinheirinho” é uma pequena erva que cresce nas montanhas do sul do Brasil.<sup>6</sup> As plantas do gênero *Polygala* têm sido empregadas na medicina popular para o tratamento de distúrbios intestinais e renais, além de ser utilizadas como analgésico e expectorante.<sup>7</sup> Além desses, há relatos que mostram atividade antiviral,<sup>8</sup> tripanocida,<sup>9</sup> inibidor tumoral<sup>10</sup> e neuroprotetora<sup>11</sup> em espécies do gênero *Polygala*.

Segundo dados da literatura, espécies do gênero *Polygala* demonstraram a presença de cumarinas, saponinas, flavonóides e xantonas.<sup>12, 13, 14</sup> Em estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa foi descrito o processo de isolamento de proto-hipericina (**8**), 6 metoxi-7-preniloxicumarina (**7**), 7-hidroxi-6-metoxicumarina (escopoletina) (**1**), quatro estiril-2-pironas e três di-hidroestiril-2-pironas, na espécie vegetal *Polygala sabulosa*<sup>6, 15, 16</sup>.



**Figura 2:** Estruturas moleculares de compostos isolados de *P. sabulosa*.

Portanto, o estudo quimiossistemático dos componentes encontrados nesta espécie vegetal vem desempenhar um papel importantíssimo, a síntese de compostos análogos aos que foram extraídos diretamente da planta, bem como utilizá-los como modelo para a síntese total de novas moléculas com potencial atividade biológica.

## 2.2 Escopoletina

Em estudos realizados anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa<sup>5</sup> utilizando a *P. sabulosa*, foi encontrada um interessante resultado para o extrato hidroalcoólico em relação à atividade antinociceptiva no modelo de dor induzida pelo ácido acético, apresentando uma ID<sub>50</sub> de 21,3 mg/Kg e um percentual de inibição de 93% da dor. Além disso, as frações etanólicas e de diclorometano, também apresentaram excelentes resultados frente ao mesmo modelo experimental mostrando uma ID<sub>50</sub> de 7,2 mg/Kg e 7,6 mg/Kg e um percentual de inibição da dor de 98% e 73 % respectivamente.

Frente aos bons resultados encontrados, estas duas frações foram submetidas ao fracionamento cromatográfico na busca dos constituintes ativos. Este fracionamento levou ao isolamento do composto majoritário 6-metoxi-7-preniloxicumarina (**7**) que se mostrou inativo frente ao nosso modelo experimental de nocicepção. Entretanto, a busca incessante pelo princípio ativo resultou no isolamento de uma diminuta quantidade de escopoletina (**1**), que quando submetida às análises biológicas, mostrou-se ser responsável pela atividade antinociceptiva apresentada pelo extrato hidroalcoólico, fração etanólica e de diclorometado.

Com base nestes resultados, foi necessária a obtenção de grande quantidade de escopoletina para o aprofundamento dos estudos farmacológicos e possibilitar a obtenção de derivados semi-sintéticos da escopoletina com vistas a estudos de correlação estrutura atividade.

A escopoletina (**1**) (7-hidroxi-6-metoxicumarina) é uma cumarina encontrada na espécie vegetal *Polygala sabulosa*. Estudos realizados com a escopoletina demonstraram uma larga gama de atividades biológicas associadas a escopoletina (**1**), tais como,



anticolinéstrica, antinociceptiva, anti-inflamatória, antitireoidal, anti-hiperglicêmica e antitumoral.<sup>17</sup> Estudo realizado recentemente em colaboração com o nosso grupo de pesquisa, revelou ainda uma potencial atividade antidepressiva associada a escopoletina e seus derivados benzoilados.

### 2.3. Modificação Estrutural

Uma vez obtido um composto de origem natural, o mesmo pode ser submetido a um estudo de modificação estrutural a fim de aperfeiçoar a atividade biológica desempenhada pelo tal. Muitas mudanças podem ser realizadas dependendo dos grupos reativos que a molécula apresenta. Inicialmente procura-se introduzir no composto em estudo, grupos que conferem um aumento ou diminuição na hidrofobicidade ou a introdução de grupo retiradores ou doadores de elétrons, permitindo posteriormente um estudo de relação entre a estrutura química e atividade biológica.<sup>18</sup>

Outro estudo importante na obtenção de moléculas com potencial atividade biológica é a síntese de compostos que contenham um farmacóforo análogo a um composto o qual seja conhecida sua atividade biológica, para verificar a alteração que esta mudança confere à atividade biológica. Outro estudo importante é a síntese de isósteres de compostos extraídos diretamente de uma fonte natural, com a finalidade de verificar se alterações estruturais podem manter ou não a atividade biológica do composto alvo.

### 2.4. Isósteros

O desenvolvimento do conceito de isósteres tem suas raízes na tentativa de ampliar o conhecimento dos elementos das moléculas por inteiro, ou seja, que dois elementos que possuem a mesma configuração eletrônica, também possuem propriedades químicas semelhantes.<sup>18</sup>

Languimuir em 1919<sup>19</sup> definiu o conceito de isosterismo:

*“moléculas são isósteres se elas possuem o mesmo número e arranjo de elétrons. As moléculas isósteres devem conter, portanto, o mesmo número de átomos. A principal diferença*

*entre isósteres está na carga do núcleo dos átomos constituintes.”*

Languimuir cita ainda uma lista com alguns tipos de isósteres, são eles:  $O^{2-}$ ,  $F^-$ ,  $Ne^+$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ , ou  $ClO_4^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$ . Os quais deixam claro que o isosterismo não implica inevitavelmente em espécies isoeletrônicas. Porém é evidente que isósteres isoeletrônicos mostram uma maior analogia.<sup>18</sup>

Em 1932 Erlenmeyer publicou uma série de estudos detalhados sobre o conceito de isosterismo, e particularmente sobre as primeiras aplicações para problemas biológicos.<sup>20</sup> Erlenmeyer propôs sua própria definição de isósteres para elementos, moléculas e íons em que a camada mais externa de elétrons deve ser considerada idêntica.<sup>21</sup> Com isso Erlenmeyer propôs três expansões para o conceito de isosterismo:

- 1) Para todo grupo de elementos presentes em uma mesma coluna na tabela periódica. Assim o silício pode ser isóstere do carbono, e o enxofre do oxigênio.
- 2) Para os pseudoátomos, com o objetivo de incluir grupos que em primeira vista são totalmente diferentes, porém que na prática, possuem propriedades bastante similares. Este é o caso, por exemplo, do  $Cl \approx CN \approx SCN$ .
- 3) Para anéis equivalentes: a equivalência entre  $CH=CH$  e o  $-S-$  explicam a bem conhecida analogia entre benzeno e tiofeno.

#### **2.4.1. Regra do deslocamento do hidreto**

Em 1925, Grimm<sup>22</sup> formulou a regra do “deslocamento de hidreto” que afirma que quando um átomo de hidrogênio é adicionado ao íon  $O^{2-}$  um isótopo do fluoreto é obtido, ou seja, quando um próton é introduzido na camada eletrônica periférica, um “pseudo-F”, em outras palavras um  $OH^-$  é criado. Neste contexto, o  $F^-$  e o  $OH^-$  possuem algumas analogias. Outros pseudo-átomos podem ser encontrados na **Tabela 2.**

**Tabela 2:** regra do deslocamento de hidreto abaixo do átomo em cada coluna, seus pseudoátomos.

Número de elétrons					
6	7	8	9	10	11
C <sup>4-</sup>	N <sup>3-</sup>	-O-	-F	Ne	Na <sup>+</sup>
	CH <sup>3-</sup>	-NH-	-OH	FH	
		-CH <sub>2</sub> -	-NH <sub>2</sub>	OH <sub>2</sub>	
			-CH <sub>3</sub>	NH <sub>3</sub>	OH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
				CH <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>

Para este trabalho, o interesse é a síntese de uma quinolinona isóstere da escopoletina **1**. Esta quinolinona deverá apresentar o mesmo padrão de substituição da escopoletina, ou seja, a substituição do átomo de oxigênio da cumarina por um grupo N-H mantendo na estrutura o mesmo número de elétrons de valência da molécula e formando assim a 7-hidroxi-6-metoxi-2-quinolinona.

#### 2.4.2. Bioisósteres

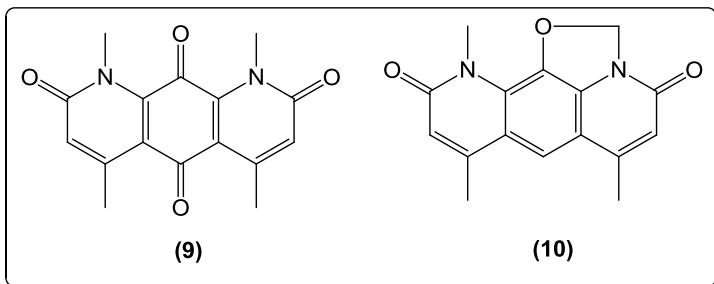
O conceito de bioisóstere foi primeiramente proposto por Friedman, que após observar a utilidade do conceito de isósteres para o design de novas moléculas biologicamente ativas, afirmou que: *“bioisósteres são moléculas que se enquadram na definição mais ampla de isósteres e tem o mesmo tipo de atividade biológica.”*

Moreover e Friedman consideraram que isósteres que exibirem propriedades opostas, ou seja, que são antagonistas, também devem ser considerados bioisósteres, pois comumente interagem com o mesmo sítio biológico.<sup>18</sup>

O uso da palavra isósteres foi largamente utilizada para além do seu significado original na química medicinal. Thornber<sup>23</sup> propôs uma definição mais flexível para o termo bioisóstere: *“bioisósteres são grupo ou moléculas que possuem propriedades químicas e físicas similares gerando efeitos biológicos amplamente similares.”*

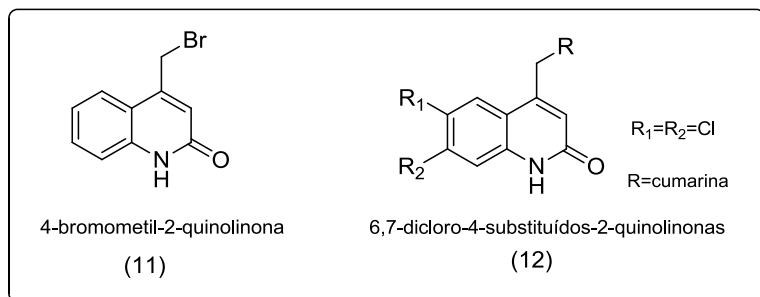
## 2.5. Quinolinonas.

As quinolinonas representam uma classe de compostos heterocíclicos interessantes, encontrados em uma série de compostos farmacêuticos e em muitos produtos naturais que apresentam atividades biológicas únicas,<sup>24</sup> estando presentes, por exemplo, nos antibióticos nibomicina (**9**) e desoxinibomicina (**10**).<sup>25</sup>



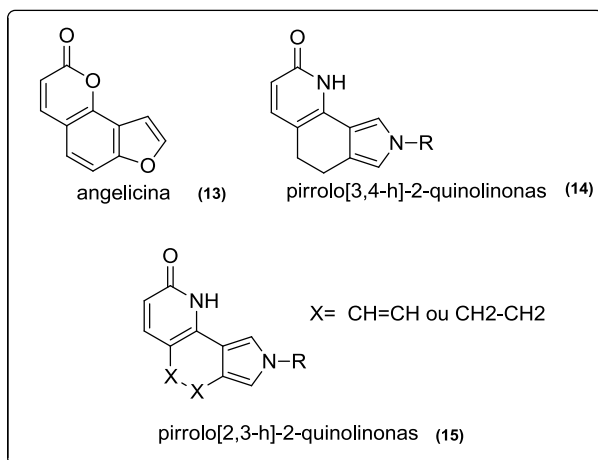
**Figura 3:** Estrutura dos antibióticos nibomicina (**9**) e desoxinibomicina (**10**).

Recentemente, Kalkhambkar e colaboradores<sup>26</sup> relataram em seus estudos a síntese e avaliação biológica de uma série de éteres de quinolinonas ligadas a cumarinas a partir de 4-(bromometil)-2-quinolinona (**11**). Todos os compostos selecionados foram submetidos à avaliação *in vitro* de atividade antibacteriana e antifúngica. Além disso, compostos que possuem um átomo de cloro ligado aos carbonos C-6 e C-7 da quinolinona (**12**) mostraram potente atividade antiviral e antifúngica. Nos testes farmacológicos, algumas das cloroquinolinonas *também* mostraram cerca de 70-77% de inibição da inflamação após 8 horas da administração. A maioria dos compostos mostrou atividade analgésica quando comparada com o controle padrão utilizado nos experimentos.<sup>26</sup>



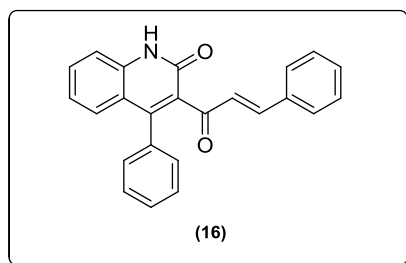
**Figura 4:** Estrutura dos compostos estudados por Kalkhambkar e colaboradores.<sup>26</sup>

Com o objetivo de obter novos agentes fototerapêuticos com um aumento da atividade antiproliferativa e menores efeitos tóxicos indesejáveis, Barraja e colaboradores<sup>27, 28</sup> sintetizaram uma série de pirrolo[2,3-h]-2-quinolinonas (**15**) e pirrolo[3,4-h]-2-quinolinonas (**14**) como isósteres da furocumarina angelicina (**13**). Rastreamentos fotobiológicos dos novos compostos revelaram um potente efeito fotocitotóxico e uma forte dependência de doses de UVA, atingindo valores de  $IC_{50}$  inferiores a micromolar.<sup>28</sup>



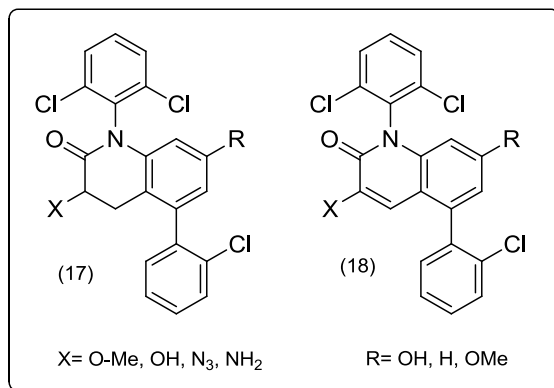
**Figura 5:** Estrutura dos compostos estudados por Barraja e colaboradores.<sup>27, 28</sup>

Claassen e colaboradores<sup>29</sup> reportaram a síntese de uma série de quatro derivados de aril-3-(3-aril-1-oxo-2-propenil)-2-quinolinonas substituídas (**16**) que ativam a apoptose celular (morte programada da célula) em uma linhagem de células cancerígenas com Myc desregulado, no entanto mostram baixa atividade contra células em que o Myc não é desregulado. O oncógeno Myc está associado a uma série de funções celulares incluindo crescimento, proliferação, diferenciação e morte celular.<sup>30,31</sup> A desregulamentação do Myc está associada ao desenvolvimento de vários cânceres humanos, tais como, de mama, colón e cânceres linfáticos.<sup>32, 33</sup>



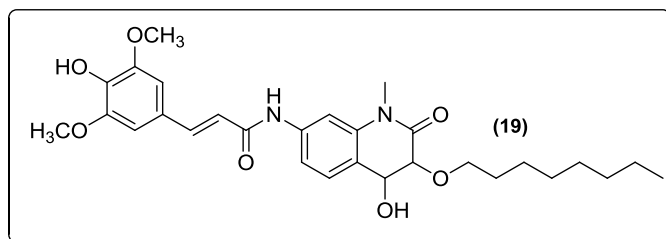
**Figura 6:** Estrutura do aril-3-(3-aril-1-oxo-2-propenil)-2-quinolinonas

Chen e colaboradores<sup>34</sup> relataram em seus estudos a síntese e atividades biológicas de alguns derivados de quinolinonas (**17**) e dihidroquinolinona (**18**) inibidores da enzima p38 MAP quinase. O p38 é uma enzima intracelular, proteína mitógena-ativada (MAP) quinase que regula a liberação e as ações de mediadores pró-inflamatórias. Uma vez ativada, a p38 desencadeia um sinal cascata que conduz à síntese e amplificação desses mediadores. Estudos clínicos têm demonstrado que a inibição destes mediadores inflamatórios individualmente é benéfico para o tratamento da artrite.<sup>34</sup>



**Figura 7:** Estrutura dos derivados estudados por Chen e colaboradores.<sup>27</sup>

Mizutani e colaboradores<sup>35</sup> apresentaram recentemente um estudo sobre o efeito inibitório do TA-270 (4-hidroxi-1-metil-3-octiloxi-7-sinapinoilamino-2-quinolinona) (**19**) sobre a obstrução nasal em pacientes com rinite alérgica. O TA-270 mostrou uma atividade antioxidante contra o peroxinitrito, um potente oxidante que é gerado pela reação de ácido nítrico com ânions superóxidos. Segundo os autores este derivado de 2-quinolinona pode ser usado para auxiliar a desobstrução nasal em pacientes com rinite alérgica.

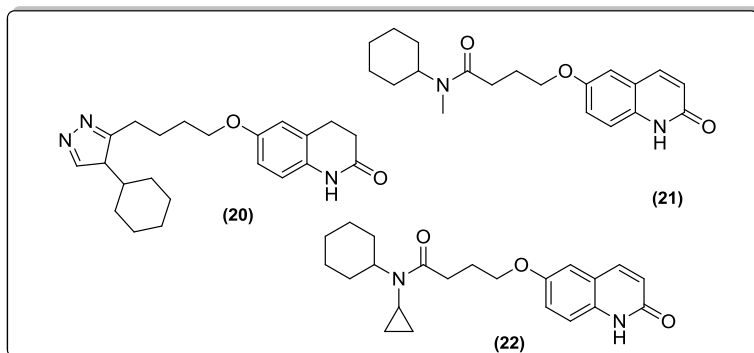


**Figura 8:** Estrutura do TA-270

Aoki e colaboradores<sup>36</sup> investigaram o efeito do TA 270 (**19**) em comparação com vários fármacos antiasmáticos, com respostas sobre

a asma induzida por ovalbumina em cobaias. Quando administrada por via oral 1 hora antes e 3 horas após a injeção do antígeno desafiado, doses iguais a 10 mg/kg ou maiores de TA-270 inibiram tanto imediatamente quanto tardiamente a resistência induzida pelo antígeno. Os efeitos inibitórios foram comparáveis ou superiores (ao menos nas condições experimentais) a vários fármacos antiasmáticos amplamente utilizados. Estes resultados sugerem que o TA-270 pode, também, ser de interesse terapêutico para asma brônquica.

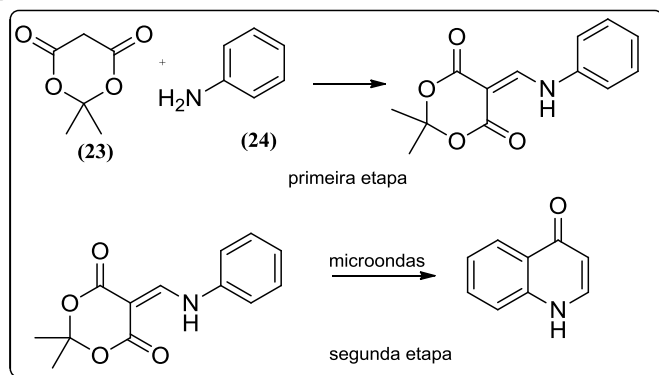
Na busca por agentes antiarteriostenóticos, Koga e colaboradores<sup>37</sup> desenvolveram uma série de derivados de 2-quinolinonas, para os quais foram avaliadas a atividade antitrombótica e anti-hiperplásica. Inicialmente desenvolveu o cilostazol (20) como um agente antitrombótico, porém sua atividade anti-hiperplásica foi fraca. O foco dos autores foi a molécula amidos de cilostamida, na qual obtiveram novos compostos a partir da modificação estrutural da cilostamida (21). A série 6-[3-[3-ciclopropil-3-[(1R,2R)-2-hidroxícicloexil]ureia]propoxi]-2-quinolinona (22) foi selecionada como candidato mais eficaz para síntese de agentes antitrombóticos e anti-hiperplásicos.



**Figura 9:** Estruturas do cilostazol (20), cilostamida (21) e 6-[3-[3-ciclopropil-3-[(1R,2R)-2-hidroxícicloexil]ureia]propoxi]-2-quinolinona (22)

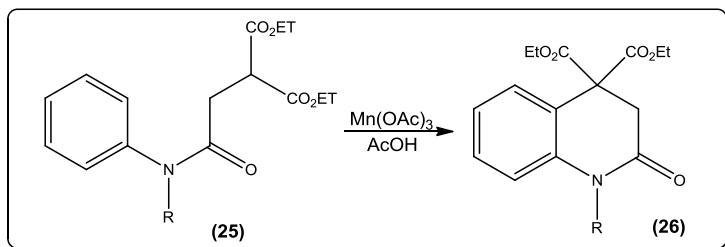


Darque e colaboradores<sup>38</sup> relataram a síntese de quinolinonas com potencial atividade anti-HIV e antiparasitária, através de um método que utiliza duas etapas envolvendo irradiação por microondas, onde na primeira etapa é feita a condensação de um aminoaril (**24**) apropriado (**Esquema 1**) com um derivado de ácido de Meldrum (**23**) (**Esquema 1**). A segunda etapa, a ciclização termal através da utilização da irradiação por microondas utilizando como solvente uma mistura de um líquido iônico e éter difenílico (**Esquema 1**).



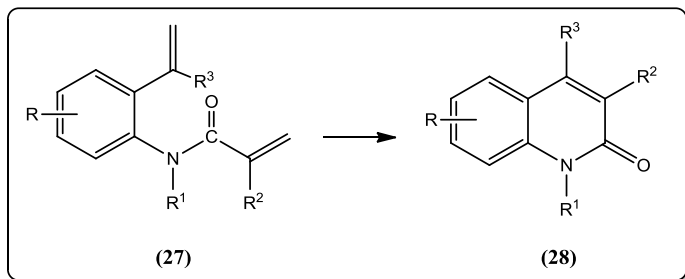
**Esquema 1:** Síntese de quinolinona estudada por Darque et al<sup>38</sup>

Em 2009, Tsubusaki<sup>39</sup> relatou em seus estudos a síntese de 4,4-bis(etoxicarbonil)-3,4-di-hidro-2-quinolinonas (**26**) (**Esquema 2**) através da ciclização oxidativa do 2-[2-(N-arilamino)-2-oxoetil]malonatos (**25**) (**Esquema 2**) com acetato de manganês (III) com rendimentos que variam de 60-97%.



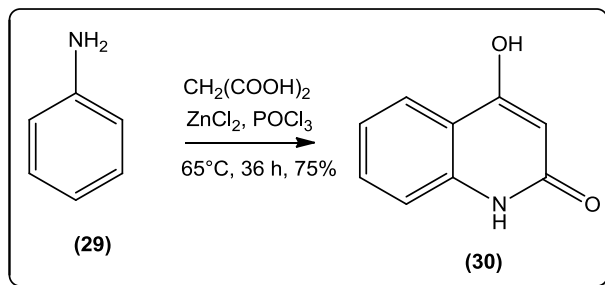
**Esquema 2:** Síntese do 4,4-bis(etoxicarbonil)-3,4-dihidro-2-quinolinonas

Minville e colaboradores<sup>25</sup> estudaram uma série de N-fenilacrilamidas (**27**) (**Esquema 3**) pela sua capacidade de ciclizar-se e formar uma série de quinolinonas (**28**) (**Esquema 3**). De modo geral, as reações foram realizadas em condições brandas alcançando rendimento em torno de 90,0 %.



**Esquema 3:** Representação da reação estudada por Minville e colaboradores<sup>25</sup>

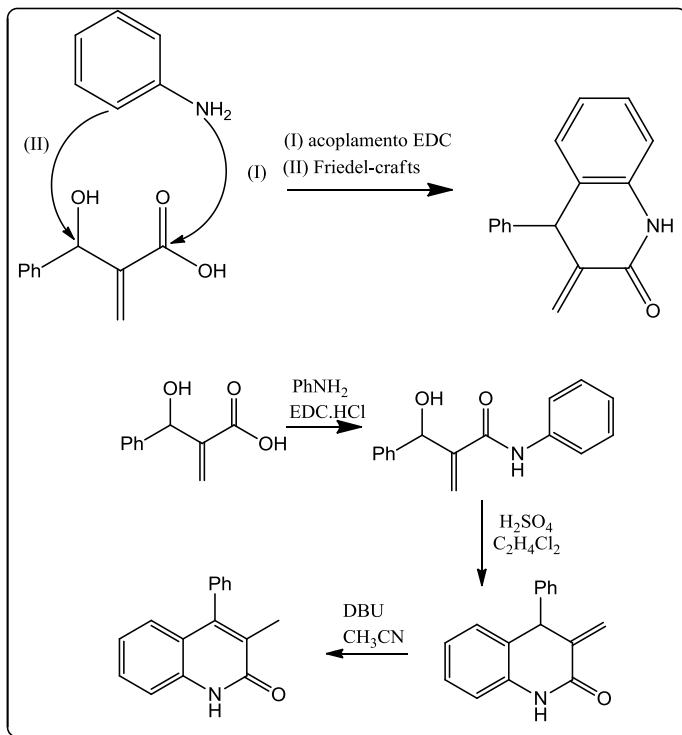
Zhang e colaboradores<sup>40</sup> relataram em seus estudos a síntese de 4-hidroxi-2-quinolinona (**30**) através da reação da anilina (**29**) com uma quantidade equimolar de ácido malônico, 2-3 mols de cloreto de zinco anidro e oxicloreto de fósforo a 65°C, e obtiveram 75,0 % de rendimento (**Esquema 4**).



**Esquema 4:** Síntese do 4-hidroxi-2-quinolinona

Recentemente, Hoon Kin e colaboradores<sup>41</sup> relataram em seus estudos o uso de adutos de Baylis–Hillman para síntese de 2-quinolinonas-3,4-dissubstituídas, através da reação de Friedel Crafts e

com rearranjo de aza-Claisen, com a variação de alguns reagentes. Os autores obtiveram rendimentos em torno de 43 a 91% dependendo do reagente utilizado (**Esquema 5**).



**Esquema 5:** Síntese estudada por Hoon Kin e colaboradores<sup>41</sup>

Os dados apresentados nos parágrafos anteriores com respeito a bioatividade de compostos contendo o núcleo quinolinônico, mostram claramente a importância desse sistema nas atividades biológicas, bem como seus usos na indústria farmacêutica.



### 3. Objetivos

O presente trabalho tem como objetivos a obtenção de escopoletina a partir da hidrólise ácida da prenilóxicumarina, produto natural isolado de *Polygala sabulosa*, para dar continuidade na semi-síntese de derivados da escopoletina; bem como síntese total de isósteres de cumarinas substituindo o oxigênio heterocíclico pelo grupo NH.

#### 3.1 Objetivos específicos

- Obter escopoletina (**1**) (6-metoxi-7-hidroxicumarina) através da hidrólise ácida do produto natural 6-metoxi-7-preniloxicumarina (**7**).
- Preparar derivados semi-sintéticos da escopoletina com a introdução de grupos substituintes que permitam a avaliação dos efeitos eletrônicos, hidrofóbicos e estéricos sobre a atividade biológica.
- Realizar a síntese total de quinolinonas isósteres da escopoletina para avaliação do bioisosterismo.
- Selecionar as metodologias mais eficientes para cada etapa envolvida na síntese de quinolinona otimizando o rendimento do produto final. .
- Utilizar as metodologias que oferecem condições mais brandas, resultando assim numa menor geração de resíduos oferecendo menos danos ao meio ambiente.
- Isolar todos os intermediários envolvidos no processo sintético e caracterizá-los por ponto de fusão, índice de retenção e métodos espectrométricos.



## **4. Materiais e métodos**

### **4.1. Métodos para purificação dos compostos**

Os compostos foram purificados utilizando-se métodos de recristalização e fracionamento cromatográfico em coluna.

Para o fracionamento cromatográfico em coluna utilizou-se sílica gel de granulação 70-230 mesh (0,063-0,2 mm) da Merck e os solventes utilizados foram de qualidade PA. As frações eluídas passaram por processo de concentração em evaporador rotatório e o solvente destilado foi reutilizado no processo cromatográfico sem qualquer purificação ou secagem. Isso diminui os custos na purificação dos produtos e minimiza a contaminação do meio ambiente pela diminuição da quantidade de emissão de resíduos químicos.

### **4.2. Identificação dos compostos**

A identificação dos compostos se deu principalmente através da análise dos espectros de IV, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , CHN e também através do ponto de fusão e cromatografia em camada delgada (CCD).

Os espectros de absorção na região do IV foram obtidos em espectrofotômetro Perkin Elmer FTIR 16 PC. As amostras foram analisadas na forma de pastilhas comprimidas de brometo de potássio anidro.

A obtenção dos espectros de RMN se deu em espectrômetro Varian Mercury Plus a 400 MHz e espectrômetro Bruker AC200 para hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ), os espectros de carbono – 13 (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos através do espectrômetro Varian Mercury Plus a 100 MHz. As amostras analisadas foram dissolvidas no solvente deuterado apropriado e os respectivos espectros foram locados em relação ao pico residual do solvente não deuterado.

Para as análises CCD utilizaram-se placas cromatográficas Alugram Sil G/UV<sub>254</sub> com 0,20 mm de espessura da Macherey-Nagel. Os compostos foram visualizados sob lâmpada de ultravioleta a 254 nm e por imersão das placas em anisaldeído sulfúrico e/ou solução de sulfato de cério 2 mol/L em ácido sulfúrico seguido de aquecimento da placa.

### 4.3. Obtenção de derivados semi-sintéticos da escopoletina

#### 4.3.1. Procedimento geral para obtenção da escopoletina **1** a partir da 6-metóxi-7-prenilóxicumarina (**7**).

Foram adicionados 2,0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado a uma solução de 1,0 g (3,8 mmol) de 6-metoxi-7-prenilóxicumarina (**7**) em 3,0 mL de etanol com forte agitação. O sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente até que todo o substrato fosse consumido. O produto precipitado foi purificado através de filtração a vácuo, obtendo-se o composto de interesse no resíduo sólido. Para otimizar o rendimento, o filtrado foi ainda extraído com três porções de clorofórmio. A fase orgânica foi seca sob sulfato de sódio anidro, evaporada e então reunida ao resíduo sólido, sendo o produto recristalizado em acetona. (77,4 % rendimento). pf: 203 – 204°C; IV (pastilha de KBr) ;  $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ : 3340, 1709, 1267 [pág. 35]. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7,60 (d, 1H, J=9,6 Hz, H-3), 6,91 (s, 1H, H-8), 6,85 (s, 1H, H-5), 6,27 (d, 1H, J=9,6 Hz, H-4), 6,22 (s, 1H, OH), 3,95 (s, 3H, 6-OCH<sub>3</sub>) [pág. 36].

#### 4.3.2. Metodologia geral para acilação/benzoilação da escopoletina (**1**).

A escopoletina **1** (1 mmol) foi dissolvida em piridina e tratada com excesso do respectivo cloreto benzoíla (1,2 mmol), a mistura reacional foi mantida sob refluxo até que todo substrato fosse consumido. A formação do produto foi monitorada através de CCD utilizando como eluente a mistura hexano: acetato de etila (7:3 v:v). Ao final, adicionaram-se 30 mL de CHCl<sub>3</sub> ao sistema, e em funil de separação extraiu-se o excesso de piridina com uma solução aquosa pH  $\pm$  2 com HCl (4 X 25 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução de NaHCO<sub>3</sub> a 10% (4 X 25 mL), seca sob Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, evaporada e então purificada usando coluna flash de sílica gel eluída com hexano:AcOEt (6:4 v:v).



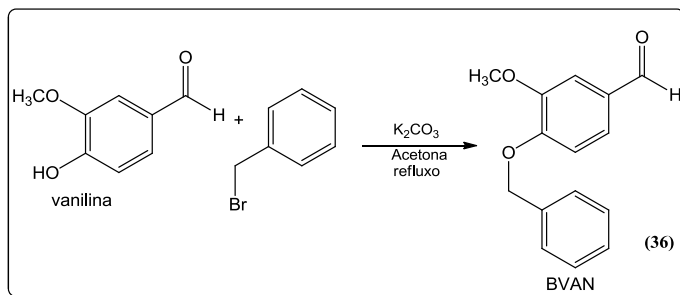
## Derivados Benzoílados:

- **Benzoilescopoletina (31):** o composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito no item 4.3.2, utilizando-se 50 mg de escopoletina (0,26 mmol) e 0,03 mL de cloreto de benzoíla (0,31 mmol). O produto purificado foi obtido como um sólido amarelo claro (84,2% de rendimento). P.f. 158-161° C; RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 8,20 e 1,37 (d, 2H,  $J=8,42$  Hz orto e  $J=1,37$  Hz meta, H-2',6'), 7,68 (d, 1H,  $J=9,39$  Hz, H-4), 7,63 (m, 1H, H-4'), 7,54 (t, 2H,  $J=7,63$  Hz, H-3',5'), 7,21 (s, 1H, H-8), 7,01 (s, 1H, H-5), 6,42 (d, 1H,  $J=9,39$  Hz, H-3), 3,85 (s, 3H, 6-OCH<sub>3</sub>).
- ***p*-bromobenzoilescopoletina (32):** o composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito no item 4.2.2, utilizando-se 50 mg de escopoletina (0,26 mmol) e 68 mg de cloreto de *p*-bromobenzoíla (0,31 mmol). O produto purificado foi obtido como um sólido de cor branca (19,4% de rendimento). P.f. 216-218°C; RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 8,08 (d, 2H,  $J=8,3$  Hz, H-2',6'), 7,69 (d, 1H,  $J=9,1$  Hz, H-4), 7,66 (d, 2H,  $J=8,3$  Hz, H-3',5'), 7,20 (s, 1H, H-8), 7,01 (s, 1H, H-5), 6,41 (d, 1H,  $J=9,1$  Hz, H-3), 3,85 (s, 3H, 6-OCH<sub>3</sub>).
- ***p*-clorobenzoilescopoletina (33):** o composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito no item 4.2.2, utilizando-se 50 mg de escopoletina (0,26 mmol) e 0,04 mL de cloreto de *p*-clorobenzoíla (0,31 mmol). O produto purificado foi obtido como um sólido branco (85,7% de rendimento). P.f. 150-154° C. RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 8,14 (d, 2H,  $J=8,8$  Hz, H-2',6'), 7,68 (d, 1H,  $J=9,59$  Hz, H-4), 7,49 (d, 2H,  $J=8,8$  Hz, H-3',5'), 7,20 (s, 1H, H-8), 7,01 (s, 1H, H-5), 6,43 (d, 1H,  $J=9,59$  Hz, H-3), 3,85 (s, 3H, 6-OCH<sub>3</sub>) [pag. 39]

- p*-metoxibenzoilescopoletina (34):** o composto foi preparado de acordo com procedimento descrito no item 4.2.2, utilizando-se 50 mg de escopoletina (0,26 mmol) e 0,03 mL de cloreto de *p*-metoxibenzoíla (0,31 mmol). O produto purificado foi obtido como um sólido branco (33,4 % de rendimento). Pf: 149 - 153°C; RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,13 (d, 2H, J=8,4 Hz, H-2',6'), 7,67 (d, 1H, J=9,6 Hz, H-4), 7,19 (s, 1H, H-8), 7,00 (d, 2H, J=8,4 Hz, H-3',5'), 6,96 (s, 1H, H-5), 6,41 (d, 1H, J=9,6 Hz, H-3), 3,90 (s, 3H, 4'-OCH<sub>3</sub>) e 3,85 (s, 3H, 6-OCH<sub>3</sub>).
- p*-metilbenzoilescopoletina (35):** o composto foi preparado de acordo com o procedimento descrito no item 4.2.2, utilizando-se 50 mg de escopoletina (0,26 mmol) e 0,03 mL de cloreto de *p*-metilbenzoíla (0,31 mmol). O produto purificado foi obtido como um sólido amarelo claro (94% rendimento). P.f. 127 - 131°C; RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8,10 (d, 2H, J=8,4 Hz, H-2',6'), 7,69 (d, 1H, J=9,2 Hz, H-4), 7,33 (d, 2H, J=8,4 Hz, H-3',5'), 7,22 (s, 1H, H-8), 7,01 (s, 1H, H-5), 6,45 (d, 1H, J=9,2 Hz, H-3), 3,86 (s, 3H, 6-OCH<sub>3</sub>), 2,47(s, 3H, CH<sub>3</sub>).

#### 4.4. Síntese de Quinolinonas Isóstere de Cumarina

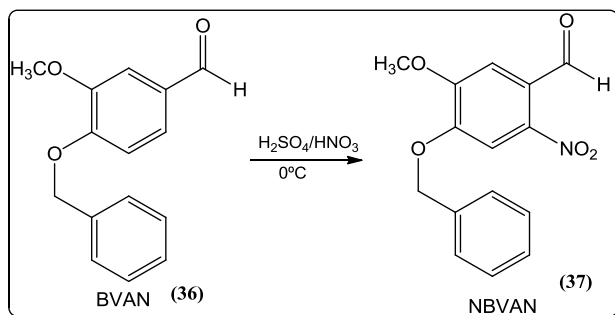
##### 4.4.1. Síntese do precursor *O*-benzilvanilina (36) BVAN<sup>42</sup>



**Esquema 6:** Síntese do composto *O*-benzilvanilina

A uma solução de 2,64 g (0,02 mol) de carbonato de potássio (Vetec) em 100 mL de acetona (Synth) seca, foram adicionados 6,0 g (0,04 mol) de vanilina (Vetec) e 6,6 g (0,04 mol) de brometo de benzila (Fluka). O sistema foi deixado sob forte agitação e refluxo durante 24 horas (**Esquema 6**). O solvente foi evaporado e o resíduo foi recristalizado em etanol (Synth) e água (70:30) rendendo 10,0 g (97,2%) de um sólido cristalino incolor.  $R_f = 0,552$  utilizando a mistura hexano 70: 30 AcOEt como eluente e sílica como fase estacionária. P.F.= 59,6 – 60°C. IV (pastilha de KBr):  $\nu_{max}$  ( $cm^{-1}$ ) = 1695 (C=O), 1129,47 e 1270,33 (C–O) [pág 43]. RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) = 9,83 (s, 1H), 7,43– 7,38 (m, 7H), 6,99 (d, 1H), 5,25 (s, 2H), 3,95 (s, 3H) [pag 44].

#### 4.4.2. Síntese do 4-benzilóxi-6-nitrovanilina **37** (NBVAN)<sup>42</sup>



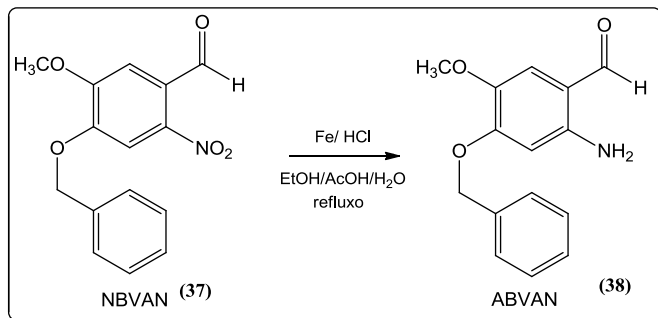
**Esquema 7:** Síntese do 4-benzilóxi-6-nitrovanilina

A uma solução de 14,9 mL de ácido nítrico (Quimex) e 1,7 mL ácido sulfúrico (Nuclear) resfriada a 0°C em banho de gelo, adicionaram-se lentamente 3,1 g (0,0108 mol) de **BVAN** (**36**) e deixou-se o sistema reagir sob agitação por 1,5 horas (**Esquema 7**).

A solução foi filtrada em funil de Buchner, e o produto foi recristalizado em acetato de etila (Synth) para obter 3,19 g do produto, com rendimento de 86,2%.  $R_f = 0,626$  utilizando a mistura hexano 70:30 AcOEt como eluente e sílica como fase estacionária. P.F.= 122 - 123°C. IV (pastilha de KBr):  $\nu_{max}$  ( $cm^{-1}$ ) = 1676,2 (C=O), 1517,1-

1333,8 (N–O). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 10,44 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,43 (m, 6H), 5,27 (s, 2H), 4,01 (s, 3H) [pag. 46].

#### 4.4.3. Síntese do 4-benziloxi-6-aminovanilina 38 (ABVAN)<sup>43, 44</sup>



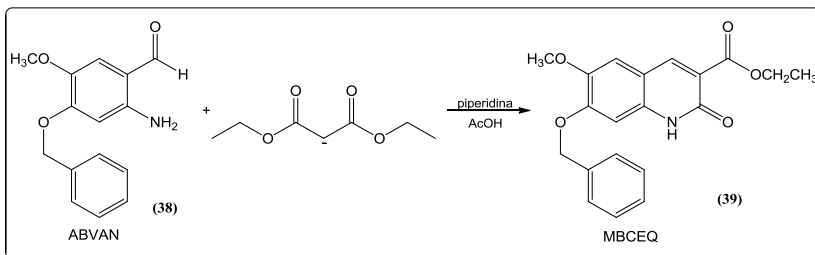
**Esquema 8:** Síntese do 4-benziloxi-6-aminovanilina

Misturaram-se 1,1 g (0,019 mol) de ferro em pó, 0,34 mL de HCl (Nuclear) e 1,8 g (7 mmol) de **NBAN** (37) dissolvido em 43 mL de solução de etanol/ácido acético/água na proporção de 2:2:1 (**Esquema 8**).

A mistura reacional foi mantida em refluxo por aproximadamente 20 minutos (**Esquema 8**), após esfriar a temperatura ambiente, foi filtrada e a fase líquida extraída com 3 porções de 50 mL de AcOEt. A fase orgânica foi lavada com solução concentrada de bicarbonato de sódio (150 mL), solução saturada de cloreto de sódio (60 mL) e seca com sulfato de sódio anidro.

O produto da reação foi purificado numa coluna cromatográfica em sílica-gel (Merck) eluída com AcOet/hexano 30:70. Ao final obteve-se 0,819 g do produto, 64,1%.  $R_f = 0,342$  (hexano-AcOEt 70:30 como eluente e sílica como fase estacionária) P.F= 148,0 - 148,8°C. IV (pastilha de KBr):  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3100 e 3034 (N–H). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 9,84 (s, 1H), 7,42 – 7,26 (m, 6H), 7,07 (s, 1H), 6,28 (s, 2H), 5,32 (s, 2H), 4,01 (s, 3H) [pag. 48].

#### 4.4.4. Síntese do 6-metoxi-7-benziloxi-3-carboxietil-2-quinolinona (MBCEQ) (39) <sup>44, 45</sup>



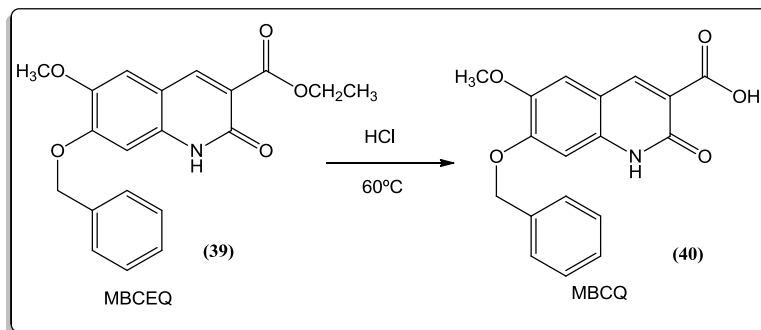
#### Esquema 9: Rota sintética do composto (39) (MBCEQ)

A uma solução de 100 mg de **ABVAN** (38) solubilizada em 30 mL de etanol (Synth), adicionou-se, três equivalentes de malonato de dietila (Sigma Aldrich), três equivalentes de piperidina e uma quantidade catalítica de ácido acético glacial. A mistura reacional foi refluxada *overnight* sob forte agitação.

Após resfriada à temperatura ambiente, adicionou-se à mistura 50 mL de água, e fez-se extração com acetato de etila (3 x 50 mL). A fase orgânica foi lavada com água (2 x 25 mL), solução saturada de NaCl (50 mL), seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado em evaporador rotatório.

O produto da reação foi purificado através de cromatografia em coluna cromatográfica em sílica-gel eluída com AcOEt/hexano 70:30. Ao final obteve-se 0,104 g do produto, 75,9 %. Rf = 0,64 (metanol-AcOEt 10/90 como eluente e sílica como fase estacionária) P.F= 228 - 229°C. IV (pastilha de KBr):  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3300-3500 (N-H), 1733(C=O), 1660 (C=O). RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), 8,43 (s, 1H), 7,50 – 7,37 (m, 6H), 6,97 (s, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,24 (q, 2H J= 7,14 Hz) , 1,28 (t, 3H J= 7,14Hz) [pag. 50].

#### 4.4.5. Síntese do 6-metoxi-7-benziloxi-3-carboxi-2-quinolinona 40 (MBCQ)<sup>45</sup>

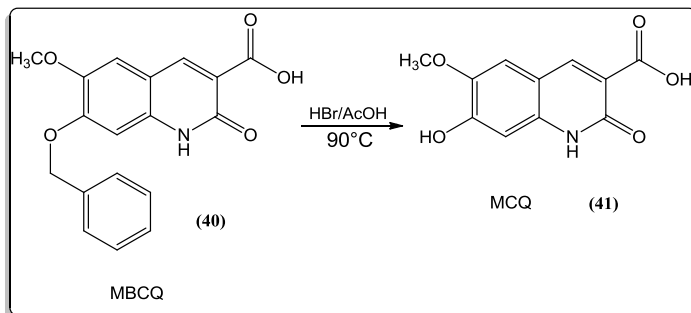


**Esquema 10:** Rota sintética do composto (40) (MBCQ)

A uma solução de 50 mg (0,14 mmol) de **MBCEQ (39)** em 20 mL de etanol, adicionaram-se 12,5 mL de uma solução de HCl 2 mol.L<sup>-1</sup>. A mistura reacional permaneceu sob agitação a 60°C por 12 horas.

Após resfriado, o sistema foi deixado em banho de gelo por aproximadamente 30 minutos e o sólido precipitado foi coletado por filtração, lavado com água gelada e seco sob vácuo para se obter 53,3% de rendimento, P.F.> 300°C. IV (pastilha KBr),  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3444 (OH), 1688 (C=O), 1672 (C=O). RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) 8,80 (s, 1H), 7,55 – 7,34 (m, 6H), 7,08 (s, 1H), 5,21 (s, 2H), 3,42 (s, 3H), 2,48 (s, 2H) [pag. 52].

#### 4.4.6. síntese do 6-metoxi-7-hidroxi-3-carboxi-2-quinolinona **41** (MCQ)<sup>42</sup>



**Esquema 11:** Rota sintética do composto **(41)** (MCQ)

A uma solução de 200 mg (0,61 mmol) de **MBCQ (40)** em 2,5 mL de ácido acético e aquecidos a 90°C adicionaram-se 0,75 mL de HBr 48 % (Sigma Aldrich). O sistema reacional foi mantido a esta temperatura sob forte agitação por aproximadamente 24 horas.

Após resfriar à temperatura ambiente são adicionados ao sistema algumas gotas de água gelada para que ocorra a precipitação do produto, o mesmo é coletado através de filtração em funil de Buchner e lavado com água gelada em abundância. O produto formado é então recristalizado em etanol para se obter 99,5 mg de MCQ 70 % de rendimento, P.F. > 300°C. IV(pastilha de KBr),  $\nu_{\text{max}}$  (cm<sup>-1</sup>) 1325-1650 (OH), 1718 (C=O), 1629(C=O) [pág. 45]. RMN de <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), 8,77 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 3,82 (s, 3H) [pag. 55].

#### 4.4.7. Descarboxilação do composto MCQ .

Para descarboxilação do composto **41** (MCQ) foram testadas cinco metodologias, descarboxilação com benzilamina, descarboxilação termal, com quinolina e cobre, com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e por fim com NaHSO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, conforme descritas a seguir.

- **Com benzilamina.**<sup>46</sup>

A uma solução de 40 mg de **(41) (MCQ)** (0,17 mmol) em 2 mL DMF foi adicionado benzilamina (0,13 mmol), o sistema reacional foi mantido em refluxo sob agitação por aproximadamente 6 horas sendo acompanhado por CCD.

Ao final a mistura reacional é acidificada com ácido acético e o sólido precipitado separado por filtração, lavado com água, seco e submetido à análise por RMN <sup>1</sup>H.

- **Descarboxilação termal.**<sup>47</sup>

30 mg (0,13 mmol) do composto **(41) (MCQ)** são aquecidos a 300 °C sem a presença de solvente durante 10 minutos em banho de areia sob agitação. Decorridos 10 minutos o sistema foi resfriado a temperatura ambiente e o produto avaliado por CCD e RMN de <sup>1</sup>H, sem que se observasse qualquer alteração no R<sub>f</sub> ou no deslocamento químico.

- **Com quinolina e Cu.**<sup>48</sup>

A uma solução de 57 mg (0,24 mmol) de **(41) (MCQ)** em 2,00 mL de quinolina foi adicionado 16 mg (0,25 mmol) de cobre em pó. O sistema foi mantido sob refluxo com agitação por 6 horas. Após o sistema ser resfriado, o sólido precipitado foi purificado através de coluna cromatográfica em sílica flash utilizando como eluente hexano/AcOEt (60/40). As frações recolhidas foram analisadas, e avaliadas por RMN de <sup>1</sup>H.

- **Com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**<sup>49</sup>

A uma solução de 30 mg (0,13 mmol) de **(41) (MCQ)** em 10 mL etanol foi adicionado 0,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96%, o sistema reacional foi mantido em refluxo por aproximadamente 20 horas sendo acompanhado por CCD. Após o sistema ser resfriado o mesmo foi filtrado e lavado com água gelada em abundância, após seco em dessecador o produto foi avaliado por RMN de <sup>1</sup>H



- **Com NaHSO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.**<sup>50</sup>

Uma mistura de 30 mg (0,13 mmol) de **(41)** (**MCQ**) em 0,8 mL solução de bisulfito de sódio (Vetec) 20%, foi aquecida sob agitação por aproximadamente 2 horas. Após cessar a liberação de bolhas, 0,8 mL de ácido sulfúrico são adicionados e o sistema é refluxado por mais uma hora. Após o sistema ser resfriado à temperatura ambiente a mistura é vertida em gelo picado a fim de ocorrer precipitação do produto, este é filtrado e lavado com água gelada. O produto obtido foi submetido à análise por RMN de <sup>1</sup>H.

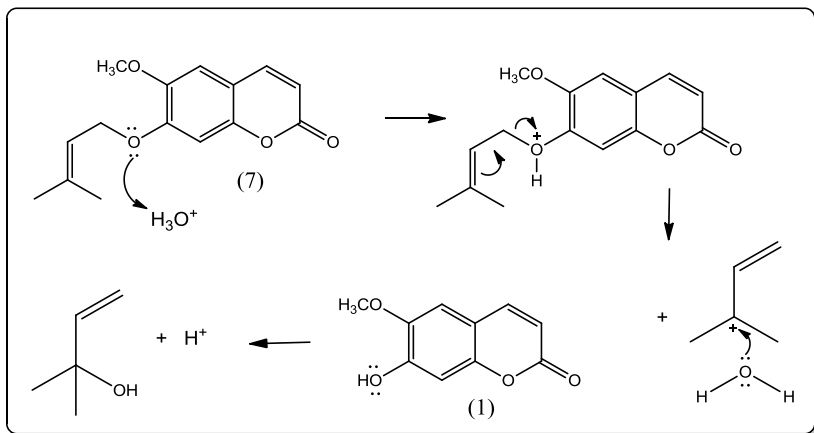


## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Obtenção da escopoletina a partir da 6-metoxi-7-preniloxicumarina.

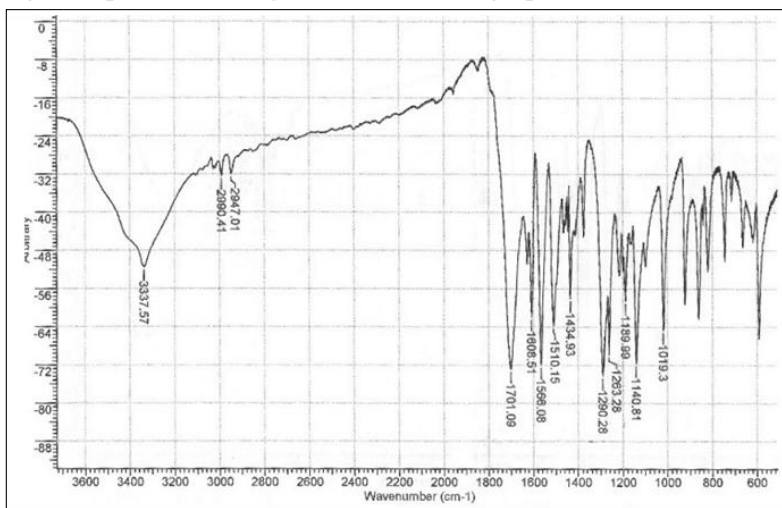
Observando a estrutura química da 6-metoxi-7-preniloxicumarina (**7**), que foi isolada em grande quantidade da *Polygala sabulosa*, ficou evidente ser esta um excelente material de partida para obtenção da escopoletina (**1**) (6-metoxi-7-hidroxicumarina) pela facilidade com que a ligação C-O do grupo prenilóxi ligado ao C7 do anel cumarínico pode ser hidrolisado em meio ácido gerando um grupo hidróxi. Essa reação pode ser executada sem maiores dificuldades sendo o produto obtido facilmente purificado através de recristalização em acetona obtendo-se um rendimento de 77,4%.

O mecanismo de clivagem ocorre via formação de um carbocátion devido à possibilidade de estabilização pela dupla ligação do grupo prenilóxi, formando ao final escopletina e um álcool terciário, conforme **Esquema 12**.

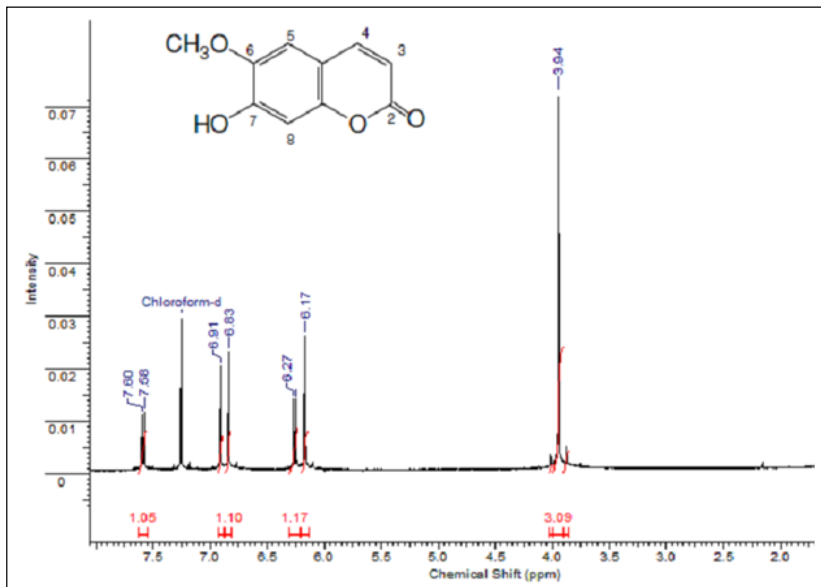


**Esquema 12:** Mecanismo de hidrólise da 6-metoxi-7-preniloxicumarina (**7**)

A confirmação da estrutura da escopoletina (**1**) se deu através da análise de espectrometria de IV e RMN de  $^1\text{H}$ , onde no espectro de IV (**Figura 10**) pode-se observar a presença de uma banda larga na região de  $3337\text{ cm}^{-1}$  que foi atribuída ao estiramento da ligação O-H, e uma banda intensa em  $1701\text{ cm}^{-1}$  referente à ligação C=O da carbonila  $\alpha,\beta$  insaturada do grupamento lactona. Já no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 11**), foi possível observar a presença de dois dupletos em  $\delta$  7,60 ppm e 6,27 ppm ambos com integração para 1 hidrogênio e constante de acoplamento  $J = 9,6\text{ Hz}$ , relacionados aos átomos de hidrogênios ligados respectivamente aos carbonos C-4 e C-3 da dupla ligação endocíclica. Dois simpletos em  $\delta$  6,92 ppm e 6,85 ppm ambos com integração para 1 hidrogênio relacionados aos hidrogênios ligados aos carbonos C-8 e C-5 respectivamente, além da presença de um simpleto em 3,95 ppm com integração para três hidrogênios referente ao grupo metoxila.



**Figura 10:** Espectro de infravermelho da escopoletina (**1**) (pastilha KBr)



**Figura 11:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H da escopoletina (1). (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

## 5.2. Obtenção de derivados da escopoletina

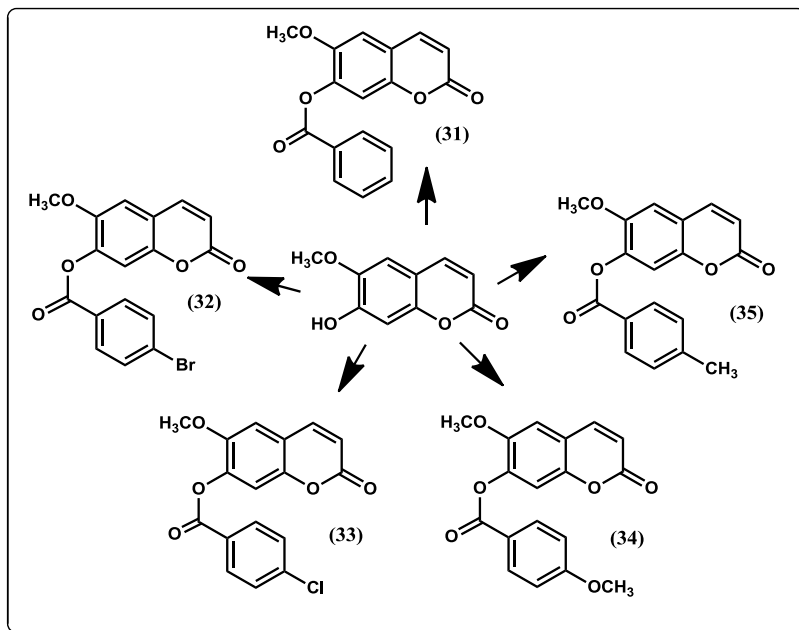
O isolamento inicial de um composto natural, independentemente da fonte, não é necessariamente tudo que se precisa para o desenvolvimento de um novo fármaco. Ele pode ser insolúvel, não potente o suficiente, ou não ser especificamente ativo. Uma vez determinada a estrutura, a química sintética pode ser usada para gerar derivados análogos que possam ter características mais desejáveis para um fármaco potencial.<sup>18</sup>

A substituição de um átomo de hidrogênio, em uma molécula ativa, por um substituinte ou um grupo funcional pode modificar a potência, duração e até a natureza do efeito farmacológico, além de afetar vários parâmetros da molécula tais como coeficiente de partição,

densidade eletrônica, ambiente estérico e consequentemente a interação com o respectivo alvo biológico.

Na realidade é impossível modificar apenas um desses parâmetros, pois quando, por exemplo, inserimos um grupo benzoil na molécula, estamos interferindo na densidade eletrônica, coeficiente de partição e no ambiente estérico da molécula, tudo ao mesmo tempo. Entretanto, dependendo do grupo a ser inserido, ou do substituinte presente neste grupo, um dos parâmetros poderá ser afetado numa magnitude maior que outro, possibilitando, assim, uma análise mais racional para uma relação estrutura-atividade.

### 5.2.1. Derivados benzoilados da escopoletina (31-35).

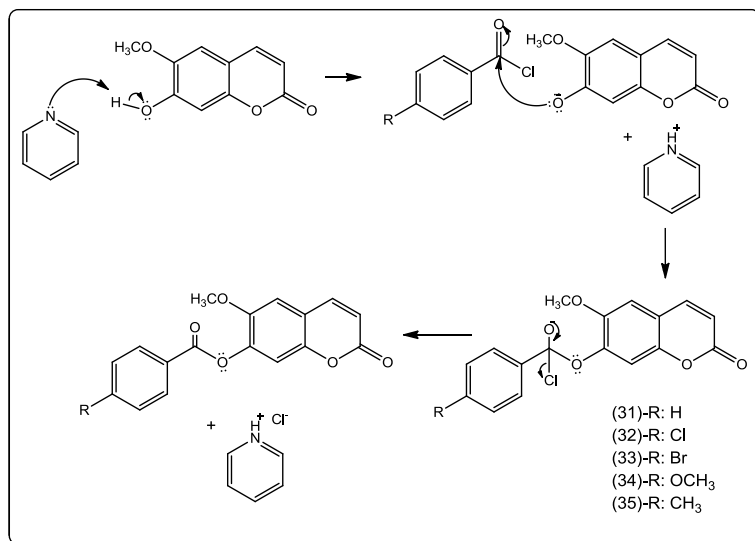


**Esquema 13** : Estrutura dos derivados de escopoletina preparados

Para dar continuidade aos estudos envolvendo a escopoletina (1), foi inicialmente preparada uma série de derivados benzoilados *p*-substituídos com diferentes grupos doadores e retiradores de elétrons.

As benzoilações da escopoletina foram realizadas em piridina na presença de um pequeno excesso de cloreto de benzoíla apropriado. As reações foram realizadas sem maiores dificuldades exceto pela necessidade de um sistema anidro, pois caso contrário o cloreto de ácido reage rapidamente com a água do meio fazendo com que o rendimento fique amplamente prejudicado.

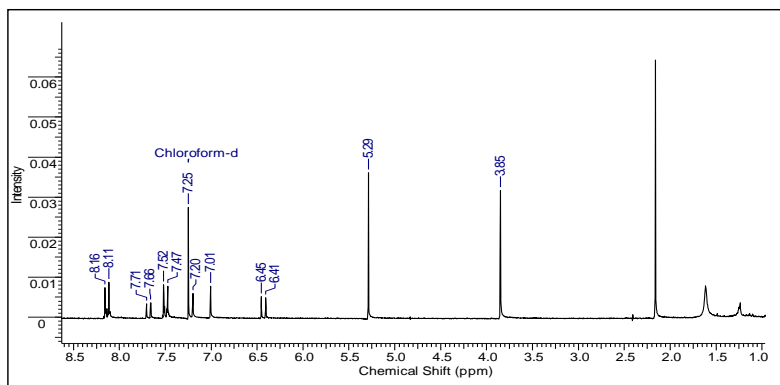
No mecanismo de esterificação proposto para esta reação a piridina abstrai o próton da hidroxila ligada ao carbono C-7 da escopoletina, tornando este um melhor nucleófilo, que por sua vez ataca o carbono carbonílico do cloreto de ácido formando um intermediário tetraédrico. A posterior restituição da carbonila libera  $\text{Cl}^-$  formando assim o éster benzoílico da escopoletina como pode ser observado no **Esquema 14**.



**Esquema 14:** Mecanismo de formação dos derivados benzoilados da escopoletina

Para a discussão a respeito da confirmação das estruturas dos derivados benzoilados da escopoletina, tomou-se como exemplo o composto *p*-clorobenzoilescopoletina (**33**). Todos os derivados

apresentaram uma grande semelhança entre os espectros de RMN, mostrando diferenças características nos sinais referente aos átomos de hidrogênio do anel aromático do respectivo grupo benzóil. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 12**) o grupo *p*-clorobenzoil foi caracterizado através da presença de dois sinais na forma de dupletos em  $\delta$  8,14 ( $J=8,80$ , 2H, H-2' e H-6') e 7,49 ppm ( $J=8,80$ , 2H, H-3' e H-5'). Os sinais observados do núcleo cumarínico foram um par de dupletos em  $\delta$  6,43 ( $J=9,59$  Hz, 1H, H-3) e 7,68 ppm ( $J=9,59$  Hz, 1H, H-4), dois singletos em  $\delta$  7,20 (1H, H-8) e 7,01 ppm (1H, H-5) e um simpleto em  $\delta$  3,85 ppm atribuído à metoxila ligada ao C-6.



**Figura 12:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto *p*-clorobenzoilescopoletina (**33**) ( $\text{CDCl}_3$  400 MHz).

### 5.3. Síntese de quinolinonas isómeros da escopoletina

A síntese de um composto com estrutura igual ou semelhante a uma substância de origem natural pode ser muito complexa exigindo, às vezes, uma grande quantidade de etapas intermediárias até se alcançar a estrutura-alvo. No entanto, a química orgânica sintética evoluiu muito nos últimos anos possibilitando o fácil acesso a uma grande variedade de metodologias para a síntese de compostos orgânicos.

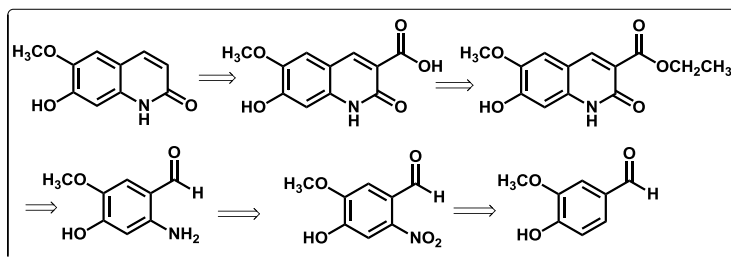
Nosso objetivo neste trabalho não se estende a desenvolver uma nova metodologia para a síntese total de derivados dos compostos isolados de *Polygala sabulosa*, mas sim selecionar as metodologias mais



eficientes para cada etapa e alcançar o produto final com o maior rendimento possível.

Dentre todos os compostos isolados a partir da espécie *P. sabulosa*, tomamos como alvo a escopoletina por ser o principal metabólito ativo. Nesse sentido, tomamos a idéia do bioisosterismo para avaliar as alterações no efeito farmacológico ao substituir o átomo de oxigênio heterocíclico da lactona por um grupo NH formando uma lactama. A diferença nas propriedades químicas entre oxigênio e nitrogênio pode alterar a absorção, distribuição, metabolismo e excreção do composto no organismo e também alterar suas interações com o respectivo alvo biológico.

Avaliamos inicialmente, a retroanálise para a síntese do produto final apresentada no **Esquema 15**. Esta análise nos orientou para a síntese partindo da vanilina. Este composto é um aldeído aromático que possui o mesmo padrão de substituição do anel aromático da escopoletina, o que permitiria a obtenção da respectiva quinolinona e, a exemplo da escopoletina, a possibilidade de preparar facilmente a mesma série de derivados.



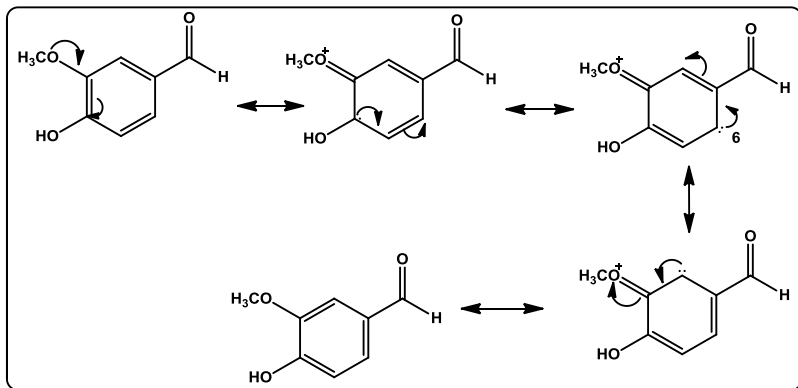
**Esquema 15:** Retroanálise da quinolinona isóstere da escopoletina

A idéia central é inserir um grupo amino orto-carboxaldeído orientado para proceder posteriormente a ciclização através da condensação entre o aldeído e o éster dietilmalônico. A subsequente hidrólise e aquecimento devem formar o produto descarboxilado de interesse.

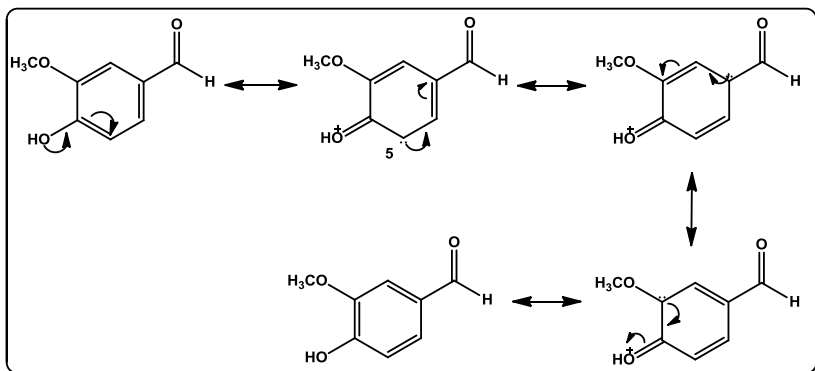
O primeiro passo necessário é a nitração da vanilina. Entre os conceitos de química orgânica básica, destaca-se aqui o efeito

mesomérico doador de elétrons dos grupos metoxila e hidroxila e o efeito mesomérico retirador de elétrons do grupo carboxaldeído. Esses efeitos irão determinar a reatividade e a regioselectividade da molécula em uma reação de substituição eletrofílica aromática (SEA).

Nesse caso, nosso objetivo é inserir um grupamento nitro na posição C6 do anel aromático. Na vanilina, existem dois grupos doadores de elétrons e um grupo retirador de elétrons, o que deixa o anel aromático ativado frente a um eletrófilo. No entanto, a vanilina possui 3 carbonos aromáticos que podem atuar como nucleófilos nesta reação. Analisando as possíveis estruturas de ressonância (**Esquemas 16 e 17**) maior densidade de carga negativa deve ficar sobre o carbono C5 e C6 o que orienta a SEA nessas posições e, conseqüentemente, a possibilidade de obtenção de uma mistura de compostos C5 e C6 nitrados. Nosso objetivo é a obtenção do respectivo composto nitrado com o grupo nitro na posição C6. Isso pode ser alcançado protegendo eletrônica e estericamente a posição C5 através da benzilação da hidroxila do C4, o que deverá evitar ao máximo a nitração em C5.



**Esquema 16:** Estruturas de ressonância da vanilina frente a ativação pelo grupo metoxila



**Esquema 17:** Estruturas de ressonância da vanilina frente a ativação pelo grupo hidroxila

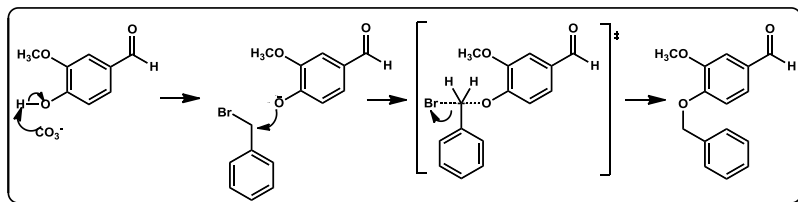
Em 2002, Tsai e Klinman<sup>42</sup> prepararam a vanilina nitrada na posição C6, com um rendimento de 100%, protegendo a posição C5 com um grupo benzil. O volume maior apresentado pelo benzil impede totalmente a nitração em C5 formando apenas o derivado nitrado na posição 6.

### 5.3.1. Benzilação da Vanilina

Para benzilação da vanilina foi utilizada a mesma metodologia de benzilação publicado pelo grupo de Tsai e Klinman.<sup>42</sup> Inicialmente, a reação de benzilação da vanilina apresentou um rendimento de 40% o que é considerado extremamente baixo para tal reação. Esse resultado abaixo do esperado foi devido ao uso de vanilina não purificada, pois nas sínteses seguintes com a utilização de vanilina purificada, ou de frasco lacrado, o rendimento teve um crescimento considerável para 97%, número que pode ser considerado excelente para esta reação.

A reação ocorre via mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular ( $S_N2$ ) (**Esquema 18**). A base (carbonato) abstrai o próton da hidroxila da vanilina, tornando-a assim um nucleófilo mais forte. Este utiliza seu par de elétrons isolado para atacar o átomo de carbono do haleto de benzila, levando à formação de um estado de transição com

a ligação C-O parcialmente formada e a ligação C-Br parcialmente rompida. De maneira concertada, o  $\text{Br}^-$  deixa a molécula levando consigo o par de elétrons da ligação C-Br.

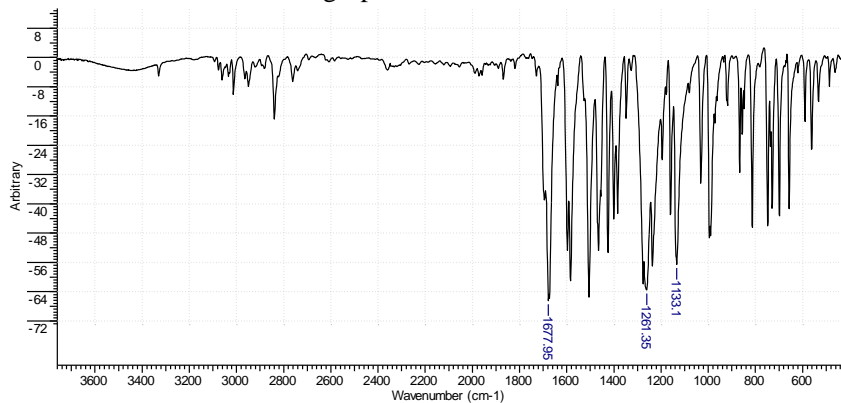


**Esquema 18:** Mecanismo de reação de benzilação da vanilina

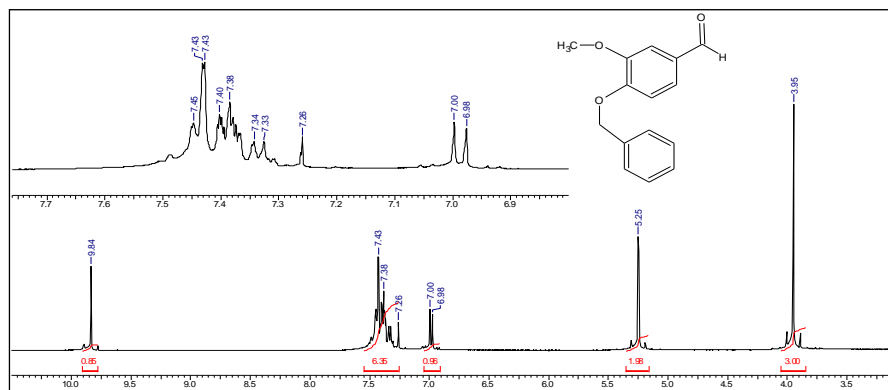
O mecanismo  $\text{S}_{\text{N}}2$  é favorecido pela presença de solventes não doadores de ligação de hidrogênio, substratos primários e nucleófilos fortes. A reação em questão conta com todos estes requisitos,  $\text{O}^-$  um nucleófilo forte, acetona um solvente não doador de ligação de hidrogênio (não estabiliza ânions) e um substrato benzílico. Pelo fato de termos um substrato que formaria um carbocátion benzílico altamente estável devido a estabilização oferecida pela ressonância com o anel aromático, poderíamos pensar em um mecanismo  $\text{S}_{\text{N}}1$ , no entanto, o uso de um solvente não doador de ligação de hidrogênio (que não estabiliza cátions) e um nucleófilo forte, torna o mecanismo  $\text{S}_{\text{N}}2$  considerado mais plausível.

A confirmação da estrutura do composto **BVAN (36)** foi realizada através da espectrometria de IV e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No espectro de IV (**Figura 13**) observaram-se bandas de absorção em  $1677\text{ cm}^{-1}$  referente à carbonila conjugada ao anel aromático do grupo aldeído,  $1133\text{ cm}^{-1}$  e  $1260\text{ cm}^{-1}$  referentes às ligações C-O. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 14**), observou-se o mesmo perfil de sinais mostrados pela vanilina adicionado de um sinal em  $\delta$  5,25 ppm, com integração para 2 hidrogênios atribuídos ao metileno do grupo benziloxi e uma série de sinais na região entre  $\delta$  7,25 e 7,50 ppm confirmando a presença do substituinte benzil na estrutura da vanilina. A benzilação também pode ser confirmada pelo aparecimento, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 15**), de um sinal em  $\delta$  71,0 ppm relativo ao carbono

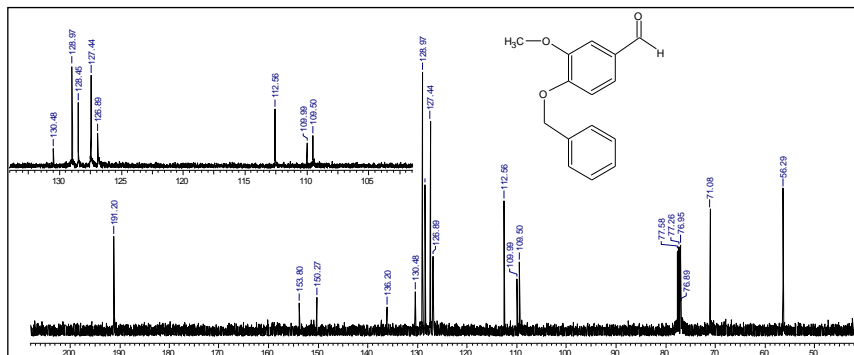
metilênico do grupo benzil e sinais na região de  $\delta$  130,0 ppm atribuídos aos carbonos aromáticos do grupo benzil.



**Figura 13:** Espectro de IV do composto **BVAN (36)** (pastilha de KBr)



**Figura 14:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto **BVAN (36)** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)



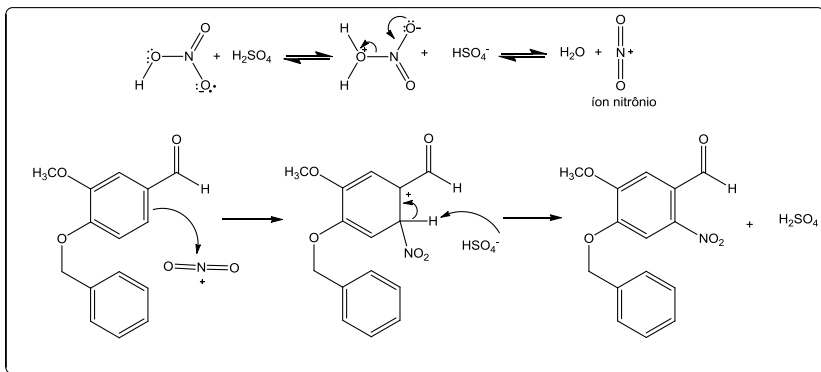
**Figura 15:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **BVAN (36)** ( $\text{CDCl}_3$ , 100MHz)

### 5.3.2. Nitração do composto *O*-benzilvanilina

Na etapa seguinte, foi realizada a nitração da *O*-benzilvanilina (**36**) (**BVAN**), para esta encontrou-se novamente problemas iniciais. Nas primeiras reações realizadas, devido ao sistema nitrante ser bastante energético, utilizou-se banho de gelo e sal para resfriar a solução, mantendo uma temperatura próxima de  $-10^\circ\text{C}$ . Nessa faixa de temperatura, observamos que o produto foi obtido com rendimento médio de 35%. Quando a nitração foi realizada apenas com banho de gelo (sem utilização de sal), deixando a solução com uma temperatura próxima de  $0^\circ\text{C}$ , a nitração ocorreu satisfatoriamente produzindo o composto *O*-benzil-6-nitrovanilina (**37**) (**NBVAN**) com um rendimento de 86%, o que pode ser considerado satisfatório para tal reação.

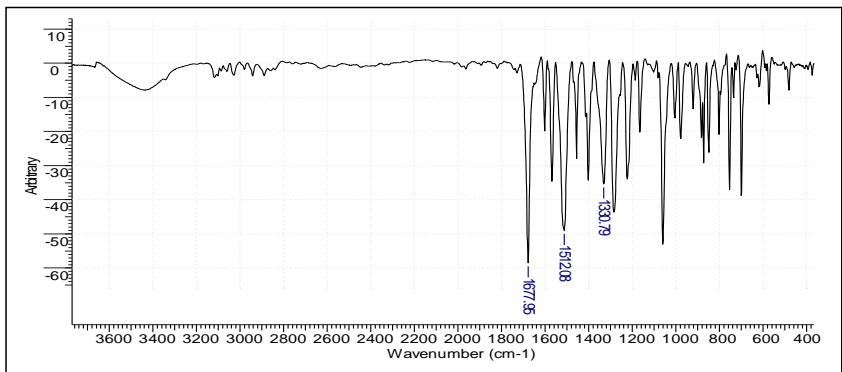
Essa reação ocorre via mecanismo de substituição aromática eletrofílica (**Esquema 19**), onde um eletrófilo reage com o anel aromático e substitui um dos seus átomos de hidrogênio. Nesse caso, o eletrófilo em questão é o íon nitrônio ( $\text{NO}_2^+$ ), gerado a partir de uma reação ácido/base entre o  $\text{HNO}_3$  e o  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , onde o  $\text{H}_2\text{SO}_4$  atua como um ácido de Brønsted-Lowry doando um próton para o  $\text{HNO}_3$  que age como uma base de Brønsted-Lowry formando a espécie  $\text{H}_2\text{NO}_3^+$  seguido da perda de água para formar o íon nitrônio (**esquema 19**). O íon nitrônio reage com a vanilina para formar um intermediário carbocátion, com a

subsequente perda de um  $H^+$  formando o produto de substituição neutro, o composto **37 (NBVAN)**.

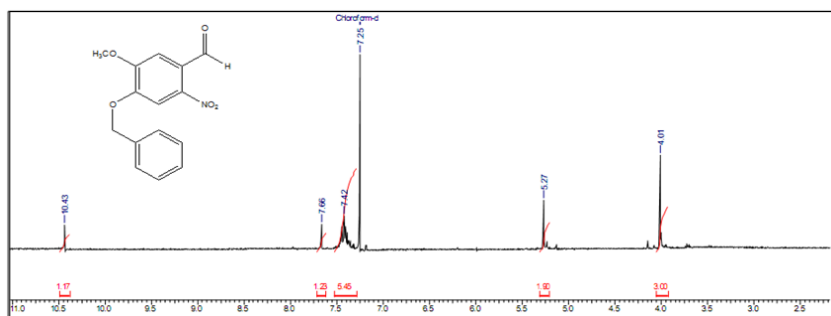


**Esquema 19:** Mecanismo de nitração do *O*-benzilvanilina

A confirmação da estrutura do composto **NBVAN (37)** foi realizada através da análise de espectrometria de IV e RMN de  $^1H$ . No espectro de IV (**Figura 17**) observaram-se bandas em  $1678\text{ cm}^{-1}$  referente à carbonila do grupo aldeído conjugada ao anel aromático, uma banda forte em  $1517\text{ cm}^{-1}$  e uma fraca em  $1334\text{ cm}^{-1}$  característica do grupo nitro. No Espectro de RMN de  $^1H$  (**Figura 18**) observou-se uma mudança no perfil dos sinais observados para os átomos de hidrogênio aromáticos pela inserção do grupo nitro na posição C-6 do anel da vanilina. O surgimento de dois simpletos em  $\delta$  7,42 e 7,66 ppm com integração de 1 hidrogênio para cada sinal, confirmam a presença do grupo nitro na posição C-6 do anel.



**Figura 16:** Espectro de IV do composto NBVAN (37) (pastilha KBr)



**Figura 17:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto NBVAN (37) (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)

### 5.3.3. Redução do grupo nitro

A etapa subsequente, e uma das mais delicadas, foi a redução do grupo nitro a amino. Essa etapa exigiu um pouco mais de cuidado na escolha dos reagentes porque teríamos que impedir a redução da carbonila do aldeído. Raitio et al<sup>44</sup> conseguiram reduzir o grupo nitro com um rendimento de 71%, utilizando ferro em uma mistura de etanol/ácido acético e água.



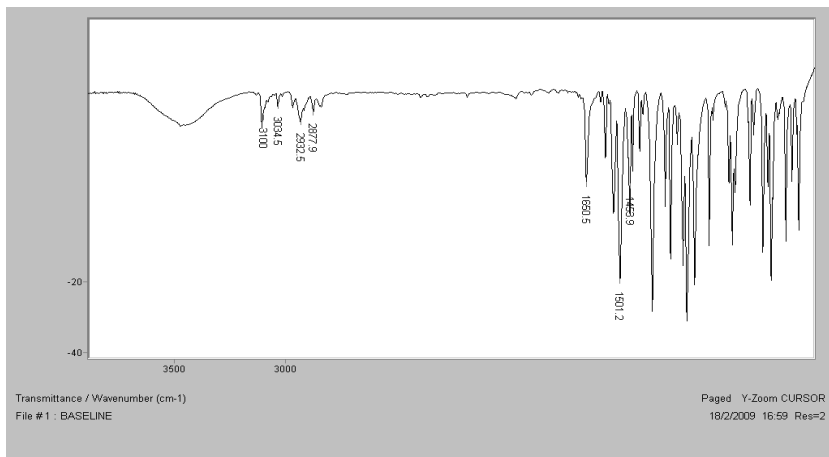
Nas primeiras tentativas de reproduzir esse procedimento obtivemos o composto 6-amino-*O*-benzil-vanilina (**ABVAN**) (**38**) com um rendimento de 44,0%. Esse baixo rendimento pode ser devido à dificuldade de solubilização do produto durante a reação.

Nas tentativas subsequentes realizamos a mesma metodologia descrita por Raitio et al<sup>44</sup>, porém tomando alguns cuidados, o principal deles foi esperar a solução de AcOH/EtOH/H<sub>2</sub>O e **NBVAN 37** iniciar o refluxo antes de adicionarmos o ferro e o HCl. Com isso, formou-se uma solução mais homogênea resultando na obtenção de produto mais limpo facilitando assim a purificação do mesmo por coluna cromatográfica utilizando sílica gel de granulação 70-230 mesh (0,063-0,2 mm) da Merck, obtendo ao final um rendimento de 64,7%.

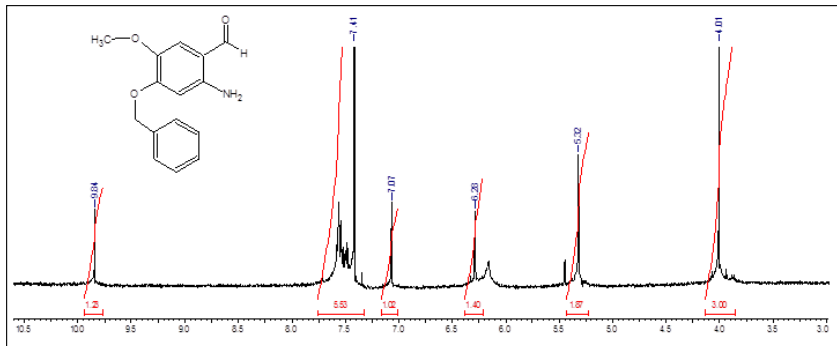
A redução de compostos nitrados implica na substituição progressiva dos átomos de oxigênio ligados ao grupo nitro por hidrogênios. Para essa redução é necessário um sistema redutor formado aqui por Fe/HCl, onde o ferro fornece elétrons ao sistema sendo portanto oxidado, enquanto a mistura HCl/H<sub>2</sub>O fornecem os hidrogênios necessários para formação do íon anilínio, que é neutralizado pela base presente na reação.

A confirmação da estrutura do composto **ABVAN (38)** foi realizada através da análise de espectrometria de IV e RMN de <sup>1</sup>H, e análise elementar de CHN. No espectro de IV (**Figura 19**) observou-se uma banda bastante larga entre 3200 3500 cm<sup>-1</sup> que foi atribuído ao estiramento de ligação N-H comprovando a formação do grupo amino e 1650 cm<sup>-1</sup> mostrando que a carbonila permaneceu intacta comprovando a redução apenas do grupo nitro. A diminuição de 27 cm<sup>-1</sup> para o estiramento da carbonila corrobora com a proposta de grupo amino orto ao grupo aldeído envolvido em ligação de hidrogênio intramolecular. No espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (**Figura 19**) observa-se a presença de um simpleto em δ 6,28 ppm relativo aos hidrogênios do grupo amino. Para se ter maior segurança sobre a formação do produto realizou-se também análise de CHN, o resultado pode ser conferido na **Tabela 3** e mostrou-se bastante satisfatório uma vez que o percentual de carbono, nitrogênio e oxigênio, detectados na

análise mostraram-se bastante coerentes com a quantidade teórica de cada elemento.



**Figura 18:** Espectro de IV do composto **ABVAN (38)** (pastilha de KBr)



**Figura 19:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **ABVAN (38)** ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)

**Tabela 3:** Análise elementar de CHN do composto **ABVAN (38)**

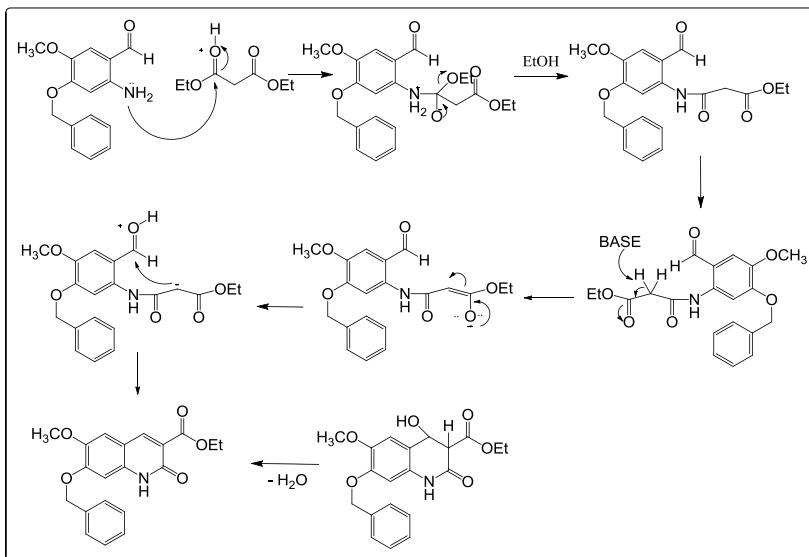
<b>Análise</b>	<b>nitrogênio</b>	<b>carbono</b>	<b>Hidrogênio</b>
% desvio padrão	3,12	3,47	11,25
Teórico	5,16	70,83	6,32
<b>ABVAN</b>	5,76	70,31	5,28

#### **5.3.4. Etapa de Ciclização**

Uma vez obtido o composto **ABVAN (38)**, a próxima etapa foi a ciclização do anel formando assim o grupamento lactama. Para esta etapa selecionamos a metodologia descrita por Raitio et al<sup>44</sup> e Gao et al<sup>45</sup>, na qual os autores prepararam o éster de quinolinona utilizando dietilmalonato na presença de piperidina e uma quantidade catalítica de ácido acético com 85% de rendimento. Reproduzimos este procedimento que resultou na obtenção do composto 6-metoxi-7-benziloxi-3-carboxietil-2-quinolinona (**39**) (**MBCEQ**) com 78,2% de rendimento.

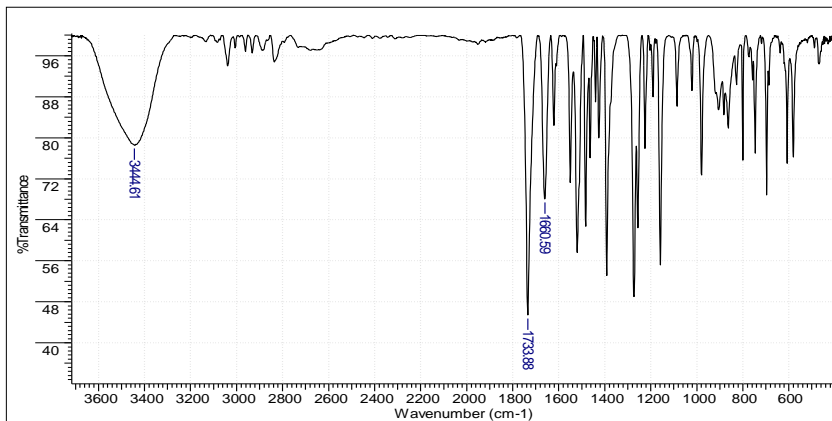
Para essa reação não encontramos maiores dificuldades, o produto é facilmente obtido em elevado grau de pureza após purificação em coluna cromatográfica utilizando sílica gel de granulação 70-230 mesh (0,063-0,2 mm) da Merck.

O mecanismo proposto para a reação de formação do composto **MBCEQ 39** pode ser observado no **Esquema 20**:

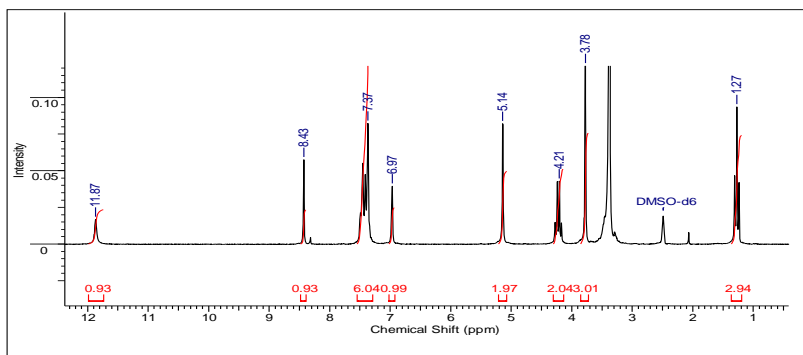


**Esquema 20:** Mecanismo de reação para formação do produto MBCEQ (39).

A confirmação da estrutura do composto **MBCEQ (39)** se deu através da análise de espectrometria de IV e de RMN de  $^1\text{H}$ . No espectro de IV (**Figura 20**) pode-se observar uma banda bastante larga na região entre  $3300\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  que foi atribuído ao estiramento de ligação N-H, uma banda bastante intensa em  $1733\text{ cm}^{-1}$  referente à carbonila do grupo éster conjugada ao anel aromático e uma banda em  $1660\text{ cm}^{-1}$  que foi atribuída à carbonila do grupamento lactama. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 21**) foi observada a presença do etil éster representado pelo sistema de spin formado por um tripleto em  $\delta\ 1,27\text{ ppm}$  ( $3\text{H}$ ,  $J=7,02\text{ Hz}$ ) e quarteto em  $\delta\ 4,21\text{ ppm}$  ( $2\text{H}$ ,  $J=7,02\text{ Hz}$ ). O simpleto em  $\delta\ 8,43\text{ ppm}$  com integração para 1 hidrogênio foi atribuído ao H-4 do anel lactâmico e o simpleto em  $\delta\ 11,87\text{ ppm}$  com integração para 1 hidrogênio referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio do anel lactâmico.



**Figura 20:** Espectro de IV do composto **MBCEQ (39)** (pastilha de KBr)



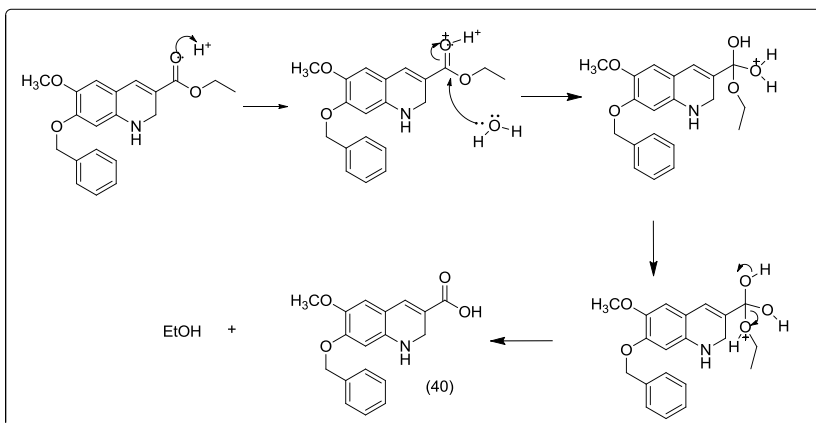
**Figura 21:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **MBCEQ (39)** (DMSO, 200 MHz)

### 5.3.5. Hidrólise do grupo éster

Nessa etapa foi necessária a hidrólise do grupo éster do composto **MBCEQ (39)** para formar então o composto **MBCQ (40)**. Para isto, selecionamos a metodologia descrita por Gao et al<sup>45</sup>, os quais preparam o ácido de quinolinona através da reação com HCl 2mol/L a 60 °C com um rendimento de 55,0%. A metodologia foi reproduzida e o composto 6-metoxi-7-benziloxi-3-carboxi-2-quinolinona (**40**) foi obtido com 53,3% de rendimento.

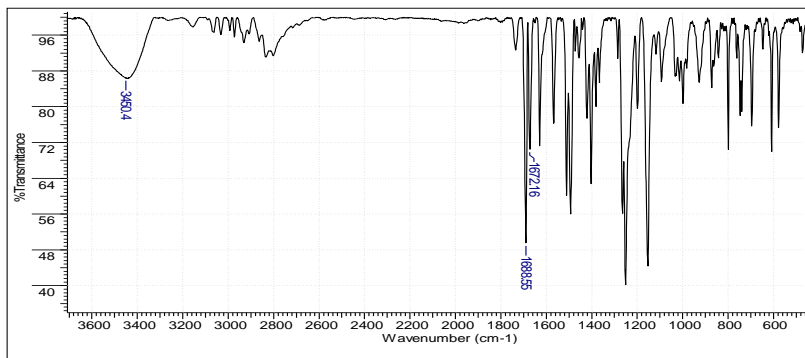
Essa etapa foi executada sem maiores dificuldades onde o produto foi obtido com elevado grau de pureza sem a necessidade de purificação por cromatografia em coluna ou recristalização, sendo apenas lavado com água gelada no próprio funil de Buchner no momento da filtração.

Essa é uma reação de hidrólise de éster catalisada por ácido (**Esquema 21**) onde a protonação da carbonila a ativa frente ao ataque do nucleófilo (água nesse caso), resultando em um intermediário tetraédrico. A transferência de um próton transforma o grupo etil em um bom grupo de saída. A seguinte expulsão do álcool gera o grupo carboxílico e regenera o catalisador ácido.

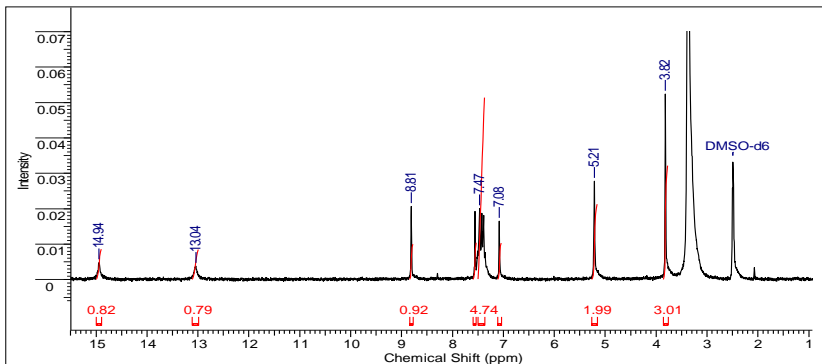


**Esquema 21:** Mecanismo de reação de hidrólise do grupo éster.

A confirmação estrutural do composto **40 (MBCQ)** se deu através da análise de espectrometria de IV e RMN de  $^1\text{H}$ . No espectro de infravelho (**Figura 22**) podemos observar uma banda bastante larga entre  $3300\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento de ligação N-H e ao estiramento da ligação O-H do grupo carboxílico, uma banda bastante intensa em  $1688\text{ cm}^{-1}$  referente à carbonila do grupo ácido e uma banda em  $1672\text{ cm}^{-1}$  referente à carbonila do grupamento lactama. No espectro RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 23**) podemos observar principalmente que em relação ao espectro da figura 19 não se observa a presença dos sinais referentes ao grupo etil do éster, um triplete em  $1,26\text{ ppm}$  e um quarteto em  $4,20\text{ ppm}$  com integração para 3 e 2 hidrogênios respectivamente. A presença de um simpleto em  $14,94\text{ ppm}$  com integração para 1 hidrogênio pode ser atribuído ao hidrogênio hidroxílico do grupo carboxílico. Estes resultados nos mostram claramente que a hidrólise do grupo éster ocorreu formando assim um grupamento ácido.



**Figura 22:** Espectro de IV do composto **MBCQ (40)** (pastilha de KBr)



**Figura 23:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(40) MBCQ** (DMSO, 200 MHz)

### 5.3.6. Debenzilação

Após ter alcançado o produto **40 (MBCQ)** com sucesso, as próximas etapas necessárias para se obter a quinolinona isótere da escopoletina são a debenzilação e descarboxilação. Para a debenzilação selecionamos a metodologia descrita por Tsai e Klinman,<sup>42</sup> na qual os autores realizaram a debenzilação da *O*-benzilvanilina utilizando uma solução de ácido acético glacial e ácido bromídrico 48,0% a 85°C e obtiveram um rendimento de 60,0%. Reproduzimos essa metodologia alcançando rendimentos que ficaram entre 51-70,0%.

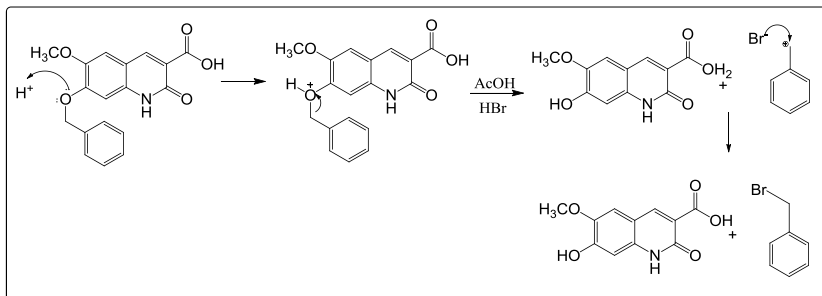
Nessa etapa novamente não encontramos dificuldades, o produto foi facilmente purificado através de filtração seguida de lavagem com água gelada. Na primeira síntese realizada, o rendimento obtido foi de 51%, rendimento pouco abaixo do reportado na literatura.<sup>42</sup> As sínteses seguintes foram realizadas fazendo-se alguns ajustes, principalmente na temperatura com a finalidade de obter o produto com melhores rendimentos. Com os resultados apresentados na **Tabela 4**, pode-se observar que a reação ocorre mais satisfatoriamente a uma faixa de temperatura próxima dos 90°C.



**Tabela 4:** Resultados obtidos na debenzilação do (41) MCQ

Temperatura (°C)	Tempo (horas)	Rendimento
110	18	51%
90	18	70%
80	18	62%

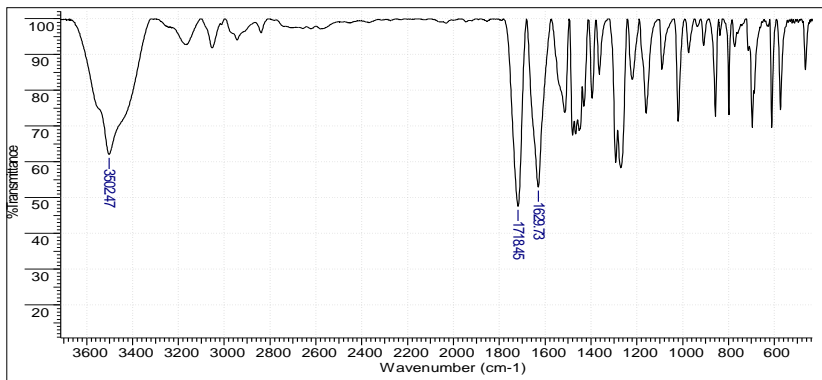
A clivagem ácida de éteres é uma reação típica de substituição nucleofílica. Os éteres com grupo alquila primário e secundário reagem por mecanismo  $S_N2$ . No entanto, os éteres terciários, benzílicos ou alílicos sofrem clivagem por meio de um mecanismo  $S_N1$  ou  $E1$ , uma vez que esses substratos podem produzir intermediários carbocatiônicos estáveis. Nesse caso, trata-se de um substrato benzílico, portanto, sofre clivagem por meio de um mecanismo  $S_N1$  levando assim à formação de um álcool e brometo de benzila (**Esquema 22**).



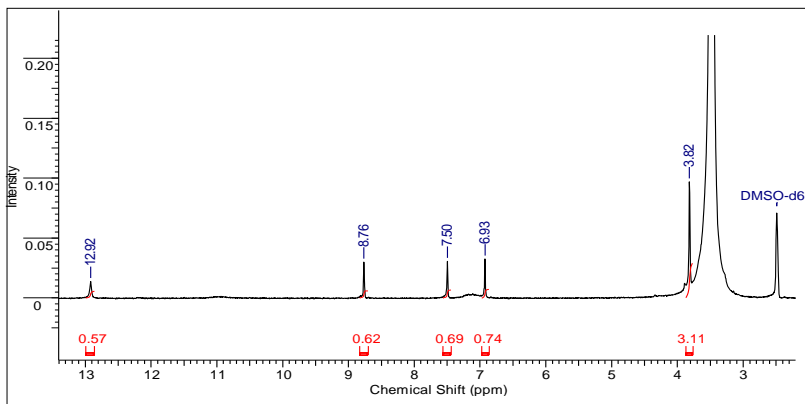
**Esquema 22:** Mecanismo de hidrólise ácida de éter

A confirmação estrutural do composto **MCQ (41)** foi realizada através da análise de espectrometria de IV e RMN de  $^1H$ . No espectro de IV (**Figura 24**), pode-se observar uma banda bastante larga e intensa na região entre  $3300$  e  $3650\text{ cm}^{-1}$  que corresponde à sobreposição dos estiramentos de ligação N-H e O-H presentes na molécula, pode-se observar também a presença de duas bandas bastante intensa e  $1718\text{ cm}^{-1}$  e  $1629\text{ cm}^{-1}$  referentes à carbonila do grupo ácido e da lactama, respectivamente. No espectro de RMN de  $^1H$  (**Figura 25**) pode-se

observar a ausência do simpleto em  $\delta$  5,21 ppm referente aos 2 hidrogênios do carbono metilênico do grupo benzílico, além da ausência de uma série de sinais na região de  $\delta$  7,40 ppm referente aos hidrogênios do anel aromático do grupo benzílico. Estes resultados mostram claramente que o objetivo da reação foi alcançado, ou seja, a hidrólise do grupo benzil ocorreu com sucesso.



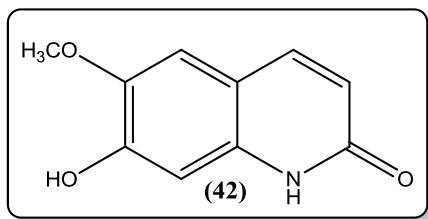
**Figura 24:** Espectro de IV do composto **MCQ (41)** (pastilha de KBr).



**Figura 25:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto **MCQ (41)** (DMSO, 200 MHz).

### 5.3.7. Etapa de descarboxilação

Após ter obtido todos os produtos anteriores com sucesso, a próxima etapa necessária para se obter uma quinolinona isóstere da escopoletina com o mesmo padrão de substituição é a descarboxilação. Para tal selecionamos cinco metodologias amplamente descritas na literatura com a finalidade única de se obter o composto 7-hidróxi-6-metoxi-2-quinolinona (**42**).



**Figura 26:** Estrutura do composto 7-hidróxi-6-metoxi-2-quinolinona (**42**)

A descarboxilação é uma reação altamente conhecida na síntese orgânica. Entretanto, enquanto a descarboxilação de ácidos carboxílicos altamente ativados, como por exemplo, ácido malônico,  $\beta$ -ceto ácidos, ácido difenilacético e ácidos benzóicos polifluorados possuem rendimentos razoavelmente bons mesmo sem a presença de um catalisador, a descarboxilação de ácidos benzóicos desativados é muito difícil e complicada.

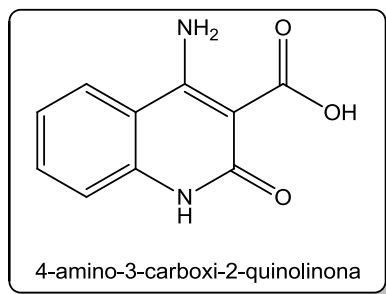
A descarboxilação de ácidos aromáticos ocorre mais frequentemente pelo aquecimento na presença de cobre e quinolina. Entretanto, dois outros métodos podem ser utilizados em certos substratos. O primeiro trata do aquecimento do sal do ácido ( $\text{ArCOO}^-$ ), e no segundo o ácido carboxílico é aquecido na presença de um ácido forte, mais frequentemente o ácido sulfúrico. No entanto, este método é acelerado pela presença de grupos doadores de elétrons na posição orto e para.<sup>43</sup>

Com a descarboxilação seja do composto **MBCQ (40)** ou **MCQ (41)** espera-se observar no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do produto descarboxilado a presença de um par de dupletos na região de  $\delta$  8,0 ppm

e 6,5 ppm, com constantes de acoplamento em torno de 9 Hz ( $J_{cis}$ ), referente aos hidrogênios 4 e 3 do anel lactama  $\alpha$ ,  $\beta$ , insaturado.

- **Descarboxilação com benzilamina**

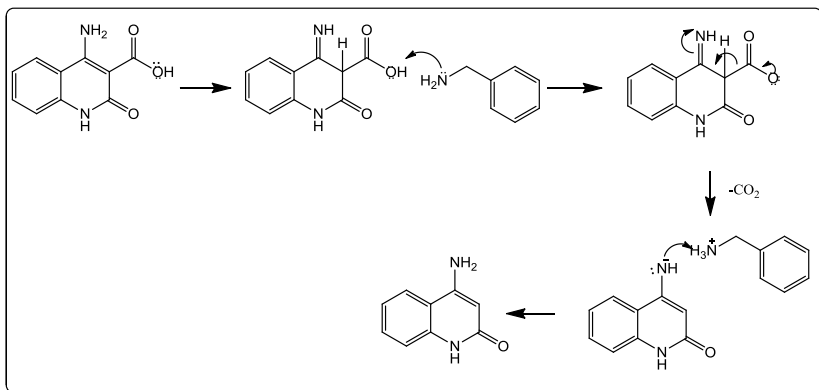
A primeira metodologia testada foi descrita por Ukrainets et al<sup>46</sup>, na qual os autores utilizaram benzilamina em DMF para realizar a descarboxilação do composto 4-amino-3-carboxi-2-quinolinona (**Figura 27**) com 95,0% de rendimento.



**Figura 27:** Estrutura do composto 4-amino-3-carboxi-2-quinolinona

Reproduzimos essa mesma metodologia descrita por Ukrainets et al<sup>46</sup> a fim de conseguir realizar a descarboxilação do composto **MCQ (41)**, porém não obtivemos sucesso, pois no espectro de RMN de <sup>1</sup>H não foi observada qualquer alteração nos sinais já apresentados na **figura 25**, comprovando assim a não descarboxilação do composto **MCQ (41)**.

Essa é uma reação de descarboxilação catalisada por base, na qual inicialmente, a benzilamina (base) abstrai o próton do grupo carboxílico (CO<sub>2</sub>H) liberando assim CO<sub>2</sub>, onde o par de elétrons deixado por este forma a dupl ligação entre os carbonos C-3 e C-4 do anel quinolinônico seguida da restituição do substituinte amino para formar o composto descarboxilado de interesse como mostrado no **Esquema23**.



**Esquema 23:** Mecanismo de descarboxilação catalisado por base

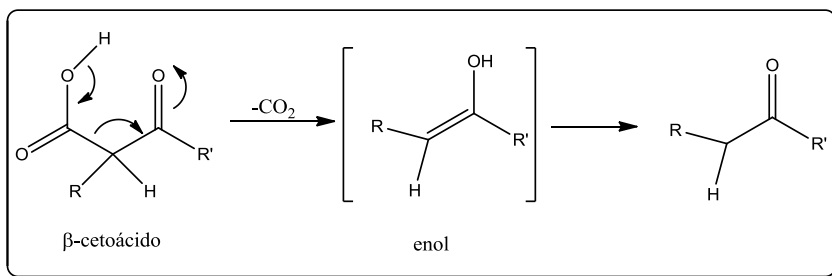
- **Descarboxilação térmica**

A segunda metodologia testada para descarboxilação do composto **41** (MCQ) foi descrita por Catherine et al,<sup>47</sup> na qual os autores realizaram a descarboxilação do composto 4-amino-3-carboxi-2-quinolinona (**figura 26**), através do aquecimento a 295 °C durante 10 minutos sem a presença de solvente.

Reproduzimos esta metodologia utilizando banho de areia para atingir tal temperatura. Porém, após análise de espectrometria de RMN de <sup>1</sup>H não foi observada qualquer alteração nos sinais referentes ao espectro do composto MCQ (**Figura 25**) mostrando que a descarboxilação não foi alcançada.

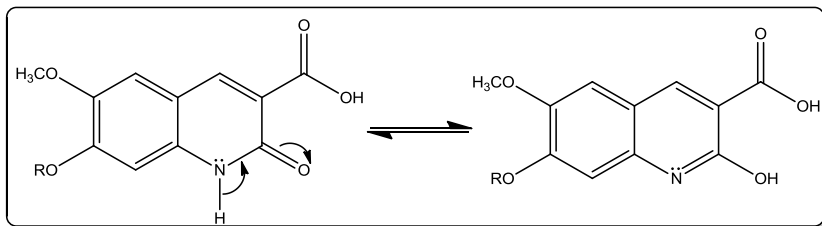
Esta metodologia vai de encontro com o que está escrito no livro Química Orgânica de John Mc Murry<sup>52</sup>:

*“a descarboxilação não é uma reação geral de ácidos carboxílicos. Preferencialmente é única para compostos que tem um segundo grupo carboxílico distante de dois átomos do  $-CO_2H$ . Isto é, apenas ácidos malônicos e os  $\beta$ -cetoácidos sofrem perda de  $CO_2$  sob aquecimento. A reação de descarboxilação ocorre por um mecanismo cíclico (**Esquema 24**) e envolve a formação inicial de um enol, portanto justificando a necessidade de ter um segundo grupo carbonila apropriadamente posicionado.”*



**Esquema 24:** Descarboxilação de um  $\beta$ -cetoácido

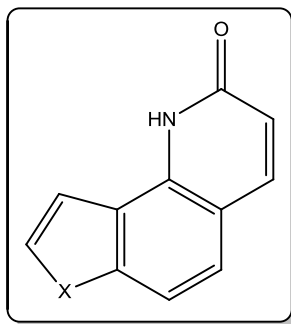
O mecanismo apresentado no **Esquema 24** corrobora com a estrutura de uma quinolinona como a que estamos trabalhando, a qual possui uma carbonila na posição  $\beta$  em relação ao grupo carboxílico. Acreditamos portanto que o resultado esperado para esta reação não foi alcançado devido a uma possível enolização da estrutura (**Esquema 25**) preferencialmente a ressonância do par de elétrons da ligação do grupo carboxila com a  $\beta$  carbonila (**Esquema 24**).



**Esquema 25:** Equilíbrio entre as formas ceto-enólica da molécula de quinolinona

- **Descarboxilação com  $\text{Cu}^0$  e quinolina**

Após não ter obtido sucesso nas duas tentativas anteriores de descarboxilação, decidimos testar a metodologia descrita por Fossa et al,<sup>48</sup> na qual o autor utiliza  $\text{Cu}^0$  em pó e quinolina em refluxo sob agitação por 6 horas para realizar a descarboxilação de uma série de quinolinonas com o esqueleto apresentado na **figura 28**.



**Figura 28:** Estrutura base da série de quinolinona estudada por Fossa et al<sup>48</sup>

Reproduzimos esta mesma metodologia descrita por Fossa et al<sup>48</sup>, no entanto, o objetivo principal não foi alcançado. Realizada a purificação através de coluna flash, as frações recolhidas foram analisadas por CCD e as que apresentaram  $R_f$  superior ao de produto de

partida foram submetidas à análise por RMN de  $^1\text{H}$ , sendo que nenhuma das frações foi identificada como sendo o produto descarboxilado de interesse.

A reação de descarboxilação utilizando cobre foi primeiramente descrita em 1930 por Shepard et al,<sup>53</sup> os autores descobriram que ácidos furano carboxílicos halogenados podem ser descarboxilados em altas temperaturas na presença estequiométrica de cobre. Posteriormente esse método foi utilizado por Nilsson,<sup>54, 55</sup> Shepard<sup>56</sup> e Cohen<sup>57, 58</sup> para realizar a descarboxilação de ácidos benzóicos ativados, os quais evidenciaram que uma  $\sigma$ -ligação Cu-aril deve estar envolvida no processo. No entanto, o mecanismo exato dessa reação continua sendo objeto de estudo e discussão. Entretanto, a reação possui uma desvantagem, os ácidos arenocarboxílicos devem ser orto-substituídos contendo um grupo retirador de elétrons como um nitro ou um halogênio, ou conter um heteroátomo para ocorrer a descarboxilação em bons rendimentos.

- **Descarboxilação catalisada por  $\text{H}_2\text{SO}_4$**

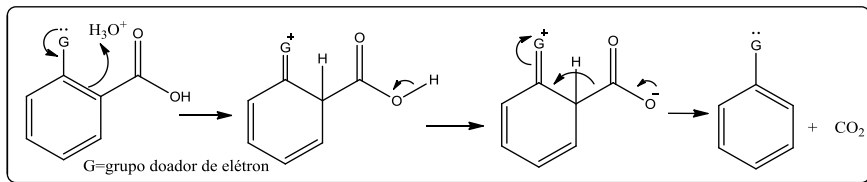
Continuando a busca pela descarboxilação da quinolinona, decidimos testar a metodologia descrita por Ukrainets et al.<sup>49</sup> O autor realizou a descarboxilação de quinolinonas em presença de ácido sulfúrico 96%. Após o término da reação nenhuma alteração de Rf ou no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foram observadas em relação ao composto de partida.

Essa metodologia concorda com o que está escrito no item 5.3.7 onde segundo o livro do March<sup>51</sup> a descarboxilação de ácidos aromáticos pode ser realizada por aquecimento na presença de ácidos fortes, mais comumente o ácido sulfúrico, porém essa reação é favorecida pela presença de um grupo doador de elétrons *orto* ao grupo carboxil.

Neste mecanismo de descarboxilação proposto, inicialmente ocorre a protonação do anel aromático formando o íon arênio, como o  $\text{CO}_2$  é um melhor grupo de saída que o  $\text{COOH}$ , este perde um próton



antes de abandonar o anel aromático deixando o par de elétron da ligação C-Ar (**Esquema 26**).



**Esquema 26:** Mecanismo de descarboxilação de ácidos aromáticos com ácido sulfúrico.

- **Descarboxilação com  $NaHSO_3$  e  $H_2SO_4$**

A última tentativa (até então) se deu com a metodologia descrita por Adams et al.<sup>50</sup> O autor utiliza bissulfito de sódio 20,0% sob aquecimento por aproximadamente duas horas, seguida da adição de ácido sulfúrico concentrado e refluxo por mais uma hora, para realizar a descarboxilação da 3-carboxicumarina.

Reproduzimos essa mesma metodologia com nosso substrato, no entanto ao término da reação o produto foi analisado por espectro de RMN de  $^1H$  sem que novamente fosse observada qualquer alteração em relação ao produto de partida.

Nesta reação com bissulfito de sódio forma-se o sal de ácido carboxílico, seguida do aquecimento em meio ácido para provocar a descarboxilação, através da liberação de  $CO_2$ . Esta metodologia vai de encontro com o que está escrito no item 5.3.7 onde diz que a descarboxilação de ácidos aromáticos pode ocorrer através da transformação em sal de ácido carboxílico seguido de aquecimento.



## 6. Conclusões

### • Obtenção de derivados da escopoletina

Para fins de transformações estruturais e síntese de derivados, a obtenção da escopoletina diretamente da *P. sabulosa* torna-se inviável por ser um componente minoritário da espécie, requerendo uma grande quantidade de planta com altos gastos nos procedimentos de extração e isolamento. No entanto, essa planta produz grandes quantidades de 6-metoxi-7-preniloxicumarina que pode ser utilizada como material de partida para obtenção da escopoletina.

A hidrólise ácida da 6-metoxi-7-preniloxicumarina foi facilmente realizada com bom rendimento, possibilitando a obtenção de grandes quantidades de escopoletina para realização das transformações estruturais e viabilizar posteriores estudos de correlação estrutura atividade.

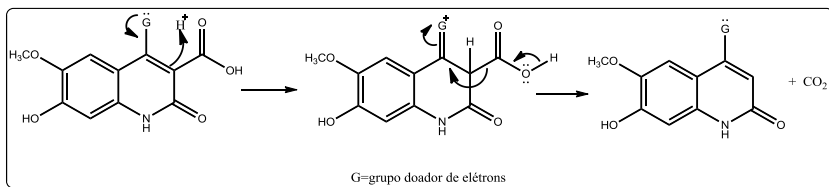
Os derivados benzoilados da escopoletina foram obtidos em bons rendimentos, exceto o *p*-bromobenzoilescopoletina, fato que demonstra a eficiência do método utilizado.

### • Síntese de quinolinona isóstere da escopoletina

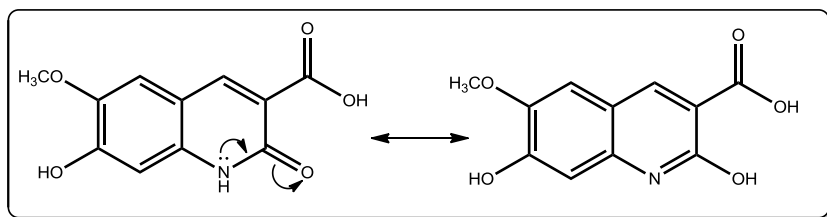
Para a síntese de um isóstero análogo à escopoletina selecionamos uma rota que envolve metodologias clássicas, o que nos permitiu alcançar o composto **MCQ (41)** através de reações que apresentaram bons rendimentos, demonstrando a eficiência da rota escolhida.

Porém, a última etapa, que seria a descarboxilação do composto **MCQ (41)**, gerando uma quinolinona isóstere com o mesmo padrão de substituição da escopoletina ainda não foi alcançada. Postulamos que o insucesso das metodologias testadas para essa última etapa se deve principalmente a dois fatos. O primeiro é a ausência de um grupo doador de elétrons na posição orto ao grupo carboxílico, fato que dificulta a realização das metodologias que utilizavam como reagantes benzilamina ou ácido sulfúrico, pois essas reações ocorrem via um mecanismo que é favorecido pela presença de tais grupos doadores na respectiva posição como apresentado no **Esquema 27**. O segundo é devido a existência do

par de elétrons livre no nitrogênio do anel lactama, isto dificulta a descarboxilação através de metodologias que necessitam da conjugação dos elétrons do grupo carboxílico com um grupo  $\beta$ -ceto presente na molécula (como no caso da descarboxilação térmica), uma vez que os elétrons livres do nitrogênio participam do equilíbrio ceto-enólico presente na molécula conforme mostrado no **Esquema 28**.



**Esquema 27:** Mecanismo de descarboxilação na presença de um grupo doador de elétrons orto ao grupo carboxílico

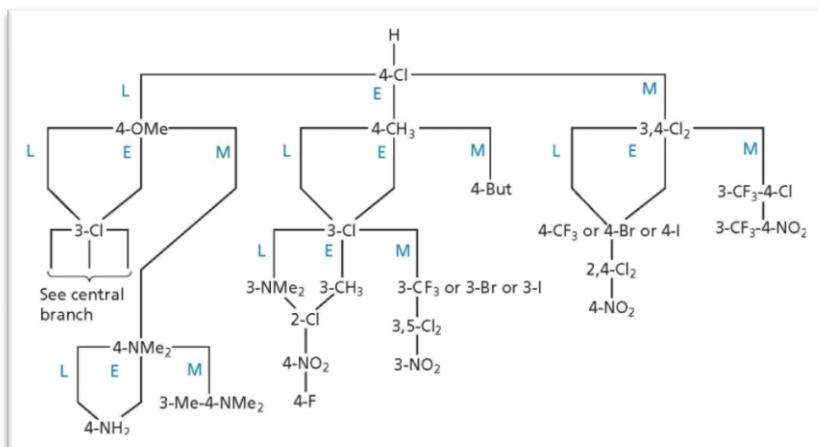


**Esquema 28:** Ressonância do par de elétrons do nitrogênio com a carbonila do anel lactâmico.

## 7. Perspectivas

### 7.1 Preparo de novos derivados da escopoletina

Considerando os resultados promissores encontrados para a atividade antidepressiva de alguns derivados semi-sintéticos da escopoletina, o trabalho poderá em sua continuidade ser focado na síntese de um maior número de benzoil derivados análogos à escopoletina seguindo a árvore de decisão de Topliss (**Esquema 29**), incluindo também, derivados de cadeia aberta linear ou ramificada. Isto permitirá futuros estudos de correlação estrutura atividade com a avaliação dos efeitos hidrofóbicos, estéricos e eletrônicos.



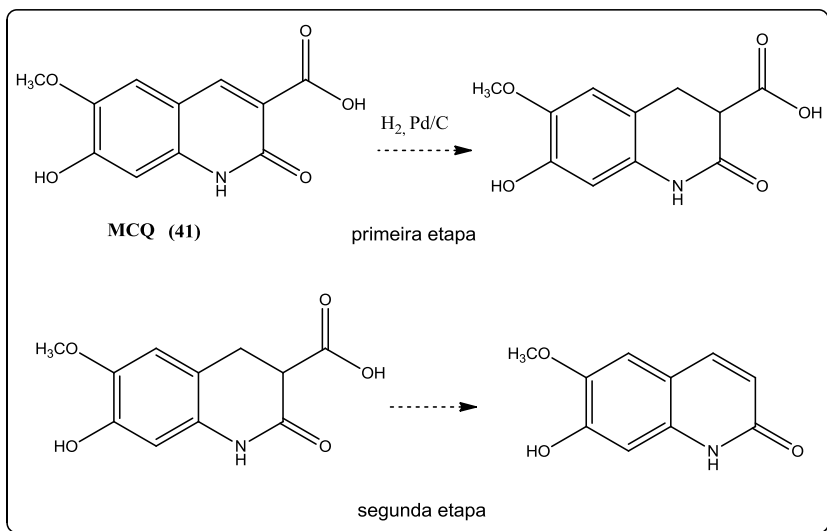
**Esquema 29:** Árvore de decisão de Topliss

### 7.2. Síntese de novos isósteres análogos da escopoletina incluindo benzoil e acil derivados com a avaliação do bioisosterismo

As perspectivas de trabalhos que envolvam o isóstere da escopoletina são muito boas. A descarboxilação do composto **MCQ (41)** leva ao isóstere 7-hidroxi-6-metoxi-2-quinolinona e ao preparo das mesmas séries de análogos, o que permitirá um amplo estudo voltado ao

bioisosterismo na obtenção de novos compostos ativos com promissoras ações terapêuticas.

Nesse ponto, a etapa chave é a descarboxilação do composto 7-hidroxi-6-metóxi-3-carboxi-2-quinolinona **MCQ (41)**. Postulamos que o insucesso da descarboxilação, deve-se à ausência de um grupo doador de elétrons *orto* ao grupo carboxílico em nosso sistema. Propomos uma nova metodologia envolvendo numa primeira etapa a hidrogenação da dupla ligação entre os átomos de carbono C3 e C4 do anel lactâmico, quebrando assim a aromaticidade do sistema, e numa segunda etapa a descarboxilação propriamente dita (**Esquema 30**).

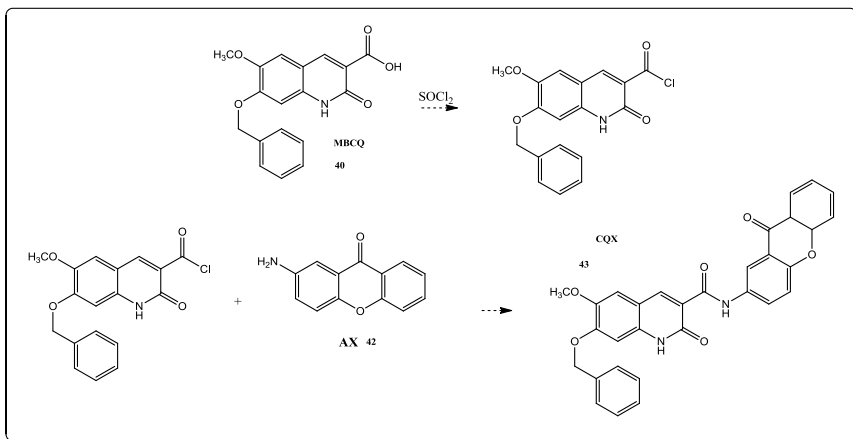


**Esquema 30:** Tentativa futura de descarboxilação

Outra linha de investigação de grande perspectiva é a junção do núcleo quinolinônico com o núcleo xantônico que poderá ser inserido nos estudos dos derivados aminoxantônicos que vêm sendo investigados pelo nosso grupo de pesquisa.

Nesse aspecto, poderá ser trabalhado a junção da quinolinona **MBCQ (40)** com aminoxantonas (**42**) (**AX**) já sintetizadas pelo nosso

grupo de pesquisa, dando origem a compostos contendo núcleos xantônicos unidos a grupos quinolinônicos através de uma ligação amídica (**43**) (**CQX**). A estratégia proposta para obtenção de **43** (**CQX**) envolve o preparo do cloreto de ácido a partir da reação do composto **MBCQ** (**40**) com cloreto de tionila seguida da reação com uma aminoxantona utilizando piridina como solvente (**Esquema 31**).



**Esquema 31:** Fusão do composto **MBCQ** (**40**) com uma aminoxantona





## 8. Referências Bibliográficas

1. Maciel, M. A. M.; et al, Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *quim, nova* **2001**, 25, 429-438.
2. Viegas, C.; et. al., Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quim. Nova* **2006**, 29, 326-337.
3. Diniz, A. C. B.; et al, Alteração dos metabólitos secundários em plantas de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) submetidas à secagem e ao congelamento. *Acta Bot. Bras.* **2007**, 21, 443-450.
4. Newman, D. J.; et al, Natural Products as Pharmaceuticals and Sources for Lead Structures In *The Practice of Medicinal Chemistry*, 2008.
5. Meotti, F. C.; Pretto, J. B.; Souza, M. M.; Soldi, C.; Pizzolatti, M.G.; et al, Antinociceptive properties of coumarins, steroid and dihydrostyryl-2-pyrones from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2006**, 58, 107.
6. Pizzolatti, M. G. et al, Antinociceptive properties of coumarins, steroid and dihydrostyryl-2-pyrones from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in mice *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2006**, 58, 107-112.
7. Ribas, C. M.; Meotti, F. C.; Nascimento, F. P.; Jacques, A. V.; Dafre, A. L.; Rodrigues, A. L. S.; Farina, M.; Soldi, C.; Mendes, B. G.; Pizzolatti, M. G.; Santos, A. R. S., Antinociceptive Effect of the *Polygala sabulosa* Hydroalcoholic Extract in Mice: Evidence for the Involvement of Glutamatergic Receptors and Cytokine Pathways. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **2008**, 103 (1), 43-47.
8. Cyong, J. C.; et al, Clinical and Pharmacological Studies on Liver Diseases Treated with Kampo Herbal Medicine. *American Journal of Chinese Medicine* **2000**, 28, 351- 360.

9. Pizzolatti, M. G.; Koga, A. H.; Grisard, E. C.; Steindel, M., Trypanocidal activity of extracts from Brazilian Atlantic Rain Forest plant species. *Phytomedicine* **2003**, *10* (5), 422-426.
10. Mak, N. K. et. al, Expression of protein kinase C isoforms in euxanthone-induced differentiation of neuroblastoma cells. . *Planta Med.* **2001**, *67* 400–405.
11. Kwon, Y. S.; et al, a Korean herbal medicine attenuates methamphetamine-induced hyperlocomotion via adenosine A2A receptor stimulation in mice. *Biol. Pharm. Bull* **2004**, *27*, 906-909.
12. Pinheiro, T. R.; Pizzolatti, M. G., et al., Three xanthones from *Polygala cyparissias*. *Phytochemistry*. **1998**, *48*, 725–728.
12. Zhang, D., et al., *Polygala* saponins from roots of *Polygala glomerata*. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 459–466.
14. Cristiano, R., et al., Two xanthones from *Polygala paniculata* and confirmation of the 1-hydroxy-2,3,5-trimethoxy-xanthone at trace level by HRGC-MS. *Z. Naturforsch* **2003**, *58*, 490–494
15. Pizzolatti, M. G.; Cunha, A.; Pereira, W. S.; Delle Monache, F., A new styryl-2-pyrone derivative from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **2004**, *32* (6), 603-606.
16. Pizzolatti, M. G., et al., Styryl and dihydrostyryl-2-pyrones derivatives from *Polygala sabulosa*. . *Phytochemistry* **2000**, *55*, 819–822.
17. Capra, J. C.; Cunha, M. P.; Machado, D. G.; Zomkowski, A. D. E.; Mendes, B. G.; Santos, A. R. S.; Pizzolatti, M. G.; Rodrigues, A. L. S., Antidepressant-like effect of scopoletin, a coumarin isolated from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in mice: Evidence for the involvement

of monoaminergic systems. *European Journal of Pharmacology* **2010**, *643* (2-3), 232-238.

18. Wermuth, C. G., *The practice of medicinal chemistry*. second ed.; 2003; p 189-195.

19. Languimuir, I., Isophormism, isoterism and covalence. *J. Am. Chem. Soc.* **1919**, *41*, 1543-1559.

20. Erlenmeyer, H., Leo, M., Uber pseudoatome. *Helv. Chim. Acta* **1932**, *15*, 1171-1186.

21. Erlenmeyer, H., Les coposes isostères et le problème de la recemblance en chimie. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **1948**, *30*, 792-805.

22. Grim, H. G., Structure and size of the non-metalic hybrids. *Z. Electrochem* **1925**, *31*, 474-480.

23. Thornber, C. W., Isosterism and molecular modifications in drug design. *Chem. Soc. Rev.* **1957**, 64-80.

24. Inamoto, K.; Saito, T.; Hiroya, K.; Doi, T., Palladium-Catalyzed Intramolecular Amidation of C(sp<sup>2</sup>)-H Bonds: Synthesis of 4-Aryl-2-quinolinones. *Journal of Organic Chemistry* **2010**, *75* (11), 3900-3903.

25. Minville, J.; Poulin, J.; Dufresne, C.; Sturino, C. F., A general synthesis of quinolinones and benzothiazine 1,1-dioxides via ring closing metathesis. *Tetrahedron Letters* **2008**, *49* (22), 3677-3681.

26. Kalkhambkar, R. G.; Aridoss, G.; Kulkarni, G. M.; Bapset, R. M.; Mudaraddi, T. Y.; Premkumar, N.; Jeong, Y. T., Synthesis and biological activities of novel ethers of quinolinone linked with coumarins. *Monatshefte Fur Chemie* **2011**, *142* (3), 305-315.

27. Barraja, P.; Caracausi, L.; Diana, P.; Carbone, A.; Montalbano, A.; Cirrincione, G.; Brun, P.; Palù, G.; Castagliuolo, I.; Dall'Acqua, F.;

Vedaldi, D.; Salvador, A., Synthesis of pyrrolo[3,2-h]quinolinones with good photochemotherapeutic activity and no DNA damage. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (13), 4830-4843.

28. Barraja, P.; Diana, P.; Montalbano, A.; Carbone, A.; Viola, G.; Basso, G.; Salvador, A.; Vedaldi, D.; Dall'Acqua, F.; Cirrincione, G., Pyrrolo[3,4-h]quinolinones a new class of photochemotherapeutic agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19* (7), 2326-2341.

29. Claassen, G.; Brin, E.; Crogan-Grundy, C.; Vaillancourt, M. T.; Zhang, H. Z.; Cai, S. X.; Drewe, J.; Tseng, B.; Kasibhatla, S., Selective activation of apoptosis by a novel set of 4-aryl-3-(3-aryl-1-oxo-2-propenyl)-2(1H)-quinolinones through a Myc-dependent pathway. *Cancer Letters* **2009**, *274* (2), 243-249.

30. Facchini, L. M., et al., , The molecular role for Myc in growth and transformation: recent discoveries lead to new insights. *FASEB J.* **1998**, *12*, 163-175.

31. Pelengaris, S., et al., c-MYC: more than just a matter of life and death. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2* 764-776.

32. Nesbit, C., et al., J. Tersak, E. Prochownik, MYC oncogenes and human neoplastic disease. *Oncogene* **1999**, *18*, 3004-3016.

33. Hermeking, H., et al, The MYC oncogene as a cancer drug target *Curr. Cancer Drug Targets* **2003**, *3*, 163-175.

34. Chen M.H., et al, Synthesis and biological activity of quinolinone and dihydroquinolinone p38 MAP kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* **2008**, *18*, 2222-2226.

35. Mizutani, N.; Aoki, Y.; Nabe, T.; Ishiwara, M.; Yoshino, S.; Takagaki, H.; Kohno, S., Effect of TA-270, a novel quinolinone derivative, on antigen-induced nasal blockage in a guinea pig model of

- allergic rhinitis. *European Journal of Pharmacology*. **2009**, 602 (1), 138-142.
36. Aoki I, Y., et al, Inhibitory effect of a novel quinolinone derivative, TA-270, on asthmatic inflammatory responses in sensitized guinea pigs. *European Journal of Pharmacology*. **2000**, 409., 325–330.
37. Koga, Y., et al, 2(1H)-Quinolinone derivatives as novel anti-arteriostenotic agents showing antithrombotic and anti-hyperplastic activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **1998**, 8, 1471-1476.
38. Darque, A.; Dumètre, A.; Hutter, S.; Casano, G.; Robin, M.; Pannecouque, C.; Azas, N., Synthesis and biological evaluation of new heterocyclic quinolinones as anti-parasite and anti-HIV drug candidates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2009**, 19 (20), 5962-5964.
39. Tsubusaki, T.; Nishino, H., Manganese(III)-mediated facile synthesis of 3,4-dihydro-2(1H)-quinolinones: selectivity of the 6-endo and 5-exo cyclization. *Tetrahedron* **2009**, 65 (45), 9448-9459.
40. Zhang S., et al, Synthesis of zwitterionic 4-hydroxy-2(1H)-quinolinone derivatives. *Tetrahedron*. **2008**, 64, 4403-4404.
41. Kin, H., et al, Synthesis of 3,4-disubstituted 2(1H)-quinolinones via intramolecular Friedel–Crafts reaction of N-arylamides of Baylis–Hillman adducts. *Tetrahedron Letters*. **2009**, 50, 1249-1251.
42. Tsai, S. C., Klinman, J., De Novo design and utilization of photolabile caged substrates as probes of hydrogen tunneling whit horse liver alcohol dehydrogenase at sub-zero temperatures: a cautionary note. *Bioorganic Chemistry*. **2002**, 32, 172-190.
43. Nele, E., et al, Synthesis and biological evaluation of carbon-11-and fluorine-18-labeled 2-oxoquinoline derivatives for type 2

cannabinoid receptor positron emission tomography imaging. *Nuclear Medicine and Biology*. **2009**, *36*, 455-465.

44. Raitio, K. H., et al, Synthesis and SAR Studies of 2-Oxoquinoline Derivatives as CB2 Receptor Inverse Agonists. *Medicinal Chemistry*. **2005**, *49*, 2022–2027.

45. Gao, M., et al., Synthesis and in vitro biological evaluation of carbon-11-labeled quinoline derivatives as new candidate PET radioligands for cannabinoid CB2 receptor imaging. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2010**, *18*, 2099.

46. Ukrainets, I. V., Sidorenko, L. V.; Gorokhova, O. V.; Jaradat, N. A., 4-hydroxy-2-quinolones. 93\*. synthesis and biological properties of 2-hydroxy-4-imino-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid n-r-amides. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. **2006**, *42*, 475-587.

47. Catherine, T. D., T.; et al. Modulation of chemosensory receptors and heterobicyclic ligands associated therewith and their preparation. . 2008.

48. Fossa, P. M., L.; Menozzi, G.; Marzano, C.; Baccichetti, F.; Bordin, F., Novel Angular Furo and Thieno-quinolinones: Synthesis and Preliminary Photobiological Studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2002**, *10*, 743–751.

49. Ukrainets, I. V.; Nikola, S.; Gorokhova, O. V.; Sidorenko, L. V., Synthesis and structure of 1H-4-amino-2-oxoquinoline-3-carboxylic acid esters. *Zhurnal Organichnoi ta Farmatsevtichnoi Khimii* **2004**, *2*, 39-44.

50. Adams, R. B., Preparation and Reactions of o-Hydroxycinnamic Acids and Esters. **1952**, *74*, 346-348.

51. March, J., *Advanced Organic Chemistry: Reactions Mechanisms Structure*. John Wiley & Sons 4 ed.; New York, 1992.

52. McMurry, J., *química Orgânica*. Thomson. 6 ed.; São Paulo. 2005; Vol. 1.
53. Shepard, A. F.; Wisnlow., N. R.; Johnson, J. R., Simple halogen derivates of furan. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 2083.
54. Nilsson, M., A new biaryl synthesis illustrating a connection between a Ullmann biaryl synthesis and copper-catalized decarboxylation. *Acta Chem. Scand.* **1966**, *20*, 423–426;
55. Nilsson, M.; Ullenius., C., 2-Arylthiophenes and 2-arylfurans by decarboxylative couplings of 2-thenoic and 2-furoic with iodoarenes. *Acta Chem. Scand.* **1968**, *22*, 1998–2002.
56. Cairncross, A.; Roland, J. R.; Henderson, R. M.; Sheppard, W.A., Organocopper intermediates via decarboxylation of cuprous carboxylates. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 3187–3190.
57. Cohen, T.; Berninger, R. W.; Wood, J. T., Products and kinetics of decarboxylation of activated and unactivated aromatic cuprous carboxylates in pyridine and in quinoline. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 837–848.
58. Cohen, T.; Shambach, R. A., Copper-quinoline decarboxylation. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 3189–3190.