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

HAROLD HILARION FOKOUE

**Síntese, atividades biológicas e estudo de relação
estrutura-atividade de piperamidas**

Versão corrigida da Tese conforma Resolução CoPGr 5890
O original da Tese se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
15/12/2014

HAROLD HILARION FOKOUE

**Síntese, atividades biológicas e estudo de relação
estrutura-atividade de piperamidas**

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

*Orientador: Prof. Dr Massuo Jorge Kato
Co-Orientador: Prof Dr. Marcus Tullius Scotti*

São Paulo
2014

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

Fokoue, Harold Hilarion

F662s Síntese, atividades biológicas e estudo de relação estrutura-
atividade de piperamidas / Harold Hilarion Fokoue. -- São Paulo,
2014.
350p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade de
São Paulo. Departamento de Química Fundamental.

Orientador: Kato, Massuo Jorge

Co-orientador: Scotti, Marcus Tullius

1. Química orgânica 2. Relações estrutura – atividade (SAR) :
Química farmacêutica 3. Quimiometria I. T. II. Kato, Massuo Jorge,
orientador. III. Scotti, Marcus Tullius, de, orientador.

DEDICATÓRIAS

Ao Senhor Jesus Cristo o mestre de toda ciência.

Ao Dr Theodore Andoseh pelas orientações.

À minha querida esposa Emeriane Moguem Kenmoe pelo amor e carinho.

*Ao meu pai Joseph Fokoue, à minha mãe Marie Noel Ngamani Bouadja e a toda
minha família pelo amor e apoio dado em toda a minha vida.*

À família de minha esposa pelo carinho.

*A todos que diretamente e indiretamente me ajudaram e apoiaram em meus
estudos.*

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Jesus Cristo pela vida, inteligência, e tudo o que Ele me deu.

À Universidade de São Paulo e ao Instituto de Química pela oportunidade em realizar este trabalho de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Massuo Jorge Kato, do Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) pela acolhida em seu grupo de pesquisa, sua compreensão, sua orientação para realização deste trabalho.

Ao Prof Dr Marcus Tullius Scotti pela co-orientação e tudo o apoio.

À CAPES pela bolsa de doutorado fornecida e pelo apoio financeiro.

À FAPESP e CNPq pelo apoio financeiro.

À Dra Lydia Fumiko Yamaguchi pela ajuda e conselhos.

Ao Gilberto Franchi pelos ensaios realizados.

Ao Prof. Dr. Luis Fernando Da Silva Junior e aos colegas do Laboratório de Química de Síntese Orgânica Helena Ferraz em especial Iris, Eloisa, Siguara, Anees pelas colaborações.

Ao Prof Dr. Alcindo Aparecido dos Santos e aos colegas do Laboratório de Organocatálise e Síntese Orgânica pelas colaborações.

Ao Prof Claudio Di Vitta e aos colegas do Laboratório de Síntese e Reatividade de Compostos Orgânicos de Enxofre em especial ao Andreas Albert Von Richthofen pelas colaborações.

Aos Professores Josef Wilhelm Baader, João Pedro Simon Farah pela ajuda, apoio e conselho.

Aos amigos e colegas do LQPN: Anderson, Augusto, Camila, Celso, Érica, Eduardo, Gerardo, Giovana, Marcilio, Mauro, Nidia, Renata, Renan e Yasmin pelas diversas ajudas.

Aos técnicos: Joaquim Luis Matheus, Welber Silva Neves e todos outros que ajudaram na realização deste trabalho.

A todos os funcionários do Instituto de Química.

A todos os funcionários da Central Analítica.

A minha esposa e toda minha família por todos os sacrifícios concedidos.

A todos que contribuíram para realização deste trabalho.

*Tema a Deus e obedeça aos seus
mandamentos, porque isso é
o essencial para o homem.*

Rei Salomão (Eclesiastes 12:13)

RESUMO

FOKOUÉ, H. H. **Síntese, atividades biológicas e estudo de relação estrutura-atividade de piperamidas**. 2014, 338.p, Tese - Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

As estruturas e propriedades biológicas das amidas pipartina e a piperina, isoladas respectivamente de *Piper tuberculatum* e *P. nigrum*, inspiraram a síntese de 89 derivados e 7 esters estruturalmente relacionadas. As preparações envolveram metodologias tradicionais e os compostos purificados tiveram suas estruturas caracterizadas por análises espectroscópicas e espectrométricas. Os estudos de fragmentação por IE e IES indicaram a clivagem preferencial da ligação N-CO no caso das cinamamidas, dienamidas e cinamimidas. Estudos computacionais envolvendo afinidade protônica e energias de ligação confirmaram a fragmentação preferencial da ligação amídica para as amidas. A citotoxicidade de 89 substâncias foi avaliada contra três células leucêmicas (K562, Nalm6 e Raji) e a partir dos valores de IC₅₀ foram realizados estudos de relação estrutura-atividade (SAR). As linhagens K562 e a Nalm6 foram a mais resistente e vulnerável, respectivamente, e as amidas pipartina (**1a**), *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propanamida (**1n**), e (*E*)-*N,N*-dibutil-3-(3,4-dimetoxifenil)acrilamida (**13h**) foram as mais ativas com IC₅₀ de 0,34 µM; 0,84 µM e 1,88 µM contra K562 e (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4-dimetoxifenil)acrylamida (**13i**) com IC₅₀ de 0,98 µM contra Nalm6. A avaliação de atividade leishmanicida de 18 substâncias não se mostrou promissora. As abordagens qualitativas e quantitativas foram feitas baseadas nos descritores moleculares gerados pelo programa VolSurf⁺. A partir de métodos quimiométricos tais com PLS, algoritmo genético, árvores de decisão foi possível gerar modelos para correlacionar às propriedades moleculares com a atividade biológica. As propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e excreção e os equilíbrios entre as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas foram importantes para atividade citotóxica. O estudo de ancoragem molecular mostrou que as amidas (*E*)-*N,N*-dibutil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**1l**), **1n**, (*E*)-3-(4-clorofenil)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acrilamida (**5a**), **13h** e **13i** podem atuar como inibidores das histonas desacetilases particularmente HDAC4 e HDAC8.

Palavras-chave: amidas, derivados sintéticos, atividades biológicas, relação estrutura-atividade, quimiometria, ancoragem molecular.

ABSTRACT

FOKOUE, H. H. **Synthesis, biological activities and structure-activity relationship study of piperamides.** 2014. 338.p. PhD Thesis – Graduate Program in Chemistry . Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The structures and biological properties of the amides piplartine and piperine isolated from *Piper tuberculatum* and *P. nigrum* respectively, inspired the synthesis of derivatives 89 and 7 esters structurally related. Their preparations were achieved using classical procedures and the purified amides were submitted to spectroscopic and spectrometric characterization. The study of fragmentation process by EI and ESI suggested the preferential cleavage of the N-CO bond of cinnamamides, dienamides and cinnamimides. The cytotoxicity of 89 compounds was evaluated against three leukemic cells (K562, Nalm6 and Raji) and based on IC₅₀ values the structure-activity relationship (SAR) was performed. While the K562 and Nalm6 cells were the more resistant and more sensitive, respectively, the amides piplartine (**1a**), *N*-cyclohexyl-*N*-(ciclohexylcarbamoil)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propanamide (**1n**) and (*E*)-*N,N*-dibutyl-3-(3,4-dimethoxyphenyl)acrylamide (**13h**) were in general the most active with IC₅₀ of 0.34 μM, 0.84 μM and 1.88 μM against K562 and (*E*)-*N*-cyclohexyl-*N*-(ciclohexylcarbamoil)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)acrylamide (**13i**) with IC₅₀ of 0.98 μM against Nalm6. The evaluation of leishmanicidal activity of 18 substances was also performed but was not promising. Qualitative and quantitative approaches were made based on molecular descriptors generated by VolSurf+ program. The chemometric methods such as PLS, genetic algorithm, decision trees generated models to correlate molecular properties with the biological activity. The absorption, distribution, metabolism and excretion properties and a balance between hydrophilic and hydrophobic moieties of the amides were important for an optimized activity. The molecular docking revealed that amides such as (*E*)-*N,N*-dibutyl-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acrylamide (**1l**), **1n**, (*E*)-3-(4-chlorophenyl)-*N*-cyclohexil-*N*-(ciclohexylcarbamoil)acrylamide (**5a**), **13h** and **13i** have potential to act as possible inhibitors of histone deacetylase proteins particularly HDAC4 and HDAC8.

Keywords: amides, synthetic derivatives, biological activities, structure-activity relationship, chemometrics, molecular docking

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	acetato de etila
CCDC	cromatografia em camada delgada comparativa
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
CD ₃ OD	metanol deuterado
CG-EM	cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
(COCl) ₂	cloreto de oxalila
C/Pd	paládio com carvão ativado
d	duplete
dd	duplete duplo
DCC	<i>N,N'</i> -diciclohexilcarbodiimida
DCM	diclorometano
DFT	teoria do funcional da densidade
Eq	equivalente
EMAR	espectrometria de massas de Alta Resolução
EMBR	espectrometria de massas de Baixa Resolução
GA	algoritmo genético
Hz	Hertz
IC ₅₀	50% da concentração inibidora
IE	impacto de elétron
IES	ionização por Electrospray
IV	infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento em Hz
m	multiplete
MeOH	metanol
MM	mecânica molecular
<i>m/z</i>	razão entre a massa do fragmento e sua carga elétrica em Da
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
MVD	<i>Molegro Virtual Docker</i>
PCA	Análise de componentes principais

PLS	regressão por quadrados mínimos parciais
QSAR	Relação Quantitativa entre a estrutura Química e a atividade biológica
QSAR-3D	QSAR em 3 dimensões .
RMN ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono treze
δ	deslocamento químico
s	simpleto
sl	simpleto largo
TEA	triethylamina
THF	tetrahidrofurano
t	triplete
td	triplo dubleto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
1.1. Química de produtos naturais e descoberta de fármacos.....	19
1.2. A família Piperaceae e o gênero <i>Piper</i>.....	20
1.3. Amidas.....	25
1.3.1. Piperina.....	28
1.3.2. Piplartina.....	29
1.3.3. Síntese das amidas.....	31
1.4. Atividade biológica.....	32
1.5. Modelagem molecular.....	34
1.5.1. Relação Estrutura-Atividade.....	34
1.5.2. Ancoragem molecular (<i>Docking</i>).....	40
2. OBJETIVOS.....	42
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.1. Obtenção das substâncias.....	43
3.1.1. Informações gerais.....	43
3.1.2. Material vegetal.....	44
3.1.3. Extração e purificação da piplartina.....	44
3.1.4. Extração e purificação da piperina.....	44
3.1.5. Metodologias sintéticas.....	45
3.1.6. Procedimentos experimentais e caracterização.....	48
3.2. Ensaios biológicos.....	110
3.2.1. Citotoxicidade contra células leucêmicas.....	110
3.2.2. Atividade Leishmanicida.....	112
3.3. Relação Estrutura-Atividade.....	113
3.3.1. Obtenção de estruturas 3D e codificação das substâncias.....	113
3.3.2. Relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR).....	114
3.4. Ancoragem molecular (<i>Docking</i>).....	116
3.5. Método computacional.....	117

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	118
4.1. Obtenção da piplartina e piperina	118
4.2. Síntese das amidas.....	121
4.2.1. Síntese dos ácidos carboxílicos.....	121
4.2.2. Síntese dos derivados do ácido cinâmico.....	121
4.2.3. Síntese dos derivados do ácido piperínico.....	122
4.2.4. Síntese de cinamamidas, dienamidas e amidas alifáticas.....	124
4.2.5. Síntese de cinamimidas e imidas alifáticas.....	130
4.2.6. Fragmentação de piperamidas e derivados em espectrometria de massas.....	135
4.2.7. Síntese das esteres.....	142
4.2.8. Síntese das amidas derivados do acoplamento entre ácido carboxílicos e DCC.....	144
4.3. Ensaios biológicos.....	151
4.3.1. Citotoxicidade contra as células K562, Nalm6 e Raji.....	151
4.3.2. Atividade leishmanicida.....	153
4.4. Relação Estrutura-Atividade.....	155
4.4.1. Abordagem qualitativa.....	155
4.4.2. Abordagem quantitativa (QSAR).....	159
4.4.3. Ancoragem molecular (<i>Docking</i>).....	173
5. CONCLUSÕES.....	180
6. REFERÊNCIAS.....	182
7. APÊNDICE(S).....	188
8. SÚMULA CURRICULAR.....	334
9. ANEXO: ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS OBTIDAS.....	337

1. INTRODUÇÃO

1.1. Química de produtos naturais e descoberta de fármacos

Os produtos naturais (PNs), comumente referidos como “metabólitos secundários”, são uma fonte essencial de compostos-protótipos para a descoberta de fármacos a partir da biodiversidade da flora e fauna. No entanto, o interesse por essa fonte tem declinado num período recente no qual a síntese orgânica predominou no fornecimento de diversidade estrutural. Contudo, os produtos naturais continuam a fornecer uma diversidade estrutural único em comparação com a química combinatória, que apresenta oportunidades para a descoberta de novos compostos com baixa massa molecular. Cabe destacar que mais de 95% da biodiversidade mundial não foi avaliada para qualquer atividade biológica através de programas de bioprospecção. Assim, há um grande desafio em acessar e valorizar esta diversidade química natural de forma eficiente tendo em vista o ritmo de depredação dos ecossistemas naturais (Butler 2004, David, Wolfender *et al.* 2014, Kumar e Pandey 2014).

Os registros mais antigos para o uso de plantas medicinais remontam a cerca de 2400 aC nos quais os produtos naturais foram descritos em tabletes de argila em escrita cuneiforme da Mesopotâmia que documentou os óleos de *Cupressus sempervirens* (cipreste) e espécies de *Commiphora* (mirra), que ainda hoje são usados para tratar a tosse, constipações e inflamações. O Papiro de Ebers (1534 aC) é um registro farmacêutico egípcio, que documenta mais de 700 medicamentos à base de plantas cujos usos variam de gargarejos, pastilhas, infusões, para pomadas. Na Matéria Medica Chinesa, escrito por Li Shizhen em 1578; o herbário de Shennong (~100 aC) e o herbário de Tang são documentos onde foram registrados os usos de produtos naturais. O médico grego, Dioscórides, (100 dC), registrou a coleta, o armazenamento e o uso de ervas medicinais, enquanto o filósofo grego e cientista natural, Theophrastus (~ 300 aC) trabalhou com ervas medicinais. Durante a Idade das trevas e a Idade Média os mosteiros na Inglaterra, Irlanda, França e Alemanha preservaram esse conhecimento ocidental, enquanto os árabes preservaram o conhecimento greco-romano e expandiu os usos de seus próprios recursos, juntamente com ervas chinesas e indianas. Foram os árabes os primeiros a montar farmácias próprias (século VIII) com Avicena, um farmacêutico persa, médico, filósofo e poeta, que muito contribuiu para as ciências da Farmácia e da Medicina através de obras como o “*Canon Medicinae*”. Em volta de 1806, Friedrich Wilhelm Adam Sertürner isolou a morfina do ópio (*Papaver somniferum*). A quinina, um fármaco antimalárico, foi isolada da casca de espécies de

Cinchona (por exemplo *C. officinalis*) e foi relatado em 1820 pelos farmacêuticos francêss, Caventou e Pelletier. Em 1928, Alexander Fleming, por acaso, descobriu a penicilina, um antibiótico natural, do fungo *Penicillium chrysogenum*. Nos anos 1950 a vincristina e a vinblastina, dois compostos antineoplásicos, foram isoladas da planta *Catharanthus roseus*. Em 1967 o taxol, um anticâncer, foi isolado do *Taxus brevifolia*. De 1981 até 2010 foram descobertos 59 produtos naturais como fármacos e mais de 50% dos medicamentos são derivados ou inspirados de substâncias naturais (Newman e Cragg, 2012; David, Wolfender *et al.* 2014; Kumar e Pandey 2014).

Desde muitos séculos os produtos naturais têm sido a vanguarda da medicina para o tratamento de doenças humanas (Newman e Cragg, 2012; David, Wolfender *et al.* 2014; Kumar e Pandey 2014).

1.2. A família Piperaceae e o gênero *Piper*

A família Piperaceae, predominantemente tropical, constitui-se em uma das mais primitivas famílias entre as Angiospermas. Ela compreende 14 gêneros e cerca de 3600 espécies, sendo os gêneros *Piper* e *Peperomia* os mais representativos (Mabberley 1997; Souza 2005; Kato e Furlan 2007). Na medicina popular brasileira a “pariparoba” ou “caapeba” (*Pothomorphe umbellata*) e o “falso-jaborandi” (*Piper spp.*) são exemplos de suas espécies utilizadas, além de plantas condimentares como a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) utilizadas mundialmente. Espécies de Piperaceae são comuns nas formações florestais brasileiras, particularmente na Mata Atlântica, onde as espécies de *Piper*, pequenos arbustos ou árvores sublenhosas, podem ser facilmente reconhecidas pela presença de nós foliares geniculados e folhas com base bastante assimétricas (Souza 2005).

Inúmeros trabalhos baseados em estudos de cerca de 10% de espécies de Piperaceae, atestam o potencial delas quanto à produção de produtos naturais bioativos (Sengupta and Ray 1987; Jensen, Hansen *et al.* 1993; Bernard, Krishnamurty *et al.* 1995; Parmar, Jain *et al.* 1997). Destacam-se as atividades antifúngicas, antimicrobianas, inseticidas, antitumorais e outras (Terreaux, Gupta *et al.* 1998; Dyer, Dodson *et al.* 2003; Ngane, Biyiti *et al.* 2003; Kato e Furlan 2007; Raj 2011).

O gênero *Piper* possui cerca de 2000 espécies identificadas (Wanke, Jaramillo *et al.* 2007), que faz dele o mais diversificado entre as angiospermas basais. Nas regiões tropicais e subtropicais dos dois hemisférios as espécies de *Piper* são distribuídas e estão sendo amplamente

investigadas devido a inúmeras substâncias biologicamente ativas. Muitos desses estudos foram baseados nos diversos usos na medicina popular, como remédios para dores no estômago, agentes anti-inflamatórios, antipiréticos, contra asma e até como repelentes de insetos (Sengupta e Ray 1987; Parmar, Jain *et al.* 1997; Jaramillo e Manos 2001). As espécies do gênero *Piper* produzem metabólitos secundários de diferentes classes como neolignan/lignan, lactonas, terpenos, fenilpropanoides, alcaloides/amidas, esteroides, chalconas/dihidrochalconas, cromenos, ácidos graxos, ceramidas e flavonoides. Tais representantes dessas classes de produtos naturais demonstraram diversas atividades biológicas (Tabela 1.2.1).

Tabela 1.2.1. Alguns metabólitos secundários isolados de espécies de *Piper*

Lignanas e neolignanas	Atividade biológica	Ocorrência	Referências
sesamina	Antituberculose Antioxidante Nefroprotetora Antileishmania Antihipertensivo	<i>P. cubeba</i> <i>P. refractorum</i> <i>P. sylvaticum</i>	(Marques 2009) (Parmar, Jain <i>et al.</i> 1997)
(-)-grandisina	Tripanomicida Larvicida Inseticida	<i>P. solmsianum</i>	(Leite, Kato <i>et al.</i> 2012) (Marques 2009)
(-)-cubebina	Antifúngica Antihistamínica Antiinflamatória Tripanomicida Antineoplásica	<i>P. cernuum</i> <i>P. clusii</i> <i>P. cubeba</i> <i>P. nigrum</i> <i>P. trichostachyon</i>	(Marques 2009) (Niwa, Marcarini <i>et al.</i> 2013)
eupomatenóide-6	Tripanomicida Antifúngica	<i>P. decurrens</i> <i>P. fulvescens</i> <i>P. pallescens</i> <i>P. regnellii</i> <i>P. solmsianum</i>	(Marques 2009) (Lemos, Svidzinsk <i>et al.</i> 2013)
Lactonas	Atividade biológica	Ocorrência	Referências
kawaina	Tripanomicida Antineoplásica	<i>P. methysticum</i>	(Otoguro, Iwatsuki <i>et al.</i> 2012)

<p>yangonina</p>	<p>Tripanomicida Antineoplásica</p>	<p><i>P. methysticum</i></p>	<p>(Otoguro, Iwatsuki <i>et al.</i> 2012)</p>
Terpenos	Atividade biológica	Ocorrência	Referencias
<p>Limoneno</p>	<p>Antifúngica Antibacteriana</p>	<p><i>P. nigrum</i></p>	<p>(Musenga, Mandrioli <i>et al.</i> 2007)</p>
<p>α-pineno β-pineno</p>	<p>Antifúngica Antibacteriana</p>	<p><i>P. nigrum</i></p>	<p>(Musenga, Mandrioli <i>et al.</i> 2007)</p>
Fenilpropanoides	Atividade biológica	Ocorrência	Referencias
<p>dilapiol</p>	<p>Inseticida Antifúngica Bactericida Larvicida Moluscicida</p>	<p><i>P. aduncum</i> <i>P. hispidinervum</i> <i>P. nigrum</i> <i>P. obliquum</i> <i>P. renellii</i></p>	<p>(Marques 2009) (Sousa, Barros <i>et al.</i> 2008)</p>
<p>safrol</p>	<p>Antimicrobiana Antioxidante Antineoplásica</p>	<p><i>P. aduncum</i> <i>P. auritum</i> <i>P. betle</i> <i>P. guineese</i> <i>P. hispidinervium</i> <i>P. marginatum</i> <i>P. obliquum</i></p>	<p>(Marques 2009; Cremasco e Braga 2010)</p>
Alcaloides/amida*	Atividade biológica	ocorrência	Referencias
<p>dímero da pipartina A</p>	<p>Citotóxica</p>	<p><i>P. arborescens</i> <i>P. puberullum</i> <i>P. rugosum</i> <i>P. tuberculatum</i></p>	<p>(Marques 2009; Lago, Ito <i>et al.</i> 2012)</p>

<p>cefaradiona A</p>	Citotóxica Antiinflamatória	<i>P. argyrophyllum</i> <i>P. betle</i> <i>P. lolot</i> <i>P. caninum</i>	(Marques 2009) (Lin, Hwang <i>et al.</i> 2013)
Chalcona/ Dihidrochalcona	Atividade biológica	Ocorrência	Referencias
<p>flavokavaina B</p>	Antifúngica Leishmanicida Citotóxica	<i>P. dilatatum</i> <i>P. rusbyi</i> <i>P. methylsticum</i>	(dos Santos, Ramos <i>et al.</i> 2013) (Flores, Cabrera <i>et al.</i> 2007)
<p>adunchalcona</p>	Leishmanicida	<i>P. aduncum</i>	(Dal Picolo, Bezerra <i>et al.</i> 2014)
Cromenos	Atividade biológica	Ocorrência	Referencias
<p>ácido gaudichaudiânico</p>	Antifúngica Antibacteriana	<i>P. chimonantifolium</i> <i>P. gaudichaudianum</i>	(Lago, Ito <i>et al.</i> 2012) (Gaia, Yamaguchi <i>et al.</i> 2014)
<p>gaudichaudianoato de metila</p>	Antifúngica Antibacteriana	<i>P. gaudichaudianum</i>	(Ramos, Vanin <i>et al.</i> 2009)

Ácidos graxos	Atividade biológica	Ocorrência	Referencias
ácido cáprico	Antimicrobiana antiviral	<i>P. nigrum</i>	(Daulatabad, Mulla <i>et al.</i> 1995) (German e Dillard 2004)
ácido laurico	Antimicrobiana antiviral	<i>P. nigrum</i>	(Daulatabad, Mulla <i>et al.</i> 1995) (German e Dillard 2004)
Esteroides	Atividade biológica	Ocorrência	Referencias
estigmasterol	antifúngica	<i>P. chimonantifolium</i> <i>P. renitens</i> <i>P. dilatatum</i>	(Lago, Ito <i>et al.</i> 2012) (Facundo, Azevedo <i>et al.</i> 2012)
sitosterol	antifúngica	<i>P. chimonantifolium</i> <i>P. renitens</i> <i>P. dilatatum</i>	(Lago, Ito <i>et al.</i> 2012) (Facundo, Azevedo <i>et al.</i> 2012)
Ceramidas	Atividade biológica	Ocorrência	Referencias
(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-2- <i>N</i> -[(2' <i>R</i>)-2'-hidroxipentacosanoilamino]-nonacosane-1,3,4-triol	Antibacteriana	<i>P. betle</i>	(Huang, Yin <i>et al.</i> 2010)
(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,8 <i>E</i>)-2- <i>N</i> -[(2' <i>R</i>)-2'-hidroxitetracosanoilamino]-8-eicosilene-1,3,4-triol	antibacteriana	<i>P. betle</i>	(Huang, Yin <i>et al.</i> 2010)

Flavonoides	Atividade biológica	Ocorrência	Referencias
pinostrobin	Inseticida	<i>P. guanacastensis</i> <i>P. methylsticum</i>	(Marques 2009)
izalpinin	Antioxidante Citotóxica	<i>P. aleyreanum</i>	(Facundo, Bálico <i>et al.</i> 2012)

*As amidas encontram-se descritas na Tabela 1.3.1

1.3. Amidas.

Apesar de o gênero *Piper* apresentar uma composição fitoquímica muito diversificada, as amidas constituem-se a classe de compostos mais característicos de suas espécies. Diversos grupos de amidas como alcâmidas, amidas do grupo pirrolidínicas, amidas contendo grupamento metilendioxifenila, amidas de cadeia aberta, amidas do grupo piperidônica e piperidínica (Figura 1.3.1) têm sido isoladas de espécies de *Piper*.

Figura 1.3.1. Grupos característicos de amidas isoladas de *Piper*

A Tabela 1.3.1 apresenta algumas das amidas importantes de *Piper* com as atividades biológicas e sua origem.

Tabela 1.3.1. Algumas amidas isoladas *Piper*, atividade biológica e sua origem

Amida	Atividades	Ocorrência	Referências
<p>piperina</p>	Antifúngica Antimicrobiana Antiinflamatória Antioxidante Antitumoral Imunomodulatória Inseticida	<i>P. acutisleginum</i> <i>P. album</i> <i>P. argyrophylum</i> <i>P. aurantiacum</i> <i>P. attenuatum</i> <i>P. betle</i> <i>P. chaba</i> <i>P. cubeba</i> <i>P. guineense</i> <i>P. hancei</i> <i>P. khasiana</i> <i>P. longum</i> <i>P. macropodum</i> <i>P. nepalense</i> <i>P. nigrum</i> , <i>P. novaehollandiae</i> <i>P. peepuloides</i> <i>P. sylvaticum</i> <i>P. tuberculatum</i> ...	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012) (Marques 2009)
<p>piplartina</p>	Antifúngica Ansiolítica Antidepressiva Antineoplásica leishmanicida Citotóxica Esquistossomicida Inseticida Moluscicida Potencial mutagênico	<i>P. aborescens</i> <i>P. alatabaccum</i> <i>P. arboreum</i> <i>P. chaba</i> <i>P. cubeba</i> <i>P. callosum</i> <i>P. divaricatum</i> <i>P. longum</i> <i>P. retrofractum</i> <i>P. richardiaefolium</i> <i>P. sylvaticum</i> <i>P. tuberculatum</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012) (Marques 2009; Raj, Ide <i>et al.</i> 2011)
<p>piperlonguminina</p>	Antifúngica Antitumoral Antiinflamatória Antioxidase Inseticida Bactericida Larvicida	<i>P. amalago</i> <i>P. divaricatum</i> <i>P. guineense</i> <i>P. hancei</i> <i>P. laetispicum</i> <i>P. longum</i> <i>P. nepalense</i> <i>P. scutifolium</i> <i>P. tubeculatum</i>	(Maleck, Ferreira <i>et al.</i> 2014) (Marques 2009)
<p>n=0: piperetina n=2: retrofractamida A n=3: retrofractamida D (norpipericida) n=4: retrofractamida C (pipericida)</p>	Inseticida	<i>P. austrosinene</i> <i>P. brachystachyum</i> <i>P. guineense</i> <i>P. longum</i> <i>P. nigrum</i> <i>P. refractorum</i>	(Marques 2009)

n=6: guineensina n=8: brachistamida B n=9: brachistamida D
sarmentosina	Antituberculose Antiplasmodial Larvicida	<i>P. nigrum</i> <i>P. sarmentosum</i> <i>P. sintenense</i>	(Marques 2009)
corcovadina	Antifúngica	<i>P. scutifolium</i> <i>P. corcovadensis</i> <i>P. hoffmanseggianum</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012) (Marques, Kitamura <i>et al.</i> 2007)
tetrahidropiperina	Inseticida	<i>P. guineense</i> <i>P. longum</i> <i>P. nigrum</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)
piperilina	Antifúngica Inibidor enzimático	<i>P. arboreum</i> <i>P. amalago</i> <i>P. guineense</i> <i>P. macropodum</i> <i>P. nigrum</i> <i>P. trichostachyon</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)
piperovatina	Anestésica Antifúngica Antiinflamatória Antimicrobiana Bactericida Carrapaticida Inseticida Piscicida	<i>P. alatabaccum</i> <i>P. corcovadensis</i> <i>P. callosum</i> <i>P. laetispicum</i> <i>P. martiana</i> <i>P. nigrum</i> <i>P. ovatum</i> <i>P. piscatorum</i> <i>P. scutifolium</i> <i>P. vahlii</i>	(Marques 2009) (Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)
<i>N-trans</i> -cinamoilpirrolidina	Antiagregante plaquetário	<i>P. argyrophyllum</i> <i>P. lolot</i> <i>P. marginatum</i> <i>P. taiwanense</i> <i>P. shimidtii</i> <i>P. wightii</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)
piperlotina E	Antiagregante plaquetário	<i>P. lolot</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)
R ₁ =H, R ₂ =OH: taiwanamida A R ₁ =H, R ₂ =OCH ₃ : taiwanamida B R ₁ = R ₂ =OCH ₃ : taiwanamida C	Antiagregante plaquetário	<i>P. taiwanense</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)

<p>sarmentina</p>	Antiagregante plaquetário Antiplasmodial Antituberculose Larvicida	<i>P. lolot</i> <i>P. nigrum</i> <i>P. sarmentosum</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)
<p>pipinoohina</p>	larvicida	<i>P. nigrum</i>	(Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)
<p>pelitorina</p>	Antituberculose Antifúngica Inseticida	<i>P. arboreum</i> <i>P. attenuatum</i> <i>P. chaba</i> <i>P. cubeba</i> <i>P. guineense</i> <i>P. hancei</i> <i>P. lolot</i> <i>P. longum</i> <i>P. nepalense</i> <i>P. nigrum</i> <i>P. peepuloides</i> <i>P. retrofractum</i> <i>P. ribesioides</i> <i>P. sarmentosum</i> <i>P. silvaticum</i> <i>P. tuberculatum</i> <i>P. wallichii</i>	(Marques 2009) (Nascimento, Paula <i>et al.</i> 2012)

1.3.1. Piperina

A piperina (Tabela 1.3.1), a mais conhecida das amidas de *Piper*, foi a primeira amida isolada em 1819, de *P. nigrum*, por Orstedt e junto com a chavicina (um isômero da piperina) são responsáveis pela pungência da pimenta-do-reino. Ela é o principal metabólito secundário encontrado majoritariamente nos frutos de *P. nigrum* (Srinivasan 2007). Ela foi bastante estudada, e como citado na Tabela 1.3.1 apresenta diversas atividades farmacológicas e efeitos bioquímicos (Navickiene, Alécio *et al.* 2000; Paula, Barbosa *et al.* 2000; Marques 2009; Nascimento, Paula *et al.* 2012).

A piperina apresentou um padrão de fragmentação particular, quando analisados através espectrometria de massas de baixa resolução por impacto de elétron (EMBR-IE) e espectrometria de massas por alta resolução por electrospray (EMAR-IES). Esta fragmentação peculiar, mostrou a formação de íon acílio como o fragmento principal, que é diferente do rearranjo de McLafferty habitual e das clivagens α de amidas alifáticas, secundárias e terciárias,

provavelmente devido à presença de um grupo arila na posição 5 ou γ da carbonila (Esquema 1.3.1) (Bajad, Coumar *et al.* 2003; Schaab, Crotti *et al.* 2010).

Fragmentação da piperina por EMBR-IE

Fragmentação da piperina por EMAR-IES

Esquema 1.3.1. Fragmentação da piperina por EMBR-IE e EMAR-IES

1.3.2. Piplartina

A pipartina, uma importante amida (Tabela 1.3.1) descrita em algumas espécies de *Piper* (Banerji e Dhara 1974; Tsai, Lee *et al.* 2005; Bezerra, Pessoa *et al.* 2008) tem sido menos investigada que a piperina. Ela foi isolada pela primeira vez da espécie *Piper longum* em 1962, por isso, é também conhecida como piperlongumina (Chatterjee e Dutta 1967). Está presente em grande quantidade nas raízes de *P. tuberculatum* e tem revelado diversos tipos de atividades (Tabela 1.3.1) (Marques 2009; Nascimento, Paula *et al.* 2012, Rapado *et al.* 2014).

Tal qual a piperina a pipartina apresentou a mesma fragmentação peculiar (Esquema 1.3.2) (Schaab, Crotti *et al.* 2010; Bezerra, Pessoa *et al.* 2012). Como esta particularidade será que as amidas do grupo pirrolidínica, piperidônica e piperidinica apresentam alguns padrões fragmentações.

Esquema 1.3.2. Fragmentação da piplartina por EMBR-IE e EMAR-IES

A piplartina se mostrou citotóxica e antiproliferativa contra células leucêmicas (K562 e HL-60), e parece ser mais seletiva para células tumorais que células normais (Bezerra, Militão *et al.* 2007). Em um estudo com sete linhagens de células humanas normais e 13 células cancerígenas a piplartina mostrou a inibição seletiva contra as células tumorais, aumentando o nível de espécies reativas de oxigênio. (Figura 1.3.2). (Raj, Ide *et al.* 2011)

Figura 1.3.2. Efeito da inibição seletiva da piplartina em células cancerosas

(N: células normais, Tu: células cancerígenas) (Raj, Ide *et al.* 2011).

Várias amidas isoladas de *Piper* se mostraram citotóxicas contra diversas linhagens de células tumorais e a piplartina também se mostrou seletiva contra células tumorais. A obtenção de análogos de estruturas geral, como apresentado na figura 1.3.3, baseado na estrutura da piplartina é importante para estudar as relações entre as estruturas delas e suas respectivas citotoxicidades frente a algumas células tumorais.

Figura 1.3.3. Estrutura geral dos análogos da piplartina

1.3.3. Síntese das amidas

Considerando-se que a piplartina se apresentou citotóxica contra diversas células tumorais e seletivas em frente às células humanas normais (Raj, Ide *et al.* 2011; Adams, Dai *et al.* 2012; Rao, Muthenna *et al.* 2012) foi usada com amida modelo para síntese de outras amidas de acordo com a estrutura geral de amida proposta na Figura 1.3.5.

Para um estudo de relação estrutura-atividade um planejamento sintético foi feito objetivando introduzir modificações importantes e adequadas. A partir da estrutura da Figura 1.3.3 modificações foram planejadas para serem realizadas no anel aromático nas posições (*orto*, *meta* e *para*) dos grupos R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ [grupo ativador e não ativador do anel aromático tais como H, OMe, Br, Cl, OCH₂O, NO₂, N(CH₃)₂, CH₃]; na cadeia ligando o anel aromático a carboxila da amida (n e Δ) e nas aminas ou lactamas (NR'R'').

A formação de amidas envolve reações de baixa complexidade e são tradicionais. A formação da amida é geralmente obtida pela reação de aminas com cloreto de acila formado a partir dos ácidos carboxílicos de interesse (Esquema 1.3.3) (Montalbetti e Falque 2005; Valeur e Bradley 2009).

Esquema 1.3.3. Rota sintética tradicional para obtenção de amidas.

Alguns dos ácidos carboxílicos foram adquiridos comercialmente ou sintetizados pela reação de condensação de Knoevenagel, variação da reação de Döebner (Mitra *et al.* 1999; Marques 2009). Vários agentes ativadores podem ser usados como o cloreto de oxalila ((COCl)₂), cloreto de tionila (SOCl₂) ou *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) entre outros. Na segunda etapa da reação pode ser usada a amina de interesse e trietilamina (TEA); ou no caso da lactama (caprolactama, valerolactama e 2-pirrolidona) usar o *n*-butil lítio (*n*-BuLi) em tetrahidrofurano (THF) a -78°C, para desprotonar a lactama para acoplar com o ácido ativado (Esquema 1.3.4) (Montalbetti e Falque 2005; Valeur e Bradley 2009).

Esquema 1.3.4. Acoplamento do cloreto de acila com a amina ou lactama.

1.4. Atividade biológica

Segundo o Instituto Nacional de Cancer (INCA), o Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores malignos, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo (INCA 2014).

A leucemia é uma doença maligna dos glóbulos brancos (leucócitos), geralmente, de origem desconhecida. Tem como principal característica o acúmulo de células jovens anormais na medula óssea, que substituem as células sanguíneas normais. A medula é o local de formação das células sanguíneas e ocupa a cavidade dos ossos, sendo popularmente conhecida por tutano. Nela são encontradas as células que dão origem aos glóbulos brancos, aos glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos) e às plaquetas (INCA 2014). Ela foi descoberta em 1845 pelo patologista alemão Rudolf Virchow (National Cancer Institute 2014).

A leucemia tem uma vasta invasão em vários tecidos e órgãos do corpo, tal como a medula óssea, fígado, baço, nódulos linfáticos. A leucemia leva a anemia, hemorragia, infecção, invasão e outros sintomas. A leucemia é uma doença que afeta seriamente a saúde humana e é

responsável por cerca de 5% da incidência de câncer, 2% da incidência de câncer de adultos e mais de 30% de câncer infantil.

As leucemias podem ser classificadas por:

-*leucemias agudas*, são aquelas que têm um início e uma evolução rápida.

-*leucemias crônicas*, são aquelas que têm um início e uma evolução insidiosa.

As leucemias, ainda, podem ser classificadas segundo a linhagem celular:

- *Leucemias linfoides* da linhagem linfoide.

- *Leucemias mieloides* da linhagem mieloide. (Vardiman, Thiele *et al.* 2009).

Os tratamentos de leucemia são múltiplos, tais como a quimioterapia, radioterapia, imunoterapia, o transplante de medula óssea e assim por diante. No entanto a quimioterapia continua a ser o tratamento preferido de leucemia apesar de alguns quimioterápicos tradicionais como: doxorubicina, imatinib, vincristina (Figura 1.4.1), serem muitas vezes tóxicos e apresentaram efeitos colaterais diversos. Portanto, o desenvolvimento de novas drogas anti-leucemicas, com menos efeitos secundários é de grande importância (Yu 2013).

Figura 1.4.1. Estruturas da doxorubicina, imatinib e vincristina.

O Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP) e o Centro Integrado de Pesquisas Oncohematológicas da Infância da Universidade de Campinas (CIPOI-UNICAMP) vêm realizando estudos fitoquímicos e bioensaios com diversas espécies de Piperaceae, a fim de verificar a citotoxicidade dos extratos e compostos puros contra linhagens de células leucêmicas. Para este trabalho foram realizados ensaios de citotoxicidade da pipartina e derivados, com a determinação da concentração inibidora a 50% (IC_{50}), contra três linhagens K562 (*leucemia mieloide*) (Koeffler e Golde 1980), Nalm6 (*leucemia linfoblástica aguda B*) (Hurwitz, Hozier *et al.* 1979) e Raji (*linfoma de Burkitt*) (Pulvertaft 1964).

1.5. Modelagem molecular

A atividade biológica de um composto é o resultado das interações biológicas deste com o sistema biológico (Andrews, Craik *et al.* 1984). O estudo da relação estrutura-atividade ajuda a entender e explicar estas interações. A modelagem molecular assistida por computadores é uma ferramenta importante para o estudo destas interações por que ela possibilita a construção, edição, visualização e análise de sistemas moleculares complexos. O estudo destas interações pode ser explorado por duas aproximações: os métodos independentes do receptor e/ou enzimas e os métodos dependentes do receptor e/ou enzima. No primeiro caso, as interações com a macromolécula são indiretas utilizando de modelos de correlação entre a atividade de substâncias e suas estruturas, sendo conhecida como relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR). No segundo caso, as interações dos compostos com a biomacromoléculas são consideradas diretas. São os métodos de ancoragem molecular que dependem do conhecimento da estrutura da macromolécula (Sant'Anna 2009).

1.5.1. Relação entre a Estrutura Química e a Atividade Biológica

A habilidade de determinar a estrutura dos compostos permitiu estabelecer a relação entre estrutura química e atividade biológica (SAR), que se baseia em observar quais mudanças na estrutura do composto pode resultar em uma alteração em sua atividade biológica (Andrews, Craik *et al.* 1984).

As metodologias para o estudo de QSAR foram introduzidas no início dos anos 60, atualmente, considera-se que tais 'reações' biológicas podem ser estudadas como as reações químicas, por técnicas de físico-química orgânica. Portanto, as metodologias para estudos de QSAR correlacionam a dependência das atividades biológicas com outras propriedades físico-químicas (análise de Hansch, extra-termodinâmico) (Kubinyi 1993), de acordo com a ausência ou presença de diversas características estruturais (abordagem Free-Wilson) (Kubinyi 1993). Isso pode ser resumido pela equação:

$\log(1/C) = pIC_{50} = f(\text{propriedades físico-químicas})$, onde C é o valor da concentração inibidora a 50% (IC_{50}) em micromolar ($1\mu M = 10^{-6}$ Molar).

Uma das abordagens mais utilizadas nas últimas décadas no entendimento de SAR são os estudos de QSAR em três dimensões (QSAR-3D). Ela é baseada na inserção dos compostos em uma grade tridimensional, em que as propriedades físico-químicas dos mesmos são estudadas

através do cálculo de interações com uma sonda que é colocada em cada um dos pontos da grade virtual (Cramer, Patterson *et al.* 1988). Os valores dessas interações são utilizados como descritores no modelo de QSAR-3D e são denominados descritores de campo molecular. Uma grande vantagem desta metodologia é a aquisição de descritores em ambiente tridimensional, o que a diferencia em relação aos modelos de QSAR clássicos que se refere as características estéricas das moléculas.

Em 1988, a primeira técnica de QSAR-3D foi proposta por Cramer e colaboradores e foi denominada Análise Comparativa de Campos moleculares (CoMFA, do inglês “*Comparative Molecular Field Analysis*”). Neste caso, os valores das contribuições estéricas, do potencial de Lennard-Jone e de Coulomb são considerados como descritores (Cramer, Patterson *et al.* 1988). Em 1994 uma variação de CoMFA foi proposta depois como a Análise Comparativa de Similaridade Molecular (CoMSIA, do inglês *Comparative Molecular Similarity Indices Analysis*) por Klebe, Abraham e Mietzner que adicionaram as interações de grupos aceptores e doadores de ligações de hidrogênio como descritores (Klebe, Abraham *et al.* 1994). Além disso, Robinson e colaboradores propuseram o *Self-Organizing Molecular Field Analysis* (SOMFA) em 1999 (Robinson, Winn *et al.* 1999). Também foram propostas outras abordagens de QSAR-3D usando campo molecular tridimensional, entre elas:

- o potencial eletrostático Molecular (MEP, do inglês *Molecular Electrostatic Potential*), que é considerado como a energia de interação entre uma unidade de carga positiva e a distribuição de carga molecular e descreve uma imagem precisa da distribuição de carga em uma molécula (Cruciani, Crivori *et al.* 2000);
- o potencial da lipofilicidade molecular (MLP, do inglês *Molecular Lipophilicity Potential*) que representa num ponto do espaço o resultado das interações moleculares codificadas pela lipofilicidade de tudo os fragmentos da molécula (Cruciani, Crivori *et al.* 2000);
- o campo de grade (do inglês *GRID*) é uma das ferramentas computacionais mais amplamente utilizadas para mapear superfícies moleculares fármacos ou macromoléculas. Ele usa um potencial baseado na energia total de interação (a soma dos potenciais de Lennard-Jones, da ligação de hidrogênio e eletrostáticas) entre uma molécula alvo e uma sonda que pode ser um átomo ou um grupo de átomo. A grade movendo as sondas (tais como um átomo de nitrogénio, uma molécula de água) sobre a superfície da molécula alvo, resulta em propriedades de

distribuição de forças atractivas e repulsivas entre a sonda e a molécula alvo. Os mapas tridimensionais (3D) podem ser visualizados (Goodford 1985; Cruciani, Crivori *et al.* 2000).

1.5.1.1. O programa VolSurf+

A interação das moléculas com a macromolécula ou bio-receptor é mediada por propriedades de superfície como a forma, as forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio e hidrofobicidade. A maior parte destas propriedades pode ser representada em campos moleculares tridimensionais (3D) de energia de interação (MIF, do inglês *Molecular Interaction Fields*). Pelo método chamado VolSurf, os MIF podem ser automaticamente convertidos em descritores moleculares mais simples (Cruciani, Crivori *et al.* 2000).

O programa VolSurf+ é um método computacional desenhado para produzir descritores relacionados as propriedades físico-químicas e farmacocinética das substâncias, a partir de mapas tridimensionais de energia de interação gerados entre as moléculas e as sondas. O conceito básico é a compressão de informação presente em mapas 3D, gerados pelo programa GRID (Goodford 1985; Boobbyer, Goodford *et al.* 1989), em alguns descritores bidimensionais numéricos, que se caracterizam com fáceis de entender e interpretar (Goodford 1985; Cruciani, Crivori *et al.* 2000).

Em modelo molecular computacional, a utilização de superfícies moleculares é sempre acompanhada por uma partição da superfície em pequenas porções de pastilhas ou poliedros, a fim de permitir a otimização dos efeitos gráficos. Em tais casos uma única característica e informações, a superfície molecular, é espalhada em numerosos pequenos pedaços contíguos de informação. No caso do VolSurf+, o procedimento utilizado é exatamente o oposto. De numerosos pastilhas contendo as mesmas informações, o VolSurf+ constrói um quadro único (um volume e/ou uma superfície) relacionada com propriedades moleculares específicas (Cruciani, Crivori *et al.* 2000; Cruciani, Pastor *et al.* 2000). A superposição das moléculas não é necessária, já que os descritores do VolSurf+ são independentes da superposição. A geração de estruturas 3D não é exigida, uma vez que o VolSurf+ gera estruturas 3D minimizadas das moléculas. A análise conformacional também não é necessária, considerando que o VolSurf+ gera automaticamente até 50 conformêros por cada estrutura estudada (Cruciani, Crivori *et al.* 2000; Cruciani, Pastor *et al.* 2000).

A originalidade do VolSurf+ reside no fato que as superfícies, volumes e outros descritores relacionados podem ser obtidos diretamente a partir de mapa 3D molecular sem o uso de algoritmos complexos de projeções trigonométricas e outros.

Os descritores moleculares obtidos do VolSurf+, referem-se ao tamanho e à forma molecular, tamanho e a forma de ambas as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas e do equilíbrio entre elas. A ligação de hidrogênio, momentos anfífilos, os parâmetros críticos de empacotamento são outros descritores úteis. Por isso campos de interação com a sonda água (H₂O), a sonda hidrofóbica (DRY), a sonda átomo de oxigênio carbonílico sp² (O) e a sonda grupo nitrogenio de amida NH (N1) são calculados em torno das moléculas alvos. Assim 128 descritores são gerados, sendo 28 descritores a partir da sonda OH2, 24 descritores a partir da sonda DRY, 6 descritores da sonda O e 6 descritores da sonda N1, mais 64 descritores não derivados de MIF (Cruciani, Crivori *et al.* 2000; Cruciani, Pastor *et al.* 2000).

Após geração dos descritores, o VolSurf+ disponibiliza métodos estatísticos que podem ser usados para construir os modelos. Para tanto, foram incorporados métodos de análise por componentes principais (PCA) e a regressão por quadrados mínimos parciais (PLS).

Em resumo o programa VolSurf+ realiza a etapa seguinte (Figura 1.5.1):

- 1) geração de campo de interação molecular (MIF) pelas sondas
- 2) geração dos descritores
- 3) geração dos modelos

Figura 1.5.1. Fluxograma representando a sequência das etapas do VolSurf⁺

A análise de componentes principais (PCA) é uma técnica estatística utilizada pelo programa VolSurf⁺ para reescrever as coordenadas em uma matriz X em outro sistema de eixo mais convenientes para a análise de dados. O objetivo deste método é agrupar variáveis correlacionadas, substituindo os descritores originais por componentes principais (PCs), nos quais os dados são projetados. Os PCs são ortogonais, não são correlacionados entre si e são construídos a partir de uma combinação linear das variáveis originais. Eles são obtidos em ordem

decrecente de máxima variância, ou seja, o PC1 detém a maior variância, de todo o conjunto de dados, que o PC2 e assim por diante. O PCA condensa toda a informação em duas matrizes menores, chamadas de matriz de escores (do inglês *scores*), que quantifica a distribuição dos objetos, no caso os compostos, nos PCs; e a matriz de pesos (do inglês *loadings*), que quantifica a contribuição dos descritores nos PCs (Wold, Esbensen *et al.* 1987).

O método de PLS, outra ferramenta quimiométrica que dispõe o VolSurf⁺, é uma técnica de regressão cuja o objetivo é explicar uma ou mais variáveis dependentes (Y, atividade biológica) em funções de variáveis explicativas (X, descritores moleculares) $Y = f(X) + E$. O método de PLS como o PCA decompõe a matriz inicial em matrizes dos escores e pesos. Em vez de PC são geradas variáveis latentes (LVs, do inglês *latent variables*), que são uma combinação linear das variáveis originais X. Os LVs são equivalentes ao PCs, com a diferença que eles são gerados para otimizar a correlação entre os descritores (X) e a atividades biológicas (Y) mas mantendo a máxima variância. Uma vantagem dos modelos gerados por PLS é que o problema de colinearidade não é encontrado. O modelo de regressão PLS pode ser validado internamente pelo método de validação cruzada *leave-one-out* (LOO), *leave-two-out* (LTO) ou *leave-group-out* (LGO) (Höskuldsson 2001; Wold, Sjöström *et al.* 2001).

Uma seleção de variáveis pode ser feita diretamente no VolSurf⁺ usando a importância da variável na projeção (VIP, do inglês *Variable Importance in Projection*), que estima a importância de cada variável na projeção usado no PLS tanto com os X tanto com os Y. O gráfico VIP mostra quais são os descritores mais importantes para X e Y. O método VIP seleciona os descritores calculados pelo escore VIP para cada variável e excluindo as variáveis com escores menor que 1 (Höskuldsson 2001; Indahl, Liland *et al.* 2009).

Outros métodos de seleção de variáveis como as funções *J48*, *M5P*, e *Random Forest* disponíveis na plataforma KNIME; o método de *sub CfsSubsetEval* do Weka; e o algoritmo genético (GA, do inglês *Genetic Algorithm*) do programa Mobydigs foram também usados.

1.5.1.2. A plataforma KNIME

O KNIME versão 2.10.0 (do inglês, *Konstanz Information Miner*) é uma plataforma de mineração de dados (*data-mining*) que permite o desenvolvimento de modelos em um ambiente visual. Ele é construído sobre a plataforma Eclipse. No Knime algoritmos como *J48*, *M5P* e *Random Forest* podem ser usados para selecionar ou classificar os descritores mais importante no modelo. Os algoritmos *J48*, *M5P* e *RandomForest* geram árvores de decisão (classificação), em

que cada nó da árvore avalia a existência ou significância de cada atributo individual. As árvores de decisão são construídas do topo para a base, através da escolha do atributo mais apropriado para cada situação. Uma vez escolhido o atributo, os dados de treino são divididos em subgrupos, correspondendo aos diferentes valores dos atributos e o processo é repetido para cada subgrupo até que uma grande parte dos atributos em cada subgrupo pertença a uma única classe (Berthold 2007).

1.5.1.3. O programa *Weka*

O *Weka* (*Waikato Environment for Knowledge Analysis*) é uma coleção de algoritmos de máquina de aprendizagem (ML, do inglês *machine learning*) para tarefas mineração dos dados (*data mining*). Uma máquina de aprendizagem permite que um programa de computador analise automaticamente uma grande massa de dados e decidir quais informações são mais relevantes. As tarefas mineração dos dados é um processo que permite procurar padrões escondidos em um grupo de dados (Hall, Frank et al. 2009).

O programa *Weka* 3.6.9 que usa o método de *sub CfsSubsetEval* (Hall 2011) foi usado para gerar uma árvore de classificação para saber quais descritores influenciam a atividade ou inatividade das substâncias. O método de *sub CfsSubsetEval* avalia os valores de um conjunto de dados, considerando a capacidade preditiva de cada um juntamente com o grau de redundância entre eles. O conjunto de dados que são altamente correlacionadas com a classe (atividade ou outra), enquanto tendo baixa correlação são escolhidos (Hall, Frank et al. 2009).

1.5.1.4. O programa *Mobydigs*

O *MobyDigs* versão 1.1 é um programa para o cálculo de modelos de regressão usando algoritmos genéticos para a seleção de variáveis para obter um subconjunto ótimo de modelos de previsão.

O Algoritmo Genético (GA) é um método evolutivo amplamente utilizado para complexo problema de otimização em vários campos, como robótica, química e QSAR. Uma vez que os sistemas complexos são descritos por várias variáveis, uma meta importante na análise do sistema é a extração de informações relevantes, em conjunto com a exclusão de informação redundante e ruidoso. No entanto, uma exaustiva busca de todas as soluções possíveis não é viável.

O procedimento de GA é baseado na evolução de uma população de modelos, ou seja, um conjunto de modelos classificados de acordo com uma função objetiva. Na terminologia de GA,

cada indivíduo da população é chamado cromossoma e é um vector binário, em que cada posição (um gene) corresponde a uma variável (1, se incluído no modelo, senão 0). Cada cromossoma representa um modelo dado por um conjunto de variáveis (Leardi, Boggia *et al.* 1992).

A aplicação específica do GA é a seleção de um conjunto variável (Leardi, Boggia *et al.* 1992). Os modelos por regressão e classificação das variáveis mais relevantes, em relação a uma atividade específica, são procurados por diferentes estratégias de seleção. O GA realiza esta seleção, considerando populações de modelos gerados por meio de um processo de reprodução e otimização de acordo com uma função objetivo definida relacionada à qualidade do modelo (Leardi, Boggia *et al.* 1992).

1.5.2. Ancoragem molecular (*Docking*)

A atividade biológica de um composto é o resultado das interações biológicas deste com o sistema biológico, e as interações que ocorrem entre um composto e o sistema biológico são de diferentes intensidades e naturezas químicas. Assim, a intensidade da interação entre um composto ou ligante com o receptor biológico, na formação do complexo composto-receptor, depende das complementaridades estéricas e eletrostáticas destes.

O processo de ancoragem molecular envolve a predição das conformações ou orientações (ou poses) de um ligante dentro de um receptor, o sítio alvo. Em geral, existem dois objetivos nos estudos de *docking*: modelagem estrutural precisa e correcta previsão de atividade. No entanto, a identificação das características moleculares que são responsáveis pelo reconhecimento do sítio biológico específico, ou a predição de modificações dos compostos que melhoram a potência, são questões complexas que muitas vezes são difíceis de entender e mais ainda para simular em um computador (Lengauer e Rarey 1996; Kitchen, Decornez *et al.* 2004).

Neste estudo será usado o programa *Molegro* para identificar o possível sítio biológico onde se liga os diferentes compostos.

O programa *Molegro Virtual Docker* versão 6.0.1 (MVD) é uma plataforma integrada para a previsão de interações do receptor (macromolécula) e o ligante (amidas). O MVD foi escolhido por ter produzido uma exatidão de ancoragem molecular superior a outro programa (MVD: 87%, Glide: 82%, Surflex: 75%, FlexX: 58%) (Thomsen e Christensen 2006). O MVD lida com todos os aspectos do processo de preparação das moléculas para a determinação dos potenciais sítios de ligação da proteína alvo, e da predição dos modos de ligação dos ligantes.

A avaliação e classificação das previstas conformações dos ligantes é um aspecto crucial do *docking*. No MVD a função usada para prever as interações entre o ligante e o receptor se chama “MolDock”, que é a somatória das energias internas da interação entre ligante-receptor e da energia interna do ligante (Thomsen e Christensen 2006). A raiz do desvio quadrático médio (RMSD, do inglês Root Mean Square Deviation) é a medida da distância entre os átomos de proteínas sobrepostas e é usada para validar os modelos (Ratnavali *et al.*, 2011).

2. OBJETIVOS

Este projeto teve como objetivos o estudo das relações estrutura-atividade de uma série análogos das amidas comumente encontradas em *Piper*, especificamente os análogos sintéticos da piplartina e da piperina. O foco principal foi a avaliação da atividade citotóxica das substâncias obtidas, por isolamento e síntese orgânica, contra três linhagens de células leucêmicas (K562, Nalm6 e Raji) e da atividade leishmanicida.

O estudo de Relação entre Estrutura-Atividade, empregando diversas abordagens, objetivou a compreensão dos seus modos de ação e gerar modelos de previsão de atividades.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Obtenção das substâncias

3.1.1. Informações gerais

No decorrer deste trabalho os solventes utilizados nos procedimentos de extrações e eluições de colunas cromatográficas foram devidamente destilados e tratados pela Central de Solventes do Instituto de Química da USP. Nas análises de CLAE e CG foram utilizados solventes de grau cromatográfico (Merck, Tedia e J.T Baker), e água deionizada (18 mΩ, Milli-Q, Millipore), todos filtrados e posteriormente desgaseificados.

Para síntese dos compostos foram utilizados reagentes de grau PA (Aldrich e Alfa Aesar). Os solventes utilizados foram devidamente secos e destilados de acordo com os procedimentos descritos por Armarego e Chai (Armarego 2003).

Para as colunas cromatográficas foram utilizados sílica gel do tipo 60, partículas 63-200 µm e para colunas “flash”, sílica gel 60 com partículas de 40-63 µm. As placas de cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) foram confeccionadas utilizando-se sílica 60GF₂₅₄ e 60 GF₂₅₄₊₃₆₅ (5-40 µm) (Merck). As placas foram preparadas aplicando-se uma suspensão de sílica gel (80g) em água destilada (aproximadamente 200 mL) sobre placas de vidro 20x20 cm, utilizando-se um espalhador “Quickfit” regulado para produzir camadas de 1,00 mm de espessura. Para cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram utilizadas placas de alumínio revestidas com sílica gel 60 F₂₅₄ 0,2 mm (Merck). Os reveladores utilizados foram lâmpada de ultravioleta em câmara escura nos comprimentos de onda 254 e 365 nm e aspersão de solução de vanilina sulfúrica (5,1 g de vanilina, 50 mL de ácido sulfúrico concentrado e 800 mL de etanol) seguida de aquecimento.

Para as análises cromatográficas foram utilizados o cromatógrafo líquido Shimadzu modelo CMB-20A, equipado com detector UV-DAD modelo SPD-20A, duas bombas modelo LC-20AD, forno de coluna CTO-20A e um injetor automático modelo SIL-20AC, controlados pelo software *LC solutions* (Shimadzu).

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram adquiridos nos espectrômetros Varian Gemini-200 MHz e Varian Inova -300 MHz localizados na Central Analítica do Instituto de Química da USP. As amostras foram solubilizadas nos solventes deuterados CDCl₃ ou CD₃OD (Aldrich). As constantes de acoplamento escalar (*J*) foram expressas em Hertz (Hz).

As análises de espectrometria de massas foram realizadas com o espectrômetro de massas micrOTOF-Q II ESI-TOF (Bruker) acoplado a um CLAE Shimadzu e GCMS-QP 2010 ultra Shimadzu do Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) do Instituto de Química da USP.

As análises por espectroscopia na região do infravermelho foram realizadas no espectrômetro BOMEM-BM100. Os espectros foram obtidos por meio de pastilhas de KBr para amostra sólida, e filme ne nujol para amostra líquida.

3.1.2. Material vegetal

As raízes frescas de *Piper tuberculatum* foram coletadas de espécimes cultivados na casa de vegetação mantida pelo Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) no Instituto de Química da USP.

Os frutos secos de *Piper nigrum* foram adquiridos no Mercado Municipal de São Paulo.

A espécie de *Piper tuberculatum* (K169) foi identificada pela Profa. Dra. Elsie Franklin Guimarães do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

3.1.3. Extração e purificação da pipartina

O material vegetal de *P. tuberculatum* (cerca de 2 Kg de raízes) obtido foi seco em estufa a 60 °C por 48 horas, em seguida moído e extraído a exaustão por 72 horas com diclorometano: metanol (1:1). O extrato foi então filtrado e seco em rota-evaporador sob pressão reduzida. O produto foi recristalizado em uma mistura de AcOEt: MeOH (2:1) e metanol quente até a obtenção do cristal puro.

3.1.4. Extração e purificação da piperina

A piperina foi isolada dos frutos da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). Cerca de 250 g de frutos secos foram adquiridos no mercado local. Os frutos foram moídos e extraídos com 2 L de uma mistura MeOH:AcOEt (2:1). O extrato foi então filtrado e seco em rota-evaporador sob pressão reduzida. O produto foi submetido à cromatografia em coluna e as frações foram recolhidas. A fração contendo a piperina foi recristalizada em metanol quente.

3.1.5. Metodologias sintéticas

3.1.5.1. Hidrogenação catalítica

À uma substância (1eq.) dissolvida em diclorometano ou acetato de etila, foi adicionado 0,1 eq de catalisador Pd-C (10%) (Aldrich). A mistura foi colocada sob agitação em um reator em atmosfera de hidrogênio de 4 a 8 atmosferas durante 4 horas. Os produtos foram purificados por filtração por filtro de seringa (0,45 μ m) (Jones 1973). O esquema dessa reação é descrito no Esquema 3.1.1.

Esquema 3.1.1. Rota de hidrogenação catalíticas dos alkenos.

3.1.5.2. Síntese dos ácidos carboxílicos

3.1.5.2.1. Síntese dos derivados do ácido cinâmico

Para síntese das amidas foram adquiridos alguns ácidos e outros foram sintetizados. Para síntese dos derivados do ácido cinâmico, foi utilizada a reação de Knoevenagel, uma variação da reação de Doebner (Esquema 3.1.2.). Para cada um dos aldeídos o seguinte procedimento foi executado: Em um erlenmeyer foram adicionados 6 mmol do aldeído, 12 mmol de ácido malônico, 2 mL de piridina e 0,02 mL de piperidina, sob o Erlenmeyer foi colocado um funil com um balão de fundo redondo preenchido com gelo seco, que atuou como condensador. Este sistema foi colocado em uma micro-onda caseiro, a potência do aparelho foi ajustada para 50% e o tempo de radiação foi de 5 min com intervalos a cada 30s para que a mistura reacional resfriasse (Paula, Barbosa et al. 2000; Marques 2009).

Esquema 3.1.2. Rota sintética para a obtenção dos ácidos cinâmicos pela reação de Knoevenagel-Doebner

3.1.5.2.2. Síntese dos derivados do ácido piperínico

A um balão bi-tubulado de tamanho adequado, sob atmosfera inerte de N₂ seco, foram adicionados THF anidro e trietil 4-fosfonocrotonato (1 eq.), deixando sob agitação magnética. Em seguida, resfriou-se a mistura reacional a -78°C com banho de acetona e gelo seco e adicionou-se lentamente o n-BuLi (1 eq.). Após 15 minutos foi adicionado lentamente o aldeído (1 eq.) dissolvido em THF anidro (5 mL). Após permanecer sob agitação a -78°C por mais 15 minutos a mistura reacional foi deixada até atingir a temperatura ambiente e, 45 minutos depois, ela foi interrompida com a adição de uma solução de 1% de cloreto de amônio (NH₄Cl). O *work-up* da reação consistiu em extrações com diclorometano e a fase orgânica foi então reunida e seca com sulfato de magnésio (MgSO₄), filtrada e concentrada sob pressão reduzida (Paula, Barbosa *et al.* 2000).

O produto da olefinação bruto mostrou-se com pureza adequada para que a próxima etapa da síntese fosse realizada sem necessidade de purificação. Esse foi então solubilizado em acetona, em balão simples seguido pela adição de uma solução um molar de hidróxido de lítio (em excesso) e deixada sob refluxo por cerca de 2 horas. A mistura reacional foi então seca em um rota-evaporador e ao resíduo foi adicionada uma solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃). A solução resultante foi então lavada 3 vezes com diclorometano. A fração aquosa foi acidificada utilizando-se HCl concentrado até atingir um *pH* de aproximadamente 3, promovendo a precipitação do ácido formado. A solução acidificada foi finalmente extraída com diclorometano por três vezes, as fases orgânicas foram reunidas, seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão. O produto cristalino obtido foi então recristalizado em metanol quente (Paula, Barbosa *et al.* 2000). No Esquema 3.1.3 é apresentada a rota sintética dos derivados dos ácidos piperínicos.

Esquema 3.1.3. Rota sintética dos derivados dos ácidos piperínicos.

3.1.5.3. Síntese de cinamamidas e dienamidas

A uma solução de ácido carboxílico (1eq) em diclorometano anidro, mantido sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionado gota a gota o cloreto de oxalila (5eq). A solução resultante foi agitada a temperatura ambiente durante cinco a seis horas, e o excesso de cloreto de oxalila foi removido sob pressão reduzida para deixar o cloreto de acila como um resíduo laranja. O produto foi então solubilizado em diclorometano, dividido em balões, de acordo com o número de amidas a serem sintetizadas, e em seguida foram adicionadas as aminas de interesse (3eq), recém-destiladas, aos respectivos balões. A reação foi deixada sob agitação por toda a noite até o consumo dos reagentes e foi interrompida pela adição de solução saturada de NH_4Cl . A mistura reacional foi extraída três vezes com éter etílico. A fase orgânica foi reunida e seca com MgSO_4 , depois filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Os produtos então obtidos foram purificados utilizando-se cromatografia em coluna ou cromatografia em camada delgada utilizando-se como eluente uma mistura hexano e acetato de etila (Esquema 3.1.4) (Montalbetti e Falque 2005; Valeur e Bradley 2009).

Esquema 3.1.4. Rota sintética das cinamamidas e dienamidas.

3.1.5.4. Síntese de cinamimidas

Para uma solução de ácido (1eq) em diclorometano anidro, mantido sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionado gota a gota o cloreto de oxalila (5eq). A solução resultante foi agitada a temperatura ambiente durante cinco a seis horas, e o excesso de cloreto de oxalila foi removido sob pressão reduzida. Em outro balão foi adicionado 1eq de amina em THF anidro a 1,2 eq de $n\text{-BuLi}$ a 78°C sob atmosfera de nitrogênio e a mistura agitada por 1 hora. Depois foi adicionada a solução de cloreto de acila anidro (cloreto de acila formado dissolvido em THF anidro). A mistura reacional foi agitada por 1 hora e levada a temperatura ambiente (Figura 4). A mistura foi seca em um rota-evaporador. O produto foi então solubilizado em DCM ou AcOEt e nele foi adicionado uma solução saturada de NH_4Cl . A solução resultante foi então lavada 3 vezes com DCM ou AcOEt . A fase orgânica foi reunida, seca com MgSO_4 , filtrada e concentrada sob

pressão. O produto cristalino obtido foi então recrystalizado em metanol quente ou purificado por cromatografia (Esquema 3.1.5) (Rao, Muthenna *et al.* 2012).

Esquema 3.1.5. Rota sintética das cinamimidas

3.1.5.5. Síntese das amidas derivadas do acoplamento entre o ácido cinâmico e o DCC

Uma solução de ácido carboxílico (1eq) em THF foi adicionada à 0,9 eq de DCC (Esquema 3.1.6). A reação foi mantida a noite toda até o consumo dos reagentes. A mistura foi seca em um rota-evaporador, a fim de se eliminar o solvente. O produto foi então solubilizado em DCM e foi adicionada uma solução saturada de NaHCO₃. A solução resultante foi então lavada 3 vezes com DCM. A fase orgânica foi reunida, seca com MgSO₄, filtrada e concentrada sob pressão. O produto cristalino obtido foi então recrystalizado em metanol quente ou purificado por cromatografia (Valeur e Bradley 2009).

Esquema 3.1.6. Rota sintética das amidas derivadas do acoplamento entre o ácido cinâmico e DCC

3.1.6. Procedimentos experimentais e caracterização das substâncias

Empregando as metodologias descritas nos itens 3.1.3, 3.1.4 e 3.1.5 foram isolados e sintetizados 96 substâncias. Segue uma breve descrição do procedimento experimental e da caracterização de cada uma destas substâncias por RMN de ¹H, RMN ¹³C, EMBR, EMAR e IV.

1) Ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico

O ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico foi adquirido na Sigma-Aldrich.

1a) *E*-1-(3-(3,4,5-Trimetoxifenil)acrilóil)-5,6-dihidropiridin-2(1H)-ona (**Pipltartina**)

A pipltartina foi isolada das raízes de *Piper tuberculatum*.

Aspecto: Sólido branco.

RMN¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 7,68 (d; *J*=15,6 Hz; 1H, H₂) ; 7,43 (d; *J*=15,6 Hz; 1H, H₃); 6,95 (m, 1H, H_{2'}); 6,81 (s, 2H, H₅ e H₉); 6,04 (dt; *J*= 9,9 e 1,8 Hz; 1H; H_{3'}); 4,05 (t; *J*= 6,5 Hz; 2H; H_{5'}); 3,89 (s, 6H; OMe 6 e 8) 3,88 (s; 3H; OMe 7); 2,50 (m; 2H, H_{4'}).

RMN¹³C (75 MHz; CDCl₃): δ 168,70 (C₁); 165,80 (C_{1'}); 153,30 (C₆, C₈); 145,50 (C_{3'}); 143,70 (C₄); 139,90 (C₇); 130,60 (C₃); 125,70 (C_{2'}); 121,00 (C₂); 105,40 (C₅, C₉); 60,89 (OMe 7); 56,11 (OMe 6 e 8); 41,62 (C_{5'}); 24,70 (C_{4'}).

EMBR- *m/z* (%): 317 (M⁺, 90), 289 (20), 274 (32), 221 (100), 205 (20), 190 (32), 177 (17).

EMAR (IES): calculado para C₁₇H₂₀NO₅⁺[M+H]⁺= 318,1336; encontrado= 318,1337.

1b) 1-(3-(3,4,5-Trimetoxifenil)propanoil)piperidin-2-ona

A substância **1b** foi obtida a partir da hidrogenação catalítica da pipltartina (item 3.1.5.1).

Aspecto: Sólido amarelo.

Rendimento: 97%

RMN¹H (200 MHz; CDCl₃): δ 6,46 (s; 2H, H₅, H₉); 3,90 (s; 6H, OMe 6 e 8); 3,80 (s, 3H, OMe 7); 3,72 (m, 2H, H_{5'}); 3,32 (t; *J*= 7,0 Hz; 2H, H₃); 2,92 (t; *J*= 7,0 Hz; 2H, H₂); 2,83 (m, 2H, H_{2'}); 1,80 (m, 4H, H_{3'}, H_{4'}).

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 175,95 (C1); 173,25 (C1'); 152,92 (C6, C8); 136,85 (C4); 136,00 (C7); 105,32 (C5, C9); 60,66 (OMe 7); 55,91 (OMe 6 e 8); 43,89 (C2); 41,16 (C2'); 34,73 (C5'); 31,39 (C3); 22,27 (C4'); 20,11 (C3').

EMBR- m/z (%): 321 (35, M^+), 222 (100), 194 (40), 191 (25), 181 (25), 179 (50).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{NO}_5^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 322,1649$; encontrado= 322,1684.

1c (*E*)-1-(3-(3,4,5-Trimetoxifenil)acrilóil)piperidin-2-ona

A substância **1c** foi sintetizada a partir do acoplamento entre o ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e a δ -valerolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 15%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,63 (d; $J = 15,9$ Hz; 1H; H2); 6,77 (s, 2H, H5); 6,35 (d; $J = 15,9$ Hz, 1H; H3); 3,89 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,88 (s, 3H, OMe 7); 3,33 (t; $J = 6,1$ Hz; 2H, H5'); 2,38 (t; $J = 6,2$ Hz; 2H, H2'); 1,79 (m, 4H, H3', H4').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 173,25 (C1'); 170,77 (C1); 153,38 (C6); 153,37 (C8); 145,44 (C3); 140,10 (C7); 129,86 (C4); 117,64 (C2); 105,28 (C5, C9); 60,94 (OMe7); 56,12 (OMe 6 e 8); 42,25 (C5'); 31,22 (C2'); 22,09 (C3'); 20,61 (C2').

EMBR- m/z (%): 319 (M^+ , 85), 291 (30), 276 (60), 221 (100), 193 (25), 191 (25), 44 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NO}_5^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 320,1492$; encontrado=320,1519.

1d (*E*)-1-(3-(3,4,5-Trimetoxifenil)acrilóil)pirrolidin-2-ona

A substância **1d** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e a 2-pirrolidinona de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 41%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,85 (d; $J=15,6$ Hz; 1H; H2); 7,75 (d; $J=15,6$ Hz; 1H; H3); 6,84 (s, 2H, H5,H9); 3,93 (t; $J= 9,0$ Hz; 2H, H4'); 3,90 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,89 (s, 3H, OMe 7); 2,66 (t; $J= 9,1$ Hz; 2H, H2'); 2,09 (m, 2H, H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 175,62 (C1'); 166,07 (C1); 153,20 (C6, C8); 145,39 (C3); 140,11 (C7); 130,27 (C4); 118,07 (C2); 105,50 (C5, C9); 60,79 (OMe 7); 56,01 (OMe 6 e 8); 45,74 (C4'); 33,84 (C2'); 17,04 (C3').

EMBR- m/z (%): 305 (100); 290 (15); 262 (15); 221 (55); 205 (40); 190 (15); 177 (15).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_5^+[\text{M}+\text{H}]^+= 306,1336$; encontrado=306,1396.

1e 1-((*E*)-3-(3,4,5-Trimetoxifenil)acrilóil)azepan-2-ona

A substância **1e** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 18%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,63 (d; $J= 15,9$ Hz; 1H, H2); 7,32 (d; $J= 15,9$ Hz; 1H; H3); 6,79 (s, 2H, H5, H9); 3,97 (t; $J= 8,0$ Hz; 2H, H6'); 3,89 (s, 6H; OMe 6 e 8), 3,88 (s, 3H; OMe 7); 2,78 (t, $J= 8,0$ Hz; 2H, H2'); 1,80 (m, 6H, H3',H4',H5')

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 178,17 (C1'); 168,84 (C1); 153,31(C6, C8); 143,57 (C3); 139,87 (C7); 130,69 (C4); 121,21 (C2); 105,39 (C5, C9); 60,92 (OMe 7); 56,15 (OMe 6 e 8); 43,87 (C6'); 39,67 (C2'); 29,27 (C5'); 28,68 (C4'); 23,72 (C3').

EMBR- m/z (%): 333 (M^+ , 100), 305 (50), 290 (47), 221 (97), 190 (25), 96 (35).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{NO}_5^+[\text{M}+\text{H}]^+=334,1649$; encontrado= 334,1638 .

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3438, 2940, 1695, 1667, 1614, 1580, 1505, 1466, 1270, 1147, 1125, 1002, 976, 968, 822.

1f) (E)-1-(Piperidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona

A substância **1f** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e piperidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 69%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,56 (d; $J=15,4$ Hz; 1H; H3); 6,79 (d; $J=15,4$ Hz; 1H; H2); 6,74 (s, 2H, H5, H9); 3,90 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,87 (s, 3H; OMe 7); 3,63 (sl; 4H); 1,88 (sl, 2H); 1,66 (sl, 4H).

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,24 (C1); 153,34 (C6, C8); 142,19 (C3); 139,39 (C7); 131,05 (C4); 116,95 (C2); 104,89 (C5, C9); 60,90 (OMe 7); 56,17 (OMe 6 e 8); 46,98 (C1'); 43,34 (C5'); 26,71 (C2'); 25,59 (C4'); 24,60 (C3').

EMBR- m/z (%): 305 (60, M^+); 222 (100); 221 (65); 194 (25); 191 (35); 190 (25); 179 (28); 84 (69).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 306,1700$; encontrado = 306,1738.

1g) (E)-1-(Pirrolidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona

A substância **1g** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e a pirrolidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo

Rendimento: 89%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,62 (d; $J=15,3$ Hz; 1H; H3); 6,75 (s, 2H, H5, H9); 6,62 (d; $J=15,3$ Hz; 1H; H2); 3,89 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,87 (s, 3H, OMe 7); 3,65-3,60 (m, 4H, H1', H4'); 2,01 (m, 2H, H2'); 1,91 (m, 2H, H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 164,52 (C1); 153,25 (C6, C8); 141,64 (C3); 139,40 (C7); 130,80 (C4); 117,98 (C2); 104,95 (C5, C9); 60,82 (OMe 7); 56,07 (OMe 6 e 8); 46,51 (C1'); 45,96 (C4'); 26,02 (C2'); 24,23 (C3').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 292,1543$; encontrado= 292,1539 .

1h) 1-(Pirrolidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propan-1-ona

A substância **1h** foi obtida a partir da hidrogenação catalítica do **1g** (item 3.1.5.1).

Aspecto: Sólido amarelado

Rendimento: 85%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,45 (s, 2H, H5, H9); 3,85 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,82 (s, 3H, OMe 7); 3,47 (t, $J = 6,0$ Hz; 2H, H1'); 3,30 (t, $J = 6,0$ Hz; 2H, H4'); 2,93 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H3); 2,56 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H2) ; 1,87 (m, 4H; H2', H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 170,71 (C1); 153,12 (C6, C8); 137,35 (C7); 136,26 (C4); 105,34 (C5, C9); 60,83 (OMe 7); 56,09 (OMe 6 e 8); 46,62 (C1'); 45,71 (C4'); 36,89 (C2); 31,70 (C1); 26,07 (C2'); 24,38 (C3').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 294,1700$; encontrado= 294,1694.

1i) (*E*)-1-Morfolino-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona

A substância **1i** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e a morfolina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo

Rendimento: 77%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,62 (d; $J= 15,4$ Hz; 1H; H3); 6,74 (s, 2H; H5, H9) 6,72 (d; $J= 15,4$ Hz; 1H; H2); 3,90 (s, 6H, OMe 6 e 8); 3,88 (s, 3H, OMe 7); 3,73 (sl, 8H, H1', H2', H4', H5').

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,47 (C1); 153,36 (C6, C8); 143,26 (C3); 139,67 (C7); 130,61 (C4); 115,67 (C2); 105,00 (C5, C9); 66,80 (C2', C4'); 60,89 (OMe 7), 56,15 (OMe 6 e 8); 45,56 (C1'); 42,36 (C5').

EMBR- m/z (%): 307 (50, M^+); 222 (60); 221 (100); 190 (25).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+=308,1494$; encontrado= 308,1496.

1j) 1-Morfolino-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propan-1-ona

A substância **1j** foi obtida a partir da hidrogenação catalítica do 1i (item 3.1.5.1).

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 90%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,44 (s, 2H, H5, H9); 3,85 (s, 6H: OMe 6 e 8); 3,82 (s, 3H; OMe 7); 3,64 (sl, 4H, H2', H4'); 3,59 (sl, 2H, H1'); 3,40 (sl, 2H, H5'); 2,93 (t, $J=7,5$ Hz; 2H, H3); 2,61 (t, $J= 7,5$ Hz; 2H, H2).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 170,77 (C1); 153,25 (C6, C8); 136,91 (C7); 136,46 (C4); 105,38 (C5, C9); 66,87 (C2'); 66,53 (C4'); 60,85 (OMe 7); 56,13 (OMe 6 e 8); 45,98 (C1'); 41,98 (C5'); 34,99 (C2); 31,86 (C3).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{NO}_5^+[\text{M}+\text{H}]^+= 310,1649$; encontrado= 310,1649.

1k) (E)-N-Pentil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

A substância **1k** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e a pentanamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido branco.

Rendimento: 39%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,54 (d; J = 15,6 Hz; 1H; H3); 6,73 (s, 2H; H5, H9); 6,32 (d; J = 15,6 Hz; 1H; H2); 3,88 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,87 (s, 3H; OMe 7); 3,39 (t, J = 6,7 Hz; 2H, H1'); 1,58 (m, 2H, H2'); 1,35 (m, 4H, H3', H4'); 0,91 (t, J = 7,4 Hz; 3H, H5').

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,72 (C1); 153,36 (C6, C8); 140,73 (C3); 139,50 (C7); 130,45 (C4); 120,15 (C2); 104,88 (C5, C9); 60,91 (OMe 7); 56,10 (OMe 6 e 8); 39,75 (C1'); 29,35 (C2'); 29,08 (C3'); 22,35 (C4'); 13,95 (C5').

EMBR- m/z (%): 307 (M^+ , 95); 236 (45); 222 (100); 221 (85); 191 (35); 190 (30); 181 (55); 179 (25); 126 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 308,1856$; encontrado = 308,1859.

11) (*E*)-*N,N*-Dibutil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

A substância **11** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e a dibutilamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo

Rendimento: 47%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,61 (d; J = 15,2 Hz; 1H; H3); 6,73 (s, 2H; H5, H9); 6,72 (d; J = 15,2 Hz; 1H; H2); 3,89 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,87 (s, 3H; OMe 7); 3,42 (m, 4H, H1); 1,59 (m, 4H; H2a, H2b); 1,36 (m, 4H; H3a, H3b); 0,96 (m, 6H; H4a, H4b).

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,78 (C1); 153,22 (C6, C8); 141,98 (C3); 139,33 (C7); 131,01 (C4); 117,11 (C2); 104,82 (C5, C9); 60,78 (OMe 7); 56,00 (OMe 6 e 8); 47,68 (C1a); 46,49 (C1b); 31,72 (C2a); 29,94 (C2b); 20,14 (C3a); 19,87 (C3b); 13,74 (C4a); 13,62 (C4b).

EMBR- m/z (%): 349 (M^+ , 37); 306 (15); 221 (100); 190 (17); 128 (15).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 350,2326$; encontrado = 350,2334.

1m) (*E*)-*N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

A substância **1m** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 81%

RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): δ 7,57 (d; *J*= 15,5 Hz; 1H; H2); 6,70 (s, 2H; H5, H9); 6,62 (d; *J*= 15,5 Hz; 1H; H3); 4,16 (m, 1H, H1b); 3,88 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,86 (s, 3H, OMe 7), 3,76 (m, 1H, H1a); 2,02-1,82 (m, 8H, H2a, H2b, H6a, H6b), 1,41-1,15 (m, 12H; H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b).

RMN ¹³C (100 MHz; CDCl₃): δ 165,89 (C1); 154,05 (C*) ; 153,35 (C6, C8); 143,08 (C3); 139,88 (C7); 130,18 (C4); 118,64 (C2); 105,02 (C5, C9); 60,90 (OMe 7); 55,99 (OMe 6 e 8); 55,49 (C1b); 49,98 (C1a); 34,87 (C2b); 33,90 (C6b); 32,77 (C2a); 30,86 (C6a); 26,15 (C3b, C5b); 25,37 (C3a); 25,34 (C5a); 24,67 (C4a, C4b).

EMBR-*m/z* (%): 319 (40), 236 (100), 222 (55), 221 (50), 207 (32), 194 (25), 190 (30), 180 (27), 163 (20), 133 (21), 121 (20), 98 (45), 77 (20), 68 (20), 55 (25).

EMAR (IES): calculado para C₂₅H₃₇N₂O₅⁺ [M+H]⁺= 445,2697; encontrado= 445,2725.

IV (KBr, ν_{máx}/cm⁻¹): 3291, 2997, 2931, 2854, 2249, 2118, 1761, 1703, 1650, 1583, 1330, 1129, 1006, 973, 892, 822.

1n) *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propanamida

A substância **1n** foi sintetizada a partir do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico, que em uma primeira etapa foi reduzida por hidrogenação catalítica e o produto foi acoplado com o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 43%

RMN ^1H (500 MHz; CDCl_3): δ 6,44 (s, 2H, H5, H9); 4,08-3,95 (m, 1H, H1b); 3,86 (s, 6H; OMe 6 e 8); 3,84 (s, 3H, OMe 7), 3,67-3,62 (m, 1H, H1a); 2,96 (t, $J=7,5$ Hz; 3H, H3); 2,70 (t, $J=7,5$ Hz; 3H, H2); 1,82-1,70 (m 8H, H2a, H6a, H2b, H6b); 1,38-1,13 (m, 12H, H3a, H4a, H5a, H3b, H4b, H5b).

RMN ^{13}C (125 MHz; CDCl_3): δ 172,19 (C1); 153,84 (C*); 153,21 (C6, C8); 136,58 (C7); 136,40 (C4); 105,33 (C5, C9); 60,80 (OMe 7); 56,02 (OMe 6 e 8); 55,72 (C1a); 49,84 (C1b); 49,09 (C2); 37,41 (C3); 34,89 (C2b); 33,92 (C6b); 32,60 (C2a); 32,10 (C6a); 26,19 (C5b); 25,59 (C5a); 25,42 (C3b); 25,27 (C3a); 24,91 (C4b); 24,66 (C4a).

EMBR- m/z (%): 321 (65), 239 (27), 195 (70), 194 (65), 181 (100), 179 (40), 151 (20), 136 (20), 121 (25), 98 (47), 92 (30), 78 (29), 77 (30), 67 (29), 56 (30), 55 (45), 41 (32).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+=447,2853$; encontrado= 447,2852.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3315, 2930, 2854, 2665, 2118, 1702, 1667, 1655, 1570, 1509, 1451, 1236, 1128, 1010, 891, 826, 786, 732, 641.

1o) (E)-1-(3,4,5-Trimetoxifenil)acrilato de butila

A substância **1o** foi obtida do acoplamento entre o 1-butanol e o cloreto de acila derivado do ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico.

Aspecto: Líquido branco.

Rendimento: 32%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,60 (d; $J=15,9$ Hz; 1H, H3); 6,76 (s, 2H, H5, H9); 6,35 (d; $J=15,9$ Hz; 1H, H2); 4,21 (t, $J=6,6$ Hz; 2H, H1'); 3,89 (s, 6H, OMe 6 e 8); 3,88 (s, 3H, OMe 7); 1,70 (m, 2H, H2'); 1,46 (m, 2H, H3'); 0,97 (t, $J=7,2$ Hz; 3H, H4').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 167,01 (C1); 153,38 (C6, C8); 144,48 (C7); 140,01 (C3); 129,93 (C4); 117,49 (C2); 105,15 (C5, C9); 64,40 (C1'); 60,92 (OMe 7); 56,11 (OMe 6, 8); 30,76 (C2'); 19,17 (C3'); 13,71 (C4').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ONa}^+[\text{M}+\text{Na}]^+ = 317,1150$; encontrado = 317,2000.

2) Ácido cinâmico

O ácido cinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do benzaldeído.

2a) 1-Cinamoilpirrolidin-2-ona

A substância **2a** foi sintetizada a partir do ácido cinâmico e a 2-pirrolidinona de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 40%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,95 (d; $J = 15,9$ Hz; 1H, H2); 7,83 (d; $J = 15,9$ Hz; 1H, H3); 7,63-7,59 (m, 2H, H5, H9); 7,40-7,36 (m, 3H, H6, H7, H8); 3,92 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H4'); 2,65 (t, $J = 9,0$ Hz; 2H, H2'); 2,07 (m, 2H, H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 175,64 (C1'); 166,30 (C1); 145,47 (C3); 134,87 (C4); 130,32 (C6, C8); 128,78 (C5); 128,48 (C8); 119,00 (C2); 45,84 (C4'); 33,96 (C2'); 17,19 (C3').

EMBR- m/z (%): 215 (M^+ , 26); 131 (100); 103 (57); 77 (32).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{NO}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 216,1019$; encontrado = 216,1015.

2b) (E)-3-Fenil-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona

A substância **2b** foi sintetizada a partir do ácido cinâmico e a pirrolidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido marrom

Rendimento: 86%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,70 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H3); 7,55-7,51 (m, 2H; H5, H9); 7,40-7,33 (m, 3H; H6, H7, H8); 6,73 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H2); 3,65-3,57 (m, 4H, H1', H4'); 2,05-1,85 (m, 4H, H2', H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 164,65 (C1); 141,62 (C3); 135,26 (C4); 129,44 (C7); 128,67 (C6, C8); 127,74 (C5, C8); 118,76 (C2); 46,52 (C1'); 45,98 (C4'); 26,06 (C2'); 24,26 (C3').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}^+[\text{M}+\text{H}]^+= 202,1226$; encontrado= 202,1228.

2c) (E)-1-Morfolino-3-fenilprop-2-en-1-ona

A substância **2c** foi sintetizada a partir do ácido cinâmico e a morfolina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 48%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,70 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H3); 7,54-7,50 (m, 2H, H5, H9); 7,40-7,34 (m, 3H, H5, H7, H8); 6,84 (d, $J= 15,3$ Hz, 1H, H2) 3,72 (sl, 8H, H1', H2', H4', H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 165,48 (C1); 143,10 (C3); 135,05 (C4); 129,66 (C7); 128,74 (C6, C8); 127,70 (C5, C9); 116,49 (C2); 66,78 (C2', C4'); 46,17 (C5'); 42,41 (C1').

EMBR- m/z (%): 217 (M^+ , 18); 131 (100); 103 (60); 86 (26); 77 (28).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+=218,1176$; encontrado= 218,1183.

2d) N-Pentilcinamamida

A substância **2d** foi sintetizada a partir do ácido cinâmico e a pentanamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 32%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,62 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H3); 7,50-7,46 (m, 2H, H5, H9); 7,36-7,31 (m, 3H; H6, H7, H8); 6,41 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H2); 5,82 (sl, NH); 3,41-3,34 (m, 2H, H1'); 1,62-1,52 (m, 2H, H2'); 1,36-1,31 (m, 4H, H3', H4'); 0,90 (t, $J=7,5$ Hz; 3H, H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,09 (C1); 140,96 (C3); 135,15 (C4); 129,76 (C7); 128,99 (C6, C8); 127,95 (C5, C9); 121,12 (C2); 40,01 (C1'); 29,60 (C2'); 29,34 (C3'); 22,60 (C4'); 14,20 (C5').

EMBR- m/z (%): 217 (M^+ , 7); 131 (100); 103 (45); 77 (25).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}^+[\text{M}+\text{H}]^+=218,1539$; encontrado: 218,1538.

2e) *N,N*-Dibutilcinamamida

A substância **2e** foi sintetizada a partir do ácido cinâmico e a dibutilamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido amarelo

Rendimento: 33%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,70 (d; $J=15,4$ Hz; 1H, H3) 7,53-7,49 (m, 2H, H5, H9); 7,41-7,32 (m, 3H, H6, H7, H8); 6,84(d; $J=15,4$ Hz; 1H; H2) 3,47-3,35 (m; 4H; H1a, H1b); 1,70-1,51 (m, 4H; H2a, H2b); 1,46-1,26 (m, 4H; H3a, H3b); 1,01-0,91 (m, 6H; H4a, H4b).

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,81 (C1); 141,96 (C3); 135,36 (C4); 129,22 (C7); 128,58 (C6, C8); 127,52 (C5, C9); 117,67 (C2); 47,76 (C1a); 46,50 (C1b); 31,79 (C2a); 29,92 (C2b); 20,14 (C3a); 19,92 (C3b); 13,74 (C4a); 13,68 (C4b).

EMBR- m/z (%): 259 (M^+ , 7); 131 (100); 103 (33).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{NO}^+[\text{M}+\text{H}]^+=260,2009$; encontrado= 260,2022.

2f) (*E*)-1-Cinamoil-1,3-diciclohexilurea

A substância **2f** foi sintetizada a partir do ácido cinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 42%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,68 (d; $J=15,3$ Hz; 1H; H2); 7,51-7,47 (m, 2H; H5, H9); 7,40-7,37 (m, 3H; H6, H7, H8); 6,74 (d; $J=15,3$ Hz; 1H; H3); 4,17-4,03 (m, 1H, H1a); 3,81-3,70 (m, 1H, H1b); 2,00-1,81 (m, 8H, H2a, H2b, H6a, H6b); 1,42-1,06 (m, 12H, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,70 (C1); 154,01 (C*); 143,39 (C3); 134,69 (C4); 130,02 (C7); 128,87 (C6, C8); 127,89 (C5, C9); 119,42 (C2); 56,16 (C1a); 49,86 (C1b); 33,93 (C2b); 32,76 (C6b); 30,93 (C2a, C6a); 26,25 (C3a, C3b); 25,44 (C4b); 25,35 (C4a); 24,91 (C5b); 24,66 (C5a).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{NaO}_2^+ [\text{M}+\text{Na}]^+ = 377,2199$; encontrado = 377,2261.

2g 1,3-Diciclohexil-1-(3-fenilpropanoil)urea

A substância **2g** foi sintetizada a partir do ácido cinâmico, que em uma primeira etapa foi reduzida por hidrogenação catalítica e o produto foi acoplado com o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 50%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,33-7,27 (m, 2H; H5, H9); 7,24-7,18 (m, 3H; H6, H7, H8); 6,52 (sl, NH); 3,97-3,89 (m, 1H, H1a); 3,66-3,58 (m, 1H, H1b); 2,98 (t; $J=7,5$ Hz; 2H, H3); 2,72 (t, $J=7,4$ Hz; 2H, H2); 1,92-1,76 (m, 8H, H2a, H2b, H6a, H6b); 1,38-1,09 (m, 12H, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,38 (C1); 153,80 (C*); 140,76 (C4); 128,50 (C6, C8); 128,47 (C5, C9); 126,25 (C7); 55,65 (C1a); 49,76 (C1b); 37,37 (C2); 33,91 (C3); 32,55 (C2a); 31,63 (C6a); 30,83 (C2b, C6b); 26,18 (C4b); 25,57 (C4a); 25,41 (C3a); 25,25 (C3b); 24,90 (C5a); 24,66 (C5b).

EMAR (IES): calculado para $C_{22}H_{33}N_2O_2^+[M+H]^+ = 357,2537$; encontrado= 357,2531.

3) Ácido 4-metoxicinâmico

O ácido 4-metoxicinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 4-metoxibenzaldeído.

3a) (E)-1-(3-(4-Metoxifenil)acrilil)azepan-2-ona

A substância **3a** foi sintetizada a partir do ácido 4-metoxicinâmico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Líquido avermelhado

Rendimento: 19%

RMN 1H (300 MHz; $CDCl_3$) : δ 7,69 (d; $J = 15,6$ Hz; 1H, H2); 7,51 (dt; $J = 8,7$ e $1,5$ Hz; 2H; H5, H9); 7,31 (d; $J = 15,6$ Hz; 1H, H3); 6,88 (dt; $J = 8,7$ e $1,8$ Hz; 2H, H6, H8); 3,96 (t, $J = 8,9$ Hz; 2H, H6'); 3,83 (s, 3H, OMe 7); 2,75 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H2'); 1,76 (m, 6H, H3', H4', H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; $CDCl_3$): δ 178,16 (C1'); 169,18 (C1); 161,21 (C7); 143,42 (C3); 129,96 (C5, C9); 119,59 (C2); 114,21 (C6, C8); 55,37 (OMe 7); 43,89 (C6'); 39,74 (C2'); 29,34 (C5'); 28,74 (C4'); 23,78 (C3').

EMBR- m/z (%): 273 (M^+ , 15), 161 (100), 133 (35).

EMAR (IES): calculado para $C_{16}H_{19}NNaO_3^+[M+Na]^+ = 296,1257$; encontrado= 296,1237.

IV (filme, $\nu_{\text{máx}}/cm^{-1}$): 3351, 2933, 2858, 1697, 1676, 1619, 1598, 1578, 1462, 1336, 1177, 1151, 989, 969, 785, 681, 571.

3b) (*E*)-*N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(4-metoxifenil)acrilamida

A substância **3b** foi sintetizada a partir do ácido 4-metoxicinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 47%

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 7,63 (d; *J*= 15,3 Hz; 1H; H2); 7,43 (d; *J*=8,7 Hz; 2H; H5, H9); 7,15 (sl, NH); 6,89 (d; *J*= 8,7 Hz; 2H; H6, H8); 6,60 (d; *J*=15,3 Hz; 1H, H3); 4,11 (m, 1H, H1b); 3,84 (s, 3H, OMe 7); 3,74 (m, 1H, H1a); 2,01-1,10 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ¹³C (75 MHz; CDCl₃): δ 167,53 (C1); 161,44 (C7); 154,42 (C*); 143,52 (C3); 129,81 (C5, C9); 127,69 (C4); 117,17 (C2); 114,57 (C6, C8); 56,52 (C1a); 55,59 (OMe7); 50,02 (C1b); 34,07 (C2a); 33,03 (C6a); 31,21 (C2b, C6b); 26,56 (C3a); 25,81 (C3b); 25,71 (C4a); 25,62 (C4b); 25,13 (C5a); 24,90 (C5b).

EMAR (IES): calculado para C₂₃H₃₂N₂NaO₃⁺[M+Na]⁺= 407,2305; encontrado= 407,2346.

3c) *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(4-metoxifenil)propanamida

A substância **3c** foi sintetizada a partir do ácido 4-metoxicinâmico, que em uma primeira etapa foi reduzida por hidrogenação catalítica e o produto foi acoplado ao DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 35%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,13 (d; $J= 8,5$ Hz; 2H, H5, H9); 6,83 (d; $J= 8,5$ Hz; 2H; H6, H8); 3,95-3,88 (m, 1H, H1a); 3,79 (s, 3H, OMe 7); 3,64-3,57 (m, 1H, H1b); 2,92 (t, $J= 7,5$ Hz; 2H, H3); 2,67 (t, $J= 7,5$ Hz; 2H, H2); 1,96-1,59 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,44 (C1); 158,05 (C7); 153,82 (C*); 132,79 (C4); 129,37 (C5, C9); 113,88 (C6, C8); 55,60 (OMe7); 55,19 (C1a); 49,73 (C1b); 37,62 (C2); 33,88 (C3); 32,52 (C2b, C6b); 30,81 (C2a); 30,74 (C6a); 26,17 (C4a, C4b); 25,40 (C3a); 25,24 (C3b); 24,88 (C5a); 24,64 (C5b).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_3^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 387,2642$; encontrado= 387,2682.

3d) (*E*)-1-(4-Metoxifenil)acrilato de butila

A substância **3d** foi obtida do acoplamento entre o 1-butanol e o cloreto de acila derivado do ácido 3-metoxicinâmico.

Aspecto: Líquido amarelado.

Rendimento: 21%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,63 (d; $J= 15,9$ Hz; 1H, H3); 7,48 (dt; $J= 8,4$ e $1,8$ Hz; 2H, H5, H9); 6,90 (dt; $J= 8,7$ e $2,1$ Hz; 2H, H6, H8); 6,31 (d; $J= 15,9$ Hz; 1H, H2); 4,20 (t, $J= 9,0$ Hz; 2H, H1'); 3,83 (s, 3H, OMe7); 1,69 (m, 2H, H2'); 1,42 (m, 2H, H3'); 0,96 (t, $J= 7,6$ Hz; 3H, H4').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 167,40 (C1); 161,28 (C7); 144,15 (C3); 129,64 (C5, C9); 127,18 (C4); 115,75 (C2); 114,26 (C6, C8); 64,22 (OMe7); 55,32 (C1'); 30,79 (C2'); 19,18 (C3'); 13,72 (C4').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{KO}_2^+ [\text{M}+\text{Na}]^+ = 257,1148$; encontrado= 257,1134.

4) Ácido 4-bromocinâmico

O ácido 4-bromocinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 4-bromobenzaldeído.

4a) (E)-1-(3-(4-Bromofenil)acrilil)piperidin-2-ona

A substância **4a** foi sintetizada a partir do ácido 4-bromocinâmico e a valerolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 15%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,62 (d; J = 15,9 Hz; 1H; H2); 7,52 (dt; J = 8,4 e 2,4 Hz; 2H; H6, H8); 7,39 (dt, J = 8,4 e 2,4 Hz; 2H; H5, H9); 6,42 (d; J = 15,9 Hz; 1H, H3); 4,25 (t, J = 6,5 Hz; 2H, H5'); 3,60 (t, J = 6,2 Hz; 2H, H2'); 1,91-1,87 (m, 4H, H3', H4')

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,63 (C1, C1'); 143,49 (C3); 133,24 (C4); 132,13 (C6, C8); 129,42 (C5, C9); 124,56 (C7); 118,62 (C2); 63,77 (C5'); 44,45 (C2'); 29,16 (C4'); 26,13 (C3').

EMBR- m/z (%): 281 (20), 228 (60), 226 (55), 211 (50), 209 (55), 130 (20), 102 (100), 76 (30), 55 (30).

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3439, 2956, 2930, 1902, 1702, 1632, 1587, 1489, 1479, 1404, 1314, 1204, 1171, 1186, 1068, 1010, 989, 822, 772, 716, 492.

4b) (E)-3-(4-Bromofenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona

A substância **4b** foi sintetizada a partir do ácido 4-bromocinâmico e a pirrolidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 81%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,63 (d; J = 15,6 Hz; 1H, H3); 7,51-7,47 (dt; J = 8,4 e 1,8 Hz; 2H; H6, H8); 7,41-7,37 (dt; J = 8,7 e 2,1 Hz; 2H; H5, H9); 6,72 (d; J = 15,6 Hz; 1H, H2); 3,62 (t, J = 6,5 Hz; 2H, H1'); 3,59 (t, J = 6,5 Hz; 2H, H4'); 2,06-1,97 (m, 2H, H2'); 1,95-1,86 (m, 2H, H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 164,35 (C1); 140,34 (C3); 134,26 (C4); 131,94 (C6, C8); 129,24 (C5, C9); 123,58 (C7); 119,50 (C2); 46,59 (C1'); 46,09 (C4'); 26,13 (C2'); 24,32 (C3').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{BrNO}^+[\text{M}+\text{H}]^+=280,0332$; encontrado= 280,0331.

4c) (E)-3-(4-Bromofenil)-1-morfolinoprop-2-en-1-ona

A substância **4c** foi sintetizada a partir do ácido 4-bromocinâmico e a morfolina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo

Rendimento: 94%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,63 (d; $J=15,3$; 1H, H3); 7,60-7,48 (dt; $J=8,4$ e $1,8$ Hz; 2H, H6, H8); 7,40-7,36 (dt; $J=8,4$ e $1,8$ Hz; 2H, H5, H9); 6,84 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H2); 3,72 (sl, 8H, H1', H2', H4', H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 165,16 (C1); 141,80 (C3); 133,98 (C4); 131,97 (C6, C8); 129,12 (C5, C9); 123,79 (C7); 117,15 (C2); 66,77 (C2', C4'); 46,19 (C1'); 42,44 (C4').

EMBR- m/z (%): 297 (21); 295 (M^+ , 21); 211 (70); 209 (72); 126 (27); 102 (100); 86 (52); 56 (34).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{BrNO}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 296,0281$; encontrado= 296,0283.

4d) (E)-3-(4-Bromofenil)-N-pentilacramida

A substância **4d** foi sintetizada a partir do ácido 4-bromocinâmico e a pentanamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 55%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,56 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H3); 7,51-7,45 (dt; $J=8,6$ e $2,0$ Hz; 2H, H6, H8); 7,39-7,32 (dt; $J=8,6$ e $2,0$ Hz; 2H, H5, H9); 6,38 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H2); 5,74 (sl, NH); 3,39 (t; $J=7,1$ Hz; 1H, H1'); 3,36 (t; $J=7,2$ Hz; 1H, H1'); 1,64-1,50 (m; 2H, H2'); 1,40-1,29 (m, 4H, H3', H4'); 0,91 (t; $J=7$ Hz; 3H, H5').

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,45 (C1); 139,51 (C3); 133,81 (C4); 131,98 (C6, C8); 129,11 (C5, C9); 123,66 (C7); 121,45 (C2); 39,79 (C1'); 29,32 (C2'); 29,06 (C3'); 22,34 (C4'); 13,95 (C5').

EMBR- m/z (%): 295 (M^+ , 10); 266 (20); 226 (20); 211 (75); 209 (74); 102 (100).

EMAR (IES): calculado para $C_{14}H_{19}BrNO_3^+[M+H]^+ = 296,0645$; encontrado = 296,0647.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3283, 2953, 2928, 2864, 1652, 1618, 1544, 1485, 1337, 1219, 973, 818.

4e) (E)-3-(4-Bromofenil)-*N,N*-dibutilacrilamida

A substância **4e** foi sintetizada a partir do ácido 4-bromocinâmico e a dibutilamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido branco.

Rendimento: 57%

RMN 1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,54 (dt; $J = 8,7$ e $2,1$ Hz; 2H, H6, H8); 7,48 (dt; $J = 8,4$ e $1,8$ Hz; 2H, H5, H9); 7,43 (d; $J = 16,5$ Hz; 1H, H3); 6,51 (d; $J = 16,5$ Hz; 1H, H2); 3,00-2,95 (m, 4H, H1a, H1b); 1,72-1,61 (m, 4H, H2a, H2b); 1,49-1,38 (m, 4H, H3a, H3b); 0,98 (m, 6H, H4a, H4b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 172,73 (C1); 139,02 (C3); 134,76 (C4); 131,60 (C6, C8); 128,91 (C5, C9); 124,78 (C7); 122,65 (C2); 48,48 (C1a); 47,33 (C1b); 27,88 (C2a, C2b); 19,46 (C3a, C3b); 12,54 (C4a, C4b).

EMBR- m/z (%): 337 (M^+ , 5); 211 (91); 209 (100); 130 (20); 102 (93); 44 (83).

EMAR (IES): calculado para $C_{17}H_{25}BrNO^+[M+H]^+ = 338,1114$; encontrado = 338,1026.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 2962; 2934; 2868; 2812; 1692; 1627; 1428; 817.

4f) (E)-1-(3-(4-Bromofenil)acrilóil)-1,3-diciclohexilurea

A substância **4f** foi sintetizada a partir do ácido 4-bromocinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 85%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,59 (d; $J= 15,6$ Hz; 1H, H3); 7,50 (d; $J= 8,4$ Hz; 2H, H6, H8); 7,32 (d; $J= 8,4$ Hz; 2H, H5, H9); 6,87 (sl, NH); 6,71 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H2); 4,17-4,07 (m, 1H, H1a); 3,81-3,71 (m, 1H, H1b); 2,02-1,15 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,49 (C1); 154,14 (C*); 142,22 (C3); 133,87 (C4); 132,37 (C6, C8); 129,48 (C5, C9); 124,47 (C7); 120,31 (C2); 56,37 (C1a); 50,13 (C1b); 33,03 (C2b, C6b); 31,21 (C2a, C6a); 26,48 (C4a, C4b); 25,66 (C3b); 25,58 (C5b); 24,88 (C3a, C5a).

EMBR- m/z (%): 309 (20), 226 (57), 224 (40), 211 (39), 209 (50), 138 (30), 102 (100), 98 (40), 44 (88).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{NaO}_2^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+= 455,1305$; encontrado= 455,1297.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3272, 2931, 2847, 1901, 1755, 1710, 1646, 1601, 1533, 1485, 1373, 1230, 1070, 988, 818, 680, 619, 575, 489.

5) Ácido 4-clorocinâmico

O ácido 4-clorocinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 4-clorobenzaldeído.

5a) (*E*)-3-(4-Clorofenil)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acrilamida

A substância **5a** foi sintetizada a partir do ácido 4-clorocinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 53%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,60 (d; $J= 15,3$ Hz; 1H, H2); 7,39 (d; $J= 8,7$ Hz; 2H, H5, H9); 7,34 (d; $J= 8,7$ Hz; 2H, H6, H8); 6,91 (sl; NH); 6,69 (d; $J= 15,3$ Hz; 1H, H3); 4,16-4,06 (m, 1H,

H1a); 3,80-3,70 (m, 1H, H1b); 1,95-1,15 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,46 (C1); 154,15 (C*); 142,13 (C3); 136,14 (C7); 133,43 (C4); 129,39 (C5, C9); 129,25 (C6, C8); 120,19 (C2); 55,97 (C1a); 50,14 (C1b); 35,14 (C2a, C6a); 33,02 (C2b); 31,20 (C6b); 26,47 (C4b); 25,67 (C3b, C5b); 25,58 (C4a); 24,91 (C3a, C5a).

EMBR- m/z (%): 263 (32), 182 (57), 180 (65), 167 (35), 165 (100), 139 (27), 137 (40), 102 (60), 100 (40), 98 (35).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{ClNNaO}_2^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 411,1810$; encontrado= 411,1807.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3337, 3036, 2930, 2853, 1683, 1656, 1627, 1526, 1218, 1092, 1015, 892, 816, 672, 652.

5b) 3-(4-Clorofenil)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)propanamida

A substância **5b** foi sintetizada a partir do ácido 4-clorocinâmico, que em uma primeira etapa foi reduzida por hidrogenação catalítica e o produto foi acoplado ao DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 40%

RMN ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,27-7,16 (dd; $J = 8,4$ e $1,8$ Hz; 4H; H5, H6, H8, H9); 4,08-4,01 (m, 1H, H1a); 3,60-3,44 (m, 1H, H1b); 2,90 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H3); 2,64 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H2); 1,87-1,12 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 170,41 (C1); 154,34 (C*); 139,55 (C4); 131,56 (C7); 129,56 (C5, C9); 128,08 (C6, C8); 53,96 (C1a); 50,34 (C1b); 48,28 (C2); 35,96 (C3); 33,35 (C2a); 31,80 (C6a); 30,51 (C2b); 30,25 (C6b); 25,55 (C4a); 25,34 (C4b); 25,15 (C3a); 25,10 (C3b); 24,65 (C5a); 24,59 (C5b).

EMBR- m/z (%): 265 (60), 184 (60), 140 (50), 139 (43), 127 (25), 125 (82), 102 (25), 98 (42), 56 (100), 55 (35).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{ClNNaO}_2^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 413,1966$; encontrado= 413,1970.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$) : 3270, 3047, 2934, 2856, 1713, 1648, 1601, 1537, 1488, 1377, 1245, 1232, 1088, 986, 823, 796, 580, 493.

5c) (E)-1-(4-Clorofenil)acrilato de butila

A substância **5c** foi sintetizada a partir do acoplamento entre o 1-butanol e o cloreto de acila derivado do ácido 4-clorocinâmico.

Aspecto: Líquido amarelo.

Rendimento: 26%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,62 (d, J = 16,0 Hz, 1H, H3); 7,45-7,43 (dt; J = 8,6 e 2,0 Hz; 2H, H5, H9); 7,37-7,32 (dt, J = 8,8 e 2,2 Hz, 2H, H6, H8); 6,41 (d, J = 16,0 Hz, 1H, H2); 4,21 (t, J = 6,2 Hz; 2H, H1'), 1,76-1,62 (m, 2H, H2'); 1,53-1,34 (m, 2H, H3'); 0,96 (t, J = 7,5 Hz; 3H, H4')

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 166,83 (C1); 143,06 (C3); 136,06 (C4); 132,90 (C7); 129,17 (C5, C9); 129,12 (C6, C8); 118,82 (C2); 64,53 (C1'); 30,71 (C2'); 19,16 (C3'); 13,73 (C4').

EMBR- m/z (%): 238 (M^+ , 25), 223 (2), 184 (40), 183 (27), 182 (100), 181 (35), 167 (35), 165 (95), 137 (60), 102 (55), 101 (45), 75 (35).

6) Ácido 4-nitrocinâmico

O ácido 4-nitrocinâmico foi adquirido na Sigma-Aldrich.

6a) (E)-1-(3-(4-Nitrofenil)acrilóil)azepan-2-ona

A substância **6a** foi sintetizada a partir do ácido 4-nitrocinâmico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Solido branco.

Rendimento: 24%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 8,22 (d; $J = 8,7$ Hz; 2H, H6, H8); 7,69 (d; $J = 9,0$ Hz; 2H, H5, H9); 7,66 (d; $J = 15,9$ Hz; 1H, H3); 7,48 (d; $J = 15,9$ Hz; 1H, H2); 3,98 (t, $J = 9,1$ Hz; 2H, H6'); 2,78 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H2'); 1,79 (m, 6H, H3', H4', H5')

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 178,30 (C1'); 168,17 (C1); 149,87 (C7); 141,43 (C3); 139,46 (C4); 128,65 (C5, C9); 126,36 (C2); 124,03 (C6, C8); 43,87 (C6'); 39,49 (C2'); 29,25 (C5'); 28,64 (C4'); 23,71 (C3').

EMBR- m/z (%): 288 (M^+ , 50); 260 (20); 176 (70); 145 (55); 130 (100); 118 (40); 112 (31); 102 (82); 96 (75); 90 (32); 76 (32); 70 (27); 55 (32); 41 (25).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 289,1183$; encontrado = 289,1193.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3440, 2932, 1694, 1673, 1623, 1594, 1515, 1475, 1378, 1343, 1206, 1181, 1155, 1096, 970, 843, 759, 597, 491.

6b (*E*)-*N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(4-nitrofenil)acrilamida

A substância **6b** foi sintetizada a partir do ácido 4-nitrocínâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 52%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 8,24 (d; $J = 9,0$ e 2,4 Hz; 2H, H6, H8); 7,69 (d; $J = 15,3$ Hz; 1H, H2); 7,62 (d; $J = 9,0$ e 2,1 Hz; 2H, H5, H9); 6,84 (d; $J = 15,3$ Hz; 1H, H3); 6,55 (sl, NH); 4,19-4,11 (m, 1H, H1b); 3,82-3,74 (m, 1H, H1a); 1,89-1,19 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 165,16 (C1); 153,66 (C*); 148,28 (C7); 140,92 (C4); 140,23 (C3); 128,41 (C5, C9); 124,19 (C6, C8); 123,61 (C2); 55,73 (C1a); 50,05 (C1b); 34,89 (C2a, C6a); 32,78 (C2b); 31,00 (C6b); 26,16 (C3a); 25,42 (C3b); 25,35 (C4a); 25,30 (C4b); 24,66 (C5a, C5b).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_4^+ : [\text{M}+\text{H}]^+ = 400,2231$; encontrado = 400,2236.

6c) (E)-1-(4-Nitrofenil)acrilato de butila

A substância **6c** foi sintetizada a partir do acoplamento entre o 1-butanol e o cloreto de acila derivado do ácido 4-nitrocinnâmico.

Aspecto: Sólido branco.

Rendimento: 14%

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 8,25 (dt; *J*= 9,0 e 2,4 Hz; 2H, H6, H8); 7,71 (d; *J*= 15,9 Hz; 1H, H3); 7,68 (dt; *J*= 8,7 e 2,1 Hz; 2H, H5, H9); 6,57 (d; *J*= 16,2 Hz; 1H, H2); 4,24 (t, *J*= 6,7 Hz; 2H, H1'); 1,71 (m, 2H, H2'); 1,44 (m, 2H, H3'); 0,97 (t, *J*= 7,5 Hz; 3H).

RMN ¹³C (75 MHz; CDCl₃): δ 166,04 (C1); 148,41 (C7); 141,50 (C3); 140,54 (C4); 128,55 (C5, C9); 124,09 (C2); 122,55 (C6, C8); 64,84 (C1'); 30,63 (C2'); 19,11 (C3'); 13,66 (C4').

EMBR-*m/z* (%): 249 (M⁺, 10), 194 (50), 192 (35), 176 (100), 130 (62), 102 (50), 76 (25), 56 (67), 41 (20).

7) Ácido 4-dimetilaminocinnâmico

O ácido 4-dimetilaminocinnâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 4-dimetilaminobenzaldeído.

7a) (E)-1-(3-(4-(Dimetilamino)fenil)acrilil)azepan-2-ona

A substância **7a** foi sintetizada a partir do ácido 4-dimetilaminocinnâmico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Líquido avermelhado.

Rendimento: 11%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,72 (d; $J= 15,3$ Hz; 1H, H2); 7,47 (dt; $J= 8,7$ e $2,4$ Hz; 2H, H5, H9); 7,26 (d; $J= 15,3$ Hz; 1H, H3); 6,65 (dt; $J= 8,7$ e $2,4$ Hz; 2H, H6, H8); 3,96 (m; 2H, H6'); 3,01 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,75 (m, 2H, H2'); 1,81-1,74 (m, 6H, H3', H4', H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 178,03 (C1); 169,48 (C1'); 151,63 (C7), 144,85 (C3); 130,05 (C5, C9); 123,06 (C4); 116,42 (C2); 111,72 (C6, C8); 43,87 (C6'); 40,12 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 39,81 (C2'); 29,32 (C5'); 28,72 (C4'); 23,75 (C3').

EMBR- m/z (%): 286 (M^+ , 45), 258 (55), 174 (100), 146 (40).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 287,1754$; encontrado=287,1751.

IV (filme, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3108, 2929, 2857, 2809, 1692, 1670, 1589, 1553, 1526, 1445, 1434, 1363, 1336, 1174, 1148, 1096, 1067, 990, 968, 947, 816, 536.

7b (*E*)-*N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilamida

A substância **7b** foi sintetizada a partir do ácido 4-dimetilaminocinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 97%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,64 (d; $J= 15,2$ Hz; 1H, H2); 7,44-7,36 (dt; $J= 9,0$ e $2,8$ Hz; 2H, H5, H9); 6,67 (d; $J= 9,0$ e $3,0$ Hz; 2H, H6, H8); 6,54 (d; $J= 15,2$ Hz; 1H, H3); 4,14- 4,05 (m, 1H, H1a); 3,77- 3,71 (m, 1H, H1b); 3,02 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,09-1,15 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 168,31 (C1); 154,48 (C*); 151,62 (C7); 144,39 (C3); 129,67 (C5, C9); 122,55 (C4); 113,89 (C2); 111,84 (C6, C8); 56,57 (C1a); 49,63 (C1b); 40,14 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 32,83 (C2b, C6b); 30,98 (C2a, C6a); 26,43 (C4a, C4b); 25,53 (C3a); 25,44 (C3b); 24,70 (C5a, C5b).

EMBR- m/z (%): 272 (60), 189 (42), 174 (77), 147 (100), 146 (42), 135 (45), 121 (22), 44 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 398,2802$; encontrado= 398,2802.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3248, 3047, 2932, 2853, 1706, 1640, 1609, 1581, 1544, 1526, 1380, 1362, 1348, 1331, 1262, 1230, 1189, 1165, 989, 814, 702, 635, 543.

8) Ácido 4-metoxicinâmico

O ácido 4-metilcinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 4-metilbenzaldeído.

8a) (E)-N-Ciclohexil-N-(ciclohexilcarbamoil)-3-(p-tolil)acrilamida

A substância **8a** foi sintetizada a partir do ácido 4-metilcinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 91%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,65 (d; J = 15,3 Hz; 1H, H2); 7,38 (d; J = 8,1 Hz; 2H, H5, H9); 7,18 (d; J = 8,1 Hz; 2H, H6, H8); 7,09 (sl, NH); 6,70 (d; J = 15,3 Hz; 1H, H3); 4,16-4,06 (m, 1H, H1a); 3,80-3,72 (m, 1H, H1b); 2,37 (s, 3H, Me 7); 1,99-1,15 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 167,16 (C1); 154,12 (C*); 143,54 (C3); 140,47 (C7); 131,98 (C4); 129,62 (C6, C8); 127,93 (C5, C9); 118,38 (C2); 56,35 (C1a); 49,80 (C1b); 32,81 (C2b, C6b); 30,97 (C2a, C6a); 26,32 (C4a, C4b); 25,47 (C3b); 25,39 (C5b); 24,67 (C3a, C5a); 21,45 (Me 7).

EMBR- m/z (%): 243 (30), 160 (75), 145 (100), 117 (40), 115 (50), 98 (27), 91 (25).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{NaO}_2^+[\text{M}+\text{Na}]^+ = 391,2356$; encontrado= 391,2360.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3326, 3270, 2933, 2851, 1711, 1644, 1626, 1609, 1596, 1573, 1536, 1374, 1245, 1231, 1087, 988, 892, 812, 641.

8b) N-Ciclohexil-N-(ciclohexilcarbamoil)-3-(p-tolil)propanamida

A substância **8b** foi sintetizada a partir da hidrogenação catalítica de **8a**.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 97%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,10 (sl; 4H, H5, H6, H8, H9); 6,56 (sl, NH); 3,95-3,85 (m, 1H, H1a); 3,66-3,56 (m, 1H, H1b); 2,94 (t, $J = 7,2$ Hz; 2H, H3); 2,67 (t, $J = 7,3$ Hz; 2H, H2); 2,32 (s, 3H, Me 7); 1,90-1,09 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,71 (C1); 153,87 (C*); 137,75 (C4); 135,85 (C7); 129,24 (C6, C8); 128,41 (C5, C9); 55,86 (C1a); 49,75 (C1b); 37,67 (C2); 32,60 (C2b, C6b); 31,28 (C3); 30,87 (C2a, C6a); 26,26 (C4a, C4b); 25,50 (C3b); 25,31 (C5b); 24,71 (C3a, C5a); 21,00 (Me 7).

EMBR- m/z (%): 245 (52), 164 (17), 147 (20), 120 (50), 118 (55), 105 (100), 98 (25), 56 (42).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 371,2693$; encontrado = 371,2693.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3324, 3291, 3026, 2940, 2927, 2853, 1708, 1632, 1530, 1517, 1393, 1224, 967, 817, 631, 479.

9) Ácido 3-metoxicinâmico

O ácido 3-metoxicinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 3-metoxibenzaldeído.

9a) (E)-1-(3-(3-Metoxifenil)acrilil)azepan-2-ona

A substância **9a** foi sintetizada a partir do ácido 3-metoxicinâmico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Líquido amarelado.

Rendimento: 42%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,66 (d; $J= 15,6$ Hz; 1H, H3); 7,38 (d, $J= 15,6$ Hz; 1H, H2); 7,29 (t; $J= 7,8$ Hz; 1H, H8); 7,16 (dt; $J= 7,5$ e $1,7$ Hz; 1H, H7); 7,08 (t; $J= 2,1$ Hz; 1H, H5); 6,90 (qd, $J= 8,1$ e $2,7$ Hz; 1H, H9); 3,95 (t, $J= 9,1$ Hz; 2H, H6'); 3,82 (s, 3H, OMe 6); 2,75 (t, $J= 7,5$ Hz; 2H, H2'); 1,76 (m, 6H, H3', H4', H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 177,99 (C1'); 168,76 (C1); 159,69 (C6); 143,04 (C3); 136,41 (C4); 129,59 (C8); 122,21 (C9); 120,81 (C2); 115,76 (C7); 112,93 (C5); 55,16 (OMe 6); 43,70 (C6'); 39,48 (C2'); 29,16 (C4'); 28,56 (C3'); 23,61 (C2').

EMBR- m/z (%): 273 (M^+ , 40), 245 (20), 161 (100), 133 (40), 118 (40), 96 (35), 90 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NNaO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+= 296,1257$; encontrado= 296,1252.

IV (filme, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3351, 3001, 2933, 1697, 1676, 1619, 1598, 1579, 1464, 1349, 1336, 1257, 1177, 1151, 969, 785, 571.

9b) (*E*)-*N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3-metoxifenil)acrilamida

A substância **9b** foi sintetizada a partir do ácido 3-metoxicinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 90%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,64 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H2); 7,30 (t; $J= 8,0$ Hz; 1H, H8); 7,08 (dt; $J=8,1$ e $1,9$ Hz; 1H, H9); 7,00 (t; $J= 2,1$ Hz; 1H, H5); 6,94-6,91 (dq; $J= 6,6$ e $1,8$ Hz; 1H, H7); 6,73 (d; $J= 15,3$ Hz; 1H, H3); 4,17-4,06 (m, 1H, H1a); 3,82 (s, 3H, OMe 6); 3,78-3,73 (m, 1H, H1b); 2,02-1,15 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,29 (C1); 159,82 (C6); 153,98 (C*); 143,17 (C3); 136,02 (C4); 129,84 (C8); 120,56 (C9); 119,65 (C2); 115,81 (C7); 112,83 (C5); 55,82 (C1a); 55,18

(OMe 6); 49,97 (C1b); 32,77 (C2b, C6b); 30,88 (C2a, C6a); 26,22 (C4a, C4b); 25,45 (C3b); 25,36 (C5b); 24,71 (C3a, C5a).

EMBR-*m/z* (%): 259 (25), 178 (27), 176 (75), 162 (35), 161 (100), 133 (35), 119 (35), 98 (70), 90 (20).

EMAR (IES): calculado para $C_{23}H_{32}N_2NaO_3^+$ $[M+Na]^+ = 407,2305$; encontrado= 407,2308.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3325, 3256, 3005, 2930, 2852, 1709, 1648, 1624, 1602, 1579, 1543, 1452, 1379, 1278, 1220, 1159, 1053, 978, 790, 679, 642, 549.

9c *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoyl)-3-(3-metoxifenil)propanamida

A substância **9c** foi sintetizada a partir da hidrogenação catalítica de **9b**.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 96%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,21 (t, $J = 8,5$ Hz; 1H, H8); 6,80-6,75 (m, 3H, H5, H7, H9); 6,48 (sl, NH); 3,95-3,87 (sl, 1H, H1a); 3,79 (s, 3H, OMe 6); 3,66-3,55 (sl, 1H, H1b), 2,96 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H3); 2,69 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H,); 1,88-1,10 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,45; 159,73; 153,83; 142,44; 129,53; 120,81; 114,30; 111,63; 55,76; 55,12; 49,79; 37,35; 32,58 (2C); 31,76; 30,88 (2C); 26,23 (2C); 25,45; 25,30; 24,71 (2C).

EMBR-*m/z* (%): 261 (85), 179 (28), 163 (45), 135 (100), 133 (85), 121 (80), 98 (40), 91 (30), 56 (65).

EMAR (IES): calculado para $C_{23}H_{35}N_2O_3^+$ $[M+H]^+ = 387,2642$; encontrado= 387,2637.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3489, 3436, 3039, 3000, 2940, 2929, 2855, 1679, 1649, 1599, 1546, 1491, 1469, 1453, 1380, 1279, 1240, 1167, 1041, 792, 701, 623, 554.

9d) (E)-1-(3-Metoxifenil)acrilato de butila

A substância **9d** foi sintetizada a partir do acoplamento entre o 1-butanol e o cloreto derivado do ácido 3-metoxicinâmico.

Aspecto: Líquido branco.

Rendimento: 37%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,65 (d; J = 15,9 Hz; 1H, H3); 7,30 (t; J = 7,8 Hz; 1H, H8); 7,12 (d; J = 8,1 Hz; 1H, H9); 7,05 (t; J = 2,1 Hz; 1H, H5); 6,93 (dq; J = 8,4 e 2,7 Hz; 1H, H7); 6,43 (d; J = 16,2 Hz; 1H, H2); 4,21 (t, J = 7,0 Hz; 2H, H1'); 3,83 (s, 3H, OMe 6); 1,70 (m, 2H, H2'); 1,41 (m, 2H, H3'); 0,97 (t, J = 7,5 Hz; 3H, H4')

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 167,02 (C1); 159,86 (C6); 144,43 (C3); 135,81 (C4); 129,83 (C8); 120,74 (C2); 118,56 (C9); 116,09 (C7); 112,83 (C5); 64,44 (OMe 6); 55,27 (C1'); 30,75 (C2'); 19,18 (C3'); 13,73 (C4').

EMBR- m/z (%): 234 (M^+ , 35), 178 (100), 177 (40), 161 (95), 148 (20), 133 (42), 118 (50), 90 (30), 77 (25).

10) Ácido 3-bromocinâmico

O ácido 3-bromocinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 3-bromobenzaldeído.

10a) (E)-1-(3-(3-Bromofenil)acrilil)azepan-2-ona

A substância **10a** foi sintetizada a partir do ácido 3-bromocinâmico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Líquido branco

Rendimento: 12%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,70 (m; 1H, H5); 7,58 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H3); 7,46 (dt; $J=7,8$ e $1,8$ Hz; 2H, H7, H9); 7,37 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H2); 7,23 (t; $J=7,8$ Hz; 1H, H8); 3,96 (t, $J=9,0$ Hz; 2H, H6'); 2,77 (t, $J=7,5$ Hz 2H, H2'); 1,76 (m, 6H, H3', H4', H5')

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 178,16 (C1'); 168,54 (C1); 141,23 (C3); 137,25 (C4); 132,62 (C5); 130,64 (C7); 130,20 (C8); 126,91 (C9); 123,44 (C6); 122,86 (C2); 43,82 (C6'); 39,56 (C2'); 29,26 (C5'); 28,65 (C4'); 23,70 (C3').

EMBR- m/z (%): 323 (18), 321 (M^+ , 18), 211 (40), 209 (37), 112 (28), 102 (100), 96 (45).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrNO}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+=322,0437$; encontrado= 322,0421.

IV (filme, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3369, 3059, 2931, 2857, 1698, 1677, 1619, 1560, 1471, 1382, 1348, 1335, 1207, 1177, 1151, 1097, 1080, 1066, 989, 968, 881, 784, 670, 565.

10b) (*E*)-3-(3-Bromofenil)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acrilamida

A substância **10b** foi sintetizada a partir do ácido 3-bromocinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 93%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,57 (sl, 1H, H5); 7,55 (d; $J=15,9$; 1H, H2); 7,49-7,45 (dt; $J=8,1$ e $1,8$ Hz; 1H, H9); 7,37-7,34 (dt; $J=7,8$ e $1,6$ Hz; 1H, H7); 7,23 (t; $J=7,8$ Hz; 1H, H8); 6,89 (sl, NH), 6,71 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H3); 4,16-4,06 (m, 1H, H1a); 3,84-3,71 (m, 1H, H1b); 2,04-1,17 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 165,76 (C1); 153,81 (C*); 141,46 (C3); 136,76 (C4); 132,74 (C5); 130,50 (C7); 130,33 (C8); 126,42 (C9); 122,97 (C6); 120,80 (C2); 55,88 (C1a); 49,96

(C1b); 32,77 (C2b, C6b); 30,89 (C2a, C6a); 26,17 (C4a, C4b); 25,40 (C3b); 25,30 (C5b); 24,63 (C3a, C5a).

EMBR-*m/z* (%): 309 (20), 307 (22), 228 (32), 226 (40), 211 (55), 209 (60), 138 (25), 102 (100), 98 (60).

EMAR (IES): calculado para $C_{22}H_{30}BrN_2O_2^+$ $[M+H]^+ = 433,1485$; encontrado = 433,1480.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3264, 3048, 2931, 2855, 1708, 1648, 1602, 1563, 1537, 1373, 1229, 1075, 985, 859, 783, 671, 571.

10c (*E*)-1-(3-Bromofenil)acrilato de butila

A substância **10c** foi sintetizada a partir do acoplamento entre o 1-butanol e o cloreto derivado do ácido 3-bromocinâmico.

Aspecto: Líquido branco.

Rendimento: 15%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,66 (t, $J = 1,8$ Hz; 1H, H5); 7,59 (d; $J = 16,2$ Hz; 1H, H2); 7,49 (dq; $J = 8,1$ e $2,1$ e Hz; 1H, H9); 7,43 (d; $J = 7,8$ Hz; 1H, H7); 7,24 (t; $J = 7,8$ Hz; 1H, H8) 6,43 (d; $J = 16,2$ Hz; 1H, H2); 4,21 (t, $J = 7,3$ Hz; 2H, H1'); 1,69 (m, 2H, H2'); 1,43 (m, 2H, H3'); 0,96 (t, $J = 7,5$ Hz; 3H, H4').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,52 (C1); 142,70 (C3); 136,50 (C4); 132,88 (C5); 130,64 (C7); 130,28 (C8); 126,56 (C9); 122,94 (C6); 119,74 (C2); 64,52 (C1'); 30,67 (C2'); 19,13 (C3'); 13,68 (C4').

EMBR-*m/z* (%): 282 (M^+ , 10), 228 (54), 226 (52), 211 (48), 209 (46), 102 (100), 76 (20).

11) Ácido 3-metilcinâmico

O ácido 3-metilcinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 3-metilbenzaldeído.

11a) (*E*)-*N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*m*-tolil)acrilamida

A substância **11a** foi sintetizada a partir do ácido 3-metilcinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 92%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,64 (d; J = 15,6 Hz; 1H, H2); 7,30-7,23 (m; 3H, H5, H8, H9); 7,19-7,17 (d; J = 6,3 Hz; 1H, H7); 7,04 (sl, NH); 6,72 (d; J = 15,6 Hz; 1H, H3); 4,16-4,06 (m, 1H, H1a); 3,86-3,71 (m, 1H, H1b); 2,34 (s, 3H, Me 6); 2,02-1,15 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,69 (C1); 154,04 (C*); 143,49 (C3); 138,46 (C6); 134,63 (C4); 130,82 (C8); 128,71 (C7); 128,61 (C5); 124,99 (C9); 119,21 (C2); 56,05 (C1a); 49,85 (C1b); 32,76 (C2b, C6b); 30,90 (C2a, C6a); 26,24 (C4a, C4b); 25,44 (C3b); 25,35 (C5b); 24,66 (C3a, C5a); 21,28 (Me 6).

EMBR- m/z (%): 243 (30), 160 (42), 147 (30), 147 (100), 117 (55), 98 (40), 91 (25).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{NaO}_2^+[\text{M}+\text{Na}]^+ = 391,2356$; encontrado = 391,2365.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3396, 3266, 2927, 2855, 1709, 1646, 1600, 1536, 1451, 1372, 1346, 1263, 1236, 1225, 984, 859, 785, 681, 573.

11b) *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*m*-tolil)propanamida

A substância **11b** foi sintetizada a partir da hidrogenação catalítica de **11a**.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 98%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,19 (t; J = 7,2 Hz; 1H, H8); 7,05-6,98 (t; J = 8,7 Hz; 3H, H5, H7, H9); 6,47 (sl, NH); 3,96-3,87 (m, 1H, H1a); 3,64-3,57 (m, 1H, H1b); 2,95 (t, J = 7,5 Hz; 2H, H3);

2,67 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H2); 2,33 (s, 3H, Me 6); 1,92-1,05 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b)

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,58 (C1); 153,85 (C*); 140,77 (C4); 138,17 (C6); 129,39 (C5); 128,47 (C8); 127,08 (C7); 125,50 (C9); 55,80 (C1a); 49,78 (C1b); 37,53 (C2); 32,60 (C2b); 31,68 (C6b); 30,89 (C2a, C6a); 26,25 (C4a, C4b); 25,47 (C3b); 25,31 (C5b); 24,72 (C3a, C5a); 21,39 (Me 6).

EMBR- m/z (%): 245 (68), 164 (15), 147 (58), 140 (25), 119 (100), 105 (90), 98 (25), 55 (75)

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 371,2693$; encontrado = 371,2690.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3297, 3028, 2933, 2856, 1708, 1689, 1644, 1611, 1537, 1451, 1391, 1227, 1164, 1083, 893, 786, 700.

12) Ácido 2-metilcinâmico

O ácido 2-metilcinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 2-metilbenzaldeído.

12a) (E)-N-Ciclohexil-N-(ciclohexilcarbamoil)-3-(o-tolil)acrilamida

A substância **12a** foi sintetizada a partir do ácido 2-metilcinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 89%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,97 (d; $J = 15,3$ Hz; 1H, H3); 7,48 (dd; $J = 7,2$ e $2,1$ Hz; 1H, H9); 7,30-7,21 (m, 3H, H6, H7, H8); 7,19 (sl, NH); 6,67 (d; $J = 15,3$ Hz; 1H, H2); 4,14-4,06 (m, 1H, H1a); 3,80-3,70 (m, 1H, H1b); 2,44 (s, 3H, Me 5); 2,06-1,14 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b)

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 167,09 (C1); 154,03 (C*); 141,20 (C3); 137,65 (C4); 133,69 (C5); 130,81 (C7); 129,78 (C6); 126,28 (C8); 126,11 (C9); 120,51 (C2); 56,50 (C1a); 49,81 (C1b); 32,78 (C2b, C6b); 30,95 (C2a, C6a); 26,30 (C4b); 25,45 (C3b, C5b); 25,34 (C4a); 24,66 (C3a, C5a); 19,77 (CH_3).

EMBR- m/z (%): 243 (15), 160 (30), 145 (100), 117 (50), 115 (65), 98 (70), 91 (25).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{NaO}_2^+ [\text{M}+\text{Na}]^+ = 391,2356$; encontrado= 391,2360.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3263, 3053, 2927, 2855, 1709, 1643, 1589, 1543, 1450, 1376, 1347, 1221, 989, 980, 891, 856, 776, 768, 694.

12b) *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*o*-tolil)propanamida

A substância **12b** foi sintetizada a partir da hidrogenação catalítica de **12a**.

Aspecto: Sólido

Rendimento: 98%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,14 (s, 4H, H6, H7, H8, H9); 6,70 (sl, NH); 3,93-3,84 (m, 1H, H1a); 3,67-3,57 (m, 1H, H1b); 2,98 (t, $J = 7$ Hz; 2H, H3); 2,65 (t, $J = 7$ Hz; 2H, H2); 2,33 (s, 3H, Me 5); 1,93-1,14 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,96 (C1); 153,84 (C*); 138,88 (C4); 135,97 (C5); 130,39 (C6); 128,83 (C9); 126,44 (C7); 126,10 (C8); 56,02 (C1a); 49,72 (C1b); 36,12 (C2); 32,61 (C2b, C6b); 30,85 (C2a, C6a); 28,94 (C3); 26,23 (C4a, C4b); 25,43 (C3b); 25,25 (C5b); 24,67 (C3a, C5a); 19,31 (Me 5).

EMBR- m/z (%): 245 (50), 164 (15), 147 (27), 120 (58), 119 (70), 105 (100), 98 (30), 56 (65).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_2^+ [\text{M}+\text{H}]^+ = 371,2693$; encontrado= 371,2700.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3281, 2930, 2855, 1711, 1634, 1541, 1451, 1404, 1341, 1226, 1018, 976, 890, 792, 734, 708.

13) Ácido 3,4-dimetoxicinâmico

O ácido 3,4-dimetoxicinâmico foi adquirido na Sigma Aldrich.

13a) (E)-1-(3-(3,4-Dimetoxifenil)acrilóil)pirrolidin-2-ona

A substância **13a** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-dimetoxicinâmico e a 2-pirrolidinona de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Sólido branco.

Rendimento: 36%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,81-7,80 (sl; 2H, H2, H3); 7,21-7,17 (dd; J = 8,1 e 1,8 Hz; 1H, H8); 7,14 (d; J = 1,8 Hz; 1H, H5); 6,87 (d; J = 8,1 Hz; 1H); 3,95-3,90 (m, 2H, H4'); 3,93 (s, 3H, OMe 6); 3,92 (s, 3H, OMe 7), 2,65 (t, J = 7,5 Hz; 2H, H2'); 2,12-2,02 (m, 2H, H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 175,75 (C1'); 166,48 (C1); 151,28 (C6); 149,17 (C7); 145,64 (C3); 127,99 (C4); 123,19 (C9); 116,73 (C2); 110,99 (C5); 110,08 (C8); 55,99 (OMe 6); 55,93 (OMe 7); 45,94 (C4'); 34,08 (C2'); 17,23 (C3').

EMBR- m/z (%): 275 (M^+ , 55); 191 (100).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+=276,1230$; encontrado= 276,1235.

13b) (E)-3-(3,4-Dimetoxifenil)-1-(piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona

A substância **13b** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-dimetoxicinâmico e a piperidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 25%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,60 (d; $J=15,4$ Hz; 1H, H3); 7,14-7,08 (dd; $J= 8,2$ e $2,0$ Hz; 1H, H8); 7,03 (d; $J= 2,0$ Hz; 1H, H5); 6,86 (d; $J=8,4$ Hz; 1H, H9); 6,76 (d; $J=15,4$ Hz; 1H, H2); 3,93 (s, 3H, OMe 6); 3,91 (s, 3H, OMe 7); 3,64 (sl; 4H, H1', H5'); 1,64 (sl, 6H; H2', H3', H4').

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,38 (C1); 150,20 (C6); 148,91 (C7); 141,99 (C3); 128,32 (C4); 121,48 (C9); 115,30 (C2); 110,92 (C8); 109,71 (C5); 55,78 (OMe 6 e 7); 46,85 (C1'); 43,21 (C5'); 26,60 (C2'); 25,52 (C4'); 24,50 (C3').

EMBR- m/z (%): 275 (M^+ , 55), 192 (35); 191 (100); 161 (20); 84 (42).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 276,1666$; encontrado= 276,1602.

13c) (*E*)-3-(3,4-Dimetoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona

A substância **13c** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-dimetoxicinâmico e a pirrolidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo

Rendimento: 76%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,63 (d; $J= 15,3$ Hz; 1H, H3) ; 7,14-7,11 (dd, $J= 8,4$ e $1,8$ Hz; 1H, H8); 7,04 (d; $J= 1,8$ Hz; 1H, H5), 6,86 (d; $J= 8,1$ Hz; 1H, H9); 6,60 (d; $J= 15,3$ Hz; 1H, H2); 3,91 (s, 3H, OMe 6), 3,90 (s, 3H, OMe 7); 3,66-3,56 (m, 4H, H1', H4'); 2,02-1,85 (m, 4H, H2', H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 164,87 (C1); 150,42 (C6); 149,03 (C7); 141,53 (C3); 128,29 (C4); 121,77 (C9); 116,66 (C2); 111,07 (C8); 109,97 (C5); 55,90 (OMe 6,7); 46,54 (C1'); 45,99 (C4'); 26,10 (C2'); 24,32 (C3').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 262,1438$; encontrado= 262,1432.

13d) 3-(3,4-Dimetoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)propan-1-ona

A substância **13d** foi sintetizada a partir da hidrogenação catalítica de **13c**.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 90%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,81-6,75 (m; 3H, H5, H8, H9); 3,86 (s, 3H, OMe 6); 3,85 (s, 3H, OMe 7); 3,46 (t, J = 6,3 Hz; 2H, H1'); 3,29 (t, J = 6,2 Hz; 2H, H4'); 2,93 (t, J = 7,5 Hz; 2H, H3); 2,54 (t, J = 7,5 Hz; 2H, H2); 1,91-1,82 (m, 4H, H2', H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 170,73 (C1); 148,71 (C6); 147,23 (C7); 134,08 (C4); 120,09 (C9); 111,75 (C5); 111,17 (C8); 55,82 (OMe 6); 55,74 (OMe 7); 46,49 (C1'); 45,55 (C4'); 36,91 (C2); 30,76 (C3); 25,96 (C2'); 24,27 (C3').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NNaO}_3^+[\text{M}+\text{Na}]^+ = 286,1414$; encontrado = 286,1413.

13e (*E*)-3-(3,4-Dimetoxifenil)-1-morfolino-prop-2-en-1-ona

A substância **13e** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-dimetoxicinâmico e a morfolina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo.

Rendimento: 95%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,66 (d; J = 15,4 Hz; 1H, H3); 7,14 (dd; J = 8,4 e 2,0 Hz; 1H, H8); 7,04 (d; J = 2,0 Hz; 1H, H5); 6,87 (d; J = 8,4 Hz; 1H, H9); 6,71 (d; J = 15,4 Hz; 1H, H2); 3,93 (s, 3H, OMe 6); 3,92 (s, 3H, OMe 7); 3,73 (sl, 8H, H1', H2', H4', H5').

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,77 (C1); 150,63 (C6); 149,10 (C7); 143,20 (C3); 128,07 (C4); 121,86 (C9); 114,16 (C2); 111,07 (C8); 109,86 (C5); 66,83 (C2', C4'); 55,91 (OMe 6 e 7); 45,61 (C1'); 42,69 (C5').

EMBR- m/z (%): 277 (M^+ , 32); 192 (23); 191 (100).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 278,1387$; encontrado = 278,1389.

13f 3-(3,4-Dimetoxifenil)-1-morfolinopropan-1-ona

A substância **13f** foi sintetizada a partir da hidrogenação catalítica de **13e**.

Aspecto: Sólido branco

Rendimento: 84%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,81-6,74 (m; J = 8,7 e 1,8 Hz; 3H, H5, H8, H9); 3,87 (s, 3H, OMe 6); 3,86 (s, 3H, OMe 7); 3,63 (s, 4H, H2', H4'); 3,55 (t, J = 7,1 Hz; 2H, H1'); 3,37 (t, J = 7,2 Hz; 2H, H5'); 2,93 (t, J = 7,5 Hz; 2H, H3); 2,60 (t, J = 7,5 Hz; 2H, H2).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 170,96 (C1); 148,92 (C6); 147,50 (C7); 133,67 (C4); 120,19 (C9); 111,86 (C5); 111,34 (C8); 66,85 (C2'); 66,50 (C4'); 55,94 (OMe 6); 55,87 (OMe 7); 45,97 (C1'); 41,94 (C5'); 35,06 (C2); 31,07 (C3).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 280,1543$; encontrado= 280,1541.

13g) (*E*)-3-(3,4-Dimetoxifenil)-*N*-pentilacrilamida

A substância **13g** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-dimetoxicinâmico e a pentilamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo

Rendimento: 87%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,56 (d; J =15,5 Hz; 1H, H3); 7,11-7,06 (dd, J = 8,6 e 1,8 Hz, 1H, H8); 7,02 (d; J = 1,4 Hz, 1H, H5) 6,85 (d; J = 8,2 Hz, 1H, H9); 6,26 (d; J = 15,5 Hz; 1H, H2); 3,91 (s; 6H, OMe 6 e 7); 3,38 (m, 2H, H1'); 1,61-1,54 (m, 2H, H2'), 1,38-1,32 (m, 4H, H3', H4'), 0,91 (t, J = 7,2 Hz; 3H, H5')

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 166,03 (C1); 150,51 (C6); 149,11 (C7); 140,66 (C3); 127,87 (C4); 121,85 (C9); 118,68 (C2); 111,08 (C8); 109,66 (C5); 55,94 (OMe 6); 55,86 (OMe 7); 39,73 (C1'); 29,41 (C2'); 29,10 (C3'); 22,37 (C4'); 13,98 (C5').

EMBR- m/z (%): 277 (M^+ , 43); 206 (35); 192 (40); 191 (100); 151 (45).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 278,1751$; encontrado=278,1758.

13h) (*E*)-*N,N*-Dibutil-3-(3,4-dimetoxifenil)acrilamida

A substância **13h** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metoxicinâmico e a dibutilamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido amarelo.

Rendimento: 95%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,64 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H3); 7,14-7,09 (dd; $J= 8,3$ e 2,0 Hz; 1H, H8); 7,02 (d; $J= 1,8$ Hz; 1H; H5); 6,87 (d; $J= 8,4$ Hz; 1H, H9) 6,70 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H2); 3,91 (s, 6H, OMe 6 e 7); 3,47-3,36 (m; 4H; H1a, H1b); 1,68-1,54 (m, 4H, H2a, H2b); 1,44-1,29 (m, 4H, H3a, H3b); 1,02-0,91 (m, 6H, H4a, H4b).

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 166,02 (C1); 150,21 (C6); 148,91 (C7); 141,88 (C3); 128,42 (C4); 121,28 (C9); 115,60 (C2); 110,99 (C8); 109,99 (C5); 55,77 (OMe 6); 55,72 (OMe 7); 47,68 (C1a); 46,48 (C1b); 31,74 (C2a); 29,96 (C2b); 20,33 (C3a); 19,90 (C3b); 13,73 (C4a); 13,65 (C4b).

EMBR- m/z (%): 319 (M^+ , 20); 191 (100).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 320,2220$; encontrado= 320,2226.

13i) (*E*)-*N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4-dimetoxifenil)acrylamida

A substância **13i** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-dimetoxicinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 74%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,58 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H3); 7,04-7,01 (dd; $J= 8,4$ e 1,8 Hz; 1H, H8); 6,97 (sl, NH); 6,95 (d; $J= 1,8$ Hz; 1H, H5); 6,82 (d; $J= 8,4$ Hz; 1H, H9); 6,59 (d; $J=15,3$ Hz;

1H, H2); 4,18-4,09 (m, 1H, H1a); 3,90 (s, 3H, OMe 6); 3,86 (s, 3H, OMe 7); 3,86-3,74 (m, 1H, H1b); 2,02-1,07 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 166,73 (C1); 154,42 (C*); 151,13 (C6); 149,35 (C7); 143,45 (C3); 127,91 (C4); 122,60 (C9); 117,38 (C2); 111,27 (C8); 109,73 (C5); 56,17 (OMe 6); 55,95 (OMe 7); 50,19 (C1a); 49,33 (C1b); 34,18 (C2b); 33,04 (C6b); 31,15 (C2a, C6b); 26,47 (C4b); 25,85 (C4a); 25,68 (C3b); 25,62 (C3a); 25,17 (C5b); 24,96 (C5a).

EMBR- m/z (%): 289 (35), 206 (100), 191 (90), 164 (25), 151 (30), 98 (40), 91 (22).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_4^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 415,2591$; encontrado= 415,2620.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3239, 3011, 2932, 2854, 2249, 1702, 1644, 1595, 1535, 1512, 1466, 1450, 1379, 1265, 1219, 1161, 1140, 1020, 989, 979, 916, 809, 729.

13j) *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4-dimetoxifenil)propanamida

A substância **13j** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metoxicinâmico, que em uma primeira etapa foi reduzida por hidrogenação catalítica e o produto foi acoplado ao DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 45%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,80 (d; $J = 8,5$ Hz; 1H, H8); 6,75-6,73 (d; $J = 8,5$ e 2 Hz; 2H, H5, H9); 3,95-3,91 (m, 1H, H1a); 3,87 (s, 3H, OMe 6); 3,86 (s, 3H, OMe 7); 3,65-3,58 (m, 1H, H1b); 2,94 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H3); 2,67 (t, $J = 7,5$ Hz; 2H, H2); 1,92-1,11 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,44 (C1); 153,86 (C*); 148,90 (C6); 147,51 (C7); 133,44 (C4); 120,25 (C9); 111,87 (C5); 111,34 (C8); 55,93 (C1a); 55,79 (OMe 6); 55,69 (OMe 7); 49,79 (C1b); 37,67 (C2); 33,92 (C3); 32,59 (C2b); 31,31 (C6b); 30,88 (C2a, C6a); 26,21 (C4b); 25,59 (C4a); 25,43 (C3b); 25,28 (C5b); 24,91 (C3a); 24,67 (C5a).

EMBR- m/z (%): 291 (40), 209 (20), 193 (5), 165 (65), 151 (100), 98 (22), 56 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_4^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 417,2748$; encontrado= 417,2760.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3299, 2932, 2854, 2251, 1702, 1687, 1657, 1641, 1517, 1451, 1451, 1388, 1261, 1234, 1156, 1135, 1029, 892, 806, 731.

14) Ácido 3,4-metilenodioxicinâmico

O ácido 3,4-metilenodioxicinâmico foi adquirido na Sigma Aldrich.

14a) (E)-1-(3-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)acrilil)azepan-2-ona

A substância **14a** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metilenodioxicinâmico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Sólido branco.

Rendimento: 9%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ 7,53 (d; J = 15,6 Hz, 1H, H3); 7,00-6,96 (dd, J = 10,0 e 1,8 Hz, 2H, H5, H9); 6,79 (d, J = 7,8 Hz, 1H, H8); 6,23 (d, J = 15,6 Hz, 1H, H2); 5,99 (s, 2H, OCH_2O); 5,98 (sl, NH); 3,41-3,35 (m, 2H, H6'); 2,33 (t, J =7,5 Hz; 2H, H2'); 1,71-1,55 (m, 4H, H4', H5'); 1,45-1,36 (m, 2H, H3')

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 174,26 (C1'); 166,03 (C1); 148,79 (C6); 148,11 (C7); 140,54 (C3); 129,19 (C4); 123,75 (C9); 118,66 (C2); 108,44 (C8); 106,21 (C5); 101,35 (OCH_2O); 51,50 (C6'); 39,36 (C2'); 33,77 (C5'); 29,21 (C4'); 24,37 (C3').

EMBR- m/z (%): 287 (M^+ ,5), 190 (30), 175 (100), 145 (65), 135 (25), 117 (26), 89 (35).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 288,1230$; encontrado= 288,1192.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3438, 3303, 2945, 2869, 1731, 1657, 1624, 1611, 1539, 1501, 1491, 1440, 1362, 1251, 1180, 1096, 1040, 992, 971, 938, 856, 819, 805, 735, 586.

14b) (E)-3-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona

A substância **14b** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metilenedioxicinâmico e a pirrolidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 94%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,61 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H3); 7,04 (d; $J=1,5$ Hz; 1H, H5); 7,02-6,99 (dd; $J=8,4$ e $1,8$ Hz; 1H, H9); 6,80 (d; $J=8,1$ Hz; 1H, H8); 6,56 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H2); 5,99 (s, 2H, OCH_2O); 3,63-3,56 (m, 4H, H1', H4') 2,04-1,98 (m; 2H, H2'); 1,94-1,87 (m, 2H, H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 164,76 (C1); 148,84 (C6); 148,10 (C7); 141,30 (C3); 129,68 (C4); 123,75 (C9); 116,82 (C2); 108,41 (C8); 106,32 (C5); 101,32 (OCH_2O); 46,47 (C1'); 45,95 (C4'); 26,07 (C2'); 24,28 (C3').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+=246,1125$; encontrado= 246,1130.

14c) (*E*)-3-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-1-morfolinoprop-2-en-1-ona

A substância **14c** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metilenodioxicinâmico e a morfolina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 64%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ 7,62 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H3); 7,03 (d; $J=1,8$ Hz; 1H, H5); 7,02-6,98 (dd; $J=8,4$ e $1,8$ Hz; 1H, H9); 6,81 (d; $J=8,1$ Hz; 1H, H8); 6,67 (d; $J=15,3$ Hz; 1H, H2); 5,99 (s; 2H, OCH_2O); 3,72 (s, 8H, H1', H2', H4', H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 165,63 (C1); 149,06 (C6); 148,20 (C7); 142,94 (C3); 129,48 (C4); 123,84 (C9); 114,37 (C2); 108,48 (C8); 106,26 (C5); 101,41 (OCH_2O); 66,80 (C2', C4'); 46,19 (C1'); 42,49 (C5').

EMBR-*m/z* (%): 261 (M^+ , 57); 176 (32); 175 (100); 145 (76); 117 (35); 89 (45)

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{NO}_4^+[\text{M}+\text{H}]^+=262,1074$; encontrado= 262,1072.

14d (*E*)-3-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-pentilacrilamida

A substância **14d** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metilenodioxicinâmico e a pentilamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido marrom.

Rendimento: 77%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,53 (d; J = 15,6 Hz; 1H, H3); 6,99-6,95 (m; 2H, H5, H9); 6,78 (d, J =7,8 Hz; 1H, H8); 6,23 (d; J =15,6 Hz; 1H, H2); 5,98 (s, 2H, OCH_2O); 5,70 (sl; NH); 3,40-3,34 (m, 2H, H1'); 1,61-1,52 (m, 2H, H2'); 1,36-1,31 (m, 4H, H3', H4'); 0,90 (t; J = 7,5 Hz; 3H, H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 165,96 (C1); 148,91 (C6); 148,15 (C7); 140,45 (C3); 129,28 (C4); 123,71 (C9); 118,85 (C2); 108,46 (C8); 106,27 (C5); 101,36 (OCH_2O); 39,72 (C1'); 29,36 (C2'); 29,07 (C3'); 22,34 (C4'); 13,95 (C5').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 262,1438$; encontrado= 262,1399.

14e (*E*)-3-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N,N*-dibutilacrilamida

A substância **14e** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metilenodioxicinâmico e a dibutilamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo.

Rendimento: 38%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,42 (d; J =15,8 Hz; 1H, H3); 7,03 (d; J =1,6 Hz; 1H, H5); 6,99-6,94 (dd, J = 8,0 e 1,8 Hz; 1H, H9); 6,79 (d; J =8,0 Hz; 1H, H8); 6,32 (d; J =15,8 Hz; 1H, H2); 5,99 (s, 2H, OCH_2O); 2,90 (m, 4H, H1a', H1b'); 1,93-1,77 (m, 4H, H2a', H2b'); 1,50-1,33 (m, 4H, H3a', H3b'); 0,95 (m, 6H, H4a', H4b').

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 172,74 (C1); 148,43 (C6); 147,96 (C7); 140,51 (C3); 129,90 (C4); 123,13 (C9); 122,16 (C2); 108,22 (C8); 106,25 (C5); 101,11 (OCH_2O); 47,37 (C1a, C1b); 27,76 (C2a, C2b); 19,98 (C3a, C3b); 13,38 (C4a, C4b).

EMBR- m/z (%): 303 (M^+ , 15); 175 (100); 145 (50); 117 (30); 89 (26).

EMAR (IES): calculado para $C_{18}H_{26}NO_3^+[M+H]^+ = 304,1907$; encontrado= 304,1850.

14f) (*E*)-3-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acrilamida

A substância **14f** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metilenodioxicinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 60%

RMN 1H (300 MHz; $CDCl_3$): δ 7,57 (d; $J=15,0$ Hz; 1H, H2); 7,13 (sl, NH); 6,97 (dd; $J= 8,5$ e $1,5$ Hz; 1H, H9); 6,95 (d; $J=1,5$ Hz; 1H, H5); 6,80 (d; $J= 8,0$ Hz; 1H, H8); 6,55 (d; $J= 15,0$ Hz; 1H, H3); 6,01 (s, 2H, OCH_2O); 4,13-4,06 (m, 1H, H1a); 3,78-3,73 (m, 1H H1b); 1,99-1,19 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; $CDCl_3$): δ 166,64 (C1); 154,07 (C*); 149,34 (C6); 148,23 (C7); 143,14 (C3); 129,11 (C4); 124,20 (C9); 117,26 (C2); 108,51 (C8); 106,28 (C5); 101,51 (OCH_2O); 55,90 (C1a); 49,92 (C1b); 34,90 (C2b); 33,95 (C6b); 32,78 (C2a); 30,92 (C6a); 26,25 (C4b); 25,61 (C4a); 25,45 (C3b); 25,37 (C5b); 24,93 (C3a); 24,71 (C5a).

EMBR- m/z (%): 273 (35), 257 (25), 241 (25), 190 (90), 175 (55), 145 (75), 118 (60), 98 (72), 89 (100), 63 (35), 44 (50).

EMAR (IES): calculado para $C_{23}H_{31}N_2O_4^+[M+H]^+ = 399,2278$; encontrado= 399,2210.

IV (KBr, $\nu_{\max}/cm^{-1}$): 3256, 3047, 2931, 2855, 2118, 1704, 1646, 1542, 1503, 1491, 1448, 1388, 1344, 1255, 1229, 1042, 989, 936, 810.

14g) 3-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)propanamida

A substância **14g** foi sintetizada a partir do ácido 3,4-metilenodioxicinâmico, que em uma primeira etapa foi reduzida por hidrogenação catalítica e o produto foi acoplado ao DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 50%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,74 (d; $J=7,8$ Hz; 1H, H8); 6,69 (d; $J=1,5$ Hz; 1H, H5); 6,66-6,63 (dd; $J=1,8$ e $7,8$ Hz; 1H, H9); 5,93 (s, 2H, OCH_2O); 3,95-3,86 (m, 1H, H1a); 3,70-3,58 (m, 1H, H1b); 2,90 (t, $J=7,5$ Hz; 2H, H3); 2,65 (t, $J=7,5$ Hz; 2H, H2); 1,95-1,14 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,74 (C1); 154,10 (C*); 147,89 (C6); 146,21 (C7); 134,84 (C4); 121,49 (C9); 109,25 (C5); 108,53 (C8); 101,10 (OCH_2O); 56,08 (C1a); 50,02 (C1b); 37,97 (C2); 32,89 (C2b, C6b); 31,62 (C3); 31,14 (C2a, C6a); 26,50 (C4a, C4b); 25,71 (C3b); 25,54 (C5b); 24,94 (C3b, C5b).

EMBR- m/z (%): 275 (60), 193 (22), 177 (5), 148 (90), 135 (100), 98 (20), 56 (30).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_4^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+=401,2435$; encontrado= 401,2450.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3257, 3060, 2934, 2856, 1697, 1672, 1652, 1548, 1502, 1486, 1451, 1444, 1375, 1243, 1228, 1040, 941, 803.

15) Ácido 2,4,5-trimetoxicinâmico

O ácido 2,4,5-trimetoxicinâmico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 a partir do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído.

15a) (E)-N-Ciclohexil-N-(ciclohexilcarbamoil)-3-(2,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

A substância **15a** foi sintetizada a partir do ácido 2,4,5-trimetoxicinâmico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 96%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,86 (d; $J=15,6$ Hz; 1H, H3); 7,44 (sl, NH); 6,88 (s, 1H, H9); 6,73 (d, $J=15,6$ Hz; 1H, H2); 6,43 (s, 1H, H6); 4,18-4,08 (m, 1H, H1a); 3,91 (s, 3H, OMe 5); 3,84 (s, 3H, OMe 8); 3,82 (s, 3H, OMe 7); 3,80-3,72 (m, 1H, H1b); 2,04-1,15 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 167,76 (C1); 154,39 (C*); 153,84 (C7); 151,69 (C8); 143,01 (C3); 138,63 (C5); 117,46 (C2); 115,27 (C9); 111,37 (C4); 96,78 (C6); 56,26 (C1a); 56,19 (OMe 5); 56,02 (OMe 7); 55,98 (OMe 8); 49,87 (C1b); 32,74 (C2b, C6b); 30,90 (C2a, C6a); 26,35 (C4a, C4b); 25,49 (C3b); 25,42 (C5b); 24,78 (C3a, C5a).

EMBR- m/z (%): 319 (20), 288 (100), 221(30), 206 (85), 191 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+=445,2697$; encontrado= 445,2696.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3252, 3078, 2934, 2855, 1696, 1671, 1643, 1603, 1561, 1516, 1455, 1330, 1213, 1125, 1043, 1023, 993, 983, 881, 878, 762, 706, 541.

15b) *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(2,4,5-trimetoxifenil)propanamida

A substância **15b** foi obtida a partir da hidrogenação catalítica do **15a** (item 3.1.5.1).

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 97%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,73 (s, 1H, H9); 6,52 (s, 1H, H6); 3,88 (s, 3H, OMe 5); 3,84-3,78 (m, 1H, H1a); 3,82 (s, 3H, OMe 7); 3,81 (s, 3H, OMe 8); 3,70-3,61 (m, 1H, H1b); 2,91 (t, $J=7,3$ Hz; 2H, H3); 2,67 (t, $J=7,2$ Hz; 2H, H2); 1,95-1,15 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 174,12 (C1); 153,98 (C*); 151,47 (C5); 148,16 (C7); 142,85 (C8); 120,29 (C4); 114,47 (C9); 97,68 (C6); 56,65 (OMe 7 e 8); 56,27 (OMe 5); 56,14 (C1a);

49,54 (C1b); 36,50 (C2); 32,69 (C2b, C6b); 30,82 (C2a, C6a); 26,45 (C2); 26,38 (C4a, C4b); 25,55 (C3b); 25,29 (C5b); 24,70 (C3a, C5a).

EMBR-*m/z* (%): 321 (60), 239 (10), 195 (40), 181 (100), 151 (20).

EMAR (IES): calculado para $C_{25}H_{37}N_2NaO_5^+[M+Na]^+ = 469,2673$; encontrado = 469,2675.

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3516, 3453, 3327, 3266, 2830, 2591, 2007, 1672, 1628, 1576, 1538, 1514, 1449, 1223, 1207, 1087, 1036, 921, 892, 811, 641.

16) Ácido (2*E*,4*E*)-5-(4-metoxifenil)penta-2,4-dienoico

O ácido (2*E*, 4*E*)-5-(4-metoxifenil)-2,4-pentadienoico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.2 a partir do 4-metoxibenzaldeído.

16a) (2*E*,4*E*)-5-(4-Metoxifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-ona

A substância **16a** foi sintetizada a partir do ácido **16** e a piperidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelado.

Rendimento: 64%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3): δ 7,51-7,29 (m, 1H: H3); 7,38 (d; $J = 8,4$ Hz; 2H: H7, H9); 6,87 (d; $J = 8,3$ Hz; 2H, H8, H10); 6,80-6,70 (m, 2H: H4 e H5); 6,43 (d; $J = 14,5$ Hz; 1H: H2); 3,80 (s, 3H, OMe 9); 3,61 (sl, 2H: H5'); 3,52 (sl, 2H: H1'); 1,61 (sl, 6H: H2', H3', H4').

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 165,3 (C1); 159,8 (C9); 142,6 (C5); 138,0 (C3); 129,1 (C6); 128,2 (C7 e C11); 124,8 (C4); 119,5 (C2); 114,0 (C8, C10); 55,1 (OMe 9); 46,7 (C5'); 43,1 (C1'); 26,5 (C4'); 25,4 (C2'); 24,5 (C3').

EMBR-*m/z* (%): 271 (M^+ , 67); 188 (37); 187 (100); 186 (25); 159 (35); 144 (40); 137 (25); 115 (42); 84 (35).

EMAR (IES): calculado para $C_{17}H_{22}NO_2^+[M+H]^+ = 272,1645$; encontrado = 272,1646.

16b) (2*E*,4*E*)-5-(4-Metoxifenil)-*N*-pentilpenta-2,4-dienamida

A substância **16b** foi sintetizada a partir do ácido **16** e a pentanamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido branco.

Rendimento: 71 %

RMN ¹H (200 MHz; CDCl₃): δ 7,38 (d; *J* = 8,8 Hz; 2H; H7, H9); 7,24-7,50 (m, 1H; H3); 6,83 (d; *J* = 8,8 Hz; 2H; H8, H10); 6,89-6,63 (m, 2H; H4, H5); 5,94 (d; *J* = 14,9 Hz; 1H; H2); 5,91 (sl; NH); 3,80 (s, 3H, OMe 9); 3,34 (m; 2H, H1'); 1,54 (m; 2H, H2'); 1,36-1,25 (m, 4H, H3', H4'); 0,90 (t; *J* = 7 Hz; 3H, H5').

RMN ¹³C (50 MHz; CDCl₃): δ 166,30 (C1); 160,00 (C9); 141,0 (C3); 138,70 (C5); 129,10 (C6); 128,30 (C7, C11); 124,30 (C4); 122,90 (C2); 114,10 (C8, C10); 55,20 (OMe 9); 39,7 (C1'); 29,30 (C2'); 29,10 (C3'); 22,30 (C4'); 13,90 (C5').

EMBR-*m/z* (%): 273 (M⁺, 90); 204 (26); 188 (35); 187 (100); 166 (25); 160 (31); 159 (65); 148 (40); 144 (60); 128 (32); 127 (26); 121 (42); 116 (32); 115 (60); 96 (38).

EMAR (IES): calculado para C₁₇H₂₄NO₂⁺[M+H]⁺ = 274,1802; encontrado = 274,1800.

16c) (2*E*,4*E*)-*N,N*-Dibutil-5-(4-metoxifenil)penta-2,4-dienamida

A substância **16c** foi sintetizada a partir do ácido **16** e a dibutilamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido avermelhado

Rendimento: 52 %

RMN ¹H (200 MHz; CDCl₃): δ 7,43-7,51 (m, 1H; H3); 7,39 (d; *J* = 8,8 Hz; 2H, H7, H9); 6,89-6,63 (m, 2H, H4, H5); 6,87 (d; *J* = 8,8 Hz; 2H; H8, H10); 6,35 (d; *J* = 14,5 Hz; 1H, H2); 3,80 (s, 3H, OMe 9); 3,40 (t; *J* = 6,8 Hz; 2H, H1b); 3,32 (t; *J* = 6,8 Hz; 2H, H1a); 1,64-1,48 (m, 4H, H2a, H2b); 1,36-1,25 (m, 4H, H3a, H3b); 0,96 (t; *J* = 7,5 Hz; 3H, H4a); 0,93 (t; *J* = 7,5 Hz; 3H, H4b).

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 166,11 (C1); 159,91 (C9); 142,6 (C5); 138,20 (C3); 129,09 (C6); 128,20 (C7, C11); 124,89 (C4); 119,67 (C2); 114,00 (C8, C10); 55,10 (OMe 9); 47,78 (C1b); 46,44 (C1a); 31,81 (C2b); 30,0 (C2a); 20,10 (C3b); 20,00 (C3a); 13,80 (C4a); 13,70 (C4b).

EMBR- m/z (%): 315 (M^+ , 26); 187 (100); 144 (27); 128 (27); 115 (27); 44 (35).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{NO}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 316,2271$; encontrado= 316,2258.

17) Ácido (2E,4E)-5-(4-bromofenil)penta-2,4-dienoico

O ácido (2E, 4E)-5-(4-bromofenil)-2,4-pentadienoico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.2 a partir do 4-bromobenzaldeído.

17a) (2E,4E)-5-(4-Bromofenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-ona

A substância **17a** foi sintetizada a partir do ácido **17** e a piperidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelado.

Rendimento: 60%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,46 (dt; $J = 8,4$ e $1,8$ Hz; 2H: H8, H10); 7,44-7,36 (dd; $J = 10,5$ e $9,5$ Hz; 1H, H3); 7,30 (dt; $J = 8,4$ e $1,8$ Hz; 2H, H7, H11); 6,93-6,74 (dd; $J = 10,5$ e $9,5$ Hz, 1H, H4); 6,76 (d; $J = 15,6$ Hz; 1H, H5); 6,50 (d; $J = 14,7$ Hz; 1H, H2); 3,63 (sl, 2H, H1'); 3,54 (sl; 2H, H5'); 1,67-1,56 (m, 3H, H2', H3', H4').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 165,11 (C1); 141,82 (C5); 136,92 (C3); 135,29 (C6); 131,76 (C8, C10); 128,23 (C7, C11); 127,58 (C4); 122,29 (C2); 121,43 (C9); 46,87 (C1'); 43,21 (C5'); 26,65 (C2'); 25,52 (C4'); 24,52 (C3').

EMBR- m/z (%): 319 (25, M^+); 237 (25); 235 (25); 156 (27); 138 (27); 129 (28); 128 (100); 84 (74).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{BrNO}^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 320,0645$; encontrado= 320,0649.

17b) (2*E*,4*E*)-5-(4-Bromofenil)-*N*-pentilpenta-2,4-dienamida

A substância **17b** foi sintetizada a partir do ácido **17** e a pentanamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelado

Rendimento: 70%

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 7,44 (dt; *J* = 8,4 e 1,8 Hz; 2H, H8, H10); 7,40-7,32 (m; Hz; 1H, H5); 7,27 (dt; *J* = 8,4 e 2,1 Hz; 2H, H7, H11); 6,84 (d, *J* = 15,6 Hz; 1H, H3); 6,75 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H, H4); 6,00 (d; *J* = 15,6 Hz; 1H, H2); 5,81 (sl, NH); 3,38-3,31 (m, 2H, H1'); 1,55 (m, 2H, H2'); 1,35-1,30 (m, 4H, H3', H4'); 0,90 (t, *J* = 7,3 Hz; 3H, H5').

RMN ¹³C (75 MHz; CDCl₃): δ 165,84 (C1); 140,28 (C5); 137,51 (C3); 135,19 (C6); 131,83 (C8, C10); 128,30 (C7, C11); 126,99 (C4); 124,67 (C9); 122,49 (C2); 39,70 (C1'); 29,30 (C2'); 29,06 (C3'); 22,33 (C4'); 13,94 (C5').

EMBR-*m/z* (%): 321 (M⁺, 18); 237 (35); 235 (37); 156 (25); 129 (27); 128 (100); 127 (26); 96 (45).

EMAR (IES): calculado para C₁₆H₂₁BrNO⁺: [M+H]⁺ = 322,0801 ; encontrado = 322,0801.

18) Ácido piperínico

O ácido piperínico foi obtido a partir da hidrólise da piperina.

18a) (2*E*,4*E*)-5-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-ona (**piperina**)

A substância **18a** foi isolada dos frutos da *Piper nigrum*.

Aspecto: Sólido amarelo.

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ 7,44-7,36 (m, 1H, H3); 6,97 (d; $J= 1,5$ Hz; 1H; H7); 6,90-6,87 (dd; $J= 8,1$ e $1,8$ Hz; 1H, H11); 6,78 (d; $J= 8,1$ Hz; 1H, H10); 6,75-6,72 (m, 2H, H4, H5); 6,43 (d; $J=14,4$ Hz; 1H, H2); 5,97 (s, 2H, OCH_2O); 3,63-3,48 (m, 4H, H1', H5'); 1,67-1,54 (m, 6H, H2', H3' e H4').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 165,34 (C1); 148,11 (C8); 148,03 (C9); 142,38 (C3); 138,12 (C5); 130,94 (C6); 125,29 (C4); 122,40 (C11); 120,00 (C2); 108,40 (C10); 105,59 (C7); 101,19 (OCH_2O); 46,83 (C1'); 43,17 (C5'); 26,63 (C2'); 25,59 (C4'); 24,59 (C3').

EMBR- m/z (%): 285 (M^+ , 60), 202 (25), 201 (85), 174 (25), 173 (40), 172 (25), 171 (24), 144 (20), 143 (35), 116 (25), 115 (100), 89 (15), 84 (37).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+=286,1438$; encontrado=286,1441.

18b) 5-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-1-(piperidin-1-il)pentan-1-ona

A substância **18b** foi obtida a partir da hidrogenação catalítica do **18a**. (item 3.1.5.1).

Aspecto: Líquido amarelo.

Rendimento: 95%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,70 (d; $J=7,8$ Hz; 1H, H10); 6,66 (d; $J=1,5$ Hz; 1H, H7); 6,63-6,59 (dd; $J= 7,8$ e $1,5$ Hz; 1H, H11); 5,89 (s, 2H, OCH_2O); 3,53 (t, $J= 7,1$ Hz; 2H, H1'); 3,35 (t, $J= 7,2$ Hz; 2H, H5'); 2,55 (t, $J= 7,5$ Hz; 2H, H5); 2,32 (t, $J= 7,5$ Hz; 2H, H2); 1,64-1,61 (m, 6H, H3, H4, H3'); 1,54-1,50 (m, 4H, H2', H4').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 170,97 (C1); 147,27 (C8); 145,27 (C9); 135,94 (C6); 120,86 (C11); 108,62 (C7); 107,81 (C10); 100,47 (OCH_2O); 46,48 (C1'); 42,40 (C5'); 35,23 (C5); 33,03 (C4); 31,24 (C2); 26,33 (C3); 25,38 (C3'); 24,71 (C2'); 24,35 (C4').

EMBR- m/z (%): 289 (M^+ , 35), 204 (27), 148 (20), 140 (30), 135 (25), 127 (100), 112 (60), 87 (27), 84 (37), 70 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+= 290,1751$; encontrado= 290,1768.

18c) (2*E*,4*E*)-5-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-6-yl)-*N*-pentilpenta-2,4-dienamida

A substância **18c** foi sintetizada a partir do ácido **18** e a pentanamina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelado

Rendimento: 55%

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 7,39-7,31 (dd; *J*= 15 e 14,5 Hz; 1H, H3); 6,97 (d; *J*= 1,5 Hz; 1H, H7); 6,90-6,86 (dd; *J*= 8,1 e 1,8 Hz; 1H, H11); 6,79-6,74 (m, 2H, H4, H5); 6,70-6,62 (m, 1H, H10); 5,97 (s, 2H, OCH₂O); 5,91 (d; *J*= 14,8 Hz; 1H, H2); 5,63 (sl; NH); 3,38-3,31 (m; 2H, H1'); 1,59-1,50 (m, 2H, H2'); 1,37-1,30 (m, 4H, H3', H4'); 0,90 (t; *J*= 7,4 Hz; 3H, H5').

RMN ¹³C (75 MHz; CDCl₃): δ 166,07 (C1); 148,11 (C8, C9); 140,79 (C3); 138,68 (C5); 130,81 (C6); 124,62 (C4); 123,22 (C11); 122,49 (C2); 108,40 (C10); 105,63 (C7); 101,22 (OCH₂O); 39,64 (C1'); 29,32 (C2'); 29,05 (C3'); 22,32 (C4'); 13,92 (C5').

EMBR-*m/z*(%): 287 (55, M⁺); 201 (57); 174 (40); 173 (100); 172 (30); 143 (40); 116 (25); 115 (99); 101 (24); 96 (25).

EMAR (IES) : calculado para C₁₇H₂₂NO₃⁺[M+H]⁺= 288,1594; encontrado= 288,1596.

19) Ácido (2*E*,4*E*),5-(3,4,5-trimetoxifenil)penta-2,4-dienoico

O ácido (2*E*, 4*E*)-5-(3,4,5-trimetoxifenil)-2,4-pentadienoico foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.2 a partir do 3,4,5-trimetoxibenzaldeído.

19a) (2*E*,4*E*)-5-(3,4,5-trimetoxifenil)penta-2,4-dienoate de butila

A substância **19a** foi sintetizada a partir do acoplamento entre o 1-butanol e o cloreto derivado do ácido **19**.

Aspecto: Sólido branco.

Rendimento: 25%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,42 (qd; $J= 15,5$ e $8,9$ Hz; 1H, H3); 6,81 (sl, 1H, H5); 6,78 (sl, 1H, H4); 6,69 (s, 2H, H7, H11); 5,99 (d; $J= 15,3$ Hz; 1H, H2); 4,18 (t, $J= 6,8$ Hz; 2H, H1'); 3,90 (s, 6H; OMe 8, 10); 3,87 (s, 3H; OMe 9); 1,72-1,63 (m, 2H, H2'); 1,49-1,39 (m, 2H, H3'); 0,96 (t, $J= 7,4$ Hz; 3H, H4').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 167,11 (C1); 153,37 (C8, C10); 144,30 (C3); 140,21 (C5); 139,10 (C9); 131,62 (C2); 125,64 (C6); 121,03 (C4); 104,26 (C7, C11); 64,22 (C1'); 60,91 (OMe 9); 56,10 (OMe 8, 10); 30,73 (C2'); 19,15 (C3'); 13,70 (C4').

EMBR- m/z (%): 320 (25), 219 (100), 204 (30), 188 (55).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{NaO}^+[\text{M}+\text{Na}]^+= 343,1516$; encontrado= 343,1513

IV (KBr, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3445, 3005, 2960, 2897, 2838, 1703, 1624, 1579, 1506, 1467, 1419, 1357, 1253, 1244, 1142, 998, 850, 744, 724.

20) Cloreto de acetila

O cloreto de acetila foi adquirido na Sigma Aldrich.

20a) 1-Acetalpirrolidin-2-ona

A substância **20a** foi sintetizada a partir do cloreto de acetila e a 2-pirrolidona de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Líquido.

Rendimento: 52%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,81 (t, $J= 6,5$ Hz; 2H, H4'); 2,60 (t, $J= 6,5$ Hz; 2H, H2'); 2,50 (s, 3H, H2), 2,04 (m, 2H, H3').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 175,51 (C1); 171,29 (C1'); 45,25 (C4'); 33,47 (C2'); 24,80 (C2); 17,06 (C3').

EMBR- m/z (%): 127 (M^+ , 60), 85 (32), 70 (20), 57 (40), 55 (23), 44 (100), 42 (25).

20b) 1-Acetilazepan-2-ona

A substância **20b** foi sintetizada a partir do cloreto de acetila e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Líquido.

Rendimento: 49%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,83 (t; J = 6,3 Hz; 2H, H6'); 2,67 (t; J = 6,4 Hz; 2H; H2'); 2,42 (s; 3H, H2); 1,72-1,63 (m; 6H, H3', H4', H5')

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 177,70 (C1); 172,99 (C1'); 42,94 (C6'); 39,62 (C2'); 29,11 (C5'); 28,44 (C4'); 27,37 (C3'); 23,67 (C2).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{NO}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 156,1019$; encontrado= 156,0543.

20c) 1-(Pirrolidin-1-al)etanona

A substância **20c** foi sintetizada a partir do cloreto de acetila e a pirrolidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido.

Rendimento: 52%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,47-3,39 (m; 4H, H1', H4'); 2,04 (s; 3H, H2); 1,99-1,82 (m, 4H, H2', H3')

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 169,17 (C1); 47,34 (C1'); 45,47 (C4'); 26,02 (C2'); 24,51 (C3'); 22,39 (C2).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_6\text{H}_6\text{NO}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 114,0913$; encontrado= 114,0929 .

20d) 1-Morfolinoetanona

A substância **20d** foi sintetizada a partir do cloreto de acetila e a morfolina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido

Rendimento: 69%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,70-3,65 (m; 4H, H2', H4'); 3,61 (t; J = 6,3 Hz; 2H, H1'); 3,46 (t; J = 6,2 Hz; 2H, H4'); 2,09 (s, 3H, H2)

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 169,03 (C1); 66,62 (C2'); 66,38 (C4'); 46,47 (C1'); 41,57 (C5'); 20,93 (C2).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+=130,0863$; encontrado= 130,0848.

20e) N-Pentilacetamida

A substância **20e** foi sintetizada a partir do cloreto de acetila e a pentaminade acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido.

Rendimento: 65%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 5,94 (sl, NH); 3,25-3,19 (m; 2H, H1'); 1,97 (s; 3H, H2); 1,49 (m; 2H, H2'); 1,34-1,29 (m, 4H, H3', H4'); 0,90 (t; J = 7,5 Hz; 3H, H5').

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 170,16 (C1); 39,51 (C1'); 29,07 (C2'); 28,92 (C3'); 23,04 (C2); 22,19 (C4'); 13,80 (C5').

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NO}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+=130,1226$; encontrado= 130,1206.

20f) N,N-Dibutilacetamida

A substância **20f** foi sintetizada a partir do cloreto de acetila e a dibutilaminade acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido.

Rendimento: 42%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,30 (t; $J= 6,5$ Hz; 2H, H1a); 3,21 (t; $J= 6,5$ Hz; 2H, H1b); 2,07 (s; 3H, H2); 1,60-1,45 (m, 4H, H2a, H2b); 1,39-1,24 (m; 4H, H3a, H3b); 0,95 (t; $J= 7,5$ Hz; 3H, H4a); 0,92 (t; $J= 7,5$ Hz; 3H, H4b)

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 169,95 (C1); 48,46 (C1a); 45,36 (C1b); 30,90 (C2a); 29,75 (C2b); 21,36 (C2); 20,11 (C3a); 19,93 (C3b); 13,74 (C4a); 13,66 (C4b).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{NO}^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 172,1696$; encontrado=172,1675.

20g) *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acetamida

A substância **20g** foi sintetizada a partir do ácido acético e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido branco.

Rendimento: 48 %

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,91-3,83 (m, 1H, H1a); 3,72-3,48 (m, 1H, H1b); 2,21 (s, 3H, H2); 1,98 (m, 20H, H2a, H2b, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b, H6a, H6b)

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 171,38 (C1); 154,00 (C*); 56,89 (C1a); 49,65 (C1b); 33,91 (C2b); 32,71 (C6b); 30,80 (C2a, C6a); 26,36 (C4b); 25,60 (C4a); 25,49 (C3b); 25,30 (C5b); 24,93 (C3a); 24,68 (C5a); 24,18 (C2).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_2^+ : [\text{M}+\text{H}]^+ = 267,2067$; encontrado= 267,2087.

21) Ácido hexanoico

O ácido hexanoico foi adquirido na Sigma Aldrich.

21a) 1-Hexanoilazepan-2-ona

A substância **21a** foi sintetizada a partir do ácido hexanoico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Líquido branco.

Rendimento: 19%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,25-3,20 (m; 2H, $\text{H6}'$); 2,47 (t; $J = 7,3$ Hz; 2H, $\text{H2}'$); 2,32 (t; $J = 7,5$ Hz; 2H, H2); 1,77-1,62 (m; 8H, H3 , $\text{H3}'$, $\text{H4}'$, $\text{H5}'$); 1,35-1,30 (m; 4H, H4 , H5); 0,90 (t; $J = 7,4$ Hz; 3H, H6)

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 180,82 ($\text{C1}'$); 178,85 (C1); 42,88 ($\text{C6}'$); 36,36 (C2); 34,22 ($\text{C2}'$); 31,25 ($\text{C5}'$); 30,52 ($\text{C4}'$); 29,32 (C4); 24,50 ($\text{C3}'$); 23,00 (C3); 22,30 (C5); 13,86 (C6).

EMBR- m/z (%): 118 (42), 99 (70), 73 (27), 71 (40), 60 (30), 56 (100), 43 (65), 42 (60), 41 (35)

22) Ácido decanoico

O ácido decanoico foi adquirido na Sigma Aldrich.

22a) 1-Decanoilazepan-2-ona

A substância **22a** foi sintetizada a partir do ácido decanoico e a caprolactama de acordo com o esquema sintético das cinamimidas descrito no item 3.1.5.4.

Aspecto: Líquido branco.

Rendimento: 42%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 4,16- 4,09 (m, 2H, $\text{H6}'$); 2,28 (t; $J = 7,5$ Hz; 2H, $\text{H2}'$); 1,67- 1,59 (m; 2H, H2); 1,28-1,23 (m, 20H, H3 , H4 , H5 , H6 , H7 , H8 , H9 , $\text{H3}'$, $\text{H4}'$, $\text{H5}'$); 0,88 (t; $J = 7,2$ Hz; 3H, H10).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 173,83 (C1, C1'); 60,07 (C6'); 34,35 (C2); 31,82 (C2'); 29,38 (C5', C8); 29,23 (C4', C7); 29,22 (C6, C5); 29,11 (C4); 24,95 (C3); 22,62 (C3'); 14,21 (C9); 14,04 (C10).

EMBR- m/z (%): 113 (40), 85 (70), 84 (35), 58 (20), 56 (93), 55 (100), 42 (55), 39 (27).

22b) 1-(Pirrolidin-1-il)decan-1-ona

A substância **22b** foi sintetizada a partir do ácido decanoico e a pirrolidina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido amarelo.

Rendimento: 44%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,46 (t; $J= 6,3$ Hz; 2H, H1'); 3,41 (t; $J= 6,4$ Hz; 2H, H4'); 2,25 (t; $J= 7,5$ Hz; 2H, H2); 2,00-1,80 (m, 4H, H2', H3'); 1,70-1,60 (m; 2H, H3); 1,30-1,27 (m, 12H, H4, H5, H6, H7, H8, H9); 0,88 (t; $J= 7,2$ Hz; 3H, H10).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 171,87 (C1); 46,59 (C1'); 45,53 (C4'); 34,84 (C2); 31,84 (C3); 29,51 (C8); 29,45 (C6, C7); 29,25 (C5); 26,10 (C4); 24,93 (C2'); 24,38 (C3'); 22,62 (C9); 14,06 (C10).

EMBR- m/z (%): 225 (M^+ , 2); 224 (15); 147 (35); 126 (22); 113 (65); 98 (55); 70 (35); 62 (53); 44 (100); 43 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{NO}^+[\text{M}+\text{H}]^+=226,2165$; encontrado= 226,2169.

22c) 1-Morfolinodecan-1-ona

A substância **22c** foi sintetizada a partir do ácido decanoico e a morfolina de acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido amarelo.

Rendimento: 88%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,66 (m, 4H, H_2' , H_4'); 3,62 (m, 2H, H_1'); 3,46 (t, $J=7,5$ Hz; 2H, H_5'); 2,30 (t, $J=7,5$ Hz; 2H, H_2); 1,62 (m, 2H, H_3); 1,30-1,26 (m, 12H, H_4 , H_5 , H_6 , H_7 , H_8 , H_9); 0,87 (t; $J=7,3$ Hz; 3H, H_{10}).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3) δ 171,90 (C_1); 66,96 (C_2'); 66,68 (C_4'); 46,05 (C_1'); 41,85 (C_5'); 33,13 (C_2); 31,85 (C_3); 29,46 (C_8); 29,45 (C_7); 29,41 (C_6); 29,25 (C_5); 25,26 (C_4); 22,64 (C_9); 14,08 (C_{10}).

EMBR- m/z (%): 241 (5, M^+); 142 (30); 129 (100); 114 (35); 88 (28); 87 (50); 86 (62); 57 (55); 56 (20); 55 (19); 43 (25).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{NO}_2^+[\text{M}+\text{H}]^+=242,2115$; encontrado= 242,2119 .

22d) *N*-pentildecanamide

A substância **22d** foi sintetizada a partir do ácido decanoico e a pentanamida acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Sólido amarelo.

Rendimento: 77%

RMN ^1H (200 MHz; CDCl_3) δ 5,38 (sl, NH); 3,29-3,19 (m, 2H, H_1'); 2,15 (t, $J=7,5$ Hz; 2H, H_2); 1,66-1,43 (m; 4H, H_3 , H_2'); 1,36-1,26 (m, 16H, H_4 , H_5 , H_6 , H_7 , H_8 , H_9 , H_3' , H_4'); 0,93-0,84 (m, 6H, H_{10} , H_5').

RMN ^{13}C (50 MHz; CDCl_3): δ 172,90 (C_1); 39,29 (C_1'); 36,78 (C_2); 31,68 (C_8); 29,28 (C_2'); 29,19 (C_7); 29,13 (C_5); 29,08 (C_4); 28,89 (C_3'); 25,67 (C_3); 22,48 (C_4'); 22,18 (C_9); 13,91 (C_5'); 13,80 (C_{10}).

EMBR- m/z (%): 241 (5, M^+); 212 (20); 143 (45); 129 (96); 114 (100); 100 (25); 87 (60); 86 (70); 73 (80); 72 (60); 58 (25); 57 (30); 56 (33); 44 (51); 43 (92); 41 (40).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{32}\text{NO}^+[\text{M}+\text{H}]^+=242,2478$; encontrado= 242,2496 .

22e) *N,N*-Dibutildecanamida

A substância **22e** foi sintetizada a partir do ácido decanoico e a dibutilaminade acordo com o esquema sintético das cinamamidas descrito no item 3.1.5.3.

Aspecto: Líquido amarelo.

Rendimento: 82%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): 3,30 (t; $J= 6,5$ Hz; 2H, H1a); 3,21 (t; $J= 6,5$ Hz; 2H, H1b); 2,28 (t; $J= 7,5$ Hz; 2H, H2); 1,68-1,59 (m, 2H, H3); 1,57-1,45 (m; 4H, H2a, H2b); 1,37-1,26 (m, 16H, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H3a, H3b); 0,98-0,86 (m; 9H, H10, H4a, H4b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 172,69 (C1); 47,73 (C1a); 45,59 (C1b); 33,17 (C2); 31,87 (C3); 31,28 (C8); 29,94 (C2a); 29,52 (C2b); 29,48 (C7, C6); 29,28 (C5); 25,54 (C4); 22,65 (C9); 20,26 (C3a); 20,10 (C3b); 14,08 (C10); 13,89 (C4a); 13,82 (C4b).

EMBR- m/z (%): 283 (M^+ , 15); 156 (50); 128 (25); 100 (20); 86 (100); 57 (35); 44 (80); 41 (20).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{38}\text{NO}^+:[\text{M}+\text{H}]^+=284,2951$; encontrado= 284,2924.

22f) *N*-Ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)decanamida

A substância **22f** foi sintetizada a partir do ácido decanoico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 68%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,12 (sl, NH); 3,93-3,85 (m; 1H, H1a); 3,73-3,64 (m; 1H, H1b); 2,40 (t; $J= 7,4$ Hz; 2H, H2); 1,98-1,62 (m; 10H, H3, H2a, H2b, H6a, H6b); 1,44-1,08 (m; 24H, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H3a, H3b, H4a, H4b, H5a, H5b); 0,88 (t; 3H, H10).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 174,14 (C1); 154,10 (C*); 56,18 (C1a); 49,64 (C1b); 35,95 (C2); 33,91 (C2b); 32,75 (C6b); 31,83 (C8); 30,89 (C2a, C6a); 29,40 (C7); 29,37 (C6); 29,25 (C5); 26,38 (C4, C3); 25,60 (C4b); 25,49 (C4a); 25,46 (C3b); 25,31 (C5b); 24,91 (C3a); 24,69 (C5a); 22,64 (C9); 14,07 (C10).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{NaO}_2^+:[\text{M}+\text{Na}]^+=401,3138$; encontrado= 401,3191.

23a) 1,3-Diciclohexilurea

A substância 23a é um produto obtido na reação entre o ácido sinapínico e o DCC de acordo com o esquema sintético descrito no item 3.1.5.5.

Aspecto: Sólido.

Rendimento: 94%

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 4,08 (sl; NH-a); 4,05 (sl; NH-b); 3,51-3,46 (m; 2H, H1a, H1b); 1,96-1,91 (m; 4H, H2b, H6b); 1,72-1,57 (m; 6H, H2a, H6a, H4a); 1,42- 1,04 (m; 10H, H4b, H3a, H3b, H5a, H5b).

RMN ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): δ 156,71 (C1); 49,16 (C1a, C1b); 33,96 (C2a, C2b, C6a, C6b); 25,61 (C4a, C4b); 24,94 (C3a, C3b, C5a, C5b).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{NO}_2$: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 225,1961$; encontrado= 225,1963.

3.2. Ensaios biológicos

3.2.1. Citotoxicidade contra células leucêmicas

Os ensaios de atividade antitumoral foram realizados no Centro Integrado de Pesquisas Oncohematológicas da Infância (CIPOI) da Universidade de Campinas através da colaboração com o farmacêutico Gilberto Carlos Franchi Junior. As substâncias foram testadas contra três linhagens de células leucêmicas *in vitro* (Tabela 3.2.1).

Tabela 3.2.1.: Linhagens de células leucêmicas testadas.

	Linhagem de célula
K562 (Koeffler and Golde 1980)	Leucemia mieloide
Nalm6 (Hurwitz, Hozier et al. 1979)	Leucemia linfoblástica aguda B
Raji (Pulvertaft 1964)	Linfoma de Burkitt

3.2.1.1. Manutenções da cultura celular

As células K562, Nalm6 e Raji foram mantidas, como estoque, em nitrogênio líquido. As células foram descongeladas e dispostas (106 células/ml) em garrafas de cultura de 75 cm^2 ,

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.

3.2.1.2. Teste de citotoxicidade

Usando o equipamento “ePMotion® 5070 Eppendorf” as células foram distribuídas em placas de 96 poços e após 12 horas foram distribuídas, também automaticamente, as concentrações das respectivas drogas testadas. As placas foram mantidas em estufa de cultura com CO₂ por 48 horas.

A determinação da citotoxicidade das substâncias foi feita usando os testes colorimétricos como MTT [Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] (Figura 3.2.1). O ensaio de MTT 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 redução do sal solúvel tetrazólio (MTT) (Sigma M2128), de coloração amarela, pelo succinato desidrogenase de células viáveis resultando em um produto chamado de formazana, um precipitado insolúvel purpura, liberado no meio de cultura. A sua densidade é diretamente proporcional ao número de células presentes ou no caso de testes de citotoxicidade células viáveis.

Para leitura do MTT, 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 retirou-se o MTT, e colocou-se 150µL do solvente álcoolisopropílico 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 570 nm. Os testes foram realizados em triplicata para cada concentração de droga (100; 10; 1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 µM) e em seguida normalizados conforme a fórmula: $100 - (\text{Absorbância das Células das amostras} - \text{Absorbância do branco}) \times 100 / \text{Absorbância de Células Controle Positivo} - \text{Absorbância do Branco}$, resultado foi expresso em porcentagem de células viáveis por concentração de droga testa e assim cada concentração foi plotada no software OriginLab8

(OriginLab Corporation OneRoundhouse Plaza, Suite 303 Northampton, MA 01060 USA) e calculado o IC_{50} segundo o tutorial fornecido pela OriginLab. O valor de IC_{50} foi determinado considerando os 50% da atividade em relação a célula de controle. Neste ensaio foi utilizado como controle positivo o princípio ativo Doxorubicina (Mosmann 1983; Birch 1989).

Figura 3.2.1: Uma placa de microtitulação após um ensaio de MTT.

3.2.2. Atividade Leishmanicida

Os ensaios de atividade Leishmanicida foram realizados no Laboratório de Leishmaniose do Núcleo de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília com a colaboração da Profa Selma Kückelhaus.

3.2.2.1. Obtenção de *Leishmania amazonensis*

Formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (MHOM/BR/ph8), foram obtidas do Laboratório de Leishmaniose do Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. Estas foram mantidas congeladas em nitrogênio líquido até serem transferidas para o meio NNN-LIT e cultivadas a 24°C por 48h. Depois disso uma alíquota foi adicionada ao meio RPMI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino

inativado (Sigma - Aldrich, St. Louis, USA) e gentamicina (40 mg/mL) (Schering Plough, São Paulo, Brasil), as quais foram cultivadas até a fase Log de crescimento (de Souza Pietra, Rodrigues *et al.* 2013).

3.2.2.2. Ensaio microbicida com uso de MTT

Para avaliar o efeito microbicida, cultivos das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (10^6 / poços) foram tratados com diferentes concentrações de piplartina (**1a**) e análogos: **1b**, **1f**, **1i**, **1k**, **1l**, **1n**, **3c**, **4d**, **4e**, **13e**, **13g**, **13h**, **13i**, **13j**, **14e**, **14f**, **22d** (0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 $\mu\text{g/mL}$). As amostras foram submetidas à diluição seriada em meio RPMI completo (Sigma - Aldrich, St. Louis, USA), incubadas a 26°C por 2h em placa de 96 poços.

Em seguida, foram adicionados 10 μL da solução de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (Sigma - Aldrich, St. Louis, USA) (5mg/mL) aos cultivos e, decorridas 4 h de incubação ao abrigo da luz, adicionados 50 μL de SDS a 10% para a leitura em espectrofotômetro a 570 nm (de Souza Pietra, Rodrigues *et al.* 2013).

3.3. Relação Estrutura-Atividade

Para o estudo da relação estrutura-atividade duas abordagens foram feitas:

- Numa primeira etapa as substâncias com valores do $\text{IC}_{50} > 100$ foram consideradas inativas e as com $\text{IC}_{50} < 100$ como ativas e com isso foram gerados modelos qualitativos a partir das suas citotoxicidades contra as 3 linhagens de células leucêmicas para predição de compostos ativos e inativos.
- Depois as substâncias com valores de $\text{IC}_{50} < 100$ foram utilizadas para gerar modelos de relação quantitativa entre a estrutura química e atividade biológica (QSAR).

3.3.1. Obtenção de estruturas 3D e codificação das substâncias.

As estruturas tridimensionais das substâncias, em suas formas neutras, foram construídas empregando-se o programa Spartan versão 10 com a finalidade de encontrar representações apropriadas da estrutura molecular dos compostos (Hansch 1990). A seguir, utilizando o mesmo programa computacional, foi realizado a busca conformacional por mecânica molecular a partir de *Merck Molecular Force Field* (MMFF) (Halgren 1996), seguida da otimização da

energia por semi-empírico a partir do *Austin Model 1* (AM1) (Dewar, Zoebisch *et al.* 1985). Os confôrmeros com a menor energia foram selecionados.

3.3.2. Relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR)

3.3.2.1. Cálculo dos descritores

O confôrmero com a menor energia de cada molécula foi armazenada como arquivo em formato SDF (*Simple Data Format*). Os arquivos sdf foram importados para o programa VolSurf+. A partir deste programa, 128 descritores (Tabela 3.3.1) foram gerados a partir das interações de campos moleculares (MIFs, do inglês *Molecular Interaction Fields*) com sondas químicas e outros descritores. As sondas usadas foram: DRY (sonda das regiões hidrofóbicas), DDRY (sonda da diferença entre os volumes das regiões hidrofóbicas), O (sonda do oxigênio da carbonila referente às regiões aceitadoras de ligações de hidrogênios com o oxigênio), N1 (sonda do nitrogênio das amidas referente às regiões aceitadoras de ligações de hidrogênios com o nitrogênio) e OH2 (sonda das regiões hidrofílicas) (Cruciani, Crivori *et al.* 2000; Cruciani, Pastor *et al.* 2000; Kastenholz, Pastor *et al.* 2000) e 64 descritores derivados de métodos independentes de MIF. A grade virtual foi ajustada na resolução de 0,5 Å de arestas em células cúbicas com as sondas anteriormente.

Tabela 3.3.1. Descrição dos 128 descritores moleculares gerado pelo Volsurf (adaptado de Fernandes 2012).

Número	Descritor	Descrição	Sonda
1	V	Volume molecular	OH2
2	S	Superfície molecular	OH2
3	R	Razão volume/superfície	OH2
4	G	Globularidade molecular	OH2
5-12	W1-W8	Regiões hidrofílicas	OH2, O e N1
13-20	D1-D8	Regiões hidrofóbicas	DRY
21-26	WO1-WO6	Volumes de doadores de ligação de hidrogênio	O
27-32	WN1-WN6	Volumes de aceitadores de ligação de hidrogênio	N1
33-36	Iw1-Iw4	Momentos de energia de interação	OH2
37-44	Cw1-Cw8	Fatores de capacidade	OH2
45-48	ID1-ID4	Momentos de energia de interação hidrofóbica	DRY
49-56	CD1-CD8	Fatores de capacidades para DRY	DRY
57-58	HL1-HL2	Balanço hidrofílico-lipofílico	OH2 e DRY
59	A	Momento anfílico	OH2 e DRY
60	CP	Agregação crítica	OH2 e DRY
61	POL	Polarizabilidade	-
62	MW	Peso molecular	-

63-64	FLEX, FLEX_RB	Parâmetros de flexibilidade	-
65	NCC	Número de centros com carga	-
66	DIFF	Difusividade	-
67	LOGP N-oCT	LogP octanol/água	-
68	LOGP c-HEX	LogP ciclo-hexano/água	-
69-72	PSA, HSA, PSAR, PHSAR	Áreas de superfície polar e hidrofóbica	OH2, DRY, O e N1
73-79	LgD5-LgD10	LogD	-
80	AUS7.4	Espécies disponíveis na forma molecular	-
81-87	%FU4-%FU10	Porcentagem de espécies não ionizadas	-
88-97	DRDRDR, DRDRAC, DRDRDO, DRACAC, DRACDO, DRDODO, ACACAC, ACACDO, ACDODO, DODODO	Áreas farmacofóricas 3D triplete DRY, doadoras de ligação de hidrogênio, aceptoras de ligação de hidrogenio e DRY e doadoras e aceptoras de ligação de hidrogênio	-
98	SOLY	Solubilidade intrínseca	-
99-108	LgS3-LgS11	Solubilidade em vários PHs	-
109	PB	% de ligação a proteínas plasmáticas	-
110	VD	Volume de distribuição	-
111	CACO2	Permeabilidade através de células Caco-2	-
112	SKIN	Permeabilidade através da pele	-
113	LgBB	Log de permeação através da barreira hemato-encefálica	-
114	MetStab	Estabilidade metabólica	-
115	HTSFlag	Bandeira de triagem de ensaios miniaturizados em larga escala	-
116-120	L0lgS-L4lgS	Coefficientes de perfil de solubilidade	-
121-128	DD1-DD8	Diferenças de volumes hidrofóbicos	DRY

Antes de gerar os modelos, no programa Volsurf+ foi realizado o pré-tratamento dos descritores utilizando o autoescalamento, de forma a apresentarem média igual a zero e desvio-padrão unitário (Cruciani, Crivori *et al.* 2000).

3.3.2.2. Seleção das variáveis

Uma etapa do estudo da relação estrutura-atividade, particularmente de QSAR, é a escolha dos descritores mais correlacionados com a atividade biológica, para geração dos modelos. Depois do processamento dos descritores no VolSurf⁺, aqueles com valores de VIP inferior a 1 foram excluídos buscando achar as melhores correlações. Utilizando uma outra metodologia, a matriz dos descritores foi exportada e pelo o algoritmo genético (GA) do programa *MobyDigs* foram gerados equações com as melhores correlação entre a atividade e os descritores. Os algoritmos *J48*, *M5P* e *RandomForest* do KNIME eo método de *sub CfsSubsetEval* do Weka foram também usadas na seleção dos descritores.

3.3.2.3. Geração e validação dos modelos

Para gerar análises qualitativas foram gerados árvores de decisão a partir dos algoritmos *J48*, *M5P*, *RandomForest* ou usando o PLS discriminante (PLS-DA) que resultou em gráficos de escores e pesos.

Para as análises de QSAR o modelos foram gerados pelo método de PLS.

Os modelos foram avaliados estaticamente pelo procedimento de validação cruzada do tipo *leave-one-out* (LOO) ou *leave-two-out* (LTO). A partir com maiores valores de coeficientes de avaliação (R^2) e de correlação da validação cruzada (Q^2), calculado pelo programa VolSurf+, foram determinados o número de LVs significativas.

3.4. Ancoragem molecular (*Docking*)

Os estudos de ancoragem molecular foram realizados para investigar a afinidade e modos de interação do receptor (macromolécula)–ligante (amida) utilizando *Molegro Virtual Docker* 6.0.1 (MVD) (CLC bio Compagny, Aarhus, Denmark). As estruturas dos ligantes foram construídas no *Spartan 10* (Wavefunctions, Irvine, CA, USA), como descrito no item 3.3.1. As estruturas cristalinas das proteínas tirosinas quinases ABL1 (código PDB: 2HZ0 (2,10 Å), 3QRJ (1,82 Å) e 3UE4 (2,42 Å)), das histonas desacetilases HDAC4 (código PDB: 2VQM (1,80 Å)) e HDAC8 (código PDB: 3EW8 (1,80 Å) e 3MZ7 (1,90 Å)) todas do tipo *Homo sapiens*. Estas enzimas foram selecionadas como o receptor tendo seu sítio ativo determinado; seus inibidores respectivos, moléculas orgânicas com estrutura similar às substâncias obtidas, são conhecidos e validados (Cowan-Jacob, Fendrich *et al.* 2007; Bottomley, Lo Surdo *et al.* 2008; Dowling, Gantt *et al.* 2008; Dowling, Gattis *et al.* 2010; Chan, Wise *et al.* 2011; Levinson e Boxer 2012). O receptor e os ligantes foram preparados no MVD; vários mapas de grade foram gerados pelo MVD e o mapa com o ligante foi escolhida com um espaçamento de grade de 0,30 Å. Após o uso dos parâmetros do programa (*Docking wizard*) a ancoragem foi efetuada. Foram comparados os valores dos escores *MolDock* (função de avaliação da afinidade e das interações entre o ligante e o receptor) entre as amidas **1a**, **1l**, **1n**, **5a**, **13h** e **13i** que tiveram valores de IC₅₀ abaixo da doxorubicina contra K562 (30,6 µM) que foi usada com controle positivo. O escore *MolDock* é definido com a soma da energia da interação ligante-receptor e energia interna do ligante (Palkar, Singhai *et al.* 2014). Os modelos foram validado a partir dos valores de RMSD menor que 2 Å (Thomsen e Christensen, 2006).

3.5. Método Computacional

Para o estudo da fragmentação das amidas em condições de espectrometria de massas um estudo computacional foi feito para validar os padrões de fragmentação e mecanismos propostos.

Os cálculos de teoria do funcional de densidade DFT (do inglês *Density function theory*) foram realizados utilizando Spartan 10 para Windows (Wavefunctions, Irvine, CA, USA) (Becke 1988; Vereecken, Pierloot *et al.* 1998).

Numa primeira etapa foi realizada a busca de confôrmeros mais estáveis por mecânica molecular (MMFF) e o confôrmero de menor energia foi escolhido (Halgren 1996). As amidas foram analisadas nas formas neutra e protonada $[M+H]^+$ e as estruturas foram minimizadas no nível B3LYP/6-311G*, sendo as estruturas de menor energia selecionadas para os cálculos seguintes envolvendo afinidade protônica. O mínimo global sobre o potencial de energia de superfície foi utilizado para a determinação de cada geometria.

A afinidade protônica (AP) é o valor negativo da variação de entalpia ($\Delta_r H^\circ$) para a reação $M+H^+ \rightarrow MH^+$: $AP = -\Delta_r H_{298K}$, $\Delta_r H_{298K} = E_{el}(MH^+) - E_{el}(M)$.

(E_{el} : energia minimiza no nível B3LYP/6-311G*) (Mezzache, Afonso *et al.* 2003; Pepe, Rochut *et al.* 2004; Mezzache, Pepe *et al.* 2005).

Além disso, as energias das ligações foram calculadas usando o BDE software v. 2.5.7. Este programa computacional utiliza modelos de floresta aleatório (*RandomForest*) ou de Redes Neurais (Qu, Latino *et al.* 2013). Estes modelos foram treinados usando um grande banco de dado (*big data*) com 12834 ligações simples, as quais energias foram previamente calculadas pelo método de único ponto “single point” B3LYP / 6-311 ++ G** (Tirado-Rives and Jorgensen 2008) de compostos cujas geometrias foram previamente minimizadas usando o método DFTB3 (*density functional tight-binding method*) (Gaus, Cui *et al.* 2011). A versão web deste software está disponível em <http://joao.airesdesousa.com/bde/> utilizando máquinas de aprendizagem (Qu, Latino *et al.* 2013). As energias de ligação previstas por BDE v.2.5.7, utilizando redes neurais, foram escritas em um formato de arquivo sdf. Para extrair os valores das energias e respectivas ligações em forma de tabela, um script foi escrito usando R v. 3.0.2 (<http://www.R-project.org>) e o pacote ChemmineR (Cao, Charisi *et al.* 2008). Energias de ligação entre o nitrogênio da amida e a carbonila foram comparadas assumindo que o próton é ligado no nitrogênio da amida ou no oxigênio da carbonila.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Obtenção da piplartina e piperina

A piplartina (**1a**) foi isolada das raízes da *Piper tuberculatum* de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.3. A piplartina, obtida como cristais incolores, teve sua estrutura (Figura 4.1.1) confirmada a partir de dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (Tabelas 4.1.1 e 4.1.2; Figuras 7.1.1.1 e 7.1.1.2), de espectrometria de massas de baixa e de resolução (Figuras 7.1.1.3 e 7.1.1.4). Estes dados foram comparados com os descritos na literatura, que foi suficiente para sua identificação inequívoca (Rao, Muthenna *et al.* 2012).

Figura 4.1.1. Estrutura da piplartina (**1a**)

Tabela 4.1.1. Dados de RMN ^1H (CDCl_3) da piplartina (**1a**)

Posição	Dados obtidos (300 MHz) δ_{H} (m, J)	Literatura (300 MHz) (Rao, Muthenna <i>et al.</i> 2012) δ_{H} (m, J)
2	7,68 (d; 15,6 Hz; 1H)	7,64 (d; 15,5 Hz; 1H)
3	7,43 (d; 15,6 Hz; 1H)	7,41 (d; 15,5; 1H)
5, 9	6,81 (s; 2H)	6,78 (s; 2H)
6,8: OCH_3	3,89 (s; 6H)	3,89 (s; 6H)
7: OCH_3	3,88 (s; 3H)	3,85 (s; 3H)
2'	6,95 (m; 1H)	6,92 (m; 1H)
3'	6,04 (dt; 9,9 e 1,8 Hz; 1H)	6,03 (dt; 9,6 e 1,7 Hz; 1H)
4'	2,48 (m; 2H)	2,44-2,52 (m; 2H)
5'	4,04 (t; 6,6 Hz; 2H)	4,04 (t; 6,6 Hz; 2H)

Dados de espectrometria de massas da piplartina

EMBR- m/z (%): 317 (M^+ , 90); 289 (20); 274 (32); 221 (100); 205 (20); 190 (32); 177 (17).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NO}_5^+[\text{M}+\text{H}]^+=318,1336$; encontrado=318,1337.

Tabela 4.1.2. Dados de RMN ^{13}C (CDCl_3) da pipartina (**1a**)

Posição	Dados obtidos (75 MHz) δ_c	Literatura (75 MHz) (Rao, Muthenna <i>et al.</i> 2012) δ_c
1	168,7	169,5
2	121,0	121,0
3	130,6	130,5
4	143,7	143,2
5, 9	105,4	105,5
6,8	153,3	153,5
6,8: OCH_3	56,1	56,2
7	139,9	139,9
7: OCH_3	60,9	61,0
1'	165,8	165,5
2'	125,7	125,5
3'	145,5	145,5
4'	24,7	24,3
5'	41,6	41,5

A piperina (**18a**) foi isolada dos frutos de *Piper nigrum* de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.4. A piperina obtida como cristais amarelos, teve sua estrutura (Figura 4.1.2) confirmada a partir de dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (Tabelas 4.1.1 e 4.1.2; Figuras 7.1.78.1 e 7.1.78.2), de espectrometria de massas de baixa e de alta resolução (Figuras 7.1.78.3 e 7.1.78.4). Estes dados foram comparados com dados da literatura, que possibilitou sua identificação inequívoca (De Araujo-Junior, Da-Cunha *et al.* 1997).

Figura 4.1.2. Estrutura da piperina (**18a**)

Tabela 4.1.3. Dados de RMN ^1H (CDCl_3) da piperina (**18a**)

Posição	Dados obtidos (300 MHz) δ_{H} (m,J)	Literatura (300 MHz)(De Araujo-Junior, Da-Cunha <i>et al.</i> 1997) δ_{H} (m,J)
2	6,43 (d; 14,4 Hz; 1H)	6,36 (d; 14,6 Hz; 1H)
3	7,44-7,36 (m; 1H)	7,31 (m; 1H)
4,5	6,75-6,72 (m; 2H)	6,64-6,65 (m; 2H)
7	6,97 (d; 1,5 Hz; 1H)	6,88 (d; 1,6 Hz; 1H)
OCH ₂ O	5,97 (s; 2H)	5,86 (s; 2H)
10	6,78 (d; 8,1 Hz; 1H)	6,67 (d; 8,0 Hz; 1H)
11	6,90-6,87 (dd; 8,1 e 1,5 Hz; 1H)	6,79 (dd; 8,0 e 1,6 Hz; 1H)
1',5'	3,63-3,48 (m, 4H)	3,48 (m; 4H)
2',3',4'	1,65-1,57 (m, 6H)	1,56-1,49 (m, 6H)

Tabela 4.1.4. Dados de RMN ^{13}C (CDCl_3) da piperina (**18a**)

Posição	Dados obtidos (300 MHz) δ_{C}	Literatura (300 MHz) (De Araujo-Junior, Da-Cunha <i>et al.</i> 1997) δ_{C}
1	165,34	165,20
2	120,00	120,00
3	142,38	142,30
4	125,29	125,30
5	138,12	138,00
6	130,94	130,90
7	105,59	105,50
8	148,11	148,10
OCH ₂ O	101,19	101,20
9	148,03	148,00
10	108,40	108,30
11	122,40	122,30
1'	43,17	43,00
2'	25,59	25,70
3'	24,59	24,50
4'	26,63	26,90
5'	46,83	47,10

Dados de espectrometria de massas da piperina

EMBR- m/z (%): 285 (M⁺, 60), 202 (25), 201 (85), 174 (25), 173 (40), 172 (25), 171 (24), 144 (20), 143 (35), 116 (25), 115 (100), 89 (15), 84 (37).

EMAR (IES): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_3^+[\text{M}+\text{H}]^+ = 286,1438$; encontrado = 286,1441.

4.2. Síntese das amidas

4.2.1. Síntese dos ácidos carboxílicos

A síntese dos análogos da piplartina foi iniciada com a obtenção dos ácidos carboxílicos que foram utilizados como materiais de partida. Alguns dos ácidos foram adquiridos pela Sigma Aldrich, mas a grande maioria foi sintetizada.

4.2.2. Síntese dos derivados do ácido cinâmico

Foram sintetizados os ácidos cinâmico (**2**), 4-metoxicinâmico (**3**), 4-bromocinâmico (**4**), 4-clorocinâmico (**5**), 4-dimetilaminocinâmico (**7**), 4-metilcinâmico (**8**), 3-metoxicinâmico (**9**), 3-bromocinâmico (**10**), 3-metilcinâmico (**11**), 2-metilcinâmico (**12**) e 2,4,5-trimetoxicinâmico (**15**) de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1 (Tabela 4.2.1). As estruturas dos ácidos carboxílicos foram confirmadas com os dados disponíveis na literatura.

Tabela 4.2.1. Ácidos carboxílicos obtidos pela reação de Knoevenagel.

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
2	H	H	H	H	H
3	H	H	OCH ₃	H	H
4	H	H	Br	H	H
5	H	H	Cl	H	H
7	H	H	N(CH ₃) ₂	H	H
8	H	H	CH ₃	H	H
9	H	OCH ₃	H	H	H
10	H	Br	H	H	H
11	H	CH ₃	H	H	H
12	CH ₃	H	H	H	H
15	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H

A síntese destes ácidos foi feita usando a reação de Döebner (uma variação da reação de Knoevenagel) que é bastante conhecida e possui mecanismo proposto (Mitra *et al.* 1999). A piperidina atua com base abstraindo um hidrogênio e formando o diânion enólico do ácido

malônico, que é relativamente estável. Em seguida o aldeído sofre uma reação de aldol pelo diânion que, após desidratação e descarboxilação concertadas, resulta na formação da dupla ligação (Esquema 4.2.1).

Esquema 4.2.1. Mecanismo da reação de Knoevenagel, variação de Döebner.

A piperidina pode também agir com o catalizador ácido-base formando com o aldeído, um intermediário íon imínio, mais reativo (Esquema 4.2.2).

Esquema 4.2.2. Mecanismo de catálise orgânica com piperidina como catalisador.

4.2.3. Síntese dos derivados do ácido piperínico

Foram sintetizados os ácidos (2*E*, 4*E*)-5-(4-metoxifenil)penta-2,4-dienoico; (2*E*,4*E*)-5-(4-bromofenil)penta-2,4-dienoico; piperínico e (2*E*,4*E*)-5-(3,4,5-trimetoxifenil)penta-2,4-dienoico.

As estruturas dos ácidos carboxílicos foram confirmadas através de comparação com dados disponíveis na literatura.

Tabela 4.2.2. Ácidos carboxílicos derivados do ácido piperínico

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
16	H	H	OCH ₃	H	H
17	H	H	Br	H	H
18	H	OCH ₂ O		H	H
19	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H

O ácido piperínico foi sintetizado pela da hidrólise da piperina (Paula, Barbosa *et al.* 2000). Os outros ácidos derivados do ácido piperínico foram sintetizados usando a reação de Horner-Emmons (Wadsworth e Emmons 1961), com a metodologia descrita no item 3.1.5.2.1. Este reação, que é uma modificação da reação de olefinação de Wittig (Wittig e Haag 1955), envolve inicialmente a etapa de extensão da cadeia lateral e formação da dupla ligação com a configuração *E*, utilizando fosfonatos ao invés de fosfinas. A configuração *E* das ligações duplas pode ser explicada pelo mecanismo proposto (Clayden 2001; Schauer e Helquist 2006), que mostra a estabilidade do ânion formado pela abstração do hidrogênio do fosfonocrotonato de dietila pelo *n*-BuLi (Esquema 4.2.3).

Esquema 4.2.3 Formação e estabilidade do ânion de fosfonocrotonato de dietila

De acordo com o mecanismo proposto, para que haja a superposição correta do HOMO e LUMO dos reagentes, o ataque do ânion formado à carboxila ocorre perpendicularmente, e isso

leva a formação de dois fosfoetanos intermediários. O produto *Z* será formado a partir do intermediário que é o produto cinético visto que no estado de transição os substituintes estariam mais afastados (Esquema 4.2.4, rota A). O produto *E*, o mais estável, será formado a partir do intermediário que é o produto termodinâmico, pois o estado de transição é mais estável com os substituintes em posição *anti* (Esquema 4.2.4, rota B).

Esquema 4.2.4. Mecanismo proposto para olefinação (produto *E* via A, produto *Z* via B)

4.2.4. Síntese de cinamamidas, dienamidas e amidas alifáticas

Para síntese das cinamamidas, dienamidas e amidas alifáticas a carboxila dos ácidos obtidos foi ativada usando o cloreto de oxalila ou cloreto de tionila em uma primeira etapa. Depois, o cloreto de acila obtido foi acoplado à amina correspondente. Esta metodologia é descrita no item 3.1.5.3 e seu mecanismo no Esquema 4.2.5 (Montalbetti e Falque 2005; Valeur e Bradley 2009).

Esquema 4.2.5. Mecanismo da síntese das cinamamidas, dienamidas e amidas alifáticas.

A partir desta metodologia foram sintetizadas as 26 cinamamidas seguintes: (*E*)-1-(piperidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1f**), (*E*)-1-(pirrolidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1g**), (*E*)-1-morfolino-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1i**), (*E*)-*N*-pentil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**1k**), (*E*)-*N,N*-dibutil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**1l**), (*E*)-3-fenil-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (**2b**), (*E*)-1-morfolino-3-fenilprop-2-en-1-ona (**2c**), *N*-pentilcinamamida (**2d**), *N,N*-dibutilcinamamida (**2e**), (*E*)-3-(4-bromofenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (**4b**), (*E*)-3-(4-bromofenil)-1-morfolinoprop-2-en-1-ona (**4c**), (*E*)-3-(4-bromofenil)-*N*-pentilacramida (**4d**), (*E*)-3-(4-bromofenil)-*N,N*-dibutilacrilamida (**4e**), (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-1-(piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (**13b**), (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (**13c**), (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-1-morfolinoprop-2-en-1-ona (**13e**), (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-*N*-pentilacrilamida (**13g**), (*E*)-*N,N*-dibutil-3-(3,4-dimetoxifenil)acrilamida (**13h**), (*E*)-3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (**14b**), (*E*)-3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-1-morfolinoprop-2-en-1-ona (**14c**), (*E*)-3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-pentilacrilamida (**14d**), (*E*)-3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N,N*-dibutilacrilamida (**14e**).

Foram sintetizadas as sete dienamidas seguintes: (2*E*, 4*E*)-5-(4-metoxifenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-ona (**16a**), (2*E*,4*E*)-5-(4-metoxifenil)-*N*-pentilpenta-2,4-dienamida (**16b**), (2*E*,4*E*)-*N,N*-dibutyl-5-(4-metoxifenil)penta-2,4-dienamida (**16c**), (2*E*,4*E*)-5-(4-bromofenil)-1-(piperidin-1-il)penta-2,4-dien-1-ona (**17a**), (2*E*,4*E*)-5-(4-bromofenil)-*N*-pentilpenta-2,4-dienamida (**17b**), (2*E*,4*E*)-5-(benzo[*d*][1,3]dioxol-6-il)-*N*-pentilpenta-2,4-dienamida (**18c**).

Foram sintetizadas as oito amidas alifáticas: 1-(pirrolidin-1-il)etanona (**20c**), 1-morfolinoetanona (**20d**), *N*-pentilacetamida (**20e**), *N,N*-dibutilacetamida (**20f**), 1-(pirrolidin-1-il)decan-1-ona (**22b**), 1-morfolinodecan-1-ona (**22c**), *N*-pentildecanamida (**22d**) e *N,N*-dibutildecanamida (**22e**).

As amidas 1-(pirrolidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propan-1-ona (**1h**), 1-morfolino-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propan-1-ona (**1j**), 3-(3,4-dimetoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)propan-1-ona (**13d**), 3-(3,4-dimetoxifenil)-1-morfolinopropan-1-ona (**13f**) foram obtidas a partir da hidrogenação catalítica de **1g**, **1i**, **13c** e **13e**.

A substância 5-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-1-(piperidin-1-il)pentan-1-ona (**18b**) foi obtida a partir da hidrogenação catalítica da piperina (**18a**) segundo a metodologia descrita no item 3.1.5.1. A síntese das cinamamidas, dienamidas e amidas alifáticas foi realizada com rendimentos satisfatórios (Tabela 4.2.3, Tabela 4.2.4).

Tabela 4.2.3. Rendimento na síntese das cinamamidas e dienamidas

$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4, \text{R}_5$
 $n=1,2$
 $\Delta = 0,1$

$\text{NR}'\text{R}'':$ A, B, C, D, E

	n	Δ	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	NR'R''	Rendimento (%)
1f	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	A	69
1g	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	B	89
1h	1	0	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	B	85
1i	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	C	77
1j	1	0	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	C	90
1k	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	D	39
1l	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	E	47
2b	1	1	H	H	H	H	H	B	86
2c	1	1	H	H	H	H	H	C	48
2d	1	1	H	H	H	H	H	D	32
2e	1	1	H	H	H	H	H	E	33
4b	1	1	H	H	H	Br	H	B	81
4c	1	1	H	H	H	Br	H	C	94
4d	1	1	H	H	H	Br	H	D	55
4e	1	1	H	H	H	Br	H	E	57
13b	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	A	25
13c	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	B	76
13d	1	0	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	B	90
13e	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	C	95
13f	1	0	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	C	84
13g	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	D	87
13h	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	E	95
14b	1	1	H	OCH ₂ O		H	H	B	94
14c	1	1	H	OCH ₂ O		H	H	C	64
14d	1	1	H	OCH ₂ O		H	H	D	77
14e	1	1	H	OCH ₂ O		H	H	E	38
16a	2	1	H	H	OCH ₃	H	H	A	64
16b	2	1	H	H	OCH ₃	H	H	D	71
16c	2	1	H	H	OCH ₃	H	H	E	52
17a	2	1	H	H	Br	H	H	A	60
17b	2	1	H	H	Br	H	H	D	70
18b	2	0	H	OCH ₂ O		H	H	A	95
18c	2	1	H	OCH ₂ O		H	H	D	55

Tabela 4.2.4. Rendimento na síntese das amidas alifáticas

$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array} \xrightarrow[2) \text{HNR}'\text{R}'']{1) (\text{COCl})_2} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \text{R}' \\ \text{R}'' \end{array} \end{array} $			
NR'R'':
	R	NR'R''	Rendimento (%)
20c	CH ₃	B	52
20d	CH ₃	C	69
20e	CH ₃	D	65
20f	CH ₃	E	42
22b	CH ₂ (CH ₂) ₇ CH ₃	B	44
22c	CH ₂ (CH ₂) ₇ CH ₃	C	88
22d	CH ₂ (CH ₂) ₇ CH ₃	D	77
22e	CH ₂ (CH ₂) ₇ CH ₃	E	82

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C obtidos para todas as cinamamidas, dienamidas e alifáticas confirmam inequivocamente as estruturas dos compostos planejados.

Evidências para o acoplamento das aminas (piperidina, pirrolidina, morfolina, pentanamina, dibutilamina) com a carbonila pode ser observada com a presença de singlete ou multipeto em torno de δ 3,20-3,80 no caso dos hidrogênios dos metilenos ligados ao nitrogênio e de multipeto entre δ 1,40-1,80 dos hidrogênios dos outros metilenos. No caso da morfolina foi possível observar os deslocamentos químicos dos hidrogenios dos metilenos ligados ao oxigênio entre 3,60-3,80. No caso da pentanamina e dibutilamina os deslocamentos químicos dos hidrogênios das metilas terminais foram observados entre 0,85-0,95 formando tripletos.

Em todas as cinamamidas foi possível observar dois dubletos com *J* de aproximadamente 16 Hz, confirmando a configuração *E* da ligação dupla formada. O primeiro dubleto mais protegido, correspondente ao hidrogênio metínico ligado a carbonila, com deslocamento químico entre 6 e 7 ppm, e segundo com deslocamento químico em torno de 7,5 ppm. No caso das substâncias **1h**, **1j**, **13d** e **13f** foi possível observar dois tripletos entre δ 3,20 e 3,80 com *J* em torno de 6 Hz. Os sinais correspondentes aos anéis aromáticos dos derivados trimetoxilados (**1**) apresentam um singlete entre δ 6,40 e 6,80 e dois singletos para os hidrogênios das metoxilas entre δ 3,8 e 3,9. Os anéis aromáticos dos derivados sem substituintes (**2**) apresentam multipeto na região 7,30-7,70. Os anéis aromáticos dos derivados com um bromo em *para* (**4**) apresentaram dois duplos tripleto (dt) entre 7,20-7,40 e 7,50-7,70 com dois valores de *J* de aproximadamente 2 e 9 Hz para os acoplamento em *meta* e *orto*. Os hidrogênios aromáticos dos derivados

dimetoxilados (**13**) apresentaram sinais na região esperada com acoplamento em *orto* e *meta* com J de aproximadamente 8 e 2 Hz. Os derivados com metilenodióxi (**14**) apresentaram um singlete característico de metilenodióxifenilas em torno de δ 5,9 e os sinais dos hidrogênios aromáticos na região esperada com J de aproximadamente 2 e 8 para *meta* e *orto*.

A hidrogenação da piperina (**18a**) para obtenção da substância **18b** foi confirmado pela presença de dois tripletos em δ 2,32 e 2,55 e do multiplete entre δ 1,6-1,7 ppm.

Em todas as dienamidas foi possível observar dubletos relativo aos hidrogênios metínicos ligados a carbonila em torno de δ 6, com J cerca de 15 Hz, e dubleto para o hidrogênio metínico vizinho ao anel aromático em torno de δ 7 com J cerca de 15 Hz. Os hidrogênios dos anéis aromáticos foram encontrados nas regiões esperadas em torno de δ 7 com J de aproximadamente 8 Hz quanto em *orto* e 2 Hz em *meta*.

Para as amidas alifáticas (**20**) em todos os casos foi possível observar um singlete intenso entre δ 2,0-2,1 relativo ao hidrogênio do metilino ligado a carbonila.

Para as amidas alifáticas (**22**) em todos os casos foi possível observar multipletos entre δ 1,27-2,00 para os hidrogênios metilênicos e δ 0,80-0,90 para as metilas terminais.

Nos espectros de RMN de ^{13}C foi possível observar claramente o sinal do carbono carbonílico de amidas em torno de δ 166. Os carbonos do anel aromáticos foram observados nas regiões esperadas entre δ 100-150. Os carbonos metínicos ligados a carbonila foi observado em aproximadamente δ 120 e ligados ao anel aromático em aproximadamente δ 140. Os carbonos das metoxilas foram observados em torno de δ 55. Os carbonos ligados ao nitrogênio foram observados entre δ 45-50. No caso dos derivados contendo o grupo metilenodióxi o sinal do carbono OCH_2O pode ser observado próximo a δ 100.

Os dados obtidos por espectrometria de massas de alta resolução pela ionização por electrospray (EMAR (IES)) indicam claramente que foram obtidos os produtos desejados, sendo possível observar por meio da comparação dos valores dos picos dos íons *quasimoleculares* calculados (ou dos íons molecular com o aduto de sódio) com os obtidos experimentalmente (Tabelas 4.2.5 e 4.2.6).

Tabela 4.2.5. Dados de EMAR (IES) das cinamamidas e dienamidas

	$[M+H]^+$ ou $[M+Na]^+$ calculado	$[M+H]^+$ ou $[M+Na]$ obtido
1f	306,1700	306,1738
1g	292,1543	292,1539
1h	294,1700	294,1694
1i	308,1494	308,1496
1j	310,1649	310,1649
1k	308,1856	308,1859
1l	350,2326	350,2334
2b	202,1226	202,1228
2c	218,1176	218,1183
2d	218,1539	218,1538
2e	260,2009	260,2022
4b	280,0332	280,0331
4c	296,0281	296,0283
4d	296,0645	296,0647
4e	338,1114	338,1026
13b	276,1666	276,1602
13c	262,1438	262,1432
13d	286,1414	286,1413
13e	278,1387	278,1389
13f	280,1543	280,1541
13g	278,1751	278,1758
13h	320,2220	320,2226
14b	246,1125	246,1130
14c	262,1074	262,1072
14d	262,1438	262,1399
14e	304,1907	304,1850
16a	272,1645	272,1646
16b	274,1802	274,1800
16c	316,2271	316,2258
17a	320,0645	320,049
17b	322,0801	322,0801
18b	290,1751	290,1768
18c	288,1594	288,1596

Tabela 4.2.5. Dados de EMAR (IES) das amidas alifáticas

	$[M+H]^+$ ou $[M+Na]^+$ calculado	$[M+H]^+$ ou $[M+Na]$ obtido
20c	114,0913	114,0929
20d	130,0863	130,0848
20e	130,1126	130,1206
20f	172,1696	172,1675
22b	226,2165	226,2169
22c	242,2115	242,2119
22d	242,2478	242,2496
22e	284,2951	284,2924

A análise por espectrometria de massas de baixa resolução (AMBR) das amidas revelou a presença de íons fragmentários resultantes do rearranjo de McLafferty para as amidas **22b**, **22c**, **22d** e **22e** em m/z 113 e/ou 114. A fragmentação alfa (α) foi comprovada pela presença dos íons fragmentários em m/z 126 e/ou 127 e/ou 128 e a quebra da ligação C-N pela presença dos íons em m/z 70, 86, 86 e 128 (massas dos fragmentos da pirrolidina, morfolina, pentanamina e dibutilamina) (Figura 4.2.1).

Figura 4.2.1. Fragmentação possível das amidas alifáticas no espectrômetro de massas

Um estudo da fragmentação nas condições de espectrometria de massas das cinamamidas encontra-se no item 4.2.6.

4.2.5. Síntese de cinamimidas e imidas alifáticas

A substância 1-(3-(3,4,5-trimetoxifenil)propanoil)piperidin-2-ona (**1b**) foi obtida a partir da hidrogenação catalítica da piplartina (**1a**). Esta metodologia é descrita no item 3.1.5.1.

A síntese das cinamimidas e imidas alifáticas foi realizada a partir do acoplamento entre os ácidos de escolhas e a 2-pirrolidona, valerolactama e caprolactama usando o *n*-BuLi de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.5.4 e um mecanismo é proposto na Esquema 4.2.6.

Esquema 4.2.6. mecanismo proposto para síntese das cinamimidas e imidas alifáticas

Foram sintetizadas as substâncias seguintes: (*E*)-1-(3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilóil)piperidin-2-ona (**1c**), (*E*)-1-(3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilóil)pirrolidin-2-ona (**1d**), 1-((*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilóil)azepan-2-ona (**1e**), 1-cinamoilpirrolidin-2-ona (**2a**), (*E*)-1-(3-(4-metoxifenil)acrilóil)azepan-2-ona (**3a**), (*E*)-1-(3-(4-bromofenil)acrilóil)piperidin-2-ona (**4a**), (*E*)-1-(3-(4-nitrofenil)acrilóil)azepan-2-ona (**6a**), (*E*)-1-(3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilóil)azepan-2-ona (**7a**), (*E*)-1-(3-(3-metoxifenil)acrilóil)azepan-2-ona (**9a**), (*E*)-1-(3-(3-bromofenil)acrilóil)azepan-2-ona (**10a**), (*E*)-1-(3-(3,4-dimetoxifenil)acrilóil)pirrolidin-2-ona (**13a**), (*E*)-1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)acrilóil)azepan-2-ona (**14a**), 1-acetalpirrolidin-2-ona (**20a**), 1-acetilazepan-2-ona (**20b**), 1-hexanoilazepan-2-ona (**21a**), 1-decanoilazepan-2-ona (**22a**).

A síntese das cinamimidas e imidas alifáticas foi realizada com rendimentos adequados (Tabela 4.2.6, Tabela 4.2.7).

Tabela 4.2.6. Rendimento das cinamimidas

	n	Δ	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	m	Rendimento
1b	1	0	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	2	97
1c	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	2	15
1d	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	1	41
1e	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	3	18
2a	1	1	H	H	H	H	H	1	40
3a	1	1	H	H	H	OCH ₃	H	3	19
4a	1	1	H	H	Br	H	H	2	15
6a	1	1	H	H	NO ₂	H	H	3	24
7a	1	1	H	H	N(CH ₃) ₂	H	H	3	11
9a	1	1	H	OCH ₃	H	H	H	3	42
10a	1	1	H	Br	H	H	H	3	12
13a	1	1	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	1	36
14a	1	1	H	OCH ₂ O		H	H	3	9

Tabela 4.2.7. Rendimento das imidas alifáticas

	R	m	Rendimento
20a	CH ₃	1	52
20b	CH ₃	3	49
21a	CH ₂ (CH ₂) ₃ CH ₃	3	19
22a	CH ₂ (CH ₂) ₇ CH ₃	3	42

Os dados obtidos por espectrometria de massa de alta resolução pela ionização por electrospray (EMAR (IES)) indicam claramente que foram obtidos os produtos desejados, sendo possível observar por meio da comparação dos valores dos picos dos íons quasimoleculares calculados (ou dos íons molecular com o aduto de sódio) com os obtidos experimentalmente (Tabela 4.2.8), com exceção das substâncias **4a**, **20b**, **21a** e **22a**.

Tabela 4.2.8. Dados de EMAR (IES) das cinamimidas e da **20b**

	[M+H] ⁺ ou [M+Na] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ ou [M+Na] obtido
1b	322,1649	322,1684
1c	320,1492	320,1519
1d	306,1336	306,1396
1e	334,1649	334,1638
2a	216,1019	216,1015
3a	296,1257	296,1237
6a	289,1183	289,1193
7a	287,1754	287,1731
9a	296,1257	296,1252
10a	322,0437	322,0421
13a	276,1230	276,1235
14a	288,1230	288,1192
20b	156,1019	156,0543

No espectro de massas de baixa resolução da substância **4a** foi possível observar os íons fragmentários em m/z 102 e 209 que representam os fragmentos da quebra da ligação C-N e m/z 226 resultante da perda do bromo.

No espectro de massas de baixa resolução da substância **20a** foi possível observar o sinal do pico do íon molecular e os picos dos íons fragmentários da quebra da ligação C-N em m/z 44 e 85.

No espectro de massa de baixa resolução das substâncias **21a** e **22a**, os respectivos íons fragmentários em m/z 56 e 113 resultam do rearranjo de McLafferty.

Os espectros de RMN obtidos para todas as cinamimidas e imidas alifáticas confirmam inequivocamente as estruturas dos compostos sintetizados.

Evidências para o acoplamento das lactamas (2-pirrolidona, valerolactama e caprolactama) com a carbonila pode ser observada nos espectros de RMN ^1H com a presença de tripletos ou multipletos em torno de δ 3,3-4,2 no caso dos hidrogênios dos metilenos ligados ao nitrogênio entre δ 2,2-3,0 referentes aos hidrogênios metilênicos ligado a carbonila da lactama.

A síntese da substância **1b** foi confirmada pela presença do multipeto em δ 3,72 dos hidrogênios metilênicos ligado ao nitrogênio; do tripleto em δ 3,32 dos hidrogênios metilênicos ligado ao anel aromático; do tripleto em δ 2,92 do metileno α carbonílico e de multipeto em δ 2,83 dos hidrogênios metilênicos ligado a carbonila da lactama.

Em todas as cinamimidas foi possível observar dois dubletos com J de aproximadamente 16 Hz, confirmando a configuração *E* da dupla. O primeiro dubeto correspondente ao hidrogênio metínico ligado a carbonila, com deslocamento químico entre δ 7,50-8,00 ppm e o segundo com deslocamento químico em torno de 7,00- δ 7,5 ppm perto do anel aromático.

Os sinais correspondentes aos anéis aromáticos dos derivados trimetoxilados (**1**) apresentam um singleto entre δ 6,40 e 6,90 e 2 singletos para os hidrogênios das metoxilas entre δ 3,8 e 3,9. O anel aromático da substância **3a** apresenta dois duplos tripletos em δ 6,88 e 7,51 com J de 8 e 2 Hz. O anel aromático da substância **4a** apresenta dois duplos tripletos em δ 7,39 e 7,53 com J de 8,4 e 2,4 Hz. O anel aromático da substância **6a** apresenta dois dubletos em δ 7,69 e 8,22 com J de 9,0 e 8,7 Hz. O anel aromático da substância **7a** apresenta dois dubletos em δ 6,65 e 7,47 com J de 8,7 e 2,4 Hz. O anel aromático das substâncias **9a** e **10a** apresentam multipletos na região δ 6,90-7,70 com J em torno de 8 e 2 Hz. Os anéis aromáticos das substâncias **13a** e **14a** apresentam dubletos e duplos dubletos entre δ 6,80 e 7,20 com J de 8 e 2 Hz. A substância **14a** com metilenodióxi apresentou um singleto característico em torno de δ 5,99.

As substâncias **20a** e **20b** apresentam um singlete entre δ 2,40 e 2,50 que representam os hidrogênios da metila ligada a carbonila. As substâncias **21a** e **22a** apresentam dois tripletos entre δ 1,60-2,40 e δ 0,80-0,90, respectivamente, dos hidrogênios do metileno ligado a carbonila e metila terminal e multipletos entre δ 1,20 e 1,90 dos hidrogênios dos outros metilenos.

Nos espectros de RMN de ^{13}C foi possível observar claramente os sinais das duas carbonilas entre δ 160-180. Os carbonos do anel aromáticos foram observados nas regiões esperadas entre δ 100-150. Os carbonos dos metinos ligados a carbonila foi observado perto de δ 120 e ligados ao anel aromáticos perto de δ 140. Os carbonos das metoxilas foram observados em torno de δ 55. Os carbonos ligados ao nitrogênio foram observados entre δ 45-50. No caso da substância **14a** contendo o grupo metilenodióxi o sinal do carbono OCH_2O pode ser observado próximo a δ 100. Os carbonos da ligação C-Br, C- NO_2 e C- $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ apresentam sinal em δ 124, 149 e 151.

Para as amidas **1e**, **3a**, **4a**, **6a**, **7a**, **9a**, **10a** e **14a** que constituem-se em novas substâncias foram realizadas análises por infravermelho (IV) para confirmar a presença de grupos funcionais (Tabela 4.2.9). A presença do anel aromático, da ligação H-C=C, da dupla ligação C=C, da ligação C-N e das duas carbonilas foram confirmadas pela banda em torno de 800, 980, 1460 e 1550 cm^{-1} , além de bandas duplas entre 1630-1730 cm^{-1} .

Tabela 4.2.9. Bandas de absorção características no IV das cinamimidas inéditas

	C=C-H	C=C	CO-N-CO	C-N	Ar
1e	976	1580	1695 e 1667	1466	822
3a	989	1578	1697 e 1676	1462	785
4a	989	1587	1702 e 1632	1479	822
6a	970	1594	1694 e 1673	1475	843
7a	990	1589	1692 e 1670	1445	816
9a	969	1579	1697 e 1676	1464	785
10a	989	1560	1698 e 1677	1471	784
14a	971	1539	1657 e 1624	1440	735

Um estudo da fragmentação de massas das cinamimidas foi também realizado (item 4.2.6).

4.2.6. Fragmentação das cinamamidas, dienamidas e cinamimidas em espectrometria de massas

O estudo de fragmentação por espectrometria de massas foi realizado em função da carência de dados de comportamento de amidas por ionização em IES quando comparado com IE.

A piplartina (**1a**) e a piperina (**18a**) apresentaram a quebra da ligação N-CO que leva a formação do íon acílio ($R-CO^+$) não comum em amidas nos espectros de massas de alta resolução por ionização por electrospray (EMAR-IES) e espectros de massas de baixa resolução por impacto de elétron (EMBR-IE). Geralmente em amida encontra-se o rearranjo de McLafferty e clivagem α (Schaab, Crotti *et al.* 2010). Para esse estudo de fragmentação foram escolhidas 17 cinamamidas, 12 cinamimidas e 8 dienamidas.

Nos espectros de EMAR os íons quasimoleculares $[M+H]^+$ ou adutos com o sódio $[M+Na]^+$ foram observados com intensidade variáveis (Tabela 4.2.10). Nos espectros de EMBR invariavelmente foram observados picos relativos ao íon molecular (Tabela 4.2.11). As 37 amidas escolhidas mostraram a clivagem da ligação N-CO com a formação dos íons acílios correspondentes tanto no EMAR quanto em EMBR (Tabela 4.2.10, Tabela 4.2.11). Para as substâncias **1a**, **1c**, **1d**, **1e**, **1h**, **1i**, **1k** e **1l** o pico do íon acílio foi observado em m/z 221 e do **1b**, derivado hidrogenado de **1a** em m/z 223. Para substância **2a**, **2c**, **2d** e **2e** o pico do íon acílio foi observado em m/z 131. Para substância **3a** o pico do íon acílio foi observado em m/z 161. Para as substâncias **4c**, **4d** e **4e** o pico do íon acílio foi observado em m/z 209. Para substância **6a** o pico do íon acílio foi observado em m/z 176. Para substância **7a** o pico do íon acílio foi observado em m/z 174. Para substância **9a** o pico do íon acílio foi observado em m/z 161. Para substância **10a**, o pico do íon acílio foi observado em m/z 209. Para substância **13a**, **13b**, **13e**, **13g** e **13h** o pico do íon acílio foi observado em m/z 191. Para substância **14a**, **14c** e **14e** o pico do íon acílio foi observado em m/z 175. Para substância **16a**, **16b** e **16c** o pico do íon acílio foi observado em m/z 187. Para substância **17a** e **17b** o pico do íon acílio foi observado em m/z 234. Para substância **18a** e **18c** o pico do íon acílio foi observado em m/z 201 e do **18b**, derivado hidrogenado do **18a**, em m/z 205. O pico do íon acílio foi observado na maioria dos casos como o pico base em todas as amidas seja por EMAR ou por EMBR.

Foi feita uma proposta do mecanismo desta clivagem. Para EMAR-IES no caso da cinamamidas e dienamidas o mecanismo foi proposto (Esquema 4.2.7), onde o hidrogênio se liga no nitrogênio. Para as cinamimidas o mecanismo foi proposto (Esquema 4.2.8), onde a clivagem ocorre preferencialmente na ligação N-CO da carbonila conjugada com o anel aromático.

Esquema 4.2.7. Mecanismo da fragmentação características de cinamamidas e dienamidas por EMAR-IES.

Esquema 4.2.8. Mecanismo da fragmentação características de cinamimidas por EMAR

Para EMBR-IE no caso da cinamamidas e dienamidas o mecanismo foi proposto (Esquema 4.2.9), onde o cátion radicalar se forma no oxigênio da carbonila. Para as cinamimidas o mecanismo proposto envolve a clivagem preferencial na ligação N-CO da carbonila conjugada com o anel aromático (Esquema 4.2.10).

Esquema 4.2.9. Mecanismo da fragmentação característica de cinamamidas e dienamidas por EMBR-IE.

Esquema 4.2.10. Mecanismo da fragmentação características de cinamimidas por EMBR-IE

Tabela 4.2.10. Alguns íons observados para cinamamidas, cinamimidas e dienamidas em EMAR por IES

	RCONR'R"	[MH]⁺	RCO⁺
1a	317,1263	318,1337	221,0803
1b	321,1576	322,1649	223,0969
1c	319,1420	320,1519	221,0850
1d	305,1263	306,1396	221,0859
1e	333,1576	334,1638	221,0798
1h	305,1627	306,1704	221,0815
1i	307,1420	308,1496	221,0822
1k	307,1784	308,1859	221,0830
1l	349,2253	350,2334	221,0817
2a	215,0946	216,1015	131,0480
2c	217,1103	218,1183	131,0482
2d	217,1467	218,1538	131,0487
2e	259,1936	260,2022	131,0430
3a	273,1365	296,1257*	161,0556
4c	295,0208	296,0282	208,9588
4d	295,0572	296,0647	208,9585
4e	337,1041	338,1026	208,9533
6a	288,1110	289,1193	176,0325
7a	286,1681	287,1751	174,0577
9a	273,1365	296,1252*	161,0577
10a	307,0208	322,0437*	208,9578
13a	275,1158	276,1235	191,0702
13b	275,1521	276,1602	191,0700
13e	277,1314	278,1389	191,0706
13g	277,1678	278,1758	191,0702
13h	319,2147	320,2226	191,0703
14a	287,1158	288,1192	175,0351
14c	261,1001	262,1072	175,0384
14e	303,1834	304,1902	175,0380
16a	271,1572	272,1646	187,0744
16b	273,1729	274,1800	187,0744
16c	315,2198	316,2258	187,0743
17a	321,0728	322,0801	234,9745
17b	319,0572	320,0649	234,9749
18a	285,1365	286,1441	201,0556
18b	289,1678	290,1752	205,0845
18c	287,1521	288,1596	201,0535

*[M+Na]⁺

Tabela 4.2.11. Alguns íons observados para cinamamidas, cinamimidas e dienamidas em por EMBR por IE

	RCONR'R"	RCO+	outros íons fragmentários
1a	317 (90)	221 (100)	274 (32), 190 (32)
1b	321 (35)	223 (15)	222 (100), 194 (40), 179 (55), 44 (75)
1c	319 (85)	221 (100)	291 (30), 276 (60), 193 (25), 191 (25), 44 (20)
1d	305 (100)	221 (55)	205 (40)
1e	333 (100)	221 (97)	305 (50), 290 (47), 190 (25), 96 (35)
1h	305 (60)	221 (65)	222 (100), 194 (25), 191 (35), 190 (25), 84 (69)
1i	307 (50)	221 (100)	222 (60), 190 (26)
1k	307 (85)	221 (95)	236 (42), 222 (100), 191 (26), 190 (27), 181 (55), 179 (27)
1l	349 (37)	221 (100)	222 (63)
2a	215 (26)	131 (100)	103 (57), 77 (32)
2c	217 (18)	131 (100)	103 (60), 86 (26), 77 (28)
2d	217 (7)	131 (100)	103 (45), 77 (25)
2e	259 (7)	131 (100)	103 (33)
3a	273 (15)	161 (100)	133 (35)
4c	295 (21)	209 (72)	211 (70), 126 (27), 102 (100), 86 (52), 56 (34)
4d	295 (10)	209 (74)	211 (75), 102 (100)
4e	337 (5)	209 (100)	211 (91), 102 (100), 44 (83)
6a	288 (50)	176 (70)	260 (20), 145 (55), 130 (100), 118 (40), 112 (31), 102 (82), 96 (75)
7a	286 (45)	174 (100)	258 (55), 146 (40)
9a	273 (40)	161 (100)	245 (20), 133 (40), 118 (40), 96 (35), 90 (20)
10a	321 (18)	209 (37)	112 (28), 102 (100), 96 (45)
13a	275 (51)	191 (100)	
13b	275 (55)	191 (100)	192 (35), 84 (42)
13e	277 (31)	191 (100)	192 (23)
13g	277 (43)	191 (100)	206 (35), 192 (40), 151 (45)
13h	319 (20)	191 (100)	
14a	287 (5)	175 (100)	190 (30), 145 (65), 135 (25), 117 (26), 89 (35)
14c	261(57)	175 (100)	176 (32), 145 (81), 117 (37), 89 (47)
14e	303 (18)	175 (100)	145 (42), 89 (26)
16a	271 (67)	187 (100)	159 (30), 144 (40), 115 (42), 84 (35)
16b	273 (87)	187 (100)	188 (35), 159 (62), 144 (60), 121 (42), 115 (60)
16c	315 (26)	187 (100)	144 (27), 128 (27), 115 (27) 44 (35)
17a	321 (18)	235 (37)	237 (35), 156 (25), 128 (100), 96 (45)
17b	319 (25)	235 (25)	237 (25), 156 (27), 138 (27), 129 (28), 128 (100), 84 (74)
18a	285 (63)	201 (87)	202 (25), 173 (42), 143 (35), 115 (100), 84 (35)
18b	289 (35)	205 (5)	204 (25), 140 (31), 127 (100), 112 (52), 84 (35)
18c	287 (55)	201 (57)	173 (99), 115 (100)

Um estudo computacional da afinidade protônica (AP) de algumas cinamamidas e dienamidas foi realizado para dar suporte ao estudo de fragmentação com a hipótese do hidrogênio se ligar preferencialmente no nitrogênio como proposto (Figura 4.2.7). Usando as amidas **1h**, **1l**, **1k**, **18a** e **18b** no caso das cinamamidas e dienamidas foi possível observar que o hidrogênio se liga preferencialmente no nitrogênio com indicado pelos valores de AP(b) inferior ao de AP(a) variando de 7,58 a 35,70 kJ/mol (Tabela 4.2.12), confirmando a hipótese. O hidrogênio se liga preferencialmente no átomo cuja a AP é menor.

Tabela 4.2.12. Afinidade protônica de algumas cinamamidas e dienamidas (AP (kJ/mol))

	AP(a)	AP(b)	ΔP
1h	984,40	976,82	7,58
1l	933,66	903,37	30,29
1k	973,89	946,86	27,03
18a	996,12	976,24	19,88
18b	980,89	945,19	35,70

a, b são as posições onde o hidrogênio se liga.

As energias de ligação N-CO das substâncias **1h**, **1i**, **1k**, **1l**, **2c**, **2d**, **2e**, **13b**, **13e**, **13g**, **13h**, **14c**, **14e**, **16a**, **16c**, **18a**, **18b** e **18c** foram previstas usando o programa DBE. A teoria do funcional de densidade (DFT, do inglês *Density functional theory*) no nível B3LYP foi usada para gerar as energias de ligação cujos valores foram comparados. Como o software BDE gera modelo utilizando apenas moléculas neutras, a previsão das energias de ligação de substâncias protonadas é limitada. No entanto, comparando-se os valores das energias de ligação calculados por BDE e DFT-B3LYP quando o hidrogênio é ligado ao nitrogênio (E_b) a energia é mais baixa do que a energia da energia da ligação N-C na molécula neutra (E) a com o hidrogênio ligado ao oxigênio da carbonila (E_a) (Tabela 4.2.13).

As energias de ligação N-CO calculadas pelo programa BDE foram consistentemente inferiores para todas as amidas no qual o hidrogênio foi ligado ao nitrogênio (Tabela 4.2.13). Esta ligação é a mais fácil de ser rompida quando os compostos são submetidos à análise por EMAR-IES gerando o íon acílio.

Tabela 4.2.13. Energias da ligação N-C (kJ/mol) de cinamamidas e dienamidas, com o hidrogênio ligado nas posições a e b (E, E_a, E_b).

	E	E _a	E _b
1h	335,56	375,72	156,90
1i	336,81	373,63	146,02
1k	350,20	409,20	164,85
1l	317,99	348,95	148,53
2c	335,56	373,63	146,02
2d	350,20	409,20	164,85
2e	317,98	348,95	148,53
13b	335,56	350,62	156,90
13e	335,56	373,63	146,02
13g	350,20	409,20	164,85
13h	317,98	348,95	148,53
14c	335,56	373,63	146,02
14e	317,98	348,95	148,53
16a	355,22	407,52	158,99
16c	323,00	355,22	155,23
18a	341,00	382,00	162,34
18b	380,74	408,36	226,35
18c	355,22	407,52	158,99

Foi também realizado um estudo computacional da afinidade protônica (AP) das cinamimidas para confirmar a ligação o hidrogênio se liga no nitrogênio como proposto no mecanismo na Figura 4.2.8. Para as amidas **1a**, **1b**, **1c**, **1d**, **1e**, **2a**, **3a**, **6a**, **7a**, **9a**, **10a**, **13a** e **14a** foi possível observar que o hidrogênio se liga preferencialmente no nitrogênio como indicado pelos valores de AP(b) inferiores em todos os casos aos valores de AP(a) e AP(c) (Tabela 4.2.14), confirmando a hipótese.

Foram também calculadas as energias de ligação N-CO no caso 1 (nitrogênio ligado ao carbono da carbonila conjugada com o anel aromático: E₁, E_{a1} e E_{b1}) e no caso 2 (nitrogênio ligado ao carbono da carbonila da lactama: E₂, E_{a2} e E_{b2}) para substâncias **1a**, **1b**, **1d**, **2a** e **13a** (Tabela 4.2.15). No entanto, usando DFT-B3LYP, os valores das energias de ligação N-CO E_{2b} de quase todas as substâncias foram menores, exceto para substâncias **1a** e **1b**. Para a substância **1a** justifica-se o fato em função do nitrogênio estar ligado a duas carbonilas e conjugadas à ligação dupla. No caso da substância **1b**, a conjugação com as duas carbonilas é perdida.

Tabela 4.2.14. Afinidade protônica de algumas cinamimidas (AP (kJ/mol))

	AP(a)	AP(b)	AP(c)
1a	945,75	898,82	927,77
1b	941,94	889,96	946,81
1c	964,63	900,53	936,35
1d	951,73	887,15	899,9
1e	950,38	842,84	910,26
2a	951,08	891,88	917,21
3a	954,79	907,3	948,15
6a	887,09	828,54	842,59
7a	979,05	903,21	925,51
9a	933,2	868,86	926,06
10a	913,5	891,12	915,12
13a	981,27	885,84	899,73
14a	890,5	767,87	842,64

a, b,c são as posições cuja o hidrogênio se liga

Tabela 4.2.15. Energias da ligação N-C(1) e N-C (2) (kJ/mol) para a algumas imidas, o hidrogênio ligado a substância na posições a, b e c (E_1 , E_2 , E_{a1} , E_{a2} , E_{b1} , E_{b2} , E_{c1} , E_{c2})

	E_1	E_2	E_{a1}	E_{a2}	E_{b1}	E_{b2}	E_{c1}	E_{c2}
1a	337,65	316,73	398,74	265,68	125,94	125,52	292,88	383,25
1b	369,03	357,73	416,73	308,36	194,56	187,44	326,77	392,46
1d	341,00	358,57	399,57	317,57	141,42	191,21	287,44	411,71
2a	341,00	358,57	399,57	317,57	141,42	191,21	287,44	411,71
13a	341,00	358,57	399,57	317,57	141,42	191,21	287,44	411,71

4.2.7. Síntese dos ésteres

Os ésteres sintetizados são produtos secundários da síntese das cinamimidas, que resultaram do acoplamento entre o butanol e os cloretos de acilas e foram incorporados ao projeto como variantes estruturais das amidas. Podemos justificar a formação destes ésteres já que foi observado a presença de 1-butanol nos frascos de n-BuLi usados.

Foram obtidas (*E*)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilato de butila (**1o**), (*E*)-1-(4-metoxifenil)acrilato de butila (**3d**), (*E*)-1-(4-clorofenil)acrilato de butila (**5c**), (*E*)-1-(4-nitrofenil)acrilato de butila (**6c**), (*E*)-1-(3-metoxifenil)acrilato de butila (**9d**), (*E*)-1-(3-bromofenil)acrilato de butila (**10c**) e (2*E*,4*E*)-5-(3,4,5-trimetoxifenil)penta-2,4-dienoato de butila (**19a**).

A obtenção dos ésteres foi realizada com rendimentos obtidos adequados (Tabela 4.2.16).

Tabela 4.2.16. Rendimento das cetonas

	n	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Rendimento (%)
1o	1	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	32
3d	1	H	H	OCH ₃	H	H	21
5c	1	H	H	Cl	H	H	26
6c	1	H	H	NO ₂	H	H	14
9d	1	H	OCH ₃	H	H	H	37
10c	1	H	Br	H	H	H	15
19a	2	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	25

Os dados obtidos por espectrometria de massa de alta resolução pela ionização por electrospray (EMAR-IES) indicam claramente que foram obtidos os produtos desejados, sendo possível observar por meio da comparação dos valores dos picos dos íons quasimoleculares calculados (ou dos íons molecular com o aduto de sódio) com os obtidos experimentalmente (Tabela 4.2.17), com exceção das substâncias **5c**, **6c**, **9d** e **10c**.

Tabela 4.2.17. Dados de EMAR (IES) das cetonas

	[M+Na] ⁺ calculado	[M+Na] ⁺ obtido
1o	317,1150	317,2000
3d	257,1148	257,1134
19a	343,1516	343,1513

No espectro de massas de baixa resolução da substância **5c** foi possível observar o pico do íon molecular 238, do íon majoritário em m/z 182 que resulta do rearranjo de McLafferty e em m/z 167 que correspondente a fragmentação α .

No espectro de massas de baixa resolução da substância **6c** foi possível observar o pico do íon molecular 249, do pico majoritário em m/z 176 que representa a fragmentação α e em m/z 192 que resulta do rearranjo de McLafferty.

No espectro de massas de baixa resolução da substância **9d** foi possível observar o pico do íon molecular 234 e dos íons em m/z 178, 177 como provavelmente resultantes do rearranjo de McLafferty e o íon em m/z a 161 que correspondente a fragmentação α .

No espectro de massas de baixa resolução da substância **10c** foi possível observar o pico do íon molecular 282, do pico do íon molecular em m/z 267 de baixa intensidade; os picos em m/z 226 resultantes do rearranjo de McLafferty e em m/z 209 da fragmentação α .

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C obtidos para todas as cetonas confirmam inequivocamente as estruturas dos compostos sintetizados.

A presença dos hidrogênios de metileno ligado a oxigênio carbinólico foi confirmado pela presença de tripleto entre δ 4,10-4,20 com J de cerca 9 Hz, Também foram observados tripletos em torno δ 0,9 dos hidrogênios das metilas terminais.

Os sinais dos hidrogênios dos anéis aromáticos foram observados nas regiões esperadas com J em torno de 8 e 2 Hz para acoplamento em *orto* e *meta*. As metoxilas das substâncias metoxiladas foram encontradas em torno de δ 3,9 como singletos.

Nos espectros de RMN de ^{13}C foi possível observar os sinais dos carbonos das carboxilas dos esters em torno de δ 170. Os carbonos do anel aromáticos foram observados nas regiões esperadas entre δ 100-150. Os carbonos metínicos ligados as carbonilas foram observados na região de δ 120 e ligados aos aneis aromáticos em aproximadamente δ 140. Os carbonos dos metilenos ligados a oxigênio carbinólico foram observados em torno de δ 60. Os carbonos das metoxilas foram observados em torno de δ 55. Os carbonos da ligação C-Br, C-Cl, C-N(CH₃)₂ e C-NO₂ apresentam sinal em δ 123, 132, 151 e 148, respectivamente.

Para a substância inédita **19a** foi feita a análise no infravermelho (IV) para confirmar a presença de grupos funcionais. Observou a banda de C=O em 1703 cm⁻¹, C=C-H em 998 cm⁻¹, C=C-C em 1253 cm⁻¹, C=C em 1579 cm⁻¹ e Ar em 850 cm⁻¹.

4.2.8. Síntese das amidas derivadas do acoplamento entre os ácidos carboxílicos e o DCC

Nas tentativas de acoplar os ácidos e as lactamas para obtenção das cinamimidas foi usado a *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC). No entanto, foi observado a formação de produto secundário resultante do acoplamento entre o ácido e o DCC (Figura 4.2.11). A via 1 é favorecida porque o grupo R, que representa os derivados do ácido cinâmico, favorece um rearranjo intramolecular devido ao impedimento estérico que dificulta o ataque do nitrogênio da lactama (Valeur e Bradley 2009).

Esquema 4.2.11. Mecanismo da formação dos derivados do acoplamento entre os ácidos e DCC

Assim foram obtidos 28 derivados: (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**1m**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propanamida (**1n**), (*E*)-1-cinamoil-1,3-diciclohexilurea (**2f**), 1,3-diciclohexil-1-(3-

fenilpropanoil)urea (**2g**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(4-metoxifenil)acrilamida (**3b**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(4-metoxifenil)propanamida (**3c**), (*E*)-1-(3-(4-bromofenil)acriloil)-1,3-diciclohexilurea (**4f**), (*E*)-3-(4-clorofenil)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acrilamida (**5a**), 3-(4-clorofenil)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)propanamida (**5b**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(4-nitrofenil)acrilamida (**6b**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilamida (**7b**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*p*-tolil)acrilamida (**8a**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*p*-tolil)propanamida (**8b**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3-metoxifenil)acrilamida (**9b**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3-metoxifenil)propanamida (**9c**), (*E*)-3-(3-bromofenil)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acrilamida (**10b**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*m*-tolil)acrilamida (**11a**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*m*-tolil)propanamida (**11b**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*o*-tolil)acrilamida (**12a**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(*o*-tolil)propanamida (**12b**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4-dimetoxifenil)acrilamida (**13i**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(3,4-dimetoxifenil)propanamida (**13j**), (*E*)-3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acrilamida (**14f**), 3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)propanamida (**14g**), (*E*)-*N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(2,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**15a**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)-3-(2,4,5-trimetoxifenil)propanamida (**15b**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)acetamida (**20g**), *N*-ciclohexil-*N*-(ciclohexilcarbamoil)decanamida (**22f**). Também o diciclohexilurea (**23a**) que é um produto obtido na reação entre o ácido sinapínico e o DCC foi obtido.

A obtenção das amidas derivadas do acoplamento entre o ácido e o DCC foi realizada com rendimentos satisfatórios (Tabela 4.2.18).

Os dados obtidos por espectrometria de massa de alta resolução pela ionização por electrospray (EMAR-IES) indicam claramente que foram obtidos os produtos desejados, sendo possível observar por meio da comparação dos valores dos picos dos íons quasimoleculares calculados (ou dos íons molecular com o aduto de sódio) com os obtidos experimentalmente (Tabela 4.2.19).

Tabela 4.2.19. Dados de EMAR (IES) das amidas derivadas do acoplamento entre o ácido e o DCC

	$[M+H]^+$ ou $[M+Na]^+$ calculado	$[M+H]^+$ ou $[M+Na]$ obtido
1m	445,2697	445,2725
1n	447,2853	447,2852
2f	377,2199	377,2261
2g	357,2537	357,2531
3b	407,2305	407,2346
3c	387,2642	387,2682
4f	455,1305	455,1297
5a	411,1810	411,1807
5b	413,1966	413,1970
6b	400,2231	400,2236
7b	398,2802	398,2802
8a	391,2356	391,2360
8b	371,2693	371,2693
9b	407,2305	407,2308
9c	387,2642	387,2637
10b	433,1485	433,1480
11a	391,2356	391,2365
11b	371,2693	371,2690
12a	391,2356	391,2360
12b	371,2693	371,2700
13i	415,2591	415,2620
13j	417,2748	417,2760
14f	399,2278	399,2210
14g	401,2435	401,2450
15a	445,2697	445,2696
15b	469,2673	469,2675
20g	267,2067	267,2087
22f	401,3138	401,3191
23a	225,1961	225,1963

Os espectros de RMN obtidos para todas estas amidas confirmam inequivocamente as estruturas dos compostos sintetizados.

Foi possível observar os multipletos do hidrogênio dos dois grupos metinos, dos dois ciclohexanos ligados ao nitrogênio entre δ 3,50 e 4,30. Os multipletos dos metilenos dos ciclohexanos se encontram entre δ 1,20 e 2,20. Os hidrogênios das metilas em *orto*, *meta* e *para* apresentaram singleto entre δ 2,10 e 2,40 enquanto as duas metilas do dimetilamina foram encontradas a δ 3,02. Os hidrogênios das metoxilas foram observados com singleto em torno de δ 3,9. Os hidrogênios dos anéis aromáticos dissubstituídos em *para* foram observados como dubleto e duplos tripletos com J em torno de 8 e 2 Hz; em *meta* foram observados como dubletos, tripletos e multipletos com J em torno de 2 e 8 Hz; e em *orto* foram observados como dubleto, duplos dubletos, tripletos e multipletos com J em torno de 2 e 8 Hz entre δ 6,50 e 7,50. No caso dos anéis trisubstituídas foram encontrados dubletos e duplo dubletos com J em torno de 2 e 8 Hz entre δ 6,80 e 7,50. Para os anéis tetrasubstituídos foram observados singletos entre δ 6,40 e 7,00. Os hidrogênios da metila da substância **20g** foram observados como singletos em 2,21 e o metileno da **22f** em 2,40 como tripletos com J de 6 Hz. Para dicitclohexilurea (**23a**) os hidrogênios ligados os nitrogênios foram observados como singleto entre 4,00 e 4,10.

Nos espectros de RMN de ^{13}C foi possível observar claramente o sinal dos dois carbonos carbonílicos em torno de δ 155 e 172. Os carbonos dos anéis aromáticos foram observados nas regiões esperadas entre δ 100-150. Os carbonos dos metinos ligados a carbonila foi observado perto de δ 120 e ligados ao anel aromáticos perto de δ 140. Os carbonos das metoxilas foram observados em torno de δ 55. Os carbonos ligados ao nitrogênio foram observados entre δ 45-50. No caso dos derivados contendo o grupo metilenodióxi o sinal do carbono OCH_2O pode ser observado próximo a δ 100. Para os derivados contendo a metila em *orto*, *meta* e *para* foi possível observar os carbonos em torno de δ 22.

Os carbonos da ligação C-Br, C-Cl, C-N(CH₃)₂ e C-NO₂ apresentam sinal em δ 124, 136, 151 e 148, respectivamente.

Para os 19 derivados não encontrados na literatura foram realizadas análises no IV para confirmar a presença de grupos funcionais (Tabela 4.2.20). A presença do anel aromático, da ligação H-C=C, da dupla C=C, da ligação C-N, e da ligação N-H são confirmadas pelas bandas de absorção em torno de 800, 980, 1550, 1150 cm⁻¹ e 3200 cm⁻¹, além de uma banda dupla das duas carbonilas entre 1630-1730 cm⁻¹.

Tabela 4.2.20. Bandas características no IV das amidas derivadas do acoplamento entre o ácido e o DCC

	C=C-H	C=C	CO-N-CO	C-N	N-H	Ar
1m	973	1583	1761 e 1703	1129	3291	822
1n	1010	1570	1702 e 1667	1128	3315	786
4f	988	1533	1755 e 1710	1230	3272	818
5a	1015	1526	1683 e 1656	1218	3337	816
5b	986	1537	1713 e 1648	1232	3270	823
7b	989	1544	1706 e 1640	1189	3248	814
8a	988	1573	1711 e 1644	1231	3326	812
8b	967	1530	1708 e 1632	1224	3324	817
9b	978	1543	1709 e 1648	1159	3325	790
9c	1041	1543	1679 e 1649	1167	3436	792
10b	985	1563	1708 e 1648	1229	3264	783
11a	984	1536	1709 e 1646	1225	3266	785
11b	1083	1537	1708 e 1689	1164	3297	786
12a	989	1543	1709 e 1643	1221	3263	776
12b	976	1541	1711 e 1634	1226	3281	792
13i	979	1535	1702 e 1644	1161	3239	809
13j	1029	1517	1702 e 1641	1156	3299	806
14f	989	1542	1704 e 1646	1229	3256	810
14g	941	1548	1697 e 1672	1228	3257	803
15a	983	1561	1696 e 1671	1125	3252	762
15b	1036	1538	1672 e 1628	1207	3266	811

Os espectros de massas de baixa resolução para estes 19 derivados foram gerados foi possível observar 5 fragmentos característicos (Figura 4.2.12, Tabela 4.2.21). O fragmento 1 representa a perda do grupo $C_6H_{11}NHCO^+$. O fragmento 2 representa a perda dos grupos $C_6H_{11}NHCO$ e C_6H_{11} . O fragmento 3 representa a perda do grupo diciclohexilurea ($C_6H_{11}NHCONC_6H_{11}$). Os fragmentos 4 e 5 são característicos das amidas **1m**, **5b**, **8b**, **9c**, **11b**, **12b**, **13j**, **14g** e **15b** com as ligação C=C hidrogenadas, que representam uma possível fragmentação α e um provável rearranjo do tipo McLafferty.

Foi possível observar ainda os íons fragmentários em de m/z 77 do $C_6H_5^+$, 83 de $C_6H_{11}^+$, 98 do $C_6H_{11}N^+$ e em 126 referente ao íon $C_6H_{11}NHCO^+$.

Figura 4.2.12. Alguns fragmentos característicos das amidas derivadas do acoplamento entre os ácidos e o DCC em EM por IE

Tabela 4.2.21. Picos dos fragmentos característicos das amidas derivadas do acoplamento entre os ácidos e o DCC

	Fragmento 1	Fragmento 2	Fragmento 3	Fragmento 4	Fragmento 5
1m	319	237	221	-	-
1n	321	239	223	181	195
4f	309	224	209	-	-
5a	263	180	165	-	-
5b	265	184	167	167	139
7b	271	188	174	-	-
8a	243	160	145	-	-
8b	245	164	147	105	118
9b	259	176	161	-	-
9c	261	179	163	121	135
10b	307	226	209	-	-
11a	243	160	145	-	-
11b	245	164	147	105	119
12a	243	160	145	-	-
12b	245	164	147	105	119
13i	289	206	191	-	-
13j	291	209	193	151	165
14f	273	190	175	-	-
14g	275	193	177	135	148
15a	319	-	221	-	-
15b	321	239	-	181	195

4.3. Ensaaios biológicos

4.3.1 Citotoxicidade contra as células K562, Nalm6 e Raji

As citotoxicidades de 89 substâncias obtidas foram avaliadas contra as células leucêmicas K562, Nalm6 e Raji e os valores de da concentração inibitórias à 50% (IC₅₀) foram obtidos (Tabela 4.3.1). Foi possível observar que a linhagem Nalm6 é a mais vulnerável a estas substâncias seguida da Raji e K562 que é a mais resistente. A pipartina (**1a**) com valores de IC₅₀ na faixa de nanomolar (0,34 µM para K562 e 0,49 µM para Nalm6) se mostrou mais eficaz. Mas também pode-se notar que as substâncias **1n**, **13h** e **13i** que resultaram em valores de IC₅₀ de 0,84 µM; 1,88 µM e 0,98 µM em pelo menos uma linhagem celular. Um estudo das relações estrutura-atividade foi realizado (item 4.4).

Tabela 4.3.1. IC₅₀ (µM) da citotoxicidade de 89 substâncias contra células leucêmicas K562, Nalm6 e Raji

	K562		Nalm6		Raji	
	MD	DP	MD	DP	MD	DP
1a	0,34	0,03	0,49	0,14	5,44	1,31
1b	>100		>100		>100	
1c	>100		>100		>100	
1d	>100		>100		>100	
1e	>100		38,50	1,80	>100	
1f	>100		21,33	7,34	>100	
1g	>100		>100		>100	
1h	>100		>100		>100	
1i	>100		>100		>100	
1j	>100		>100		>100	
1k	>100		>100		>100	
1l	13,50	7,96	>100		66,64	21,00
1m	>100		>100		>100	
1n	0,52	0,05	0,84	0,20	57,00	2,00
2a	>100		21,8	13,6	>100	
2b	41,30	0,10	>100		56,70	0,10
2c	>100		>100		>100	
2d	>100		>100		>100	
2e	31,00	16,70	80,30	49,40	14,20	1,10
2f	>100		>100		>100	
2g	>100		>100		>100	
3a	>100		44,9	3,90	>100	
3b	>100		>100		>100	

	K562		Nalm6		Raji	
3c	>100		>100		>100	
4a	>100		>100		>100	
4b	>100		>100		93,50	1,70
4c	>100		>100		>100	
4d	>100		99,10	2,64	>100	
4e	30,60	11,33	>100		74,40	21,20
4f	>100		>100		>100	
5a	14,83	7,24	16,60	1,90	>100	
5b	>100		>100		>100	
6a	34,50	0,90	8,30	1,00	23,60	0,32
6b	>100		>100		>100	
7a	>100		6,20	1,50	88,60	5,05
7b	>100		>100		>100	
8a	>100		>100		>100	
8b	>100		>100		>100	
9a	54,30	0,40	24,00	1,20	39,00	2,41
9b	>100		>100		>100	
9c	>100		26,00	17,60	61,00	26,20
10a	62,20	16,90	9,10	1,50	25,60	1,84
10b	>100		>100		>100	
11a	>100		>100		>100	
11b	41,10	2,50	>100		67,10	16,30
12a	>100		>100		>100	
12b	84,60	23,60	>100		42,60	8,50
13a	>100		33,92	6,13	>100	
13b	>100		72,47	7,63	>100	
13c	>100		>100		>100	
13d	>100		>100		>100	
13e	>100		91,86	1,32	>100	
13f	>100		>100		>100	
13g	>100		>100		>100	
13h	1,88	0,44	>100		>100	
13i	0,98	0,01	0,87	0,08	>100	
13j	>100		>100		>100	
14a	>100		>100		43,90	23,1
14b	>100		>100		>100	
14c	>100		>100		>100	
14d	69,20	0,10	55,00	12,00	81,20	11,1
14e	>100		98,82	1,66	>100	
14f	>100		32,94	2,72	>100	

	K562		Nalm6		Raji	
14g	52,40	37,10	>100		17,00	0,70
15a	>100		>100		>100	
15b	>100		>100		>100	
16a	>100		61,90	25,50	7,90	4,70
16b	>100		>100		38,00	32,80
16c	>100		>100		5,40	3,70
17a	>100		41,90	0,10	>100	
17b	>100		16,10	17,70	>100	
18a	>100		>100		>100	
18b	>100		45,20	0,10	>100	
18c	>100		>100		>100	
20a	>100		>100		>100	
20b	>100		>100		>100	
20c	>100		>100		>100	
20d	>100		>100		>100	
20e	>100		>100		>100	
20f	>100		>100		>100	
20g	>100		>100		>100	
21a	>100		>100		>100	
22a	>100		>100		>100	
22b	51,80	6,20	36,80	7,00	65,10	1,70
22c	75,40	11,40	79,60	13,00	96,60	15,80
22d	>100		>100		>100	
22e	90,40	9,90	74,80	8,40	79,30	2,40
22f	>100		26,10	2,50	>100	
23a	>100		>100		>100	
Doxorrubicina	30,50	3,40	44,30	9,40	45,20	0,50
Glevec	0,03	0,01	0,01		0,01	

MD: média; **DP:** desvio padrão; Doxorrubicina, Glevec: controle positivo;

4.3.2. Atividade leishmanicida

A toxicidade da piplartina (**1a**) e dos análogos **1b**, **1f**, **1i**, **1k**, **1l**, **1n**, **3c**, **4d**, **4e**, **13e**, **13g**, **13h**, **13i**, **13j**, **14e**, **14f**, **22d** foi avaliado contra cultivos promastigotas de *Leishmania amazonensis* na concentrações de 256 µg/mL (Tabela 4.3.2). Foi observado que somente a piplartina (**1a**) e os análogos **3c**, **4d**, **13g** e **14e** resultaram em percentual de redução acima de 50%. Por ser um trabalho preliminar nenhum controle foi usado.

Tabela 4.3.2. Percentual de redução MTT em cultivos promastigotas de *L. amazonensis* na concentração máxima de 256 µg/mL.

1a	56,73%
1b	33,40%
1f	21,75%
1i	39,40%
1k	26,23%
1l	47,27%
1n	30,60%
3c	55,60%
4d	54,70%
4e	27,90%
13e	20,27%
13g	70,53%
13h	38,57%
13i	16,80%
13j	28,47%
14e	59,38%
14f	31,30%
22d	28,27%

Somente para as substâncias com percentual de inibição acima de 50% na concentração de 256 µg/mL que outros ensaios foram realizados para obtenção da concentração inibitória à 50% (IC₅₀). Os valores do IC₅₀ da piplartina (**1a**) e das substâncias **3c**, **4d**, **13g** e **14e** são apresentados na Tabela 4.3. Pode-se observar que as substâncias **13g**, **3c** e **1a** foram as mais potentes. O estudo de relação estrutura atividade se mostrou limitado e não foi continuado.

Tabela 4.3.3. Concentração inibitória à 50% (IC₅₀, µM) da piplartina e análogos sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

	IC ₅₀ (µM)
1a	543,20
3c	513,40
4d	731,20
13g	497,20
14e	600,80

4.4. Relação Estrutura-Atividade

Para o estudo da Relação Estrutura-Atividade da citotoxicidade de 89 substâncias obtidas contra as 3 linhagens K562, Nalm6 e Raji foram usadas 3 abordagens:

- Abordagem qualitativa onde a atividade das substâncias são divididas em dois grupos Ativo-Inativo a fim de identificar as propriedades comuns aos substancias de cada grupo;
- Abordagem quantitativa onde somente são consideradas as substâncias com valores de IC_{50} conhecido no caso abaixo de 100 μM . Neste caso uma relação quantitativa entre os valores de atividade biológica e as propriedades físico-químicas das estruturas é procurada;
- Ancoragem molecular (do inglês *Docking*) onde se procurar encontra o possível receptor das moléculas com melhor valor de atividade citotóxica e verificar as interações intermoleculares responsáveis.

4.4.1. Abordagem qualitativa

Para abordagem qualitativa a primeira etapa foi a separação das substâncias em dois grupos (ativo, inativo). As moléculas com valores do $IC_{50} > 100 \mu M$ (tabela 4.3.1) foram considerada inativas (I) e as com $IC_{50} < 100$ como ativas (A) (Tabela 4.4.1). A partir do programa VolSurf⁺ foram gerados 128 descritores. Após a normalização dos dados (por autoescalamamento de forma a apresentarem média igual a zero e desvio-padrão unitário no VolSurf+), o algoritmo genético (GA) do programa *Mobydigs* e o método de *sub CfsSubsetEval* do programa *Weka* foram usados para selecionar os descritores que apresentam maior correlação com as atividades citotóxicas (Leadi *et al* 1992, Hall *et al* 2009). Usando o PLS discriminante (PLS-DA) não foi possível gerar um modelo válido nos três casos. Os algoritmos *J48*, *M5P* e *Randomforest* foram usados para gerar árvores de decisão. Para as células K562 e Raji com, respectivamente, 19 e 24 substâncias ativas nas 89 testadas não foi possível gerar um modelo explicativo consistente.

Tabela 4.4.1. Atividade padronizada de atividade citotóxica (K562, Nalm6 e Raji)

	K562	Nalm6	Raji
1a	A	A	A
1b	I	I	I
1c	I	I	I
1d	I	I	I
1e	I	A	I
1f	I	A	I
1g	I	I	I
1h	I	I	I
1i	I	I	I
1j	I	I	I
1k	I	I	I
1l	A	I	A
1m	I	I	I
1n	A	A	A
2a	I	A	I
2b	A	I	A
2c	I	I	I
2d	I	I	I
2e	A	A	A
2f	I	I	I
2g	I	I	I
3a	I	A	I
3b	I	I	I
3c	I	I	I
4a	I	I	I
4b	I	I	A
4c	I	I	I
4d	I	A	I
4e	A	I	A
4f	I	I	I
5a	A	A	I
5b	I	I	I
6a	A	A	A
6b	I	I	I
7a	I	A	A
7b	I	I	I
8a	I	I	I
8b	I	I	I
9a	A	A	A
9b	I	I	I
9c	I	A	A
10a	A	A	A
10b	I	I	I
11a	I	I	I
11b	A	I	A

A: ativo, I: inativo.

	K562	Nalm6	Raji
11a	I	I	I
11b	A	I	A
12a	I	I	I
12b	A	I	A
13a	I	A	I
13b	I	A	I
13c	I	I	I
13d	I	I	I
13e	I	A	I
13f	I	I	I
13g	I	I	I
13h	A	I	I
13i	A	A	I
13j	I	I	I
14a	I	I	A
14b	I	I	I
14c	I	I	I
14d	A	A	A
14e	I	A	I
14f	I	A	I
14g	A	I	A
15a	I	I	I
15b	I	I	I
16a	I	A	A
16b	I	I	A
16c	I	I	A
17a	I	A	I
17b	I	A	I
18a	I	I	I
18b	I	A	I
18c	I	I	I
20a	I	I	I
20b	I	I	I
20c	I	I	I
20d	I	I	I
20e	I	I	I
20f	I	I	I
20g	I	I	I
21a	I	I	I
22a	I	I	I
22b	A	A	A
22c	A	A	A
22d	I	I	I
22e	A	A	A
22f	I	A	I
23a	I	I	I

No caso da célula leucêmica Nalm6, com 29 substâncias ativas do total de 89, usando o algoritmo *J48* pela plataforma KNIME (figura 4.4.1) foi possível gerar um modelo a partir de uma árvore de classificação (Figura 4.4.2). Para obtenção desta árvore, o modelo foi treinado, a partir de 80% de dados selecionados aleatoriamente, e resultou em um acerto de 92% de substâncias ativas e 100% de substâncias inativas, com um acerto total de 96%. Pela predição interna (validação cruzada particionando a serie de treino em 10 grupos) foi obtido um acerto de 65% para substâncias ativas e 81% para substâncias inativas. A partir dos outros 20% de dados o modelo foi testado resultando em uma predição de 67% para os ativos e 83 % para os inativos, com um acerto total de 90% (Tabela 4.4.2).

Tabela 4.4.2. Porcentagem de acerto para treino e teste das substâncias ativas e inativas contra a Nalm6

Treino	Quantidade	Acerto	%
Ativas	23	21	92
Inativas	48	48	100

Validação cruzada	Quantidade	Acerto	%
Ativas	23	15	65
Inativas	48	39	81

Teste	Quantidade	Acerto	%
Ativas	6	4	67
Inativas	12	12	83

Figura 4.4.1: Fluxo de trabalho no KNIME usando o algoritmo *J48*.

Em uma primeira etapa foram selecionados os descritores: D1, D3, D8, DD3, %FU5, MW, R e WO3. Em seguida, o modelo foi gerado a partir dos descritores %Fu5, D3, DD3, R e MW.

Analisando-se a árvore gerada pode-se observar que a ionização das substâncias ao pH 5 é importante para a atividade, já que foi demonstrado que neste pH algumas células leucêmicas morrem (Park, 1995).

O descritor MW ligado com o peso molecular mostrou que as moléculas com peso inferior a 322u são ativas, e aquelas de 322u a 384u são inativas.

O descritor D3 da sonda *DRY* que representa o envelope molecular gerando as interações hidrofóbicas atrativas no nível de energia -0,6 kcal/mol separam as substâncias ativas das inativas do seguinte modo: as substâncias com valor de D3 entre 42 e 46 kcal/mol são ativas enquanto aquelas com energia menor do que 42 kcal/mol são inativas. A partir do descritor DD3 da sonda *DRY* que representa a diferença de volume hidrofóbico no nível de energia -0,6 kcal/mol, as substâncias com valor de DD3 entre -0,37 e -0,50 kcal/mol foram ativas enquanto aquelas com energia superior a -0,50 kcal/mol foram inativas.

O descritor R representa a rugosidade, que é a razão entre o volume e a superfície das moléculas. Foi observado que compostos com valor R entre 1,39 e 1,42 são inativas e com valor menor do que 1,39 são ativas.

Figura 4.4.2: Árvore de classificação das substâncias ativas e inativas no caso da Nalm6 gerado pelo algoritmo J48

Podemos dizer que a ionização das substâncias a pH 5 é importante na citotoxicidade das substâncias; as substâncias com massa molecular menor que 322u são ativas; quanto maior a razão entre o volume e a superfície da molécula maior a atividade; e quanto menor as interações hidrofóbicas atrativas em nível de energia -0,6 kcal/mol e maior a diferença de volume hidrofóbico maior a inatividade.

4.4.2. Abordagem quantitativa (QSAR)

A partir do programa VolSurf⁺ foi gerado 128 descritores. Após a normalização dos dados de forma a apresentarem média igual a zero e desvio-padrão unitário, o algoritmo genético (GA) do programa Mobydigs e o método de *sub CfsSubsetEval* do programa Weka foram usados para selecionar os descritores mais correlacionados com as atividades citotóxicas das substâncias. Este tipo de seleção define os descritores mais correlacionados com a atividade biológica. Os descritores selecionados foram analisados por PLS gerando um modelo válido matematicamente para as linhagens K562, Nalm6 e Raji.

4.4.2.1. Estudo QSAR da citotoxicidade de 19 substâncias contra a linhagem K562

Foram encontradas 19 substâncias citotóxicas contra a célula leucêmica K562 com valores de $IC_{50} < 100 \mu M$ (Tabela 4.4.3). Para geração dos modelos os valores de IC_{50} em μM foram escalonados usando $pIC_{50} = -\log(IC_{50})$ (Tabela 4.4.3).

O método de regressão por algoritmo genético no *Mobydigs* permitiu selecionar três descritores (IW3, DRDRDR e LgBB) que são os mais correlacionados com a citotoxicidade das substâncias contra a linhagem K562. Com base nos descritores selecionados Iw3, DRDRDR e LgBB no VolSurf⁺, o método de PLS foi utilizado para construção do modelo de regressão empregando os dados de IC_{50} obtidos experimentalmente. O modelo estatístico obtido foi considerado confiável matematicamente considerando os valores de R^2 (coeficiente de avaliação) de 0,81 e Q^2 (coeficiente de predição interna por validação cruzada por *leave-one-out* (LOO)) de 0,71. O modelo gerado utilizou as LV1, LV2 e LV3 (variáveis latentes; item 1.5.1.1) com 100% da variância (Tabela 4.4.4).

Tabela 4.4.3. Valores de IC₅₀ (μM) e valores escalonados de IC₅₀ das 19 substâncias citotóxicas contra a linhagem K562 (IC₅₀ (μM))

	IC ₅₀ (K562)	(pIC ₅₀ (K562))
1a	0,34	6,47
1l	13,50	4,87
1n	0,52	6,29
2b	41,3	4,38
2e	31,0	4,51
4e	30,60	4,51
5a	14,83	4,83
6a	34,5	4,46
9a	54,3	4,27
10a	62,2	4,21
11b	41,1	4,39
12b	84,6	4,07
13h	1,88	5,73
13i	0,98	6,01
14d	69,2	4,16
14g	52,4	4,28
22b	51,8	4,29
22c	75,4	4,12
22e	90,4	4,04

Tabela 4.4.4. Variância (%) e variância acumulada (%), valores de R² e Q², e pesos dos descritores para as três LVs calculadas (K562).

	LV1	LV2	LV3
Variância (%)	52,91	20,48	26,61
Variância acumulada (%)	52,91	73,39	100
R²	0,55	0,79	0,81
Q²	0,36	0,66	0,71
IW3	-0,13	0,46	0,52
DRDRDR	0,47	0,81	0,73
LgBB	-0,41	-0,64	-0,77

Os gráficos dos escores e dos pesos (Figura 4.4.2) gerados a partir dos dois primeiros LVs apresentaram que têm as maiores variâncias (acumulada = 73,39%). Verifica-se que a atividade das substâncias está relacionada positivamente principalmente com os descritores DRDRDR e IW3, e negativamente com o descritor LgBB. O descritor DRDRDR da sonda *DRY* refere-se a área farmacofórica do volume das regiões hidrofóbicas, indicando que a região hidrofóbica é importante para a atividade. O descritor IW3 da sonda H₂O é obtido pela diferença entre o centro

de massa e o centro da região hidrofílica da molécula no nível de energia de -1,0 kcal/mol e indica que a concentração das regiões hidratadas somente numa parte da superfície das moléculas influencia positivamente a atividade. O descritor LgBB associado à permeabilidade das substâncias através da barreira hemato-encefálica, mostra que a atividade é dependente da capacidade de atravessar essa a membrana a célula K562.

Figura 4.4.2. Gráficos dos escores (A) e pesos (B) do modelo para as duas primeiras LVs (LV1 (52,91%) e LV2 (20,48%)), que explicam 73,39 % da variância do sistema. (A): A área em vermelho representa a região das substâncias com citototoxicidade baixa, a área em azul com citototoxicidade mais alta (K562)

Os campos de interações moleculares entre as sondas DRY (verde) e H₂O (ciano) com as substâncias **1a** (pIC₅₀= 6,47) e **22e** (pIC₅₀= 4,04) indicam que as moléculas com maiores volumes hidrofílicas em equilíbrio com as regiões hidrofóbicas parecem ser mais ativas (Figura 4.4.3).

Figura 4.4.3: Campo de interações molecularentre as sondas DRY (verde) H₂O (ciano) da substância mais ativa (**1a**) (A) e menos ativa (**22e**) (B) (K562).

Pode-se afirmar que a previsão das atividades das substâncias foi feita de maneira satisfatória e que somente a substância **1l** não foi coerente com modelo e pode ser classificado com um *outlier* (Tabela 4.4.5, Figura 4.4.4).

Tabela 4.4.5. Valores experimentais e preditos gerado por validação interna de pIC₅₀(K562) pelo modelo de regressão selecionado.

	pIC ₅₀ (K562) experimental	pIC ₅₀ (K562) predito	Erro
1a	6,47	6,31	0,16
1l	4,87	5,97	-1,10
1n	6,29	5,89	0,40
2b	4,38	4,52	-0,14
2e	4,51	4,61	-0,10
4e	4,51	4,37	0,15
5a	4,83	4,56	0,27
6a	4,46	4,53	-0,07
9a	4,27	4,35	-0,09
10a	4,21	3,74	0,47
11b	4,39	4,29	0,10
12b	4,07	4,34	-0,27
13h	5,73	5,29	0,44
13i	6,01	5,37	0,64
14d	4,16	4,51	-0,35
14g	4,28	4,65	-0,37
22b	4,29	3,77	0,51
22c	4,12	4,46	-0,33
22e	4,04	4,39	-0,34

Figura 4.4.4. Valores experimentais versus valores previstos gerados por validação interna de $pIC_{50}(K562)$

4.4.2.2. Estudo QSAR da citotoxicidade de 29 substâncias contra a linhagem Nalm6

Foram observadas 29 substâncias citotóxicas contra a célula leucêmica Nalm6 com valores de IC_{50} abaixo de 100 (Tabela 4.4.6). Para geração dos modelos os valores de IC_{50} em μM foram escalonados usando $pIC_{50} = -\log(IC_{50})$ (Tabela 4.4.6).

O método de regressão por algoritmo genético possibilitou selecionar oito descritores (S, D3, D4, D6, IW4, CW4, CW7 e DD8) que são os mais correlacionados com a citotoxicidade das substâncias contra a linhagem Nalm6. O modelo gerado por PLS a partir dos descritores S, D3, D4, D6, IW4, CW4, CW7 e DD8 foram utilizados para construção do modelo de regressão empregando os dados de IC_{50} obtidos experimentalmente. O modelo estatístico obtido foi considerado confiável matematicamente considerando os valores de R^2 (coeficiente de avaliação) de 0,80 e Q^2 (coeficiente de predição interna por validação cruzada por *leave-two-out* (LTO)) de 0,62. O modelo gerado utilizou as LV1, LV2, LV3, LV4, LV5, LV6, LV7 e LV8 com 100% da variância (Tabela 4.4.7).

Tabela 4.4.6 Valores de IC_{50} e valores escalonados de pIC_{50} das 29 substâncias citotóxicas contra a linhagem Nalm6 (IC_{50} (μM))

	$IC_{50}(Nalm6)$	$p(IC_{50}(Nalm6))$
1a	0,49	6,31
1e	38,50	4,41
1f	21,33	4,67
1n	0,84	6,08
2a	21,80	4,66
2e	80,30	4,10
3a	44,90	4,35
4d	99,10	4,00
5a	16,60	4,78
6a	8,30	5,08
7a	6,20	5,21
9a	24,00	4,62
9c	26,00	4,59
10a	9,10	5,04
13a	33,92	4,47
13b	72,47	4,14
13e	91,86	4,04
13i	0,87	6,06
14d	55,00	4,26
14e	98,82	4,01
14f	32,94	4,48
16a	61,90	4,21
17a	41,90	4,38
17b	16,10	4,79
18b	45,20	4,34
22b	36,80	4,43
22c	79,60	4,10
22e	74,80	4,13
22f	26,10	4,58

Tabela 4.4.7. Variância (%) e variância acumulada (%), valores de R^2 e Q^2 , e pesos dos descritores para as 8 LVs calculadas (Nalm6).

	LV1	LV2	LV3	LV4	LV5	LV6	LV7	LV8
Varianca (%)	22,60	27,20	21,26	16,39	3,84	6,85	1,21	0,65
Variância acumulada (%)	22,60	49,80	71,06	87,46	91,17	98,15	99,35	100,00
R^2	0,43	0,49	0,52	0,56	0,71	0,74	0,77	0,80
Q^2	0,13	0,21	0,20	0,23	0,36	0,43	0,59	0,62
S	0,42	0,59	0,00	0,09	0,49	-0,43	-0,16	0,15
D3	-0,11	0,17	-0,42	0,30	-0,17	0,23	-0,77	-0,14
D4	0,07	0,22	-0,03	0,59	-0,24	0,31	0,32	0,58
D6	0,44	0,03	-0,29	0,20	-0,51	-0,34	0,28	-0,47
IW4	-0,49	0,43	0,58	0,24	-0,22	-0,21	-0,02	-0,30
CW4	0,20	-0,38	0,35	0,03	-0,37	-0,44	-0,42	0,42
CW7	0,41	-0,31	0,45	0,44	0,31	0,33	-0,09	-0,36
DD8	-0,40	-0,39	-0,29	0,51	0,36	-0,45	0,11	0,00

Os gráficos dos escores e dos pesos (Figura 4.4.5) gerados a partir dos dois primeiros LVs que possuem maior variância (variância acumulada de 49,80%) que a atividade das substâncias está mais associada aos descritores S, D4, D6, D3 e IW4, no entanto os descritores CW4, CW7 e DD8 reduzem a atividade. O descritor S representa a superfície molecular acessível que interagiu com a sonda H_2O no nível de energia 0,2 kcal/mol, mostrando que moléculas com grande superfície hidrofílica são mais ativas. Os descritores D3, D4 e D6 são originados pela sonda *DRY* e representam as interações hidrofóbicas atrativas na superfície de cada molécula em níveis de energia -0,6 kcal/mol, -0,8 kcal/mol e -1,2 kcal/mol. O descritor IW4 é gerado pela sonda H_2O e expressa o desequilíbrio entre o centro de massa de uma molécula e o baricentro das suas regiões hidrofílicas representa a interação hidrofílica na superfície de cada molécula no nível -2,0 kcal/mol. Com valor de IW4 podemos deduzir que as regiões polares são perto do centro de massa das moléculas. Então, podemos deduzir substâncias como regiões polares no centro de massa e regiões hidrofóbicas nas periferias teremos um aumento da atividade citotóxica.

Os descritores CW4 e CW7 são oriundos da sonda H_2O e representam a razão a relação entre o volume hidrofílico sobre a superfície molecular total nos níveis de energia -2,0 e -5,0 kcal/mol. O descritor DD8 resulta da sonda *DRY* representa a diferenças de volumes hidrofóbicos no nível de energia -1,6 kcal/mol. Pode-se deduzir que quando as regiões hidrofílicas são encontradas em varias parte da molecula menor será a citotoxicidade.

Figura 4.4.5. Gráficos dos escores (A) e pesos (B) do modelo para as duas primeiras LVs (LV1 (22,60%) e LV2 (27,20%)), que explicam 49,80 % da variância do sistema. (A): A área em vermelho representa a região das substâncias com citototoxicidade baixa, a área em azul com citotoxicidade mais alta (Nalm6).

Os campos de interações moleculares entre as sondas *DRY* (verde) e H_2O (ciano) com as substância **1a** ($p(\text{IC}_{50})= 6,31$) e **14e** ($p(\text{IC}_{50})= 4,01$) indicam que quando as regiões polares estão perto do centro de massa e regiões hidrofóbicas nas periferias maior a atividade (Figura 4.4.6).

Figura 4.4.6. Campo de interações moleculares entre as sondas *DRY* (verde) OH2 (ciano) da substância mais ativa (**1a**) (A) e menos ativa (**14e**) (B) (Nalm6).

Pode-se afirmar que a previsão das atividades das substâncias foi feita de maneira satisfatória e que a substância **3a** (*outlier*) não foi coerente com modelo por ter diferença de -1 com o valor experimental (Tabela 4.4.8 e Figura 4.4.7)

Figura 4.4.7. Valores experimentais versus valores previstos de pIC_{50} (Nalm6)

Tabela 4.4.8. Valores experimentais e preditos por validação interna de $pIC_{50}(\text{Nalm6})$ pelo modelo de regressão selecionado.

	$pIC_{50}(\text{Nalm6})$ experimental	$pIC_{50}(\text{Nalm6})$ predito	Erro
1a	6,31	5,61	0,70
1e	4,41	4,87	-0,46
1f	4,67	4,52	0,15
1n	6,08	5,75	0,33
2a	4,66	4,59	0,07
2e	4,10	4,30	-0,20
3a	4,35	5,35	-1,00
4d	4,00	4,46	-0,46
5a	4,78	5,20	-0,42
6a	5,08	4,90	0,18
7a	5,21	4,84	0,37
9a	4,62	4,63	-0,01
9c	4,59	4,38	0,21
10a	5,04	4,61	0,43
13a	4,47	4,30	0,17
13b	4,14	4,12	0,02
13e	4,04	4,64	-0,60
13i	6,06	6,04	0,02
14d	4,26	3,91	0,35
14e	4,01	3,63	0,38
14f	4,48	4,94	-0,46
16a	4,21	4,52	-0,31
17a	4,38	4,28	0,10
17b	4,79	4,36	0,43
18b	4,34	4,42	-0,08
22b	4,43	4,33	0,10
22c	4,10	3,78	0,32
22e	4,13	4,30	-0,17
22f	4,58	4,63	-0,05

4.4.2.3. Estudo QSAR da citotoxicidade de 23 substâncias contra a linhagem Raji

Foram encontradas 23 substâncias citotóxicas contra a célula leucêmica Raji com valores de IC_{50} abaixo de 100 μM (Tabela 4.4.9). Para geração dos modelos os valores de IC_{50} em μM foram escalonados usando $pIC_{50} = -\log(IC_{50})$ (Tabela 4.4.9).

O método de regressão por algoritmo genético possibilitou a seleção de 8 descritores (D5, D6, WO4, LOGPc-Hex e LgS3) que são os mais correlacionados com a citotoxicidade das substâncias contra a linhagem Raji. O modelo pelo PLS usando os descritores D5, D6, WO4, LOGPc-Hex e LgS3 foi utilizado para construção de modelo de regressão empregando os dados de IC_{50} obtidos experimentalmente. O modelo estatístico foi considerado confiável matematicamente considerando-se os valores de R^2 (coeficiente de avaliação) de 0,75 e Q^2 (coeficiente de predição interna por validação cruzada por *leave-one-out* (LOO)) de 0,60. O modelo gerado utilizou as LV1, LV2, LV3, LV4 e LV5 com 100% da variância (Tabela 4.4.10).

Tabela 4.4.9. Valores de IC_{50} e valores escalonados de IC_{50} das 24 substâncias citotóxicas contra a linhagem Raji (IC_{50} (μM))

	IC_{50} (Raji)	pIC_{50} (Raji)
1a	5,44	5,26
1l	66,64	4,18
1n	56,96	4,24
2b	56,66	4,25
2e	14,17	4,85
4b	93,46	4,03
4e	74,45	4,13
6a	23,63	4,63
7a	88,56	4,05
9a	38,96	4,41
9c	61,02	4,21
10a	25,58	4,59
11b	67,09	4,17
12b	42,62	4,37
14a	43,91	4,36
14d	81,18	4,09
14g	17,05	4,77
16a	7,94	5,10
16b	37,96	4,42
16c	5,44	5,26
22b	65,14	4,19
22c	96,63	4,01
22e	79,29	4,10

Tabela 4.4.10: Variância (%) e variância acumulada (%), valores de R^2 e Q^2 , e pesos dos descritores para as três LVs calculadas (Raji).

	LV1	LV2	LV3	LV4	LV5
Varianca (%)	40,90	30,03	14,48	11,77	2,81
Variância acumulada (%)	40,90	70,94	85,41	97,19	100
R^2	0,12	0,17	0,40	0,61	0,75
Q^2	-0,23	-0,34	-0,35	-0,04	0,60
D5	0,78	0,24	0,13	0,44	0,35
D6	0,53	-0,55	-0,40	-0,13	-0,49
WO4	-0,32	-0,28	-0,20	0,87	-0,10
LOGPc-Hex	-0,02	-0,74	0,34	-0,11	0,56
LgS3	-0,06	0,06	-0,82	-0,13	0,56

Uma crítica do modelo formada é que a diferença entre pIC_{50} (**1a**) (substância mais ativa) e pIC_{50} (**22c**) (substância menos ativa) é de 1,25. Isso indica que o modelo pode ser sujeito a discrepância.

Os gráficos dos escores e dos pesos (Figura 4.4.8) gerados a partir dos dois primeiros LVs com as maiores variâncias (70,94%) revelam que a atividade das substâncias está associada com os descritores D5 e D6. Porém os descritores WO3, LgS3 e LogPc-Hex estão associados a menor atividade citotóxica. Os descritores D5 e D6 oriundos da sonda *DRY* representam as interações hidrofóbicas atrativas na superfície de cada molécula em níveis de energia -1,0 kcal/mol e -1,2 kcal/mol. O descritor WO3 que resulta da sonda O (oxigênio de carbonila) representa o envelope molecular gerando as interações atrativas de ligação de hidrogênio no oxigênio da carbonila no nível de energia -3 kcal/mol. O descritor LgS3 representa a solubilidade de cada substância no pH 3, indicando que as substâncias são mais solúvel em pH baixo (meio ácido) menor será a atividade. O descritor LogPc-Hex representa o coeficiente de partição n-ciclohexano/água sendo que a solubilidade das substâncias em meio hidrofóbicos reduz a atividade biológica.

Figura 4.4.8. Gráficos dos escores (A) e pesos (B) do modelo para as duas primeiras LVs (LV1 (40,53%) e LV2 (29,12%)), que explicam 69,65% da variância do sistema. (A): A área em vermelho representa a região das substâncias com citotoxicidade baixa, a área em azul com citotoxicidade mais alta (Raji).

Os campos de interações moleculares entre as sondas *DRY* (verde) e H_2O (ciano) com as substâncias **1a** ($p(IC_{50}) = 5,26$) e **22c** ($p(IC_{50}) = 4,01$) indicam que quanto maior as regiões hidrofílicas em relação as regiões hidrofóbicas maior será a atividade (Figura 4.4.9).

Figura 4.4.9: Campo de interações molecular entre as sondas DRY (verde) OH2 (ciano) da substância mais ativa (**1a**) (A) e menos ativa (**22c**) (B) (Raji).

Pode-se afirmar que a previsão das atividades das substâncias foi feita de maneira adequada e apesar que uma variação de somente 1,25 entre a substância mais ativa e a menos ativa (Tabela 4.4.11, Figura 4.4.10).

Tabela 4.4.11: Valores experimentais e preditos por validação interna pelo modelo de regressão selecionado (Raji).

	pIC₅₀(Raji) experimental	pIC₅₀ (Raji) previsto	Erro
1a	5,26	4,83	0,43
1l	4,18	4,59	-0,41
1n	4,24	4,20	0,04
2b	4,25	3,86	0,39
2e	4,85	4,35	0,50
4b	4,03	4,36	-0,33
4e	4,13	4,29	-0,16
6a	4,63	4,43	0,20
7a	4,05	4,29	-0,24
9a	4,41	4,60	-0,19
9c	4,21	4,15	0,06
10a	4,59	4,79	-0,20
11b	4,17	4,28	-0,11
12b	4,37	4,16	0,21
14a	4,36	4,58	-0,22
14d	4,09	4,14	-0,05
14g	4,77	4,85	-0,08
16a	5,10	5,08	0,02
16b	4,42	4,38	0,04
16c	5,26	5,02	0,24
22b	4,19	4,03	0,16
22c	4,01	4,27	-0,26
22e	4,10	4,06	0,04

Figura 4.4.10: Valores experimentais versus valores previstos de pIC₅₀ (Raji)

4.4.3 Ancoragem molecular (*Docking*)

Com o objetivo de se iniciar um estudo de modo de ação das amidas nos ensaios de citotoxicidade em células leucêmica K562, foi realizado um estudo de ancoragem molecular com o objetivo de fazer uma triagem virtual. Assim, as amidas **1a**, **1l**, **1n**, **5a**, **13i** e **13h** cujos valores de IC₅₀ foram comparáveis ao da doxorubicina (controle positivo) (Ítem 3.4.). A escolha da linhagem K562 resultou do fato dela ser a mais estudada e, conseqüentemente, ter vários receptores descritos. As proteínas tirosinas quinases ABL1 e as histonas desacetilases, por sua vez, por serem enzimas envolvidas em uma gama de processos biológicos, tais como apoptose, diferenciação, proliferação e senescência. As isoformas de três de proteínas tirosinas quinases ABL1 (PDB: 2HZ0, 3QRJ e 3UE4) e de duas histonas desacetilases do tipo HDAC4 (código PDB: 2VQM) e uma HDAC8 (código PDB: 3EW8 e 3MZ7), de resolução entre 1,80 e 2,50 Å, todas de *Homo sapiens* foram escolhidas por terem sitio ativo conhecido e inibidor identificado (substância orgânica com estrutura parecida com os compostos de interesse).

A qualidade dos modelos estruturais selecionadas foram avaliadas a partir do parâmetro estatístico RMSD (tabela 4.4.12). As isoformas com valores de RMSD acima de 2 Å foram excluídas.

Tabela 4.4.12. Valores de RMSD e dos escores *MolDock* das isoformas com o ligante

Isoforma	Ligante	<i>MolDock</i> Score (kcal/mol)	RMSD (Å)
2HZ0	GIN_600 [A]	-70,67	9,89
2VQM	HA3_1410 [A]	-56,33	0,13
3EW8	B3N_501 [A]	-67,59	0,41
3MZ7	B3N_701 [A]	-67,76	0,57
3QRJ	919_1 [B]	-199,68	0,61
3UE4	DB8_601 [A]	-140,36	0,26

A isoforma 2HZ0 foi excluída por ter um valor de RMSD superior a 2 Å. As outras isoformas foram usadas na busca de possíveis proteínas alvos. O sítio de ligação ou os sítios de ligação destas amidas ainda não foi identificado.

A isoforma 2VQM de histonas desacetilases HDAC4 é um monômero e possui um como inibidor o HA3_1401 [A]. Os valores dos escores *MolDock* das interações mais favoráveis com a isoforma 2VQM com seu inibidor e as seis amidas (**1a**, **1l**, **1n**, **5a**, **13i** e **13h**) indicaram que **1l**, **13i**, **13h** e **1n** têm valor de escore menor que o inibidor indicando a necessidade de um estudo mais completo para se investigar seus potenciais como inibidores de histona desacetilase HDAC4 (Tabela 4.4.13).

Tabela 4.4.13: Valores dos escores *MolDock* das interações entre as sete substâncias e a isoforma 2VQM (HDAC4)

Ligante	Escore <i>MolDock</i> (kcal/mol)
1l	-76,84
13i	-75,85
13h	-74,95
HA3_1410 [A]	-60,62* (-56,33)**
1n	-59,97
5a	-53,69
1a	-48,90

*valor recalculado, **valor inicial.

As amidas **1l**, **13h**, **13i** e **1n** e a isoforma 2VQM de histonas desacetilases HDAC4 possuem possíveis interações de tipo hidrofóbico e ligação de hidrogênio (Figura 4.4.11). A substância **1l** tem possíveis interações de tipo hidrofóbico com os aminoácidos prolina (Pro 156) e cisteína (Cys 169) e de tipo ligação de hidrogênio com a histidina (His 198). A substância **13h** tem possíveis interações de tipo hidrofóbico com os aminoácidos prolina (Pro 156), histidina (His 158) e cisteína (Cys 169) e de tipo ligação de hidrogênio com a fenilalanina (Phe 227). A

substância **13i** tem possíveis interações de tipo hidrofóbico com os aminoácidos fenilalanina (Phe 227), histidina (His 159) e leucina (Leu 299). A substância **1n** tem possíveis interações de tipo hidrofóbicos com os aminoácidos fenilalanina (Phe 227) e glicina (Gly 167) e cisteína (Cys 169) e de tipo ligação de hidrogênio com a histidina (His 198) e aspartato (Asp 290). O inibidor (HA3_1410) apresentou interação de tipo hidrofóbico com a glicina (Gly 167) como a substância **1n**.

Figura 4.4.11: Mapa das possíveis interações de **1l**, **13i**, **13h** e **1n** e dos aminoácidos da isoforma 2VQM de histonas desacetilases HDAC4.

A isoforma 3EW8 de histonas deacetilases HDAC8 é um monômero e possui um inibidor, B3N_501 [A]. Os valores dos escores *MolDock* das interações mais favoráveis da isoforma 2EW8 com seu inibidor e as 6 amidas (**1a**, **1l**, **1n**, **5a**, **13i** e **13h**) indicaram que as moléculas **1l**, **13h**, **5a** e **13i** possuem valor de escore menor que o inibidor, sugerindo que elas precisam ser mais investigadas como potenciais inibidores de histona deacetilase HDAC8 (Tabela 4.4.14).

Tabela 4.4.14. Valores dos escores *MolDock* das interações entre as sete substâncias e a isoforma 3EW8 (HDAC8)

Ligante	Escore <i>MolDock</i> (kcal/mol)
1l	-75,76
13h	-75,57
5a	-75,43
B3N_501 [A]	-72,90* (67,59)**
13i	-71,99
1n	-65,90
1a	-54,31

*valor recalculado, **valor inicial.

Os compostos **1l**, **13h**, **5a** e **13i** e a isoforma 3EW8 de histonas desacetilases HDAC8 possuem possíveis interações de tipo hidrofóbico e ligação de hidrogênio (Figura 4.4.12). A substância **1l** possui possíveis interações de tipo hidrofóbica com os aminoácidos histidina (His 180), leucina (Leu 101) e cisteína (Tyr 100) e de tipo ligação de hidrogênio com a leucina (Leu 101) e tirosina (Tyr 100). A substância **13h** apresenta possíveis interações de tipo hidrofóbica com os aminoácidos histidina (His 180), leucina (Leu 101) e fenilalanina 208 (Phe 208). A substância **5a** possui possíveis interações de tipo hidrofóbica com os aminoácidos histidina (His 143), leucina (Leu 101), fenilalanina (Phe 207 e 208) e tirosina (Tyr 306) e de tipo ligação de hidrogênio com a leucina (Leu 101) e tirosina (Tyr 306). A substância **13i** tem interações de tipo hidrofóbica com os aminoácidos histidina (His 142, 143 e 180), metionina (Met 274) e triptofano (Trp 306) e ligação de tipo hidrogênio com o aspartato (Asp 267) e tirosina (tyr 306). O inibidor (B3N_501A) apresentou interação de tipo hidrofóbico com a fenilalanina (Phe 208) (como as substâncias **5a**, **13h** e **13i**), tirosina (Tyr 306) (como a substância 13i) e ligação de hidrogênio com aspartato (Asp 178), histidina (His 143 e 180) e tirosina (Tyr 306) (como os compostos **5a** e **13i**).

Figura 4.4.12: Mapa das possíveis interações de **1l**, **13h**, **5a** e **13i** e dos aminoácidos da isoforma 3EW8 de histonas deacetilases HDAC8

A isoforma 3MZ7 de histona deacetilases HDAC8 é um monômero e possui um inibidor, B3N_701 [A]. Os valores dos escores *MolDock* das interações mais favoráveis com a isoforma 3MZ7 com seu inibidor e as seis amidas (**1a**, **1l**, **1n**, **5a**, **13i** e **13h**) indicaram que **1n**, **5a** e **13i** têm valor de escore menor que o inibidor, indicando a necessidade de um estudo mais completo para se investigar seus potenciais como inibidores de histona desacetilase HDAC8 (Tabela 4.4.13).

Tabela 4.4.15. Valores dos escores *MolDock* das interações entre as sete substancias e a isoforma 3MZ7 (HDAC8)

Ligante	Escore <i>MolDock</i> (kcal/mol)
1n	-76,44
5a	-73,05
13i	-69,76
B3N_701 [A]	-61,46* (67,76)**
1l	-49,46
13h	-47,70
1a	-44,23

*valor recalculado, **valor inicial

As amidas **1n**, **5a** e **13i** e a isoforma 3MZ7 de histonas desacetilases HDAC8 possuem possíveis interações de tipo hidrofóbico e ligação de hidrogênio (Figura 4.4.13). A substância **1n** apresenta possíveis interações de tipo hidrofóbico com os aminoácidos glicina (Gly 151 e 206) e histidina (His 143 e 180). A substância **5a** tem possíveis interações de tipo hidrofóbica com os aminoácidos glicina (Gly 151) e histidina (His 143 e 180). A substância **13i** possui possíveis interações de tipo hidrofóbico com os aminoácidos histidina (His 143 e 180) e tirosina (Tyr 306). O inibidor (B3N_701A) apresenta possíveis interações de tipo hidrofóbico com os aminoácidos histidina (His 180) (como as substâncias **1n**, **5a** e **13i**) e tirosina (Tyr 306) e de tipo ligação de hidrogênio com a aspartato (Asp 178 e 267) e histidina (His 142 e 143).

Figura 4.4.13: Mapa das possíveis interações de **1n**, **5a** e **13i** e dos aminoácidos da isoforma 3MZ7 de histonas deacetilases HDAC8.

As isoformas 3QRJ e 3UR4 de tirosinas cinases ABL1 são dímeros e possuem respectivamente os inibidores 919_1 [A], 919_2 [B] e DB8_601 [A], DB8_601 [B]. No entanto, o sítio ativo foi respectivamente determinado com 919_1[B] e DB8_601[A]. Os valores dos escores *MolDock* das interações mais favoráveis das isoformas 3UR4 e 3QRJ com respectivos inibidores e as seis amidas (**1a**, **1l**, **1n**, **5a**, **13i** e **13h**) não indicaram nenhum compostos com valor de escore menor do que o inibidor (Tabela 4.4.16 e Tabela 4.4.17).

Tabela 4.4.16. Valores dos escores *MolDock* das interações entre as oitas substâncias e a isoforma 3QRJ (ABL1)

Ligante	Escore <i>MolDock</i> (kcal/mol)
919_1 [B]	-211.284* (199,68)**
919_2 [A]	-210.608
1n	-132.039
13i	-128.465
5a	-125.738
13h	-120.86
1l	-119.531

*valor recalculado, **valor inicial

Tabela 4.4.17. Valores dos escores *MolDock* das interações entre as oitas substâncias e a isoforma 3UE4 (ABL1)

Ligante	Escore <i>MolDock</i> (kcal/mol)
DB8_601 [A]	-140,14* (140,36)**
DB8_601 [B]	-131,77
13i	-120,54
1l	-117,32
13h	-114,31
5a	-111,30
1n	-106,93
1a	-87,46

*valor recalculado, **valor inicial

5. CONCLUSÕES

A disponibilização e avaliação da atividade biológica de uma grande variedade de amidas foi baseada nas diversas atividades biológicas apresentadas pela amida piplartina. As amidas naturais como piperina e piplartina foram isoladas, respectivamente, dos frutos de *P. nigrum* e raízes de *Piper tuberculatum*. As demais 96 substâncias foram obtidas através de metodologias sintéticas simples que possibilitaram a obtenção de 30 cinamamidas, 8 dienamidas, 8 amidas alifáticas, 14 cinamimidas (8 inéditas), 4 imidas alifáticas, 7 esters (1 inédita) e 29 derivados do acoplamento entre os correspondentes ácidos e DCC (21 inéditas).

No estudo por espectrometria de massas, foi observado para as cinamamidas, dienamidas e cinamimidas, a clivagem preferencial da ligação N-CO, diferente da clivagem α e da fragmentação de McLafferty observado para maioria das amidas. As ferramentas computacionais que evoluíram estudos de afinidade protônica e energia de ligação confirmaram esta fragmentação preferencial para amidas quando da ionização por IE ou IES.

Os ensaios de citotoxicidade das substâncias contra as células leucêmicas K562, Nalm6 e Raji mostrou que a célula K562 é mais resistente, com 19 substâncias com IC₅₀ inferior a 100 μ M. A célula Nalm6 se mostrou a mais vulnerável com 29 amidas demonstrando atividade inferior a 100 μ M. As substâncias **1a** (piplartina), **1n**, **13h** e **13i** mostraram citotoxicidade na ordem de nanomolar em pelo menos uma das linhagens. As substâncias **1n**, **13h** e **13i** podem ser consideradas novos protótipos na busca de fármacos contra leucemias. Além disso, ensaios *in vivo* devem ser realizados para um melhor entendimento do mecanismo de ação.

Os ensaios de atividade leishmanicida em formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* para 18 substâncias escolhidas não mostraram resultados promissores e não foram explorados.

Num estudo qualitativo da relação estrutura-atividade os valores do IC₅₀ da citotoxicidade dos compostos foram divididos em 2 grupos: inativos com IC₅₀ > 100 μ M; e ativo com IC₅₀ < 100 μ M. Não foi possível gerar modelo estatisticamente válido para K562 e Raji onde no primeiro caso o número de amidas ativas representou cerca de 21 % e no segundo 26% do total de compostos. No caso de Nalm6 com 32% de casos ativos, foi possível gerar um modelo onde a ionização das substâncias em pH 5 é importante na sua citotoxicidade; as substâncias com peso molecular menor que 322u são ativas; quanto maior a razão entre o volume e a superfície da

molécula maior a atividade; quanto menor as interações hidrofóbicas atrativas em nível de energia -0,6 kcal/mol e maior a diferenças de volumes hidrofóbicas, maior a inatividade.

A abordagem quantitativa mostrou que no caso da linhagem K562, a permeabilidade das amidas através da membrana é relevante para a otimização da atividade. No caso da Nalm6 se constatou a necessidade de um equilíbrio entre as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas. Finalmente, no caso da linhagem Raji, a solubilidade das amidas em meio hidrofóbico se mostrou importante para atividade biológica. Os modelos obtidos devem ser usados para previsão da citotoxicidade de outras piperamidas.

Os estudos de ancoragem molecular revelaram a importância das regiões hidrofóbicas na periferia das moléculas como um elemento que aumentou a atividade. A partir do ensaio *in silico* as amidas **1n**, **1l**, **5a**, **13h** e **13i** mostraram um provável potencial como inibidores de histonas desacetilases do tipo 4 e 8, e precisam ser melhor investigadas em ensaios *in vitro*.

As piperamidas apresentam-se como potenciais moléculas protótipas para atividade citotóxica contra células cancerígenas. As substâncias **1l**, **1n**, **5a**, **13h** e **13i** foram as mais importantes.

A figura abaixo resume o estudo de SAR realizado:

6. REFERÊNCIAS

ChemAxon.JChem.

- Adams, D. J., Dai, M. et al. (2012). Synthesis, cellular evaluation, and mechanism of action of piperlongumine analogs. Proceedings of the National Academy of Sciences 109(38): 15115-15120.
- Andrews, P. R., Craik, D. J. et al. (1984). Functional group contributions to drug-receptor interactions. Journal of Medicinal Chemistry 27(12): 1648-1657.
- Armarego, W. L. F., Chai, C. L. L. (2003). Purification of Laboratory Chemicals. New York, Butterworth-Heinemann.
- Bajad, S., Coumar, M. et al. (2003). Characterization of a new rat urinary metabolite of piperine by LC/NMR/MS studies. European Journal of Pharmaceutical Sciences 19(5): 413-421.
- Banerji, J., Dhara, K. P. (1974). Lignan and amides from *Piper sylvaticum*. Phytochemistry 13: 2327-2328.
- Becke, A. D. (1988). Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. Physical Review A 38(6): 3098-3100.
- Bernard, C. B., Krishnamurty, H. G. et al. (1995). Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics J. Chem. Ecol. 21: 801-814.
- Berthold, M. R., Cebron, N., Dill, F., Gabriel, T. R., K\"{o}tter, T., Meinel, T., Ohl, P., Sieb, C. Thiel, K.; Wiswedel, B. (2007). Studies in Classification, Data Analysis, and Knowledge Organization (GfKL 2007), Springer.
- Bezerra, D. P., Militão, G. C. G., et al. (2007). Piplartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways. Toxicology in Vitro 21(1): 1-8.
- Bezerra, D. P., Pessoa, C. et al. (2012). Sensitive method for determination of pipartine, an alkaloid amide from Piper species, in rat plasma samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Química Nova 35: 460-465.
- Bezerra, D. P., Pessoa, C., et al. (2008). In vivo growth inhibition of sarcoma 180 by piperlonguminine, an alkaloid amide from *Piper* species. Journal of Applied Toxicology 28: 599-607.
- Birch, J. R. (1989). Culture of animal cells: A manual of basic technique: By R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., New York, 1987. pp. xviii + 397. ISBN 0-8451-4241-0. Journal of Chemical Technology & Biotechnology 45(4): 330-330.
- Boobbyer, D. N. A., Goodford, P. J., et al. (1989). New hydrogen-bond potentials for use in determining energetically favorable binding sites on molecules of known structure. Journal of Medicinal Chemistry 32(5): 1083-1094.
- Bottomley, M. J., Lo Surdo, P. et al. (2008). Structural and Functional Analysis of the Human HDAC4 Catalytic Domain Reveals a Regulatory Structural Zinc-binding Domain. Journal of Biological Chemistry 283(39): 26694-26704.
- Butler, M. S. (2004). The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery. Journal of Natural Products 67(12): 2141-2153.
- Cao, Y., Charisi, A. et al. (2008). ChemmineR: a compound mining framework for R. Bioinformatics 24(15): 1733-1734.
- Chan, W. W., Wise, S. C., et al. (2011). Conformational Control Inhibition of the BCR-ABL1 Tyrosine Kinase, Including the Gatekeeper T315I Mutant, by the Switch-Control Inhibitor DCC-2036. Cancer Cell 19(4): 556-568.
- Chatterjee, A., Dutta, C. P. (1967). Alkaloids of *Piper longum* Linn-I : Structure and synthesis of piperlongumine and piperlonguminine. Tetrahedron 23(4): 1769-1781.

- Clayden, J., Greeves, N., Warren, S., Wothers, P. (2001). Organic Chemistry. New York, Oxford University Press
- Cowan-Jacob, S. W., G. Fendrich, et al. (2007). Structural biology contributions to the discovery of drugs to treat chronic myelogenous leukaemia. Acta Crystallographica Section D 63(1): 80-93.
- Cramer, R. D., Patterson, D. E., et al. (1988). Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. Journal of the American Chemical Society 110(18): 5959-5967.
- Cremasco, M. A., Braga, N. D. P., (2010). Isomerização do óleo essencial de pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC) para a obtenção de isosafrol. Acta Amazonica 40: 737-740.
- Cruciani, G., Crivori, P. et al. (2000). Molecular fields in quantitative structure-permeation relationships: the VolSurf approach. Journal of Molecular Structure: THEOCHEM 503(1-2): 17-30.
- Cruciani, G., Pastor, M. et al. (2000). VolSurf: a new tool for the pharmacokinetic optimization of lead compounds. European Journal of Pharmaceutical Sciences 11, Supplement 2(0): S29-S39.
- Dal Picolo, C. R., Bezerra, M. P., et al. (2014). Antileishmanial activity evaluation of adunchalcone, a new prenylated dihydrochalcone from *Piper aduncum* L. Fitoterapia 97(0): 28-33.
- Daulatabad, C. D., Mulla, G. M., et al. (1995). Vernolic and Cyclopropenoic Fatty Acids in *Piper nigrum* Seed Oil. Lipid. Fett. 97(12): 453-454.
- David, B., Wolfender, J.L., et al. (2014). The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. Phytochemistry Reviews: 1-17.
- De Araujo-Junior, J. X., Da-Cunha, E. V. L., et al. (1997). Piperdardine, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. Phytochemistry 44(3): 559-561.
- De Souza Pietra, R. C. C., Rodrigues, L. F., et al. (2013). Triphenylmethane Derivatives Have High *In Vitro* and *In Vivo* Activity against the Main Causative Agents of Cutaneous Leishmaniasis. PLoS ONE 8(1): e51864.
- Dewar, M. J. S., Zoebisch, E. G., et al. (1985). Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. Journal of the American Chemical Society 107(13): 3902-3909.
- dos Santos, R. A., Ramos, C. et al. (2013). Antifungal Constituents from the Roots of *Piper dilatatum* Rich. Journal of Chemistry 2013: 5.
- Dowling, D. P., Gantt, S. L., et al. (2008). Structural Studies of Human Histone Deacetylase 8 and Its Site-Specific Variants Complexed with Substrate and Inhibitors. Biochemistry 47(51): 13554-13563.
- Dowling, D. P., Gattis, S. G., et al. (2010). Structures of Metal-Substituted Human Histone Deacetylase 8 Provide Mechanistic Inferences on Biological Function. Biochemistry 49(24): 5048-5056.
- Dyer, L. A., Dodson, C. D., et al. (2003). Synergistic effects of three *Piper* amides on generalist and specialist herbivores. J. Chem. Ecol. 29: 2499-2514.
- Facundo, V. A., Azevedo, M. S., et al. (2012). Chemical constituents from three medicinal plants: *Piper renitens*, *Siparuna guianensis* and *Alternanthera brasiliensis*. Revista Brasileira de Farmacognosia 22: 1134-1139.
- Facundo, V. A., Bálico, L. J., et al. (2012). Non-substituted B-ring flavonoids and an indole alkaloid from *Piper aleyreanum* (Piperaceae). Biochemical Systematics and Ecology 45(0): 206-208.

- Flores, N., Cabrera, G., et al. (2007). Leishmanicidal Constituents from the Leaves of *Piper rusbyi*. Planta Med. 73(03): 206-211.
- Gaia, A. M., Yamaguchi, L. F., et al. (2014). Age-dependent changes from allylphenol to prenylated benzoic acid production in *Piper gaudichaudianum* Kunth. Phytochemistry 106(0): 86-93.
- Gaus, M., Cui, Q., et al. (2011). DFTB3: extension of the Self-Consistent-Charge Density-Functional Tight-Binding Method (SCC-DFTB). J Chem Theory Comput 7: 931 - 948.
- German, J. B., Dillard C. J., (2004). Saturated fats: what dietary intake? The American Journal of Clinical Nutrition 80(3): 550-559.
- Goodford, P. J. (1985). A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biologically important macromolecules. Journal of Medicinal Chemistry 28(7): 849-857.
- Halgren, T. A. (1996). Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. Journal of Computational Chemistry 17(5-6): 490-519.
- Hall, A. M., Witten, I. H., Eibe., F., (2011). Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques, Morgan Kaufmann Publishers
- Hall, M., Frank, E., et al. (2009). The WEKA data mining software: an update. SIGKDD Explorations 11: 10 - 18.
- Hansch, C., Sammes, P. G., Taylor, J. B. (1990). Comprehensive medicinal chemistry: the rational design, mechanisty study and theropeutic application of chemical compounds. Oxford, Pergamon Press.
- Höskuldsson, A. (2001). Variable and subset selection in PLS regression. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 55(1-2): 23-38.
- Huang, X. Z., Yin, Y. et al. (2010). Two new ceramides from the stems of *Piper betle* L. Chinese Chemical Letters 21(4): 433-436.
- Hurwitz, R., J. Hozier, et al. (1979). Characterization of a leukemic cell line of the pre-B phenotype. International Journal of Cancer 23(2): 174-180.
- INCA. (2014). leucemia. from <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/definicao+>.
- INCA. (2014). O que é o câncer?, from http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322.
- Indahl, U. G., Liland, K. H., et al. (2009). Canonical partial least squares—a unified PLS approach to classification and regression problems. Journal of Chemometrics 23(9): 495-504.
- Jaramillo, M. A.,. Manos, P. S., (2001). Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). Am. J. Bot. 88: 706-716.
- Jensen, S., Hansen, J., et al. (1993). Lignans and neolignans from Piperaceae. Phytochemistry 33: 523-530.
- Jones, B. R. (1973). Homogenous Hydrogenation. New York, John Wildey&Sons.
- Kastenholz, M. A., Pastor, M., et al. (2000). GRID/CPCA: A New Computational Tool To Design Selective Ligands. Journal of Medicinal Chemistry 43(16): 3033-3044.
- Kato, M. J., Furlan M., (2007). Chemistry and evolution of the Piperaceae. Pure Appl. Chem. 79: 529-538.
- Kitchen, D. B., Decornez, H., et al. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. Nat Rev Drug Discov 3(11): 935-949.
- Klebe, G., Abraham, U., et al. (1994). Molecular Similarity Indices in a Comparative Analysis (CoMSIA) of Drug Molecules to Correlate and Predict Their Biological Activity. Journal of Medicinal Chemistry 37(24): 4130-4146.
- Koeffler, H., Golde D., (1980). Human myeloid leukemia cell lines: a review.

- Kubinyi, H. (1993). 3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods and Application. Leiden, ESCOM.
- Kubinyi, H. (1993). QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches. Weinheim, VCH.
- Kumar, S. T. K., Pandey, G., (2014), Role of Natural Products in discovery of Novel Medicinal Agents: A Historical Review. Journal of Applicable Chemistry 3(1), 209-227.
- Lago, J. H. G., A. T. Ito, et al. (2012). Secondary metabolites isolated from *Piper chimonantifolium* and their antifungal activity. Natural Product Research 26(8): 770-773.
- Leardi, R., Boggia, R., et al. (1992). Genetic algorithms as a strategy for feature selection. Journal of Chemometrics 6(5): 267-281.
- Leite, A. C. C. F., Kato, M. J., et al. (2012). Grandisin caused morphological changes larval and toxicity on *Aedes aegypti*. Revista Brasileira de Farmacognosia 22: 517-521.
- Lemos, C. O. T., Svidzinsk, T. I. E., et al. (2013). Evaluation of antifungal activity of extracts of *Piper regnellii* obtained by supercritical fluid extraction. Natural Product Research 27(24): 2355-2359.
- Lengauer, T., Rarey M., (1996). Computational methods for biomolecular docking. Current Opinion in Structural Biology 6(3): 402-406.
- Levinson, N. M., Boxer S. G., (2012). Structural and Spectroscopic Analysis of the Kinase Inhibitor Bosutinib and an Isomer of Bosutinib Binding to the Abl Tyrosine Kinase Domain. PLoS ONE 7(4): e29828.
- Lin, C.-F., Hwang, T.-L., et al. (2013). A New Hydroxychavicol Dimer from the Roots of *Piper betle*. Molecules 18(3): 2563-2570.
- Mabberley, D. J. (1997). The plant-book. A portable dictionary of the higher plants. New York, Cambridge Univ. Press.
- Maleck, M., Ferreira, B., et al. (2014). Cytotoxicity of Piperamides Towards *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology 51(2): 458-463.
- Marques, J. V. (2009). Atividade biológica de amidas e análogos de espécies de *Piper* e estudos biossintéticos. Instituto de Química. São Paulo, Universidade de São Paulo. PhD: 339p.
- Marques, J. V., Kitamura, R. O. S., et al. (2007). Antifungal Amides from *Piper scutifolium* and *Piper hoffmanseggianum*. Journal of Natural Products 70(12): 2036-2039.
- Mezzache, S., Afonso, C., et al. (2003). Proton affinity of proline and modified prolines using the kinetic method: role of the conformation investigated by ab initio calculations. Rapid Communications in Mass Spectrometry 17(14): 1626-1632.
- Mezzache, S., Pepe, C., et al. (2005). Proton affinity of diastereoisomers of modified prolines using the kinetic method and density functional theory calculations: role of the cis/trans substituent on the endo/exo ring conformation. Rapid Communications in Mass Spectrometry 19(16): 2279-2283.
- Mitra, A. K., DE, A., et al. (1999). application of microwave irradiation techniques for the syntheses of cinnamic acids by doebner condensation. Synthetic communications 29(4): 573-581.
- Montalbetti, C. A. G. N., Falque, V., (2005). Amide bond formation and peptide coupling. Tetrahedron 61(46): 10827-10852.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods 65(1-2): 55-63.
- Musenga, A., Mandrioli, R., et al. (2007). Analysis of aromatic and terpenic constituents of pepper extracts by capillary electrochromatography. Journal of Separation Science 30(4): 612-619.
- Nacional Cancer Institute, U. (2014). What You Need To Know About Leukemia. from <http://www.cancer.gov/cancertopics/wyntk/leukemia/page4>.

- Nascimento, J. C. D., De Paula, V. F., et al. (2012). Occurrence, biological activities and ^{13}C NMR data of amides from *Piper* (Piperaceae). *Química Nova* 35: 2288-2311.
- Navickiene, H. M. D., Alécio, A. C., et al. (2000). Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* 55(6): 621-626.
- Newman, D. J., Cragg, G. M. (2012). Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981–2010. *Journal of Natural Products* 75(3): 311-335.
- Newman, D. J., Cragg, G. M. et al. (2003). Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981–2002. *Journal of Natural Products* 66(7): 1022-1037.
- Ngane, A. N., L. Biyiti, et al. (2003). Antifungal activity of *Piper guineense* of Cameroon. *Fitoterapia* 74: 464-468.
- Niwa, A. M., Marcarini, J. C., et al. (2013). Effects of (–)-cubebin (*Piper cubeba*) on cytotoxicity, mutagenicity and expression of p38 MAP kinase and GSTa2 in a hepatoma cell line. *Journal of Food Composition and Analysis* 30(1): 1-5.
- Otoguro, K., Iwatsuki, M., et al. (2012). In vitro antitrypanosomal activity of some phenolic compounds from propolis and lactones from Fijian Kawa (*Piper methysticum*). *Journal of Natural Medicines* 66(3): 558-561.
- Palkar, M. B., Singhai, A. S., et al. (2014). Synthesis, pharmacological screening and in silico studies of new class of Diclofenac analogues as a promising anti-inflammatory agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 22(10): 2855-2866.
- Park, H.J., 1995. Effects of intracellular pH on apoptosis in HL-60 human leukemia cells. *Yonsei Med J* 36(6): 473-479.
- Parmar, V. S., Jain, S. C., et al. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry* 46: 597-673.
- Paula, V. F. d., L. Barbosa, C. D. A., et al. (2000). Synthesis and insecticidal activity of new amide derivatives of piperine. *Pest Management Science* 56(2): 168-174.
- Pepe, C., Rochut, S., et al. (2004). Ab initio calculations of proton affinities of glycine, proline, cysteine and phenylalanine: comparison with the experimental values obtained using an electrospray ionisation ion trap mass spectrometer. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 18(3): 307-312.
- Pulvertaft, R. J. V. (1964). cytology of burkitt's tumour (african lymphoma). *The Lancet* 283(7327): 238-240.
- Qu, X., Latino, D., et al. (2013). A big data approach to the ultra-fast prediction of DFT-calculated bond energies. *Journal of Cheminformatics* 5(1): 34.
- Raj, L., Ide, T., et al. (2011). selective killing of cancer cells by a small molecule targeting the stress response to ROS. *nature* 475: 231-234.
- Ramos, C., Vanin, S., et al. (2009). Sequestration of prenylated benzoic acid and chromenes by *Naupactus bipes* (Coleoptera: Curculionidae) feeding on *Piper gaudichaudianum* (Piperaceae). *Chemoecology* 19(2): 73-80.
- Rao, V. R., Muthenna, P., et al. (2012). Synthesis and biological evaluation of new piplartine analogues as potent aldose reductase inhibitors (ARIs). *European Journal of Medicinal Chemistry* 57(0): 344-361.
- Ratnavali, G., Devi, N. K. D. et al. (2011), An attempt to screen top colorectal cancer drugs by using Molegro Virtual Docker. *Annals of Biological Research* 2(1): 114-126.
- Robinson, D. D., Winn, P. J., et al. (1999). Self-Organizing Molecular Field Analysis: A Tool for Structure–Activity Studies. *Journal of Medicinal Chemistry* 42(4): 573-583.
- Sant'anna, C. M. R. (2009). Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: uma introdução. *Revista Virtual de Química* 1(1): 49-57.

- Schaab, E. H., Crotti, A. E. M., et al. (2010). Biomimetic oxidation of piperine and piplartine catalyzed by iron(III) and manganese(III) porphyrins. Biological & pharmaceutical bulletin 33(5): 912-916.
- Schauer, D. J., Helquist P., (2006). Mild Zinc-Promoted Horner-Wadsworth-Emmons Reactions of Diprotic Phosphonate Reagents. Synthesis 2006(21): 3654-3660.
- Sengupta, S. and A. B. Ray (1987). The chemistry of *Piper* species. Fitoterapia LVIII(3): 147-165.
- Sousa, P. J. C., Barros, C. A. L., et al. (2008). Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. Revista Brasileira de Farmacognosia 18: 217-221.
- Souza, V. C. (2005). Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiosperma da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, Instituto Plantarum.
- Srinivasan, K., (2007). Black Pepper and its pungent principle-piperine: A review of diverse physiological effects. Crit. Rev. Food. Sci 47: 735-748.
- Terreaux, C., Gupta, M. P., et al. (1998). Antifungal benzoic acid derivatives from *Piper dilatatum*. Phytochemistry 49: 461-464.
- Thomsen, R., Christensen M. H., (2006). MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. J Med Chem 49(11): 3315-3321.
- Tirado-Rives, J., Jorgensen W. L., (2008). Performance of B3LYP Density Functional Methods for a Large Set of Organic Molecules. Journal of Chemical Theory and Computation 4(2): 297-306.
- Tsai, I. L., Lee, F. P., et al. (2005). New cytotoxic cyclobutanoid amides, a new furanoid lignan and anti-platelet aggregation constituents from *Piper arborescens*. Planta Medica 71: 535-542.
- Valeur, E., Bradley M., (2009). Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. Chemical Society Reviews 38(2): 606-631.
- Vardiman, J. W., Thiele, J., et al. (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes.
- Vereecken, L., Pierloot, K., et al. (1998). B3LYP-DFT characterization of the potential energy surface of the CH (X²II)+ C~ 2H~ 2 reaction." Journal of Chemical Physics 108: 1068-1080.
- Wadsworth, W. S., Emmons W. D., (1961). The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis. Journal of the American Chemical Society 83(7): 1733-1738.
- Wanke, S., Jaramillo, M. A., et al. (2007). Evolution of Piperales matk gene and trnK intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. Molecular Phylogenetics and Evolution. 42: 477-497.
- Wittig, G., Haag W., (1955). Über Triphenyl-phosphinmethylene als olefinbildende Reagenzien (II. Mitteil.1)). Chemische Berichte 88(11): 1654-1666.
- Wold, S., Esbensen, K., et al. (1987). Principal component analysis. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 2(1-3): 37-52.
- Wold, S., Sjöström, M., et al. (2001). PLS-regression: a basic tool of chemometrics. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 58(2): 109-130.
- Yu, M., Li, J., Chen, Q., Ji, Yi-B. (2013). Research Progress on the anti-leukemia effect of Lycorine. Applied Mechanics and Materials 411-414: 3193-3196.

7. APÊNDICE

7.1. Espectros selecionados dos compostos

7.1.1. Espectros da substância **1a** (piplartina)

Figura 7.1.1.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) da substância **1a** (piplartina)

Figura 7.1.1.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) da substância **1a** (piplartina)

Figura 7.1.1.3. Espectro de EMBR da substância **1a** (piplartina)

Figura 7.1.1.4. Espectro de EMAR (IES) da substância **1a** (piplartina)

7.1.2. Espectros da substância **1b**

Figura 7.1.2.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de **1b**

Figura 7.1.2.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) de **1b**

Figura 7.1.2.3. Espectro de EMBR de **1b**

Figura 7.1.2.4. Espectro de EMAR (IES) de **1b**

7.1.3. Espectros da substância **1c**

Figura 7.1.3.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **1c**

Figura 7.1.3.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **1c**

Figura 7.1.3.3. Espectro de EMBR de **1c**

Figura 7.1.3.4. Espectro de EMAR (IES) de **1c**

7.1.4. Espectros da substância **1d**

Figura 7.1.4.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **1d**

Figura 7.1.4.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **1d**

Figura 7.1.4.3. Espectro de EMBR de **1d**

Figura 7.1.4.4. Espectro de EMAR (IES) de **1d**

7.1.5. Espectros da substância **1e** Figura 7.1.5.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) de **1e** Figura 7.1.5.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) de **1e**

Figura 7.1.5.3. Espectro de EMBR de **1e**

Figura 7.1.5.4. Espectro de EMAR (IES) de **1e**

7.1.6. Espectros da substância **1f**

Figura 7.1.6.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de **1f**

Figura 7.1.6.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) de **1f**

Figura 7.1.6.3. Espectro de EMBR de **1f**

Figura 7.1.6.4. Espectro de EMAR (IES) de **1f**

7.1.7. Espectros da substância **1g** Figura 7.1.7.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **1g** Figura 7.1.7.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **1g**

Figura 7.1.7.3. Espectro de EMAR (IES) de **1g**

7.1.8. Espectros da substância **1h**

Figura 7.1.8.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **1h**

Figura 7.1.8.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) de **1h**

Figura 7.1.8.3. Espectro de EMAR (IES) de **1h**

7.1.9. Espectros da substância **1i** Figura 7.1.9.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) de **1i** Figura 7.1.9.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) de **1i**

Figura 7.1.9.3. Espectro de EMBR de **1i**

Figura 7.1.9.4. Espectro de EMAR (IES) de **1i**

7.1.10. Espectros da substância **1j**

Figura 7.1.10.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **1j**

Figura 7.1.10.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **1j**

Figura 7.1.10.3. Espectro de EMAR (IES) de **1j**

7.1.11. Espectros da substância **1k** Figura 7.1.11.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) de **1k** Figura 7.1.11.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) de **1k**

Figura 7.1.11.3. Espectro de EMBR de **1k**

Figura 7.1.11.4. Espectro de EMAR (IES) de **1k**

7.1.12. Espectros da substância **1l**

Figura 7.1.12.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **1l**

Figura 7.1.12.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **11**

Figura 7.1.12.3. Espectro de EMBR de **11**

Figura 7.1.12.4. Espectro de EMAR (IES) de **11**

7.1.13. Espectros da substância **1m**

Figura 7.1.13.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de **1m**

Figura 7.1.13.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) de **1m**

Figura 7.1.13.3. Espectro de EMBR de **1m**

Figura 7.1.13.4. Espectro de EMAR (IES) de **1m**

7.1.14. Espectros da substância **1n**

Figura 7.1.14.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de **1n**

Figura 7.1.14.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) de **1n**

Figura 7.1.14.3. Espectro de EMBR de **1n**

Figura 7.1.14.4. Espectro de EMAR (IES) de **1n**

7.1.5. Espectros de **10** Figura 7.1.15.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **10** Figura 7.1.15.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **10**

Figura 7.1.15.3. Espectro de EMAR (IES) de **1o**

7.1.16. Espectros da substância **2a**

Figura 7.1.16.1: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **2a**

Figura 7.1.16.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **2a**

Figura 7.1.16.3. Espectro de EMBR de **2a**

Figura 7.1.16.4. Espectro de EMAR (IES) de **2a**

7.1.17 Espectros da substância **2b** Figura 7.1.17.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **2b** Figura 7.1.17.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **2b**

Figura 7.1.17.3. Espectro de EMAR (IES) de **2b**

7.1.18. Espectros da substância **2c**

Figura 7.1.18.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **2c**

Figura 7.1.18.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **2c**

Figura 7.1.18.3. Espectro de EMBR de **2c**

Figura 7.1.18.4. Espectro de EMAR (IES) de **2c**

7.1.19. Espectros da substância **2d** Figura 7.1.19.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **2d** Figura 7.1.19.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **2d**

Figura 7.1.19.3. Espectro de EMBR de **2d**

Figura 7.1.19.4. Espectro de EMAR (IES) de **2d**

7.1.20. Espectros da substância **2e**

Figura 7.1.20.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **2e**

Figura 7.1.20.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **2e**

Figura 7.1.20.3. Espectro de EMBR de **2e**

Figura 7.1.20.4. Espectro de EMAR (IES) de **2e**

7.1.21. Espectros da substância **2f** Figura 7.1.21.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **2f** Figura 7.1.21.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **2f**

Figura 7.1.21.3. Espectro de EMAR (IES) de **2f**

7.1.22. Espectros da substância **2g**

Figura 7.1.22.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **2g**

Figura 7.1.22.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **2g**

Figura 7.1.22.3. Espectro de EMAR (IES) de **2g**

7.1.23. Espectros da substância **3a** Figura 7.1.23.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **3a** Figura 7.1.23.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **3a**

Figura 7.1.23.3. Espectro de EMBR de **3a**

Figura 7.1.23.4. Espectro de EMAR (IES) de **3a**

7.1.24. Espectros da substância **3b**

Figura 7.1.24.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **3b**

Figura 7.1.24.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **3b**

Figura 7.1.24.3. Espectro de EMAR (IES) de **3b**

7.1.25. Espectros da substância 3c

Figura 7.1.25.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 3c

Figura 7.1.25.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 3c

Figura 7.1.25.3. Espectro de EMAR (IES) de **3c**

7.1.26. Espectros da substância **3d**

Figura 7.1.26.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **3d**

Figura 7.1.26.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 3d

Figura 7.1.26.3. Espectro de EMAR (IES) de 3d

7.1.27. Espectros da substância **4a** Figura 7.1.27.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **4a** Figura 7.1.27.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **4a**

Figura 7.1.27.3. Espectro de EMBR de 4a

7.1.28. Espectros da substância 4b

Figura 7.1.28.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 4b

Figura 7.1.28.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **4b**

Figura 7.1.28.3. Espectro de EMAR (IES) de **4b**

7.1.29. Espectros da substância **4c** Figura 7.1.29.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **4c** Figura 7.1.29.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **4c**

Figura 7.1.29.3. Espectro de EMAR (IES) de **4c**

7.1.30. Espectros da substância **4d**

Figura 7.1.30.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **4d**

Figura 7.1.30.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 4d

Figura 7.1.30.3. Espectro de EMBR de 4d

Figura 7.1.30.4. Espectro de EMAR (IES) de 4d

7.1.31. Espectros da substância **4e** Figura 7.1.31.1. Espectro de RMN de ¹H (CD₃OD, 300 MHz) de **4e** Figura 7.1.31.2. Espectro de RMN de ¹³C (CD₃OD, 75 MHz) de **4e**

Figura 7.1.31.3. Espectro de EMBR de **4e**

Figura 7.1.31.4. Espectro de EMAR (IES) de **4e**

7.1.32. Espectros da substância **4f**

Figura 7.1.32.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **4f**

Figura 7.1.32.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de **4f**

Figura 7.1.32.3. Espectro de EMBR de **4f**

Figura 7.1.32.4. Espectro de EMAR (IES) de **4f**

7.1.33. Espectros da substância **5a** Figura 7.1.33.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **5a** Figura 7.1.33.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **5a**

Figura 7.1.33.3. Espectro de EMBR de 5a

Figura 7.1.33.4. Espectro de EMAR (IES) de 5a

7.1.34. Espectros da substância 5b

Figura 7.1.34.1. Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 300 MHz) de 5b

Figura 7.1.34.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 75 MHz) de **5b**

Figura 7.1.34.3. Espectro de EMBR de **5b**

Figura 7.1.34.4. Espectro de EMAR (IES) de **5b**

7.1.35. Espectros da substância 5c

Figura 7.1.35.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 5c Figura 7.1.35.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 5c

Figura 7.1.35.3. Espectro de EMBR de **5c**

7.1.36. Espectros da substância **6a**

Figura 7.1.36.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **6a**

Figura 7.1.36.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de **6a**

Figura 7.1.36.3. Espectro de EMBR de **6a**

Figura 7.1.36.4. Espectro de EMAR (IES) de **6a**

7.1.37. Espectros da substância **6b** Figura 7.1.37.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **6b** Figura 7.1.37.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **6b**

Figura 7.1.37.3. Espectro de EMAR (IES) de **6b**

7.1.36. Espectros da substância **6c**

Figura 7.1.38.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **6c**

Figura 7.1.38.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) de **6c**

Figura 7.1.38.3. Espectro de EMBR de **6c**

7.1.39. Espectros da substância 7a

Figura 7.1.39.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 7a Figura 7.1.39.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 7a

Figura 7.1.39.3. Espectro de EMBR de **7a**

Figura 7.1.39.4. Espectro de EMAR (IES) de **7a**

7.1.39. Espectros da substância **7b**

Figura 7.1.40.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **7b**

Figura 7.1.40.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de **7b**

Figura 7.1.40.3. Espectro de EMBR de **7b**

Figura 7.1.40.4. Espectro de EMAR (IES) de **7b**

7.1.41. Espectros da substância **8a** Figura 7.1.41.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **8a** Figura 7.1.41.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **8a**

Figura 7.1.41.3. Espectro de EMBR de **8a**

Figura 7.1.41.4. Espectro de EMAR (IES) de **8a**

7.1.42. Espectros da substância **8b**

Figura 7.1.42.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **8b**

Figura 7.1.42.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **8b**

Figura 7.1.42.3. Espectro de EMBR de **8b**

Figura 7.1.42.4. Espectro de EMAR (IES) de **8b**

7.1.43. Espectros da substância **9a** Figura 7.1.43.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **9a** Figura 7.1.43.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **9a**

Figura 7.1.43.3. Espectro de EMBR de **9a**

Figura 7.1.43.4. Espectro de EMAR (IES) de **9a**

7.1.44. Espectros da substância **9b**

Figura 7.1.44.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **9b**

Figura 7.1.44.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 9b

Figura 7.1.44.3. Espectro de EMBR de 9b

Figura 7.1.44.4. Espectro de EMAR (IES) de 9b

7.1.45. Espectros da substância **9c** Figura 7.1.45.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **9c** Figura 7.1.45.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **9c**

Figura 7.1.45.3. Espectro de EMBR de **9c**

Figura 7.1.45.4. Espectro de EMAR (IES) de **9c**

7.1.46. Espectros da substância **9d**

Figura 7.1.46.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **9d**

Figura 7.1.46.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) de **9d**

Figura 7.1.46.3. Espectro de EMBR de **9d**

7.1.47. Espectros da substância **10a** Figura 7.1.47.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **10a** Figura 7.1.47.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **10a**

Figura 7.1.47.3. Espectro de EMBR de 10a

Figura 7.1.47.4. Espectro de EMAR (IES) de 10a

7.1.48. Espectros da substância 10b

Figura 7.1.48.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 10b

Figura 7.1.48.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **10b**

Figura 7.1.48.3: Espectro de EMBR de **10b**

Figura 7.1.48.4. Espectro de EMAR (IES) de **10b**

7.1.49. Espectros da substância **10c** Figura 7.1.49.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **10c** Figura 7.1.49.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **10c**

Figura 7.1.49.3. Espectro de EMBR de 10c

7.1.50. Espectros da substância 11a

Figura 7.1.50.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 11a

Figura 7.1.50.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **11a**

Figura 7.1.50.3. Espectro de EMBR de **11a**

Figura 7.1.50.4. Espectro de EMAR (IES) de **11a**

7.1.51. Espectros da substância **11b** Figura 7.1.51.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **11b** Figura 7.1.51.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **11b**

Figura 7.1.51.3. Espectro de EMBR de 11b

Figura 7.1.51.4. Espectro de EMAR (IES) de 11b

7.1.52. Espectros da substância **12a** Figura 7.1.52.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **12a** Figura 7.1.52.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **12a**

Figura 7.1.52.3. Espectro de EMBR de **12a**

Figura 7.1.52.4. Espectro de EMAR (IES) de **12a**

7.1.53. Espectros da substância 12b

Figura 7.1.53.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 12b Figura 7.1.53.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 12b

Figura 7.1.53.3. Espectro de EMBR de **12b**

Figura 7.1.53.4. Espectro de EMAR (IES) de **12b**

7.1.54. Espectros da substância **13a** Figura 7.1.54.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **13a** Figura 7.1.54.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **13a**

Figura 7.1.54.3. Espectro de EMBR de 13a

Figura 7.1.54.4. Espectro de EMAR (IES) de 13a

7.1.55. Espectros da substância 13b

Figura 7.1.55.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de 13b

Figura 7.1.55.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **13b**

Figura 7.1.55.3. Espectro de EMBR de **13b**

Figura 7.1.55.4. Espectro de EMAR (IES) de **13b**

7.1.56. Espectros da substância **13c** Figura 7.1.56.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **13c** Figura 7.1.56.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **13c**

Figura 7.1.56.3. Espectro de EMAR (IES) de **13c**

7.1.57. Espectros da substância **13d**

Figura 7.1.57.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **13d**

Figura 7.1.57.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de **13d**

Figura 7.1.57.3. Espectro de EMAR (IES) de **13d**

7.1.58. Espectros da substância **13e** Figura 7.1.58.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **13e** Figura 7.1.58.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **13e**

Figura 7.1.58.3. Espectro de EMBR de **13e**

Figura 7.1.58.4. Espectro de EMAR (IES) de **13e**

7.1.59. Espectros da substância **13f**

Figura 7.1.59.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **13f**

Figura 7.1.59.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) de **13f**

Figura 7.1.59.3. Espectro de EMAR (IES) de **13f**

7.1.60. Espectros da substância 13g

Figura 7.1.60.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 13g Figura 7.1.60.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 13g

Figura 7.1.60.3. Espectro de EMBR de **13g**

Figura 7.1.60.4. Espectro de EMAR (IES) de **13g**

7.1.61. Espectros da substância **13h**

Figura 7.1.61.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **13h**

Figura 7.1.61.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **13h**

Figura 7.1.61.3. Espectro de EMBR de **13h**

Figura 7.1.61.4. Espectro de EMAR (IES) de **13h**

7.1.62. Espectros da substância **13i**

Figura 7.1.62.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **13i**

Figura 7.1.62.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **13i**

Figura 7.1.62.3. Espectro de EMBR de **13i**

Figura 7.1.62.4. Espectro de EMAR (IES) de **13i**

7.1.63. Espectros da substância **13j**

Figura 7.1.63.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **13j**

Figura 7.1.63.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **13j**

Figura 7.1.63.3. Espectro de EMBR de **13j**

Figura 7.1.63.4. Espectro de EMAR (IES) de **13j**

7.1.64. Espectros da substância **14a** Figura 7.1.64.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **14a** Figura 7.1.64.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **14a**

Figura 7.1.64.3. Espectro de EMBR de 14a

Figura 7.1.64.4. Espectro de EMAR (IES) de 14a

7.1.65. Espectros da substância 14b

Figura 7.1.65.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de 14b

Figura 7.1.65.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) de **14b**

Figura 7.1.65.3. Espectro de EMAR (IES) de **14b**

7.1.66. Espectros da substância **14c** Figura 7.1.66.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **14c** Figura 7.1.66.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **14c**

Figura 7.1.66.3. Espectro de EMBR de **14c**

Figura 7.1.66.4. Espectro de EMAR (IES) de **14c**

7.1.67. Espectros da substância **14d**

Figura 7.1.67.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **14d**

Figura 7.1.67.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **14d**

Figura 7.1.67.3. Espectro de EMAR (IES) de **14d**

7.1.68. Espectros da substância **14e** Figura 7.1.68.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **14e** Figura 7.1.68.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **14e**

Figura 7.1.68.3. Espectro de EMBR de **14e**

Figura 7.1.68.4. Espectro de EMAR (IES) de **14e**

7.1.69. Espectros da substância **14f**

Figura 7.1.69.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **14f**

Figura 7.1.69.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **14f**

Figura 7.1.69.3. Espectro de EMBR de **14f**

Figura 7.1.69.4. Espectro de EMAR (IES) de **14f**

7.1.70. Espectros da substância **14g** Figura 7.1.70.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **14g** Figura 7.1.70.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **14g**

Figura 7.1.70.3. Espectro de EMBR de 14g

Figura 7.1.70.4. Espectro de EMAR (IES) de 14g

7.1.71. Espectros da substância 15a

Figura 7.1.71.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 15a

Figura 7.1.71.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **15a**

Figura 7.1.71.3. Espectro de EMBR de **15a**

Figura 7.1.71.4. Espectro de EMAR (IES) de **15a**

7.1.72. Espectros da substância **15b** Figura 7.1.72.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **15b** Figura 7.1.72.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **15b**

Figura 7.1.72.3. Espectro de EMBR de **15b**

Figura 7.1.72.4. Espectro de EMAR (IES) de **15b**

7.1.73. Espectros da substância **16a**

Figura 7.1.73.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) de **16a** (Marques 2009)

Figura 7.1.73.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) de **16a** (Marques 2009)

Figura 7.1.73.1. Espectro de EMBR de **16a**

Figura 7.1.73.2. Espectro de EMAR (IES) de **16a**

7.1.74. Espectros da substância **16b**

Figura 7.1.74.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de **16b** (Marques 2009)

Figura 7.1.74.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) de **16b** (Marques 2009)

Figura 7.1.74.3. Espectro de EMBR de **16b**

Figura 7.1.74.4. Espectro de EMAR (IES) de **16b**

7.1.75. Espectros da substância **16c**

Figura 7.1.75.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) de **16c** (Marques 2009)

Figura 7.1.75.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) de **16c** (Marques 2009)

Figura 7.1.75.3. Espectro de EMBR de **16c**

Figura 7.1.75.4. Espectro de EMAR (IES) de **16c**

7.1.76. Espectros da substância **17a**

Figura 7.1.76.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **17a**

Figura 7.1.76.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **17a**

Figura 7.1.76.3. Espectro de EMBR de **17a**

Figura 7.1.76.4. Espectro de EMAR (IES) de **17a**

7.1.77. Espectros da substância **17b** Figura 7.1.77.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **17b** Figura 7.1.77.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **17b**

Figura 7.1.77.3. Espectro de EMBR de 17b

Figura 7.1.77.4. Espectro de EMAR (IES) de 17b

7.1.78. Espectros da substância 18a (piperina)

Figura 7.1.78.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) da substância 18a (piperina)

Figura 7.1.78.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) da substância **18a** (piperina)

Figura 7.1.78.3. Espectro de EMBR da substância **18a** (piperina)

Figura 7.1.78.4. Espectro de EMAR (IES) da substância **18a** (piperina)

7.1.79. Espectros da substância **18b** Figura 7.1.79.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **18b** Figura 7.1.79.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **18b**

Figura 7.1.79.3. Espectro de EMBR de **18b**

Figura 7.1.79.4. Espectro de EMAR (IES) de **18b**

7.1.80. Espectros da substância **18c**

Figura 7.1.80.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **18c**

Figura 7.1.80.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 18c

Figura 7.1.80.3. Espectro de EMBR de 18c

Figura 7.1.80.4. Espectro de EMAR (IES) de 18c

7.1.81. Espectros da substância **19a** Figura 7.1.81.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **19a** Figura 7.1.81.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **19a**

Figura 7.1.81.3. Espectro de EMBR de 19a

Figura 7.1.81.4. Espectro de EMAR (IES) de 19a

7.1.82. Espectros da substância 20a

Figura 7.1.82.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de 20a

Figura 7.1.82.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de 20a

Figura 7.1.82.3. Espectro de EMBR de 20a

7.1.83. Espectros da substância **20b** Figura 7.1.83.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **20b** Figura 7.1.83.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **20b**

Figura 7.1.83.3. Espectro de EMAR (IES) de **20b**

7.1.84. Espectros da substância **20c**

Figura 7.1.84.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **20c**

Figura 7.1.84.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **20c**

Figura 7.1.84.3. Espectro de EMAR (IES) de **20c**

7.1.85. Espectros da substância **20d**

Figura 7.1.85.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **20d**

Figura 7.1.85.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **20d**

Figura 7.1.85.3. Espectro de EMAR (IES) de **20d**

7.1.86. Espectros da substância **20e**

Figura 7.1.86.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **20e**

Figura 7.1.86.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de **20e**

Figura 7.1.86.3. Espectro de EMAR (IES) de **20e**

7.1.87. Espectros da substância **20f** Figura 7.1.87.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **20f** Figura 7.1.87.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **20f**

Figura 7.1.87.3. Espectro de EMAR (IES) de **20f**

7.1.88. Espectros da substância **20g**

Figura 7.1.88.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **20g**

Figura 7.1.88.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **20g**

Figura 7.1.88.3. Espectro de EMAR (IES) de **20g**

7.1.89. Espectros da substância **21a** Figura 7.1.89.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **21a** Figura 7.1.89.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **21a**

Figura 7.1.89.3. Espectro de EMBR de **21a**

7.1.90. Espectros da substância **22a**

Figura 7.1.90.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **22a**

Figura 7.1.90.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de **22a**

Figura 7.1.90.3. Espectro de EMBR de **22a**

7.1.91. Espectros da substância **22b** Figura 7.1.91.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **22b** Figura 7.1.91.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **22b**

Figura 7.1.91.3. Espectro de EMBR de **22b**

Figura 7.1.91.4. Espectro de EMAR (IES) de **22b**

7.1.92. Espectros da substância **22c**

Figura 7.1.92.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **22c**

Figura 7.1.92.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de **22c**

Figura 7.1.92.3. Espectro de EMBR de **22c**

Figura 7.1.92.4. Espectro de EMAR (IES) de **22c**

7.1.93. Espectros da substância **22d** Figura 7.1.93.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **22d** Figura 7.1.93.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **22d**

Figura 7.1.93.3. Espectro de EMBR de 22d

Figura 7.1.93.4. Espectro de EMAR (IES) de 22d

7.1.94. Espectros da substância 22e

Figura 7.1.94.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de 22e

Figura 7.1.94.2. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de 22e

Figura 7.1.94.3. Espectro de EMBR de 22e

Figura 7.1.94.4. Espectro de EMAR (IES) de 22e

7.1.95. Espectros da substância **22f** Figura 7.1.95.1. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) de **22f** Figura 7.1.95.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **22f**

Figura 7.1.95.3. Espectro de EMAR (IES) de **22f**

7.1.96. Espectros da substância **23a**

Figura 7.1.96.1. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de **23a**

Figura 7.1.96.2. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) de **23a**

Figura 7.1.96.3. Espectro de EMAR (IES) de **23a**

8. SÚMULA CURRICULAR

Harold Hilarion Fokoue

Data de nascimento: 15/02/1980

Local: Bafang-Camarões

Nacionalidade: Camaronesa

EDUCAÇÃO

Lycée Bilingue d'Application, Yaoundé - Camarões, 1997.
Baccalaureat de l'enseignement general serie C.

University of Yaounde 1 - Camarões, 1997-2002.
Licence en Chimie.

Université de Bamako - Mali, 2002-2003.
Maîtrise en Chimie Appliquée.

Universidade de São Paulo, São Paulo/SP – Brasil
Mestrado em química orgânica, 2007-2010
Orientador: Prof Dr. Vicente de Paulo Emerenciano

Doutorado em química orgânica 2010-2015
Orientador: Prof Dr Massuo Jorge Kato

IDIOMAS

Francês (nativo), inglês (fluente), português (fluente).

OCUPAÇÃO

Bolsista de Mestrado, Agência CAPES, 2007-2009
Bolsista de Doutorado, Agência CAPES, 2010-2014

PUBLICAÇÕES

Artigos publicados:

1. RAPADO, L. N.; PINHEIRO, A. D. S.; LOPES, P. O. D. M. V.; **FOKOUÉ, H. H.**; SCOTTI, M. T.; MARQUES, J. V.; OHLWEILER, F. P.; BORRELY, S. I.; PEREIRA, C. D. B.; KATO, M. J.; NAKANO, E.; YAMAGUCHI, L. F. Schistosomiasis Control Using Piplartine against *Biomphalaria glabrata* at Different Developmental Stages. PLoS Neglected Tropical Diseases (Online), v. 7, p. 2251, 2013.

2. CORREIA, M. V. ; **FOKOUE, H. H.** ; FERREIRA, M. J. P. ; L. SCOTTI ; SCOTTI, M. T. ; ALVARENGA, S. A. V. ; RODRIGUES, G. D. V. ; EMERENCIANO, V. P. Self-organizing maps as a good tool for classification of subfamily Asteroideae. *Journal of Medicinal Plant Research*, 2012, 6, 1207-1218.
3. M.ROSSINI, M. T. SCOTTI, M. V. CORREIA, **H. H. FOKOUE**, L. SCOTTI, F. J. B. MENDONÇA JÚNIOR, M. S. DA SILVA E V. DE P. EMERENCIANO. Sesquiterpene lactones with anti-hepatitis C virus activity using molecular descriptors. *Letters in Drug Design & Discovery*, 2012, 9, 881-890

Resumos em Congressos:

1. KATO MJ, YAMAGUCHI LF, YOSHIDA NC, GAIA AM, MARTINS M,COSTA VB, VALERO-GUTIERREZ LY, OLIVEIRA-JR CRO, CORREIA MV,**FOKOUE HH**, CEBRIAN-TORREYON G, MASSAD TJ, EGYDIO APM,SALATINO ML, SALATINO A. Chemical variability in Piperaceae species: cause or consequence?. In the 14th International Congress of Ethnopharmacology. 2014, Puerto Varas, Chile.
2. CORREIA, M. V.; **FOKOUE, H. H.**; FRANCHI JR.,G.C.; NOWILL A. E.; YAMAGUCHI L. F.; KATO, M. J. Atividade citotóxica de tricetonas sintéticas. Simpósio: desenvolvimento de medicamentos oncológicos no Brasil. 24 setembro 2013, São Paulo,
3. FREITAS R.; **FOKOUE, H. H.** ; MIYASATO, P. ; YAMAGUCHI, L. F ; KATO, M. J.; NAKANO E. In vitro activity of pipartine analogs in *Schistosoma mansoni*. 13th International Symposium on Schistosomiasis. 2012. Belo Horizonte, Brazil
4. **FOKOUE H.H**, FREITAS R. ; SCOTTI M. T.; NAKANO E. ; KATO M. J. Síntese e estudos das relações quantitativas entre as estruturas químicas e a atividade esquistomicida da pipartina e derivados. II Congresso Institucional do Instituto de Química da USP, de 4 a 6 de setembro 2012. Guarujá, Brasil.
5. **H. H. FOKOUE**; F. COTINGUIBA; L. SCOTTI; M.T. SCOTTI; M. FURLAN; M.J. KATO. QSAR studies of anti-trypanosomal activity using molecular interaction fields of piperamide and derivatives. In 3rd Brazilian Conference on Natural Products (3rd BCNP), 2011, Ouro Preto.
6. 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. Chagas; The challenges of super neglected disease, 2010.
7. **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 challenges of super neglected disease, 2010.

8. CORREIA MV, **FOKOUÉ HH**, SCOTTI MT, FERREIRA MJP, EMERENCIANO VP. 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.
9. CORREIA MV, **FOKOUÉ HH**, SCOTTI MT, EMERENCIANO VP. 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.
10. **FOKOUÉ HH**, CORREIA MV, FERREIRA MJP, ALVARENGA SAV, RODRIGUES GV, EMERENCIANO VP. A New Parameter for Chemosystematic Analysis of Asteraceae Tribes. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products (2nd BCNP), 2009, São Pedro.
11. **FOKOUÉ HH**, CORREIA MV, FERREIRA MJP, ALVARENGA SAV, RODRIGUES GV, EMERENCIANO VP. Chemosystematics of Heliantheae (Asteraceae) Subtribes Using Cluster Analysis. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products (2nd BCNP), 2009, São Pedro.
12. YAMAGUCHI LF, SALAZAR KM, FREITAS GC, YOSHIDA NC, SANTOS EL, MARQUES JV, OLIVEIRA A, NAVARRO LB, SILVA RA, FERREIRA EA, GAIA AM, RODRIGUES CA, BENEDETTI AM, VALERO YG, SCOTTI MT, CORREIA MV, **FOKOUÉ HH**, EMERENCIANO VP, KATO MJ. Metabolomic analysis of Piperaceae species using ESI/¹H NMR and PCA. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products (2nd BCNP), 2009, São Pedro.
13. FERREIRA JPM, ROMOFF P, **FOKOUÉ HH**, SCOTTI MT, SPECK-PLANCHE A, SCOTTI L, CORREIA MV, LAGO JHG, EMERENCIANO VP. Molecular Descriptors to Predict the Cytotoxic Activity of Caffeic Ester Analogues. In: 4^o Simpósio Brasileiro em Química Medicinal, 2008, Porto de Galinhas.

9. ANEXO: ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS OBTIDAS