UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

MAURO VICENTINI CORREIA

**Citotoxicidade e atividade herbicida de análogos
sintéticos de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas de espécies
de *Peperomia***

Tese de Doutorado

Versão corrigida da Tese defendida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
28/01/2015

MAURO VICENTINI CORREIA

**Citotoxicidade e atividade herbicida de análogos
sintéticos de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas de espécies
de *Peperomia***

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade
de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em
Química

Orientador: Prof. Dr. Massuo Jorge Kato

São Paulo
2015

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Correia, Mauro Vicentini
C824c Citotoxicidade e atividade herbicida de análogos sintéticos de
2-acil-cicloexano-1,3-dionas de espécies de *Peperomia* / Mauro
Vicentini Correia. -- São Paulo, 2015.
218p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade de
São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Kato, Massuo Jorge

1. Produtos naturais 2. Quimiometria 3. Química farmacêutica
4. Herbicidas I. T. II. Kato, Massuo Jorge, orientador.

547.7 CDD

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

**“Citotoxicidade e atividade herbicida de análogos sintéticos de
2-acil-cicloexano-1,3-dionas de espécies de *Peperomia*”**

MAURO VICENTINI CORREIA

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo
como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências – Programa:
Química.

Aprovado (a) por:

Prof. Dr. Massuo Jorge Kato
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. Cláudio Di Vitta
IQ - USP

Prof. Dr. Marcelo José Pena Ferreira
IB - USP

Prof. Dr. Gustavo Henrique Goulart Trossini
FCF - USP

Prof. Dr. João Henrique Ghilardi Lago
UNIFESP

SÃO PAULO
23 de março de 2015

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Silmara Vicentini pelo suporte e apoio em todos os momentos da minha vida, sem os quais esse trabalho não seria possível.

À minha namorada, Diana Rêgo Amazonas, pelo apoio e todo auxílio na realização desse trabalho.

Ao Grande Amigo Braz Gerônimo de Queiroz (in memoriam) pelos preciosos conselhos na minha primeira juventude.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo e ao Instituto de Química, por disponibilizar toda a estrutura necessária para a realização do projeto.

À CAPES, CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro, sem os quais esse projeto de Doutorado não teria sido possível.

Ao Professor Massuo Jorge Kato, por me aceitar em seu grupo e pela orientação.

Ao Gilberto Carlos Franchi Junior (CIPOI) pela realização dos ensaios de citotoxicidade.

Ao Professor Franck E. Dayan (USDA) e seus alunos, pela realização dos ensaios de inibição da enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase.

Ao professor Christopher S. Jeffrey pela orientação, durante o estágio na University of Nevada (Reno).

Aos amigos de laboratório: Anderson, Augusto, Celso, Diana, Eduardo, Elizabeth, Erica, Gerardo, Harold, Joca, Lucas, Lydia, Marcilio, Mário, Nayara, Nidia, Renan e Wilman pelos bons momentos no laboratório e pela grande contribuição nesta tese.

Aos funcionários da SPG do IQ-USP: Cibele, Milton, Emiliano e Marcelo pela atenção e auxílio.

Ao Professor Alcindo Aparecido dos Santos, seus alunos e técnicos por todo o auxílio na realização desse projeto e também pelos momentos de descontração.

Ao Professor Claudio Di Vita e seu aluno Andreas por todo o auxílio na realização desse projeto e também pelos momentos de descontração.

Aos funcionários da Central Analítica do IQ-USP pela realização de muitos dos experimentos presente nessa tese.

Aos professores da USP, principalmente aqueles com que tive contato na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Instituto de Química e Instituto de Ciências Biomédicas, por compartilhar comigo sua ciência.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Paga-se mal a um mestre enquanto se permanece discípulo”.

Carl Gustav Jung

RESUMO

Vicentini, M.V. **Citotoxicidade e atividade herbicida de análogos sintéticos de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas de espécies de *Peperomia***. 2015. 2016p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

As 2-acil-cicloexano-1,3-dionas naturais são de ocorrência bastante restrita, sendo relatadas somente em dois gêneros de plantas (*Peperomia*, *Philodendron* e *Virola*) e em insetos das ordens *Lepidoptera* e *Hymenoptera*, tendo sido detectadas atividades citotóxica e cairomonal. Foram sintetizados 77 policetídeos da classe das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas (36 inéditos) que foram ensaiados quanto à atividade citotóxica em três linhagens de células leucêmicas (K562, Nalm6 e Raji) e também como inibidores da enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase (HPPD), importante alvo para a atividade herbicida. Por meio da análise de relação entre a estrutura e atividade (REA), foi possível determinar os principais requisitos estruturais para as atividades estudadas. A previsão das atividades citotóxicas e de inibição da enzima HPPD das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas sintetizadas, foram baseadas em duas metodologias estatísticas (Regressão linear Múltipla (MLR) e Análise Discriminante utilizando mínimos quadrados parciais (PLS-DA)) que foram utilizadas para a construção de modelos quantitativos e qualitativos de previsão. No modelo de regressão linear múltipla (MLR) obteve-se modelos quantitativos que explicam acima de 80% das variâncias das atividades estudadas, com taxas de acertos superiores a 85% na validação externa. Em relação aos modelos de classificação obtidos através do método PLS-DA, foi possível classificar as substâncias como ativas ou inativas, com taxas de acertos superiores a 80% em todos os modelos criados. As características mais importantes para a atividade de inibição da enzima HPPD foi o tamanho da cadeia lateral e a presença do grupo enólico (**4a**, **5a**, **5d** e **5e**). Para a atividade citotóxica, na série alifática, a cadeia lateral com 9-11 carbonos (**4e**, **5a** e **6a**) apresentou melhores índices de inibição e na série aromática as substâncias com a presença de uma insaturação (**8a**, **11c** e **14a**) e grupos retiradores no anel aromático (**16a**, **17c** e **19a**) foram ativas.

Palavras-chave: *Peperomia*, 2-acil-cicloexano-1,3-dionas, citotoxicidade, herbicida.

ABSTRACT

Vicentini, M.V. **Cytotoxicity and herbicidal activity of 2-acyl-cyclohexane-1,3-diones synthetic analogues from *Peperomia* species.** 2015. 2016p. PhD Thesis - Graduate Program in Chemistry Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The natural 2-acyl-cyclohexane-1,3-diones have quite restricted occurrence, being reported from only two plant genera (*Peperomia*, *Philodendron* and *Virola*) and from two insects orders, Lepidoptera and Hymenoptera, in which cytotoxic and kairomonal activities were reported. The 77 polyketides of 2-acyl-cyclohexane-1,3-diones type synthesized (36 novel) were tested for cytotoxic activity against three leukemia cells lines (K562, Nalm6 and Raji), and as inhibitors of 4-hydroxyphenyl pyruvate dioxygenase (HPPD) enzyme, an important target for herbicidal activity. The analysis of structure and activity relationship (SAR) revealed the main structural requirements for the activities studied to predict the cytotoxic activity and inhibition of HPPD enzyme of 2-acyl-cyclohexane-1,3-diones. Two statistical methods (Linear Multiple Regression (MLR) and Discriminant Analysis using partial least squares (PLS-DA)) were used for the construction of quantitative and qualitative prediction models. In the multiple linear regression model (MLR), quantitative models explained more than 80% of the variance of the activity, with hit rates higher than 85% in the external validation. In the classification models obtained from the PLS-DA method, the compounds were divided as active or inactive, with hit rates above 80% in all the models generated. The most important characteristics for the inhibition of the activity of the enzyme HPPD were the size of the side chain and the presence of the enolic group (**4a**, **5a**, **5d** e **5e**). For the cytotoxic activity in the aliphatic series, the side chain with 9-11 carbons (**4e**, **5a** e **6a**) showed higher inhibition indices, while for aromatic series conjugation with a double bond (**8a**, **11c** e **14a**) and withdrawing groups in the aromatic ring (**16a**, **17c** e **19a**) presented higher activity.

Keywords: *Peperomia*, 2-acylcyclohexane-1,3-diones, cytotoxicity, herbicidal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas da morfina (1), ácido acetilsalicílico (2), salicina (3), digitoxina (4) e quinina (5)	20
Figura 2. Origem das entidades químicas, classificadas como moléculas pequenas, aprovadas como fármacos no período de 1981-2010	21
Figura 3. Modelo hierárquico simplificado da hematopoese.....	23
Figura 4. Principais substâncias utilizadas no tratamento das leucemias.	24
Figure 5. Exemplos de herbicidas comerciais.	28
Figura 6. Exemplos de metabólitos secundários isolados de espécies de <i>Peperomia</i> e suas atividades biológicas	29
Figura 7. Exemplos de policetídeos utilizados como fármacos, isolados de microrganismos, e suas atividades biológicas	31
Figura 8. Estrutura básica das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas.	32
Figura 9. Estrutura da leptospermona isolada de <i>Callistemon citrinus</i>	37
Figura 10. Estrutura das principais 2-acil-cicloexano-1,3-dionas utilizadas comercialmente como herbicidas na cultura do milho. O sulcotrione, nome comercial mikado®, e o mesotrione, nome comercial callisto®, foram ambos desenvolvido pela Syngenta e lançados respectivamente em 1993 e 2001; o tembotrione, nome comercial laudis® OD, foi desenvolvido na Bayer e lançado em 2009	38
Figura 11. Substância isolada de <i>Peperomia trineura</i> e utilizada como protótipo para o planejamento da série de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas	41
Figura 12. Placa de 96 poços, ilustrativa do ensaio de MTT para determinação do IC ₅₀ das 2-acil-1,3-cicloexano-1,3-dionas	45
Figura 13. RMN ¹ H da substância 1a , destaque para o sinal δ 18,12 ppm do hidrogênio quelatado.	52
Figura 14. Espectro de massas de alta resolução (EMAR) da substância 1a	53
Figura 15. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância 1a	53
Figura 16. Proposta de fragmentação no espectro de massas (EMBR) para a substância 1a	53
Figura 17. RMN ¹ H da substância 14d , destaque para o sinal δ 18,09 ppm e dos dois tripletos entre δ 2,8-3,5ppm.	54
Figura 18. RMN ¹ H da substância 14c , destaque para o sinal δ 18,54 ppm e dos dois dupletos entre δ 7,5-8,5 ppm.	55
Figura 19. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância 14c	55
Figura 20. Espectro de massas de baixa resolução (EMBR) da substância 14c	56
Figura 21. Proposta de fragmentação no espectro de massas (EM) para a substância 14c	56
Figura 22. RMN ¹ H da substância 1d , destaque para o duplo duplete em aproximadamente δ 4 ppm.	61
Figura 23. Espectro de massas de alta resolução (EMAR) da substância 1d	61
Figura 24. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância 1d	62
Figura 25. Proposta de fragmentação no espectro de massas (EMBR) para a substância 1d	62
Figura 26. RMN ¹ H da substância 1e , destaque para a ausência do sinal na região δ 18 ppm.	63
Figura 27. Espectro de massas de alta resolução (EMAR) da substância 1f	63
Figura 28. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância 1f	64
Figura 29. Proposta de fragmentação no espectro de massas (EMBR) para a substância 1f	64
Figura 30. Relação entre a estrutura química e a atividade biológica para as linhagens K562, Nalm6 e Raji. Os requisitos estruturais particulares para cada linhagem estão destacados em negrito.	68
Figura 31. Representação do grafo molecular do 2-metil-butano e suas matrizes de distância e adjacência	72
Figura 32. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC ₅₀) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células K562, pela Equação 4.	75
Figura 33. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC ₅₀) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células K562, obtidos da Equação 4	76
Figura 34. Gráfico de distribuição das amostras (treino: círculos, teste: asteriscos) em relação à resposta calculada para as substâncias ativas, utilizando-se o grupo de descritores “2D matrix-based”, para a linhagem k562.	80
Figura 35. Coeficientes das variáveis calculadas para as substâncias ativas, e variáveis utilizadas na construção do modelo de classificação ativo/inativo para a linhagem K562, utilizando-se os descritores 2D matrix-based.....	80

Figura 36. Gráfico dos valores da atividade experimental (plC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células Nalm6, obtidos da Equação 6.....	82
Figura 37. Gráfico dos valores da atividade experimental (plC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade predita para a série de treino contra as células Nalm6, obtidos da Equação 6.	83
Figure 38. Gráfico dos valores da atividade experimental (plC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células Nalm6, obtidos da Equação 7.	84
Figura 39. Gráfico dos valores da atividade experimental (plC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade predita para a série de treino contra as células Nalm6, obtidos da Equação 7.	84
Figura 40. Gráfico de distribuição das amostras (treino: círculos, teste: asteriscos) em relação à resposta calculada para as substâncias ativas, utilizando-se o grupo de descritores GETAWAY, para a linhagem Nalm6.....	90
Figura 41. Coeficientes das variáveis calculadas para as substâncias ativas, e variáveis utilizadas na construção do modelo de classificação ativo/inativo para a linhagem Nalm6, utilizando-se os descritores GETAWAY.....	90
Figura 42. Gráfico dos valores da atividade experimental (plC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células Raji, obtidos da Equação 9.....	92
Figura 43. Gráfico dos valores da atividade experimental (plC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade predita para a série de treino contra as células Raji, obtidos da Equação 9.	93
Figura 44. Gráfico de distribuição das amostras (treino: círculos, teste: asteriscos) em relação à resposta calculada para as substâncias ativas, utilizando-se o grupo de descritores <i>GETAWAY</i> , para a linhagem Raji.....	96
Figura 45. Coeficientes das variáveis calculadas para as substâncias ativas, e variáveis utilizadas na construção do modelo de classificação ativo/inativo para a linhagem Raji, utilizando-se os descritores <i>GETAWAY</i>	96
Figura 46. Relação entre a estrutura química e a atividade biológica para a inibição da enzima HPPD. ..	98
Figura 47. Gráfico dos valores da atividade experimental (plC_{50}) versus os valores da atividade calculada para a série de treino para a inibição da enzima HPPD, obtidos da Equação 11.	99
Figura 48. Gráfico dos valores da atividade experimental (plC_{50}) versus os valores da atividade predita para a série de treino para a enzima HPPD, obtidos da Equação 11.	100
Figura 49. Gráfico de distribuição das amostras (treino: círculos, teste: asteriscos) em relação à resposta calculada para as substâncias ativas, utilizando-se o grupo de descritores 2D de auto correlação, para a atividade de inibição da enzima HPPD.	102
Figura 50. Coeficientes das variáveis calculadas para as substâncias ativas, e variáveis utilizadas na construção do modelo de classificação ativo/inativo para a atividade de inibição da enzima HPPD, utilizando descritores 2D de auto correlação.	102
Figura 51. Espectro de RMN 1H da substância 1a ($CDCl_3$, 500 MHz).....	141
Figura 52. Espectro de RMN ^{13}C da substância 1a ($CDCl_3$, 125 MHz).	141
Figura 53. Espectro de RMN 1H da substância 1b ($CDCl_3$, 300 MHz).	142
Figura 54. Espectro de RMN ^{13}C da substância 1b ($CDCl_3$, 75 MHz).	142
Figura 55. Espectro de RMN 1H da substância 1c ($CDCl_3$, 500 MHz).....	143
Figura 56. Espectro de RMN ^{13}C da substância 1c ($CDCl_3$, 125 MHz).	143
Figura 57. Espectro de RMN 1H da substância 1d ($CDCl_3$, 500 MHz).	144
Figura 58. Espectro de RMN ^{13}C da substância 1d ($CDCl_3$, 125 MHz).	144
Figura 59. Espectro de RMN 1H da substância 1e ($CDCl_3$, 300 MHz).....	145
Figura 60. Espectro de RMN ^{13}C da substância 1e ($CDCl_3$, 75 MHz).....	145
Figura 61. Espectro de RMN 1H da substância 1f ($CDCl_3$, 300 MHz).....	146
Figura 62. Espectro de RMN ^{13}C da substância 1f ($CDCl_3$, 75 MHz).....	146
Figura 63. Espectro de RMN 1H da substância 1g ($CDCl_3$, 300 MHz).	147
Figura 64. Espectro de RMN ^{13}C da substância 1g ($CDCl_3$, 75 MHz).	147

Figura 65. Espectro de RMN ^1H da substância 1h (CDCl_3 , 300 MHz).	148
Figura 66. Espectro de RMN ^{13}C da substância 1h (CDCl_3 , 75 MHz).	148
Figura 67. Espectro de RMN ^1H da substância 2a (CDCl_3 , 300 MHz).	149
Figura 68. Espectro de RMN ^{13}C da substância 2a (CDCl_3 , 75 MHz).	149
Figura 69. Espectro de RMN ^1H da substância 2b (CDCl_3 , 300 MHz).	150
Figura 70. Espectro de RMN ^{13}C da substância 2b (CDCl_3 , 75 MHz).	150
Figura 71. Espectro de RMN ^1H da substância 3a (CDCl_3 , 300 MHz).	151
Figura 72. Espectro de RMN ^{13}C da substância 3a (CDCl_3 , 75 MHz).	151
Figura 73. Espectro de RMN ^1H da substância 3b (CDCl_3 , 300 MHz).	152
Figura 74. Espectro de RMN ^{13}C da substância 3b (CDCl_3 , 75 MHz).	152
Figura 75. Espectro de RMN ^1H da substância 3c (CDCl_3 , 300 MHz).	153
Figura 76. Espectro de RMN ^{13}C da substância 3c (CDCl_3 , 75 MHz).	153
Figura 77. Espectro de RMN ^1H da substância 3d (CDCl_3 , 300 MHz).	154
Figura 78. Espectro de RMN ^{13}C da substância 3d (CDCl_3 , 75 MHz).	154
Figura 79. Espectro de RMN ^1H da substância 3e (CDCl_3 , 300 MHz).	155
Figura 80. Espectro de RMN ^{13}C da substância 3e (CDCl_3 , 75 MHz).	155
Figura 81. Espectro de RMN ^1H da substância 4a (CDCl_3 , 300 MHz).	156
Figura 82. Espectro de RMN ^{13}C da substância 4a (CDCl_3 , 75 MHz).	156
Figura 83. Espectro de RMN ^1H da substância 4b (CDCl_3 , 300 MHz).	157
Figura 84. Espectro de RMN ^{13}C da substância 4b (CDCl_3 , 75 MHz).	157
Figura 85. Espectro de RMN ^1H da substância 4c (CDCl_3 , 300 MHz).	158
Figura 86. Espectro de RMN ^{13}C da substância 4c (CDCl_3 , 75 MHz).	158
Figura 87. Espectro de RMN ^1H da substância 4d (CDCl_3 , 300 MHz).	159
Figura 88. Espectro de RMN ^{13}C da substância 4d (CDCl_3 , 75 MHz).	159
Figura 89. Espectro de RMN ^1H da substância 4e (CDCl_3 , 300 MHz).	160
Figura 90. Espectro de RMN ^{13}C da substância 4e (CDCl_3 , 75 MHz).	160
Figura 91. Espectro de RMN ^1H da substância 5a (CDCl_3 , 300 MHz).	161
Figura 92. Espectro de RMN ^{13}C da substância 5a (CDCl_3 , 75 MHz).	161
Figura 93. Espectro de RMN ^1H da substância 5b (CDCl_3 , 300 MHz).	162
Figura 94. Espectro de RMN ^{13}C da substância 5b (CDCl_3 , 75 MHz).	162
Figura 95. Espectro de RMN ^1H da substância 5c (CDCl_3 , 300 MHz).	163
Figura 96. Espectro de RMN ^{13}C da substância 5c (CDCl_3 , 75 MHz).	163
Figura 97. Espectro de RMN ^1H da substância 5d (CDCl_3 , 300 MHz).	164
Figura 98. Espectro de RMN ^{13}C da substância 5d (CDCl_3 , 75 MHz).	164
Figura 99. Espectro de RMN ^1H da substância 5e (CDCl_3 , 300 MHz).	165
Figura100. Espectro de RMN ^{13}C da substância 5e (CDCl_3 , 75 MHz).	165

Figura 101. Espectro de RMN ^1H da substância 5f (CDCl_3 , 300 MHz).....	166
Figura 102. Espectro de RMN ^{13}C da substância 5f (CDCl_3 , 75 MHz).....	166
Figura 103. Espectro de RMN ^1H da substância 5g (CDCl_3 , 300 MHz).....	167
Figura 104. Espectro de RMN ^{13}C da substância 5g (CDCl_3 , 75 MHz).....	167
Figura 105. Espectro de RMN ^1H da substância 6a (CDCl_3 , 300 MHz).....	168
Figura 106. Espectro de RMN ^{13}C da substância 6a (CDCl_3 , 75 MHz).....	168
Figura 107. Espectro de RMN ^1H da substância 6b (CDCl_3 , 300 MHz).....	169
Figura 108. Espectro de RMN ^{13}C da substância 6b (CDCl_3 , 75 MHz).....	169
Figura 109. Espectro de RMN ^1H da substância 7a (CDCl_3 , 300 MHz).....	170
Figura 110. Espectro de RMN ^{13}C da substância 7a (CDCl_3 , 75 MHz).....	170
Figura 111. Espectro de RMN ^1H da substância 7b (CDCl_3 , 300 MHz).....	171
Figura 112. Espectro de RMN ^{13}C da substância 7b (CDCl_3 , 75 MHz).....	171
Figura 113. Espectro de RMN ^1H da substância 8a (CDCl_3 , 300 MHz).....	172
Figura 114. Espectro de RMN ^{13}C da substância 8a (CDCl_3 , 75 MHz).....	172
Figura 115. Espectro de RMN ^1H da substância 8b (CDCl_3 , 300 MHz).....	173
Figura 116. Espectro de RMN ^{13}C da substância 8b (CDCl_3 , 75 MHz).....	173
Figura 117. Espectro de RMN ^1H da substância 8c (CDCl_3 , 300 MHz).....	174
Figura 118. Espectro de RMN ^{13}C da substância 8c (CDCl_3 , 75 MHz).....	174
Figura 119. Espectro de RMN ^1H da substância 8d (CDCl_3 , 300 MHz).....	175
Figura 120. Espectro de RMN ^{13}C da substância 8d (CDCl_3 , 75 MHz).....	175
Figura 121. Espectro de RMN ^1H da substância 8e (CDCl_3 , 300 MHz).....	176
Figura 122. Espectro de RMN ^{13}C da substância 8e (CDCl_3 , 75 MHz).....	176
Figura 123. Espectro de RMN ^1H da substância 9a (CDCl_3 , 300 MHz).....	177
Figura 124. Espectro de RMN ^{13}C da substância 9a (CDCl_3 , 75 MHz).....	177
Figura 125. Espectro de RMN ^1H da substância 9b (CDCl_3 , 500 MHz).....	178
Figura 126. Espectro de RMN ^{13}C da substância 9b (CDCl_3 , 75 MHz).....	178
Figura 127. Espectro de RMN ^1H da substância 9c (CDCl_3 , 300 MHz).....	179
Figura 128. Espectro de RMN ^{13}C da substância 9c (CDCl_3 , 75 MHz).....	179
Figura 129. Espectro de RMN ^1H da substância 9d (CDCl_3 , 300 MHz).....	180
Figura 130. Espectro de RMN ^{13}C da substância 9d (CDCl_3 , 75 MHz).....	180
Figura 131. Espectro de RMN ^1H da substância 10a (CDCl_3 , 300 MHz).....	181
Figura 132. Espectro de RMN ^{13}C da substância 10a (CDCl_3 , 75 MHz).....	181
Figura 133. Espectro de RMN ^1H da substância 10b (CDCl_3 , 300 MHz).....	182
Figura 134. Espectro de RMN ^{13}C da substância 10b (CDCl_3 , 75 MHz).....	182
Figura 135. Espectro de RMN ^1H da substância 10c (CDCl_3 , 300 MHz).....	183
Figura 136. Espectro de RMN ^{13}C da substância 10c (CDCl_3 , 75 MHz).....	183

Figura 137. Espectro de RMN ^1H da substância 10d (CDCl_3 , 300 MHz).	184
Figura 138. Espectro de RMN ^{13}C da substância 10d (CDCl_3 , 75 MHz).	184
Figura 139. Espectro de RMN ^1H da substância 11a (CDCl_3 , 300 MHz).	185
Figura 140. Espectro de RMN ^{13}C da substância 11a (CDCl_3 , 75 MHz).	185
Figura 141. Espectro de RMN ^1H da substância 11b (CDCl_3 , 300 MHz).	186
Figura 142. Espectro de RMN ^{13}C da substância 11b (CDCl_3 , 75 MHz).	186
Figura 143. Espectro de RMN ^1H da substância 11c (CDCl_3 , 300 MHz).	187
Figura 144. Espectro de RMN ^{13}C da substância 11c (CDCl_3 , 75 MHz).	187
Figura 145. Espectro de RMN ^1H da substância 11d (CDCl_3 , 300 MHz).	188
Figura 146. Espectro de RMN ^{13}C da substância 11d (CDCl_3 , 75 MHz).	188
Figura 147. Espectro de RMN ^1H da substância 11e (CDCl_3 , 300 MHz).	189
Figura 148. Espectro de RMN ^{13}C da substância 11e (CDCl_3 , 75 MHz).	189
Figura 149. Espectro de RMN ^1H da substância 12a (CDCl_3 , 300 MHz).	190
Figura 150. Espectro de RMN ^{13}C da substância 12a (CDCl_3 , 75 MHz).	190
Figura 151. Espectro de RMN ^1H da substância 12b (CDCl_3 , 300 MHz).	191
Figura 152. Espectro de RMN ^{13}C da substância 12b (CDCl_3 , 75 MHz).	191
Figura 153. Espectro de RMN ^1H da substância 12c (CDCl_3 , 300 MHz).	192
Figura 154. Espectro de RMN ^{13}C da substância 12c (CDCl_3 , 75 MHz).	192
Figura 155. Espectro de RMN ^1H da substância 12d (CDCl_3 , 300 MHz).	193
Figura 156. Espectro de RMN ^{13}C da substância 12d (CDCl_3 , 75 MHz).	193
Figura 157. Espectro de RMN ^1H da substância 13a (CDCl_3 , 300 MHz).	194
Figura 158. Espectro de RMN ^{13}C da substância 13a (CDCl_3 , 75 MHz).	194
Figura 159. Espectro de RMN ^1H da substância 13b (CDCl_3 , 300 MHz).	195
Figura 160. Espectro de RMN ^{13}C da substância 13b (CDCl_3 , 75 MHz).	195
Figura 161. Espectro de RMN ^1H da substância 13c (CDCl_3 , 300 MHz).	196
Figura 162. Espectro de RMN ^{13}C da substância 13c (CDCl_3 , 75 MHz).	196
Figura 163. Espectro de RMN ^1H da substância 13d (CDCl_3 , 300 MHz).	197
Figura 164. Espectro de RMN ^{13}C da substância 13d (CDCl_3 , 75 MHz).	197
Figura 165. Espectro de RMN ^1H da substância 14a (CDCl_3 , 300 MHz).	198
Figura 166. Espectro de RMN ^{13}C da substância 14a (CDCl_3 , 75 MHz).	198
Figura 167. Espectro de RMN ^1H da substância 14b (CDCl_3 , 300 MHz).	199
Figura 168. Espectro de RMN ^{13}C da substância 14b (CDCl_3 , 75 MHz).	199
Figura 169. Espectro de RMN ^1H da substância 14c (CDCl_3 , 300 MHz).	200
Figura 170. Espectro de RMN ^{13}C da substância 14c (CDCl_3 , 75 MHz).	200
Figura 171. Espectro de RMN ^1H da substância 14d (CDCl_3 , 500 MHz).	201
Figura 172. Espectro de RMN ^{13}C da substância 14d (CDCl_3 , 75 MHz).	201

Figura 173. Espectro de RMN ^1H da substância 15a (CDCl_3 , 300 MHz).....	202
Figura 174. Espectro de RMN ^{13}C da substância 15a (CDCl_3 , 75 MHz).....	202
Figura 175. Espectro de RMN ^1H da substância 15b (CDCl_3 , 300 MHz).	203
Figura 176. Espectro de RMN ^{13}C da substância 15b (CDCl_3 , 75 MHz).	203
Figura 177. Espectro de RMN ^1H da substância 15c (CDCl_3 , 300 MHz).....	204
Figura 178. Espectro de RMN ^{13}C da substância 15c (CDCl_3 , 75 MHz).....	204
Figura 179. Espectro de RMN ^1H da substância 15d (CDCl_3 , 300 MHz).	205
Figura 180. Espectro de RMN ^{13}C da substância 15d (CDCl_3 , 75 MHz).	205
Figura 181. Espectro de RMN ^1H da substância 16a (CDCl_3 , 300 MHz).....	206
Figura 182. Espectro de RMN ^{13}C da substância 16a (CDCl_3 , 75 MHz).....	206
Figura 183. Espectro de RMN ^1H da substância 16b (CDCl_3 , 300 MHz).	207
Figura 184. Espectro de RMN ^{13}C da substância 16b (CDCl_3 , 75 MHz).	207
Figura 185. Espectro de RMN ^1H da substância 16c (CDCl_3 , 300 MHz).....	208
Figura 186. Espectro de RMN ^{13}C da substância 16c (CDCl_3 , 75 MHz).....	208
Figura 187. Espectro de RMN ^1H da substância 16d (CDCl_3 , 300 MHz).	209
Figura 188. Espectro de RMN ^{13}C da substância 16d (CDCl_3 , 75 MHz).	209
Figura 189. Espectro de RMN ^1H da substância 17a (CDCl_3 , 300 MHz).....	210
Figura 190. Espectro de RMN ^{13}C da substância 17a (CDCl_3 , 75 MHz).....	210
Figura 191. Espectro de RMN ^1H da substância 17b (CDCl_3 , 300 MHz).	211
Figura 192. Espectro de RMN ^{13}C da substância 17b (CDCl_3 , 75 MHz).	211
Figura 193. Espectro de RMN ^1H da substância 17c (CDCl_3 , 300 MHz).....	212
Figura 194. Espectro de RMN ^{13}C da substância 17c (CDCl_3 , 75 MHz).....	212
Figura 195. Espectro de RMN ^1H da substância 18a (CDCl_3 , 300 MHz).....	213
Figura 196. Espectro de RMN ^{13}C da substância 18a (CDCl_3 , 75 MHz).....	213
Figura 197. Espectro de RMN ^1H da substância 18b (CDCl_3 , 300 MHz).	214
Figura 198. Espectro de RMN ^{13}C da substância 18b (CDCl_3 , 75 MHz).	214
Figura 199. Espectro de RMN ^1H da substância 19a (CDCl_3 , 300 MHz).....	215
Figura 200. Espectro de RMN ^{13}C da substância 19a (CDCl_3 , 75 MHz).....	215
Figura 201. Espectro de RMN ^1H da substância 19b (CDCl_3 , 300 MHz).	216
Figura 202. Espectro de RMN ^{13}C da substância 19b (CDCl_3 , 75 MHz).	216

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais substâncias utilizadas no tratamento das leucemias com seus nomes comerciais, mecanismo de ação e para qual tipo de leucemia é indicada	24
Tabela 2. Classificação, modos de ação, via ou processo alvo dos herbicidas comerciais e exemplos.	26
Tabela 3. Ocorrência de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas em espécies de <i>Peperomia</i> , <i>Virola</i> e espécies de insetos.....	32
Tabela 4. Grupos de descritores calculados pelo programa DRAGON (versão 6.0) e quantidade e grupos de descritores calculados para as 2-acil-cicloexano-1,3-dionas	48
Tabela 5. Derivados do ácido cinâmico preparados.	51
Tabela 6. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas sintetizadas.	57
Tabela 7. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas sintetizadas – continuação.	58
Tabela 8. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas sintetizadas	59
Tabela 9. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas sintetizadas – continuação.	60
Tabela 10. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas obtidas através da hidrogenação catalítica de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas.	64
Tabela 11. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas sintetizadas por condensação aldólica.	65
Tabela 12. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas e derivados isoxozalinos sintetizados.	66
Tabela 13. Valores de IC_{50} (μM) dos policetídeos testados contra as linhagens celulares K562, Nalm6 e Raji, com os respectivos desvios padrão (D.P.) para triplicatas.	69
Tabela 14. Valores de IC_{50} (μM) dos policetídeos testados contra as linhagens celulares K562, Nalm6 e Raji, com os respectivos desvios padrão (D.P.) para triplicatas (continuação).	70
Tabela 15. Valores experimentais de citotoxicidade, valores calculados pela Equação 4 e os respectivos erros da série de treino contra as células da linhagem K562.	75
Tabela 16. Valores experimentais de citotoxicidade, valores preditos pela Equação 4 e os respectivos erros da série de teste contra as células da linhagem K562.	76
Tabela 17. Grupos de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação à atividade citotóxica contra a linhagem K562.....	79
Tabela 18. Valores experimentais de citotoxicidade, valores calculados pela Equação 6 e os respectivos erros calculados da série de teste contra as células da linhagem Nalm6.....	82
Tabela 19. Valores experimentais de citotoxicidade, valores preditos pela Equação 6 e os respectivos erros da série de teste contra as células da linhagem Nalm6.....	83
Tabela 20. Valores experimentais de citotoxicidade, valores calculados pela Equação 7 e os respectivos erros calculados da série de teste contra as células da linhagem Nalm6.	85
Tabela 21. Valores experimentais de citotoxicidade, valores preditos pela Equação 7 e os respectivos erros da série de teste contra as células da linhagem Nalm6.....	86
Tabela 22. Grupo de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação à atividade citotóxica contra a linhagem Nalm6.....	88
Tabela 23. Grupo de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação à atividade citotóxica contra a linhagem Nalm6. (continuação)	89
Tabela 24. Valores experimentais de citotoxicidade, valores calculados pela Equação 9 e os respectivos erros calculados da série de teste contra as células da linhagem Raji	92
Tabela 25. Valores experimentais de citotoxicidade, valores preditos pela Equação 9 e os respectivos erros da série de teste contra as células da linhagem Raji.	93
Tabela 26. Grupo de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação à atividade citotóxica contra a linhagem K562.....	95
Tabela 27. Valores de IC_{50} (μM) de inibição da HPPD com os respectivos desvios padrão (D.P.) para triplicatas.	97
Tabela 28. Valores experimentais, valores calculados pela Equação 11 e os respectivos erros calculados da série de teste para a inibição da enzima HPPD.....	99
Tabela 29. Valores experimentais, valores preditos pela Equação 11 e os respectivos erros da série de teste para a inibição da enzima HPPD.	100
Tabela 30. Grupo de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação a atividade inibição da enzima HPPD.	101

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,4-D	ácido diclorofenoxiácetico
3D-MoRSE	<i>molecule representation of structure based on electron diffraction</i>
AM1	<i>austin model 1</i>
C/Pd	paládio com carvão ativado
CATS-2D	<i>chemically advance template search 2D</i>
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
d	duplete
D.P.	desvio padrão
DCC	<i>N',N'</i> -diciclohexilcarbodiimida
DCM	diclorometano
dd	duplo duplete
ddd	duplo duplo duplete
EMAR	Espectrometria de massas de alta resolução
EMBR	Espectrometria de massas por impacto de elétrons de baixa resolução
Eq	equivalente
Et ₃ N	Trietilamina
GETAWAY	<i>geometric topology and atom weights assembly</i>
HCl	ácido clorídrico
HPPD	4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase
HRAC	<i>herbicide resistance action committee</i>
Hz	Hertz
IC ₅₀	50% da concentração inibidora
Int rel.	intensidade relativa
IV	infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento em Hz
LFC	leucemia linfóide crônica
LLA	leucemia linfóide aguda
LMA	leucemia mieloide aguda
LMC	leucemia mieloide crônica
m	múltiplo
m/z	razão entre a massa do fragmento e sua carga elétrica em Da
MeOH	metanol
MLR	regressão linear múltipla
MMFF	<i>merck molecular force field</i>
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NEQ	nova entidade química
PBS	tampão fosfato-salino
PhI(OAc) ₂	(diacetóxi)iodobenzeno
PLSDA	Análise discriminante utilizando quadrados mínimos parciais
q	quarteto
quint	quinteto

RDF	<i>radial distribution function</i>
RMN ¹³ C	ressonância magnética nuclear de carbono treze
RMN ¹ H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	simpleto
sext	sexteto
t	triplete
THF	tetraidrofurano
WHIM	<i>weighted holistic invariant molecular</i>
δ	deslocamento químico em Hertz

Sumário

1. Introdução	18
1.1. Atividade biológica de produtos naturais	18
1.1.1. Atividade antileucêmica	22
1.1.2. Atividade herbicida	25
1.2. Gênero <i>Peperomia</i>	29
1.3. Policetídeos	30
2-Acil-cicloexano-1,3-dionas	31
2. Objetivos	39
3. Materiais e Métodos	40
3.1. Método geral para as sínteses	40
3.2. Planejamento da série de 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas	41
3.3. Derivados do ácido cinâmico preparados	41
3.4. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas	41
3.5. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas	42
3.5. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas	43
3.7. Atividade citotóxica	44
3.8. Atividade de inibição da enzima HPPD	46
3.9. Análises “in-silico”	46
4. Resultados	51
4.1. Derivados do ácido cinâmico preparados	51
4.2. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas	52
4.3. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas	54
4.4. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas e derivados isoxozalinos	61
4.5. Atividade citotóxica	67
4.5.1. Grupos de Descritores presentes nos modelos criados “in-silico”	71
4.5.2. Resultados “in-silico” para a linhagem K562	73
4.5.3. Resultados “in-silico” para a linhagem Nalm6	81
4.5.4. Resultados “in-silico” linhagem Raji	91
4.6. Atividade de inibição da enzima HPPD	97
5. Conclusões	103
6. Referências	105
7. Apêndice	112
7.1. Dados espectrométricos e propriedades físicas	112
7.2. Espectros de RMN	141
8. SÚMULA CURRICULAR	217

1. Introdução

1.1. Atividade biológica de produtos naturais

A espécie humana obtém, desde sua aparição na Terra, todo o necessário para sua sobrevivência a partir da natureza, e em relação ao tratamento de suas moléstias, não teria sido diferente. Estudos paleontológicos nas regiões montanhosas do Curdistão (Irã) sugerem que há mais de 60 mil anos atrás os Neandertais já deveriam saber das propriedades medicinais de várias plantas, como foi evidenciado pelo depósito de polens em algumas de suas sepulturas (Ji et al., 2009).

Devido ao seu enorme potencial medicinal os produtos derivados de plantas estiveram presentes em praticamente todas as civilizações, que acumularam conhecimento sobre os seus usos e aplicações (Ji et al., 2009). Tábuas de argila com escrita cuneiforme de aproximadamente 2600 AC documentam na região da Mesopotâmia o uso de derivados de plantas como medicamentos, entre as plantas utilizadas destacam-se as espécies de *Cupressus sempervirens* (cipreste), *Cedrus* (cedro), *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz) e *Commiphora* (mirra), utilizadas ainda hoje para o tratamento diversas doenças, desde tosse e resfriado até inflamação e infecção parasitária (Cragg and Newman, 2005). A espécie *Papaver somniferum*, planta de onde foi isolada a morfina, ainda hoje é utilizada como poderoso analgésico (Dias et al., 2012). Há relatos documentando a existência de 700 medicamentos, sendo a maioria de origem vegetal, usados no antigo Egito (“Papiro de Ebers”) (Cragg and Newman, 2005). Relatos semelhantes são conhecidos na medicina chinesa (1100 AC, 52 prescrições documentadas; 100 AC, 365 medicamentos descritos; 659 DC, 850 medicamentos descritos) e na cultura Ayurvedica da Índia (1000 AC, 341 medicamentos de acordo com Charaka e 516 de acordo com Samhitas e Sushruta) (Cragg and Newman, 2013).

Gregos e romanos também contribuíram no desenvolvimento e uso de medicamentos derivados de planta, principalmente na sistematização dos usos e formulações. Durante a idade média os monastérios da Europa preservaram o conhecimento Ocidental do uso de medicamentos. Por outro lado, os árabes não só preservaram o conhecimento grego-romano como adicionaram os conhecimentos de

plantas e preparados utilizados na China e Índia, bem como conhecimentos de sua própria cultura. O Trabalho “*Canon Medicinae*” atribuído a Avicena, um farmacêutico, médico, filósofo e poeta, contribuiu muito para o avanço das áreas de ciências farmacêuticas e medicina (Dias et al., 2012).

Na história recente as substâncias derivadas de plantas continuaram a ter papel chave na descoberta de medicamentos. A natureza tem sido invencível na produção de moléculas orgânicas de baixa massa molecular, grande complexidade estrutural e ampla atividade biológica. Em meados do século XIX iniciou-se o interesse por tais substâncias de maneira isolada, que passaram a ser chamadas de produtos naturais ou metabólitos secundários, e seu estudo foi incorporado como uma área da química orgânica (Verdine, 1996).

Em 1803, um aprendiz de farmacêutico, chamado Friedrich Sertürner, isolou a primeira substância ativa farmacologicamente de um espécime vegetal, a morfina (**1**), a partir da espécie *Papaver somniferum* (Li and Vederas, 2009). Sumérios e gregos usavam o ópio (suco espesso extraído dos frutos imaturos das espécies de *Papaver somniferum*) para fins medicinais, já os árabes relatavam o ópio como agente viciante (Dias et al., 2012).

A aspirina® (ácido acetilsalicílico, **2**) é um dos fármacos mais utilizados/conhecidos no mundo (8º produto farmacêutico mais vendido da Bayer em 2013, receita de 452 milhões de dólares (Bayer, 2014)), derivado da salicina (**3**) isolada das cascas do salgueiro-branco (*Salix alba* L.), é utilizada como anti-inflamatório, analgésico e antitérmico. A *Digitalis purpurea* L. (dedaleira) produz a digitoxina, um glicosídeo cardiotônico (fármaco comercial Digoxina®, produzido pela Novartis), que atua melhorando a contractilidade cardíaca, cujo uso remonta ao século XVIII. Outro fármaco muito importante de origem natural é a quinina (**5**), isolada das cascas da planta *Cinchona succirubra* Pav. ex Klotsch. A substância foi utilizada por séculos para o tratamento de diversas enfermidades, dentre elas: malária, febre, indigestão e câncer; atualmente é indicada como antimalárica (Dias et al., 2012).

Figura 1. Estruturas da morfina (1), ácido acetilsalicílico (2), salicina (3), digitoxina (4) e quinina (5) (Dias et al., 2012).

A partir da descoberta e do sucesso terapêutico das substâncias citadas, diversas outras classes de produtos naturais foram isoladas e suas estruturas caracterizadas. Essas descobertas juntamente com a elucidação dos mecanismos de ação farmacológica têm tido importância central nos trabalhos de químicos orgânicos e medicinais, pode-se dizer que os produtos naturais alteraram profundamente o curso da história humana por aumentarem muito a expectativa e qualidade de vida da população. Em meados do século XX a expectativa de vida era de aproximadamente 40 anos e hoje é de aproximadamente 77 anos (Li and Vederas, 2009; Verdine, 1996).

Os produtos naturais são conhecidos por sua ampla diversidade e especificidade, em decorrência dessas características, como descrito anteriormente, foram e são utilizados no desenvolvimento de medicamentos. Segundo estudo recente (Newman and Cragg, 2012), no período de 1981 – 2010 foram aprovadas como fármacos 1355 novas entidades químicas (NEQ), 1073 foram classificadas como pequenas moléculas orgânicas (Figura 2), as NEQs restantes foram classificadas como de origem biológica (peptídeos e proteínas isolados de organismos vivos com mais de 45 resíduos de aminoácidos) ou como vacinas. Os classificados como Produtos Naturais são fármacos isolados de organismos vivos sem qualquer modificação estrutural; os classificados como Produtos Naturais Botânicos são medicamentos obtidos de partes da planta ou da planta total, sem o isolamento de uma substância específica; os Derivados de Produtos

Naturais são fármacos obtidos por meio da semi-síntese ou síntese de análogos de produtos naturais; a classe dos sintéticos com farmacóforo de Produtos Naturais é constituída por fármacos sintéticos em que a porção responsável pela atividade biológica advém de um produto natural; os Sintéticos Miméticos de Produtos Naturais são uma classe de fármacos sintéticos inspirados nos produtos naturais que apresentam afinidade por alguma enzima, esses fármacos são desenhados para inibir a ação de tais enzimas; a última classe é a dos Sintéticos, nessa classe estão os fármacos de origem totalmente sintética.

Figura 2. Origem das entidades químicas, classificadas como moléculas pequenas, aprovadas como fármacos no período de 1981-2010 (Newman and Cragg, 2012).

Da Figura 2 extrai-se que 74% das substâncias aprovadas como fármaco no período de 1981-2010 são derivados ou inspirados nos produtos naturais. Ainda de acordo com Newman e Cragg (Newman and Cragg, 2012), das 1073 pequenas moléculas aprovadas como fármacos, 195 foram aprovadas como anti-infectivas (antibacterianas, antiparasitárias, antifúngicas e antivirais) e 69% desse grupo são derivados ou inspirados em produtos naturais. Para o tratamento do câncer, a porcentagem de derivados ou inspirados em produtos naturais é ainda maior, 75% de

172 substâncias. Esses dados permitem entender a importância dos produtos naturais na pesquisa por novos fármacos.

Apesar da história de sucesso dos produtos naturais, nos últimos anos o interesse por essa área diminuiu com o advento da química combinatória, ainda assim, a diversidade estrutural encontrada nos produtos naturais é única e dificilmente será recriada por química combinatorial, e como menos de 10% da biodiversidade mundial foi avaliada para o seu potencial biológico, há ainda um imenso potencial de descoberta de novas substâncias ativas, o desafio atual é como explorar toda essa diversidade química (Dias et al., 2012).

No presente trabalho um produto natural isolado da espécie *Peperomia trineura* foi avaliado para duas atividades biológicas, atividade antileucêmica e atividade herbicida. Para ambas as atividades, os produtos naturais têm se mostrado agentes de grande valor (NCI, 2015b; Beaudegnies et al., 2009).

1.1.1. Atividade antileucêmica

A hematopoese é o processo de proliferação e diferenciação de células troncos pluripotentes hematopoiéticas, esse processo ocorre na medula óssea, que se localiza na cavidade dos ossos longos. Na hematopoese originam-se os glóbulos brancos (linfócitos, neutrófilos, basófilos e eosinófilo), glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos) e as plaquetas (Figura 3). A leucemia é a doença que afeta os glóbulos brancos (leucócitos), e geralmente é de origem desconhecida. A principal característica das leucemias é o acúmulo de células jovens (blastos) anormais na medula óssea, que substituem as células sanguíneas normais e com isso prejudicam o funcionamento adequado dessas células na circulação periférica e medula óssea (Goldman and Schfer, 2012; NCI, 2015a).

Figura 3. Modelo hierárquico simplificado da hematopoese (adaptado de Goldman and Schfer, 2012; NCI, 2015a).

As leucemias são usualmente agrupadas em quatro tipos, que se baseiam em duas características: velocidade da evolução/gravidade da doença (crônica ou aguda) e nos tipos de glóbulos brancos afetados (linfoide ou mieloide) (Goldman and Schfer, 2012; INCA, 2015; NCI, 2015a)

- **Leucemia linfoide aguda (LLA):** acomete células linfoides e agrava-se rapidamente. É o tipo mais comum em crianças, mas ocorre também em adultos.
- **Leucemia mieloide aguda (LMA):** afeta as células mieloides e avança rapidamente. Ocorre tanto em adultos como em crianças.
- **Leucemia linfoide crônica (LFC):** acomete as células linfoides e se desenvolve vagarosamente. A maioria das pessoas diagnosticadas com esse tipo da doença tem mais de 55 anos. Raramente afeta crianças.
- **Leucemia mieloide crônica (LMC):** acomete as células mieloides e se desenvolve vagarosamente, a princípio. Acomete principalmente os adultos.

O tratamento das leucemias é baseado na associação de diferentes fármacos (poli quimioterapia) objetivando-se a remissão completa, ou seja, eliminação das células malignas, e em alguns casos o transplante de medula óssea é indicado (Goldman and

Schfer, 2012; INCA, 2015). Diferentes classes de fármacos são utilizadas com sucesso no tratamento das leucemias (Figura 4 e Tabela 1) (NCI, 2015b). Um exemplo é a terapia associada com imatinib, que apresenta taxa de sobrevida de 86% no tratamento da leucemia mieloide crônica (Goldman and Schfer, 2012).

Figura 4. Principais substâncias utilizadas no tratamento das leucemias.

Tabela 1. Principais substâncias utilizadas no tratamento das leucemias com seus nomes comerciais, mecanismo de ação e para qual tipo de leucemia é indicada (NCI, 2015b).

Substância	Nome comercial	Mecanismo de ação	Indicação	Referências
ciclofosfamida	Genuxal®	Agente alquilante - Inibe síntese de DNA	LLA, LMA, LLC, LMC	(Fleer and Brendel, 1982)
citarabina	Aracytin®	Antimetabólito - Inibe síntese de DNA	LLA, LMA, LMC	(Wang et al., 1997)
clorombucila	Leukeran®	Agente alquilante - Inibe síntese de DNA	LLC	(Di Antonio et al., 2014)
dasatinibe	Sprycel®	Inibidor da enzima BCR-ABL tirosina quinase	LLA, LMC	(Aguilera and Tsimberidou, 2006)
daunorubicina	Daunoblastina®	Intercalante de DNA / Produtor de radicais livres	LLA, LMA	(Thorn et al., 2011)
doxorubicina	Fauldoxo®	Intercalante de DNA / Produtor de radicais livres	LLA, LMA	(Thorn et al., 2011)
imatinib	Glivec®	Inibidor da enzima BCR-ABL tirosina quinase	LLA, LMC	(Aguilera and Tsimberidou, 2006)
nelarabina	Arranon®	Antimetabólito - Inibide síntese de DNA	LLA	(Cooper, 2007)
vincristina	Oncovin®	Inibe a formação da tubulina e impede a formação da cromatina	LLA, LMA	(Mohammadgholi et al., 2013)

1.1.2. Atividade herbicida

Os herbicidas são moléculas orgânicas utilizadas para eliminar plantas indesejáveis, e são classificados como pesticidas. Herbicidas atuam inibindo a atividade de proteínas cruciais nos processos fisiológicos das plantas (Delye et al., 2013) e estão entre os métodos mais efetivos de controle de ervas daninhas, outros métodos só alcançam a mesma eficácia quando combinados e geralmente são muito mais trabalhosos e requerem mais tempo do que a aplicação dos herbicidas (Delye et al., 2013).

O primeiro herbicida moderno foi 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético), descoberto durante a segunda guerra mundial em meio as pesquisas para a criação de armas biológicas. O 2,4-D atua como inibidor da auxina e é ainda hoje amplamente utilizado para o controle de ervas daninhas de folhas largas (Cobb and Reade, 2010; Warren, 1998).

Os anos 1970-1980 foram os anos de ouro na descoberta de herbicidas, foram descobertos herbicidas seletivos (aqueles que controlam as ervas daninhas sem prejuízo para a cultura cultivada) e não seletivos, com novos modos de ação. Entre os não seletivos os destaques foram: glifosato e glufosinato, entre os seletivos foram descobertos inibidores das enzimas acetil coenzima A carboxilase, hidroxifenilpiruvato dioxigenase, fitoeno desaturase e protoporfirinogeno oxidase (Green, 2014).

Atualmente os herbicidas são indispensáveis para o controle de ervas daninhas, e os agricultores encontram no mercado centenas de substâncias ativas como herbicidas (Ahrens et al., 2013; Delye et al., 2013), que podem ser classificadas em 18 diferentes grupos, segundo o modo de ação (Tabela 2) (Delye et al., 2013; Green, 2014).

As vendas de herbicida representam aproximadamente 17 bilhões de dólares por ano, e entre os anos de 2002 e 2011 o mercado global de herbicidas cresceu 39%.

Tabela 2. Classificação, modos de ação, via ou processo alvo dos herbicidas comerciais e exemplos.

Grupo HRAC	Modo de ação	Via ou processo alvo	Exemplos
A	Inibição da enzima acetil-CoA carboxilase	síntese de ácido graxo	Diclofop
B	Inibição da enzima acetohidroxiácido sintase	biossíntese de aminoácidos (Leu, Lle, Val)	clorimuron
C	Inibição do foto sistema II proteína D1	Fotossíntese (transferência de elétrons)	ametrina
D	Desvio dos elétrons transferidos pelo foto sistema I ferredoxina	Fotossíntese (transferência de elétrons)	paraquat
E	Inibição da enzima protoporfirinogeno oxidase	Fotossíntese (biossíntese do grupo heme)	acifluorfen
F	Inibição da enzima fitoeno desaturase ou 4-hidrofenilpiruvato deoxigenase	Fotossíntese (biossíntese de carotenoides)	mesotrione
G	Inibição da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase	biossíntese de aminoácidos (Phe, Trp, Tyr)	glifosato
H	Inibição da enzima glutamina sintase	Biossíntese de aminoácidos (Gln)	glufosinato
I	Inibição da enzima dihidropteroato sintase	Biossíntese de tetrahidofolato	asulam
K1, K2	Aumento da despolimerização da tubulina	polimerização dos micro túbulos	trifluralin
K3	Inibição da enzima ácido graxo sintase	síntese de ácido graxo	acetoclor
L	Inibição da celulose sintase	Biossíntese de parede celular	diclobenil
M	Desacoplamento da fosforilação oxidativa	Biossíntese de ATP	DNOC
N	Inibição da enzima ácido graxo elongase	síntese de ácido graxo	molinato
O	Estimulação do transporte de proteína 1 de resposta inibidora	Regulação do genes de resposta à auxina	2,4-D
P	Inibição do transporte da auxina	Sinalização hormonal de longa distância	naptalam
Z	Desconhecido	Desconhecido	difenzoquat

Dados do século XX do USDA (Departamento Agricultura dos Estados Unidos) indicam que o aumento na produtividade de algumas culturas foi de 2 a 7 vezes no período de 1900-1997 (Warren, 1998). Não é possível avaliar isoladamente a contribuição dos herbicidas pois, outras inovações como a introdução de fertilizantes e plantas transgênicas tiveram também papel importante durante o período. Entretanto, o impacto do uso dos herbicidas e outros pesticidas na produção de alimentos são inegáveis, já que, o controle das pragas permitiu diminuir as perdas e aumentar a

densidade da área cultivada gerando um grande aumento no rendimento na produção de alimentos (Warren, 1998). Estima-se que sem o uso de herbicidas as lavouras teriam perda de rendimento da ordem de 34% (Ahrens et al., 2013).

Com o uso de herbicidas por mais de 60 anos, causando pressão seletiva em espécies de ervas daninhas, surgiram múltiplos casos de resistência. Dados recentes reportam 217 espécies de ervas daninhas resistentes a herbicidas, e esses números continuam a crescer. Os casos de resistências foram reportados nos principais modos de ação (Delye et al., 2013). Assim, existe uma demanda urgente para o desenvolvimento de novos herbicidas e novos modos de ação, que possam ser utilizados para o controle das espécies resistentes (Ahrens et al., 2013; Tresch, 2013).

Figura 5. Exemplos de herbicidas comerciais.

1.2. Gênero *Peperomia*

As plantas do gênero *Peperomia* são epífitas, rupículas ou terrestres e são encontradas em regiões de florestas úmidas e montanhosas (Monteiro and Guimarães, 2008). É o segundo gênero em número de espécies da família Piperaceae, com aproximadamente 1700 espécies (Wanke et al., 2007).

A maior diversidade de espécies ocorre nos neotrópicos, seguidas pelo sul da Ásia com aproximadamente 100 espécies; África com cerca de 20 espécies; Madagascar com aproximadamente 40 espécies; Nova Zelândia e Austrália com menos de 20 espécies. Também podem ser encontradas no sul da América do Norte e Norte da América do Sul (Wanke et al., 2006).

Economicamente possuem importância como plantas ornamentais, mas são também utilizadas na medicina popular com as mais diversas finalidades (Li et al., 2008). Um exemplo é a espécie *Peperomia pellucida* que é utilizada na medicina popular no tratamento de impotência sexual, desordens mentais, inflamação e como analgésico (Aziba et al., 2001).

Os metabólitos secundários mais comuns relatados para o gênero são derivados fenólicos prenilados, policetídeos, cromenos, secolignananas e dímeros de estireno (Figura 6) (Ferreira, 2009; Kato and Furlan, 2007).

Figura 6. Exemplos de metabólitos secundários isolados de espécies de *Peperomia* e suas atividades biológicas (Li et al., 2008).

1.3. Policetídeos

Os policetídeos constituem uma ampla e diversa classe de metabólitos secundários, são agrupados por compartilharem a mesma rota biossintética (Esquema 1) (Dewick, 2002). As enzimas responsáveis por catalisar a formação dos policetídeos são as Policetídeo sintases (PKS) (Pankewitz and Hilker, 2008). A biossíntese dos policetídeos está intimamente relacionada à biossíntese dos ácidos graxos. As rotas biossintéticas das duas classes apresentam muitas semelhanças em relação à formação da cadeia alquílica, os precursores são comuns e em ambas as rotas estão envolvidas etapas de condensação, redução e desidratação (Austin and Noel, 2003).

Os policetídeos são um dos maiores e mais diversos grupos de produtos naturais. São biossintetizados por uma ampla variedade de organismos, sendo encontrados entre procariotos e eucariotos. Um grande número de policetídeos apresenta atividade biológica. Substâncias dessa classe com atividade neurotóxica, antibiótica, antitumoral ou antiparasitária foram descritas em bactérias e fungos (Flores-Sanchez and Verpoorte, 2009; Pankewitz and Hilker, 2008).

Várias algas, dinoflagelados e plantas produzem policetídeos, que na sua quase totalidade são tóxicos e podem estar relacionados como agente protetor contra inimigos naturais desses organismos. Substâncias dessa classe são também encontradas em organismos marinhos e insetos (Pankewitz and Hilker, 2008). Exemplos de policetídeos importantes como fármacos estão representados na Figura 7.

Esquema 1. Etapas comuns na biossíntese dos policetídeos (Dewick, 2002).

Figura 7. Exemplos de policetídeos utilizados como fármacos, isolados de microrganismos, e suas atividades biológicas (Dewick, 2002).

2-Acil-cicloexano-1,3-dionas

As 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas (Figura 8), objeto desse trabalho, são uma importante subclasse dos policetídeos. A ocorrência desse tipo de policetídeo e as atividades biológicas estão apresentadas na Tabela 3. A distribuição das 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas é bastante restrita, há relatos da mesma em três gêneros de plantas, *Peperomia*, *Philodendron* e *Virola*, e no filo dos artrópodes, na classe *Insecta*. A principal atividade biológica descrita para as 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas é a atividade citotóxica (Cheng et al., 2003; Denny et al., 2008; Li et al., 2007; Wang et al., 2012). Em trabalho recente do grupo foram isoladas 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas de *Peperomia trineura* (Ferreira et al., 2014), que se mostraram bastante ativas contra as linhagens Nalm6 e K562 (células leucêmicas), esses dados serviram de base para o

presente trabalho, uma vez que indicaram que as 2-acil-cicloexano-1,3-dionas são promissoras como agentes citotóxicos também para o tratamento de leucemia.

Entre os insetos a única atividade descrita é a atividade cairomonal. Os cairomônios são substâncias emitidas por um organismo e que trazem benefício para indivíduos de outras espécies, chamados de receptores, atuando como hormônios para a oviposição de parasitoides das espécies produtora da substância (Tabela 3) (Sbarbati and Osculati, 2006).

R = H, CH₃, OH

R' = H, OH

R'' = CH₃, fenila, alquila, alquifenol

Figura 8. Estrutura básica das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas.

Tabela 3. Ocorrência de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas em espécies de *Peperomia*, *Virola* e espécies de insetos.

Organismo	Espécie	Substância	Atividade biológica	Referências
Planta	<i>Peperomia alata</i>		Antifúngica	(Ferreira et al., 2014)
Planta	<i>P. dindygulensis</i>		-	(Wu et al., 2005)
			-	(Chen et al., 2008)
			Citotóxica contra células HUVEC	(Wang et al., 2012)

		<p>1. n = 10 2. n = 12</p>
		<p>1. n = 10 2. n = 12</p>		
Planta	<i>P. duclouxii</i>	<p>1. n = 8 2. n = 14</p>	Citotóxica contra células WI-38, VA-13 e HepG2	(Li et al., 2007)

Planta	<i>P. proctorii</i>		-	(Seeram et al., 2000)

Planta	<i>P. sui</i>		Citotóxica contra células HONE-1 e NUGC-3	(Cheng et al., 2003)

Planta	<i>P. trineura</i>		-	(Ferreira et al., 2014)
		1. n = 14 2. n = 16
		1. R = H 2. R = OH	Citotóxica contra células Nalm6 e K562	
Planta	<i>Philodendron guttiferum</i>	1. n = 6 2. n = 8 3. n = 10	-	(El-Seedi et al., 2001)
Planta	<i>Virola elongata</i>		-	(Kato et al., 1985)
		(Kato et al., 1990)
Planta	<i>V. oleifera</i>		-	(Azevedo et al., 1997)
Planta	<i>V. sebifera</i>		-	(Kato et al., 1985)
		Citotóxica contra células OVCAR3 3 NCI-ADR	(Denny et al., 2008)
Planta	<i>V. surinamensis</i>	1. n = 4, R = H 2. n = 14, R = H 3. n = 14, R = OH	-	(Blumenthal et al., 1997)

Planta	<i>V. venosa</i>		-	(Kato et al., 1992), (Castro et al., 2004)
Inseto	<i>Anagasta kuehniella</i>		Cairomonal	(Mudd, 1978), (Mudd, 1983)
Inseto	<i>Cadra cautella</i>		Cairomonal	(Kuwahara et al., 1983)
Inseto	<i>Corythucha ciliata</i>		Cairomonal	(Lusby et al., 1987)

Inseto	<i>Ephestia kuehniella</i>		Cairomonal	(Mudd, 1981)
		Cairomonal	(Mudd, 1983)
		<p>1. $n = 7, m = 5$ 2. $n = 5, m = 7$ 3. $n = 9, m = 3$</p>
		Cairomonal	(Mudd, 1978), (Mudd, 1983)
		Cairomonal	(Mudd, 1983), (Mudd et al., 1984)

Inseto	<i>Plodia interpunctella</i>	<p>1. $n = 14$ 2. $n = 16$</p>	Cairomonal	(Howard and Baker, 2004)
				(Kuwahara et al., 1983)
Inseto	<i>Stephanitis takeyai</i>		Cairomonal	(Castro et al., 2004)
		Cairomonal	(Lusby et al., 1989)

		<ol style="list-style-type: none"> 1. n = 10 2. n = 12 3. n = 14 		
Inseto	<i>Venturia canescens</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. n = 13 2. n = 15 	Cairomonal	(Kuwahara et al., 1983)

Além de sua ocorrência natural, 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas sintéticas são importantes como herbicidas. Em 1977, Reed Gray, pesquisador da companhia Syngenta, descobriu que a planta *Callistemon citrinus* (escova-de-garrafa) inibia o crescimento de ervas daninhas ao seu redor. Como resultado do seu trabalho a substância leptospermona (Figura 9), uma tetracetona, foi isolada e apresentou-se bastante ativa como herbicida. A leptospermona (Figura 9) serviu de inspiração no desenvolvimento de uma nova classe de herbicidas comerciais, amplamente utilizados na cultura do milho (Beaudegnies et al., 2009; Dayan et al., 2007; Johnson et al., 2002; Santel, 2009).

leptospermona

Figura 9. Estrutura da leptospermona isolada de *Callistemoncitrinus* (Beaudegnies et al., 2009).

Os herbicidas comerciais dessa classe (Figura 10) possuem a estrutura básica das 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas e atuam na inibição da enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase (HPPD) que catalisa a descarboxilação oxidativa do ácido hidroxifenil pirúvico com a formação do ácido homogentísico (Esquema 2) que, além de ser um produto da degradação da tirosina, é um dos intermediários na síntese das plastoquinonas e tocoferol, essenciais para produção dos pigmentos relacionados à

fotossíntese (Ahrens et al., 2013; Beaudegnies et al., 2009). As plantas tratadas com o herbicida tornam-se esbranquiçadas e, pela impossibilidade de realizar fotossíntese, necrosam e morrem (Beaudegnies et al., 2009; Dayan et al., 2007; Fritze et al., 2004).

Figura 10. Estrutura das principais 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas utilizadas comercialmente como herbicidas na cultura do milho. O sulcotrione, nome comercial mikado®, e o mesotrione, nome comercial callisto®, foram ambos desenvolvido pela Syngenta e lançados respectivamente em 1993 e 2001; o tembotrione, nome comercial laudis® OD, foi desenvolvido na Bayer e lançado em 2009 (Beaudegnies et al., 2009; Santel, 2009).

Esquema 2. Reação catalisada pela enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase. Descarboxilação oxidativa do ácido hidroxifenil pirúvico formando o ácido homogentísico.

2. Objetivos

Sintetizar análogos de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas naturais isolados de espécies de *Peperomia* já estudadas no grupo (Ferreira, 2009; Ferreira et al., 2014), avaliar a concentração inibitória a 50% (IC₅₀) para a atividade citotóxica, atividade de inibição da enzima HPPD e através do uso de metodologias computacionais e estatísticas avaliar quais são os requisitos estruturais para otimizar as duas atividades biológicas.

3. Materiais e Métodos

3.1. Método geral para as sínteses

Todas as reações foram realizadas em vidraria secadas em estufa (Temperatura $\geq 120^{\circ}\text{C}$) e resfriadas sob atmosfera inerte (gás N_2). A água dos solventes utilizados foi removida segundo metodologias descritas na literatura (Armarego and Chai, 2003). Tetraidrofurano (THF) foi refluxado e destilado de sódio/benzofenona sob atmosfera de N_2 , diclorometano (CH_2Cl_2), trietilamina (Et_3N) e piridina foram refluxados e destilados de hidreto de cálcio (CaH_2) sob atmosfera de N_2 . A água foi purificada em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (sílica gel 60 PF254 para cromatografia de camada fina, sobre suporte de alumínio da Merck). Purificações por coluna cromatográfica foram realizadas utilizando-se Merck sílica gel Si 60 (63 – 200 μm) ou Merck sílica gel Si 60 (40-63 μm) para cromatografia sob pressão (“flash”) e as purificações por recristalização foram realizadas com metanol P.A destilado ou mistura metanol/clorofórmio, ambos P.A e destilados. As análises de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram realizadas nos equipamentos Bruker DPX 300 (300MHz RMN ^1H , 75MHz RMN ^{13}C) ou Bruker DRX 500 (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C). O valor de deslocamento (δ) é mostrado em ppm. O espectro de próton é relatado como se segue δ (multiplicidade, constante de acoplamento J, número de prótons, próton atribuído). A multiplicidade é indicada por s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete); ddd (duplo duplo duplete), t (triplete), q (quarteto), quint. (quinteto), sext. (sexteto) e m (multiplete). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz). Os espectros no infravermelho foram registrados com o aparelho Bomem MB100 ou Perkin Elmer-Fontier por meio de pastilhas de KBr ou filme. Os espectros de massas de baixa resolução (EM) foram medidos a 70 eV em um aparelho de CGEM SHIMADZU modelo GCMS-QP5050A, equipado com coluna capilar DB5 (30m x 0,25m. d. i., 0.25 μm), os espectros de massa de alta resolução (EMAR) foram obtidos em um espectrômetro de massas MicroTOFQ-II (Bruker) acoplado à um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) da Shimadzu.

3.2. Planejamento da série de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas

O planejamento da série das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas foi realizado tendo como protótipo uma 2-acil-cicloexano-1,3-diona (com atividade citotóxica) isolada de *Peperomia trineura* (Figura 11) (Ferreira et al., 2014). A abordagem utilizada foi criar análogos variando quatro regiões da molécula protótipo.

- Cadeia lateral:
 - Variar o comprimento da cadeia (1-16 carbonos);
 - Derivados de cinamoíla com e sem insaturação, com grupos doadores ou retiradores de elétrons;
- Posição 4 do anel cicloexênico: Presença ou ausência de hidroxila
- Posição 5 do anel cicloexênico: Presença ou ausência dos grupos metilas;
- Região enólica: Presença ou ausência do anel isoxozalino.

Figura 11. Substância isolada de *Peperomia trineura* e utilizada como protótipo para o planejamento da série de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas.

3.3. Derivados do ácido cinâmico preparados

Procedimento geral: Para a síntese dos derivados do ácido cinâmico, em um balão de fundo redondo contendo 3,5 mL de piridina foram adicionados 6,17 mmol de ácido malônico, 5,77 mmol de aldeído, aproximadamente uma gota de anilina e outra gota de piperidina (Katayama et al., 1992). O balão foi acoplado a um sistema de refluxo com tubo secante na ponta. A temperatura do balão foi elevada a um valor entre 55-60°C, essa temperatura foi mantida por 24hs e em seguida a temperatura foi elevada a 100°C, manteve-se essa temperatura por um período de 1h. Após o resfriamento da mistura reacional, a mesma foi seca por rotaevaporação. O resíduo foi dissolvido em água quente (15 mL), a solução resultante foi acidificada a pH 1-2 com HCl concentrado. A mistura foi extraída com diclorometano (75mL x 1, 30mL x2) e seca por rotaevaporação, o resíduo obtido foi recristalizado em metanol. As hidrogenações foram realizadas em um hidrogenador de aço inoxidável. O ácido (5 mmol), o catalisador (C/Pd 5% massa) e o solvente (metanol 15 mL) foram adicionados sucessivamente a um recipiente de teflon que foi colocado no interior do hidrogenador. A pressão do gás (H₂) foi ajustada para 4atm e a reação foi mantida em agitação por 4hs, temperatura ambiente. Ao final, o meio reacional foi filtrado em algodão e posteriormente em filtro de 45 micrometros, após secagem do solvente obteve-se sólido.

3.4. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas

Procedimento geral: O ácido carboxílico (hidrogenados ou obtidos da sigma Aldrich) (2mmol, 1 equiv.), *N,N'*-dícicloexilcarbodiimida (2,4 mmol, 1,2 equiv.), trietilamina (2,4 mmol, 1,2 equiv.) e 4-dimetilaminopiridina (0,2 mmol, 0,1 equiv.) foram adicionados sucessivamente à uma solução de 1,3-cicloexanodiona ou 5,5-dimetil-1,3-cicloexanodiona em diclorometano (20 mL) e a mistura reacional foi agitada por 24 horas (Goncalves et al., 2010). Após diluição da reação com diclorometano e filtração, 1M de HCl (20 mL) foi adicionado ao filtrado. A fase aquosa foi extraída com éter etílico (3x 20 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução concentrada de NaCl, seca com sulfato de sódio anidro e em seguida o solvente foi evaporado. O resíduo foi purificado por cromatografia flash em coluna com sílica (eluente:

hexano/acetato de etila na proporção de 7/3) ou por recristalização em metanol, para gerar as 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como produtos.

3.4. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas

Procedimento geral: 2-acil-cicloexano-1,3-diona (**1a** ou **1d** ou **1e**) (4 mmol; 1 equiv.) foi dissolvida em tolueno (50 mL), a essa solução adicionou-se um aldeído aromático (4,4 mmol; 1,1 equiv.) e morfolina (1,2 mmol; 0,3 equiv.), a mistura reacional foi refluxada por 12 horas em um balão de 100 mL equipado com Dean-Stark (Rubinov et al., 2011). A mistura foi então resfriada até temperatura ambiente e particionada com 100 mL de solução 1M HCl e 100 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi retirado por rotaevaporação, o resíduo obtido foi recristalizado (metanol/clorofórmio) fornecendo as 2-acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas.

3.5.2-Acil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas

Procedimento geral:

Proteção - $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (3,1 mmol) e AcONa (7,5 mmol) foram adicionados à uma solução de 2-Acil-cicloexano-1,3-diona (3 mmol) em H_2O (1 mL) e etanol (2 mL) (Dayan et al., 2009). A mistura reacional foi mantida em refluxo por 18 horas, em seguida foi resfriada e éter e água foram adicionados, a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO_3 , seca com Na_2SO_4 e concentrada em rota evaporador. A purificação foi realizada por coluna (sílica flash - hexano/acetato de etila na proporção 6/4).

Oxidação: KOH (35 mmol) em metanol seco (20 mL) foi agitado até completa solubilização, em seguida a solução foi resfriada -15°C e o produto purificado da reação anterior em metanol foi adicionado (2 mmol), 30 minutos depois $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ (3,6 mmol) foi adicionado. A mistura reacional foi agitada por 1h (-15°C), em seguida manteve-se a agitação por 2h (temperatura ambiente). Após retirar o solvente por rotaevaporação o produto gerado foi dissolvido em CH_2Cl_2 e tratado com solução 10% de ácido sulfúrico, a solução foi mantida em agitação por 30 minutos (Hodgson et al., 2003), ao final a solução foi neutralizada com solução saturada de NaHCO_3 e extraída com éter, a fase etérea foi lavada com H_2O e solução concentrada de NaCl, em seguida foi seca em MgSO_4 e concentrada, o produto foi purificado por cromatografia em coluna com sílica flash (hexano/acetato de etila/diclorometano na proporção 5/2/3).

Hidrogenação: As hidrogenações foram realizadas em um hidrogenador de aço inoxidável. O produto purificado da reação anterior (5 mmol), o catalisador (C/Pd 5% massa) e o solvente (Metanol 15 mL) foram adicionados sucessivamente a um recipiente de teflon que foi colocado no interior do hidrogenador. A pressão do gás (H_2) foi ajustada para 2 atm e a mistura reacional foi mantida em agitação por 2 horas, temperatura ambiente (Oliver and Lusby, 1988).

Hidrolise da imina: Ao final da etapa anterior, o meio reacional foi filtrado em algodão, posteriormente em filtro de 45 micrometro e tratado com 5 mL de solução 1M de NaOH em metanol. Após 5h sob agitação foram adicionas algumas gotas de ácido acético e por volta de 40 mL de clorofórmio. A fase orgânica foi lavada com H_2O , solução concentrada de NaHCO_3 e em solução concentrada de NaCl, secada com sulfato de sódio anidro e em seguida o solvente foi evaporado. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna com sílica flash (hexano/acetato de etila/diclorometano na proporção 5,5/2/2,5).

3.6. Atividade citotóxica

Os ensaios de atividade citotóxica foram realizados no CIPOI sob a coordenação do farmacêutico Gilberto Franchi. A metodologia utilizada está descrita abaixo.

Manutenções da cultura celular: As células K562 (Koeffler and Golde, 1980), Nalm6 (Hurwitz et al., 1979) e Raji (Pulvertaft, 1964), foram mantidas, como estoque, em nitrogênio líquido. As células foram descongeladas e dispostas (10^6 células/ml) em

garrafas de cultura de 75cm², contendo meio cultura RPMI 1640 (Sigma R6504), enriquecido com 10% soro fetal bovino (Gibco 16000044). As células foram mantidas em estufa com controle automático de temperatura 37°C, umidade 90% e atmosfera de 5% de CO₂.

Teste de citotoxicidade: Usando o equipamento “ePMotion® 5070 Eppendorf” distribuiu-se as células em placas de 96 poços e após 12 horas foi distribuído, também automaticamente, as concentrações das respectivas substâncias testadas. As placas foram para estufa de cultura com CO₂ por 48 horas. As substâncias testadas foram preparadas em uma concentração de 100 - 0.0064 µM em meio de cultura. Como controle negativo, preparou-se meio de cultura com 0,027% de DMSO.

Testes colorimétricos para determinação da citotoxicidade: O MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) é um teste de viabilidade celular “in vitro” que é utilizado para verificar citotoxicidade aguda. O ensaio de MTT é baseado em absorção óptica e análise da diminuição da função celular, detectável por produtos de enzimas específicas que determinam atividades vitais. Através da redução do sal solúvel de tetrazólio, [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] (Sigma M2128), de coloração amarela, pela succinato desidrogenase de células viáveis resulta-se um produto chamado de formazana, um precipitado insolúvel púrpura, liberado no meio de cultura. A sua coloração é diretamente proporcional ao número de células presentes ou no caso de testes de citotoxicidade, do número de células viáveis (Figura 12) (Mosmann, 1983).

Figura 12. Placa de 96 poços, ilustrativa do ensaio de MTT para determinação do IC₅₀ das 2-acil-1,3-cicloexano-1,3-dionas. A coloração púrpura indica células viáveis e a coloração amarela indica células mortas (Mosmann, 1983).

A leitura do MTT foi feita após o período de incubação de 48 horas, as amostras foram retiradas, e em seguida os poços foram lavados com 200µL de PBS, e adicionou-se 100µL de MTT numa concentração final de 0,5 mg/ml de MTT-formazana, deixando-as incubadas por um período de 4h em estufa.

Após esta etapa foi retirado o MTT, e 150 µL de álcool isopropílico foi adicionado sobre os precipitados de formazana, em seguida a placa foi mantida em agitação por 30 minutos para a solubilização dos cristais de formazana.

A leitura da absorbância dos cristais de formazana, diretamente proporcionais à quantidade de células viáveis, foi feita utilizando um leitor de ELISA Biotek com comprimento de onda de 570nm. Os testes foram realizados em triplicata para cada concentração de droga e em seguida normalizados conforme a fórmula: $100 - ((\text{Absorbância das Células das amostras} - \text{Absorbância do branco}) \times 100) / (\text{Absorbância de Células Controle Positivo} - \text{Absorbância do Branco})$. O resultado foi expresso em porcentagem de células viáveis por concentração de droga testada e assim cada concentração foi plotada no software OriginLab8 (OriginLab Corporation One Roundhouse Plaza, Suite 303 Northampton, MA 01060 USA) e o IC₅₀ foi calculado segundo o tutorial fornecido pela OriginLab.

3.7. Atividade de inibição da enzima HPPD

Os ensaios de Atividade de inibição da enzima HPPD foram realizados no laboratório do professor Franck E. Dayan (United States Department of Agriculture – University of Mississippi), de acordo com metodologia descrita na literatura (Dayan et al., 2007).

4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase (HPPD): A enzima HPPD de *Arabidopsis thaliana* foi super expressada em células de *E. coli* JM105 com o plasmídeo pTrc 99A-AT4-HPPD.

Ensaio de atividade de inibição da enzima HPPD: A atividade enzimática foi medida na concentração de proteína de 5 mg.mL⁻¹ em extrato livre de células. A mistura foi incubada por 15min em gelo com várias concentrações de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas diluídas em metanol (volume final de 4 µL). A concentração final de substância (2-acil-cicloexano-1,3-diona) foi 0.01-1000 µM, cada substância foi testada em 6

concentrações diferentes para a obtenção da curva inibição versus concentração. A reação foi iniciada pela adição de hidroxifenil piruvato (4-HPP) (5 µL, 10 mM em metanol), o volume final da mistura foi de 200µL. A solução foi mantida em pH 7,5 através do uso de tampão. Os controles foram adicionados no mesmo volume e com o mesmo solvente (metanol) das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas. As amostras foram incubadas à 30°C por 15min e a reação foi parada com a adição de ácido perclórico (70µL 20% (v/v)). O precipitado foi removido por centrifugação e o sobrenadante foi analisado por HPLC para determinar a produção de ácido homogentísico (HGA).

3.8. Análises “*in-silico*”

Modelagem Molecular: As 2-acil-cicloexano-1,3-dionas foram desenhadas e otimizadas no programa SPARTAN para Windows v.4 (Wavefunction, Inc, Irvine, Calif.), As moléculas foram submetidas à análise conformacional (opção “Conformer Distribution”) com o método de mecânica molecular MMFF (*Merck Molecular Force Field*), o confômero mais estável teve sua energia otimizada apor meio do método AM1 (Austin Model 1) (Dewar et al., 1985). As substâncias com a energia minimizada foram salvas no formato MDL (arquivo Mol) para o cálculo de descritores moleculares no programa DRAGON (versão 6.0)

Descritores Moleculares: Da necessidade de correlacionar a estrutura química com a atividade biológica foram criados os descritores moleculares, que podem ser interpretados como o resultado de procedimentos matemáticos sobre a estrutura molecular com a finalidade de extrair informações sobre a substância estudada (Todeschini and Consonni, 2000).

O programa DRAGON (versão 6.0) permite calcular 4886 (Tabela 4) de 29 diferentes grupos (Todeschini and Consonni, 2000, 2009).

Pré-tratamento de Dados: Para cada um dos 29 blocos de descritores realizou-se os seguintes procedimentos:

1. Eliminação de descritores com valores iguais na série;
2. Eliminação de descritores que com apenas um valor diferente na série;
3. Eliminação dos descritores que apresentaram correlação maior que 0,95 com outras variáveis e desvio padrão menor que 0,0001;

4. Após esse procedimento os dados de cada bloco de descritores foram salvos em um arquivo formato ASCII.

Ao final, dos 4886 descritores, restaram 891 de 25 diferentes grupos (Tabela 4).

Tabela 4. Grupos de descritores calculados pelo programa DRAGON (versão 6.0) e quantidade e grupos de descritores calculados para as 2-acil-cicloexano-1,3-dionas (Todeschini and Consonni, 2000, 2009).

Grupo de descritores DRAGON (versão 6.0)	Quantidade Total	Quantidade de Descritores calculados
Constitutional descriptors	43	23
Ring descriptors	32	8
Topological indices	75	26
Walk and path counts	46	9
Connectivity indices	37	11
Information indices	48	13
2D matrix-based descriptors	550	54
2D autocorrelations	213	95
Burden eigenvalues	96	28
P_VSA-like descriptors	45	0
ETA indices	23	8
Edge adjacency indices	324	78
Geometrical descriptors	38	16
3D matrix-based descriptors	90	13
3D autocorrelations	80	24
RDF descriptors	210	75
3D-MoRSE descriptors	224	119
WHIM descriptors	114	44
GETAWAY descriptors	273	139
Randic molecular profiles	41	0
Functional group counts	154	6
Atom-centred fragments	115	10
Atom-type E-state indices	170	8
CATS 2D	150	34
2D Atom Pairs	1596	38
3D Atom Pairs	36	0
Charge descriptors	15	0
Molecular properties	20	4
Drug-like indices	28	8
Total	4886	891

Organização dos dados: A partir dos valores dos valores de IC₅₀ das atividades citotóxica e herbicida, foram calculados os valores de pIC₅₀ (-log(IC₅₀)), utilizados para a obtenção dos modelos de regressão.

Seleção de variáveis e modelos de regressão linear múltipla (MLR): O programa MobyDigs (versão 1.0) foi utilizado para realizar a seleção de variáveis e cálculo dos modelos de regressão através da metodologia de algoritmo genético. Os 891 descritores calculados no programa Dragon (versão 6.0) foram utilizados como variáveis independentes para a previsão da variável dependente pIC_{50} . As substâncias foram divididas em duas séries: uma de treino e outra de teste (para a validação externa), as substâncias foram selecionadas de maneira aleatória, porém tentando abranger toda a faixa de valores de pIC_{50} . Os modelos construídos, baseados na série de treino, foram avaliados internamente por validação cruzada e externamente com a inclusão da série de teste. O critério de seleção utilizado na busca dos melhores modelos foi o coeficiente de predição gerado através do método “full cross validation” (Q_{cv}^2) (Equação 1). Além do coeficiente de predição, os seguintes parâmetros foram utilizados para validar os modelos criados: **F** (função de Fisher) (Equação2), **S_{-PRESS}** (Equação3), **D.P.** (desvio padrão), r^2 (coeficiente de determinação), r_{ext}^2 (coeficiente de determinação para a série de teste) e Q_{ext}^2 (coeficiente de predição para a série de teste).

Equação 1

$$Q_{cv}^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

- y_i - valor observado da variável dependente do composto da série de treinamento o qual não participou da equação de regressão;
- $\hat{y}_i$ - valor da calculado variável dependente através do modelo de regressão da respectiva substância;
- $\bar{y}$ - média dos valores observados da variável dependente;

Equação2

$$S_{-PRESS} = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$$

- y_i - valor observado da variável dependente do composto da série de treinamento o qual não participou da equação de regressão;
- $\hat{y}_i$ - valor calculado da variável dependente através do modelo de regressão da respectiva substância;

Equação3

$$F = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2 / df_M}{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2 / df_E}$$

- y_i - valor observado da variável dependente do composto da série de treinamento o qual não participou da equação de regressão;
- $\hat{y}_i$ - valor da calculado variável dependente através do modelo de regressão da respectiva substância;
- $\bar{y}$ - média dos valores observados da variável dependente;
- df_M e df_E - graus de liberdade do modelo e do erro;

Modelo de classificação ativo/inativo: Os modelos de classificação das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas, frente às atividades ensaiadas, foram construídos utilizando-se a metodologia de Análise Discriminante utilizando Quadrados Mínimos Parciais, do inglês “Partial Least Square Discriminant Analysis” (PLS-DA). Os policetídeos com $IC_{50} > 200 \mu M$ para a atividade citotóxica ou $> 1000 \mu M$ para a Atividade de inibição da enzima HPPD foram considerados inativos e aquelas com valores inferiores aos mencionados foram consideradas como ativos e as substâncias sem valor de IC_{50} foram descartadas. Os descritores, calculados no programa Dragon 6, foram utilizados como variáveis independentes para a previsão da variável dependente 1 (inativo) e 2 (ativo). Para cada uma das linhagens celulares ensaiadas e para a inibição da enzima HPPD os grupos de descritores utilizados, nas construções dos modelos de classificação, foram somente aqueles presentes nos modelos de regressão linear múltipla (MLR), obtidos para cada um dos ensaios. Para o cálculo dos modelos utilizou-se o “*Classification toolbox 3.1*” (Ballabio and Consonni, 2013) para Matlab (Matlab 2009R). As amostras foram separadas em série de treino (aproximadamente 80% das substâncias), para a construção do modelo e série de teste (aproximadamente 20% das substâncias) para a validação externa do modelo calculado. O número de componentes utilizado em cada modelo foi obtido utilizando-se a opção “*optimal components for PLSDA*”. O teorema de Bayes foi utilizado para a determinação dos valores limites entre ativo, inativo ou não classificado. O procedimento “*venetian blind*” com 4 amostras retiradas em cada interação foi adotado na validação cruzada.

4. Resultados

4.1. Derivados do ácido cinâmico preparados

Para a preparação da série contendo os derivados de cinamoíla foram utilizados procedimentos triviais de preparação através da reação de condensação de Knoevenagel (Katayama et al., 1992). Foram obtidas sete substâncias (**a1-a7**, Tabela 5) e seus respectivos derivados hidrogenados (**a8-a14**, Tabela 5). Os dados espectroscópicos não são mostrados, pois todas as substâncias preparadas estão disponíveis comercialmente e a identidade das substâncias está bem suportada por dados espectroscópicos e espectrométricos (Katayama et al., 1992; Mitra et al., 1999). Todos os ácidos hidrogenados foram utilizados como materiais de partida para a preparação das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas que foram igualmente caracterizadas (seção 4.8).

Tabela 5. Derivados do ácido cinâmico preparados.

Entrada	Aldeído	Intermediário	Produto
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			

4.2. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas

As estruturas dos produtos desejados (Tabelas 6, 7 e 10) foram confirmadas através da análise dos dados de RMN ^1H . Um sinal com deslocamento químico pouco usual, mas consistente, em δ 18ppm (s,1H), caracteriza hidrogênio enólico quelatado com a carbonila da cadeia lateral, em um anel de 6 membros bastante estável (Figura 13, exemplificado com a substância **1a**). Na série com anel aromático, a presença de dois tripletos entre δ 2,8-3,5 ppm, atribuídos aos hidrogênios metilênicos da cadeia lateral, serviram de sinal diagnóstico (Figura 17, exemplificado com a substância **14d**). A análise por espectrometria de massas de alta resolução (EMAR) permitiu obter as massas exatas das moléculas (Figura 14, exemplificado com a substância **1a**), compatível com os valores calculados. De forma complementar os dados de espectrometria de massas de baixa resolução (EMBR) (Figura 15, exemplificado com a substância **1a**), abriram todo um novo conjunto de dados inéditos e com muitos íons fragmentários a serem atribuídos que confirmaram as estruturas (Figura 16, exemplificado com a substância **1a**). De uma forma geral os policetídeos planejados foram obtidos com rendimentos entre 37-86%.

Figura 13. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância **1a**, destaque para o sinal δ 18,12 ppm do hidrogênio quelatado.

Figura 14. Espectro de massas de alta resolução-ESI (EMAR) da substância **1a**.

Figura 15. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância **1a**.

Figura 16. Proposta de fragmentação no espectro de massas por impacto eletrônico (EMBR) para a substância **1a**.

Figura 17. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância **14d**, destaque para o sinal δ 18,09 ppm e dos dois tripletos entre δ 2,8-3,5ppm.

4.3. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas

A obtenção da série de policetídeos hidrogenada foi de fácil monitoramento, purificação e caracterização estrutural. A técnica RMN de ^1H foi fundamental para consolidar as estruturas das 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas (Tabelas 8 e 9). Os rendimentos obtidos variaram entre 54-72%. Além da manutenção do sinal em $\sim \delta$ 18 ppm, entre δ 7,5-8,5 ppm apareceram os hidrogênios olefínicos trans corresponde aos dupletos ($J \sim 16\text{Hz}$) (Figura 18, exemplificado com a substância **14c**).

Como já descrito (seção 4.2.) as análises por espectrometria de massas de alta resolução (EMAR) (Figura 19, exemplificado com a substância **14c**) e de baixa resolução (EM) (Figuras 20 e 21, exemplificado com a substância **14c**) corroboraram a proposta estrutural baseada nos dados de RMN.

Figura 18. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) da substância **14c**, destaque para o sinal δ 18,54 ppm e dos dois dupletos entre δ 7,5-8,5 ppm.

Figura 19. Espectro de massas de alta resolução-ESI (EMAR) da substância **14c**.

Figura 20. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância **14c**.

Figura 21. Proposta de fragmentação no espectro de massas por impacto eletrônico (EMBR) para a substância **14c**.

Tabela 6. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas sintetizadas.

Entrada	Ácido carboxílico	Produto
1		 1a
2		 2a
3		 3a
4		 4a
5		 5a
6		 6a
7		 7a

Entrada	Ácido carboxílico	Produto
1'		 1e
2'		 2b
3'		 3e
4'		 4e
5'		 5e
6'		 6b
7'		 7b

Tabela 7. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas sintetizadas – continuação.

Entrada	Ácido carboxílico	Produto	Entrada	Ácido carboxílico	Produto
8			8'		
9			9'		
10			10'		
11			11'		
12			12'		
13			13'		
14			14'		

Tabela 8. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas sintetizadas.

Entrada	aldeído	Produto
1		
2		
3		
4		
5

Entrada	Aldeído	Produto
1'		
2'		
3'		
4'		
5'		

Tabela 9. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas sintetizadas – continuação.

Entrada	Aldeído	Produto	Entrada	Aldeído	Produto
6		13a	6'		13c
7		14a	7'		14c
8		15a	8'		15c
9		16a	9'		16c
10		17a	10'		17c
11		18a	11'		18b
12		19a	12'		19b

4.4. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas e derivados isoxozalinos.

As 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas (Tabelas 11 e 12) e os derivados isoxozalinos (Tabela 12), foram obtidos com rendimento satisfatório (70-95%) e tiveram suas estruturas determinadas predominantemente por RMN ^1H . Um sinal diagnóstico da introdução do grupo hidroxílico foi o duplo duplete na região δ 4 ppm (Figura 22, exemplificado com a substância **1d**) e em alguns casos o sinal da hidroxila apareceu ao lado do duplo duplete (Figura 22). Em relação aos derivados isoxozalinos o parâmetro utilizado foi a ausência do singlete na região δ 18 ppm (Figura 26, exemplificado com a substância **1f**). Como já discutido anteriormente (seções 4.2. e 4.3.), as análises por espectrometria de massas de alta (EMAR) e de baixa resolução (EM) corroboraram os dados de RMN, já discutidos, para as 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas (Figuras 23, 24 e 25, exemplificado com a substância **1d**) e também para os derivados isoxozalinos (Figuras 27, 28 e 29, exemplificado com a substância **1f**).

Figura 22. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância **1d**, destaque para o duplo duplete em aproximadamente δ 4 ppm.

Figura 23. Espectro de massas de alta resolução-ESI (EMAR) da substância **1d**.

Figura 24. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância **1d**.

Figura 25. Proposta de fragmentação no espectro de massas por impacto eletrônico (EMBR) para a substância **1d**.

Figura 26. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância **1f**, destaque para a ausência do sinal na região δ 18 ppm.

Figura 27. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância **1f**.

Figura 28. Espectro de massas por impacto eletrônico de baixa resolução (EMBR) da substância **1f**.

Figura 29. Proposta de fragmentação no espectro de massas por impacto eletrônico (EMBR) para a substância **1f**.

Tabela 10. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas obtidas através da hidrogenação catalítica de 2-ácil-cicloexano-1,3-dionas insaturadas.

Entrada	2-Acil-cicloexano-1,3-diona	Produto	Entrada	2-Acil-cicloexano-1,3-diona	Produto
1			1'		
2			2'		

Tabela 11. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas sintetizadas por condensação aldólica.

Entrada	aldeído	Produto
1		
2		
3		

Tabela 12. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas hidroxiladas e derivados isoxozalinos sintetizados.

Entrada	Acil-cicloexano-1,3-diona	isoxozalina	isoxozalina hidroxilada	Acil-cicloexano-1,3diona hidroxilada
1	1a	1b	1c	1d
2	1e	1f	1g	1h
3	3a	3b	3c	3d
4	4a	4b	4c	4d
5	5a	5b	5c	5d
6	5e	5f	5g	—

4.5. Atividade citotóxica

Para os ensaios de citotoxicidade para as linhagens K562, Nalm6 e Raji (Tabelas 13 e 14), a máxima concentração das substâncias ensaiadas foi de 200 μ M. As substâncias que não apresentaram atividade até esse limite não tiveram seu valor de IC₅₀ calculado. Os ensaios foram realizados em triplicatas e os desvios padrão foram calculados para todas as substâncias com IC₅₀. O controle positivo utilizado foi a doxorrubicina.

O padrão de atividade das substâncias ensaiadas variou segundo a linhagem celular. Para a linhagem Nalm6 os valores médios de IC₅₀ foram os mais elevados, quando comparados com as outras duas linhagens, indicando que essa linhagem não é tão sensível quanto às outras duas para o grupo de substâncias testadas. Porém a atividade dessa e a das outras linhagens foram em muitos casos superiores ao controle positivo (doxorrubicina), resultado que indica que a classe das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas substância é promissora como antitumoral. Apesar de serem mais sensíveis, as linhagens K562 e Raji, não tiveram o mesmo padrão de inibição, observa-se que as substâncias **3b**, **4b**, **4c**, **5c**, **8c**, **9a**, **11c**, **16a**, **17b** e **17c** foram significativamente mais ativas contra a linhagem K562 e as substâncias **3a**, **3c**, **5f**, **6a**, **9c**, **10a**, **12a**, **12c**, **13a**, **13c**, **15d**, **16b** e **16d** foram significativamente mais ativas para a linhagem Raji (Tabelas 13 e 14).

As análises das relações entre as estruturas químicas e as atividades citotóxicas contra as linhagens K562, Nalm6 e Raji (Figura 30) permitiram entender melhor quais são os requisitos estruturais gerais para as respectivas atividades citotóxicas. A substituição na posição 5 com dois grupos metilas apresenta efeito variável, em alguns casos melhorou a atividade e em outros prejudicou, como exemplo, na linhagem k562: para as substâncias **14a** (sem grupos metílicos - 22,5 μ M) e **14c** (com grupos metílicos - 15,5 μ M) houve aumento de atividade para o derivado com dois grupos metilas, para as substâncias **16a** (sem grupos metílicos - 8,8 μ M) e **16c** (com grupos metílicos - 19 μ M) houve diminuição de atividade para o derivado com dois grupos metilas (Tabelas 13 e 14).

Em relação às séries de substâncias alifáticas, a presença do anel isoxozalino prejudica a atividade. Entretanto, a presença de hidroxila na posição 4 aumenta a atividade para essa série de substâncias. Para a linhagem K562 o tamanho ideal da

cadeia lateral é entre 9 e 11 carbonos, para as linhagens Nalm6 e Raji, o tamanho ideal da cadeia lateral é entre 9 e 16 carbonos.

Na série com grupo aromático a presença da insaturação é de suma importância. Para a linhagem K562 somente os derivados clorados, das substâncias sem a insaturação, apresentaram valores de IC₅₀ menores que 200 µM (Tabelas 13 e 14). Para as demais linhagens, além dos derivados clorados, as substância **11b** (Nalm6) e **15d** (Nalm6 e Raji), substâncias sem insaturação, apresentaram valores de IC₅₀ menores que 200 µM (Tabelas 13 e 14). Os grupos retiradores de elétrons no anel aromático aumentaram a atividade, enquanto os doadores diminuíram, com exceção das substâncias **9a** (8,94 µM), **9c** (10,8 µM), **10a** (25,8 µM) e **10c** (14,5 µM). As duas primeiras possuem um grupo metila em *orto*, o que indica que a substituição na posição *orto* é muito importante para atividade, uma vez que, as duas substâncias apresentam atividade bastante elevada; os dois últimos possuem uma metoxila na posição *meta*, que resulta em um produto mais ativo do que o análogo com substituinte em *para*.

A presença de hidroxila na posição 4, para a série com o grupo aromático, provocou aumento da atividade contra a linhagem K562, foi variável para a linhagem Nalm6 e provocou diminuição da atividade para a linhagem Raji.

Figura 30. Relação entre a estrutura química e a atividade biológica para as linhagens K562, Nalm6 e Raji. Os requisitos estruturais particulares para cada linhagem estão destacados em negrito.

Tabela 13. Valores de IC₅₀ (μM) dos policetídeos testados contra as linhagens celulares K562, Nalm6 e Raji, com os respectivos desvios padrão (D.P.) para triplicatas.

Substância	K562		Nalm6		Raji	
	IC ₅₀	D.P. ±(n=3)	IC ₅₀	D.P. ±(n=3)	IC ₅₀	D.P. ±(n=3)
1a	>200		>200		>200	
1b	>200		>200		>200	
1c	>200		>200		>200	
1d	>200		>200		>200	
1e	>200		>200		>200	
1f	>200		-		>200	
1g	>200		>200		>200	
1h	>200		>200		>200	
2a	>200		>200		>200	
2b	>200		>200		>200	
3a	>200		>200		140,38	0,01
3b	41,84	2,82	>200		128,31	0,23
3c	>200		>200		107,82	0,30
3d	>200		>200		>200	
3e	>200		>200		>200	
4a	-		2,60	1,20	5,40	1,30
4b	48,74	1,98	>200		>200	
4c	17,3	1,79	124,58	9,86	33,05	0,30
4d	8,34	0,74	45,46	4,54	8,11	0,02
4e	7,1	1,22	14,96	7,91	-	
5a	15,35	2,22	29,49	10,76	-	
5b	>200		>200		>200	
5c	18,25	1,21	101,71	10,07	32,36	0,11
5d	5,37	0,37	24,19	9,38	5,79	0,33
5e	11,45	0,16	-		6,61	0,03
5f	>200		>200		4,62	0,04
5g	29,73	1,29	125,63	16,59	37,02	0,02
6a	109,1	13,20	39,6	4,20	14,90	4,00
6b	-		-		-	
7a	>200		>200		>200	
7b	>200		>200		>200	
8a	28,90	4,20	84,00	8,90	33,20	5,40
8b	>200		>200		>200	
8c	18,51	1,59	55,30	7,30	>200	
8d	29,00	0,60	45,80	5,80	23,30	2,40
8e	>200		>200		>200	
9a	8,94	0,41	33,79	10,63	-	
9b	>200		>200		>200	
9c	10,80	3,80	6,40	1,50	2,10	1,10

Tabela 14. Valores de IC₅₀ (μM) dos policetídeos testados contra as linhagens celulares K562, Nalm6 e Raji, com os respectivos desvios padrão (D.P.) para triplicatas (continuação).

Substância	K562		Nalm6		Raji	
	IC ₅₀	D.P. ±(n=3)	IC ₅₀	D.P. ±(n=3)	IC ₅₀	D.P. ±(n=3)
9d	>200		>200		>200	
10a	25,80	3,10	30,60	4,30	15,50	0,90
10b	>200		>200		>200	
10c	14,50	2,00	22,90	4,10	8,10	1,10
10d	>200		>200		>200	
11a	38,30	7,70	83,20	7,30	27,10	5,20
11b	>200		78,00	6,90	>200	
11c	26,10	0,41	80,00	20,30	>200	
11d	29,20	5,00	78,00	6,90	23,50	6,60
11e	>200		>200		>200	
12a	37,40	0,70	>200		19,70	0,70
12b	>200		>200		>200	
12c	30,10	7,70	36,40	3,10	16,50	0,60
12d	>200		>200		>200	
13a	44,90	2,60	53,30	21,50	28,60	2,30
13b	>200		>200		>200	
13c	32,10	5,30	30,60	3,30	12,00	1,30
13d	>200		111,20	0,20	>200	
14a	22,50	5,10	75,90	9,60	30,10	0,60
14b	>200		>200		>200	
14c	15,50	3,40	74	5,60	26,60	2,20
14d	>200		>200		>200	
15a	>200		>200		>200	
15b	>200		>200		>200	
15c	>200		>200		>200	
15d	>200		154,40	9,70	70,40	4,30
16a	8,80	0,30	26,50	5,20	19,80	7,80
16b	44,50	7,80	31,60	2,00	6,80	0,70
16c	19,00	4,00	21,50	5,50	13,60	2,20
16d	33,80	9,90	27,70	1,50	4,80	1,70
17a	7,00	1,50	21,10	3,90	7,50	0,90
17b	6,67	0,38	27,15	4,82	>200	
17c	6,40	1	25,50	8,50	25,90	8,20
18a	10,40	1,70	12,50	3,50	4,10	0,10
18c	9,20	2,80	11,30	1,90	6,70	0,40
19a	7,00	0,40	44,00	8,90	10,50	4,70
19b	7,80	2,10	25,10	8,00	10,60	0,40
Doxorrubicina	30,50	3,40	22,26	9,10	45,20	0,50

4.5.1. Grupos de Descritores presentes nos modelos criados "in-silico".

Descritores 0D (Todeschini and Consonni, 2000).

- **Constitutional** – Descritores constitucionais são os mais simples e comuns dos descritores utilizados, refletem a composição da substância sem considerar nenhuma informação sobre a geometria ou a conectividade dos átomos. Massa molar, número de átomo e número de ligações são exemplos de descritores desse grupo.

Descritores 2D (Helguera et al., 2008; Todeschini and Consonni, 2000, 2009)

Descritores 2D, também nomeados como grafo invariantes ou descritores topológicos, são derivados do grafo molecular obtidos a partir da estrutura 2D.

A teoria dos grafos, um ramo de estudo nas ciências matemáticas, é utilizada para obter informação numérica de moléculas. Um grafo molecular é denotado como $G = (V, A)$, onde V = vértice (átomos), A = aresta (ligações), usualmente sem considerar os hidrogênios (Figura 31). Em suma, um grafo molecular é a representação topológica de uma molécula, e a partir desses é possível criar inúmeros índices topológicos moleculares.

Os índices topológicos são divididos em duas categorias: Os topoestruturais (codificam somente sobre adjacência e distância entre os átomos) e os topoquímicos (também quantificam informação topológica e adicionam informação das propriedades atômicas como massa, eletronegatividade, etc.).

Os descritores 2D utilizados nesse trabalho foram: *CATS-2D*, "*2D autocorrelation*", "*2D matrix-based*", "*Connectivity indices*", "*Edge adjacency indices*", "*Information indices*" e "*Topological indices*".

Figura 31. Representação do grafo molecular do 2-metil-butano e suas matrizes de distância e adjacência. Adaptado de (Helguera et al., 2008).

- **CATS-2D** – “*Chemically Advance Template Search 2D*” são descritores que utilizam a representação 2D das substâncias e levam em conta os farmacóforos presente nas substâncias. Os farmacóforos analisados são: Doadores de ligação de hidrogênio, aceptores de ligação de hidrogênio, carga positiva, carga negativa e lipofilicidade (Fechner et al., 2003; Schneider et al., 1999).
- **2D autocorrelation** – Auto correlação 2D são descritores que descrevem como uma determinada propriedade é distribuída através da estrutura topológica molecular. São calculados a partir do grafo molecular com hidrogênios e levam em conta propriedades físico-químicas (massa, volume de van der Waals, eletronegatividade de Sanderson, polarizabilidade e potencial de ionização).
- **2D matrix-based** – Descritores baseado em matriz 2D são índices topológicos, calculados aplicando-se uma série de operadores algébricos para gerar matrizes grafo-teóricas que representem um grafo molecular sem hidrogênios.
- **Connectivity indices** – Os Índices de conectividade são calculados a partir do grafo molecular sem hidrogênios, onde cada vértice é pesado pelo parâmetro “grau de vértice”, que é o número de átomos conectados.
- **Edge adjacency indices** – São calculados a partir da matriz de adjacência de borda, derivada do grafo molecular sem hidrogênios, que codifica informação sobre a conectividade entre as bordas do grafo.
- **Information indices** – Índices informacionais são descritores moleculares calculados como conteúdo informacional molecular, baseado nos cálculos de classes equivalentes a partir do grafo molecular.
- **Topological indices** – Índices topológicos são baseados na representação em grafo das moléculas. Eles são quantificadores da topologia molecular, que são independentes da numeração do vértice ou rotulagem.

Descritores 3D (Todeschini and Consonni, 2000, 2009)

Descritores 3D dependem da coordenada geométrica dos átomos das moléculas

- **3D autocorrelations** – Auto correlação 3D são descritores espaciais calculados a partir das distâncias euclidianas entre átomos ou pontos na superfície molecular, as propriedades definidas podem ser propriedades atômicas ou da superfície molecular.
- **3D matrix-based** – Descritores baseados em matriz 3D, conhecidos também como índices topográficos, são calculados a partir da representação do grafo molecular, mas utiliza distância euclidiana entre os átomos, ao invés de distâncias topológicas.
- **3D-MoRSE** – “*Molecule Representation of Structure based on Electron diffraction*” são descritores que refletem a distribuição em três dimensões de diferentes propriedades moleculares e expressam informações sobre a ramificação das moléculas. São obtidos através da somatória das propriedades atômicas (massa, eletronegatividade, volume de van der Waals e polarizabilidade) (Gasteiger et al., 1996; Schuur et al., 1996).
- **GETAWAY**– “*Geometric Topology and Atom Weights Assembly*” são descritores 3D relacionados à influência dos átomos na fórmula molecular e na distância entre eles (Consonni et al., 2002a; Consonni et al., 2002b).
- **WHIM** – “*Weighted Holistic Invariant Molecular*” são descritores que se baseiam em cálculos que utilizam Componentes Principais (PCA) com uma matriz de covariância gerada através das coordenadas moleculares ponderadas por propriedades atômicas (Gramatica, 2006). Esse grupo de descritores gera informações referentes ao tamanho, à simetria, forma e distribuição dos átomos (Gramatica, 2006).
- **RDF** – “*Radial Distribution Function*” são descritores baseados em uma função de distribuição radial, que pode ser interpretada como a distribuição de probabilidade de encontrar um átomo em um volume esférico de raio R (Hemmer et al., 1999).

4.5.2. Resultados “in-silico” para a linhagem K562

Modelos de regressão para a linhagem K562: O modelo de regressão linear múltipla (MLR), obtido na análise da série de treino, para a atividade citotóxica contra as células da linhagem K562 (Equação 4) explica 88,3% da variância na atividade biológica estudada. O coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,831) tem valor alto, indicativo de que o modelo gerado tem robustez. O valor de F (34,7) é muito

significativo, pois para 95% de confiança com 5 e 23 graus de liberdade, o valor mínimo é de 2,64.

Os erros entre os valores experimentais e calculados são inferiores a 7% (Figura 32 e Tabela 15), ótima correlação dos valores experimentais com os valores calculados. A série de teste apresenta coeficiente de regressão linear r^2_{ext} (0,891) e coeficiente de predição externa Q^2_{ext} (0,793) significativos, que validam o modelo externamente. O modelo da Equação 4 foi capaz de prever com eficiência os valores de pIC_{50} ($-\log(\text{IC}_{50})$) para a série de teste (Figura 33 e Tabela 16) com taxa de erro inferior à 4%. Os parâmetros de avaliação do modelo e taxa de erro, interna e externamente, indicam que o modelo é robusto para prever a atividade citotóxica de outras substâncias da classe das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas para a linhagem K562.

O modelo apresenta os seguintes descritores: ATS4e, MATS3s, Mor11s, Mor21s e E1p; os dois primeiros são descritores da classe de “2D autocorrelation”, o descritor ATS4e influencia negativamente a atividade e o MATS3s influencia positivamente, os dois seguintes pertencentes à classe 3D-MoRSE, influenciam negativamente a atividade, e o último pertence à classe WHIM (influencia positivamente a atividade estudada). Dos descritores presentes no modelo é possível afirmar que a atividade estudada pôde ser obtida a partir das informações extraídas das estruturas 2D (“2D autocorrelation”) e 3D (3DMoRSE e WHIM) das moléculas analisadas.

Equação 4

$$\begin{aligned} \text{pIC}_{50} = & -0.763(\pm 0,146)\text{ATS4e} + 0,783(\pm 0,431)\text{MATS3s} - 0,256(\pm 0,021)\text{Mor11s} - \\ & 0,188(\pm 0,052)\text{Mor21s} + 3,956(\pm 0,406)\text{E1p} + 5,185(\pm 0,561) \\ (n=29; r^2=0,883; \text{D.P.}=0,116; F=34,7 (5,23); Q^2_{\text{cv}}=0,831; \text{S}_{\text{-PRESS}}=0,443; n_{\text{ext}}=8; \\ & r^2_{\text{ext}}=0,891; Q^2_{\text{ext}}=0,793). \end{aligned}$$

Figura 32. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células K562, pela Equação 4.

Tabela 15. Valores experimentais de citotoxicidade, valores calculados pela Equação 4 e os respectivos erros da série de treino contra as células da linhagem K562.

Substâncias	pIC_{50}			Substâncias	pIC_{50}		
	Experimental	Calculado	Erro		Experimental	Calculado	Erro
4b	4,31	4,60	0,29	12a	4,43	4,34	-0,09
4c	4,76	4,61	-0,15	12c	4,52	4,46	-0,06
4e	5,15	5,11	-0,04	13a	4,35	4,38	0,03
5b	4,81	4,87	0,06	13c	4,49	4,47	-0,02
5d	5,27	5,22	-0,05	14c	4,81	4,83	0,02
5e	4,94	4,96	0,02	16a	5,06	4,87	-0,19
5g	4,53	4,56	0,03	16b	4,35	4,44	0,09
8c	4,73	4,72	-0,01	16d	4,47	4,45	-0,02
8d	4,54	4,66	0,12	17a	5,16	5,08	-0,08
9a	5,05	4,88	-0,17	17b	5,18	5,24	0,06
9c	4,97	4,99	0,02	17c	5,19	5,07	-0,12
10a	4,59	4,75	0,16	18a	4,98	5,10	0,12
10c	4,84	4,74	-0,1	18b	5,04	5,17	0,13
11a	4,42	4,40	-0,02	19a	5,16	5,17	0,01
11d	4,54	4,50	-0,04

Figura 33. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células K562, obtidos da Equação 4.

Tabela 16. Valores experimentais de citotoxicidade, valores preditos pela Equação 4 e os respectivos erros da série de teste contra as células da linhagem K562.

Substâncias	pIC_{50}		Erro
	experimental	predito	
3b	4,38	4,42	0,04
4d	5,08	5,13	0,05
5c	4,74	4,63	-0,11
8a	4,54	4,72	0,18
11c	4,58	4,62	0,04
14a	4,65	4,64	-0,01
16c	4,72	4,82	0,1
19b	5,11	5,30	0,19

Utilizando-se todas as amostras foi possível gerar um novo modelo (Equação 5), que explica 90,3% da variância na atividade biológica estudada. O valor do coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,859) indica que o modelo gerado tem robustez. O valor de F (57,4) é muito superior ao mínimo calculado de 2,53, para 95% de confiança com 5 e 31 graus de liberdade, o que indica que modelo é confiável. Além do grupo de descritores *3D-MoRSE* e *WHIM*, presente no modelo anterior (Equação 4), o novo modelo contém

descritores “*Topological indices*”, descritores “*2D matrix-based*” e descritores do grupo *GETAWAY*.

Equação 5

$$pIC_{50} = +1,201(\pm 0,137)Psi_i_A + 1,010(\pm 0,112)J_Dz(p) - 0,517(\pm 0,073)Mor20m + 1,860(\pm 0,435)G3u + 5,376(\pm 0,634)H7p - 1,039(\pm 0,380) \\ (n=37; r^2=0,903; D.P.=0,099; F=57,4 (df=5,31); Q^2_{cv}=0,859; S_{-PRESS}=0,437).$$

Modelos de classificação ativo/inativo para a linhagem K562: Os grupos de descritores utilizados foram: “*2D autocorrelation*”, *3D-MoRSE*, *WHIM*, “*Topological indices*”, “*2D matrix-based*” e *GETAWAY*. Foram criados 7 modelos (Tabela 17), seis deles utilizando-se os grupos de descritores isoladamente (1 modelo para cada um dos grupos de descritores) e um com todos os descritores combinados (Total). Os parâmetros analisados foram:

- Especificidade: Descreve a capacidade do modelo de não classificar determinada classe como outra classe, é definida como:

$$\text{especificidade} = \frac{\text{negativo verdadeiro}}{\text{negativo verdadeiro} + \text{falso positivo}}$$

- Sensibilidade: Descreve a capacidade do modelo de classificar adequadamente uma determinada classe, é definida como:

$$\text{sensibilidade} = \frac{\text{Positivo verdadeiro}}{\text{positivo verdadeiro} + \text{falso negativo}}$$

- Quantidade de acertos: número de substâncias classificadas corretamente
- Quantidade de erros: número de substâncias classificadas incorretamente

O modelo criado com o grupo de descritores “*2D matrix-based*” obteve a melhor performance, para as séries treino, validação externa e série de teste. Esse modelo conseguiu classificar equilibradamente e adequadamente as substâncias ativas e inativas, na série de treino e na validação; para a série de teste o modelo foi também adequado, mas apresentou melhor desempenho para os inativos (100% de sensibilidade) enquanto para os ativos a sensibilidade foi de 78%, ou seja, o modelo tende acertar mais para as substâncias inativas do que para as ativas. Para esse modelo foi gerada uma representação gráfica (Figura 34). A série de treino está representada por círculos e a série de teste por asteriscos. As amostras inativas são

coloridas em azul e as ativas em vermelho. A região à esquerda da linha vertical é a região das substâncias classificadas como inativas e à direita é das classificadas como ativas. Para a série de treino as substâncias **15c**, **15d** e **4b** foram classificadas erroneamente, a substância **15c** é inativa e foi classificada como ativa, enquanto as substâncias **15d** e **4b** são ativas e foram classificadas como inativas. Para a série de teste (validação externa) somente as substâncias **15b** e **3b** (ativas) foram classificadas incorretamente. Os descritores com valores positivos (Figura 35) são aqueles que influenciaram as substâncias ativas positivamente, enquanto os com valores negativos influenciaram de maneira negativa, ou seja, uma substância com valores altos dos descritores com valores positivos e valores baixos dos descritores negativos será classificada como ativa, e vice e versa. Com isso, o modelo criado com o grupo de descritores “*2D matrix-based*”, que utiliza somente a informação em duas dimensões das substâncias, pode ser utilizado para avaliar o potencial de outras 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como inativas ou ativas para a atividade citotóxica contra a linhagem K562.

Tabela 17. Grupos de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação à atividade citotóxica contra a linhagem K562. Os parâmetros avaliados são: Especificidade, sensibilidade, quantidade de acertos, quantidade de erros e total ativos/inativos.

Linhagem K562		Inativo					Ativo				
Descritores		Espec.(%)	Sens.(%)	Acertos	Erros	Total	Espec.(%)	Sens.(%)	Acertos	Erros	Total
2D autocorrelation	Treino	90	96	25	1	26	96	90	28	3	31
	Validação	87	81	21	5	26	81	87	27	4	31
	Teste	67	100	8	0	8	100	67	6	3	9
3DMoRSE	Treino	90	88	25	1	26	90	88	28	2	31
	Validação	87	85	21	5	26	85	87	27	4	31
	Teste	67	100	8	0	8	100	67	6	3	9
WHIM	Treino	100	96	25	1	26	96	100	31	0	31
	Validação	57	72	18	7	25	72	57	17	13	30
	Teste	56	100	8	0	8	100	56	5	4	9
Topological indices	Treino	90	92	24	2	26	92	90	28	3	31
	Validação	84	73	19	7	26	73	84	26	5	31
	Teste	67	100	8	0	8	100	67	6	3	9
2D Matrix-based	Treino	94	96	25	1	26	96	94	29	2	31
	Validação	87	85	22	4	26	85	87	27	4	31
	Teste	78	100	8	0	8	100	78	7	2	9
GETAWAY	Treino	94	96	25	1	26	96	94	29	2	31
	Validação	90	88	23	3	26	88	90	28	3	31
	Teste	67	100	8	0	8	100	67	6	3	9
Total	Treino	90	96	25	1	26	96	90	28	1	31
	Validação	90	85	22	4	26	85	90	28	3	31
	Teste	67	100	8	0	8	100	67	6	3	9

Figura 34. Gráfico de distribuição das amostras (treino: círculos, teste: asteriscos) em relação à resposta calculada para as substâncias ativas, utilizando-se o grupo de descritores “2D matrix-based”, para a linhagem k562.

Figura 35. Coeficientes das variáveis calculadas para as substâncias ativas, e variáveis utilizadas na construção do modelo de classificação ativo/inativo para a linhagem K562, utilizando-se os descritores 2D matrix-based.

4.5.3. Resultados “in-silico” para a linhagem Nalm6

Modelos de regressão para a linhagem Nalm6: Como já discutido para a linhagem K562, na análise da série de treino, para a atividade citotóxica contra as células da linhagem Nalm6 obteve-se um modelo de regressão linear múltipla (Equação 6) que explica 96% da variância na atividade biológica estudada. O coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,928) tem valor bastante elevado, sugestivo de um modelo bastante robusto. O valor de F (109,7) é muito significativo, pois para 95% de confiança com 5 e 23 graus de liberdade, o valor mínimo é de 2,64. O maior erro entre os valores experimentais e calculados é inferior à 5% (Figura 36 e Tabela 18) e essa taxa de erro sustenta que o modelo consegue prever com bastante precisão os valores de pIC_{50} da série de treino. A série de teste apresenta coeficiente de regressão linear r^2_{ext} (0,702) e coeficiente de predição externa Q^2_{ext} (0,710) aceitáveis para validar o modelo externamente, mas com valores inferiores ao obtidos para o modelo da linhagem K562 (Equação 5). Da análise dos resultados obtidos para a série de teste (Figura 37 e Tabela 19) foi possível identificar a substância **4a** como “outlier”, ou seja, uma amostra que não segue o mesmo padrão das demais e interfere na validação do modelo. Os valores de IC_{50} contra a linhagem Nalm6 (Tabela 13 Tabela 14) indicam que a citada substância possui o menor valor de IC_{50} (2,6 μ M) dentre todas as substâncias testadas e que é consideravelmente mais ativa que outras substâncias de estrutura muito similar: **4d** (45,46 μ M), **5a** (29,49 μ M) e **5d** (24,19 μ M). A substância **4a** foi eliminada da análise e um novo modelo foi gerado (Equação 7).

Equação 6

$$pIC_{50} = -0.009(\pm 0,000)MW - 0,164(\pm 0,041)Mor12u - 0,272(\pm 0,144)Mor22m \\ + 3,205(\pm 1,268)G3e + 14,437(\pm 2,931)R5p + 3,917(\pm 0,243) \\ (n=29; r^2=0,960; D.P.=0,070; F=109,7 (df=5,23); Q^2_{cv}=0,928; S_{PRESS}=0,202; n_{ext}=9; \\ r^2_{ext}=0,702; Q^2_{ext}=0,710).$$

Figura 36. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células Nalm6, obtidos da Equação 6.

Tabela 18. Valores experimentais de citotoxicidade, valores calculados pela Equação 6 e os respectivos erros calculados da série de teste contra as células da linhagem Nalm6.

Substâncias	pIC_{50}		Erro	Substâncias	pIC_{50}		Erro
	Experimental	Calculado			Experimental	Calculado	
4c	3,90	3,91	0,01	13a	4,27	4,22	-0,05
4e	4,83	4,86	0,04	13c	4,51	4,45	-0,06
5a	4,53	4,56	0,03	13d	3,95	3,91	-0,04
5d	4,62	4,64	0,02	14a	4,12	4,03	-0,09
5g	3,90	3,89	-0,01	14c	4,13	4,18	0,05
8a	4,08	4,07	-0,01	16a	4,58	4,56	-0,02
8c	4,26	4,35	0,09	16b	4,50	4,47	-0,03
8d	4,34	4,43	0,09	16c	4,67	4,69	0,02
9a	4,47	4,54	0,07	16d	4,56	4,64	0,08
9c	5,19	4,97	-0,22	17b	4,57	4,55	-0,02
10c	4,64	4,70	0,06	17c	4,59	4,64	0,05
11a	4,08	4,06	-0,02	18a	4,90	4,87	-0,03
11b	4,11	4,11	0	19a	4,36	4,38	0,03
11c	4,10	4,15	0,05	19b	4,60	4,58	-0,02
11d	4,11	4,05	-0,06

Figura 37. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade predita para a série de treino contra as células Nalm6, obtidos da Equação 6.

Tabela 19. Valores experimentais de citotoxicidade, valores preditos pela Equação 6 e os respectivos erros da série de teste contra as células da linhagem Nalm6.

Substâncias	pIC_{50}		Erro
	Experimental	Predito	
4a	5,90	4,90	-0,69
4d	4,34	4,51	0,17
5c	3,99	4,01	0,02
6a	4,40	4,52	0,12
10a	4,51	4,73	0,22
12c	4,44	4,56	0,12
15d	3,81	3,52	-0,29
17a	4,68	4,57	-0,11
18b	4,95	4,92	-0,03

O novo modelo gerado para as células da linhagem Nalm6 (Equação 7) explica 96,3% da variância na atividade biológica estudada, com coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,929) e o valor de F (118,6) muito significativo. Mesmo com a inclusão de descritores dos grupos “3D matrix-based”, “Information indices” e CATS-2D no novo modelo, a predição interna não foi muito diferente do modelo anterior, já que, a substância retirada (**4a**) fazia parte da série de treino. No entanto, a validação externa, obtida com a série de teste, apresentou significante melhora, tanto o coeficiente de regressão linear r^2_{ext} (0,873) quanto o coeficiente de predição externa Q^2_{ext} (0,855)

tiveram seus valores elevados, indicando ser esse um modelo muito mais robusto que o anterior.

Esse modelo apresenta os seguintes descritores: MW (*Constitutional*) com influência pequena e negativa para a atividade, indicando que as substâncias com massas molares elevadas possuem baixa atividade; IC5 (*Information indices*) com influência positiva na atividade estudada; VE2_RG (*3D matrix-based*), também com influência positiva na atividade; R6u+ (*GETAWAY*), forte influência negativa na atividade e CATS2D_05_LL (*CATS-2D*) apresentando influência positiva, esse ultimo descritor codifica informação sobre a relação entre regiões lipofílicas da molécula.

Equação 7

$$pIC_{50} = -0.09(\pm 0,001)MW + 0,333(\pm 0,106)IC5 + 0,104(\pm 0,037)VE2_RG - 5,921(\pm 2,060)R6u+ + 0,035(\pm 0,008)CATS2D_05_LL + 3,046(\pm 0,567)$$

(n=29; $r^2=0,963$; D.P.=0,067; F=118,6 (df=5,23); $Q^2_{cv}=0,929$; S.PRESS=0,198; $n_{ext}=8$; $r^2_{ext}=0,873$; $Q^2_{ext}=0,855$).

Figure 38. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células Nalm6, obtidos da Equação 7.

Tabela 20. Valores experimentais de citotoxicidade, valores calculados pela Equação 7 e os respectivos erros calculados da série de teste contra as células da linhagem Nalm6.

Substâncias	pIC ₅₀		Erro	Substâncias	pIC ₅₀		Erro
	Experimental	Predito			Experimental	Predito	
4c	3,90	3,88	-0,02	13a	4,27	4,36	0,09
4e	4,83	4,81	-0,02	13c	4,51	4,54	0,03
5a	4,53	4,56	0,03	13d	3,95	3,95	0,00
5d	4,62	4,67	0,06	14a	4,12	4,10	-0,02
5g	3,90	3,90	0,00	14c	4,13	4,19	0,06
8a	4,08	4,05	-0,03	16a	4,58	4,55	-0,03
8c	4,26	4,32	0,06	16b	4,50	4,57	0,07
8d	4,34	4,43	0,09	16c	4,67	4,58	-0,09
9a	4,47	4,63	0,16	16d	4,56	4,59	0,03
9c	5,19	5,07	-0,12	17b	4,57	4,53	-0,04
10c	4,64	4,66	0,02	17c	4,59	4,55	-0,04
11a	4,08	4,00	-0,08	18a	4,90	4,79	-0,11
11b	4,11	4,05	-0,06	19a	4,36	4,38	0,02
11c	4,10	4,03	-0,07	19b	4,6	4,59	-0,01
11d	4,11	4,12	0,01

Figura 39. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC₅₀) de citotoxicidade versus os valores da atividade predita para a série de treino contra as células Nalm6, obtidos da Equação 7.

Tabela 21. Valores experimentais de citotoxicidade, valores preditos pela Equação 7 e os respectivos erros da série de teste contra as células da linhagem Nalm6.

Substâncias	pIC ₅₀		Erro predito
	Experimental	Predito	
4d	4,34	4,47	0,13
5c	3,99	4,09	0,10
6a	4,40	4,55	0,15
10a	4,51	4,48	-0,03
12c	4,44	4,58	0,14
15d	3,81	3,61	-0,20
17a	4,68	4,59	-0,09
18b	4,95	4,84	-0,11

Utilizando-se todas as amostras, sem dividi-las em teste e treino, gerou-se outro modelo (Equação 8), que explica 92,4% da variância na atividade biológica estudada, com o valor do coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,866) satisfatório para um modelo robusto. O valor de F (57,4) é muito superior ao mínimo calculado (2,49), para 95% de confiança com 5 e 33 graus de liberdade. O único grupo de descritores que está presente nesse modelo (Equação 8) e ausente nos demais (Equações 6 e 7) é o grupo de descritores “*Edge adjacency*” (Eig02_AEA(dm)), que codifica informações sobre a representação 2D das substâncias e tem influência negativa na atividade.

Equação 8

$$pIC_{50} = -0.09(\pm 0,001)MW - 0,517(\pm 0,094)Eig02_AEA(dm) + 0,073(\pm 0,014)RDF115p - 0,209(\pm 0,0411)Mor12u + 2,908(\pm 0,611)E1m + 4,117(\pm 0,139)$$

(n=39; $r^2=0,924$; D.P.=0,109; F=79,9 (df=5,33); $Q^2_{cv}=0,866$; S_{-PRESS}=0,683).

Modelos de classificação ativo/inativo para a linhagem Nalm6: Os grupos de descritores utilizados para a criação dos modelos de classificação baseados em PLSDA foram: “Constitutional”, 3D-MoRSE, WHIM, GETAWAY, “Informational indices”, “3D matrix-based”, CATS-2D e “Edge Adjacency indices”. Foram criados 9 modelos (Tabela 22), oito deles utilizando-se os grupos de descritores isoladamente (1 modelo para cada um dos grupos de descritores) e um com todos os descritores combinados (Total).

O modelo criado com o grupo de descritores GETAWAY resultou no melhor desempenho global. Esse modelo conseguiu classificar equilibradamente e adequadamente as substâncias ativas e inativas, na série de treino, na validação e na série de teste. Para esse modelo foi gerada uma representação gráfica (Figura 34), da mesma maneira que realizada para a linhagem k562.

Para a série de treino (Figura 40) as substâncias **11b**, **11e**, **15c** e **15d** foram classificadas erroneamente. As substâncias **11e** e **15c** são inativas e foram classificadas como ativas, enquanto que para as substâncias **11b** e **15d** ocorreu o inverso. Para a série de teste (Figura 40) somente a substância **12a** (inativa) foi classificada incorretamente. Analogamente ao que foi dito para a linhagem K562, os descritores com valores positivos (Figura 41) são aqueles que influenciaram as substâncias ativas positivamente, enquanto os com valores negativos tiveram influência negativa. Portanto, como dito para a linhagem k562, o modelo criado com o grupo de descritores *GETAWAY* pode ser utilizado para avaliar o potencial de outras 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas para a atividade citotóxica contra a linhagem Nalm6, de maneira simples e rápida e com baixa margem de erro.

Tabela 22. Grupo de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação à atividade citotóxica contra a linhagem Nalm6. Os parâmetros avaliados são: Especificidade, sensibilidade, quantidade de acertos, quantidade de erros e total ativos/inativos.

Linhagem Nalm6		Inativo					Ativo				
Descritores		Espec.(%)	sens.(%)	Acertos	Erros	Total	Espec.(%)	sens.(%)	Acertos	Erros	Total
Constitutional	Treino	90	93	25	2	27	93	90	27	3	30
	Validação	73	81	22	5	27	81	73	22	8	30
	Teste	88	62	5	3	8	62	88	7	1	8
3DMoRSE	Treino	93	96	26	1	27	96	93	28	2	30
	Validação	87	85	23	4	27	85	87	26	4	30
	Teste	88	75	6	2	8	75	88	7	1	8
WHIM	Treino	97	96	26	1	27	96	97	29	1	30
	Validação	77	85	23	4	27	85	77	23	7	30
	Teste	75	75	6	2	8	75	75	6	2	8
GETAWAY	Treino	90	93	25	2	27	93	90	27	3	30
	Validação	90	89	24	3	27	89	90	27	3	30
	Teste	100	88	7	1	8	88	100	8	0	8
Informational indices	Treino	90	85	23	4	27	85	90	27	3	30
	Validação	77	81	22	5	27	81	77	23	7	30
	Teste	100	38	3	5	8	38	100	8	0	8
3D matrix-based	Treino	90	93	25	2	27	93	90	27	3	30
	Validação	87	85	23	4	27	85	87	26	4	30
	Teste	100	75	6	2	8	75	100	8	0	8
CATS-2D	Treino	83	78	21	6	27	78	83	25	5	30
	Validação	70	63	17	10	27	63	70	21	9	30
	Teste	88	75	6	2	8	75	88	7	1	8
Edge adjacency indices	Treino	87	89	24	3	27	89	87	26	4	30
	Validação	80	70	19	8	27	70	80	24	6	30
	Teste	100	62	5	3	8	62	100	8	1	8

Tabela 23. Grupo de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação à atividade citotóxica contra a linhagem Nalm6. Os parâmetros avaliados são: Especificidade, sensibilidade, quantidade de acertos, quantidade de erros e total ativos/inativos (continuação).

Linhagem Nalm6		Inativo					Ativo				
Descritores		Espec.(%)	sens.(%)	Acertos	Erros	Total	Espec.(%)	sens.(%)	Acertos	Erros	Total
RDF	Treino	83	89	24	3	27	89	83	25	5	30
	Validação	83	89	24	3	27	89	83	25	5	30
	Teste	100	75	6	2	8	75	100	8	0	8
Total	Treino	93	96	26	1	27	96	93	28	2	30
	Validação	87	85	23	4	27	85	87	26	4	30
	Teste	100	88	7	1	8	88	100	8	0	8

Figura 40. Gráfico de distribuição das amostras (treino: círculos, teste: asteriscos) em relação à resposta calculada para as substâncias ativas, utilizando-se o grupo de descritores GETAWAY, para a linhagem Nalm6.

Figura 41. Coeficientes das variáveis calculadas para as substâncias ativas, e variáveis utilizadas na construção do modelo de classificação ativo/inativo para a linhagem Nalm6, utilizando-se os descritores GETAWAY.

4.5.4. Resultados “in-silico” linhagem Raji

Modelos de regressão para a linhagem Raji: Para a linhagem Raji, o modelo de regressão linear múltipla, obtido na análise da série de treino (Equação 9) explica 85,6% da variância, o coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,783) tem valor adequado para garantir que o modelo gerado tem robustez. O valor de F (27,3) é significativo, pois para 95% de confiança com 5 e 23 graus de liberdade, o valor mínimo é de 2,64.

O maior erro entre os valores experimentais e calculados é inferior a 7,5% (Figura 42 e Tabela 24), indicativo de boa correlação dos valores experimentais com os valores calculados. A série de teste apresenta coeficiente de regressão linear r^2_{ext} (0,847) e coeficiente de predição externa Q^2_{ext} (0,761) significativos, que validam o modelo externamente. A eficiência na previsão dos valores de pIC_{50} para a série de teste (Figura 43 e Tabela 25) é adequada, com taxa de erro inferior à 7,5%. Em suma, o modelo gerado (Equação 9) apresenta boa capacidade de previsão para as séries de treino e de teste, sendo portanto, adequado como ferramenta na previsão da atividade citotóxica para a linhagem Raji.

O modelo apresenta os seguintes descritores: BIC5, SM13_AEA(bo), Mor25u, HATS7u e CATS2D_02_LL; os dois primeiros são descritores das classes “*Information indices*” e “*Edge adjacency indices*” respectivamente, influenciam positivamente a atividade citotóxica. Esses descritores codificam a informação 2D presente nas substâncias; o descritor Mor25u (influência negativamente a atividade) é um descritor do grupo *3D-MoRSE* e codifica a informação sobre a estrutura 3D das substâncias e também suas ramificações; O descritor HATS7u pertence ao grupo *GETAWAY* e codifica a influência que os átomos têm na forma das substâncias e influenciou positivamente a atividade; já o descritor CATS2D_02_LL (grupo *CATS-2D*) que como já mencionado, traz informações sobre as relações entre regiões lipofílicas da molécula, contribuiu também para o aumento da atividade citotóxica para a linhagem Raji.

Equação 9

$$pIC_{50} = +9,690(\pm 1,257)BIC5 + 1,291(\pm 0,273)SM13_AEA(bo) - 0,621(\pm 0,132)Mor25u + 2,420(\pm 0,588)HATS7u + 0,145(\pm 0,017)CATS2D_02_LL - 7,736(\pm 1,394) \\ (n=29; r^2=0,856; D.P.=0,180; F=27,3 (df=5,23); Q^2_{cv}=0,783; S_{-PRESS}=1,124; n_{ext}=7; r^2_{ext}=0,847; Q^2_{ext}=0,761).$$

Figura 42. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade calculada para a série de treino contra as células Raji, obtidos da Equação 9.

Tabela 24. Valores experimentais de citotoxicidade, valores calculados pela Equação 9 e os respectivos erros calculados da série de teste contra as células da linhagem Raji.

Substâncias	pIC_{50}		Erro	Substâncias	pIC_{50}		Erro
	Experimental	Calculado			Experimental	Calculado	
3a	3,85	4,00	0,15	12c	4,78	4,70	-0,08
3c	3,97	3,79	-0,18	13a	4,54	4,73	0,19
4c	4,48	4,52	0,04	13c	4,92	4,75	-0,17
4d	5,09	4,95	-0,14	14a	4,52	4,45	-0,07
5c	4,49	4,59	0,10	14c	4,58	4,59	0,01
5e	5,19	5,35	0,16	15d	4,15	4,32	0,17
5f	5,34	5,18	-0,16	16a	4,70	4,96	0,26
5g	4,43	4,71	0,28	16b	5,17	5,16	-0,01
6a	4,83	4,78	-0,05	16d	5,32	5,35	0,03
8a	4,48	4,45	-0,03	17a	5,12	4,96	-0,16
9c	5,68	5,46	-0,22	17c	4,59	4,94	0,35
10a	4,81	4,91	0,10	18a	5,39	5,36	-0,03
10c	5,09	4,86	-0,23	18b	5,17	5,26	0,09
11a	4,57	4,44	-0,13	19b	4,97	4,7	-0,27
11d	4,63	4,61	-0,02

Figura 43. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) de citotoxicidade versus os valores da atividade predita para a série de treino contra as células Raji, obtidos da Equação 9.

Tabela 25. Valores experimentais de citotoxicidade, valores preditos pela Equação 9 e os respectivos erros da série de teste contra as células da linhagem Raji.

Substâncias	pIC_{50}		Erro
	Experimental	Predito	
3b	3,89	3,62	-0,27
4a	5,27	5,05	-0,22
5d	5,24	4,92	-0,32
8d	4,63	4,80	0,17
12a	4,71	4,72	0,01
16c	4,87	4,92	0,05
19a	4,98	4,74	-0,24

Com todas as amostras na série de treino gerou-se um modelo (Equação 10) que explica 88,2% da variância na atividade biológica estudada, com o valor do coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,811) satisfatório para um modelo robusto. O valor de F (44,9) é mais que 17 vezes superior ao mínimo calculado (2,53), para 95% de confiança com 5 e 33 graus de liberdade. Além do grupo dos descritores “*Information indices*”, GETAWAY e CATS-2D, presente no modelo anterior (Equação 9), o novo modelo contém descritores “*Connectivity indices*” (X5Av) e descritores “*3D autocorrelation*” (TDB09s). O descritor X5Av, que codifica a informação da conectividade das substâncias na representação 2D, influência positivamente a

atividade, já o descritor TDB09s, que codifica informações 3D das substâncias, têm influência negativa para a atividade citotóxica.

Equação 10

$$\text{pIC}_{50} = +29,861(\pm 3,421)\text{X5Av} + 9,677(\pm 1,010)\text{BIC5} - 0,339(\pm 0,054)\text{TDB09s} - 19,300(\pm 3,340)\text{R4e} + 0,097(\pm 0,009)\text{CATS2D_02_LL} - 5,122(\pm 0,923)$$

(n=36; $r^2=0,882$; D.P.=0,160; F=44,9 (df=5,30); $Q^2_{\text{cv}}=0,811$; S-PRESS=1,231).

Modelos de classificação ativo/inativo para a linhagem Raji: Os grupos de descritores utilizados foram: “*Informationn indices*”, “*Edge adjacency indices*”, 3D-MoRSE, GETAWAY, CATS-2D, “*Connectivity indices*” e “*3D autocorrelation*”. Foram criados 8 modelos (Tabela 26), sete deles utilizando-se os grupos de descritores isoladamente (1 modelo para cada um dos grupos de descritores) e um com todos os descritores combinados (Total).

O modelo criado com o grupo de descritores GETAWAY resultou na melhor performance, para as séries treino, validação externa e série de teste. Esse modelo conseguiu classificar equilibradamente e adequadamente as substâncias ativas e inativas, na série de treino, validação e na série de teste. Analogamente aos outros dois modelos (linhagens K562 e Nalm6), gerou-se uma representação gráfica (Figura 44). A série de treino está representada por círculos e a série de teste por asteriscos. As amostras inativas são coloridas em azul e as ativas em vermelho. A região à esquerda da linha vertical é a região das substâncias classificadas como inativas e à direita é das classificadas como ativas. Para a série de treino as substâncias **3a**, **5b**, **8c**, **11c**, **16b** e **16d** foram classificadas erroneamente. As substâncias **5b**, **8c**, **11c** e **15c** são inativas e foram classificadas como ativas, enquanto as substâncias **3a**, **16b** e **16d** são ativas e foram classificadas como inativas. Para a série de teste (validação externa) as substâncias **3b**, **4b**, **15d** e **17b** foram classificadas incorretamente. As substâncias **3b** e **15c** são ativas e foram classificadas como inativas, enquanto as substâncias **4b** e **17b**, que são inativas, foram classificadas como ativas. Os descritores com valores positivos (Figura 45) são aqueles que influenciaram as substâncias ativas positivamente, enquanto os com valores negativos influenciaram de maneira negativa. O modelo de classificação, utilizando a metodologia de PLSDA, para a linhagem Raji apresentou desempenho inferior aos modelos para as linhagens K562 e Nalm6, mas ainda assim apresentou taxas de sensibilidade e especificidade adequados para previsão.

Tabela 26. Grupo de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação à atividade citotóxica contra a linhagem K562. Os parâmetros avaliados são: Especificidade, sensibilidade, quantidade de acertos, quantidade de erros e total ativos/inativos.

Linhagem Raji		Inativo					Ativo				
Descritores		Espec.(%)	Sens.(%)	Acertos	Erros	Total	Espec.(%)	Sens.(%)	Acertos	Erros	Total
Information indices	Treino	86	86	24	4	28	86	86	24	4	28
	Validação	68	57	16	12	28	57	68	19	9	28
	Teste	62	62	5	3	8	62	62	5	3	8
Edge adjacency indices	Treino	89	82	23	5	28	82	89	25	3	28
	Validação	71	64	18	10	28	64	71	20	8	28
	Teste	88	62	5	3	8	88	62	7	1	8
3D-MoRSE	Treino	89	82	23	5	28	82	89	25	3	28
	Validação	86	79	22	6	28	79	86	24	4	28
	Teste	75	75	6	2	8	75	75	6	2	8
GETAWAY	Treino	89	86	24	4	28	86	89	25	3	28
	Validação	82	82	23	5	28	82	82	23	5	28
	Teste	75	75	6	2	8	75	75	6	2	8
CATS-2D	Treino	89	46	13	15	28	46	89	25	3	28
	Validação	86	43	12	16	28	43	86	24	4	28
	Teste	88	25	2	6	8	25	88	7	1	8
Connectivity indices	Treino	89	86	25	3	28	86	89	25	3	28
	Validação	79	83	24	4	28	79	83	22	6	28
	Teste	75	62	5	3	8	62	75	6	2	8
3D autocorrelation	Treino	89	89	25	3	28	89	89	25	3	28
	Validação	79	86	24	4	28	86	79	22	6	28
	Teste	75	62	5	3	8	62	75	6	2	8
total	Treino	93	86	24	4	28	86	93	26	2	28
	Validação	82	79	22	6	28	79	82	23	5	28
	Teste	75	75	6	2	8	75	75	6	2	8

Figura 44. Gráfico de distribuição das amostras (treino: círculos, teste: asteriscos) em relação à resposta calculada para as substâncias ativas, utilizando-se o grupo de descritores *GETAWAY*, para a linhagem Raji.

Figura 45. Coeficientes das variáveis calculadas para as substâncias ativas, e variáveis utilizadas na construção do modelo de classificação ativo/inativo para a linhagem Raji, utilizando-se os descritores *GETAWAY*.

4.6. Atividade de inibição da enzima HPPD

Os dados de Atividade de inibição da enzima HPPD inferidos pela inibição da enzima HPPD realizados até o presente (Tabela 27) revelaram alguns dos requisitos importantes para melhorar a atividade (Figura 46). O controle positivo utilizado foi o sulcotrione. A melhor atividade foi observada com a cadeia lateral com 9 ou 12 carbonos; a substituição na posição 5 com dois grupos metílicos resultou em contribuição negativa, com exceção das substâncias **2a** (sem grupos metílicos - 35,12 μ M) e **2b** (com grupos metílicos – 16,59 μ M) em que houve aumento de atividade para o derivado com dois grupos metilas; a substituição na posição 4 com o grupo hidroxila apresentou efeito negativo, com exceção para as substâncias **5a** (sem grupo hidroxila - 0,3 μ M) e **5d** (com grupo hidroxila – 0,18 μ M) em que houve aumento de atividade para o derivado com o grupo hidroxila; e a presença do anel isoxozalino elimina a atividade por completo.

Tabela 27. Valores de IC₅₀ (μ M) de inibição da HPPD com os respectivos desvios padrão (D.P.) para triplicatas.

Substâncias	IC ₅₀ (μ M)	D.P. $\pm$ (n=3)	Substâncias	IC ₅₀ (μ M)	D.P. $\pm$ (n=3)
1a	23,09	4,34	4b	>1000	
1b	>1000		4c	>1000	
1c	>1000		4d	1,25	0,40
1d	>1000		4e	2,66	0,95
1e	53,12	17,09	5a	0,30	0,03
1f	>1000		5b	>1000	
1g	>1000		5c	>1000	
1h	166,03	19,66	5d	0,18	0,02
2a	35,12	6,24	5e	0,77	0,11
2b	16,59	4,36	5f	>1000	
3a	2,93	0,47	5g	>1000	
3b	>1000		6a	1,58	0,20
3c	>1000		6b	1,70	0,31
3d	15,84	4,90	7a	9,60	1,40
3e	4,17	0,45	7b	17,20	2,60
4a	0,46	0,06	sulcotrione	0,22	0,02

Figura 46. Relação entre a estrutura química e a atividade biológica para a inibição da enzima HPPD.

Modelo de Regressão para a inibição da enzima HPPD: Apesar do número reduzido de substâncias para a criação do modelo de regressão linear múltipla (MLR), obteve-se na análise da série de treino (Equação 11) um modelo capaz de explicar 92,8% da variância da inibição da enzima HPPD, o coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,889) tem valor elevado, o que indica a robustez do modelo. O valor de F (71,3) é significativo, pois para 95% de confiança com 2 e 11 graus de liberdade, o valor mínimo é de 3,98.

Os erros entre os valores experimentais e calculados são inferiores a 6,6% (Figura 47 e Figura 42), o que representa boa correlação dos valores experimentais com os valores calculados. A série de teste apresenta coeficiente de regressão linear r^2_{ext} (0,847) e coeficiente de predição externa Q^2_{ext} (0,771) significativos, que validam o modelo externamente. O maior erro da série de teste é inferior a 10,6% (Figura 48 e Tabela 29), desempenho inferior aos modelos para as atividades citotóxicas, mas ainda assim adequado, considerando-se o baixo número de substâncias para construir e validar o modelo. O modelo gerado (Equação 11) é satisfatório, apresenta boa capacidade de previsão para o grupo de substâncias estudadas, e espera-se com a finalização dos ensaios criar-se um modelo mais robusto, já que, as substâncias com anéis aromáticos não foram ensaiadas.

O modelo apresenta os seguintes descritores: TDB05s (3D autocorrelation) e G1u (WHIM); o primeiro, que codifica informações da representação 2D das

substâncias, influência negativamente na atividade, enquanto o segundo, que codifica informações sobre a representação 3D, têm influência positiva elevada sobre a atividade de inibição da enzima HPPD.

Equação 11

$$pIC_{50} = -0,975(\pm 0,082)TDB05s + 19,432(\pm 3,595)G1u + 3,844(0,569)$$

(n=14; $r^2=0,928$; D.P.=0,238; F=71,3 (2,11); $Q^2_{cv}=0,899$; S.PRESS=0,875; $n_{ext}=3$; $r^2_{ext}=0,842$; $Q^2_{ext}=0,771$).

Tabela 28. Valores experimentais, valores calculados pela Equação 11 e os respectivos erros calculados da série de teste para a inibição da enzima HPPD.

Substâncias	pIC ₅₀		Erro
	Experimental	Calculado	
1a	4,64	4,44	-0,2
1h	3,78	3,88	0,10
2a	4,45	4,76	0,31
2b	4,78	4,95	0,17
3a	5,53	5,29	-0,24
3e	5,38	5,25	-0,13
4a	6,34	6,10	-0,24
4d	5,90	5,55	-0,35
4e	5,80	5,47	-0,33
5d	6,74	6,78	0,04
5e	6,11	6,26	0,15
6a	5,80	5,79	-0,01
6b	5,77	6,16	0,39
7b	4,76	4,88	0,12

Figura 47. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) versus os valores da atividade calculada para a série de treino para a inibição da enzima HPPD, obtidos da Equação 11.

Tabela 29. Valores experimentais, valores preditos pela Equação 11 e os respectivos erros da série de teste para a inibição da enzima HPPD.

Substâncias	pIC_{50}		Erro
	Experimental	Predito	
1e	4,27	4,69	0,42
3d	4,80	4,44	-0,36
5a	6,52	5,90	-0,62
7a	5,02	5,06	0,04

Figura 48. Gráfico dos valores da atividade experimental (pIC_{50}) versus os valores da atividade predita para a série de treino para a enzima HPPD, obtidos da Equação 11.

Da mesma maneira que foi realizado para as atividades citotóxicas criou-se um novo modelo para a atividade de inibição da enzima HPPD, utilizando todas as substâncias, sem série de teste (Equação 12). O modelo de regressão linear múltipla explica 88,2% da variância na atividade biológica estudada, com o valor do coeficiente de predição interna Q^2_{cv} (0,844) satisfatório para um modelo robusto. O valor de F (62,4) é mais que 16 vezes superior ao mínimo calculado (3,68), para 95% de confiança com 2 e 15 graus de liberdade. O grupo de descritores presente no modelo anterior (Equação 11) foi mantido no novo modelo e a influência é análoga, pois o descritor “3D autocorrelation” influencia negativamente à atividade e o descritor do grupo *WHIM* influencia positivamente a atividade.

Equação 12

$$pIC_{50} = -0.964(\pm 0,087)TDB05s + 17,255(\pm 4,310)G1i + 4,346(0,665)$$

(n=18; $r^2=0,893$; D.P.=0,289; F=62,4 (df=2,15); $Q^2_{cv}=0,844$; S-PRESS=1,813)

Modelos de classificação ativo/inativo para a inibição da enzima HPPD: Os grupos de descritores utilizados foram: “3D autocorrelation” e WHIM. Foram criados 3 modelos (Tabela 30), 1 modelo para o grupo de descritor “3D autocorrelation”, 1 modelo para o grupo de descritor WHIM e um com os dois descritores combinados (Total).

O modelo criado com o grupo de descritores “3D autocorrelation” foi o de melhor performance, para as séries treino, validação externa e série de teste. Esse modelo conseguiu classificar com 100% de acerto as substâncias ativas e inativas, na série de treino e teste. Na representação gráfica (Figura 49) a série de treino está representada por círculos e a série de teste por asteriscos. As amostras inativas são coloridas em azul e as ativas em vermelho. A região à esquerda da linha vertical é a região das substâncias classificadas como inativas e à direita é a das classificadas como ativas. Os descritores com valores positivos (Figura 50) são aqueles que influenciaram as substâncias ativas positivamente, enquanto os com valores negativos influenciaram de maneira negativa. Esse modelo de classificação, utilizando a metodologia de PLSDA, para a inibição da enzima HPPD apresentou desempenho superior aos modelos para as linhagens K562, Nalm6 e Raji, de atividade citotóxica, portanto é um modelo adequado e confiável para realizar previsão de inativo ou ativo de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas alifáticas.

Tabela 30. Grupo de descritores testados na criação de modelo para a classificação de 2-acil-cicloexano-1,3-dionas como ativas ou inativas em relação a atividade inibição da enzima HPPD. Os parâmetros avaliados são: Especificidade, sensibilidade, quantidade de acertos, quantidade de erros e total ativos/inativos.

Enzima HPPD		Grupo de descritores								
		WHIM			3D autocorrelation			Total		
		Treino	Validação	Teste	Treino	Validação	Teste	Treino	Validação	Teste
Inativo	Espec.(%)	86	86	75	100	93	100	100	100	75
	Sens.(%)	100	90	67	100	90	100	100	60	100
	Acertos	10	12	2	10	9	3	10	6	3
	Erros	0	2	1	0	1	0	0	4	0
	Total	10	14	0	10	10	3	10	10	3
Ativo	Espec.(%)	86	90	67	100	90	100	100	60	100
	Sens.(%)	100	86	75	100	93	100	100	100	75
	Acertos	9	12	3	14	13	4	14	14	3
	Erros	1	2	1	0	1	0	0	0	1
	Total	10	14	4	14	14	4	14	14	0

Figura 49. Gráfico de distribuição das amostras (treino: círculos, teste: asteriscos) em relação à resposta calculada para as substâncias ativas, utilizando-se o grupo de descritores “3D autocorrelation”, para a atividade de inibição da enzima HPPD.

Figura 50. Coeficientes das variáveis calculadas para as substâncias ativas, e variáveis utilizadas na construção do modelo de classificação ativo/inativo para a atividade de inibição da enzima HPPD, utilizando descritores “3D autocorrelation”.

5. Conclusões

No presente trabalho foram obtidos 77 policetídeos da classe das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas, 36 são inéditos na literatura (**1g**, **3a**, **3b**, **3c**, **3d**, **4b**, **4c**, **4d**, **5f**, **5g**, **7a**, **7b**, **8c**, **9a**, **9b**, **9c**, **10a**, **10b**, **10c**, **11c**, **12a**, **12b**, **12d**, **13a**, **13d**, **14a**, **14c**, **14d**, **15a**, **15b**, **17a**, **17b**, **17c**, **18a**, **18b** e **19a**). As metodologias foram obtidas da literatura e utilizadas com pequenas ou nenhuma alteração. As rotas utilizadas foram de simples execução e os rendimentos obtidos, apesar de não terem sido otimizados, foram suficientes para os objetivos. A novidade sintética foi o uso de reagente de iodo hipervalente ($\text{PhI}(\text{OAc})_2$) para a síntese da série hidroxilada com menor número de etapas e com rendimentos superiores aos descritos (Oliver et al., 1989; Zaitsev et al., 1994).

As análises de relação entre a estrutura química e as atividades citotóxicas contra as linhagens K562, Nalm6 e Raji indicaram que as características que aumentaram a atividade foram: cadeia lateral com número de carbonos entre 9 e 16 nas série alifática (**4e**, **5b** e **6a**); na série com grupo aromático a presença da insaturação é praticamente fundamental para atividade (**8a**, **11c** e **14a**), possivelmente por diminuir os graus de liberdade das moléculas e também por aumentar a conjugação; também na série com grupos aromáticos, a presença de grupos retiradores de elétrons aumentou a atividade (**16a**, **17c** e **19a**), enquanto que os grupos doadores provocaram a diminuição ou até eliminação da atividade (exemplos: **15a** e **15c**); observou-se também que duas substâncias da série com grupo aromático (**9a** e **9c**), com substituinte CH_3 em *orto* foram muito ativas. A combinação de efeito estérico e eletrônico em *orto* pode ser uma das condições para melhorar a atividade. No entanto, essa hipótese precisa ser confirmada com a síntese de outras substâncias, uma vez que não foram preparadas outras substâncias com substituintes em *orto*. Os resultados são promissores e indicam que as 2-acil-cicloexano-1,3-dionas devam ser investigadas por outras metodologias (diferentes linhagens de células citotóxicas e em modelos *in vivo*).

E em relação à atividade de inibição da enzima HPPD a série estudada confirma o já observado com as 2-acil-cicloexano-1,3-dionas comerciais, com alta taxa de

inibição da enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase (HPPD), com destaque para as substâncias **4a** (0,46 μ M), **5a** (0,3 μ M), **5d** (0,18 μ M) e **5e** (0,77 μ M) com índices de inibição na faixa de nano molar.

Os modelos estatísticos/computacionais desenvolvidos apresentaram robustez em relação aos parâmetros estatísticos utilizados e podem ser utilizados em estudos posteriores, uma vez que o simples cálculo dos descritores, com o programa Dragon (versão 6), para as substâncias a serem estudadas permitirá avaliar através dos modelos quais substâncias são promissoras, e assim, ensaiar somente as promissoras em “*in vitro*” ou “*in vivo*”.

Em suma, os resultados desse trabalho ampliam o conhecimento da química de derivados de isoxazolina e atividade biológica das 2-acil-cicloexano-1,3-dionas, que possuem ocorrência restrita na natureza, bem como possibilitou a geração de modelos quantitativos e qualitativos, com ótimos resultados de validação interna e externa, que poderão orientar futuros estudos da classe, no que tange as atividades estudadas, com maior racionalidade e maior eficiência.

6. Referências

- Aguilera, D. G., Tsimberidou, A. M., 2006. Dasatinib in chronic myelogenous leukemia. *New Engl J Med* 355, 1062-1064.
- Ahrens, H., Lange, G., Muller, T., Rosinger, C., Willms, L., van Almsick, A., 2013. 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors in combination with safeners: solutions for modern and sustainable agriculture. *Angew Chem Int Edit* 52, 9388-9398.
- Armarego, W. L. F., Chai, C. L. L., 2003. *Purification of Laboratory Chemicals*. Elsevier, London.
- Austin, M. B., Noel, A. J. P., 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Nat Prod Rep* 20, 79-110.
- Azevedo, N. R., Santos, S. C., De Miranda, E. G., Ferri, P. H., 1997. A 2-acylcyclohexane-1,3-dione from *Virola oleifera*. *Phytochemistry* 46, 1375-1377.
- Aziba, P. I., Adedeji, A., Ekor, M., Adeyemi, O., 2001. Analgesic activity of *Peperomia pellucida* aerial parts in mice. *Fitoterapia* 72, 57-58.
- Ballabio, D., Consonni, V., 2013. Classification tools in chemistry. Part 1: linear models. PLS-DA. *Anal Method Instrum* 5, 3790-3798.
- Bayer. Annual Report 2013: Augmented Version. vol. 2014. Disponível em: <http://www.annualreport2013.bayer.com/en/bayer-annual-report-augmented-version-2013.pdf>. Acesso em: 11 de dez. 2014.
- Beaudegnies, R., Edmunds, A. J. F., Fraser, T. E. M., Hall, R. G., Hawkes, T. R., Mitchell, G., Schaetzer, J., Wendeborn, S., Wibley, J., 2009. Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors-A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. *Bioorgan Med Chem* 17, 4134-4152.
- Blumenthal, E., da Silva, M. S., Yoshida, M., 1997. Lignoids, flavonoids and polyketides of *Virola surinamensis*. *Phytochemistry* 46, 745-749.
- Castro, E., Suarez, L. E. C., Siengalewicz, P., Gutmann, R., Czermak, G., Brueggeller, P., 2004. 3,6-Dihydroxy-2-(11-phenylundecanoyl)cyclohex-2-en-1-one from *Virola venosa* bark. *Acta Crystallogr. Sect. C-Cryst. Struct. Commun.* 60, O467-O469.
- Chen, L., Zhou, Y., Zhou, Y., Dong, J., 2008. Hydrophobic constituents of *Peperomia dindygulensis* Miq. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* 20, 275-277.
- Cheng, M. J., Lee, S. J., Chang, Y. Y., Wu, S. H., Tsai, I. L., Jayaprakasam, B., Chen, I. S., 2003. Chemical and cytotoxic constituents from *Peperomia sui*. *Phytochemistry* 63, 603-608.
- Cobb, A. H., Reade, P. H., 2010. *Herbicides and Plant Physiology*. Wiley-Blackwell, Oxford.

- Consonni, V., Todeschini, R., Pavan, M., 2002a. Structure/response correlations and similarity/diversity analysis by GETAWAY descriptors. 1. Theory of the novel 3D molecular descriptors. *J Chem Inf Comput Sci* 42, 682-692.
- Consonni, V., Todeschini, R., Pavan, M., Gramatica, P., 2002b. Structure/response correlations and similarity/diversity analysis by GETAWAY descriptors. 2. Application of the novel 3D molecular descriptors to QSAR/QSPR studies. *J Chem Inf Comput Sci* 42, 693-705.
- Cooper, T. M., 2007. Role of nelarabine in the treatment of T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma. *Ther Clin Risk Man* 3, 1135-1141.
- Cragg, G. M., Newman, D. J., 2005. Biodiversity: A continuing source of novel drug leads. *Pure Appl Chem* 77, 7-24.
- Cragg, G. M., Newman, D. J., 2013. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys. Acta-Gen Subj* 1830, 3670-3695.
- Dayan, F. E., Duke, S. O., Sauldubois, A., Singh, N., McCurdy, C., Cantrell, C., 2007. p-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase is a herbicidal target site for beta-triketones from *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry* 68, 2004-2014.
- Dayan, F. E., Singh, N., McCurdy, C. R., Godfrey, C. A., Larsen, L., Weavers, R. T., Van Klink, J. W., Perry, N. B., 2009. β -Triketone inhibitors of plant p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase: modeling and comparative molecular field analysis of their interactions. *J. Agric. Food Chem.* 57, 5194-5200.
- Delye, C., Jasieniuk, M., Le Corre, V., 2013. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. *Trends Genet* 29, 649-658.
- Denny, C., Zacharias, M. E., Ruiz, A., do Amaral, M. D. E., Bittrich, V., Kohn, L. K., Sousa, I. M. D., Rodrigues, R. A. F., de Carvalho, J. E., Foglio, M. A., 2008. Antiproliferative properties of polyketides isolated from *Virola sebifera* leaves. *Phytother Res* 22, 127-130.
- Dewar, M. J. S., Zebisch E. G., Healy E. F., Stewart, J. J. P. 1985. The development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AMI: a new general purpose quantum mechanical molecular model. *J Amer Chem Soc* 107, 3902-3909.
- Dewick, P. M., 2002. Medicinal Natural Products John Wiley & Sons Ltd, New York.
- Di Antonio, M., McLuckie, K. I. E., Balasubramanian, S., 2014. Reprogramming the Mechanism of Action of Chlorambucil by Coupling to a G-Quadruplex Ligand. *J Am Chem Soc* 136, 5860-5863.
- Dias, D. A., Urban, S., Roessner, U., 2012. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. *Metabolites* 2, 303-336.

- El-Seedi, H. R., Bohlin, L., Ghia, F., Torssell, K. B. G., 2001. Ecologically active 2-octanoylcyclohexane-1,3-dione from *Philodendron guttiferum*. J Chem Ecol 27, 517-521.
- Fechner, U., Franke, L., Renner, S., Schneider, P., Schneider, G., 2003. Comparison of correlation vector methods for ligand-based similarity searching. J Comput Aid Mol Des 17, 687-698.
- Ferreira, E. A., 2009. 2-Acil-cicloexano-1,3-dionas de *Peperomia trineura* (Miq.). São Paulo, Dissertação de Mestrado - Instituto de Química - Universidade de São Paulo, 137p.
- Ferreira, E. A., Reigada, J. B., Correia, M. V., Young, M. C. M., Guimarães, E. F., Franchi, G. C., Nowill, A. E., Lago, J. H. G., Yamaguchi, L. F., Kato, M. J., 2014. Antifungal and cytotoxic 2-acylcyclohexane-1,3-diones from *Peperomia alata* and *P. trineura*. J Nat Prod 77, 1377-1382.
- Fleer, R., Brendel, M., 1982. Toxicity, interstrand cross-links and DNA fragmentation induced by 'activated' cyclophosphamide in yeast: Comparative studies on 4-hydroperoxy-cyclophosphamide, its monofunctional analogon, acrolein, phosphoramidate mustard, and nor-nitrogen mustard. Chem-Biol Interact 39, 1-15.
- Flores-Sanchez, I. J., Verpoorte, R., 2009. Plant Polyketide Synthases: A fascinating group of enzymes. Plant Physiol Biochem 47, 167-174.
- Fritze, I. M., Linden, L., Freigang, J., Auerbach, G., Huber, R., Steinbacher, S., 2004. The crystal structures of *Zea mays* and *Arabidopsis* 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. Plant Physiol 134, 1388-1400.
- Gasteiger, J., Sadowski, J., Schuur, J., Selzer, P., Steinhauer, L., Steinhauer, V., 1996. Chemical information in 3D space. J Chem Inf Comput Sci 36, 1030-1037.
- Goldman, L., Schfer, A. I., 2012. Goldman's Cecil Medicine. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA.
- Goncalves, S., Nicolas, M., Wagner, A., Baati, R., 2010. Exploring the one-pot C-acylation of cyclic 1,3-diones with unactivated carboxylic acid. Tetrahedron Lett. 51, 2348-2350.
- Gramatica, P., 2006. WHIM descriptors of shape. Qsar Comb Sci 25, 327-332.
- Green, J. M., 2014. Current state of herbicides in herbicide-resistant crops. Pest Management Science 70, 1351-1357.
- Helguera, A. M., Combes, R. D., Gonzalez, M. P., Cordeiro, M., 2008. Applications of 2D Descriptors in Drug Design: A DRAGON Tale. Curr Top Med Chem 8, 1628-1655.
- Hemmer, M. C., Steinhauer, V., Gasteiger, J., 1999. Deriving the 3D structure of organic molecules from their infrared spectra. Vib Spec 19, 151-164.

- Hodgson, D. M., Galano, J.-M., Christlieb, M., 2003. Synthesis of (-)-xialenon A by enantioselective α -deprotonation-rearrangement of a meso-epoxide. *Tetrahedron* 59, 9719-9728.
- Howard, R. W., Baker, J. E., 2004. Stage-specific surface chemicals of *Plodia interpunctella*: 2-acyl-1,3-cyclohexanediones from larval mandibular glands serve as cuticular lipids. *Comp Biochem Phys B* 138, 193-206.
- Hurwitz, R., Hozier, J., Lebien, T., Minowada, J., Gajl-Peczalska, K., Kubonishi, I., Kersey, J., 1979. Characterization of a leukemic cell line of the pre-B phenotype. *Int J Cancer* 23, 174-180.
- INCA, Instituto Nacional do Cancer. Leucemia. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/>. Acesso em 16 de jan. 2015.
- Ji, H.-F., Li, X.-J., Zhang, H.-Y., 2009. Natural products and drug discovery. Can thousands of years of ancient medical knowledge lead us to new and powerful drug combinations in the fight against cancer and dementia? *EMBO Reports* 10, 194-200.
- Johnson, B. C., Young, B. G., Matthews, J. L., 2002. Effect of postemergence application rate and timing of mesotrione on corn (*Zea mays*) response and weed control *Weed Technol* 16, 414-420.
- Katayama, T., Davin, L. B., Lewis, N. G., 1992. An extraordinary accumulation of (-)-pinoresinol in cell-free-extracts of *Forsythia intermedia* - evidence for enantiospecific reduction of (+)-pinoresinol. *Phytochemistry* 31, 3875-3881.
- Kato, M. J., Furlan, M., 2007. Chemistry and evolution of the Piperaceae. *Pure Appl Chem* 79, 529-538.
- Kato, M. J., Lopes, L. M. X., Paulino Fo, H. F., Yoshida, M., Gottlieb, O. R., 1985. Acylresorcinols from *Virola sebifera* and *Virola elongata*. *Phytochemistry* 24, 533-536.
- Kato, M. J., Yoshida, M., Gottlieb, O. R., 1990. Lignoids and arylalkanones from fruits of *Virola elongata*. *Phytochemistry* 29, 1799-1810.
- Kato, M. J., Yoshida, M., Gottlieb, O. R., 1992. Flavones and lignans in flowers, fruits and seedlings of *Virola venosa*. *Phytochemistry* 31, 283-287.
- Koeffler, H., Golde, D., 1980. Human myeloid leukemia cell lines: a review. *Blood* 56, 344-349.
- Kuwahara, Y., Nemoto, T., Shibuya, M., Matsuura, H., Shiraiwa, Y., 1983. 2-Palmitoyl-cyclohexane-1,3-dione and 2-oleoyl-cyclohexane-1,3-dione from feces of the indian meal moth, *Plodia interpunctella* - kairomone components against a parasitic wasp, *Venturia canescens*. *Agr Biol Chem Tokyo* 47, 1929-1931.
- Li, J. W. H., Vederas, J. C., 2009. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? *Science* 325, 161-165.

- Li, N., Wu, J.-L., Zhang, G.-L., Ando, M., Wang, M.-W., 2008. Research progress on medicinal plants of *Peperomia* genus. Studium Press LLC, Houston.
- Li, N., Wu, J. L., Hasegawa, T., Sakai, J., Bai, L. M., Wang, L. Y., Kakuta, S., Furuya, Y., Ogura, H., Kataoka, T., Tomida, A., Tsuruo, T., Ando, M., 2007. Bioactive polyketides from *Peperomia duclouxii*. J Nat Prod 70, 998-1001.
- Lusby, W. R., Oliver, J. E., Neal, J. W., Heath, R. R., 1987. Isolation and identification of the major component of setal exudate from *Corythucha ciliata*. J Nat Prod 50, 1126-1130.
- Lusby, W. R., Oliver, J. E., Neal, J. W., Heath, R. R., 1989. Acyclohexanediones from setal exudate of hawthorn lace bug nymph *Corythucha cydoniae* (Hemiptera, Tingidae). J. Chem. Ecol. 15, 2369-2378.
- Mitra, A. K., De, A., Karchaudhuri, N. Application of microwave irradiation techniques for the syntheses of cinnamic acids by Doebner condensation. Synth Commun. 29 (4), 573-581
- Mohammadgholi, A., Rabbani-Chadegani, A., Fallah, S., 2013. Mechanism of the interaction of plant alkaloid vincristine with dna and chromatin: spectroscopic study. DNA Cell Biol 32, 228-235.
- Monteiro, D., Guimarães, E. F., 2008. Flora do Parque Nacional do Itatiaia - Brasil: *Peperomia* (Piperaceae). Rodriguésia 59, 35.
- Mosmann, T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 65, 55-63.
- Mudd, A., 1978. Novel beta-triketones from lepidoptera. J Chem Soc-Chem Commun, 1075-1076.
- Mudd, A., 1981. Novel 2-acycyclohexane-1,3-diones in the mandibular glands of lepidopteran larvae - kairomones of *Ephestia kuehniella zeller*. J Chem Soc-Perkin Trans 1, 2357-2362.
- Mudd, A., 1983. Further novel 2-acylcyclohexane-1,3-diones from lepidopteran larvae. J. Chem Soc-Perkin Trans 1, 2161-2164.
- Mudd, A., Walters, J. H. H., Corbet, S. A., 1984. Relative kairomonal activities of 2-acylcyclohexane-1,3-diones in eliciting oviposition behavior from parasite *Nemeritis canescens* (grav). J Chem Ecol 10, 1597-1601.
- NCI, National Cancer Institute. What you need to know about leukemia. Disponível em: <http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/leukemia>. Acesso em 16 de jan. 2015a.
- NCI, National Cancer Institute. Drugs approved for leukemia. Disponível em: <http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/leukemia>. Acesso em 16 de jan. 2015b.
- Newman, D. J., Cragg, G. M., 2012. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. J Nat Prod 75, 311-335.

- Oliver, J. E., Lusby, W. R., 1988. Synthesis of 2-acyl-3,6-dihydroxy-2-cyclohexen-1-ones. *Tetrahedron* 44, 1591-1596.
- Oliver, J. E., Lusby, W. R., Waters, R. M., 1989. Synthesis of a 3-acyl-4-hydroxycyclohex-3-en-1-one. *J Agric Food Chem* 37, 1501-1504.
- Pankewitz, F., Hilker, M., 2008. Polyketides in insects: ecological role of these widespread chemicals and evolutionary aspects of their biogenesis. *Biol Rev* 83, 209-226.
- Pulvertaft, R. J. V., 1964. Cytology of burkitt's tumour (african lymphoma). *The Lancet* 283, 238-240.
- Rubinov, D. B., Rubinova, I. L., Lakhvich, F. A., 2011. Synthesis of exo- and endocyclic enamino derivatives of 2-(3-arylprop-2-enoyl)cyclohexane-1,3-diones. *Russ J Organ Chem* 47, 319-330.
- Santel, H., 2009. Laudis® OD – a new herbicide for selective post-emergence weed control in corn (*Zea mays* L.). *Bayer CropScience Journal* 62, 14.
- Sbarbati, A., Osculati, F., 2006. Allelochemical communication in vertebrates: Kairomones, allomones and synomones. *Cells Tissues Organs* 183, 206-219.
- Schneider, G., Neidhart, W., Giller, T., Schmid, G., 1999. "Scaffold-hopping" by topological pharmacophore search: A contribution to virtual screening. *Angew Chem Int Edit* 38, 2894-2896.
- Schuur, J. H., Selzer, P., Gasteiger, J., 1996. The coding of the three-dimensional structure of molecules by molecular transforms and its application to structure-spectra correlations and studies of biological activity. *J Chem Inf Comput Sci* 36, 334-344.
- Seeram, N. P., Lewis, A. W., Jacobs, H., Nair, M. G., McLean, S., Reynolds, W. F., 2000. Proctoriones A-C: 2-acylcyclohexane-1,3-dione derivatives from *Peperomia proctorii*. *J Nat Prod* 63, 399-402.
- Thorn, C. F., Oshiro, C., Marsh, S., Hernandez-Boussard, T., McLeod, H., Klein, T. E., Altman, R. B., 2011. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genom* 21, 440-446.
- Todeschini, R., Consonni, V., 2000. *Handbook of Molecular Descriptors*. Wiley-VCH, Weinheim (Germany).
- Todeschini, R., Consonni, V., 2009. *Molecular Descriptors for Chemoinformatics*. Wiley-VCH, Weinheim (Germany).
- Tresch, S., 2013. Strategies and future trends to identify the mode of action of phytotoxic compounds. *Plant Sci* 212, 60-71.
- Verdine, G. L., 1996. The combinatorial chemistry of nature. *Nature* 384, 11-13.

- Wang, Q.-W., Yu, D.-H., Lin, M.-G., Zhao, M., Zhu, W.-J., Lu, Q., Li, G.-X., Wang, C., Yang, Y.-F., Qin, X.-M., Fang, C., Chen, H.-Z., Yang, G.-H., 2012. Antiangiogenic polyketides from *Peperomia dindygulensis* miq. *Molecules* 17, 4474-4483.
- Wang, W.-S., Tzeng, C.-H., Chiou, T.-J., Liu, J.-H., Hsieh, R.-K., Yen, C.-C., Chen, P.-M., 1997. High-dose cytarabine and mitoxantrone as salvage therapy for refractory non-hodgkin's lymphoma. *Jpn J Clin Oncol* 27, 154-157.
- Wanke, S., Jaramillo, M. A., Borsch, T., Samain, M.-S., Quandt, D., Neinhuis, C., 2007. Evolution of *Piperales*--*matK* gene and *trnK* intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. *Mol Phylogenet Evol* 42, 477-497.
- Wanke, S., Samain, M. S., Vanderschaeve, L., Mathieu, G., Goetghebeur, P., Neinhuis, C., 2006. Phylogeny of the genus *Peperomia* (Piperaceae) inferred from the *trnK/matK* region (cpDNA). *Plant Biol* 8, 93-102.
- Warren, G. F., 1998. Spectacular Increases in Crop Yields in the United States in the Twentieth Century. *Weed Technol* 12, 752-760.
- Wu, J. L., Li, N., Hasegawa, T., Sakai, J., Kakuta, S., Tang, W. X., Oka, S., Kiuchi, M., Ogura, H., Kataoka, T., Tomida, A., Tsuruo, T., Ando, M., 2005. Bioactive tetrahydrofuran lignans from *Peperomia dindygulensis*. *J Nat Prod* 68, 1656-1660.
- Zaitsev, V. G., Polosov, G. I., Lakhvich, F. A., 1994. Synthesis of 2-acyl-4-hydroxycyclohexane-1,3-diones, kairomones and defensive compounds of some insects. *Tetrahedron* 50, 6377-6386.

7. Apêndice

7.1. Dados espectrométricos e propriedades físicas

Grupos comuns à todas as 2-acil-cicloexano-1,3-dionas sintetizadas.

2-Acetil-3-hidroxi-2-cicloexen-1-ona (1a)

Aspecto: líquido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3315; 2957; 1666; 1566; 1556; 1445; 1420; 1190. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,12 (s; 1H; OH, enol); 2,67 (t; 6,4 Hz; 2H; H-4); 2,60 (s, 3H, H-2'); 2,50 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 1,99 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 203,07 (C-1'); 198,65 (C-3); 195,36 (C-1); 113,38 (C-2); 38,58 (C-4); 33,23 (C-6); 28,78 (C-2'); 18,98 (C-5). **EMBR m/z** (Int. rel. %): $[M^+]$ 154 (55); 139 (25); 126 (25); 111 (15); 98 (100); 84 (30); 69 (28); 55 (20); 43 (52). **EMAR (m/z):** calculado para $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3[M + \text{H}]^+$: 155,0708; encontrado: 155,0703. **Rendimento:** 78%.

6,7-Dihidro-3-metil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (1b)

Aspecto: líquido incolor. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2966; 1672; 1599; 1469; 1425; 1073. **RMN ^1H** (500 MHz; CDCl_3): δ 2,98 (t; 6,32 Hz; 2H; H-4); 2,51 (t; 6,51 Hz; 2H; H-6), 2,48 (s; 3H, H-2'); 2,22 (quint; 6,39 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (125 MHz; CDCl_3): δ 193,43 (C-1); 181,02 (C-3); 157,58 (C-1'); 115,23 (C-2); 38,09 (C-6); 23,24 (C-4); 22,58 (C-5); 10,96 (C-2'). **EMBR m/z** (Int. rel. %): $[M^+]$ 151 (50); 123 (100); 96 (9); 81 (71); 67 (25); 53 (6); 42 (16). **EMAR (m/z):** calculado para $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2[M + \text{H}]^+$: 152,0706; encontrado: 152,0700. **Rendimento:** 82%.

6,7-Dihidro-5-hidroxi-3-metil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (1c)

Aspecto: sólido acinzentado. **IV** (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 3460; 2954; 1684; 1599; 1478; 1457; 1420; 1116. **RMN ^1H** (500 MHz; CDCl_3): δ 4,30 (dd; 12,6 Hz; 5,1 Hz; 1H; H-4); 3,74 (s; 1H; OH); 3,18-3,02 (m; 2H; H-6); 2,63- 2,58 (m; 1H; H-5); 2,48 (s, 3H, H-2'); 2,16-2,07 (m; 1H, H-5). **RMN ^{13}C** (125 MHz; CDCl_3): δ 193,50 (C-1); 181,01 (C-3); 157,62 (C-1'); 113,68 (C-2); 73,05 (C-4); 30,54 (C-6); 21,86 (C-5); 10,68 (C-2'). **EMBR m/z** (Int. rel. %): $[\text{M}^+]$ 167 (19); 138 (19); 123 (100); 81 (44); 67 (14); 55 (8); 57 (8); 42 (6). **EMAR** (m/z): calculado para $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3[\text{M} + \text{H}]^+$: 168,0661; encontrado: 168,0649. **Rendimento:** 74%.

2-Acetil-3,6-dihidroxi-2-cicloexen-1-ona (1d)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 3450; 2960; 1660; 1533; 1478; 1441; 1420; 1125. **RMN ^1H** (500 MHz; CDCl_3): δ 18,10 (s; 1H; OH, enol); 4,10 (ddd; 12,6 Hz; 5,6 Hz; 1,5 Hz; 1H; H-4); 4,00 (d; 1,5 Hz; 1H; OH); 2,82-2,78 (m; 2H; H-6); 2,63 (s; 3H; H-2'); 2,42-2,37 (m; 1H; H-5); 1,88-1,79 (m; 1H; H-5). **RMN ^{13}C** (125 MHz; CDCl_3): δ 203,10 (C-1'); 198,02 (C-3); 195,87 (C-1); 110,88 (C-2); 71,75 (C-4); 31,43 (C-6); 28,52 (C-5); 27,28 (C-2'). **EMBR m/z** (Int. rel. %): $[\text{M}^+]$ 170 (20); 142 (25); 126 (40); 109 (6); 98 (100); 84 (30); 70 (28); 57 (7); 55 (12); 43 (77); 39 (9). **EMAR** (m/z): calculado para $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_4[\text{M} + \text{H}]^+$: 171,0657; encontrado: 171,0648. **Rendimento:** 94%.

2-Acetil-3-hidroxi-5,5-dimetil-2-cicloexen-1-ona (1e)

Aspecto: líquido amarelado. **IV** (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 3309; 2961; 1729; 1668; 1566; 1556; 1446; 1421; 1150. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,11 (s; 1H; OH, enol); 2,61 (s; 3H; H-2'); 2,54 (s; 2H; H-6); 2,37 (s; 2H; H-4); 1,09 (s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,45 (C-1'); 197,94 (C-3); 195,23 (C-1); 112,37 (C-2); 52,47 (C-5); 46,91 (C-6); 30,68 (C-4); 28,56 (C-2'); 28,22 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 182 (35); 167 (15); 154 (5); 126 (50); 111 (6); 98 (100); 83 (23); 70 (19); 55 (15); 43 (45); 39 (10). **EMAR** (m/z): calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3[\text{M} + \text{H}]^+$: 183,1021; encontrado: 183,1011. **Rendimento:** 88%.

6,7-Dihidro-3,6,6-trimetil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (1f)

Aspecto: sólido branco acinzentado. **IV** (filme, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2958; 1685; 1603; 1473; 1426; 1074. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 2,76 (s; 3H; H-4); 2,38 (s; 2H; H-2''); 2,31 (s; 2H; H-6); 1,08 (s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 192,53 (C-1); 180,34 (C-3); 157,08 (C-1'); 113,85 (C-2); 52,22 (C-5); 36,58 (C-4); 35,51 (C-6); 28,25 (C-2'); 13,71 (C-1''). **EMBR m/z** (Int. rel. %): $[\text{M}^+]$ 179 (43); 164 (9); 136 (6); 123 (100); 95 (7); 81 (48); 67 (20); 55 (15); 41 (13); 39 (12). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2[\text{M} + \text{H}]^+$: 180,1025; encontrado: 180,1017. **Rendimento:** 86%.

6,7-Dihidro-5-hidroxi-3,6,6-trimetil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (1g)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3411; 2967; 1676; 1603; 1474; 1422; 1389; 1141. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 4,08 (d; 2,2 Hz; 1H; H-4); 3,68 (d; 2,2 Hz; 1H; OH); 2,93 (s; 2H; H-6); 2,49 (s; 3H; H-2''); 1,35 (s; 3H; H-1''); 0,90 (s; 3H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 192,96 (C-1); 179,98 (C-3); 157,49 (C-1'); 112,84 (C-2); 80,57 (C-4); 41,31 (C-6); 36,57 (C-5); 27,74 (C-2'); 18,98 (C-1''); 10,70 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 195 (10); 177 (5); 166 (5); 152 (8); 123 (100); 111 (4); 82 (20); 67 (15); 55 (17); 43 (16); 41 (17). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_3[\text{M} + \text{H}]^+$: 196,0974; encontrado: 196,0970. **Rendimento:** 75%.

2-Acetil-3,6-dihidroxi-5,5-dimetil-2-cicloexen-1-ona (1h)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3424; 2965; 1671; 1559; 1449; 1415; 1137. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 17,96 (s; 1H; OH, enol); 3,97 (s; 1H; H-4); 3,88 (s; 1H; OH); 2,71-2,46 (m; 2H; H-6); 2,56 (s; 3H; H-2''); 1,18 (s; 3H; H-1''); 0,82 (s; 3H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,38 (C-1'); 196,65 (C-3); 195,44 (C-1); 110,56 (C-2); 79,29 (C-4); 46,07 (C-6); 36,44 (C-5); 28,00 (C-2'); 27,43 (C-1''); 18,83 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 198 (10); 180 (25); 169 (20); 165 (8); 127 (100); 98 (45); 85 (95); 72 (42); 69 (15); 57 (12); 43 (45); 41 (10). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4[\text{M} + \text{H}]^+$: 199,0970; encontrado: 199,0962. **Rendimento:** 90%.

3-Hidroxi-2-(1-oxobutil)-2-cicloexen-1-ona (2a)

Aspecto: líquido amarelo claro. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3525; 2962; 1732; 1667; 1567; 1557; 1461; 1418; 1191. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,28 (s; 1H; OH, enol); 3,00 (t; 7,2 Hz; 2H; H-2'); 2,67 (t; 6,8 Hz; 2H; H-4); 2,49 (t; 6,8 Hz; 2H; H-6); 1,98 (quint: 6,8 Hz; 2H; H-5); 1,65 (sext: 7,4 Hz; 2H; H-3'); 0,98 (t; 7,4 Hz; 3H; H-4'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 206,17 (C-1'); 198,66 (C-3); 195,37 (C-1); 113,05 (C-2); 42,50 (C-2'); 38,83 (C-4); 33,29 (C-6); 19,04 (C-5); 18,04 (C-3'); 13,93 (C-4'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 182 (42); 167 (27); 165 (6); 154 (25); 139 (100); 126 (10); 111 (30); 98 (15); 84 (20); 69 (46); 55 (43); 43 (35); 39 (13). **EMAR** (m/z): calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 183,1015; encontrado: 183,1016. **Rendimento:** 87%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-(1-oxobutil)-2-cicloexen-1-ona (2b)

Aspecto: líquido amarelo claro. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2962; 1668; 1560; 1448; 1421; 1084. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,25 (s; 1H; OH, enol); 3,01 (t; 7,4 Hz; 2H; H-2'); 2,53 (s; 2H; H-6); 2,35 (s; 2H; H-4); 1,66 (sext: 7,4 Hz; 2H; H-3'); 1,08 (s; 6H; H-1''); 0,98 (t; 7,4 Hz; 3H; H-4'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,67 (C-1'); 197,90 (C-3); 195,22 (C-1); 112,11 (C-2); 52,81 (C-5); 47,05 (C-6); 42,34 (C-2'); 30,79 (C-4); 28,32 (C-3'); 18,25 (C-1''); 14,04 (C-4'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 210 (60); 195 (50); 177 (20); 167 (100); 154 (25); 140 (35); 126 (20); 121 (10); 111 (30); 98 (22); 83 (82); 69 (40); 55 (35); 43 (50); 41 (31); 39 (12). **EMAR** (m/z): calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 211,1328; encontrado: 211,1330. **Rendimento:** 85%.

3-Hidroxi-2-(1-oxohexil)-2-cicloexen-1-ona (3a)

Aspecto: líquido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2956; 1734; 1667; 1567; 1557; 1461; 1421; 1190. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,27 (s; 1H; OH, enol); 3,01 (t; 7,4 Hz; 2H; H-2'); 2,67 (t; 6,8 Hz; 2H; H-4); 2,49 (t; 6,8 Hz; 2H; H-6); 1,98 (quint: 6,8 Hz; 2H; H-5); 1,67-1,57 (m; 2H; H-3'); 1,40-1,28 (m; 4H; H-4' e H-5'); 0,92-0,88 (m; 3H; H-6'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 206,40 (C-1'); 198,71 (C-3); 195,33 (C-1); 113,08 (C-2); 40,60 (C-2'); 38,91 (C-4); 33,40 (C-6); 31,63 (C-3'); 24,45 (C-4'); 22,55 (C-5'); 19,15 (C-5); 14,02 (C-6'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 210 (16); 192 (9); 181 (6); 167 (100); 154 (42); 149 (14); 139 (75); 126

(25); 121 (7); 111 (29); 97 (15); 84 (12); 79 (10); 69 (47); 55 (50); 43 (35); 41 (17). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{12}H_{18}O_3$ $[M + H]^+$: 211,1328; encontrado: 211,1329. **Rendimento**: 62%.

6,7-Dihidro-3-pentil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (3b)

Aspecto: líquido incolor. **IV** (filme, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2957; 1688; 1600; 1466; 1430; 1071. **RMN** ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 2,98 (t; 6,4 Hz; 2H; H-2'); 2,85 (t; 7,6 Hz; 2H; H-4); 2,52 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 2,22 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-5); 1,76-1,67 (m; 2H; H-3'); 1,38-1,34 (m; 4H; H-4' e H-5'); 0,92 (m; 3H; H-6'). **RMN** ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 193,20 (C-1); 181,14 (C-3); 161,47 (C-1'); 114,79 (C-2); 38,17 (C-4); 31,52 (C-6); 27,06 (C-2'); 25,58 (C-3'); 23,26 (C-4'); 22,48 (C-5'); 22,41 (C-5); 14,07 (C-6'). **EMBR** m/z (Int. rel. %): $[M^+]$ 207 (10); 192 (8); 178 (27); 164 (81); 151 (23); 138 (100); 123 (22); 106 (20); 94 (12); 82 (9); 68 (26); 55 (47); 43 (46); 41 (65). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{12}H_{17}NO_2$ $[M + H]^+$: 208,1338; encontrado: 208,1337. **Rendimento**: 80%.

6,7-Dihidro-5-hidroxi-3-pentil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (3c)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3487; 2957; 1680; 1594; 1474; 1426; 1385; 1121. **RMN** ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 4,29 (ddd; 12,7 Hz; 5,3 Hz; 1,0 Hz; 1H; H-4); 3,69 (d; 1,0 Hz; 1H; OH); 3,20-2,99 (m; 2H; H-6); 2,88-2,83 (m; 2H; H-2'); 2,65-2,56 (m; 1H; H-5); 2,18-2,03 (m; 1H; H-5); 1,77-1,68 (m; 2H; H-3'); 1,38-1,33 (m; 4H; H-4' e H-5'); 0,93-0,88 (m; 3H; H-6'). **RMN** ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 193,29 (C-1); 181,13 (C-3); 161,63 (C-1'); 113,28 (C-2); 73,13 (C-4); 31,49 (C-4'); 30,53 (C-2'); 27,08 (C-3'); 25,44 (C-5); 22,38 (C-5'); 21,98 (C-6); 14,05 (C-6'). **EMBR** m/z (Int. rel. %): $[M^+]$ 223 (2); 194 (21); 179 (48); 166 (16); 151 (22); 154 (46); 148 (13); 139 (10); 137 (35); 122 (23); 109 (15); 94 (21); 81 (17); 69 (27); 57 (13); 43 (40); 41 (39); 39 (15). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{12}H_{17}NO_3$ $[M + H]^+$: 224,1287; encontrado: 224,1277. **Rendimento**: 70%.

3,6-Dihidroxi-2-(1-oxohexil)-2-cicloexen-1-ona (3d)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3455; 2956; 1663; 1554; 1465; 1448; 1413; 1120. **RMN** ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 18,28 (s; 1H; OH, enol); 4,10 (dd; 13,0 Hz; 5,5 Hz; 2H; H-4 e OH); 3,13-2,91 (m;

2H; H-6); 2,82-2,77 (m; 2H; H-2'); 2,43-2,35 (m; 1H; H-5); 1,91-1,57 (m; 3H; H-5 e H-3'); 1,38-1,33 (m; 4H; H-4' e H-5'); 0,93-0,89 (m; 3H; H-6'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 206,23 (C-1'); 198,04 (C-3); 195,70 (C-1); 110,40 (C-2); 71,72 (C-4); 40,34 (C-2'); 31,60 (C-3'); 31,42 (C-6); 27,26 (C-5); 24,35 (C-4'); 22,57 (C-5'); 14,06 (C-6'). **EMBR m/z** (Int. rel. %): $[\text{M}^+]$ 226 (11); 208 (17); 183 (100); 165 (23); 154 (35); 140 (88); 137 (53); 126 (70); 111 (21); 98 (54); 84 (48); 81 (14); 71 (69); 69 (41); 55 (29); 43 (67); 41 (30); 39 (12). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 227,1283; encontrado: 227,1271. **Rendimento**: 95%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil -2-(1-oxohexil)-2-cicloexen-1-ona (3e)

Aspecto: líquido amarelo claro. **IV** (KBr , $\sqrt{\nu_{\text{max}}}$, cm^{-1}): 2958; 1668; 1558; 1467; 1449; 1421; 1148. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,25 (s; 1H; OH, enol); 3,02 (t; 7,4 Hz; 2H; H-2'); 2,53 (s; 2H; H-6); 2,35 (s; 2H; H-4); 1,67-1,57 (m; 2H; H-3'); 1,38-1,33 (m; 4H; H-4' e H-5'); 1,08 (s; 6H, H-1''); 0,92-0,87 (m; 3H; H-6'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,86 (C-1'); 197,94 (C-3); 195,20 (C-1); 112,07 (C-2); 52,80 (C-5); 47,07 (C-6); 40,41 (C-2'); 31,68 (C-3'); 30,78 (C-4); 28,31 (C-4'); 24,55 (C-5'); 22,60 (C-1''); 14,08 (C-6). **EMBR m/z** (Int. rel. %): $[\text{M}^+]$ 238 (18); 220 (9); 209 (9); 195 (100); 182 (38); 177 (12); 167 (48); 154 (8); 140 (22); 126 (29); 111 (21); 97 (16); 85 (5); 83 (51); 69 (27); 55 (30); 43 (36); 41 (20); 39 (10). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 239,1641; encontrado: 239,1649. **Rendimento**: 64%.

3-Hidroxi-2-(1-oxodecil)-2-cicloexen-1-ona (4a)

Aspecto: líquido alaranjado. **IV** (KBr , $\sqrt{\nu_{\text{max}}}$, cm^{-1}): 2954; 2927; 1668; 1558; 1462; 1072. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,26 (s; 1H; OH, enol); 3,01 (t; 7 Hz; 2H; H-2'); 2,66 (t; 7 Hz; 2H; H-4); 2,48 (t; 7,6 Hz; 2H; H-4); 1,97 (quint; 6,2 Hz; 2H; H-6); 1,66-1,56 (m; 2H; H-3'); 1,37-1,26 (m; 12H; H-4'-H-9'); 0,90-0,85 (m; 3H; H-10'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 206,49 (C-1'); 198,79 (C-3); 195,45 (C-1); 113,16 (C-2); 40,73 (C-2'); 38,97 (C-4); 33,47 (C-6); 32,02 (C-3'); 29,62 (CH_2); 29,58 (CH_2); 29,54 (CH_2); 29,42 (CH_2); 24,83 (CH_2); 22,81 (CH_2); 19,20 (CH_2); 14,24 (C-10'). **EMBR m/z** (Int. rel. %): $[\text{M}^+]$ 266 (7); 248 (6); 167 (100); 154 (51); 139 (60); 126 (23); 111 (17); 97 (9); 84 (8); 69 (28); 55 (36); 43 (23). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 267,1948; encontrado: 267,1953. **Rendimento**: 58%.

6,7-Dihidro-3-nonil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (4b)

Aspecto: líquido incolor. **IV** (filme, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2926; 1689; 1600; 1466; 1430; 1072. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 2,98 (t; 6,3 Hz; 2H; H-2'); 2,67 (t; 7,7 Hz; 2H; H-4); 2,52 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 1,98 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-5); 1,91 (m; 2H; H-3'); 1,39-1,26 (m, 12H; H-4' – H-9'); 0,90-0,85 (m; 3H; H-10'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 193,19 (C-1); 181,13 (C-3); 161,48 (C-1'); 114,81 (C-2); 38,18 (C-4); 31,99 (C-6); 29,58 (C-2'); 29,40-29,38 (CH_2); 27,38 (CH_2); 25,64 (CH_2); 23,27 (CH_2); 22,80 (CH_2); 22,49 (CH_2); 14,25 (C-10'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 263 (7); 248 (3); 234 (10); 220 (12); 206 (13); 192 (24); 178 (29); 164 (81); 151 (46); 138 (100); 123 (14); 55 (17); 43 (20). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2[\text{M} + \text{H}]^+$: 264,1964; encontrado: 264,1958. **Rendimento:** 86%.

6,7-Dihidro-5-hidroxi-3-nonil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (4c)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3452; 2955; 1660; 1557; 1467; 1442; 1416; 1113. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 4,29 (dd; 12,7 Hz; 5,1 Hz; 1H; H-4); 3,70 (s; OH); 3,21-3,00 (m; 2H; H-6); 2,85 (t; 7,6 Hz; 2H; H-2'); 2,66-2,57 (m; 1H; H-5); 2,18-2,03 (m; 1H; H-5); 1,77-1,66 (m; 2H; H-3'); 1,38-1,33 (m; 12H; H-4'–H-9'); 0,93-0,88 (m; 3H; H-10'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 193,29 (C-1); 181,15 (C-3); 161,63 (C-1'); 113,26 (C-2); 73,12 (C-4); 32,00 (CH_2); 30,51 (CH_2); 29,57 (CH_2); 29,41 (CH_2); 29,36 (CH_2); 29,35 (CH_2); 27,40 (CH_2); 25,49 (CH_2); 22,81 (CH_2); 21,98 (CH_2); 14,26 (C-10'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 279 (6); 261 (6); 250 (11); 222 (13); 208 (11); 194 (18); 180 (61); 167 (49); 154 (58); 136 (100); 122 (16); 110 (13); 108 (17); 97 (17); 84 (15); 80 (16); 69 (32); 57 (16); 55 (25); 43 (33); 41 (42). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_3[\text{M} + \text{Na}]^+$: 302,1732; encontrado: 302,1726. **Rendimento:** 76%.

3,6-Dihidroxi-2-(1-oxodecil)-2-cicloexen-1-ona (4d)

Aspecto: sólido amarelado. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,28 (s; 1H; OH, enol); 4,09 (dd; 13,0 Hz; 5,4 Hz; 2H; H-4 e OH); 3,13-2,73 (m; 4H; H-6); 2,43-2,34 (m; 1H; H-5); 1,90-1,52 (m; 3H; H-5 e H-3'); 1,38-1,27 (m; 12H; H-4' e H-9'); 0,90-0,86 (m; 3H; H-10'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 206,25 (C-1'); 198,05 (C-3); 195,70 (C-1); 110,41 (C-2); 71,73 (C-4); 40,41 (C-2'); 32,01 (C-3'); 31,43 (C-6); 29,58 (CH_2); 29,54 (CH_2); 29,47 (CH_2); 29,40 (CH_2); 27,28 (CH_2); 24,67 (CH_2); 22,80 (CH_2); 14,25 (C-10'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 282 (3); 238 (2); 183 (15); 165 (5); 153 (5); 140 (11); 126 (8); 111 (4); 98 (7); 85 (12); 71 (13); 69 (24); 57 (29); 55 (45); 43 (100); 41 (100). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_4[\text{M} + \text{Na}]^+$: 305,1729; encontrado: 305,1725. **Rendimento:** 93%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-(1-oxodecil)-2-cicloexen-1-ona (4e)

Aspecto: líquido alaranjado. **IV** (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 2957; 2923; 1669; 1559; 1449; 1389; 1149. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,28 (s; 1H; OH, enol); 3,02 (t; 7,8 Hz; 2H; H-2'); 2,54 (s; 2H; H-4); 2,36 (s; 2H; H-6); 1,66-1,56 (m; 2H; H-3'); 1,38-1,27 (m; 12H; H-4'-H-9'); 1,08 (s; 6H; H-1''); 0,90-0,88 (m; 3H; H-10'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,82 (C-1'); 197,89 (C-3); 195,15 (C-1); 112,00 (C-2); 52,74 (C-5); 46,99 (C-6); 40,44 (C-2'); 31,97 (C-3'); 30,73 (C-4); 29,57 (CH_2); 29,53 (CH_2); 29,49 (CH_2); 29,38 (CH_2); 28,27 (CH_2); 24,81 (CH_2); 22,77 (C-1''); 14,22 (C-10'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 294 (6); 279 (6); 209 (5); 195 (100); 182 (48); 167 (36); 154 (9); 140 (13); 126 (31); 111 (12); 97 (11); 83 (37); 69 (19); 55 (27); 43 (26). **EMAR (m/z):** calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 317,2087; encontrado: 317,2086. **Rendimento:** 66%.

3-Hidroxi-2-(1-oxododecil)-2-cicloexen-1-ona (5a)

Aspecto: líquido amarelo claro. **IV** (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 2925; 2854; 1668; 1564; 1558; 1462; 1073. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,27 (s; 1H; OH, enol); 3,01 (t; 7,6 Hz; 2H; H-2'); 2,66 (t; 6,6 Hz; 2H; H-4); 2,49 (t; 6,6 Hz; 2H; H-6); 1,97 (quint; 6,6 Hz; 2H; H-5); 1,61 (quint; 7,5 Hz; 2H; H-3'); 1,38-1,26 (m; 16H; H-4'-H-11'); 0,90-0,86 (m; 3H; H-12'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 206,31 (C-1'); 198,60 (C-3); 195,25 (C-1); 112,97 (C-2); 40,56 (C-2'); 38,80 (C-4); 33,29 (C-6); 31,88 (C-3'); 29,59 (CH_2); 29,49 (CH_2); 29,42 (CH_2); 29,37 (CH_2); 29,31 (CH_2); 24,65 (CH_2); 22,66 (CH_2); 19,04 (CH_2); 14,08 (C-12'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 294 (6); 276 (7); 205 (4); 191 (4); 167 (100); 154 (56); 139 (54); 111 (15); 97 (8); 69 (24); 55 (30); 43 (20); 41 (16). **EMAR (m/z):** calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 295,2267; encontrado: 295,2269. **Rendimento:** 67%.

6,7-Dihidro-3-undecil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (5b)

Aspecto: líquido incolor. **IV** (filme, ν_{max} , cm^{-1}): 2926; 1689; 1601; 1466; 1430; 1072. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 2,97 (t; 6,3 Hz; 2H; H-2'); 2,85 (t; 7,7 Hz; 2H; H-4); 2,51 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 2,21 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-5); 1,75-1,65 (m; 2H; H-3'); 1,39-1,25 (m; 16H; H-4'-H-11'); 0,90-0,85 (m; 3H; H-10'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 193,18 (C-1); 181,13 (C-3); 161,52 (C-1'); 114,84 (C-2); 38,06 (C-4); 32,06 (C-6); 29,76 (CH_2); 29,65 (CH_2); 29,49 (CH_2); 29,42 (CH_2); 29,40 (CH_2); 27,42 (CH_2); 25,67 (CH_2); 23,30 (CH_2); 22,83 (CH_2); 22,52 (CH_2); 14,26 (C-12'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 291 (2); 220 (3); 178 (6); 164 (44); 138

(23); 122(4); 80 (6); 55 (34); 43 (83); 41 (100). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{18}H_{29}NO_2[M + H]^+$: 292,2277; encontrado: 292,2277. **Rendimento**: 80%.

6,7-Dihidro-5-hidroxi-3-undecil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (5c)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3435; 3382; 2919; 1676; 1594; 1470; 1413; 1364; 1121. **RMN 1H** (300 MHz; $CDCl_3$): δ 4,29 (dd; 12,7 Hz; 5,1 Hz; 1H; H-4); 3,76 (s; OH); 3,21-2,99 (m; 2H; H-6); 2,85 (t; 7,6 Hz; 2H; H-2'); 2,66-2,56 (m; 1H; H-5); 2,18-2,04 (m; 1H; H-5); 1,77-1,66 (m; 2H; H-3'); 1,33-1,26 (m; 16H; H-4'-H-11'); 0,90-0,85 (m; 3H; H-10'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; $CDCl_3$): δ 193,28 (C-1); 181,12 (C-3); 161,60 (C-1'); 113,25 (C-2); 73,10 (C-4); 32,02 (CH_2); 30,49 (CH_2); 29,73 (CH_2); 29,60 (CH_2); 29,46 (CH_2); 29,33 (CH_2); 27,37 (CH_2); 25,47 (CH_2); 22,81 (CH_2); 21,96 (CH_2); 14,25 (C-12'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 307 (1); 292 (1); 261 (1); 190 (2); 180 (9); 167 (4); 162 (5); 154 (6); 136 (9); 124 (4); 110 (3); 97 (5); 80 (5); 69 (14); 67 (8); 57 (29); 55 (27); 43 (100); 41 (94). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{18}H_{29}NO_3[M + H]^+$: 308,2226; encontrado: 308,2219. **Rendimento**: 76%.

3,6-Dihidroxi-2-(1-oxododecil)-2-cicloexen-1-ona (5d)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3443; 2955; 2920; 1648; 1536; 1471; 1454; 1413; 1112. **RMN 1H** (300 MHz; $CDCl_3$): δ 18,28 (s; 1H; OH, enol); 4,09 (dd; 13,0 Hz; 5,4 Hz; 2H; H-4); 3,13-2,73 (m; 4H; H-4); 2,43-2,34 (m; 1H; H-5); 1,90-1,52 (m; 3H; H-5 e H-3'); 1,38-1,27 (m; 12H; H-4' e H-9'); 0,90-0,86 (m; 3H; H-12'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; $CDCl_3$): δ 206,27 (C-1'); 198,07 (C-3); 195,71 (C-1); 110,41 (C-2); 71,74 (C-4); 40,42 (C-2'); 32,05 (C-3'); 31,45 (C-6); 29,76 (CH_2); 29,63 (CH_2); 29,55 (CH_2); 29,48 (CH_2); 27,29 (CH_2); 24,69 (CH_2); 22,83 (CH_2); 14,28 (C-12'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 310 (3); 266 (1); 183 (12); 165 (4); 140 (8); 126 (7); 109 (6); 98 (6); 85 (12); 69 (24); 57 (30); 55 (40); 43 (100); 41 (84). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{18}H_{30}O_4[M + Na]^+$: 333,2042; encontrado: 333,2036. **Rendimento**: 90%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-(1-oxododecil)-2-cicloexen-1-ona (5e)

Aspecto: líquido amarelo claro. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2957; 2927; 1669; 1558; 1467; 1450; 1042. **RMN 1H** (300 MHz; $CDCl_3$): δ 18,26 (s; 1H; OH, enol); 3,02 (t; 7,4 Hz; 2H; H-2'); 2,53 (s; 2H; H-4); 2,35 (s; 2H; H-6);

1,69-1,52 (m; 2H; H-3'); 1,41-1,19 (m; 16H; H-4'-H-11'); 1,08 (s; 6H; H-1''); 0,92-0,82 (m; 3H; H-12'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,89 (C-1'); 197,97 (C-3); 195,26 (C-1); 112,05 (C-2); 52,79 (C-5); 47,05 (C-4); 40,49 (C-2'); 32,05 (C-3'); 30,79 (C-6); 29,76 (CH_2); 29,66 (CH_2); 29,58 (CH_2); 28,54 (CH_2); 28,48 (CH_2); 28,32 (CH_2); 24,85 (CH_2); 22,83 (C-1''); 14,27 (C-12'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 322 (9); 307 (15); 289 (9); 195 (100); 182 (66); 167 (38); 154 (11); 140 (17); 126 (32); 111 (11); 97 (11); 83 (35); 69 (17); 55 (12); 43 (15); 41 (11). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3[\text{M} + \text{Na}]^+$: 345,2406; encontrado: 345,2401. **Rendimento**: 80%.

6,7-Dihidro-4,4-dimetil-3-undecil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (5f)

Aspecto: líquido incolor. **IV** (filme, $\sqrt{\nu_{\text{max}}}$, cm^{-1}): 2958; 2926; 1690; 1602; 1466; 1411; 1159. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 2,85 (t; 7,6 Hz; H-2'); 2,83 (s; 3H; H-6); 2,39 (s; 2H; H-4); 1,75-1,66 (m; 2H; H-3'); 1,25-1,15 (m; 16H; H-4'-H-11'); 1,15 (s; 6H; H-1''); 0,90-0,85 (m; 3H; H-12''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 192,56 (C-1); 180,66 (C-3); 161,41 (C-1'); 113,74 (C-2); 52,62 (C-5); 36,96 (C-6); 35,69 (C-4); 32,04 (CH_2); 29,75 (CH_2); 29,63 (CH_2); 29,48 (CH_2); 29,38 (CH_2); 28,52 (CH_2); 27,40 (CH_2); 25,63 (CH_2); 22,83 (C-1''); 14,27 (C-12'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 319 (2); 248 (2); 220 (5); 192 (45); 136 (14); 110 (4); 83 (9); 55 (38); 43 (93); 41 (100). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_2[\text{M} + \text{H}]^+$: 320,2590; encontrado: 320,2585. **Rendimento**: 76%.

6,7-Dihidro-5-hidroxi-4,4-dimetil-3-undecil-1,2-benzisoxazol-4(5H)-ona (5g)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\sqrt{\nu_{\text{max}}}$, cm^{-1}): 3470; 2952; 2921; 1674; 1598; 1479; 1470; 1391; 1364; 1138. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 4,08 (d; 2,1 Hz; 1H; H-4); 3,70 (d; 2,1 Hz; 1H; OH); 2,93 (s; 2H; H-6); 2,85 (dd; 7,7 Hz; 2,2 Hz; H-2'); 2,53 (s; 2H; H-4); 1,77-1,67 (m; 2H; H-3'); 1,35 (s; 2H; H-1''); 1,41-1,19 (m; 16H; H-4'-H-11'); 0,90 (s; 3H; H-1''); 0,90-0,86 (m; 3H; H-12'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 192,74 (C-1); 180,06 (C-3); 161,52 (C-1'); 112,41 (C-2); 80,62 (C-4); 41,24 (C-5); 36,67 (C-6); 32,05 (CH_2); 29,75 (CH_2); 29,62 (CH_2); 29,48 (CH_2); 29,36 (CH_2); 29,34 (CH_2); 27,75 (CH_2); 27,42 (CH_2); 25,49 (CH_2); 22,83 (CH_2); 18,97 (C-1''); 14,26 (C-12'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 335 (2); 302 (4); 208 (14); 190 (6); 164 (6); 72 (20); 57 (34); 55 (30); 43 (100); 41 (88). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_3[\text{M} + \text{H}]^+$: 336,2539; encontrado: 336,2534. **Rendimento**: 82%.

3-Hidroxi-2-(1-oxoheptadecil)-2-cicloexen-1-ona (6a)

Aspecto: sólido branco. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3432; 2954; 2920; 1652; 1560; 1462; 1441; 1077. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,27 (s; 1H; OH, enol); 3,01 (t; 7,6 Hz; 2H; H-2'); 2,66 (t; 6,6 Hz; 2H; H-4); 2,48 (t; 6,6 Hz; 2H; H-6); 1,97 (quint; 6,6 Hz; 2H; H-5); 1,66-1,56 (2H; H-3'); 1,38-1,26 (m; 26H; H-4'-H-16'); 0,90-0,86 (m; 3H; H-17'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 206,31 (C-1'); 198,60 (C-3); 195,24 (C-1); 112,98 (C-2); 40,56 (C-2'); 38,80 (C-4); 33,30 (C-6); 31,91 (C-6); 29,67 (CH_2); 29,65 (CH_2); 29,61 (CH_2); 29,51 (CH_2); 29,38 (CH_2); 29,34 (CH_2); 24,66 (CH_2); 22,67 (CH_2); 19,04 (CH_2); 14,09 (C-17'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 364 (4); 346 (8); 205 (4); 191 (5); 167 (100); 154 (72); 139 (45); 126 (19); 111 (13); 97 (9); 69 (21); 57 (12); 55 (29); 43 (27); 41 (16). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 365,3050; encontrado: 365,3045. **Rendimento:** 69%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-(1-oxoheptadecil)-2-cicloexen-1-ona (6b)

Aspecto: sólido branco. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3435; 2919; 2852; 1661; 1567; 1471; 1433; 1148. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,26 (s; 1H; OH, enol); 3,02 (t; 7,8 Hz; 2H; H-2'); 2,53 (s; 2H; H-6); 2,35 (s; 2H; H-4); 1,66-1,56 (m; 2H; H-3'); 1,44-1,25 (m; 26H; H-4'-H-16'); 1,07 (s; 6H; H-1''); 0,93-0,83 (m; 3H; H-17'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,85 (C-1'); 197,91 (C-3); 195,15 (C-1); 112,06 (C-2); 52,81 (C-5); 47,07 (C-6); 40,46 (C-2'); 32,06 (C-3'); 30,77 (C-4); 29,83 (CH_2); 29,80 (CH_2); 29,76 (CH_2); 29,66 (CH_2); 29,57 (CH_2); 29,54 (CH_2); 29,50 (CH_2); 28,31 (CH_2); 24,87 (CH_2); 22,83 (C-1''); 14,26 (C-17'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 392 (5); 359 (10); 209 (5); 195 (100); 182 (66); 167 (31); 154 (11); 140 (10); 126 (25); 111 (10); 97 (13); 83 (30); 69 (16); 55 (22); 43 (28); 41 (14). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{44}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 415,3182; encontrado: 415,3185. **Rendimento:** 71%.

1-(2-Hidroxi-6-oxocicloex-1-en-1-il)-hexano-1,5-diona (7a)

Aspecto: líquido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3613; 1715; 1665; 1561; 1501; 1459; 1190. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,08 (s; 1H; OH, enol); 3,04 (t; 7,5 Hz; 2H; H-4); 2,67 (t; 6,5 Hz; 2H; H-2'); 2,52 (t; 7,3 Hz; 2H; H-4'); 2,48 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 2,15 (s; 3H; H-6'); 1,98 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-3'); 1,91 (quint; 7,5 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 208,36 (C-5'); 205,62 (C-1'); 198,28 (C-3); 195,41 (C-1); 113,21 (C-2); 42,98 (C-4'); 40,00 (C-2'); 38,86 (C-4); 33,16 (C-6); 30,02 (C-3); 19,19 (C-6'); 18,59 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 224 (0); 206 (8); 167 (10); 139 (19); 126 (5); 111 (14); 97 (5); 85 (7); 69 (32);

55 (36); 43 (100); 41 (24). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{12}H_{16}O_4$ $[M + Na]^+$: 247,0940; encontrado: 247,0949. **Rendimento**: 66%.

1-(2-Hidroxi-4,4-dimetil-6-oxocicloex-1-en-1-il)-hexano-1,5-diona (7b)

Aspecto: líquido amarelo claro. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3648; 2959; 1715; 1666; 1566; 1556; 1442; 1151. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,09 (s; 1H; OH, enol); 3,04 (t; 7,3 Hz; 2H; H-2''); 2,56-251 (m; 4H; H-6 e H-4'); 2,35(s; 2H; H-4); 2,15 (s; 3H; H-6'); 1,95-185 (m; 2H; H-3'); 1,08 (s; 6H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 208,26 (C-5'); 204,87 (C-2'); 197,31 (C-3); 195,11 (C-1); 111,94 (C-2); 52,50 (C-5); 46,54 (C-6); 42,79 (C-4'); 39,63 (C-2'); 30,68 (C-4); 29,90 (C-3'); 28,14 (C-6'); 18,40 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 252 (0); 234 (7); 195 (9); 167 (10); 126 (6); 111 (8); 83 (19); 69 (21); 55 (28); 43 (100); 41 (27). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{14}H_{20}O_4$ $[M + Na]^+$: 275,1253; encontrado: 275,1259. **Rendimento**: 54%.

3-Hidroxi-2-(1-oxo-3-fenil-propen-1-il)-2-cicloexen-1-ona (8a)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3436; 2944; 1658; 1625; 1575; 1524; 1494; 1448; 1189; 979. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,53 (s; 1H); 8,27 (d; 15,9 Hz; H-3'); 7,94 (d; 15,9 Hz; H-2'); 7,67-7,64 (m; 2H; H-5' e H-9'); 7,41-7,39 (m; 3H; H-6'-H-8'); 2,70 (t; 6,6 Hz; 2H; H-3'); 2,56 (t; 6,0 Hz; 2H; H-6); 2,01 (quint; 6,0 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,39 (C-1); 196,27 (C-3); 188,61 (C-1'); 146,04 (C-3'); 135,11 (C-4'); 131,01 (C-6' e C-8'); 129,15 (C-5' e H-9'); 129,04 (C-7'); 123,11 (C-2'); 112,41 (C-2); 39,44 (C-4); 35,12 (C-6); 19,04 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 242 (52); 241 (54); 214 (12); 186 (20); 171 (38); 165 (100); 131 (69); 115 (32); 103 (71); 91 (10); 77 (47); 69 (19); 55 (17); 51 (17); 42 (11); 39 (8). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{15}H_{14}O_3$ $[M + H]^+$: 243,1015; encontrado: 243,1015. **Rendimento**: 66%.

3-Hidroxi-2-(1-oxo-3-fenilpropil)-2-cicloexen-1-ona (8b)

Aspecto: líquido incolor. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3062; 2952; 1665; 1560; 1497; 1439; 1190; 964. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,09 (s; 1H: OH, enol); 7,31-7,18 (m; 5H; H-5'-H-9'); 3,36 (t; 7,8 Hz; 2H; H-2'); 2,94 (t; 7,8 Hz; 2H; H-4); 2,66 (t; 6,6 Hz; 2H; H-3'); 2,48 (t; 6,0 Hz; 2H; H-6); 1,96 (quint; 6,0 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,17 (C-1'); 198,36 (C-3); 195,39 (C-1); 141,10 (C-4'); 128,67 (C-6' e C-8'); 128,50 (C-5' e C-9'); 126,17 (C-7'); 113,26 (C-2); 42,52 (C-2'); 38,85 (C-4); 33,19 (C-6); 30,60 (C-3'); 19,17 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 244 (52); 226 (15); 216 (15); 198 (5); 170 (10); 153 (15); 139

(78); 112 (100); 104 (20); 91 (78); 84 (17); 77 (16); 69 (36); 55 (30); 39 (10). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{15}H_{16}O_3$ $[M + H]^+$: 245,1166; encontrado: 245,1170. **Rendimento**: 43%.

3,6-Dihidroxi-2-(1-oxo-3-fenil-propen-1-il)-2-cicloexen-1-ona (8c)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3433; 2947; 1659; 1623; 1576; 1517; 1497; 1460; 1118; 964. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,60 (s; 1H; OH, enol); 8,26 (d; 15,9 Hz; 1H; H-3'); 8,02 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,70-7,67 (m; 2H; H-5' e H-9'); 7,46-7,42 (m; 3H; H-6'-H-8'); 4,18 (dd; 13,0 Hz; 1,7 Hz; 1H; H-4); 4,12 (d; 1,7 Hz; OH); 2,86-2,81 (m; 2H; H-6); 2,46-2,38 (m; 2H; H-4); 1,94-1,80 (m; 1H; H-4). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,57 (C-1); 196,40 (C-3); 188,51 (C-1'); 147,24 (C-3'); 134,76 (C-4'); 131,45 (C-5' e C-9'); 129,29 (C-6' e C-8'); 129,16 (C-7'); 121,89 (C-2'); 109,60 (C-2); 72,19 (C-4); 33,08 (C-5); 27,13 (C-6). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 258 (14); 213 (8); 186 (18); 158 (7); 131 (64); 115 (72); 103 (89); 91 (21); 77 (100); 69 (40); 63 (20); 57 (52); 55 (38); 51 (57); 43 (53); 39 (47). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{15}H_{14}O_4$ $[M + Na]^+$: 281,0790; encontrado: 281,0789. **Rendimento**: 60%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-(1-oxo-3-fenil-propil)-2-cicloexen-1-ona (8d)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3435; 2956; 1644; 1620; 1575; 1528; 1470; 1450; 1176; 960. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,51 (d; 0,9 Hz; 1H; OH, enol); 8,31 (dd; 15,9 Hz; 0,9 Hz; 1H; H-3'); 7,95 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,67-7,64 (m; 2H; H-5' e H-9'); 7,57-7,38 (m; 2H; H-6'-H-8'); 2,57 (s; 2H; H-6); 2,43 (s; 2H; H-4); 1,09 (s; 6H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,81 (C-1); 195,98 (C-3); 187,79 (C-1'); 146,05 (C-2'); 135,07 (C-4'); 130,97 (C-6' e C-8'); 129,10 (C-5' e C-9'); 129,00 (C-7'); 122,89 (C-2'); 111,17 (C-2); 53,24 (C-5); 48,73 (C-6); 30,56 (C-4); 28,32 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 270 (41); 269 (50); 252 (6); 237 (7); 213 (5); 193 (100); 186 (18); 171 (24); 131 (61); 115 (25); 103 (59); 91 (9); 77 (37); 69 (12); 55 (14); 43 (8); 41 (10). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{17}H_{18}O_3$ $[M + H]^+$: 271,1328; encontrado: 271,1331. **Rendimento**: 70%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-(1-oxo-3-fenilpropil)-2-cicloexen-1-ona (8e)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3312; 3025; 2955; 1667; 1561; 1490; 1434; 1144; 946. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,09 (s; 1H; OH, enol); 7,28-7,18 (m; 5H; H-5'-H-9'); 3,37 (t; 7,8 Hz; 2H; H-

2'); 2,94 (t; 7,8 Hz; 2H; H-3'); 2,53 (s; 2H; H-6); 2,35 (s; 2H; H-4); 1,07(s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 204,60 (C-1'); 197,55 (C-3); 195,20 (C-1); 141,07 (C-4'); 128,68 (C-6' e C-8'); 128,52 (C-5' e C-9'); 126,19 (C-7'); 112,20 (C-2); 52,72 (C-4); 46,83 (C-6); 42,27 (C-2'); 30,83 (C-4); 30,67 (C-3'); 28,32 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 272 (55); 254 (14); 216 (7); 198 (12); 181 (14); 167 (85); 140 (100); 125 (11); 111 (16); 105 (26) 91 (83); 83 (55); 77 (14); 69 (26); 55 (22); 43 (18); 41 (13). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_3$ $[M + \text{Na}]^+$: 295,1304; encontrado: 295,1306. **Rendimento**: 60%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(2-metilfenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (9a)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 3435; 2944; 1658; 1623; 1599; 1582; 1525; 1439; 1416; 1170; 982. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,53 (d; 0,9 Hz; 1H: OH, enol); 8,27 (dd; 15,8 Hz; 0,9 Hz; 1H; H-3'); 7,95 (d; 15,8 Hz; 1H; H-2'); 7,49-7,44 (m; 2H; H-8' e H-9'); 7,32-7,21 (m; 2H; H-6' e H-7'); 2,70 (t; 6,5; 2H; H-4); 2,57 (t; 6,5; 2H; H-6); 2,39 (s; 3H; CH_3); 2,06-2,00 (m; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,29 (C-1); 196,16 (C-3); 185,56 (C-1'); 143,30 (C-3'); 138,54 (C-4'); 133,77 (C-5'); 130,88 (C-7'); 130,67 (C-6'); 127,39 (C-9'); 126,44 (C-8'); 123,77 (C-2'); 112,29 (C-2); 39,29 (C-4); 34,98 (C-6); 19,89 (C-5); 18,92 (CH_3). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 256 (11); 255 (10); 238 (100); 210 (12); 182 (26); 165 (39); 145 (26); 139 (33); 128 (15); 115 (78); 105 (14); 91 (29); 69 (30); 55 (25); 43 (7); 39 (11). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_3$ $[M + \text{H}]^+$: 257,1172; encontrado: 257,1176. **Rendimento**: 56%.

3-Hidroxi-2-[3-(2-metilfenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (9b)

Aspecto: sólido branco. **IV** (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 3017 ; 1722 ; 1687 ; 1666 ; 1492 ; 1459 ; 1436 ; 1050 ; 959. **RMN ^1H** (500 MHz; CDCl_3): δ 18,13 (s; 1H; OH, enol); 7,21-7,19 (m; 2H: H-8' e H-9'); 7,15-7,09 (m; 2H: H-6' e H-7'); 3,31 (t; 7,5 Hz; 2H; H-2'); 2,93 (t; 7,5 Hz; 2H; H-3'); 2,67(t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,48 (t; 7,0 Hz; 2H; H-6); 2,35 (s; 3H); 1,98 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,13 (C-1'); 198,35 (C-3); 195,26 (C-1); 139,07 (C-4'); 136,16 (C-5'); 130,22 (C-6'); 128,92 (C-9'); 126,27 (C-7'); 126,07 (C-8'); 113,21 (C-2); 41,06 (C-2'); 38,76 (C-4); 33,14 (C-6); 27,95 (C-3'); 19,33 (C-5); 19,08 (CH_3). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 258 (1); 240 (86); 239 (56); 221 (6); 194 (4); 165 (4); 153 (9); 139 (37); 112 (57); 105 (100); 91 (15); 84 (11); 79 (20); 77 (21); 69 (25); 55 (24); 43 (6); 39 (8). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3$ $[M + \text{Na}]^+$: 281,1148; encontrado: 281,1151. **Rendimento**: 57%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(2-metilfenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (9c)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3435; 3102; 2949; 1560; 1572; 1512; 1460; 1419; 1037; 983. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,52 (s; 0,9 Hz; 1H: OH, enol); 8,28 (d; 15,8 Hz; 1H; H-3'); 8,21 (d; 15,8 Hz; 1H; H-2'); 7,78-7,75 (m; 1H; H-9'); 7,32-7,20 (m; 2H; H-6'-H-8'); 2,58 (s; 2H; H-4); 2,48 (s; 3H; CH_3); 2,39 (s; 2H; H-6); 1,11 (s; 6H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,85 (C-1); 196,08 (C-3); 187,99 (C-1'); 143,57 (C-3'); 138,67 (C-4'); 133,96 (C-5'); 131,01 (C-7'); 130,81 (C-6'); 127,57 (C-9'); 126,59 (C-8'); 123,77 (C-2'); 111,27 (C-2); 53,32 (C-5); 48,82 (C-6); 30,67 (C-4); 28,40 (C-1''); 20,02 (CH_3). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 284 (49); 283 (46); 269 (14); 251 (8); 200 (23); 193 (100); 185 (31); 145 (38); 129 (12); 115 (53); 105 (9); 91 (24); 83 (17); 77 (7); 69 (12); 55 (14); 43 (10); 39 (8). **EMAR** (m/z): calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 285,1491; encontrado: 285,1485. **Rendimento:** 66%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(2-metilfenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (9d)

Aspecto: líquido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3018; 2959; 1667; 1558; 1493; 1448; 1049; 950. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,12 (s; 0,9 Hz; 1H: OH, enol); 7,25-7,09 (m; 4H; H-6'-H-9'); 3,32 (t; 7,5 Hz; 2H; H-2'); 2,93 (t; 7,5 Hz; 2H; H-3'); 2,54 (s; 2H; H-4); 2,48 (s; 5H; CH_3 e H-6); 1,07 (s; 6H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 204,64 (C-1'); 197,63 (C-3); 195,19 (C-1); 139,10 (C-4'); 136,26 (C-5'); 130,31 (C-6'); 129,01 (C-9'); 126,35 (C-7'); 126,15 (C-8'); 112,21 (C-2); 52,70 (C-5); 46,86 (C-6); 40,88 (C-2); 30,81 (C-4); 28,31 (C-1''); 28,06 (C-3'); 19,41 (CH_3). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 286 (1); 268 (76); 267 (75); 249 (4); 212 (4); 184 (5); 167 (32); 153 (5); 140 (46); 111 (11); 105 (100); 91 (15); 83 (36); 79 (20); 77 (18); 69 (18); 55 (16); 43 (13); 41 (10). **EMAR** (m/z): calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 309,1461; encontrado: 309,1461. **Rendimento:** 61%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(3-metoxilfenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (10a)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3436; 3108; 2946; 1667; 1649; 1621; 1578; 1528; 1494; 1462; 1263; 1043; 985. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,52 (d; 1H; 0,8 OH, enol); 8,24 (dd; 15,9 Hz; 0,8 Hz; 1H; H-3'); 7,89 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,14-7,33 (m; 3H; H-5', H-8' e H-9'); 7,57-7,50 (m; 1H; H-7'); 2,71 (t; 6,4 Hz; 2H; H-4); 2,56 (t; 6,4 Hz; 2H; H-6); 1,10 (t; 6,4 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,31 (C-1); 196,13 (C-3); 188,41 (C-1'); 159,94 (C-6'); 145,83 (C-3'); 136,37 (C-4'); 129,90 (C-8'); 123,25 (C-2'); 121,86 (C-9'); 117,11 (C-7'); 113,41 (C-5'); 112,29 (C-2); 55,35 (OCH_3); 39,31 (C-4); 34,99

(C-6); 18,92 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 272 (76); 271 (34); 254 (25); 244 (19); 227 (17) 216 (44); 201 (100); 165 (85); 161 (46); 133 (30); 118 (36); 103 (22); 90 (23); 77 (29); 69 (22); 55 (25); 42 (13); 39 (10). **EMAR (m/z)**: calculado para $C_{16}H_{16}O_4$ $[M + H]^+$: 273,1121; encontrado: 273,1128. **Rendimento**: 60%.

3-Hidroxi-2-[3-(3-metoxifenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (10b)

Aspecto: sólido branco. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3448; 2943; 1659; 1598; 1543; 1489; 1472; 1449; 1252; 1039; 849. **RMN 1H** (300 MHz; $CDCl_3$): δ 18,03 (s; 1H; OH, enol); 7,20 (t; 7,8 Hz; 1H; H-8'); 6,81 (m; 3H; H-5', H-7'e H-9'); 3,80 (s; 3H; OCH_3); 3,36 (t; 8,0 Hz; 2H; H-2'); 2,92 (t; 8,0 Hz; 2H; H-3'); 2,67(t; 6,6 Hz; 2H; H-4'); 2,49 (t; 7,2 Hz; H-6'); 1,97 (quint; 6,4; 2H; H-5'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; $CDCl_3$): δ 204,99 (C-1'); 198,16 (C-1); 195,22 (C-3); 159,63 (C-6'); 142,61 (C-4'); 129,33 (C-8'); 120,90 (C-9'); 114,19 (C-5'); 113,13 (C-2); 111,49 (C-7'); 55,14 (OCH_3); 42,28 (C-2'); 38,71 (C-4); 33,03 (C-6); 30,44 (C-3'); 19,04 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 274 (54); 256 (49); 200 (10); 172 (7); 153 (10); 139 (36); 135 (100); 121 (66); 112 (82); 105 (24); 91 (41); 84 (14); 77 (24); 69 (36); 55 (34); 41 (8); 39 (9). **EMAR (m/z)**: calculado para $C_{16}H_{18}O_4$ $[M + H]^+$: 275,1278; encontrado: 275,1274. **Rendimento**: 44%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(3-metoxifenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (10c)

Aspecto: sólido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3097; 2963; 1648; 1601; 1576; 1525; 1436; 1415; 1259; 1048; 961. **RMN 1H** (300 MHz; $CDCl_3$): δ 18,50 (s; 1H; OH, enol); 8,29 (d; 15,9 Hz; 1H; H-3'); 7,92 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,34-7,23 (m; 2H; H-8' e H-9'); 7,17-7,16 (m; 1H; H-5'); 6,98-6,94 (m; 1H; H-7'); 3,85 (s; 2H; OCH_3); 2,56 (s; 2H; H-6); 2,43 (s; 2H; H-4); 1,10 (s; 6H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; $CDCl_3$): δ 201,87 (C-1); 196,06 (C-3); 187,78 (C-1'); 160,03 (C-6'); 146,06 (C-3'); 136,45 (C-4'); 129,99 (C-8'); 123,14 (C-2'); 122,00 (C-9'); 117,28 (C-7'); 113,43 (C-5'); 111,20 (C-2); 55,44 (OCH_3); 53,27 (C-5); 48,77 (C-6); 30,60 (C-4); 28,35 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 300 (79); 299 (38); 282 (33); 267 (14); 255 (7); 216 (43); 201 (72); 193 (100); 161 (48); 133 (26); 118 (33); 115 (13); 103 (21); 90 (19); 83 (26); 77 (24); 69 (16); 55 (21); 43 (11); 41 (13). **EMAR (m/z)**: calculado para $C_{18}H_{20}O_4$ $[M + H]^+$: 301,1434; encontrado: 301,1433. **Rendimento**: 68%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(3-metoxifenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (10d)

Aspecto: líquido amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3315; 2958; 1667; 1584; 1574; 1557; 1489; 1436; 1261; 1045; 949. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,07 (s; 1H); 7,20 (t; 7,8 Hz; 1H); 6,81 (m; 3H); 3,79 (s; 3H); 3,36 (t; 7,2 Hz; 2H); 2,92 (t; 7,2 Hz; 2H); 2,53 (s; 2H); 2,35(s; 2H); 1,07 (s; 6H). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 204,56 (C-1'); 197,49 (C-3); 195,18 (C-1'); 159,78 (C-6'); 142,70 (C-4'); 129,48 (C-8'); 121,05 (C-9'); 114,30 (C-5'); 112,22 (C-2); 111,69 (C-7'); 55,29 (OCH_3); 52,72 (C-5); 46,80 (C-6); 42,16 (C-2'); 30,83 (C-4); 30,66 (C-3'); 28,32 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 302 (58); 284 (58); 253 (7); 228 (7); 200 (12); 181 (10); 167 (39); 140 (88); 135 (100); 121 (72); 111 (16); 105 (23); 91 (42); 83 (57); 77 (23); 69 (25); 55 (23); 43 (17); 41 (13). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 325,1410; encontrado: 325,1413. **Rendimento:** 50%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(4-metoxifenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (11a)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3434; 3100; 2956; 1650; 1617; 1594; 1530; 1457; 1265; 1171; 1024; 982. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,57 (d; 0,9 Hz; 1H; OH, enol); 8,17 (dd; 15,9 Hz; 0,9 Hz; 1H; H-3'); 7,92 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,61 (d; 8,9 Hz; 2H; H-5' e H-9'); 6,91 (d; 8,9 Hz; 2H; H-6' e H-8'); 2,67 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,54 (t; 6,4 Hz; 2H; H-6); 1,99 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,42 (C-1); 196,28 (C-3); 188,24 (C-1'); 162,17 (C-7'); 146,16 (C-3'); 131,05 (C-5' e C-9'); 127,88 (C-4'); 120,35 (C-2'); 114,50 (C-6' e C-8'); 112,01 (C-2); 55,49 (OCH_3); 39,44 (C-4); 35,25 (C-6); 19,01 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 272 (100); 271 (75); 254 (10); 241 (9); 216 (20); 201 (53); 165 (37); 161 (57); 134 (44); 133 (47); 121 (52); 115 (13); 111 (6); 108 (25); 103 (21); 89 (18); 79 (12); 77 (30); 69 (18); 55 (21); 42 (10); 39 (8). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 273,1121; encontrado: 273,1123. **Rendimento:** 66%.

3-Hidroxi-2-[3-(4-metoxifenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (11b)

Aspecto: sólido branco. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3011; 2950; 1655; 1614; 1562; 1514; 1461; 1242; 1177; 1028; 958. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,13 (s; 1H; OH, enol); 7,18 (d; 8,6 Hz; H-5' e H-9'); 6,82 (d; 8,6 Hz; H-6' e H-8'); 3,78 (s; 3H; OCH_3); 3,32 (t; 8,0 Hz; 2H; H-2'); 2,88 (t; 8,0 Hz; 2H; H-3'); 2,66 (t; 6,8 Hz; 2H; H-4); 2,49(t; 6,6 Hz; 2H; H-6); 1,97 (quint; 6,6 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,24 (C-1'); 198,45 (C-1); 195,36 (C-3); 158,05 (OCH_3); 133,16 (C-4'); 129,59 (C-5' e C-9'); 113,91 (C-2, C-6' e C-8'); 55,37 (OCH_3); 42,76 (C-2'); 38,87 (C-4); 33,24 (C-6); 29,80 (C-3'); 19,17 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 274 (10); 134 (3); 121 (100); 91 (5); 77 (6); 55 (5); 41 (1). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 297,1097; encontrado: 297,1103. **Rendimento:** 37%.

3,6-Dihidroxi-2-[(2E)-3-(4-metoxifenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (11c)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3425; 3102; 2947; 1663; 1601; 1573; 1512; 1427; 1247; 1174; 1012; 963. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,54 (s; 1H; OH, enol); 8,13 (d; 15,9 Hz; 1H; H-3'); 7,98 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,63 (d; 8,9 Hz; 2H; H-5' e H-9'); 6,93 (d; 8,9 Hz; 2H; H-6' e H-8'); 4,17-4,05 (m; 2H; H-4 e OH); 3,78 (s; 3H; OCH_3); 2,80-2,76 (m; 2H; H-6); 2,40-2,35 (m; 2H; H-5); 1,91-1,74 (m; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,63 (C-1); 196,36 (C-3); 188,06 (C-1'); 162,52 (C-7); 147,37 (C-3'); 131,30 (C-5' e C-9'); 127,54 (C-2' e C-4'); 119,05 (C-2); 114,61 (C-6' e C-8'); 72,13 (C-4); 55,54 (OCH_3); 33,22 (C-5); 27,10 (C-6). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 288 (100); 270 (14); 244 (13); 216 (4); 201 (20); 161 (96); 147 (16); 133 (46); 121 (45); 115 (10); 89 (11); 77 (23); 69 (8); 43 (3). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5[\text{M} + \text{Na}]^+$: 311,0895; encontrado: 311,0889. **Rendimento:** 56%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(4-metoxifenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (11d)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3436; 3095; 2950; 1660; 1619; 1571; 1512; 1458; 1256; 1174; 1022; 985. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,53 (d; 0,9 Hz; 1H; OH, enol); 8,21 (dd; 15,9 Hz; 0,9 Hz; 1H; H-3'); 7,95 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,63 (d; 8,9 Hz; 2H; H-5' e H-9'); 6,93 (d; 8,9 Hz; 2H; H-6' e H-8'); 3,85 (s; 3H; OCH_3); 2,56 (s; 2H; H-6); 2,07 (s; 2H; H-4); 1,10 (s; 6H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,93 (C-1); 196,16 (C-3); 187,62 (C-1'); 162,26 (C-7'); 146,33 (C-3'); 131,13 (C-5' e C-9'); 127,97 (C-4'); 120,24 (C-3'); 114,57 (C-2); 110,90 (C-6' e C-8'); 55,57 (OCH_3); 55,38 (C-5); 49,00 (C-6); 30,60 (C-4); 28,39 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 300 (100); 299 (92); 269 (9); 216 (33); 201 (49); 193 (49); 161 (72); 134 (49); 133 (48); 121 (49); 108 (28); 105 (5); 90 (15); 77 (29); 69 (16); 55 (21); 41 (13). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_4[\text{M} + \text{H}]^+$: 301,1434; encontrado: 301,1436. **Rendimento:** 62%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(4-metoxifenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (11e)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3039; 1689; 1665; 1611; 1466; 1441; 1421; 1246; 1178; 1037; 923. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,11 (s; 1H; OH, enol); 7,18 (d; 8,5 Hz; 2H; H-5' e H-9'); 6,82 (d; 8,5 Hz; 2H; H-6' e H-8'); 3,78 (s; 3H; OCH_3); 3,33 (t; 7,5 Hz; 2H; H-2'); 2,88 (t; 7,5 Hz; 2H; H-3'); 2,53 (s; 2H; H-6); 2,35 (s, 2H; H-4); 1,07 (s; 6H; H-1'). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 204,52 (C-1'); 197,51 (C-3); 195,04 (C-1); 157,92 (C-7'); 132,98 (C-4'); 129,45 (C-5' e C-9'); 113,79 (C-6' e C-8'); 112,05 (C-2);

55,23 (OCH₃); 52,58 (C-5); 46,72 (C-6); 42,35 (C-2'); 30,66 (C-3'); 29,74 (C-4); 28,16 (C-1''). **EMBR *m/z*** (Int rel. %): [M⁺] 302(11); 123(9); 121(100); 108(6); 83(5); 77(5); 55(5); 43(5); 41(6). **EMAR (*m/z*)**: calculado para C₁₈H₂₂O₄ [M + Na]⁺: 325,1410; encontrado: 325,1413. **Rendimento**: 39%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (12a)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm⁻¹): 3560; 3400; 3006; 2954; 1657; 1637; 1618; 1599; 1467; 1426; 1263; 1147; 1022; 980. **RMN ¹H** (300 MHz; CDCl₃): δ 18,57 (s; 1H; OH, enol); 8,16 (d; 15,9 Hz; 2H; H-3'); 7,91 (d; 15,9 Hz; 2H; H-3'); 7,23 (dd; 8,3 Hz; 1,9 Hz; 1H; H-9'); 7,18 (d; 1,9 Hz; 2H; H-5'); 6,88 (d; 8,3 Hz; 2H; H-8'); 3,94 (s; 3H; m-OCH₃); 3,92 (s; 3H; p-OCH₃); 2,68 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,56 (t; 6,6 Hz; 2H; H-6); 2,00 (quint; 6,6 Hz; 2H; H-5). **RMN ¹³C** (75 MHz; CDCl₃): δ 202,46 (C-1); 196,36 (C-3); 188,11 (C-1'); 151,95 (C-6'); 149,31 (C-7'); 146,43 (C-3'); 128,13 (C-4'); 124,38 (C-3'); 120,44 (C-9); 111,94 (C-2); 111,03 (C-5'); 110,21 (C-8'); 56,04 (p-OCH₃); 55,96 (m-OCH₃); 39,41 (C-4); 35,22 (C-6); 18,97 (C-5). **EMBR *m/z*** (Int rel. %): [M⁺] 302 (100); 301 (35); 271 (30); 246 (45); 231 (92); 215 (27); 191 (39); 165 (39); 151 (80); 133 (14); 118 (17); 91 (22); 77 (28); 69 (26); 55 (40); 42 (12). **EMAR (*m/z*)**: calculado para C₁₇H₁₈O₅ [M + H]⁺: 303,1227; encontrado: 303,1229. **Rendimento**: 54%.

3-Hidroxi-2-[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (12b)

Aspecto: sólido branco amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm⁻¹): 3436; 3014; 2952; 1657; 1607; 1589; 1519; 1475; 1442; 1240; 1135; 1026; 962. **RMN ¹H** (300 MHz; CDCl₃): δ 18,12 (s; 1H; OH, enol); 6,80-6,70 (m; 3H; H-5', H-8 e H-9'); 3,88 (s; 3H; m-OCH₃); 3,85 (s; 3H; p-OCH₃); 3,34 (t; 7,5 Hz; 2H; H-2'); 2,89 (t; 7,6 Hz; 2H; H-3'); 2,66 (t; 6,4 Hz; 2H; H-4); 2,48 (t; 6,4 Hz; 2H; H-6); 1,97 (quint; 6,4 Hz; 2H; H-5). **RMN ¹³C** (75 MHz; CDCl₃): δ 205,17 (C-1'); 198,42 (C-1); 195,36 (C-3); 148,89 (C-6'); 147,43 (C-7'); 133,71 (C-4'); 120,47 (C-9'); 113,26 (C-5'); 111,97 (C-8'); 111,31 (C-2); 56,01 (p-OCH₃); 55,92 (m-OCH₃); 42,66 (C-2'); 38,84 (C-4); 33,20 (C-6); 30,30 (C-3'); 19,14 (C-5). **EMBR *m/z*** (Int rel. %): [M⁺] 304 (28); 165 (4); 151 (100); 138 (5); 107 (7); 91 (6); 69 (7); 55 (7). **EMAR (*m/z*)**: calculado para C₁₇H₂₀O₅ [M + Na]⁺: 327,1202; encontrado: 327,1200. **Rendimento**: 74%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (12c)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3437; 2956; 1660; 1619; 1582; 1516; 1422; 1264; 1141; 1027; 979. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,55 (d; 0,9 Hz; 1H; OH, enol); 8,21 (dd; 15,9 Hz; 0,9 Hz; 2H; H-3'); 7,93 (d; 15,9 Hz; 2H; H-3'); 7,23 (dd; 8,3 Hz; 1,9 Hz; 1H; H-9'); 7,18 (d; 1,9 Hz; 2H; H-5'); 6,88 (d; 8,3 Hz; 2H; H-8'); 3,94 (s; 3H; m- OCH_3); 3,92 (s; 3H; p- OCH_3); 2,56 (s; 2H; H-6); 2,43 (s; 2H; H-4); 1,10 (s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,91 (C-1); 196,17 (C-3); 187,43 (C-1'); 151,99 (C-6'); 149,35 (C-7'); 146,53 (C-3'); 128,16 (C-4'); 124,44 (C-2'); 120,28 (C-9'); 111,05 (C-8'); 110,77 (C-5'); 110,17 (C-2); 56,06 (p- OCH_3); 55,98 (m- OCH_3); 53,29 (C-5); 48,89 (C-6); 30,51 (C-4); 28,30 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 330 (100); 329 (44); 312 (39); 299 (27); 269 (7); 246 (44); 231 (74); 215 (24); 193 (40); 191 (45); 164 (21); 151 (55); 138 (15); 118 (15); 83 (41); 77 (24); 69 (22); 55 (27); 43 (15). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 331,1540; encontrado: 331,1547. **Rendimento:** 58%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-one (12d)

Aspecto: sólido branco amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3434; 3012; 2944; 1656; 1607; 1591; 1515; 1250; 1134; 1026; 956. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,12 (s; 1H; OH, enol); 6,81-6,79 (m; 3H; H5', H'8 e H9'); 3,87 (s; 3H; m- OCH_3); 3,85 (s; 3H; p- OCH_3); 3,34 (t; 7,5 Hz; 2H; H-2'); 2,89 (t; 7,6 Hz; 2H; H-3'); 2,53 (s; 2H; H-6); 2,35 (s; 2H; H-4); 1,07 (s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 204,46 (C-1'); 197,52 (C-3); 195,06 (C-1); 148,79 (C-6'); 147,34 (C-7'); 133,53 (C-4'); 120,35 (C-9'); 112,08 (C-5'); 111,84 (C-8'); 111,20 (C-2); 55,90 (p- OCH_3); 55,81 (m- OCH_3); 52,58 (C-5); 46,71 (C-6); 42,25 (C-2'); 30,66 (C-4); 30,27 (C-3'); 28,15 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 332 (24); 165 (3); 151 (100); 138 (5); 107 (7); 83 (8); 69 (5); 55 (5). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 333,1696; encontrado: 333,1702. **Rendimento:** 78%.

3-Hidroxi-2-[3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (13a)

Aspecto: sólido branco amarelado. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3446; 3105; 2954; 1659; 1618; 1597; 1567; 1500; 1442 1252; 1188; 1036; 930. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,53 (d; 0,8 Hz; 1H; OH, enol); 8,11 (d; 15,9 Hz; 2H; H-3'); 7,85 (d; 15,9 Hz; 2H; H-3'); 7,18 (d; 1,9 Hz; 2H; H-5'); 7,12 (dd; 8,1 Hz; 1,9 Hz; 1H; H-9'); 6,88 (d; 8,1 Hz; 2H; H-8'); 6,01 (s; 2H; CH_2); 2,67 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,54 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 1,99 (quint; 6,5 Hz; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,36 (C-1); 196,21 (C-3); 188,15 (C-1'); 150,41 (C-6'); 148,52 (C-7'); 146,00 (C-3'); 129,65 (C-9'); 126,10 (C-4'); 120,83 (C-9'); 112,05 (C-2); 108,63 (C-8'); 107,27 (C-5'); 101,78 (CH_2); 39,40 (C-4); 35,17 (C-6); 18,99 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 286 (100); 285 (45); 268 (14); 258 (15); 230 (44); 175 (30); 165 (32); 145 (47); 135 (53); 117 (35); 89 (57); 77 (13);

63 (25); 55 (23); 44 (31). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{16}H_{14}O_5$ $[M + Na]^+$: 309,0733; encontrado: 309,0736. **Rendimento**: 60%.

3-Hidroxi-2-[3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-oxo-2-propyl]-2-cicloexen-1-one (13b)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3071; 2952; 2893; 1682; 1664; 1490; 1459; 1444; 1245; 1190; 1039; 928. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,08 (s; 1H; OH, enol); 6,74 (m; 3H; H-5', H-8' e H-9'); 5,91 (s; 2H; CH_2); 3,30 (t; 7,5 Hz; 2H; H-2'); 2,86 (t; 7,5 Hz; 2H; H-3'); 2,67 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,48 (t; 6,8 Hz; 2H; H-6); 1,98 (quint; 6,5 Hz; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,02 (C-1'); 198,36 (C-1); 195,33 (C-3); 147,61 (C-6'); 145,85 (C-7'); 134,89 (C-4'); 121,36 (C-9'); 113,19 (C-5'); 109,15 (C-2); 108,22 (C-8'); 100,85 (CH_2); 42,81 (C-2'); 38,80 (C-4); 33,14 (C-6); 30,31 (C-3'); 19,12 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 288(26); 270 (3); 135 (100); 112 (9); 91 (6); 77 (13); 69 (8); 55 (8). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{16}H_{16}O_5$ $[M + Na]^+$: 311,0889; encontrado: 311,0896. **Rendimento**: 68%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (13c)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3432; 3103; 2957; 1658; 1616; 1596; 1502; 1448; 1417; 1263; 1104; 1038; 929. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,51 (s; 1H; OH, enol); 8,15 (d; 15,8 Hz; 2H; H-3'); 7,86 (d; 15,8 Hz; 2H; H-3'); 7,19 (d; 1,3 Hz; 2H; H-5'); 7,12 (dd; 8,1 Hz; 1,3 Hz; 1H; H-9'); 6,82 (d; 8,1 Hz; 2H; H-8'); 6,01 (s; 2H; CH_2); 2,56 (s; 2H; H-6); 2,42 (s; 2H; H-4); 1,07 (s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,80 (C-1); 195,99 (C-3); 187,43 (C-1'); 150,42 (C-6'); 148,53 (C-7'); 146,07 (C-3'); 129,66 (C-4'); 126,09 (C-2'); 120,65 (C-9'); 110,87 (C-2); 108,64 (C-8'); 107,28 (C-5'); 101,78 (CH_2); 53,24 (C-5); 48,83 (C-6); 30,51 (C-4); 28,30 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ 314 (100); 313 (58); 296 (35); 281 (17); 253 (9); 230 (57); 215 (87); 193 (47); 175 (48); 145 (61); 135 (45); 117 (43); 89 (67); 77 (12); 69 (23); 55 (26); 41 (16). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{18}H_{18}O_5$ $[M + Na]^+$: 337,1046; encontrado: 337,1050. **Rendimento**: 66%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (13d)

Aspecto: líquido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2958; 2890; 1667; 1558; 1504; 1490; 1445; 1246; 1148; 1040; 929. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,08 (s; 1H; OH, enol); 6,74 (m; 3H; H-5', H-8' e H-9'); 5,91 (s;

2H; CH₂); 3,30 (t; 7,5 Hz; 2H; H-2''); 2,85 (t; 7,5 Hz; 2H; H-3'); 2,53 (s; 2H; H-6); 2,35 (s, 2H; H-4); 1,08 (s; 6H; H-1'). **RMN ¹³C** (75 MHz; CDCl₃): δ 204,37 (C-1'); 197,49 (C-3); 195,08 (C-1); 147,58 (C-6'); 145,81 (C-7'); 134,77 (C-4'); 121,29 (C-9'); 112,06 (C-2); 109,09 (C-9'); 108,17 (C-8'); 100,79 (CH₂); 52,55 (C-5); 46,66 (C-6); 42,48 (C-2'); 30,69 (C-4); 30,33 (C-3'); 28,18 (C-1''). **EMBR *m/z*** (Int rel. %): [M⁺] 316 (26); 298 (3); 148 (6); 135 (100); 122 (5); 83 (8); 77 (10); 55 (4). **EMAR (*m/z*)**: calculado para C₁₈H₂₀O₅[M + H]⁺: 317,1383; encontrado: 317,1389. **Rendimento**: 62%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona(14a)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm⁻¹): 3436; 3006; 2941; 2844; 1662; 1614; 1580; 1503; 1456; 1414; 1245; 1127; 1006; 979. **RMN ¹H** (300 MHz; CDCl₃): δ 18,56 (s; 1H; OH, enol); 8,19 (d; 15,8 Hz; 2H; H-3'); 7,86 (d; 15,8 Hz; 2H; H-3'); 3,91 (s; 6H; m-OCH₃); 3,91 (s; 6H; p-OCH₃); 2,69 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,56 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 2,01 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-4). **RMN ¹³C** (75 MHz; CDCl₃): δ 202,45 (C-1); 196,35 (C-3); 188,16 (C-1'); 153,43 (m-OCH₃); 146,15 (C-3'); 140,87 (C-6' e C-8'); 130,51 (C-4'); 122,06 (C-2'); 112,11 (C-2); 106,21 (C-5' e C-9'); 61,03 (p-OCH₃); 56,22 (m-OCH₃); 39,36 (C-4); 35,09 (C-6); 18,94 (C-5). **EMBR *m/z*** (Int rel. %): [M⁺] 332(100); 317 (8); 301 (22); 287 (26); 276 (25); 261 (84); 246 (11); 181 (38); 105 (12); 91 (13); 69 (24); 55 (35); 42 (8). **EMAR (*m/z*)**: calculado para C₁₈H₂₀O₆[M + H]⁺: 333,1332; encontrado: 333,1340. **Rendimento**: 60%.

3-Hidroxi-2-[3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (14b)

Aspecto: sólido branco. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm⁻¹): 2956; 2937; 1656; 1590; 1459; 1421; 1241; 1126; 1038; 1011; 978; 921. **RMN ¹H** (500 MHz; CDCl₃): δ 18,09 (s; 1H; OH, enol); 6,49 (s; 2H; C-5'); 3,85 (s; 6H; m-OCH₃); 3,82 (s; 3H; p-OCH₃); 3,35 (t; 7,2 Hz; 2H; H-2'); 2,89 (t; 7,5 Hz; 2H; H-3'); 2,68 (t; 6,3 Hz; 2H; H-4); 2,49 (t; 6,0 Hz; 2H; H-6); 1,98 (quint; 6,3 Hz; 2H; H-4). **RMN ¹³C** (75 MHz; CDCl₃): δ 205,06 (C-1'); 198,40 (C-1); 195,45 (C-3); 153,19 (C-6' e C-8'); 136,89 (C-5' e C-9'); 136,35 (C-4'); 113,28 (C-2); 105,56 (C-5'); 60,93 (p-OCH₃); 56,17 (m-OCH₃); 42,57 (C-2'); 38,84 (C-4); 33,16 (C-6); 31,05 (C-3'); 19,14 (C-5). **EMBR *m/z*** (Int rel. %): [M⁺] 334(28); 195(18); 182(11); 181(100); 139(9); 69(13); 55(15). **EMAR (*m/z*)**: calculado para C₁₈H₂₂O₆[M + Na]⁺: 357,1308; encontrado: 357,1308. **Rendimento**: 38%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)]-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (14c)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3437; 3093; 3003; 2978; 2948; 1662; 1620; 1579; 1503; 1461; 1413; 1242; 1124; 977. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,54 (d; 0,9; 1H; OH, enol); 8,23 (dd; 15,9; 0,9; 2H; H-3'); 7,88 (d; 15,9; 2H; H-3'); 3,91 (s; 3H; m- OCH_3); 3,90 (s; 3H; p- OCH_3); 2,58 (s; 2H; H-6); 2,44 (s; 2H; H-4); 1,10 (s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,92 (C-1); 196,19 (C-3); 187,47 (C-1'); 153,47 (C-6' e C-8'); 146,28 (C-3'); 140,92 (C-7'); 130,54 (C-4'); 121,90 (C-2'); 110,95 (C-2); 106,24 (C-5' e C-9'); 61,06 (p- OCH_3); 56,25 (m- OCH_3); 53,26 (C-5); 48,78 (C-6); 30,54 (C-4); 28,30 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): [M^+] 360 (100); 359 (16); 345 (18); 329 (22); 276 (33); 261 (65); 245 (21); 193 (29); 181 (33); 91 (13); 83 (62); 69 (18); 55 (22); 44 (13). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 361,1645; encontrado: 361,1650. **Rendimento:** 61%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (14d)

Aspecto: sólido amarelo claro. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3435; 3003; 2937; 1669; 1590; 1552; 1505; 1453; 1420; 1232; 1123; 1005; 973. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,11 (s; 1H; OH, enol); 6,49 (s; 2H; H-5'); 3,85 (s; 6H; m- OCH_3); 3,82 (s; 3H; p- OCH_3); 3,36 (t; 8,2 Hz; 2H; H-2'); 2,89 (t; 8,0 Hz; 2H; H-3'); 2,54 (s; 2H; H-4'); 2,36 (s; 2H; H-6); 1,08 (s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 204,45 (C-1'); 197,59 (C-3); 195,22 (C-1); 153,20 (C-6' e C-8'); 136,81 (C-4'); 136,36 (C-7'); 112,22 (C-2); 105,53 (C-5' e C-9'); 60,93 (p- OCH_3); 56,16 (m- OCH_3); 52,69 (C-5); 46,77 (C-6); 42,24 (C-2'); 31,12 (C-3); 30,79 (C-4); 28,26 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): [M^+] 362 (36); 195 (19); 181 (100); 148 (4); 83 (13); 69 (6); 55 (6). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$: 385,1621; encontrado: 385,1626. **Rendimento:** 30%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(4-(dimetilamino)-fenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (15a)

Aspecto: sólido vermelho. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3436; 3099; 2939; 1643; 1589; 1526; 1464; 1402; 1256; 1056; 988. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,54 (d; 1H; 1,0 Hz; OH, enol); 8,13 (dd; 15,6 Hz; 1,0 Hz; 1H, H-3'); 7,98 (d; 15,6 Hz; 1H, H-2'); 7,57 (d; 8,9 Hz; 2H, H-6' e H-8'); 6,87 (d; 8,9 Hz; 2H, H-5' e H-9'); 3,05 (s; 6H; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,65 (s; 6,5 Hz; 2H; H-6); 2,54 (s; 2H; 6,5 Hz; H-4); 1,98 (s; 2H; 6,5 Hz; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,56 (C-1); 196,43 (C-3); 187,50 (C-1'); 152,55 (C-7'); 147,96 (C-3'); 131,60 (C-5' e C-9'); 123,07 (C-2'); 116,64 (C-4'); 111,90 (C-2); 111,52 (C-6' e C-8'); 40,23 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 39,62 (C-4); 35,71 (C-6); 19,16 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 285(100); 286 (19); 229(5); 214(10); 200(3); 174(20); 158(15); 147 (42); 134(63); 121(12); 103(6); 77(7); 73(5); 42(4). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 286,1443; encontrado: 286,1443. **Rendimento:** 55%.

3-Hidroxi-2-[3-(4-(dimetilamino)-fenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (15b)

Aspecto: líquido viscoso laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3432; 3305; 3009; 2953; 2888; 1662; 1617; 1563; 1524; 1443; 1228; 1068; 947. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,17 (s; 1H; OH, enol); 7,15 (d; 8,9 Hz; 2H, H-6' e H-8'); 6,66 (d; 8,9 Hz; 2H, H-5' e H-9'); 3,31 (t; 7,6 Hz; 2H; H-2'); 2,91 (s; 6H; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,85 (t; 7,6 Hz; 2H; H-3'); 2,66 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,48 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 1,97 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,32 (C-1'); 198,41 (C-3); 195,20 (C-1'); 149,19 (C-7'); 129,15 (C-4'); 129,07 (C-5' e C-9'); 113,15 (C-6' e C-8'); 112,97 (C-2); 42,72 (C-2'); 40,88 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 38,76 (C-4); 33,20 (C-6); 29,66 (C-3'); 19,05 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 287 (11); 146 (2); 134 (100); 118 (7); 91 (5); 55 (2). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 288,1594; encontrado: 288,1605. **Rendimento:** 96%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(4-(dimetilamino)-fenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (15c)

Aspecto: sólido violeta. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3436; 3092; 2956; 2866; 1650; 1584; 1533; 1498; 1403; 1282; 1162; 1042; 989. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,47 (d; 1,0 Hz; 1H; OH, enol); 8,16 (dd; 15,6 Hz; 1,0 Hz; 1H; H-3'); 7,98 (d; 15,6 Hz; 1H, H-2'); 7,57 (d; 8,9 Hz; 2H, H-6' e H-8'); 6,66 (d; 8,9 Hz; 2H, H-5' e H-9'); 3,04 (s; 6H; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,53 (s; 2H; H-6); 2,41 (s; 2H; H-4); 1,08 (s; 6H; H-1"). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,92 (C-1); 196,12 (C-3); 186,78 (C-1'); 152,55 (C-7'); 147,98 (C-3'); 131,57 (C-5' e C-9'); 122,98 (C-2'); 116,37 (C-6' e C-8'); 111,83 (C-2); 110,28 (C-6'); 53,43 (C-5); 49,32 (C-6); 40,17 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 30,49 (C-4); 28,35 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+]$ 313 (82); 312 (27); 207 (14); 174 (25); 147 (47); 146

(38); 134 (100) 121 (20); 105 (4); 91 (7); 77 (9); 55 (8); 44 (23). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{19}H_{23}NO_3$ [$M + H$] $^+$: 314,1750; encontrado: 314,1753. **Rendimento**: 61%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(4-(dimetilamino)-fenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (15d)

Aspecto: líquido viscoso laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 2957; 2871; 1714; 1666; 1615; 1564; 1522; 1446; 1407; 1227; 1060; 948. **RMN 1H** (300 MHz; $CDCl_3$): δ 18,16 (s; 1H; OH, enol); 7,14 (d; 8,6 Hz; 1H, H-6' e H-8'); 6,69 (d; 8,6 Hz; 1H, H-5' e H-9'); 3,31 (t; 7,6 Hz; 2H; H-2'); 2,90 (s; 6H; $N(CH_3)_2$); 2,85 (t; 7,6 Hz; 2H; H-3'); 2,51 (s; 2H; H-4); 2,34 (s; 2H; H-6); 1,06 (s; 6H; H-1"). **RMN ^{13}C** (75 MHz; $CDCl_3$): δ 204,80 (C-1); 197,67 (C-3); 195,07 (C-1'); 149,25 (C-7'); 129,22 (C-4'); 129,13 (C-5' e C-9'); 113,07 (C-6' e C-8'); 112,15 (C-2); 52,69 (C-5); 46,88 (C-6); 42,51 (C-2'); 40,97 ($N(CH_3)_2$); 30,73 (C-4); 29,81 (C-3'); 28,27 (C-1"). **EMBR m/z** (Int rel. %): [M^+] 315 (12); 134 (100); 118 (6); 91 (4). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{19}H_{25}NO_3$ [$M + H$] $^+$: 316,1907; encontrado: 316,1906. **Rendimento**: 95%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(4-clorofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (16a)

Aspecto: sólido laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3432; 3100; 2951; 1660; 1620; 1588; 1520; 1490; 1431; 1274; 1188; 1010; 982. **RMN 1H** (300 MHz; $CDCl_3$): δ 18,49 (s; 1H; OH, enol); 8,22 (d; 15,8 Hz; 1H, H-3'); 7,84 (d; 15,8 Hz; 1H, H-2'); 7,57 (d; 8,8 Hz; 2H, H-6' e H-8'); 7,36 (d; 8,8 Hz; 2H, H-5' e H-9'); 2,69 (s; 6,5 Hz; 2H; H-6); 2,55 (s; 2H; 6,5 Hz; H-4); 2,00 (s; 2H; 6,5 Hz; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; $CDCl_3$): δ 202,31 (C-1); 196,20 (C-3); 188,30 (C-1'); 144,20 (C-3'); 136,82 (C-7'); 133,54 (C-4'); 130,14 (C-5' e C-9'); 129,25 (C-6' e C-8'); 123,60 (C-2'); 112,37 (C-2); 39,32 (C-4); 34,95 (C-6); 18,94 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): [$M^+ + 2$] 277 (16); [M^+] 275 (38); 258 (7); 241 (8); 205 (26); 185 (7); 165 (100); 139 (19); 137 (22); 115 (18); 102 (33); 101 (25); 75 (14); 69 (17); 55 (16); 42 (11). **EMAR** (m/z): calculado para $C_{15}H_{13}ClO_3$ [$M + Na$] $^+$: 299,0445; encontrado: 299,0947. **Rendimento**: 70%.

3-Hidroxi-2-[3-(4-clorofenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (16b)

Aspecto: líquido laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3310; 3028; 2954; 1666; 1558; 1493; 1437; 1285; 1092; 962. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,02 (s; 1H; OH, enol); 7,28-7,17 (m; 4H; H-5', H-6' - H-9'); 3,33 (t; 7,6 Hz; 2H; H-2'); 2,91 (t; 7,6 Hz; 2H; H-3'); 2,67 (t; 6,6 Hz; 2H; H-4); 2,48 (t; 6,2 Hz; 2H; H-6); 1,97 (quint; 6,2; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 205,31 (C-1'); 198,77 (C-1); 195,91 (C-3); 140,01 (C-4'); 132,33 (C-7'); 130,50 (C-5' e C-9'); 129,02 (C-6' e C-8'); 113,67 (C-2); 42,89 (C-2'); 39,27 (C-4); 33,55 (C-3'); 30,31 (C-6); 19,59 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+ + 2]$ 280 (10); $[\text{M}^+]$ 278 (31); 260 (9); 225 (9); 153 (18), 140 (21); 139 (83); 127 (20); 125 (66); 112 (100); 69 (34); 55 (28). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{ClO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 279,0782; encontrado: 279,0775. **Rendimento:** 77%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(4-clorofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (16c)

Aspecto: sólido laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3435; 3094; 3056; 2953; 2925; 1650; 1625; 1591; 1569; 1494; 1426; 1270; 1041; 981. **RMN ^1H** (500 MHz; CDCl_3): δ 18,47 (s; 1H; OH, enol); 8,26 (d; 15,8 Hz; 1H, H-3'); 7,86 (d; 15,8 Hz; 1H, H-2'); 8,25 (d; 8,9 Hz; 2H, H-6' e H-8'); 7,79 (d; 8,9 Hz; 2H, H-5' e H-9'); 2,62 (s; 2H; H-6); 2,46 (s; 2H; H-4); 1,12 (s; 6H; H-1"). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,78 (C-1); 196,01 (C-3); 187,57 (C-1'); 144,31 (C-3'); 136,85 (C-7'); 133,57 (C-4'); 130,16 (C-5' e C-9'); 129,29 (C-6' e C-8'); 123,45 (C-2'); 111,22 (C-2); 53,20 (C-5); 48,64 (C-6); 30,57 (C-4); 28,31 (C-1"). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+ + 2]$ 306 (15); 305 (24) $[\text{M}^+]$ 304 (42); 303 (48); 289 (7); 204 (22); 206 (7); 193 (100); 167 (20); 165 (43); 157 (10); 137 (29); 115 (22); 102 (35); 101 (27); 75 (11); 69 (17); 55 (20); 41 (13). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 305,0938; encontrado: 305,0948. **Rendimento:** 72%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[3-(4-clorofenil)-1-oxo-2-propil]-2-cicloexen-1-ona (16d)

Aspecto: líquido laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3028; 2959; 2930; 1666; 1562; 1494; 1440; 1268; 1093; 950. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,03 (s; 1H; OH, enol); 7,26-7,17 (m; 4H; H-5' - H-9'); 3,34 (t; 8 Hz; 2H; H-2'); 2,91 (t; 8 Hz; 2H; H-3'); 2,54 (s; 2H; H-4); 2,35 (s; 2H; H-6); 1,07 (s; 6H; H-1"). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 204,28 (C-1'); 197,53 (C-1); 195,29 (C-3); 139,54 (C-4'); 131,95 (C-7'); 130,07 (C-5' e C-9'); 128,61 (C-6' e C-8'); 112,20 (C-2); 52,70 (C-5); 46,76 (C-6); 42,15 (C-2'); 30,85 (C-3'); 29,99 (); 28,31 (C-1'). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+ + 2]$ 308 (11); $[\text{M}^+]$ 306 (32); 288 (8); 181 (16); 167 (77); 153 (11); 140 (100); 127 (19); 125 (67); 111 (14); 103 (14); 89 (12); 83 (46); 69 (22); 55 (18); 43 (16). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{ClO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 307,1095; encontrado: 307,1092. **Rendimento:** 83%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(4-bromofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (17a)

Aspecto: sólido laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3437; 3100; 2950; 1658; 1620; 1583; 1562; 148; 1432; 1181; 1071; 982. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,48 (d; 0,8 Hz; 1H; OH, enol); 8,23 (dd; 15,9 Hz; 0,8 Hz; 1H; H-3'); 7,82 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,53-7,46 (m; 4H; H-5' - H-6'); 2,69 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,55 (t; 6,4 Hz; 2H; H-6); 2,00 (quint; 6,5 Hz; 2H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,29 (C-1); 196,16 (C-3); 188,26 (C-1'); 144,23 (C-3'); 133,94 (C-4'); 132,20 (C-6' e C-8'); 130,31 (C-5' e C-9'); 125,27 (C-2'); 123,70 (C-7'); 111,37 (C-2); 39,30 (C-4); 34,94 (C-6); 18,92 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+ + 2]$ 322 (25); 321 (34); $[\text{M}^+]$ 320 (28); 319 (31); 304 (6); 302 (6); 266 (11); 264 (11); 251 (20); 249 (23); 210 (22); 208 (22); 165 (100); 129 (17); 115 (26); 102 (74); 69 (22); 55 (21); 42 (14). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{BrO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 321,0120; encontrado: 321,0121. **Rendimento:** 68%.

3,6-Dihidroxi-2-[(2E)-3-(4-bromofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (17b)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3431; 3099; 2941; 1661; 1624; 1584; 1563; 1486; 1439; 1070; 980. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,57 (s; 1H; OH, enol); 8,23 (d; 15,9 Hz; 1H, H-3'); 7,92 (d; 15,9 Hz; 1H, H-2'); 7,58-7,51 (m; 4H, H-5' - H-9'); 4,17 (ddd; 13,3 Hz; 5,5 Hz; 1,9 Hz; 1H; H-4); 4,10 (d; 1,9 Hz; 1H; OH); 2,86-2,81 (m; 2H; H-6); 2,46-2,38 (m; 1H; H-5); 1,94-1,79 (m; 1H; H-5). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,56 (C-1); 196,47 (C-3); 188,37 (C-1'); 145,59 (C-3'); 133,68 (C-4'); 132,45 (C-6' e C-8'); 130,54 (C-5' e C-9'); 125,90 (C-2'); 122,57 (C-7'); 109,72 (C-2); 72,21 (C-4); 33,01 (C-5); 27,11 (C-6). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[\text{M}^+ + 2]$ 338 (9); 337 (4); $[\text{M}^+]$ 336 (10); 335 (2); 266 (11); 264 (12); 211 (21); 209 (18); 181 (19); 129 (26); 115 (40); 102 (100); 89 (12); 76 (25); 69 (22); 51 (18); 36 (31). **EMAR (m/z)**: calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{BrO}_4$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 358,9889; encontrado: 358,9892. **Rendimento:** 64%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(4-bromofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (17c)

Aspecto: sólido laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3436; 3095; 3053; 2952; 1651; 1626; 1587; 1566; 1518; 1491; 1406; 1286; 1073; 981. **RMN¹H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,46 (d; 1,0 Hz; 1H; OH, enol); 8,28 (dd; 15,9 Hz; 1,0 Hz; 1H; H-3'); 7,85 (d; 15,9 Hz; 1H; H-2'); 7,55-7,48 (m; 4H; H-5' - H-9'); 2,58 (s; 2H; H-6); 2,43 (s; 2H; H-4); 1,10 (s; 6H; H-1''). **RMN ¹³C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,82 (C-1); 196,06 (C-3); 187,60 (C-1'); 144,40 (C-3'); 134,00 (C-4'); 132,27 (C-6' e C-8'); 130,37 (C-5' e C-9'); 125,34 (C-2'); 123,58 (C-7'); 111,26 (C-3); 53,22 (C-6); 48,67 (C-4); 30,61 (C-5); 28,33 (C-1''). **EMBR *m/z*** (Int rel. %): $[\text{M}^+ + 2]$ 350 (23); 349 (31); $[\text{M}^+]$ 348 (26); 347 (29); 266 (10); 264 (12); 251 (13); 249 (12); 211 (20); 209 (21); 193 (100); 157 (9); 129 (17); 115 (21); 102 (60); 83 (21); 69 (16); 55 (18); 41 (12). **EMAR (*m/z*)**: calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrO}_3$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 371,0253; encontrado: 371,0260. **Rendimento:** 71%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(3-bromofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (18a)

Aspecto: sólido amarelo escuro. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3444; 3048; 2945; 1656; 1622; 1558; 1526; 1477; 1435; 1289; 1071; 984. **RMN¹H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,45 (s; 1H; OH, enol); 8,22 (d; 15,9 Hz; 1H; H-3'); 7,84-7,77 (m; 2H; H-2' e H-5'); 7,57-7,50 (m; 2H; H-7' e H-8'); 7,27 (t; 7,8 Hz; 2H; H-8'); 2,71 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,56 (t; 6,5 Hz; 2H; H-6); 1,10 (s; 6,5 Hz; 6H; H-5). **RMN ¹³C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,31 (C-1); 196,28 (C-3); 188,35 (C-1'); 143,87 (C-3'); 137,17 (C-4'); 133,60 (C-5'); 131,55 (C-7'); 130,48 (C-8'); 127,62 (C-2'); 124,55 (C-9'); 123,17 (C-6'); 112,55 (C-2); 39,33 (C-4); 34,94 (C-6); 18,98 (C-5). **EMBR *m/z*** (Int rel. %): $[\text{M}^+ + 2]$ 322 (14); 321 (14); $[\text{M}^+]$ 320 (15); 319 (14); 304 (3); 302 (4); 266 (6); 264 (6); 251 (10); 249 (10); 241 (12); 211 (12); 209 (12); 185 (12); 165 (100); 157 (5); 129 (11); 115 (17); 102 (52); 69 (16); 55 (15); 42 (11). **EMAR (*m/z*)**: calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{BrO}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 321,0120; encontrado: 321,0120. **Rendimento:** 65%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(3-bromofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (18b)

Aspecto: sólido amarelo escuro. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3436; 3098; 2955; 1667; 1623; 1553; 1520; 1476; 1434; 1273; 1040; 980. **RMN¹H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,44 (s; 1H; OH, enol); 8,26 (d; 15,9 Hz; 1H; H-3'); 7,85-7,78 (m; 2H; H-2' e H-5'); 7,57-7,50 (m; 2H; H-7' e H-8'); 7,27 (t; 7,8 Hz; 2H; H-8'); 2,84 (s; 2H; H-4); 2,44 (s; 2H; H-6); 1,10 (s; 6H; H-1''). **RMN ¹³C** (75 MHz; CDCl_3): δ 201,78 (C-1); 196,04 (C-3); 187,57 (C-1'); 143,94 (C-3'); 137,18 (C-4'); 133,61 (C-5'); 131,55 (C-7'); 130,48 (C-8'); 127,62 (C-9'); 124,38 (C-2');

123,18 (C-6''); 111,35 (C-2); 53,20 (C-5); 48,62 (C-6); 30,63 (C-4); 28,34 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+ + 2]$ 350 (15); 349 (16); $[M^+]$ 348 (15); 347 (13); 266 (5); 264 (5); 251 (6); 249 (6); 211 (13); 209 (12); 193 (100); 181 (5); 157 (5); 129 (11); 115 (14); 102 (43); 83 (13); 69 (11); 55 (12); 41 (8). **EMAR (m/z)**: calculado para $C_{17}H_{17}BrO_3 [M + H]^+$: 349,0433; encontrado: 349,0436. **Rendimento**: 69%.

3-Hidroxi-2-[(2E)-3-(4-nitrofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (19a)

Aspecto: sólido amarelo. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3438; 3096; 2958; 2897; 1655; 1629; 1597; 1509; 1440; 1407; 1348; 1278; 1113; 979. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,37 (s; 1H; OH, enol); 8,34 (d; 15,8 Hz; 1H, H-3'); 8,25 (d; 8,9 Hz; 2H, H-6' e H-8'); 7,87 (d; 15,8 Hz; 1H, H-2'); 7,78 (d; 8,9 Hz; 2H, H-5' e H-9'); 2,74 (t; 6,4 Hz; 2H; H-6); 2,58 (t; 6,5 Hz; 2H; H-4); 2,04 (t; 6,4 Hz; 2H; H-5); 1,98 (quint; 6,5 Hz; 2H); 1,91 (quint; 7,5 Hz; 2H). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 202,27 (C-1); 196,26 (C-3); 188,13 (C-1'); 148,67 (C-7'); 141,88 (C-3'); 141,18 (C-4'); 129,41 (C-5' e C-9'); 127,54 (C-2'); 124,23 (C-6' e C-8'); 112,83 (C-2); 39,26 (C-6); 34,74 (C-4); 18,94 (C-5). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ (28); 269 (5); 257 (25); 239 (9); 231 (5); 216 (10); 214 (11); 186 (7); 176 (20); 166 (11); 165 (100); 146 (15); 134 (18); 130 (34); 119 (21); 118 (24); 115 (15); 106 (15); 102 (27); 91 (14); 76 (12); 69 (21); 55 (22); 42 (16); 39 (10). **EMAR (m/z)**: calculado para $C_{15}H_{13}NO_5 [M + H]^+$: 288,0866; encontrado: 288,0870. **Rendimento**: 60%.

3-Hidroxi-5,5-dimetil-2-[(2E)-3-(4-nitrofenil)-1-oxo-2-propen-1-il]-2-cicloexen-1-ona (19b)

Aspecto: sólido laranja. **IV** (KBr, $\nu_{\max}$, cm^{-1}): 3434; 3099; 2956; 2930; 1659; 1629; 1597; 1519; 1432; 1405; 1344; 1278; 1108; 962. **RMN ^1H** (300 MHz; CDCl_3): δ 18,36 (s; 1H; OH, enol); 8,37 (d; 15,8 Hz; 1H, H-3'); 8,25 (d; 8,9 Hz; 2H, H-6' e H-8'); 7,89 (d; 15,8 Hz; 1H, H-2'); 7,79 (d; 8,9 Hz; 2H, H-5' e H-9'); 2,62 (s; 2H; H-6); 2,46 (s; 2H; H-4); 1,12 (s; 6H; H-1''). **RMN ^{13}C** (75 MHz; CDCl_3): δ 207,76 (C-1); 196,06 (C-3); 187,30 (C-1'); 148,66 (C-7'); 141,96 (C-3'); 141,17 (C-4'); 129,39 (C-5' e C-9'); 127,35 (C-6' e C-8'); 124,21 (C-2'); 111,64 (C-3); 53,10 (C-6); 48,39 (C-4); 30,66 (C-5); 28,31 (C-1''). **EMBR m/z** (Int rel. %): $[M^+]$ (26); 285 (23); 268 (6); 259 (2); 231 (4); 214 (11); 193 (100); 176 (20); 146 (14); 130 (28); 119 (20); 106 (16); 83 (22); 69 (17); 55 (21); 43 (9); 41 (13); 39 (8). **EMAR (m/z)**: calculado para $C_{17}H_{17}NO_5 [M + H]^+$: 316,1179; encontrado: 316,1186. **Rendimento**: 65%.

7.2. Espectros de RMN

Figura 51. Espectro de RMN ¹H da substância **1a** (CDCl₃, 500 MHz).

Figura 52. Espectro de RMN ¹³C da substância **1a** (CDCl₃, 125 MHz).

Figura 53. Espectro de RMN ¹H da substância **1b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 54. Espectro de RMN ¹³C da substância **1b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 55. Espectro de RMN ¹H da substância **1c** (CDCl₃, 500 MHz).

Figura 56. Espectro de RMN ¹³C da substância **1c** (CDCl₃, 125 MHz).

Figura 57. Espectro de RMN ¹H da substância **1d** (CDCl₃, 500 MHz).

Figura 58. Espectro de RMN ¹³C da substância **1d** (CDCl₃, 125 MHz).

Figura 59. Espectro de RMN ¹H da substância **1e** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 60. Espectro de RMN ¹³C da substância **1e** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 61. Espectro de RMN ^1H da substância **1f** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 62. Espectro de RMN ^{13}C da substância **1f** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 63. Espectro de RMN ^1H da substância **1g** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 64. Espectro de RMN ^{13}C da substância **1g** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 65. Espectro de RMN ¹H da substância **1h** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 66. Espectro de RMN ¹³C da substância **1h** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 67. Espectro de RMN ¹H da substância **2a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 68. Espectro de RMN ¹³C da substância **2a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 69. Espectro de RMN ¹H da substância **2b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 70. Espectro de RMN ¹³C da substância **2b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 71. Espectro de RMN ¹H da substância **3a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 72. Espectro de RMN ¹³C da substância **3a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 73. Espectro de RMN ^1H da substância **3b** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 74. Espectro de RMN ^{13}C da substância **3b** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 75. Espectro de RMN ¹H da substância **3c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 76. Espectro de RMN ¹³C da substância **3c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 77. Espectro de RMN ¹H da substância **3d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 78. Espectro de RMN ¹³C da substância **3d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 79. Espectro de RMN ¹H da substância **3e** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 80. Espectro de RMN ¹³C da substância **3e** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 81. Espectro de RMN ¹H da substância **4a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 82. Espectro de RMN ¹³C da substância **4a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 83. Espectro de RMN ¹H da substância **4b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 84. Espectro de RMN ¹³C da substância **4b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 85. Espectro de RMN ¹H da substância **4c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 86. Espectro de RMN ¹³C da substância **4c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 87. Espectro de RMN ¹H da **substância 4d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 88. Espectro de RMN ¹³C da **substância 4d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 89. Espectro de RMN ¹H da substância **4e** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 90. Espectro de RMN ¹³C da substância **4e** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 91. Espectro de RMN ¹H da substância **5a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 92. Espectro de RMN ¹³C da substância **5a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 93. Espectro de RMN ¹H da substância **5b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 94. Espectro de RMN ¹³C da substância **5b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 95. Espectro de RMN ^1H da substância **5c** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 96. Espectro de RMN ^{13}C da substância **5c** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 97. Espectro de RMN ¹H da substância **5d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 98. Espectro de RMN ¹³C da substância **5d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 99. Espectro de RMN ^1H da substância **5e** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 100. Espectro de RMN ^{13}C da substância **5e** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 101. Espectro de RMN ¹H da substância **5f** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 102. Espectro de RMN ¹³C da substância **5f** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 103. Espectro de RMN ^1H da substância **5g** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 104. Espectro de RMN ^{13}C da substância **5g** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 105. Espectro de RMN ^1H da substância **6a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 106. Espectro de RMN ^{13}C da substância **6a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 107. Espectro de RMN ¹H da substância **6b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 108. Espectro de RMN ¹³C da substância **6b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 109. Espectro de RMN ¹H da substância **7a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 110. Espectro de RMN ¹³C da substância **7a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 111. Espectro de RMN ¹H da substância **7b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 112. Espectro de RMN ¹³C da substância **7b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 113. Espectro de RMN ¹H da substância **8a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 114. Espectro de RMN ¹³C da substância **8a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 115. Espectro de RMN ¹H da substância **8b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 116. Espectro de RMN ¹³C da substância **8b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 117. Espectro de RMN ¹H da substância **8c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 118. Espectro de RMN ¹³C da substância **8c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 119. Espectro de RMN ¹H da substância **8d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 120. Espectro de RMN ¹³C da substância **8d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 121. Espectro de RMN ¹H da substância **8e** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 122. Espectro de RMN ¹³C da substância **8e** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 123. Espectro de RMN ^1H da substância **9a** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 124. Espectro de RMN ^{13}C da substância **9a** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 125. Espectro de RMN ¹H da substância **9b** (CDCl₃, 500 MHz).

Figura 126. Espectro de RMN ¹³C da substância **9b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 127. Espectro de RMN ¹H da substância **9c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 128. Espectro de RMN ¹³C da substância **9c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 129. Espectro de RMN ^1H da substância **9d** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 130. Espectro de RMN ^{13}C da substância **9d** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 131. Espectro de RMN ¹H da substância **10a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 132. Espectro de RMN ¹³C da substância **10a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 133. Espectro de RMN ¹H da substância **10b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 134. Espectro de RMN ¹³C da substância **10b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 135. Espectro de RMN ^1H da substância **10c** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 136. Espectro de RMN ^{13}C da substância **10c** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 137. Espectro de RMN ¹H da substância **10d** (CDCl₃, 300 MHz).

138. Espectro de RMN ¹³C da substância **10d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura

Figura 139. Espectro de RMN ¹H da substância **11a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 140. Espectro de RMN ¹³C da substância **11a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 141. Espectro de RMN ¹H da substância **11b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 142. Espectro de RMN ¹³C da substância **11b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 143. Espectro de RMN ¹H da substância **11c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 144. Espectro de RMN ¹³C da substância **11c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 145. Espectro de RMN ¹H da substância **11d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 146. Espectro de RMN ¹³C da substância **11d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 147. Espectro de RMN ¹H da substância **11e** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 148. Espectro de RMN ¹³C da substância **11e** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 149. Espectro de RMN ¹H da substância **12a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 150. Espectro de RMN ¹³C da substância **12a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 151. Espectro de RMN ¹H da substância **12b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 152. Espectro de RMN ¹³C da substância **12b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 153. Espectro de RMN ¹H da substância **12c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 154. Espectro de RMN ¹³C da substância **12c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 155. Espectro de RMN ¹H da substância **12d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 156. Espectro de RMN ¹³C da substância **12d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 157. Espectro de RMN ¹H da substância **13a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 158. Espectro de RMN ¹³C da substância **13a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 159. Espectro de RMN ¹H da substância **13b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 160. Espectro de RMN ¹³C da substância **13b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 161. Espectro de RMN ^1H da substância **13c** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 162. Espectro de RMN ^{13}C da substância **13c** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 163. Espectro de RMN ¹H da substância **13d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 164. Espectro de RMN ¹³C da substância **13d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 165. Espectro de RMN ¹H da substância **14a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 166. Espectro de RMN ¹³C da substância **14a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 167. Espectro de RMN ¹H da substância **14b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 168. Espectro de RMN ¹³C da substância **14b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 169. Espectro de RMN ¹H da substância **14c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 170. Espectro de RMN ¹³C da substância **14c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 171. Espectro de RMN ¹H da substância **14d** (CDCl₃, 500 MHz).

Figura 172. Espectro de RMN ¹³C da substância **14d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 173. Espectro de RMN ¹H da substância **15a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 174. Espectro de RMN ¹³C da substância **15a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 175. Espectro de RMN ^1H da substância **15b** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 176. Espectro de RMN ^{13}C da substância **15b** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 177. Espectro de RMN ^1H da substância **15c** (CDCl_3 , 300 MHz).

Figura 178. Espectro de RMN ^{13}C da substância **15c** (CDCl_3 , 75 MHz).

Figura 179. Espectro de RMN ¹H da substância **15d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 180. Espectro de RMN ¹³C da substância **15d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 181. Espectro de RMN ¹H da substância **16a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 182. Espectro de RMN ¹³C da substância **16a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 183. Espectro de RMN ¹H da substância **16b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 184. Espectro de RMN ¹³C da substância **16b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 185. Espectro de RMN ¹H da substância **16c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 186. Espectro de RMN ¹³C da substância **16c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 187. Espectro de RMN ¹H da substância **16d** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 188. Espectro de RMN ¹³C da substância **16d** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 189. Espectro de RMN ¹H da substância **17a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 190. Espectro de RMN ¹³C da substância **17a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 191. Espectro de RMN ¹H da substância **17b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 192. Espectro de RMN ¹³C da substância **17b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 193. Espectro de RMN ¹H da substância **17c** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 194. Espectro de RMN ¹³C da substância **17c** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 195. Espectro de RMN ¹H da substância **18a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 196. Espectro de RMN ¹³C da substância **18a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 197. Espectro de RMN ¹H da substância **18b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 198. Espectro de RMN ¹³C da substância **18b** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 199. Espectro de RMN ¹H da substância **19a** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 200. Espectro de RMN ¹³C da substância **19a** (CDCl₃, 75 MHz).

Figura 201. Espectro de RMN ¹H da substância **19b** (CDCl₃, 300 MHz).

Figura 202. Espectro de RMN ¹³C da substância **19b** (CDCl₃, 75 MHz).

8. SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Mauro Vicentini Correia

Local e data de nascimento: São Paulo – SP, 28/09/1981.

EDUCAÇÃO

Colégio Piaget, São Paulo, 1999.

Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
Farmacêutico - Bioquímico

Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
Mestrado em Ciências – Área: Química Orgânica

OCUPAÇÃO

Bolsista de Doutorado, Fapesp, 2010 – 2013.

Bolsista de Doutorado Sanduiche, CNPq, 2013 – 2014.

PUBLICAÇÕES

Artigos Completos

1. Ferreira, E. A., Reigada, J. B., Correia, M. V., Young, M. C. M., Guimarães, E. F., Franchi, G. C., Nowill, A. E., Lago, J. H. G., Yamaguchi, L. F., Kato, M. J. Antifungal and cytotoxic 2-acylcyclohexane-1,3-diones from *Peperomia alata* and *Peperomia trineura*. *Journal of Natural Products* (Print), V. 77, P. 1377-1382, 2014.
2. Rossini, M., Scotti, M. T., Correia, M. V., Fokoue, H. H., Scotti, L., Francisco, J. B. M. J., Da Silva, M. S., Emerenciano, V. P. Sesquiterpene lactones with anti-hepatitis c virus activity using molecular descriptors. *Letters In Drug Design & Discovery*, V. 9, P. 881-890, 2012.
3. Correia, M. V., Fokoue, H. H., Ferreira, J. P. M., Scotti, M. T., Scotti, L., Alvarenga, S. A. V., Rodrigues, G. V., Emerenciano, V. P. Self-organizing maps as a good tool for classification of subfamily asteroideae. *Journal of Medicinal Plant Research* V. 6, P. 1207-1218, 2012.
4. Correia, M. V., Scotti, M. T., Ferreira, J. P. M., Alvarenga, S. A. V., Rodrigues, G. V., Emerenciano, V. P.. Self-organizing maps as a new tool for classification of plants at lower hierarchical levels. *Natural Product Communications* (Online), V. 3, P. 1723-1730, 2008.

Resumos em Congressos

1. Correia, M. V., SILVA, N. A. O., FRANCHI JUNIOR, G. C., Kato, M. J. II Congresso Institucional do Instituto de Química da USP. In: II Congresso Institucional do Instituto de Química da USP, 2012, Guarujá. II Congresso Institucional do Instituto de Química da USP, 2012.
2. Correia, M. V., GUTIERREZ, L. Y. V., COSTA, V. B., Kato, M. J. Polyketide synthases in *Peperomia* and related species. In: 3th Brazilian Conference on Natural Products, 2011, Ouro Preto. 3th BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS, 2011.

3. Fokoue, H. H., Correia, M. V., SCOTTI, M. T., Scotti, L., Kato, M. J. Qsar studies of antioxidant activity of a flavonoides set using descriptors based on molecular interaction fields. In: The 5th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, 2010, Ouro Preto. The 5th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, 2010.
4. Correia, M. V., Fokoue, H. H., Scotti, M. T., Scotti, L., Kato, M. J. GRid-Independent descriptors in qsar studies of a cytotoxic activity of caffeic acid and derivatives. In: The 5th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, 2010, Ouro Preto. The 5th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, 2010.
5. Correia M. V., Fokoue H. H., Scotti M. T., Ferreira M. J. P., Emerenciano V. P. Molecular descriptors to predict inhibitor activity of human neutrophil elastase (HNE) from plants's phenolics compounds. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products (2nd BCNP), 2009, São Pedro.
6. Correia M. V., Fokoue H. H., Scotti M. T., Emerenciano V. P. Self-organizing maps to predict inhibitor human neutrophil elastase activity of phenolics compounds. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products (2nd BCNP), 2009, São Pedro.
7. Fokoue H. H., Correia M. V., Ferreira M. J. P., Alvarenga S. A. V., Rodrigues G. V., Emerenciano V. P. A new parameter for chemosystematic analysis of asteraceae tribes. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products (2nd BCNP), 2009, São Pedro.
8. Fokoue H. H., Correia M. V., Ferreira M. J. P., Alvarenga S. A. V., Rodrigues G. V., Emerenciano V. P. Chemosystematics of heliantheae (asteraceae) subtribes using cluster analysis. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products (2nd BCNP), 2009, São Pedro.
9. Yamaguchi L. F., Salazar K. M., Freitas G. C., Yoshida N. C., Santos E. L., Marques J. V., Oliveira A., Navarro L. B., Silva R. A., Ferreira E. A., Gaia A. M., Rodrigues C. A., Benedetti A. M., Valero Y. G., Scotti M. T., Correia M. V., Fokoue H. H., Emerenciano V. P., Kato M. J. Metabolomic analysis of Piperaceae species using ESI/¹H NMR and PCA. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products (2nd BCNP), 2009, São Pedro.
10. Rossini M., Correia M. V., Scotti M. T., Ferreira J. P. M., Emerenciano V. P. Volsurf descriptors to analyze the anti-viral activity of sesquiterpene lactone. In: 4^o Simpósio Brasileiro em Química Medicinal, 2008, Porto de Galinhas.
11. Ferreira J. P. M., Romoff P., Fokoue H. H., Scotti M. T., Speck-Planche A., Scotti L., Correia M. V., Lago J. H. G., Emerenciano V. P. Molecular descriptors to predict the cytotoxic activity of caffeic ester analogues. In: 4^o Simpósio Brasileiro em Química Medicinal, 2008, Porto de Galinhas.
12. Scotti M. T., Correia M. V., Ferreira J. P. M., Emerenciano V.P. Sesquiterpenos lactonizado, descritores moleculares e mapas auto-organizáveis utilizados no estudo quimiotaxonômico da tribo heliantheae. In: 31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia.
13. Emerenciano V. P., Scotti M. T., Ferreira J. P. M., Correia M. V., Alvarenga A.S.V, Rodrigues G.V. Self organizing maps as tool for taxonomic classification at lower hierarchical levels. In: 1st Brazilian Conference on Natural Products (1st BCNP), 2007, São Pedro.
14. Scotti M. T., Ishiki H. M., Correia M. V., Ferreira J. P. M., Emerenciano V. P. Use Self-organizing maps and ¹³C nmr spectral data to predict aldose reductase activity of flavonoids. In: 1st Brazilian Conference on Natural Products (1st BCNP), 2007, São Pedro.
15. Emerenciano V. P., Scotti M. T., Ferreira J. P. M., Correia M. V., Alvarenga S. A. V., Rodrigues G. V. Chemosystematics of asteraceae tribes using principal component analysis. In: 1st Brazilian Conference on Natural Products (1st BCNP), 2007, São Pedro.
16. Emerenciano V. P., Ferreira J. P. M., Scotti M. T., Correia M. V., Alvarenga A. S. V, Rodrigues G. V. Use of backpropagation artificial neural networks to predict the occurrences of chemical classes in asteraceae. In: 1st Brazilian Conference on Natural Products (1st BCNP), 2007, São Pedro.
17. Correia M. V., Scotti M. T., Emerenciano V. P. Redes neurais não supervisionadas utilizadas no estudo quimiotaxonômico da tribo heliantheae (Asteraceae). In: 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia.