

UNESP- UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
MATERIAIS – POSMAT

Suzane Rosa da Silva

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ANÁLOGOS DA
DOPAMINA.**

PRESIDENTE PRUDENTE

2020

Suzane Rosa da Silva

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ANÁLOGOS DA
DOPAMINA.**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Materiais ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais (POSMAT) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, área de concentração Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo René Pérez González

Co-Orientador: Dr. Predrag Kalaba

PRESIDENTE PRUDENTE

2020

Silva, Suzane Rosa da.
Planejamento, síntese e caracterização de análogos
da dopamina / Suzane Rosa da Silva, 2020
125 f.

Orientador: Eduardo René Pérez González
Co-orientador: Predrag Kalaba

Dissertação (Mestrado-Universidade Estadual
Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, 2020

1. Análogos de dopamina. 2. SKF38393. 3. Di-
hidrexidina. 4. Agonistas D1 I. Universidade Estadual
Paulista. Faculdade de Ciências. II. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE SUZANE ROSA DA SILVA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 13 dias do mês de fevereiro do ano de 2020, às 14:00 horas, no(a) FCT/PRUDENTE, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. EDUARDO RENÉ PÉREZ GONZÁLEZ - Orientador(a) do(a) Departamento de Química e Bioquímica / UNESP/Câmpus de Presidente Prudente, Prof. Dr. GIULIANO CESAR CLOSOSKI do(a) Departamento de Física e Química / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP - Ribeirão Preto, Prof. Dr. LUIZ CARLOS DA SILVA FILHO do(a) Departamento de Química / Universidade Estadual Paulista, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de SUZANE ROSA DA SILVA, intitulada **Planejamento, síntese e caracterização de análogos da dopamina**. Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: Aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. EDUARDO RENÉ PÉREZ GONZÁLEZ



Prof. Dr. GIULIANO CESAR CLOSOSKI

Prof. Dr. LUIZ CARLOS DA SILVA FILHO

Os professores Luiz Carlos da Silva Filho e Giuliano Cesar Clososki participaram da banca por videoconferência.



*Aos meus pais Cida e Nélio,
e a Vovó Luzinete, com todo amor, dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que é a minha força todos os dias, que me acompanha e guia possibilitando que eu cresça profissionalmente e espiritualmente, vencendo todas as etapas até aqui.

Ao meu orientador, Professor Dr. Eduardo René Pérez González, com quem eu tenho a honra de aprender todos os dias. Obrigada por toda paciência, amizade e confiança.

Ao meu co-orientador, Dr. Predrag Kalaba, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Viena, Áustria, pelas discussões e a colaboração que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Gil Valdo José da Silva da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP), Universidade de São Paulo (USP) e ao seu assistente Vinicius Palaretti do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Departamento de Química - FFCLRP – USP pelos estudos de RMN ao longo desse trabalho.

Ao professor Valdemiro do Laboratório de Catálise Organometálica e Materiais (LaCOM) da Faculdade de Ciências e Tecnologia/FCT – UNESP e ao aluno Patrik Dione pelas análises de FT-IV.

A todos os Professores da POSMAT e aos professores que fizeram parte da banca de defesa deste trabalho de Mestrado, Professor Dr. Luiz Carlos da Silva Filho do Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Unesp de Bauru e Professor Dr. Giuliano César Clososki do Departamento de Física e Química-Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP - Ribeirão Preto.

Aos meus amigos do LQOF, Fer Du, Marina, Luaninha, e Tainá, agradeço pela amizade, companheirismo, apoio e aprendizado. Em especial agradeço a Lu, que é uma irmã que o laboratório me deu, muito obrigada por sua ajuda, parceria, cafés, cervejas, por todas as horas que você me ouviu, por todas as risadas e choros ao longo desses anos, conte comigo sempre.

Em especial agradeço a minha família, Nélio, Cida, Jane, Paulo, Fernando, Mayara, Aline, Masinha e Matheus me que me acompanham e ajudam em todos os momentos da minha vida, agradeço por todo amor e incentivo, vocês foram fundamentais nessa jornada. Em especial a vovó Lu, que mesmo sendo analfabeta foi inspiração e exemplo em minha vida, tenho certeza que lá de cima ela tem muito orgulho em ter uma neta mestre na família.

Aos meus amigos e amigas, Cris, Lidi, Gabi, Gabi Lima, Ju, kellen, Fran, karol, Nati, Lê, Flavinha, Bia, Di, Bob e Bruninho, obrigada por todo incentivo, por serem apoio e força ao longo desses anos, vocês alegraram meus dias.

A Capes pela bolsa concedida.

“Dizem que, na vida, quem perde o telhado ganha as estrelas. E é assim mesmo. Às vezes você perde o que não queria, mas conquista o que nunca imaginou. Nem tudo depende de um tempo, mas sim de uma atitude”.

Sóstenes Cruz

RESUMO

O desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes, menos tóxicos, mais seletivos e com menores efeitos colaterais, tem se mostrado de grande importância e interesse científico. Neste contexto, o presente trabalho apresenta uma série de compostos análogos da dopamina, com potencial atividade biológica nos receptores dopaminérgicos. Tendo em vista que a dopamina é um importante neurotransmissor que regula funções essenciais como cognição e o movimento voluntário, a síntese de seus análogos é importante para o desenvolvimento de compostos que poderão ajudar no tratamento de doenças neurodegenerativas como a Doença de Parkinson. A base de dados ZINC foi utilizada para sugerir novos candidatos análogos da Di-hidrexidina (DHX) e do SKF-38393, que são agonistas, total e parcial, respectivamente, do receptor de dopamina D1. Três compostos que apresentaram o maior índice de similaridade foram selecionados como protótipos. Todos os intermediários que foram isolados, assim como os produtos das sínteses, foram devidamente caracterizados. As análises físico-químicas foram realizadas por diferentes técnicas analíticas tais como espectrometria de massas com ionização por eletrospray de alta resolução, cromatografia em fase gasosa acoplada a detector de massas com ionização eletrônica, cromatografia líquida acoplada a detector de massa e espectroscopia na região do ultravioleta visível, espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier e ressonância magnética nuclear de prótons e C^{13} (HRESI-MS, GC-(EI)MS, LC-MS-UVvis, FT-IV, RMN de 1H e ^{13}C).

Palavra-chave: análogos de dopamina, SKF38393, Di-hidrexidina, agonistas D1.

ABSTRACT

The development of new drugs that are more efficient, less toxic, and more selective and have fewer side effects has been shown to be of great importance and scientific interest. In this context, the present work presents a series of dopamine analogous compounds, with potential biological activity at dopaminergic receptors. Bearing in mind that dopamine is an important neurotransmitter that regulates essential functions such as cognition and voluntary movement, the synthesis of its analogues is important for the development of analogues that may help in the treatment of neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease. The ZINC database was used to suggest new analogous candidates for Dihydropyridine (DHP) and SKF-38393, which are agonists, total and partial, respectively, of the dopamine D1 receptor. Three compounds that showed the highest similarity index were selected as prototypes. All the intermediates that were isolated, as well as the synthesis products, were properly characterized. The physical-chemical analyzes were performed by different analytical techniques such as mass spectrometry with high resolution electrospray ionization, gas chromatography coupled to a mass detector with electronic ionization, liquid chromatography coupled to a mass detector and spectroscopy in the ultraviolet region visible, Fourier transform infrared spectroscopy and proton and C13 nuclear magnetic resonance (HRESI-MS, GC- (EI) MS, LC-MS-UVvis, FT-IR, ^1H and ^{13}C NMR).

Keywords: dopamine analogs, SKF38393, Dihydropyridine, D1 agonists.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Síntese de catecolaminas a partir da tirosina nos neurônios dopaminérgicos, adrenérgicos e noradrenérgicos.....pg. 20.
- Figura 2.** Neurotransmissão dopaminérgica, desde a síntese da Dopamina no citoplasma até a sua liberação na fenda sináptica, bem como sua recaptação e degradação.....pg. 21.
- Figura 3.** Vias dopaminérgicas no Sistema Nervoso Central (SNC).....pg. 23.
- Figura 4:** Estrutura química do agonista parcial D1 SKF 38393.....pg. 29.
- Figura 5:** Estrutura química do agonista total D1 Di-hidrexidina (DHX)pg. 30.
- Figura 6.** Compostos obtidos através da modelagem baseada em ligantes (pesquisa de similaridade de banco de dados de ZINC) sobre DHX e SKF-38393 como compostos de origem.....pg. 36.
- Figura 7.** Cromatograma do produto não purificado **1a**, obtido por GC-MS.....pg. 52.
- Figura 8.** Cromatograma do produto não purificado **2a**, obtido por GC-MS.....pg. 53.
- Figura 9.** Análises de GC-MS para: **a)** o reagente de partida; **b)** intermediário **1a**; **c)** análogo ciclo-pentano **2a**.....pg. 54.
- Figura 10.** Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS para o composto **1a** isolado.....pg. 55.
- Figura 11.** Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS para o composto **2a** isoladopg. 55.
- Figura 12.** Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS do produto **1b**.....pg. 58.
- Figura 13.** Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS do produto **2b**.....pg. 58.
- Figura 14.** Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS do produto **1c**.....pg. 61.
- Figura 15.** Gráfico do percentual de área (proporcional a concentração) do composto de partida **1b**, do produto de interesse **1c**, e dos produtos colaterais **1e** e Formamida, em função do tempo.....pg. 62.
- Figura 16.** Gráfico do percentual de área (proporcional a concentração) do composto de partida **2b**, do produto de interesse **2c**, e dos subprodutos **2e** e Formamida, em função do tempo.....pg. 63.

Figura 17. Cromatograma e espectro de massas do produto isolado 1c	pg. 65.
Figura 18. Cromatograma e espectro de massas do produto isolado 1e	pg. 65.
Figura 19. Cromatograma e espectro de massas do produto isolado 2c	pg. 66.
Figura 20. Cromatograma e espectro de massas do produto 2e	pg. 67.
Figura 21. Espectro de massa obtido por introdução direta (GC-MS/DI) do produto 1d	pg. 69.
Figura 22. Espectro de massa obtido por introdução direta (GC-MS/DI) do produto 1f	pg. 69.
Figura 23. Espectro de massa obtido por introdução direta (GC-MS/DI) do produto 2d	pg. 70.
Figura 24. Espectro de massa obtido por introdução direta (GC-MS/DI) do produto 2f	pg. 70.
Figura 25. Cromatograma e espectro de massas do produto não purificado 3a	pg. 72.
Figura 26. Cromatogramas e espectro de massas para o composto isolado 3a	pg. 73.
Figura 27. Cromatograma e espectro de massas obtidos por GC-MS do produto 3b	pg. 75.
Figura 28. Cromatograma e espectro de massas do produto 3c	pg. 77.
Figura 29. Cromatograma e espectro de massas obtidos por GC-MS da mistura não purificada dos compostos 3d e 3f	pg. 78.
Figura 30. Cromatograma e espectro de massas obtidos por GC-MS do composto racêmico isolado 3d	pg. 79.
Figura 31. Cromatograma e espectro de massas obtidos por GC-MS do composto racêmico isolado 3f	pg. 80.
Figura 32. Espectro de massas obtido por análise de introdução direta GC-MS/DI, para o composto racêmico 3e	pg. 81.

Figura 33. Espectro de massas obtido por análise de introdução direta GC-MS/DI, para o composto racêmico **3g**.....pg. 81.

Figura 34. Estrutura geral para os compostos **1c-e** com os átomos numerados.....pg. 84.

Figura 35. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **1e**.....pg. 86

Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **1e**.....pg. 87.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Via de reação para síntese dos compostos **1a-d** e **2a-d** como análogos do agonista total D1 Di-hidrexidina (DHX)..... pg. 37.

Esquema 2. Via de reação para a síntese dos compostos **3a-e** como análogos do agonista parcial D1 SKF 38393.....pg. 38.

Esquema 3. Mecanismo para a obtenção do produto **1a** e para o análogo ciclo-pentano **2a**.....pg. 51.

Esquema 4. Mecanismo proposto de redução dos compostos **1a** ou **2a**pg. 57.

Esquema 5. Mecanismo proposto para a obtenção de **1c**, o mesmo ocorre para análogo **2c**.....pg. 60.

Esquema 6. Mecanismo proposto para a formação do produto **1d**.....pg. 68.

Esquema 7. Mecanismo proposto para a formação do composto **3a**.....pg. 71.

Esquema 8. Mecanismo proposto para formação do composto **3b**.....pg. 74.

Esquema 9. Mecanismo para formação do composto **3c**.....pg. 76.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de Ligantes Neurotransmissores Endógenos que serviram como Compostos-alvo para Descoberta de Medicamentos.....pg. 19.

Tabela 2. Receptores dopaminérgicos.....pg. 24.

Tabela 3. Fármacos comumente usados no tratamento da doença de Parkinson.....pg. 27.

Tabela 4. Valores das principais bandas de absorção na região do IV (cm^{-1}) dos compostos sintetizados.....pg. 82.

Tabela 5. Principais deslocamentos químicos de ^1H (ppm) para os compostos da série 1.....pg. 84.

Tabela 6. Principais deslocamentos químicos de ^{13}C (ppm) para os compostos da série 1.....pg. 85.

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIACÖES

AADC	Enzima L-aminoácido Aromático Descarboxilase
AMP-cíclico	Adenosina 3',5'-monofostato
ATV	Área Tagmental Ventral
BHE	Barreira Hematoencefálica
TDA	Transportador de Dopamina
MAO	Enzima Monoaminaoxidase
TVMA	Transportador Vesicular de Monoamina
L-DOPA	Di-hidroxifenilalanina
RD1	Receptor dopaminérgico D1
RD2	Receptor dopaminérgico D2
DP	Doença de Parkinson
COMT	Catecol-O-metiltransferase
DBB	Dibromobutano
DBP	Dibromopentano
DHX	Di-hidrexidina
CDCl ₃	Clorofórmio Deuterado
D ₂ O	Água Deuterada
DI	Direct Indroduction
FT-IV	Infravermelho com Tranformada de Fourier
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ESI	Ionização por Electrospray
P.f.	Ponto de Fusão
s	Singleto
d	Dupleto
dd	Dupleto de Dupleto
t	Triplete
qua	Quadrupleto

qu	Quintupletto
m	Multipleto
TLC	Thin-layer Chromatography

Sumário

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Sistema dopaminérgico.....	19
1.1.2. Receptores dopaminérgicos.....	23
1.1.3. A dopamina e o controle do movimento.	25
1.1.4. Agentes farmacológicos utilizados no tratamento da Doença de Parkinson.....	26
1.2. Precursores da dopamina.....	28
1.2.1. Agonistas de dopamina	28
1.2.3. SKF 38393 e Di-hidrexidina (DHX)	29
2. OBJETIVOS	32
3. PARTE EXPERIMENTAL	33
3.1. Materiais e Técnicas Analíticas	33
3.2. Procedimentos de Síntese.....	36
3.2.1. Rastreamento e busca na base de dados de similaridade	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
5. CONCLUSÕES	89
6. REFERÊNCIAS.....	90
ANEXOS	97

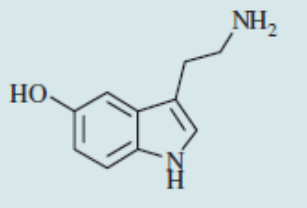
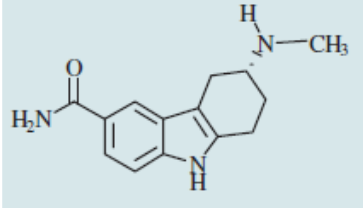
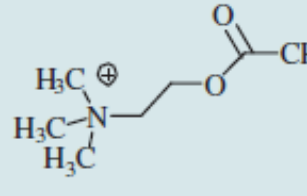
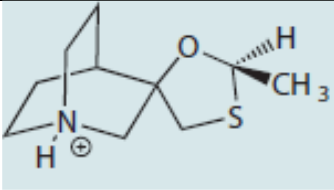
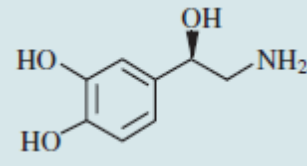
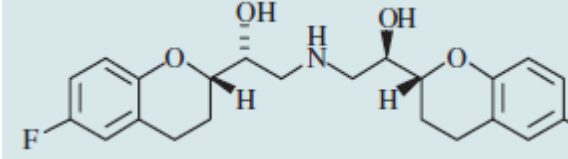
1. INTRODUÇÃO

A química medicinal é o desenvolvimento de moléculas para o tratamento de diversas doenças. Em adição, define uma ciência que estuda a aplicação de novos fármacos com fins terapêuticos. Na química medicinal, busca-se o isolamento de compostos provenientes da natureza e a síntese de novas moléculas, investigando as relações entre a estrutura química e a atividade biológica destas, o que envolve o estudo das interações com receptores de vários tipos, no organismo.¹

Para a descoberta de um fármaco o primeiro passo é identificar a causa da doença. Muitos sintomas aparecem quando há um desequilíbrio (excesso ou deficiência) de um composto químico em particular no corpo, ou a invasão de um organismo estranho ou o crescimento celular anormal. O efeito destes sintomas pode ser corrigido por fármacos com efeito agonista, que atuam simulando os efeitos reguladores dos compostos sinalizadores se ligando ao receptor ou por efeito antagonista, onde o fármaco reduz ou bloqueia o efeito de um agonista, os sintomas de algumas doenças também podem ser amenizados através da inibição de uma enzima específica ou transportador.^{2,3} A partir dessas considerações, um composto farmacologicamente ativo pode ser obtido através do planejamento e síntese de análogos de ligantes endógenos, substratos enzimáticos, transportadores ou através de outros ligantes já conhecidos, como os fármacos comerciais.^{1, 4, 5.}

Como exemplo, os neurotransmissores endógenos são utilizados como base de estudos no desenvolvimento de novos análogos. A Tabela 1 mostra exemplos dos fármacos que evoluíram a partir das estruturas dos neurotransmissores endógenos serotonina, acetilcolina e norepinefrina.¹

Tabela1. Exemplos de ligantes neurotransmissores endógenos que forma utilizados como serviram de modelos para a descoberta de novos medicamentos.

Ligante Endógeno	Fármaco comercial
 Serotonina	 Frovatriptano (anti-enxaqueca)
 Acetilcolina	 Cevimelina (tratamento boca seca)
 Norepinefrina	 Nebivolol (anti-hipertensivo)

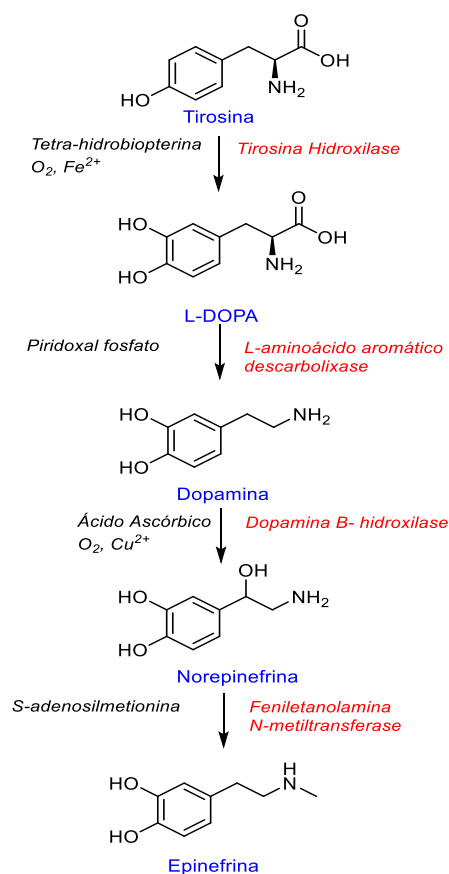
Fonte. Adaptado de SILVERMAN,1992.¹

1.1. Sistema dopaminérgico

A dopamina é um neurotransmissor catecolamínico que pertence à família das aminas biogênicas. Essas aminas são usadas pelos sistemas neuronais para modular funções complexas do sistema nervoso central como a ativação psicomotora, desempenho cognitivo e recompensa.^{6,7}

Dopamina é sintetizada no citoplasma do neurônio dopaminérgico pré-sináptico a partir da tirosina via hidroxilação pela enzima tirosina hidroxilase (TH) formando a 3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) que na sequência é então descarboxilada pela enzima L-aminoácido aromático descarboxilase (AADC), produzindo a dopamina, conforme mostrado na figura 1. Após a sua síntese, a dopamina é transportada do citosol através do TVMA (transportador vesicular de monoamina) para as vesículas sinápticas sendo liberada por exocitose na fenda sináptica como um neurotransmissor.⁷ A dopamina é também precursora de outros neurotransmissores como a norepinefrina e epinefrina em neurônios adrenérgicos e noradrenérgicos, respectivamente.^{8,9,10}

Figura 1. Síntese de catecolaminas a partir da tirosina nos neurônios dopaminérgicos, adrenérgicos e noradrenérgicos.

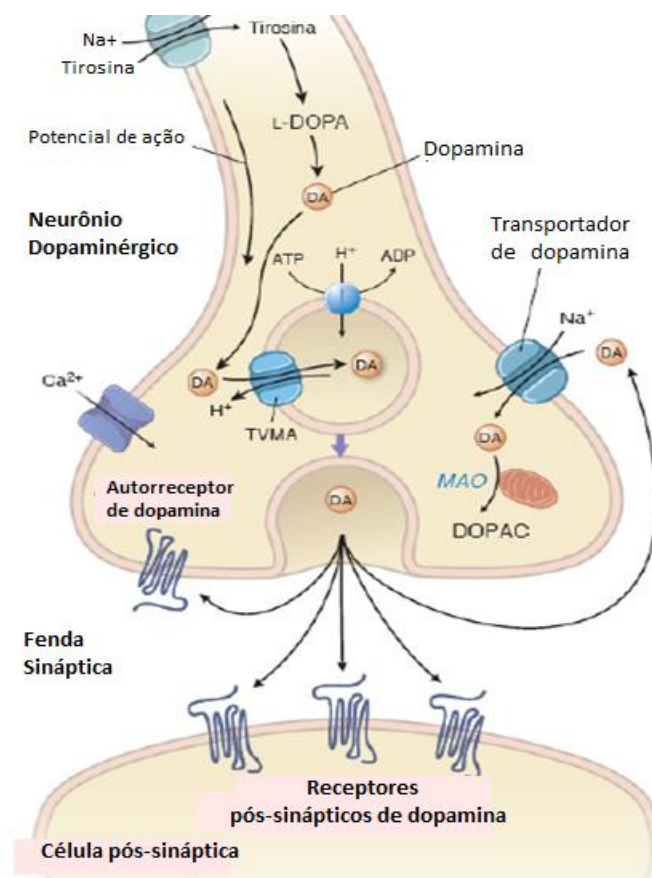


Fonte. Adaptado de Daubner, S.C; Le, T and Wang, S, 2011.⁸

No esquema de neurotransmissão da dopamina mostrado na figura 2 vemos que após a sua liberação na fenda sináptica, ela atuará se ligando em seus receptores específicos pós-sinápticos. O término da neurotransmissão ocorre através da sua recaptação pelo TDA (Transportador de dopamina), que é um transportador específico, de volta ao neurônio pré-sináptico.^{11,12}

Quando a dopamina retorna ao neurônio pré-sináptico ela pode ser reutilizada ou degradada no citoplasma pelas enzimas MAO (monoamina-oxidase) ou COMT (catecol-O-metiltransferase).^{13,14,15}

Figura 2. Neurotransmissão dopaminérgica, desde a síntese da Dopamina no citoplasma até a sua liberação na fenda sináptica, bem como sua recaptação e degradação.



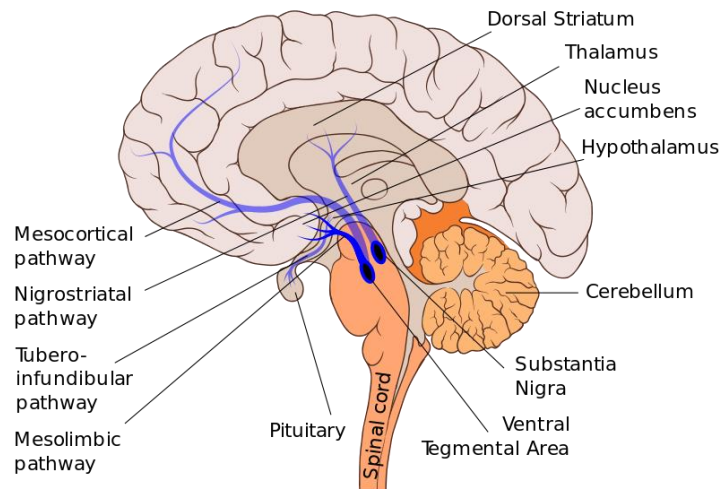
Fonte. Golan, D.E. et al.; 2012.¹⁵

Nesse sistema de neurotransmissão dopaminérgica, diversas substâncias são capazes de alterar a sua homeostase, essas substâncias são utilizadas no estudo de alvos terapêuticos, para promover um melhor entendimento sobre o funcionamento fisiológico e os mecanismos de ação de fármacos sobre os receptores de dopamina, o transportador de dopamina (TDA), as enzimas de degradação MAO distintas como MAO-A e MAO-B e também a enzima COMT, que são peças chaves na regulação da dopamina no sistema nervoso. ^{16, 17}

O maior trato de dopamina no cérebro está presente no sistema nigroestriatal (figura 3), que contém cerca de 80% da dopamina do cérebro. O sistema dopaminérgico nigroestriatal exerce associação ao movimento voluntário, distúrbios nessa via dopaminérgica estão associados à Doença de Parkinson.¹⁸

Por outro lado, condições como alerta, estresse, adição a drogas, e desordens neuropsiquiátricas estão associadas a alterações na liberação da dopamina no sistema mesocorticolímbico. Como a manipulação farmacológica dos sistemas dopaminérgicos nem sempre é específica para um determinado sistema, é possível prever a ocorrência de muitos dos efeitos adversos dos fármacos que atuam sobre esses sistemas, com base em seus efeitos nos outros sistemas dopaminérgicos. ¹⁶

Figura 3. Vias dopaminérgicas no Sistema Nervoso Central (SNC)



Fonte. Brain human sagittal por Patrick J. Lynch.¹⁹

1.1.2. Receptores dopaminérgicos

A divisão dos receptores de dopamina em duas famílias foi baseada em propriedades farmacológicas e funcionais dos receptores.^{20, 21}

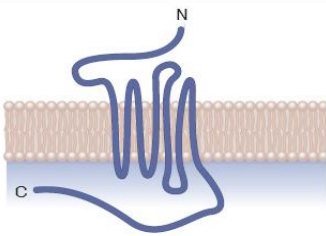
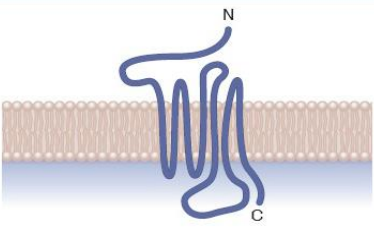
Existem cinco tipos de receptores da dopamina (D1 a D5), todos possuem sete domínios transmembrana e são membros da superfamília de receptores acoplados à proteína G, que são uma classe de proteínas responsáveis pela transdução de sinais celulares, sendo uma importante mediadora de vias metabólicas. Os receptores são classificados em dois grupos a família D1 e a família D2 baseadas em características estruturais e bioquímicas.²²

Os receptores da família D1 inclui os receptores dopaminérgicos D1 (RD1) e D5 (RD5), estes modulam o funcionamento do córtex pré-frontal eles também estão presentes no estriado, no hipotálamo e em outras regiões do córtex cerebral. Os receptores D1 encontram-se acoplados à proteína G estimulatória (Gs) (Tabela 2). A ativação desses receptores provoca o aumento da atividade da enzima adenilato ciclase (AC) e, conseqüentemente, eleva a concentração de monofosfato cíclico de

adenosina ou 3,5-adenosina monofosfato cíclico (AMP-cíclico), que é um segundo mensageiro e ativa a proteína quinase A (PKA), essa ativação de AC é responsável por uma cascata de sinalizações relacionadas com as funções motoras e cognitivas do sistema nervoso central.^{23,24}

A família D2 inclui os receptores dopaminérgicos D2 (RD2), nas isoformas longa e curta, D3 (RD3) e D4 (RD4). Esses receptores (D2, D3 e D4) são acoplados à proteína G inibitória (Gi), que inibe a atividade da enzima adenilato ciclase (tabela 2), consequentemente, a ativação dos receptores reduz a concentração de AMP-cíclico e a atividade das enzimas dependentes deste segundo mensageiro. Os receptores da família D2 são alvos de fármacos antipsicóticos, o que sugere sua relação com processos cognitivos, motores e afetivos. Eles estão distribuídos no corpo estriado, córtex cerebral, tronco encefálico e na medula espinhal. Os receptores semelhantes a D2 podem ser encontrados em terminais pré- e pós-sinápticos, enquanto receptores semelhantes a D1 estão localizados principalmente em locais pós-sinápticos.^{25,26}

Tabela 2. Receptores dopaminérgicos.

	Família do receptor D1		Família do receptor D2		
	D1	D5	D2	D3	D4
Estrutura esquemática					
Sistemas de segundos mensageiros	↑ AMPc (via G _s) ↑ Hidrólise do PIP ₂ Mobilização do Ca ²⁺ (via IP ₃) Ativação da PKC		↓ AMPc (via G _i) ↑ Correntes de K ⁺ ↓ Correntes de Ca ²⁺ reguladas por voltagem		
Distribuição no SNC	Estriado Neocórtex	Hipocampo Hipotálamo	Estriado Substância negra Hipófise	Tubérculo olfatório Nucleus accumbens Hipotálamo	Córtex frontal Bulbo Mesencéfalo

Fonte. Adaptado BRUNTON, Laurence *et al* 2012.²⁷

Ao longo dos anos os receptores de dopamina D2 foram muito mais investigados do que os receptores de dopamina D1, com diversos trabalhos relacionados a fisiologia e farmacologia dos receptores de dopamina D2. A atração relacionada aos receptores D2 aconteceu devido ao sucesso clínico de medicamentos direcionados a esse receptor que foram utilizados no tratamento de distúrbios como esquizofrenia e doença de Parkinson, e também por apresentarem uma grande variedade ligantes seletivos e eficazes.²⁸

A falta de estudos relacionados aos receptores de dopamina D1 ocorria devido as benzazepinas, dentre elas o SKF 38393 e SHC 23390 que são agonistas parcial e antagonistas dos receptores D1 respectivamente, serem praticamente os únicos disponíveis para caracterização in vivo desses receptores da dopamina D1. Como as benzazepinas são agonistas parciais e não completos, a potência e eficácia nos estudos in vivo eram menores, provavelmente devido à baixa penetração desses compostos na barreira hematoencefálica.²⁹

A pesquisa relacionada aos receptores de dopamina D1 ganharam força após a síntese no final da década de 80 das fenantridinas, dentre elas a Di-hidrexidina (DHX) e dos isocromanos (A68930), que apresentaram atividade agonista potente e completa para o receptor de dopamina D1, permitindo com que estudos sugerissem uma utilidade clínica para agonistas do receptor D1 da dopamina.^{30,31,32}

1.1.3. A dopamina e o controle do movimento.

A dopamina é quem desempenha uma cascata de sinalizações quando os movimentos voluntários desejados são executados, nesse processo estão envolvidos os receptores D1 e D2. O equilíbrio de atividade entre as vias direta e indireta regulam o movimento. Uma via direta é formada por neurônios estriatais que expressam

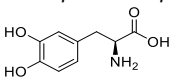
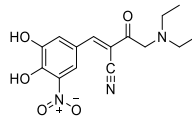
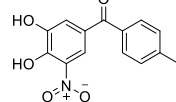
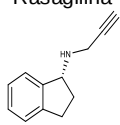
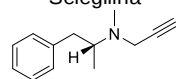
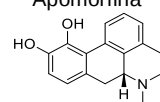
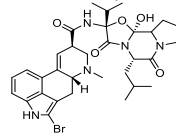
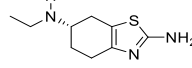
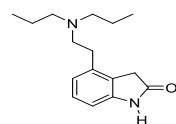
principalmente receptores D1 de dopamina que se projetam diretamente para a saída dos núcleos da base, dessa forma, a ativação da via direta desinibe o tálamo, e esta ativação da via direta estimula o movimento. A via indireta, também formada por neurônios estriatais, apresentam predominantemente receptores D2, que se projetam para o segmento externo do globo pálido que, por sua vez em consequência de múltiplas etapas, inibe o tálamo, ou seja, a ativação da via indireta inibe o movimento voluntário descontrolado que caracteriza a Doença de Parkinson (DP).^{33,34}

1.1.4. Agentes farmacológicos utilizados no tratamento da Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) é um distúrbio progressivo e todos os tratamentos disponíveis, em sua maioria, são sintomáticos, visando uma melhoria nos sintomas causados pela doença, porém não promovem cura do quadro clínico. Esses tratamentos são úteis e podem restaurar a qualidade de vida durante muitos anos até que a evolução da doença ocorra. Muitos desses tratamentos disponíveis causam efeitos colaterais e causam o comprometimento cognitivo em estágios avançados da doença, portanto a busca por novos fármacos e o desenvolvimento de tratamentos neuroprotetores e neurorestauradores movem as pesquisas nessa área.^{35,36}

As estratégias para o tratamento da DP se baseiam em classes como: precursores de dopamina, agonistas dos receptores de dopamina e inibidores do metabolismo de dopamina (MAOs e COMT).³⁷ Os fármacos comumente utilizados para o tratamento da DP são mostrados na tabela 3.

Tabela 3. Fármacos comumente usados no tratamento da doença de Parkinson

FÁRMACO	DOSE INICIAL HABITUAL	FAIXA DA DOSE DIÁRIA	COMENTÁRIOS
Precusores de dopamina- Formulações de Levodopa			
Carbidopa/ levodopa 	25 mg de carbidopa + 100 mg de levodopa (comprimidos de “25/100”), 2-3 vezes/ dia	200-1200 mg de levodopa	A biodisponibilidade é de 75% com a preparação de liberação imediata
Inibidores de COMT			
Entacapona 	200 mg em cada dose de levodopa/carbidopa	600-2000 mg	
Tolcapona 	100 mg com carbidopa/ levodopa	100-300 mg	
Inibidores da MAO			
Rasagilina 	1 mg/dia	0,5-1 mg	
Selegilina 	5 mg, 2 vezes/ dia	2,5-10 mg	
Agonista da DA			
Apomorfina 	2 mg subcutânea	6-18 mg por via subcutânea	A trimetobenzamida é utilizada para atenuar as náuseas no início do tratamento
Bromocriptina 	1,25 mg	2,5- 15 mg/dia	Derivado do esporão- do- centeio; o uso prolongado está associada a fibrose das valvas cardíacas
Pramipexol 	0,125 mg, 3 vezes/dia	1,5-4,5 mg	
Ropinirol 	0,25 mg, 3 vezes/dia	1,5-24 mg	

Fonte. Adaptado BRUNTON, Laurence et.al 2012. ²⁷

1.2. Precusores da dopamina

A levodopa foi utilizada pela primeira vez no tratamento da doença de Parkinson há mais de 30 anos e ainda continua sendo o tratamento mais eficaz para a doença. A própria dopamina não é apropriada para o tratamento, visto que ela é incapaz de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), porém o precursor imediato da dopamina, a L-DOPA (levodopa), é rapidamente transportado por meio da BHE pelo transportador de aminoácidos neutros. A levodopa administrada via oral é rapidamente convertida em dopamina pela enzima AADC no trato gastrointestinal, portanto, reforçar os níveis de levodopa disponíveis para o cérebro e reduzir os efeitos adversos do metabolismo periférico da levodopa, ela quase sempre é administrada em associação a carbidopa, um inibidor da AADC.³⁸

Com o passar do tempo, a eficiência da levodopa declina, e conforme o paciente continua administrando esse medicamento, ele vai necessitar de uma quantidade maior do fármaco para que haja uma melhora significativa dos sintomas.³⁹ Os efeitos colaterais da levodopa incluem discinesias e flutuações da função motora.^{40,41}

1.2.1. Agonistas de dopamina

Os agonistas dopaminérgicos são utilizados no tratamento da doença de Parkinson, como o pramipexol e o ropinirol, praticamente substituíram os agonistas derivados da ergolina (ergot) mais antigos como lisurida, bromocriptina e a cabergolina. Esses dois fármacos não são tão eficazes como a levodopa, mas podem ser menos prováveis de causar discinesias e podem ser utilizadas para retardar a administração de levodopa ou reduzir a dose necessária. A eficácia de um agonista da dopamina depende em parte da sua especificidade para o receptor. O pramipexol

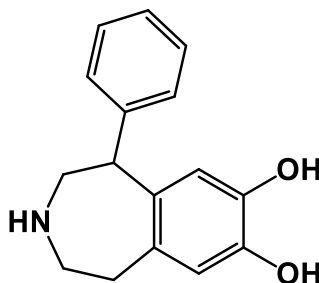
e o ropinirol têm atividade seletiva nos receptores da classe D2, especificamente D2 e D3 e pouca ou nenhuma atividade para o receptor D1. Os efeitos colaterais associados ao ropinirol e pramipexol incluem alucinações ou confusões parecidas com as do tratamento com levodopa além de náuseas e sonolência.⁴²⁻⁴⁹

A apomorfina é um desses agentes agonistas, mas só pode ser administrada por infusão subcutânea, o que a torna mais cara e menos prática. Além de sua baixa biodisponibilidade oral, a apomorfina tem meia-vida de eliminação curta que resulta em efeitos clínicos que duram apenas cerca de uma hora.^{50,51}

1.2.3. SKF 38393 e Di-hidrexidina (DHX)

O desenvolvimento da classe de compostos benzazepínicos, dentre eles o SKF 38393 (2,3,4,5'-tetra-hidro-7,8-dihidroxi-1-fenil-1*H*-3-benzazepina), mostrado na figura 4, foi promissor para o estudo e classificação de receptores dopaminérgicos. Estudos demonstraram que a ação do SKF 38393 não é mediada pela via da adenilato ciclase, pois não estimula a síntese de AMP-cíclico, um regulador chave da cognição, portanto é um agonista parcial do receptor D1 da dopamina.⁵²

Figura 4. Estrutura química do agonista parcial D1 SKF 38393.



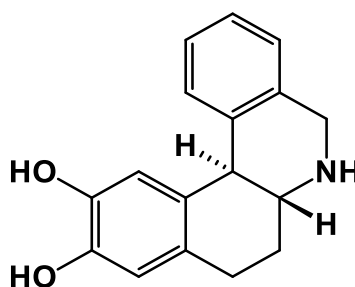
Foram estudados os efeitos inibitórios nos sintomas da hiperreflexia (disfunções da bexiga urinária) do parkinsonismo mediados pelos receptores

dopaminérgicos D1, onde o agonista parcial SKF 38393 aumentou o limiar do volume da bexiga em macacos lesionados com a substância neurotóxica MPTP (1-metil-4-fenil- 1,2,3,6-tetrahidropiridina), mas não em macacos normais quando comparado com o tratamento de outros agonistas como quimpirol e apomorfina.^{53,54}

Em estudos realizados por Pifl et.al (1992) um agonista total como a dopamina, quando administrada através de seu precursor L-DOPA, terá uma alta capacidade agonista independentemente da reserva do receptor D1, porém o agonismo parcial do SKF 38393 levou a possíveis diferenças na quantidade de receptor D1 estriatal entre primatas e roedores. Essas observações levaram a elucidar que o uso do SKF 38393 poderia trazer benefícios terapêuticos atuando na estimulação do receptor D1 no estriato de pacientes com doença de Parkinson, desde que fosse utilizado de um agonista D1 completo.⁵⁵

A di-hidrexidina (trans-10,11-di-hidroxi-5,6,6a,7,8,12b-hexa-hidrobenzo [α] fenantridina), mostrada na figura 5, ao contrário do SKF 38393, estimulou a síntese do AMP-cíclico tão bem quanto a dopamina e promoveu o deslocamento do antagonista D1 SCH 23390 em testes in vivo com membranas estriados em ratos e macacos.⁵⁶

Figura 5. Estrutura química do agonista total D1 Di-hidrexidina (DHX).



A di-hidrexidina possui alta afinidade pelos receptores D1, porém também possui afinidade pelos receptores D2, em estudos no estriato de ratos marcados com o radioligando [^3H] espiperona, o DHX apresentou uma seletividade 10 vezes maior para os receptores D1 em relação aos receptores D2. Além disso, o DHX não distingue entre D1/D5 e também apresenta afinidade por receptores α_2 -adrenérgicos. A di-hidrexidina possui uma baixa biodisponibilidade oral e um tempo de meia-vida relativamente curto, de 1 a 2 horas. Essas características acabam limitando o uso clínico do DHX. Além disso, vários efeitos adversos da di-hidrexidina foram relatados em um estudo clínico em pacientes com doença de Parkinson.^{57,58,59}

Tomando todas as propriedades dos fármacos agonista parcial SKF 38393 e do agonista total DHX, acima mencionadas, fica evidente que existe uma elevada procura de compostos novos que possam apresentar um maior grau de seletividade entre os receptores dopaminérgicos D1 e D2, que sejam mais biodisponíveis (preferencialmente por via oral) e que ajudem no desenvolvimento de fármacos como potenciais atividades anti-parkinsonianas. Essas características motivou o presente trabalho, na busca da síntese de análogos da dopamina baseado na similaridade estrutural com os agonistas D1 total e parcial DHX e SKF38393, respectivamente.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é realizar a síntese, purificação e caracterização físico-química de novos compostos análogos a dopamina. Estes compostos são baseados na similaridade com agonistas dopaminérgicos já conhecidos e podem ser potencialmente bioativos.

Objetivos específicos:

- Realizar a síntese dos análogos ao DHX: 2',3'-di-hidro-1'*H*-espiro[ciclo-hexano-1,4'-isoquinolina]-6',7'-diol (composto **1d**) e 2',3'-di-hidro-1'*H*-espiro[ciclopentano-1,4'-isoquinolina]-6',7'-diol composto **2d**)
- Realizar a síntese do análogo ao SKF38393: 6,7-dimetoxi-3,4-di-hidro-2*H*-espiro[naftaleno-1,3'-pirrolidina] -2',5'-diona racêmica (composto **3e**)
- Identificar todos os intermediários obtidos nas rotas sintéticas.
- Realizar a separação cromatográfica das misturas de produtos obtidas durante as sínteses, para a obtenção dos compostos finais isolados e com bom grau de pureza.
- Caracterizar os produtos sintetizados por diversas técnicas, tais como: Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS), Espectrometria de massas de alta resolução com ionização por eletrospray (HRESI-MS), LC-UV-MS, Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IV), Ressonância Magnética Nuclear de próton e carbono (RMN-¹H e RMN-¹³C) e análises físico-químicas como ponto de fusão.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais e Técnicas Analíticas

Os reagentes utilizados neste trabalho (hidreto de sódio; 3,4-dimetoxifenil-acetonitrila; 1,5-dibromopentano; 1,4-dibromobutano; solução 2M de hidreto de lítio e alumínio (LiAlH_4) em THF; 6,7-dimetoxi-1-tetralona; cianoacetato etila; acetato de amônia; ácido acético glacial; formaldeído (37%); ácido fórmico (85%); ácido bromídrico (HBr, 48%); cianeto de potássio (KCN); ácido sulfúrico) e os solventes (dimetil-sulfóxido (DMSO) anidro, éter etílico anidro, 2-propanol, acetato de etila, éter de petróleo (pe.40-60°C), tetra-hidrofurano (THF) anidro, diclorometano, ciclo-hexano, etanol) e também o sulfato de magnésio (MgSO_4) anidro, placas de TLC de sílica gel A60 4cm x 8cm, sílica gel A60 (70-230 mesh) foram adquiridos pela Sigma® Aldrich Brasil. Todos os reagentes foram utilizados sem purificação prévia.

3.1.1. Análises por GC-MS

Utilizou-se o cromatógrafo gasoso equipado com a coluna Rtx-5MS (5% difenil 95% dimetil polisiloxano) de baixa polaridade, (30 m de comprimento X 0,25 mm de diâmetro X 0,25 μm de espessura) sendo o detector um espectrômetro de massas com ionização por impacto de elétrons (70 eV). Os parâmetros para o cromatógrafo otimizados utilizados para as análises foram: gás de arraste na coluna: Hélio; temperatura do injetor: 250°C; volume de injeção 1,00 μL ; Modo de injeção: split; taxa de split: -1.0; Modo de controle de fluxo: Pressão; Pressão: 82,1 kPa; fluxo total: 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; Fluxo da coluna: 0,8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; Velocidade linear: 34,3 $\text{cm}\cdot\text{seg}^{-1}$. Temperatura inicial do forno: 180°C; Rampa de aquecimento do forno: 180°C por 5 minutos, aquecimento até 203°C em uma taxa de 5°C/min, isoterma de 2 minutos, aquecimento até 204°C em uma taxa de 1°C/min, isoterma de 2 minutos, aquecimento

até 220°C em uma taxa de 10°C/min, isoterma de 2 minutos, aquecimento até 275°C em uma taxa de 20°C/min, isoterma de 5 minutos. Os parâmetros para o espectrômetro de massas foram: Temperatura da interface: 250°C; Temperatura da câmara de ionização: 280°C; Tempo de corte do solvente: 2 min; Tempo inicial: 3 min; Tempo final: 29.95 min; Modo de aquisição: Scan; Velocidade de Scan: 1000. Faixa de leitura de massas: de m/z 40 a 500. Os espectros de massas de algumas substâncias foram adquiridos por meio da introdução direta (DI) no Espectrômetro de Massas do equipamento GC-MS QP2010 plus. Os parâmetros utilizados para essas análises foram: Temperatura da interface: 240°C; Temperatura da câmara de ionização: 250°C; Tempo de corte do solvente: 0,25 min; Tempo inicial: 0,30 min; Tempo final: 40,0 min; Programa de Temperatura do DI: Temperatura inicial: 50°C, com aquecimento de 20°C min⁻¹ até 350°C e tempo de espera de 10 min.

3.1.2. Análises por HRESI-MS

Os espectros de HRESI-MS foram obtidos num espectrômetro de massa maXis HD ESI-Qq-TOF (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). As amostras foram dissolvidas 20 µg/mL em ACN/MeOH + H₂O e infundidas diretamente na fonte ESI a uma taxa de fluxo de 3 µL/min com uma bomba de seringa. A fonte de íons ESI foi operada da seguinte forma: voltagem capilar: 0,9 a 4,0 kV (otimizada individualmente), nebulizador: 0,4 bar (N₂), fluxo de gás seco: 4L/min (N₂) e temperatura seca: 200°C. Os espectros de massa foram registados no intervalo de m/z 50 - 1550 no modo de íon positivo. As fórmulas de soma foram determinadas usando Bruker Compass DataAnalysis 4.2 com base na precisão da massa ($\Delta m/z \leq 2$ ppm) e na correspondência de padrões isotópicos (algoritmo SmartFormula).

3.1.3. Análises de Ponto de fusão

Os pontos de fusão foram obtidos utilizando um Aparelho de Ponto de Fusão de Microprocessador WRS-2. As amostras foram colocadas em um tubo capilar, e as temperaturas de pré-aquecimento e rampa final foram selecionadas para 60°C e 250°C, respectivamente. A taxa de aquecimento utilizada foi de 3,0°C.min⁻¹.

3.1.4. Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IV)

Os espectros de FT-IV foram obtidos através de um espectrofotômetro da marca Perkin Elmer®, modelo Frontier, equipado com módulo ATR de diamante, as medidas foram feitas no intervalo de 250 a 4000 cm⁻¹ com resolução de ± 2 cm⁻¹ e 100 varreduras.

3.1.5. Análises Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

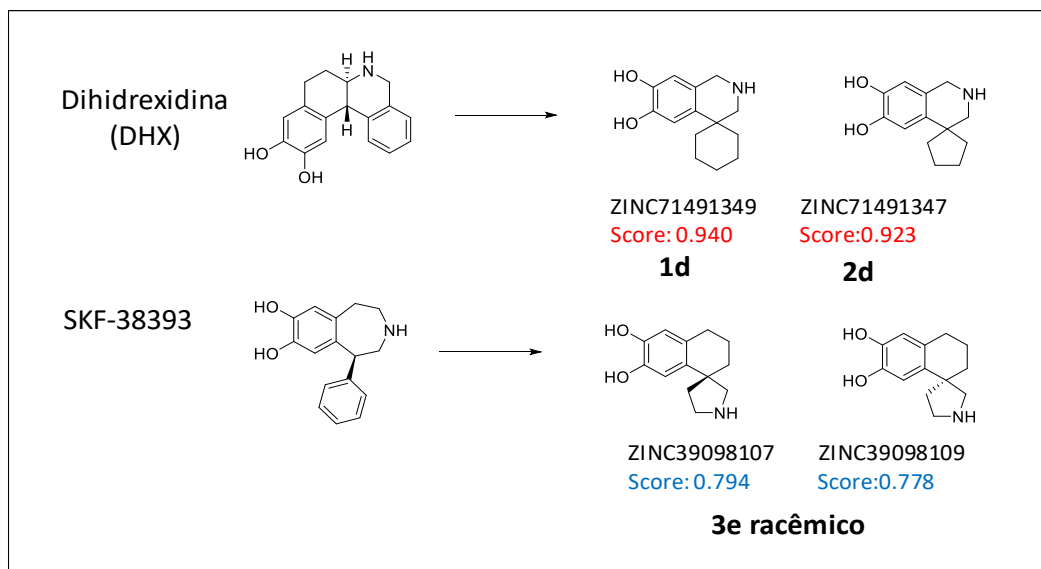
Os espectros de ¹H e ¹³C RMN foram registrados em um equipamento Bruker Advance III - 400 MHz (Bruker, Bremen, Alemanha). A frequência de ressonância para ¹H NMR foi de 400,13 MHz e para ¹³C NMR 100,61 MHz. Os deslocamentos químicos para ¹H RMN e ¹³C RMN são referenciados utilizando trimetilsilano (TMS). As análises foram realizadas em D₂O ou CDCl₃ e todos os desvios químicos foram relatados em ppm (δ). Os dados são apresentados da seguinte forma: deslocamento químico, multiplicidade (s = singleto, d = duplete, dd = duplete de duplete, t = tripleto, qua = quadruplete, qu = quintuplete, m = multiplete, br s = amplo singleto), as constantes de integração e de acoplamento (em Hertz).

3.2. Procedimentos de Síntese

3.2.1. Rastreamento e busca na base de dados de similaridade

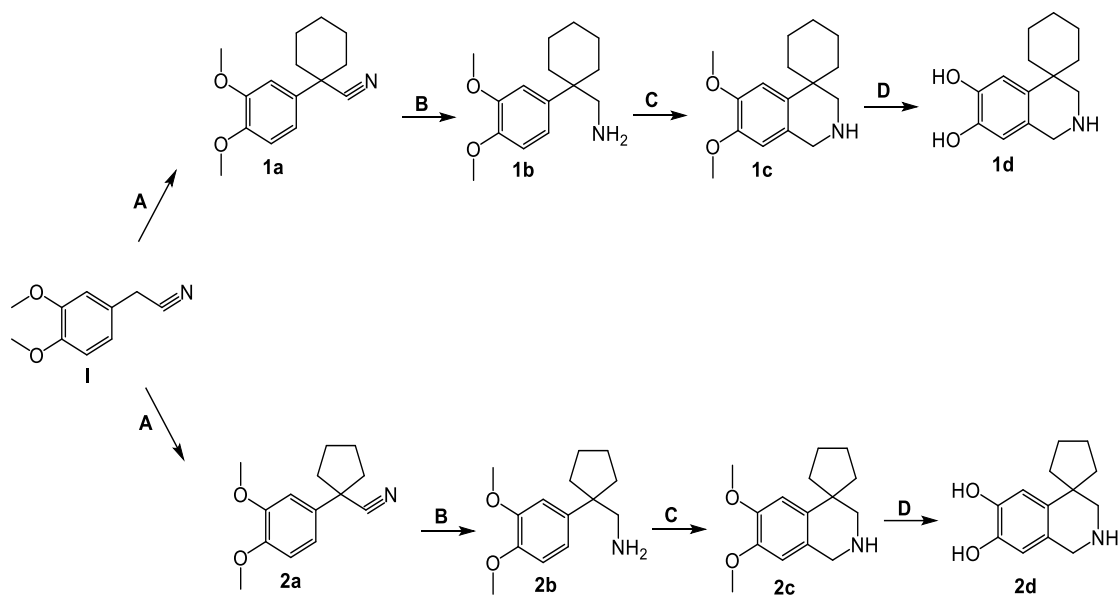
Em busca de novos fármacos quimioterápicos, foi aplicado o design computacional de drogas baseadas em ligantes. A principal razão dessa escolha, é que a estrutura de raios X do alvo, receptores D1 e D2, não são disponíveis em nenhuma espécie, de modo que a modelagem de homologia não pôde ser executada. A base de dados ZINC foi rastreada para pesquisa de similaridade dos dois agonistas D1 mais utilizados, o agonista total Di-hidrexidina (DHX) e o agonista parcial SKF 383393. Após inspeção detalhada dos resultados obtidos através do rastreamento, foram selecionados apenas os novos compostos (**1d**, **2d** e **3e**) com o maior índice de similaridade (score). Os resultados são apresentados abaixo (Figura 6).

Figura 6. Compostos obtidos através da modelagem baseada em ligantes (pesquisa de similaridade de banco de dados de ZINC) sobre DHX e SKF-38393 como compostos de origem.



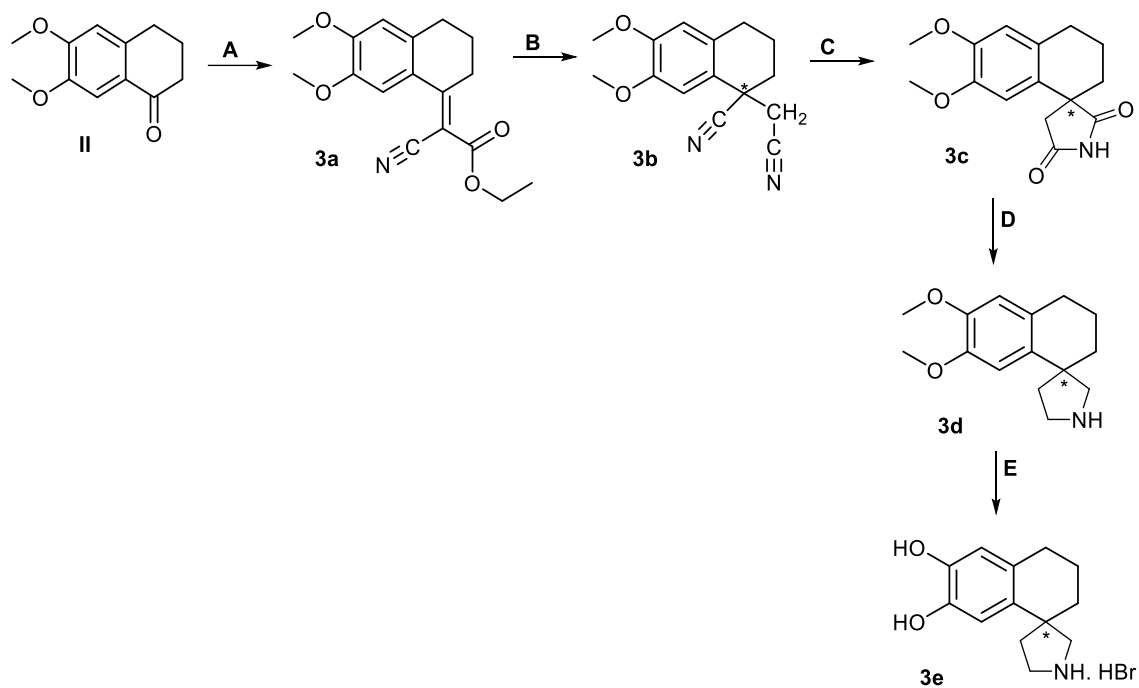
Os esquemas sintéticos para a obtenção compostos selecionados foram traçados conforme mostram os esquemas 1 e 2 abaixo.

Esquema 1. Via de reação para os compostos **1a-d** e **2a-d** como análogos do agonista total D1 Di-hidrexidina (DHX).



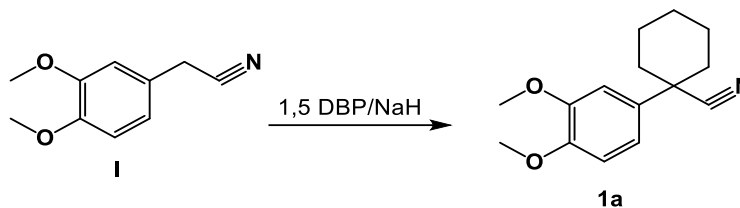
I: 3,4-dimetoxifenil-acetonitrila; **A:** (1,5-DBP ou 1,4-DBB) /NaH; **B:** LiAlH₄ /THF, N₂; **C:** HCHO /HCOOH, Ar ou N₂; **D:** 48% de HBr, N₂; as condições de reação mais específicas para todos os intermediários são descritas na parte experimental.

Esquema 2. Via de reação para a síntese dos compostos **3a-e** como análogos do agonista parcial D1 SKF 38393.



II: 6,7-dimetoxi-1-tetralona; **A**: $\text{CNCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OC}_2\text{H}_5$, CH_3COOH (anh), NH_4Ac , ciclo-hexano, Dean-Stark, refluxo, 7h; **B**: KCN, EtOH, 65°C , durante a noite; **C**: $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$, 125°C , 4h; **D**: $\text{LiAlH}_4/\text{THF}$, N_2 , refluxo, 6h; **E**: 48% de HBr, N_2 , 125°C , 2h.

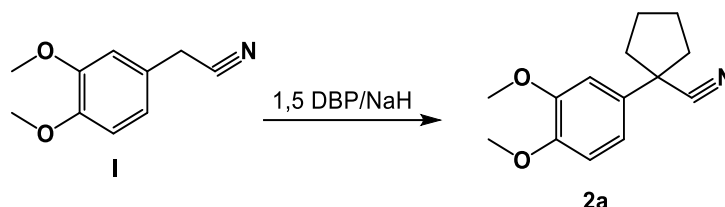
3.2.2 Síntese de 1-(3,4-dimetoxifenil) ciclo-hexano-1-carbonitrila (**1a**).



Uma suspensão de hidreto de sódio (1,92 g; 44 mmol) em DMSO anidro (20 mL) foi previamente preparada em um balão de fundo redondo de duas bocas de 250 mL. Na sequência, com o auxílio de um funil de adição, uma mistura de (3,4-dimetoxifenil) acetonitrila (17,7 g, 40 mmol) e 1,5-dibromopentano (5,7 mL; 40 mmol) solubilizados em 15 mL de DMSO anidro foram gotejados lentamente sobre a suspensão previamente preparada de hidreto de sódio a -10°C. A mistura reacional foi mantida com agitação constante à temperatura ambiente durante 18 horas. Após transcorrer o tempo necessário, a reação foi finalizada pela adição de 25 mL de 2-propanol e 25 mL de água. Na sequência foram adicionados 15 mL de éter etílico para extração do intermediário **1a**. A fase orgânica foi separada, lavada com solução saturada de NaCl (2 x 25 mL) e água (2 x 30 mL), em seguida, a solução orgânica foi seca sobre MgSO₄ anidro e evaporada sob pressão reduzida para dar um óleo amarelo (14,7 g; 83% de produto cru contendo a mistura de reagente de partida e produto **1a**). O produto bruto obtido (óleo amarelo) foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel A60 (70-230 mesh) e eluído com um sistema de solventes éter de petróleo/acetato de etila 4:1 para dar um sólido branco cristalino (2,35 g; 16% de rendimento do produto **1a** isolado, pureza de 99% por GC-MS); GC-MS (EI) m/z: [M⁺] 245, 232, 189 (100%), 176. P.f.: 69-70°C. ¹H NMR (400.13 MHz, CDCl₃) δ = 7.01 (J = 8,0 Hz, 1H), 7.00 (J = 2,0 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 2.16 – 1.74 (m, 4H), 1.86 (m, 4H), 1.86 – 1.27 (m, 2H); ¹³C NMR (100.61 MHz, CDCl₃)

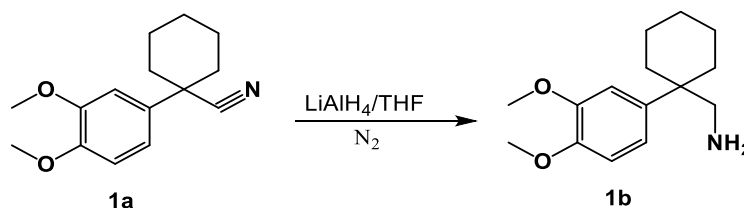
δ = 149.2 (C-O), 148.7 (C-O), 134.2 (C), 122.9 (C), 117.6 (CH), 111.4 (CH), 109.5 (CH), 56.1 (CH₃), 56.0 (CH₃), 43.9 (C), 37.6 (2CH₂), 25.1 (CH₂), 23.7 (2CH₂)

3.2.3. Síntese de 1-(3,4-dimetoxifenil) ciclopentano-1-carbonitrila (**2a**).



O procedimento foi semelhante ao realizado para **1a**, porém com a utilização de 1,4-dibromobutano (DBB) para a formação do espiro ciclo de 5 membros. No final da reação, o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna sobre sílica gel A60 (70-230 mesh), obtendo-se o composto **2a** como um óleo amarelo (2,70 g; 16% de rendimento do produto **2a** isolado, pureza de 99% por GC-MS). GC-MS m/z [M^+] 231, 216, 202, 189 (100%), 151.

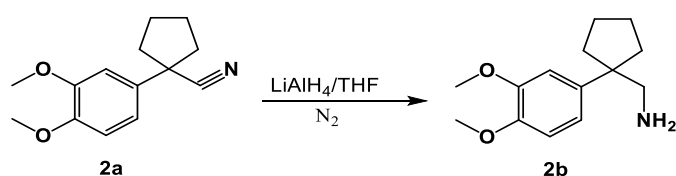
3.2.4. Síntese de (1- (3,4-dimetoxifenil) ciclohexil) metanamina (**1b**).



O composto **1a** (2,35 g; 0,01 mol) foi solubilizado em 15 mL de THF anidro e foi vertido em um balão de 250 mL, mantido em atmosfera inerte N₂ ou Argônio (através de um balão de borracha). Essa solução foi resfriada como auxílio de um banho de gelo a -10°C, mantida sob agitação constante e então foi cuidadosamente adicionada (por seringa) uma solução 2 M de LiAlH₄ em THF (15 mL; 0,03 mol de LiAlH₄). A mistura reacional permaneceu com agitação constante em temperatura ambiente por 4 horas. A reação foi cessada pela adição lenta de água até que a

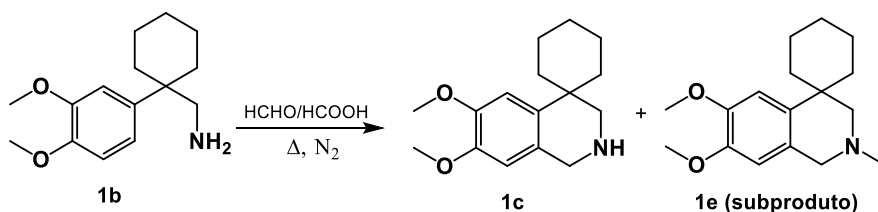
liberação gás foi interrompida (aproximadamente 25 ml de água, neste caso), o mesmo volume (25 mL) de uma solução de NaOH a 20% (p/v) foi adicionado para neutralização, seguido por mais 25 mL de água. Foi observada a formação de flocos brancos, em seguida foram adicionados 15 mL de acetato de etila e a mistura resultante foi filtrada sob pressão reduzida através de um funil de Buchner. O filtrado foi transferido para um funil de separação e a fase orgânica foi separada, lavada com água (2x15 mL), seca com MgSO_4 anidro, e o excesso de solvente foi removido por evaporação a pressão reduzida, obtendo-se o produto **1b** como um óleo amarelo (1,85 g; 79% de rendimento; pureza de 99% por GC-MS). GC-MS m/z $[M^+]$: 249, 219, 151(100%).

3.2.5. Síntese de (1-(3,4-dimetoxifenil) ciclopentil) metanamina (**2b**).



O procedimento foi semelhante ao utilizado para **1b**, porém o composto de partida foi **2a** (2,70 g; 0,01 mol). O produto **2b** foi obtido como um óleo amarelo (2,3 g; 87% de rendimento; pureza de 97% por GC-MS). GC-MS m/z $[M^+]$: 235, 205 (100%), 151.

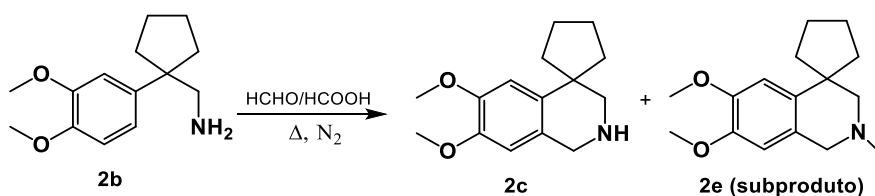
3.2.6. Reação de ciclização Pictet-Spengler (P-S) para a síntese do intermediário bicíclico 6',7'-dimetoxi-2',3'-di-hidro-1'*H*-espiro(ciclo-hexano-1,4'-isoquinolina) (**1c**).



O composto **1b** (1,85g; 7,5 mmol) foi vertido em um balão de fundo redondo de 50 ml com duas bocas. Em seguida, foi adicionada ao balão, uma solução de formaldeído a 37% (7,5 mmol) e ácido fórmico (85%; 11,2 mL). A mistura resultante foi agitada sob condições de refluxo (temperatura ~50°C) durante 2 horas. Após o termino da reação o solvente foi evaporado sob pressão reduzida até a metade do seu volume original. Em seguida, uma solução de bicarbonato de sódio a 20% (m/v) foi lentamente adicionada a mistura reacional até a neutralização. Na sequência, 20 mL de diclorometano foram introduzidos e a fase orgânica foi separada, seca com MgSO₄ e evaporada sob pressão reduzida para dar um produto oleoso contendo principalmente o composto **1c** e uma quantidade menor do derivado N-metilado **1e** (**subproduto**). A separação e isolamento de **1c** e seu derivado N-metil **1e** foi realizada por cromatografia com sílica gel A60 (70-230 mesh), utilizando como eluente um gradiente de 10 a 20% de metanol em acetato de etila. Durante a separação as frações coletadas foram monitoradas por TLC e GC-MS e as que continham apenas um produto isolado (**1c** ou **1e**) foram misturadas e o solvente foi retirado por evaporação rotativa a temperatura e pressão reduzida. O composto **1c** foi obtido como um sólido cristalino branco (0,2 g; 62% de rendimento do produto isolado, pureza de 99% por GC-MS). GC-MS m/z [M⁺]: 261, 232 (100%), 217, 204. P.f.: 60-64°C. HRESI-MS m/z [M+H]⁺ 262.1801, (C₁₆H₂₄NO₂, Δ = 0,1 ppm). Pureza por LC-UV-MS > 98%. ¹H NMR (400.13 MHz, CDCl₃) δ = 6.87 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 3.24 (s, 1H), 4.09 (s, 1H), 1.40 – 1.80 (s, 4H), 1.40 – 1.80 (m, 4H), 1.20 – 1.40 (m, 2H); ¹³C NMR (100.61 MHz, CDCl₃) δ = 109.1 (CH), 147.6 (C-OCH₃) 148.4 (C-OCH₃), 108.6 (CH), 122.8 (C), 134.8 (C), 48.2 (CH₂), 46.0 (CH₂), 36.7 (2CH₂), 21.8 (2CH₂), 25.6 (CH₂), 55.8 (CH₃), 56.0 (CH₃). O composto **1e** foi obtido como um pó branco (0,038 g; 11% de rendimento do produto isolado, pureza de 98% por GC-MS). GC-MS m/z [M⁺]: 275, 232 (100%), 217. P.f.

decomposto. HRESI-MS m/z $[M+H]^+$ 276.1959, ($C_{17}H_{26}NO_2$, $\Delta = 0.4$ ppm). LC-UV-MS pureza > 95 %. 1H NMR (400.13 MHz, $CDCl_3$) δ = 6.85 (s, 1H), 6.48 (s, 1H), 2.74 (s, 2H), 2.54 (s, 3H), 3.61 (s, 2H) 1.40 – 1.80 (m, 4H), 1.40 – 1.80 (m, 4H), 1.20 – 1.40 (m, 2H); ^{13}C NMR (100.61 MHz, $CDCl_3$) δ = 109.1 (CH), 147.2 (C-OCH₃) 148.0 (C-OCH₃), 108.8 (CH), 122.8 (C), 135.2 (C), 37.8 (C), 58.0 (CH₂), 46.2 (CH₃), 59.9 (CH₂), 37.3 (2CH₂), 22 (2CH₂), 25.8 (CH₂), 55.8 (CH₃), 56.0 (CH₃).

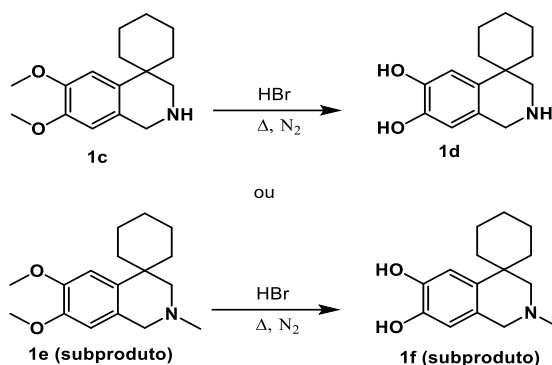
3.2.7. Reação de ciclização de Pictet-Spengler para a síntese do intermediário bicíclico 6',7'-dimetoxi-2', 3'-di-hidro-1'*H*-espiro(ciclopentano-1,4'-isoquinolina) (**2c**).



O procedimento foi semelhante ao utilizado para **1c** e o composto de partida foi **2b** (2,3 g; 0,01 mol). A separação e isolamento do composto **2c** e seu derivado N-metil **2e**, (0,4 g da mistura **2c** e **2e**), foi realizada por cromatográfica com sílica gel A60 (70-230 mesh), o eluente utilizado foi um gradiente de 8 a 20% de acetato de etila em éter de petróleo (p.e 60-80°C). Durante a separação as frações coletadas foram monitoradas por TLC e GC-MS e as que continham apenas um dos produtos isolados foram misturadas e o solvente foi retirado por evaporação rotativa a temperatura e pressão reduzida. O composto (**2c**) foi obtido como um pó branco (0,21 g; 53% de rendimento do produto isolado, pureza de 96% por GC-MS). GC-MS m/z $[M+]$: 247, 218 (100%), 203. HRESI (+) -MS m/z $[M+H]^+$ 248,1644 ($C_{15}H_{22}NO_2$, $\Delta = 0,5$ ppm). Pureza LC-UV-MS >97%. P.F.: 130-137°C. O composto (**2e**) foi obtido como um óleo amarelo (0,045g; 11,2% de rendimento do produto isolado, pureza de 89% por GC-

MS.). GC-MS m/z $[M^+]$: 261, 218 (100%), 203, 189. HRESI (+) -MS m/z $[M+H]^+$ 262,1801 ($C_{16}H_{24}NO_2$, $\Delta = -0,7$ ppm). Pureza LC-UV-MS >85%.

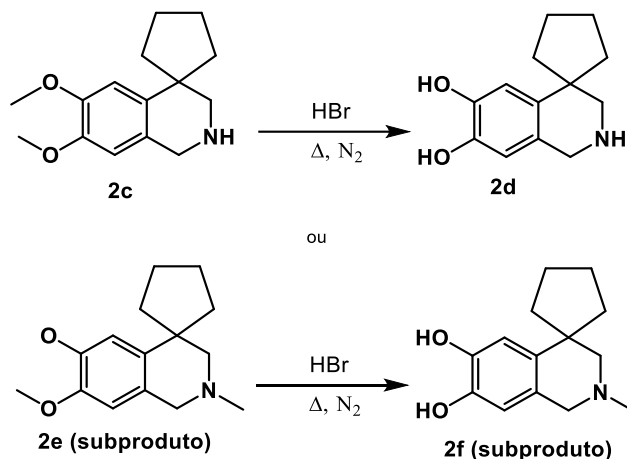
3.2.8. Síntese do composto 2',3'-di-hidro-1'*H*-espiro[ciclo-hexano-1,4'-isoquinolina]-6',7'-diol (1d**).**



A reação foi realizada por refluxo de uma solução de 25 mL de HBr a 48% contendo (0,01 mol) de **1c** ou (0,01 mol) de **1e** ($T = 125^{\circ}C$) sob atmosfera de nitrogênio por uma hora. A solução marrom-avermelhada resultante foi concentrada sob pressão reduzida até o volume ser reduzido para metade e depois resfriada a $4^{\circ}C$ (no refrigerador) por 1 hora até a precipitação do produto bruto O-desmetilado correspondente na forma de sais de ácido bromídico. Os sais foram filtrados a vácuo utilizando um funil de filtro de vidro sinterizado (porosidade =3), lavados com diclorometano frio e secos sob pressão reduzida por uma hora. O composto **1d** foi obtido como um pó cristalino laranja (0,025 g; 22% de rendimento do produto isolado). P.f. decomposto. GC-MS/DI m/z $[M^+]$ 233, 204 (100%), 189. HRESI (+) -MS m/z $[M+H]^+$ 234.1491, ($C_{14}H_{20}NO_2$, $\Delta = 1$ ppm). Pureza LC-UV-MS >95%. 1H NMR (400.13 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 6.88$ (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 3.33 (s, 1H), 4.04 (s, 1H), 1.50 – 1.60 (m, 4H), 1.30 – 1.50 (m, 4H), 1.20 – 1.60 (m, 2H); ^{13}C NMR (100.61 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 144.5$ (C-OH), 143.1 (C-OH), 134.3 (C), 119.4 (C), 114.0 (CH), 113.7 (CH), 47.8 (CH_2), 45.1 (CH_2), 36.5 ($2CH_2$), 35.5 (C), 25.0 (CH_2), 21.4 ($2CH_2$). O composto **1f** foi obtido como

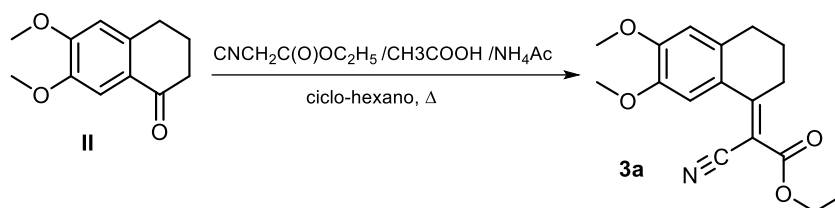
um óleo marrom (0,210 g; 12% de rendimento do produto isolado). GC-MS/DI m/z [M^+] 247, 232, 204 (100%). HRESI (+) -MS m/z [$M+H$] $^+$ 248.1645, ($C_{15}H_{22}NO_2$), $\Delta = 0$ ppm. Pureza LC-UV-MS >91%.

3.2.9. Síntese de 2',3'-di-hidro-1'-H-espiro[ciclopentano-1,4'-isoquinolina]-6',7'-diol (2d).



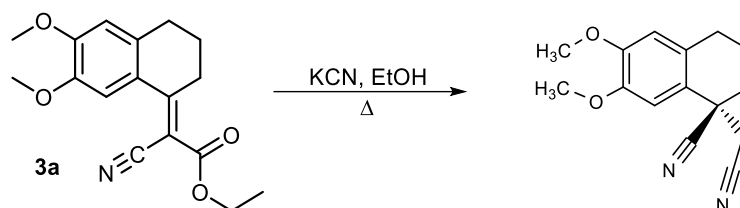
O procedimento foi semelhante ao utilizado para 1d. O composto de partida foi 2c (0,01 mol) ou 2e (0,01 mol). O composto **(2d)** foi obtido como um óleo marrom (46,2 mg; 22% de rendimento do produto isolado). GC-MS/ DI m/z [M^+] 219, 205, 191, 83 (100%). HRESI (+) -MS m/z [$M+H$] $^+$ 220.1338, ($C_{13}H_{18}NO_2$, $\Delta = 2.5$ ppm). 1H NMR (400.13 MHz, $CDCl_3$) δ = 6.70 (s, 1H), 6.46 (s, 1H), 4.03 (s, 2H), 3.08 (s, 2H), 1.58 – 1.67 (m, 4H), 1.66 (m, 4H); ^{13}C NMR (100.61 MHz, $CDCl_3$) δ = 144.9 (C-OH), 143.3 (C-OH), 134.4 (C), 119.6 (C), 114.0 (CH), 113.7 (CH), 51.8 (CH_2), 45.2 (CH_2), 43.7 (C), 41.1 ($2CH_2$), 25.7 ($2CH_2$). O composto **2f** foi obtido como um óleo marrom (99 mg, 21% de produto isolado). GC-MS/DI m/z [M^+] 233, 219, 205, 191, 83 (100%).

3.2.10. Síntese do Etil (*E*)-2-ciano-2-(6,7-dimetoxi-3,4-di-hidronaftalen-1(2*H*)-ilideno) acetato (3a**).**



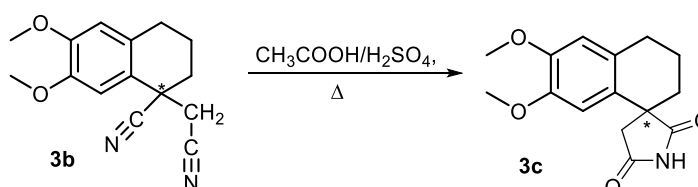
Em um balão de 250 mL de três bocas adicionou-se a 6,7 dimetoxi-1-tetralona (25,0 g; 0,1 mol) solubilizada em 35 mL de ciclo-hexano, em seguida foram adicionados o cianoacetato etila (13 mL; 0,12 mol), acetato de amônia (1,81g; 0,023 mol) e ácido acético glacial (7 mL; 0,012 mol). Essa mistura em um sistema com condensador e Dean Stark foi refluxada por 7 horas a 120°C. Após o resfriamento da reação, o meio foi diluído com 200 mL de éter etílico anidro. A solução formada foi transferida para um funil de separação e a fase etílica contendo o produto foi coletada. A fase aquosa foi lavada com éter etílico (2x 25 mL) e as fases orgânicas extraídas do funil foram misturadas, secas com MgSO_4 e o excesso de solvente evaporado a pressão reduzida até obtenção de um óleo laranja. (20,9 g; 80% de **3a** bruto). O produto foi purificado por uma coluna cromatográfica (40x400 mm) empacotada com 135,0 g de sílica gel A60 (70-230 mesh) e eluída com uma mistura 4:1 de éter de petróleo/acetato de etila. As alíquotas contendo o produto, foram misturadas e concentradas sob pressão reduzida para dar **3a** como um óleo amarelo (9,8 g, 45% de rendimento do produto isolado, pureza de 98% por GC-MS). GC-MS m/z [M^+]: 301 (100%), 255, 228.

3.2.11. Síntese de (S)-1-(cianometil)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidronaftaleno-1-carbonitrila (**3b**).



Uma solução de KCN (5,34 g; 0,08 mol) em água (11,4 mL) foi cuidadosamente adicionada, sob agitação, a uma solução do composto **3a** (9,8 g; 0,03 mol) em etanol (66 mL) e a mistura foi submetida em refluxo a 65°C por 16 horas. A mistura reacional obtida foi concentrada sob pressão reduzida (99 mbar) para dar um resíduo marrom. Em seguida, a solução concentrada foi extraída com 25 mL de diclorometano anidro e o sólido preto restante foi filtrado usando um funil de Buchner. A solução do extrato orgânico foi lavada com água (3x 10 mL), seca sobre MgSO₄ e o solvente em excesso foi evaporado sob pressão reduzida para dar o produto **3b** como sólido marrom (1,65 g; 22% de rendimento do produto isolado, pureza de 96% por GC-MS). GC-MS m/z [M⁺]: 256, 216 (100%), 189. P.f. 138-141°C.

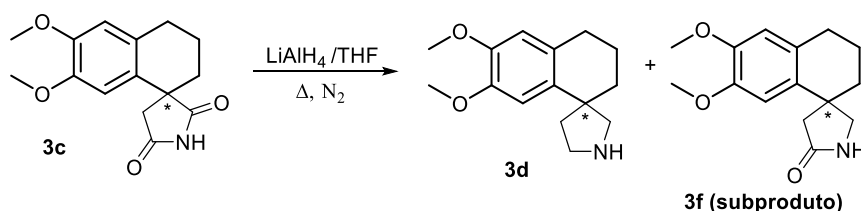
3.2.12. Síntese do espiro- 6,7-dimetoxi-3,4-di-hidro-2*H*-espiro[naftaleno-1,3'-pirrolidina] -2',5'-diona racêmica (**3c**).



Uma suspensão do composto **3b** (1,65 g; 6,4 mmol) em ácido acético glacial (3,2 mL; 0,0064 mol) e solução de ácido sulfúrico a 78% v/v (1,3 mL) foi

aquecida por uma hora, em banho de óleo a 125°C. Após o termino da reação, excesso de ácido acético foi removido por evaporação sob pressão reduzida e a suspensão obtida foi misturada com água (38 mL), o produto foi então extraído da mistura aquosa com acetato de etila (3x 19 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, lavados com solução saturada de NaHCO₃ (2x 15 mL), água (2x7 mL), secos sobre MgSO₄ e o excesso de solvente foi removido sob pressão reduzida dando o produto **3c** como um pó amarelo brilhante (0,94 g; 53% de rendimento do produto **3c** racêmico isolado, pureza de 92% por GC-MS). GC-MS m/z [M⁺]:275, 261, 204, 164. P.f. decomposto.

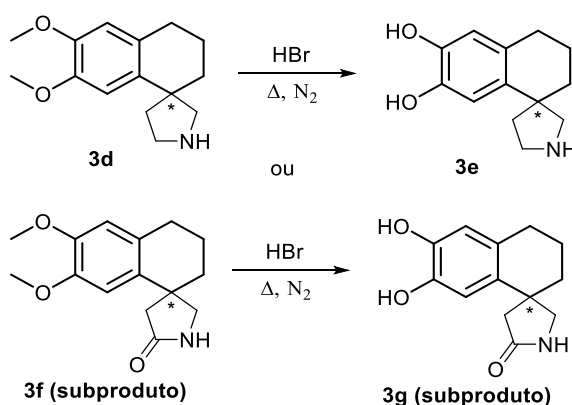
3.2.13. Síntese de 6,7-dimetoxi-3,4-di-hidro-2*H*-espiro[naftaleno-1,3'-pirrolidina] racêmica (**3d**).



O composto **3c** racêmico (0,94 g; 3,8 mmol) foi solubilizado em THF anidro (34,2 mL) e mantido em atmosfera inerte N₂ ou Argônio, e foi adicionada lentamente a essa suspensão 0,013 mol (5,15 mL) de uma solução 2M LiAlH₄-THF, depois a mistura foi refluxada por 24 horas a ~ 80°C. Após o termino da reação, o excesso de LiAlH₄ foi decomposto com adição cuidadosa de água (~5 mL) até a liberação completa do gás, então foi adicionado MgSO₄ e a mistura foi filtrada utilizando um funil de filtro de vidro sinterizado (porosidade =3). O filtrado obtido foi concentrado sob pressão reduzida dando como produto um óleo amarelo claro, uma mistura dos compostos **3d** e **3f**. (0,84 g; 89% de rendimento da mistura, pureza de GC-MS 52 e 31% de **3d** e **3f**, respectivamente).

A separação e o isolamento de **3d** e da lactama **3f** foram realizados na seguinte experiência: 0,4000 g da mistura (óleo amarelo claro) foi purificada por coluna cromatográfica (1,5x 20 cm), empacotada com 12 g de sílica gel A60 (70- 230 mesh) e eluída com 5 a 40% de metanol em acetato de etila. Durante a separação cromatográfica, foram coletadas alíquotas de 1,5 mL, essas frações foram analisadas por TLC e GC-MS e as que continham apenas um produto foram misturadas e evaporadas a pressão reduzida, obtendo-se **3d** como um óleo laranja. (0,15 g; 38% de rendimento do produto 3c racêmico isolado, pureza de 92% por GC-MS). GC-MS m/z $[M^+]$: 247, 218, 204 (100%), 187. HRESI (+) -MS m/z $[M+H]^+$ 248,1645 ($C_{15}H_{22}NO_2$, $\Delta = -0,5$ ppm). Pureza LC-UV-MS >66%. Obteve-se na separação cromatográfica o composto **3f** como um óleo laranja. (0,11 g; 30% de rendimento do produto 3f racêmico isolado, pureza de 80,5% por GC-MS). GC-MS m/z $[M^+]$: 261, 218, 202, 57 (100%). HRESI (+) -MS m/z $[M+H]^+$ 262,1802 ($C_{16}H_{24}NO_2$, $\Delta = -0,1$ ppm). Pureza LC-UV-MS >57%.

3.2.14. Síntese de 3,4-di-hidro-2H-espiro [naftaleno-1,3'-pirrolidina]-6,7-diol racêmico (**3e**).



Uma solução de HBr a 48% (4,2 mL) e 1,0 mmol do intermediário **3d** ou **3f**, foi colocado em um balão de vidro com fundo redondo de 50 mL. A solução foi

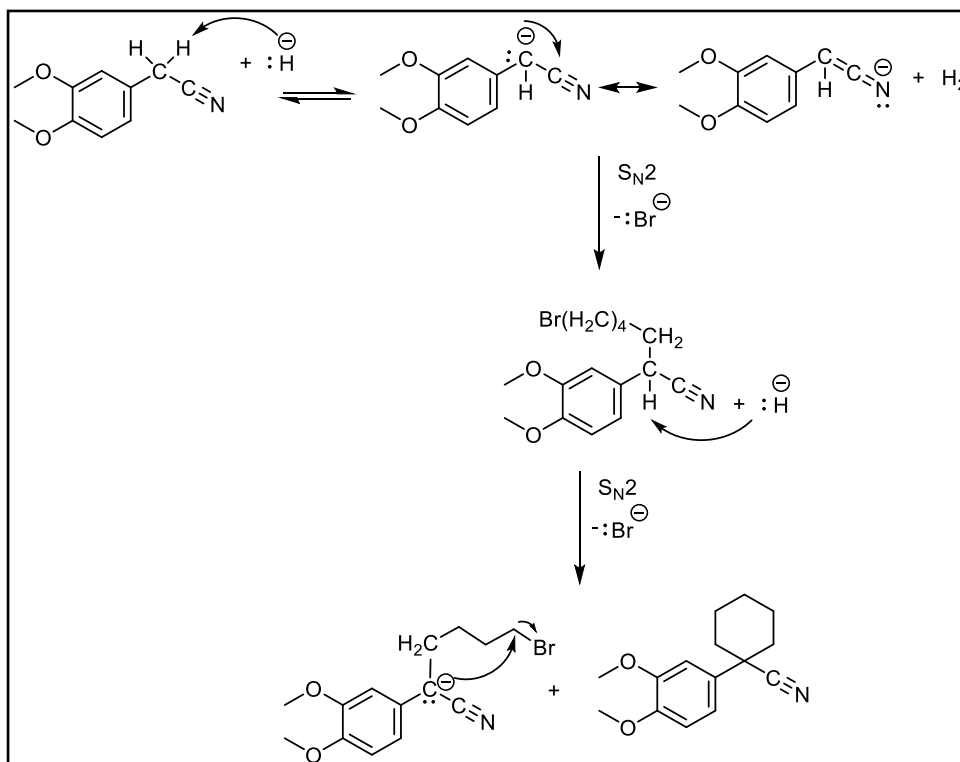
refluxada sob N₂ por uma hora a 125°C. Em seguida, a mistura reacional foi resfriada e o excesso de HBr foi removido por evaporação sob pressão reduzida para dar os produtos desejados. Obteve-se o composto **3e**, como um óleo marrom escuro (0,1 g; 73% de rendimento do produto racêmico isolado). GC-MS/DI m/z [M⁺]: 219, 204, 176, 57(100%). HRESI-MS m/z [M-H⁺] 220.1333, (C₁₃H₁₈NO₂, Δ = 0,3 ppm). Obteve-se o composto **3g**, como um óleo marrom escuro (80 mg; 73% de rendimento do produto racêmico isolado). GC-MS/DI m/z [M⁺]: 233, 219, 204, 57 (100%). HRESI-MS m/z [M-H⁺] 234.1486, (C₁₄H₂₀NO₂, Δ = -1.1 ppm).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Síntese, caracterização e purificação do produto 1-(3,4-dimetoxifenil) ciclohexano-1-carbonitrila **1a** e o análogo ciclopentano **2a**.

As nitrilas benzílicas apresentam átomos de hidrogênio ácidos ligados ao átomo de carbono benzílico. Estes átomos de hidrogênio podem ser retirados na forma de prótons por hidretos alcalinos dando lugar a formação de um carbânion o que possui caráter de nucleófilo e pode render produtos de Substituição Nucleofílica Bimolecular (S_N2) como é mostrado no esquema 3.

Esquema 3. Mecanismo para a obtenção do produto **1a** e para o análogo ciclo-pentano **2a**.



Fonte. Baseado em SMITH, Michael B.⁶⁰

Os produtos da reação foram caracterizados por GC-MS e os cromatogramas mostrados nas figuras 7 e 8, referem-se aos intermediários **1a** e **2a**, respectivamente. O pico cromatográfico observado em ambas as análises e que aparece com tempo de retenção (R_t) de 17,5 minutos, corresponde ao reagente de

partida (3,4-dimetoxifenil) acetonitrila (composto **I**) não consumido durante as reações. A quantidade deste material recuperado é significativa o que sugere que, a sua conversão para o seguinte produto, pode ser a etapa mais lenta do processo.

Nos valores de R_t de 12,3 min (figura 7) e 9,7 minutos (figura 8), aparecem picos que correspondem aos produtos 1-(3,4-dimetoxifenil) ciclo-hexano-1-carbonitrila **1a** e ao análogo 1-(3,4-dimetoxifenil) ciclo-pentano-1-carbonitrila **2a**, respectivamente.

Figura 7. Cromatograma do produto não purificado **1a**, obtido por GC-MS.

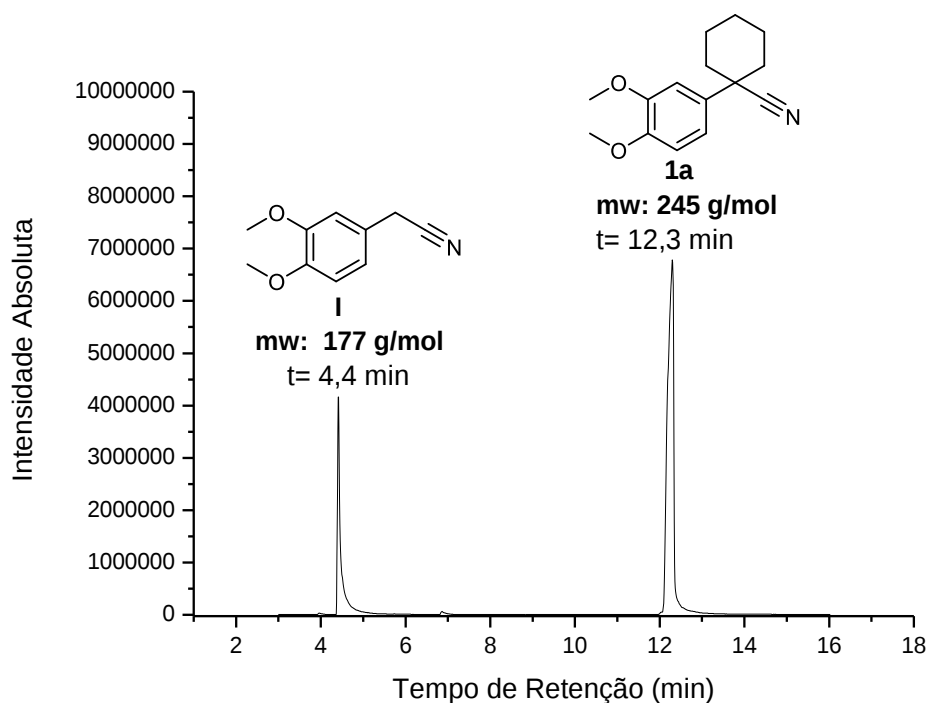
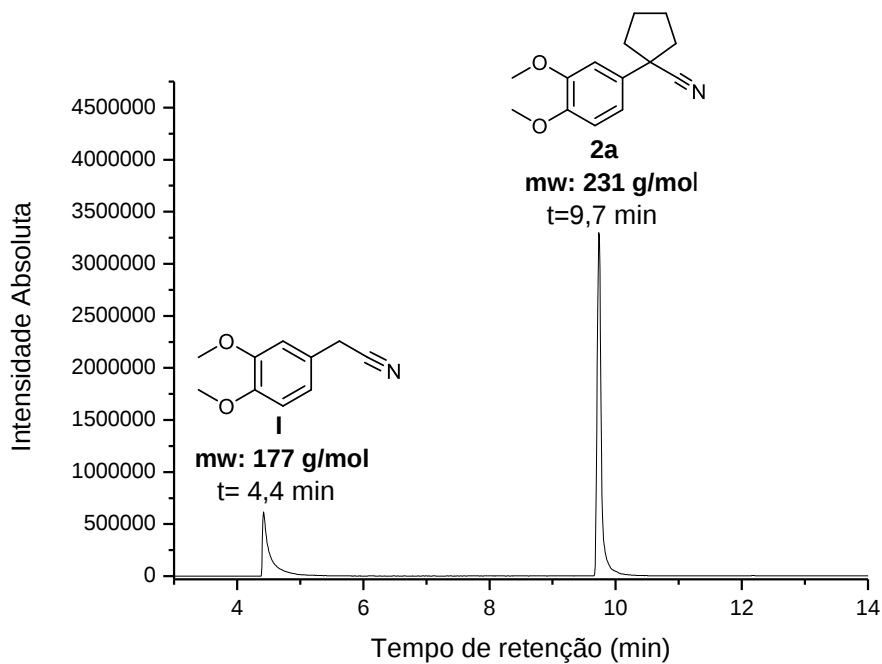
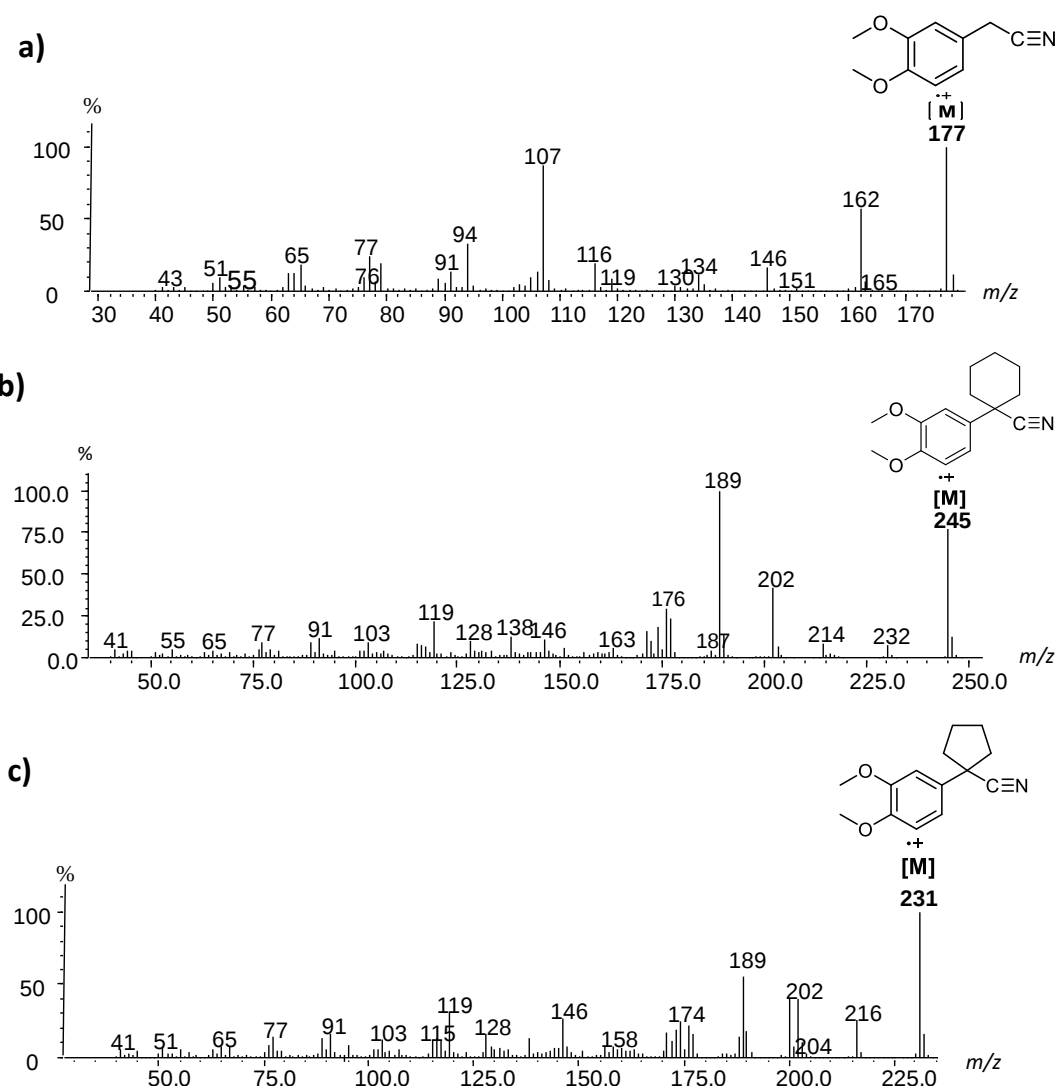


Figura 8. Cromatograma do produto não purificado **2a**, obtido por GC-MS.



Os espectros de massas obtidos durante a análise de GC-MS, mostram os respectivos íons moleculares $[M^+]$ m/z 177 para reagente de partida (3,4-dimetoxifenil) acetonitrila (figura 9a) m/z 245 para o composto **1a** (figura 9b) e de m/z 231 para o Intermediário **2a** (figura 9c).^{61,62}

Figura 9. Análises de GC-MS para: **a)** o reagente de partida; **b)** intermediário **1a**; **c)** análogo ciclo-pentano **2a**.



Após a observação da presença do reagente de partida não consumido na mistura de reação, realizou-se a purificação dos compostos **1a** e **2a** através de cromatografias em coluna de sílica gel A60.

Os compostos foram isolados, como é possível observar, nos cromatogramas e espectros de massas mostrados nas figuras 10 e 11. Após a etapa de purificação os produtos **1a** e **2a** apresentaram purezas de 99% determinadas por GC-MS, porém os rendimentos desses produtos foram baixos, ao redor de 16% em ambos os casos.

Figura 10. Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS para o composto **1a** isolado

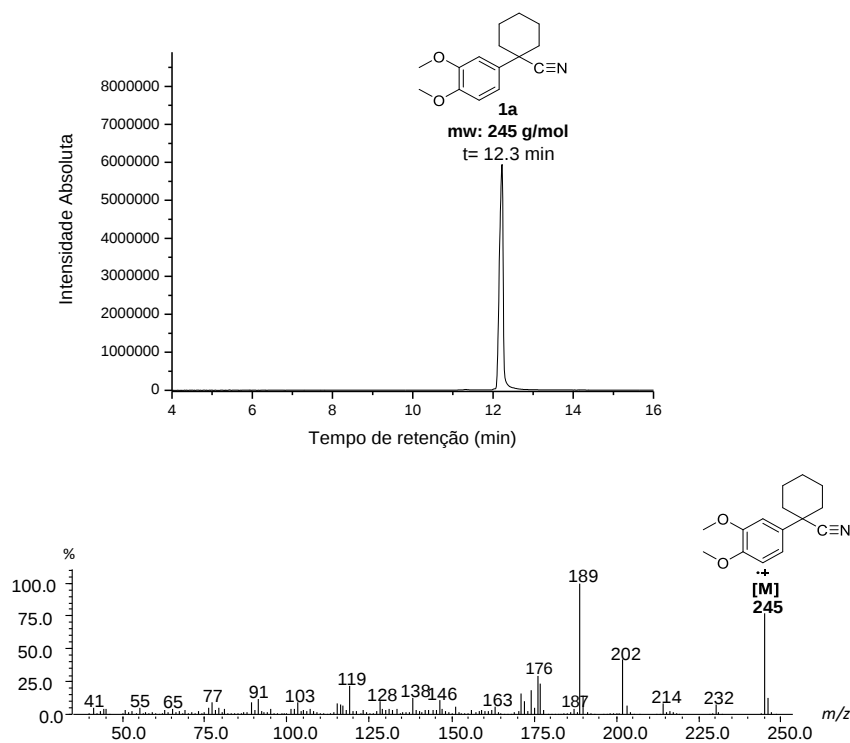
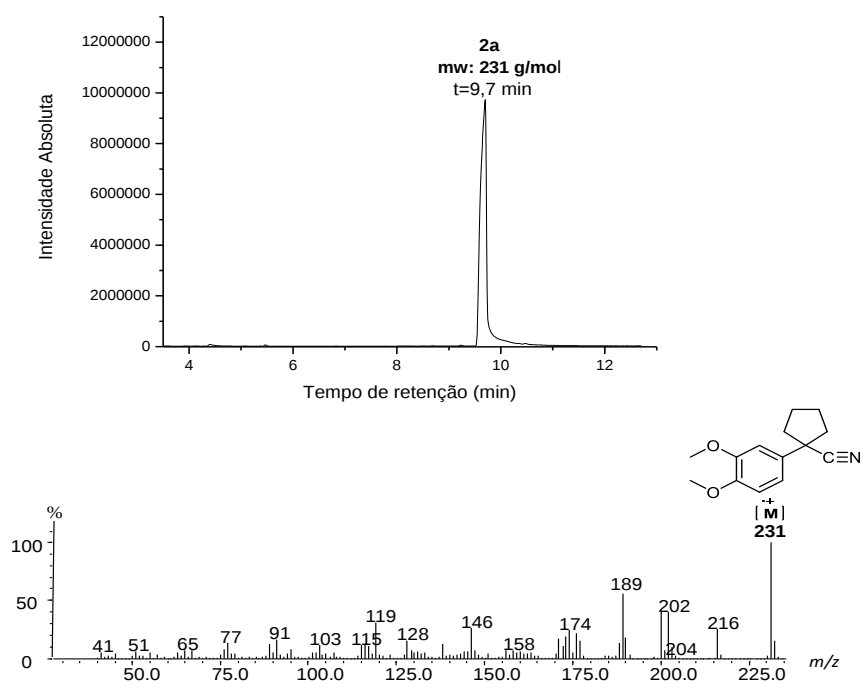


Figura 11. Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS para o composto **2a** isolado.



Investigou-se o efeito do solvente na reação de formação das espiro-nitrilas **1a** e **2a**, e nesse sentido trocou-se o solvente começando por éter etílico, THF e DMF,

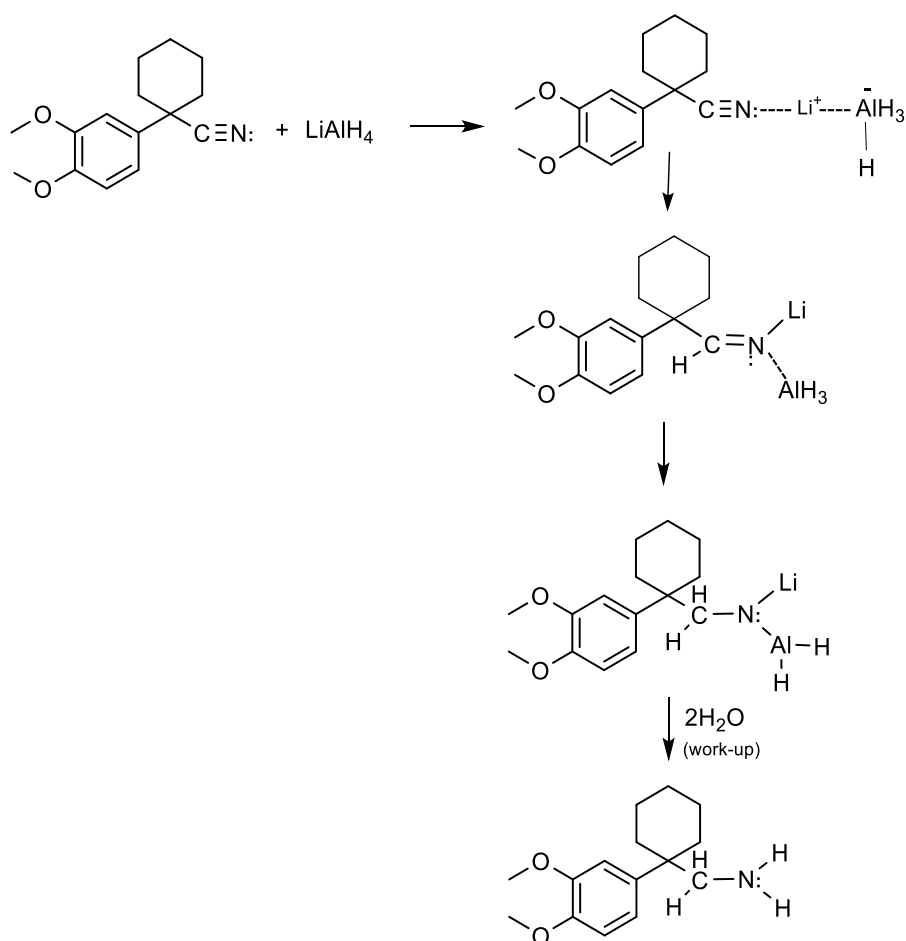
porém os resultados não foram alentadores e como o primeiro objetivo é a obtenção dos produtos planejados para realizar os testes dopaminérgicos, foi decidido realizar a otimização da reação futuramente.

4.2. Síntese, caracterização e purificação dos produtos (1-(3,4-dimetoxifenil) ciclohexil) metanamina **1b** e o análogo (1-(3,4-dimetoxifenil) ciclopentil) metanamina **2b**.

As espiro-nitrilas **1a** e **2a** foram reduzidas as respectivas aminas **1b** e **2b**, através da reação com LiAlH_4 . No mecanismo descrito no esquema 4, é proposto primeiro o ataque nucleofílico do hidreto para a formação do complexo intermediário **I-1**. Então, um segundo ataque nucleofílico de hidreto ocorre e resulta na adição de mais um átomo de hidrogênio ao carbono e a formação do novo complexo intermediário **I-2**. A reação somente é cessada e completa após a hidrólise do **I-2** (work-up).

Os cromatogramas e espectros de massas mostrados nas figuras 12 e 13, referem-se as análises dos compostos **1b** e **2b**, respectivamente, realizadas após o término das reações. O pico presente em 12,17 minutos (Figura 12) refere-se ao produto (1-(3,4-dimetoxifenil)ciclohexil) metanamina **1b** e espectro de massas obtido para este pico mostrou o íon molecular $[\text{M}^+]$ m/z 249, confirmando a redução do grupo nitrila a amina.

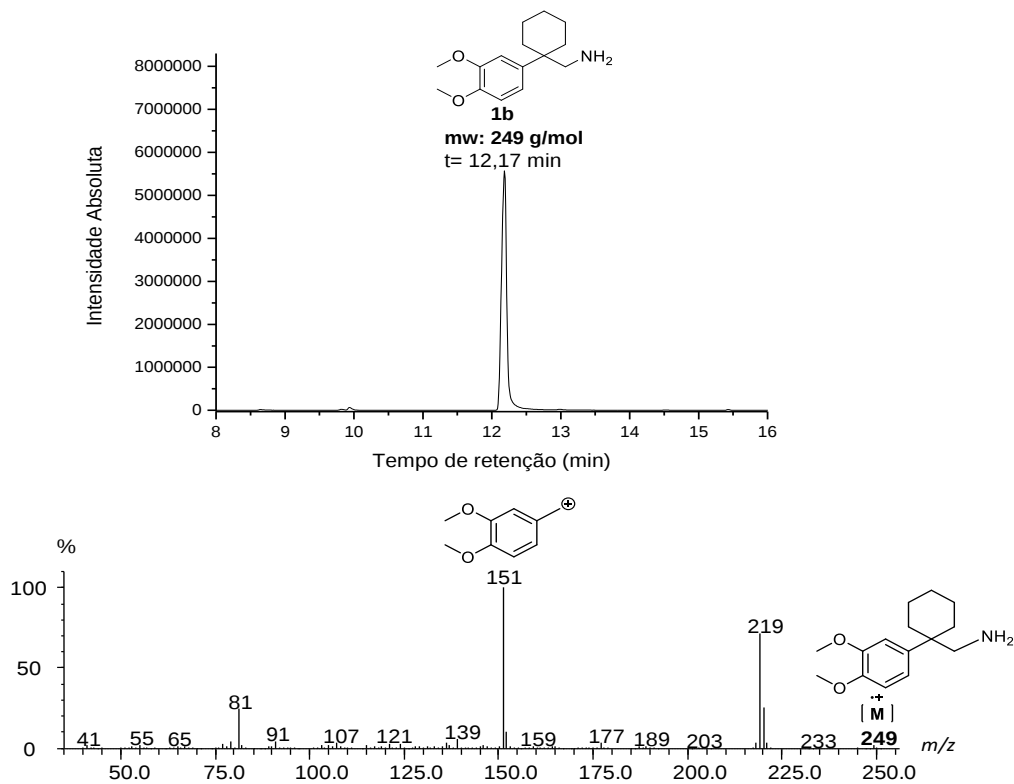
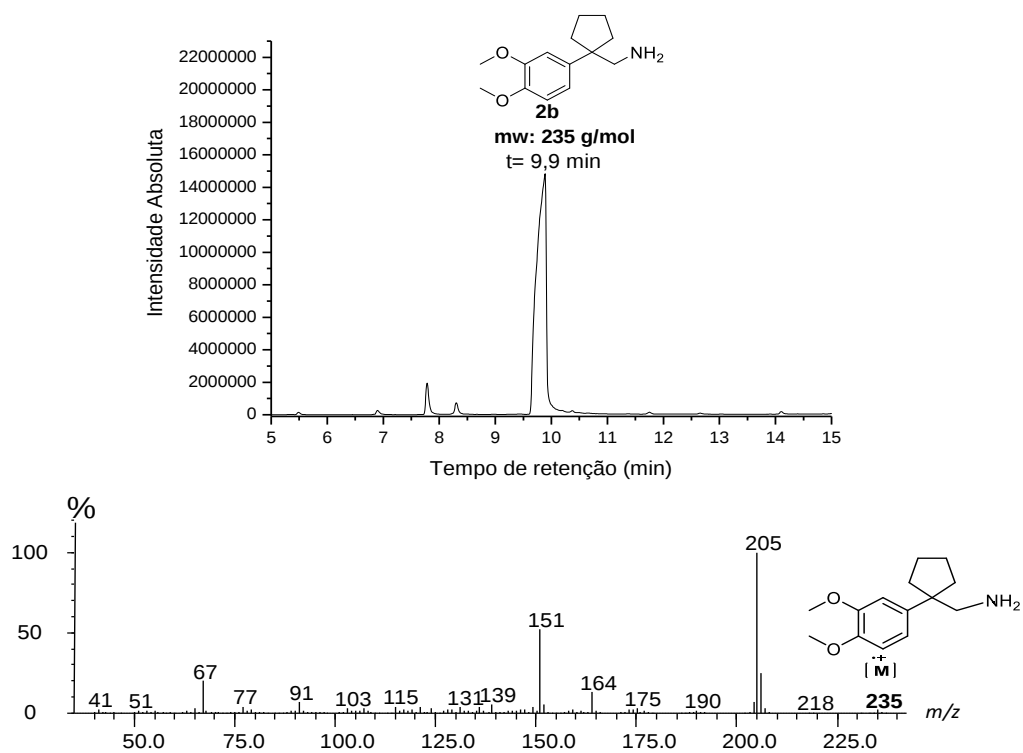
Esquema 4. Mecanismo proposto de redução dos compostos **1a** ou **2a**.



Fonte. Baseado em LOWRY, Thomas H.; RICHARDSON, Kathleen Schueller, 1987.⁶³

Já na figura 13, o tempo de retenção de 9,9 minutos refere-se ao produto (1-(3,4-dimetoxifenil)ciclopentil)metanamina **2a** e o seu espectro de massas evidencia que ocorreu a redução pela presença o íon molecular $[\text{M}^+]$ m/z 235.

Foram testados diferentes sistemas redutores: $\text{NaBH}_4\text{-CoCl}_2$, $\text{LiAlH}_4\text{-CoCl}_2$, Ni/KBH_4 em diferentes condições experimentais. A redução mais eficiente dos compostos espiro-nitrilas ocorreu utilizando o LiAlH_4 em THF e através de modificações na metodologia de Crooks et al.^{64,65,66}

Figura 12. Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS do produto **1b****Figura 13.** Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS do produto **2b**

As amostras analisadas não mostraram impurezas dos correspondentes precursores nitrílicos **1a** e **2a**, portanto foram utilizados como material de partida para a subsequente etapa de reação.

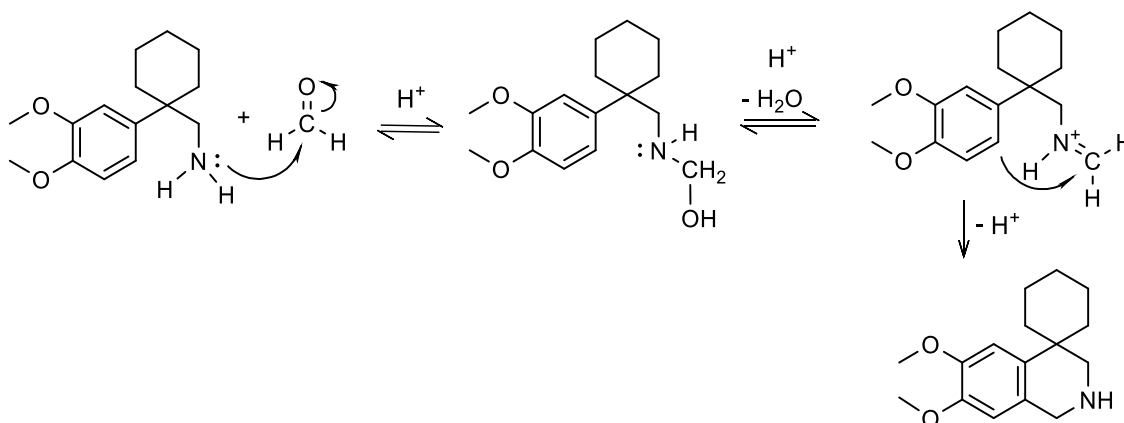
4.3. Síntese, caracterização e purificação dos compostos bicíclicos 6',7'-dimetoxi-2',3'-di-hidro-1'H-espiro(ciclo-hexano-1,4'-isoquinolina) 1c e para o análogo 6',7'-dimetoxi-2', 3'-di-hidro-1'H-espiro(ciclopentano-1,4'-isoquinolina) 2c.

Os compostos **1c** e **2c** foram obtidos através da reação de Pictet-Splengler (P-S), que é uma reação utilizada na síntese de uma grande variedade de compostos heterocíclicos. Esta pode ser considerada um caso especial da Reação de Mannich, uma vez que a via de reação é semelhante. Essa reação tornou-se uma das estratégias sintéticas mais bem-sucedidas, para a síntese das estruturas de isoquinolinas e os alcaloides indólicos.⁶⁷

A reação de Pictet-Spengler envolve a adição de uma feniletilamina a um aldeído, formando assim um íon imínio intermediário com caráter eletrofílico que desenvolve uma reação de substituição eletrofílica aromática no anel benzênico vizinho para a consequente ciclização intramolecular.⁶⁸

A primeira etapa no mecanismo das reações de P-S é a formação da Base de Schiff. A amina e o aldeído (formaldeído, nesta reação) dão origem a um aminal (amino álcool), que é desidratado em meio ácido para originar a imina correspondente. A protonação da imina resulta na formação do íon imínio, que reage com o anel aromático para formar o sistema heterocíclico de seis membros (esquema 5).⁶⁹

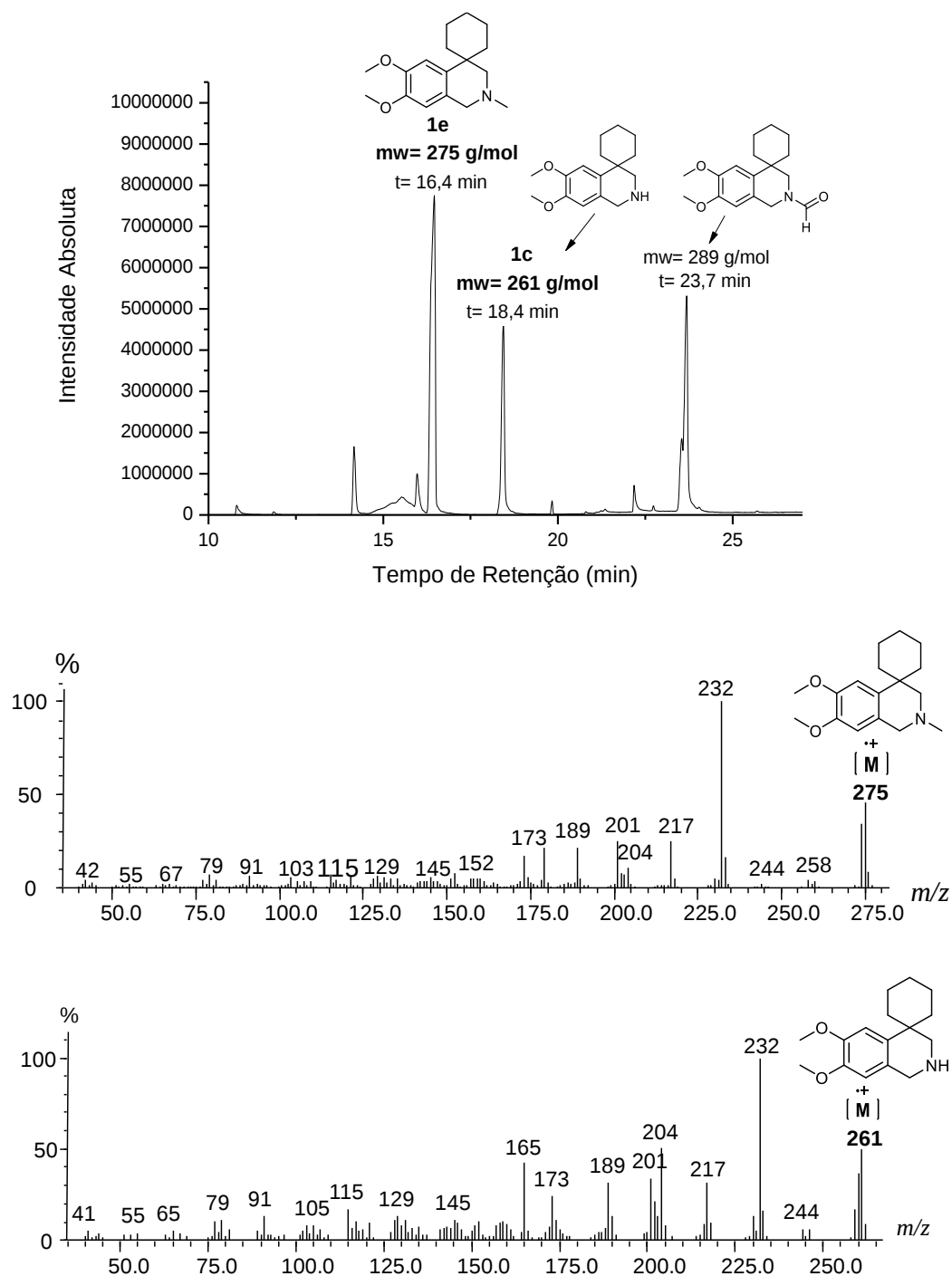
Esquema 5. Mecanismo proposto para a obtenção de **1c**, o mesmo ocorre para análogo **2c**



Fonte. Baseado em Pictet, A; Spengler, 1911 e Cordeiro M.B. et.al, 2012.^{65,70}

No início do desenvolvimento de uma metodologia de síntese para as reações de P-S as sínteses ocorriam com um tempo reacional de cerca de 16 horas (overnight), a 50°C e com excesso de ácido fórmico e nessas condições observava-se nas caracterizações por GC-MS a presença de aminas terciárias como subprodutos *N*.metilados (compostos **1e** e **2e**) e também formamidas **1c** e **2c**, que se formaram junto com os compostos planejados. O exemplo de uma das reações é mostrado na figura 14 na que é observado um cromatograma da mistura de produtos, o composto **1e** (tempo de retenção de 16,4 min) se formou de forma majoritária em relação ao composto planejado **1c** (tempo de retenção de 18,4 min) nas condições acima mencionadas.

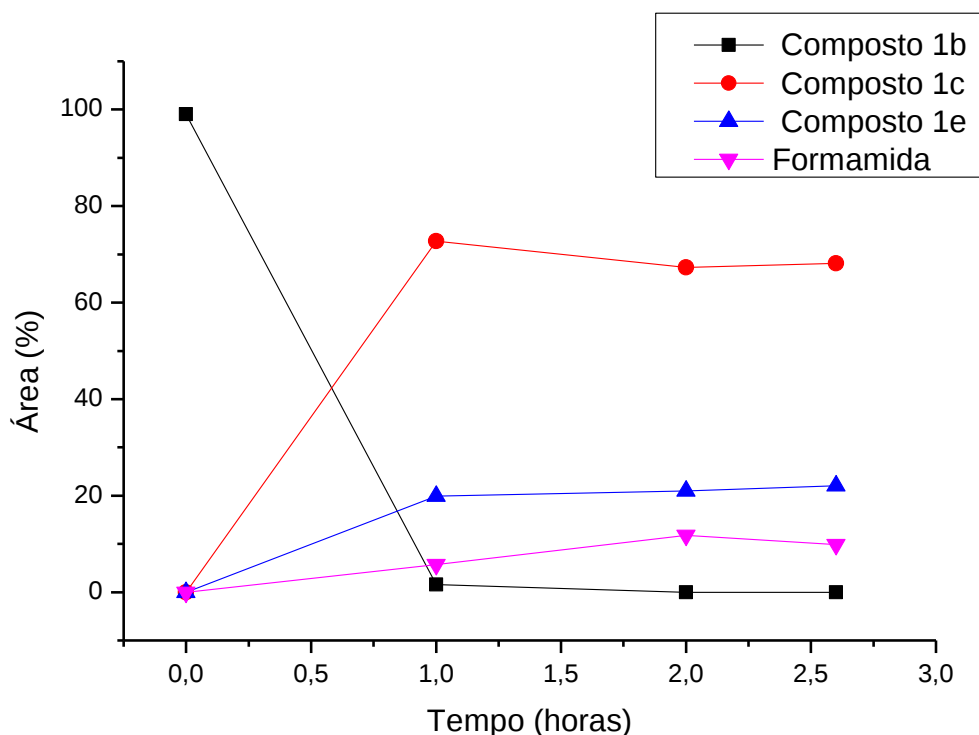
Figura 14. Cromatograma e espectro de massas obtido por GC-MS do produto **1c**.



Investigou-se a seletividade da reação de P-S. e para tal finalidade realizou-se um estudo cinético da reação GC-MS através da retirada de alíquotas do meio reacional nos tempos de uma, duas e duas horas e meia. O acompanhamento da reação para o composto **1c** e seu subproduto **1e** é mostrado abaixo (figura 15), nota-

se que logo na primeira hora de reação, houve praticamente o consumo total da amina de partida **1b**, a formação do produto **1c** de forma majoritária e também a presença de subproduto *N*-metilado **1e**. Após o monitoramento, a reação foi finalizada com 2 horas e 40 minutos, para investigar se ocorreria interconversão do produto **1c** para algum subproduto.

Figura 15. Gráfico do percentual de área (proporcional a concentração) do composto de partida **1b**, do produto de interesse **1c**, e dos produtos colaterais **1e** e Formamida, em função do tempo.

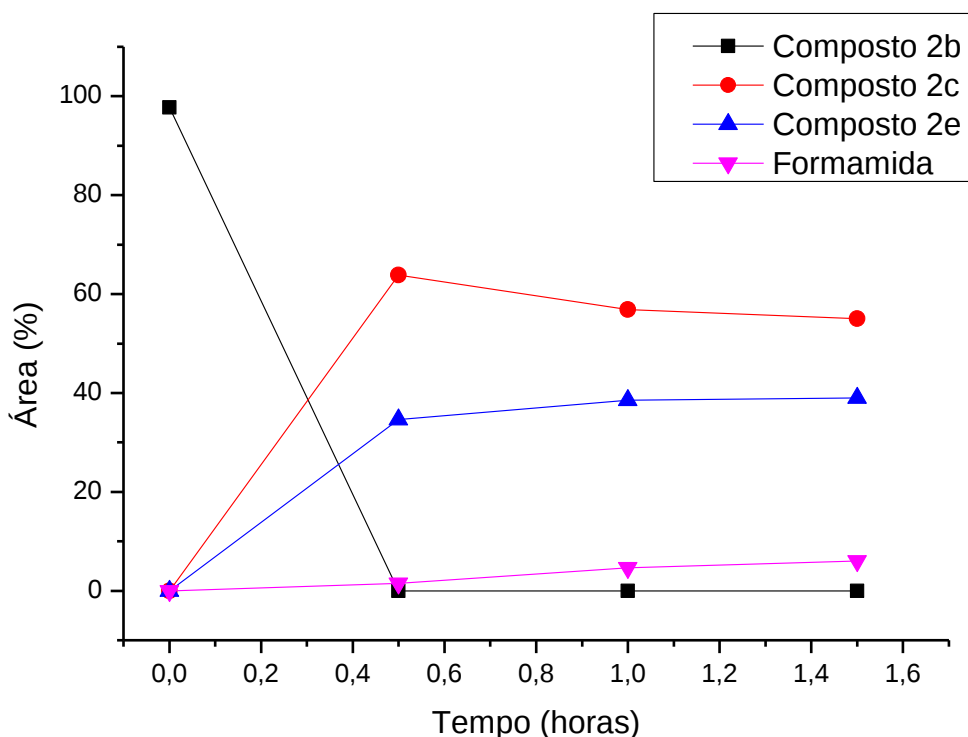


Fonte. Autoral

Com esse estudo, foi observado que a reação pode ser realizada por uma hora, pois neste período de tempo alcançou-se a maior conversão da amina de partida **1b** para o produto fundamental **1c** e a partir desse momento, no intervalo de 1 até 2 horas, observou-se um aumento da Formamida e ainda uma diminuição aparentemente proporcional do produto **1c** o que sugere que mais Formamida pode ser produzida pela conversão direta da amina secundária **1c**.

Um experimento cinético foi também realizado para estudar a formação do composto **2c** (figura 16), porém as alíquotas começaram a ser retiradas com 30 min, 1 hora e uma hora e meia de reação, pois foi previamente observado que esta reação acontecia de forma mais rápida quando comparada com a correspondente a formação do análogo **1c**. Como observado no gráfico da figura 16, média hora de reação é o tempo ótimo nas condições reacionais estudadas.

Figura 16. Gráfico do percentual de área (proporcional a concentração) do composto de partida **2b**, do produto de interesse **2c**, e dos subprodutos **2e** e Formamida, em função do tempo.



Fonte. Autoral

Outra observação após o monitoramento das reações de P-S foi a necessidade de neutralizar o meio reacional para evitar a maior conversão para a Formamida e amina *N*-metilada. Como nas primeiras reações realizadas a separação do excesso de ácido fórmico foi realizada apenas por destilação sob pressão reduzida,

agora as misturas reacionais contendo os compostos **1c** e **2c** passaram a ser neutralizadas com solução de bicarbonato de sódio 20% (m/v) antes de continuar para a etapa de purificação e isolamento.

A separação e o isolamento dos compostos **1c** e **1e** foi efetuada através de coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente um sistema metanol/acetato de etila com gradiente de 10 a 20%.

Os cromatogramas e espectros de massas mostrados nas figuras 17 e 18 são, respectivamente, dos compostos **1c** e **1e** separados. O composto **1c**, com R_t de 17,1 minutos foi confirmado pela observação do íon molecular $[M^+]$ m/z 261 e o fragmento majoritário (pico base) em m/z 232 e é proveniente da fragmentação do anel espiro de seis membros com a perda neutra de 28 unidades de massa ($-C_2H_4$).

O composto **1c** foi isolado na forma de um sólido branco cristalino e apresentou pureza de 98% por GC-MS. O subproduto **1e**, foi observado no tempo de retenção de 16,3 minutos e sua presença é confirmada no espectro de massas pelo íon molecular $[M^+]$ m/z 275, esse produto foi isolado como um sólido branco levemente amarelado e apresentou uma pureza de 98% por GC-MS.

O produto **2c** foi isolado de **2e** através de separação cromatográfica realizada sobre sílica gel, utilizando como eluente um sistema de solventes acetato de etila/éter de petróleo com um gradiente de 8 a 20%. O composto **2c** foi identificado (figura 19) pelo espectro de massas do pico correspondente em R_t = 14 minutos, e o seu íon molecular $[M^+]$ m/z 247. O pico base com m/z 218 vem da fragmentação e perda de radical etila no anel espiro de cinco membros. O produto **2c** foi isolado como um sólido branco cristalino e apresentou pureza de 96% por GC-MS.

Figura 17. Cromatograma e espectro de massas do produto isolado **1c**.

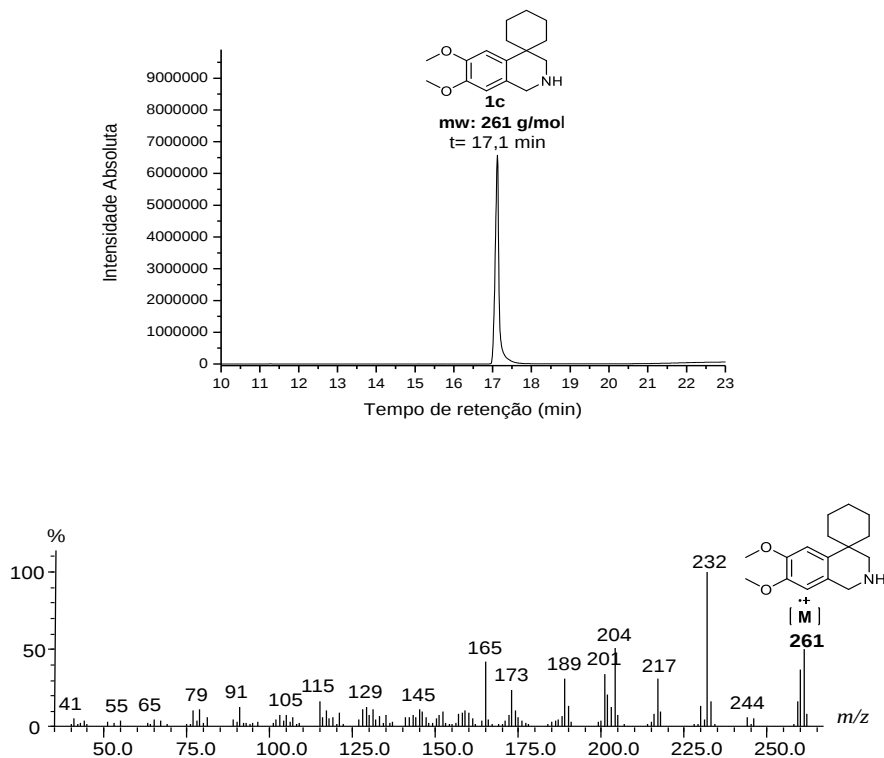


Figura 18. Cromatograma e espectro de massas do produto isolado **1e**.

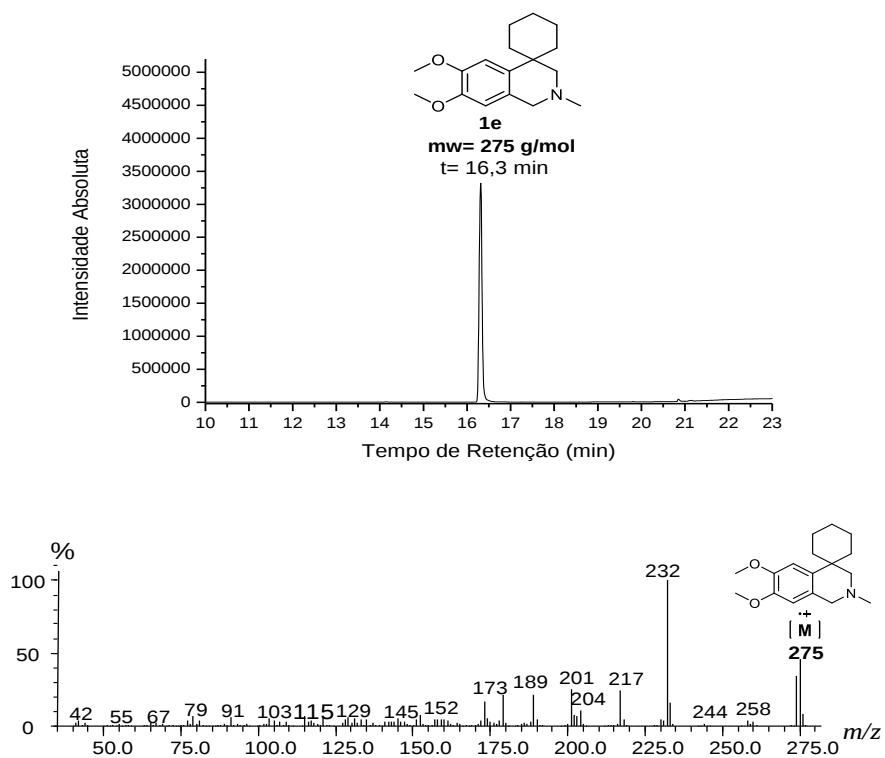
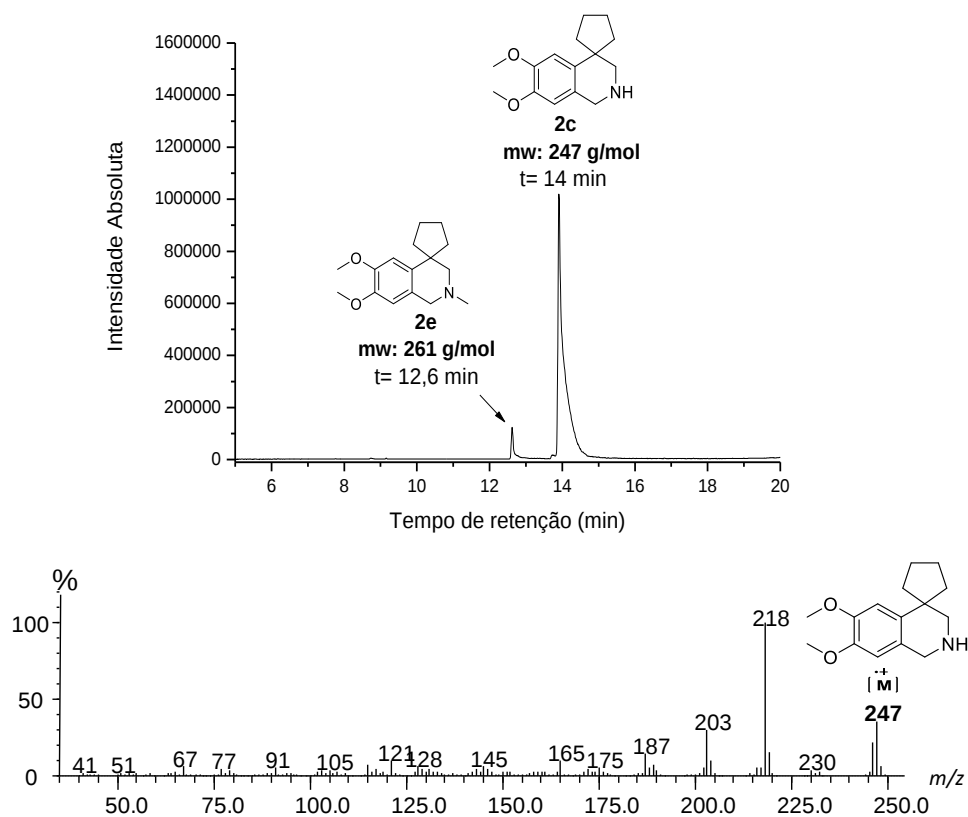
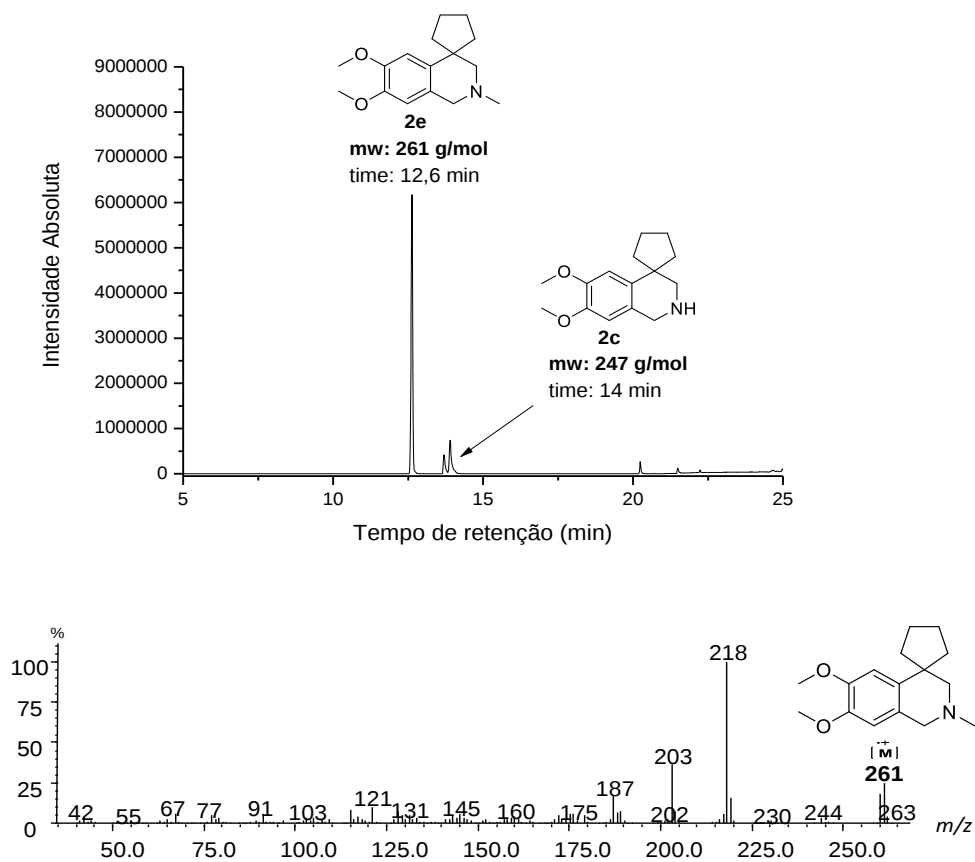


Figura 19. Cromatograma e espectro de massas do produto isolado **2c**.



O produto **2e** (figura 20) foi observado no R_t de 12,6 minutos e sua presença é confirmada pelo espectro de massas que mostra o íon molecular $[M^+]$ m/z 261, esse produto foi isolado como um óleo amarelo e apresentou uma pureza de 89% por GC-MS, sendo a impureza neste caso um resíduo do composto **2c**.

Figura 20. Cromatograma e espectro de massas do produto **2e**.

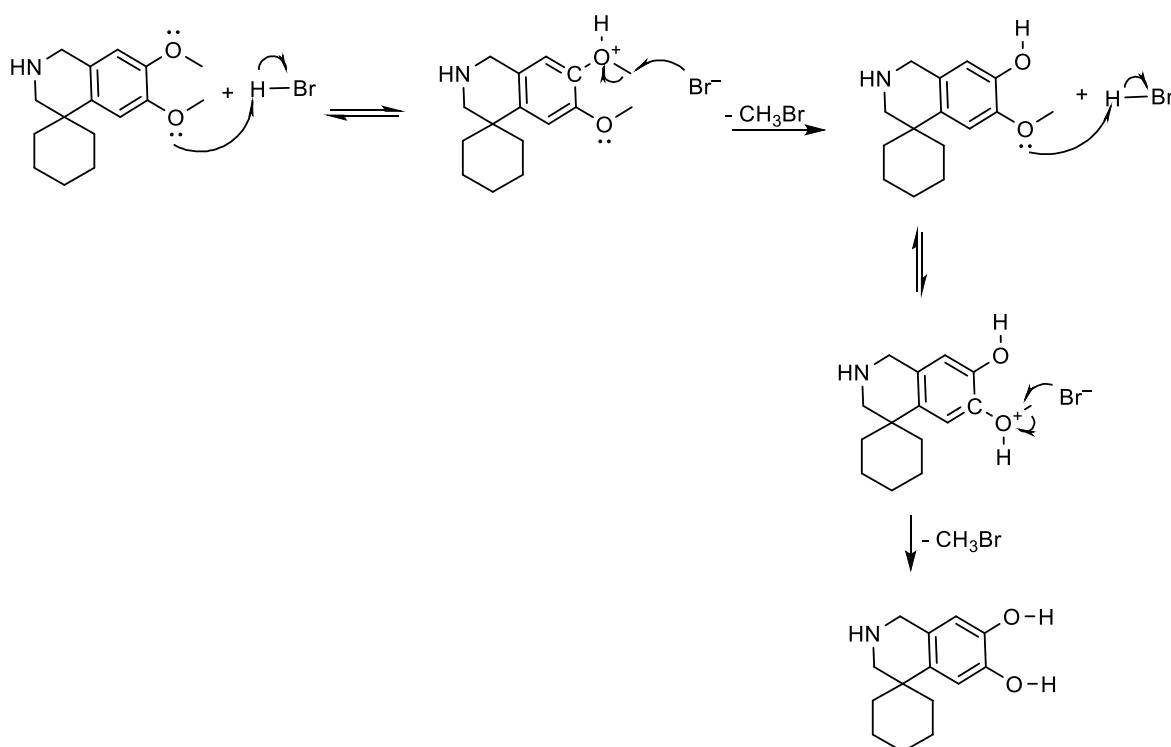


O acompanhamento dessa etapa de sínteses e a purificação dos compostos intermediários obtidos possibilitou uma síntese mais direta e limpa dos compostos finais planejados (**1d** e **2d**) na síntese subsequente.

4.4. Síntese e caracterização dos produtos finais 2',3'-di-hidro-1'*H*-espiro[ciclohexano-1,4'-isoquinolina]-6',7'-diol (composto **1d**) e seu análogo 2',3'-di-hidro-1'*H*-espiro[ciclopentano-1,4'-isoquinolina]-6',7'-diol **2d**.

A etapa final para a obtenção dos compostos **1d** e **2d** foi concluída e obtiveram-se também dois subprodutos, os compostos **1f** (2'-metil-2',3'-dihidro-1'*H*-espiro[ciclohexano-1,4'-isoquinolina]-6',7'-diol) e **2f** (2'-metil-2',3'-dihidro-1'*H*-espiro[ciclopentano-1,4'-isoquinolina]-6',7'-diol). Nesta etapa utilizou-se a reação de O-desmetilação com HBr aquoso 48% seguindo um processo de retro Williamson. O mecanismo mostrado no esquema 6 é o proposto para estas reações.

Esquema 6. Mecanismo proposto para a formação do produto **1d**.

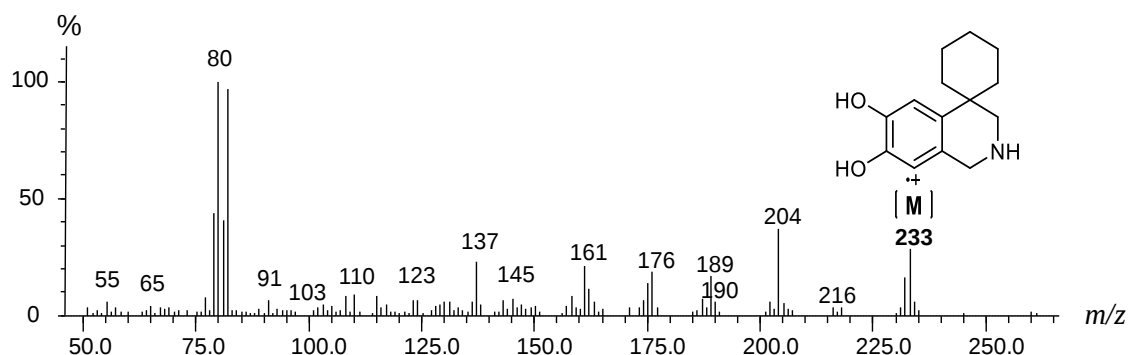


Fonte. Baseado em SMITH, Michael B.⁷¹

Os compostos obtidos após a reação de desmetilação foram analisados por espectrometria de massas via introdução direta no GC-MS/ DI. Nos espectros de

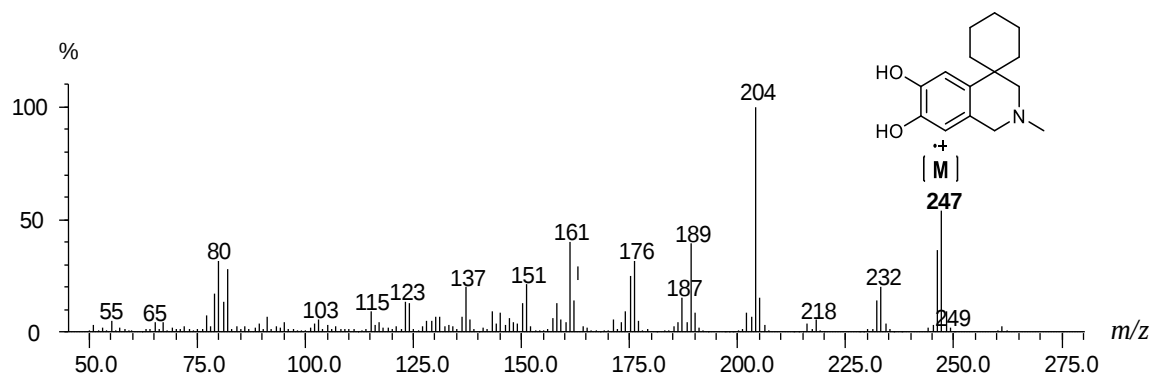
massas mostrados nas Figuras 21 e 22, observam-se os íons moleculares dos compostos **1d** e **1f**, [M^+] m/z 247 e m/z 233, respectivamente.

Figura 21. Espectro de massa obtido por introdução direta (GC-MS/DI) do produto **1d**.



Condições experimentais: Temperatura da câmara de ionização: 200°C; Temperatura da interface: 240°C; Energia usada para ionização elétrons (EI) é de 70-eV.

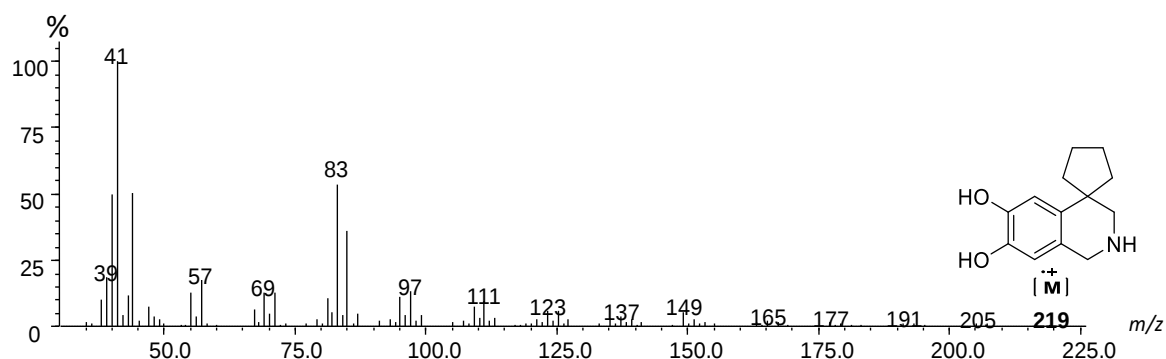
Figura 22. Espectro de massa obtido por introdução direta (GC-MS/DI) do produto **1f**.



Condições experimentais: Temperatura da câmara de ionização: 200°C; Temperatura da interface: 240°C; Energia usada para ionização elétrons (EI) é de 70-eV.

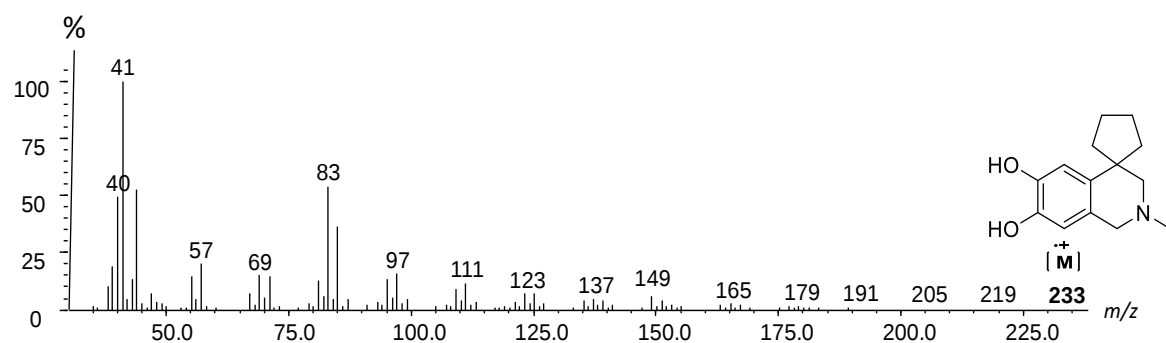
Nos espectros de massas mostrados nas figuras 23 e 24, foram observados os íons moleculares dos compostos **2d** e **2f** [M^+] m/z 219 e m/z 233, respectivamente.

Figura 23. Espectro de massa obtido por introdução direta (GC-MS/DI) do produto **2d**.



Condições experimentais: Temperatura da câmara de ionização: 200°C; Temperatura da interface: 240°C; Energia usada para ionização elétrons (EI) é de 70-eV.

Figura 24. Espectro de massa obtido por introdução direta (GC-MS/DI) do produto **2f**.



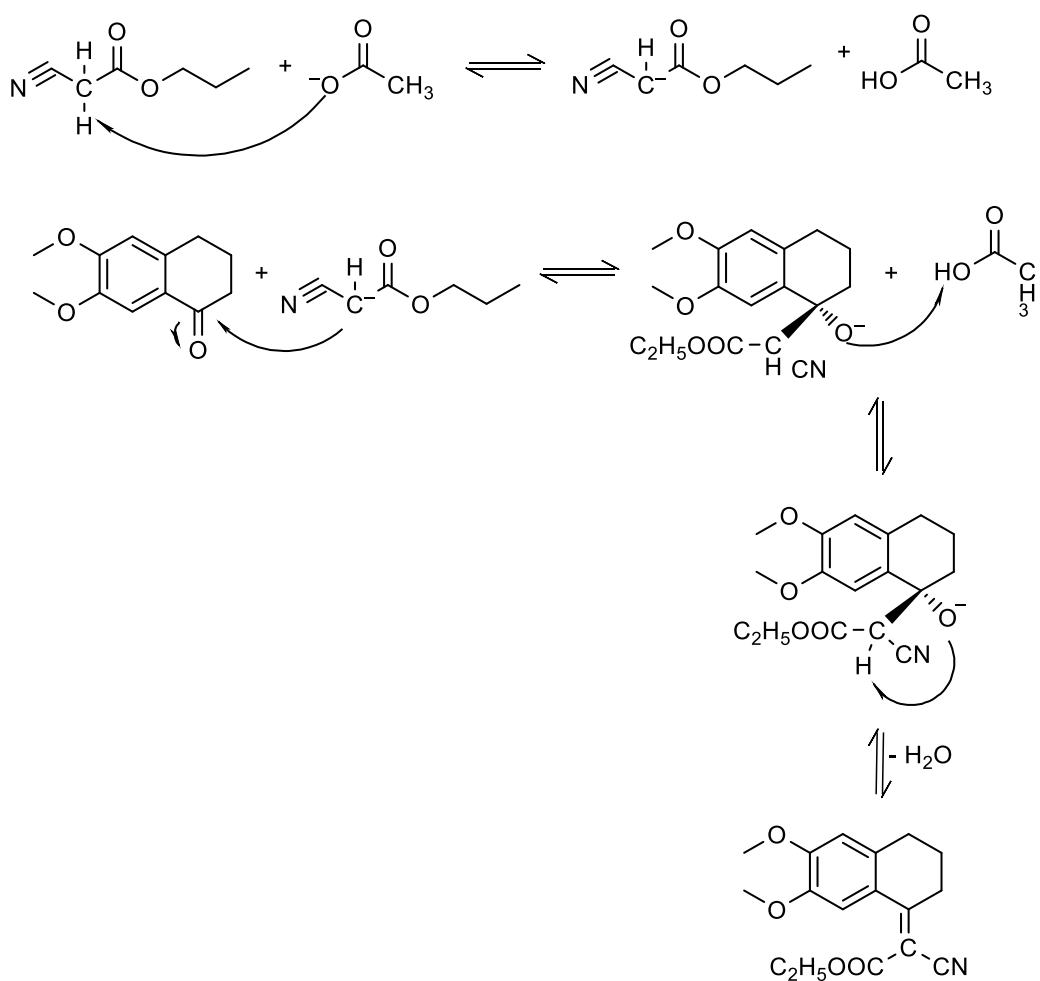
Condições experimentais: Temperatura da câmara de ionização: 200°C; Temperatura da interface: 240°C; Energia usada para ionização elétrons (EI) é de 70-eV.

4.5. Síntese, Caracterização e purificação do composto Etil (E) -2-ciano-2-(6,7-dimetoxi-3,4-di-hidronaftalen-1(2H)-ilideno) acetato **3a**.

A primeira etapa sintética para a obtenção dos análogos de dopamina baseados na estrutura do agonista SKF38393 foi realizada através de uma reação de condensação aldólica, onde ocorre uma adição nucleofílica (Adição de Michael)

seguida de uma β -eliminação. Na etapa inicial, o cianoacetato de etila perde um próton do carbono α para o íon acetato em solução, formando o nucleófilo que posteriormente ataca o grupo carbonila da tetralona, após esta adição nucleofílica um típico intermediário alcóxido é formado. O intermediário alcóxido retira um próton do ácido acético formando um produto hidroxilado que sofre uma eliminação gerando o produto ciano-éster alfa-beta insaturado **3a**.⁷² Essa reação foi realizada com modificações a metodologia de *Crooks e colaboradores* e o mecanismo proposto está mostrado no esquema 7 abaixo.

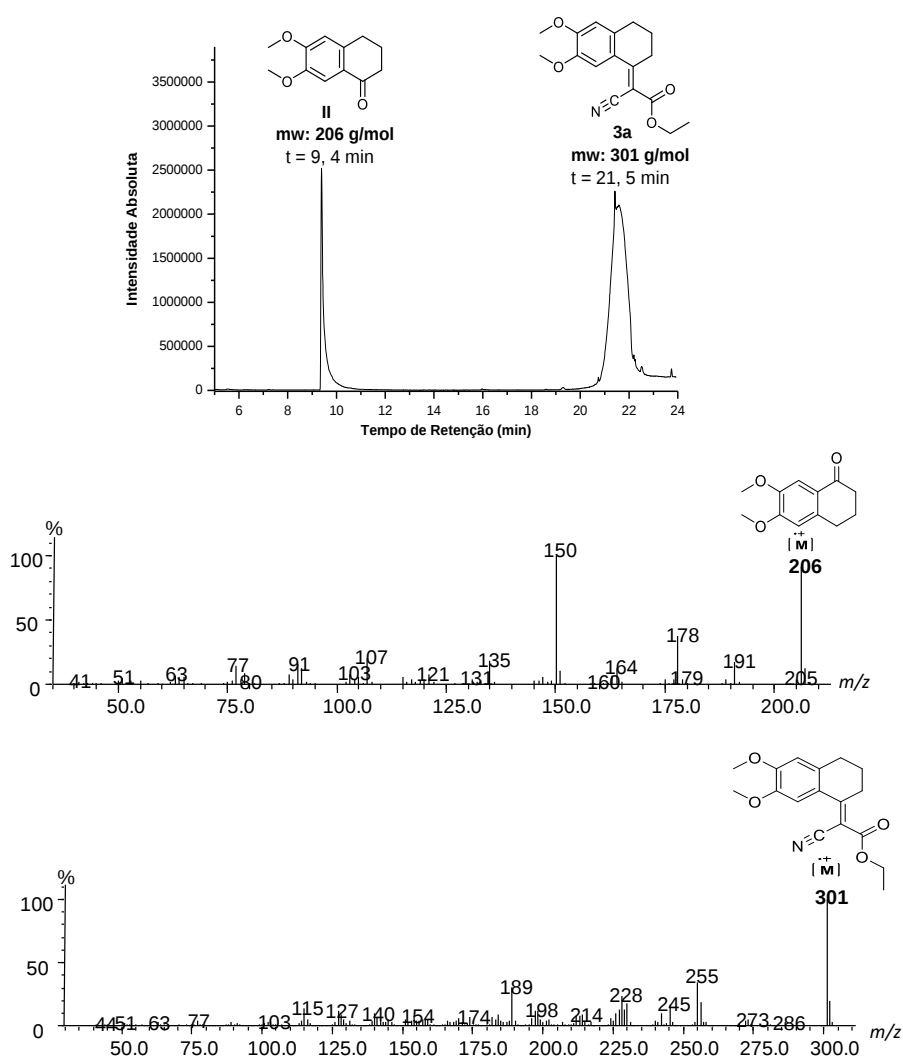
Esquema 7. Mecanismo proposto para a formação do composto **3a**.



Fonte. Baseado em MICHAEL, Am. 1887.⁷³

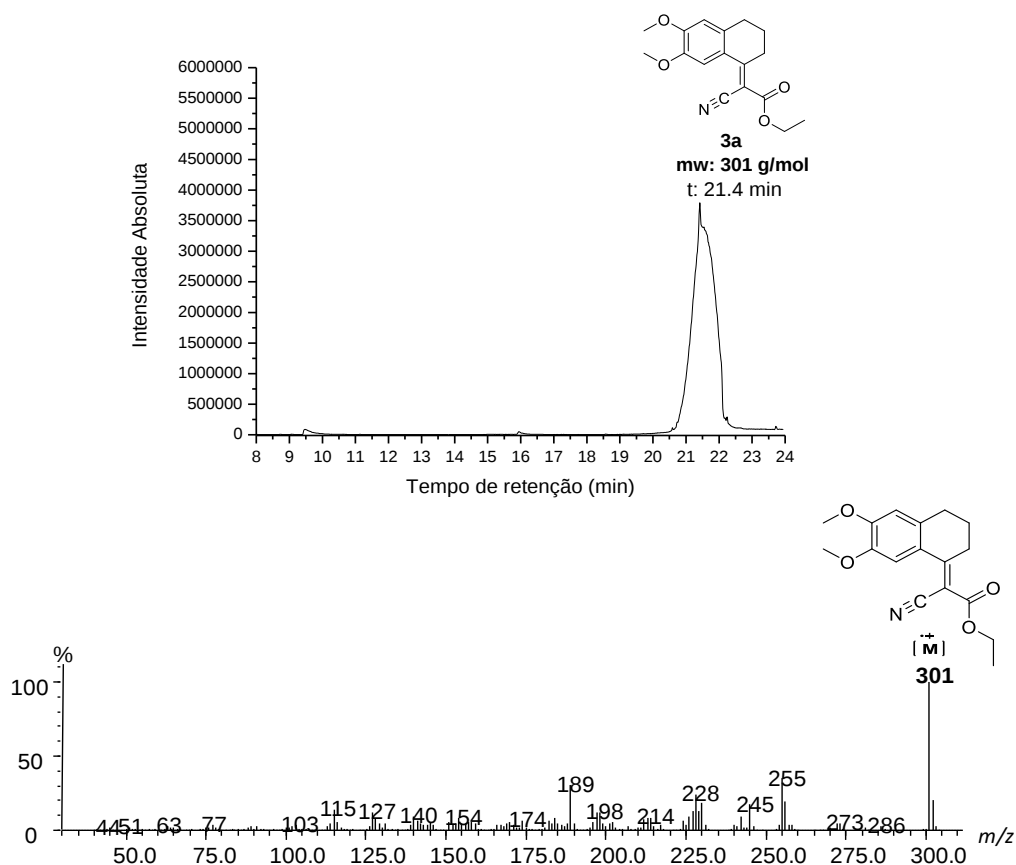
O cromatograma obtido para o composto **3a** é mostrado na figura 25, foi realizado logo após o término da reação. Os picos com R_t em 9,4 e 21,5 minutos referem-se ao composto de partida 6,7 dimetoxifenil-1-tetralona (composto **II**) e Etil (*E*)-2-ciano-2-(6,7-dimetoxi-3,4-di-hidronaftalen-1(2*H*)-ilideno) **3a**, respectivamente. Os espectros de massas dos compostos **II** e **3a** mostram seus respectivos íons moleculares $[M^+]$ m/z 206 e m/z 301, respectivamente.

Figura 25. Cromatograma e espectro de massas do produto não purificado **3a**.



O composto **3a** foi purificado por cromatografia de coluna em sílica gel A60 e foi isolado como um óleo amarelo com alto grau de pureza (> 98% por GC-MS), conforme mostram o cromatograma e o espectro de massas na figura 26. O composto de partida 6,7-dimetoxifenil-1-tetralona foi recuperado durante a separação cromatográfica e sua reutilização em novas sínteses foi feita após a recristalização com *n*-hexano.

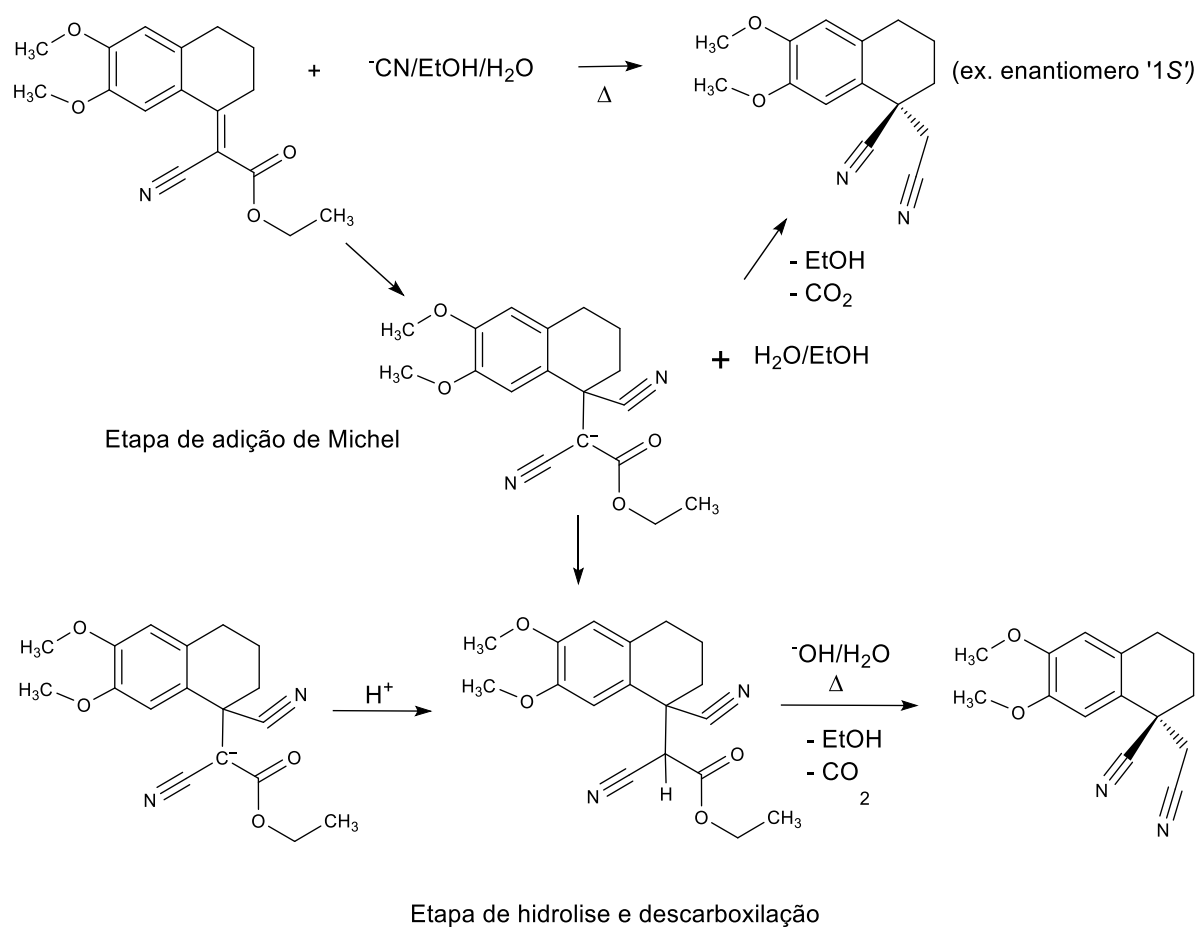
Figura 26. Cromatogramas e espectro de massas para o composto isolado **3a**.



4.6. Síntese, caracterização e purificação do composto 1-(cianometil)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidronaftaleno-1-carbonitrila **3b**.

Na síntese de obtenção do composto **3b** estão envolvidos dois mecanismos, uma Adição de Michael seguida de β -descarboxilação (Reação de Krapcho).⁷⁴

Esquema 8. Mecanismo proposto para formação do composto **3b**.

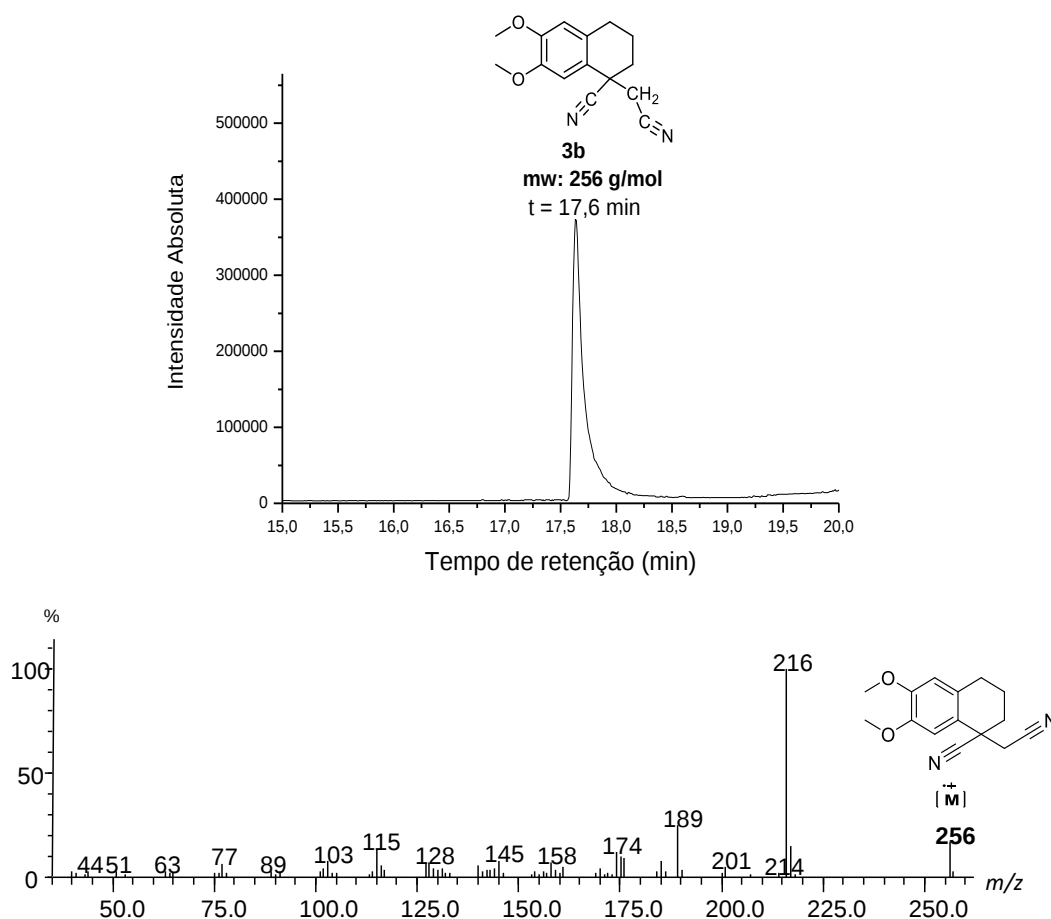


Fonte. Baseado em KRAPCHO, A. Paul; WEIMASTER, John F, 1980 e KURTI, Laszlo; CZAKÓ, Barbara, 2005.^{75,69}

O composto obtido, foi analisado por GC-MS e o cromatograma e espectro de massas, são mostrados na figura 27, onde observa-se a presença do produto **3b**

com tempo de retenção de 17,6 minutos. O espectro de massas mostra o respectivo íon molecular $[M]^+$ de m/z 256.

Figura 27. Cromatograma e espectro de massas obtidos por GC-MS do produto **3b**.



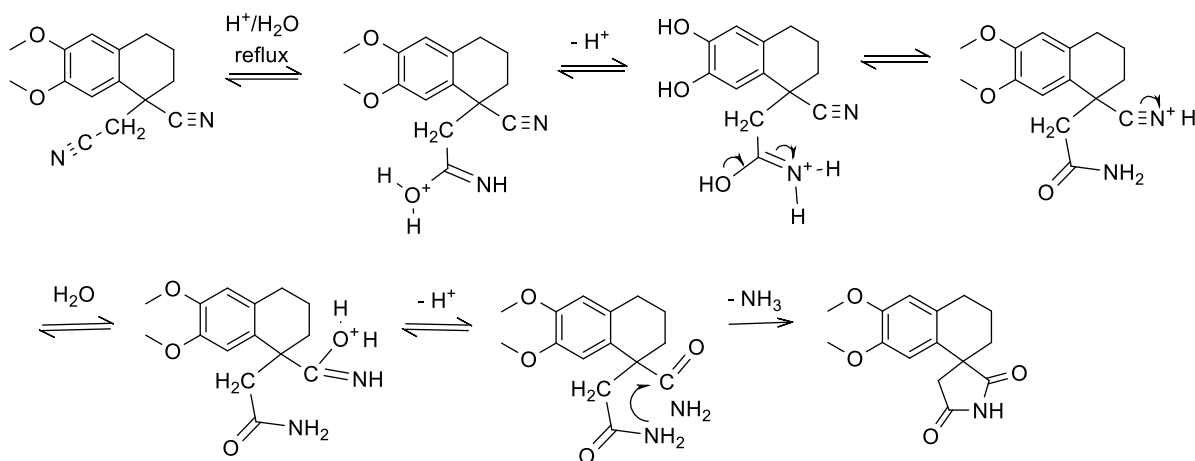
Algumas adaptações da metodologia proposta por *Crooks.et al*⁶⁶ foram necessárias durante essa etapa sintética. A mistura reacional obtida logo após o término da reação foi concentrada à pressão reduzida de acordo com a literatura, porém não foi realizada uma diluição do meio com água. A adição da água solubilizava compostos inorgânico presentes que conferiam uma cor marrom escura a solução resultante o que dificultava a observação das fases separadas, portanto, o produto foi extraído diretamente da mistura reacional com diclorometano. O produto **3b** obtido

apresentou uma pureza >96% por GC-MS e um rendimento de 19% (rendimento reportado por Crooks et al foi 9,6%). O composto **3b** foi utilizado na etapa seguinte sem purificação prévia.

4.7. Síntese, purificação e caracterização do composto espiro- 6,7-dimetoxi-3,4-dihidro-2H-espiro [naftaleno-1,3'-pirrolidina]-2',5'-diona racêmica **3c**.

O composto **3c** racêmico foi obtido através da hidrólise dos grupos nitrila ámidas em meio ácido, seguido da ciclização intramolecular gerando o derivado espiro-succinimida. Os esquemas 9 mostra o mecanismo da reação.

Esquema 9. Mecanismo para formação do composto **3c**.

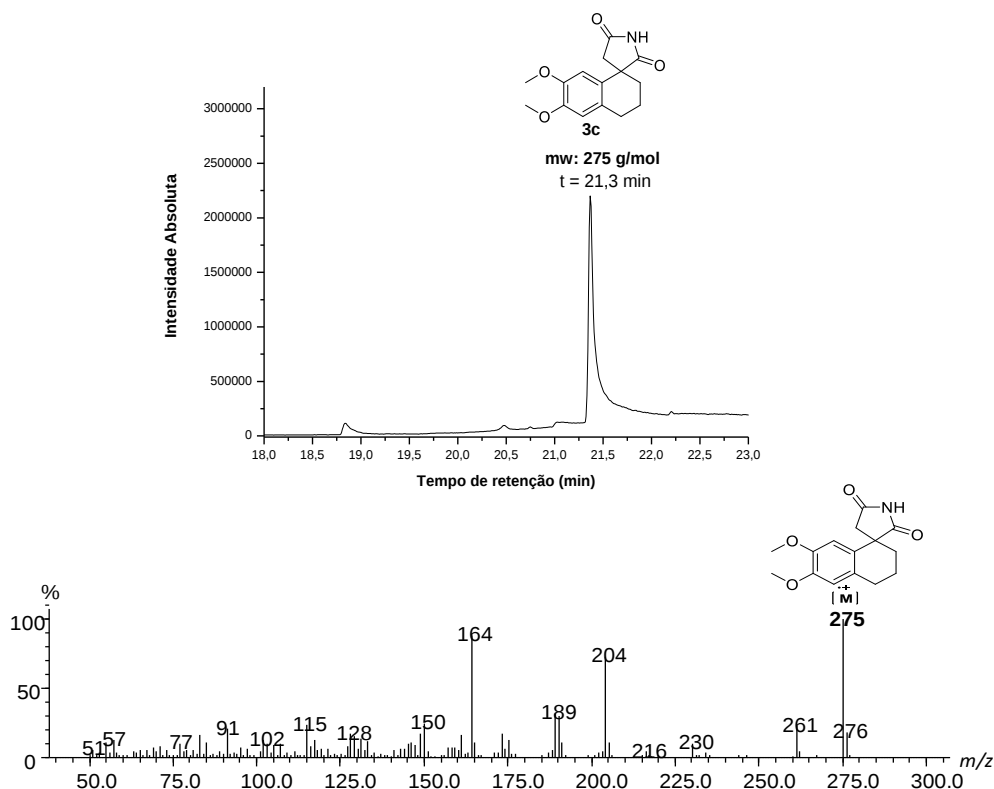


Fonte. Baseado em JOHNSON, Francis; NASUTAVICUS, 1967 e LUNDAHL, K. et al, 1972. ^{76,77}

O cromatograma e o espectro de massas da amostra **3c** após a realização da reação de hidrólise das nitrilas, (Figura 28), mostra que o pico com Rt em 21,3 minutos refere-se ao composto **3c**. No espectro de massas é possível observar o

respectivo íon molecular $[M^+]$ m/z 275 e o pico base com m/z 164 produzido pela perda do radical imida cíclica expandido com massa igual a 111 g.mol^{-1} ($-\text{C}_5\text{H}_5\text{NO}_2$) seguido de rearranjo confirmando a síntese do racemato **3c**.

Figura 28. Cromatograma e espectro de massas do produto **3c**.



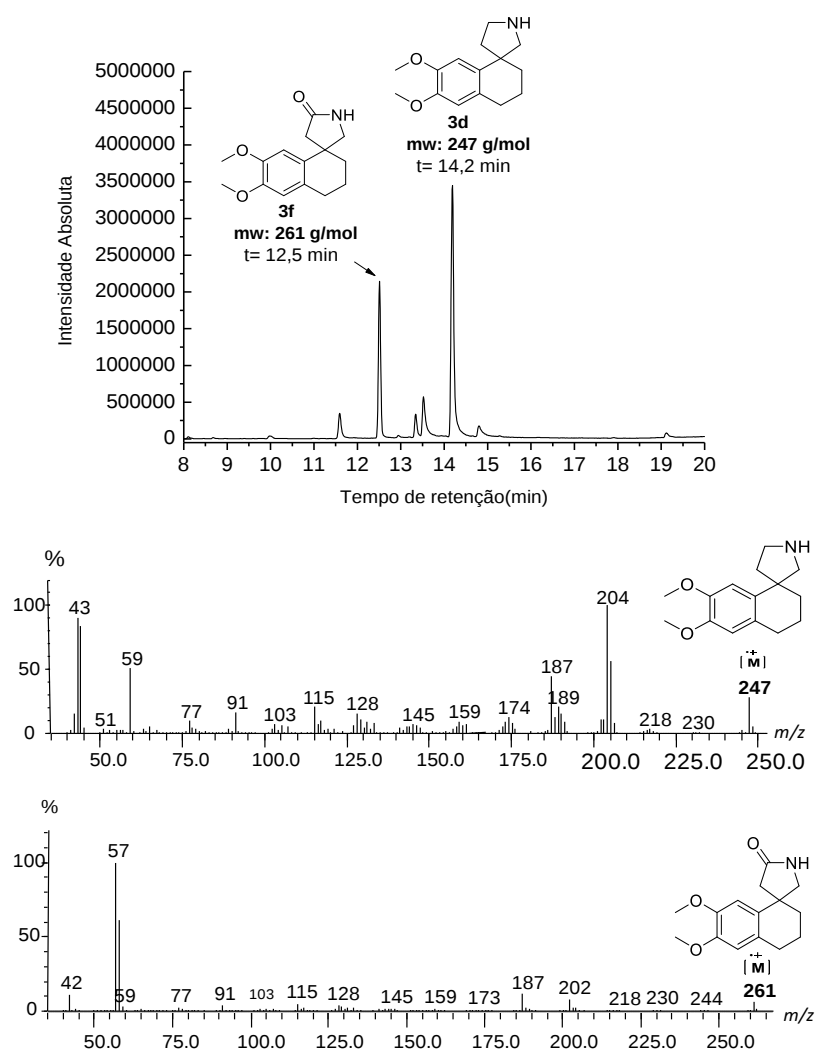
O composto **3c** racêmico foi obtido como um sólido amarelo com pureza >96% por GC-MS, portanto o composto seguiu para etapa seguinte sem purificação previa.

4.8. Síntese, purificação e caracterização do composto 6,7-dimetoxi-3,4-di-hidro-2*H*-espiro[naftaleno-1,3'-pirrolidina] racêmica **3d**.

A reação para obtenção do composto **3d** ocorre através de uma reação de redução da succinimida **3c**, próximo do mecanismo mostrado no esquema 4.

O produto desejado **3d** após a redução completa dos grupos amida a amina foi observado no tempo de retenção de 14,2 minutos (figura 29) e o seu espectro de massas confirmou a presença do íon molecular $[M^+]$ m/z 247, porém, foi observado também a presença de um produto intermediário a lactama **3f** (6,7-dimetoxi-3,4-dihidro-2*H*-espiro [naftaleno-1,3'-pirrolidin]-5'-ona) no tempo de retenção de 12,5 minutos e confirmada pela aparição do íon molecular $[M^+]$ m/z 261.

Figura 29. Cromatograma e espectro de massas obtidos por GC-MS da mistura não purificada dos compostos **3d** e **3f**.



A mistura dos compostos racêmicos **3d** e **3f** foram separados por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de metanol e acetato de etila e um gradiente de 5 a 40%.

Os cromatogramas e espectros de massas nas figuras 30 e 31 são, respectivamente, dos produtos racêmicos **3d** e **3f** isolados após a purificação. O composto **3d** foi isolado na forma de um óleo de cor laranja e apresentou uma pureza >92% por GC-MS. O composto **3f** foi isolado também na forma de um óleo laranja, apresentou uma pureza >80,5% por GC-MS, sendo a principal impureza presente o composto **3d**.

Figura 30. Cromatograma e espectro de massas obtidos por GC-MS do composto racêmico isolado **3d**.

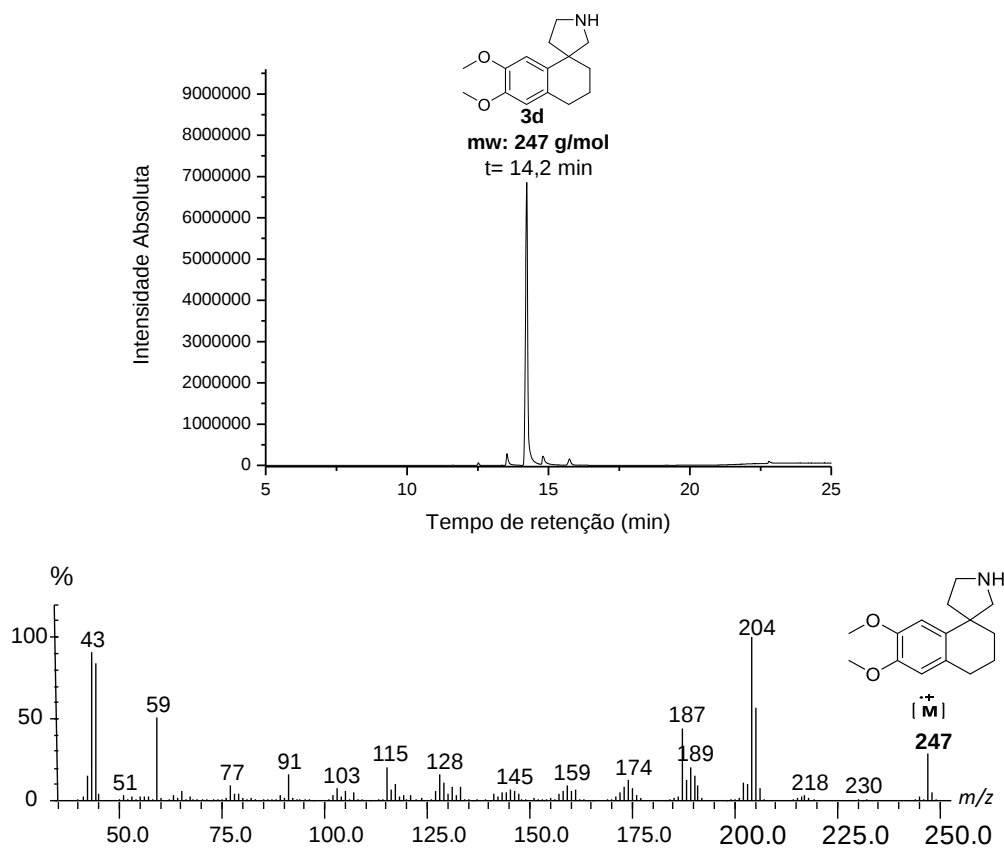
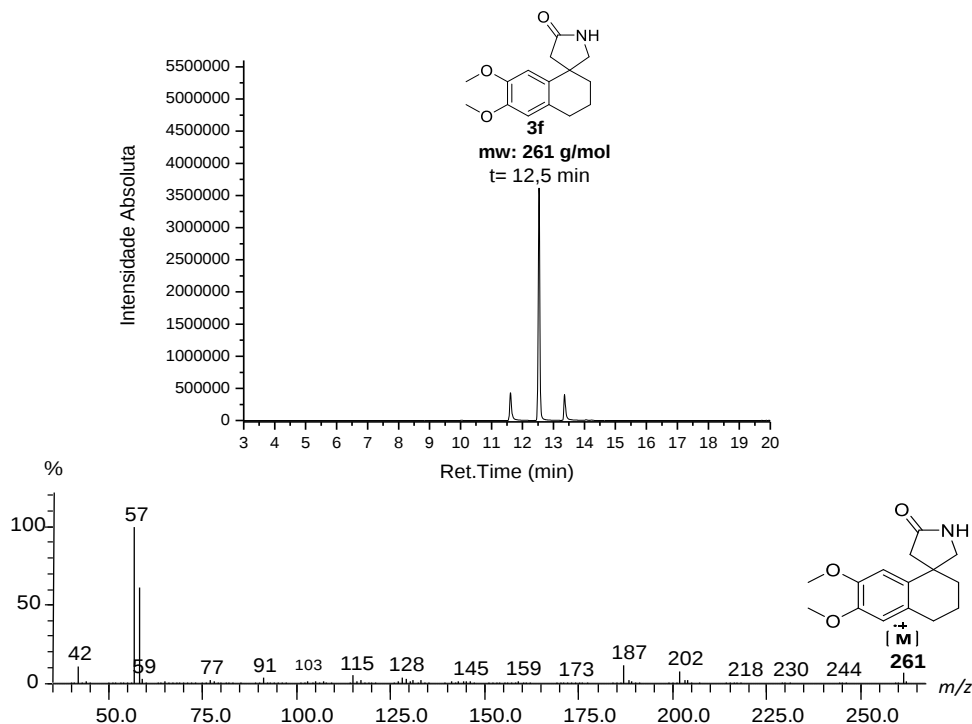


Figura 31. Cromatograma e espectro de massas obtidos por GC-MS do composto racêmico isolado **3f**.



No procedimento relatado por Crooks et al, uma mistura complexa de compostos e inseparáveis foi descrita como sendo observada apenas na etapa seguinte de O-desmetilação. Esses subprodutos se originaram na etapa de redução dos compostos, como foi observado nesse trabalho, portanto a separação dos compostos **3d** e **3f** possibilitou a obtenção do composto final planejado de forma isolada.

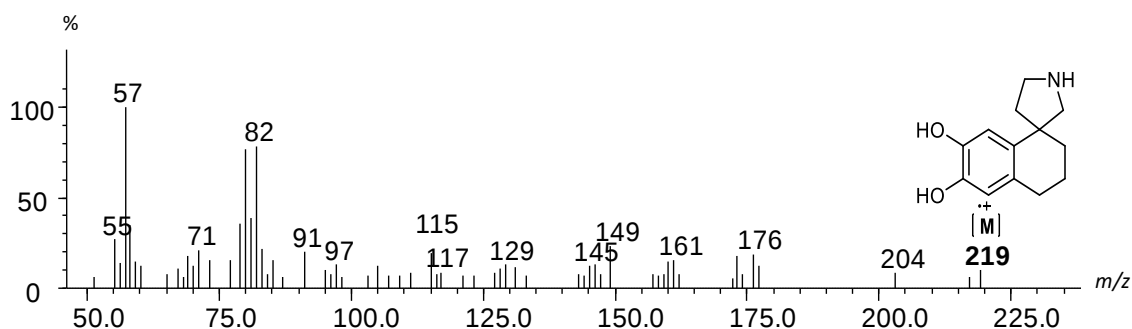
4.9. Síntese, purificação e caracterização do composto 3,4-di-hidro-2*H*-espiro [naftaleno-1,3'-pirrolidina] -6,7-diol racêmico **3e**.

Os compostos racêmicos **3d** e **3f** foram desmetilados através de uma reação de O-desmetilação com ácido bromídrico de acordo com o mecanismo mostrado anteriormente no esquema 6.⁷⁸

A análise dos compostos **3e** e **3g** (6,7-dihydroxy-3,4-dihydro-2*H*-spiro[naphthalene-1,3'-pyrrolidin]-5-one) foi realizada por introdução direta (DI) no

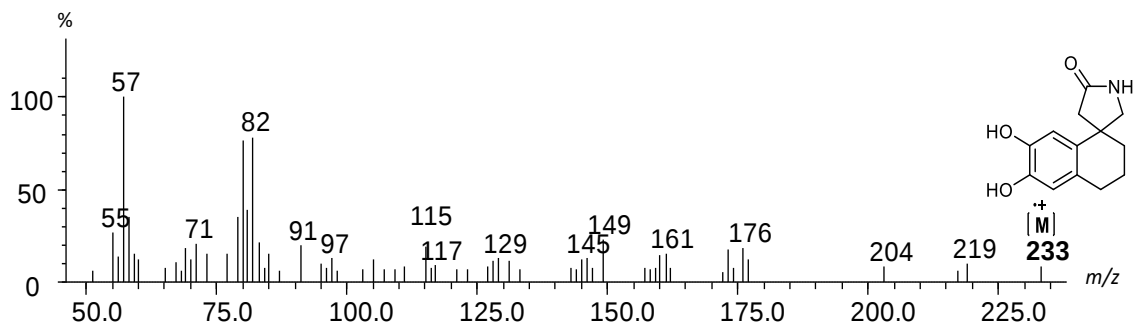
GC-MS. Nos espectros de massas mostrado na figura 32 foi possível observar o íon molecular m/z 219 para o composto **3g**. Já na figura 33 é observado o íon molecular m/z 233.

Figura 32. Espectro de massas obtido por análise de introdução direta GC-MS/DI, para o composto racêmico **3e**.



Temperatura da câmara de ionização: 200°C; Temperatura da interface: 240°C; Energia usada para ionização elétrons (EI) é de 70-eV.

Figura 33. Espectro de massas obtido por análise de introdução direta GC-MS/DI, para o composto racêmico **3g**.



Temperatura da câmara de ionização: 200°C; Temperatura da interface: 240°C; Energia usada para ionização elétrons (EI) é de 70-eV.

4.10. Caracterização dos compostos por FT-IV

Os compostos também foram caracterizados por FT-IV e foi possível observar bandas de absorção características de certos estiramentos dos compostos analisados, sendo eles: sua caracterização e distinção das etapas de síntese dos compostos, as principais bandas destes espectros encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Valores das principais bandas de absorção na região do IV (cm^{-1}) dos compostos sintetizados.

Composto	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C-H})_{\text{al}}$	$\nu(\text{C}\equiv\text{N})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=C})_{\text{ar}}$	$\nu(\text{C-O})$
1a		2940, 2860	2225		1518	1245
1c	3345	2930, 2855			1515	1250
2a		2955, 2875, 2835	2230		1515	1245
2b	3365, 3290	2950, 2870, 2835			1510	1250
2c		2950, 2863, 2832			1510	1245
2d	3330, 3115	2950, 2870,			1525	1245
3a		2983, 2940	2265, 2210	1740 (éster)	1510	1250
3b		2925, 2850	2235		1520	1260
3c	3185	2935, 2850		1775, 1690 (amida)	1510	1255

Ar: Aromático, Al: alifático

Foi possível observar mudanças no decorrer das etapas sintéticas. Da série 1, o composto **1a** apresentou a banda referente ao estiramento do grupo nitrila $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ em 2225 cm^{-1} . Já o composto **1c**, além de não apresentar essa banda, apresentou em 3345 cm^{-1} a banda característica de amina $\nu(\text{N-H})$ secundária.

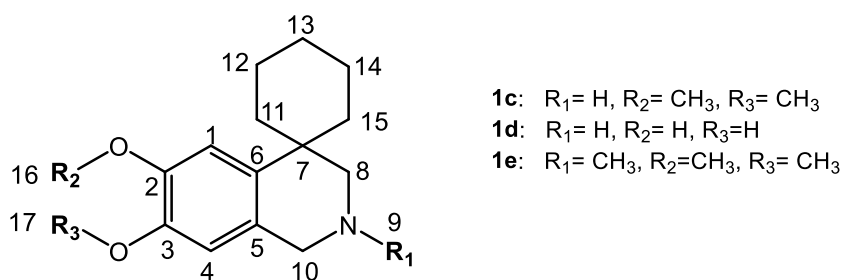
Na série de compostos 2, o composto **2a** apresentou a banda referente ao estiramento do grupo nitrila $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ em 2230 cm^{-1} ; sequencialmente o **2b** não apresentou essa banda, mas apresentou em 3365 cm^{-1} e 3290 cm^{-1} bandas características de amina $\nu(\text{N-H})$, confirmando a redução do composto. Em contrapartida para o composto **2c** era esperado a presença da banda característica de amina secundária, na região de 3185 a 3365 cm^{-1} porém sinais de impureza (amina terciária, *N*.metilada **2e**), pode ter contribuído para que essa banda não fosse observada. No composto **2d** a banda na região de 3330 cm^{-1} característica de amina torna a aparecer, contudo não é possível ver o estiramento referente aos grupamentos fenóis (O-H).

Para composto **3a** foram observadas as bandas principais características do composto, como a presença de grupos nitrila e éster nas regiões de 2265 , 2210 cm^{-1} e 1740 cm^{-1} , respectivamente. Quando comparado o composto **3a** com o **3b** foi observado principalmente o decaimento drástico da banda referente ao estiramento do éster $\nu(\text{C=O})$ em 1710 cm^{-1} o que era esperado, pois houve a formação de uma dinitrila (**3b**). No composto **3c** foi observada a presença das bandas 1775 e 1690 cm^{-1} referente ao estiramento $\nu(\text{C=O})$ do anel pirimidínico e também é observado o desaparecimento da banda $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ e o surgimento da banda em 3185 cm^{-1} referente ao estiramento $\nu(\text{N-H})$.

4.11. Caracterização dos compostos por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

Os compostos enviados para testes farmacológicos da série **1c-e** foram também caracterizadas por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) e de carbono (RMN de ^{13}C). A estrutura para os compostos com os átomos numerados é mostrada na Figura 34 e os deslocamentos químicos para os experimentos de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C são mostrados nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

Figura 34. Estrutura geral para os compostos **1c-e** com os átomos numerados



Fonte. Autoria própria.

Tabela 5. Principais deslocamentos químicos de ^1H (ppm) para os compostos da série 1.

Composto	H1	H4	H8	H9	H10	H11,H15	H12,H14	H13	H16	H17
1c	6,87	6,49	3,24	-	4,09	1,4-1,8	1,4-1,8	1,2-1,4	3,84	3,89
1d	6,88	6,51	3,33	-	4,07	1,5-1,6	1,3-1,5	1,2-1,6	-	-
1e	6,85	6,48	2,74	2,54	3,61	1,4-1,8	1,4-1,8	1,2-1,4	3,83	3,88

Tabela 6. Principais deslocamentos químicos de ^{13}C (ppm) para os compostos da série 1.

	<i>Compostos</i>		
	1c	1d	1e
C1	109,1	114,0	109,1
C2	147,6	144,5	147,2
C3	148,4	143,1	148,0
C4	108,6	113,7	108,8
C5	122,8	119,4	122,8
C6	134,8	134,3	135,2
C7	35,5	35,5	37,8
C8	48,2	47,8	58,0
C9	-	-	46,2
C10	46,0	45,1	59,9
C11 e C15	36,7	36,1	37,3
C12 e C14	21,8	21,4	22,0
C13	25,6	25	25,8
C16	55,8	-	55,8
C17	56,1	-	56,0

As Figuras 35 e 36 apresentam como exemplo os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C respectivamente, para o composto **1e**.

Figura 35. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **1e**.

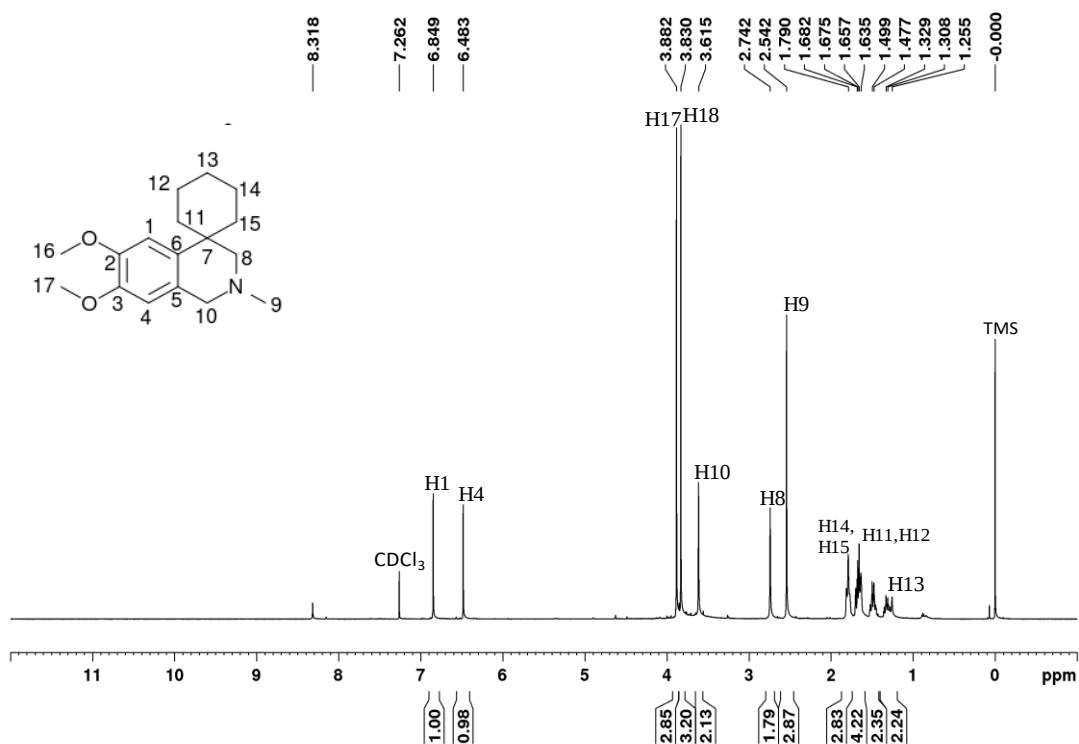
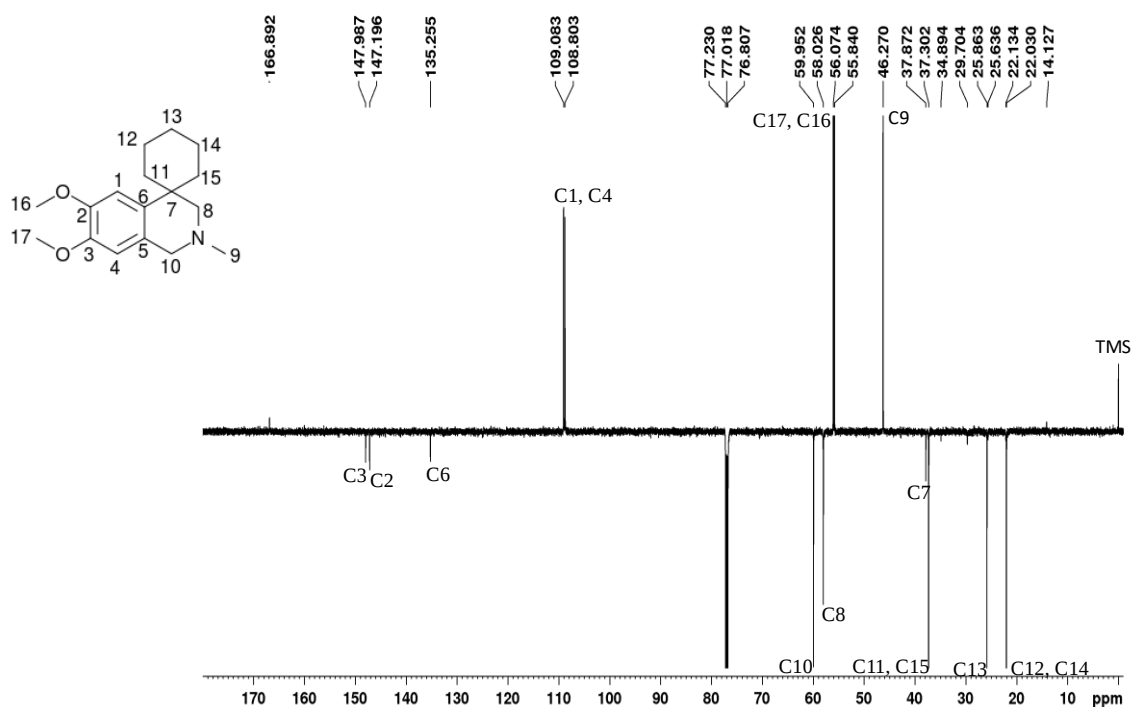


Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **1e**



Na região alifática dos espectros de RMN de ^1H do composto **1e**, o deslocamento químico dos sinais dos prótons alifáticos no espiro ciclo de 5 membros são observados na região de 1,4-1,8 ppm. Na região aromática dos espectros de RMN de ^1H do composto **1e**, o deslocamento químico dos sinais dos prótons referentes ao anel benzênico (H1 e H4), são observados na região de 6,8 a 6,4 ppm. Outro sinal característico para compostos N.metilados foi observado em 2,54 ppm.

Nos espectros de RMN de ^{13}C os sinais esperados foram observados para todos os compostos alisados das séries **1c-d** e **2c-d**. Todos os espectros de RMN de ^1H , demonstraram sinais de deslocamento químico correspondentes aos prótons aromáticos (H e H4) na faixa de 6,7 a 7,03. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C

confirmam a formação dos produtos planejados **1d** e **2d**. Os compostos da série 3 foram encaminhados para testes farmacológicos onde serão realizadas as espectroscopias de RMN.

5. CONCLUSÕES

A série de compostos **1a-d** e **2a-d** derivados análogos ao agonista total do DAR1 Di-hidrexidina (DHX) foram sintetizados. Todos os produtos e subprodutos (compostos **1** e **2 e-f**) foram caracterizados.

Os compostos **1c** e **2c** foram isolados e purificados após a realização das reações de Pictet -Spengler. O monitoramento da conversão no tempo mostrou que os produtos e subprodutos foram formados logo na primeira hora de reação, e que no decorrer do tempo e na presença de um meio fortemente ácido, a formação de subprodutos era favorecida. Portanto, o estudo dessas reações possibilitou a otimização no tempo e consequentemente uma diminuição na formação dos subprodutos *N*.metilados (**1e** e **2e**).

Os compostos finais **1d** e **2d**, juntamente com seus subprodutos *N*.metilados **1f** e **2f** foram obtidos com um bom grau de pureza entre 85 e 98% (LC-UV-MS).

A rota de síntese para os compostos das séries **1a-f** e **2a-f**, não se encontram descritas na literatura e as estruturas dos compostos **1c-f** e **2c-f** não foram encontradas na literatura, portanto a síntese e os dados estruturais são uma contribuição importante do presente trabalho e está sendo analisada para patenteamento junto com as atividades farmacológicas.

Os compostos **3d** e **3f** análogos ao SKF-38393 foram obtidos com um grau de pureza acima de 65% por GC-MS e LC-UV-MS e precisam ser mais bem isolados e purificados. A série de compostos **3d-g** foram encaminhados para estudos farmacológicos.

6. REFERÊNCIAS

- 1- SILVERMAN, R. B.; DOHERTI, J. D. **The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action**. Angewandte Chemie-English Edition, v. 33, n. 7, p. 792, 1994.
- 2- CHORGHAE, Mukund S. (Ed.). **Drug Discovery and Development**, Volume 2: Drug Development. John Wiley & Sons, 2007.
- 3- HUANG, Ziwei. **Drug discovery research: new frontiers in the post-genomic era**. John Wiley & Sons, 2007.
- 4- RYDZEWSKI, Robert M. Real world drug discovery: **A chemist's guide to biotech and pharmaceutical research**. Elsevier, 2010.
- 5- RANKOVIC, Zoran; MORPHY, Richard. **Lead generation approaches in drug discovery**. John Wiley & Sons, 2010.
- 6- CARLSSON, Arvid. The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. **Pharmacological reviews**, v. 11, n. 2, Part 2, p. 490, 1959.
- 7- AXELROD, Julius; WEINSHILBOUM, Richard. Catecholamines. **New England Journal of Medicine**, v. 287, n. 5, p. 237-242, 1972.
- 8- DAUBNER, S. Colette; LE, Tiffany; WANG, Shanzhi. Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 508, n. 1, p. 1-12, 2011.
- 9- MASSON, J. et al. Neurotransmitter transporters in the central nervous system. **Pharmacological reviews**, v. 51, n. 3, p. 439-464, 1999.
- 10- HENRY, J. P. et al. Molecular pharmacology of the vesicular monoamine transporter. In: **Advances in Pharmacology**. Academic Press, 1997. p. 236-239.
- 11- HRDINA, Pavel D. Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 21, n. 5, p. 352, 1996.
- 12- RICE, Margaret E. Distinct regional differences in dopamine-mediated volume transmission. In: **Progress in brain research**. Elsevier, 2000. p. 277-290.

- 13- GIROS, Bruno; CARON, Marc G. Molecular characterization of the dopamine transporter. **Trends in pharmacological sciences**, v. 14, n. 2, p. 43-49, 1993.
- 14- SCHMITZ, Yvonne et al. Presynaptic regulation of dopaminergic neurotransmission. **Journal of neurochemistry**, v. 87, n. 2, p. 273-289, 2003.
- 15- GOLAN, David E.; TASHJIAN, Armen H.; ARMSTRONG, Ehrin J. (Ed.). **Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy**. Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
- 16- NIEOULLON, André. Dopamine and the regulation of cognition and attention. **Progress in neurobiology**, v. 67, n. 1, p. 53-83, 2002.
- 17- BEAULIEU, Jean-Martin; GAINETDINOV, Raul R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. **Pharmacological reviews**, v. 63, n. 1, p. 182-217, 2011.
- 18- ELSWORTH, John D.; ROTH, Robert H. Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. **Experimental neurology**, v. 144, n. 1, p. 4-9, 1997.
- 19- Lynch, P.J.< https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Mesolimbic_pathway.svg>, acessado em março 2020.
- 20- GARAU, L. et al. Dopamine receptors: pharmacological and anatomical evidences indicate that two distinct dopamine receptor populations are present in rat striatum. **Life sciences**, v. 23, n. 17-18, p. 1745-1750, 1978.
- 21- KEBABIAN, John W.; CALNE, Donald B. Multiple receptors for dopamine. **Nature**, v. 277, n. 5692, p. 93-96, 1979.
- 22- SEEMAN, Philip. Brain dopamine receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 32, n.3, p. 229-313, 1980.
- 23- MINK, Jonathan W.; THACH, W. Thomas. Basal ganglia intrinsic circuits and their role in behavior. **Current opinion in neurobiology**, v. 3, n. 6, p. 950-957, 1993.
- 24- PARENT, André; CICCHETTI, Francesca. The current model of basal ganglia organization under scrutiny. **Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society**, v. 13, n. 2, p. 199-202, 1998.
- 25- ALBIN, Roger L.; YOUNG, Anne B.; PENNEY, John B. The functional anatomy of basal ganglia disorders. 1989.

- 26-ANDERSEN, Peter H. et al. Dopamine receptor subtypes: beyond the D1/D2 classification. **Trends in pharmacological sciences**, v. 11, n. 6, p. 231-236, 1990.
- 27-BRUNTON, Laurence L.; HILAL-DANDAN, Randa; KNOLLMANN, Björn C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman-13**. Artmed Editora, 2018.
- 28-SALMI, Peter; ISACSON, Ruben; KULL, Björn. Dihydropyridine—the first full dopamine D1 receptor agonist. **CNS drug reviews**, v. 10, n. 3, p. 230-242, 2004.
- 29-DEVENEY, Aaron M.; WADDINGTON, John L. Psychopharmacological distinction between novel full-efficacy “D1-like” dopamine receptor agonists. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 58, n. 2, p. 551-558, 1997.
- 30-LOVENBERG, Timothy W. et al. Dihydropyridine, a novel selective high potency full dopamine D-1 receptor agonist. **European journal of pharmacology**, v. 166, n. 1, p. 111-113, 1989.
- 31-MAILMAN, Richard; HUANG, Xuemei; NICHOLS, David E. Parkinson's disease and D1 dopamine receptors. **Current Opinion in Investigational Drugs**, v. 2, n. 11, p. 1582-1591, 2001.
- 32-DENINNO, Michael P. et al. A68930: a potent agonist selective for the dopamine D1 receptor. **European journal of pharmacology**, v. 199, n. 2, p. 209-219, 1991.
- 33-RINNE, J. O. et al. Dopamine D-1 receptors in the parkinsonian brain. **Brain research**, v. 359, n. 1-2, p. 306-310, 1985.
- 34-KALIA, Lorraine V.; LANG, Anthony E. Parkinson disease in 2015: evolving basic, pathological and clinical concepts in PD. **Nature reviews Neurology**, v. 12, n. 2, p. 65, 2016.
- 35-DE LAU, Lonneke ML; BRETELIER, Monique MB. Epidemiology of Parkinson's disease. **The Lancet Neurology**, v. 5, n. 6, p. 525-535, 2006
- 36-HIRSCH, Etienne C.; HUNOT, Stéphane. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection?. **The Lancet Neurology**, v. 8, n. 4, p. 382-397, 2009.
- 37-BORTOLATO, Marco; CHEN, Kevin; SHIH, Jean C. Monoamine oxidase inactivation: from pathophysiology to therapeutics. **Advanced drug delivery reviews**, v. 60, n. 13-14, p. 1527-1533, 2008.

- 38- LLOYD, K. G.; DAVIDSON, L.; HORNYKIEWICZ, O. The neurochemistry of Parkinson's disease: effect of L-dopa therapy. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 195, n. 3, p. 453-464, 1975.
- 39- COTZIAS, George C.; PAPAVALILIOU, Paul S.; GELLEN, Rosemary. Modification of Parkinsonism—chronic treatment with L-dopa. **New England Journal of Medicine**, v. 280, n. 7, p. 337-345, 1969.
- 40- JENKINS, RamonB; GROH, RobertH. Mental symptoms in Parkinsonian patients treated with L-dopa. **The Lancet**, v. 296, n. 7665, p. 177-180, 1970.
- 41- MILLAN, Mark J. et al. Functional correlates of dopamine D3 receptor activation in the rat in vivo and their modulation by the selective antagonist, (+)-S 14297: 1. Activation of postsynaptic D3 receptors mediates hypothermia, whereas blockade of D2 receptors elicits prolactin secretion and catalepsy. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 275, n. 2, p. 885-898, 1995.
- 42- LEMKE, Matthias R. et al. Effects of the dopamine agonist pramipexole on depression, anhedonia and motor functioning in Parkinson's disease. **Journal of the neurological sciences**, v. 248, n. 1-2, p. 266-270, 2006.
- 43- LEMKE, Matthias R. et al. Anhedonia, depression, and motor functioning in Parkinson's disease during treatment with pramipexole. **The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences**, v. 17, n. 2, p. 214-220, 2005.
- 44- KAYE, Clive M.; NICHOLLS, Briony. Clinical pharmacokinetics of ropinirole. **Clinical pharmacokinetics**, v. 39, n. 4, p. 243-254, 2000.
- 45- LIEBERMAN, Abraham et al. A multicenter trial of ropinirole as adjunct treatment for Parkinson's disease. **Neurology**, v. 51, n. 4, p. 1057-1062, 1998.
- 46- SHILL, Holly A.; STACY, Mark. Update on ropinirole in the treatment of Parkinson's disease. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 5, p. 33, 2009.
- 47- GROVER, Sandeep; GHOSH, Abhishek. A Case of Ropinirole-Induced Psychosis. **Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry**, v. 12, n. 6, 2010.
- 48- WEBSTER, Jonathan et al. A comparison of cabergoline and bromocriptine in the treatment of hyperprolactinemic amenorrhea. **New England Journal of Medicine**, v. 331, n. 14, p. 904-909, 1994.
- 49- BILLER, B. M. et al. Treatment of prolactin-secreting macroadenomas with the once-weekly dopamine agonist cabergoline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 81, n. 6, p. 2338-2343, 1996.

- 50- ANDÉN, Nils-Erik et al. Evidence for dopamine receptor stimulation by apomorphine. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 19, n. 9, p. 627-629, 1967.
- 51- STIBE, C. M. H. et al. Subcutaneous apomorphine in parkinsonian on-off oscillations. **The Lancet**, v. 331, n. 8582, p. 403-406, 1988.
- 52- SETLER, Paulette E. et al. The central effects of a novel dopamine agonist. **European journal of pharmacology**, v. 50, n. 4, p. 419-430, 1978.
- 53- YOSHIMURA, N. et al. The dopamine D1 receptor agonist SKF 38393 suppresses detrusor hyperreflexia in the monkey with parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP). **Neuropharmacology**, v. 32, n. 4, p. 315-321, 1993.
- 54- YOSHIMURA, Naoki et al. Dopamine D-1 receptor-mediated inhibition of micturition reflex by central dopamine from the substantia nigra. **Neuourology and Urodynamics**, v. 11, n. 5, p. 535-545, 1992.
- 55- PIFL, Christian et al. Sensitization of dopamine-stimulated adenylyl cyclase in the striatum of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-treated rhesus monkeys and patients with idiopathic Parkinson's disease. **Journal of neurochemistry**, v. 58, n. 6, p. 1997-2004, 1992.
- 56- MOTTOLA, DAVID M. et al. Dihydropyridine, a novel full efficacy D1 dopamine receptor agonist. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 262, n. 1, p. 383-393, 1992.
- 57- MOTTOLA, David M. et al. Functional selectivity of dopamine receptor agonists. I. Selective activation of postsynaptic dopamine D2 receptors linked to adenylate cyclase. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 301, n. 3, p. 1166-1178, 2002.
- 58- KILTS, Jason D. et al. Functional selectivity of dopamine receptor agonists. II. Actions of dihydropyridine in D2L receptor-transfected MN9D cells and pituitary lactotrophs. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 301, n. 3, p. 1179-1189, 2002.
- 59- SCHNEIDER, J. S.; SUN, Z.-Q.; ROELTGEN, D. P. Effects of dihydropyridine, a full dopamine D-1 receptor agonist, on delayed response performance in chronic low dose MPTP-treated monkeys. **Brain research**, v. 663, n. 1, p. 140-144, 1994.

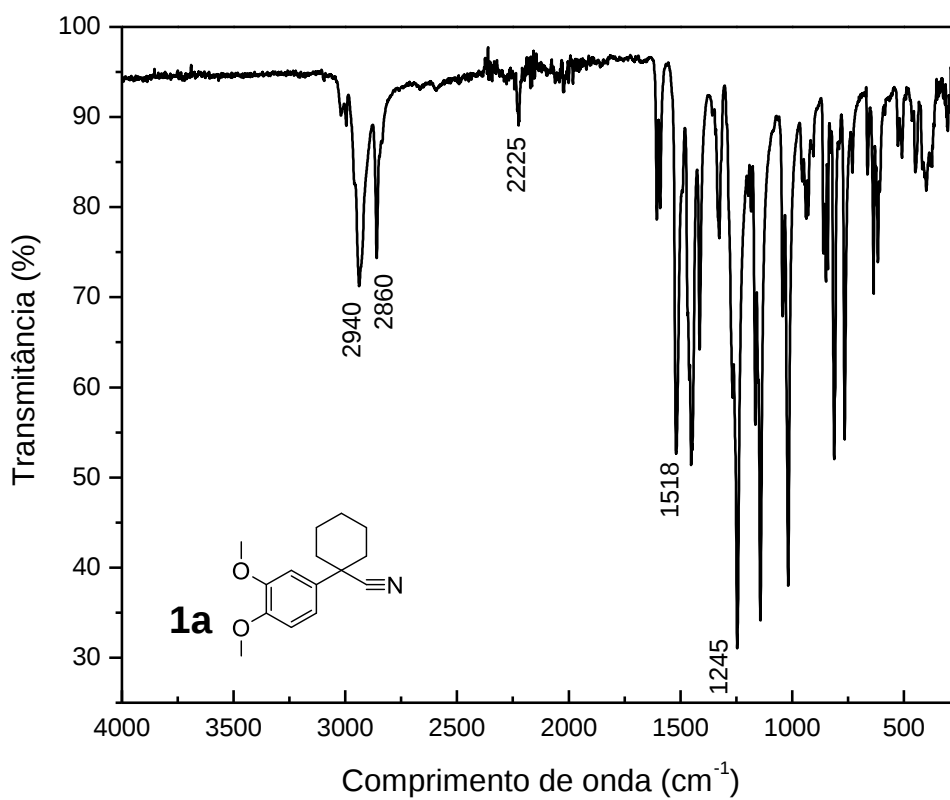
- 60- SMITH, Michael B. **March's advanced organic chemistry: reactions, mechanisms, and structure**. John Wiley & Sons, 2020.
- 61- MCLAFFERTY, Fred W.; TUREČEK, František; TURECEK, Frantisek. **Interpretation of mass spectra**. University science books, 1993.
- 62- SMITH, R. Martin. **Understanding mass spectra: a basic approach**. John Wiley & Sons, 2004.
- 63- LOWRY, Thomas H.; RICHARDSON, Kathleen Schueller. **Mechanism and theory in organic chemistry**. New York: Harper & Row, 1987.
- 64- OSBY, John O.; HEINZMAN, Stephen W.; GANEM, Bruce. Studies on the mechanism of transition-metal-assisted sodium borohydride and lithium aluminum hydride reductions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 108, n. 1, p. 67-72, 1986.
- 65- WU, Bo et al. Raney Ni/KBH₄: an efficient and mild system for the reduction of nitriles to amines. **Arkivoc**, v. 12, p. 95-102, 2008.
- 66- CROOKS, Peter. A.; SZYNDLER, R.; COX, B. 5,6-and 6,7- Dihyspiro (tetralin-1,3'-pyrrolidine): Conformationally Restricted Analogues of Dopamine. **Pharm.Acta.Helv**, Nr.5, 1980.
- 67- STÖCKIGT, Joachim et al. The Pictet–Spengler reaction in nature and in organic chemistry. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 37, p. 8538-8564, 2011.
- 68- PICTET, Amé; SPENGLER, Theod. Über die Bildung von Isochinolin-derivaten durch Einwirkung von Methylal auf Phenyl-äthylamin, Phenyl-alanin und Tyrosin. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 44, n. 3, p. 2030-2036, 1911.
- 69- KURTI, Laszlo; CZAKÓ, Barbara. **Strategic applications of named reactions in organic synthesis**. Elsevier, 2005.
- 70- CORDEIRO, Manuela Barbosa et al. Aplicação da reação de Pictet-Spengler na síntese de alcaloides fenil tetrahidroisoquinolínicos inéditos. 2012.
- 71- SMITH, Michael B. **March's advanced organic chemistry: reactions, mechanisms, and structure**. John Wiley & Sons, 2020.
- 72- CAREY, Francis A. **Química Orgânica-Vol. 1**. AMGH Editora, 2009.

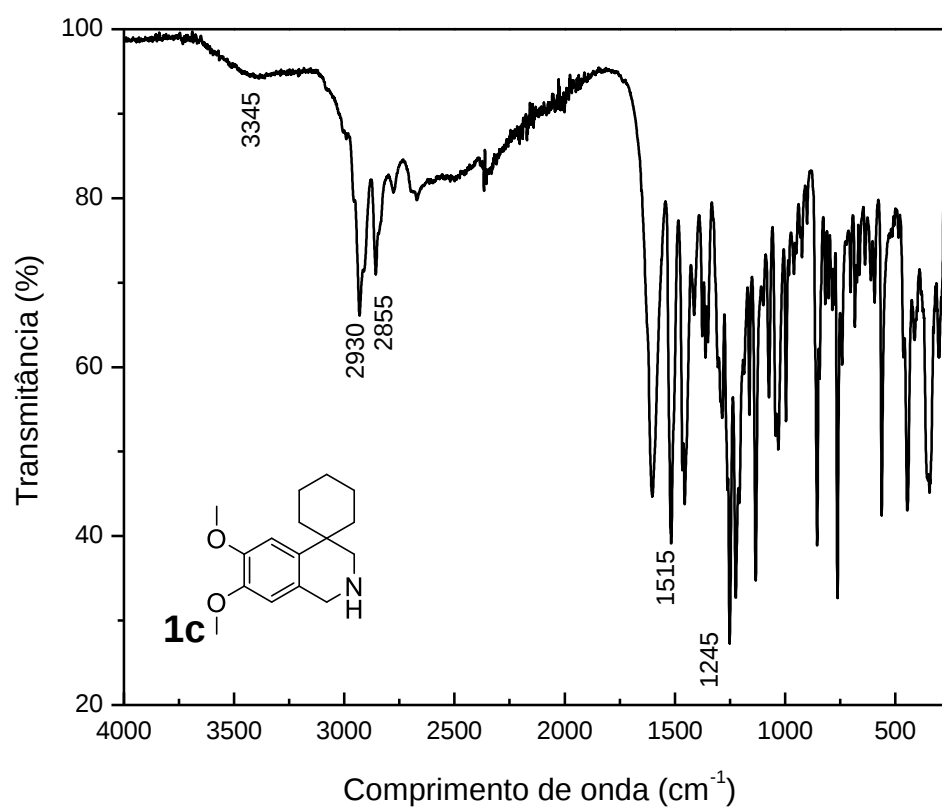
- 73- MICHAEL, Am. On the addition of sodium acetacetic ether and analogous sodium compounds to unsaturated organic ethers. **Am Chem J**, v. 9, p. 115, 1887.
- 74- WANG, Hongxiang et al. Cyanoacetic Acid as a Masked Electrophile: Transition-Metal-Free Cyanomethylation of Amines and Carboxylic Acids. **Chemistry–A European Journal**, v. 21, n. 50, p. 18333-18337, 2015.
- 75- KRAPCHO, A. Paul; WEIMASTER, John F. Stereochemistry of decarbalkoxylation of cyclic geminal diesters effected by water and lithium chloride in dimethyl sulfoxide. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 45, n. 21, p. 4105-4111, 1980.
- 76- JOHNSON, Francis; NASUTAVICUS, W. A. Polyfunctional Aliphatic Compounds. V. The Cyclization of Dinitriles by Halogen Acids. A New Synthesis of Imidazoles. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 153-157, 1964.
- 77- LUNDAHL, K. et al. Synthesis and antiviral activities of adamantane spiro compounds. 1. Adamantane and analogous spiro-3'-pyrrolidines. **Journal of medicinal chemistry**, v. 15, n. 2, p. 129-132, 1972.
- 78- MACHARA, A.; HUDLICKÝ, T. ADVANCES IN N-AND O-DEMETHYLATION OF OPIATES. **TARGETS IN HETEROCYCLIC SYSTEMS**, v. 20, p. 113-138, 2016.

ANEXOS

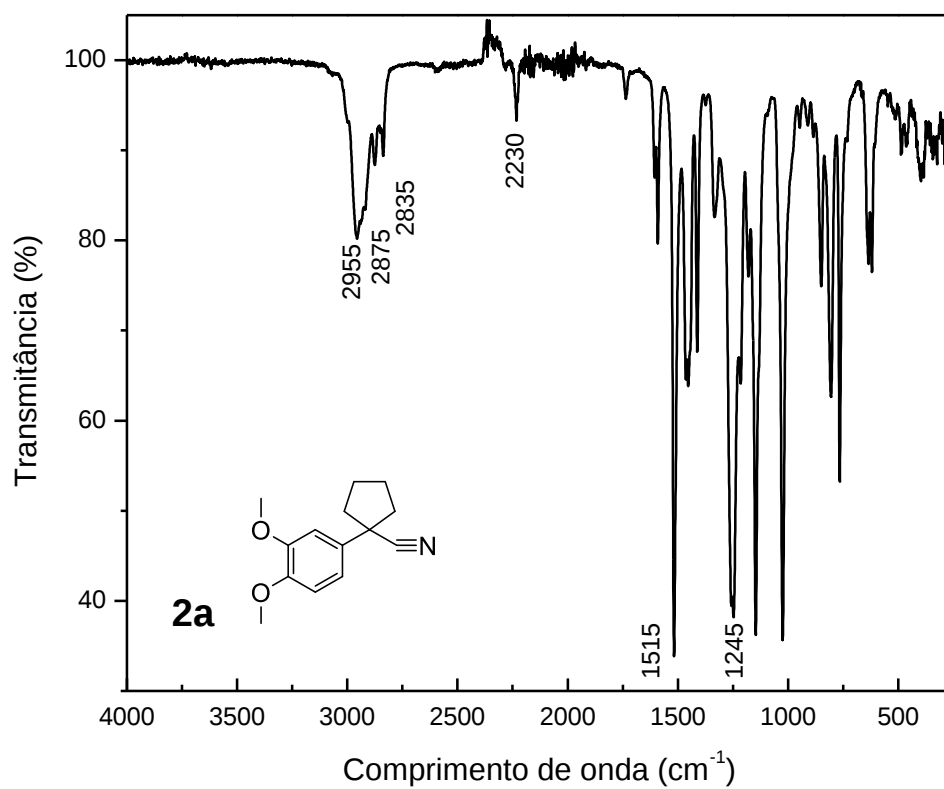
FT-IV

Composto 1a

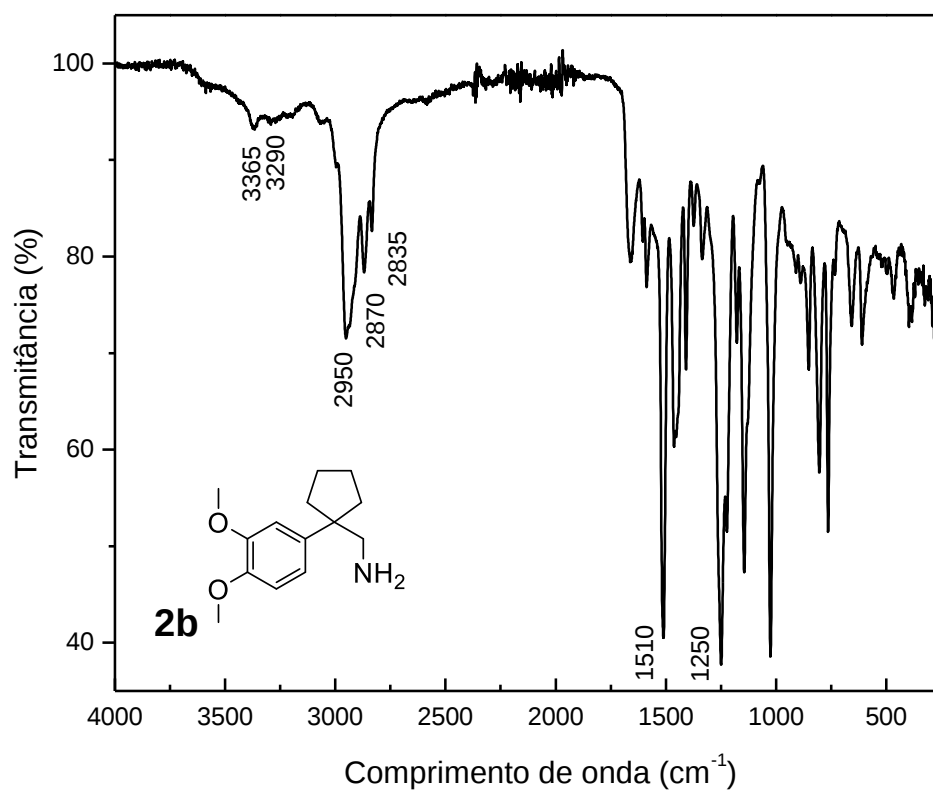


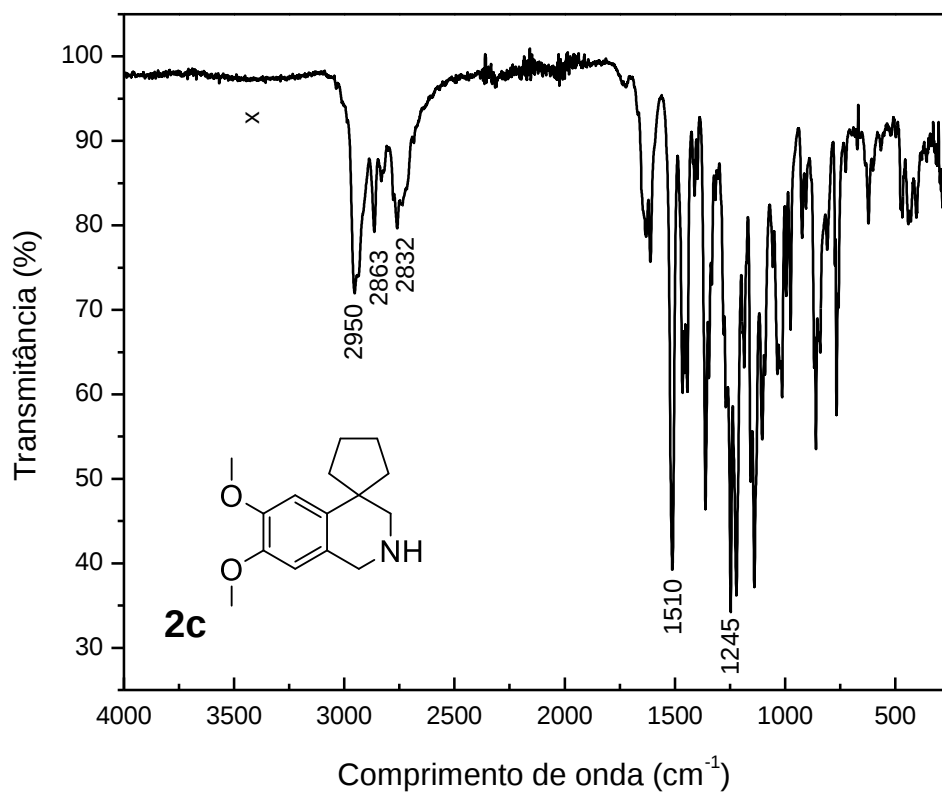
Composto 1c

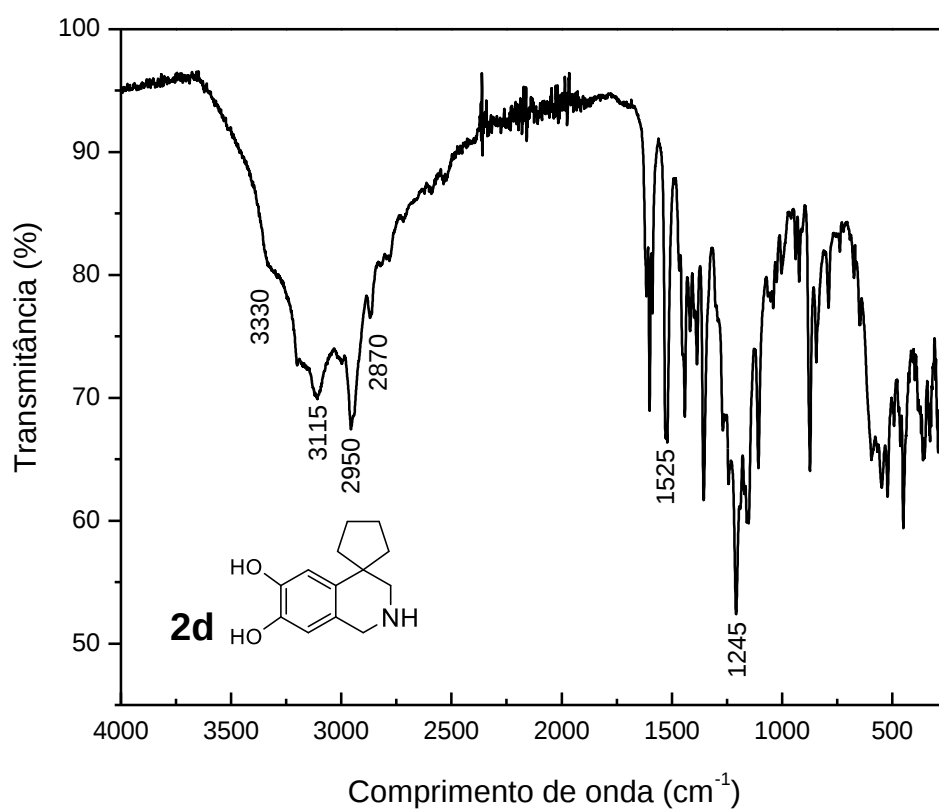
Composto 2a

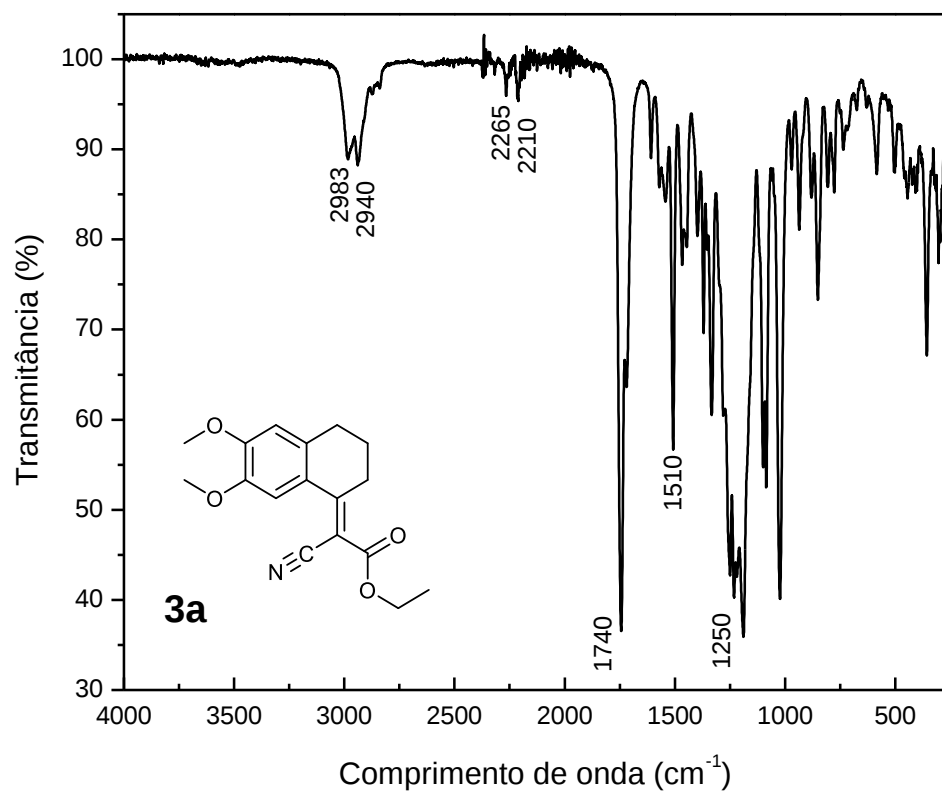


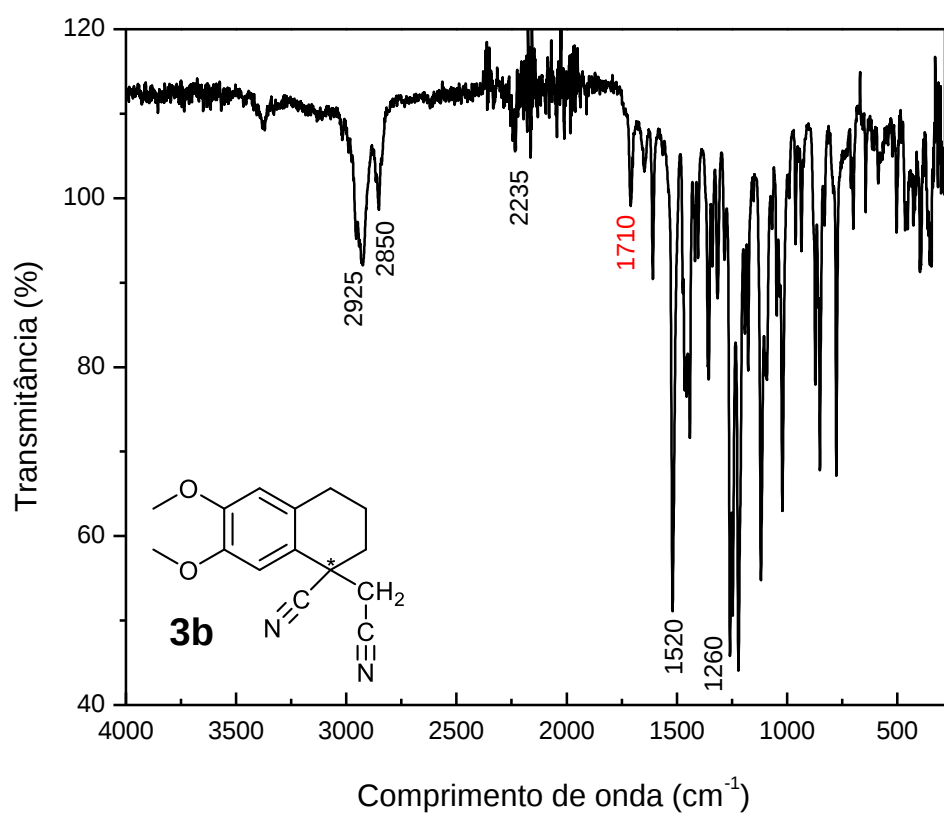
Composto 2b

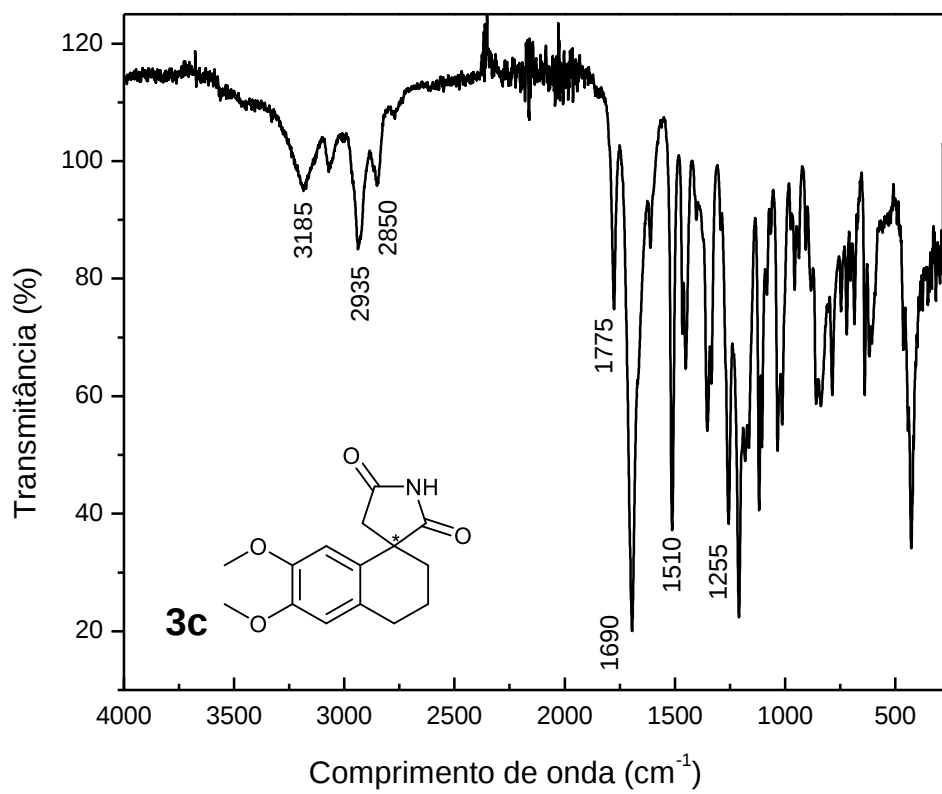


Composto 2c

Composto 2d

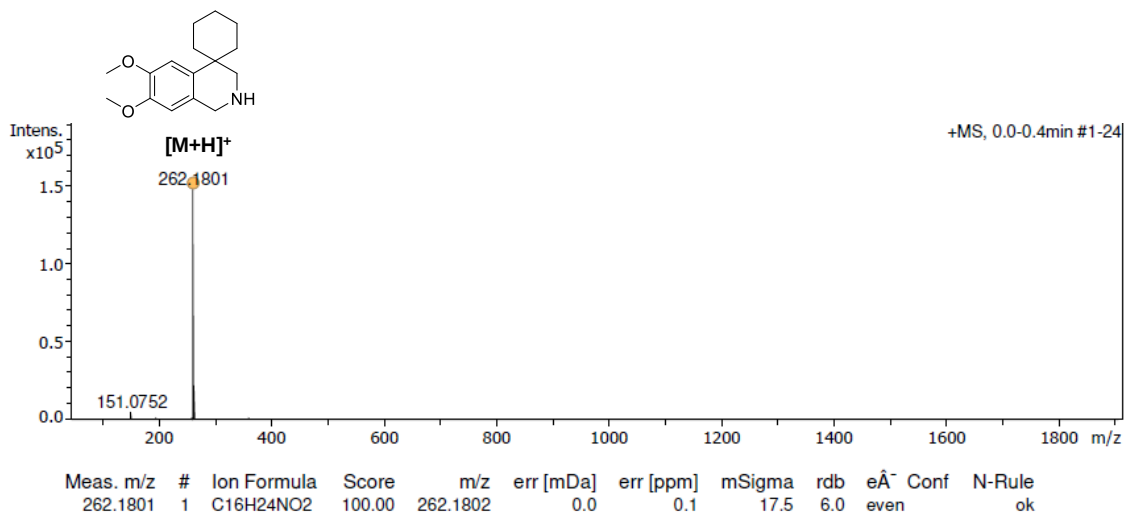
Composto 3a

Composto 3b

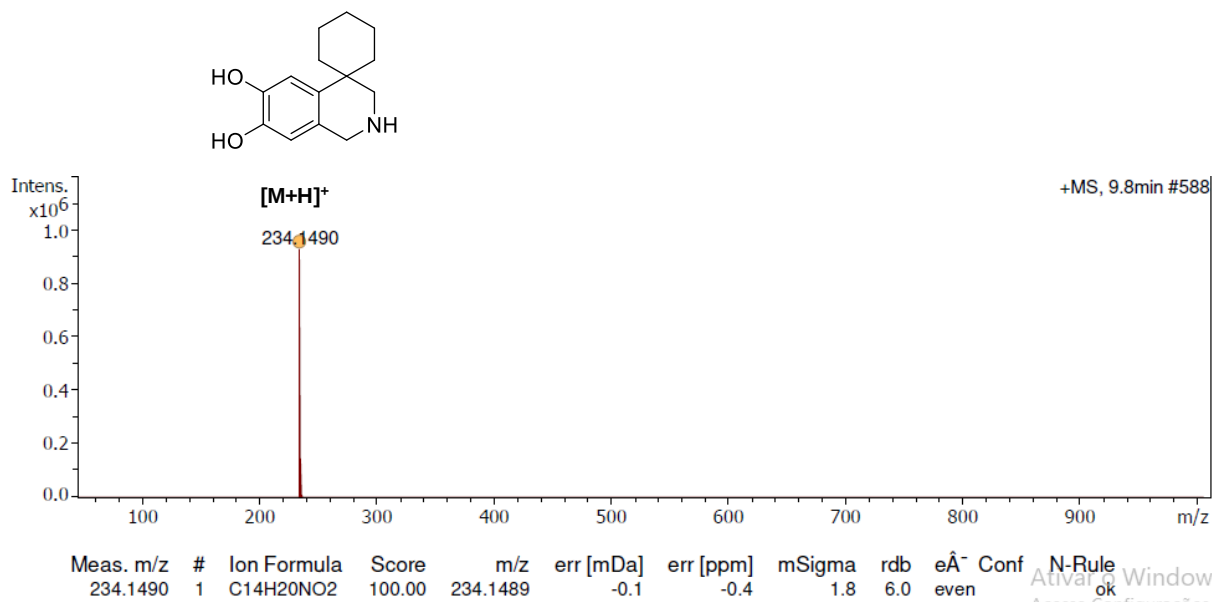
Composto 3c

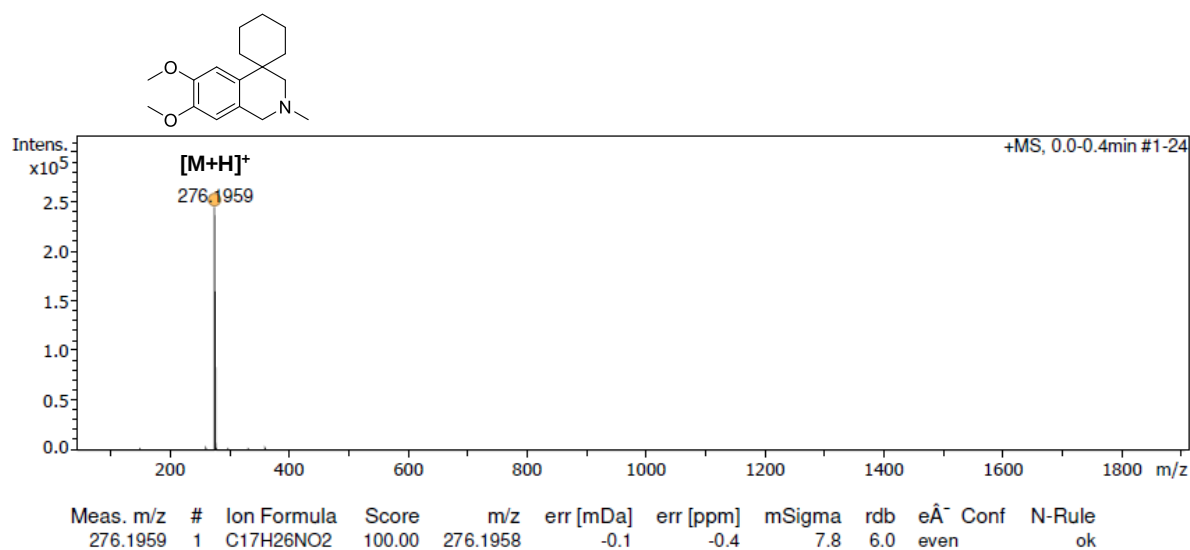
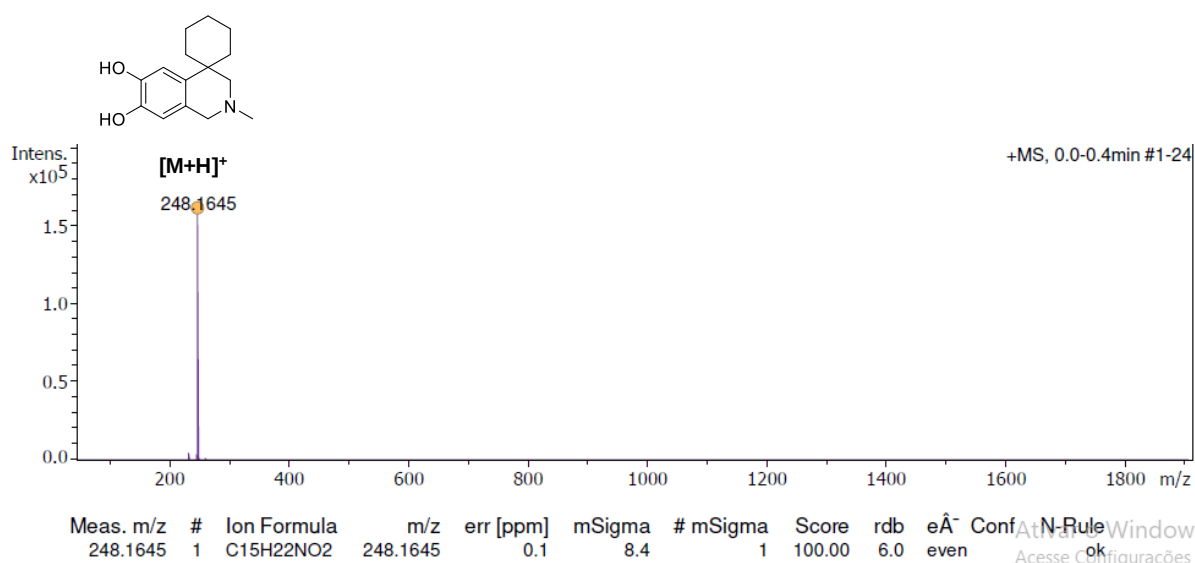
ESI(+)-MS

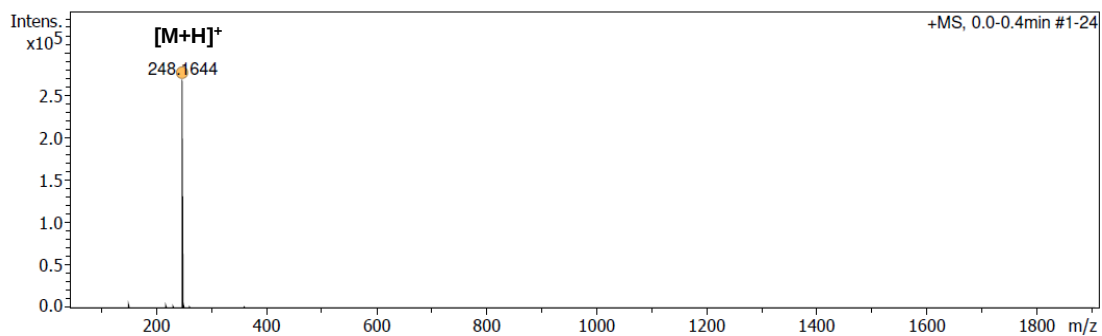
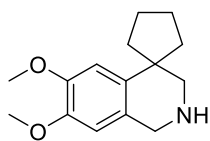
ESI (+) -MS do composto **1c**



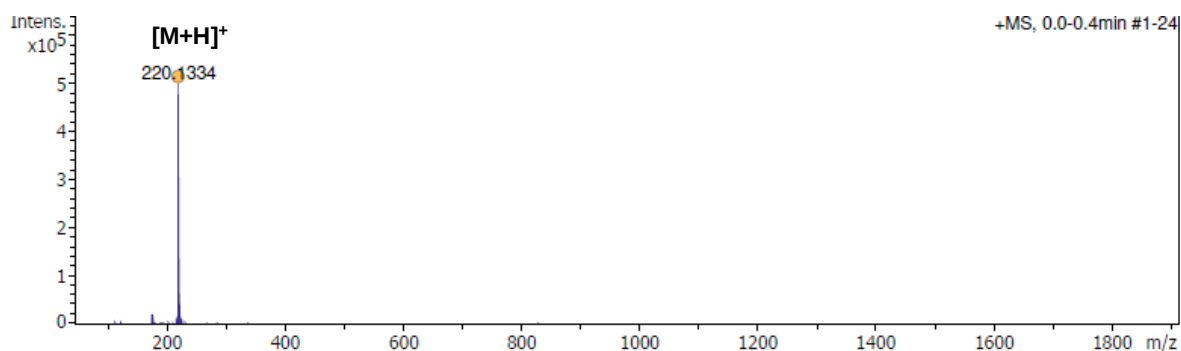
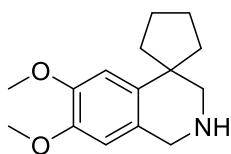
ESI (+) -MS do composto **1d**



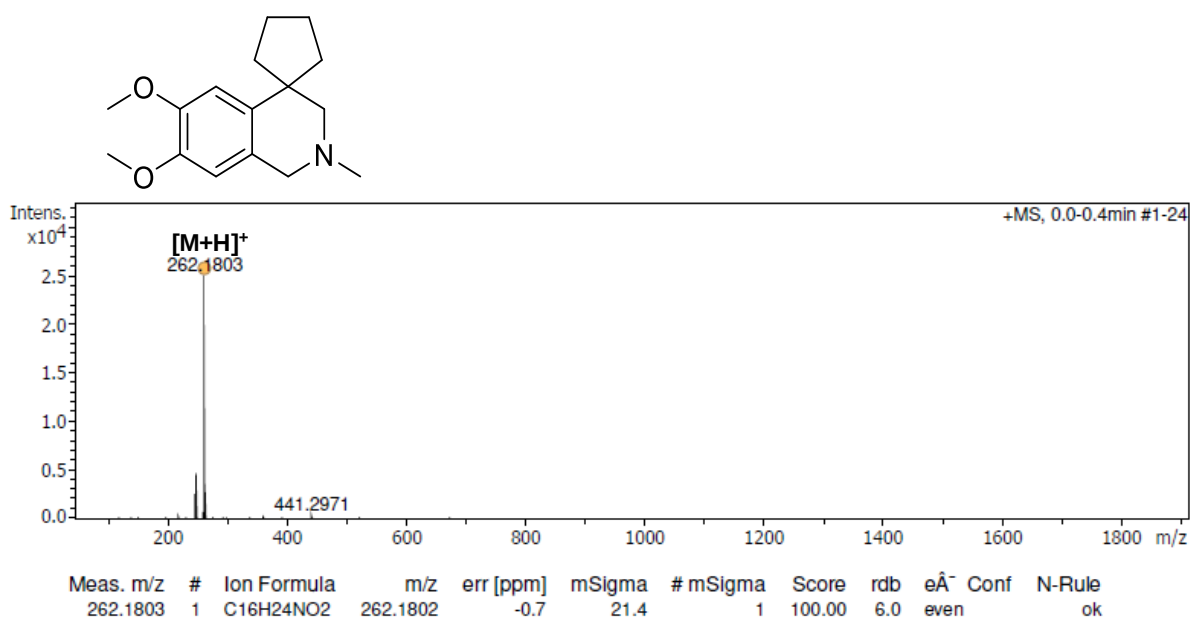
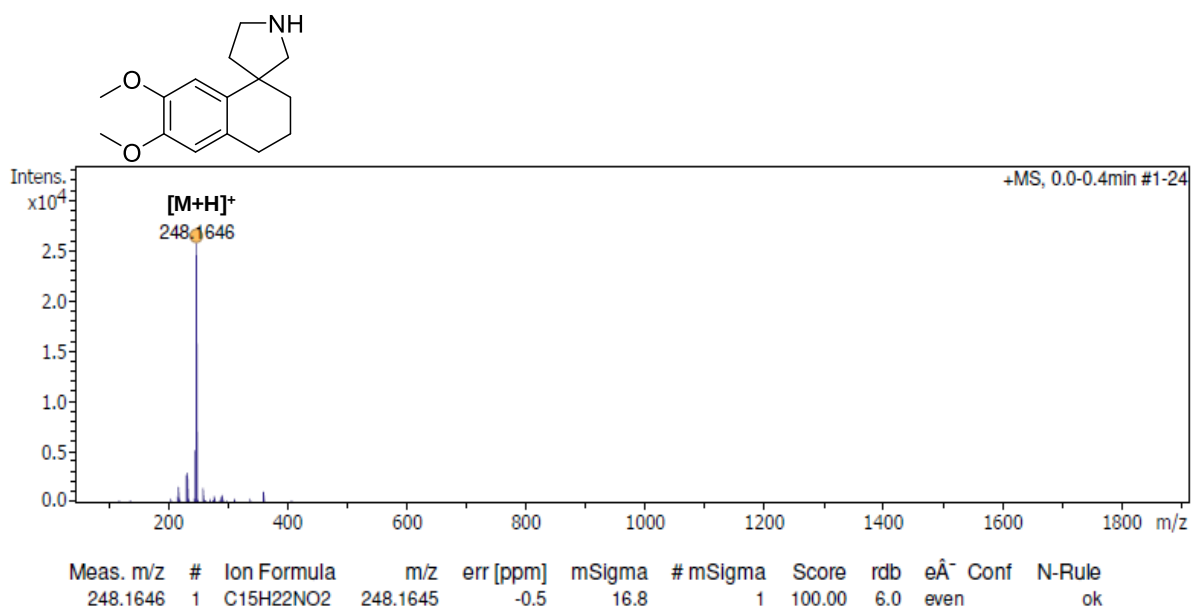
ESI (+) -MS do composto **1e**ESI (+) -MS do composto **1f**

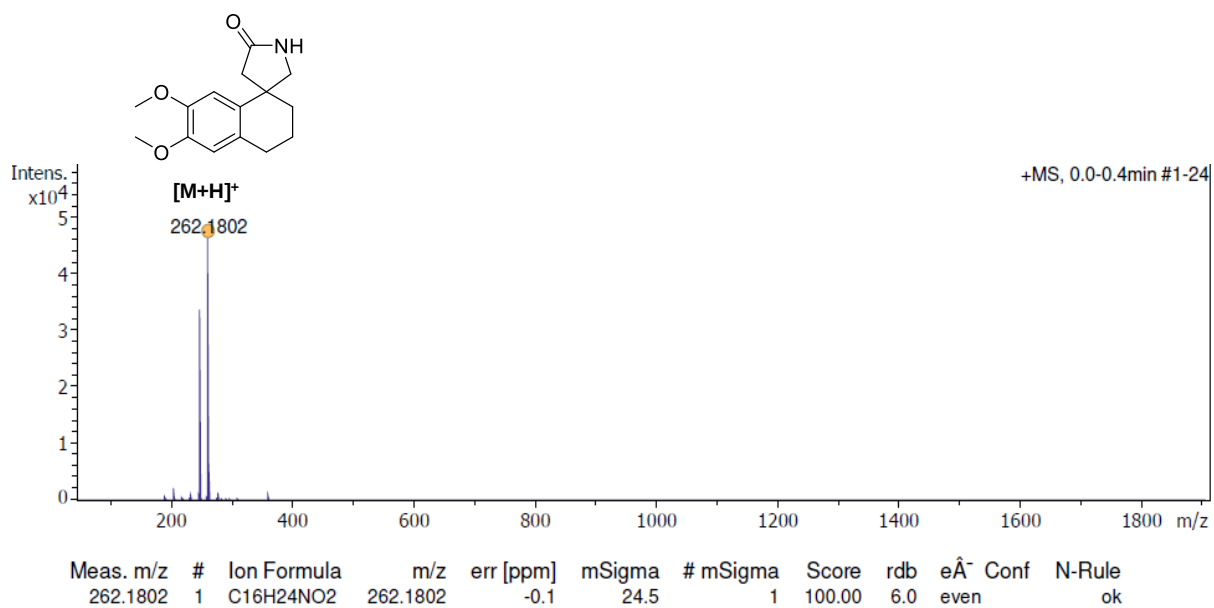
ESI (+) -MS do composto **2c**

Meas. m/z	#	Ion Formula	Score	m/z	err [mDa]	err [ppm]	mSigma	rdb	e $\text{\AA}^-$	Conf	N-Rule
248.1644	1	C ₁₅ H ₂₂ NO ₂	100.00	248.1645	0.1	0.5	6.4	6.0	even		ok

ESI (+) -MS do composto **2d**

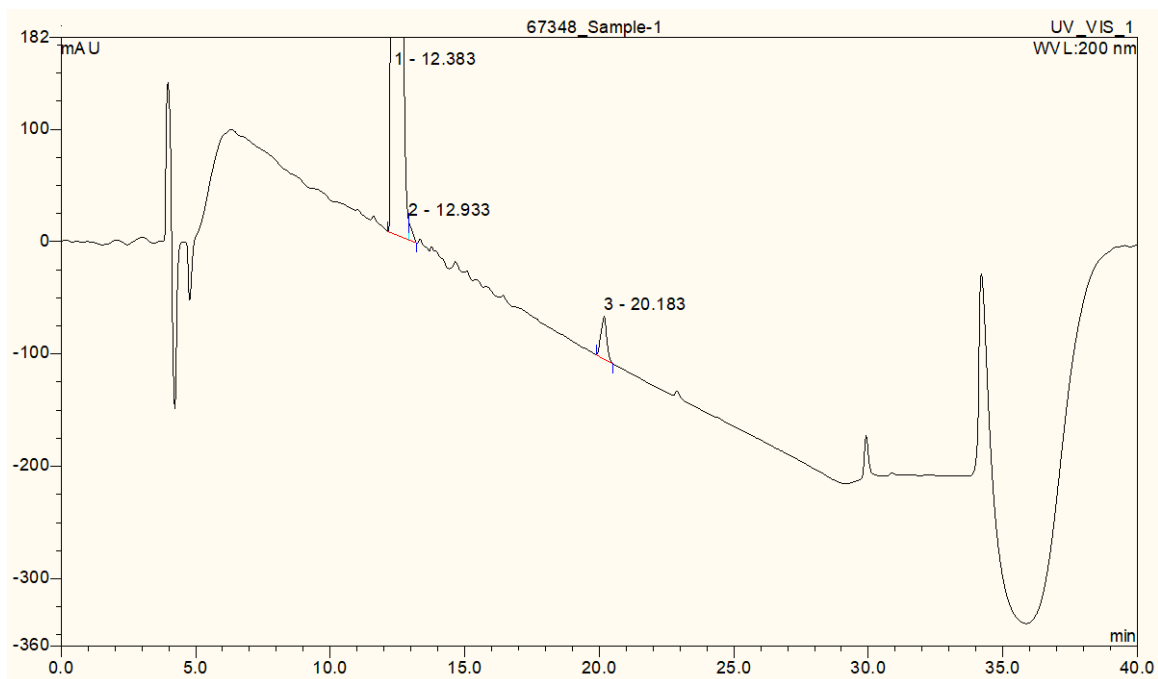
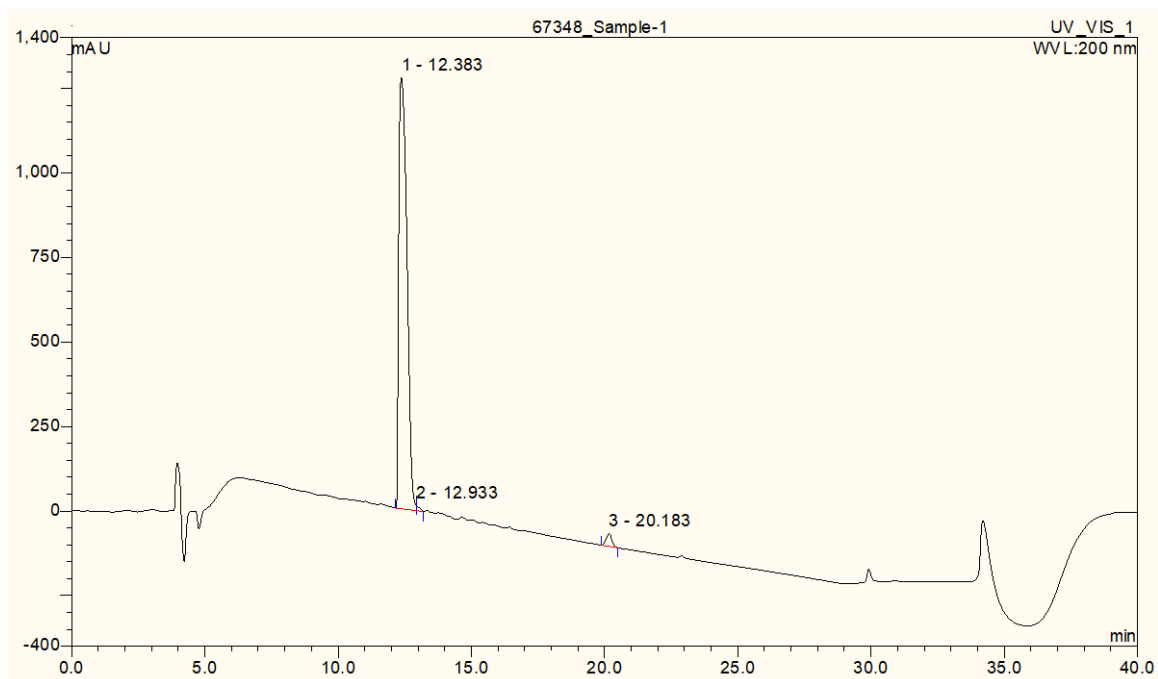
Meas. m/z	#	Ion Formula	Score	m/z	err [mDa]	err [ppm]	mSigma	rdb	e $\text{\AA}^-$	Conf	N-Rule
220.1334	1	C ₁₃ H ₁₈ NO ₂	100.00	220.1332	-0.2	-0.8	5.3	6.0	even		ok

ESI (+) -MS do composto **2e**ESI (+) -MS do composto **3d**

ESI (+) -MS do composto **3f**

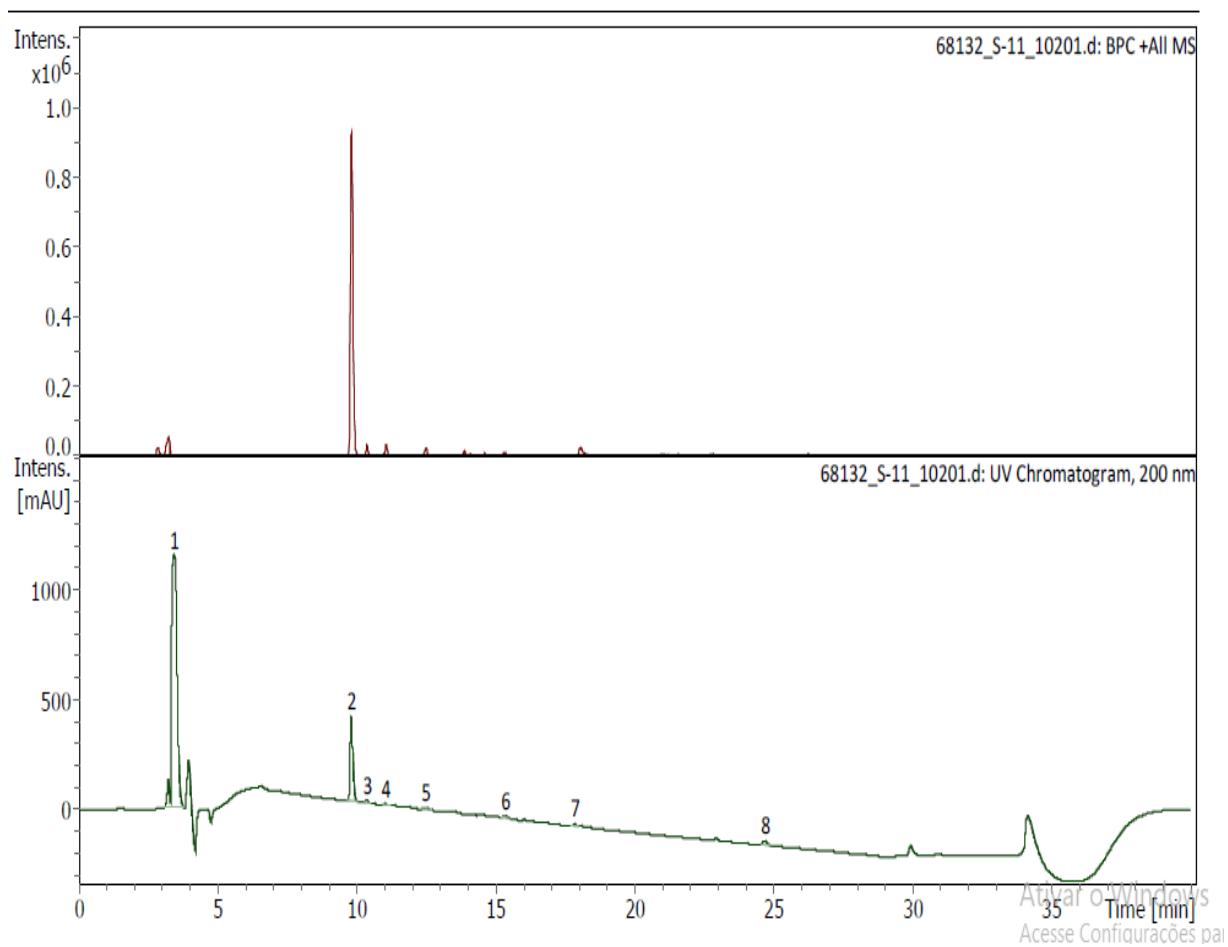
LC-UV

LC-UV para o composto **1c**



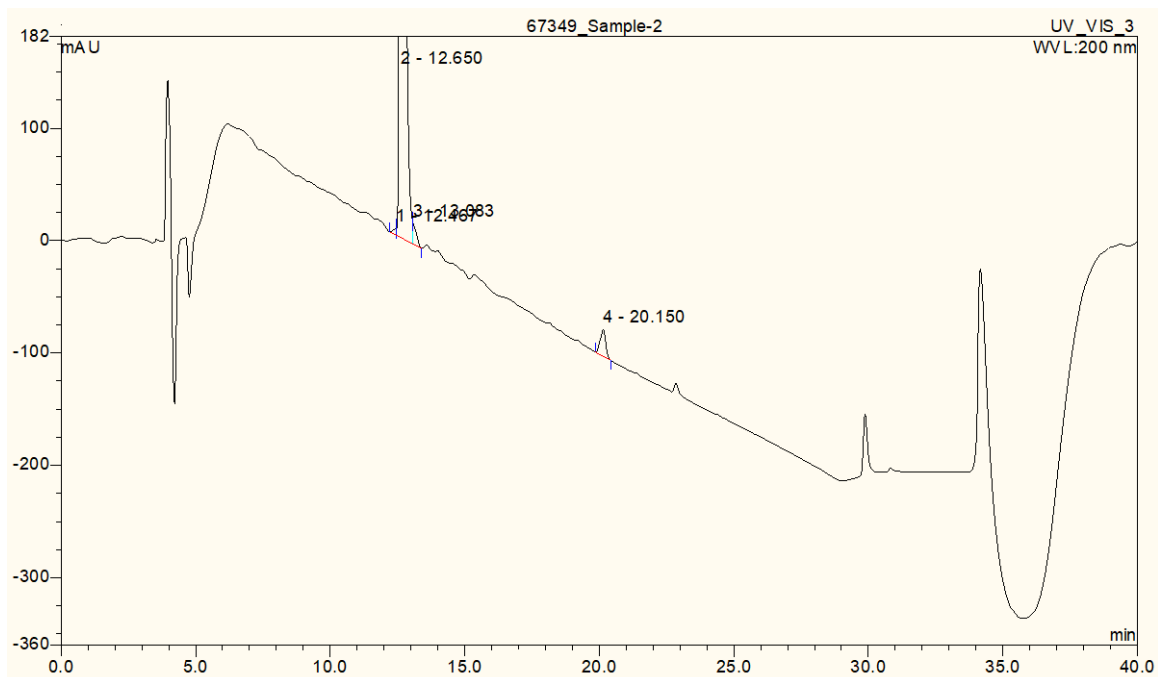
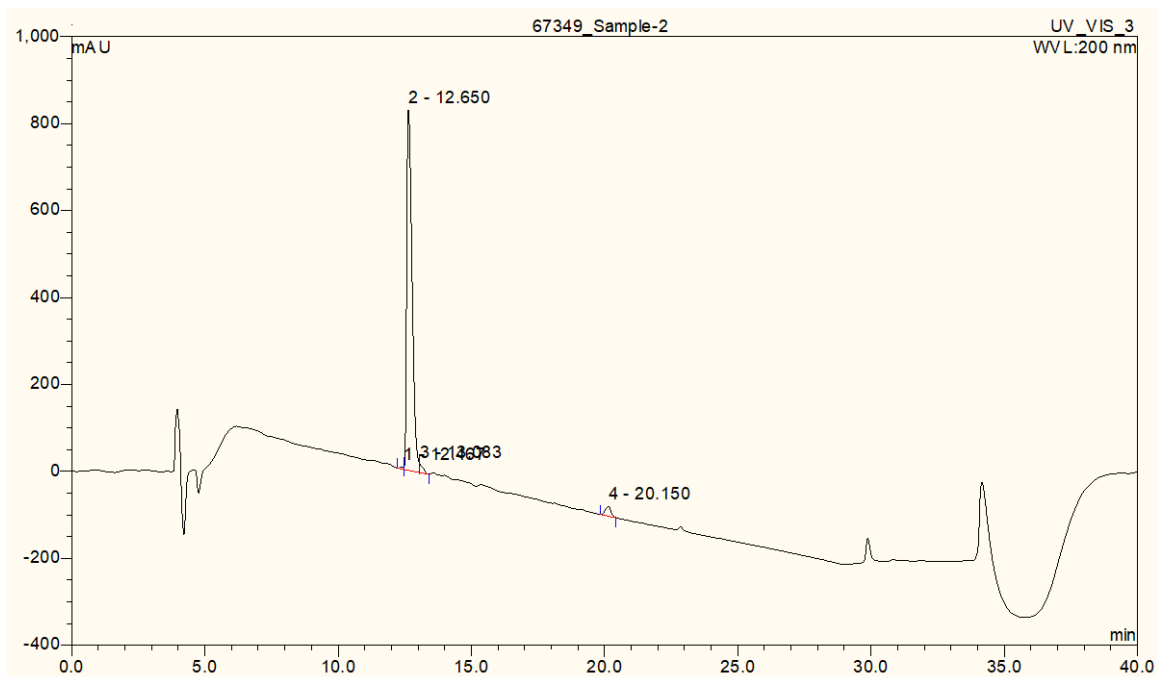
Retention Time: **12.38 min**

Relative Peak Area: **97.55 %**

LC-UV para o composto **1d**

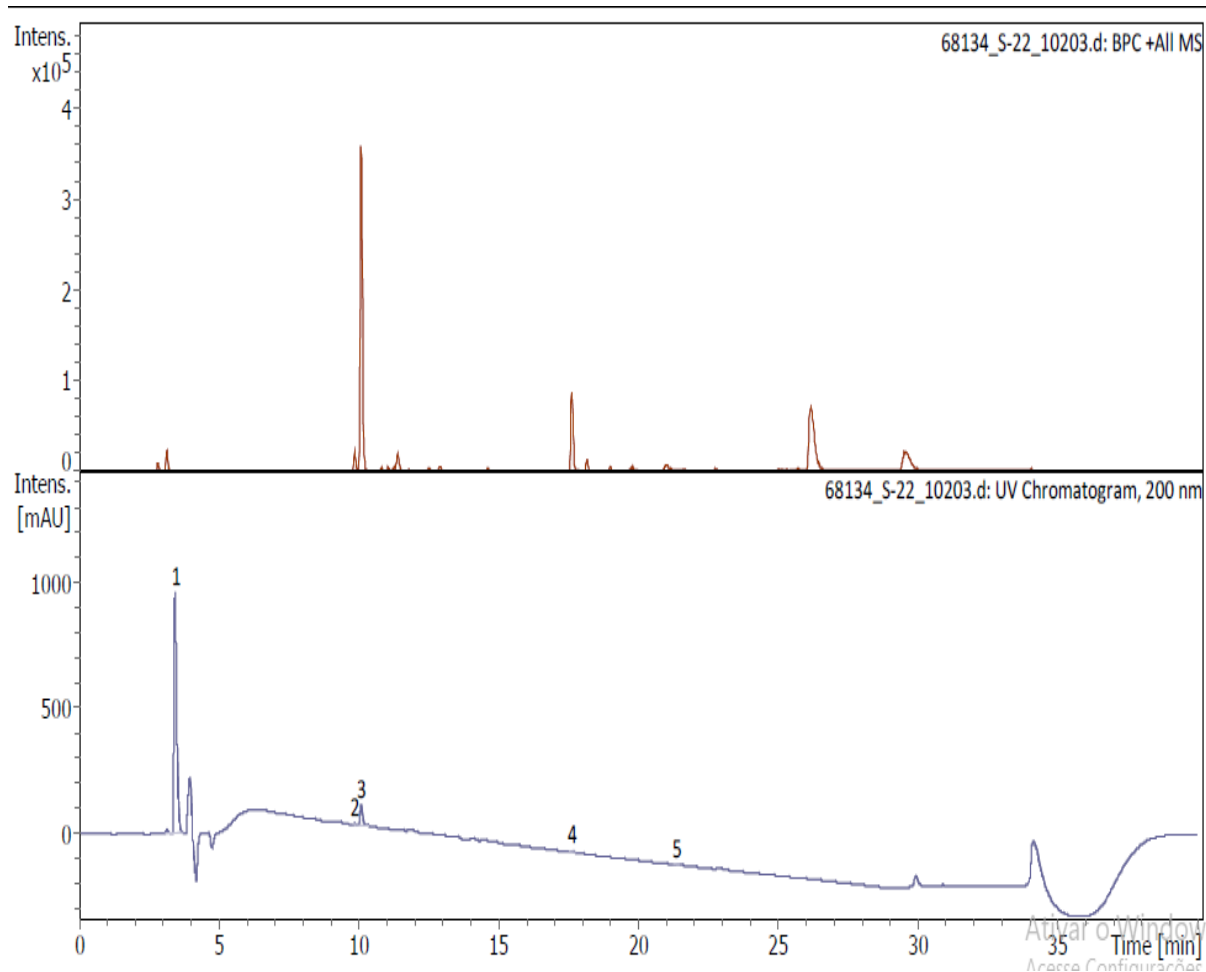
Retention Time: **3.4 min**

Relative Peak Area: **83.46 %**

LC-UV para o composto **1e**

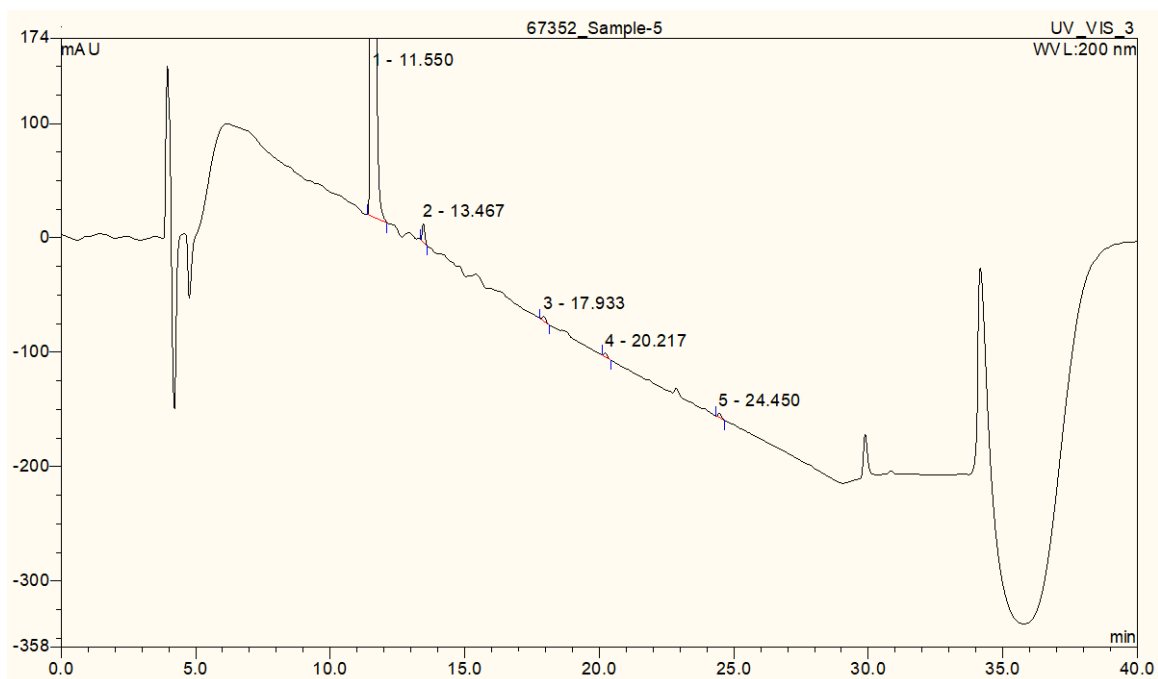
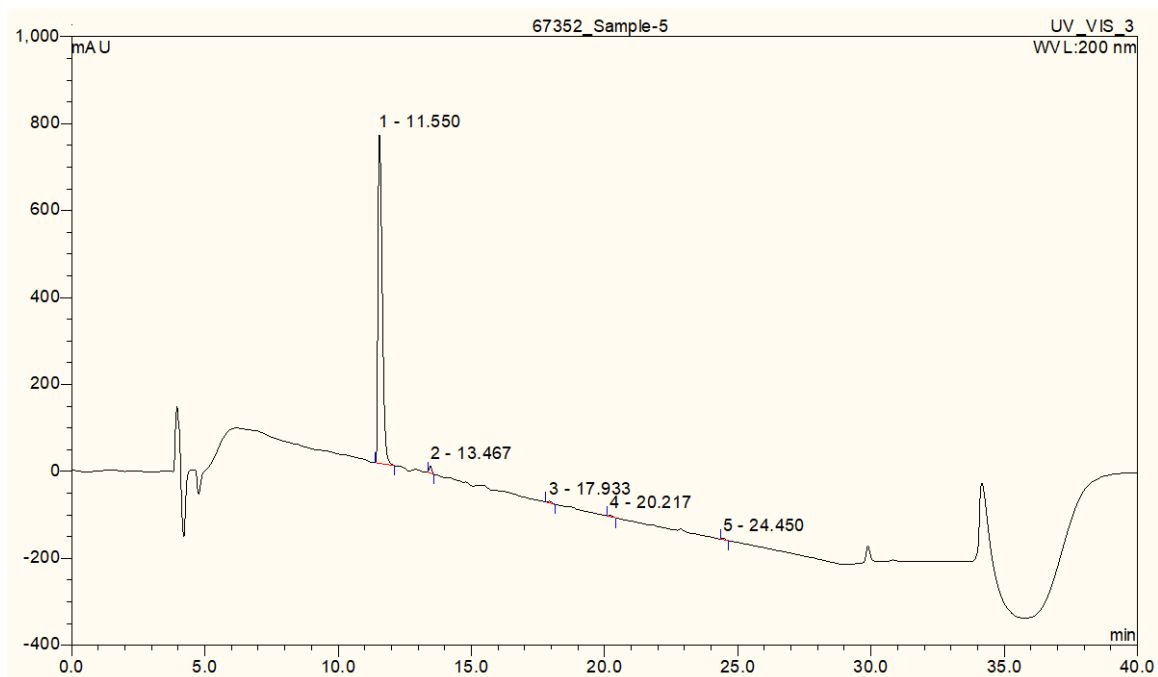
Retention Time: **12.65 min**

Relative Peak Area: **95.50 %**

LC-UV-MS para o composto **1f**

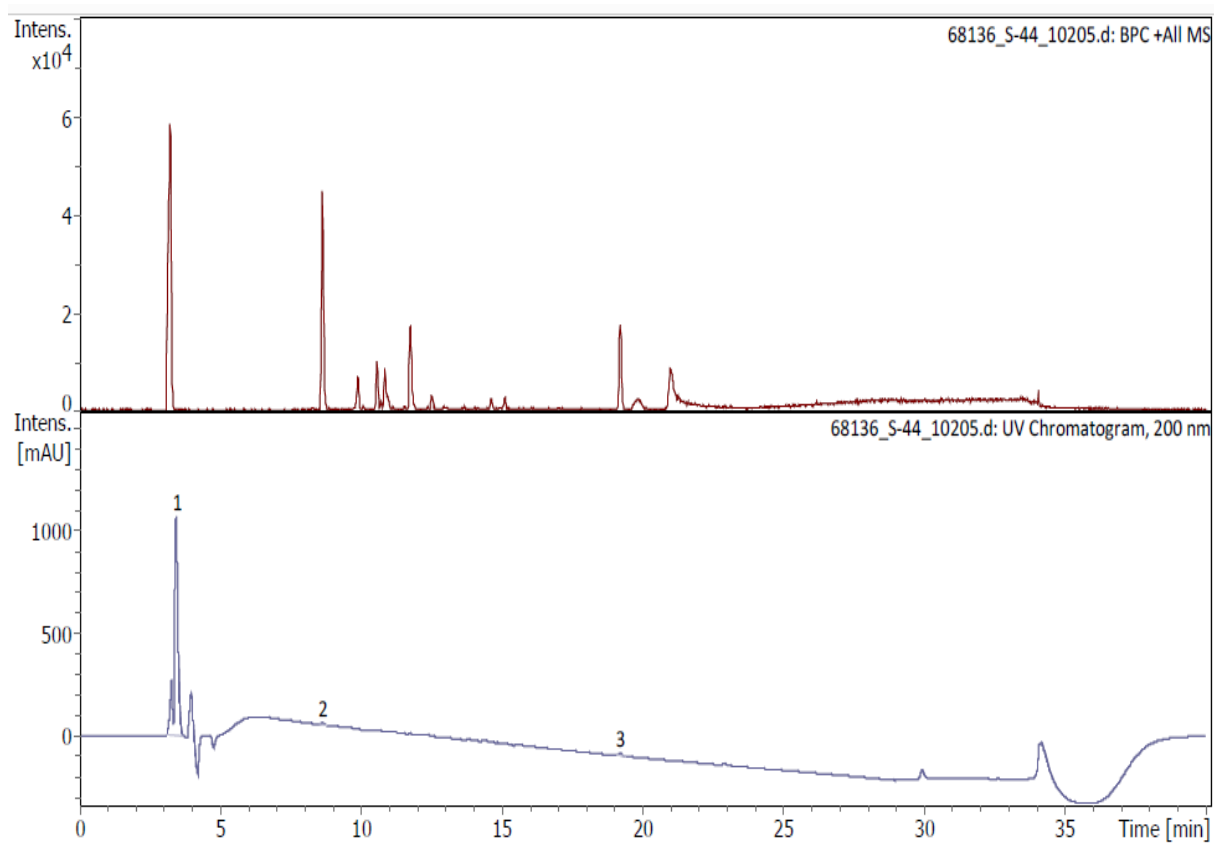
Retention Time: **3.4 min**

Relative Peak Area: **91.36 %**

LC-UV para o composto **2c**

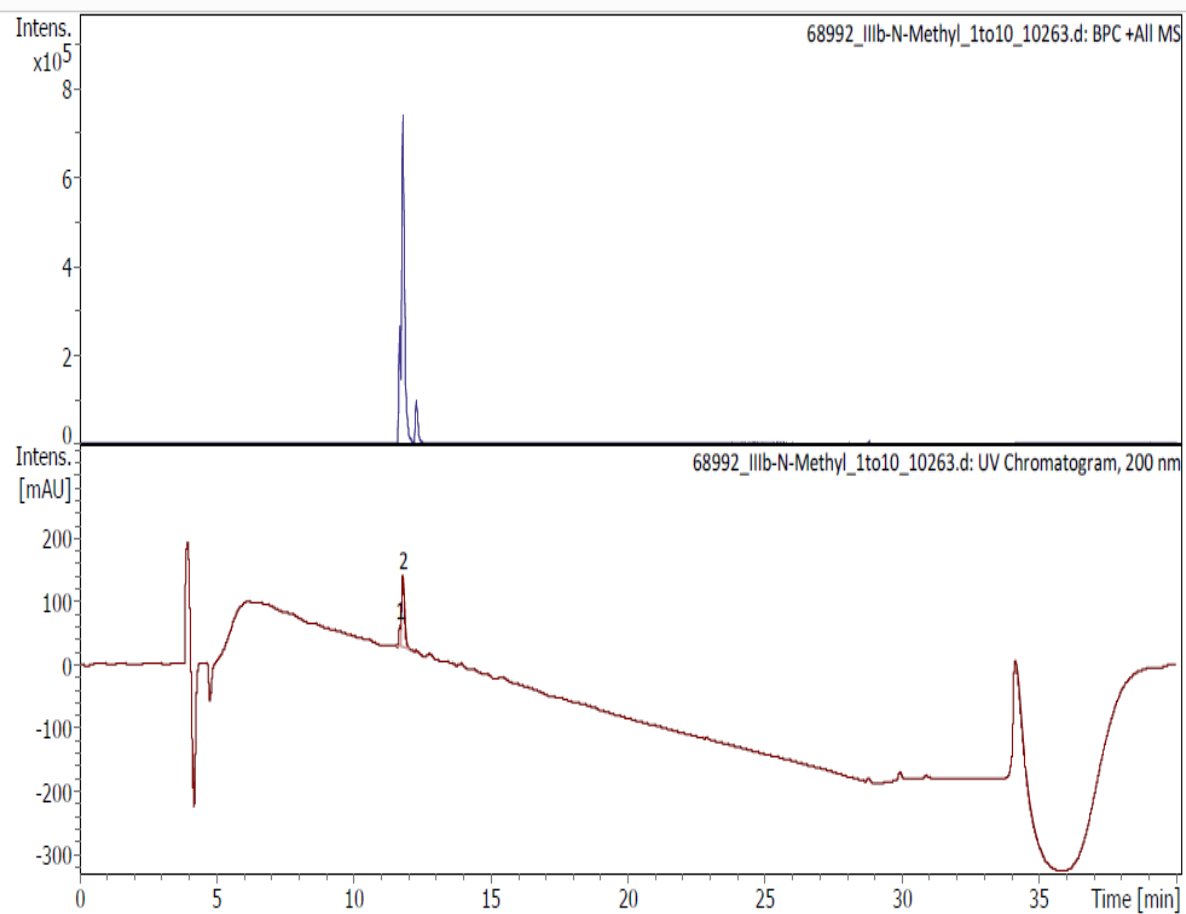
Retention Time: **11.55 min**

Relative Peak Area: **97.63 %**

LC-UV para o composto **2d**

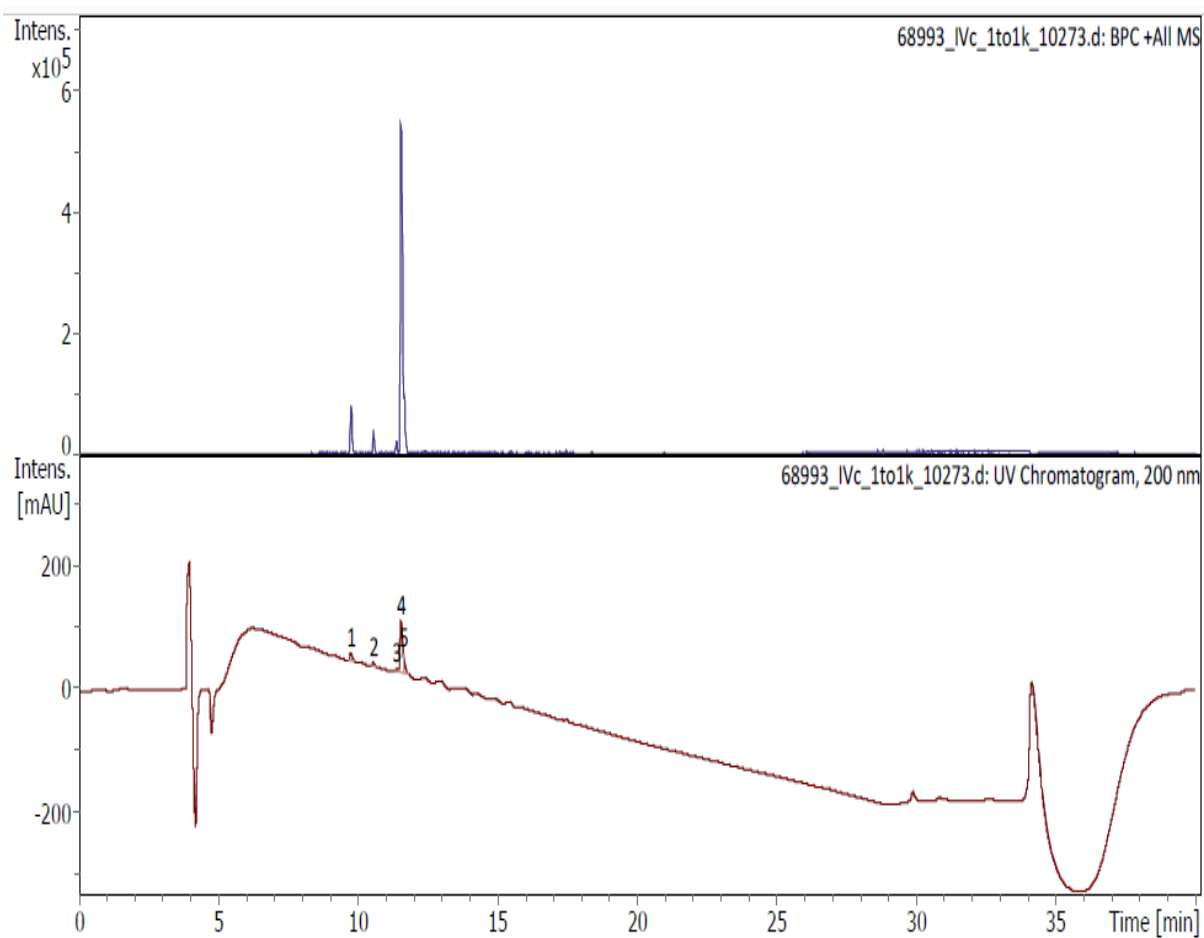
Retention Time: **3.4 min**

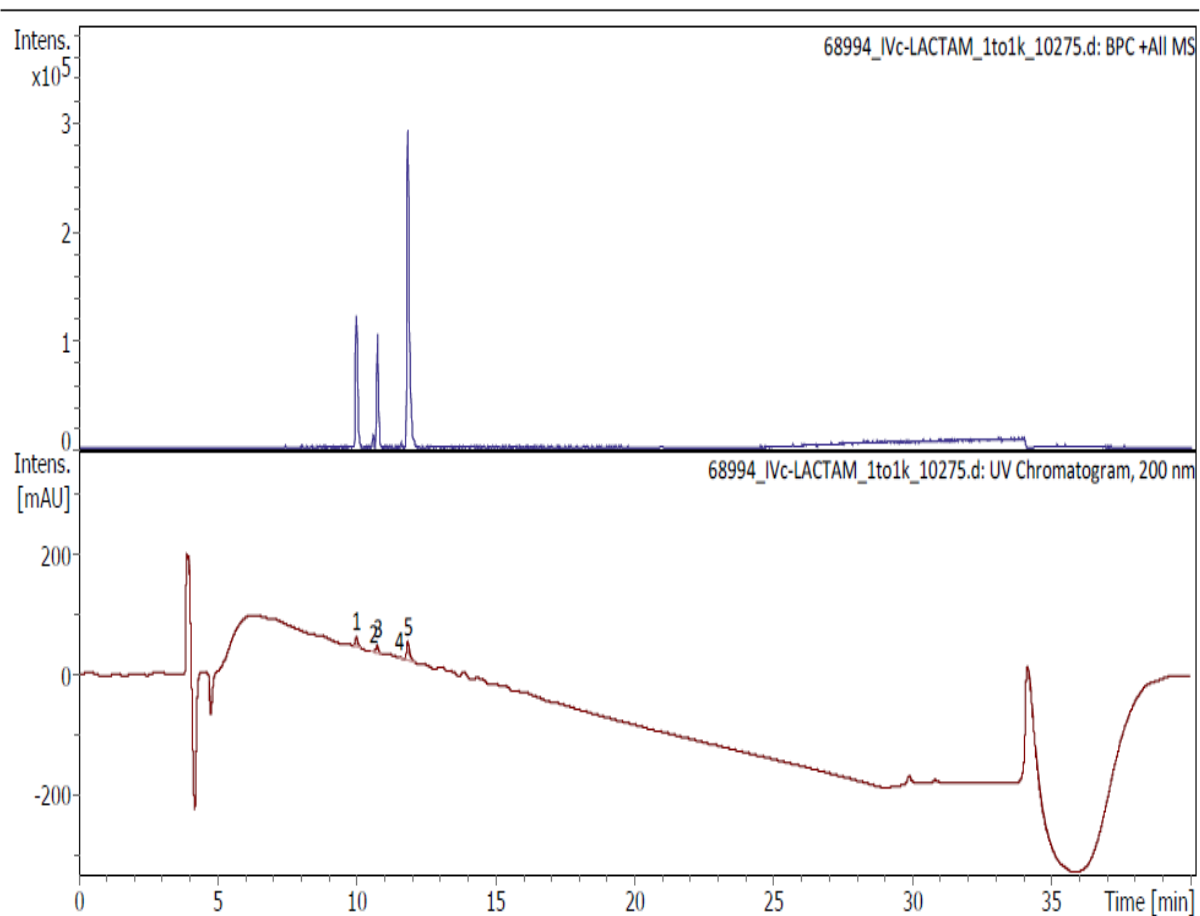
Relative Peak Area: **98.28 %**

LC-UV para o composto **2e**

Retention Time: **11.7min**

Relative Peak Area: **85.74 %**

LC-UV para o composto **3d**Retention Time: **11.6min**Relative Peak Area: **66.91 %**

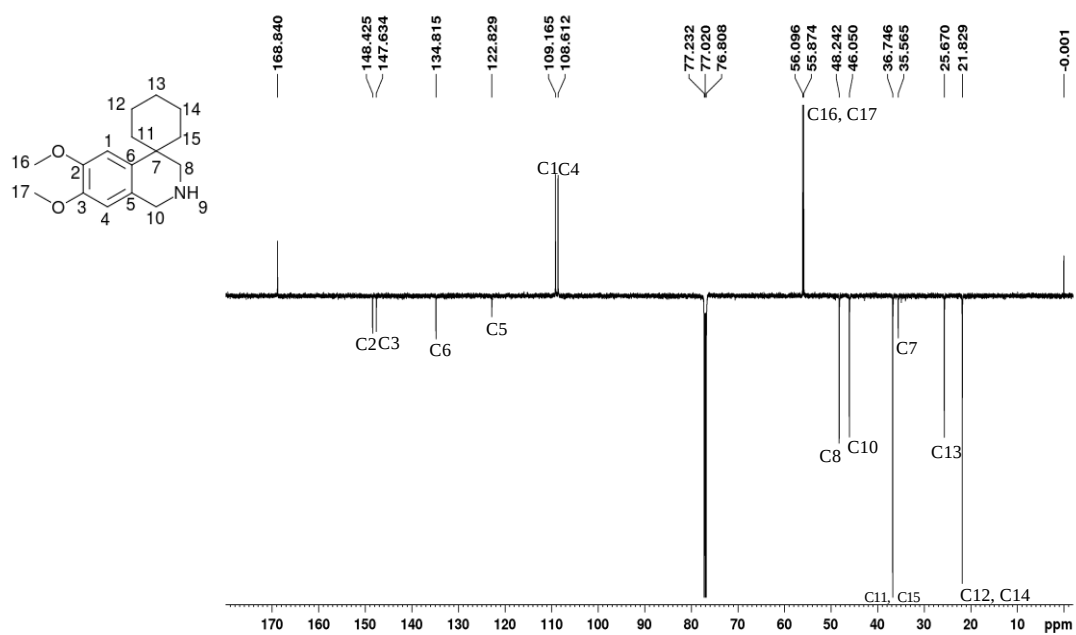
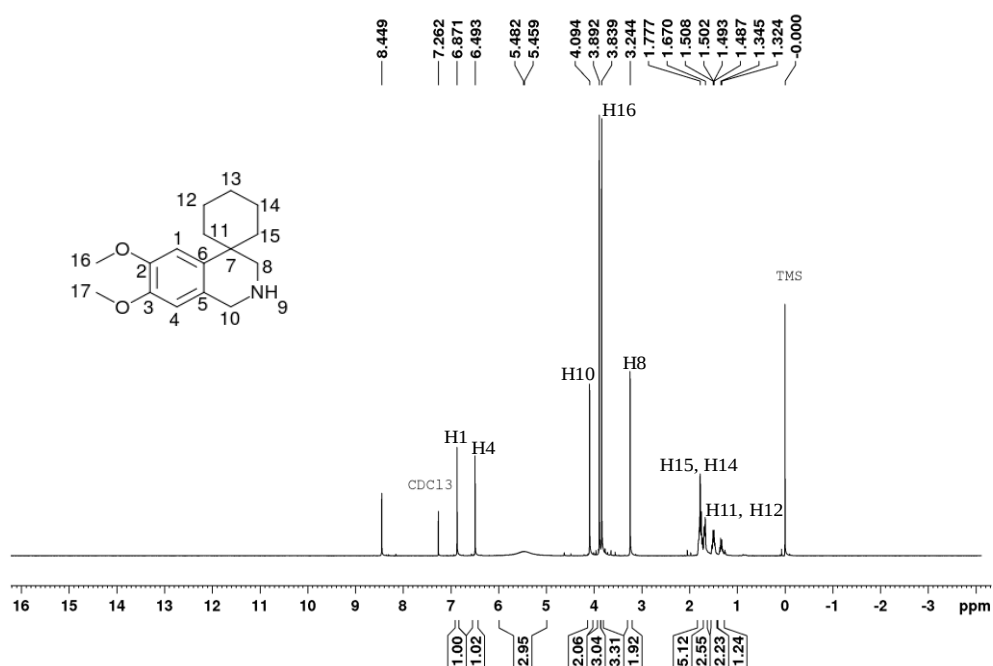
LC-UV-MS para o composto **3f**

Retention Time: **11.8min**

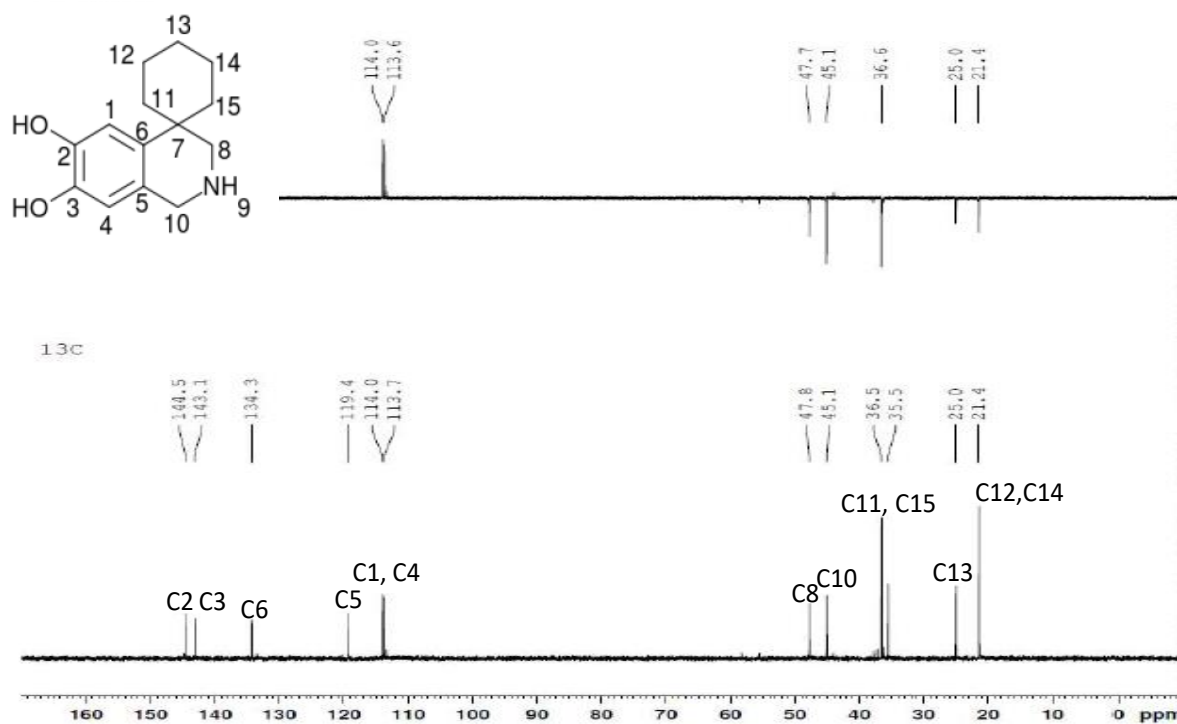
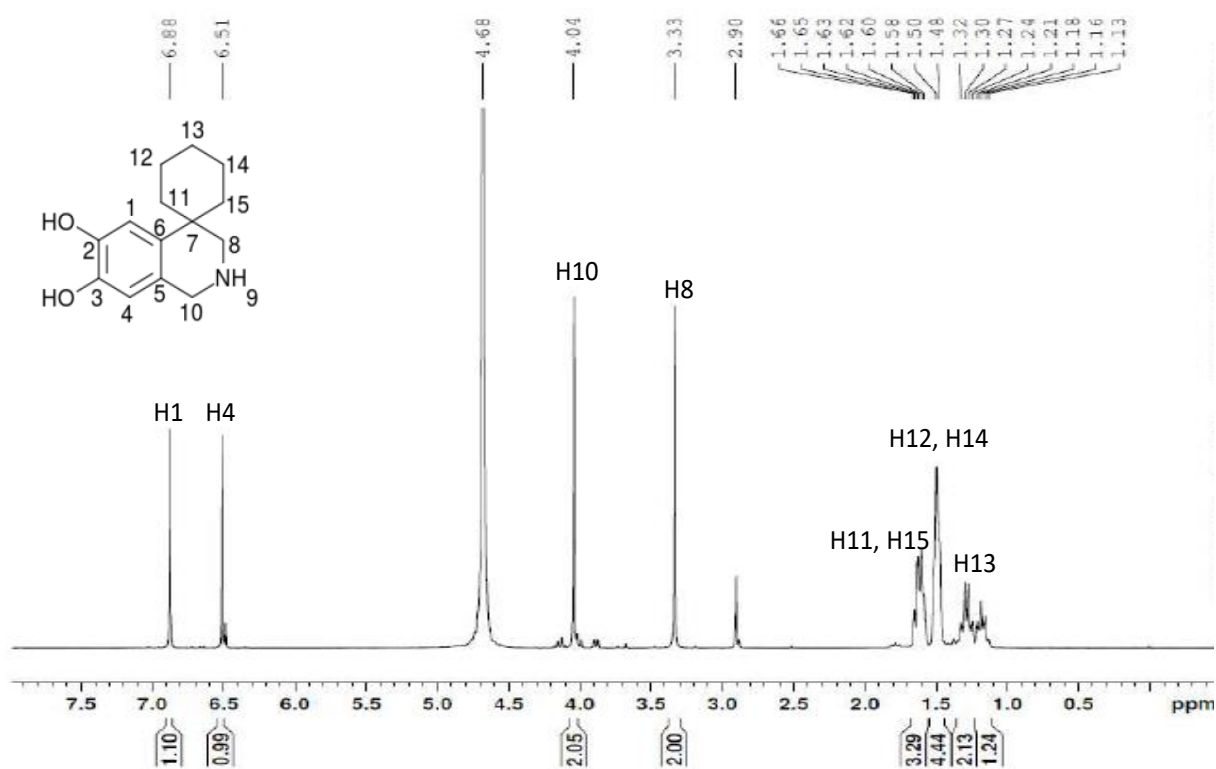
Relative Peak Area: **57.17 %**

$RMN^1H e^{13}C$

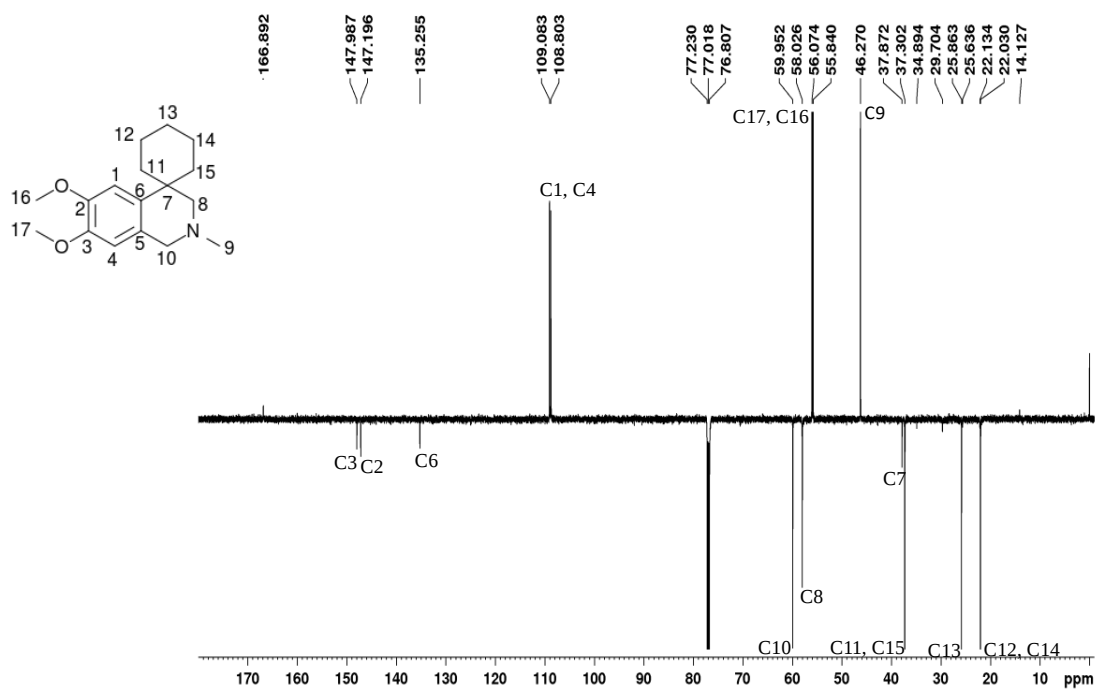
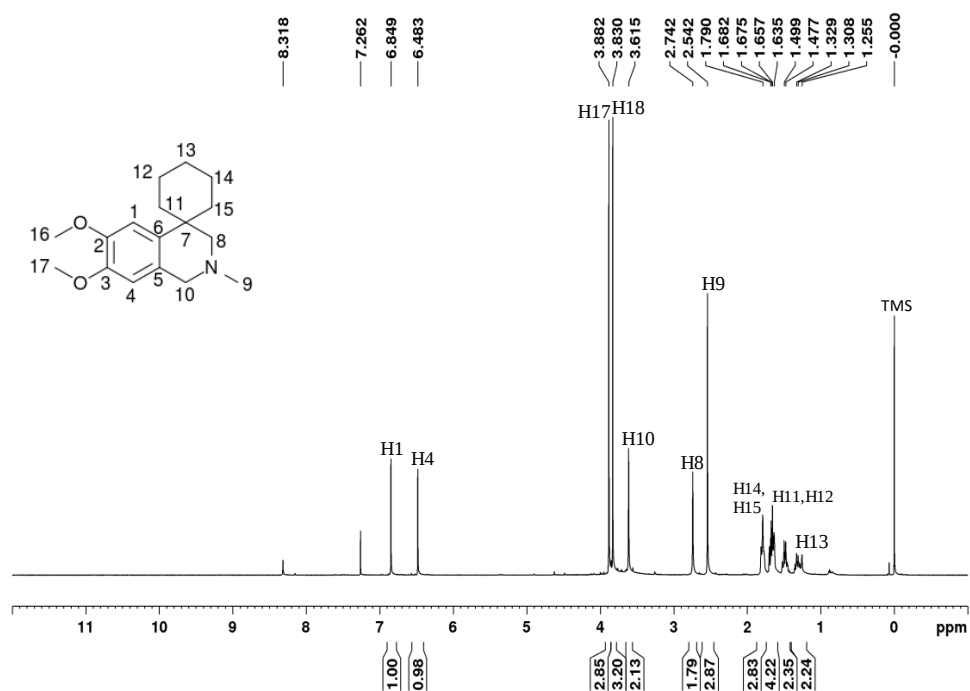
Composto 1c



Composto 1d



Composto 1e



Composto 2d

