Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Síntese e estudos sobre a fragmentação de compostos benzofurânicos
empregando espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray”

Herbert Júnior Dias

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em Ciências,
Área: **Química**

RIBEIRÃO PRETO -SP

2018

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Síntese e estudos sobre a fragmentação de compostos benzofurânicos empregando espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray”

Herbert Júnior Dias

Orientador: Prof. Dr. Antônio Eduardo Miller Crotti

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área:
Química

RIBEIRÃO PRETO -SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Dias, Herbert Júnior

Síntese e estudos sobre a fragmentação de compostos benzofurânicos empregando espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray. Ribeirão Preto, 2018.

203 p. : il. ; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Crotti, Antônio Eduardo Miller.

1. Compostos benzofurânicos. 2. Fragmentação. 3. Química de íons em fase gasosa.

HERBERT JÚNIOR DIAS

SÍNTESE E ESTUDOS SOBRE A FRAGMENTAÇÃO DE COMPOSTOS BENZOFURÂNICOS EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE MASSAS SEQUENCIAL COM IONIZAÇÃO POR ELETROSPRAY

Presidente: _____

Nome: Prof. Dr. Antônio Eduardo Miller Crotti

Instituição: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP

Titular 1: _____

Nome: Prof. Dr. Ian Castro Gamboa

Instituição: Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho - UNESP

Titular 2: _____

Nome: Prof. Dr. Luiz Alberto Beraldo de Moraes

Instituição: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP

Titular 3: _____

Nome: Prof. Dra. Mirela Inês de Sairre

Instituição: Universidade Federal do ABC - UFABC

Titular 4: _____

Nome: Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes

Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP

Dedicatória

*D*edico esta Tese de Doutorado a meus amados pais Hélío e Neucí. Por mais complexos que tenham sido os obstáculos que a vida nos impôs nestes últimos tempos, vocês NUNCA deixaram de acreditar que eu conseguiria realizar o sonho de conquistar o título de Doutor. Por mais que eu tenha me ausentado do meu lar, tanto física como mentalmente nos últimos quatro anos, vocês sempre me ampararam e deram-me todo o suporte de que precisei. Vocês empenharam todo amor, carinho, dedicação, energia e até mesmo dinheiro para que nada me faltasse na minha busca pela concretização do deste sonho. Nunca esquecerei a melhor comida, a melhor companhia, o melhor café da manhã, o melhor cheiro de casa, o melhor abraço, o melhor carinho todas as vezes que eu voltava e abria o portão de casa. Se encontrei o paraíso em todos estes anos de pós-graduação, sim, foi naquele pedaço de chão, na cidade de Franca, onde meus amados pais residem. O que sou hoje, todas as características boas e ruins, devo a vocês, que me pegaram pelas mãos e me ensinaram a dar os primeiros passos. Vocês sabem que, por mais que hoje eu dê muitos destes passos bem longe de casa, jamais esquecerei que as mãos que sempre segurei foram as de vocês. A vocês todo o meu carinho, amor e dedicação.

*D*edico também este trabalho a Sebastião Ângelo Paggín e Júlia Maria Dias, que apesar de nunca terem compreendido o que eu fazia e porque realmente tinha que ficar longe, nunca deixaram eu sair de suas casas sem um sorriso enorme no rosto. Onde vocês estiverem, saibam que eternamente amarei vocês! Peço que continuem me abençoando e me protegendo de onde estiverem, porque é isto que sempre fizeram, é isto que os anjos fazem...

Agradecimentos

A Deus, por todos os dias ser agraciado com o dom da vida. A cada dia que levanto e abro os olhos, a única coisa que tenho a fazer é agradecer, pois é mais um dia em que posso sentir o quão forte é a graça de estar aqui;

Ao meu orientador, professor e amigo Antônio Eduardo Miller Crotti, por sempre acreditar em mim. Nestes 10 anos de amizade, dividimos nossas dificuldades da vida, nossa esperança por dias melhores, nossos sonhos e nossa história. Não tenho como agradecer por sempre me falar a palavra certa, a que realmente precisava ouvir naquele momento, por dar-me inúmeras oportunidades de crescimento, por ensinar-me e por insistir incansavelmente na busca pelo meu melhor. Sei muito bem que sempre se empenhou ao máximo para isto. Honra-me todas as vezes em que você diz que vê muito de você em mim, pois você se tornou, com o tempo, uma grande inspiração para minha vida profissional e pessoal. Pai científico, 01, capitão, Tonhão, Miller... se um dia eu for grande, sabemos o porquê: fui “criado” sobre os ombros de um gigante!

Ao Dr. Eduardo José Crevelin, um dos melhores amigos que fiz nestes anos de pós-graduação, pelo empenho no trabalho, pelo esmero em todos os experimentos que fizemos, por ensinar-me com paciência e alegria. Nossa amizade começou no trabalho, mas não há como negar que as risadas, as conversas e o companheirismo nunca serão por mim esquecidas, e já fazem falta...

Ao Me. Wesley Romário. da Silva, por ser “minha família” em Ribeirão Preto. Nos momentos de alegria, tristeza, nas disciplinas, você sempre foi meu amigo incansável e companheiro constante Obrigado por cada conversa que tivemos; elas foram muito importantes para que eu chegasse neste momento. Valeu Wesleco!

À Tatiana Manzini Vieira, em extensão à família Vieira, pela alegria e companheirismo nestes anos da pós-graduação. Dividimos muitas coisas boas e ruins nestes tempos, mas sempre nos mantivemos juntos. Estes momentos nunca serão esquecidos, tenha certeza disto, Tatinha!

Ao Me. Daniel Previdi, por ser o “meu orientador” no laboratório de síntese orgânica. Cada passo que dou só no LSO é porque você, pacientemente, empenhou-se em ensinar-me, abdicando dos seus dias de experimentos para me ajudar. As ideias e as cervejas nunca serão esquecidas. Indiscutivelmente você é o cara!

Aos alunos de iniciação científica e de pós-graduação Camila, Manon, Stephen, Ariel, Tainá, Carlismari, Talita, Tatiana, Elisângela, Letícia, Eliane Maria Vitória, Isabella, Henrique, Mateus, que passaram pelo LSO e trabalharam no “team Miller”. Vocês colocaram a “mão na massa” comigo, e conseqüentemente me ajudaram a desenvolver este trabalho. Cada miligrama dos

produtos obtidos neste e em outros trabalhos que temos em comum tem muito suor de vocês. Não há como eu agradecer a vocês pelo empenho e pelo quanto me ensinaram!

Ao Prof. Dr. Ricardo Vessecchi, por sempre auxiliar-me prestativamente no estudo das fragmentações e por ensinar com paciência um pouquinho de Química Quântica Computacional;

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Beraldo de Moraes, primeiramente pela alegria sempre que o encontro. Não há como negar que suas aulas, nossas conversas e suas preciosas dicas no exame de qualificação estão enraizadas em tudo que tentei expressar neste trabalho. Meus sinceros agradecimentos por todos estes anos de pós-graduação!

Ao Me. Vinícius Palaretti, pela prestatividade, pelo esmero na aquisição dos espectros de ressonância magnética nuclear, bem como pela amizade, inteligência e empenho com que tem me ajudado nos últimos tempos para a aquisição dos dados para a tese. Como dizemos, “o Viní é uma pessoa iluminada!”

Aos Prof. Dr. Paulo Marcos Donate pelas ótimas trocas de ideias sobre reações orgânicas, assim como pelos momentos de descontração e histórias sempre engraçadas;

Aos Prof. Norberto Peporine Lopes, Luiz Alberto Beraldo de Moraes e Carmen Lúcia Cardoso, bem como aos químicos Jaqueline Nakau, José Carlos Tomaz e Juliana Maria de Lima por concederem tempo e equipamentos para as análises nos espectrômetros de massas;

Ao Prof. Dr. Vladimir Constantino Gomes Heleno e seus alunos, que sempre trazem amizade, boas ideias, e boas inspirações para nosso laboratório;

À Prof. Dra. Lizandra Guidi Magalhães e seus alunos, pelo empenho nos experimentos biológicos;

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Lopes Baldin e sua aluna Muriel Cicatti Emanoeli Soares pela receptividade e dedicação nos bioensaios;

À Dra. Bruna Possato, minha eterna gratidão todos os dias, seja pelas trocas de ideias sobre química inorgânica ou orgânica, quanto por horas e horas de conversas;

À Danielle K. Kikuchi, por sempre ter aquela comida especial para os dias de tristeza ou de alegria. Valeu por todos os dias de companhia;

Ao amigo José Norberto Bazon (Norba), por muitos dos melhores conselhos que recebi durante estes quatro anos;

À Casa de Pós-Graduação 13 e todos os moradores que por ali passaram, em especial aos amigos Daniel Junta, Dayane Moraes e Marco Balbino, por todo companheirismo nestes anos de pós-graduação. Lá eu vi, vivi e ouvi as histórias mais emocionantes e mais instigantes de toda a minha vida. Sem a casa de pós-graduação e seus integrantes, seria impossível sobreviver a estes anos de pós-graduação;

Aos demais colegas e “associados” do LSO, André, Alexandre, Miqueias, Jader, Matheus, Guilherme, Mayla, Stephanie, Viviane, Renato, Douglas, Edson, Shirley, que sempre dividiram alegrias e frustrações a cada reação;

A todos os funcionários do Departamento de Química pelo empenho no exercício de seu trabalho. Em especial, meus sinceros agradecimentos ao Celso e Geraldo (Batman e Robin), bem como aos químicos Vinícius Banhos e Djalma Batista Gianeti, por sempre serem nossos “anjos da guarda” no laboratório;

A toda família Paggin e família Dias, pela compreensão e apoio nestes anos. Apesar de ter me ausentado por conta da pós-graduação, sempre encontro um abraço terno e uma boa risada na companhia de vocês;

Ao Leandro Paggin e Alessandra Bortolotti, meus grandes amigos, grandes irmãos. Deus não me deu irmãos de sangue, mas supriu esta falta emprestando-me vocês desde que nasci;

Aos colegas e alunos da Escola Vivenda, que muito contribuíram para minha formação pessoal e profissional durante os últimos anos. Aprender um pouquinho de pedagogia com vocês é uma vivência que realmente inspira;

À família Encinas Nascimento, pelo incentivo nestes anos de pós-graduação;

Aos amigos do judô Waza, pelo companheirismo dentro e fora do tatame. Obrigado por me ensinarem a não me aperfeiçoar para lutar, mas sim lutar para me aperfeiçoar;

Ao CNPq, pela concessão da bolsa. Sem ela, este trabalho não passaria de um sonho...

***P**ara todos a entrada na vida é a mesma, e a partida semelhante. Assim implorei e a inteligência me foi dada, supliquei e o espírito da sabedoria veio a mim. Eu a preferi aos cetros e tronos, e avaliei a riqueza como um nada ao lado da sabedoria. Não comparei a ela a pedra preciosa, porque todo o ouro ao lado dela é apenas um pouco de areia, e porque a prata diante dela será tida como lama. Eu a amei mais do que a saúde e a beleza, e gozei dela mais do que a claridade do sol, porque a claridade que dela emana jamais se extingue. Com ela me vieram todos os bens, e nas suas mãos inumeráveis riquezas. De todos esses bens eu me alegrei, porque é a sabedoria que os guia, mas ignorava que ela fosse sua mãe. Eu estudei lealmente e reparto sem inveja e não escondo a riqueza que ela encerra, porque ela é para os homens um tesouro inesgotável (...)*

Sabedoria 7, 6-14

(..) Funding agencies were also generally somewhat less than enthusiastic in response to our proposals. For example, when we submitted one for research to extend the results (...), the reviewer simply said: "It is impossible for this man to obtain these results with his equipment!" I was reminded of the slogan once promoted by a company which said: "Difficult tasks we can finish quickly. The impossible ones take a little longer!"

There were only a handful of people at the session of the ASMS meeting at which we presented these results. Nor were there many questions or comments from the floor. However, when those results were published in 1989 (the first complete paper on the method and results appeared in the 10/6/89 issue of Science and is by far the most cited publication that ever came out of our lab) they began what has become a "flood" of papers and ignited what has been referred to as the "electrospray revolution!" (...)

Sumário

Lista de Figuras.....	v
Lista de Tabelas	vii
Lista de Esquemas	viii
Lista de Anexos	xii
Lista de Abreviaturas.....	xvi
1. Introdução.....	1
1.1. Compostos benzofurânicos	1
1.2. 2-Aroilbenzofuranos	3
1.3. Neolignanas diidrobenezofurânicas	7
1.4 Espectrometria de massas com ionização por eletrospray	18
1.4.1. Ionização por eletrospray (ESI-MS).....	18
1.4.2 Espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray (ESI-MS/MS).....	21
1.5 Aplicações da ESI-MS e ESI-MS/MS no estudo de 2-aroilbenzofuranos e neolignanas diidrobenezofurânicas	25
2. Objetivos	27
3. Materiais e Métodos.....	28
3.1 Síntese dos compostos benzofurânicos.....	28
3.1.1 Síntese dos 2-aroilbenzofuranos 1-5	28
3.1.2 Síntese das neolignanas diidrobenezofurânicas 6-13.....	28
3.2 Elucidação estrutural.....	33
3.3 Estudos de fragmentação por ESI-MS/MS.....	34
3.3.1 Compostos 2-aroilbenzofurânicos.....	34
3.3.2 Neolignanas diidrobenezofurânicas.....	34
3.4 Métodos computacionais empregados	35
4. Resultados e Discussão.....	36
4.1 Elucidação estrutural.....	36
4.1.1 2-Aroilbenzofuranos	36

4.1.2 Neolignanas diidrobenezofurânicas.....	41
4.1.2.1 Elucidação estrutural dos ésteres	41
4.1.2 Elucidação estrutural das neolignanas diidrobenezofurânicas	43
4.2 Estudo de fragmentação dos derivados de 2-aróilbenzofuranos	61
4.2.1 Correlações estrutura-fragmentação.....	61
4.2.2 Sítios de protonação e reatividade em fase gasosa	65
4.2.3 Formação dos íons produtos gerais B-G	66
4.2.4 Formação dos íons diagnósticos	70
4.3 Estudo de fragmentação de neolignanas diidrobenezofurânicas protonadas	72
4.3.1 Correlações estrutura-fragmentação.....	72
4.3.2 Sítio de protonação.....	77
4.3.3 Íons fragmentos gerais.....	79
4.3.4 Formação dos íons diagnósticos	86
4.4 Estudo de fragmentação de neolignanas diidrobenezofurânicas desprotonadas por ESI-MS/MS	92
4.4.1 Correlações estrutura-fragmentação.....	92
4.4.2 Determinação do sítio de desprotonação.....	98
4.4.3 Formação dos íons produtos das neolignanas benzofurânicas 11 e 13 desprotonadas	100
4.4.4 Formação dos íons produtos das neolignanas diidrobenezofurânicas 6-10 e 12 desprotonadas	101
5. Conclusões	115
6. Referências	117
7. Anexos	129

Resumo

Neste trabalho, as fragmentações de 2-aroilbenzofuranos e de neolignanas diidrobenzofurânicas (NDB) foram investigadas empregando espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray (ESI-MS/MS). Os compostos estudados foram sintetizados e, em seguida, suas vias de fragmentação em condições de dissociação induzida por colisão (CID) foram associadas às suas respectivas estruturas. Além das relações estrutura-fragmentação, espectrometria de massas de múltiplos estágios (MS^n) e dados termoquímicos, obtidos por Química Quântica Computacional, foram também utilizados para a elucidação das vias de fragmentação. Para os 2-aroilbenzofuranos protonados, os resultados demonstraram que dois íons acílios, provenientes de rearranjos de hidrogênio competitivos, são os mais intensos nos espectros de íons produtos. O íon acílio $[M+H-C_6H_6]^+$ foi o mais intenso para todos os 2-aroilbenzofuranos investigados devido ao fato de que sua decomposição requerer energia crítica maior que a de outras vias de fragmentação competitivas. No caso das NDBs, os resultados indicaram que perdas de CH_3OH e CO são comuns aos compostos analisados, tanto na forma protonada como na forma desprotonada. Entretanto, as perdas de CH_3OH a partir de NDB protonadas envolvem migração de carga, enquanto que para moléculas desprotonadas, a perda de metanol é um processo remoto à carga. A perda de ceteno (C_2H_2O) diretamente da molécula protonada é uma via diagnóstica das NDB acetiladas, enquanto que os íons produtos $[M+H-C_3H_6O_2]^+$ ou $[M+H-C_6H_6O]^+$ são diagnósticos das NDB que apresentam saturação entre C7' e C8'. Para NDBs desprotonadas, íons produtos formados por perdas de $CH_3\bullet$ são diagnósticos de grupos metoxila ligados ao anel aromático. A presença do grupo acetil também levou à formação de alguns íons diagnósticos devido à mudança no sítio de desprotonação. Por sua vez, clivagens da cadeia lateral remotas à carga são fragmentações diagnósticas de NDBs que apresentam saturação entre C-7' e C-8'. As estruturas dos íons propostos foram suportadas por dados termoquímicos (entalpia e energia de Gibbs). Os resultados deste trabalho contribuem para o conhecimento da química em fase gasosa desses compostos e auxiliarão na identificação dos mesmos diretamente de misturas.

Palavras chaves: compostos benzofurânicos, fragmentação, química de íons em fase gasosa.

Abstract

In this work, the fragmentation of 2-aroylebenzofuran and dihydrobenzofuran neolignans (DBN) was investigated using electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS). The studied compounds were synthesized and their fragmentation pathways under collision-induced dissociation (CID) were associated with their respective structures. Besides the structure-fragmentation correlations, multiple-stage mass spectrometry (MSⁿ) and thermochemical data, which were estimated by Quantum Computational Chemistry, were also employed in the elucidation of the fragmentation pathways. For protonated 2-aroylebenzofuran, the results demonstrated that two acylium ions, which arise from two competitive hydrogen rearrangements, are the most intense in the product ion spectra. The acylium ion $[M+H-C_6H_6]^+$ was the most intense for all the investigated 2-aroylebenzofuran, since its decomposition requires a higher critical energy as compared to other competitive fragmentation processes. In the case of DBNs, our results indicated that eliminations of CH_3OH and CO are common to the analyzed compounds in their protonated and deprotonated forms. However, eliminations of CH_3OH from protonated DBNs involve charge migration, whereas elimination of CH_3OH from deprotonated DBNs is a fragmentation remote to the charge site. Elimination of ketene (C_2H_2O) directly from the protonated molecule is diagnostic for acetylated DBNs, whereas the product ions $[M+H-C_3H_6O_2]^+$ or $[M+H-C_6H_6O]^+$ are diagnostic for DBNs displaying a saturated bond between C7' and C8'. For deprotonated DBNs, product ions resulting from $CH_3\bullet$ losses are diagnostic for methoxyl groups attached to the aromatic ring. The presence of the acetyl group also led to the formation of some diagnostic ions due to the change of the deprotonation site. For compounds that display a saturated bond between C-7' and C-8', cleavages of the side chain of DBNs are also diagnostic. The structures of the proposed ions were supported by thermochemical data (enthalpy and Gibbs energy). The results of this work will contribute to the knowledge of the gas-phase ion chemistry of these compounds and will aid in their identification directly from mixtures.

Keywords: benzofuran compounds, fragmentation, gas-phase ion chemistry.

Lista de Figuras

Figura 1. Estruturas de compostos benzofurânicos encontrados na literatura que apresentam atividade contra linhagens de células cancerosas.	2
Figura 2. Estrutura do derriobtusona A (III) ([16]).....	4
Figura 3. Diferenças entre os compostos da classe das lignanas (a) e das neolignanas (b).....	7
Figura 4. Número de publicações de NDB no período de 1990 até 2017, por assunto, de acordo com a base de dados do SciFinder®.....	8
Figura 5. Estrutura dos diastereoisômeros de neolignanas diidrobenezofurânicas.....	10
Figura 6. Estruturas químicas da (+)-conocarpana (XVII), (-)- <i>epi</i> -conocarpana (XVIII) e (±)-3',4-di-O-metilcedrusina (XIX).....	11
Figura 7. Estruturas químicas da silibina (XIX) ou das Isosilibinas A (XX) e B (XXI).....	14
Figura 8. Estruturas químicas da (±)-licarina A (XXII) e dos woorenosidos (XXIII-XXVII) isolados do extrato etanólico das folhas de <i>Croptis japonica</i> (Ranunculaceae).	18
Figura 9. Esquema geral de uma fonte de ionização por eletrospray [80].	20
Figura 10. Número de publicações que envolvem a expressão “ <i>mass spectrometry</i> ”, obtido na base de dados SciFinder®, em março de 2017.	21
Figura 11. Estrutura química dos compostos a , b e c	42
Figura 12. Gráficos da intensidade relativa (%) dos principais íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos 1-5 protonados em função energia de colisão (E_{lab} , em eV).	62
Figura 13. Espectro de íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos 1-5 protonados (gás de colisão Ar, E_{lab} = 20 eV)	63
Figura 14. Afinidade protônica (PA) para os derivados de 2-aroilbenzofuranos 1-5 . Os valores de PA foram calculados em nível de teoria B3LYP/6-31+G(d). Todos os valores de PA estão em kcal/mol.	66
Figura 15. Gráficos da intensidade relativa (%) de alguns íons produtos das neolignanas diidrobenezofurânicas 6-13 protonadas em função da energia de colisão (E_{lab} , em eV).	74
Figura 16. Espectro de íons produtos (ESI-TOF) das neolignanas diidrobenezofurânicas 6-13 protonadas (gás de colisão N ₂ , E_{lab} = 10 eV).....	75

Figura 17. Valores de afinidade protônica (PA, em kcal/mol) estimados para as neolignanas 6-13 . Os valores calculados foram estimados empregando nível de teoria B3LYP/6-31G(d).	78
Figura 18. Gráficos da intensidade relativa (%) dos íons produtos das neolignanas 6-13 desprotonadas em função energia de colisão (E_{lab} em eV).	93
Figura 19. Espectro de íons produtos (ESI-TOF) das neolignanas 6-13 desprotonados (N_2 como gás de colisão, $E_{lab} = 25$ eV).	94
Figura 20. Valores de acidez em fase gasosa (GA, em kcal/mol) estimados para as neolignanas 6-13 . Os valores calculados foram estimados empregando nível de teoria B3LYP/6-31+G(d,p).	99

Lista de Tabelas

Tabela 1. Protocolo experimental utilizado para a obtenção dos compostos a–c	29
Tabela 2. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) dos compostos 1-5 , em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm, e os J estão expressos em Hz.	38
Tabela 3. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do composto 6 e comparação os da literatura (400 MHz e 100 MHz, respectivamente), ambos em acetona- d_6 [59].	46
Tabela 4. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do produto 7 e comparação com a literatura (400 e 100 MHz, respectivamente), ambos em acetona- d_6	48
Tabela 5. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do produto 8 e comparação com a literatura [73](400 e 100 MHz, respectivamente), ambos em acetona- d_6	50
Tabela 6. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) da neolignana 9 , em comparação com o composto 6 , em acetona- d_6	52
Tabela 7. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do produto acetilado 10 em acetona- d_6 e comparação com os dados da literatura, em CDCl_3	54
Tabela 8. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) das neolignanas 11 e 6 , em acetona- d_6	56
Tabela 9. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto 12 em acetona- d_6 e comparação com os dados da literatura em CDCl_3 (400 e 100 MHz, respectivamente) [70].	58
Tabela 10. Atribuição em acetona- d_6 de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do produto 13 e comparação com 11	60
Tabela 11. Íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos 1-5 em energia de colisão (E_{lab}) de 20 eV. As intensidades relativas (%) estão demonstradas entre parênteses. Abaixo das razões m/z , em <i>itálico</i> , estão demonstrados os dados dos experimentos de troca por deutério.	64
Tabela 12. Íons produtos mais significativos (intensidade relativa maior que 5 %) das neolignanas diidrobenezofurânicas 6-13 protonadas, na energia de colisão $E_{\text{lab}} = 10$ eV. As intensidades relativas (%) estão demonstradas entre parênteses.	76
Tabela 13. Íons produtos das neolignanas 6-13 desprotonados, na energia de colisão de 25 eV. As intensidades relativas (%) estão demonstradas entre parênteses.	95

Lista de Esquemas

Esquema 1. Proposta para a biossíntese da deidrotremetona (III) [29, 30].....	4
Esquema 2. Mecanismo proposto para as reações de formação de compostos 2-aroilbenzofurânicos a partir de salicilaldeído e α -halocetonas [14].....	5
Esquema 3. Síntese de 2-aroilbenzofuranos empregando compostos de paládio [33, 37].	6
Esquema 4. Aplicação das reações de Rap-Stoemer para a obtenção de derivados de 2-aroilbenzofuranos [38].	7
Esquema 5. Biossíntese do álcool diidroconiferílico (XVI) [43, 46].....	9
Esquema 6. Método empregado por Natori e colaboradores para a síntese (+)-conocarpana (XVII) e (-)- <i>epi</i> -conocarpana (XVIII) [53].	12
Esquema 7. Rota sintética desenvolvida por Chen e colaboradores para a síntese assimétrica do (+)-conocarpana (XVII) através de hidrogenação enantiosseletiva [54].	13
Esquema 8. Estruturas dos intermediários quinometídeos isoméricos <i>E</i> e <i>Z</i> formados durante o acoplamento oxidativo do ferulato de metila [62].	15
Esquema 9. Estereoquímica do ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila fenólica às diasterofaces da ligação dupla dos diferentes confôrmers do intermediário quinonametídico <i>Z</i> (adaptado de Orlandi e colaboradores) [62].	16
Esquema 10. Íons fragmentos gerais reportados por Givens e colaboradores para compostos benzofurânicos [112].	26
Esquema 11. Íons produtos do álcool diidrodehidroconiferílico reportados por Morreel e colaboradores [113].	26
Esquema 12. Síntese dos compostos 2-aroilbenzofuranos 1-5	28
Esquema 13. Preparação dos ésteres a , b e c	29
Esquema 14. Síntese das neolignanas diidrobenezofurânicas. (I) Ag ₂ O, CH ₃ CN, t.a., (II) Ac ₂ O, piridina, t.a.; (III) DDQ, dioxano, 105 °C; (IV) H ₂ , Pd/C (5%), 60 psi.	31
Esquema 15. Estruturas de ressonância dos benzofuranos, demonstrando a blindagem de H4.	37
Esquema 16. Proposta para a formação dos íons fragmentos observados no espectro de massas do composto a (EI-MS, 70 eV) e suas respectivas intensidades relativas.....	41

Esquema 17. Proposta para a formação dos íons fragmentos observados no espectro de massas do composto b (EI-MS, 70 eV) e sua respectiva intensidade relativa	42
Esquema 18. Formas de ressonância de uma carbonila α,β -insaturada.	44
Esquema 19. Formas de ressonância demonstrando o aumento da densidade eletrônica nas posições 3 e 5 devido ao efeito mesomérico da hidroxila.	45
Esquema 20. Formas de ressonância demonstrando o aumento da densidade eletrônica nas posições 2 e 6 devido ao efeito mesomérico elétron-doador do grupo metoxila.	47
Esquema 21. Correlações estrutura-fragmentação para os 2-aroilbenzofuranos protonados 1-5 . As correlações acima foram suportadas por dados de experimentos de MS ³ (Anexo A58-A62).	65
Esquema 22. Formação dos íons gerais observados nos espectros de íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos 1-5 protonados, suas entalpias (H) e <i>energias de Gibbs</i> (G). Os valores de G e H foram calculados em nível de teoria B3LYP/6-31+G(d), expressas em kcal/mol.....	67
Esquema 23. Estruturas de ressonância do composto 2 protonado representando efeito de estabilização da molécula protonada pelo grupo metoxila no anel A.....	69
Esquema 24. Formação do íon diagnóstico H para os compostos 1 e 3 . Entalpia (ΔH) e <i>energia de Gibbs</i> (ΔG) relativas estão expressas em kcal/mol.....	70
Esquema 25. Formação dos íons diagnósticos I e J para o composto 2 . Entalpia (ΔH) e <i>energia de Gibbs</i> (ΔG) relativas estão expressas em kcal/mol.....	71
Esquema 26. Correlações estrutura-fragmentação para as neolignanas diidrobenezofurânicas 6-13 protonadas. * Íons produtos que não foram observados em $E_{lab} = 10$ eV.....	73
Esquema 27. Formação dos íons produtos B e C para as neolignanas 6-10 protonadas e D e E para 6-8 protonadas, e suas respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.	81
Esquema 28. Formação dos íons produtos B , C , D e E para a neolignana 11 protonada e suas respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	83
Esquema 29. Formação dos íons produtos B , C , D e E da neolignana 12 protonada e suas respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	84
Esquema 30. Formação dos íons produtos B , C , D e E para a neolignana 13 protonada e suas respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	85
Esquema 31. Formação dos íons produtos diagnósticos K , L e P das neolignanas 9-10 protonadas.. Abaixo apresentadas as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol	87

Esquema 32. Formação do íon produto G para a neolignana 13 protonada, que é diagnóstico da ausência da ligação dupla entre C7' e C8' as Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol, dos íons envolvidos em sua formação.....	88
Esquema 33. Formação dos íons produtos F, I, J e Q para a neolignana 12 , que é diagnóstico da ausência da ligação dupla entre C7' e C8'. Abaixo das estruturas estão apresentadas as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	89
Esquema 34. Formações dos íons produtos H e M , diagnósticos de 8 , e N e O , diagnósticos de 7 . Abaixo de cada estrutura encontram-se as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.	91
Esquema 35. Correlações estrutura-fragmentação para as neolignanas 6-13 desprotonadas.....	96
Esquema 36. Formação do íon produtos D, E e F , diagnósticos das neolignanas benzofurânicas 11 e 13 . Os valores abaixo das estruturas representam as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	101
Esquema 37. Formação dos íons produtos B, C e Y para as neolignanas 6-10 e 12 desprotonadas. Os valores abaixo de cada estrutura correspondem às Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.	103
Esquema 38. Formação dos íons produtos diagnósticos B e C para a neolignana diidrobenzofurânica 12 . Os valores abaixo das estruturas são as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	105
Esquema 39. Formação do íon diagnósticos M, N e O , para a neolignana diidrobenzofurânica 9 desprotonada. Abaixo das estruturas encontram-se apresentadas as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	107
Esquema 40. Formação do íon diagnósticos G e L para as neolignanas diidrobenzofurânicas 7 e 10 e as Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol de cada estrutura.....	109
Esquema 41. Formação dos íons diagnósticos H, I, J e K , para as neolignanas diidrobenzofurânicas 7 e 10 . Abaixo das estruturas encontram-se as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	111
Esquema 42. Formação do íon diagnóstico R para a neolignana diidrobenzofurânica 8 . Abaixo apresentadas as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	112
Esquema 43. Formação dos íons diagnósticos P, Q e Z para a neolignana diidrobenzofurânica 12 . Abaixo das estruturas estão as respectivas Entalpias e <i>energia de Gibbs</i> , em kcal/mol.....	113

Esquema 44. Formação dos íons diagnósticos **S**, **T**, **U**, **V** e **X** para o derivado de neolignana diidrobenzofurânica **6**. Abaixo das estruturas encontram-se as respectivas **Entalpias** e *energia de Gibbs*, em kcal/mol. 114

Lista de Anexos

A1. Espectro de RMN de ^1H do composto a (CDCl_3 , 400 MHz, TMS).....	129
A2. Espectro de RMN de ^1H do composto b (CDCl_3 , 400 MHz).	129
A3. Espectro de RMN de ^1H do composto c (acetona- d_6 , 400 MHz, TMS).	130
A4. Espectro de massas do composto a (EI, 70 eV).	130
A5. Espectro de massas do composto b (EI, 70 eV).	130
A6. Espectro de RMN de ^1H do composto 1 (CDCl_3 , 400 MHz, TMS).	131
A7. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1 (CDCl_3 , 100 MHz, TMS).	131
A8. Espectro de infravermelho do composto 1 (pastilha de KBr)	132
A9. Espectro de EI-MS do composto 1 (70 eV)	132
A10. Espectro de RMN de ^1H do composto 2 (CDCl_3 , 400 MHz, TMS).	133
A11. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2 (CDCl_3 , 100 MHz, TMS).	133
A12. Espectro de infravermelho de 2 (pastilha de KBr).....	134
A13. Espectro de EI-MS do composto 2 (70 eV).....	134
A14. Espectro de RMN de ^1H do composto 3 (CDCl_3 , 400 MHz, TMS).	135
A15. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 3 (CDCl_3 , 100 MHz, TMS).	135
A16. Espectro de infravermelho do composto 3 (pastilha de KBr)	136
A17. Espectro de EI-MS do composto 3 (70 eV).....	136
A18. Espectro de RMN de ^1H do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz, TMS).	137
A19. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4 (CDCl_3 , 100 MHz, TMS).	137
A20. Espectro de infravermelho do composto 4 (KBr pellet).....	138
A21. Espectro de EI-MS do composto 4 (70 eV).....	138
A22. Espectro de RMN de ^1H do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz, TMS).	139
A23. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5 (CDCl_3 , 100 MHz, TMS).	139
A24. Espectro de infravermelho do composto 5 (pastilha de KBr).....	140
A25. Espectro de ESI-MS/MS do composto 5 (10 eV)	140

A26. Espectro de RMN de ^1H do composto 6 (<i>Acetone-d_6</i> , 400 MHz, TMS).	141
A27. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 6 (<i>Acetone-d_6</i> , 100 MHz, TMS).	141
A28. Espectro de infravermelho de 6 (pastilha de KBr)	142
A29. Espectro de massas do composto 6 (EI, 70 eV).	142
A30. Espectro de RMN de ^1H do composto 7 (<i>Acetone-d_6</i> , 400 MHz, TMS).	143
A31. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 7 (<i>Acetone-d_6</i> , 100 MHz, TMS).	143
A32. Espectro de infravermelho de 7 (pastilha de KBr)	144
A33. Espectro de massas do composto 7 (EI, 70 eV).	144
A34. Espectro de RMN de ^1H do composto 8 (<i>Acetone-d_6</i> , 400 MHz, TMS).	145
A35. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8 (<i>Acetone-d_6</i> , 100 MHz, TMS).	145
A36. Espectro de infravermelho de 8 (pastilha de KBr)	146
A37. Espectro de massas do composto 8 (EI, 70 eV).	146
A38. Espectro de RMN de ^1H do composto 9 (<i>Acetone-d_6</i> , 400 MHz, TMS).	147
A39. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 9 (<i>Acetone-d_6</i> , 100 MHz, TMS).	147
A40. Espectro de infravermelho de 9 (pastilha de KBr)	148
A41. Espectro de massas do composto 9 (EI, 70 eV).	148
A42. Espectro de RMN de ^1H do composto 10 (<i>Acetone-d_6</i> , 400 MHz, TMS).	149
A43. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 10 (<i>Acetone-d_6</i> , 100 MHz, TMS).	149
A44. Espectro de infravermelho de 10 (pastilha de KBr)	150
A45. Espectro de massas do composto 10 (EI, 70 eV).	150
A46. Espectro de RMN de ^1H do composto 11 (<i>Acetone-d_6</i> , 400 MHz, TMS).	151
A47. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 11 (<i>Acetone-d_6</i> , 100 MHz, TMS).	151
A48. Espectro de infravermelho de 11 (pastilha de KBr)	152
A49. Espectro de massas do composto 11 (EI, 70 eV).	152
A50. Espectro de RMN de ^1H do composto 12 (<i>Acetone-d_6</i> , 400 MHz, TMS).	153
A51. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 12 (<i>Acetone-d_6</i> , 100 MHz, TMS).	153
A52. Espectro de infravermelho de 12 (pastilha de KBr)	154

A53. Espectro de massas do composto 12 (EI, 70 eV).	154
A54. Espectro de RMN de ^1H do composto 13 (<i>Acetone-d_6</i> , 400 MHz, TMS).	155
A55. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 13 (<i>Acetone-d_6</i> , 100 MHz, TMS).	155
A56. Espectro de infravermelho de 13 (pastilha de KBr)	156
A57. Espectro de massas do composto 13 (EI, 70 eV).	156
A58. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 1	157
A59. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 2	157
A60. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 3	158
A61. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 4	158
A62. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 5	159
A63. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 6 , no modo positivo de ionização.....	159
A64. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 7 , no modo positivo de ionização.....	160
A65. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 8 , no modo positivo de ionização.....	160
A66. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 9 , no modo positivo de ionização.....	161
A67. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 10 , no modo positivo de ionização.....	161
A68. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 11 , no modo positivo de ionização.	162
A69. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 12 , no modo positivo de ionização.....	162
A70. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 13 , no modo positivo de ionização.....	163
A71. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 6 , no modo negativo de ionização.	163
A72. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 7 , no modo negativo de ionização.....	164
A73. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 8 , no modo negativo de ionização.....	165
A74. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 9 , no modo negativo de ionização.....	166
A75. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 10 , no modo negativo de ionização.....	167
A76. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 11 , no modo negativo de ionização.	167
A77. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 12 , no modo negativo de ionização.....	168
A78. Espectro de ESI-MS ⁿ do composto 13 , no modo negativo de ionização.....	168

A79. Espectros de MS/MS dos experimentos em troca por deutério das NDBs 6-13 , no modo positivo de ionização.....	169
---	-----

Lista de Abreviaturas

AcOEt	Acetato de etila
CCC	Cromatografia em coluna clássica
CCDC	Cromatografia em camada delgada comparativa
CEM	<i>Chain ejection model</i> , modelo de ejeção do íon
CID	<i>Collision induced dissociation</i> , dissociação induzida por colisão
CRM	<i>Charge residual model</i> , modelo da carga residual
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DDQ	2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DFT	Teoria funcional de densidade
DMF	Dimetilformamida
E_{com}	Energia transferida para o centro de massa (kcal/mol)
EI-MS	Espectrometria de massas com ionização por elétrons
E_{lab}	Energia de colisão (eV)
ESI	Eletrospray
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por eletrospray
ESI-MS/MS	Espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray
ESI-MS ⁿ	Espectrometria de massas de múltiplos estágios com ionização por eletrospray
ESI-TOF	Ionização por eletrospray acoplado a um analisador por tempo de voo
GA	Acidez em fase gasosa
GB	Basicidade em fase gasosa
Hex	Hexano
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HPLC-ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por eletrospray acoplado à cromatografia líquida de alta eficiência
HPLC-ESI-MS/MS	Espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray acoplado à cromatografia líquida de alta eficiência
HRP	Enzima horseradish peroxidase

IC ₅₀	Concentração inibitória média
IT	<i>Ion trap</i> , equipamento tipo armadilha de íons
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento (Hz)
MeOH	Metanol
MM2	Modelagem molecular 2
MS	Espectrometria de massas
MS/MS	Espectrometria de massas sequencial
MS ⁿ	Espectrometria de massas de múltiplos estágios
NDB	Neolignana diidrobenzofurânica
P.F.	Ponto de fusão
PA	Afinidade protônica
QqQ	Equipamento tipo triplo quadrupolo
Q-TOF	Equipamento híbrido quadrupolo tempo de voo
RMN	Ressonância magnética nuclear
SN ₂	Substituição nucleofílica bimolecular
TFA+Na ⁺	Trifluoroacetato de sódio
TMS	Tetrametilsilano
UV/vis	Espectroscopia na região do ultra violeta/visível
δ	Deslocamento químico (ppm)
ΔG	Variação da energia de Gibbs
ΔH	Variação da entalpia

1. Introdução

1.1. Compostos benzofurânicos

Os compostos benzofurânicos estão presentes na estrutura diversas substâncias químicas de interesse comercial, dentre estes, de pesticidas [1], agentes fluorescentes [2], cosméticos [3], condutores orgânicos [3], substâncias alucinógenas [4], polímeros [5], flavorizantes e compostos voláteis [6], entre outros[7]. Contudo, merecem destaque as diversas atividades biológicas de compostos que apresentam este núcleo em suas estruturas [8, 9]. No **quadro 1** encontram-se alguns exemplos de fármacos aprovados e aceitos comercialmente que apresentam o núcleo benzofurânico em suas estruturas.

Quadro 1. Fármacos que possuem o núcleo benzofurânico em suas estruturas [10].

Dronedarona Prevenção da arritmia cardíaca		Amiodarona Prevenção da arritmia cardíaca
Naloxona Antagonista		Trioxsalen Aumenta a tolerância à luz solar
Codeína Analgésico, sedativo, ansiolítico, anti-hipertensivo		Heroína Analgésico opioide
Methoxsalen Tratamento da psoríase, vitiligo e doenças cutâneas		Diidrocodeína Tratamento de problemas pulmonares

Quadro 1 (continuação)

Nalbufina Analgésico		Fluoresceína Auxiliar de detecção – Agente colorimétrico
Morfina Analgésico opioide		Griseofulvina Antifúngico

Além dos compostos benzofurânicos listados no **quadro 1**, que são fármacos comerciais, vários outros têm sido reportados na literatura quanto ao seu potencial para o tratamento de diferentes tipos de câncer, tais como os compostos **I** e **II** (**Figura 1**). A atividade desses compostos foi associada ao processo de inibição da polimerização da tubulina, que é um dos principais alvos dos quimioterápicos. O composto **I** foi reportado como um inibidor da tubulina (concentração inibitória de 50% das células, $IC_{50}=0,41 \mu M$) cinco vezes mais potente que o controle positivo (combretastatina, $IC_{50}=2,1 \mu M$) frente a linhagens de células MCF-7 [11]. Por sua vez, o composto **II** apresentou atividade frente a várias linhagens de células cancerosas, tais como L1210, FM3A/0, Molt4/C8, CEM/0 ou Hela, com valores de IC_{50} entre 1,2 e 6,4 μM [12].

Figura 1. Estruturas de compostos benzofurânicos encontrados na literatura que apresentam atividade contra linhagens de células cancerosas.

Conforme mostrado no **quadro 1** e na **figura 1**, existe uma grande diversidade estrutural de compostos benzofurânicos, dentre os quais encontram-se os 2-aroilbenzofuranos e as neolignan diidrobenezofurânicas.

1.2. 2-Aroilbenzofuranos

Os compostos 2-aróilbenzofurânicos apresentam um amplo espectro de atividades biológicas, tais como antifúngica [13, 14], antibacteriana [14-16], leishmanicida [17], antioxidante [14], anti-HIV [18], antitumoral [19-21], anti-inflamatória [22]. Saku e colaboradores investigaram a atividade de 16 derivados benzofurânicos sobre receptores antagonistas de adenosina A e concluíram que a troca do grupo fenil na posição 4 por um anel heterocíclico resultou em uma melhora no perfil farmacocinético e na solubilidade em água [23]. Yang e colaboradores investigaram a atividade antiproliferativa de seis derivados benzofuranosulfonamídicos [24]. Um desses derivados apresentou valor de IC₅₀ contra células NCI-H460 menor que o da cisplatina, que foi usada como controle positivo. Rangaswamy e colaboradores sintetizaram 14 derivados benzofurânicos contendo pirazóis 1,3,5-substituídos e avaliaram suas atividades antioxidante e antimicrobiana. Dentre esses, dois deles apresentaram atividade antioxidante 50% maior que a do controle positivo, enquanto dois outros exibiram boa atividade antimicrobiana nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg/mL em relação à estreptomicina e fluconazol, respectivamente [14]. Além destas atividades, alguns trabalhos reportam a utilização de 2-aróilbenzofuranos no diagnóstico de doenças, como, por exemplo, o mal de Alzheimer [25-27].

Apesar de vários compostos benzofurânicos serem de ocorrência comum na natureza, principalmente em plantas de grande porte das famílias Rutaceae, Liliaceae, Cyperaceae, Lauraceae e Asteraceae [28], o isolamento e/ou identificação de 2-aróilbenzofuranos naturais é pouco comum na literatura. Este fato pode estar associado à estrutura dos precursores a partir dos quais ocorre a biossíntese dos compostos benzofurânicos. Apesar de a biossíntese desses compostos não estar bem estabelecida [29-32], a proposta mais aceita envolve a isoprenilação da *p*-hidroxiacetofenona pelo isopentenil difosfato (IPP), conforme representado no **esquema 1** (p.4). A posterior formação do anel furânico envolve possivelmente as seguintes etapas: a) oxidação da ligação dupla do grupo isoprenila, com consequente formação de um epóxido; b) protonação do oxigênio do epóxido e ataque nucleofílico do par de elétrons do oxigênio da hidroxila fenólica ao carbono menos substituído do epóxido – este ataque ocorre possivelmente de modo concertado (mecanismo tipo S_N2), já que a protonação inicial do epóxido aumentaria a tendência ao ataque no carbono mais substituído do epóxido; c) formação da ligação dupla do anel furânico, possivelmente catalisada por uma enzima desidrogenase. No **esquema 1** encontra-se proposta a biossíntese da deidrotremetona (**III**), que é encontrada em espécies como a *Eupatorium rugosum* (Asteraceae) [29]. Há, no entanto, relatos sobre o isolamento do 2-aróilbenzofurano Derriobtusona A (**IV**, **Figura 2**)

da espécie *Lonchocarpus obtusus* (Leguminosae) e de suas atividades antioxidante, citotóxica e antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* [16].

Esquema 1. Proposta para a biossíntese da deidrotremetona (III) [29, 30].

Figura 2. Estrutura da derriobtusona A (III) ([16])

A maior parte dos 2-aroilbenzofuranos conhecidos é de origem sintética. O método mais clássico para a síntese de 2-aroilbenzofuranos foi desenvolvido por Rap-Stöermer, que utiliza salicilaldeído em presença de α -bromocetonas [33]. Metodologias similares a esta, baseadas na reação entre um *orto*-hidroxialdeído ou *orto*-hidroxicetona e um aldeído ou cetona α -halogenados, vêm sendo reportadas com frequência na literatura para a síntese de compostos 2-aroilbenzofurânicos e derivados [34-36]. Segundo o mecanismo proposto para esta reação (**esquema 2**, p.5), o par de elétrons do oxigênio do íon fenolato, gerado por remoção do hidrogênio da hidroxila fenólica pela base (por exemplo, DBU), ataca o carbono α do composto carbonílico α -halogenado, com consequente expulsão de um íon haleto. Na etapa seguinte, a remoção do hidrogênio α à carbonila gera um íon enolato, que ataca a carbonila do aldeído ou da cetona aromáticos, com posterior

eliminação de água. A reação é conduzida em presença de peneiras moleculares para que o equilíbrio se desloque no sentido da formação dos compostos 2-aroilbenzofuranos [14].

Esquema 2. Mecanismo proposto para as reações de formação de compostos 2-aroilbenzofurânicos a partir de salicilaldeído e α -halocetonas [14].

Atualmente, as alternativas mais empregadas para a síntese de 2-aroilbenzofuranos utilizam compostos de paládio, que podem atuar tanto na etapa de formação da ligação C-C como na etapa de fechamento do anel benzofurânico. Khan e colaboradores utilizaram a química de compostos de paládio para produzir diversos derivados benzofurânicos, dentre eles três 2-aroilbenzofuranos, que estão representados no **esquema 3A** (p.6) [37]. Os autores do trabalho empregaram uma reação similar à reação de Hiyama, em que haletos de arila e organosilanos foram ativados pela presença do sal de cobre para a formação de silicatos como intermediários reativos, com posterior acilação de Friedel-Crafts em presença de um cloreto de acila. Os produtos foram obtidos em altos rendimentos (91 a 95%) e investigados quanto às suas atividades antimicrobianas. Os autores verificaram que o composto 2-aroilbenzofurânico que possuía $\text{R}_2 = \text{C}_6\text{H}_5$ apresentou moderada ação antimicrobiana contra *Salmonella paratyphi*, *Shigella sonnei* e *Shigella boydii*.

As arilações catalisadas por paládio a partir de 2-bromofenol também têm sido utilizadas para a síntese de compostos 2-aroilbenzofurânicos. Cheng e colaboradores utilizaram este tipo de compostos para promover o acoplamento oxidativo com várias 2-bromocetonas, utilizando dicloro(1,5-ciclooctadieno) paladio (II) ($\text{Pd}(\text{COD})\text{Cl}_2$) como catalisador em presença de dpppy (2,6-Bis-(difenilfosfino)piridina), conforme demonstrado **esquema 3B** [33]. Os autores reportaram rendimentos razoáveis utilizando K_2CO_3 como base, já que a formação do produto desejado requer a remoção do hidrogênio da posição α à carbonila ou da hidroxila fenólica para o fechamento do anel de cinco membros. Os rendimentos descritos foram de 41-81% para as reações demonstradas no **esquema 3B**,

sendo que os melhores rendimentos foram reportados para as cetonas aromáticas contendo grupos fenil ou cloro na posição *para* (81% e 72%, respectivamente).

Esquema 3. Síntese de 2-aroilbenzofuranos empregando compostos de paládio [33, 37].

Mais recentemente, Seo e colaboradores desenvolveram uma metodologia sintética a partir da metodologia de Rap-Stöemer para a síntese das rugchalconas A e B (**esquema 4**, p.7, estruturas **IVe V**, respectivamente) e outros seis derivados 2-aroilbenzofurânicos, que foram submetidos a ensaios para avaliação da atividade anti-inflamatória [38]. Dentre os compostos obtidos (**IV-XI**, **esquema 4**), os autores verificaram que os compostos **V**, **VII**, **X** e **X** apresentaram a melhores atividades anti-inflamatórias, apresentando um IC_{50} variando entre 4,13-0,57 μM . Os autores sugeriram que a atividade apresentada pelos compostos em questão é devido à presença de grupos 4-hidroxifenil e/ou grupos hidroxila nas posições 5 ou 6 do anel benzofurânico.

Esquema 4. Aplicação das reações de Rap-Stoemer para a obtenção de derivados de 2-aróilbenzofuranos [38].

1.3. Neolignanas diidrobenezofurânicas

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), lignanas e neolignanas são compostos que apresentam duas unidades de fenilpropanoides (C_6C_3) conectadas entre si [39]. Os carbonos do anel aromático (C_6) são numerados de 1 a 6, iniciando-se pelo carbono em que o grupo propil (C_3) encontra-se ligado. Por sua vez, os carbonos do grupo propil são numerados de 7 a 9, a partir do carbono ligado ao anel aromático. Deste modo, o termo “lignana” refere-se a estruturas que contêm duas unidades C_6C_3 ligadas entre pelas posições 8,8' (ou β, β'), conforme mostrado na **figura 3a**. Por sua vez, o termo “neolignana” deve ser utilizado quando as unidades de fenilpropanoides estão ligadas entre si por quaisquer posições que não sejam 8,8' (ou β, β') (**Figura 3b**) [39].

Figura 3. Diferenças entre os compostos da classe das lignanas (a) e das neolignanas (b)

Devido à grande diversidade estrutural, as neolignanas foram divididas em subclasses, de acordo com a forma como as duas unidades fenilpropanoídicas estão ligadas entre si. As neolignanas diidrobenezofurânicas (NDB), por exemplo, são formadas pelo acoplamento de duas unidades C_6C_3 entre as posições 7,4' e 8,5' (**Figura 3b**) [40]. Entretanto, o termo “neolignana” foi oficialmente introduzido por Otto Gottlieb somente

em 1978 [40], sendo que, anteriormente a esta convenção, o termo geral “lignoide” descrito por Haworth foi extensivamente utilizado para referir-se aos compostos em que duas ou mais unidades C_6C_3 estão conectadas entre si, sem nenhuma distinção entre lignanas e neolignanas [41]. Apesar desta distinção entre os dois grupos independentes de lignoides ter se baseado na evolução do conhecimento biossintético [42], mudanças periódicas na nomenclatura desses compostos tornaram o uso dos termos “lignanas”, “neolignanas” e “lignoides” pouco homogêneo ao longo dos anos. Esta falta de homogeneidade na nomenclatura pode, eventualmente, “mascarar” os resultados de uma pesquisa bibliográfica sobre neolignanas. Por exemplo, em busca realizada na base de dados o SciFinder®, no final de 2017, foram encontradas 860 publicações sobre neolignanas diidrobenezofurânicas (NDB), que foram divididas em três grupos – “síntese”, “produtos naturais” e “atividades biológicas” – conforme o tema do trabalho (**Figura 4**). Entretanto, quando a busca é feita usando o termo “neolignana diidrobenezofurânica”, apenas 36 publicações foram encontradas. Esta discrepância refere-se ao fato de que termos como “lignina”, “lignana”, “fenilbenzofurano”, “benzofurano”, entre outros, são também utilizados para denotar estruturas do tipo NDB.

Figura 4. Número de publicações de NDB no período de 1990 até 2017, por assunto, de acordo com a base de dados do SciFinder®.

A maioria dos estudos sobre as NDB foi publicada na última década (período de 2006 até 2017), como pode ser observado na **figura 4**. O aumento no número de publicações deveu-se ao avanço nas técnicas de isolamento e caracterização, o que resultou

no aumento no número de NDB que tiveram suas atividades biológicas investigadas no período.

Em termos biossintéticos, as NDB são metabólitos especiais formados pelo acoplamento oxidativo de monômeros estruturalmente relacionados ao álcool hidroxicinâmico [43, 44]. Este acoplamento é promovido pela enzima peroxidase, que tem a capacidade de promover a oxidação (perda de um elétron) dos monômeros [45]. Os mais importantes monômeros são o álcool 4-hidroxicinâmico (álcool *p*-cumarílico), álcool coniferílico (**XV**) e álcool sinapílico. As gimnospermas, por exemplo, utilizam principalmente o álcool coniferílico como precursor das NDB; nas dicotiledôneas, os álcoois coniferílico e sinapílico são os precursores mais comuns, enquanto as monocotiledôneas utilizam os álcoois *p*-cumarílico, coniferílico e sinapílico [43]. A oxidação (perda de um elétron) de fenilpropanoides produz espécies radiculares – radicais fenoxila – nas quais o elétron desemparelhado encontra-se estabilizado por ressonância, conforme mostrado no **esquema 5**. Desta forma, a grande diversidade estrutural de neolignanas provém das várias possíveis homogeneidades que podem ocorrer entre duas das diferentes formas de **A**, **B**, **C** e **D**.

No caso de neolignanas diidrobenzofurânicas, a homogeneidade ocorre entre as formas de ressonância **B** e **D**, com consequente formação da ligação 8.5' e de um sistema quinonametideo (**Esquema 5**). Por sua vez, a formação da ligação 7.O.4' é resultante do ataque do par de elétrons da hidroxila fenólica ao sistema quinonametideo. No esquema 5 encontra-se a representada biossíntese do álcool deidroconiferílico.

Esquema 5. Biossíntese do álcool deidroconiferílico (**XVI**) [43, 46].

Com relação à estereoquímica deste acoplamento oxidativo das NDB, a proposta biossintética levanta a possibilidade da formação de quatro possíveis diastereoisômeros devido aos centros estereogênicos em C-7 e C-8 (7*R*,8*R*; 7*S*,8*S*; 7*R*,8*S* e 7*S*,8*R*), como é demonstrado na **figura 5**. Entretanto, somente em alguns casos a estereoquímica absoluta das NDB isoladas de plantas é demonstrada na literatura. Este fato pode estar associado às dificuldades no isolamento das NDB como enantiômeros puros, para a determinação da sua estereoquímica absoluta por dicroísmo circular ou mesmo cristalografia de raios X. Além disto, outros fatores que dificultam a determinação da sua estereoquímica absoluta de NDB são a dificuldade em gerar cristais para cristalografia de raios X, já que as substâncias são geralmente isoladas em pequenas quantidades, e tem aspecto oleoso ou de goma na maioria das NDB. Sendo assim, na maioria dos casos, apenas a estereoquímica relativa entre C-7 e C-8 é demonstrada, e os compostos são geralmente reportados como *cis* (**Figura 5**, estruturas **i** e **ii**), ou *trans* (**Figura 5**, estruturas **iii** e **iv**). Esta diferenciação da estereoquímica relativa é geralmente feita baseada em constantes de acoplamento entre H-7 e H-8 ($J_{7,8}$) que são deduzidas a partir da análise dos espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H . De acordo com Li e colaboradores, as constantes de acoplamento ($J_{7,8}$) é maior nos isômeros *cis* (8,2-8,4 Hz) que nos isômeros *trans* (6,5-7,3 Hz) [45, 47]. Entretanto, na maioria dos casos, nem mesmo a estereoquímica relativa é determinada, ou apenas uma das estruturas enantioméricas é representada arbitrariamente.

Figura 5. Estrutura dos diastereoisômeros de neolignanas diidrobenzofurânicas.

De acordo com levantamento bibliográfico realizado por nosso grupo de pesquisa, NDBs naturais já foram isoladas de 25 diferentes famílias de plantas, sendo que até o momento não há registros destas estruturas advindas de microrganismos. As espécies de plantas que mais contribuem em número de compostos isolados são Rosaceae (27), Lauraceae (19), Aristolochiaceae (17), Pinaceae (11) e Piperaceae (10). Dentre estas espécies, Iwashina e colaboradores demonstraram que nas três espécies de onde derivam a maior diversidade das estruturas químicas das NDBs, também derivam algumas chalconas que só ocorrem nestas famílias [48]. De certa forma, a grande ocorrência de chalconas e

NDBs nestas espécies levaram os autores a sugerir não apenas uma relação biossintética plausível entre estas duas classes de metabólitos especiais, mas também uma importância quimiotaxonômica de NDBs, já que ambas provêm da via do chiquimato [49]. Entretanto, é importante ressaltar que em espécies herbáceas de Angiospermas, as chalconas são provenientes da via do acetato. Todas estas implicações quimiotaxonômicas foram exploradas por Otto Gottlieb, em seu inspirador artigo de 1972, que demonstram o “estado da arte” das neolignanas naquela época [49].

Apesar de sua ampla ocorrência em plantas, as NDBs geralmente são isoladas com um rendimento muito baixo. Gottlieb, inclusive, descreveu em um de seus principais trabalhos sobre neolignanas que o isolamento das neolignanas chega a ser “tedioso” e que resulta em baixos rendimentos do produto isolado [40]. Um bom exemplo que consta na literatura é o isolamento das NDBs (+)-conocarpana (**XVII**) e (-)-*epi*-conocarpana (**XVIII**, **figura 6**), isoladas de *Conocarpus erectus* (cerne do caule) e *Pipper regnellii* (raízes secas), com rendimentos de $4,7 \times 10^{-3}$ e 2×10^{-2} (m/m), respectivamente [50, 51]. Neste sentido, métodos sintéticos podem ser empregados para a obtenção de NDBs e posterior avaliação de suas atividades biológicas. Um exemplo da aplicação de métodos sintéticos para a obtenção de NDB é a ($\pm$)-3',4-di-O-metilcedrusina (**XIX**, **figura 6**), uma NDB que é comumente isolada de um látex de cor vermelha produzido por espécies de *Croton* que ocorrem na América do Sul, popularmente conhecido como “sangue de dragão”. Esta neolignana foi sintetizada com sucesso empregando o acoplamento oxidativo de *trans*-feruloato de metila e posteriores modificações estruturais [52].

Figura 6. Estruturas químicas da (+)-conocarpana (**XVII**), (-)-*epi*-conocarpana (**XVIII**) e ($\pm$)-3',4-di-O-metilcedrusina (**XIX**).

De um modo geral, a maioria das metodologias utilizadas para a síntese das NDBs pode ser dividida em dois grandes grupos. No primeiro grupo encontram-se aquelas em que a ligação C7-O4' é formada primeiramente, geralmente por um mecanismo tipo S_N2 , com posterior fechamento do anel através de uma reação de formação de uma ligação C8-C5' catalisada por metal (principalmente compostos de Pd, Ir, Ru, ou Rh). Por exemplo, Natori e colaboradores sintetizaram as NDBs (+)-conocarpana (**XVII**), (-)-*epi*-

conocarpana (**XVIII**) segundo a metodologia representada no **esquema 6**, com bons rendimentos na maioria das etapas. Para isto, os autores utilizaram uma reação tipo S_N2 para a formação da ligação C7-O4', seguida por uma reação de inserção de grupo diazo (reação de Regitz, com procedimento modificado por Danheiser). Para a formação da ligação C8-C5' foi utilizado como catalisador um complexo quiral de Rh (II). A partir daí, etapas de redução, proteção e adição de grupo alquila por reação tipo Suzuki-Miyaura, seguidas por redução e desproteção da hidroxila fenólica, levaram aos produtos finais, com rendimento global da reação de 18,3% para **XVII** e 25,7% para **XVIII** [53].

Esquema 6. Método empregado por Natori e colaboradores para a síntese (+)-conocarpana (**XVII**) e (-)-*epi*-conocarpana (**XVIII**) [53].

No segundo grupo de metodologias encontram-se aquelas em que ocorre primeiramente a formação da ligação C8-C5' por meio de reações de acilação ou de reações catalisadas por metais, seguidas pela formação da ligação C7-O4' e consequente fechamento do anel de cinco membros por meio de reações do tipo S_N2 . Por exemplo, para sintetizar a (+)-conocarpana (**XVII**, **figura 6**, p.11), Chen e colaboradores empregaram catalisadores quirais para induzir a assimetria do centro estereogênico e formar primeiramente a ligação C8-C5' [54]. Em termos sintéticos, os autores iniciaram a rota sintética pela conversão de um ácido em um cloreto de ácido, seguida por uma reação de acilação de Friedel-Crafts com o anisol (**Esquema 7**, p. 13). A etapa chave da síntese é a formação de uma cetona pró-quiral através de uma metilação, que é seguida de uma redução enantiosseletiva empregando um catalisador quiral, o $RuCl_2[(S)\text{-dm-segfos}][(S)\text{-diapen}]$, em presença de H_2 (100 psi). Neste caso, a formação do anel diidrofurânico deu-se por meio de uma reação de substituição nucleofílica aromática (S_NAr). Finalmente, o éter fenólico foi desprotegido com BBR_3 e a cadeia lateral foi inserida através de uma reação de

acoplamento tipo Suzuki, utilizando o ácido (*E*)-propenilborônico. Esta metodologia permitiu sintetizar a (+)-conocarpana (**XVII**) com um rendimento global de 55,6%.

Esquema 7. Rota sintética desenvolvida por Chen e colaboradores para a síntese assimétrica do (+)-conocarpana (**XVII**) através de hidrogenação enantiosseletiva [54].

Apesar dos bons rendimentos reportados na literatura para as metodologias descritas anteriormente, que empregam catalisadores quirais à base de Pd, Rh ou de outros metais, o número de etapas e a diversidade de reagentes empregados dificultam o emprego desses métodos para a síntese rotineira de NDB [54]. Por essa razão, as NDB sintéticas são, em sua maioria, obtidas por reações de acoplamento oxidativo de fenilpropanoides (unidades C₆C₃), que mimetizam a biossíntese desses compostos em plantas. Nessas reações, as ligações C7-O4' e C8-C5' são formadas em uma única etapa sintética, em condições amenas [52, 55, 56]. Em geral, a etapa de oxidação pode ocorrer tanto enzimaticamente quanto quimicamente [55], sendo que o agente oxidante empregado constitui a etapa chave do processo – dependendo do agente oxidante empregado, lignanas também podem ser formadas (por exemplo, quando se utiliza MnO₂) partindo dos mesmos fenilpropanoides [55]. Os rendimentos das reações de acoplamento oxidativo são fortemente dependentes do solvente, temperatura, concentração de fenilpropanoides, dentre outros fatores [55, 57].

A maioria dos estudos que envolvem acoplamentos oxidativos de fenilpropanoides para síntese de NDB emprega óxido de prata (Ag₂O) como agente oxidante. Apesar de não estar totalmente estabelecido, o mecanismo mais aceito na literatura para este acoplamento envolve a homólise da ligação O–H fenólica, conforme demonstrado no **esquema 5** (p. 9), que leva à formação de radicais fenoxila estabilizados

por ressonância. Segundo Daquino e colaboradores, os íons metálicos Mn(II) e Ag(I) podem formar complexos com estes radicais fenoxila, afetando a densidade de elétrons em C5/C5' e C8/C8', conforme estimado por métodos computacionais semiempíricos de mecânica quântica, em nível de teoria AM e DFT [55]. No caso de complexos de Mn(II), os autores descreveram que o aumento da tendência para ocorrer a homogeneização entre C8 e C8' deve-se à redução na densidade eletrônica em C5 para próximo de zero e a um aumento pronunciado na densidade de elétrons em C8. Por outro lado, a complexação com íons Ag(I) permite que os radicais fenoxila aproximem-se de modo a diminuir as forças repulsivas entre regiões positivamente carregadas (por exemplo, C5 e C5'). Consequentemente, a ocorrência do acoplamento entre as posições C5'-C8 é preferencial quando se utiliza Ag₂O como agente oxidante [55]. Mais recentemente, Althagafi e colaboradores investigaram o mecanismo de acoplamento da Taxofolina com o álcool coniferílico para a obtenção de flavolignanas de interesse biológico, tais como a silibina A (XIX) ou o isosilibinas A e B (XX e XXI, respectivamente, **figura 7**), além de obter-se como subproduto o álcool diidroconiferílico (XVI, **esquema 5**, p.9) [58]. Os autores apresentaram como principal resultado de seu trabalho uma proposta sobre a formação de sais de prata na solução, que agem na oxidação do fenilpropanoide através da remoção de um elétron do sistema conjugado do fenilpropanoide e, consequentemente, na formação do radical fenoxila [58].

Figura 7. Estruturas químicas da silibina (XIX) ou das Isosilibinas A (XX) e B (XXI).

Em termos de estereosseletividade, o acoplamento oxidativo de fenilpropanoides promovido por Ag₂O geralmente leva à formação diasterosseletiva de neolignanas diidrobenzofurânicas com estereoquímica *trans* [59-61]. Entretanto, é possível tornar a reação enatiosseletiva partindo-se de fenilpropanoides derivatizados com auxiliares quirais [62]. Tendo em vista entender melhor a diasterosseletividade observada nos

acoplamentos oxidativos, Orlandi e colaboradores investigaram a estereoquímica do ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila fenólica nas espécies quinonametídicas *E* e *Z*. Como essas espécies são formadas sob controle termodinâmico, há predomínio do diastereoisômero *Z* no equilíbrio. Segundo os autores, a diastereosseletividade da reação vem do fato de que as faces da ligação dupla dos quinonametídeos são diastereoisoméricas (**Esquema 8**).

Esquema 8. Estruturas dos intermediários quinonametídeos isoméricos *E* e *Z* formados durante o acoplamento oxidativo do ferulato de metila [62].

Para a conformação *anti*, o ataque da hidroxila fenólica à ligação dupla ocorre preferencialmente pela face *Si*, enquanto que as duas conformações *syn* são requeridas para que ocorra o ataque na face *Re*. A análise conformacional da rotação entre a ligação C7-C8 foi estudada por métodos semiempíricos em nível de teoria PM3, empregando as geometrias otimizadas por meio de modelagem molecular (MM2). Os resultados deste estudo demonstraram que todas as conformações que levam às NDBs com configuração relativa *trans* são em torno de 5 kcal/mol mais estáveis que as conformações que levam à *cis*. Em presença de auxiliares quirais (como, por exemplo, o *S*-fenilalaninato ou canforsurtame), as duas conformações *anti*, que são as mais estáveis, apresentam entre si uma diferença de 2 kcal/mol, permitindo assim um ataque enantiosseletivo da face (7*S*, 8*S*)-*trans* em detrimento à face (7*R*, 8*R*)-*trans*, conforme representado no **esquema 9** (p.16).

Esquema 9. Estereoquímica do ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila fenólica às diastereofaces da ligação dupla dos diferentes confôrmeros do intermediário quinonametídico Z (adaptado de Orlandi e colaboradores) [62].

Existem na literatura algumas estratégias que utilizam enzimas para a formação do esqueleto básico das NDB a partir do acoplamento oxidativo de fenilpropanoides. Assim como para a biossíntese das NDB, os estudos propõem que as enzimas abstraem hidrogênio na forma radicalar para a formação do radical, com posterior formação das ligações 7.O.4' e 8.5' para a formação do anel diidrofurânico [57]. É conveniente ressaltar que a utilização de enzimas é bastante importante, principalmente quando se avalia o aspecto de formação dos centros estereogênicos, já que a maioria as enzimas que catalisam tal reação levam, no mínimo, à formação predominante de um dos diastereoisômeros [63].

Na maioria dos casos reportados na literatura, as enzimas mais utilizadas são a horseradish peroxidase (HRP) e a lacase [63]. Chioccaro e colaboradores empregaram o sistema HRP/H₂O₂ na síntese de NDBs a partir do eugenol, ferulato de metila e álcool coniferílico [57]. Para isto, os autores utilizaram um tampão citrato-fosfato (pH variando entre 3,0-7,4, sendo que o pH ótimo foi 3,0), em metanol, a 20°C. Nestas condições, os autores reportaram a formação majoritária do dímero *trans*. As conversões empregando enzimas são fortemente dependentes das condições de pH, temperatura e/ou solvente [62, 64, 65]. Em estudos mais recentes envolvendo HRP, os autores utilizaram a água de coco (*Cocos nucifera* L.) como fonte natural desta enzima para a síntese da (±)-licarina A (**XXII**, **figura 8**, p.18) e de outros análogos. Os autores descrevem rendimentos variando entre 12

e 85%, dependendo da quantidade de peróxido de hidrogênio e/ou do volume de água de coco empregado [66].

As lacases têm sido descritas como uma alternativa à HRP para promover a oxidação de derivados de cateóis (como fenilpropanoides) para a formação de intermediários radicalares [67, 68]. Na maioria dos casos, o uso das lacases como enzima oxidante requer procedimentos bastante simples e condições amenas, com rendimentos variando de 8 a 32%, sendo que a fonte do agente oxidante e o tipo de substrato têm papel crucial. Entretanto, algumas dificuldades são apontadas na literatura para o processo de obtenção das NDB por este método, tais como a dificuldade de obtenção das enzimas e a necessidade de emprego de métodos cromatográficos mais elaborados para o isolamento dos produtos finais [68]. Em estudos recentes, Basini e colaboradores empregaram a lacase comercial de *Trametes versicolor* (TvL) no acoplamento oxidativo do ferulato de metila. Os autores empregam como solvente um sistema bifásico contendo tampões acetato de etila e acetato (pH 4,7), à temperatura ambiente, por 20 h e obtiveram a NDB correspondente com um rendimento de 24%, que é comparável com outros sistemas que empregam HRP/H₂O₂ [69].

O grande interesse tanto pelo isolamento como pela síntese de NDB deve-se ao espectro amplo de atividades biológicas desta classe de compostos. Conforme mencionado na página 11, a 3',4-di-O-metilcedrusina (**XIX**) é encontrada no “sangue de dragão”, um látex de cor vermelha obtido de espécies de *Croton* que é usado por populações da região da Amazônia para fins anti-inflamatórios [70]. Para esta neolignana foram reportadas várias atividades biológicas, tais como antibactericida, antioxidante [71], imunomodulatória [70, 72], antitumoral [73], além de ter sido comprovada a sua atividade anti-inflamatória [74].

De modo geral, a atividade biológica mais reportada para as NDB na literatura é a anti-inflamatória. Embora seja um processo multifatorial, a produção demasiada de citocinas pró-inflamatórias e/ou outros mediadores, como as óxido nítrico sintases e as ciclooxygenases, está diretamente ligada ao processo inflamatório [75]. Cho e colaboradores estudaram os efeitos anti-inflamatórios de cinco NDBs (estruturas **XXIII-XXVII**, **figura 8**, p.18), denominadas woorenosidos, que foram isoladas do extrato etanólico das folhas de *Croptis japonica* (Ranunculaceae) [76]. Os compostos testados suprimiram as necroses, a produção de óxido nítrico e a proliferação de linfócitos. Além disto, os autores reportaram um importante efeito inibidor da resposta mitogênica, que foi associada com o processo regulatório de inflamações.

Figura 8. Estruturas químicas da (±)-licarina A (**XXII**) e dos woorenosidos (**XXIII-XXVII**) isolados do extrato etanólico das folhas de *Croptis japonica* (Ranunculaceae).

Já Huang e colaboradores isolaram do extrato etanólico das sementes de *Crataegus pinnatifida* (Rosaceae) onze NDB's e as testaram frente a oito linhagens de células cancerosas [71]. O composto **XXVIII** (Figura 8) apresentou maior toxicidade contra a linhagem de células HT-1080 ($IC_{50} = 8,86 \mu M$) que o controle positivo testado (fluoracil, $IC_{50} = 35,62 \mu M$). Além disto, os compostos isolados foram avaliados quanto ao potencial de inibição de radicais. Os autores reportaram que o composto **XXIX** (figura 8) apresentou $IC_{50} = 7,29 \mu M$, ou seja, é mais ativo que o controle positivo (vitamina E, $IC_{50} = 9,96 \mu M$). Van Miert e colaboradores investigaram a atividade antiparasitária de algumas NDBs sintéticas obtidas pelo acoplamento oxidativo de ésteres do ácido cafeico promovido por Ag_2O [61]. Apesar de não apresentarem atividade citotóxica contra as linhagens de células cancerosas testadas, as neolignanas testadas apresentaram-se ativas contra *Leishmania dovani*, *Plasmodium falciparum* e *Trypanosoma brucei*, sendo que os melhores resultados foram obtidos para o composto **XXX** ($IC_{50} = 0,12 \mu g/mL$, $0,43 \mu g/mL$ e $2,90 \mu g/mL$, respectivamente).

1.4 Espectrometria de massas com ionização por eletrospray

1.4.1. Ionização por eletrospray (ESI-MS)

A espectrometria de massas foi primordialmente desenvolvida por J. J. Thomson (Prêmio Nobel de Física em 1906) para diferenciar isótopos a partir de suas diferentes razões massa/carga (m/z) [77]. Desde então, muitos cientistas buscaram promover o desenvolvimento da técnica e a expansão de sua aplicabilidade, especialmente no que diz respeito à análise de compostos orgânicos. Apesar desses esforços, a

espectrometria de massas permaneceu praticamente “estagnada” até a década de 1980 devido à grande dificuldade de se transferir compostos orgânicos polares e de massa molecular elevada para a fase gasosa, que em sua maioria decompunham-se quando aquecidos. Considerando que a etapa de transferência para a fase gasosa era etapa indispensável para a análise desses compostos usando os métodos de ionização difundidos naquela época, principalmente a ionização por elétrons e a ionização química [78], apenas compostos voláteis, volatilizáveis e/ou termicamente estáveis podiam ser analisados por espectrometria de massas [78]. Segundo F. W. McLafferty, a técnica ganhou realmente uma aplicabilidade a partir das décadas de 1980 e 1990, após o advento das técnicas de *spray*, sendo a ionização por eletrospray a grande responsável por este ápice [79].

Na ionização por eletrospray (**Figura 9**), o analito é dissolvido em um solvente polar e infundido na fonte de ionização por meio de um capilar metálico (75-150 μm de diâmetro), a um fluxo de 1 a 20 $\mu\text{L}/\text{min}$. Este capilar é mantido em um potencial elétrico em relação às paredes da fonte e do eletrodo cilíndrico [80]. Esta diferença de potencial, geralmente entre 3 e 5 kV, provoca a migração de carga das espécies em solução para a interface metal-solução, tornando carregada a superfície do líquido e formando, assim, uma dupla camada elétrica. Na ponta do capilar, as forças eletrostáticas que agem sobre os íons pré-formados na dupla camada elétrica contrabalanceiam a tensão superficial, culminando em uma superfície cônica conhecida como cone de Taylor [81]. Um fino spray de pequenas gotas é então formado devido à ação de um gás nebulizante (geralmente N_2), que é introduzido coaxialmente ao capilar. O volume das gotas que emergem da ponta do capilar é então reduzido pela ação de um gás secante (geralmente N_2), promovendo assim a evaporação do solvente. Com a redução do tamanho das gotas, a repulsão coulômbica entre cargas de mesmo sinal presentes na superfície das gotas aumenta. Quando o limite de Rayleigh é atingido, esta repulsão torna-se maior que a tensão superficial, ocasionando a “explosão coulômbica” [80]. Esta sequência de eventos repete-se até que o raio da curvatura da gota se torne pequeno a ponto de gerar íons individuais, seja por expulsão do íon da gota de solvente (*chain ejection model*, CEM) ou pela eliminação do solvente residual por secagem da gota (*charge residual model*, CRM) [82].

De maneira geral, os íons gerados individualmente por ESI são moléculas protonadas ($[\text{M}+\text{H}]^+$), desprotonadas ($[\text{M}-\text{H}]^-$), ou mesmo moléculas cationizadas, principalmente com íons metálicos (por exemplo, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ e $[\text{M}+\text{K}]^+$) [81]. A ionização propriamente dita (isto é, a geração de íons a partir de moléculas) ocorre em solução, no interior do capilar, por meio de reações ácido-base (protonação/desprotonação) e de coordenação com cátions presentes em solução [83]. Além disso, para compostos

polifuncionalizados e de alta massa molecular (por exemplo, proteínas), íons multiplamente carregados podem também ser formados [78].

Figura 9. Esquema geral de uma fonte de ionização por eletrospray [80-81].

A ideia de vaporizar moléculas polares de massa molecular elevada, descrita por Malcolm Dole em 1968 e desenvolvida/aplicada por John B. Fenn nas décadas de 1980 e 1990, ganhou grande expressão no meio científico. A partir de então, as aplicações da espectrometria de massas estenderam-se a diversas áreas da ciência devido à possibilidade de se analisar compostos polares e com uma grande diversidade de massas moleculares [81, 84]. A análise do gráfico da **figura 10** (p. 21) permite verificar o aumento significativo no número de publicações desde o desenvolvimento da ionização por eletrospray e de outros métodos de ionização à pressão ambiente.

Figura 10. Número de publicações que envolvem a expressão “*mass spectrometry*”, obtido na base de dados SciFinder®, em março de 2017.

Deve ser ressaltado que este aumento expressivo no número de publicações na área de espectrometria de massas não está associado apenas à maior diversidade de compostos que podem ser ionizados por ESI, mas também à compatibilidade desta técnica de ionização com o fluxo e o volume de fase móvel proveniente de cromatógrafos líquidos, o que possibilitou o acoplamento entre cromatografia líquida e espectrometria de massas [85, 86]. Atualmente, a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com ionização por eletrospray (HPLC-ESI-MS) tem sido extensamente empregada em vários campos da química, biologia, medicina, química de alimentos, proteômica e metabolômica, síntese orgânica, química forense, química de produtos naturais, polímeros, combustíveis e análises clínicas, entre outras [85].

1.4.2 Espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray (ESI-MS/MS)

Dentre as várias aplicações da espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS), merece destaque a sua utilização para a identificação de compostos orgânicos de baixa massa molecular. Na última década, a técnica ESI-MS vem se tornando uma ferramenta de elucidação estrutural de uso rotineiro em laboratórios de química orgânica em geral [87]. Como ESI é considerado um método de ionização brando (do

inglês *soft ionization*) – ou seja, produz íons com baixo conteúdo de energia interna – a técnica é adequada para a determinação da massa molecular (equipamentos com analisadores de baixo poder de resolução) e da fórmula molecular (analisadores de alto poder de resolução). Entretanto, a obtenção de informações estruturais é dificultada pela pouca ou nenhuma fragmentação observada nos espectros de massas obtidos por ESI [88].

Em casos em que informações estruturais são também necessárias, utiliza-se a espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray (ESI-MS/MS, do inglês *electrospray ionization tandem mass spectrometry*). Esta técnica consiste na seleção, em um primeiro estágio de MS, de um íon de razão m/z específica (chamado de “íon precursor”) gerado na fonte ESI. Este íon é então ativado para fragmentação e os íons fragmentos formados são analisados em um segundo estágio de MS. Em analisadores híbridos – por exemplo, triplo quadrupolo (QqQ) ou quadrupolo-tempo de voo (Q-TOF) – os dois estágios de MS ocorrem em analisadores distintos (*MS in space*), enquanto que em analisadores do tipo “armadilha de íons” (IT, do inglês *ion trap*) este processo ocorre em um mesmo analisador (*MS in time*) [78]. Neste último, é também possível estender a análise a outros estágios de MS. Por exemplo, um íon produto formado no segundo estágio de MS pode ser selecionado como íon precursor e ativado para fragmentação (MS^3). O processo descrito pode ser realizado consecutivas (n) vezes e é conhecido como espectrometria de massas de estágios múltiplos (*multiple-stage mass spectrometry*, ou MS^n).

O método de ativação de íons mais comum em espectrômetros de massas comerciais é dissociação induzida por colisão (CID, do inglês *collision-induced dissociation*) [78]. Este método consiste na aceleração do íon precursor devido à interação com campos elétricos e magnéticos para que o mesmo colida-se com moléculas de um gás inerte (geralmente Ar ou N_2) [89]. A energia cinética deste íon precursor é então convertida em energia interna, fazendo com que os mesmos sejam convertidos em íons fragmentos (também chamados de “íons produtos”) por meio da eliminação de partes de sua estrutura na forma de moléculas ou radicais. Essas reações de fragmentações são unimoleculares e ocorrem quando a energia interna do íon precursor no estágio pós-colisional supre a energia crítica para a formação de um íon fragmento específico [90].

No caso de compostos que ocorrem em misturas (por exemplo, metabólitos especiais em extratos oriundos de plantas ou de microrganismos), é possível realizar a identificação de cada um desses compostos utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray (HPLC-ESI-MS/MS), sem a necessidade de serem isolados [87]. O potencial desta técnica para a desreplificação de produtos naturais já foi discutido na literatura em trabalho de

revisão publicado por nosso grupo de pesquisa [81]. De modo geral, esta identificação requer que os dados obtidos por ESI-MS/MS, como o perfil do espectro de UV/vis e o tempo de retenção de um determinado pico sejam comparados com os respectivos dados de padrões autênticos [64]. A disponibilidade de padrões ainda é, na maioria dos casos, indispensável, uma vez que não existe até o momento uma biblioteca espectral comercial de compostos ionizados por eletrospray baseada em dados de MS/MS e MSⁿ [91, 92]. Entretanto, dados da literatura indicam que, em alguns casos, a identificação de um metabólito pode ser realizada com base nos dados de MS/MS mesmo na ausência de um padrão autêntico ou de uma biblioteca comercial. Nesses casos, o conhecimento prévio sobre as rotas de fragmentação pode ser mais importante que o próprio padrão [93]. Entretanto, em revisão recente, Demarque e colaboradores ressaltaram que a falta de estudos sistemáticos sobre as reações de fragmentação não apenas comprometem a elaboração de bibliotecas espectrais como também podem levar a interpretações errôneas sobre a estrutura do íon precursor [94].

Em princípio, várias reações de fragmentação competitivas e consecutivas podem ocorrer a partir de um íon precursor. As reações que possuem maior constante de velocidade (k) levarão à formação de um número maior de íons produtos. Os íons produtos formados podem fragmentar-se novamente e formar íons produtos com m/z menor [95, 96]. A intensidade de cada íon no espectro de íons produtos está associada ao número de íons com determinada razão m/z que chegam até o detector. De maneira geral, há uma tendência de que íons termodinamicamente mais estáveis sejam detectados como íons mais intensos no espectro de íons produtos, uma vez que a energia crítica para que os mesmos se fragmentem novamente tende a ser maior [97]. Além disso, íons produtos de reações de fragmentação consideradas espontâneas ($\Delta G_{298} < 0$) geralmente são intensos nos espectros de íons produtos [98], assim como íons que possuam o orbital vazio com a carga deslocalizada, tais como íons alílicos, benzílicos, tropílicos, ou mesmo carbocátions estabilizados por ressonância com pares de elétrons não ligantes de heteroátomos adjacentes [98].

A estabilidade intrínseca de íons precursores e íons produtos, tal como descrita no parágrafo anterior, é baseada em conceitos de química em fase gasosa, já que em condições de vácuo o solvente não exerce efeito sobre a estabilidade destes íons. Neste sentido, algumas conclusões equivocadas podem ser eventualmente elaboradas, visto que é difícil prever a estabilidade das estruturas simplesmente observando sua estrutura molecular [99]. Portanto, a utilização de química computacional para a identificação de energias relativas pode auxiliar na determinação das vias de fragmentação mais favorecidas,

evidenciando, assim, quais são os íons produtos mais abundantes na população de íons formados [100, 101].

Uma das primeiras etapas de estudos sobre as vias de fragmentação de um composto ou classe é a determinação do sítio de protonação/desprotonação. Para isto, grandezas como a afinidade protônica (PA), basicidade em fase gasosa (GB) e acidez em fase gasosa (GA) são estimadas. Por definição, GB é o valor negativo da variação da energia de Gibbs (ΔG) para uma reação de protonação do tipo $M + H^+ \rightarrow MH^+$ em fase gasosa enquanto a PA é o valor negativo da variação negativa da entalpia. Por outro lado, GA é definida como o valor negativo da variação da energia de Gibbs para uma reação de desprotonação ($M \rightarrow M^- + H^+$) em fase gasosa [102, 103]. Estes dados, além de até certo ponto fornecerem subsídios para o esclarecimento de dúvidas sobre as vias de fragmentação, são também bastante úteis para a identificação de reações em que ocorra transferência protônica em processos biológicos e na formação de intermediários reacionais [104, 105].

Existem outros indicativos da basicidade/acidez em fase gasosa, como, por exemplo, a distribuição da população de Mulliken, que descreve a reorganização das cargas em um sistema molecular quando este reage com um íon ou se ioniza, tal como ocorre em espécies protonadas/desprotonadas em fase gasosa. Esta análise é feita pela distribuição de cargas atômicas analisando as funções de onda em métodos *ab initio* e por Teoria Funcional de Densidade (DFT) [106-108]. Métodos como a análise populacional de Mulliken são geralmente empregados no estudo de moléculas polifuncionalizadas, para as quais o custo computacional é grande. Entretanto, devido à maior precisão das correlações envolvendo H e G para o estudo de reações de protonação/desprotonação, GB, GA ou PA tornam-se métodos mais funcionais em estudos de fragmentação [109].

Diversos estudos que envolvem sistematização de vias de fragmentação empregando ESI-MS/MS em combinação com cálculos computacionais vêm sendo reportados na literatura corrente. Em estudo recente, nosso grupo de pesquisa investigou as reações de fragmentação de dois epoxieudesmanolidos isolados de espécies de *Dimerostemma* com mesmo núcleo estrutural, diferenciando-se somente quanto à cadeia lateral e pela posição do anel epóxido. Para a elucidação das vias de fragmentação, dados de experimentos de *quasi*-MS³ foram utilizados e as afinidades protônicas foram estimadas utilizando química computacional, em nível de teoria mPW1PW91/6-31+G(d). Alguns íons diagnósticos foram associados à participação do par de elétrons livres do epóxido por um mecanismo tipo Grob-Wharton, resultando em vias de fragmentação distintas para os dois compostos [110]. Mais recentemente, nosso grupo estudou a fragmentação da cocaína

empregando uma combinação de dados de ESI-MS/MS, MSⁿ, experimentos com troca por deutério e dados termoquímicos em nível de teoria B3LYP/6-31+G(d,p) para estabelecer as vias de fragmentação. Os dados obtidos por química computacional indicaram que alguns íons fragmentos propostos na literatura não estavam em concordância com as estruturas que foram obtidas após as otimizações de geometria. Foram também reportadas, pela primeira vez na literatura, as estruturas dos íons produtos m/z 91 e m/z 122. Além disso, foi também reportado que os íons m/z 82 e m/z 182, que são os mais intensos nos espectros de íon produto da cocaína, requerem menor energia crítica para a sua formação [111].

1.5 Aplicações da ESI-MS e ESI-MS/MS no estudo de 2-aroilbenzofuranos e neolignan diidrobenezofurânicas

Apesar do interesse pelo potencial biológico de 2-aroilbenzofuranos e de neolignan diidrobenezofurânicas, existem na literatura poucos trabalhos sobre a fragmentação destes compostos. Em revisão bibliográfica realizada no banco de dados do Web of Science® e Scifinder®, foi encontrado apenas um trabalho sobre a fragmentação de benzofuranos empregando EI-MS (70 eV). Givens e colaboradores reportaram que os íons fragmentos gerais (isto é, formado para todos os compostos da série analisada) são formados por duas vias de fragmentação competitivas: a eliminação de CO a partir do anel furânico (via **I**, **esquema 10**), com posterior perda radicalar de H• ou R• e consequente formação de um cátion benzilciclopropeno; e perda radicalar do substituinte do anel aromático diretamente do íon molecular, seguida por perda de CO, levando ao mesmo íon benzilciclopropeno para todos os derivados [112]. Os autores também relataram que os íons fragmentos diagnósticos (isto é, que são formados apenas para alguns compostos devido à presença de um substituinte ou grupo funcional específico ou em posição específica) são resultantes das perdas de CH₃• a partir do íon molecular de **XXXVI** e perda de NO a partir do íon molecular de **XXXV**, com formação de tropílio e de cátion ciclopropenila. Para os benzofuranos que possuíam halogênios ligados ao anel aromático (compostos **XXXII-XXXIV**), perdas de haletos radicalares também foram descritas. Nenhum trabalho sobre a fragmentação de 2-aroilbenzofuranos protonados empregando ESI-CID-MS/MS foi encontrado.

Esquema 10. Íons fragmentos gerais reportados por Givens e colaboradores para compostos benzofurânicos [112].

No caso de neolignanas diidrobenezofurânicas, Morreel e colaboradores reportaram a fragmentação do álcool diidrodehidrodiconiferílico desprotonado (**XXXVII**), além de outros compostos relacionados, empregando ESI-MS/MS [113]. Os autores destacaram que para o composto **XXVII** desprotonado, a perda de H₂O diretamente do íon precursor, seguida pela eliminação de C₈H₈O₂, compete com as perdas de C₈H₈O₂ ou CH₂O diretamente da molécula desprotonada, seguidas por perdas de H₂O ou C₈H₈O₂ (**Esquema 11**). Apesar de algumas propostas de fragmentação terem sido elaboradas, não foi realizado naquele trabalho nenhuma investigação sistemática sobre as vias de fragmentação dessa neolignana diidrobenezofurânica.

Esquema 11. Íons produtos do álcool diidrodehidrodiconiferílico reportados por Morreel e colaboradores [113].

2. Objetivos

Este trabalho foi desenvolvido tendo como objetivo sintetizar compostos de interesse biológico, de classes de compostos que possuam o núcleo benzofurânico, e estudar suas reações de fragmentação em fase gasosa empregando ESI-MS/MS. Sendo assim, especificamente este trabalho foi delineado e teve como objetivos específicos:

1. Sintetizar uma série de compostos 2-aroilbenzofurânicos e neolignanas diidrobenezofurânicos e benzofurânicos;
2. Identificar, com base em dados espectroscópicos, os 2-aroilbenzofuranos e as neolignanas diidrobenezofurânicos sintetizadas;
3. Investigar a fragmentação dos 2-aroilbenzofuranos protonados e de neolignanas diidrobenezofurânicos e benzofurânicos protonados e desprotonados utilizando espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray (ESI-MS/MS).

3. Materiais e Métodos

3.1 Síntese dos compostos benzofurânicos

3.1.1 Síntese dos 2-aroilbenzofuranos 1-5

Os derivados de 2-aroilbenzofuranos **1-5** foram obtidos a partir de reações de condensação da 2-bromoacetofenona com diferentes *o*-hidroxialdeídos ou *o*-hidroxicetonas, de acordo com procedimento descrito na literatura por Yang e colaboradores (**Esquema 12**) [24]. Neste procedimento, em um balão de 100 mL de duas saídas conectado a um condensador de refluxo, sob atmosfera inerte, o composto 2-bromoacetofenona (1,0 g, 5,5 mmol) e K₂CO₃ (xx g, xx mmol) foram dissolvidos em dimetilformamida (DMF, 10 mL) e mantidos sob agitação por 10 min. Os *o*-hidroxialdeídos **II** (1,0 g, 6,6 mmol) e **IV** (1,0 g, 8,1 mmol) e as *o*-hidroxicetonas **I** (1,0 g, 4,7 mmol), **III** (1,0 g, 5,0 mmol) e **V** (1,13 g, 8,3 mmol) foram adicionados à mistura e mantidos sob agitação e refluxo (120°C) por 1 h. Após resfriamento e adição de 100 mL de água destilada, a mistura foi agitada por 5 min. Os produtos sólidos foram coletados após filtração em funil de Buchner e secagem em vácuo. Foram assim obtidos os 2-aroilbenzofuranos **1** (66,4 %), **2** (54,7 %), **3** (70,0 %), **4** (51,7 %), e **5** (58,7 %). As estruturas de todos os compostos foram elucidadas por RMN de ¹H, ¹³C e por IV (ver seção Resultados e discussão, item 4.1.1).

Esquema 12. Síntese dos compostos 2-aroilbenzofuranos **1-5**.

3.1.2 Síntese das neolignanas diidrobzofurânicas 6-13*

Para a síntese das neolignanas diidrobzofurânicas **6-8** via acoplamento oxidativo, foram inicialmente preparados os ésteres metílicos dos ácidos cumárico (**a**), ferúlico (**b**) e cafeico (**c**) por meio da esterificação com metanol empregando-se ácido sulfúrico

* Neste trabalho, foram sintetizadas seis neolignanas diidrobzofurânicas (**6-10** e **12**) e duas neolignanas benzofurânicas (**11** e **13**). No entanto, para fins de fluência do texto, o termo “neolignanas diidrobzofurânicas” será usado indistintamente para referir-se aos compostos **6-13**.

concentrado como catalisador (**Esquema 13**). As reações foram conduzidas sob agitação e refluxo (80 °C) constantes pelo tempo indicado no protocolo experimental (**Tabela 1**).

Esquema 13. Preparação dos ésteres **a**, **b** e **c**.

Tabela 1: Protocolo experimental utilizado para a obtenção dos compostos **a–c**.

Condições Reacionais	Composto a	Composto b	Composto c
Material de partida	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	Ácido cafeico
	(3,0 g)	(3,0 g)	(3,0 g)
Metanol	60 mL	180 mL	180 mL
Ácido sulfúrico	1,0 mL	3,0 mL	3,0 mL
Tempo de reação	6-8 h	4 h	4 h

O acompanhamento das reações foi realizado através de CCDC, utilizando-se como eluente uma solução de AcOEt:Hex 2:1 (v/v). Após o término das reações, as misturas foram transferidas para balões de fundo redondo, que foram acoplados a um rotaevaporador para que o solvente da reação (metanol) fosse removido. Em seguida, as paredes internas dos balões foram lavadas com acetato de etila e os seus conteúdos foram transferidos para funis de separação. Foram então adicionados 30 mL de água deionizada a cada uma das misturas, que foram, em seguida, lavadas com uma solução saturada de NaHCO₃ (2 x 30 mL). As frações orgânicas foram secas com MgSO₄ e filtradas. Na sequência, o solvente foi removido por evaporação à pressão reduzida em rotaevaporador, fornecendo os compostos **a**, **b** e **c**, na forma de sólido amarelado, óleo avermelhado e óleo marrom, respectivamente. No caso do produto **c**, este ainda foi fracionado por cromatografia em coluna clássica (CCC), que consistiu em tubo de vidro (3,5 x 45 cm) recheado com sílica gel flash (tamanho de poro de 60 Å, 230-400 mesh), na proporção de

53 g de sílica/g de amostra, empregando eluição isocrática com Hex:AcOEt, na proporção de 1:3 (v/v). Os produtos foram obtidos com rendimentos de 94, 95 e 75 %, respectivamente.

As neolignanas diidrobenzofurânicas **6**, **7** e **8** foram sintetizadas por acoplamento oxidativo dos compostos **a**, **b** e **c**, respectivamente, conforme procedimento reportado por Lemière e colaboradores, com algumas modificações, conforme representado no **esquema 14** (p. 31) [52]. Os ésteres metílicos **a** (3,08 g, 17,3 mmol), **b** (3,36 g, 16,1 mmol) e **c** (3,0 g, 15,5 mmol) foram adicionados, individualmente, a balões reacionais de 100 mL protegidos com papel alumínio, e solubilizados sob agitação magnética em 40 mL de acetonitrila previamente purificada. Em seguida, adicionou-se óxido de prata (2,03 g, 8,7 mmol). As misturas reacionais foram mantidas em atmosfera de nitrogênio por 3 h, à temperatura ambiente. O andamento das reações foi monitorado por CCDC utilizando Hex:AcOEt 2:1 (v/v) como fase móvel. Após esse período, os meios reacionais foram submetidos à filtração em sílica, a fim de remover o óxido de prata, e lavados com acetonitrila. Após a evaporação do solvente à pressão reduzida, verificou-se a formação de sólidos impuros, conforme evidenciado pelas análises por CCDC. Os sólidos obtidos das reações dos ésteres **a** e **b** foram submetidos a fracionamento por CCC utilizando tubo de vidro de dimensões 2,2 cm x 100 cm, contendo sílica gel na proporção de 60 g/g de amostra, e eluição isocrática com Hex:AcOEt 5:3 (v/v). No caso dos sólidos obtidos a partir do éster **c**, o meio reacional foi submetido à separação por CCC em tubo de vidro (3,5 x 45 cm) contendo sílica gel flash (tamanho de poro de 60 Å, 230-400 mesh), na proporção de 53 g de sílica/g de amostra, empregando eluição com hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade, nas proporções 2:1 (0,75 L), 1:1 (0,75 L) e 1:2 (0,75 L). As amostras foram coletadas em tubos de ensaio de 50 mL. As frações coletadas foram agrupadas de acordo com seus perfis cromatográficos e concentradas em evaporador rotativo à pressão reduzida. Os compostos **6-8** foram isolados empregando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em cromatógrafo Shimadzu LC-6AD equipado com detector de ultravioleta, operando em 254 e 350 nm. Foram empregadas colunas Phenomenex Luna 5µ C18(2) 100 Å de dimensões 250 x 4,6 mm (analítica) e 250 x 21,2 mm (preparativa) e eluição por gradiente de MeOH:H₂O de 65:35 (v/v) a 95:5 (v/v) em 35 min. O fluxo empregado nas análises por HPLC analítica e preparativa foi de 0,8 mL/min e 17 mL/min, respectivamente. Foram assim obtidos 0,890 g da neolignana **6** (óleo amarelado, rendimento de 29%); 1,320 g da neolignana **7** (sólido amarelo, rendimento de 40%); e 0,3150 g do produto **8** (óleo alaranjado, rendimento de 11%).

Esquema 14. Síntese das neolignanas diidrobenzofurânicas. (I) Ag₂O, CH₃CN, t.a., (II) Ac₂O, piridina, t.a.; (III) DDQ, dioxano, 105 °C; (IV) H₂, 60 psi, Pd/C (5%), t.a..

A preparação das acetóxi-neolignanas **9** e **10** foi feita seguindo a metodologia de Kuo e colaboradores, com modificações (**esquema 14**) [114]. Neste procedimento, as neolignanas **6** (0,400g, 1,13 mmol) e **7** (0,525g, 1,27 mmol) foram completamente dissolvidas em 6,7 mL (85 mmol) e 7,5 mL (95 mmol) de piridina, respectivamente, e transferidas para um balão de reação de 25 mL. Após a dissolução dos compostos **6** e **7**, foram adicionados, respectivamente, 6,7 mL (65 mmol) e 8 mL (78 mmol) de anidrido acético. As misturas foram mantidas sob agitação magnética, à temperatura ambiente, em atmosfera de nitrogênio, por um período de 48 h. As reações foram monitoradas por CCDC utilizando uma mistura de Hex:AcOEt 2:1 (v/v). Após o consumo total dos materiais de partida, a piridina foi removida dos meios reacionais através de sucessivas lavagens com tolueno (15 mL), para formação de uma mistura azeotrópica com a piridina, seguidas por evaporação à pressão reduzida. Em seguida, foram realizadas sucessivas

lavagens com 15 mL de diclorometano para a remoção do tolueno. Os resíduos foram evaporados até a completa remoção do solvente, obtendo-se assim 0,327 g (0,826 mmol) do composto **9** na forma um sólido amarelado, com rendimento de 82 %, e 0,558 g (1,22 mmol) do composto **10**, na forma de um óleo marrom, com rendimento de 96 %.

A preparação da neolignana **11** foi feita de acordo com o procedimento previamente descrito por Maeda e colaboradores, conforme representado no **esquema 14** (p. 31) [73]. Neste procedimento, a neolignana **6** (0,450 g, 1,4 mmol) foi adicionada a um balão de 100 mL de três saídas e dissolvida em 10 mL de dioxano. Após sua dissolução, foram adicionados 0,410 g (1,82 mmol) de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ). A mistura foi mantida sob agitação magnética, em refluxo e atmosfera de nitrogênio, por um período de 22 h. A reação foi monitorada por CCDC utilizando como eluente uma mistura de Hex:AcOEt 1:2 (v/v). Após o consumo total do material de partida, o DDQ foi removido por filtração em papel pregueado, que foi lavado com diclorometano (DCM). O filtrado foi então submetido à evaporação à pressão reduzida para remoção do solvente. O resíduo obtido foi purificado por CCC (tubo de vidro de dimensões 1,2 x 60 cm contendo sílica gel 60, 0,040-0,063 mm na proporção de 50 g/g de amostra), empregando-se como fase móvel uma mistura de Hex:AcOEt na proporção de 1:2 (v/v), sendo coletadas 40 amostras de 5 mL. As amostras dos tubos 7 a 30 foram reunidas conforme seus comportamentos em CCDC e seus conteúdos foram concentrados em rotaevaporador, obtendo-se assim a neolignana **11** na forma um sólido alaranjado, com rendimento de 74%.

As neolignanas **12** e **13** foram preparadas segundo metodologia previamente descrita por Pieters e colaboradores (**Esquema 14**, p.31) [73]. Neste procedimento, as neolignanas **6** e **11** (0,210 g, 0,59 mmol; 0,25 g, 0,71 mmol, respectivamente) foram completamente dissolvidas em 40 mL de acetona anidra. Após as dissoluções, foram adicionados 0,300 g de Pd/C (5%) em um reator de alta pressão, sob agitação magnética, e em atmosfera de H₂, sob uma pressão de 60 psi, à temperatura ambiente por 2 h. A mistura reacional foi filtrada à pressão reduzida em celite para a retirada do catalisador, e o solvente foi removido por evaporação à pressão reduzida. Obteve-se assim 0,201 g (0,56 mmol) do composto **12** (óleo incolor, rendimento de 95%) e 0,2363 g (0,668 mmol) do composto **13** (óleo amarelado, rendimento de 94%).

3.2 Elucidação estrutural

A identificação dos compostos benzofurânicos **1-13** foi feita a partir de dados de infravermelho (IV), espectrometria de massas com ionização por elétrons (EI-MS), espectrometria de massas com ionização por eletrospray e ressonância magnética nuclear (RMN) e comparação com dados da literatura.

Os espectros de absorção no IV foram obtidos em espectrofotômetro IR Spectrum Two (Perkin Elmer). As amostras foram maceradas com KBr e fundidas sob pressão até a formação de pastilhas.

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos compostos **1-13**, **a**, **b** e **c** foram registrados em espectrômetro Bruker DRX-400, operando em 400 MHz para ^1H e em 100 MHz para ^{13}C , respectivamente. Acetona- d_6 [$(\text{CD}_3)_2\text{O}$; 99,9% de átomos de D; Aldrich – EUA] contendo tetrametilsilano (TMS, 0,03% v/v) como padrão interno e clorofórmio deuterado [CDCl_3 , 99,9% de átomos de D, Aldrich – EUA] foram utilizados como solventes. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS) ou em relação ao pico residual do solvente (no caso do clorofórmio). A multiplicidade dos sinais foi deduzida conforme a quantidade de sinais obtidos nos espectros. A constante de acoplamento (J ; em Hz) foi calculada a partir da comparação dos picos do mesmo sinal e o número de hidrogênios foi deduzido a partir da integral relativa.

Os espectros de massas foram obtidos utilizando um equipamento Shimadzu QP2010Plus (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), equipado com injetor automático AOC-20i, com fonte de ionização por elétrons (EI-MS) e analisador quadrupolar. Foi empregada coluna cromatográfica capilar de sílica fundida, da marca Restek Rtx-5MS (30m x 0,25mm; composição: 5% de fenilpolisiloxano e 95% de metilpolisiloxano), operando em modo de ionização por elétrons a 70 eV. Hélio foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 1 mL/min. A temperatura do injetor utilizado foi de 250 °C, e o forno foi aquecido de 100 a 300 °C, a uma taxa de 10 °C/min. As amostras foram solubilizadas em acetato de etila (Tedia® – EUA) (concentração de 0,5 mg/mL) e analisadas no modo split na razão de 1:20.

3.3 Estudos de fragmentação por ESI-MS/MS

3.3.1 Compostos 2-aroilbenzofurânicos

As análises por espectrometria de massas sequencial com ionização por eletrospray (ESI-MS/MS) dos compostos 2-aroilbenzofurânicos **1-5** foram feitas em um espectrômetro de massas Acquity H-Class triplo quadrupolo (QqQ) Xevo TQS (Waters, Milford, MS, USA) equipado com uma fonte de ionização Z-spray, operando no modo positivo. As amostras foram dissolvidas em MeOH:H₂O (80:20 v/v) com 0,1% de ácido fórmico, até a concentração de 1,0 µg/mL. As amostras foram infundidas diretamente na fonte de ionização em um fluxo de 0,1 mL/min. No caso dos experimentos com troca por deutério, os compostos **1-5** foram dissolvidos em MeOH:D₂O (1:1 v/v). As voltagens do capilar e do cone foram otimizadas para 3,2 kV e 40 V, respectivamente. Foi utilizado N₂ como gás de dessolvatação, a uma temperatura de 250°C. A temperatura da fonte de ionização foi de 150°C. O volume de amostra injetado foi de 5 µL.

Para o estabelecimento das vias de fragmentação, dados de espectrometria de massas de múltiplos estágios (ESI-MSⁿ) foram obtidos em espectrômetro de massas AmaZon Speed (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) equipado com analisador do tipo *ion trap* e fonte de ESI, operando em modo positivo. N₂ foi utilizado tanto para nebulização (6 psi) como para a secagem (8 mL/min, 220 °C). A voltagem utilizada no capilar e no *endplate* foram de 3,5 kV e 500 V, respectivamente. A faixa de massas utilizada nos experimentos foi de *m/z* 50-350.

3.3.2 Neolignanas diidrobenezofurânicas

Para a obtenção dos espectros de massas de alta resolução empregando ionização por eletrospray (ESI-MS), as neolignanas **6-13** foram solubilizadas em MeOH:H₂O (9:1 v/v + 0,1% de ácido fórmico) e infundidas diretamente em um equipamento híbrido QTOF Bruker micrOTOF™-QII, em um fluxo de 300 µL/h. As análises foram feitas empregando uma voltagem capilar de 3,0 kV, temperatura de dessolvatação e de inserção da amostra de 180°C, *end plate* a 500 V e faixa de *m/z* 50-600. Foi utilizado N₂ como gás de colisão, a uma energia de colisão variando de 10 a 40 eV. As medidas das massas acuradas foram feitas empregando TFA+Na⁺ como padrão interno para calibração do equipamento.

As análises por espectrometria de massas sequencial (MSⁿ) foram feitas por infusão direta das mesmas soluções das amostras descritas anteriormente em equipamento

do tipo Ion Trap Bruker Amazon SL, a um fluxo de 5 $\mu\text{L}/\text{min}$. Para a realização dos experimentos com troca por deutério, as amostras das neolignanas **6-13** foram solubilizadas em $\text{MeOH}:\text{D}_2\text{O}$ (1:1 v/v). Foi utilizado N_2 como gás nebulizante (7 psi) e gás secante (8 mL/min , 200°C). A voltagem do capilar utilizada foi de 3,5 kV, e a voltagem no *end plate* foi de 500 V, com o analisador operando em uma faixa de m/z 50-900. Em ambos os equipamentos (Q-TOF e IT), as amostras dos compostos **6-13** foram analisadas com as fontes de ionização operando nos modos positivo e negativo.

3.4 Métodos computacionais empregados

Os confôrmeros mais estáveis dos 2-aroilbenzofuranos **1-5** e das neolignanas diidrobenezofurânicas **6-13** foram obtidos por análise conformacional e otimização de geometria empregando MM2. Esses confôrmeros foram novamente otimizados utilizando cálculos em DFT, e as geometrias otimizadas foram obtidas para cada íon em nível de teoria B3LYP/6-31+G(d) para os 2-aroilbenzofuranos no modo positivo, e B3LYP/6-31+G(d,p) e B3LYP/6-31G(d) para as neolignanas diidrobenezofurânicas, no modo negativo e positivo [115], respectivamente, utilizando o software Gaussian 03 [116]. Os pontos estacionários foram obtidos pelo cálculo das frequências vibracionais para o mesmo modelo.

Visando obter os sítios de protonação e desprotonação, foram estimados os valores de afinidade protônica (PA) dos 2-aroilbenzofuranos **1-5** e das neolignanas diidrobenezofurânicas **6-13**, conforme outros trabalhos da literatura [83]. Para as neolignanas diidrobenezofurânicas foram também estimados os valores de basicidade em fase gasosa (BG). Para isto, a entalpia do próton para a reação $\text{M} + \text{H}^+ \rightarrow \text{MH}^+$ foi considerada como sendo de 1,48 kcal/mol no modo positivo; para a reação de desprotonação, $\text{M} \rightarrow \text{M}^- + \text{H}^+$, o valor foi de 6,28 kcal/mol, no modo negativo [117, 118]. As vias de fragmentação dos 2-aroilbenzofuranos **1-5** e das neolignanas diidrobenezofurânicas **6-13** foram estabelecidas com base nas energias de Gibbs relativas e na entalpia a 298 K, sendo que o mesmo modelo computacional utilizado para a determinação de PA, GB ou GA foi utilizado para tal fim. Como neste trabalho foi assumido que a energia transferida para os íons precursores durante o processo de ativação colisional (CID) foi superior à energia mínima necessária para se promover a fragmentação dos compostos **1-13**, nenhum estado de transição foi estimado via Química Quântica Computacional. Além disto, as grandezas termoquímicas foram utilizadas com cautela, já que o equilíbrio não é atingido em experimentos de CID [119-121].

4. Resultados e Discussão

4.1 Elucidação estrutural

4.1.1 2-Aroilbenzofuranos

No espectro de massas do composto **1** (Anexo **A9**, p. 132), cuja massa molecular é 314 Da, foi possível observar um pico de m/z 314, que pôde ser atribuído ao do íon molecular do composto **1** ($[1]^+$). A presença do pico isotópico de m/z 316, que possui aproximadamente a mesma intensidade relativa que o íon de m/z 314, corroborou a presença de um átomo de Br na estrutura [97]. Além disto, foram também observados os íons fragmentos de m/z 313/315, que são resultantes da perda de $\bullet H$ diretamente do íon molecular (do íon principal e do íon isotópico, respectivamente). Por sua vez, o íon fragmento de m/z 234, que é o pico base do espectro de EI-MS, é produto da posterior perda de $\bullet Br$ ($[1-\bullet H-\bullet Br]^+$), que viola a regra do elétron par [122]. No espectro de absorção na região do IV, a banda de absorção intensa em 1644 cm^{-1} é indicativa da presença de uma cetona α,β -insaturada [123].

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **1** (Anexo **A7**, p. 131), cujos dados estão reunidos na **tabela 2** (p. 38) foi possível identificar a presença de 14 sinais, sendo um na região dos carbonos de hibridização sp^3 (δ_C 9,9, C16), doze na região dos carbonos de hibridização sp^2 (entre δ_C 116,4-153,8) e um na região dos carbonos carbonílicos (δ_C 185,7). No espectro de RMN de 1H (Anexo **A6**), a maioria dos sinais encontrou-se na região dos hidrogênios ligados a carbonos sp^2 (δ_H 7,43–8,06), sendo que apenas H16 (δ_H 2,61) foi observado na região dos hidrogênios ligados a carbonos com hibridização sp^3 . Merecem ser destacados os sinais em δ_H 8,06 e 7,54, que aparecem como dupletos² com intensidade para dois hidrogênios. Estes sinais foram atribuídos aos hidrogênios H11 e H12, que são magneticamente equivalentes a H15 e H14, respectivamente. A multiplicidade do sinal em δ_H 8,06 resultou do acoplamento *orto* de H11=H15 com H12=H14 ($^3J_{11,12=15,14}=7,5\text{ Hz}$). Por sua vez, o sinal em δ_H 7,54 foi atribuído a H13, que apresentou acoplamento *orto* com H12=H14 ($^3J_{13,12=13,14}=7,8\text{ Hz}$) e com H11=H15 ($^4J_{13,11=13,15}=7,8\text{ Hz}$). Estes dados, quando analisados em conjunto, estão coerentes com a fórmula molecular $C_{16}H_{11}BrO_2$ do composto **1**.

No caso dos hidrogênios do anel benzênico da porção benzofurânica, os sinais de H4, H5 e H7 foram observados em δ_H 7,43, 7,58 e 7,84, respectivamente. O sinal de H4 foi o mais protegido entre eles, possivelmente devido ao efeito mesomérico elétron-doador do

² Neste trabalho, o uso dos termos para representar a multiplicidade dos sinais nos espectros de RMN de 1H foi feito de acordo com as recomendações da AUREMN (Associação dos Usuários de Ressonância Magnética Nuclear), que pode ser encontrado no link: https://auremn.org/TERMOS_TRADUZIDOS.pdf

oxigênio do anel furânico, conforme representado no **esquema 15**. O sinal deste hidrogênio apareceu como um duplete devido ao acoplamento em *orto* com H5 ($^3J_{4,5}=8,7$ Hz). Estes dados, em conjunto, confirmaram que o composto **1** trata-se do 6-bromo-1-metil-2-benzofuranil-fenil-metanona.

Esquema 15. Estruturas de ressonância dos benzofuranos, demonstrando a blindagem de H4.

A análise do espectro de massas (EI-MS, 70 eV) do composto **3** (Anexo **A17**, p. 136) permitiu identificar o pico de m/z 270 como sendo o íon molecular. Com base no pico do íon isotópico de m/z 272, que apareceu com aproximadamente um terço da intensidade do pico de m/z 270, foi possível confirmar a presença de um átomo de cloro na estrutura, corroborando assim a compatibilidade com a fórmula molecular $C_{16}H_{11}ClO_2$. Os íons fragmentos de m/z 269/271 e m/z 234 podem ser atribuídos a $[3-\bullet H]^+$ e $[3-\bullet H-\bullet Cl]^+$, respectivamente, sendo similares aos que foram observados no espectro de massas do composto **1**. Além destes, foram também observados os íons fragmentos m/z 105 e m/z 77, que podem ser atribuídos aos íons acílio e fenílico típicos de compostos que apresentam carbonila ligada diretamente a anel benzênico [97]. A presença da carbonila cetônica conjugada com o anel benzênico pôde ser confirmada através da análise do espectro de IV (Anexo **A16**, p. 136), por meio da banda de absorção intensa em 1642 cm^{-1} . Comparando-se os dados de RMN de ^{13}C e de 1H dos compostos **1** e **3** (**Tabela 2**, p. 38), foi possível observar uma grande similaridade entre eles, tanto na multiplicidade como nos deslocamentos químicos. No espectro de RMN de ^{13}C foram observados 14 sinais na região dos carbonos sp^2 (δ_C entre 100-160), um carbono carbonílico (δ_C 185,4, C9) e um carbono na região dos carbonos sp^3 (δ_C 9,5, C16). Como relação ao espectro de RMN de 1H (Anexo **A14**, p. 135), todos os dados foram similares aos do 2-aroilbenzofurano **1**. Estes dados, em conjunto, confirmaram que o composto **3** trata-se do 6-cloro-1-metil-2-benzofuranil-fenil-metanona.

Tabela 2. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) dos compostos **1-5**, em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm, e os J estão expressos em Hz.

	¹³ C	¹ H (δ, J, Hz)	¹³ C	¹ H (δ, J, Hz)	¹³ C	¹ H (δ, J, Hz)	¹³ C	¹ H (δ, J, Hz)	¹³ C	¹ H (δ, J, Hz)
1	125,8	---	129,0	7,55 (1H, sl)	128,1	---	131,1	7,49-7,55 (1 H, m)	129,0	---
2	149,1	---	148,2	---	149,0	---	152,2	---	148,2	---
3	153,8	---	154,1	---	152,2	---	156,0	---	154,1	---
4	113,7	7,43 (1 H, d, J = 8,7)	112,4	7,22 (1H, sl)	113,0	7,62 (1H, d, J = 7,4)	112,5	7,33 (1H, m)	112,4	7,34 (1H, m)
5	124,0	7,58 (1 H, dl, J=8,7)	123,5	---	125,6	7,54 (1H, dl, J=7,4)	123,9	7,49-7,55 (1 H, m)	123,5	7,49-7,55 (1 H, m)
6	116,4	---	128,4	6,96 (1H, dl, J = 7,8)	128,6	---	127,0	7,49-7,55 (1 H, m)	128,4	7,49-7,55 (1 H, m)
7	128,3	7,84 (1 H, sl)	121,6	7,29 (1 H, d, J = 7,8)	120,5	7,68 (1H, sl)	123,2	7,49-7,55 (1 H, m)	121,6	7,62 (1H, m)
8	131,0	---	129,6	---	132,5	---	128,3	---	129,6	---
9	185,7	---	185,7	---	185,4	---	184,3	---	185,7	---
10	137,6	---	137,7	---	137,2	---	137,2	---	137,7	---
11=15	129,7	8,06 (2 H, d, J = 7,5)	136,3	8,07 (2 H, d, J = 7,3)	129,4	8,08 (2H, d, J = 7,6)	129,4	8,04 (2 H, d, J = 7,3)	136,3	8,10 (2H, d, J = 7,2)
12=14	131,1	7,54 (2 H, dd, J = 7,5; 7,8)	130,6	7,52 (2H, d, J=7,3)	128,8	7,47 (2H, dd, J = 7,6; 7,7)	128,5	7,64 (2 H, dd, J=7,8; 7,3)	130,6	7,55 (2H, dd, J = 7,8 7,2)
13	132,8	7,63 (1 H, d, J = 7,8)	132,4	7,61 (1H, d, J=7,3)	130,2	7,54 (1H, d, J=7,7)	132,8	7,73 (1 H, d, J=7,8)	132,4	7,70 (1 H, d, J= 7,8)
16	9,9	2,61 (3 H, s)	10,2	3,83 (3H, s)	9,5	2,62 (3H, s)	---	---	10,2	2,66 (3H, s)

No espectro de massas (EI-MS 70 eV) do composto **4**, o íon de m/z 222 correspondeu ao pico do íon molecular de fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_2$ (Anexo **A21**, p. 138). A presença dos íons fragmentos de m/z 105 e m/z 77, bem como a perda de radical fenil (77 Da) estão coerentes com a presença da carbonila ligada ao anel aromático, que pôde ser confirmada a partir da banda de absorção intensa em 1642 cm^{-1} no espectro de absorção no IV (Anexo **A20**, p. 138), característica de cetonas α,β -insaturadas, que também aparece no espectro de IV do composto **5** (Anexo **A24**, p. 140). Os íons fragmentos de m/z 105 e m/z 77 também foram observados no espectro de massas (EI-MS) do composto **5**, cujo íon molecular foi atribuído ao íon de m/z 235 (Anexo **A25**, p. 140).

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **4** (Anexo **A19**, p. 137) foram observados 13 sinais, dentre os quais 12 apareceram na região de carbonos olefínicos ou aromáticos (δ_H 112,5–156,0) e um na região dos carbonos carbonílicos (δ_H 184,3). Por outro lado, no correspondente espectro do composto **5** (Anexo **A23**, p. 139) foram observados 14 sinais, sendo 12 deles na região das olefinas ou anéis aromáticos (δ_H 112,4–154,1), um na região das carbonilas (δ_C 185,7) e um na região dos carbonos sp^3 (δ_C 10,2, C16). Com relação aos espectros de RMN de 1H dos compostos **4** e **5** (Anexos **A18**, p. 137 e **A22**, p. 139), os sinais de H4, H5, H6 e H7 apresentam multiplicidade complexa, sendo que H5 e H6 foram considerados como multipletos em δ_H 7,49–7,55 (**Tabela 2**, p. 38). Em seu estudo de síntese e caracterização do composto **4**, Kumaraswamy e colaboradores descreveram a presença de apenas 10 átomos de hidrogênios aromáticos na estrutura [124]. Contudo, os autores não atribuíram o hidrogênio a que cada sinal pertence. No espectro de RMN de 1H do composto **4**, a presença de um sinal adicional no multipeto entre δ_H 7,49–7,55, mesmo que não claramente atribuído, pôde ser associado à ausência de um grupo metil como substituinte em C1. Além disto, como demonstrado acima no **esquema 15** (p. 37), a blindagem recorrente do efeito mesomérico do oxigênio do anel furânico e as correlações nos espectros permitiram atribuir o sinal em δ_H 7,30 a H4. Consequentemente, os sinais mais desblindados nos espectros de RMN de 1H (δ_H entre 7,73–8,04) dos compostos **4** e **5** correspondem aos hidrogênios do anel aromático. Estes dados, em conjunto, confirmaram que o composto **4** trata-se do 2-benzofuranil-fenil-metanona, e o composto **5** trata-se do 1-metil-2-benzofuranil-fenil-metanona.

Finalmente, no espectro de massas (EI-MS) do composto **2** (Anexo **A13**, p.134), o pico do íon molecular $[M]^{+}$ foi atribuído ao pico de m/z 252, que está consistente com um composto de fórmula molecular $C_{16}H_{12}O_3$. Também foram observados os íons fragmentos de m/z 105, m/z 77 e m/z 175 ($[2-C_6H_5\bullet]^+$), sendo que os dois primeiros já

foram discutidos para os demais 2-aroilbenzofuranos. Nos espectros de IV, a banda de absorção intensa, indicativa da carbonila de cetona α,β -insaturada, foi observada em 1649 cm^{-1} . Nos espectros de RMN de ^{13}C e de ^1H (Anexos **A11** e **A10**, p. 133), cujos dados encontram-se reunidos **tabela 2** (p. 38), merece ser destacada a presença dos sinais de C16 em δ_{C} 10,2 e de H16 em δ_{H} 3,83 (s,3H), sendo que este último encontra-se desblindado devido ao efeito indutivo do oxigênio. Por sua vez, o sinal em δ_{H} 7,22 (sl, 1 H) foi atribuído a H4. Este sinal, apesar de alargado, não demonstrou desdobramento, já que provavelmente a constante de acoplamento *meta* deste hidrogênio com H6 deve ser menor que 1,0 Hz. Sendo assim, foi observado apenas um acoplamento entre H6 e H7 (δ_{H} 6,96 e 7,29, respectivamente, $J=7,8$ Hz), além do acoplamento entre H11=H15, H12=H14 e H13 (δ_{H} 8,07, 7,52, 7,61, respectivamente, $J=7,3$ Hz). Estes dados, em conjunto, confirmaram que o composto **2** tratava-se do 5-metoxi-2-benzofuranil-fenil-metanona.

A seguir encontram-se listados os principais dados físicos e espectroscópicos dos 2-aroilbenzofuranos **1-5**. Todos os espectros correspondentes encontram-se na seção de Anexos (p. 131-140).

Composto 1 (6-bromo-1-metil-2-benzofuranil-fenil-metanona). P.F. 102-104°C, sólido amarelo. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A8**, p. 132) de **1** ($\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{BrO}_2$): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3088 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$), 1644 (C=O), 1879 (C=C), 1271 (C-O), 714 (C-Br). EI-MS (70 eV, m/z intensidade relativa, %, **Anexo A9**, p. 132): 314/316 [$\text{M}^{\bullet+}$] (80); 313/315 [$\text{M}^+-\bullet\text{H}$] (80/85); 234 [$\text{M}^+-\bullet\text{H}-\bullet\text{Br}$] (100); 105 [$\text{M}^+-\bullet\text{C}_9\text{H}_6\text{BrO}$] (30); 77 [$\text{M}^+-\bullet\text{C}_9\text{H}_6\text{BrO-CO}$] (90).

Composto 2 (6-cloro-1-metil-2-benzofuranil-fenil-metanona). P.F. 67-69 °C, sólido amarelo escuro. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A12**, p. 134) de **2** ($\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_3$): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3014 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$), 1649 (C=O), 1524 (C=C), 1273 (C-O), 1200 (C-O). EI-MS (70 eV, m/z intensidade relativa, %, **Anexo A13**, p. 134): 252 [$\text{M}^{\bullet+}$] (100); 175 [$\text{M}^+-\bullet\text{C}_6\text{H}_5$] (30); 105 [$\text{M}^+-\bullet\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2$] (55); 77 [$\text{M}^+-\bullet\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2\text{-CO}$] (65).

Composto 3 (6-cloro-1-metil-2-benzofuranil-fenil-metanona). P.F. 105-107°C, pó amarelo claro. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A16**, p. 136) de **3** ($\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{ClO}_2$): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3088 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$), 1642 (C=O), 1561 (C=C), 1273 (C-O), 1170 (C-O). EI-MS (70 eV, m/z intensidade relativa, %, **Anexo A17**, p. 136): 270 [$\text{M}^{\bullet+}$] (90); 269 [$\text{M}^+-\bullet\text{H}$] (100); 234 [$\text{M}^+-\bullet\text{H}-\bullet\text{Cl}$] (100); 105 [$\text{M}^+-\bullet\text{C}_9\text{H}_6\text{ClO}$] (30); 77 [$\text{M}^+-\bullet\text{C}_9\text{H}_6\text{ClO-CO}$] (80).

Composto 4 (2-benzofuranil-fenil-metanona). P.F. 90-92°C, sólido amarelo escuro. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A20**, p. 138) de **4** ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_2$): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3144 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$), 3057 (C-H), 1642 (C=O), 1546 (C=C), 1297 (C-O), 1188 (C-O). EI-MS (70 eV,

m/z , intensidade relativa, %, **Anexo A21**, p. 138): 222 [$M^{\bullet+}$] (100); 145 [$M^{\bullet+} - \bullet C_6H_5$] (40); 105 [$M^{\bullet+} - \bullet C_8H_5O$] (70); 77 [$M^{\bullet+} - \bullet C_8H_5O - CO$] (60).

Composto 5 (*1-metil-2-benzofuranil-fenil-metanona*). P.F. 80-82°C, sólido laranja. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A24**, p. 140) de **2** ($C_{16}H_{12}O_2$): ν_{max}/cm^{-1} : 3062 ($C_{sp^2}-H$), 1642 ($C=O$), 1563 ($C=C$), 1291 ($C-O$), 1264 ($C-O$). EI-MS (70 eV, m/z , intensidade relativa, %, **Anexo A25**, p. 140) 236 [$M^{\bullet+}$] (100); 235 [$M^{\bullet+} - \bullet H$] (80); 105 [$M^{\bullet+} - \bullet C_9H_7O$] (10); 77 [$M^{\bullet+} - \bullet C_9H_7O_2 - CO$] (60).

4.1.2 Neolignanas diidrobzofurânicas

4.1.2.1 Elucidção estrutural dos ésteres metílicos

Os ésteres **a-c** foram elucidados com base nos espectros de EI-MS e com base nos espectros de ressonância magnética nuclear de 1H . No espectro de massas (EI-MS) do composto **a** (**Anexo A4**, p. 130), obtido por esterificação do ácido cumárico em metanol catalisada por ácido sulfúrico, o íon de m/z 178 é compatível com a fórmula molecular do cumaroato de metila ($C_{10}H_{10}O_3$). A partir do pico do íon fragmento de m/z 147 ($M^{\bullet+} - 31$), formado pela perda de um radical metoxila ($CH_3O\bullet$) é possível confirmar a ocorrência da reação de esterificação desejada. A proposta para a formação dos íons fragmentos com m/z 147, 119 e 91 encontra-se no **esquema 16**.

Esquema 16. Proposta para a formação dos íons fragmentos observados no espectro de massas do composto **a** (EI-MS, 70 eV) e suas respectivas intensidades relativas

Da mesma forma, o espectro de massas do composto **b** (**Anexo A5**, p. 130) apresenta o pico do íon molecular de m/z 208, que é compatível com a fórmula molecular do feruloato de metila ($C_{11}H_{12}O_4$). A partir do pico do íon fragmento com m/z 177 ($M^{\bullet+} -$

31), formado pela perda de um radical metoxila ($\text{CH}_3\text{O}^\bullet$) foi possível confirmar a ocorrência da reação de esterificação desejada. A proposta para a formação dos íons fragmentos com m/z 177, 145 e 117 encontra-se no **esquema 17**.

Esquema 17. Proposta para a formação dos íons fragmentos observados no espectro de massas do composto **b** (EI-MS, 70 eV) e suas respectivas intensidades relativas.

No caso do cafeato de metila (**c**), não foi possível obter seu espectro de EI-MS, possivelmente devido à sua maior polaridade em relação aos compostos **a** e **b**, o que aumenta sua temperatura de ebulição e, assim, dificulta sua análise por EI-MS. Desta forma, a identificação deste composto foi feita por comparação de seus dados de RMN de ^1H com os da literatura [61, 63, 73].

Figura 11. Estrutura química dos compostos **a**, **b** e **c**.

A seguir encontram-se os dados de EI-MS (compostos **a** e **b**) e de RMN de ^1H dos compostos **a**, **b** e **c**.

Composto a (*cumaroato de metila*). P.F. 132-134°C, sólido branco. RMN de ^1H (δ , 400 MHz, CDCl_3 , **Anexo A1**, p. 129): 7,65 (d, $^3J=16,1$ Hz, 1H, H-1'); 7,45 (d, $^3J=8,6$ Hz, 2H, H-2 e H-6); 6,85 (d, $^3J=8,6$ Hz, 2H, H-3 e H-5); 6,31 (d, $^3J=16,1$ Hz, 1H, H-2'); 5,03

(sl, 1H, OH); 3,80 (s, 3H, H-4'). EI-MS (70 eV, m/z intensidade relativa, %, **Anexo A4**, p. 130): 178 $[M^{\bullet+}]$ (100), 147 $[M^{\bullet+}-OCH_3]$ (90), 119 $[M^{\bullet+}-OCH_3-CO]$ (90), 91 $[M^{\bullet+}-OCH_3-CO-CO]$ (25).

Composto b (*feruloato de metila*). P.F. 138-140°C, sólido amarelo escuro. RMN de 1H (δ , 400 MHz, $CDCl_3$, **Anexo A2**, p. 129): δ 7,63 (d, $^3J=16,0$ Hz, 1H, H-1'); 7,08 (dd, $^4J=1,9$ Hz; $^3J=8,1$ Hz, 1H, H-2); 7,04 (d, $^4J=1,9$ Hz, 1H, H-6); 6,93 (d, $^3J=8,1$ Hz, 1H, H-3); 6,30 (d, $^3J=16,0$ Hz, 1H, H-2'); 5,89 (sl, 1H, OH); 3,93 (s, 3H, H-7); 3,80 (s, 3H, H-4'). EI-MS (70 eV, m/z intensidade relativa, %, **Anexo A5**, p. 130): 208 $[M^{\bullet+}]$ (100), 177 $[M^{\bullet+}-OCH_3]$ (60), 145 $[M^{\bullet+}-OCH_3-CH_3OH]$ (40), 117 $[M^{\bullet+}-OCH_3-CH_3OH-CO]$ (22).

Composto c (*cafeato de metila*). P.F. 154-156°C, sólido marrom. RMN de 1H (δ , 400 MHz, Acetone- d_6 , **Anexo A3**, p. 130): δ 7,55 (d, $^3J=16,0$ Hz, 1H, H-1'); 7,17 (d, $^4J=2,1$ Hz, 1H, H-6); 7,07 (dd, $^4J=2,1$ Hz; $^3J=8,2$ Hz, 1H, H-2); 6,87 (d, $^3J=8,2$ Hz, 1H, H-3); 6,30 (d, $^3J=16,0$ Hz, 1H, H-2'); 3,72 (s, 3H, H-7).

4.1.2 Elucidação estrutural das neolignanas diidrobzofurânicas

A elucidação estrutural da neolignana **6** foi feita com base nos dados de RMN de 1H e de ^{13}C e por espectrometria de massas, assim como na comparação destes dados com os da literatura [59, 73]. No espectro de massas do composto **6** (**Anexo A29**, p. 142) o pico do íon molecular $[M]^+$, com m/z 354, é compatível com a fórmula $C_{20}H_{18}O_6$ da estrutura esperada. Por sua vez, os íons fragmentos de m/z 322 e m/z 290, que são respectivamente formados pela eliminação de uma e duas moléculas de metanol a partir do íon molecular, sugerem a presença de dois grupos metoxila ($-OCH_3$) na estrutura.

Os dados de RMN de 1H e de ^{13}C da neolignana diidrobzofurânica **6** encontram-se reunidos na **tabela 3** (p. 46), juntamente com os dados reportados recentemente por Medeiros e colaboradores [59]. A comparação entre estes dados revelou que os deslocamentos químicos, tanto de 1H como de ^{13}C , são bastante similares. No entanto, no caso dos dados de RMN de 1H , foi possível observar algumas diferenças nas multiplicidades dos sinais. Estas diferenças se devem ao fato de que os autores utilizaram técnicas de RMN bidimensionais, tais como $gCOSY$ e J-RES, para determinar até mesmo as constantes de acoplamento menores que 1,0 Hz. Como neste trabalho o objetivo desta elucidação é apenas confirmar as estruturas dos compostos sintetizados e não realizar um

estudo detalhado de seus dados de RMN de ^1H e de ^{13}C , eventuais diferenças entre as multiplicidades dos sinais dos espectros de RMN de ^1H não serão discutidas.

No espectro de RMN de ^{13}C (**Anexo A27**, p. 141) foi possível observar a presença de vinte carbonos, sendo quatro deles na região dos carbonos com hibridização sp^3 (δ_{C} 52,0, C10; δ_{C} 53,4, C10'; δ_{C} 56,0, C8; e δ_{C} 88,2, C7), quatorze sinais na região dos carbonos de hibridização sp^2 (aromáticos ou olefínicos, entre δ_{C} 100 e 160) e dois na região de carbonos carbonílicos (δ_{C} 168,2, C9' e δ_{C} 172,0, C9), corroborando com a estrutura esperada para a neolignana **6**. No espectro de RMN de ^1H (**Anexo A26**, p. 141), a maioria dos sinais encontra-se na região entre δ_{H} 6,0 e 7,7, que é característica de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos ou de anéis aromáticos, além dos sinais em δ_{H} 3,73 (3 H, s, H10'), 3,81 (3 H, s, H10) e 4,40 ppm (1H, d, H8), típicos de hidrogênios ligados a carbonos com hibridização sp^3 . Embora os hidrogênios H10 e H10' estejam ligados a carbonos que estão sob o efeito indutivo elétron-retirador de átomos de oxigênio, o sinal de H8 encontra-se mais desblindado que os de H10 e H10'. Este fato deve-se possivelmente à somatória dos efeitos hiperconjugativo (H8 encontra-se em posição benzílica) e indutivo (H8 está em α à carbonila). Por outro lado, H8 encontra-se mais blindado que H7 devido ao efeito indutivo elétron-retirador do átomo de oxigênio do anel benzofurânico sobre H7.

Merecem também ser mencionados os sinais em δ_{H} 7,65 (1H, d, $J=16,0$ Hz) e δ_{H} 6,41 (1H, d, $J=16,0$ Hz), que foram atribuídos aos hidrogênios H7' e H8' (**Tabela 3**, p. 46). A grande diferença entre os deslocamentos químicos destes dois hidrogênios pode ser atribuída ao efeito mesomérico elétron-retirador da carbonila, que torna eletrofílicos tanto o carbono como o hidrogênio da posição 7', conforme mostrado no **esquema 18**. O valor da constante de acoplamento entre H7' e H8' é característico da configuração *E* (*trans*) da ligação dupla entre C7' e C8'.

Esquema 18. Formas de ressonância de uma carbonila α,β -insaturada.

No que se refere aos hidrogênios ligados aos anéis aromáticos, merecem ser destacados os hidrogênios H2 e H3, que devido à simetria do anel benzênico *para*-substituído, são quimicamente e magneticamente equivalentes aos hidrogênios H6 e H5,

respectivamente. Os sinais referentes a esses hidrogênios aparecem como dois dupletos em δ_{H} 7,28 (H2=H6) e δ_{H} 6,87, ambos com intensidade para dois hidrogênios. O efeito mesomérico elétron-doador do oxigênio do grupo hidroxila aumenta a densidade eletrônica nas posições *orto* (3 e 5) e, assim, torna os hidrogênios dessas posições mais protegidos que H2 e H6, conforme representado no **esquema 19**.

Esquema 19. Formas de ressonância demonstrando o aumento da densidade eletrônica nas posições 3 e 5 devido ao efeito mesomérico da hidroxila.

Com relação à estereoquímica, Medeiros e colaboradores demonstraram que a configuração relativa de neolignanais diidrobenzofurânicos pode ser determinada a partir da constante do acoplamento entre H7 e H8. Segundo os autores, o valor de J é maior para isômeros *cis* (8,2-8,4 Hz) que para isômeros *trans* (6,5-7,3 Hz) [59]. Com base no valor de $J_{7,8}$ (7,3 Hz) foi possível atribuir ao composto **6** a estereoquímica relativa *trans*. No entanto, nenhuma investigação adicional foi feita com vistas à determinação da estereoquímica absoluta nem tampouco tentou-se realizar a separação dos enantiômeros. Estes dados, quando analisados em conjunto, confirmaram que o composto **6** trata-se do ($\pm$)-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila.

Composto 6 (($\pm$)-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila). P.F. 105-107 °C, sólido amarelo. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A28**, p. 142) de **6** ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_6$): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3384 (–OH), 2955 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{–H}$), 1715 (C=O), 1602 (C=C), 1490 (C=C), 1440 (C=C), 1240 (C–O), 1115 (C–O). EI-MS (70 eV, m/z , intensidade relativa, %, **Anexo A29**, p. 142): 354 [$\text{M}^{\bullet+}$] (26), 322 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{OH}$] (30), 290 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{OH–CH}_3\text{OH}$] (100).

Tabela 3. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) do composto **6** e comparação os da literatura (400 MHz e 100 MHz, respectivamente), ambos em acetona- d_6 [59].

Experimental (acetona- d_6)		Literatura (acetona- d_6) [59]	
^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)
1	131,3	--	--
2=6	128,9	7,28 (2H, dd, $J=1,8$; 6,8)	127,5 7,27 (2H, ddd, $J_{2,5} = J_{6,3} 0,3$, $J_{2,7} = J_{6,7} 0,6$; $J_{2,3} = J_{6,5} 8,3$)
3=5	116,9	6,87 (2H, dd, $J=1,8$; 6,8)	115,7 6,84 (2H, dd, $J_{3,6} = J_{5,2} 0,3$, $J_{3,2} = J_{5,6} 8,3$)
4	162,6	--	--
7	88,2	6,03 (1H, d, $J=7,3$)	87,7 6,09 (1H, dt, $J_{7,2} = J_{7,6} 0,6$; $J_{7,8} 7,2$)
8	56,0	4,40 (1H, d, $J=7,3$)	55,1 4,27 (1H, dd, $J_{8,6'} = 1,4$; $J_{8,7} = 7,2$)
9	172,0	--	--
10	52,0	3,81 (3H, s)	52,9 3,83 (3H, s)
1'	132,1	--	--
2'	128,9	7,60 (1H, dd, $J=1,5$; 8,1)	127,8 7,43 (1H, ddd, $J_{2',7'} = 1,1$, $J_{2',6'} = 2,0$; $J_{2',3'} = 8,3$)
3'	111,2	6,91 (1H, d, $J=8,1$)	110,3 6,89 (1H, dd, $J_{3',6'} = 0,4$; $J_{3',2'} = 8,3$)
4'	159,1	--	--
5'	126,9	--	--
6'	126,5	7,72 (1H, sl)	124,9 7,55 (1H, dddd, $J_{6',3'} = 0,4$; $J_{6',7'} = 0,7$; $J_{6',8} = 1,4$, $J_{6',2'} = 2,0$)
7'	145,5	7,65 (1H, d, $J=16,0$)	144,7 7,66 (1H, ddd, $J_{7',6'} = 0,7$; $J_{7',2'} = 1,1$; $J_{7',8'} = 15,9$)
8'	116,5	6,41 (1H, d, $J=16,0$)	115,2 6,32 (1H, d, $J_{8',7'} = 15,9$)
9'	168,2	--	--
10'	53,4	3,73 (3H, s)	51,7 3,81 (3H, s)

No espectro de massas (EI, 70 eV) do composto **7** (**Anexo A33**, p. 144), o pico de m/z 414 foi atribuído ao íon molecular. A diferença de 60 u deste íon em relação ao íon molecular de **6** deve-se à presença de dois grupos metoxila adicionais – C11 e C11' – na estrutura de **7**. Como consequência direta da introdução desses dois grupos metoxila nas posições 3' e 3, ocorrem algumas alterações tanto no deslocamento químico como na multiplicidade dos sinais no espectro de RMN de ^1H em relação à neolignana **6** (**tabela 3**, p. 46). Por exemplo, com a introdução deste grupo em C3 a simetria no anel aromático desaparece e, com ela, a equivalência química e magnética de H2 e H6. Isto pôde ser confirmado pela análise do sinal de H6, que aparece em δ_{H} 6,92 como um duplo duplete, agora com intensidade para apenas um hidrogênio (**Anexo 30**, p. 143). Tanto o sinal de H2 (δ_{H} 7,10) como o de H6 (δ_{H} 6,92), assim como os de C2 (δ_{H} 111,2) e C6 (δ_{C} 120,7) (**Anexo 31**, p. 143) encontram-se mais blindados que os respectivos sinais para a neolignana **6** (em δ_{H} 7,28 e δ_{C} 128,9, respectivamente) devido ao efeito mesomérico elétron-doador do grupo metoxila em C3, conforme representado no **esquema 20**.

Esquema 20. Formas de ressonância demonstrando o aumento da densidade eletrônica nas posições 2 e 6 devido ao efeito mesomérico elétron-doador do grupo metoxila.

Estes dados, quando analisados em conjunto e comparados com a literatura[59], permitiram confirmar que o composto **7** trata-se do ($\pm$)-*trans*-dideidroferuloato de dimetila.

Composto 7 (*($\pm$)-trans-dideidroferuloato de dimetila*). Óleo amarelo. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A32**, p. 144) de **7** ($\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_8$): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3395 (–OH), 2951 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{–H}$), 1740 (C=O), 1723 (C=O), 1644 (C=C), 1594 (C=C), 1523 (C=C), 1432 (C=C), 1269 (C–O), 1165 (C–O), 1140 (C–O), 1095 (C–O), 1036 (C–O), 982, 941, 853. EI-MS (70 eV, m/z , intensidade relativa, %, **Anexo A33**, p. 144): 414 [$\text{M}^{\bullet+}$] (5), 382 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{OH}$] (90), 350 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{OH–CH}_3\text{OH}$] (70).

Tabela 4. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do produto **7** e comparação com a literatura (400 e 100 MHz, respectivamente), ambos em acetona- d_6 .

Experimental (acetona- d_6)			Literatura (acetona- d_6)	
	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)
1	132,5	--	132,5	--
2	111,2	7,10 (1H, d, $J=1,7$)	111,2	7,10 (1H, ddd, $J_{2',5'}=0,3$; $J_{2,2'}=0,8$; $J_{2',6'}=2,1$)
3	149,0	--	149,1	--
4	148,5	--	148,5	--
5	116,3	6,84 (1H, d, $J=8,1$)	116,3	6,84 (1H, dd, $J_{5',2'}=0,3$; $J_{5,6'}=8,3$)
6	120,7	6,92 (1H, dd, $J=8,1$; 1,7)	120,7	6,92 (1H, ddd, $J_{6,2}=0,6$; $J_{6,2'}=2,1$; $J_{6,5'}=8,3$)
7	88,8	6,04 (1H, d, $J=7,3$)	88,8	6,04 (1H, ddd, $J_{2,6'}=0,6$; $J_{2,2'}=0,8$; $J_{2,3}=7,3$)
8	56,4	4,47 (1H, d, $J=7,3$)	57,0	4,47 (1H, dd, $J_{3,4}=1,4$; $J_{3,2}=7,3$)
9	172,1	--	172,1	--
10'	53,5	3,81 (3H, s)	53,5	3,81 (3H, s)
11'	56,9	3,84 (3H, s)	56,8	3,92 (3H, s)
1'	129,9	--	129,9	--
2'	113,9	7,29 (1H, sl)	113,9	7,33 (1H, dd, $J_{6,8}=0,4$; $J_{6,4}=2,6$)
3'	146,3	--	146,3	--
4'	151,5	--	151,5	--
5'	127,8	--	127,8	--
6'	119,4	7,33 (1H, sl)	119,5	7,29 (1H, ddd, $J_{4,8}=0,8$; $J_{4,3}=1,4$; $J_{4,6}=2,6$)
7'	145,9	7,63 (1H, d, $J=16,1$)	145,9	7,63 (1H, ddd, $J_{8,6}=0,4$; $J_{8,4}=0,8$; $J_{8,9}=15,8$)
8'	116,7	6,44 (1H, d, $J=16,1$)	116,8	6,44 (1H, d, $J_{9,8}=15,8$)
9'	168,2	--	168,2	--
10'	52,0	3,73 (3H, s)	52,1	3,73 (3H, s)
11'	56,8	3,92 (3H, s)	56,4	3,84 (3H, s)

A neolignana **8** foi obtida a partir do acoplamento oxidativo de **c** empregando óxido de prata como agente oxidante. A análise do espectro de massas (EI-MS, 70 eV, **Anexo A37**, p. 146) permitiu identificar o pico de m/z 386 como sendo o pico do íon molecular, que é compatível com a fórmula molecular de **8** ($C_{20}H_{18}O_8$). Os íons fragmentos de m/z 351 e m/z 323, que são resultantes das perdas de $CH_3O\bullet$ e de CO, indicaram que a fragmentação de **8** segue o mesmo padrão dos compostos **6** e **7**. No espectro de no IV (**Anexo A36**, p. 146) de **8**, uma banda de absorção intensa larga, centrada em 3411 cm^{-1} , é indicativa da presença de um grupo hidroxila na estrutura desta neolignana.

No espectro de RMN de ^{13}C (**Anexo A35**, p. 145) foram observados sinais referentes a 20 carbonos, sendo que 4 possuem hibridização sp^3 (δ_C 51,7, 53,1, 56,5 e 88,1), 14 estão na região dos carbonos com hibridização sp^2 (olefínicos ou aromáticos) e 2 encontram-se na região das carbonilas (δ_C 167,9 e 171,8), em concordância com a estrutura esperada. Analisando os dados do espectro de RMN de 1H (**Anexo A34**, p. 145 e **tabela 5**, p. 50) e comparando-os com a literatura, é possível notar que o sinal de H_2' (δ_H 7,21) não é mencionado. Foram também observados sinais desblindados, acima de δ_H 8,0 (em δ_H 8,04, 8,07 e 8,50), referentes aos hidrogênios das hidroxilas fenólicas 3-OH, 4-OH e 3'-OH, respectivamente. Esta atribuição pôde ser confirmada pelo desaparecimento desses sinais no espectro de RMN de 1H adquirido após a adição de algumas gotas de água deuterada (D_2O) à solução. Estes dados permitiram confirmar que o composto **8** trata-se do ($\pm$)-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila. Na **tabela 5** (p. 50) encontram-se os dados de RMN de 1H e ^{13}C do composto **8** e do ($\pm$)-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila reportados na literatura [70], em acetona- d_6 .

Composto 8 (($\pm$)-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila). Óleo amarelo. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A36**, p. 146): ν_{max}/cm^{-1} : 3411 (–OH), 2952, (C_{sp^2} -H), 1695 (C=O), 1608 (C=C), 1479 (C=C), 1175 (C–O). EI-MS (70 eV, m/z , intensidade relativa, %, **Anexo A37**, p. 146): 386 [$M^{\bullet+}$] (8), 355 [$M^{\bullet+}-CH_3O\bullet$] (20), 327 [$M^{\bullet+}-CH_3O\bullet-CO$] (50), 253 [$M^{\bullet+}-CH_3O\bullet-C_2H_4O$] (100), 225 [$M^{\bullet+}-CH_3O\bullet-C_2H_4O-CO$] (40).

Tabela 5. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do produto **8** e comparação com a literatura [73](400 e 100 MHz, respectivamente), ambos em acetona- d_6 .

Experimental (acetona- d_6)			Literatura (acetona- d_6)	
^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)		^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)
1	132,9	—	132,7	—
2	114,1	6,90 (1H, d, $J=1,6$)	113,9	6,90 (1H, d, $J=2,0$)
3	146,6	—	146,1	—
4	150,3	—	146,3	—
5	116,2	6,85 (1H, d, $J=8,2$)	116,2	6,84 (1H, d, $J=8,2$)
6	118,9	6,80 (1H, dd, $J=1,6; 8,2$)	118,7	6,79 (1H, dd, $J=2,0; 8,2$)
7	88,1	5,98 (1H, d, $J=7,3$)	87,9	5,97 (1H, d, $J=8,3$)
8	56,5	4,37 (1H, d, $J=7,3$)	56,3	4,35 (1H, d, $J=8,3$)
9	171,8	—	171,7	—
10	53,1	3,81 (3H, s)	53,0	3,71 (3H, s)
—	8,04 (3-OH)	—	—	8,05 (2H, 3-OH)
—	8,50 (4-OH)	—	—	8,05 (2H, 4-OH)
1'	129,6	—	129,4	—
2'	117,9	7,21 (1H, s)	117,8	**
3'	146,3	—	150,1	—
4'	142,8	—	142,5	—
5'	127,6	—	127,3	—
6'	117,6	7,15 (1H, s)	117,3	7,14 (1H, s)
7'	145,6	7,58 (1H, d, $J=16,1$)	145,4	7,57 (1H, d, $J=16,0$)
8'	116,3	6,35 (1H, d, $J=16,1$)	116,1	6,33 (1H, d, $J=16,0$)
9'	167,9	—	167,8	—
10'	51,7	3,73 (3H, s)	51,6	3,79 (3H, s)
—	8,07 (3'-OH)	—	—	3,38 (s, 1 H, 3'-OH)

** Não mencionado na literatura

O composto **9** foi obtido por acetilação da neolignana diidrobenzofurânica **6** ((±)-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila). A comparação entre os espectros de massas de **9** (**Anexo A41**, p. 148) e **6** (**Anexo A29**, p. 142) indicou que o íon molecular de **9** (m/z 396) é 42 u maior que o íon molecular de **6** (m/z 354), sugerindo a presença do grupo acetil em **9**. Como os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C da neolignana **9** em acetona- d_6 não foram encontrados na literatura, a sua identificação foi feita por comparação com os dados da neolignana **6**, da qual **9** foi obtida por acetilação. Os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C destas duas neolignanas encontram-se na **tabela 6** (p. 52).

No espectro de RMN de ^{13}C de **9** (**Anexo A39**, p. 147) podem ser observados os sinais em δ_{C} 170,2 e δ_{C} 21,5 referentes aos carbonos C11 e C12, que não aparecem no correspondente espectro do composto **6**. Além disso, no espectro de RMN de ^1H (**Anexo A38**, p. 147) foi possível observar um sinal em δ_{H} 2,26, que aparece como um simpleto com integral para três hidrogênios. Este sinal foi atribuído a H12, confirmando assim a ocorrência da reação de acetilação. Estes dados, em conjunto, confirmaram que o composto **9** trata-se do (±)-4-*O*-acetil-*trans*-dideidroferuloato de dimetila.

Composto 9 ((±)-4-*O*-acetil-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila). P.F. 103-105 °C, sólido amarelo. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A40**, p. 148) de **9** ($\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_7$): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 2951 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$), 1744 (C=O), 1636 (C=C), 1608 (C=C), 1494 (C=C), 1436 (C=C), 1244 (C-O), 1199 (C-O), 1174 (C-O), 1111 (C-O). EI-MS (70 eV, m/z , intensidade relativa, %, **Anexo A41**, p. 148): 396 [$\text{M}^{\bullet+}$] (31), 364 [$\text{M}^{\bullet+}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$] (8), 322 [$\text{M}^{\bullet+}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}$] (92), 290 [$\text{M}^{\bullet+}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_3\text{OH}$] (100).

Tabela 6. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) da neolignana **9**, em comparação com o composto **6**, em acetona- d_6 .

Experimental (acetona- d_6)			Composto 6 (acetona- d_6)	
	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)
1	132,3	—	131,3	—
2=6	128,5	7,49 (2H, dd, $J=1,7$; 6,7)	128,9	7,28 (2H, dd, $J = 1,8$; 6,8)
3=5	116,9	7,16 (2H, dd, $J=1,7$; 6,7)	116,9	6,87 (2H, dd, $J = 1,8$; 6,8)
4	162,6	—	162,6	—
7	87,6	6,15 (1H, d, $J=7,2$)	88,2	6,03 (1H, d, $J = 7,3$)
8	56,3	4,44 (1H, d, $J=7,2$)	56,0	4,40 (1H, d, $J = 7,3$)
9	172,1	—	172,0	—
10	52,2	3,83 (3H, s)	52,0	3,81 (3H, s)
11	170,2	—	—	—
12	21,5	2,26 (3H, s)	—	—
1'	129,6	—	132,1	—
2'	128,5	7,63 (1H, dd, $J=1,7$; 8,3)	128,9	7,60 (1H, dd, $J = 1,5$; $J = 8,1$)
3'	111,5	6,97 (1H, d, $J=8,3$)	111,2	6,91 (1H, d, $J = 8,1$)
4'	152,7	—	159,1	—
5'	127,1	—	126,9	—
6'	126,9	7,74 (1H, sl)	126,5	7,72 (1H, sl)
7'	139,2	7,65 (1H, d, $J=15,9$)	145,5	7,65 (1H, d, $J=16,0$)
8'	145,6	6,42 (1H, d, $J=15,9$)	116,5	6,41 (1H, d, $J=16,0$)
9'	168,3	—	168,2	—
10'	53,7	3,73 (3H, s)	53,4	3,73 (3H, s)

A neolignana **10** foi obtida por acetilação de **7**. A presença do grupo acetil em **10** pôde ser confirmada pela diferença de 42 u entre o seu íon molecular, de m/z 456 (Anexo A45, p. 150) e o do composto **7**, de m/z 414 (Anexo A33, p.144).

Os dados dos espectros de RMN de ^1H (Anexo A42, p. 149) e ^{13}C (Anexo A43, p. 149) da neolignana **10** encontram-se reunidos na **tabela 7** (p. 54). A presença do sinal em δ_{H} 2,24, que aparece como um simpleto com intensidade para três hidrogênios, e do sinal em δ_{C} 169,5 e 21,0, que não foram observados nos correspondentes espectros de **7**, permitem confirmar a presença do grupo acetil na estrutura de **10**.

Na **tabela 7** foram também fornecidos os dados de RMN de ^1H do ($\pm$)-4-*O*-acetil-*trans*-dideidroferuloato de dimetila em CDCl_3 , reportados por Kuo e colaboradores [114]. No entanto, os dados de RMN de ^{13}C não foram reportados pelos autores. As pequenas diferenças observadas nos deslocamentos químicos podem ser atribuídas ao fato de que no presente trabalho todos os compostos foram dissolvidos em acetona- d_6 para as análises por RMN. A escolha deste solvente levou em consideração o deslocamento químico do sinal do hidrogênio do clorofórmio (δ_{H} 7,26), que aparece na mesma região dos sinais dos hidrogênios aromáticos, o que poderia, em princípio, dificultar a atribuição dos sinais naquela região. A partir desta comparação, foi possível identificar o composto **10** como sendo a neolignana ($\pm$)-4-*O*-acetil-*trans*-dideidroferuloato de dimetila.

Composto 10 (*(\pm)*-4-*O*-acetil-*trans*-dideidroferuloato de dimetila). Óleo Marrom. Dados de IV (em pastilha de KBr, Anexo A44, p. 150) de **5** ($\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_9$): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3438 (H_2O), 2955 ($\text{Csp}^2\text{-H}$), 1765 (C=O), 1735 (C=O), 1698 (C=O), 1636 (C=C), 1611 (C=C), 1498 (C=C), 1436 (C=C), 1269 (C-O), 1207 (C-O), 1144 (C-O). EI-MS (70 eV, m/z , intensidade relativa, %, Anexo A45, p. 150): 456 [$\text{M}^{\bullet+}$] (43), 414 [$\text{M}^{\bullet+}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$] (30), 382 [$\text{M}^{\bullet+}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}$] (100), 350 [$\text{M}^{\bullet+}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_3\text{OH}$] (90).

Tabela 7. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do produto acetilado **10** em acetona- d_6 e comparação com os dados da literatura, em CDCl_3 .

	Experimental (acetona- d_6)		Literatura (CDCl_3) [114]	
	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)
1	124,5	—	—	—
2	111,9	7,25 (1H, d, $J=1,7$)	—	7,04-7,08 (4H, m)
3	153,2	—	—	—
4	141,7	—	—	—
5	119,6	7,03 (1H, d, $J=8,2$)	—	7,04-7,08 (4H, m)
6	140,3	7,09 (1H, dd, $J=8,2; 1,7$)	—	7,04-7,08 (4H, m)
7	88,2	6,14 (1H, d, $J=7,3$)	—	6,22 (1H, d, $J=8,1$)
8	56,7	4,50 (1H, d, $J=7,3$)	—	4,41 (1H, d, $J=8,1$)
9	172,1	—	—	—
10	53,7	3,82 (3H, s)	—	3,86
11	169,5	—	—	—
12	21,0	2,24 (3H, s)	—	2,34 (3H, s)
13	57,2	3,82 (3H, s)	—	3,89
1'	130,3	—	—	—
2'	114,2	7,35 (1H, sl)	—	7,04-7,08 (4H, m)
3'	146,5	—	—	—
4'	151,5	—	—	—
5'	127,7	—	—	7,04-7,08 (4H, m)—
6'	119,6	7,31 (1H, sl)	—	7,04-7,08 (4H, m)
7'	145,9	7,63 (1H, d, $J=16,0$)	—	3,86
8'	117,1	6,45 (1H, d, $J=16,0$)	—	3,89
9'	169,5	—	—	—
10'	52,1	3,73 (3H, s)	—	2,34 (3H, s)
11'	56,9	3,94 (3H, s)	—	3,96 (3H, s)

O composto **11** foi obtido a partir da neolignana **6** ((±)-*trans*-dideidro-cumaroato de dimetila) por meio da oxidação da ligação entre C7 e C8 promovida por DDQ. A diferença de duas unidades de massas entre esses dois compostos pôde ser confirmada por comparação entre seus espectros de massas. Conforme pode ser observado no espectro de massas (**Anexo A49**, p. 152), o pico do íon molecular (m/z 350) é duas unidades de massa menor que o correspondente no espectro do composto **6** (m/z 352, **Anexo A29**, p. 142).

A presença da ligação dupla entre C7 e C8 em **11** pôde ser confirmada pela ausência dos sinais nos espectros de RMN de ^1H (**Anexo A46**, p. 151) referentes a H7 (δ_{H} 6,03, 1H, d, $J_{7,8}=7,3$ Hz) e H8 (δ_{H} 4,40, 1H, d, $J_{8,7}=7,3$ Hz). No espectro de RMN de ^{13}C (**Anexo A47**, p. 151), a ausência dos sinais em δ_{C} 88,2 (C7) e δ_{C} 56,0 (C8) deve-se à mudança na hibridização de C7 e C8 que ocorre quando a neolignana **6** é convertida em **11**. Esta mudança também faz com que os sinais de C7 e C8 no espectro de RMN de ^{13}C de **11** apareçam em δ_{C} 118,1 e 123,8, respectivamente. A análise destes dados permitiu-nos concluir que o composto **11** trata-se do ((±)-7,8-deidro-*trans*-dideidro-cumaroato de dimetila).

Composto 11 ((±)-7,8-deidro-*trans*-dideidro-cumaroato de dimetila). P.F. 204-206 °C, sólido alaranjado. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A48**, p. 152): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3344 (–OH), 3036 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{–H}$), 1709 (C=O), 1682 (C=O), 1634 (C=C), 1607 (C=C), 1257 (C–O), 1224 (C–O). EI-MS (70 eV, m/z , intensidade relativa, %, **Anexo A49**, p. 152): 352 [$\text{M}^{\bullet+}$] (26), 321 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{O}^{\bullet}$] (30), 289 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{O}^{\bullet}\text{–CH}_3\text{OH}$] (45), 261 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{O}^{\bullet}\text{–CH}_3\text{OH–CO}$] (45).

Tabela 8. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) das neolignanas **11** e **6**, em acetona- d_6 .

Composto 6 (acetona- d_6)			Composto 11 (acetona- d_6)	
	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J, Hz)	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J, Hz)
1	131,3	—	130,9	—
2=6	128,9	7,28 (2H, dd, J=1,8; 6,8)	132,3	7,00 (2H, d, J=8,8)
3=5	116,9	6,87 (2H, dd, J=1,8; 6,8)	116,0	8,03 (2H, d, J=8,8)
4	162,6	—	160,8	—
7	88,2	6,03 (1H, d, J=7,3)	118,1	—
8	56,0	4,40 (1H, d, J=7,3)	123,8	—
9	172,0	—	166,6	—
10	52,0	3,81 (3H, s)	51,8	3,96 (3H, s)
			—	9,14 (4-OH)
1'	132,1	—	132,3	—
2'	128,9	7,60 (1H, dd, J=1,5; 8,1)	128,9	7,74 (1H, dd, J= 8,6; 1,6)
3'	111,2	6,91 (1H, d, J=8,1)	112,5	7,62 (1H, d, J=8,6)
4'	159,1	—	155,3	—
5'	126,9	—	121,3	—
6'	126,5	7,72 (1H, sl)	125,9	8,29 (1H, d, J=1,6)
7'	145,5	7,65 (1H, d, J=16,0)	145,6	7,82 (1H, d, J=15,9)
8'	116,5	6,41 (1H, d, J=16,0)	133,4	6,57 (1H, d, J=15,9)
9'	168,2	—	167,6	—
10'	53,4	3,73 (3H, s)	52,0	3,77 (3H, s)

A neolignana diidrobenezofurânica **12** foi obtida por hidrogenação de **6**. No espectro de massas do composto **12** (**Anexo A53**, p. 154) é possível observar um íon com m/z 356, que pode ser atribuído ao íon molecular (M^+) deste composto. Este íon é duas unidades de massa maior que o íon molecular do composto **6** (**Anexo A29**, p. 142), corroborando com a redução da ligação dupla entre C7' e C8'.

A hidrogenação desta ligação também pode ser inferida a partir da análise comparativa dos dados de RMN de 1H e de ^{13}C do composto **12** (**Anexo A50** e **A51**, p. 153) com os do composto **6** (**tabela 3**, p. 46). As principais diferenças entre os espectros de RMN de ^{13}C de **12** (**Anexo A51**, p. 153) em relação a **6** (**Anexo A27**, p. 141) são a ausência dos sinais em δ_C 145,5 (C7') e 116,5 (C8') e a presença dos sinais em δ_C 31,1 e 36,7. Essas diferenças podem ser atribuídas à mudança na hibridização de C7' e C8' de sp^2 (em **6**) para sp^3 (em **12**). No espectro de RMN de 1H (**Anexo A50**, p. 153) esta mudança de hibridização pôde ser deduzida a partir da ausência dos sinais em δ_H 7,65 (1H) e 6,41 (1H), característicos de H7' e H8' de **6**, e da presença dos sinais em δ_H 2,59 e 2,86, ambos com intensidade para dois hidrogênios.

Para confirmar a estrutura de **12**, seus dados de RMN de 1H e de ^{13}C em acetona- d_6 foram comparados com os da literatura [70] (**Tabela 9**, p. 58). A comparação foi feita com os dados obtidos para o composto **12** em $CDCl_3$, uma vez que não há dados disponíveis para este composto em acetona- d_6 . A partir destes dados foi possível identificar o composto **12** como sendo ($\pm$)-7',8'-diidro-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila.

Composto 12 (($\pm$)-7',8'-diidro-*trans*-dideidrocumaroato de dimetila). Óleo incolor. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A52**, p. 154): ν_{max}/cm^{-1} : 3365 (–OH), 2955 (C_{sp^2} –H), 1735 (C=O), 1707 (C=O), 1517 (C=C), 1489 (C=C), 1210 (C–O). EI-MS (70 eV, m/z intensidade relativa, %, **Anexo A53**, p. 154): 356 [M^+] (30), 324 [M^+ –CH₃OH] (100), 293 [M^+ –CH₃OH–CH₃O•] (5), 265 [M^+ –CH₃OH–CH₃O•–CO] (8), 251 [M^+ –CH₃OH–C₃H₅O₂•] (75).

Tabela 9. Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto **12** em acetona- d_6 e comparação com os dados da literatura em CDCl_3 (400 e 100 MHz, respectivamente) [70].

Experimental (acetona- d_6)			Literatura (CDCl_3) [70]	
	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)
1	132,6	—	130,1	—
2	128,4	6,85 (2H, d, $J=8,6$)	127,51	7,26 (2H, d, $J=8,70$)
3	116,4	7,27 (2H, d, $J=8,6$)	115,63	6,81 (2H, d, $J=8,70$)
4	158,9	—	157,89	—
5	116,4	7,27 (2H, d, $J=8,6$)	115,63	7,26 (2H, d, $J=8,70$)
6	128,4	6,85 (2H, d, $J=8,6$)	127,51	7,26 (2H, d, $J=8,70$)
7	87,0	5,95 (1H, d, $J=7,3$)	85,78	4,24 (1H, d, $J=7,78$)
8	56,4	4,29 (1H, d, $J=7,3$)	55,74	4,12 (1H, d, $J=7,78$)
9	172,1	—	171,46	—
10	51,7	3,79 (3H, s)	51,64	3,81 (3H, s)
—	—	—	—	8,52 (4-OH)
1'	134,4	—	132,70	—
2'	130,4	7,12 (1H, dd, $J=8,0; 2,9$)	129,55	7,05 (1H, dd, $J=8,24; 1,83$)
3'	110,2	6,75 (1H, d, $J=8,0$)	109,74	6,74 (1H, d, $J=8,24$)
4'	158,6	—	155,97	—
5'	125,7	—	124,24	—
6'	126,0	7,23 (1H, s)	124,93	7,17 (1H, d, $J=1,83$)
7'	31,1	2,59 (2H, dt, $J=7,8; 2,9$)	30,50	2,61 (2H, t, $J=7,78$)
8'	36,7	2,86 (2H, t, $J=7,8$)	36,22	2,91 (2H, t, $J=7,78$)
9'	173,5	—	173,55	—
10'	52,9	3,61 (3H, s)	36,22	3,68 (3H, s)

A neolignana **13** foi obtida por hidrogenação de **11**. Conforme esperado, o espectro de massas deste composto (**Anexo A57**, p. 156) apresentou o pico do íon molecular de m/z 354, sendo, portanto, duas unidades de massa maior que o de **11**, do qual **13** foi obtido por hidrogenação.

Em princípio, tanto a ligação dupla entre C7 e C8 e entre C7' e C8' podem ser reduzidas. No entanto, a análise dos dados dos espectros de RMN de ^1H (**Anexo A54**) e de ^{13}C (**Anexo A55**) indicou que ocorreu a redução apenas da ligação entre C7' e C8', que é menos substituída que a ligação dupla entre C7 e C8. Como consequência desta redução ocorrem alterações nos deslocamentos químicos e nas integrais dos sinais de H7' (de δ_{H} 7,82, 1H, em **11** para δ_{H} 3,05, 2H, em **13**) e H8' (de δ_{H} 6,57 em **11** para δ_{H} 2,69 em **13**) e nos deslocamentos químicos de C7' (de δ_{C} 133,4 em **11** para δ_{C} 31,7 em **13**) e C8' (de δ_{C} 145,6 em **11** para δ_{H} 36,8 em **13**). A partir destes dados, foi possível identificar o composto **13** como sendo a neolignana ($\pm$)-7,8-deidro-7',8'-diidro-*trans*-dideidroferuloato de dimetila

Composto 13 (*(\pm)*-7,8-deidro-7',8'-diidro-*trans*-dideidroferuloato de dimetila). Óleo amarelado. Dados de IV (em pastilha de KBr, **Anexo A56**, p. 156): $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3327 (–OH), 2950 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{–H}$), 1740 (C=O) 1690 (C=O), 1613 (C=C), 1515 (C=C), 1230 (C–O), 1092 (C–O). EI-MS (70 eV, m/z , intensidade relativa, %, **Anexo A57**, p. 156): 354 [$\text{M}^{\bullet+}$] (100), 323 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{O}^{\bullet}$] (20), 291 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{O}^{\bullet}\text{–CH}_3\text{OH}$] (5), 263 [$\text{M}^{\bullet+}\text{–CH}_3\text{O}^{\bullet}\text{–CH}_3\text{OH–CO}$] (45).

Tabela 10. Atribuição em acetona- d_6 de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do produto **13** e comparação com **11**.

Composto 11 (acetona- d_6)			Composto 13 (acetona- d_6)	
	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)	^{13}C (ppm)	^1H (δ , ppm; J , Hz)
1	130,9	—	137,7	—
2=6	132,3	7,00 (2H, d, $J=8,8$)	132,2	6,99 (2H, d, $J=8,8$)
3=5	116,0	8,03 (2H, d, $J=8,8$)	115,9	7,98 (2H, d, $J=8,8$)
4	160,8	—	162,2	—
7	118,1	—	107,9	—
8	123,8	—	128,4	—
9	166,6	—	165,0	—
10	51,8	3,96 (3H, s)	51,7	3,91 (3H, s, H10)
1'	132,3	—	133,3	—
2'	128,9	7,74 (1H, dd, $J=8,6; 1,6$)	126,5	7,27 (1H, dd, $J=8,3; 1,6$)
3'	112,5	7,62 (1H, d, $J=8,6$)	111,6	7,49 (1H, d, $J=8,3$)
4'	155,3	—	160,5	—
5'	121,3	—	121,8	—
6'	125,9	8,29 (1H, d, $J=1,6$)	122,7	7,90 (1H, d, $J=1,6$)
7'	133,4	7,82 (1H, d, $J=15,9$)	31,7	3,05 (2H, t, $J=7,7$)
8'	145,6	6,57 (1H, d, $J=15,9$)	36,8	2,69 (2H, t, $J=7,7$)
9'	167,6	—	173,5	—
10'	52,0	3,77 (3H, s)	51,8	3,63 (3H, s)

4.2 Estudo de fragmentação dos derivados de 2-aroilbenzofuranos

4.2.1 Correlações estrutura-fragmentação

Idealmente, as correlações estrutura-fragmentação são deduzidas a partir dos espectros de íons produtos obtidos em uma energia de colisão ótima (E_{lab}), na qual espera-se que ocorra o decréscimo da intensidade relativa do pico da molécula protonada para valores menores que 50%. O uso de um mesmo valor de E_{lab} tem como objetivo minimizar os efeitos dos parâmetros experimentais sobre o perfil do espectro de íons produtos e, assim, fazer com que as diferenças entre os espectros de dois compostos estruturalmente semelhantes possam ser intimamente associadas às diferenças estruturais entre eles. Em estudos anteriores, nosso grupo de pesquisa demonstrou a importância de correlações estrutura-fragmentação para a elucidação das vias de fragmentação de uma série de compostos que possuem mesmo núcleo estrutural, tais como lactonas sesquiterpênicas e alcaloides [110, 125, 126]. Neste trabalho, a comparação entre as intensidades relativas (IR, %) e o E_{lab} (eV) evidenciou que o E_{lab} ótimo para desenvolver o estudo de fragmentação dos derivados **1-5** de 2-aroilbenzofuranos foi de 20 eV (**Figura 12**, p. 62).

Na **figura 13** (p. 63) encontram-se os espectros de íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos **1-5**, obtidos em $E_{lab} = 20$ eV. As atribuições dos principais íons produtos (intensidade relativa acima de 5 %, ou íons produtos intensos em diversas outras energias de colisão) desses espectros estão na **tabela 11**. A análise desses espectros indicou que a eliminação de benzeno (78 u) diretamente da molécula protonada gerou o íon fragmento **B**, que é o pico base dos espectros de íons produtos de todos os 2-aroilbenzofuranos protonados investigados. Além disto, a formação de um íon acílio **F** (m/z 105) e a eliminação de CO a partir de **F** para produzir o cátion fenila **G** (m/z 77) também são íons comuns para os compostos **1-5**. Foram também identificados outros íons comuns, tais como **C**, **D**, e **E**, que se originam diretamente de **B** por eliminação de CO (28 unidades de massa), CO₂ (44 unidades de massa) e duas moléculas de CO (56 unidades de massa), respectivamente.

Figura 12. Gráficos da intensidade relativa (%) dos principais íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos **1-5** protonados em função energia de colisão (E_{lab} , em eV).

Figura 13. Espectro de íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos 1-5 protonados (gás de colisão Ar, $E_{lab} = 20$ eV)

Tabela 11. Íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos **1-5** em energia de colisão (E_{lab}) de 20 eV. As intensidades relativas (%) estão demonstradas entre parênteses. Abaixo das razões m/z , em *itálico*, estão demonstrados os dados dos experimentos de troca por deutério.

Atribuição	1	2	3	4	5
A ($[M + H]^+$)	315 (19)	253 (23)	271 (11)	223 (8)	237 (8)
	<i>316</i>	<i>254</i>	<i>272</i>	<i>224</i>	<i>238</i>
B ($A - C_6H_6$)	237 (100)	175 (100)	193 (100)	145 (100)	159 (100)
	<i>237</i>	<i>175</i>	<i>193</i>	<i>145</i>	<i>159</i>
I ($B - \bullet CH_3$)	—	160 (1)	—	—	—
		<i>160</i>			
C ($B - CO$)	209 (2)	147 (4)	165 (4)	117 (2)	131 (6)
	<i>209</i>	<i>147</i>	<i>165</i>	<i>117</i>	<i>131</i>
D ($B - CO_2$)	193 (2)	131 (2)	149 (5)	101 (2)	115 (4)
	<i>193</i>	<i>131</i>	<i>149</i>	<i>101</i>	<i>115</i>
E ($B - 2 CO$)	181 (8)	119 (43)	137 (13)	89 (28)	103 (21)
	<i>181</i>	<i>119</i>	<i>137</i>	<i>89</i>	<i>103</i>
F ($A - C_8H_3OR_1R_2R_3$)	105 (19)	105 (98)	105 (25)	105 (62)	105 (29)
	<i>105</i>	<i>105</i>	<i>105</i>	<i>105</i>	<i>105</i>
H ($E - \bullet X$)	102 (11)	—	102 (11)	—	—
	<i>102</i>		<i>102</i>		
J ($E - CH_2O$)	—	89 (19)	—	—	—
		<i>89</i>			
G ($F - CO$)	77 (6)	77 (30)	77 (6)	77 (21)	77 (12)
	<i>77</i>	<i>77</i>	<i>77</i>	<i>77</i>	<i>77</i>

A análise comparativa detalhada dos dados dos experimentos de MS/MS permitiu-nos identificar alguns íons produtos que permitem identificar os substituintes do anel aromático, conforme demonstrado no **esquema 21** (p. 65). Por exemplo, para os compostos **1**, **3** e **2**, as eliminações de halogênio e de metila radicalares a partir de **B** produzem os íons diagnósticos **H** (m/z 102) e **I** (m/z 160), respectivamente. Além disto, a eliminação de formaldeído (30 Da) pode ser utilizada como diagnóstica do grupo metoxila

no anel aromático da estrutura do composto **2**. Todas as vias propostas foram suportadas por dados de experimentos de MS³ (Anexos A58-A62, p. 157-159).

Esquema 21. Correlações estrutura-fragmentação para os 2-aroilbenzofuranos protonados 1-5. As correlações acima foram suportadas por dados de experimentos de MS³ (Anexos A58-A62).

4.2.2 Sítios de protonação e reatividade em fase gasosa

A relevância da determinação do sítio de protonação em reações de fragmentação em fase gasosa em condições de dissociação induzida por colisão (CID) tem sido extensivamente discutida e, em geral, duas possibilidades são geralmente consideradas. A primeira, conhecida como “teoria do próton móvel” [127], considera que o próton permanece inicialmente ligado ao sítio mais básico da molécula, podendo migrar para sítios mais básicos em condições de CID para a fragmentação a partir das espécies resultantes desta migração. A segunda possibilidade considera que o próton permanece ligado ao sítio mais básico da molécula no estado pós-colisional. Neste caso apenas aumentam a energia interna do sistema e promove as reações de fragmentação [88]. Considerando que ambas as possibilidades acima podem ocorrer no caso dos 2-aroilbenzofuranos, é importante assumir que a protonação pode ocorrer em diferentes sítios básicos e que o íon precursor é, na verdade, uma população de espécies protonadas, com excesso da população de espécies que possuem o próton ligado ao sítio mais básico da estrutura.

Neste estudo, utilizamos a afinidade protônica (PA) para identificar os sítios dos 2-aroilbenzofuranos mais suscetíveis à protonação. Todas as rotas de fragmentação foram elaboradas partindo-se do íon precursor mais estável de cada composto, que são resultantes de reações da protonação no sítio mais básico de cada estrutura. Portanto, a possibilidade de mobilidade do próton no estado pós-colisional do sítio mais básico para outros sítios menos básicos da estrutura não foi inicialmente considerada.

Na **figura 14** são representados os valores de PA obtidos por meio de Química Quântica Computacional, conforme descrito no item procedimento experimental (item 3.3). Com base em dados da literatura [128, 129], presumiu-se que os átomos de oxigênio da carbonila e do anel furânico, bem como os carbonos C8 e C9, poderiam ser potenciais sítios de protonação. Os valores de PA obtidos indicaram que o oxigênio da carbonila é o sítio mais suscetível à protonação na estrutura dos 2-aroilbenzofuranos **1-5**.

Figura 14. Afinidade protônica (PA) para os derivados de 2-aroilbenzofuranos **1-5**. Os valores de PA foram calculados em nível de teoria B3LYP/6-31+G(d). Todos os valores de PA estão em kcal/mol.

4.2.3 Formação dos íons produtos gerais B-G

Os íons produtos **B** (**A**–78) e **F** (m/z 105) são os mais intensos nos espectros de todos os derivados de 2-aroilbenzofuranos (figura 12, tabela 13). A formação destes íons acílios ocorre diretamente do íon precursor por meio de duas vias competitivas (**Esquema 22**, p. 67): eliminação de benzeno (78 u) (via **I**) ou de $C_8H_3OR_1R_2R_3$ (via **II**). Íons acílios com m/z 105 (**F**) são amplamente descritos na literatura como diagnósticos de estruturas que possuem carbonilas ligadas diretamente a anéis benzênicos [97]. Em EI-MS, a formação destes íons a partir do íon molecular – que é um cátion radical, ou seja, um íon elétron-ímpar – resulta de clivagens α , que levam à eliminação de um radical [130]. No caso

de **B** ($A-78$) e **F** (m/z 105), consideramos que estes foram gerados por rearranjo de hidrogênio a partir do oxigênio da carbonila para C1' e C8 (**Esquema 12**, p. 28), respectivamente (**Esquema 22**). Os dados dos experimentos de troca por deutério demonstraram que os íons produtos de $[M+D]^+$ possuem a mesma m/z dos íons produtos das moléculas protonadas (**Tabela 11**, p. 64). Estes dados evidenciaram que o próton/deutério ligado ao oxigênio da carbonila, que é o sítio mais básico da estrutura dos 2-aroilbenzofuranos **1-5**, está envolvido nas eliminações competitivas que levam à formação dos íons produtos **B** e **F**, conforme demonstrado no **esquema 22**. A formação competitiva de íons acílio já foi descrita similarmente na literatura em um trabalho publicado por Hu e colaboradores em estudos feitos em cetonas aromáticas α , β -insaturadas [131].

Esquema 22. Formação dos íons gerais observados nos espectros de íons produtos dos 2-aroilbenzofuranos **1-5** protonados, suas **entalpias** (H) e **energias de Gibbs** (G). Os valores de G e H foram calculados em nível de teoria B3LYP/6-31+G(d), expressas em kcal/mol.

Os dados termoquímicos obtidos por química quântica computacional, empregando nível de teoria B3LYP/6-31+G(d), foram utilizados para investigar as diferenças das intensidades relativas de **B** (**A**-78) e **F** (m/z 105) nos espectros de íons produtos dos derivados protonados de 2-aroilbenzofuranos **1-5**. Os valores de ΔG e ΔH envolvidos na formação de **B** e **F** foram bastante similares, o que não explica o fato de possuírem intensidades relativas diferentes para todos os 2-aroilbenzofuranos analisados na mesma energia de colisão. Sendo assim, a diferença nas intensidades relativas destes dois íons produtos não pôde ser associada diretamente às suas respectivas estabilidades relativas.

Neste caso, as diferenças podem estar relacionadas à energia transferida para o centro de massa do íon precursor (molécula protonada), que pode ser calculada pela equação $E_{com} = E_{lab} [m_c / (m_c + m_i)]$ [88, 90]. Na energia de colisão utilizada ($E_{lab} = 20$ eV), a energia transferida pela colisão do gás (argônio) para o centro de massa (E_{com}) das espécies protonadas de **1** (m/z 315), **2** (m/z 253), **3** (m/z 271), **4** (m/z 223) e **5** (m/z 237) é, teoricamente, 51,9, 62,9, 59,2, 70,1, e 66,5 kcal/mol, respectivamente. Esta energia é suficiente para promover a dissociação de **A** em **B** e **F** (ΔH entre 30 e 40 kcal/mol). Além disto, a energia remanescente do processo de CID quando E_{lab} é 20 eV pode converter a maioria dos íons fragmentos **F** (m/z 105) em **G** (m/z 77). Por outro lado, este valor de E_{lab} é suficiente para converter apenas uma pequena fração de íons **B** em **C** (ΔH entre 74,4 e 84,1 kcal/mol), **D** (ΔH entre 68,4 e 78,0 kcal/mol), e **E** (ΔH entre 49,7 e 58,1 kcal/mol). Em princípio, isto poderia explicar a alta intensidade relativa de **B** em comparação com as de **F** nos espectros de íons produtos da maioria dos 2-aroilbenzofuranos investigados em $E_{lab} = 20$ eV. Entretanto, os íons produtos **B** e **F** têm intensidades relativas similares no caso do derivado de 2-aroilbenzofurano **2**. Os valores de ΔH e ΔG envolvidos na conversão de $[2+H]^+$ em **F** é por volta de 4,0–8,6 kcal/mol maiores que os dos processos de dissociação correspondentes para os compostos **1** e **3-5**. Esta diferença não está associada à estabilidade relativa de **B**; ela é resultante do aumento da estabilidade da molécula protonada **2** devido ao efeito mesomérico elétron-doador do grupo metoxila ligado ao anel aromático A deste composto, conforme demonstrado nas estruturas de ressonância (**Esquema 23**, p. 69). Portanto, é necessário uma quantidade maior de energia para produzir **F** a partir de **A** ($\Delta H = 40,1$ kcal/mol e $\Delta G = 26,8$ kcal/mol) para o composto **2** do que para os outros derivados de 2-aroilbenzofuranos **1**, **3**, **4** e **5** ($\Delta H \cong 31,5$ – $36,1$ kcal/mol; $\Delta G = 18,4$ – $22,8$ kcal/mol). Como consequência disto, o íon produto **F** do composto **2** se dissocia menos em **G** (m/z 77), o que torna sua intensidade relativa

maior no espectro de íons produtos do composto **2** que nos espectros dos outros derivados de 2-aroilbenzofuranos investigados neste trabalho.

Esquema 23. Estruturas de ressonância do composto **2** protonado representando efeito de estabilização da molécula protonada pelo grupo metoxila no anel A.

De acordo com os dados dos experimentos de MS³ (disponíveis no Anexos **A58-A62**, p. 157-159), os íons produtos gerais **C**, **D** e **E** originam-se de **B**, conforme representado no **esquema 22** (p. 67). Estes íons resultam de eliminações competitivas de CO (28 u), CO₂ (44 u) e, a princípio, de C₂O₂ (56 u), respectivamente. A formação de **C** envolve uma clivagem heterolítica da ligação C8–C10 (**Esquema 12**, p. 28) com transferência de carga e formação de um cátion vinílico. Por outro lado, a conversão de **B** em **D** ocorre em duas etapas: (1) formação do intermediário **B'** (ΔH entre 36,1–62,7 kcal/mol), que envolve a expansão do anel furânico para produzir um anel δ -lactônico; e (2) eliminação de CO₂ por meio da contração do anel de seis membros formado para um anel de quatro membros, segundo um mecanismo concertado. As eliminações de CO₂ também têm sido descritas na literatura para outros sistemas heterocíclicos, tais como flavonas, flavonóis e flavanonas desprotonados [132, 133].

Por outro lado, a estrutura do cátion benzociclopropenila (**E**) já havia sido reportada na literatura em um trabalho de Givens e colaboradores para compostos aroilbenzofurânicos, utilizando ionização por elétrons (EI-MS) [112]. Neste trabalho, inicialmente, consideramos que o íon produto **E** foi formado devido à eliminação de etilenodiona (C₂O₂) a partir de **B**. Tal eliminação já havia sido reportada por benzodiazepinas, que foram investigadas por ESI-MS/MS [134]. Entretanto, Schröder e colaboradores descreveram a etilenodiona como uma molécula de tempo de vida curto, que se dissocia rapidamente em duas moléculas de CO [135]. Levando em conta os dados termoquímicos obtidos, verificou-se que a entalpia relativa de **E** em relação ao íon precursor **A** (H=0,0) quando é considerada a perda de C₂O₂, é maior que a entalpia para a

formação de **C** e de **D** em relação à molécula protonada em 25,7–44,0 kcal/mol e 31,8–50,0 kcal/mol, respectivamente. Entretanto, os dados obtidos dos experimentos de MS/MS demonstraram que o íon produto **E**, cuja formação compete com a de **C** e **D**, é o mais intenso no espectro de íons produtos de todos os compostos analisados, fato que torna incongruente tal evidência teórica. Por outro lado, quando se considera que o íon produto **E** é resultante da eliminação consecutiva de duas moléculas de CO, observou-se que sua formação é energeticamente favorecida (menor ΔH) em comparação a **C** e **D**, o que está em concordância com a intensidade relativa destes íons nos espectros de íons. Sendo assim, pode-se afirmar que a formação de **E** a partir de **B** ocorreu por eliminação de duas moléculas de CO e não da eliminação de C₂O₂.

4.2.4 Formação dos íons diagnósticos

O íon produto **H** (m/z 102), que é formado apenas para os compostos **1** e **3**, é diagnóstico da presença de halogênios no anel aromático A, conforme representado no **esquema 24**. Este íon produto origina-se de **E** por meio de uma clivagem homolítica da ligação C–X (X = Cl ou Br). Os valores estimados de ΔH e ΔG para a conversão de **E** em **H** são de 88,5 e 78,3 kcal/mol para **1** e 88,5 e 78,8 kcal/mol para **3**, respectivamente. Este processo de clivagem homolítica, apesar de violar a *regra do elétron-par* [97, 122, 136], é também descrito em outros trabalhos da literatura envolvendo sistemas aromáticos [137, 138].

Esquema 24. Formação do íon diagnóstico **H** para os compostos **1** e **3**. **Entalpia** (ΔH) e **energia de Gibbs** (ΔG) relativas estão expressas em kcal/mol

Os íons produtos **J** e **I** (**Esquema 25**, p.71) são diagnósticos da presença do grupo metoxila no anel aromático A. A formação de **I** (m/z 160) envolve a eliminação do radical metila por clivagem homolítica da ligação C4–O a partir de **B** (**Esquema 25**). Assim como em **H**, a formação de **I** também viola a *regra do elétron-par* [97, 122, 136]. Entretanto, neste caso, o elétron desemparelhado da estrutura de m/z 160 encontra-se estabilizado por ressonância. Este tipo de cátion radical formado pela eliminação de radical $\bullet\text{CH}_3$ já havia sido descrito na literatura para outras classes de compostos que possuem grupos metoxila

ligados a anéis aromáticos [122]. Além disto, o composto **2** apresenta o íon fragmento de **J** (m/z 89), que também é diagnóstico da presença do grupo metoxila no anel aromático A. Este íon é formado pela eliminação de formaldeído (30 u) através de um rearranjo de hidrogênio remoto à carga a partir de **E** [139]. Neste caso, os valores ΔH e ΔG envolvidos na formação do íon diagnóstico **J** a partir de **B** é de 75,1 e 39,4 kcal/mol, respectivamente, enquanto os valores de ΔH e ΔG para a formação de **I** a partir de **B** é de 74,8 e 61,8 kcal/mol, respectivamente.

Esquema 25. Formação dos íons diagnósticos **I** e **J** para o composto **2**. **Entalpia** (ΔH) e **energia de Gibbs** (ΔG) relativas estão expressas em kcal/mol

4.3 Estudo de fragmentação de neolignanas diidrobenzofurânicas protonadas

4.3.1 Correlações estrutura-fragmentação

O estudo de fragmentação das neolignanas diidrobenzofurânicas protonadas por ESI-MS/MS também foi conduzido em uma energia de colisão otimizada. Esta energia foi estimada levando em consideração a relação entre o E_{lab} ótimo e as respectivas intensidades relativas dos picos mais significativos (intensidade relativa maior que 5 % ou intensos em diversas outras energias de colisão) observados nos espectros de íons produtos. As variações das intensidades desses picos em função dos diferentes valores de E_{lab} dos compostos **6-13** foram plotadas em gráficos, que se encontram na **figura 15** (p. 74). A partir da análise destes gráficos, o valor E_{lab} ótimo escolhido para o estudo das reações de fragmentação das NDB **6-13** foi de 10 eV. Os espectros de íons produtos das NDB neste valor de E_{lab} encontram-se na **figura 16** (p. 75) e suas atribuições, feitas com base em medidas de massas acuradas (espectrômetro Q-TOF) e de experimentos de MSⁿ (espectrômetro IT), encontram-se reunidas na **tabela 12** (p. 76).

A análise dos dados listados na **tabela 12** revelou que os íons produtos **B** e **C** são comuns às NDBs **6-13**. Estes íons são resultantes das eliminações de uma e duas moléculas de CH₃OH (32 Da), respectivamente, diretamente do íon precursor (molécula protonada, **A**) e são intensos em todos os espectros de íons produtos das moléculas protonadas de **6-13**, nesta energia de colisão. Além destes, os picos referentes aos íons **D** e **E**, que são formados por perdas de CO (28 Da) a partir de **C** também foram observados nos espectros de íons produtos de todas as NDBs investigadas neste trabalho. Desta forma, os íons produtos **B** ([**A**-CH₃OH]⁺), **C** ([**B**-CH₃OH]⁺), **D** ([**C**-CO]⁺) e **E** ([**D**-CO]⁺), foram considerados como íons fragmentos comuns à série de NDBs analisada.

Foi também possível identificar uma série de íons produtos que podem ser considerados diagnósticos das estruturas estudadas, conforme representado no **esquema 26** (p. 73). Para os compostos **9** e **10**, que possuem o grupo acetil em suas estruturas, a eliminação de ceteno (42 Da) a partir do íon produto **C** compete com a eliminação de CO, levando à formação de **K** e seus derivados **L** ([**K**-CO]⁺) e **P** ([**L**-CO]⁺). Para o composto **8**, a eliminação de água a partir de **D** e a consequente perda de CO levou à formação dos íons diagnósticos **H** ([**D**-H₂O]⁺) e **M** ([**H**-CO]⁺), que são indicativos da presença do grupo hidroxila em C3. Por outro lado, as eliminações consecutivas de duas moléculas de CH₃OH a partir de **D** para **7** podem ser associadas à presença de grupos metoxila em C3 e C3', e

levam à formação dos íons produtos **N** (m/z 291) e **O** (m/z 259). Para o composto **13**, a eliminação de ceteno (42 Da) a partir de **B** e a consequente formação de **G** (m/z 281) é decorrente da presença de uma ligação simples entre C7' e C8' e da ligação dupla entre C7 e C8. Por sua vez, o íon produto **Q** (m/z 283) é resultante da eliminação de acetato de metila ($C_3H_6O_2$) diretamente da molécula protonada de **12**, e pode ser considerado diagnóstico da ausência de ligações duplas entre C7 e C8 e C7' e C8'. Além de **Q**, os íons produtos **F** ($[A-H_2O]^+$), **I** ($[A-C_6H_6O]^+$), e **J** ($[I-CH_3OH]^+$) são também diagnósticos da ausência de ligação dupla entre C7 e C8 e entre C7' e C8'. Todos os íons produtos foram atribuídos com base nos dados de massas acuradas, que apresentaram erro menor que 10 ppm em relação às respectivas massas exatas (teóricas).

Esquema 26. Correlações estrutura-fragmentação para as neolignanais diidrobenezofurânicas **6-13** protonadas. * Íons produtos que não foram observados em $E_{lab} = 10$ eV

Figura 15. Gráficos da intensidade relativa (%) de alguns íons produzidos das neolignanas diidrobenezofurânicas **6-13** protonadas em função da energia de colisão (E_{lab} , em eV).

Figura 16. Espectro de íons produtos (ESI-TOF) das neolignanas diidrobenzofurânicas **6-13** protonadas (gás de colisão N_2 , $E_{lab} = 10$ eV)

Tabela 12. Íons produtos mais significativos (intensidade relativa maior que 5 %) das neolignanais diidrobenezofurânicas **6-13** protonadas, na energia de colisão $E_{lab} = 10$ eV. As intensidades relativas (%) estão demonstradas entre parênteses.

	<i>m/z</i> Observado	<i>m/z</i> Teórico	Experimentos com D ₂ O	Erro (ppm)	Fórmula do íon	Atribuição
6	355,1167 (8)	355,1176	357	-2,5	C ₂₀ H ₁₉ O ₆ ⁺	A ([M+H] ⁺)
	323,0911 (14)	323,0914	324	-0,9	C ₁₉ H ₁₅ O ₅ ⁺	B (A –CH ₃ OH)
	291,0654 (100)	291,0652	292	+0,7	C ₁₈ H ₁₁ O ₄ ⁺	C (B –CH ₃ OH)
	263,0699 (71)	263,0703	264	-1,5	C ₁₇ H ₁₁ O ₃ ⁺	D (C –CO)
	235,0752 (12)	235,0754	---	-0,9	C ₁₆ H ₁₁ O ₂ ⁺	E (D –CO)
7	415,1358 (5)	415,1387	417	-7,0	C ₂₂ H ₂₃ O ₈ ⁺	A ([M+H] ⁺)
	383,1106 (22)	383,1125	384	-5,0	C ₂₁ H ₁₉ O ₇ ⁺	B (A –CH ₃ OH)
	351,0851 (100)	351,0863	352	-3,4	C ₂₀ H ₁₅ O ₆ ⁺	C (B –CH ₃ OH)
	323,0910 (52)	323,0914	---	-1,2	C ₁₉ H ₁₅ O ₅ ⁺	D (C –CO)
	295,0960 (15)	295,0965	---	-1,7	C ₁₈ H ₁₅ O ₄ ⁺	E (D –CO)
	291,0649 (7)	291,0652	---	-1,0	C ₁₈ H ₁₁ O ₄ ⁺	N (D –CH ₃ OH)
	259,0395 (5)	259,0390	---	+1,9	C ₁₇ H ₇ O ₃ ⁺	O (N –CH ₃ OH)
8	387,1049 (8)	387,1074	391	-6,5	C ₂₀ H ₁₉ O ₈ ⁺	A ([M+H] ⁺)
	355,0817 (14)	355,0812	358	+1,4	C ₁₉ H ₁₅ O ₇ ⁺	B (A –CH ₃ OH)
	323,0546 (93)	323,0550	326	-1,2	C ₁₈ H ₁₁ O ₆ ⁺	C (B –CH ₃ OH)
	295,0591 (100)	295,0601	298	-3,4	C ₁₇ H ₁₁ O ₅ ⁺	D (C –CO)
	267,0648 (10)	267,0652	---	-1,5	C ₁₆ H ₁₁ O ₄ ⁺	E (D –CO)
	277,0494 (8)	277,0495	---	-0,4	C ₁₇ H ₉ O ₄ ⁺	H (D –H ₂ O)
	249,0543 (5)	249,0546	---	-1,2	C ₁₆ H ₉ O ₃ ⁺	M (H –CO)
9	397,1269 (5)	397,1282	398	-3,3	C ₂₂ H ₂₁ O ₇ ⁺	A ([M+H] ⁺)
	365,1024 (22)	365,1020	365	+1,1	C ₂₁ H ₁₇ O ₆ ⁺	B (A –CH ₃ OH)
	333,0755 (100)	333,0757	333	-0,6	C ₂₀ H ₁₃ O ₅ ⁺	C (B –CH ₃ OH)
	291,0653 (73)	291,0652	---	+0,3	C ₁₈ H ₁₁ O ₄ ⁺	K (C –C ₂ H ₂ O)
	263,0701 (13)	263,0703	---	-1,5	C ₁₇ H ₁₁ O ₃ ⁺	L (K –CO)
	235,0750 (5)	235,0754	---	-0,9	C ₁₆ H ₁₁ O ₂ ⁺	P (L –CO)
10	457,1476 (2)	457,1493	458	-3,7	C ₂₄ H ₂₅ O ₉ ⁺	A ([M+H] ⁺)
	425,1232 (5)	425,1231	425	+0,2	C ₂₃ H ₂₁ O ₈ ⁺	B (A –CH ₃ OH)
	393,0959 (87)	393,0969	393	-2,5	C ₂₂ H ₁₇ O ₇ ⁺	C (B –CH ₃ OH)
	351,0855 (100)	351,0869	351	-4,0	C ₂₀ H ₁₅ O ₆ ⁺	K (C –C ₂ H ₂ O)
	323,0927 (5)	323,0914	---	+5,9	C ₁₉ H ₁₅ O ₅ ⁺	L (K –CO)
11	353,1001 (5)	353,1020	355	-5,4	C ₂₀ H ₁₇ O ₆ ⁺	A ([M+H] ⁺)
	321,0748 (100)	321,0757	322	-2,8	C ₁₉ H ₁₃ O ₅ ⁺	B (A –CH ₃ OH)
	289,0481 (39)	289,0495	289	-4,8	C ₁₈ H ₉ O ₄ ⁺	C (B –CH ₃ OH)
	261,0529 (32)	261,0546	---	-6,5	C ₁₇ H ₉ O ₃ ⁺	D (C –CO)
	233,0589 (13)	233,0597	---	-3,4	C ₁₆ H ₉ O ₂ ⁺	E (D –CO)
12	357,1330 (20)	357,1333	359	-0,8	C ₂₀ H ₂₁ O ₆ ⁺	A ([M+H] ⁺)
	339,1209 (40)	339,1227	---	-5,3	C ₂₀ H ₁₉ O ₅ ⁺	F (A –H ₂ O)
	325,1056 (38)	325,1071	326	-4,6	C ₁₉ H ₁₇ O ₅ ⁺	B (A –CH ₃ OH)
	293,0810 (44)	293,0808	294	-2,7	C ₁₈ H ₁₃ O ₄ ⁺	C (B –CH ₃ OH)
	283,0968 (55)	283,0965	---	+1,1	C ₁₇ H ₁₅ O ₄ ⁺	Q (A –C ₃ H ₆ O ₂)
	265,0862 (40)	265,0859	---	+1,1	C ₁₇ H ₁₃ O ₃ ⁺	D (C –CO)
	263,0914 (100)	263,0914	264	0,0	C ₁₄ H ₁₅ O ₅ ⁺	I (A –C ₆ H ₆ O)
	231,0653 (40)	231,0652	---	+0,4	C ₁₃ H ₁₁ O ₄ ⁺	J (I –CH ₃ OH)
13	355,1159 (15)	355,1176	357	-4,8	C ₂₀ H ₁₉ O ₆ ⁺	A ([M+H] ⁺)
	323,0904 (100)	323,0914	324	-3,1	C ₁₉ H ₁₅ O ₅ ⁺	B (A –CH ₃ OH)
	291,0640 (19)	291,0652	---	-4,1	C ₁₈ H ₁₁ O ₄ ⁺	C (B –CH ₃ OH)
	281,0819 (25)	281,0808	---	+3,9	C ₁₇ H ₁₃ O ₄ ⁺	G (B –C ₂ H ₂ O)
	263,0719 (21)	263,0703	---	+6,1	C ₁₇ H ₁₁ O ₃ ⁺	D (D –CO)
	235,0768 (12)	235,0754	---	+6,0	C ₁₆ H ₁₁ O ₂ ⁺	E (F –CO)

4.3.2 Sítio de protonação

Considerando que as NDBs apresentam vários sítios de protonação possíveis, recorreremos à literatura para determinar os sítios de suas estruturas mais suscetíveis à protonação. Bouchoux e colaboradores apresentaram várias relações entre as basicidades de diferentes grupos em compostos polifuncionalizados [128]. Neste trabalho, os autores reportaram que derivados de ácidos carboxílicos (por exemplo, ésteres e amidas) tendem a ser facilmente protonados em solução [128]. Hunter e Lias estabeleceram que a presença de ligações duplas conjugadas com a carbonila e a presença de grupos elétron-doadores por efeito mesomérico em carbonilas α,β -insaturadas aumentam a basicidade (afinidade protônica) [129]. Com base nestes trabalhos, todos os oxigênios das estruturas dos compostos **6-13** foram considerados como possíveis sítios de protonação e tiveram seus valores de afinidade protônica estimados por métodos computacionais, empregando um nível de teoria B3LYP/6-31G(d). O método e base B3LYP/6-31+G(d,p) também foi testado, porém não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos por estes dois métodos. Por esta razão, optou-se por utilizar o sistema de base B3LYP/6-31G(d), que levou a um menor custo computacional.

Os resultados obtidos indicaram que os valores de afinidade protônica (PA) são maiores para os átomos de oxigênio das carbonilas e para os oxigênios do anel diidrobenzofurânico, conforme mostrado na **figura 17** (p. 78). Além disto, a comparação entre os valores de PA dos compostos **6**, **11** e **13** evidenciou que a presença de ligações duplas conjugadas com a carbonila aumenta a afinidade protônica dos oxigênios dessas carbonilas, conforme previamente descrito na literatura [129]. Este aumento nos valores de afinidade protônica deve-se ao aumento da densidade eletrônica no átomo de oxigênio da carbonila devido à ligação dupla conjugada, conforme representado no **esquema 18** (p. 44). No caso do composto **13**, a conjugação com a ligação dupla torna o oxigênio da carbonila α,β -insaturada (O9) o mais básico da estrutura. No entanto, para todas as outras neolignanas investigadas neste estudo, o oxigênio da carbonila da porção propanoídica (O9') foi o sítio mais básico da estrutura dos compostos **6-12**. Sendo assim, o estudo da fragmentação das neolignanas **6-13** protonadas será realizado partindo-se dos compostos **6-12** protonados em O9' e do composto **13** protonado em O9. Desta forma, assumiremos que dentre o número total de possíveis moléculas protonadas, a população de moléculas protonadas em O9' (para os compostos **6-12**) ou em O9 (para o composto **13**) é maior que a de outras espécies formadas por protonação em outros sítios menos básicos das estruturas. Estes dados são indicativos de que apesar do perfil de fragmentação do

composto **13** ser similar ao dos compostos **6-12**, a formação dos íons produtos deve ocorrer de maneira distinta.

Figura 17. Valores de afinidade protônica (PA, em kcal/mol) estimados para as neolignanas **6-13**. Os valores calculados foram estimados empregando nível de teoria B3LYP/6-31G(d).

4.3.3 Íons fragmentos gerais

Os picos referentes aos íons **B** e **C** são comuns às neolignanas **6-13**, sendo que o íon **C** é o mais intenso nos espectros de íons produtos da maioria das neolignanas **6-12** em $E_{lab}=10$ eV. Conforme mostrado na (tabela 12, p. 76), estes íons são resultantes de uma e duas perdas de CH_3OH , respectivamente. Em princípio, as eliminações de metanol para a formação dos íons produtos **B** ($[\text{A}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$) e **C** ($[\text{B}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$) podem ocorrer por dois mecanismos bem estabelecidos na literatura. No primeiro mecanismo, a eliminação de metanol é precedida pela migração do próton ligado ao oxigênio da carbonila ($\text{O}9'$) para o oxigênio do éster, que é então convertido em um bom grupo abandonador e eliminado na forma de metanol por meio de cisão heterolítica e consequente formação de íon acílio [94]. No segundo mecanismo, a eliminação de metanol se dá por meio de rearranjo de hidrogênio remoto à carga [94], sem que ocorra a migração do próton em $\text{O}9'$ para $\text{O}10$ ou $\text{O}10'$. Para obter mais informações sobre qual (ou quais) desses mecanismos estão operando na conversão do íon precursor nos íons produtos **B** e **C**, foram realizados experimentos de troca por deutério, cujos espectros encontram-se no Anexo 79 (p. 169). A análise dos dados desses experimentos (tabela 12, p. 76) revelou que, para todas as neolignanas analisadas, o íon produto **B** é formado por eliminação de CH_3OD (33 Da) a partir do íon precursor. Este dado é uma forte evidência de que o mecanismo de clivagem *i* assistido pelo par de elétrons do oxigênio adjacente está envolvido na formação de **B**. Por outro lado, a eliminação de CH_3OD a partir de **B** para formar **C** foi observada apenas para o composto **11**, mostrando que a migração do deutério ocorreu apenas na formação de **C** ou, então, que o deutério está envolvido no rearranjo de hidrogênio que leva à sua formação.

Considerando que o sítio mais básico da estrutura dos compostos **6-12** é $\text{O}9'$, é necessário que o próton migre de $\text{O}9'$ para $\text{O}10'$ para que ocorra a heterólise da ligação $\text{C}9'-\text{O}10'$, que leva eliminação de MeOH/MeOD e à consequente formação de **B**. De acordo com os dados de afinidade protônica, são necessários por volta de 18,5-10,0 kcal/mol para que esta migração possa ocorrer (Esquema 27, p. 81). Este conteúdo de energia pode ser suprido pela energia transferida durante a ativação colisional. Com a migração do próton, ocorre o aumento do comprimento da ligação $\text{C}9'-\text{O}10'$, que culmina na clivagem indutiva com transferência de carga assistida pelo par de elétrons não ligantes do átomo de oxigênio [140, 141], levando à formação de um íon acílio **B**.

A eliminação de metanol a partir de **B** por meio de um rearranjo de hidrogênio remoto à carga [142], com consequente formação de um ceteno cíclico, origina o íon **C**,

que é o mais intenso no espectro de íons produtos de **6**, **7** e **9** (**Esquema 27**, p. 81). Para as neolignanais **6-10**, a entalpia necessária para tal clivagem é de 30,7-34,6 kcal/mol (**Esquema 27**, p. 81). O mecanismo proposto envolve a participação de H8 e está suportado pelos dados dos experimentos de troca por deutério (**Tabela 12**, p. 76).

A formação dos íons produtos **D** ($[\text{C-CO}]^+$) e **E** ($[\text{D-CO}]^+$) é resultante das eliminações de CO. O mecanismo mais simples que poderia levar à eliminação de CO seria a clivagem heterolítica da ligação C8'-C9'. No entanto, o íon produto formado seria um cátion vinílico pouco estável. Em virtude dessa pouca estabilidade, a descarbonilação por este mecanismo para formar **D** não foi explorada neste estudo. A formação de **D** foi proposta a partir do íon acílio intermediário **C1**, formado a partir de **C** através do mecanismo representado no **esquema 27** (p. 81). Apesar de a formação de **C1** ser favorecida pela entropia, uma vez que **C1** apresenta um número de graus de liberdade maior que o de **C** devido à abertura do anel diidrofurânico, esta etapa é acompanhada por perda da aromaticidade do anel, sendo, portanto, endotérmica ($\Delta H=6,7-9,7$ kcal/mol) e endergônica ($\Delta G=8,8-5,6$ kcal/mol). A formação de **D** a partir do intermediário **C1**, assim como a formação de **E** a partir de **D**, ocorrem por meio de descarbonilações, similares àquelas descrita para várias classes de produtos naturais, tais como terpenoides [143], iridoides [144], alcaloides [145, 146], quinonas [147, 148] e flavonoides [149]. Neste caso, as descarbonilações são precedidas por tautomerização do fenol aos intermediários ciclohexadienona **C1** e **D1**, conforme representado no **esquema 27** (p. 81). A descarbonilação para a formação de **E** requer uma energia bem maior que a descarbonilação para a formação de **D** ($\Delta H_{\text{D} \rightarrow \text{E}}=34,2-47,5$ kcal/mol; $\Delta H_{\text{C} \rightarrow \text{D}}=13,4-22,2$ kcal/mol). É importante ressaltar que os íons **E** das neolignanais **7** (m/z 297) **8** (m/z 267) foram observados em baixas intensidades relativas nos respectivos espectros de íons produtos obtidos em $E_{\text{lab}} = 10$ eV. Este fato foi associado à presença dos grupos -OH e -OCH₃ presente na estrutura desses compostos, que induzem a vias de fragmentação que levam à formação dos íons diagnósticos **N** e **O** (composto **7**) e **H** e **M** (composto **8**), conforme será discutido no item 4.3.4.

Ao contrário do que foi observado para os demais compostos, o pico referente ao íon **D** é o mais intenso no espectro de íons produtos do composto **8**. Este fato pode estar associado à presença de três hidroxilas fenólicas na estrutura deste composto, uma vez que os hidrogênios dessas hidroxilas poderiam também participar das tautomerizações que precedem as descarbonilações, aumentando, assim, o número de íons **D** e, consequentemente, contribuindo para o aumento de sua intensidade relativa no espectro de

íons produtos. Além disso, é possível observar que a formação de **B** a partir do íon precursor de **8** ($\Delta H=12,0$ kcal/mol; $\Delta G=1,2$ kcal/mol) é energeticamente mais favorecida para este composto que para as neolignanas **6-10**. Considerando que os valores de ΔH e de ΔG envolvidos na formação de **C** a partir de **B** para os compostos **6-10** são muito próximos, há uma tendência de que o número de íons **C** formados a partir de **B** seja maior para o composto **8** em um mesmo valor de E_{lab} . Como os valores de ΔH e de ΔG referentes à formação de **D** a partir de **C** dos compostos **6-8** são muito próximos, a maior intensidade do íon **D** no espectro de íons produtos do composto **8** pode ser explicada pelo maior número de íons **C** disponíveis para serem convertidos em **D**.

Esquema 27. Formação dos íons produtos **B** e **C** para as neolignanas **6-10** protonadas e **D** e **E** para **6-8** protonadas, e suas respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

No caso da neolignana benzofurânica **11** protonada, a formação do íon produto **B** ocorre de maneira similar à proposta para os compostos **6-10**. No entanto, a formação de **C**, que para os compostos **6-10** ocorre por meio de um rearranjo de hidrogênio remoto com participação de H8, ocorre com participação do hidrogênio da hidroxila fenólica, conforme mostrado no **esquema 28** (p. 83). Esta diferença entre as vias de fragmentação de **11** em relação aos compostos **6-10** deve-se à presença de ligação dupla entre C7 e C8. Na ausência de H8 na estrutura de **11**, a eliminação de metanol para formar **C** ocorre com participação do hidrogênio da hidroxila fenólica (O4). Este mecanismo está de acordo com os dados dos experimentos de troca por deutério (**Tabela 12**, p. 76). Comparando-se os valores de ΔH e de ΔG estimados para a formação de **C** a partir de **B** para o composto **11** ($\Delta H=52,4$ kcal/mol e $\Delta G=39,7$ kcal/mol) com os respectivos valores dos compostos **6-10** ($\Delta H_{6-10}=30,3-34,6$ kcal/mol e $\Delta G_{6-10}=17,8-21,2$ kcal/mol), foi possível observar que esses valores são maiores para o composto **11**. Isto se deve ao fato que, no caso do composto **11**, a eliminação da segunda molécula de metanol é acompanhada por perda da aromaticidade do anel benzênico. Os valores de ΔH e de ΔG estão de acordo com a intensidade relativa de **B** no espectro de íons produtos do composto **11** protonado, onde o mesmo é o mais intenso até a energia de colisão de 25 eV (**Figura 15**, p. 74). A formação do íon produto **D** a partir de **C** também ocorre por descarbonilação, segundo o mesmo mecanismo proposto para os compostos **6-8**. No entanto, para o composto **11** esta descarbonilação ocorre diretamente da porção quinonametídica de **C** e não requer passagem por íons intermediários do tipo **C1**, conforme mostrado no **esquema 28** (p. 83). Esta diferença no mecanismo está consistente com os valores de ΔH estimados para a formação de **D** a partir de **C** do composto **11** ($\Delta H_{C \rightarrow D}=17,4$ kcal/mol), **6** ($\Delta H_{C \rightarrow D}=30,0$ kcal/mol), **7** ($\Delta H_{C \rightarrow D}=20,1$ kcal/mol) e **8** ($\Delta H_{C \rightarrow D}=27,0$ kcal/mol). Por outro lado, a formação de **E** requer clivagem da ligação C8'-C9' para a eliminação de CO (28 Da) e resulta na formação de um cátion vinílico pouco estável ($\Delta H_{D \rightarrow E}=74,4$ kcal/mol). Esse valor é próximo daqueles estimados no estudo dos 2-aroilbenzofuranos **1-5** protonados ($\Delta H=84,1-74,4$ kcal/mol).

Esquema 28. Formação dos íons produtos **B**, **C**, **D** e **E** para a neolignana **11** protonada e suas respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

Com relação ao composto **12**, a ausência da ligação dupla entre C7' e C8' impossibilita a formação de intermediário **C1** pelo mesmo mecanismo proposto no **esquema 27** (p. 81) para os compostos **6-10**. Neste caso, a clivagem heterolítica da ligação entre C8' e C9' para a eliminação de CO a partir de **C** é assistida pela migração de um hidreto, resultando na formação de um carbocátion benzílico **D2**, conforme representado no **esquema 29** (p. 84). A formação de **D2** a partir de **C** é exotérmica ($\Delta H = -15,8$ kcal/mol) e exergônica ($\Delta G = -26,1$ kcal/mol). Apesar de os baixos valores de ΔH e de ΔG favorecerem a formação de **D2**, sua intensidade relativamente baixa no espectro de íons produtos do composto **12** deve-se ao fato de que a formação de **B** (e, consequentemente, de **C**) a partir do íon precursor é desfavorecida em relação à formação de **I** (m/z 263, **esquema 33**, p. 89), conforme será discutido no item 4.3.4. Por outro lado, a formação de **E1** (m/z 237) a partir de **D2** é endotérmica ($\Delta H = 31,2$ kcal/mol) e endergônica ($\Delta G = 19,2$

kcal/mol), o que justifica o fato de **E** ser observado no espectro de íons produtos de **12** apenas em energias de colisão mais altas.

Esquema 29. Formação dos íons produtos **B**, **C**, **D** e **E** da neolignana **12** protonada e suas respectivas **Entalpias** e *energia de Gibbs*, em kcal/mol.

A neolignana benzofurânica **13** é o único composto da série em que a protonação não ocorre em O9' e sim em O9, conforme pode ser observado na **figura 17** (p. 78). Neste caso, a afinidade protônica (PA) é 5,0 kcal/mol maior em O9 que em O9'. Após o processo de ativação colisional, o próton pode migrar de O9 para O10 ($\Delta H = 20,6$ kcal/mol) e culminar na eliminação de metanol por meio da clivagem heterolítica da ligação entre C9 e O10 para formar o íon acílio **B** (m/z 323), que é o mais intenso no espectro de íons produtos do composto **13** protonado (**Esquema 30**, p. 85). A intensidade deste íon no espectro pode ser associada a dois fatores: a) os valores relativamente baixos de ΔH e de

ΔG (17,7 kcal/mol e 3,2 kcal/mol, respectivamente) envolvidos na sua formação, e b) os valores ΔH e de ΔG relativamente altos ($\Delta H=44,8$ kcal/mol, $\Delta G=33,1$ kcal/mol) para sua conversão em **C**. Este último fator é reflexo direto de sua estabilidade, já que na estrutura do íon produto **B** deste composto a carga positiva está altamente estabilizada por ressonância.

Diferentemente do que foi descrito para os compostos **6-12**, a formação de **E** a partir de **D** para o composto **13** ocorre com abertura do anel furânico envolve, inicialmente, um rearranjo de hidrogênio envolvendo H7', que ocorre às custas da aromaticidade de **D4** ($\Delta H=18,7$ kcal/mol, $\Delta G=17,8$ kcal/mol, **esquema 30**). Finalmente, a formação de **E** a partir de **D5** ocorre por descarbonilação da ciclohexadienona **D5** ($\Delta H=21,6$ kcal/mol, $\Delta G=9,5$ kcal/mol). As relações entre íons precursores e íons produtos citadas foram confirmadas por experimentos de MS^n , cujos espectros estão disponíveis nos Anexos **A63-A70** (p. 159-163).

Esquema 30. Formação dos íons produtos **B**, **C**, **D** e **E** para a neolignana **13** protonada e suas respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

4.3.4 Formação dos íons diagnósticos

O íon produto **K** é diagnóstico da presença do grupo acetil nas estruturas **9-10**. Este íon é resultante da eliminação de ceteno (42 Da) a partir do íon produto **C**. Na literatura, é bem estabelecido que a eliminação de ceteno pode ocorrer, em princípio, por um rearranjo de hidrogênio remoto ou, em alguns casos, por um rearranjo do tipo McLafferty [94]. Nos casos em que ambos os mecanismos podem ocorrer, o rearranjo do tipo McLafferty é cineticamente mais favorecido que o rearranjo de hidrogênio remoto, uma vez que o primeiro envolve um estado de transição de seis membros, enquanto o segundo requer a passagem por um estado de transição de quatro membros [94, 150]. Um mecanismo similar ao proposto no **esquema 31** (p. 87) para a formação de **K** também já foi descrito na literatura para a *N*-acetil-*O*-metil-prolina [151]. Os dados termoquímicos estimados por Química Computacional revelaram que a formação de **K** é endotérmica e endergônica tanto para o composto **9** ($\Delta H=53,5$ kcal/mol $\Delta G=41,8$ kcal/mol) como para o composto **10** ($\Delta H=50,6$ kcal/mol e $\Delta G=38,6$ kcal/mol para **10**). Estes valores relativamente altos de ΔH e de ΔG podem ser atribuídos à perda da aromaticidade do anel que ocorre quando o íon **C** se converte em **K**. Apesar disso, o pico do íon produto **K** é intenso no espectro de íons produtos de **9** e é o mais intenso no respectivo espectro de **10**. Este fato experimental, que aparentemente contradiz os dados termoquímicos obtidos por Química Quântica Computacional, pode estar mais relacionado à energia crítica (um parâmetro cinético) envolvida em sua formação do que à sua estabilidade (um parâmetro termodinâmico). Entretanto, devido ao custo computacional, nenhum estado de transição envolvido na formação de **K** foi investigado neste trabalho. Já os íons **L** e **P**, que também são diagnósticos dos compostos **9** e **10**, são formados por uma e duas descarbonilações, respectivamente (**Esquema 31**). Entretanto, a intensidade relativa desse íon no espectro de íons produtos de **9** é baixa, e em **10** é observado em energias de colisão maiores que 25 eV, ou seja, está de acordo com os altos valores de ΔH e de ΔG envolvidos em suas formações.

Esquema 31. Formação dos íons produtos diagnósticos **K**, **L** e **P** das neolignananas **9-10** protonadas. Abaixo apresentadas as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol

O íon produto **G** ($[\text{C}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$) pode ser considerado diagnóstico da neolignanana benzofurânica **13**. A formação deste íon a partir de **B** foi proposta com base nos dados dos experimentos de MS^3 (Anexo **A70**, p. 163). Apesar de a formação de **G** competir com a formação de **C** a partir de **B**, esses íons são formados por vias de fragmentação distintas, conforme mostrado nos **esquemas 30** (p. 85) e **32** (p. 88). Na via que origina **G**, a formação de **B** é precedida pela migração do próton do oxigênio da carbonila α,β -insaturada (O9) para O9', com posterior migração para O10' e, consequente, com perda de metanol. Essa migração torna-se possível graças à pequena diferença entre as afinidades protônicas de O9 e O9' – apenas 5,2 kcal/mol. A diferença de energia entre as espécies protonadas pode ser suprida pela energia transferida no processo de ativação colisional, considerando que o E_{com} transferida em CID é de 16,8 kcal/mol. A formação de **G** a partir de **B1** envolve a clivagem da ligação C7'–C8' e perda de $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ (42 Da), como demonstrado no **esquema 32** (p. 88). Apesar de a formação do íon produto **B** diretamente do íon precursor ser endotérmica e endergônica para as duas vias (**esquemas 30** e **32**, p. 85 e 88), o fato de não haver nenhuma via competindo com a formação de **B** a partir de **A** e o fato de o íon **B** ser formado por mais de uma via podem explicar a sua alta intensidade relativa no espectro de íons produtos do composto **13** protonado. Os valores de ΔH e de ΔG envolvidos na formação de **B** são menores para a via que leva à **C** ($\Delta H=17,7$ kcal/mol; $\Delta G=3,2$ kcal/mol) que para a via que leva à **G** ($\Delta H=48,7$ kcal/mol; $\Delta G=36,0$ kcal/mol). Este fato pode explicar, pelo menos em princípio, por que a intensidade de **C** é maior que a de **G**, apesar de os valores de ΔH e de ΔG envolvidos na formação de **C** a partir de **B** ($\Delta H=44,8$ kcal/mol; $\Delta G=33,2$ kcal/mol) serem menores que os estimados para a formação de **G** a partir de **B** ($\Delta H=3,7$ kcal/mol; $\Delta G=-7,8$ kcal/mol).

Esquema 32. Formação do íon produto **G** para a neolignana **13** protonada, que é diagnóstico da ausência da ligação dupla entre C7' e C8' as **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol, dos íons envolvidos em sua formação.

Os íons produtos **F**, **I**, **J** e **Q** foram observados apenas no espectro de íons produtos do composto **12** protonado. Esses íons podem ser considerados diagnósticos da presença de ligações simples entre C7 e C8 e entre C7' e C8'. A formação destes íons diretamente do íon precursor (**esquema 33**, p. 89) compete com a formação de **B** (**esquema 30**, p. 85). Para o composto **12**, a diferença entre as afinidades protônicas do oxigênio da carbonila (O10') e o oxigênio do anel diidrofurânico é de apenas 0,4 kcal/mol. Esta energia pode ser suprida pela energia transferida para o centro de massa da molécula protonada durante a ativação colisional [127]. A espécie protonada **A2** assim formada pode fragmentar-se seguindo duas vias competitivas, que levarão à formação dos íons diagnósticos de **12**.

Na via **I** (**Esquema 33**, p. 89), o íon produto **Q** (m/z 283) é resultante de um rearranjo de hidrogênio, com consequente dissociação da ligação C7'–C8'. Este processo é um endotérmico ($\Delta H=5,9$ kcal/mol), porém exergônico ($\Delta G=-6,6$ kcal/mol). Esses baixos valores de ΔH e de ΔG , associados ao fato de este íon ter sido formado diretamente do íon precursor, podem explicar a intensidade relativamente alta deste íon nos espectros de íons produtos da neolignana **12**. Na via **II**, a conversão de **A2** em **A3** se dá por meio de um rearranjo de hidrogênio, que resulta em perda de aromaticidade do anel benzofurânico ($\Delta H=16,4$ kcal/mol, $\Delta G=-17,8$ kcal/mol, conforme mostrado no **esquema 33** (p. 89). Na etapa seguinte ocorre abertura do anel diidrofurânico por meio da clivagem heterolítica da ligação C4'–O, originando o carbocátion benzílico **A4**. A formação de **A4** a partir de **A3** é exotérmica ($\Delta H=-25,4$ kcal/mol) e exergônica ($\Delta G=-25,6$ kcal/mol). O íon produto **I** (m/z

263), que é o pico base dos espectros de íons produtos da neolignana **12** protonada, é formado a partir do íon intermediário **A4** pela perda de fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, 94 Da) através de um rearranjo de hidrogênio remoto à carga (**esquema 33**, via **IIa**) [152]. Esta clivagem leva à formação de um íon com conjugação estendida ($\Delta H=12,0$ kcal/mol, $\Delta G=0,0$ kcal/mol). O íon produto **J** (m/z 231), que tem conjugação estendida em relação a **I** m/z 263, pode ser formado a partir de **I** através de um rearranjo de hidrogênio remoto à carga. Por outro lado, a via **IIb** produz **F** (m/z 339) a partir de **A4** por meio de um rearranjo de hidrogênio remoto à carga, que leva à eliminação de H_2O (18 Da), com $\Delta H=13,6$ kcal/mol e $\Delta G=2,4$ kcal/mol (**esquema 33**, p. 91) [153]. A intensidade relativamente alta desses íons no espectro de íons produtos da neolignana **12** pode ser interpretada em termos dos baixos valores de ΔH e de ΔG envolvidos em suas formações, que tornam esta via mais favorecida que a que produz **B** ($[\text{A}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$), **C** ($[\text{B}-\text{CO}]^+$) e **D** ($[\text{C}-\text{CO}]^+$)

Esquema 33. Formação dos íons produtos **F**, **I**, **J** e **Q** para a neolignana **12**, que é diagnóstico da ausência da ligação dupla entre C7' e C8'. Abaixo das estruturas estão apresentadas as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

Os grupos substituintes hidroxila e metoxila ligados a C3 e C3' das estruturas de **7** e **8**, respectivamente, também levaram à formação de íons diagnósticos. Para o composto **8**, os íons produtos **H** (m/z 277, $[\mathbf{D}-\text{H}_2\text{O}]^+$) e **M** (m/z 249, $[\mathbf{H}-\text{CO}]^+$) são formados a partir de **D** por meio de um rearranjo de hidrogênio remoto à carga ($\Delta H=77,6$ kcal/mol, $\Delta G=62,9$ kcal/mol) [153], seguido por descarboxilação ($\Delta H=47,8$ kcal/mol, $\Delta G=35,7$ kcal/mol)[147, 148], conforme mostrado no **esquema 34** (p. 91). A via de fragmentação que leva à formação do íon produto **H** a partir de **D** compete com a que leva à formação de **E** ($\Delta H=47,5$ kcal/mol, $\Delta G=35,2$ kcal/mol), porém é energeticamente menos favorecida e, conseqüentemente, os íons **H** e **D** são menos intensos que **E** no espectro de íons produtos da neolignana **8** protonada.

Para a neolignana **7**, o íon produto diagnóstico **N** ($[\mathbf{D}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$) e seu derivado **O** ($[\mathbf{N}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$) são formados a partir de **D** por meio de dois rearranjos de hidrogênio remotos à carga, conforme representado no **esquema 34** (p. 91). A via que leva à formação de **N** ($\Delta H=125,0$ kcal/mol, $\Delta G=96,9$ kcal/mol) também compete com a que leva à formação de **E** ($\Delta H=43,2$ kcal/mol, $\Delta G=-11,9$ kcal/mol) a partir de **D**, que é energeticamente menos favorecida.

Esquema 34. Formações dos íons produtos **H** e **M**, diagnósticos de **8**, e **N** e **O**, diagnósticos de **7**. Abaixo de cada estrutura encontram-se as respectivas **Entalpias** e *energia de Gibbs*, em kcal/mol.

4.4 Estudo de fragmentação de neolignanas diidrobenzofurânicas desprotonadas por ESI-MS/MS

4.4.1 Correlações estrutura-fragmentação

Assim como foi feito para os 2-aroilbenzofuranos protonados **1-5** e para as neolignanas diidrobenzofurânicas **6-13** protonadas, a primeira etapa do estudo da fragmentação das neolignanas diidrobenzofurânicas **6-13** desprotonadas consistiu na investigação do efeito da energia de colisão (E_{lab}) sobre as intensidades do íon precursor e dos íons produtos. Os espectros foram obtidos usando valores de E_{lab} entre 5 e 40 eV. Os gráficos mostrando a variação na intensidade desses íons nesta faixa de valores de E_{lab} encontram-se na **Figura 18** (p. 93). A análise destes gráficos indicou que a energia de colisão (E_{lab}) de 25 eV era a mais adequada para o estudo da fragmentação das neolignanas **6-13** desprotonadas por ESI-MS/MS. Na **Figura 19** (p. 94) encontram-se os espectros de íons produtos adquiridos em espectrômetro de massas equipado com analisador híbrido Q-TOF. Na **Tabela 13** (p. 95) encontram-se os valores de massas acuradas obtidos para cada íon produto, juntamente com as fórmulas dos íons produtos, seus respectivos erros e atribuições.

A análise sistemática dos espectros de íons produtos da **Figura 19** (p. 94) revelou que os compostos **6-13**, na forma desprotonada, podem ser divididos em dois grupos distintos, conforme mostrado no **esquema 35** (p. 96). No primeiro grupo encontram-se as neolignanas benzofurânicas **11** e **13**, que se diferem das demais por possuírem uma ligação dupla entre C7 e C8, e para as quais o íon produto **D** ($[M-H-C_2H_3O_2\bullet]^-$) é um íon comum. Os compostos **11** e **13** podem ser diferenciados um do outro com base nos íons produtos **E** ($[D-C_2H_3O_2\bullet]^-$) e **F** ($[D-C_3H_5O_2\bullet]^-$). No segundo grupo enquadram-se as neolignanas diidrobenzofurânicas **6-10**, e **12**, que apresentam uma ligação simples entre C7 e C8. Para esse grupo, os íons produtos **B** ($[M-H-MeOH]^-$) e **C** ($[B-CO]^-$) são íons em comum.

Figura 18. Gráficos da intensidade relativa (%) dos íons produzidos das neolignanas **6-13** desprotonadas em função energia de colisão (E_{lab} , em eV).

Figura 19. Espectro de íons produtos (ESI-TOF) das neolignanas **6-13** desprotonados (N_2 como gás de colisão, $E_{lab} = 25$ eV).

Tabela 13. Íons produtos das neolignanas **6-13** desprotonados, na energia de colisão de 25 eV. As intensidades relativas (%) estão demonstradas entre parênteses.

	<i>m/z</i> Observado	<i>m/z</i> Teórico	Erro (ppm)	Fórmula do íon	Atribuição
6	353,1017 (5)	353,1031	-4,0	C ₂₀ H ₁₇ O ₆ ⁻	A ([M-H] ⁻)
	321,0768 (100)	321,0763	+1,6	C ₁₉ H ₁₃ O ₅ ⁻	B (A -CH ₃ OH)
	293,0813 (91)	293,0814	-0,3	C ₁₈ H ₁₃ O ₄ ⁻	C (B -CO)
	265,0852 (43)	265,0870	-6,8	C ₁₇ H ₁₃ O ₃ ⁻	S (C -CO)
	233,0602 (25)	233,0608	-2,6	C ₁₆ H ₉ O ₂ ⁻	U (C -C ₂ H ₄ O ₂)
	206,0722 (10)	206,0733	-5,3	C ₁₅ H ₁₀ O ⁻	T (S -•C ₂ H ₃ O ₂)
	192,0584 (8)	192,0581	+1,6	C ₁₄ H ₈ O ⁻	V (U -•C ₂ HO)
7	164,0622 (5)	164,0631	-5,5	C ₁₃ H ₈ ⁻	X (V -CO)
	413,1239 (9)	413,1242	-0,7	C ₂₂ H ₂₁ O ₈ ⁻	A ([M-H] ⁻)
	398,1002 (85)	398,1002	0,0	C ₂₁ H ₁₈ O ₈ ⁻	G (A -•CH ₃)
	381,0971 (100)	381,0980	-2,4	C ₂₁ H ₁₇ O ₇ ⁻	B (A -CH ₃ OH)
	366,0747 (42)	366,0740	+1,9	C ₂₀ H ₁₄ O ₇ ⁻	H (B -•CH ₃)
	353,1038 (90)	353,1025	+3,7	C ₂₀ H ₁₇ O ₆ ⁻	C (B -CO)
	338,0792 (56)	338,0790	+0,6	C ₁₉ H ₁₄ O ₆ ⁻	I (H -CO)
8	323,0554 (5)	323,0556	-0,6	C ₁₈ H ₁₁ O ₆ ⁻	J (I -•CH ₃)
	264,0419 (5)	264,0428	-3,4	C ₁₆ H ₈ O ₄ ⁻	K (J -•C ₂ H ₃ O ₂)
	385,0922 (20)	385,0929	-1,8	C ₂₀ H ₁₇ O ₈ ⁻	A ([M-H] ⁻)
	353,0678 (100)	353,0667	+3,1	C ₁₉ H ₁₃ O ₇ ⁻	B (A -CH ₃ OH)
	325,0704 (12)	325,0718	-4,3	C ₁₈ H ₁₃ O ₆ ⁻	C (B -CO)
	309,0744 (42)	309,0763	-6,1	C ₁₈ H ₁₃ O ₅ ⁻	R (B -CO ₂)
	395,1132 (12)	395,1136	-1,0	C ₂₂ H ₁₉ O ₇ ⁻	A ([M-H] ⁻)
9	363,0852 (5)	363,0874	-6,1	C ₂₁ H ₁₅ O ₆ ⁻	B (A -CH ₃ OH)
	353,1035 (20)	353,1031	+1,1	C ₂₀ H ₁₇ O ₆ ⁻	M (A -C ₂ H ₂ O)
	335,0908 (91)	335,0925	-5,1	C ₂₀ H ₁₅ O ₅ ⁻	Y (A -C ₂ H ₄ O ₂)
	321,0767 (100)	321,0763	+1,2	C ₁₉ H ₁₃ O ₅ ⁻	N (M -CH ₃ OH ou B -C ₂ H ₂ O)
	293,0814 (5)	293,0815	-0,3	C ₁₈ H ₁₃ O ₄ ⁻	O (N -CO)
	455,1352 (30)	455,1348	+0,9	C ₂₄ H ₂₃ O ₉ ⁻	A ([M-H] ⁻)
	440,1130 (87)	440,1113	+3,9	C ₂₃ H ₂₀ O ₉ ⁻	G (A -•CH ₃)
10	425,0903 (60)	425,0878	+5,9	C ₂₂ H ₁₇ O ₇ ⁻	L (G -•CH ₃)
	423,1105 (15)	423,1085	+4,7	C ₂₀ H ₁₄ O ₇ ⁻	B (A -CH ₃ OH)
	408,0872 (15)	408,0851	+5,1	C ₂₂ H ₁₆ O ₈ ⁻	H (B -•CH ₃)
	395,1131 (100)	395,1136	-1,3	C ₂₂ H ₁₉ O ₇ ⁻	Y (A -C ₂ H ₄ O ₂)
	351,0868 (12)	351,0874	-1,7	C ₂₀ H ₁₅ O ₆ ⁻	A ([M-H] ⁻)
	292,0736 (100)	292,0735	+0,3	C ₁₈ H ₁₂ O ₄ ⁻	D (A -•C ₂ H ₃ O ₂)
	233,0609 (5)	233,0603	+2,6	C ₁₆ H ₉ O ₂ ⁻	E (D -•C ₂ H ₃ O ₂)
12	355,1181 (5)	355,1187	-1,7	C ₂₀ H ₁₉ O ₆ ⁻	A ([M-H] ⁻)
	323,0919 (100)	323,0925	-1,9	C ₁₉ H ₁₅ O ₅ ⁻	B (A -CH ₃ OH)
	295,0970 (35)	295,0976	-2,0	C ₁₈ H ₁₅ O ₄ ⁻	C (B -CO)
	291,0656 (55)	291,0657	-0,3	C ₁₈ H ₁₁ O ₄ ⁻	P (B -CH ₃ OH)
	263,0709 (81)	263,0714	-1,9	C ₁₇ H ₁₁ O ₃ ⁻	Q (P -CO)
	222,0680 (5)	222,0686	-2,7	C ₁₅ H ₁₀ O ₂ ⁻	Z (Q -•C ₂ HO)
	353,1036 (5)	353,1031	+1,4	C ₂₀ H ₁₇ O ₆ ⁻	A ([M-H] ⁻)
13	294,0889 (100)	294,0892	-1,0	C ₁₈ H ₁₄ O ₄ ⁻	D (A -•C ₂ H ₃ O ₂)
	221,0610 (81)	221,0603	+3,2	C ₁₅ H ₉ O ₂ ⁻	F (D -•C ₃ H ₅ O ₂)

Esquema 35. Correlações estrutura-fragmentação para as neolignanas **6-13** desprotonadas.

No caso das neolignanas acetiladas **9** e **10**, os experimentos de MS^3 revelaram que os íons produtos de m/z 335 e m/z 395, que a princípio poderiam ter sido formados pela eliminação de CO a partir de **B**, são formados diretamente do íon precursor por meio da eliminação de metanoato de metila ($C_2H_4O_2$, 60 Da). Este fato está consistente com a alta intensidade relativa de **Y** nos espectros de íons produtos de **9** e **10** desprotonados. Para o composto **9**, a presença do grupo acetil pôde ser diagnosticada pela eliminação de ceteno (42 Da) a partir de **B**. Por outro lado, no caso do composto **10**, a presença dos grupos metoxila nas posições C-3 e C-3' do anel aromático está associada a duas eliminações consecutivas de $CH_3^\bullet$, que competem com a eliminação de ceteno e levam à formação do íon produto diagnóstico **L** (m/z 425). As perdas de dois radicais metil também ocorreram para o composto **7**, indicando que são indicativas dos grupos metoxila em C3 e C3'. No entanto, no caso do composto **7**, essas perdas ocorrem a partir do íon produto **B** e não diretamente do íon precursor (molécula desprotonada) e não são consecutivas. Para este composto, o íon produto **K** ($[B-CH_3^\bullet-CO-CH_3^\bullet-C_2H_3O_2]^-$) foi identificado como diagnóstico. Por outro lado, a presença de dois grupos hidroxila nas posições C3 e C3' foi associada à formação do íon produto diagnóstico **R** ($[B-CO_2]^-$).

Por consequência da ausência da insaturação entre C7-C- e C7'-C8', o composto **12** exibe também alguns íons que são diagnósticos de sua estrutura. Os íons fragmentos **P** ($[\mathbf{B}-\text{CH}_3\text{OH}]^-$), **Q** ($[\mathbf{B}-\text{CO}]^-$) e **Z** ($[\mathbf{Q}-\text{CH}_2\text{O}\cdot]^-$) podem ser considerados como diagnósticos de uma ligação simples entre C7' e C8'. A provável assistência dos hidrogênios dos carbonos sp^3 C7 e C8 devem desencadear a sequência de reações de fragmentação que levam à formação de **P** e, na sequência, de **Q** e **Z**.

Em termos gerais, a maioria dos íons fragmentos que são intensos nos espectros de íons produtos das neolignanas **6-13** desprotonadas são diagnósticos de características estruturais específicas, levando a rotas de fragmentação muito diversificadas. Outro aspecto que deve ser ressaltado é que o número de picos no espectro de íons produtos das neolignanas benzofurânicos **11** e **13** foi consideravelmente menor que o observado nos espectros das neolignanas diidrobenzofurânicas **6-10** e **12**. Este fato pode ser indicativo do envolvimento de H7 e H8 em rearranjos de hidrogênio remotos à carga. Além disto, a formação de alguns íons produtos ocorreu com violação da regra do *elétron-par* [122], levando à formação de íons de camada aberta que, em alguns casos, são relativamente intensos no espectro de íons produtos.

4.4.2 Determinação do sítio de desprotonação

As medidas de acidez relativa em fase gasosa refletem efeitos estruturais intrínsecos, principalmente a natureza de substituintes, que geralmente têm efeitos bastante pronunciados sobre a acidez [154]. Nos últimos anos, discussões e revisões sobre a química de íons negativos em fase gasosa receberam grande destaque na literatura [155, 156]. Em especial, Kass e colaboradores demonstraram que hidrogênios em posições benzílicas ou em posições α à carbonila são possíveis sítios de desprotonação [156]. Em concordância estas informações, consideraremos como possíveis sítios de desprotonação as hidroxilas fenólicas, as posições α à carbonila e, em alguns casos, até mesmo posições α a oxigênio.

Para se estimar a acidez em fase gasosa (GA) das neolignanas **6-13**, foram empregados cálculos quânticos computacionais utilizando um nível de teoria B3LYP/6-31+G(d,p). Os valores de acidez em fase gasosa (GA) obtidos, mostrados na **figura 20** (p. 99), indicaram que, para a maioria das neolignanas, o sítio mais suscetível à desprotonação é a hidroxila fenólica (OH-4). Para os compostos benzofurânicos **11** e **13**, a diferença entre a acidez do hidrogênio da hidroxila fenólica e a dos demais hidrogênios foi mais significativa. Devido à impossibilidade de desprotonação nas posições C7 e C8, a maior parte dos outros sítios acídicos testados para **11** e **13** apresentaram uma Δ GA maior que 20 kcal/mol em relação ao hidrogênio da hidroxila fenólica. Para o composto **6**, apesar da proximidade entre os valores de GA de OH-4 e H8, o hidrogênio da hidroxila fenólica também é o mais ácido. Para o composto **8**, a diferença entre os valores de GA destes dois sítios foi mais pronunciada (Δ GA=11,4 kcal/mol), provavelmente devido à formação de ligação de hidrogênio intramolecular entre O4 e OH-3, que contribui para a estabilização do ânion fenolato formado, conforme descrito na literatura [157]. No caso dos compostos acetilados (**9-10**), com a ausência de OH-4, H8 tornou-se o sítio mais suscetível à desprotonação, havendo uma diferença de 18,0-18,6 kcal/mol em relação aos valores de GA de outros sítios. Entretanto, a teoria do próton móvel pode ser aplicada também para moléculas desprotonadas, ou seja, é possível que no estágio pós-colisional os hidrogênios de sítios menos acídicos migrem para o sítio aniônico onde ocorreu a desprotonação. Este fato será levado em consideração para explicar a formação de alguns íons produtos das neolignanas **9-10** desprotonadas [127, 158].

Figura 20. Valores de acidez em fase gasosa (GA, em kcal/mol) estimados para as neolignanas **6-13**. Os valores calculados foram estimados empregando nível de teoria B3LYP/6-31+G(d,p).

4.4.3 Formação dos íons produtos das neolignanas benzofurânicas **11** e **13** desprotonadas

Considerando que os valores de acidez em fase gasosa (GA) das neolignanas benzofurânicas **11** e **13** indicaram a hidroxila fenólica (OH-4) é o sítio mais suscetível à desprotonação, assumiu-se neste estudo que as espécies resultantes da desprotonação neste sítio prevalecem no equilíbrio com moléculas desprotonadas em sítios menos ácidos. A grande diferença entre os valores de GA dos sítios menos ácidos e a hidroxila fenólica ($\Delta G_{A_{11}}=15,8-75,4$; $\Delta G_{A_{13}}=39,6-72,4$) pode ser interpretada em termos da deslocalização da carga negativa do íon fenolato pelo sistema conjugado com a carbonila presente em C9 [159, 160]. Na ausência de hidrogênios ligados a C7 e C8, que nas neolignanas diidrobenzofurânicas **6-10** e **12** estão envolvidos no mecanismo de eliminação de CH_3OH , a eliminação de $\bullet\text{C}_2\text{O}_2\text{H}_3$ (59 Da) diretamente da molécula desprotonada tornou-se uma via de fragmentação comum às neolignanas benzofurânicas **11** e **13** (**Esquema 36**, p. 101). A cisão homolítica entre C8' e C9' para formar o íon produto diagnóstico **D** é um processo endotérmico ($\Delta H=98,3$ kcal/mol para **11** e $\Delta H=99,1$ kcal/mol para **13**) e endergônico ($\Delta G=84,1$ kcal/mol para **11** e $\Delta G=86,1$ kcal/mol para **13**) que viola a regra do elétron-par.

A partir do íon produto em comum **D**, as fragmentações de **11** e **13** ocorreram por vias distintas. Para o composto **11**, que apresenta uma ligação dupla entre C7' e C8', a perda de $\bullet\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ originou o íon produto **E** (m/z 233). Por outro lado, para o composto **13**, que possui uma ligação simples entre C7' e C8', ocorreu eliminação de $\bullet\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2$ para formar o íon produto **F** (m/z 221). Apesar de a formação de **E** e **F** a partir de **B** serem endotérmicas ($\Delta H = 91,4$ e $37,9$ kcal/mol, respectivamente) e endergônicas ($\Delta H = 76,7$ e $22,6$ kcal/mol, respectivamente), foi possível observar que a formação de **F** é mais favorecida que a de **E**. Esta diferença corrobora a maior intensidade de **F** em relação a **E** nos espectros de íons produtos de **11** e **13** desprotonados e pode estar associada ao fato de que a formação de **F** requer clivagem de uma ligação benzílica, enquanto que a formação de **E** envolve clivagem de uma ligação vinílica.

Esquema 36. Formação do íon produtos **D**, **E** e **F**, diagnósticos das neolignanas benzofurânicas **11** e **13**. Os valores abaixo das estruturas representam as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

4.4.4 Formação dos íons produtos das neolignanas diidrobenzofurânicas **6-10** e **12** desprotonadas

A análise das correlações estrutura-fragmentação mostradas no **esquema 35** (p. 96) revelou que eliminação de metanol a partir da molécula desprotonada ocorreu apenas para as neolignanas diidrobenzofurânicas (**6-10** e **12**). Considerando que a presença dos hidrogênios H7 e H8 é basicamente a única diferença estrutural entre essas neolignanas e os compostos **11** e **13**, para os quais esta perda não foi observada, é possível concluir que um desses hidrogênios ou ambos estão envolvidos na formação do íon produto **B** ($[\text{A}-\text{CH}_3\text{OH}]^-$).

Os valores de acidez em fase gasosa (GA), disponíveis na **figura 20** (p. 99), demonstraram que a hidroxila fenólica (OH-4) é o sítio das estruturas das neolignananas **6-8** e **12** mais suscetível à desprotonação. Para os compostos **6-8** foram propostas duas possíveis vias para a formação do íon produto **B** ($[\mathbf{A}-\text{CH}_3\text{OH}]^-$), ambas envolvendo a participação de H8, conforme mostrado no **esquema 37** (p. 103). Na via de fragmentação **a**, a eliminação de CH_3OH por meio de um rearranjo de hidrogênio remoto à carga [94] ocorre com a consequente abertura do anel diidrofurânico, levando à formação de **B1**, com $\Delta H=30,6-40,8$ kcal/mol e $\Delta G=-27,8$ kcal/mol (**esquema 37**, p. 103). A formação de **B2** pela via de fragmentação **b** também é resultante de um rearranjo de hidrogênio, com $\Delta H=22,2-42,8$ kcal/mol e $\Delta G=8,6-30,0$ kcal/mol, porém, neste caso, não ocorre abertura do anel diidrobenzofurânico. Apesar de a formação de **B** pela via **a** ser favorecida pela entropia, uma vez que leva à formação de um íon produto (**B1**) com número de graus de liberdade aumentado em relação ao íon precursor (**A**) e a **B2**, esta via de fragmentação tende a ser desfavorecida pela entalpia, uma vez que envolve perda da aromaticidade da porção benzofurânica de suas estruturas [161].

Por outro lado, os valores de GA indicaram que H8 é o hidrogênio mais ácido da estrutura dos compostos **9** e **10**. O fato de a eliminação de metanol e a consequente formação do íon produto **B** propostos no **esquema 37** (p. 103) ocorrerem com a participação de H8 levou-nos a considerar que a energia translacional convertida em energia interna nos experimentos de CID pudesse suprir a barreira energética para a migração de hidrogênios menos ácidos da estrutura de **9** e **10** para o carbono C8, então aniônico, conforme preconizado pela teoria do próton móvel [127]. Para verificar a viabilidade desta hipótese, a energia transferida para o centro de massa (E_{com}) durante o processo de CID foi calculada usando a equação $E_{com} = E_{lab} [m_c / (m_c + m_d)]$ [88, 90]. De acordo com os cálculos realizados, os valores de E_{com} para as moléculas desprotonadas dos compostos **9** (m/z 395) e **10** (m/z 455), na energia de colisão de 25 eV (E_{lab}), são de 38,1 e 33,3 kcal/mol, respectivamente. Considerando que a diferença entre os valores de entalpia do sítio mais ácido e do sítio menos ácido das estruturas de **9** e **10** são de 19,1 e 16,6 kcal/mol, respectivamente, é possível inferir que E_{com} é capaz de suprir a barreira energética necessária para a migração do hidrogênio do carbono α à carboníla do grupo acetil (C-12 em **9** e C13 em **10**) para o carbono aniônico C8. Desta forma, a formação do íon produto **B** dos compostos **9** e **10** ocorre da mesma forma que para os compostos **6, 7, 8** e **12**, porém é precedida por migração de hidrogênios menos ácidos da estrutura para C8.

Esquema 37. Formação dos íons produtos **B**, **C** e **Y** para as neolignanais **6-10** e **12** desprotonadas. Os valores abaixo de cada estrutura correspondem às **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

Para as neolignanais **6-8** desprotonadas, a perda de CO a partir de **B** levou à formação do íon produto **C**. Esta perda ocorre pelo mecanismo descrito na literatura para a descarboxilação de cetonas cíclicas [147, 148], tanto a partir de **B1** (via **a**) como de **B2** (via **b**), conforme mostrado no **esquema 37** (p. 103). No caso do íon produto **C2**, formado a partir de umas das formas de ressonância de **B2**, ocorre uma conversão espontânea em **C2'** durante a otimização de geometria. Os valores de ΔH e de ΔG obtidos por Química Quântica Computacional mostraram que para os compostos **6** e **7** a formação dos íons produtos **B** e **C** é energeticamente mais favorecida pela via **b**, enquanto que para o composto **8** a formação desses íons pela via **a** é mais favorecida.

No caso da neolignana **8**, que apresenta uma hidroxila fenólica em C3, as formações de **B** e **C** também podem ocorrer por uma via alternativa (**Esquema 37**). Durante a otimização da geometria da molécula desprotonada desta neolignana, observou-se a formação de uma ligação de hidrogênio envolvendo a hidroxila OH-3 e o átomo de oxigênio ligado a C4. Em decorrência desta interação intramolecular, os valores de GA para as duas hidroxilas fenólicas – em C3 e em C4 – tornam-se muito próximos ($\Delta GA=1,9$

kcal/mol, **figura 20**, p. 99), de modo que a energia necessária para que ocorra a migração do hidrogênio da hidroxila em C3 para o oxigênio do fenolato em C4 pode ser suprida em condições de CID [90]. Desta forma, a eliminação de metanol a partir da neolignana **8** desprotonada pode também ocorrer com participação da hidroxila de OH-4, formando o íon produto **B3** (m/z 353) e seu derivado **C3** (m/z 325) após descarbonilação (via **c**, **esquema 37**, p. 103). Entretanto, devido à perda da aromaticidade dos dois anéis aromáticos, esta via de fragmentação é também energeticamente menos favorecida que as vias **a** e **b** e, portanto, deva ser menos representativa para a formação dos íons produtos **B** e **C**.

No espectro de íons produtos das neolignanas acetiladas **9-10** desprotonadas foi observado um pico com diferença de massas de 60 Da em relação aos respectivos íons precursores. Em princípio, este íon poderia ser referente ao **C**, que é formado pela eliminação de CO a partir de **B** ($[M-H-CH_3OH]^-$). Entretanto, conforme discutido anteriormente no item 4.4.1, os dados de MS³ revelaram que este íon é formado diretamente do íon precursor por meio da eliminação de formiato de metila (C₂H₄O₂). Deste modo, a ausência de **C** no espectro de íons produtos de **9** e **10** é uma forte evidência de que o oxigênio da hidroxila ligada a C4 (que em **9** e **10** encontra-se substituído por um grupo acetil) participa da tautomerização da forma fenólica para a forma de ciclohexadienona que antecede a perda de CO para a formação de **C** (**Esquema 37**). Para estes compostos, a formação íon produto **Y** por meio de um rearranjo de hidrogênio remoto envolvendo H7. Os baixos valores de ΔH (28,3 kcal/mol para **9** e 6,0 kcal/mol para **10**) e de ΔG (20,0 kcal/mol para **9** e -10,2 kcal/mol para **10**) estão de acordo com a intensidade relativamente alta de **Y** no espectro de íons produtos dos compostos **9** e **10** desprotonados.

No caso da neolignana diidrobenzofurânica **12**, a presença de uma ligação simples entre C7' e C8' inviabiliza a via de fragmentação **a** (**esquema 37**, p. 103). Por outro lado, a formação do íon produto **B4** pode ocorrer por uma outra via (**d**, **esquema 38**, p. 105), que também envolve um rearranjo de hidrogênio remoto à carga [152], com participação de H8, e que compete com a formação de **B2** (via **b**). A formação de **C4** a partir de **B4** também ocorre por descarbonilação a partir de uma das formas de ressonância do íon fenolato **B4** [147, 148]. Entretanto, os valores de ΔH e ΔG estimados para as formações de **B4** ($\Delta H=39,0$ kcal/mol, $\Delta G=27,6$ kcal/mol) e **C4** ($\Delta H=32,2$ kcal/mol, $\Delta G=21,4$ kcal/mol) demonstraram que, também para o composto **12**, a via de fragmentação **b** também é a mais favorecida energeticamente.

Esquema 38. Formação dos íons produtos diagnósticos **B** e **C** para a neolignana diidrobenzofurânica **12**. Os valores abaixo das estruturas são as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

4.4.5 Formação dos íons produtos diagnósticos das neolignanas diidrobenzofurânicas 6-10 e 12 desprotonadas

Os íons produtos **M**, **N** e **O** são diagnósticos da presença do grupo acetil na estrutura dos compostos **9**. É bem estabelecido na literatura que eliminações de ceteno (42 Da) são comuns para compostos que apresentam grupos acetil ligados a átomos eletronegativos, tanto para moléculas protonadas [151, 162] como para moléculas desprotonadas [163]. Neste trabalho, duas possibilidades para formação do íon produto **M** foram consideradas (**esquema 39**, p. 107): a) clivagem α com migração de carga para O4 e

formação de um íon fenolato **M** (via **e**) – esta etapa é precedida pela migração do hidrogênio α à carbonila do grupo acetil para C8; b) rearranjo de hidrogênio remoto, com retenção da carga negativa em C8 e formação de **M3** (via **f**). A comparação entre os valores de ΔH (28,1 kcal/mol para **M** e 29,2 kcal/mol para **M3**) indicou que a formação de **M** (m/z 353) é favorecida sobre a de **M3** (m/z 353) em apenas 1,1 kcal/mol (**esquema 39**, p. 107).

A formação do íon produto **N** (m/z 321) pode ocorrer por meio de dois rearranjos de hidrogênios remotos competitivos (via **e1** e **e2**, **esquema 39**, p. 107), similares aos que foram discutidos no **esquema 37** (p. 103). A análise dos valores de ΔH e de ΔG revelaram que a formação de **N** pela via **e2** ($\Delta H = 23,6$ kcal/mol; $\Delta G = 11,8$ kcal/mol) é energeticamente mais favorecida que pela via **e1** ($\Delta H = 34,7$ kcal/mol; $\Delta G = 21,8$ kcal/mol), provavelmente devido ao fato de a aromaticidade dos dois anéis benzênicos ter sido preservada nesta via após a eliminação de metanol. Consequentemente, a formação de **O** (m/z 293) a partir de **N1** ($\Delta H = 15,7$ kcal/mol; $\Delta G = 4,3$ kcal/mol) também é mais favorecida que a partir de **N2** ($\Delta H = 18,1$ kcal/mol; $\Delta G = 5,0$ kcal/mol). Tanto **N** (m/z 321) como **O** (m/z 293) também podem ser formados a partir de **B** (m/z 363), cuja formação a partir do íon precursor (m/z 395) compete com a formação de **M** (m/z 353), conforme mostrado no **esquema 39** (p. 107). Os dados termoquímicos revelaram que: a) a formação de **B2** a partir de **A** ($\Delta H = 24,3$ kcal/mol; $\Delta G = 12,3$ kcal/mol) é mais favorecida que a de **B1** ($\Delta H = 38,8$ kcal/mol; $\Delta G = 25,6$ kcal/mol); b) a formação de **N1** a partir de **B1** ($\Delta H = 4,9$ kcal/mol; $\Delta G = -6,7$ kcal/mol) é mais favorecida que a formação de **N2** a partir de **B2** ($\Delta H = 8,3$ kcal/mol; $\Delta G = -3,4$ kcal/mol); c) a formação de **O1** a partir de **N1** ($\Delta H = 15,7$ kcal/mol; $\Delta G = 4,3$ kcal/mol) é mais favorecida que a de **O2'** (que se forma espontaneamente durante a otimização da geometria de **O2**) a partir de **N2** ($\Delta H = 18,1$ kcal/mol; $\Delta G = 5,0$ kcal/mol).

Em resumo, a eliminação de ceteno a partir do composto **9** desprotonado compete com a eliminação de metanol. A comparação entre os dados termoquímicos das vias mais favorecidas (**e2** e **h**, **esquema 39**, p. 107) permite concluir que os valores de ΔH e de ΔG da via mais favorecida que leva à eliminação de ceteno (via **e**) é 15,3 kcal/mol e 15,2 kcal/mol mais favorecida que a eliminação de metanol. No entanto, o íon mais intenso no espectro de íons produtos do composto **9** é o **N** (m/z 321) e não o **M** (m/z 353), possivelmente pelo fato de **N** ser formado por várias vias de fragmentação. Isto faz com que o número de íons de m/z 321 que atinge o detector seja maior e, consequentemente, sua intensidade relativa no espectro seja também superior às dos demais íons produtos.

Esquema 39. Formação dos íons diagnósticos **M**, **N** e **O**, para a neolignana diidrobenezofurânica **9** desprotonada. Abaixo das estruturas encontram-se apresentadas as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

No espectro de íons produtos das neolignananas **7** e **10**, que apresentam grupos metoxilas ligados aos anéis aromáticos nas posições C3 e C3', foram observados picos referentes a perdas de $\bullet\text{CH}_3$ (15 Da), que ocorreram a partir do íon precursor (molécula desprotonada, **A**) ou a partir do íon **B** ($[\text{A}-\text{CH}_3\text{OH}]^-$). A formação desses íons se dá por meio da cisão homolítica da ligação entre o oxigênio e o carbono metílico, originando um íon radical fenoxila, no qual o elétron desemparelhado está estabilizado por ressonância. Este processo de fragmentação ocorreu com violação à *regra do elétron-par*, visto que ocorreu eliminação de um radical e formação de um íon elétron-ímpar (ânion radical) e não a eliminação de uma molécula para geração de outro íon elétron-par [122]. No entanto, as perdas de $\bullet\text{CH}_3$ têm sido reportadas com certa frequência na literatura para compostos que apresentam grupos metoxila ligados a anéis aromáticos e sistemas insaturados [164, 165], tendo sido racionalizadas em termos da estabilização por ressonância do elétron desemparelhado [122].

O íon produto **G**, formado pela eliminação de $\bullet\text{CH}_3$ diretamente do íon precursor (molécula desprotonada), é diagnóstico da presença de grupos metoxila ligados aos anéis benzênicos dos compostos **7** e **10**. Para ambos os compostos, o radical $\bullet\text{CH}_3$ pode ser eliminado de O3 ou de O3', conforme mostrado no **esquema 40** (p. 109). Para o composto **7** existem duas possíveis estruturas para o íon **G** (**G1** e **G2**), enquanto que para o composto **10** existem quatro estruturas (**G1**, **G2**, **G3** e **G4**). Os dados termoquímicos, estimados por Química Quântica Computacional, revelaram que para o composto **7** a formação de **G1** ($\Delta\text{H}=37,1$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=23,6$ kcal/mol) é ligeiramente mais favorecida que a formação de **G2** ($\Delta\text{H}=38,8$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=25,8$ kcal/mol). Para o composto **10**, a formação de **G4** ($\Delta\text{H}=40,6$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=28,0$ kcal/mol) é mais favorecida que as formações de **G1** ($\Delta\text{H}=53,7$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=41,9$ kcal/mol), **G2** ($\Delta\text{H}=56,6$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=45,5$ kcal/mol) e **G3** ($\Delta\text{H}=45,7$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=34,2$ kcal/mol).

Para o composto **7**, a formação do íon produto **G** a partir do íon precursor compete com a formação de **B**, porém a formação de **B** ($\Delta\text{H}=22,2$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=8,6$ kcal/mol) é mais favorecida energeticamente que a formação de **G** ($\Delta\text{H}=37,1$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=23,6$ kcal/mol). Este resultado está de acordo com as intensidades relativas de **B** (100%) e **G** (85%) no espectro de íons produtos do composto **7** desprotonado, obtido em $E_{\text{lab}} = 10$ eV. No caso do composto **10**, a formação de **G** ($\Delta\text{H}=40,6$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=28,0$ kcal/mol) a partir do íon precursor compete com a formação de **B** ($\Delta\text{H}=37,8$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=25,1$ kcal/mol) e de **Y** ($\Delta\text{H}=6,0$ kcal/mol, $\Delta\text{G}=-10,2$ kcal/mol). A formação de **Y** é energeticamente mais favorecida que a formação de **B** e de **G**, o que justifica o fato de o

pico de **Y** ser o mais intenso no espectro de íons produtos do composto **10** desprotonado. Apesar de a formação de **B** ser ligeiramente mais favorecida que a de **G**, a intensidade relativa deste último é maior no espectro de íons produtos, uma vez que **G** pode ser formado por quatro vias de fragmentação (**Esquema 40**), com valores de ΔH e ΔG relativamente próximos.

Esquema 40. Formação dos íons diagnósticos **G** e **L** para as neolignanais diidrobenezofurânicas **7** e **10** e as **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol de cada estrutura.

Além disto de **G**, o íon produto **L** (m/z 425) também pode ser considerado diagnóstico da presença do grupo acetil na estrutura do composto **10**. Este íon originou-se pela perda de $\bullet\text{CH}_3$ a partir de **G**, conforme mostrado no **esquema 40**. Apesar de a formação de **L** a partir de **G** seguir a regra do elétron-ímpar, os valores de ΔH e de ΔG envolvidos neste processo são relativamente altos (48,5 kcal/mol e 32,0 kcal/mol, respectivamente), possivelmente devido à perda da aromaticidade de um dos anéis benzênicos. No entanto, sua intensidade relativamente alta no espectro pode estar associada ao fato de que a formação de **L** ser a única via de fragmentação de **G**. É

interessante ressaltar que o pico do íon **L** não foi observado no espectro de íons produtos da neolignana **7**. Uma possível explicação seria que, no caso do composto **10**, o íon **G** é formado por quatro possíveis vias de fragmentação, enquanto que para o composto **7** apenas duas vias de fragmentação levam à formação de **G**. Consequentemente, o número de íons disponíveis para serem convertidos em **L** é bem menor para o composto **7**.

Para os compostos **7** e **10**, as eliminações de $\bullet\text{CH}_3$ dos grupos metoxilas ligadas a C3 e C3' podem também ocorrer a partir do íon produto **B** ($[\text{A}-\text{CH}_3\text{OH}]^-$), originando o íon produto **H**. A formação de **H** a partir de **B2**, cuja formação é a mais favorecida em relação às outras vias que também levam à formação de **B**, pode ocorrer por duas possíveis vias (**Esquema 37**, p. 103). Os valores de ΔH e de ΔG indicaram que a formação de **H2_b** ($\Delta\text{H}=36,8$ kcal/mol e $\Delta\text{G}=23,4$ kcal/mol para **7**; $\Delta\text{H}=40,1$ kcal/mol e $\Delta\text{G}=27,3$ kcal/mol para **10**) é energeticamente mais favorecida que a de **H2_a** ($\Delta\text{H}=43,0$ kcal/mol e $\Delta\text{G}=19,5$ kcal/mol para **7**; $\Delta\text{H}=43,1$ kcal/mol e $\Delta\text{G}=30,2$ kcal/mol para **10**), ainda que esta diferença seja discreta. Esses dados permitem concluir que a via **b** é a principal via de formação de **H**. Apesar de não haver diferenças significativas entre os valores de ΔH e de ΔG envolvidos na formação de **H2_b** para os compostos **7** e **10**, o íon produto **H** é relativamente mais intenso no espectro de íons produtos de **7** que no de **10**. Este fato pode estar associado ao fato de que a formação de **B** a partir de **A** é menos favorecida para o composto **10** ($\Delta\text{H}=37,8$ kcal/mol e $\Delta\text{G}=25,1$ kcal/mol) que para o composto **7** ($\Delta\text{H}=22,2$ kcal/mol e $\Delta\text{G}=8,6$ kcal/mol), o que faz com que o número de íons de **B** que irão se converter em **H** seja menor. Soma-se ainda o fato de que para o composto **10** a formação dos íons **B** a partir do íon **A** compete com a formação de **Y** (m/z 395) e de **G** (m/z 440), tornando ainda menor o número de íons **B** para serem convertidos em **H**. Por essa razão, os íons **I** ($[\text{H}-\text{CO}]^-$), **J** ($[\text{I}-\bullet\text{CH}_3]$) e **K** ($[\text{J}-\bullet\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2]$) não foram observados no espectro de íons produtos do composto **10** desprotonado. Para o composto **7**, a formação dos íons produtos **I** (m/z 338) a partir de **H2_a** é exotérmica ($\Delta\text{H}= -13,3$ kcal/mol) e exergônica ($\Delta\text{G}= -23,1$ kcal/mol), porém as formações de **J2** a partir de **I2'** ($\Delta\text{H}=109,1$ kcal/mol e $\Delta\text{G}=95,4$ kcal/mol) e de **K2** a partir de **I2'** ($\Delta\text{H}=103,1$ kcal/mol e $\Delta\text{G}=88,8$ kcal/mol) são endotérmicas e endergônicas, o que explica, pelo menos em princípio, as intensidades relativas desses íons no espectro de íons produtos do composto **7** desprotonado (**Esquema 41**, p. 111).

Esquema 41. Formação dos íons diagnósticos **H**, **I**, **J** e **K**, para as neolignanais diidrobenzofurânicas **7** e **10**. Abaixo das estruturas encontram-se as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

O íon produto **R** (m/z 309), que é formado por eliminação de CO_2 a partir de **B**, foi identificado como diagnóstico do composto **8**, que apresenta grupos hidroxila em C3 e C4 (**Esquema 42**, p. 112). A formação deste íon é iniciada pelo ataque nucleofílico de O3 ao carbono da carbonila em C4, com consequente formação de **B4** ($\Delta H=54,9$ kcal/mol, $\Delta G=55,5$ kcal/mol). No entanto, este íon é espontaneamente convertido em **B4'** durante a otimização de sua geometria. Desta forma, o íon **R** é produto da contração do anel de sete membros de **B4'**, que leva à eliminação de CO_2 ($\Delta H=-6,1$ kcal/mol, $\Delta G=-17,9$ kcal/mol). O íon vinílico **R** pode rearranjar-se a **R1** por meio de um rearranjo de hidrogênio exotérmico ($\Delta H=-67,6$ kcal/mol) e exergônico ($\Delta G=-66,4$ kcal/mol). Os baixos valores de ΔH e de ΔG para este rearranjo devem-se à formação de um ânion ciclopentadienila aromático. A formação de **R** a partir de **B** ($\Delta H=34,2$ kcal/mol, $\Delta G=10,4$ kcal/mol) é energeticamente mais favorecida que a formação de **C** ($\Delta H=42,8$ kcal/mol, $\Delta G=30,0$

kcal/mol), o que está em concordância com as intensidades desses íons no espectro de íons produtos da neolignana **8** (42% para **R** e 12% para **C**).

Esquema 42. Formação do íon diagnóstico **R** para a neolignana diidrobenzofurânica **8**. Abaixo apresentadas as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

Os íons **P** (m/z 291), **Q** (m/z 263) e **Z** (m/z 222) são diagnósticos da ausência da ligação dupla entre C7' e C8' e entre C7 e C8, sendo observados apenas no espectro de íons produtos da neolignana **12** desprotonada, conforme demonstrado no **esquema 43** (p. 113). A formação de **P** a partir de **B** resulta da eliminação de CH₃OH por meio de rearranjo de hidrogênio envolvendo a metoxila do éster em C9' [142]. A formação de **P** a partir de **B** é endotérmica ($\Delta H=37,0$ kcal/mol) e endergônica ($\Delta G=25,3$ kcal/mol) e compete com a formação de **C** ($\Delta H=33,2$ kcal/mol; $\Delta G=21,4$ kcal/mol). Esses valores estão coerentes com as intensidades desses íons produtos no espectro de íons produtos da neolignana **12**.

A descarbonilação do anel ciclohexadienona de **P'**, que é uma forma de ressonância de **P**, levou à formação de **Q**, conforme previamente descrito [147, 148]. A formação de **Q** a partir de **P'** ($\Delta H=-14,2$ kcal/mol; $\Delta G=-24,4$ kcal/mol) é dirigida pela formação do ânion ciclopentadienila, que é aromático. O íon produto **Z**, que é diagnóstico do composto **12**, é formado por cisão homolítica da ligação entre C-7' e C-8'. Como consequência desta cisão, ocorre a eliminação do radical $\bullet C_2HO$ e a consequente formação de um ânion radical benzílico, no qual o elétron desemparelhado encontra-se estabilizado por ressonância [166, 167]. No entanto, devido aos altos valores de ΔH e de ΔG (70,9 kcal/mol e 58,8 kcal/mol, respectivamente) envolvidos na formação de **Z** a partir de **Q**, a intensidade relativa deste íon é considerável apenas em energias de colisão maiores que 25 eV).

Esquema 43. Formação dos íons diagnósticos **P**, **Q** e **Z** para a neolignana diidrobenzofurânica **12**. Abaixo das estruturas estão as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

Os íons fragmentos **U** (m/z 233), **V** (m/z 192), **X** (m/z 164), **S** (m/z 265) e **T** (m/z 206), são diagnósticos da neolignana **6**. A formação de **U** a partir de **C1** ($\Delta H=34,9$ kcal/mol, $\Delta G=20,7$ kcal/mol) ocorre por meio de um rearranjo de hidrogênio remoto à carga, conforme mostrado no **Esquema 44** (p. 114). Por outro lado, a formação do cátion radical **V** a partir de **U** ($\Delta H=105,3$ kcal/mol, $\Delta G=92,4$ kcal/mol) requer a homólise da ligação C7'–C8' e ocorre com violação da *regra do elétron-par*. O íon produto **X** é formado a partir de **V** ($\Delta H=32,3$ kcal/mol, $\Delta G=20,6$ kcal/mol) por descarboxilação resultante da contração de anel [147, 148, 168].

A formação de **S** a partir de **C2** ($\Delta H=27,7$ kcal/mol, $\Delta G=15,4$ kcal/mol) compete com a formação de **U** ($\Delta H=34,9$ kcal/mol, $\Delta G=20,7$ kcal/mol), porém é uma via energeticamente mais favorecida, conforme evidenciado pelas intensidades relativas desses íons no espectro de íons produtos. Além disso, a formação de **S** ocorre a partir de **C2**, cuja formação é a mais favorecida dentre as vias que levam a **C** (**Esquema 37**, p. 103), fazendo com que o íon produto **S** seja mais intenso que **U** no espectros de íons produtos de **6**. O íon produto **S** pode fragmentar-se para produzir **T** ($\Delta H=27,7$ kcal/mol e $\Delta G=15,4$ kcal/mol) por meio da eliminação de $\bullet C_2H_3O_2$.

Esquema 44. Formação dos íons diagnósticos **S**, **T**, **U**, **V** e **X** para o derivado de neolignana diidrobenzofurânica **6**. Abaixo das estruturas encontram-se as respectivas **Entalpias** e **energia de Gibbs**, em kcal/mol.

5. Conclusões

As metodologias utilizadas neste trabalho para a síntese dos 2-aroilbenzofuranos **1-5** e das neolignanas diidrobenezofurânicas **6-13** permitiram obter os produtos desejados em rendimentos satisfatórios. Os resultados mostraram que essas metodologias selecionadas dentre tantas outras disponíveis na literatura, foram adequadas para os propósitos deste trabalho, com as vantagens de empregarem condições reacionais amenas, serem de fácil execução e de levarem aos esqueletos básicos dos compostos desejados em uma única etapa reacional.

O estudo da fragmentação de 2-aroilbenzofuranos **1-5** protonados por ESI-MS/MS mostrou que as formações competitivas dos íons acílio **B** e **F** por meio de rearranjos de hidrogênio são os principais processos de fragmentação desses compostos. Dados termoquímicos, estimados por Química Quântica Computacional, revelaram que a maior intensidade relativa de **B** em relação à **F** deve-se à energia exigida para que **B** fragmente-se em **C**, **D** e **E**. Os dados termoquímicos também demonstraram que a maior intensidade do cátion benzociclopropenila **E**, quando comparada com os cátions vinílicos **C** e **D**, deveu-se à decomposição de C_2O_2 em duas moléculas de CO. Além disso, foram identificadas algumas fragmentações diagnósticas da presença de grupos metoxila e de halogênios, tais como as eliminações de $\bullet CH_3$, $\bullet Br$ e $\bullet Cl$.

Os resultados dos estudos sobre fragmentação das neolignanas **6-13** protonadas e desprotonadas também revelaram algumas vias de fragmentação comuns e outras que são diagnósticas de grupos funcionais ou de características estruturais específicas. Para as neolignanas protonadas, os íons **B** ($[A-CH_3OH]^+$), **C** ($[B-CH_3OH]^+$), **D** ($[C-CO]^+$) e **E** ($[D-CO]^+$) foram comuns à série de compostos analisados, porém foram formados por vias de fragmentação diferentes para cada grupo de composto, dependendo da estrutura e dos sítios de protonação, os quais foram determinados com base nos valores de afinidade protônica. A partir dos experimentos de troca por deutério foi possível concluir que a perda de metanol a partir da molécula protonada ocorre por clivagem indutiva e não por rearranjo de hidrogênio remoto à carga. A maioria dos íons produtos diagnósticos originou-se de perdas de moléculas pequenas, principalmente CH_3OH , C_2H_2O , CO e H_2O , sem violações à regra do elétron-par. No caso das neolignanas desprotonadas, apesar de vários íons produtos também terem sido formados por perdas de CH_3OH , C_2H_2O , CO e CO_2 , vários íons foram resultantes de perdas radiculares, geralmente de $\bullet CH_3$, $\bullet C_2H_3O_2$, $\bullet C_2OH$, $\bullet C_3H_5O_2$, que violam a regra do elétron-par. A perda de $\bullet C_2H_3O_2$ diretamente da molécula desprotonada permitiu distinguir as neolignanas benzofurânicas **11** e **13** das neolignanas diidrobenezofurânicas **6-10** e **12**. Este fato, somado

ao fato de que um maior número de íons diagnósticos foi identificado para as moléculas desprotonadas, revelou que uma maior diversidade de informações estruturais pode ser obtida de neolignanas desprotonadas que de neolignanas protonadas.

Os dados termoquímicos obtidos neste trabalho, seja para a determinação a afinidade protônica (PA) ou da acidez em fase gasosa (GA) ou para se estimar os valores de ΔH e de ΔG das várias etapas de fragmentação individuais, revelaram uma grande concordância com os resultados experimentais e foram extremamente valiosos para suportar ou mesmo elucidar as vias de fragmentação propostas com base em dados de massas acuradas e de experimentos de MS^n . Além de fomentar a literatura com dados sobre a química de íons em fase gasosa de 2-aroibenzofuranos e de neolignanas benzofurânicas e diidrobenezofurânicas, contribuindo, assim, para a elaboração de futuras bibliotecas espectrais baseadas em dados de ESI-MS/MS, os resultados deste estudo sistemático poderão ser futuramente utilizados na identificação de seus metabólitos em fluidos biológicos empregando a técnica HPLC-MS/MS sem a necessidade de padrões.

6. Referências

- [1] Koutros, S.; Lynch, C. F.; Ma, X.; Lee, W. J.; Hoppin, J. A.; Christensen, C. H.; Andreotti, G.; Freeman, L. B.; Rusiecki, J. A.; Hou, L.; Sandler, D. P.; Alavanja, M. C. R. Heterocyclic aromatic amine pesticide use and human cancer risk: Results from the U.S. Agricultural Health Study. *I. J. Cancer* **2009**, *124*, 1206-1212.
- [2] Rahimizadeh, M.; Pordel, M.; Bakavoli, M.; Eshghi, H. The synthesis of highly fluorescent heterocyclic compounds: Pyrido[2',1':2,3]imidazo[4,5-*b*]quinoline-12-yl cyanides. *Dyes Pigm.* **2010**, *86*, 266-270.
- [3] Cordes, A. W.; Haddon, R. C.; Oakley, R. T. Molecular conductors from neutral heterocyclic π -radicals. *Adv. Mater.* **1994**, *6*, 798-802.
- [4] Kotian, P.; Abraham, P.; Lewin, A. H.; Mascarella, S. W.; Boja, J. W.; Kuhar, M. J.; Carroll, F. I. Synthesis and ligand binding study of 3.beta.-(4'-substituted phenyl)-2.beta.-(heterocyclic)tropanes. *J. Med. Chem* **1995**, *38*, 3451-3453.
- [5] Yeung, K. S. Topics in heterocyclic chemistry. Furans and benzofurans. In: Gribble, G., Berlin, Heidelberg: Springer, 2012.
- [6] De-Maria, C. A.; Moreira, R. F. A.; Trugo, L. C. Volatile components in roasted coffee. Part I: heterocyclic compounds. *Quim. Nova* **1999**, *22*, 209-217.
- [7] Stefani, H. A. *Introdução à química de compostos heterocíclicos*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- [8] Kamal, M.; Shakya, A. K.; Jawaid, T. Benzofurans: A new profile of biological activitie. *Int. J. Med. Pharm. Sci.* **2011**, *1*, 1-15.
- [9] Deshpande, R.; Raju, B. M.; Parameshwar, S.; Shanth-Kumar, S. M.; Appalaraju, S.; Yelagatti, M. S. Microwave-assisted synthesis and pharmacological activity of pyrazolyl benzofuran deravatives. *Am. J. Chem.* **2012**, *2*, 115-120.
- [10] Nevagi, R. J.; Dighe, S. N.; Dighe, S. N. Biological and medicinal significance of benzofuran. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 561-581.
- [11] Flynn, B. L.; Hamel, E.; Jung, M. K. One-pot synthesis of benzo[b]furan and indole inhibitors of tubulin polymerization. *J. Med. Chem* **2002**, *45*, 2670-2673.
- [12] Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Carrion, M. D.; Cara, C. L.; Cruz-Lopez, O.; Tolomeo, M.; Grimaudo, S.; Di Cristina, A.; Pipitone, M. R.; Balzarini, J.; Zonta, N.; Brancale, A.; Hamel, E. Design, synthesis and structureactivity relationship of 2-(3',4',5'-trimethoxybenzoyl)-benzo[b]furan derivatives as a novel class of inhibitors of tubulin polymerization. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6862-6871.
- [13] Gündogdu-Karaburun, N.; Benkli, K.; Tunalı, Y.; Uçucu, Ü.; Demirayak, S. Synthesis and antifungal activities of some aryl [3-(imidazol-1-yl/triazol-1-ylmethyl) benzofuran-2-yl] ketoximes. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 651-656.

- [14] Rangaswamy, J.; Kumar, H. V.; Harini, S. T.; Naik, N. Synthesis of benzofuran based 1,3,5-substituted pyrazole derivatives: As a new class of potent antioxidants and antimicrobials-A novel accost to amend biocompatibility. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 4773-4777.
- [15] Coskun, D.; Ahmedzade, M.; Kirbag, S. 3-(substituted aryl)-1-benzofuranyl-2-propenones: Antimicrobial properties of some chalcones-type compounds and their 2-pyrazoline derivatives. *E-J. Chem* **2011**, *8*, 1574-1581.
- [16] Vasconcelos, M. A.; Arruda, F. V. S.; de Alencar, D. B.; Saker-Sampaio, S.; Albuquerque, M. R. J. R.; dos Santos, H.; Bandeira, P. N.; Pessoa, O. D. L.; Cavada, B. S.; Henriques, M.; Pereira, M. O.; Teixeira, E. H. Antibacterial and antioxidant activities of derriobtusone A isolated from *Lonchocarpus obtusus*. *BioMed Res. Int.* **2014**, *2014*, 1-9.
- [17] Getti, G. T.; Durgadoss, P.; Dominguez-Carmona, D.; Martin-Quintal, Z.; Perza-Sánchez, S.; Peña-Rodríguez, L. M.; Humber, D. P. Leishmanicidal activity of Yucatecan medicinal plants on *Leishmania* species responsible for cutaneous leishmaniasis. *J. Parasitol.* **2009**, *2009*, 2.
- [18] Rida, S. M.; El-Hawash, S. A. M.; Fahmy, H. T. Y.; Hazzaa, A. A.; El-Meligy, M. M. M. Synthesis of novel benzofuran and related benzimidazole derivatives for evaluation of *in vitro* anti-HIV-1, anticancer and antimicrobial activities. *Arch. Pharm. Res.* **2006**, *29*, 826-833.
- [19] Hayakawa, I.; Shiyao, R.; Agatsuma, T.; Furukawa, H.; Naruto, S.; Sugano, Y. A library synthesis of 4-hydroxy-3-methyl-6-phenylbenzofuran-2-carboxylic acid ethyl ester derivatives as anti-tumor agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4383-4383.
- [20] Hayakawa, I.; Shiyao, R.; Agatsuma, T.; Furukawa, H.; Sugano, Y. Thienopyridine and benzofuran derivatives as potent anti-tumor agents possessing different structure-activity relationships *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3411-3414.
- [21] Mahboobi, S.; Sellmer, A.; Höcher, H.; Garhammer, C.; Pongratz, H.; Maier, T.; Ciossek, T.; Beckers, T. 2-aryloindoles and 2-aryloxybenzofurans with *N*-hydroxyacrylamide substructures as a novel series of rationally designed histone deacetylase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4405-4418.
- [22] Day, S. H.; Chiu, N. Y.; Tsao, L. T.; Wang, J. P.; Lin, C. N. New lignan glycosides with potent antiinflammatory effect, isolated from *Justicia ciliata*. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1560-1562.
- [23] Saku, O.; Saki, M.; Kurokawa, M.; Ikeda, K.; Uchida, S.-i.; Takizawa, T.; Uesaka, N. Synthetic studies on selective adenosine A2A receptor antagonists. Part II: Synthesis and structure-activity relationships of novel benzofuran derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3768-3771.
- [24] Yang, L.; Lei, H.; Mi, C. G.; Liu, H.; Zhou, T.; Zhao, Y. L.; Lai, X. Y.; Li, Z. C.; Song, H.; Huang, W. C. Synthesis, antiproliferative activities and *in vitro* biological evaluation of novel benzofuransulfonamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 5389-5392.
- [25] Cheng, Y.; Ono, M.; Kimura, H.; Kagawa, S.; Nishii, R.; Kawashima, H.; Saji, H. Fluorinated benzofuran derivatives for PET imaging of b-amyloid plaques in Alzheimer's disease brains. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 321-325.

- [26] Verhoeff, N. P.; Wilson, A. A.; Takeshita, S.; Trop, L.; Hussey, D.; Singh, K.; Kung, H. F.; Kung, M. P.; Houle, S. *In-vivo* imaging of Alzheimer disease beta-amyloid with [11C]SB-13 PET. *Am. J. Geriatr. Psychiatry*. **2004**, *12*, 584-595.
- [27] Ono, M.; Saji, H. Recent advances in molecular imaging probes for [small b]-amyloid plaques. *Med. Chem. Commun.* **2014**, *6*, 391-402.
- [28] Proksch, P.; Rodriguez, E. Chromenes and benzofurans of the asteraceae, their chemistry and biological significance. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 2335-2348.
- [29] Bohlinann, F.; Grenz, M. Neue isopentenyl-acetophenon-derivate aus *Helianthella uniflora*. *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 90-96.
- [30] Margl, L.; Ettenhuber, C.; Gyurján, I.; Zenk, M. H.; Bacher, A.; Eisenreich, W. Biosynthesis of benzofuran derivatives in root cultures of *Tagetes patula* via phenylalanine and 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 887-899.
- [31] Siebertz, R.; Proksch, P.; Wray, V.; Witte, L. Accumulation and biosynthesis of benzofurans in root cultures of *Eupatorium cannabinum*. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 789-793.
- [32] Sütfield, R.; Balza, F.; Neil Towers, G. H. A benzofuran from *Tagetes patula* seedlings. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 876-877.
- [33] Cheng, X.; Peng, Y.; Wu, J.; Deng, G.-J. Palladium-catalyzed paraformaldehyde insertion: a three-component synthesis of benzofurans. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 2819-2823.
- [34] Liang, Z.; Xu, H.; Tian, Y.; Guo, M.; Su, X.; Guo, C. Design, synthesis and antifungal activity of novel benzofuran-triazole hybrids. *Molecules* **2016**, *21*, 732.
- [35] Demirayak, Å.; Uçucu, U.; Benkli, K.; Gündogdu-Karaburun, N.; Karaburun, A. C.; Akar, D.; Karabacak, M.; Kiraz, N. Synthesis and antifungal activities of some aryl(benzofuran-2-yl)ketoximes. *Il Farmaco* **2002**, *57*, 609-612.
- [36] Heravi, M.; Vahideh, Z. Recent advances in the synthesis of biologically active compounds containing benzo[b]furans as a framework. *Curr. Org. Synth.* **2016**, *13*, 780-833.
- [37] Khan, M. W.; Alam, M. J.; Rashid, M. A.; Chowdhury, R. A new structural alternative in benzo[b]furans for antimicrobial activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4796-4805.
- [38] Seo, Y. H.; Damodar, K.; Kim, J.-K.; Jun, J.-G. Synthesis and biological evaluation of 2-arylbzofurans, rugchalcones A, B and their derivatives as potent anti-inflammatory agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 1521-1524.
- [39] Moss, G. P. Nomenclature of lignans and neolignans. *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1493-1523.
- [40] Gottlieb, O. R. The rational search for natural neolignans. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **1991**, *86*, 25-29.
- [41] Haworth, R. D. The chemistry of the lignan group of natural products. *J. Chem. Soc.* **1942**, 448-456.
- [42] Gottlieb, O. R.; Yoshida, M. Lignoides com atenção especial à química das neolignanas. *Quím. Nova* **1984**, 250-273.

- [43] Dewick, P. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 2nd England: John Wiley & Sons, 2002.
- [44] Liu, Q.; Shen, L.; Wang, T.-T.; Chen, C.-J.; Qi, W.-Y.; Gao, K. Novel modified furanoeremophilane-type sesquiterpenes and benzofuran derivatives from *Ligularia veitchiana*. *Food Chem.* **2010**, *122*, 55-59.
- [45] Barceló, A. R.; Pomar, F.; Attar, R. Plant peroxidases: Versatile catalysts in the synthesis of bioactive natural products. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2002**, *27*, 735-791.
- [46] Liu, Q.-B.; Huang, X.-X.; Yan, X.-J.; Bai, M.; Yu, L.-H.; Hu, C.; Zhu, T.; Li, L.-Z.; Song, S.-J. Neolignans from the seeds of *Prunus tomentosa* (Rosaceae) and their chemotaxonomic interest. *Biochem. Syst. Ecol.* **2014**, *55*, 236-240.
- [47] Li, S. L.; Ilieski, T.; Lundquist, K.; Wallis, A. F. A. Reassignment of relative stereochemistry and C-7 and C-8 in arylcoumaran neolignans. *Phytochemistry* **1997**, *46*, 929-934.
- [48] Iwashina, T. The structure and distribution of the flavonoids in plants. *J. Plant Res.* **2000**, *113*, 287-299.
- [49] Gottlieb, O. R. Chemosystematics of the lauraceae. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 1537-1570.
- [50] Benevides, P. J. C.; Sartorelli, P. c.; Kato, M. J. Phenylpropanoids and neolignans from *Piper regnellii*. *Phytochemistry* **1999**, *52*, 339-343.
- [51] Hayashi, T.; Thomson, R. H. New lignans in *Conocarpus erectus*. *Phytochemistry* **1975**, *14*, 1085-1087.
- [52] Lemièrre, G.; Gao, M.; De Groot, A.; Dommissie, R.; Lepoivre, J.; Pieters, L.; Buss, V. 3',4-Di-O-methylcedrusin: synthesis, resolution and absolute configuration. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 1775-1779.
- [53] Natori, Y.; Tsutsui, H.; Sato, N.; Nakamura, S.; Nambu, H.; Shiro, M.; Hashimoto, S. Asymmetric synthesis of neolignans (–)-*epi*-conocarpan and (+)-conocarpan via Rh(II)-catalyzed C–H insertion process and revision of the absolute configuration of (–)-*epi*-conocarpan. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4418-4421.
- [54] Chen, C.-y.; Weisel, M. Concise asymmetric synthesis of (+)-conocarpan and obtusafuran. *Synlett* **2013**, *24*, 189-192.
- [55] Daquino, C.; Rescifina, A.; Spatafora, C.; Tringali, C. Biomimetic synthesis of natural and “unnatural” lignans by oxidative coupling of caffeic esters. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 6289-6300.
- [56] Ward, R. S. Lignans, neolignans and related compounds. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 75-96.
- [57] Chioccare, F.; Poli, S.; Rindone, B.; Pilati, T.; Brunow, G.; Pietikäinen, P.; Setälä, H. Regio- and diastereo-selective synthesis of dimeric lignans using oxidative coupling. *Acta Chem. Scand.* **1993**, *47*, 610-616.
- [58] Althagafy, H. S.; Graf, T. N.; Sy-Cordero, A. A.; Gufford, B. T.; Paine, M. F.; Wagoner, J.; Polyak, S. J.; Croatt, M. P.; Oberlies, N. H. Semisynthesis, cytotoxicity, antiviral activity, and drug

- interaction liability of 7-O-methylated analogues of flavonolignans from milk thistle. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 3919-3926.
- [59] Medeiros, T. C. T.; Dias, H. J.; Silva, E. O.; Fukui, M. J.; Soares, A. C. F.; Kar, T.; Heleno, V. C. G.; Donate, P. M.; Parreira, R. L. T.; Crotti, A. E. M. Detailed ¹H and ¹³C NMR spectral data assignment for two dihydrobenzofuran neolignans. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27*, 136-143.
- [60] Davin, L. B.; Wang, H. B.; Crowell, A. L.; Bedgar, D. L.; Martin, D. M.; Sarkanen, S.; Lewis, N. G. Stereoselective bimolecular phenoxy radical coupling by an auxiliary (dirigent) protein without an active center. *Science* **1997**, *275*, 362-366.
- [61] Van Miert, S.; Dyck, S. V.; Schmidt, T. J.; Brun, R.; Vlietinck, A.; Lemièrre, G.; Pieters, L. Antileishmanial activity, cytotoxicity and QSAR analysis of synthetic dihydrobenzofuran lignans and related benzofurans. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 661-669.
- [62] Orlandi, M.; Rindone, B.; Molteni, G.; Rummakko, P.; Brunow, G. Asymmetric biomimetic oxidations of phenols: the mechanism of the diastereo- and enantioselective synthesis of dehydroadiconiferyl ferulate (DDF) and dehydroadiconiferyl alcohol (DDA). *Tetrahedron* **2001**, *57*, 371-378.
- [63] Quideuau, S.; Ralph, J. A biomimetic route to lignin model compounds via silver (I) oxide oxidation. 1. Synthesis of dilignols and noncyclic benzyl aryl ethers. *Holzforshung* **1994**, *48*, 12-22.
- [64] Ralph, J.; Conesa, M. T. G.; Williamson, G. Simple preparation of 8-5-coupled diferulate. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 2531-2532.
- [65] Yoshihara, T.; Yamaguchi, K.; Sakamura, S. The relative configuration of grossamide and hordatinens. *Agric. Biol. Chem.* **1983**, *47*, 217-220.
- [66] Nelo, R. A. Synthesis of analogs the licarina A for research trypanocidal activity. - Universidade Federal do ABC, Santo André, 2016.
- [67] Erdtman, H. Dehydrierungen in der coniferylreihe. II. Dehydrodi-isoeugenol. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1933**, *503*, 283-294.
- [68] Shiba, T.; Xiao, L.; Miyakoshi, T.; Chen, C. L. Oxidation of isoeugenol and coniferyl alcohol catalyzed by laccases isolated from *Rhus vernicifera* Stokes and *Pycnoporus coccineus*. *J. Mol. Catal. B Enzim.* **2000**, *10*, 605-615.
- [69] Basini, G.; Spatafora, C.; Tringali, C.; Bussolati, S.; Grasselli, F. Effects of a ferulate-derived dihydrobenzofuran neolignan on angiogenesis, steroidogenesis, and redox status in a swine cell model. *J. Biomol. Screen.* **2014**, *19*, 1282-1289.
- [70] Pieters, L.; de Bruyne, T.; Claeys, M.; Vlietinck, A.; Calomme, M.; vanden Berghe, D. Isolation of a dihydrobenzofuran lignan from south american Dragon's Blood (*Croton* spp.) as an inhibitor of cell proliferation. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 899-906.
- [71] Huang, X.-X.; Liu, S.; Lou, L.-L.; Liu, Q.-B.; Zhou, C.-C.; Li, L.-Z.; Peng, Y.; Song, S.-J. Phenylpropanoids from *Crataegus pinnatifida* and their chemotaxonomic importance. *Biochem. Syst. Ecol.* **2014**, *54*, 208-212.

- [72] Apers, S.; Vlietinck, A.; Pieters, L. Lignans and neolignans as lead compounds. *Phytochem. Rev.* **2003**, *2*, 201-217.
- [73] Pieters, L.; Van Dyck, S.; Gao, M.; Bai, R.; Hamel, E.; Vlietinck, A.; Lemiére, G. Synthesis and biological evaluation of dihydrobenzofuran lignans and related compounds as potential antitumor agents that inhibit tubulin polymerization. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5475-5481.
- [74] Pieters, L.; De Bruyne, T.; Van Poel, B.; Vingerhoets, R.; Tottá, J.; Vanden Berghe, D.; Vlietinck, A. In vivo wound healing activity of Dragon's Blood (*Croton* spp.), a traditional South American drug, and its constituents. *Phytomedicine* **1995**, *2*, 17-22.
- [75] Li, C. K. F.; Seth, R.; Gray, T.; Bayston, R.; Mahida, Y. R.; Wakelin, D. Production of proinflammatory cytokines and inflammatory mediators in human intestinal epithelial cells after invasion by *Trichinella spiralis*. *Infect. Immun.* **1998**, *66*, 2200-2206.
- [76] Cho, J. Y.; Baik, K. U.; Yoo, E. S.; Yoshikawa, K.; Park, M. H. *In vitro* antiinflammatory effects of neolignan woorenosides from the rhizomes of *Coptis japonica*. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1205-1209.
- [77] Griffiths, I. W. J. J. Thomson — the centenary of his discovery of the electron and of his invention of mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* **1997**, *11*, 2-16.
- [78] Watson, J. T.; Sparkman, O. D. *Introduction to Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications and Strategies for Data Interpretation*, 4th ed. Chichester, England: John Wiley & Sons, 2007.
- [79] McLafferty, F. W. Mass spectrometry across sciences. *PNAS* **2008**, *105*, 18088-18089.
- [80] Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science* **1989**, *246*, 64-71.
- [81] Dias, H. J.; Melo, N. I.; Crotti, A. E. M. Electrospray ionization tandem mass spectrometry as a tool for the structural elucidation and dereplication of natural products: an overview. In: Prasain, J.K. *Applications of Tandem Mass Spectrometry*, Rijeka, Croatia: InTech Open Access Publisher, 2011.
- [82] Konermann, L.; Ahadi, E.; Rodriguez, A. D.; Vahidi, S. Unraveling the mechanism of electrospray ionization. *Anal. Chem.* **2012**, *85*, 2-9.
- [83] Vessecchi, R.; Galembeck, S. E.; Lopes, N. P.; Nascimento, P. G. B. D.; Crotti, A. E. M. Aplicação da química quântica computacional no estudo de processos químicos envolvidos em espectrometria de massas. *Quím. Nova* **2008**, *31*, 840-853.
- [84] Banerjee, S.; Mazumdar, S. Electrospray ionization mass spectrometry: a technique to access the information beyond the molecular weight of the analyte. *Int. J. Anal. Chem.* **2012**, *2012*, 40.
- [85] Ernst, M.; Silva, D. B.; Silva, R. R.; Vêncio, R. Z. N.; Lopes, N. P. Mass spectrometry in plant metabolomics strategies: from analytical platforms to data acquisition and processing. *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 784-806.
- [86] Begou, O.; Gika, H. G.; Wilson, J. D.; Theodoridis, G. Hyphenated MS-based targeted approaches in metabolomics. *Analyst* **2017**, *142*, 3079-3100.

- [87] Kind, T.; Fiehn, O. Advances in structure elucidation of small molecules using mass spectrometry. *Bioanal. Rev.* **2010**, *2*, 23-60.
- [88] Sleno, L.; Volmer, D. A. Ion activation methods for tandem mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **2004**, *39*, 1091-1112.
- [89] Cooks, G. Special feature: Historical. Collision-induced dissociation: Readings and commentary. *J. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 1215-1221.
- [90] McLuckey, S. A. Principles of collisional activation in analytical mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectr.* **1991**, *3*, 599-614.
- [91] Herrera-Lopes, S.; Hernando, M. D.; Garcia-Calvo, E.; Fernandez-Alba, A. R.; Ulaszewska, M. M. Simultaneous screening of targeted and non-targeted contaminants using an LC-QTOF-MS system and automated MS/MS library searching. *J. Mass Spectrom.* **2014**, *49*, 878-893.
- [92] Oberacher, H.; Whitley, G.; Bernd, B. Evaluation of the sensitivity of the 'Wiley registry of tandem mass spectral data, MSforID' with MS/MS data of the 'NIST/NIH/EPA mass spectral library'. *J. Mass Spectrom.* **2013**, *48*, 487-496.
- [93] Schaab, E. H.; Crotti, A. E. M.; Iamamoto, Y.; Kato, M. J.; Lotufo, L. V. C.; Lopes, N. P. Biomimetic oxidation of piperine and pipartine catalyzed by iron(III) and manganese(III) porphyrins. *Biol. Pharm. Bull.* **2010**, *33*, 912-916.
- [94] Demarque, D.; Crotti, A. E. M.; Vessecchi, R.; Lopes, J. L. C.; Lopes, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: An important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural product. *Nat. Prod. Rep.* **2016**, *33*, 432-455.
- [95] Hammes, G. G. *Principles of Chemical Kinetics*, New York: Academic Press, 1978.
- [96] Smith, K. M. *Understanding Mass Spectra - A Basic Approach*, 2nd. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004.
- [97] McLafferty, F. W.; Turecek, F. *Interpretation of Mass Spectra*, 4^o Ed. Sausalito, EUA: University Science Books, 1993.
- [98] Furtado, N. A. J. C.; Vessecchi, R.; Tomaz, J. C.; Galembeck, S. E.; Bastos, J. K.; Lopes, N. P.; Crotti, A. E. M. Fragmentation of diketopiperazines from *Aspergillus fumigatus* by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS). *J. Mass Spectrom.* **2007**, *42*, 1279-1286.
- [99] Sykes, P. *A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry*, 6^a ed. New York: Longman Scientific and Technical, 1985.
- [100] Nobes, R. H.; Radom, L. Rationalization of scrambling processes. *Org. Mass Spectrom.* **1989**, *21*, 407-409.
- [101] Gonzalez, C.; Schlegel, H. B. An improved algorithm for reaction path following. *J. Chem. Phys.* **1989**, *90*, 2154-2161.
- [102] Range, K.; Riccardi, D.; Cui, Q.; Elstner, M.; York, D. M. Benchmark calculations of proton affinities and gas-phase basicities of molecules important in the study of biological phosphoryl transfer. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3070-3079.

- [103] Isaacs, N. S. *Physical organic chemistry*, New York: Longmann Scientific & Technical, 1995.
- [104] Bagno, A.; Scorrano, G. Selectivity in proton transfer, hydrogen bonding, and solvation. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 609-616.
- [105] Stewart, R. *The Proton: Application to Organic Chemistry*, Orlando: Academic Press, 1985.
- [106] Huzinaga, S.; Sakai, Y.; Miyoshi, E.; Narita, S. Extended Mulliken electron population analysis. *J. Chem. Phys.* **1990**, *93*, 3319-3325.
- [107] Ram Kinkar, R.; Kimihiko, H.; Sailaja, K.; Sourav, P. Mulliken population analysis based evaluation of condensed Fukui function indices using fractional molecular charge. *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 2901-2907.
- [108] Mulliken, R. S. Electronic population analysis on LCAO-MO molecular wave functions. I. *J. Chem. Phys.* **1955**, *23*, 1833-1840.
- [109] Vessecchi, R.; Galembeck, S. E.; Lopes, N. P.; Nascimento, P. G. B. D.; Crotti, A. E. M. Aplicação da química quântica computacional no estudo de processos químicos envolvidos em espectrometria de massas. *Quím. Nova* **2008**, *31*, 840-853.
- [110] Dias, H. J.; Stefani, R.; Tomaz, J. C.; Vessecchi, R.; Crotti, A. E. M. Differentiation between 3,4- and 4,15-epoxyeudesmanolides by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Anal. Methods Chem.* **2017**, *2017*, 1-9.
- [111] Dias, H. J.; Bento, M. V. B.; Silva, E. H.; Júnior, A. S.; de Oliveira, M. F.; Vessecchi, R.; Parreira, R. L. T.; Crotti, A. E. M. Gas-phase fragmentation reactions of protonated cocaine: New details to an old story. *J. Mass Spectrom.* **2018**, *53*, 203-213.
- [112] Givens, E. N.; Alexakos, L. G.; Venuto, P. B. Mass spectra of benzofurans. *Tetrahedron* **1969**, *25*, 2407-2415.
- [113] Morreel, K.; Kim, H.; Lu, F.; Dima, O.; Akiyama, T.; Vanholme, R.; Niculaes, C.; Goeminne, G.; Inzé, D.; Messens, E.; Ralph, J.; Boerjan, W. Mass spectrometry-based fragmentation as an identification tool in lignomics. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 8095-8105.
- [114] Kuo, Y. H.; Wu, C. H. Synthesis of 5-(3-hidroxypropyl)-7-methoxy-2-(3'-methoxy-4'-hydrophenyl)-3-benzo[b]furancarbaldehyde, a novel adenosine A1 receptor ligand from the root of *Salvia miltiorrhiza*. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 625-628.
- [115] Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648-5652.
- [116] Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery Jr., J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P. C.; J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.;

- Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03. Gaussian Inc.* **2003**,
- [117] McQuarrie, D. *Statistical Mechanics*, HarperCollins, New York: 1976.
- [118] McQuarrie, D. A.; Simon, J. D. *Physical Chemistry: A molecular approach*, Sausalito: University Science Books, 1997.
- [119] Martín-Sómer, A.; Spezia, R.; Yáñez, M. Gas-phase reactivity of [Ca(formamide)]²⁺ complex: an example of different dynamical behaviours. *Phil. Trans. R. Soc. A* **2017**, *375*, 20160196.
- [120] Martín-Sómer, A.; Yáñez, M.; Gaigeot, M. P.; Spezia, R. Unimolecular fragmentation induced by low-energy collision: statistically or dynamically driven? *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 10882-10893.
- [121] Spezia, R.; Martínez-Núñez, E.; Vazquez, S.; Hase, W. L. Theoretical and computational studies of non-equilibrium and non-statistical dynamics in the gas phase, in the condensed phase and at interfaces. *Phil. Trans. R. Soc. A* **2017**, *375*,
- [122] Karni, M.; Mandelbaum, A. The 'even-electron rule'. *Org. Mass. Spectrom.* **1980**, *15*, 53-64.
- [123] Lopes, W. A.; Fascio, M. Flow chart for infrared spectra interpretation of organic compounds. *Quim. Nova* **2004**, *27*, 670-673.
- [124] Kumaraswamy, G.; Ramakrishna, G.; Raju, R.; Padmaja, M. An expedient synthesis of enantioenriched substituted (2-benzofuryl)arylcarbinols via tandem Rap-Stoermer and asymmetric transfer hydrogenation reactions. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 9814-9818.
- [125] Crotti, A. E. M.; Cunha, W. R.; Lopes, N. P.; Lopes, J. o. L. C. Sesquiterpene lactones from *Minasia alpestris*. *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 677-680.
- [126] Aguiar, G. P.; Wakabayashi, K. A. L.; Luz, G. F.; Oliveira, V. B.; Mathias, L.; Vieira, I. J. C.; Braz-Filho, R.; Crotti, A. E. M. Fragmentation of plumeran indole alkaloids from *Aspidosperma spruceanum* by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* **2010**, *24*, 295-308.
- [127] Boyd, R.; Somogyi, A. The mobile proton hypothesis in fragmentation of protonated peptides: a perspective. *J. Am. Soc. Mass Spectr.* **2010**, *21*, 1275-1278.
- [128] Bouchoux, G. Gas-phase basicities of polifunctional molecules. Part 4: Carbonyl groups as basic sites. *Mass Spectrom. Rev.* **2007**, *34*, 493-534.
- [129] Hunter, E. P. L.; Lias, S. G. Evaluated gas phase basicities and proton affinities of molecules: An update. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1998**, *27*, 413-656.
- [130] Demarque, D. P.; Crotti, A. E. M.; Vessecchi, R.; Lopes, J. L. C.; Lopes, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: An important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. *Nat. Prod. Rep.* **2016**, *33*, 432-455.

- [131] Hu, N.; Tu, Y.; Liu, Y.; Jiang, K.; Pan, Y. Dissociative protonation and proton transfers: fragmentation of alpha, beta-unsaturated aromatic ketones in mass spectrometry. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3369-3376.
- [132] Fabre, N.; Rustan, I.; Hoffmann, E.; Quetin-Leclercq, J. Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectr.* **2011**, *12*, 707-715.
- [133] Wu, W.; Liu, Z.; Song, F.; Liu, S. Structural analysis of selected characteristic flavones by electrospray tandem mass spectrometry. *Anal. Sci.* **2004**, *20*, 1103-1105.
- [134] Risoli, A.; Cheng, J. B. Y.; Verkerk, U. H.; Zhao, J.; Ragno, G.; Hopkinson, A. C.; Siu, K. W. M. Gas-phase fragmentation of protonated benzodiazepines. *Rapid Commun. Mass Sp.* **2007**, *21*, 2273-2281.
- [135] Schröder, D.; Heinemann, C.; Schwarz, H.; Harvey, J. N.; Dua, S.; Blanksby, S. J.; Bowie, J. H. Ethylenedione: An intrinsically short-lived molecule. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 2550-2557.
- [136] Schäfer, M.; Drayb, M.; Springer, A.; Zacharias, P.; Meerholz, K. Radical cations in electrospray mass spectrometry: Formation of open-shell species, examination of the fragmentation behavior in ESI-MSⁿ and reaction mechanism studies by detection of transient radical cations. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007*, 5162-5174.
- [137] Barontini, F.; Cozzani, V.; Cuzzola, A.; Petarca, L. Investigation of hexabromocyclododecane thermal degradation pathways by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* **2001**, *15*, 690-698.
- [138] Kuck, D. Mass spectrometry of alkylbenzenes and related compounds. Part I. Gas-phase ion chemistry of alkylbenzene radical cations. *Mass Spectrom. Rev.* **1990**, *9*, 187-233.
- [139] Blanksby, S.; Dua, S.; Hevko, J.; Christie, H.; Bowie, J. Anionic migration in aromatic systems effected by collisional activation. Unusual fragmentations of deprotonated anilides containing methoxyl and ethoxyl substituents. *Eur. J. Mass Spectrom.* **1996**, *2*, 33-42.
- [140] Weinkam, R. J. Importance of intramolecular associations in the chemical ionization mass spectra of monoenoic and monoepoxy fatty acid methyl esters. *J. Am. Soc. Mass Spectr.* **1974**, *96*, 1032-1037.
- [141] Weinkam, R. J.; Gal, J. Effects of bifunctional interactions in the chemical ionization mass spectrometry of carboxylic acids and methyl esters. *Org. Mass Spectrom.* **1976**, *11*, 188-196.
- [142] Cao, M.-M.; Wang, D.; Zhang, H.; Fang, D.-M.; He, H.-P.; Hao, X.-J.; Zhang, G.-L.; Wu, Z.-J. Fragmentation study of daphniphyllum alkaloids by electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Curr. Pharm. Anal.* **2016**, *12*, 249-257.
- [143] Zhang, Y.; Shi, Q.; Shi, P.; Zhang, W.; Cheng, Y. Characterization of isoquinoline alkaloids, diterpenoids and steroids in the Chinese herb Jin-Guo-Lan (*Tinospora sagittata* and *Tinospora capillipes*) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization with multistage mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* **2006**, *20*, 2328-2342.

- [144] Qi, L.-W.; Chen, C.-Y.; Li, P. Structural characterization and identification of iridoid glycosides, saponins, phenolic acids and flavonoids in Flos *Lonicerae Japonicae* by a fast liquid chromatography method with diode-array detection and time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* **2009**, *23*, 3227-3242.
- [145] Qing, Z.-X.; Cheng, P.; Liu, X.-B.; Liu, Y.-S.; Zeng, J.-G. Systematic identification of alkaloids in *Macleaya microcarpa* fruits by liquid chromatography tandem mass spectrometry combined with the isoquinoline alkaloids biosynthetic pathway. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2014**, *103*, 26-34.
- [146] Wang, Y.; Liu, Z.; Song, F.; Liu, S. Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the aconitines in the roots of aconite. *Rapid Commun. Mass Sp.* **2002**, *16*, 2075-2082.
- [147] Vessecchi, R.; Nascimento, P. G. B. D.; Lopes, J. N. C.; Lopes, N. P. Fragmentation studies of synthetic 2-acylamino-1,4-naphthoquinones by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 1219-1225.
- [148] Vessecchi, R.; Emery, F. S.; Galembeck, S. E.; Lopes, N. P. Gas-phase reactivity of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinones: a computational and mass spectrometry study of lapachol congeners. *J. Mass Spectrom.* **2012**, *47*, 1648-1659.
- [149] Wang, H.; Feng, F. Identification of components in Zhi-Zi-Da-Huang decoction by HPLC coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, photodiode array and fluorescence detectors. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2009**, *49*, 1157-1165.
- [150] McLafferty, F. W. Mass spectrometric analysis: Molecular rearrangements. *Anal. Chem.* **1959**, *31*, 82-87.
- [151] Komáromi, I.; Somogyi, A.; Wysocki, V. H. Proton migration and its effect on the MS fragmentation of N-acetyl OMe proline: MS/MS experiments and ab initio and density functional calculations. *I. J. Mass Spectrom.* **2005**, *241*, 315-323.
- [152] Guaratini, T.; Lopes, N. P.; Pinto, E.; Colepicolo, P.; Gates, P. J. Mechanism for the elimination of aromatic molecules from polyenes in tandem mass spectrometry. *Chem. Commun.* **2006**, 4110-4112.
- [153] da Cunha Pinto, A.; Vessecchi, R.; da Silva, C. G.; Amorim, A. C. L.; dos Santos Júnior, H. M.; Rezende, M. J. C.; Gates, P. J.; Rezende, C. M.; Lopes, N. P. Electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis of isopimarane diterpenes from Velloziaceae. *Rapid Commun. Mass Sp.* **2016**, *30*, 61-68.
- [154] Bowers, M. T. *Gas Phase Ion Chemistry*, Academic Press, 1979.
- [155] Danikiewicz, W.; Zimnicka, M. Negative ion gas-phase chemistry of arenes. *Mass Spectrom. Rev.* **2016**, *35*, 123-146.
- [156] Kass, S. R.; Tian, Z. Carbanions in gas phase. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 6986-7010.
- [157] Böhm, S.; Fiedler, P.; Exner, O. Analysis of the ortho effect: acidity of 2-substituted benzoic acids. *New J. Chem.* **2004**, *28*, 67-74.

- [158] Bouchoux, G. From the mobile proton to wandering hydride ion: mechanistic aspects of gas-phase ion chemistry. *J. Mass Spectrom.* **2013**, *48*, 505-518.
- [159] Gorenstein, D. G. Stereoelectronic effects in biomolecules. *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 1047-1033.
- [160] Deslongchamps, P.; Deslongchamps, G. Bent bonds, the antiperiplanar hypothesis and the theory of resonance. A simple model to understand reactivity in organic chemistry. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 5321-5333.
- [161] Schleyer, P. R.; Manoharan, M.; Jiao, H.; Stahl, F. The acenes: Is there a relationship between aromatic stabilization and reactivity? *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3643-3646.
- [162] Uccella, N.; Howe, I.; Williams, D. H. Mechanistic information from deuterium isotope effects on mass spectral processes: The elimination of ketene from acetanilides and the subsequent loss of HNC. *Org. Mass Spectrom.* **1972**, *6*, 229-233.
- [163] Chowdhury, S.; Harrison, A. G. Fragmentation of the enolate ion of 2,3-butanedione. Characterization of the acetyl anion by charge inversion mass spectrometry. *Org. Mass Spectrom.* **1989**, *24*, 123-127.
- [164] Cai, Y.; Mo, Z.; Rannulu, N. S.; Guan, B.; Kannupal, S.; Gibb, B. C.; Cole, R. B. Characterization of an exception to the 'even-electron rule' upon low-energy collision induced decomposition in negative ion electrospray tandem mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **2010**, *45*, 235-240.
- [165] Williams, J. P.; Nibbering, N. M. M.; Green, B. N.; Patel, V. J.; Scrivens, J. H. Collision-induced fragmentation pathways including odd-electron ion formation from desorption electrospray ionisation generated protonated and deprotonated drugs derived from tandem accurate mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 1277-1286.
- [166] Harting, N.; Grützmacher, H.-F. Toluene and isotoluene radical cations: alkoxymethyl substituents as a probe to study the formation, fragmentation and isomerization. *J. Mass Spectrom.* **1999**, *34*, 408-420.
- [167] Schildcrout, S. M.; Masnovi, J. Gaseous cation chemistry and chain-length effects in electron ionization and collision-induced dissociation mass spectra of symmetric 1,n-bis(9-anthracenyl)alkanes. *J. Mass Spectrom.* **2011**, *46*, 572-586.
- [168] Fabre, N.; Rustan, I.; de Hoffmann, E.; Quetin-Leclercq, J. Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectr.* **2001**, *12*, 707-715.

7. Anexos

A1. Espectro de RMN de ¹H do composto **a** (CDCl₃, 400 MHz, TMS).

A2. Espectro de RMN de ¹H do composto **b** (CDCl₃, 400 MHz).

A3. Espectro de RMN de ¹H do composto **c** (acetona-*d*₆, 400 MHz, TMS).

A4. Espectro de massas do composto **a** (EI, 70 eV).

A5. Espectro de massas do composto **b** (EI, 70 eV).

A6. Espectro de RMN de ¹H do composto 1 (CDCl₃, 400 MHz, TMS).

A7. Espectro de RMN de ¹³C do composto 1 (CDCl₃, 100 MHz, TMS).

A8. Espectro de infravermelho do composto **1** (pastilha de KBr)

A9. Espectro de EI-MS do composto **1** (70 eV)

A10. Espectro de RMN de ¹H do composto **2** (CDCl₃, 400 MHz, TMS).

A11. Espectro de RMN de ¹³C do composto **2** (CDCl₃, 100 MHz, TMS).

A12. Espectro de infravermelho de **2** (pastilha de KBr)

A13. Espectro de EI-MS do composto **2** (70 eV)

A14. Espectro de RMN de ¹H do composto **3** (CDCl₃, 400 MHz, TMS).

A15. Espectro de RMN de ¹³C do composto **3** (CDCl₃, 100 MHz, TMS).

A16. Espectro de infravermelho do composto **3** (pastilha de KBr)

A17. Espectro de EI-MS do composto **3** (70 eV)

A18. Espectro de RMN de ¹H do composto **4** (CDCl₃, 400 MHz, TMS).

A19. Espectro de RMN de ¹³C do composto **4** (CDCl₃, 100 MHz, TMS).

A20. Espectro de infravermelho do composto 4 (KBr pellet)

A21. Espectro de EI-MS do composto 4 (70 eV)

A22. Espectro de RMN de ¹H do composto **5** (CDCl₃, 400 MHz, TMS).

A23. Espectro de RMN de ¹³C do composto **5** (CDCl₃, 100 MHz, TMS).

A24. Espectro de infravermelho do composto **5** (pastilha de KBr)

A25. Espectro de ESI-MS/MS do composto **5** (10 eV)

A26. Espectro de RMN de ¹H do composto **6** (Acetone-*d*₆, 400 MHz, TMS).

A27. Espectro de RMN de ¹³C do composto **6** (Acetone-*d*₆, 100 MHz, TMS).

A28. Espectro de infravermelho de **6** (pastilha de KBr)

A29. Espectro de massas do composto **6** (EI, 70 eV).

A30. Espectro de RMN de ¹H do composto **7** (Acetone-*d*₆, 400 MHz, TMS).

A31. Espectro de RMN de ¹³C do composto **7** (Acetone-*d*₆, 100 MHz, TMS).

A32. Espectro de infravermelho de **7** (pastilha de KBr)

A33. Espectro de massas do composto **7** (EI, 70 eV).

A34. Espectro de RMN de ¹H do composto **8** (Acetone-*d*₆, 400 MHz, TMS).

A35. Espectro de RMN de ¹³C do composto **8** (Acetone-*d*₆, 100 MHz, TMS).

A36. Espectro de infravermelho de **8** (pastilha de KBr)

A37. Espectro de massas do composto **8** (EI, 70 eV).

A38. Espectro de RMN de ¹H do composto **9** (Acetone-*d*₆, 400 MHz, TMS).

A39. Espectro de RMN de ¹³C do composto **9** (Acetone-*d*₆, 100 MHz, TMS).

A40. Espectro de infravermelho de **9** (pastilha de KBr)

A41. Espectro de massas do composto **9** (EI, 70 eV).

A42. Espectro de RMN de ¹H do composto **10** (Acetone-*d*₆, 400 MHz, TMS).

A43. Espectro de RMN de ¹³C do composto **10** (Acetone-*d*₆, 100 MHz, TMS).

A44. Espectro de infravermelho de **10** (pastilha de KBr)

A45. Espectro de massas do composto **10** (EI, 70 eV).

A46. Espectro de RMN de ^1H do composto **11** (*Acetone- d_6* , 400 MHz, TMS).

A47. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **11** (*Acetone- d_6* , 100 MHz, TMS).

A48. Espectro de infravermelho de **11** (pastilha de KBr)

A49. Espectro de massas do composto **11** (EI, 70 eV).

A50. Espectro de RMN de ¹H do composto **12** (Acetone-*d*₆, 400 MHz, TMS).

A51. Espectro de RMN de ¹³C do composto **12** (Acetone-*d*₆, 100 MHz, TMS).

A52. Espectro de infravermelho de **12** (pastilha de KBr)

A53. Espectro de massas do composto **12** (EI, 70 eV).

A54. Espectro de RMN de ¹H do composto **13** (*Acetone-d*₆, 400 MHz, TMS).

A55. Espectro de RMN de ¹³C do composto **13** (*Acetone-d*₆, 100 MHz, TMS).

A56. Espectro de infravermelho de **13** (pastilha de KBr)

A57. Espectro de massas do composto **13** (EI, 70 eV).

A58. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **1** **A59.** Espectro de ESI-MSⁿ do composto **2**

Síntese e estudos sobre a fragmentação de compostos benzofurânicos por ESI-MS/MS

Herbert Júnior Dias

A60. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **3** **A61.** Espectro de ESI-MSⁿ do composto **4**

A62. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **5** **A63.** Espectro de ESI-MSⁿ do composto **6**, no modo positivo de ionização.

A64. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **7**, no modo positivo de ionização.

A65. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **8**, no modo positivo de ionização.

A66. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **9**, no modo positivo de ionização.

A67. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **10**, no modo positivo de ionização.

A68. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **11**, no modo positivo de ionização.

A69. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **12**, no modo positivo de ionização.

A70. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **13**, no modo positivo de ionização.

A71. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **6**, no modo negativo de ionização.

A73. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **8**, no modo negativo de ionização.

A74. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **9**, no modo negativo de ionização.

A75. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **10**, no modo negativo de ionização.

A76. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **11**, no modo negativo de ionização.

A77. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **12**, no modo negativo de ionização.

A78. Espectro de ESI-MSⁿ do composto **13**, no modo negativo de ionização.

Síntese e estudos sobre a fragmentação de compostos benzofurânicos por ESI-MS/MS

Herbert Júnior Dias

A79. Espectros de MS/MS dos experimentos em troca por deutério das NDBs **6-13**, no modo positivo de ionização