



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**CHARLESTON RIBEIRO PINTO**

**SÍNTESE E ATIVIDADES CITOTÓXICA E ANTIOXIDANTE DE  
DERIVADOS DE 4-ARIL-3,4-DI-HIDROCUMARINAS**

Salvador

2010

CHARLESTON RIBEIRO PINTO

**SÍNTESE E ATIVIDADES CITOTÓXICA E ANTIOXIDANTE DE  
DERIVADOS DA 4-ARIL-3,4-DI-HIDROCUMARINAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Maurício David

Salvador

2010

A minha mãe e eterna fonte inspiradora, Ivanyse, ao meu querido pai Egídio, meus amados irmãos Anderson e Maiara e em especial ao meu amor Ilka.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Jorge David pela orientação e por ter acreditado no meu trabalho mesmo diante das dificuldades e desencontros. Agradeço as mensagens de incentivo e confiança depositada.

Em especial a Prof. Dr<sup>a</sup>. Juceni David, por despertar em mim o interesse pela pesquisa ainda estudante de farmácia e por ter “aberto as portas” para meu ingresso na Pós-graduação através do Prof. Jorge David.

Ao amigo e diretor da Assistência Farmacêutica do Estado da Bahia /SESAB, Prof. Lindemberg Costa, e ao brilhante farmacêutico do Complexo Hospitalar Prof. Edgar Santos, Alyson Brandão, que me deram incentivo e suporte para acontecimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Silvio Cunha pelas contribuições na minha formação e dissertação.

Ao Prof. Dr. Pedro Afonso pelos espectros de massa e em especial ao pós-doutorando Sandro pela paciência e mensagens de otimismo.

A Prof. Dr<sup>a</sup>. Zênis Novaes pelos espectros de infravermelho e em e em especial ao mestrando Carlos pela atenção prestada.

Aos professores do Departamento de Ciências Exatas e da Terra da UNEB, pela competente e valiosa contribuição na minha formação em Química.

Aos amigos do GPPN Bruno, Clayton, Luciano, Jéferson, Érika, José Cândido, Daiara, Darlan, Huguinho, Larissa, Manuela, Marcos Vinicius, Marcos Sassakura, Patrícia, Roberta e Rauldenis pelos prazerosos momentos e companheirismo.

Em especial aos amigos de Pós-Graduação Daniela Vitor, Murilo, Pedro Sanches, Tiago Rolim e Hugo Brandão pelos materiais didáticos concedidos e pelos enriquecedores ensinamentos.

Ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química e a Universidade Federal da Bahia, pelo apoio, por toda infra-estrutura que me permitiu a realização desse trabalho de pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPQ) pelo incentivo financeiro.

*Bem-aventurados os que habitam em tua casa;  
louvar-te-ão continuamente. (Selá.)*

*Bem-aventurado o homem cuja força está em ti, em  
cujo coração estão os caminhos aplanados.*

**Salmo 84: 4-5.**

PINTO, Charleston Ribeiro. Síntese e atividade citotóxica e antioxidante de derivados da 4-aril-3,4-di-hidroumarinas. 118f. Il. 2010. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

## RESUMO

As 4-aril-3,4-di-hidroumarinas são produtos naturais estruturalmente e biogeneticamente relacionados aos flavonóides que exibem diferentes atividades biológicas. Neste trabalho foram sintetizados inicialmente oito derivados de 4-aril-3,4-di-hidroumarina, com rendimentos baixo a moderados (4-69%). Estes derivados foram obtidos através de reações de condensação entre derivados de fenóis e de ácidos cinâmicos, utilizando o ácido polifosfórico como catalisador. A partir da 4-aril-3,4-diidroumarinas (**10a**) foram obtidos derivados acetilados, metilado e base de Mannich, empregando métodos clássicos. Dentre as 4-aril-3,4-di-hidroumarinas obtidas seis são inéditas na literatura (**10f-g**, **55b-c** e **60**). Utilizando-se a mesma metodologia empregada no preparo das 4-aril-3,4-di-hidroumarinas foi também sintetizada as umarinas herniarina (**44a**), 5-hidroxi-umarina (**44b**) e a umbeliferona (**44c**) com rendimentos de moderados a bons (42-82%). Todas as substâncias preparadas foram caracterizadas por métodos espectroscópicos. As 4-aril-3,4-di-hidroumarina obtidas tiveram sua citotoxicidade e capacidade antioxidante avaliadas. Apenas **10a** e **10c** apresentaram atividade oxidante considerável, com destaque para este último que demonstrou atividade comparável aos padrões, ácido gálico e quercetina. Nos testes de citotoxicidade contra *Artemia salina*, os compostos apresentaram atividade moderada, destacando-se como ativo o novo composto **3f** ( $CL_{50} = 96,86\mu\text{g/mL}$ ).

**Palavras-chave:** 4-aril-3,4-di-hidroumarina, atividade citotóxica, atividade antioxidante

PINTO, Charleston Ribeiro. Synthesis and cytotoxic e antioxidant activities of 4-aryl-3,4-di-hydrocoumarins derivatives. 118f. Il. 2010. Dissertation (Master's degree in Organic Chemistry) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

## ABSTRACT

The 4-aryl-3,4-di-hydrocoumarins are natural products biogenetical and structurally related to flavonoids that exhibit different biological activities. In this work were synthesized initially eight derivatives of 4-aryl-3,4-di-hydrocoumarins with low to moderate yields (4-69%). These derivatives were obtained by condensation reactions between phenols and cinnamic acid derivatives, using polyphosphoric acid as catalyst. From the 4-aryl-3,4-di-hydrocoumarins (**10a**) were obtained acetylated derivatives, methylated and Mannich base, using classical methods. 4-aryl-3,4-di-hydrocoumarins obtained, six of them were new compounds (**10f-g**, **55b-c** and **60**). Using the same methodology used in the preparation of 4-aryl-3,4-di-hydrocoumarins was also synthesized coumarins herniarin (**44a**), 5-hydroxy-coumarin (**44b**) and umbelliferone (**44c**) with modest to good yields (42 -82%). All substances prepared were characterized by spectroscopic methods. The 4-aryl-3,4-di-hydrocoumarins had obtained their cytotoxicity and antioxidant capacity evaluated. Only **10a** and **10c** showed considerable oxidant activity, especially the last one who showed activity comparable to standards, gallic acid and quercetin. In tests of cytotoxicity against *Artemia salina*, the compounds showed moderate activity, particularly the new activity compound 10f ( $LC_{50} = 96.86$  mg / mL).

**Palavras-chave:** 4-aryl-3,4-di-hydrocoumarins, cytotoxic activity, antioxidant activity.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Aplicações gerais das 3,4-diidrocurmarinas.....	18
<b>Figura 2.</b> Estruturas de flavonona, 3,4-diidrocurmarina e isoflavonóide.....	19
<b>Figura 3.</b> Estrutura tridimensional das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas em diferentes perspectivas, calculada com o software Chem3D Ultra 10.0.....	19
<b>Figura 4.</b> Reação para a obtenção do enantiomero S da 3,4-diidrocurmarina <b>7</b> .....	20
<b>Figura 5.</b> Rota de obtenção das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas ( <b>10</b> ).....	21
<b>Figura 6.</b> Síntese do composto <b>13</b> através do catalisador (CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> )Y, sob radiação de microondas.....	22
<b>Figura 7.</b> Formação de <i>trans</i> -3-dietoxifosforil-4-aril-3,4-diidrocurmarinas ( <b>16</b> ).....	23
<b>Figura 8.</b> Emprego do intermediário <i>trans</i> -3-dietoxifosforil-4-aril-3,4-diidrocurmarínico para síntese da $\alpha$ -metileno- $\delta$ -valerolactonas.....	23
<b>Figura 9.</b> Métodos de obtenção das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas ( <b>20</b> ) utilizando de complexos carbenos do tipo Fischer.....	24
<b>Figura 10.</b> Mecanismo proposto para reação é baseado no ataque da dupla ligação do cetel ao complexo de carbeno de Fisher .....	24
<b>Figura 11.</b> Síntese de heterocíclicos obtidos a partir da reação de fenóis ativados e ácidos Meldrum 5-alkilideno.....	25
<b>Figura 12.</b> Reação para a obtenção da diidrocurmarina <b>28</b> .....	27
<b>Figura 13.</b> Síntese do composto <b>31</b> , através das rotas de hidroarilação intramolecular (A) e hidroarilação intermolecular (B).....	28
<b>Figura 14.</b> Mecanismo de formação das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas ( <b>34</b> ) com base no mecanismo de atuação do ácido trifluoroacético.....	29
<b>Figura 15.</b> Síntese de 3,4-diidrocurmarinas a partir de ácidos 3-arilpropiónicos (GU e XUE, 2010).....	29
<b>Figura 16.</b> Estrutura da 4-aril-3,4-diidrocurmarina <b>38</b> e da curmarina <b>39</b> .....	30
<b>Figura 17.</b> 4-aril-3,4-diidrocurmarina isolada da <i>Aloe vera</i> .....	30

<b>Figura 18.</b> 4-aril-3,4-diidrocumarinas ( <b>40-41</b> ) com atividade estrogênica isoladas da <i>Pistacia chinensis</i> .....	31
<b>Figura 19.</b> Estrutura das ( $\pm$ )-8-alkuil-5,7-diidroxi-4-(4-hidroxifenil)-3,4-diidrocumarinas sintetizadas ( <b>42</b> ).....	32
<b>Figura 20.</b> Preparo do ácido polifosfórico.....	37
<b>Figura 21.</b> Análise retrossintética das 4-aril-3,4-diidrocumarinas.....	43
<b>Figura 22.</b> 4-aril-3,4-diidrocumarinas ( <b>10a-h</b> ) sintetizadas.....	44
<b>Figura 23.</b> Possíveis orientações do resorcinol ( <b>8a</b> ) em relação ao íon acílio ( <b>43</b> ) na reação de condensação.....	45
<b>Figura 24.</b> Produtos obtidos a partir da reação de condensação de a partir da condensação do fenol <b>8c</b> com o ácido cinâmico <b>9b</b> .....	46
<b>Figura 25.</b> Produtos obtidos a partir da reação de condensação de a partir da condensação do fenol <b>8a</b> com o ácido cinâmico <b>9a</b> .....	47
<b>Figura 26.</b> Produtos obtidos a partir da reação de condensação de fenóis com ácidos $\alpha,\beta$ -insaturados utilizando o PPA.....	47
<b>Figura 27.</b> Mecanismo proposto para formação das 4-aril-3,4-diidrocumarinas ( <b>51</b> ) segundo Chenaul e Dupin (1983).....	49
<b>Figura 28.</b> Mecanismo proposto para formação das 4-aril-3,4-diidrocumarina ( <b>51</b> ) segundo Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001).....	50
<b>Figura 29.</b> Reações exploradas para preparo dos derivados do composto <b>10a</b> .....	51
<b>Figura 30.</b> Síntese dos derivados acetilados ( <b>55a-d</b> ) da 7-hidroxi-4-aril-3,4-diidrocumarina.....	52
<b>Figura 31.</b> Preparação do diazometano ( <b>58</b> ).....	53
<b>Figura 32.</b> Síntese do derivado metilado ( <b>55e</b> ) da 7-hidroxi-4-aril-3,4-diidrocumarina.....	53
<b>Figura 33.</b> Obtenção da 8-morfolinametil-7-hidroxi-4-aril-3,4-di-hidrocumarina ( <b>60</b> ).....	54
<b>Figura 34.</b> Tentativa de síntese de cumarinas a partir de ácido cinâmico.....	56
<b>Figura 35.</b> Obtenção da cumarina <b>44a</b> .....	56
<b>Figura 36.</b> Mecanismo proposto para formação da cumarina <b>44a</b> segundo Bhattacharjee e Paknikar (1989) .....	57

<b>Figura 37.</b> Mecanismo proposto para síntese das cumarinas <b>44a</b> a partir do ácido 4-hidroxicinâmico ( <b>9e</b> ).....	58
<b>Figura 38.</b> Mecanismo proposto para a obtenção da cumarina <b>44b</b> .....	59
<b>Figura 39.</b> Mecanismo proposto para síntese da cumarinas <b>44c</b> .....	60
<b>Figura 40.</b> Estruturas de ressonância dos ácidos cinâmicos <b>9c-e</b> .....	61
<b>Figura 41.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>10a</b> ).....	63
<b>Figura 42.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>10b</b> ).....	64
<b>Figura 43.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>10c</b> ).....	64
<b>Figura 44.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>10d</b> ).....	65
<b>Figura 45.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>10e</b> ).....	65
<b>Figura 46.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>10f</b> ).....	66
<b>Figura 47.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>10g</b> ).....	66
<b>Figura 48.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>10h</b> ).....	67
<b>Figura 49.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>55a</b> ).....	68
<b>Figura 50.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>55b</b> ).....	69
<b>Figura 51.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>55c</b> ).....	69
<b>Figura 52.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>55d</b> ).....	70
<b>Figura 53.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>55e</b> ).....	70
<b>Figura 54.</b> Proposta de fragmentação da 4-aril-3,4-diidroacumarina ( <b>60</b> ).....	71
<b>Figura 55.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da mistura de <b>10a</b> e <b>10b</b> [300 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (PPM)].....	74
<b>Figura 56.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da mistura de <b>10a</b> e <b>10b</b> (ampliação) [300 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (PPM)].....	75
<b>Figura 57.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da mistura de <b>10d</b> e <b>10e</b> [300 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (PPM)].....	76
<b>Figura 58.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ [75 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] da mistura de <b>10a</b> e <b>10b</b> .....	78
<b>Figura 59.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ [75 MHz, $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm)] da mistura de <b>10d</b> e <b>10e</b> .....	79
<b>Figura 60.</b> Proposta de fragmentação da cumarina <b>44a</b> .....	81
<b>Figura 61.</b> Proposta de fragmentação da cumarina <b>44c</b> .....	82

**Figura 62.** Efeito de seqüestro das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas frente ao DPPH.....84

**Figura 63.** Mecanismo da estabilização do elétron desemparelhado através da formação de ligação de hidrogênio no radical **10c'**.....84

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resultados obtidos por Fillion e colaboradores (2004) na síntese das 4-aril-3,4-diidrocumarinas .....	26
<b>Tabela 2.</b> Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das diidrocumarinas <b>10a-h</b> .....	38
<b>Tabela 3.</b> Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das diidrocumarinas acetiladas <b>55a-d</b> .....	39
<b>Tabela 4.</b> Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das diidrocumarinas <b>55e</b> e <b>60</b> .....	40
<b>Tabela 5.</b> Pontos de fusão das cumarinas <b>44a-c</b> .....	41
<b>Tabela 6.</b> Obtenção de cumarinas ( <b>44a-c</b> ) a partir de ácidos cinâmicos substituídos.....	55
<b>Tabela 7.</b> Principais fragmentos obtidos nos espectros de massas de <b>10a-h</b> .....	62
<b>Tabela 8.</b> Principais fragmentos obtidos nos espectros de massa de <b>55a-e</b> e <b>60</b> .....	68
<b>Tabela 9.</b> Valores de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de IV dos derivados <b>10a-h</b> .....	72
<b>Tabela 10.</b> Valores de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de IV dos derivados <b>55a-e</b> e <b>60</b> .....	73
<b>Tabela 11.</b> Principais fragmentos obtidos nos espectros de massas de <b>44a-c</b> .....	80
<b>Tabela 12.</b> Valores de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de IV das cumarinas <b>44a-c</b> .....	83
<b>Tabela 13.</b> Valores de $\text{CL}_{50}$ para as 4-aril-3,4-diidrocumarinas frente <i>Artemia salina</i> .....	85

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

Ar	Aromático
CC	Cromatografia em coluna
CCDC	Cromatografia em camada delgada comparativa
$\text{CDCl}_3$	Clorofórmio deuterado
CLAE-UV	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de ultravioleta
DMAP	Dimetilaminopiridina
$\delta$	Na espectroscopia de IV: vibração de deformação angular Na espectroscopia de RMN: deslocamento químico
$\nu$	Vibração de deformação axial
s	Simétrico
as	Assimétrico
$\text{IC}_{50}$	Concentração inibitória média
IE	Impacto de elétrons
IV	Infravermelho
$[\text{M}]^+$	Íon molecular
$m/z$	relação massa/carga
PF	Ponto de fusão
Ph	Fenil
MHz	Megahertz
PPA	Polyphosphoric acid
RMN	Ressonância magnética nuclear
$\text{RMN}^1\text{H}$	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
$\text{RMN}^{13}\text{C}$	Ressonância magnética nuclear de carbono

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	17
1.1	ESTRUTURA DAS 4-ARIL-3,4-DIIDROCUMARINAS.....	18
1.2	ESTRATÉGIAS DE SÍNTESE DE 4-ARIL-3,4-DIIDROCUMARINAS.....	19
1.2.1	<b>Hidrogenação catalítica de cumarinas.....</b>	19
1.2.2	<b>Reação de ácidos cinâmicos com fenóis, mediada por ácidos protônicos ou de Lewis.....</b>	20
1.2.3	<b>Hidroarilação de fenóis com ácidos cinâmicos, mediada por ácidos de Lewis e ácidos protônicos.....</b>	21
1.2.4	<b>Reação de complexos carbenos de cromo do tipo Fischer com cetais de cetonas.....</b>	23
1.2.5	<b>Reação de fenóis ativados com ácidos Meldrum 5-alkilideno.....</b>	24
1.2.6	<b>Hidroarilação eletrofílica intramolecular de substratos olefínicos catalisada por metal de transição.....</b>	26
1.2.7	<b>Ciclização oxidativa direta de ácidos 3-arylpropíonicos com PIFA e Oxona.....</b>	29
1.3	PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS 4-ARIL-3,4-DIIDROCUMARINAS.....	29
1.3.1	<b>Atividade antioxidante.....</b>	30
1.3.2	<b>Atividade estrogênica.....</b>	31
1.3.3	<b>Atividade imunomoduladora.....</b>	32
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	33
2.1	OBJETIVO GERAL.....	33
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	35
3.1	EQUIPAMENTOS.....	35
3.2	MATERIAIS.....	35
3.3	METODOLOGIA.....	37
3.3.1	<b>Procedimento geral para preparo do ácido polifosfórico.....</b>	37

3.3.2	Procedimento geral para síntese das 4-aril-3,4-diidrocomarinas 10a-h..	37
3.3.3	Síntese de derivados da 7-hidroxi- 4-aril-3,4-diidrocomarina (10a).....	38
3.3.3.1	Procedimento geral para síntese dos derivados acetilados da 7-hidroxi-4-aril-3,4-diidrocomarinas (55a-c).....	38
3.3.3.2	Procedimento geral para síntese do derivado acetilado da 7-hidroxi- 4-aril-3,4-diidrocomarinas (55d).....	39
3.3.3.3	Procedimento geral para síntese do derivado metilado (55e) da 7-hidroxi- 4-aril-3,4-diidrocomarina.....	39
3.3.3.4	Procedimento geral para síntese da base de Mannich (60) da 7-hidroxi-4-aril-3,4-diidrocomarina.....	40
3.3.4	Procedimento geral para síntese das comarinas (44a-c).....	40
3.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	41
3.5	ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS 4-ARIL-3,4-DIIDROCOMARINAS FRENTE À ARTEMIA SALINA.....	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1	SÍNTESE.....	43
4.1.1	Retroanálise para obtenção das 4-aril-3,4-diidrocomarinas (10a-h)....	43
4.1.2	Síntese de 4-aril-3,4-diidrocomarinas.....	43
4.1.3	Mecanismos propostos para formação das 3,4-di-hidrocomarinas com base na atuação do PPA.....	48
4.1.3.1	Mecanismo proposto para formação das 3,4-diidrocomarinas segundo Chenaul e Dupin (1983).....	48
4.1.3.2	Mecanismo proposto para formação das 3,4-diidrocomarinas segundo Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001).....	50
4.1.4	Síntese de derivados da 7-hidroxi- 4-aril-3,4-diidrocomarinas (10a).....	51
4.1.4.1	Síntese dos derivados acetilados (55a-d) da 7-hidroxi-4-aril-3,4-diidrocomarina.....	52
4.1.4.2	Síntese do derivado metilado (55e) da 7-hidroxi-4-aril-3,4-diidrocomarina.....	53
4.1.4.3	Síntese da base de Mannich (61) da 7-hidroxi-4-aril-3,4-di-hidrocomarina.....	53
4.1.5	Estratégia sintética utilizada para síntese das comarinas 44a-c.....	54



4.1.6	Síntese das cumarinas (44a-c).....	54
4.1.7	Mecanismos propostos obtenção das cumarinas 44a-c.....	57
4.1.7.1	Mecanismo proposto para obtenção da cumarina 44a segundo Bhattacharjee e Paknikar. (1989).....	57
4.1.7.2	Mecanismo propostos obtenção das cumarinas 44b-c segundo Talapatra. B, Deb e Talapatra,S. (1986).....	59
4.2	CARACTERIZAÇÃO ESPECTROMÉTRICA DAS 4-ARIL-3,4- DIIDROCUMARINAS PREPARADAS.....	61
4.2.1	Análise de espectros de massa das 4-aril-3,4-diidro-cumarinas 10a-h.....	61
4.2.2	Análise do espectro de massas das 4-aril-3,4-diidro-cumarinas 54a-e e 61.....	67
4.2.3	Análise de infravermelho das 4-aril-3,4-diidro-cumarinas 10a-h.....	71
4.2.4	Análise de infravermelho das 4-aril-3,4-diidro-cumarinas 55a-e e 60.....	72
4.2.5	Análise de RMN de <sup>1</sup> H das 4-aril-3,4-diidro-cumarinas 10a-b e 10d-e.....	73
4.2.6	Análise de RMN de <sup>13</sup> C das 4-aril-3,4-diidro-cumarinas 10a-b e 10d-e.....	76
4.3	CARACTERIZAÇÃO ESPECTROMÉTRICA DAS CUMARINAS PREPARADAS.....	80
4.3.1	Análise do espectro de massas das cumarinas 44a-c .....	80
4.3.2	Análise do espectro de infravermelho das cumarinas 44a-c.....	82
4.4	Atividade antioxidante das 4-aril-3,4 -diidro-cumarinas.....	83
4.5	Atividade citotóxica das 4-aril-3,4-diidro-cumarinas.....	84
5	CONCLUSÕES.....	86
6	REFERÊNCIAS.....	88
	ANEXO.....	93



## 1.0 INTRODUÇÃO

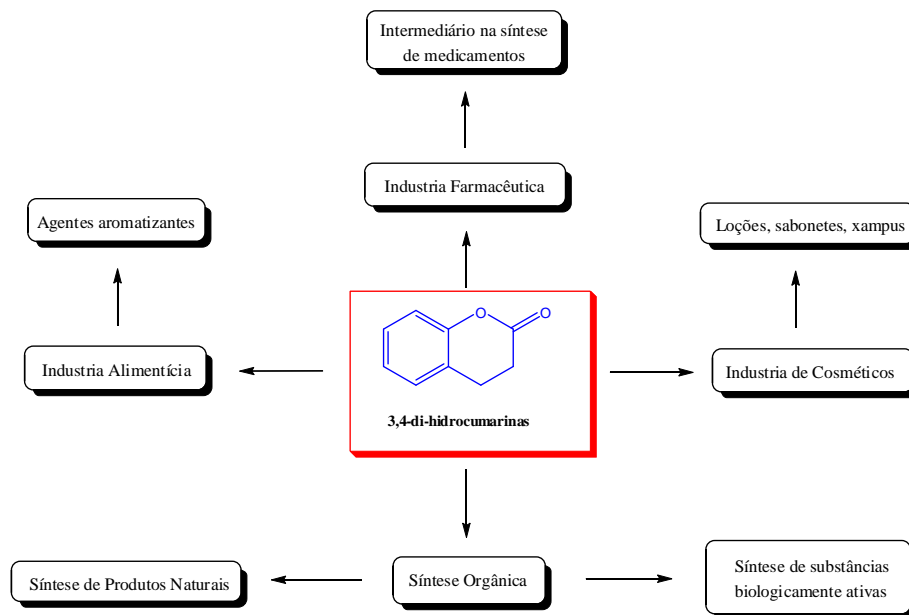
O sistema 3,4-diidrocurmarina é largamente distribuído na natureza e está presente em diversos compostos biologicamente ativos. Em virtude da versatilidade em atividades biológicas, são consideradas candidatas atrativas a compostos-protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos. Por conseqüência, a busca por métodos eficientes para síntese de destas substâncias tem atraído grande interesse nesses últimos anos (GU e XUE, 2010).

As 3,4-diidrocurmarinas são bastante versáteis e apresentam diversas aplicações, sendo utilizado para os mais diversos fins, resumidos na figura 1.

Na indústria farmacêutica, podem ser usadas como intermediário chave na síntese de antagonistas de receptores de endotelina. O sistema de receptores de endotelina está envolvido em diversas patologias como hipertensão arterial sistêmica e hipertensão arterial pulmonar, este é considerado importante alvo multi-terapêutico (MCGUIRE, SHILCRAT e SORENSON, 1999).

Por sua característica flavorizante, é largamente empregado na indústria alimentícia, sendo utilizadas em uma variedade de alimentos como iogurtes e refrigerantes. Já na indústria de cosméticos, as 3,4-diidrocurmarinas são empregadas como fragrâncias para xampus e sabonetes (HASER, WENK e SCHWAB, 2006).

Entre as 3,4-diidrocurmarinas de ocorrência natural, as 4-aril-3,4-diidrocurmarinas (neoflavononas), que constituem um subgrupo dos flavonóides, tem recebido considerável atenção devido ao fato de poucos compostos contendo o núcleo de 4-aril-3,4-diidrocurmarina exibirem atividades biológicas importantes como, por exemplo, inibição da aldose redutase, anti-herpética, atividade antioxidante, herbicida, fungicida, e recentemente relatada, moderada atividade estrogênica (ROELENS *et al.*, 2005; RODRIGUES-SANTOS e ECHEVARIA, 2007; QADDER, *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2008).



**Figura 1.** Aplicações gerais das 3,4-di-hidroumarinas

Considerada uma classe relativamente rara de produtos naturais, as 4-aril-3,4-di-hidroumarinas são estruturalmente e biogeneticamente relacionadas aos flavonóides e isoflavonóides, e podem ser encontradas principalmente nas famílias Guttiferae, Leguminosae, Rubiaceae, Passifloraceae, Polypodiaceae e Compositae (DONNELLY e BOLLAND, 1993; GROTEWOLD, 2006; ROELEN *et al.*, 2005).

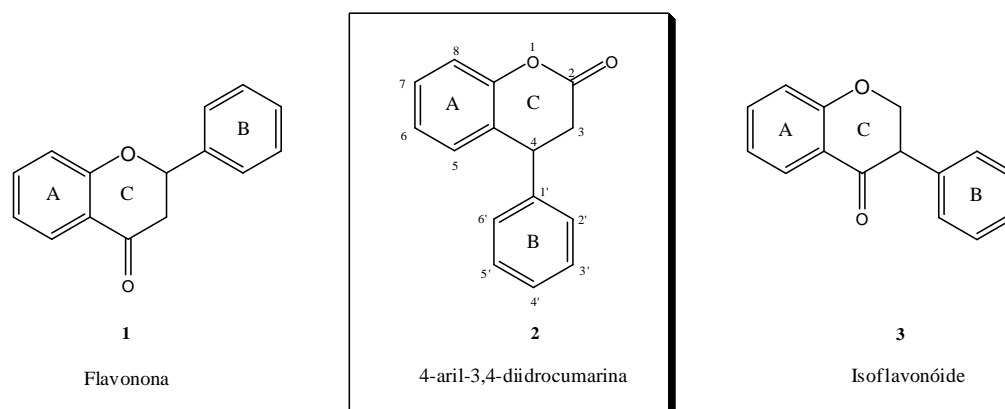
O sistema de 4-aril-3,4-di-hidroumarina está presente em diversas de moléculas naturais e é comum a outras classes de produtos naturais como flavonóides complexos e taninos (SINGH *et al.*, 2003; AOKI *et al.*, 2005)

### 1.1 ESTRUTURA DAS 4-ARIL-3,4-DI-HIDROUMARINAS

As 4-aril-3,4-di-hidroumarinas (**2**), também conhecidas como neoflavononas, juntamente com as 4-arilumarinas e neoflavanos constituem o grupo dos neoflavonóides, termo empregado para caracterizar compostos fenólicos com 15 átomos de carbono ( $C_{15}$ ) de ocorrência natural arranjado em três anéis ( $C_6-C_3-C_6$ ) (figura 2). Os neoflavonóides possuem similaridades estruturais com os flavonóides (**1**) e isoflavonóides (**3**) (DONNELLY e BOLLAND, 1993; ROELEN *et al.*, 2005).

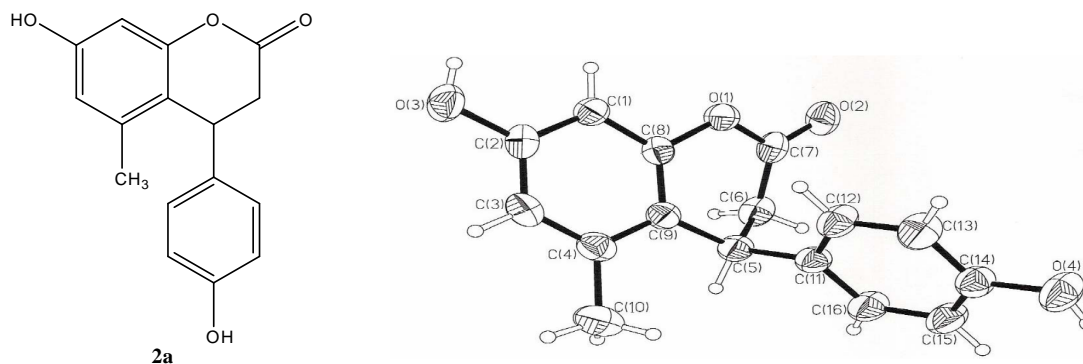
A estrutura química base desta classe de compostos consiste em dois anéis de seis membros fundidos contendo um heteroátomo, um átomo de oxigênio na posição

1, grupo carbonila na posição 2 e grupo arila na posição 4, podendo apresentar diversos grupos químicos bem como substituintes principalmente nos anéis **A** e **B**.



**Figura 2.** Estruturas de flavonona, 4-aryl-3,4-diidrocumarina e isoflavonóide

Ao contrário das flavonas, que tem os anéis **A** e **C** planares, as 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**2**) possuem os três anéis em planos diferentes (Figura 3).

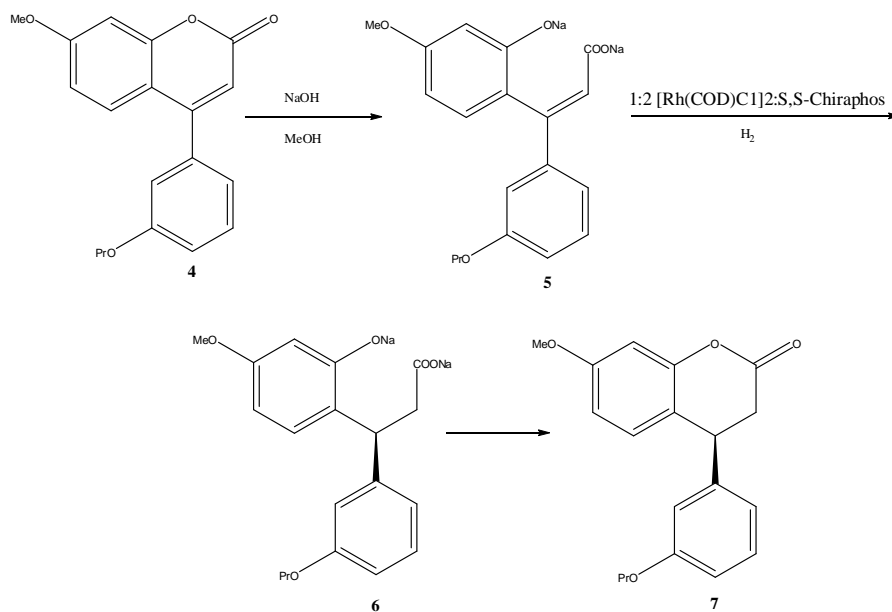


**Figura 3.** ORTEP obtido por difração de raios-X da 4-aryl-3,4-diidrocumarina **2a**.

## 1.1 ESTRATÉGIAS DE SÍNTESE DE 4-ARIL-3,4-DIIDROCUMARINAS

### 1.1.1 Hidrogenação catalítica de cumarinas

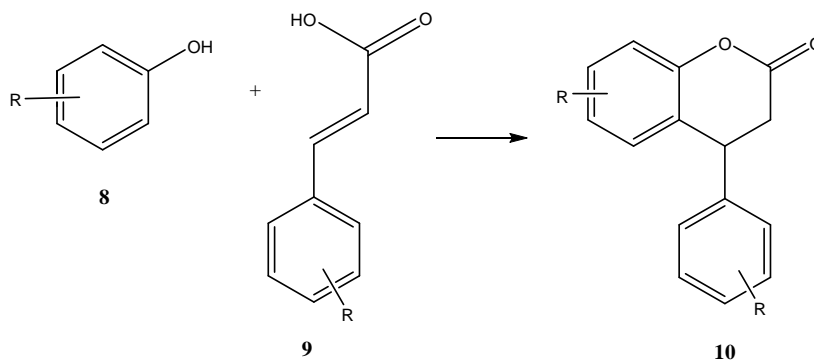
Mcguire, Shilcrat e Sorenson (1999) realizaram a síntese assimétrica da 4-aryl-3,4-diidrocumarina (**7**), intermediário-chave na síntese de dois antagonista de receptores de endotelina, utilizando catalisadores de rutênio e ródio. A utilização do sistema catalítico “*in-situ*” de  $[\text{Rh}(\text{COD})\text{C}_1]_2$ :S,S-Chiraphos, na mistura molar de 1:2, para formação do composto **7** levou a um rendimento de 95%. Conforme ilustrado na Figura 4, através dessa rota sintética foi possível a obtenção de **7** de forma eficiente, utilizando um sistema catalítico quiral econômico.



**Figura 4.** Reação para a obtenção do enantiomero S da 3,4-diidrocumarina **7**.

### 1.1.2 Reação de ácidos cinâmicos com fenóis, mediada por ácidos protônicos ou de Lewis

As reações envolvendo fenóis (**8**) e ácidos cinâmicos (**9**) em condições ácidas têm sido largamente empregadas para obtenção de diversas 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**10**) com rendimentos razoáveis (Figura 5).



**Figura 5.** Rota de obtenção das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**10**)

Devido a simplicidade e a disponibilidade de reagentes, esta reação é mais freqüentemente utilizada do que outros métodos para o preparo de 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas. Contudo, as desvantagens desse método residem na utilização de condições severas e de ácidos corrosivos.

A primeira reação desse tipo foi relatada por Liebermann e Hartmann (1891), que utilizando ácido sulfúrico concentrado obtiveram 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas em baixos rendimentos. Em seguida, uma variedade de condições ácidas foram relatadas, utilizando:

- i) Ácidos protogênicos: ácido clorídrico fumegante (SIMPSON e STEPHEN, 1956; SINGH *et al*, 2003), ácido polifosfórico a 50-100°C (DUPIN e CHENAULT, 1983; HASEBE, 1962; MAJUMDER, CHATTERJEE e MUKHOTI, 2001; TALAPATRA, B, DEB, TALAPATRA, S, 1986) e ácido trifluoroacético fumegante (KIRTANY, 1993).
- ii) Ácidos de Lewis: cloreto de alumínio ou cloreto de zinco anidro (DAS GUPTA e DAS, 1973) e cloreto de ferro anidro (DAS, VENKATAIAH e RAVINDRANATH, 2001)
- iii) Ácidos de Lewis em meio ácido forte sob refluxo:  $\text{AlCl}_3\text{-HCl}$  e  $\text{ZnCl}_2$  (SPERANZA *et al*, 1997).

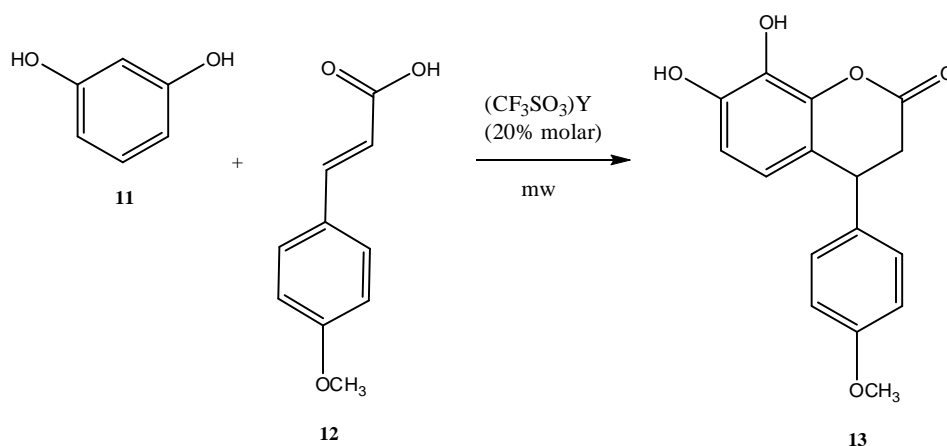
### 1.1.3 Hidroarilação de fenóis com ácidos cinâmicos, mediada por ácidos de Lewis e ácidos protônicos

Rodrigues-Santos e Echevarria (2007) sintetizaram uma série de 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas por uma nova e eficiente estratégia de síntese utilizando o ácido de

Lewis  $(\text{CF}_3\text{SO}_3)\text{Y}$  como catalisador em uma reação de hidroarilação intermolecular, em condições livre de solvente e sob irradiação de microondas.

A utilização do  $(\text{CF}_3\text{SO}_3)\text{Y}$  sob irradiação de microondas levou a formação de diidrocumarinas com bons rendimentos (65-80%) em tempos relativamente pequenos, de 7 a 20 minutos.

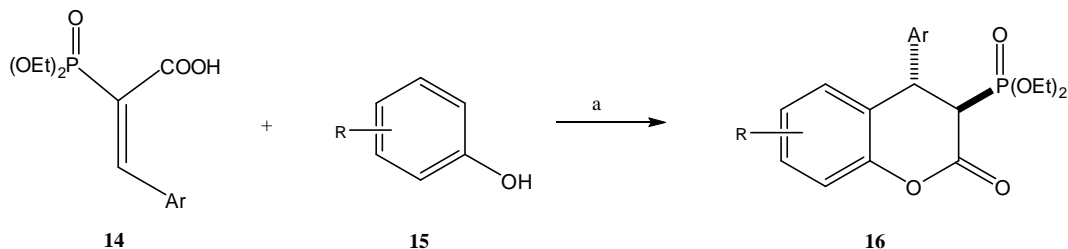
A utilização do sistema reacional para formação de **13** contendo  $(\text{CF}_3\text{SO}_3)\text{Y}$  20%, livre de solvente, sob radiação de microondas, levou a um rendimento de 75% no tempo de 7 minutos. Porém, a mesma reação empregando um ácido de Lewis usual, o  $\text{ZnCl}_2$  40%, sob irradiação de microondas, forneceu o produto com um rendimento de apenas 30% no tempo de 10 minutos (Figura 6).



**Figura 6.** Síntese do composto **13** através do catalisador  $(\text{CF}_3\text{SO}_3)\text{Y}$ , sob radiação de microondas.

Krawczyk e colaboradores (2007), utilizando o ácido trifluorometanosulfônico  $(\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H})$  como catalisador, realizaram um método prático de preparo de *trans*-3-dietoxifosforil-4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**16**) a partir de ácidos (*E*)-3-aryl-2-(dietoxifosforil) acrílicos (**14**) e de hidroxiaenos ricos em elétrons (**15**) (Figura 7). Estas reações apresentaram-se completamente regio- e diastereoseletivas e resultaram na formação de *trans*-lactonas com bons rendimentos.

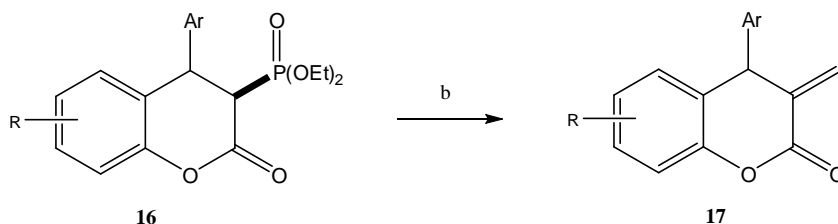




(a) hidroxiano (1.1 equiv), ácido trifluorometanosulfônico (2 equiv),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , refluxo

**Figura 7.** Formação de *trans*-3-dietoxifosforil-4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (16).

Posteriormente, o composto **16** foi transformado na  $\alpha$ -metileno- $\delta$ -valerolactonas (**17**), através da reação de Horner–Wadsworth–Emmons, de forma fácil e com rendimentos na faixa de 75-95% (Figura 8).

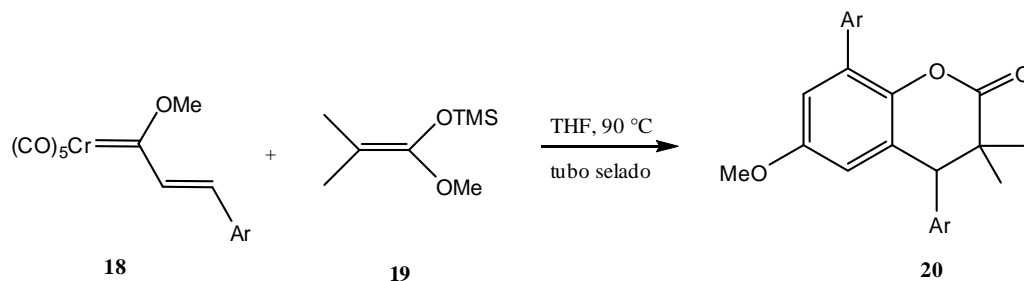


(b) *t*-BuOK (1.2 equiv), THF, refluxo, 0.5 h; HCHO (5 equiv), THF, refluxo, 1h.

**Figura 8.** Emprego do intermediário *trans*-3-dietoxifosforil-4-aryl-3,4-dihidrocumarínico para síntese da  $\alpha$ -metileno- $\delta$ -valerolactonas.

#### 1.2.4 Reação de complexos carbenos de cromo do tipo Fischer com cetais de cetonas

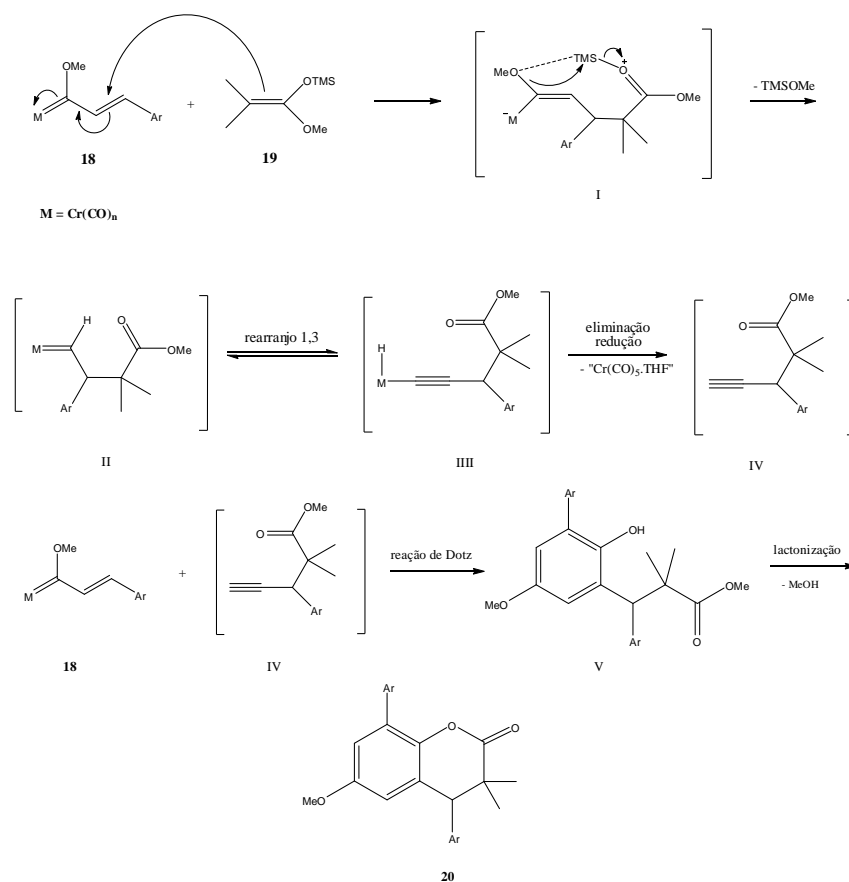
Barluenga, Andina e Aznar (2006) demonstraram o uso de complexos carbenos de Fischer na síntese de 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas. Nesse trabalho, as dihidrocumarinas (**20**) foram obtidas através de método simples e eficiente a partir complexos de carbenos de cromo do tipo Fischer e cetais de cetonas levando a rendimentos entre 53-71% (Figura 9).



Ar = anel aromático substituído

**Figura 9.** Métodos de obtenção das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**20**) utilizando de complexos carbenos do tipo Fischer.

A formação destes derivados por este método pode ser explicada pelo mecanismo proposto por Barluenga, Andina e Aznar (2006), onde primeiramente ocorre adição do tipo Michael entre os complexos de carbenos do tipo Fischer (**18**) e o acetal de cetona (**19**) para formação do intermediário **I** (Figura 10).

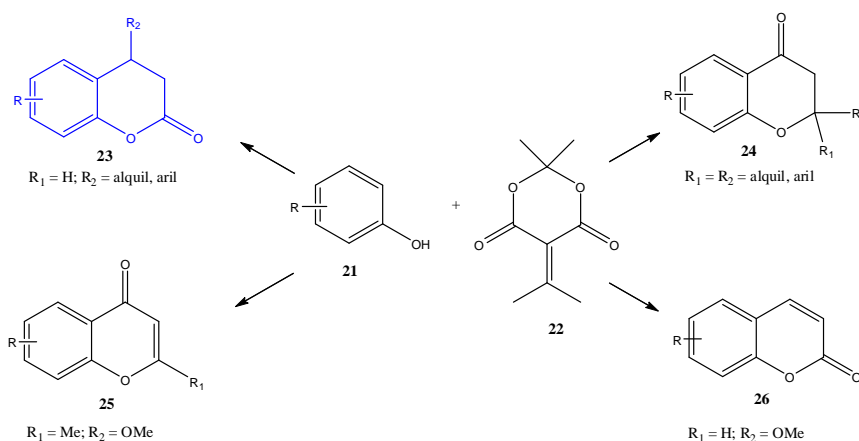


**Figura 10.** Mecanismo proposto para reação é baseado no ataque da dupla ligação do cetal ao complexo de carbeno de Fisher.

As interações dos grupos metoxila e o trimetilsilila no intermediário **I** leva a liberação de um éter de trimetilsilil conduzindo ao complexo vinilidenocromo(0), intermediário **II**. Este sofre rearranjo 1,3 levando ao intermediário **III**, que na seqüência sofre redução e eliminação fornecendo o composto **IV**. A partir de uma reação clássica de Dötz **IV** reage com outro complexo de carbeno de Fisher gerando um álcool, que em seguida sofre condensação levando a 4-aryl-3,4-diidrocumarina (**20**).

### 1.2.5 Reação de fenóis ativados com alquilidenos do ácido de Meldrum

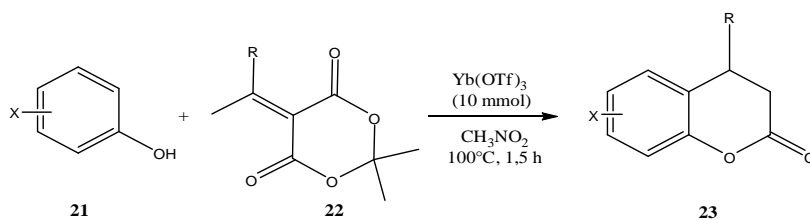
Fillion e colaboradores (2004) obtiveram 3,4-diidrocumarinas-4-substituídas (**23**), 4-cromanonas 2,2-dissubstituídas (**24**), cromanonas 2-substituídas (**25**) e cumarinas (**26**) com elevados rendimentos, pela reação de fenóis ativados (**21**) e 5-alkilidenos do ácido Meldrum (**22**), catalisada pelo  $\text{Yb}(\text{OTf})_3$  (Figura 11).



**Figura 11.** Síntese de heterocíclicos obtidos a partir da reação de fenóis ativados e 5-alkilidenos do ácido Meldrum.

Foram obtidas 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**23a-e**) de forma rápida e eficiente, com rendimentos entre 70-84% (Tabela 1). No entanto os autores concluem que o protocolo de obtenção de 3,4-diidrocumarinas é restrito a fenóis ricos em elétrons e que a regioseletividade da reação de anelação catalítica promovida pelo  $\text{Yb}(\text{OTf})_3$  é controlada pelo grau de substituição do grupo alquilideno.

**Tabela 1.** Resultados obtidos por Fillion e colaboradores (2004) na síntese das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**23a-e**).



Entrada	Fenol	Derivado do ácido de Meldrum	4-aryl-3,4-diidrocumarinas	Rendimento
1				
2	21a	R = Ph (22a)	R = Ph (23a)	84
3	21a	R = 4-MeOPh (22b)	R = 4-MeOPh (23b)	82
4	21a	R = 4-NO <sub>2</sub> Ph (22c)	R = 4-NO <sub>2</sub> Ph (23c)	81
5	21a	R = 3,5-MeOPh (22d)	R = 3,5-MeOPh (23d)	70
6				82 <sup>a</sup>
	21b	R = 3,5-MeOPh (22d)	R = 3,5-MeOPh (23e)	

a – A reação ocorreu após 2,5 h

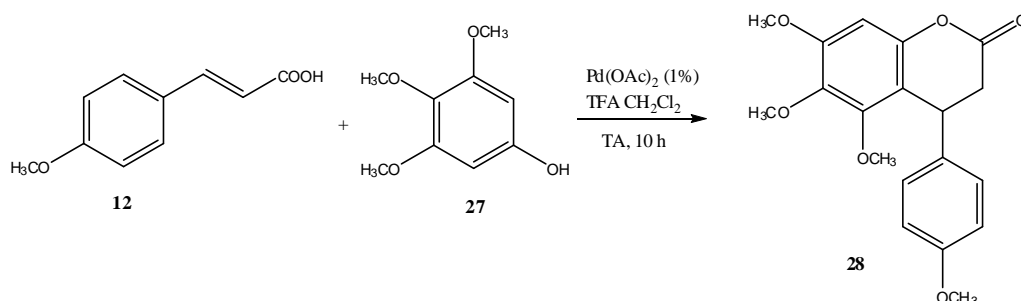
### 1.2.6 Hidroarilação eletrofílica intramolecular de substratos olefínicos catalisada por metal de transição

As reações de hidroarilação intramolecular envolvendo ácidos cinâmicos e fenóis representam um das estratégias sintéticas mais eficientes e convenientes descritos na literatura para o preparo de 4-aryl-3,4-diidrocumarinas. Além de ser um método “one pot” que exhibe economia atômica, a hidroarilação pode ser realizada a partir do emprego de fenóis simples.

O preparo de 4-aryl-3,4-diidrocumarinas através de reação hidroarilação intramolecular de alenos por arenos foi primeiramente descrita por Jia e colaboradores (2000). Segundo esses autores o mecanismo de formação das 3,4-

diidrocumarinas envolve metalação eletrofílica de ligações C-H de anéis aromáticos através de ligações do tipo  $\pi$ , tendo como catalisador compostos de coordenação de Pd (II) em presença de ácido trifluoroacético (TFA). Com base nesta nova estratégia, os autores relataram uma via simples e eficiente de acesso a compostos heterocíclicos como cumarinas e quinolonas.

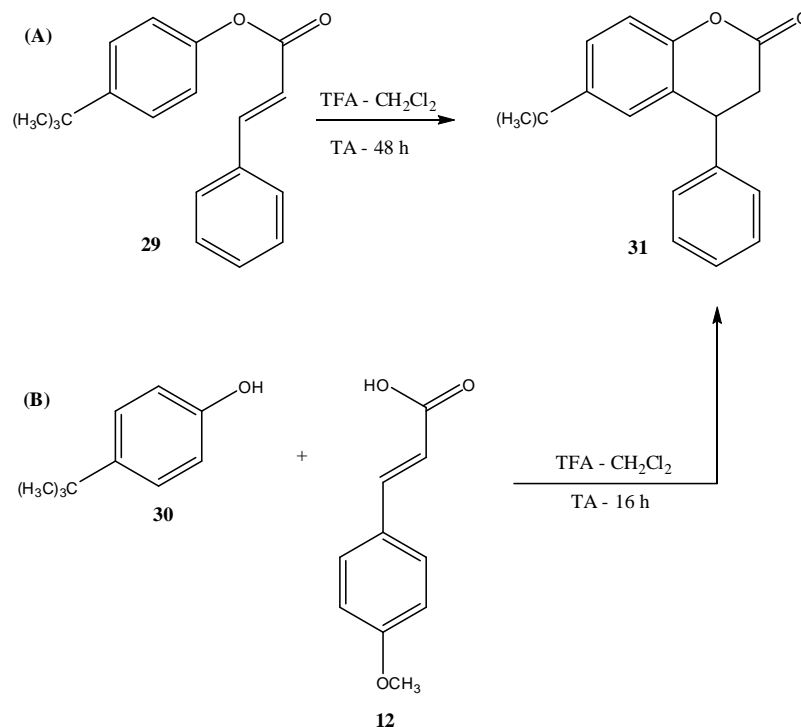
Esses autores, utilizando o sistema reacional contendo Pd(OAc)<sub>2</sub> 1%, TFA e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> na temperatura ambiente, por 10 horas, obtiveram a 4-aryl-3,4-diidrocumarina **28** com 96% de rendimento, conforme a figura 12 (JIA *et al.*, 2000).



**Figura 12.** Reação para a obtenção da diidrocumarina **28** (JIA *et al.*, 2000).

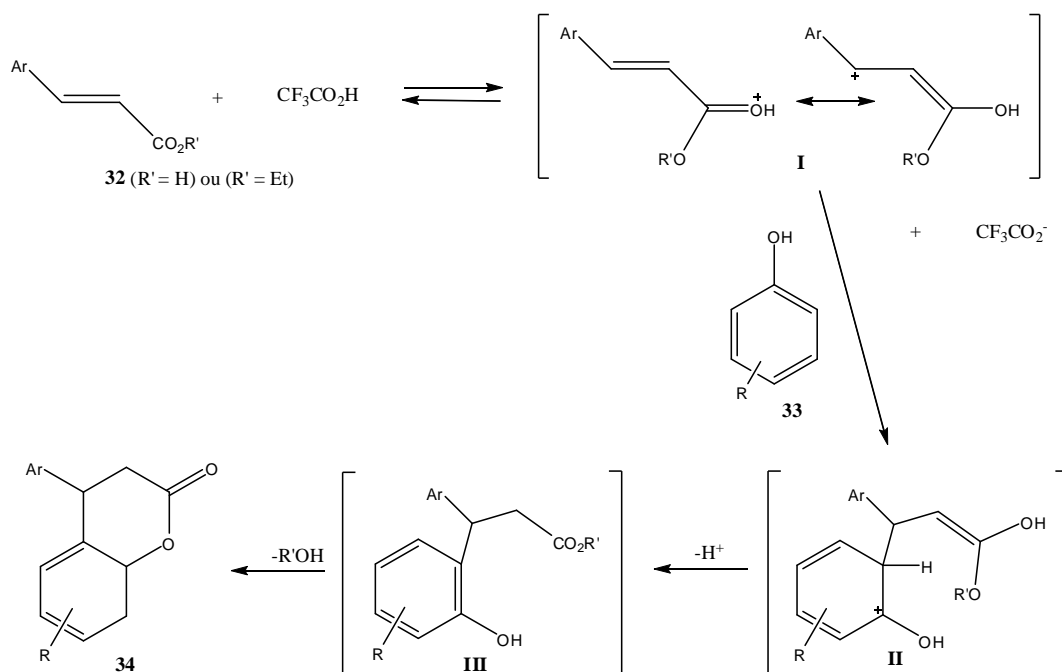
Posteriormente, Li, Foresee e Tunge (2005), estudando as reações de hidroarilação de ácidos cinâmicos com fenóis obtiveram resultados divergentes de Jia e colaboradores. (2000). Os autores concluíram que as hidroarilações não eram catalisadas por Pd(OAc)<sub>2</sub> e sim pelo ácido trifluoroacético.

Ao empregar o sistema TFA e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> com 1 % de Pd(OAc)<sub>2</sub> para a formação do composto **28**, Jia e colaboradores (2000) obteve rendimento de 96%, consistente com os dados relatados anteriormente. Contudo, a mesma reação quando conduzida na ausência de Pd(OAc)<sub>2</sub> levava a formação da 4-aryl-3,4-diidrocumarina **28** com 99% de rendimento (LI, FORESEE e TUNGE, 2005). Esses achados levaram os autores a afirmar que os relatos prévios eram errôneos e que uso de catalisadores de paládio nas reações de hidroarilações era desnecessário. Os autores também discutiram a influência dos grupos doadores de elétrons dos fenóis na eficiência da reação e concluem que hidroarilações intramoleculares são mais fáceis do que as intermoleculares (Figura 13).



**Figura 13.** Síntese do composto **31**, através das rotas de hidroarilação intramolecular (A) e hidroarilação intermolecular (B)

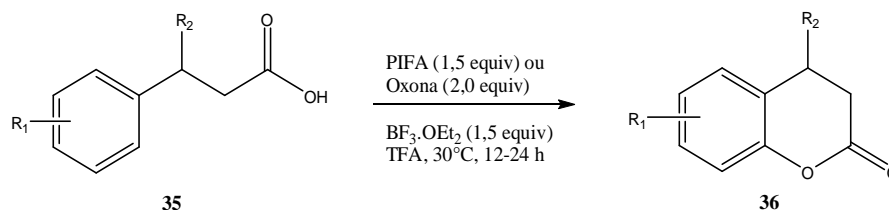
No mesmo ano, Aoki e colaboradores (2005), motivados pelos resultados descritos por Li, Foresee e Tunge (2005) exploraram o uso do ácido trifluoroacético frente a ácidos cinâmicos (**32**) e fenóis (**33**) ricos em elétrons com intuito de preparar 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**34**). Com base nesta estratégia, os autores propuseram um mecanismo de formação das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (Figura 14). Esse mecanismo inclui inicialmente protonação de **32** com o ácido trifluoroacético resultando na formação do intermediário catiônico **I**. Em seguida ocorre substituição eletrofílica do fenol **33** pelo intermediário **I** levando a formação do 3-(2-hidroxifenil)propionato (**II**), que sofre imediatamente transesterificação intramolecular para formar a dihidrocumarina **34**.



**Figura 14.** Mecanismo de formação das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**34**) com base no mecanismo de atuação do ácido trifluoroacético.

### 1.2.7 Ciclização oxidativa direta de ácidos 3-arylpropíonicos com PIFA e Oxona

Recentemente, foi reportada a obtenção de várias 3,4-diidrocumarinas (**36**), sintetizadas a partir de ácidos 3-arylpropíonicos (**35**), através de ciclização oxidativa direta, utilizando o feniliodina(III) bis(trifluoroacetate) (PIFA) ou oxona como agente oxidante (Figura 15). Nessa reação, a utilização do BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub>, na temperatura de 30°C, levou a formação de 3,4-diidrocumarinas com bons a excelentes rendimentos (44-82%) (GU e XUE, 2010).

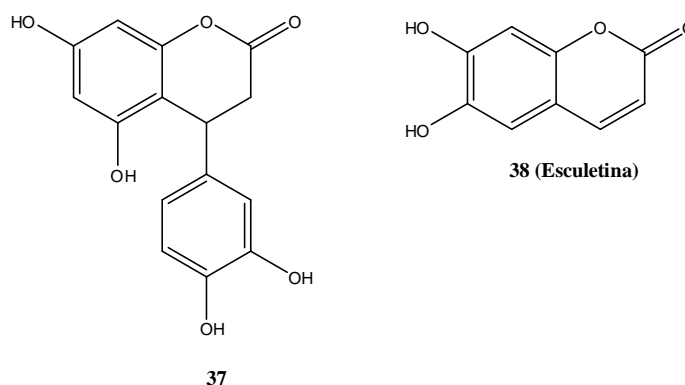


**Figura 15.** Síntese de 3,4-diidrocumarinas a partir de ácidos 3-arylpropíonicos (GU e XUE, 2010).

## 1.3 – PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS 4-ARIL-3,4-DIIDROCUMARINAS

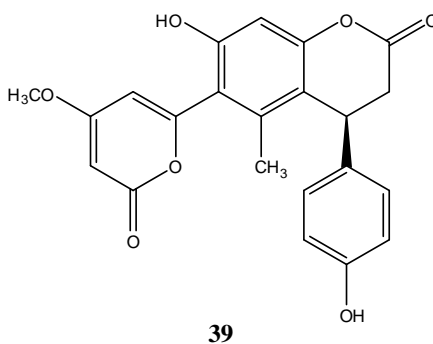
### 1.3.1 Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante de uma série de 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas foi avaliada utilizando o método de seqüestro do radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e foi observado que o composto **37** (Figura 16), na concentração de 0,1mM era responsável pelo seqüestro de 95% do radical DPPH, exibindo bioatividade antioxidante comparável a esculetina (**38**) (LEE. J, TSENG e LEE, Y, 2001).



**Figura 16.** Estrutura da 4-aryl-3,4-diidrocurmarina **37** e da cumarina **38**.

A 4-aryl-3,4-diidrocurmarina (**39**) foi isolada da *Aloe vera* apresentou propriedades antioxidantes, apresentando porcentagem de inibição do íon superóxido e do radical hidroxil de 29,3% e 43,67%, respectivamente (ZHANG *et al.*, 2006) (Figura 17).

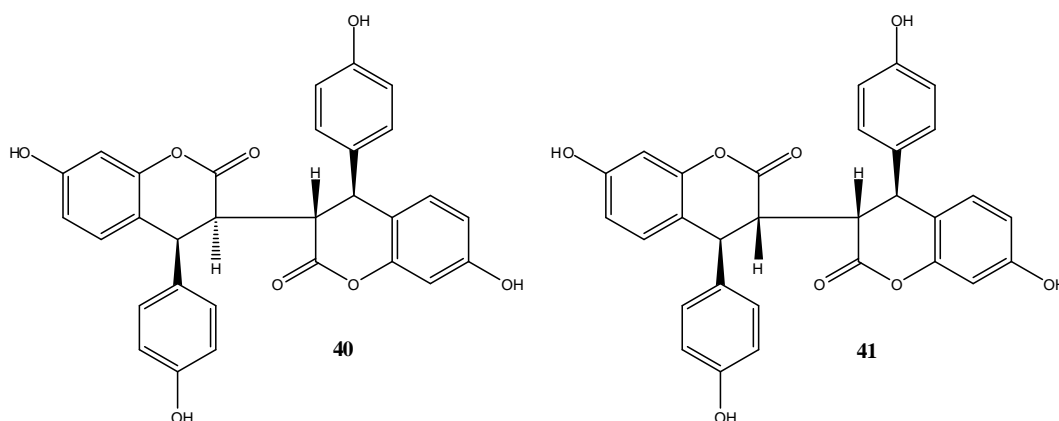


**Figura 17.** 4-aryl-3,4-diidrocurmarina isolada da *Aloe vera*.



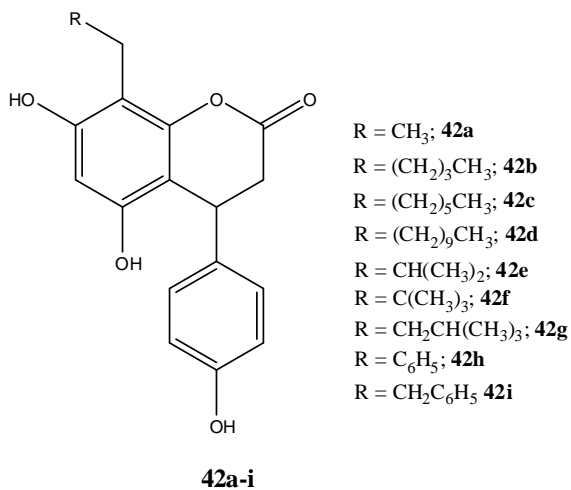
### 1.3.2 Atividade estrogênica

Em estudo fitoquímico de frutos da *Pistacia chinensis*, Nishimura e colaboradores (2000) isolaram dois 3,3'-dímeros da 3,4-diidro-4-(4'-hidroxifenil)-7-diidroxicumarina (**40-41**) com potente atividade estrogênica quando comparada ao isoflavonóide gessisteína (Figura 18).



**Figura 18.** 4-aryl-3,4-diidro-cumarinas (**40-41**) com atividade estrogênica isoladas da *Pistacia chinensis*

Mais recentemente Roelens e colaboradores (2005) realizaram a avaliação da atividade estrogênica, *in vitro*, de nove novas ( $\pm$ )-8-alkuil-5,7-diidroxi-4-(4-hidroxifenil)-3,4-diidro-cumarinas **42a-i** através do ensaio YES (Yeast Estrogenic Screen) utilizando cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Quando comparado aos controles positivos (17 $\beta$ -estradiol, 8-prenilnaringenina e gessisteína) foi observado baixa a moderada atividade estrogênica das 4-aryl-3,4-diidro-cumarinas testadas, com destaque para o composto **42d** (Figura 19). Foi observado também que a alquilação no C8 pode induzir afinidade pelo receptor de estrógeno e que a inserção de grupos volumosos nessa posição reduz atividade.



**Figura 19.** Estrutura das ( $\pm$ )-8-alkil-5,7-diidroxi-4-(4-hidroxifenil)-3,4-diidroumarinas (**42**) sintetizadas.

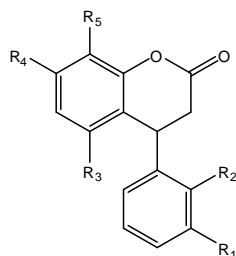
### 1.3.3 Atividade imunomoduladora

A 4-aryl-3,4-diidroumarina (**37**) demonstrou uma potencial atividade imunomoduladora frente à capacidade fagocítica de macrófagos obtidos da cavidade peritoneal de ratos (Figura 16). Esta atividade imunomoduladora foi justificada devido a presença do grupo lacônico do núcleo cumarínico (ZHANG *et al.*, 2006).

## 2.0 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

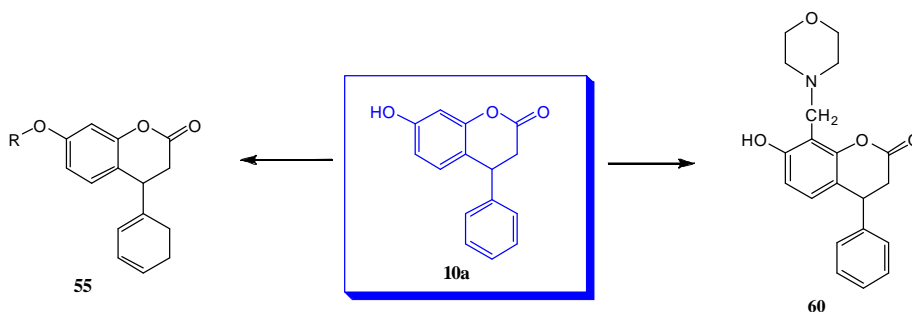
Sintetizar 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**10a-h**) e caracterizá-las através de espectroscopia de IV, EM,  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .



- 10a**, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>5</sub> = H; R<sub>4</sub> = OH  
**10b**, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = H; R<sub>3</sub> = OH  
**10c**, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H; R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = OH  
**10d**, R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>5</sub> = H; R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>4</sub> = OH  
**10e**, R<sub>1</sub> = R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = H; R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> = OH  
**10f**, R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>5</sub> = H; R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = OCH<sub>3</sub>  
**10g**, R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = H; R<sub>2</sub> = R<sub>5</sub> = OCH<sub>3</sub>  
**10h**, R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>5</sub> = H; R<sub>4</sub> = OCH<sub>3</sub>

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

▪ Sintetizar derivados acilados (**55a-d**), metilado (**55e**) e base de Mannich (**60**) obtidos a partir da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-dihidrocumarina (**10a**) e caracterizá-los através de espectroscopia de IV e EM.



Composto	R	Composto	R
<b>55a</b>		<b>55d</b>	
<b>55b</b>		<b>55e</b>	CH <sub>3</sub>
<b>55c</b>			

- Avaliar a atividade antioxidante e ação citotóxica das 4-aryl-3,4-dihidroumarinas sintetizadas.
- Obter umarinas através da reação de ácidos cinâmicos com 2-metoxi-fenol empregando o ácido polifosfórico.

### 3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 EQUIPAMENTOS

As reações foram rotineiramente monitoradas por cromatografia em camada fina (CCF) em sílica gel (placas F<sub>254</sub> Merck®) e os produtos visualizados com luz ultravioleta (254 e 365 nm).

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram registrados em espectrômetro de RMN Varian®. GEMINI 2000, operando a 300 MHz (<sup>1</sup>H) e 75 MHz (<sup>13</sup>C), utilizando-se CDCl<sub>3</sub>, como solvente. O sinal de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C do solvente foi utilizado como referência interna em relação ao tetrametilsilano (TMS).

Os espectros obtidos na região do infravermelho foram registrados em um espectrômetro Nicolet Magna® IR 760. As amostras foram preparadas na a forma de filme líquido sobre pastilha de KBr ou na forma sólida dispersa KBr.

O espectros de massa foram obtidos em um espectrômetro CGMS-QP2010 da SHIMADZU®, através de injeção direta, ionização por impacto de elétrons (70 eV), com fonte de íons a 300°C e com variação da temperatura da probe de 80° - 340°C a 20°C/min.

Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho Quimis® e não foram corrigidos.

Nas purificações realizadas por cromatografia em coluna, utilizou-se realizadas utilizando-se sílica gel 60 com 35-70 mesh Acros Organics®.

As soluções orgânicas foram secas sobre sulfato de sódio anidro e os solventes orgânicos foram removidos sob pressão reduzida em evaporador rotatório.

#### 3.2 MATERIAIS

Os reagentes utilizados neste capítulo foram obtidos das empresas Aldrich® Acros Organics® e Merck®, os reagentes foram:

- Anidrido fosfórico
- Ácido ortofosfórico
- Resorcinol
- 2-metoxi-fenol

- 3-metoxi-fenol
- Pirrogalol
- Ácido cinâmico
- Ácido *orto*-hidroxi-cinâmico
- Ácido *meta*-hidroxi-cinâmico
- Ácido *para*-hidroxi-cinâmico
- Ácido *orto*-metoxi-cinâmico
- Anidrido acético
- Anidrido propílico
- Anidrido butílico
- Morfolina
- Cloreto de benzoíla
- Formaldeído
- NaHCO<sub>3</sub>
- KOH
- N,N-dimetilaminopiridina (DMAP)
- *p*-toluil-sulfonil-metil-nitrosamida

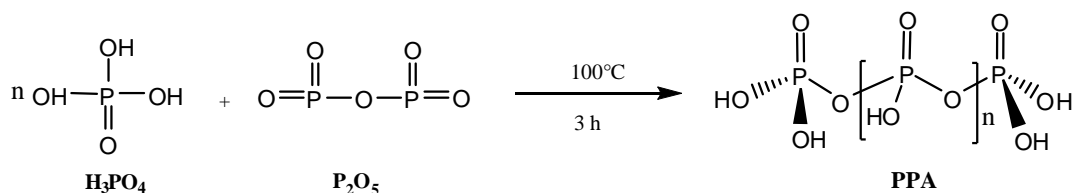
Todos os solventes utilizados foram de grau P. A. provenientes da Quemis<sup>®</sup>. Os solventes utilizados foram:

- Acetato de etila
- Acetona
- Clorofórmio
- Etanol
- Éter
- Metanol
- Piridina

### 3.3 METODOLOGIA

#### 3.3.1 Procedimento geral para preparo do ácido polifosfórico

O ácido polifosfórico foi preparado seguindo os procedimentos descritos por Brandão (2007) e Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001). Foram adicionados em um balão de 50 mL, 12,5 g de anidrido fosfórico ( $P_2O_5$ ) e 20 mL de ácido ortofosfórico ( $H_3PO_4$ ) ( $d = 1,75$  g/mL). A mistura formada foi aquecida a  $100^\circ C$ , sob agitação vigorosa, por 2-3 horas (Tabela 2). Após este tempo, desligou-se o aquecimento e agitação, deixou-se o sistema atingir temperatura ambiente, sendo obtida uma mistura viscosa de cor cristalina (Figura 20).



**Figura 20.** Preparo do ácido polifosfórico.

#### 3.3.2 Procedimento geral para síntese das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas 10a-h

Em um balão de fundo redondo contendo o 20 mL de ácido polifosfórico, a temperatura ambiente, foram adicionados 9,09 mmol de ácidos cinâmicos substituídos e 9,09 mmol de fenóis e derivados. As misturas foram aquecidas a temperatura de  $80^\circ C$ , sob agitação, por três horas. Em seguida o meio reacional foi tratado com água gelada, e a mistura extraída com clorofórmio (3 x 20 mL). A fase orgânica foi separada, tratada com solução de  $NaHCO_3$ , seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Os resíduos obtidos foram submetidos à coluna cromatográfica utilizando-se Silica gel tipo “flash” eluindo-se com  $CHCl_3$  para se obter os produtos (**10a-h**) com rendimentos de 4-69% (Tabela 2).

**Tabela 2.** Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das diidrocomarinas 10a-h

Compostos	Rendimentos (%)	Tempo (horas)	Ponto de fusão (°C)
10a	69 (83) <sup>a</sup>	3	137-139 (141-142) <sup>a</sup>
10b	11	3	<sup>b</sup>
10c	64 (67) <sup>a</sup>	3	169-171 (172) <sup>c</sup>
10d	13	2	<sup>b</sup>
10e	4	2	232-235
10f	52	2	123-125
10g	27	2	107-109
10h	55	3	176-179

<sup>a</sup> BENNARDI et al, 2008; <sup>b</sup> líquido viscoso; <sup>c</sup> MAJUMDER, CHATTERJEE e MUKHOTI, 2001.

### 3.3.3 Síntese de derivados da 7-hidroxi- 4-aryl-3,4-diidrocomarina (10a)

#### 3.3.3.1 Procedimento geral para síntese dos derivados acilados da 7-hidroxi- 4-aryl-3,4-diidrocomarinas (55a-c)

Partindo-se de 500 mg (2,08 mmol) de 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocomarina e adição dos respectivos anidridos (acético, propílico e butílico; 1,1 eq), piridina (2 equiv), em presença de quantidades catalíticas de DMAP, sob agitação constante, a mistura foi mantida à temperatura ambiente por 12 h. A reação foi acompanhada por CCDC constatando-se formação de um único produto. Em seguida, foi vertido água gelada no meio reacional, e a mistura foi extraída com CHCl<sub>3</sub> (3 x 20 mL). A fase orgânica obtida foi tratada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Os resíduos obtidos foram submetidos à coluna “flash” eluindo-se com CHCl<sub>3</sub> para se obter os produtos (55a-c) com rendimentos de 72-81% (Tabela 3).



**Tabela 3.** Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das diidrocurmarinas acetiladas **55a-d**.

Compostos	Rendimentos (%)	Tempo (horas)	Ponto de fusão (°C)
<b>55a</b>	81,3 (83) <sup>a</sup>	12	84-86 (85-86 °C) <sup>a</sup>
<b>55b</b>	79,1	12	<sup>b</sup>
<b>55c</b>	72,4	12	<sup>b</sup>
<b>55d</b>	32,8	4	148 – 150 (153) <sup>c</sup>

<sup>a</sup> SINGH *et al*, 2003; <sup>b</sup> líquido viscoso; <sup>c</sup> SIMPSOM e STEPHEN , 1956

### 3.3.3.2 Procedimento geral para síntese do derivado acilado da 7-hidroxi- 4-aril-3,4-diidrocurmarinas (**55d**)

Em balão de fundo redondo conectado a um tubo de cloreto de cálcio seco foram adicionados 2 mmol da 7-hidroxi-4-aril-3,4-diidrocurmarina e 4 mmol de cloreto de benzoíla em 10 ml de piridina até completa dissolução. A mistura foi aquecida a 100°C. A reação foi acompanhada por CCDC. Após seis horas de aquecimento a mistura reacional foi resfriada e em seguida vertida em béquer contendo gelo. O resíduo formado foi extraído com CHCl<sub>3</sub>. A fase orgânica obtida foi lavada com solução saturada de NaHCO<sub>3</sub>, seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi então purificado através de coluna cromatográfica de sílica flash eluindo-se com CHCl<sub>3</sub> obtendo o produto **55d** com 32,8% de rendimento.

### 3.3.3.3 Procedimento geral para síntese do derivado metilado (**55e**) da 7-hidroxi- 4-aril-3,4-diidrocurmarina

Em um balão volumétrico de 100mL foram dissolvidos 1,14g de *p*-toluil-sulfonil-metil-nitrosamida em 15mL de éter, adicionando aos poucos, em gelo. Sobre a solução etérea formada adicionou-se uma solução de 0,2g de KOH em 5mL de etanol, utilizando sistema próprio de preparo do diazometano. Após 5 minutos, o novo sistema formado foi destilado em manta térmica a 60-65°C. O diazometano produzido foi recolhido em um balão coletor contendo 1 g (4,14 mmol) do composto **10a**. Esse procedimento forneceu um rendimento de aproximadamente 15mL de solução etérea contendo 0,16 a 0,18g de diazometano (VOGEL, 1989). A solução

resultante foi deixada em repouso por 48 h até completa remoção do éter e o produto final obtido com 100% de rendimento (Tabela 4).

**Tabela 4.** Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das diidrocomarinas **55e** e **60**.

Composto	Rendimento (%)	Tempo	Ponto de fusão (°C)
<b>55e</b>	100	20 min	113-114 (112) <sup>a</sup>
<b>60</b>	39	6 horas	<sup>b</sup>

<sup>a</sup> SIMPSON e STEPHEN , 1956; <sup>b</sup> líquido viscoso

### 3.3.3.4 Procedimento geral para síntese da base de Mannich (**60**) da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocomarina

Em balão de fundo contendo 2 mL de etanol a 95% foram dissolvidos 2 mmol da 4-aryl-3,4-diidrocomarina (**10a**) e, em seguida foram adicionados 2 mmol de morfolina e 0,2 mL de formaldeído a 37%. O sistema obtido foi mantido sob refluxo durante 6 horas. Em seguida a mistura reacional foi resfriada e vertida em um béquer contendo 10 mL de água gelada. O produto foi extraído com CHCl<sub>3</sub> (3 x 20 mL), e purificado através de CC em sílica “*flash*”, eluindo-se com CHCl<sub>3</sub> para se obter o produto (**60**) com rendimento de 39% (Tabela 4).

### 3.3.4 Procedimento geral para síntese das comarinas (**44a-c**)

Em um balão de fundo redondo contendo 20 mL de ácido polifosfórico, a temperatura ambiente, foram adicionados 9,09 mmol do ácido cinâmico e derivados e 9,09 mmol do 3-metoxi-fenol. As misturas foram aquecidas a temperatura de 80°C, sob agitação, por três horas. Em seguida o meio reacional foi tratado com água gelada, e a mistura extraída com clorofórmio (3 x 20 mL). A fase orgânica foi separada, tratada com solução de NaHCO<sub>3</sub>, seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrado sob pressão reduzida. Os resíduos obtidos foram submetidos à coluna cromatográfica em sílica gel “*flash*” eluindo-se com CHCl<sub>3</sub> para se obter os produtos (**44a-c**) com rendimentos de 11-82% (Tabela 5).

**Tabela 5.** Pontos de fusão das cumarinas **44a-c**.

Compostos	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C)
44a	17	115-117 (117-120) <sup>a</sup>
44b	52	223-224 (224-225) <sup>b</sup>
44c	11	229-230 (234-237) <sup>c</sup>

<sup>a</sup> VALIZADEH e VAGHEFI, 2009 .<sup>b</sup>DAS GUPTA e DAS, 1968. <sup>c</sup> IQBAL, BHAT e AZAM, 2009.

### 3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os ensaio do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) avalia habilidade da substância testada de seqüestrar o radical livre estável DPPH•. Para sua realização foram preparadas soluções de DPPH 45 µg/ml e soluções com as substâncias testes e padrões em 3 concentrações diferentes (120, 60 e 30 µg/mL) em MeOH. Neste ensaio utilizou-se ácido gálico e a quercetina como substâncias referência considerando-as com poder de seqüestrar 100% dos radicais.

As atividades antioxidantes das 4-aril-3,4-diidrocomarinas foram mensuradas através do monitoramento do decaimento da absorbância, a 515 nm, após 15 minutos. Os testes foram realizados em triplicata.

### 3.5 ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS 4-ARIL-3,4-DIIDROCUMARINAS FRENTE À *ARTEMIA SALINA*

Os ensaios para a avaliação da atividade citotóxica foram realizados utilizando método de Meyer e colaboradores(1982), sendo modificado para melhor se adequar às condições de nosso laboratório, sendo realizado etapas de incubação dos cistos, exposição das larvas de *A. salina* e por fim a contagem das larvas mortas para fins de cálculo da concentração letal (CL<sub>50</sub>).

Foram incubados 500 mg de cistos de *A. salina* em aquário de vidro contendo solução de NaCl marinho (3,82g/L), sob iluminação artificial, a temperatura ambiente de 28° C e estado de saturação de oxigênio conseguido através de uma bomba de ar conectada ao fundo do aquário. O aquário utilizado foi dividido em dois compartimentos através de divisória contendo pequenos furos para migração das

larvas fototrópicas. A parte do sistema com os cistos de *A. salina* foi coberta com papel alumínio, para que os organismos, ao eclodirem, fossem atraídos pela luz do outro lado do sistema, forçando-os a atravessar a divisória.

Após 48 horas, foram transferidos 10 camarões para cada frasco contendo as amostras a serem testadas, em seguida o volume dos frascos foram completados até 5 mL com água do mar artificial. Os testes foram feitos em triplicata para cada nas concentrações de 50, 100, 200 e 250 µg/mL para cada composto.

Após 24 horas de exposição, as larvas vivas e mortas foram contadas e a concentração letal média foi estimada através do método PROBIT.

## 4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

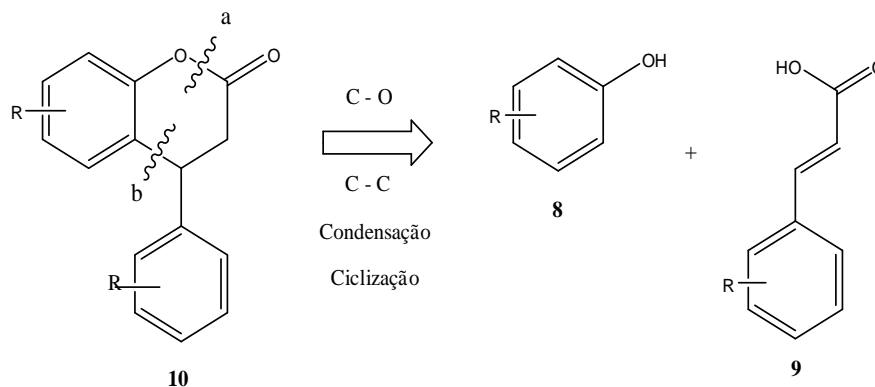
### 4.1 SÍNTESE

Foram sintetizadas 14 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**10a-h**), (**55a-e**) e **60**. Este trabalho descreve pela primeira vez a síntese dos compostos **10e-g**, **55b-c** e **60**.

#### 4.1.1 Retroanálise para obtenção das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**10a-h**)

A metodologia empregada na síntese dos derivados **10a-h** baseou-se na análise retrossintética representada na Figura 21. As desconexões de duas ligações C-O (a) e uma ligação C-C (b) permitiu identificar que as 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas podem ser obtidas através da reação de condensação “one pot”, seguido de ciclização entre um fenol (**8**) e um ácido cinâmico (**9**), que podem ser adquiridos comercialmente.

Em virtude da simplicidade operacional e do baixo custo da maioria dos reagentes empregados para seu preparo, optou-se por utilizar o ácido polifosfórico como agente condensante na reação.



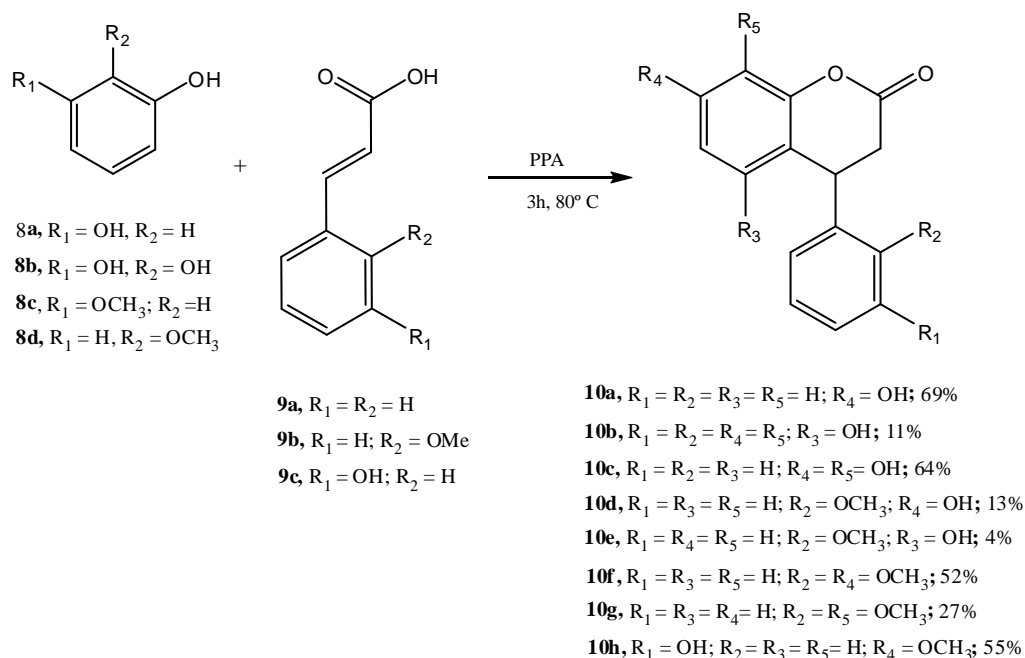
**Figura 21.** Análise retrossintética das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**10**).

#### 4.1.2 Síntese de 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas

As 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas **10a-h** foram sintetizadas explorando-se a reação de condensação entre fenóis e ácidos cinâmicos utilizando catálise ácida com o ácido polifosfórico, empregando metodologias desenvolvidas por Brandão (2007) e Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001) (Figura 22).

As condições reacionais empregadas para obtenção das 3,4-diidrocurmarinas baseou-se em trabalho realizado anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa. Utilizando CLAE-UV, Brandão (2007) monitorou doze diferentes condições reacionais para síntese da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurmarina (**10a**) e da 5-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurmarina (**10b**). A melhor condição reacional obtida foi a 80°C, porém, com 3 horas de reação, diferente das condições relatadas por Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001) e Talapatra, B., Deb e Talapatra, S. (1986).

Seguindo as condições descritas, foram sintetizadas sete 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas, com rendimentos baixos a moderados, na faixa de 4 - 69%, sendo que três destas (**10e-g**) são inéditas na literatura.



**Figura 22.** 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (**10a-h**) sintetizadas.

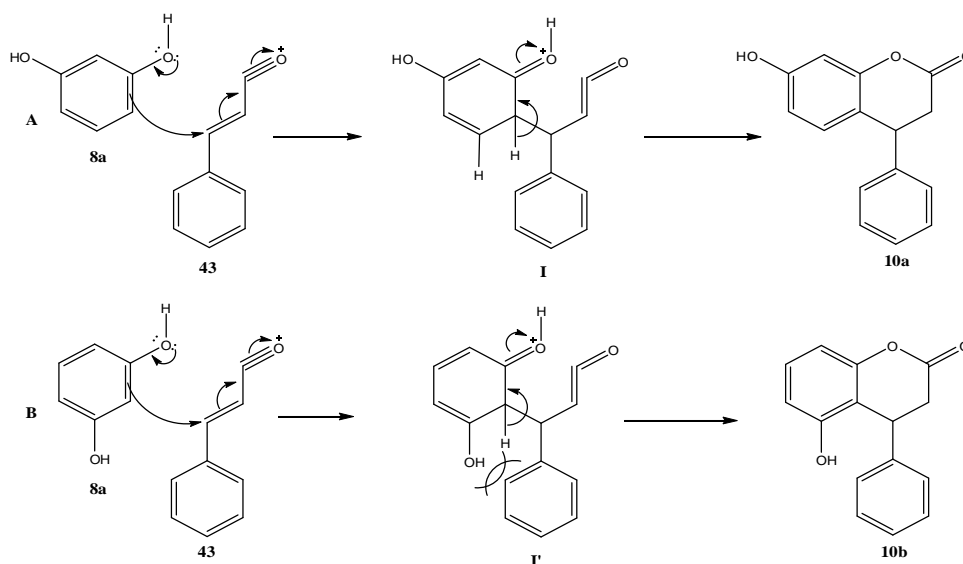
Assim como observado neste trabalho, estudos anteriores descrevem a obtenção de 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas também com rendimentos baixos a

moderados. (TALAPRATA, B., DEB e TALAPATRA, S., 1986; MAJUMDER, CHATTERJEE e MUKHOTI, 2001).

Na reação do resorcinol **8a** com o ácido cinâmico **9a**, foi obtido uma mistura de dois regioisômeros (**10a** e **10b**), na proporção de 6,3:1. Adicionalmente, ao reagir o fenol **8a** com o ácido  $\alpha,\beta$ -insaturado **9b**, também foi observado a formação de dois regioisômeros, os compostos (**10d** e **10e**), na proporção de 3:1. Esses resultados indicam que tais reações não são estereosseletivas.

A formação desses regioisômeros pode estar associado às diferentes formas como o resorcinol se condensa com o ácido cinâmico. Na reação de condensação, o resorcinol pode assumir duas orientações distintas (A e B), levando conseqüentemente a intermediários e a produtos diferentes. A aproximação (B) favorece a formação do produto minoritário (**10b**) por levar a formação de intermediários (I') desestabilizado por efeito estérico (Figura 23).

Na figura 23 estão apresentadas duas possíveis orientações (A e B) do resorcinol (**8a**) em relação ao íon acílio (**43**), intermediário obrigatório nas reações entre fenóis e ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados catalisados pelo PPA segundo Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001).



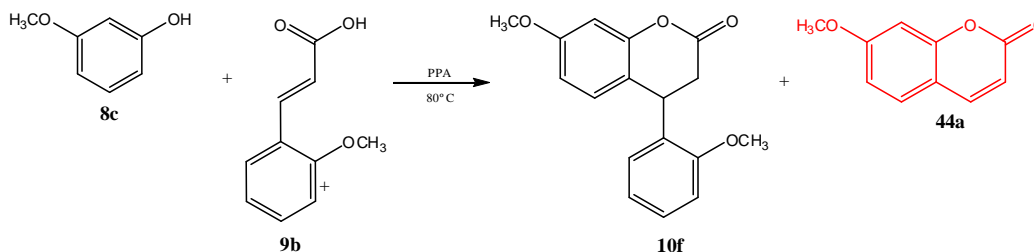
**Figura 23.** Possíveis orientações do resorcinol (**8a**) em relação ao íon acílio (**43**) na reação de condensação.

Fenômeno semelhante foi descrito por Das *et al.* (2000) que ao reagir a resorcinol com alquilcinamato em presença de  $\text{FeCl}_3$  obteve uma mistura de regioisômeros (**10a** e **10b**) na proporção de 3,8:1.

Contraditoriamente, trabalhos anteriores não citam a formação da 5-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocumarina (**10b**) como produto da reação do fenol **8a** com o ácido cinâmico (**9a**) em presença do PPA (TALAPRATA, B., DEB e TALAPATRA, S., 1986; ADITYACHAUDHURY *et al.*, 1971; MAJUMDER, CHATTERJEE e MUKHOTI, 2001).

Segundo Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001), o curso dessas reações e a natureza dos produtos obtidos são dependentes de vários fatores como natureza dos fenóis, posição e natureza dos substituintes do grupo fenila no ácido cinâmico, estereoquímica dos reagentes, composição do PPA, temperatura, tempo da reação, solvente e etc..

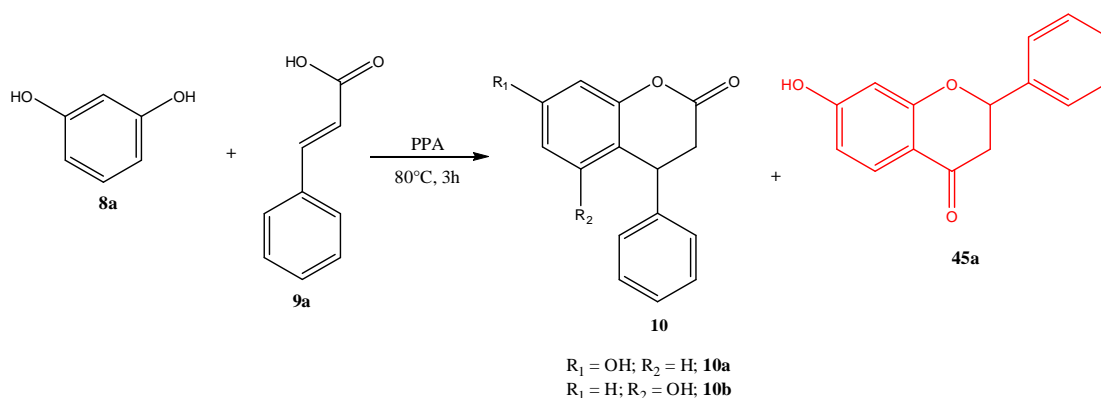
Curiosamente, a reação envolvendo o fenol **8c** e o ácido cinâmico **9b**, levou a formação da 4-aryl-3,4-diidrocumarina **10f** como produto majoritário (52%) e a cumarina **44a** como produto minoritário (42%) (Figura 24).



**Figura 24.** Produtos obtidos a partir da reação de condensação entre o fenol **8c** e o ácido cinâmico **9b**.

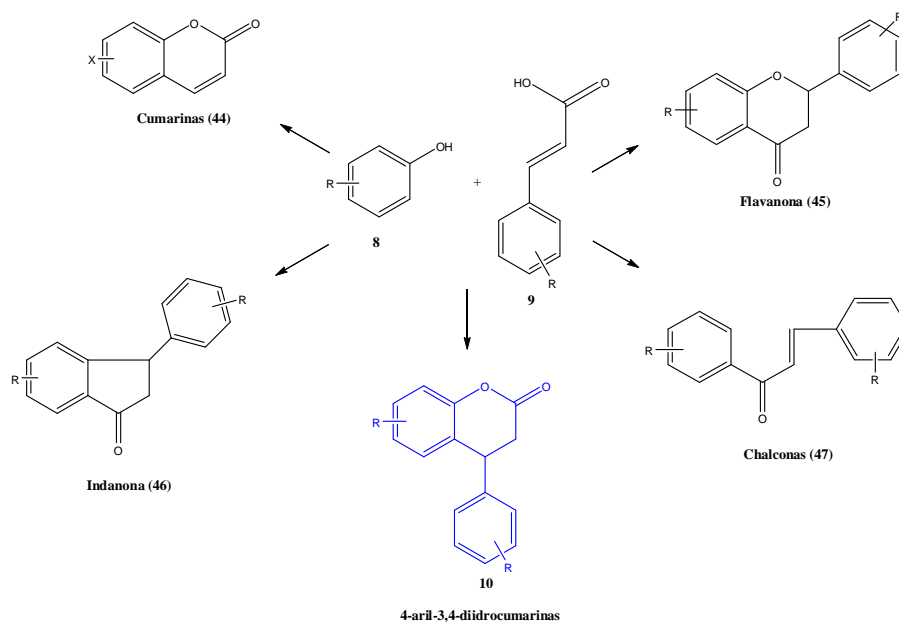
Adicionalmente, assim como descrito por Brandão (2007) e Barreiros (2005), a reação do resorcinol (**8a**) com o ácido cinâmico (**9a**) levou a formação das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas **10a-b** e a flavonona **45a** como produto minoritário (1,6%) (Figura 25).





**Figura 25.** Produtos obtidos a partir da reação de condensação de a partir da condensação do fenol **8a** com o ácido cinâmico **9a**.

Estudos anteriores demonstraram que uso do PPA como agente condensante nas reações envolvendo ácidos cinâmicos e fenóis, além de fornecer 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas como produtos majoritários, também podem levar a formação de cumarinas (**44**), flavononas (**45**), indanonas (**46**) e chalconas (**47**) como produtos minoritários (Figura 26). Este resultados sugerem que a reação de condensação de fenóis com ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados utilizando o PPA não são regioseletivas.



**Figura 26.** Produtos obtidos a partir da reação de condensação de fenóis com ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados utilizando o PPA.

### **4.1.3 Mecanismos propostos para formação das 3,4-di-hidrocomarinas com base na atuação do PPA**

O PPA é um efetivo agente condensante largamente empregado na síntese de uma variedade de sistemas heterocíclicos, funcionando simultaneamente com ácido prótico, ácido de Lewis e agente fosforilante, sendo considerado um dos mais efetivos reagentes para desenvolvimento de reações acilação, alquilação, ciclização e catalisadas por ácidos (KRONGAUZ e RUSANOV, 1970; SO e HEESCHEN, 1997).

Apesar do largo número de publicações retratando as mais variadas aplicações sintéticas do PPA, pouco se conhece acerca do mecanismo preciso das reações catalisadas pelo PPA. A alta viscosidade e complexidade de composição do PPA são apontados como fatores que dificultam estudos mecanísticos de atuação do PPA nas reações (KRONGAUZ e RUSANOV, 1970; SO e HEESCHEN, 1997).

Embora o PPA seja utilizado na preparação de 4-aril-3,4-diidrocomarinas desde da década de 50, seu papel exato nas reações envolvendo fenóis com ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados ainda permanece obscuro. A primeira proposta mecanicista plausível para essas reações foi descrita por Chenaul e Dupin (1983).

Em seguida, Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001), que baseando-se em experimentos, ampliaram a proposta inicial de Chenaul e Dupin (1983), contrapondo a idéia da formação dos arilcinamatos como intermediário-chave nessas reações.

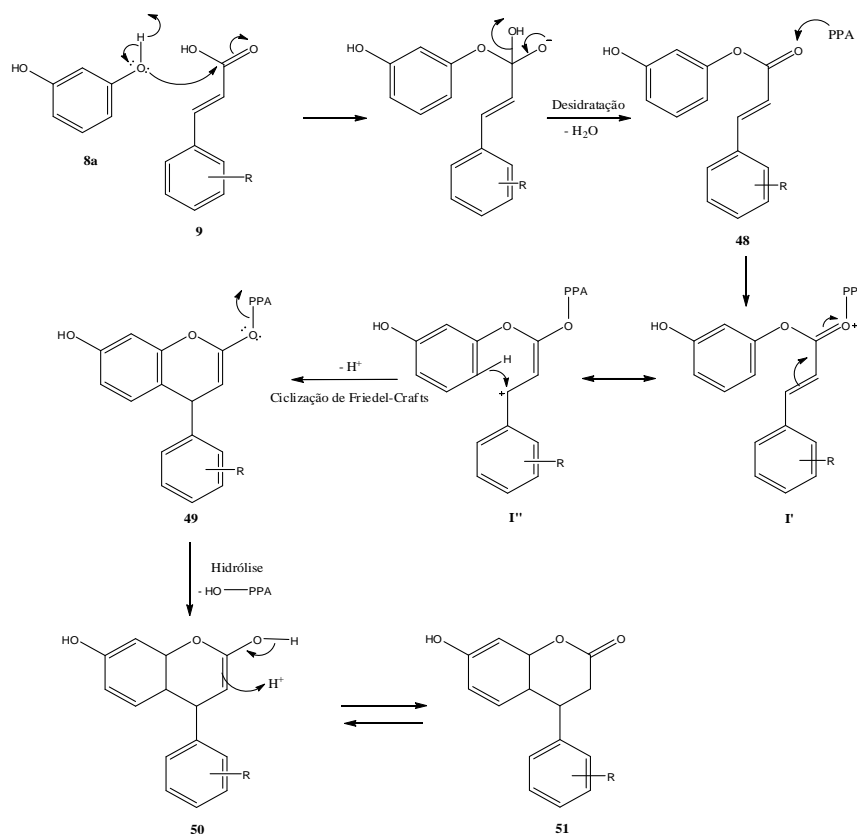
Ambos os autores acima propõem mecanismos que levam em consideração a natureza dos diferentes produtos (4-aril-3,4-diidrocomarinas, chalconas, comarinas e etc..) obtidos a partir das reações envolvendo fenóis e ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados catalisadas pelo PPA. Contudo a proposta de Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001) mais abrangente e consistente com observações experimentais de ambos autores.

As propostas mecanísticas para obtenção das 4-aril-3,4-diidrocomarinas encontram-se racionalizados a seguir:

#### **4.1.3.1 - Mecanismo proposto para formação das 3,4-diidrocomarinas segundo Chenaul e Dupin (1983)**

Chenaul e Dupin (1983) assumem a formação dos arilcinamatos como intermediários chave obrigatórios nessas reações, além de discutir a influência da posição dos grupos metoxilas do ácido cinâmico no curso da reação. Estes autores propõem um mecanismo que leva em consideração a natureza dos demais produtos obtidos, tais como flavononas, chalconas e cumarinas.

O mecanismo proposto inicia-se com a formação do fenil-cinamato (**48**) obtido a partir da reação de desidratação do ácido cinâmico com fenol. Em seguida ocorre complexação do PPA com o átomo de oxigênio do carbono acila formando o complexo de coordenação I'. A ciclização de Friedel-Crafts seguida de hidrólise leva a 4-aryl-3,4-dihidrocumarina (**51**) (Figura 27). Estes autores apontam a presença de grupos metoxilas na posição 2 e 4 do cinamato (efeito eletro-doador) como requisito estrutural importante para o favorecimento da formação do complexo de coordenação entre o PPA e o átomo de oxigênio da carbonila do grupo éster.

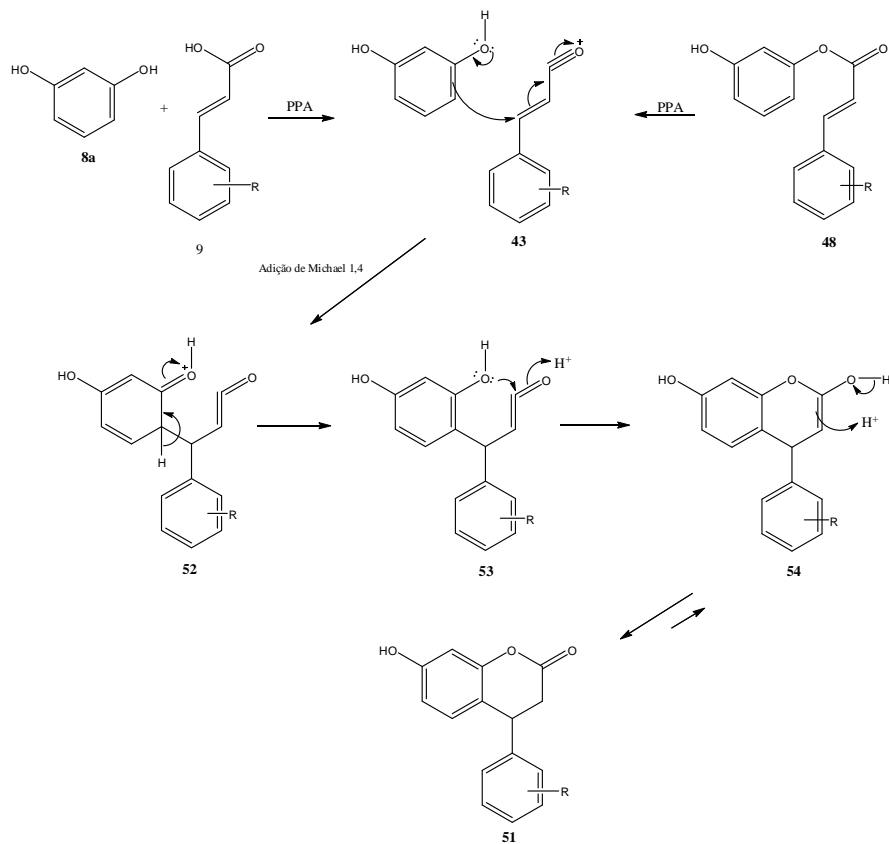


**Figura 27.** Mecanismo proposto para formação das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**51**) segundo Chenaul e Dupin (1983)

#### 4.1.3.2 - Mecanismo proposto para formação das 3,4-diidrocumarinas segundo Majumder, Chatterjee e Mukhoti (2001)

Os autores, partindo de observações experimentais, ampliam a proposta inicial de Chenaul e Dupin (1983) e propõem mecanismo de formação das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas tendo agora o íon acílio (**43**) como intermediário obrigatório. Segundo estes autores o íon acílio pode ser formado tanto a partir do ácido cinâmico (**9**) como do fenil-cinamato (**48**) por ação do PPA (Figura 28). A adição de Michel do tipo 1,4 do íon acílium para o fenol leva a formação do intermediário **52** que, em seguida, sofre ciclização e rearranjo levando a 4-aryl-3,4-diidrocumarina **51** (Figura 25).

Assim como Chenaul e Dupin (1983), o mecanismo proposto pelos autores levam em consideração a natureza dos demais produtos formados nessa reação (cumarinas, chalconas e indanonas) e a influência dos substituintes no anel aromático do ácido cinâmico no curso da reação.



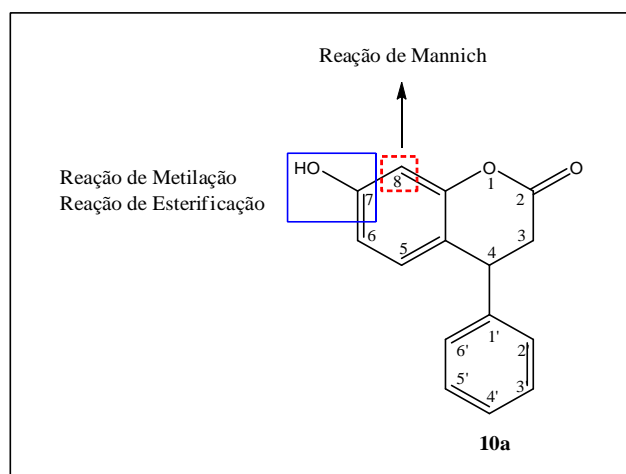
**Figura 28.** Mecanismo proposto para formação das 4-aryl-3,4-diidrocumarina (**51**) segundo Majumder, Chatterjee e Mukhoti. (2001)

#### 4.1.4 Síntese de derivados da 7-hidroxi- 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (10a)

Visando a obtenção de novas 4-aryl-3,4-diidrocumarinas com potencial atividade biológica optou-se por preparar derivados da substância **10a**. A escolha deste composto como material de partida se deu devido a sua disponibilidade e, em especial, a sua simplicidade estrutural.

Dentre as diversas reações que envolvem a 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocumarina optou-se por explorar processos quimioseletivos passíveis de ocorrer na hidroxila da posição 7 (reações de acetilação e metilação) e no carbono 8 (reação de Mannich) (Figura 29).

Essas reações foram inicialmente selecionadas em virtude da simplicidade dos métodos e disponibilidade dos reagentes.



**Figura 29.** Reações exploradas para preparo dos derivados do composto **10a**.

Levando em consideração a importância biológica dos derivados acetilados e metilados principalmente no C-7 e C-8 do sistema benzopirano de cumarinas e diidrocumarinas, optamos por preparar os derivados **55a-e**.

Considerando a importância das bases de Mannich e grupamento morfolina na química medicinal, optou-se por preparar base de Mannich da 3,4-diidrocumarina **10a** utilizando a morfolina como amina secundária.

As bases de Mannich de cumarinas possuem papel significativo como compostos biologicamente ativos em diversas doenças (KONTOGIORGIS e HADJIPAVLOU-LITINA, 2005). Heterocíclicos contendo nitrogênio, incluindo os

grupos morfolina, tiomorfolina e piperazina, representam os mais importantes grupos farmacofóricos na química medicinal (YAR, MCGARRILE e AGGARWAL, 2008).

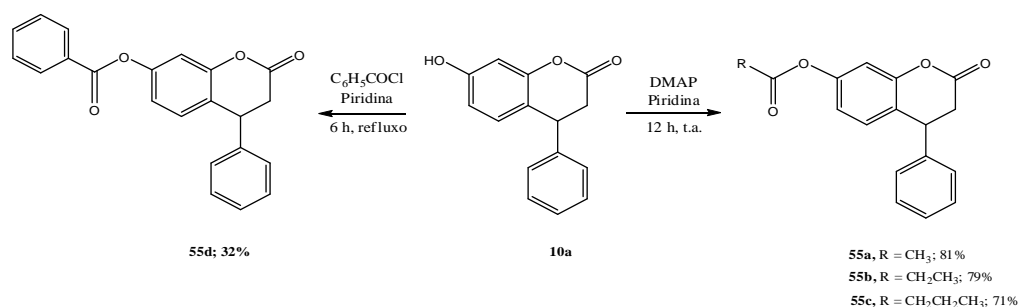
O núcleo morfolina pode ser encontrado em diversas moléculas bioativas como a enzima conversora do TNF- $\alpha$  (TACE), metaloproteinase matrix (MMP) e inibidores de TNF (fator de necrose tumoral), estando presente nos de benzodiazepínicos tricíclicos, nos 6-metilidenos penems como inibidores de  $\beta$ -lactamases e nos compostos bicíclico 8,6-fundido peptídiomiméticos como inibidores da enzima conversora da interleucina1- $\beta$  (LALLI *et al*, 2009).

#### 4.1.4.1 Síntese dos derivados acilados (55a-d) da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurmarina.

Com o objetivo de observar como a substituição da hidroxila no C-7 por grupos acila afeta a atividade biológica das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas, foram sintetizados quatro derivados (55a-d) da 4-aryl-3,4-diidrocurmarina 10a.

As 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas aciladas 55a-c foram obtidas com bons rendimentos (71-81%) a partir da reação de esterificação da 3,4-diidrocurmarina 10a com seus respectivos anidridos acético/propílico/butílico utilizando o DMAP como catalisador (Figura 30). Esta foi realizada segundo procedimento descrito na literatura por Singh e colaboradores (2003).

De forma análoga ao que foi feito para o as diidrocurmarinas 55a-c, submeteu-se o composto 10a a reação com cloreto de benzoíla em piridina sob refluxo. Após 6 horas de reação obteve-se o composto 55d com 32% de rendimento.

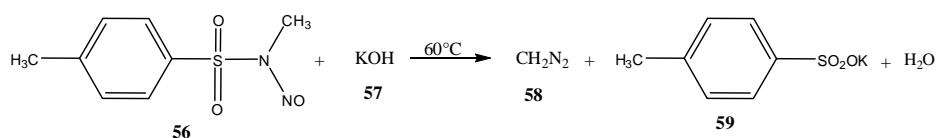


**Figura 30.** Síntese dos derivados acetilados (55a-d) da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurmarina.

#### 4.1.4.2 Síntese do derivado metilado (55e) da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurarina.

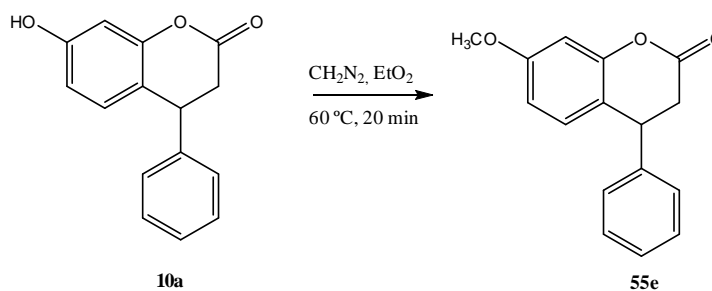
A preparação do derivado metilado da 4-aryl-3,4-diidrocurarina **10a** foi realizada explorando-se a clássica reação de metilação utilizando o diazometano, descrita por VOGEL (1971).

A primeira etapa dessa reação consistiu na obtenção do diazometano (**58**) a partir do *p*-toluenosulfonil-*N*-metil-*N*-nitrosamida (**56**) e do hidróxido de potássio (**57**) (Figura 31).



**Figura 31.** Preparação do diazometano (**58**)

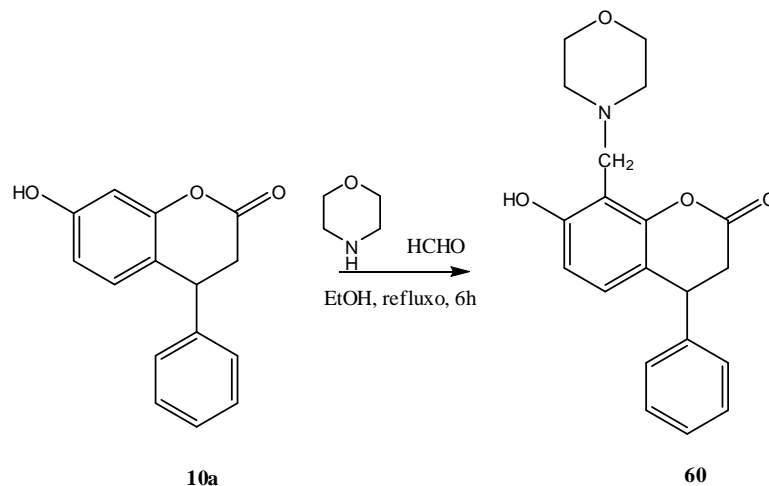
Em seguida, o diazometano obtido foi utilizado na reação de alquilação da 4-aryl-3,4-diidrocurarina **10a** para obtenção do derivado metilado correspondente **54e** com rendimento de 100% (Figura 32).



**Figura 32.** Síntese do derivado metilado (**55e**) da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurarina.

#### 4.1.4.3 Síntese da base de Mannich (60) da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurarina

O novo derivado da cumarínico funcionalizado 8-morfolinametil-7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurarina (**60**), foi obtido a partir da 7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocurarina (**10a**), com 39% de rendimento. Foi empregado o método clássico de obtenção de base de Mannich, de acordo metodologia descrita por Mazzei e colaboradores (2008) (Figura 33).



**Figura 33.** Obtenção da 8-morfolinametil-7-hidroxi-4-aryl-3,4-diidrocumarina (**60**)

#### 4.1.5 Estratégia sintética utilizada para síntese das cumarinas **44a-c**

Resultados obtidos anteriormente no preparo das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas revelou curiosamente que a reação de condensação envolvendo o ácido *orto*-metoxi-cinâmico (**9b**) como o 3-metoxi-fenol (**8b**) não levava apenas a formação da 4-aryl-3,4-diidrocumarina **10f**, mas também da cumarina **44a** (Figura 24). Com o sucesso obtido nessa reação, iniciou-se um estudo visando a síntese de cumarinas.

Considerando os resultados obtidos inicialmente por Bhattacharjee e Paknikar. (1989); Paknikar, Bhattacharjee e Nadkarni (1994); e Talapatra, B., Deb e Talapatra, S. (1986) e a disponibilidade dos reagentes (ácidos cinâmicos *orto*-, *meta*- e *para*-hidroxilado) optou-se por reagir tais derivados com o 3-metoxi-fenol, empregado as mesmas condições reacionais utilizadas no preparo das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**10a-h**).

#### 4.1.6 Síntese das cumarinas (**44a-c**)

As cumarinas **44a-c** foram sintetizadas a partir da reação do fenol **8c** com os ácidos cinâmicos substituídos (**9c-e**) utilizando catálise ácida com o ácido polifosfórico (Tabela 6).

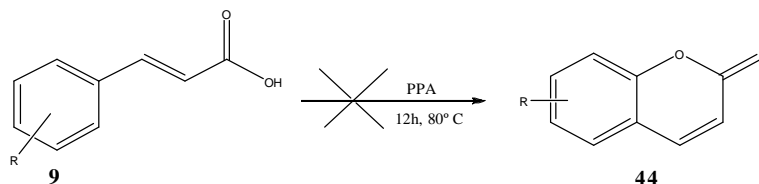


**Tabela 6.** Obtenção de cumarinas (**44a-c**) a partir de ácidos cinâmicos substituídos.

COc1cc(O)cc1 (8c) + Rc1ccc(cc1)/C=C/C(=O)O (9)  $\xrightarrow[3h, 80^{\circ}C]{PPA}$  Rc1ccc2c(c1)oc(=O)cc2 (44)

Entrada	Ácido cinâmico	Produto 1 (rendimento)	Produto 2 (rendimento)
1		 <b>44a (42%)</b>	<b>10f</b>
2		 <b>44a (17%)</b>	 <b>44b (58%)</b>
3		<b>10h</b>	—
4		 <b>44a (11%)</b>	 <b>44c (82%)</b>

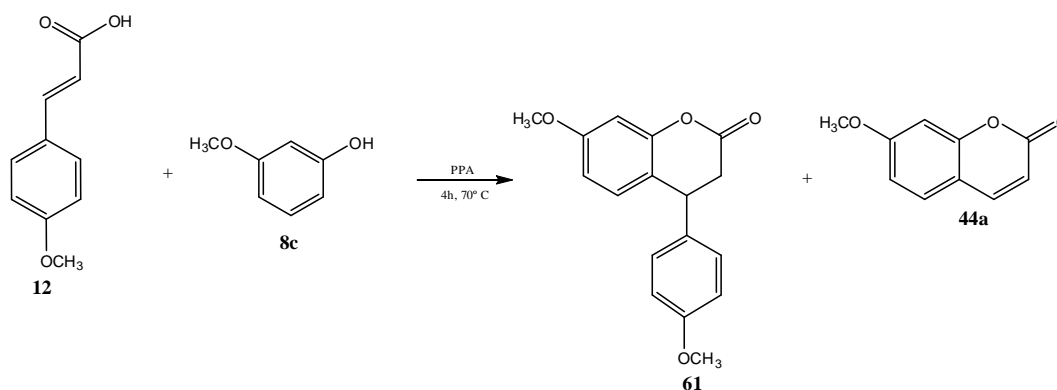
A fim de investigar o papel do 3-metoxi-fenol na reação de síntese das cumarinas, os ácidos cinâmicos **9a** e **9e** foram submetidos a aquecimento a temperatura de 80°C em presença apenas do PPA (Figura 34). Após 12 horas de nenhum produto foi formado. Assim como descrito por Talapatra, B., Deb e Talapatra, S. (1986), os resultados encontrados sugerem que o 3-metoxi-fenol participa no mecanismo da reação.



**Figura 34.** Tentativa de síntese de cumarinas a partir de ácido cinâmico.

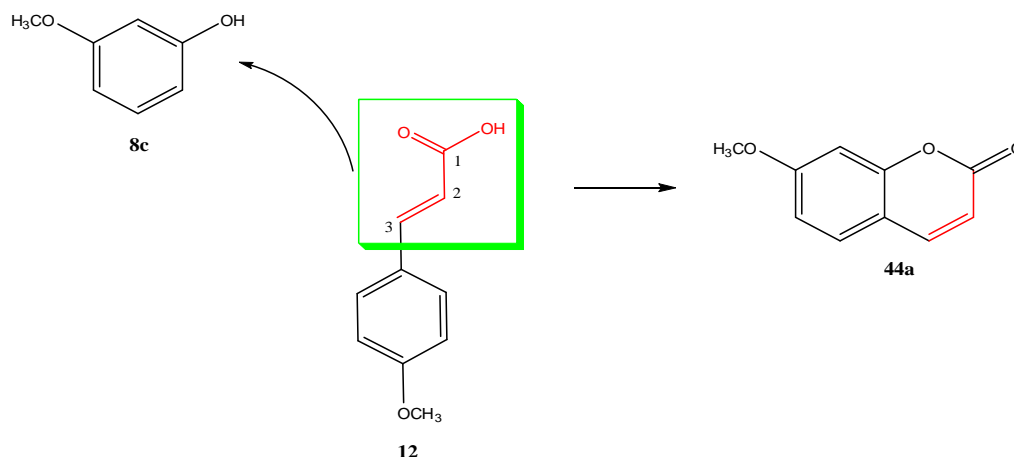
Os resultados revelaram que o curso da reação é sensível aos efeitos eletrônicos dos substituintes sobre o anel aromático do ácido cinâmico.

A obtenção de cumarinas a partir da reação de ácidos cinâmicos com fenóis em presença de PPA foi inicialmente descrita por Talapatra, B., Deb e Talapatra, S., (1986), que obtiveram a 7-metoxi-cumarina (**44a**), com rendimento de 80%, a partir do ácido *para*-metóxi-cinâmico (**12**) e do 3-metoxi-fenol (**8c**) (Figura 35). Contudo a composição do PPA utilizado nessa reação é diferente da composição que foi utilizada no preparo das cumarinas **44a-c** no presente trabalho.



**Figura 35.** Obtenção da cumarina **44a**.

Posteriormente foi relatada a síntese da cumarina **44a** com rendimentos de 37-40% (BHATTACHARJEE e PAKNIKAR, 1989). Alguns anos depois os mesmo autores descreveram a síntese de oito cumarinas naturais, com rendimentos moderados, obtidas a partir do ácido *para*-metóxi-cinâmico e de fenóis substituídos (PAKNIKAR, BHATTACHARJEE e NADKARNI, 1994). Em ambos os trabalhos os autores propõem mecanismo de formação das cumarinas por transferência da unidade C<sub>3</sub> do ácido cinâmico para o fenol (Figura 36).



**Figura 36.** Mecanismo proposto para formação da cumarina **44a** segundo Bhattacharjee e Paknikar (1989).

#### 4.1.7 Mecanismos propostos obtenção das cumarinas 44a-c

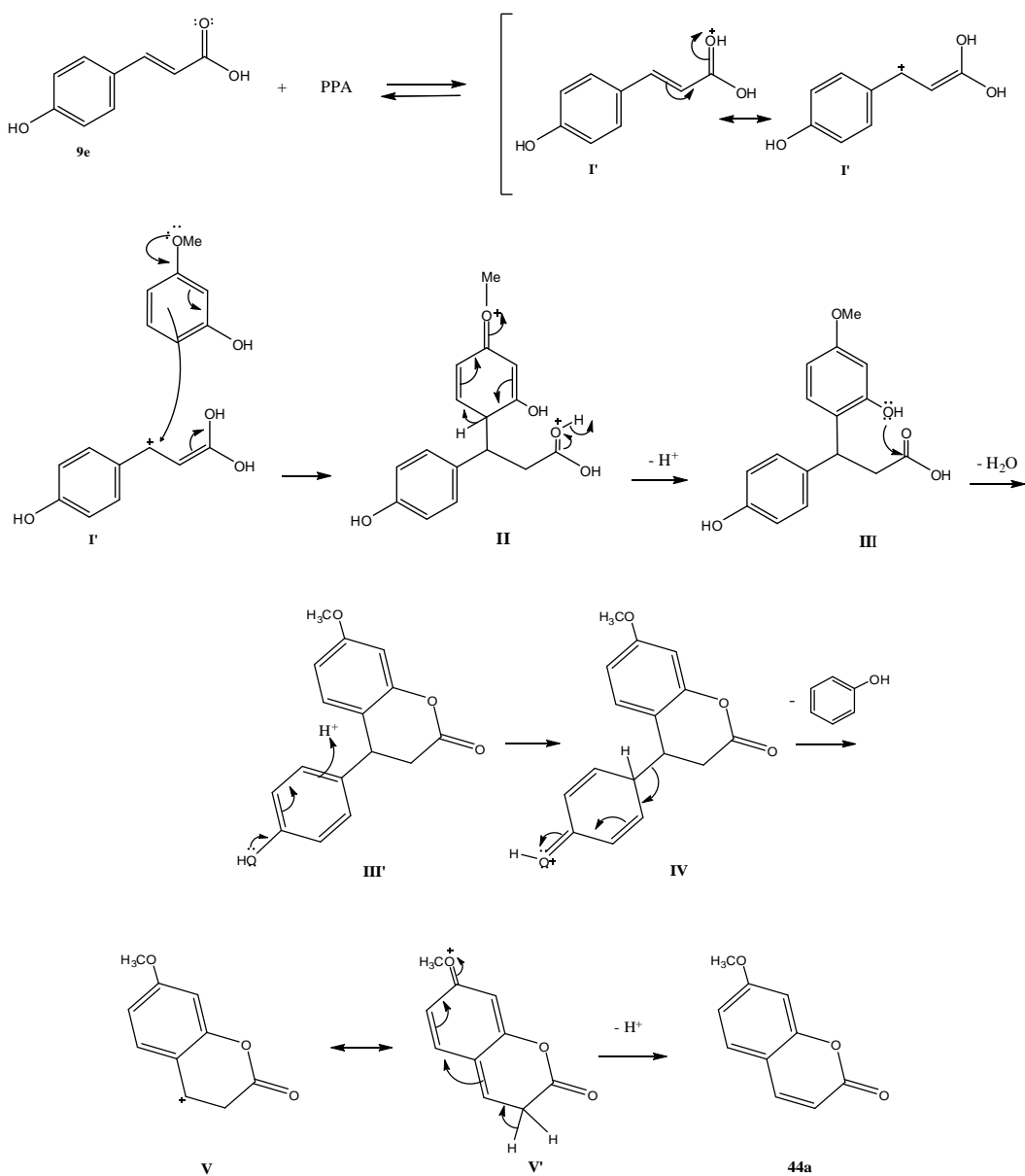
##### 4.1.7.1 Mecanismo proposto para obtenção da cumarina 44a segundo Bhattacharjee e Paknikar (1989).

Foi verificado que reações envolvendo ácidos cinâmicos **9b**, **9c** e **9e** com grupos doadores de elétrons como o grupo hidroxila ou metoxila, orto- ou para-substituídos, levaram à formação da cumarina **44a**. Estes resultados vem a corroborar com a formação de um intermediário (**IV**) comum nas reações de formação da cumarina **44a** (Figura 37).

A proposta consiste inicialmente na protonação do ácido cinâmico (**9e**) pelo PPA, levando a formação do intermediário **I-I'**, em seguida ocorre substituição eletrofílica do fenol pelo intermediário catiônico (**I'**) levando ao intermediário **II** que sofre desprotonação restabelecendo a aromatização e formando o intermediário **III**. Na seqüência **III** sofre transterificação intramolecular para formar a 4-aryl-3,4-dihidrocumarina **IV**. A formação da 4-aryl-3,4-dihidrocumarina é observada na reação do 3-metoxi-fenol com o ácido cinâmico **9b** e **9d**. A seguir propõem-se a formação do carbocátion intermediário **V**, de acordo com a literatura Bhattacharjee e Paknikar (1989), levando em seguida a cumarina **44a**.

A estabilização do carbocátion intermediário **V** pelo grupo metoxila presente no C7 corrobora com a formação da cumarina **44a**.

Foi observado que nas reações entre o 3-metoxi-fenol e os derivados de ácidos cinâmicos *orto*- e *para*-substituídos houve a formação da cumarina **44a**. A presença de grupo eletrodoadores na posição *orto* ou *para* no ácido cinâmico favorece a formação da cumarina **44a** por promover uma maior estabilização do carbocátion intermediário **I'**.

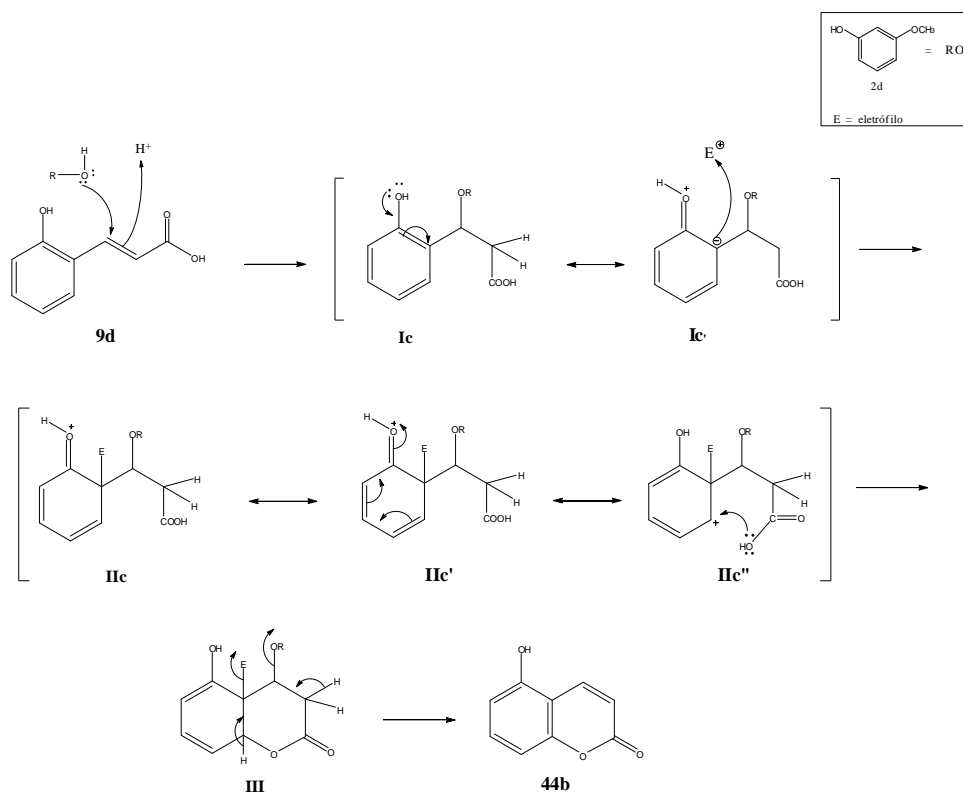


**Figura 37.** Mecanismo proposto para síntese das cumarinas **44a** a partir do ácido 4-hidroxicinâmico (**9e**).

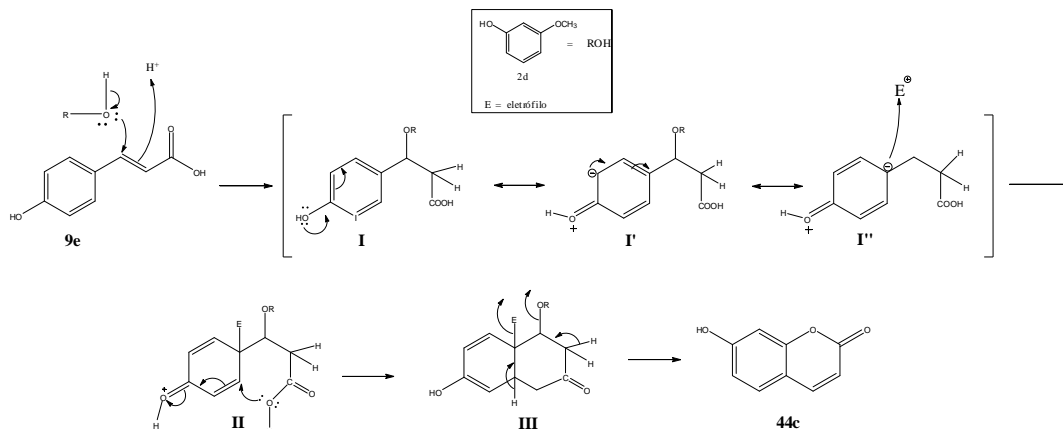
#### 4.1.7.2 Mecanismo proposto obtenção das cumarinas **44b-c** segundo TALAPATRA, B, DEB e TALAPATRA, S. (1986).

As Figuras 38 e 39 ilustram os mecanismos propostos para formação das cumarinas **44b-c**. A proposta baseia-se inicialmente no ataque do par de elétrons átomo de oxigênio do grupo hidroxila do fenol (**9d**) a ligação dupla do ácido 2-hidroxicinâmico para formação do intermediário **I**. Essa etapa é proposta com base com mecanismo de atuação do PPA que a partir do estudo de reações de estirenos substituídos com ácido acético, concluí que o PPA pode agir como agente catalisador nas reações acetoxilação de oleofinas (RAND e DOLINSKI, 1966).

Em seguida ocorre ataque eletrofílico de  $E^+$  ao C1' do ácido 2-hidroxicinâmico para formação de **II**, o que torna o carbono C6' mais eletrofílico. Na sequência ocorre ataque nucleofílico do grupo COOH ao carbono C6', seguida da eliminação do eletrófilo e perda de próton para restabelecimento da aromatização, levando por último a formação das cumarinas **44b-c**.



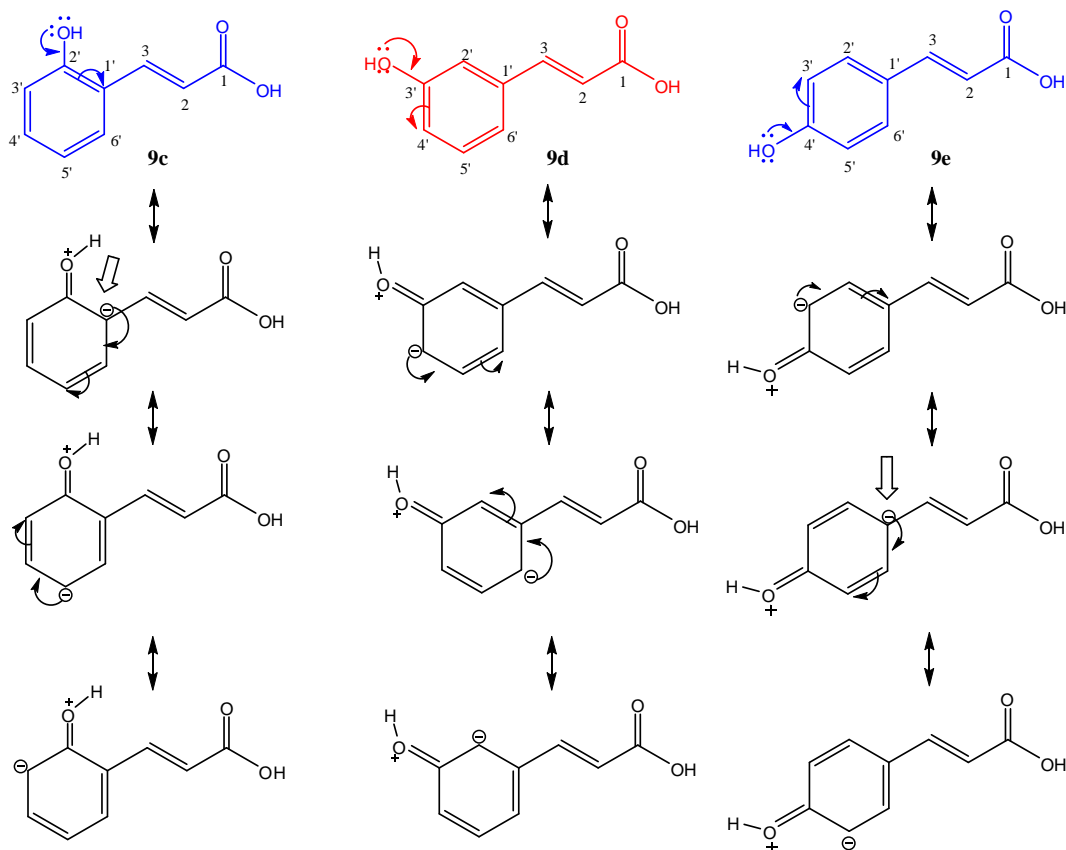
**Figura 38.** Mecanismo proposto para a obtenção da cumarina **44b**.



**Figura 39.** Mecanismo proposto para síntese da cumarinas **44c**.

Neste trabalho foi comprovado que apenas as reações envolvendo ácidos cinâmicos *orto*- e *para*-substituídos com grupos doadores (**9b-c** e **9e**) levaram à formação das cumarinas **44b-c**, sugerindo que a posição do grupo hidroxila no anel dos derivados de ácido cinâmico exerce efeito importante no curso da reação.

A presença de grupos doadores de elétrons na posição *orto* e *para* do grupo fenila no ácido cinâmico possibilita a deslocalização de carga negativa por ressonância sobre o átomo C1' do anel aromático, tornando-o um sítio nucleofílico, já para o ácido *meta*-hidroxi-cinâmico a deslocalização eletrônica se dá sobre os átomos C2', C4' e C6', o que impossibilita o ataque eletrofílico no C1' do anel aromático (Figura 40).



**Figura 40.** Estruturas de ressonância dos ácidos cinâmicos **9c-e**.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROMÉTRICA DAS 4-ARIL-3,4-DIIDROCUMARINAS PREPARADAS

As substâncias preparadas foram identificadas através da análise de dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , EM e no IV. Abaixo estão descritos as principais informações obtidas pelas análises efetuadas.

### 4.2.1 Análise de espectros de massa das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas **10a-h**.

O estudo dos espectros de massas das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas **10a-h**, no que se refere aos seus padrões de fragmentação, mostrou grande relevância em termos de informações estruturais advindas dos mesmos, estando consistente com dados da literatura (RODRIGUES-SANTOS e ECHEVARRIA, 2007).

Todos os espectros de massas das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas sintetizadas registradas no modo por IE apresentou picos correspondentes aos íons moleculares:

**10a** ( $m/z$  240,  $[M^+]$ ), **10b** ( $m/z$  240,  $[M^+]$ ), **10c** ( $m/z$  256,  $[M^+]$ ), **10d** ( $m/z$  270,  $[M^+]$ ), **10e** ( $m/z$  270,  $[M^+]$ ), **10f** ( $m/z$  284,  $[M^+]$ ), **10g** ( $m/z$ , 284  $[M^+]$ ) e **10h** ( $m/z$ , 270  $[M^+]$ ). Verificou-se uma tendência geral das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas metoxiladas apresentarem o pico íon molecular como intensidade média a elevada, chegando em alguns casos a aparecer como pico base, como é o caso das 4-aril-3,4-diidrocurmarina **10d**, **10g** e **10h**. Essa intensidade elevada pode esta associada ao efeito doador de elétrons do grupo metoxila, estabilizando o íon molecular formado. A tabela 7 apresenta as massas e as abundâncias relativas para os principais fragmentos detectados.

Outros picos representantes de íons formados a partir do íon molecular podem ser justificados pela eliminação de unidade estrutural representada pela perda de 28 (CO), 44 (CO<sub>2</sub>), 18 (H<sub>2</sub>O) que foram observados em vários espectros de massas. Os rearranjos propostos foram entre os átomos 1-4 (1-3 entre ligações) e retro Diels-Alder.

**Tabela 7.** Principais fragmentos obtidos nos espectros de massas de **10a-h**

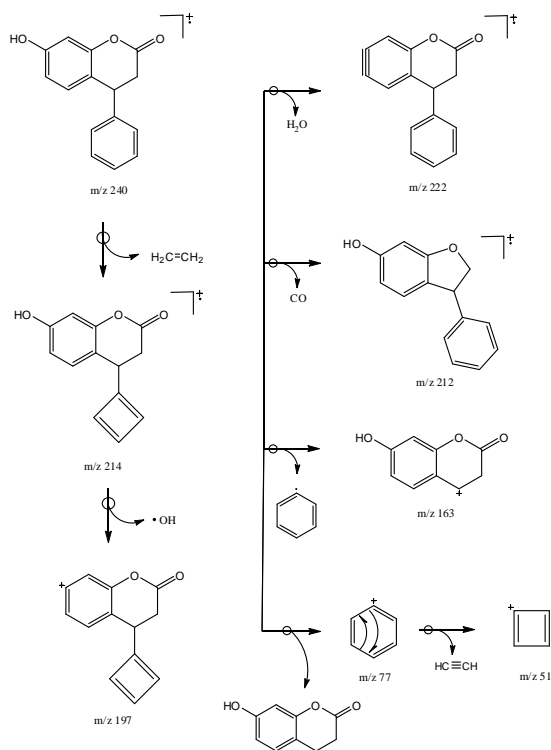
Compostos	m/z (%)							
<b>10a</b>	240	222	212	197	163	91	77	63
	(85)	(12)	(22)	(100)	(6)	(5)	(12)	(6)
<b>10b</b>	240	222	211	197	181	91	77	63
	(85)	(12)	(22)	(100)	(6)	(5)	(12)	(6)
<b>10c</b>	256	238	213	197	181	91	77	63
	(36)	(6)	(100)	(6)	(3)	(4)	(8)	(4)
<b>10d</b>	270	253	242	227	211	197	91	77
	(100)	(8)	(13)	(14)	(25)	(81)	(8)	(9)
<b>10e</b>	270	242	227	213	197	108	91	77
	(44)	(2)	(37)	(11)	(49)	(100)	(4)	(7)
<b>10f</b>	284	269	256	241	225	211	177	83
	(88)	(6)	(17)	(35)	(30)	(100)	(22)	(45)
<b>10g</b>	284	269	256	241	227	91	77	63
	(100)	(6)	(6)	(32)	(20)	(7)	(8)	(6)
<b>10h</b>	270	252	241	237	227	211	91	77
	(100)	(20)	(12)	(20)	(58)	(12)	(5)	(4)

Obs: Os dados obtidos desta tabela foram retirados dos anexos 1-3.



Adicionalmente é possível verificar nas 3,4-diidrocurarina metoxiladas a perda de radical metila (M-15) e metoxila (M-31) referentes à  $\alpha$ -clivagem. As propostas mecanísticas sugeridas para a fragmentação são apresentadas nas figuras 41-48.

Além disso, é possível notar na maioria dos espectros a presença dos íons moleculares  $m/z$  77,  $m/z$  51 e  $m/z$  91, fragmentos típicos de compostos que contém anéis aromáticos. Uma fragmentação característica das 4-aryl-3,4-diidrocurarinas é a perda do anel B, fornecendo o cátion fenil ( $m/z$  77), que em seguida sofre perda de molécula neutra de acetileno fornecendo o fragmento  $m/z$  51 (Figura 41).



**Figura 41.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-diidrocurarina (**10a**).

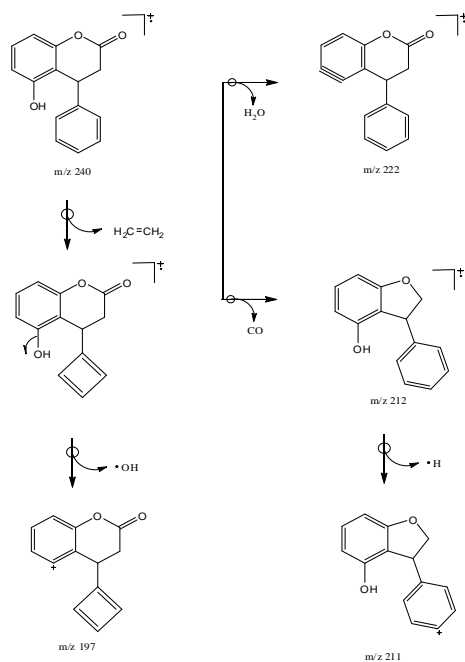


Figura 42. Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocoumarina (10b).

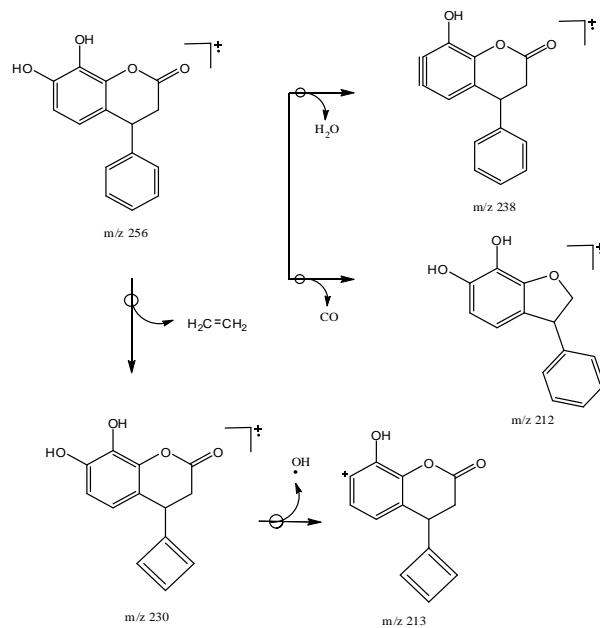
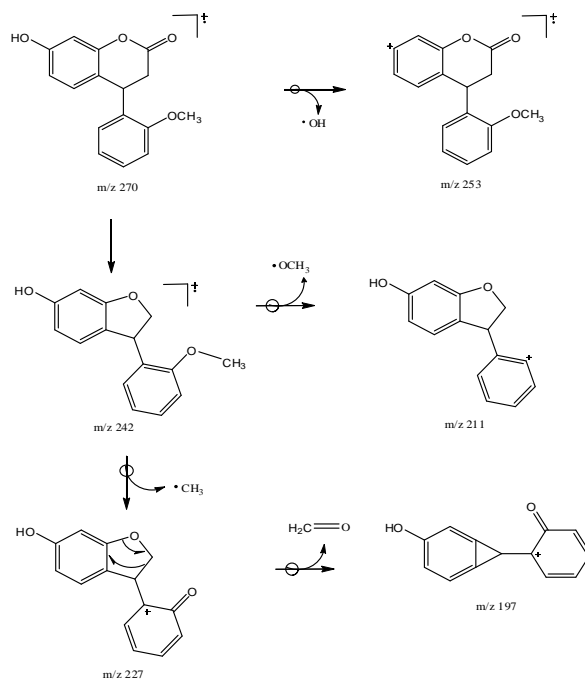
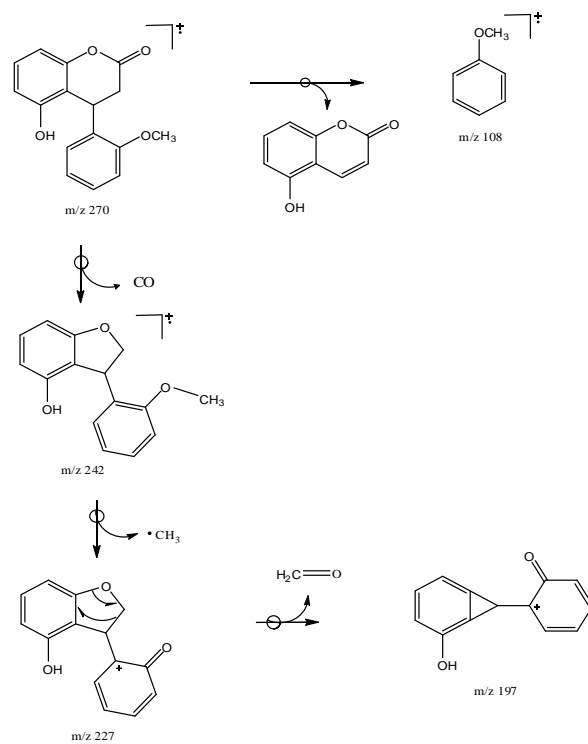


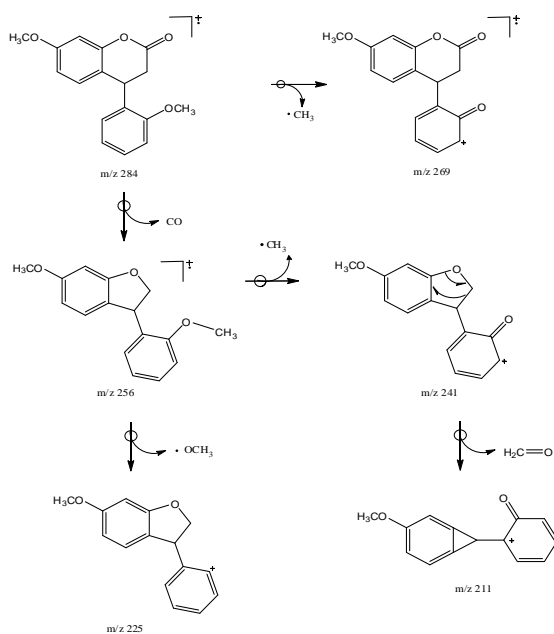
Figura 43. Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocoumarina (10c).



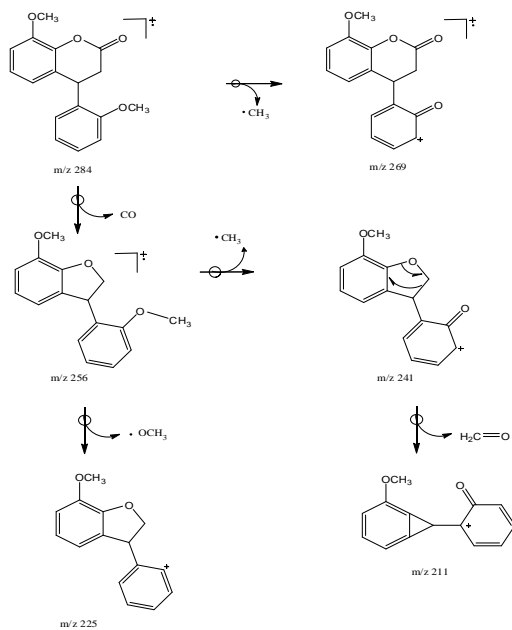
**Figura 44.** Proposta de fragmentação da 4-*aryl*-3,4-dihidrocoumarina (**10d**).



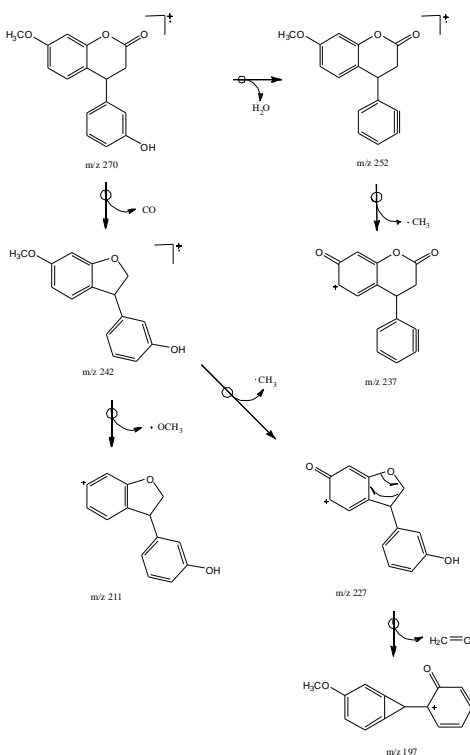
**Figura 45.** Proposta de fragmentação da 4-*aryl*-3,4-dihidrocoumarina (**10e**).



**Figura 46.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocoumarina (10f).



**Figura 47.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocoumarina (10g).



**Figura 48.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-diidrocumarina (**10h**).

#### 4.2.2 Análise do espectro de massas das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas **54a-e** e **61**

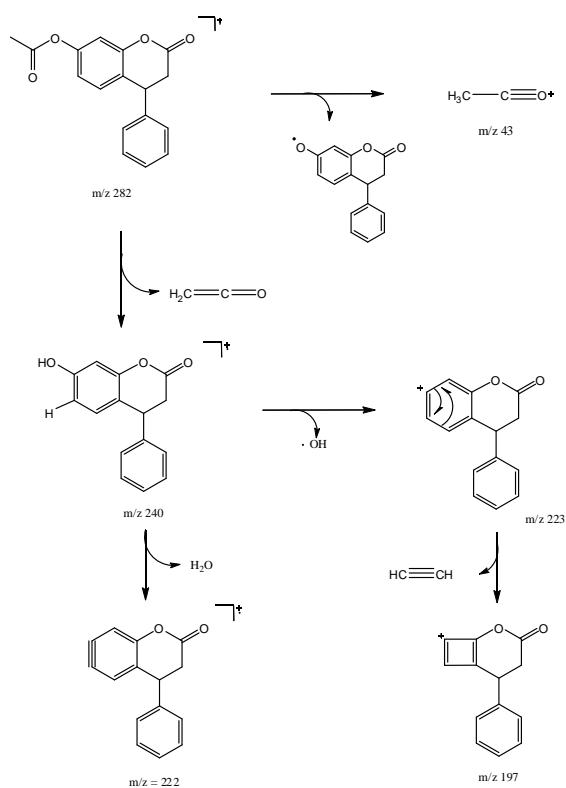
O espectro de massa dos 4-aryl-3,4-diidrocumarinas **55a-e** e **61** registra a presença dos íons moleculares em  $m/z$  282 (**55a**),  $m/z$  296 (**55b**),  $m/z$  310 (**55c**),  $m/z$  344 (**55d**),  $m/z$  254 (**55e**) e  $m/z$  339 (**60**). Entretanto, os mesmos não se apresentam como pico base. A Tabela 8 apresenta as massas e as abundâncias relativas para os principais fragmentos detectados.

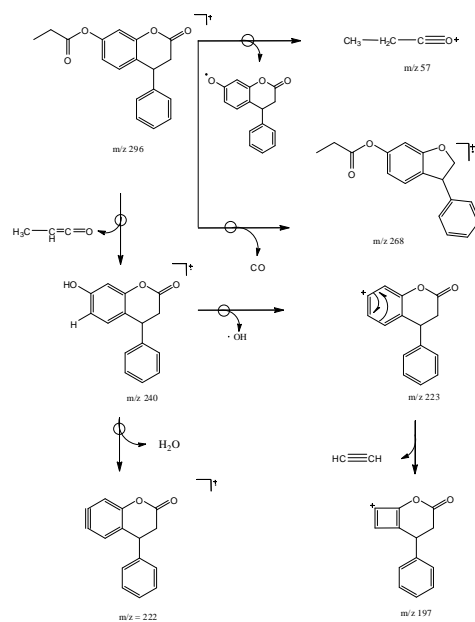
Para os derivados acilados **55a-c** é notado pico base em  $m/z$  240, resultante de rearranjo seguido de perda de ceteno ( $R-CH=C=O$ ). A quebra da ligação  $\alpha$  em relação a carbonila da ligação éster leva a formação dos picos intensos em  $m/z$  43 (**55a**),  $m/z$  57 (**55b**),  $m/z$  71 (**55c**) e  $m/z$  105 (**55d**). As propostas de fragmentação sugeridas encontram-se descritas nas Figuras 49-54.

**Tabela 8.** Principais fragmentos obtidos nos espectros de massa de **55a-e** e **60**.

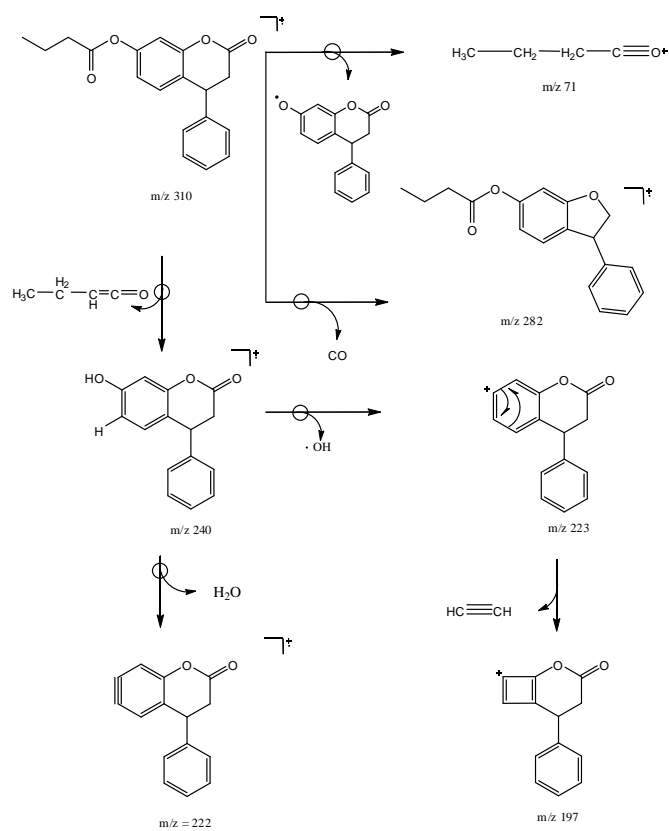
Compostos	m/z (%)							
<b>55a</b>	282	254	240	222	197	77	51	43
	(6)	(4)	(100)	(35)	(75)	(10)	(6)	(60)
<b>55b</b>	296	268	240	222	197	91	77	57
	(5)	(3)	(100)	(25)	(51)	(7)	(6)	(82)
<b>55c</b>	310	282	240	222	197	91	71	43
	(4)	(3)	(100)	(24)	(34)	(3)	(47)	(68)
<b>55d</b>	344	239	-	197	105	91	77	51
	(5)	(3)		(1)	(100)	(1)	(38)	(6)
<b>55e</b>	254	239	226	211	124	91	77	51
	(85)	(15)	(20)	(100)	(25)	(43)	(14)	(6)
<b>60</b>	339	253	224	211	105	87	86	51
	(56)	(48)	(88)	(41)	(61)	(80)	(100)	(12)

Obs: Os dados obtidos desta tabela foram retirados dos anexos 4 e 5.

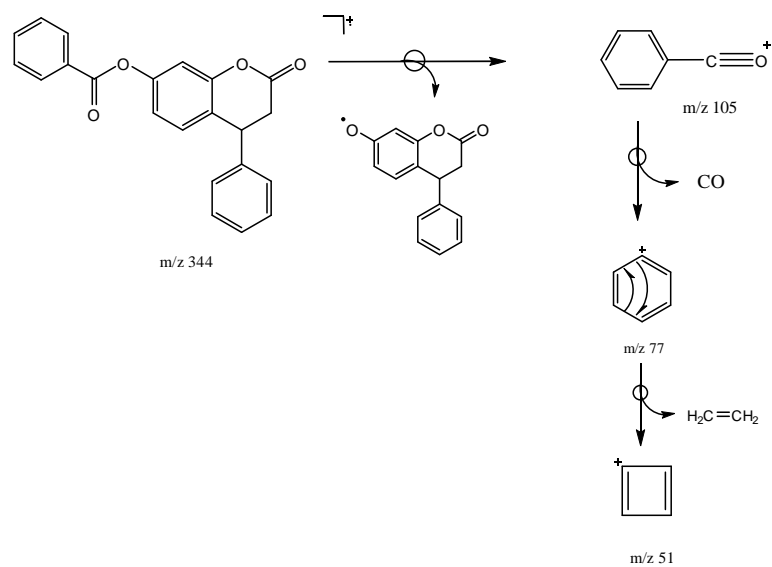
**Figura 49.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocumarina (**55a**).



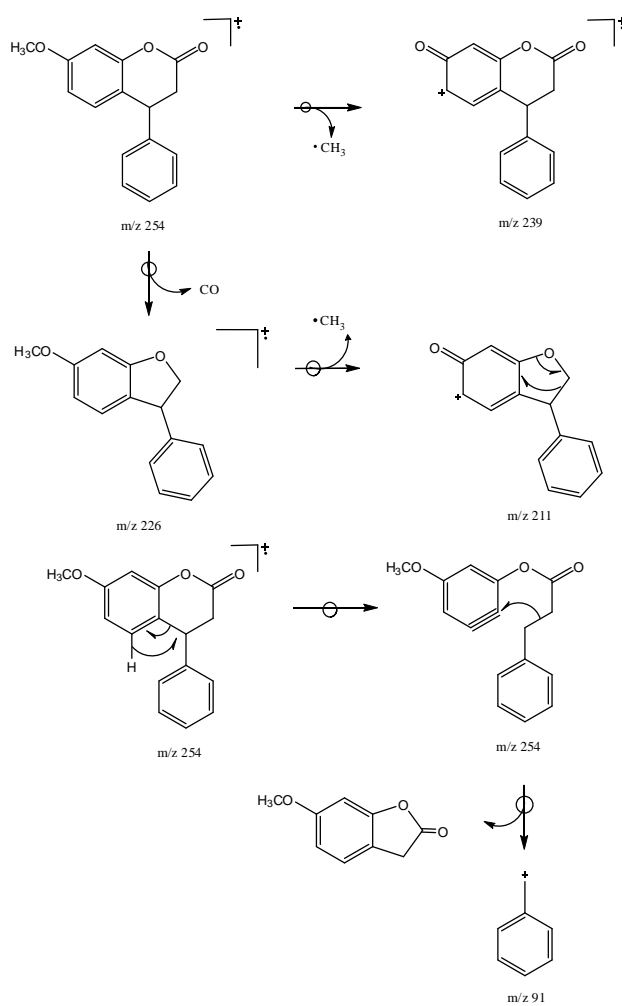
**Figura 50.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocoumarina (55b).



**Figura 51.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocoumarina (55c).

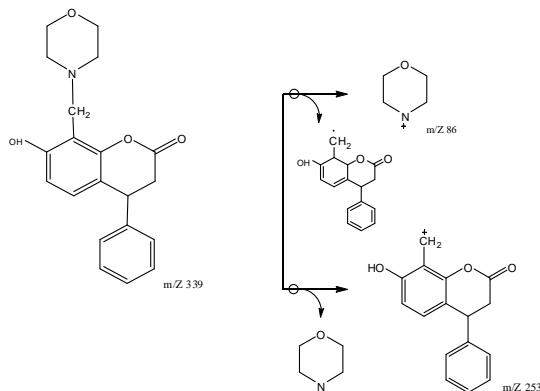


**Figura 52.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocoumarina (55d).



**Figura 53.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-dihidrocoumarina (55e).





**Figura 54.** Proposta de fragmentação da 4-aryl-3,4-diidrocurarina (**60**).

#### 4.2.3 Análise de infravermelho das 4-aryl-3,4-diidrocurarinas **10a-h**

Os espectros de infravermelho das 4-aryl-3,4-diidrocurarinas **10a-h** foram importantes, pois a ausência das bandas de absorção por volta de  $1690\text{ cm}^{-1}$ , características de deformação axial de C=O de ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados, indicaram a formação dos produtos.

Os espectros apresentaram como característica marcante a presença de banda intensa de absorção entre  $1725\text{-}1767\text{ cm}^{-1}$ , relativas aos estiramentos C=O da lactona. De acordo com a literatura, a vibração de deformação axial de carbonilas de lactonas, das 4-aryl-3,4-diidrocurarinas, aparece um pouco acima da faixa das lactonas, estando por volta de  $1760\text{-}1779\text{ cm}^{-1}$  (TALAPATRA, B., DEB e TALAPATRA, S., 1986; SINGH *et al.*, 2003).

Além disso, foi possível observar a presença de vibrações de deformações axiais das ligações das ligações C=C do esqueleto aromático a aparecendo em duas faixas:  $1465\text{-}1510\text{ cm}^{-1}$  e  $1440\text{-}1467\text{ cm}^{-1}$ .

Assim como descrito por Rodrigues-Santos e Echevarria (2007), observamos que as vibrações de deformações axial das ligações O-C-C e C-CO-O da lactona do sistema 3,4-diidrocurarina leva ao surgimento de duas faixas de absorção entre  $1252\text{-}1277\text{ cm}^{-1}$  e  $1024\text{-}1038\text{ cm}^{-1}$  (O-C-C) e de uma faixa de absorção entre  $1131\text{-}1192\text{ cm}^{-1}$  (C-CO-O). Os valores de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de IV das 3,4-diidrocurarinas **10a-h** são apresentados na tabela 9.

**Tabela 9.** Valores de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de IV dos derivados **10a-h**.

4-aril-3,4-diidrocurmarinas								
Deformação	10a	10b	10c	10d	10e	10f	10g	10h
$\nu$ O-H	3460	3313	3376	3362	-	-	-	3412
$\nu_{\text{as}}$ C-H ( $\text{CH}_3$ )	-	-	-	2972	-	2972	2962	-
$\nu_{\text{as}}$ C-H ( $\text{CH}_2$ )	3026	2932	2976	2939	-	2932	2936	2924
$\nu_{\text{s}}$ C-H ( $\text{CH}_2$ )	2908	2838	2950	2840	2836	2836	2838	2851
$\nu$ C=O	1735	1738	1731	1725	1767	1764	1767	1738
$\nu$ C=C*	1508	1495	1493	1465	1506	1510	1482	1484
$\nu$ C=C*	1452	1463	1442	1440	1467	1466	1461	1453
$\delta_{\text{s}}$ ( $\text{CH}_3$ )	-	-	-	1334	1323	1334	1342	-
$\nu_{\text{as}}$ O-C-O	1277	1245	1264	1274	1268	1250	1252	1268
$\nu$ C-CO-O	1141	1140	1161	1151	1192	1131	1180	1153
$\nu_{\text{s}}$ O-C-O	1030	1038	1025	1027	1031	1024	1030	1034

$\nu$  = vibração de deformação axial;  $\delta$  = vibração de deformação angular; as = assimétrica; s = simétrica; \* vibração do esqueleto aromático. **Obs: Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 7-14.**

#### 4.2.4 Análise de infravermelho das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas **55a-e** e **60**.

Através da análise dos espectros de infravermelho foi possível confirmar de forma rápida a formação das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas aciladas pelo surgimento da absorção na faixa de 1769 a 1778  $\text{cm}^{-1}$ , característica da vibração de deformação axial de carbonilas de ésteres, similares à literatura (1728-1770  $\text{cm}^{-1}$ ) (SINGH *et al.*, 2003). Para os derivados **55a-c** a deformação axial das duas carbonilas (2 x C=O) aparece na forma de uma banda larga e intensa entre 1769-1774  $\text{cm}^{-1}$ , já para o derivado **55d** as duas bandas de deformação axial de C=O são nítidas, uma em 1778  $\text{cm}^{-1}$ , referente ao estiramento da ligação C=O do éster e outra em 1741  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação C=O da lactona do sistema de 3,4-diidrocurmarina (Tabela 10).

A formação da 7-metoxi-4-aril-3,4-diidrocurmarina (**55e**) foi constatada pelo surgimento de uma banda fraca em 2866  $\text{cm}^{-1}$  referente a deformação axial de C-H de metila e do estiramento em 1338  $\text{cm}^{-1}$  referente a deformação angular simétrica de  $\text{CH}_3$ , que de acordo a literatura, para o sistema 4-aril-3,4-diidrocurmarina, pode variar de 1337-1376  $\text{cm}^{-1}$  (RODRIGUES-SANTOS e ECHAVARRIA, 2007).

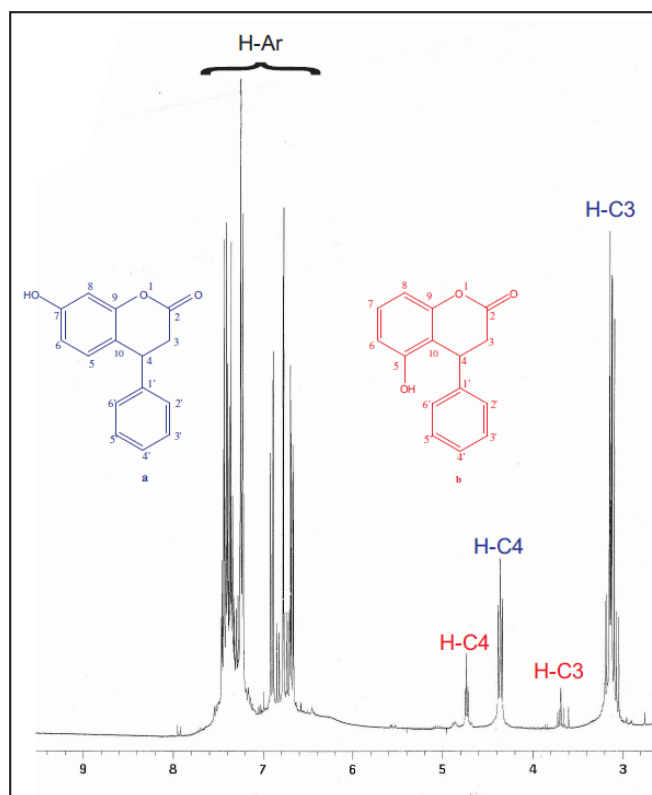
**Tabela 10.** Valores de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de IV dos derivados **55a-e** e **60**.

4-aril-3,4-Diidrocumarinas						
Deformação	54a	54b	54c	54d	54e	58
$\nu$ O-H	-	-	-	-	-	3419
$\nu_{\text{as}}$ C-H ( $\text{CH}_3$ )	-	-	-	-	2966	-
$\nu_{\text{as}}$ C-H ( $\text{CH}_2$ )	2918	2942	2934	2921	2939	2920
$\nu_{\text{s}}$ C-H ( $\text{CH}_2$ )	2850	2884	2875	2850	2839	2850
$\nu$ C=O	1774	1769	1771	1778	1770	1170
$\nu$ C=O	-	-	-	1741	-	-
$\nu$ C=C*	1497	1497	1497	1496	1485	1494
$\nu$ C=C*	1468	1461	1463	1452	1467	1454
$\delta_{\text{s}}$ ( $\text{CH}_3$ )	-	-	-	-	1338	-
$\nu_{\text{as}}$ O-C-O	1252	1254	1252	1248	1272	1263
$\nu$ C-CO-O	1135	1181	1178	1141	1132	118
$\nu_{\text{s}}$ O-C-O	1036	1032	1027	1023	1031	1069

$\nu$  = vibração de deformação axial;  $\delta$  = vibração de deformação angular; as = assimétrica; s = simétrica; \* vibração do esqueleto aromático. **Obs: Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 15-20.**

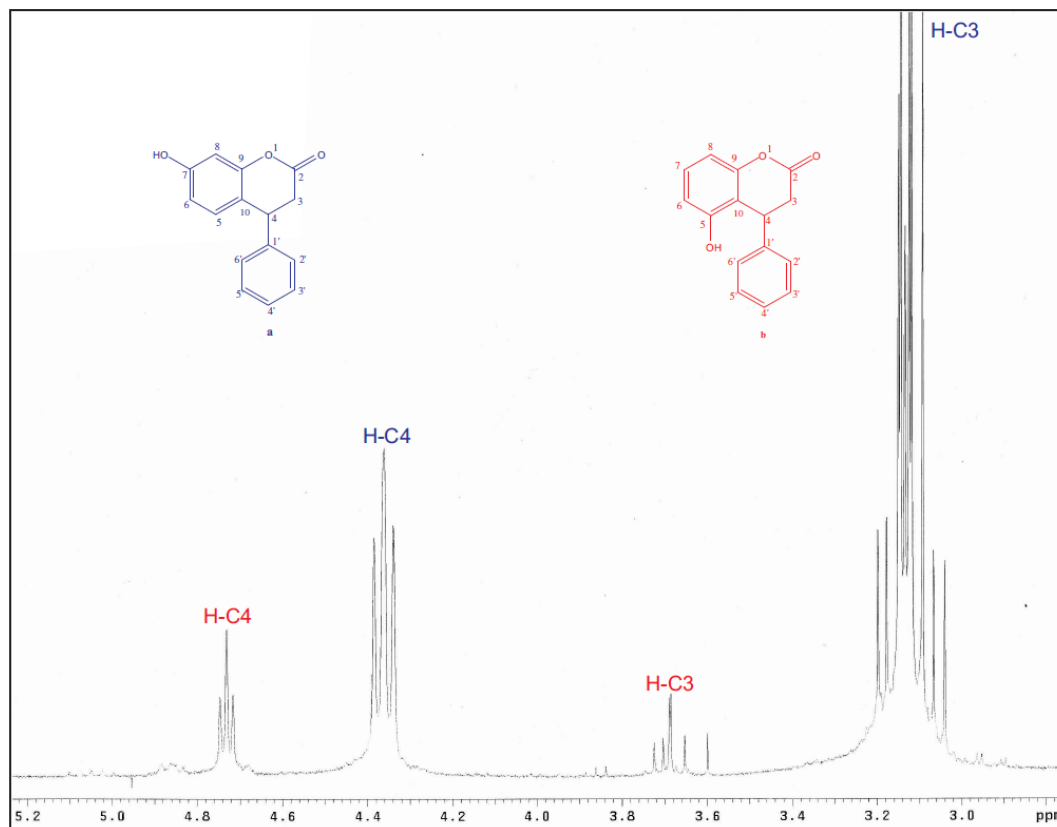
#### 4.2.5 Análise de RMN de $^1\text{H}$ das 4-aril-3,4-diidrocumarinas **10a-b** e **10d-e**

A Figura 55 representa o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  registrado para a mistura de **10a** e **10b**, onde **10a** aparece com sinais mais intensos por esta em maior concentração do que **10b**. Os tripletos em  $\delta$  4,36 e  $\delta$  4,75 podem ser atribuídos aos hidrogênios metínicos do C-4 dos compostos **10a** e **10b**, respectivamente. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios H-3a e H-3b para **10a** e **10b** surgem na faixa de  $\delta$  3,08-3,14 e  $\delta$  3,66-3,70, respectivamente, sendo registrado como duplo dubletos para ambos. A presença destes sinais são característicos das 4-aril-3,4-diidrocumarinas, pois os ácidos cinâmicos (material de partida) não possuem grupos metínicos (CH) nem metilênicos ( $\text{CH}_2$ ).



**Figura 55.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de **10a** e **10b** [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (PPM)].

Além disso, é possível visualizar multipletos na faixa de  $\delta$  6,62-6,94 e  $\delta$  7,20-7,52 referentes aos prótons ligados a carbonos aromáticos do anel A e do anel B dos compostos **10a** e **10b**. Uma ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de **10a** e **10b** é apresentada na Figura 56.



**Figura 56.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de **10a** e **10b** (ampliação) [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (PPM)].

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de **10d** e **10e**, apresentado na Figura 57, apresenta singletos em  $\delta$  3,85 e  $\delta$  3,89 referentes aos hidrogênios da metoxila ligada ao carbono C-2', respectivamente. Ademais, é possível identificar os tripletos em  $\delta$  4,30 e  $\delta$  4,68 referentes aos prótons metínicos de C-4 dos compostos 10d e 10e, respectivamente. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios H-3a e H-3b na mistura aparecem na forma de duplo dubleto entre  $\delta$  3,00-3,20. Os multipletos referentes aos hidrogênios aromáticos do anel A e B foram registrados como multipletos na faixa de  $\delta$  6,56-7,28.

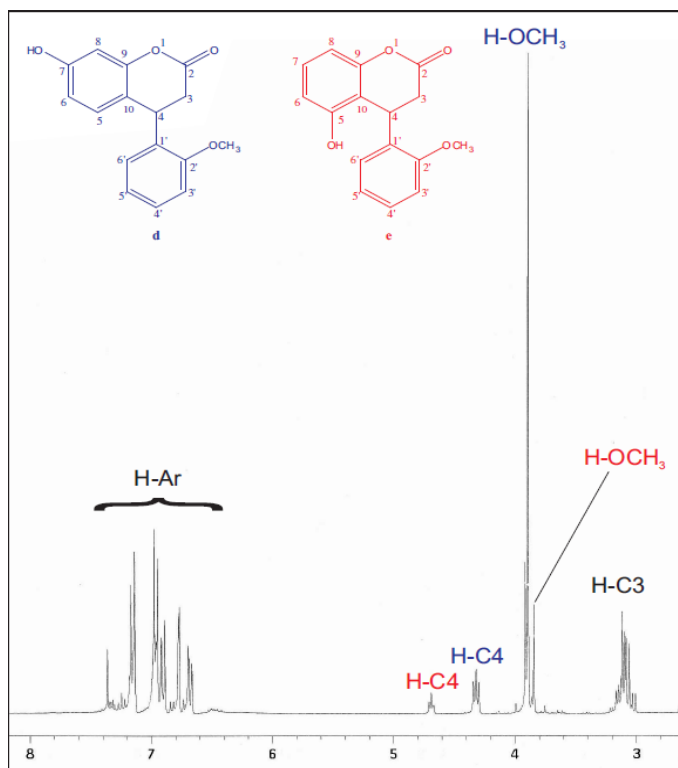


Figura 57. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de **10d** e **10e** [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (PPM)].

#### 4.2.6 Análise de RMN de $^{13}\text{C}$ das 4-aryl-3,4-diidrocomarinas **10a-b** e **10d-e**

A figura 58 mostra o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da mistura de **10a** e **10b**, onde é possível identificar sinais em  $\delta$  34,97 e 37,27 característicos de carbonos metilênicos (C-3), bem como sinais em  $\delta$  36,84 a 39,96 referentes a carbonos metínicos (C-4), ambos referentes aos compostos **10a** e **10b**, respectivamente. O pico em  $\delta$  168,27 referente do grupo acila dos compostos **10a** e **10b** é indicativo da presença do anel lactônico característico das 4-aryl-3,4-diidrocomarinas. Segundo Rodrigues-Santos e Echevarria (2007) e Singh e colaboradores (2003), os deslocamentos químicos das carbonilas de lactona desse grupo de compostos aparecem nas faixas de  $\delta$  167,75-168,94 e  $\delta$  167,90-175,37, respectivamente.

É possível verificar ainda deslocamentos químicos na faixa de  $\delta$  104,21-129,02 referentes aos sinais dos carbonos aromáticos. Os carbonos C-8, C-6 e C-10 do composto **10a** ocorrem com deslocamentos químicos em campo alto respectivamente iguais a 104,21, 112,04 e 117,30 devido aos efeitos de ressonância das hidroxilas e do oxigênio O-1. Os sinais em  $\delta$  140,61, 152,17 e 156,38 são

atribuídos aos carbonos aromáticos C-1', C-9 e C-7 do composto **10a**, respectivamente.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 59), da mistura de **10d** e **10e**, pode-se observar dois sinais em  $\delta$  55,05 e 55,28 referentes aos carbonos metoxílicos dos compostos **10d** e **10e**, respectivamente. O espectro apresenta também sinais em  $\delta$  35,35 e 39,20 característicos dos carbonos metilênicos C-3, bem como sinais em  $\delta$  34,9 a 37,5 referentes a carbonos metínicos C-4, dos compostos **10d** e **10e**, respectivamente. Os sinais na faixa de  $\delta$  104,03-132,63 são atribuídos aos sinais dos carbonos aromáticos e o sinal em  $\delta$  168,5 devido ao deslocamento do grupo acila da lactona.

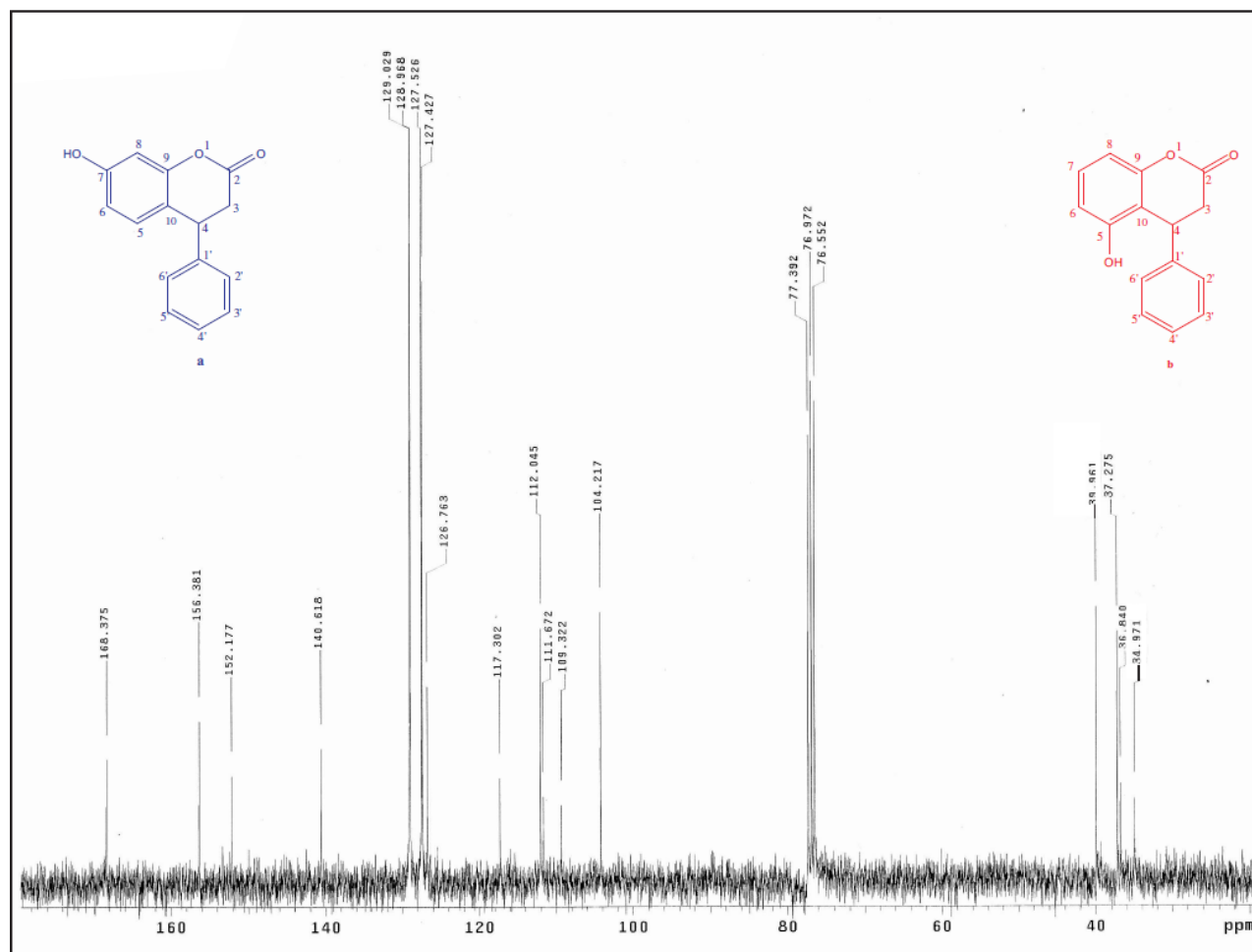


Figura 58. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ] da mistura de 10a e 10b.



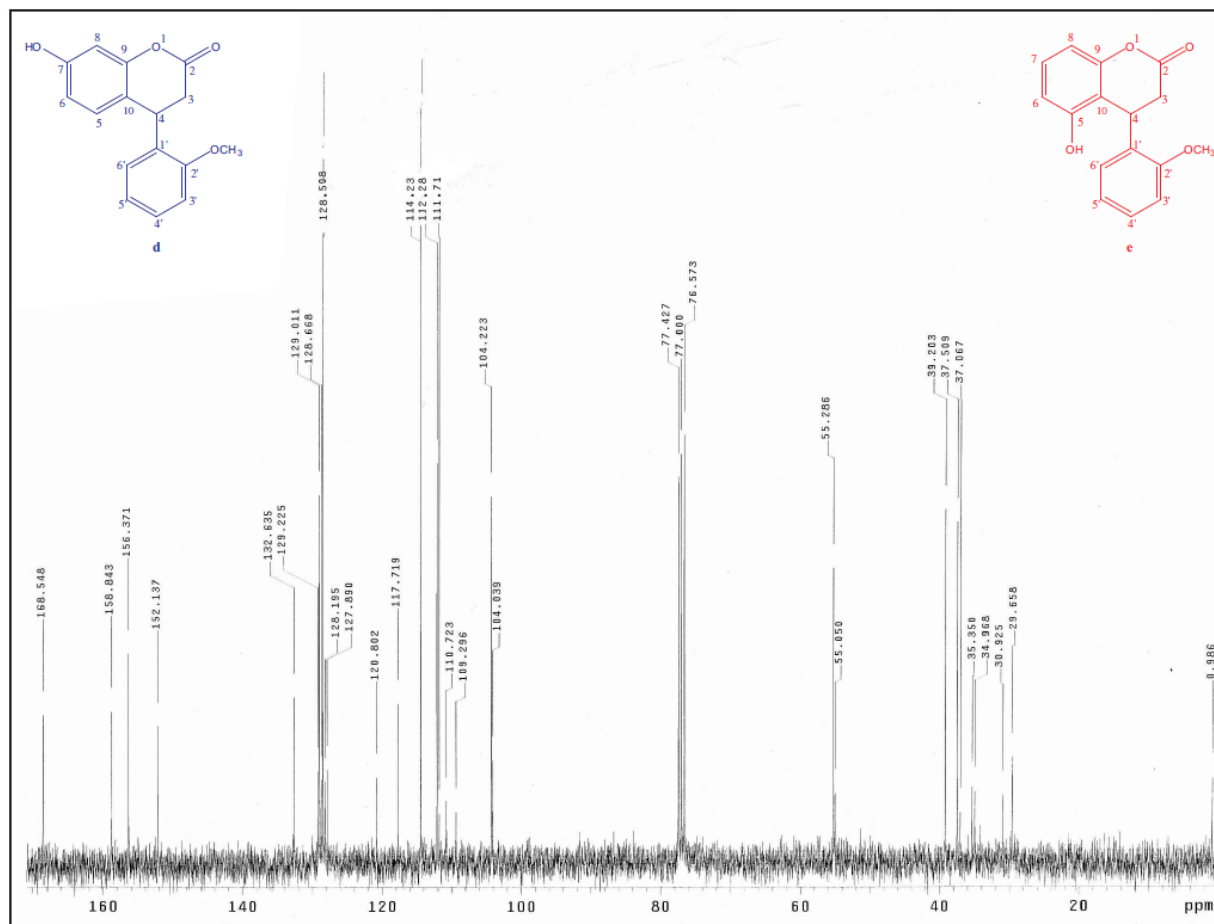


Figura 59. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta(\text{ppm})$ ] da mistura de **10d** e **10e**.

Os sinais em  $\delta$  152,13, 156,37 e 158,13 são atribuídos aos carbonos aromáticos C-9, C-7 e C-2' do composto **10d**, respectivamente, e estão de acordo com dados da literatura (RODRIGUES-SANTOS e ECHAVARRIA, 2007).

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROMÉTRICA DAS CUMARINAS PREPARADAS

#### 4.3.1 Análise do espectro de massas das cumarinas 44a-c

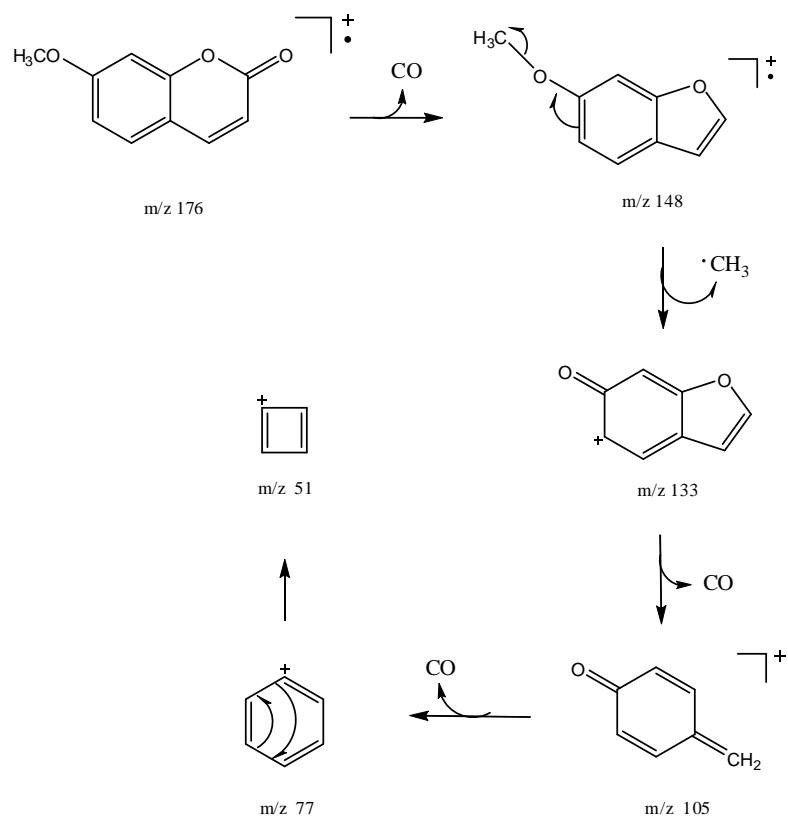
Os espectros de massas, registrado no modo IE, registraram os íons moleculares de cada cumarina (**44a-c**), sendo que, os mesmos o apresentaram como pico base. Estes estão de acordo com a dados da literatura (VUL'FSON e GOLOVKINA, 1975). A Tabela 11 apresenta as massas e as abundâncias relativas para os principais fragmentos detectados.

As Figuras 60 e 61 apresentam as propostas mecanísticas sugeridas para a fragmentação. Dentre os fragmentos pôde-se observar eliminação de molécula neutra como CO. Além disso, a presença do fragmento  $m/z$  51, na maioria dos espectros de massas, é um fragmento típico de substâncias aromáticas.

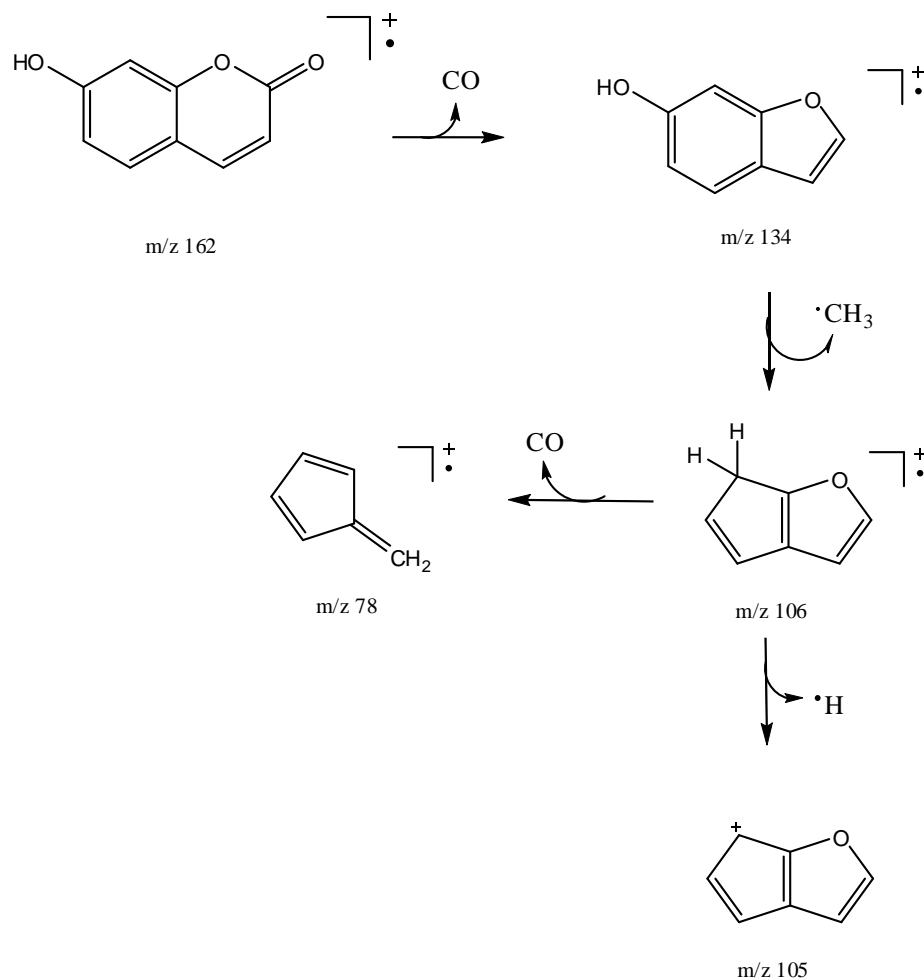
**Tabela 11.** Principais fragmentos obtidos nos espectros de massas de **44a-c**.

Substância	m/z (%)					
<b>44a</b>	176 (100)	148 (82)	133 (97)	105 (25)	77 (31)	63 (18)
<b>44b</b>	162 (100)	134 (97)	105 (25)	78 (31)	67 (12)	51 (18)
<b>44c</b>	162 (94)	134 (100)	105 (24)	78 (29)	63 (19)	51 (15)

Obs: Os dados obtidos desta tabela foram retirados dos anexos 21-23.



**Figura 60.** Proposta de fragmentação da cumarina **44a**.



**Figura 61.** Proposta de fragmentação da cumarina **44c**.

#### 4.3.2 Análise do espectro de infravermelho das cumarinas 44a-c.

A formação das cumarinas **44b-c** foi confirmada por IV pelo presença de absorções provenientes de vibrações de deformações axiais de hidroxilas por volta  $3174\text{-}3163\text{ cm}^{-1}$ . O surgimento das absorções intensas entre  $1681\text{ - }1707\text{ cm}^{-1}$  apresentou-se dentro da faixa descrita pela literatura como de deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  de lactona de cumarina (IQBAL, BHAT e AZAM, 2009). Além disso, foi possível observar vibrações de deformações axial das ligações  $\text{C-CO-O}$  da lactona nas faixas de absorção entre  $1123\text{-}1130\text{ cm}^{-1}$  (Tabela 12).

**Tabela 12.** Valores de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de IV das cumarinas **44a-c**

Cumarinas			
Deformação	44a	44b	44c
$\nu$ O-H	-	3174	3163
$\nu_{\text{as}}$ C-H ( $\text{CH}_3$ )	2934	-	-
$\nu$ C=O	1707	1680	1681
$\nu$ C=C*	1506	1510	1510
$\nu$ C=C*	1465	1461	1453
$\delta_{\text{s}}$ ( $\text{CH}_3$ )	1351	-	-
$\nu_{\text{as}}$ O-C-O	1232	1235	1235
$\nu$ C-CO-O	1123	1132	1130
$\nu_{\text{s}}$ O-C-O	1025	-	-

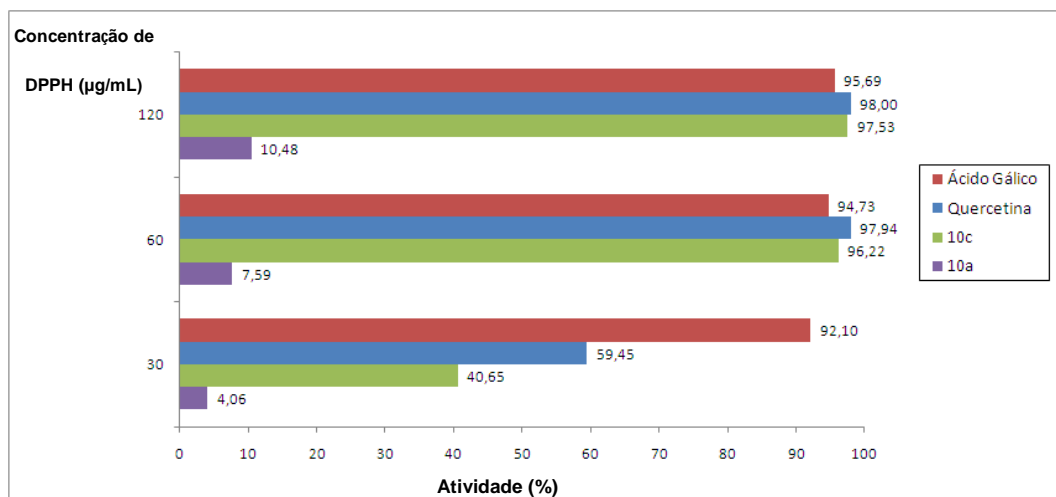
$\nu$  = vibração de deformação axial;  $\delta$  = vibração de deformação angular; as = assimétrica; s = simétrica; \* vibração do esqueleto aromático. **Obs: Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 15-20.**

#### 4.4 Atividade antioxidante das 4-aril-3,4-diidro-cumarinas

As 4-aril-3,4-diidro-cumarinas preparadas no presente trabalho tiveram suas propriedades antioxidantes testadas utilizando o método de seqüestro do radical DPPH, considerado um dos ensaios mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de substâncias puras.

Este teste mensura a capacidade da substância testada em doar hidrogênio radicalar ( $\text{H}^{\bullet}$ ) ao radical estável DPPH, o que é favorecido pelo número de hidroxilas fenólicas na substância e pela estabilidade do radical formado. Esta estabilização é tanto maior quanto maior for a deslocalização do radical pela estrutura. (BARREIROS, 2005)

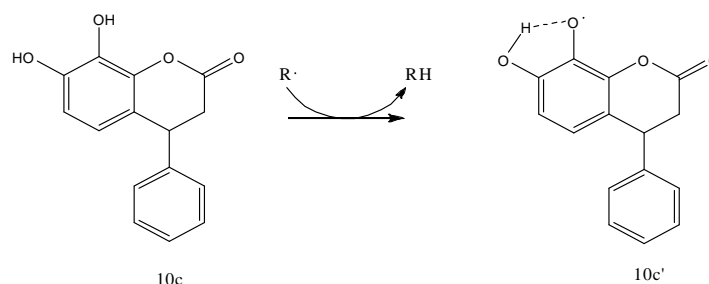
Dentro de uma tendência geral, os ensaios revelaram que dentre as 4-aril-3,4-diidro-cumarinas testadas somente as substâncias **10a e 10c** apresentaram atividade considerável. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 62.



**Figura 62.** Efeito de seqüestro das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas frente ao DPPH.

Observou-se que a 4-aril-3,4-diidrocurmarina **10c** mais ativa, pois apresenta um maior número de hidroxilas fenólicas além do sistema catecol.

O sistema catecólico favorece uma maior atividade como agente doador de H e elétrons (BARREIROS, DAVID, J.M. e DAVID, J.P., 2006). Apesar da falta de planaridade das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas, a deslocalização do elétron desemparelhado no composto **10c** pode ser favorecida pela presença do sistema *orto* difenólico (7,8-diidroxi) presente no anel A da neoflavonona. A doação do H radicalar para o radical livre ocorrendo na posição C-7 do composto **10c** pode levar a formação do radical **10c'**, cuja estabilidade é favorecida devido a ligação de hidrogênio formada (Figura 63).



**Figura 63.** Mecanismo da estabilização do elétron desemparelhado através da formação de ligação de hidrogênio no radical **10c'**

#### 4.5 Atividade citotóxica das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas

As 4-aril-3,4-diidrocurmarinas preparadas nesse trabalho foram submetidas ao teste de toxicidade frente larvas de *Artemia salina* L. (Artemiidae). Este bioensaio é uma ferramenta muito utilizada para o isolamento de compostos bioativos, podendo ser empregado como um screening inicial para determinar a citotoxicidade de candidatos a neoplásicos. McLaughlin, Rogers e Anderson (1998): este ensaio tem boa correlação com atividade citotóxica em alguns tumores humanos sólidos, proporcionando inclusive à descoberta de acetogeninas de Annonacea como nova classe de agentes antitumorais ativos.

Segundo dados da literatura, a substância que apresentar  $LD_{50} \leq 100 \mu\text{g/mL}$  pode ter atividade comparável com a camptotecina e sulfato de vincristina, sendo considerada muito ativa e, aquela que apresentar  $DL_{50} \geq 100 \mu\text{g/mL}$ , no intervalo entre 100 e 900  $\mu\text{g/mL}$ , comparável ao ácido hipúrico é considerada medianamente ativa. Enquanto que é considerada inativa a substância que apresentar  $LD_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$  (DAVID et al., 2001; ANDERSON et al., 1991).

Os resultados de  $CL_{50}$  das substâncias testadas estão descritas na Tabela 13.

**Tabela 13.** Valores de  $CL_{50}$  para as 4-aril-3,4-diidrocurmarinas frente *Artemia salina*.

Composto	$CL_{50}(\mu\text{g/mL})$	DP ( $\mu\text{g/mL}$ )	Composto	$CL_{50}(\mu\text{g/mL})$	DP ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>10a</b>	333,57	4,78	<b>10h</b>	662,31	7,56
<b>10b</b>	260,07	1,78	<b>54a</b>	127,54	4,78
<b>10c</b>	453,77	4,02	<b>54b</b>	131,19	2,28
<b>10d</b>	289,43	5,68	<b>54c</b>	145,35	6,12
<b>10e</b>	281,19	9,13	<b>54d</b>	191,18	2,33
<b>10f</b>	96,86	4,25	<b>54e</b>	212,71	4,56
<b>10g</b>	205,72	3,76	<b>60</b>	543,85	9,24

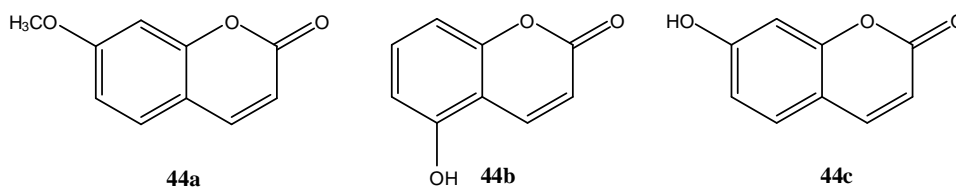
DP – desvio padrão com intervalo de confiança de 95%

As 4-aril-3,4-diidrocurmarinas testadas apresentaram em geral atividade citotóxica moderada, sendo o derivado metoxilado **10f** o mais citotóxico. A acetilação e metilação da hidroxila do C-7 do composto **10a** proporcionou aumento discreto na atividade citotóxica.

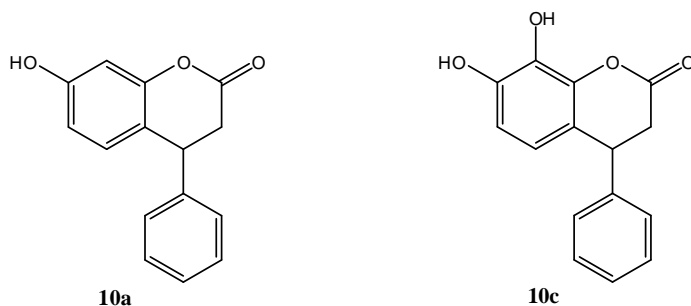
## 5.0 CONCLUSÕES

Nesse trabalho foi sintetizado um total de dezoito substâncias, sendo quatorze 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas, três cumarinas e uma flavonona. Dentre as 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas obtidas seis são inéditas na literatura.

Foi possível obter importantes cumarinas naturais como a herniarina (**44a**), 5-hidroxi-cumarina (**44b**) e a umbeliferona (**44c**), com rendimentos baixos a bons (42-82%), empregando mesma metodologia utilizada no preparo das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas. Estes resultados mostraram importância do ponto de vista sintético pois até o momento não havia sido descrito na literatura a obtenção das cumarinas umbeliferona e herniarina numa única reação, com rendimentos satisfatórios.



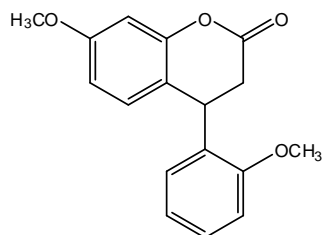
Dos compostos submetidos ao teste de atividade antioxidante frente ao radical estável DPPH apenas **10a** e **10c** apresentaram atividade considerável, com destaque para este último que demonstrou atividade comparável aos padrões, ácido gálico e quercetina.



Nos testes de citotoxicidade contra *Artemia salina*, os compostos apresentaram atividade moderada, destacando-se como ativo os o novo composto **10f** (CL<sub>50</sub> =



96,86 $\mu$ g/mL). A acetilação e metilação da hidroxila do C-7 do composto **10a** proporcionou aumento discreto na atividade citotóxica.



**10f**

Fazem-se necessários estudos posteriores para investigar o mecanismo de atuação do ácido polifosfórico nas reações de condensação entre ácidos cinâmicos e fenóis, bem como o potencial biológico das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas através de diferentes e novos ensaios biológicos.

## 6. REFERÊNCIAS

ADITYACHAUDHURY, N., KIRTANIYA, C. L., MUKHERJEE, B. Chalcones of *Flemingia chappar* Ham. The structure and synthesis of flemichapparin. **Tetrahedron**, v.27, p. 2111-2117, 1971.

ANDERSON, J. E.; GOETZ, C. M.; MCLAUGHLIN, J. L.; SUFFNESS, M. A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities and antitumour prescreens. **Phytochemical Analysis**, v. 2, p. 107-111, 1991.

AOKI, S.; AMAMOTO, C.; OYAMADA, J.; KITAMURA, T. A convenient synthesis of dihydrocoumarins from phenols and cinnamic acid derivatives. **Tetrahedron**, v. 61, p. 9291-9297, 2005.

BARLUENGA, J.; ANDINA, F.; AZNAR, F. Unprecedented reactivity pattern of chromium fischer carbene complexes. Direct application to one-pot synthesis of 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins on a multigram scale. **Organic Letters**, v. 8, p. 2703-2706., 2006.

BARREIROS, A. L. S. **Constituintes químicos bioativos de *Diocloea violaceae***. p 286. Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

BARREIROS, A. L. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**. v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BENNARDI, D. O.; RUIZ, D. M.; ROMANELLI, G. P.; BARONETTI, G. T.; THOMAS, H. J.; AUTINO, J. C. Efficient Microwave Solvent-Free Synthesis of Flavones, Chromones, Coumarins and Dihydrocoumarins. **Letters in Organic Chemistry**, v. 5, p. 607-615, 2008.

BHATTACHARJEE, J.; PAKNIKAR, S. K.; Synthesis of coumarins by transfer of C3-unit of cinnamic acids to phenols using polyphosphoric acid. **Indian Journal of Chemistry**, v. 28B, p. 205-207, 1989.

BRANDÃO, H. N. **Teste de atividades biológicas em extratos vegetais e aplicação de cromatografia a líquidos de alta eficiência no isolamento, síntese e identificação de produtos naturais**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química. 2007.135 p.

CHENAUL, J.; DUPIN, J. E. Synthesis of substituted 4-(methoxyphenil)-3,4-dihydrocoumarins. **Heterocycles**, v. 20, n. 3, 1983

DAS GUPTA, A. K. ; DAS, K. R. Coumarin and related compounds. XVIII. New synthesis of 3-phenyl- and 4-phenylbenzocoumarins. **Indian Journal of Chemistry**, v. 11, p. 1245-1246, 1973.

DAS, B.; VENKATAIAH, B.; RAVINDRANATH, N. Condensation of phenols with alkylcinnamates in the presence of FeCl<sub>3</sub>. **J. Chem. Research**, p. 556-557. 2000.

DAVID, J. P.; SILVA, E. F.; de MOURA, D.L.; GUEDES, M L.; ASSUNÇÃO, R.J.; DAVID, J. Lignanas e Triterpenos do extrato citotóxico de *Eriope blanchetii*. **Química Nova**, v. 24, nº 6, 2001.

DONNELLY, D. M. X.; BOLAND, G. Neoflavonoids. In: HARBORNE, J. B. (Ed.). **The flavonoids: Advances in research since 1986**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 239-258.

DUPIN, J. F. E.; CHENAULT, J. Reactivity of aryl cinnamates in polyphosphoric acid (PPA): cyclisation and rearrangement reactions. **Heterocycles**, v. 20, p. 2401-2404, 1983.

FILLION, E.; DUMAS, A. M.; KUROPATWA, B. A.; MALHOTRA, N. R.; SITLER, T. C. Yb(OTf)<sub>3</sub>-Catalyzed Reactions of 5-Alkylidene Meldrum's Acids with Phenols: One-Pot Assembly of 3,4-Dihydrocoumarins, 4-Chromanones, Coumarins, and Chromones. **Journal of Organic Chemistry**. 2006, 71, 409.

GROTEWOLD, E. **The Science of Flavonoids**. In : 1<sup>o</sup> edição, Editora Springer, USA, 2006, 273p.

GU, YONGHONG; XUE, KUN. Direct oxidative cyclization of 3-arylpropionic acids using PIFA or Oxone: synthesis of 3,4-dihydrocoumarins. **Tetrahedron Letters**, v. 51, p. 192-196, 2010.

HASER, KATRIN; WENK, H. H.; SCHWAB, WILFRIED. Biocatalytic Production of Dihydrocoumarin from Coumarin by *Saccharomyces cerevisiae*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 6236-6240, 2006.

HASEBE, N. The reaction between phenols and cinnamic acid derivatives in the presence of polyphosphoric acid. **Nippon Kagaku Zasshi**. v. 83, p. 224-226, 1962.

IQBAL, F. P.; BHAT, A. R.; AZAM, A. Antiamoebic coumarins from the root bark of *Adina cordifolia* and their new thiosemicarbazone derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 2252-2259, 2009.

JIA, C.; PIAO, D.; OYAMADA, J.; LU, W.; KITAMURA, T.; FUJIWARA, Y. Efficient activation of aromatic C-H bonds for addition to C-C multiple bonds. **Science**, v. 287, p. 1992-1995, 2000.

KIRTANY, J. K. A simple synthesis of 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins. **Indian Journal of Chemistry, Section. B**, v. 32B, p. 993, 1993.

KONTOGIORGIS, C. A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. J. Synthesis and Antiinflammatory Activity of Coumarin Derivatives. **Journal Medicinal Chemical**, v. 48, p. 6400-6408, 2005.

KRAWCZYK, H.; ALBRECHT, Q; WOJCIECHOWSK, J.; WOLF, W. M. Trifluoromethanesulfonic acid mediated Friedel–Crafts reaction of (E)-3-aryl-2-(diethoxyphosphoryl)acrylic acids with electron-rich hydroxyarenes. A convenient approach to  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -valerolactones. **Tetrahedron**, v. 63, p. 12583–12594, 2007.

KRONGAUZ, E.S.; RUSANOV, A.L.; RENARD, T.L. Polyphosphoric Acid in Cyclisation and Polycyclisation Reactions. **Russian Chemical Reviews**, v.39 (9), p. 747-765, 1970.

LALLI, C. et al, A. Diversity-Oriented Synthesis of Morpholine-Containing Molecular Scaffolds. **Chemistry – A European Journal**. v. 15, p. 7871 – 7875, 2009.

LEE, J.; TSENG, T.; LEE, Y. An Efficient Synthesis of Neoflavonoid Antioxidants Based on Montmorillonite K-10 Catalysis. **Synthesis**, v. 15, p. 2247-2254, 2001.

LI, K.; FORESEE, L. N.; TUNGE, J. A. Trifluoroacetic acid-mediated hydroarylation: synthesis of dihydrocoumarins and dihydroquinolones. **Journal of Organic Chemistry**, v. 70, p. 2881-2883, 2005.

LIEBERMANN, C.; HARTMANN, A. Ueber die Condensation der Allozimtsaure mit Phenolen. **Ber Dtsch. Chem. Ges.** v. 24, p. 2582, 1891.

MAJUMDER, P. L., CHATTERJEE, S., MUKHOTI, N. The reactions of phenols with  $\alpha,\beta$ -unsaturated aromatic acids in presence of polyphosphoric acid: synthetic and mechanistic studies. **Journal of the Indian Chemical Society** v. 78, p. 743-755, 2001.

MAZZEI, M.; NIEDDU, E.; MIELE, M.; BALBI, A.; FERRONE, M.; FERMEGLIA, M.; MAZZEI, M. T.; PRICL, S.; LA COLLA, P.; MARONGIU, F.; IBBAC, C.; LODDOC, R. Activity of Mannich bases of 7 hydroxycoumarin against Flaviviridae. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.16, p. 2591–2605, 2008.

McGUIRE, M. A.; SHILCRAT, S.C.; SORENSON, E. An Efficient Asymmetric Catalytic Hydrogenation of 4-Aryl Coumarins, Preparation of a Key Intermediate in the Synthesis of a Class of Endothelin Receptor Antagonists. **Tetrahedron Letters**, v.40, p. 3293, 1999.

McLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L.; ANDERSON, J. E. The use of biological assays to evaluate botanicals. **Drug Information Journal**, v.32, p.513-524, 1998.

MEYER, B. N; FERRIGNI, N. R; PUTNAM, J. E; JACOBSEN, L. B; NICHOLS, D. E. ; McLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: A convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Medicinal Plant Research**, v. 45, p.31 - 34, 1982.

NISHIMURA, S.; TAKI, M.; TAKAISHI, S.; IJIMA, Y.; AKIYAMA, T. Structures of 4-Aryl-coumarin (Neoflavone) Dimers Isolated from *Pistacia chinensis* BUNGE and Their Estrogen-like Activity. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**. v. 48. P.505–508, 2000.

PAKNIKAR, S. K.; BHATTACHARJEE, J.; NADKARNI, K. K. A single-step synthesis of ayapin, limmettin, scoparone, leptodactylone, fraxinol, isoscopoletin, 5,6,7-trimethoxycoumarin and 7-methoxy-8-hydroxycoumarin. **Journal of the Indian Institute of Science**, v. 74(2), p. 277-285, 1994.

QADEER, G.; RAMA, N. H.; FAN, Z. J.; LIU, B.; LIU, X. F. Synthesis, herbicidal, fungicidal and insecticidal evaluation of 3-(Dichlorophenyl)-isocoumarins and ( $\pm$ )-3-(Dichlorophenyl)-3,4-dihydroisocoumarins. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 1176-1182, 2007.

RAND, L. e DOLINSKI, R. J., Competitive Carbonium Ion Processes. Catalysis of Acylation and Acetoxylation Reactions by Polyphosphoric Acid. **Journal Organic Chemistry**, v.31, p. 4061-4066, 1966.

ROELEN, F.; HUVAERE, K.; DHOOGHE, W.; CLEEMPUT, M. V.; COMHAIRE, F.; KEUKELEIRE, D. D. Regioselective synthesis and estrogenicity of ( $\pm$ )-8-alkyl-5,7-dihydroxy-4-(4-hydroxyphenyl)-3,4-dihydrocoumarins. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 10, p. 1042-1051, 2005.

RODRIGUES-SANTOS, C. E.; ECHEVARRIA, A. An efficient and fast synthesis of 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins by  $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$  catalysis under microwave irradiation. **Tetrahedron Letters**. v. 48, p.4505–4508, 2007.

SIMPSON, J. D.; STEPHEN, H. The reaction between cinnamic acid and phenols in presence of hydrochloric acid. A new method for the preparation of 3:4-dihydro-4-phenylcoumarins. **Journal Chemical Society**, 1382-1384, 1956.

SINGH, I.; PRASAD, A. K.; SHARMA, A. K.; SAXENA, E.K.; OSLEN, C.E.; CHOLI, A.L.; SAMUELSON, L. A.; KUMAR, J.; WATTERSON, A. C.; PARMA, V.S. Synthetic and novel biocatalytic resolution studies on ( $\pm$ )-5/6/7-acetoxy-4-aryl-3,4-dihydrocoumarins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 529-538, 2003.

SPERANZA, G; DI MEO, A.; ZANOLA, S; FONTANA, G.; MANITTO, P. Uncatalyzed Reaction of Phenols and Naphthols with Methyl Cinnamates. A Simple Synthesis of 4-Arylchroman-2-ones and 1-Arylbenzo[*f*]chroman-3-ones. **Synthesis**, v. 8, p. 931-936, 1997.

SO, Y; HEESCHEN, J. P. Mechanism of Polyphosphoric Acid and Phosphorus Pentoxide-Methanesulfonic Acid as Synthetic Reagents for Benzoxazole Formation. **Journal Organic Chemistry**, v. 62, p. 3552-3561, 1997.

TALAPATRA, B.; DEB, T.; TALAPATRA, S. Condensation of phenols & cinnamic acids in presence of polyphosphoric acid: A novel biogenetic-type oxidative selfcyclisation of *p*-methoxycinnamic acid to 7-methoxycoumarin. **Indian Journal of Chemistry**, v. 25B, p. 1122-1125, 1986.

VOGEL, A.I. **Química Orgânica – Análise orgânica qualitativa**. 3. ed. v. 3, São Paulo: Editora da USP, 1971. 1251p.

VALIZADEH, HASSAN; VAGHEFI, SEVIL. One-pot Wittig and Knoevenagel reactions in ionic liquid as convenient methods for the synthesis of coumarin derivatives. **Synthetic Communications**, vol. 39(9), 1666-1678, 2009.

VUL'FSON, N. S.; GOLOVKINA, L. S. Mass spectrometry of chromen-2-ones (coumarins) and furo- and pyrano-chromenones. **Russian Chemical Review**, v. 44, p. 603-623, 1975.

YAR, M.; MCGARRIGLE, E.M.; AGGARWAL, V. K. An annulation reaction for the synthesis of morpholines, thiomorpholines, and piperazines from  $\beta$ -heteroatom amino compounds and vinyl sulfonium salts. **Angewandte Chemie**. v. 47, p. 3844 – 3846, 2008.

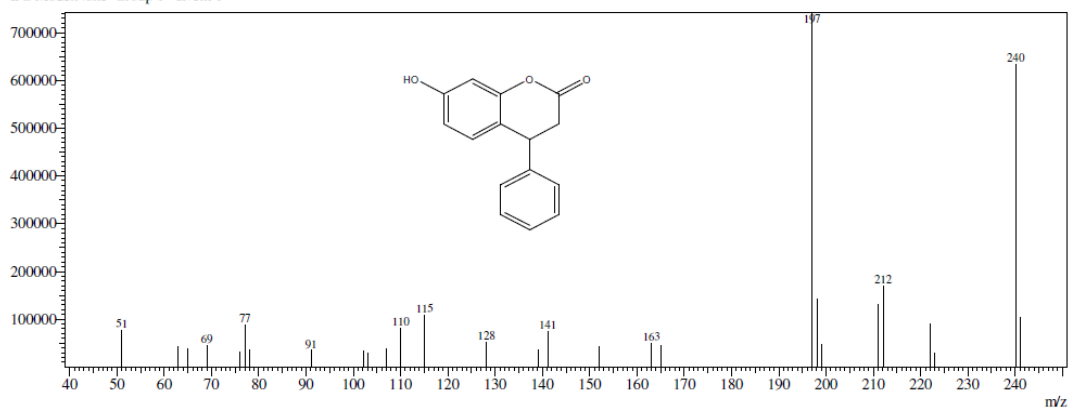
ZHANG, X.; WANG, H. ; SONG, Y.; NIE, L; WANG, L.; LIU, B.; SHEN, P.; LIU, Y. Isolation, structure elucidation, antioxidative and immunomodulatory properties of two novel dihydrocoumarins from Aloe vera. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**. v. 16, p. 949-953, 2006, 16, 949.

## **ANEXO**

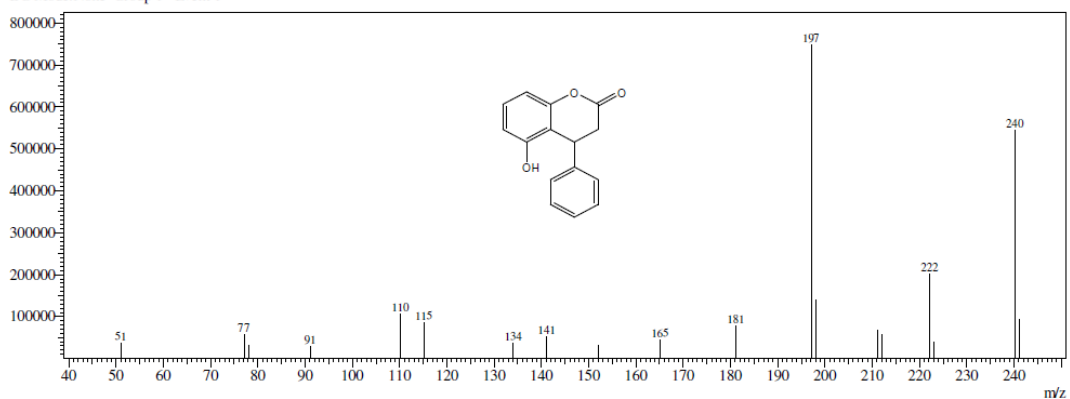
ESPECTROSCOPIA DE MASSAS (EM)

INFRAVERMELHO (IV)

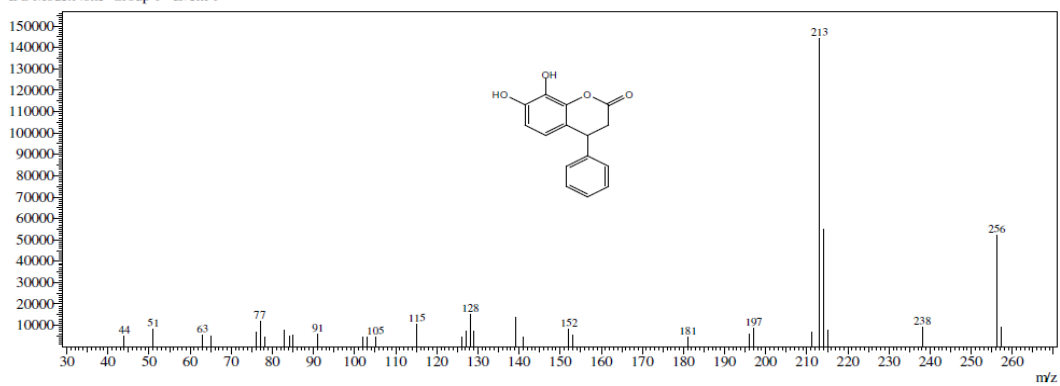
Line#:1 R.Time:0.908(Scan#:74)  
 MassPeaks:28  
 RawMode:Averaged 0.908-0.908(74-74) BasePeak:197.10(742348)  
 BG Mode:None Group 1 - Event 1



Line#:1 R.Time:0.342(Scan#:6)  
 MassPeaks:19  
 RawMode:Averaged 0.342-0.342(6-6) BasePeak:197.10(748802)  
 BG Mode:None Group 1 - Event 1



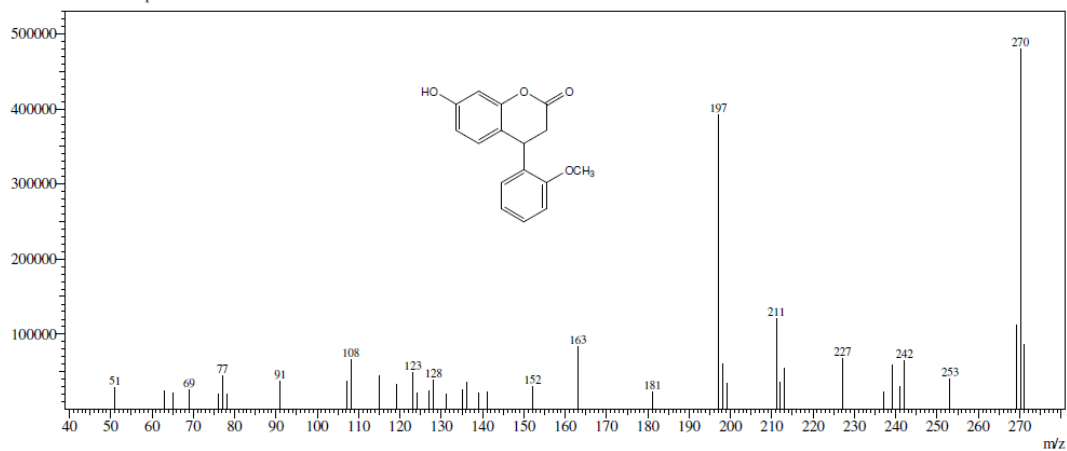
Line#:1 R.Time:1.408(Scan#:134)  
 MassPeaks:33  
 RawMode:Averaged 1.383-1.417(131-135) BasePeak:213.10(144371)  
 BG Mode:None Group 1 - Event 1



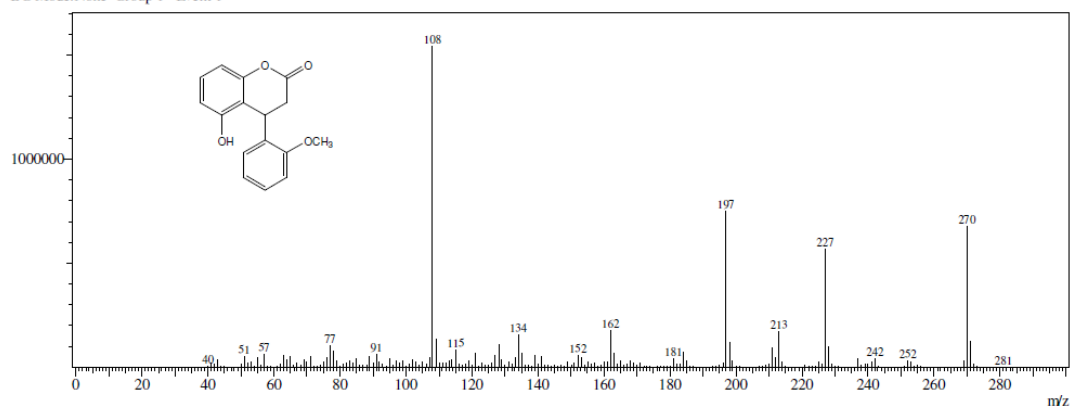
Anexo 1. Espectros de massas dos compostos **10a-c**, respectivamente.



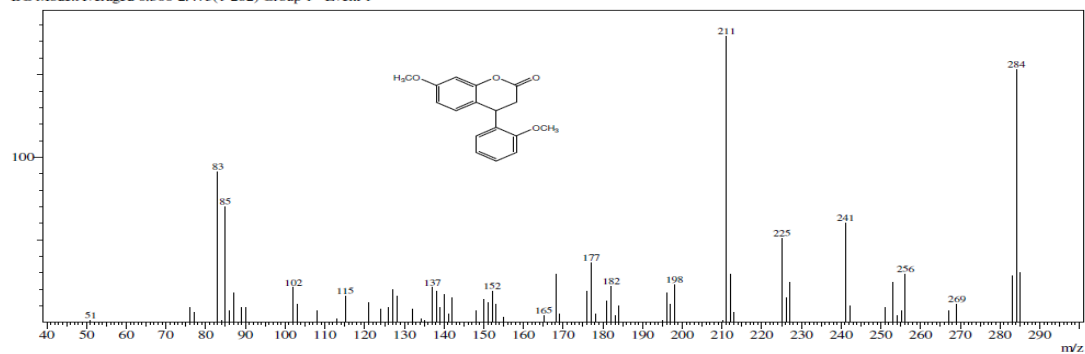
Line#:1 R.Time:1.300(Scan#:121)  
 MassPeaks:39  
 RawMode:Averaged 1.300-1.300(121-121) BasePeak:270.15(480434)  
 BG Mode:None Group 1 - Event 1



Line#:1 R.Time:0.825(Scan#:64)  
 MassPeaks:204  
 RawMode:Averaged 0.825-0.825(64-64) BasePeak:108.05(1543284)  
 BG Mode:None Group 1 - Event 1

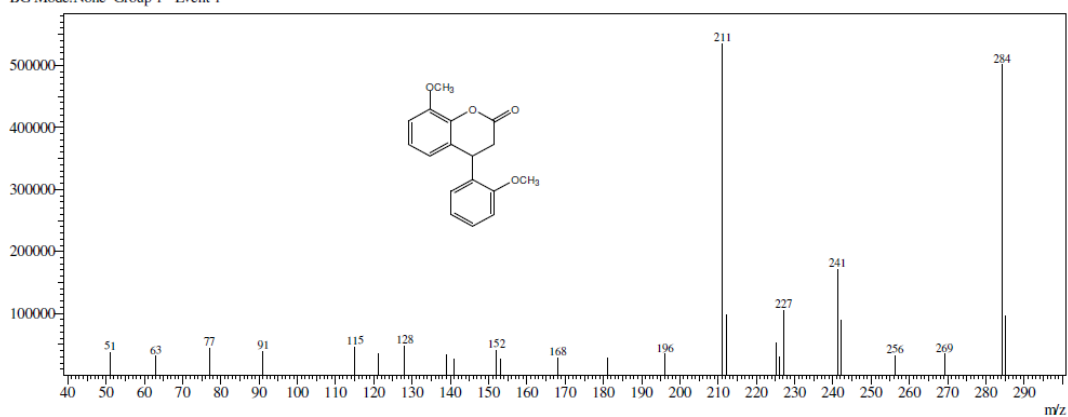


Line#:1 R.Time:0.325(Scan#:4)  
 MassPeaks:68  
 RawMode:Averaged 0.317-2.433(3-257) BasePeak:211.10(173)  
 BG Mode:Averaged 0.300-2.475(1-262) Group 1 - Event 1

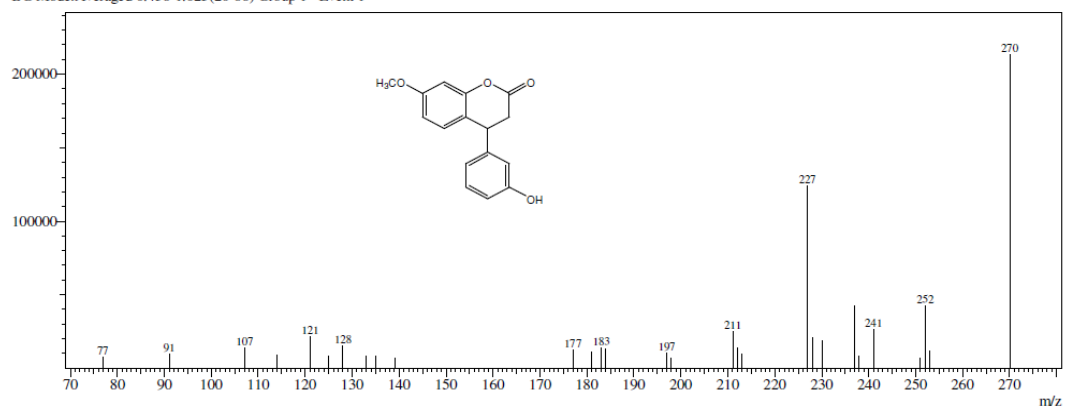


Anexo 2. Espectros de massas dos compostos **10d-f**, respectivamente.

RawMode:Averaged 0.600-0.600(37-37) BasePeak:211.15(534400)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



RawMode:Single 1.150(103) BasePeak:270.05(213489)  
BG Mode:Averaged 0.458-1.025(20-88) Group 1 - Event 1



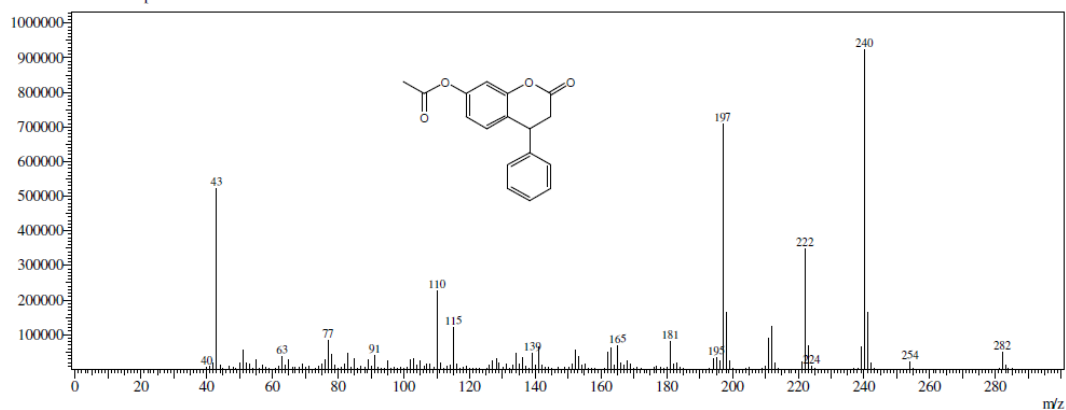
Anexo 3. Espectros de massas dos compostos **10g-h**, respectivamente.

Line#:1 R.Time:0.592(Scan#:36)

MassPeaks:170

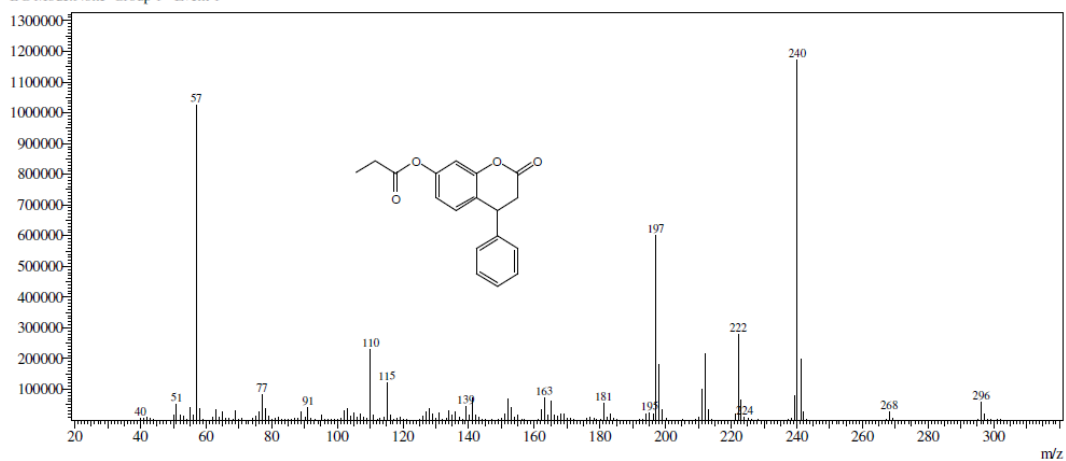
RawMode:Single 0.592(36) BasePeak:240.05(922269)

BG Mode:None Group 1 - Event 1



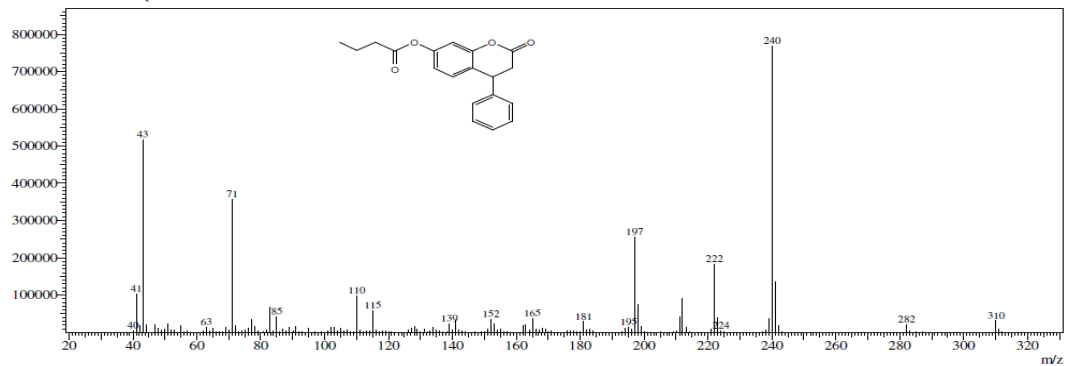
RawMode:Averaged 1.025-1.025(88-88) BasePeak:240.15(1170584)

BG Mode:None Group 1 - Event 1



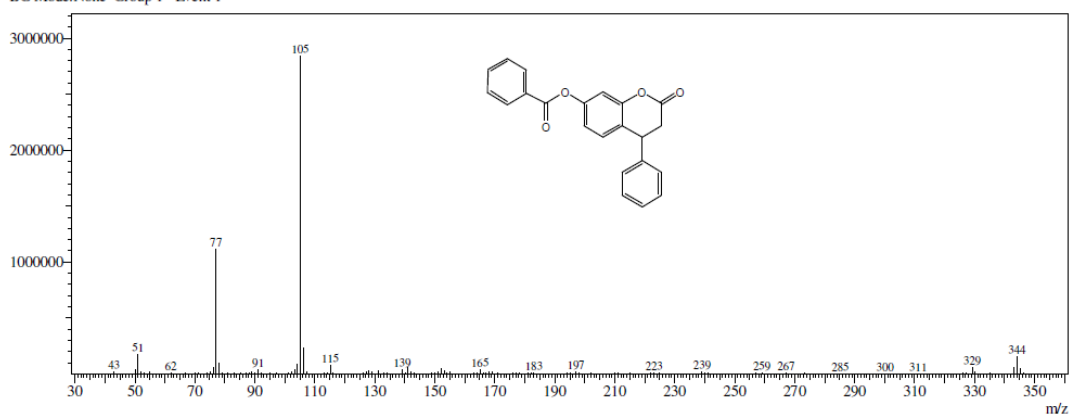
RawMode:Single 0.483(23) BasePeak:240.05(767613)

BG Mode:None Group 1 - Event 1

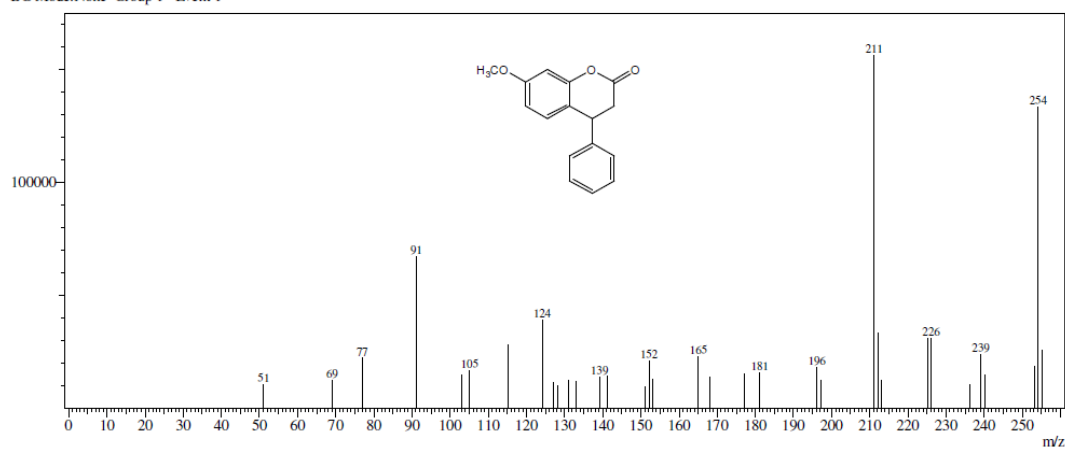


Anexo 4. Espectros de massas dos compostos **55a-c**, respectivamente.

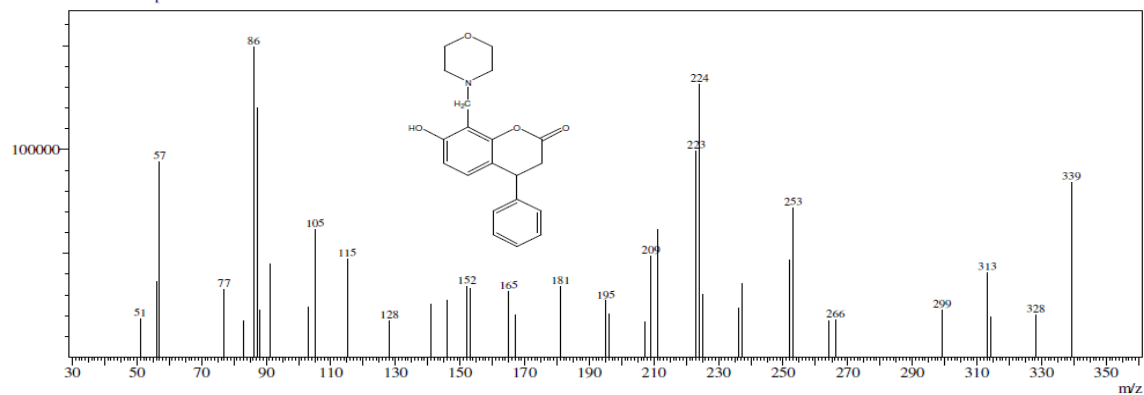
RawMode:Single 0.700(49) BasePeak:105.15(2839399)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



RawMode:Single 1.817(183) BasePeak:211.10(156562)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1

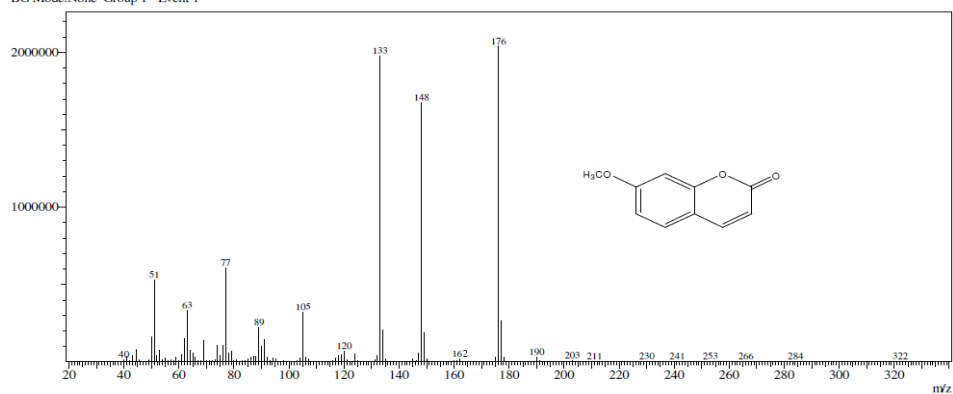


RawMode:Averaged 1.933-1.933(197-197) BasePeak:86.10(149417)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1

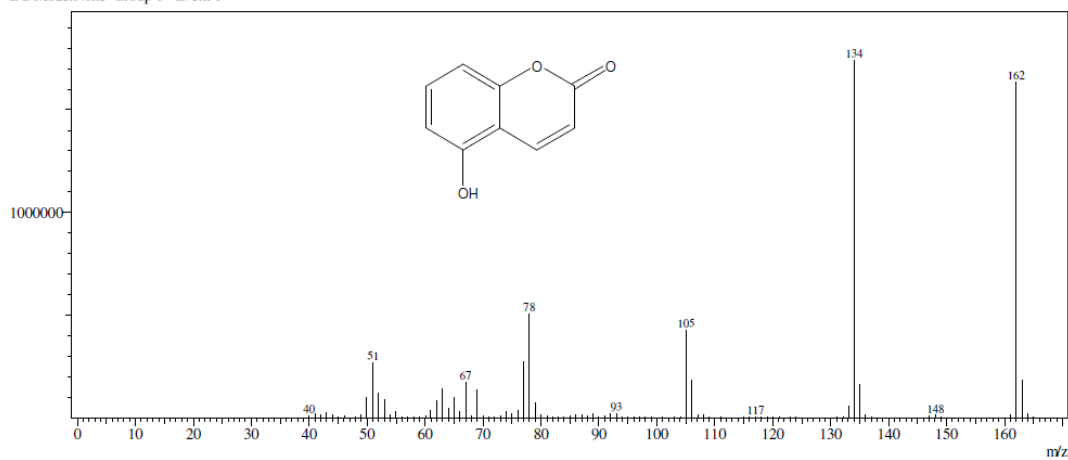


Anexo 5. Espectros de massas dos compostos **55d-e** e **60**, respectivamente.

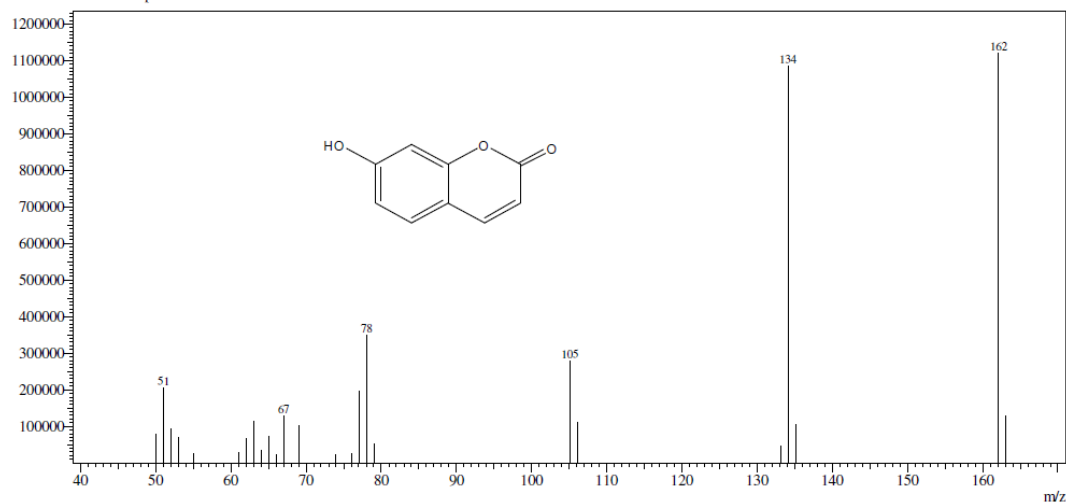
Line#:1 R.Time:0.458(Scan#:20)  
MassPeaks:144  
RawMode:Averaged 0.458-0.458(20-20) BasePeak:176.10(2041066)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



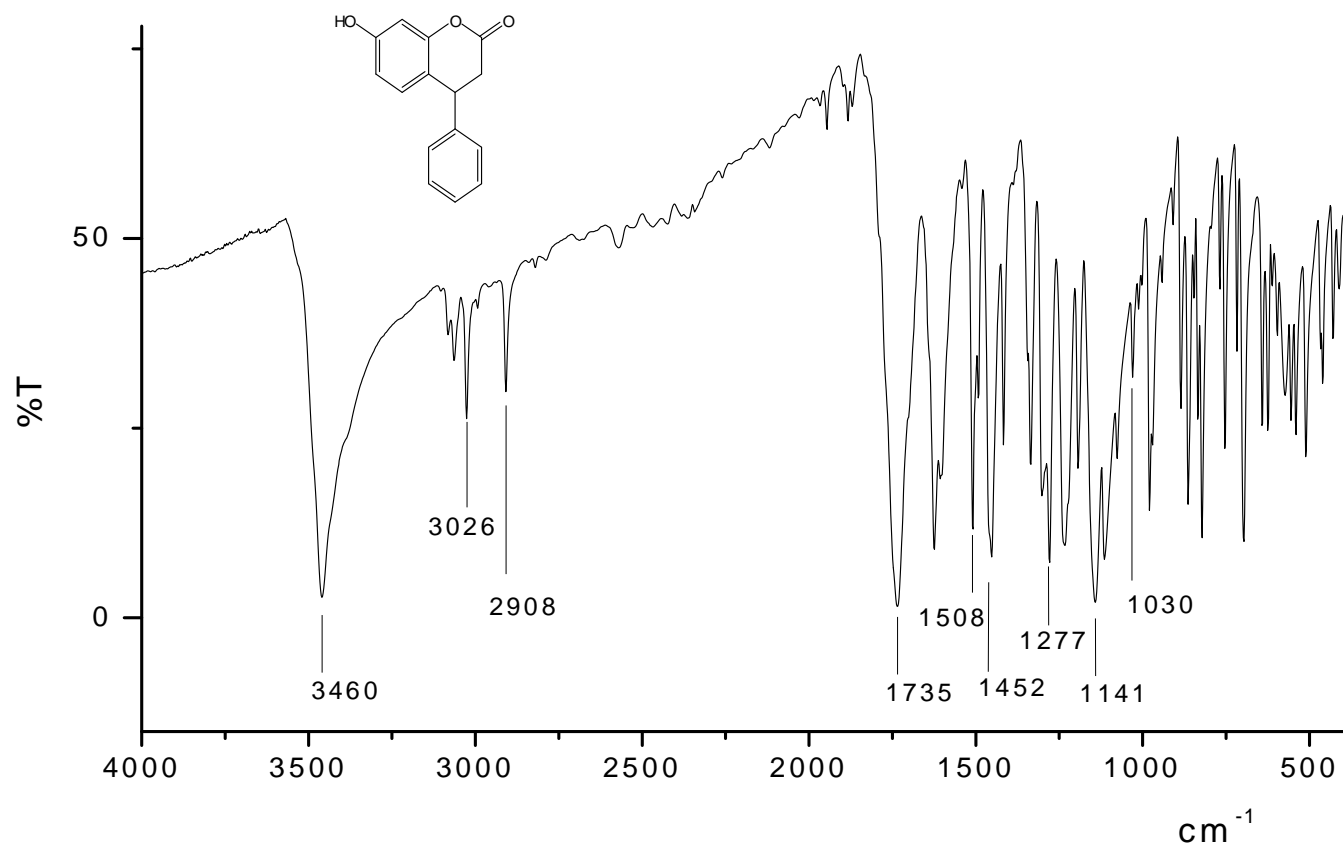
Line#:1 R.Time:2.400(Scan#:253)  
MassPeaks:92  
RawMode:Averaged 2.400-2.400(253-253) BasePeak:134.05(1743069)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



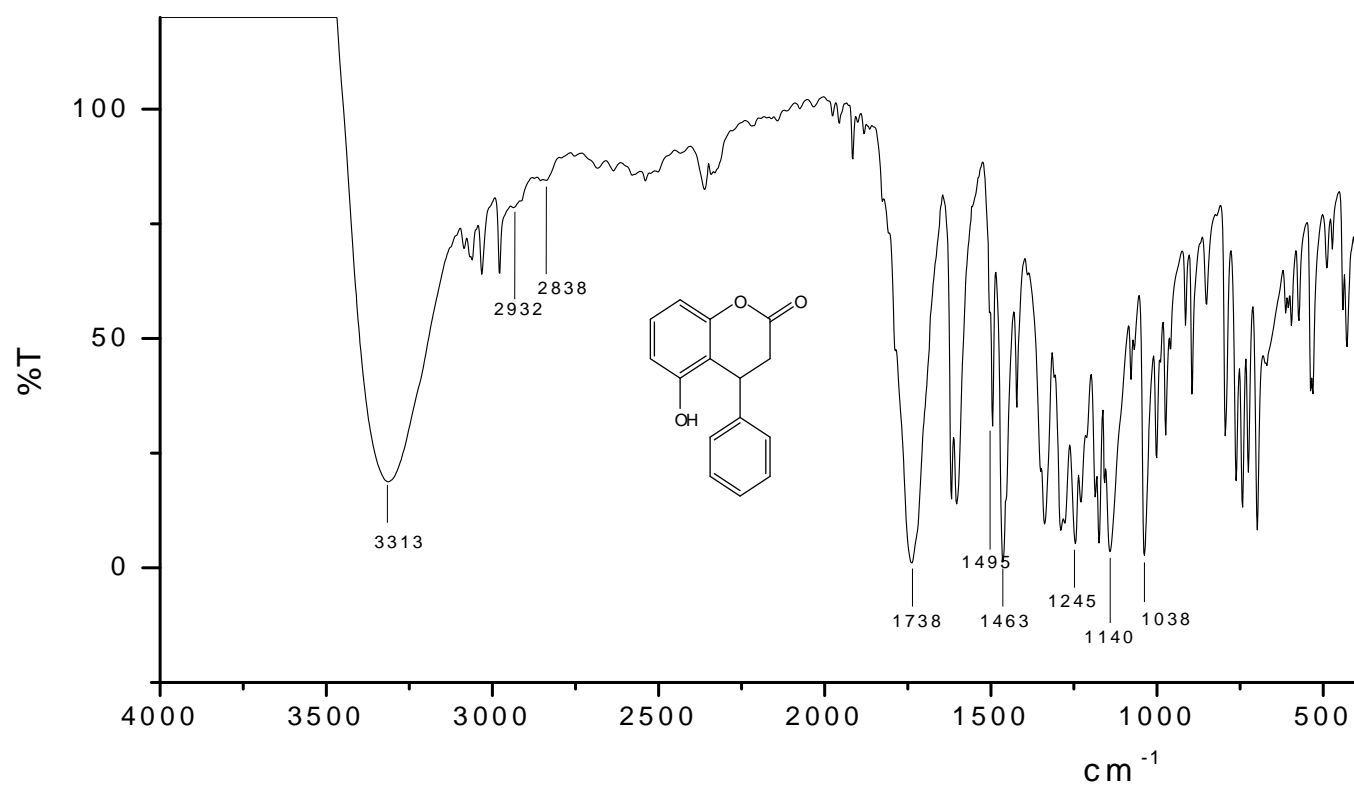
Line#:1 R.Time:0.558(Scan#:32)  
MassPeaks:25  
RawMode:Averaged 0.558-0.558(32-32) BasePeak:162.10(1121511)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



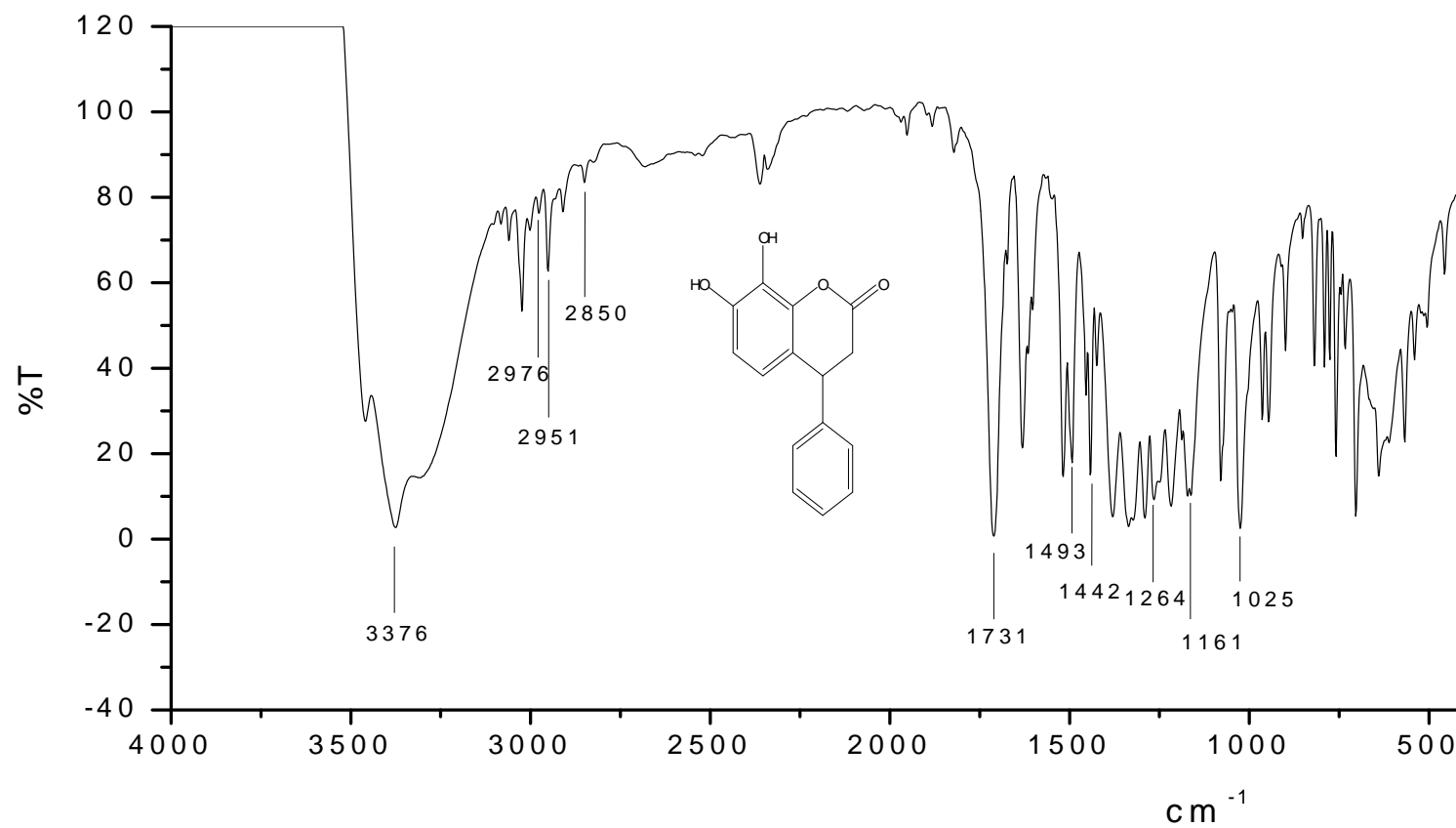
Anexo 6. Espectros de massas dos compostos **44a-c**, respectivamente.



Anexo 7. Espectro de IV (em KBr) do composto **10a**.

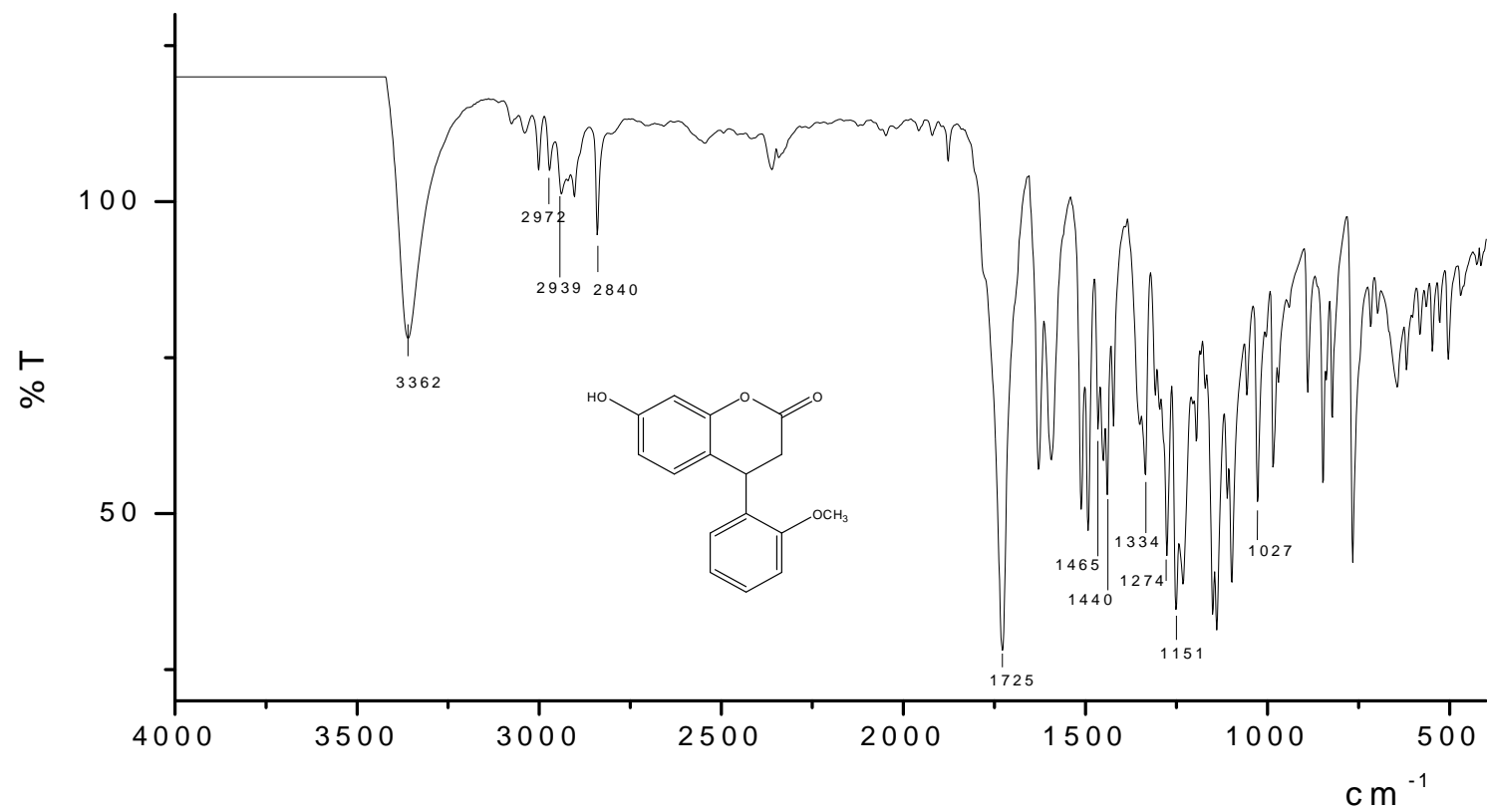


Anexo 8. Espectro de IV (em KBr) do composto **10b**.

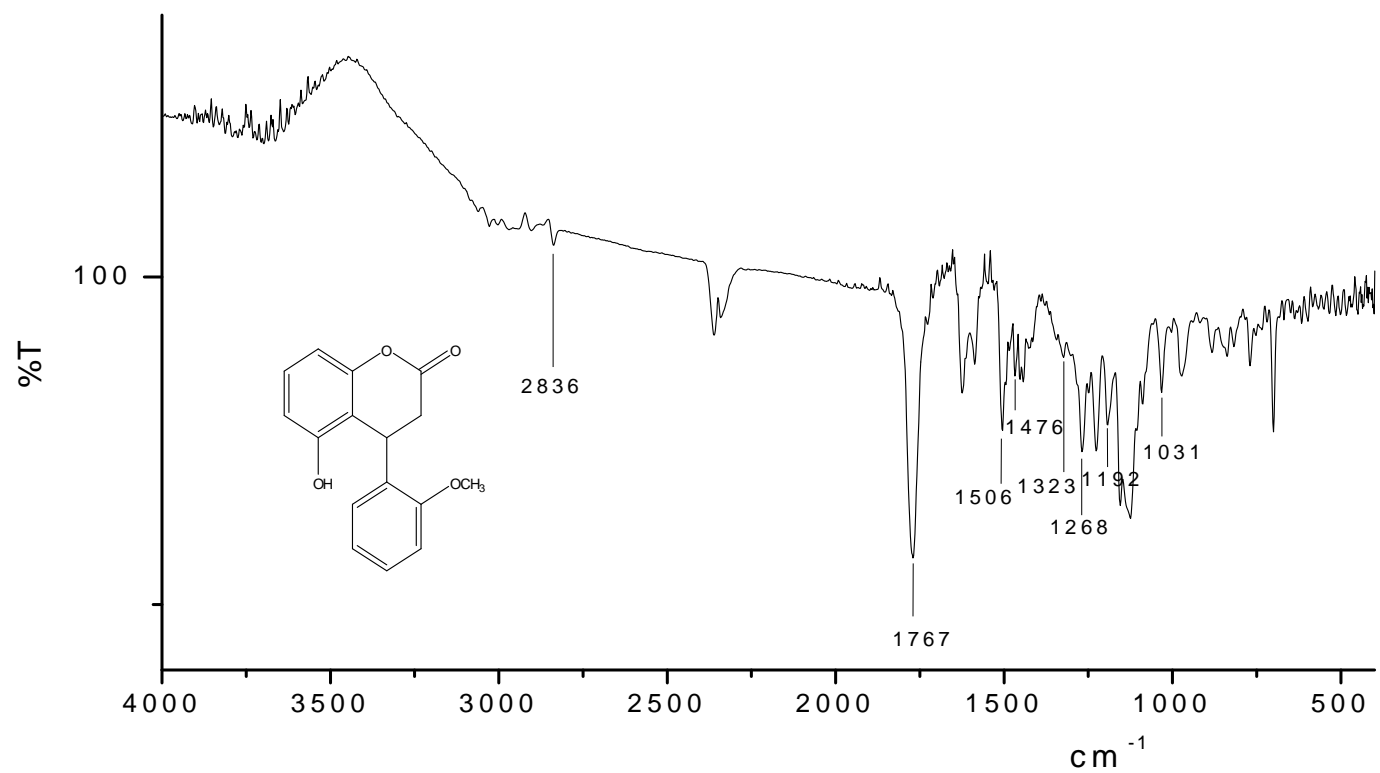


Anexo 9. Espectro de IV (em KBr) do composto **10c**.

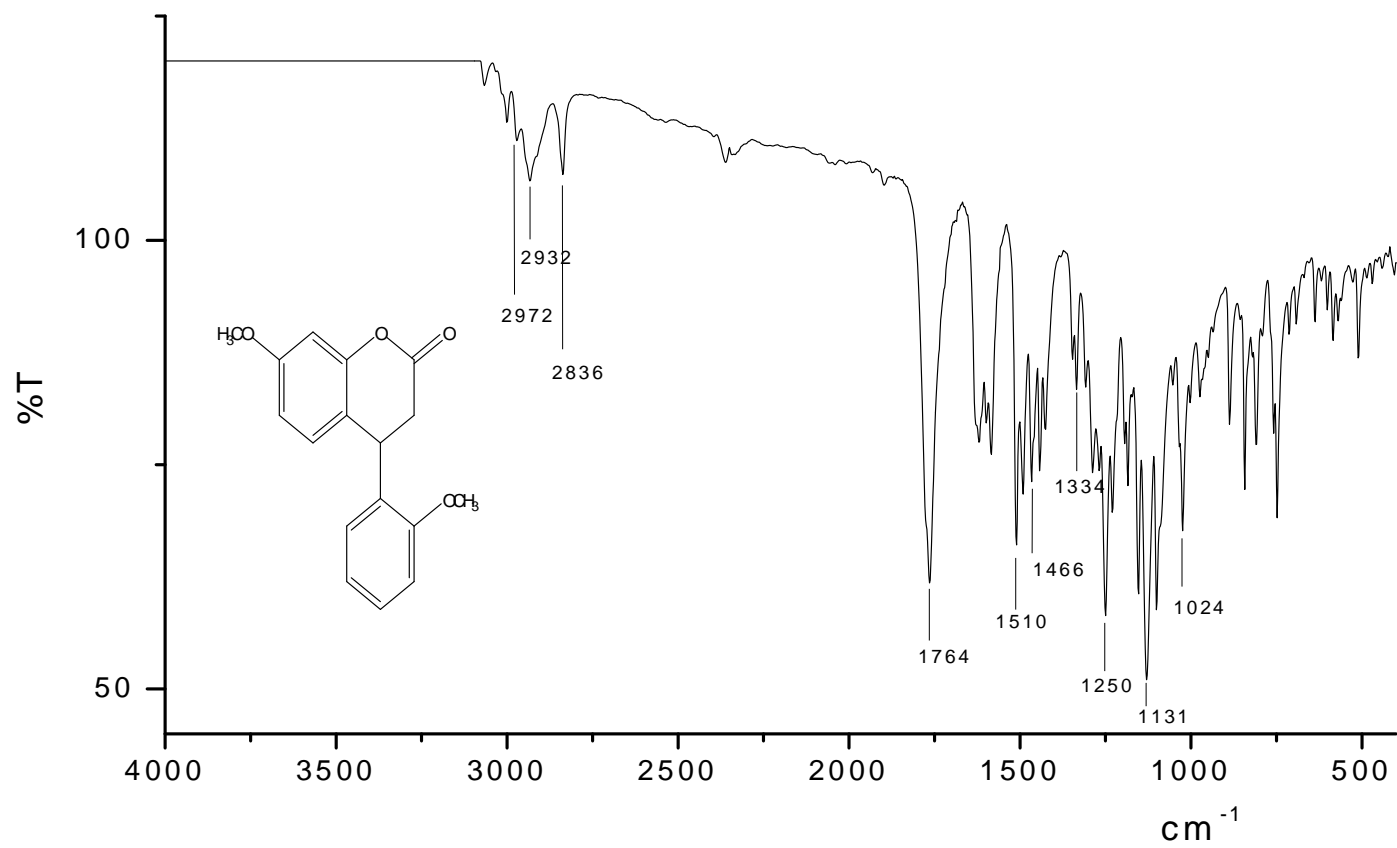




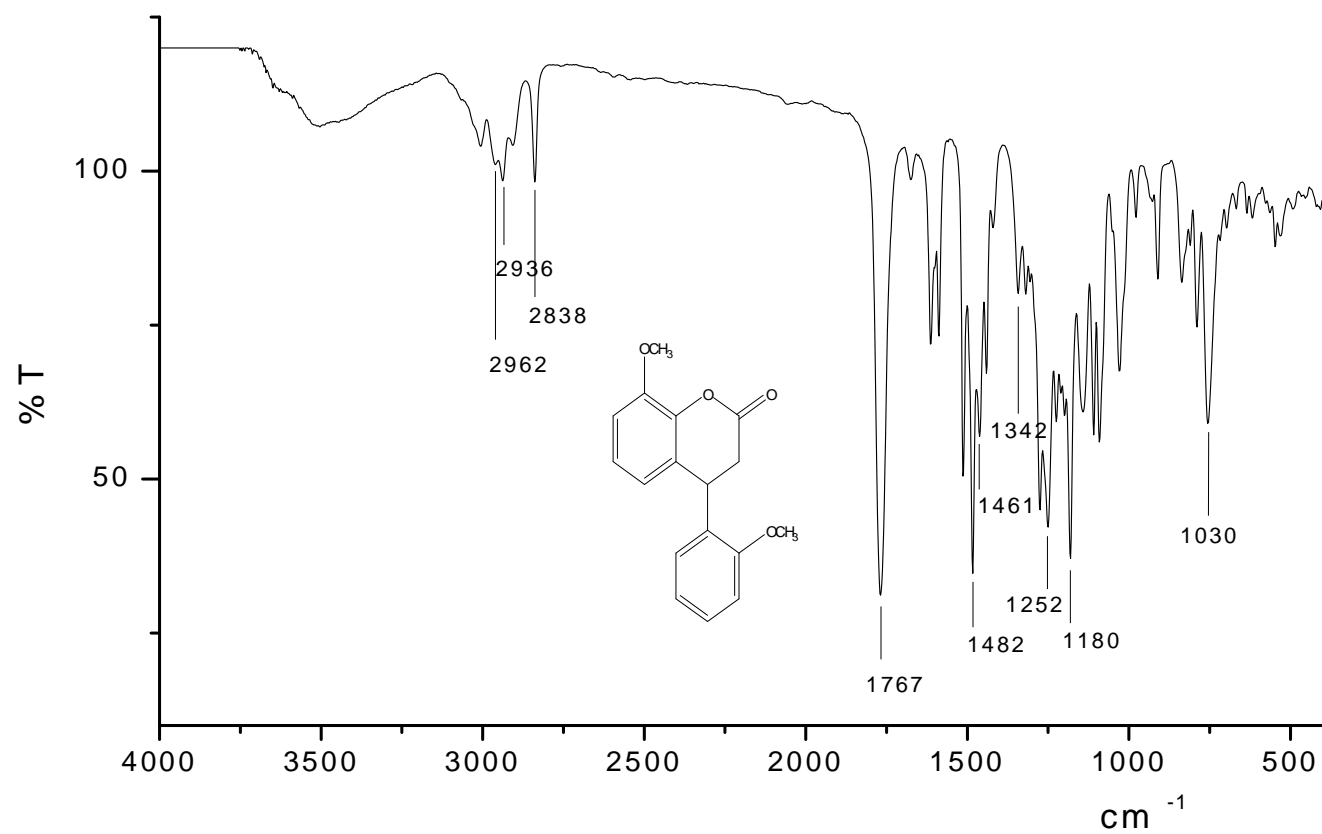
Anexo 10. Espectro de IV (em KBr) do composto **10d**.



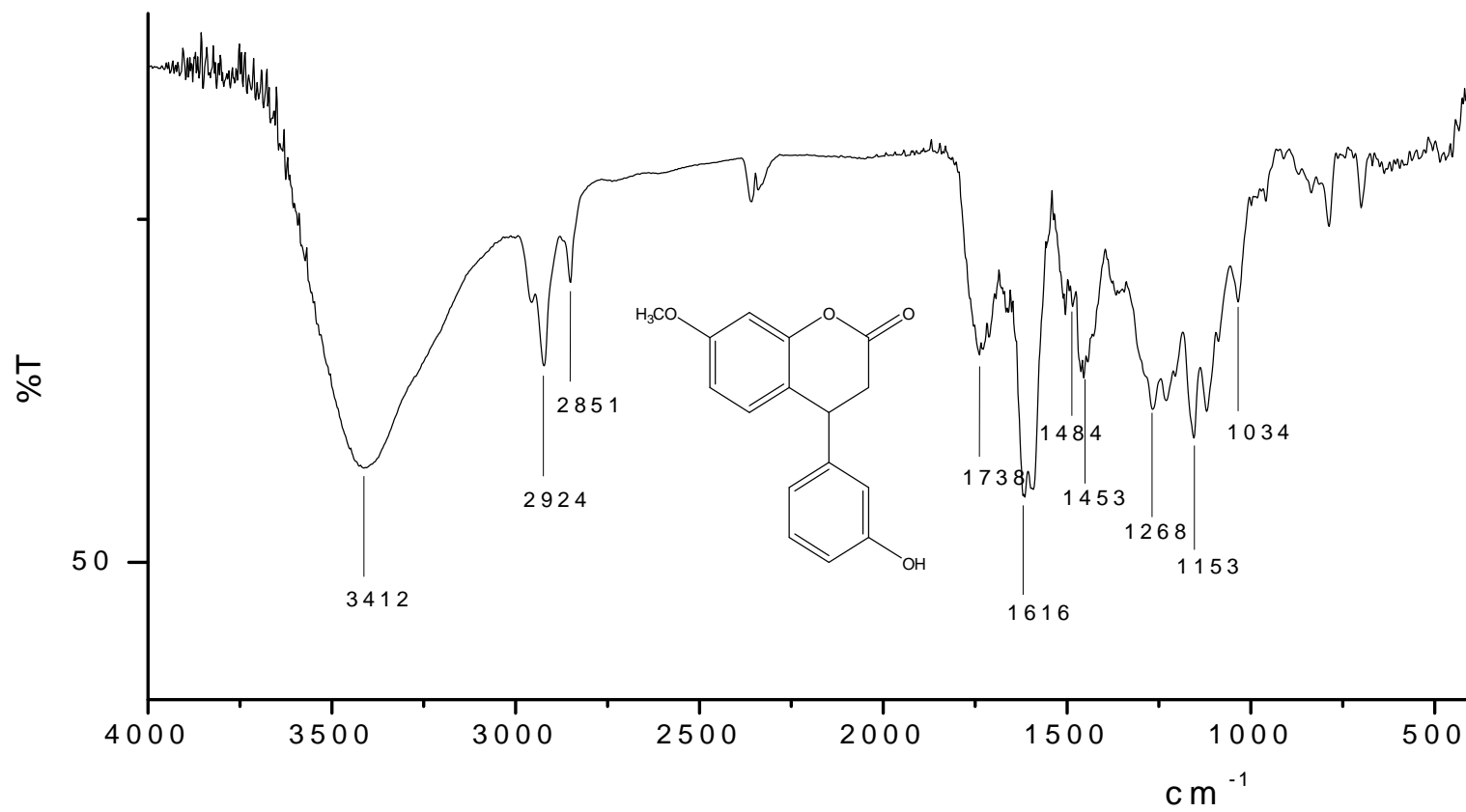
Anexo 11. Espectro de IV (em KBr) do composto **10e**.



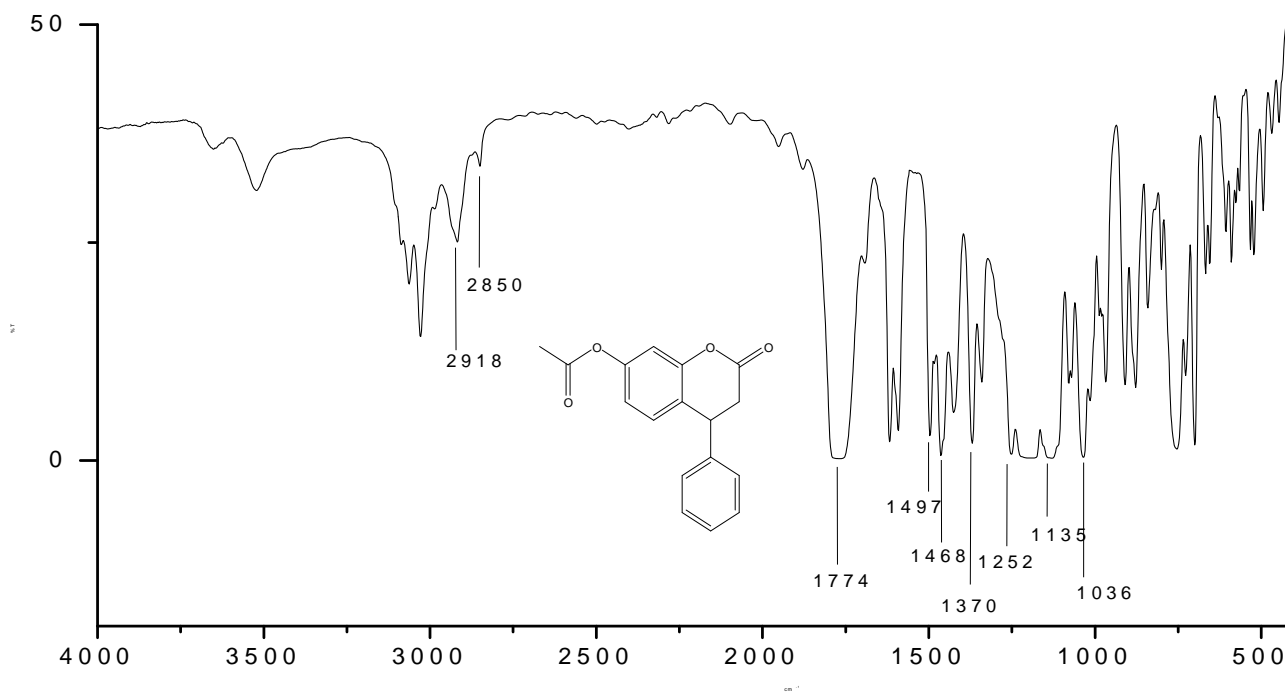
Anexo 12. Espectro de IV (em KBr) do composto **10f**.



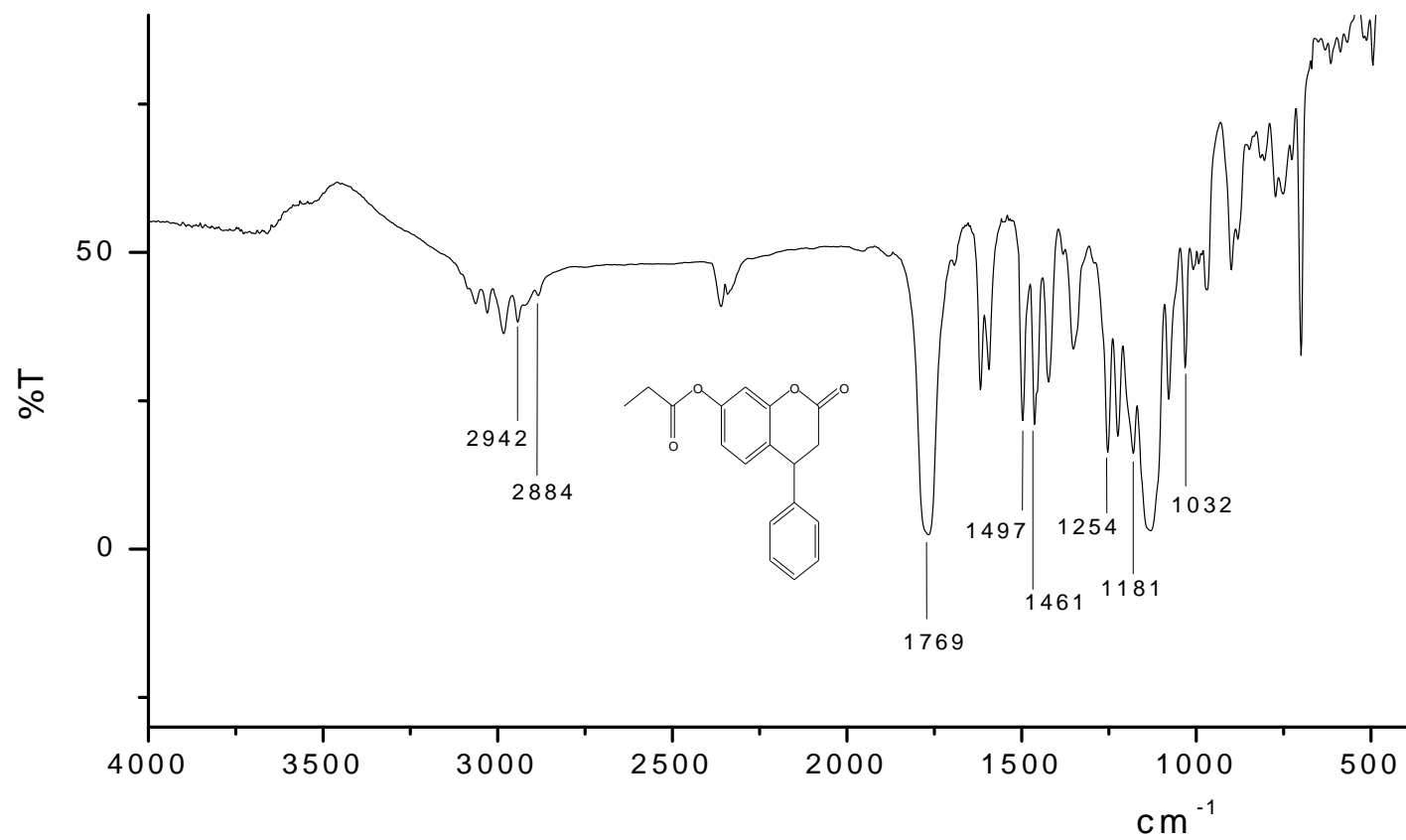
Anexo 13. Espectro de IV (em KBr) do composto **10g**.



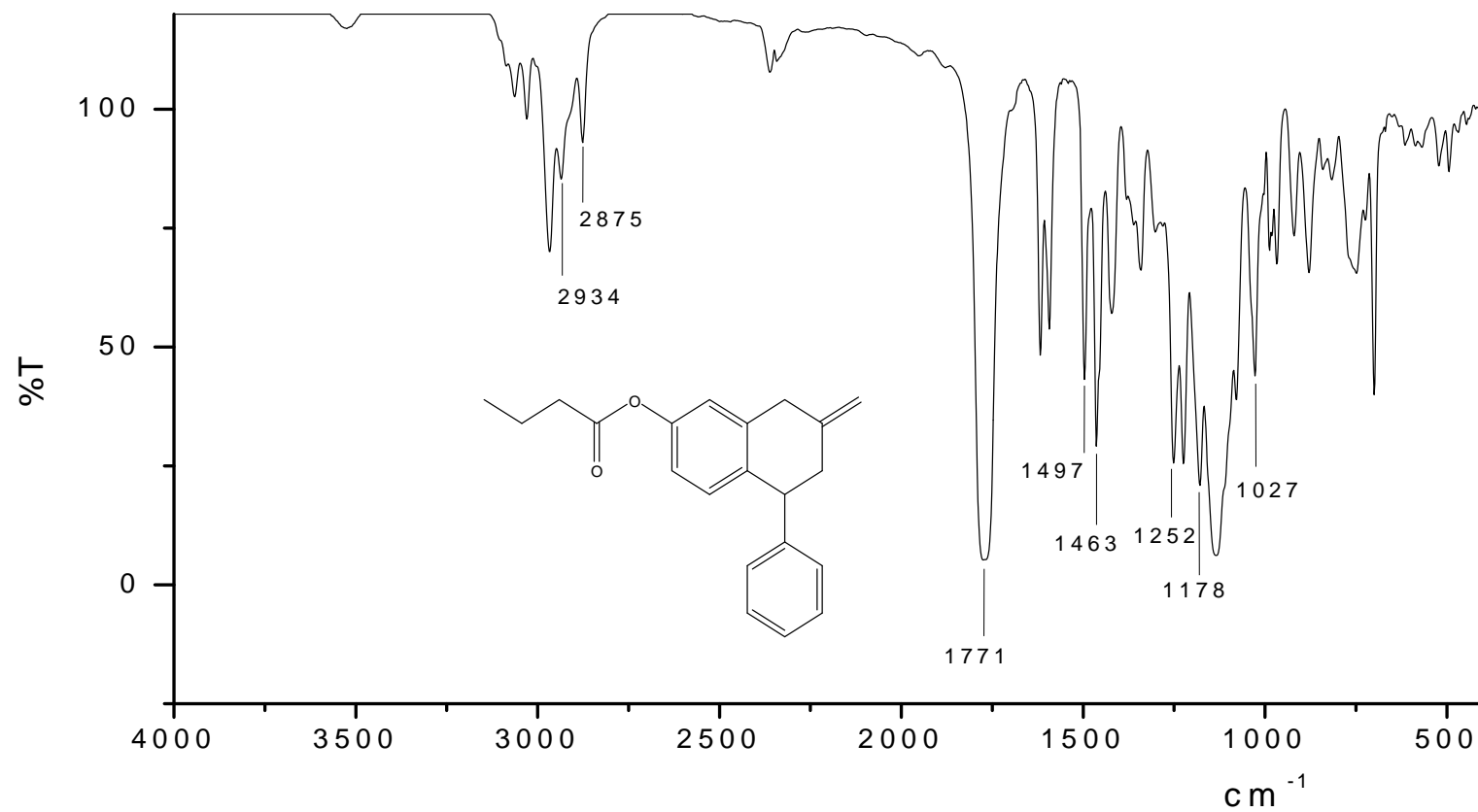
Anexo 14. Espectro de IV (em KBr) do composto **10h**.



Anexo 15. Espectro de IV (em filme) do composto **55a**

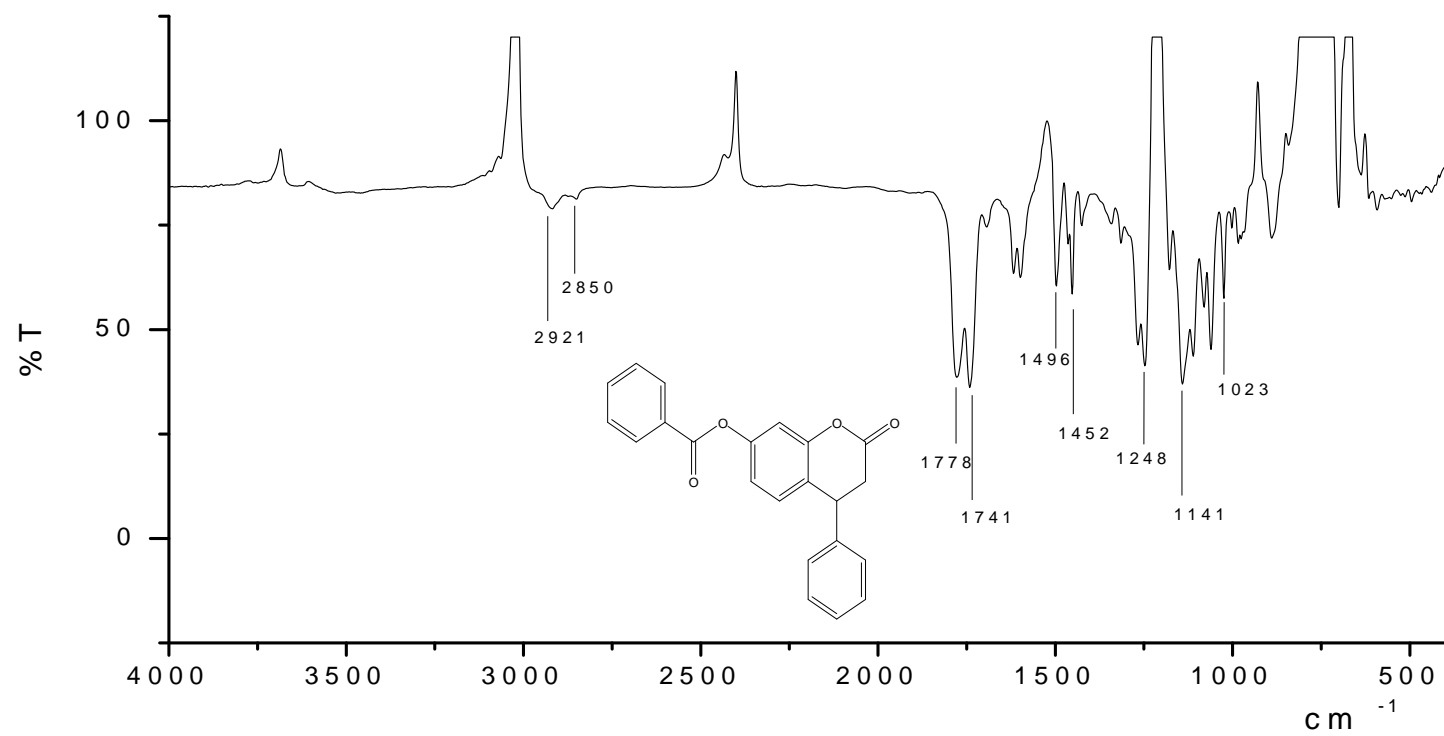


Anexo 16. Espectro de IV (em filme) do composto **55b**.

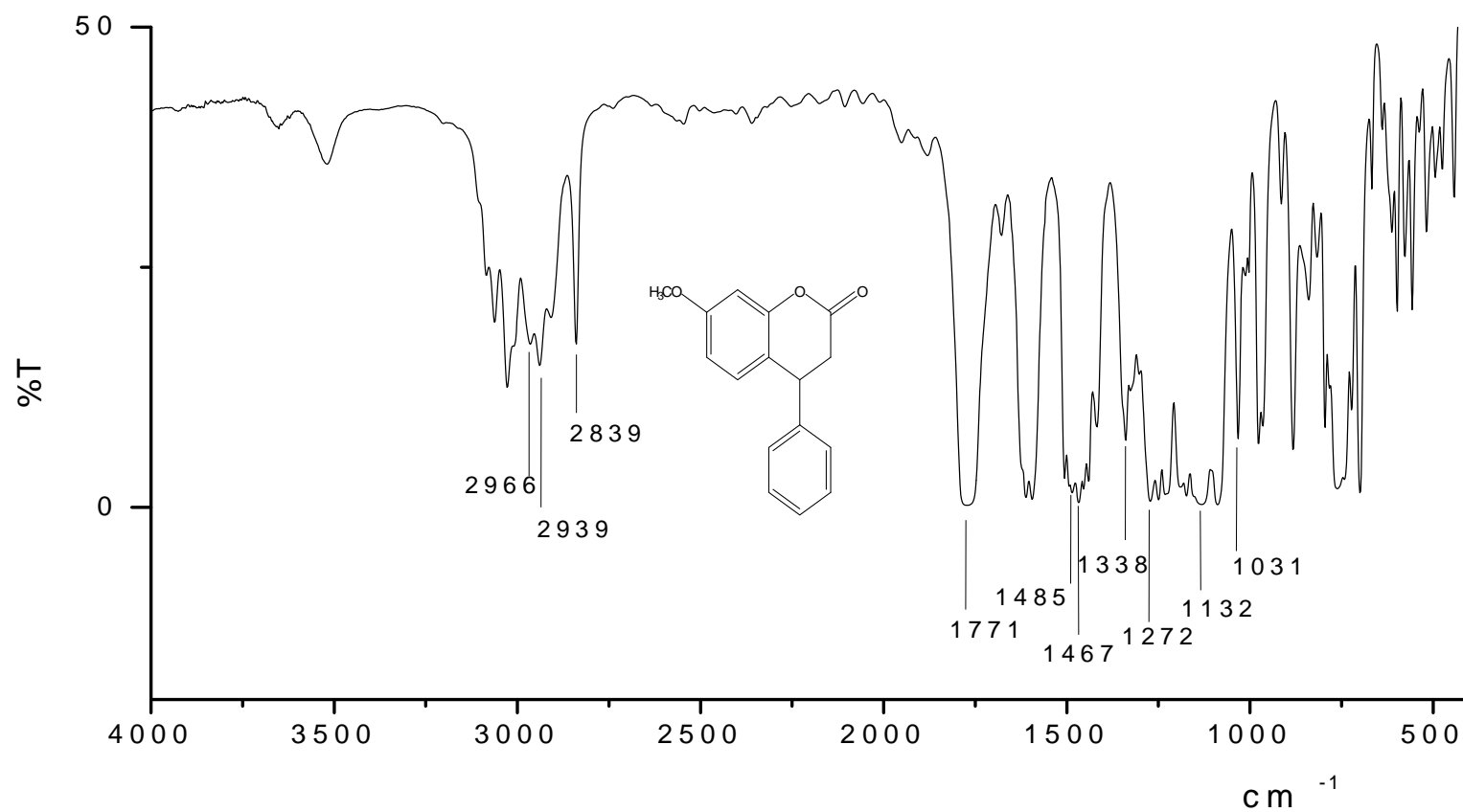


Anexo 17. Espectro de IV (em filme) do composto **55c**.

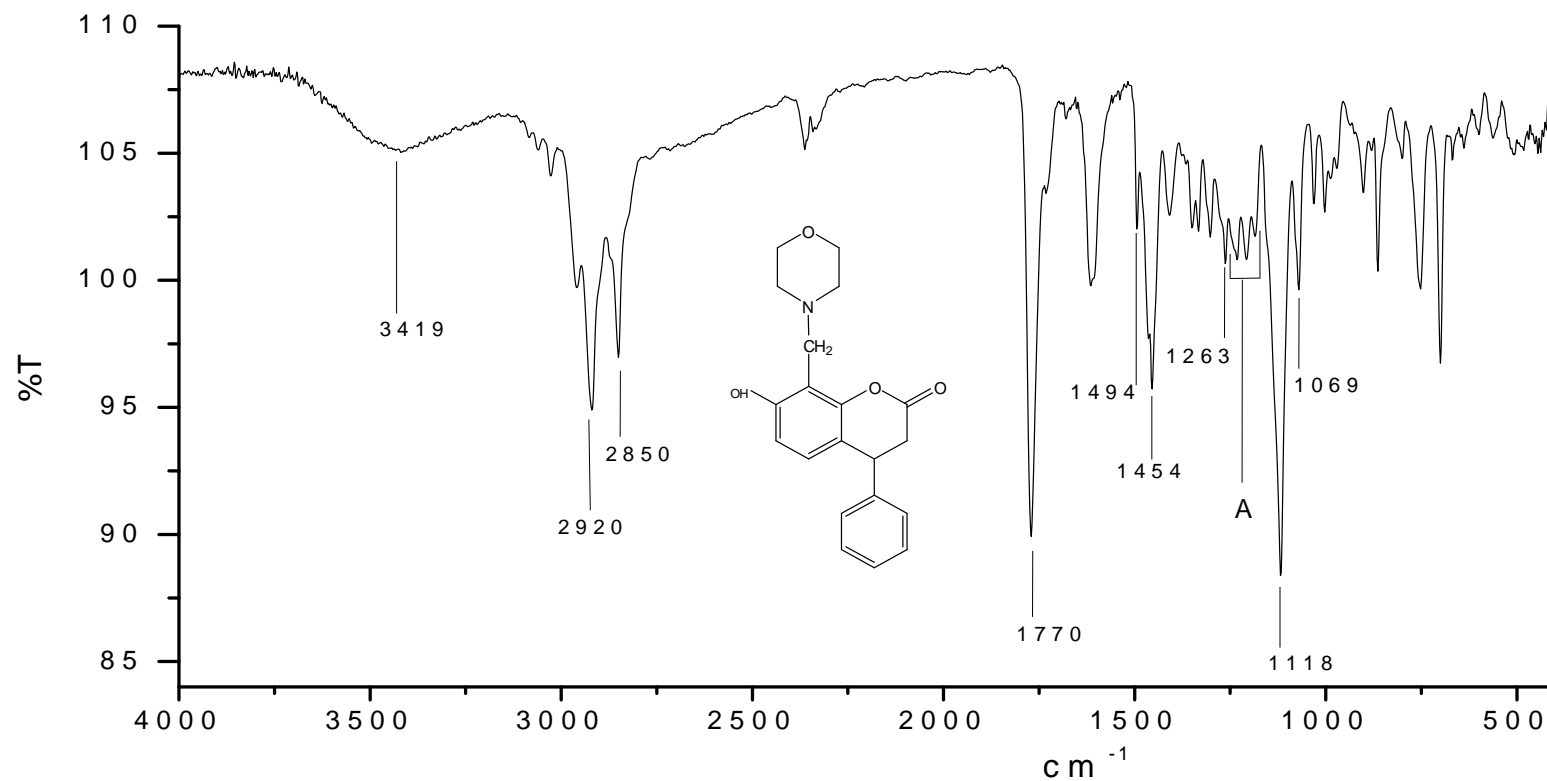




Anexo 18. Espectro de IV (em filme) do composto **55d**

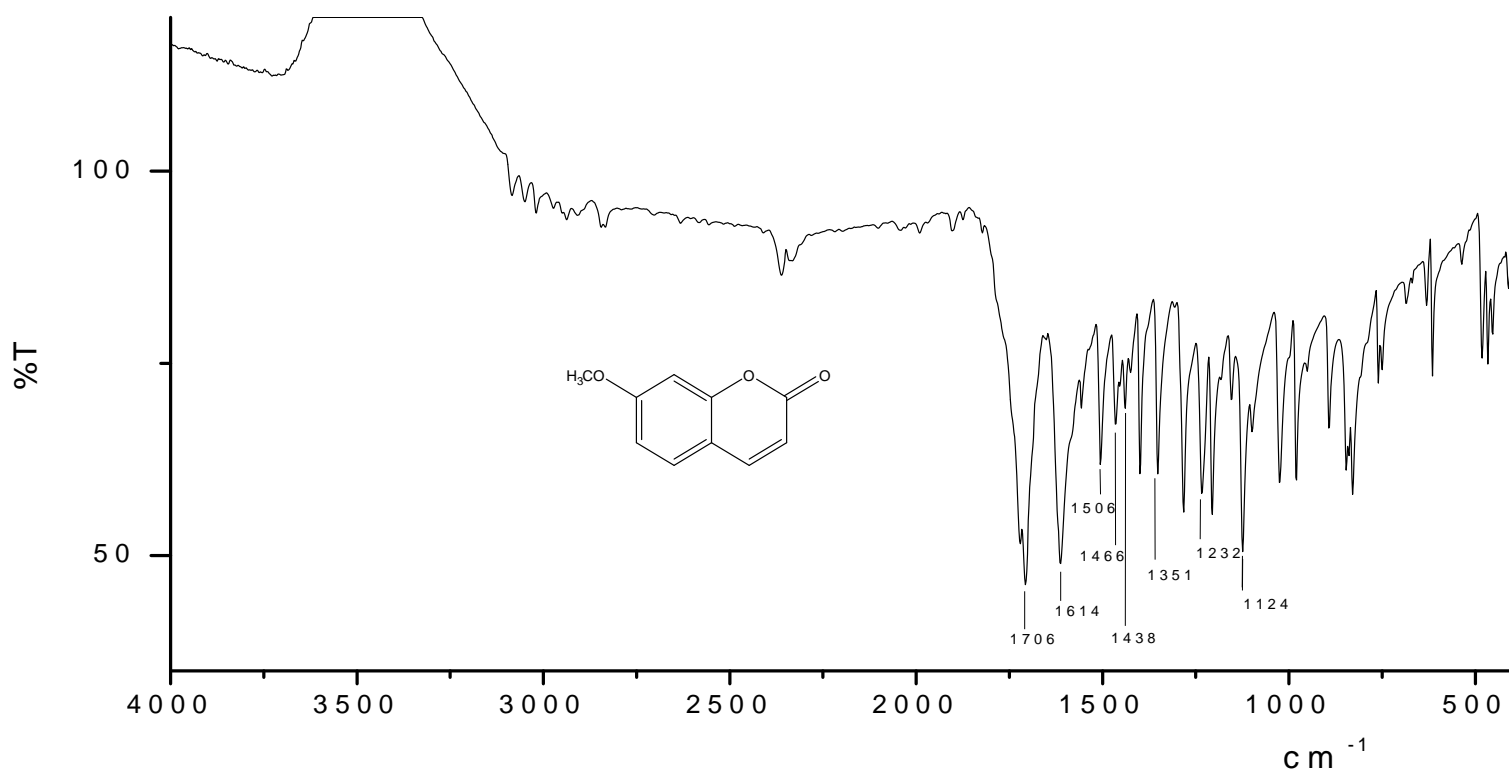


Anexo 19. Espectro de IV (em filme) do composto **55e**

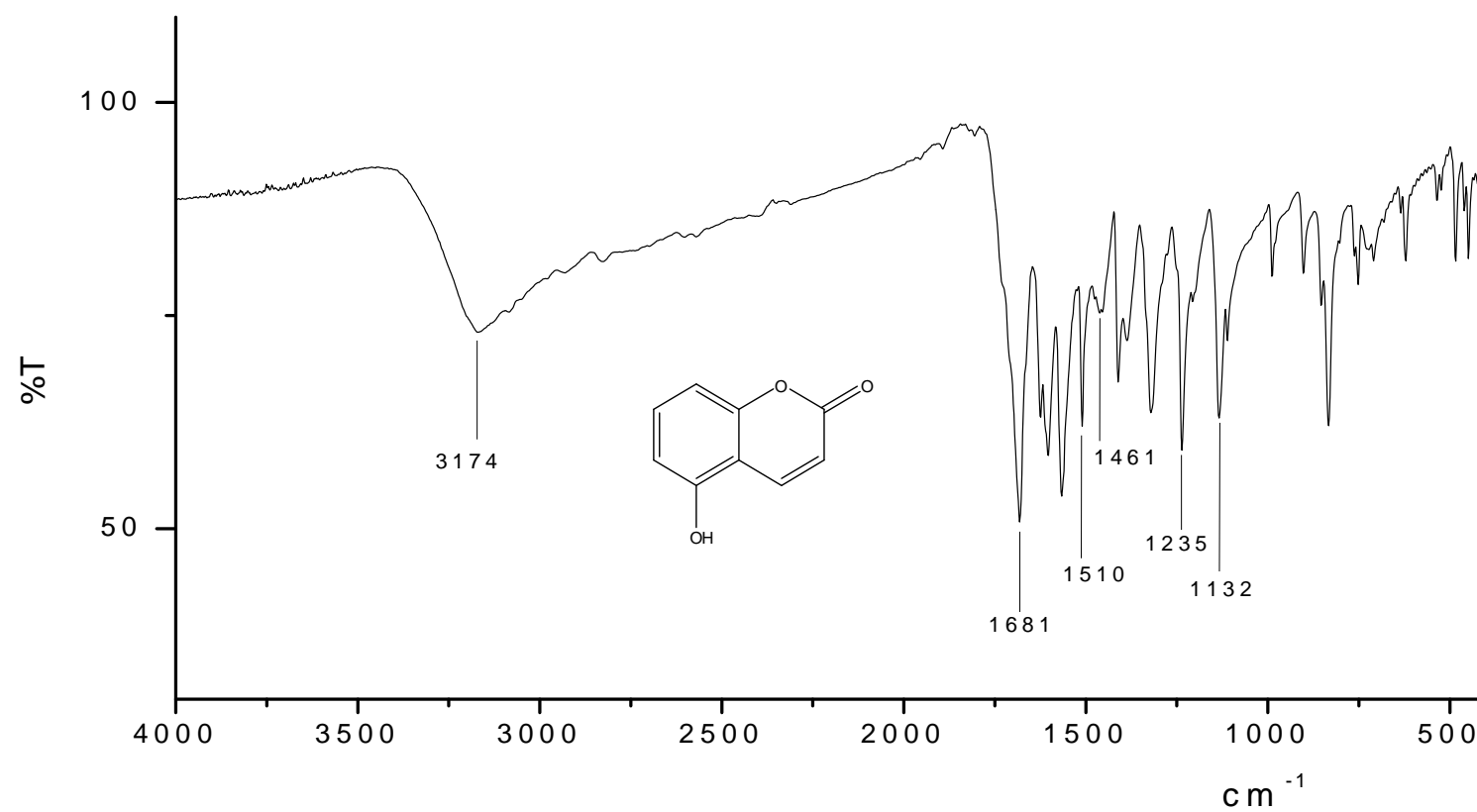


A : 1231, 1208, 1185  $\text{cm}^{-1}$ , estiramento da ligação C-N

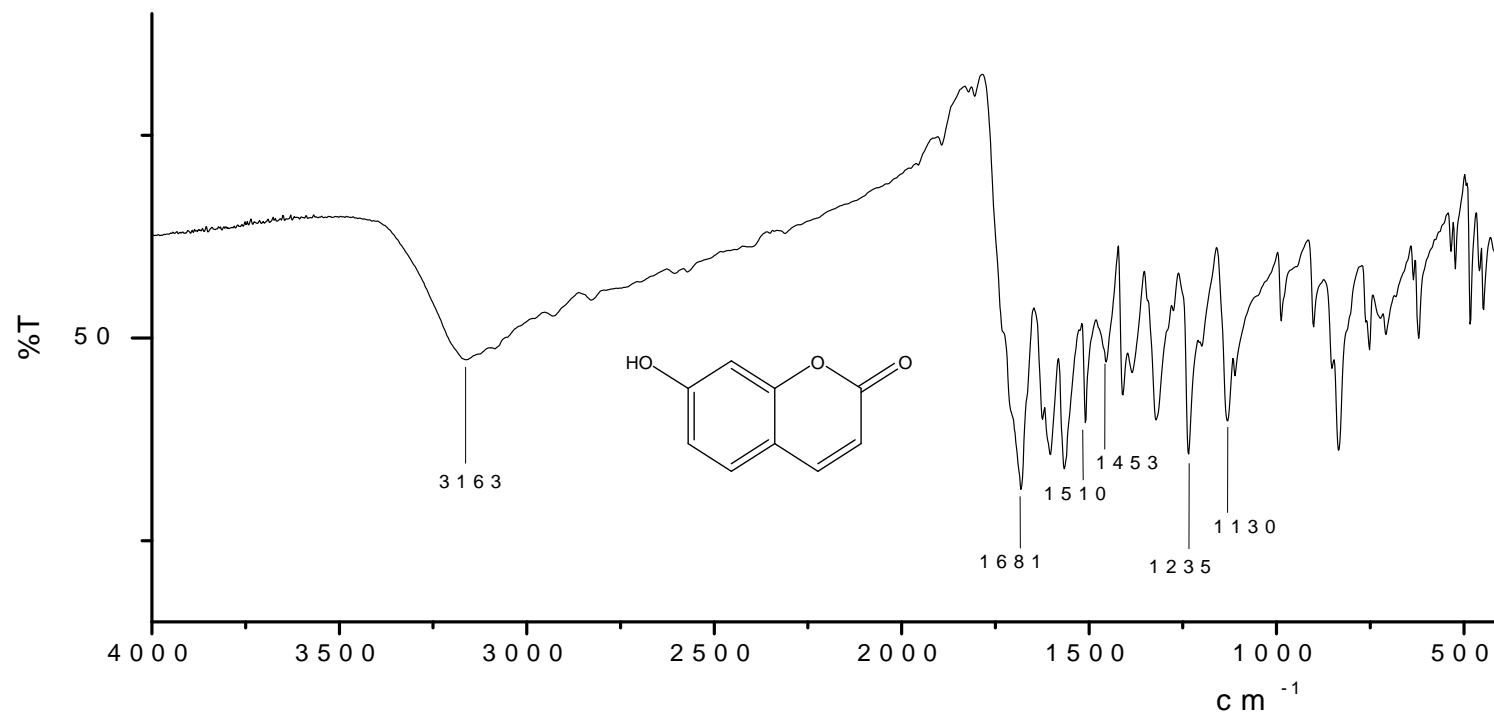
Anexo 20. Espectro de IV (em filme) do composto **60**.



Anexo 21. Espectro de IV (em KBr) do composto **44a**.



Anexo 22. Espectro de IV (em KBr) do composto **44b**



Anexo 23. Espectro de IV (em KBr) do composto **44c**.