

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE UMA COLEÇÃO DE  
FLAVONÓIDES**

JOEL ALVIM JUNIOR\*

Tese apresentada como parte dos requisitos para  
a obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS  
(área QUÍMICA ORGÂNICA)

Orientadora: Profa. Dra. Arlene G. Corrêa

\*Bolsista FAPESP

SÃO CARLOS - SP

2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

A475sa

Alvim Junior, Joel.

Síntese e avaliação biológica de uma coleção de flavonóides / Joel Alvim Junior. -- São Carlos : UFSCar, 2011.  
224 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Química orgânica. 2. Síntese orgânica. 3. Flavonóides.  
4. Fase sólida. 5. Catepsina V. 6. GAPDH. I. Título.

CDD: 547 (20<sup>a</sup>)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
*Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia*  
*Departamento de Química*  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**Curso de Doutorado**

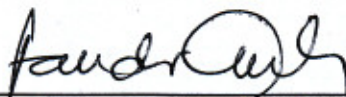
---

*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado do candidato Joel Alvim Junior realizada em 29 de maio de 2009:*



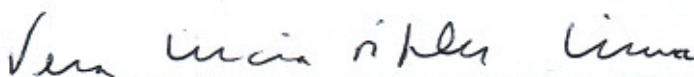
---

Prof. Dra. Arlene Gonçalves Corrêa



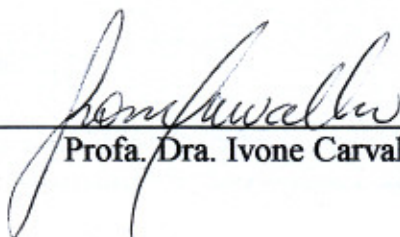
---

Prof. Dr. Fernando Antonio Santos Coelho



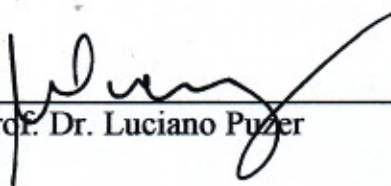
---

Prof. Dra. Vera Lucia Eifler Lima



---

Prof. Dra. Ivone Carvalho



---

Prof. Dr. Luciano Puzer



Aos meus pais, Cleuza e Joel,  
obrigado pela oportunidade,  
incentivo e toda a dedicação.



## AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Arlene G. Corrêa pela orientação e ensinamentos durante os 9 anos de convivência.

Ao Prof. Dr. Glaucius Oliva, Prof. Dr. Adriano Andicopulo, Aderson Zottis (IFSC-USP) pelo suporte e realização dos ensaios frente à enzima gGAPDH.

Ao Prof Dr. Luis Juliano (UNIFESP) e o Dr. Luciano Puzer pelo suporte para a realização dos ensaios iniciais frente à enzima catepsina V.

Ao Dr. Aubrey J. Mendonça (Polymer Laboratories) pela doação da resina *scavenger*.

Ao Prof Dr. Edson Rodrigues Filho e o Dr. Rodrigo Facchini Magnani pela ajuda nas análises de espectrometria de massas.

À Profa. Dra. Quézia B. Cass e a Dr. Lucia Regina Rocha Martins pela ajuda com as análises de HPLC

Ao Prof Dr. Paulo C. Viera, Prof. Dra. Richele Severino e Emerson Finco pelo suporte e realização dos ensaios de inibição enzimática frente à enzima catepsina V.

Aos amigos do laboratório e aos que por lá passaram, pela colaboração e ensinamentos transmitidos.

Aos docentes do grupo de Orgânica.

Aos técnicos Valdir Vaz, Ademir A. Sertóri, Paulo Roberto Lambertucci e Luciana Vizotto (DQ-UFSCar).

A FAPESP pela bolsa concedida.

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

A Deus pela oportunidade concedida.





## **LISTA DE ABREVIATURAS**



## Lista de Abreviaturas

- $\delta$ : deslocamento químico
- AcOH: ácido acético
- *t*-BuOK: terc-butóxido de potássio
- BOC: *t*-butoxicarbonil
- CDCl<sub>3</sub>: clorofórmio deuterado
- CG: cromatografia gasosa
- CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência
- DHP: 3,4-diidro-2*H*-pirano
- DMAP: 4-dimetilaminopiridina
- DMSO: dimetilsulfóxido
- EM: espectrometria de massas
- IC<sub>50</sub>: concentração para a inibição de 50% da atividade catalítica
- IV: infravermelho
- *m/z*: relação massa carga
- MO: microondas
- MOM: metoxi metil éter
- PF: ponto de fusão
- Pi: piridina
- RMN <sup>13</sup>C: ressonância magnética nuclear de carbono 13
- RMN <sup>1</sup>H: ressonância magnética nuclear de hidrogênio
- *n*-TBAHSO<sub>4</sub>: *n*-tetrabutilamonio hidrogenosulfato
- TBD: 1,5,7-triazobiciclo [4.4.0] dec-5-ene
- TBSCl: Cloreto de *tert*-butil-dimetilsilano
- TEA: trietilamina
- THF: tetraidrofurano
- THP: tetraidropirano
- TMSBr: brometo de trimetilsilano



## **LISTA DE TABELAS**



---

## Lista de Tabelas

TABELA 5.1 - Quantidades dos reagentes utilizados na preparação das chalconas <b>36</b> {X,X} .....	113
TABELA 5.2 - Quantidades dos reagentes utilizados na preparação das flavonas <b>40</b> {X,X} .....	117
TABELA 5.3 - Quantidades dos reagentes utilizados na preparação da coleção combinatória das flavonas <b>48</b> {1-3,1-6} .....	125
TABELA 5.4 - Quantidades dos reagentes utilizados na preparação da coleção combinatória das flavonas <b>31</b> {1-3,1-6} .....	127
TABELA 5.5 - Quantidades dos reagentes e os rendimentos obtidos na preparação da coleção combinatória das flavonas <b>56</b> {1-4,1-6} .....	130





## **LISTA DE FIGURAS**



## Lista de Figuras

FIGURA 1.1 - Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração .....	3
FIGURA 1.2 - Classes de flavonóides mais abundantes.....	4
FIGURA 1.3 - Flavonóides com atividade frente à proteína PTP1B .....	5
FIGURA 1.4 - Flavona e flavanonas com atividade frente à enzima aromatase.....	6
FIGURA 1.5 - Flavonas com atividade frente à enzima telomerase .....	6
FIGURA 1.6 - Chalconas com atividade anti-tripanosoma .....	7
FIGURA 1.7 - Flavonóides com atividade inibitória da catepsina K.....	8
FIGURA 1.8 - Biflavonas com atividade inibitória da catepsina B e K .....	9
FIGURA 1.9 - Flavonas que apresentaram os melhores resultados de inibição da enzima gGAPDH .....	17
FIGURA 3.1 – Flavonas selecionadas para se testar as metodologias sintéticas .....	25
FIGURA 3.2 – Blocos construtores utilizados na condensação de Claisen-Schmidt ...	42
FIGURA 3.3 - Representação da síntese combinatória em fase sólida em paralelo ...	48
FIGURA 3.4 - Representação da síntese combinatória em fase sólida em mistura ....	48
FIGURA 3.5 - Blocos construtores utilizados na preparação da coleção combinatória .....	58
FIGURA 3.6 - Flavonas obtidas com bom grau de pureza .....	63
FIGURA 3.7 - Flavonas obtidas impuras .....	63
FIGURA 3.8 – Syncore; a) Unidade para reação; b) Unidade de reação acoplada ao sistema de filtração e lavagem .....	65
FIGURA 3.9 - Blocos construtores utilizados nas reações teste.....	66
FIGURA 3.10 – Cartuchos de SPE no sistema de filtração Manifold.....	67
FIGURA 3.11 – Blocos construtores utilizados na preparação da coleção combinatória .....	69
FIGURA 3.12 - Estrutura do benzinidazol.....	76
FIGURA 3.13 - Exemplos de compostos com atividade frente às formas tripomastigotas do <i>T. cruzi</i> .....	77
FIGURA 3.15 - Exemplos de compostos com atividade frente à enzima GAPDH de <i>T.</i> <i>cruzi</i> .....	79
FIGURA 3.16 – Conversão do gliceraldeído-3-fosfato a 1,3-bifosfoglicerato.....	79
2	
FIGURA 3.18 - Flavonas que apresentaram maior inibição frente à enzima GAPDH .	83

---

FIGURA 3.19 - Estrutura da catepsina humana V .....	84
FIGURA 3.21 - Chalconas que apresentaram maior inibição frente à catepsina V .....	87
FIGURA 3.22 - Flavonas que apresentaram maior inibição frente à catepsina V .....	89

## **LISTA DE ESQUEMAS**



## Lista de Esquemas

ESQUEMA 1.1 - Síntese de flavonas pelo método de Baker-Venkataraman.....	10
ESQUEMA 1.2 – Mecanismo da reação de Baker-Venkataraman.....	10
ESQUEMA 1.3 - Síntese de flavonas pelo método de Baker-Venkataraman modificado .....	11
ESQUEMA 1.4 - Síntese de flavonas utilizando-se o ácido de Wells-Dawson .....	11
ESQUEMA 1.5 - Síntese de chalconas e flavonas .....	12
ESQUEMA 1.6 - Mecanismo da condensação aldólica .....	12
ESQUEMA 1.7 - Mecanismo proposto para a reação de ciclização oxidativa .....	13
ESQUEMA 1.8 - Síntese de flavonas utilizando irradiação microondas .....	13
ESQUEMA 1.9 - Síntese de flavonas utilizando ultrassom .....	14
ESQUEMA 1.10 - Síntese de flavonas empregando-se paládio .....	14
ESQUEMA 1.11 - Mecanismo da reação catalisada por paládio para a síntese de flavonas .....	15
ESQUEMA 1.12 - Síntese da coleção combinatória das flavonas .....	16
ESQUEMA 3.1 - Proposta de síntese da flavona <b>1</b> utilizando-se o método de Baker- Venkataraman modificado.....	26
ESQUEMA 3.2 - Obtenção do éster <b>7</b> .....	27
ESQUEMA 3.3 - Tentativa de obtenção da dicetona <b>6</b> a partir do éster <b>7</b> .....	27
ESQUEMA 3.4 - Obtenção da flavona <b>1</b> .....	28
Esquema 3.5 - Rota sintética para a obtenção da flavona <b>2</b> .....	29
Esquema 3.6 - Rota sintética para a obtenção da flavona <b>3</b> .....	31
ESQUEMA 3.7 – Tentativa de obtenção da flavona <b>15</b> .....	32
ESQUEMA 3.8 - Obtenção da acetofenona <b>17</b> .....	33
ESQUEMA 3.9 - Rota sintética utilizada na tentativa de se preparar a flavona <b>3</b> .....	33
ESQUEMA 3.10 - Obtenção da flavona <b>3</b> .....	34
ESQUEMA 3.11 - Obtenção da flavona <b>20</b> .....	35
ESQUEMA 3.12 - Obtenção do composto <b>4</b> .....	36
ESQUEMA 3.13 – Proposta sintética para a preparação de flavonas utilizando-se irradiação de microondas .....	38
ESQUEMA 3.14 - Tentativa de preparação do éster <b>28</b> .....	39
ESQUEMA 3.15 - Obtenção do éster <b>34</b> .....	39
ESQUEMA 3.16 - Tentativa de preparação da dicetona <b>31</b> .....	40

---

ESQUEMA 3.17 - Obtenção da flavona <b>20</b> .....	41
ESQUEMA 3.18 - Obtenção das chalconas <b>36</b> {X,X} .....	42
ESQUEMA 3.19 - Obtenção das chalconas <b>36</b> {4,2} e <b>39</b> .....	44
ESQUEMA 3.21 - Obtenção das flavonas <b>40</b> {X,X} e <b>41</b> .....	46
ESQUEMA 3.22 - Exemplo da síntese combinatória em fase sólida em paralelo .....	50
ESQUEMA 3.23 – Exemplo hipotético do uso de reagente suportado, resina, <i>scavenger</i> e resina de captura e solta.....	51
ESQUEMA 3.24 - Preparação de uma coleção de sulfonamidas .....	51
ESQUEMA 3.25 - Preparação da coleção flavonas descrita por BHAT et al. (2000) .....	52
ESQUEMA 3.26 - .....	52
ESQUEMA 3.27 - Preparação da coleção flavonas descrita por CHENG et al. (2000) ..	53
ESQUEMA 3.28 - Formação da hidrazona <b>43</b> .....	54
ESQUEMA 3.29 - Preparação da chalcona <b>36</b> {1,1} utilizando-se a resina <b>42</b> .....	55
ESQUEMA 3.31 - Obtenção de <b>36</b> {3,1} utilizando-se uma quantidade menor da resina .....	56
ESQUEMA 3.32 - Obtenção do composto <b>45</b> {1} .....	58
ESQUEMA 3.33 - Obtenção do composto <b>45</b> {2} .....	59
ESQUEMA 3.34 - Obtenção do composto <b>44</b> {2} .....	60
ESQUEMA 3.36 - Preparação das flavonas empregando o sintetizador .....	66
ESQUEMA 3.37 - Obtenção da acetofenona <b>52</b> {2} .....	69
ESQUEMA 3.38 - Obtenção da coleção combinatória das chalconas <b>55</b> {1-4,1-6} e das flavonas <b>56</b> {1-4,1-6} .....	70
ESQUEMA 3.39 - Tentativa de imobilização da 2,4-diidroxiacetofenona .....	75
ESQUEMA 3.40 - Metodologia proposta para a síntese de flavonas em fase sólida....	75



## RESUMO



## Resumo

### SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE UMA COLEÇÃO DE FLAVONÓIDES

Os flavonóides constituem uma importante classe de compostos polifenólicos presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de plantas e são encontrados em frutas, vegetais, nozes, grãos, flores, chás, própolis e mel. Apresentam diversas atividades biológicas como, anti-inflamatória, anti-microbiana, anti-oxidante, anti-câncer, anti-fúngica, etc. O presente trabalho teve como objetivos sintetizar e avaliar a atividade biológica de uma coleção de flavonas e chalconas. A preparação das flavonas e chalconas foi realizada empregando-se metodologias de síntese orgânica clássica e também química combinatória. Dentre as flavonas e chalconas preparadas e testadas frente à enzima gGAPDH do *T. cruzi*, os melhores resultados foram obtidos com a flavona **56**{1,6}, 85% de inibição, e a chalcona **55**{1,3}, com 97% de inibição, ambas na concentração de 100 µM. Nos testes realizados frente a catepsina humana V, a chalcona que apresentou maior atividade inibitória foi a chalcona **18** com 64% de inibição e 9 flavonas (**40**{1,1}, **40**{2,1}, **40**{3,1}, **56**{1,1}, **56**{1,5}, **56**{2,1}, **56**{3,1}, **56**{3,2}, **56**{4,1}) apresentaram 100% de inibição, ambas na concentração de 25 µM. As flavonas e chalconas preparadas irão contribuir para o estudo de estrutura-atividade, visando o planejamento e síntese flavonas e chalconas mais ativas.



## **ABSTRACT**



## Abstract

### SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF A LIBRARY OF FLAVONOIDS

The flavonoids are an important class of polyphenolic compounds present in relative abundance among the secondary metabolites of plants and are found in fruits, vegetables, nuts, seeds, flowers, tea, honey and propolis. They show several biological activities such as anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, anticancer, antifungal, etc.. The present work aimed to synthesize and to evaluate the biological activity of a library of flavones and chalcones. The flavones and chalcones were prepared following classical organic synthesis and combinatorial chemistry. Among the flavones and chalcones prepared and tested against enzyme of *T. cruzi* gGAPDH, the best results were obtained with the flavone **56**{1,6}, 85% of inhibition, and the chalcone **55**{1,3}, 97% of inhibition, both at concentration of 100  $\mu$ M. In bioassay against human cathepsin V, a chalcone which showed the best inhibitory activity was chalcone **18** with 64% of inhibition and 9 flavones (**40**{1,1}, **40**{2,1}, **40**{3,1}, **56**{1,1}, **56**{1,5}, **56**{2,1}, **56**{3,1}, **56**{3,2}, **56**{4,1}) showed 100% of inhibition, both at concentration of 25  $\mu$ M. The flavones and chalcones prepared will contribute for the study of structure-activity relationship, which could let to the design and synthesis of more active flavones and chalcones.





## SUMÁRIO



## Sumário

1 - Introdução .....	3
1.1 - Flavonóides .....	3
1.1.1 - Atividades biológicas dos flavonóides .....	4
1.2 - Metodologias para a preparação de flavonas e chalconas.....	9
2 - Objetivos .....	21
3 - Resultados e Discussões .....	25
3.1 - Aplicação de metodologias sintéticas descritas na literatura para a síntese das flavonas <b>1-4</b> .....	25
3.1.1 - Obtenção da 4'-nitroflavona ( <b>1</b> ).....	25
3.1.2 - Obtenção da 3'-metoxi-6-( <i>p</i> -nitrobenziloxi)flavona ( <b>2</b> ).....	28
3.1.3 - Obtenção da 7-benziloxi-3'-metoxiflavona ( <b>3</b> ).....	30
3.1.4 - Obtenção do 6-benziloxi-2-(2-tienil)-4 <i>H</i> -4cromeno ( <b>4</b> ) .....	35
3.2 - Testes para a obtenção de flavonas utilizando-se irradiação de micro-ondas ..	37
3.2.1 - Obtenção da 4-oxo-2-(tienil)-7-(2-tienilcarboxiloxi)-4 <i>H</i> -cromemo ( <b>20</b> ) .....	40
3.3 - Obtenção de flavonas via condensação de Claisen-Schmidt.....	41
3.4 - Química combinatória.....	47
3.4.1 - Obtenção de uma coleção combinatória de flavonas utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	53
3.4.1.1 - Obtenção dos blocos construtores da coleção combinatória .....	58
3.4.1.1.1 - Obtenção do 3-(metoximetil)-2-naftaldeído ( <b>45{1}</b> ).....	58
3.4.1.1.2 - Obtenção do 2,3,4-tris(metoximetil)benzaldeído ( <b>45{2}</b> ) .....	59
3.4.1.1.3 - Obtenção da 1-(3-hidroxi-2-naftil)etanona ( <b>44{2}</b> ) .....	59
3.4.1.2 - Preparação da coleção combinatória das flavonas .....	60
3.4.2 - Obtenção de uma coleção combinatória de chalconas e flavonas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	65
3.4.2.1 - Testes iniciais utilizando o sintetizador.....	65
3.4.2.2 - Obtenção da coleção combinatória de chalconas e flavonas no sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	68
3.4.2.2.1 - Preparação da 2-hidroxi-4,6-dimetoxi acetofenona ( <b>52{2}</b> ) .....	69
3.4.2.2.2 - Obtenção da coleção combinatória de chalconas e flavonas no sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	70

3.4.2.2.3 - Purificação da coleção de chalconas preparadas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	74
3.4.3 - Estudos iniciais para a síntese de flavonas em fase sólida.....	74
3.5 - Avaliação biológica das flavonas e chalconas.....	75
3.5.1 - <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	76
3.5.1.1 - Ensaio de inibição enzimática frente à enzima gGAPDH do <i>T. cruzi</i> .....	79
3.5.2 - Cisteíno peptidases.....	83
3.5.2.1 - Catepsina V.....	84
3.5.2.2 - Ensaio de inibição enzimática frente à enzima catepsina V.....	85
4 - Conclusões e Perspectivas.....	93
5 - Experimental.....	97
5.1 - Aspectos Gerais.....	97
5.2 - Procedimento Experimental.....	98
5.2.1 - Aplicação de metodologias sintéticas descritas na literatura para a síntese das flavonas <b>1-4</b> .....	98
5.2.1.1 - Preparação da 4'-nitroflavona ( <b>1</b> ).....	98
5.2.1.1.1 - Tentativa de obtenção da 1-(2-hidroxifenil)-3-(4-nitrofenil)-propano-1,3-diona ( <b>6</b> ).....	98
5.2.1.1.2 - Preparação do 2-acetil-1-(4-nitrofenilcarboniloxi)benzeno ( <b>7</b> ).....	99
5.2.1.1.3 - Tentativa de preparação da dicetona <b>5</b> a partir do éster <b>7</b> .....	99
5.2.1.1.4 - Obtenção da 1-(2-hidroxifenil)-3-(4-nitrofenil)-propano-1,3-diona ( <b>6</b> ).....	100
5.2.1.1.5 - Preparação da 4'-nitroflavona ( <b>1</b> ).....	100
5.2.1.2 - Preparação da 3'-metoxi-6-( <i>p</i> -nitrobenzililoxi)flavona ( <b>2</b> ).....	101
5.2.1.2.1 - Preparação da 5- <i>tert</i> -butil-dimetilsilaniloxi-2-hidroxi acetofenona ( <b>9</b> ).....	101
5.2.1.2.2 - Preparação da 1-[5-( <i>tert</i> -butildimetilsilaniloxi)-2-hidroxifenil]-3-(metoxifenil)-propano-1,3-diona ( <b>10</b> ).....	102
5.2.1.2.3 - Preparação da 6-hidroxi-3'-metoxiflavona ( <b>11</b> ).....	102
5.2.1.2.4 - Preparação da 3'-metoxi-6-( <i>p</i> -nitrobenzililoxi)flavona ( <b>2</b> ).....	103
5.2.1.3 - Preparação 7-benziloxi-3'-metoxiflavona ( <b>3</b> ).....	104
5.2.1.3.1 - Preparação da 4- <i>tert</i> -butil-dimetilsilaniloxi-2-hidroxi acetofenona ( <b>13</b> ).....	104
5.2.1.3.2 - Tentativa de preparação da flavona <b>3</b> .....	104
5.2.1.3.3 - Preparação da 4-benziloxi-2-hidroxiacetofenona ( <b>17</b> ).....	105
5.2.1.3.4 - Tentativa de preparação da flavona <b>3</b> a partir a acetofenona <b>17</b> .....	106
5.2.1.3.5 - Preparação da 4'-benziloxi-2'-hidroxi-3-metoxichalcona ( <b>19</b> ).....	106

5.2.1.3.6 - Preparação da 7-benziloxi-3'-metoxiflavona ( <b>3</b> ) .....	107
5.2.1.4 - Preparação do 6-benziloxi-2-(2-tienil)-4 <i>H</i> -4cromeno ( <b>4</b> ) .....	108
5.2.1.4.1 - Preparação do 4-oxo-2-(tienil)-7-(2-tienilcarboxiloxi)-4 <i>H</i> -cromemo ( <b>20</b> ) .....	108
5.2.1.4.2 - Preparação do 2-acetil-5-benziloxifenil-2-tiofenecarboxilato ( <b>21</b> ) .....	109
5.2.1.4.3 - Preparação do 6-benziloxi-2-(2-tienil)-4 <i>H</i> -4cromeno ( <b>4</b> ) .....	109
5.2.2 - Testes para a preparação de flavonas utilizando-se irradiação de microondas .....	110
5.2.2.1 - Tentativa de preparação do 2-acetil-4-metoxi-1-fenilcarboniloxibenzeno ( <b>28</b> ) .....	110
5.2.2.2 - Preparação do 2-acetil-3-metoxi-1-(2-nitrofenilcarboniloxi)benzeno ( <b>34</b> ) .....	111
5.2.2.3 - Preparação do 4-oxo-2-(tienil)-7-(2-tienilcarboxiloxi)-4 <i>H</i> -cromemo ( <b>20</b> ) .....	111
5.2.3 - Preparação de flavonas via condensação de Claisen-Schmidt .....	112
5.2.3.1 - Preparação das chalconas <b>36</b> { <i>X,X</i> } .....	112
5.2.3.1.1 - Dados espectroscópicos 2'-hidroxi-4',2,4-trimetoxichalcona ( <b>36</b> { <i>1,1</i> }) .....	113
5.2.3.1.2 - Dados espectroscópicos da 5'-bromo-2'-hidroxi-2,4-dimetoxichalcona ( <b>36</b> { <i>2,1</i> }) .....	114
5.2.3.1.3 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-2,4-dimetoxichalcona <b>36</b> { <i>3,1</i> } .....	114
5.2.3.1.4 - Dados espectroscópicos da 2-cloro, 4',6-difluoro-2'-hidroxichalcona <b>36</b> { <i>4,2</i> } .....	115
5.2.3.1.5 - Dados espectroscópicos da 2-cloro-4'-fluoro-2'-hidroxi-6-metoxichalcona ( <b>39</b> ) .....	115
5.2.3.2 - Preparação das flavonas <b>40</b> { <i>X,X</i> } e <b>41</b> .....	116
5.2.3.2.1 - Preparação da 7,2',4'-trimetoxiflavona ( <b>40</b> { <i>1,1</i> }) .....	117
5.2.3.2.2 - Dados espectroscópicos da 6-bromo-2',4'-dimetoxiflavona ( <b>40</b> { <i>2,1</i> }) .....	117
5.2.3.2.3 - Dados espectroscópicos da 6-fluor-2',4'-dimetoxiflavona ( <b>40</b> { <i>3,1</i> }) .....	118
5.2.3.2.4 - Dados espectroscópicos da 2'-cloro-7,6'-difluoroflavona ( <b>40</b> { <i>4,2</i> }) .....	118
5.2.3.2.5 - Dados espectroscópicos da 2'-cloro-7'-fluoro-6'-metoxiflavona ( <b>41</b> ) .....	119
5.3 - Preparação da coleção combinatória utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	119
5.3.1 - Testes iniciais para a otimização das condições reacionais .....	120
5.3.1.1 - 1º teste - Preparação da flavona <b>40</b> { <i>1,1</i> } utilizando-se 3 equivalentes da resina <b>42</b> .....	120
5.3.1.2 - 2º teste - Preparação da flavona <b>40</b> { <i>3,1</i> } utilizando-se 2 equivalentes da resina <b>42</b> .....	120

5.3.1.3 - 3 <sup>o</sup> teste – Preparação da flavona <b>40</b> {1,1} realizando-se apenas uma extração líquido-líquido .....	121
5.3.2 - Preparação dos blocos construtores da coleção combinatória .....	121
5.3.2.1 - Preparação do 3-(metoximetoxi)-2-naftaldeído ( <b>45</b> {1}).....	121
5.3.2.2 - Preparação do 2,3,4-tris(metoximetoxi)benzaldeído ( <b>45</b> {2}) .....	122
5.3.2.3 - Preparação da 1-(3-hidroxi-2-naftil)etanona ( <b>44</b> {2}) .....	123
5.3.3 - Preparação da coleção combinatória de flavonas.....	124
5.3.4 - Preparação da coleção combinatória de chalconas e flavonas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	126
5.3.4.1 - Testes iniciais utilizando o sintetizador.....	126
5.3.4.1.1 - Dados espectroscópicos da 4'-dimetil-7-metoxiflavona ( <b>51</b> {1,1}).....	127
5.3.4.1.2 - Dados espectroscópicos da 5,7-dimetoxi-4'-trifluorometoxiflavona ( <b>51</b> {2,2}).....	127
5.3.4.1.3 - Dados espectroscópicos da 4'-fenil-6-fluoroflavona ( <b>51</b> {3,3}) .....	128
5.3.4.2 - Preparação da 2-hidroxi-4,6-dimetoxiacetofenona ( <b>52</b> {2}) .....	128
5.3.4.3 - Preparação da coleção combinatória de chalconas e flavonas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	128
5.3.4.3.1 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-4'-metoxiflavona ( <b>56</b> {1,1}) .....	131
5.3.4.3.2 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-2',4'-dimetoxiflavona ( <b>56</b> {1,2}).	131
5.3.4.3.3 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-2',4'6'-trimetoxiflavona ( <b>56</b> {1,3}) .....	132
5.3.4.3.4 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-4'-trifluorometoxiflavona ( <b>56</b> {1,4}) .....	132
5.3.4.3.5 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-4'-piperonilflavona ( <b>56</b> {1,5}) ....	132
5.3.4.3.6 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-4'-fenilflavona ( <b>56</b> {1,6}) .....	133
5.3.4.3.7 - Dados espectroscópicos da 4',5,7-trimetoxiflavona ( <b>56</b> {2,1}) .....	133
5.3.4.3.8 - Dados espectroscópicos da 5,7-dimetoxi-2',4'-dimetoxiflavona ( <b>56</b> {2,2}) .....	133
5.3.4.3.9 - Dados espectroscópicos da 2',3',4',5,7-pentametoxiflavona ( <b>56</b> {2,3}) ...	133
5.3.4.3.10 - Dados espectroscópicos da 5,7-dimetoxi-4'-trifluorometoxiflavona ( <b>56</b> {2,4}).....	134
5.3.4.3.11 - Dados espectroscópicos da 5,7-dimetoxi-4'-piperonilflavona ( <b>56</b> {2,5})	134
5.3.4.3.12 - Dados espectroscópicos da 4'-fenil-5,7-dimetoxiflavona ( <b>56</b> {2,6}).....	134
5.3.4.3.13 - Dados espectroscópicos da 6-fluor-4'-metoxiflavona ( <b>56</b> {3,1}) .....	135

5.3.4.3.14 - Dados espectroscópicos da 6-fluor-2',4'-dimetoxiflavona (56{3,2}) .....	135
5.3.4.3.15 - Dados espectroscópicos da 6-fluor-2',3',4'-trimetoxiflavona (56{3,3})..	135
5.3.4.3.16 - Dados espectroscópicos da 4'-fenil-6-fluoroflavona (56{3,6}) .....	136
5.3.4.3.17 - Dados espectroscópicos da 4',6-dimetoxiflavona (56{4,1}).....	136
5.3.4.3.18 - Dados espectroscópicos da 2',4',6-trimetoxiflavona (56{4,2}) .....	136
5.3.4.3.19 - Dados espectroscópicos da 2',3',4',6-tetrametoxiflavona (56{4,3}).....	137
5.3.4.3.20 - Dados espectroscópicos da flavona 6-metoxi-4'-trifluorometoxiflavona (56{4,4}).....	137
5.3.4.3.21 - Dados espectroscópicos da flavona 4'-fenil-6-metoxiflavona (56{4,6})	137
5.3.4.4 - Purificação da coleção de chalconas preparadas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina <i>scavenger</i> .....	137
5.3.4.4.1 - Dados espectroscópicos da 4'-benziloxi-2'-hidroxi-4-metoxichalcona (55{1,1}).....	138
5.3.4.4.2 - Dados espectroscópicos da 4'-benziloxi-2'-hidroxi-2,4,6-trimetoxichalcona (55{1,3}).....	138
5.3.4.4.3 - Dados espectroscópicos da 4'-benziloxi-2'-hidroxi-4-trifluorometoxichalcona (55{1,4}) .....	138
5.3.4.4.4 - Dados espectroscópicos da 2'-hidroxi-4',6',4-trimetoxichalcona (55{2,1}) .....	138
5.3.4.4.5 - Dados espectroscópicos da 2'-hidroxi-4',6',2,4-tetrametoxichalcona (55{2,2}).....	139
5.3.4.4.6 - Dados espectroscópicos da 2'-hidroxi-4',6',2,3,4-pentametoxichalcona (55{2,3}).....	139
5.3.4.4.7 - Dados espectroscópicos da 4-fenil-2'-hidroxi-4',6'-dimetoxichalcona (55{2,6}).....	139
5.3.4.4.8 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-4-metoxichalcona (55{3,1}) .....	139
5.3.4.4.9 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-2,4-dimetoxichalcona (55{3,2}).....	139
5.3.4.4.10 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-2,3,4-trimetoxichalcona (55{3,3}).....	140
5.3.4.4.11 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-3,4-metilenodioxichalcona (55{3,5}).....	140

---

5.3.4.4.12 - Dados espectroscópicos da 4-fenil-5'-fluor-2'-hidroxichalcona ( <b>55</b> {3,6}) .....	140
5.3.4.4.13 - Dados espectroscópicos da flavona 4-fenil-2'-hidroxi-5'-metoxichalcona ( <b>55</b> {4,6}) .....	141
5.3.5 - Estudos para a síntese de flavonas em fase sólida .....	141
5.3.6 - Ensaio de Inibição Enzimática frente à enzima gGAPDH .....	141
5.3.7 - Ensaio de Inibição Enzimática frente à catepsina V .....	142
6 - Referências Bibliográficas .....	145
7 - Apêndice .....	157



## **INTRODUÇÃO**



# 1 - Introdução

## 1.1 - Flavonóides

Os flavonóides constituem uma importante classe de compostos polifenólicos presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de plantas (SIMÕES et al., 1999).

Atualmente são conhecidos mais de 6400 flavonóides, encontrados em frutas, vegetais, nozes, grãos, flores, chás, própolis e mel (GALATI e O'BRIEN, 2004; CUSHNIE e LAMB, 2005; PELUSO, 2006). Eles estão envolvidos em importantes processos nas plantas, como crescimento, reprodução, resistência a doenças e predadores. Também contribuem no aroma e coloração de vegetais e frutas da dieta humana.

Os flavonóides de origem natural apresentam-se, frequentemente, oxigenados e um grande número ocorre conjugado com açúcares (SIMÕES et al., 1999; VEITCH e GRAYER, 2008).

Pode-se encontrar flavonóides em diversas formas estruturais. Entretanto, a maioria dos representantes dessa classe são caracterizados pela fusão de dois anéis de seis membros (um anel aromático A e um heterociclo C) conectado por uma ligação carbono-carbono ao anel aromático B (FIGURA 1.1) (PELUSO, 2006).

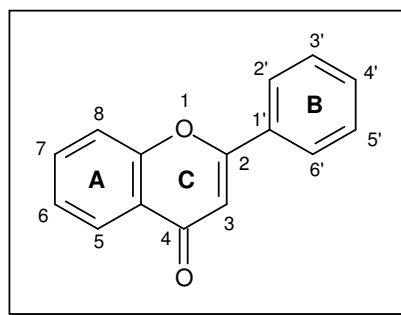


FIGURA 1.1 - Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração

De acordo com sua estrutura os flavonóides são divididos em diversas classes (CUSHNIE e LAMB, 2005). Na FIGURA 1.2 estão apresentadas as classes mais abundantes.

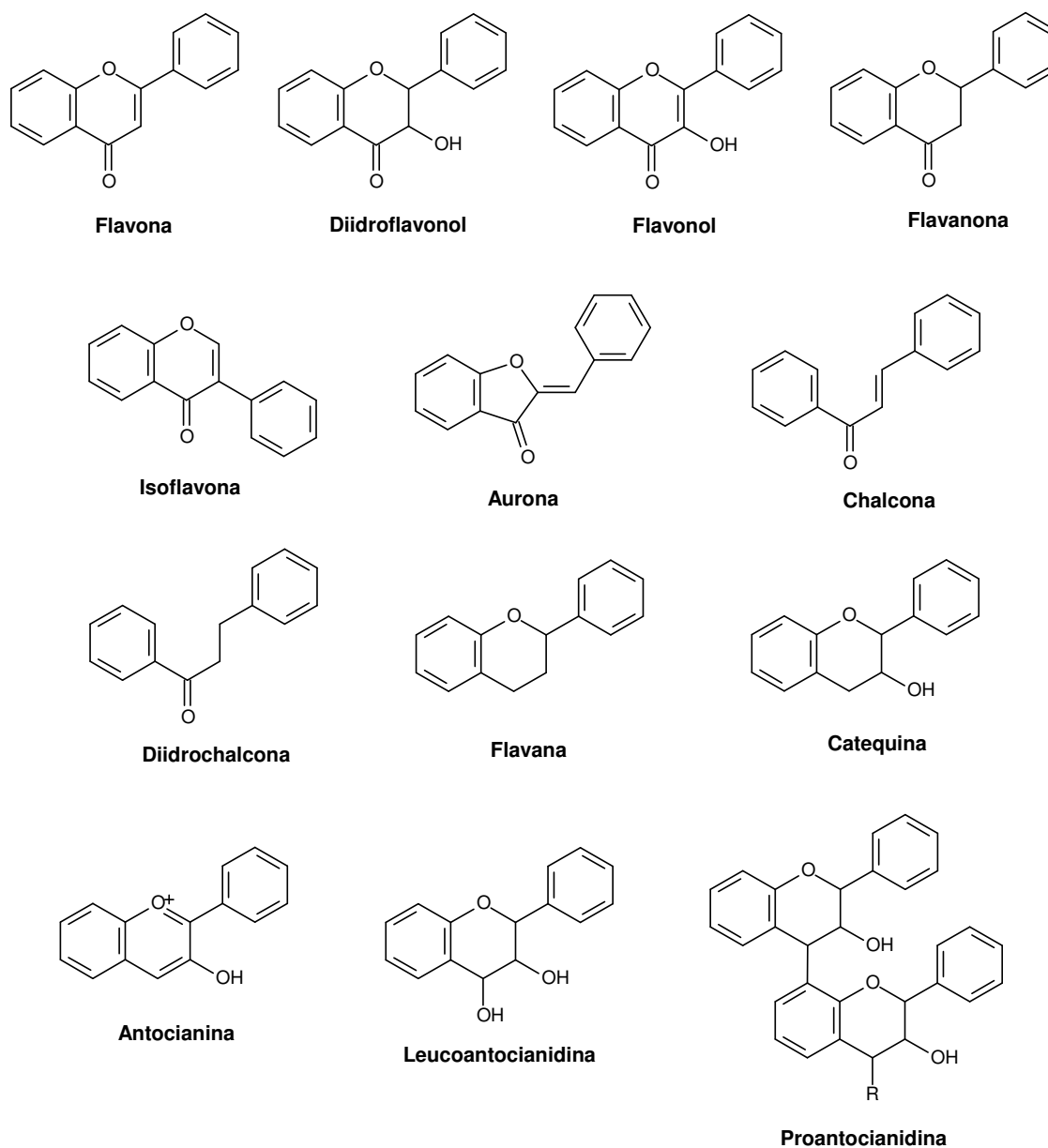


FIGURA 1.2 - Classes de flavonóides mais abundantes

### 1.1.1 - Atividades biológicas dos flavonóides

Formulações e chás em que os princípios ativos são os flavonóides vêm sendo utilizados há séculos por “curandeiros” e médicos no tratamento de doenças. As propriedades cicatrizantes do própóles (ou “tzori” em hebreu) são descritas no Velho Testamento e Hipócrates (460 a 377 AC), na Grécia antiga, indicava o própóles no tratamento de inflamações e úlceras (CUSHNIE e LAMB, 2005).

Com o avanço das ciências nas últimas décadas, algumas das atividades biológicas dos flavonóides foram comprovadas e outras foram descobertas. Como exemplo pode-se citar as atividades: anti-inflamatória (JOO et al., 2003; BENAVENTE-GARCÍA e CASTILHO, 2008), anti-microbiana (GÖKER et al., 2005), anti-oxidante (PENG et al., 2003), anti-câncer (YAHIAOUI et al., 2008; TAKASAWA et al., 2008; YANG et al., 2008), anti-tuberculose (LIN et al., 2002), contra diabetes (GAO e KAWABATA, 2005; JANG et al., 2008), etc.

Flavonóides prenilados isolados das cascas das raízes da *Erythrina mildbraedii* apresentaram atividade frente à proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B). Trabalhos recentes sugerem que compostos que reduzam a atividade dessa proteína poderiam ser utilizados no tratamento da diabetes tipo 2 ou obesidade (JANG et al., 2008). Na FIGURA 1.3 são apresentados alguns dos flavonóides isolados com os respectivos valores de inibição frente à proteína PTP1B.

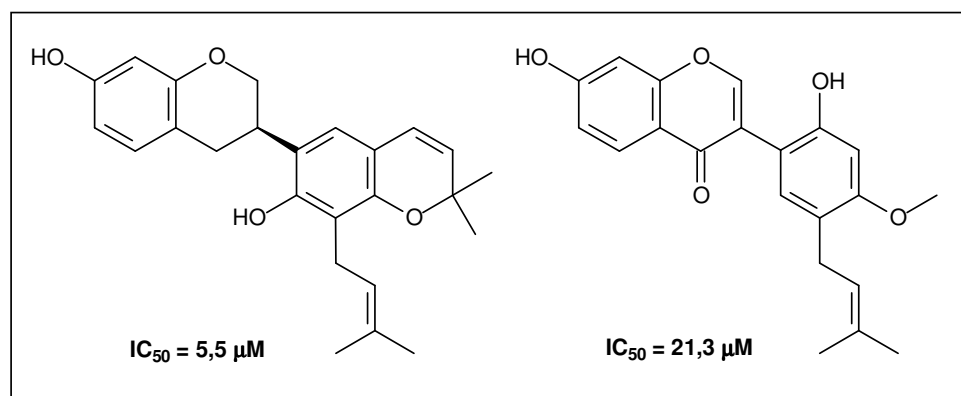


FIGURA 1.3 - Flavonóides com atividade frente à proteína PTP1B

YAHIAOUI et al. (2008) sintetizaram flavanonas e flavonas com atividade inibitória frente à enzima aromatase (FIGURA 1.4). Esta enzima está envolvida na etapa final da biossíntese de estrógeno. O estrógeno apresenta um papel importante no desenvolvimento do câncer de mama em mulheres tanto na pré como na pós-menopausa. Esse fato torna essa enzima um alvo interessante para o tratamento de câncer de mama.

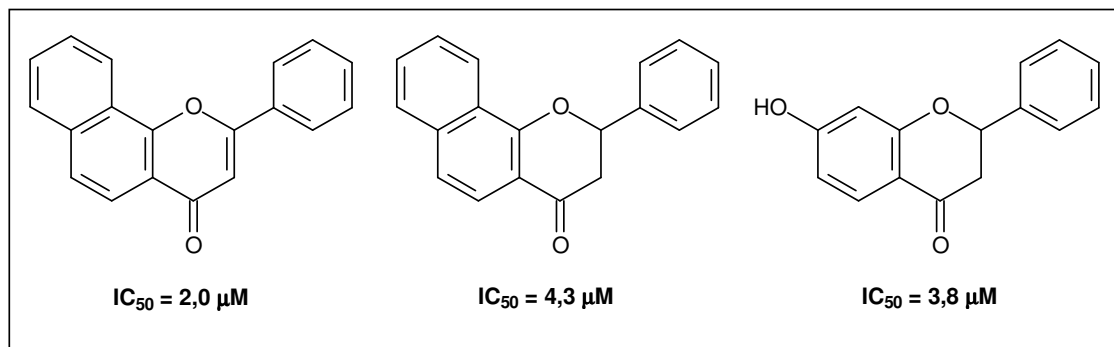


FIGURA 1.4 - Flavona e flavanonas com atividade frente à enzima aromatase

A enzima telomerase está envolvida na regulação da replicação celular, em células tumorais sua expressão é 85% maior comparado com células normais. Na busca de inibidores para a telomerase MENICHINCHERI et al. (2004) sintetizaram diversas flavonas, e as que apresentaram maior atividade são apresentadas na FIGURA 1.5.

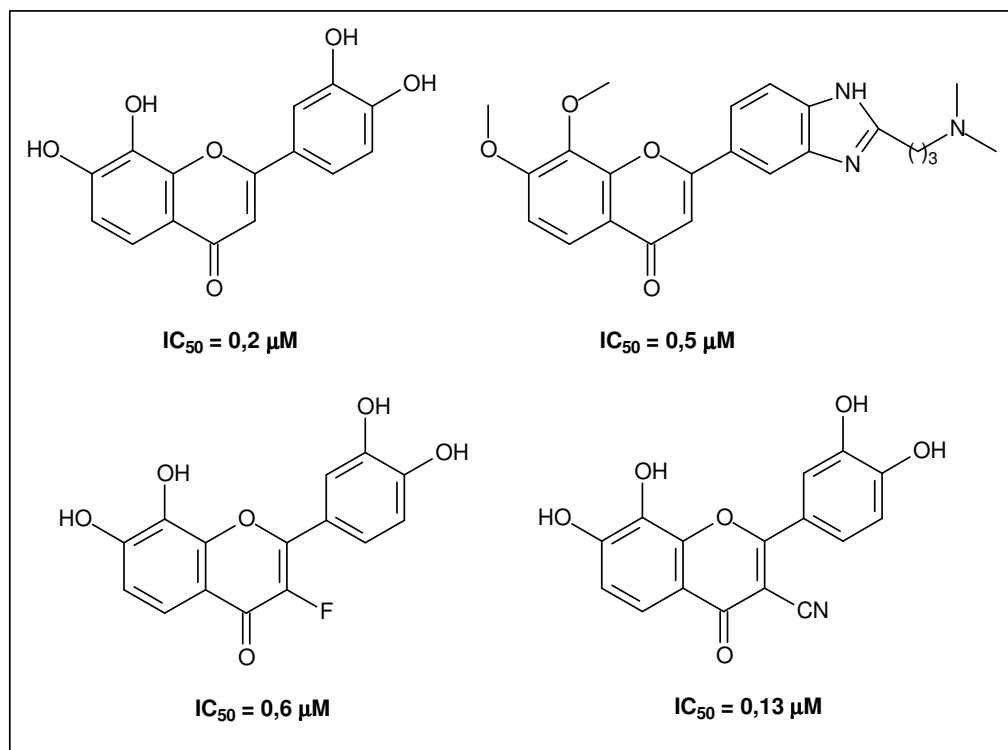


FIGURA 1.5 - Flavonas com atividade frente à enzima telomerase

APONT et al. (2008) isolaram duas diidrochalconas de *Iryanthera juruensis* que apresentam toxicidade frente a diversas linhagens de câncer. A partir

desse resultado foram sintetizadas diversas chalconas e hidrochalconas que foram submetidas a testes de inibição *in vitro* contra células cancerosas e também contra formas tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*. Na FIGURA 1.6 são apresentados os compostos que apresentaram maior atividade anti-tripanosossoma.

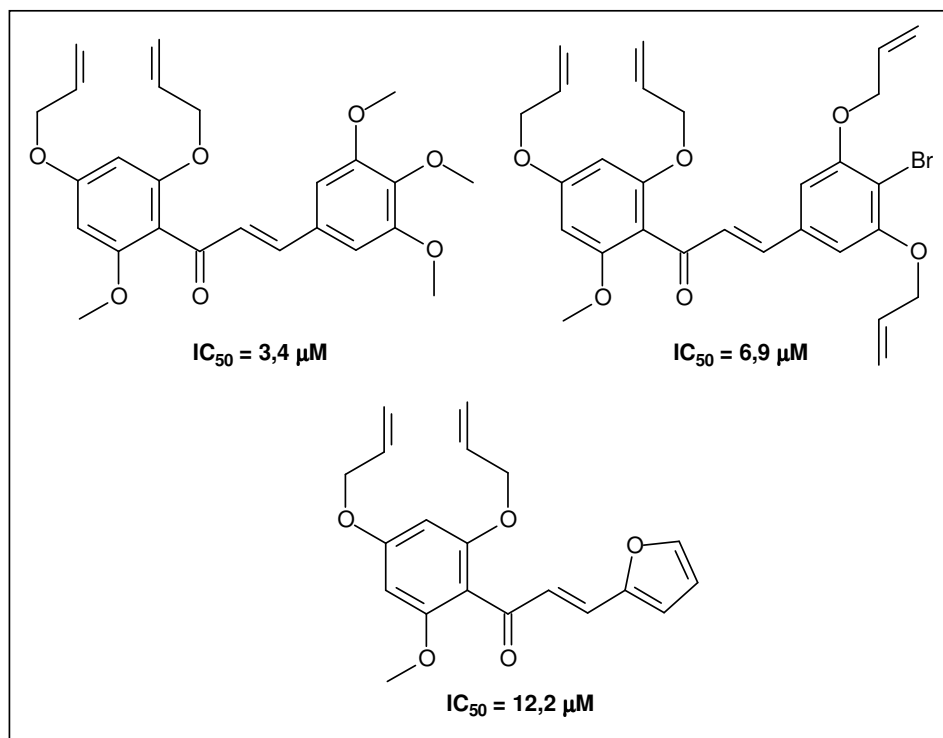


FIGURA 1.6 - Chalconas com atividade anti-tripanosossoma

Através de fracionamento de extratos de *Artocarpus altilis* biomonitorado com testes de inibição frente à catepsina K foram isoladas duas diidrochalconas e uma flavona prenilada que apresentaram atividade inibitória (FIGURA 1.7) (PATIL et al., 2002). A catepsina K tem um papel importante no processo de renovação óssea, quando essa enzima é expressa em excesso leva a formação de osteoporose. Acredita-se que inibidores seletivos para essa enzima poderão ser utilizados no tratamento da osteoporose (LECAILLE et al., 2002; YASUDA et al., 2005).

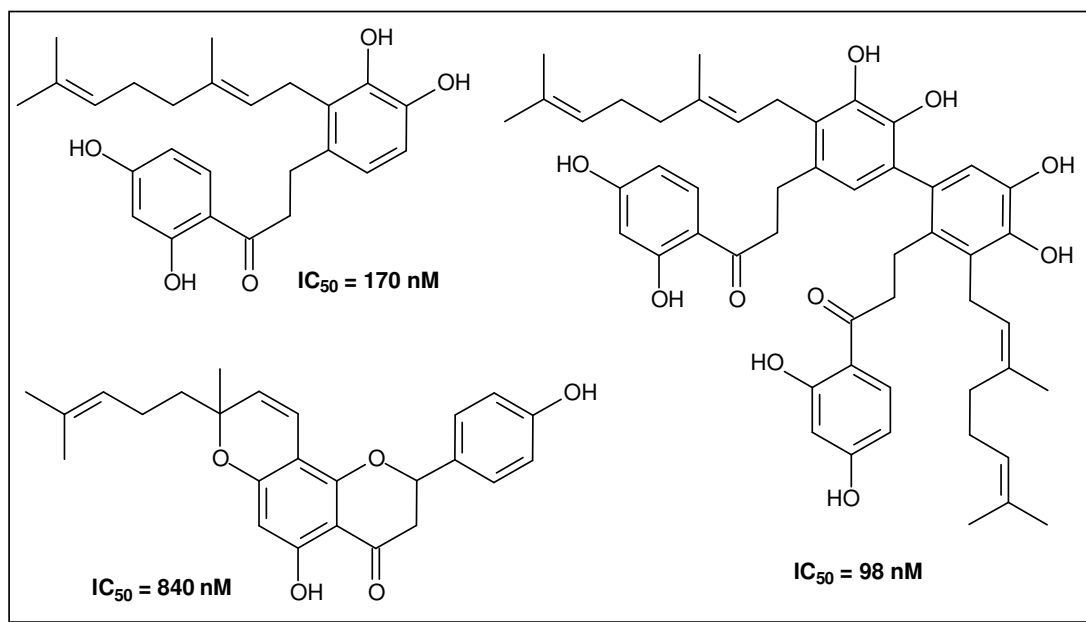


FIGURA 1.7 - Flavonóides com atividade inibitória da catepsina K

ZENG et al. (2003) isolaram seis biflavonas de *Cycas guizhouensis* que apresentaram uma potente atividade inibitória das catepsinas B e K. Na FIGURA 1.8 são apresentados os dois compostos mais ativos. As seis diflavonas isoladas apresentaram um mecanismo de inibição do tipo reversíveis para a catepsina B.

A catepsina B foi encontrada em quantidades excessivas em tumores da mama, estômago, próstata e pulmão. Esse fato sugere que inibidores dessa enzima poderão contribuir no combate desses tipos de carcinomas (LECAILLE et al., 2002).



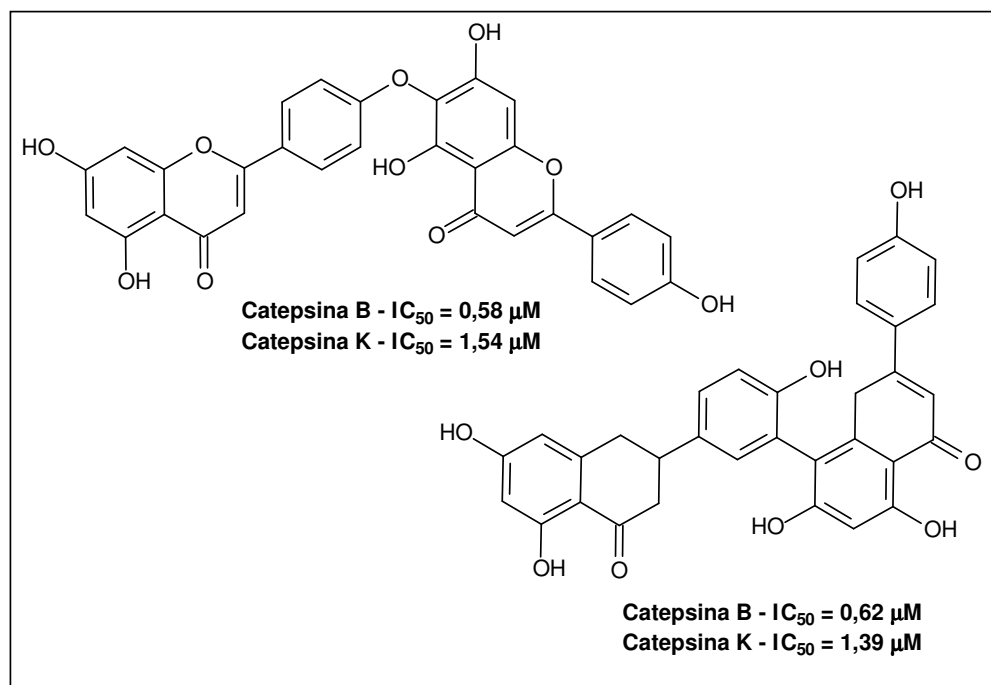
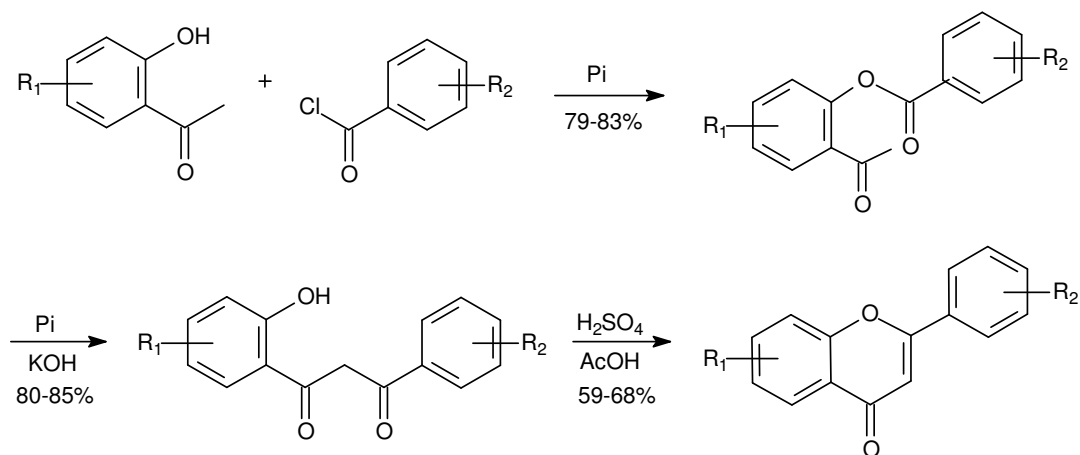


FIGURA 1.8 - Biflavonas com atividade inibitória da catepsina B e K

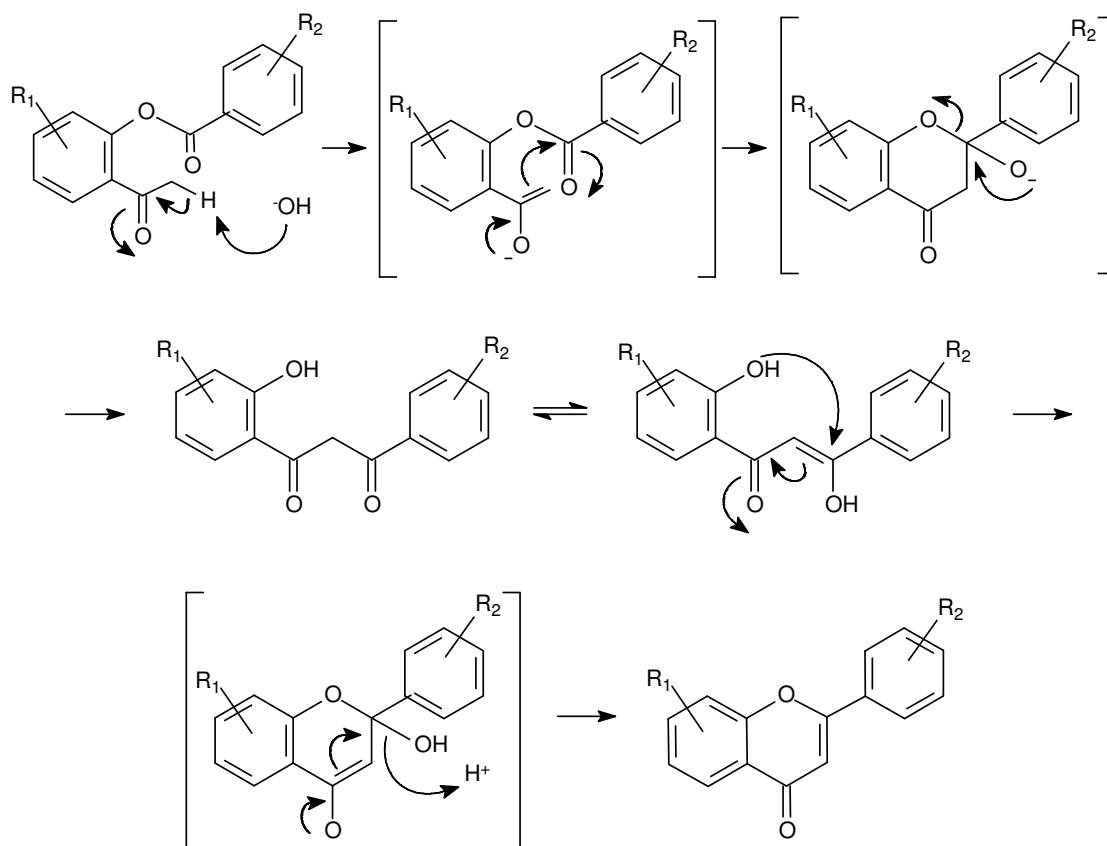
## 1.2 - Metodologias para a preparação de flavonas e chalconas

Na literatura são descritas diversas metodologias para preparação de flavonas. As mais utilizadas são a reação de Baker-Venkataraman (ADAM et al., 1991; ARES et al., 1993; MENICHINCHERI et al., 2004; GÖKER et al., 2005) e a ciclização oxidativa de chalconas (PINTO et al., 1994). As chalconas são obtidas via reação de condensação aldólica de uma acetofenona com um benzaldeído (KUMAZAWA et al., 2000; DE LA TORRE et al., 2002; DAO et al., 2004; APONT et al., 2008).

O método de Baker-Venkataraman utilizado por ADAM et al. (1991) apresenta uma rota sintética simples, com poucas etapas e rendimento moderado (ESQUEMA 1.1). A primeira etapa da síntese é a reação da 2-hidroxiacetofenona com um cloreto de benzoíla levando a formação do éster, que após tratamento com KOH fornece a dicetona (ESQUEMA 1.2). Em seguida a dicetona é submetida à reação de ciclização em meio ácido levando a formação da flavona.



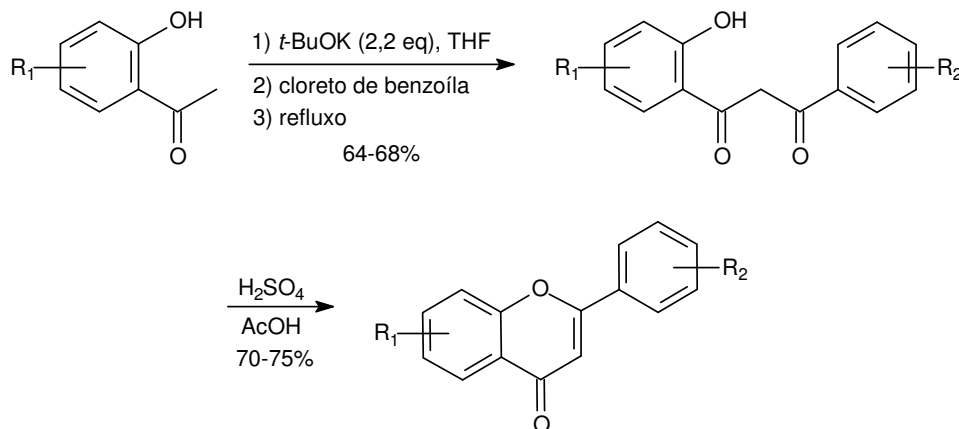
ESQUEMA 1.1 - Síntese de flavonas pelo método de Baker-Venkatarman



ESQUEMA 1.2 – Mecanismo da reação de Baker-Venkatarman

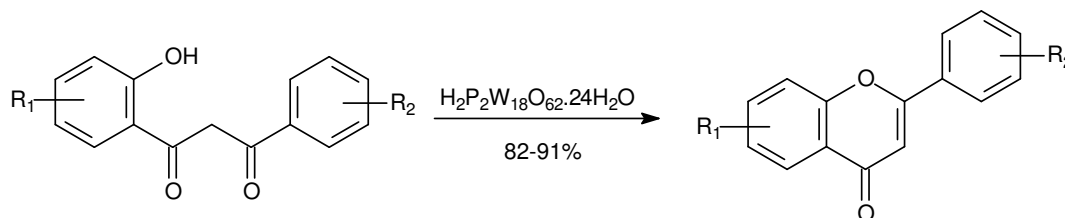
ARES et al. (1993) realizaram a síntese de flavonas utilizando a metodologia de Baker-Venkatarman modificada (ESQUEMA 1.3). Nesse caso, na 2-hidroxiacetofenona foi adicionado  $t\text{BuOK}$  (2,2 eq) e em seguida o cloreto de benzoila, após aquecimento a dicetona foi obtida com rendimentos moderados.

Mesmo apresentando um rendimento menor que na metodologia original de Baker-Venkataraman deve-se levar em consideração que por essa metodologia as flavonas são obtidas em apenas duas etapas.



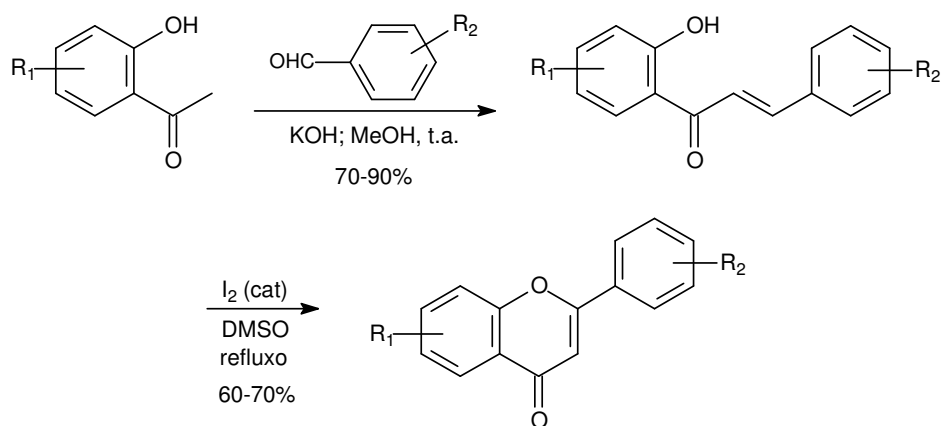
ESQUEMA 1.3 - Síntese de flavonas pelo método de Baker-Venkataraman modificado

Outra metodologia para a ciclização das dicetonas, preparadas pelo método Baker-Venkataraman, foi descrita por BERNARDI et al. (2008). Os autores utilizaram o ácido de Wells-Dawson ( $\text{H}_2\text{P}_2\text{W}_{18}\text{O}_{62}\cdot 24\text{H}_2\text{O}$ ) como catalisador (ESQUEMA 1.4). O catalisador foi utilizado em reações com solventes ou sem solventes. O rendimento da reação de ciclização empregando o catalisador foi maior que o rendimento obtido utilizando-se ácido sulfúrico catalítico em ácido acético.



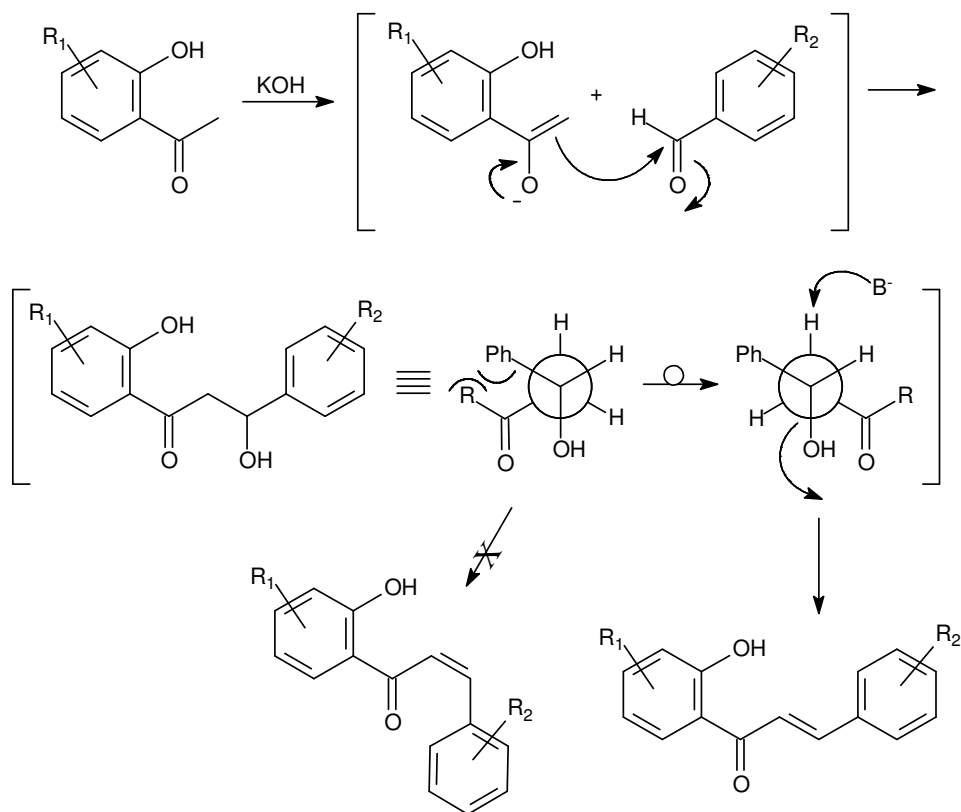
ESQUEMA 1.4 - Síntese de flavonas utilizando-se o ácido de Wells-Dawson

A partir da condensação aldólica entre a 2-hidroxiacetofenona com o benzaldeído seguido de ciclização oxidativa, DAO et al. (2004) prepararam diversas chalconas e flavonas com rendimento de moderados a bons (ESQUEMA 1.5).



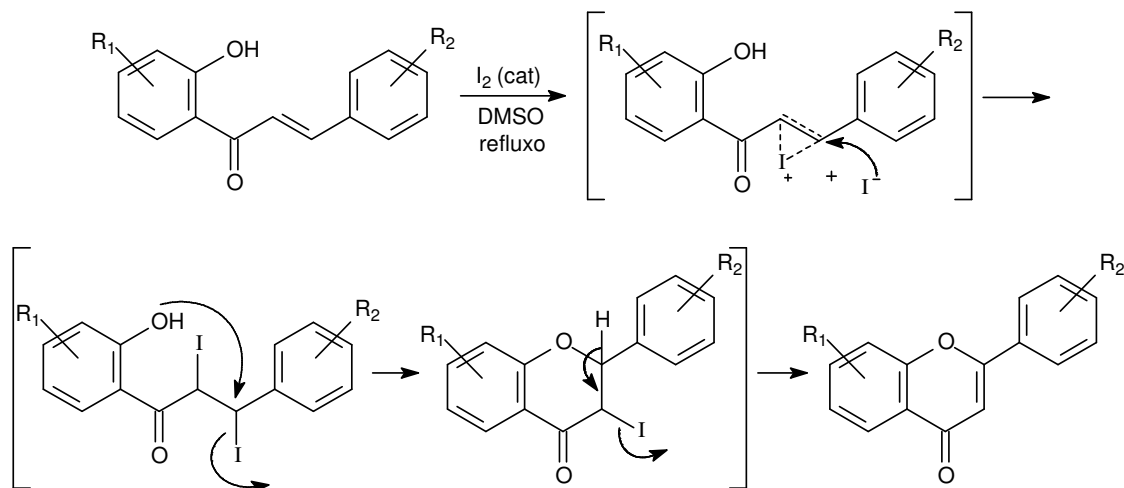
ESQUEMA 1.5 - Síntese de chalconas e flavonas

A reação de condensação aldólica para a formação das chalconas fornece estereosseletivamente a dupla ligação com a configuração *E*. No estado de transição a conformação do intermediário que leva a formação da dupla ligação com configuração *Z* é desfavorecida devido a efeitos estéricos (ESQUEMA 1.6).



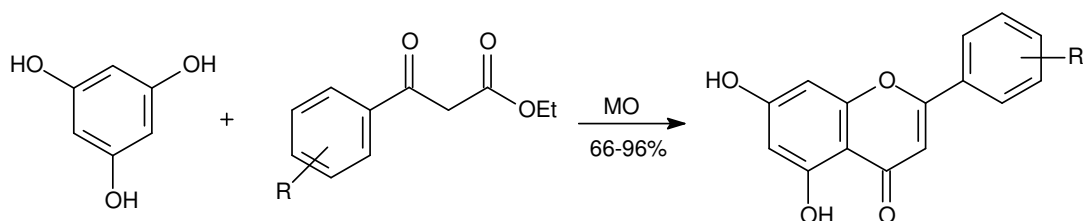
ESQUEMA 1.6 - Mecanismo da condensação aldólica

Na etapa seguinte as flavonas são preparadas via reação de ciclização oxidativa catalisada por iodo. No ESQUEMA 1.7 está representado o mecanismo proposta para esta reação.



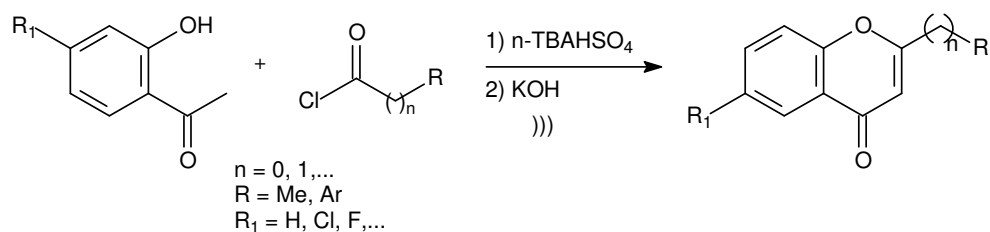
ESQUEMA 1.7 - Mecanismo proposto para a reação de ciclização oxidativa

SEIJAS et al. (2005) prepararam flavonas a partir da reação do pluroglucinol com  $\beta$ -cetoésteres sob irradiação microondas (ESQUEMA 1.8). Os compostos foram preparados sem o uso de solventes e o tempo reacional variou entre 2 e 12 minutos. O uso de irradiação microondas para a obtenção de flavonas também foi utilizado por BENNARDI et al. (2008).



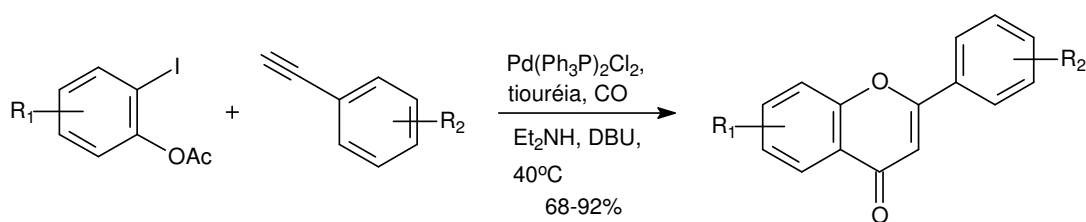
ESQUEMA 1.8 - Síntese de flavonas utilizando irradiação microondas

PATHAK et al. (2008) empregaram ultrassom para preparar uma série de flavonas (ESQUEMA 1.9).

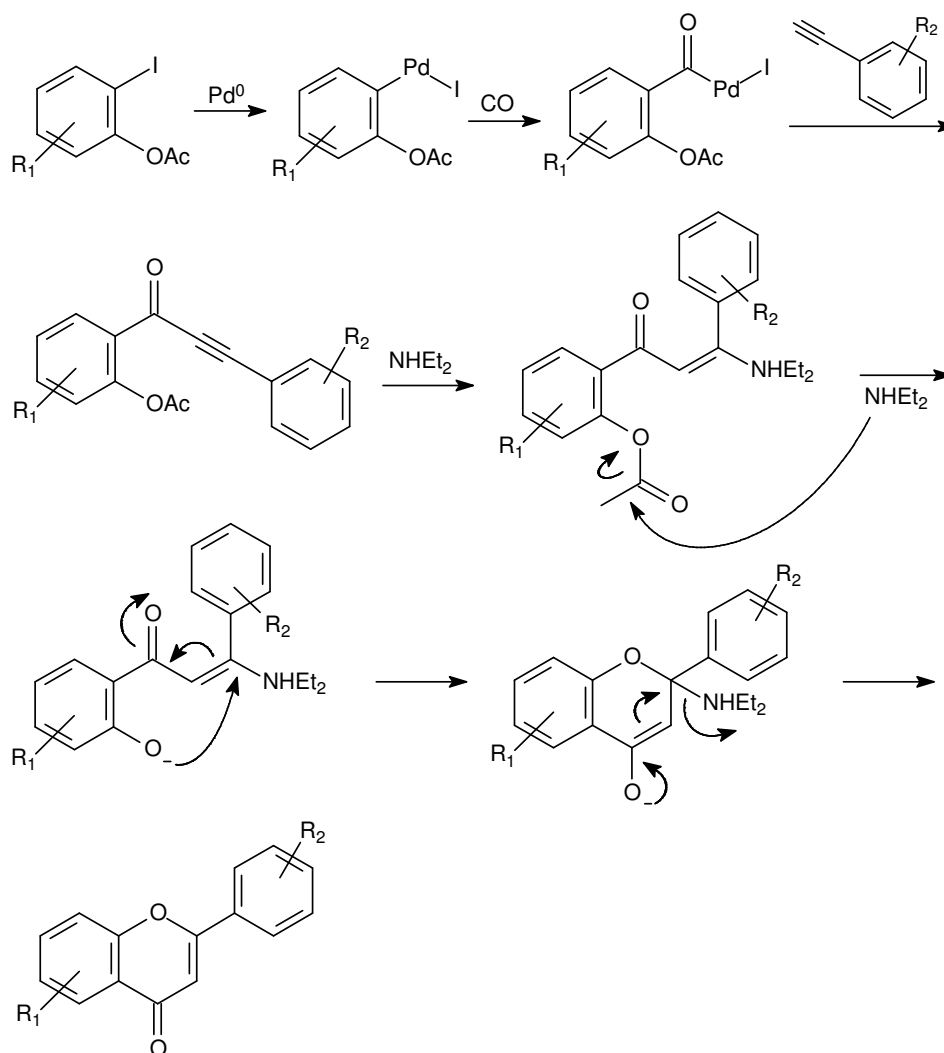


ESQUEMA 1.9 - Síntese de flavonas utilizando ultrassom

Na literatura também é encontrado o uso de paládio na preparação de flavonas (MIAO e YANG, 2000; CAVARISCHIA et al., 2008). MIAO e YANG (2000) sintetizaram diversas flavonas a partir da reação de iodofenóis com fenil acetilenos na presença de um complexo de paládio-tiouréia-dppp a 40 °C sob pressão de CO (ESQUEMA 1.10).

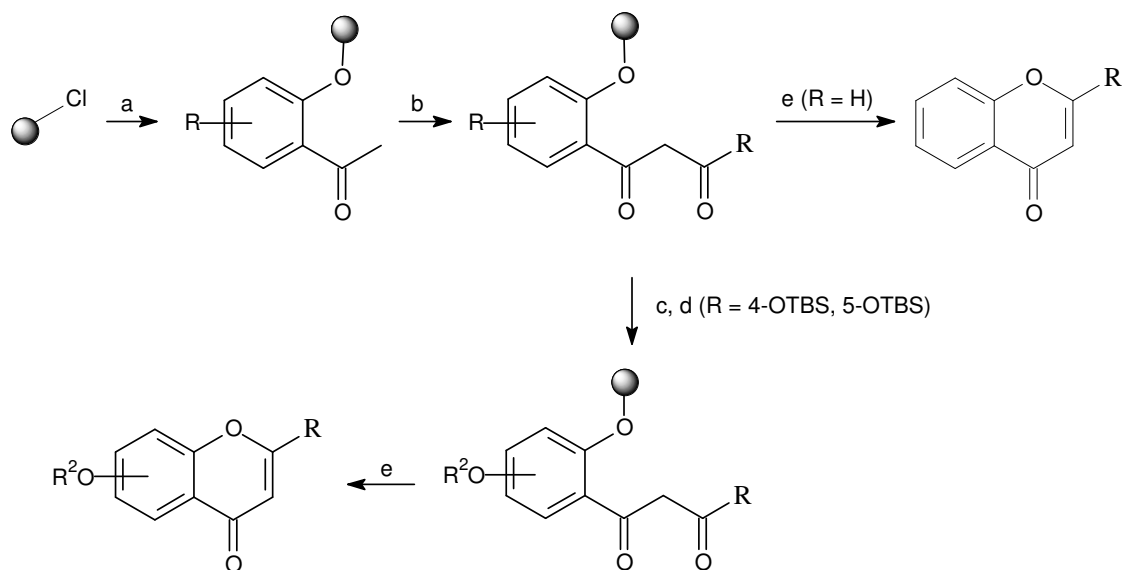


ESQUEMA 1.10 - Síntese de flavonas empregando-se paládio



ESQUEMA 1.11 - Mecanismo da reação catalisada por paládio para a síntese de flavonas

Nosso grupo de pesquisa (NOGUEIRA et al. 2001) preparou uma coleção combinatória com 45 flavonas em fase sólida. A resina utilizada foi a cloro 2-clorotritil e a metodologia foi baseada na reação de Baker-Venkataraman (ARES et al., 1993;) (ESQUEMA 1.12).



Condições: **a**) 2-hidroxiacetofenona [1-3] (3 eq.), DMAP (2 eq.), THF, 50°C, 48h. **b**) i. *t*-BuOK (5 eq.), DMF, 50°C, 4h; ii. **39** [1-5] (8 eq.), DMF, DMAP (4 eq.), 50°C, 16h. **c**) TBAF (5 eq.), THF, t.a., 16h. **d**) haleto de alquila [1-3] (5 eq.), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 eq.), DMF, 50°C, 16h. **e**) TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:3), t.a., 16h.

#### ESQUEMA 1.12 - Síntese da coleção combinatória das flavonas

A maioria dos compostos foram obtidos com baixo grau de pureza e devido à pequena quantidade de material obtido (2-5 mg) não foi possível a purificação dos mesmos. Mesmo sabendo que as impurezas presentes nas flavonas podem camuflar os resultados do bioensaio os compostos foram submetidos ao teste de inibição enzimática frente à enzima gGAPDH do *T. cruzi* (NOGUEIRA et al. 2001). As flavonas que apresentaram os melhores resultados de inibição enzimática foram as flavonas **1**, **2**, **3** e **4** (FIGURA 1.9) com 60, 51, 45 e 37% de inibição, respectivamente, na concentração de 100 µg/mL.

Outras estratégias de síntese de flavonas empregando síntese em fase sólida e Química Combinatória serão discutidas no Capítulo 3.4.



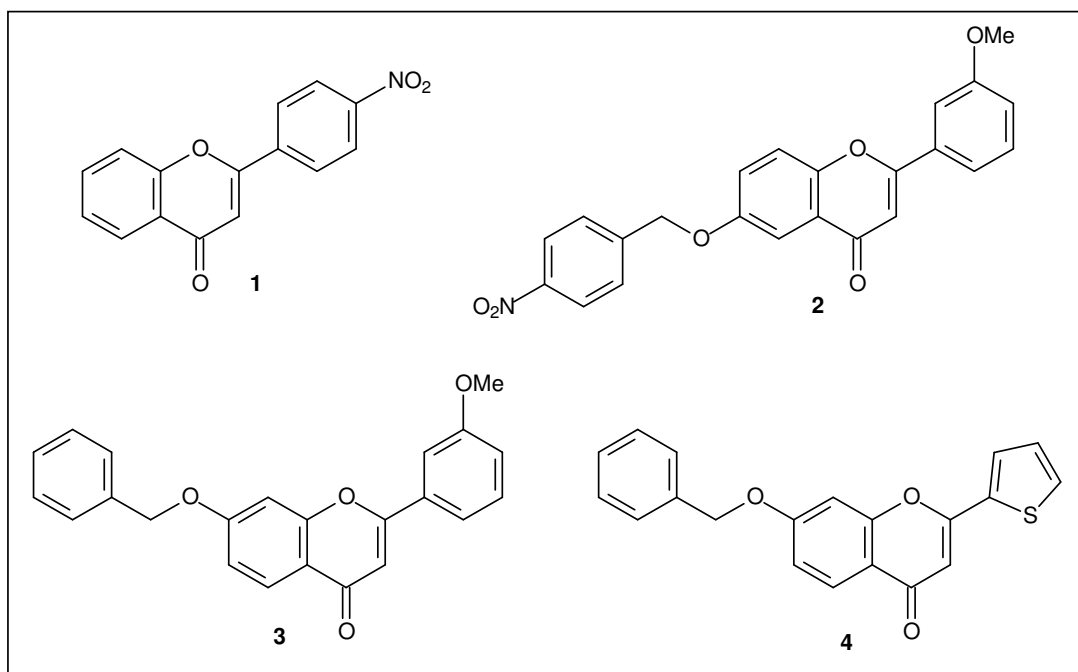


FIGURA 1.9 - Flavonas que apresentaram os melhores resultados de inibição da enzima gGAPDH



## **OBJETIVOS**



## 2 - Objetivos

Esse trabalho teve como objetivos a síntese e a avaliação da atividade biológica de uma coleção de flavonóides. Mais especificamente, o trabalho envolveu:

- avaliação das metodologias descritas na literatura para a síntese de chalconas e flavonas visando o posterior emprego das mesmas na preparação de coleções combinatórias.
- preparação de uma coleção combinatória de flavonas utilizando síntese em solução e em fase sólida.
- realização de bioensaios *in vitro* desses compostos frente à enzima gGAPDH do *T. cruzi* e a catepsina V humana.
- estudo da relação estrutura-atividade biológica.



## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**





### 3 - Resultados e Discussões

Com o intuito de se testar algumas metodologias descritas na literatura para a síntese de flavonas e avaliar qual seria a mais adequada para a preparação da quimioteca optamos por iniciar o trabalho preparando as flavonas **1-4** (FIGURA 3.1) pois esses compostos apresentaram atividade inibitória frente a enzima gGAPDH do *T. cruzi*.

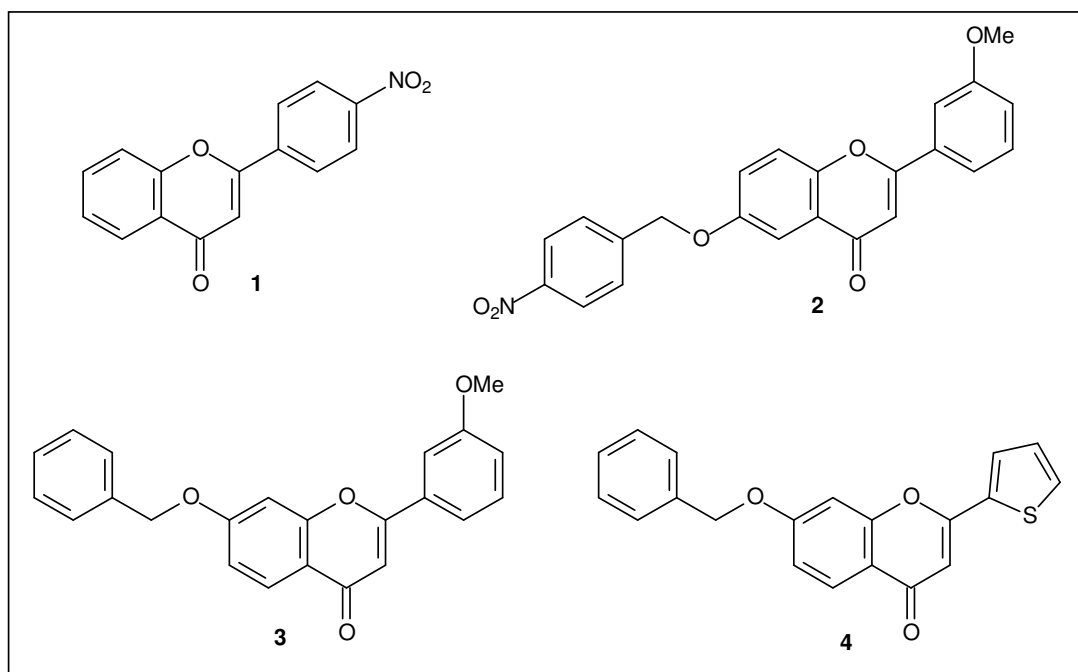
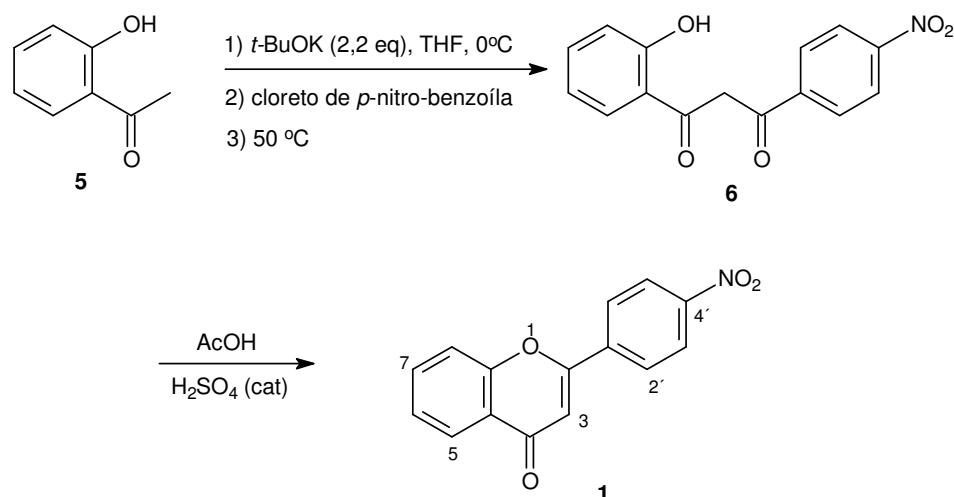


FIGURA 3.1 – Flavonas selecionadas para se testar as metodologias sintéticas

#### 3.1 - Aplicação de metodologias sintéticas descritas na literatura para a síntese das flavonas 1-4

##### 3.1.1 - Obtenção da 4'-nitroflavona (1)

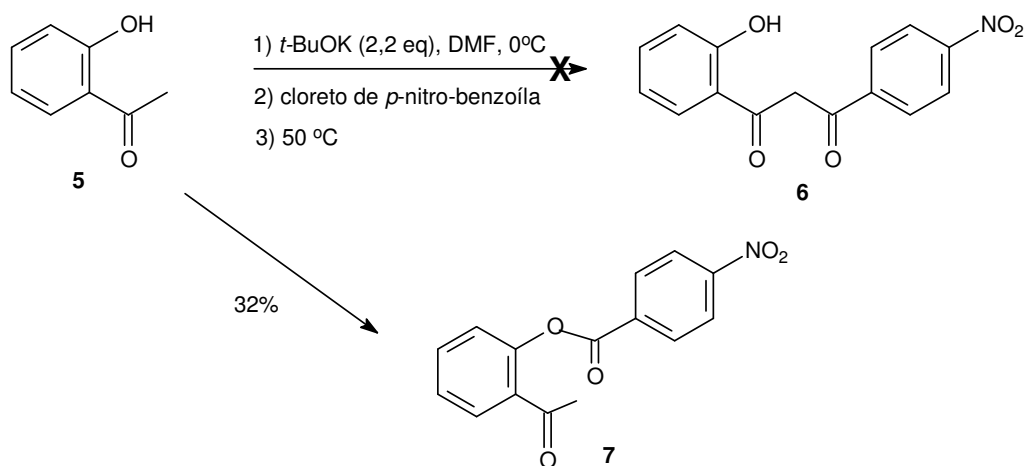
Para a síntese da flavona **1** inicialmente testou-se a metodologia de Baker-Venkataraman modificada (ARES et al., 1993). A partir da reação da 2-hidroxiacetofenona (**5**) com *t*-BuOK (2,2 eq) e cloreto de benzoíla seguido de aquecimento seria obtida a dicetona **6**, que após tratamento com ácido sulfúrico em ácido acético levaria a formação da flavona **1** (ESQUEMA 3.1).



ESQUEMA 3.1 - Proposta de síntese da flavona **1** utilizando-se o método de Baker-Venkataraman modificado

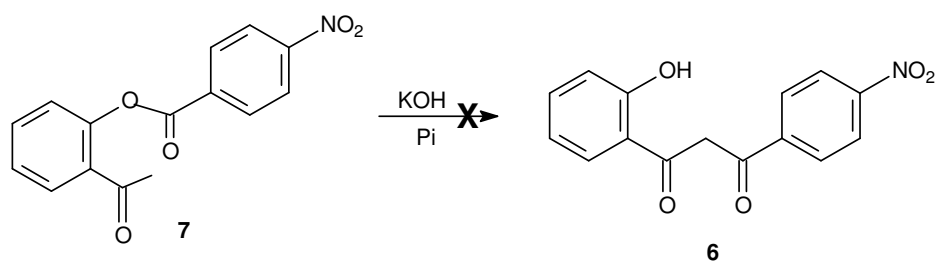
A reação para a obtenção da dicetona **6** foi realizada em THF seco a 0°C utilizando-se 2,2 equivalentes de *t*-BuOK para a formação do diânion da 2-hidroxiacetofenona (**5**). Em seguida adicionou-se o cloreto de *p*-nitrobenzoíla e a temperatura do meio reacional foi elevada à temperatura ambiente. Após a mistura atingir a temperatura ambiente observou-se que grande parte do material precipitou no meio reacional. Adicionou-se mais THF e a mistura foi mantida sob refluxo por 14 horas. Após esse período o produto da reação foi analisado e observou-se que a acetofenona **5** não havia sido consumida.

Devido ao problema de solubilidade encontrado decidiu-se utilizar DMF seco como solvente nas mesmas condições reacionais. Após a adição do cloreto de ácido, a mistura foi mantida sob agitação a 50°C por 14 horas. O produto obtido foi isolado e através da análise por RMN <sup>1</sup>H observou-se a formação do éster **7** (ESQUEMA 3.2) com 32% de rendimento.

ESQUEMA 3.2 - Obtenção do éster **7**

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  observou-se um singlete em  $\delta$  2.56 referente aos 3 hidrogênios ligados ao carbono  $\alpha$ -carbonílico, bem como os outros hidrogênios da molécula. No espectro de IV foram observadas duas bandas, 1742 e 1685  $\text{cm}^{-1}$ , referentes às vibrações das ligações C=O do éster e da cetona, respectivamente.

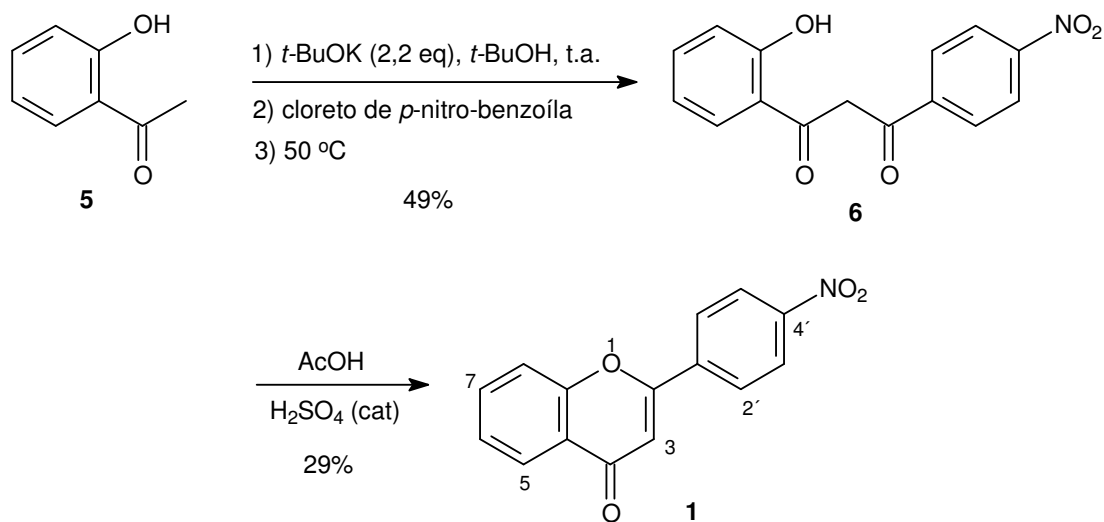
Tendo o éster **7** em mãos decidiu-se aplicar a metodologia de Baker-Venkataraman (ADAM et al., 1991 e ARES et al., 1995), que a partir da reação de **7** com KOH em piridina leva à formação da dicetona **6** (ESQUEMA 3.3).

ESQUEMA 3.3 - Tentativa de obtenção da dicetona **6** a partir do éster **7**

A mistura reacional foi mantida sob agitação por 30 minutos à temperatura de 50°C. O produto bruto obtido foi analisado por RMN  $^1\text{H}$  e não foi observada a presença da dicetona **6** e do éster **7**. Através da análise por CCD observou-se na mistura a presença da 2-hidroxiacetofenona (**5**) formada a partir da hidrólise do éster **7**.

Como não foi obtida a dicetona de interesse nesses testes utilizando-se THF e DMF como solvente decidiu-se realizar a reação de Baker-Venkataraman

modificada utilizando-se *t*-BuOH como solvente, seguindo o procedimento descrito anteriormente (ESQUEMA 3.4). Ao final da reação o produto obtido foi filtrado em sílica *flash* para uma pré-purificação, e o material isolado foi utilizado na etapa de ciclização sem uma melhor purificação. A reação de ciclização da dicetona **6** para a formação da flavona **1** foi realizada em ácido acético glacial na presença de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> catalítico a 60°C durante 2 horas (ESQUEMA 3.4).

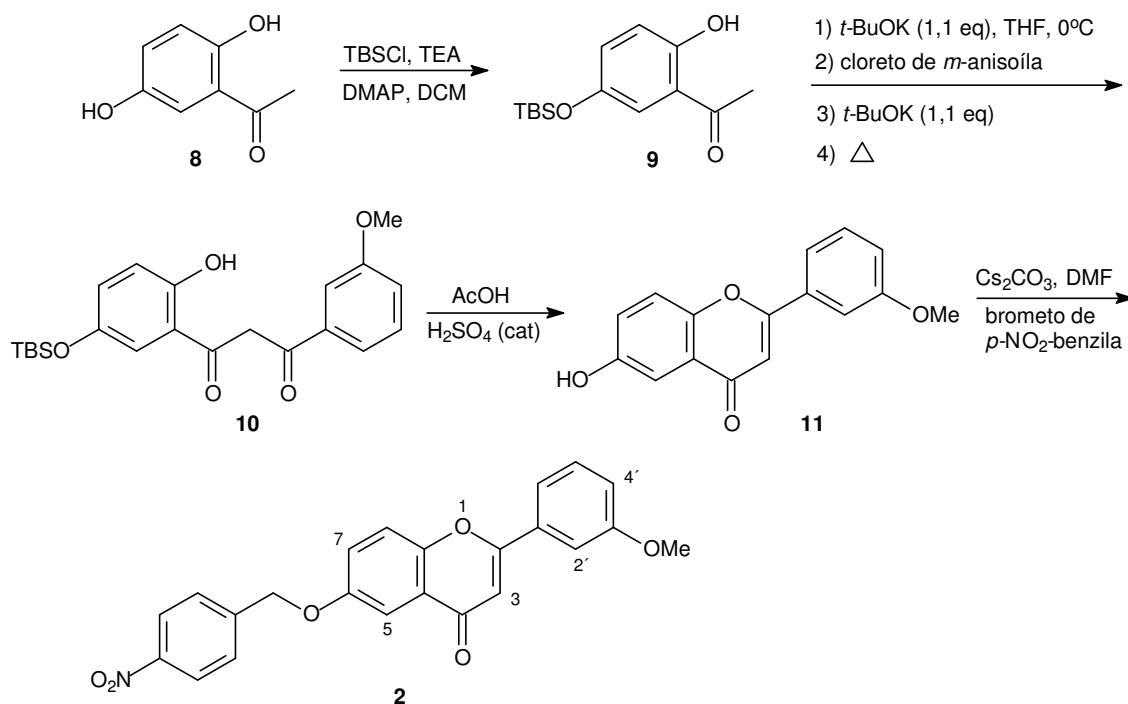


ESQUEMA 3.4 - Obtenção da flavona **1**

A flavona **1** foi obtida com 14% de rendimento a partir da acetofenona **5** e foi caracterizada por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV e EM. No espectro de RMN <sup>1</sup>H observou-se um singlete em  $\delta$  6.92 referente ao hidrogênio 3 da flavona obtida, bem como os sinais referentes aos demais hidrogênios da molécula.

### 3.1.2 - Obtenção da 3'-metoxi-6-(*p*-nitrobenzililoxi)flavona (**2**)

A flavona **2** foi preparada a partir da 2,5-dihidroxiacetofenona (**7**) seguindo-se a metodologia de Baker-Venkataraman modificada (ARES et al.,1993) (ESQUEMA 3.5).

Esquema 3.5 - Rota sintética para a obtenção da flavona **2**

Inicialmente realizou-se a proteção regioseletiva da hidroxila em C5 da acetona **8**, utilizando-se TBSCl como agente alquilante, TEA como base e DMAP em quantidade catalítica. Obteve-se a acetofenona monoprotetida **9** com 99% de rendimento, que foi caracterizada por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foram observados dois singletos em  $\delta$  0.19 e 0.99 referentes aos 6 hidrogênios das duas metilas e aos 9 hidrogênios do grupo *t*-butila do grupo protetor, respectivamente. No EM foi observado o pico do íon molecular  $m/z = 266$  e no espectro de IV observou-se uma banda larga e de pequena intensidade em  $3438\text{ cm}^{-1}$  referente à hidroxila orto à carbonila.

A reação para a obtenção da dicetona **10** foi realizada em THF seco, mas ao invés de adicionar os 2 equivalentes da base, adicionou-se apenas 1,1 eq. de *t*-BuOK, à temperatura de  $0^\circ\text{C}$ , para formar o alcóxido. Em seguida adicionou-se o cloreto de *m*-anisóila e agitou-se a mistura à temperatura ambiente, para a formação do éster intermediário da reação. Após 1 hora de reação adicionou-se mais 1,1 equivalente de *t*-BuOK a  $0^\circ\text{C}$ , para promover a acilação intramolecular, e em seguida a mistura foi mantida sob refluxo por 14 horas (ARES et al., 1993).

O produto foi pré-purificado por filtração *dry-flash*, e obteve-se o composto **10** com rendimento de 30%, porém ainda impuro. O material obtido foi

caracterizado por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No espectro de RMN  $^1\text{H}$  observou-se os três singletos referentes aos hidrogênios do grupo protetor e da metoxila em  $\delta$  0.21, 1.00 e 3.88, respectivamente, e também os outros hidrogênios do composto **9** formado.

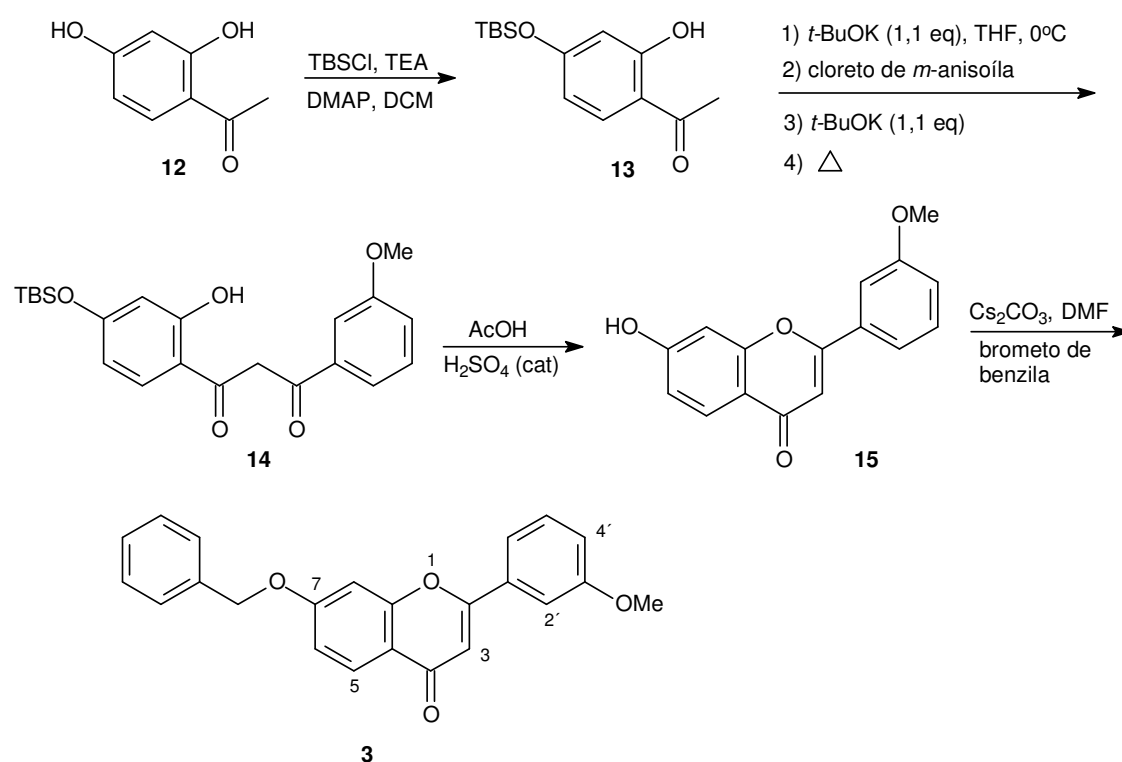
A reação de ciclização da dicetona **10** para a formação da flavona **11** foi realizada em ácido acético glacial na presença de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  catalítico à temperatura de  $70^\circ\text{C}$  durante 2 horas. A flavona **11** foi obtida com 50% de rendimento e foi caracterizada por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  observou-se um singlete em  $\delta$  7.00 referente ao hidrogênio ligado ao carbono 3 da flavona e não foi observada a presença dos sinais referentes aos hidrogênios do grupo protetor. No espectro de IV observou-se uma banda em  $3473\text{ cm}^{-1}$  referente à vibração da ligação O-H que foi desprotegida.

A flavona **11** foi submetida à reação de alquilação com o brometo de *p*-nitrobenzila em DMF a  $50^\circ\text{C}$ , na presença de  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ . Obteve-se a flavona **2**, com rendimento de 81%, que foi caracterizada por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e IV.

No espectro de IV não foi observada a banda em  $3473\text{ cm}^{-1}$  referente à hidroxila livre e no espectro de RMN  $^1\text{H}$  observou-se um singlete em  $\delta$  5.28 referente aos dois hidrogênios benzílicos, bem como os outros sinais dos hidrogênios do grupo *p*-nitrobenzeno que foram incorporados à molécula.

### 3.1.3 - Obtenção da 7-benziloxi-3'-metoxiflavona (**3**)

Para síntese da flavona **3** utilizou-se a mesma metodologia empregada anteriormente para a síntese da flavona **2** (ESQUEMA 3.6).

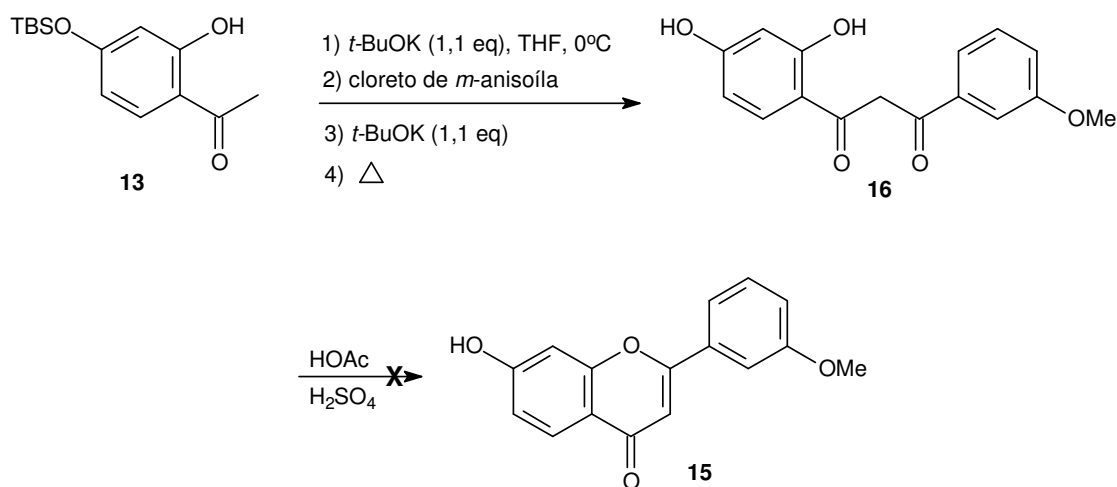
Esquema 3.6 - Rota sintética para a obtenção da flavona **3**

A reação de proteção regioseletiva da acetofenona **12** foi realizada utilizando-se TBSCl como agente alquilante, TEA como base e DMAP em quantidade catalítica. Obteve-se a acetofenona monoprottegida **13**, com 99% de rendimento, que foi caracterizada por RMN  $^1H$ ,  $^{13}C$ , IV e EM.

No espectro de RMN  $^1H$  foram observados dois singletos em  $\delta$  0.24 e 0.98 referentes aos 6 hidrogênios das duas metilas e aos 9 hidrogênios do grupo *t*-butila do grupo protetor, respectivamente. No EM foi observado pico do íon molecular  $m/z = 266$  e no espectro de IV observou-se uma banda larga e de pequena intensidade em  $3399\text{ cm}^{-1}$  referente à hidroxila orto à cetona.

Para a obtenção da dicetona **14** foi realizada uma reação de acilação da acetofenona **13** com o cloreto de *m*-anisoíla em THF seco. Na solução do composto **13** em THF anidro adicionou-se 1,1 eq. de *t*-BuOK à temperatura de 0°C para formar o alcóxido. Em seguida adicionou-se o cloreto de *m*-anisoíla e agitou-se a mistura a temperatura ambiente para a formação do éster, intermediário da reação. Após 1 hora de reação adicionou-se mais 1,1 equivalente de *t*-BuOK a 0°C para que promover a acilação intramolecular, e em seguida a mistura foi mantida sob refluxo por 14 horas (ARES et al., 1993).

O produto bruto obtido foi analisado por RMN  $^1\text{H}$  e constatou-se que ocorreu a desproteção da hidroxila, pois não foram mais observados os sinais dos hidrogênios do grupo TBS. Observou-se a presença de um singlete em  $\delta$  3.85 referente à metoxila e não foi observado o singlete em  $\delta$  2.55 referente aos hidrogênios  $\alpha$  à carbonila. Com base na análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  pode se afirmar que houve a formação do composto **16** (ESQUEMA 3.7), só que em grau de pureza muito baixo.



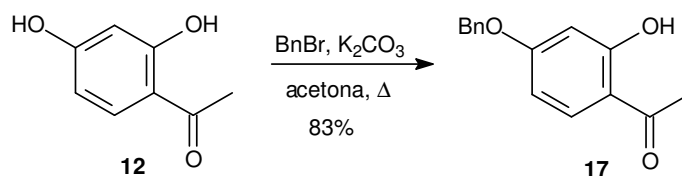
ESQUEMA 3.7 – Tentativa de obtenção da flavona **15**

A reação de ciclização da dicetona **16** para a formação da flavona **15** foi realizada em ácido acético glacial na presença de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> catalítico a temperatura de 70°C durante 2 horas. O produto bruto obtido foi analisado por RMN  $^1\text{H}$  e não foi observada a formação do produto desejado.

Devido a desproteção não esperada do grupo TBS e como não foi possível obter a flavona **15** a partir da dicetona **16**, decidiu-se preparar a flavona **3** partindo-se da acetofenona protegida com o grupo benzila (**17**).

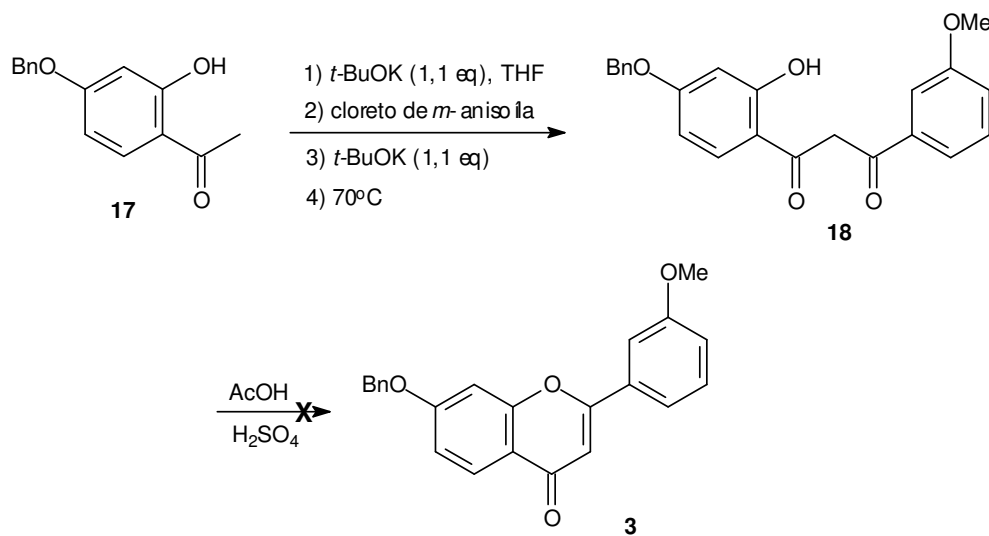
A reação de benzilação regioselectiva da acetofenona **12** foi realizada utilizando-se brometo de benzila como agente alquilante e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> como base sob refluxo de acetona (ESQUEMA 3.8).



ESQUEMA 3.8 - Obtenção da acetofenona **17**

Obeve-se a acetofenona **17**, com 83% de rendimento, que foi caracterizada por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foi observado um singlete em  $\delta$  5.09 referente aos 2 hidrogênios benzílicos assim como os outros hidrogênios do composto formado e no EM foi observado o pico do íon molecular  $m/z = 242$ .

A reação de obtenção da dicetona **18** foi realizada em THF de acordo com a metodologia aplicada para a síntese da flavona **2** (ESQUEMA 3.9).

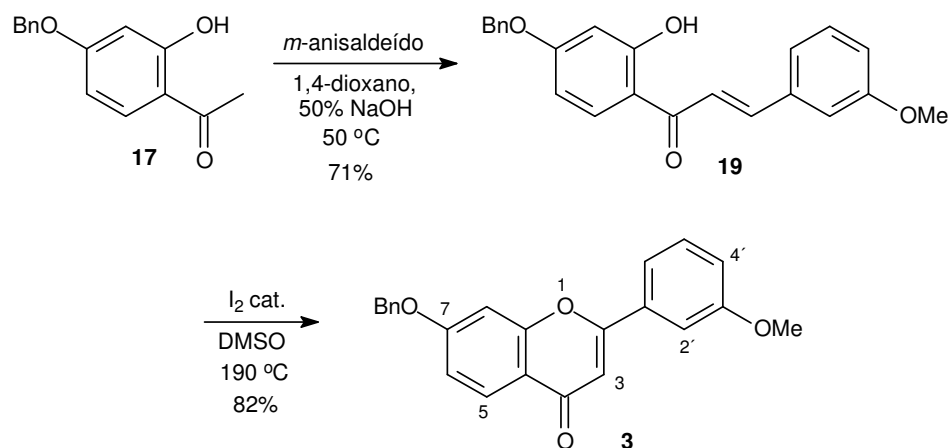
ESQUEMA 3.9 - Rota sintética utilizada na tentativa de se preparar a flavona **3**

Ao final da reação analisou-se o produto bruto por CCD e observou-se que o material de partida havia sido consumido. Sem qualquer purificação esse produto foi submetido à reação de ciclização em meio ácido. O produto extraído foi analisado e não foi observada a presença da flavona de interesse, esse fato nos sugere que apesar da acetofenona **17** ter sido consumida não houve a formação da dicetona **18**.

Como não se obteve sucesso na síntese da flavona **3** pelo método de Baker-Venkataraman decidiu-se aplicar outra metodologia. A condensação aldólica

de 2-hidroxiacetofenonas com benzaldeídos leva a formação de chalconas, (KUMAZAWA et al., 2000) que após ciclização oxidativa fornece as respectivas flavonas (DE LA TORRE et al., 2002).

A reação de condensação aldólica da acetofenona **17** com o *m*-anisaldeído foi realizada em uma mistura de 1,4-dioxano e uma solução de NaOH 50% (1:1) a temperatura de 50°C (ESQUEMA 3.10) (KUMAZAWA et al., 2000 e DAO et al., 2004).



ESQUEMA 3.10 - Obtenção da flavona **3**

A chalcona **19** foi obtida com rendimento de 71% e foi caracterizada por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV e EM. Através da análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H foi possível identificar os dois dubletos ( $J = 15.5$  Hz) em  $\delta$  7.55 e 7.85 referentes aos hidrogênios da dupla ligação da chalcona formada e também se observou um singlete em  $\delta$  3.86 referente aos hidrogênios da metoxila. No EM foi observado o pico do íon molecular  $m/z = 360$ .

A reação de ciclização oxidativa da chalcona **19** foi realizada na presença de iodo em quantidade catalítica em DMSO a 190°C por 15 minutos. Obteve-se a flavona **3** com 82% de rendimento e esta foi caracterizada por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV e EM. No espectro de RMN <sup>1</sup>H não foram observados os dois dubletos em  $\delta$  7.55 e 7.85 referentes aos hidrogênios da dupla ligação da chalcona de partida e se observou o surgimento de um singlete em  $\delta$  6.74 referente ao hidrogênio ligado ao carbono 3 da flavona, e também foi possível identificar os demais sinais referentes aos outros hidrogênios da molécula.

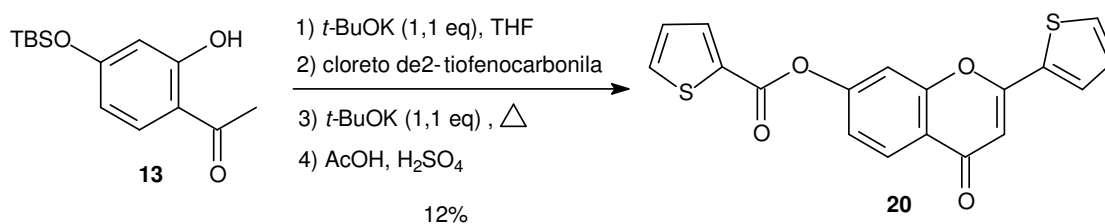
Apesar da síntese da flavona **3** via condensação aldólica seguido de ciclização oxidativa ter sido mais eficiente que síntese das flavonas **1** e **2** pelo método de Baker-Venkataraman, o composto **4** não foi sintetizado por esta metodologia pois não possuíamos 2-tiofenocarboxaldeído e optamos por não prepará-lo.

### 3.1.4 - Obtenção do 6-benziloxi-2-(2-tienil)-4H-cromeno (**4**)

Para a obtenção da flavona **4** inicialmente utilizou-se a acetofenona **13**, protegida com TBS. Na solução do composto **13** em THF anidro adicionou-se 1,1 eq. de *t*-BuOK a temperatura de 0°C, o cloreto de 2-tiofenocarbonila e agitou-se a mistura a temperatura ambiente por 1 hora de reação. Resfriou-se o meio reacional a 0°C, adicionou-se mais 1,1 equivalente de *t*-BuOK e em seguida a mistura foi mantida sob refluxo por 14 horas.

Ao final da reação o produto obtido foi analisado por RMN <sup>1</sup>H e observou-se que novamente ocorreu a desproteção da hidroxila. Sem qualquer purificação realizou-se a reação de ciclização em meio ácido, o produto obtido foi recristalizado em etanol e analisado por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV e EM.

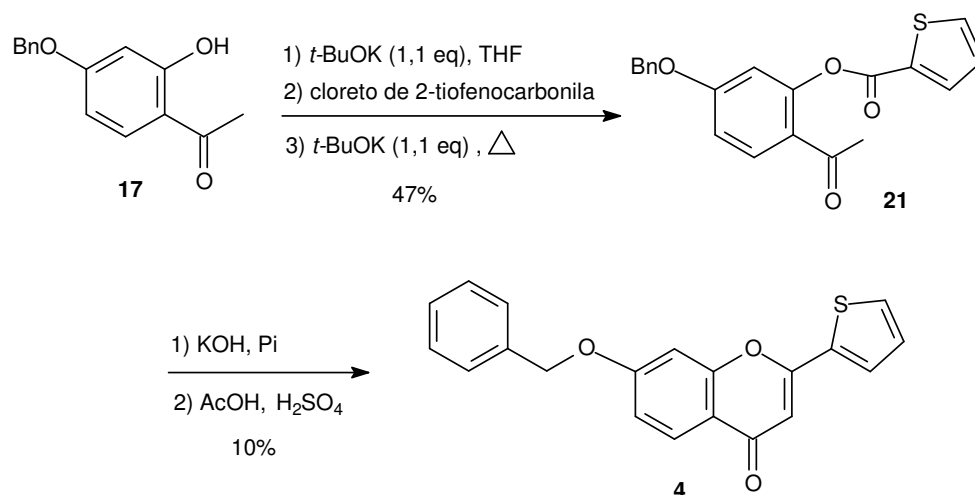
Através da análise dos resultados espectroscópicos, o produto obtido foi caracterizado como sendo o cromeno **20** (ESQUEMA 3.11), com 12 % de rendimento a partir da acetofenona **13**. No espectro de RMN <sup>1</sup>H foi observado um singleto em  $\delta$  6.65 referente ao hidrogênio ligado ao carbono 3 da flavona, foi possível identificar os sinais referentes aos hidrogênios dos dois anéis tiofenocarbônicos, bem como os hidrogênios do anel aromático. No EM foi observado o pico do íon molecular  $m/z = 354$ .



ESQUEMA 3.11 - Obtenção da flavona **20**

Novamente a reação de formação da dicetona, utilizando-se *t*-BuOK como base, promoveu a desproteção do grupo TBS da hidroxila **4** na acetofenona. Esse é um fato interessante, pois a desproteção ocorreu nos dois casos onde foi utilizada a acetofenona protegida na posição 4, enquanto que quando se utilizou a acetofenona protegida na posição 5 nas mesmas condições a desproteção não ocorreu.

Devido à desproteção da hidroxila da acetofenona **13** e formação do cromeno **20** decidiu-se preparar o composto **4** a partir da 4-benziloxi-2-hidroxiacetofenona (**17**) utilizando-se a mesma metodologia da síntese de **2**. Ao final da reação o produto foi pré-purificado por filtração *dry-flash*, e identificado por RMN  $^1\text{H}$  como sendo o éster **21** (ESQUEMA 3.12), com 47% de rendimento. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  observou-se um singlete em  $\delta$  2.52 referente aos três hidrogênios  $\alpha$  à carbonila bem como os outros hidrogênios da molécula.



ESQUEMA 3.12 - Obtenção do composto **4**

Em seguida o composto **21** foi submetido à reação de acilação intramolecular em piridina na presença de KOH (ARES et al., 1995) e o material obtido foi submetido à reação de ciclização em meio ácido sem qualquer purificação. O produto obtido foi purificado em CCD preparativa utilizando-se uma mistura de hexano:acetato de etila (8:2) como eluente. Obteve-se o composto **4** com 10 % de rendimento, a partir do éster **21**, que foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  não foi observado o singlete em  $\delta$  2,52 do material de partida e se observou um singlete em  $\delta$  6,65 referente ao hidrogênio

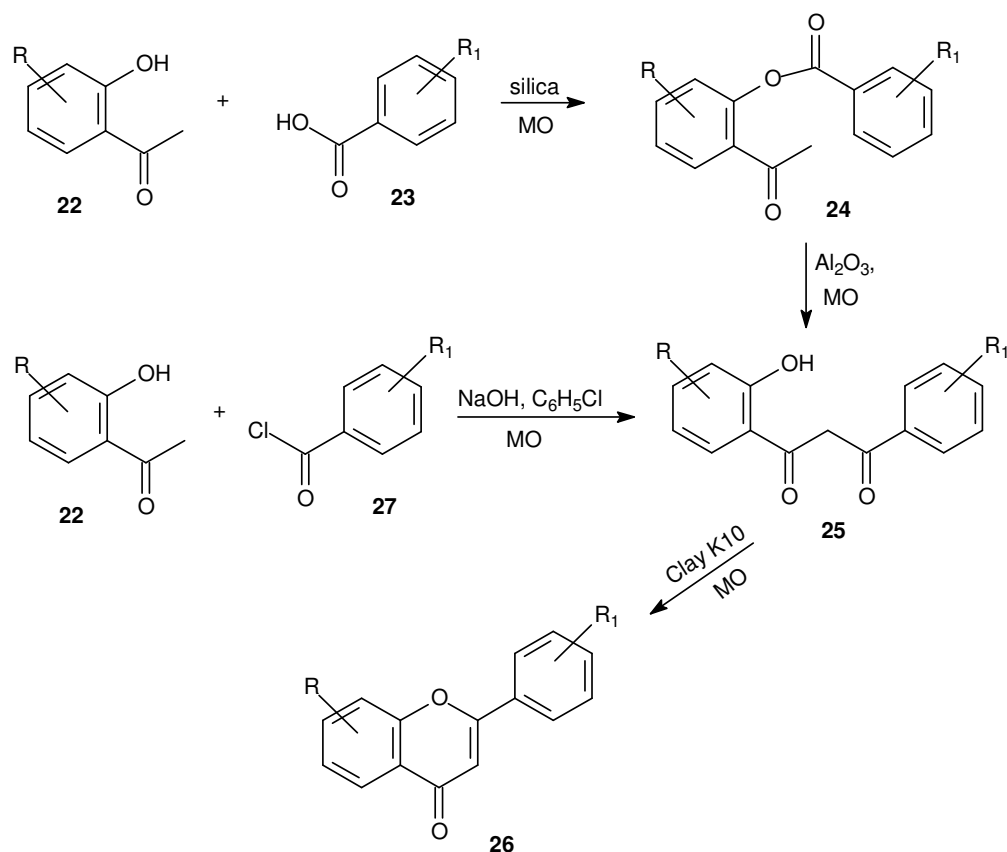
ligado ao carbono 3 da flavona **4** formada, bem como os outros sinais referentes aos demais hidrogênios da molécula.

### 3.2 - Testes para a obtenção de flavonas utilizando-se irradiação de micro-ondas

Nas duas metodologias empregadas até o momento para a síntese das flavonas o aquecimento é necessário para que a reação se processe. Dessa forma a irradiação de micro-ondas (MO) é uma ferramenta muito atrativa, pois apresenta algumas vantagens em comparação ao aquecimento convencional, como rápido aquecimento, menor tempo reacional, maiores rendimentos, etc (GRAEBIN e EIFLER-LIMA, 2005).

No ESQUEMA 3.13 são apresentadas duas metodologias para a preparação de flavonas, a partir de 2-hidroxiacetofenonas (**22**) utilizando-se irradiação de micro-ondas, baseando-se em trabalhos descritos na literatura. A reação de esterificação de **22** com os ácidos benzóicos (**23**) na presença de sílica gel levam a formação dos ésteres **24** (LAMI et al., 1999), seguido de uma reação de acilação intramolecular na presença de  $Al_2O_3$  fornecendo as dicetonas **25** (BANSAL et al., 1996 e LIDSTRÖM et al., 2001). As dicetonas quando submetidas à irradiação de micro-ondas na presença de argila montmorilonita (Clay) K10 leva a formação das flavonas **26** (VARMA et al., 1998 e LIDSTRÖM et al., 2001).

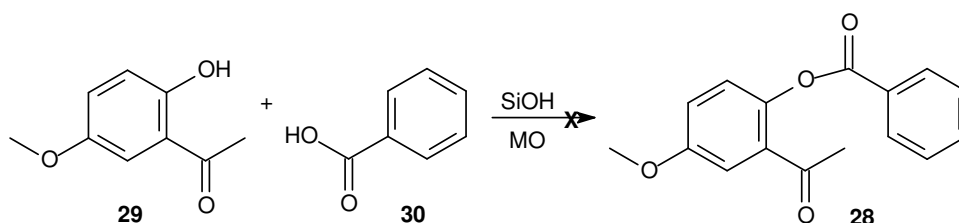
A segunda metodologia envolve a reação entre as 2-hidroxiacetofenonas (**22**) com cloretos de benzoílas (**27**), que na presença de NaOH em diclorobenzeno sob irradiação de micro-ondas leva a formação das dicetonas **25** (BANSAL et al., 1996), precursores para a preparação das flavonas **26** (ESQUEMA 3.18).



ESQUEMA 3.13 – Proposta sintética para a preparação de flavonas utilizando-se irradiação de microondas

Inicialmente, visando-se testar as metodologias apresentadas no ESQUEMA 3.13, realizou-se a reação de esterificação descrita por LAMI et. al (1999).

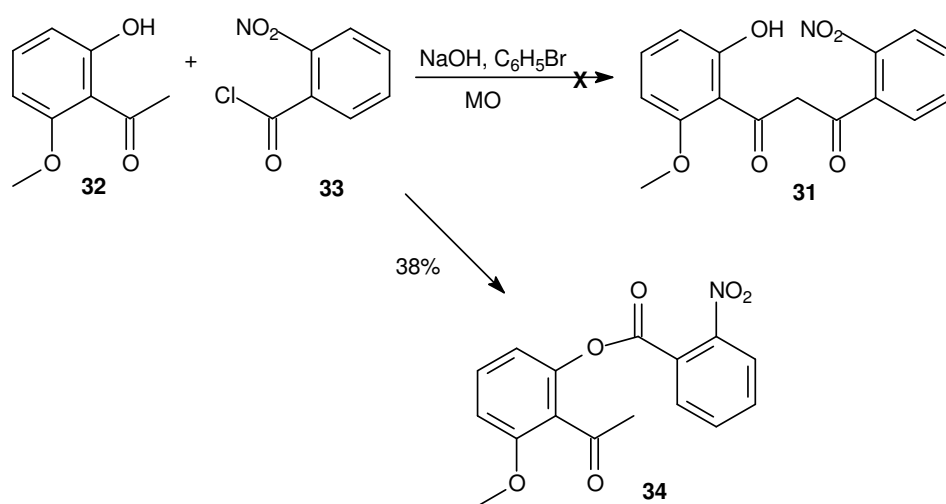
A reação entre a acetofenona **29** com o ácido **30** foi realizada em um micro-ondas caseiro utilizando sílica como suporte (ESQUEMA 3.14). A reação foi mantida sob irradiação na potência máxima do aparelho (frequência de 2450 MHz) por 3 minutos. Após análise foi observado que nenhum material foi formado. A mistura foi exposta à irradiação de micro-ondas por mais 5 minutos e depois por mais 10 minutos, o material foi analisado por CCD e só observado a presença dos materiais de partida.

ESQUEMA 3.14 - Tentativa de preparação do éster **28**

Outros suportes sólidos foram testados nessa reação, como  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (ácida, básica e neutra) e Clay K10, porém em todos esses testes foram recuperados os materiais de partida. Como por essa metodologia o produto de interesse não foi obtido decidiu-se testar a metodologia descrita por VARMA et. al (1998).

A solução da 2-hidroxi-6-metoxiacetofenona (**32**) com o cloreto de *o*-nitrobenzoíla (**33**) em bromobenzeno foi submetida à irradiação de micro-ondas na potência máxima do aparelho por 3 minutos. Através da análise por CCD observou-se a presença dos materiais de partida. A mistura foi exposta à irradiação por mais duas vezes durante 3 minutos e o produto formado foi extraído.

O produto obtido foi purificado por coluna cromatográfica e constatou-se a formação do éster **34** com 38% de rendimento (ESQUEMA 3.15).

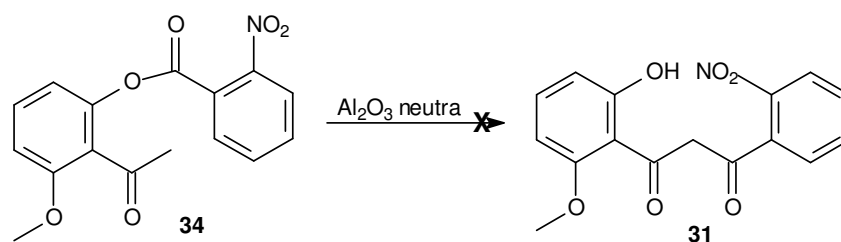
ESQUEMA 3.15 - Obtenção do éster **34**

O composto **34** foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foi observado um singleto em  $\delta$  2.90 referente aos três

hidrogênios  $\alpha$ -carbonila, assim como os demais hidrogênios do produto formado. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  foram observados os dois sinais da ligação  $\text{C}=\text{O}$  do éster e da cetona em  $\delta$  163.9 e 200.2, respectivamente.

VARMA et al. (1998) realizaram essa reação utilizando clorobenzeno como solvente, mas como este não era disponível em nosso laboratório, a reação foi realizada com bromobenzeno, pois esse solvente apresenta características físicas semelhantes ao clorobenzeno.

Tendo o éster **34** em mãos realizou-se a reação para a obtenção da dicetona **31** (ESQUEMA 3.16) que após ciclização levaria a formação da flavona. A reação para a obtenção da dicetona **31** foi realizada utilizando-se como suporte sólido  $\text{Al}_2\text{O}_3$  neutra (VARMA et al., 1998). A mistura foi mantida sob irradiação de micro-ondas durante 15 minutos e não foi observada a formação do produto desejado, recuperando-se o material de partida.



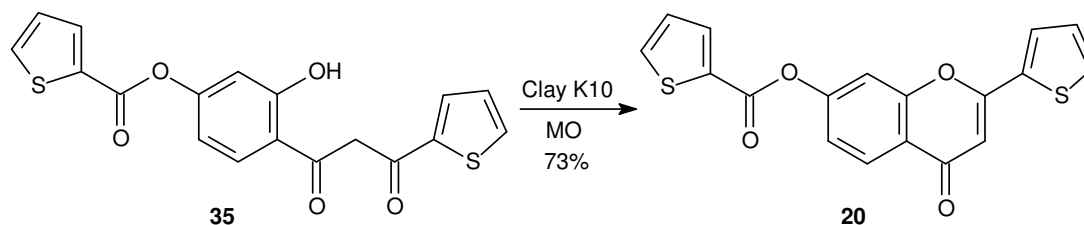
ESQUEMA 3.16 - Tentativa de preparação da dicetona **31**

Como nesses testes iniciais não foram obtidos bons resultados para a obtenção da dicetona **31** decidiu-se realizar a síntese da flavona **20** a partir da dicetona **35**, previamente preparada, para se verificar a eficiência da reação de ciclização.

### 3.2.1 - Obtenção da 4-oxo-2-(tienil)-7-(2-tienilcarboxiloxi)-4*H*-cromemo (**20**)

A dicetona **35** foi submetida à reação de ciclização sob irradiação de micro-ondas utilizando Clay 10 como suporte sólido e a mistura foi irradiada por 5 minutos. Ao término da reação o produto foi analisado e foi observada a formação do composto **20** (ESQUEMA 3.17).



ESQUEMA 3.17 - Obtenção da flavona **20**

A flavona **20** foi obtida com 73% de rendimento e caracterizada por RMN  $^1\text{H}$  e EM. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foi observado um singleto em  $\delta$  6.65 referente ao hidrogênio ligado ao carbono 3 da flavona, bem como os outros hidrogênios da molécula. No EM foi observado o pico do íon molecular  $m/z = 354$ .

O método para a preparação das flavonas utilizando-se irradiação de micro-ondas foi eficiente para a etapa de ciclização da dicetona (ESQUEMA 3.17), mas não foi eficiente para a preparação das dicetonas (ESQUEMA 3.15 e 3.16). Para se utilizar essa metodologia seria necessária a realização de vários testes para se otimizar as condições reacionais, então optamos por não utilizar a síntese com micro-ondas na preparação das flavonas.

Dentre as metodologias testadas para a preparação das flavonas, a metodologia que apresentou os melhores resultados foi a que se baseia na condensação aldólica de 2-hidroxiacetofenonas com benzaldeídos, levando a formação das chalconas, seguido de uma ciclização oxidativa (KUMAZAWA et al., 2000; DE LA TORRE et al., 2002; DAO et al., 2004). Essa metodologia apresentou melhores rendimentos, menor tempo reacional e não foi necessário fazer adaptações na metodologia.

Outra metodologia descrita na literatura para a preparação de chalconas é a condensação aldólica na condição de Claisen-Schmidt (BOIS et al., 1999). Visando-se testar essa metodologia foram preparadas diversas chalconas e flavonas.

### 3.3 - Obtenção de flavonas via condensação de Claisen-Schmidt

Para a preparação das chalconas e flavonas foram selecionados como blocos construtores acetofenonas e benzaldeídos substituídos com grupos doadores

e retiradores de elétrons, com hidroxila livre e protegida com o grupo TBS (FIGURA 3.2) para se avaliar a eficiência do método.

As reações de condensação aldólica entre as acetofenonas **37**{X} com os benzaldeídos **38**{X} (FIGURA 3.2) utilizando-se uma solução aquosa de KOH 50% como base em metanol foram realizadas a 70°C por 4 horas (ESQUEMA 3.18) (BOIS et al., 1999).

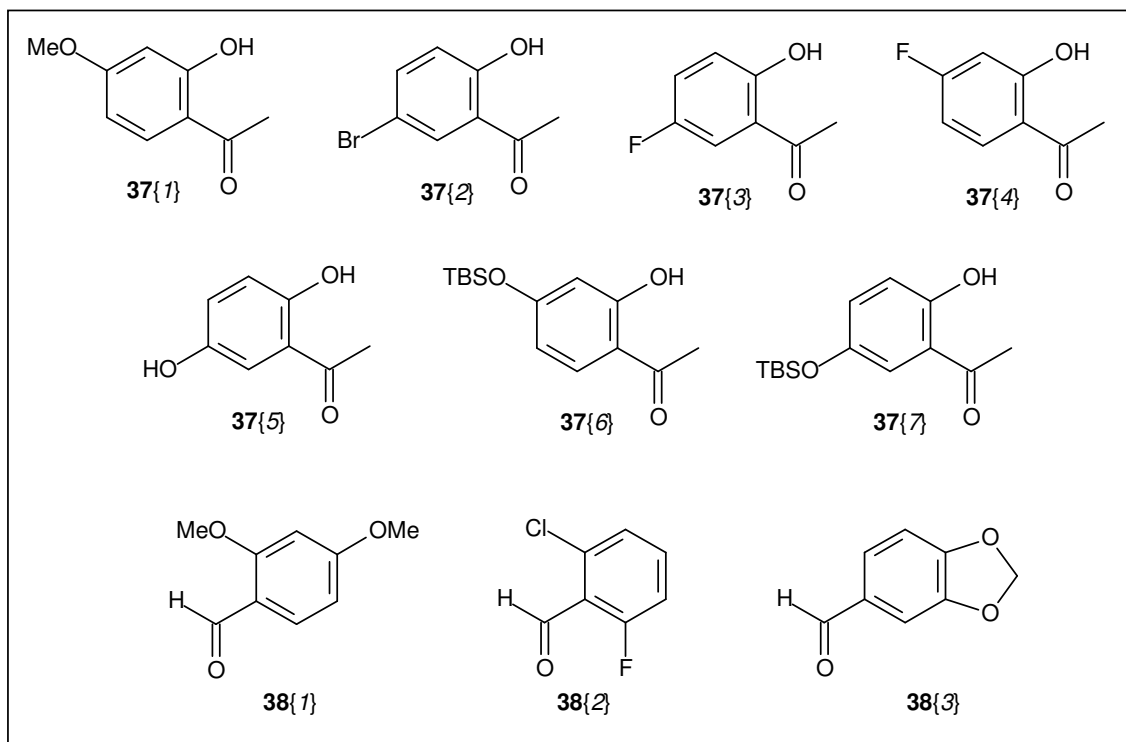
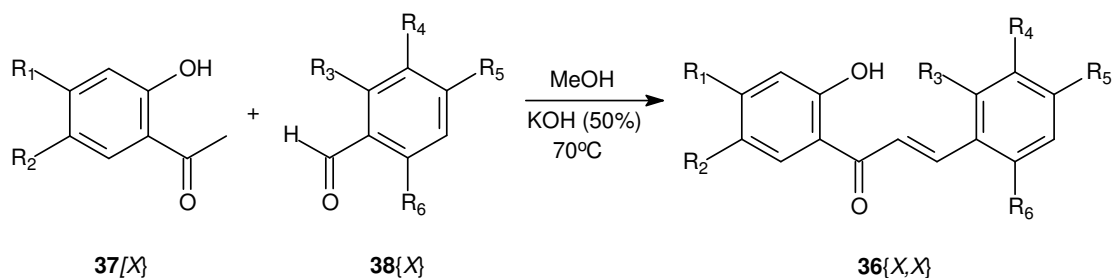
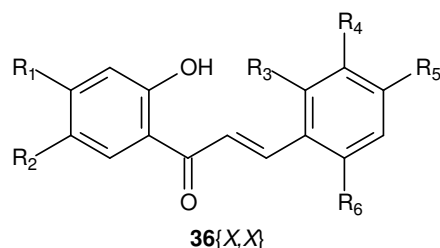


FIGURA 3.2 – Blocos construtores utilizados na condensação de Claisen-Schmidt



ESQUEMA 3.18 - Obtenção das chalconas **36**{X,X}

Após 4 horas de reação os produtos foram extraídos, purificados e analisados por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV e EM. Na TABELA 3.1 são apresentados os resultados obtidos em cada reação.

TABELA 3.1 - Resultados obtidos na preparação das chalconas **36**{X,X}

Chalconas	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Rendimento (%)
<b>36</b> {1,1}	MeO	H	MeO	H	MeO	H	32
<b>36</b> {2,1}	H	Br	MeO	H	MeO	H	70
<b>36</b> {3,1}	H	F	MeO	H	MeO	H	60
<b>36</b> {4,2}	F	H	Cl	H	H	F	14
<b>36</b> {5,1}	H	OH	MeO	H	MeO	H	PNO*
<b>36</b> {6,3}	TBSO	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O	H	H	PNO
<b>36</b> {7,3}	H	TBSO	H	O-CH <sub>2</sub> -O	H	H	PNO

\* PNO: produto não obtido

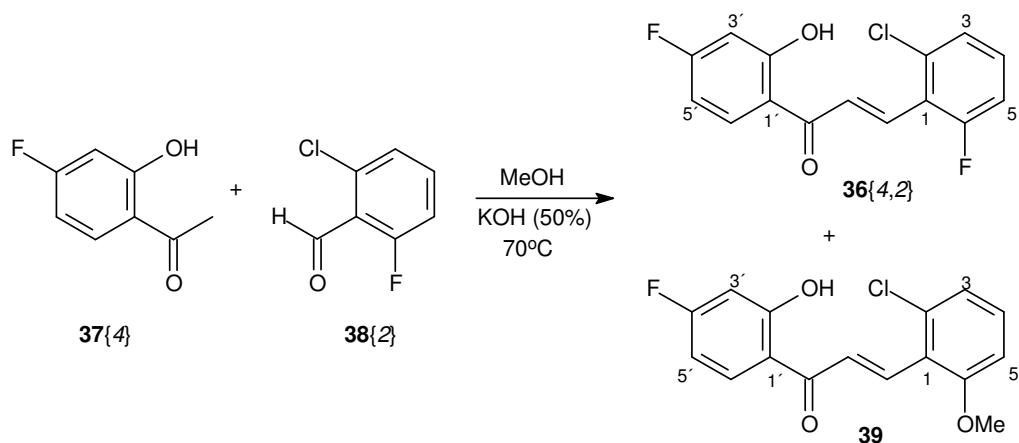
As chalconas **36**{1,1}, {2,1} e {3,1} foram obtidas e devidamente caracterizadas por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV e EM.

No espectro de RMN <sup>1</sup>H da chalcona **36**{1,1} foram observados dois dubletos em  $\delta$  7.60 e 8.12 (J = 15.5 Hz) referentes aos dois hidrogênios da dupla ligação da chalcona formada e no EM observou-se o pico  $m/z$  = 314 referente ao íon molecular.

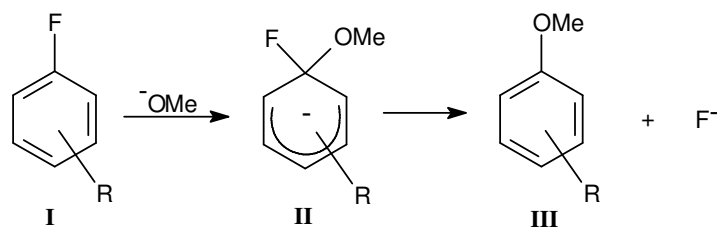
No espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **36**{2,1} foram observados dois dubletos em  $\delta$  7.57 e 7.61 (J = 15.4 Hz) referentes aos dois hidrogênios da dupla ligação da chalcona formada, bem como os outros sinais referentes aos demais hidrogênios da molécula. No EM observou-se o pico  $m/z$  = 364 e 362 na razão de 1:1, referentes aos íons M<sup>+</sup>+1 e M<sup>+</sup>-1 devido à razão isotópica do bromo.

No espectro de RMN <sup>1</sup>H da chalcona **36**{3,1} foram observados um dubleto em  $\delta$  8.18 (J = 15.6 Hz) e um multiplete entre  $\delta$  7.52 e 7.67 referentes aos dois hidrogênios da dupla ligação da chalcona formada. No EM foi observado a presença do pico  $m/z$  = 302 referente ao íon molecular.

Na reação de condensação entre a acetofenona **37**{4} com o benzaldeído **38**{2}, obteve-se o composto **36**{4,2} com 14% de rendimento, mas também foi observada a formação da chalcona **39** como produto majoritário, 50% de rendimento (ESQUEMA 3.19). Este composto foi formado a partir da reação de substituição do flúor, na posição *orto* em relação ao aldeído, pela metoxila.

ESQUEMA 3.19 - Obtenção das chalconas **36**{4,2} e **39**

Sabe-se que a velocidade relativa nas reações de substituição nucleofílica aromática é muito maior para o flúor do que para o cloro, pois nessas reações a força da ligação carbono-halogênio não é o fator determinante da velocidade de reação. Como o flúor é mais eletronegativo isso provoca a formação de um dipolo maior que estabiliza melhor o intermediário no estado de transição, favorecendo assim o ataque do íon metóxido no carbono ligado ao flúor. A substituição do flúor da acetofenona **37**{4} não foi favorecida, pois a hidroxila é um grupo doador de elétrons que provoca uma desestabilização do intermediário **II** (ESQUEMA 3.20), enquanto que no benzaldeído **38**{2} o cloro que é um átomo eletronegativo, retirador de elétrons, que favorece a formação desse intermediário.



ESQUEMA 3.20 – Mecanismo da reação de substituição nucleofílica aromática

As chalconas **36**{4,2} e **39** foram caracterizadas por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM. Nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  das duas flavonas foram observados os sinais referentes aos hidrogênios das duplas ligações formadas e também os dubletos em  $\delta$  13.08 e 13.24, respectivamente, referentes ao acoplamento dos hidrogênios das hidroxilas com o flúor na posição 4'. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **39**

também foi observado um singleto em  $\delta$  3.98 referente aos três hidrogênios da metoxila.

Analisando-se o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **36**{4,2} foram observados doze dubletos referentes ao acoplamento dos dois átomos de flúor (4' e 6) com os carbonos *orto*, *meta* e *para* de cada anel aromático e também dois dubletos do acoplamento do flúor 6 com os carbonos da dupla ligação formada. Já para o composto **39** só foram observados seis dubletos referentes ao acoplamento do flúor na posição 4' com os seis átomos de carbono deste anel aromático e também foi observado um sinal em 56.0 ppm referente ao carbono da metoxila.

No espectro de massas do composto **36**{4,2} foram observados os picos  $m/z = 296$  ( $\text{M}^+ + 2$ ) e  $294$  ( $\text{M}^+$ ), e para o composto **39** foram observados os picos  $m/z = 308$  ( $\text{M}^+ + 2$ ) e  $306$  ( $\text{M}^+$ ) referentes aos seus respectivos íons moleculares.

Não foi possível isolar o produto de reação da hidroxiacetofenona **37**{5} com o aldeído **38**{1} devido a grande quantidade de impurezas formadas na reação.

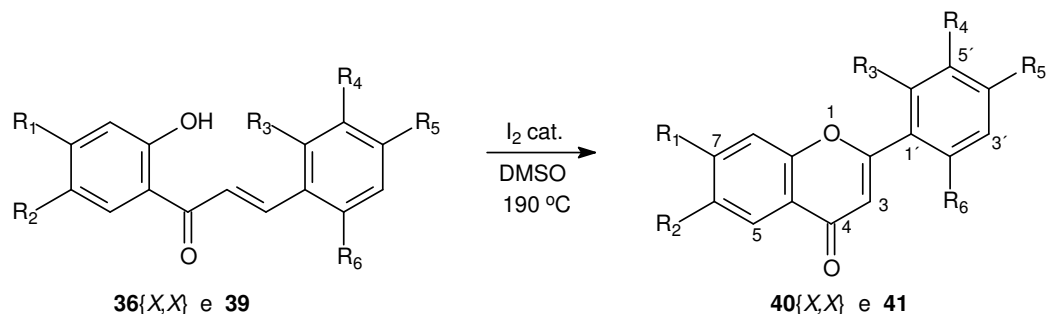
Através da análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do produto da reação entre acetofenona protegida com TBS **37**{6} e o benzaldeído **38**{3} foi constatado que a chalcona **36**{6,3} não havia sido formada e observou-se o produto da desproteção da acetofenona **37**{6} assim como a presença de outros subprodutos. Anteriormente já havia sido observada a desproteção do grupo protetor TBS na posição 4 da acetofenona (ESQUEMA 3.7), utilizando-se uma base mais forte (*t*-BuOK).

O produto da reação da acetofenona protegida com TBS **37**{7} e o benzaldeído **38**{3} foi analisado por RMN  $^1\text{H}$  e foi observado que a chalcona **36**{7,3} não foi formada e que novamente ocorreu a desproteção do grupo TBS, levando a formação de uma mistura complexa de subprodutos.

Éteres alquílicos ou arílicos do trimetilsilano podem ser clivados quando mantidos em refluxo utilizando como solvente uma solução de metanol aquoso. No entanto, éteres arílicos do *t*-butildimetilsilano e outros grupos mais volumosos são estáveis sob as mesmas condições reacionais. Para a clivagem desses grupos é necessária catálise ácida ou o emprego de fluoretos (GREENE e WUTS, 1999).

A desproteção do TBS nas condições reacionais utilizadas não era esperada, pois teoricamente esse grupo protetor só seria clivado em condições mais drásticas.

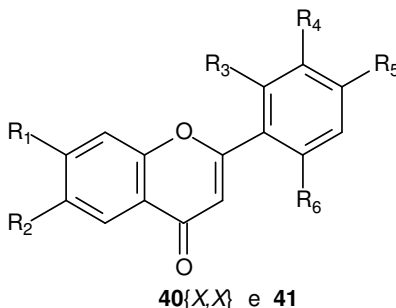
A reação de ciclização oxidativa das chalconas **36**{X,X} e **39** foi realizada em DMSO a 190°C na presença de iodo em quantidade catalítica (ESQUEMA 3.21) (KUMAZAWA et al., 2000).



ESQUEMA 3.21 - Obtenção das flavonas **40**{X,X} e **41**

Após 20 minutos de reação os produtos foram extraídos, purificados e analisados por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM. Na TABELA 3.2 são apresentados os resultados obtidos em cada reação.

TABELA 3.2 - Resultados obtidos na preparação das flavonas **40**{X,X} e **41**



Flavonas	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Rendimento (%)
<b>40</b> {1,1}	MeO	H	MeO	H	MeO	H	80
<b>40</b> {2,1}	H	Br	MeO	H	MeO	H	75
<b>40</b> {3,1}	H	F	MeO	H	MeO	H	70
<b>40</b> {4,2}	F	H	Cl	H	H	F	50
<b>41</b>	F	H	Cl	H	H	MeO	62

Nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  das flavonas **40**{X,X} e **41** não foram observados os singletos na região entre  $\delta$  13.0 e 14.0 referentes aos hidrogênios da hidroxila da chalcona de partida e foram observados os singletos na região de  $\delta$  7.0 referentes aos hidrogênios ligados ao carbono 3 das flavonas formadas.

A condensação de Claisen-Shimidt apresentou bons resultados na preparação das chalconas quando foram utilizados grupos substituintes doadores ou retiradores de elétrons nas 2-hidroxiacetofenonas e também nos aldeídos. Essa metodologia não foi eficiente para a preparação de chalconas a partir de diidroxiacetofenonas e também quando foi utilizado diidroxiacetofenonas monoprotetidas com TBS, pois nas condições reacionais ocorreu a desproteção da hidroxila.

Dentre as metodologias testadas para a obtenção de flavonas, a rota sintética que tem como intermediário as chalconas foi a que apresentou os melhores resultados de modo geral e acreditamos que essa metodologia seja a mais eficiente para a síntese da coleção combinatória de flavonas em fase sólida. Outro atrativo dessa metodologia é que na mesma rota sintética são preparados duas classes de flavonóides com diversas atividades biológicas (LIN et al., 2002; CUSHNIE e LAMB, 2005; APONTE et al., 2008).

### 3.4 - Química combinatória

A Química Combinatória é a preparação conjunta de coleções com grande número de compostos estruturalmente relacionados, com sequências reacionais semelhantes e com diversidade estrutural gerada pela introdução de blocos de construção com diferentes grupos substituintes (*building blocks*). Esta área da Química promoveu uma grande transformação em relação aos métodos até então utilizados no planejamento de fármacos (DIAS e CORRÊA, 2001; TERRETT et al., 1995).

Ainda incipiente e restrita à preparação de coleções de peptídeos e nucleotídeos, a Química Combinatória apresentou um crescimento vertiginoso desde a preparação de uma coleção combinatória de benzodiazepinas em 1992, trabalho pioneiro realizado por Ellmann e col., que consistiu na primeira coleção combinatória de moléculas orgânicas de baixo peso molecular. A Química Combinatória extrapolou a esfera da Química Medicinal e vem sendo crescentemente utilizada nas áreas de agroquímicos, catálise homogênea e heterogênea, biocatálise, novos materiais, entre outros.

As coleções combinatórias, chamadas quimiotecas, podem ser divididas entre as preparadas em solução, como na síntese orgânica clássica e as preparadas em fase sólida, nesse caso os compostos preparados estão “ligados” a

uma matriz polimérica (resina) e posteriormente são clivados. Elas também podem classificadas quanto à estratégia utilizada como síntese em paralelo e síntese em mistura. (MARQUARDT e EIFLER-LIMA, 2001).

Na síntese em paralelo cada um dos compostos são preparados em frascos reacionais diferentes, enquanto que na síntese em mistura em um mesmo frasco reacional são preparados diversos compostos. Na FIGURA 3.3 é apresentado um esquema da síntese combinatória em paralelo em fase sólida e na FIGURA 3.4 um esquema da síntese combinatória em mistura em fase sólida.

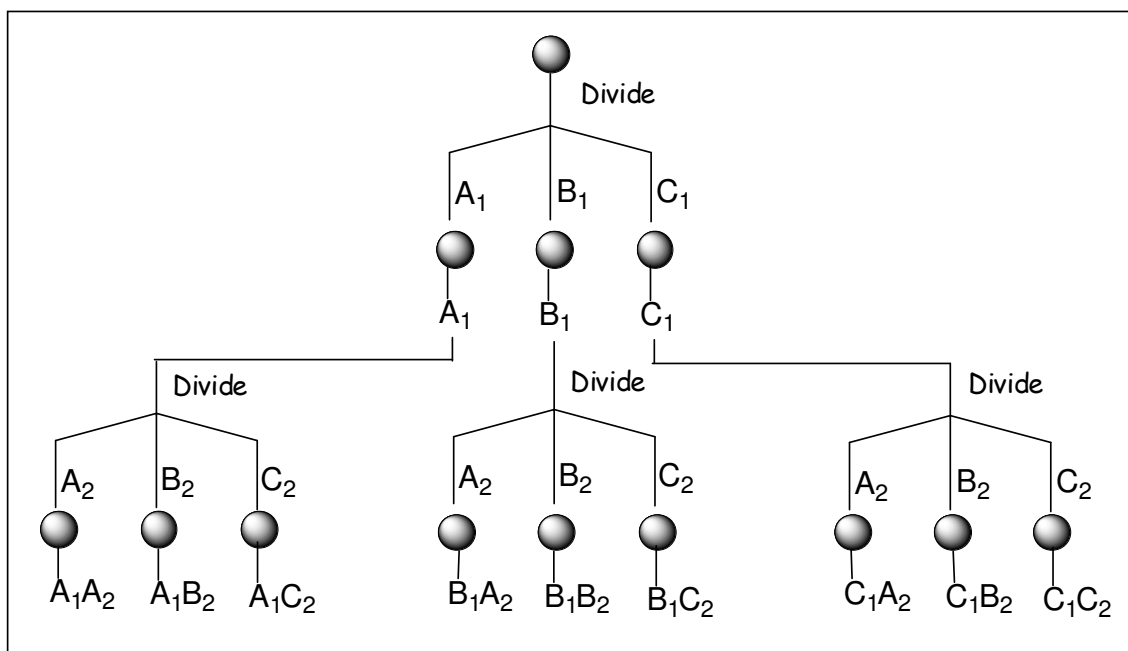


FIGURA 3.3 - Representação da síntese combinatória em fase sólida em paralelo

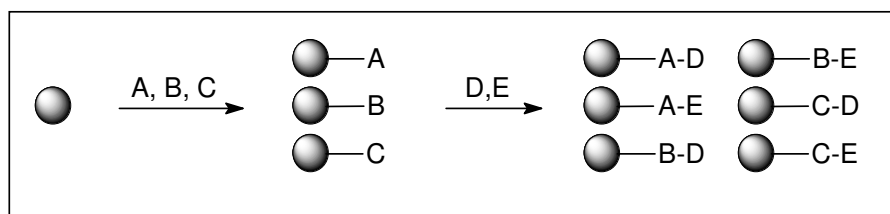


FIGURA 3.4 - Representação da síntese combinatória em fase sólida em mistura

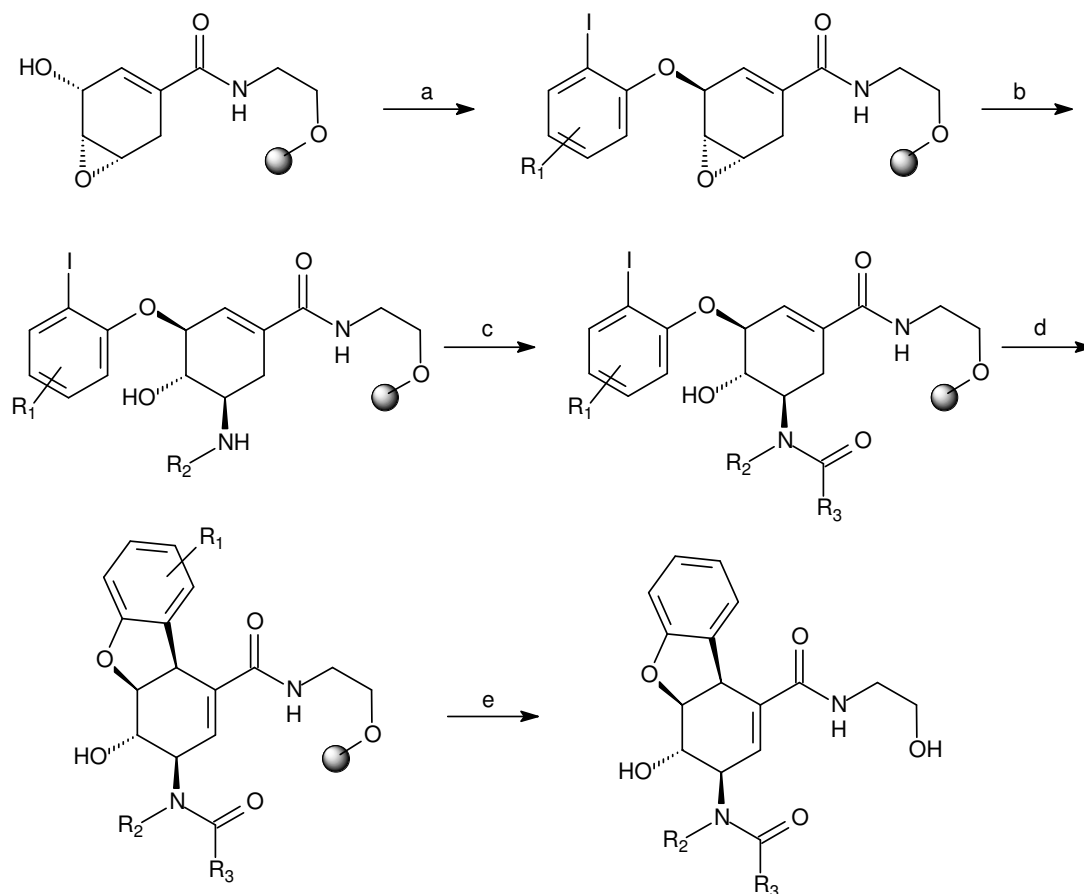
A síntese em fase sólida apresenta como grande vantagem a facilidade de purificação dos compostos obtidos. Após o término da reação a resina é filtrada, seguido de sucessivas lavagens com diferentes solventes, fornecendo os produtos de interesse com bom grau de pureza. Outra vantagem é a possibilidade da



introdução de diversidade química a partir do *linker* da resina. Como desvantagens na síntese em fase sólida podem-se destacar: 1) a necessidade de adaptação de metodologias conhecidas da síntese em solução para a síntese em fase sólida, devido ao sistema heterogêneo; 2) monitoramento da reação; 3) necessidade de se utilizar grandes excessos de reagentes a fim de se assegurar uma completa conversão do substrato, já que a difusão dos reagentes pela matriz polimérica é mais difícil e limita a reação (BALDINO, 2000).

A preparação de coleções combinatórias em solução tem como principal vantagem utilizar-se das mesmas condições reacionais empregadas na síntese orgânica clássica, facilidade para monitorar a reação e não é necessário o uso de grande excesso dos reagentes. As principais desvantagens são a dificuldade e o tempo necessário para a purificação dos produtos.

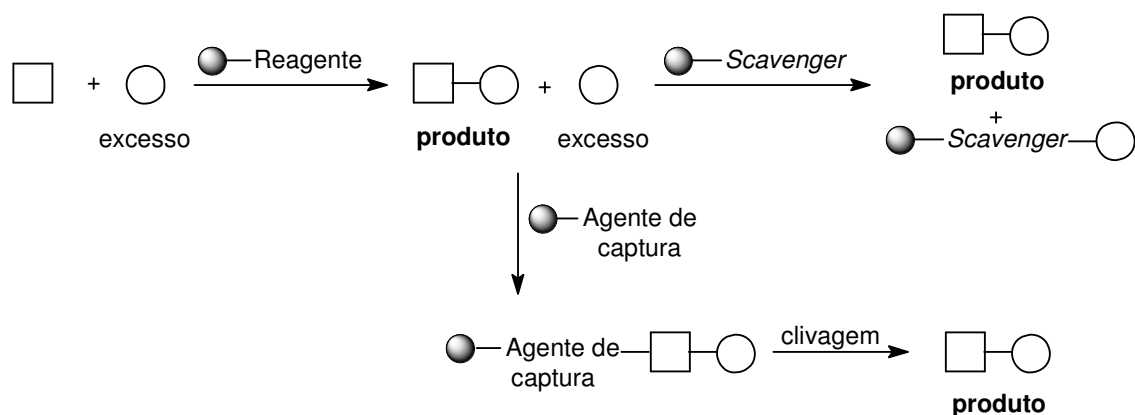
Para exemplificar a síntese combinatória em fase sólida em paralelo no ESQUEMA 3.22 é apresentada a rota de síntese utilizada por MIAO et al. (2007) para a preparação de uma coleção com mais de 5000 compostos.



(a) ArOH, PPh<sub>3</sub>, DEAD (10 equiv cada)/THF, -78 to -20 °C; (b) amina (20 equiv), MgBr<sub>2</sub>.OEt<sub>2</sub> (1.1 equiv), CH<sub>3</sub>CN, 60 °C; (c) ácido carboxílico, PyBrOP, DIPEA (10 equiv cada)/NMP; (d) Pd(OAc)<sub>2</sub>, dcpe, DIPEA, Bu<sub>4</sub>NOAc/dioxano, 45-50 °C; (e) HF.piridina/piridina/THF (5:10:85), depois TMSOEt.

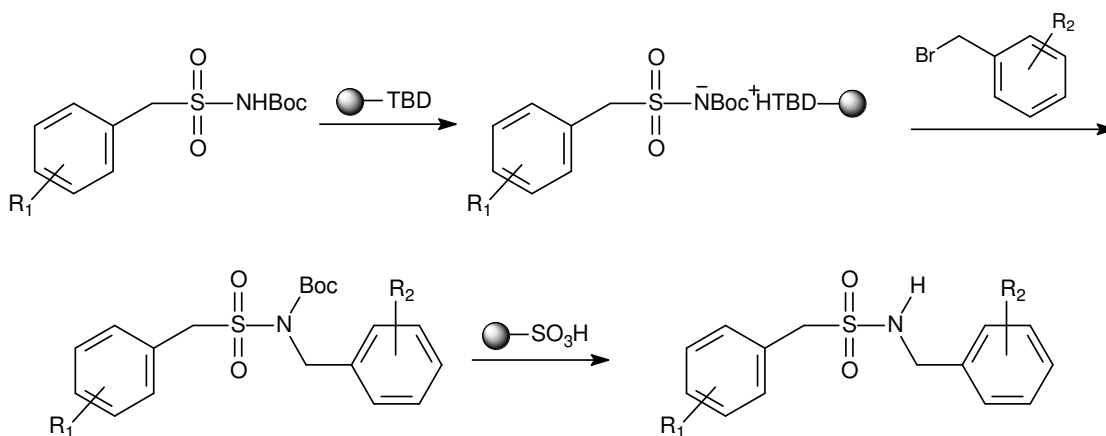
ESQUEMA 3.22 - Exemplo da síntese combinatória em fase sólida em paralelo

Empregando-se as vantagens da síntese clássica em solução com a facilidade de purificação encontrada na síntese em fase sólida, o uso de resinas de captura (*scavengers*), captura e solta (*catch and release*) e reagentes suportados tem aumentado no preparo de coleções combinatórias (ESQUEMA 3.23). As resinas *scavengers* são utilizadas para capturar do meio reacional o reagente que não foi totalmente consumido ou subprodutos, promovendo assim uma purificação da mistura reacional. As resinas *catch and release* são empregadas para capturar do meio reacional o produto de interesse (LEY e BAXENDALE, 2002).



ESQUEMA 3.23 – Exemplo hipotético do uso de reagente suportado, resina, *scavenger* e resina de captura e solta

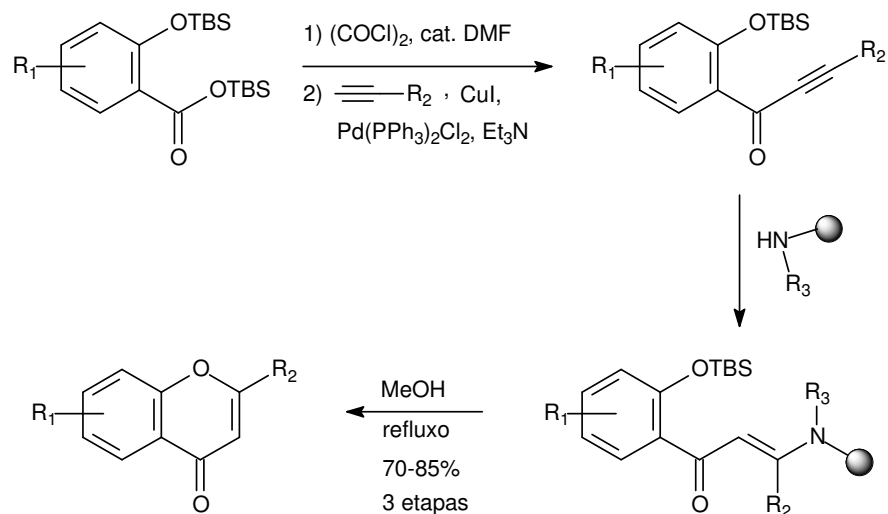
GRIFFITHS-JONES et al. (2007) realizaram a síntese de sulfonamidas secundárias empregando a estratégia de “*catch and release*” e um reagente suportado na resina (ESQUEMA 3.24). Após a otimização das condições reacionais os autores preparam uma coleção com 48 sulfonamidas utilizando um sistema de síntese automatizado em fluxo.



ESQUEMA 3.24 - Preparação de uma coleção de sulfonamidas

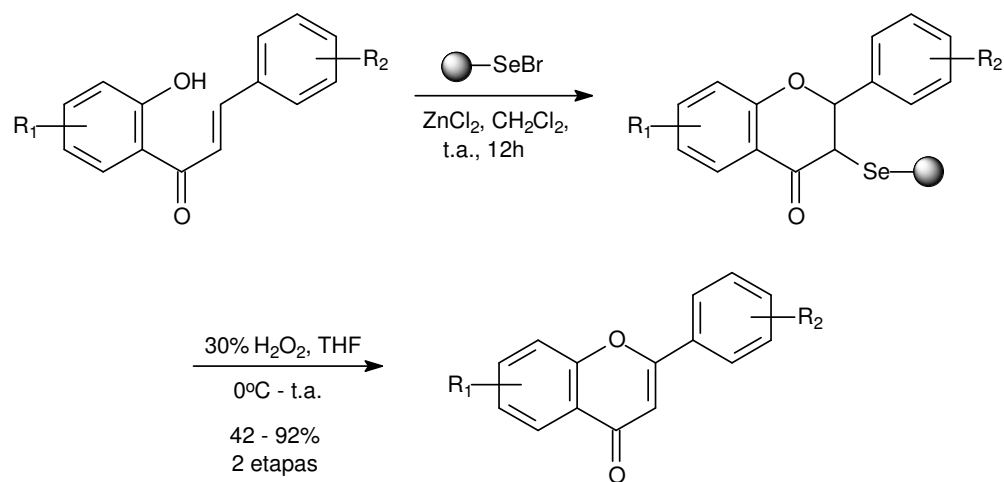
Na literatura encontram-se poucas coleções combinatórias de flavonas e chalconas e elas estão divididas em: 1) síntese de flavonas em solução (MARDER et al., 1998; BHAT et al., 2000; GALIETTA et al., 2001); 2) síntese de flavonas em fase sólida (HUANG et al., 2005; YAO et al., 2007); 3) síntese de chalconas em solução (POWERS et al., 1998) e 4) síntese de chalconas em fase sólida (NICOLAOU et al., 2000; CHENG et al., 2000).

Para a preparação da coleção de flavonas, BHAT et al. (2000) utilizaram uma resina para capturar o produto da solução. Na etapa de ciclização ocorre a clivagem do produto da resina liberando a flavona (ESQUEMA 3.25).



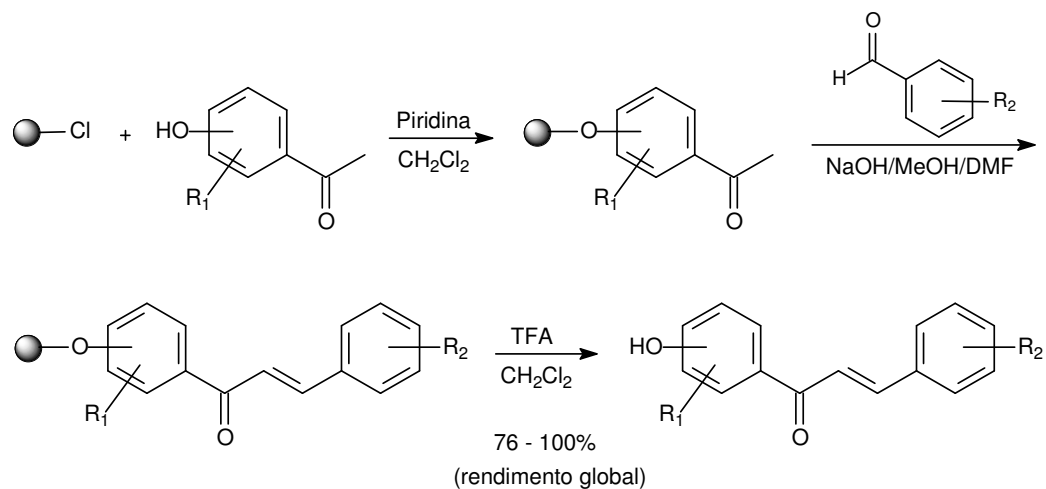
ESQUEMA 3.25 - Preparação da coleção flavonas descrita por BHAT et al. (2000)

HUANG et al. (2005) utilizaram o brometo de selênio imobilizado a um suporte polimérico para promover a reação de ciclização intramolecular das chalconas. Após clivagem oxidativa da resina de selênio as flavonas foram obtidas com bons rendimentos e alto grau de pureza (ESQUEMA 3.26).



ESQUEMA 3.26 - Síntese de flavonas utilizando um ácido de Lewis imobilizado em um suporte polimérico

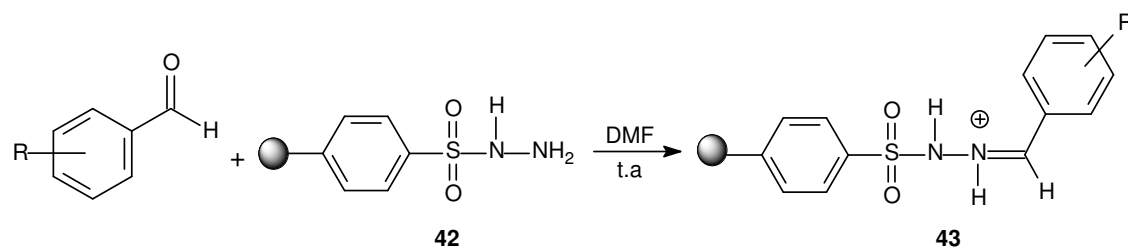
CHENG et al. (2000) prepararam uma coleção com 12 chalconas via síntese combinatória em fase sólida em paralelo. Inicialmente as hidroxiacetofenonas foram imobilizadas no suporte polimérico, em seguida foram submetidas à reação de condensação de Claisen-Schmidt e os produtos foram clivados da resina (ESQUEMA 3.27).



ESQUEMA 3.27 - Preparação da coleção flavonas descrita por CHENG et al. (2000)

### 3.4.1 - Obtenção de uma coleção combinatória de flavonas utilizando-se uma resina *scavenger*

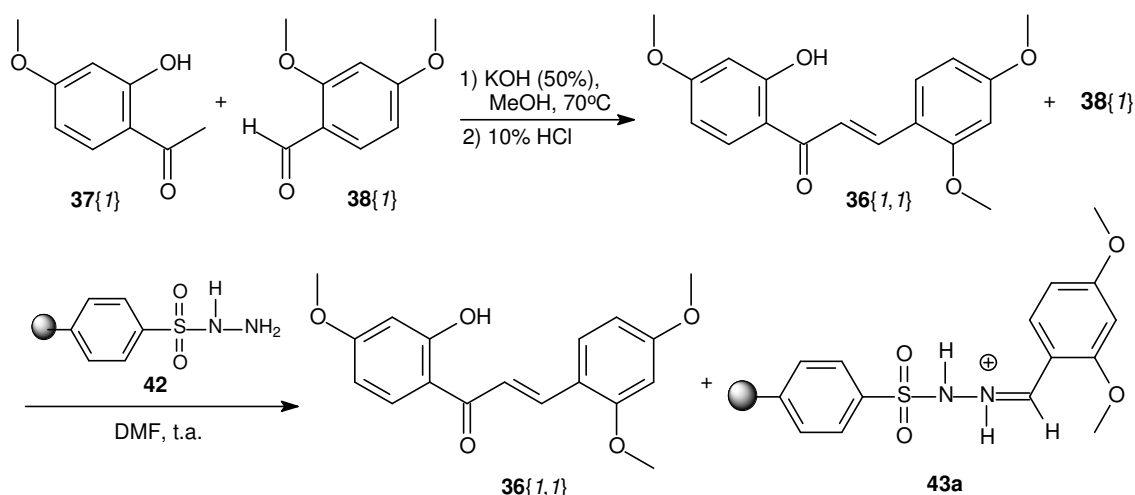
Visando-se a preparação de uma coleção combinatória de flavonas empregando-se o método de Claisen-Schmidt seguido de ciclização oxidativa, optou-se por realizar a síntese em solução e ao final da reação de condensação adicionar a resina tosil hidrazina (**42**) para capturar o excesso de aldeído levando a formação da hidrazona **43** (ESQUEMA 3.28) que é separada da mistura por filtração (HU et al., 1999; WELCH et al., 2003; MAKAM et al., 2004). A resina tosil hidrazina foi escolhida para capturar o excesso de benzaldeído devido à alta reatividade da hidrazina com o benzaldeído e pela grande seletividade ao benzaldeído comparado com a chalcona formada.

ESQUEMA 3.28 - Formação da hidrazona **43**

A tosil hidrazina está ligada a um suporte polimérico, composto por uma mistura de estireno e divinilbenzeno, na concentração de 2 mmol por grama de resina (POLYMER LABORATORIES). Antes de se preparar a coleção combinatória realizou-se alguns testes para se verificar a eficiência da resina e também para se otimizar as condições reacionais.

O primeiro teste com a resina *scavenger* foi realizado para a preparação da flavona **40**{1,1}, pois esta já havia sido preparada anteriormente. Sabendo-se que a reação de condensação aldólica é uma reação de equilíbrio, nos testes foram utilizados dois equivalentes do benzaldeído para aumentar a eficiência da reação, já que o excesso do aldeído será capturado pela resina no final da reação, não interferindo assim na etapa seguinte da síntese.

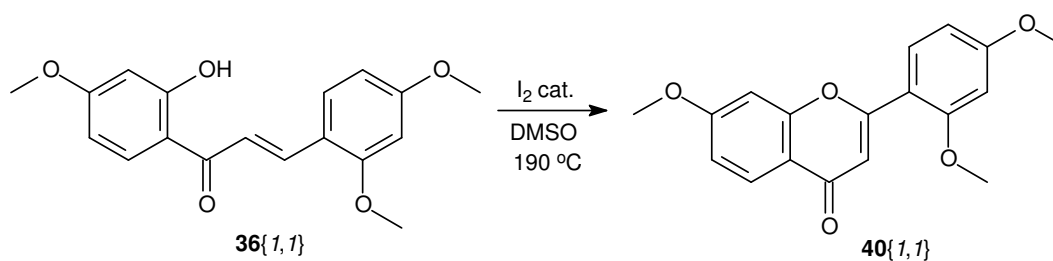
Ao final da reação de condensação entre a acetofenona **37**{1} e o benzaldeído **38**{1}, o meio reacional foi neutralizado com HCl (10%), o produto foi extraído com acetato de etila, e em seguida o solvente foi evaporado à pressão reduzida. O material obtido foi utilizado na reação com o *scavenger* para se eliminar o excesso do benzaldeído (ESQUEMA 3.29). Seguindo as recomendações do fabricante da resina, a reação para a captura do benzaldeído foi realizada em DMF à temperatura ambiente utilizando-se três mols da resina para cada um mol em excesso do benzaldeído.



ESQUEMA 3.29 - Preparação da chalcona **36{1,1}** utilizando-se a resina **42**

Após uma hora de reação realizou-se uma análise por CG da mistura e foi observada a presença do aldeído **38{1}** na concentração de 5% em relação à mistura. Realizou-se um novo cromatograma com tempo de reação de 1h e 40 minutos e não foi verificada a presença do pico referente ao aldeído **38{1}**.

A resina foi filtrada, lavada com diclorometano e em seguida com acetato de etila. Ao filtrado foi adicionada uma solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e os produtos foram extraídos com acetato de etila. Evaporou-se o solvente e o material bruto foi utilizado na etapa de ciclização oxidativa (ESQUEMA 3.30).

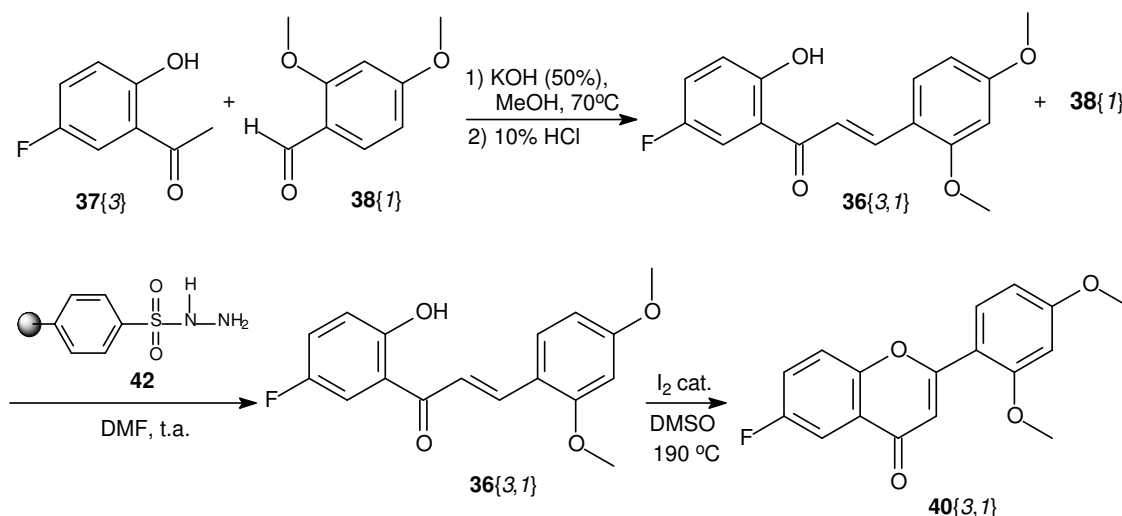


ESQUEMA 3.30 - Obtenção da flavona **40{1,1}**

Após extração e pré-purificação por filtração em sílica, a flavona **40{1,1}** foi obtida com bom grau de pureza e rendimento global de 35%. A caracterização dessa flavona foi realizada por comparação no tempo de retenção no CG com um padrão, previamente preparado e devidamente caracterizado.

A fim de se diminuir a quantidade utilizada da resina *scavenger* e testar novamente a metodologia, a flavona **40{3,1}** foi re-sintetizada de acordo com a

metodologia descrita acima. Nesse teste foram utilizados dois mols da resina para cada um mol em excesso do aldeído **38{1}** (ESQUEMA 3.31)



ESQUEMA 3.31 - Obtenção de **36{3,1}** utilizando-se uma quantidade menor da resina

A reação de captura do aldeído **38{1}** pela resina **42** foi acompanhada por CG. A primeira análise foi realizada com 1 hora de reação e foi observada a presença do aldeído na concentração de 15%. Um segundo cromatograma foi realizado com 1h e 40 minutos de reação e foi possível observar que todo o benzaldeído **38{1}** tinha sido capturado pelo *scavenger*.

Após a etapa de ciclização o produto obtido foi pré-purificado em uma filtração em sílica, obtendo-se a flavona **40{3,1}** com alto grau de pureza e rendimento global de 40%.

No segundo teste notou-se que mesmo com a redução na quantidade de resina utilizada, após 1 hora e 40 minutos de reação todo o benzaldeído **38{1}** já tinha sido consumido. Sabendo-se do alto custo dessas resinas e como o tempo necessário para o término da reação foi curto, para a preparação da coleção combinatória optou-se por utilizar apenas dois equivalentes da resina em relação ao excesso do aldeído.

Nessa metodologia testada a extração dos produtos foi uma etapa trabalhosa e que demandou um tempo relativamente grande, esse fato tem que ser levado em consideração principalmente quando se tem como objetivo a preparação de uma coleção com diversos compostos.



Com isso, decidiu-se repetir a síntese da flavona **40**{1,1}, mas ao invés de se realizar o procedimento de extração líquido-líquido em todas as etapas, realizou-se a extração apenas na etapa de ciclização oxidativa, devido ao alto ponto de ebulição do DMSO. Na primeira etapa após neutralização do meio reacional optou-se por concentrar todo o material obtido no *speed-vacuum*, seguido de filtração e lavagem dos sais formados com solvente e novamente evaporação do solvente. Na reação empregando a resina após a etapa de filtração, o filtrado foi concentrado e o material bruto obtido foi utilizado na etapa de ciclização. Após pré-purificação em sílica, a flavona **40**{1,1} foi obtida com bom grau de pureza e rendimento global de 25%.

Apesar da segunda metodologia ter apresentado um rendimento menor que a realizada anteriormente, decidiu-se preparar a coleção combinatória das flavonas seguindo esta metodologia sem as extrações, pois nesse caso o tempo total gasto para o preparo dos compostos seria bem menor.

Após definirmos a metodologia que melhor se adequaria às nossas expectativas foram selecionados os blocos construtores para a preparação da coleção combinatória visando-se obter uma boa diversidade de compostos (FIGURA 3.5).

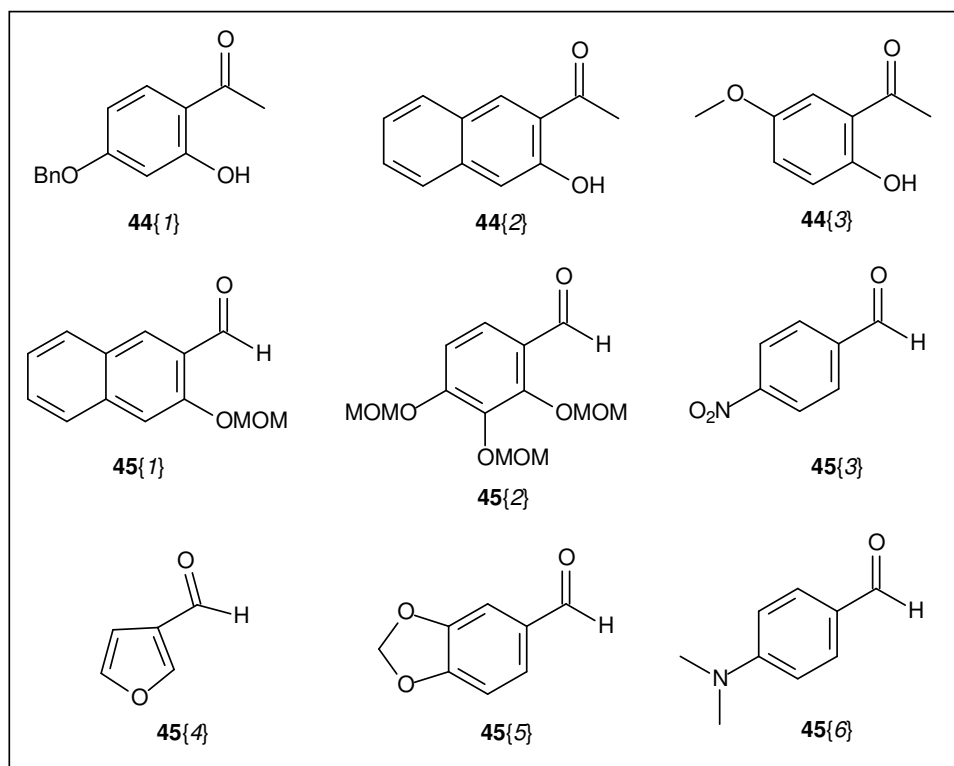


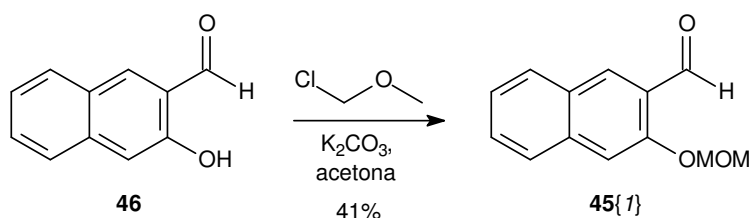
FIGURA 3.5 - Blocos construtores utilizados na preparação da coleção combinatória

Os compostos **44{2}**, **45{1}** e **45{2}** foram preparados de acordo com metodologias descritas na literatura (SHING et al., 2004; ISHIHARA et al.; 2004, ORI et al., 2005).

### 3.4.1.1 - Obtenção dos blocos construtores da coleção combinatória

#### 3.4.1.1.1 - Obtenção do 3-(metoximetil)-2-naftaldeído (**45{1}**)

A reação de proteção do 2-hidroxinaftaldeído (**46**) com o cloreto de metoximetil éter foi realizada em acetona anidra utilizando-se  $K_2CO_3$  como base (ESQUEMA 3.32).

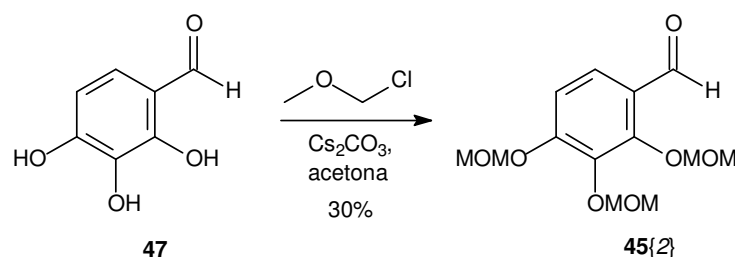


ESQUEMA 3.32 - Obtenção do composto **45{1}**

Obteve-se o composto **45{1}** com 41% de rendimento e este foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foram observados dois singletos em  $\delta$  3.52 e 5.34 referentes à metila e ao metileno do grupo protetor e no espectro de IV não foi observada a banda na região de  $3500\text{ cm}^{-1}$  referente à hidroxila.

#### 3.4.1.1.2 - Obtenção do 2,3,4-tris(metoximetil)benzaldeído (**45{2}**)

Para a proteção do benzaldeído **47** foi utilizado o  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  como base, por ser mais forte e mais solúvel que o  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , e utilizou-se o cloreto de metoximetil éter como agente alquilante (ESQUEMA 3.33).



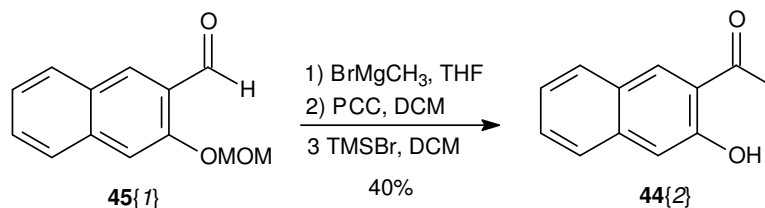
ESQUEMA 3.33 - Obtenção do composto **45{2}**

Após 16 horas de reação o benzaldeído **45{2}** foi obtido com rendimento de 30%, também foi obtido o produto di-protetido nas posições 3 e 4 com rendimento de 48%. O composto **45{2}** foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e EM. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foram observados seis singletos em  $\delta$  3.51, 3.58, 3.62, 5.16, 5.27, 5.28 referentes as três metilas e aos três metilenos dos três éteres formados na reação de proteção. No espectro de IV não foi observada a banda na região de  $3500\text{ cm}^{-1}$  referente às hidroxilas.

#### 3.4.1.1.3 - Obtenção da 1-(3-hidroxi-2-naftil)etanona (**44{2}**)

O composto **44{2}** foi preparado a partir do aldeído **45{1}** em três etapas (ESQUEMA 3.34). Inicialmente realizou-se uma reação de adição à carbonila com o brometo de metil magnesium em THF tratado a  $0^\circ\text{C}$ . Em seguida o álcool obtido foi oxidado com PCC (SHING et al., 2004) em diclorometano tratado na

presença de peneira molecular, levando à formação da cetona. Após desproteção do grupo MOM com TMSBr em diclorometano (ISHIHARA et al., 2004), obteve-se o composto **44**{2} com 40% de rendimento global.



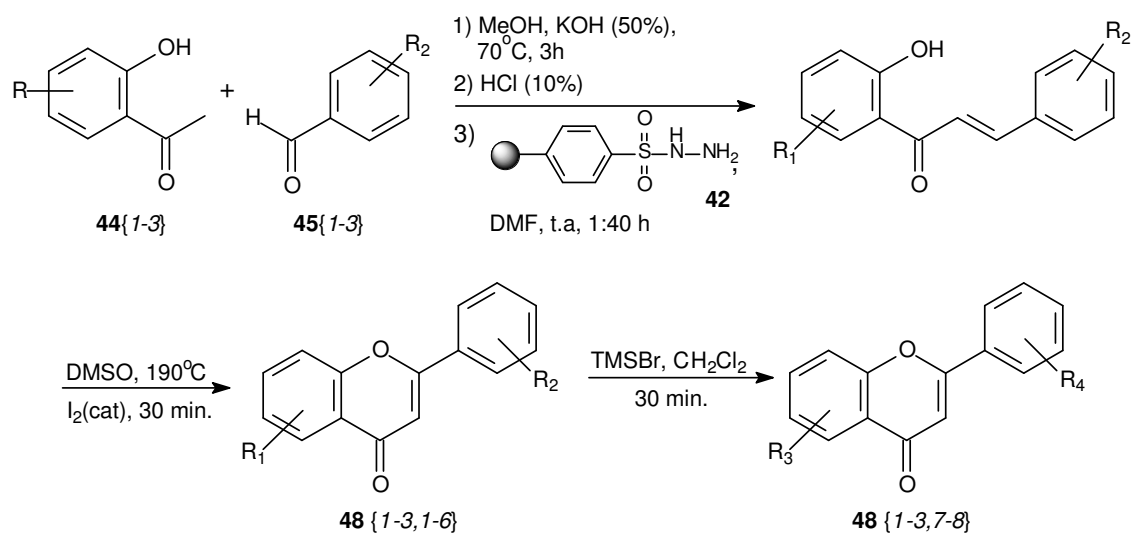
ESQUEMA 3.34 - Obtenção do composto **44**{2}

O produto obtido foi caracterizado por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV e EM. No espectro de RMN <sup>1</sup>H foram observados dois singletos em δ 2.86 e 13.45 referentes aos três hidrogênios α-carbonila e ao hidrogênio da hidroxila, respectivamente. No espectro de RMN <sup>13</sup>C foi observado um sinal em δ 204.5 referente ao carbono carbonílico.

### 3.4.1.2 - Preparação da coleção combinatória das flavonas

As reações de Claisen-Schmidt entre as acetofenonas **44**{1-3} e os benzaldeídos **45**{1-6} foram realizadas em metanol a 70°C em 3 horas. Os materiais brutos isolados foram submetidos à reação com a resina **42** em DMF a temperatura ambiente por 1 hora e 40 minutos. Em seguida foram realizadas as reações de ciclização em DMSO a 190°C (ESQUEMA 3.35).

As flavonas **48**{1-3,1-2} foram submetidas à reação de desproteção com TMSBr para a formação dos compostos **48**{1-3,7-8} (ESQUEMA 3.35).

ESQUEMA 3.35 - Obtenção das flavonas **48**{1-3,1-8}

As 24 amostras foram submetidas a uma pré-purificação por filtração em sílica e as frações obtidas foram analisadas por espectrometria de massas no modo “eletron spray” positivo para se verificar formação das flavonas. Os dados obtidos estão apresentados na TABELA 3.3.

Através da análise dos espectros de massas foi observado que houve a formação de 13 flavonas, sendo que 6 delas foram obtidas com bom grau de pureza (FIGURA 3.6) e 7 foram obtidas impuras (FIGURA 3.7). A classificação dos compostos como puro ou impuro foi dada apenas pela análise dos picos observados nos espectros de massas dos compostos obtidos, a coleção não foi submetida às análises quantitativas.

TABELA 3.3 – Resultado da análise por espectrometria de massas dos 24 produtos obtidos na coleção combinatória

Flavonas 48{X,X}	Massa molecular	Íons ( <i>m/z</i> )	Rendimento (%)
1,1	438.5	409 (M+H-30) <sup>+</sup> , 321, 267, 227	33
1,2	508.5	373, 267, 253, 227	8
1,3	373.4	374 (M+H) <sup>+</sup> , 329, 227	8
1,4	318.3	MC <sup>a</sup>	MC <sup>a</sup>
1,5	372.4	373 (M+H) <sup>+</sup> , 267, 227	39
1,6	371.4	372 (M+H) <sup>+</sup> , 358, 227	24
1,7	394.4	MP <sup>b</sup>	MP <sup>b</sup>
1,8	376.4	MC	MC
2,1	382.4	353 (M+H-30) <sup>+</sup> , 281, 211	57
2,2	345.4	MC	MC
2,3	317.3	MC	MC
2,4	262.3	263 (M+H) <sup>+</sup> , 259, 227, 211	15
2,5	316.3	317 (M+H) <sup>+</sup> , 303, 227	53
2,6	315.4	316 (M+H) <sup>+</sup> , 302	60
2,7	338.4	MP	MP
2,8	320.3	MC	MC
3,1	362.4	333 (M+H-30) <sup>+</sup> , 221	56
3,2	432.4	433 (M+H) <sup>+</sup> , 279, 221	9
3,3	297.3	MC	MC
3,4	242.2	MC	MC
3,5	296.3	297 (M+H) <sup>+</sup> , 259, 235, 221	34
3,6	295.4	296 (M+H) <sup>+</sup> , 267, 235, 221	20
3,7	318.3	MP	MP
3,8	300.3	MC	MC

<sup>a</sup> MC: mistura complexa,

<sup>b</sup> MP: material de partida foi recuperado

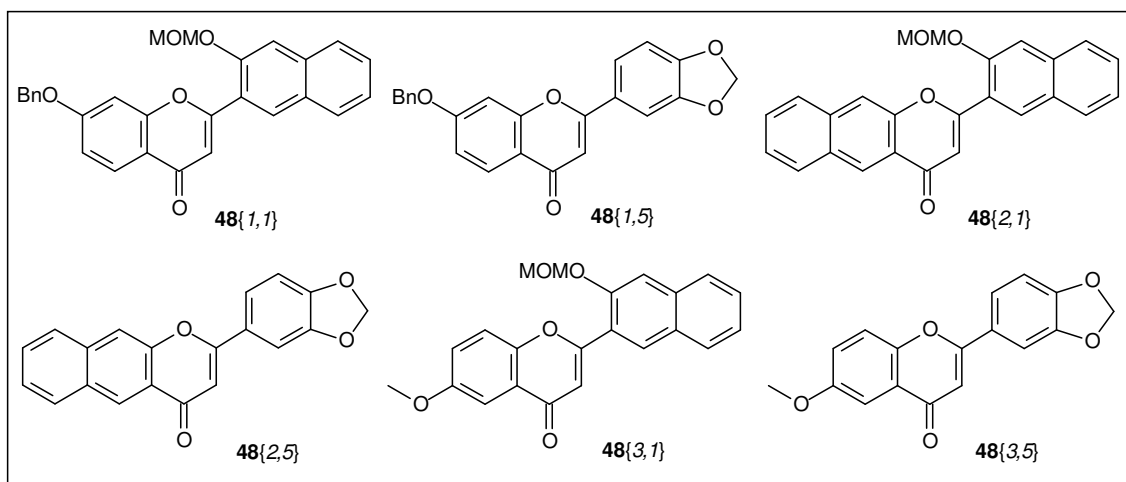


FIGURA 3.6 - Flavonas obtidas com bom grau de pureza

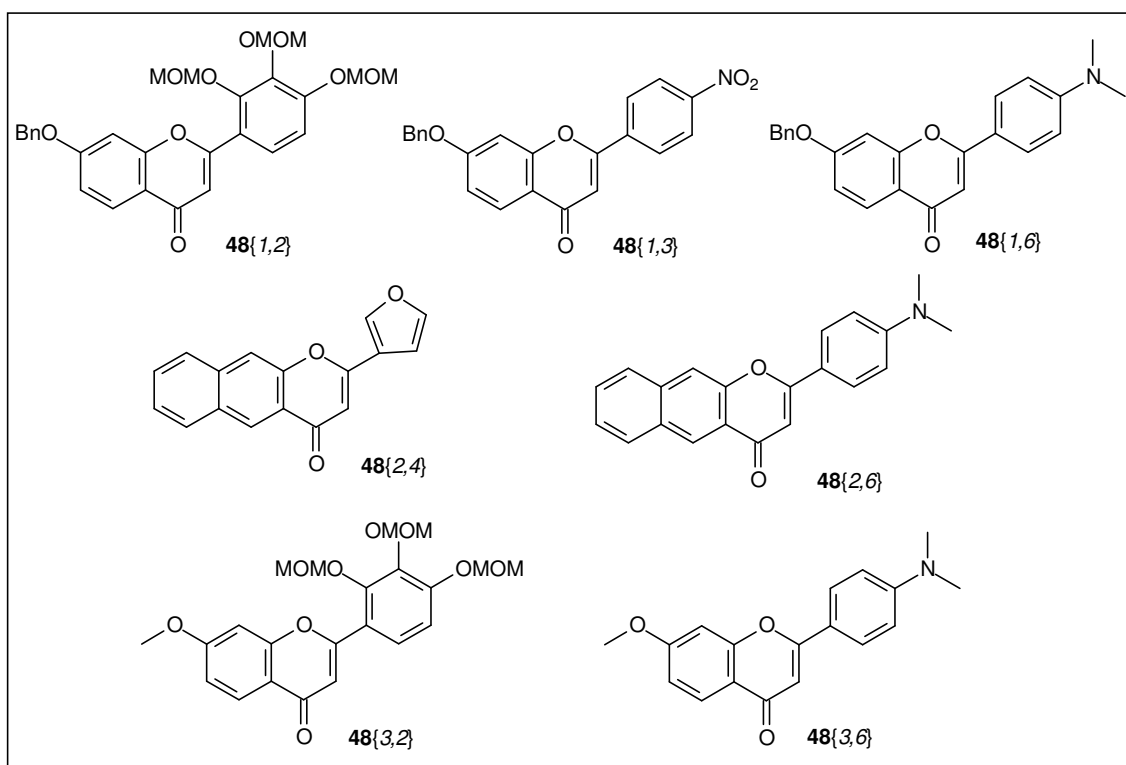


FIGURA 3.7 - Flavonas obtidas impuras

De um modo geral, a coleção combinatória apresentou resultados moderados, 55% das flavonas da coleção foram obtidas com rendimento entre 5 e 60%. Se for levado em consideração que nenhuma das flavonas com hidroxila livre 48{1-3,7-8} foi obtida a partir da reação de desproteção, a eficiência da metodologia empregada para a preparação da coleção aumenta para 72%, um resultado muito

bom, pois esta foi a primeira coleção combinatória de flavonas preparada utilizando-se uma resina *scavenger*.

Antes de se preparar a coleção combinatória foram realizados alguns testes e adaptações na metodologia utilizada para a preparação das flavonas a fim de torná-la mais eficaz, rápida e reprodutiva. Contudo, durante a preparação da coleção e depois analisando os resultados obtidos percebemos que outras melhorias poderiam ser feitas para se aumentar o rendimento da síntese, melhorar a qualidade dos produtos obtidos e também diminuir as etapas do processo para torná-lo mais rápido e reprodutivo.

As principais mudanças seriam: um monitoramento da reação de Claisen-Schmidt para todos os compostos; na etapa de ciclização deveríamos evitar as duas extrações líquido-líquido, pois esta etapa consumiu um tempo extremamente longo e aplicar um método mais eficiente para a purificação dos compostos.

Paralelamente com término da primeira coleção de flavonas, o nosso grupo adquiriu um sintetizador semi-automático Syncore da Büchi. O uso desse equipamento apresenta grandes vantagens em relação às adaptações que foram necessárias para a preparação da primeira coleção, pois ele apresenta um sistema de agitação e aquecimento homogêneo e eficiente para todos os frascos reacionais (24 ou 96) (FIGURA 3.8 a). O sistema de filtração, lavagem da resina (FIGURA 3.8 b) e evaporação do solvente é feito em paralelo para todos os frascos reacionais, com isso todas as reações são submetidas às mesmas condições reacionais fornecendo resultados altamente reprodutíveis. Assim sendo, iniciou-se o estudo da síntese da coleção empregando o sintetizador semi-automático.



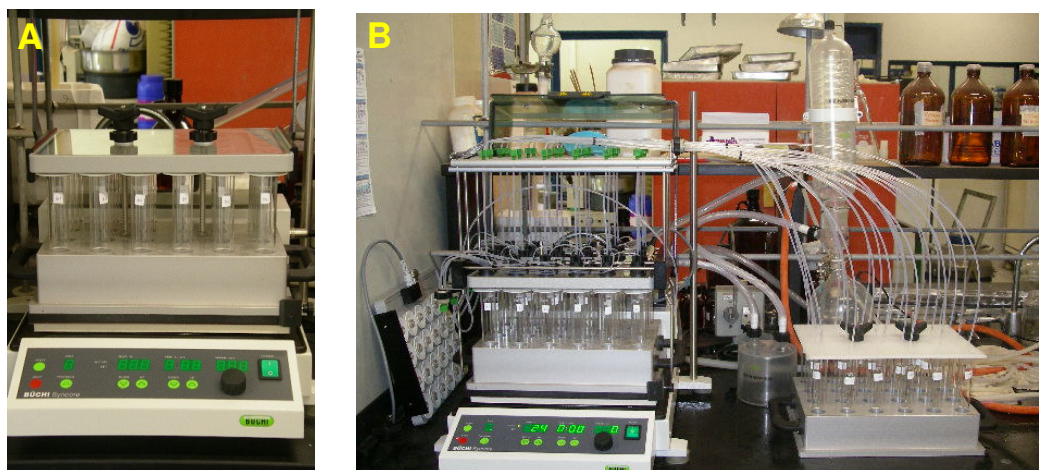


FIGURA 3.8 – Syncore; a) Unidade para reação; b) Unidade de reação acoplada ao sistema de filtração e lavagem

### 3.4.2 - Obtenção de uma coleção combinatória de chalconas e flavonas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina *scavenger*

Primeiramente, antes de se iniciar a síntese da coleção foram realizados testes a fim de se determinar as melhores condições reacionais, fazer as adaptações necessárias e também como uma forma de treinamento no equipamento.

#### 3.4.2.1 - Testes iniciais utilizando o sintetizador

Para a realização das reações foram escolhidas as três acetofenonas e os três benzaldeídos apresentados na FIGURA 3.9. A acetofenona **49**{2} foi sintetizada, pois ela não era disponível em nosso laboratório. No ESQUEMA 3.36 é apresentada a metodologia utilizada nos testes iniciais.

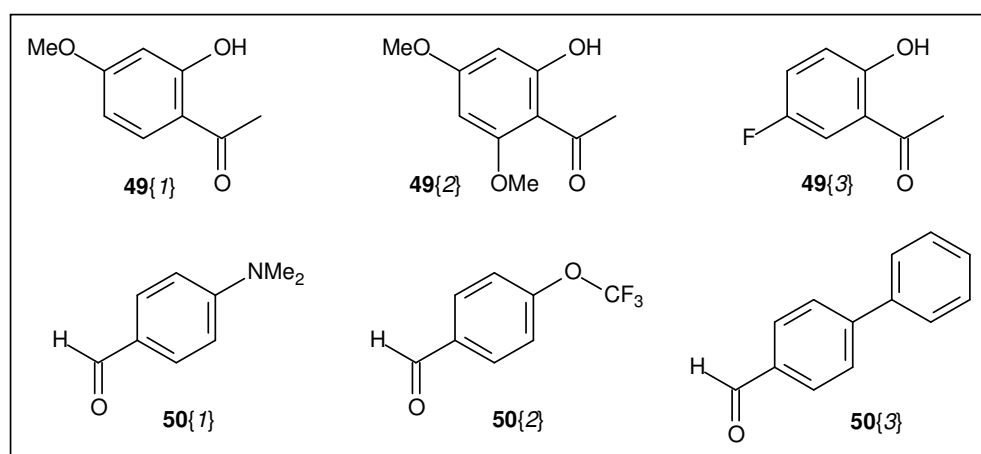
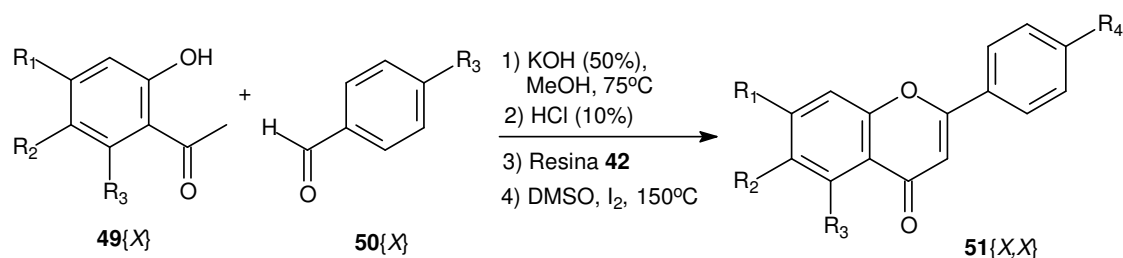


FIGURA 3.9 - Blocos construtores utilizados nas reações teste



ESQUEMA 3.36 - Preparação das flavonas empregando o sintetizador

A reação de condensação aldólica entre as acetofenonas **49{X}** com os benzaldeídos **50{X}** foi realizada em metanol a 75°C utilizando-se uma solução aquosa de KOH 50% como base. Após o término da reação adicionou-se uma solução de HCl 10% e em seguida a mistura foi concentrada sob vácuo no próprio sintetizador, sem que houvesse a necessidade de manuseio ou transferência das amostras.

O material bruto obtido contendo os compostos orgânicos e os sais formados foram lavados com acetato de etila e os compostos de interesse foram transferidos, sem o manuseio das amostras, para outro frasco reacional com o auxílio do sistema de filtração e transferência. Novamente o solvente foi evaporado no próprio equipamento.

Em seguida as misturas contendo as chalconas e também os aldeídos foram dissolvidas em DMF anidro e adicionou-se a resina *scavenger* **42**. Após 2 horas de reação à temperatura ambiente, a mistura foi filtrada e a resina lavada com diclorometano. O solvente foi evaporado e o material obtido foi utilizado na reação de ciclização oxidativa.

A reação para a formação das flavonas **51**{X,X} foi realizada em DMSO a 150°C utilizando-se iodo como catalisador. Ao término da reação adicionou-se uma solução de tiosulfato de sódio 0,1 N e os solventes foram evaporados no próprio equipamento.

Os compostos obtidos foram purificados por extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) (FIGURA 3.10). Como essa técnica de purificação nunca havia sido utilizada pelo nosso grupo foi necessário realizar alguns testes para se determinar qual fase estacionária e qual eluente seriam mais apropriados para os compostos preparados.

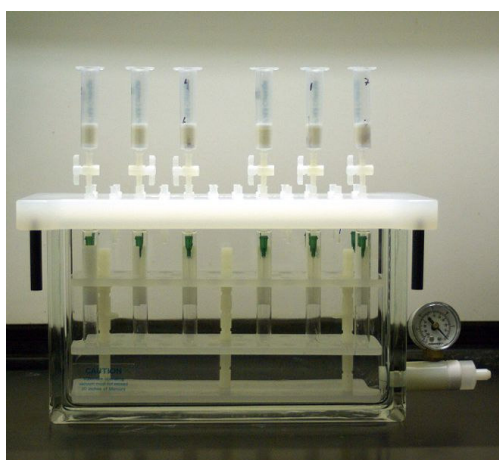


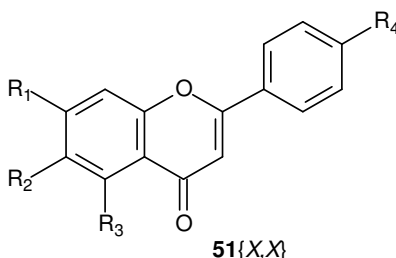
FIGURA 3.10 – Cartuchos de SPE no sistema de filtração Manifold

No primeiro cartucho de SPE utilizou-se a fase estacionária C-18 e como eluente uma mistura de metanol-água em diferentes proporções. Nesses testes não foram obtidos bons resultados, pois a fase estacionária utilizada foi pouco retensiva para esses compostos e com isso não foi obtida uma boa purificação.

A segunda fase estacionária utilizada foi sílica e como eluente uma mistura de diclorometano-acetato de etila. Nesse caso foram obtidos bons resultados na purificação dos compostos.

Os compostos foram obtidos com bom grau de pureza e caracterizados por RMN <sup>1</sup>H. Na TABELA 3.4 são apresentados os rendimentos obtidos nas reações utilizando-se o sintetizador.

TABELA 3.4 - Resultados obtidos nos testes utilizando o sintetizador



Flavonas	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Rendimento (%)
51{1,1}	MeO	H	H	Me <sub>2</sub> N	27
51{2,2}	MeO	H	MeO	CF <sub>3</sub> O	68
51{3,3}	H	F	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	66

Na reação para a obtenção da flavona **51{1,1}** foi observada a formação de vários subprodutos e com isso obteve-se um baixo rendimento. Devido a esse fato, o aldeído **50{1}** não será utilizado na preparação da coleção combinatória.

A partir dos resultados obtidos nos testes iniciais e também se conhecendo a atividade inibitória de flavonas frente à enzima gGAPDH de *T. cruzi* (TOMAZELA et al., 2000; MORAES et al., 2003), os blocos construtores apresentados na FIGURA 3.7 foram selecionados para a preparação da coleção combinatória de flavonas.

#### 3.4.2.2 - Obtenção da coleção combinatória de chalconas e flavonas no sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina scavenger

Empregando-se o mesmo processo testado e otimizado para a obtenção das flavonas **51{X,X}** foi dado início à síntese de uma coleção combinatória de 24 flavonas utilizando os blocos construtores apresentados na FIGURA 3.11.

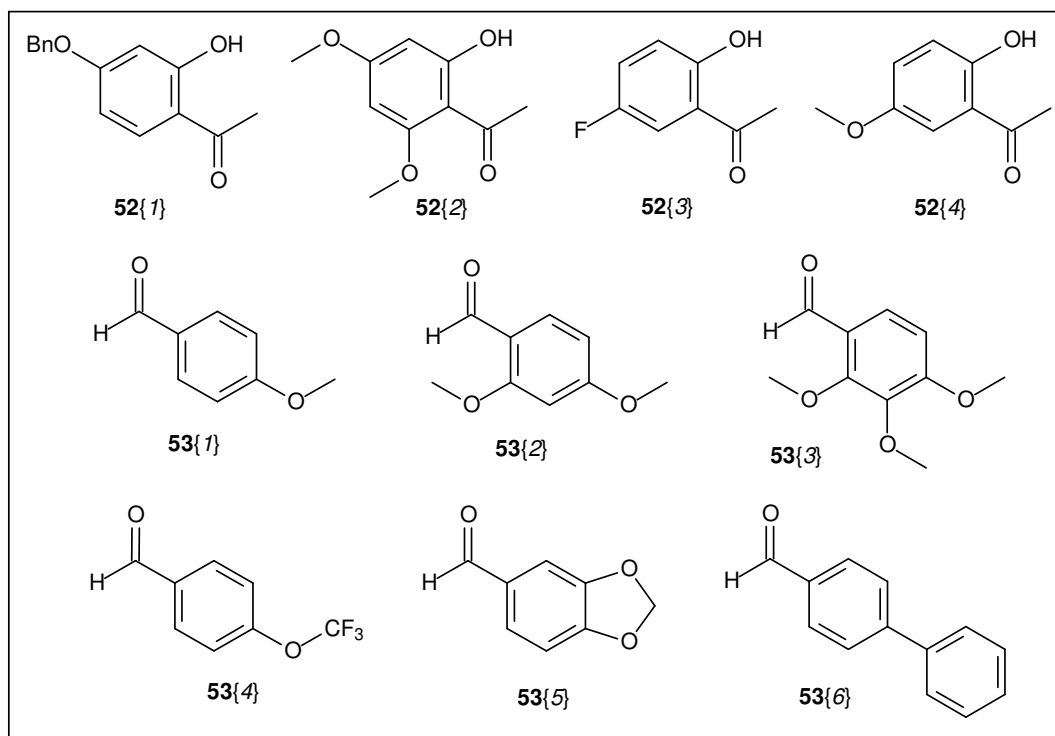
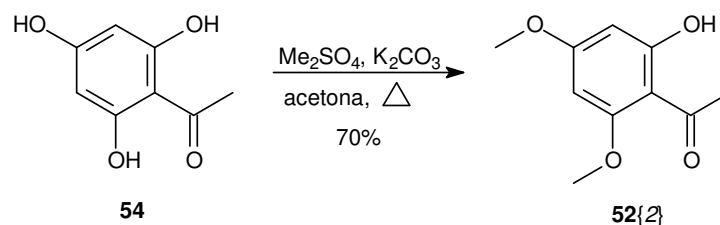


FIGURA 3.11 – Blocos construtores utilizados na preparação da coleção combinatória

A acetofenona **52{2}** foi preparada de acordo com metodologia descrita na literatura, pois ela não era disponível em nosso laboratório.

#### 3.4.2.2.1 - Preparação da 2-hidroxi-4,6-dimetoxi acetofenona (**52{2}**)

A reação de dimetoxilação da acetofenona **54** foi realizada com dimetilsulfato, sob refluxo de acetona utilizando-se  $K_2CO_3$  com base (ESQUEMA 3.37) (CREN-OLIVE et al., 2000; KUMAZAWA et al., 2001).



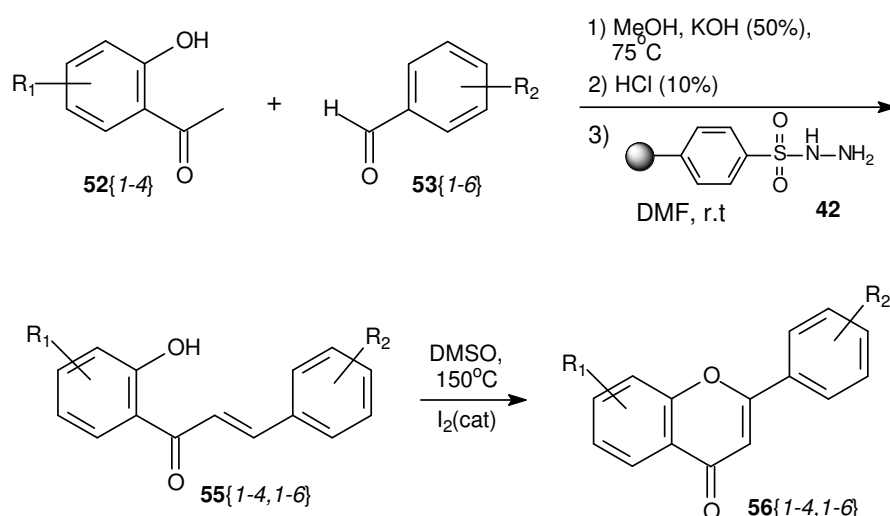
ESQUEMA 3.37 - Obtenção da acetofenona **52{2}**

Obteve-se a acetofenona **52{2}** com 70% de rendimento, que foi caracterizada por RMN  $^1H$  e  $^{13}C$ . No espectro de RMN  $^1H$  foram observados dois

singletos em  $\delta$  3.81 e 3.84 referentes as duas metilas incorporadas na molécula. Também foi observado um singleto em  $\delta$  14.02, referente ao hidrogênio da hidroxila na posição 2, confirmando a regioseletividade da reação.

### 3.4.2.2.2 - Obtenção da coleção combinatória de chalconas e flavonas no sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina *scavenger*

No ESQUEMA 3.38 é apresentada a rota sintética e as condições reacionais utilizadas para a preparação das chalconas **55**{1-4,1-6} e das flavonas **56**{1-4,1-6}.



ESQUEMA 3.38 - Obtenção da coleção combinatória das chalconas **55**{1-4,1-6} e das flavonas **56**{1-4,1-6}

A reação de Claisen-Schmidt foi realizada em metanol à temperatura de  $75^\circ C$ . Manteve-se o aquecimento até não mais se detectar a acetofenona **52**{X} por CCD, utilizando-se como revelador uma lâmpada de UV. Após o término da reação adicionou-se uma solução de  $HCl$  10% e em seguida a mistura foi concentrada sob vácuo no próprio sintetizador, sem que houvesse a necessidade de manuseio ou transferência das amostras.

O material bruto obtido foi extraído com acetato de etila, o solvente e os compostos de interesse foram transferidos, sem o manuseio das amostras, para outro frasco reacional com o auxílio do sistema de filtração e transferência. Novamente o solvente foi evaporado no próprio equipamento.

Em seguida, as misturas contendo as chalconas e também os aldeídos foram dissolvidas em DMF anidro, adicionou-se a resina *scavenger* **42**, e manteve-se à agitação por 2 horas a temperatura ambiente. A mistura foi filtrada, com o auxílio do sistema de filtração, e a resina lavada com diclorometano. Os solventes foram reunidos e evaporados. Após a preparação das chalconas **55**{1-4,1-6}, um terço do material obtido foi reservado, para ser purificado posteriormente, e o restante foi submetido à reação de ciclização oxidativa.

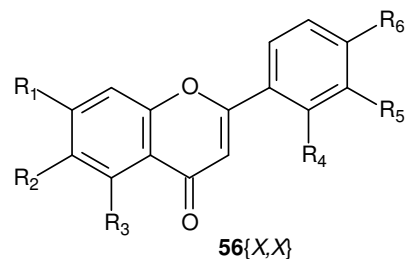
A reação para a formação das flavonas **56**{X,X} foi realizada em DMSO a 150°C por 1 hora utilizando-se iodo como catalisador. Ao término da reação adicionou-se uma solução de tiosulfato de sódio 0,1 N e os solventes foram evaporados no próprio equipamento.

Os produtos obtidos na reação de ciclização foram purificados por SPE utilizando sílica como fase estacionária e uma mistura de diclorometano-acetato de etila como eluente. A extração em fase sólida não apresentou bons resultados para algumas amostras, então esses compostos foram novamente purificados por cromatografia preparativa em camada delgada.

As flavonas **56**{1-4,1-6} obtidas foram analisadas por CLAE para se determinar o grau de pureza da coleção. Após vários testes com diferentes composições da fase móvel, decidiu-se que o melhor eluente para avaliar a coleção preparada seria uma solução de metanol:água (7:3) utilizando-se como fase estacionária uma coluna Luna C18.

Na TABELA 3.5 são apresentados os rendimentos globais das reações bem como o grau de pureza das flavonas sintetizadas. A pureza dos compostos foi analisada em três comprimentos de onda diferentes, 254, 280 e 320 nm.

TABELA 3.5 - Resultados obtidos na preparação da coleção combinatória



Flavonas 56{X,X}	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Rendimento (%)	Pureza a 254 nm (%)	Pureza a 280 nm (%)	Pureza a 320 nm (%)
1,1	BnO	H	H	H	H	MeO	68	>95	>95	>95
1,2	BnO	H	H	MeO	H	MeO	46	>95	>95	>95
1,3	BnO	H	H	MeO	MeO	MeO	38	>95	>95	>98
1,4	BnO	H	H	H	H	CF <sub>3</sub> O	60	>95	>95	>95
1,5	BnO	H	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		42	>95	>95	>95
1,6	BnO	H	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	29	>80	>60	>85
2,1	MeO	H	MeO	H	H	MeO	30	>95	>95	>95
2,2	MeO	H	MeO	MeO	H	MeO	13	>95	>95	>95
2,3	MeO	H	MeO	MeO	MeO	MeO	25	>95	>95	>95
2,4	MeO	H	MeO	H	H	CF <sub>3</sub> O	68	>95	>95	>95
2,5	MeO	H	MeO	H	O-CH <sub>2</sub> -O		35	>95	>95	>95
2,6	MeO	H	MeO	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	50	>95	>90	>95
3,1	H	F	H	H	H	MeO	52	>95	>95	>95
3,2	H	F	H	MeO	H	MeO	68	>95	>90	>95
3,3	H	F	H	MeO	MeO	MeO	25	>95	>95	>95
3,4	H	F	H	H	H	CF <sub>3</sub> O	PNO <sup>a</sup>	---	---	---
3,5	H	F	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		PNO	---	---	---



## 3 - Resultados e Discussões

<b>3,6</b>	H	F	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	66	>95	>95	>95
<b>4,1</b>	H	MeO	H	H	H	MeO	43	>95	>95	>95
<b>4,2</b>	H	MeO	H	MeO	H	MeO	24	>95	>95	>95
<b>4,3</b>	H	MeO	H	MeO	MeO	MeO	24	>95	>95	>95
<b>4,4</b>	H	MeO	H	H	H	CF <sub>3</sub> O	31	>90	>95	>95
<b>4,5</b>	H	MeO	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		PNO	---	---	---
<b>4,6</b>	H	MeO	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	33	>90	>95	>95

<sup>a</sup> PNO: produto não obtido

A coleção combinatória das flavonas foi preparada com ótimos resultados. Foram obtidas 21 das 24 flavonas possíveis, o rendimento global da síntese foi de moderado a bom, e os compostos foram obtidos com um ótimo grau de pureza. Todas as flavonas obtidas foram devidamente caracterizadas por RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ .

#### **3.4.2.2.3 - Purificação da coleção de chalconas preparadas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina *scavenger***

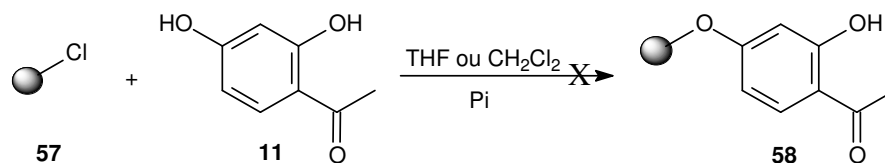
Para a purificação da coleção de chalconas **55**{1-4,1-6} foram realizados alguns testes empregando-se a técnica de SPE. Duas fases estacionárias foram utilizadas (C-18 e sílica), mas não foram obtidos bons resultados. Como não foi possível purificar a coleção utilizando-se SPE, apenas uma fração das chalconas foi purificada por cromatografia preparativa em camada delgada, para caracterização das mesmas e também para a realização dos bioensaios.

Dentre as 21 chalconas sintetizadas, 13 delas foram purificadas e caracterizadas por RMN  $^1\text{H}$ . Através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  foi observado que as chalconas foram obtidas com alto grau de pureza.

#### **3.4.3 - Estudos iniciais para a síntese de flavonas em fase sólida**

Foi dado início ao estudo para a síntese de flavonas imobilizadas em um suporte polimérico e a resina escolhida foi a resina cloro 2-clorotritil. Esta resina foi escolhida pois a imobilização do material de partida ocorre em condições brandas, o linker é estável sob as condições reacionais da metodologia proposta e os reagentes utilizados na etapa de clivagem não afetam a qualidade do produto.

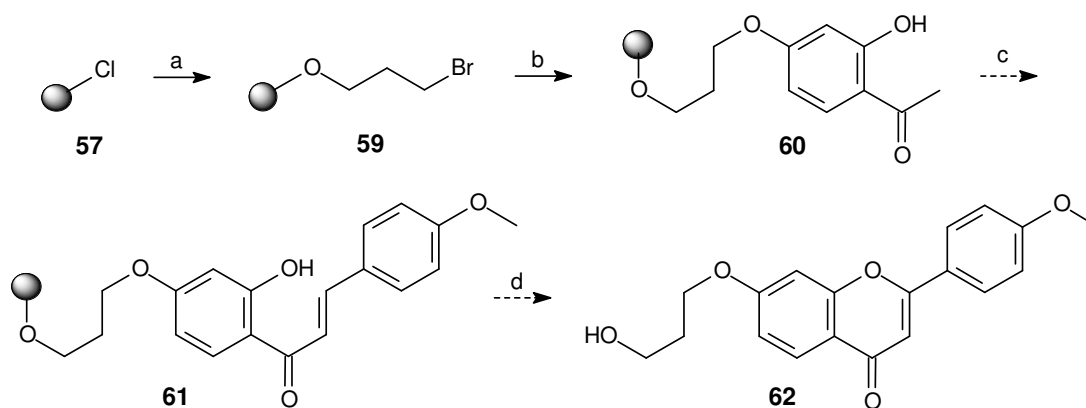
Inicialmente foi testada a imobilização da 2,4-diidroxiacetofenona (**11**) na resina utilizando-se piridina como base e THF ou diclorometano como solvente (CHENG et al., 2000), mas a reação não foi observada (ESQUEMA 3.39).



ESQUEMA 3.39 - Tentativa de imobilização da 2,4-diidroxiacetofenona

Decidiu-se então empregar um linker, o 1-bromo-3-propanol, que foi imobilizado ao suporte polimérico, utilizando-se piridina em excesso como base e diclorometano como solvente (ESQUEMA 3.40). O composto **59** foi então reagido com a 2,4-dihidroxiacetofenona na presença de  $K_2CO_3$  em DMF a  $60^\circ C$  levando a formação de **60**, que foi caracterizado pelo surgimento de uma banda em  $1620\text{ cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho referente à carbonila do produto formado.

Tendo o composto **60** em mãos, a etapa seguinte da síntese seria a reação de condensação aldólica, seguido de ciclização oxidativa e clivagem do suporte polimérico.



a) 1-bromo-3-propanol (10 eq), Pi (10 eq),  $CH_2Cl_2$ , t.a., 4h; b) 2,4-dihidroxiacetofenona (3 eq),  $K_2CO_3$  (5 eq), DMF,  $60^\circ C$ , 6h; c) *p*-anisaldeído (20 eq), LiOH (20 eq); DME, r.t., 16h; d) i) DMSO,  $150^\circ C$ ,  $I_2$  (cat); ii) ATF: $CH_2Cl_2$  (1:10)

ESQUEMA 3.40 - Metodologia proposta para a síntese de flavonas em fase sólida

### 3.5 - Avaliação biológica das flavonas e chalconas

As flavonas e as chalconas preparadas foram submetidas a ensaios enzimáticos frente à enzima gGAPDH do *Trypanosoma cruzi* e também frente à Catepsina V.

### 3.5.1 - *Trypanosoma cruzi*

O *Trypanosoma cruzi* é um protozoário homoflagelado causador da Doença de Chagas ou tripanossomíase Americana. A doença é transmitida aos mamíferos pelos triatomíneos, popularmente conhecidos como barbeiros ou chupões (DIAS et al., 2002). O *T. cruzi* tem um ciclo de vida complexo, com fases não-infecciosas no vetor (epimastigotas) e nos vertebrados (amastigotas) e fases infecciosas (tripomastigotas) tanto no vetor como no hospedeiro (DUSCHAK e COUTO, 2007). A Organização Mundial de Saúde estima que cerca de 16 milhões de pessoas estejam infectadas com o *T. cruzi* no continente Americano, e que mais de 100 milhões estão em áreas de risco (WHO, 2002).

Entre as décadas de 60 e 70 foi dado início a diversos programas para o combate aos triatomídeos, pois a transmissão da doença está diretamente relacionada com a população do inseto vetor (DIAS e SCHOFIELD, 1999; SILVEIRA e VINHARES, 1999). Essa estratégia adotada se mostrou bastante eficiente, sendo responsável pela redução de 70% dos casos de transmissão vetorial da doença no Cone Sul (MONCAYO, 1999).

Apesar da transmissão da Doença de Chagas ter sido eliminada em muitos países através do controle do inseto-vetor e também pela triagem sorológica dos doadores de sangue (DIAS et al., 2002), deve se ressaltar que essa ainda é uma doença endêmica em muitos lugares na América do Sul.

O único fármaco disponível no mercado brasileiro é o benznidazol (Lampit e Rochagan, Roche) (FIGURA 3.12), que apresenta eficiência moderada na fase aguda da doença e pouca ou nenhuma na fase crônica. O tratamento com o benznidazol é longo e apresenta vários efeitos colaterais, dentre eles anorexia, náuseas, vômitos e alergias cutâneas (DOCAMPO, 2001; COURA e CASTRO, 2002).

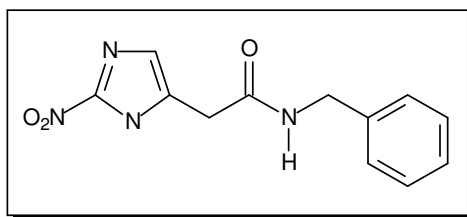


FIGURA 3.12 - Estrutura do benznidazol

Diversos grupos de pesquisa vêm trabalhando na busca de fármacos antichagásicos e resultados promissores foram obtidos em testes de inibição frente à forma tripomastigotas do *T. cruzi*. Na FIGURA 3.13 são apresentados dois derivados do megazol que apresentaram uma boa inibição ao *T. cruzi* (CHAUVIÈRE et al., 2003; CARVALHO et al., 2008).

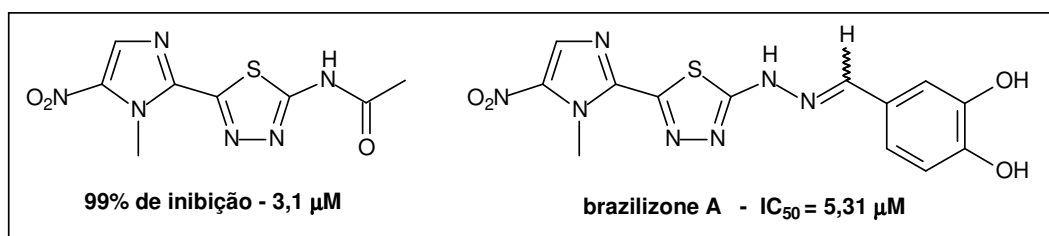


FIGURA 3.13 - Exemplos de compostos com atividade frente às formas tripomastigotas do *T. cruzi*

Nos últimos anos a bioquímica e a fisiologia do *T. cruzi* foram amplamente estudadas. Como resultado, diversas enzimas de extrema importância para a sobrevivência do parasita, e algumas delas que não estão presentes nos hospedeiros, foram identificadas como possíveis alvos para o desenvolvimento de novos fármacos antichagásicos (DUSCHAK e COUTO, 2007). Dentre elas pode-se citar tripanotona redutase (PAULINO et al., 2005), hexoquinase (HUDOCK et al., 2006), diidrofolato redutase (ZUCCOTTO et al., 1999), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (SOUZA et al., 1998), *trans*-sialidase (CARRILLO et al., 2000), cruzaína (JAISHANKAR et al., 2008), entre outras (COURA e CASTRO, 2002).

O *T. cruzi* na forma tripomastigota (presente na corrente sanguínea) é totalmente dependente da glicólise como fonte de ATP. Experimentalmente foi observado que a inibição da glicólise resulta no desaparecimento dos tripanossomos da corrente sanguínea do hospedeiro humano. Desta forma, as enzimas glicolíticas se tornaram um alvo atrativo para o desenvolvimento de fármacos tripanocidas (OPPERDOES E BORST, 1977).

Com a elucidação estrutural da enzima gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase glicosomal (gGAPDH) (FIGURA 3.14), esta passou a ser mais um alvo para o desenho racional de drogas antichagásicas (SOUZA et al., 1998). A enzima gGAPDH é uma das nove enzimas envolvidas na via glicolítica do *T. cruzi*, catalisando a reação de conversão do gliceraldeído 3-fosfato em 1,3

bisfosfoglicerato na presença do cofator  $\text{NAD}^+$  (nicotinamida adenina dinucleotídeo) e fosfato inorgânico.



FIGURA 3.14 - Estrutura cristalográfica da gGAPDH de *T. cruzi* (forma nativa)

Na busca por inibidores da enzima gGAPDH diversas classes de compostos naturais e sintéticos foram avaliadas. Dentre os compostos testados estão os ácidos anacárdicos (PEREIRA et al., 2008), cumarinas (ALVIM JR et al., 2005; MARCHI et al., 2004), derivados do gliceraldeído-3-fosfato (LADAME et al., 2005), flavonóides (MORAES et al., 2003) e nucleosídeos (SÁ et al., 2002). Na FIGURA 3.15 são apresentados os compostos mais ativos de cada classe dos compostos testados.

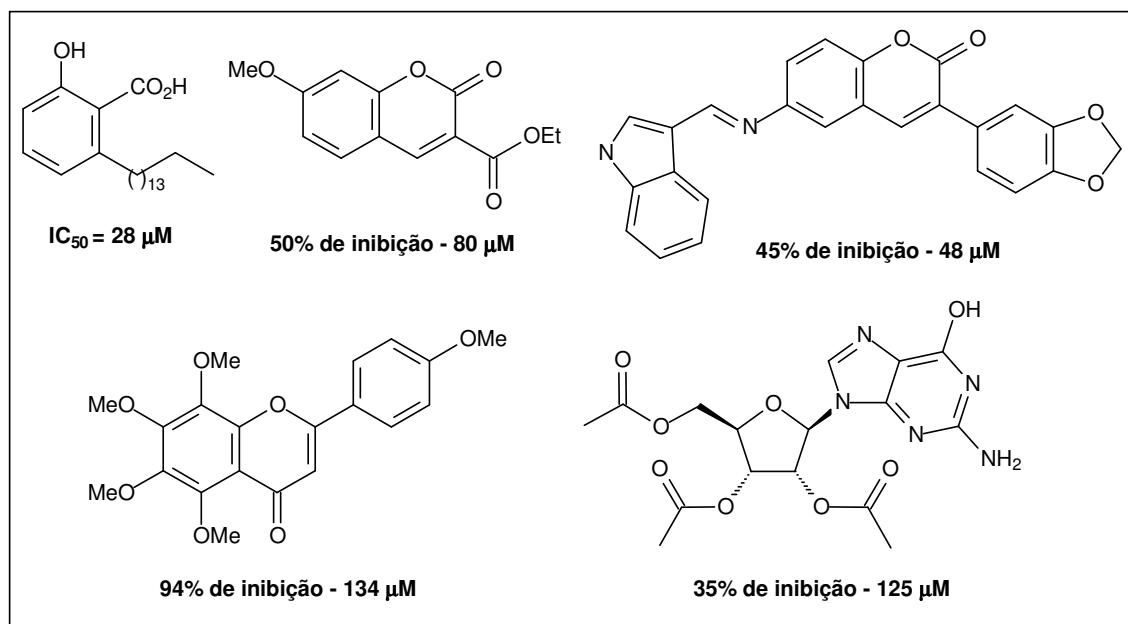


FIGURA 3.15 - Exemplos de compostos com atividade frente à enzima gGAPDH do *T. cruzi*

### 3.5.1.1 - Ensaio de inibição enzimática frente à enzima gGAPDH do *T. cruzi*

O ensaio enzimático frente à gGAPDH foi realizado em colaboração com o Prof Dr. Glaucius Oliva do Instituto de Física da USP - São Carlos.

A enzima gGAPDH catalisa a conversão do gliceraldeído 3-fosfato em 1,3-bisfosfoglicerato na presença do cofator  $\text{NAD}^+$  (nicotinamida adenina dinucleotídeo) e fosfato inorgânico (FIGURA 3.16). A atividade da enzima é monitorada pela formação do NADH por espectroscopia de ultravioleta a 340 nm (PEREIRA et al., 2008).

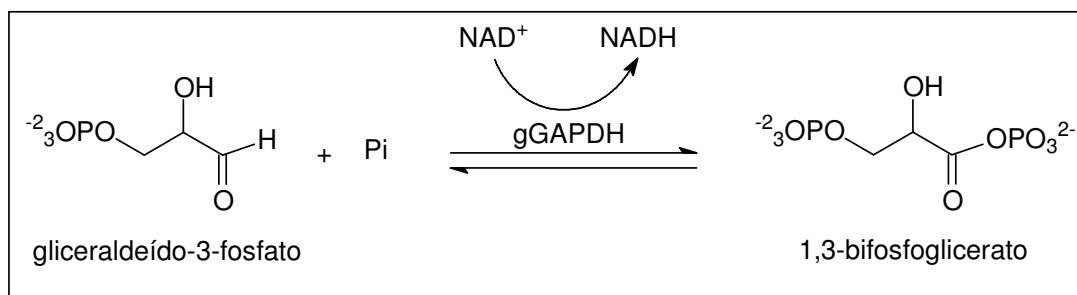
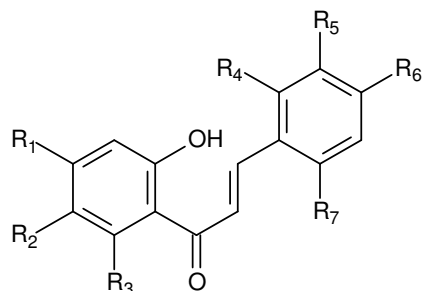


FIGURA 3.16 - Conversão do gliceraldeído-3-fosfato a 1,3-bifosfoglicerato

As chalconas e flavonas foram submetidas ao teste de inibição enzimática frente à enzima gGAPDH, e os resultados obtidos estão apresentados nas TABELAS 3.6 e 3.7 respectivamente.

TABELA 3.6 - Atividade inibitória das chalconas frente à enzima gGAPDH



Chalconas	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	% inib.	Observ.
<b>18</b>	BnO	H	H	H	MeO	H	H	85 <sup>a</sup>	T <sup>c</sup>
<b>36</b> {1,1}	MeO	H	H	MeO	H	MeO	H	24 <sup>a</sup>	T
<b>36</b> {2,1}	H	Br	H	MeO	H	MeO	H	5 <sup>a</sup>	-
<b>36</b> {3,1}	H	F	H	MeO	H	MeO	H	0 <sup>a</sup>	-
<b>36</b> {4,2}	F	H	H	Cl	H	H	F	8 <sup>a</sup>	-
<b>39</b>	F	H	H	Cl	H	H	MeO	1 <sup>a</sup>	-
<b>55</b> {1,3}	BnO	H	H	MeO	MeO	MeO	H	97 <sup>b</sup>	-
<b>55</b> {1,4}	BnO	H	H	H	H	OCF <sub>3</sub>	H	25 <sup>b</sup>	-
<b>55</b> {2,3}	MeO	H	MeO	MeO	MeO	MeO	H	69 <sup>b</sup>	-
<b>55</b> {3,5}	H	F	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O	H	H	19 <sup>b</sup>	-

<sup>a</sup>: testados a 200 μM

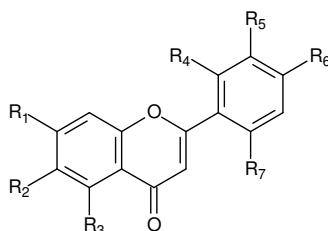
<sup>b</sup>: testados a 100 μM

<sup>c</sup>T: apresentou turvação do meio reacional

Dentre as chalconas testadas, as que apresentaram maior atividade inibitória foram a chalcona **55**{1,3} e a **55**{2,3} com 97% e 69% de inibição, respectivamente, na concentração de 100 μM (FIGURA 3.17). Os substituintes dos dois compostos diferem apenas na posição R<sub>1</sub> e R<sub>3</sub>, o composto **55**{1,3} possui um grupo benziloxi em R<sub>1</sub> e um hidrogênio em R<sub>3</sub>, enquanto o composto **55**{2,3} possui uma metoxila em R<sub>1</sub>, e uma metoxila em R<sub>3</sub>. Esse fato sugere que um grupo mais volumoso na posição R<sub>1</sub> favorece a interação do composto com a enzima melhorando a atividade inibitória, mas essa hipótese só poderá ser confirmada quando se realizar outros experimentos com diferentes substituintes nessa posição mantendo-se inalterado os outros substituintes da molécula.



TABELA 3.7 – Atividade inibitória das flavonas frente à enzima gGAPDH



Flavonas	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	% inib.	Obs.
1	H	H	H	H	H	NO <sub>2</sub>	H	7 <sup>a</sup>	T <sup>g</sup>
2	H	<i>p</i> -NO <sub>2</sub> -Bn	H	H	MeO	H	H	64 <sup>a</sup>	T
3	BnO	H	H	H	MeO	H	H	22 <sup>a</sup>	T
10	H	HO	H	H	MeO	H	H	58 <sup>a</sup>	T
40{1,1}	MeO	H	H	MeO	H	MeO	H	22 <sup>a</sup>	T
40{2,1}	H	Br	H	MeO	H	MeO	H	0 <sup>a</sup>	-
40{3,1}	H	F	H	MeO	H	MeO	H	7 <sup>a</sup>	-
40{4,2}	F	H	H	Cl	H	H	F	6 <sup>a</sup>	-
41	F	H	H	Cl	H	H	MeO	3 <sup>a</sup>	-
48{1,1}	OBn	H	H	H	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub>		MOMO	NA <sup>e</sup>	I <sup>f</sup>
48{1,2}	OBn	H	H	OMOM	OMOM	OMOM	H	NA	I
48{1,3}	OBn	H	H	H	H	NO <sub>2</sub>	H	NA	T
48{1,5}	OBn	H	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H	NA	T
48{1,6}	OBn	H	H	H	H	NMe <sub>2</sub>	H	17 <sup>a</sup>	LT <sup>h</sup>
48{2,1}	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub>		H	H	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub>		OMOM	8 <sup>a</sup>	LT
48{2,5}	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub>		H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H	NA	T
48{2,6}	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub>		H	H	H	NMe <sub>2</sub>	H	25 <sup>a</sup>	T
48{3,1}	H	OMe	H	H	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub>		OMOM	NA	I
48{3,2}	H	OMe	H	OMOM	OMOM	OMOM	H	38 <sup>a</sup>	T
48{3,5}	H	OMe	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H	NA	I
48{3,6}	H	OMe	H	H	H	NMe <sub>2</sub>	H	38 <sup>a</sup>	T
56{1,1}	BnO	H	H	H	H	MeO	H	75 <sup>c</sup>	-
56{1,3}	BnO	H	H	MeO	MeO	MeO	H	79 <sup>c</sup>	-
56{1,4}	BnO	H	H	H	H	OCF <sub>3</sub>	H	71 <sup>d</sup>	-
56{1,5}	BnO	H	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H	57 <sup>c</sup>	-
56{1,6}	BnO	H	H	H	H	Ph	H	85 <sup>c</sup>	-
56{2,1}	MeO	H	MeO	H	H	MeO	H	8 <sup>d</sup>	-
56{2,2}	MeO	H	MeO	MeO	H	MeO	H	14 <sup>a</sup>	-
56{2,4}	MeO	H	MeO	H	H	OCF <sub>3</sub>	H	31 <sup>a</sup>	-
56{2,5}	MeO	H	MeO	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H	23 <sup>a</sup>	-
56{2,6}	MeO	H	MeO	H	H	Ph	H	25 <sup>a</sup>	-

<sup>a</sup> testados a 200 μM. <sup>b</sup> testados a 100 μM. <sup>c</sup> resultados obtidos após pré-incubação dos compostos, na concentração de 100 μM, com a enzima. <sup>d</sup> resultados obtidos após pré-incubação dos compostos, na concentração de 200 μM, com a enzima. <sup>e</sup> NA: não analisado. <sup>f</sup> I: apresentou interação como o meio reacional. <sup>g</sup> T: apresentou turvação o meio reacional. <sup>h</sup> LT: apresentou leve turvação o meio reacional.

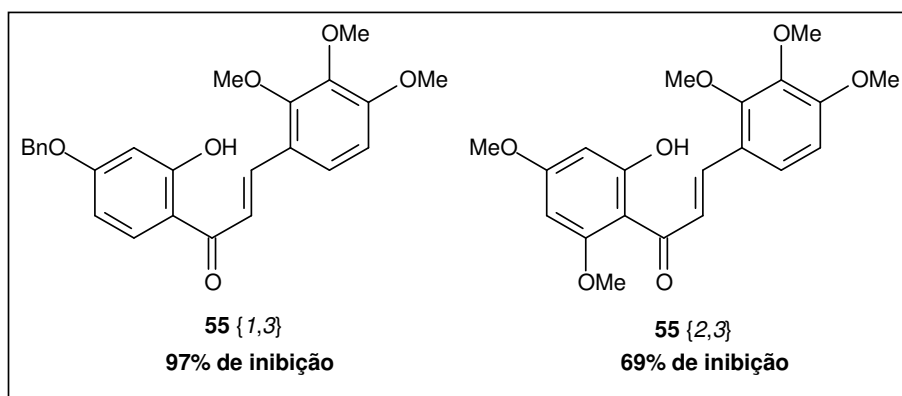


FIGURA 3.17 - Chalconas que apresentaram maior inibição frente à enzima gGAPDH

Foram testadas 31 flavonas frente à enzima GAPDH e a maioria delas apresentaram algum tipo de interação com o meio reacional ou precipitaram durante realização do teste. Em bioensaios monitorados por métodos espectroscópicos quando ocorre a turvação ou precipitação do meio o resultado da análise não deve ser considerado, pois o material particulado interfere na análise podendo gerar a um falso positivo ou negativo. Alguns compostos foram testados em concentrações menores para se evitar a precipitação, mas nesses casos eles não apresentaram atividade inibitória.

Os compostos que apresentaram os melhores resultados de inibição foram as flavonas **56{1,6}**, **56{1,3}** e **56{1,4}** com 85, 79 e 71 % de inibição, respectivamente, na concentração de 100  $\mu\text{M}$  (FIGURA 3.18).

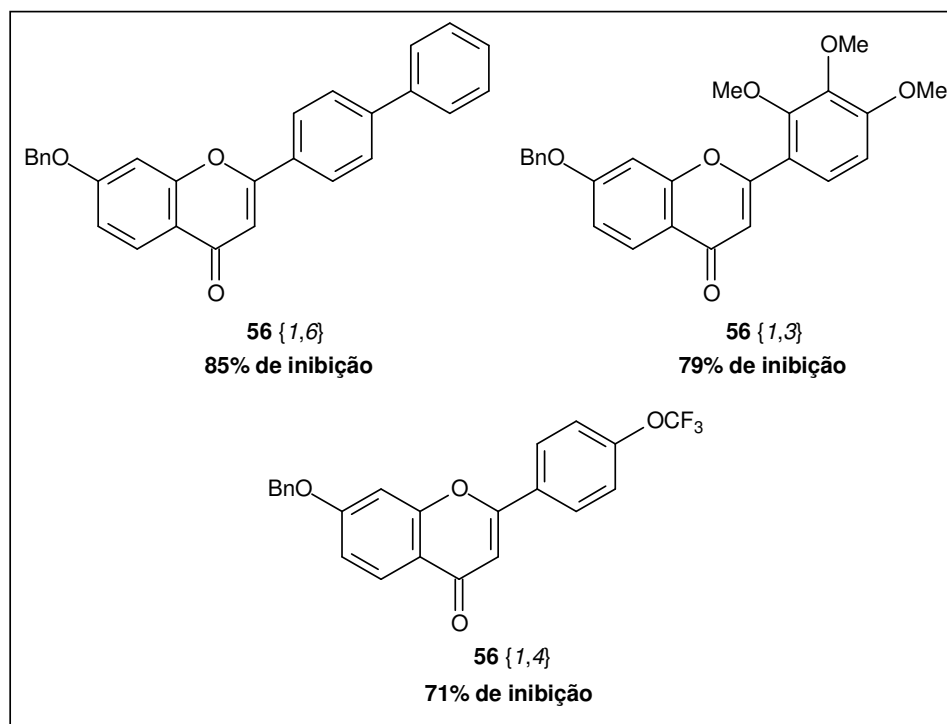


FIGURA 3.18 - Flavonas que apresentaram maior inibição frente à enzima GAPDH

### 3.5.2 - Cisteíno peptidases

As peptidases ou proteases são enzimas que tem a capacidade de clivar um polipeptídeo e podem ser divididas com base na especificidade do substrato ou mecanismo de catálise. Enzimas que clivam um polipeptídeo no meio são chamadas de endopeptidases, as que promovem a clivagem no final do polipeptídeo são chamadas exopeptidases. Aminopeptidases clivam a ligação N-terminal e carboxipeptidases clivam no C-terminal do substrato (BARRET et al., 2003).

Essas enzimas estão envolvidas em diversos processos fisiológicos importantes como, digestão, coagulação sanguínea, diferenciação celular, resposta imune, etc. Proteólise descontrolada, desregulada ou não desejada pode levar à doenças como enfisema, câncer, mal de Alzheimer, inflamações, artrite, etc. Com isso, as proteases são um alvo potencial no controle dessas doenças (POWERS et al., 2002).

Baseado no mecanismo de hidrólise dos peptídeos, cinco classes de proteases são conhecidas: serino, cisteíno, aspártico, treonina, metalo-protease e glutamil proteases (BARRET et al., 2003)

Cisteíno protease papaina-like é a maior subfamília das cisteíno proteases. São expressas no reino animal, vegetal e também foram identificadas em vírus e bactérias. As mais importantes cisteíno proteases nos mamíferos são as calpaínas citoplásmicas, as catepsinas lisossomais e as caspases (OTTO et al., 1997).

Existem 11 catepsinas descritas e relativamente bem caracterizadas à nível protéico: B, H, L, S, C, K, O, F, V, X e W (TURK et al., 2000). Elas estão envolvidas em processos fisiológicos normais e também em processos patológicos como na progressão de tumores malignos (LIM et al., 2004 e LECAILLE et al., 2002), osteoporose (WANG et al., 2002), artrite reumatóide (YASUDA et al., 2005), arteriosclerose (YASUDA et al., 2004) e doenças auto-imunes (BRÖMME et al., 1999).

### 3.5.2.1 - Catepsina V

A catepsina V (FIGURA 3.19) teve sua estrutura cristalográfica determinada por SOMOZA et al. (2000) e é expressa no timus, testículos e córneas. Essa enzima apresenta uma alta atividade elastolítica, e uma hipótese apresentada por YASUDA et al. (2004) é que esta enzima degrade a elastina da matriz da parede arterial contribuindo na formação da arteriosclerose.

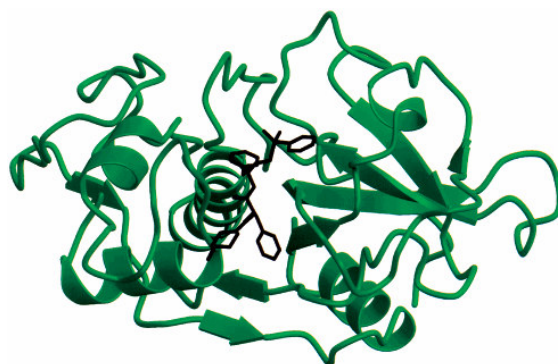


FIGURA 3.19 - Estrutura da catepsina humana V

A catepsina V também foi encontrada em carcinomas no colo retal e mama, mas não é expressa nos tecidos normais do cólon e da mama. Esse fato sugere que a catepsina V pode ser um alvo para o controle desses tipos de câncer (SOMOZA et al., 2000).

### 3.5.2.2 - Ensaio de inibição enzimática frente à enzima catepsina V

Os ensaios enzimáticos frente à catepsina foram realizados em colaboração com o Prof Dr. Paulo Cesar Vieira do Departamento de Química da UFSCar.

Os testes foram realizados monitorando-se a hidrólise do substrato ZFR-MCA (Cbz-Phe-Arg-MCA) medindo-se diretamente o aumento de fluorescência do produto da hidrólise com o tempo de reação (FIGURA 3.20) (BEAVERS et al., 2008).

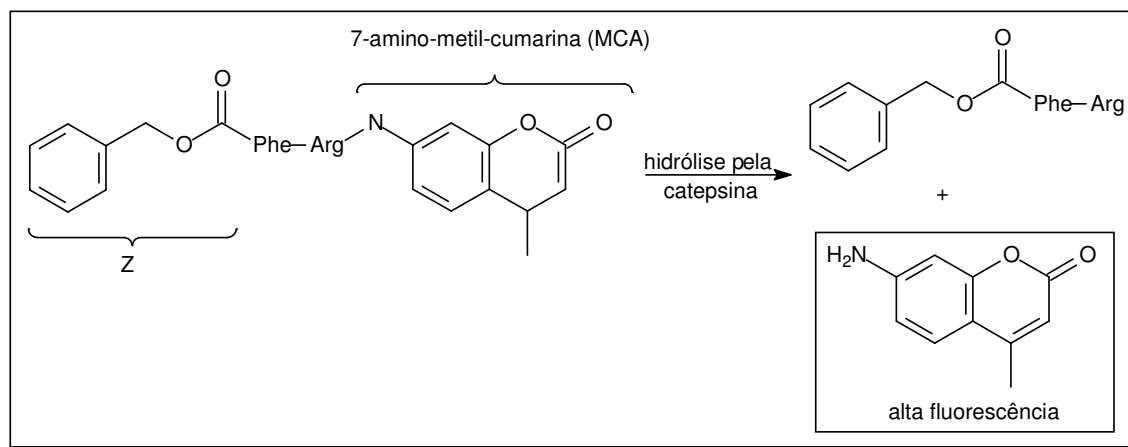
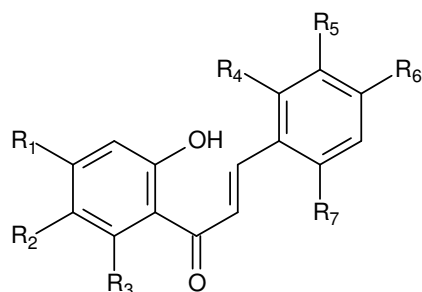


FIGURA 3.20 - Hidrólise do ZFR-MCA pela catepsina

As chalconas e flavonas foram submetidas ao teste de inibição enzimática na concentração de 25  $\mu\text{M}$ , e os resultados obtidos estão apresentados nas TABELAS 3.8 e 3.9 respectivamente.

TABELA 3.8 - Atividade inibitória das chalconas na concentração a 25  $\mu$ M

Compostos	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	% de Inibição
<b>18</b>	BnO	H	H	H	MeO	H	H	64
<b>36</b> { 1, 1 }	MeO	H	H	MeO	H	MeO	H	36
<b>39</b>	F	H	H	Cl	H	H	MeO	14
<b>55</b> { 1, 1 }	BnO	H	H	H	H	MeO	H	21
<b>55</b> { 1, 3 }	BnO	H	H	MeO	MeO	MeO	H	35
<b>55</b> { 1, 4 }	BnO	H	H	H	H	CF <sub>3</sub> O	H	22
<b>55</b> { 2, 1 }	MeO	H	MeO	H	H	MeO	H	24
<b>55</b> { 2, 2 }	MeO	H	MeO	MeO	H	MeO	H	22
<b>55</b> { 2, 3 }	MeO	H	MeO	MeO	MeO	MeO	H	1
<b>55</b> { 2, 6 }	MeO	H	MeO	H	H	Ph	H	57
<b>55</b> { 3, 1 }	H	F	H	H	H	MeO	H	53
<b>55</b> { 3, 3 }	H	F	H	MeO	MeO	MeO	H	26
<b>55</b> { 3, 5 }	H	F	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H	48
<b>55</b> { 4, 6 }	H	MeO	H	H	H	Ph	H	7

Foram testadas 14 chalconas, 3 delas apresentaram inibição maior que 50% e 3 apresentaram inibição entre 30 e 50%. Os melhores resultados de inibição foram obtidos com os compostos **18**, **55**{2,6} e **55**{3,1} com inibição de 64, 57 e 53%, respectivamente (FIGURA 3.21).

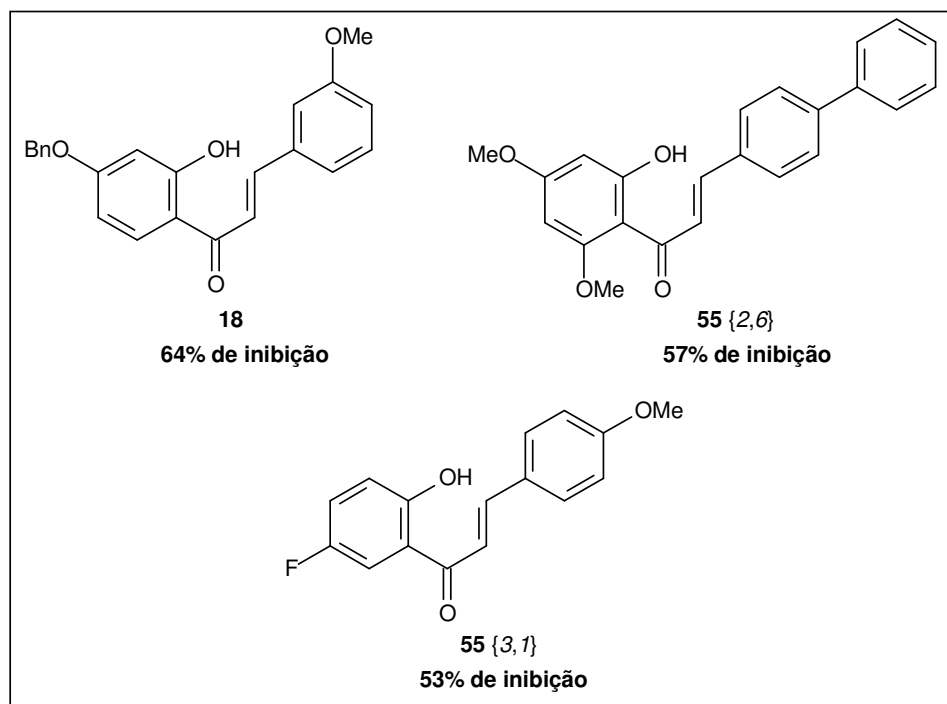
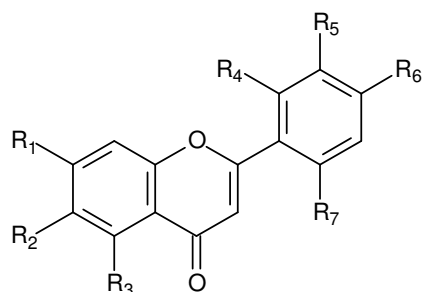


FIGURA 3.21 - Chalconas que apresentaram maior inibição frente à catepsina V

Comparando-se a chalcona **18** com a **55{1,1}** observa-se uma diferença significativa na porcentagem de inibição entre esses compostos, 64 e 21% respectivamente. A única diferença estrutural entre eles é a posição da metoxila no anel B; no composto **18** a metoxila está em C-3 e no composto **55{1,1}** está em C-4. Esse fato sugere que a metoxila em C-3 é um grupo farmacofórico do composto **18** ou que a metoxila em C-4 provoca um impedimento estérico no sítio ativo.

As chalconas **55{1,1}** e **55{1,4}** apresentaram inibição de 21 e 22%, o composto **55{1,1}** tem uma metoxila em C-4 enquanto que o composto **55{1,4}** tem um trifluorometoxila. Sabe-se que o CH<sub>3</sub> e o CF<sub>3</sub> são bioisósteros e como os resultados nos testes biológicos para esses dois compostos foram o mesmo, podemos dizer que a eletronegatividade do substituinte nessa posição não apresentou influência na atividade biológica.

TABELA 3.8 – Atividade inibitória das flavonas na concentração a 25  $\mu$ M

Compostos	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	% de Inibição
40{1,1}	MeO	H	H	MeO	H	MeO	H	100
3	BnO	H	H	H	MeO	H	H	72
40{2,1}	H	Br	H	MeO	H	MeO	H	100
40{3,1}	H	F	H	MeO	H	MeO	H	100
40{4,2}	F	H	H	Cl	H	H	F	19
41	F	H	H	Cl	H	H	OMe	18
56{1,1}	BnO	H	H	H	H	MeO	H	100
56{1,2}	BnO	H	H	MeO	H	MeO	H	N/D*
56{1,3}	BnO	H	H	MeO	MeO	MeO	H	52
56{1,4}	BnO	H	H	H	H	CF <sub>3</sub> O	H	56
56{1,5}	BnO	H	H	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H	100
56{1,6}	BnO	H	H	H	H	Ph	H	85
56{2,1}	MeO	H	MeO	H	H	MeO	H	100
56{2,2}	MeO	H	MeO	MeO	H	MeO	H	56
56{2,3}	MeO	H	MeO	MeO	MeO	MeO	H	6
56{2,4}	MeO	H	MeO	H	H	CF <sub>3</sub> O	H	N/D
56{2,5}	MeO	H	MeO	H	O-CH <sub>2</sub> -O		H	51
56{2,6}	MeO	H	MeO	H	H	Ph	H	26
56{3,1}	H	F	H	H	H	MeO	H	100
56{3,2}	H	F	H	MeO	H	MeO	H	100
56{3,3}	H	F	H	MeO	MeO	MeO	H	84
56{3,6}	H	F	H	H	H	Ph	H	74
56{4,1}	H	MeO	H	H	H	MeO	H	100
56{4,2}	H	MeO	H	MeO	H	MeO	H	30
56{4,3}	H	MeO	H	MeO	MeO	MeO	H	35
56{4,6}	H	MeO	H	H	H	Ph	H	65

\* não determinado pois o composto apresentou fluorescência maior que o controle

O teste de inibição da catepsina V foi realizado com 25 flavonas, 15 delas apresentaram inibição maior de 50 % e dentre essas 8 apresentaram inibição igual a 100% (FIGURA 3.22).



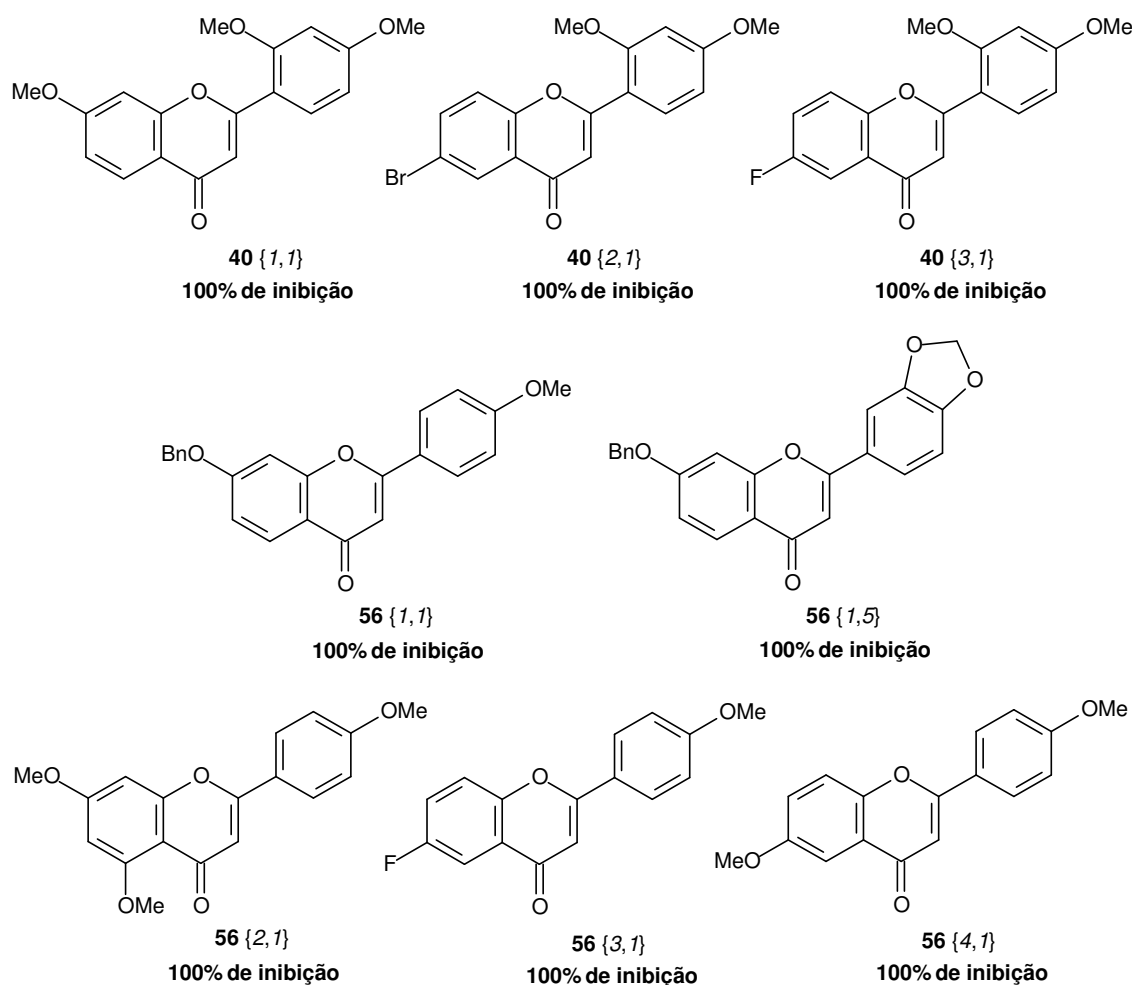


FIGURA 3.22 - Flavonas que apresentaram maior inibição frente à catepsina V

As flavonas **56**{2,1}, **56**{2,2} e **56**{2,3} apresentaram 100, 56 e 6% de inibição, respectivamente. A diferença entre esses compostos é o substituinte no anel B, a flavona **56**{2,1} apresenta uma metoxila, a flavona **56**{2,2} duas metoxilas e a flavona **56**{2,3} três metoxilas. Com o aumento do número de metoxilas foi observada uma diminuição na atividade inibitória desses compostos. Esse efeito também foi observado entre as flavonas **56**{1,1} e **56**{1,3}, **56**{3,1} e **56**{3,3} e também com as flavonas **56**{4,1} e **56**{4,2}.

De modo geral, as flavonas apresentaram atividade inibitória maior que as chalconas análogas, esse fato indica que a maior rigidez da flavona contribui para a atividade inibitória desses compostos.

Os resultados obtidos com as chalconas e as flavonas confirmaram o alto potencial inibitório desses compostos frente à catepsina V e estão de acordo com os resultados obtidos por PATIL et al. (2002) e ZENG et al. (2003).



## **CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**



## 4 - Conclusões e Perspectivas

Este projeto teve como objetivos a síntese e avaliação da atividade biológica de uma coleção de flavonas e chalconas. A preparação das flavonas e chalconas foi realizada empregando-se metodologias de síntese orgânica clássica e também química combinatória.

As 4 flavonas inicialmente escolhidas foram preparadas pelo método de Baker-Venkataraman e via condensação aldólica, sendo esta mais eficiente por apresentar melhores rendimentos e também por utilizar condições mais brandas. A preparação de flavonas a partir das chalconas é ainda mais atrativa, pois na mesma rota sintética são preparadas duas classes de flavonóides com grande potencial biológico.

O método para a preparação das flavonas utilizando-se irradiação de micro-ondas empregando forno convencional foi testado e este foi eficiente na etapa de ciclização da dicetona, mas não para a preparação das dicetonas (método de Baker-Venkataraman). Deste modo, essa metodologia não foi empregada para a preparação das flavonas.

A primeira coleção combinatória de flavonas preparada pela metodologia de Claisen-Schmidt e utilizando-se a resina tosil hidrazina como *scavenger* apresentou resultados moderados. Foram obtidas 13 flavonas dentre as 24 que deveriam ser preparadas nessa coleção.

Antes de se preparar a coleção combinatória foram realizadas adaptações na metodologia a fim de torná-la mais eficaz, rápida e reprodutiva. No entanto, durante a preparação da coleção foi constatado que outras modificações poderiam ser feitas para se aumentar o rendimento, melhorar a qualidade dos produtos e também diminuir o número de etapas do processo.

A segunda coleção combinatória utilizando a resina *scavenger* foi preparada visando a obtenção de chalconas e flavonas. Esta coleção foi preparada em um sintetizador semi-automático. O uso desse equipamento facilitou a execução de todas as etapas do processo de preparação da coleção, pois ele apresenta um sistema de agitação e aquecimento eficiente, reprodutivo e homogêneo para todos os frascos reacionais. O sistema de evaporação do solvente, filtração e lavagem da resina é feito em paralelo, com isso todas as reações são submetidas às mesmas condições fornecendo resultados altamente reprodutíveis.

A preparação da coleção combinatória das flavonas **56**{1-3,1-6} utilizando-se o sintetizador semi-automático e a resina *scavenger* foi realizada com ótimos resultados. Foram obtidas 21 flavonas, dentre as 24 que deveriam ser preparadas na coleção, que foram purificadas por SPE e obtidas com alto grau de pureza. Dentre as 21 chalconas sintetizadas, 13 delas foram purificadas por SPE ou cromatografia em camada delgada preparativa.

As flavonas e chalconas preparadas foram submetidas ao teste de inibição enzimática frente à enzima gGAPDH do *T. cruzi*. No entanto, a maioria dos produtos precipitou durante a realização do bioensaio ou apresentou alguma interação com o meio. A flavona que apresentou maior atividade inibitória foi a flavona **56**{1,6} com 85% de inibição e a chalcona **55**{1,3} foi a mais ativa com 97% de inibição, ambas na concentração de 100  $\mu$ M.

Os resultados de inibição enzimática das chalconas e flavonas frente à catepsina V foram muito bons, confirmando o alto potencial dessas classes como inibidores da catepsina V. Dentre as chalconas avaliadas, a que apresentou maior atividade inibitória foi a chalcona **18** com 64% inibição na concentração de 25  $\mu$ M. Os resultados obtidos com as flavonas foram ainda melhores, dentre as 25 flavonas avaliadas 15 delas apresentaram inibição maior que 50% e dentre essas, 9 apresentaram inibição igual a 100% na concentração de 25  $\mu$ M.

As flavonas e chalconas que apresentaram atividade inibitória frente a catepsina V maior que 50% serão submetidas a novos testes enzimáticos para se determinar o IC<sub>50</sub>. Em seguida será realizado um estudo de relação estrutura-atividade dos compostos e com isso será possível propor a síntese de novas moléculas visando aumentar a atividade inibitória desses compostos.

## **EXPERIMENTAL**





## 5 - Experimental

### 5.1 - Aspectos Gerais

Os espectros de absorção no infravermelho foram registrados em um espectrômetro Bomem modelo M 102. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas de KBr ou em filme líquido sobre pastilha de KBr e as absorções estão expressas em número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram registrados no espectrômetro Bruker ARX-200 e ARX-400. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Para indicar a multiplicidade dos sinais foram realizadas as seguintes abreviações: s(singleto), d(dubleto), t(tripleto), q(quadrupleto), m (multiplete), dd (duplo dubleto), ddd (duplo duplo dubleto) e dddd (duplo duplo duplo dubleto).

As análises feitas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu modelo GC17A equipado com um detector modelo GCMS-QP5000 operando como uma fonte de impacto eletrônico.

As análises feitas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu equipado com uma bomba LC-20AT, injetor SIL-10A e detector SPD-20A. Foi utilizada uma coluna Luna C18(2) de  $5\mu\text{m}$  de  $150 \times 4,6$  mm da Phenomenex.

Os pontos de fusão foram medidos em um aparelho Microquímica modelo MQAPF-301.

Microondas Sanyo modelo EM-801TB.

A coleção combinatória foi preparada no sintetizador Syncore Büchi contendo um rack para 24 amostras, um circulador de água B-740, uma bomba de vácuo V-1000 e a controladora de vácuo V-855.

Os solventes foram evaporados em um rotaevaporadores Büchi SE-6796 (R-200).

Nas separações feitas por cromatografia em coluna utilizou-se sílica gel 60 70-230 mesh ASTM Merck. Nas placas de vidro de 2 cm x 5 cm para CCD utilizou-se sílica gel 60 G Merck Darmstadt e revelou-se sobre luz ultravioleta, iodo

molecular ou utilizando-se um borrifador contendo uma solução de 1g de vanilina, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado e 100 mL de ácido acético.

Na extração em fase sólida (SPE) utilizou-se um cartucho Strata Silica SL-1 Phenomenex - 500 mg/6mL.

Os solventes utilizados foram todos de grau técnico e foram destilados antes de serem utilizados. Os solventes anidros foram obtidos por tratamento convencional (PERRIN e ARMAREGO, 1988). Os demais reagentes foram obtidos da Aldrich Co. e utilizados sem purificação prévia. A resina tosil hidrazina foi fornecida pela StratoSphere™.

## 5.2 - Procedimento Experimental

### 5.2.1 - Aplicação de metodologias sintéticas descritas na literatura para a síntese das flavonas 1-4

#### 5.2.1.1 - Preparação da 4'-nitroflavona (1)

##### 5.2.1.1.1 - Tentativa de obtenção da 1-(2-hidroxifenil)-3-(4-nitrofenil)-propano-1,3-diona (6)

Em um balão de fundo redondo contendo *t*-BuOK (205 mg, 1,82 mmol) em THF seco (9 mL) a temperatura de 0°C sob agitação, adicionou-se a 2-hidroxiacetofenona (**5**) (100 µL, 0,83 mmol). Agitou-se a mistura durante 30 minutos, adicionou-se o cloreto de *p*-nitrobenoíla (160 mg, 0,87 mmol) e a temperatura do meio reacional foi elevada até a temperatura ambiente. Adicionou-se mais THF seco (4 mL), aqueceu-se até 50°C e a agitação foi mantida por 14 horas. Resfriou-se a mistura à temperatura ambiente, adicionou-se água e gelo (5 mL), acidificou-se o meio com solução aquosa de HCl 10%, e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com água (2 x 3 mL) e solução saturada de NaCl (10 mL). Secou-se a fase orgânica sob Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi evaporado sob vácuo. O produto bruto obtido foi analisado e observou-se que a acetofenona **5** não havia sido consumida.

### 5.2.1.1.2 - Preparação do 2-acetil-1-(4-nitrofenilcarboniloxi)benzeno (7)

Em um balão de fundo redondo contendo *t*-BuOK (410 mg, 3,65 mmol) em DMF seco (4 mL), a temperatura ambiente sob agitação, adicionou-se a 2-hidroxiacetofenona (5) (200  $\mu$ L, 1,66 mmol). Agitou-se a mistura durante 30 minutos, adicionou-se o cloreto de *p*-nitrobenoíla (320 mg, 1,74 mmol), em seguida a temperatura do meio reacional foi aquecida a 50°C e a agitação foi mantida por 14 horas. Resfriou-se a mistura até temperatura ambiente, acidificou-se o meio com HCl 1M e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 5 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl (3 x 3 mL) e água (2 x 3 mL). Secou-se a fase orgânica sob Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi evaporado sob vácuo. O produto obtido foi purificado em coluna flash utilizando-se hexano:acetato de etila (7:3) como solvente. Obteve-se o éster 7 (151 mg) com 32% de rendimento.

PF: 99-102°C

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.56 (s, 3H); 7.26 (ddd, J = 8.0, 1.2 e 0.3 Hz, 1H); 7.42 (ddd, J = 7.8, 7.5 e 1.2 Hz, 1H); 7.62 (ddd, J = 8.0, 7.5, 1.7 Hz, 1H); 7.91 (ddd, J = 7.8, 1.7 e 0.3 Hz, 1H) 8.33-8.43 (m, 4H).

EM *m/z*: 285 (M<sup>+</sup>), 267, 150 (100), 120, 104, 92, 76, 50.

IV ( $\nu_{\max}$ , KBr): 1742, 1685, 1602, 1528, 1351, 1268, 1081, 716, 710 cm<sup>-1</sup>.

### 5.2.1.1.3 - Tentativa de preparação da dicetona 5 a partir do éster 7

Em um balão de fundo redondo contendo o éster 7 (150 mg, 0,54 mmol) em piridina (1 mL) a 50°C adicionou-se KOH (45 mg, 0,81 mmol). Agitou-se a mistura durante 30 minutos, adicionou-se uma solução aquosa de HCl 3% (2 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 4 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de CuSO<sub>4</sub> (4 mL) e água (2 x 3 mL). Secou-se a fase orgânica sob Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi evaporado sob vácuo. O produto bruto obtido foi analisado por RMN <sup>1</sup>H e não foi observada a formação do produto desejado.

#### 5.2.1.1.4 - Obtenção da 1-(2-hidroxifenil)-3-(4-nitrofenil)-propano-1,3-diona (**6**)

Em um balão de fundo redondo contendo *t*-BuOK (205 mg, 1,82 mmol) em *t*-BuOH seco (9 mL), a temperatura ambiente sob agitação, adicionou-se a 2-hidroxiacetofenona (**5**) (100  $\mu$ L, 0,83 mmol). Agitou-se a mistura durante 30 minutos e adicionou-se o cloreto de *p*-nitrobenoíla (160 mg, 0,87 mmol). Adicionou-se mais *t*-BuOH (2 mL), a temperatura do meio reacional foi elevada até 50°C e a agitação foi mantida por 14 horas. Resfriou-se a mistura até temperatura ambiente, adicionou-se água e gelo (5 mL), acidificou-se o meio com HCl 10% e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com água (2 x 3 mL) e solução saturada de NaCl (10 mL). Secou-se a fase orgânica com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi evaporado sob vácuo. O produto obtido foi pré-purificado por filtração em sílica flash utilizando-se hexano:acetato de etila (9:1) e em seguida metanol como eluente. Obteve-se a dicetona **5** (115 mg) que foi utilizada na etapa seguinte sem outras purificações.

#### 5.2.1.1.5 - Preparação da 4'-nitroflavona (**1**)

Em um balão de fundo redondo contendo a dicetona **5** (115 mg) em ácido acético glacial (2 mL) à temperatura de 60°C, adicionou-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (3 gotas) e a solução foi mantida sob agitação por 2 horas. Adicionou-se gelo picado e água (2 mL) e o produto foi extraído com acetato de etila (4 x 4 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (5 mL), o solvente foi seco com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporado sob vácuo. O produto obtido foi purificado por filtração em sílica flash utilizando-se um mistura de hexano:acetato de etila (1:1) como eluente. Obteve-se a flavona **1** (31,5 mg) com 14% de rendimento a partir da acetofenona **6**.

PF: 202-205°C

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.92 (s, 1H); 7.48 (ddd, J = 8.0, 7.0 e 1.2 Hz, 1H); 7.61 (ddd, J = 8.4, 1.2 e 0.5 Hz, 1H); 7.77 (ddd, J = 8.4, 7.0 e 1.7 Hz, 1H); 8.07-8.17 (m, 2H); 8.25 (ddd, J = 8.0, 1.7 e 0.5 Hz, 1H); 8.35-8.45 (m, 2H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 109.6; 118.1; 123.9; 124.2; 125.7; 125.9; 127.2; 134.3; 137.6; 149.4; 156.2; 160.6; 177.9.

EM  $m/z$ : 267 ( $\text{M}^+$ ), 239, 209, 181, 165, 120, 117, 92 (100), 75, 63.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 2921, 1660, 1346, 1116, 1043, 854, 750, 692  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.2.1.2 - Preparação da 3'-metoxi-6-(*p*-nitrobenzililoxi)flavona (2)

#### 5.2.1.2.1 - Preparação da 5-*tert*-butil-dimetilsilaniloxi-2-hidroxi acetofenona (9)

Em um balão de fundo redondo contendo 2,5-dihidroxiacetona (8) (200 mg, 1,31 mmol), trietilamina (0,36 mL, 2,62 mmol), 4-dimetilaminopiridina (31 mg, 0,26 mmol) em diclorometano (4 mL) a 0°C sob agitação, adicionou-se lentamente o cloreto de *tert*-butil-dimetilsilila (210 mg, 1,37 mmol). Retirou-se o banho de gelo e agitou-se a mistura a temperatura ambiente por 1 hora. Adicionou-se água (3 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 8 mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrada em um rotaevaporador. O produto obtido foi purificado por filtração em sílica flash utilizando-se hexano:acetato de etila (9:1) como eluente. Obteve-se o composto 9 (347 mg) com 99% de rendimento.

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.19 (s, 6H); 0.99 (s, 9H); 2.59 (s, 3H); 6.86 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H); 7.01 (dd,  $J = 8.9$  e 2.9 Hz, 1H); 7.15 (d,  $J = 2.9$  Hz); 11.85 (s, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : -4.3; 18.4; 25.9; 26.8; 119.2; 119.6; 120.3; 129.5; 147.5; 157.2; 204.1.

EM  $m/z$ : 266 ( $\text{M}^+$ ), 251, 209 (100), 195, 181, 167, 149, 137, 121, 105, 97, 75.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , filme): 3438, 2956, 2931, 2858, 1650, 1618, 1481, 1321, 1259, 1207, 952, 852, 781, 638  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.2.1.2.2 - Preparação da 1-[5-(*tert*-butildimetilsilaniloxi)-2-hidroxifenil]-3-(metoxifenil)-propano-1,3-diona (10)

Em um balão de fundo redondo contendo uma suspensão de *t*-BuOK (46 mg, 0,413 mmol) em THF seco (0,4 mL), a 0°C sob agitação, adicionou-se uma solução da acetofenona **9** (100 mg, 0,38 mmol) em THF (0,2 mL). Agitou-se a mistura à temperatura ambiente por 30 minutos, resfriou-se a mistura até 0°C e adicionou-se o cloreto de *m*-anisoila (58 µL, 0,413 mmol). A mistura foi mantida sob agitação por 1 hora a temperatura ambiente, resfriou-se o meio reacional a 0°C, adicionou-se *t*-BuOK (46 mg, 0,413 mmol) e em seguida a mistura foi mantida sob refluxo por 14 horas. Resfriou-se o meio reacional a temperatura ambiente, acidificou-se o meio com solução aquosa de HCl 10 %, extraiu-se o produto com acetato de etila (3 X 5 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto obtido foi purificado por filtração *dry-flash* com sílica utilizando um gradiente de solvente de hexano:acetato de etila de 95:5 a 50:50. Obteve-se a dicetona **10** (45 mg) com algumas impurezas (84% de pureza determinada por RMN <sup>1</sup>H) com rendimento de 30%.

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.21 (s, 6H); 1.00 (s, 9H); 3.88 (s, 3H); 6.70 (s, 1H); 6.88 (d, J = 8.9 Hz, 1H); 7.00 (dd, J = 8.9 e 2.8 Hz, 1H); 7.09 (ddd, J = 8.0, 2.5 e 1.2 Hz, 1H); 7.16 (d, J = 2.8 Hz, 1H); 7.38 (d, J = 7.6 Hz, 1H); 7.42-7.50 (m, 2H); 7.50-7.60 (m, 1H); 11.62 (s, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -4.4; 18.2; 25.7; 55.4; 92.5; 111.9; 118.0; 118.3; 118.8; 119.2; 119.3; 128.5; 129.8; 135.0; 147.5; 156.9; 159.9; 177.5; 195.1.

IV (ν<sub>max</sub>, filme): 3419, 2954, 2929, 1616, 1571, 1483, 1324, 1268, 1189, 1045, 836, 782 cm<sup>-1</sup>.

EM *m/z*: 400 (M<sup>+</sup>), 325, 301, 250, 235, 191, 152, 135 (100), 107, 83, 75.

### 5.2.1.2.3 - Preparação da 6-hidroxi-3'-metoxiflavona (11)

Em um balão de fundo redondo contendo o composto **10** (35 mg, 0,087 mmol) em ácido acético glacial (0,5 mL), a temperatura de 70°C, adicionou-se uma gota de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e manteve-se a agitação por 2 horas. Adicionou-se gelo picado e o produto foi extraído com acetato de etila (4 x 4 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (5 mL), o solvente foi seco com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporado sob vácuo. Após purificação do material obtido por recristalização em etanol foi obtido a flavona **11** (11,5 mg) com 33% de rendimento.

PF: 217-220°C

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 3.87 (s, 3H); 7.00 (s, 1H); 7.12-7.23 (m, 1H); 7.27 (dd, J = 8.9 e 3.0 Hz, 1H); 7.33 (d, J = 2.8 Hz, 1H); 7.49 (dd, J = 8.1 e 7.8 Hz, 1H); 7.56-7.62 (m, 1H); 7.63-7.75 (m, 1H); 7.68 (d, J = 8.9 Hz, 1H); 10.06 (s, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 55.7; 106.4; 107.7; 111.7; 117.7; 118.8; 120.1; 123.4; 124.5; 130.5; 133.0; 149.6; 155.1; 159.9; 162.2; 177.3.

EM *m/z*: 268 (M<sup>+</sup>), 237, 136 (100), 132, 108, 102, 89, 80, 63, 52.

IV (ν<sub>max</sub>, KBr): 3473, 3118, 1613, 1585, 1570, 1486, 1455, 1275, 1044, 934, 828, 782 cm<sup>-1</sup>.

#### 5.2.1.2.4 - Preparação da 3'-metoxi-6-(*p*-nitrobenzililoxi)flavona (**2**)

Em um balão de fundo redondo contendo DMF seco (0,1 mL), sob agitação, adicionou-se a flavona **11** (4,2 mg, 0,015 mmol), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,1 mg, 0,022 mmol) e o brometo de *p*-nitrobenzila (4,7 mg, 0,022 mmol). A mistura reacional foi aquecida a 50°C e mantida sob agitação por 14 horas. Após resfriar a mistura adicionou-se acetato de etila (3 mL) e lavou-se a fase orgânica com uma solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl (3 x 2 mL). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em um rotaevaporador. O produto obtido foi recristalizado com acetato de etila e hexano, obteve-se a flavona **2** (3,4 mg) com 81% de rendimento.

PF: 206-207°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.90 (s, 3H); 5.28 (s, 2H); 6.82 (s, 1H); 7.09 (ddd,  $J = 7.6, 2.7$  e  $1.4$  Hz, 1H); 7.36-7.47 (m, 3H); 7.48-7.52 (m, 1H); 7.53-7.57 (m, 1H); 7.58-7.65 (m, 1H); 7.65-7.72 (m, 2H); 8.23-8.33 (m, 2H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 69.2; 106.3; 107.2; 111.8; 117.2; 118.7; 119.9; 123.9; 124.2; 124.7; 127.8; 130.2; 133.2; 143.7; 147.8; 151.5; 155.5; 160.1; 163.3; 178.1.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 2908, 1633, 1573, 1484, 1346, 1290, 1043, 815, 734, 694  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.2.1.3 - Preparação 7-benziloxi-3'-metoxiflavona (3)

#### 5.2.1.3.1 - Preparação da 4-*tert*-butil-dimetilsilaniloxi-2-hidroxi acetofenona (13)

Idem ao procedimento utilizado na preparação de **9**. A partir da acetofenona **12** (400 mg, 2,62 mmol) foi obtido o composto **13** (689 mg) com rendimento de 99%.

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.24 (s, 6H); 0.98 (s, 9H); 2.55 (s, 3H); 6.31-6.45 (m, 2H); 7.56-7.66 (m, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : -4.4; 18.2; 26.5; 26.2; 108.1; 112.2; 114.60; 132.4; 163.0; 164.8; 202.7.

EM  $m/z$ : 266 ( $\text{M}^+$ ), 251, 209, 191, 163, 135, 105, 97, 75 (100).

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , filme): 3399, 2956, 2931, 2859, 1635, 1575, 1500, 1363, 1263, 1178, 1135, 991, 850, 784, 647  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.1.3.2 - Tentativa de preparação da flavona 3



Em um balão de fundo redondo contendo uma suspensão de *t*-BuOK (46 mg, 0,413 mmol) em THF seco (0,8 mL) a 0°C sob agitação adicionou-se uma solução da acetofenona **13** (100 mg, 0,38 mmol) em THF (0,2 mL). Agitou-se a mistura à temperatura ambiente por 30 minutos, resfriou-se a mistura a 0°C e adicionou-se o cloreto de *m*-anisoila (58 µL, 0,413 mmol). A mistura foi agitada por 1 hora a temperatura ambiente, resfriou-se o meio reacional a 0°C, adicionou-se *t*-BuOK (46 mg, 0,413 mmol) e em seguida refluxou-se a mistura por 14 horas. Acidificou-se o meio com uma solução aquosa de HCl 10 %, extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 5 mL), a fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporou-se o solvente sob vácuo. O produto bruto obtido **16** (13 mg) foi utilizado na etapa seguinte sem qualquer purificação.

Em um balão de fundo redondo contendo o composto **16** em ácido acético glacial (0,5 mL) a temperatura de 70°C, adicionou-se uma gota de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e manteve-se a agitação por 2 horas. Adicionou-se gelo picado e o produto foi extraído com acetato de etila (4 x 4 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (5 mL), o solvente foi seco com sulfato de sódio anidro e evaporado sob vácuo. Análise do material bruto mostrou que não foi obtida a flavona de interesse.

#### 5.2.1.3.3 - Preparação da 4-benziloxi-2-hidroxiacetofenona (**17**)

Em um balão de fundo redondo equipado com um condensador de refluxo contendo acetona tratada (2,0 mL), sob agitação, adicionou-se a 2,4-dihidroxiacetofenona (**12**) (100 mg, 0,65 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (100 mg, 0,72 mmol) e o brometo de benzila (86 µL mg, 0,72 mmol). A mistura reacional foi refluxada por 4 horas. Após resfriar a mistura a temperatura ambiente adicionou-se água (1 mL) e o produto foi extraído com acetato de etila (3 x 4 mL). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em um rotaevaporador. O produto obtido foi purificado por recristalização com acetato de etila e hexano. Obteve-se o composto **17** (131 mg) com 84% de rendimento.

PF: 101-102°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.55 (s, 3H); 5.09 (s, 2H); 6.45-6.57 (m, 2H); 7.30-7.47 (m, 5H); 7.58-7.70 (m, 1H); 12.72 (s, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 26.2; 70.2; 101.9; 108.1; 114.1; 127.5; 128.2; 128.7; 132.3; 135.8; 165.2; 202.5.

EM  $m/z$ : 242 ( $\text{M}^+$ ), 91 (100), 65, 51.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 1625, 1365, 1249, 1184, 1006, 838, 740, 622  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.1.3.4 - Tentativa de preparação da flavona 3 a partir a acetofenona 17

Em um balão de fundo redondo contendo uma suspensão de *t*-BuOK (25 mg, 0,227 mmol) em THF tratado (3 mL) a temperatura ambiente adicionou-se a acetofenona **17** (50 mg, 0,21 mmol). Agitou-se a mistura a 70°C durante 1 hora, adicionou-se o cloreto de *m*-anisoila (32  $\mu\text{L}$ , 0,28 mmol) e agitou-se a mistura por mais 1 hora. Adicionou-se *t*-BuOK (25 mg, 0,227 mmol), e a agitação foi mantida por 14 horas. Acidificou-se o meio com uma solução aquosa de HCl 0,1 M (3 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 X 5 mL), a fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrada sob vácuo. O produto bruto obtido (85 mg) foi utilizado na etapa seguinte sem qualquer purificação.

Em um balão de fundo redondo contendo o produto da reação acima (85 mg) em ácido acético glacial (2 mL) a temperatura de 60°C, adicionou-se uma gota de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado, e agitou-se a solução por 2 horas. Adicionou-se gelo picado e a produto foi extraído com acetato de etila (4 x 4 mL), a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (5 mL), o solvente foi seco com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e evaporado sob vácuo. O produto obtido foi analisado e não foi observada a formação da flavona **3**.

#### 5.2.1.3.5 - Preparação da 4'-benziloxi-2'-hidroxi-3-metoxichalcona (18)

Em um balão de fundo redondo contendo uma solução da acetofenona **17** (107 mg, 0,44 mmol) e o *m*-anisaldeído (56  $\mu\text{L}$ , 0,46 mmol) em 1,4-dioxano (10 mL) foi adicionada uma solução aquosa de NaOH 50% (10 mL) e a mistura foi

mantida sob agitação por 6 horas. Adicionou-se uma solução aquosa de HCl 1M (40 mL) e extraiu-se o produto obtido com acetato de etila (4 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com água (2 x 15 mL), solução saturada de NaCl (15 mL), seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi evaporado em um rotaevaporador. Após sucessivas recristalizações com acetato de etila e hexano obteve-se a chalcona **18** (113 mg) com 71% de rendimento.

PF: 131-132°C

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.86 (s, 3H); 5.11 (s, 2H); 6.52-6.62 (m, 2H); 6.97 (ddd, J = 8.0, 2.5 e 1.2 Hz, 1H); 7.13-7.19 (m, 1H); 7.20-7.28 (m, 1H); 7.29-7.36 (m, 1H); 7.37-7.48 (m, 5H); 7.55 (d, J = 15.5 Hz, 1H); 7.85 (d, J = 15 Hz, 1H); 7.78-7.93 (m, 1H); 13.39 (s, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.4; 70.2; 102.2; 108.2; 113.6; 114.3; 116.4; 120.7; 121.2; 127.5; 128.3; 128.7; 130.0; 131.3; 135.9; 136.2; 144.4; 160.0; 165.3; 166.6; 191.8.

EM *m/z*: 360 (M<sup>+</sup>), 235, 134, 91 (100), 51.

IV (*v*<sub>max</sub>, KBr): 2923, 1639, 1619, 1573, 1251, 1132, 1037, 850, 736 cm<sup>-1</sup>.

#### 5.2.1.3.6 - Preparação da 7-benziloxi-3'-metoxiflavona (**3**)

Um balão de fundo redondo contendo a chalcona **18** (50 mg, 0,139 mmol) em DMSO seco (1,7 mL) adicionou-se 1 cristal de iodo e agitou-se a mistura por 15 minutos a 190°C. Adicionou-se água (2 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 3mL). A fase orgânica foi lavada com solução de tiosulfato de sódio 0,1 M (3 mL), água (3 mL) e solução saturada de NaCl (3 mL). Em seguida o solvente foi seco com sulfato de sódio anidro e evaporado em um rotaevaporador. O produto obtido foi recristalizado com acetato de etila e hexano, fornecendo a flavona **3** (41 mg) com 82% de rendimento.

PF: 155-157°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.85 (s, 3H); 5.18 (s, 2H); 6.74 (s, 1H); 7.02-7.06 (m, 2H); 7.06-7.11 (m, 1H); 7.34-7.53 (m, 8H); 8.13 (ddd,  $J = 8.8, 1.1$  e  $1.1$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 70.5; 101.5; 107.8; 111.7; 114.9; 117.0; 118.1; 118.6; 127.1; 127.5; 128.4; 128.8; 130.1; 133.2; 135.7; 157.9; 160.0; 162.8; 163.3; 177.8.

EM  $m/z$ : 358 ( $M^+$ ), 139, 102, 91 (100), 63.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 2921, 1639, 1602, 1440, 1238, 1033, 854, 696  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.1.4 - Preparação do 6-benziloxi-2-(2-tienil)-4H-cromeno (4)

##### 5.2.1.4.1 - Preparação do 4-oxo-2-(tienil)-7-(2-tienilcarboxiloxi)-4H-cromemo (20)

A etapa de formação da dicetona foi realizada de acordo com o procedimento descrito no item 5.2.1.2.2. O material bruto obtido a partir da reação da acetofenona **13** (150 mg, 0,56 mmol) foi utilizado na etapa seguinte sem qualquer purificação.

Em um balão de fundo redondo contendo o produto da reação acima em ácido acético glacial (1 mL) a temperatura de  $60^\circ\text{C}$ , adicionou-se uma gota de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado e agitou-se a solução por 2 horas. Adicionou-se gelo picado e o produto foi extraído com acetato de etila (3 x 3mL), a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (3 mL), o solvente foi seco com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e evaporado sob vácuo. Obteve-se o composto **20** com 12% (24 mg) de rendimento a partir da acetofenona **13**.

PF: 140-142°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.70 (s, 1H); 7.16-7.25 (m, 2H); 7.29 (dd,  $J = 8.7$  e  $2.1$  Hz, 1H); 7.53 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H); 7.59 (dd,  $J = 5.0$  e  $1.2$  Hz, 1H); 7.71 (dd,  $J = 2.1$

e1.2 Hz, 1H); 7.73 (dd, J = 3.4 e 1.3 Hz, 1H); 8.03 (dd, J = 3.8 e 1.3 Hz, 1H); 8.27 (d, J = 8.7 Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 106.2 111.1; 119.4; 121.9; 127.1; 128.3; 128.5; 130.4; 131.9; 134.3; 134.8; 135.4 154.5; 156.4; 159.4; 159.7; 177.1.

EM  $m/z$ : 354 ( $M^+$ ), 215, 111 (100), 83, 69, 63.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 1731; 1650; 1603; 1413; 1379; 1258; 1236; 1149; 1129; 861; 735; 708  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.1.4.2 - Preparação do 2-acetil-5-benziloxifenil-2-tiofenecarboxilato (21)

Idem ao procedimento descrito no item 5.2.1.2.2. O material obtido foi purificado por filtração *dry-flash* utilizando uma mistura de hexano:acetato de etila (9:1) como eluente. Obteve-se o éster **21** (107 mg) com 47% de rendimento.

PF: 102-103°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.52 (s, 3H); 5.12 (s, 2H); 6.83 (d, J = 2.5 Hz, 1H); 6.94 (dd, J = 8.7 e 2.5 Hz, 1H); 7.20 (dd, J = 5.0 e 3.8 Hz, 1H); 7.30-7.50 (m, 5H); 7.70 (dd, J = 5.0 e 1.1 Hz, 1H); 7.89 (d, J = 8.7 Hz, 1H); 8.01 (dd, J = 3.8 e 1.1 Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 29.6; 70.5; 110.1; 112.8; 123.8; 127.5; 128.1; 128.3; 128.7; 132.3 132.5; 133.8; 135.1; 135.8; 151.0; 160.2; 162.8; 195.6.

EM  $m/z$ : 352 ( $M^+$ ), 227, 111 (100), 91, 65.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 1724, 1683, 1608, 1409, 1317, 1267, 1240, 1168, 1128, 1064, 833, 736  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.1.4.3 - Preparação do 6-benziloxi-2-(2-tienil)-4H-cromeno (4)

Um balão de fundo redondo contendo o composto **21** (50 mg, 0,149 mmol) em piriina (0,2 mL) adicionou-se KOH (12 mg, 0,22 mmol). Agitou-se a mistura à temperatura de 50°C por 15 minutos, resfriou-se a mistura a temperatura ambiente e adicionou-se uma solução aquosa de ácido acético 10% (0,2 mL). Adicionou-se água (1 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 3mL). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente evaporado em um rotaevaporador.

O produto obtido foi submetido, sem qualquer purificação, à reação de ciclização em meio ácido (item 3.2.1.2.3.). Obteve-se o composto **4** (2,5 mg) com 10% de rendimento a partir do éster **21**.

PF: 148-149°C

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.19 (s, 2H); 6.65 (s, 1H); 7.00-7.10 (m, 2H); 7.18 (dd, J = 5.0 e 3.7 Hz, 1H); 7.35-7.52 (m, 5H); 7.56 (dd, J = 5.0, e 1.1 Hz, 1H); 7.70 (dd, J = 3.7 e 1.1 Hz, 1H); 8.13 (dd, J = 8.6 e 0.5 Hz, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 70.6; 101.5; 106.2; 114.8; 118.1; 127.1; 127.5; 128.1; 128.4; 128.7; 129.9; 135.7; 157.5; 158.7; 163.2; 177.3.

EM *m/z*: 286, 244, 243, 216, 136, 115, 111, 108 (100), 95, 80, 63, 51.

IV (ν<sub>max</sub>, KBr): 2919; 2850; 1621; 11382; 1083; 1022; 829; 713 cm<sup>-1</sup>.

## 5.2.2 - Testes para a preparação de flavonas utilizando-se irradiação de microondas

### 5.2.2.1 - Tentativa de preparação do 2-acetil-4-metoxi-1-fenilcarboniloxibenzeno (28)

A 2-hidroxi-5-metoxiacetofenona (**29**) (83 mg, 0,5 mmol) e o ácido benzóico (**30**) (61 mg, 0,5 mmol) foram macerados com a sílica gel (500 mg) e submetidos à irradiação de microondas, na potência máxima, por 3 minutos, depois

por 5 minutos e mais 10 minutos. A mistura foi analisada por CCD e foi observada apenas a presença dos materiais de partida.

#### 5.2.2.2 - Preparação do 2-acetil-3-metoxi-1-(2-nitrofenilcarboniloxi)benzeno (34)

A suspensão da 2-hidroxi-6-metoxiacetofenona (**32**) (166 mg, 1,0 mmol), cloreto de 2-nitrobenzoíla (**33**) (185 mg, 1,0 mmol) e NaOH (40 mg, 1 mmol) em bromobenzeno (1 mL) foi submetida à irradiação de microondas, na potência máxima, por 3 minutos e depois por mais duas vezes de 3 minutos cada. A mistura foi acidificada com uma solução aquosa de HCl 10% e extraída com acetato de etila (3 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada em um rotaevaporador. O produto obtido foi purificado por coluna cromatográfica flash utilizando-se uma mistura de hexano:acetato de etila (9:1) como eluente. O éster **41** (121 mg) foi obtido com rendimento de 38%.

PF: 109-110°C

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.54 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 6.90 (dd, J = 8.3 e 0.8 Hz, 1H); 6.98 (dd, J = 8.3 e 0.8 Hz, 1H); 7.45 (t, J = 8.3 Hz, 1H); 7.63-7.73 (m, 1H); 7.73-7.82 (m, 1H); 7.86-7.93 (m, 1H); 8.03-8.12 (m, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 31.8; 56.0; 109.4; 114.9; 123.9; 124.0; 127.5; 129.9; 131.5; 131.8; 133.6; 147.3; 157.8; 163.9; 200.2.

EM *m/z*: 315 (M<sup>+</sup>), 150 (100), 104, 76, 51.

IV (ν<sub>max</sub>, KBr): 1751, 1695, 1606, 1535, 1471, 1349, 1278, 1222, 1081, 734 cm<sup>-1</sup>.

#### 5.2.2.3 - Preparação do 4-oxo-2-(tienil)-7-(2-tienilcarboxiloxi)-4H-cromemo (20)

A dicetona **35** (10 mg, 0,027 mmol) foi macerada com argila Clay K10 (20 mg) e submetida à irradiação microondas, na potência máxima, por 5 minutos. O produto obtido foi purificado em coluna cromatográfica utilizando-se uma mistura de

hexano:acetato de etila (6:4) como eluente. O composto **44** (7 mg) foi obtido com 73% de rendimento.

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.70 (s, 1H); 7.16-7.25 (m, 2H); 7.29 (dd,  $J = 8.7$  e 2.1 Hz, 1H); 7.53 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H); 7.59 (dd,  $J = 5.0$  e 1.2 Hz, 1H); 7.71 (dd,  $J = 2.1$  e 1.2 Hz, 1H); 7.73 (dd,  $J = 3.4$  e 1.3 Hz, 1H); 8.03 (dd,  $J = 3.8$  e 1.3 Hz, 1H); 8.27 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H).

EM  $m/z$ : 354 ( $\text{M}^+$ ), 215, 111 (100), 83, 69, 63.

### 5.2.3 - Preparação de flavonas via condensação de Claisen-Schmidt

#### 5.2.3.1 - Preparação das chalconas 36{X,X}

Em um balão de fundo redondo contendo uma solução da acetofenona com o benzaldeído em metanol, foi adicionada uma solução aquosa de KOH 50% (TABELA 5.1). A mistura foi aquecida a 70°C e as reações foram acompanhadas por CCD utilizando-se uma mistura de hexano:acetato de etila (9:1) como solvente. Ao término da reação resfriou-se a mistura a temperatura ambiente e adicionou-se água (3 mL), acidificou-se o meio com uma solução aquosa de HCl 10%. Evaporou-se o metanol e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 4 mL). Secou-se a fase orgânica com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente foi evaporado em um rotaevaporador. Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia em camada delgada preparativa ou por coluna cromatográfica.



TABELA 5.1 - Quantidades dos reagentes utilizados na preparação das chalconas **36**{X,X}

<b>Acetofenona</b> (mg / mmol)	<b>Benzaldeído</b> (mg / mmol)	<b>KOH 50%</b> (mL)	<b>MeOH</b> (mL)	<b>Produtos</b> (mg)	<b>Rendimento</b> (%)
<b>37</b> {1} 100 / 0,60	<b>38</b> {1} 150 / 0,90	0,90	4,2	<b>36</b> {1,1} 60	32
<b>37</b> {2} 70 / 0,32	<b>38</b> {1} 70 / 0,42	0,42	2,1	<b>36</b> {2,1} 81	70
<b>37</b> {3} 70 / 0,45	<b>38</b> {1} 98 / 0,59	0,59	3,2	<b>36</b> {3,1} 82	60
<b>37</b> {4} 100 / 0,65	<b>38</b> {2} 133 / 0,84	0,84	4,5	<b>36</b> {4,2} e <b>39</b>	14 e 50
<b>37</b> {5} 100 / 0,66	<b>38</b> {1} 120 / 0,72	0,72	4,5	<b>36</b> {5,1}	PNO*
<b>37</b> {6} 183 / 0,69	<b>38</b> {3} 134 / 0,89	0,89	4,5	<b>36</b> {6,3}	PNO
<b>37</b> {7} 55 / 0,21	<b>38</b> {3} 40 / 0,27	0,27	0,5	<b>36</b> {7,3}	PNO

\* PNO: produto não obtido

**5.2.3.1.1 - Dados espectroscópicos 2'-hidroxi-4',2,4-trimetoxichalcona (**36**{1,1})**

PF: 153-155°C

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.84 (s, 3H); 3.85 (s, 3H); 3.91 (m, 3H); 6.42-6.50 (m, 3H); 6.53 (dd, J = 8.5 e 2.3 Hz, 1H); 7.56 (d, J = 8.5 Hz, 1H); 7.60 (d, J = 15.5 Hz, 1H); 7.75-7.89 (m, 1H); 8.12 (d, J = 15.5 Hz, 1H); 13.69 (s, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.5; 55.7; 98.5; 101.0; 105.4; 107.4; 114.4; 117.1; 118.4; 131.1; 140.2; 160.5; 163.2; 165.8; 166.5; 192.5.

EM *m/z*: 314 (M<sup>+</sup>), 299, 283, 257, 240, 211, 191, 177, 164, 151 (100), 149, 121, 108, 91, 77, 51.

IV ( $\nu_{\max}$ , KBr): 2935, 1627, 1608, 1558, 1506, 1216, 1153, 1020, 835  $\text{cm}^{-1}$ .

**5.2.3.1.2 - Dados espectroscópicos da 5'-bromo-2'-hidroxi-2,4-dimetoxichalcona (36{2,1})**

PF: 116-118°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.87 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 6.48 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H); 6.56 (dd,  $J = 8.8$  e 2.4 Hz, 1H); 6.91 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H); 7.53 (dd,  $J = 8.8$  e 2.4 Hz, 1H); 7.57 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H); 7.61 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H); 7.99 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H); 8.19 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H); 13.0 (s, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.7; 98.5; 105.8; 110.2; 116.7; 117.3; 120.5; 121.6; 131.6; 131.8; 138.3; 142.3; 160.9; 162.4; 163.8; 193.2.

EM  $m/z$ : 364 ( $M^+ + 1$ ), 362 ( $M^+ - 1$ ), 333, 331, 225, 201, 199, 164, 149 (100), 138, 121, 105, 91, 77, 63, 51.

IV ( $\nu_{\max}$ , KBr): 2925, 1616, 1558, 1506, 1419, 1267, 1162, 1027, 819  $\text{cm}^{-1}$ .

**5.2.3.1.3 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-2,4-dimetoxichalcona 36{3,1}**

PF: 106-107°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.87 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 6.48 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 6.55 (dd,  $J = 8.5$  e 2.2 Hz, 1H); 6.97 (dd,  $J = 9.0$  e 4.8 Hz, 1H); 7.14-7.32 (m, 1H); 7.52-7.67 (m, 3H); 8.18 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H); 12.81 (s, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.6; 98.5; 105.7; 114.5 (d,  $J = 23.1$  Hz); 116.7; 117.5; 119.6 (d,  $J = 7.0$  Hz); 119.9 (d,  $J = 6.2$  Hz); 123.2 (d,  $J = 23.5$  Hz); 131.8; 142.2; 154.8 (d,  $J = 237.5$  Hz); 159.6 (d,  $J = 1.6$  Hz); 160.9; 163.7; 193 (d,  $J = 2.8$  Hz).

EM  $m/z$ : 302 ( $M^+$ ), 287, 271, 245, 199, 164, 149 (100), 147, 133, 121, 110, 83, 77, 57, 51.

IV ( $\nu_{\max}$ , KBr): 2952, 2917, 2848, 1635, 1558, 1506, 1471, 1457, 1290, 1180, 1024, 823, 808  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.3.1.4 - Dados espectroscópicos da 2-cloro, 4',6-difluoro-2'-hidroxichalcona 36{4,2}

PF: 126-128°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.55-6.82 (m, 2H); 7.01-7.18 (m, 1H); 7.20-7.42 (m, 2H); 7.75-7.97 (m, 2H); 8.12 (d,  $J = 15.8$  Hz, 1H); 13.08 (d,  $J = 1.4$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 105.1(d,  $J = 23.4$  Hz); 107.3 (d,  $J = 22.6$  Hz); 114.9 (d,  $J = 23.4$  Hz); 117.0 (d,  $J = 2.0$  Hz); 121.8 (d,  $J = 13.6$  Hz); 126.2 (d,  $J = 3.7$  Hz); 126.6 (d,  $J = 14.4$  Hz); 131.2 (d,  $J = 10.6$  Hz); 132.2 (d,  $J = 11.9$  Hz); 135.3 (d,  $J = 2.0$  Hz); 136.8 (d,  $J = 5.3$  Hz); 162.2 (d,  $J = 254.8$  Hz); 165.6 (d,  $J = 54.0$  Hz); 168.2 (d,  $J = 187.2$  Hz); 192.7.

EM  $m/z$ : 296 ( $M^{+2}$ ), 294 ( $M^+$ ), 277, 259, 201, 183, 165, 139, 120, 110, 99, 83, 57 (100).

IV ( $\nu_{\max}$ , KBr): 1652, 1602, 1506, 1457, 1419, 1353, 1270, 1214, 921, 850, 775  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.3.1.5 - Dados espectroscópicos da 2-cloro-4'-fluoro-2'-hidroxi-6-metoxichalcona (39)

PF: 133-135°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.98 (s, 3H); 6.57-6.78 (m, 2H); 6.90 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H); 7.10 (dd,  $J = 8.1$  e 1.2 Hz, 1H); 7.28 (t,  $J = 8.1$ , 1H); 7.88 (dd,  $J = 8.8$  e 6.4 Hz, 1H); 8.03 (d,  $J = 15.8$  Hz, 1H); 8.26 (d,  $J = 15.8$  Hz, 1H); 13.26 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 56.0; 105.0 (d,  $J = 23.4$  Hz); 107.0 (d,  $J = 22.5$  Hz); 109.7; 117,2 (d,  $J = 2.0$  Hz); 121.8; 122.6; 125.4; 131.1; 132.1 (d,  $J = 11.5$  Hz); 137.1; 137.8; 160.2; 166.1; 167,3 (d,  $J = 254.8$  Hz); 193,6.

EM  $m/z$ : 308 ( $\text{M}^+ + 2$ ), 306 ( $\text{M}^+$ ), 271, 256, 199, 165, 139, 125, 111, 103, 89, 83 (100), 63, 57.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 1635, 1598, 1560, 1469, 1351, 1268, 1205, 1043, 836  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.2.3.2 - Preparação das flavonas 40{X,X} e 41

A um balão de fundo redondo contendo as chalconas **36**{X,X} e **39** em DMSO seco adicionou-se iodo (TABELA 5.2) e agitou-se a mistura por 20 minutos a 190°C. Resfriou-se a mistura a temperatura ambiente, adicionou-se água (4 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 4 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de tiosulfato de sódio 0,1 M (6 mL), água (6 mL) e solução saturada de NaCl (6 mL). Em seguida o solvente foi seco com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e evaporado em um rotaevaporador. Os produtos obtidos foram purificados por recristalizações sucessivas com acetato de etila e hexano como solvente.

TABELA 5.2 - Quantidades dos reagentes utilizados na preparação das flavonas **40{X,X}**

<b>Chalcona</b> (mg / mmol)	<b>I<sub>2</sub></b> (mg)	<b>DMSO</b> (mL)	<b>Produto</b> (mg)	<b>Rendimento</b> (%)
<b>36{1,1}</b> 30 / 0,09	1,0	1,3	<b>40{1,1}</b> 24	80
<b>36{2,1}</b> 60 / 0,16	2,8	2,0	<b>40{2,1}</b> 43	75
<b>36{3,1}</b> 60 / 0,20	3,3	3,3	<b>40{3,1}</b> 42	70
<b>36{4,2}</b> 22 / 0,08	1,0	1,0	<b>40{4,2}</b> 11	50
<b>39</b> 15 / 0,05	1,0	0,7	<b>41</b> 9	62

**5.2.3.2.1 - Preparação da 7,2',4'-trimetoxiflavona (40{1,1})**

PF: 133-134°C

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.88 (s, 3H); 3.91 (s, 6H); 6.55 (d, J = 2.3 Hz, 1H); 6.62 (dd, J = 8.7 e 2.3 Hz, 1H); 6.90 (dd, J = 2.4 e 0.4 Hz, 1H); 6.95 (dd, J = 8.7 e 2.4 Hz, 1H); 7.06 (s, 1H); 7.86 (d, J = 8.7 Hz, 1H); 8.12 (dd, J = 8.7 e 0.4 Hz, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.5; 55.6; 55.7; 98.9; 100.3; 105.2; 111.2; 113.7; 113.9; 117.7; 126.9; 130.3; 158.1; 159.5; 160.4; 163.1; 163.9; 178.4.

EM *m/z*: 312 (M<sup>+</sup>), 162, 151 (100), 142, 119, 91, 65.IV (ν<sub>max</sub>, KBr): 2923, 1623, 1440, 1263, 1162, 1027, 833 cm<sup>-1</sup>.**5.2.3.2.2 - Dados espectroscópicos da 6-bromo-2',4'-dimetoxiflavona (40{2,1})**

PF: 185-188°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.89 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 6.54 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H); 6.62 (dd,  $J = 8.8$  e 2.4 Hz, 1H); 7.15 (s, 1H); 7.39 (dd,  $J = 8.8$  e 0.4 Hz, 1H); 7.72 (dd,  $J = 8.8$  e 2.4 Hz, 1H); 7.86 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H); 8.23 (dd,  $J = 2.4$  e 0.4 Hz, 1H);.

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.7; 98.9; 105.4; 111.2; 113.1; 118.1; 119.8; 125.1; 128.2; 130.4; 136.2; 155.1; 159.8; 161.0; 163.5; 177.4.

EM  $m/z$ : 362 ( $\text{M}^+ +1$ ), 360 ( $\text{M}^+ -1$ ), 201, 199, 162, 147, 119, 91, 63 (100).

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 1623, 1562, 1475, 1353, 1299, 1268, 1143, 1052, 846, 792  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.3.2.3 - Dados espectroscópicos da 6-fluor-2',4'-dimetoxiflavona (40{3,1})

PF: 162-164°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.89 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 6.55 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H); 6.63 (dd,  $J = 8.8$  e 2.4 Hz, 1H); 7.13 (d,  $J = 0.5$  Hz, 1H); 7.37 (ddd,  $J = 9.1$ , 7.6 e 3.1 Hz, 1H); 7.51 (ddd,  $J = 9.1$ , 4.3 e 0.5 Hz, 1H); 7.85 (ddd,  $J = 8.3$ , 3.1 e 0.5 Hz, 1H); 7.87 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.6; 98.9; 105.4; 110.4 (d,  $J = 23.4$  Hz); 110.5; 113.3; 119.8 (d,  $J = 7.8$  Hz); 121.3 (d,  $J = 25.4$  Hz); 124.9 (d,  $J = 7.4$  Hz); 130.7; 152.5 (d,  $J = 2.0$  Hz); 159.3 (d,  $J = 244.2$  Hz); 159.7; 161.1; 163.4; 178.0 (d,  $J = 2.0$  Hz).

EM  $m/z$ : 300 ( $\text{M}^+$ ), 269, 214, 161, 139 (100), 119, 91, 65.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 1627, 1606, 1558, 1436, 1353, 1274, 1255, 1216, 1020, 811  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.3.2.4 - Dados espectroscópicos da 2'-cloro-7,6'-difluoroflavona (40{4,2})

PF: 167-168°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.50 (s, 1H); 7.00-7.25 (m, 3H); 7.29-7.55 (m, 2H); 8.20-8.35 (m, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 104.9 (d, J = 25.2 Hz); 114.5 (d, J = 46.2 Hz); 114.9 (d, J = 42.6 Hz); 115.0 (d, J = 42.6 Hz); 120.7 (d, J = 2.8 Hz); 120,9 (d, J = 13.5 Hz); 122.2; 125.9 (d, J = 3.5 Hz); 128.3 (d, J = 10.6 Hz); 132.5 (d, J = 9.4 Hz); 134.5 (d, J = 3.0 Hz); 157.5 (d, J = 9.4 Hz); 160.4 (d, J = 253.3 Hz); 165.8 (d, J = 253.9 Hz); 176.8.

EM  $m/z$ : 294 ( $\text{M}^+ + 2$ ), 292 ( $\text{M}^+$ ), 266, 264, 201, 181, 154, 138, 110 (100), 100, 82, 63, 57.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 2925, 2854, 1660, 1625, 1446, 1371, 1257, 1147, 1033, 854, 788  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.2.3.2.5 - Dados espectroscópicos da 2'-cloro-7'-fluoro-6'-metoxiflavona (41)

PF: 167-169°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.82 (s, 3H); 6.40 (s, 1H); 6.93 (dd, J = 8.4 e 0.8 Hz, 1H); 7.07-7.22 (m, 3H); 7.41 (t, J = 8.4, 1H); 8.22-8.34 (m, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.2; 104.9 (d, J = 25.1 Hz); 109.6; 113.8 (d, J = 22.6 Hz); 115.0; 120,9 (d, J = 1.8 Hz); 121.5; 121.9; 128.2 (d, J = 10.5 Hz); 132.1; 134.6; 158.0 (d, J = 13.4 Hz); 158.5; 160.4; 165.6 (d, J = 253.0 Hz); 177.2.

EM  $m/z$ : 306 ( $\text{M}^+ + 2$ ), 304 ( $\text{M}^+$ ), 269, 254, 165, 165, 139 (100), 110, 82.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 2925, 2836, 1623, 1562, 1506, 1475, 1353, 1299, 1268, 1143, 1052, 1027, 896, 846, 792  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.3 - Preparação da coleção combinatória utilizando-se uma resina *scavenger*

### 5.3.1 - Testes iniciais para a otimização das condições reacionais

#### 5.3.1.1 - 1º teste - Preparação da flavona **40{1,1}** utilizando-se 3 equivalentes da resina **42**

Em um tubo de ensaio contendo uma mistura da acetofenona **37{1}** (16,7 mg, 0,1 mmol) com o benzaldeído **38{1}** (33 mg, 0,2 mmol) em metanol (0,6 mL), foi adicionada uma solução aquosa de KOH 50% (0,2 mL). A mistura foi aquecida a 70°C e mantida sob agitação magnética por 3 horas. Resfriou-se a solução a temperatura ambiente e adicionou-se água (1 mL). Evaporou-se o metanol e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 1 mL). Secou-se a fase orgânica com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi evaporado.

O material obtido foi dissolvido em DMF tratado (0,5 ml) e transferido para um tubo de ensaio, em seguida adicionou-se a resina **42** (150 mg, 0,3 mmol) e manteve-se a mistura sob agitação magnética por 1 hora e quarenta minutos a temperatura ambiente. A mistura foi filtrada e a resina foi lavada com diclorometano (2 mL) e acetato de etila (2 mL). Os solventes foram reunidos e lavados com uma solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl (1 mL). O solvente foi seco com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporado em um rotaevaporador.

O produto bruto obtido foi transferido para um tubo de ensaio, adicionou-se DMSO tratado (1,2 mL) e iodo (1,7 mg). A mistura reacional foi mantida sob agitação constante por 30 minutos a 190°C. Resfriou-se a mistura a temperatura ambiente, adicionou-se água (1 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 2 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de tiosulfato de sódio (2 mL), seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporada em um rotaevaporador. O produto obtido foi pré-purificado por filtração em sílica, obteve-se a flavona **37{1,1}** (17 mg) com bom grau de pureza e rendimento global de 35%.

#### 5.3.1.2 - 2º teste – Preparação da flavona **40{3,1}** utilizando-se 2 equivalentes da resina **42**

A preparação da flavona **40{3,1}** foi realizada conforme o procedimento apresentado no item **5.3.1.1**, a partir da reação de condensação da acetofenona **37{3}** (7,7 mg, 0,05 mmol) com o benzaldeído **38{1}** (16,6 mg, 0,1 mmol) seguido da reação de captura do excesso de aldeído com a resina **42** (50 mg, 0,1 mmol) e



ciclização oxidativa. Após pré-purificação por filtração em sílica, obteve-se a flavona **40{3,1}** (6 mg) com bom grau de pureza e rendimento global de 40%.

### **5.3.1.3 - 3º teste – Preparação da flavona **40{1,1}** realizando-se apenas uma extração líquido-líquido**

Em um tubo de ensaio contendo uma mistura da acetofenona **37{1}** (8,4 mg, 0,05 mmol) com o benzaldeído **38{1}** (16,6 mg, 0,1 mmol) em metanol (0,3 mL), foi adicionada uma solução aquosa de KOH 50% (0,1 mL) e a mistura foi aquecida a 70°C e mantida sob agitação magnética por 3 horas. Resfriou-se a solução a temperatura ambiente e adicionou-se uma solução aquosa de HCl 10% (0,5 mL), e em seguida evaporou-se todo o solvente em um *speed-vacuum* a temperatura ambiente. O material obtido foi filtrado, lavado com acetato de etila (2 mL) e solvente foi concentrado novamente.

Ao material obtido foi adicionado DMF tratado (0,2 mL) e a resina **42** (50 mg, 0,1 mmol). Manteve-se a mistura sob agitação magnética por 1 hora e quarenta minutos a temperatura ambiente, em seguida a mistura foi filtrada, a resina lavada com diclorometano (2 mL) e com acetato de etila (2 mL). Os solventes foram reunidos e evaporados em um *speed-vacuum*.

O produto obtido foi dissolvido em uma solução de iodo em DMSO 1 mg/mL (0,6 mL) e a mistura reacional foi mantida sob agitação constante por 20 minutos a 190°C. Resfriou-se a mistura a temperatura ambiente, adicionou-se água (1 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 2 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de tiosulfato de sódio (2 mL) e seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Evaporou-se o solvente em um *speed-vacuum* e o produto obtido foi pré-purificado por filtração em sílica. Obteve-se a flavona **40{1,1}** (3,8 mg) com bom grau de pureza e rendimento global de 25%.

## **5.3.2 - Preparação dos blocos construtores da coleção combinatória**

### **5.3.2.1 - Preparação do 3-(metoximetoxi)-2-naftaldeído (**45{1}**)**

Em um balão de fundo redondo contendo uma solução do 2-hidroxinaftaldeído (**46**) (1,03 g, 6 mmol) em acetona tratada (10 mL) a temperatura ambiente, foi adicionado o cloreto de metoximetil éter (500  $\mu$ L, 6,6 mmol),  $K_2CO_3$  (1,24 g, 9,0 mmol) e a mistura reacional foi mantida sob agitação constante por 16 h. Adicionou-se água (10 mL) e o produto foi extraído com acetato de etila (4 x 10 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaCl (10 mL), seca com  $Na_2SO_4$  anidro e concentrada em um rotaevaporador. O produto obtido foi purificado em coluna cromatográfica *flash* utilizando-se uma mistura de hexano:acetato de etila (9:1) como eluente. Obteve-se o aldeído **45{1}** (530 mg) com 41% de rendimento.

PF: 46-48°C

RMN  $^1H$  (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 3.52 (s, 3H); 5.34 (s, 2H); 7.35-7.47 (m, 2H); 7.60 (ddd,  $J = 8.6, 6.9$  e  $1.4$  Hz, 1H); 7.74 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H); 7.97 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H); 9.26 (dd,  $J = 8.6$  e  $0.6$  Hz, 1H); 10.91 (s, 1H).

RMN  $^{13}C$  (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 56.5; 95.0; 115.2; 117.6; 124.9; 125.0; 128.1; 129.1; 129.6; 131.3; 137.1; 161.7; 191.8.

EM  $m/z$ : 216 ( $M^+$ ), 185, 170, 156, 128, 115, 89, 63, 45 (100).

IV ( $\nu_{max}$ , KBr): 2360, 2337, 1648, 1506, 1456, 1257, 1157, 1070, 919, 794  $cm^{-1}$ .

### 5.3.2.2 - Preparação do 2,3,4-tris(metoximetoxi)benzaldeído (**45{2}**)

Procedimento idem ao item **5.3.2.1**, a partir da reação do 2,3,4-triidroxibenzaldeído (**47**) (310 mg, 2,01 mmol) com o cloreto de metoximetil éter (486  $\mu$ L, 6,4 mmol) em presença de  $Cs_2CO_3$  (2,6 g, 8,0 mmol) foi obtido o composto **30{2}** (170 mg) com 30% de rendimento após purificação em coluna cromatográfica *flash* utilizando-se uma mistura de hexano:acetato de etila (8:2) como eluente

RMN  $^1H$  (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 3.51 (s, 3H); 3.58 (s, 3H); 3.62 (s, 3H); 5.16 (s, 2H); 5.27 (s, 2H); 5.28 (s, 2H); 7.04 (dd,  $J = 8.8$  e  $0.6$  Hz, 1H); 7.62 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H); 10.29 (d,  $J = 0.6$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 56.5; 57.4; 58.0; 94.8; 98.8; 100.3; 111.4; 124.5; 125.0; 139.0; 154.2; 156.6; 189.0.

EM  $m/z$ : 241, 210, 179, 165 (100), 150, 137, 95, 75, 51.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 2921, 2852, 1652, 1506, 1456, 1257, 1157, 1070, 1004, 919  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.3.2.3 - Preparação da 1-(3-hidroxi-2-naftil)etanona (**44{2}**)

Em um balão de fundo redondo contendo uma suspensão do aldeído **45{1}** (200 mg, 0,925 mmol) em THF seco (2 mL), a temperatura de  $0^\circ\text{C}$  sob agitação constante, adicionou-se lentamente uma solução de brometo de metil magnésio 3,0 M (370  $\mu\text{L}$ , 1,1 mmol) e manteve-se a agitação por 15 minutos. Retirou-se o banho de gelo e manteve-se a mistura sob agitação a temperatura ambiente por 4 horas. Em seguida adicionou-se água (2 mL), uma solução de aquosa de HCl 10% (2 mL) e o produto foi extraído com acetato de etila (4 x 4 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaCl (5 mL), seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrada em um rotaevaporador. O produto bruto obtido foi utilizado na etapa seguinte de oxidação com PCC.

Em um balão de fundo redondo contendo uma solução da mistura obtida na reação anterior em diclorometano tratado (9 mL), sob atmosfera de  $\text{N}_2$  a temperatura ambiente, foi adicionado peneira molecular 4 Å (1,5 g) e PCC (1,1 g, 5,1 mmol). A mistura foi mantida sob agitação por 2 horas, adicionou-se éter etílico (10 mL) e filtrou-se o precipitado em celite e sílica. O produto obtido foi utilizado na etapa seguinte de desproteção.

Em um balão de fundo redondo contendo uma solução do produto bruto, obtido na etapa anterior, em diclorometano tratado (4,2 mL), à temperatura de  $-30^\circ\text{C}$  foi adicionado TMSBr (280  $\mu\text{L}$ , 2,1 mmol). Manteve-se a agitação durante 30 minutos, deixou-se a temperatura da mistura aumentar à temperatura ambiente e agitou-se a solução por mais 1 hora. O produto obtido foi purificado em coluna cromatográfica *flash* utilizando-se uma mistura de hexano:acetato de etila (9:1) como eluente. Obteve-se o composto **44{2}** (70 mg) com rendimento global de 40%.

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.86 (s, 3H); 7.14 (d, J = 9.0, 1H); 7.32-7.47 (m, 1H); 7.57 (ddd, J = 8.6, 7.0 e 1.5 Hz, 1H); 7.78 (dd, J = 8.1 e 1.1, 1H); 7.88 (d, J = 9.0 Hz, 1H); 8.09 (d, J = 8.6, 1H); 13.4 (s, 1H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 32.5; 119.9; 123.7; 124.3; 128.1; 128.6; 129.5; 137.4; 164.0; 204.5;

EM  $m/z$ : 186 ( $\text{M}^+$ ), 171, 143, 115, 89, 63.

### 5.3.3 - Preparação da coleção combinatória de flavonas

A coleção combinatória foi preparada em tubos de ensaio a partir da reação das acetofenonas **44**{1-3} com os benzaldeídos **45**{1-6} (TABELA 5.3) em metanol (0,5 mL). Adicionou-se uma solução aquosa de KOH 50% (0,1 mL), em seguida aqueceu-se a mistura a 70°C e esta foi mantida sob agitação por 3 horas. Resfriou-se a solução a temperatura ambiente, adicionou-se uma solução de HCl 10% (0,5 mL), e em seguida evaporou-se todo o solvente em um *speed-vacuum* a temperatura ambiente. O material obtido foi filtrado, lavado com acetato de etila (2 mL) e concentrado novamente.

Ao material obtido foi adicionado DMF tratado (0,2 ml), a resina **42** (50 mg, 0,1 mmol) e manteve-se a mistura sob agitação magnética por 1 hora e quarenta minutos a temperatura ambiente. A mistura foi filtrada, a resina lavada com diclorometano (2 mL) e em seguida com acetato de etila (2 mL). Os solventes foram evaporados em um *speed-vacuum*.

O produto obtido foi dissolvido em uma solução de iodo em DMSO 1 mg/mL (0,6 mL) e a mistura reacional foi mantida sob agitação constante por 30 minutos a 190°C. Resfriou-se a mistura a temperatura ambiente, adicionou-se água (1 mL) e extraiu-se o produto com acetato de etila (3 x 2 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de tiosulfato de sódio (2 mL) e seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Evaporou-se o solvente em um *speed-vacuum* e os produtos obtidos foram pré-purificados por filtração em sílica utilizando acetato de etila como solvente. Os produtos e as quantidades obtidas de cada flavona estão apresentados na TABELA 5.3.

TABELA 5.3 - Quantidades dos reagentes utilizados na preparação da coleção combinatória das flavonas **48**{1-3,1-6}

<b>Acetofenona</b> (mg / mmol)	<b>Benzaldeído</b> (mg / mmol)	<b>Produto</b> (mg)	<b>Rendimento</b> (%)
<b>44</b> {1} 12,1 / 0,05	<b>45</b> {1} 21,6 / 0,10	<b>48</b> {1,1} 7.2	33
<b>44</b> {1} 12,1 / 0,05	<b>45</b> {2} 28,0/ 0,10	<b>48</b> {1,2} 2.0	8
<b>44</b> {1} 12,1 / 0,05	<b>45</b> {3} 15,0 / 0,10	<b>48</b> {1,3} 1.0	8
<b>44</b> {1} 12,1 / 0,05	<b>45</b> {4} 9,6 / 0,10	<b>48</b> {1,4} -	0
<b>44</b> {1} 12,1 / 0,05	<b>45</b> {5} 15,0 / 0,10	<b>48</b> {1,5} 7.3	39
<b>44</b> {1} 12,1 / 0,05	<b>45</b> {6} 14,9 / 0,10	<b>48</b> {1,6} 4.4	24
<b>44</b> {2} 9,3 / 0,05	<b>45</b> {1} 21,6 / 0,10	<b>48</b> {2,1} 11	57
<b>44</b> {2} 9,3 / 0,05	<b>45</b> {2} 28,0/ 0,10	<b>48</b> {2,2} -	0
<b>44</b> {2} 9,3 / 0,05	<b>45</b> {3} 15,0 / 0,10	<b>48</b> {2,3} -	0
<b>44</b> {2} 9,3 / 0,05	<b>45</b> {4} 9,6 / 0,10	<b>48</b> {2,4} 2.0	15
<b>44</b> {2} 9,3 / 0,05	<b>45</b> {5} 15,0 / 0,10	<b>48</b> {2,5} 8.4	53
<b>44</b> {2} 9,3 / 0,05	<b>45</b> {6} 14,9 / 0,10	<b>48</b> {2,6} 9.4	60
<b>44</b> {3} 8,3 / 0,05	<b>45</b> {1} 21,6 / 0,10	<b>48</b> {3,1} 10.2	56
<b>44</b> {3} 8,3 / 0,05	<b>45</b> {2} 28,0 / 0,10	<b>48</b> {3,2} 2.0	9

<b>44</b> {3}	<b>45</b> {3}	<b>48</b> {3,3}	0
8,3 / 0,05	15,0 / 0,10	-	
<b>44</b> {3}	<b>45</b> {4}	<b>48</b> {3,4}	0
8,3 / 0,05	9,6 / 0,10	-	
<b>44</b> {3}	<b>45</b> {5}	<b>48</b> {3,5}	34
8,3 / 0,05	15,0 / 0,10	5.0	
<b>44</b> {3}	<b>45</b> {6}	<b>48</b> {3,6}	20
8,3 / 0,05	14,9 / 0,10	3.0	

As flavonas **48**{1-3,1-2} foram divididas em duas partes iguais e uma parte do material foi utilizado na reação de desproteção do grupo MOM em diclorometano tratado (0,5 ml) a temperatura de  $-30^{\circ}\text{C}$  na presença de TMSCl (50  $\mu\text{L}$ , 0,37 mmol) por 30 minutos para a formação dos compostos **48**{1-3,7-8}. Após a análise por espectrometria de massas dos produtos obtidos foi verificado que não houve a formação dos compostos de interesse.

### 5.3.4 - Preparação da coleção combinatória de chalconas e flavonas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina *scavenger*

#### 5.3.4.1 - Testes iniciais utilizando o sintetizador

Em um frasco reacional contendo uma solução da acetofenona **49**{X} com o benzaldeído **50**{X} (TABELA 5.4) em metanol (2 mL), adicionou-se uma solução aquosa de KOH 50% (0,1 mL), aqueceu-se a mistura a  $75^{\circ}\text{C}$  e esta foi mantida sob agitação por 5 horas. Resfriou-se a solução a temperatura ambiente, adicionou-se uma solução aquosa de HCl 10% (0,5 mL), e em seguida evaporou-se todo o solvente no próprio equipamento. O material obtido foi lavado com acetato de etila (3 mL) e os compostos foram transferidos para outros frascos reacionais com o auxílio de um sistema de filtração, repetiu-se essa operação mais 3 vezes. Em seguida evaporou-se o solvente.

Ao material obtido foi adicionado DMF tratado (1 mL), a resina **42** (50 mg, 0,1 mmol) e manteve-se a mistura sob agitação magnética por 2 horas a

temperatura ambiente. A mistura foi filtrada, a resina lavada com diclorometano (3 x 3 mL) e o solvente evaporado.

O produto obtido foi dissolvido em uma solução de iodo em DMSO 1 mg/mL (1 mL) e a mistura reacional foi mantida sob agitação constante por 30 minutos a 150°C. Resfriou-se a mistura a temperatura ambiente, adicionou-se uma solução de tiosulfato de sódio (0,1 mL) e evaporou-se o solvente. Os produtos obtidos foram purificados por extração em fase sólida (SPE) utilizando-se sílica (500 mg) como fase estacionária e uma mistura de diclorometano-acetato de etila como eluente. Os rendimentos e as quantidades obtidas de cada flavona estão apresentados na TABELA 5.4.

TABELA 5.4 - Quantidades dos reagentes utilizados na preparação da coleção combinatória das flavonas **31**{1-3,1-6}

<b>Acetofenona</b> (mg / mmol)	<b>Benzaldeído</b> (mg / mmol)	<b>Flavona</b> (mg)	<b>Rendimento</b> (%)
<b>49</b> {1} 8,3 / 0,05	<b>50</b> {1} 14,9 / 0,10	<b>51</b> {1,1} 4,0	27
<b>49</b> {2} 12,1 / 0,05	<b>50</b> {2} 28,0 / 0,10	<b>51</b> [2,2] 12,5	68
<b>49</b> {3} 12,1 / 0,05	<b>50</b> {3} 15,0 / 0,10	<b>51</b> [3,3] 10,4	66

#### 5.3.4.1.1 - Dados espectroscópicos da 4'-dimetil-7-metoxiflavona (**51**{1,1})

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.07 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 6.65 (s, 1H); 6.71-6.82 (m, 1H); 6.91-7.02 (m, 2H); 7.75-7.88 (m, 2H); 8.08-8.18 (m, 1H).

#### 5.3.4.1.2 - Dados espectroscópicos da 5,7-dimetoxi-4'-trifluorometoxiflavona (**51**{2,2})

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.92 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 6.39 (d, J = 2.2 Hz, 1H); 6.56 (d, J = 2.2 Hz, 1H); 6.69 (s, 1H); 7.28-7.42 (m, 2H); 7.85-8.02 (m, 2H).

### 5.3.4.1.3 - Dados espectroscópicos da 4'-fenil -6-fluoroflavona (51{3,3})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.86 (s, 1H); 7.35-7.55 (m, 4H); 7.56-7.72 (m, 3H); 7.72-7.82 (m, 2H); 7.88 (dd,  $J = 8.1$  e  $3.0$  Hz, 1H); 7.95-8.03 (m, 2H).

### 5.3.4.2 - Preparação da 2-hidroxi-4,6-dimetoxiacetofenona (52{2})

Em um balão de fundo redondo equipado com um condensador de refluxo contendo acetona tratada (10,0 mL), sob agitação, adicionou-se a 2,4,6-trihidroxiacetofenona (54) (200 mg, 1,07 mmol), dimetilsulfato (200  $\mu\text{L}$ , 2,15 mmol) e  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (443 mg, 4,21 mmol). A mistura reacional foi mantida sob refluxo por 10 horas. Após resfriar a mistura a temperatura ambiente adicionou-se acetato de etila (10 mL), lavou-se a mistura com uma solução aquosa de HCl 10% (10 mL), água (2 x 10 mL) e solução saturada de NaCl (10 mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrada em um rotaevaporador. O produto obtido foi purificado por cromatografia *flash* utilizando-se uma mistura de hexano:acetato de etila (8:2) como eluente. Obteve-se a acetofenona 52{2} (162 mg) com 70% de rendimento.

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.59 (s, 3H); 3.81 (s, 3H); 3.84 (s, 3H); 5.90 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 6.04 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 14.02.

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 32.8; 55.4; 90.6; 93.4; 105.9; 162.8; 166.0; 167.5; 203.0.

### 5.3.4.3 - Preparação da coleção combinatória de chalconas e flavonas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina *scavenger*

Em frascos reacionais contendo uma solução das acetofenonas 52{1-4} com os benzaldeídos 53{1-6} (TABELA 5.5) em metanol (2,0 mL), adicionou-se uma solução aquosa de KOH 50% (150  $\mu\text{L}$ ), aqueceu-se a mistura a  $75^\circ\text{C}$  e as reações foram monitoradas por CCD. Ao final da reação resfriou-se a solução à temperatura ambiente, adicionou-se uma solução aquosa de HCl 10% (750  $\mu\text{L}$ ), e em seguida evaporou-se o solvente. O material obtido foi lavado com acetato de etila (3 mL) e os compostos de interesse foram transferidos para outros frascos reacionais com o



auxílio de um sistema de filtração, repetiu-se essa operação mais 3 vezes. Em seguida evaporou-se o solvente.

Ao material obtido foi adicionado DMF tratado (1 mL), a resina **42** (150 mg, 0,15 mmol) e manteve-se a mistura sob agitação magnética por 2 horas a temperatura ambiente. A mistura foi filtrada, a resina lavada com diclorometano (3 x 3 mL) e o solvente evaporado.

Um terço do produto obtido foi reservado e o restante do material foi utilizado na etapa seguinte.

O produto bruto foi dissolvido em uma solução de iodo em DMSO 1 mg/mL (1 mL) e a mistura reacional foi mantida sob agitação constante por 1 hora a 150°C. Resfriou-se a mistura à temperatura ambiente e adicionou-se uma solução saturada de tiosulfato de sódio (0,1 mL). Evaporou-se o solvente e os produtos obtidos foram purificados por extração em fase sólida (SPE) utilizando-se sílica (500 mg) como fase estacionária e uma mistura de diclorometano-acetato de etila como solvente.

A SPE não se mostrou eficiente para alguns compostos então eles foram purificados por cromatografia preparativa em camada delgada utilizando como eluente uma mistura de hexano:acetato de etila (8:2).

Na TABELA 5.5 são apresentados os rendimentos obtidos na preparação da coleção combinatória.

TABELA 5.5 - Quantidades dos reagentes e os rendimentos obtidos na preparação da coleção combinatória das flavonas **56**{1-4,1-6}

<b>Acetofenona</b> (mg / mmol)	<b>Benzaldeído</b> (mg / mmol)	<b>Flavona</b> (mg)	<b>Rendimento*</b> (%)
<b>52</b> {1} 18,1 / 0,075	<b>53</b> {1} 20,4 / 0,15	<b>56</b> {1,1} 12,2	68
<b>52</b> {1} 18,1 / 0,075	<b>53</b> {2} 24,9 / 0,15	<b>56</b> {1,2} 8,9	46
<b>52</b> {1} 18,1 / 0,075	<b>53</b> {3} 29,4 / 0,15	<b>56</b> {1,3} 7,9	38
<b>52</b> {1} 18,1 / 0,075	<b>53</b> {4} 28,5 / 0,15	<b>56</b> {1,4} 12,3	60
<b>52</b> {1} 18,1 / 0,075	<b>53</b> {5} 22,5 / 0,15	<b>56</b> {1,5} 7,8	42
<b>52</b> {1} 18,1 / 0,075	<b>53</b> {6} 27,3 / 0,15	<b>56</b> {1,6} 5,9	29
<b>52</b> {2} 14,7 / 0,075	<b>53</b> {1} 20,4 / 0,15	<b>56</b> {2,1} 4,7	30
<b>52</b> {2} 14,7 / 0,075	<b>53</b> {2} 24,9 / 0,15	<b>56</b> {2,2} 2,2	13
<b>52</b> {2} 14,7 / 0,075	<b>53</b> {3} 29,4 / 0,15	<b>56</b> {2,3} 4,6	25
<b>52</b> {2} 14,7 / 0,075	<b>53</b> {4} 28,5 / 0,15	<b>56</b> {2,4} 12,5	68
<b>52</b> {2} 14,7 / 0,075	<b>53</b> {5} 22,5 / 0,15	<b>56</b> {2,5} 0	35
<b>52</b> {2} 14,7 / 0,075	<b>53</b> {6} 27,3 / 0,15	<b>56</b> {2,6} 9,0	50
<b>52</b> {3} 11,6 / 0,075	<b>53</b> {1} 20,4 / 0,15	<b>56</b> {3,1} 7,1	52
<b>52</b> {3} 11,6 / 0,075	<b>53</b> {2} 24,9 / 0,15	<b>56</b> {3,2} 10,2	68
<b>52</b> {3} 11,6 / 0,075	<b>53</b> {3} 29,4 / 0,15	<b>56</b> {3,3} 4,2	25

<b>52{3}</b> 11,6 / 0,075	<b>53{4}</b> 28,5 / 0,15	<b>56{3,4}</b> 0	PNO <sup>a</sup>
<b>52{3}</b> 11,6 / 0,075	<b>53{5}</b> 22,5 / 0,15	<b>56{3,5}</b> 0	PNO
<b>52{3}</b> 11,6 / 0,075	<b>53{6}</b> 27,3 / 0,15	<b>56{3,6}</b> 10,4	66
<b>52{4}</b> 12,5 / 0,075	<b>53{1}</b> 20,4 / 0,15	<b>56{4,1}</b> 6,1	43
<b>52{4}</b> 12,5 / 0,075	<b>53{2}</b> 24,9 / 0,15	<b>56{4,2}</b> 3,8	24
<b>52{4}</b> 12,5 / 0,075	<b>53{3}</b> 29,4 / 0,15	<b>56{4,3}</b> 4,2	24
<b>52{4}</b> 12,5 / 0,075	<b>53{4}</b> 28,5 / 0,15	<b>56{4,4}</b> 5,3	31
<b>52{4}</b> 12,5 / 0,075	<b>53{5}</b> 22,5 / 0,15	<b>56{4,5}</b> 0	PNO
<b>52{4}</b> 12,5 / 0,075	<b>53{6}</b> 27,3 / 0,15	<b>56{4,6}</b> 5,5	33

\* rendimento global, a chalcona que foi reservada não entrou no cálculo do rendimento

#### 5.3.4.3.1 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-4'-metoxiflavona (56{1,1})

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.88 (s, 3H); 5.18 (s, 2H); 6.69 (s, 1H); 6.96-7.10 (m, 4H); 7.32-7.55 (m, 5H); 7.77-7.92 (m, 2H); 8.10-8.18 (m, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 55.5; 70.5; 101.5; 106.1; 114.4; 114.7; 117.9; 124.1; 127.1; 127.4; 127.8; 128.3; 128.7; 135.8; 157.8; 162.3; 163.1; 163.2; 177.8.

#### 5.3.4.3.2 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-2',4'-dimetoxiflavona (56{1,2})

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.89 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 5.17 (s, 2H); 6.56 (d, J = 2.3 Hz, 1H); 6.62 (dd, J = 8.7 e 2.3 Hz, 1H); 6.99 (d, J = 2.3 Hz, 1H); 7.04 (dd, J = 8.7 e

2.3 Hz, 1H); 7.05 (s, 1H); 7.33-7.54 (m, 5H); 7.84 (d, J = 8.7 Hz, 1H); 8.14 (d, J = 8.7 Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.6; 55.7; 70.5; 99.9; 101.4; 105.3; 111.3; 113.8; 114.5; 117.9; 127.1; 127.5; 128.4; 128.8; 130.3; 135.9; 158.0; 159.6; 161.6; 163.0; 163.1, 178.4.

#### **5.3.4.3.3 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-2',4'6'-trimetoxiflavona (56{1,3})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.91 (s, 3H); 3.94 (s, 6H); 5.18 (s, 2H); 6.79 (d, J = 8.9 Hz, 1H); 6.91 (s, 1H); 6.98 (d, J = 2.4 Hz, 1H); 7.06 (dd, J = 8.9 e 2.4 Hz, 1H); 7.33-7.46 (m, 5H); 7.51 (d, J = 8.9 Hz, 1H); 8.15 (d, J = 8.9 Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 56.1; 61.0; 61.2; 70.5; 101.5; 107.4; 111.1; 114.6; 118.0; 119.2; 124.0; 127.2; 127.5; 128.4; 128.8; 135.8; 142.9; 153.0; 156.1; 158.0; 161.1, 163.1, 178.1.

#### **5.3.4.3.4 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-4'-trifluorometoxiflavona (56{1,4})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.20 (s, 2H); 6.74 (s, 1H); 7.01-7.13 (m, 2H); 7.31-7.55 (m, 7H); 7.87-8.01 (m, 2H); 8.14 (d, J = 8.7 Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 70.7; 101.6; 108.0; 115.1; 118.0; 120.4 (d, J = 258.6 Hz); 121.1 (q, J = 1.0 Hz); 127.3; 127.5; 127.9; 128.5; 130.4; 135.7; 151.4 (q, J = 2.0 Hz); 157.9; 161.7; 163.4, 177.6.

#### **5.3.4.3.5 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-4'-piperonilflavona (56{1,5})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.18 (s, 2H); 6.07 (s, 2H); 6.64 (s, 1H); 6.92 (dd, J = 8.2 e 0.3 Hz, 1H); 7.01 (d, J = 2.4 Hz, 1H); 7.05 (dd, J = 8.7 e 2.4 Hz, 1H); 7.33 (dd, J = 1.8 e 0.3 Hz, 1H); 7.35-7.47 (m, 5H); 7.49 (d, J = 1.8 Hz, 1H); 8.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 70.5; 101.5; 101.9; 106.2; 106.6; 108.7; 114.8; 118.0; 121.3; 125.8; 127.1; 127.5; 128.4; 128.7; 135.8; 148.4; 150.5; 157.8; 162.2; 163.2; 177.7.

#### 5.3.4.3.6 - Dados espectroscópicos da 7-benziloxi-4'-fenilflavona (56{1,6})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.20 (s, 2H); 6.82 (s, 1H); 7.02-7.13 (m, 2H); 7.34-7.55 (m, 8H); 7.60-7.69 (m, 2H); 7.70-7.79 (m, 2H); 7.93-8.04 (m, 2H); 8.15-8.21 (m, 1H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 70.6; 101.5; 107.4; 114.9; 118.0; 126.7; 127.1; 127.2; 127.5; 127.6; 128.1; 128.4; 128.8; 129.0; 130.5; 135.7; 139.8; 144.3; 157.9; 162.9; 163.3; 177.9.

#### 5.3.4.3.7 - Dados espectroscópicos da 4',5,7-trimetoxiflavona (56{2,1})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.88 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 6.37 (d,  $J = 2.3$ , 1H); 6.56 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H); 6.59 (s, 1H); 6.95-7.05 (m, 2H); 7.77-7.87 (m, 2H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.7; 56.4; 92.9; 96.2; 107.8; 109.3; 114.5; 124.0; 127.7; 159.9; 160.7; 161.0; 162.1; 164.4; 177.6.

#### 5.3.4.3.8 - Dados espectroscópicos da 5,7-dimetoxi-2',4'-dimetoxiflavona (56{2,2})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.88 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 6.36 (d,  $J = 2.2$ , 1H); 6.52 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 6.54 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H); 6.61 (dd,  $J = 8.7$  e  $2.3$  Hz, 1H); 6.98 (s, 1H); 7.84 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.3; 55.6; 55.7; 56.4; 92.7; 95.8; 98.8; 105.1; 112.8; 113.4; 114.3; 130.0; 158.1; 159.5; 160.0; 160.8; 162.9; 163.7; 178.2.

#### 5.3.4.3.9 - Dados espectroscópicos da 2',3',4',5,7-pentametoxiflavona (56{2,3})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.89 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 3.93 (s, 6H); 3.96 (s, 3H); 6.36 (d,  $J = 2.3$ , 1H); 6.51 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H); 6.77 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H); 6.82 (s, 1H); 7.49 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.7; 56.1; 56.4; 61.0; 61.1; 92.8; 95.9; 107.3; 109.3; 112.7; 118.9; 123.8; 142.8; 152.9; 155.9; 158.7; 160.0; 161.0; 163.9; 177.9.

#### **5.3.4.3.10 - Dados espectroscópicos da 5,7-dimetoxi-4'-trifluorometoxiflavona (56{2,4})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.92 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 6.39 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 6.56 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 6.69 (s, 1H); 7.28-7.42 (m, 2H); 7.85-8.02 (m, 2H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.8; 56.4; 92.8; 96.3; 109.3; 102.3 (q,  $J = 253.2$  Hz); 121.1; 127.7; 130.0; 132.1; 151.3 (q,  $J = 2.0$  Hz); 159.4; 159.8; 161.0; 164.3; 177.5.

#### **5.3.4.3.11 - Dados espectroscópicos da 5,7-dimetoxi-4'-piperonilflavona (56{2,5})**

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.91 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 6.06 (s, 2H); 6.38 (d,  $J = 1.1$  Hz, 1H); 6.55 (d,  $J = 1.1$  Hz, 1H); 6.56 (s, 1H); 6.91 (d,  $J = 4.2$  Hz, 1H); 7.31 (d,  $J = 1.0$  Hz, 1H); 7.44 (dd,  $J = 4.2$  e 1.0 Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.8; 56.5; 92.8; 96.2; 101.8; 106.1; 108.1; 108.7; 121.0; 125.6; 148.4; 150.3; 159.8; 160.4; 161.0; 162.0; 164.0; 177.6.

#### **5.3.4.3.12 - Dados espectroscópicos da 4'-fenil-5,7-dimetoxiflavona (56{2,6})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.93 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 6.38 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H); 6.59 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H); 6.72 (s, 1H); 7.35-7.54 (m, 3H); 7.57-7.82 (m, 4H); 7.87-8.05 (m, 2H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.8; 56.5; 92.9; 96.3; 109.0; 109.4; 126.4; 127.2; 127.6; 128.1; 129.0; 130.4; 139.9; 144.0; 160.0; 160.5; 161.0; 164.2; 177.7.

#### 5.3.4.3.13 - Dados espectroscópicos da 6-fluor-4'-metoxiflavona (56{3,1})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.90 (s, 3H); 6.74 (d,  $J = 0.6$  Hz, 1H); 6.98-7.08 (m, 2H); 7.40 (ddd,  $J = 9.1, 7.6$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.58 (ddd,  $J = 9.1, 4.2$  e  $0.5$  Hz, 1H); 7.81-7.93 (m, 3H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 105.5; 110.6 (d,  $J = 23.9$  Hz); 114.5; 119.9 (d,  $J = 7.8$  Hz); 121.6 (d,  $J = 25.5$  Hz); 123.8 ; 125.1 (d,  $J = 5.8$  Hz); 128.0; 152.4 (d,  $J = 1.6$  Hz); 159.6 (d,  $J = 246.6$  Hz); 162.6; 163.7; 177.5 (d,  $J = 2.5$  Hz).

#### 5.3.4.3.14 - Dados espectroscópicos da 6-fluor-2',4'-dimetoxiflavona (56{3,2})

PF: 162-164°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.89 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 6.55 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H); 6.63 (dd,  $J = 8.8$  e  $2.4$  Hz, 1H); 7.13 (d,  $J = 0.5$  Hz, 1H); 7.37 (ddd,  $J = 9.1, 7.6$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.51 (ddd,  $J = 9.1, 4.3$  e  $0.5$  Hz, 1H); 7.85 (ddd,  $J = 8.3, 3.1$  e  $0.5$  Hz, 1H); 7.87 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.6; 98.9; 105.4; 110.4 (d,  $J = 23.4$  Hz); 110.5; 113.3; 119.8 (d,  $J = 7.8$  Hz); 121.3 (d,  $J = 25.4$  Hz); 124.9 (d,  $J = 7.4$  Hz); 130.7; 152.5 (d,  $J = 2.0$  Hz); 159.3 (d,  $J = 244.2$  Hz); 159.7; 161.1; 163.4; 178.0 (d,  $J = 2.0$  Hz).

EM  $m/z$ : 300 ( $\text{M}^+$ ), 269, 214, 161, 139 (100), 119, 91, 65.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 1627, 1606, 1558, 1436, 1353, 1274, 1255, 1216, 1020, 811  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.3.4.3.15 - Dados espectroscópicos da 6-fluor-2',3',4'-trimetoxiflavona (56{3,3})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.92 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 6.81 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H); 7.00 (s, 1H); 7.39 (ddd,  $J = 9.1, 7.6$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.52 (dd,  $J = 9.1$  e  $4.3$  Hz, 1H); 7.55 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H); 7.87 (dd,  $J = 8.2$  e  $3.1$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 56.2; 61.0; 61.2; 107.5; 110.5; 110.6 (d,  $J = 24.0$  Hz); 118.9; 120.0 (d,  $J = 8.0$  Hz); 121.6 (d,  $J = 26.0$  Hz); 124.1; 125.1; 143.0; 152.7; 153.2; 156.5; 159.5; (d,  $J = 246.2$  Hz); 161.

#### 5.3.4.3.16 - Dados espectroscópicos da 4'-fenil-6-fluoroflavona (56{3,6})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.86 (s, 1H); 7.35-7.55 (m, 4H); 7.56-7.72 (m, 3H); 7.72-7.82 (m, 2H); 7.88 (dd,  $J = 8.1$  e  $3.0$  Hz, 1H); 7.95-8.03 (m, 2H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 106.7; 110.7 (d,  $J = 23.5$  Hz); 120.1 (d,  $J = 8.2$  Hz); 121.9 (d,  $J = 25.6$  Hz); 125.2 (d,  $J = 7.4$  Hz); 126.8; 127.1; 127.7; 128.3; 129.0; 130.3; 139.7; 144.6; 152.4 (d,  $J = 1.6$  Hz); 159.6 (d,  $J = 247.0$  Hz); 163.4; 177.5 (d,  $J = 2.1$  Hz).

#### 5.3.4.3.17 - Dados espectroscópicos da 4',6-dimetoxiflavona (56{4,1})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.89 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 6.57 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H); 6.64 (dd,  $J = 8.7$  e  $2.3$  Hz, 1H); 7.13 (s, 1H); 7.26 (dd,  $J = 9.0$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.45 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H); 7.60 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H); 7.89 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.9; 105.0; 105.6; 114.5; 119.4; 123.5; 124.2; 124.6; 128.0; 151.0; 157.0; 162.4; 163.2; 178.2.

#### 5.3.4.3.18 - Dados espectroscópicos da 2',4',6-trimetoxiflavona (56{4,2})

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.89 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 6.57 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H); 6.64 (dd,  $J = 8.7$  e  $2.3$  Hz, 1H); 7.13 (s, 1H); 7.26 (dd,  $J = 9.0$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.45 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H); 7.60 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H); 7.89 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H).



RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.7; 56.0; 99.0; 104.8; 105.3; 110.6; 113.8; 119.3; 123.4; 124.4; 130.4; 151.3; 156.7; 159.6; 160.7; 163.2; 178.8.

#### **5.3.4.3.19 - Dados espectroscópicos da 2',3',4',6-tetrametoxiflavona (56{4,3})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.92 (s, 3H); 3.94 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 6.80 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H); 6.98 (s, 1H); 7.27 (dd,  $J = 9.1$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.45 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H); 7.54 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H); 7.61 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 56.0; 56.2; 61.0; 61.2; 104.9; 107.4; 110.5; 119.3; 119.4; 123.6; 124.1; 124.5; 142.9; 151.3; 153.1; 156.2; 156.9; 161.3; 178.6.

#### **5.3.4.3.20 - Dados espectroscópicos da flavona 6-metoxi-4'-trifluorometoxiflavona (56{4,4})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.92 (s, 3H); 6.80 (s, 1H); 7.31 (dd,  $J = 9.2$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.34-7.43 (m, 2H); 7.52 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H); 7.61 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H); 7.92-8.05 (m, 2H).

#### **5.3.4.3.21 - Dados espectroscópicos da flavona 4'-fenil-6-metoxiflavona (56{4,6})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.92 (s, 3H); 6.88 (s, 1H); 7.30 (dd,  $J = 9.1$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.40-7.44 (m, 2H); 7.45-7.57 (m, 2H); 7.62 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H); 7.63-7.70 (m, 2H), 7.72-7.82 (m, 2H); 7.97-8.07 (m, 2H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 56.0; 105.0; 106.8; 119.5; 123.8; 124.7; 126.7; 127.1; 127.7; 128.2; 129.0; 130.7; 139.8; 144.3; 151.1; 157.1; 163.0; 178.3.

#### **5.3.4.4 - Purificação da coleção de chalconas preparadas em um sintetizador semi-automático utilizando-se uma resina *scavenger***

As chalconas foram purificadas por cromatografia preparativa em camada delgada utilizando como fase móvel uma mistura de hexano:acetato de etila em diferentes proporções.

**5.3.4.4.1 - Dados espectroscópicos da 4'-benziloxi-2'-hidroxi-4-metoxichalcona (55{1,1})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.86 (s, 3H); 5.11 (s, 2H); 6.47-6.62 (m, 2H); 6.94 (d, J = 8.6 Hz, 2H); 7.30-7.53 (m, 6H); 7.61 (d, J = 8.6 Hz, 2H); 7.82 (d, J = 2.8 Hz, 1H); 7.88 (d, J = 8.7 Hz, 1H); 13.52 (s, 1H).

**5.3.4.4.2 - Dados espectroscópicos da 4'-benziloxi-2'-hidroxi-2,4,6-trimetoxichalcona (55{1,3})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.90 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 3.97 (s, 3H); 5.11 (s, 2H); 6.50-6.62 (m, 2H); 6.73 (d, J = 8.9 Hz, 1H); 7.31-7.52 (m, 6H); 7.63 (d, J = 15.6 Hz, 1H); 7.78-7.90 (m, 1H); 8.05 (d, J = 15.6 Hz, 1H); 13.56 (s, 1H).

**5.3.4.4.3 - Dados espectroscópicos da 4'-benziloxi-2'-hidroxi-4-trifluorometoxichalcona (55{1,4})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.12 (s, 2H); 6.52-6.64 (s, 2H); 7.25-7.32 (m, 1H); 7.35-7.47 (m, 5H); 7.54 (J = 15.5 Hz, 1H); 7.63-7.75 (m, 2H); 7.84 (d, J = 9.5 Hz, 1H); 7.86 (J = 15.5 Hz, 1H); 13.32 (s, 1H).

**5.3.4.4.4 - Dados espectroscópicos da 2'-hidroxi-4',6',4-trimetoxichalcona (55{2,1})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.84 (s, 3H); 3.85 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 5.97 (d, J = 2.4, 1H); 6.11 (d, J = 2.4 Hz, 1H); 6.87-7.02 (m, 2H); 7.51-7.63 (m, 2H); 7.80 (s, 2H); 14.40 (s, 1H).

**5.3.4.4.5 - Dados espectroscópicos da 2'-hidroxi-4',6',2,4-tetrametoxichalcona (55{2,2})**

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.83 (s, 3H); 3.86 (s, 3H); 3.90 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 5.96 (dd, J = 2.4 e 0.2 Hz, 1H); 6.10 (d, J = 2.4 Hz, 1H); 6.47 (dd, J = 2.4 e 0.3 Hz, 1H); 6.53 (ddd, J = 8.5, 2.3 e 0.3 Hz, 1H); 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 1H); 7.90 (d, J = 15.6 Hz, 1H); 8.11 (d, J = 15.6 Hz, 1H); 14.54 (s, 1H).

**5.3.4.4.6 - Dados espectroscópicos da 2'-hidroxi-4',6',2,3,4-pentametoxichalcona (55{2,3})**

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.84 (s, 3H); 3.89 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 3.95 (s, 3H); 5.96 (d, J = 2.4, 1H); 6.11 (d, J = 2.4 Hz, 1H); 6.72 (d, J = 8.8 Hz, 1H); 7.35 (d, J = 8.8 Hz, 1H); 7.90 (d, J = 15.8 Hz, 1H); 8.02 (d, J = 15.8 Hz, 1H); 14.44 (s, 1H).

**5.3.4.4.7 - Dados espectroscópicos da 4-fenil-2'-hidroxi-4',6'-dimetoxichalcona (55{2,6})**

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.85 (s, 3H); 3.94 (s, 3H); 5.98 (d, J = 2.3 Hz, 1H); 6.12 (d, J = 2.3 Hz, 1H); 7.35-7.55 (m, 3H); 7.57-7.75 (m, 6H); 15.65 (d, J = 15.7 Hz, 1H); 7.96 (d, J = 15.4 Hz, 1H); 14.32 (s, 1H).

**5.3.4.4.8 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-4-metoxichalcona (55{3,1})**

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.88 (s, 3H); 6.91-7.06 (m, 3H); 7.17-7.32 (m, 1H); 7.42 (d, J = 15.4 Hz, 1H); 7.52-7.2 (m, 3H); 7.93 (d, J = 15.4 Hz, 1H); 12.65 (s, 1H).

**5.3.4.4.9 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-2,4-dimetoxichalcona (55{3,2})**

PF: 106-107°C

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.87 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 6.48 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 6.55 (dd,  $J = 8.5$  e  $2.2$  Hz, 1H); 6.97 (dd,  $J = 9.0$  e  $4.8$  Hz, 1H); 7.14-7.32 (m, 1H); 7.52-7.67 (m, 3H); 8.18 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H); 12.81 (s, 1H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 55.5; 55.6; 98.5; 105.7; 114.5 (d,  $J = 23.1$  Hz); 116.7; 117.5; 119.6 (d,  $J = 7.0$  Hz); 119.9 (d,  $J = 6.2$  Hz); 123.2 (d,  $J = 23.5$  Hz); 131.8; 142.2; 154.8 (d,  $J = 237.5$  Hz); 159.6 (d,  $J = 1.6$  Hz); 160.9; 163.7; 193 (d,  $J = 2.8$  Hz).

EM  $m/z$ : 302 ( $\text{M}^+$ ), 287, 271, 245, 199, 164, 149 (100), 147, 133, 121, 110, 83, 77, 57, 51.

IV ( $\nu_{\text{max}}$ , KBr): 2952, 2917, 2848, 1635, 1558, 1506, 1471, 1457, 1290, 1180, 1024, 823, 808  $\text{cm}^{-1}$ .

**5.3.4.4.10 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-2,3,4-trimetoxichalcona (55{3,3})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.90 (s, 3H); 3.93 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 6.74 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H); 6.99 (dd,  $J = 9.1$  e  $4.6$  Hz, 1H); 7.14-7.33 (m, 1H); 7.40 (d,  $J = 8.8$ , 1H); 7.57 (dd,  $J = 9.1$  e  $3.1$  Hz, 1H); 7.60 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H); 8.12 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H); 12.69 (s, 1H).

**5.3.4.4.11 - Dados espectroscópicos da 5'-fluor-2'-hidroxi-3,4-metilenodioxichalcona (55{3,5})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.06 (s, 2H); 6.82-6.92 (m, 1H); 6.99 (dd  $J = 9.1$  e  $4.7$  Hz, 1H); 7.12-7.23 (m, 3H); 7.37 (d,  $J = 15.3$ , 1H); 7.56 (dd,  $J = 9.1$  e  $3.0$  Hz, 1H); 7.87 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H); 12.60 (s, 1H).

**5.3.4.4.12 - Dados espectroscópicos da 4-fenil-5'-fluor-2'-hidroxichalcona (55{3,6})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.01 (dd,  $J = 9.1$  e  $4.7$  Hz, 1H); 7.30-7.50 (m, 4H); 7.51-7.83 (m, 8H); 8.00 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H); 12.56 (s, 1H).

#### **5.3.4.4.13 - Dados espectroscópicos da flavona 4-fenil-2'-hidroxi-5'-metoxichalcona (55{4,6})**

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.86 (s, 3H); 6.99 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H); 7.16 (dd,  $J = 9.1$  e  $3.0$  Hz, 1H); 7.32-7.55 (m, 5H); 7.56-7.87 (m, 6H); 7.98 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H); 12.40 (s, 1H).

#### **5.3.5 - Estudos para a síntese de flavonas em fase sólida**

Em um frasco reacional contendo a resina **8** (100 mg, 0,10-0,15 mmol) em diclorometano (3 mL) foi adicionado o álcool 1-bromo-3-propanol (136  $\mu\text{L}$ , 1,5 mmol) e piridina (120  $\mu\text{L}$ , 1,5 mmol) e a mistura foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 4 horas. Em seguida a resina foi filtrada, lavada com DMF (3 x 3 mL), MeOH (3 x 3 mL),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 3 mL) e seca sob vácuo por 16 horas.

A uma suspensão do composto **9** (100 mg, 0,10-0,15 mmol) em DMF (3 mL) foi adicionado a 2,4-dihidroxiacetofenona (46 mg, 0,3 mmol) e  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (70 mg, 0,5 mmol) A mistura foi aquecida a  $60^\circ\text{C}$  e mantida sob agitação por 6 horas. Em seguida a resina foi filtrada, lavada com uma mistura de MeOH:H<sub>2</sub>O (6:4) (2 x 3 mL), DMF (2 x 3 mL), MeOH (3 x 3 mL),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 3 mL) e seca sob vácuo por 16 horas.

#### **5.3.6 - Ensaio de Inibição Enzimática frente à enzima gGAPDH**

Os ensaios de atividade foram feitos pela medida espectrofométrica de Tio-NADH formado em 30 segundos a 400 nm a  $25^\circ\text{C}$ . As misturas reacionais continham: 100 mM de tampão trietanolamina (pH 7,5) com 1 mM de EDTA e 1 mM de  $\beta$ -mercaptoetanol, 1,4 mM de dimetilsulfato, 30 mM de arseniato de sódio, 250  $\mu\text{M}$  de  $\text{NAD}^+$  ou Tio- $\text{NAD}^+$ , 41 nm da enzima e, por último 800  $\mu\text{M}$  de DL-gliceraldeído-3-fosfato (PEREIRA et al., 2008). A reação enzimática é iniciada a partir da adição do substrato. Para os ensaios de inibição da atividade enzimática foram

preparadas soluções em DMSO, na concentração de 200  $\mu\text{M}$ . Ensaios controle foram realizados na ausência das substâncias, mas com adição de igual volume de DMSO. Todas as medidas foram feitas em triplicatas e considerou-se o valor médio. O resultado da reação enzimática foi obtido pela diferença de absorvância entre os tempos de  $t=30\text{s}$  e  $t=0\text{s}$ . Com o valor desta diferença de absorvância, calculou-se a atividade específica da enzima, com e sem a adição da substância avaliada e determinou-se a porcentagem de inibição da atividade enzimática da mesma.

### 5.3.7 - Ensaio de Inibição Enzimática frente à catepsina V

Os ensaios de atividade foram realizados monitorando-se a hidrólise do substrato ZFR-MCA (Cbz-Phe-Arg-MCA, MCA = 7-amino-4-metilcumarina) medindo-se diretamente o aumento de fluorescência do produto da hidrólise com o tempo de reação. Neste experimento as medidas foram feitas em um fluorímetro de placa de ELISA, trabalhando com placas de 96 poços (200  $\mu\text{L}$ /poço), e utilizou-se um comprimento de onda de excitação ( $\lambda_{\text{ex}}$ ) de 380 nm e emissão ( $\lambda_{\text{em}}$ ) de 460 nm.

As misturas reacionais continham: 100 mM de tampão acetato de sódio (pH 5,5) com 5 mM de EDTA e 2,5 mM de DTT, aproximadamente 2,8 nM da enzima e 5  $\mu\text{M}$  de ZFR-CMA (BEAVERS et al., 2008). A reação enzimática é iniciada a partir da adição do substrato. Os inibidores foram avaliados na concentração de 25  $\mu\text{M}$ , a uma temperatura de aproximadamente 27°C. As enzimas foram pré-ativadas com DTT (2,5 mM) por 5 min. Posteriormente pré-incubada por mais 5 min com DMSO (com ou sem inibidor). A determinação da atividade enzimática foi realizada através do monitoramento contínuo e direto da hidrólise do substrato fluorogênico (ZFR-MCA) por 300 segundos.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**





## 6 - Referências Bibliográficas

- ADAM, W.; GOLDSCH, D. & HADJIARAPOGLOU, L. "Epoxidation of flavonas by dimethyldioxirane". *J. Org. Chem.*, **56**: 7292, 1991.
- ALVIM JR., J.; DIAS, R. L. A.; CASTILHO, M. S.; OLIVA, G. & CORREA, A. G. J. "Preparation and evaluation of a coumarin library towards the inhibitory activity of the enzyme gGAPDH from *Trypanosoma cruzi*". *Braz. Chem. Soc.*, **16**: 763, 2005.
- APONTE, J. C.; VERÁSTEGUI, M.; MÁLAGA, E.; ZIMIC, M.; QUILIANO, M.; VAISBERG, A. J.; GILMAN, R. H. & HAMMOND, G. B. "Synthesis, cytotoxicity, and anti-*Trypanosoma cruzi* activity of new chalcones". *J. Med. Chem.*, **51**: 6230, 2008.
- ARES, J. J.; OUTT, P. E.; KAKODKAR, S.V.; BUSS, R.C. & GEIGER, J. C. "A convenient large-scale synthesis of 5-methoxyflavone and its application to analog preparation". *J. Org. Chem.*, **58**: 7903, 1993.
- ARES, J. J.; OUTT, P. E.; RANDALL, J. L.; MURRAY, P. D.; WEISSHAAR, P. S.; O'BRIEN, L. M.; SEM, B. L.; KAKODKAR, S. V.; KELM, G. R.; KERSHAW, W. C.; WERCHOWSKI, K. M. & PARKINSON, A. "Synthesis and biological evaluation of substituted flavones as gastroprotective agents". *J. Med. Chem.*, **38**: 4937, 1995.
- BALDINO, C. M. "Perspective articles on the utility and application os solution-phase combinatorial chemistry". *J. Comb. Chem.*, **2**: 89, 2000.
- BANSAL, V.; SINGH, P. K. & KHANNA, R. N. "New synthesis of 1,3-diarylpropane-1,3-diones". *Indian J. Chem.*, **35B**: 586, 1996.
- BARRET, A. J.; RAWLINGS, N.D. & WOESSNER, J. F. Handbook of proteolytic enzyme. 2<sup>nd</sup>. ed., Academic Press, 2003.
- BEAVERS, M. P.; MYERS, M. C.; SHAH, P. P.; PURVIS, J. E.; DIAMOND, S. L.; COOPERMAN, B. S./ HURY, D. M. & SMITH, A. B. "Molecular docking of cathepsin L inhibitors in the binding site of papain". *J. Chem. Inf. Model.*, **48**: 1464, 2008.
- BENAVENTE-GARCÍA, O. & CASTILHO, J. "Update on uses and properties of *Citrus* flavonoids: New findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity". *J. Agric. Food Chem.*, **56**: 6185, 2008.

- BENNARDI, D. O. RUIZ, D. M.; ROMANELLI, G. P.; BARONETTI, G. T.; THOMAS, H. J. & AUTINO, J. C. "Efficient microwave solvent-free synthesis of flavons, chromones, coumarins and dihydrocoumarins". *Lett. Org. Chem.*, **5**: 607, 2008.
- BHAT, A. S.; WHETSTONE, J. L. & BRUEGGEMEIER, R. W. "A method for the rapid syntheses benzopyrone libraries employing a resine capture strategy". *J. Comb. Chem.*, **2**: 597, 2000.
- BOIS, F.; BOUMENDJEL, A.; MARIOTTE, A.; CONSEIL, G. & PETRO, A. "Synthesis and biological activity of 4-alkoxy chalcones: potential hydrophobic modulators of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance". *Bioorg. Med. Chem.*, **7**: 2691, 1999.
- BRÖMME, D.; LI, Z.; BARNES, M. & MEHLER, E. "Human cathepsin V functional expression, tissue distribution, electrostatic surface potential, enzymatic characterization, and chromosomal localization". *Biochemistry*, **38**: 2377, 1999.
- CARRILLO, M.B.; GAO, W. G.; HERRERA, M.; ALROY, J.; MOORE, J. B.; BEVERLEY, S. M.; & PEREIRA, M. A. "Heterologous expression of *Trypanosoma cruzi* trans-Sialidase in *Leishmania major* Enhances virulence". *Infect Immun.*, **68**: 228, 2000.
- CARVALHO, S.A.; LOPES, F. A. S.; SALOMÃO, K.; ROMEIRO, N. C.; WARDELL, S. M. S. V.; CASTRO, S. L.; SILVA, E. F. & FRAGAC, C. A. M. "Studies toward the structural optimization of new brazilzone related trypanocidal 1,3,4-thiadiazole-2-arylhydrazone derivatives". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**: 413, 2008.
- CHAUVIÈRE, G.; BOUTEILLE, B.; ENANGA, B.; ALBUQUERQUE, C.; CROFT, S.L.; DUMAS, M. & PÉRIE, J. "Synthesis and biological activity of nitro heterocycles analogous to Megazol, a trypanocidal lead" *J. Med. Chem.*, **46**: 427, 2003.
- CHENG, M. S.; LI, R. S. & KENYON, G. "A solid phase synthesis of chalcones by Claisen-Schmidt condensations". *Chin. Chem. Letters*, **11**: 851, 2000.
- COURA, J. R. & CASTRO, S. L. "A critical review on Chagas disease chemotherapy". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **97**(1): 3, 2002.
- CREN-OLIVÉ, C.; LEBRUN, S.; HAPIOT, P.; PINSON, J. & ROLANDO, C. "Selective protection of catechin gives access to the intrinsic reactivity of the two phenol ring during H-abstraction and photo-oxidation". *Tetrahedron Lett.*, **41**: 5847, 2000.
- CUSHNIE, T. P. T. & LAMB, A. J. "Antimicrobial activity of flavonoids". *Int. J. Antimicrob. Agents*, **26**: 343, 2005.

- DAO, T. T.; CHIN, Y. S.; KIM, J.; KIM, H. P.; KIM, S. & PARK, H. "Synthesis and inhibitory activity against COX-2 catalyzed prostaglandin production of chrysin derivatives". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**: 1165, 2004.
- DE LA TORRE, M. D. L.; MARCORIN, G. L.; PIRRI, G.; TOMÉ, A. C.; SILVA, A. M. S. & CAVALEIRO, J. A. S. "Synthesis of novel [60]fullerene-flavonoid dyads". *Tetrahedron Lett.*, **43**: 1689, 2002.
- DIAS, J. C. P. & SCHOFIELD, C. J. "The evolution of Chagas disease (American trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **94**(Suppl. 1): 102, 1999.
- DIAS, J. C. P.; SILVEIRA, A. C. & SCHOFIELD, C. J. "The impact of Chagas disease control in Latin America". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **97**(5): 603, 2002.
- DIAS, R. L. A. & CORRÊA, A. G. "Aplicações da química combinatória no desenvolvimento de fármacos". *Quím. Nova*, **24**: 236, 2001.
- DOCAMPO, R. "Recent developments in the chemotherapy of Chaga's disease". *Curr. Pharm. Des.*, **7**(12): 1157, 2001.
- DUSCHAK, V & COUTO, A. S. "An insight on targets and patented drugs for chemotherapy of Chagas disease". *Rec. Pat. Anti-Infective Drug Disc.*, **2**: 19, 2007.
- GALATI, G. & O'BRIEN, P. J. "Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: Significance for their chemopreventive and anticancer properties". *Free Radic. Biol. Med.*, **37**: 287, 2004.
- GALIETTA, L. J. V.; SPRINGITEEL, M. F.; EDA, M.; NIEDZINSKI, E. J.; BY, K.; HADDADIN, M. J.; KURTH, M. J.; NANTZ, M. H. & VERKAMAN, A. S. "Novel CFTR chloride channel activators identified by screening of combinatorial libraries based on flavones and benzoquinolizinium lead compounds". *J. Biol. Chem.*, **276**: 19723, 2001.
- GAO, H. & KAWABATA, J. " $\alpha$ -Glucosidase inhibition of 6-hydroxyflavone. Part 3: Synthesis and evaluation of 2,3,4-trihydroxybenzoyl-containing flavonoid analogs and 6-aminoflavones as  $\alpha$ -glucosidase inhibitors". *Bioorg. Med. Chem.*, **13**: 1661, 2005.
- GÖKER, H.; BOYKIN, D. W.; & YILDIZ, S. "Synthesis and potent antimicrobial activity of some novel 2-phenyl or methyl-4H-1-benzopyran-4-ones carrying amidinobenzimidazoles". *Bioorg. Med. Chem.*, **13**: 1707, 2005.

- GRAEBIN, C. S. & EIFLER-LIMA, V. L. "O uso de forno de microondas na síntese orgânica em fase sólida". *Quím. Nova*, **28**: 73, 2005.
- GREENE, T. W. & WUTS, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*. 3rd. ed. John Wiley & Sons Inc, New York, 1999.
- GRIFFITHS-JONES, C. M.; HOPKIN, M. D.; JÖNSSON, D.; LEY, S. V.; TAPOLCZAY, D. J.; VICKERSTAFFE, E. & LADLOW, M. "Fully automated flow-through synthesis of secondary sulfonamides in a binary reactor system". *J. Comb. Chem.*, **9**: 422, 2007.
- HU, Y.; BAUDART, S. & PORCO, J. A. "Parallel Synthesis of 1,2,3-Thiadiazoles Employing a "catch and release" strategy". *J. Org. Chem.*, **64**: 1049, 1999.
- HUANG, X.; TANG, E.; XU, W. & CAO, J. "Lewis acid catalyzed solid-phase synthesis of flavonoids using selenium-bound resin". *J. Comb. Chem.*, **7**: 802, 2005.
- HUDOCK, M. P.; SANZ-RODRIGUEZ, C. E.; SONG, Y.; CHAN, J. M. W.; ZHANG, Y.; ODEH, S.; KOSZTOWSKI, T.; LEON-ROSSEL, A.; CONCEPCION, J. L.; YARDLEY, V.; CROFT, S. L.; URBINA, J. A. & OLDFIELD, E. "Inhibition of *Trypanosoma cruzi* hexokinase by bisphosphonates" *J. Med. Chem.*, **49**: 215, 2006.
- ISHIHARA, J.; TOMITA, K.; TADANO, K. & OGAWA, S. "Total syntheses of (-)-acetomycin and its three stereoisomers at C-4 and C-5". *J. Org. Chem.*, **57**: 3789, 1992.
- JAISHANKAR, P.; HANSELL E.; ZHAO, D.; DOYLE, P.S.; MCKERRWB, J. H. & RENSLO, A. R. "Potency and selectivity of P2/P3-modified inhibitors of cysteine proteases from trypanosomes". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**: 624, 2008.
- JANG, J.; NA, M.; THUONG, P. T.; NJAMEN, D.; MBAFOR, J. T.; FOMUM, Z. T.; WOO, E. & OH, W. K. "Prenylated flavonoids with PTP1B inhibitory activity from the root bark of *Erythrina mildbraedii*". *Chem. Pharm. Bull.*, **56**: 85, 2008.
- JOO, Y. H.; KIM, J. K.; KANG, S.; NOH, M.; HA, J.; CHOI, J. K.; LIM, K. M.; LEE, C. H. & CHUNG, S. "2,3-Diarylbenzopyran derivatives as a novel class of selective cyclooxygenase-2 inhibitors". *Bioorg. Med. Chem.*, **13**: 413, 2003.
- KABALKA, G. W. & MEREDDY, A. R. "Microwave-assisted synthesis of functionalized flavones and chromones". *Tetrahedron Lett.*, **46**: 6315, 2005.

- KUMAZAWA, T.; MINATOGAWA, T.; MATSUBA, S.; SATO, S. & ONODERA J. "An effective synthesis of isoorientin: the regioselective synthesis of a 6-C-glucosylflavone". *Carb. Res.*, **329**: 507, 2000.
- KUMAZAWA, T.; KIMURA, T.; MATSUBA, S.; SATO, S. & ONODERA J. "Synthesis of 8-C-glucosylflavones". *Carb. Res.*, **334**: 183, 2001.
- LADAMI, S.; FAURÉ, R.; DENIER, C.; LAKHDAR-GHAZAL, F.; & WILLSON, M. "Selective inhibition of *Trypanosoma cruzi* GAPDH by "bi-substrate" analogues". *Org. Biomol. Chem.*, **3**: 2070, 2005.
- LAMI, L.; CASAL, B.; CUADRA, L.; MERINO, J.; ALVAREZ, A. & RUIZ-HITZKY, E. "Synthesis of 2,4-D ester herbicides - New routes using inorganic solid support". *Green Chem.*, **1**: 199, 1999.
- LECAILLE, F.; KALETA, J. & BRÖMME, D. "Human and parasitic papain-like cysteine proteases: Their role in physiology and pathology and recent developments in inhibitor design". *Chem. Rev.*, **102**: 4459, 2002.
- LEY, S. V. & BAXENDALE, I. R. "New tools and concepts for modern organic synthesis" *Nature Rev. Drug Discov.* **1**: 573, 2002.
- LIDSTRÖM, P.; TIERNEY, J.; WATHEY B. & WESTMAN, J. "Microwave assisted organic synthesis-a review". *Tetrahedron*, **57**: 9225, 2001.
- LIM, I. T.; MEROUEH, S. O.; LEE, M.; HEEG, M. J. & MOBASHERY, S. "Strategy in inhibition of cathepsin B, a target in tumor invasion and metastasis". *J. Am. Chem. Soc.*, **126**: 10271, 2004.
- LIN, Y.; ZHOU, Y.; FLAVIN, M. T.; ZHOU, L.; NIE, W. & CHEN, F. "Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents". *Bioorg. Med. Chem.*, **10**: 279, 2002.
- MARCHI, A. A.; CASTILHO, M. S.; NASCIMENTO, P. G. B.; ARCHANJO, F. C.; PONTE, G. D.; OLIVA, G. & PUPO, M. T. "New 3-piperonylcoumarins as inhibitors of glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (gGAPDH) from *Trypanosoma cruzi*". *Bioorg. Med. Chem.*, **10**: 2795, 2002.
- MARCHI, A. A.; CASTILHO, M. S.; NASCIMENTO, P. G. B.; ARCHANJO, F. C.; PONTE, G. D.; OLIVA, G. & PUPO, M. T. "New 3-piperonylcoumarins as inhibitors of glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (gGAPDH) from *Trypanosoma cruzi*". *Bioorg. Med. Chem.*, **10**: 2795, 2002.
- MARDER, M.; VIOLA, H.; BACIGALUPPO, J. A.; COLOMBO, M. I.; WASOWSKI, C.; WOLFMAN, C.; MEDINA, J. H.; RÚVEDA, E. A. & PALADINI, A. C. "Detection of benzodiazepine receptor ligands in small libraries of flavone derivatives

- synthesized by solution phase combinatorial chemistry". *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **249**: 481, 1998
- MARQUARDT, M. & EIFLER-LIMA, V. L. "A síntese orgânica em fase sólida e seus suportes poliméricos mais empregados". *Quím. Nova*, **24**: 846, 2001.
- MENCHINCHERI, M.; BALLINARI, D.; BARGIOTTI, A.; BONOMINI, L.; CECCARELLI, W.; D'ALESSIO, R.; FRETTEA, A.; MOLL, J.; POLUCCI, P.; SONCINI, C.; TIBOLLA, M.; TROSSET, J. & VANOTTI, E. "Catecholic flavonoid acting as telomerase inhibitors". *J. Med. Chem.*, **47**: 6466, 2004.
- MIAO, H. & YANG, Z. "Regiospecific carbonylative annulation of iodophenol acetates and acetylenes to construct the flavones by a new catalyst of palladium-thiourea-dppp complex". *Org. Lett.*, **2**: 1765, 2000.
- MIAO, H.; TALLARICO, J. A.; HAYAKAWA, H.; MÜNGER, K.; DUFFNER, J. L.; KOEHLER, A. N.; SCHREIBER, S. L. & LEWIS, T. A.. "Ring-opening and ring-closing reaction on a shikimic acid-derived substrate leading to diverse small molecules". *J. Comb. Chem.*, **9**: 245, 2007.
- MONCAYO, A. "Progress towards interruption of transmission of Chagas disease". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **94**(Suppl. 1): 401, 1999.
- MORAES, V. R. S.; TOMAZELA, D. M.; FERRACIN, R. J.; GARCIA, C. F.; SANNOMIYA, M.; SORIANO, M. P. C.; SILVA, F. G. F.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; RODRIGUES FILHO, E.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, A. F.; PIMENTA, E. F.; SOUZA, D. H. F. & OLIVA, G. "Enzymatic inhibition studies of selected flavonoids and chemosystematic significance of polymethoxylated flavonoids and quinoline alkaloids in *Neoraputia* (Rutaceae)". *J. Braz. Chem. Soc.* **14**: 380, 2003.
- NICOLAOU, K., C.; PFEFFERKORN, J. A.; ROECKER, A. J.; CAO, G. Q.; BARLUENGA, S. & MITCHELL, H. "Natural product-like combinatorial libraries based on privileged structures. 1. General principles and solid-phase synthesis of benzopyrans". *J. Am. Chem. Soc.*, **122**: 9939, 2000.
- NOGUEIRA, C. M.; ALVIM Jr., J.; DIAS, R. L. A. & CORRÊA, A. G. "Solid-phase preparation of a combinatorial library of flavonoid derivatives". 9<sup>th</sup> BMOS, Curitiba, PR, 20-24/08/01, Resumos PS02.
- OPPERDOES, F. R. & BORST, P. "Localization of 9 glycolytic enzymes in a microbody-like organelle in *Trypanosoma brucei* - glycosome". *FEBS Lett.*, **80**: 360, 1977.

- ORI, M.; TODA, N.; TAKAMI, K.; TAGO, K. & KOGEN, H. "Stereospecific synthesis of 2,2,3-trisubstituted tetrahydroquinolines: application to the total syntheses of benzastatin E and natural virantmycin". *Tetrahedron*, **61**: 2075, 2005.
- OTTO, H.; & SCHIMEISTER, T. "Cysteine protease and their inhibitors". *Chem. Rev.*, **97**: 133, 1997.
- PAULINO, M.; IRIBARNE, F.; DURBIN, M.; AGUILERA-MORALES, S.; TAPIA, O. & STOPPANI, A. O. M. "The chemotherapy of Chagas' Disease: An overview" *Mini-Rev. Med. Chem.*, **5**: 499, 2005.
- PATIL, A. D.; FREYER, A. J.; KILLMER, L.; OFFEN, P.; TAYLOR, P., B.; VOTTA, B., J. & JOHNSON, R. K. "A new dimeric dihydrochalcone and a new prenylated flavone from bud covers of *Artocarpus altilis*: Potent inhibitors of cathepsin K". *J. Nat. Prod.*, **65**: 624, 2002.
- PATHAK, V. N.; GUPTA, R. & VARSHNEY, B. "A "one pot" synthesis of 2-aryl-4H-1-benzopyran-4-ones under coupled microwave phase transfer catalysis (PTC) and ultrasonic irradiation PTC". *J. Heter. Chem.*, **45**: 589, 2008.
- PELUSO, M. R. "Flavonoids attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver". *Exp. Biol. Med.*, **231**: 1287, 2006.
- PENG, Z. F.; STRACK, D.; BAUMERT, A.; SUBRAMANIAM, R.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; TAN, S. N. & CHIA, L. S. "Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. ". *Phytochem.* **62**: 219, 2003.
- PEREIRA, J. M.; SEVERINO, R. P.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; ZOTTIS, A.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. & CORRÊA, A. G. "Anacardic acid derivatives as inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*". *Bioorg. Med. Chem.*, **16**: 8889, 2008.
- PERRIN, D. D. & ARMAREGO, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*. 3<sup>rd</sup>. ed. New York, Pergamon Press, 1988.
- PINTO, D. C. G. A.; SILVA, A. M. S. & CAVALEIRO, J. A. S. "Synthesis of 6,8-(dibromo or diiodo)-5-hydroxy-2-(phenyl or styryl)chromones" *Tetrahedron Lett.*, **35**: 9459, 1994.
- POLYMER LABORATORIES, Catálogo 2004.

- POWERS, D. G.; CASEBIER, D. S.; FOKAS, D.; RYAN, W.; TROTH, J. R. & COFFEN, D. L.; "Automated parallel synthesis of chalcone-based screening libraries". *Tetrahedron*, **54**: 4085, 1998.
- POWERS, J. C.; ASGIAN, J. L.; EKICI, O. D. & JAMES, K. E. "Irreversible inhibitors of serine, cysteine, and threonine proteases". *Chem. Rev.*, **102**: 4639, 2002.
- RAGHAVENDRA, M. S. & LAM, Y. "Regiospecific solid-phase synthesis of substituted 1,2,3-triazoles". *Tetrahedron Lett.*, **45**: 6129, 2004.
- SÁ, M. M.; SILVEIRA, G. P.; CASTILHO, M. S.; PAVÃO, F. & OLIVA, G. "Synthesis of acylated nucleosides and ribonic-1-4-lactones as inhibitors of trypanosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (gGAPDH)". *Arkivoc*, **8**: 112, 2002.
- SEIJAS, J. A.; VÁZQUEZ-TATO, M. P. & CARBALLIDO-REBOREDO, R. "Solvent-free synthesis of functionalized flavones under microwave irradiation". *J. Org. Chem.*, **70**: 2855, 2005.
- SHING, Y. K. M.; LEE, C. M. & LO, H. Y.; "A synthetic approach toward taxol analogs: studies on the construction of the CD ring". *Tetrahedron*, **60**: 9179, 2004.
- SILVEIRA, A. C. & VINHAES, M. C. "Elimination of vector-borne transmission of Chagas disease". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **94**(Suppl. 1): 405, 1999.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. & PETROVIC, P. R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5ª. ed. Santa Catarina, UFRGS Editora, 1999.
- SOMOZA, R. J.; ZHAN, H.; BOWMAN, K. K.; YU, L.; MORTARA, K. D.; PALMER, J. T.; CLARK, J. M. & McGRATH, M. E. "Crystal structure of human cathepsin V". *Biochemistry*, **39**: 12543, 2000.
- SOUZA, D. H. F.; GARRATT, R. C.; ARAÚJO, A. P. U.; GUIMARÃES, B. G.; JESUS, W. D. P.; MICHELS, P. A. M.; HANNAERT, V. & OLIVA, G. "Trypanosoma cruzi glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: structure, catalytic mechanism and targeted inhibitor design". *FEBS Lett.*, **424**: 131, 1998.
- TAKASAWA, R.; TAKAHASHI, S.; SAEKI, K.; SUNAGA, S.; YASHIMORI, A. & TANUMA, S. "Structure-activity relationship of human GLO I inhibitory natural flavonoids and their growth inhibitory effects". *Bioorg. Med. Chem.*, **16**: 3969, 2008.



- TERRETT, N. K.; GARDNER, M. & GORDON, D. W. "Combinatorial synthesis – The design of compounds libraries and their application to drug discovery". *Tetrahedron*, **51**: 8135, 1995.
- TOMAZELA, D. M.; PUPO, M.T.; PASSADOR, E.A.P.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; RODRIGUES Fo, E.; OLIVA, G. & PIRANI, J. R. "Pyrano chalcones and a flavone from *Neoraputia magnifica* and their *Trypanosoma cruzi* glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-inhibitory activities". *Phytochem.* **55**: 643, 2000.
- TURK, B.; TURK, D. & TURK, V. "Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers". *Bioch. et Bioph. Acta*, **1477**: 98, 2000.
- VARMA, R. S.; SAINI, R. K. & KUMAR, D. "An expeditious synthesis of flavones on montmorillonite K 10 clay with microwaves". *J. Chem. Res.*, **6**: 348, 1998.
- VEITCH, N. C. & GRAYER, R. E. J. "Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins". *Nat. Prod. Rep.*, **25**: 555, 2008.
- VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; PUPO, M. T.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; ALBUQUERQUE, S.; OLIVA, G. & PAVÃO, F. "Strategies for the isolation and identification of trypanocidal compounds from the Rutales". *Pure Appl. Chem.*, **73**: 617, 2001.
- WANG, D.; PECHAR, M.; LI, W.; LOPECKOVÁ, P.; BRÖMME, D. & KOPECEK, J. "Inhibition of cathepsin K with lysosomotropic macromolecular inhibitor". *Biochemistry*, **41**: 8849, 2002.
- WELCH, C. S.; BIBA, M.; DRAHUS, A.; CONLON, D. A.; TUNG, H. H. & COLLINS, P. "Selective removal of a pharmaceutical process impurity using a reactive resin". *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.*, **26**: 1959, 2003.
- WHO "Control of Chagas Disease" *World Health Org Tech Rep Ser.*, **905** (i-vi);, 1, 2002.
- YAHIAOUI, S.; FAGNERE, C.; POUGET, C.; BUXERAUD, J. & CHULIA, A. "New 7,8-benzoflavanones as potent aromatase inhibitors: Synthesis and biological evaluation". *Bioorg. Med. Chem.*, **16**: 1474, 2008.
- YANG, S.; YANG, W.; KUO, W.; CHANG, H.; CHU, S. & HSIEH, Y. "Antimetastatic potentials of flavones on oral cancer cell via an inhibition of matrix-degrading proteases". *Arch. Oral Biol.*, **53**: 287, 2008

- YAO, N.; SONG, A.; WANG X.; DIXON, S. & LAM, K. S. "Synthesis of flavonoid analogues as scaffolds for natural product-based combinatorial libraries". *J. Comb. Chem.*, **9**: 668, 2007.
- YASUDA, Y.; LI, Z.; GREENBAUM, D.; BOGVO, M.; WEBER, E. & BRÖMME, D. "Cathepsin V, a novel and potent elastolytic activity expressed in activated macrophages". *J. Biol. Chem.*, **279**: 36761, 2004
- YASUDA, Y.; KALETA, J. & BRÖMME, D. "The role of cathepsins in osteoporosis and arthritis: Rationale for the design of new therapeutics". *Advanc. Drug. Deliv. Rev.*, **57**: 973, 2005
- ZENG, G. Z.; PAN, X. L.; TAN, N. H.; XIONG, J. & ZHANG, Y. M. "Natural biflavones as novel inhibitors of cathepsins B and K". *Eur. J. Med. Chem*, **41**: 1247, 2006.

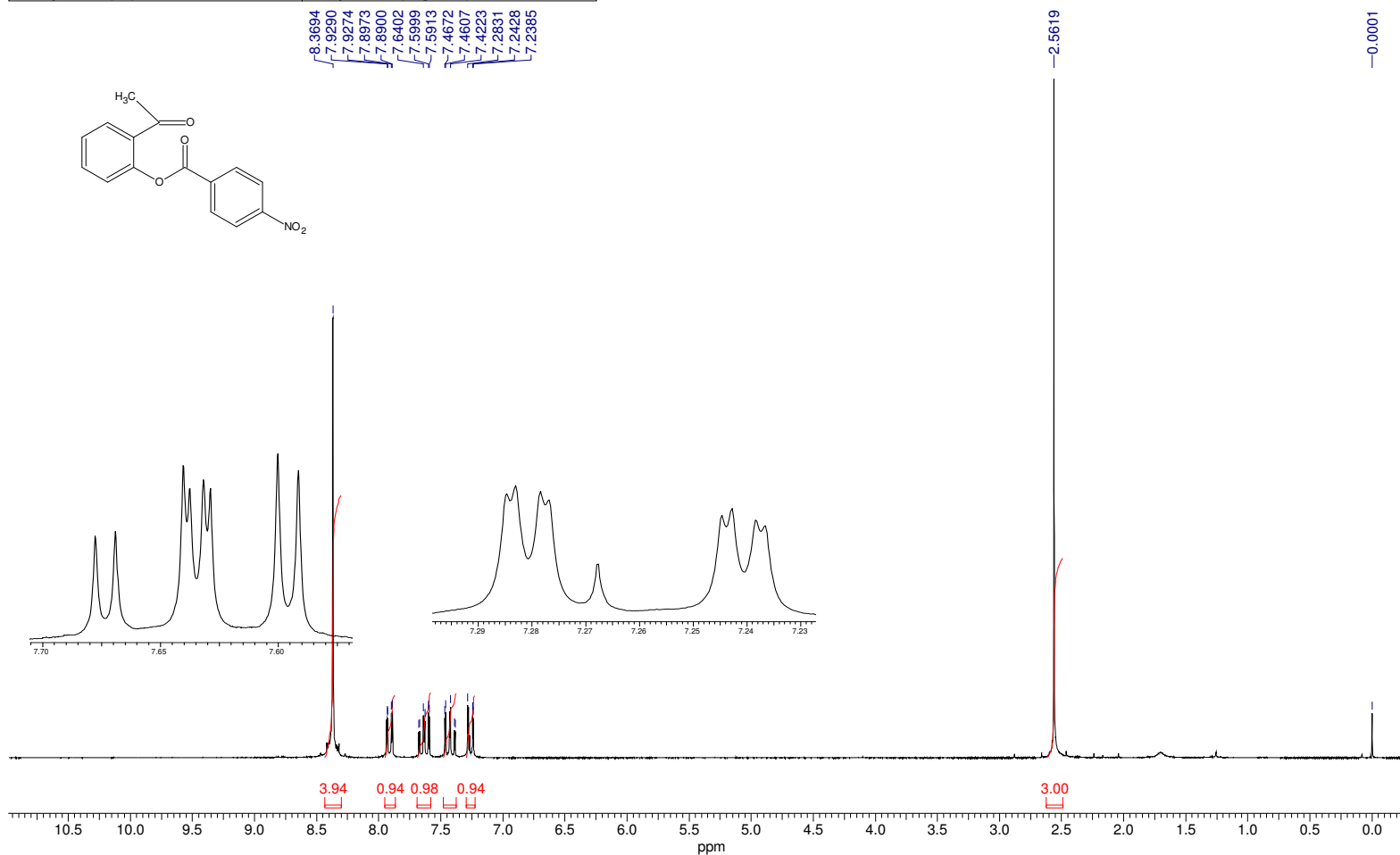
## APÊNDICE



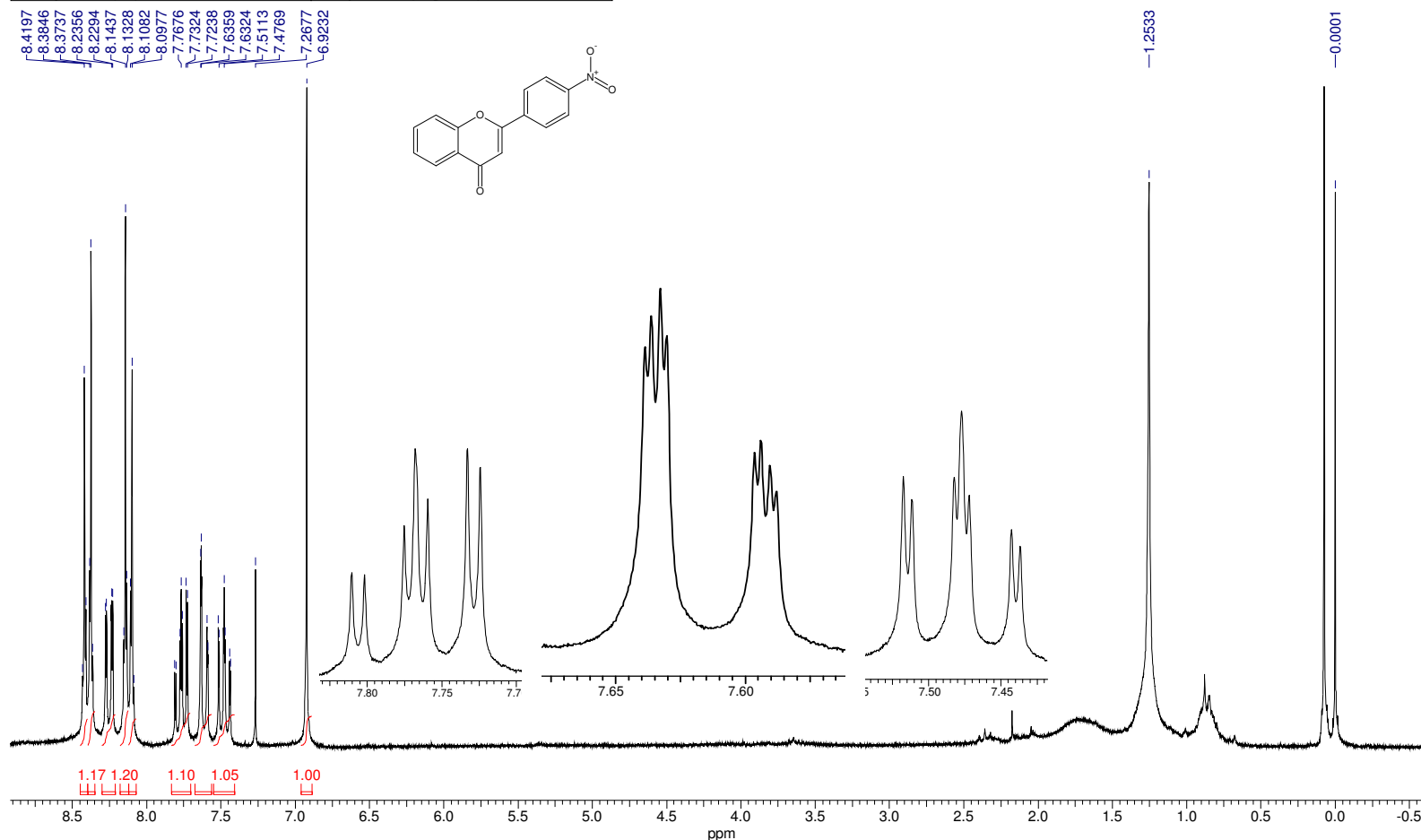
## **7 - Apêndice**



Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A372A2Est04	Date	08 Sep 2003 16:29:51
Date Stamp	08 Sep 2003 16:29:51	File Name	C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\A372A2Est04\1\A372A2Est04.dx		
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	16
Original Points Count	65536	Owner	joel	Points Count	65536
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Origin	joel
				Solvent	CHLOROFORM-D

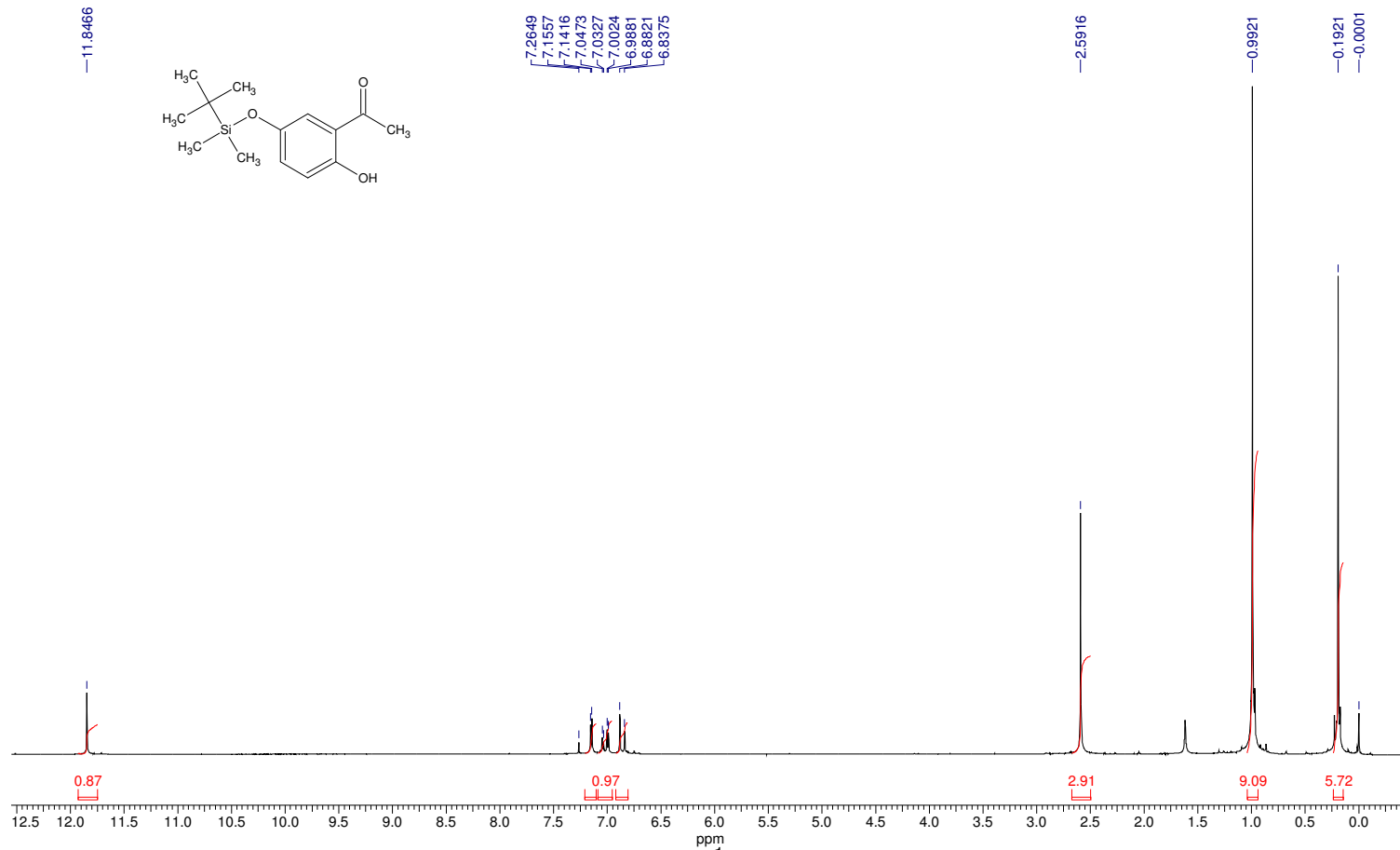
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 7

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A462A2Fla09		<b>Date</b>	11 Nov 2003 03:57:53	
<b>Date Stamp</b>	11 Nov 2003 03:57:53						
<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\2_2003\A462A2Fla09\1\A462A2Fla09.dx				<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	
<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16	<b>Origin</b>	joel	<b>Original Points Count</b>	65536
<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536		<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000				

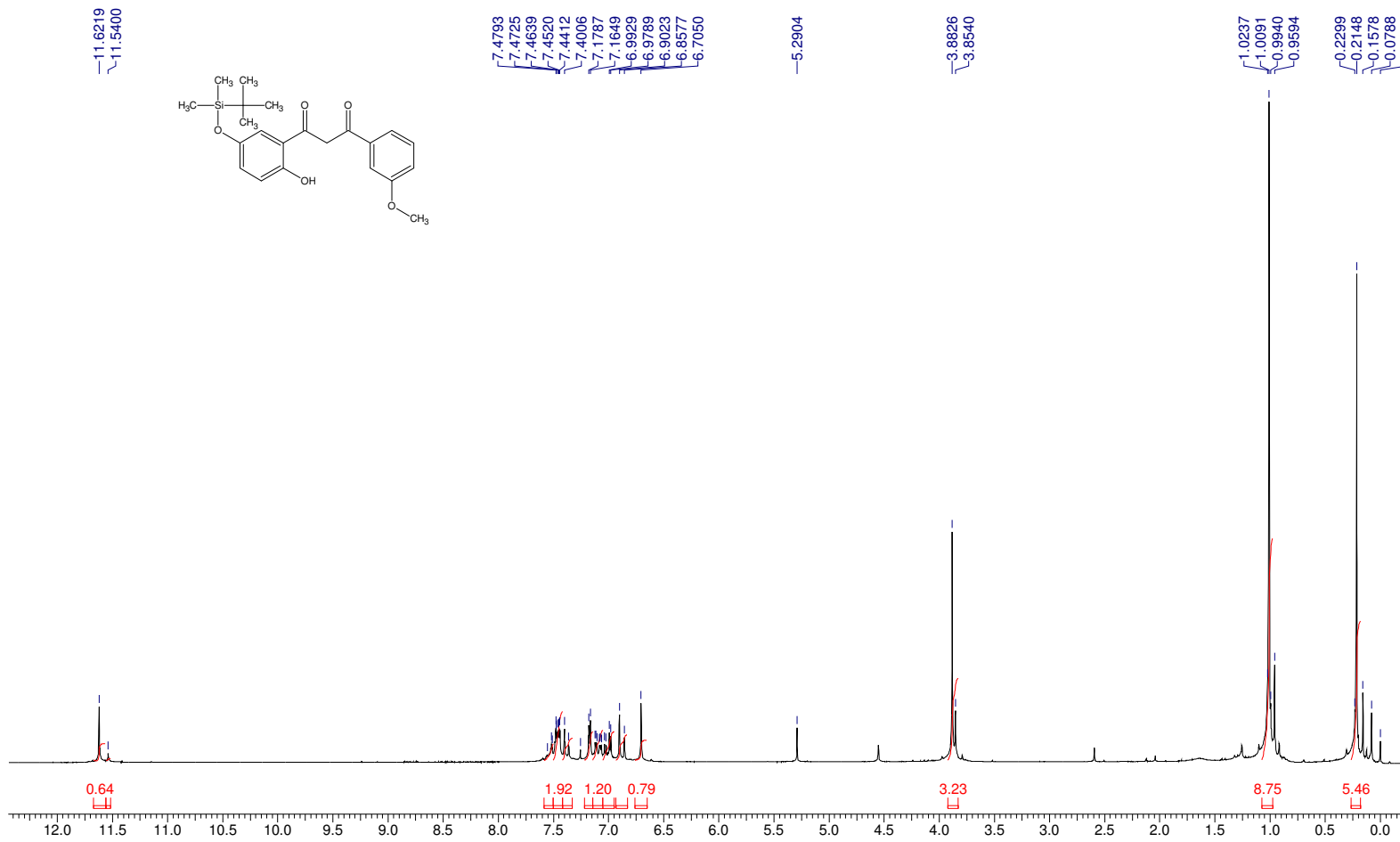
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 1



<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4813	<b>Comment</b>	
<b>Date</b>		C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\A222A2Ac02\1\SpinWorks_Ac02.dx	
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	undefined
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.07	<b>Origin</b>	SpinWorks 1.3, Kirk Marat, U of Manitoba
		<b>Points Count</b>	65536

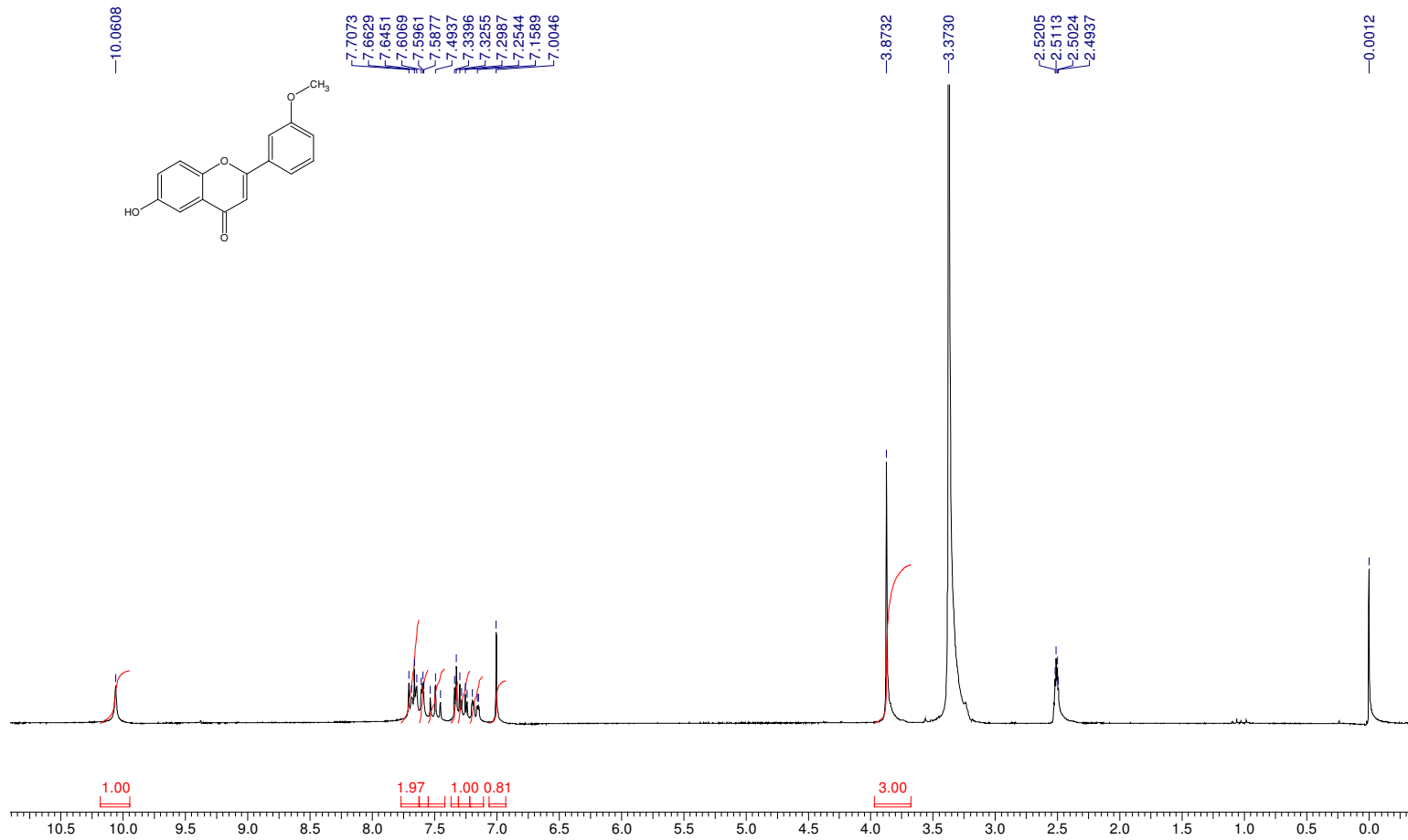
Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 9

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4813	<b>Comment</b>	Impuro - ele fica na forma enólica	
<b>Date</b>		<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\A392A2Dic11\1\A392A2Dic11.dx	
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Origin</b>
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	undefined	<b>Points Count</b>
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.07			65536

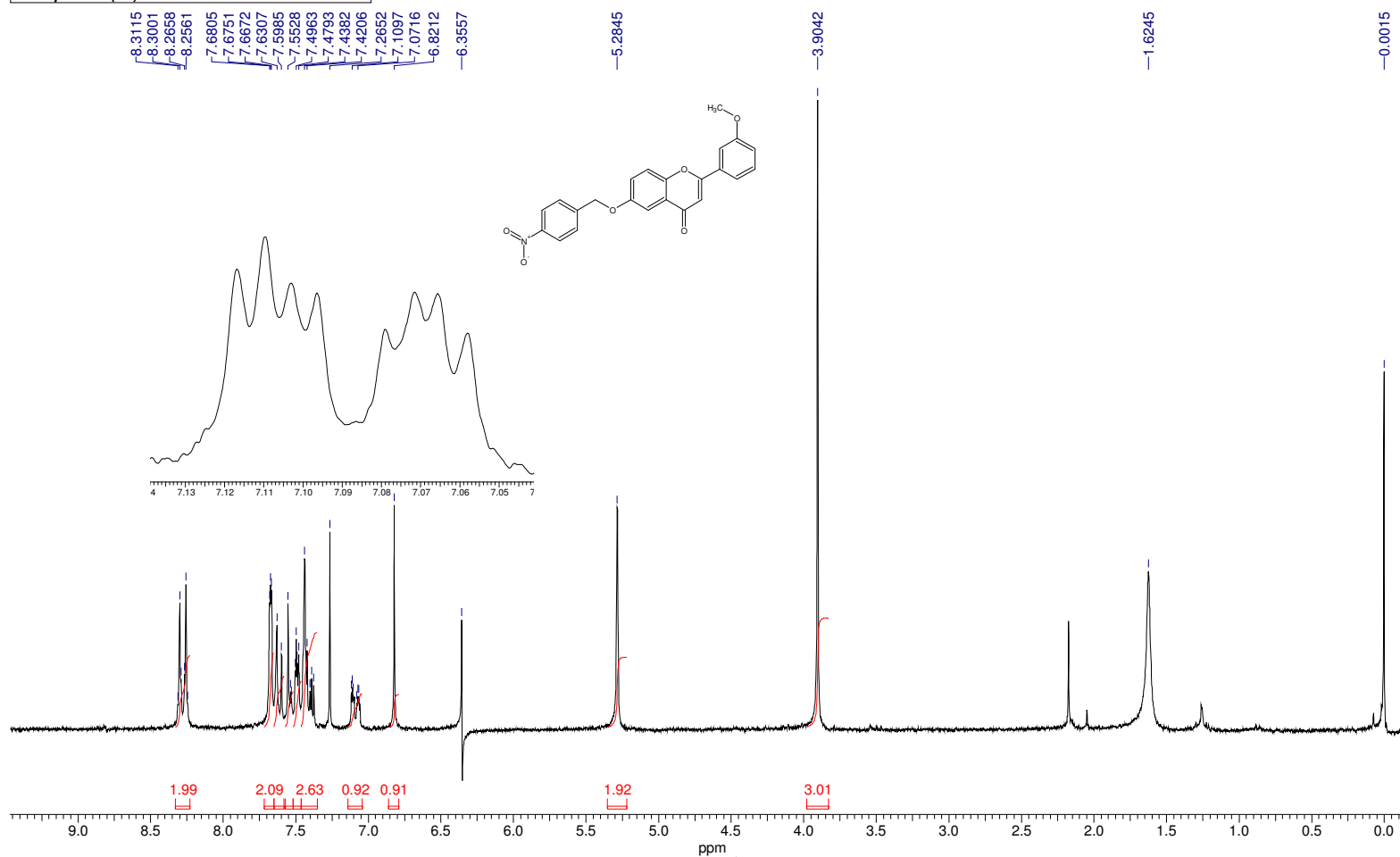
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 10

## 7 - Apêndice

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A422A2Fla03		<b>Date</b>	04 Oct 2003 16:38:33		
<b>Date Stamp</b>	04 Oct 2003 16:38:33				<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\A422A2Fla03\1\A422A2Fla03.d		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H		<b>Number of Transients</b>	16	<b>Origin</b>	joel
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel		<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	DMSO-D6
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000					

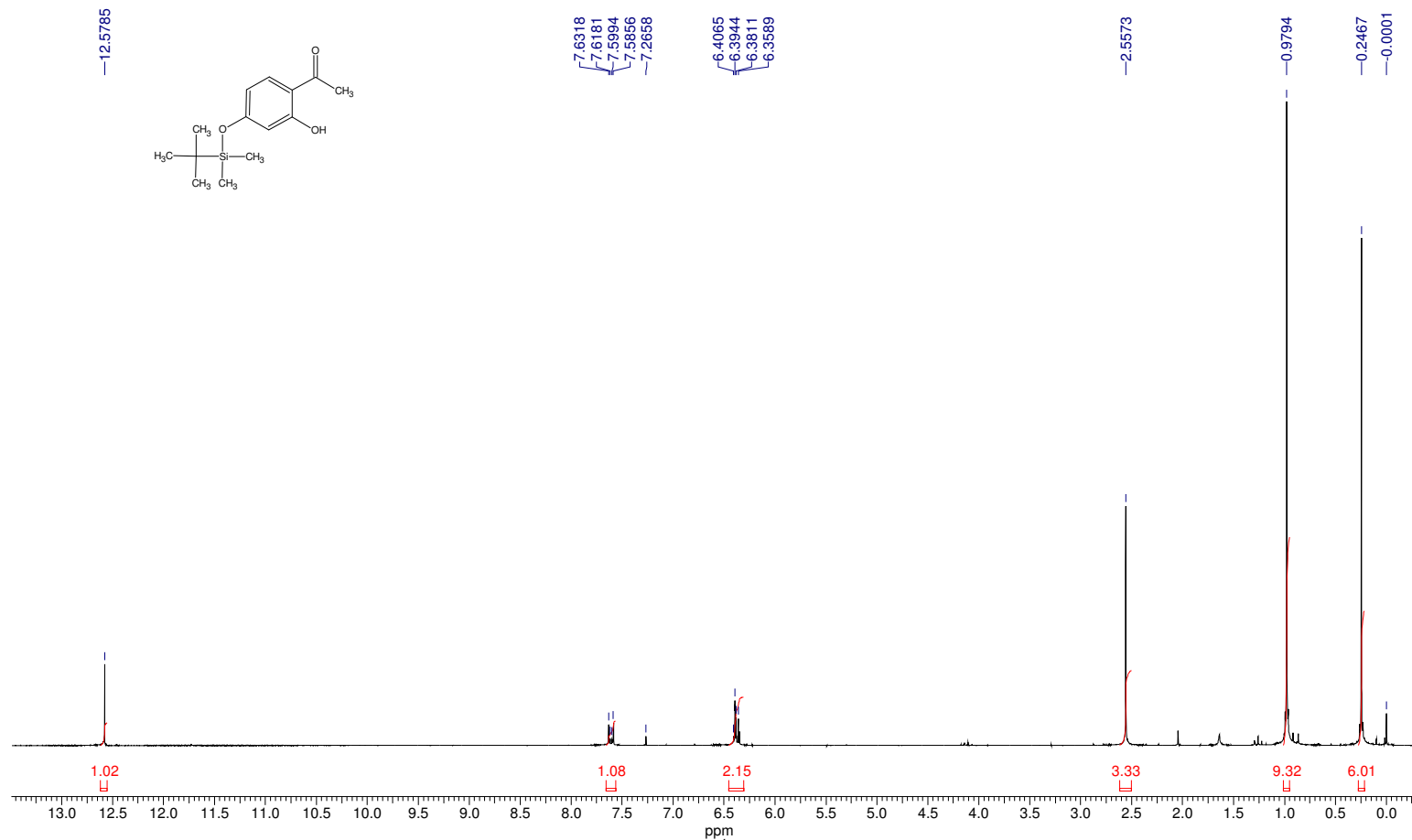
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 11

<b>Acquisition Time (sec)</b> 18.4813	<b>Comment</b>		
<b>Date</b>	<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\2_2003\A512A2Fla12a\1\A512A2Fla12a.dx	
<b>Frequency (MHz)</b> 200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Origin</b> SpinWorks 1.3, Kirk Marat, U of Manitoba
<b>Original Points Count</b> 65536	<b>Owner</b>	undefined	<b>Points Count</b> 65536
<b>Sweep Width (Hz)</b> 3546.07			

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 2

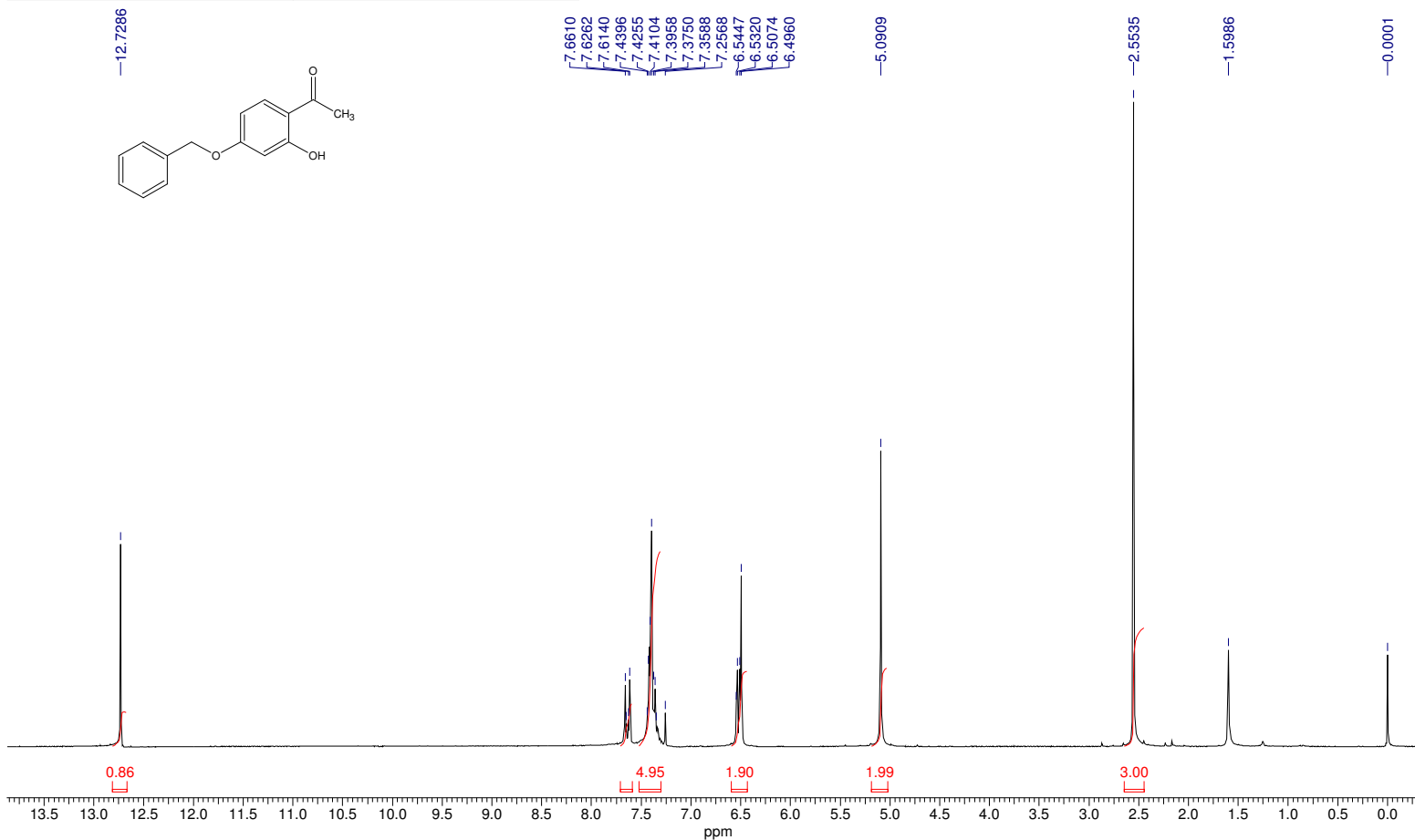
A222A2Ac01

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A222A2Ac01		<b>Date</b>	28 May 1970 11:16:24	
<b>Date Stamp</b>	28 May 1970 11:16:24		<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\A222A2Ac01\1\A222A2Ac01.dx			
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8	<b>Origin</b>	joel
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000				

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 13

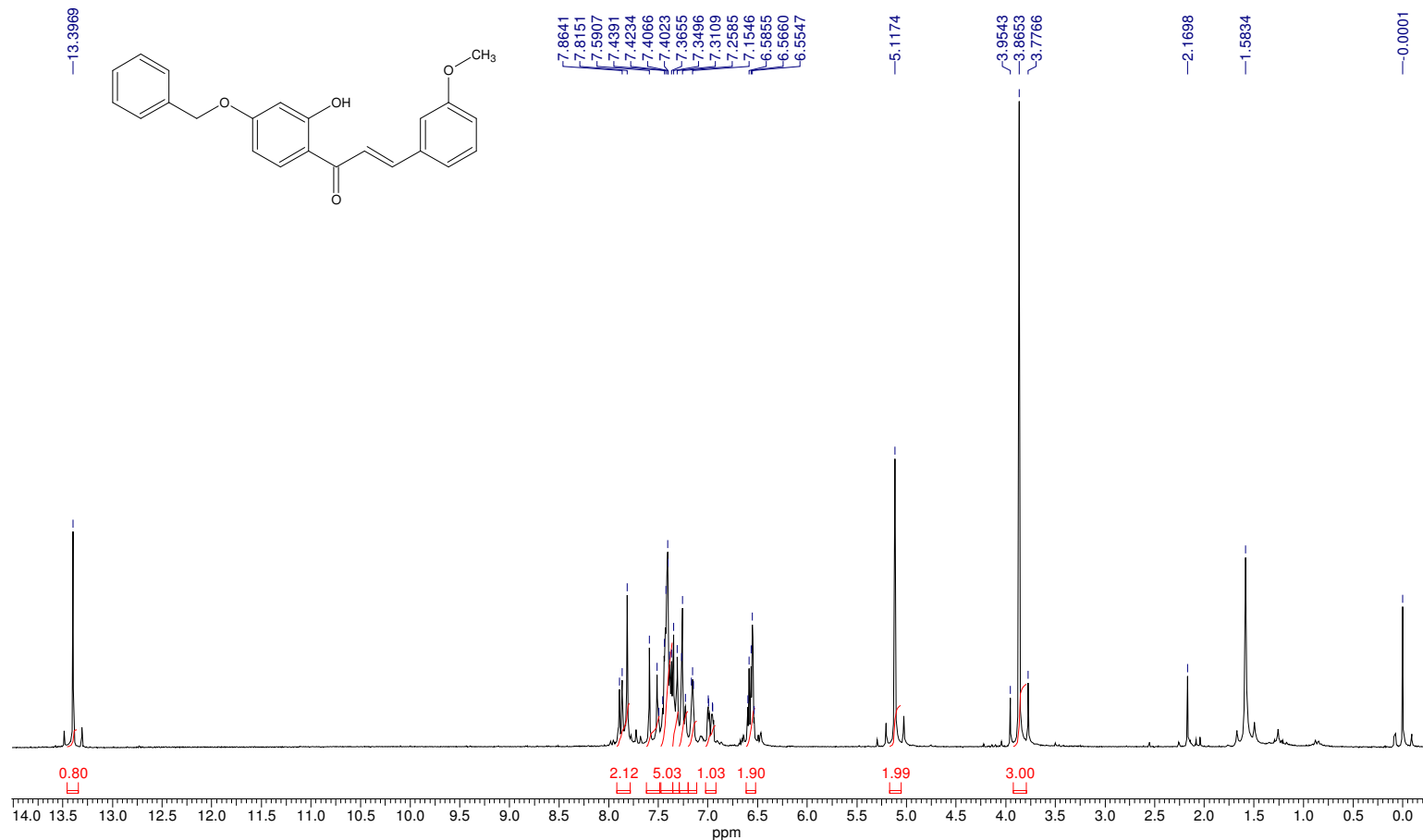
5 May 2004

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A492A2Act06a	<b>Date</b>	01 Dec 1970 23:38:14		
<b>Date Stamp</b>	01 Dec 1970 23:38:14		<b>File Name</b>	E:\JOEL\DOUTORADO\RMN\2_2003\A492A2ACT06A\1\A492A2ACT06A.DX			
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8	<b>Origin</b>	joel
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000				

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 17

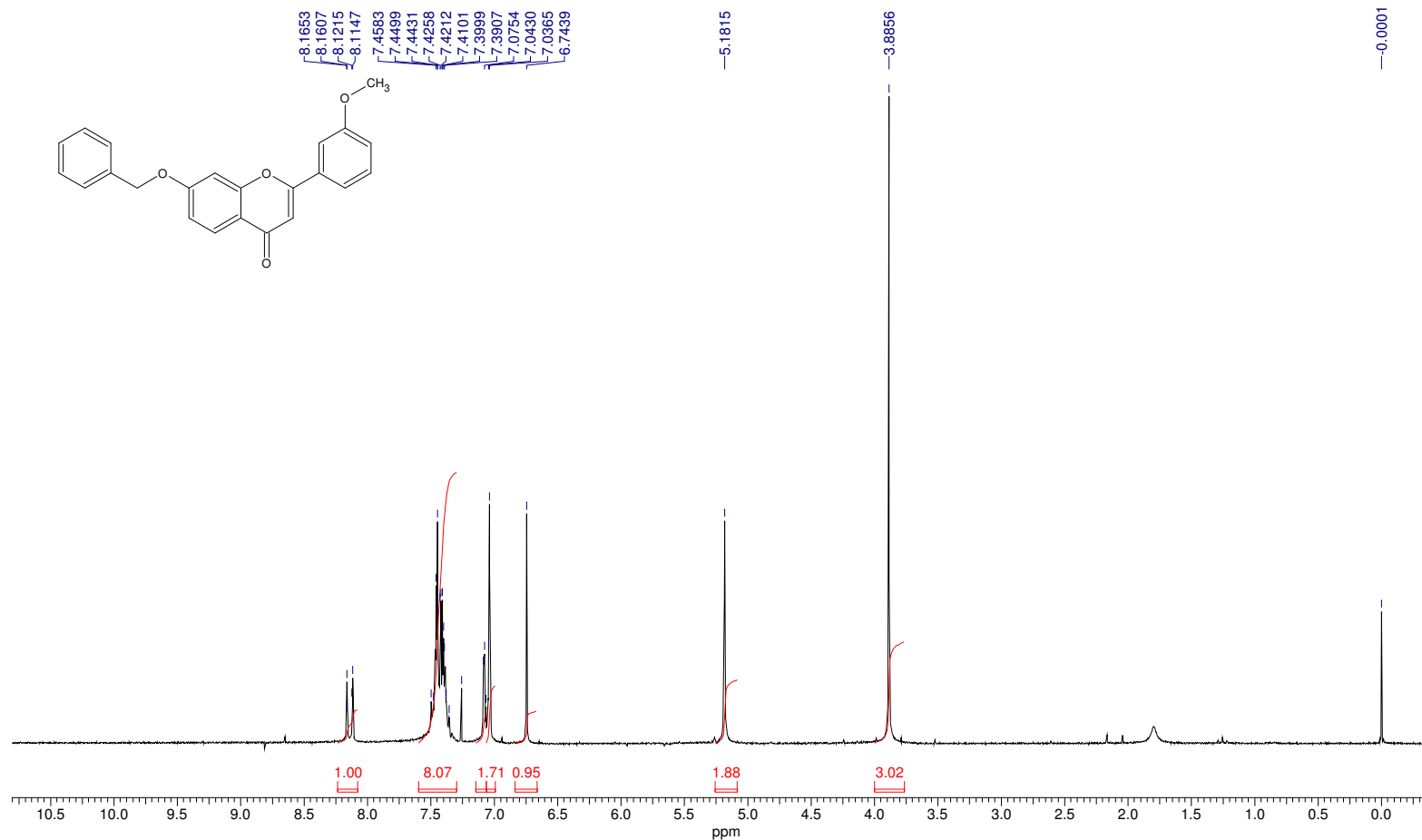
5 May 2004

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A032A2Acet07	Date	09 Jan 1971 09:24:57
Date Stamp	09 Jan 1971 09:24:57	File Name	E:\JOEL\DOCTORADO\RMN1 2004\A032A2ACET07\1\A032A2ACET07.DX		
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	16
Original Points Count	65536	Owner	joel	Points Count	65536
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Origin	joel
				Solvent	CHLOROFORM-D

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 19

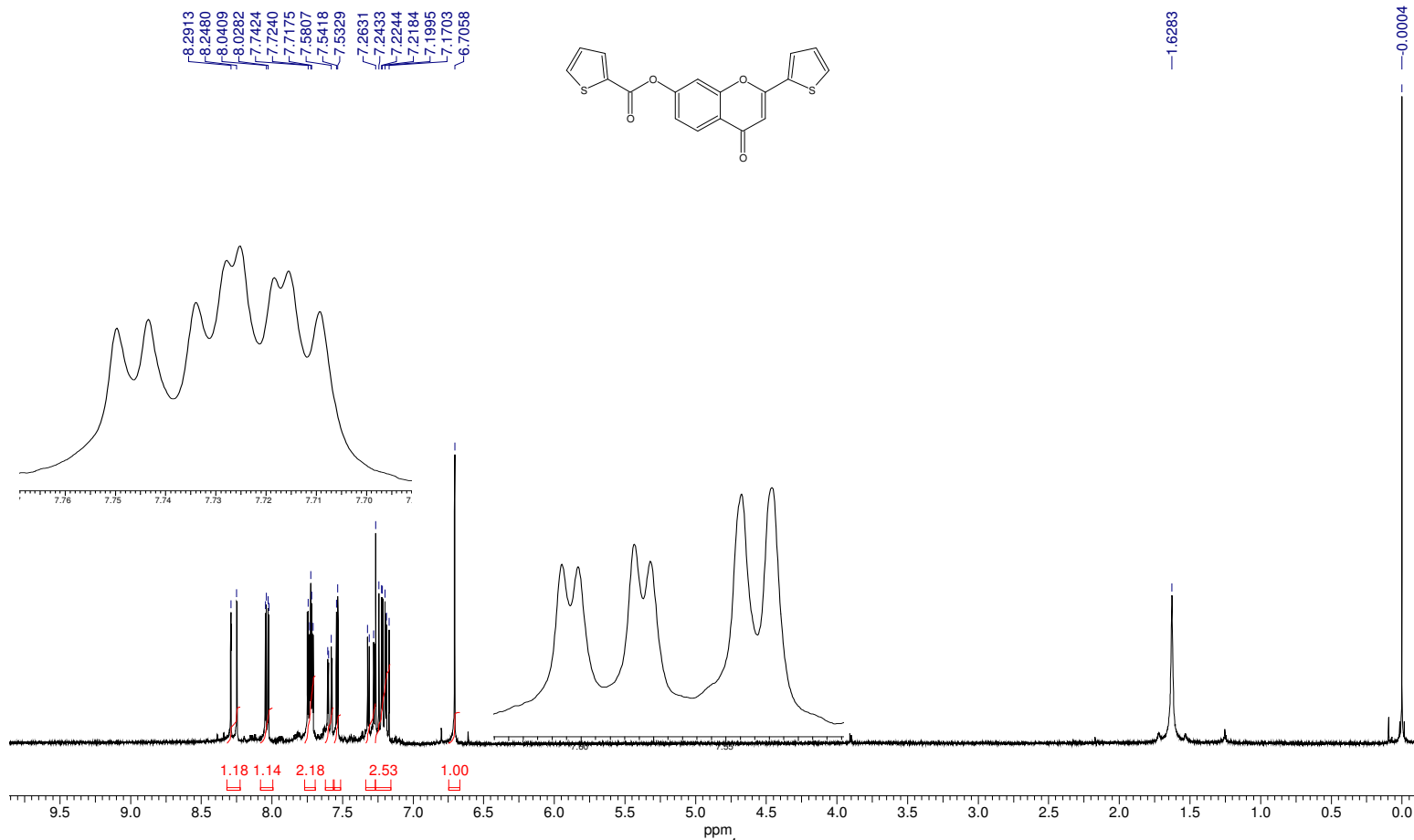
6 May 2004

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A132A2Fla13	Date	14 Mar 1971 18:44:38				
Date Stamp	14 Mar 1971 18:44:38	File Name	E:\JOEL\DOTORADO\RMN\1_2004\A132A2FLA13\11\A132A2FLA13.DX						
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	4	Origin	joel	Original Points Count	65536
Owner	joel	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10		
Temperature (degree C)	27.000								

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 3

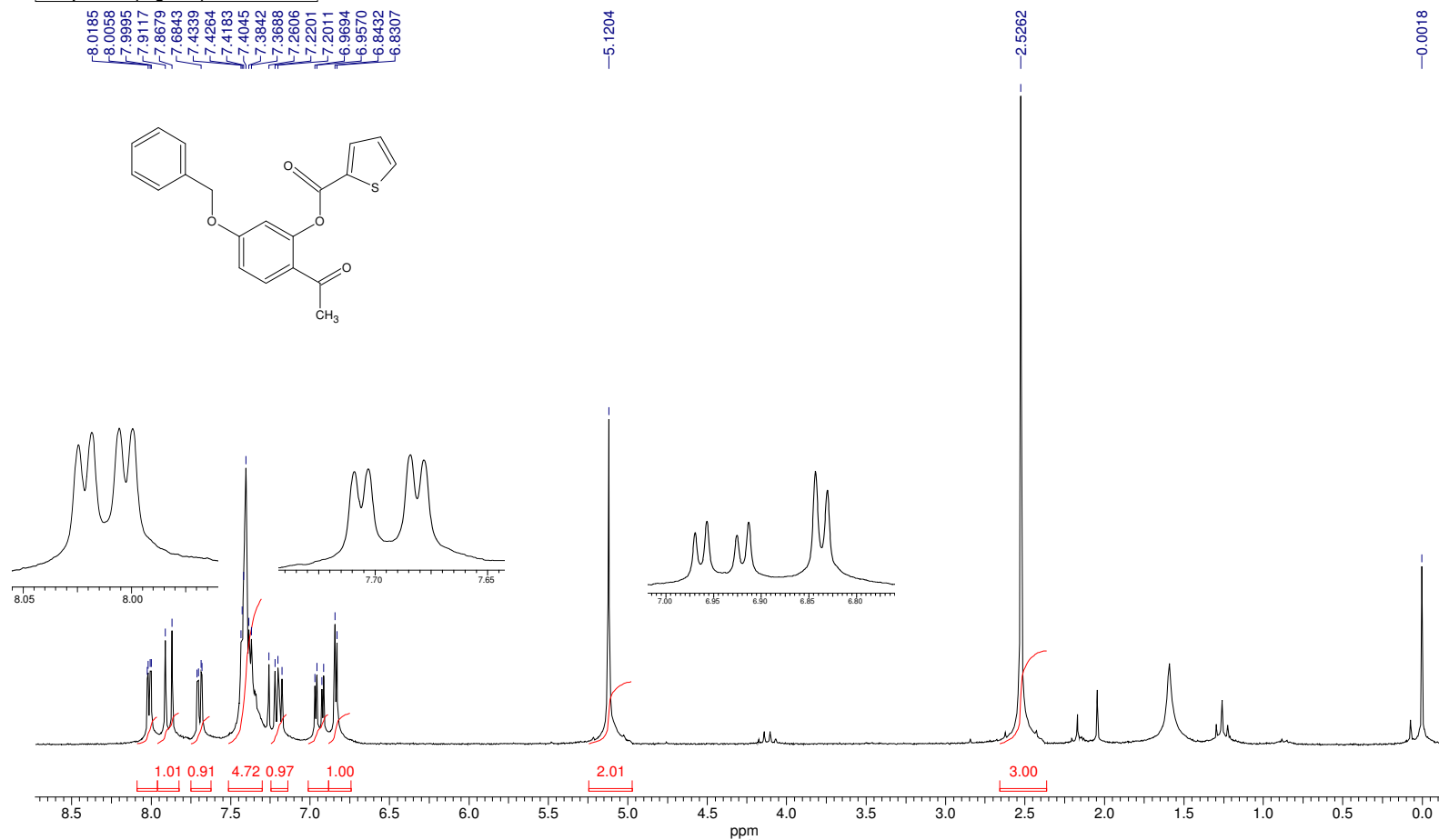


<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A452A2Fla07	<b>Date</b>	02 Nov 2003 05:26:11
<b>Date Stamp</b>	02 Nov 2003 05:26:11				
<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\2_2003\A452A2Fla07\1\A452A2Fla07.dx			<b>Frequency (MHz)</b>	200.13
<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16	<b>Origin</b>	joel
<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 20

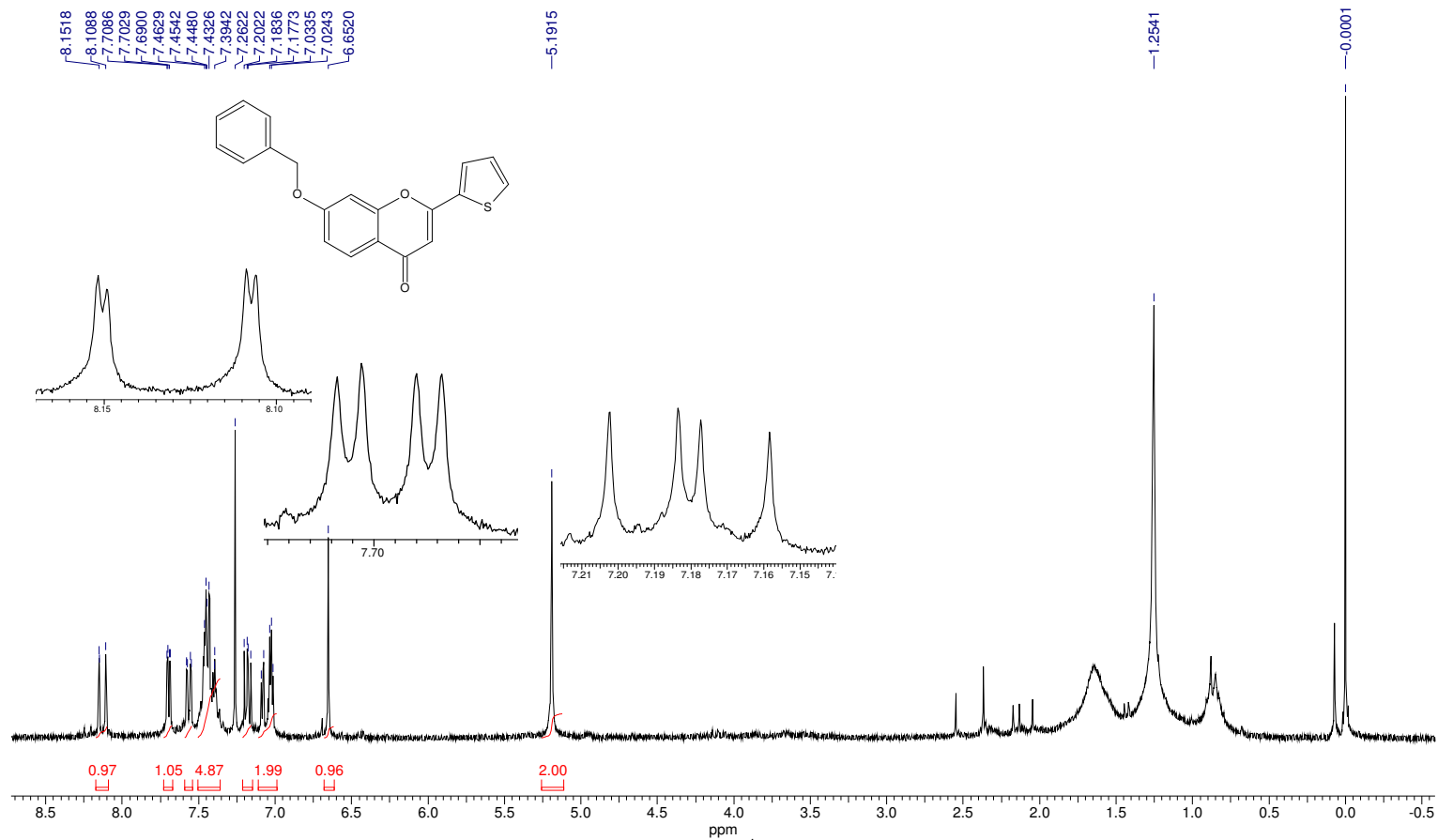
6 May 2004

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A512A2Dic15	Date	16 Dec 1970 12:34:02				
Date Stamp	16 Dec 1970 12:34:02	File Name	E:\JOEL\OUTORADO\RMN\2_2003\A512A2DIC15\1\A512A2DIC15.DX						
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	joel	Original Points Count	65536
Owner	joel	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10		
Temperature (degree C)	27.000								

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **21**

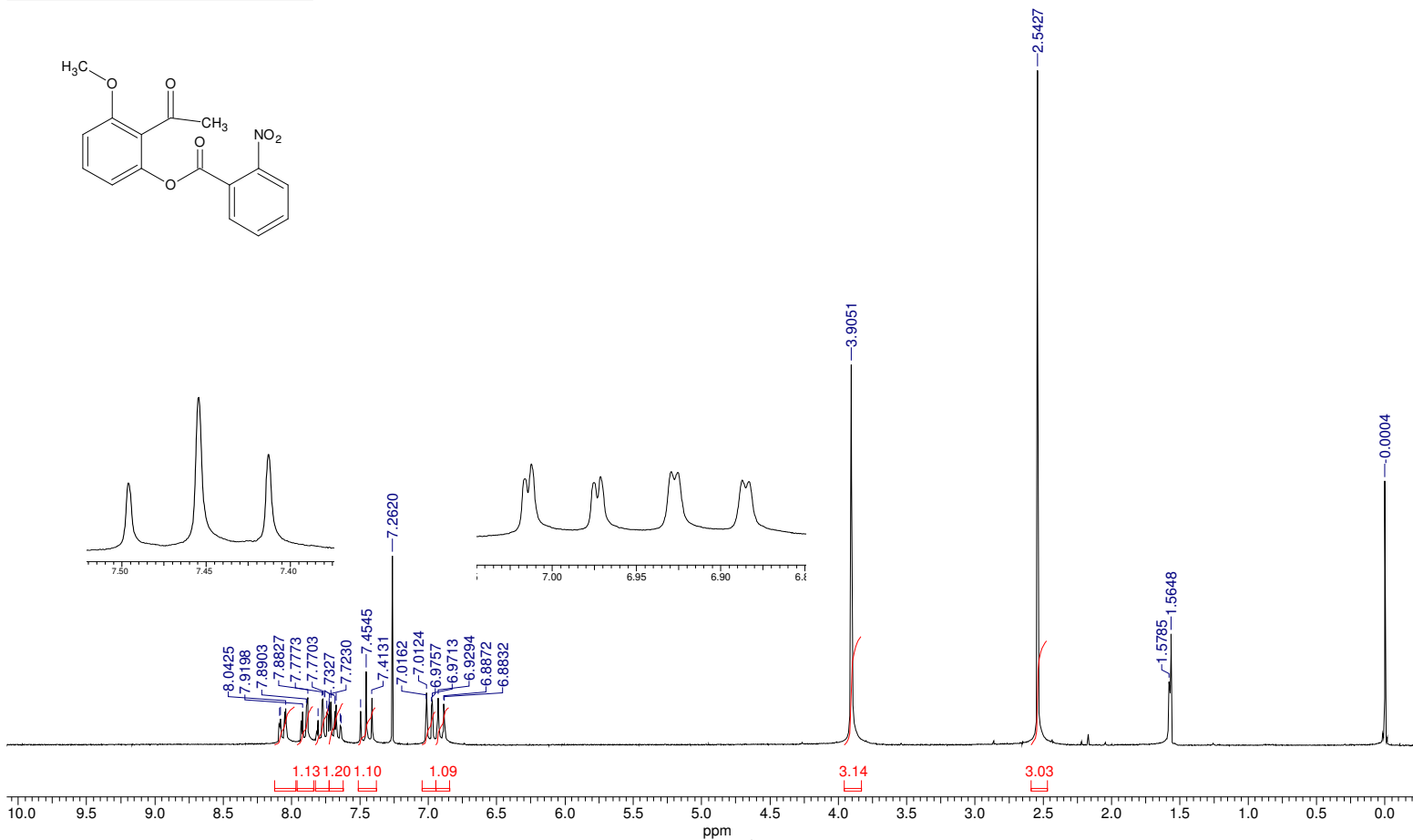
6 May 2004

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A152A2Fla15	Date	01 Apr 1971 09:05:35	
Date Stamp	01 Apr 1971 09:05:35	Nucleus	1H	File Name	E:\JOEL\DOCTORADO\RMN\1_2004\A152A2FLA15\1\A152A2FLA15.DX	
Frequency (MHz)	200.13	Points Count	65536	Number of Transients	16	Origin joel
Owner	joel	Solvent	CHLOROFORM-D	Original Points Count	65536	
Temperature (degree C)	27.000	Sweep Width (Hz)	3546.10			

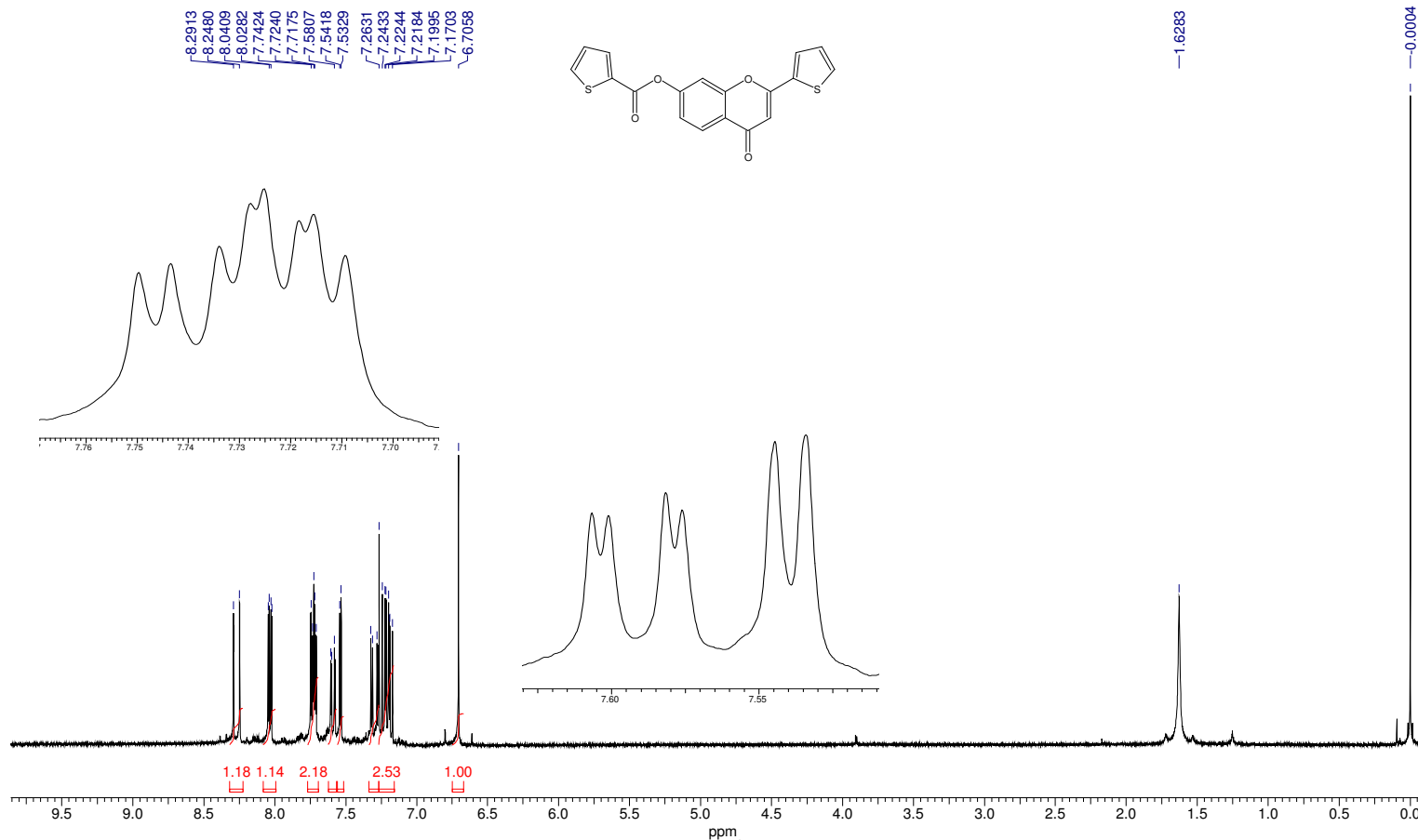
Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 4

5 Jun 2006

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A222A2Est08a	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\user\Meus documentos\Doutorado\RMN\1_2006\A222A2Est08a\1\A222A2Est08a_3a.esp				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	53
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Original Points Count</b>	65536
<b>Temperature (degree C)</b>	27.000			<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10

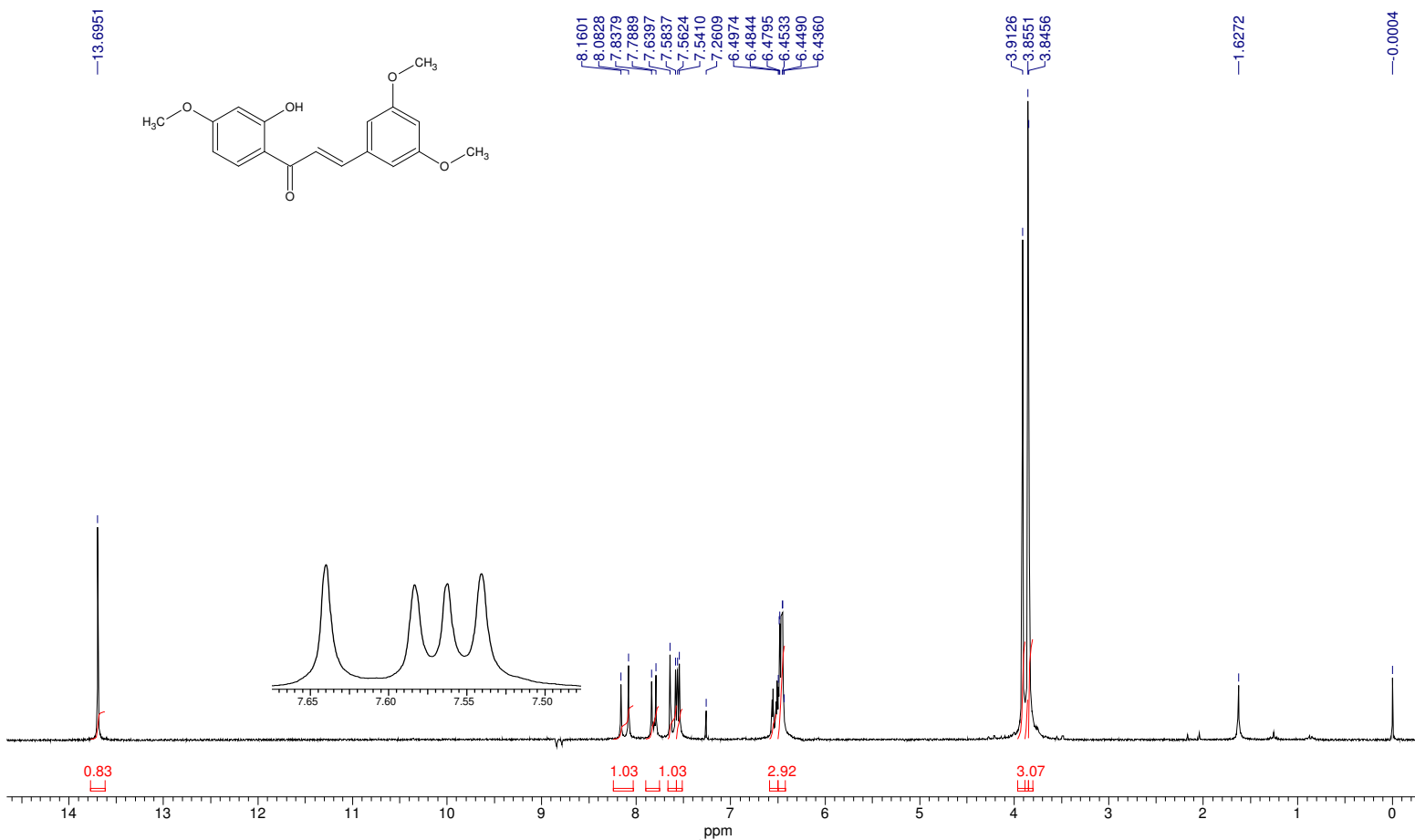
Espectro de RMN <sup>1</sup>H do éster 34

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A452A2Fla07	<b>Date</b>	02 Nov 2003 05:26:11
<b>Date Stamp</b>	02 Nov 2003 05:26:11				
<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\joel\Meus documentos\Doutorado\RMN\2_2003\A452A2Fla07\1\A452A2Fla07.dx			<b>Frequency (MHz)</b>	200.13
<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16	<b>Origin</b>	joel
<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

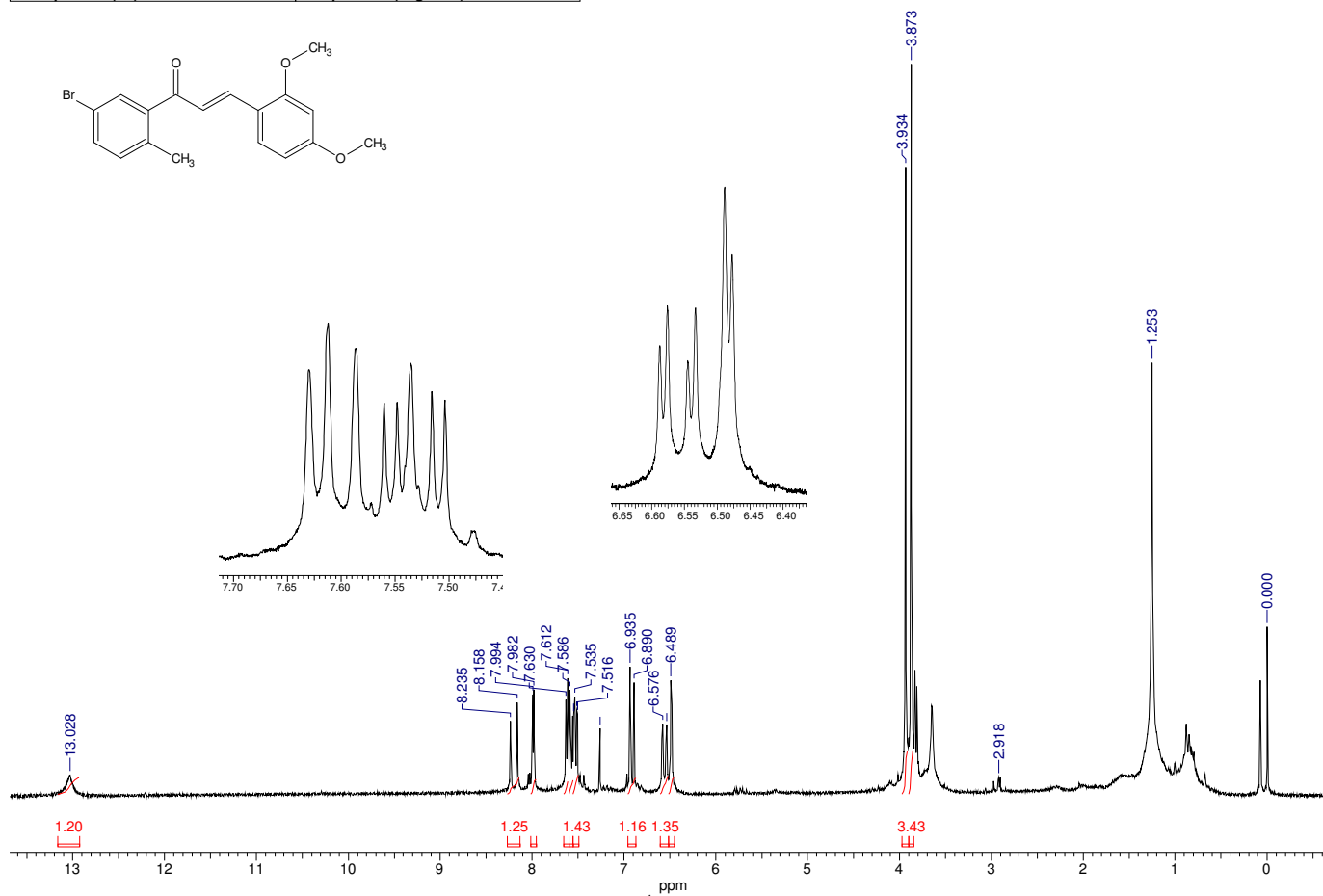
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 20

6 May 2004

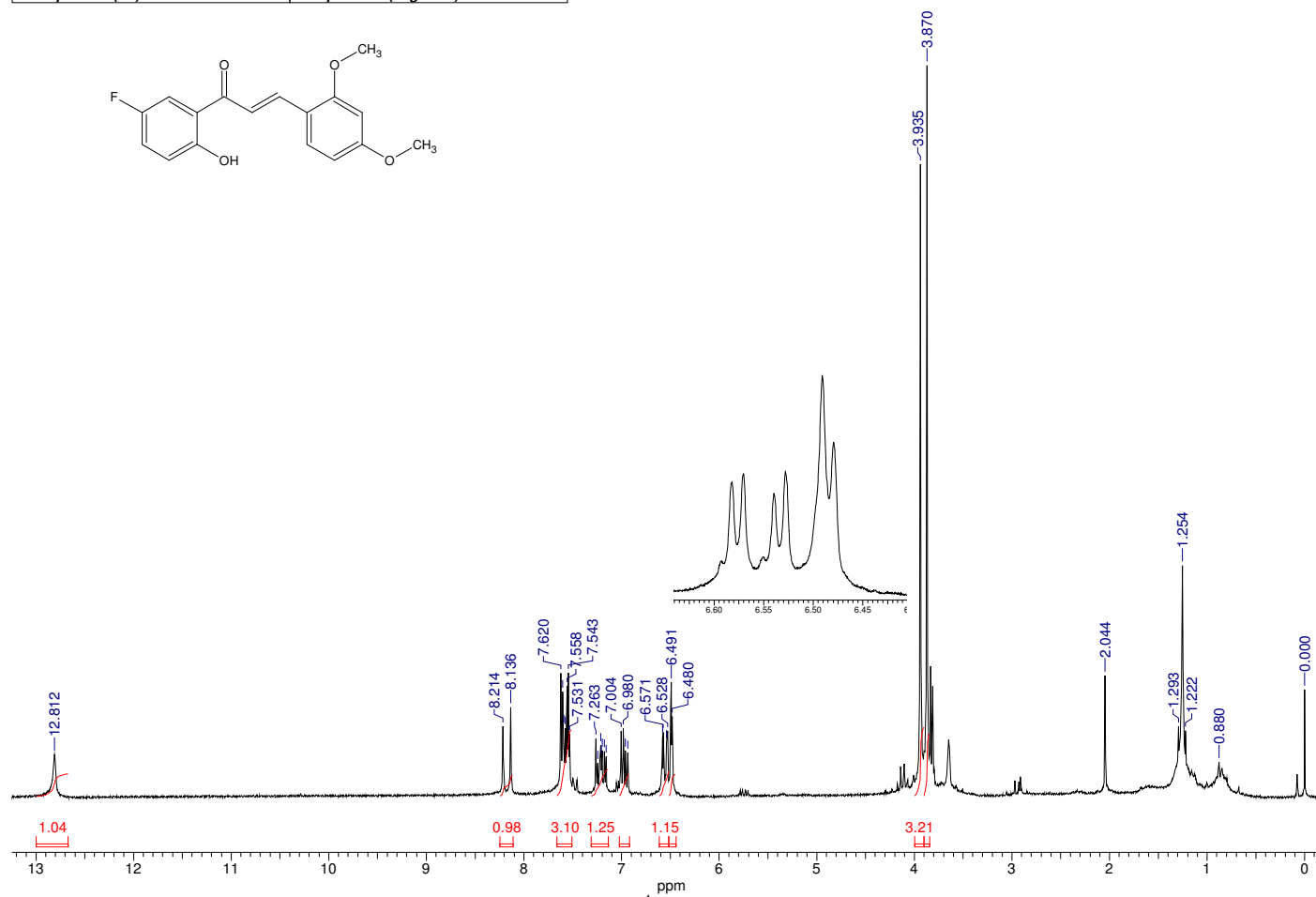
<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A132A2Chal02	<b>Date</b>	14 Mar 1971 17:52:55		
<b>Date Stamp</b>	14 Mar 1971 17:52:55	<b>File Name</b>	E:\JOEL\DOCTORADO\RMN1_2004\A132A2CHAL02\1\A132A2CHAL02.DX				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4	<b>Origin</b>	joel
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000				

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona **36**{1, 1}

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A332A2Chal04	<b>Date</b>	04 Aug 1971 14:07:43
<b>Date Stamp</b>	04 Aug 1971 14:07:43	<b>File Name</b>	D:\JOEL\DOCTORADO\RMN\2_2004\A332A2CHAL04\1\A332A2CHAL04.DX		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	<sup>1</sup> H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Origin</b>	joel
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000	<b>Points Count</b>	65536
				<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D

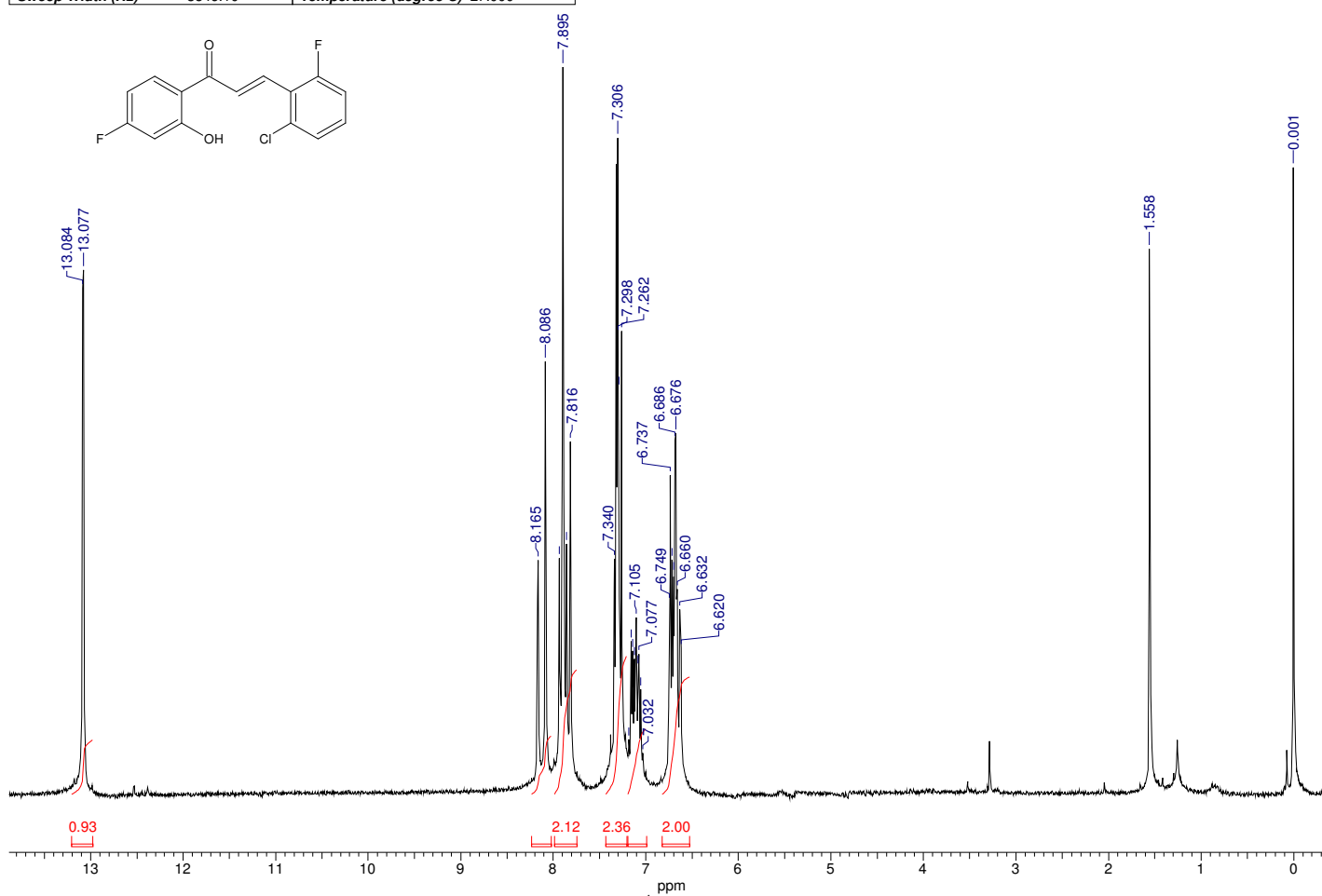
Espectro de RMN <sup>1</sup>H da chalcona 36{2, 1}

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A332A2Chal03	<b>Date</b>	03 Aug 1971 13:15:36
<b>Date Stamp</b>	03 Aug 1971 13:15:36	<b>File Name</b>	D:\Joel\Doutorado\RMN\2_2004\A332A2Chal03\1\A332A2Chal03.d		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D

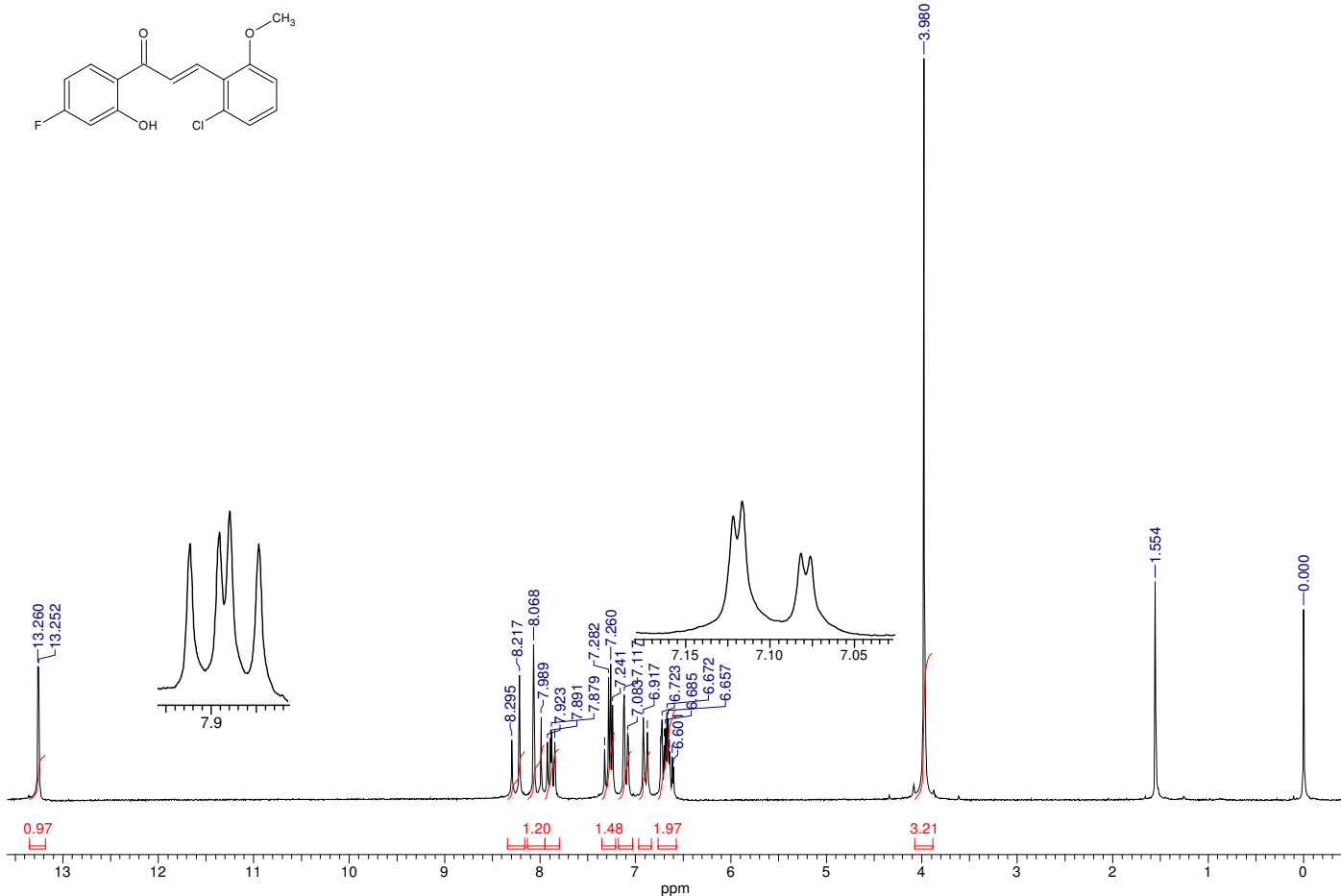
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona **36**{3, 1}



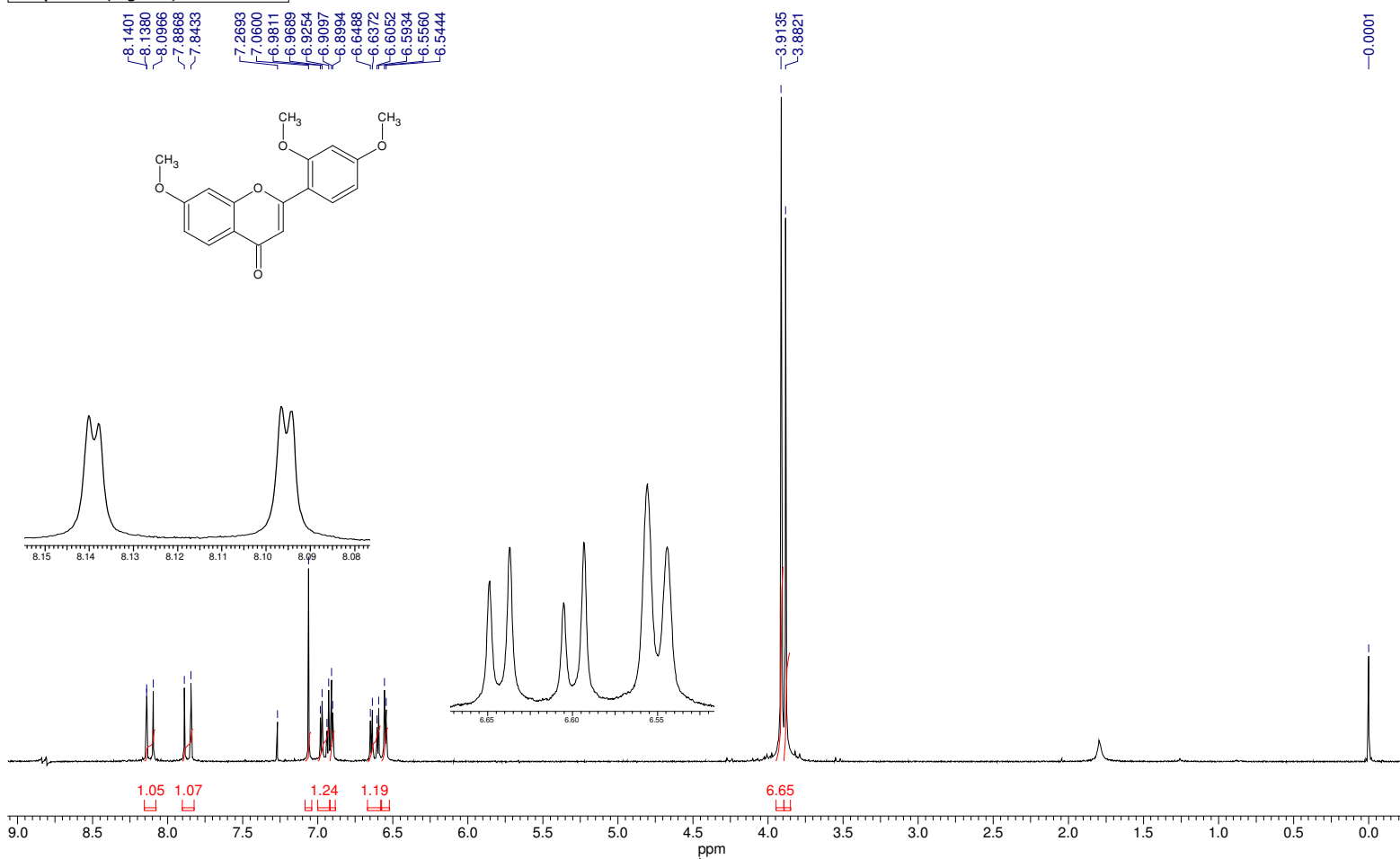
<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A092A2Cha06	<b>Date</b>	19 Feb 1972 05:01:28
<b>Date Stamp</b>	19 Feb 1972 05:01:28	<b>File Name</b>	D:\JOEL\DOCTORADO\RMN1_2005\A092A2CHA06\1\A092A2CHA06.DX		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 36{4,2}

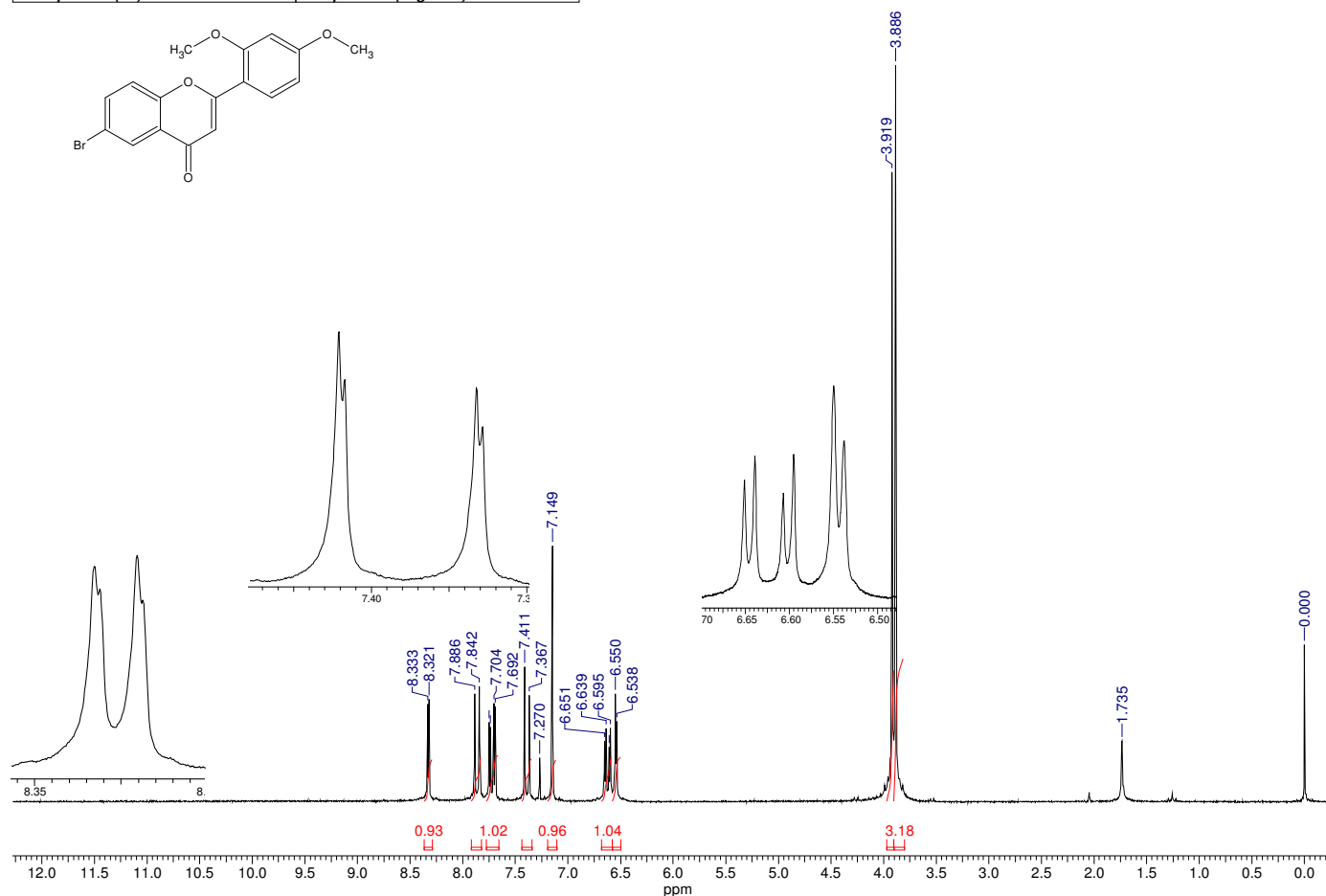
<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A102A2Cha05b	<b>Date</b>	23 Feb 1972 07:53:23
<b>Date Stamp</b>	23 Feb 1972 07:53:23	<b>File Name</b>	D:\JOEL\DOCTORADO\RMN\1_2005\A102A2CHA05B\1\A102A2CHA05B.DX		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 39

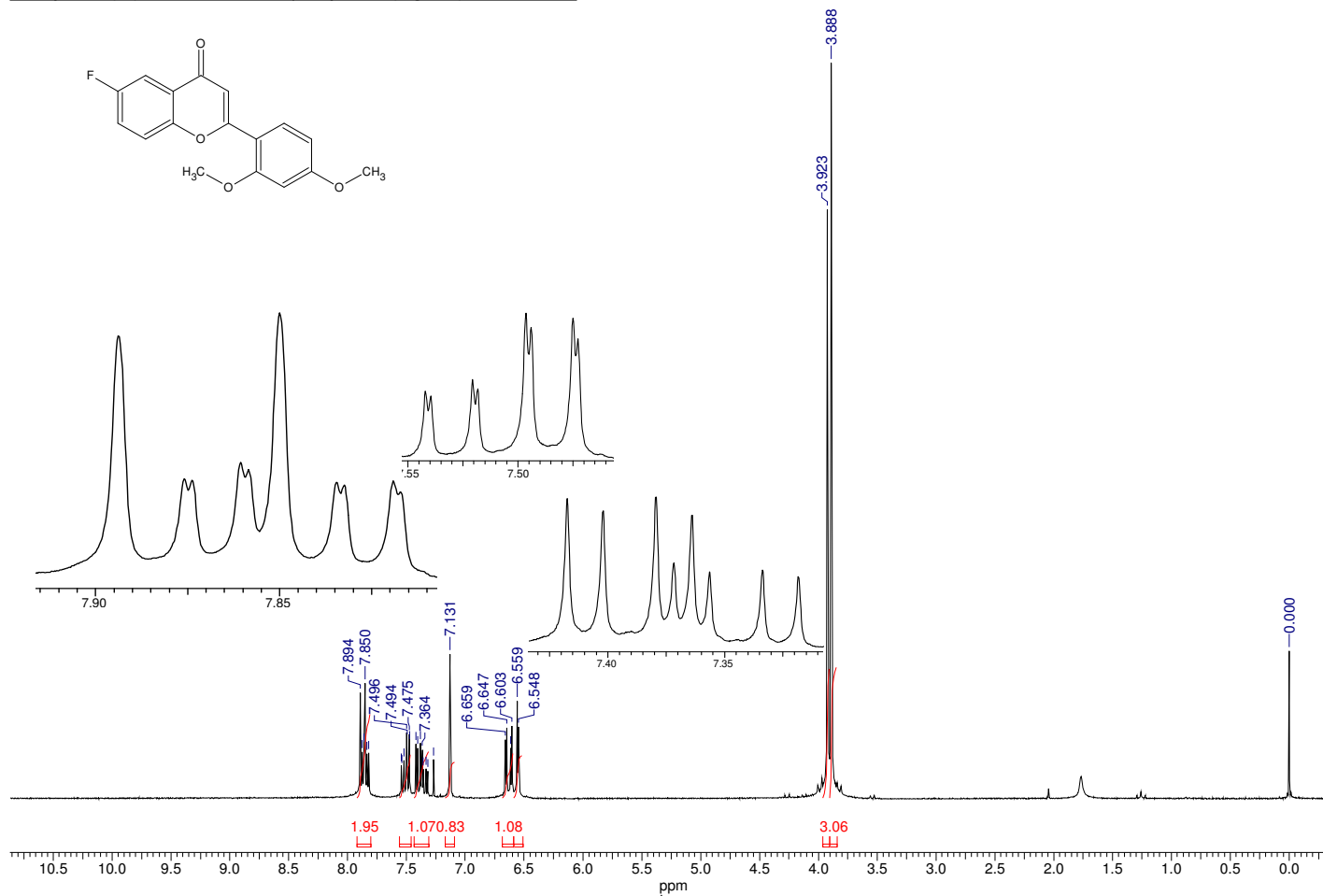
<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A142A2Fla14		<b>Date</b>	25 Mar 2004 10:30:08			
<b>Date Stamp</b>	25 Mar 2004 10:30:08		<b>File Name</b>	C:\Usuários\JOEL\Doutorado\RMN\1_2004\A142A2Fla14\1\A142A2Fla14.dx					
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4	<b>Origin</b>	joel	<b>Original Points Count</b>	65536
<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D		<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	
<b>Temperature (degree C)</b>	27.000								

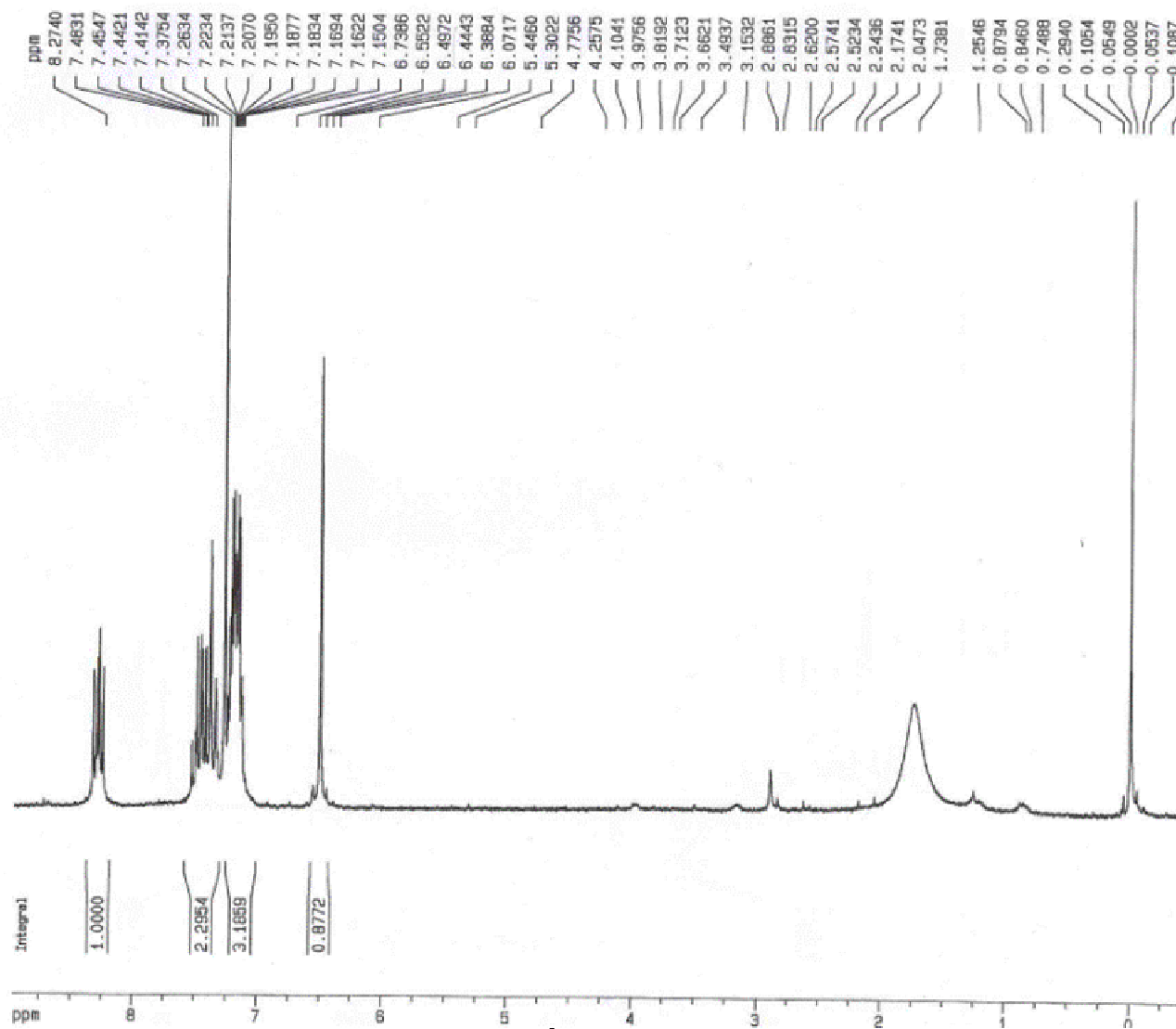
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona **40**{ 1, 1}

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A342A2Fla17	<b>Date</b>	08 Aug 1971 13:00:29
<b>Date Stamp</b>	08 Aug 1971 13:00:29	<b>File Name</b>	D:\JOELDOUTORADO\RMN\2_2004\A342A2FLA17\1\A342A2FLA17.DX		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D

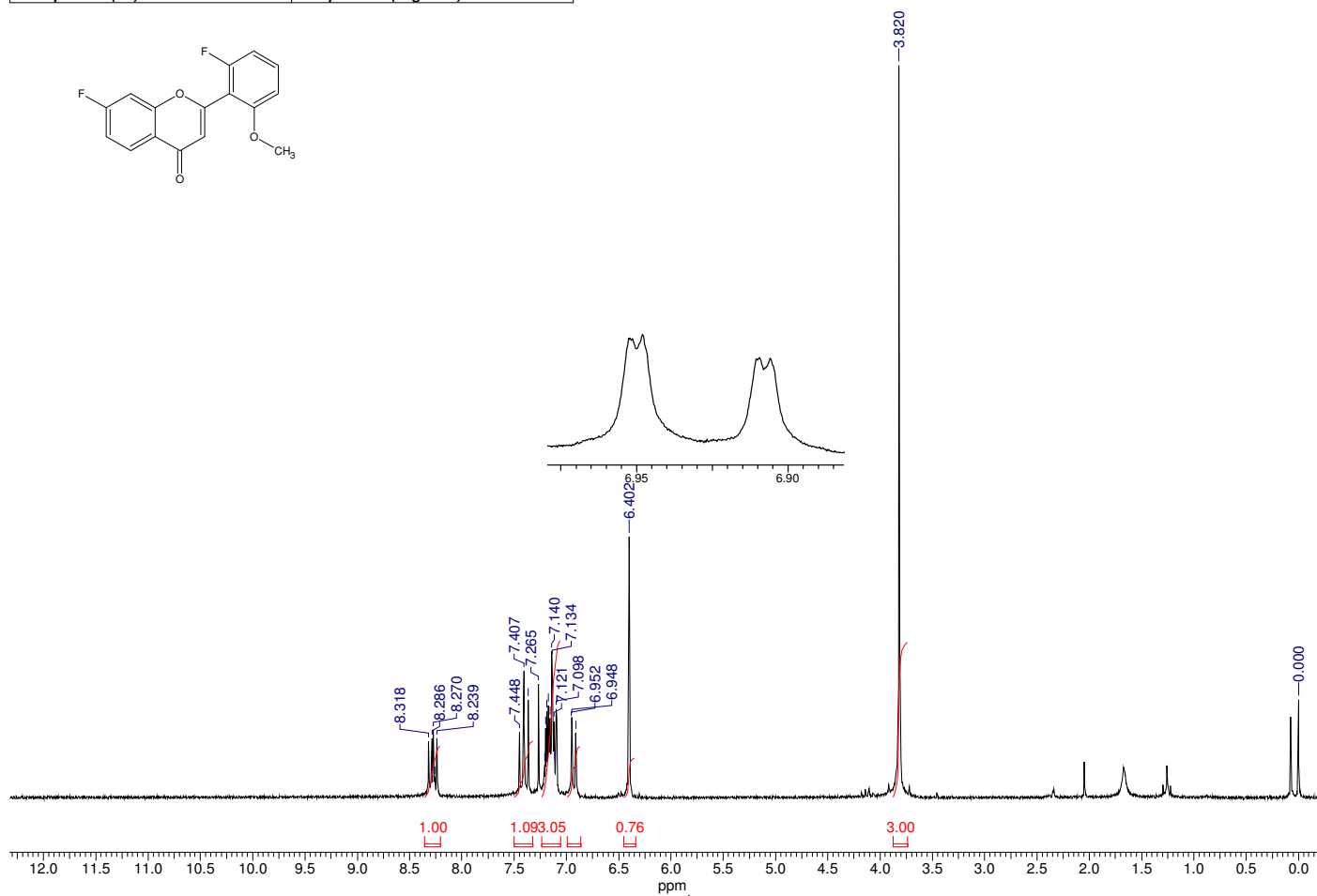
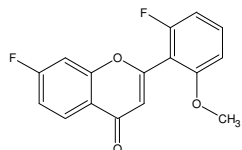
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 40{2,1}

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A352A2Fla18	<b>Date</b>	15 Aug 1971 11:39:07		
<b>Date Stamp</b>	15 Aug 1971 11:39:07	<b>File Name</b>	D:\JOEL\DOCTORADO\RMN\2_2004\A352A2FLA18\1\A352A2FLA18.DX				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16	<b>Origin</b>	joel
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000				

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 40{3,1}

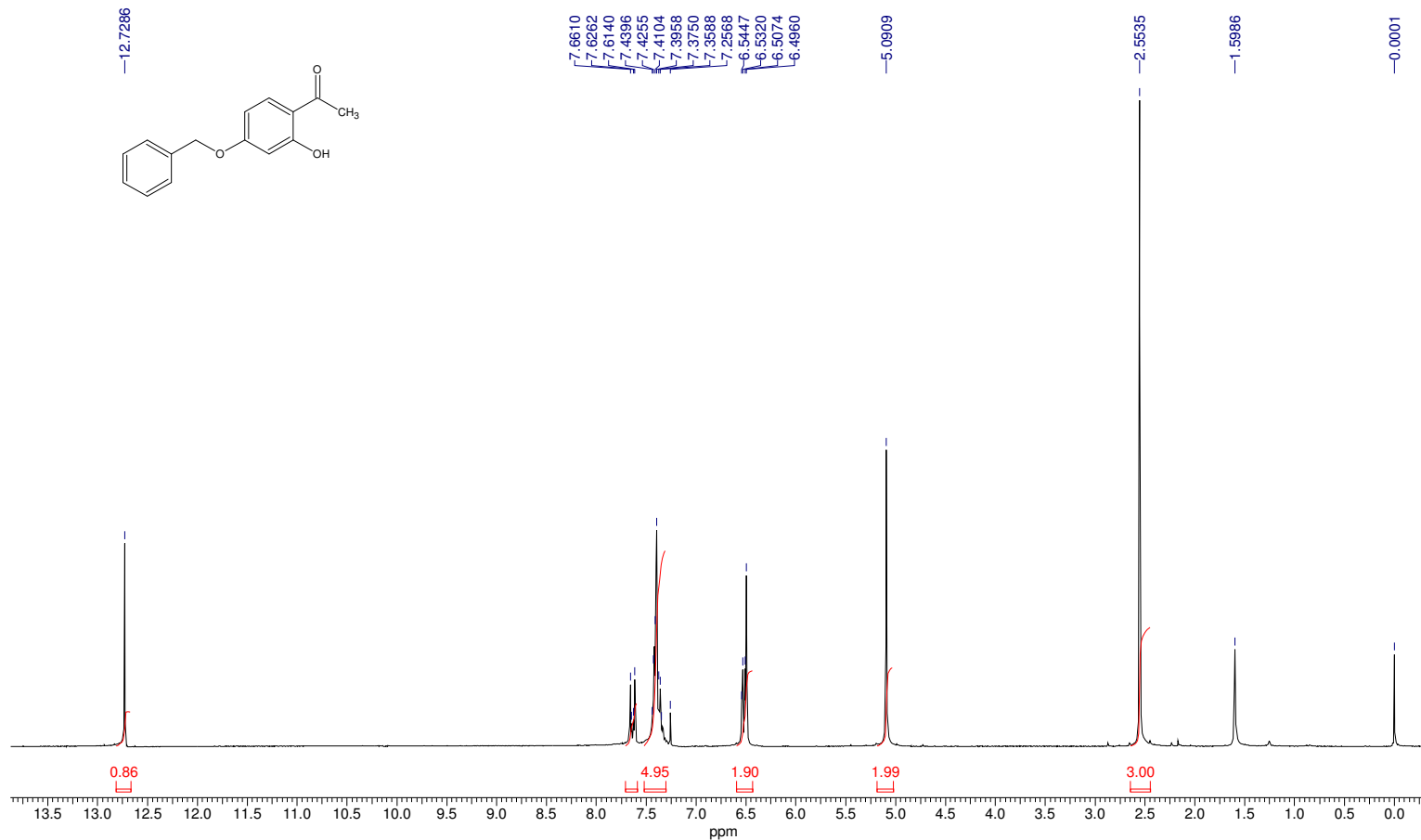
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 40{4,2}

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A092A2Fla21	Date	12 Feb 1972 06:09:45		
Date Stamp	12 Feb 1972 06:09:45			File Name	D:\JOEL\DOCTORADO\RMN\1_2005\A092A2FLA21\1\A092A2FLA21.DX		
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	joel
Original Points Count	65536	Owner	joel	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000				

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 41

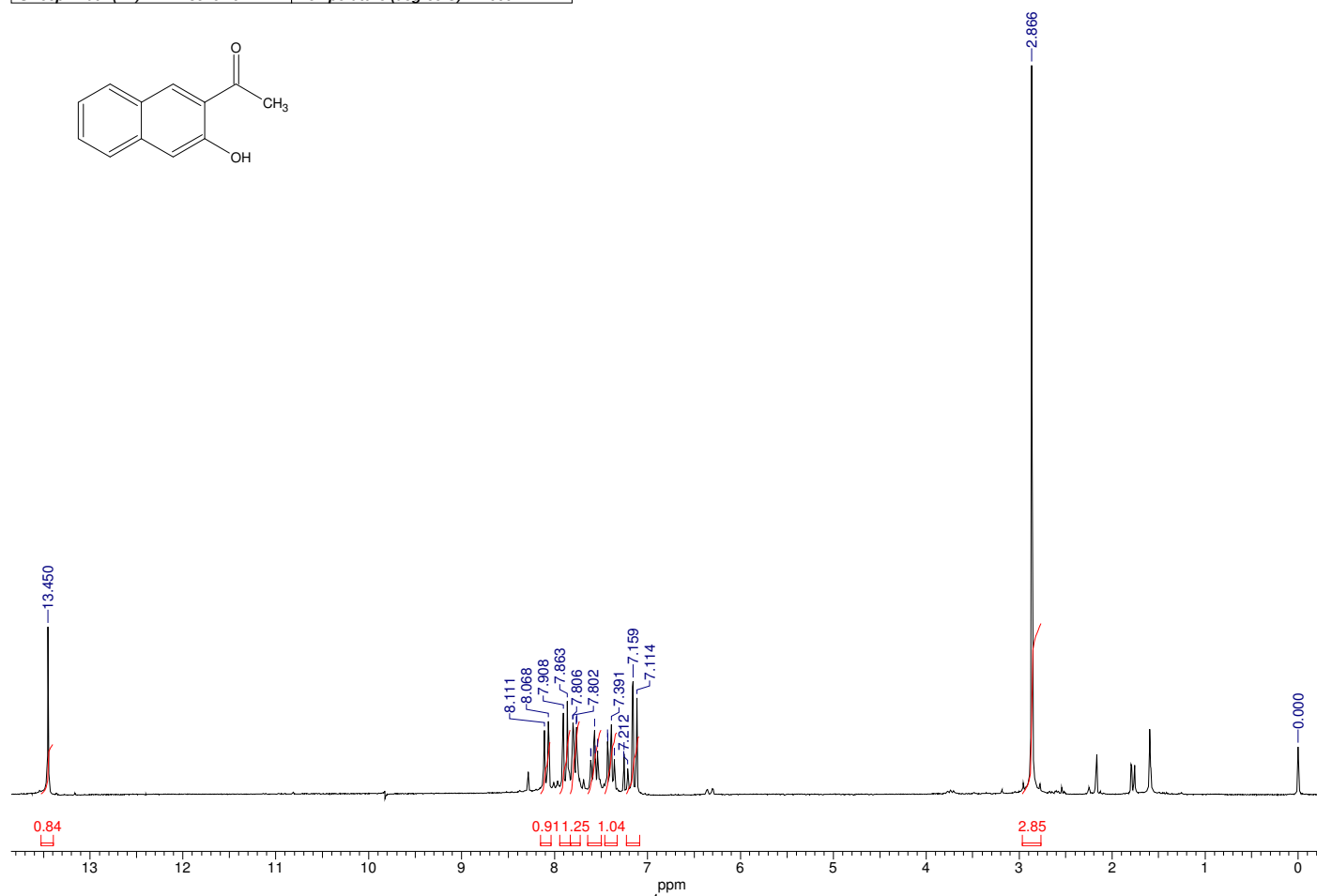
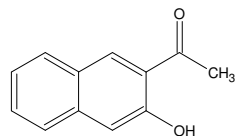
5 May 2004

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A492A2Act06a	<b>Date</b>	01 Dec 1970 23:38:14		
<b>Date Stamp</b>	01 Dec 1970 23:38:14			<b>File Name</b>	E:\JOEL\DOUTORADO\RMN\2_2003\A492A2ACT06A\1\A492A2ACT06A.DX		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8	<b>Origin</b>	joel
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000				

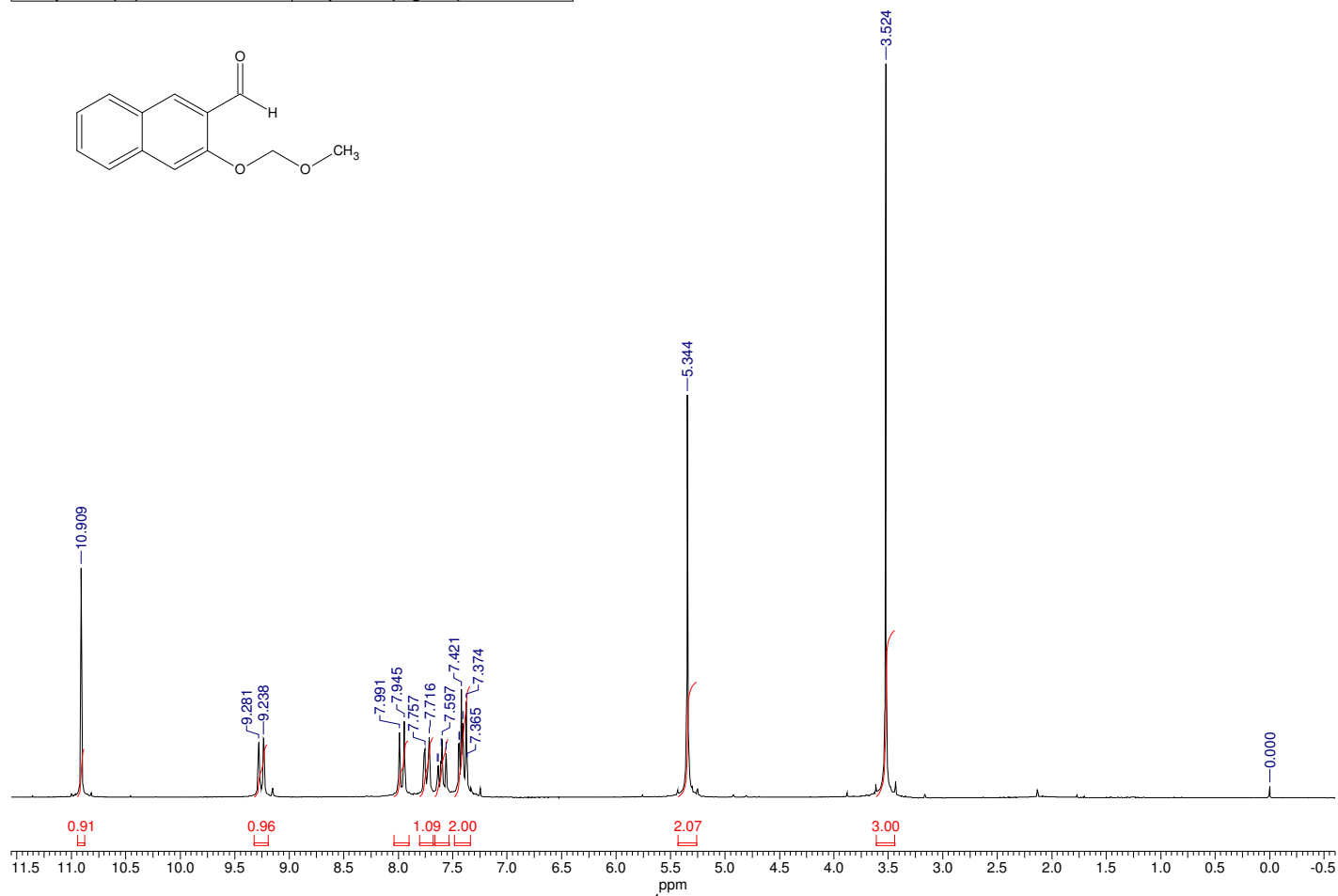
Espectro de RMN <sup>1</sup>H da acetofenona 44{1}



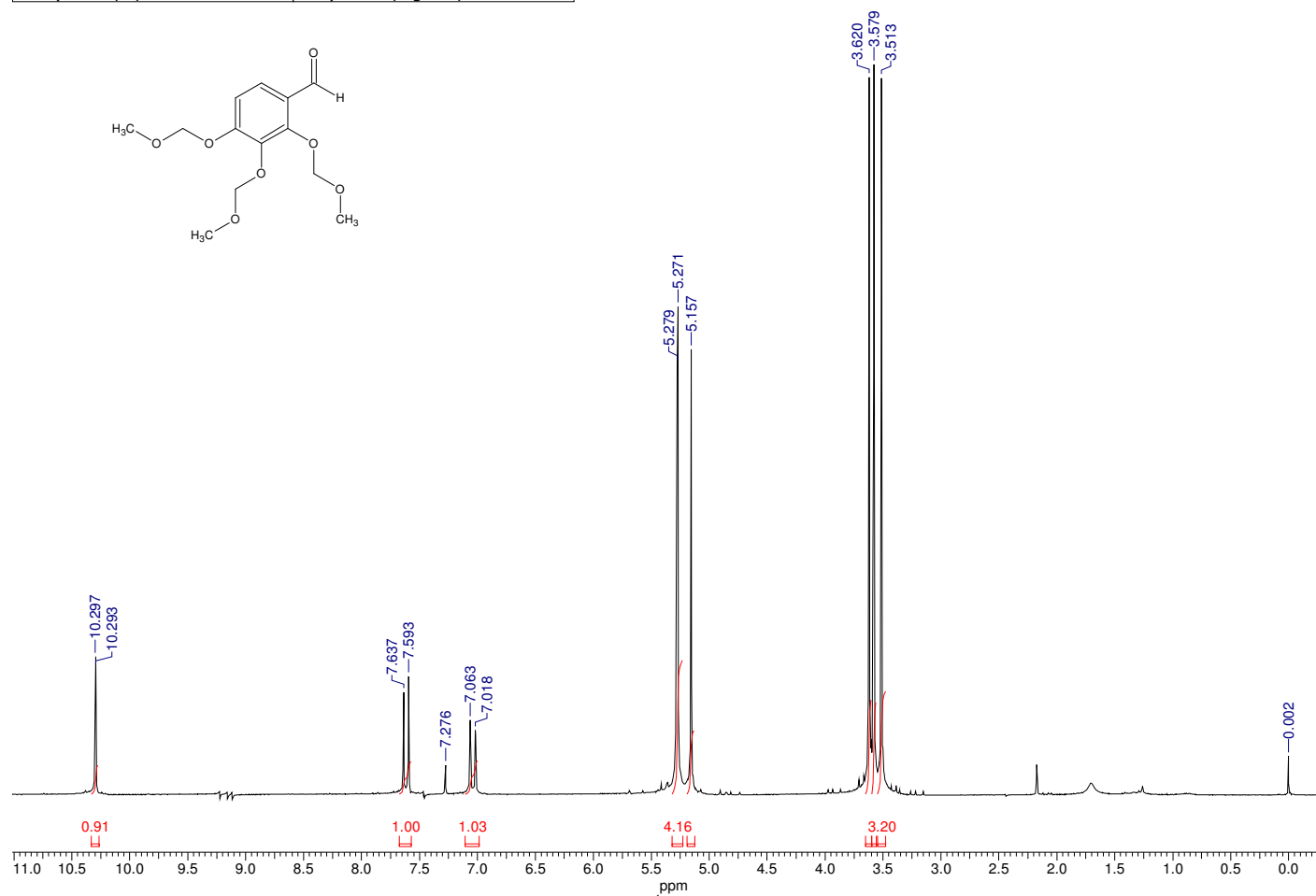
<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A142A2CC05	<b>Date</b>	19 Mar 1972 04:53:58		
<b>Date Stamp</b>	19 Mar 1972 04:53:58			<b>File Name</b>	D:\JOEL\DOCTORADO\RMN\1 2005\A142A2CC05\1\A142A2CC05.DX		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4	<b>Origin</b>	joel
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000				

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 44{2}

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A132A2CC01		<b>Date</b>	06 Mar 1972 11:03:43	
<b>Date Stamp</b>	06 Mar 1972 11:03:43	<b>File Name</b>	D:\JOELDOUTORADO\RMN\1 2005\A132A2CC01\1\A132A2CC01.DX				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H		<b>Number of Transients</b>	4	
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel		<b>Points Count</b>	65536	
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	

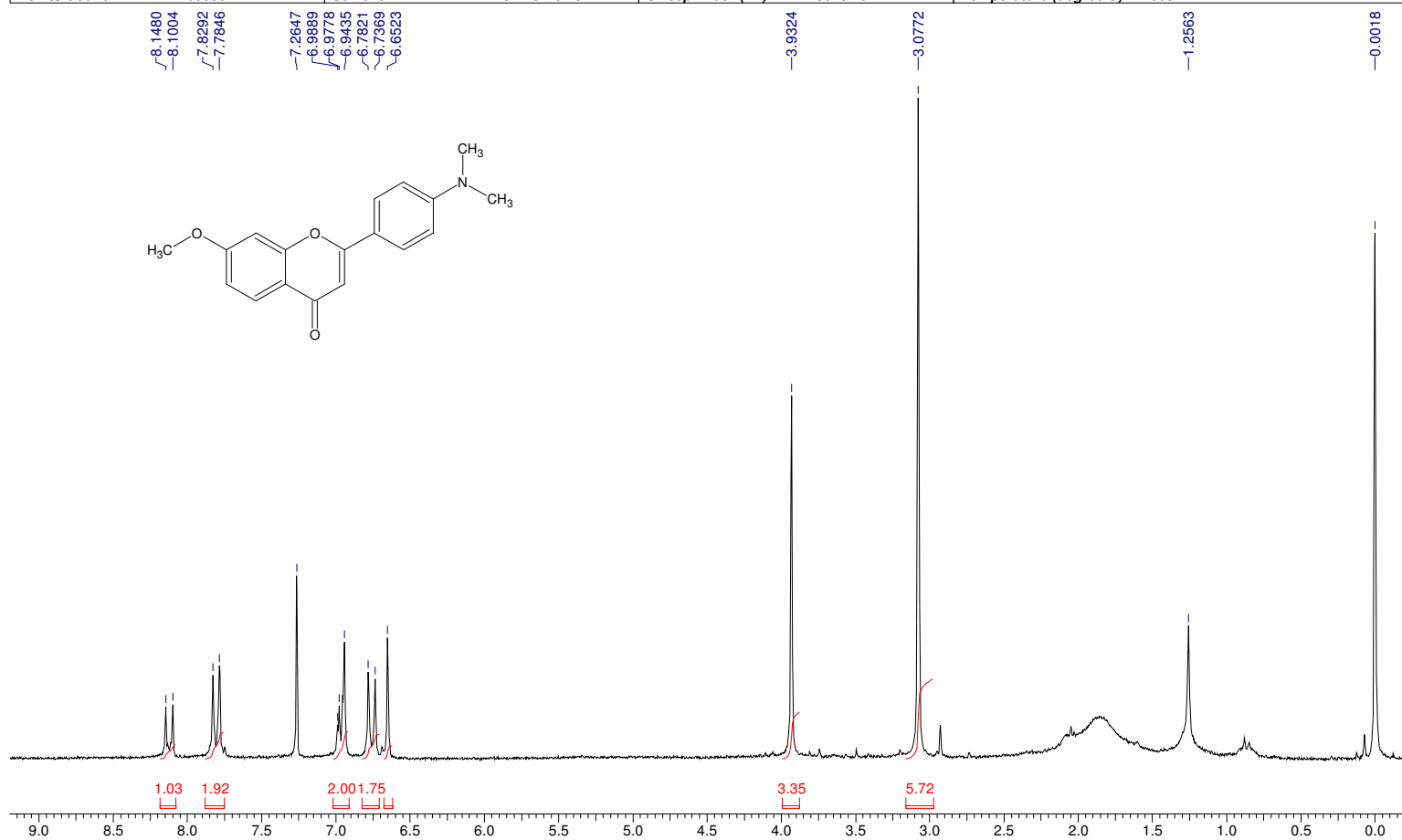
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 45{1}

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A142A2CC06		<b>Date</b>	19 Mar 1972 04:48:07	
<b>Date Stamp</b>	19 Mar 1972 04:48:07		<b>File Name</b>	D:\JOEL\DOCTORADO\RMN\1_2005\A142A2CC06\1\A142A2CC06.DX			
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4	<b>Origin</b>	joel
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000				

Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 45{2}

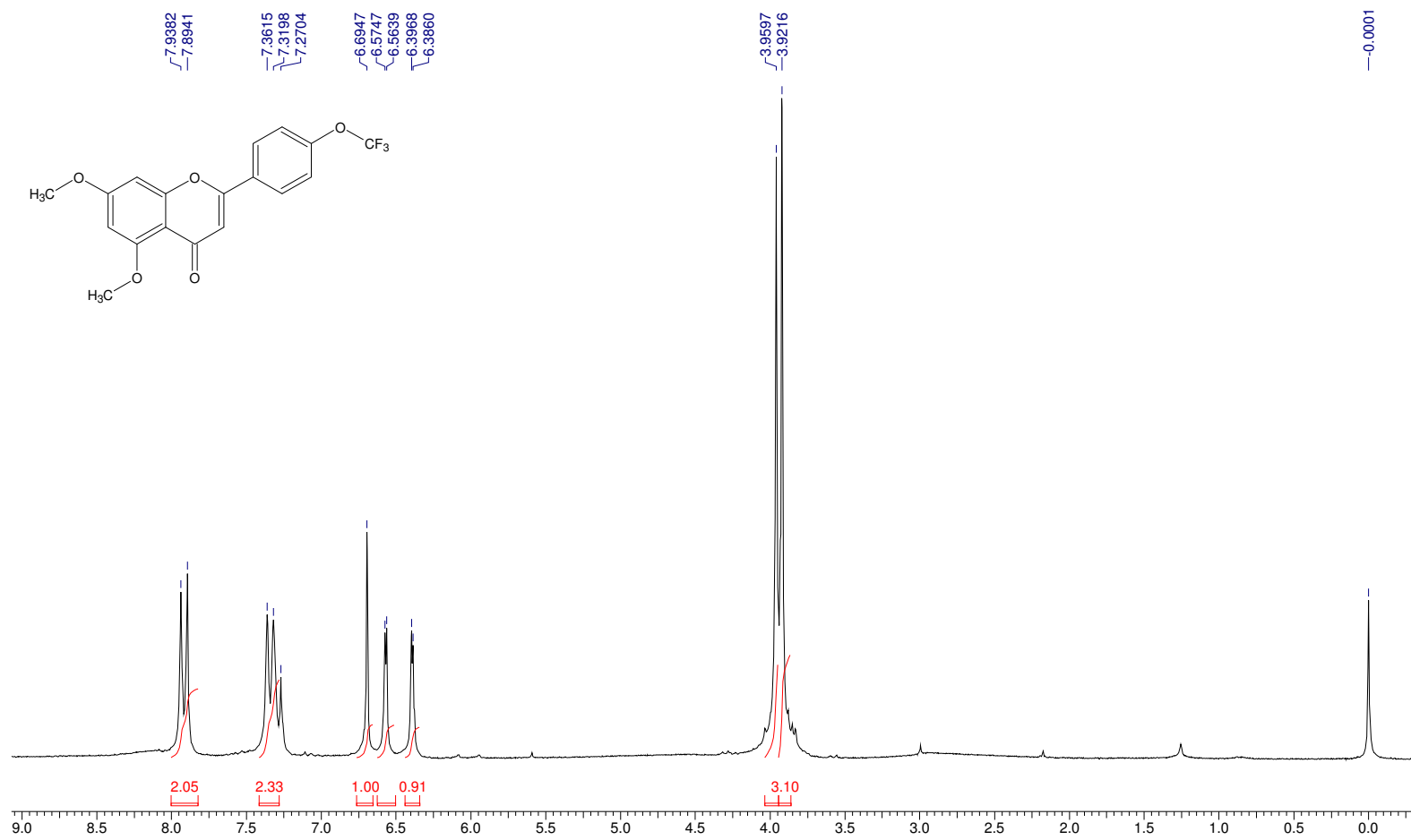
8 Feb 2007

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A402A2Fla26	Date	
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\2_2006\A402A2FLA26\1\A402A2FLA26_1.ESP				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10
				Original Points Count	65536
				Temperature (degree C)	27.000

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 51{1,1}

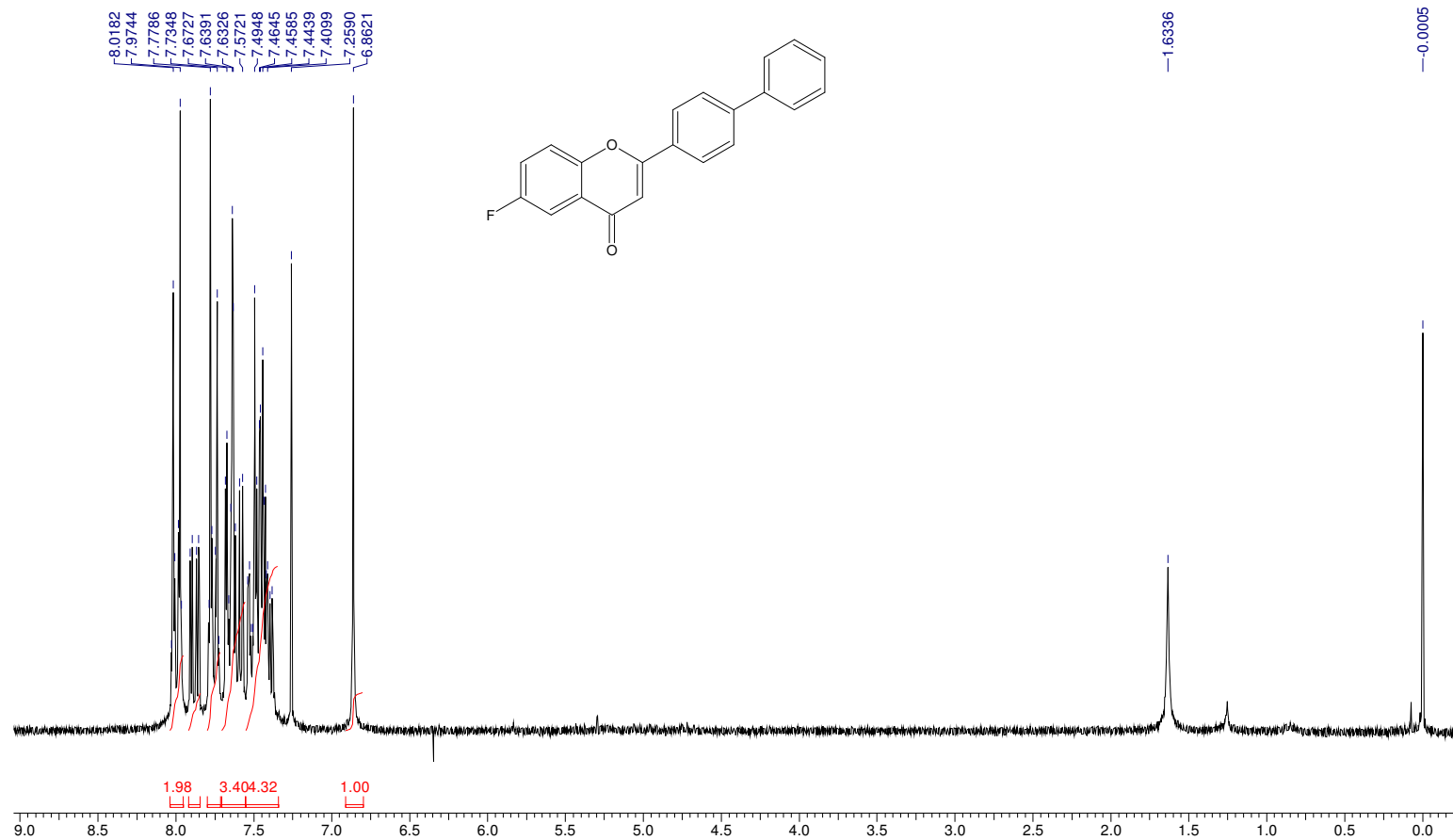
30 Jan 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A412A2FIScB4	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\ANTIGOS\A412A2FLSCB4\1\A412A2FLSCB4.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Original Points Count</b>	65536
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 51{2,2}

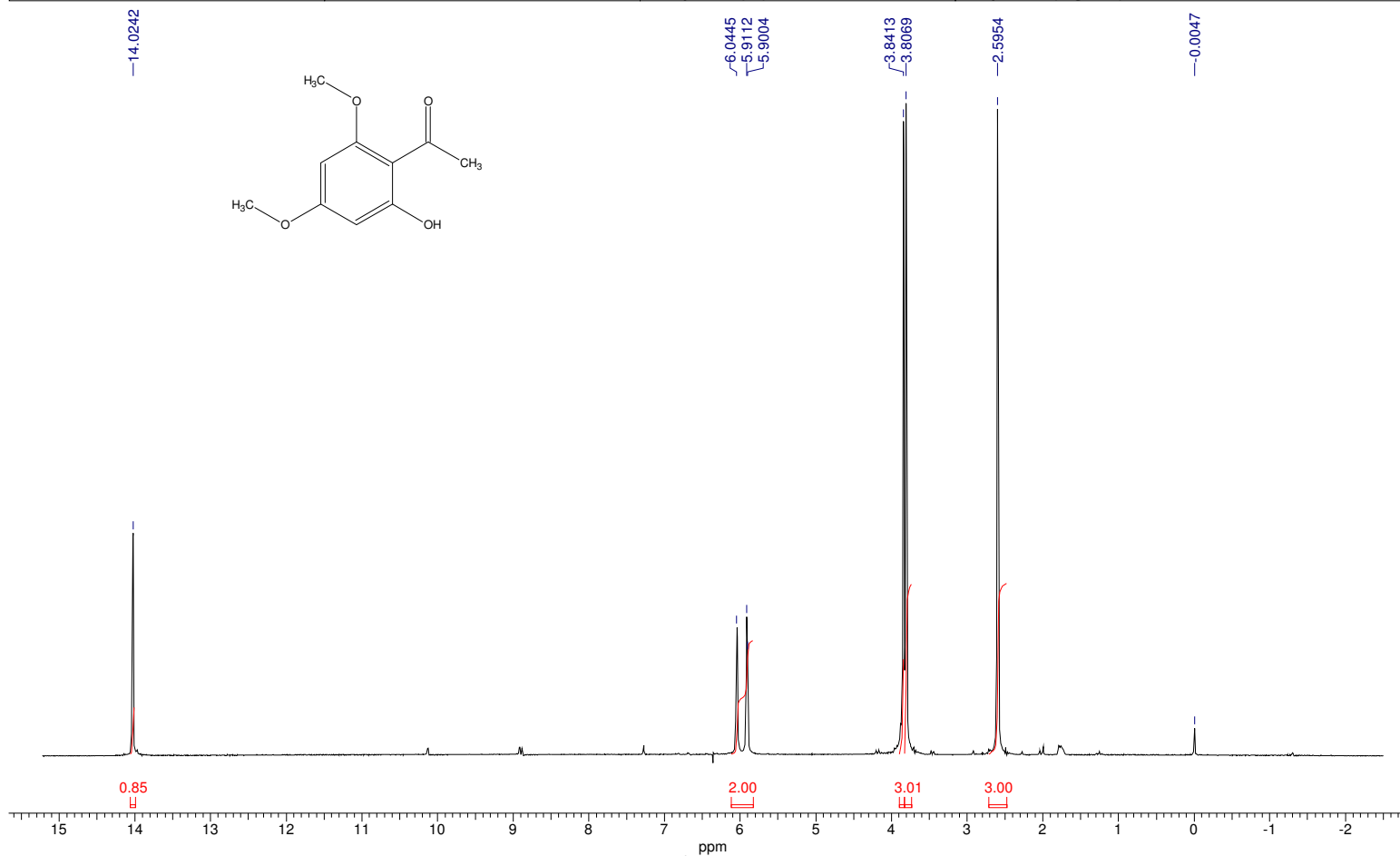
3 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	9.2406	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCC6\1\A042A2FLSCC6.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 51{3,3}

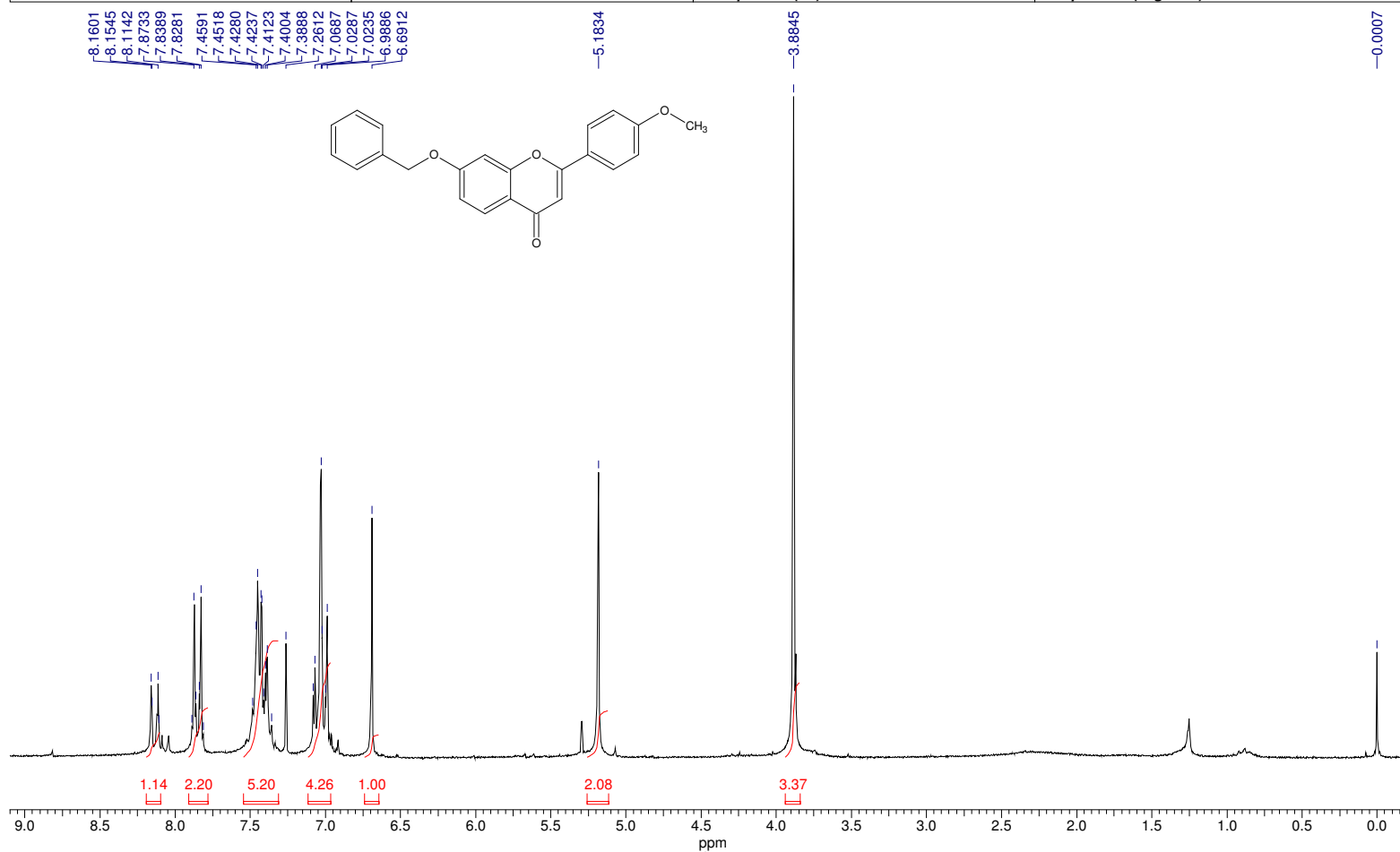
8 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A392A2Acet13	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\2_2006\A392A2ACET13\1\A392A2ACET13.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	1
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Original Points Count</b>	65536
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da acetofenona 52{2}

7 Feb 2007

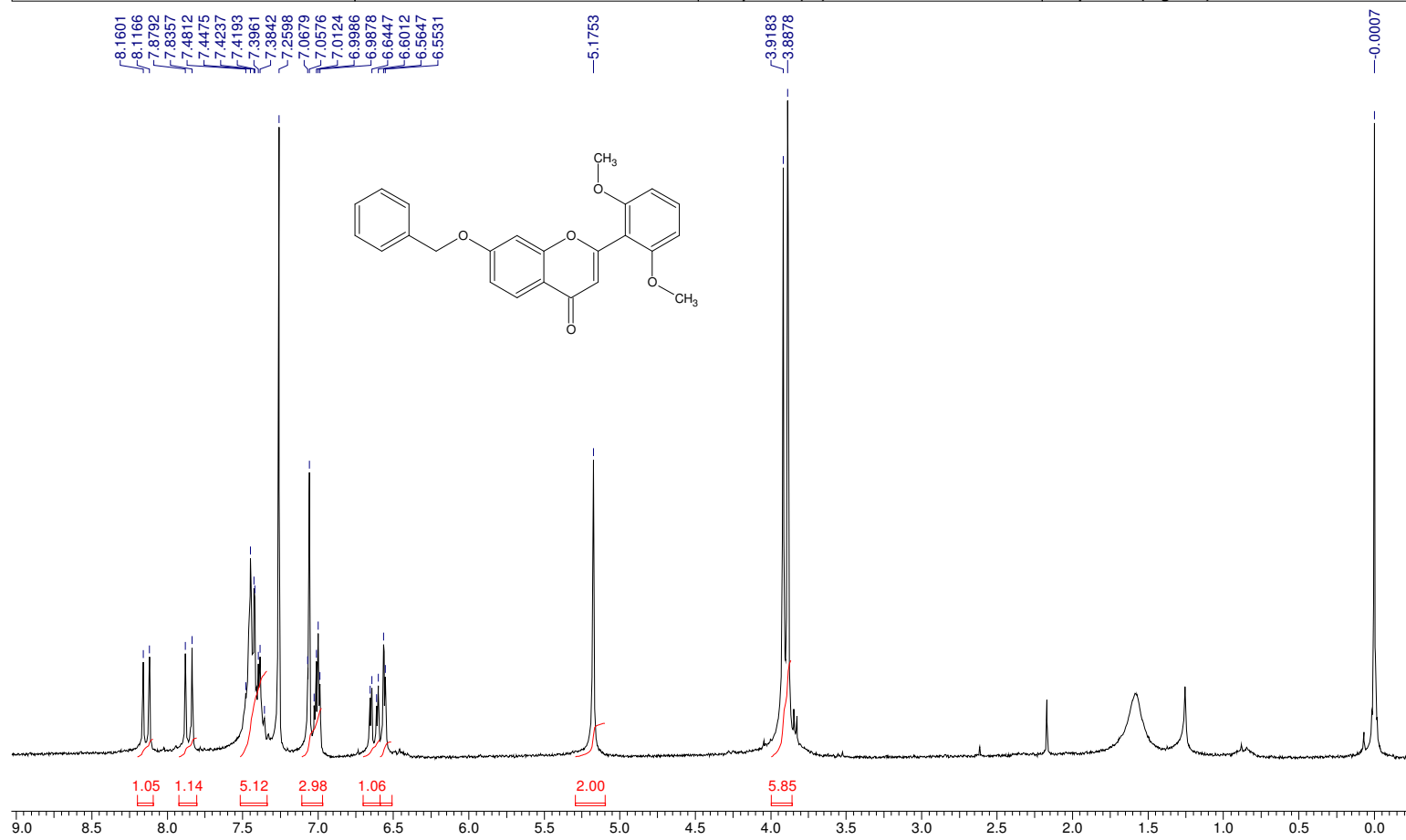
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A062A2FIScA1	Date	
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\01_02_07\A062A2FLSCA1\1\A062A2FLSCA1.ESP				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	4
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10
				Original Points Count	65536
				Temperature (degree C)	27.000

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{1,1}



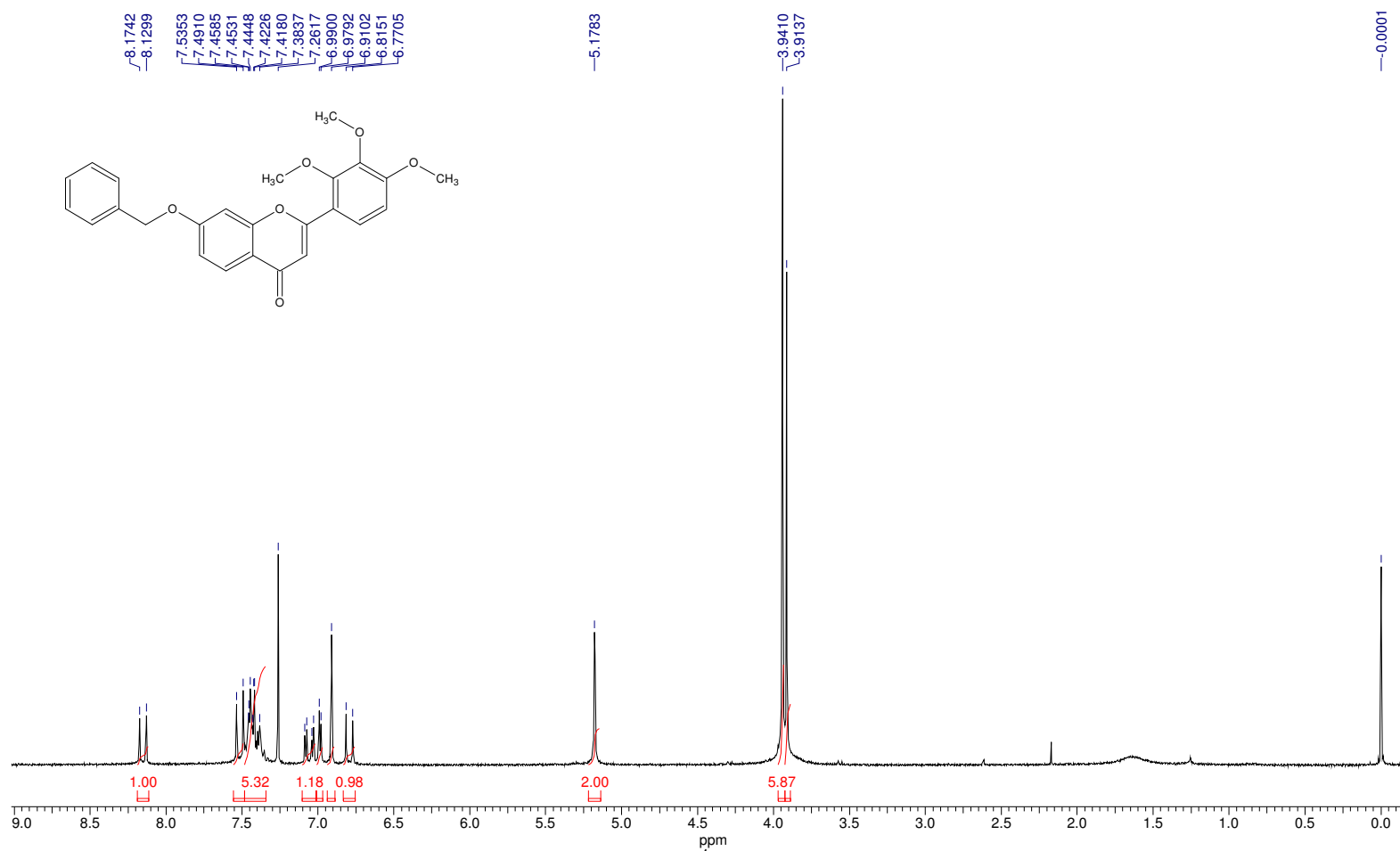
28 Jan 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A042A2FIScA2	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCA2\1\A042A2FLSCA2.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	<sup>1</sup> H	<b>Number of Transients</b>	16
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{1,2}

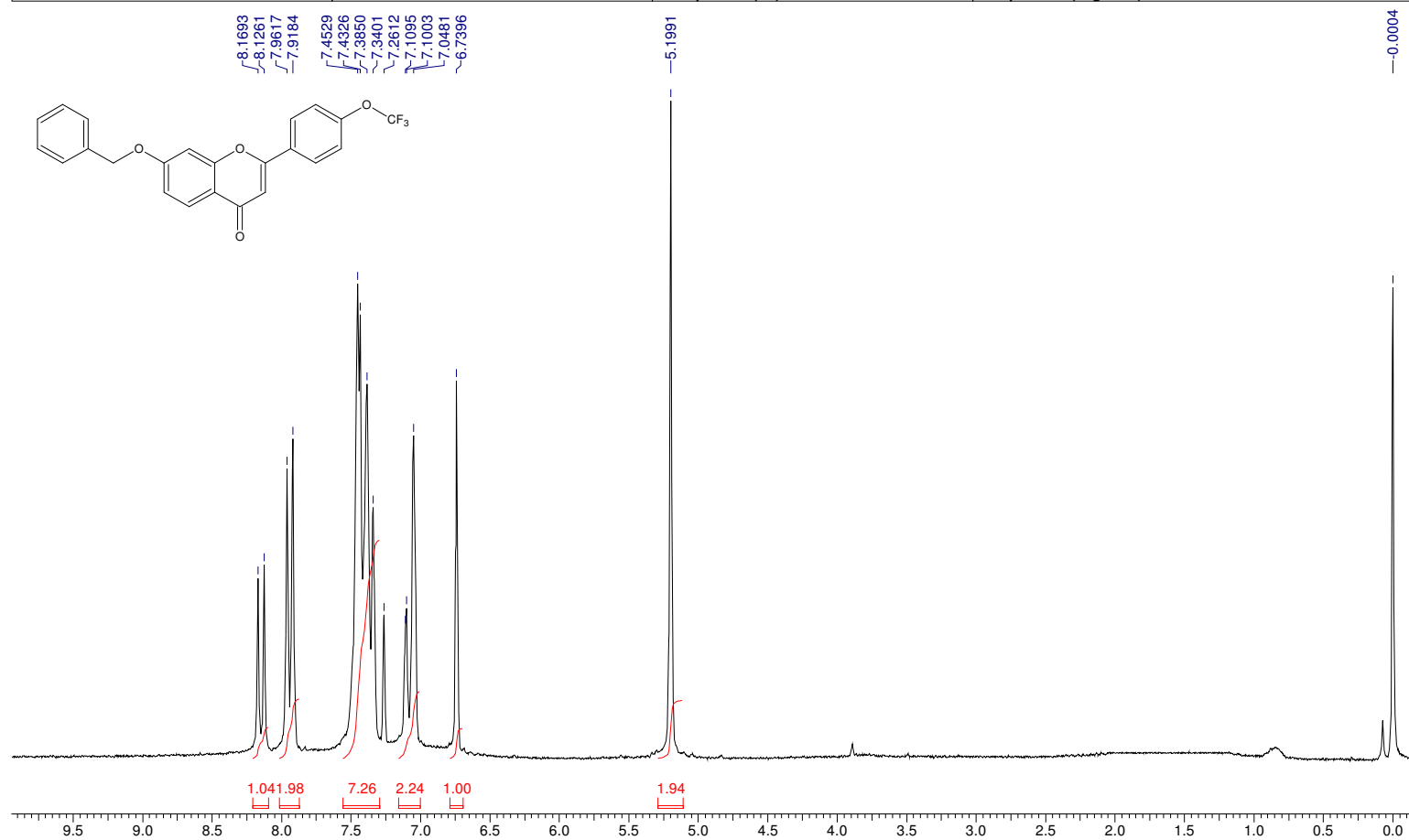
28 Jan 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A042A2FIScA3	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCA3\1\A042A2FLSCA3.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Original Points Count</b>	65536
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 56{1,3}

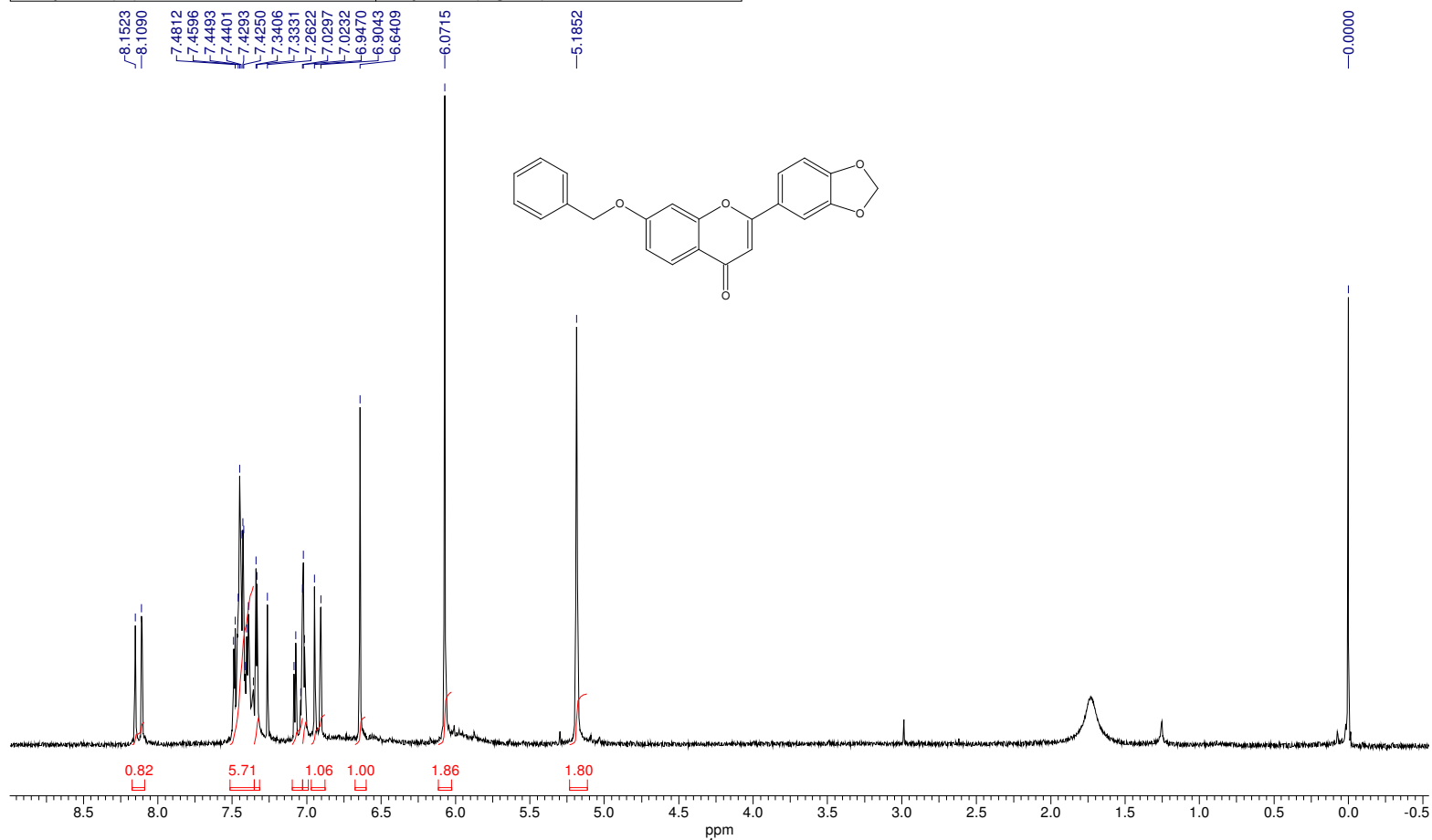
24 Jan 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A022A2FLScA4		<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\user\Meus documentos\Doutorado\RMN\1_2007\Comb_Chem_Scavenger\A022A2FLScA4\1\A022A2FLScA4.ESP					
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8	<b>Original Points Count</b> 65536
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b> 27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona **56**{1,4}

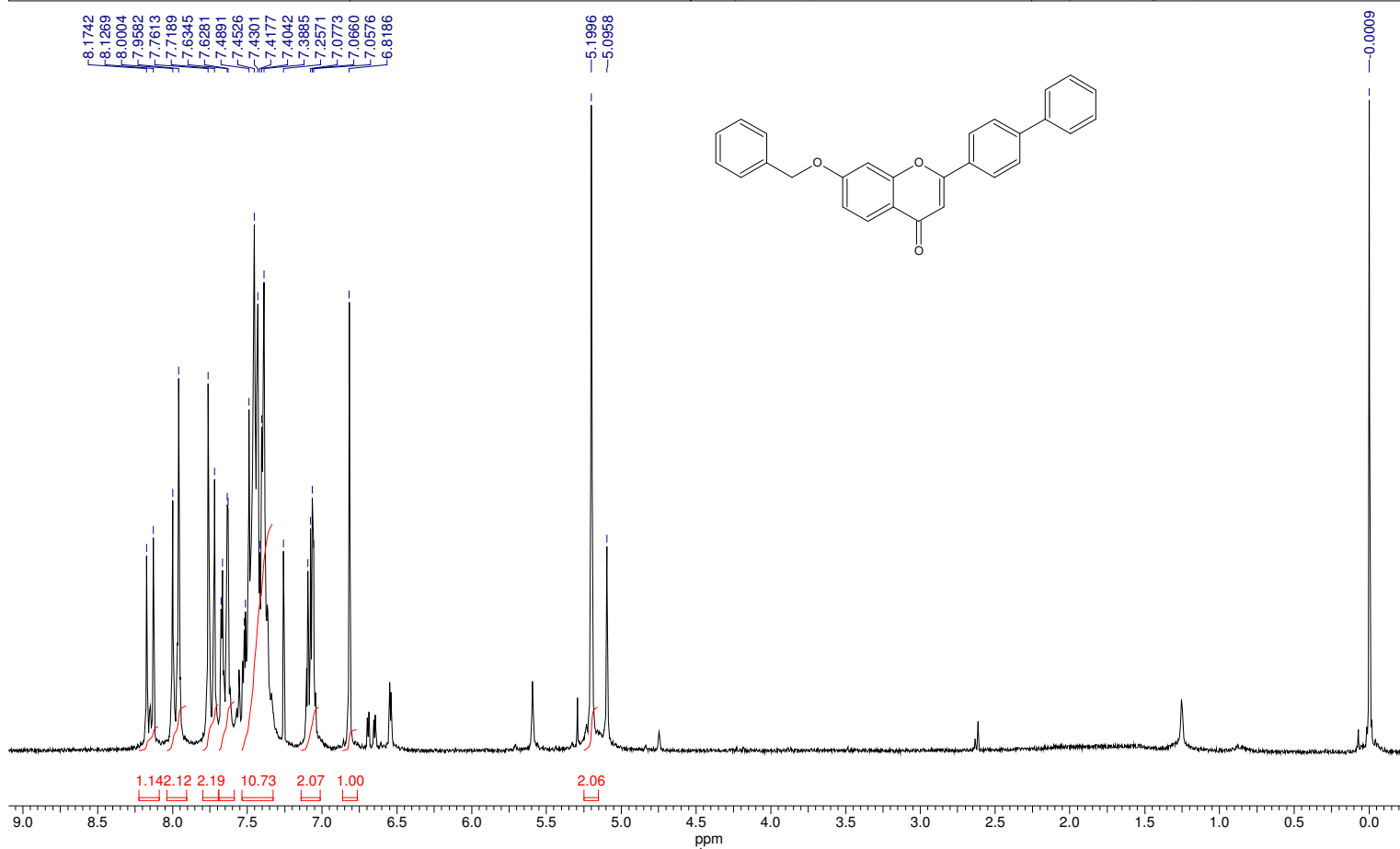
28 Jan 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	9.2406	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\ANTIGOS\A022A2FLSCA5\1A042A2FLSCA5_LB0_ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona **56**{1,5}

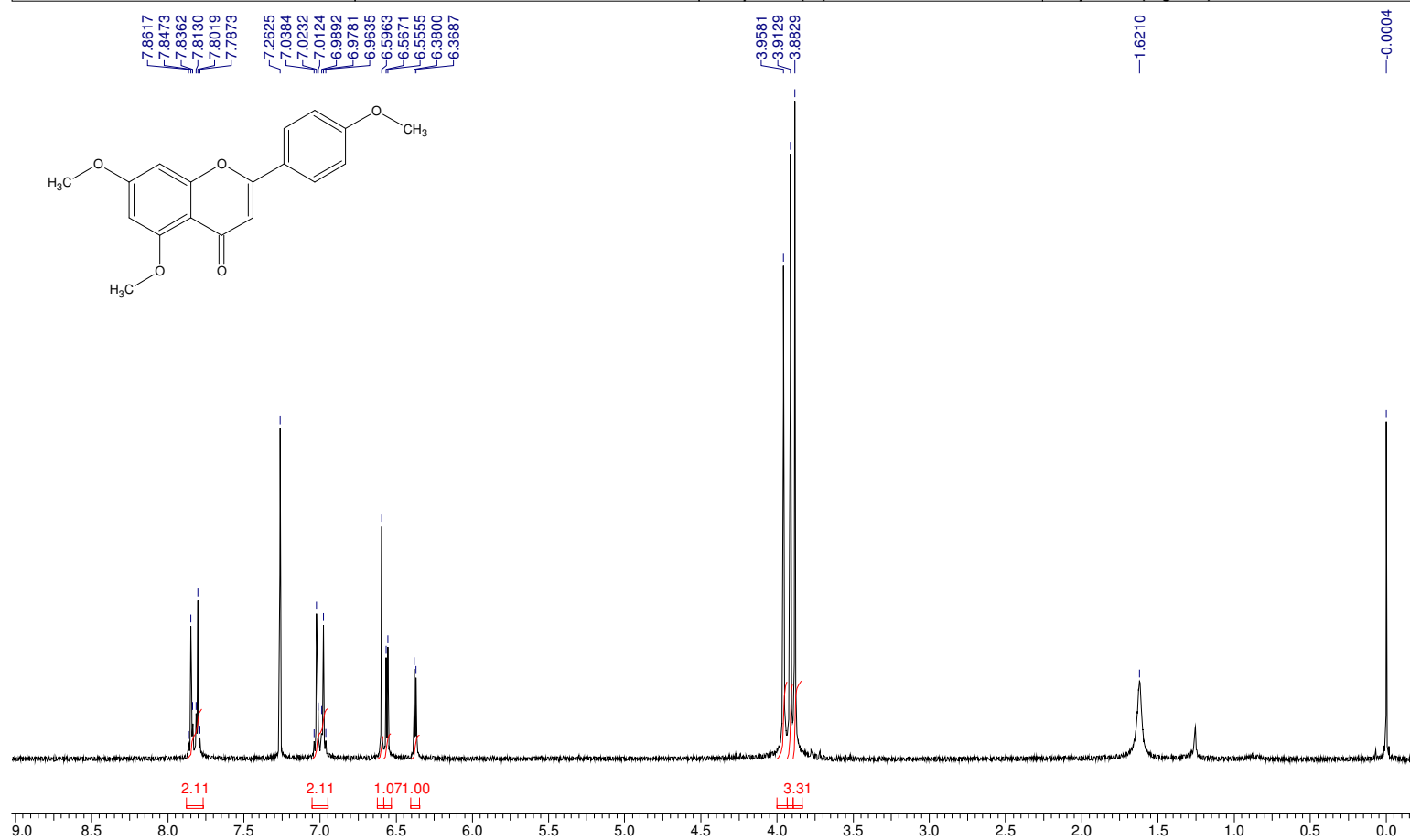
12 Feb 2007

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A022A2FLScA6	Date	
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\ANTIGOS\A022A2FLSCA6\1\A022A2FLSCA6.ESP				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	8
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10
				Temperature (degree C)	27.000

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{1,6}

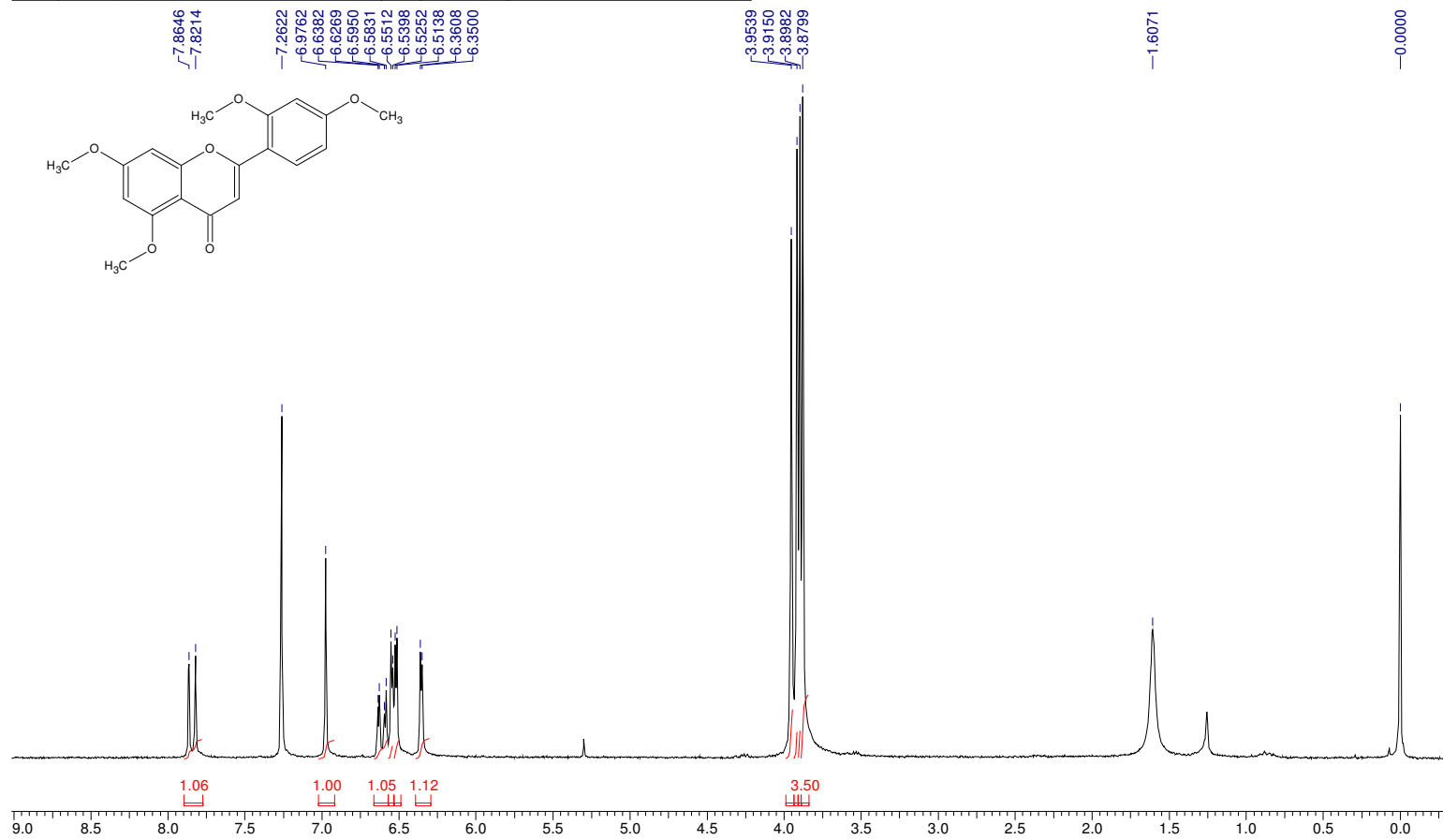
1 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A052A2FIScB1	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\01_02_07\A052A2FLSCB1\1\A052A2FLSCB1.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 56{2,1}

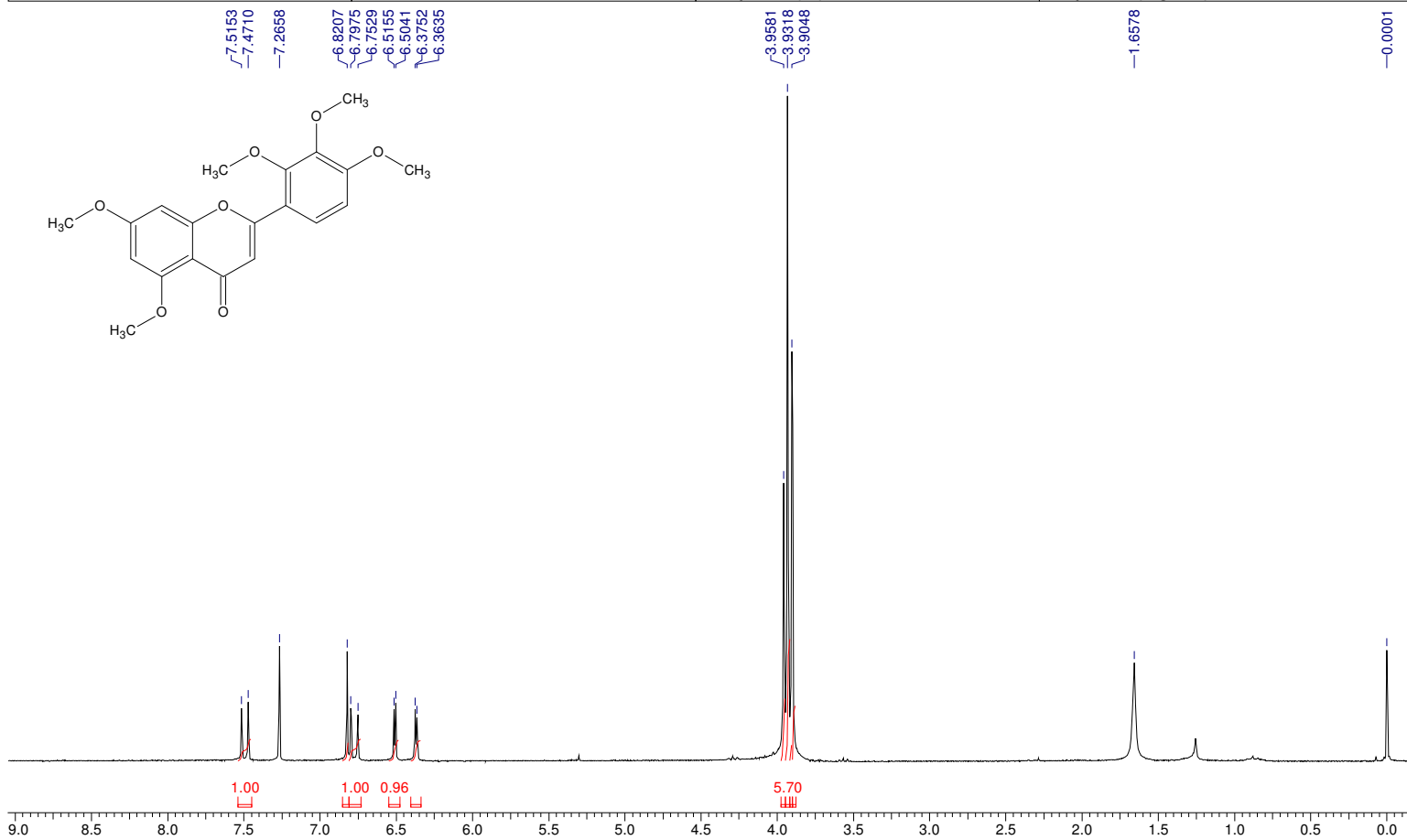
1 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	9.2406	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\01_02_07\A052A2FLSCB2\1\A052A2FLSCB2.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 56{2,2}

1 Feb 2007

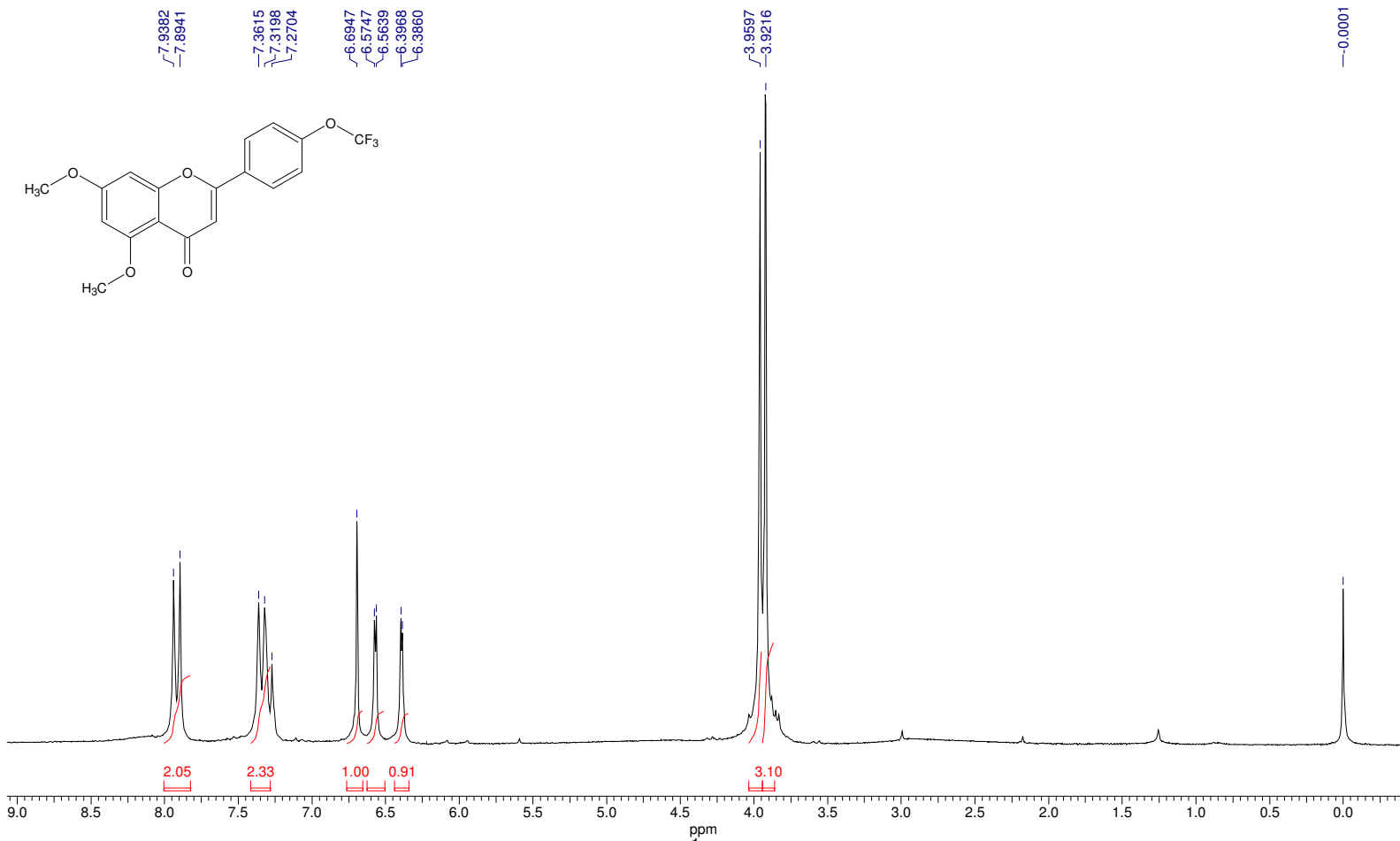
<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A052A2FIScB3	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\01_02_07\A052A2FLSCB3\1\A052A2FLSCB3.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56(2,3)



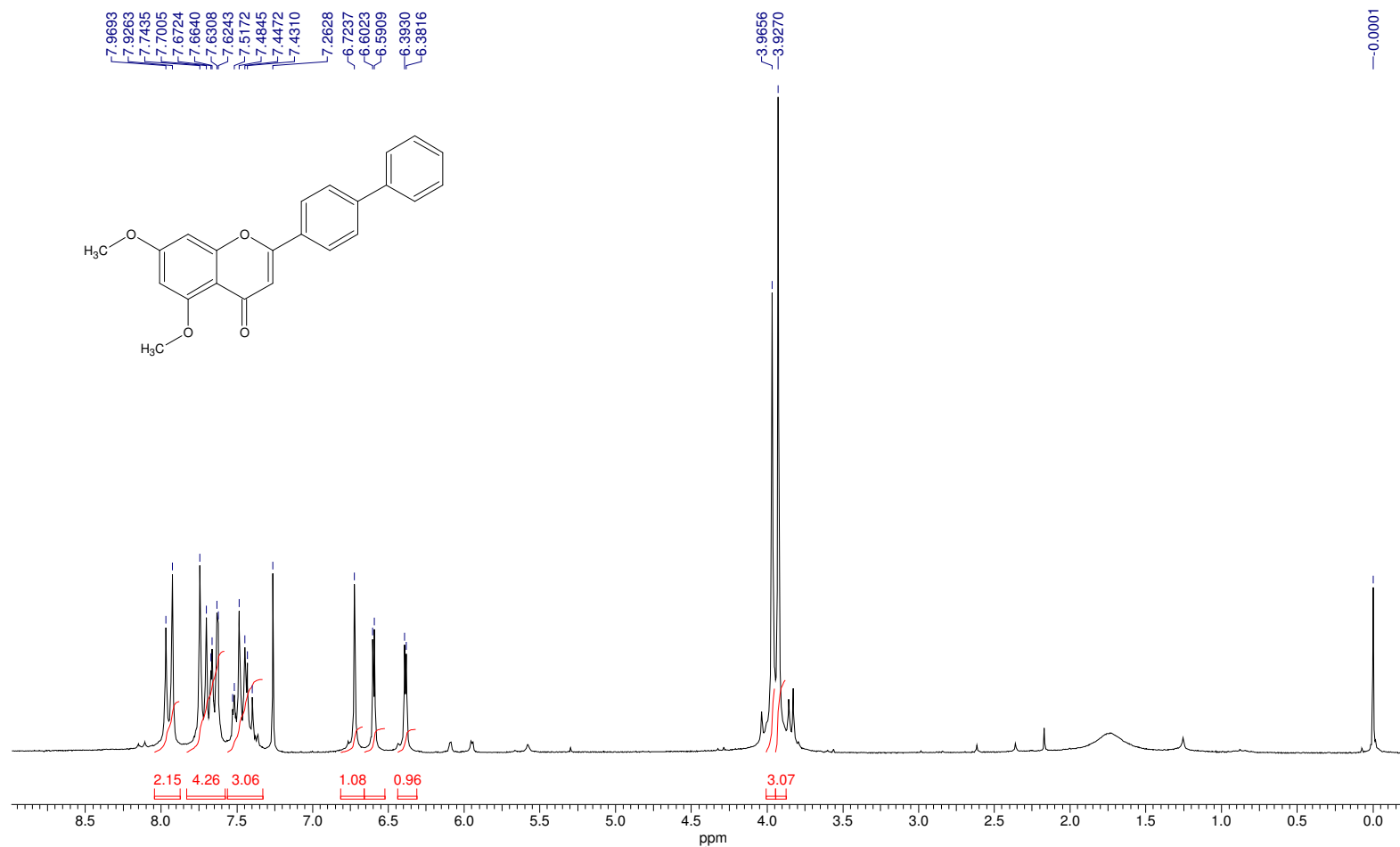
30 Jan 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A412A2FIScB4	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\ANTIGOS\A412A2FLSCB4\1\A412A2FLSCB4.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Original Points Count</b>	65536
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{2,4}

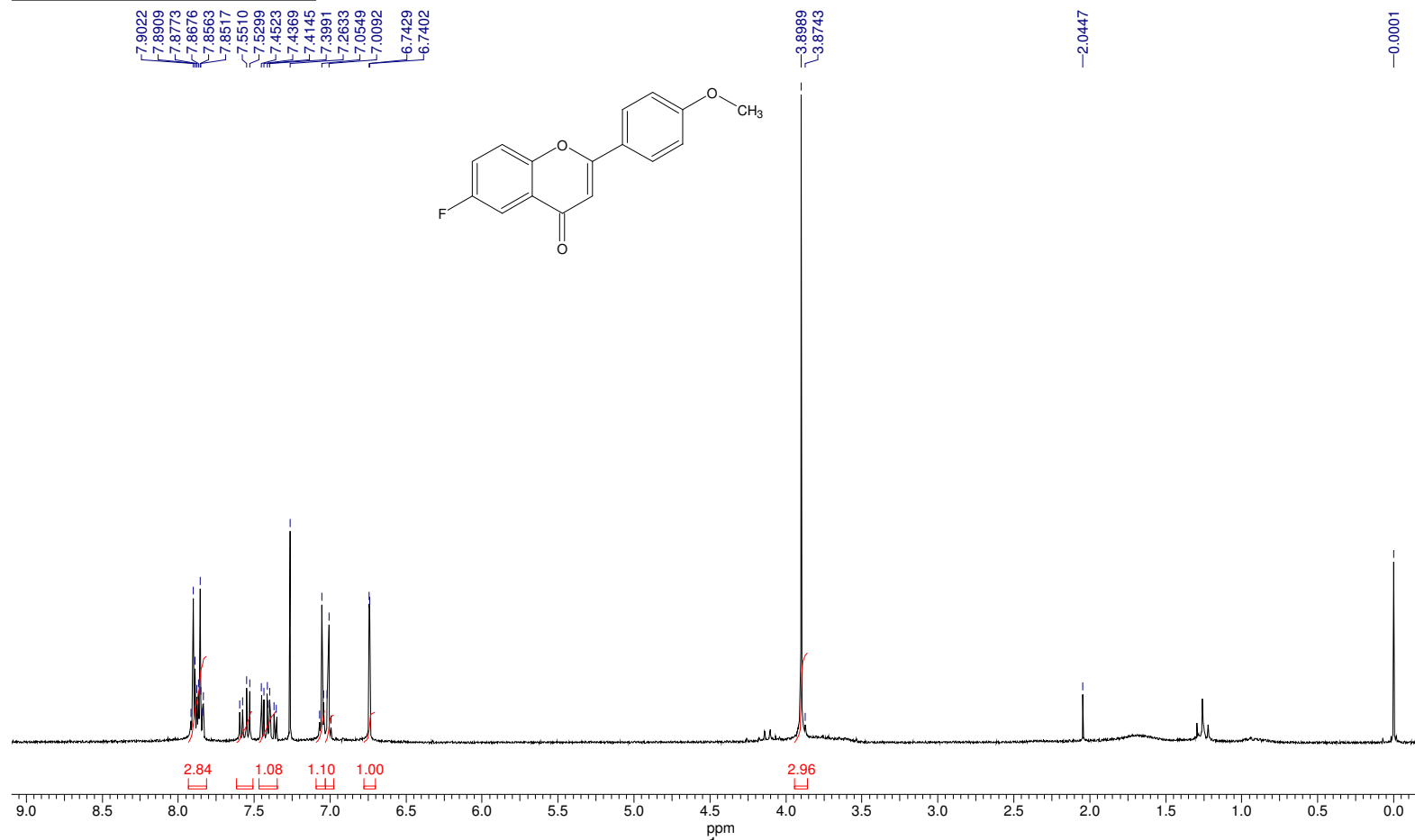
30 Jan 2007

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A042A2FIScB6	Date	
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCB6\1\A042A2FLSCB6.ESP				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	16
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10
				Original Points Count	65536
				Temperature (degree C)	27.000

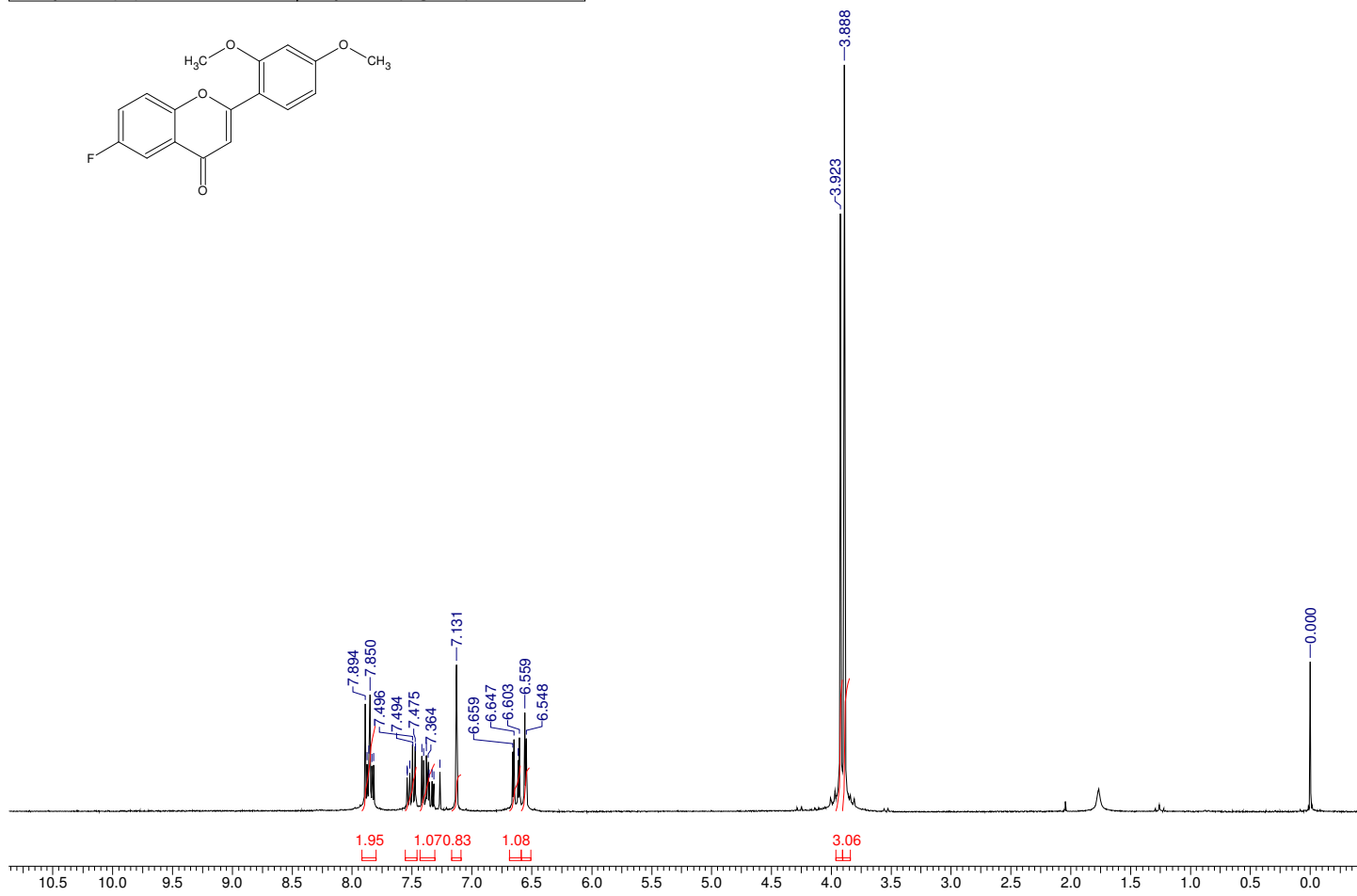
Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{2,6}

6 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A062A2FIScC1	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\user\Meus documentos\Doutorado\RMN\1_2007\A062A2FIScC1\1\A062A2FIScC1.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Original Points Count</b>	65536
<b>Temperature (degree C)</b>	27.000			<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10

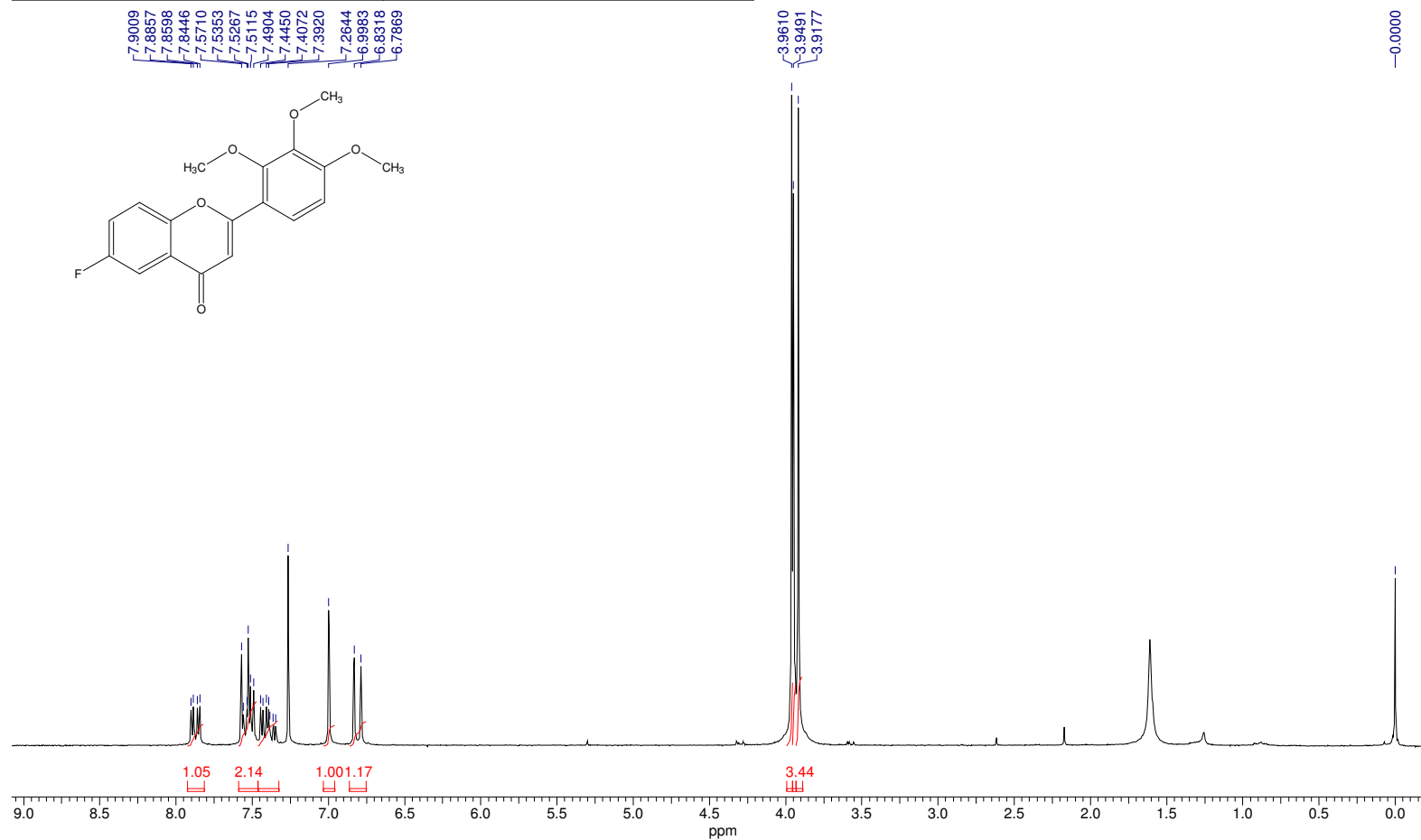
Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{3,1}

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A352A2Fla18	<b>Date</b>	15 Aug 1971 11:39:07
<b>Date Stamp</b>	15 Aug 1971 11:39:07	<b>File Name</b>	D:\JOEL\DOCTORADO\RMN\2_2004\A352A2FLA18\1\A352A2FLA18.DX		
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16
<b>Original Points Count</b>	65536	<b>Owner</b>	joel	<b>Points Count</b>	65536
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{3,2}

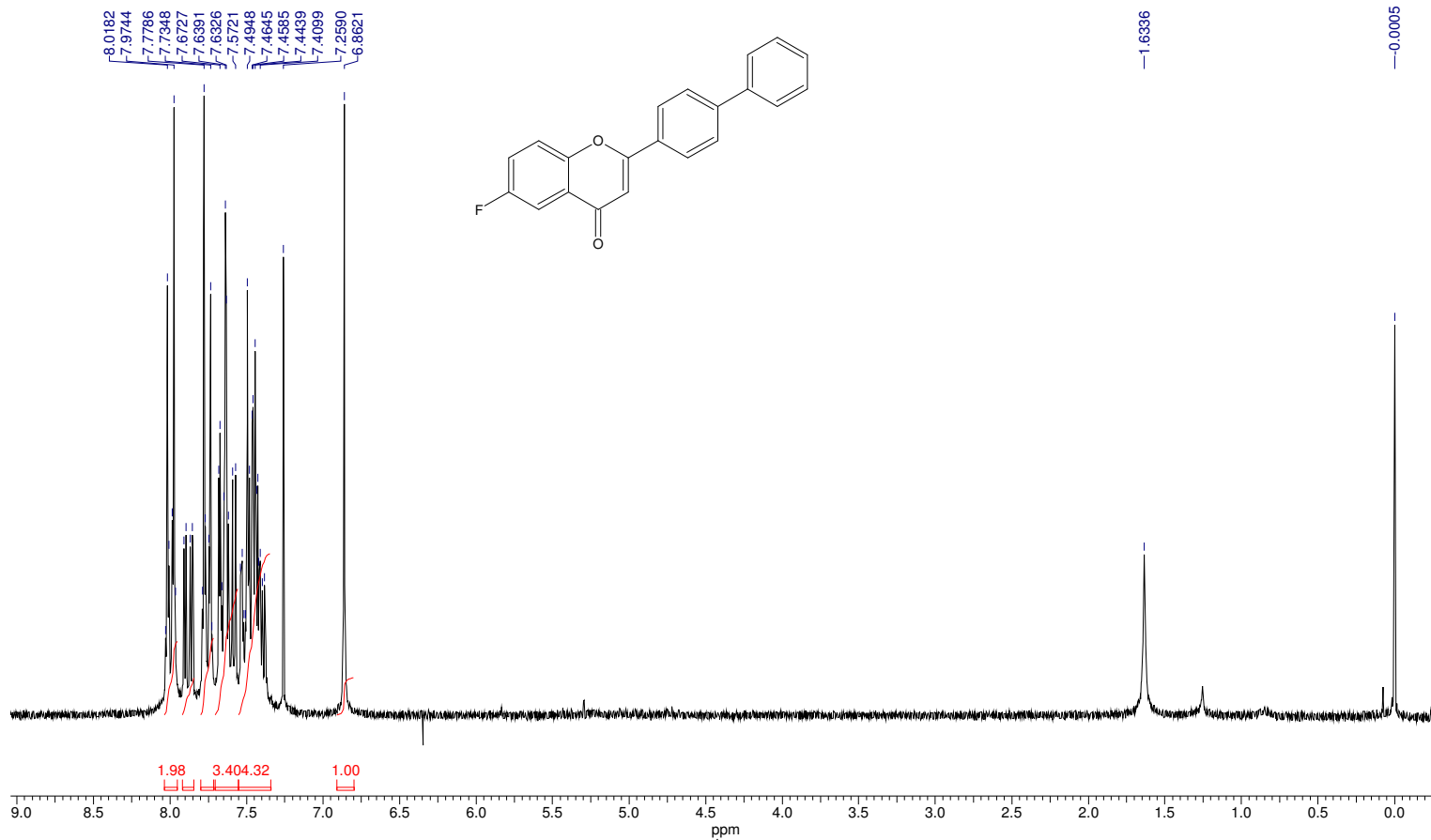
2 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	9.2406	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCC3P\1\A042A2FLSCC3P_LB_03.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 56{3,3}

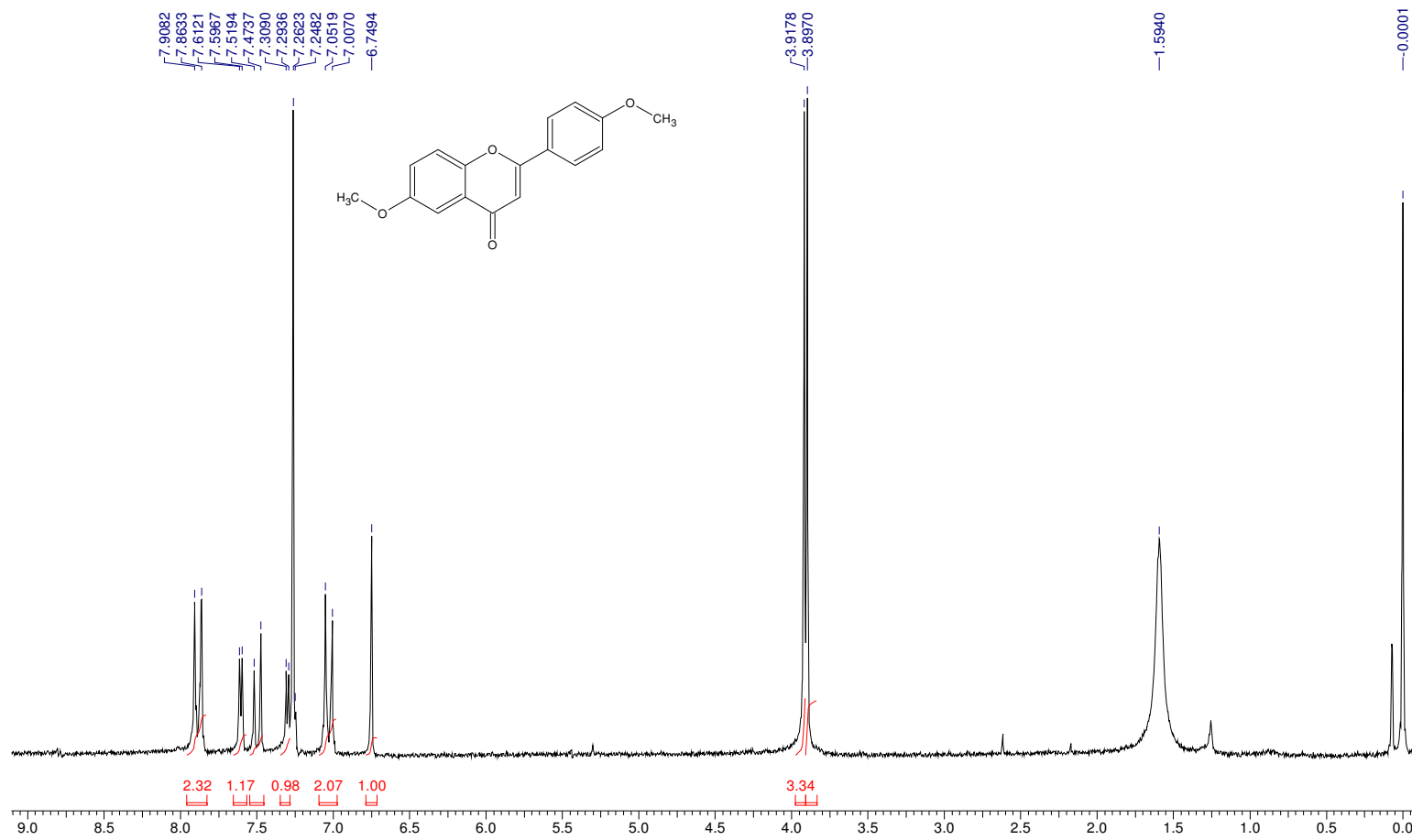
3 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	9.2406	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCC6\1\A042A2FLSCC6.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 56{3,6}

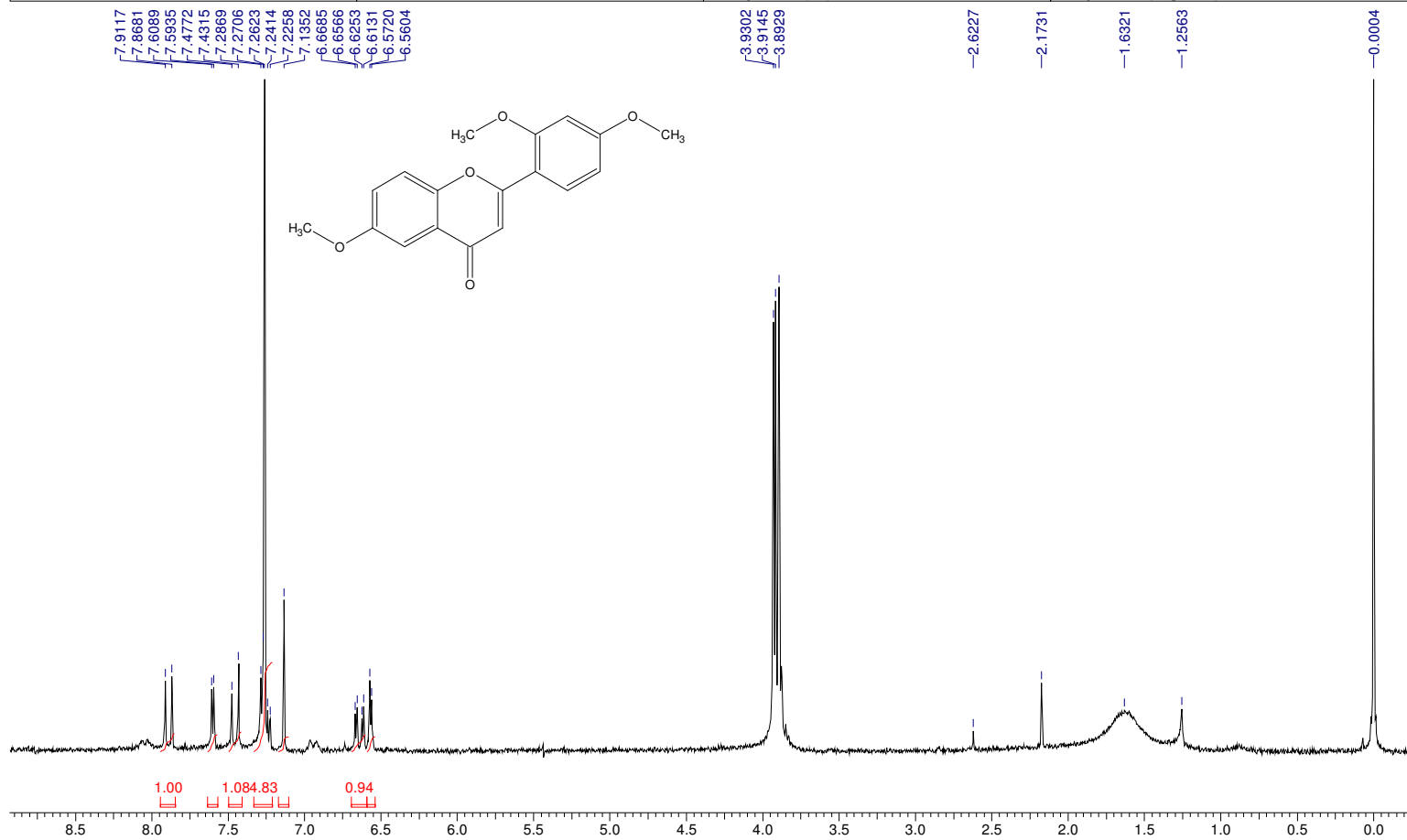
3 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A042A2FIScD1	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCD1\1\A042A2FLSCD1.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	<sup>1</sup> H	<b>Number of Transients</b>	4
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Original Points Count</b>	65536
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{4,1}

3 Feb 2007

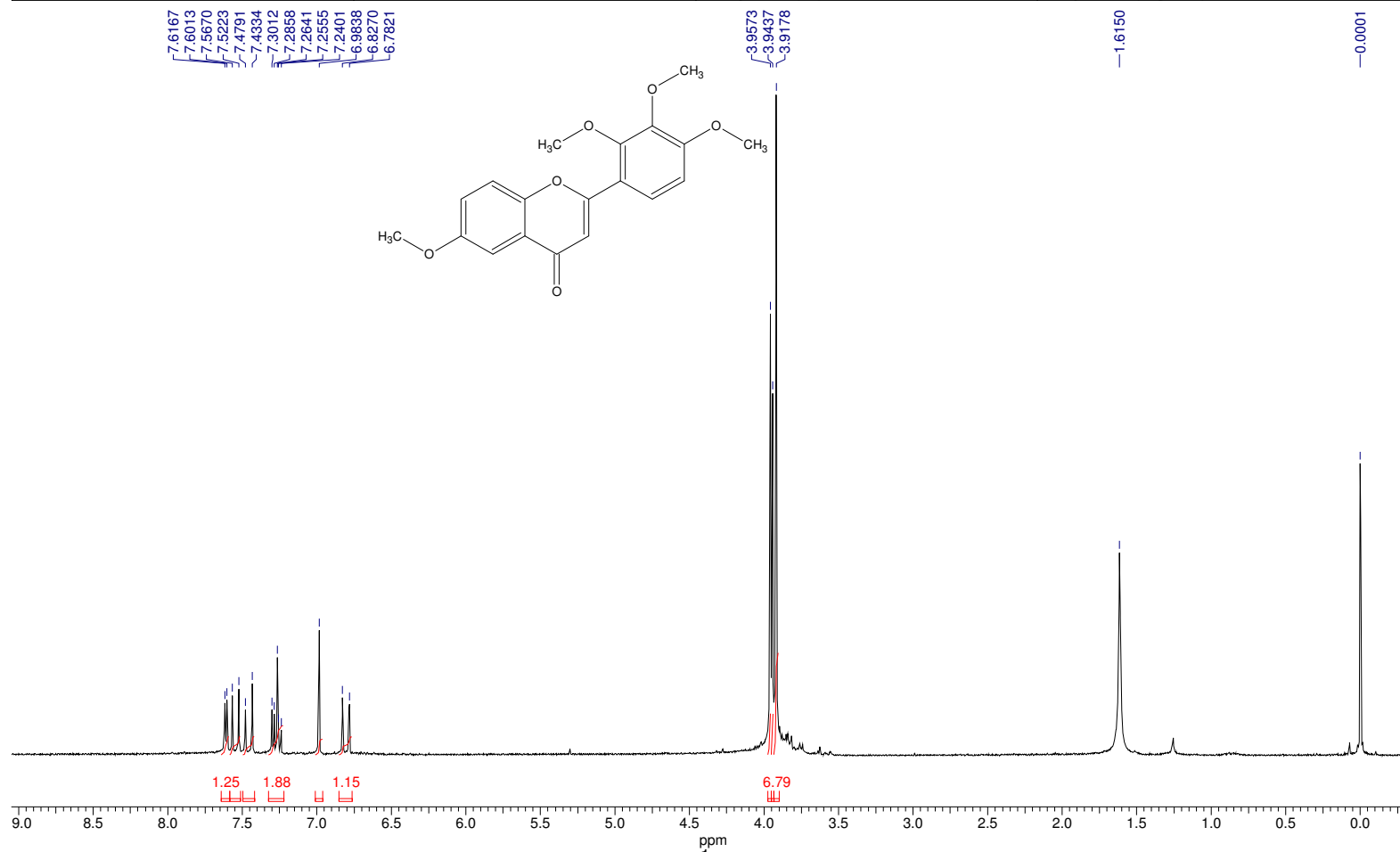
<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A042A2FIScD2p	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCD2P\1\A042A2FLSCD2P.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 56{4,2}



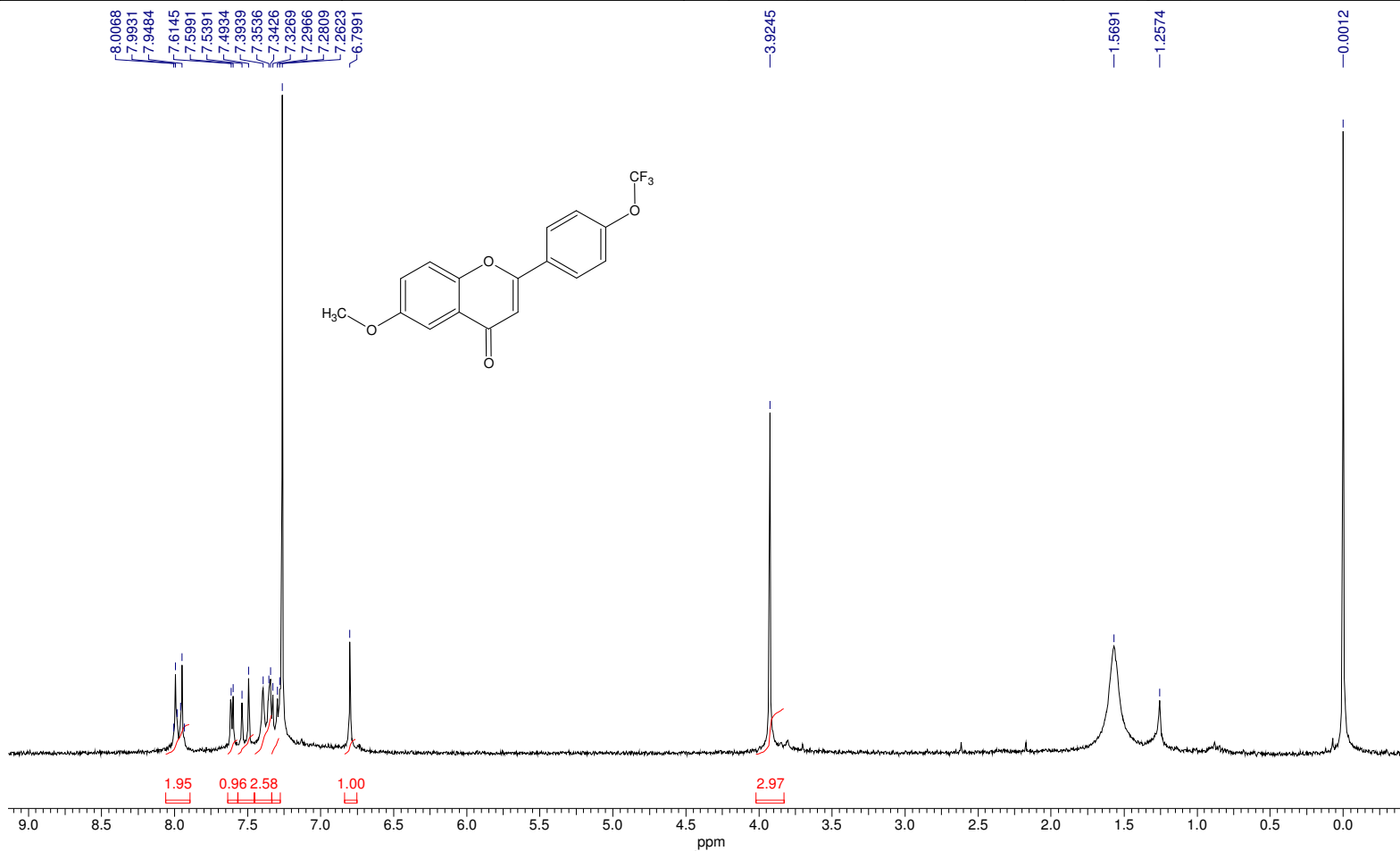
3 Feb 2007

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A022A2FLScD3	Date	
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\ANTIGOS\A022A2FLSCD3\1\A022A2FLSCD3.ESP				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	<sup>1</sup> H	Number of Transients	8
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10
				Original Points Count	65536
				Temperature (degree C)	27.000

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da flavona 56{4,3}

3 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A042A2FIScD4	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCD4\1\A042A2FLSCD4.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Original Points Count</b>	65536
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 56{4,4}

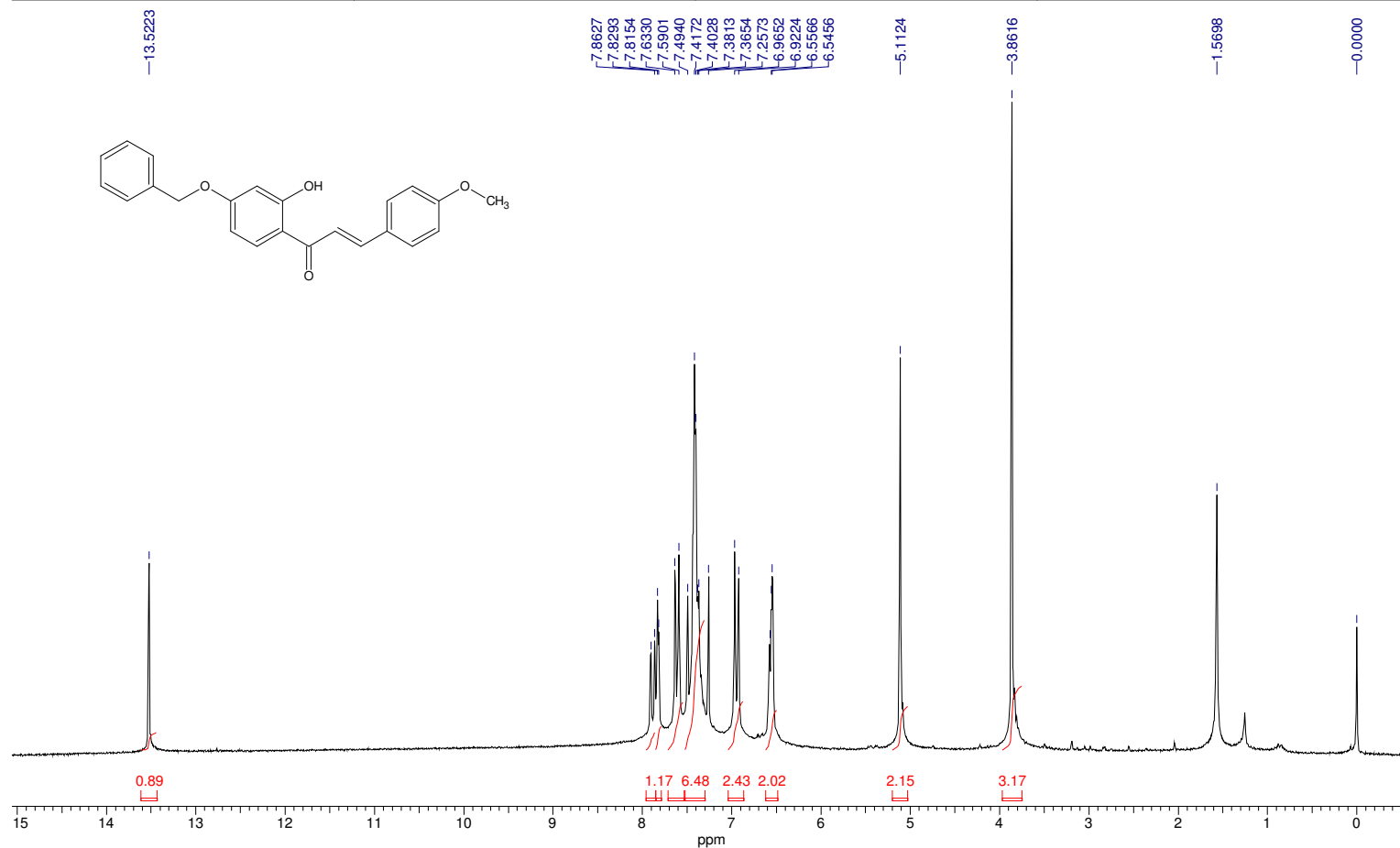
3 Feb 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	18.4812	<b>Comment</b>	A042A2FIScD6	<b>Date</b>	
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\26_01_07\A042A2FLSCD6\1\A042A2FLSCD6.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4
<b>Points Count</b>	65536	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3546.10
				<b>Original Points Count</b>	65536
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da flavona 56{4,6}

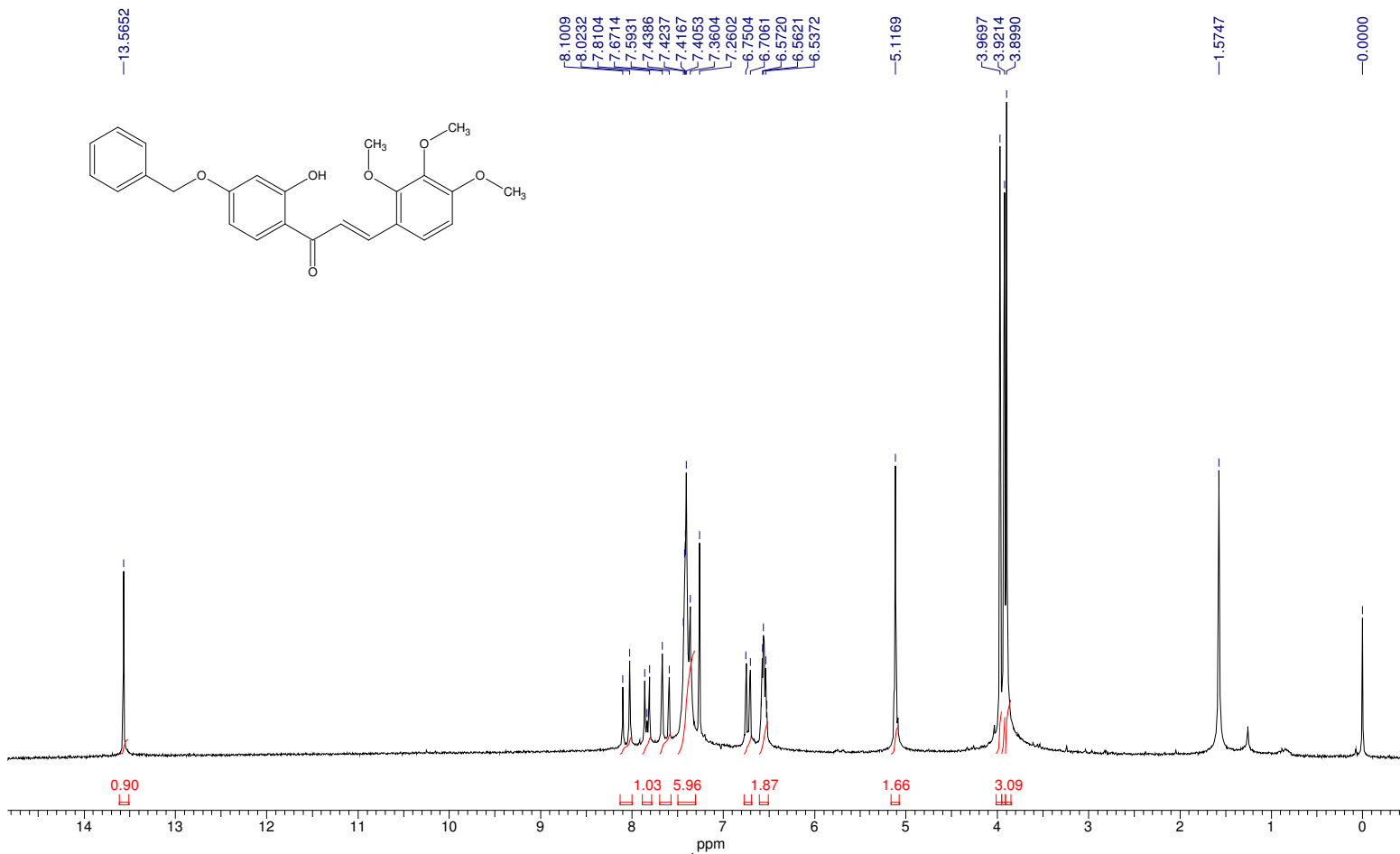
15 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\user\Meus documentos\Doutorado\RMN\1_2007\Comb_Chem_Scavenger\Chalconas\A202A2ChScA1\1\A202A2ChScA1.esp				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16
<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97
				<b>Original Points Count</b>	32768
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{1,1}

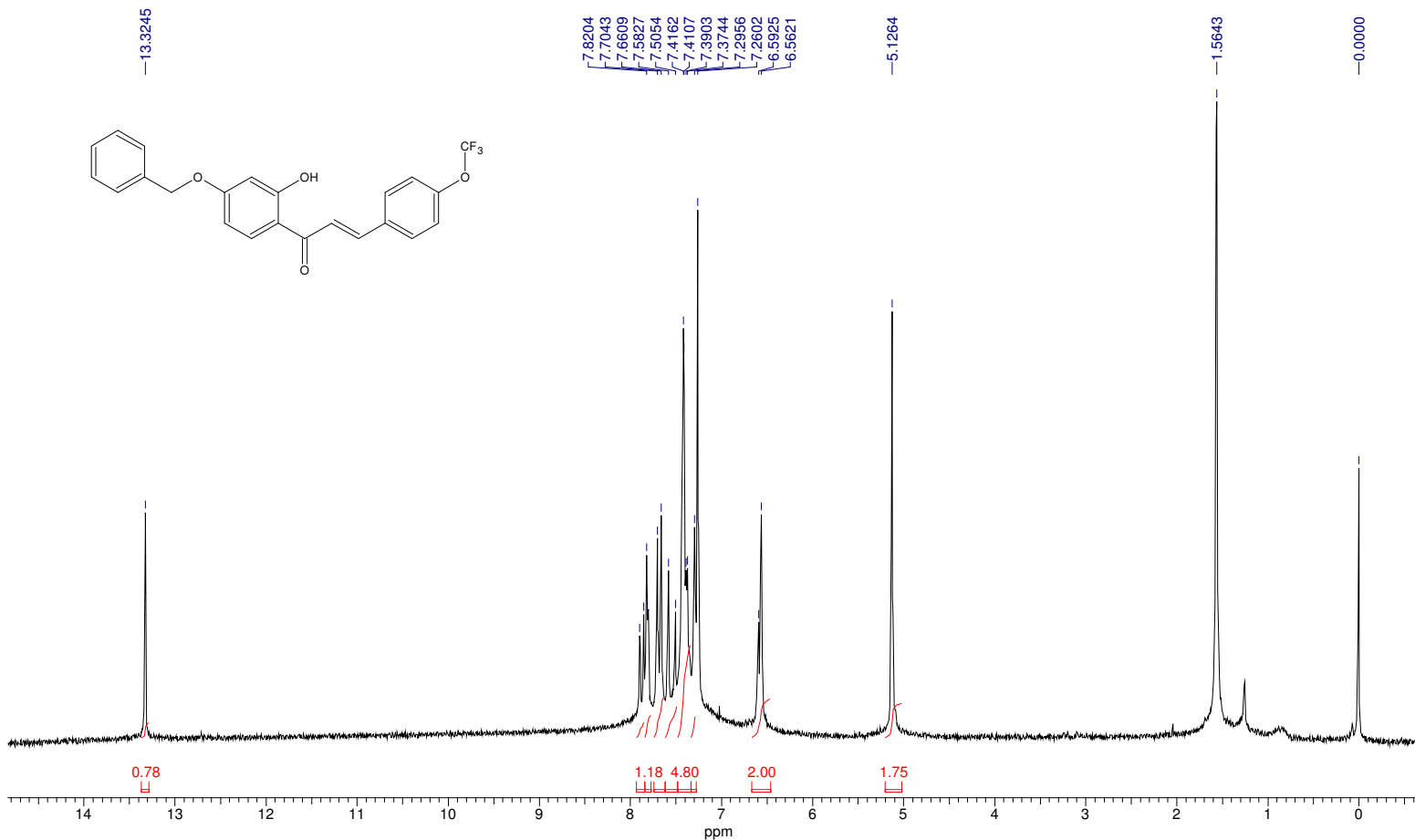
15 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\Documents and Settings\user\Meus documentos\Doutorado\RMN\1_2007\Comb_Scavenger\Chalconas\A202A2ChScA3\1\A202A2ChScA3.esp				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D	<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97
				<b>Original Points Count</b>	32768
				<b>Temperature (degree C)</b>	27.000



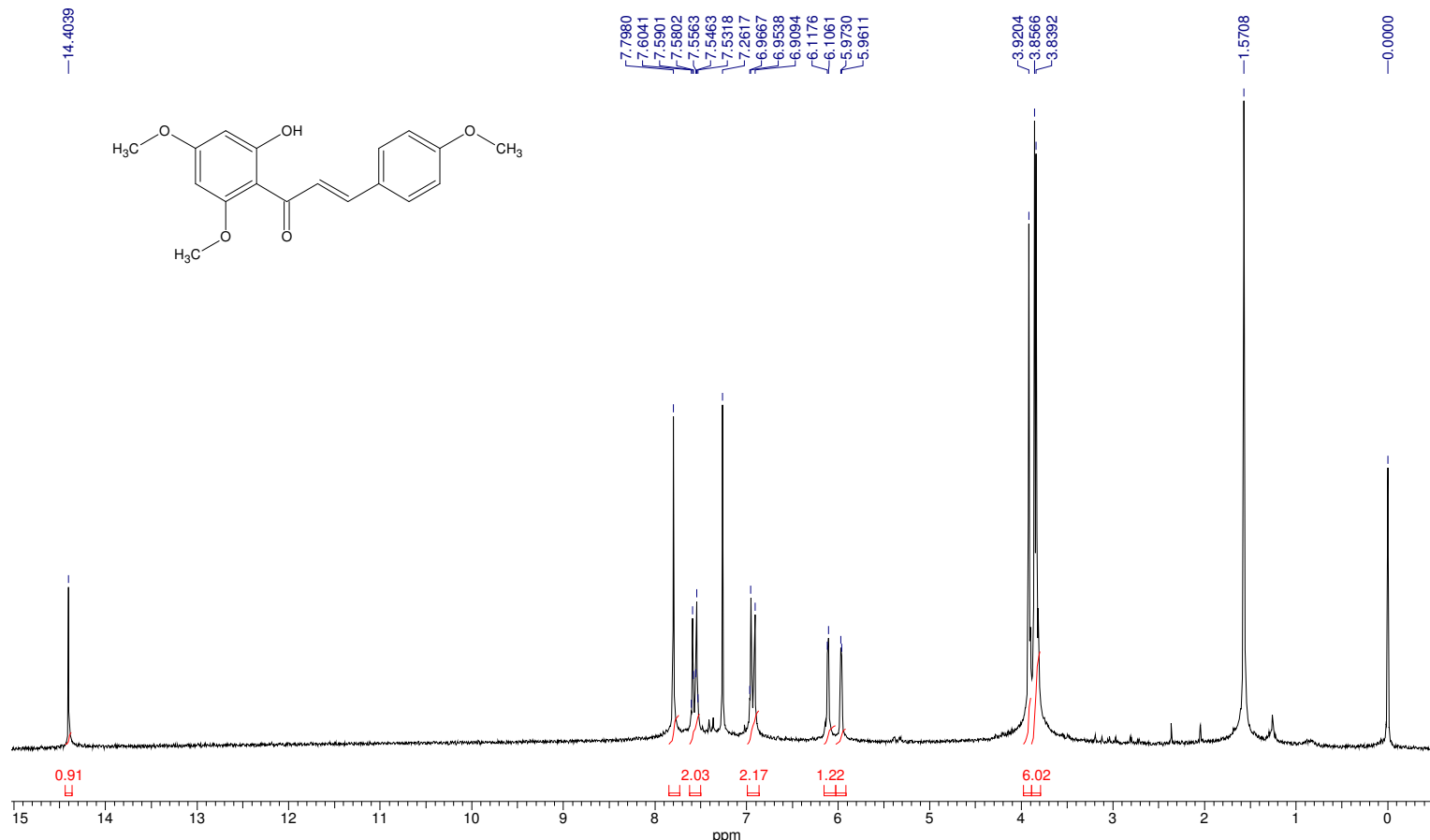
18 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A202A2CHSCA4\1\A202A2CHSCA4.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da chalcona 55{1,4}

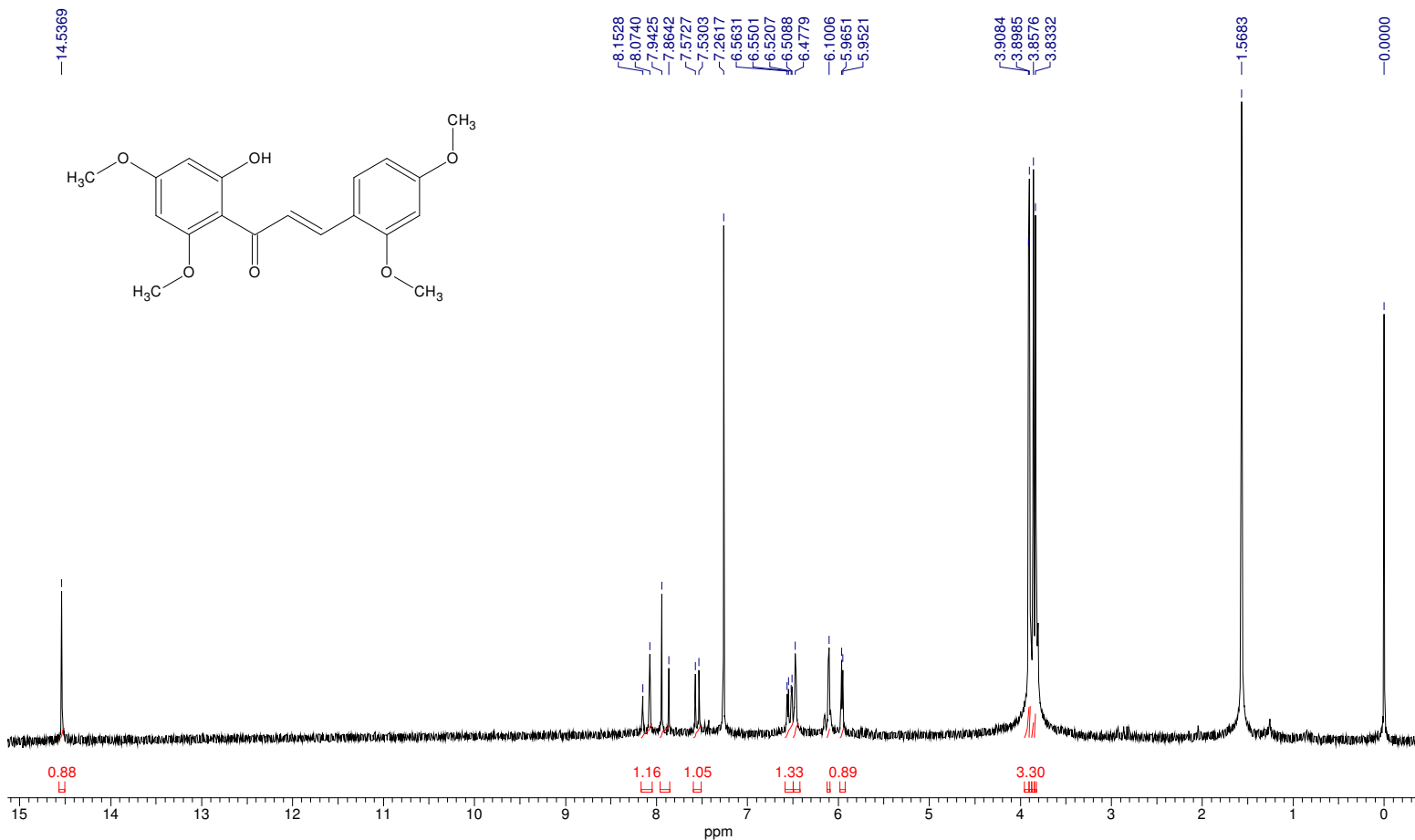
18 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A212A2CHSCB1\1\A212A2CHSCB1.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	8
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da chalcona 55{2, 1}

18 Jun 2007

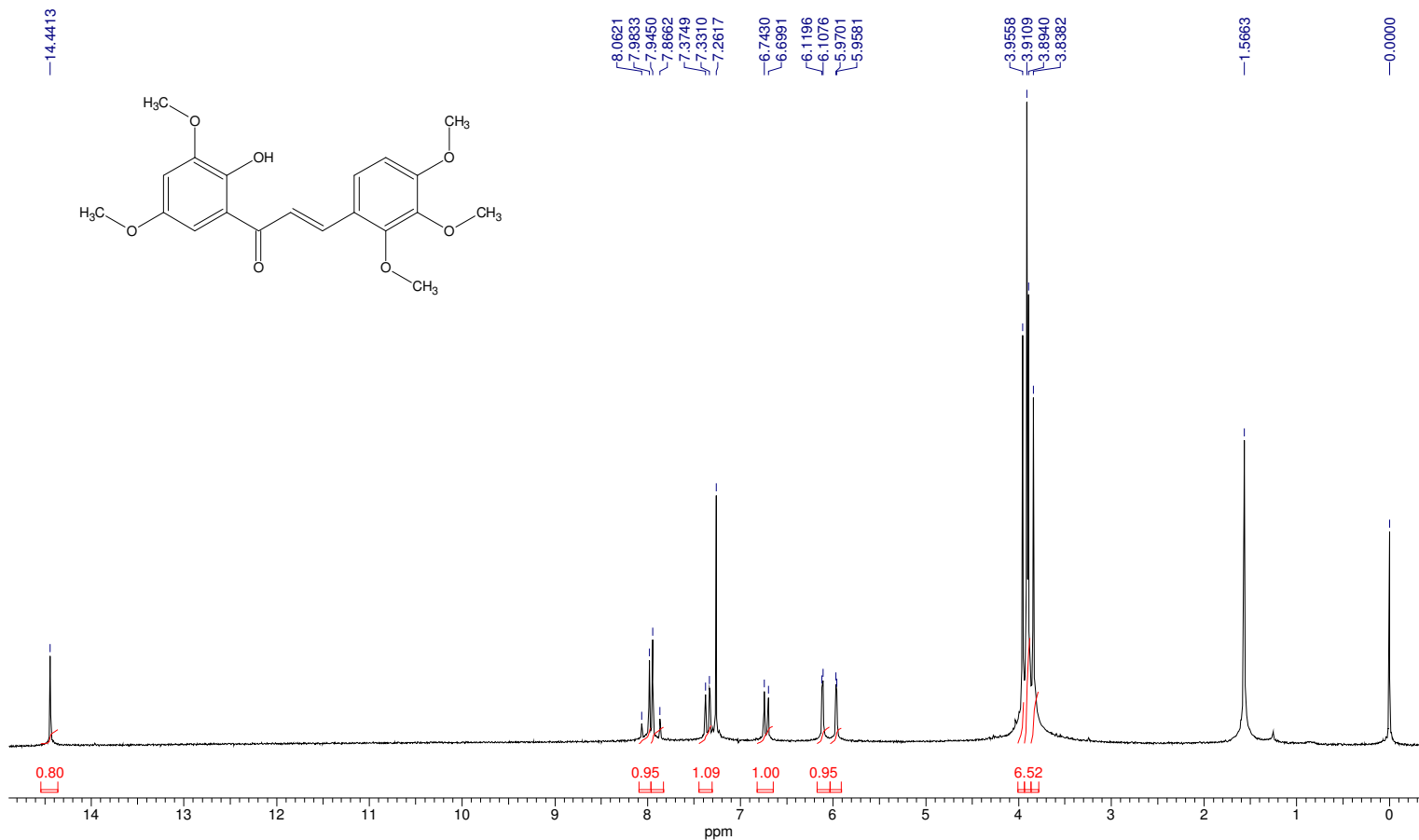
<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A212A2CHSCB2\1\A212A2CHSCB2.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{2,2}



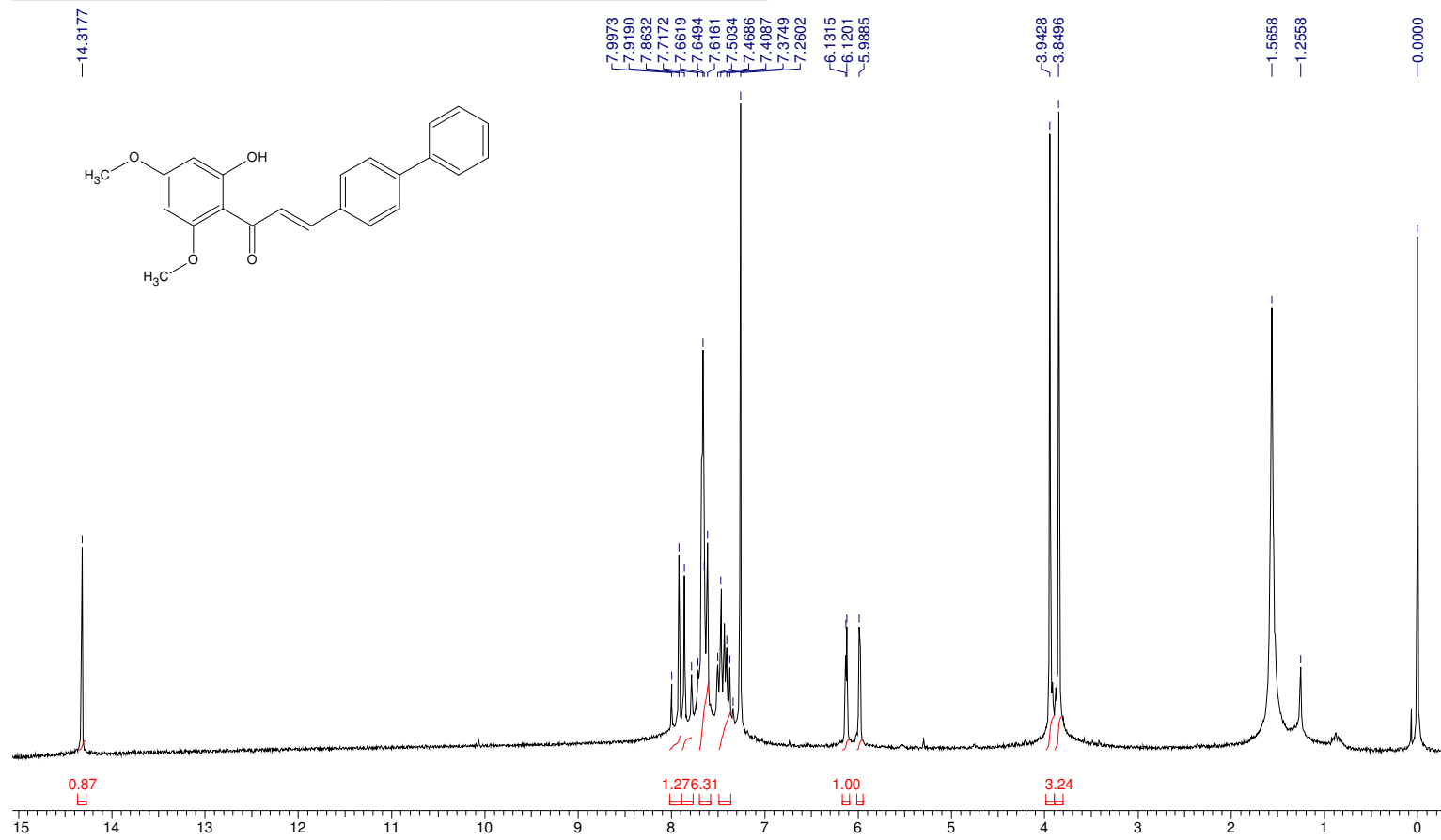
18 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A222A2CHSCB3\1\A222A2CHSCB3.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN <sup>1</sup>H da chalcona 55{2,3}

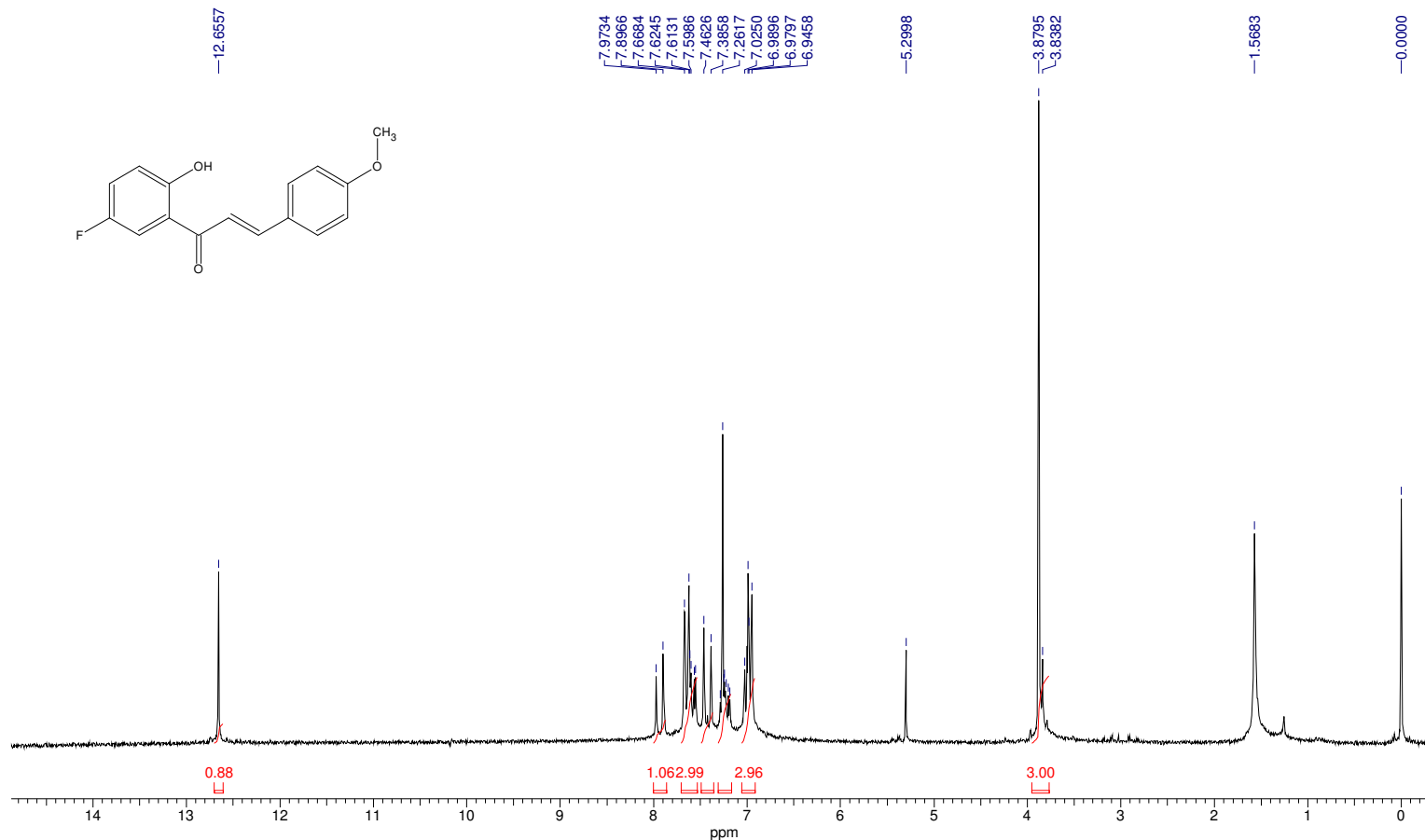
20 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1990 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A252A2CHSCB6_4\1\A252A2CHSCB6_4.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	32
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

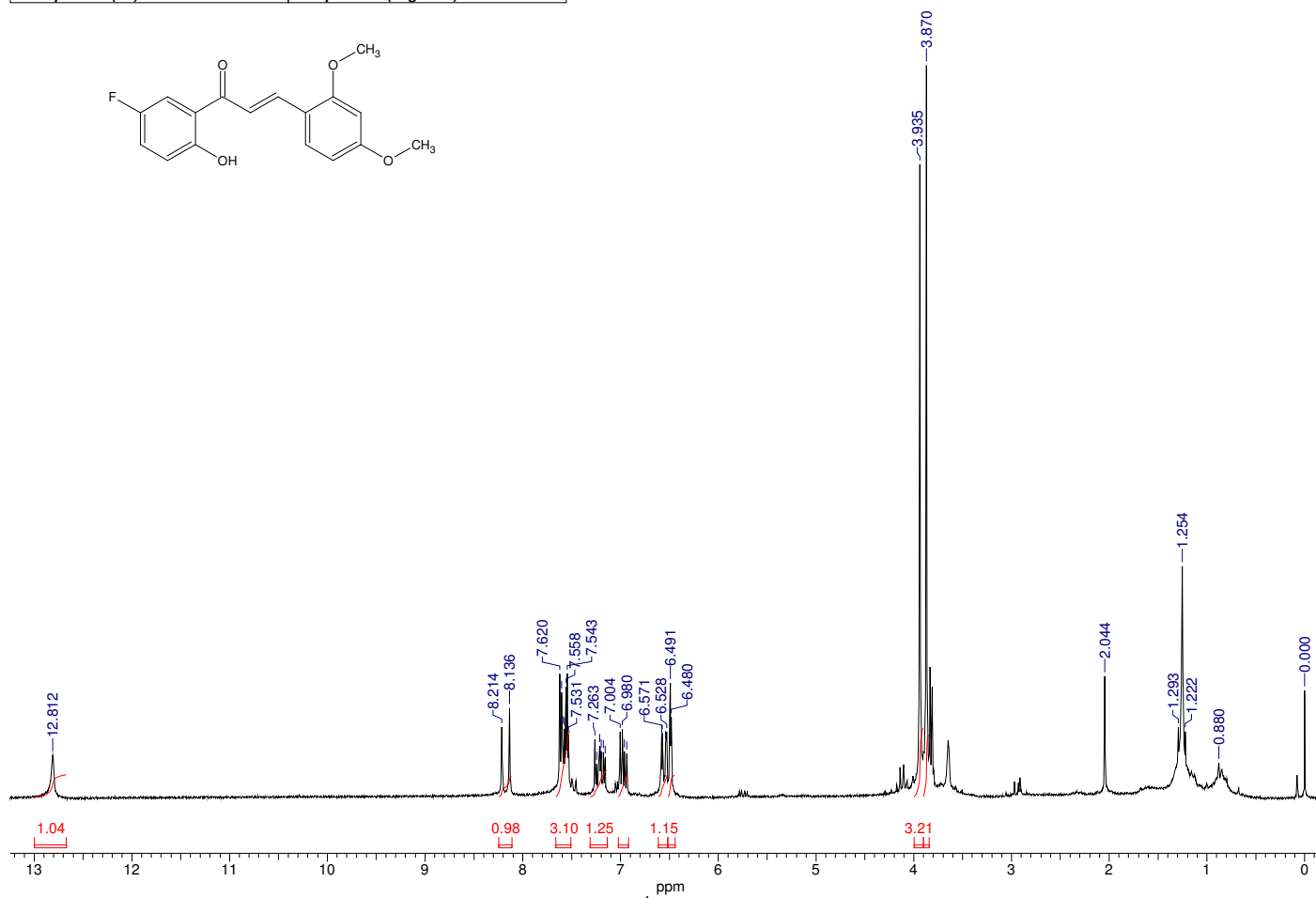
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{2,6}

19 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOUTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A242A2CHSCC1\1\A242A2CHSCC1.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

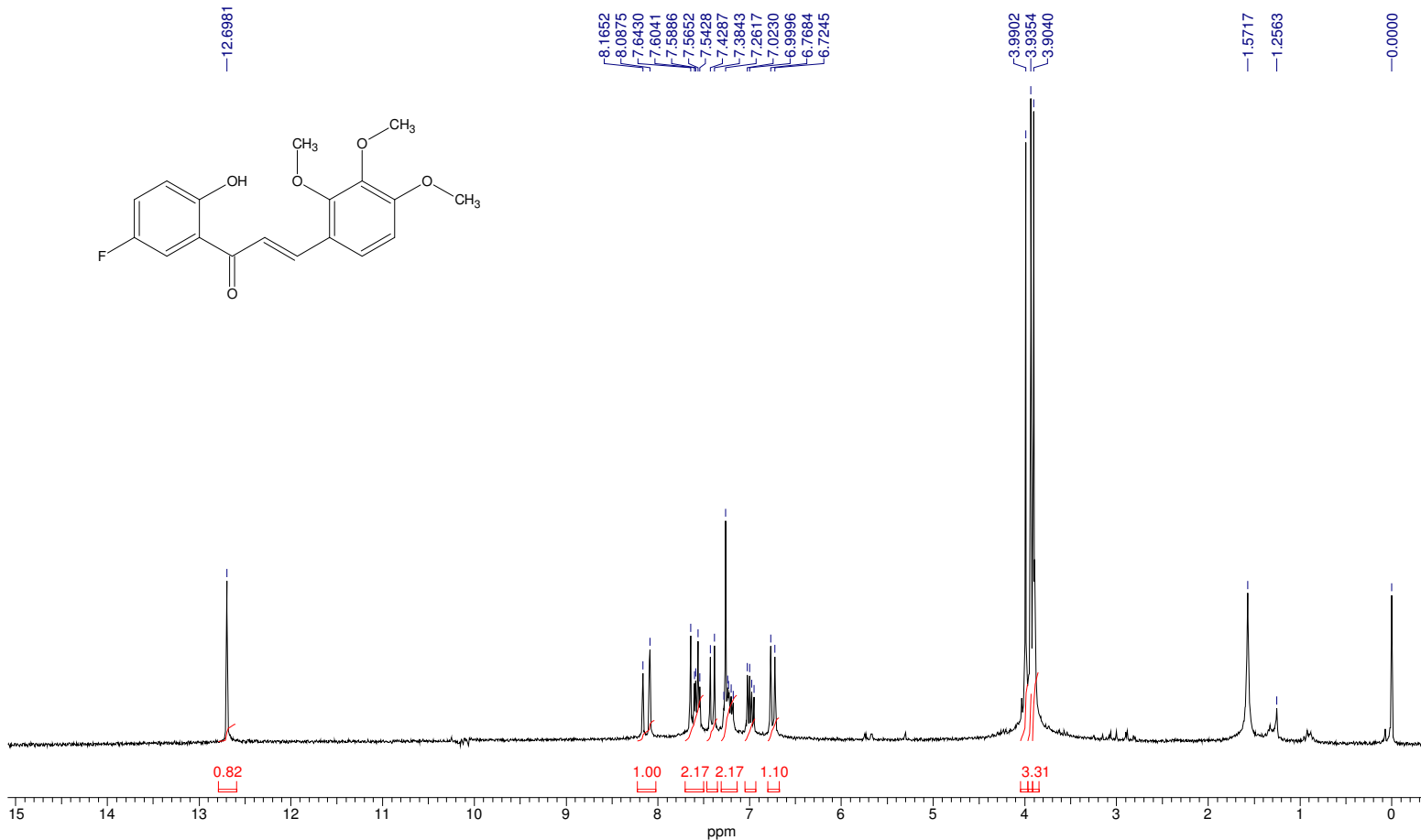
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{3, 1}

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A332A2Chal03	Date	03 Aug 1971 13:15:36
Date Stamp	03 Aug 1971 13:15:36	File Name	D:\Joel\Doutorado\RMN\2_2004\A332A2Chal03\1\A332A2Chal03.d		
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	65536	Owner	joel	Points Count	65536
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	CHLOROFORM-D

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{3,2}

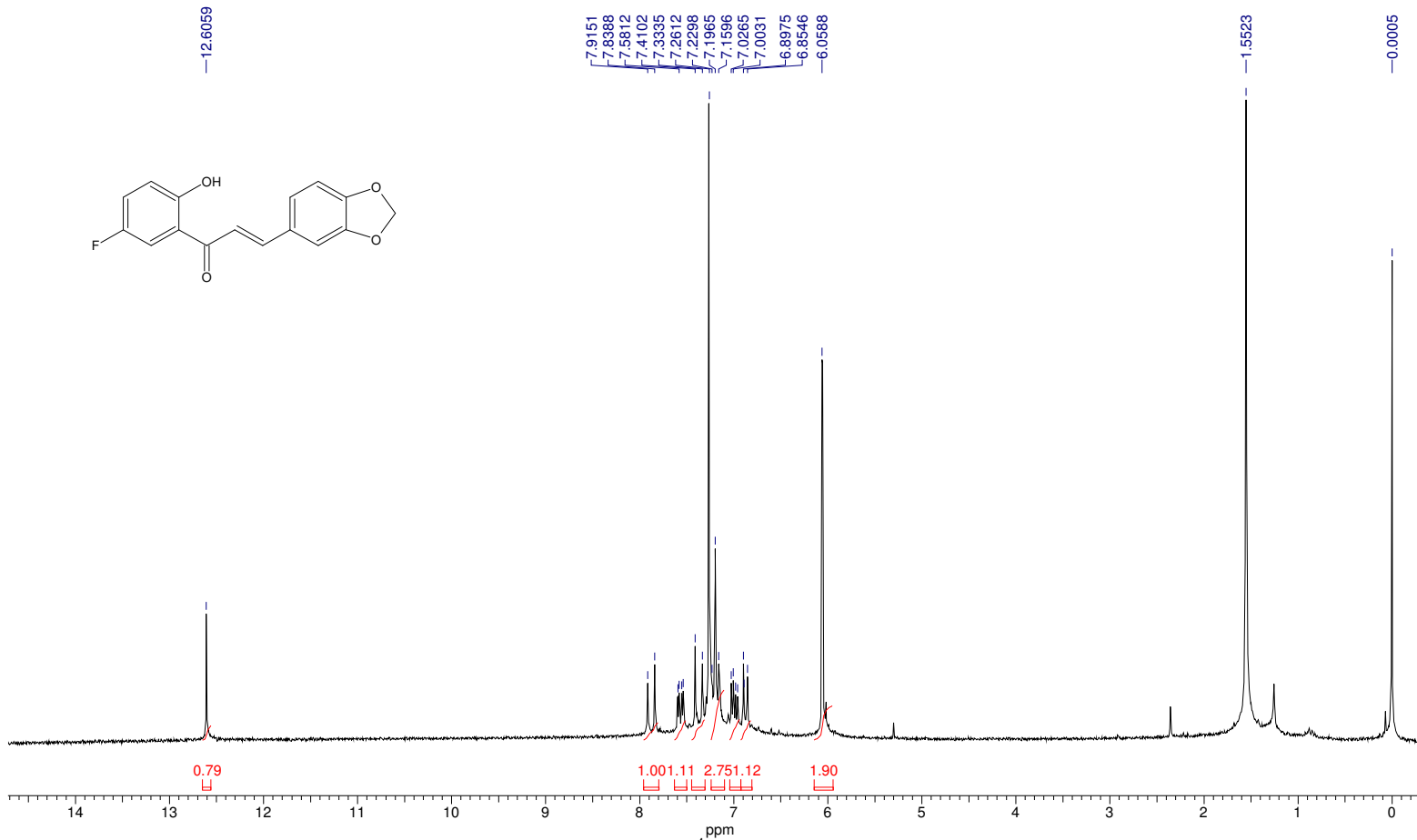
19 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A252A2CHSCC3\1\A242A2CHSCC3.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	4
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{3,3}

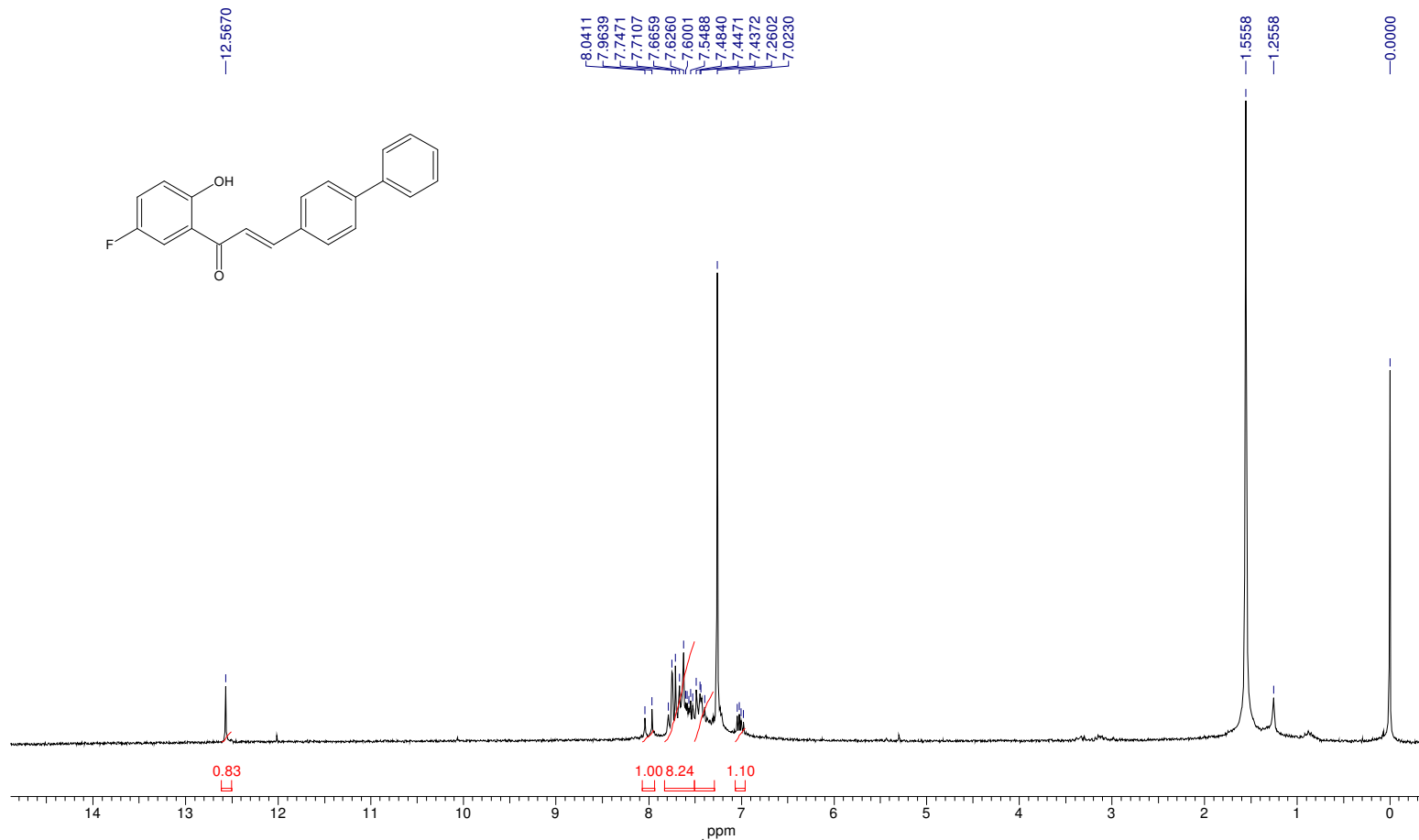
19 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UJXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A252A2CHSCC5\1\A242A2CHSCC5.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	32
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{3,5}

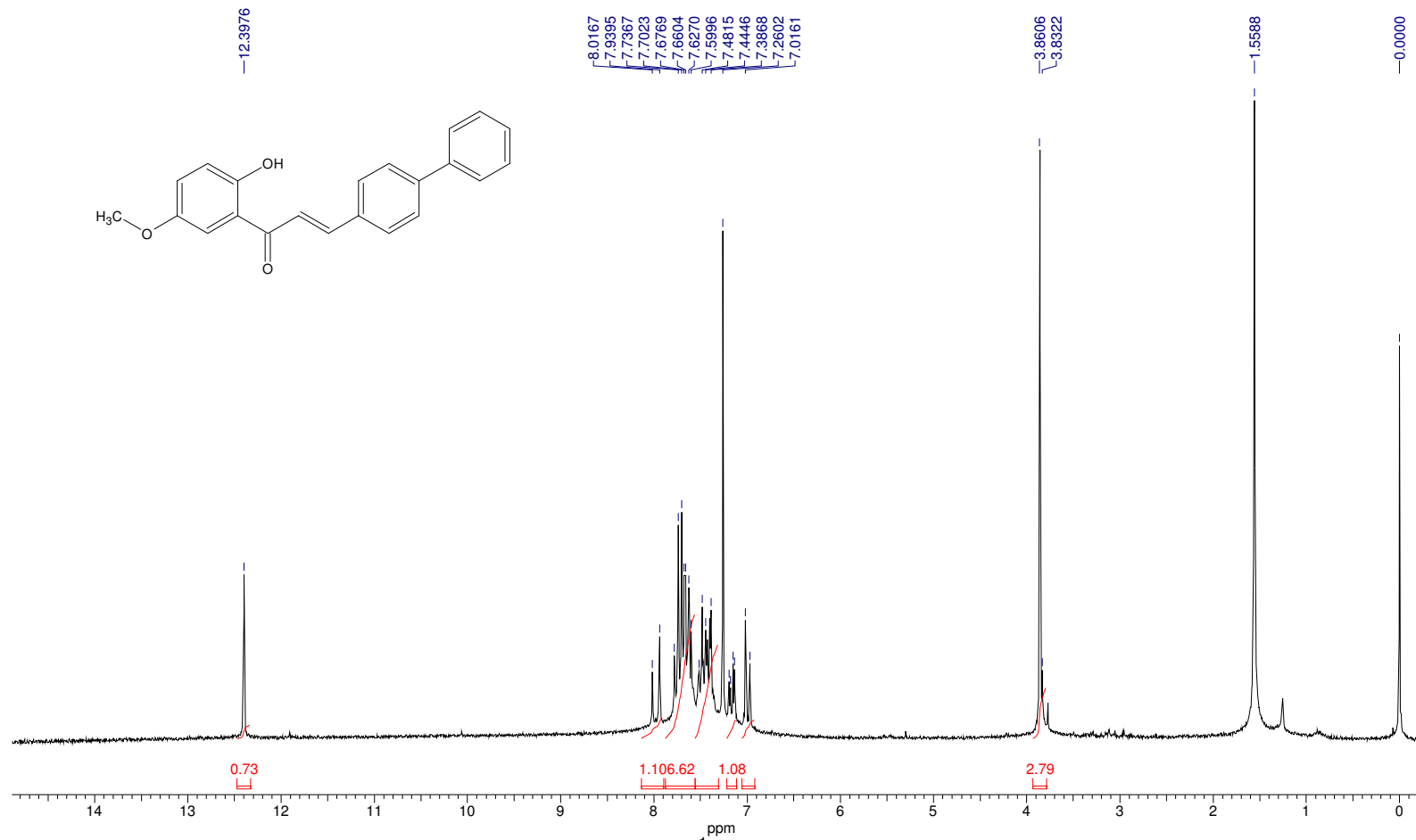
20 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXNMR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A252A2CHSCC6_1\1_A252A2CHSCC6_1.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	32
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{3,6}

20 Jun 2007

<b>Acquisition Time (sec)</b>	10.0270	<b>Comment</b>	Imported from UXMNR.	<b>Date</b>	00/00/1980 00:00:00
<b>File Name</b>	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\USER\MEUS DOCUMENTOS\DOCTORADO\RMN\1_2007\COMB_CHEM_SCAVENGER\CHALCONAS\A252A2CHSCD6_1\1\A252A2CHSCD6_1.ESP				
<b>Frequency (MHz)</b>	200.13	<b>Nucleus</b>	1H	<b>Number of Transients</b>	16
<b>Original Points Count</b>	32768	<b>Points Count</b>	32768	<b>Solvent</b>	CHLOROFORM-D
<b>Sweep Width (Hz)</b>	3267.97	<b>Temperature (degree C)</b>	27.000		

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da chalcona 55{4,6}