



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**Síntese de carboxi-chalconas com ação inibitória de proteínas
tirosina fosfatase de *Mycobacterium tuberculosis***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Luiz Felipe Schmitz de Souza

**Florianópolis
Fevereiro 2014**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Souza, Luiz Felipe Schmiz de
Síntese de carboxi-chalconas com ação inibitória de
proteínas tirosina fosfatase de *Mycobacterium tuberculosis*
/ Luiz Felipe Schmiz de Souza ; orientador, Ricardo José
Nunes - Florianópolis, SC, 2014.
130 p.

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

Inclui referências

1. Química. 2. Síntese Chalconas. 3. *Mycobacterium
tuberculosis*. 4. Proteína Tirosina Fosfatase. I. Nunes,
Ricardo José. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Luiz Felipe Schmitz de Souza

**Síntese de carboxi-chalconas com ação inibitória de proteínas
tirosina fosfatase de *Mycobacterium tuberculosis***

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Química**.

Área de concentração: Química Orgânica e Medicinal
Orientador: Prof. Dr. Ricardo José Nunes

Florianópolis
Fevereiro/2014

Luiz Felipe Schmitz de Souza

**Síntese de carboxi-chalconas com ação inibitória de proteínas
tirosina fosfatase de *Mycobacterium tuberculosis***

Esta Dissertação de Mestrado foi julgada e aprovada como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 26 de fevereiro de 2014.

Prof. Dr. Hugo Alejandro Gallardo Olmedo
(Coordenador do Programa)

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Ricardo José Nunes (Orientador)

Prof. Dra. Maria da Graça Nascimento

Prof. Dra. Michele Debiasi Alberton
(FURB)

Prof. Dr. Santiago Francisco Yunes

Florianópolis
Fevereiro/2014

*À minha família pelo
amor incondicional.*

*À Bárbara minha companheira
pelo apoio sem dimensões.*

AGRADECIMENTOS

Como é complexo expressar gratidão em frases ou palavras pela ajuda fornecida para terminar mais uma jornada. Acho que não existem palavras corretas, mas sim palavras sinceras. Aqui deixo registrado o meu muito obrigado!

À Deus por todos os lindos frutos colhidos durante os últimos anos, tanto na vida pessoal quanto profissional. Pela minha saúde e pela minha família, que tanto amo.

Queria explicitar o meu amor e gratidão pelo apoio de minha família, em todos os momentos, bons ou não. Agradecer aos meus pais, Luiz Schmitz e Lucemar (vulgo, Má), pelo apoio emocional e muitas vezes financeiro. Aos meus irmãos, João Pedro e Flávia, companheiros para toda vida.

À minha noiva Bárbara, por quase nove anos de companheirismo, lealdade e muito amor. Você é parte de mais esta vitória!

Aos meus amigos pelo apoio dedicado nos momentos bons e principalmente nos momentos de dificuldades. Pelo carinho demonstrado através de emails, mensagens ou telefonemas.

Ao meu querido orientador Dr. Ricardo José Nunes, que comanda o grupo Estrutura e Atividade (LEAT), queria agradecer e dizer: que sou eternamente grato pelos ensinamentos transmitidos, por acreditar no meu potencial e pela amizade.

Aos integrantes do LEAT, em especial à Dra. Louise Domeneghini Chiaradia Delatorre e doutoranda Patrícia Devantier Neuenfeldt (minha Best friend), pela troca de conhecimento, pelo convívio em laboratório, pelas dicas, informações e opiniões para aprimorar ainda mais este trabalho, e claro pela amizade!

Aos membros da banca, Profa. Dra. Maria da Graça Nascimento, Prof. Dr. Santiago Francisco Yunes e Profa. Dra. Michele Debiasi Alberton que prontamente e com muito carinho aceitaram avaliar esta dissertação.

Ao Departamento de Química, pelo espaço físico e funcionários do departamento que proporcionaram o andamento desta pesquisa. Em especial aos funcionários da Pós-graduação, Jadir e Grace, pela ajuda nos trâmites burocráticos envolvidos. À Central de Análises do Departamento de Química da UFSC pelas análises espectroscópicas das chalconas. Ao pessoal do CEBIME que fez as análises biológicas e espectros de massas das chalconas, em especial à Elis. Ao Professor

Hernán Terenzi em cujo o laboratório foram realizados os ensaios biológicos.

E por fim, à CAPES pelo apoio financeiro, que proporcionou a produção dos compostos presentes neste trabalho. E todos que, direta ou indiretamente, ajudaram na realização desta pesquisa.

*"Para realizar grandes conquistas,
devemos não apenas agir, mas também sonhar;
não apenas planejar, mas também acreditar."
(Anatole France)*

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	16
LISTA DE ABREVIATURAS	23
RESUMO.....	24
ABSTRACT.....	25
1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Química Medicinal e Planejamento de Fármacos Sintéticos	16
1.2 Tuberculose	17
1.3 Proteínas tirosina fosfatases PtpA e PtpB de <i>Mycobacterium</i> tuberculosis	21
1.4 Chalconas	23
2. OBJETIVOS	29
2.1 Objetivos Gerais.....	29
2.2 Objetivos Específicos.....	29
3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	30
3.1 Instrumentação	30
a) Ponto de Fusão (p.f.)	30
b) Espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹ H e ¹³ C.....	30
c) Espectros de Massas (EM)	30
d) Micro-ondas	31
3.2 Técnicas Cromatográficas e de Recristalização	31
a) Cromatografia em Camada Delgada	31
b) Recristalização	31
3.3 Síntese das Chalconas	32
a) Via ácida.....	32
b) Via básica com catalisador sólido	32
c) Via básica com catalisador dissolvido em água	33
d) Via básica em micro-ondas sendo o solvente etanol	33
3.4 Hidrólise ácida dos compostos obtidos por via ácida.....	34
3.5 Ensaio Biológicos	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Apresentação dos compostos.....	36
4.2 Síntese das chalconas utilizando o catalisador básico (KOH _(50%)) em meio aquoso	38

4.3	Síntese das chalconas utilizando o catalisador ácido (PTSA).....	41
4.4	Síntese das chalconas utilizando o catalisador hidróxido de potássio (KOH) sólido	44
4.5	Síntese das chalconas utilizando o catalisador básico (KOH _(50%)) e micro-ondas.	45
4.6	Ensaio Biológico	72
5.	CONCLUSÕES	74
6.	PERSPECTIVAS	75
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
	ANEXOS.....	80
	Anexo 1. Estruturas obtidas, códigos e seus respectivos químicos...	82
	Anexo 2. Espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C das estruturas obtidas...	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Nomenclatura dos compostos sintetizados.....	36
Tabela 2. Chalconas com seus respectivos substituintes não sintetizadas.	38
Tabela 3. Chalconas obtidas pela metodologia via básica com catalisador dissolvido em água, rendimentos e ponto de fusão.....	39
Tabela 4. Chalconas obtidas pela via ácida, rendimentos e ponto de fusão.....	42
Tabela 5. Valores de ponto de fusão dos compostos obtidos após a hidrólise comparados com os compostos obtidos via básica e via ácida.	43
Tabela 6. Chalconas obtidas pela via básica com catalisador sólido, rendimentos e ponto de fusão.....	45
Tabela 7. Chalconas obtidas pela metodologia via básica com catalisador dissolvido em água e utilizando o micro-ondas, rendimentos e ponto de fusão.	46
Tabela 8. Chalconas obtidas por diferentes metodologias e suas respectivas cores.	47
Tabela 9. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q1VA.....	49
Tabela 10. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q1VB.	50
Tabela 11. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q2VA.....	51
Tabela 12. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q2VB.	52
Tabela 13. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q3MC.	53
Tabela 14. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q4MC.	54
Tabela 15. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q5VA.....	55
Tabela 16. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q5VB.	56
Tabela 17. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q6VBR.	57
Tabela 18. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q7VBR.	58
Tabela 19. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q8VBR.	59
Tabela 20. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q9MC.	60
Tabela 21. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q15VB.	61
Tabela 22. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q16VB.	62
Tabela 23. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q17VB.	63
Tabela 24. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q18VA.....	64
Tabela 25. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q19VB.	65

Tabela 26. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q20VB.	66
Tabela 27. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q22VB.	67
Tabela 28. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q23VB.	68
Tabela 29. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q26VB.	69
Tabela 30. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q30VB.	70
Tabela 31. Dados de espectrometria de massas das chalconas.....	71
Tabela 32. Dados dos testes biológicos realizados com as chalconas sintetizadas.	72
Tabela 33. Estruturas obtidas com respectivos nomes e códigos.	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estimativa de casos de HIV correlacionados com novos casos de tuberculose (OMS, 2012).	18
Figura 2. Estimativa de incidência de tuberculose no mundo segundo dados da OMS. (OMS, 2012).....	19
Figura 3. Fármacos de primeira escolha utilizados no tratamento da tuberculose.	20
Figura 4. Estruturas de alguns medicamentos de segunda escolha utilizados no tratamento contra tuberculose.....	21
Figura 5. Estrutura das proteínas tirosina fosfatase A (PTPA) e B (PTPB), respectivamente (Madhurantakam et al., 2005; Grundner et al., 2005).	22
Figura 6. Mecanismo ilustrativo da ação da proteína tirosina fosfatase do M. tuberculosis.....	23
Figura 7. Núcleo fundamental das chalconas.....	24
Figura 8. Composto QPadrão (E)-4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-em-1-il) (Chiaradia et al., 2012), utilizando como base para elaborar a série de chalconas sintetizadas.	28
Figura 9. Espectro RMN ^1H do composto Q1VA	87
Figura 10. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q1VA.	87
Figura 11. Espectro RMN ^{13}C do composto Q1VA.....	88
Figura 12. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q1VA.	88
Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C do composto Q1VB.	89
Figura 14. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q1VB.	89
Figura 15. Espectro RMN ^1H do composto Q1VB.	90
Figura 16. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q1VB.	90
Figura 17. Espectro RMN ^{13}C do composto Q2VA.....	91
Figura 18. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q2VA.	91
Figura 19. Espectro RMN ^1H do composto Q2VA.....	92
Figura 20. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q2VA.	93
Figura 21. Espectro RMN ^{13}C do composto Q2VB.....	93
Figura 22. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q2VB.	93
Figura 23. Espectro RMN ^1H do composto Q2VB.....	94
Figura 24. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q2VB.	94
Figura 25. Espectro RMN ^{13}C do composto Q3MC.	95

Figura 26. Segunda ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q3MC.....	96
Figura 27. Espectro RMN ^1H do composto Q3MC.....	96
Figura 28. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q3MC.....	96
Figura 29. Segunda ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q3MC.....	97
Figura 30. Espectro RMN ^{13}C do composto Q4MC.....	97
Figura 31. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q4MC.....	98
Figura 32. Espectro RMN ^1H do composto Q4MC.....	98
Figura 33. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q4MC.....	99
Figura 34. Espectro RMN ^{13}C do composto Q5VA.....	99
Figura 35. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q5VA.....	100
Figura 36. Espectro RMN ^1H do composto Q5VA.....	100
Figura 37. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q5VA.....	101
Figura 38. Espectro RMN ^{13}C do composto Q5VB.....	101
Figura 39. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q5VB.....	102
Figura 40. Espectro RMN ^1H do composto Q5VB.....	102
Figura 41. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q5VB.....	103
Figura 42. Espectro RMN ^{13}C do composto Q6VBR.....	103
Figura 43. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q6VBR.....	104
Figura 44. Espectro RMN ^1H do composto Q6VBR.....	104
Figura 45. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q6VBR.....	105
Figura 46. Espectro RMN ^{13}C do composto Q7VBR.....	105
Figura 47. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q7VBR.....	106
Figura 48. Espectro RMN ^1H do composto Q7VBR.....	106
Figura 49. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q7VBR.....	107
Figura 50. Espectro RMN ^{13}C do composto Q8VBR.....	107
Figura 51. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q8VBR.....	108
Figura 52. Espectro RMN ^1H do composto Q8VBR.....	108
Figura 53. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q8VBR.....	109
Figura 54. Espectro de RMN ^{13}C do composto Q9MC.....	109
Figura 55. Ampliação do espectro de RMN ^{13}C do composto Q9MC.....	110
Figura 56. Espectro RMN ^1H do composto Q9MC.....	110
Figura 57. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q9MC.....	111
Figura 58. Espectro RMN ^{13}C do composto Q15VB.....	111

Figura 59. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q15VB. ...	112
Figura 60. Espectro RMN ^1H do composto Q15VB.	112
Figura 61. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q15VB. ...	113
Figura 62. Segunda ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q15VB.	113
Figura 63. Espectro RMN ^{13}C do composto Q16VB.	114
Figura 64. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q16VB. ...	114
Figura 65. Espectro RMN ^1H do composto Q16VB.	115
Figura 66. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q16VB. ...	115
Figura 67. Espectro RMN ^1H do composto Q17VB.	116
Figura 68. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q17VB. ...	117
Figura 69. Espectro RMN ^{13}C do composto Q17VB.	117
Figura 70. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q17VB. ...	117
Figura 71. Espectro RMN ^{13}C do composto Q18VA.	118
Figura 72. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q18VA. ...	118
Figura 73. Espectro RMN ^1H do composto Q18VA.	119
Figura 74. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q18VA. ...	119
Figura 75. Segunda ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q18VA.	120
Figura 76. Espectro RMN ^{13}C do composto Q19VB.	120
Figura 77. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q19VB. ...	121
Figura 78. Espectro de RMN ^1H do composto Q19VB.	121
Figura 79. Espectro RMN ^1H do composto Q20VB.	122
Figura 80. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q20VB. ...	123
Figura 81. Espectro RMN ^{13}C do composto Q22VB.	123
Figura 82. Ampliação do espectro de RMN ^{13}C do composto Q22VB.	124
Figura 83. Espectro de RMN ^1H do composto Q22VB.	124
Figura 84. Ampliação do espectro de RMN ^1H do composto Q22VB.	125
Figura 85. Espectro RMN ^{13}C do composto Q23VB.	125
Figura 86. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q23VB. ...	126
Figura 87. Espectro RMN ^1H do composto Q23VB.	126
Figura 88. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q23VB. ...	127
Figura 89. Espectro RMN ^{13}C do composto Q26VB.	127
Figura 90. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q26VB. ...	128

Figura 91. Espectro RMN ^1H do composto Q26VB.	128
Figura 92. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q26VB.....	129
Figura 93. Espectro RMN ^{13}C do composto Q30VB.	129
Figura 94. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q30VB....	130
Figura 95. Espectro RMN ^1H do composto Q30VB.	130
Figura 96. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q30VB.....	131

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Mecanismo da condensação aldólica, via básica, com formação do intermediário aldol.	25
Esquema 2. Mecanismo de ataque do catalisador sobre o intermediário, acarretando na formação da chalcona e formação de água.	25
Esquema 3. Mecanismo de condensação aldólica fazendo uso de um catalisador ácido.....	26
Esquema 4. Síntese geral das chalconas desenhadas para o presente trabalho.	28
Esquema 5. Condições reacionais utilizadas para a condensação aldólica por via básica utilizando catalisador aquoso.	39
Esquema 6. Condições reacionais utilizadas para a condensação aldólica por via ácida.....	42
Esquema 7. Condições reacionais utilizadas para a condensação aldólica por via básica utilizando catalisador sólido.	44
Esquema 8. Condições reacionais utilizadas para a condensação aldólica em micro-ondas.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

APPI	<i>Atmospheric Pressure Photo-Ionization</i>
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
ddd	Duplo duplo dubleto
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EM	Espectrometria de massas
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
$\text{IC}_{50\%}$	Concentração inibitória de 50%
<i>J</i>	Constante de acoplamento (Hz)
MC	Microondas
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
p.f.	Ponto de fusão
ppm	parte por milhão
Ptp	Proteína tirosina fosfatase
PTP1B	Proteína tirosina fosfatase 1B (humana)
PtpA	Proteína tirosina fosfatase A (de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)
PTPases	Proteínas fosfotirosina fosfatases
PtpB	Proteína tirosina fosfatase B (de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)
PTSA	Ácido <i>p</i> -tolueno sulfônico
RMN^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<i>sl</i>	Singleto largo
TB	Tuberculose
δ	Deslocamento químico (em ppm)
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VA	Via ácida
VB	Via básica

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo principal a síntese e caracterização de 22 chalconas derivadas do 4-carboxibenzaldeído, e avaliação da sua atividade biológica frente às enzimas PtpA e PtpB de *Mycobacterium tuberculosis*. As chalconas foram sintetizadas através do método de condensação de Claisen-Schmidt, utilizando quatro condições reacionais distintas. Todas as chalconas foram caracterizadas através de espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , ponto de fusão e espectros de massa (EM). As chalconas obtidas por via ácida (VA) forneceram primeiramente produtos esterificados, que foram hidrolisados para obter as chalconas com carboxila livre, que foram confirmadas pelo ponto de fusão. Entre as 22 chalconas obtidas, 13 são inéditas Q1VA, Q2VA, Q5VA, Q18VA, Q16VB, Q17VB, Q20VB, Q22VB, Q26VB, Q7VBR, Q3MC, Q4MC e Q9MC. As chalconas Q22VB e Q26VB foram as que apresentaram melhor atividade biológica frente às enzimas PtpA e PtpB de *Mycobacterium tuberculosis*. O composto Q23VB, análogo ao composto (*E*)-4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-en-il) benzóico (*QPadrão*) anteriormente publicado pelo grupo e que tem alta atividade frente a estas enzimas, não teve atividade significativa.

ABSTRACT

This work aimed to the synthesis and characterization of 22 chalcones derived from 4 - carboxybenzaldehyde , and evaluation of their biological activity against PTPA and PTPB Mycobacterium tuberculosis enzymes . The chalcones were synthesized by the method of Claisen - Schmidt condensation using four different reaction conditions . All chalcones were characterized by nuclear magnetic resonance spectra (NMR) ^1H and ^{13}C NMR , melting point and mass spectra (MS). The chalcones obtained via acid (VA) provided first esterified product , which was hydrolyzed to obtain chalcones with free carboxyl , which was confirmed by melting point. Among the 22 chalcones obtained , 13 are new Q1VA , Q2VA , Q5VA , Q18VA , Q16VB , Q17VB , Q20VB , Q22VB , Q26VB , Q7VBR , Q3MC , Q4MC and Q9MC . The Q22VB and Q26VB chalcones showed the best biological activity against PTPA and PTPB Mycobacterium tuberculosis enzymes . The compound Q23VB , analogous to compound (*E*)-4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-en-il) benzóico (QPadrão) previously published by the group and has high activity against these enzymes had no significant activity.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Química Medicinal e Planejamento de Fármacos Sintéticos

Desde tempos remotos a humanidade aprendeu a utilizar os compostos químicos presentes principalmente em plantas, com fins de curas para enfermidades ou em rituais festivos (Nogueira et al., 2009). Com a evolução da química, e sendo ela subdivida em áreas, uma das que evoluiu e evolui com o passar dos anos, é a Química Medicinal.

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (da sigla inglesa IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*), a química medicinal é uma disciplina com base em química, envolvendo a invenção, a descoberta, o planejamento, a identificação, a preparação e a interpretação do mecanismo de ação molecular de compostos biologicamente ativos. Além da descoberta de moléculas bioativas, a química medicinal também incorpora os estudos do metabolismo e das relações entre a estrutura química e atividade (Guido, et al., 2008). A Química Medicinal correlaciona a estrutura química com a atividade farmacológica, o que a torna uma área multidisciplinar, envolvendo inúmeras outras áreas, como: bioquímica, biologia molecular, química computacional, físico-química, entre outras (Amaral e Montanari, 2002).

A Química Medicinal é subdivida em etapas (Imming, 2008):

- *etapa de descobrimento*: desenvolvimento de compostos ativos relacionando com o alvo biológico.
- *etapa de otimização*: aprimoramento dos compostos a fim de potencializar a seletividade e diminuir a toxicidade.
- *etapa de desenvolvimento*: planejamento de rotas sintéticas que facilitem a produção em larga escala e as modificações necessárias (solubilidade, absorção, sabor, irritação) para o uso clínico.

A Química Medicinal, tem possibilitado a introdução de novos agentes terapêuticos. Entretanto, a produção industrial de tais agentes exige um conhecimento dos mecanismos que regem as reações químicas, a interação com catalisadores e métodos especializados de purificação e identificação dos fármacos. (Andrei, et al., 2003).

O processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos é complexo, longo e de alto custo, tendo suas raízes profundamente ligadas às inovações científicas e tecnológicas (Guido, et al., 2008). O

processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos, é dividido em duas grandes fases:

- Primeira fase: descoberta, também conhecida como pré-clínica ou pesquisa básica;
- Segunda fase: desenvolvimento ou clínica (Lombardinho, et al.,2004).

Nos estágios iniciais da fase de descoberta, as pesquisas se concentram geralmente na identificação e otimização de moléculas pequenas capazes de representar novas entidades químicas com potencial de desenvolvimento clínico. O planejamento de candidatos a possíveis fármacos se inicia pela escolha do alvo molecular, seleção de moléculas para intervenção, otimização da estrutura química, testes biológicos e outros passos de ensaios clínicos (Rang et al., 2004). O aprimoramento de fármacos é de grande importância para o desenvolvimento econômico e social do país. Dessa forma, a Química Medicinal, responsável pelo desenho e obtenção de novos fármacos, ganha destaque.

1.2 Tuberculose

A bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) é o agente causador da tuberculose (TB), doença que afeta principalmente os pulmões, provocando problemas respiratórios. A TB é uma doença milenar, existem relatos da doença no Egito antigo, na Grécia e Roma antiga.(Nogueira, 2012). A tuberculose é classificada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a segunda principal causa de morte por uma doença infecciosa em todo o mundo, sendo a primeira o vírus da imunodeficiência humana (HIV).

O HIV e a tuberculose possuem uma relação direta, pois pessoas que adquirem o HIV ficam mais suscetíveis à infecção pela micobactéria. A figura 1 mostra a correlação de incidência do HIV correlacionado com o *M. tuberculosis*.

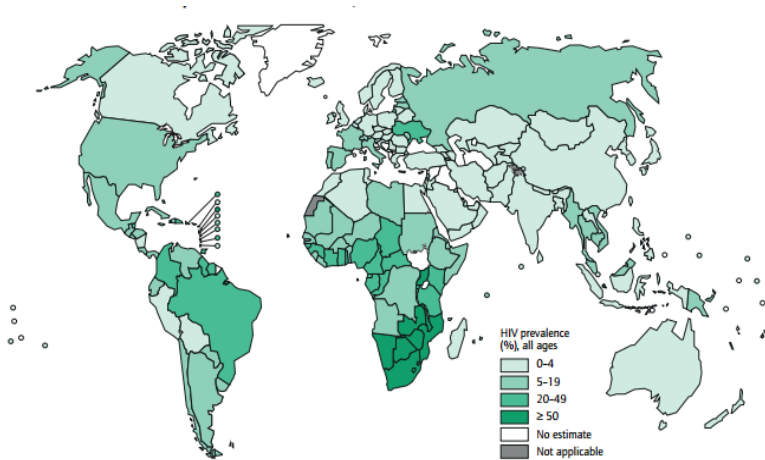


Figura 1. Estimativa de casos de HIV correlacionados com novos casos de tuberculose (OMS, 2012).

As últimas estimativas são de que ocorreram quase 9 milhões de novos casos e 1,4 milhões de mortes por tuberculose em 2011 (990.000 pessoas sem o vírus HIV e 430.000 mortes por tuberculose associada a pessoas portadoras do vírus HIV) (OMS 2012).

Pelas estimativas da OMS, as regiões do globo terrestre que sofreram a maior incidência de casos de tuberculose em 2011, foram a Ásia (59%), África (26%), e em uma escala menor, a Região do Mediterrâneo Oriental (7,7%), a Europa (4,3%) e as Américas (3%). (Figura 2)

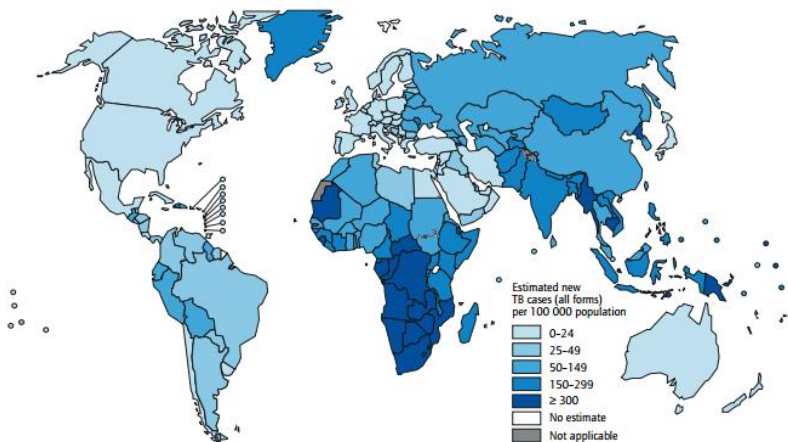


Figura 2. Estimativa de incidência de tuberculose no mundo segundo dados da OMS. (OMS, 2012).

Em 1993, a OMS desenvolveu uma estratégia para combater a tuberculose, sendo esta dividida em um pacote de cinco componentes compreendendo:

- ✓ o compromisso político;
- ✓ o diagnóstico usando baciloscopia microscópica;
- ✓ o fornecimento regular de fármacos anti-TB de primeira escolha;
- ✓ quimioterapia de curta duração;
- ✓ um sistema padrão para gravar e relatar o número de casos detectados por programas nacionais de controle da TB e os resultados do tratamento.

Com essa estratégia, o sucesso do tratamento chegou a 85%, e para isso uma etapa relatada pela OMS é o fornecimento regular dos fármacos de primeira escolha. Os fármacos de primeira escolha são utilizados em período de tratamento de 6 a 9 meses. Incluem estes fármacos a isoniazida, a rifampicina, o etambutol e a pirazinamida, que estão apresentados na figura 3 (Nogueira, 2012).

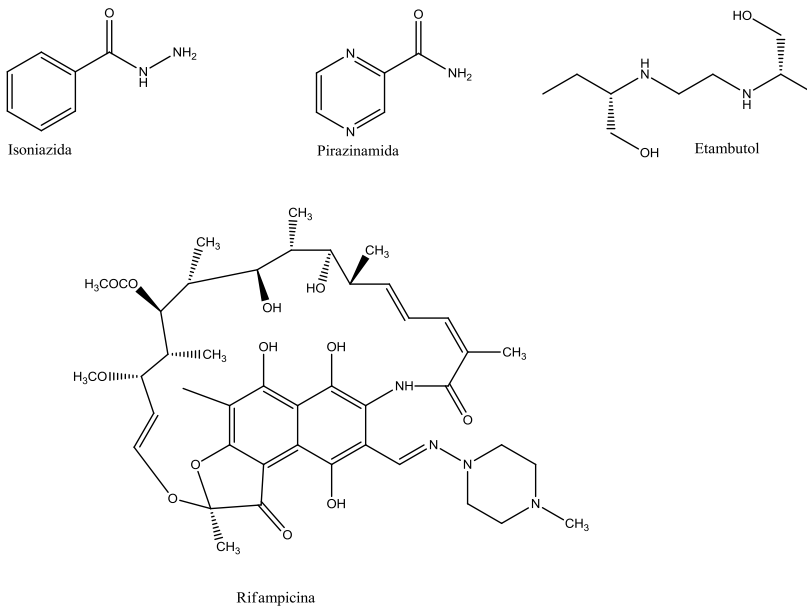


Figura 3. Fármacos de primeira escolha utilizados no tratamento da tuberculose.

Apesar disso, algumas cepas de *M. tuberculosis* tem apresentado resistência aos antibióticos de primeira. Sendo assim, é necessária a utilização dos fármacos de segunda escolha. Essa classe de fármacos é utilizada por um período de tratamento maior, entre 18 a 24 meses, e apresenta toxicidade e custo muito mais elevado quando comparados aos fármacos de primeira escolha. Os medicamentos de segunda escolha utilizados incluem etionoamida, cicloserina, ácido *p*-aminosalicílico e tiacetazona, que são apresentados na figura 4 (Nogueira, 2012).

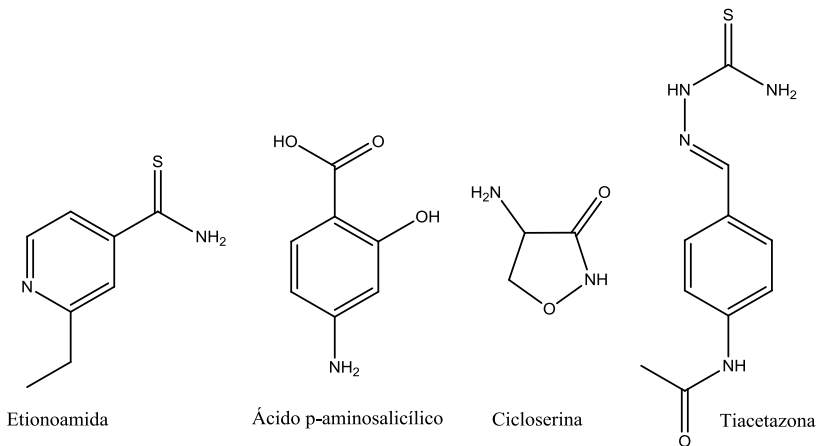


Figura 4. Estruturas de alguns medicamentos de segunda escolha utilizados no tratamento contra tuberculose.

Esses medicamentos matam a bactéria da tuberculose, ou seja, são medicamentos bactericidas. Assim o entendimento dos processos metabólicos e intracelulares do *M. tuberculosis* permitem o desenvolvimento de estratégias para a síntese de novos compostos, que possam agir por mecanismos diferentes daqueles conhecidos para os antibacterianos atuais, e possam tornar-se novos fármacos.

1.3 Proteínas tirosina fosfatases PtpA e PtpB de *Mycobacterium tuberculosis*

Sabe-se que a sobrevivência do *M. tuberculosis* está relacionada diretamente com a liberação de proteínas tirosina fosfatase (PTPs) no seu hospedeiro. A ação de fosfatases, em particular PTPs, tem um importante papel na determinação da patogenicidade das micobactérias, interferindo na sinalização celular do macrófago mediada por fosforilação/desfosforilação de resíduos de tirosinas (Koul et al., 2000; Bakal e Davies, 2000; Cozzone et al., 2004).

O *M. tuberculosis* possui duas PTPs: a PtpA, que é classificada como uma proteína de baixo peso molecular (Madhurantakam et al., 2005), que desfosforila especificamente resíduos de tirosina (Cowley et al., 2002); e a PtpB, que enquadra-se como uma PTP com tripla

especificidade (Grundner et al., 2005; Beresford et al., 2007), que catalisa a desfosforilação de resíduos de serina/treonina, tirosina e inositídeos. Na figura 5 estão ilustradas as estruturas destas duas proteínas (Madhurantakam et al., 2005; Grundner et al., 2005).

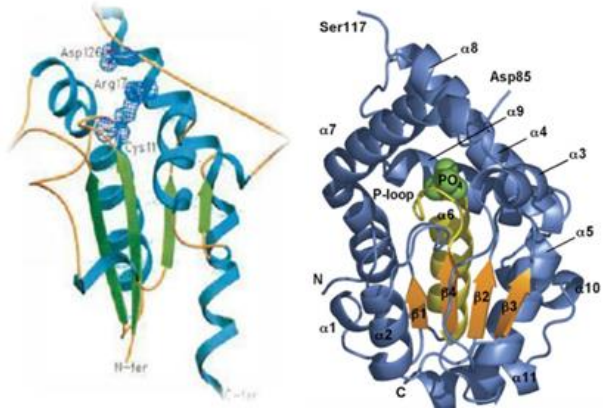


Figura 5. Estrutura das proteínas tirosina fosfatase A (PTPA) e B (PTPB), respectivamente (Madhurantakam et al., 2005; Grundner et al., 2005).

O mecanismo de ação da PtpB ainda não foi bem esclarecido, sabe-se apenas que ela atua diminuindo as concentrações de p-p38, p-ERK1/2, IL-6, Caspase 3 e aumentando a p-Akt como ilustrado pela figura 6. Mas o mecanismo de ação da PtpA já está descrito na literatura. Sabe-se que após a *M. tuberculosis* se instalar no seu hospedeiro, o mesmo é capturado pelo macrófago, sendo ele o primeiro sistema de defesa do corpo humano. Para evitar que o sistema de defesa do hospedeiro atue sobre a bactéria, a mesma libera as Ptps. A PtpA se liga ao H da V-ATPase (como apresentado na figura 6), desfosforilando a VPS33B impedindo então que ocorra a fusão entre o lisossomo e o fagossomo, responsáveis pela atuação do sistema imunológico contra as bactérias.

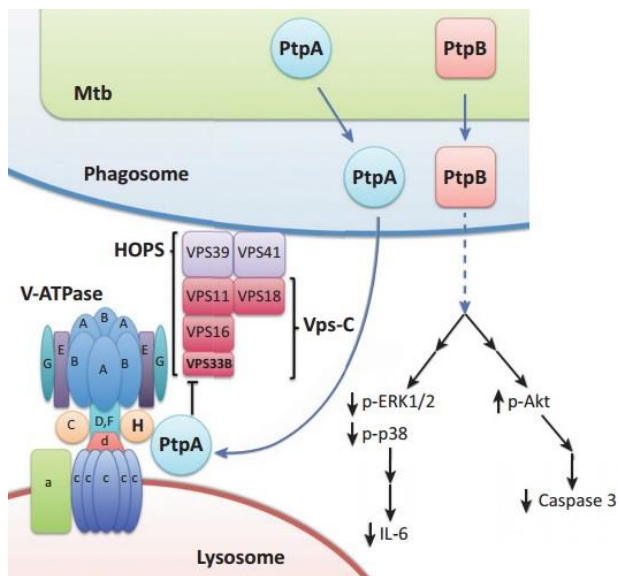


Figura 6. Mecanismo ilustrativo da ação da proteína tirosina fosfatase do *M. tuberculosis*.

Devido à importância da PtpA e da PtpB na virulência do *M. tuberculosis*, essas enzimas são alvos de pesquisas para o desenvolvimento de novos compostos a fim de realizar intervenções terapêuticas futuras.

1.4 Chalconas

Chalconas são estruturas que possuem como núcleo fundamental o 1,3- diarilpropano modificado pela presença de uma ligação olefínica, grupamento cetona e/ou hidroxila (Zuanazzi, 2001), apresentando o esqueleto C6-C3-C6 e os carbonos α e β denominados em função da carbonila (Figura 1). Naturalmente, são compostos com pigmentação amarela e estão presentes em todas as partes das plantas, sendo precursoras dos flavonóides (Dewick, 1997).

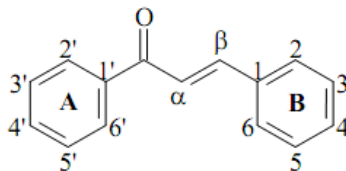


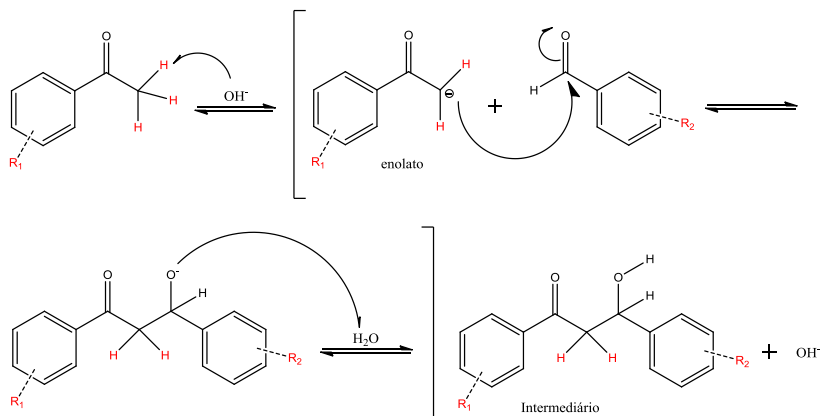
Figura 7. Núcleo fundamental das chalconas.

Podem ser obtidas sinteticamente através de métodos como o acoplamento de Suzuki (Eddarir et al., 2003) ou a condensação aldólica (condensação de Claisen-Schmidt) (Esquemas 1 e 2), na qual tradicionalmente os aldeídos e acetofenonas são misturados em um solvente prótico e reagem na presença de um catalisador ácido ou básico (Vogel, 1989).

A síntese das chalconas realizadas através da condensação aldólica pode ocorrer por diferentes condições reacionais (Bukhari et al., 2013):

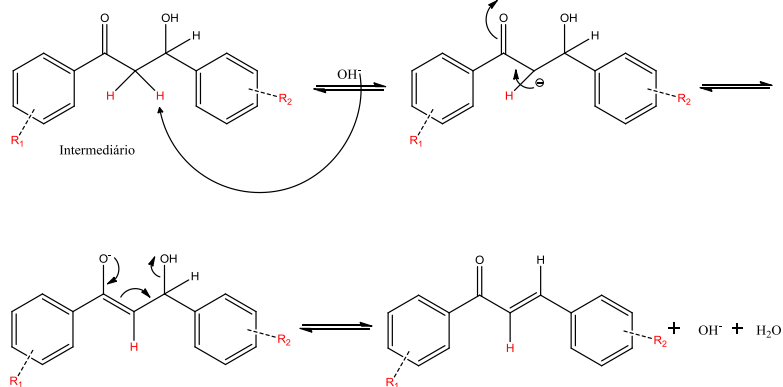
- Utilizando microondas, pequena quantidade de solventes e catalisadores básicos, fornecendo alto rendimento e seletividade;
- Utilizando catalisadores básicos sólidos calcinados e reidratados;
- Com soluções básicas aquosas com diferentes concentrações do catalisador (30%, 40%, 50%, por exemplo);
- Com a utilização de fosfato natural modificado com nitrato de sódio, proporcionando um catalisador extremamente básico, fornecendo altos rendimentos e seletividade;
- Utilizando catalisadores básicos sólidos, como: óxidos, hidrotalcitas, fosfatos e metais como lítio e magnésio;
- Utilizando catalisadores ácidos (sulfônicos).

O mecanismo da condensação aldólica (ou de Claisen-Schmidt) via catalisador básico se faz a partir do ataque do catalisador ao hidrogênio ácido da acetofenona, ocorrendo a formação de água, formando assim um íon (enolato). Este carbânion é prontamente estabilizado por ressonância (carbonila – da acetofenona). O carbânion estabilizado ataca o aldeído formando o intermediário tetraédrico β-hidróxi carbonila, denominado aldol (Esquema 1).



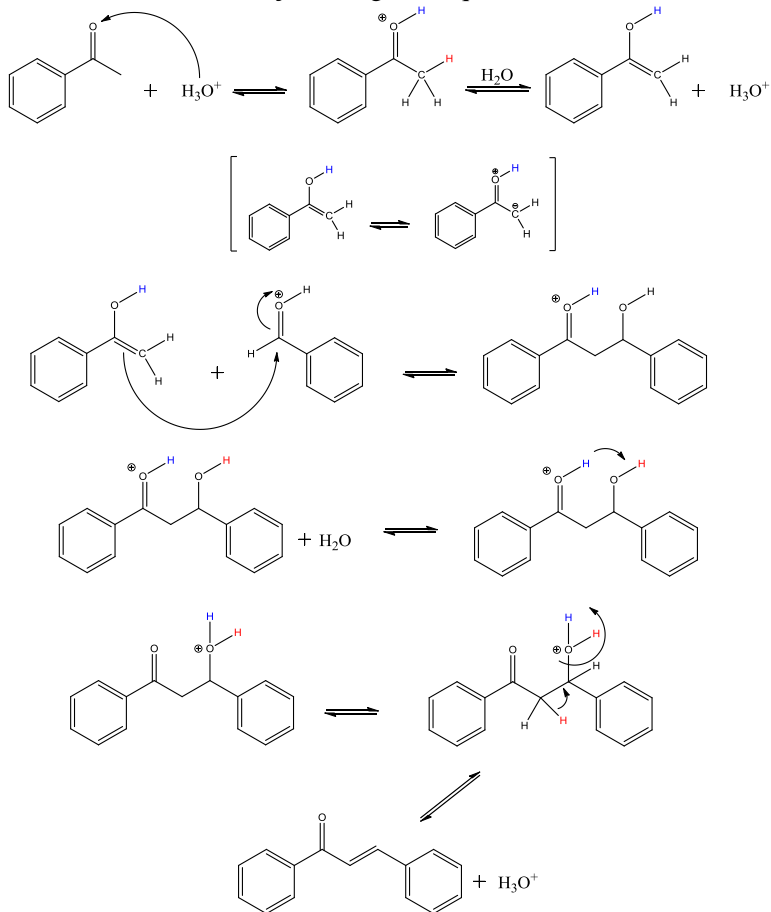
Esquema 1. Mecanismo da condensação aldólica, via básica, com formação do intermediário aldol.

O hidrogênio α à carbonila sofre ataque da hidroxila, o qual acarreta a formação de água. Ocorre a formação da insaturação, no processo conhecido como desidratação. A hidroxila (grupo de saída) gerada no carbono tetraédrico é liberada após esse rearranjo de cargas, regenerando assim o catalisador básico (Esquema 2) (McMurry, 2008).



Esquema 2. Mecanismo de ataque do catalisador sobre o intermediário, acarretando na formação da chalcona e formação de água.

Na catálise ácida, o tautomerismo ceto-enólico é responsável por gerar o nucleófilo para a etapa de adição nucleofílica. A essência da catálise ácida está na protonação do oxigênio da carbonila, tornando-a mais eletrofílica para a etapa de adição do enol. O enol é um nucleófilo fraco, diferentemente do enolato gerado na catálise básica. A reação de desidratação é facilitada na reação sob catálise ácida, pois o grupo de saída na fase de eliminação é a água (Esquema 3) (Martins, 2009).



Esquema 3. Mecanismo de condensação aldólica fazendo uso de um catalisador ácido.

As chalconas são caracterizadas principalmente através da técnica de ressonância magnética nuclear (RMN), porém são utilizadas

outras técnicas para caracterização e elucidação da estrutura desses compostos. Técnicas como espectrometria de massa, infra vermelho, cristalografia de raio X, análise elementar e outros. Ao caracterizar as estruturas das chalconas por RMN de hidrogênio, podemos destacar dubletos dos hidrogênios α,β -insaturados. Esses hidrogênios apresentam um acoplamento J de aproximadamente 16 Hz, isto se os hidrogênios estiverem em posição trans, se os hidrogênios estiverem em posição cis, teremos um acoplamento J de aproximadamente 12Hz (Silverstein, 2006). Quando analisando os espectros de hidrogênio iremos confirmar a presença dos sinais referentes aos anéis aromáticos na região do 8 ppm aproximadamente. Quando analisado o espectro de carbono é possível visualizar o sinal 190 ppm, aproximadamente, referente ao sinal da carbonila da cetona. Os sinais dos carbonos do anéis aromáticos na região de 120 a 150 ppm.

As chalconas apresentam diversas atividades biológicas, incluindo antibacteriana, antiviral, antifúngica, tuberculostática, antimalárica, anti-leishmania, anti-inflamatória, antioxidante e antitumoral (Dimmock et al., 1999; Ni et al., 2004; Nowakowska, 2007). Estudos recentes tem demonstrado a atividade de diferentes classes de compostos orgânicos como inibidores dos fatores de virulência do *Mycobacterium tuberculosis*: as proteínas tirosina fosfatase A (PtpA) e B (PtpB).

Nosso grupo de pesquisas obteve chalconas que apresentaram inibição competitiva e seletiva da PtpA e da PtpB de Mtb (Chiaradia et al., 2008; Mascarello et al., 2010; Chiaradia, 2010). Em um dos recentes trabalhos publicados, um dos derivados preparados, que apresentava o agrupamento 4-carboxi-fenil como anel B, conferiu IC₅₀ de 11,9 μ M para a PtpB de Mtb (Chiaradia et al., 2012) e índice de seletividade de 258 vezes para esta proteína quando comparou-se a atividade frente à proteína tirosina fosfatase 1B (PTPB) humana. A figura 8 mostra o composto utilizado como base para a elaboração da série.7

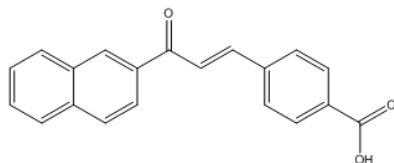
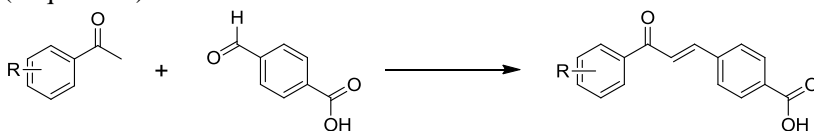


Figura 8. Composto QPadrão (E)-4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-em-1-il) (Chiaradia et al., 2012), utilizando como base para elaborar a série de chalconas sintetizadas.

Devido a estes excelentes resultados, e buscando compostos que possam ser protótipos de novos fármacos antituberculose, no presente trabalho, desenhamos novas chalconas com substituintes carboxílicos na posição 4 do anel B e substituintes variados no anel A (Esquema 4).



Esquema 4. Síntese geral das chalconas desenhadas para o presente trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Esta pesquisa tem como objetivo a síntese e caracterização de chalconas derivados do 4-carboxibenzaldeído, e avaliação da sua atividade biológica frente à enzima proteína tirosina fosfatase A (PtpA) e a enzima proteína tirosina fosfatase B (PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis*.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Sintetizar, através do método de condensação de Claisen-Schmidt, uma série de 22 chalconas derivadas do 4 carboxibenzaldeído.
- ✓ Realizar a síntese das chalconas utilizando 4 (quatro) condições reacionais distintas.
- ✓ Caracterizar e confirmar as estruturas das chalconas obtidas através de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , ponto de fusão e espectrometria de massa (EM).
- ✓ Avaliar o potencial inibitório das chalconas frente às enzimas proteína tirosina fosfatase A (PTPA) e proteína tirosina fosfatase B (PTPB) do *Mycobacterium tuberculosis*.
- ✓ Correlacionar estrutura química e atividade biológica de forma qualitativa.

3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.1 Instrumentação

a) Ponto de Fusão (p.f.)

O ponto de fusão não corrigido das chalconas foi determinado em aparelho digital de ponto de fusão, MGAPF-301, Microquímica Equipamento Ltda, localizado no laboratório do grupo Estrutura e Atividade (Laboratório 309) no Departamento de Química do Campus da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC.

b) Espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) das chalconas foram realizados em equipamento BRUKER WP 400 SY (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C), localizado na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC. Usou-se como referência interna o TMS ou o próprio solvente. Os solventes utilizados para diluir as amostras foram clorofórmio deuterado (CDCl_3), acetona deuterada (acetona- d_6) ou dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6), puros ou em misturas de proporções variadas. Os valores de deslocamento químico (δ) foram expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

c) Espectros de Massas (EM)

A obtenção dos espectros de massas das chalconas foi realizada em espectrômetro de massas modelo micrOTOF-Q II da BRUKER, empregando APPI (*Atmospheric Pressure Photo-Ionization*), localizado no Centro de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME) da UFSC. A ionização foi realizada a 1 kilovolts, utilizando a polaridade do íon positiva. Acetona grau MS foi utilizada como solvente. A obtenção dos espectros de massas de alta resolução foi realizada para confirmação das estruturas.

d) Micro-ondas

Algumas chalconas foram sintetizadas em micro-ondas, modelo Star Synth da MILESTONE, empregando potência de 1200 Watts, temperatura de 60 °C, agitação magnética vigorosa e tempo de 15 minutos (5 minutos para aquecimento da reação até 60°C, 5 minutos de reação e 5 minutos para resfriamento reacional). O aparelho está localizado no laboratório do grupo Estrutura e Atividade (Laboratório 309) no Departamento de Química do Campus da UFSC.

3.2 Técnicas Cromatográficas e de Recristalização

a) Cromatografia em Camada Delgada

Todas as reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de alumínio recobertas por sílica gel 60 com indicador fluorescente UV254 Macherey-Nagel ou SDS, com 0,2 mm de espessura. Depois da eluição, as placas foram visualizadas em luz ultra violeta ($\lambda = 254$ e 366 nm). No caso das chalconas, as placas foram reveladas por pulverização com anisaldeído sulfúrico (0,5 ml anisaldeído, 5 ml ácido sulfúrico concentrado, 10 ml ácido acético glacial e metanol q.s.p. 100 ml) ou vanilina sulfúrica (3 gramas de vanilina, 100 ml de etanol e 3 ml de ácido sulfúrico adicionados lentamente), seguidas de aquecimento a 100°C durante alguns minutos.

b) Recristalização

Algumas chalconas foram purificadas por recristalização com solventes como etanol/hexano ou etanol a quente, sendo esta última técnica a mais utilizada. Na técnica utilizando etanol e hexano, primeiramente solubiliza-se o composto no menor volume de etanol possível, a uma temperatura de 70°C. Após o resfriamento, adiciona-se vagarosamente alguns mililitros de hexano. Na técnica de recristalização utilizando etanol a quente, solubiliza-se o composto no menor volume de etanol possível e posteriormente deixa-se a temperatura da solução diminuir lentamente.

3.3 Síntese das Chalconas

a) Via ácida

Para a síntese das chalconas via ácida, utilizou-se a metodologia de condensação aldólica de Claisen-Schmidt. Primeiramente os reagentes foram colocados em um balão de fundo redondo de 50 mL. Utilizou-se 1(um) mmol do 4-carboxibenzaldeído e 1(um) mmol de diferentes acetofenonas. Posteriormente foram adicionados 200 mg de ácido *p*-tolueno sulfônico (PTSA) e 25 mL de metanol. O meio reacional foi mantido em refluxo em banho de óleo durante 24 horas (*overnight*). A reação foi acompanhada por realização de CCD, e seu final determinado pela visualização da ausência de um dos reagentes. Adicionou-se água destilada à mistura reacional para auxiliar na precipitação dos compostos, que foram obtidos por filtração a vácuo. Os produtos obtidos foram avaliados por CCD, e quando necessário, recristalizados em etanol, diclorometano/hexano ou diclorometano/etanol (Bukhari et al., 2013).

b) Via básica com catalisador sólido

Na síntese das chalconas por via básica com catalisador sólido, utilizou-se a metodologia de condensação aldólica de Claisen-Schmidt. Os reagentes foram colocados em um balão de fundo redondo de 50 mL. Utilizou-se 1(um) mmol do 4-carboxibenzaldeído e 1(um) mmol de diferentes acetofenonas. Posteriormente foram adicionados 200 mg de hidróxido de potássio sólido ($\text{KOH}_{(s)}$) e 25 mL de metanol. O meio reacional foi colocado em refluxo em banho de óleo durante 24 horas (*overnight*). A reação foi acompanhada por realização de CCD, e seu final determinado pela visualização da ausência de um dos reagentes. Adicionou-se água destilada e ácido clorídrico 10% à mistura reacional, para acidificar o meio e auxiliar na precipitação dos compostos. Os produtos foram obtidos por filtração a vácuo, avaliados por CCD, e quando necessário recristalizados em etanol, diclorometano/hexano ou diclorometano/etanol. (Bukhari et al., 2013)

c) Via básica com catalisador dissolvido em água

Na síntese das chalconas por via básica com catalisador em água, utilizou-se a metodologia de condensação aldólica de Claisen-Schmidt. Os reagentes foram colocados em um balão de fundo redondo de 50 mL. Utilizou-se 1(um) mmol do 4-carboxibenzaldeído e 1(um) mmol de diferentes acetofenonas. Posteriormente foram adicionados 40 gotas de hidróxido de potássio ($\text{KOH}_{(50\%)}$) e 25 mL de metanol. O meio reacional foi deixado sob agitação constante e vigorosa, a temperatura ambiente durante 24 horas (*overnight*). A reação foi acompanhada por realização de CCD, e seu final determinado pela visualização da ausência de um dos reagentes. Adicionou-se água destilada e ácido clorídrico 10% à mistura reacional, para acidificar o meio e auxiliar na precipitação dos compostos. Os produtos foram obtidos por filtração a vácuo, avaliados por CCD, e quando necessário, recristalizados em etanol, diclorometano/hexano ou diclorometano/etanol (Bukhari et al., 2013).

d) Via básica em micro-ondas sendo o solvente etanol

Na síntese das chalconas por via básica em micro-ondas, utilizou-se a metodologia de condensação aldólica de Claisen-Schmidt. Os reagentes foram colocados em um balão de fundo redondo de 50 mL. Utilizou-se 1(um) mmol do 4-carboxibenzaldeído e 1(um) mmol de diferentes acetofenonas. Posteriormente foram adicionados 40 gotas de hidróxido de potássio ($\text{KOH}_{(50\%)}$) e 25 mL de etanol. O meio reacional foi mantido em sistema aberto, o balão foi conectado ao condensador, e a reação foi realizada com os seguintes parâmetros:

- potência de 1000 Watts.
- agitação magnética vigorosa.
- temperatura de 60°C.
- 15 minutos, sendo: os primeiros 5 minutos para que a reação atingisse os 60°C, 5 minutos na temperatura de 60°C, e os 5 minutos finais para resfriamento do meio reacional.

Ao final da reação, adicionou-se água destilada e ácido clorídrico 10% à mistura reacional, para acidificar o meio e auxiliar na precipitação dos compostos. Os produtos foram obtidos por filtração a vácuo, avaliados por CCD, e quando necessário, recristalizados em

etanol, diclorometano/hexano ou diclorometano/etanol. (Bukhari et al., 2013)

3.4 Hidrólise ácida dos compostos obtidos por via ácida

Colocou-se 1 (um) mmol da chalcona obtida em um balão e adicionou-se 10 mL de uma solução de HCl 50 % previamente preparada. A mistura foi aquecida sob refluxo brando por 1 (uma) hora. Depois de resfriada à temperatura ambiente, a mistura foi vertida para um becker contendo 20 mL de água gelada. O produto foi filtrado e lavado com água gelada. Nos casos em que o produto não precipitou, realizou-se extração em acetato. Os produtos foram avaliados por CCD e quando impuros foram recristalizados em etanol (Bukhari et al., 2013).

3.5 Ensaios Biológicos

Os experimentos de avaliação da inibição da atividade das enzimas tirosina-fosfatase PtpA e PtpB de *Mycobacterium tuberculosis* foram desenvolvidos pela Dra. Louise Domeneghini Chiaradia Delatorre no Centro de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME) da Universidade Federal de Santa Catarina, sob coordenação do Prof. Dr. Hernán Terenzi. A expressão e purificação das enzimas recombinantes foram realizadas pela Dra. Ângela Camila Orbem Menegatti e estão descritas nos trabalhos prévios do grupo (Chiaradia et al., 2008; Chiaradia et al., 2012; Mascarello et al., 2010).

Os testes de avaliação da inibição enzimática pelas chalconas foram realizados em placas de 96 poços, contendo 5 µl do composto diluído a $1,0 \times 10^{-3}$ M (concentração final de 25 µM), 20 µl de imidazol 200 mM pH=7,0 (concentração final de 20 mM), água MilliQ q.s.p 198 µl em cada poço, e 2 µl de proteína recombinante diluída. A placa foi mantida por 10 minutos a temperatura ambiente (nos ensaios com a PtpA) ou em estufa a 37°C (nos ensaios com a PtpB), sendo adicionado em seguida 10 µl de *p*-nitrofenilfosfato [pNPP] 400 mM (concentração final de 40 mM) a cada poço, para início da reação. As enzimas clivam o substrato (pNPP), liberando *p*-nitrofenol, de cor amarela. A absorbância do *p*-nitrofenol foi medida em espectrofotômetro UV-VIS para placas de ELISA (TECAN Infinite M200), por 10 minutos a 37°C (a 410 nm com leituras a cada 1 minuto). As proteínas foram usadas nas seguintes concentrações: *i*) PtpA 115,0 ng/µL e *ii*) PtpB 93,3 ng/µL, ambas em Tampão D, que contém 20 mM Tris- HCl pH=8,0, 50 mM

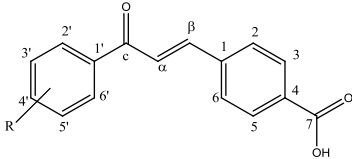
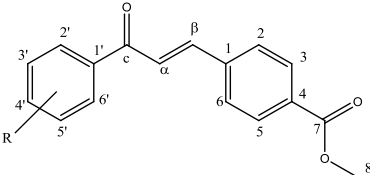
NaCl, 5 mM EDTA, 20% glicerol e 5 mM DTT). Controles negativos foram feitos na ausência de enzima e de compostos, e controles positivos na presença de enzima e DMSO 100% no lugar do composto. O percentual de atividade residual foi calculado pela diferença de Absorbância entre os tempos 7 minutos e 2 minutos, obtido pela média de pelo menos dois experimentos feitos em triplicata. Os resultados foram analisados com o auxílio do Microsoft Office Excel 2007, e o cálculo do desvio padrão foi realizado com a função DESVPAD.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Apresentação dos compostos

Foram obtidas 22 novas chalconas, das quais 14 são inéditas (Q1VA, Q2VA, Q5VA, Q18VA, Q4VB, Q16VB, Q17VB, Q20VB, Q22VB, Q26VB, Q7VBR, Q3MC, Q4MC e Q9MC), através da condensação aldólica entre o 4-carboxibenaldeído e diferentes acetofenonas, por quatro condições reacionais distintas. A nomenclatura dos compostos, bem como os códigos adotados para os compostos, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Nomenclatura dos compostos sintetizados.

Chalconas derivadas da 4-carboxibenaldeído	
	
Código	Nome Químico
Q1VA	(<i>E</i>)-metil-4-(3-oxo-3-fenilprop-1-en-1-il)benzoato
Q1VB	(<i>E</i>)-4-(3-oxo-3-fenilprop-1-en-1-il) benzóico
Q2VA	(<i>E</i>)-metil-4-(3-oxo-3-(<i>p</i> -tolil)-prop-1-en-1-il) benzoato
Q2VB	(<i>E</i>)-4-(prop-1-en-1-il-3-oxo-3-(<i>p</i> -tolil)) benzóico
Q3MC	(<i>E</i>)-4-(3-(2-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q4MC	(<i>E</i>)-4-(3-(3-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q5VA	(<i>E</i>)-metil-4-(3-(4-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzoato
Q5VB	(<i>E</i>)-4-(3-(4-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico

Q6VBR	(<i>E</i>)-4-(3-(3,4-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q7VBR	(<i>E</i>)-4-(3-(3,5-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q8VBR	(<i>E</i>)-4-(3-(2,5-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q9MC	(<i>E</i>)-4-(3-(2,4-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q15VB	(<i>E</i>)-4-(3-(2-hidroxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q16VB	(<i>E</i>)-4-(3-(3-hidroxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q17VB	(<i>E</i>)-4-(3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q18VB	(<i>E</i>)-4-(3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q19VB	(<i>E</i>)-4-(3-(4-bromofenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q20VB	(<i>E</i>)-4-(3-(4-(1H-imidazol-1-il) fenil)-3-oxoprop-en-1-il) benzóico
Q22VB	(<i>E</i>)-4-(3-oxo-3-(3-oxo-3,4-di-hidro-2H-benzo [b] [1,4] oxazin-6-il) prop-1-en-1-il) benzóico
Q23VB	(<i>E</i>)-4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q26VB	(<i>E</i>)-4-(3-(4-aminofenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q30VB	(<i>E</i>)-4-(3-(4-fluorofenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico

Algumas chalconas propostas no trabalho não foram obtidas por nenhuma das vias testadas (Tabela 2). As reações para obtenção dos compostos que apresentam grupos nitro em diferentes posições do anel A, proporcionaram a formação de vários subprodutos, devido ao fato do grupo nitro deixar a carbonila do aldeído bem ativada, provocando reações paralelas. A separação dos produtos desejados dos demais subprodutos gerou um rendimento muito baixo. O mesmo aconteceu com os grupos nitrila (CN) na posição 4 do anel A, onde a reação apresentou uma quantidade de produto tão pequena que não foi possível isolar quantidade suficiente para testes ou caracterização. Também não obtivemos os produtos desejados nas reações com acetofenonas contendo grupos cloros ou amino (NH₂) no anel A, podendo isso ser

devido ao efeito destes grupos doadores de elétrons deixarem a carbonila do aldeído menos eletrofílica e, por sua vez diminuindo sua reatividade no meio reacional.

Tabela 2. Chalconas com seus respectivos substituintes não sintetizadas.

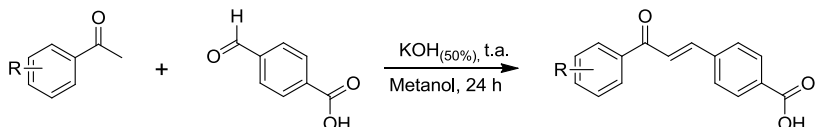
Código	Radical(is)
Q10	2 - NO ₂ fenila
Q11	3 - NO ₂ fenila
Q12	4 - NO ₂ fenila
Q13	3,4 - Cl ₂ fenila
Q14	2,5 - Cl ₂ fenila
Q27	3-NH ₂ fenila
Q28	4-CN fenila
Q29	3-CN fenila

As chalconas podem ser obtidas por diversos meios reacionais, porém nosso grupo tem trabalhado principalmente com o método da condensação aldólica utilizando KOH_(50%) como catalisador e metanol como solvente. Bukhari (2013), propõe o uso de alguns catalisadores diferentes para obtenção de diversas chalconas. Neste trabalho, algumas das condições reacionais citadas por Bukhari (2013) foram utilizadas para sintetizar os produtos desejados. As vias foram escolhidas analisando a disponibilidade de reagentes e as rotas mais brandas, sempre com a preocupação de minimizar o impacto ambiental gerado pelos descartes e resíduos das reações.

4.2 Síntese das chalconas utilizando o catalisador básico (KOH_(50%)) em meio aquoso

A primeira metodologia utilizou-se KOH_(50%) como catalisador (Bukhari et al., 2013). A reação entre o 4-carboxi-benzaldeído e as

diferentes acetofenonas foi realizada em metanol, com adição de KOH 50% m/v, agitação magnética vigorosa, à temperatura ambiente, por 24 horas, como exemplificado no esquema 5.



Esquema 5. Condições reacionais utilizadas para a condensação aldólica por via básica utilizando catalisador aquoso.

As misturas reacionais foram acidificadas com ácido clorídrico 10%, obtendo-se sólidos, que foram filtrados e lavados com água destilada. Para observar a pureza do produto final, procedeu-se da mesma maneira que nas metodologias anteriores.

As chalconas obtidas com a metodologia via básica com catalisador dissolvido em água estão listadas na Tabela 3.

Tabela 3. Chalconas obtidas pela metodologia via básica com catalisador dissolvido em água, rendimentos e ponto de fusão.

Chalconas	R	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C) Literatura	Ponto de fusão (°C) Experimental
Q1VB	fenila	53	#	223,0 – 223,8
Q2VB	4-CH ₃ -fenila	20	#	244,3 – 244,9
Q5VB	4-OCH ₃ -fenila	53	#	233,9 – 234,3
Q9VB	2,4-diOCH ₃ -fenila	40	*	199,7 – 200,0
Q15VB	2-OH-fenila	20	254 – 255 ⁶	245 – 246,5
Q16VB	3-OH-fenila	32	*	236,8 – 237,4
Q17VB	3-OCH ₃ , 4-OH-fenila	49	*	238,4 – 238,7

Q19VB	4-bromo- fenila	45	#	233,0 – 233,6
Q20VB	4-imidazol -fenila	43	*	311,0 – 312,0
Q22VB	3-oxi-3,4- dihidro- 2H- benzo[<i>b</i>][1- 4]oxiazin- 6-il	20	*	310,1 – 311,8
Q23VB	1-naftil	49	*	206,1 – 207,8
Q26VB	4-NH ₂ - fenila	59	*	Acima 330
Q30VB	4-F-fenila	51	#	267,0 – 267,8

* compostos inéditos, sem referência na literatura. # não encontrados na literatura

^oZhao et al, 2013.

A condensação aldólica por via básica utilizando catalisador aquoso proporcionou a formação de 13 compostos, dos quais 3 apresentaram rendimento menor que 30%. Os compostos que obtiveram rendimentos baixos possuem grupos que geram um impedimento estérico, como visto nos compostos Q22VB e Q15VB. No composto Q15VB, o substituinte na posição 2 é uma hidroxila, que pode formar um pseudo-anel de seis membros estável, através de uma ligação de hidrogênio, e assim dificultar o ataque da base no hidrogênio ácido da acetofenona, não formando o íon enolato (como visto no mecanismo, esquemas 1 e 2). O composto Q22VB tem dois hidrogênio ácidos, e na reação pode ocorrer uma competição no ataque da base (OH⁻), formando um subproduto e prejudicando o rendimento da reação. Além disso, um fator que pode ter influenciado no baixo rendimento destes compostos foi o processo de purificação dos mesmos, que incluiu duas etapas de recristalização.

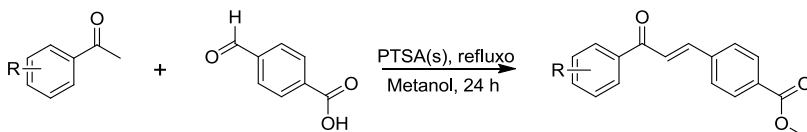
Comparando os produtos Q1VB e Q1VA, Q2VB e Q2VA, Q5VB e Q5VA que possuem os mesmos reagentes de partida, a diferença entre eles é a presença de uma metila. Isto porque, como descrito anteriormente, os compostos obtidos por via ácida (VA) sofreram uma reação paralela de esterificação, que foi confirmada pelos

espectros de RMN. Nos espectros de RMN ^{13}C dos compostos VA (esterificados) observamos o surgimento de um sinal na região de 52 ppm, e o desaparecimento do mesmo nos compostos obtidos por via básica (VB). Da mesma forma, nos espectros de RMN de ^1H , observa-se um singlete em aproximadamente 3,9 ppm para os compostos VA e o para os compostos VA que não foi observado no compostos VB. Podemos observar em todos os espectros de RMN obtidos os sinais referentes aos hidrogênios α e β , característicos da dupla ligação das chalconas, com constante de acoplamento (J) de aproximadamente 16 Hz. A grande maioria dos compostos obtidos possuem cor amarelada, característica de chalconas, entretanto o composto Q5VA apresentou coloração rosa.

4.3 Síntese das chalconas utilizando o catalisador ácido (PTSA)

Na segunda metodologia utilizou-se o ácido *p*-tolueno sulfônico (PTSA) como catalisador (Bukhari et al., 2013). Foram misturados o 4-carboxibenzaldeído e as diferentes acetofenonas, em metanol, adicionou-se o PTSA, e manteve-se a reação sob refluxo por 24 horas (*overnight*). Após o final da reação, lavou-se a solução reacional com água, o que provocou a precipitação do produto. Filtrou-se, e deixou-se o sólido obtido no dessecador para retirada da água remanescente da lavagem. Para observar a pureza do produto final, realizou-se cromatografia em camada delgada (CCD) e determinou-se o ponto de fusão. Quando impuros, os produtos foram recristalizados em etanol.

Nas quatro reações realizadas, verificou-se que os produtos desejados (chalconas com a carboxila livre na posição 4 do anel B) não foram obtidos pela via ácida no primeiro momento. Ao analisar os espectros de RMN dos compostos obtidos pela via ácida (como mostrado no Anexo 2, figuras 3, 5, 11, 13, 30, 32, 64 e 66), observou-se que ocorreu uma reação de esterificação da carboxila presente no anel B. Segundo a literatura (McMurry, 2008), sabemos que a esterificação pode ocorrer entre um ácido carboxílico e um álcool, em meio básico ou ácido. Como o solvente utilizado nas reações foi o metanol, obtivemos todos os compostos esterificados com uma metila. O esquema 6 demonstra as condições reacionais da condensação aldólica por via ácida.



R = H, 4-CH₃, 4-OCH₃, 3,5-OCH₃ e 4-OH

Esquema 6. Condições reacionais utilizadas para a condensação aldólica por via ácida.

Todos os compostos obtidos por este método foram recristalização em etanol, uma vez que a CCD mostrou vestígios remanescentes dos reagentes de partida. O baixo rendimento da chalcona Q18VA, por exemplo, deve-se ao processo de obtenção e purificação da mesma. Após o final da reação, o composto foi extraído em acetato de etila e recristalizado duas vezes, o que provocou perdas durante os procedimentos.

Os dados dos espectros de RMN e EM confirmam as estruturas (Figuras 3, 5, 11, 13, 30, 32, 64, 66 e Tabelas 7, 9, 13 e 22). As chalconas obtidas com a metodologia via ácida estão listadas na Tabela 4.

Tabela 4. Chalconas obtidas pela via ácida, rendimentos e ponto de fusão.

Chalconas	R	Rendimento (%)	Ponto de fusão(°C) Literatura	Ponto de fusão(°C) Experimental
Q1VA	Fenil	53	*	118,3- 118,9
Q2VA	4-CH ₃ -fenil	51	*	154,1 – 154,9
Q5VA	4-OCH ₃ -fenil	48	*	139,8 – 141,5
Q18VA	3,5-diOCH ₃ , 4-OH-fenil	12	*	149 – 149,8

* compostos inéditos, sem referência na literatura.

Os produtos desejados das reações, para a realização dos testes biológicos, eram as chalconas com a carboxila livre, já que o composto protótipo desta pesquisa, que apresentou previamente bons resultados como inibidor da PtpB, também possui a carboxila livre na posição 4 do anel B (QPadrão, descrito em Chiaradia et al, 2012).

Assim, para poder obter a carboxila livre, foi necessário hidrolisar os compostos esterificados. O procedimento foi realizado para os compostos Q1VA, Q2VA e Q5VA, porém os rendimentos das reações ficaram abaixo de 10%, e assim o ponto de fusão foi utilizado como técnica para conferir a formação do produto desejado. Q18VA, por ter um rendimento inicial muito baixo, não foi submetido à hidrólise por não ter massa suficiente para realizar este procedimento.

A Tabela 5 compara os valores de ponto de fusão dos compostos obtidos por via básica e dos compostos hidrolisados. É possível verificar que o procedimento de hidrólise forneceu o produto desejado, já que o ponto de fusão é semelhante para os compostos obtidos após a hidrólise e por via básica. É notável também a diferença nos pontos de fusão provocados pela esterificação nos compostos VA. Os compostos VB possuem pontos de fusão muito superiores aos VA, isto porque ocorre uma interação hidrogênio entre as moléculas na região da carboxila.

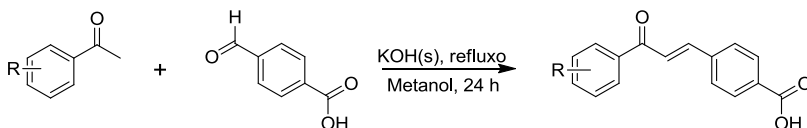
Tabela 5. Valores de ponto de fusão dos compostos obtidos após a hidrólise comparados com os compostos obtidos via básica e via ácida.

Compostos via ácida	Ponto de fusão (°C)	Compostos via básica	Ponto de fusão (°C)
Q1VA	118,3 - 118,9	Q1VB	223,0 - 223,8
Q2VA	154,1 - 154,9	Q2VB	244,3 - 244,9
Q5VA	139,8 - 141,5	Q5VB	233,9 - 234,3
Compostos hidrolisados		Ponto de fusão (°C)	
Q1 Hidrolisado		223,5 - 224,2	
Q2Hidrolisado		243,8 - 244,4	
Q5 Hidrolisado		234,2 - 234,4	

4.4 Síntese das chalconas utilizando o catalisador hidróxido de potássio (KOH) sólido

Na terceira metodologia utilizou-se hidróxido de potássio (KOH) sólido como catalisador (Bukhari et al., 2013). O 4 carboxibenaldeído e as acetofenonas substituídas foram solubilizadas em metanol, o KOH foi adicionado e a reação ficou em refluxo por 24 horas. O esquema 7 demonstra as condições reacionais desta condensação aldólica por via básica, utilizando catalisador sólido.

Após o tempo de refluxo, a solução foi acidificada HCl 10% o que provocou a precipitação do produto, que foi posteriormente filtrado e lavado com água. O produto final foi colocado no dessecador para retirada da água remanescente da lavagem. Para confirmar a pureza do produto final, procedeu-se da mesma maneira que na metodologia via ácida: realizou-se cromatografia de camada delgada (CCD) e leu-se o ponto de fusão. Quando impuros, os produtos foram recristalizados em etanol.



R= 3,4 - OCH₃, 3,5 - OCH₃ e 2,5 - OCH₃

Esquema 7. Condições reacionais utilizadas para a condensação aldólica por via básica utilizando catalisador sólido.

Alguns compostos foram obtidos através do sistema de refluxo com catalisador básico sólido, devido à grande dificuldade de obtê-los pelo procedimento convencional (utilizando KOH_{50%} a temperatura ambiente). Os compostos obtidos por essa via possuem grupos metoxila (doadores de elétrons, ativadores *orto-para*) em diferentes posições do anel aromático, acarretando uma desestabilização do íon enolato formado. Assim o ataque do catalisador ao hidrogênio ácido da acetofenona fica prejudicado. Outro fator que pode ser considerado é o impedimento estérico que os grupos metoxila podem exercer, principalmente quando localizados na posição 2, gerando uma dificuldade do ataque do nucleófilo ao centro eletrofílico. As chalconas

obtidas com a metodologia via básica com catalisador sólido estão listadas na Tabela 6.

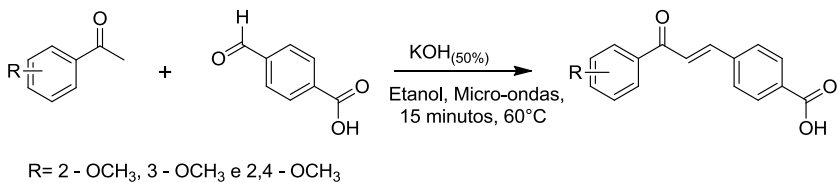
Tabela 6. Chalconas obtidas pela via básica com catalisador sólido, rendimentos e ponto de fusão.

Chalconas	R	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C) Literatura	Ponto de fusão (°C) Experimental
Q6VBR	3,4-diOCH ₃ -fenila	46	#	208,4 – 209
Q7VBR	3,5-diOCH ₃ -fenila	18	*	199,9 – 200,4
Q8VBR	2,5-diOCH ₃ -fenila	52	#	179,8 – 180,4

* compostos inéditos, sem referência na literatura. # ponto de fusão não encontrados na literatura

4.5 Síntese das chalconas utilizando o catalisador básico (KOH_(50%)) e micro-ondas.

Na quarta metodologia utilizou-se hidróxido de potássio (KOH) dissolvido em água como catalisador (Bukhari et al., 2013). Misturou-se o 4-carboxibenzaldeído e as diferentes acetofenonas, em etanol, e adicionou-se o KOH_(aq)(50%). A reação foi realizada em micro-ondas regulado na potência de 1000 Watts, à temperatura máxima e constante de 60°C, e agitação magnética vigorosa. A mistura reacional foi colocada no micro-ondas por 15 minutos, sendo os primeiros 5 minutos para que a reação atingisse os 60°C, 5 minutos na temperatura de 60°C, e os 5 minutos finais para resfriamento do meio reacional. O esquema 8 demonstra as condições reacionais desta condensação aldólica por via básica, utilizando o micro-ondas.



Esquema 8. Condições reacionais utilizadas para a condensação aldólica em micro-ondas.

Foram obtidos 3 compostos com esta metodologia, com rendimentos acima de 40%. Pode-se comparar o rendimento de Q9VB e Q9MC, onde observou-se um maior rendimento na reação realizada em micro-ondas (Q9MC). Dessa forma, há um indício de que as reações em microondas sejam mais vantajosas em relação as demais, devido a:

- ✓ Redução no tempo reacional, que nesta metodologia é de 15 minutos, enquanto nas metodologias anteriores é de 24 horas.
- ✓ O solvente utilizado é o etanol, menos tóxico que o metanol utilizado nos outros métodos.
- ✓ O rendimento de aproximadamente 50% quando correlacionado com o tempo reacional nos remete à grande eficiência deste processo.

As chalconas obtidas com a metodologia via básica utilizando o micro-ondas estão listadas na Tabela 7.

Tabela 7. Chalconas obtidas pela metodologia via básica com catalisador dissolvido em água e utilizando o micro-ondas, rendimentos e ponto de fusão.

Chalconas	R	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C) Literatura	Ponto de fusão (°C) Experimental
Q3MC	2-OCH ₃ -fenila	49	*	221,6 – 222,4
Q4MC	3-OCH ₃ -fenila	36	*	101,7 – 102,4
Q9MC	2,4-diOCH ₃ -fenila	49	*	199,5 – 199,9

* compostos inéditos, sem referência na literatura.

Os sólidos obtidos, independente da metodologia utilizada para a reação, foram caracterizados por ponto de fusão e ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C , e confirmados por espectrometria de massas (EM). Os dados de RMN e EM para os compostos sintetizados estão apresentados nas tabelas a seguir. É importante salientar que em nenhum dos espectros de RMN de ^1H foi observado o sinal referente ao hidrogênio ácido da carboxila, possivelmente devido a este ser trocado pelo deutério do solvente.

A coloração dos produtos obtidos pelas diferentes metodologias foi, em geral, característica de chalconas (branco a amarelo), exceto Q5VA que apresentou coloração rosa (Tabela 8).

Tabela 8. Chalconas obtidas por diferentes metodologias e suas respectivas cores.

Chalconas	Cores
Q1VA	Amarelo
Q1VB	Creme
Q2VA	Amarelo Pálido
Q2VB	Bege
Q3MC	Amarelo
Q4MC	Amarelo
Q5VA	Rosa
Q5VB	Amarelo
Q6VBR	Amarelo

Q7VBR	Creme
Q8VBR	Amarelo
Q9MC	Amarelo
Q15VB	Amarelo Vivo
Q16VB	Amarelo
Q17VB	Amarelo
Q18VA	Amarelo Vivo
Q19VB	Branco
Q20VB	Branco
Q22VB	Amarelo Pálido
Q23VB	Amarelo
Q26VB	Amarelo Queimado
Q30VB	Branco

Analisando os espectros de RMN ^1H e ^{13}C (Anexo 2, Figura 75 a 78) do composto Q23VB, pode-se observar a formação de ambos os isômeros, *E* e *Z*, em proporção aproximada de 1:1. Através do espectro de RMN ^1H foi verificado a presença dos sinais referentes aos hidrogênios α e β pertencente aos isômeros com acoplamento *J* distintos. Na região 7,91 – 7,97 ppm encontra-se um multiplete onde foi verificado o sinal do hidrogênio β com configuração *E*. Entretanto na região 7,09 ppm há um dubleto com acoplamento *J* de 12,5 Hz também proveniente de um carbono β , porém com configuração *Z*. Os hidrogênios α dos isômeros *E/Z* aparecem na região 6,80 ppm e 7,60 ppm, com *J* 15,6 Hz e 12,5 Hz. Outros deslocamentos característicos das chalconas desse trabalho são: *d* 7,85 ppm do hidrogênio 2 e 6, e um

d 8,12 do hidrogênio 3 e 5, ambos com acoplamento *J* de 8,0. Avaliando os espectros de RMN ^{13}C (Anexo 2, figura 76) e os dados obtidos na tabela 26 confirmam os deslocamentos característicos dos carbonos referentes a carbonila 194,7 ppm, carboxila 171,3 ppm e os deslocamentos referente aos carbonos de anel aromático na região 125 - 140 ppm. A análise detalhada dos espectros desse composto possibilitou a atribuição correta dos deslocamentos de hidrogênios e carbonos do mesmo e, a partir de então, estendeu-se aos demais compostos do trabalho.

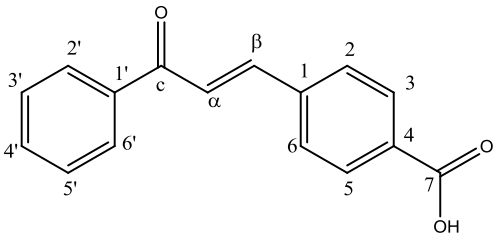
Tabela 9. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q1VA.

^1H	Q1VA Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q1VA Carbono (^{13}C)
1	-	1	138,7
2	<i>d</i> 7,71 (8,0)	2	127,9
3	<i>d</i> 8,09 (8,0)	3	129,8
4	-	4	131,2
5	<i>d</i> 8,09 (8,0)	5	129,8
6	<i>d</i> 7,71 (8,0)	6	127,9
7	-	7	166,1
8	<i>s</i> 3,94	8	52,0
1'	-	1'	137,5
2'	<i>d</i> 8,04 (8,0)	2'	128,4
3'	<i>t</i> 7,52 (8,0)	3'	128,2
4'	<i>m</i> 7,62	4'	132,7
5'	<i>t</i> 7,52 (8,0)	5'	128,2
6'	<i>d</i> 8,04 (8,0)	6'	128,4
α	<i>d</i> 7,61 (15,6)	α	123,7

β	<i>d</i> 7,82 (15,6)	β	142,8
c	-	c	189,8

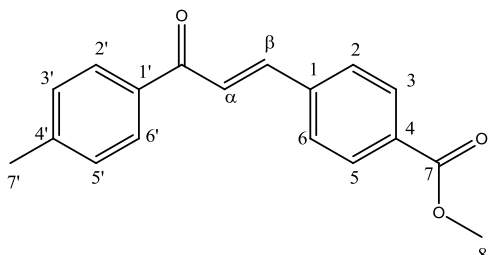
Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl₃.

Tabela 10. Dados de RMN de ¹H e de ¹³C do composto Q1VB.

			
¹ H	Q1VB Hidrogênio (¹ H)	¹³ C	Q1VB Carbono (¹³ C)
1	-	1	137,5
2	<i>d</i> 7,76 (8,0)	2	127,1
3	<i>d</i> 8,08 (8,0)	3	129,0
4	-	4	131,3
5	<i>d</i> 8,08 (8,0)	5	129,0
6	<i>d</i> 7,76 (8,0)	6	127,1
7	-	7	166,4
1'	-	1'	136,5
2'	<i>d</i> 8,06 (8,0)	2'	127,6
3'	<i>t</i> 7,54 (8,0)	3'	127,3
4'	<i>m</i> 7,63	4'	132,0
5'	<i>t</i> 7,54 (8,0)	5'	127,3
6'	<i>d</i> 8,06 (8,0)	6'	127,6
α	<i>d</i> 7,69 (15,9)	α	122,7
β	<i>d</i> 7,80 (15,9)	β	142,1
c	-	c	188,8

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl₃ + DMSO-d₆.

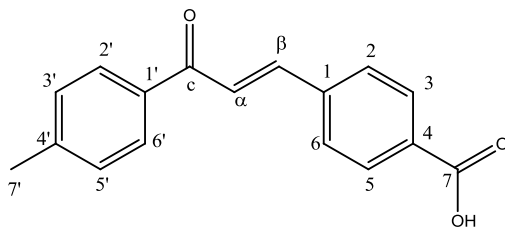
Tabela 11. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q2VA.



^1H	Q2VA Hidrogênio	^{13}C	Q2VA Carbono
1	-	1	139,2
2	<i>d</i> 7,69 (8,0)	2	128,2
3	<i>d</i> 8,07 (8,0)	3	130,1
4	-	4	131,4
5	<i>d</i> 8,07 (8,0)	5	130,1
6	<i>d</i> 7,69 (8,0)	6	128,2
7	-	7	166,4
8	<i>s</i> 3,93	8	52,3
1'	-	1'	135,3
2'	<i>d</i> 7,94 (8,0)	2'	129,4
3'	<i>d</i> 7,31 (8,0)	3'	128,7
4'	-	4'	144,0
5'	<i>d</i> 7,31 (8,0)	5'	128,7
6'	<i>d</i> 7,94 (8,0)	6'	129,4
7'	<i>s</i> 2,43	7'	21,7
α	<i>d</i> 7,60 (16,0)	α	124,1
β	<i>d</i> 7,80 (16,0)	β	142,7
c	-	c	189,5

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 .

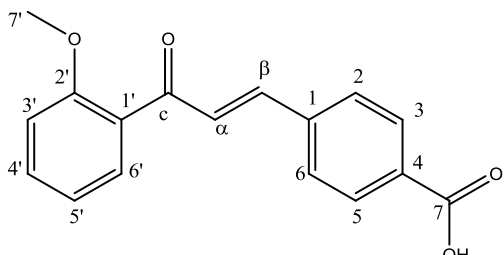
Tabela 12. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q2VB.



^1H	Q2VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q2VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	139,9
2	<i>d</i> 7,96 (8,0)	2	129,3
3	<i>d</i> 8,09 (8,0)	3	130,7
4	-	4	133,2
5	<i>d</i> 8,09 (8,0)	5	130,7
6	<i>d</i> 7,96 (8,0)	6	129,3
7	-	7	167,7
1'	-	1'	132,5
2'	<i>d</i> 8,07 (8,0)	2'	130,1
3'	<i>d</i> 7,37 (8,0)	3'	129,5
4'	-	4'	140,2
5'	<i>d</i> 7,37 (8,0)	5'	129,5
6'	<i>d</i> 8,07 (8,0)	6'	130,1
7'	<i>s</i> 2,41	7'	21,57
α	<i>d</i> 7,79 (15,6)	α	124,8
β	<i>d</i> 8,00 (15,6)	β	143,0
c	-	c	190,0

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente acetona- d_6 .

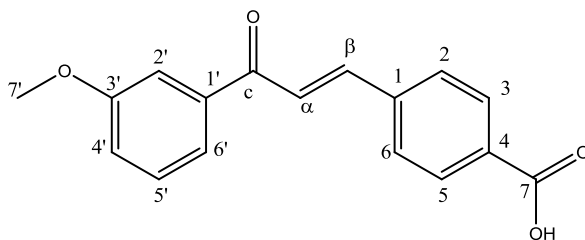
Tabela 13. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q3MC.



^1H	Q3MC Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q3MC Carbono (^{13}C)
1	-	1	140,1
2	<i>d</i> 7,83 (8,0)	2	129,1
3	<i>d</i> 8,06 (8,0)	3	130,8
4	-	4	133,1
5	<i>d</i> 8,06 (8,0)	5	130,8
6	<i>d</i> 7,83 (8,0)	6	129,1
7	-	7	167,6
1'	-	1'	121,4
2'	-	2'	159,2
3'	<i>d</i> 7,20 (8,0)	3'	112,8
4'	<i>m</i> 7,52-7,61	4'	134,0
5'	<i>dd</i> 7,06 (8,0)	5'	121,4
6'	<i>m</i> 7,52-7,61	6'	129,9
7'	<i>s</i> 3,94	7'	56,2
α	<i>m</i> 7,52-7,61	α	121,4
β	<i>m</i> 7,52-7,61	β	141,2
c	-	c	192,2

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente acetona- d_6 .

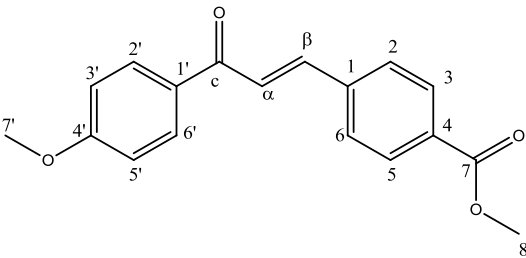
Tabela 14. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q4MC.



^1H	Q4MC Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q4MC Carbono (^{13}C)
1	-	1	140,0
2	<i>d</i> 7,97 (8,0)	2	129,4
3	<i>d</i> 8,08 (8,0)	3	130,6
4	-	4	133,3
5	<i>d</i> 8,08 (8,0)	5	130,6
6	<i>d</i> 7,97 (8,0)	6	129,4
7	-	7	167,6
1'	-	1'	139,8
2'	<i>s</i> 7,66	2'	113,8
3'	-	3'	160,8
4'	<i>dd</i> 7,22 (8,0/2,0)	4'	119,8
5'	<i>dd</i> 7,49 (8,0)	5'	130,6
6'	<i>d</i> 7,79 (8,0)	6'	121,8
7'	<i>s</i> 3,90	7'	55,7
α	<i>d</i> 7,84 (16,0)	α	124,8
β	<i>d</i> 8,00 (16,0)	β	143,3
c	-	c	189,5

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente acetona- d_6 + DMSO- d_6 .

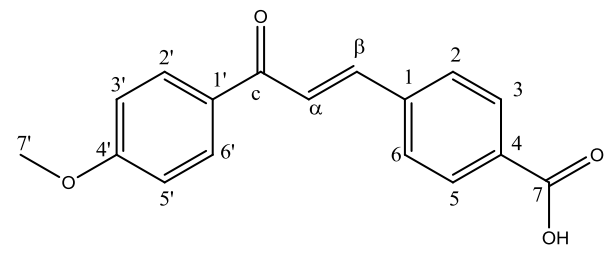
Tabela 15. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q5VA.



^1H	Q5VA Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q5VA Carbono (^{13}C)
1	-	1	139,3
2	<i>d</i> 7,69 (8,0)	2	128,1
3	<i>d</i> 8,07 (8,0)	3	130,1
4	-	4	131,3
5	<i>d</i> 8,07 (8,0)	5	130,1
6	<i>d</i> 7,69 (8,0)	6	128,1
7	-	7	166,4
8	<i>s</i> 3,93	8	52,3
1'	-	1'	131,3
2'	<i>d</i> 8,04 (8,0)	2'	130,9
3'	<i>d</i> 7,00 (8,0)	3'	113,9
4'	-	4'	163,6
5'	<i>d</i> 7,00 (8,0)	5'	113,9
6'	<i>d</i> 8,04 (8,0)	6'	130,9
7'	<i>s</i> 3,89	7'	55,5
α	<i>d</i> 7,61 (15,6)	α	123,9
β	<i>d</i> 7,80 (15,6)	β	142,3
c	-	c	188,2

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 .

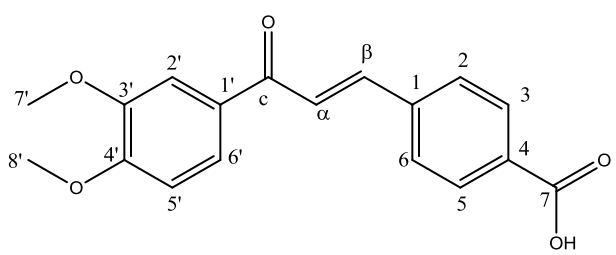
Tabela 16. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q5VB.



^1H	Q5VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q5VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	140,3
2	<i>d</i> 7,96 (8,0)	2	129,6
3	<i>d</i> 8,07 (8,0)	3	130,9
4	-	4	133,4
5	<i>d</i> 8,07 (8,0)	5	130,9
6	<i>d</i> 7,96 (8,0)	6	129,6
7	-	7	168,0
1'	-	1'	130,9
2'	<i>d</i> 8,22 (8,0)	2'	132,0
3'	<i>d</i> 7,10 (8,0)	3'	115,0
4'	-	4'	164,7
5'	<i>d</i> 7,10 (8,0)	5'	115,0
6'	<i>d</i> 8,22 (8,0)	6'	132,0
7'	<i>s</i> 3,92	7'	56,2
α	<i>d</i> 7,80 (15,6)	α	125,1
β	<i>d</i> 8,06 (15,6)	β	142,7
c	-	c	188,2

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente acetona- d_6 + DMSO.

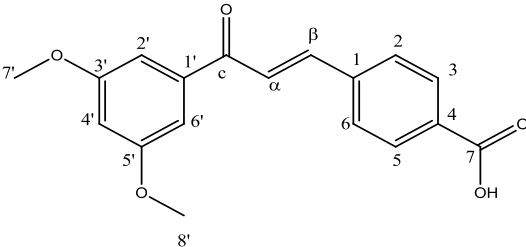
Tabela 17. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q6VBR.



^1H	Q6VBR Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q6VBR Carbono (^{13}C)
1	-	1	138,4
2	<i>m</i> 7,75	2	127,7
3	<i>d</i> 8,08 <i>J</i> 8,21	3	129,7
4	-	4	131,7
5	<i>d</i> 8,08 <i>J</i> 8,21	5	129,7
6	<i>m</i> 7,75	6	127,7
7	-	7	167,1
1'	-	1'	130,3
2'	<i>d</i> 7,62 <i>J</i> 1,56	2'	109,7
3'	-	3'	148,6
4'	-	4'	152,9
5'	<i>d</i> 6,99 <i>J</i> 8,59	5'	110,1
6'	<i>m</i> 7,75	6'	122,9
7'	<i>s</i> 3,96	7'	55,4
8'	<i>s</i> 3,96	8'	55,4
α	<i>d</i> 7,71 <i>J</i> 15,63	α	123,0
β	<i>d</i> 7,79 <i>J</i> 15,63	β	141,8
c	-	c	187,5

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 .

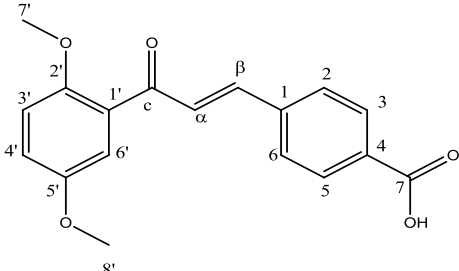
Tabela 18. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q7VBR.



^1H	Q7VBR Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q7VBR Carbono (^{13}C)
1	-	1	139,2
2	<i>d</i> 7,72 (8,0)	2	127,7
3	<i>d</i> 8,09 (8,0)	3	129,7
4	-	4	132,0
5	<i>d</i> 8,09 (8,0)	5	129,7
6	<i>d</i> 7,72 (8,0)	6	127,7
7	-	7	167,2
1'	-	1'	138,1
2'	<i>d</i> 7,16 (2,0)	2'	105,8
3'	-	3'	160,4
4'	<i>dd</i> 6,69 (2,0)	4'	104,6
5'	-	5'	160,4
6'	<i>d</i> 7,16 (2,0)	6'	105,8
7'	<i>s</i> 3,87	7'	55,1
8'	<i>s</i> 3,87	8'	55,1
α	<i>d</i> 7,58 (16,0)	α	123,3
β	<i>d</i> 7,80 (16,0)	β	142,9
c	-	c	189,1

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$.

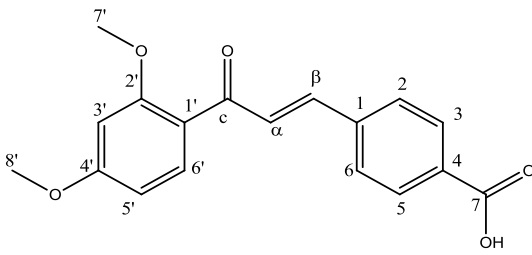
Tabela 19. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q8VBR.



^1H	Q8VBR Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q8VBR Carbono (^{13}C)
1	-	1	140,6
2	<i>d</i> 7,67 (8,0)	2	128,5
3	<i>d</i> 8,12 (8,0)	3	130,9
4	-	4	129,4
5	<i>d</i> 8,12 (8,0)	5	130,9
6	<i>d</i> 7,67 (8,0)	6	128,5
7	-	7	170,8
1'	-	1'	129,5
2'	-	2'	153,1
3'	<i>d</i> 6,95 (8,0)	3'	114,7
4'	<i>dd</i> 7,05 (8,0/2,0)	4'	120,1
5'	-	5'	153,9
6'	<i>d</i> 7,22 (2,0)	6'	113,7
7'	<i>s</i> 3,81	7'	56,8
8'	<i>s</i> 3,87	8'	56,1
α	<i>d</i> 7,55 (15,6)	α	120,1
β	<i>d</i> 7,67 (15,6)	β	141,4
c	-	c	192,1

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 .

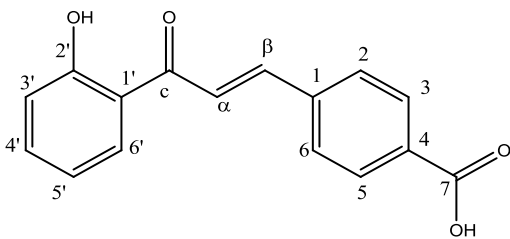
Tabela 20. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q9MC.



^1H	Q9MC Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q9MC Carbono (^{13}C)
1	-	1	139,48
2	<i>d</i> 7,82 (8,0)	2	129,44
3	<i>d</i> 8,05 (8,0)	3	132,18
4	-	4	130,11
5	<i>d</i> 8,05 (8,0)	5	132,18
6	<i>d</i> 7,82 (8,0)	6	129,44
7	-	7	167,15
1'	-	1'	121,55
2'	-	2'	160,84
3'	<i>d</i> 6,63 (2,0)	3'	98,77
4'	-	4'	164,65
5'	<i>dd</i> 6,68 (8,0/2,0)	5'	106,33
6'	<i>d</i> 7,71 (8,0)	6'	132,50
7'	<i>s</i> 3,90	7'	56,09
8'	<i>s</i> 3,98	8'	55,72
α	<i>d</i> 7,63 (16,0)	α	128,50
β	<i>d</i> 7,75 (16,0)	β	139,78
c	-	c	189,21

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 .

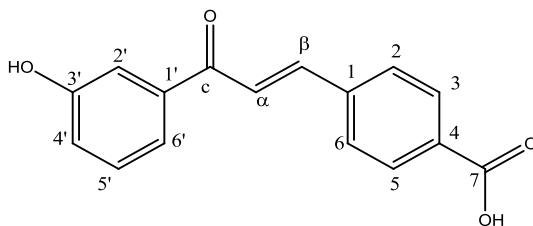
Tabela 21. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q15VB.



^1H	Q15VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q15VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	136,9
2	<i>d</i> 8,00 (8,0)	2	129,5
3	<i>d</i> 8,03 (8,0)	3	130,1
4	-	4	132,9
5	<i>d</i> 8,03 (8,0)	5	130,1
6	<i>d</i> 8,00 (8,0)	6	129,5
7	-	7	167,2
1'	-	1'	119,7
2'	-	2'	162,1
3'	<i>m</i> 7,01-7,04	3'	118,1
4'	<i>m</i> 7,01-7,04	4'	138,8
5'	<i>dd</i> 7,59 (8,0/2,0)	5'	121,3
6'	<i>dd</i> 8,23 (8,0/2,0)	6'	131,4
α	<i>d</i> 7,87 (15,6)	α	124,6
β	<i>d</i> 8,14 (15,6)	β	143,5
c	-	c	193,8

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente DMSO- d_6 .

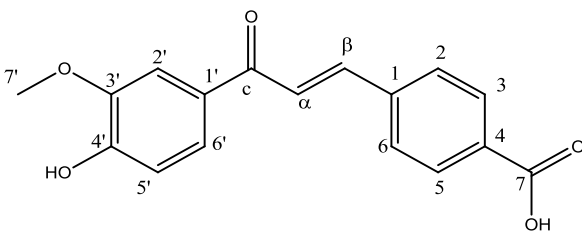
Tabela 22. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q16VB.



^1H	Q16VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q16VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	138,7
2	<i>m</i> 8,0	2	128,8
3	<i>m</i> 8,0	3	129,7
4	-	4	132,0
5	<i>m</i> 8,0	5	129,7
6	<i>m</i> 8,0	6	128,8
7	-	7	166,8
1'	-	1'	138,7
2'	<i>m</i> 7,48	2'	114,6
3'	-	3'	157,7
4'	<i>dd</i> 7,08 (8,0/2,0)	4'	119,7
5'	<i>dd</i> 7,39 (8,0)	5'	129,8
6'	<i>d</i> 7,66 (8,0)	6'	120,5
α	<i>d</i> 7,75 (15,6)	α	124,3
β	<i>d</i> 7,98 (15,6)	β	142,3
c	-	c	189,0

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente DMSO- d_6 .

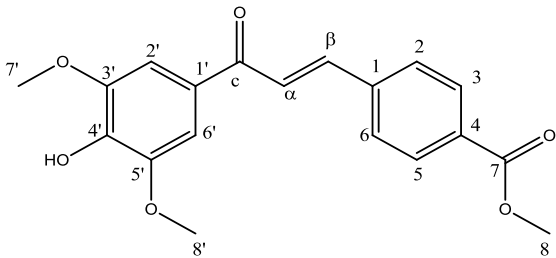
Tabela 23. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q17VB.



^1H	Q17VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q17VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	138,7
2	<i>d</i> 7,73 (8,0)	2	127,8
3	<i>d</i> 8,08 (8,0)	3	129,8
4	-	4	131,9
5	<i>d</i> 8,08 (8,0)	5	129,8
6	<i>d</i> 7,73 (8,0)	6	127,8
7	-	7	167,3
1'	-	1'	129,5
2'	<i>s</i> 7,54	2'	110,9
3'	-	3'	151,8
4'	-	4'	147,7
5'	<i>d</i> 6,98	5'	114,6
6'	<i>d</i> 7,65 (8,0)	6'	123,5
7'	<i>s</i> 3,97	7'	55,6
α	<i>d</i> 7,69 (15,6)	α	123,5
β	<i>d</i> 7,78 (15,6)	β	141,6
c	-	c	187,5
OH	<i>sl</i> 9,30		

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 + DMSO-d_6 .

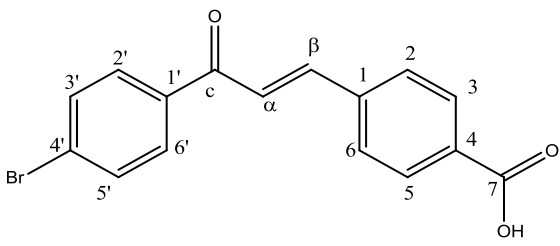
Tabela 24. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q18VA.



^1H	Q18VA Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q18VA Carbono (^{13}C)
1	-	1	139,3
2	<i>d</i> 7,70 (8,0)	2	128,3
3	<i>d</i> 8,08 (8,0)	3	130,2
4	-	4	131,5
5	<i>d</i> 8,08 (8,0)	5	130,2
6	<i>d</i> 7,70 (8,0)	6	128,3
7	-	7	166,5
8	<i>s</i> 3,94	8	52,4
1'	-	1'	129,5
2'	<i>s</i> 7,33	2'	106,1
3'	-	3'	147,0
4'	-	4'	140,0
5'	-	5'	147,0
6'	<i>s</i> 7,33	6'	106,1
7'	<i>s</i> 3,99	7'	56,7
8'	<i>s</i> 3,99	8'	56,7
α	<i>d</i> 7,57 (15,6)	α	123,7
β	<i>d</i> 7,81 (15,6)	β	142,8
c	-	c	188,2
OH	<i>s</i> 6,01		

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 .

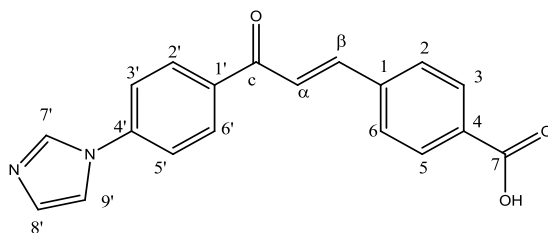
Tabela 25. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q19VB.



^1H	Q19VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q19VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	138,5
2	<i>d</i> 7,84	2	128,8
3	<i>d</i> 8,15	3	130,3
4	-	4	132,5
5	<i>d</i> 8,15	5	130,0
6	<i>d</i> 7,84	6	128,8
7	-	7	167,3
1'	-	1'	136,4
2'	<i>d</i> 8,12	2'	130,0
3'	<i>d</i> 7,82	3'	131,9
4'	-	4'	127,8
5'	<i>d</i> 7,82	5'	131,9
6'	<i>d</i> 8,12	6'	130,0
α	<i>d</i> 7,82(15,3)	α	123,5
β	<i>d</i> 8,07(15,4)	β	143,5
c	-	c	188,7

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$.

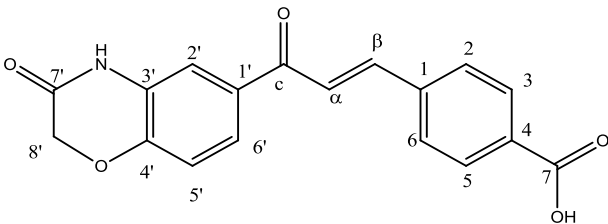
Tabela 26. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q20VB.



^1H	Q20VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q20VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	136,35
2	<i>d</i> 7,88 (8,0)	2	129,41
3	<i>d</i> 8,33 (8,0)	3	130,37
4	-	4	171,25
5	<i>d</i> 8,33 (8,0)	5	130,37
6	<i>d</i> 7,88 (8,0)	6	129,41
7	-	7	167,47
1'	-	1'	139,49
2'	<i>m</i> 8,01	2'	131,21
3'	<i>m</i> 8,01	3'	118,26
4'	-	4'	141,25
5'	<i>m</i> 8,01	5'	118,26
6'	<i>m</i> 8,01	6'	131,21
7'	<i>s</i> 8,46	7'	133,12
8'	<i>s</i> 7,17	8'	- *
9'	<i>s</i> 7,91	9'	- *
α	<i>d</i> 7,81 (15,6)	α	120,55
β	<i>d</i> 8,10 (15,6)	β	143,31
c	-	c	188,31

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente acetona- d_6 + DMSO- d_6 . * não apareceu no espectro.

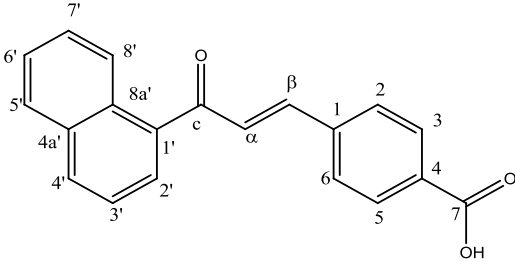
Tabela 27. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q22VB.



^1H	Q22VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q22VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	139,2
2	<i>d</i> 7,90 (8,0)	2	128,6
3	<i>d</i> 8,01 (8,0)	3	130,1
4	-	4	132,4
5	<i>d</i> 8,01 (8,0)	5	130,1
6	<i>d</i> 7,90 (8,0)	6	128,6
7	-	7	167,1
1'	-	1'	132,7
2'	<i>s</i> 7,63	2'	125,0
3'	-	3'	127,7
4'	-	4'	142,3
5'	<i>d</i> 7,08 (8,0)	5'	116,1
6'	<i>d</i> 7,80 (8,0)	6'	128,8
7'	<i>s</i> 10,90	7'	164,2
8'	<i>s</i> 4,70	8'	67,1
α	<i>d</i> 7,45 (16,0)	α	124,1
β	<i>d</i> 7,92 (16,0)	β	141,9
c	-	c	187,4

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 + DMSO-d_6 .

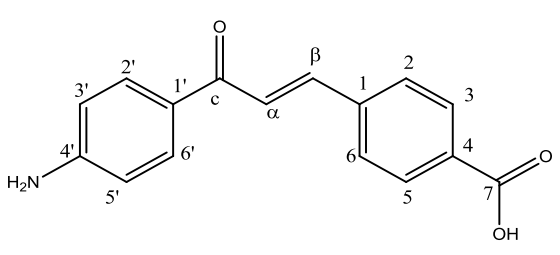
Tabela 28. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q23VB.



^1H	Q23VB* Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q23VB* Carbono (^{13}C)
1	-	1	139,3
2	<i>d</i> 7,85 (8,0)	2	128,7
3	<i>d</i> 8,12 (8,0)	3	130,4
4	-	4	131,7
5	<i>d</i> 8,12 (8,0)	5	130,4
6	<i>d</i> 7,85 (8,0)	6	128,7
7	-	7	171,3
1'	-	1'	136,1
2'	<i>m</i> 7,55-7,67	2'	128,0
3'	<i>t</i> 7,38 (8,0)	3'	126,2
4'	<i>m</i> 7,91-7,97	4'	129,6
5'	<i>m</i> 7,91-7,97	5'	128,2
6'	<i>m</i> 7,44-7,48	6'	127,3
7'	<i>m</i> 7,55-7,67	7'	129,6
8'	<i>d</i> 8,83 (8,0)	8'	125,5
4a'	-	9'	133,5
8a'	-	10'	130,1
α (E)	<i>m</i> 7,55-7,67	α (E)	124,1
β (E)	<i>m</i> 7,91-7,97	β (E)	143,5
c	-	c	194,7
α (Z)	<i>d</i> 6,80 (12,5)	α (Z)	123,9
β (Z)	<i>d</i> 7,09 (12,5)	β (Z)	140,2

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 . *Os demais sinais que aparecem nos espectros correspondem ao isômero Z.

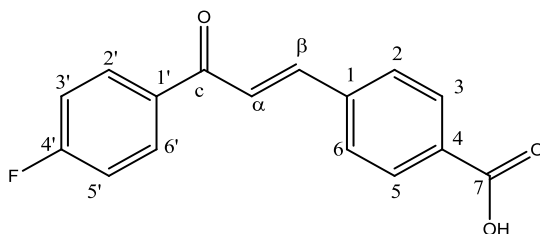
Tabela 29. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q26VB.



^1H	Q26VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q26VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	140,7
2	<i>d</i> 8,01 (8,0)	2	129,0
3	<i>d</i> 8,10 (8,0)	3	130,8
4	-	4	132,2
5	<i>d</i> 8,10 (8,0)	5	130,8
6	<i>d</i> 8,01 (8,0)	6	129,0
7	-	7	167,2
1'	-	1'	127,3
2'	<i>m</i> 7,92-7,98	2'	131,9
3'	<i>m</i> 7,92-7,98	3'	113,8
4'	-	4'	154,4
5'	<i>m</i> 7,92-7,98	5'	113,8
6'	<i>m</i> 7,92-7,98	6'	131,9
a	<i>d</i> 7,63 (15,6)	a	125,3
β	<i>d</i> 8,03 (15,6)	β	141,1
c	-	c	186,8
NH₂	<i>sl</i> 6,20		

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente acetona- d_6 .

Tabela 30. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto Q30VB.



^1H	Q30VB Hidrogênio (^1H)	^{13}C	Q30VB Carbono (^{13}C)
1	-	1	137,8
2	<i>d</i> 8,01 (8,0)	2	127,6
3	<i>d</i> 8,07 (8,0)	3	129,4
4	-	4	132,1
5	<i>d</i> 8,07 (8,0)	5	129,4
6	<i>d</i> 8,01 (8,0)	6	127,6
7	-	7	166,7
1'	-	1'	134,1
2'	<i>dd</i> 8,32 (8,0/2,0)	2'	130,5
3'	<i>m</i> 7,37	3'	115,1*
4'	-	4'	160,8
5'	<i>m</i> 7,37	5'	114,9*
6'	<i>dd</i> 8,32 (8,0/2,0)	6'	130,5
α	<i>d</i> 7,84 (15,6)	α	122,8
β	<i>d</i> 8,08 (15,6)	β	142,5
c	-	c	187,3

Multiplicidade, δ ppm em relação ao TMS, (J em Hz), solvente CDCl_3 + DMSO-d_6 . *intercambiáveis.

Tabela 31. Dados de espectrometria de massas das chalconas.

Composto	Fórmula Molecular	Massa Molecular Calculada	Massa Molecular Experimental EM m/z $M^+ H$	Erro (ppm)
Q1VA	$C_{17}H_{14}O_3$	267,1016	267,1022	2,24
Q1VB	$C_{16}H_{12}O_3$	253,0859	253,0861	0,79
Q2VA	$C_{18}H_{16}O_3$	281,1172	281,1174	0,71
Q2VB	$C_{17}H_{14}O_3$	267,1016	267,1012	1,49
Q3MC	$C_{17}H_{14}O_4$	283,0965	283,0967	0,70
Q4MC	$C_{17}H_{14}O_4$	283,0965	283,0969	1,41
Q5VA	$C_{18}H_{16}O_4$	297,1121	297,1118	1,34
Q5VB	$C_{17}H_{14}O_4$	283,0965	283,0970	1,76
Q6VBR	$C_{18}H_{15}O_5$	313,1071	313,1080	2,87
Q7VBR	$C_{18}H_{16}O_5$	313,1071	313,1075	1,27
Q8VBR	$C_{18}H_{16}O_5$	313,1071	313,1077	1,91
Q9MC	$C_{18}H_{16}O_5$	313,1071	313,1077	1,91
Q15VB	$C_{16}H_{12}O_4$	269,0808	269,0814	2,22
Q16VB	$C_{16}H_{12}O_4$	269,08084	269,08081	0,11
Q17VB	$C_{17}H_{14}O_5$	299,0914	299,0912	0,66
Q18VA	$C_{19}H_{18}O_6$	343,1176	343,1174	0,58
Q19VB	$C_{16}H_{11}BrO_3$	330,9964	330,9970	1,50
Q20VB	$C_{19}H_{14}N_2O_3$	319,1077	319,1078	0,31
Q22VB	$C_{18}H_{13}NO_5$	324,0866	324,0860	1,85
Q23VB	$C_{20}H_{14}NO_3$	303,1015	303,1017	0,58
Q26VB	$C_{16}H_{13}NO_3$	268,0968	268,0974	2,23
Q30VB	$C_{16}H_{11}FO_3$	271,0765	271,0770	1,84

Como é possível observar na Tabela 29, todos os compostos tiveram suas estruturas confirmadas, uma vez que, comparando os valores das massas moleculares calculadas com as obtidas experimentalmente, os valores dos erros estão dentro do esperado (menor que 5 ppm).

4.6 Ensaios Biológicos

As chalconas foram testadas nas enzimas PtpA e PtpB na concentração de 25 μ M. Para a PtpA, o tempo de incubação com os compostos foi de 10 minutos à temperatura ambiente, já para a PtpB a incubação teve um tempo de 10 min à temperatura de 37°C. Após o procedimento realizado, verificou-se que das 22 chalconas, apenas 2 (duas), sendo elas Q22VB e Q26VB, provocaram inibição significativa da PtpB, conforme pode ser observado na Tabela 32. O fator que pode estar vinculado à melhor atividade biológica destes dois compostos é a presença de átomos de nitrogênio no anel A. Esses nitrogênios podem favorecer a formação de ligações hidrogênio com resíduos de aminoácidos das proteínas, favorecendo a inibição das mesmas.

Tabela 32. Dados dos testes biológicos realizados com as chalconas sintetizadas.

Chalconas	% atividade residual fosfatases	
	PtpB	PtpA
Q1VA	99,55 \pm 13,70	73,84 \pm 5,21
Q1VB	88,45 \pm 14,19	85,81 \pm 4,51
Q2VA	94,20 \pm 15,11	84,91 \pm 5,92
Q2VB	91,85 \pm 19,43	89,37 \pm 1,78
Q3MC	78,80 \pm 23,84	87,68 \pm 5,17
Q4MC	101,32 \pm 30,61	84,57 \pm 5,01
Q5VA	101,96 \pm 20,24	95,67 \pm 7,28
Q5VB	97,75 \pm 24,28	107,27 \pm 7,93
Q6VBR	92,46 \pm 9,60	80,17 \pm 0,21
Q7VBR	95,17 \pm 18,85	104,47 \pm 3,56
Q8VBR	88,65 \pm 17,51	101,28 \pm 1,21
Q9MC	94,97 \pm 22,67	108,24 \pm 6,31
Q15VB	96,72 \pm 15,87	92,30 \pm 6,94
Q16VB	82,41 \pm 11,34	90,68 \pm 10,23
Q17VB	88,26 \pm 7,91	98,08 \pm 4,40
Q18VA	100,86 \pm 12,20	88,88 \pm 2,29
Q19VB	92,79 \pm 20,88	97,49 \pm 2,76

Q20VB	84,30 ± 15,98	93,54 ± 2,15
Q22VB	67,93 ± 3,29	82,49 ± 4,75
Q23VB	87,28 ± 13,89	90,27 ± 7,5
Q26VB	67,43 ± 10,55	72,39 ± 1,53
Q30VB	75,97 ± 1,45	92,73 ± 1,89

As chalconas Q1VA e Q1VB, Q2VA e Q2VB e Q5VA e Q6VB, são chalconas que possuem uma estrutura semelhante, sendo a diferença entre seus respectivos pares a presença da carboxila livre. As chalconas obtidas por via básica (VB) possuem a carboxila livre, enquanto a via ácida (VA) a carboxila está esterificada. Através dos testes realizados, verificamos que o poder inibitório das chalconas frente as enzimas PtpA e PtpB do *Mycobacterium tuberculosis* não depende somente da carboxila livre, mas também de outros fatores.

Outro exemplo é chalcona Q23VB, muito similar à chalcona anteriormente publicada e que apresentou ótima atividade da PtpB ((*E*)-4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-en-il) benzóico - QPadrão, descrito em Chiaradia et al., 2012). O composto Q23VB e o composto (*E*)-4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-en-il) benzóico (QPadrão) possuem como única diferença a posição no qual o anel A está ligado à carbonila, sendo que no primeiro o anel A é o grupo 1-naftil e no segundo o grupo 2-naftil. Mesmo sendo muito semelhantes estruturalmente, a atividade biológica entre estes dois compostos é extremamente diferente, confirmando que o potencial inibitório de um composto depende da posição, de quantos e de quais grupos substituintes estão presentes, além da influência de em qual lado da molécula os mesmos estão ligados. Ainda, nos espectros de RMN de Q23VB, observou-se a presença de sinais de duas conformações desta molécula (*E* e *Z*), e esse fator estrutural pode ter influenciado o seu potencial inibitório, uma vez que o composto (*E*)-4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-en-il) benzóico (QPadrão) (Chiaradia et al. 2012) possui exclusivamente conformação *E*.

5. CONCLUSÕES

As chalconas planejadas foram obtidas com rendimentos satisfatórios, caracterizadas e testadas frente às enzimas PtpA e PtpB de *Mycobacterium tuberculosis*.

As 22 (vinte e duas) chalconas derivadas do 4-carboxibenzaldeído foram obtidas através de quatro condições reacionais diferentes, utilizando o método de condensação aldólica de Claisen-Schmidt. Obtivemos 13 (treze) chalconas (Q1VA, Q2VA, Q5VA, Q18VA, Q7VBR, Q4VB, Q16VB, Q17VB, Q20VB, Q22VB, Q26VB, Q3MC, Q4MC e Q9MC) inéditas. Nas reações por via ácida (VA), foram obtidas chalconas com a carboxila esterificada, que posteriormente foram submetidas à reações de hidrólise para obter os compostos planejados com a carboxila livre na posição 4 do anel B.

Todas as chalconas foram caracterizadas por ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C , ponto de fusão e espectrometria de massas (EM). Os valores de ponto de fusão mostraram variação menor que 2 °C, indicando que os produtos obtidos estão puros. Pelos espectros de massas pode-se confirmar a estrutura das chalconas, pois o erro nos experimentos ficou abaixo de 3 ppm. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C permitiram caracterizar as estruturas sintetizadas).

A chalcona Q23VB foi obtida como a mistura dos isômeros *E* e *Z*, como observado nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C . Esse pode ser um dos fatores que influenciaram na pobre atividade biológica deste composto, quando comparado ao análogo QPadrão anteriormente publicado pelo nosso grupo de pesquisas.

Dentre as estruturas avaliadas, apenas duas chalconas, Q22VB e Q26VB, apresentaram potencial inibitório significativo frente às enzimas PtpA e PtpB de *Mycobacterium tuberculosis*.

6. PERSPECTIVAS

Como perspectivas para a continuidade deste trabalho, temos:

- ✓ Procurar novas condições reacionais que possibilitem aumentar os rendimentos das reações.
- ✓ Refazer todas as chalconas nas diferentes metodologias utilizadas, comparando rendimento, procedimento de purificação e as vantagens de cada procedimento.
- ✓ Testar as chalconas sintetizadas frente a outras atividades biológicas, como: inibitória da PTP YopH de *Yersinia enterocolitica* (bactéria responsável gastroenterites), anti-leishmania, entre outras.
- ✓ Estudar as condições reacionais de obtenção do composto Q23VB e obtê-lo puro nas conformações *E* ou *Z*, para verificar as propriedades de ambos isômeros na atividade biológica.
- ✓ Complementar os dados de caracterização dos compostos inéditos através de espectroscopia no infravermelho (IV) e difração de raios-X.
- ✓ Procurar a melhor condição reacional para as chalconas em micro-ondas, modificando os parâmetros reacionais, como catalisador, temperatura, tempo, potência, para posterior comparação dos métodos.
- ✓ Determinar a IC_{50} e realizar os ensaios cinéticos dos compostos com melhor potencial inibitório frente à PtpB.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREI, C. C.; FERREIRA, D. T.; FRACCIONE, M.; FARIA, T. J.; Da Quím. Med. à Quím. Combinatória e Modelagem Molecular. 1^a edição, São Paulo: Manole, 2003. Volume único, p 49.

AMARAL, A. T.; MONTANARI, C. A. Quím. Med.: 25 anos de planejamento racional de fármacos. *Quím. Nova*, 25(1), 39-44, **2002**.

BAKAL, C. J.; DAVIES, J. E. No longer an exclusive club: eukaryotic signalling domains in bacteria. *Trends in Cell Biology*, 10, 32-38, **2000**.

BERESFORD, N.; PATEL, S.; ARMSTRONG, J.; SZÖÖR, B.; FORDHAM-SKELTON, P.; TABERNERO, A.; MtpB, L. A virulence factor from *Mycobacterium tuberculosis*, exhibits triple-specificity phosphatase activity. *Biochem. J.* 2007, 406, 13-18.

BUKHARI, S. N. A.; JASAMAI, M.; JANTAN, I.; AHMAD W.; Review of Methods and Various Catalysts Used for Chalcone Synthesis. Mini-Reviews in Org. Chem., Malaysia, vol. 10, n° 1, p. 73 – 83, **2013**.

CHIARADIA, L. D.; MASCARELLO, A.; PURIFICAÇÃO, M.; VERNAL, J.; CORDEIRO, M. N. S.; ZENTENO, M. E.; VILLARINO, A.; NUNES, R. J.; YUNES, R. A.; TERENCEZI, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 6227-6230.

CHIARADIA, L. D., et al. *Synthesis, Biological Evaluation, And Molecular Modeling of Chalcone Derivatives As Potent Inhibitors of Mycobacterium tuberculosis Protein Tyrosine Phosphatases (PtpA and PtpB)*. *J. of Med. Chem.*, v. 55, p. 390-402, **2012**.

CHIARADIA, L. D. *Tese de Doutorado em Química – Programa de Pós-Graduação em Química, UFSC. Florianópolis*, **2010**. 526 p.

COWLEY, S. C.; BABAKAUFF, R.; AV-GAY, Y. Expression and localization of the *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase PtpA. *Research in Microbiology*, 153, 233-241, **2002**.

COZZONE, A. J.; GRANGEASSE, C.; DOUBLET, P.; DUCLOS, B. Protein phosphorylation on tyrosine in bacteria. *Archives of Microbiology*, 181, 171-181, **2004**.

DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach*. Cichestes: John Wiley & Sons, **1997**. p.136.

DIMMOCK, J. R.; ELIAS, D. W.; BEAZELY, M. A.; KANDEPU, N. M. *Curr.Med. Chem.*, 6(12), 1125-1149, **1999**.

EDDARIR, S.; COTELLE, N.; BAKKOUR, Y.; ROLANDO, C. *Tetrahedron Lett.*, 44, 5359-5363 **2003**.

FEI ZHAO, QING-JIE ZHAO, JING-XIA ZHAO, DA-ZHI ZHANG, QIU-YE WU, AND YONG-SHENG JIN. Synthesis and cdc25B Inhibitory Activity Evaluation of Chalcones. *Chem. of Natural Comp.*, Vol. 49, No. 2, May, 2013.

GRUNDNER, C.; NG, H.; ALBER, T. *Mycobacterium tuberculosis* Protein Tyrosine Phosphatase PtpB Sctructure Reveals a Diverged Fold and a Buried Active Site. *Structure* 2005, 13 (11), 1625 – 1634.

GUIDO, R. V. C.; Andricopulo, A. D. Modelagem molecular de fármacos. *Rev. Proc. Quim.*, v.2, n.4, p.24-26, 2008.

IMMING, P. Medicinal Chemistry: definitions and objectives, drug activity phases, drug classification systems. In: WERMUTH, C. G. (org.). *The Practice of Medicinal Chemistry*. 3 ed. Illkirch, France: Elsevier, **2008**. Cap. 2, p. 63-72.

KOUL, A.; CHOIDAS A.; TREDER, M.; TYAGI, A. K.; DRLICA, K.; SINGH, Y.; ULLRICH A. *Cloning and characterization of secretory tyrosine phosphatases of Mycobacterium tuberculosis*. *J. of Bacteriology*, 182, 5425–5432, **2000**.

LOMBARDINHO, J. G.; Lowe, J. a. 3rd. the role of the medicinal chemist in drug discovery – then and now. *nat. Rev. drug discov.*, v.3, n.10, p.853-62, 2004

MCMURRY JOHN. Química Orgânica. 6ª edição. São Paulo: Cengage, 2008. Vol único, p. 918.

MADHURANTAKAM, C.; RAJAKUMARA, E.; MAZUMBAR, P. A.; SAHA, B.; MITRA, D.; WIKER, H. G.; SANKARANARAYANAN, R.; DAS, A. K. Crystal structure of low-molecular-weight protein tyrosine phosphatase from *Mycobacterium tuberculosis* at 1.9 Å resolution. *Journal of Bacteriology*, 187, 2175-2181, **2005**.

MARTINS, D. L.; Reações Aldólicas. Revista Virtual Química, Rio de Janeiro, vol 1, nº 3, p. 186 – 211 , 2009.

MASCARELLO, A.; CHIARADIA, L. D.; VERNAL, J.; VILLARINO, A.; GUIDO, R. V. C.; PERIZZOLO, P.; POIRIER, V.; WONG, D.; MARTINS, P. G. A.; NUNES, R. J.; YUNES, R. A.; ANDRICOPULO, A. D.; AV-GAY, Y.; TEREZI, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3783-3789.

NI, L.; MENG, C. Q.; SIKORSKI, J. A. *Expert Opinion Ther Patents*, *14*(12), 1669-1691, **2004**.

NOGUEIRA, J. L.; MONTANARI, C. A.; DONNICI L. C.; Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch. *Rev. Virt. de Quím.*, São Paulo, vol. 1, nº 3, p. 227 – 240, **2009**.

NOWAKOWSKA, Z. *Eur. J. Med. Chem.*, *42*, 125-137, **2007**.

OMS **2012**. Disponível em: <<http://apps.who.int/tdr/svc/diseases/tb-hiv>>. Acesso em: 10 novembro 2013.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M; MOORE, P. K. *Farmacologia*. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 703 pp.

SILVERSTEIN, R. M.; Bassler, G. C.; Morrill, T. C.; *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7th ed., John Wiley & Sons: New York, 2006.

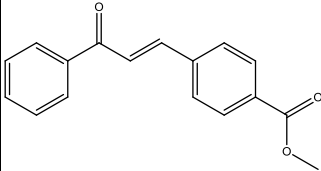
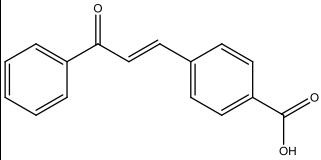
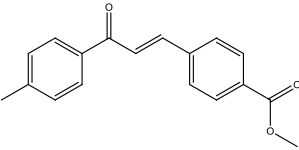
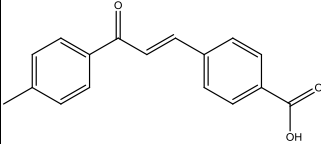
VOGEL, A. I. *Vogel's Textbook of Practical Org. Chem.*, 5 ed. New York: John Wiley & Sons, **1989**. p.1017.

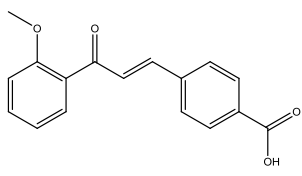
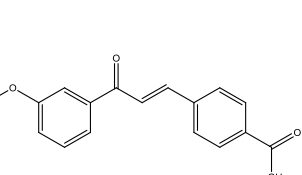
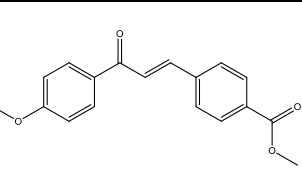
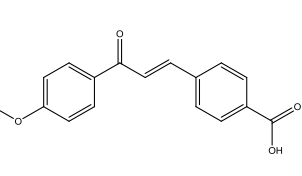
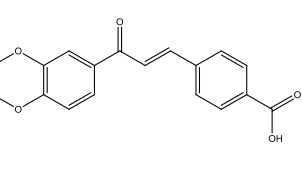
ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; *et al.*(orgs.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, Porto Alegre: Editora da UFRGS, **2001**. Cap. 23, p. 499-526.

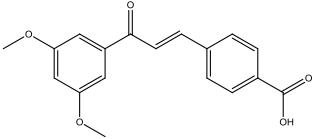
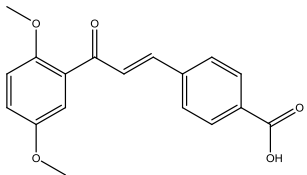
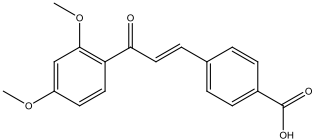
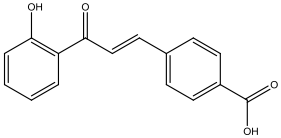
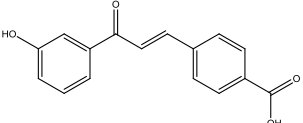
ANEXOS

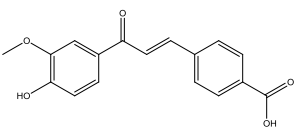
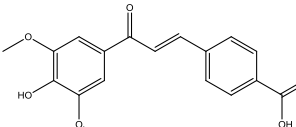
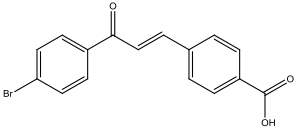
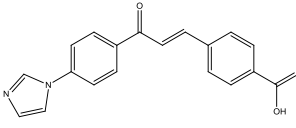
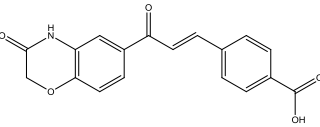
Anexo 1. Estruturas obtidas, códigos e seus respectivos químicos.

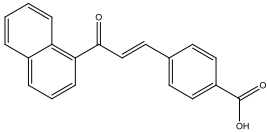
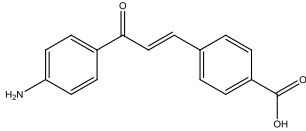
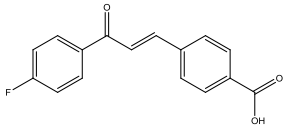
Tabela 33. Estruturas obtidas com respectivos nomes e códigos.

Chalconas derivadas da 4-carboxibenaldeído		
Código	Estrutura	Nome Químico
Q1VA		<i>(E)</i> -metil-4-(3-oxo-3-fenilprop-1-en-1-il)benzoato
Q1VB		<i>(E)</i> -4-(3-oxo-3-fenilprop-1-en-1-il) benzóico
Q2VA		<i>(E)</i> -metil- 4-(3-oxo-3-(p-tolil)-prop-1-en-1-il) benzoato
Q2VB		<i>(E)</i> -4-(Prop-1-en-1-il-3-oxo-3-(p-tolil)) benzoico

Q3VB		<i>(E)</i> -4-(3-(2-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q4VB		<i>(E)</i> -4-(3-(3-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q5VA		<i>(E)</i> -metil-4-(3-(4-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzoato
Q5VB		<i>(E)</i> -4-(3-(4-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q6VBR		<i>(E)</i> -4-(3-(3,4-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico

Q7VBR		<i>(E)</i> -4-(3-(3,5-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q8VBR		<i>(E)</i> -4-(3-(2,5-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q9VBR		<i>(E)</i> -4-(3-(2,4-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q15VB		<i>(E)</i> -4-(3-(2-hidroxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q16VB		<i>(E)</i> -4-(3-(3-hidroxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico

Q17VB		<i>(E)</i> -4-(3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q18VB		<i>(E)</i> -4-(3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q19VB		<i>(E)</i> -4-(3-(4-bromofenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q20VB		<i>(E)</i> -4-(3-(4-(1H-imidazol-1-il)fenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q22VB		<i>(E)</i> -4-(3-oxo-3-(3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo [b] [1,4] oxazin-6-il) prop-1-en-1-il) benzóico

Q23VB		<i>(E)</i> -4-(3-(naftalen-2-il)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q26VB		<i>(E)</i> -4-(3-(4-aminofenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico
Q30VB		<i>(E)</i> -4-(3-(4-fluorofenil)-3-oxoprop-1-en-1-il) benzóico

Anexo 2. Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C das estruturas obtidas.

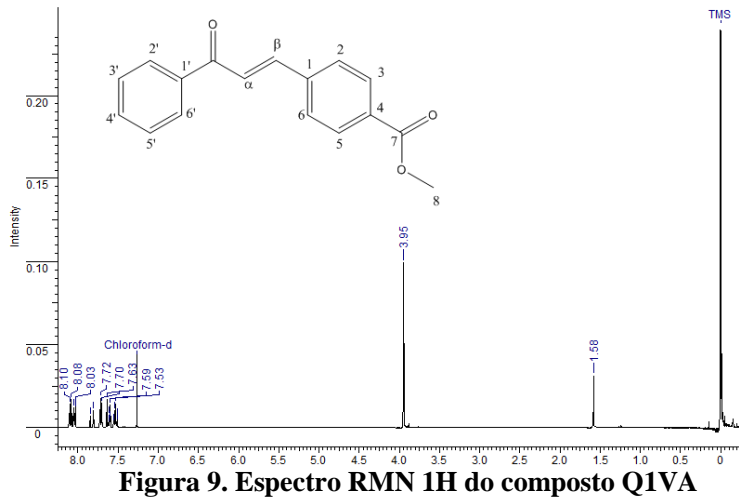


Figura 9. Espectro RMN ^1H do composto Q1VA

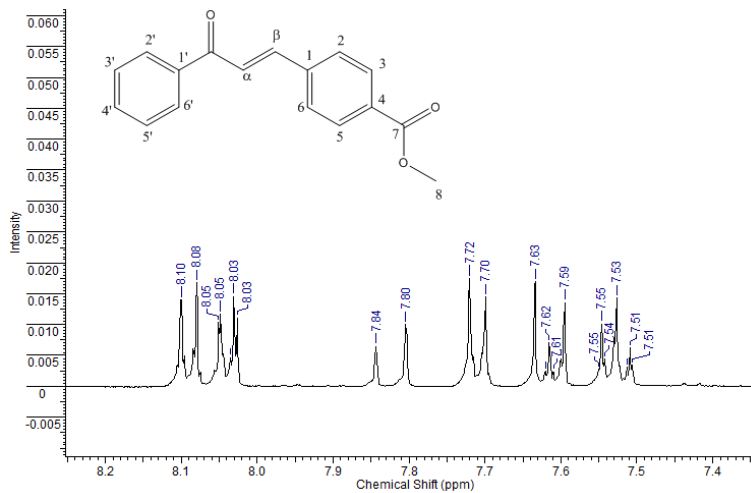


Figura 10. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q1VA.

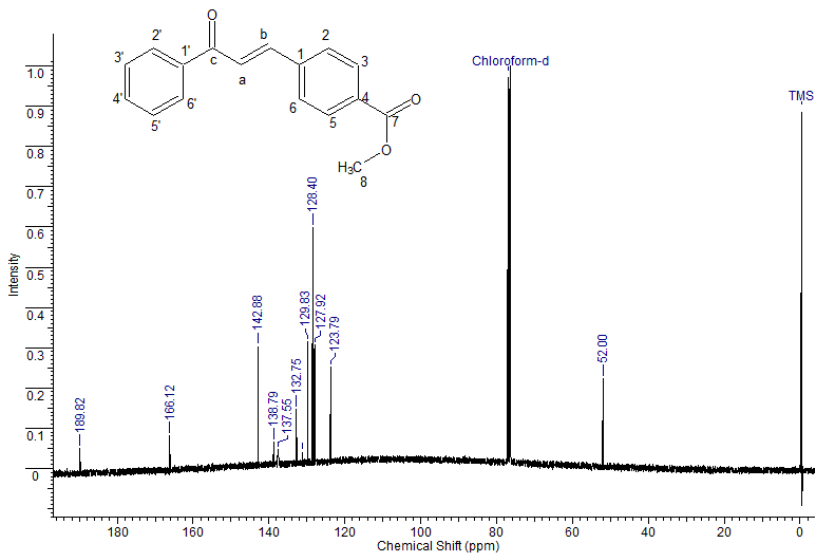


Figura 11. Espectro RMN ^{13}C do composto Q1VA.

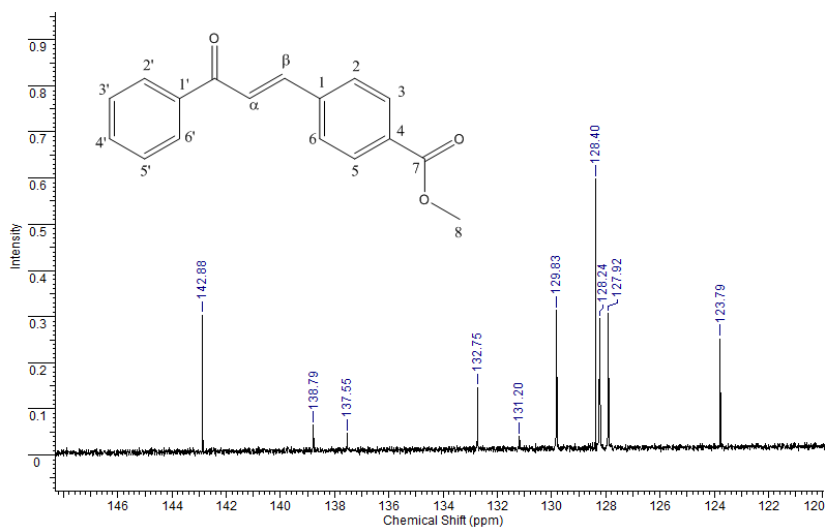


Figura 12. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q1VA.

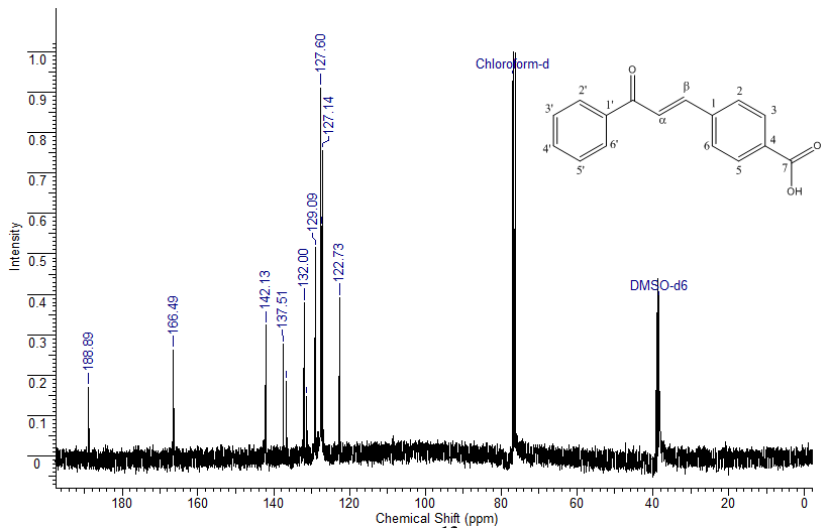


Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C do composto Q1VB.

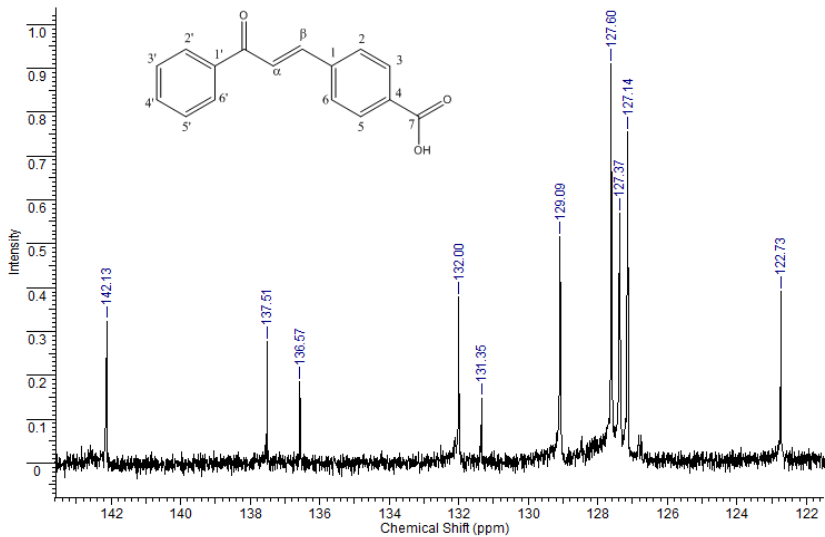


Figura 14. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q1VB.

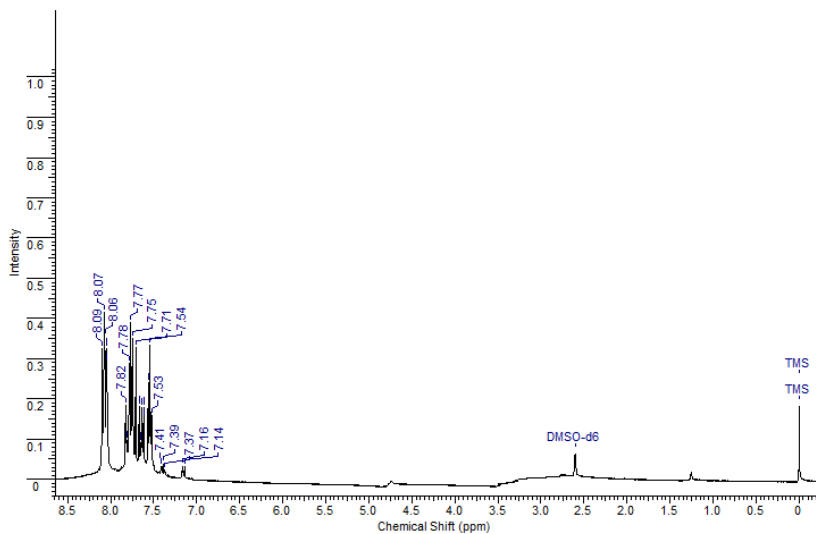


Figura 15. Espectro RMN ^1H do composto Q1VB.

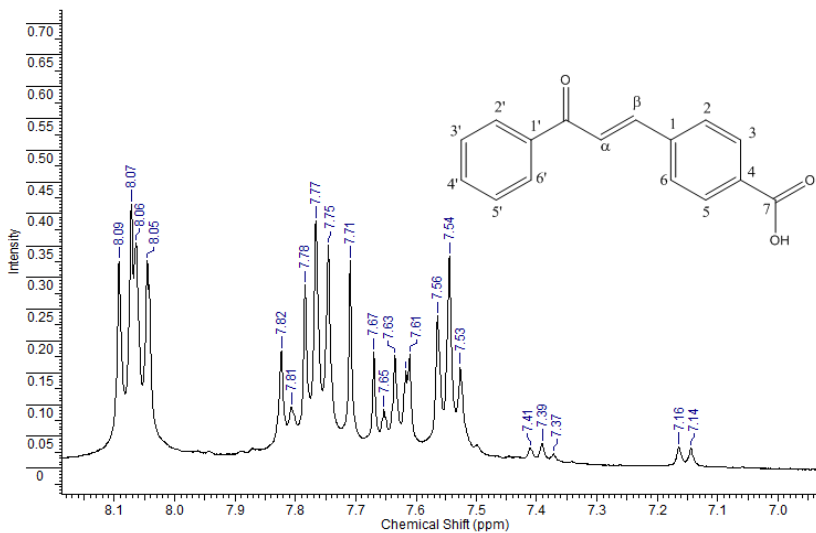


Figura 16. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q1VB.

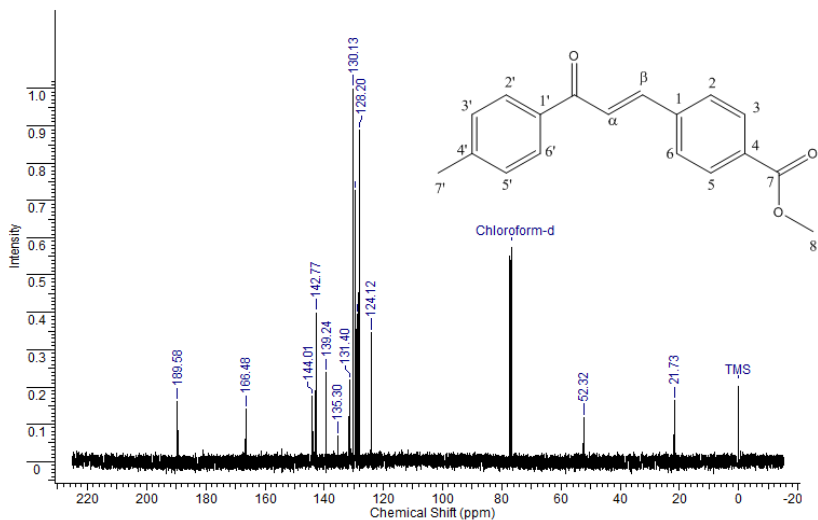


Figura 17. Espectro RMN ¹³C do composto Q2VA.

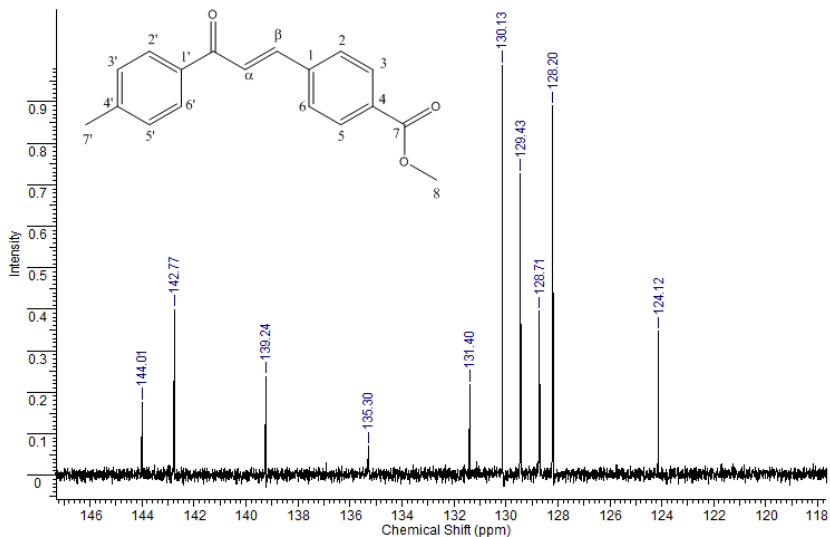


Figura 18. Ampliação do espectro RMN ¹³C do composto Q2VA.

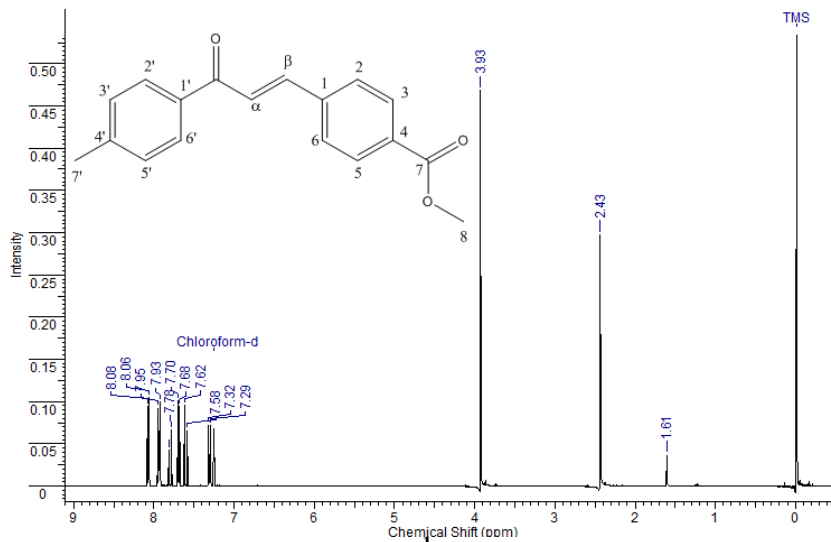


Figura 19. Espectro RMN ^1H do composto Q2VA.

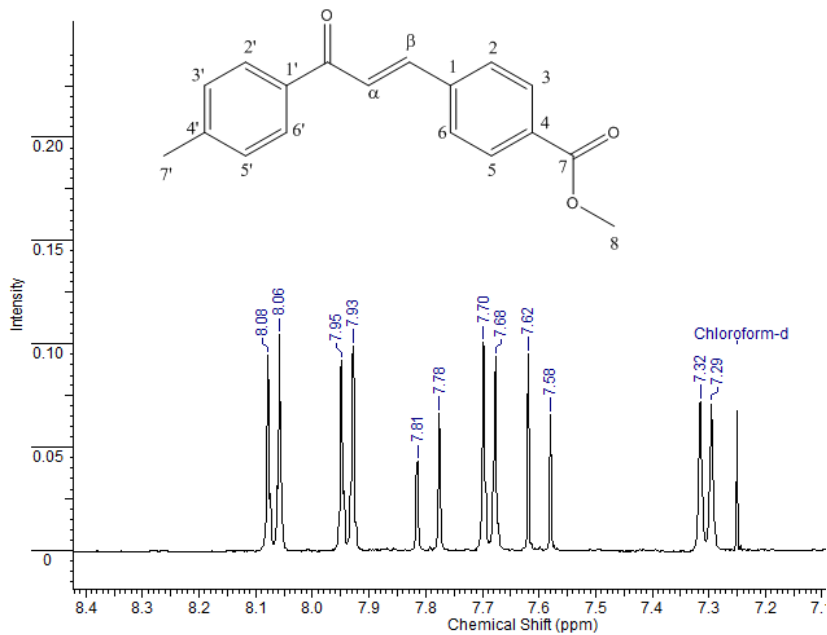


Figura 20. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q2VA.

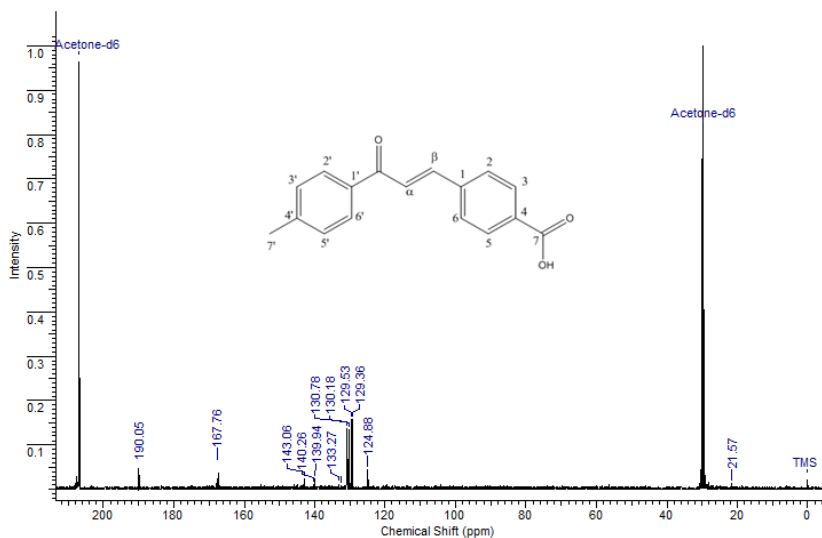


Figura 21. Espectro RMN ^{13}C do composto Q2VB.

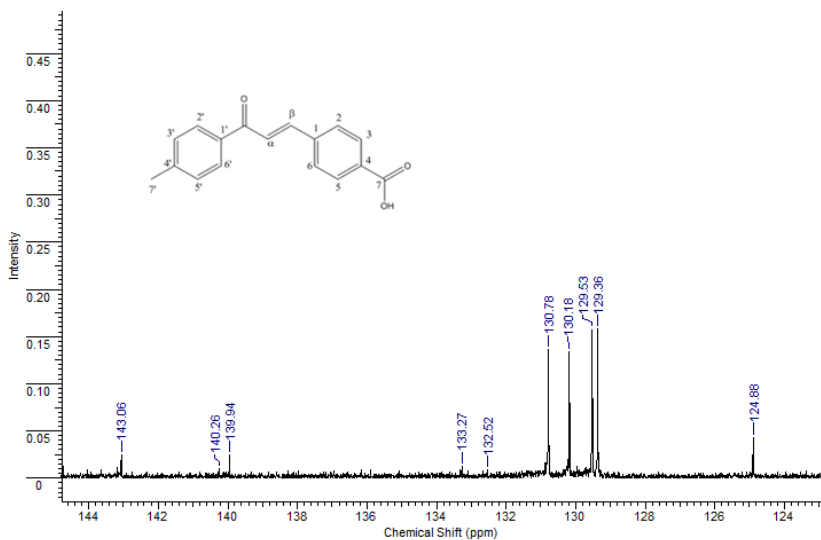


Figura 22. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q2VB.

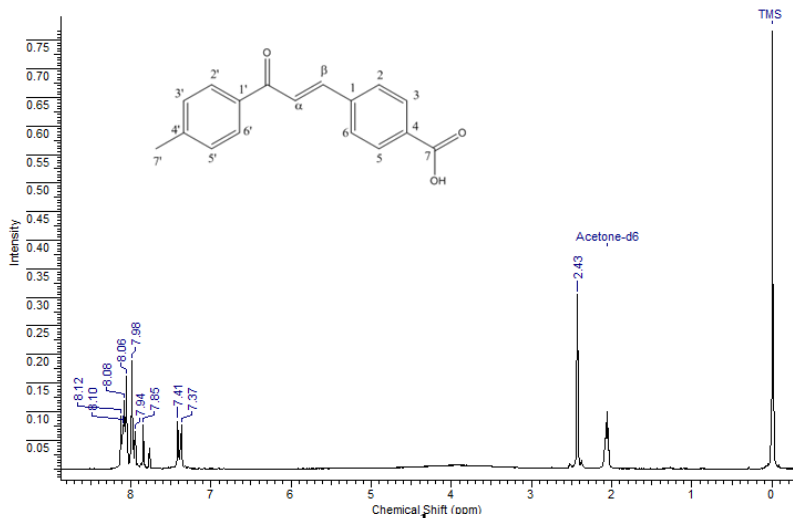


Figura 23. Espectro RMN ^1H do composto Q2VB.

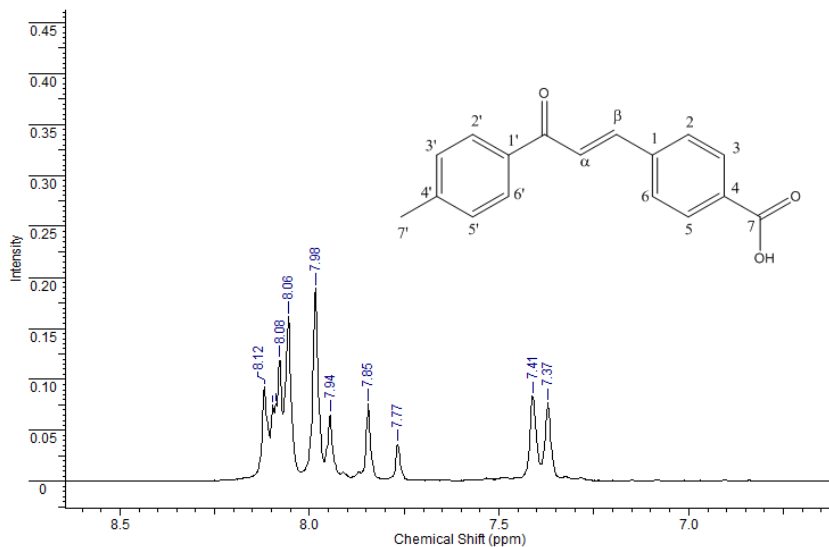


Figura 24. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q2VB.

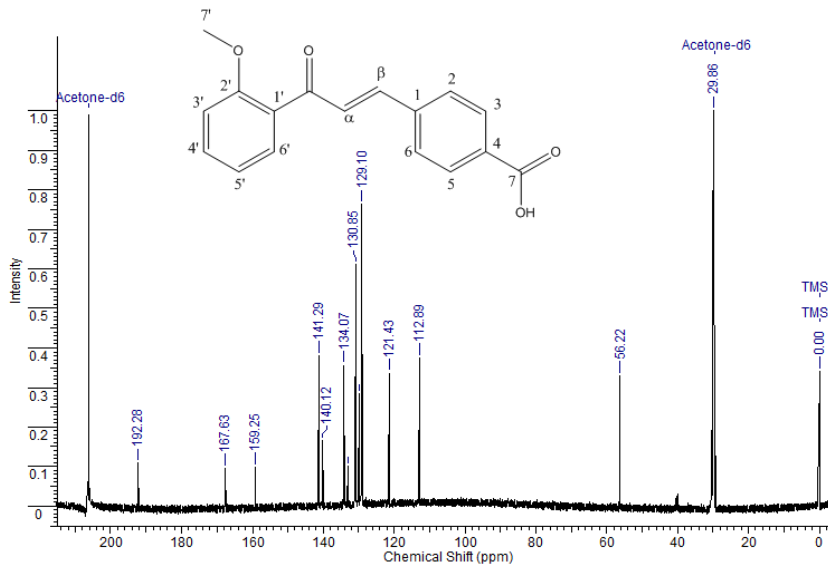


Figure 25. Espectro RMN ^{13}C do composto Q3MC.

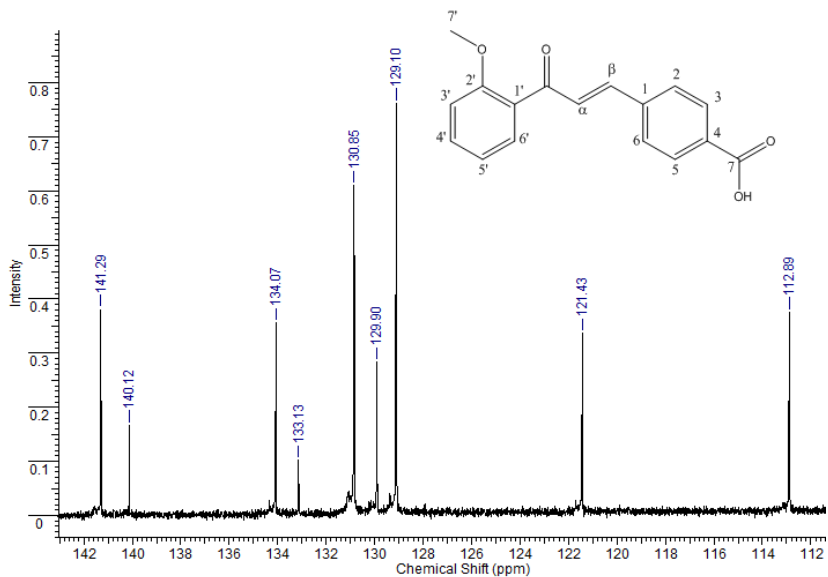


Figura 26. Segunda ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q3MC.

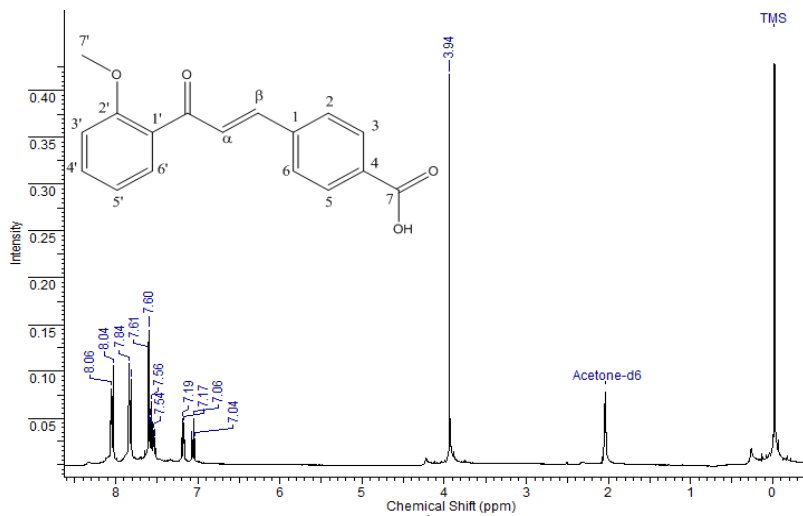


Figura 27. Espectro RMN ^1H do composto Q3MC.

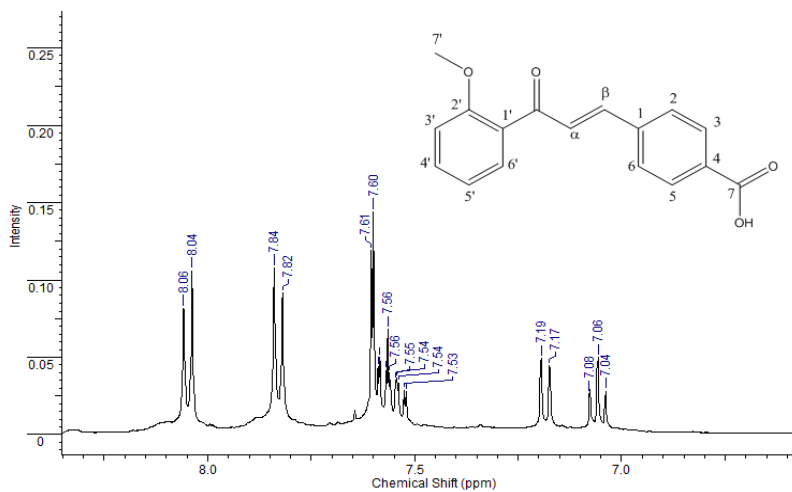


Figura 28. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q3MC.

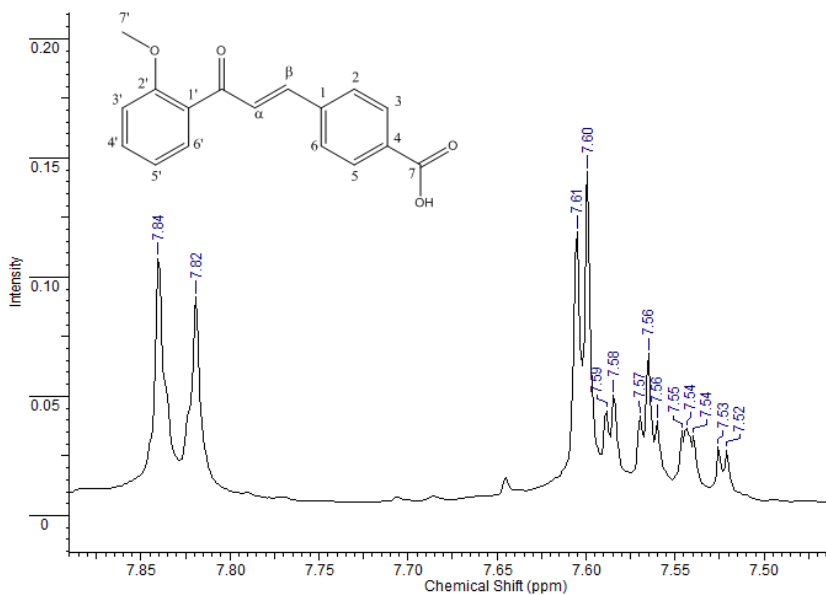


Figura 29. Segunda ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q3MC.

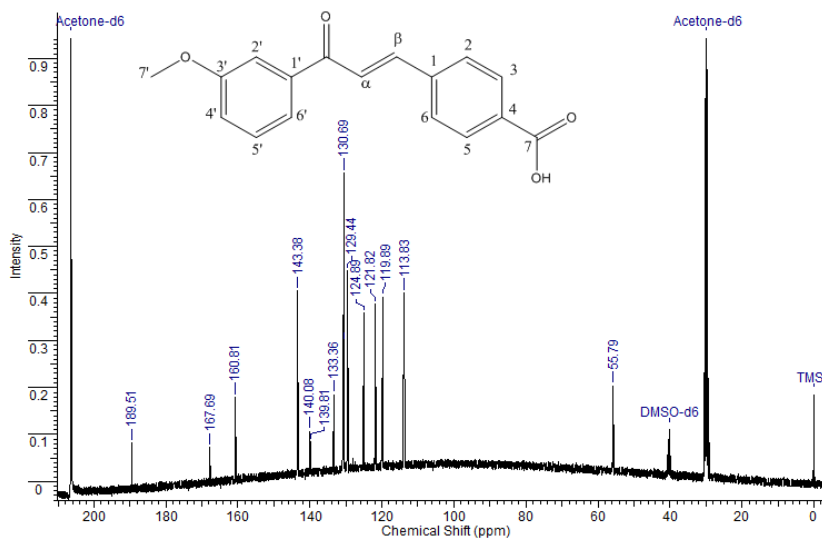


Figura 30. Espectro RMN ^{13}C do composto Q4MC.

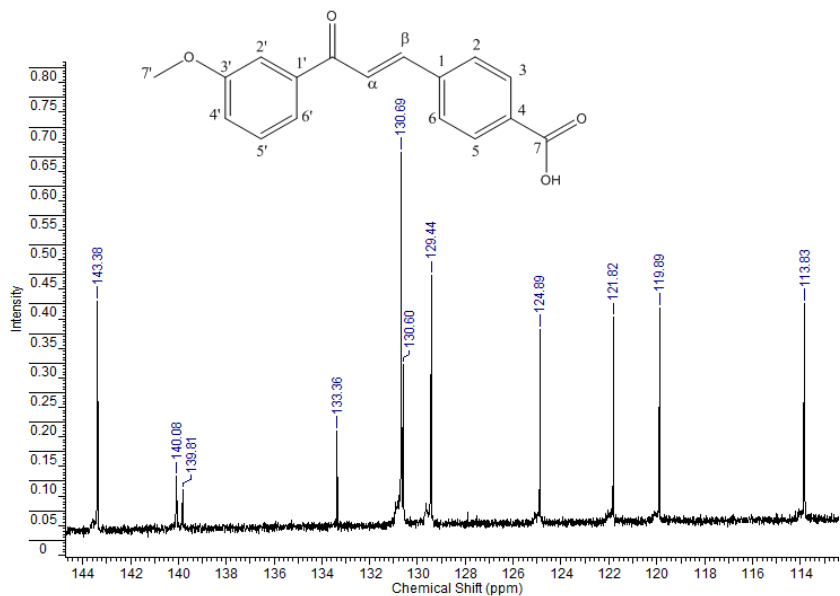


Figura 31. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q4MC.

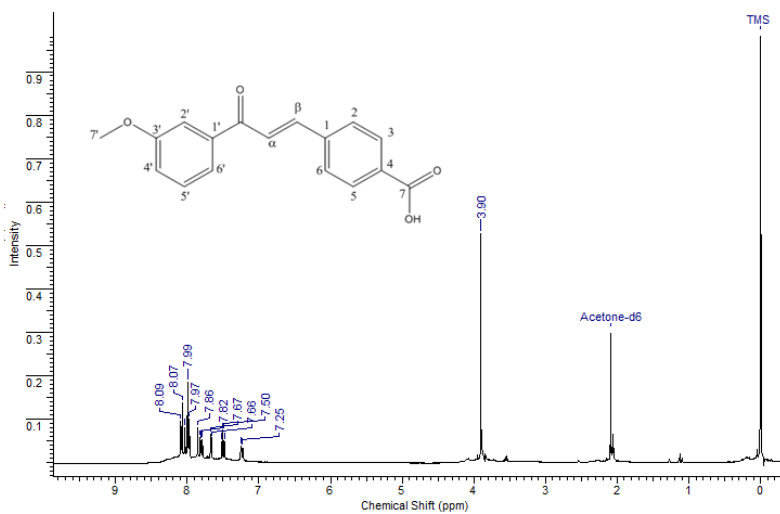


Figura 32. Espectro RMN ^1H do composto Q4MC.

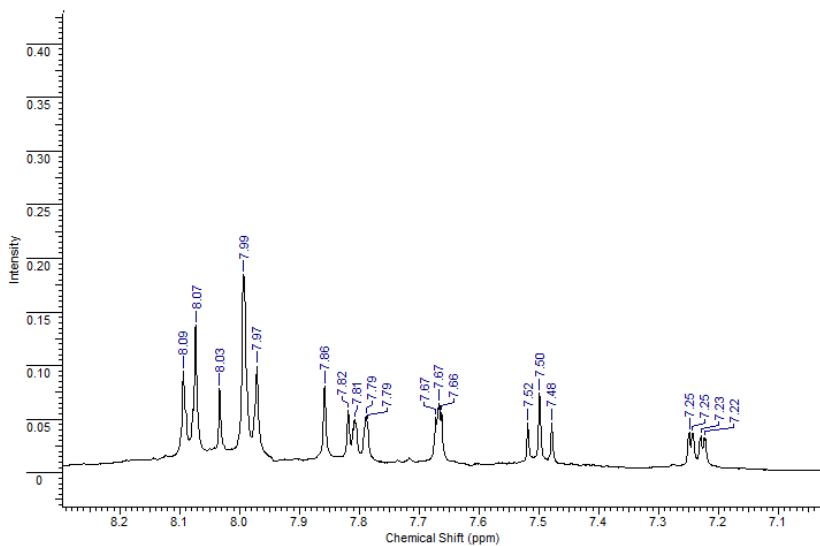


Figura 33. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q4MC.

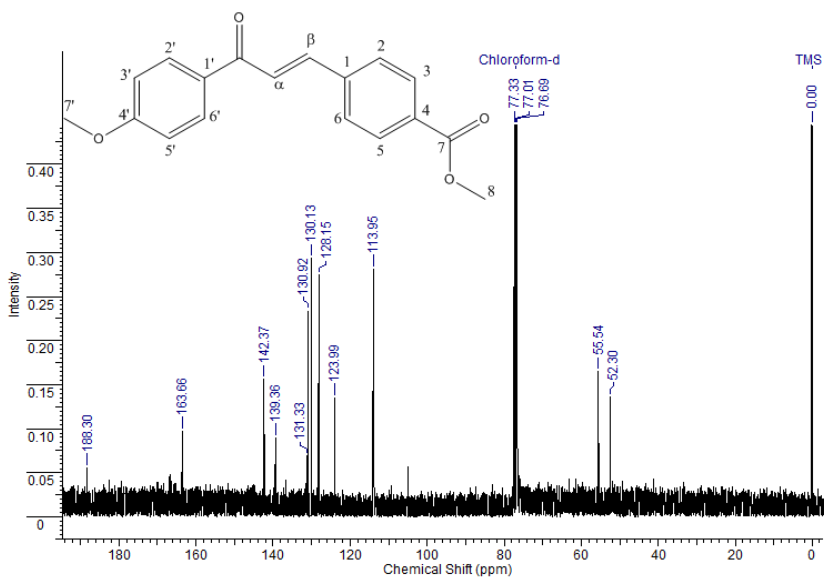


Figura 34. Espectro RMN ^{13}C do composto Q5VA.

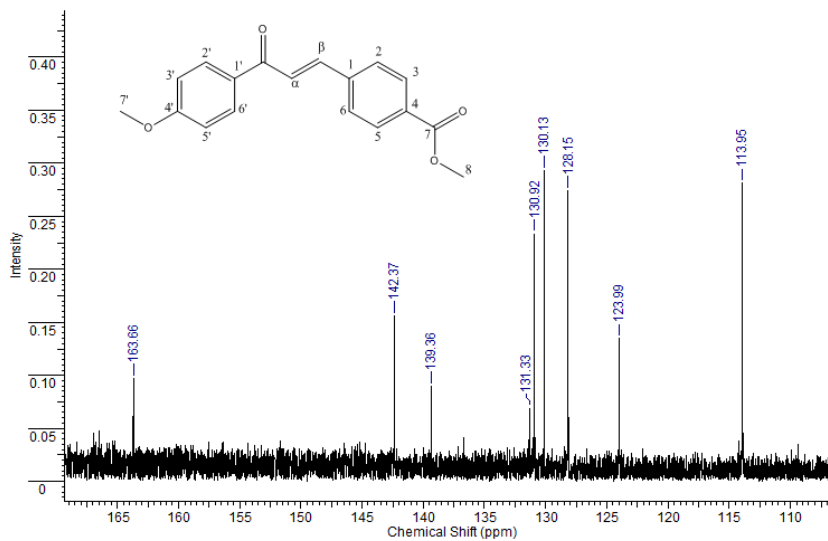


Figura 35. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q5VA.

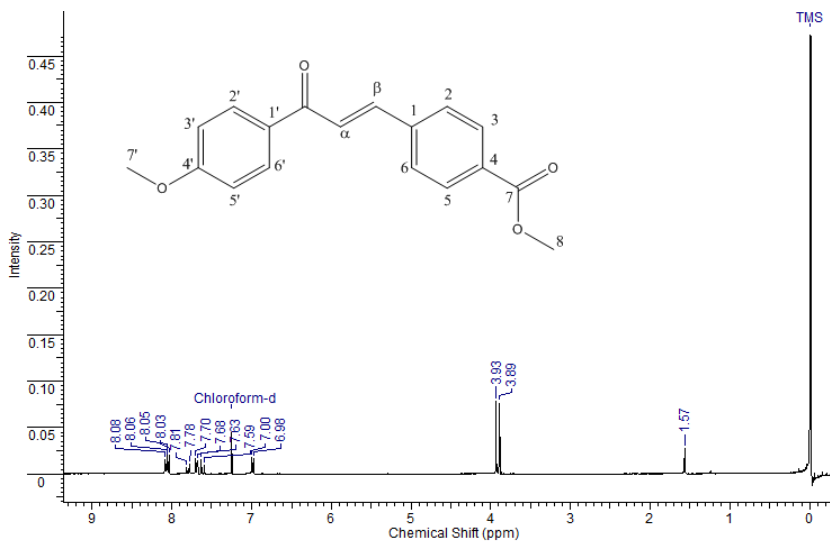


Figura 36. Espectro RMN ^1H do composto Q5VA.

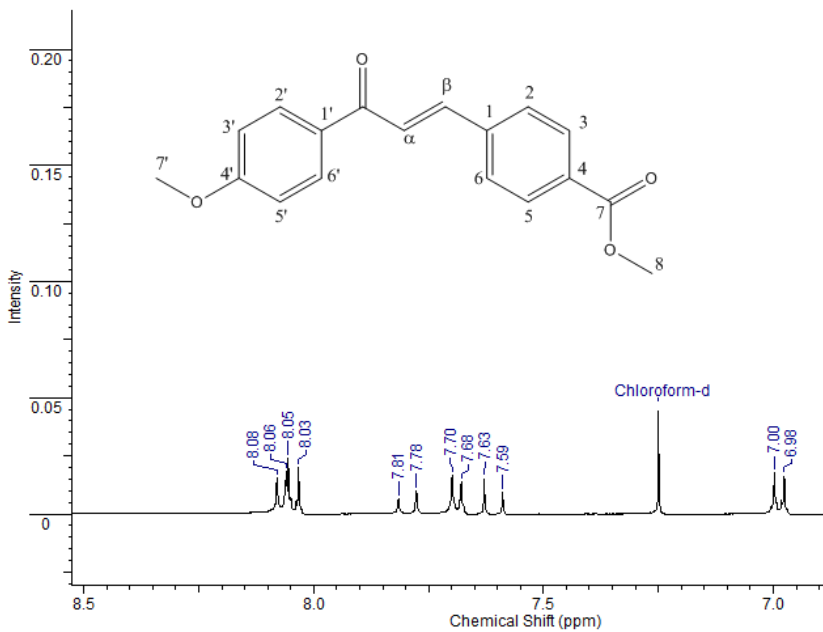


Figura 37. Ampliação do espectro RMN ¹H do composto Q5VA.

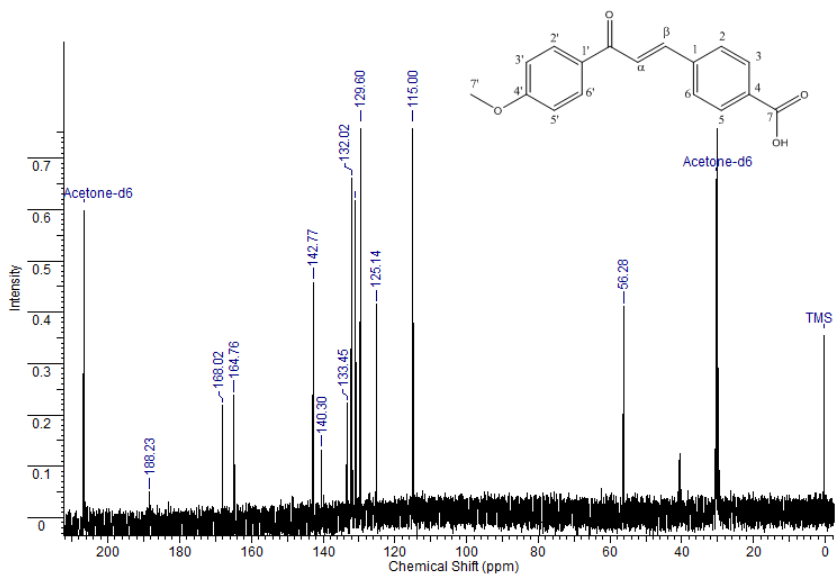


Figura 38. Espectro RMN ¹³C do composto Q5VB.

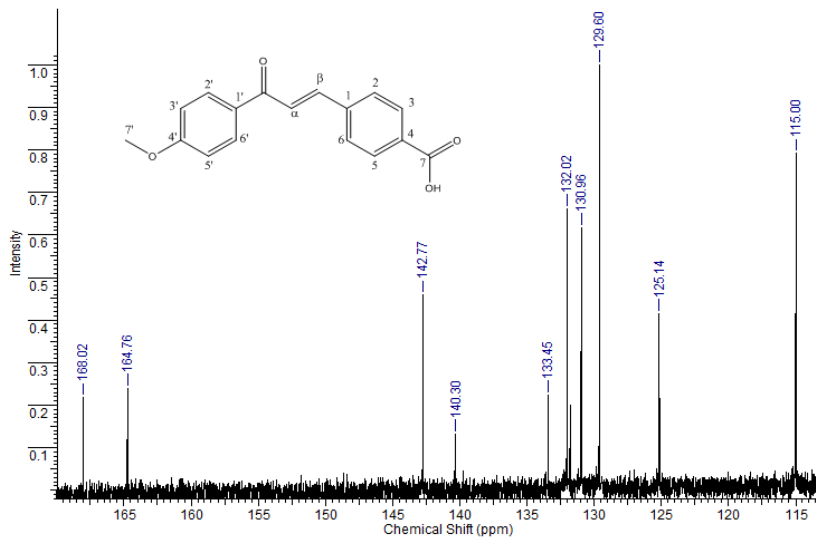


Figura 39. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q5VB.

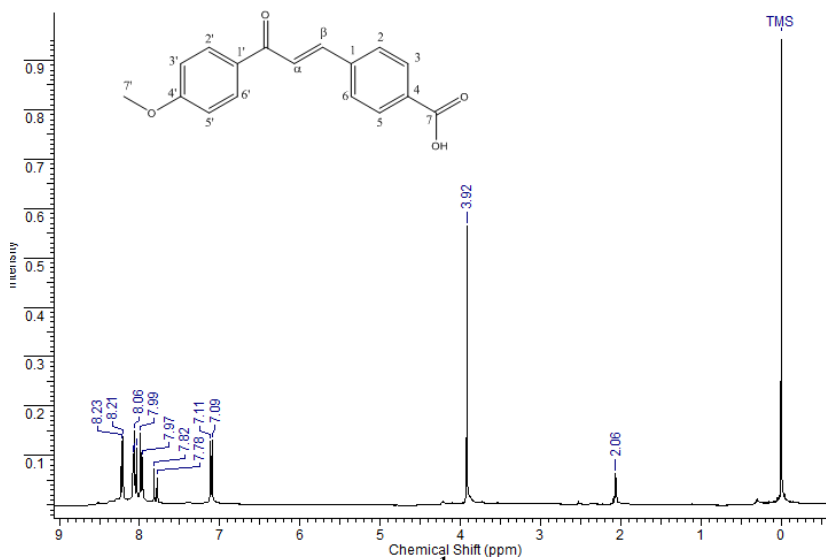


Figura 40. Espectro RMN ^1H do composto Q5VB.

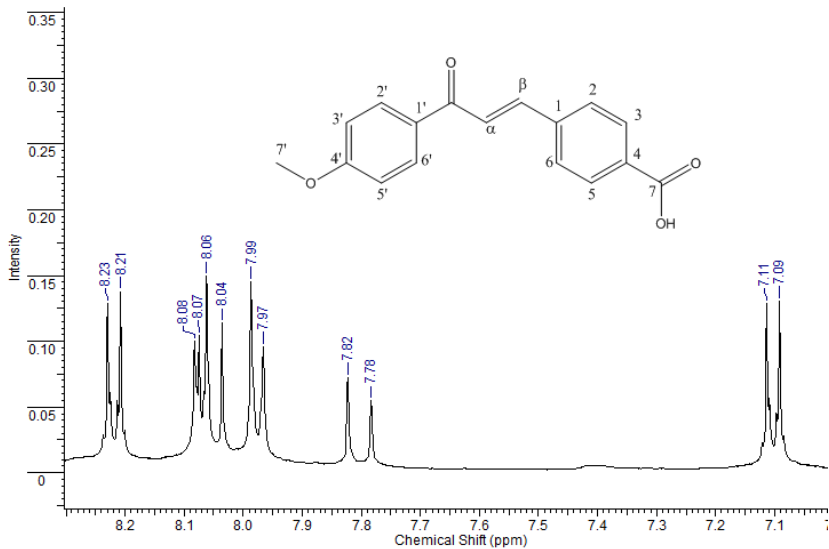


Figura 41. Ampliação do espectro RMN ¹H do composto Q5VB.

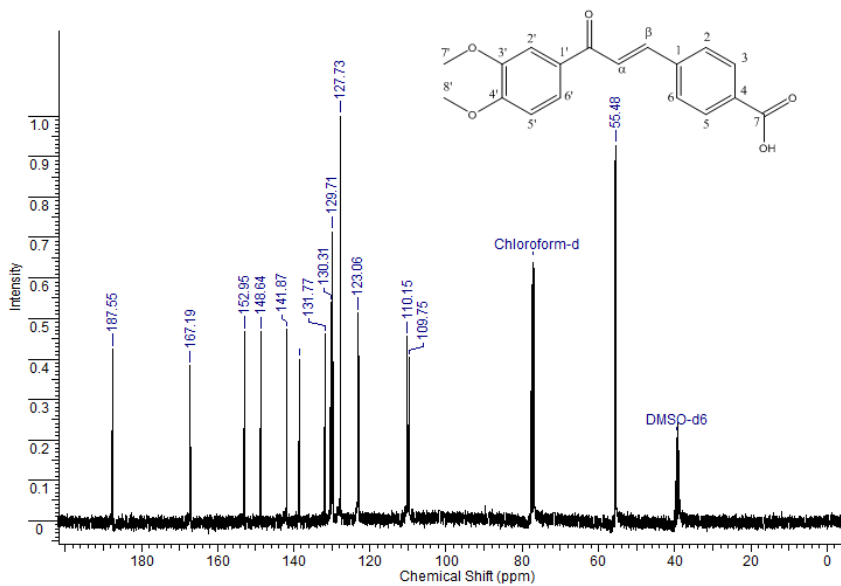


Figura 42. Espectro RMN ¹³C do composto Q6VBR.

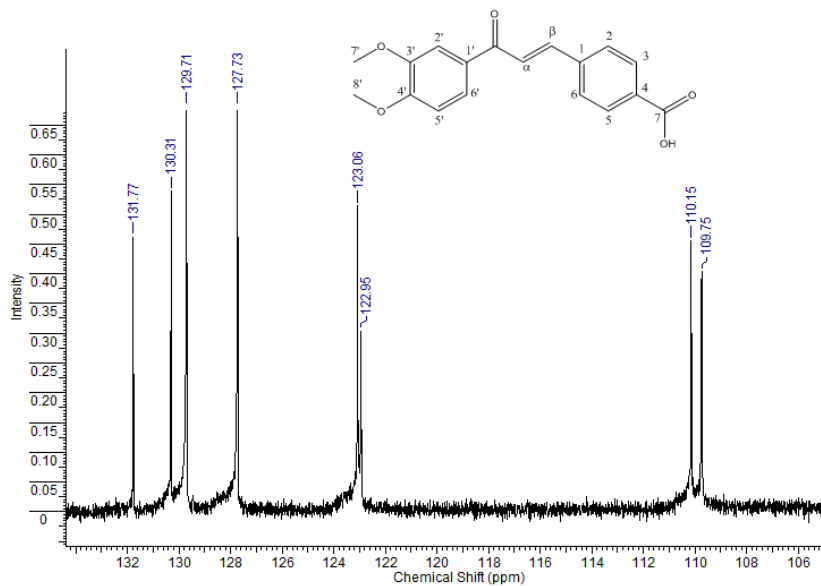


Figura 43. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q6VBR.

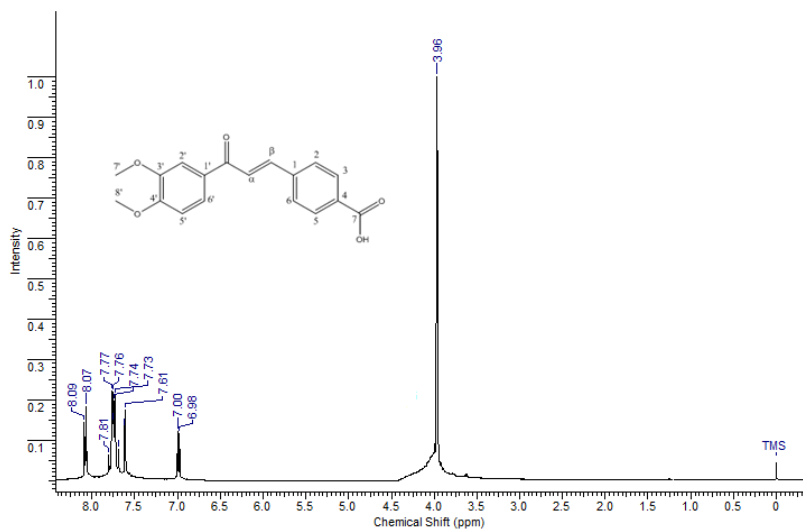


Figura 44. Espectro RMN ^1H do composto Q6VBR.

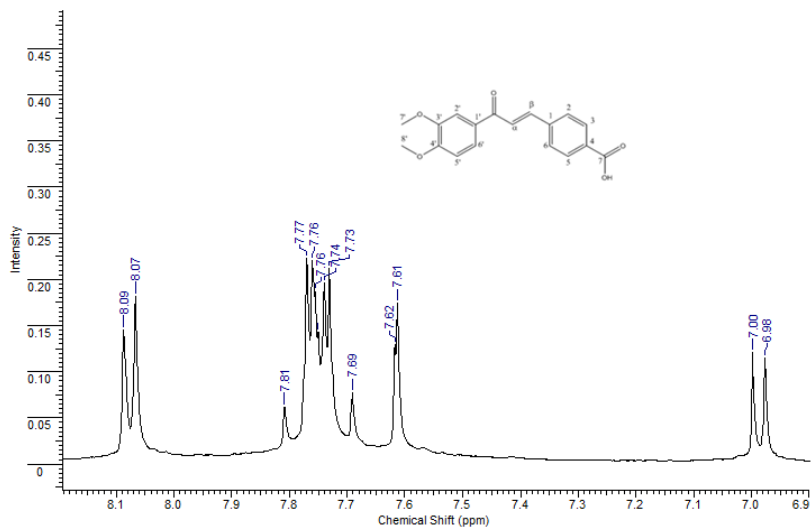


Figura 45. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q6VBR.

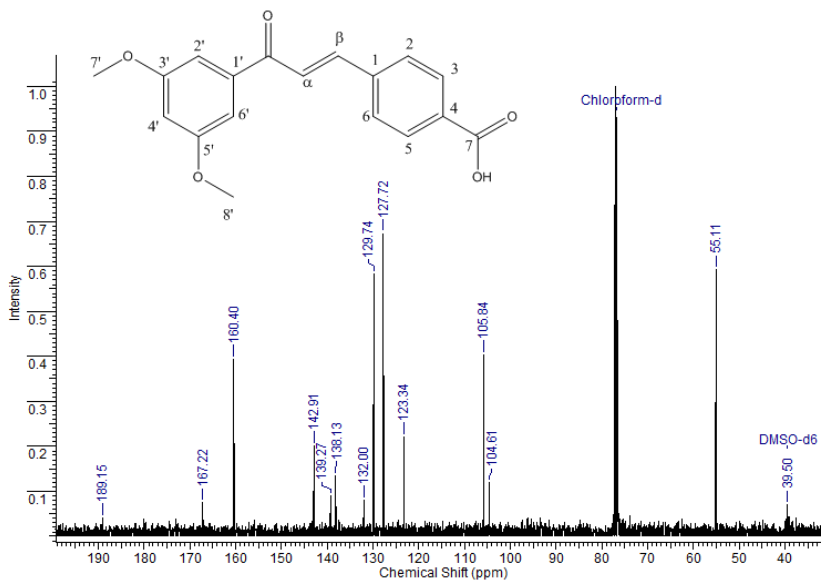


Figura 46. Espectro RMN ^{13}C do composto Q7VBR.

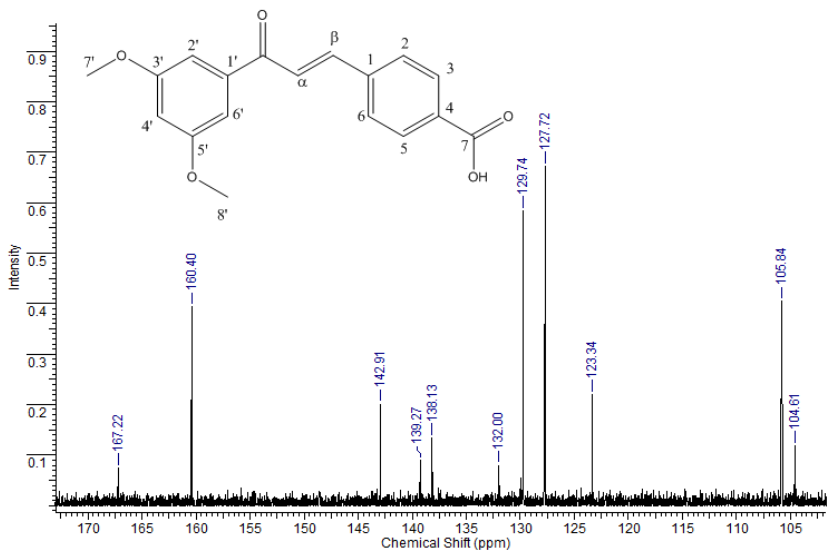


Figura 47. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q7VBR.

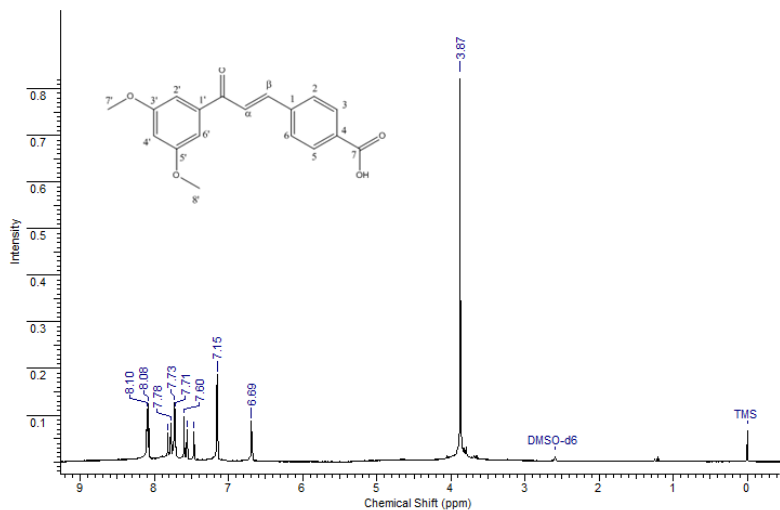


Figura 48. Espectro RMN ^1H do composto Q7VBR.

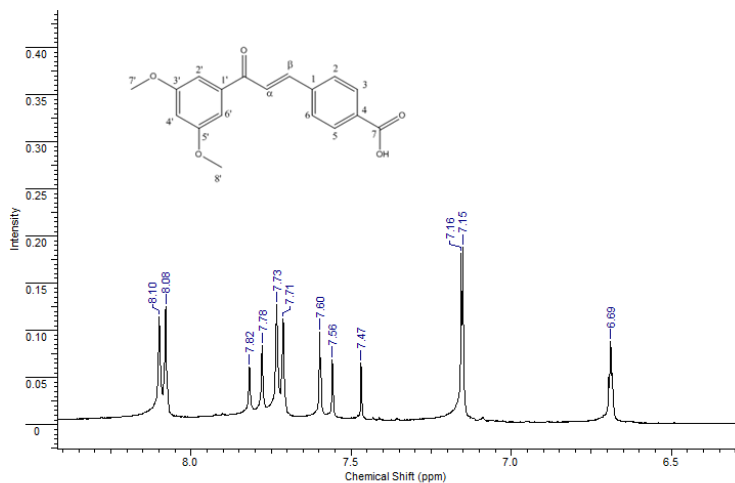


Figura 49. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q7VBR.

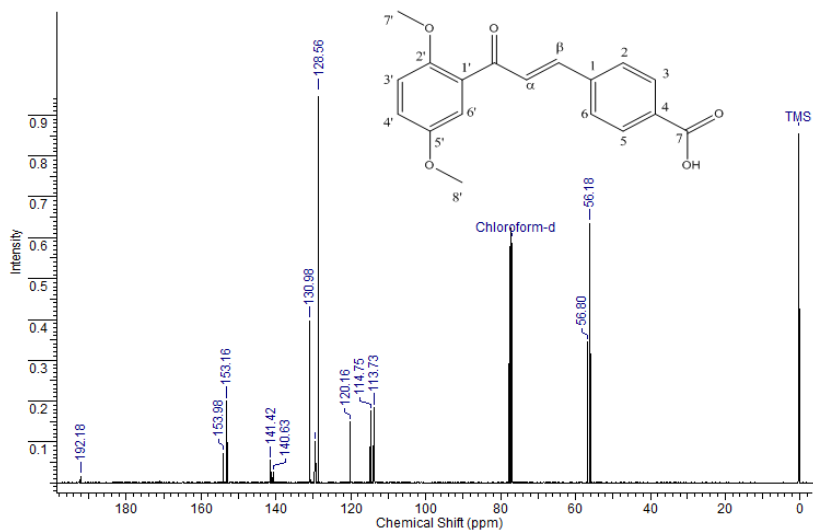


Figura 50. Espectro RMN ^{13}C do composto Q8VBR.

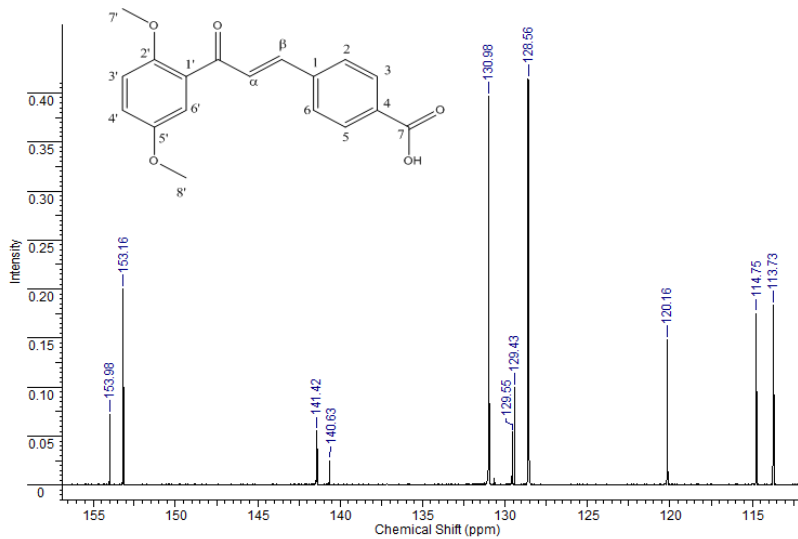


Figura 51. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q8VBR.

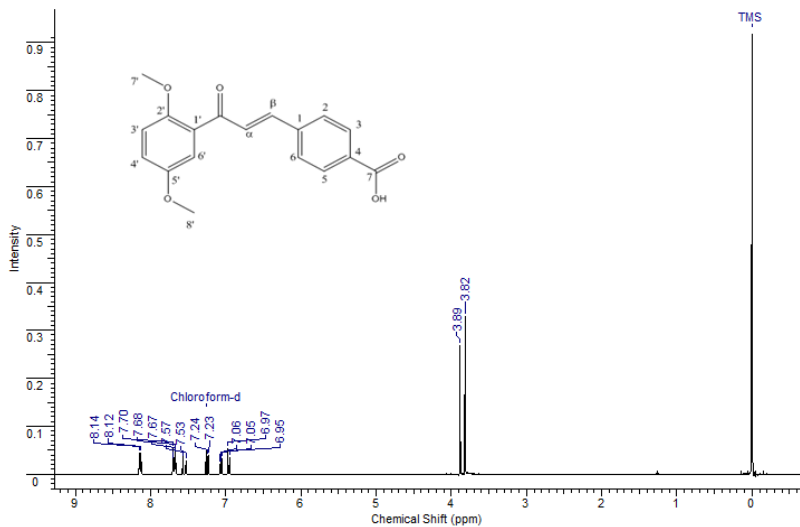


Figura 52. Espectro RMN ^1H do composto Q8VBR.

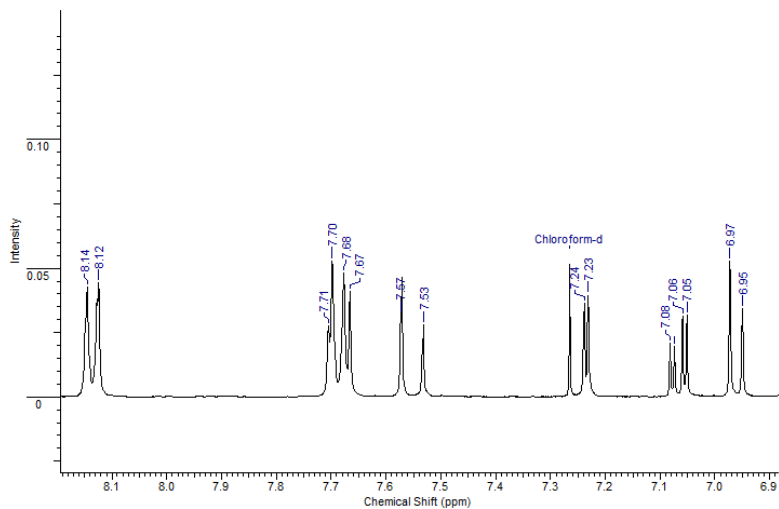


Figura 53. Ampliação do espectro RMN 1H do composto Q8VBR.

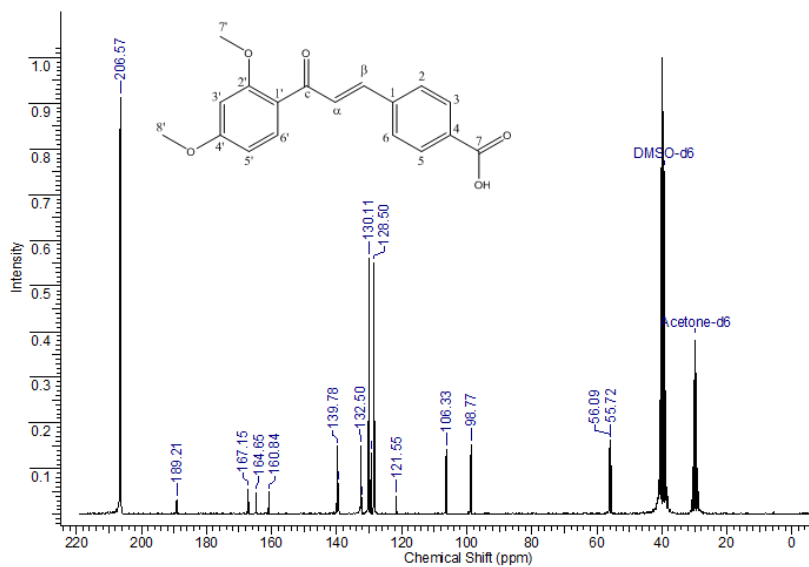


Figura 54. Espectro de RMN 13C do composto Q9MC.

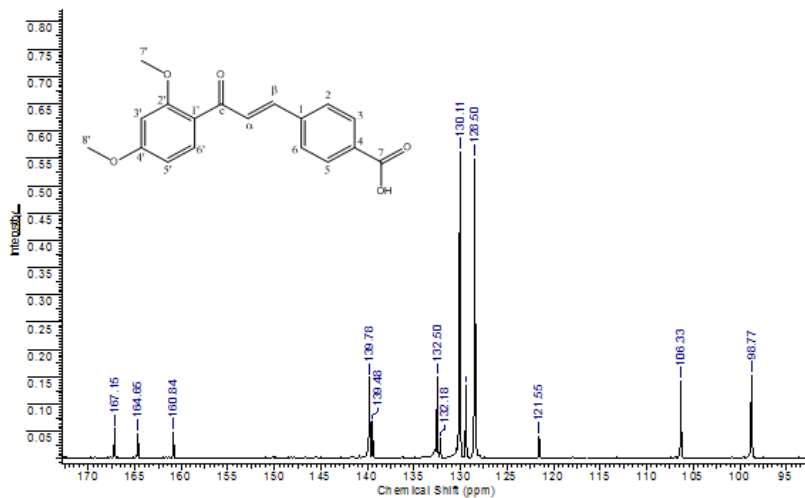


Figura 55. Ampliação do espectro de RMN ^{13}C do composto Q9MC.

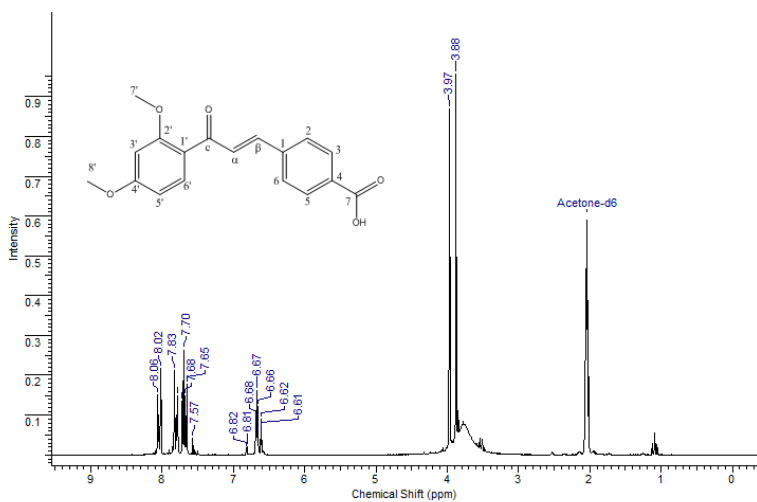


Figura 56. Espectro RMN ^1H do composto Q9MC.

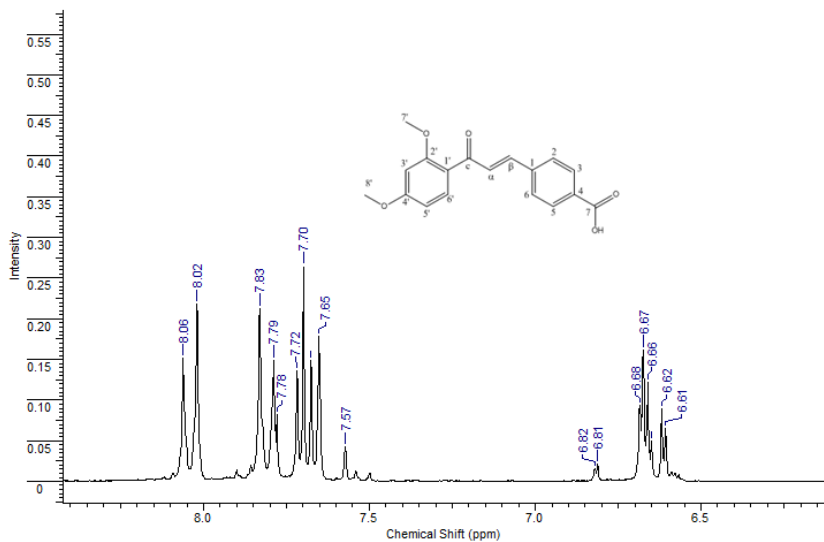


Figura 57. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q9MC.

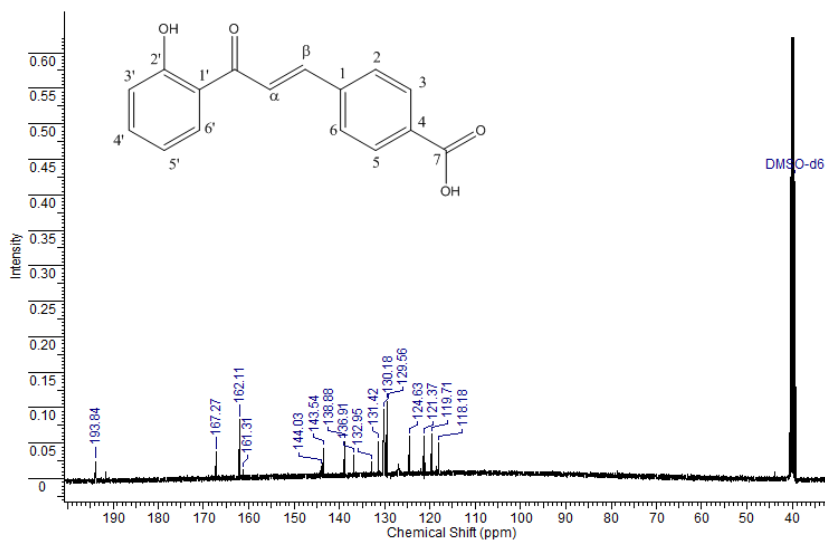


Figura 58. Espectro RMN ^{13}C do composto Q15VB.

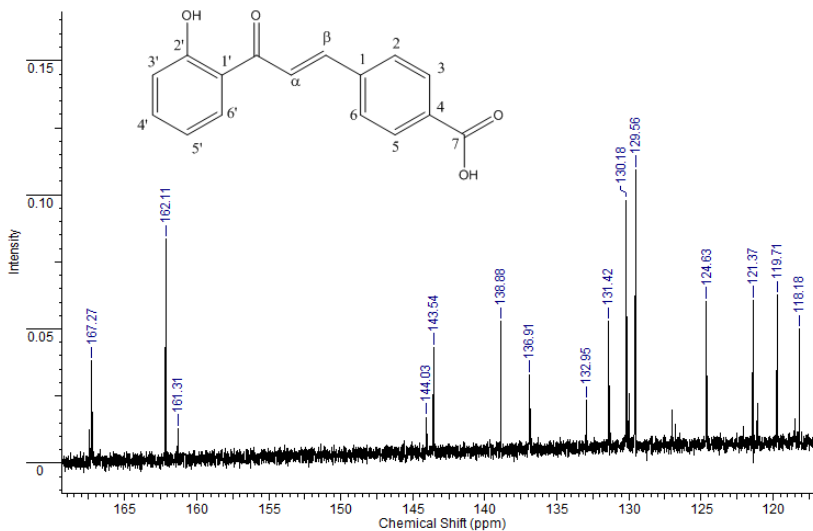


Figura 59. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q15VB.

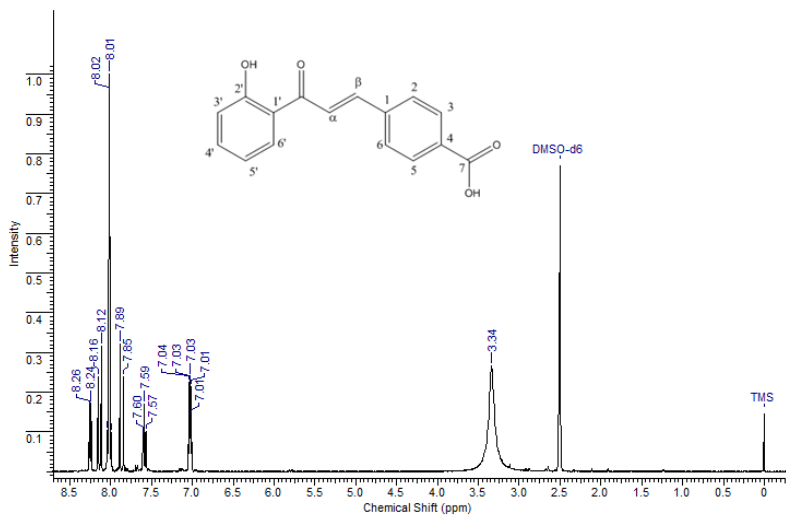


Figura 60. Espectro RMN ^1H do composto Q15VB.

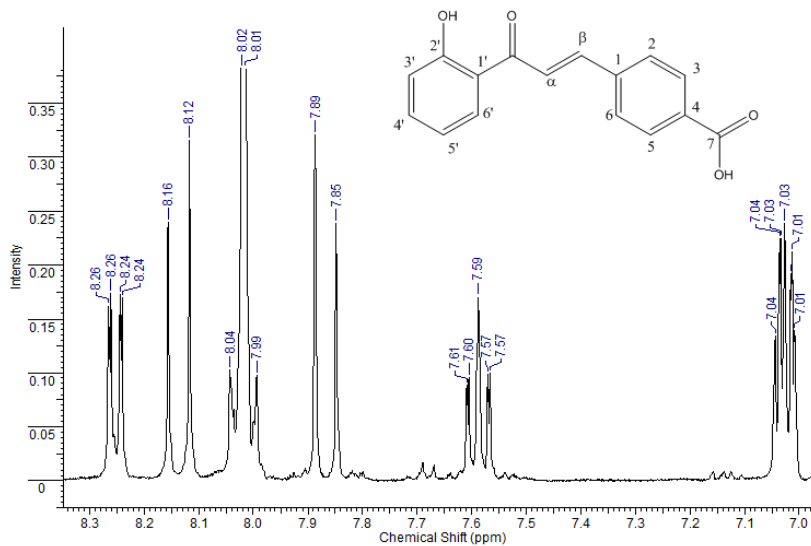


Figura 61. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q15VB.

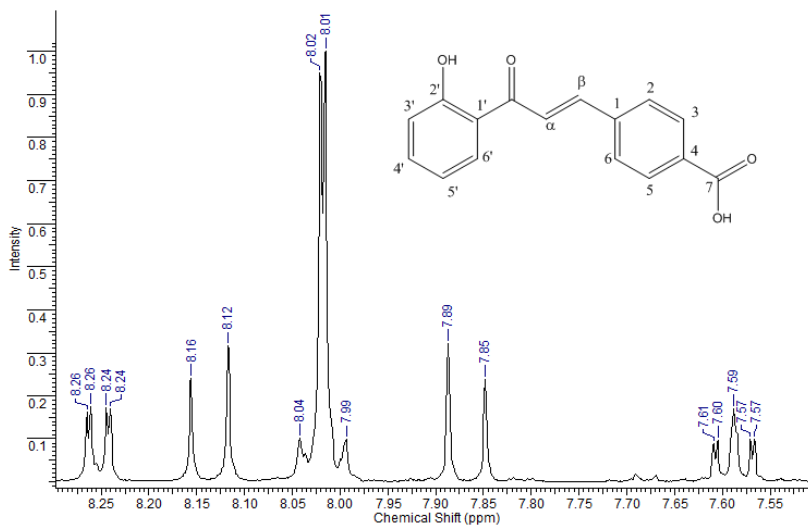


Figura 62. Segunda ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q15VB.

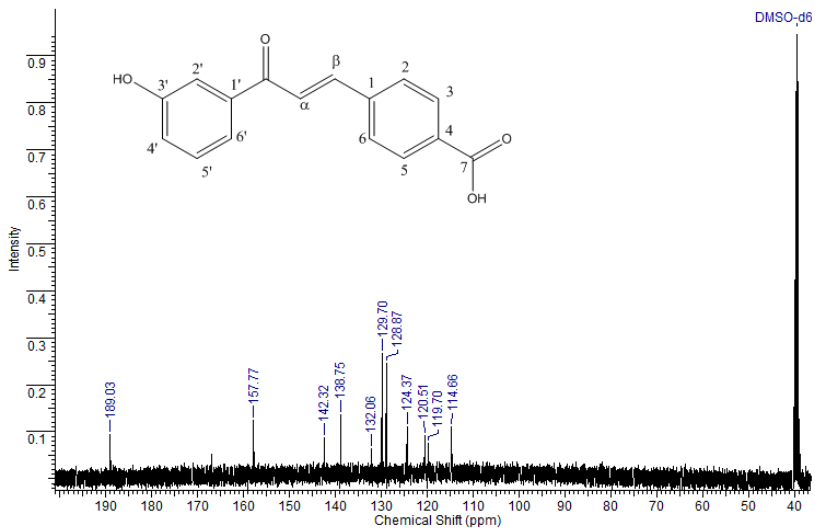


Figura 63. Espectro RMN ^{13}C do composto Q16VB.

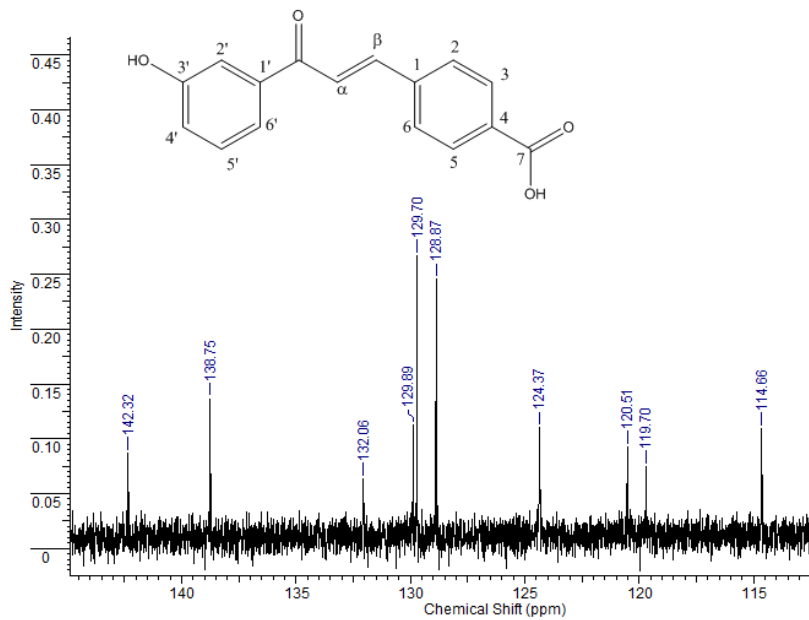


Figura 64. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q16VB.

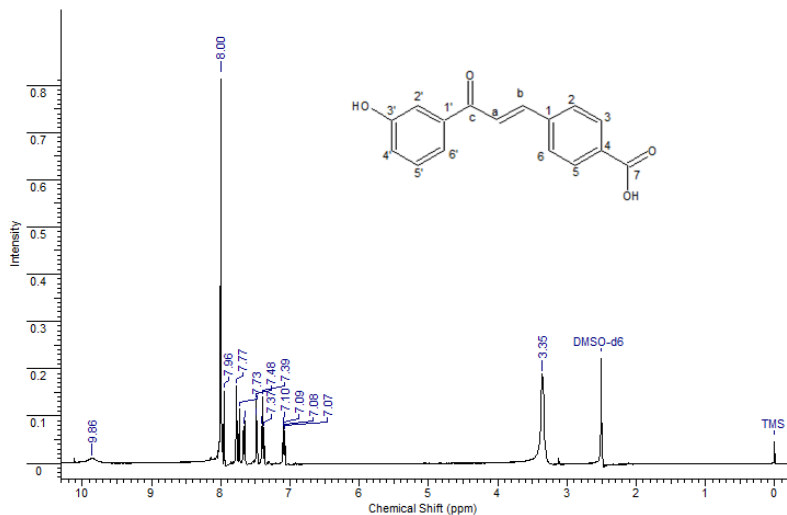


Figura 65. Espectro RMN ^1H do composto Q16VB.

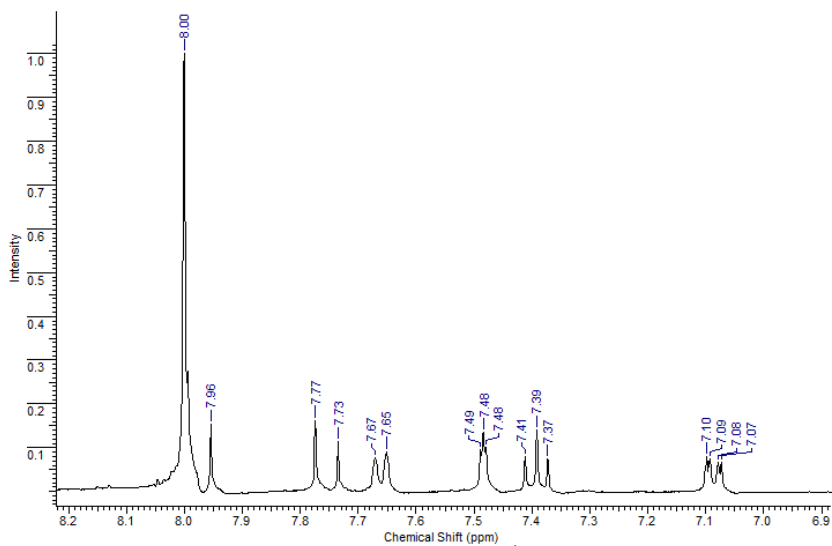


Figura 66. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q16VB.

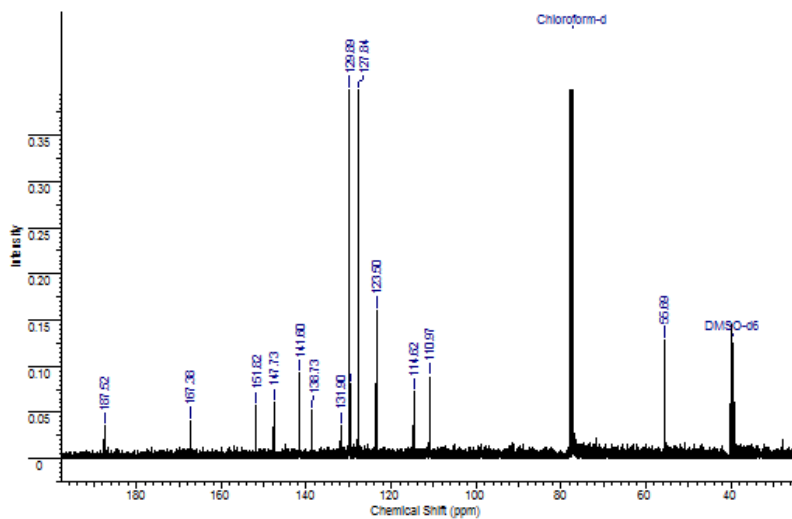
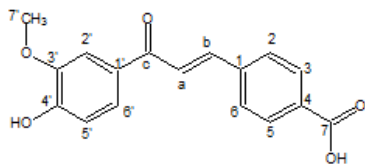


Figura 67. Espectro RMN ^{13}C do composto Q17VB.

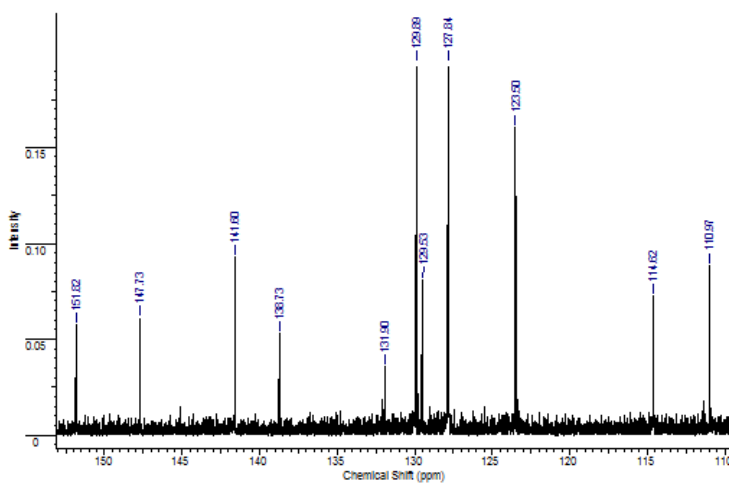


Figura 68. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q17VB.

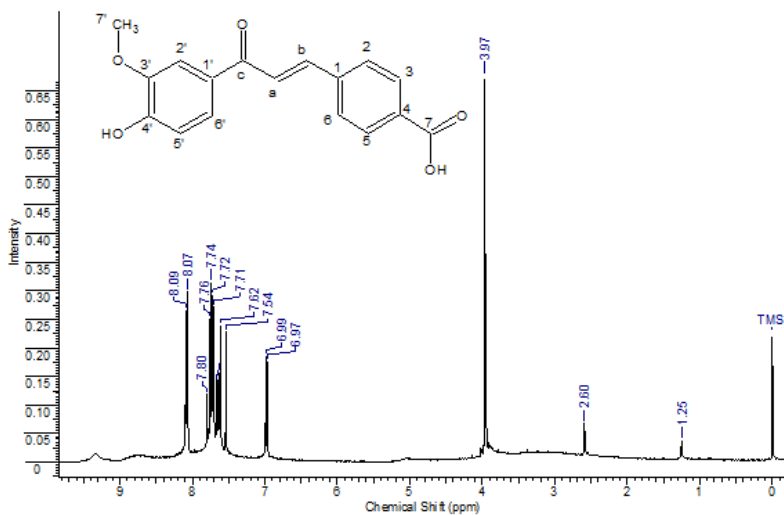


Figura 69. Espectro RMN ^{13}C do composto Q17VB.

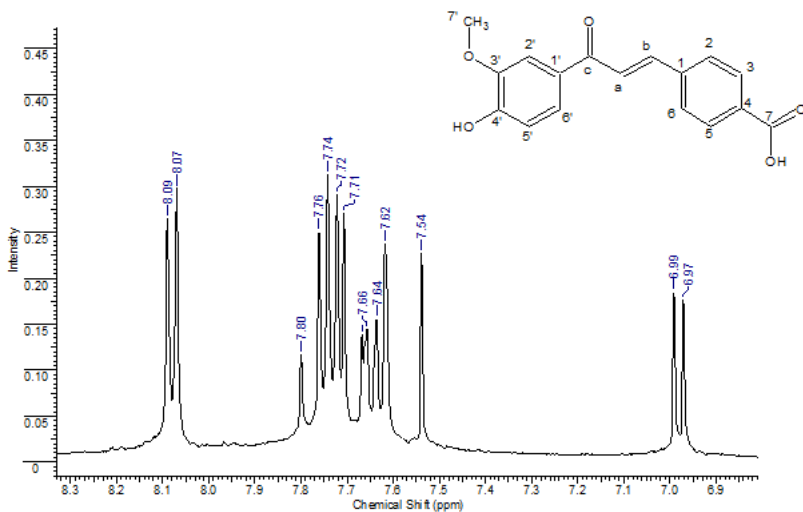


Figura 70. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q17VB.

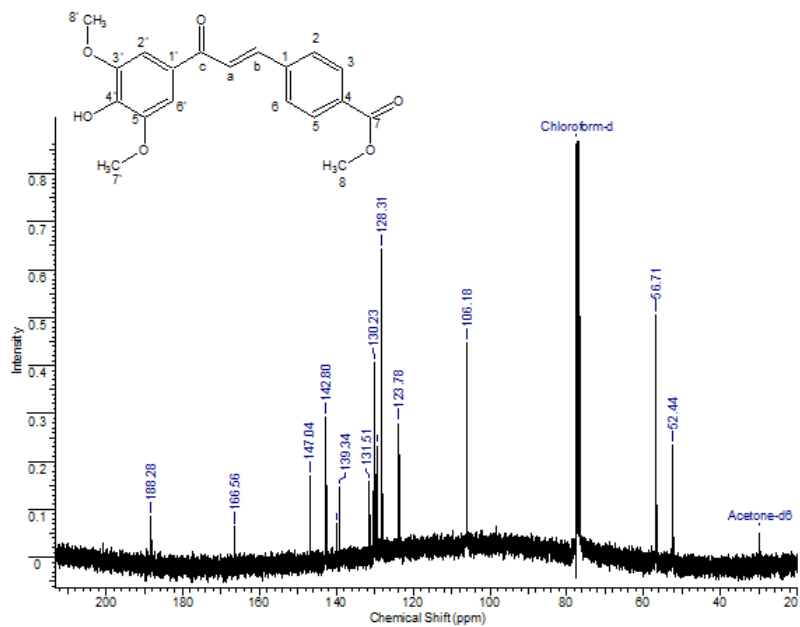


Figura 71. Espectro RMN ¹³C do composto Q18VA.

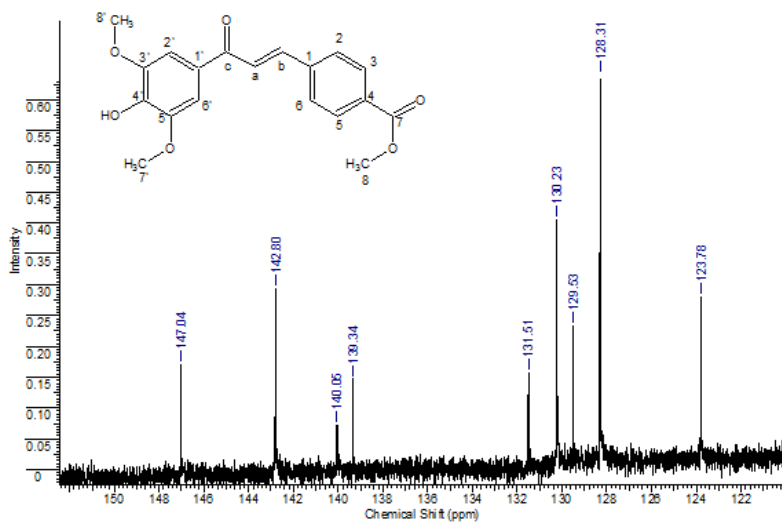


Figura 72. Ampliação do espectro RMN ¹³C do composto Q18VA.

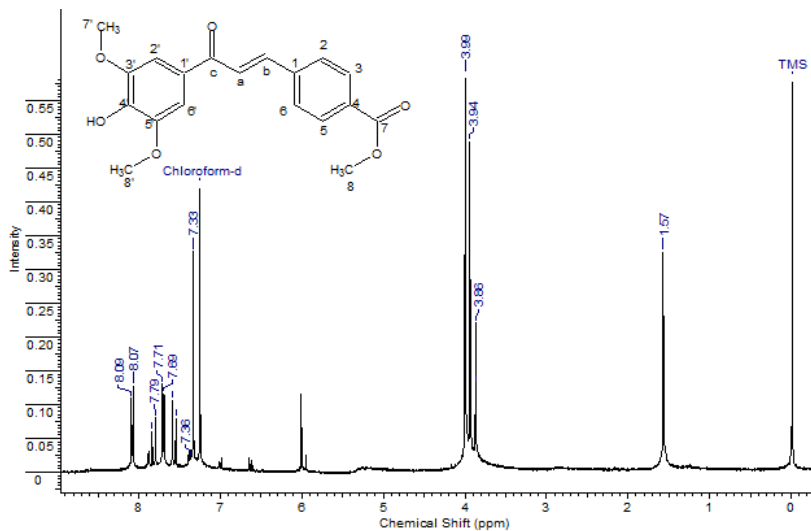


Figura 73. Espectro RMN ^1H do composto Q18VA.

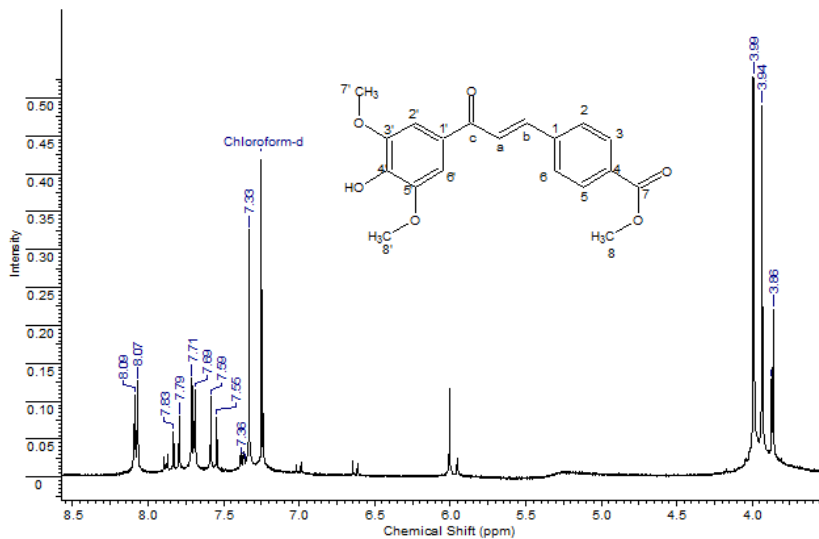


Figura 74. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q18VA.

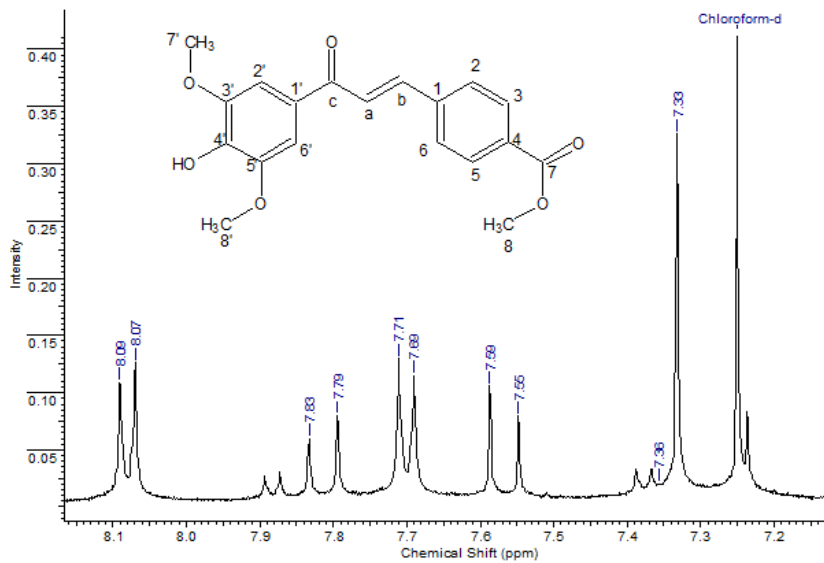


Figura 75. Segunda ampliação do espectro RMN ¹H do composto Q18VA.

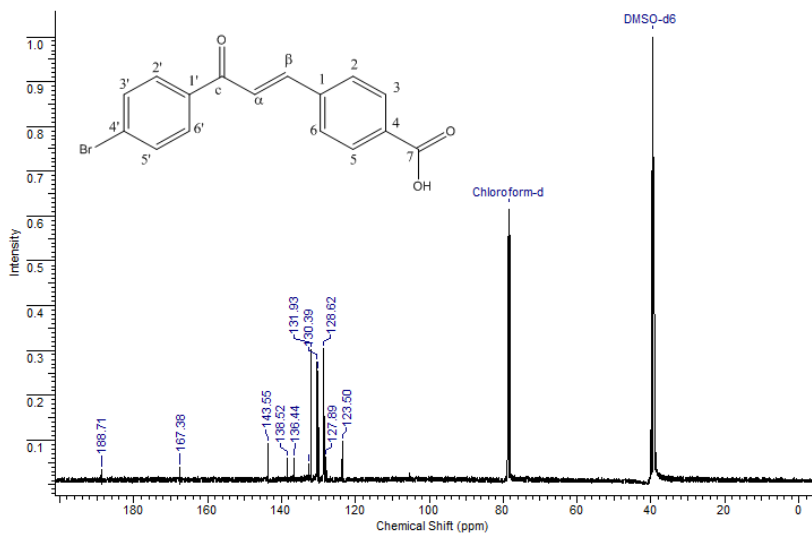


Figura 76. Espectro RMN ¹³C do composto Q19VB.

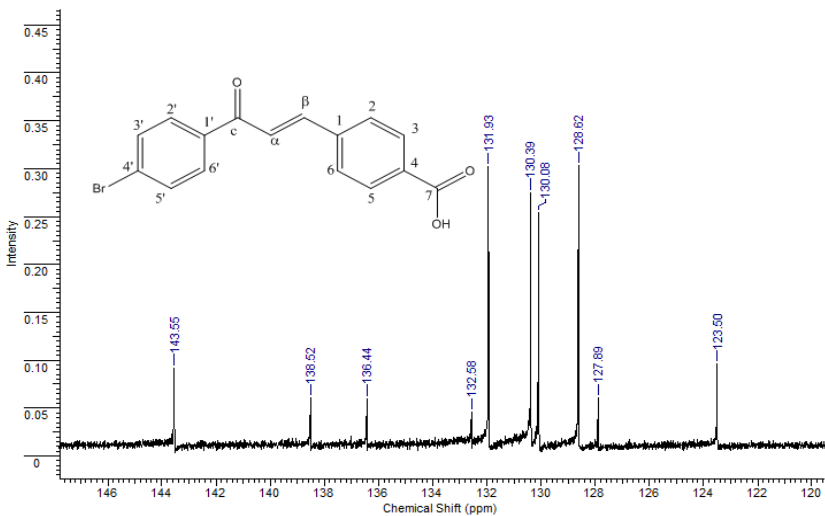


Figura 77. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q19VB.

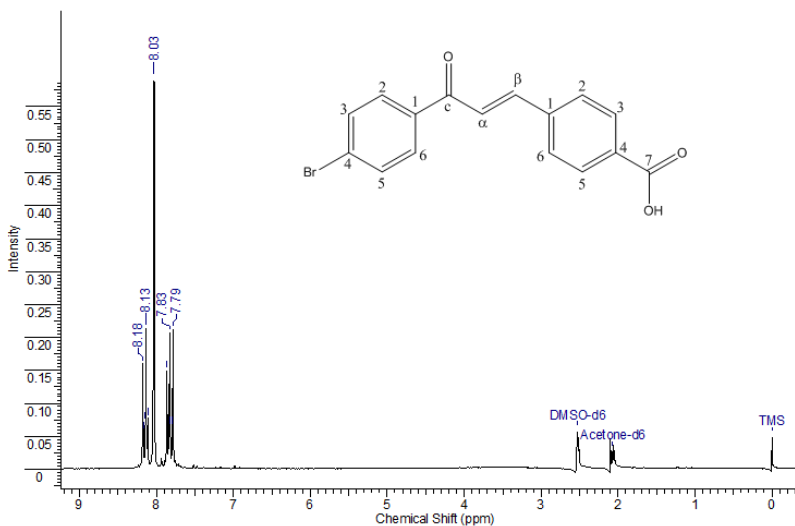


Figura 78. Espectro de RMN ^1H do composto Q19VB.

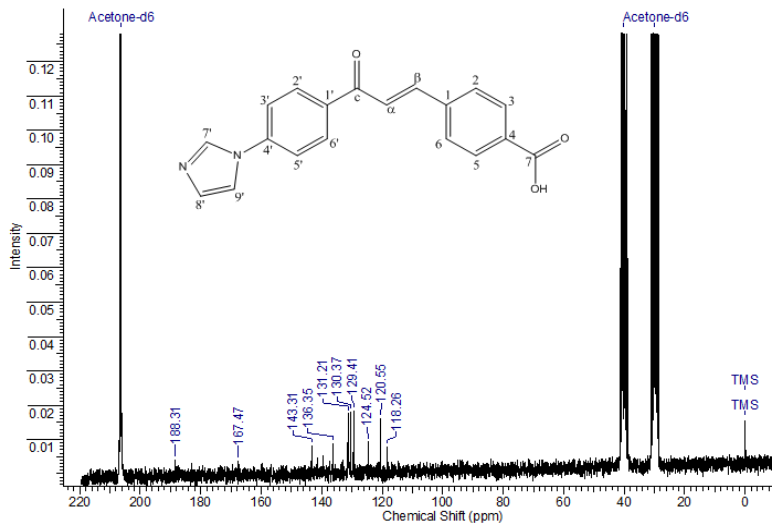


Figura 79. Espectro de RMN ^{13}C do composto Q20VB.

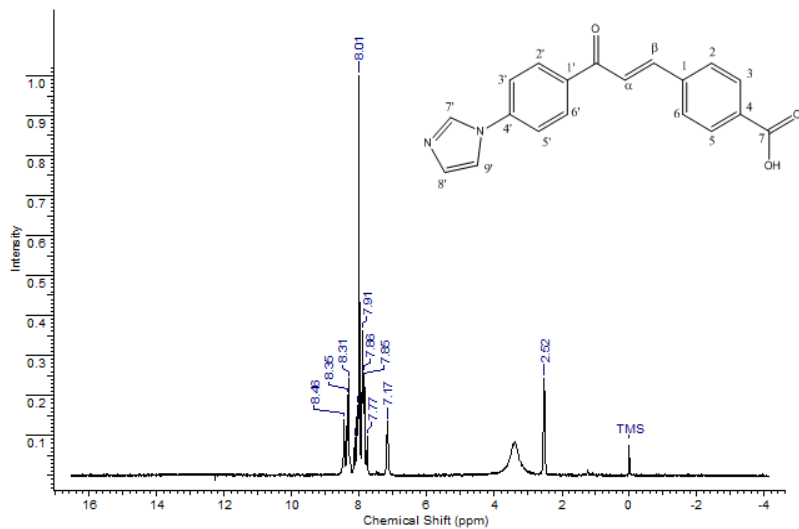


Figura 80. Espectro RMN ^1H do composto Q20VB.

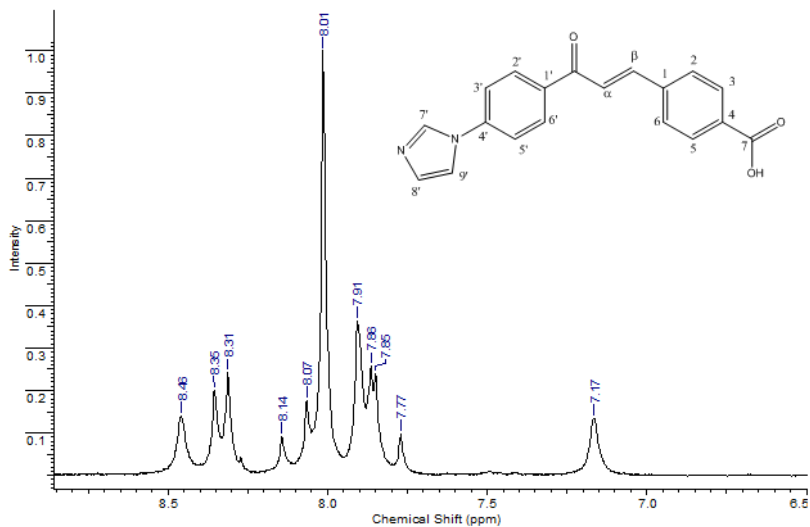


Figura 81. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q20VB.

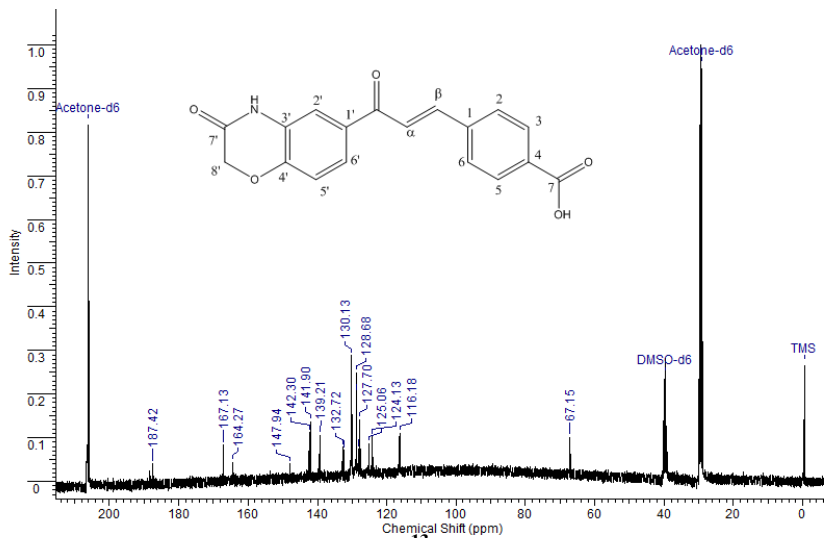
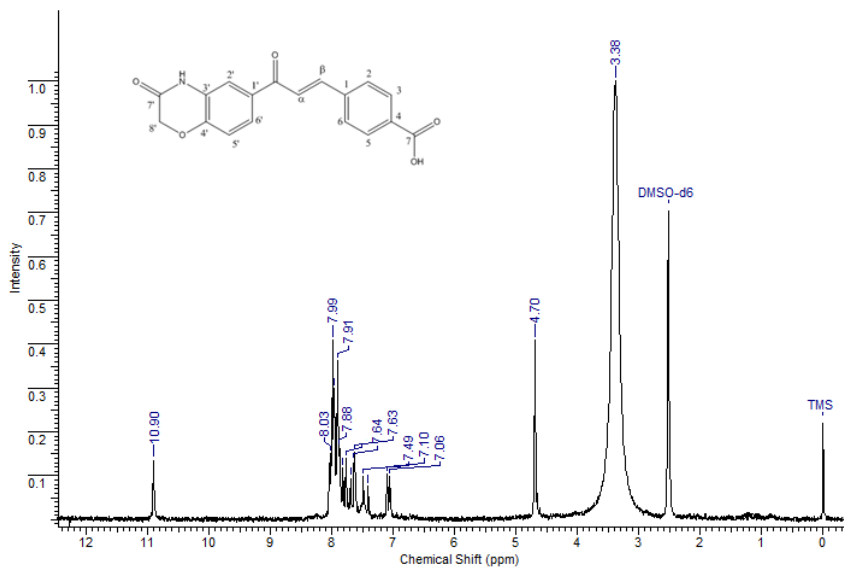
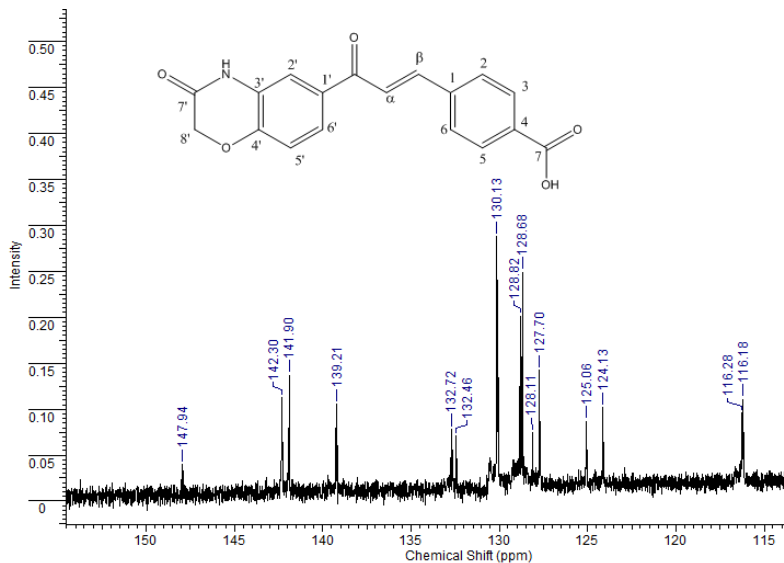


Figura 82. Espectro RMN ^{13}C do composto Q22VB.



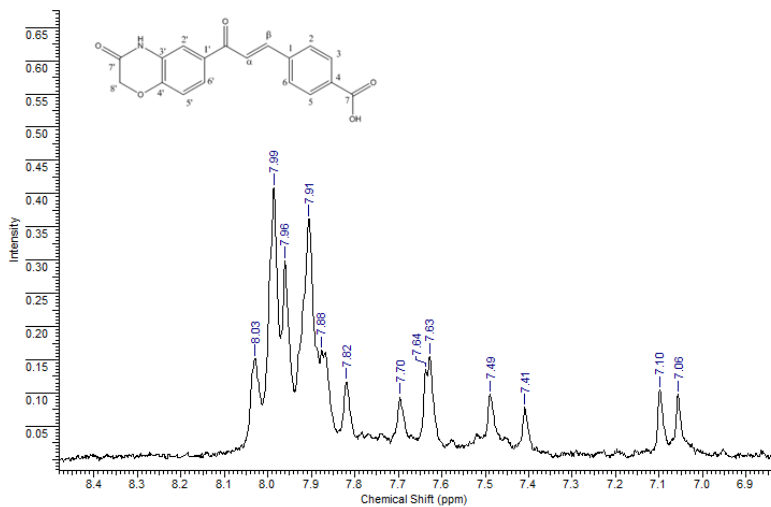


Figura 85. Ampliação do espectro de RMN ^1H do composto Q22VB.

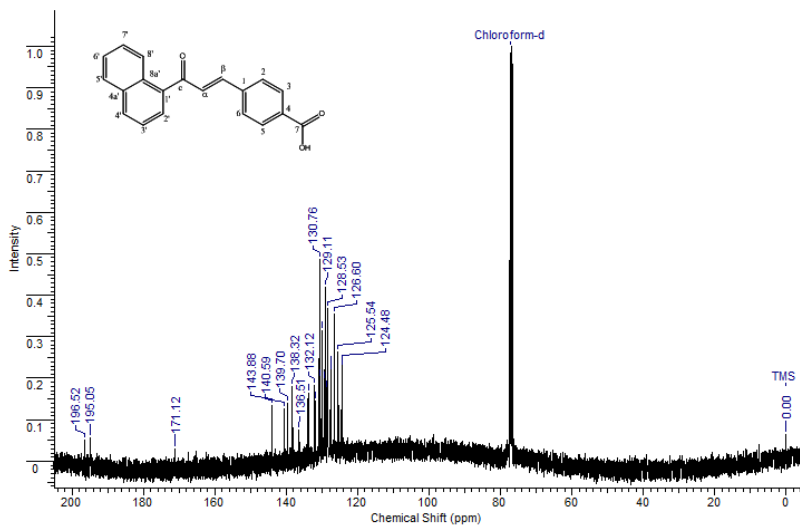


Figura 86. Espectro RMN ^{13}C do composto Q23VB.

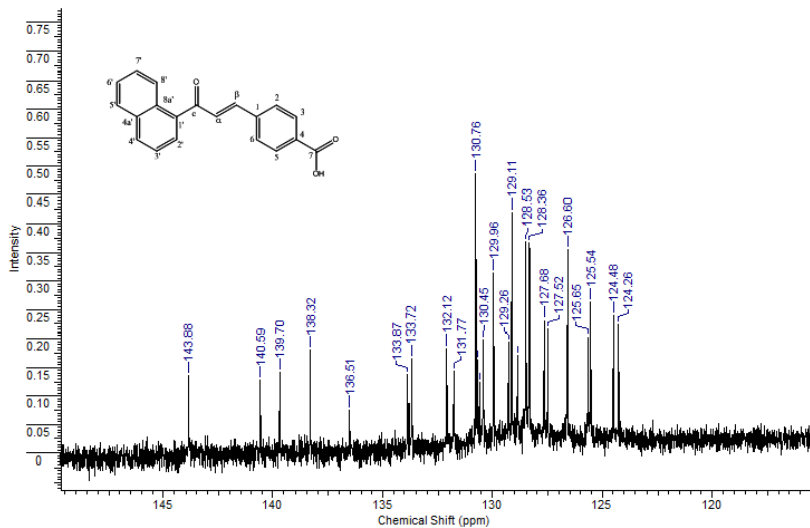


Figura 87. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q23VB.

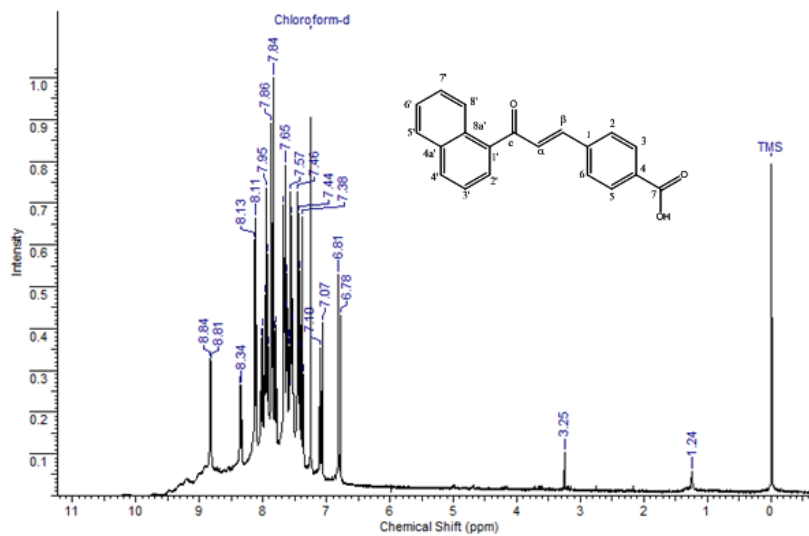


Figura 88. Espectro RMN ^1H do composto Q23VB.

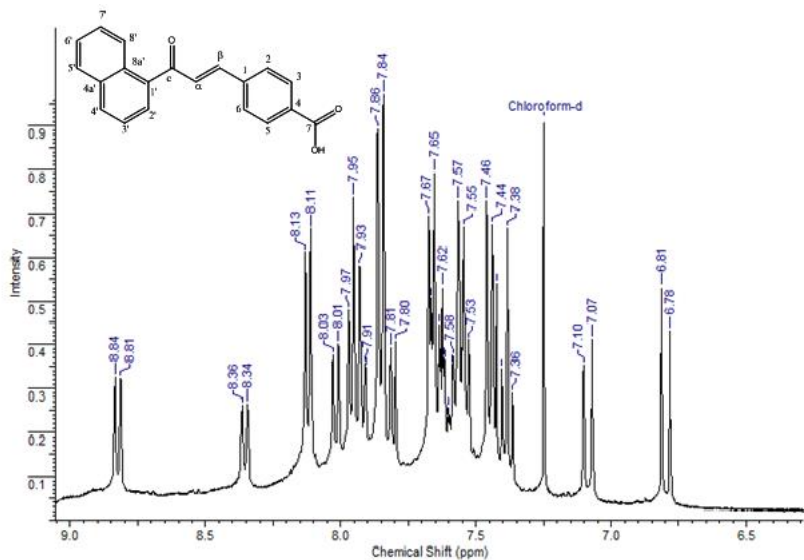


Figura 89. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q23VB.

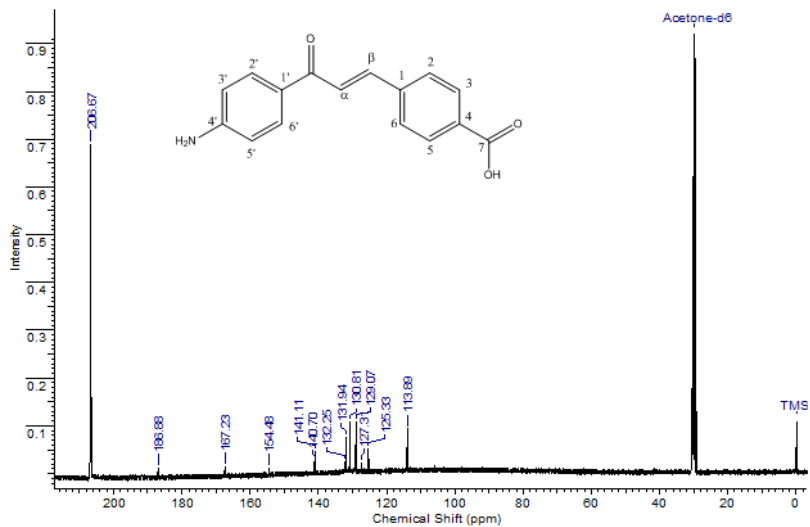


Figura 90. Espectro RMN ^{13}C do composto Q26VB.

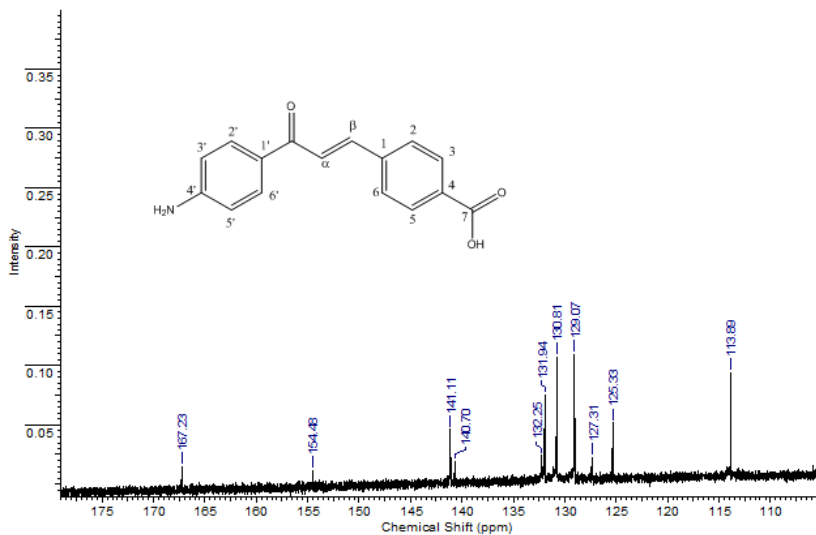


Figura 91. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q26VB.

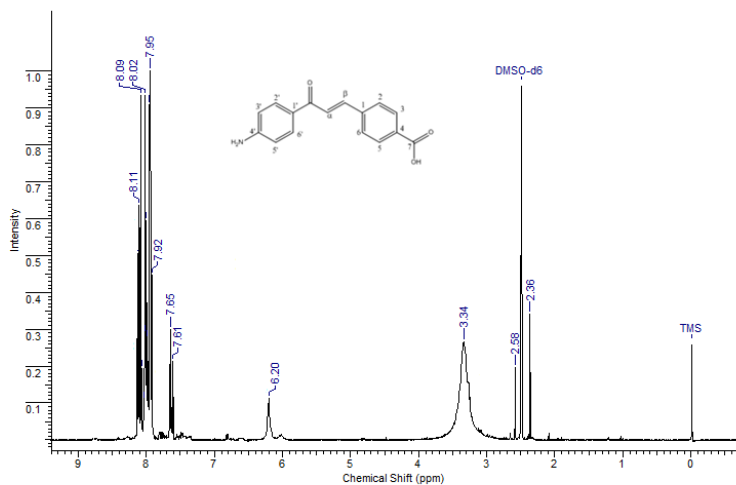


Figura 92. Espectro RMN ^1H do composto Q26VB.

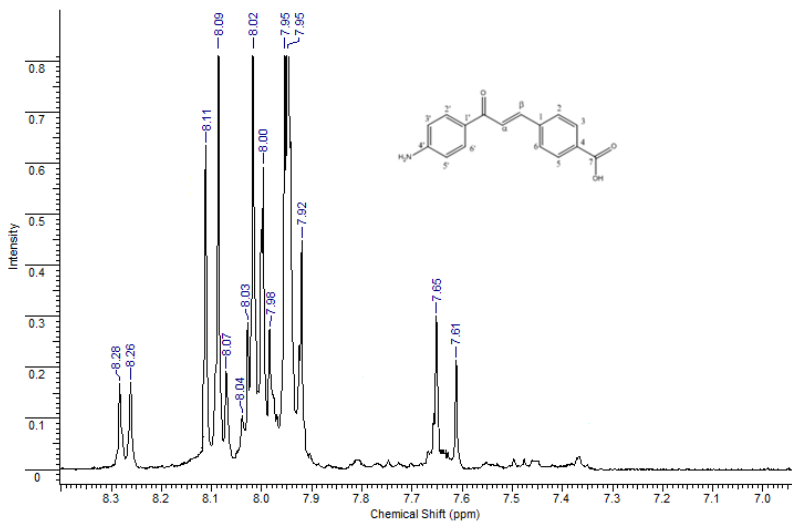


Figura 93. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q26VB.

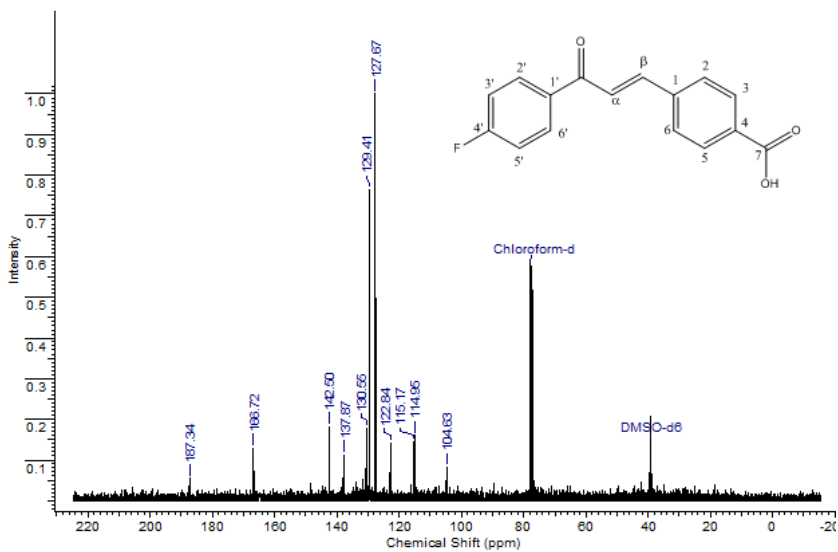


Figura 94. Espectro RMN ^{13}C do composto Q30VB.

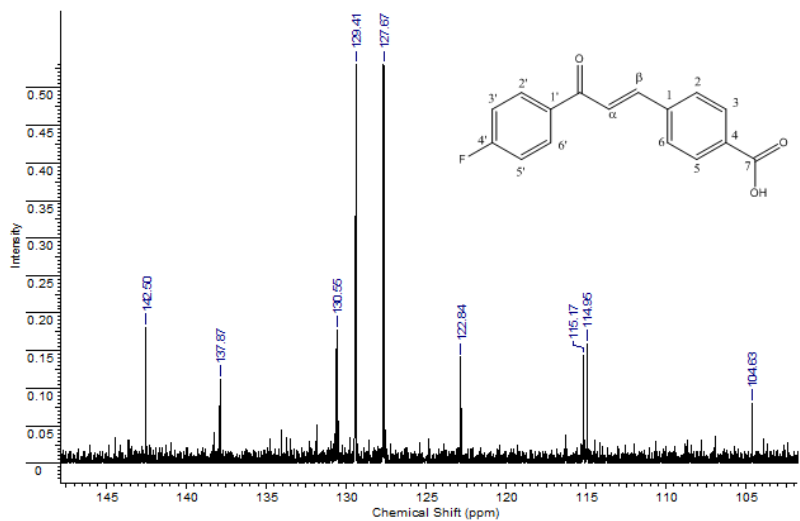


Figura 95. Ampliação do espectro RMN ^{13}C do composto Q30VB.

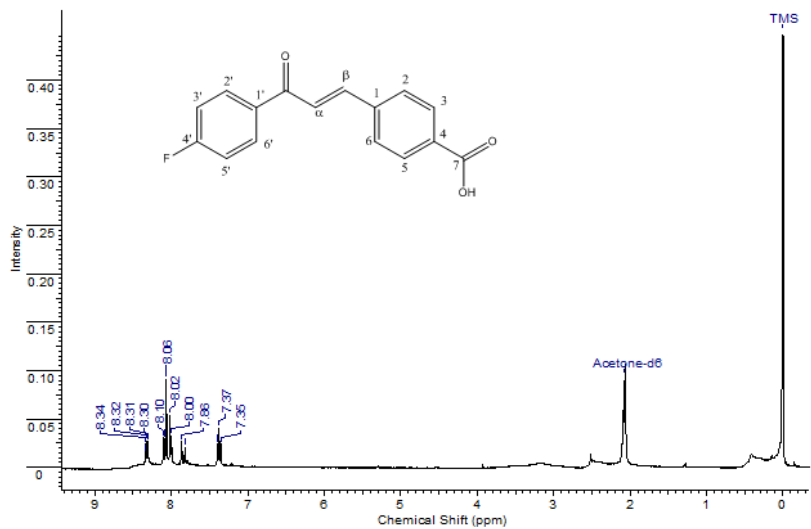


Figura 96. Espectro RMN ^1H do composto Q30VB.

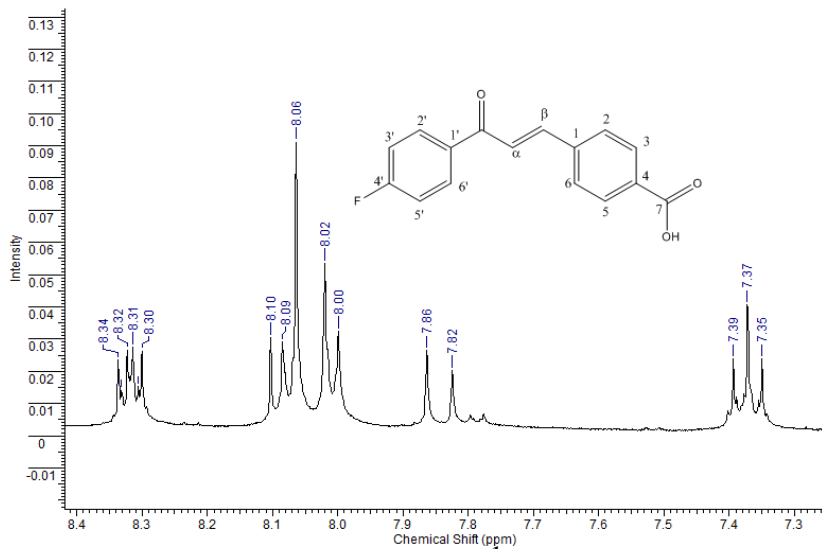


Figura 97. Ampliação do espectro RMN ^1H do composto Q30VB.