

**Universidade de Brasília - Instituto de Química
Programa de Pós-graduação em Química**

***Estudos visando à síntese de novos derivados do LCC
com potencial atividade no tratamento da doença de
Alzheimer***

**Mestrando: Tarcísio da Silva Vieira
Orientadora: Profa. Dra. Maria Lucilia dos Santos**

Brasília, 2007

**Universidade de Brasília - Instituto de Química
Programa de Pós-graduação em Química**

***Estudos visando à síntese de novos derivados do LCC
com potencial atividade no tratamento da doença de
Alzheimer***

**Mestrando: Tarcísio da Silva Vieira
Orientadora: Profa. Dra. Maria Lucilia dos Santos**

Dissertação apresentada ao PPG/IQ,
como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em
Química.

Brasília, 2007

AGRADECIMENTOS

- À professora Dra. Maria Lucilia dos Santos por sua orientação, disposição e paciência mediante minhas limitações. Agradeço ainda por sua compreensão e pelo ensino. Agradeço-lhe os conselhos, lições e incentivos nos momentos difíceis vivenciados durante este período.
- À professora Dra Inês Sabioni Resk da Universidade de Brasília pelos conselhos, espectros de Ressonância Magnética, auxílio na interpretação dos mesmos e aceitar participar da banca examinadora. Ao Sr. Wilson R. de Oliveira da Universidade de Brasília pelos espectros de Infravermelho.
- À Dra. Maria Márcia Murta da Universidade de Brasília e ao Prof. Dr Luiz Antônio Soares Romeiro do Núcleo de Química Bioorgânica e Medicinal da Universidade Católica de Brasília, por aceitarem participar da banca examinadora, pelos conselhos e sugestões.
- Ao professor Dr. João Batista Lopes Martins pelo estudo teórico dos heterociclos usando o método semi-empírico AM1
- Ao professor Dr. Peter Bakuzis da Universidade de Brasília pelo incentivo, conselhos e sugestões.
- Aos meus colegas de laboratório pelos conselhos, ajuda e companheirismo que foram de fundamental importância para a concretização deste trabalho.
- Aos funcionários do IQ que sempre prestaram excelente atendimento nas questões burocráticas.
- À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) processo CT-INFRA 970/2001, 1040091/2004, pelo apoio a projetos que contribuíram para a realização desse trabalho.
- À minha mãe Ivany da Silva Vieira e a meu pai Cleumar Martins Vieira pela educação e formação de minha personalidade, que foi indispensável para que eu não desanimasse diante das dificuldades. Agradeço também por suas orações que me sustentou e fortaleceu ao longo de mais esta jornada.
- À minha irmã, *in memoriam*, Talita da Silva Vieira. Apesar do curto tempo em nosso meio, me ensinou a dar o melhor de mim em tudo o que fizesse. Isto foi fundamental para conclusão desta dissertação.
- Ao meu irmão, *in memoriam*, Tarcio da Silva Vieira. Enquanto estive em nosso meio, tive a tranquilidade de deixar meus pais sob seu cuidado. A confiança depositada em mim foi essencial para que eu desse continuidade a meus estudos.

- À minha companheira Nádia Cristina Gonçalves pela imensurável compreensão, por seu perdão e palavras que trouxeram luz quando tudo era escuro. Com sua força, orações e palavras de esperança, caminhou lado a lado comigo na realização deste sonho.
- Aos meus queridos amigos, que os tenho como irmãos de sangue em meu coração: Paulo Henrique Rodrigues Gonçalves, Marcos Pavanni, Leandro de Sousa Rodrigues e Marcos Pereira Santana. Agradeço por compartilharem de minhas alegrias e tristezas. O suporte financeiro, a forte amizade que nos une, orações e força foram essências para a realização e concretização desta dissertação. Sempre serei grato.
- Ao Dr. Ruy Carlos de Camargo Vieira, sua esposa dona Wanda e seu filho Rui Corrêa Vieira, por serem minha família aqui em Brasília. Agradeço não só pelos cuidados, mas pelos ensinamentos que mudaram por completo minha vida, minha forma de enxergar a Natureza e por me ensinarem a ser apaixonado por conhecimento e pela ciência.
- Aos amigos Dr. Nahor Neves de Souza Júnior, Dr. Eduardo F. Lütz, prof. Enézio E. de Almeida Filho e Dr. Willington dos Santos Silva. Suas vidas e compromisso com a causa de defendem me inspiraram na execução deste trabalho, e me motivam a buscar conhecer mais e mais a Natureza.
- Aos queridos amigos e professores Dr. Hugo de Sousa Rodrigues, Dr. Jair Pereira de Mello Júnior e Arnaldo Evangelista pela oportunidade que me deram, ainda no ensino médio, de ter contato profundo com a química, a física e a matemática, despertando em mim o gosto pelas ciências da Natureza.
- Às diretoras Dona Lourdes – Colégio Origem – (Núcleo Bandeirantes – DF), por me abrir as portas de emprego em Brasília, permitindo assim que eu pudesse dedicar-me à execução deste trabalho; à Rosimar – Colégio Coopen – (Rio Verde – GO) por manter meu emprego e despesas com passagens.
- A meus amigos Adam, Júlio e Fatahala por sua compreensão, força e amizade; por permitirem que apesar das inúmeras viagens e do pouco tempo dedicado, pudesse continuar contribuindo na construção do “sonho CDF”.
- Agradeço a todos os meus alunos. Vocês foram e sempre serão um dos maiores incentivos para que eu sempre busque conhecer um pouco mais.
- Principalmente ao Senhor Deus pela oportunidade, pela força e intelecto. Agradeço por honrar Suas promessas e por me permitir enxergar Seu poder nas coisas que foram Criadas. Sua inspiração permitiu-me completar esta jornada.

ÍNDICE

I - Introdução	1
1. Doença de Alzheimer	1
2. Considerações Gerais Sobre o Cajueiro e os Lipídeos Fenólicos do Óleo da Castanha do Seu Fruto	5
2.1. Aplicações Biológicas dos ácidos Anacárdicos e dos Cardóis	7
2.2. Biossínteses do Ácido Anacárdico e do Cardol	12
2.3 Sínteses do Ácido Anacárdico e do Cardol	14
II – Justificativa	18
III e IV Objetivos (Geral e Específicos)	18
V - Metodologia	19
VI. Resultados e Discussão	22
VII. Conclusões e Perspectivas	38
VIII. Parte Experimental	39
IX. Referências Bibliográficas.	55
Anexos	59

ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

Ac	Acetil
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
AChEI	Inibidores da acetilcolinesterase
AMCPB	Ácido <i>m</i> -cloroperbenzóico
APP	Proteína Precursor Amilóide
Bz	Benzoíla
CCD	Cromatografia em camada delgada
CTF	Catálise por transferência de fase
DA	Doença de Alzheimer
Et	Etila
IV	Infravermelho
LCC	Líquido da Casca da Castanha do Caju
<i>m</i>	meta
M _(1,2,3,4,5)	Receptores Muscarínicos
Me	Metila
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a methicillin
NBS	<i>N</i> -Bromossucinamida
p.f.	ponto de fusão
Ph	Fenil
ppm	Partes por milhão
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
TFA	Ácido trifluoroacético
TMS	Tetrametilsilano
ν _{max}	Frequência de absorção máxima
δ	Deslocamento químico

ABSTRACT

Given the demand for new therapeutic agents to Alzheimer's disease (DA) as well as our ongoing research program concerning to the employment of cashew (*Anacardium occidentale*) nut-shell liquid (CNSL) as raw material for preparation of bioactive new chemical entities (NCEs), the current study focuses on the development of novel acetylcholinesterase inhibitor (AChEI) candidates. The rational approach for proposal AChEI comprises the molecular hybridization between pharmacoforic subunits of donepezil and tacrine, including the spacer group. In the course of ongoing investigations, the structural features of constituents of LCC and its abundance has prompted us to search for a strategy to convert this material into new AChEI drug candidates. The synthetic pathway suggested a sequence of classical procedures starting from the major constituents of CNSL, anacardic acids and cardols. Several attempts were carried with saturated anacardic acid, in order to accomplish the synthetic designed pathway. Unfortunately, all attempts using this starting material failed on the first step of synthetic pathway. On the other hand, starting from cardols, several chemical transformations e.g., protection of phenolic groups, nitration, free radical bromination, epoxidation, reduction of nitro groups, and cyclization were attempted. The best outcome on nitration (80%) was possible with saturated dimethylcardol by using of combination AcOH-HNO₃. In this case, a mixture of mono-nitrodimethylcardols (1:1) was obtained. Free radical bromination on the expected nitrocompound, followed by dehalogenation under mild basic condition gave the olefin in good yield. Conversion of the latter into epoxide was accomplished in moderate yield. At the present moment, several attempts are in progress in order to obtain the five-membered system by one pot reductive (nitro group reduction) intramolecular cyclization. The preliminary results are promising and to date suggest that optimization of this synthetic pathway and appropriate structural modification on side chain may afford potential AChEI candidates. Initial and advanced intermediates involved in this synthetic route have been characterized by FT-IR, and ¹H-, ¹³C NMR.

RESUMO

Em virtude da demanda por novos agentes terapêuticos para o tratamento da Doença de Alzheimer (DA) bem como do interesse em desenvolvimento de pesquisas empregando o óleo da casca da castanha de caju (LCC, *Anacardium occidentale*) como matéria-prima para preparação de novas entidades químicas (NECs) bioativas, o presente estudo tem como foco principal o desenvolvimento de novos candidatos a inibidores da acetilcolinesterase (AchEI). O planejamento racional para os candidatos a AchEI envolve a hibridação molecular entre as subunidades farmacofóricas do Donepezil[®] e tacrina, incluindo o grupo espaçador. No curso do nosso programa de investigação as características estruturais dos componentes do LCC e sua abundância tem nos incentivado a buscar estratégias de conversão deste material em novos candidatos AchEI. A rota sintética sugere uma seqüência de procedimentos clássicos partindo dos constituintes majoritários do LCC, ácidos anacárdicos e cardóis. Diversos procedimentos foram realizados com o ácido anacárdico saturado. Infelizmente, todas as tentativas de uso dessa matéria-prima falharam na primeira etapa da rota sintética. Por outro lado, partindo dos cardóis várias transformações químicas e.g. proteção dos grupos fenólicos, nitração, bromação via radicais livres, epoxidação e redução do grupo nitro seguida de ciclização foram tentadas. O melhor resultado na reação de nitração (80%) foi possível pelo uso da combinação AcOH-HNO₃. Neste caso, foi obtida uma mistura de mono-nitrometilcardóis (1:1). Bromação radicalar no nitro composto esperado, seguido desalogenação, sob condições brandas, forneceu a olefina em bom rendimento. Conversão deste último no epóxido foi conseguida em rendimento satisfatório. No presente momento, várias tentativas estão em andamento visando à obtenção do sistema heterocíclico de cinco membros via redução do grupo nitro e ciclização intramolecular, em uma única etapa. Os resultados preliminares são promissores e até então sugerem que a otimização da seqüência sintética e modificações estruturais apropriadas na cadeia lateral podem fornecer potenciais candidatos AchEI. Os intermediários iniciais e avançados envolvidos nesta rota sintética têm sido caracterizados por IV, e RMN de ¹H e ¹³C.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Comparação entre regiões cerebrais em um cérebro de pessoa normal e de pessoa com DA.	1
Figura 2. Alguns compostos inibidores de acetilcolinesterase	4
Figura 3. Lipídeos fenólicos não-isoprenóides do LCC <i>in natura</i> .	6
Figura 4. Representação do ácido linoléico evidenciando o sistema (Z,Z)-1,4-dieno.	9
Figura 5. Planejamento estrutural de novos candidatos a AChEI do tipo PM1.	19
Figura 6. Compostos-alvo e variantes derivadas do ácido anacárdico (PM2).	20
Figura 7. Estrutura do possível heterociclo de quatro membros.	36
Figura 8. Conformação mais estável para o composto 18 (superior) e conformação para o segundo mínimo (inferior) com resultados de distâncias interatômicas e carga de Mulliken.	37
Figura 9. Mapa de potencial eletrostático para o primeiro mínimo (composto 18).	37

LISTA DE ESQUEMAS E TABELAS

Esquema 1. Esquema parcial do metabolismo das purinas e o papel da enzima xantina oxidase	8
Esquema 2. Origem biossintética dos ácidos anacárdicos <i>via</i> ácidos graxos.	13
Esquema 3. Origem biossintética dos cardóis	14
Esquema 4. Obtenção de ácidos anacárdicos <i>via</i> oxazolininas	15
Esquema 5. Obtenção de ácidos anacárdicos e compostos semelhantes com base nas reações de adição de Michael	15
Esquema 6. Obtenção de ácidos ésteres que após hidrólise fornecem ácido anacárdico e compostos similares	16
Esquema 7. Síntese de cardol saturado e um derivado	17
Esquema 8. Obtenção do cardol insaturado com uso de um composto de boro	17
Esquema 9. Metodologia sintética esquemática para variantes com PM1.	20
Esquema 10. Metodologia sintética esquemática para variantes com PM2.	21
Esquema 11. Metilação parcial e total do ácido anacárdico	22
Esquema 12. Amidação do éster do ácido anacárdico	23
Esquema 13. Tentativa de amidação do ácido por CTF	25
Esquema 14. Amidação do ácido anacárdico <i>via</i> cloreto de ácido	26
Esquema 15. Tentativa de bromação benzílica da anacardamida	28
Esquema 16. Tentativa da amidação do metil éster do ácido anacárdico	28
Esquema 17. Rota sintética alternativa para a obtenção dos compostos com PM1	29
Esquema 18. Tentativa de amidação benzílica	30
Esquema 19. Metilação do cardol saturado	30
Tabela 1. Condições empregadas nas tentativas de nitração e resultados obtidos	31
Esquema 20. Nitração do cardol saturado	32
Esquema 21. Bromação do nitro cardol	33
Esquema 22. Eliminação com DBU	34
Esquema 23. Epoxidação do nitro cardol saturado	35
Esquema 24. Tentativa de redução do grupo nitro e ciclização	35

LISTA DE ANEXOS

Infravermelho do composto 1	60
RMN- ¹ H do composto 1	61
RMN- ¹³ C do composto 1	62
Infravermelho do composto 3	63
RMN- ¹ H do composto 3	64
RMN- ¹³ C do composto 3	65
Infravermelho do composto 4	66
RMN- ¹ H do composto 4	67
RMN- ¹³ C do composto 4	68
RMN- ¹ H do composto 6	69
RMN- ¹³ C do composto 6	70
RMN- ¹ H do composto 7	71
Infravermelho do composto 13	72
RMN- ¹ H do composto 13	73
RMN- ¹³ C do composto 13	74
Infravermelho do composto 14	75
RMN- ¹ H do composto 14	76
RMN- ¹³ C do composto 14	77
Infravermelho do composto 15	78
RMN- ¹ H do composto 15	79
RMN- ¹³ C do composto 15	80
Infravermelho do composto 17	81
RMN- ¹ H do composto 17	82
RMN- ¹³ C do composto 17	83
Infravermelho do composto 18	84
RMN- ¹ H do composto 18	85
RMN- ¹³ C do composto 18	86
Infravermelho do composto 19 ou 21	87
RMN- ¹ H do composto 19 ou 21	88
RMN- ¹ H do composto 19 ou 21 (ampliação 6,7 a 4,5 ppm)	89

I - INTRODUÇÃO

1. A DOENÇA DE ALZHEIMER

O patologista alemão Alois Alzheimer inicialmente descreveu o processo degenerativo progressivo das funções psicomotoras e cognitivas, conhecido posteriormente como Mal ou Doença de Alzheimer (DA). Esta patologia estende-se por cerca de oito anos e meio a dez anos, desde o aparecimento dos primeiros sintomas até a morte do paciente.¹ As modificações bioquímicas decorrentes da doença de Alzheimer comprometem as regiões cerebrais associadas às funções mentais superiores, principalmente o neocórtex e o hipocampo.

Na Figura 1 encontra-se a representação da anatomia de uma porção cerebral de uma pessoa que não está acometida pela Doença de Alzheimer (*esquerda*), e a mesma porção cerebral de uma pessoa que está acometida com DA (*direita*). Note a diminuição em volume das regiões responsáveis pelas funções mentais superiores da memória e da linguagem, ocasionados pela morte de neurônios.

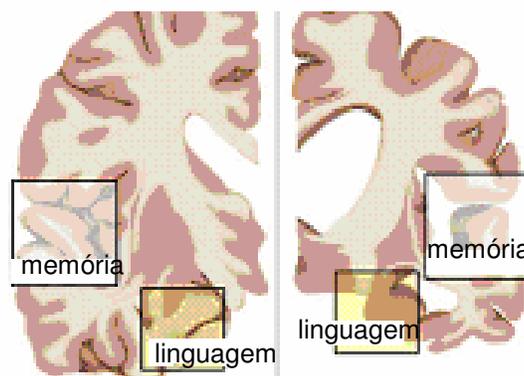


Figura 1. Comparação entre regiões cerebrais em um cérebro de pessoa normal e de pessoa com DA.²

¹ Júnior, C. V. ; Bolzani, V. S. ; Furlan, M. ; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. *Quim. Nova*, **2004**, 27, 655.

² <http://www.linternauta.com/science/biologie/dossiers/06/0602-cerveau/4bis.shtml/> - acesso em janeiro de 2007.

Cerca de 15 milhões de pessoas em todo o mundo são acometidas pela doença, que aumenta sua incidência em proporção direta com o aumento da idade do indivíduo, a partir dos 60 anos. Essa patologia é considerada um dos principais problemas de saúde, devido aos impactos causados ao indivíduo e também à sua família, uma vez que acometido pela doença, a pessoa perde gradualmente suas funções motoras e de aprendizado, passando a não reconhecer os parentes mais próximos, o que acarreta um grande stresse emocional aos familiares.³

De natureza crônica e progressiva, o Mal de Alzheimer compromete gravemente a qualidade de vida dos portadores, cuja evolução da doença envolve múltiplas perturbações incluindo memória, atenção e aprendizado, pensamento, orientação, compreensão, cálculo, linguagem e julgamento. O comprometimento dessas funções é comumente acompanhado, e ocasionalmente precedido, por deterioração do controle emocional, comportamento social ou motivação. A demência produz um declínio apreciável no funcionamento intelectual e interfere com as atividades do dia-a-dia, como higiene pessoal, vestimenta, alimentação, atividades fisiológicas e de toalete.

O Ministério da Saúde disponibilizou em 2002 dados sobre a existência de 600 mil a 1 milhão de idosos portadores do mal de Alzheimer no Brasil. Recursos de R\$ 59 milhões, sendo R\$ 34 milhões para distribuição de medicamentos excepcionais e R\$ 25 milhões para reestruturação da assistência, são aplicados anualmente para que a evolução da doença seja retardada. Estes recursos parecem insuficientes quando comparados aos 82 bilhões de dólares gastos pelo Governo americano para assistência aos 4,5 milhões de portadores da doença.

No aspecto bioquímico, a deposição extracelular do peptídeo β -amilóide (derivada da proteína precursor amilóide, APP) em plaquetas senis e a formação errática (em forma de emaranhado) de neurofibrilas intracelulares (que contém uma forma anormalmente fosforilada de um microtúbulo associado à proteína tau) e a perda de neurônios nas sinapses, são as causas evidentes do surgimento da

³ www.biostat.wustl.edu/alzheimer/ - acesso em janeiro de 2007.

doença.⁴ No tocante a aspectos celulares, a DA associa-se à redução do nível normal de acetilcolina (ACh) nas sinapses.

O neurotransmissor acetilcolina é biossintetizado nos terminais axoniais pela ação da acetiltransferase da colina, a partir da colina e do Acetil-CoA, e sua remoção da fenda sináptica é realizada pela acetilcolinesterase, que a degrada em acetato e colina, que é então reabsorvida. A redução nos níveis normais de acetilcolina acarreta a diminuição da neurotransmissão colinérgica cortical, ocasionando também alterações em outros neurotransmissores, como noradrenalina, dopamina, serotonina, glutamato entre outros.⁵

Na perspectiva de uma melhora no perfil cognitivo e comportamental decorrentes da doença de Alzheimer, grande esforço tem sido realizado do campo da Terapia Colinomimética, que consiste na tentativa de restabelecer os níveis normais de acetilcolina em pessoas acometidas com a DA.

Dentre as estratégias empregadas, a utilização ou substituição de precursores de acetilcolina, como colina ou lecitina, não responderam eficientemente ao incremento da atividade colinérgica central⁶. Uma outra abordagem dada ao problema, envolve a utilização de agonistas específicos de receptores muscarínicos (M_1) e nicotínicos ou antagonistas muscarínicos (M_2).⁷ Outros estudos visam o uso de inibidores reversíveis de acetilcolinesterase (AChE) que reduzam a hidrólise de acetilcolina, aumentando sua concentração na fenda sináptica. Há ainda uma abordagem terapêutica em que são desenvolvidos agonistas diretos de receptores muscarínicos pós-sinápticos M_1 , em que o estímulo destes receptores ocasionou o aumento da cognição em animais. Contudo, grande gama dos compostos testados revelou ter uma baixa seletividade, ocasionando a ativação de iso-receptores

⁴ a) Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137; b) Gooch, M. D.; Stennett, D. J.; *Am. J. health Syst. Pharm.* **1996**, *53*, 1545.

⁵ Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future*, **1997**, *22*, 397; b) Tabarrini, O.; Cecchetti, V.; Temperini, A.; Filippini, E.; Lamperti, M. G.; Fravolini, A.; *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2921.

⁶ Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137.

⁷ a) Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137; b) Gooch, M. D.; Stennett, D. J.; *Am. J. health Syst. Pharm.* **1996**, *53*, 1545.

muscarínicos M_3 nos intestinos, na bexiga e no pulmão. Estes agonistas de receptores M_1 podem interagir com receptores M_4 e M_5 no sistema nervoso central, devido à sua baixa seletividade.⁸ Assim sendo, o uso de inibidores de acetilcolinesterase tem se mostrado como a forma mais eficiente no controle da evolução da doença,⁹ embora não sejam capazes de impedir sua progressão em nenhum de seus estágios.¹⁰

Dentre as substâncias que exibem perfil anticolinesterásico, apresentando resultados promissores para o tratamento da doença de Alzheimer encontram-se donepezil (Aricept®), tacrina (Cognex®), fisostigmina (Eserine®) e galantamina (Reminyl®) (Figura 2). A tacrina vem tendo sua aplicação limitada devido a sua hepatotoxicidade, o que tem levado pacientes a interromperem o tratamento.¹¹

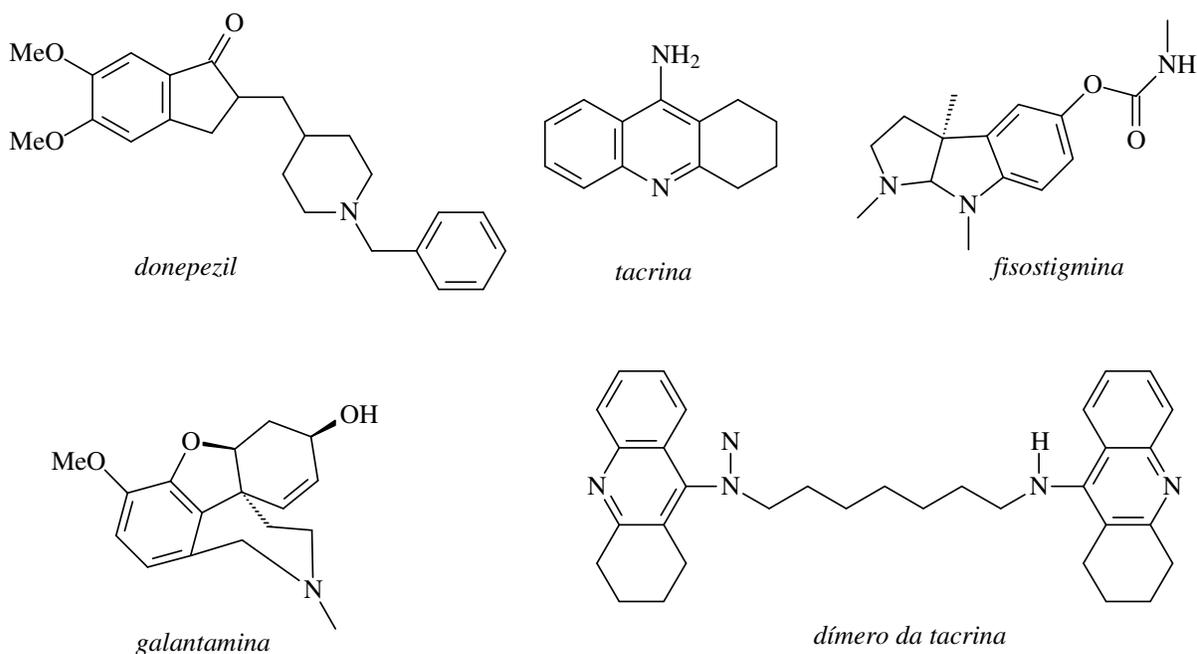


Figura 2. Alguns compostos inibidores de acetilcolinesterase

⁸ Greenlee, W.; Clader, J.; Asberom, T.; McCombie, S.; Ford, J.; Guzik, H.; Kozlowski, J.; Li, S.; Liu, C.; Lowe, D.; Vice, S.; Zhao, H.; Zhou, G.; Billard, W.; Binch, H.; Crosby, R.; Duffy, R.; Lachowicz, J.; Coffin, V.; Watkins, R.; Ruperto, V.; Strader, C.; Taylor, L.; Cox, K.; *Il Farmaco* **2001**, *56*, 247.

⁹ Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137.

¹⁰ Maelicke, A.; Albuquerque, E. X.; *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, *393*, 165

¹¹ Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future* **1997**, *22*, 397.

De acordo com esta estratégia terapêutica colinesterásica, o retardamento da doença na população de idosos em ca. de 5-6 anos tem possibilitado uma redução em torno de 45% nos recursos aplicados em saúde pública para esta patologia. Portanto, o desenvolvimento e a inserção de novos protótipos a fármacos úteis ao tratamento da doença de Alzheimer, que tenham origem em matérias-primas abundantes no país, possibilitarão o pronto provimento à população com medicamentos com esse perfil terapêutico a um custo muito menor, além de promover o desenvolvimento regional. Essa tática poderá reduzir os gastos com medicamentos importados, corroborando e atuando em sinergia com os esforços governamentais para o desenvolvimento da indústria farmacêutica brasileira e um melhor controle de gastos com saúde pública.

Tendo em mente a importância econômica e social de pesquisas e produtos que utilizem matérias-primas abundantes e economicamente viáveis no país, como exposto anteriormente, visamos o emprego do líquido da casca da castanha (LCC) como matéria-prima na preparação de compostos com maior valor agregado. Especificamente, almejamos o planejamento racional de novos candidatos a agentes terapêuticos com perfil de inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChEI) a partir dos lipídeos fenólicos não-isoprenóides do cajueiro (*Anacardium occidentale*).

2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O CAJUEIRO E OS LIPÍDEOS FENÓLICOS DO ÓLEO DA CASCA DO SEU FRUTO

André Thevet, um frade franciscano francês, fez a primeira descrição do caju, comparando-o a um ovo de pata.¹² Os tupis-guaranis contavam a idade de seu povo a cada safra de caju (*acayu*), termo que tem significado de “ano” naquela língua indígena.

Popularmente o caju (suculento, fibroso e comestível), é tido como fruto do cajueiro (*Anacardium occidentale*), porém, biologicamente é na verdade um pseudofruto, uma vez que não é o ovário da planta que se desenvolve após a fecundação, mas sim o pedúnculo floral. Pseudofrutos são estruturas típicas da

¹² <http://pt.wikipedia.org/wiki/Caju> - acesso em 16/01/07.

família *Anacardiaceae* e de certas gimnospermas da família *Podocarpaceae*. No cajueiro, o fruto em si é uma espécie de carço, conhecido como castanha-de-caju, e está diretamente ligada ao pedúnculo floral, desenvolvido e intensamente colorido. A castanha é o principal produto do complexo econômico do caju. Na região nordeste do Brasil estão situados os estados de maior relevância na produção e exportação de castanha-de-caju, destacando-se Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, sendo a cajucultura uma atividade de grande importância socioeconômica para o nordeste brasileiro.

Na obtenção industrial da amêndoa, rica em proteínas e componentes graxos, a partir da castanha-de-caju, isola-se o LCC (líquido da casca da castanha-do-caju), que devido à natureza química de seus compostos polifuncionais, tem grande aplicação na indústria de inseticidas, germicidas, antioxidantes, material de atrito, plastificantes, etc. Porém, devido a seus preços irrisórios, o LCC produzido no Brasil acaba sendo um rejeito da cajucultura no país.

O LCC é um líquido viscoso escuro e oleoso que corresponde aproximadamente a 25% do peso do fruto, constituindo um das fontes mais ricas em lipídeos fenólicos não-isoprenóides, como ácido anacárdico, cardóis, cardanóis e metilcardóis (Figura 3). Os ácidos anacárdicos e os cardóis, ambos contendo uma insaturação (8'Z-monoeno), duas insaturações (8'Z, 11'Z-dieno) e três insaturações (8'Z, 11'Z, 14'Z-trieno), compreendem aproximadamente 90% do LCC *in natura*, distribuídos nas proporções em cerca de 70% e 20%, respectivamente.

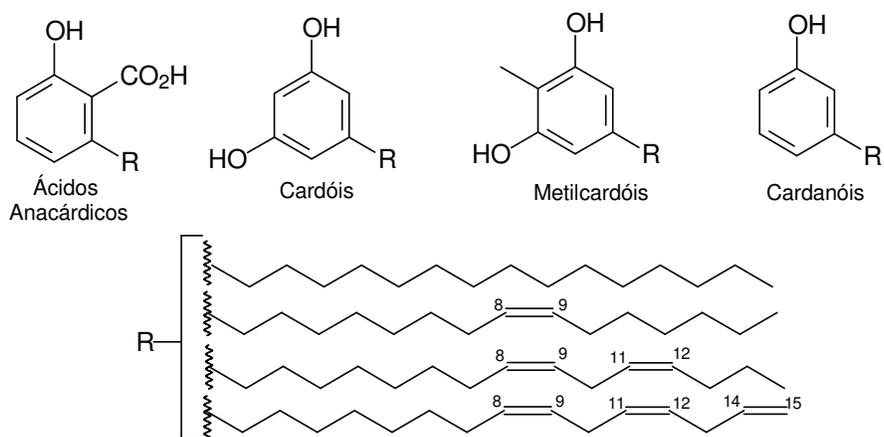


Figura 3. Lipídeos fenólicos não-isoprenóides do LCC *in natura*.

Os constituintes do LCC são definidos como compostos naturais não-isoprênicos por terem acetato como precursor biossintético (rota dos policetídeos). Estes compostos além de possuírem um núcleo aromático e diversos grupos funcionais distintos apresentam uma cadeia lateral acíclica contendo até três insaturações a partir de C-8, o que não só lhes conferem comportamento anfipático (um potencializador das atividades biológicas destes compostos), como torna o LCC uma matéria-prima bastante versátil do ponto de vista sintético.

Em adição às aplicações industriais citadas acima, o LCC tem despertado grande interesse em pesquisas no campo químico e biológico. Além de estarem presentes em plantas superiores, os lipídeos fenólicos do LCC são constituintes de fungos e organismos marinhos.¹³

2.1. APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DOS ÁCIDOS ANACÁRDICOS E DOS CARDÓIS

Ácido anacárdico (ácido 2-hidroxi-6-pentadecilbenzóico - 8'Z, 11'Z, 14'Z-trieno) apresentou excelente desempenho, em ensaios, na supressão da produção do ânion superóxido e na inibição da enzima xantina oxidase. Em nosso organismo, espécies reativas do metabolismo do oxigênio [peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroxila (OH^\cdot), hidroperoxila (HO_2^\cdot) e superóxido (O_2^\cdot)], são produzidos na redução do oxigênio molecular a água, na mitocôndria das células ou em situações não-fisiológicas, como a exposição da célula a agentes xenobióticos que causam a redução incompleta do oxigênio molecular.¹⁴

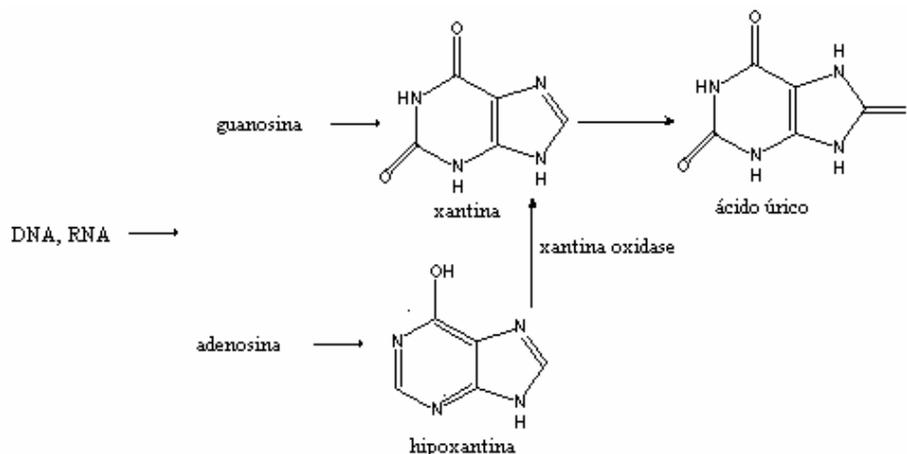
Devido às características estruturais do ácido anacárdico e seu potencial antioxidante, os pesquisadores avaliam a viabilidade de incorporá-lo à membrana

¹³ a) Gill, M. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, 301; Sontag, B.; Dasenbrock, J.; Arnold, N.; Steglich, W. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1051–1055; b) Kobayashi, S.; Hidaka, S.; Kawamura, Y.; Ozaki, M.; Hayase, Y. *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 323; c) Kobayash, S.; Nakai, H.; Ikenishi, Y.; Sun, W.-Y.; Ozaki, M.; Hayase, Y.; Takeda, R. *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 328; d) Ino, A.; Hasegawa, Y.; Murabayashi, A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3509; e) Erikson, K. L.; Beutler, J. A.; Cardellina, J. H., II; Boyd, M. R. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8188.

¹⁴ (Ross D, Moldeus P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In Vigo-Pelfrey C (ed): *Membrane lipid oxidation*. 1th ed. Boca Raton, CRC Press, **1991**;151.

celular, assim como a vitamina E, reforçando a barreira contra as espécies reativas do metabolismo do oxigênio, diminuindo a incidência daquelas espécies no meio intracelular.

A atividade inibidora do ácido anacárdico frente à xantina oxidase, uma enzima presente em altas concentrações na mucosa intestinal e no fígado, e em menores concentrações em outros tecidos, poderá motivar pesquisas em torno de sua utilização como possível agente terapêutico no tratamento de disfunções fisiológicas relacionadas ao excesso de ácido úrico no organismo. No metabolismo das purinas, esta enzima é responsável pela conversão de xantina e hipoxantina em ácido úrico (Esquema 1), o qual é posteriormente convertido em uratos, que apresentam grande solubilidade em água.¹⁵



Esquema 1. Esquema parcial do metabolismo das purinas e o papel da enzima xantina oxidase. Reproduzido e modificado de www.acsmedchem.org/module/NSAID19.GIF. Acesso em 09/09/07

Ácido anacárdico também demonstra atividade antibactericida quando utilizado em conjunto com o antibiótico **meticilin**, para o combate de *Staphylococcus aureus* resistentes àquele antibiótico (MRSA). *Staphylococcus aureus* compreendem um grupo de microrganismos Gram-positivos presentes na cavidade nasal de pessoas

¹⁵ CHEN, X.B., GOMES, M.J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p.; b) Harrison, R. (). "Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now?". *Free Radical Biology & Medicine* **2002**, 33, 774 c) Hille R. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2006**, 10, 1905.

normais e também de animais. Quando se ingere alimento contaminado com enterotoxinas termoresistentes produzidas por aquelas bactérias, a uma concentração de 1µg/g de alimento consumido, desenvolve-se um quadro de intoxicação estafilocócica. Além disto, estes microrganismos são endêmicos em hospitais.¹⁶

Na busca por compostos com atividade anti-MRSA, Muroi e colaboradores avaliaram o perfil do ácido anacárdico e reportaram que este composto era um excelente agente anti-MRSA.^{17a} Em trabalho mais recente, os autores reportaram que misturando 3,13 mg/mL do ácido anacárdico (8'Z, 11'Z, 14'Z-trieno) ao antibiótico **meticilin** reduziu de 800 mg/mL para 1,56 mg/mL a dose de methicilin para o microrganismo ATCC 33591 MRSA.^{17b} Os autores concluíram ainda que quanto maior o grau de insaturação nos ácidos anacárdicos, maior a atividade da mistura contra MRSA. Isto, embora não muito claro, poderia ser resultado da solubilidade crescente em função do número de insaturações na molécula do ácido anacárdico testado, o que aumentaria sua atividade.

Outro interessante exemplo de inibição enzimática vem de Há e Kubo, os quais reportaram atividade inibidora dos ácidos anacárdicos frente a enzimas lipoxigenases (EC 1. 13. 11. 12). Estas enzimas, presentes em organismos do reino animal e vegetal, estão envolvidas na hidroxilação régio- e estereoespecífica de ácidos graxos poliinsaturados, contendo o sistema (Z,Z)-1,4-dieno, a exemplo do ácido linoléico (Figura 4), resultando na formação hidroperóxidos de ácidos graxos.¹⁸

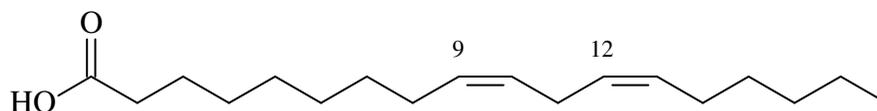


Figura 4. Representação do ácido linoléico evidenciando o sistema (Z,Z)-1,4-dieno.

¹⁶ Johnson AP, Aucken HM, Cavendish S, Ganner M, Wale MC, Warner M, Livermore DM, Cookson BD *J Antimicrob Chemother* **2001**, *48*, 143.

¹⁷ a) Muroi, H.; Kubo, I. *J. Appl. Bacteriol* **1996**, *80*, 387; b) Muroi, H.; Nihei, K.; Tsujimoto, K.; Kubo, I. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2004**, *12*, 583.

¹⁸ Hildebrand, D. F.; Hamiltom-Kemp, T. R.; Legg, C. S.; Bookjans, G. *Curr. Top. Plants Biochem. Physiol.*, **1988**, *7*, 201, e Mack, A. J.; Peterman, T. K.; Siedow, J. N. *Current Topics in Biological and Medical Research*, **1987**, *13*, 127.

Uma vez que a ligação oxigênio-oxigênio nos hidroperóxidos de ácidos graxos rompe-se facilmente gerando radicais livres, estas espécies químicas são necessárias para vários processos bioquímicos vitais para os organismos. Entretanto, quando formados em quantidades suficientes para vencerem os sistemas de proteção, podem gerar diversas disfunções metabólicas. Por exemplo, a ação das lipoxigenases na membrana da célula pode promover a morte celular¹⁹ e desencadear conseqüências biológicas como arteriosclerose²⁰. A ação das lipoxigenases também é responsável, em grande parte, pela deterioração de alimentos durante seu processamento e estocagem²¹.

Os autores inicialmente concentraram a atenção no ácido 2-hidroxi-6[8'(Z)pentadecil]benzóico, isto é, o ácido anacárdico contendo apenas uma insaturação. Verificaram que com o aumento da concentração de ácido anacárdico a atividade enzimática reduziu rapidamente e, determinaram então que a concentração daquele ácido, necessária para reduzir a atividade enzimática da lipoxigenase em estudo em 50%, era de 6.8 µM. O estudo então foi estendido aos demais ácidos anacárdicos e, por estes compostos apresentarem apenas uma cadeia lateral que os torne diferentes do ácido salicílico, a atividade inibidora deste último frente a mesma enzima foi avaliada, para efeito de comparação.

O ácido salicílico não se mostrou significativamente efetivo na inibição enzimática, o que levou os autores do trabalho a concluir que a cadeia lateral dos ácidos anacárdicos desempenha um papel fundamental na atividade inibitória destes compostos frente à lipoxigenase em estudo. Por outro lado, não houve uma relação significativa entre o grau de insaturação e a inibição enzimática, como já havia sido reportado na literatura²². Desta forma, a capacidade de inibição de ácidos

¹⁹ Gardner, H. W. Recent investigations into the lipoxigenase pathway of plants. *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, 1084, 221.

²⁰ Cornicelli, J. A.; Trivedi, B. K. 15-Lipoxygenase and its inhibition: a novel therapeutic target for vascular disease. *Curr. Pharm. Des.* **1999**, 5, 11.

²¹ Grechkin, A. Recent developments in biochemistry of the plant lipoxigenase pathway. *Prog. Lipid Res.* **1998**, 37, 317.

²² (Shobha, S. V.; Ramadoss, C. S.; Ravindranath, B. Inhibition of soybean lipoxigenase-1 by anacardic acids, cardols, and cardanols. *J. Nat. Prod.* **1994**, 57, 1755 e Kubo, I.; Kinst-Hori, I.; Yokokawa, Y. *J. Nat. Prod.* **1994**, 57, 545.

anacárdicos frente à lipoxigenases (EC 1. 13. 11. 12), abre mais uma porta para interessantes pesquisas sobre atividades biológicas destes compostos.

Muitas outras aplicações biológicas dos ácidos anacárdicos estão mencionadas na literatura, como atividade anti-tumoral²³, anti-microbial²⁴, regulação da expressão gênica²⁵, inseticida²⁶, atividade contra fungos²⁷ e moluscos²⁸, atividades que, em conjunto motivam a nossa pesquisa no desenvolvimento de fármacos a partir do ácido anacárdico.

Os cardóis também foram amplamente explorados no tocante às suas atividades biológicas. O componente 5-[8(Z),11(Z), 14-pentadecatrienil] resorcinol apresentou uma atividade frente à bactérias Gram-positivas muito maior que o resorcinol.²⁹ Neste trabalho, os autores verificaram que o mesmo era 4096 vezes mais ativo contra *Streptococcus mutans* e 1024 vezes mais ativo contra *Staphylococcus aureus* que o resorcinol, no qual a cadeia lateral alquila não se faz presente, e concluem que o cardol estudado pode ser utilizado no controle de problemas dentários e de pele causados por aquelas bactérias Gram-positivas.

Em outro trabalho, Kubo *et al* comprovaram a maior atividade dos cardóis, em comparação com resorcinol, frente à células de câncer de mama.³⁰

Os cardóis apresentam atividade contra *Biomphalaria glabratus* uma espécie de caramujo vetor da parasitose esquistossomose, uma doença bastante comum em países tropicais, com ampla incidência em famílias de baixa renda. Neste trabalho ficou evidente que a atividade biológica dos cardóis diminuía com o

²³ Kubo, I.; Ochi, M.; Vieira, P. C.; Komatsu, S. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 553.

²⁴ Kasemura, K.; Nomura, M.; Tada, T.; Fujihara, Y.; Shimomura, K. *J. Oleo Sci.* **2002**, *51*, 637; Kubo, I.; Muroi, H.; Himejima, M.; Yamgiwa, Y.; Mera, H.; Tokuxhima, K.; Ohta, S.; Kamikawa, T. *J. Agric. Food Chem* **1993**, *41*, 1012.

²⁵ Balasubramanyam, K.; Swaminathan, V.; Ranganathan, A.; Kundu, T. K. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 19134.

²⁶ Mwalongo, G. C. J.; Mkayula, L. L.; Dawson-Andoh, B.; Mubofu, E. B.; Shields, J.; Mwingira, B. A. *Green Chem.* **1999**, *13*.

²⁷ Prithiviraj, B.; Manickam, M.; Singh, U. P.; Ray, A. B. *Can. J. Bot.* **1997**, *75*, 207.

²⁸ Sullivan, J. T.; Richards, C. S.; Lloyd, H. A.; Krishna, G. *Planta Med.* **1982**, *44*, 175.

²⁹ Himejima, M.; Kubo, I. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 418.

³⁰ Kubo, I.; Ochi, M.; Vieira, P. C.; Komatsu, S. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 1012.

aumento do grau de insaturação da cadeia lateral, sendo este padrão inverso ao apresentado pelos ácidos anacárdicos.³¹

Com base nos dados acima elencados podemos inferir que, assim como ácidos anacárdicos, os cardóis manifestam diversas atividades biológicas, porém muito pouco se encontra registrado na literatura no tocante a modificações químicas nas estruturas destes compostos. Fato que nos motiva a execução do projeto em questão.

2.2. BIOSÍNTESES DO ÁCIDO ANACÁRDICO E DO CARDOL

Devido às aplicações biológicas citadas acima e outras aplicações industriais, a biossíntese do ácido anacárdico vem sendo investigada. Arthur Birch foi o primeiro a propor que a biossíntese do ácido 6-metilsalicílico tinha sua origem na via do acetato. Utilizando o microrganismo *Penicillium griseofulvum*, verificou-se a incorporação de [¹⁴C-¹⁸O]-ácido acético no ácido orselínico (ácido 6-metilsalicílico).³²

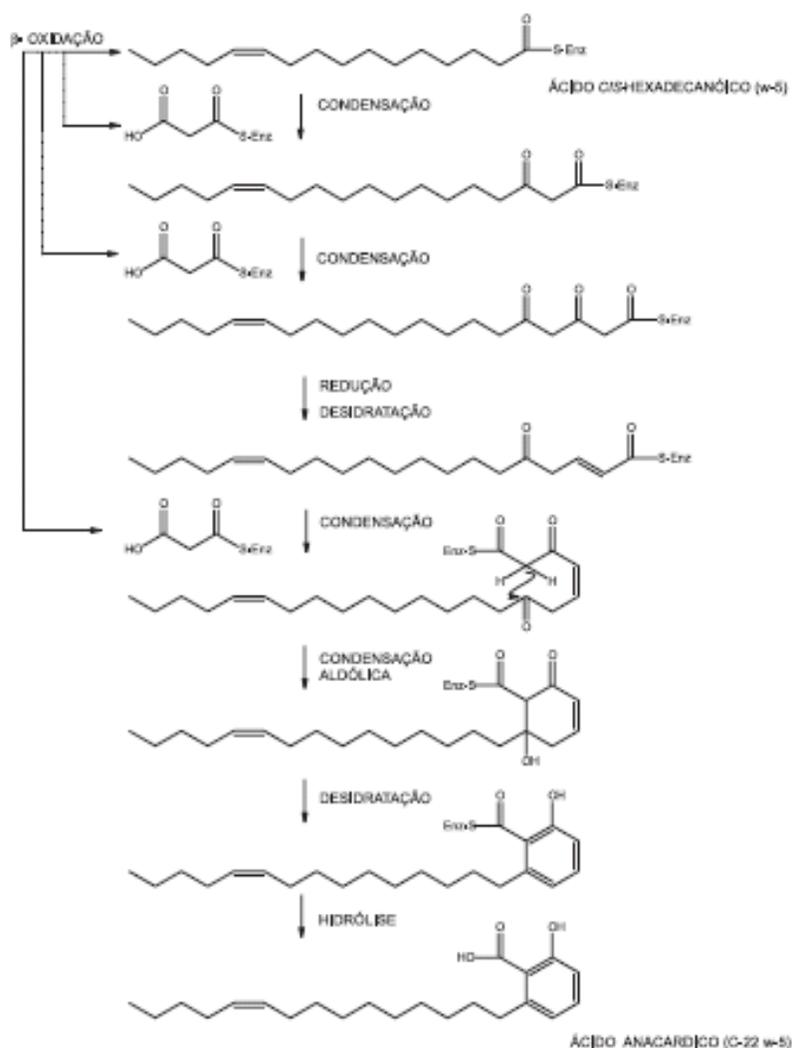
A utilização de precursores marcados também revelou que as cadeias alquílicas poderiam ser incorporadas a partir do complexo enzimático ácido 6-metilsalicílico sintase. Em um experimento *in vitro*, a substituição de acetil-CoA por propionil-CoA levou à formação do ácido 6-etilsalicílico. Assim a utilização de precursores de cadeia mais longa leva à formação de ácidos anacárdicos pela mesma rota biossintética.³³ Administrando [14C]-palmitato de metila, os autores do trabalho verificaram a formação de ácido anacárdico saturado com 22 carbonos. Quando foi administrado [14C]-estearato de metila, houve a formação de ácidos anacárdicos saturados com 22 e 24 carbonos e ácidos anacárdicos ω -5 insaturados. Estes resultados demonstram que i) o precursor marcado [14C]-palmitato de metila foi incorporado sem transformações prévias, enquanto que ii) a formação de ácidos anacárdicos a partir do [14C]-estearato de metila indica que parte deste precursor foi

³¹ Kubo, I.; Komatsu, S.; Ochi, M. *J. Agric. Food Chem.* **1986**, *34*, 970.

³² Birch, A. J.; *Science* **1967**, *156*, 202; Staunton, J.; Weissman, K. J.; *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 380.

³³ Walters, D. S.; Craig, R.; Mumma, R. O.; *Phytochemistry* **1990**, *29*, 1815.

incorporado à rota direta de biossíntese de lipídios fenólicos, e outra parte, a que resultou na formação de ácidos anacárdicos insaturados, sofre β -oxidação originando acetio-CoA, que é então utilizada em outras rotas biossintéticas. Dentre estas estaria a formação de ácidos graxos, que então originariam os ácidos anacárdicos. O Esquema 2 resume a proposta de origem biossintética dos ácidos anacárdicos a partir de ácidos graxos.

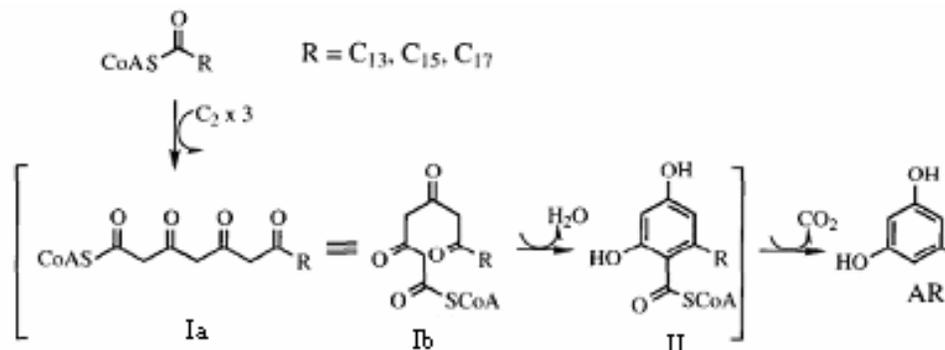


Esquema 2. Origem biossintética dos ácidos anacárdicos *via* ácidos graxos. Adaptado de Walters e colaboradores.³⁴

Suzuki e colaboradores reportaram a possível origem biossintética dos cardóis (Esquema 3), a qual é atribuída inicialmente à formação de uma tricetona seguida

³⁴ Walters, D. S.; Craig, R.; Mumma, R. O.; *Phytochemistry* **1990**, *29*, 1815.

por uma ciclização intramolecular, através de uma reação aldólica, levando a um derivado ácido, que por descarboxilação, levaria aos diversos cardóis.



Esquema 3. Origem biossintética dos cardóis. Adaptado de Suzuki e colaboradores³⁵

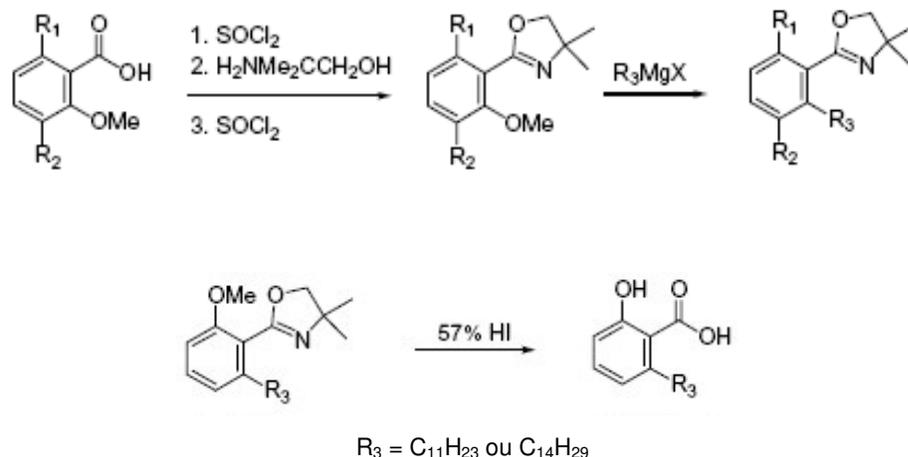
2.3 SÍNTESES DO ÁCIDO ANACÁRDICO E DO CARDOL

A síntese de ácidos anacárdicos em laboratório também vem sendo pesquisada e motivada pelas amplas aplicações destes compostos, não só com no campo biológico, mas também industrial. Uma variedade de substratos tem sido utilizada para início da rota sintética destes compostos. As estratégias sintéticas utilizam substratos com o esqueleto benzênico em sua estrutura ou empregam reações de ciclização. A seguir exploraremos alguns interessantes trabalhos que abordam estas estratégias sintéticas.

Como exemplo inicial, os ácidos anacárdicos foram sintetizados a partir de substituição nucleofílica em 2-aryl-oxazolininas reportado por Seijas e colaboradores (2004).³⁶ Os autores obtiveram as oxazolininas a partir de precursores benzênicos e, em seguida, adicionaram as longas cadeias carbônicas através da reação de Grignard. Na seqüência, os produtos de condensação foram tratados com solução de HI 57%, onde ocorreu o rompimento do anel oxazolina e desproteção da hidroxila fenólica para obtenção dos ácidos anacárdicos (Esquema 4).

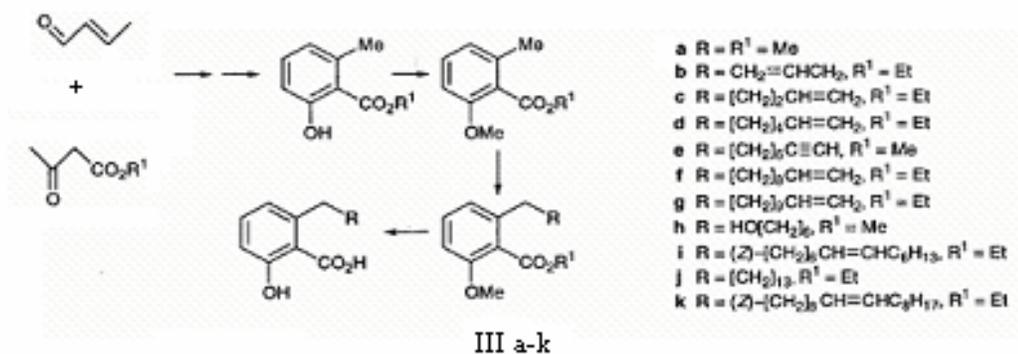
³⁵ Suzuki, Y., Kurano, M., Esumi, Y., Yamaguchi, Y., Dói, Y. *Bioorg. Chem.* **2003**, *31*, 437.

³⁶ Seijas, A. J.; Vázquez-Tato, P.M.; Martínez, M. M.; Santiso, V. *Tet. Lett.* **2004**, *45*, 1937.



Esquema 4. Obtenção de ácidos anacárdicos via oxazolininas – Adaptado de *Tetrahedron Letters* **2004**, *45*, 1937³⁵

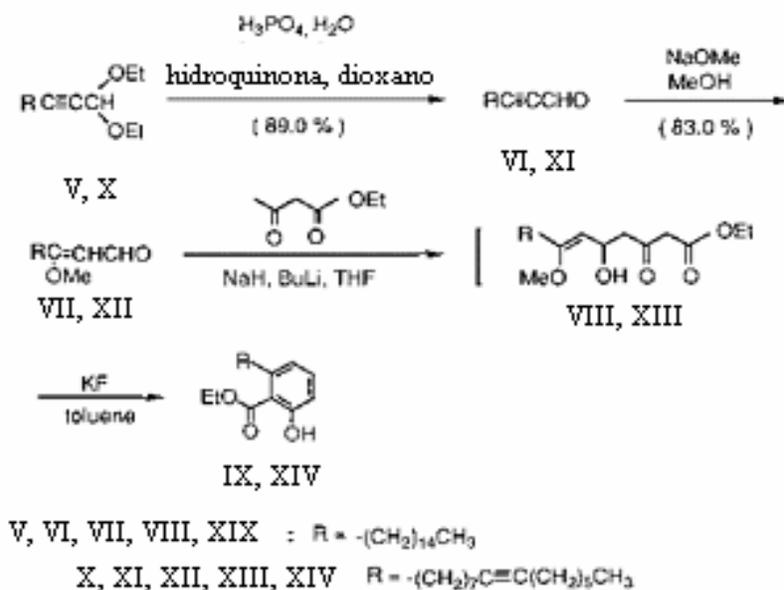
Uma síntese interessante partindo de reagentes que não possuem núcleo benzênico em sua estrutura foi reportada por Tyman e colaboradores (1997).³⁷ Este autores argumentam que os processos de separação dos ácidos anacárdicos contendo diferentes grau de insaturação têm se mostrado bastante trabalhosos e que, desta forma, a síntese dos ácidos anacárdicos e de seus análogos mostrou-se muito útil para estudos referentes a estrutura e reatividade destes compostos. Ácidos anacárdicos e compostos semelhantes foram obtidos tendo como base reações de adição de Michael (Esquema 5), fornecendo produtos com bons rendimentos.



Esquema 5. Obtenção de ácidos anacárdicos e compostos semelhantes com base nas reações de adição de Michael - Adaptado de *J. Chem. Research (S)*, **1997**, 14³⁸

³⁷ Tyman J. H. P.; Visani, N. *J. Chem. Res.(S)*, **1997**, 14

Satoh e colaboradores (1999) sintetizaram o ácido anacárdico, em bons rendimentos, também partindo de um composto acíclico (um aldeído α,β -insaturado e o acetoacetato) e utilizando reações clássicas.^{39, 40}



Esquema 6. Obtenção de ácidos ésteres que após hidrólise fornecem ácido anacárdico e compostos similares – Adaptado de *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47, 1115³⁵

Do ponto de vista sintético pouco se encontra sobre a síntese dos cardóis. Utilizando um reagente organometálico à base de lítio, Kozubec e Tyman sintetizaram 5-nonadecilbenzeno-1,3-diol⁴¹ a partir de um benzaldeído. Fürstner e Seidel⁴² reportaram um síntese bastante eficiente para cardóis saturados e insaturados, 5-pentadecil-resorcinol e 5-[8 (Z)-pentadecamonoil] resorcinol, respectivamente, utilizando compostos de boro (Esquema 7 e Esquema 8).

³⁹ Satoh, M.; Takeuchi, N.; Fujita, T.; Yamazaki, K.; Nishimura, T.; Tobinaga, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47, 1115

⁴¹Kozubec, A., Tyman, J. H. P. *Chem. Phys. Lipids* **1995**, 78, 29

⁴²Fürstner, A. e Seidel, G. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 2332.

II - JUSTIFICATIVA

Em face da alta demanda por agentes terapêuticos ao tratamento da doença de Alzheimer, a utilização de fontes de matérias-primas abundantes e economicamente viáveis possibilitará o pronto provimento às demandas da população e, em adição, contribuirá para o desenvolvimento do país com diminuição de custos associados à distribuição de medicamentos importados.

III – OBJETIVO GERAL

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o emprego dos lipídeos fenólicos não isoprenóides do cajueiro (*Anacardium occidentale*), como matéria-prima na preparação de compostos com maior valor agregado, no presente estudo visamos à utilização dos ácidos anacárdicos e dos cardóis, na obtenção racional de novos agentes terapêuticos inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChEI), candidatos úteis ao tratamento da doença de Alzheimer.

IV – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Nesta perspectiva, os seguintes objetivos são almejados:

- Exploração do potencial dos constituintes do LCC na produção de compostos com maior valor agregado;
- Aplicação de metodologias sintéticas clássicas e modernas nas transformações químicas visando a síntese de candidatos a inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChEI), planejados a partir dos lipídeos fenólicos de *Anacardium*;
- Desenvolvimento de novas metodologias sintéticas para as transformações almejadas e
- Caracterização espectroscópica dos intermediários e dos produtos finais.

V - METODOLOGIA

Os compostos-alvo foram planejados a partir dos lipídeos fenólicos do LCC, de forma a gerar dois novos padrões moleculares pertencentes a essa classe terapêutica.

O padrão molecular 1 (PM1) compreende a hibridação molecular entre a subunidade farmacofórica secundária (**a**) do inibidor donepezil ($IC_{50} = 8,0$ nM; AChE/BuChE = 360) e a subunidade farmacofórica primária (**b**) do dímero da tacrina ($IC_{50} = 0,40-0,66$ nM; AChE/BuChE = 980-520) incluindo o grupo espaçador (Figura 7).

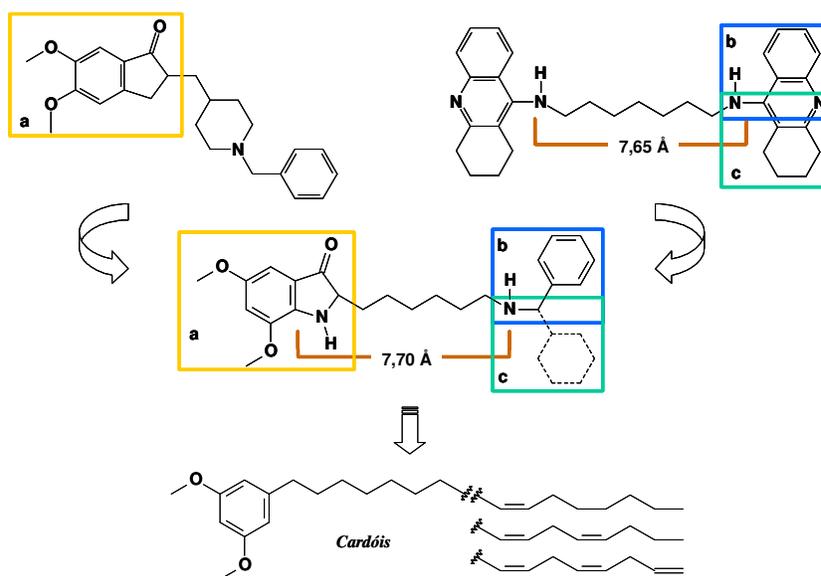
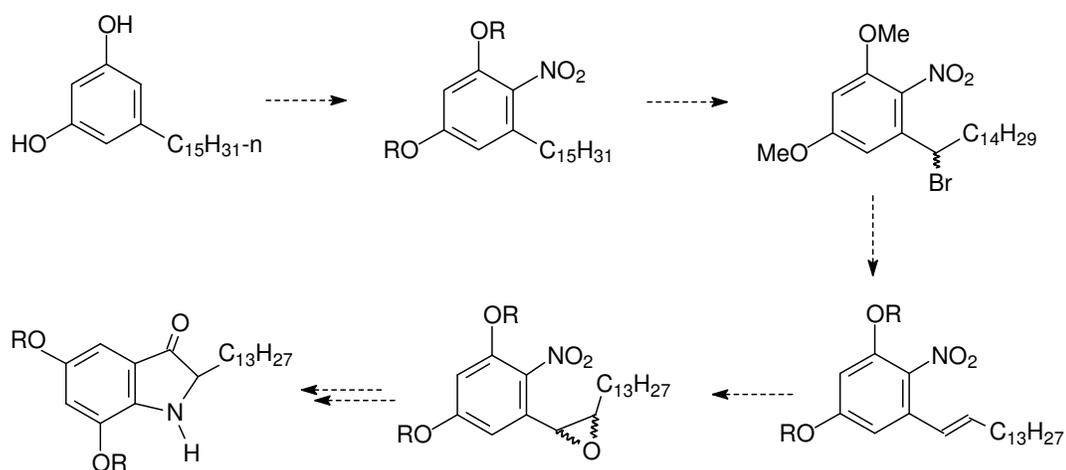


Figura 5. Planejamento estrutural de novos candidatos a AChEI do tipo PM1.

O planejamento sintético convergente para o PM1 compreende, inicialmente, a exploração de procedimentos sintéticos clássicos e.g. reações de substituição eletrofílica aromática (nitração), proteção das hidroxilas fenólicas e ozonólise e funcionalização da cadeia lateral da mistura de cardóis. A utilização de reações de bromação benzílica, seguida de eliminação e epoxidação da olefina correspondente conduzirá a intermediários-chave da proposta. Finalmente, explorando reações de

reduções e oxidações seletivas chegar-se-á nos novos candidatos a AChEI do tipo PM1 (Esquema 9).



Esquema 9. Metodologia sintética esquemática para variantes com PM1.

O padrão molecular 2 (PM2) foi planejado como uma variante simplificada do PM1 e utiliza o ácido anacárdico, principal componente do LCC *in natura*, como matéria-prima (Figura 8).

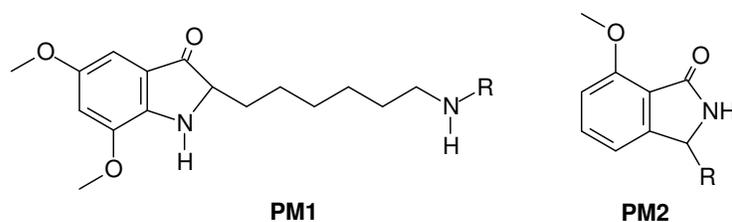
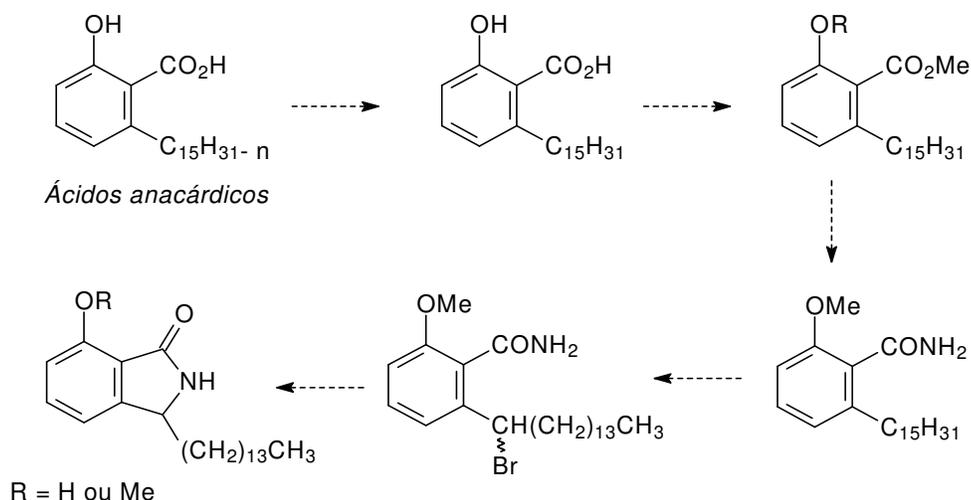


Figura 6. Compostos-alvo e variantes derivadas do ácido anacárdico (PM2).

O planejamento sintético para o PM2 compreende reações clássicas e.g. hidrogenação, introdução de grupos protetores, amidação, bromação benzílica e substituição nucleofílica intramolecular (Esquema 10).



Esquema 10. Metodologia sintética esquemática para variantes com PM2.

Os compostos com PM1 e PM2 serão submetidos a estudos sistemáticos de relação estrutura-atividade, objetivando a determinação dos grupos funcionais relevantes ao reconhecimento molecular e, finalmente, a identificação de farmacofóros indispensáveis à atividade farmacológica e/ou que intensifiquem os efeitos anticolinesterásicos, minimizando os possíveis efeitos indesejáveis.

Além da execução experimental das etapas sintéticas planejadas, estão sendo realizados estudos computacionais, em colaboração com outros grupos de pesquisa, visando obter parâmetros físico-químicos iniciais das drogas utilizadas no tratamento da DA, com o intuito de determinar fatores que nos auxiliem no delineamento de novos candidatos a fármacos inibidores de acetilcolinesterase e validar o nosso “design” molecular.

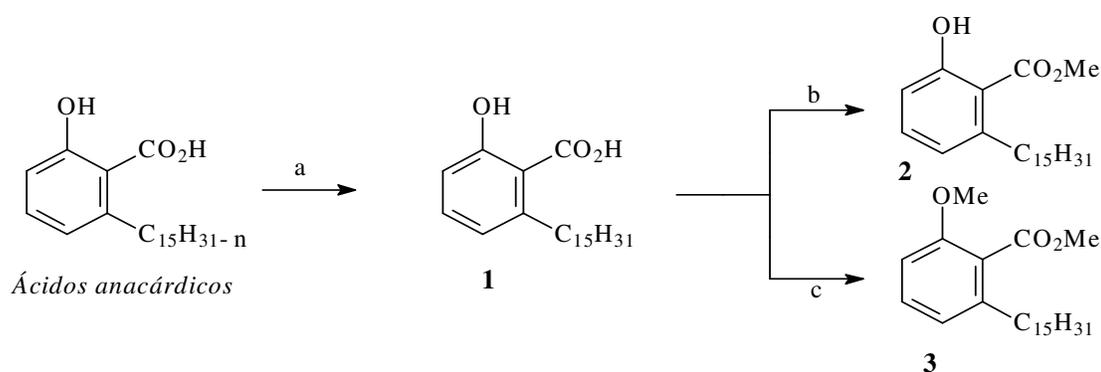
Em 2005 potentes inibidores da enzima acetilcolinesterase foram sintetizados utilizando esta metodologia de hibridação molecular⁴³. Neste trabalho Camps e colaboradores sintetizaram várias moléculas heterodímereas pela hibridação entre duas moléculas ativas: tacrina e huprina.

⁴³ Camps, P., Formosa, X., Torrero, D. M., Petriguet, J. Badia, A., Clos, M. V. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1701

VI. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, optamos pela preparação das variantes com PM2, derivadas do ácido anacárdico (2-hidróxi-6-pentacilbenzóico), componente majoritário do LCC *in natura*. A seqüência metodológica se inicia com a hidrogenação catalítica da mistura de ácidos anacárdicos insaturados, procedimento já bem definido no nosso laboratório⁴⁴.

Com o ácido 2-hidroxi-6-pentacilbenzóico (**1**) em mãos, planejamos dois caminhos sintéticos diferentes. Na primeira rota foi feita a esterificação do ácido saturado, deixando a hidroxila fenólica livre. Na segunda, optamos pela proteção da hidroxila fenólica do derivado esterificado (Esquema 11).



Esquema 11. Reagentes e condições: a) H₂, Pd/C, EtOH, 60 psi; b) MeOH, H₂SO₄ (cat); c) Me₂SO₄, NaOH 3M, CH₂Cl₂, Aliquat®.

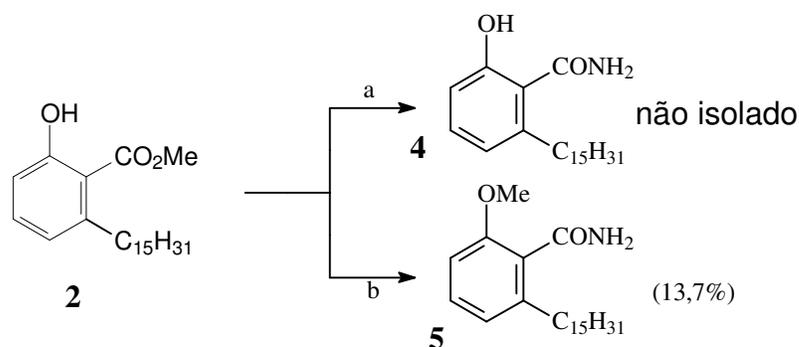
Com o intuito de definir as condições experimentais da reação de amidação, previamente obtivemos a 2-hidróxibenzamida do ácido salicílico com 96% de rendimento, utilizando um procedimento clássico em duas etapas⁴⁵: esterificação do grupo éster com metanol em presença de ácido sulfúrico e, na seqüência,

⁴⁴ Logrado, L. P. L.; Utilização de matérias-primas abundantes no país na preparação de compostos de interesse biológico. Síntese e avaliação farmacológica de novas lactonas de 5 e 12 membros planejadas a partir dos lipídeos fenólicos não-isoprenóides de *Anacardium occidentale*. **2004**. Tese de Mestrado. Instituto de Química, Universidade de Brasília, 2004.

⁴⁵ Mark W.; Sherry A. D.; *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 4401

tratamento do composto resultante com amônia concentrada (50°C e agitação por dois dias) resultando na obtenção da salicilamida.

Entretanto, esta metodologia mostrou-se ineficiente quando aplicada ao ácido anacárdico, dando rendimentos inferiores a 15%. Em uma primeira tentativa, o derivado esterificado **2** foi tratado com amônia concentrada e aquecido a 50°C, em presença de metanol, por vários dias na tentativa de obtenção da anacardamida **4**. Porém, o produto obtido foi caracterizado como o metiléter da anacardamida **5** com um rendimento muito baixo de 13,7% (Esquema 12). Na região do IV de **4** observamos a presença do estiramento C=O em 1657 cm⁻¹. No espectro de RMN ¹H verificamos um deslocamento para 2,95 ppm dos picos correspondentes aos hidrogênios benzílicos em comparação com o espectro de **2**, o que é compatível com a formação da amida. Um pico intenso próximo a 4,00 ppm, característico de hidrogênio do grupo metoxila, bem como o surgimento de um pico em 46,0 ppm no espectro de RMN ¹³C deram suporte para que pudéssemos inferir que houve a metilação da hidroxila fenólica.



Esquema 12. Reagentes e condições: MeOH, NH₄OH 25 %, 50°C (vários dias).

Os motivos pelos quais os resultados dessa reação com ácido salicílico e com o ácido anacárdico foram tão discrepantes ainda não foram investigados, mas algumas especulações podem ser feitas. Como em reações de adição nucleofílica à acila é formado um intermediário tetraédrico, é possível que as diversas conformações que a longa cadeia alquílica existente no ácido anacárdico pudesse assumir no meio reacional ofereça impedimento estéreo suficiente para interferir no

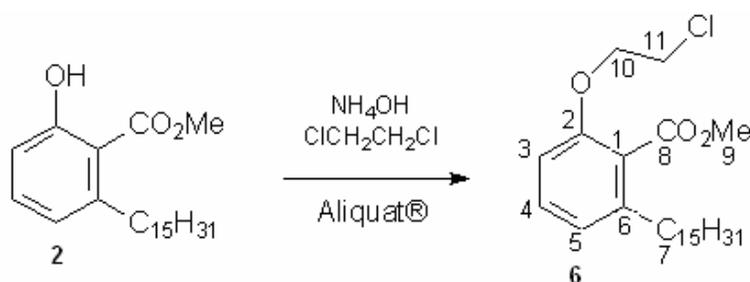
ataque nucleofílico ou haja influência do efeito doador de densidade eletrônica daquela cadeia lateral interferindo nas cargas em formação durante o surgimento do estado de transição. Adicionalmente, é possível que a metilação da hidroxila fenólica esteja ocorrendo anteriormente ao ataque nucleofílico à acila. Isto acontecendo poderia resultar numa diminuição da reatividade de nosso substrato pela impossibilidade da formação de ligação de H, que aumentaria a nucleofilicidade do material de partida. Caso ocorresse, uma dessas hipóteses ou a combinação destes possíveis fatores, o equilíbrio seria deslocado em direção ao material de partida, resultando em um baixo rendimento.

Embora o rendimento tenha sido baixo, este resultado nos abriu a possibilidade de estudos futuros investigando a substituição de diversos grupos (p. e. metil, etil, propil, isopropil, butil e *terc*-butil, dentre outros) no C-6 do ácido salicílico (com a hidroxila fenólica livre e protegida), combinando ou não com outros grupos retiradores de densidade eletrônica substituídos em diferentes posições no anel benzênico, e suas influências no rendimento em reações como estas, algo inédito na literatura até o momento.

Infelizmente, após exaustivas tentativas, não conseguimos reproduzir a obtenção da anacardamida **5** por esta metodologia. Com o intuito de evitar a metilação da hidroxila fenólica, realizamos então a reação do derivado esterificado **2** e solução de hidróxido de amônio concentrada (36%) em solvente polar (acetonitrila) e apolar (dioxano), que não possibilitassem a proteção do grupo fenólico. Porém, após vários dias acompanhando estas reações por placa de sílica, verificamos que nenhuma delas forneceu o produto esperado, mas sim a matéria-prima sem modificações.

Tendo em vista, que por este procedimento os reagentes encontram-se em fases diferentes (orgânica-aquosa), tentamos associar as condições clássicas de amidação com a técnica de catálise por transferência de fase visando a obtenção de **4**. Desta forma, **2** foi tratado com uma solução de hidróxido de amônio concentrada em presença de catalisador com transferência de fase (Aliquat®), usando dicloroetano como solvente. A mistura reacional permaneceu sob agitação e sem aquecimento por várias horas. O controle cromatográfico indicou a formação lenta de

um produto menos polar (maior fator de retenção), porém, ainda havia bastante material de partida. Então o sistema foi submetido ao aquecimento brando, no intuito de que a reação se processasse mais rapidamente. Após completar 24h, não foi observado aumento na mancha (*CCD*) referente ao produto esperado, quando optamos então por elaborar a mistura reacional. Ao analisarmos os espectros de RMN ^1H e ^{13}C do produto isolado, concluímos que o solvente havia reagido com a hidroxila fenólica desprotegida (Esquema 13) levando ao composto **6**. O espectro de RMN ^1H (pág. 68) revelou a existência de dois novos picos em 4,22 ppm e 3,76 ppm (pág. 68) atribuídos aos hidrogênios do grupo cloroetil, enquanto que a análise do espectro de RMN ^{13}C também revelou o surgimento de dois novos picos: 68,8 ppm e 41,5 ppm (pág. 69), referentes aos carbonos 10 e 11 respectivamente, novamente associados com aquele fragmento.

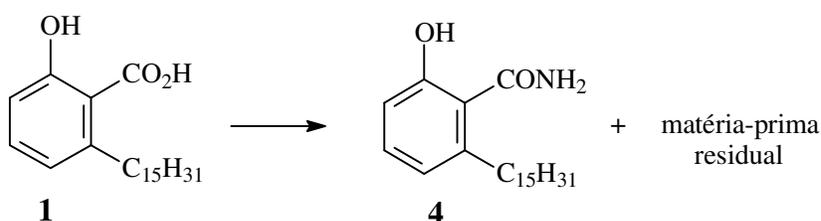


Esquema 13. Reagentes e condições: NH_4OH , $\text{CICH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, Aliquat[®].

A substituição do solvente por diclorometano não resultou na obtenção do produto desejado, mas novamente na recuperação da matéria-prima. Possivelmente nenhum produto de amidação foi formado pelos mesmos motivos elencados anteriormente.

Na busca de um procedimento alternativo que efetivamente resultasse no produto desejado **4**, tentamos sua obtenção através da prévia formação do cloreto de ácido, seguida de tratamento com amônia gasosa (Esquema 14). Por essa metodologia, **1** foi submetido a reação com PCl_3 , em clorobenzeno seco, sob vigorosa agitação e refluxo por três horas. A mistura reacional foi resfriada em banho de gelo e a esta foi borbulhada amônia de um cilindro de gás. A reação foi muito violenta, devido ao excesso de PCl_3 no meio reacional. Houve um brusco

aquecimento e solidificação da mistura reacional. Ao sistema foi permitido atingir a temperatura ambiente e então submetido a aquecimento brando (70° C) onde permaneceu por três horas nestas condições. Após elaboração usual, verificamos que ainda havia matéria-prima residual, porém detectamos o aparecimento de um produto com fator de retenção (CCD) muito próximo da matéria-prima, embora com uma significativa mudança na coloração das manchas cromatográficas, de vermelho (material de partida) para amarelo (produto obtido), usando como revelador a solução de vanilina. A pequena diferença nos fatores de retenção entre reagente residual e produto formado dificultou a separação por meios convencionais (coluna cromatográfica). Optamos então por realizar tratamento químico da mistura reacional com hidróxido de chumbo II que, de forma eficiente, nos forneceu isoladamente a matéria-prima e o produto com 34,8% de rendimento.



Esquema 14. Reagentes e condições: PCl_3 , PhCl , refluxo; NH_3 gasosa; (rend. 34,8%)

A análise dos espectros desta tentativa de amidação evidenciou uma ligeira modificação na posição do sinal referente aos hidrogênios ligados ao carbono 7, quando comparados o espectro de RMN ^1H da matéria-prima e do produto obtido. Observamos uma modificação no deslocamento químico destes de 3,00 ppm (pág. 60) para 2,80 ppm (pág. 66) no produto obtido, que é compatível com a menor eletronegatividade do N em comparação com oxigênio, o qual foi substituído, ocasionando por conseqüência uma maior densidade eletrônica naqueles hidrogênios (maior efeito de blindagem), o que resulta em um menor deslocamento químico. Além disto, quando comparados os espectro de ^{13}C de **1** e de **4**, verifica-se uma significativa redução no deslocamento químico dos carbonos 2, 3, 4, 5, 6 e 7 deste último, enquanto que o carbono 1 foi desblindado. O infravermelho evidenciou

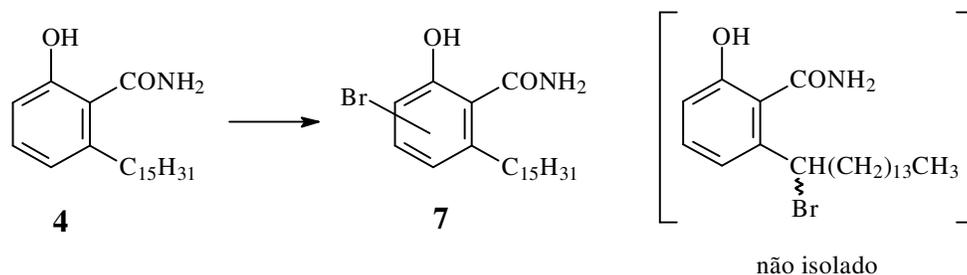
uma redução no valor da banda referente à ligação C=O para 1657 cm^{-1} (pág. 65), valor compatível com a amida esperada. A análise espectroscópica indicou também que o componente recuperado do tratamento do sal de chumbo era o ácido anacárdico que não reagiu.

Este resultado nos motivou a insistir nesta metodologia para o preparo do produto **4**, embora o rendimento não tenha sido bom. Visando melhorar o rendimento desta reação, PCl_3 e o clorobenzeno foram previamente destilados e usado de imediato. Paralelamente, o conjunto de vidraria foi seco e o material de partida **1** novamente repurificado por recristalização. Apesar desses cuidados, observamos novamente um baixo rendimento para este experimento. As dificuldades enfrentadas quando do borbulhamento de amônia no sistema assim como as inevitáveis perdas de mistura reacional geradas por este processo, contribuíam para os baixos rendimentos em todas as tentativas de obter **4** por esta metodologia, embora a análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C e infravermelho tenham revelado que havíamos obtido o mesmo produto do experimento anterior.

Estes resultados foram, por um lado, bastante animadores, pois conseguimos reproduzir o experimento anterior diversas vezes. Por outro lado, deixou-nos preocupados quanto ao emprego dessa metodologia em uma primeira etapa de uma rota sintética, uma vez que investimos um considerável tempo de nosso projeto tentando otimizar as condições para elevar o rendimento e diminuir perdas durante o curso na execução deste experimento sem êxito.

O composto **4** obtido nas diversas repetições da metodologia acima foi reunido e tratado sob condições de bromação radicalar (NBS, peróxido de benzoíla e refluxo em tetracloreto de carbono) na tentativa de obtenção do brometo benzílico almejado. De posse dos espectros de RMN ^1H (pág. 70), interpretamos que não ocorreu a bromação na posição esperada (Esquema 15), uma vez que o tripleto referente aos hidrogênios ligados ao carbono 7 não sofreu deslocamento químico significativo. Caso houvesse a entrada de bromo naquela posição, o efeito da eletronegatividade deste halogênio desprotegeria o hidrogênio benzílico restante (menor blindagem), o que resultaria em um maior deslocamento químico. Concluímos então que ocorreu a bromação no anel benzênico, pois quando confrontados os espectros de RMN ^1H do

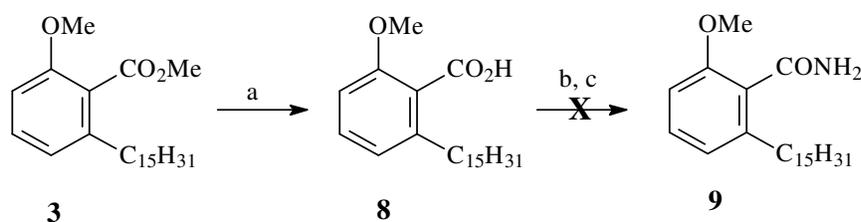
material de partida e do produto obtido, verifica-se uma completa modificação nos picos referentes aos hidrogênios do sistema aromático, apesar da posição do bromo no anel benzênico não ter sido elucidada.



Esquema 15. Reagentes e condições: NBS, (BzO)₂, CCl₄, refluxo.

Uma das possíveis explicações para a bromação no anel é o fato da hidroxila fenólica estar livre. Desta forma, o anel benzênico estaria mais ativado pelo efeito doador de elétrons (por ressonância) daquele grupo funcional, em relação à posição benzílica, favorecendo a bromação no anel.

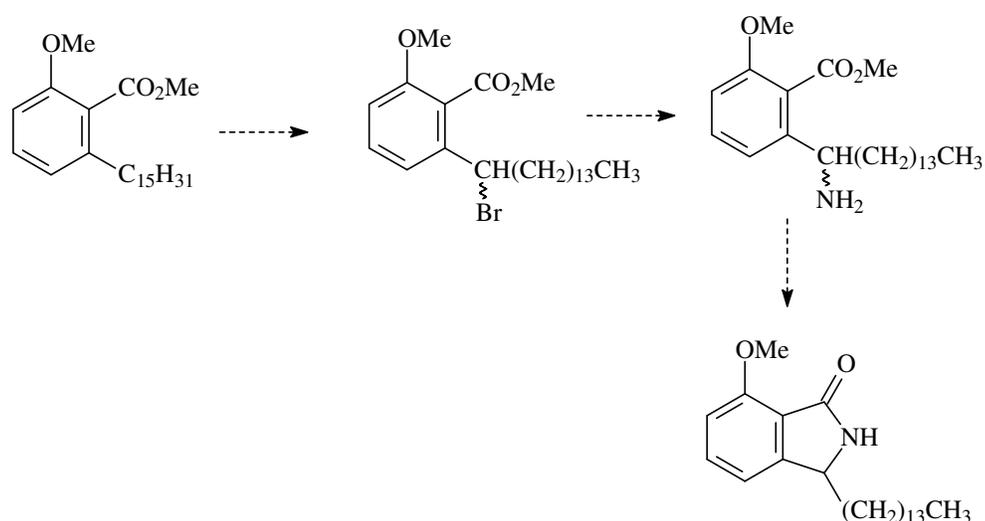
Com o intuito de evitar a bromação no anel benzênico conforme o experimento anterior, decidimos tentar a síntese da amida **9**, com a hidroxila fenólica protegida, à partir do composto dimetilado **3**. Inicialmente, a matéria-prima dimetilada teve o grupo éster hidrolisado em condições básicas para obtenção de **8**. Em seguida, o produto **8** foi submetido às condições de amidação descritas anteriormente (PCl₃, clorobenzeno e NH₃ sob refluxo e agitação por várias horas) não sendo observada a formação da amida **9** (Esquema 16). Este mesmo procedimento foi executado várias vezes redobrando os cuidados na execução dos experimentos, sem sucesso na obtenção do produto desejado.



Esquema 16. Reagentes e condições: a) HOCH₂CH₂OH, KOH, refluxo; b) PCl₃, PhCl, refluxo; c) NH₃ gasosa, refluxo.

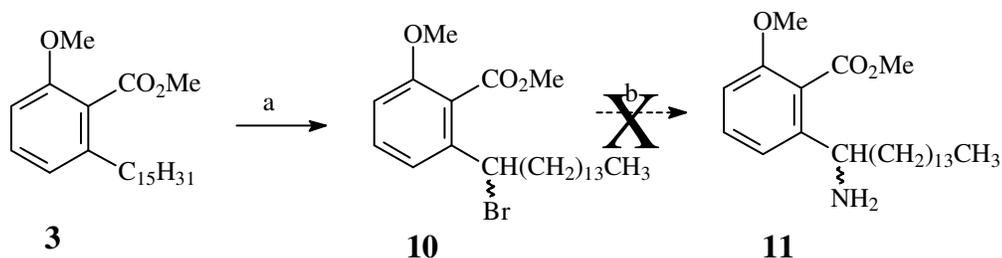
Os resultados nos abriram campo para investigações inéditas na literatura para estes compostos: a influência da hidroxila fenólica e de sua posição no sistema aromático na reatividade do carbono carbonílico. Como mencionado anteriormente, estudos futuros poderão se beneficiar das diversas possibilidades de investigação apontadas por essas investigações preliminares.

Em face das dificuldades encontradas, na obtenção do composto **4** e de seu derivado metilado **9**, planejamos uma rota sintética alternativa visando as variantes com PM1 pretendidas (Esquema 17).



Esquema 17. Rota sintética alternativa para obtenção das variantes com PM1.

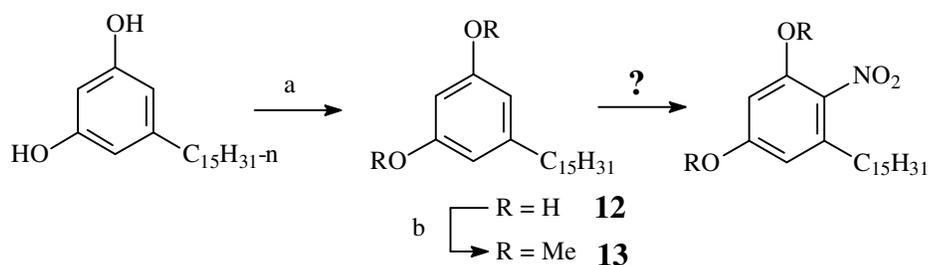
No desenvolvimento dessa nova proposta sintética, o composto **3** foi tratado sob condições de bromação radicalar para produção do brometo benzílico almejado, onde a análise do espectro de RMN ¹H do produto isolado confirmou a obtenção do composto **10**. Uma alíquota deste composto foi submetida às condições indicadas no Esquema 18 na tentativa de obtenção da amina **11**, onde após um longo tempo reacional apenas recuperamos o material de partida.



Esquema 18. Reagentes e condições: a) NBS, (BzO)₂, CCl₄, refluxo; b) NH₄OH, CH₂Cl₂, CH₂Cl₂, Aliquat®.

Theodorou e colaboradores publicaram (2005) um método de preparação de aminas primárias a partir de cloreto de tritila (TrCl)⁴⁶, que pretendíamos utilizar em nossa rota sintética para obtenção de **11**. Este reagente não se encontrava disponível no Instituto e, apesar dos esforços, não conseguimos sintetizá-lo.

Paralelamente, iniciamos a rota sintética que levaria as variantes com PM1, derivadas do cardol. Neste sentido, a mistura de cardóis foi submetida à hidrogenação catalítica para obtenção do cardol saturado. Na seqüência, iniciamos um estudo de nitração do sistema aromático, tanto com o fenol livre quanto com o dimetilcardol, obtido por tratamento com iodeto de metila e, alternativamente, com dimetilsulfato em condições de transferência de fase (Esquema 19).



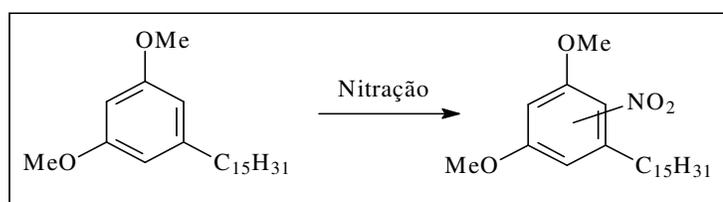
Esquema 19. Reagentes e condições: a) H₂, Pd/C, EtOH, 60 psi; b) MeI, K₂CO₃, acetona, refluxo ou Me₂SO₄, NaOH 3M, CH₂Cl₂, Aliquat®.

⁴⁶ Theodorou, V., Ragoussis, V., Strongilos, A., Zelepos, E., Eleftheriou, A., Dimitriou, M., *Tetrahedron Letters*, **2005**, *46*, 1357-1360.

Para nossa surpresa, as várias tentativas de introdução do grupo nitro ou nitroso no cardol (R=H), usando procedimentos clássicos e variações modernas não lograram êxitos, levando à completa destruição da matéria-prima, mesmo quando mantidas à temperatura de -15°C . Suspeitamos que o sistema resorcílico, com as hidroxilas livres, estaria superativado devido ao efeito doador de densidade eletrônica em destes grupos, para a substituição eletrofílica aromática e, conseqüentemente, estaria gerando produtos polinitrados de difícil purificação e caracterização.

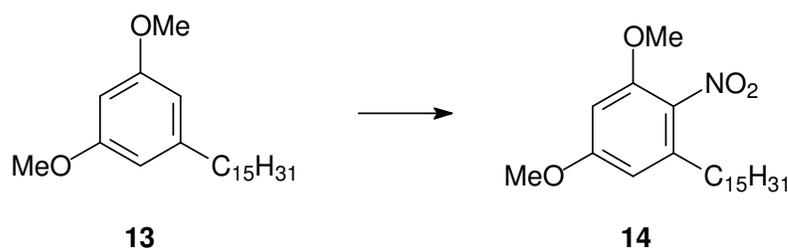
Para examinar a extensão problema e superar as dificuldades dessa etapa sintética, selecionamos alguns procedimentos nitração do derivado dimetilado **13**. Os resultados estão descritos na Tabela 1 abaixo. Por interação com a mistura sulfonítrica, o dimetilcardol também se mostrou extremamente reativo, resultando na total destruição da matéria-prima (Entrada 1).

Tabela 1. Condições empregadas nas tentativas de nitração e os resultados obtidos.



Entrada	Condições	Resultados
1	HNO_3 , H_2SO_4	Destruição da matéria-prima
2	NaNO_2 , HOCl_{aq} , SiO_2	Recuperação da matéria-prima
3	NaNO_2 , HCl 2N, SiO_2	Recuperação da matéria-prima
4	Ácido tricloroisocianúrico, HOCl_{aq} , NaNO_2 , SiO_2	Recuperação da matéria-prima
5	Ácido tricloroisocianúrico, HCl 2N, NaNO_2 , SiO_2	Consumo da matéria-prima e aparecimento de produtos mais polares
6	KNO_3 , CHCl_3 , TFAA ou TFA	Consumo da matéria-prima e aparecimento de produtos moninitrados
7	HNO_3 , AcOH	Consumo da matéria-prima e aparecimento de produtos moninitrados

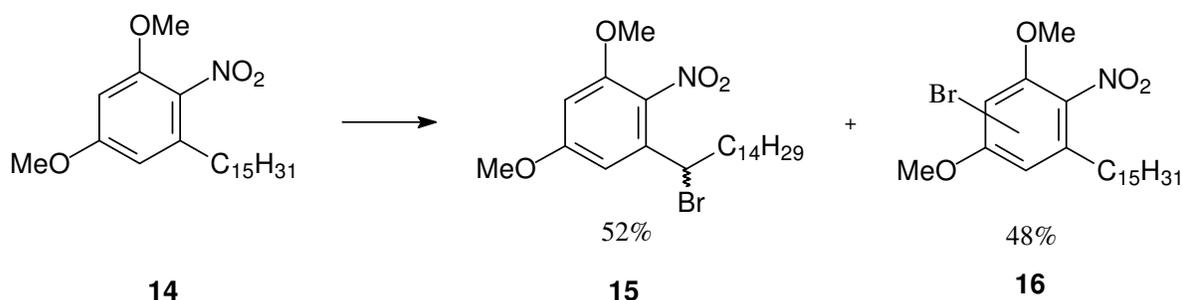
Por outro lado, em condições mais brandas se mostrou não reativo (Entradas 2, 3 e 4). Resultados mais promissores foram observados quando da utilização de condições intermediárias (Entradas 5 a 7). Nesses casos, foi observada a formação de mistura de produtos isoláveis, sendo que a cromatografia em placa de sílica revelou o surgimento de dois produtos principais com fatores de retenção próximos, porém, separáveis por coluna de sílica. A nitração cuja metodologia empregou uma solução formada pelos ácidos nítrico e acético (Entrada 7) se mostrou a mais prática e a que forneceu maiores rendimentos para o produto de menor fator de retenção **14**. Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos dois produtos principais obtidos com a metodologia acima apresentaram, como era de se esperar, diferentes padrões de substituição na porção aromática que, aliados a espectros bidimensionais do composto de menor fator de retenção, possibilitou sua caracterização com o grupo nitro na posição 2 (Esquema 20).



Esquema 20. Reagentes e condições: HNO₃/AcOH (1:1), banho gelo-sal.

Nosso próximo passo seria então a realização da bromação radicalar na posição benzílica do composto **14**, utilizando a metodologia já descrita anteriormente. Em uma primeira tentativa, a mistura reacional permaneceu sob aquecimento brando (70 - 80 °C) e o acompanhamento por cromatografia em placa de sílica revelou a formação gradual de um produto um pouco mais polar com um fator de retenção muito próximo ao do material de partida, porém, com coloração diferente quando revelado em solução de vanilina. Após cerca de 24 h nestas condições, nenhuma mudança aparente ocorreu em ambas as manchas cromatográficas, quando optamos por elaborar a mistura reacional. Por meio de separação em coluna de sílica, obtemos o composto desejado **15** com moderado rendimento (40 %), além de

recuperar a matéria-prima. Numa segunda tentativa, optamos por submeter o sistema reacional a condições de refluxo intenso, onde observamos o total consumo do material de partida, formação de **15** além da obtenção de outro composto com maior fator de retenção, caracterizado um derivado bromobenzênico, **16** (Esquema 21).

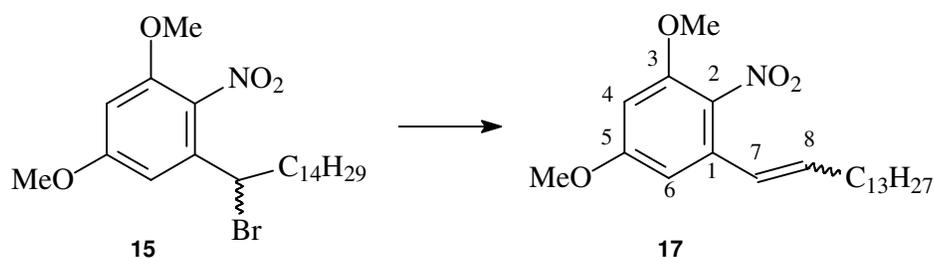


Esquema 21. Reagentes e condições: NBS, peróxido de benzoíla, CCl₄, refluxo.

O espectro de RMN ¹H do composto **15** foi caracterizado pela mudança no deslocamento químico do sinal referente aos hidrogênios benzílicos (página 78), aparecendo como um tripleto em 4,85 ppm, condizente com a entrada do halogênio nessa posição. A análise do espectro de RMN ¹H do composto **16** não revelou mudança significativa para o sinal referente aos hidrogênios benzílicos em comparação o espectro de, porém, apresentou mudança significativa no padrão de substituição dos hidrogênios no anel aromático. O espectro de RMN ¹³C do composto **15** também indicou uma mudança significativa no deslocamento químico do pico referente ao carbono benzílico em relação ao material de partida (pág. 76 e 79). Outro fato interessante a ser destacado é o efeito da bromação benzílica nos hidrogênios do sistema aromático - maior separação dos multipletos do derivado benzílico quando comparado com o padrão espectroscópico desses hidrogênios na matéria-prima.

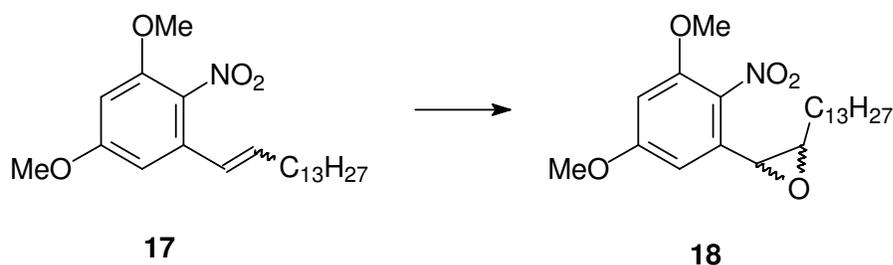
Este experimento foi repetido diversas vezes com o intuito de acumular material suficiente para realizar a etapa de eliminação em presença da DBU (Esquema 22) para obtenção do composto insaturado **17**. O espectro de RMN ¹H do produto revelou o desaparecimento do pico referente ao hidrogênio benzílico presente em **15**,

ao mesmo tempo mostrou o surgimento de dois dubletos ($J = 2,4$ Hz) na região do espectro correspondente às duplas ligações (pág. 81), porém, não foi possível a caracterização do composto em *Z* ou *E*, uma vez que o valor de J difere dos valores tabelados. Isto mais uma vez revela quão particular é o sistema em questão. O espectro de RMN ^{13}C nos indicou o desaparecimento dos picos em 46,7 ppm e 39,8 ppm, referentes aos carbonos 7 e 8 respectivamente, além do surgimento de dois novos picos na região correspondente a carbonos sp^2 (122,5 ppm e 132,6 ppm). Surpreendentemente, verificamos uma intensa modificação no padrão de substituição dos picos referentes aos hidrogênios do anel aromático, os dois dupletos ($J = 2,4$ Hz) em 6,43 ppm e 6,75 ppm assumem o aspecto de um tripleto ($J = 3,7$ Hz) em 6,25 ppm.



Esquema 22. Reagentes e condições: DBU, benzeno, refluxo.

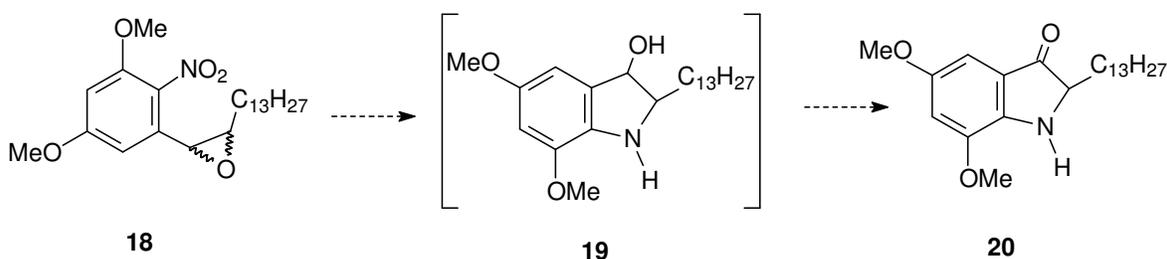
Nosso próximo passo, a transformação do composto insaturado no correspondente epóxido (**18**) foi inúmeras vezes repetida sem que obtivéssemos êxito. Suspeitamos que nosso perácido tivesse decomposto e originado ácido metaclorobenzóico, impossibilitando a formação do produto desejado. De posse de um novo reagente, testamos inicialmente sua qualidade com acetato de linalina onde verificamos a eficiente formação de epóxido. Então, submetemos o composto **17** às mesmas condições de epoxidação, para obtenção do epóxido **18** (Esquema 23).



Esquema 23. Reagentes e condições: MeOH/CH₂Cl₂ (10%), NaHCO₃, AMCPB, banho de gelo.

O espectro de RMN ¹H deste composto apresentou um duplete ($J = 1,5$ Hz) em 6,23 ppm (pág. 84) referente aos hidrogênios aromáticos, revelou o desaparecimento dos sinais referentes à insaturação entre os carbonos 7 e 8, ao mesmo tempo em que evidenciou o surgimento de picos nas regiões referentes a ligação dos hidrogênios com os carbonos 7 e 8 do epóxido. O espectro de RMN ¹³C nos proporcionou interpretações semelhantes, onde o desaparecimento dos picos em 122,5 ppm e 132,0 ppm anteriormente citados, coincidiu com o surgimento de dois novos picos em 62,9 ppm e 55,1 ppm (pág. 85).

Dando continuidade a nossa rota sintética, o epóxido **18** foi submetido a tratamento redutivo com metais (Sn e Fe) em meio ácido (HCl concentrado) visando a redução do grupo nitro e, simultaneamente, a ciclização intramolecular para obtenção do heterociclo de cinco membros conforme planejamento inicial (Esquema 24).



Esquema 24. Reagentes e condições: Fe, EtOH-H₂O, AcOH, HCl conc.

Os resultados experimentais da reação com Fe-HCl mostraram-se promissores, tendo em vista que os dados espectroscópicos preliminares

indicaram a redução do grupo nitro (infravermelho), com provável ciclização intramolecular de acordo com os dados de RMN ^1H : mudança de deslocamento químico para os hidrogênios aromáticos (retornando ao padrão de dois multipletos em 6,55 e 6,60 ppm); aparecimento de uma banda larga em 6,36 ppm (N-H e/ou O-H) e de um multiplete desblindado (4,96 ppm) que pode ser atribuído ao H-CO benzílico; afastamento dos picos referentes aos hidrogênios das metoxilas e desaparecimento dos hidrogênios do grupo epóxido. Entretanto, os dados espectroscópicos não nos permitiram inferir se o possível heterociclo formado possui cinco (Esquema 24) ou quatro (Figura 7).

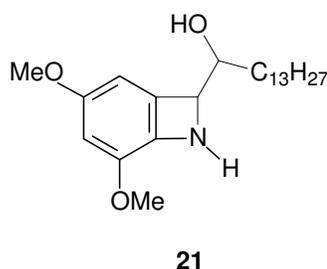


Figura 7. Estrutura do possível heterociclo de quatro membros.

Para racionalizar os possíveis caminhos da ciclização, paralelamente, foi realizado um estudo teórico das energias envolvidas na conformação mais estável e do segundo mínimo (Figura 8) para o composto 18, bem como seu mapa de potencial eletrostático da conformação mais estável (Figura 9) pelo método semi-empírico AM1. Os dados de potencial eletrostático confirmam as regiões de elevada densidade eletrônica no nitrogênio e de baixa densidade eletrônica nos carbonos do grupo epóxido, o que permitem uma interação eletrônica do tipo nucleófilo-eletrófilo entre esses grupos. As conformações de menor energia permitem concluir que a disposição dos orbitais HOMO-LUMO e as distâncias interatômicas possibilitam a ciclização intramolecular. Adicionalmente, as cargas de Mulliken calculadas indicam não existir diferença significativa entre os dois carbonos do grupo epóxido. Portanto, a formação do anel de quatro ou de cinco membros seria guiada pela competição de fatores cinéticos e termodinâmicos.

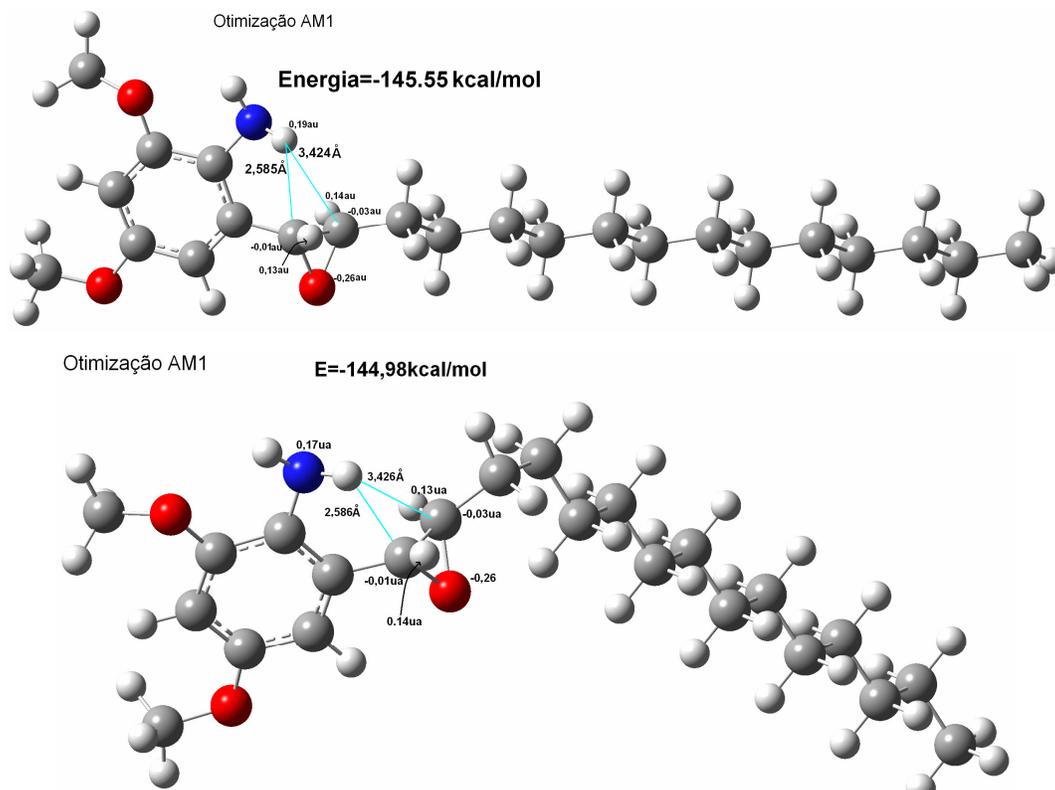


Figura 8. Conformação mais estável para o composto **18** (superior) e conformação para o segundo mínimo (inferior) com resultados de distância de interatômicas e carga de Mulliken. Otimização obtida pelo método semi-empírico AM1. Em vermelho e azul são evidenciados os átomos de O e N, respectivamente.

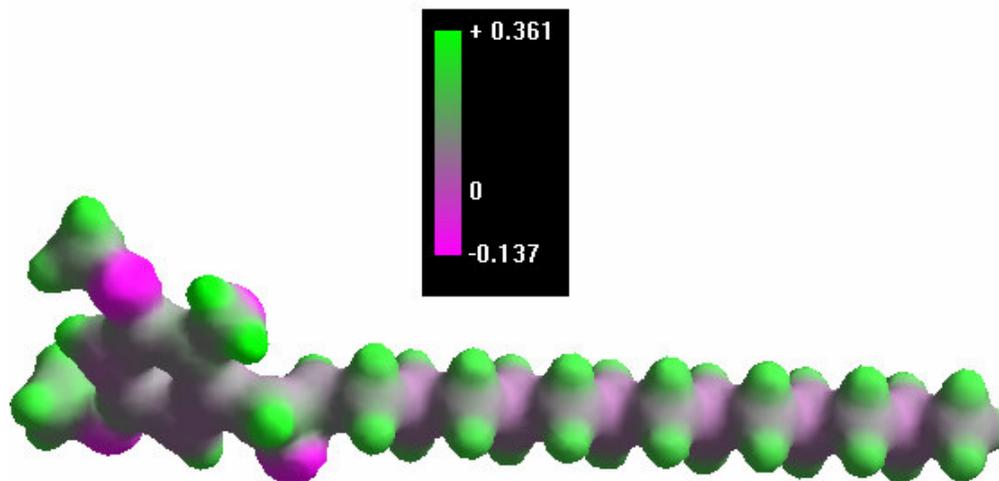


Figura 9. Mapa de potencial eletrostático para o primeiro mínimo (composto **18**), calculado com o método semi-empírico AM1. Vermelho magenta para região rica em elétrons, verde para região pobre em elétrons (unidades atômicas).

VII – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Por meio deste estudo, foram obtidos intermediários avançados da rota sintética visando moléculas inibidoras da enzima acetilcolinesterase, utilizando os constituintes majoritários do LCC *in natura* (ácidos anacárdicos e cardóis). Embora nossas metas não tenham sido totalmente alcançadas, foram obtidos dados interessantes a serem abordados em futuras investigações.

Diversos campos de pesquisa ainda podem ser explorados como, por exemplo:

- i) investigar a influência da cadeia alquílica e da hidroxila fenólica na reatividade do carbono carbonílico de nossas matérias-primas;
- ii) investigar reações regioseletivas para a nitração dos nossos sistemas aromáticos;
- iii) procurar metodologias ou procedimentos alternativos que favoreçam a bromação benzílica em detrimento da bromação no sistema aromático;
- iv) aprofundar o estudo espectroscópico relacionado com intensa modificação no padrão de substituição dos picos referentes ao H do anel aromático, quando progredimos na série dos compostos **15**, **17**, **18**, **19** ou **21** e
- v) identificar as condições favoráveis a ciclização intramolecular que levaria a formação de heterociclos de cinco membros contendo nitrogênio, ainda não reportadas na literatura.

Pretende-se, ainda, otimizar as reações para melhoria dos resultados e conclusão da proposta sintética planejada, incluindo a funcionalização da cadeia lateral para acoplamento com o fragmento farmacofórico da tacrina. Posteriormente, serão realizados ensaios biológicos através de teste *in vitro*, visando à descoberta de novos insumos para a indústria farmacêutica nacional. Oportunamente, será avaliada a relação estrutura-atividade com a finalidade de

identificar os grupos funcionais indispensáveis à atividade biológica e/ou que intensifiquem os efeitos biológicos minimizando os possíveis efeitos indesejáveis.

VIII - PARTE EXPERIMENTAL

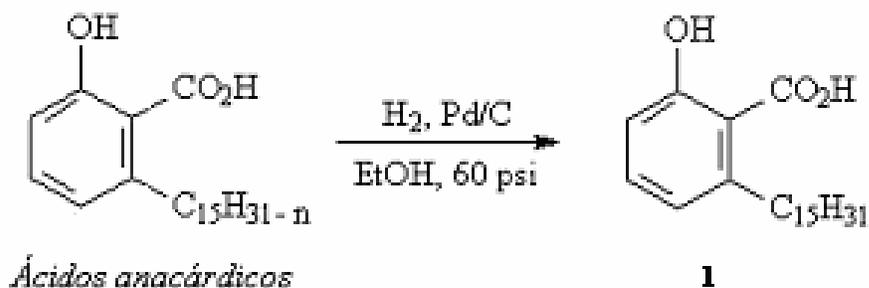
Procedimentos Gerais

- ◆ Os reagentes e solventes foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação adicional, exceto nas reações que requereram um maior grau de pureza. Amônia gasosa em cilindro foi adquirida da White Martins.
- ◆ Os lipídeos fenólicos não isoprenóides foram extraídos de cascas de castanha de caju (*Anacardium occidentale*) (Ceará), com etanol comercial em um extrator Soxhlet.
- ◆ As reações de hidrogenação catalítica foram efetuadas em um aparelho da série 3910 - Parr Instrument Company.
- ◆ As análises em cromatografia em camada delgada foram efetuadas em placas de silicagel suportada em alumínio 60F₂₅₄/0,2 mm (Merck), utilizando como reveladores: luz ultravioleta, iodo, solução de vanilina sulfúrica, CAM (sulfato cérico de amônia) e solução 5% de ácido molibdofosfórico em etanol.
- ◆ Os produtos foram purificados por recristalização, cromatografia rápida sob pressão (Flash Column Chromatography) ou por cromatografia rápida em coluna seca (Dry-Flash Column Chromatography), usando como suporte silicagel 60 (0,04-0,06 mm) e como eluente hexano-acetato de etila em concentrações apropriadas.
- ◆ Os pontos de fusão foram determinados no bloco de Köfler e foram apresentados sem correção.
- ◆ Os espectros de IV foram registrados nos espectrômetros Bomem Hartmann & Braun (MB – 100), com valores de ν_{\max} expressos em cm^{-1} .
- ◆ Os espectros de RMN ¹H (300 MHz) e ¹³C (75,46 MHz) foram registrados em espectrômetros Varian (7.05 T) e Bruker (17,6 T). As sondas (ATB e SN) de 5 mm

de diâmetro interno foram usadas à temperatura ambiente nos experimentos com pulso de 45° para hidrogênio e carbono. Os demais parâmetros (intervalos entre pulsos, janelas espectrais e número de varreduras) então discriminados nos espectros. Os experimentos de RMN ¹H foram referenciados ao TMS (σ 0,0) com padrão intenso e os de RMN ¹³C ao CDCl₃ (σ 77, 0), respectivamente.

- ◆ Procedimento genérico para separação química do ácido anacárdico das correspondentes amidas. 1,5 g de nitrato de chumbo II foram dissolvidos em 10 mL de água. Em seguida, foi reunido a este sistema 10 mL de uma solução aquosa contendo 0,8 g de NaOH. A mistura permaneceu sob vigorosa agitação por 2 h, quando então foi filtrada em funil de Büchner. O sólido verde de hidróxido de chumbo II foi então adicionado à solução formada pela dissolução da mistura reacional (reservada previamente) em 30 mL de etanol. O sistema permaneceu sob vigorosa agitação por 2 h, quando ao sistema reacional foram adicionadas 50 mL de éter etílico. Após 2 h adicionais, a mistura foi novamente submetida à filtração em funil de Büchner. O filtrado foi concentrado em rotavaporador, dissolvido em acetato de etila e transferido para um funil de separação, onde foi lavado com solução saturada de cloreto de sódio e seco com sulfato de sódio. O sólido retido na filtragem foi hidrolisado em ácido nítrico 20% para fornecer o material de partida residual.

Ácido 2-hidróxi-6-pentadecilbenzóico (1)



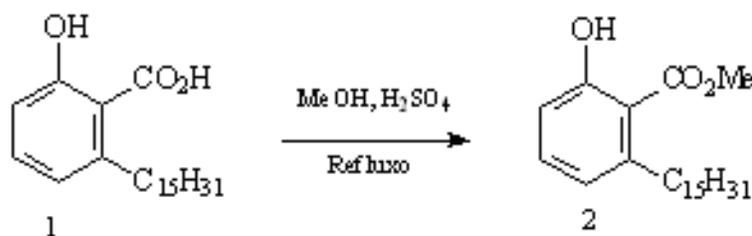
34,3 g da mistura de ácidos anacárdicos insaturados (8'Z-monoeno; 8'Z, 11'Z-dieno e 8'Z, 11'Z, 14'Z-trieno), foram dissolvidos em 100 mL de etanol seco. À solução formada foram adicionados 0,76 g de Pd-C 10% e a suspensão foi mantida a uma pressão de 60 Psi de H₂ por 6 h, sob agitação. Em seguida a mistura reacional foi filtrada sob sílica. O filtrado foi então concentrado em rotavaporador e seco em bomba a vácuo, e forneceu um sólido marrom, que após recristalização em hexano resultou em 32.24g de um sólido branco (94%, p.f. 33 – 35°C), caracterizado por métodos espectroscópicos como sendo o ácido 2-hidróxi-6-pentadecilbenzóico (3).

IV (KBr, ν_{\max} , cm⁻¹): 3451-3232, 2918, 2851, 1643, 1689, 1612, 1466. (pág. 60)

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, J)]: 10,88 (s; OH), 7,38 (t; 7,6; ArH), 6,83 (d; 8,4; ArH), 6,78 (d; 8,0; ArH), 3,00 (t; 7,5; ArCH₂) 1,60 (m; CH₂), 1,3 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,85 (t; 6,5; CH₃ terminal). (pág. 61)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 176,1; 163,6; 147,9; 135,5; 122,9; 115,9; 110,4; 36, 5; 32,0; 31, 6; 29,0 (região alifática); 22,0; 68,0; 14, 1. (pág. 62)

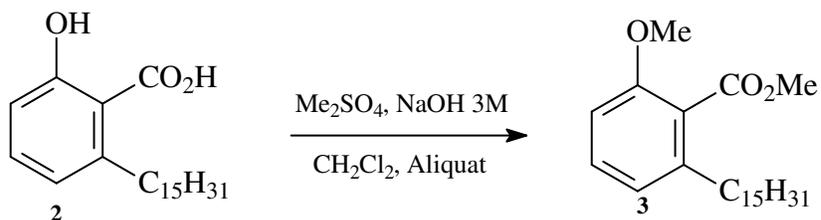
Éster metílico do ácido 2-hidróxi-6-pentadecilbenzóico (2)



3 g (8,62 mmol) do ácido anacárdico saturado foram dissolvidos em 50 mL de metanol e à solução foi adicionado 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por 48 h, quando por CCD foi evidenciada a não existência do material de partida. O solvente foi então removido em rotavaporador, e uma solução diluída de K_2CO_3 (30 mL) foi adicionada, até não mais se observar efervescência. O resíduo foi então extraído com diclorometano (3 x 100mL). Depois de reunidas, as fases orgânicas foram secas com sulfato de sódio, concentradas em rotavaporador e seca em bomba a vácuo, fornecendo 1,8 g de um sólido amarelado com propriedades espectroscópicas e R_f semelhantes aos descritos previamente ⁴⁷ para o éster metílico do ácido 2-hidróxi-6-pentadecilbenzóico (**2**, 60%).

⁴⁷ Logrado, L. P. M.; Utilização de matérias-primas abundantes no país na preparação de compostos de interesse biológico. Síntese e avaliação farmacológica de 5 e 12 membros planejadas a partir de lipídeos fenólicos não-isoprenóides de *Anacardium occidentale*. **2004**. Tese de mestrado – Instituto de Química, Universidade de Brasília, 1997.

Éster metílico do ácido-2-metóxi-6-pentadecilbenzóico (**3**) - Método 1



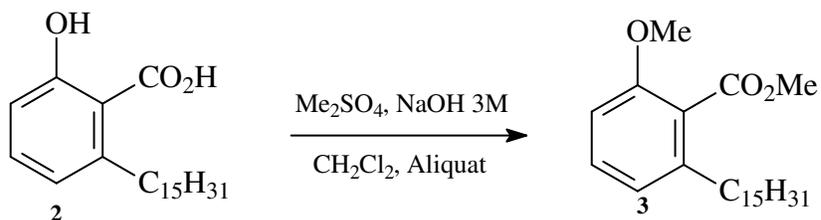
0,2g (0,57 mmol) de ácido anacárdico foram previamente dissolvidos em 40 mL de diclorometano. À solução formada foram adicionados 0,81 mL de hidróxido de sódio 3M, 23 mg de Aliquat® (0,11 mol%) e 27 mL (290 mmol) de Me_2SO_4 . O sistema reacional permaneceu sob vigorosa agitação, a temperatura ambiente. Após duas horas uma análise por placa cromatografica revelou que todo o material de partida havia sido consumido. A mistura reacional foi então transferida para um funil de separação e, seqüencialmente, lavada com solução de amônia 5% (20 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (100 mL), seca com sulfato de sódio e concentrada em rotavaporador, fornecendo 0,16 g de um sólido caracterizado por métodos espectroscópicos como sendo o éster metílico do ácido-2-metóxi-6-pentadecilbenzóico (**3**, 80%).

IV (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 2918, 2851, 1733, 1584, 1468, 1430, 1308. (pág. 63)

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade, J): 7,26 (dd; 7,6; ArH), 6,82 (d; 7,8; ArH), 6,77 (d; 7,8; ArH), 3,91(s, H_3CO), 3,82 (s, H_3CO), 2,53 (t; 7,5; ArCH_2), 1,54 (m, CH_2), 1,25 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,87 (t, 6,5; CH_3 terminal). (pág. 64)

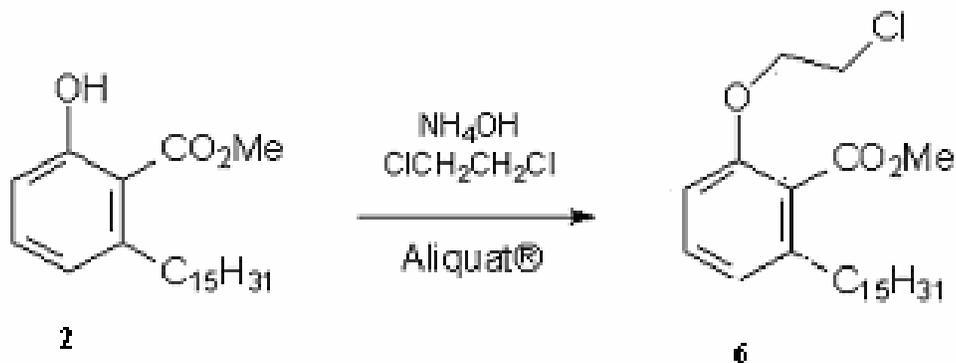
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 169,1; 156,5; 141,6; 130,4; 123,7; 121,7; 108,6; 56,0; 52,3; 33,7; 32,2; 31,4; 29,6 (cadeia alifática); 22,9; 14,3. (pág. 65)

Éster metílico do ácido-2-metóxi-6-pentadecil-benzóico (3) - Método 2



1g (2,85 mmol) do ácido anacárdico saturado foi previamente dissolvido em 100 mL de acetona. Ao sistema reacional foram adicionados 1,95 g (14 mmol) de carbonato de potássio e 1,5 mL (3,4g; 23,8 mmol) de iodeto de metila. O sistema permaneceu em refluxo, sob agitação e atmosfera de nitrogênio. Após duas horas, uma análise por CCD revelou que não mais havia material partida. O solvente foi então evaporado em rotavaporador, e o resíduo dissolvido em acetato de etila (100 mL) e lavado com água destilada (3 x 100 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 100 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL). A fase orgânica foi então seca com sulfato de sódio e, após concentrada em rotavaporador, foi seca em bomba a vácuo, fornecendo 0,83g de um sólido, com as mesmas características espectroscópicas daquele resultante da dimetilação com Me_2SO_4 (83%).

Éster metílico do ácido 2-(2-cloroetóxi)-6-pentadecilbenzóico (6)

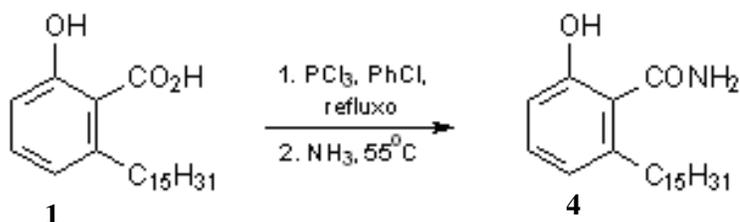


0,1 g (0,36 mmol) de anacardato de metila foi inicialmente dissolvido em 5 mL dicloroetano, e em seguida, 15 mL de hidróxido de amônio concentrado foram adicionados ao sistema, juntamente com 3 gotas de Aliquat®. O sistema permaneceu sob vigorosa agitação à temperatura ambiente por 5h. A mistura reacional foi então extraída com acetato de etila (3 x 100 mL), lavada com solução saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL) e seca com sulfato de sódio. Após evaporação do solvente e purificação em coluna de sílica, obtivemos 0,082g de um sólido, caracterizado por métodos espectroscópicos como sendo o éster metílico do ácido 2-(2-cloroetóxi)-6-pentadecilbenzoico (**6**, 82%).

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, J)]: 7,25 (t; 7,6; ArH), 6,82 (d; 7,8; ArH), 6,77(d; 7,8; ArH), 4,23 (t; 6,1; ClCH₂), 3,90 (s; CH₃O), 3,76 (t; 6,1; OCH₂), 2,58 (t; 7,5; ArCH₂), 1,58 (m; CH₂), 1,25 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,87 (t; 6,5; CH₃ terminal). (pág. 69)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ:168,5; 154,8; 141,7; 130,2; 124,2; 122,4; 109,9; 68,8; 52,1; 41,6; 33,4; 31,2; 31,1; 29,6 (cadeia alifática); 22,7; 14,1. (pág. 70)

2-Hidróxi-6-pentadecil-benzamida (4)



0,6g (1,72 mmol) de ácido anacárdico saturado foram dissolvidos em 20 mL de clorobenzeno seco, e então, 1 mL de PCl₃ foi adicionado ao sistema reacional, que permaneceu sob agitação e refluxo por 4h. Em seguida, a mistura reacional foi resfriada em banho de gelo e amônia gasosa proveniente de um cilindro comercial foi borbulhada no meio reacional. Cessado o aquecimento verificado no início do borbulhamento e solidificação do meio reacional, o sistema foi submetido a um aquecimento brando (55°C), sob agitação, por mais 4 h. Após este período, análises por CCD indicaram que não estava ocorrendo mais nenhuma modificação no sistema, embora ainda houvesse material de partida. Ao sistema reacional foi cuidadosamente adicionado água (100 mL), e a mistura transferida para um funil de separação, onde foi extraída com acetato de etila (3 x 100 mL) e concentrada no rotoevaporador. O resíduo foi submetido à separação química com hidróxido de chumbo II para remoção do ácido residual. Após separação, obtivemos 180 mg de um sólido branco, p.f. 42-44°C, caracterizado por métodos espectroscópicos como sendo a 2-hidróxi-6-pentadecil-benzamida (**4**, 30%).

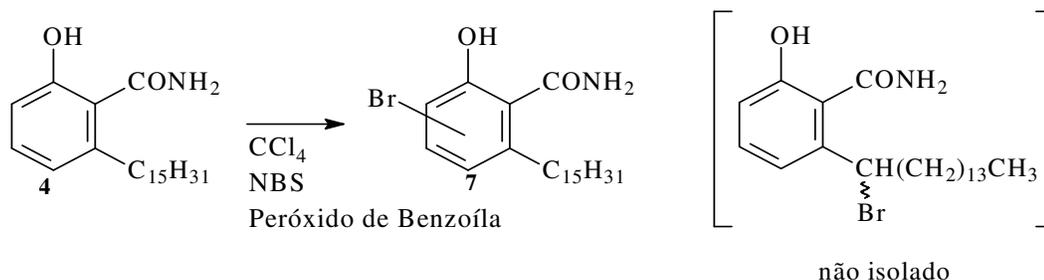
IV (KBr, ν_{\max} , cm⁻¹): 3412, 3310, 3268, 3168, 2953, 2920, 2849, 1657, 1643, 1613.

(pág. 66)

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, J)]: 7,20 (t; 7,6; ArH), 6,79 (d; 8,2; ArH), 6,70 (d; 8,2; ArH), 2,79 (t; 7,5; ArCH₂), 1,59 (m, CH₂), 1,2 (envelope metilênico cadeia alifática), 0,79 (m, CH₃ terminal). (pág. 67)

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 172,7; 159,6; 141,2; 132,6; 121,6; 115,5; 34,9; 31,9; 31,7; 29,6 (cadeia alifática); 22,7; 14,1. (pág. 68)

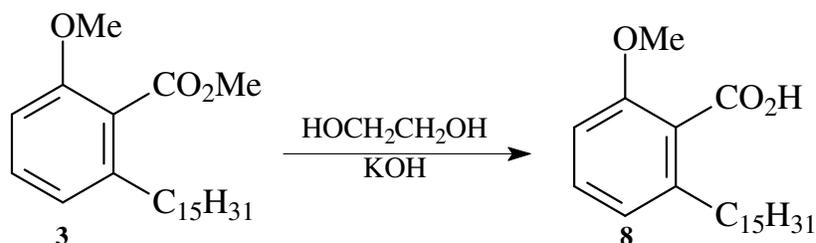
Bromo-2-hidróxi-6-pentadecilbenzamida (7)



50 mg (0,14 mmol) da anacardamida foram inicialmente dissolvidos em 30mL de tetracloreto de carbono seco. À solução foram adicionados 30 mg (0,17 mmol) de NBS e 1,4 mg (0,006 mmol) de peróxido de benzoíla. A mistura reacional foi mantida sob atmosfera de nitrogênio, agitação e refluxo por 2h, quando uma análise cromatográfica indicou que todo o material de partida havia sido consumido. Ao meio reacional foi adicionado água destilada (100 mL), e então a mistura foi extraída com acetato de etila (4 x 50 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada bicarbonato de sódio, cloreto de sódio e seca com sulfato de sódio. Depois de concentrada em rotavaporador e purificação em coluna de sílica, obtivemos 47 mg de um sólido amarelado, caracterizado por métodos espectroscópicos como sendo um dos isômeros bromo-2-hidróxi-6-pentadecilbenzamida (7, 96%).

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade,)]: 8,10 (s, H-N), 7,50 (d, ArH), 6,7 (d, ArH), 6 (s, H-O), 2,79 (t, ArCH₂), 1,6 (m, CH₂), 1,3 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,92 (t; 6,5; CH₃ terminal). (pág. 71)

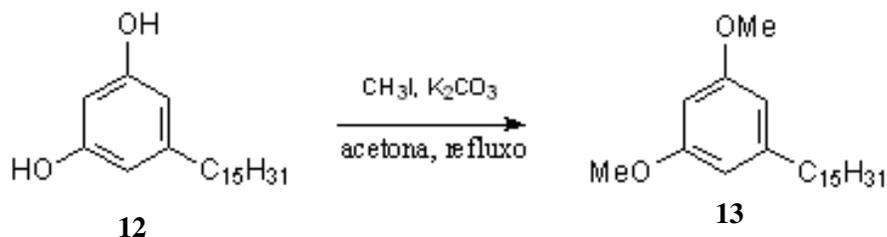
Metiléter do ácido-2-hidróxi-6-pentadecil-benzóico (8)



1,4 g (3,7 mmol) de ácido anacárdico dimetilado foram dissolvidos em 30 mL de etileno glicol e à solução foram adicionados 3,5 mL de hidróxido de potássio 10 M. O sistema reacional permaneceu sob agitação, refluxo e atmosfera de nitrogênio até que uma análise por CCD revelou que o material de partida havia sido consumido, cerca de 1h30 após o início da reação. Então foram adicionados ao sistema reacional ácido clorídrico 10% (10 mL), até que o pH tornasse ácido, e em seguida, foi feita a extração com acetato de etila (3 x 100 mL). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), secas com sulfato de sódio e concentrada em rotavaporador. Após purificação em coluna de sílica, as frações contendo o produto foram reunidas e concentradas em rotavaporador, fornecendo 0,96 g de um sólido, com propriedades espectroscópicas e R_f semelhantes aos descritos previamente⁴⁸ para o metiléter do ácido-2-hidróxi-6-pentadecil-benzóico (**8**, 68%).

⁴⁸ Logrado, L. P. M.; Utilização de matérias-primas abundantes no país na preparação de compostos de interesse biológico. Síntese e avaliação farmacológica de 5 e 12 membros planejadas a partir de lipídeos fenólicos não-isoprenóides de *Anacardium occidentale*. 2004. Tese de mestrado – Instituto de Química, Universidade de Brasília, 1997

1,5-Dimetóxi-3-pentadecil-benzeno (13)



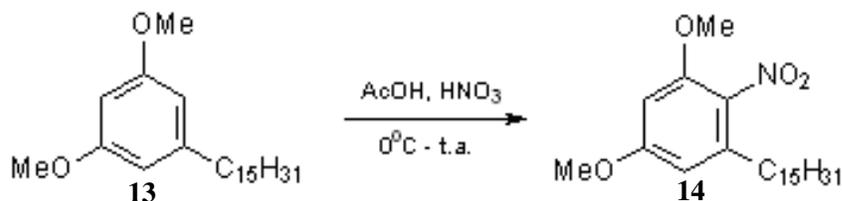
1,2 g (3,75 mmol) de cardol saturado foram inicialmente dissolvidos em 35mL acetona. À mistura foram adicionados 2,62 g (19 mmol) de carbonato de potássio e 2 mL (31,8 mmol) de iodeto de metila. O sistema permaneceu sob agitação vigorosa e refluxo. Após 24 h uma análise por CCD indicou que o material de partida havia sido totalmente consumido. O solvente foi então evaporado, o resíduo dissolvido em acetato de etila (100 mL), lavado sucessivamente, com água destilada (2 x 100 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL). Após secagem com sulfato de sódio e concentração da fase orgânica em rotavaporador, foi obtido 96 mg de um sólido branco, com propriedades espectroscópicas e R_f semelhantes aos descritos previamente para o 1,3-dimetóxi-5-pentadecil-benzeno (**13**, 80%).

IV (KBr, ν_{\max} , cm⁻¹): 2953, 2916, 2849, 1743, 1611, 1598, 1466, 1423, 1345. (pág. 72)

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade)]: 6,29 – 6,30 (m; 6,30-6,34; ArH), 3,78 (s, CH₃O), 2,50 (t; 7,5; ArCH₂), 1,60 (m, CH₂), 1,33 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,85 (m, CH₃ terminal). (pág. 73)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 160,6; 145,3; 106,4; 97,5; 55,1; 36,3; 31,9; 31,3; 29,5 (cadeia alifática), 22,7; 14,1. (pág. 74)

1,5-Dimetóxi-2-nitro-3-pentadecil-benzeno (14)



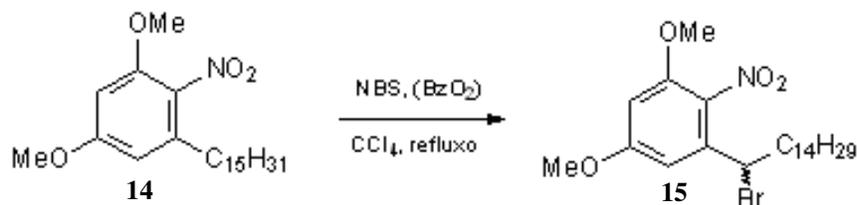
A 0,5 g (1,3 mmol) de cardol dimetilado foram adicionados 10 mL de uma mistura AcOH/HNO₃ (1:1), sob banho de gelo/cloreto de sódio. O sistema permaneceu sob agitação até atingir a temperatura ambiente. Após 4 h uma análise por CCD indicou que todo o material de partida havia sido consumido. À mistura reacional foi diluída com água destilada (50 mL) e extraída com diclorometano (3 x 50 mL). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas com água até o pH tornar-se neutro. Em seguida, a fase orgânica foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 50 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (3 x 50 mL) e, posteriormente, seca com sulfato de sódio e concentrada em rotavaporador para fornecer um sólido vermelho bastante escuro. Após submetido a coluna de separação com sílica foram obtidos dois compostos majoritários que juntos somaram 0,43g que por métodos espectroscópicos foram caracterizados como sendo isômeros. O composto de menor fator de retenção foi obtido em 0,220g e caracterizado como 1,5-dimetóxi-2-nitro-3-pentadecil-benzeno (**14**, 44%).

IV (KBr, ν_{\max} , cm⁻¹): 2927, 2855, 2254, 1725, 1596, 1525, 1462, 1370. (pág. 75)

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, *J*): 6,39 (d; 2,4; ArH), 3,82 (s, CH₃O), 2,5 (t; 7,5; ArCH₂), 1,6 (m, CH₂), 1,3 (envelope metilênico cadeia alifática), 0,92 (t; 6,9; CH₃ terminal). (pág. 76)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 161,1; 152,3; 137,3; 135,8; 105,5; 96,9; 56,2; 55,5; 31,8; 31,6; 30,5; 29,5 (cadeia alifática), 22,6; 14,1. (pág. 77)

1-(1-Bromo-pentadecil)-3,5-dimetóxi-2-nitro-benzeno (15)



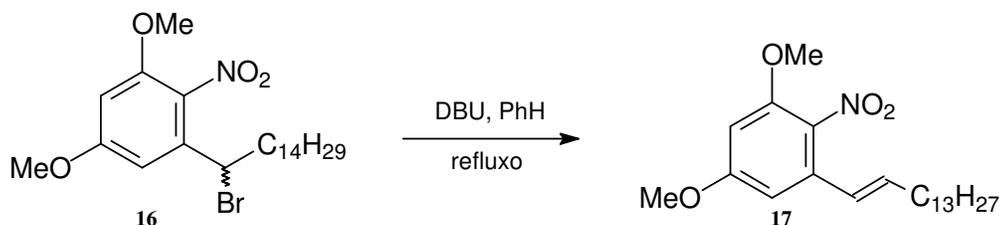
0,2 g (0,51 mmol) de 1,5-dimetóxi-2-nitro-3-pentadecil-benzeno foram inicialmente dissolvidos em 15 mL de tetracloreto de carbono. Ao sistema foram adicionados 0,2 g de (1,12 mmol) NBS e 0,01g (0,041 mmol) de peróxido de benzoíla. A mistura reacional permaneceu sob agitação e refluxo, em atmosfera de nitrogênio. O acompanhamento reacional foi feito em placa de sílica, que após 48 h, indicou o total consumo da matéria-prima. À mistura reacional foi adicionada água (50 mL) e, então, esta foi extraída com acetato de etila (3 x 50 mL). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas com solução saturada de cloreto de sódio, seca em sulfato de sódio e concentrada em rotavaporador. Os componentes da mistura reacional foram separados por coluna de sílica, fornecendo 0,11 g de 1-(1-bromo-pentadecil)-3,5-dimetóxi-2-nitro-benzeno (**15**, 52%).

IV (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 2924, 2853, 1716, 1596, 1529, 1460, 1428, 1335. (pág. 78)

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, *J*): 6,79 (d; 2,4; ArH), 6,43 (d; 2,4; ArH), 4,90 (t; 7,5; ArCH), 3,92 (s, CH₃O), 2,10 (m, CH₂), 1,50 (m, CH₂), 1,23 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,93 (t; 6,9; CH₃ terminal). (pág. 79)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 161,6; 152,1; 136,8; 134,0; 104,0; 99,1; 56,4; 55,8; 46,7; 39,8; 31,9; 29,5 (cadeia alifática); 22,7; 14,1. (pág. 80)

1,5-Dimetóxi-2-nitro-3-pentadec-1-enil-benzeno (17)



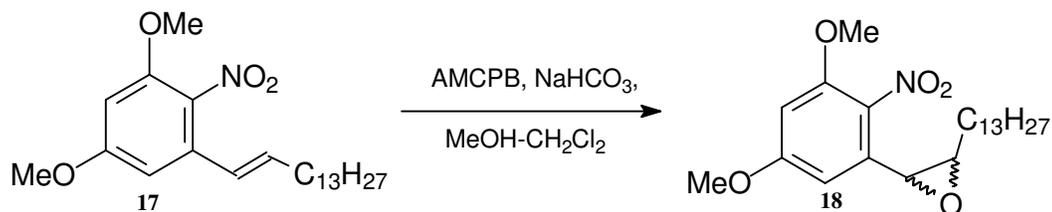
0,352g (0,74 mmol) de 1-(1-bromo-pentadecil)-3,5-dimetóxi-2-nitro-benzeno foram inicialmente dissolvido em 15 mL de benzeno. À solução formada foram adicionados 0,4ml (2,7 mmol) de DBU. O sistema reacional permaneceu sob agitação e refluxo por 18h, quando uma placa cromatográfica de sílica revelou o total consumo do material de partida. Então foi adicionado ácido clorídrico 10% (40 mL) ao sistema reacional e a fase orgânica separada. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 100 mL) e as fases orgânicas reunidas e lavadas com ácido clorídrico 10% (40 mL), solução saturada de cloreto de sódio (2 x 50 mL), seca com sulfato de sódio, e em seguida, concentrada em rotavaporador. A mistura foi separada em coluna de sílica, fornecendo 0,28g do produto 1,5-dimetóxi-2-nitro-3-pentadec-1-enil-benzeno (**17**, 80%).

IV (filme, ν_{\max} , cm^{-1}): 2952, 2913, 2851, 1655, 1601, 1580, 1522, 1471, 1434, 1337, 1299, 1239. (pág. 81)

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade)]: 6,58 (d; 2,4; =CH), 6,39 (d; 2,4; =CH), 6,29 (t; 3,4; ArH), 3,92 (s; CH_3O), 2,18 (m, CH_2), 1,42 (m, CH_2), 1,25 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,92 (m, CH_3 terminal). (pág. 82)

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 160,0; 152,4; 137,2; 132,7; 122,5; 101,4; 97,8; 56,3; 55,2; 33,1; 31,9; 31,6; 29,5 (cadeia alifática); 22,6; 14,1. (pág. 83)

2-(3,5-Dimetóxi-2-nitro-fenil)-3-tridecil-oxirano (**18**)



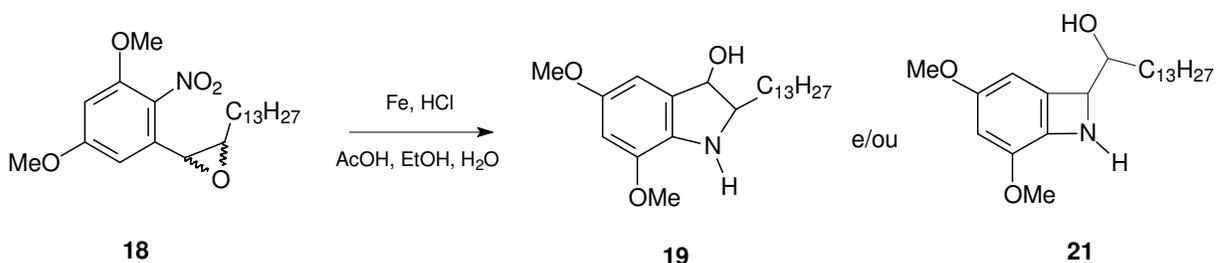
60 mg (0,15 mmol) de 1,5-dimetóxi-2-nitro-3-pentadec-1-enil-benzeno foram inicialmente adicionados a 2 mL de uma mistura de diclorometano/metanol 10% com 3 mL de bicarbonato de sódio. A suspensão foi mantida em banho de gelo. Após cerca de 5 minutos, uma solução de 280 mg (1,62 mmol) de AMCPB previamente dissolvido em pequena quantidade da mistura diclorometano/metanol 10% (10 mL) e resfriada em banho de gelo, foi adicionada ao sistema reacional, que permaneceu nestas condições até o total consumo da matéria-prima, cerca de 35 minutos. Após este tempo, foi adicionada água ao sistema reacional que foi então extraído com acetato de etila (4 x 50 mL). As fases orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de sódio. Depois de concentrado em rotavaporador, uma coluna de sílica foi utilizada para a separação dos componentes da mistura reacional, onde foram obtidas 40 mg de 2-(3,5-dimetóxi-2-nitro-fenil)-3-tridecil-oxirano (**18**, 70%).

IV (filme, ν_{\max} , cm⁻¹): 2955, 2913, 2849, 2364, 1740, 1610, 1597, 1519, 1471. (pág. 84)

RMN ¹H [300 MHz, CDCl₃, δ (multiplicidade, J)]: 6,45 (t; 1,5; ArH), 3,88 (s, CH₃O), 3,84 (s, CH₃O), 3,71 (s, HCO epóxido), 2,92 (m, CH₂CO), 1,25 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,88 (m, CH₃ terminal). (pág. 85)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 162,5; 153,4; 135,3; 100,4; 99,1; 62,9; 56,5; 55,8; 55,1; 32,0; 31,9; 29,5 (cadeia alifática); 25,5; 22,7 ; 14,1. (pág. 86)

Redução do grupo nitro com possível ciclização



60 mg (0,15 mmol) do epóxido 2-(3,5-dimetóxi-2-nitro-fenil)-3-tridecil-oxirano foram adicionados a uma mistura de 0,6 mL de etanol, 0,6 mL de ácido acético, 0,01 mL de HCl concentrado e 0,3 mL de água. Ao sistema foram misturados 0,4g (7,1 mmol) de ferro metálico. O sistema permaneceu sob agitação e refluxo até que toda matéria-prima fosse consumida (acompanhamento por CCD), cerca de 35 min. A mistura reacional foi diluída com água (30 mL) e neutralizada com solução concentrada de bicarbonato de sódio (5 mL). Em seguida, a mistura foi extraída com acetato de etila (4 x 50 mL) e as fases orgânicas reunidas, lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 50 mL) e cloreto de sódio (2 x 50 mL), por fim, secado com sulfato de sódio a concentrada em rotavaporador. Após separação por coluna de sílica, as frações contendo um produto com fator de retenção intermediário em foram reunidas e concentradas para fornecer 15mg de um óleo. A análise espectroscópica do óleo aponta ter havido a redução do grupo nitro com subsequente ciclização, mas não podemos inferir tratar-se de um anel com cinco ou quatro membros.

IV (filme, ν_{\max} , cm^{-1}): 2926, 2855, 2364, 2253, 1716, 1683, 1558, 1541, 1507, 1457 (pág. 87)

RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3 , δ (multiplicidade, J)]: 6,60 (d; 2,5; ArH), 6,5 (d; 2,5; ArH), 6,36 (singleto largo, H-N e/ou H-O), 4,96 (m, H-CO do anel alifático), 3,87 (s, CH_3O), 3,80 (m, CH_3O), 3,77 (s, H-C-O aromático), 1,25 (envelope metilênico da cadeia alifática), 0,87 (m, CH_3 terminal). (pág. 88)

IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Júnior, C. V. ; Bolzani, V. S. ; Furlan, M. ; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. *Quim. Nova*, **2004**, *27*, 655.
2. <http://www.linternaute.com/science/biologie/dossiers/06/0602-cerveau/4bis.shtml/> - acesso em janeiro de 2007.
3. www.biostat.wustl.edu/alzheimer/ - acesso em janeiro de 2007.
4. a) Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137; b) Gooch, M. D.; Stennett, D. J.; *Am. J. health Syst. Pharm.* **1996**, *53*, 1545.
5. Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future*, **1997**, *22*, 397; b) Tabarrini, O.; Cecchetti, V.; Temperini, A.; Filipponi, E.; Lamperti, M. G.; Fravolini, A.; *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2921.
6. Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137.
7. a) Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137; b) Gooch, M. D.; Stennett, D. J.; *Am. J. health Syst. Pharm.* **1996**, *53*, 1545.
8. Greenlee, W.; Clader, J.; Asberom, T.; McCombie, S.; Ford, J.; Guzik, H.; Kozlowski, J.; Li, S.; Liu, C.; Lowe, D.; Vice, S.; Zhao, H.; Zhou, G.; Billard, W.; Binch, H.; Crosby, R.; Duffy, R.; Lachowicz, J.; Coffin, V.; Watkins, R.; Ruperto, V.; Strader, C.; Taylor, L.; Cox, K.; *Il Farmaco* **2001**, *56*, 247.
9. Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137.
10. Maelicke, A.; Albuquerque, E. X.; *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, *393*, 165
11. Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future* **1997**, *22*, 397.
12. http://pt.wikipedia.org/wiki/Caju_ - acesso em 16/01/07
13. a) Gill, M. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, 301; Sontag, B.; Dasenbrock, J.; Arnold, N.; Steglich, W. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1051–1055; b) Kobayashi, S.; Hidaka, S.; Kawamura, Y.; Ozaki, M.; Hayase, Y. *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 323; c) Kobayash, S.; Nakai, H.; Ikenishi, Y.; Sun, W.-Y.; Ozaki, M.; Hayase, Y.; Takeda, R. *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 328; d) Ino, A.; Hasegawa, Y.; Murabayashi, A. *Tetrahedron Lett.* **1998**,

- 39, 3509; e) Erikson, K. L.; Beutler, J. A.; Cardellina, J. H., II; Boyd, M. R. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8188.
14. (Ross D, Moldeus P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In Vigo-Pelfrey C (ed): *Membrane lipid oxidation*. 1th ed. Boca Raton, CRC Press, **1991**;151.
15. Chen, X. B., Gomes, M. J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p.; b) Harrison, R. (). "Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now?". *Free Radical Biology & Medicine* **2002**, *33*, 774 c) Hille R. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2006**, *10*, 1905.
16. Johnson AP, Aucken HM, Cavendish S, Ganner M, Wale MC, Warner M, Livermore DM, Cookson BD *J Antimicrob Chemother* **2001**, *48*, 143.
17. a) Muroi, H.; Kubo, I. *J. Appl. Bacteriol* **1996**, *80*, 387; b) Muroi, H.; Nihei, K.; Tsujimoto, K.; Kubo, I. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2004**, *12*, 583.
18. Hildebrand, D. F.; Hamiltom-Kemp, T. R.; Legg, C. S.; Bookjans, G. *Curr. Top. Plants Biochem. Physiol.*, **1988**, *7*, 201, e Mack, A. J.; Peterman, T. K.; Siedow, J. N. *Current Topics in Biological and Medical Research*, **1987**, *13*, 127.
19. Gardner, H. W. Recent investigations into the lipoxygenase pathway of plants. *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, *1084*, 221.
20. Cornicelli, J. A.; Trivedi, B. K. 15-Lipoxygenase and its inhibition: a novel therapeutic target for vascular disease. *Curr. Pharm. Des.* **1999**, *5*, 11.
21. Grechkin, A. Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway. *Prog. Lipid Res.* **1998**, *37*, 317.
22. Shobha, S. V.; Ramadoss, C. S.; Ravindranath, B. Inhibition of soybean lipoxygenase-1 by anacardic acids, cardols, and cardanols. *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*, 1755 e Kubo, I.; Kinst-Hori, I.; Yokokawa, Y. *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*, 545.
23. Kubo, I.; Ochi, M.; Vieira, P. C.; Komatsu, S. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 553.
24. Kasemura, K.; Nomura, M.; Tada, T.; Fujihara, Y.; Shimomura, K. *J. Oleo Sci.* **2002**, *51*, 637; Kubo, I.; Muroi, H.; Himejima, M.; Yamgiwa, Y.; Mera, H.; Tokuxhima, K.; Ohta, S.; Kamikawa, T. *J. Agric. Food Chem* **1993**, *41*, 1012.
25. Balasubramanyam, K.; Swaminathan, V.; Ranganathan, A.; Kundu, T. K. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 19134.

26. Mwalongo, G. C. J.; Mkyayula, L. L.; Dawson-Andoh, B.; Mubofu, E. B.; Shields, J.; Mwingira, B. A. *Green Chem.* **1999**, 13.
27. Prithiviraj, B.; Manickam, M.; Singh, U. P.; Ray, A. B. *Can. J. Bot.* **1997**, 75, 207.
28. Sullivan, J. T.; Richards, C. S.; Lloyd, H. A.; Krishna, G. *Planta Med.* **1982**, 44, 175.
29. Himejima, M.; Kubo, I. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, 39, 418.
30. Kubo, I.; Ochi, M.; Vieira, P. C.; Komatsu, S. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, 41, 1012.
31. Kubo, I.; Komatsu, S.; Ochi, M. *J. Agric. Food Chem.* **1986**, 34, 970.
32. Birch, A. J.; *Science* **1967**, 156, 202; Staunton, J.; Weissman, K. J.; *Nat. Prod. Rep.* **2001**, 18, 380.
33. Walters, D. S.; Craig, R.; Mumma, R. O.; *Phytochemistry* **1990**, 29, 1815.
34. Walters, D. S.; Craig, R.; Mumma, R. O.; *Phytochemistry* **1990**, 29, 1815.
35. Suzuki, Y., Kurano, M., Esumi, Y., Yamaguchi, Y., Dói, Y. *Bioorg. Chem.* **2003**, 31, 437
36. Seijas, A. J.; Vázquez-Tato, P.M.; Martínez, M. M.; Santiso, V. *Tet. Lett.* **2004**, 45, 1937
37. Tyman J. H. P.; Visani, N. *J. Chem. Res.(S)*, **1997**, 14.
38. Satoh, M.; Takeuchi, N.; Fujita, T.; Yamazaki, K.; Nishimura, T.; Tobinaga, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47, 1115.
39. Kozubec, A., Tyman, J. H. P. *Chem. Phys. Lipids* **1995**, 78, 29.
40. Fürstner, A. e Seidel, G. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 2332.
41. Camps, P., Formosa, X., Torrero, D. M., Petrignet, J. Badia, A., Clos, M. V. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1701.
42. Logrado, L. P. L.; Utilização de matérias-primas abundantes no país na preparação de compostos de interesse biológico. Síntese e avaliação farmacológica de novas lactonas de 5 e 12 membros planejadas a partir dos lipídeos fenólicos não-isoprenóides de *Anacardium occidentale*. **2004**. Tese de Mestrado. Instituto de Química, Universidade de Brasília, 2004.

43. Mark W.; Sherry A. D.; *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 4401.
44. Theodorou, V., Ragoussis, V., Strongilos, A., Zelepos, E., Eleftheriou, A., Dimitriou, M., *Tetrahedron Letters*, **2005**, *46*, 1357-1360.
45. Logrado, L. P. M.; Utilização de matérias-primas abundantes no país na preparação de compostos de interesse biológico. Síntese e avaliação farmacológica de 5 e 12 membros planejadas a partir de lipídeos fenólicos não-isoprenóides de *Anacardium occidentale*. **2004**. Tese de mestrado – Instituto de Química, Universidade de Brasília, 1997.
46. Logrado, L. P. M.; Utilização de matérias-primas abundantes no país na preparação de compostos de interesse biológico. Síntese e avaliação farmacológica de 5 e 12 membros planejadas a partir de lipídeos fenólicos não-isoprenóides de *Anacardium occidentale*. **2004**. Tese de mestrado – Instituto de Química, Universidade de Brasília, 1997

ANEXOS

