



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA



**Síntese, caracterização e avaliação biológica de derivados
quinazolínicos inibidores da proteína FtsZ**

Discente: Ana Clara Cassiano Martinho

Orientador: Prof. Dr. Marcos Pivatto

Coorientador: Prof. Dr. Jared Shaw

Uberlândia, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

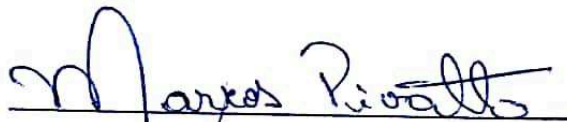
**Síntese, caracterização e avaliação biológica de derivados
quinazolínicos inibidores da proteína FtsZ**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Bacharelado em Química Industrial da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para obtenção de créditos na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso (GQB056).

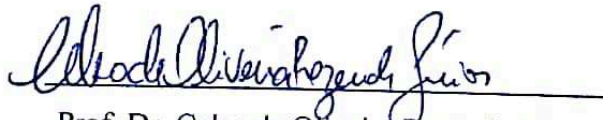
Uberlândia, 2018

Ana Clara Cassiano Martinho

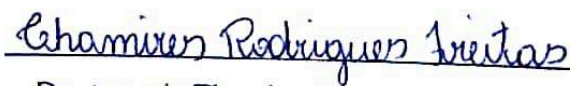
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcos Pivatto (orientador)
Universidade Federal de Uberlândia



Prof. Dr. Celso de Oliveira Rezende Júnior
Universidade Federal de Uberlândia



Doutoranda Thamires Rodrigues Freitas
Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia, 7 de dezembro de 2018.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Maria Izabel e Robson, e familiares por terem investido nos meus sonhos e apoiado minhas decisões.

Ao meu orientador Marcos Pivatto por ter me acolhido e acreditado em mim, bem como pelo reforço dos meus conhecimentos em Química.

Aos meus professores do Instituto de Química da UFU pelos ensinamentos e conselhos.

Ao coorientador Jared Shaw pela oportunidade de integrar seu grupo de pesquisa na Universidade da Califórnia, Davis.

A CAPES pela bolsa de estudos concedida dentro do programa Ciências sem Fronteiras, que proporcionou experiências incríveis, de grande importância para o meu aprendizado.

Aos meus fiéis companheiros de vida Fernando Takashi, Rafael Gontijo, Chris Oliveira, Mateus Mariano e Augusto Alves, por sempre acreditarem em mim e nunca me deixarem desistir dos meus objetivos.

RESUMO

Em decorrência da crescente demanda por novos compostos com potencial antibiótico, principalmente devido aos mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias, é importante a busca por novos fármacos que atuem em alvos biológicos diferentes daqueles já conhecidos. Este projeto faz parte de um programa coordenado pelo professor Jared Shaw da Universidade da Califórnia, Davis, que visa a descoberta de novos compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir a proteína FtsZ, que está relacionada ao processo da divisão celular bacteriano. Inicialmente foi planejada a síntese de vários compostos com diferentes substituintes nas posições 2, 4 e 6 do núcleo quinazolínico da zantrina Z3 (**10**) (eleita molécula modelo), denominados de regiões 3, 2 e 1, respectivamente. Neste trabalho, foram sintetizados análogos de **10** com diferentes substituintes na região 3, para avaliar sua influência na atividade inibidora da proteína FtsZ. Para isso, foram preparados os intermediários **28–38** através da reação cujo mecanismo é conhecido como Horner-Wadsworth-Emmons. Estes compostos foram purificados por cromatografia flash utilizando o equipamento Teledyne ISCO CombiFlashRf+. A segunda etapa da síntese foi a desproteção dos intermediários (**28–38**), através de uma reação utilizando solução de HCl 2M em metanol, para obtenção dos análogos **39–48**. A caracterização dos compostos sintetizados foi feita utilizando técnicas espectroscópicas (ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C) e espectrométricas (espectrometria de massas) e a avaliação do potencial de inibição da FtsZ foi feito para os análogos **44** e **45**, cujos valores de IC_{50} foram 626 e 836 μM , respectivamente. Estes resultados quando comparados com aquele da molécula modelo, zantrina Z3 (9,4 μM), sugerem que os substituintes isopropil, no análogo **44**, assim como a *terc*-butila no análogo **45**, não contribuem para a inibição da enzima.

Palavras-chave: Síntese de análogos de zantrinas, zantrina Z3, antibióticos, FtsZ.

ABSTRACT

As a result of the increasing demand for new compounds with antibiotic potential, mainly due to resistance mechanisms developed by bacteria, it is important to search for new drugs that act on biological targets different from those already known. This project is part of the program coordinated by professor Jared Shaw from University of California, Davis, which aims to discover new natural or synthetic compounds capable of inhibiting the protein FtsZ, that are related to the bacterial cell division process. Initially, the synthesis of several compounds was planned using the quinazoline nucleus of the zantrin Z3 (**10**) as model molecule, which can be substituted in positions 2, 4 and 6, named by regions 3, 2, and 1, respectively. In this work, analogues of **10** were synthesized with different substituents in region 3, which were evaluated as potential inhibitors of the protein FtsZ. Further, intermediates **28–38** were prepared through a reaction whose mechanism is known as Horner-Wadsworth-Emmons. Then, these compounds were purified by flash chromatography using the Teledyne ISCO CombiFlashRf+ equipment. Additionally, the protection group was removed from the intermediates (**28–38**) through a reaction using a solution of HCl 2M in methanol to obtain the analogues **39–48**. Characterization of the synthesized compounds was made by spectroscopy (^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance) and spectrometric methods (mass spectrometry) and the evaluation of the inhibitory activity of the FtsZ was made for the analogues **44** and **45**, which exhibited IC_{50} values of 626 and 836 μM , respectively. These results when compared to the zantrin Z3 (9.4 μM), suggest that the isopropyl and *tert*-butyl substituents from analogues **44** and **45** did not contribute for the enzyme inhibition.

Key words: Synthesis of zantrins analogues, zantrin Z3, antibiotics, FtsZ.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Penicilina G.	16
Figura 2. Ácido <i>N</i> -acetilmurâmico (NAM) (2) e <i>N</i> -acetilglucosamina (NAG) (3).	17
Figura 3. Proteína FtsZ.	18
Figura 4. Tubulina.....	19
Figura 5. Taxol (4) e colchicina (5).	20
Figura 6. Divisão celular bacteriana e o papel da FtsZ.....	20
Figura 7. Polifenóis, sintético (6) e de ocorrência natural (7 e 8).....	21
Figura 8. Zantrinas Z2–Z5 e seus valores de IC ₅₀ no ensaio de inibição da FtsZ.	22
Figura 9. Núcleo zantrina e regiões para modificação estrutural.	23
Figura 10. Análogos 13 e 14 da zantrina Z3 (10) modificados na região 2 (vermelha) com seus respectivos valores de IC ₅₀ no ensaio de inibição da FtsZ.	24
Figura 11. Análogo 15 da zantrina Z3 (10) modificado na região 1 (azul) e 2 vermelha com seus respectivos valores de IC ₅₀ no ensaio de inibição da FtsZ.....	24
Figura 12. Precursor (16) para preparação dos análogos (28–38) da zantrina Z3 (10).	26
Figura 13. Aldeídos utilizados para preparação dos análogos (28–38) da zantrina Z3 (10) (Tabela 1).	26
Figura 14. Reação para preparação dos intermediários (28–38) protegidos.....	29
Figura 15. Desproteção dos intermediários para obtenção dos produtos 39–48.	31
Figura 16. Mecanismo Horner-Wadsworth-Emmons para preparação dos intermediários 28–38 protegidos.....	34
Figura 17. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 35.....	36
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H do intermediário 35 (CDCl ₃ , 400 MHz).	38
Figura 19. Ampliação do espectro da Figura 18 (δ 0,0–3,8) do intermediário 35.....	39
Figura 20. Ampliação do espectro da Figura 18 (δ 4,0–7,9) do intermediário 35.....	39
Figura 21. Espectro de RMN de ¹³ C do intermediário 35 (CD ₂ Cl ₂ , 100 MHz).....	41
Figura 22. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 28.....	43
Figura 23. Espectro de RMN de ¹ H do intermediário 28 (CDCl ₃ , 400 MHz).	44
Figura 24. Ampliação do espectro da Figura 23 (δ 0,0–4,0) do intermediário 28.....	45
Figura 25. Ampliação do espectro da Figura 23 (δ 6,8–8,0) do intermediário 28.....	45

Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C do intermediário 28 (CDCl_3 , 100 Hz).	46
Figura 27. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 29	48
Figura 28. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 29 (CDCl_3 , 400 MHz).	49
Figura 29. Ampliação do espectro da Figura 28 (δ 0,0–4,0) do intermediário 29	50
Figura 30. Ampliação do espectro da Figura 28 (δ 6,8–8,4) do intermediário 29	50
Figura 31. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 30	52
Figura 32. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 30 (CDCl_3 , 400 MHz).	53
Figura 33. Ampliação do espectro da Figura 32 (δ 0,0–3,8) do intermediário 30	54
Figura 34. Ampliação do espectro da Figura 32 (δ 6,8–8,0) do intermediário 30	54
Figura 35. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 31	56
Figura 36. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 31 (CDCl_3 , 400 MHz).	57
Figura 37. Ampliação do espectro da Figura 36 (δ 0,0–4,0) do intermediário 31	58
Figura 38. Ampliação do espectro da Figura 36 (δ 6,4–8,0) do intermediário 31	58
Figura 39. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 32	60
Figura 40. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 32 (CDCl_3 , 400 MHz).	61
Figura 41. Ampliação do espectro da Figura 40 (δ 0,0–4,6) do intermediário 32	62
Figura 42. Ampliação do espectro da Figura 40 (δ 6,8–8,0) do intermediário 32	62
Figura 43. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 33	64
Figura 44. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 33 (CDCl_3 , 400 MHz).	65
Figura 45. Ampliação do espectro da Figura 44 (δ 0,0–4,6) do intermediário 33	66
Figura 46. Ampliação do espectro da Figura 44 (δ 6,8–8,0) do intermediário 33	66
Figura 47. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 34	68
Figura 48. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 34 (400 MHz, CDCl_3).	69
Figura 49. Ampliação do espectro da Figura 48 (δ 0,0–4,0) do intermediário 34	70
Figura 50. Ampliação do espectro da Figura 48 (δ 6,4–7,8) do intermediário 34	70
Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C do intermediário 34 (CDCl_3 , 100 MHz).	71
Figura 52. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 36	73
Figura 53. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 36 (CDCl_3 , 400 MHz).	74
Figura 54. Ampliação do espectro da Figura 53 (δ 0,0–4,0) do intermediário 36	75
Figura 55. Ampliação do espectro da Figura 53 (δ 7,2–8,0) do intermediário 36	75
Figura 56. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 37	77

Figura 57. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 37 (CDCl_3 , 400 MHz).....	78
Figura 58. Ampliação do espectro da Figura 57 (δ 0,0–4,0) do intermediário 37	79
Figura 59. Ampliação do espectro da Figura 57 (δ 7,2–8,0) do intermediário 37	79
Figura 60. Espectro de RMN de ^{13}C do intermediário 37 (CDCl_3 , 100 MHz).....	80
Figura 61. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário 38	82
Figura 62. Espectro de RMN de ^1H do intermediário 38 (CDCl_3 , 400 MHz).	83
Figura 63. Ampliação do espectro da Figura 62 (δ 0,0–4,0) do intermediário 38	84
Figura 64. Ampliação do espectro da Figura 62 (δ 7,0–8,3) do intermediário 38	84
Figura 65. Mecanismo de desproteção e obtenção dos produtos 39–48	85
Figura 66. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 45	87
Figura 67. Espectro de RMN de ^1H do análogo 45 (CD_3OD , 400 MHz).....	89
Figura 68. Ampliação do espectro da Figura 67 (δ 0,0–3,8) do análogo 45	90
Figura 69. Ampliação do espectro da Figura 67 (δ 5,0–7,5) do análogo 45	90
Figura 70. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 39	92
Figura 71. Espectro de RMN de ^1H do análogo 39 (CD_3OD , 400 MHz).....	93
Figura 72. Ampliação do espectro da Figura 71 (δ 0,0–3,8) do análogo 39	94
Figura 73. Ampliação do espectro da Figura 71 (δ 5,2–7,0) do análogo 39	94
Figura 74. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 40	96
Figura 75. Espectro de RMN de ^1H do análogo 40 (CD_3OD , 400 MHz).....	97
Figura 76. Ampliação do espectro da Figura 75 (δ 0,0–3,9) do análogo 40	98
Figura 77. Ampliação do espectro da Figura 75 (δ 5,4–7,2) do análogo 40	98
Figura 78. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 41	100
Figura 79. Espectro de RMN de ^1H do análogo 41 (CD_3OD , 400 MHz).....	101
Figura 80. Ampliação do espectro da Figura 79 (δ 0,0–3,8) do análogo 41	102
Figura 81. Ampliação do espectro da Figura 79 (δ 5,4–7,2) do análogo 41	102
Figura 82. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 42	104
Figura 83. Espectro de RMN de ^1H do análogo 42 (CD_3OD , 400 MHz).....	105
Figura 84. Ampliação do espectro da Figura 83 (δ 0,0–4,2) do análogo 42	106
Figura 85. Ampliação do espectro da Figura 83 (δ 6,0–7,6) do análogo 42	106
Figura 86. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 43	108
Figura 87. Espectro de RMN de ^1H do análogo 43 (CD_3OD , 400 MHz).....	109

Figura 88. Ampliação do espectro da Figura 87 (δ 0,0–4,0) do análogo 43	110
Figura 89. Ampliação do espectro da Figura 87 (δ 5,4–7,2) do análogo 43	110
Figura 90. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 44	112
Figura 91. Espectro de RMN de ^1H do análogo 44 (CD_3OD , 400 MHz).....	113
Figura 92. Ampliação do espectro da Figura 91 (δ 0,0–4,0) do análogo 44	114
Figura 93. Ampliação do espectro da Figura 91 (δ 5,6–7,5) do análogo 44	114
Figura 94. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 46	116
Figura 95. Espectro de RMN de ^1H do análogo 46 (CD_3OD , 400 MHz).....	117
Figura 96. Ampliação do espectro da Figura 95 (δ 0,0–4,0) do análogo 46	118
Figura 97. Ampliação do espectro da Figura 95 (δ 6,0–7,3) do análogo 46	118
Figura 98. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 47	120
Figura 99. Espectro de RMN de ^1H do análogo 47 (CD_3OD , 400 MHz).....	121
Figura 100. Ampliação do espectro da Figura 99 (δ 0,0–3,9) do análogo 47	122
Figura 101. Ampliação do espectro da Figura 99 (δ 6,2–7,4) do análogo 47	122
Figura 102. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo 48	124
Figura 103. Espectro de RMN de ^1H do análogo 48 (CD_3OD , 400 MHz).....	125
Figura 104. Ampliação do espectro da Figura 103 (δ 0,0–4,0) do análogo 48	126
Figura 105. Ampliação do espectro da Figura 103 (δ 5,8–7,5) do análogo 48	126
Figura 106. Gráfico para avaliação do IC_{50} do análogo 44	127
Figura 107. Gráfico para avaliação do IC_{50} do análogo 45	128
Figura 108. Gráfico para avaliação do IC_{50} do derivado 14 da zantrina Z3 (10).	128

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes comerciais utilizados para síntese dos análogos da zantrina Z3 (10).	27
Tabela 2. Dados das reações para preparação dos intermediários protegidos (28–38).	30
Tabela 3. Dados das reações de desproteção dos intermediários para obtenção dos produtos 39–48 .	32

LISTA DE ABREVIACOES

CC – Cromatografia em coluna

CCD – Cromatografia em camada delgada

d – duplete

dd – duplo dublete

ddd – duplo duplo dublete

Δ – Desvio calculado (ppm) da massa de um composto em relação a massa exata

EM-IES – Espectrometria de massas com ionização por *electrospray*

FtsZ – *Filamenting temperature-sensitive mutant Z*

GTP – Trifosfato guanosina

IC₅₀ – Concentração necessária para inibição de 50% da enzima

J – Constante de acoplamento (em Hertz)

m – multiplete

NAG – *N*-acetilglucosamina

NAM – *N*-acetilmurâmico

q – quadruplete

REA – Estudos de relação estrutura e atividade

R_f – Fator de retenção

RMN de ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrognio

RMN de ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

s – singleto

sl – singleto largo

sept – septuplete

δ – Deslocamento químico em relação ao TMS (expresso em ppm)

t – tripleto

WHO – Organização mundial da sade

SUMÁRIO

1. Introdução	15
1.1 Penicilinas	15
1.2 Proteína responsável pela divisão celular (<i>FtsZ</i>)	17
1.3 Zantrinas.....	21
2. Objetivos.....	25
3. Materiais e métodos	25
3.1 Solventes	25
3.2 Reagentes para síntese dos análogos da zantrina Z3 (10).....	25
4. Procedimento experimental	28
4.1 Procedimento para síntese dos análogos 39–48	28
4.1.1 Metodologia de síntese dos intermediários 28–38	28
4.1.2 Metodologia para desproteção dos intermediários 28–38 e obtenção dos análogos 39–48	31
5. Resultados e discussões	33
5.1 Síntese dos análogos (39–48) da zantrina Z3(10).....	33
5.1.1 Preparação dos intermediários 28–38	33
5.1.2 Caracterização dos intermediários 28–38	35
5.1.3 Desproteção dos intermediários 28–38 e obtenção dos análogos 39–48	85
5.1.4 Caracterização dos análogos 39–48	86
5.2 Ensaio para determinação do IC_{50}	127
6. Conclusões	129
REFERÊNCIAS.....	131

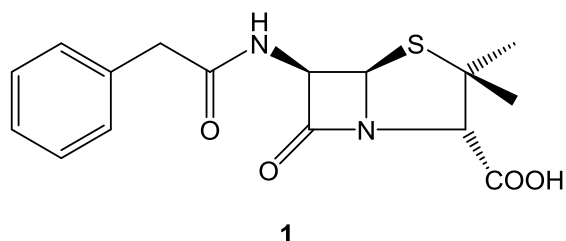
1. Introdução

Desde os primórdios das civilizações o homem faz uso de substâncias, sejam elas na forma de chás, emplastros, ou por inalação, na busca pelo alívio e cura das suas enfermidades (VIEGAS JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Dentro deste contexto, os antibióticos fazem parte de um arsenal poderoso utilizados para o tratamento de doenças infecciosas causadas por microrganismos. Estes compostos orgânicos podem ser de origem natural ou sintética, e são capazes de provocar a morte ou inibir o crescimento de microrganismos como as bactérias (GUIMARÃES et al., 2010). Desde a descoberta do primeiro antibiótico em 1940, essa classe de compostos têm salvado milhões de vidas contra doenças infecciosas, o que levou os pesquisadores a acreditarem que essas doenças seriam dizimadas. Entretanto, é crescente a propagação da população de bactérias patogênicas que são resistentes aos antibióticos (AMINOV, 2009) e de acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2011), este é um dos maiores perigos para a saúde humana (ACADEMY OF SCIENCES AND HUMANITIES IN HAMBURGGERMAN NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES LEOPOLDINA, 2013). A falta de informação sobre os processos microbianos incentivou a criação de centros de pesquisas especializados em microrganismos, buscando maior conhecimento sobre suas estruturas celulares, visando o desenvolvimento de antibióticos eficazes (AMINOV, 2009).

1.1 Penicilinas

As primeiras bactérias foram descobertas por volta de 1670, após a invenção do microscópio, mas foi somente no século XIX que surgiu a hipótese desses microrganismos serem causadores de processos infecciosos (GUIMARÃES et al., 2010). Desde então, estudos visando a descoberta de agentes químicos com potencial antimicrobiano vêm sendo realizados. Assim, em 1928, o farmacologista britânico Alexander Fleming descobriu acidentalmente a penicilina G (**1**) (Figura 1), um dos antibióticos mais utilizados até os dias atuais (CALIXTO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2009).

Figura 1. Penicilina G.



Fonte: autor.

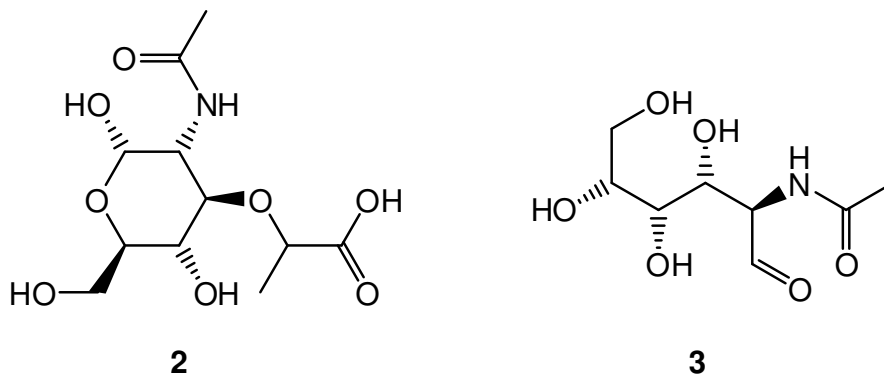
Durante a realização de um dos seus experimentos com cultura de bactérias, Alexander Fleming notou a contaminação por uma colônia de fungos que em contato com as bactérias estavam inibindo seu crescimento. Neste momento, Fleming presumiu que esse fungo estava produzindo algum agente antibacteriano como método de proteção e, mais adiante, o identificou como sendo do gênero *Penicillium* (OLIVEIRA et al., 2009).

Depois de anos de estudo em colaboração com os cientistas Chain e Florey, em 1938 foi obtido um extrato que continha a penicilina G (**1**), que foi testada clinicamente, apresentando bons resultados (OLIVEIRA et al., 2009). No entanto, foi somente em 1940 que a penicilina G foi introduzida no mercado como agente terapêutico. O processo de industrialização de **1** teve um aumento considerável em consequência da Segunda Guerra Mundial, em que os antibióticos foram bastante utilizados no tratamento de soldados feridos. A partir desta descoberta, foi possível diminuir o número de mortes causadas por doenças infecciosas além de um expressivo aumento na expectativa de vida (GUIMARÃES et al., 2012).

O mecanismo de ação das penicilinas tem como alvo a parede celular das bactérias que é composta por peptídeos e unidades de açúcar que podem ser de dois tipos, o ácido *N*-acetilmurâmico (NAM) (**2**) e a *N*-acetilglucosamina (NAG) (**3**) (Figura 2). No processo de formação da parede celular as cadeias de peptídeo se ligam ao NAM e na etapa final, com auxílio da enzima transpeptidase, as cadeias de peptídeo são ligadas pela substituição da D-alanina de uma cadeia pela glicina de outra. É nesta etapa de formação da parede celular da bactéria que as penicilinas agem impedindo a ligação cruzada. Assim, com a parede celular enfraquecida, há um desequilíbrio na concentração salina da bactéria, sendo maior no interior da célula, o que leva a

um influxo de água, causando inchaço da célula, rompimento da parede celular e morte da bactéria (OLIVEIRA et al., 2009).

Figura 2. Ácido *N*-acetilmurâmico (NAM) (2) e *N*-acetilglucosamina (NAG) (3).



Fonte: autor.

As penicilinas fazem parte da família dos antibióticos β -lactâmicos que são muito importantes devido ao uso clínico e também do ponto de vista econômico. Entretanto, a eficiência da atividade desses fármacos tem sido ameaçada pelo desenvolvimento de bactérias capazes de inativar esses compostos. Algumas bactérias resistentes criaram mecanismos enzimáticos chamados β -lactamases que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico do antibiótico tornando-o inativo (OLIVEIRA et al., 2009).

De acordo com o *Center for Disease Control and Prevention* (2013), há mais de dois milhões de doenças atribuídas à resistência bacteriana anualmente nos Estados Unidos e uma diminuição do tempo entre implementação do antibiótico e resistência. Dessa forma, encaramos como uma necessidade o desenvolvimento de novos antibióticos que possam ser utilizados no tratamento de doenças causadas por bactérias resistentes.

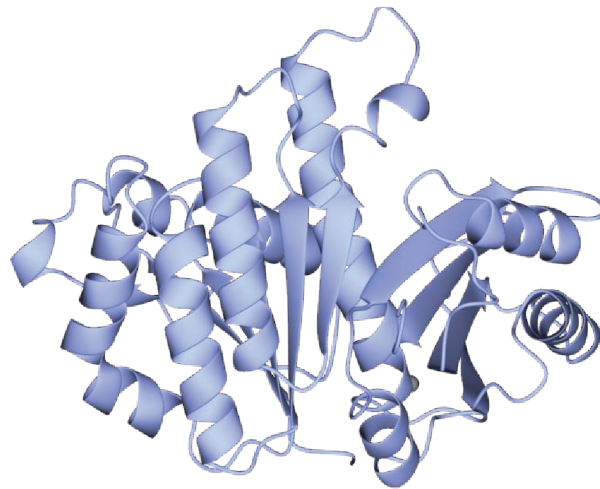
1.2 Proteína responsável pela divisão celular (*FtsZ*)

Historicamente, todos os antibióticos conhecidos têm como alvo um dos seguintes processos celulares bacterianos: (1) replicação do DNA, (2) transcrição do DNA, (3) tradução do RNA (4) biossíntese de peptidoglicano, (5) biossíntese de folato, (6) síntese da membrana

citoplasmática. O citoesqueleto bacteriano é um alvo importante quando se pensa em novas classes de antibióticos. Ele consiste em famílias de proteínas essenciais para as propriedades fisiológicas e estruturais das células incluindo divisão celular, crescimento da parede celular, determinação/manutenção do formato celular, segregação do DNA e compartimentação de proteínas. Devido à sua importância para a existência da célula bacteriana, o citoesqueleto bacteriano tem sido tópico de discussão para o desenvolvimento de antibióticos há mais de duas décadas (HURLEY et al., 2016).

A FtsZ (do inglês: *Filamenting temperature-sensitive mutant Z*) (Figura 3) é uma das famílias de proteínas essenciais para a divisão celular bacteriana. Ela é responsável pela formação de uma estrutura de anel no local de divisão da célula, criando um complexo multiproteico (referido como “divisomo”), importante para o sucesso da formação do septo de divisão. Por isso a FtsZ se torna alvo de estudos para o desenvolvimento de novos antibióticos (HURLEY et al., 2016).

Figura 3. Proteína FtsZ.

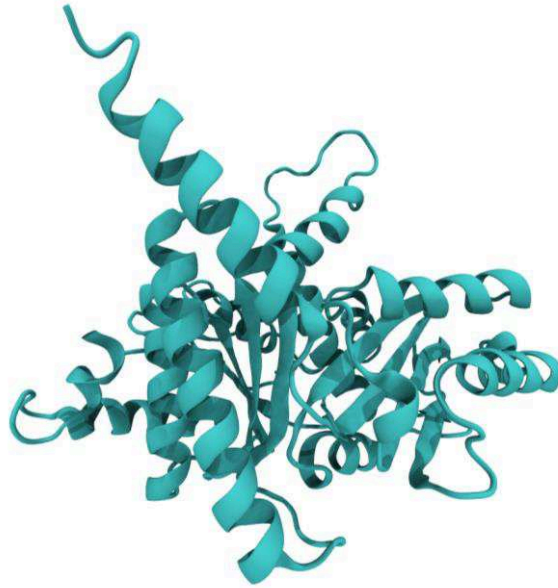


Fonte: BERMAN et al., 2000.

Responsável pela citocinese bacteriana (parte do processo da divisão celular em que o citoplasma se divide em duas outras células filhas), a proteína FtsZ é ancestral e estruturalmente homóloga à proteína eucariótica tubulina (que compõe os microtúbulos do citoesqueleto de células eucarióticas) (Figura 4). Pela análise cristalográfica da FtsZ, foi revelado o domínio da

atividade GTPase, também observado na tubulina, caracterizando a similaridade entre as duas proteínas (HURLEY, 2016).

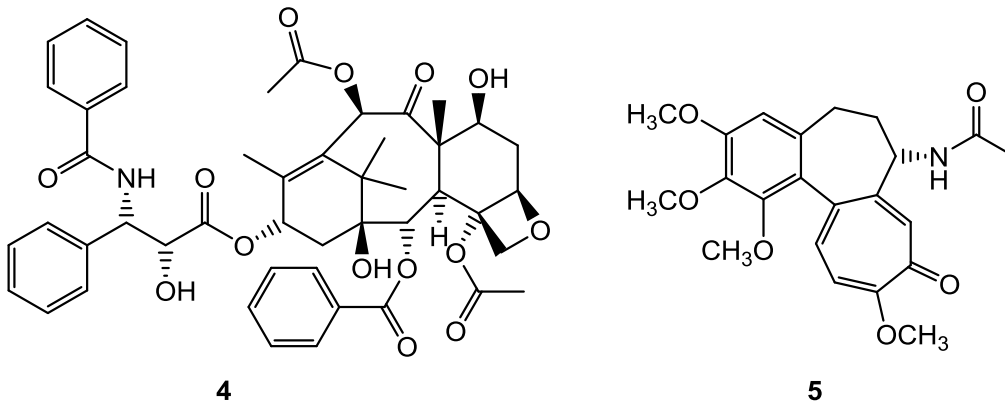
Figura 4. Tubulina.



Fonte: BERMAN et al., 2000.

Estudos sobre a função da tubulina em células eucarióticas mostram que produtos naturais como o taxol (**4**) e a colchicina (**5**) (Figura 5) são capazes de inibir essa proteína. Por causa da semelhança estrutural entre tubulina e FtsZ, pesquisadores têm investido na busca por novos compostos com potencial de inibição (ANDERSON et al., 2012).

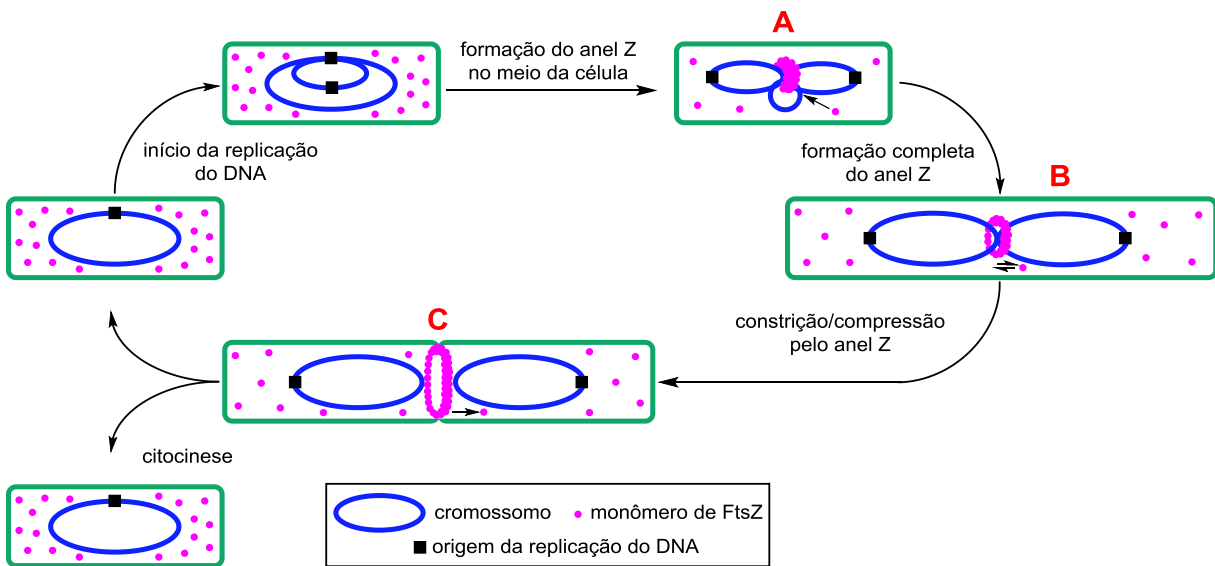
Figura 5. Taxol (4) e colchicina (5).



Fonte: autor.

Durante a citocinese, monômeros da proteína FtsZ são polimerizados para formar um anel (Figura 6A), chamado de anel Z (Figura 6B), no meio da célula de modo a comprimi-la até a formação de duas novas células (Figura 6C). Durante o processo de formação do anel Z, a FtsZ consome GTP assim como a tubulina no processo de mitose. Com isso, a FtsZ pode ser inativada por compostos que interferem na atividade da GTPase dessa proteína (URGAONKAR et al., 2005; HURLEY, 2016).

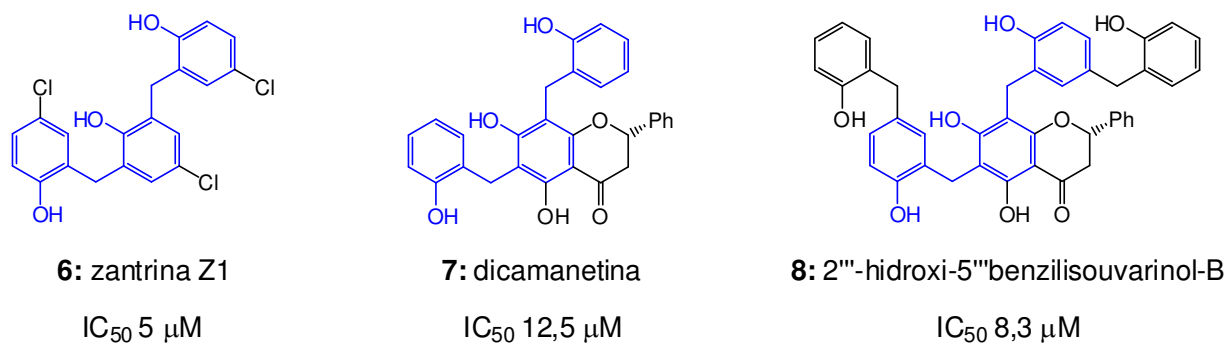
Figura 6. Divisão celular bacteriana e o papel da FtsZ.



Fonte: modificado de URGAONKAR et al., 2005.

Mais recentemente, pesquisadores têm investido esforços no estudo de compostos que inibem a atividade da GTPase presente na FtsZ, impedindo a formação do anel Z e consequentemente a replicação celular bacteriana. A zantrina Z1 (**6**), assim como os produtos naturais dicametina (**7**) e 2'''-hidroxi-5'''benzilisouvarinol-B (**8**) (Figura 7), são polifenóis (representados em azul), que apresentaram atividade antimicrobiana. Essas moléculas foram descobertas a partir de uma triagem *in vitro* que tinha como objetivo selecionar compostos com potencial de inibição da GTPase da proteína FtsZ da bactéria *E. Coli*. (URGAONKAR et al., 2005).

Figura 7. Polifenóis, sintético (**6**) e de ocorrência natural (**7** e **8**).

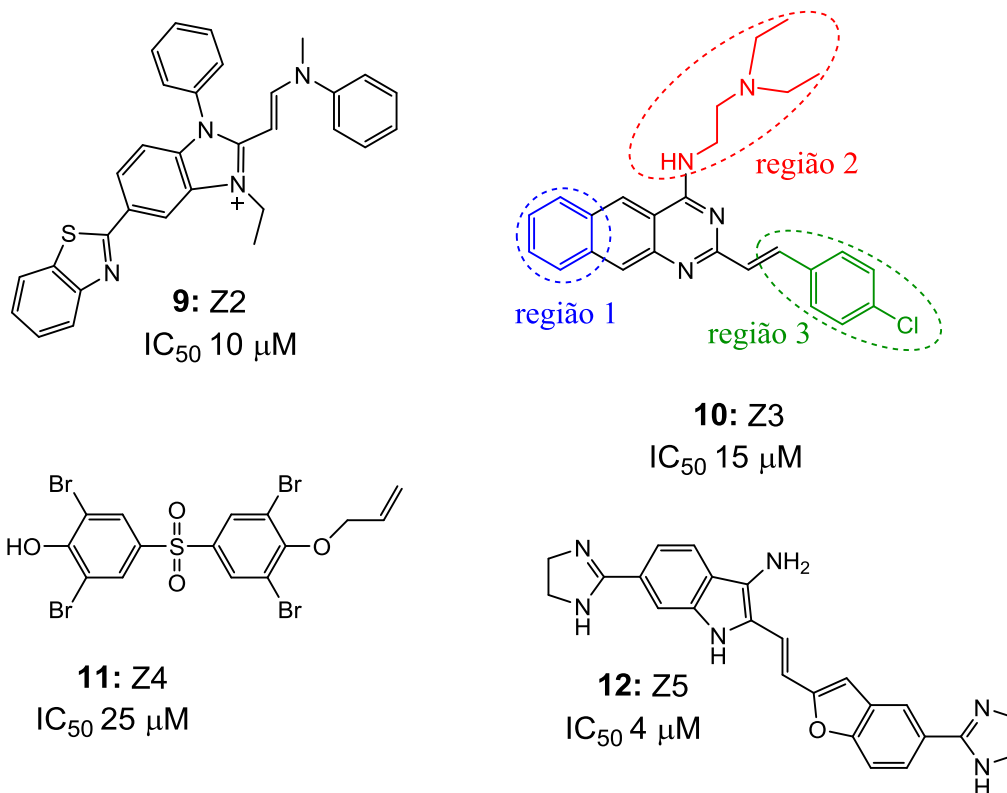


Fonte: autor.

1.3 Zantrinas

O grupo de pesquisa do professor Jared Shaw da Universidade da Califórnia Davis, iniciou um programa de avaliação biológica para estudar compostos naturais e sintéticos capazes de inibir a FtsZ. Também fez parte dos objetivos entender os mecanismos de ação das moléculas estudadas (SORTO et al., 2010). Inicialmente foram avaliados cinco compostos chamadas de zantrinas Z1 (**6**) (Figura 7), Z2–Z5 (**9–12**) (Figura 8), capazes de inibir a atividade da GTPase da FtsZ (MARGALIT et al., 2004).

Figura 8. Zantrinas Z2–Z5 e seus valores de IC₅₀ no ensaio de inibição da FtsZ.



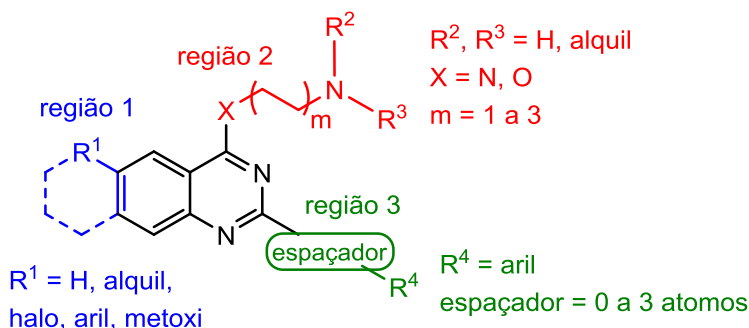
Fonte: autor.

Foi observado em experimentos *in vitro*, utilizando bactéria *Escherichia coli*, que os compostos **9–12** atuam inibindo a polimerização da FtsZ na etapa de formação do anel Z (Figura 6A), durante o processo de divisão celular, causando a diminuição do tamanho e da abundância dos protofilamentos (MARGALIT et al., 2004).

Dando continuidade às pesquisas com as zantrinas, o grupo de pesquisa coordenado pelo professor Jared Shaw, sintetizou e avaliou os derivados **9–12** (Figura 8) no ensaio utilizando a bactéria *Escherichia coli*. Estudos mostraram que entre os compostos inibidores da proteína FtsZ, a zantrina Z3 (**10**) foi a única específica para esta proteína (apesar de seu mecanismo de ação ainda ser desconhecido), além de apresentar resultados reprodutíveis na síntese e nos ensaios biológicos (IC₅₀). Por isso, foi eleita como molécula modelo para o planejamento da síntese de uma série de derivados (NEPOMUCENO et al., 2015).

Na avaliação do ensaio biológico, a zantrina Z3 (**10**) sintetizada, apresentou inibição da proteína FtsZ com IC_{50} 24 μ M, resultado bastante próximo daquele obtido por Margalit et al. (2004), comprovando a reprodutibilidade dos dados e dando suporte para a continuidade dos estudos. Em seguida, foram feitos estudos de relação estrutura e atividade (REA) que permitiram estabelecer três regiões acessíveis para modificações, região 1 (azul), 2 (vermelho) e 3 (verde) (Figura 9) (NEPOMUCENO et al., 2015).

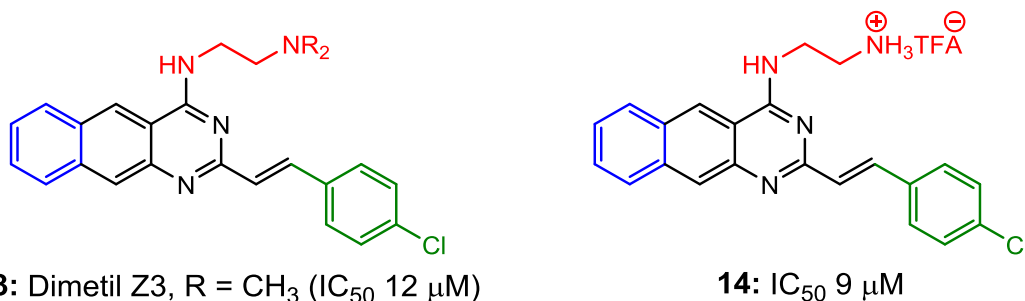
Figura 9. Núcleo zantrina e regiões para modificação estrutural.



Fonte: adaptado de NEPOMUCENO et al., 2015

Primeiramente, a região 2 (vermelho) foi modificada trocando o grupo dietil de **10** por dimetil, que resultou em um derivado duas vezes mais potente (IC_{50} 12 μ M) (**13**) (Figura 10). A partir desse resultado, foram sintetizados outros análogos com substituintes diferentes nessa região. Os valores de IC_{50} dos análogos que continham um fragmento carregado positivamente na região 2 (Figura 10), foram melhores, como pôde ser observado para o derivado **14** (IC_{50} 9 μ M), sugerindo a importância desse grupo. Foi possível observar ainda que a ausência do grupo dietil não comprometeu a atividade biológica (Figura 10) (NEPOMUCENO et al., 2015).

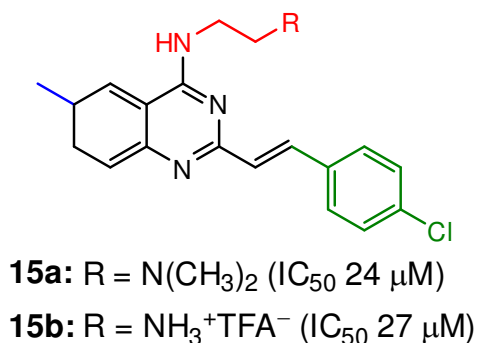
Figura 10. Análogos **13** e **14** da zantrina Z3 (**10**) modificados na região 2 (vermelha) com seus respectivos valores de IC_{50} no ensaio de inibição da FtsZ.



Fonte: autor.

Outra modificação relevante foi a substituição do anel benzeno na região 1 (azul) por uma metila (**15**) (Figura 11), que não apresentou diferença no valor de IC_{50} quando comparado com a zantrina Z3 (**10**) (Figura 10). Além disso, a presença do sal na amina primária (**15b**) da região 2 (vermelha), praticamente não alterou os resultados de IC_{50} , justificando assim que a presença do substituinte carregado positivamente nesta região não promove perda na atividade biológica (NEPOMUCENO et al., 2015).

Figura 11. Análogo **15** da zantrina Z3 (**10**) modificado na região 1 (azul) e 2 vermelha com seus respectivos valores de IC_{50} no ensaio de inibição da FtsZ.



Fonte: autor.

A partir dos resultados de IC_{50} dos análogos **14** e **15** no ensaio biológico, foram planejados derivados modificados na região 3 (verde) (Figura 9), para avaliar a influência de diferentes substituintes nesta região sobre a inibição da proteína FtsZ. Foram planejados

derivados contendo benzeno com diferentes grupos doadores e retiradores de elétrons ligados em diferentes posições do anel, além de grupos alifáticos, complementando àqueles dados já estudados e reportados por Nepomuceno e colaboradores (2015).

O presente trabalho descreve o planejamento, síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica de análogos da zantrina Z3 (**10**), modificados na região 3 (Figura 9), para avaliar a influência dos diferentes substituintes na inibição da FtsZ. Para as avaliações das atividades biológicas, o derivado **14** foi selecionado como controle positivo.

2. Objetivos

- ✓ Planejamento, síntese e caracterização de análogos da zantrina Z3 (**10**), modificados na região 3;
- ✓ Avaliação biológica dos produtos obtidos no ensaio *in vitro* de inibição da proteína FtsZ utilizando o modelo com a bactéria *Escherichia coli*.

3. Materiais e métodos

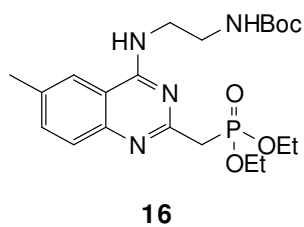
3.1 Solventes

Para as reações e procedimentos de purificação foram utilizados principalmente tetrahidrofurano, metanol e diclorometano.

3.2 Reagentes para síntese dos análogos da zantrina Z3 (**10**)

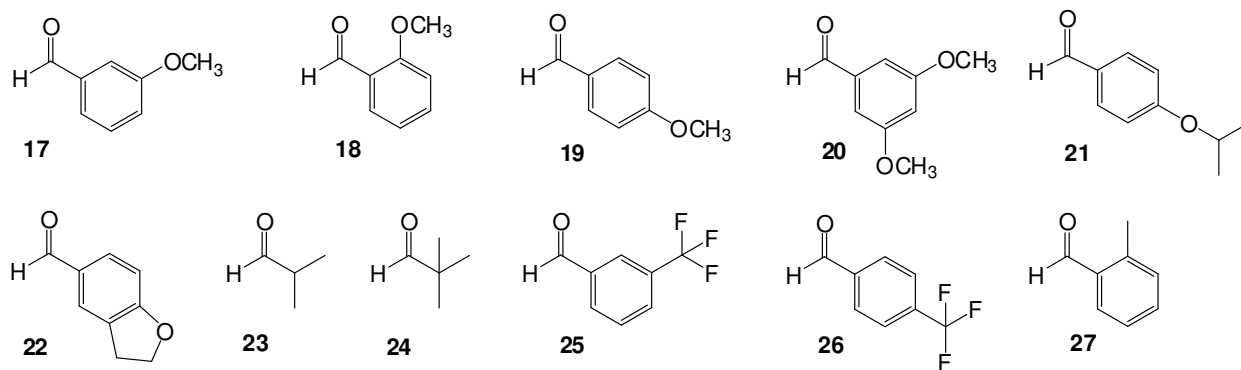
Para preparação de análogos da zantrina Z3 (**10**), foram utilizados o precursor **16** (Figura 12) e os aldeídos **17–27** (Figura 13) (Tabela 1) e hidreto de sódio (60%) disperso em óleo mineral.

Figura 12. Precursor (**16**) para preparação dos análogos (**28–38**) da zantrina Z3 (**10**).



Fonte: autor.

Figura 13. Aldeídos utilizados para preparação dos análogos (**28–38**) da zantrina Z3 (**10**) (Tabela 1).



Fonte: autor.

Tabela 1. Reagentes comerciais utilizados para síntese dos análogos da zantrina Z3 (**10**).

	Reagentes ^a	FM ^b	MM ^c	Densidade ^d
17	3-metoxibenzaldeído	C ₈ H ₈ O ₂	136,05	-
18	2-metoxibenzaldeído	C ₈ H ₈ O ₂	136,05	1,119
19	4-metoxibenzaldeído	C ₈ H ₈ O ₂	136,05	-
20	3,5-dimetoxibenzaldeído	C ₉ H ₁₀ O ₃	166,06	-
21	4-isopropoxibenzaldeído	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164,08	1,050
22	2,3-dihidrobenzofuran-5-carbaldeído	C ₉ H ₈ O ₂	148,05	-
23	Isobutiraldeído	C ₄ H ₈ O	72,06	0,790
24	2,2-dimetilpropanal	C ₅ H ₁₀ O	86,07	0,771
25	3-(trifluorometil)benzaldeído	C ₈ H ₅ F ₃ O	174,03	-
26	4-(trifluorometil)benzaldeído	C ₈ H ₅ F ₃ O	174,03	1,275
27	2-metilbenzaldeído	C ₈ H ₈ O	120,06	-

^aReagente comercial Sigma Aldrich;^bFM = Fórmula molecular;^cMM = Massa molecular (g/mol);^dDensidade (g/mL).

3.3 Cromatografia

Para a purificação dos análogos foi utilizado um equipamento para cromatografia em coluna flash da marca Teledyne ISCO CombiFlashRF+, equipado com cartuchos de sílica gel (40–63 μ m, 12,0 g, h = 8,5 cm e \varnothing = 2,3 cm). A eluição foi feita em modo gradiente (20 min.), utilizando como sistema de solvente 100% de CH₂Cl₂ até CH₂Cl₂:MeOH (95:05). Esse gradiente foi estabelecido previamente por cromatografia em camada delgada (CCD) com fase estacionária de sílica gel, avaliando o intermediário **29**, sendo que neste sistema de solventes (CH₂Cl₂:MeOH, 9,5:0,5), este composto apresentou R_f 0,29 após ser revelado com radiação UV.

3.4 Análises espectrométricas e espectroscópicas

3.4.1 Espectrometria de massas

As análises de espectrometria de massas foram realizadas utilizando um espectrômetro de massas de alta resolução com fonte de ionização por eletrospray (Waters, Micromass LTC), do departamento de química da Universidade da Califórnia, Irvine.

3.4.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

As análises de ressonância magnética nuclear foram realizadas no departamento de química da Universidade da Califórnia, Davis utilizando o equipamento espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) Bruker operando em frequências de 400 e 100 MHz para núcleos de hidrogênio e carbono, respectivamente. Os experimentos foram realizados a 20 °C, utilizando TMS como padrão interno ($\delta_{\text{TMS}} = 0,00$).

4. Procedimento experimental

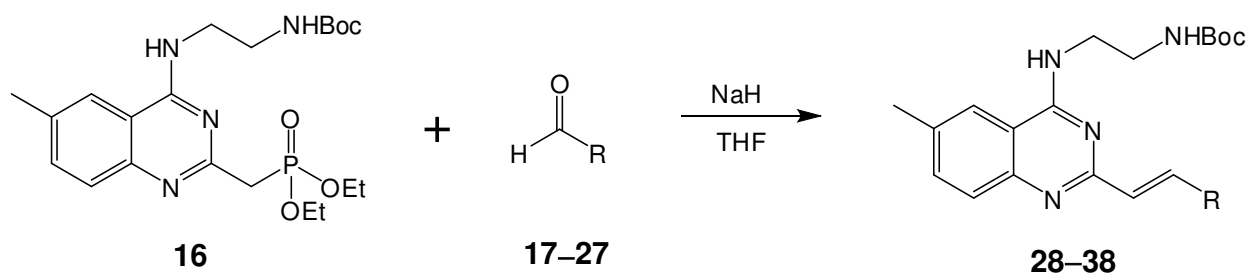
4.1 Procedimento para síntese dos análogos 39–48

4.1.1 Metodologia de síntese dos intermediários 28–38

Em um *vial* de fundo chato de 7,0 mL, sob atmosfera inerte de argônio, foram adicionados o precursor (**16**), um dos aldeídos (Figura 14) (Tabela 1) e o solvente tetrahidrofurano (Tabela 2). Esta solução foi resfriada a 0 °C para adição do NaH, e em seguida foi mantida à 25 °C por 24 h. A reação foi finalizada com adição de água (10,0 mL) e submetida à extração líquido-líquido com diclorometano (3 × 7,0 mL). As fases orgânicas foram agrupadas e o resíduo de água foi retirado com o auxílio de Na₂SO₄ anidro. Em seguida o solvente foi destilado sob pressão reduzida em rotaevaporador para obtenção dos intermediários **28–38**.

Estes compostos foram purificados por cromatografia flash utilizando um equipamento Teledyne ISCO CombiFlashRf+. As amostras foram aplicadas no cartucho de sílica gel (40–63 μm) (12,0 g, h = 0,85 cm e \varnothing = 0,23 cm). A eluição foi feita em modo gradiente (20 min.), utilizando como sistema de solvente 100% de CH₂Cl₂ até CH₂Cl₂:MeOH (95:05).

Figura 14. Reação para preparação dos intermediários (28–38) protegidos.



Fonte: autor.

Tabela 2. Dados das reações para preparação dos intermediários protegidos (**28–38**).

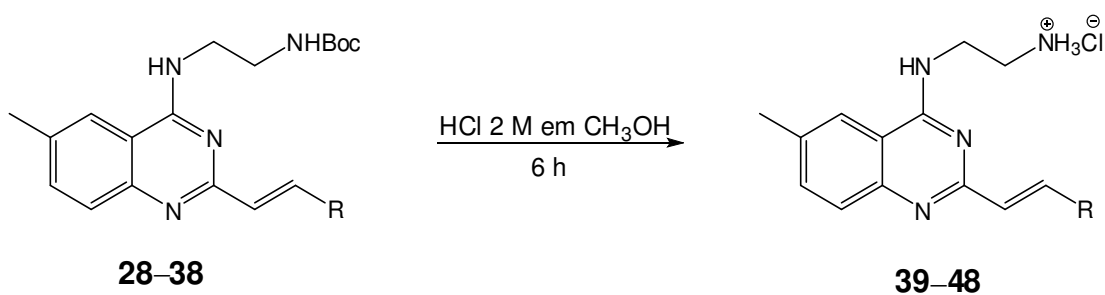
Intermediários	Precursor (12)		Aldeído			NaH		THF	Massa teórica	Massa obtida ^b	Rendimento
	mg	mmol	n. ^a	mg	mmol	mg	mmol	mL	mg	mg	%
28	100,0	0,22	17	39,4	0,29	13,0	0,33	2,20	95,60	94,0	98
29	75,0	0,17	18	29,4	0,22	26,6	0,66	1,66	72,13	60,0	83
30	100,0	0,22	19	39,4	0,29	13,0	0,33	2,20	102,21	57,0	60
31	100,0	0,22	20	48,2	0,29	13,0	0,33	2,20	102,20	73,0	71
32	100,0	0,22	21	45,3	0,29	13,0	0,33	2,20	92,10	56,0	61
33	100,0	0,22	22	43,0	0,29	13,0	0,33	2,20	98,24	73,0	74
34	75,0	0,17	23	15,9	0,22	26,6	0,66	1,66	61,50	41,5	67
35	75,0	0,17	24	19,0	0,22	26,6	0,66	1,66	63,83	56,6	89
36	100,0	0,22	25	50,0	0,29	13,0	0,33	2,20	103,95	78,0	75
37	100,0	0,22	26	50,0	0,29	13,0	0,33	2,20	103,95	90,0	87
38	100,0	0,22	27	35,0	0,29	13,0	0,33	2,20	92,0	61,5	67

^aOs aldeídos utilizados estão descritos na Figura 8, Tabela 1; ^bMassa obtida após purificação por CC.

4.1.2 Metodologia para desproteção dos intermediários 28–38 e obtenção dos análogos 39–48.

Em um *vial* de fundo chato de 7,0 mL, sob atmosfera inerte de argônio, os intermediários protegidos 28–38 (Tabela 2) foram dissolvidos em uma solução de HCl 2 M (0,28 mL) em CH₃OH (1,72 mL) e a reação foi mantida sob agitação por 6 h (Figura 15). Os produtos (39–48) (Tabela 3) foram confirmados por técnicas espectroscópicas (RMN) e espectrométricas (EM).

Figura 15. Desproteção dos intermediários para obtenção dos produtos 39–48.



Fonte: autor.

Tabela 3. Dados das reações de desproteção dos intermediários para obtenção dos produtos **39–48**.

Produto	Intermediário			HCl 2M em CH ₃ OH	Massa teórica	Massa obtida	Rendimento
	n. ^a	mg	mmol	mL	mg	mg	%
39	28	20,0	0,046	0,92	17,0	12,0	70
-	29^b	-	-	-	-	-	-
40	30	20,0	0,046	0,86	16,0	24,0	100
41	31	31,0	0,067	1,33	26,7	27,5	100
42	32	26,0	0,059	1,20	23,5	22,0	93
43	33	20,0	0,046	0,92	17,2	17,5	100
44	34	25,0	0,166	1,35	20,5	26,0	100
45	35	11,0	0,029	0,57	9,3	12,4	100
46	36	27,0	0,060	1,20	24,4	39,0	100
47	37	20,0	0,042	0,85	17,3	14,0	81
48	38	20,0	0,048	0,95	17,0	13,0	76

^aOs intermediários utilizados estão descritos Tabela 2; ^bNão foi realizada a reação de desproteção desse intermediário.

5. Resultados e discussões

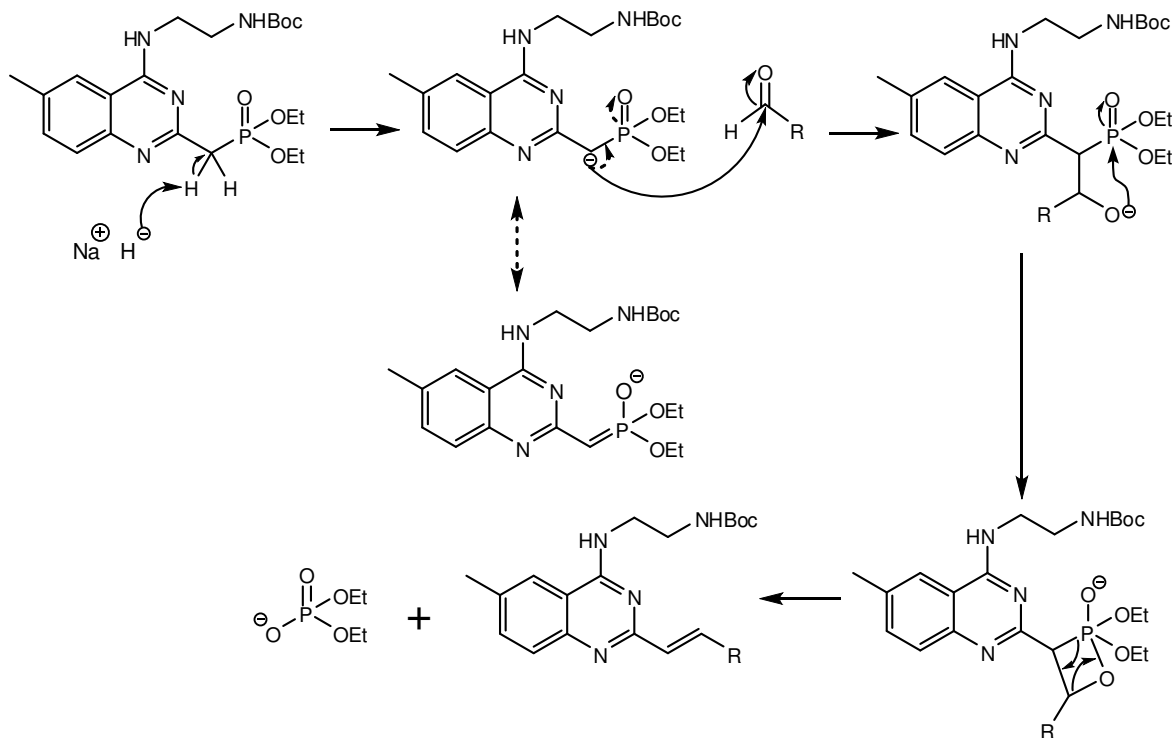
5.1 Síntese dos análogos (39–48) da zantrina Z3(10)

5.1.1 Preparação dos intermediários 28–38

Para obtenção dos intermediários **28–38**, foi utilizado o precursor **16** (Figura 13), que foi sintetizado pelo aluno de pós graduação Ed Balmond orientado pelo professor Jared Shaw. O precursor apresenta as melhores características dos derivados da zantrina Z3 (**10**), que apresentaram os melhores valores de IC₅₀, que são a metila na região 1 (**15**) e um substituinte carregado positivamente na região 2 (**14**). Porém, para que a primeira etapa da síntese favoreça uma reação estero e regioseletiva na região 3, foi necessário proteger a região 2 com um grupo Boc para que na segunda etapa da síntese houvesse a clivagem desse grupo e a obtenção de um substituinte carregado positivamente.

A presença do grupo fosfonato na região 3 foi escolhida para favorecer o mecanismo de reação Horner-Wadsworth-Emmons, em que o produto principal é um alceno com estereoisomeria *E*, de forma que os grupos volumosos ficam distantes um do outro, sendo mais estável por possuir menor impedimento estérico. A reação segue esse mecanismo pois o fosfonato faz com que os hidrogênios do carbono na posição alfa (α) sejam ácidos, já que quando um deles for retirado por uma base forte, haverá formação de uma base conjugada fraca, estabilizada por ressonância. Portanto, na presença de NaH, insolúvel em tetrahidrofurano e menos reativa em baixas temperaturas (0 °C), um dos hidrogênios α é retirado formando um carbânion, espécie nucleofílica, que ataca o aldedido, eletrofílico, presente no meio reacional, promovendo condições para a reação com o mecanismo proposto por Horner-Wadsworth-Emmons (Figura 16).

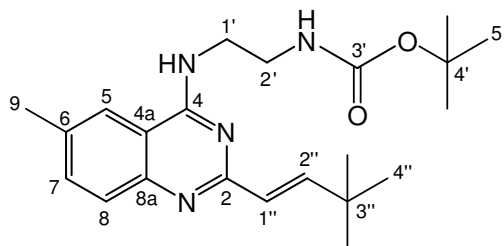
Figura 16. Mecanismo Horner-Wadsworth-Emmons para preparação dos intermediários **28–38** protegidos.



Fonte: autor.

Os intermediários protegidos **28–38** foram submetidos à análise por espectrometria de massas de alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer suas fórmulas moleculares e compará-las com a do precursor **16**, indicando que a reação ocorreu. Além disso, foi feita análise por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono para posterior comparação com os produtos **39–48** desprotegidos.

5.1.2 Caracterização dos intermediários 28–38



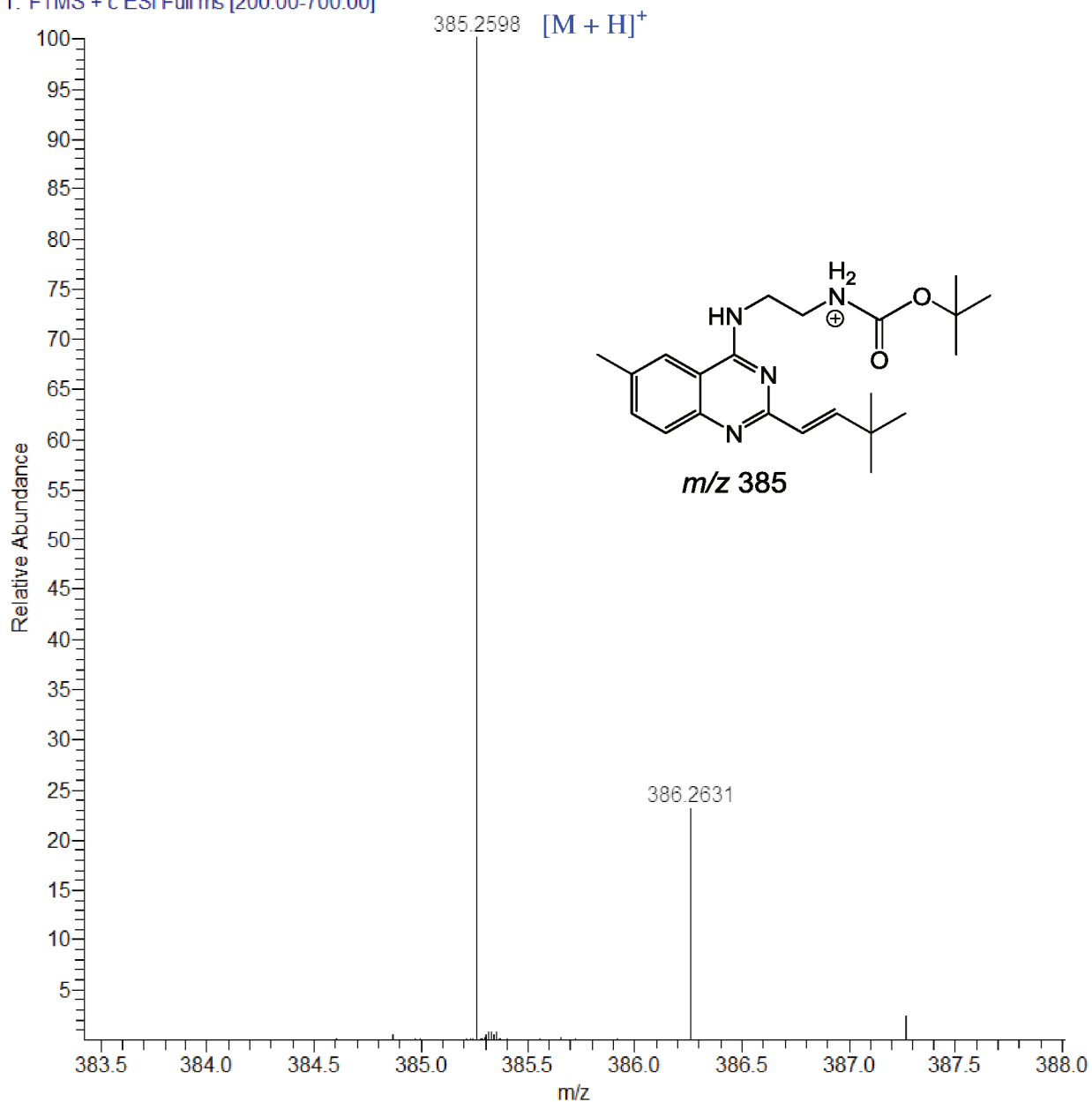
35

O intermediário **35** foi selecionado para discussão da caracterização por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , por apresentar o conjunto de espectros com melhor qualidade, sendo referência para as demais determinações estruturais.

A análise do intermediário **35** por espectrometria de massas em alta resolução, modo positivo, possibilitou estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_2$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a nove. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 385,2598 $[\text{M} + \text{H}^+]$, calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_2$, 385,2598 (Δ 0,0 ppm) (Figura 17).

Figura 17. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **35**.

ACCM_I_017 #42-51 RT: 0.38-0.47 AV: 10 NL: 1.22E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]



A análise do espectro de RMN de ^1H (Figuras 18–20) do intermediário **35** permitiu observar sinais que caracterizam a quinazolina trissubstituída. Na região de absorção dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos, foram observados: um singlete largo em δ 7,48 (1H), atribuído ao H-5, um duplo dubleto em δ 7,52 (1H, $J = 8,5; 1,8$ Hz), atribuído ao H-7 e um

dubleto em δ 7,66 (1H, $J = 8,5$ Hz), atribuído ao H-8. Tendo em vista o conhecimento prévio dos substituintes no C-4 e C-6, a análise do espectro de RMN ^1H permitiu observar dois quadrupletos em δ 3,79 (2H, $J = 4,9$ Hz, H-1') e 3,54 (2H, $J = 4,9$ Hz, H-2') e um singleto em 1,44 (9H, H-5'), característico do grupo *t*-butila, que confirmam a natureza do primeiro substituinte. A metila ligada ao C-6 foi confirmada pelo singleto em δ 2,46 (3H, H-9). O substituinte ligado ao C-2, inserido a partir da reação de Horner-Wadsworth-Emmons, foi caracterizado pela presença de dois dubletos em δ 7,19 (1H, $J = 15,7$ Hz, H-1'') e 6,46 (1H, $J = 15,7$ Hz, H-2''), e um singleto em 1,17 (9H, H-4''), característico do grupo *t*-butila.

Figura 18. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **35** (CDCl_3 , 400 MHz).

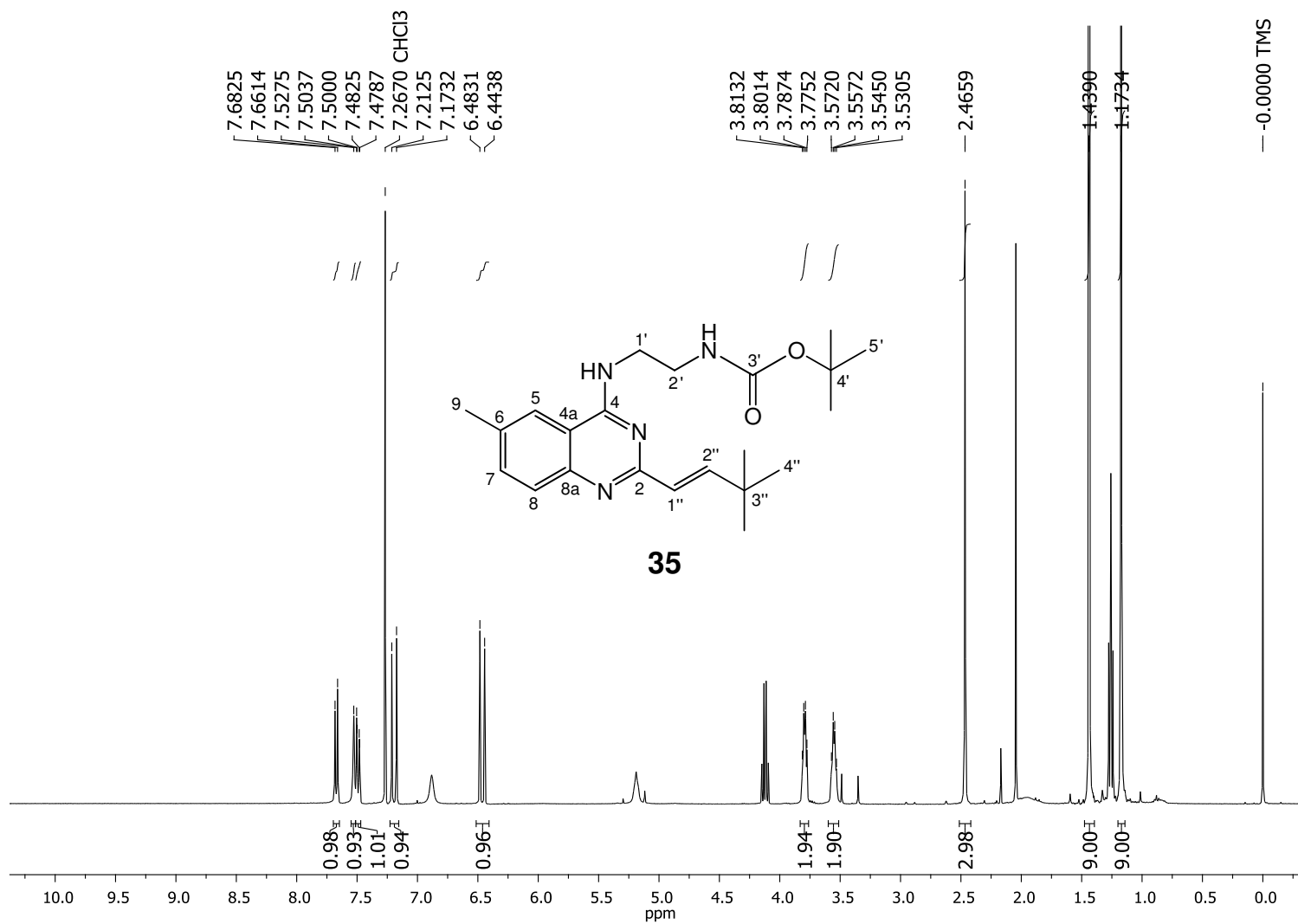


Figura 19. Ampliação do espectro da Figura 18 (δ 0,0–3,8) do intermediário **35**.

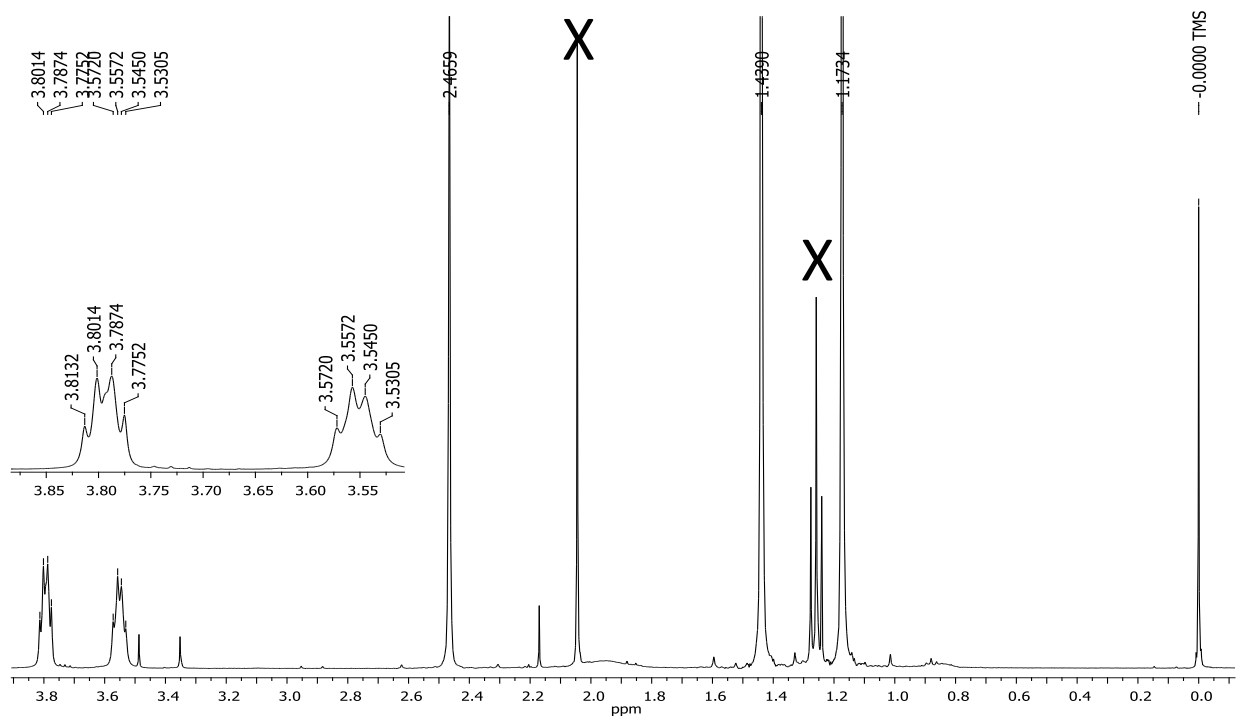
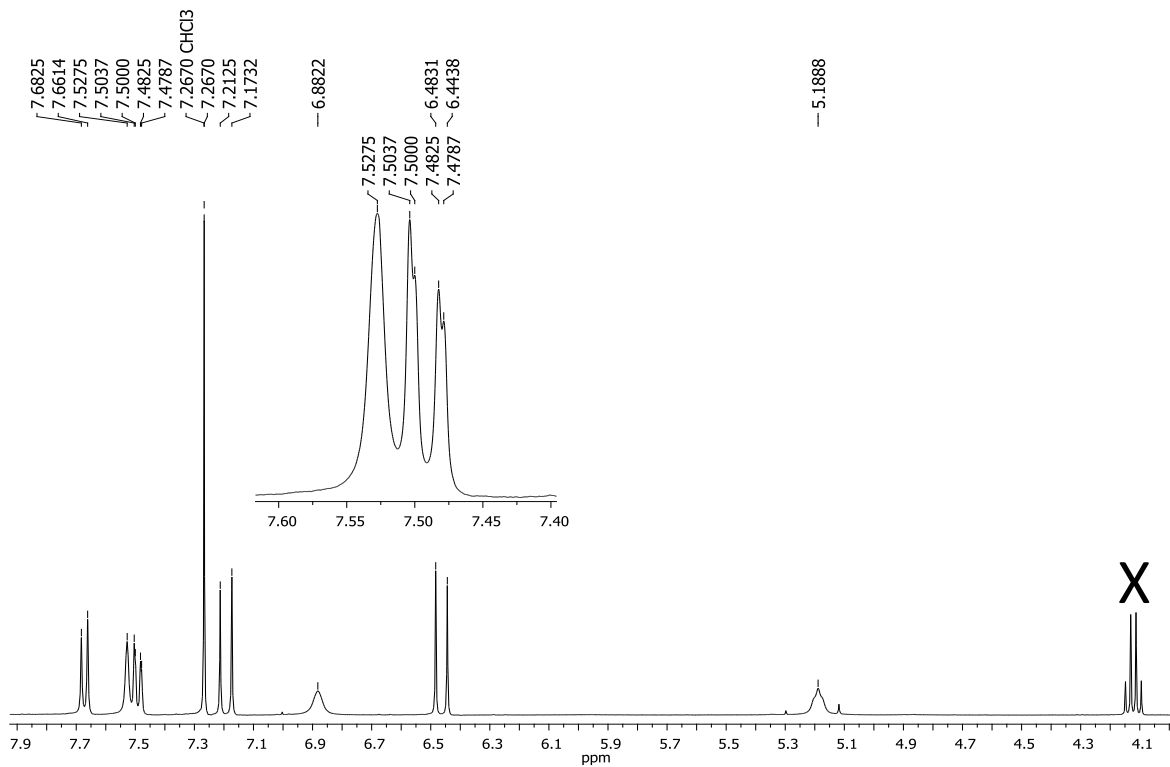
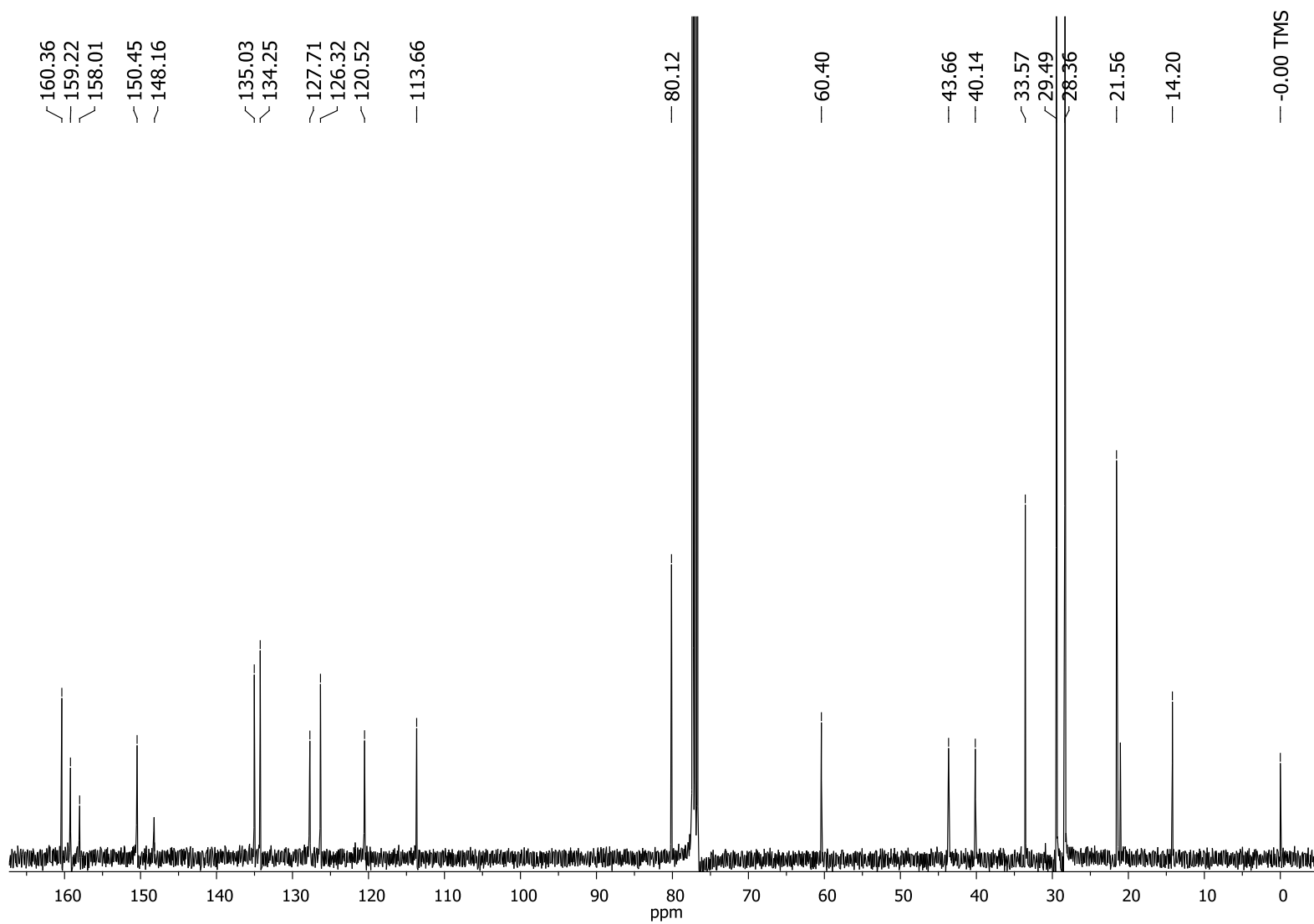


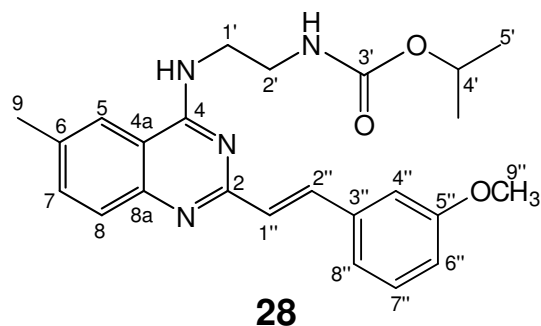
Figura 20. Ampliação do espectro da Figura 18 (δ 4,0–7,9) do intermediário **35**.



No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 21) foram observados dezoito sinais, dos quais cinco são referentes à carbonos aromáticos trissubstituídos observados em δ 160,4 (C-2), 159,2 (C-4), 150,4 (C-8a), 135,0 (C-6) e 113,7 (C-4a), três são referentes a carbonos aromáticos secundários em δ 134,4 (C-7), 127,7 (C-8), 126,3 (C-5), uma carbonila em δ 158,0 (C-3'), dois carbonos olefínicos em δ 148,2 (C-2''), 120,5 (C-1''), dois carbonos primários dissubstituídos em δ 43,7 (C-1'), 40,14 (C-2'), dois carbonos quaternários em δ 80,1 (C-4') e 33,6 (C-3''), e três metilas em δ 29,5 (3C-4''), 28,4 (3C-5') e 21,6 (C-9). As atribuições foram feitas com base na comparação dos dados experimentais com aqueles teóricos obtidos dos programas ChemDraw v.10 e Mestre Nova.

Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C do intermediário **35** (CD_2Cl_2 , 100 MHz).





Intermediário (28): sólido branco (94,0 mg); EM-IES-(+) m/z 435,2412 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₃₁N₄O₃, 435,2391 (Δ 4,8 ppm); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,94 (1H, d, J = 15,8 Hz, H-2''), 7,71 (1H, d, J = 8,5 Hz, H-8), 7,56 (1H, sl, H-5), 7,52 (1H, dd, J = 8,5; 1,5 Hz, H-7), 7,27 (1H, dd, J = 8,0 Hz, H-7''), 7,21 (1H, d, J = 15,8 Hz, H-1''), 7,21 (1H, sl, H-4''), 6,95 (1H, m, H-8''), 6,87 (1H, ddd, J = 8,3; 2,4; 0,8 Hz, H-6''), 3,83 (2H, q, J = 4,9 Hz, H-1'), 3,83 (3H, s, H-9''), 3,58 (2H, q, J = 4,9 Hz, H-2'), 2,48 (3H, s, H-9), 1,44 (9H, s, 3CH₃, H-5'); RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ 159,9 (C, C-2), 159,1 (C, C-4), 159,8 (C, C-5''), 158,0 (C, C-3'), 148,3 (C, C-8a), 138,5 (C, C-3''), 136,5 (C, C-6), 135,4 (CH, C-7), 134,4 (CH, C-2''), 129,6 (CH, C-7''), 129,5 (CH, C-8), 127,8 (CH, C-1''), 120,6 (CH, C-5), 120,4 (CH, C-8''), 114,8 (CH, C-6''), 111,9 (C, C-4a), 80,14 (C, C-4'), 55,2 (CH₃, C-9''), 43,8 (CH₂, C-1'), 40,2 (CH₂, C-2'), 28,4 (3CH₃, C-5'), 21,6 (CH₃, C-9).

Figura 22. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **28**.

ACCM I_005 #14-27 RT: 0.13-0.25 AV: 14 NL: 3.18E8
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

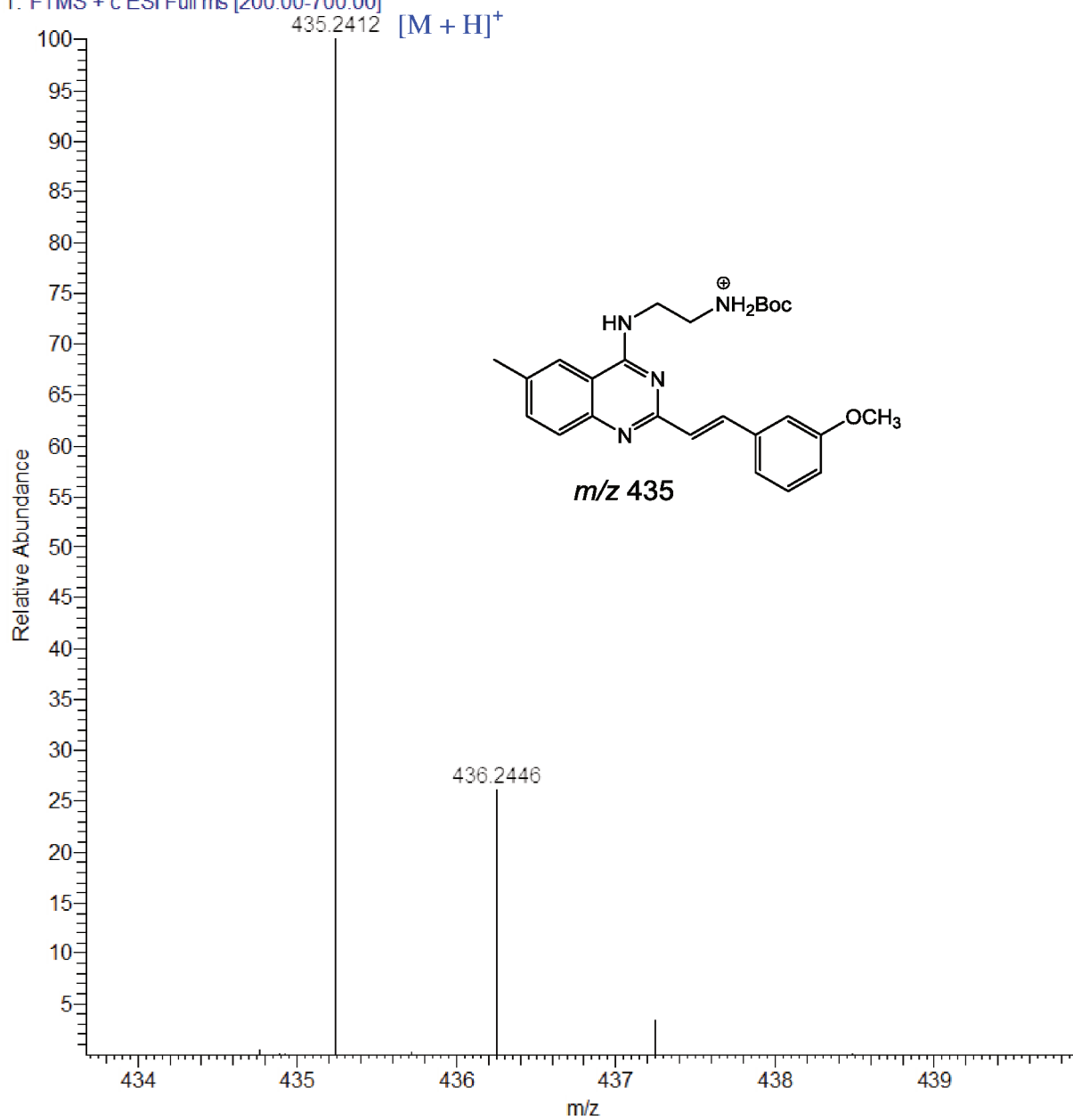


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **28** (CDCl_3 , 400 MHz).

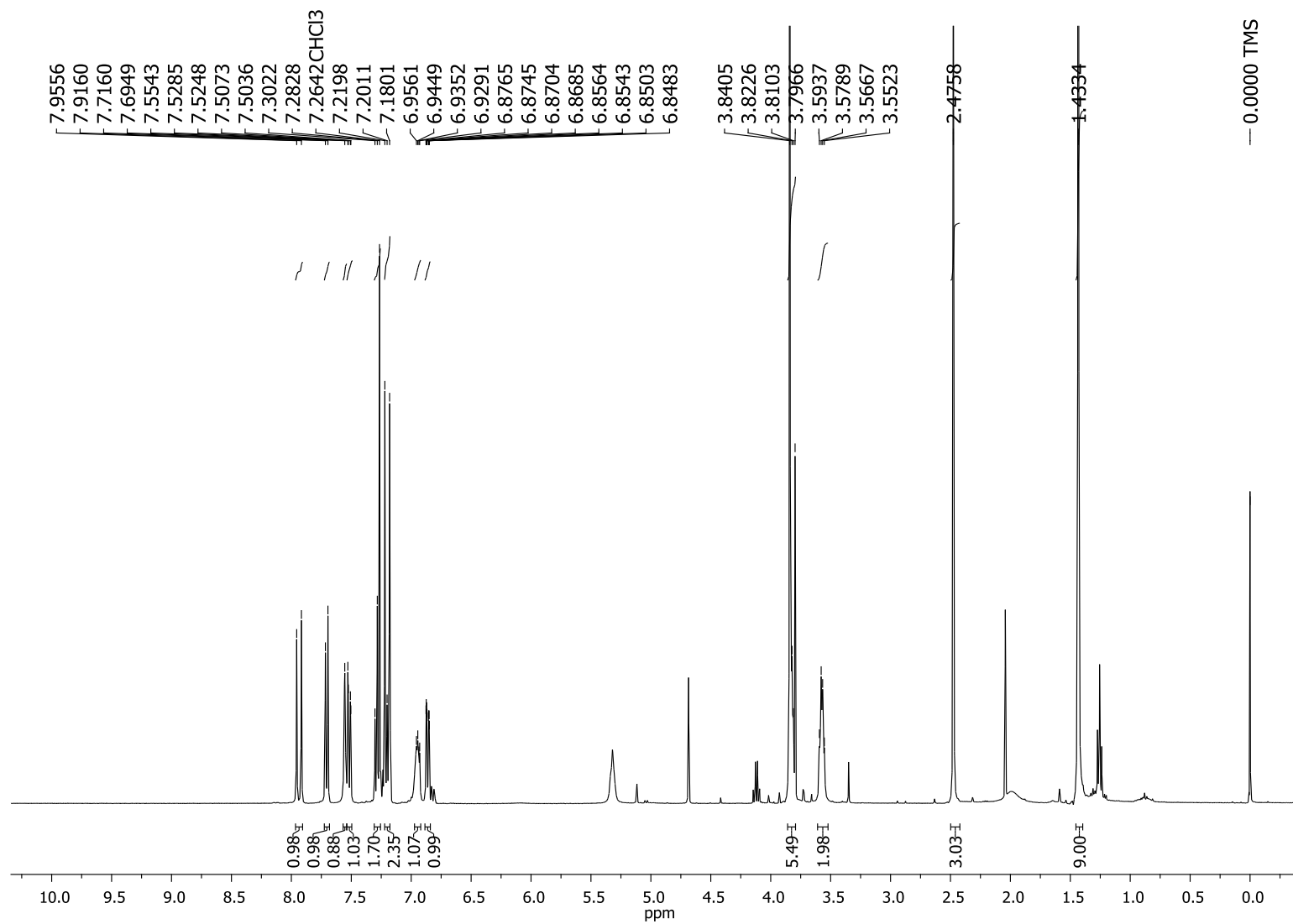


Figura 24. Ampliação do espectro da Figura 23 (δ 0,0–4,0) do intermediário **28**.

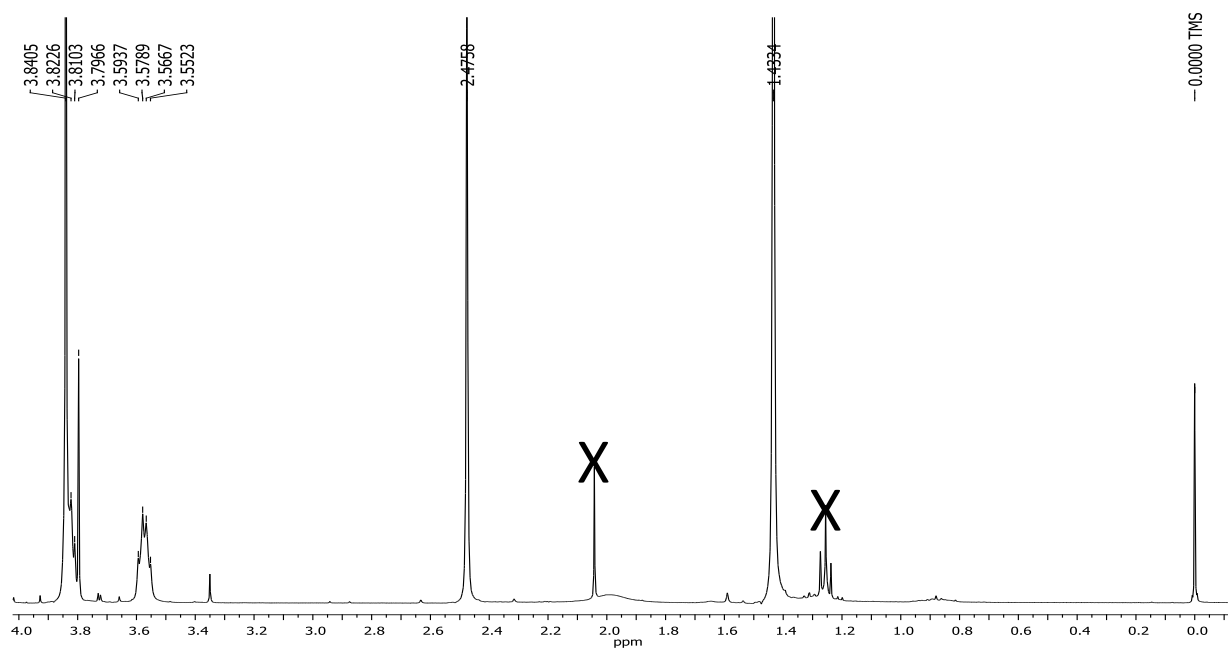


Figura 25. Ampliação do espectro da Figura 23 (δ 6,8–8,0) do intermediário **28**.

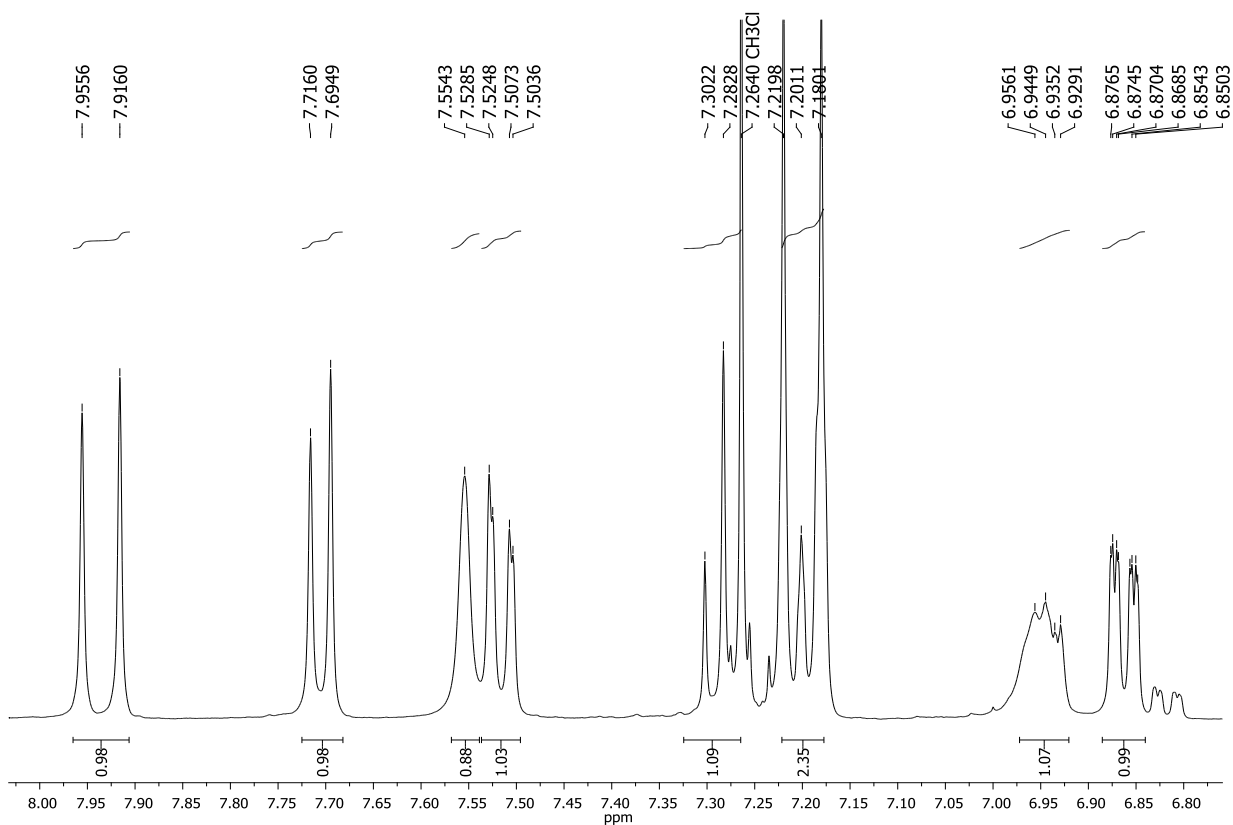
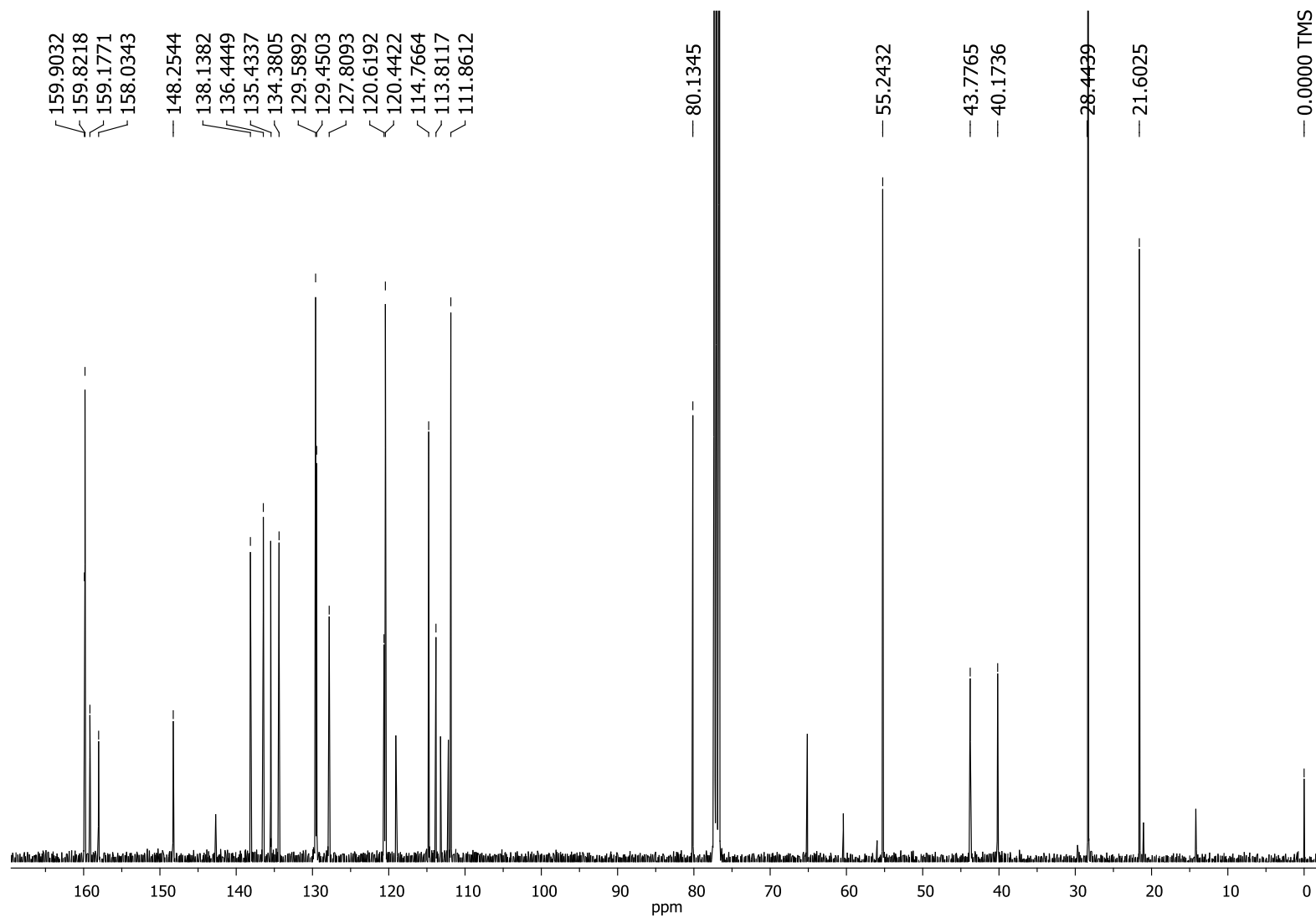
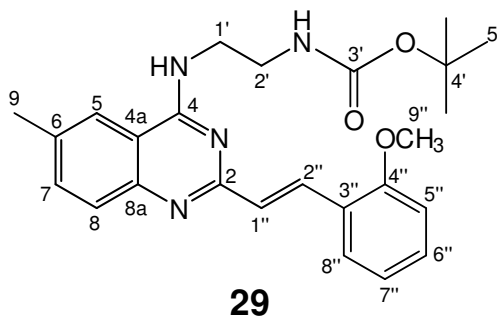


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C do intermediário **28** (CDCl_3 , 100 Hz).





Intermediário (29): sólido branco (60,0 mg); EM-IES-(+) m/z 435,2395 $[M + H]^+$, calculado para $C_{25}H_{31}N_4O_3$, 435,2391 (Δ 0,9 ppm); RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8,31 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-2''), 7,71 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-8), 7,68 (1H, dd, $J = 8,0; 1,6$ Hz, H-7), 7,53 (1H, sl, H-5), 7,50–7,53 (2H, m, H-6'' e H-8''), 7,26 (1H, d, $J = 16$ Hz, H-1''), 6,98 (1H, dd, $J = 7,8$ Hz, H-7''), 6,92 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-5''), 3,90 (3H, s, H-9''), 3,85 (2H, q, $J = 5,9$ Hz, H-1'), 3,60 (2H, q, $J = 5,9$ Hz, H-2'), 2,5 (3H, s, H-9), 1,44 (9H, s, 3CH₃, H-5').

Figura 27. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **29**.

ACCM_I_002 #14-25 RT: 0.13-0.23 AV: 12 NL: 7.33E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

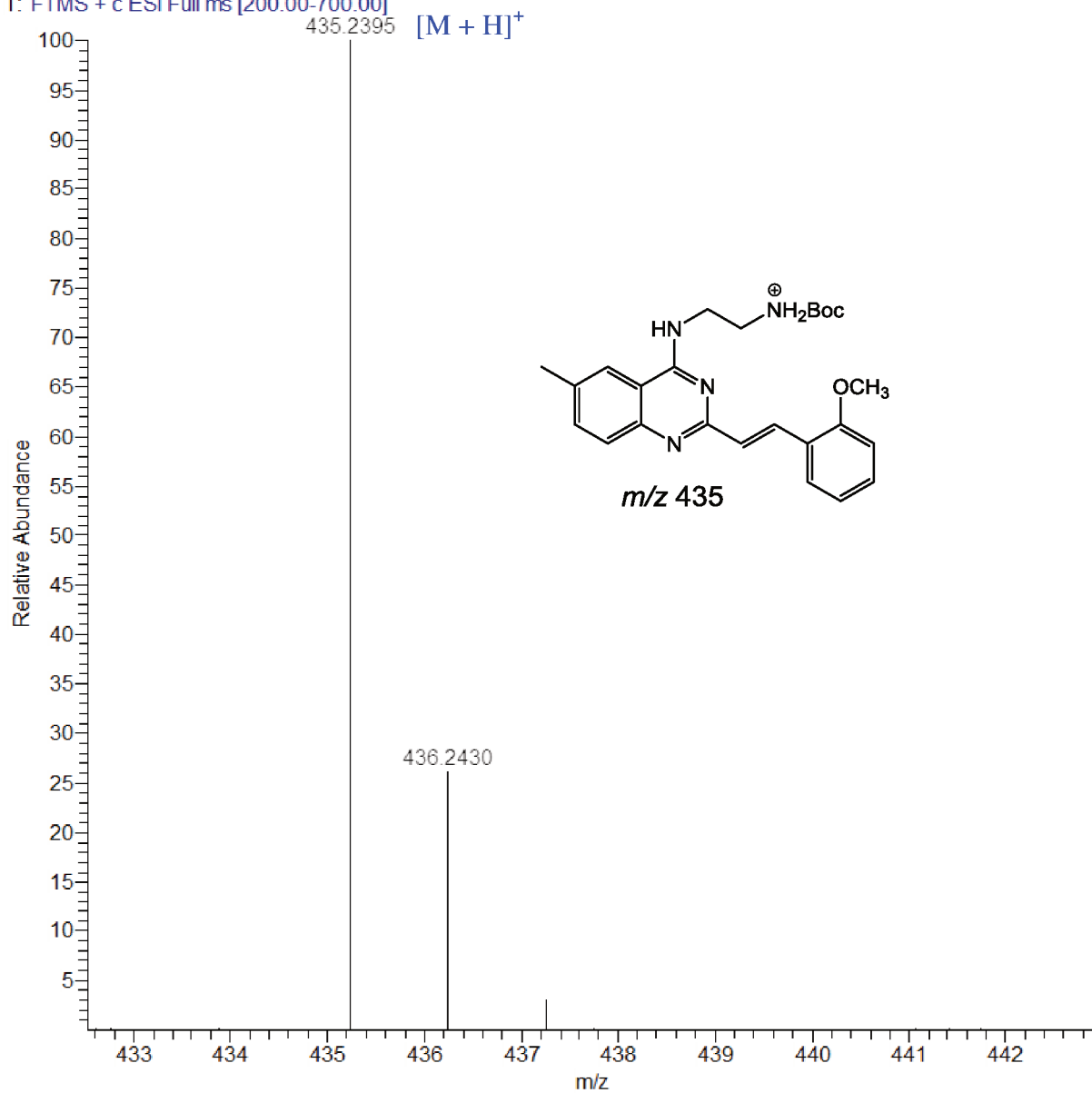


Figura 28. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **29** (CDCl_3 , 400 MHz).

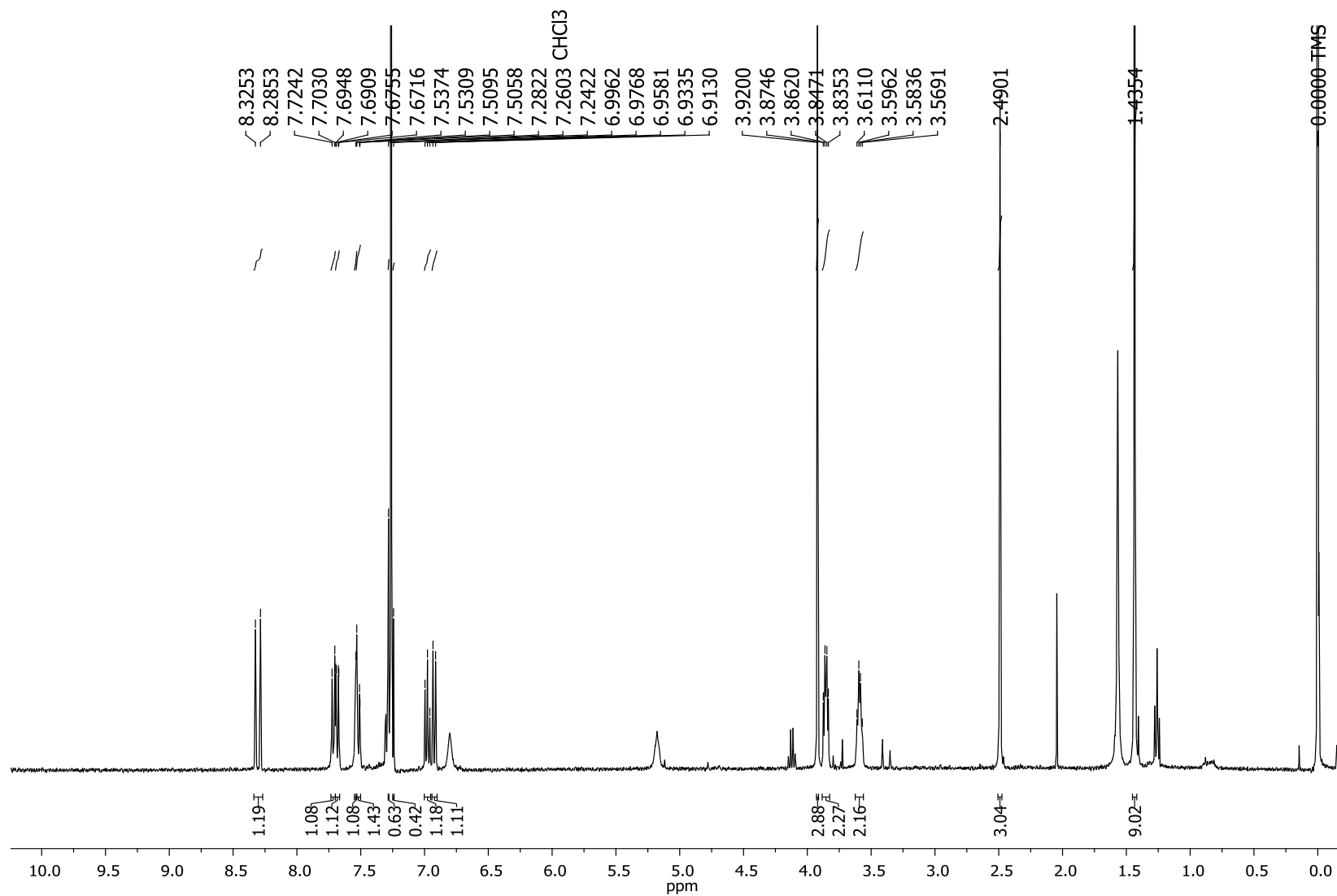


Figura 29. Ampliação do espectro da Figura 28 (δ 0,0–4,0) do intermediário **29**.

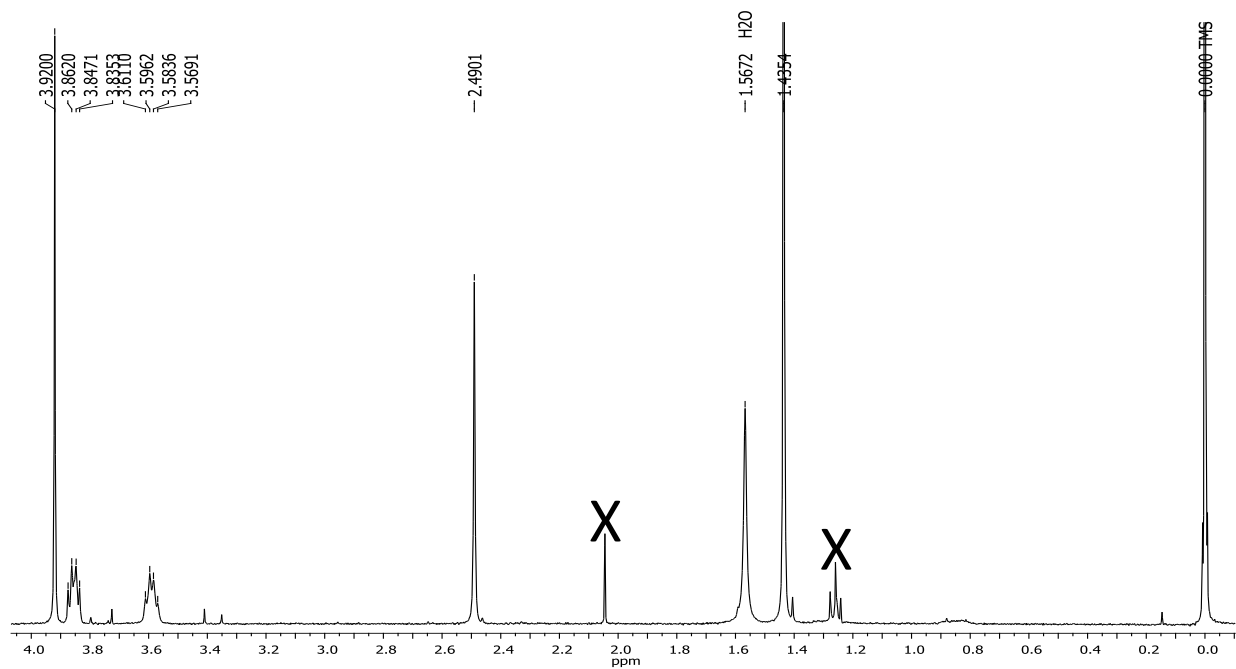
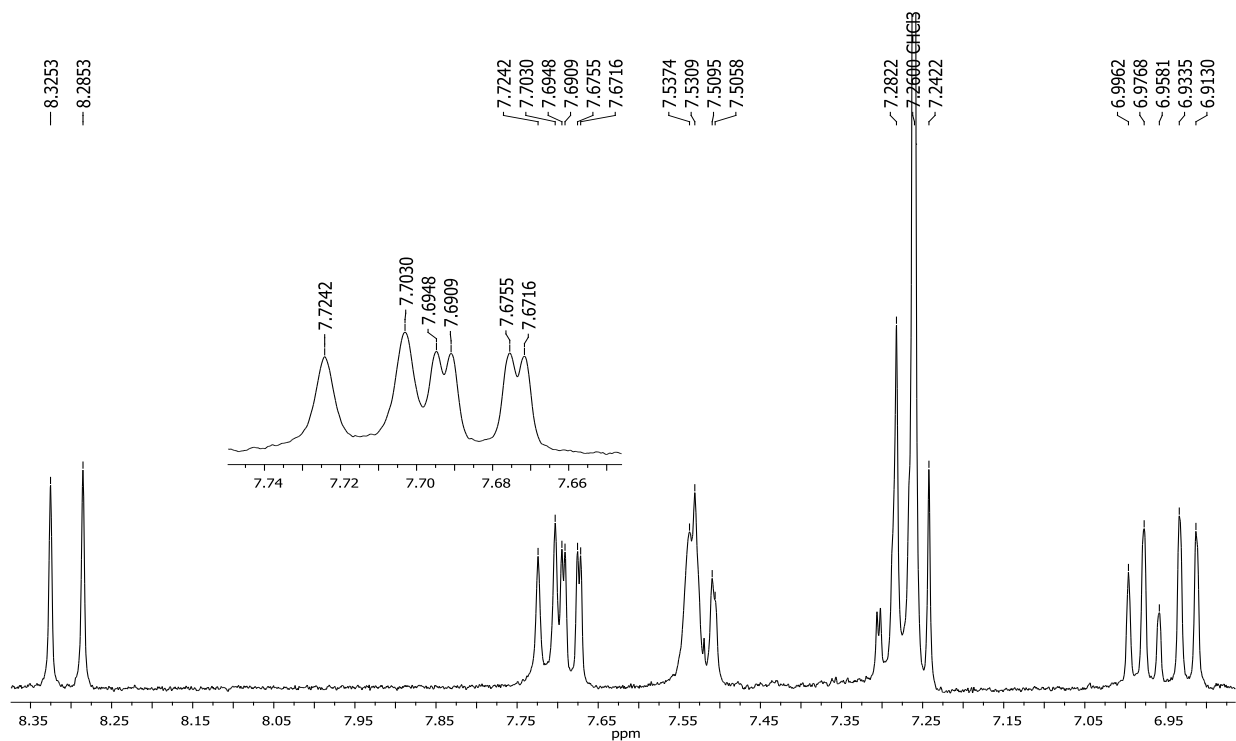
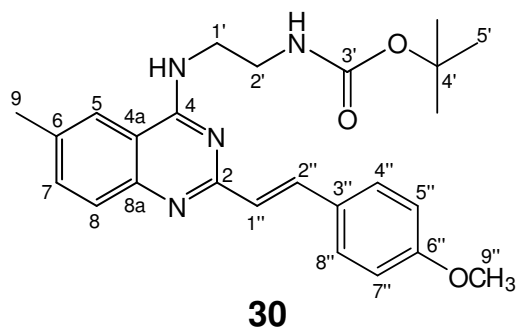


Figura 30. Ampliação do espectro da Figura 28 (δ 6,8–8,4) do intermediário **29**.





Intermediário (30): sólido branco (57,0 mg); EM-IES-(+) m/z 435,2405 $[M + H]^+$, calculado para $C_{25}H_{31}N_4O_3$, 435,2391 (Δ 3,2 ppm); RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7,96 (1H, d, $J = 15,8$ Hz, H-2''), 7,72 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-8), 7,60 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, H-4'' e H-8''), 7,56 (1H, sl, H-5), 7,54 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-7), 7,11 (1H, d, $J = 15,8$ Hz, H-1''), 6,94 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, H-5'' e H-7''), 3,86 (2H, q, $J = 5,6$ Hz, H-1'), 3,84 (3H, s, H-9''), 3,61 (2H, q, $J = 5,6$ Hz, H-2'), 2,48 (3H, s, H-9), 1,46 (9H, s, 3CH₃, H-5').

Figura 31. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **30**.

ACCM_I_066 #15-23 RT: 0.14-0.21 AV: 9 |NL: 3.02E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

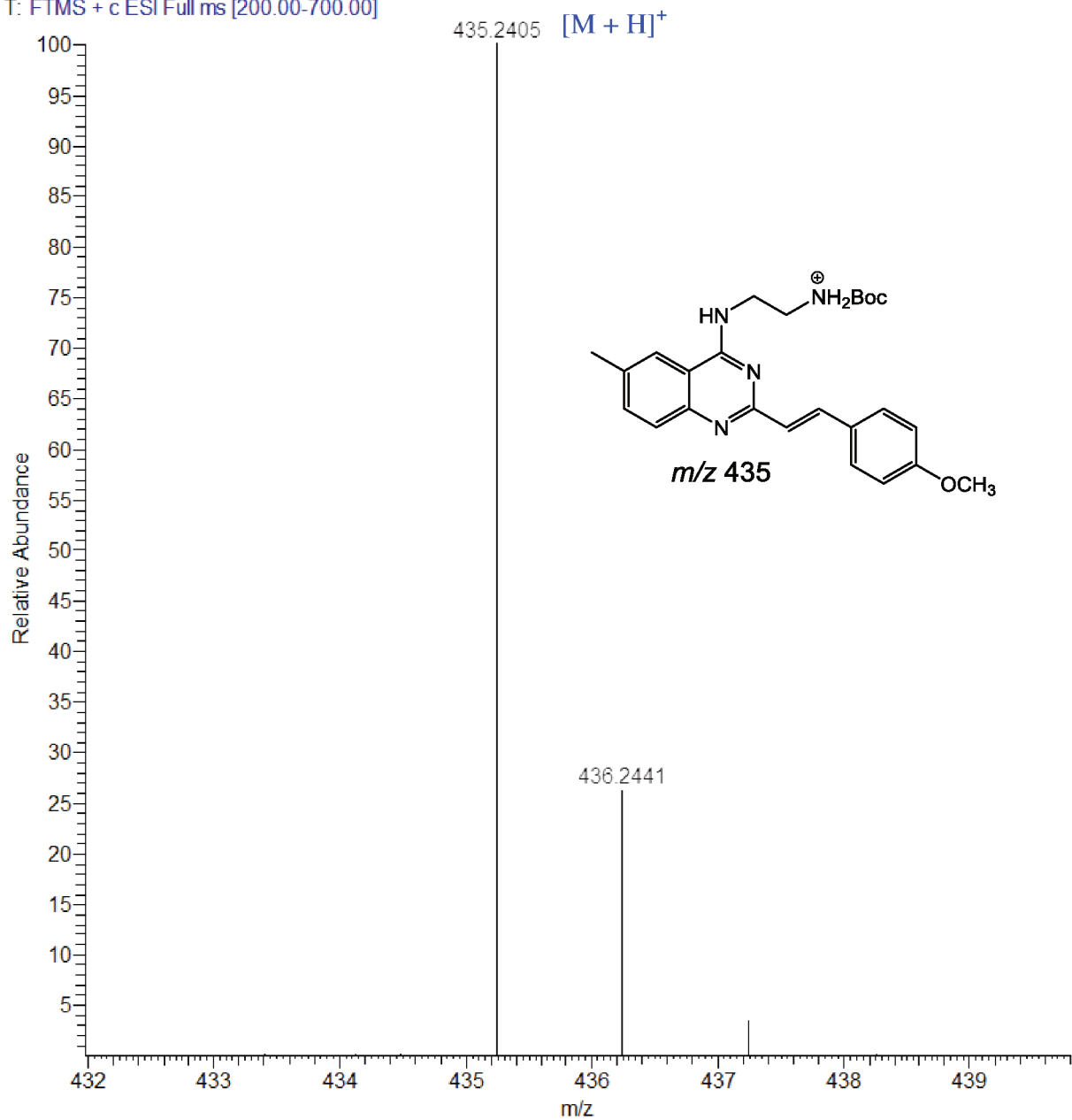


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **30** (CDCl_3 , 400 MHz).

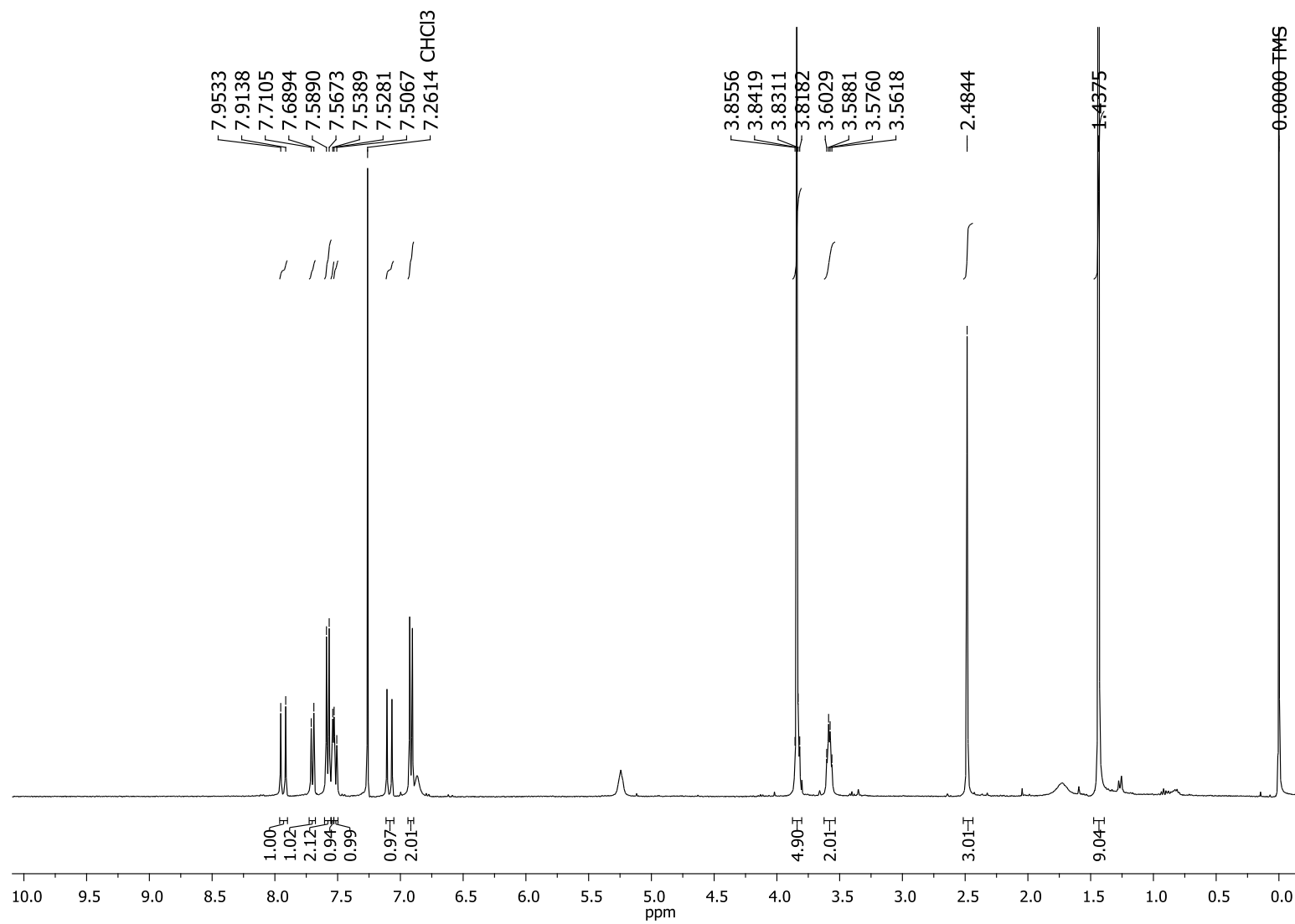


Figura 33. Ampliação do espectro da Figura 32 (δ 0,0–3,8) do intermediário **30**.

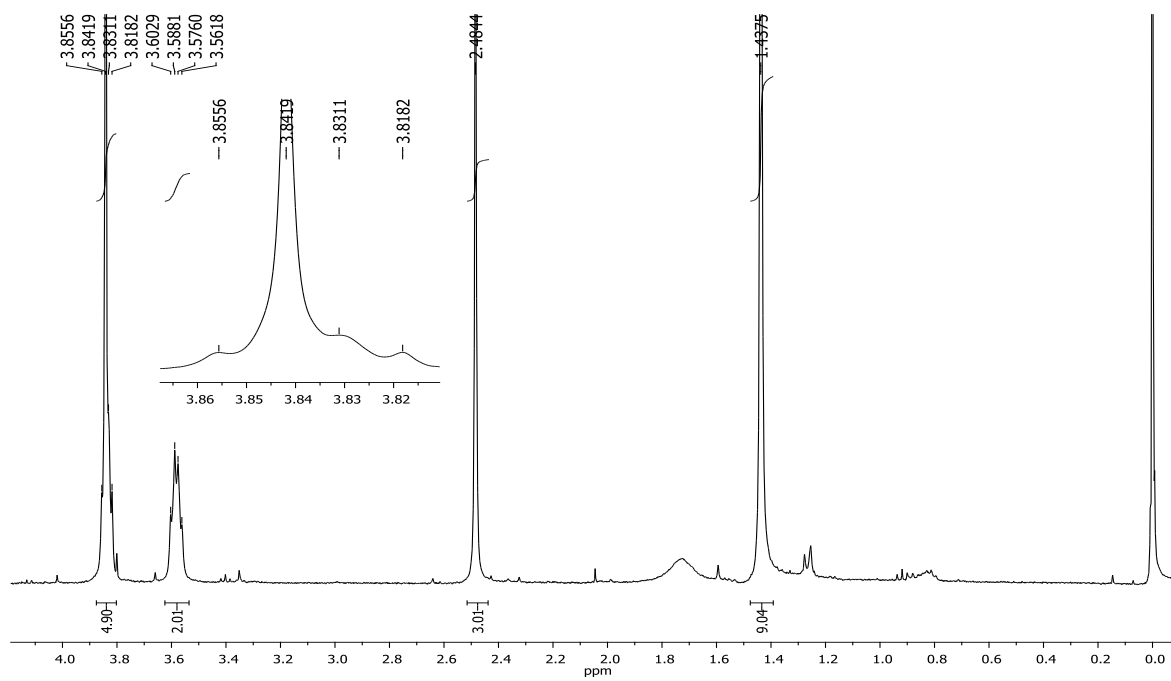
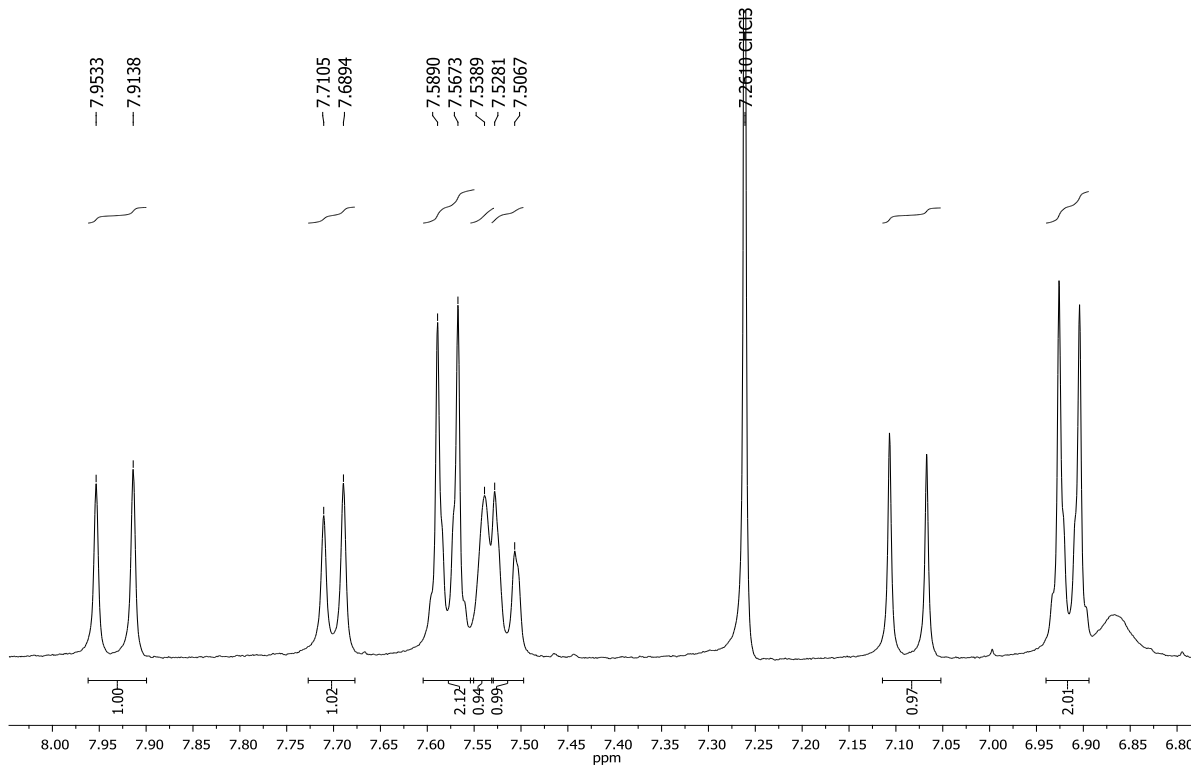
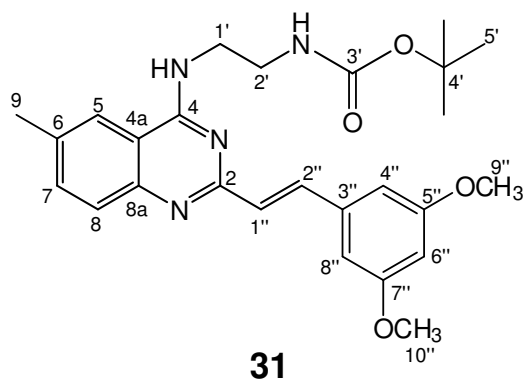


Figura 34. Ampliação do espectro da Figura 32 (δ 6,8–8,0) do intermediário **30**.





Intermediário (31): sólido branco (73,0 mg); EM-IES-(+) m/z 465,2513 $[M + H]^+$, calculado para $C_{26}H_{33}N_4O_4$, 465,2496 (Δ 3,7 ppm); RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7,89 (1H, d, $J = 15,8$ Hz, H-2''), 7,71 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-8), 7,56 (1H, sl, H-5), 7,52 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-7), 7,19 (1H, d, $J = 15,8$ Hz, H-1''), 6,80 (2H, d, $J = 2,1$ Hz, H-4'' e H-8''), 6,44 (1H, dd, $J = 2,1$ Hz, H-6''), 3,85 (2H, m, H-1'), 3,82 (6H, s, 2CH₃, H-9'' e H-10''), 3,61 (2H, q, $J = 5,6$ Hz, H-2'), 2,50 (3H, s, H-9), 1,44 (9H, s, 3CH₃, H-5').

Figura 35. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **31**.

ACCM_I_006 #16-30 RT: 0.15-0.28 AV: 15 NL: 3.66E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

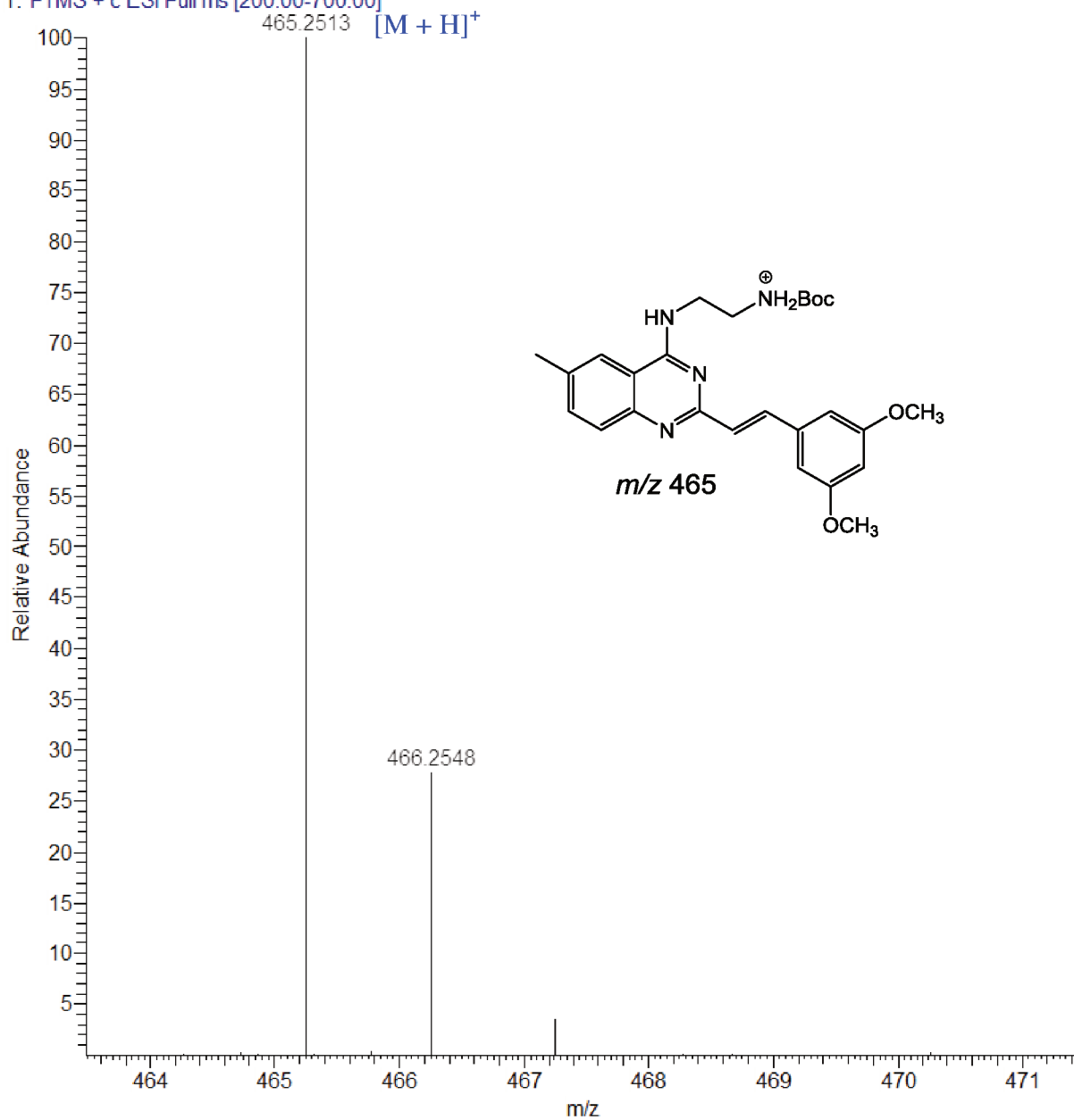


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **31** (CDCl_3 , 400 MHz).

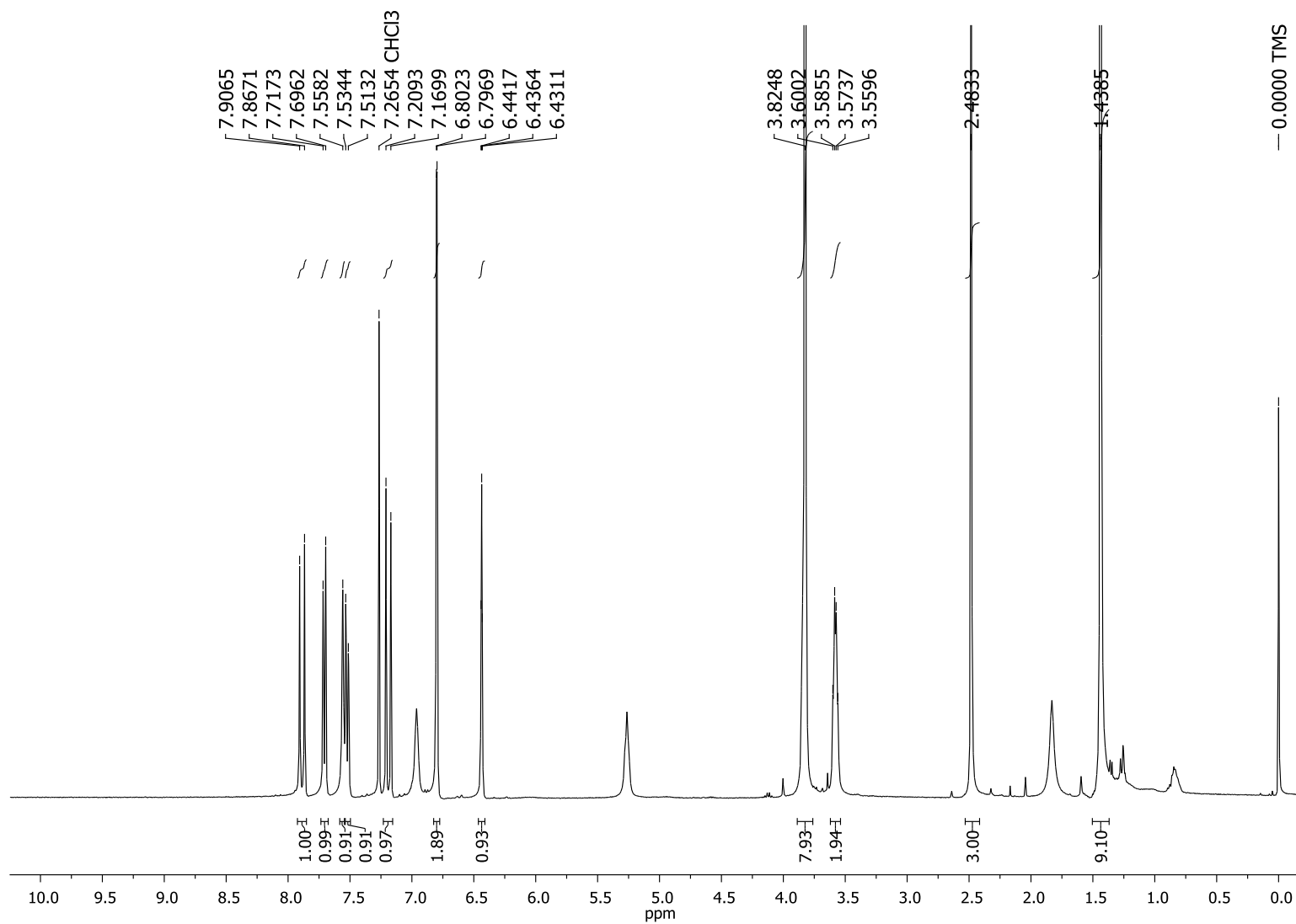


Figura 37. Ampliação do espectro da Figura 36 (δ 0,0–4,0) do intermediário **31**.

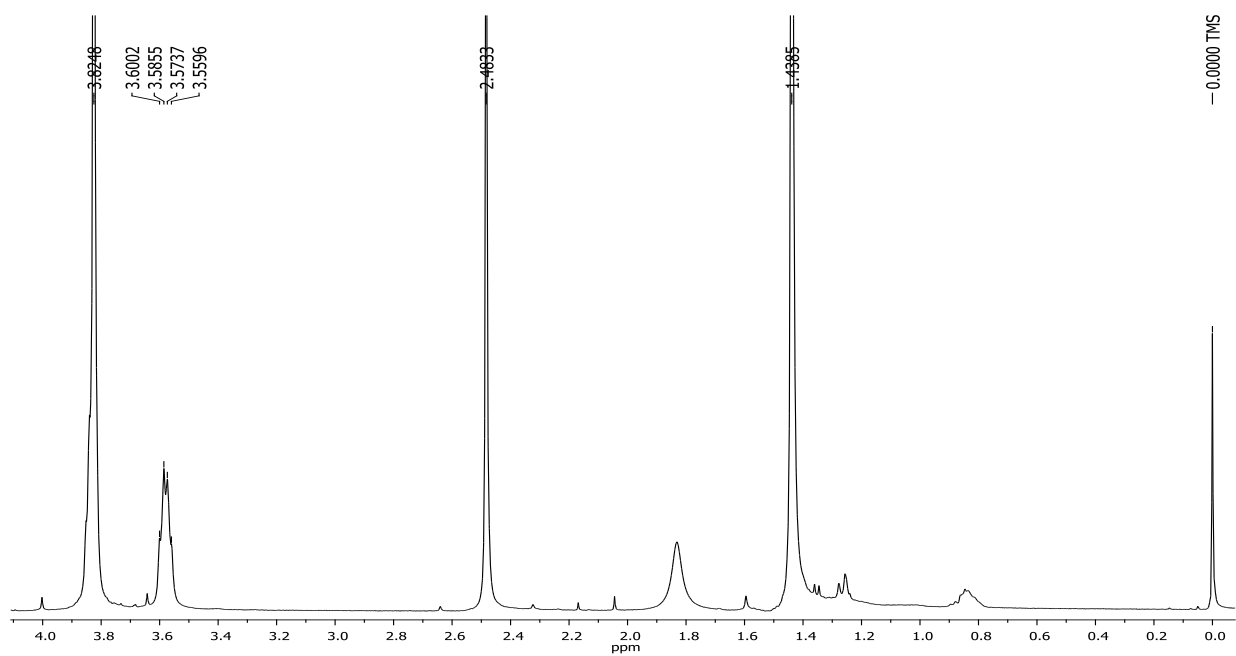
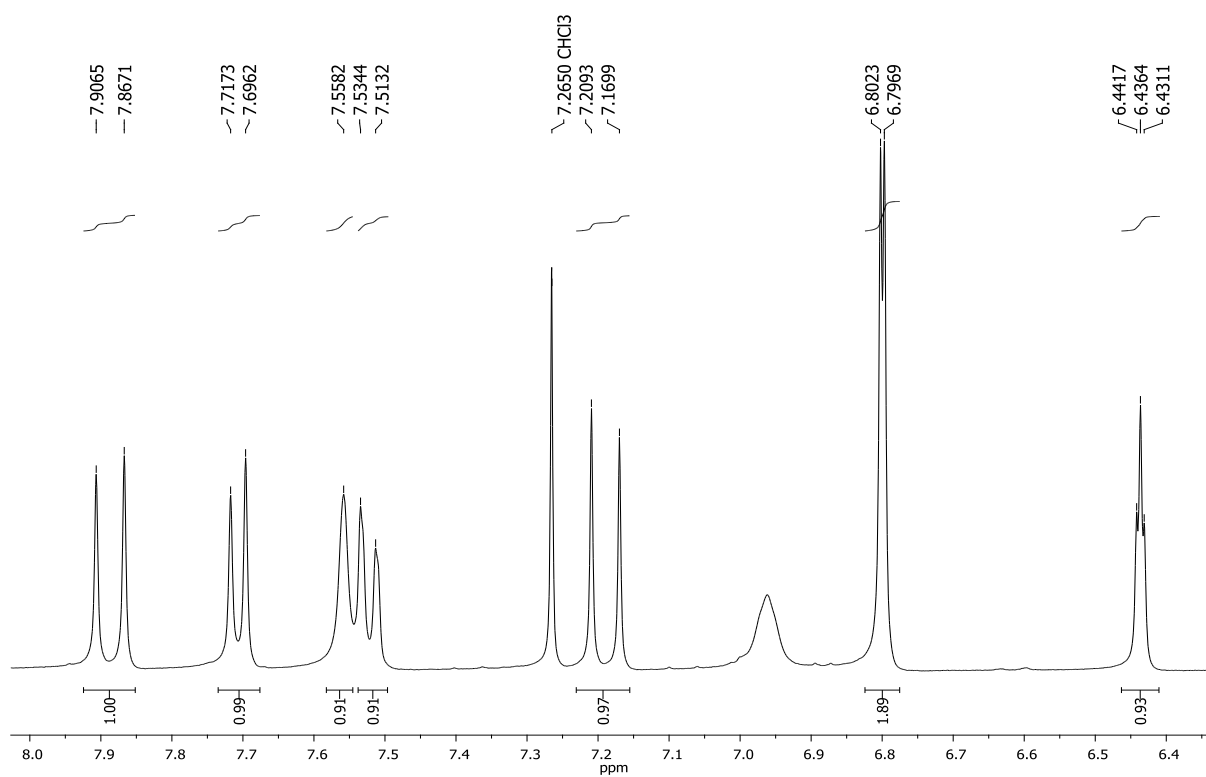
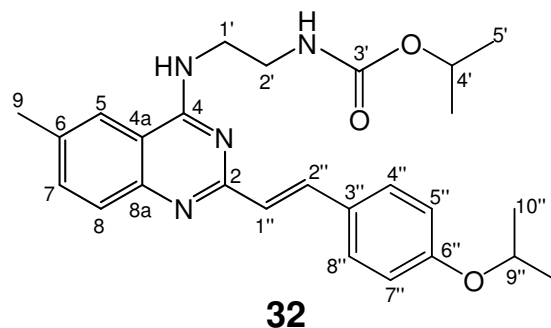


Figura 38. Ampliação do espectro da Figura 36 (δ 6,4–8,0) do intermediário **31**.





Intermediário (32): sólido branco (56,0 mg); EM-IES-(+) m/z 463,2707 [M + H]⁺, calculado para C₂₇H₃₅N₄O₃, 463,2704 (Δ 0,6 ppm); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,95 (1H, d, J = 15,8 Hz, H-2''), 7,72 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-8), 7,58 (2H, d, J = 8,6 Hz, H-4'' e H-8''), 7,56 (1H, sl, H-5), 7,53 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-7), 7,10 (1H, d, J = 15,8 Hz, H-1''), 6,91 (2H, d, J = 8,6 Hz, H-5'' e H-7''), 4,59 (1H, sept, J = 6,1 Hz, H-9''), 3,83 (2H, q, J = 5,8 Hz, H-1'), 3,58 (2H, q, J = 5,8 Hz, H-2'), 2,48 (3H, s, H-9), 1,43 (9H, s, 3CH₃, H-5'), 1,35 (6H, d, J = 6,1 Hz, 2CH₃, H-10'').

Figura 39. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **32**.

ACCM_I_008 #18-31 RT: 0.16-0.28 AV: 14 NL: 8.08E8

T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

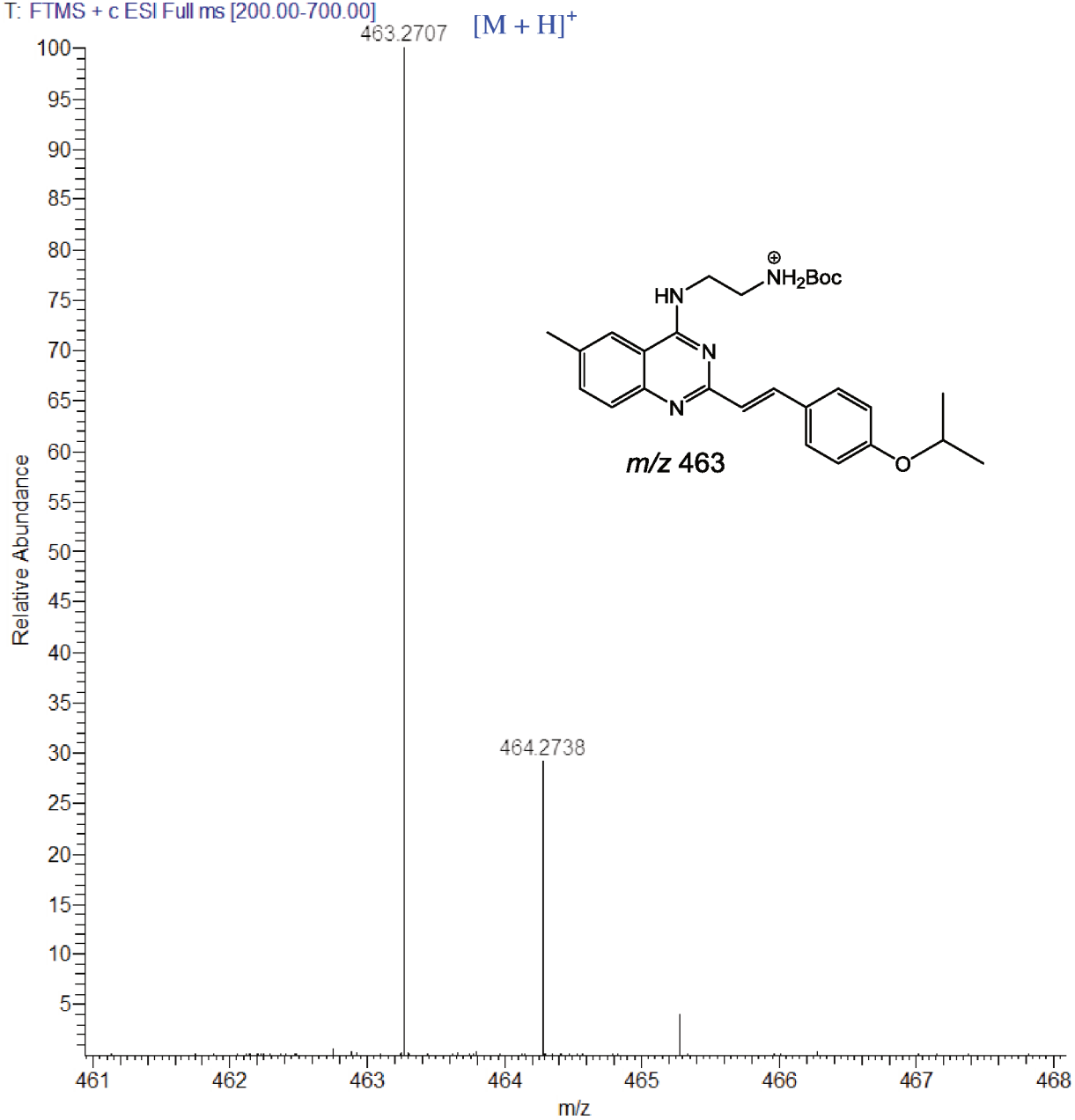


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **32** (CDCl_3 , 400 MHz).

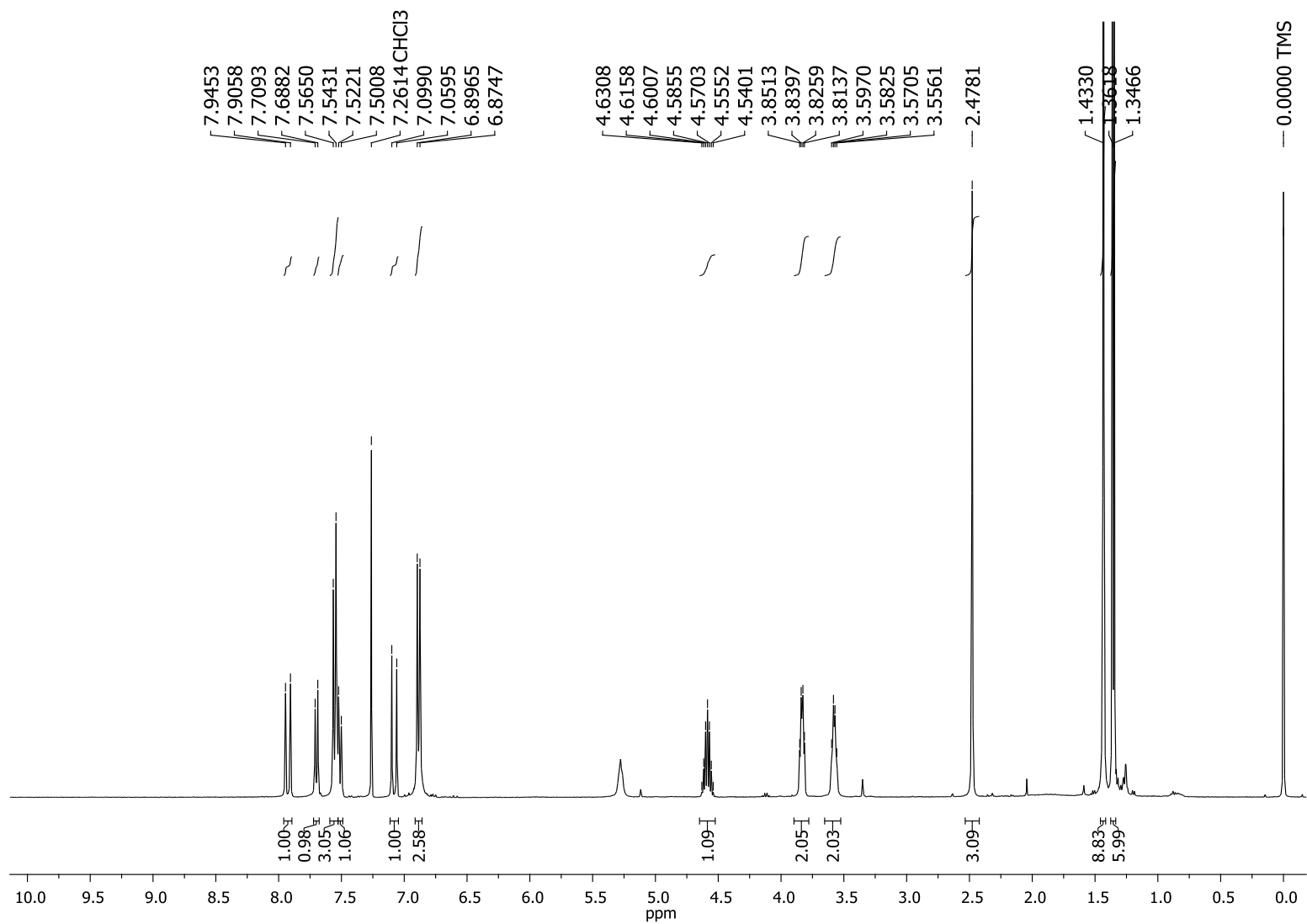


Figura 41. Ampliação do espectro da Figura 40 (δ 0,0–4,6) do intermediário **32**.

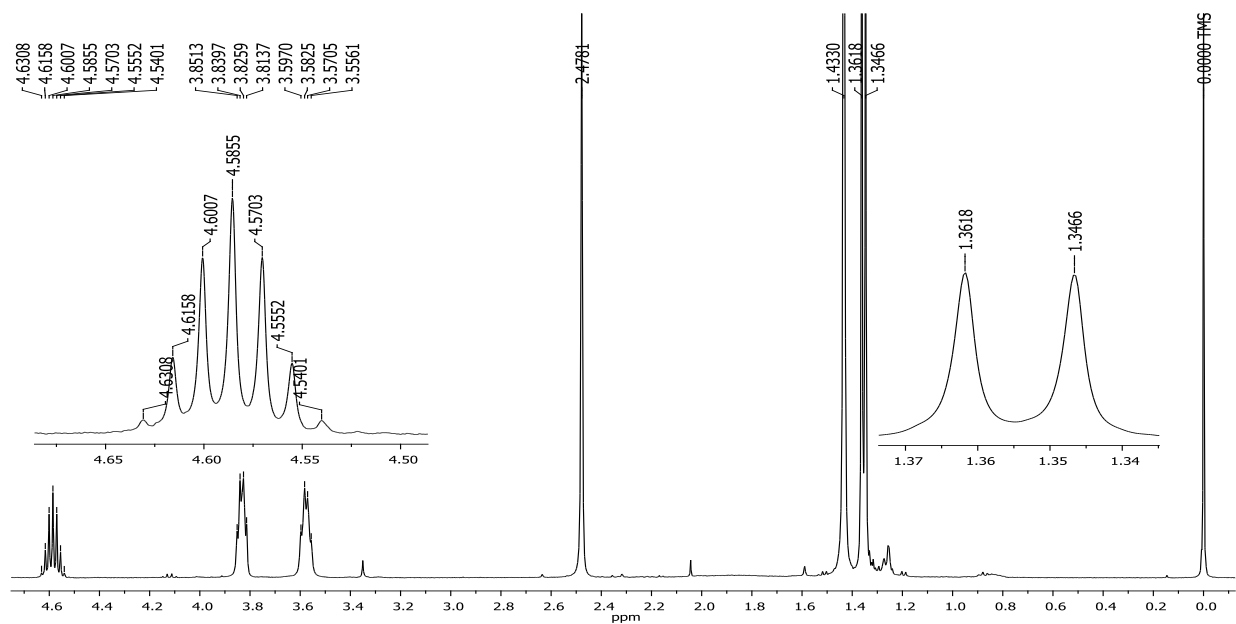
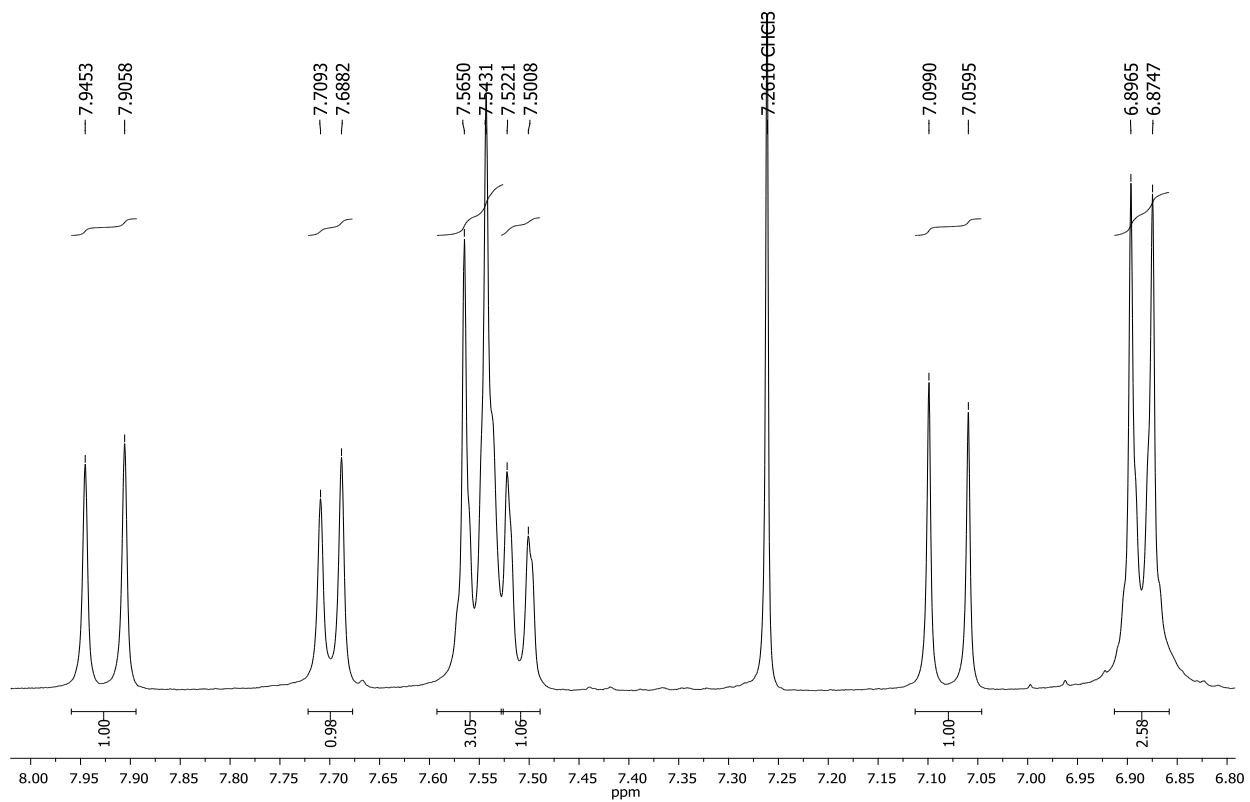
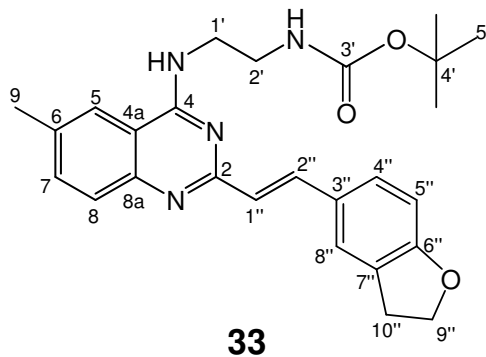


Figura 42. Ampliação do espectro da Figura 40 (δ 6,8–8,0) do intermediário **32**.





Intermediário (33): sólido branco (73,0 mg); EM-IES-(+) m/z 447,2389 [M + H]⁺, calculado para C₂₂H₃₁N₄O₃, 447,2391 (Δ 0,4 ppm); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,92 (1H, d, J = 15,8 Hz, H-2''), 7,69 (1H, d, J = 8,3 Hz, H-8), 7,53 (1H, sl, H-5), 7,52–74,9 (2H, m, H-4'' e H-8''), 7,38 (1H, dd, J = 8,3; 1,3 Hz, H-7), 7,05 (1H, d, J = 15,8 Hz, H-1''), 6,78 (1H, d, J = 8,2 Hz, H-5''), 4,61 (2H, t, J = 8,6 Hz, H-9''), 3,82 (2H, q, J = 5,7 Hz, H-1'), 3,57 (2H, q, J = 5,7 Hz, H-2'), 3,23 (2H, t, J = 8,6 Hz, H-10''), 2,47 (3H, s, H-9), 1,43 (9H, s, 3CH₃, H-5').

Figura 43. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **33**.

ACCM_I_025 #14-29 RT: 0.13-0.26 AV: 16 NL: 7.26E8
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00] [M + H]⁺

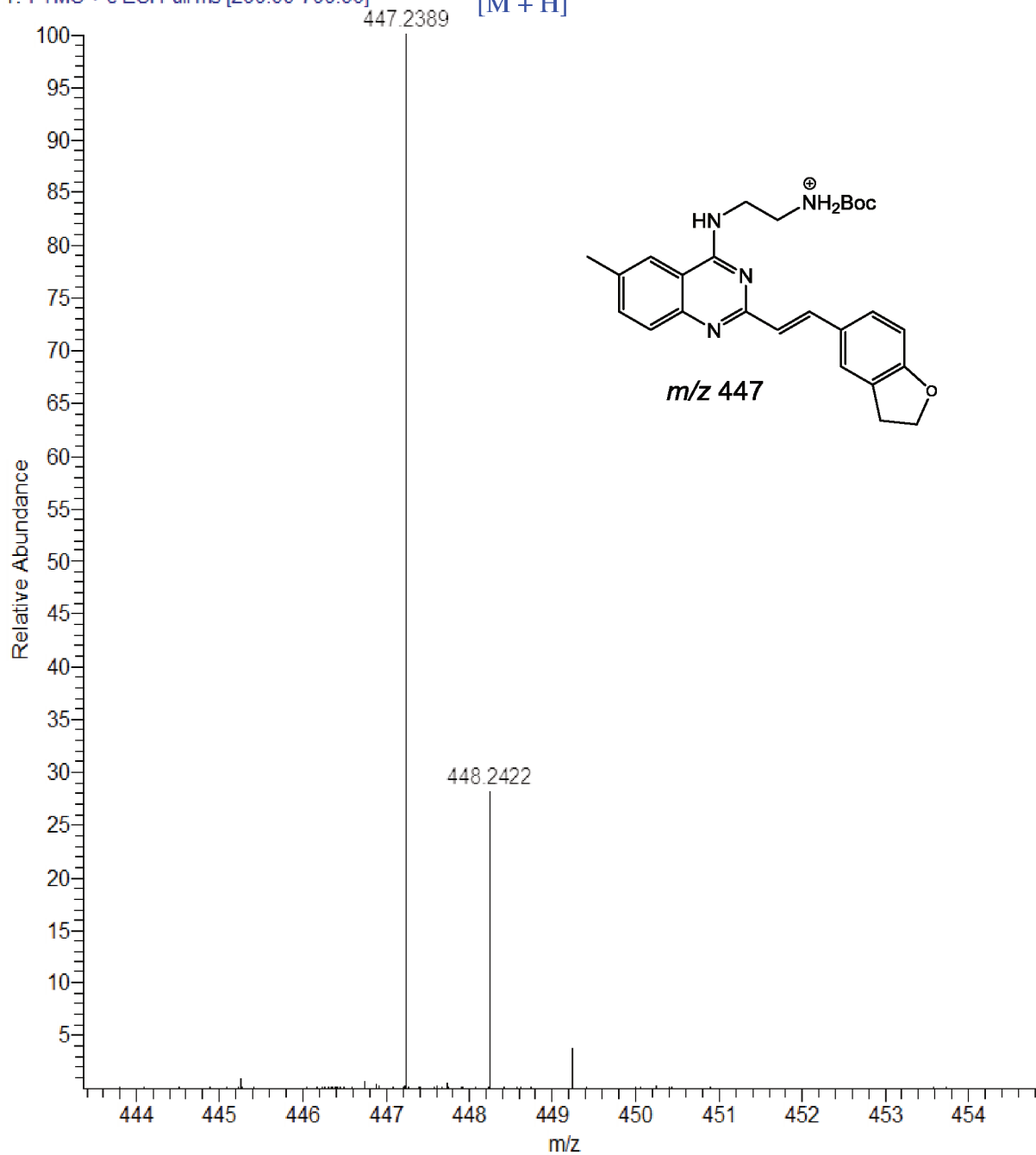


Figura 44. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **33** (CDCl_3 , 400 MHz).

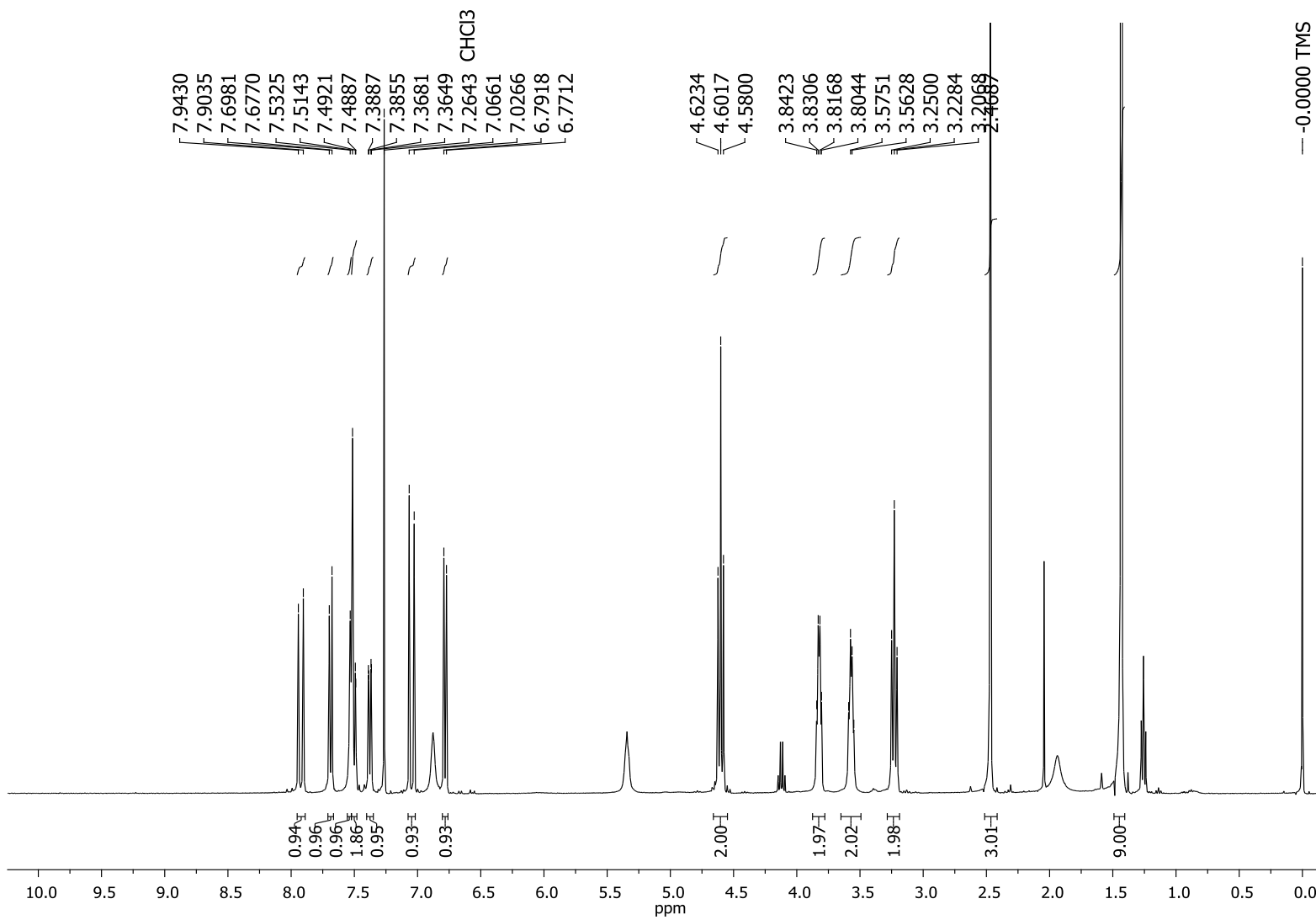


Figura 45. Ampliação do espectro da Figura 44 (δ 0,0–4,6) do intermediário **33**.

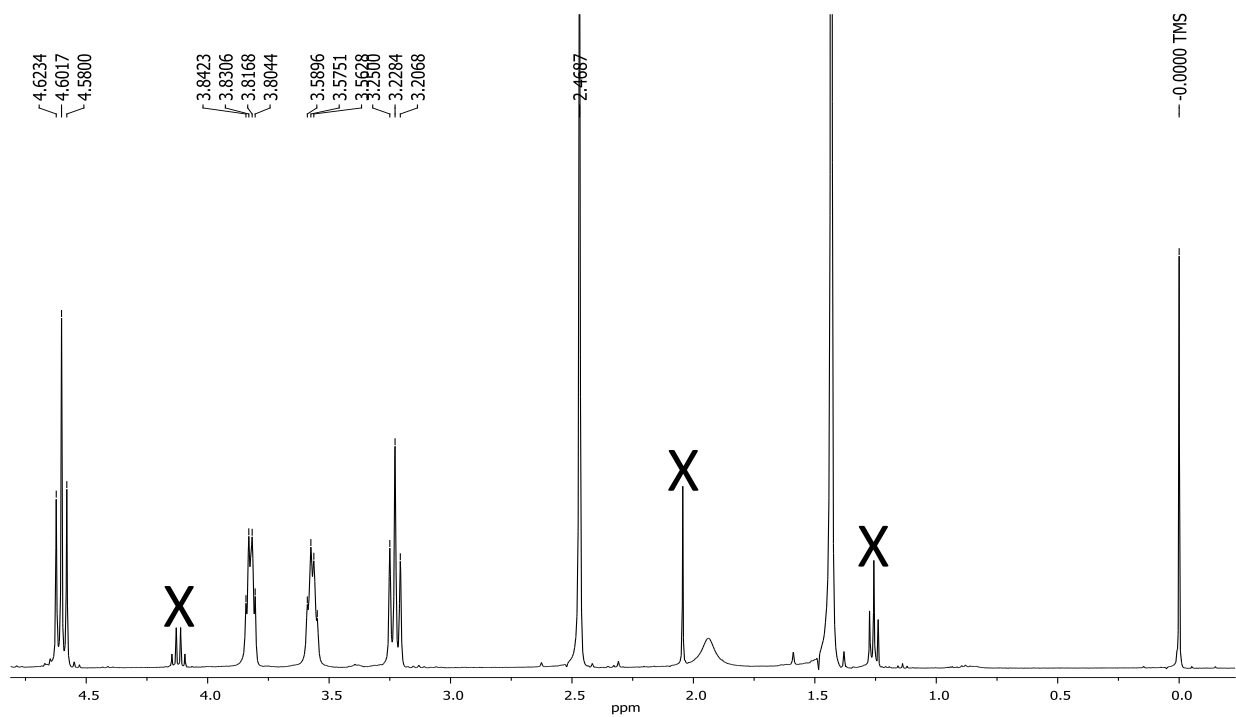
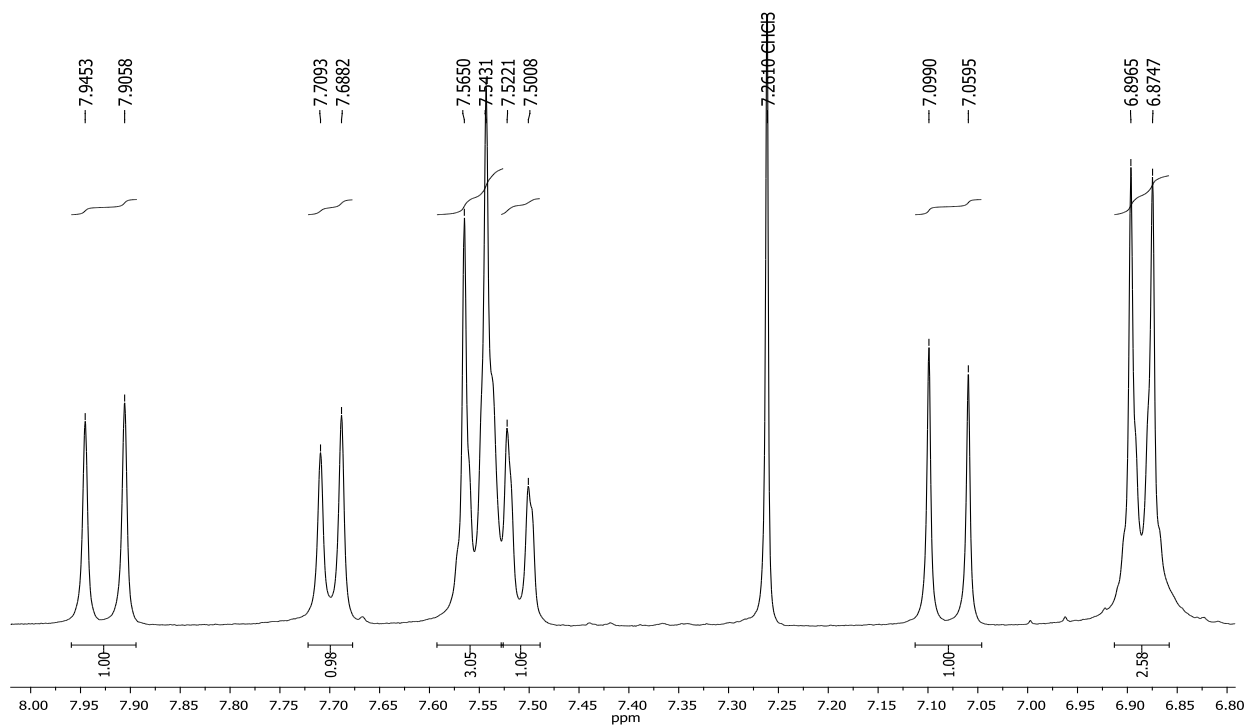
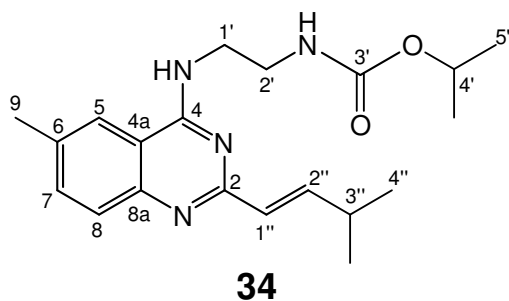


Figura 46. Ampliação do espectro da Figura 44 (δ 6,8–8,0) do intermediário **33**.





Intermediário (34): sólido branco (41,5 mg); EM-IES-(+) m/z 371,2452 [M + H]⁺, calculado para C₂₁H₃₁N₄O₃, 371,2442 (Δ 2,7 ppm); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,67 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-8), 7,52, (1H, sl, H-5), 7,49 (1H, dd, J = 8,4, 1,4 Hz, H-7), 7,16 (1H, dd, J = 15,5; 6,8 Hz, H-1''), 6,48 (1H, dd, J = 15,5; 1,4 Hz, H-2''), 3,78 (2H, q, J = 5,6 Hz, H-1'), 3,54 (2H, q, J = 5,6 Hz, H-2'), 2,56 (1H, d sept, J = 6,8; 1,4 Hz, H-3''), 2,47 (3H, s, H-9), 1,45 (9H, s, 3CH₃, H-5'), 1,15 (6H, d, J = 6,8 Hz, 2CH₃, H-4''). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ 160,2 (C, C-2), 159,2 (C, C-4), 157,9 (C, C-3'), 148,2 (C, C-8a), 146,7 (CH, C-2''), 135,1 (C, C-6), 134,3 (CH, C-7), 128,2 (CH, C-8), 127,7 (CH, C-1''), 120,5 (CH, C-5), 113,6 (C, C-4a), 80,1 (C, C-4'), 43,6 (CH₂, C-1'), 40,2 (CH₂, C-2'), 31,1 (CH, C-3''), 28,4 (3CH₃, C-5'), 22,0 (2CH₃, C-4''), 21,6 (CH₃, C-9).

Figura 47. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **34**.

ACCM_I_012 #270-275 RT: 2.55-2.59 AV: 6 NL: 1.27E8

T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

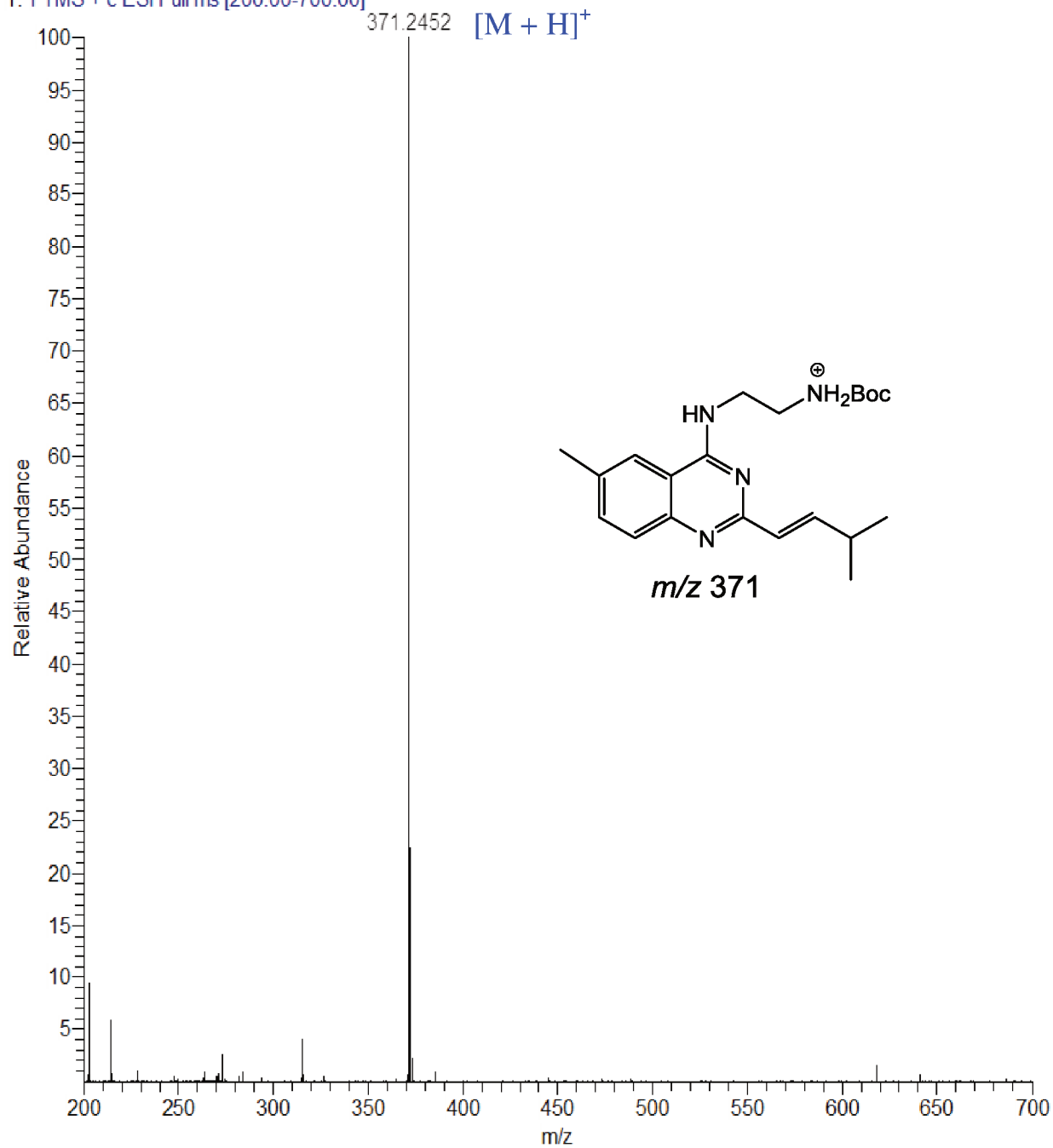


Figura 48. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **34** (400 MHz, CDCl_3).

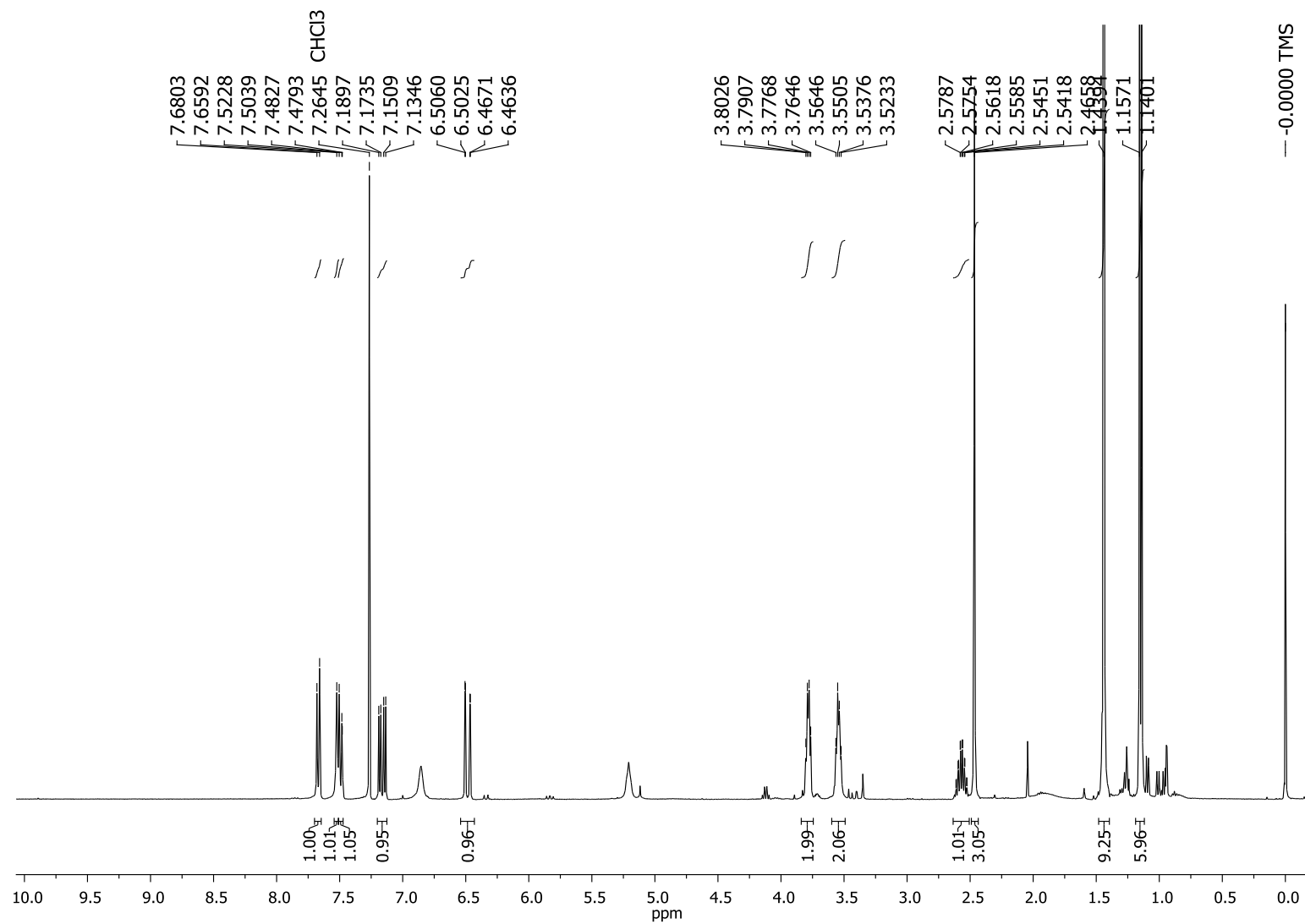


Figura 49. Ampliação do espectro da Figura 48 (δ 0,0–4,0) do intermediário **34**.

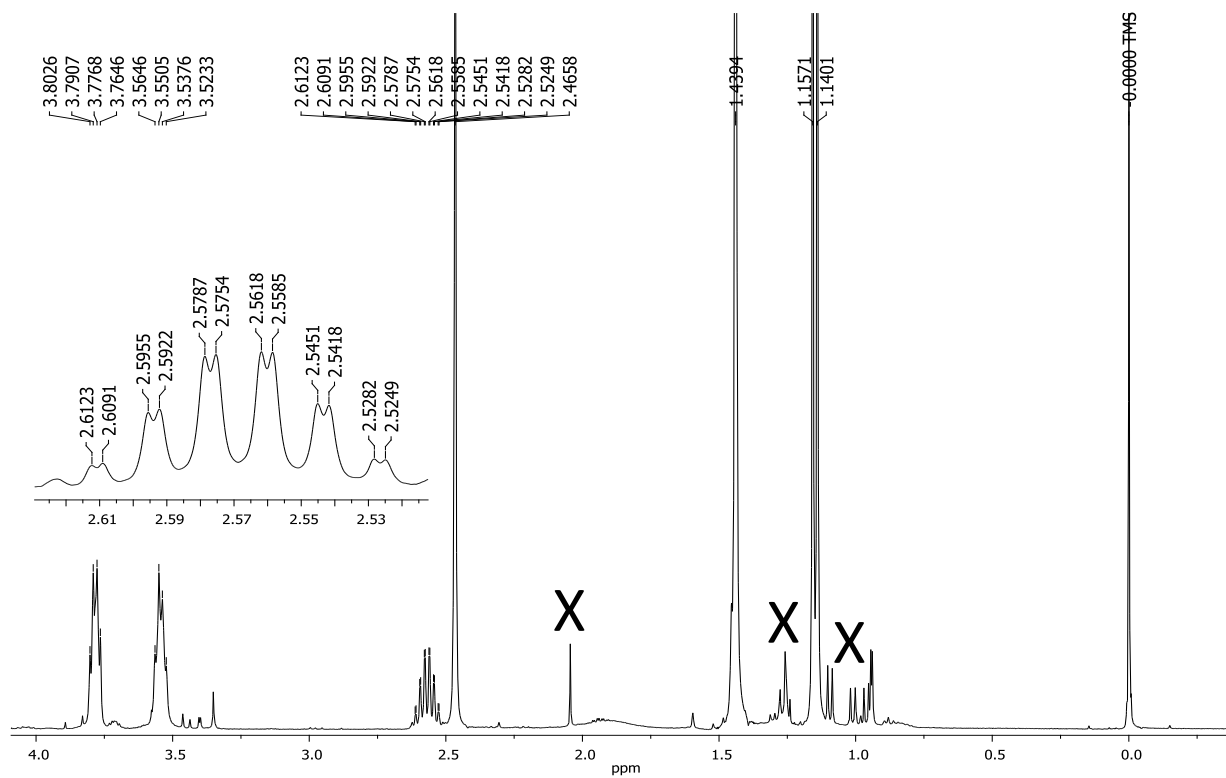


Figura 50. Ampliação do espectro da Figura 48 (δ 6,4–7,8) do intermediário **34**.

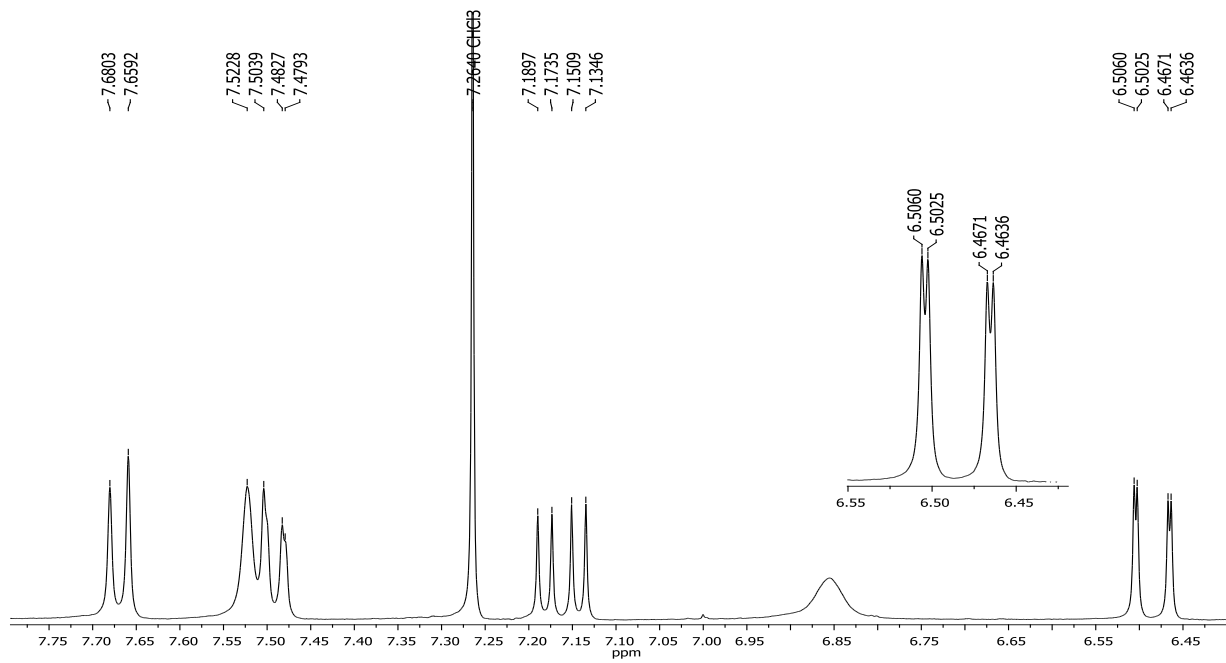
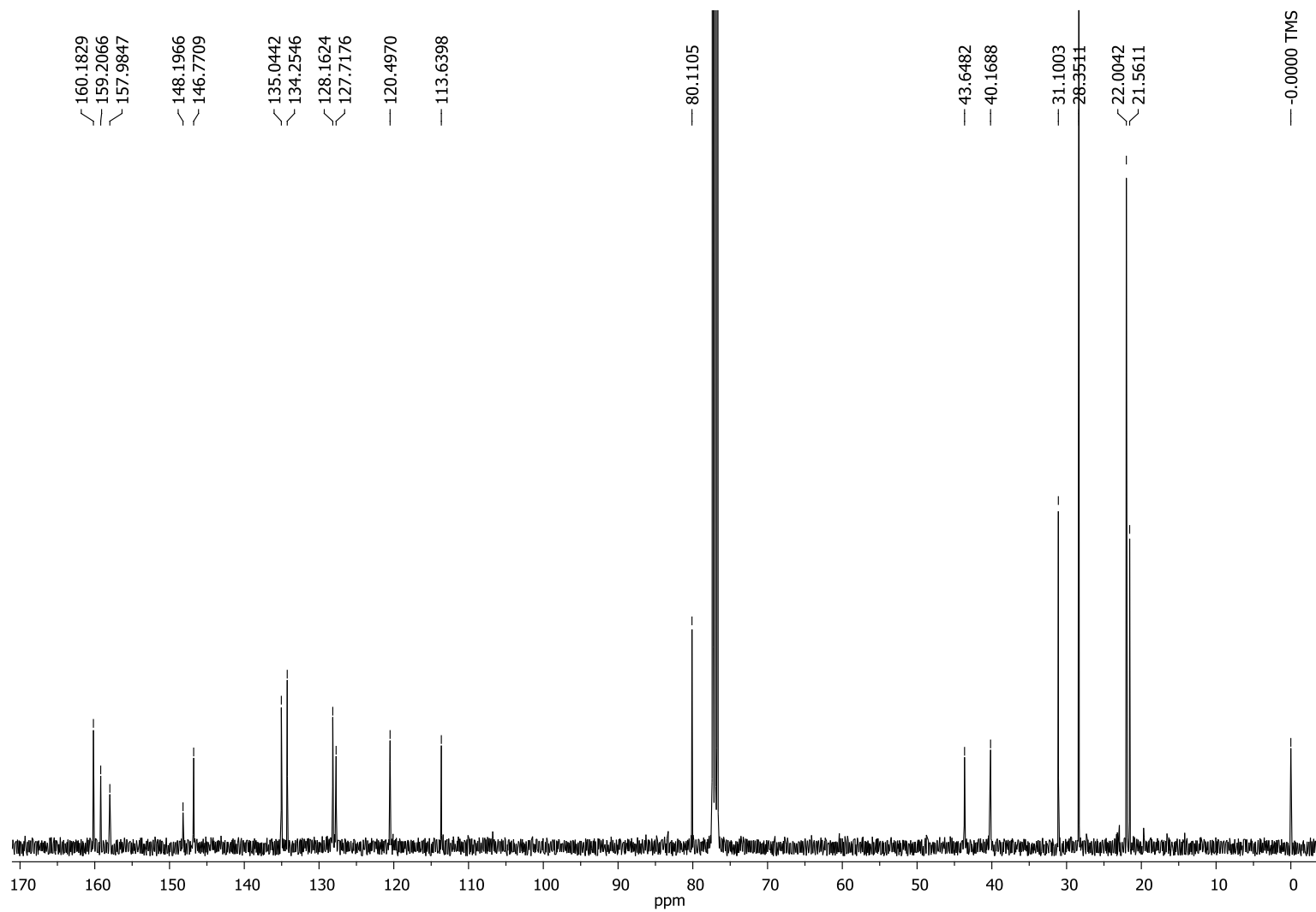
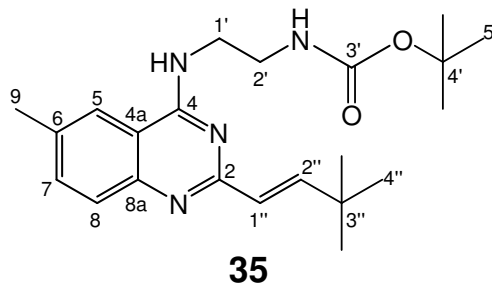
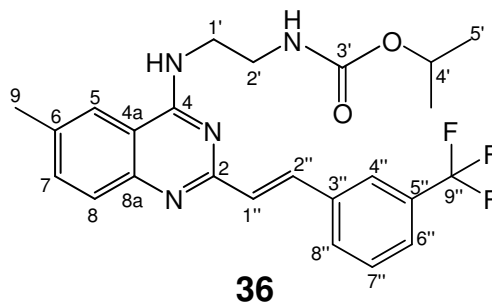


Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C do intermediário **34** (CDCl_3 , 100 MHz).





Intermediário (35): sólido branco (56,6 mg); EM-IES-(+) m/z 385,2598 [M + H]⁺, calculado para C₂₂H₃₃N₄O₂, 385,2598 (Δ 0,0 ppm); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,66 (1H, d, J = 8,5 Hz, H-8), 7,52 (1H, dd, J = 8,5; 1,5 Hz, H-7) 7,48 (1H, sl, H-5), 7,19 (1H, d, J = 15,7 Hz, H-1''), 6,46 (1H, d, J = 15,7 Hz, H-2''), 3,79 (2H, q, J = 10,4 Hz, H-1'), 3,54 (2H, q, J = 10,7 Hz, H-2'), 2,47 (3H, s, H-9), 1,44 (9H, s, 3CH₃, H-5'), 1,17 (9H, s, 3CH₃, H-4''); RMN ¹³C (CD₂Cl₂, 100 MHz) δ 160,4 (C, C-2), 159,2 (C, C-4), 158,0 (C, C-3'), 150,4 (C, C-8a), 148,2 (CH, C-2''), 135,0 (C, C-6), 134,4 (CH, C-7), 127,7 (CH, C-8), 126,3 (CH, C-5), 120,5 (CH₂, C-1''), 113,7 (C, C-4a), 80,1 (C, C-4'), 43,7 (CH₂, C-1'), 40,1 (CH₂, C-2'), 33,57 (C-3''), 29,7 (3CH₃, C-4''), 28,4 (3CH₃, C-5'), 21,6 (CH₃, C-9) (Figuras 18–21).



Intermediário (36): sólido branco (78,0 mg); EM-IES-(+) m/z 473,2161 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₂₈F₃N₄O₂, 473,2159 (Δ 0,9 ppm); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz,) δ 7,98 (1H, d, J = 15,9 Hz, H-1''), 7,87 (1H, sl, H-5), 7,81 (1H, d, J = 7,6 Hz, H-6''), 7,72 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-8), 7,56 (1H, sl, H-4''), 7,54 (1H, d, J = 7,6 Hz, H-8''), 7,54 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-7), 7,49 (1H, dd, J = 7,6 Hz, H-7''), 7,26 (1H, d, J = 15,9 Hz, H-2''), 3,83 (2H, q, J = 5,8 Hz, H-1'), 3,59 (2H, q, J = 5,8 Hz, H-2''), 2,50 (3H, s, H-9), 1,45 (9H, s, 3CH₃, H-5').

Figura 52. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **36**.

ACCM_I_019#14-26 RT: 0.13-0.24 AV: 13 NL: 8.13E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

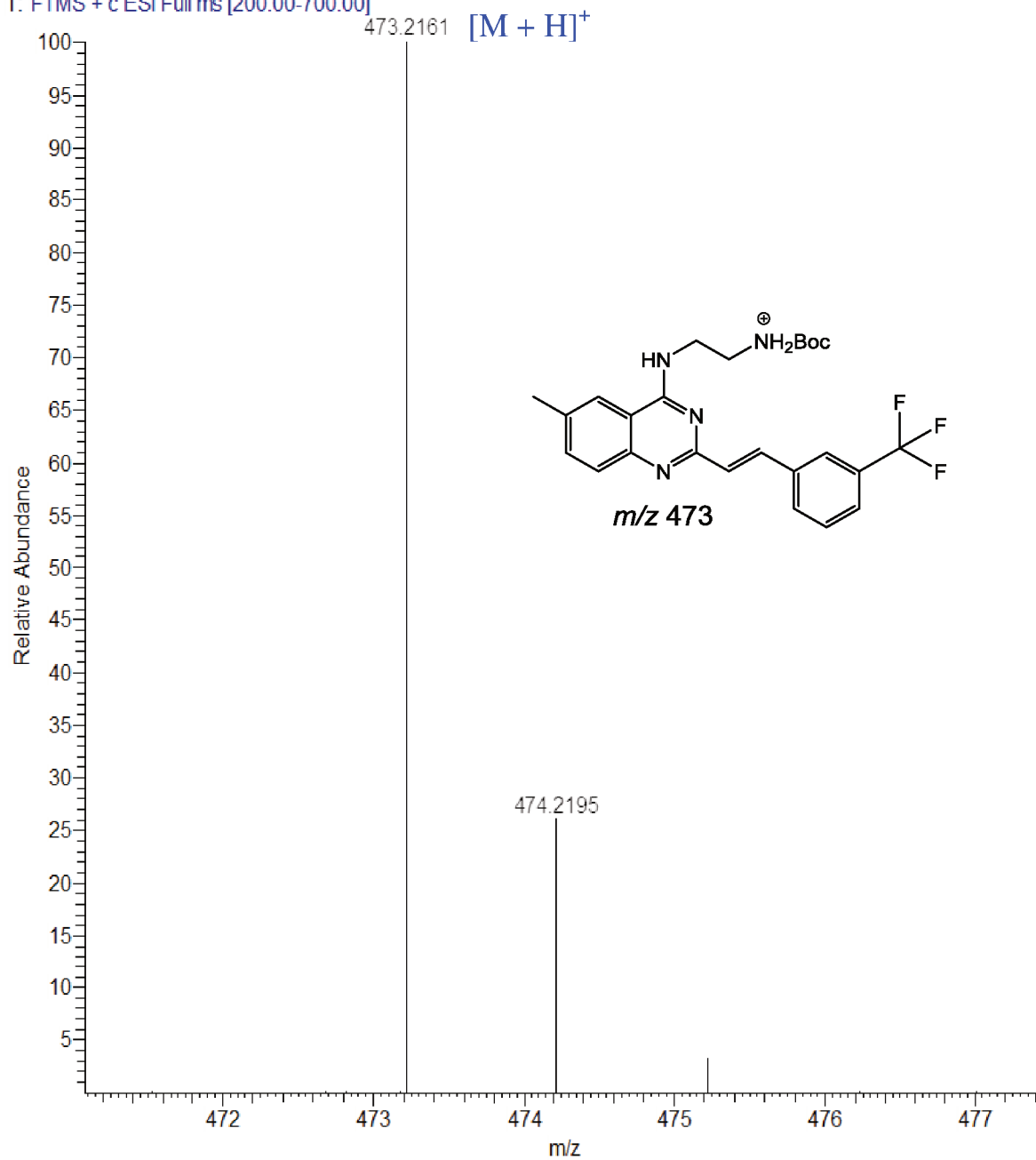


Figura 53. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **36** (CDCl_3 , 400 MHz.).

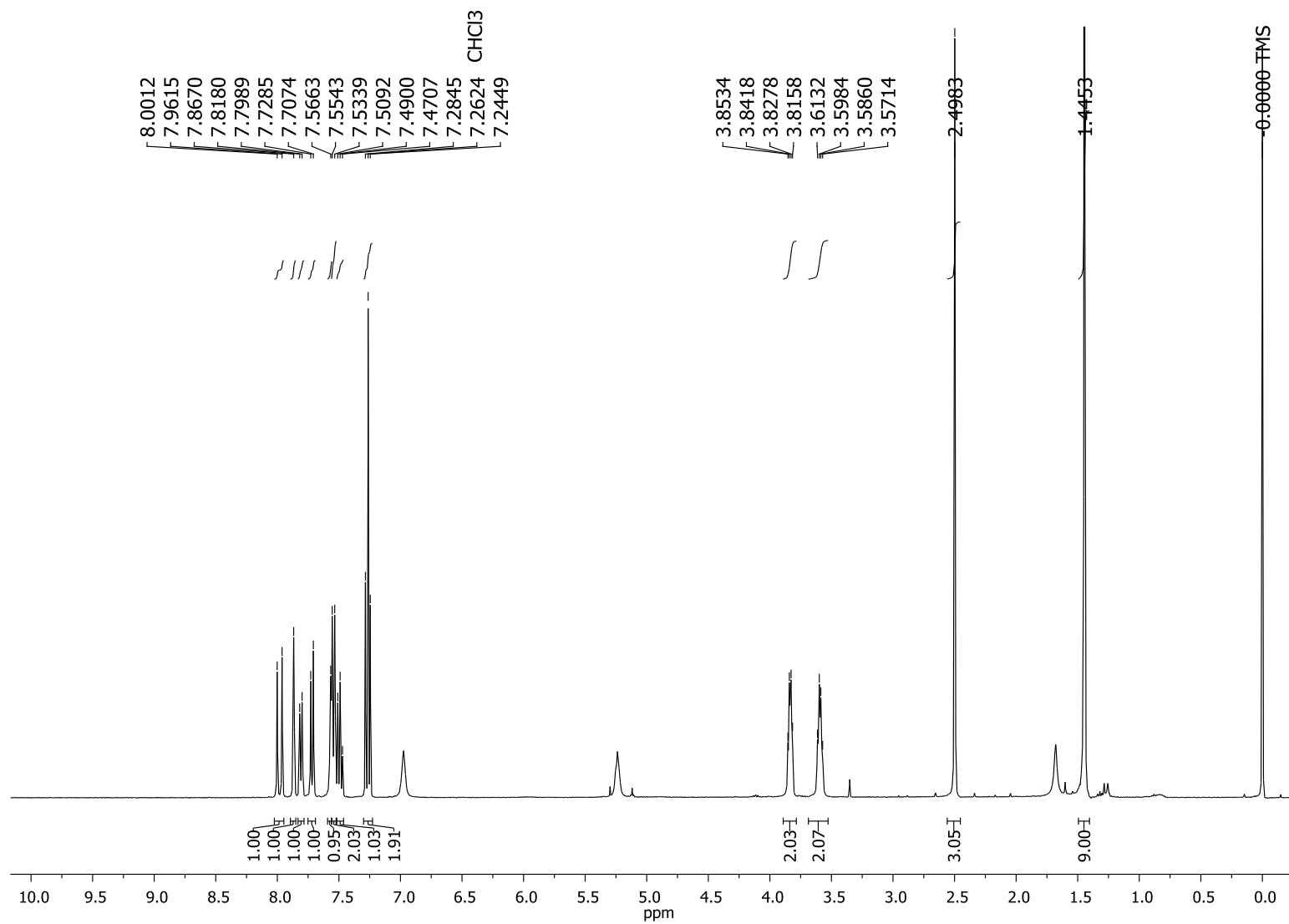


Figura 54. Ampliação do espectro da Figura 53 (δ 0,0–4,0) do intermediário **36**.

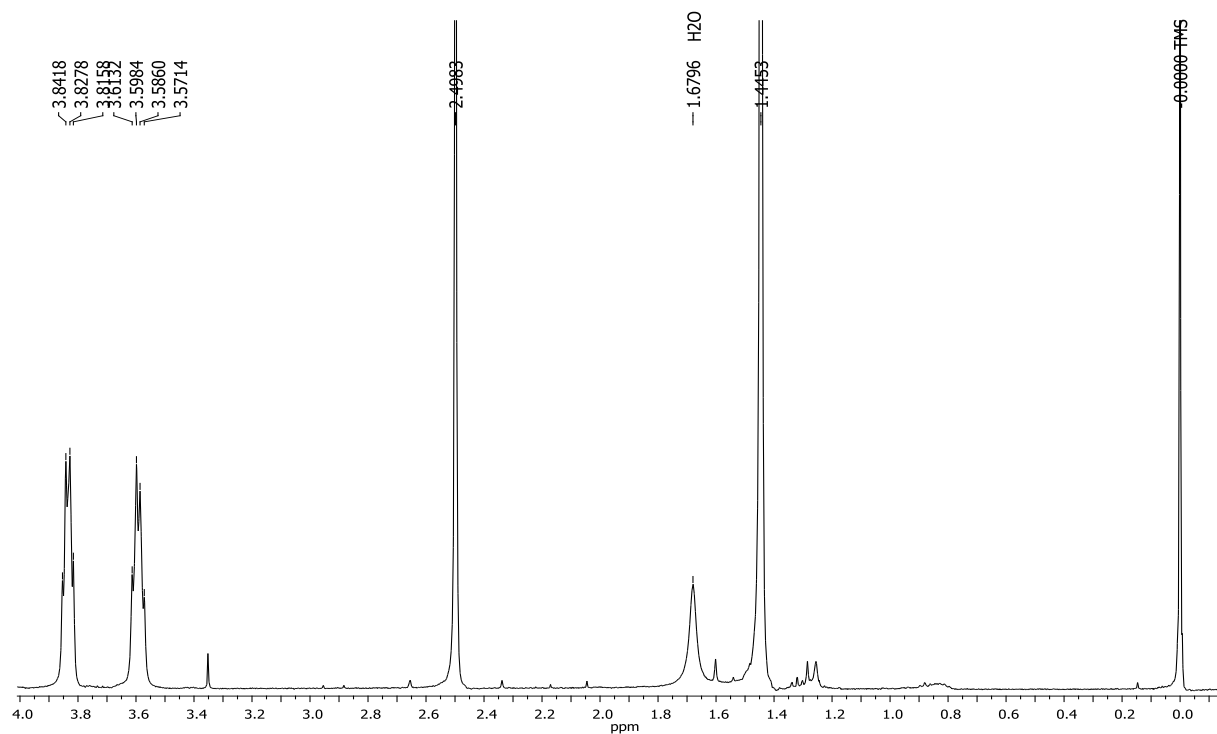
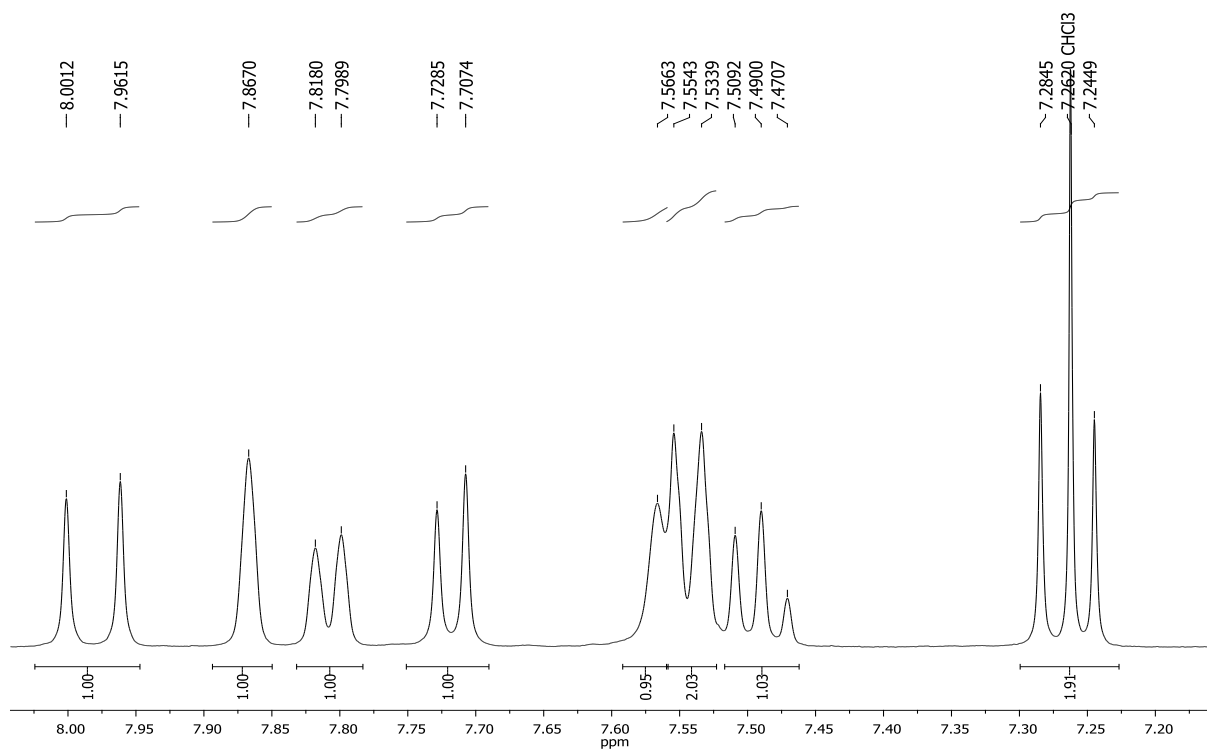
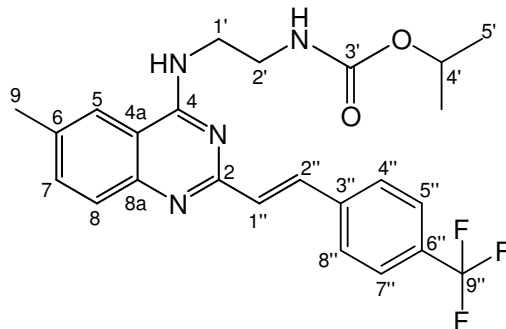


Figura 55. Ampliação do espectro da Figura 53 (δ 7,2–8,0) do intermediário **36**.





37

Intermediário (37): sólido branco (90,0 mg); EM-IES-(+) m/z 473,2154 [M + H]⁺, calculado para C₂₅H₂₈F₃N₄O₂, 473,2159 (Δ 1,1 ppm); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,98 (1H, d, J = 15,9 Hz, H-1'), 7,72 (3H, d, J = 8,3 Hz, H-8, H-5'' e H-7''), 7,63 (2H, d, J = 8,3 Hz, H-4'' e H-8''), 7,57 (1H, sl, H-5), 7,54 (1H, dd, J = 8,3;1,4, H-7), 7,27 (1H, d, J = 15,9 Hz, H-2''), 3,83 (2H, q, J = 5,8 Hz, H-1'), 3,60 (2H, q, J = 5,8 Hz, H-2'), 2,50 (3H, s, H-9), 1,45 (9H, 3CH₃, s, H-5'); RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ 159,4 (C, C-2), 159,2 (C, C-4), 158,1 (C, C-3'), 148,2 (C, C-8a), 140,3 (C, C-3''), 135,9 (C, C-6), 134,7 (CH, C-7), 134,5 (CH, C-2''), 131,8 (C, C-6''), 130,1 (CH, C-8), 129,8 (2CH, C-4'' e C-8''), 127,5 (CH, C-1''), 125,6 (2CH, C-5'' e C-7''), 122,8 (C, C-9''), 120,6 (CH, C-5), 113,9 (C, C-4a), 80,2 (C, C-4'), 44,0 (CH₂, C-1'), 40,1 (CH₂, C-2'), 28,3 (3CH₃, C-5'), 21,7 (CH₃, C-9).

Figura 56. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **37**.

ACCM_I_018 #12-21 RT: 0.11-0.19 AV: 10 NL: 3.46E6
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

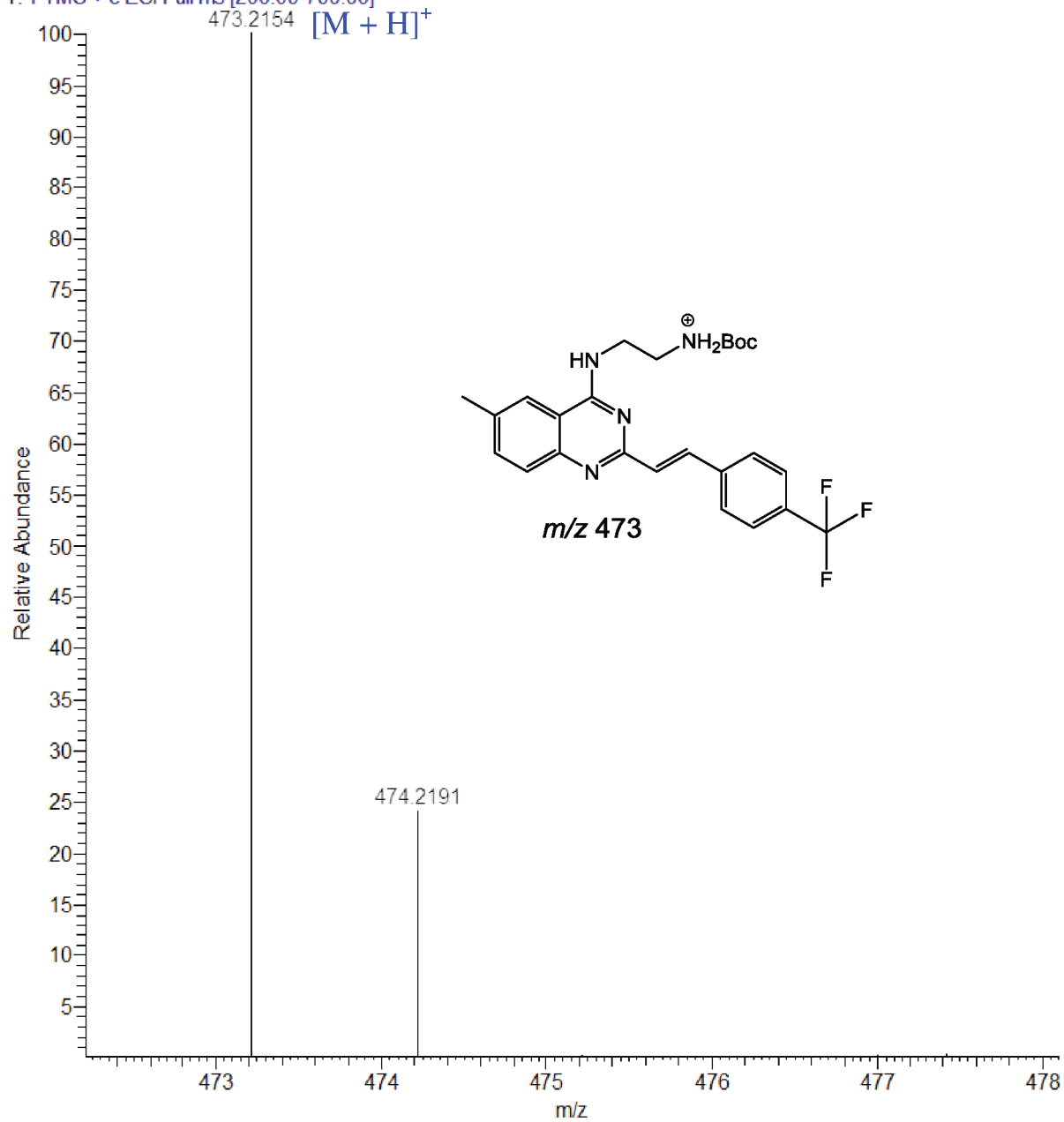


Figura 57. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **37** (CDCl_3 , 400 MHz).

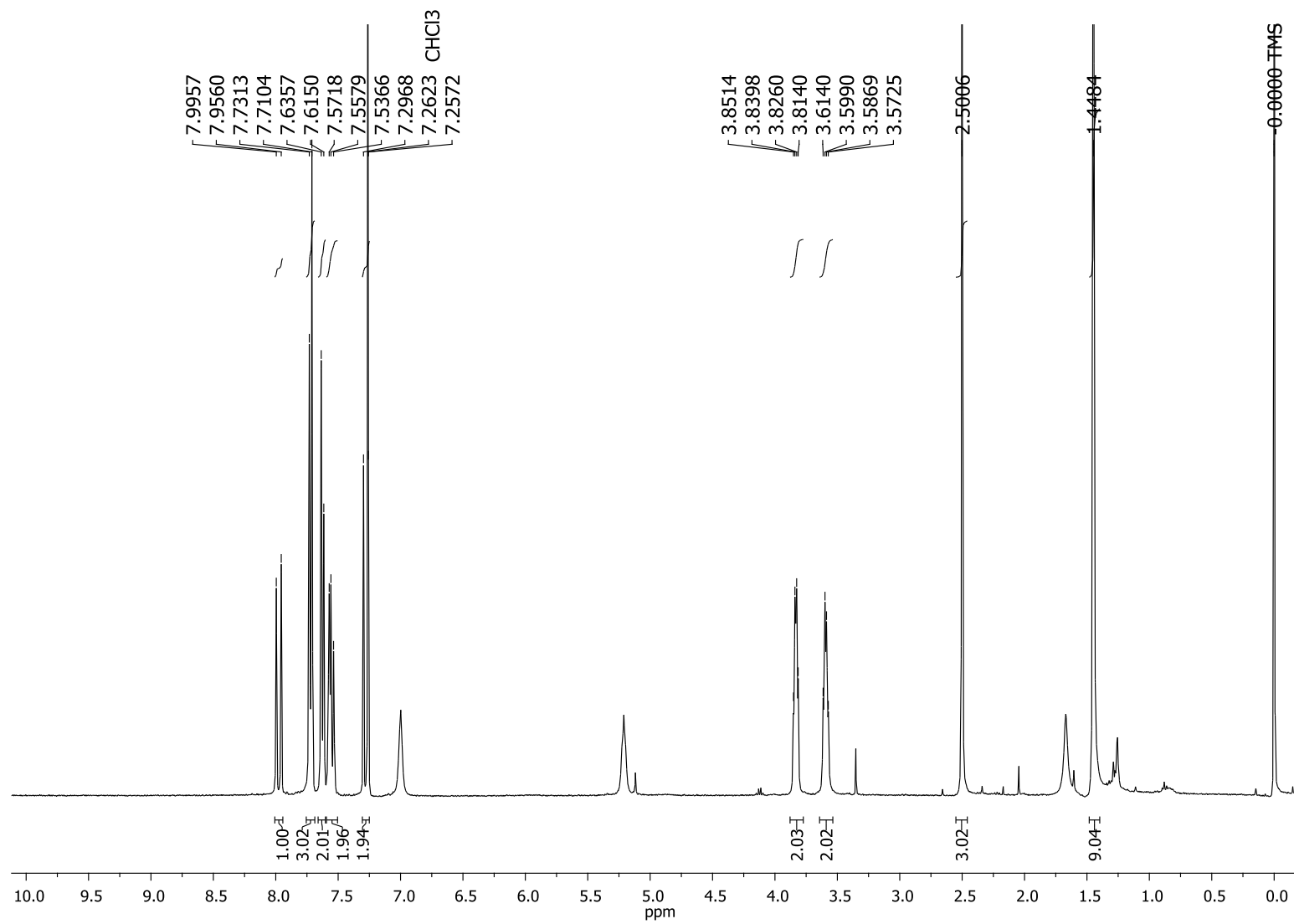


Figura 58. Ampliação do espectro da Figura 57 (δ 0,0–4,0) do intermediário **37**.

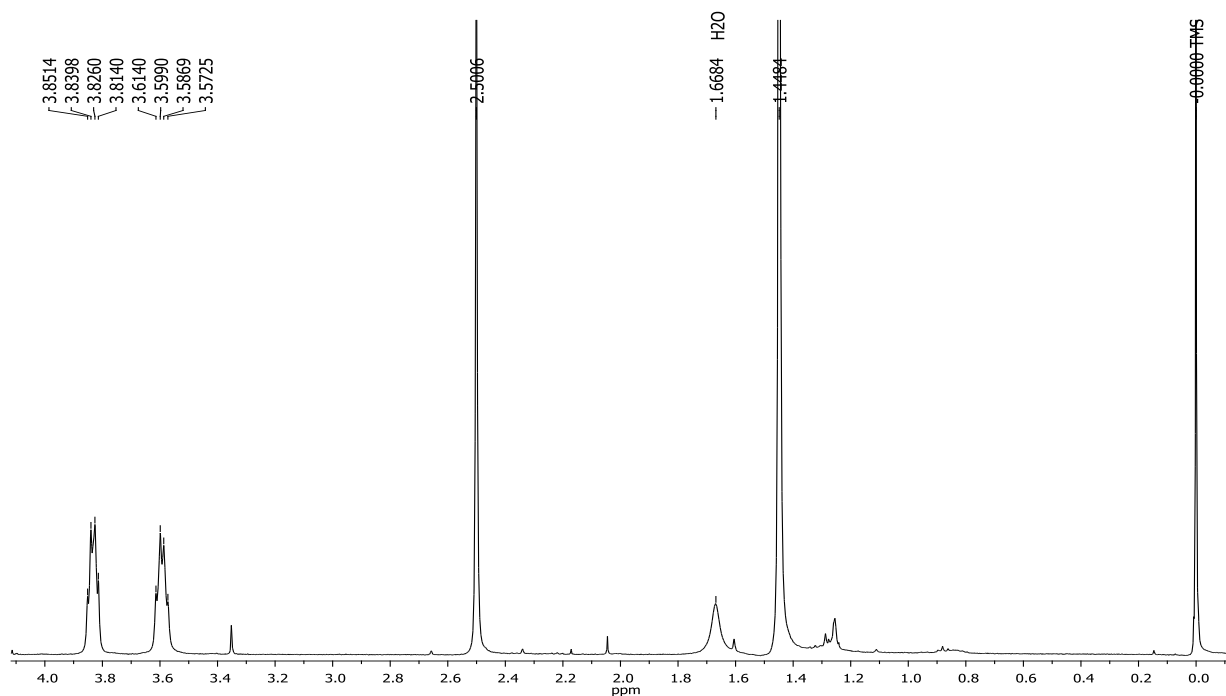


Figura 59. Ampliação do espectro da Figura 57 (δ 7,2–8,0) do intermediário **37**.

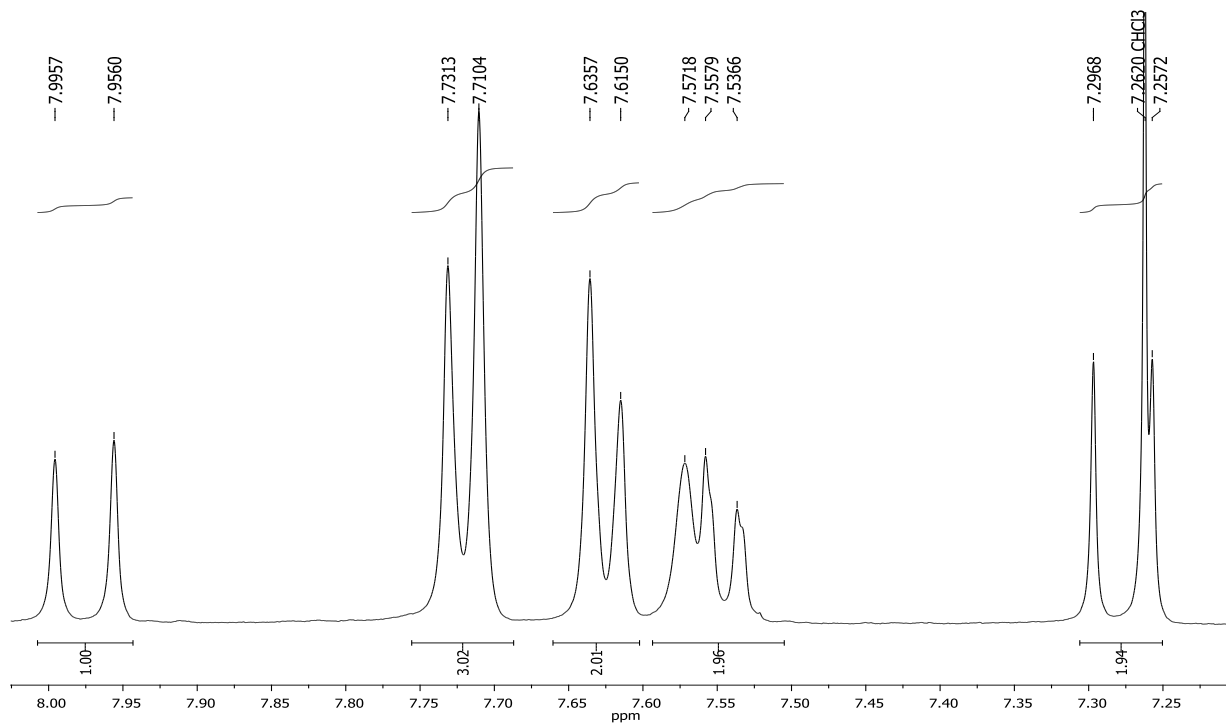
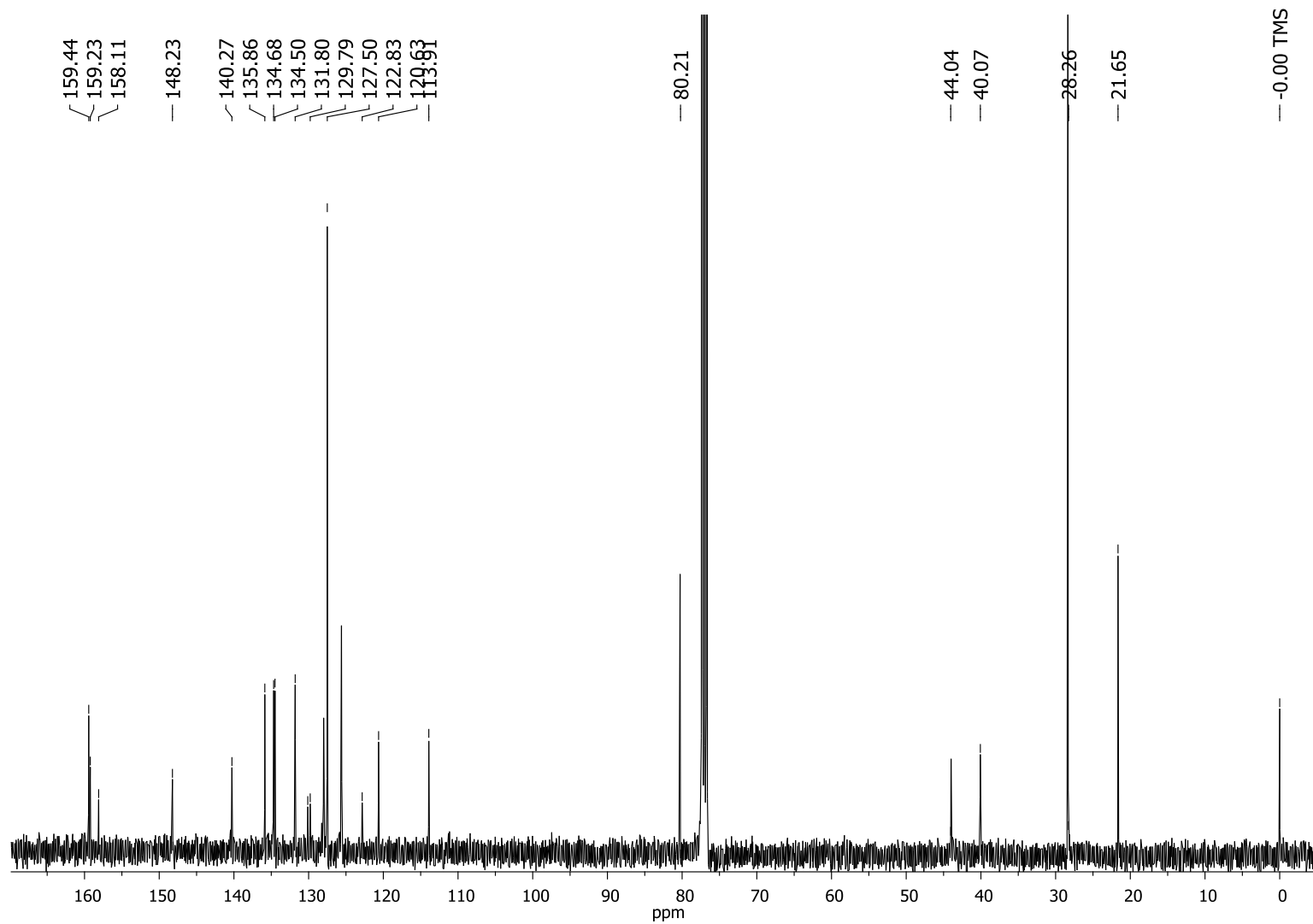
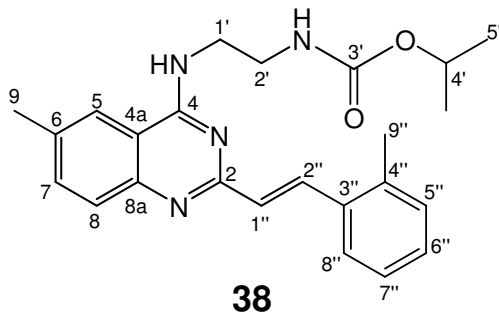


Figura 60. Espectro de RMN de ^{13}C do intermediário **37** (CDCl_3 , 100 MHz).





Intermediário (38): sólido branco (61,5 mg); EM-IES-(+) m/z 419,2449 $[M + H]^+$, calculado para $C_{25}H_{31}N_4O_2$, 419,2442 (Δ 1,7 ppm); RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8,27 (1H, d, $J = 15,7$ Hz, H-1''), 7,72 (2H, d, $J = 8,4$ Hz, H-8 e H-8''), 7,55 (1H, s, H-5), 7,52 (1H, dd, $J = 8,4; 1,4$ Hz, H-7) 7,18–7,22 (3H, m, H-5'', H-6'' e H-7''), 7,12 (1H, d, $J = 15,7$ Hz, H-2''), 3,83 (2H, q, $J = 5,5$ Hz, H-1'), 3,58 (2H, q, $J = 5,5$ Hz, H-2''), 2,50 (3H, s, H-9), 2,48 (3H, s, H-9''), 1,42 (9H, s, 3CH₃, H-9).

Figura 61. EM-IES-(+) em alta resolução do intermediário **38**.

ACCM_I_026 #27-37 RT: 0.25-0.34 AV: 11 NL: 9.45E6
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

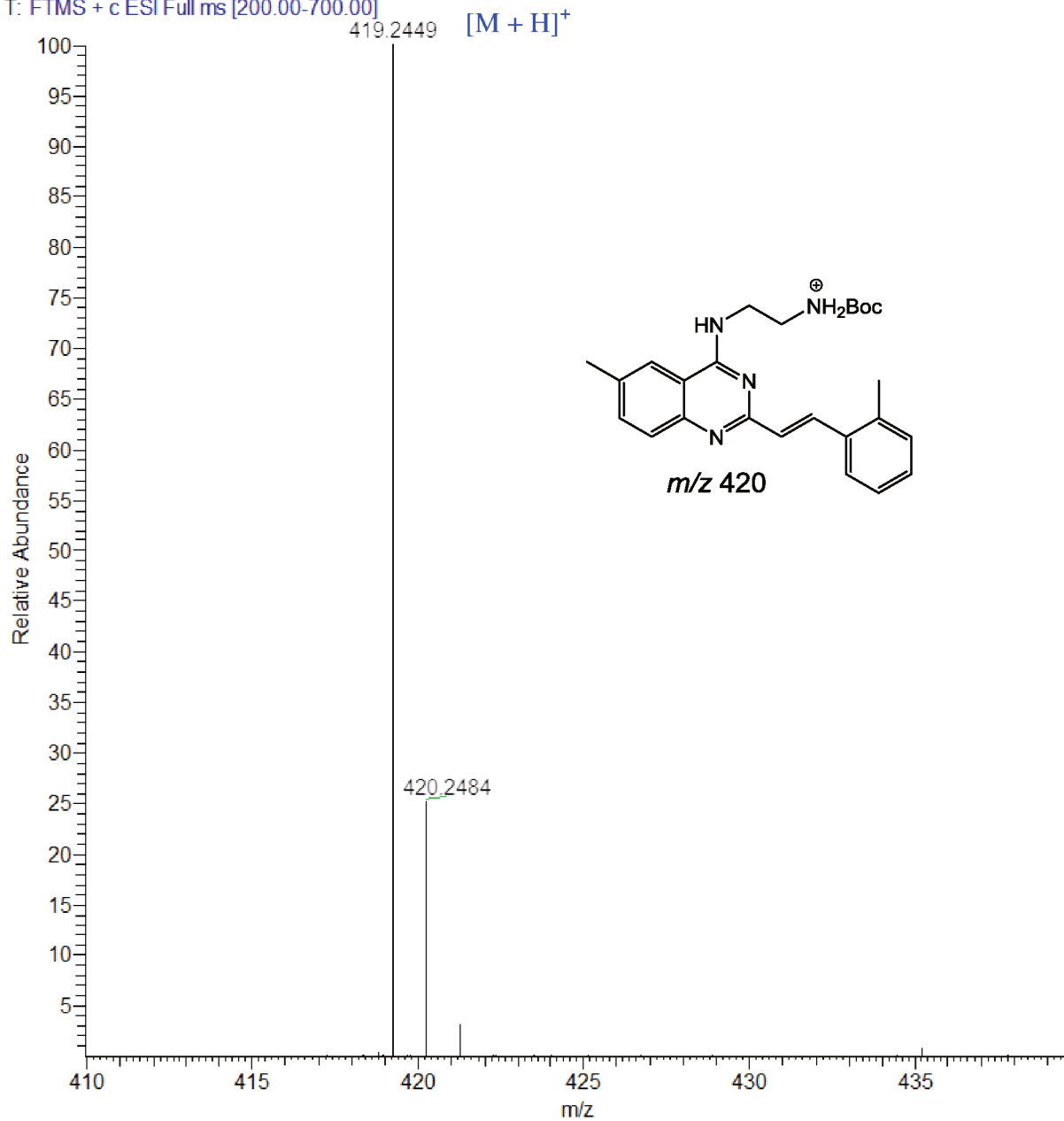


Figura 62. Espectro de RMN de ^1H do intermediário **38** (CDCl_3 , 400 MHz).

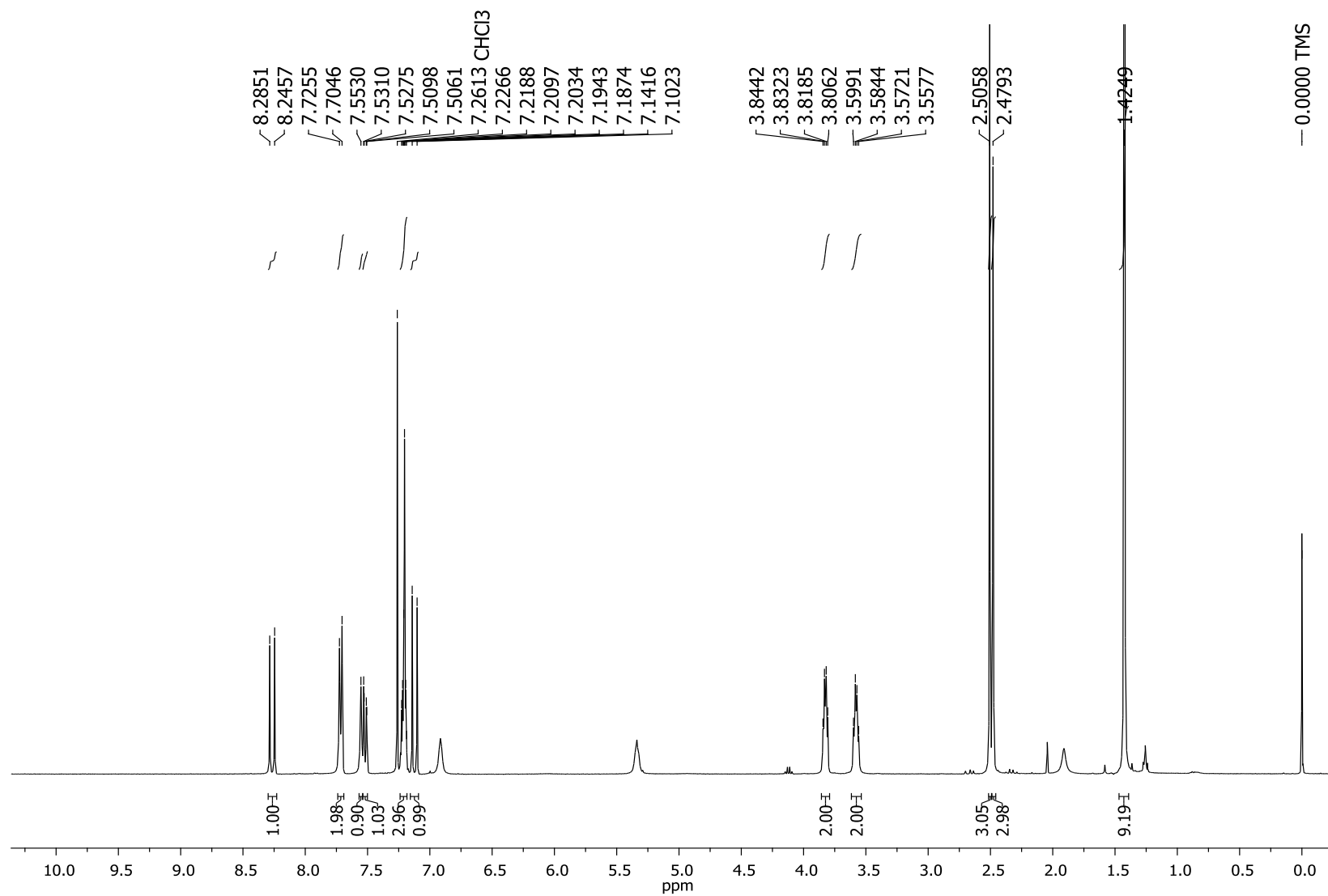


Figura 63. Ampliação do espectro da Figura 62 (δ 0,0–4,0) do intermediário **38**.

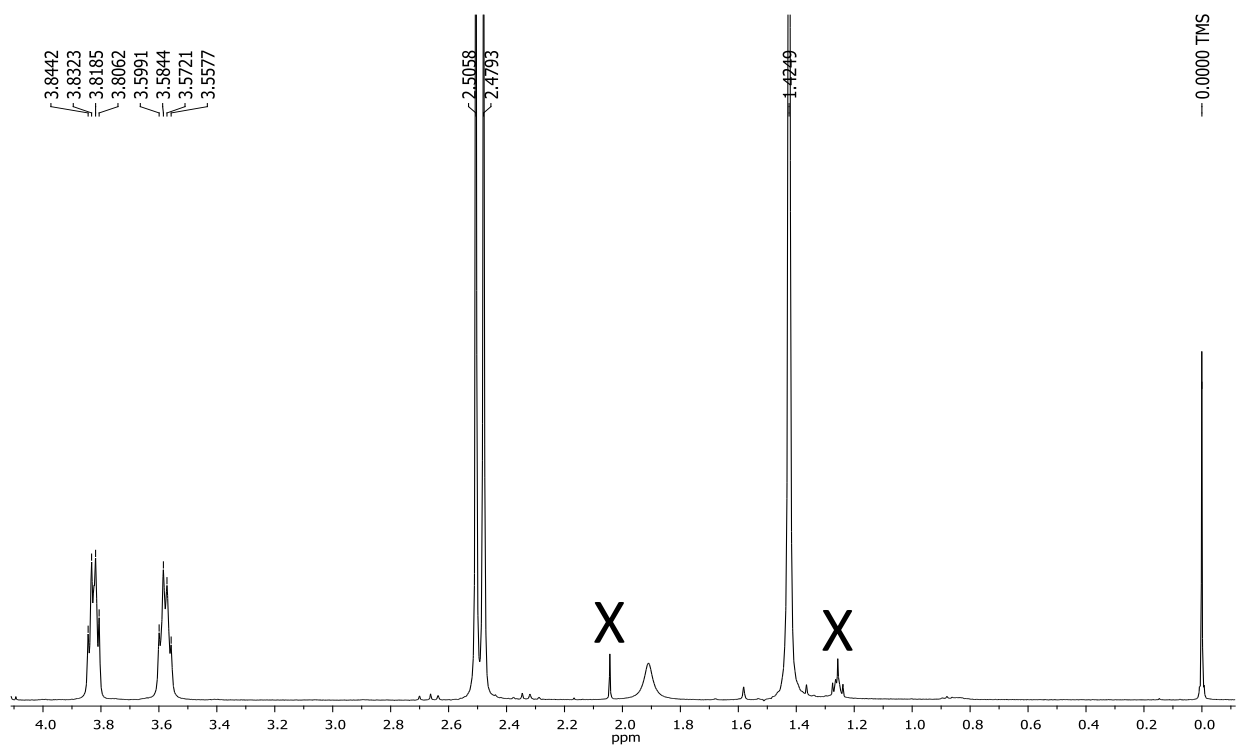
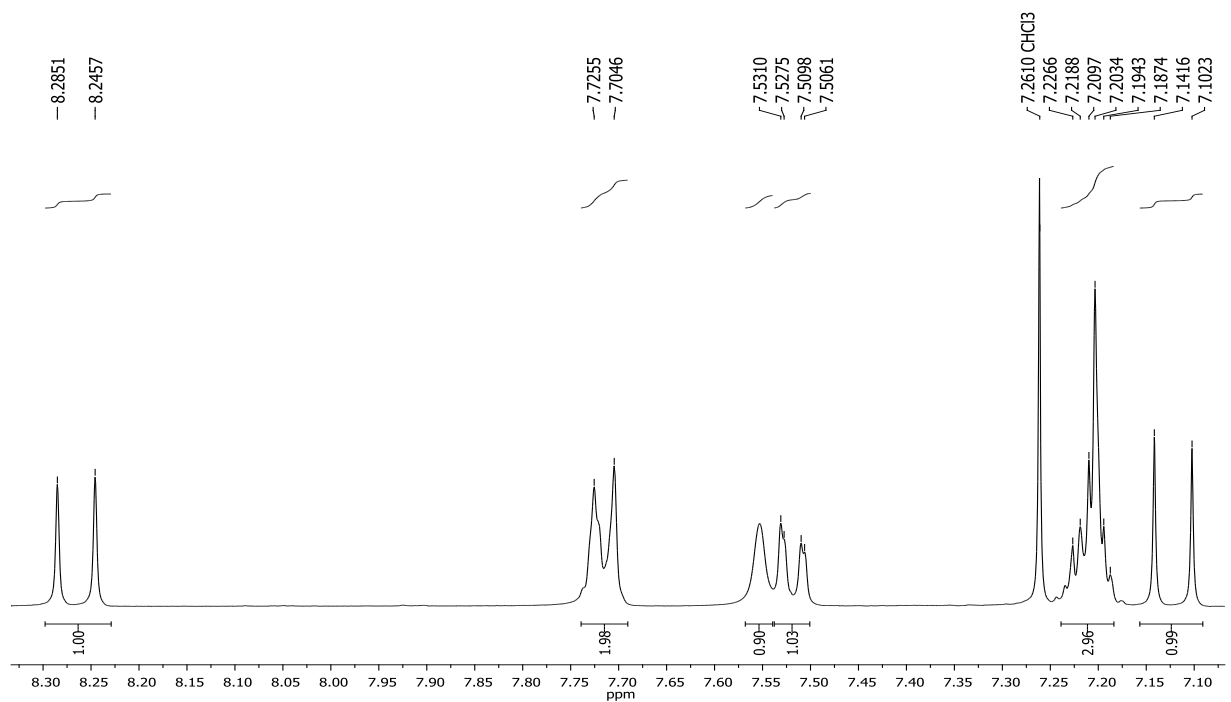


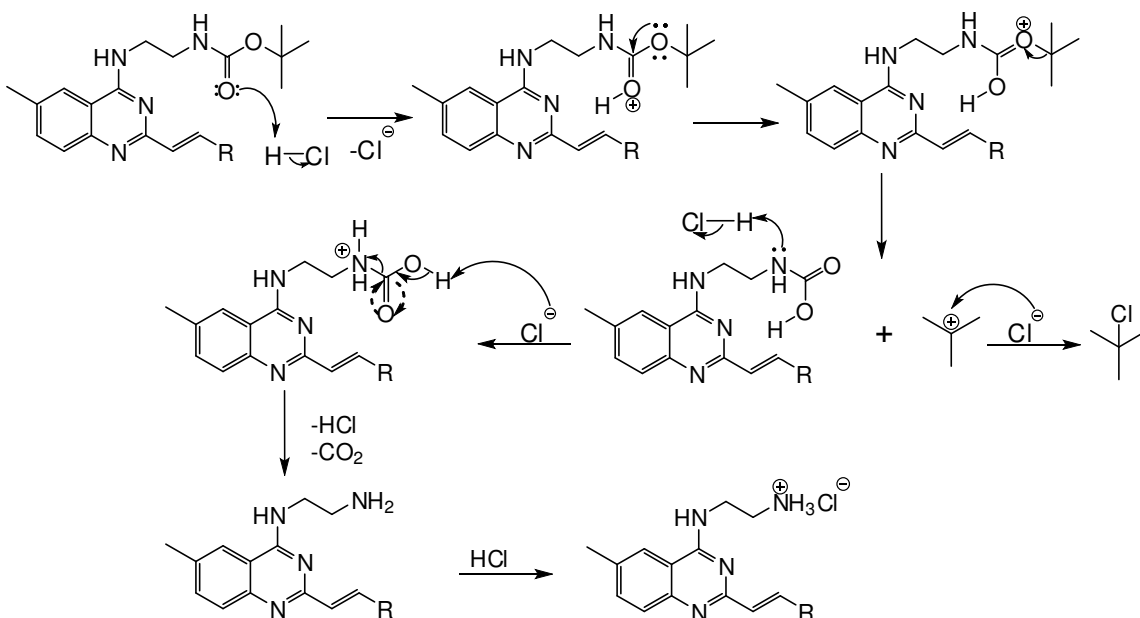
Figura 64. Ampliação do espectro da Figura 62 (δ 7,0–8,3) do intermediário **38**.



5.1.3 Desproteção dos intermediários 28–38 e obtenção dos análogos 39–48

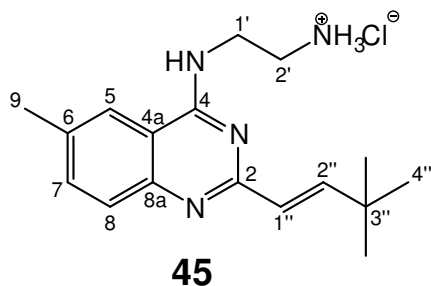
Utilizando a metodologia sintética descrita no item 4.1.2, os intermediários 28–38 protegidos foram desprotegidos (Figura 65), obtendo os análogos das zantrinas 39–48. Esses análogos foram submetidos às análises por espectrometria de massas de alta resolução, modo positivo, que possibilitou estabelecer suas fórmulas moleculares e por ressonância magnética.

Figura 65. Mecanismo de desproteção e obtenção dos produtos 39–48.



Fonte: autor.

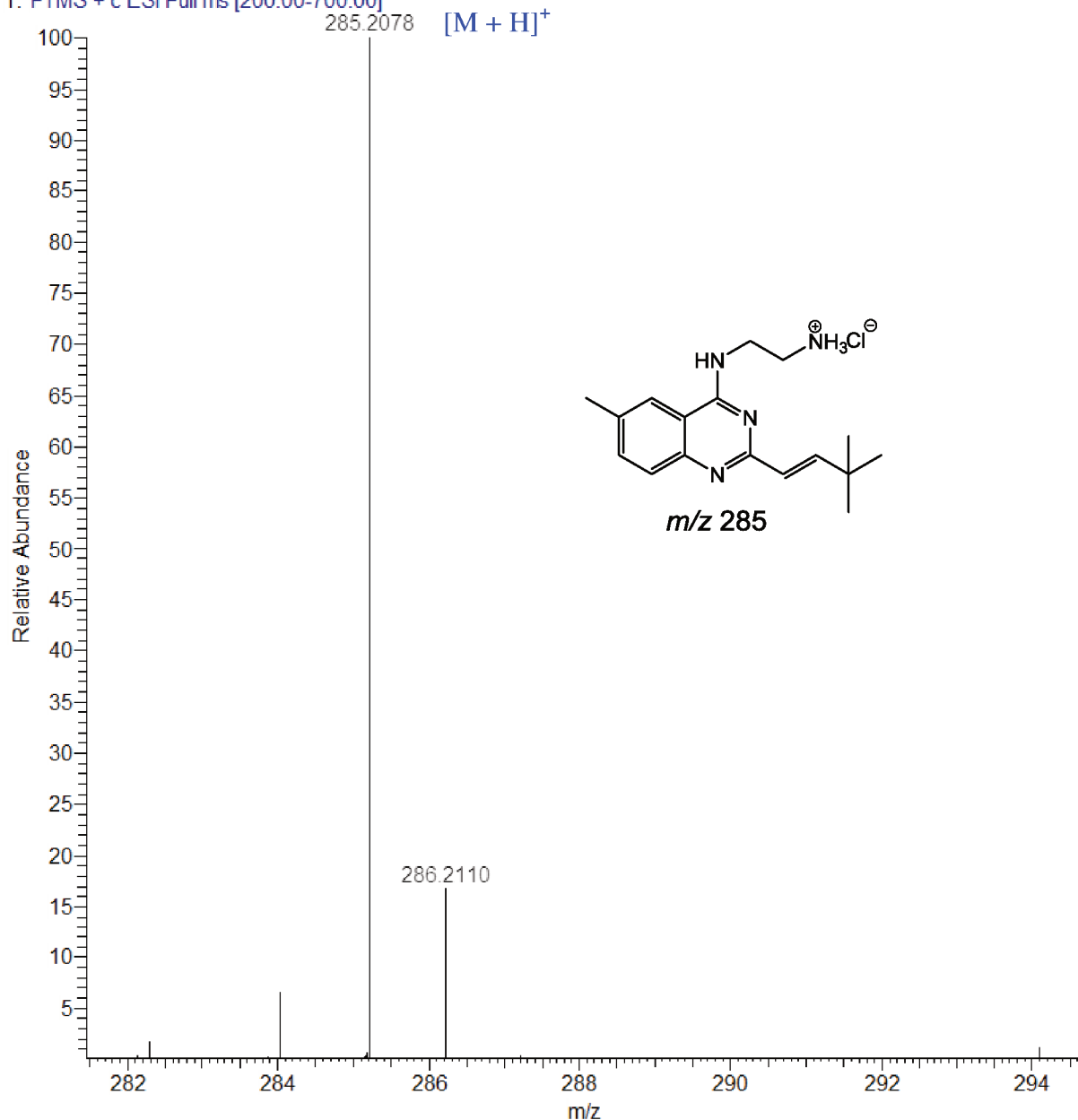
5.1.4 Caracterização dos análogos 39–48



A análise do análogo **45** por EM-IES-(+) em alta resolução, possibilitou estabelecer a fórmula molecular $C_{17}H_{24}N_4$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a oito. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 285,2078 $[M + H^+]$, calculado para $C_{17}H_{25}N_4$, 285,2074 (Δ 1,4 ppm) (Figura 66).

Figura 66. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **45**.

ACCM_I_020 #16-24 RT: 0.15-0.22 AV: 9 NL: 3.00E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]



A análise do espectro de RMN de ¹H (Figuras 67–69) do análogo **45** permitiu observar o mesmo padrão de sinais que caracteriza a quinazolina trissubstituída do intermediário **35**, porém agora sem a presença do sinal que representava o grupo de proteção (*t*-butila). Na região de absorção dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos, foram observados: um singlete largo

em δ 6,95 (1H, H-5), um dubleto em δ 6,60 (1H, $J = 8,5$ Hz, H-7), e um dubleto em δ 6,41 (1H, $J = 8,5$ Hz, H-8). Tendo em vista o conhecimento prévio dos substituintes no C-4 e C-6, a análise do espectro de RMN ^1H permitiu observar a presença de dois tripletos em δ 2,89 (2H, $J = 5,7$ Hz, H-1') e 2,12 (2H, $J = 5,7$ Hz, H-2') que confirmam a natureza do primeiro substituinte. A metila ligada ao C-6 foi confirmada pelo singlete em δ 1,30 (3H, H-9). O substituinte ligado ao C-2, inserido a partir da reação de Horner-Wadsworth-Emmons, foi caracterizado pela presença de dois dubletos em δ 6,41 (1H, d, $J = 15,7$ Hz, H-1''), e 5,19 (1H, d, $J = 15,7$ Hz, H-2''), e um singlete em δ -0,05 (9H, H-4''), característico do grupo *t*-butila.

A análise dos espectros de RMN de ^1H dos compostos **35** e **45** permitiu evidenciar que os sinais referentes aos hidrogênios H-1' e H-2' estão mais desblindados no intermediário **35**, que pode ser atribuído ao efeito do cone de desproteção da carbonila, presente no grupo protetor (Boc). A ausência do sinal referente a *t*-butila aliada ao efeito de proteção do H-1' e H-2', corroboram a proposta de que a reação para retirar o grupo protetor foi eficiente.

Figura 67. Espectro de RMN de ^1H do análogo **45** (CD_3OD , 400 MHz).

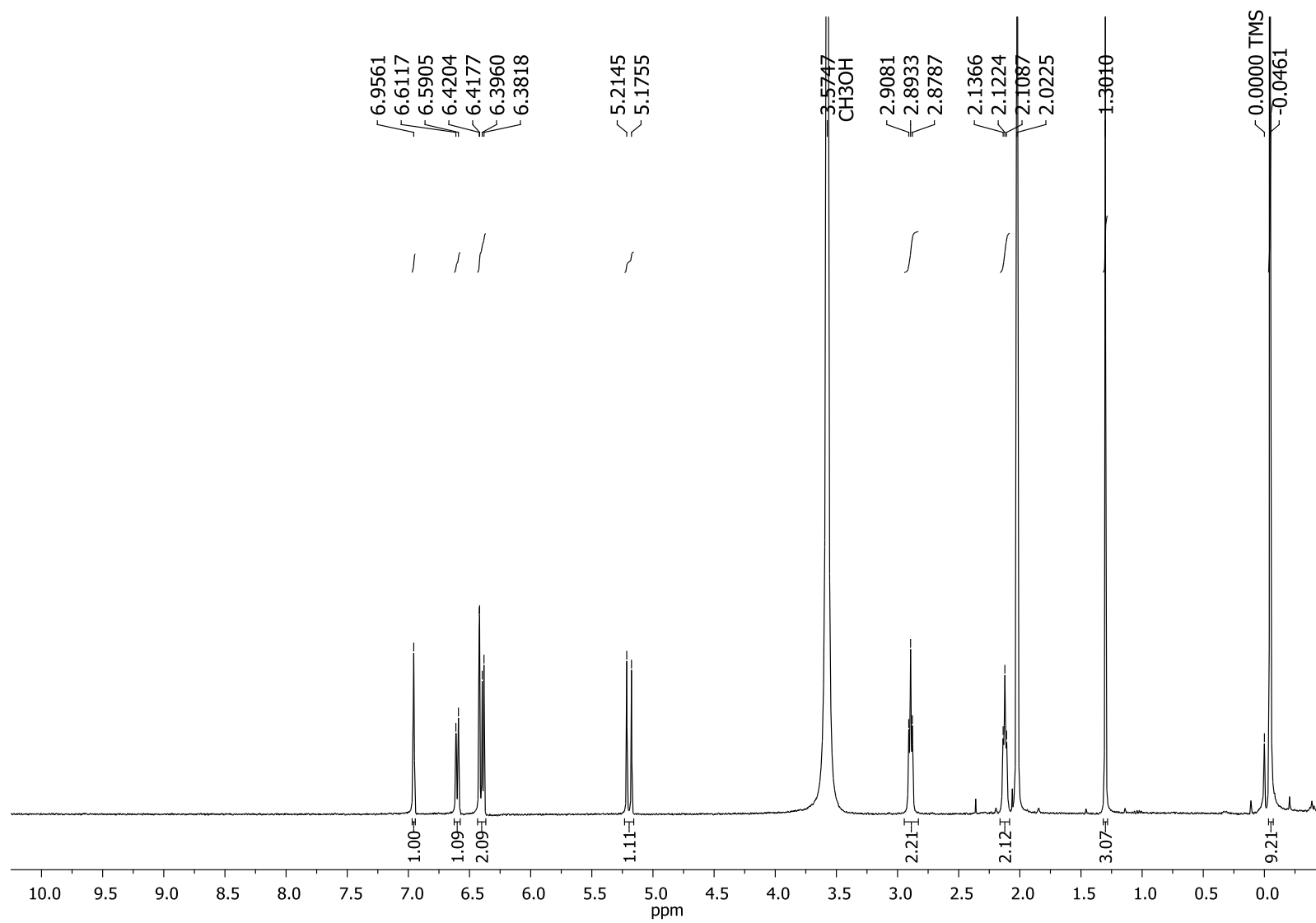


Figura 68. Ampliação do espectro da Figura 67 (δ 0,0–3,8) do análogo **45**.

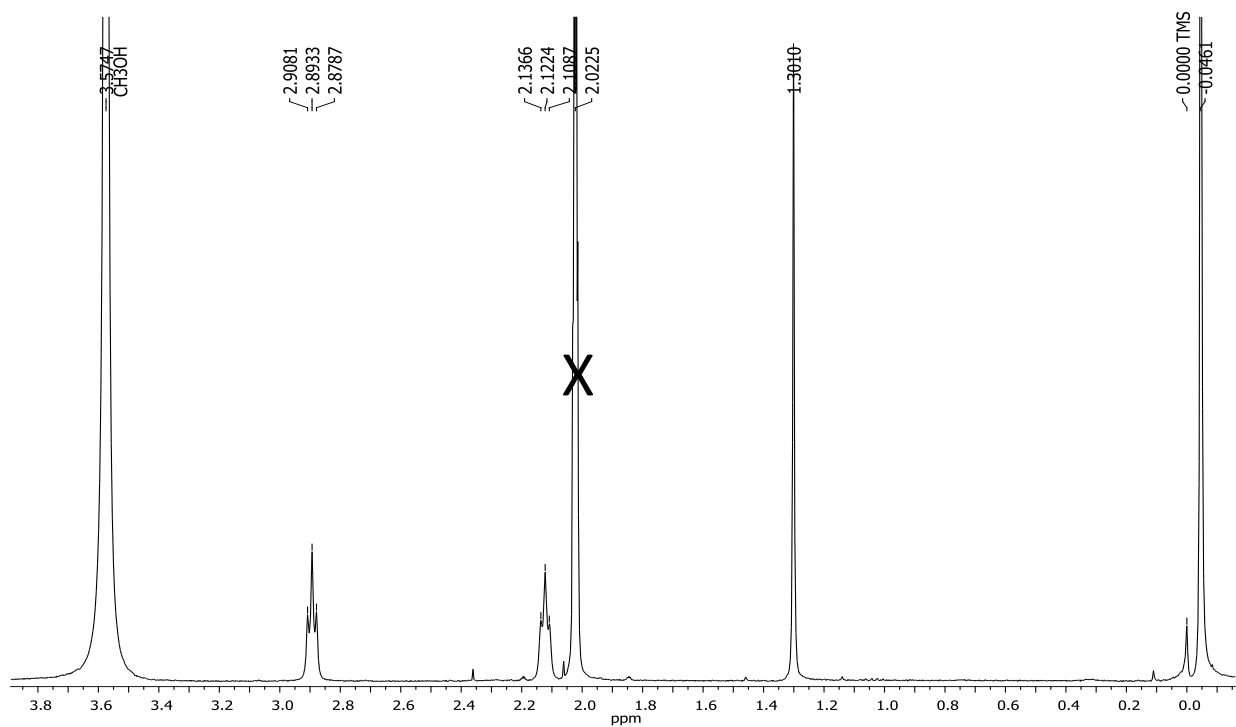
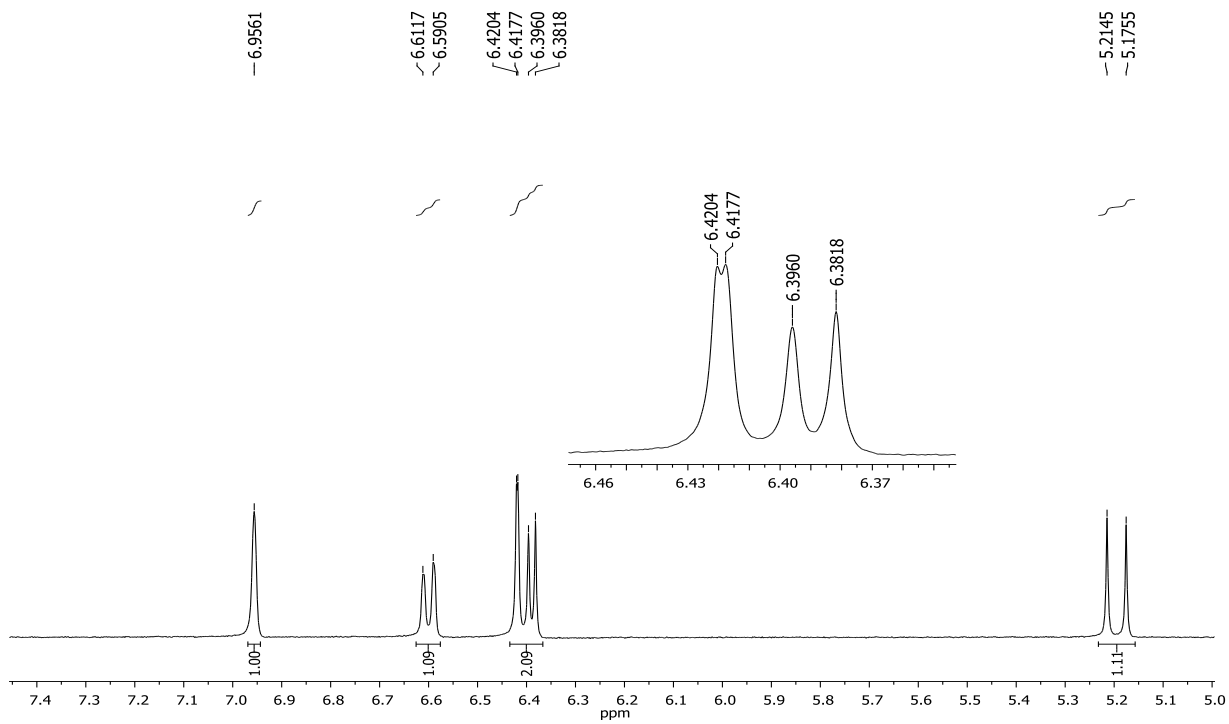
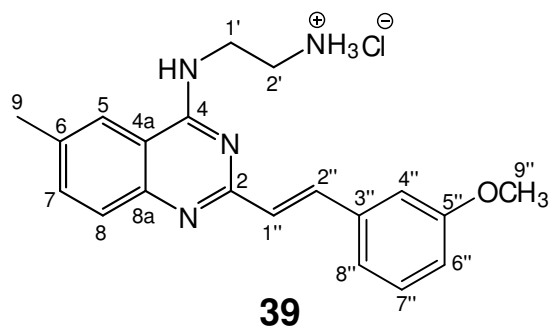


Figura 69. Ampliação do espectro da Figura 67 (δ 5,0–7,5) do análogo **45**.





Análogo (39): sólido branco (12,0 mg); EM-IES-(+) m/z 335,1880 $[M + H]^+$, calculado para $C_{20}H_{23}N_4O$, 335,1866 (Δ 4,2 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,11 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-1''), 6,95 (1H, sl, H-5), 6,60 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-8), 6,44 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-7), 6,06–6,11 (3H, m, H-6'', H-7'' e H-8''), 5,89 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-2''), 5,76 (1H, sl, H-4''), 2,97 (2H, t, $J = 5,4$ Hz, H-1'), 2,58 (3H, s, H-9''), 2,16 (2H, t, $J = 5,4$ Hz, H-2'), 1,30 (3H, s, H-9).

Figura 70. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **39**.

ACCM_I_013 #16-25 RT: 0.15-0.23 AV: 10 NL: 3.19E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

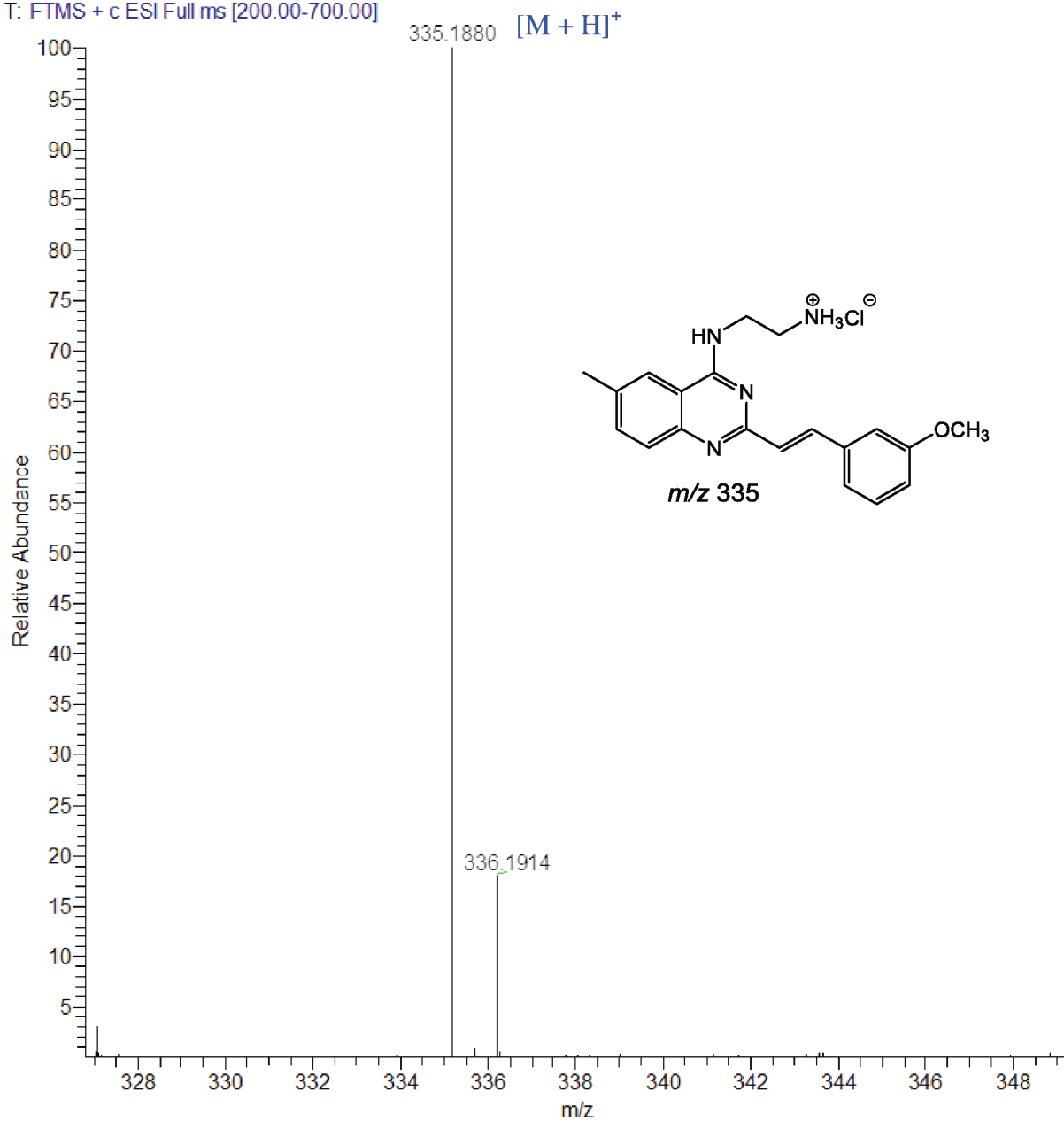


Figura 71. Espectro de RMN de ^1H do análogo **39** (CD_3OD , 400 MHz).

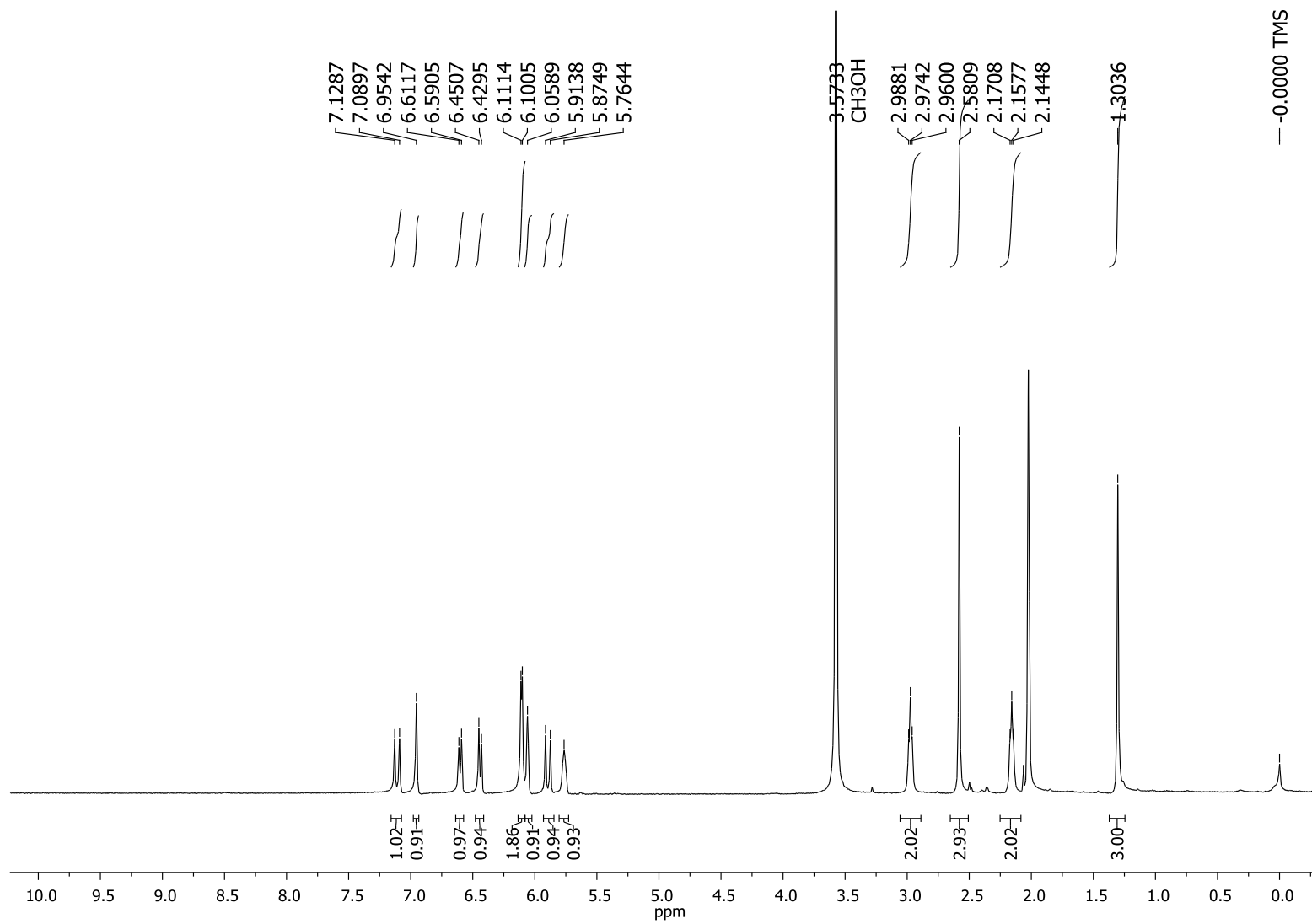


Figura 72. Ampliação do espectro da Figura 71 (δ 0,0–3,8) do análogo **39**.

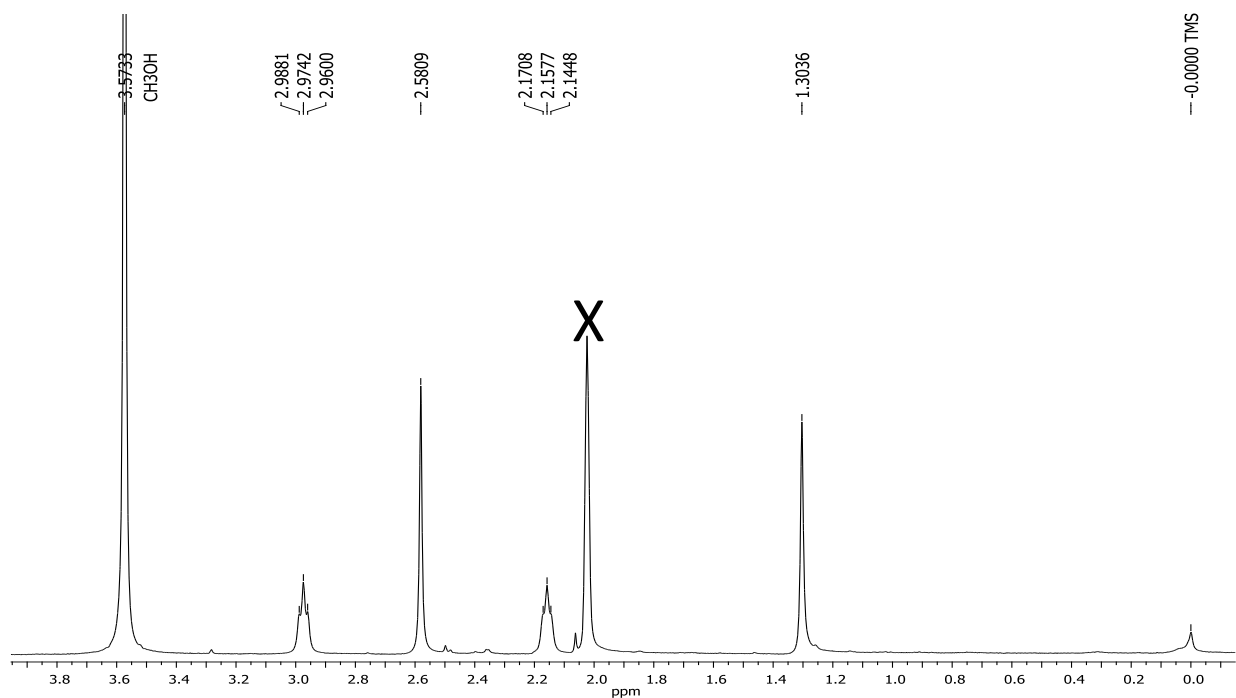
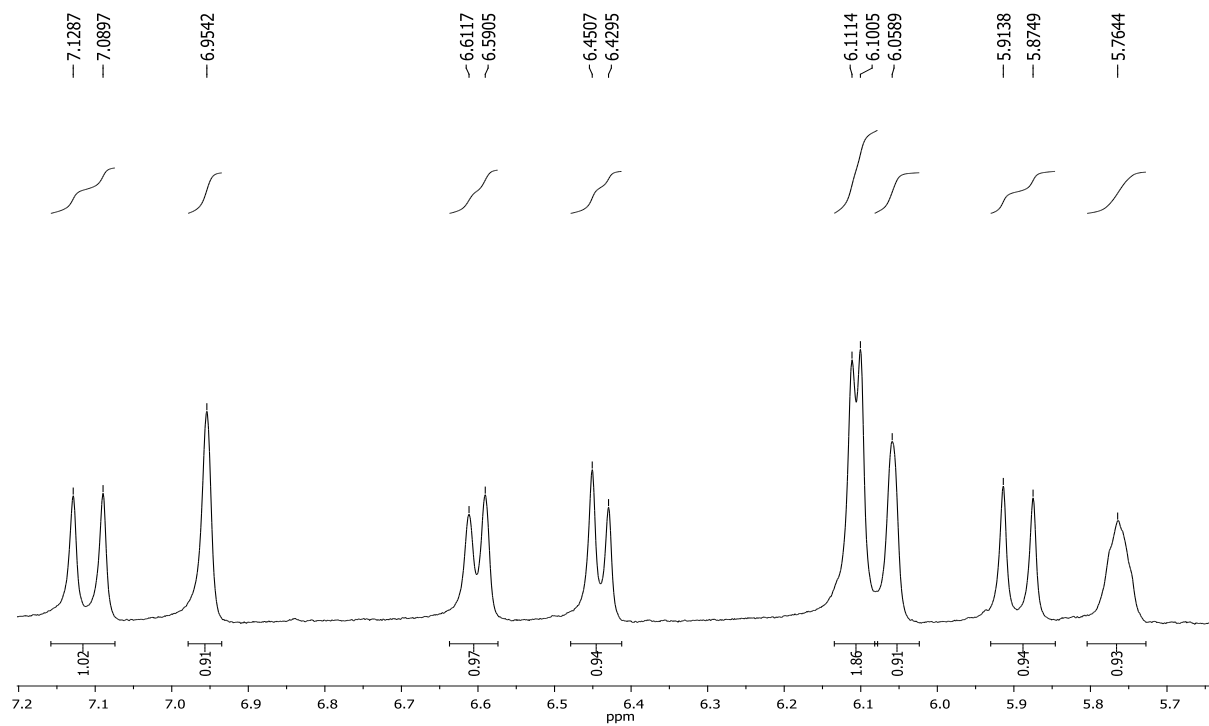
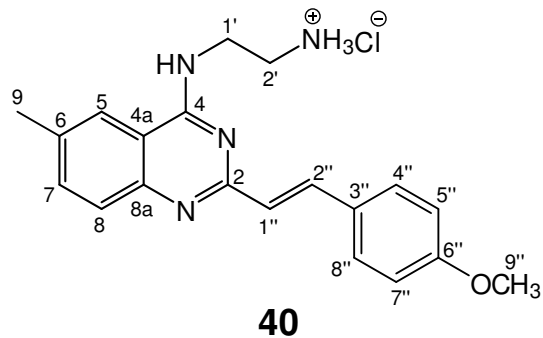


Figura 73. Ampliação do espectro da Figura 71 (δ 5,2–7,0) do análogo **39**.





Análogo (40): sólido branco (24,0 mg); EM-IES-(+) m/z 335,1857 $[M + H]^+$, calculado para $C_{20}H_{23}N_4O$, 335,1866 (Δ 2,7 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,10 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-1''), 6,90 (1H, sl, H-5), 6,60 (1H, dd, $J = 8,6, 1,5$ Hz, H-7), 6,49 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-4'' e H-8''), 6,40 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, H-8), 5,77 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-5'' e H-7''), 5,73 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-2''), 2,94 (2H, t, $J = 6,1$ Hz, H-1'), 2,57 (3H, s, H-9''), 2,15 (2H, t, $J = 6,1$ Hz, H-2'), 1,30 (3H, s, H-9).

Figura 74. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **40**.

ACCM_I_067 #19-32 RT: 0.17-0.29 AV: 14 NL: 3.69E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

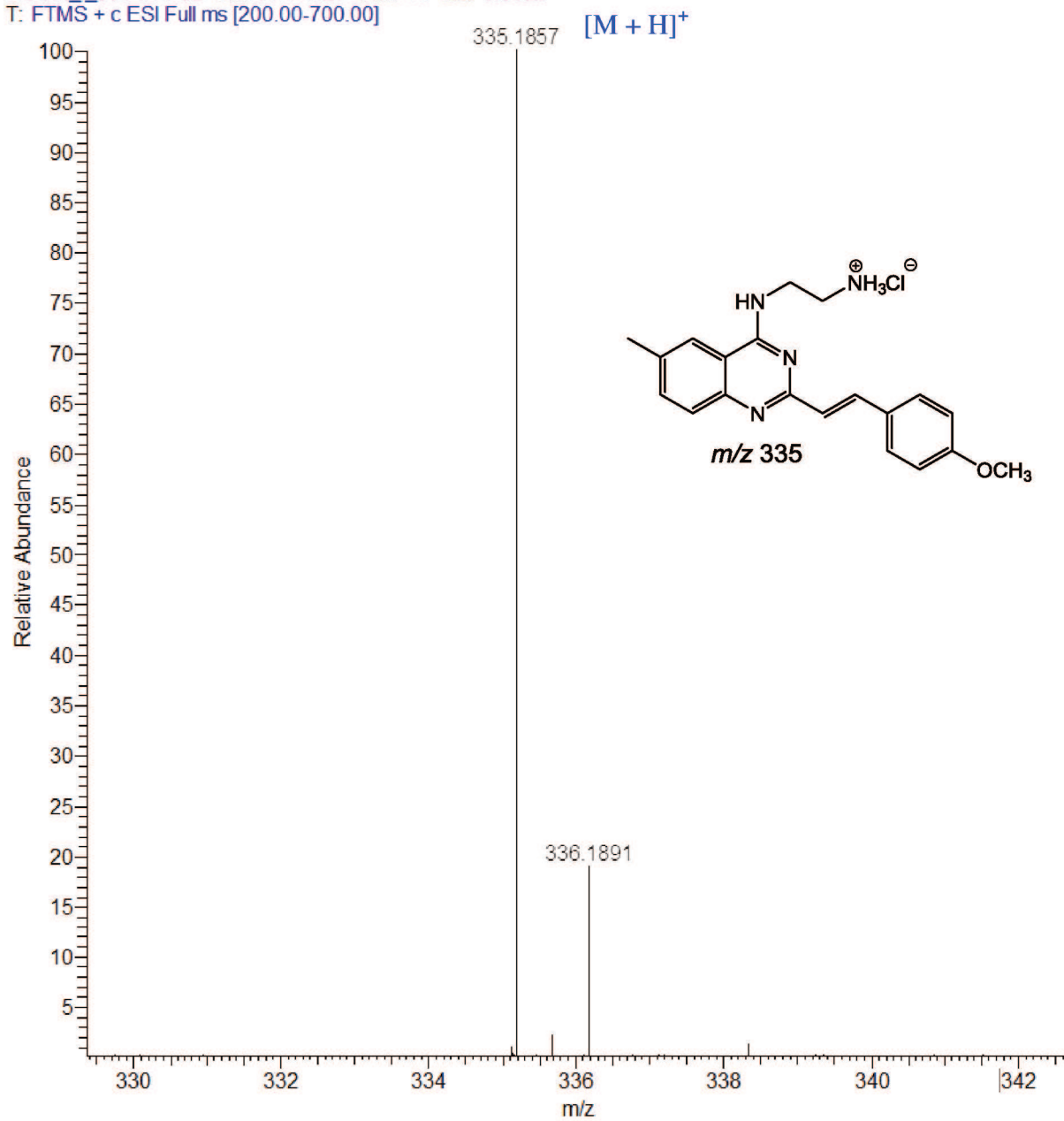


Figura 75. Espectro de RMN de ^1H do análogo **40** (CD_3OD , 400 MHz).

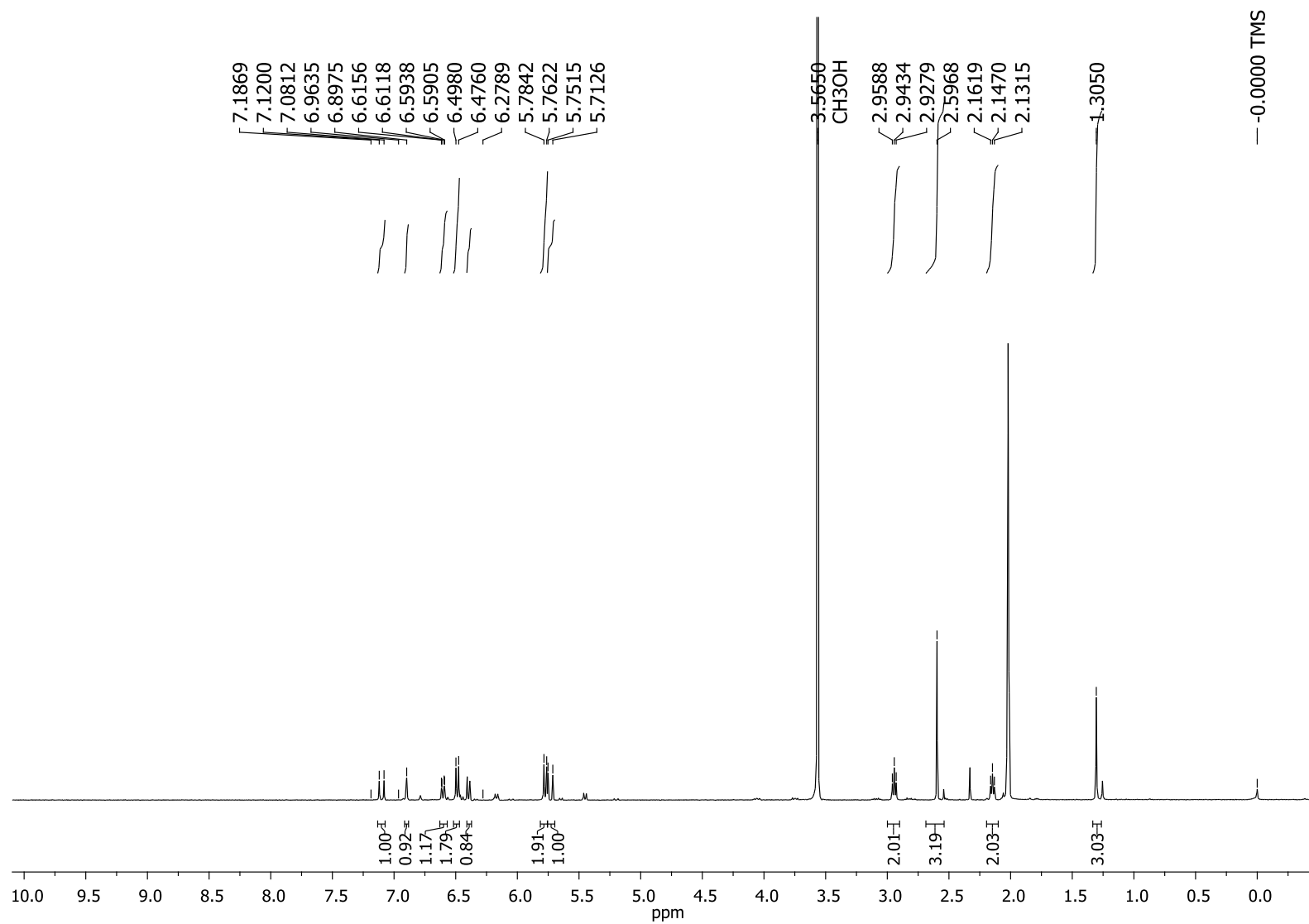


Figura 76. Ampliação do espectro da Figura 75 (δ 0,0–3,9) do análogo **40**.

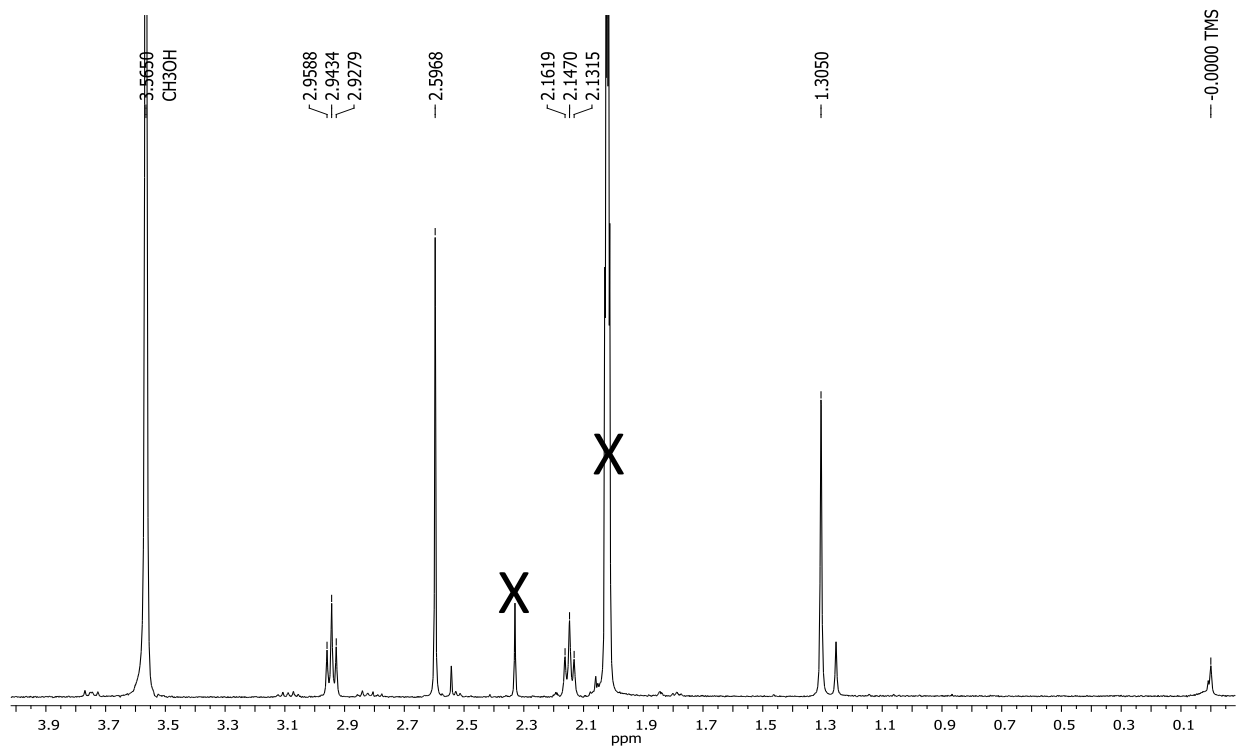
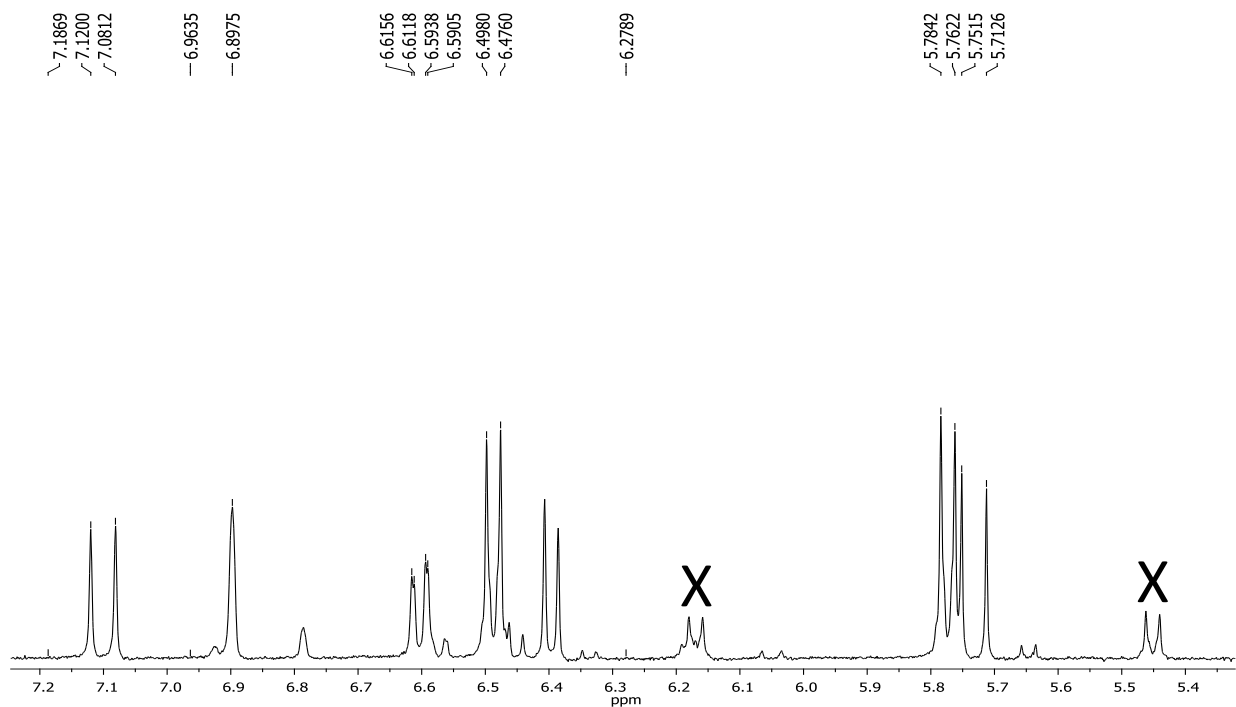
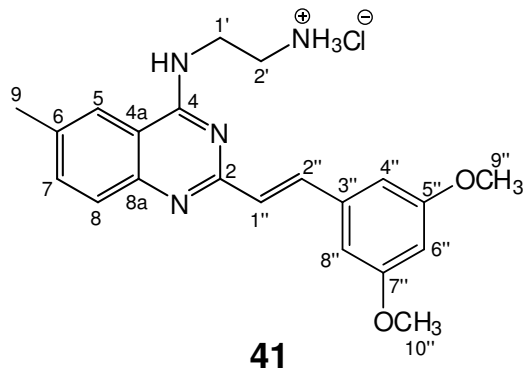


Figura 77. Ampliação do espectro da Figura 75 (δ 5,4–7,2) do análogo **40**.





Análogo (41): sólido branco (27,5 mg); EM-IES-(+) m/z 365,1978 $[M + H]^+$, calculado para $C_{21}H_{25}N_4O_2$, 365,1972 (Δ 1,6 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,15 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-1''), 7,03 (1H, sl, H-5), 6,71 (1H, dd, $J = 8,5; 1,2$ Hz, H-7), 6,52 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-8), 5,96 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-2''), 5,76 (2H, d, $J = 2,1$ Hz, H-4'' e H-8''), 5,44 (1H, dd, $J = 2,1$ Hz, H-6''), 3,06 (2H, t, $J = 6,2$ Hz, H-1'), 2,67 (6H, s, 2CH₃, H-9'' e H-10''), 2,25 (2H, t, $J = 6,2$ Hz, H-2'), 1,41 (3H, s, H-9).

Figura 78. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **41**.

ACCM_I_010 #23-29 RT: 0.21-0.27 AV: 7 |NL: 3.77E6

T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

365.1978 [M + H]⁺

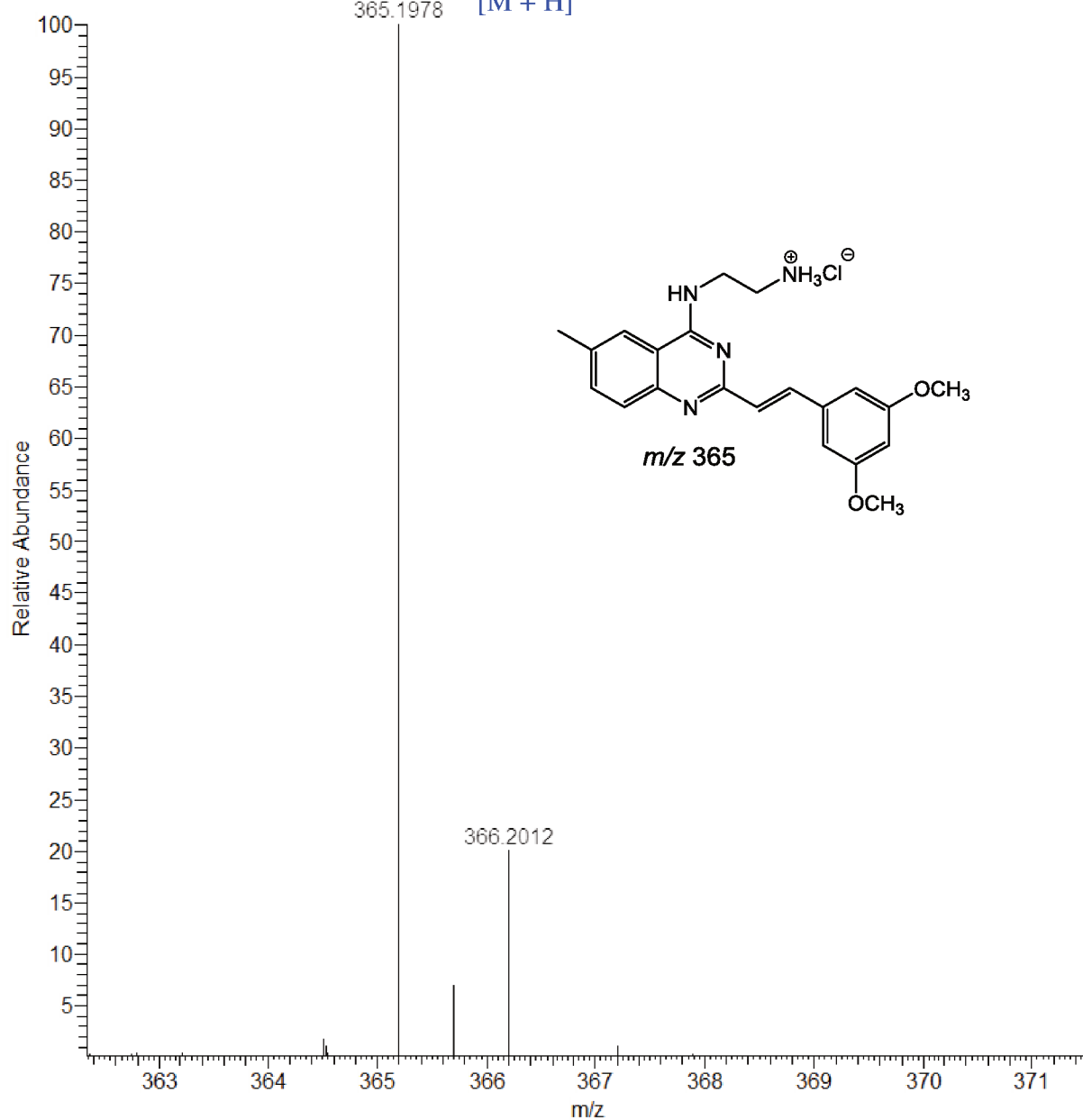


Figura 79. Espectro de RMN de ^1H do análogo **41** (CD_3OD , 400 MHz).

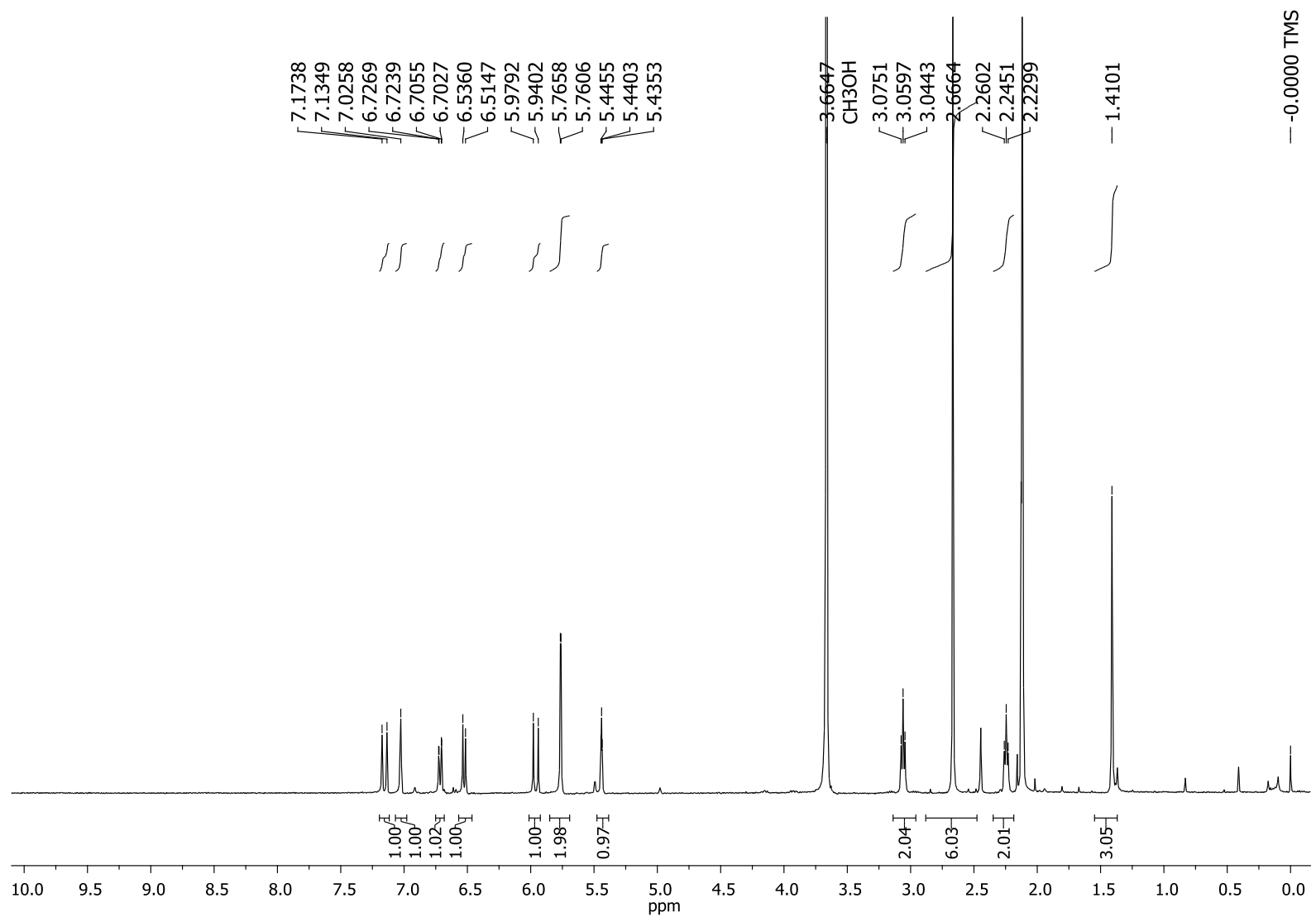


Figura 80. Ampliação do espectro da Figura 79 (δ 0,0–3,8) do análogo **41**.

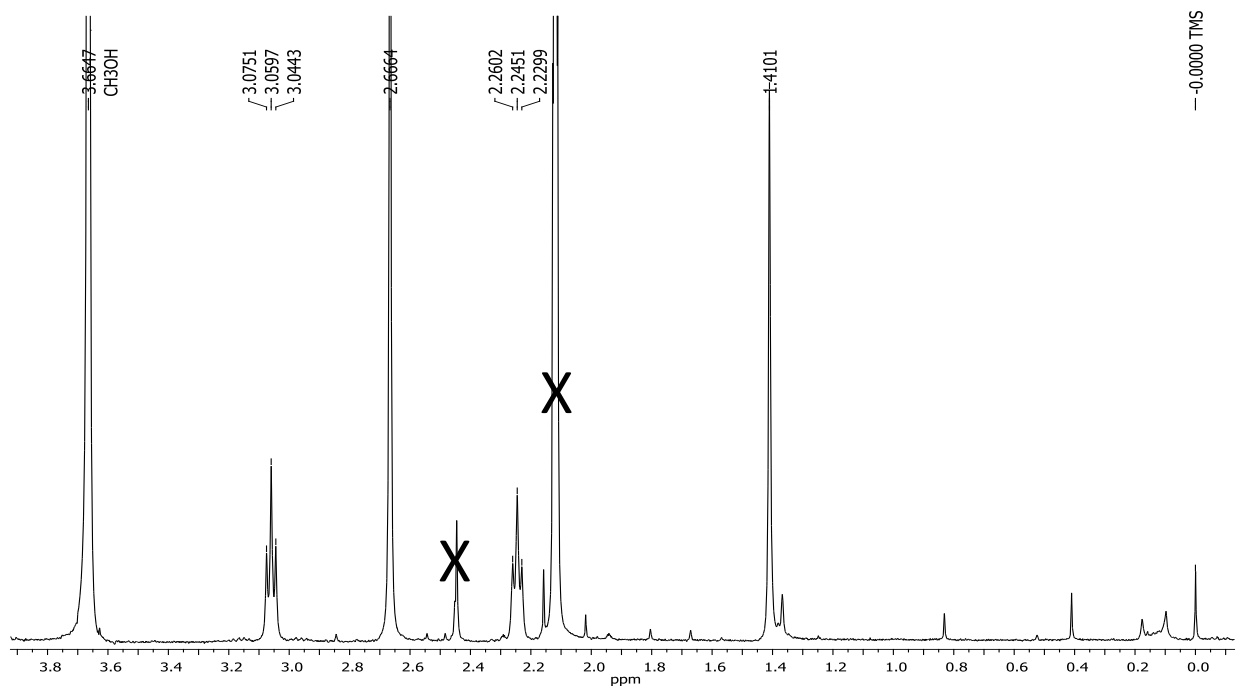
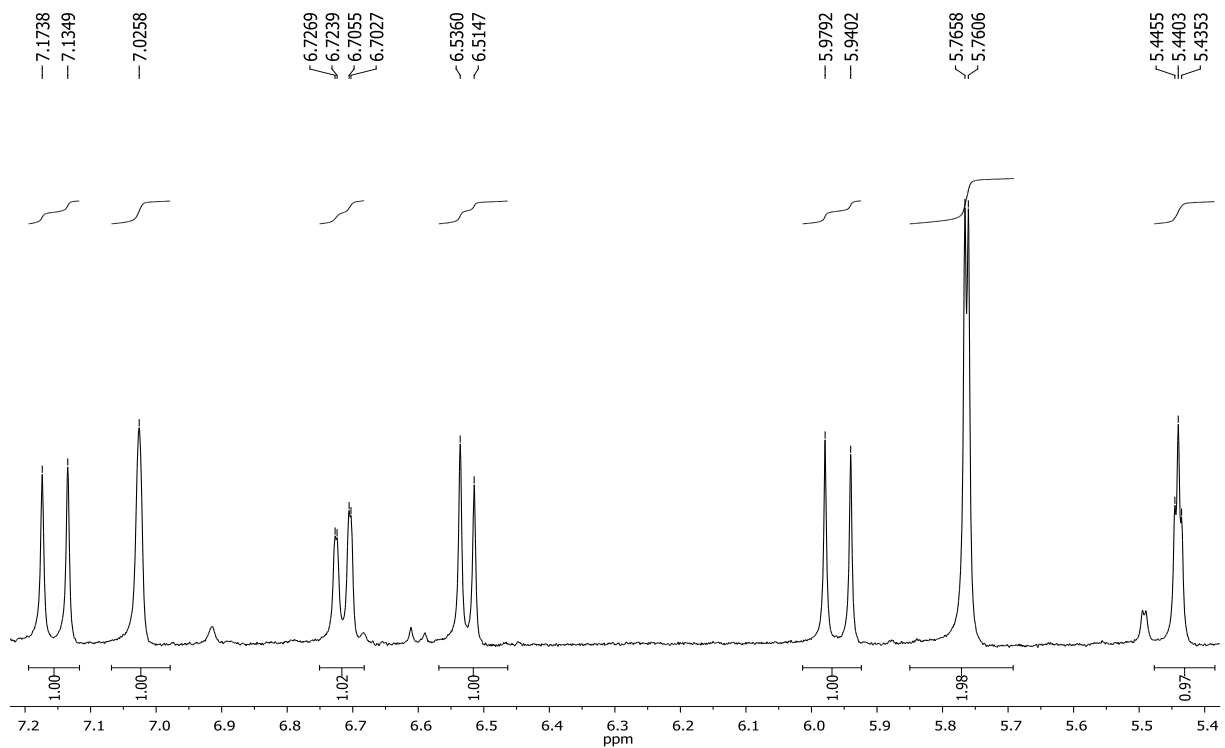
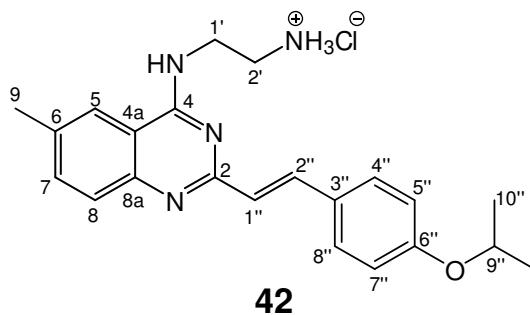


Figura 81. Ampliação do espectro da Figura 79 (δ 5,4–7,2) do análogo **41**.





Análogo (42): sólido branco (22,0 mg); EM-IES-(+) m/z 363,2185 $[M + H]^+$, calculado para $C_{22}H_{27}N_4O$, 363,2179 (Δ 1,7 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,45 (1H, d, $J = 15,4$ Hz, H-1''), 7,31 (1H, sl, H-5), 6,95 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-8), 6,85 (2H, d, $J = 8,1$ Hz, H-4'' e H-8''), 6,79 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-7), 6,11 (1H, d, $J = 15,4$ Hz, H-2''), 6,08 (2H, d, $J = 8,1$ Hz, H-5'' e H-7''), 3,81 (1H, sept, $J = 6,0$ Hz, H-9''), 3,35 (2H, s, H-1'), 2,55 (2H, s, H-2'), 1,67 (3H, s, H-9), 0,45 (6H, d, $J = 6,0$ Hz, 2CH₃, H-10').

Figura 82. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **42**.

ACCM_I_011 #24-42 RT: 0.22-0.39 AV: 19 NL: 9.46E5

T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

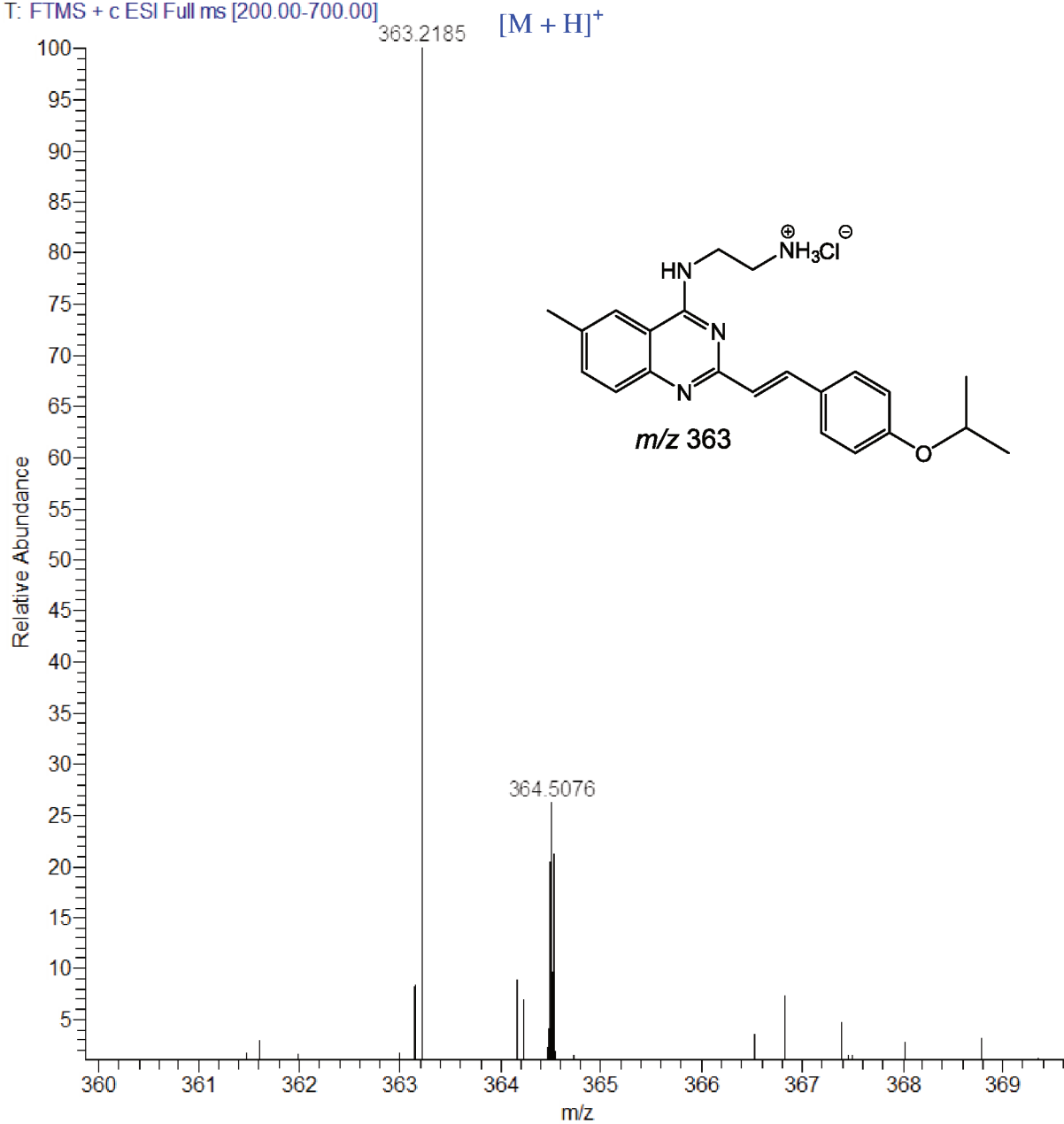


Figura 83. Espectro de RMN de ^1H do análogo **42** (CD_3OD , 400 MHz).

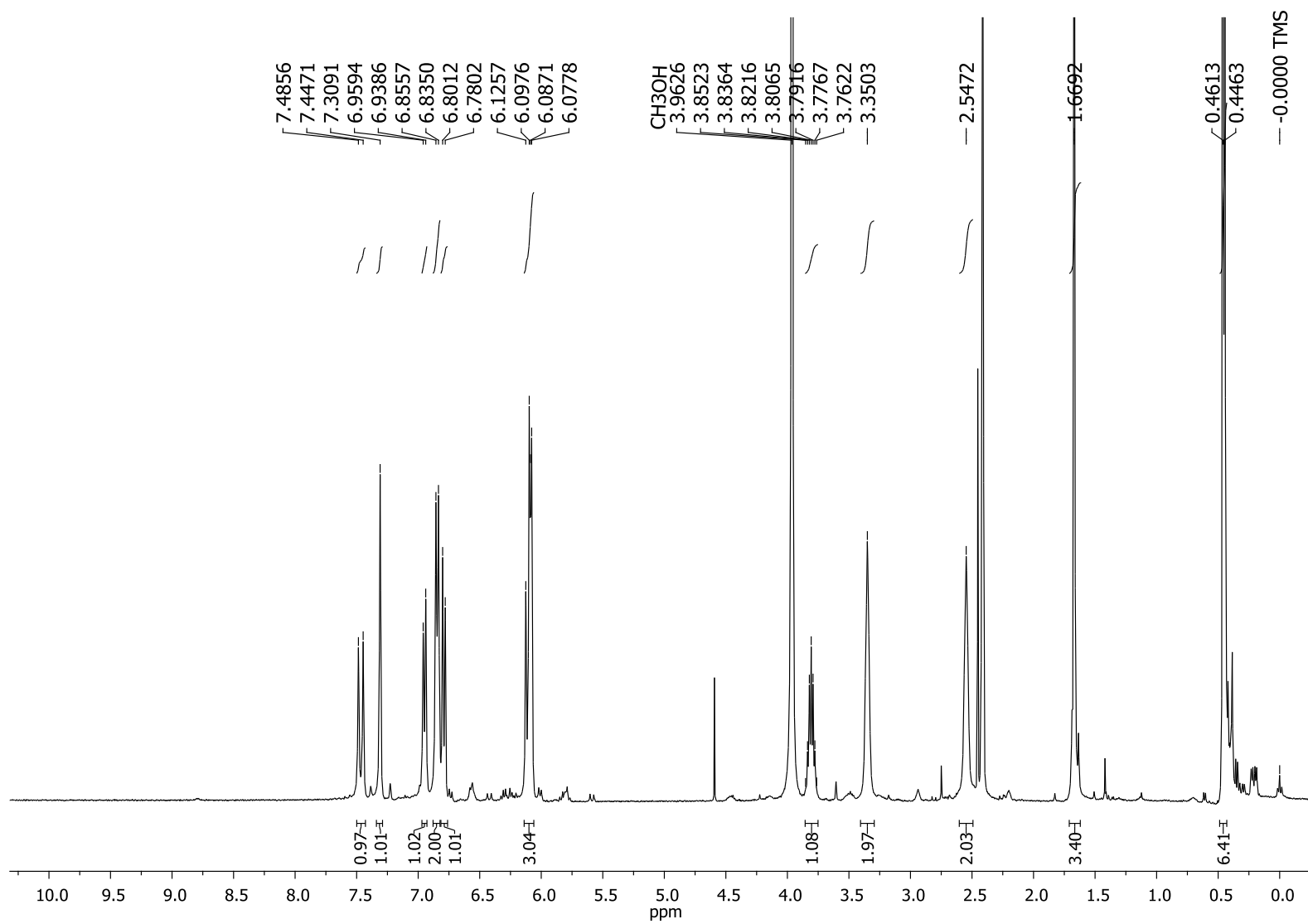


Figura 84. Ampliação do espectro da Figura 83 (δ 0,0–4,2) do análogo **42**.

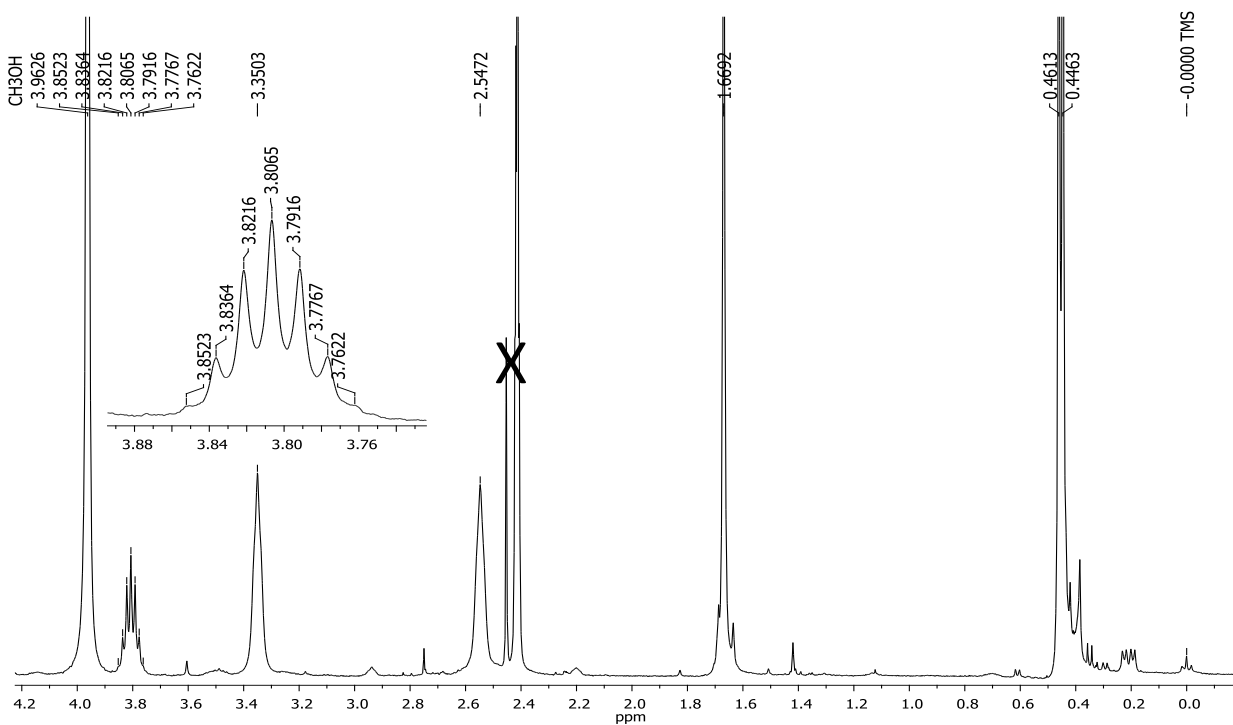
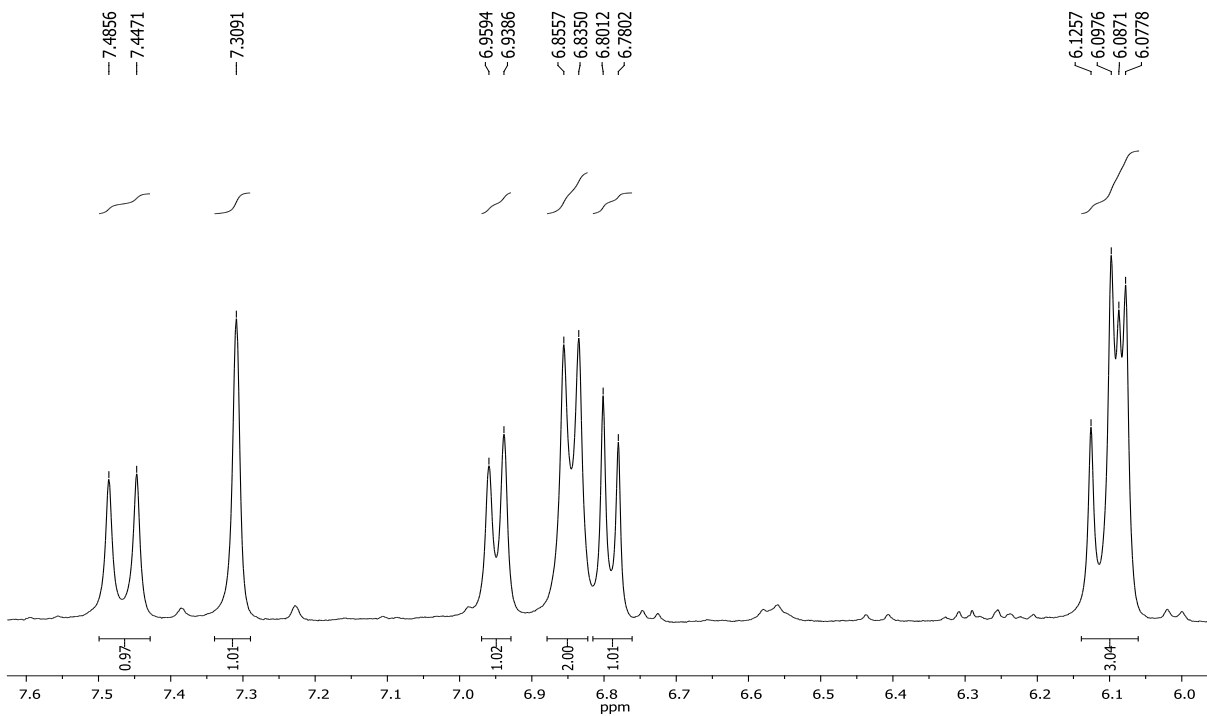
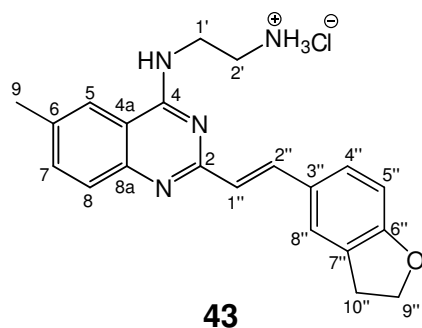


Figura 85. Ampliação do espectro da Figura 83 (δ 6,0–7,6) do análogo **42**.





Análogo (43): sólido branco (17,5 mg); EM-IES-(+) m/z 347,1876 $[M + H]^+$, calculado para $C_{21}H_{23}N_4O$, 347,1866 (Δ 2,9 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,07 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-1''), 6,89 (1H, sl, H-5), 6,56 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-8), 6,41 (1H, s, H-8''), 6,4 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-4''), 6,28 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-7), 5,69 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-2''), 5,52 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5''), 3,35 (2H, t, $J = 8,6$ Hz, H-8''), 2,95 (2H, t, $J = 5,7$ Hz, H-1), 2,15 (2H, t, $J = 5,7$ Hz, H-2'), 1,97 (2H, t, $J = 8,6$ Hz, H-10''), 1,27 (3H, s, H-9).

Figura 86. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **43**.

ACCM_I_029 #12-21 RT: 0.10-0.19 AV: 10 NL: 7.95E6
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

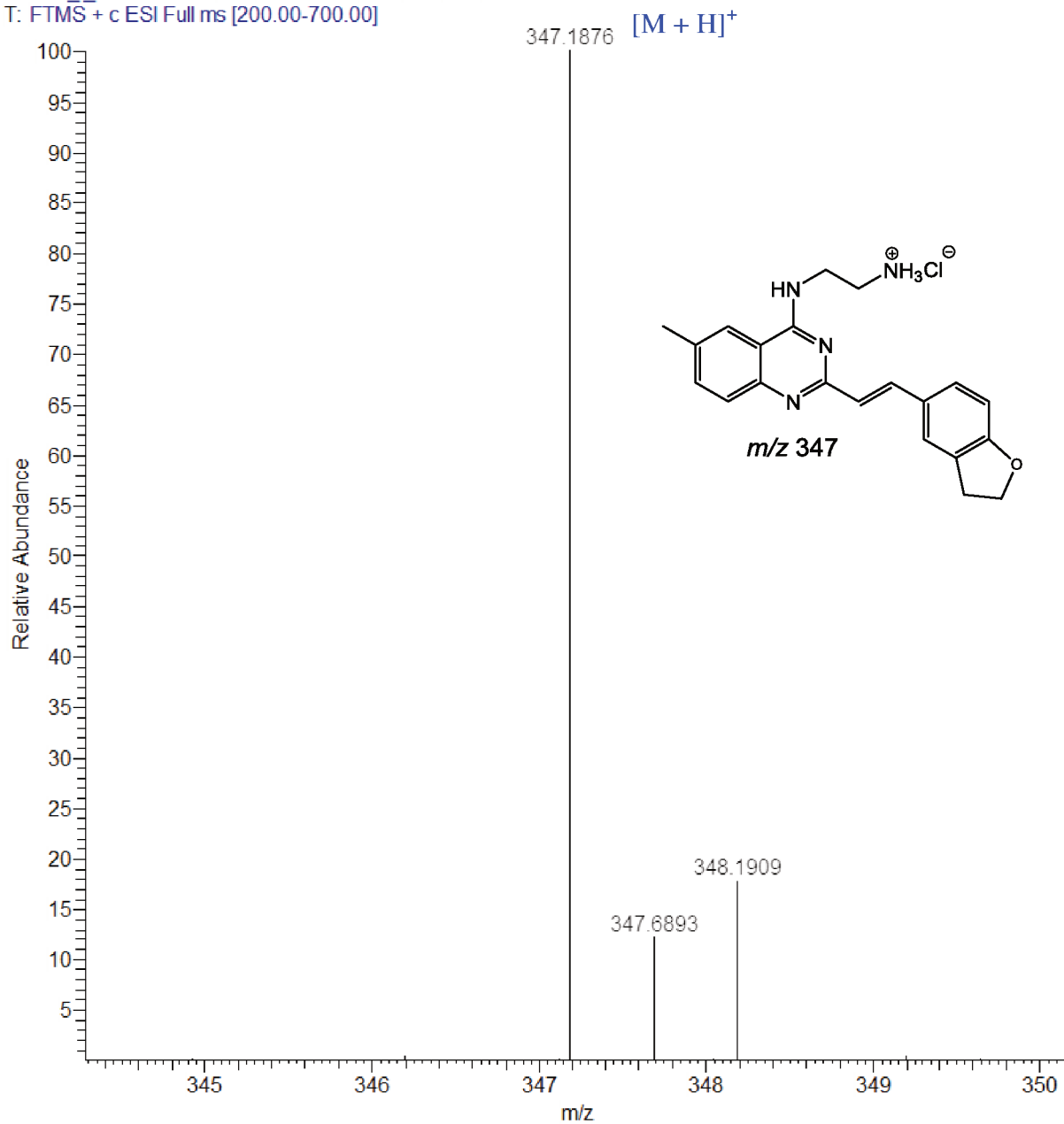


Figura 87. Espectro de RMN de ^1H do análogo **43** (CD_3OD , 400 MHz).

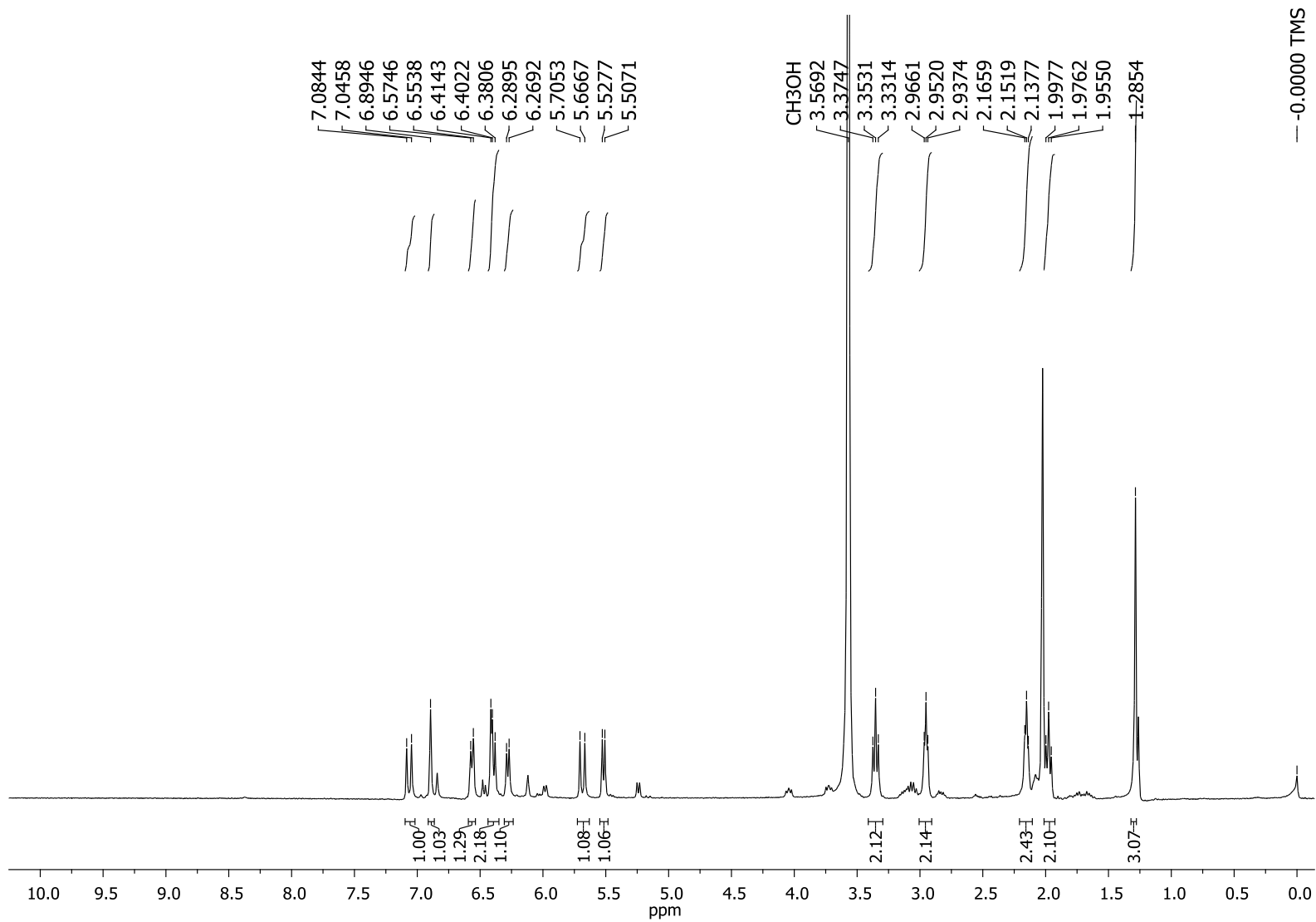


Figura 88. Ampliação do espectro da Figura 87 (δ 0,0–4,0) do análogo **43**.

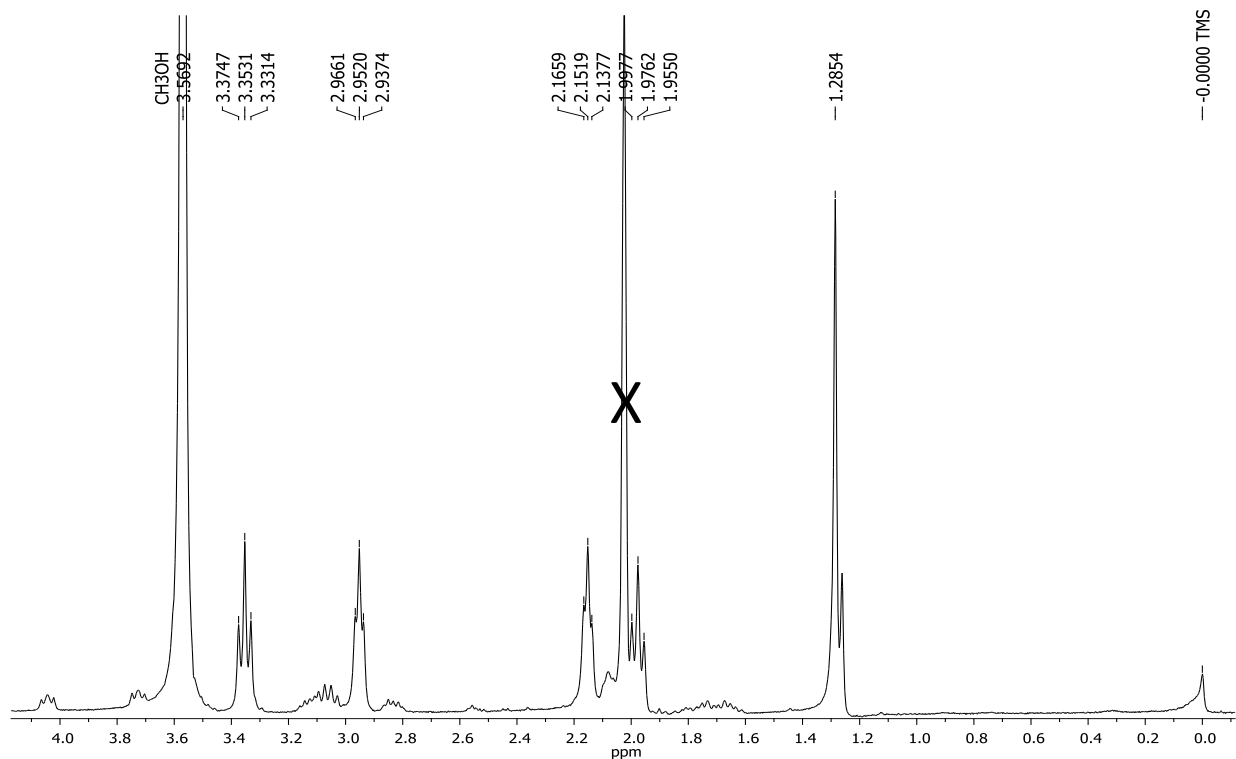
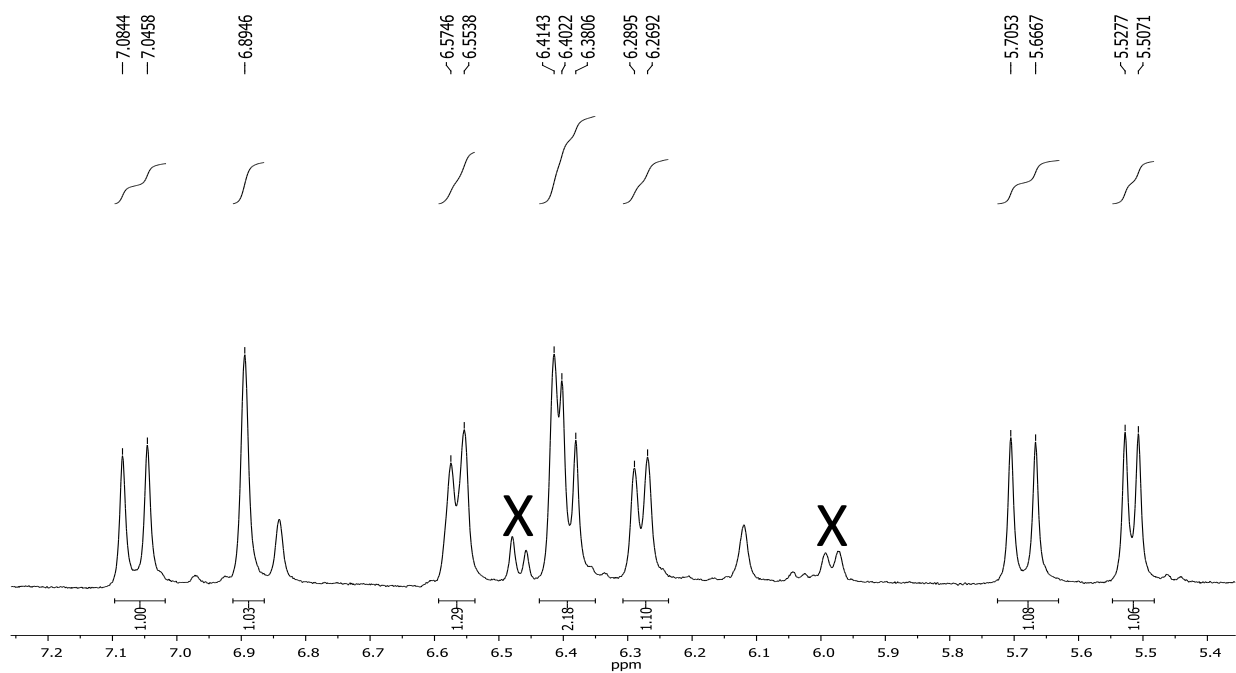
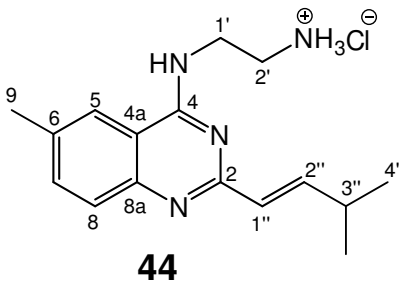


Figura 89. Ampliação do espectro da Figura 87 (δ 5,4–7,2) do análogo **43**.





Análogo (44): sólido branco (26,0 mg); EM-IES-(+) m/z 271,1915 $[M + H]^+$, calculado para C₁₆H₂₃N₄, 271,1917 (Δ 0,7 ppm); RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 7,36 (1H, sl, H-5), 6,97 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-7), 6,81 (1H, d, $J = 15,2$ Hz, H-1''), 6,80 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-7), 5,62 (1H, d, $J = 15,2$ Hz, H-2''), 3,27 (2H, s, H-1'), 2,50 (2H, s, H-2'), 1,81 (1H, m, H-3''), 1,68 (3H, s, H-9), 0,31 (6H, d, $J = 6,6$ Hz, 2CH₃, H-4'').

Figura 90. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **44**.

ACCM_I_016 #12-20 RT: 0.11-0.18 AV: 9 NL: 1.75E6
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

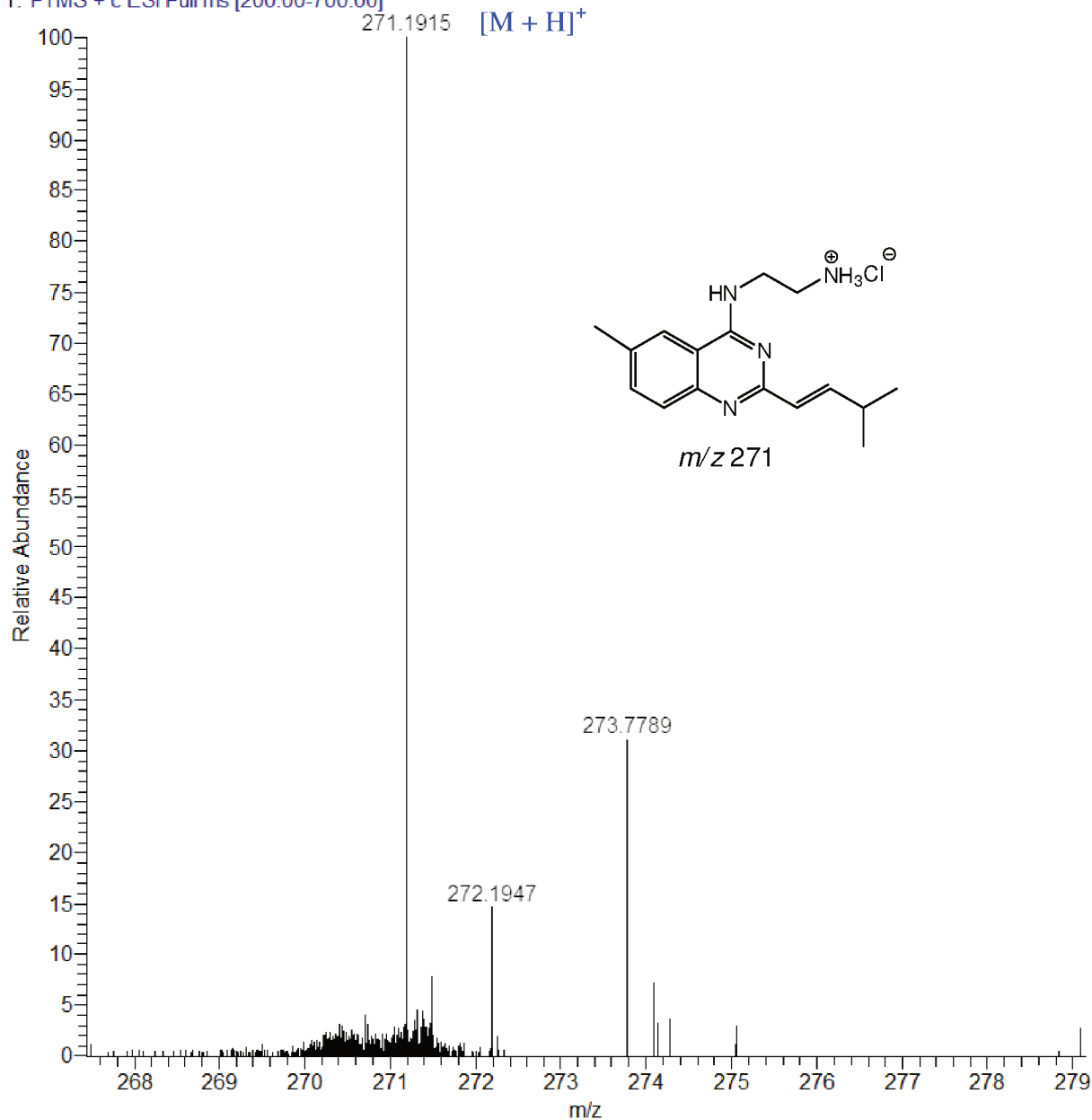


Figura 91. Espectro de RMN de ^1H do análogo **44** (CD_3OD , 400 MHz).

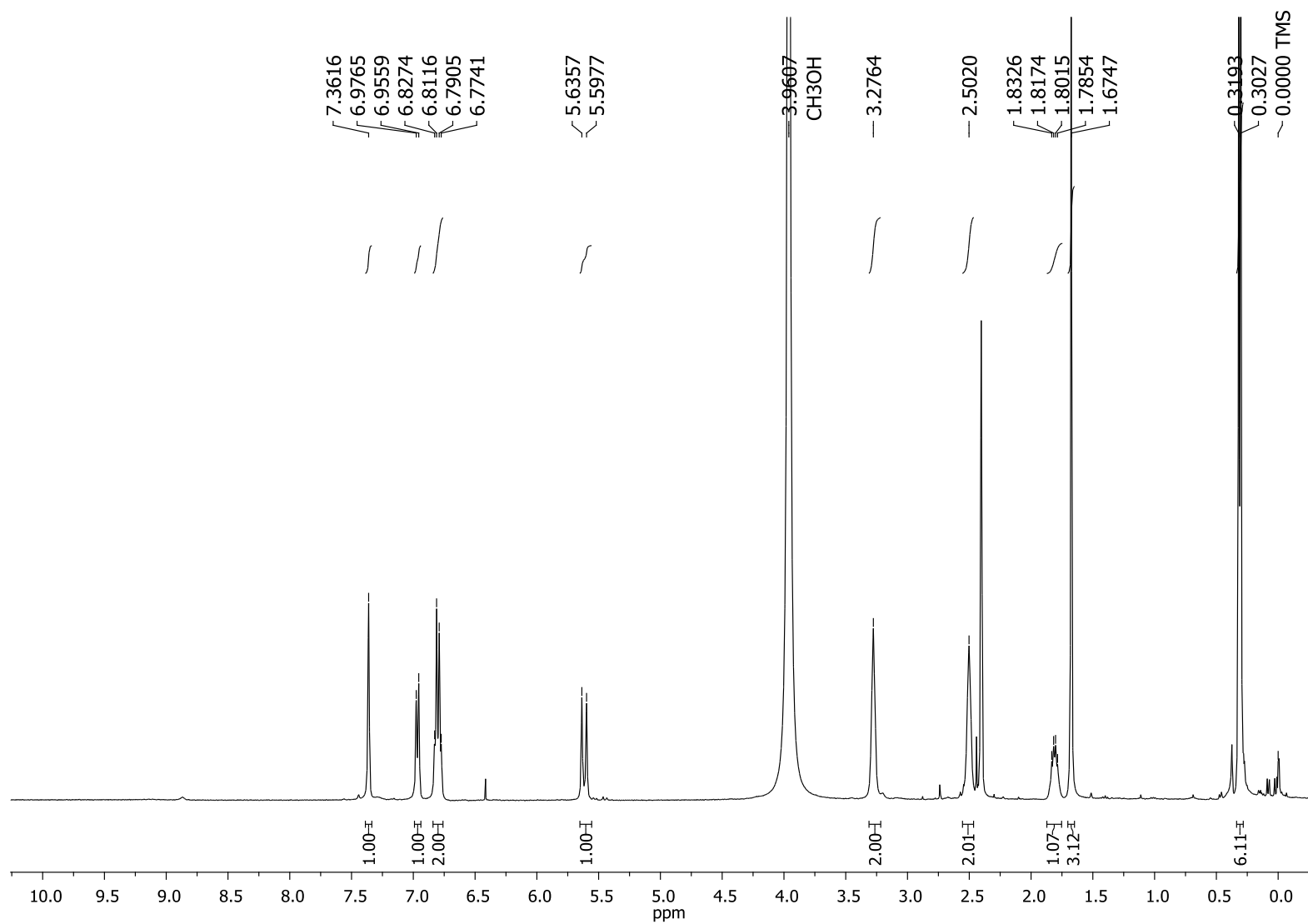


Figura 92. Ampliação do espectro da Figura 91 (δ 0,0–4,0) do análogo 44.

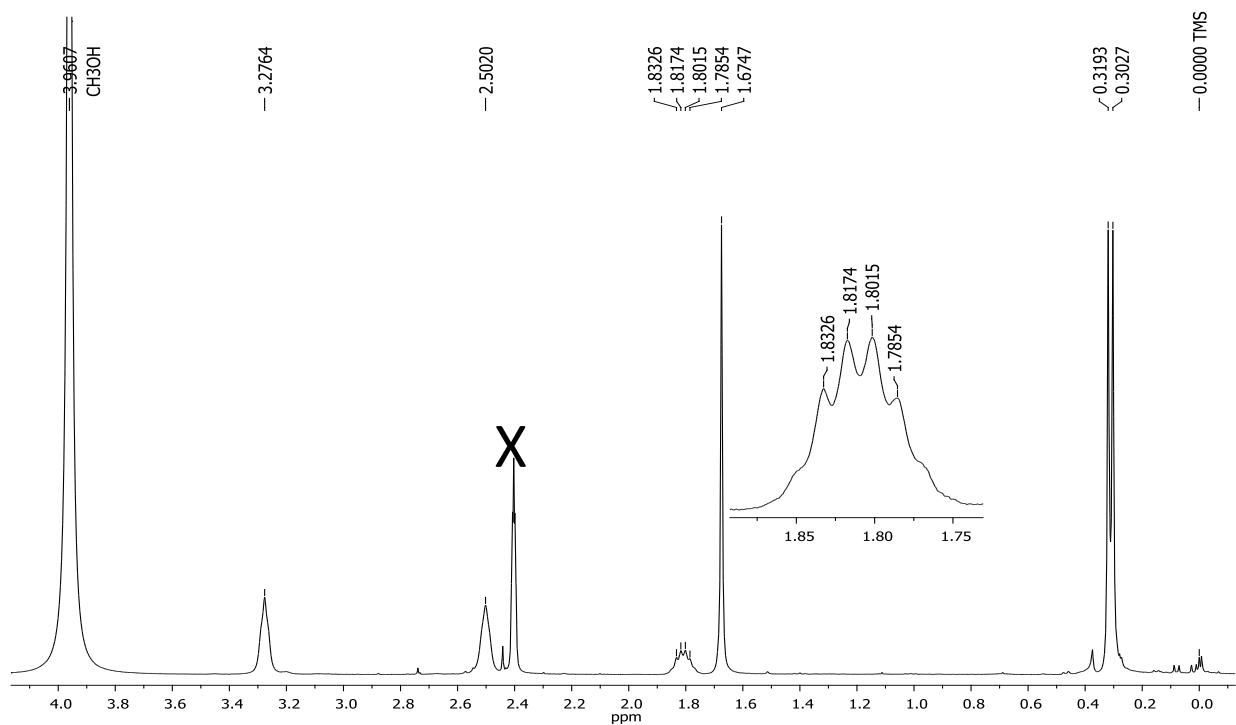
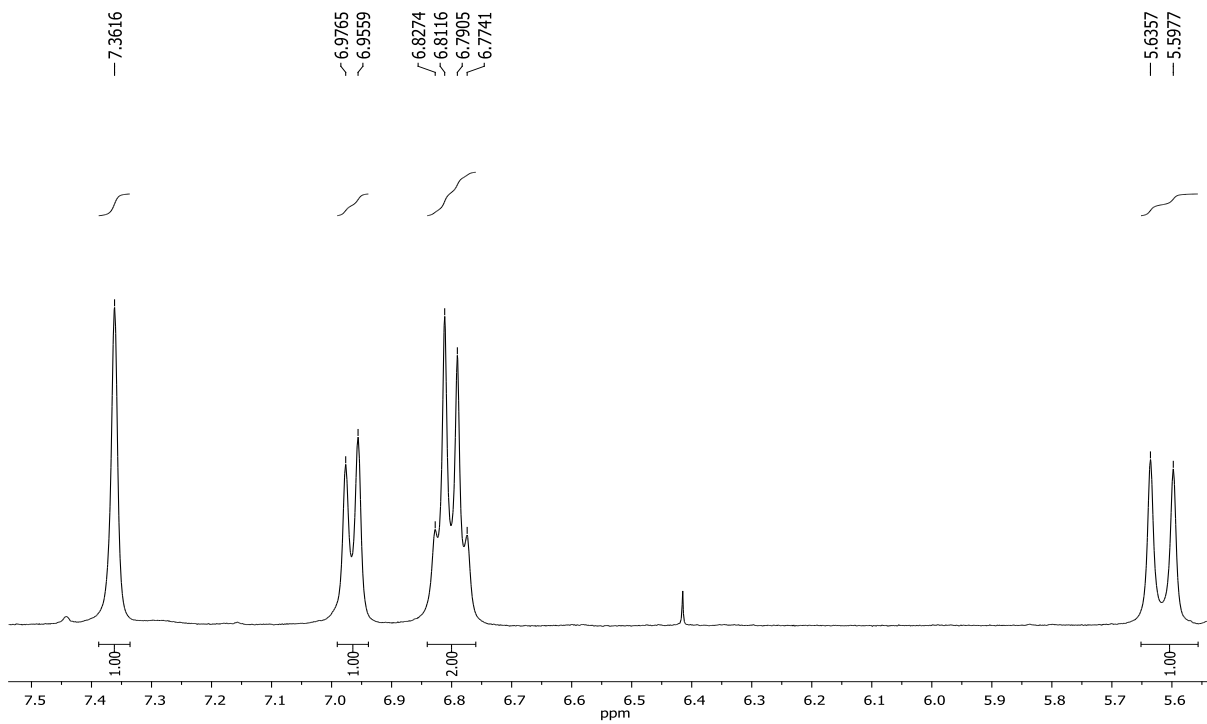
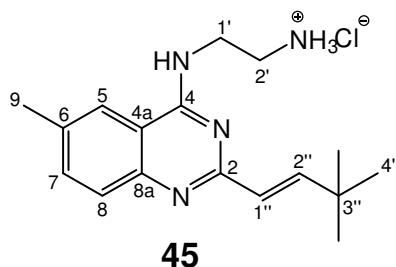
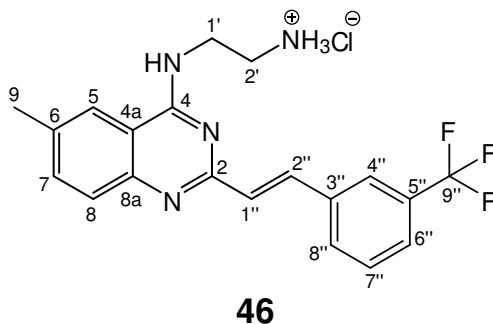


Figura 93. Ampliação do espectro da Figura 91 (δ 5,6–7,5) do análogo 44.





Análogo (45): sólido branco (12,4 mg); EM-IES-(+) m/z 285,2078 $[M + H]^+$, calculado para $C_{17}H_{25}N_4$, 285,2074 (Δ 1,4 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,0 (1H, sl, H-5), 6,65 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-7), 6,41 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-8), 6,45 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-1''), 5,24 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-2''), 2,94 (2H, t, $J = 5,7$ Hz, H-1'), 2,17 (2H, t, $J = 5,7$ Hz, H-2'), 2,07 (9H, s, 3CH₃, H-4''), 1,35 (3H, s, H-9) (Figuras 67–69).



Análogo (46): sólido branco (39,0 mg); EM-IES-(+) m/z 373,1644 $[M + H]^+$, calculado para $C_{20}H_{20}F_3N_4$, 373,1635 (Δ 2,4 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,22 (1H, d, $J = 15,7$ Hz, H-1''), 6,96 (1H, sl, H-5), 6,83 (1H, sl, H-4''), 6,83 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H-8''), 6,64 (1H, dd, $J = 8,5; 1,3$ Hz, H-7), 6,52 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H-6''), 6,64 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-8), 6,44 (1H, dd, $J = 7,7$ Hz, H-7''), 6,01 (1H, d, $J = 15,7$ Hz, H-2''), 2,98 (2H, t, $J = 6,1$ Hz, H-1'), 2,16 (2H, t, $J = 6,1$ Hz, H-2'), 1,32 (3H, s, H-9).

Figura 94. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **46**.

ACCM_I_023 #16-26 RT: 0.14-0.23 AV: 11 NL: 1.11E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

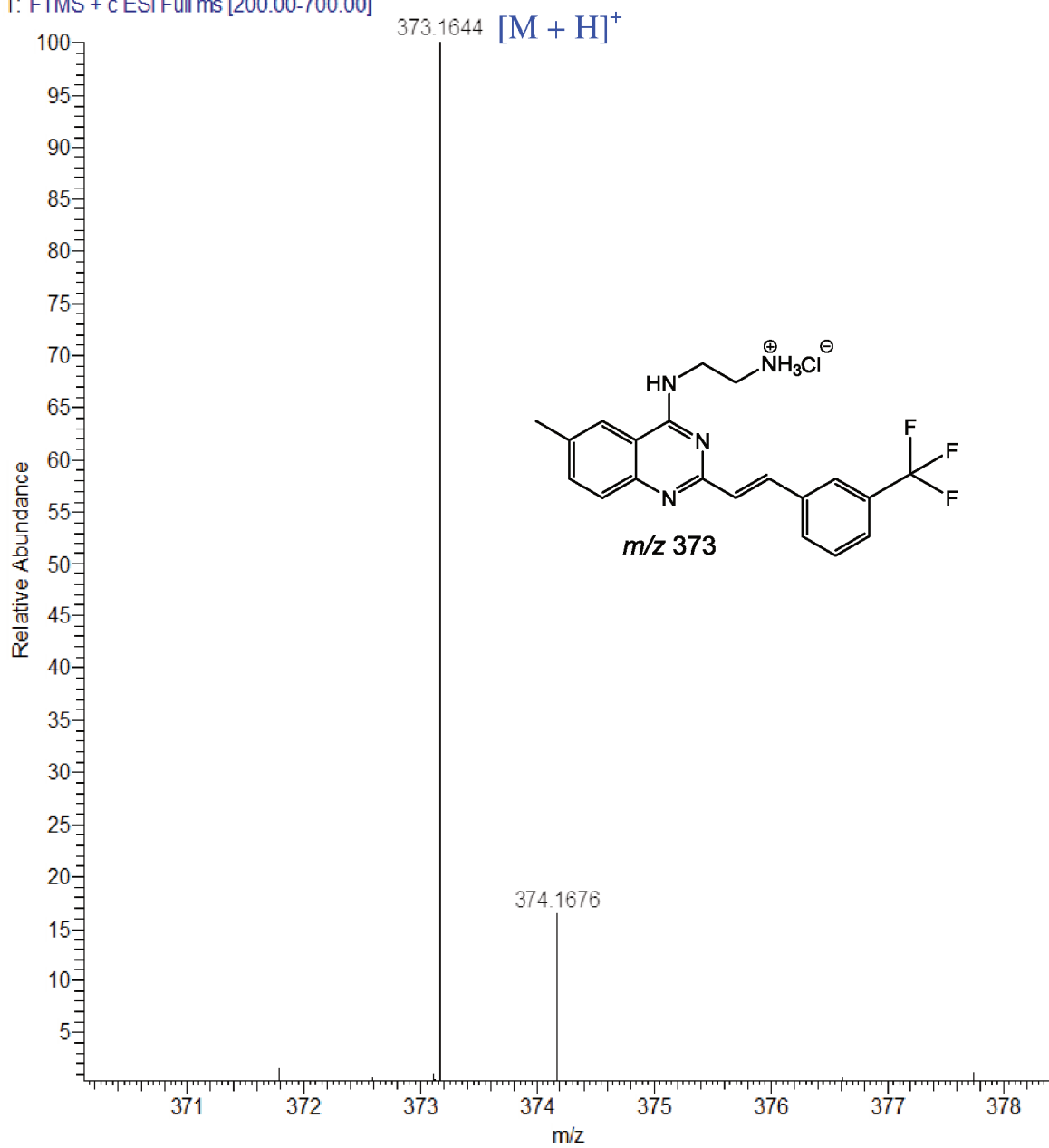


Figura 95. Espectro de RMN de ^1H do análogo **46** (CD_3OD , 400 MHz).

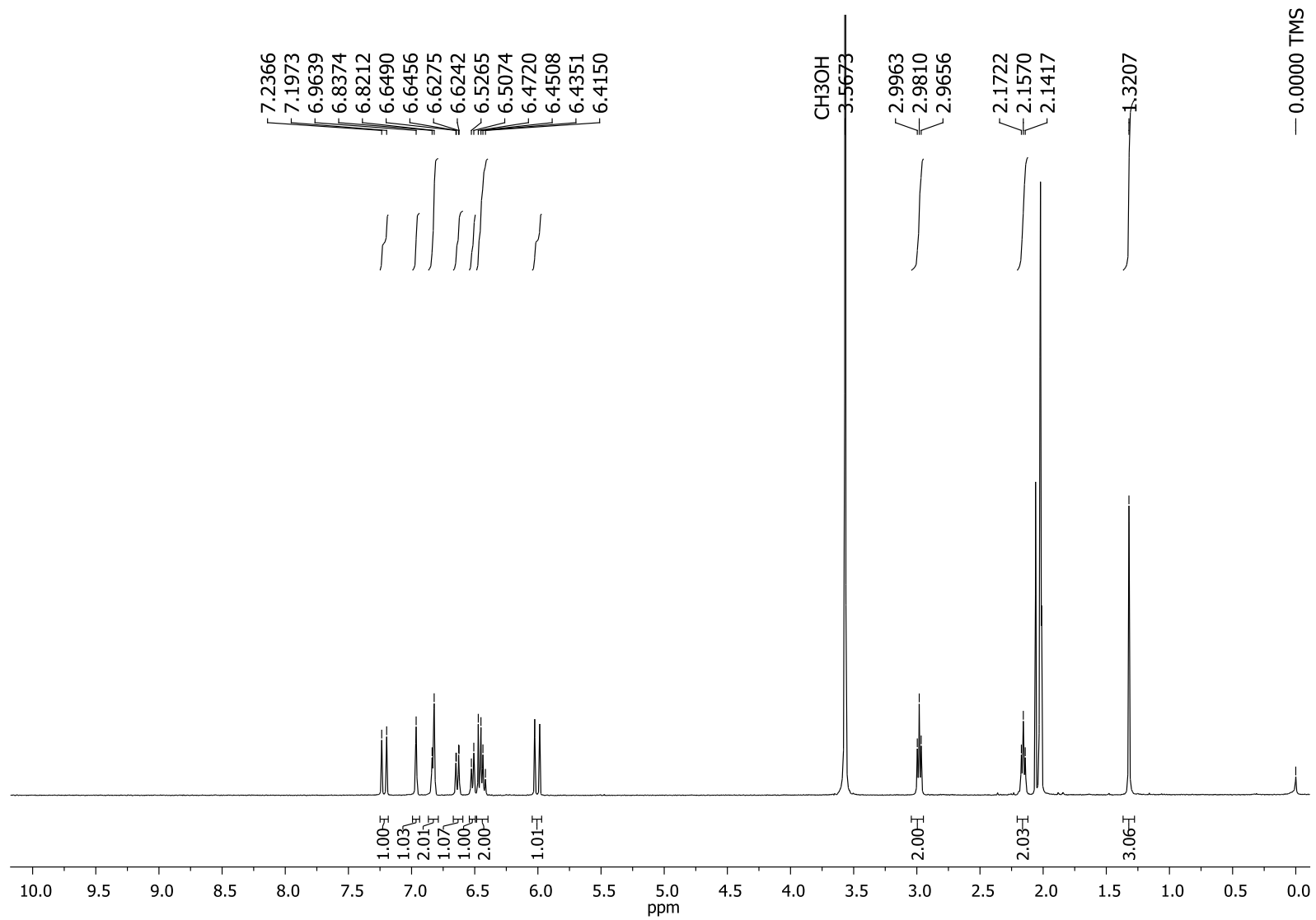


Figura 96. Ampliação do espectro da Figura 95 (δ 0,0–4,0) do análogo **46**.

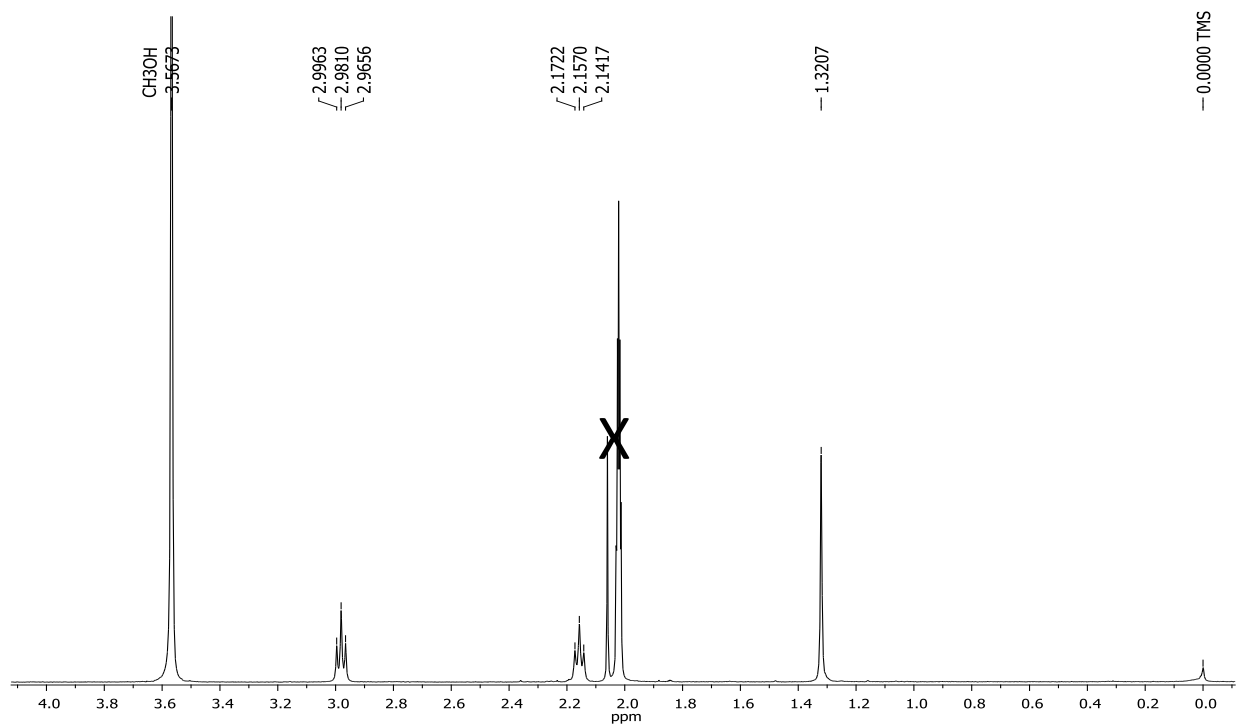
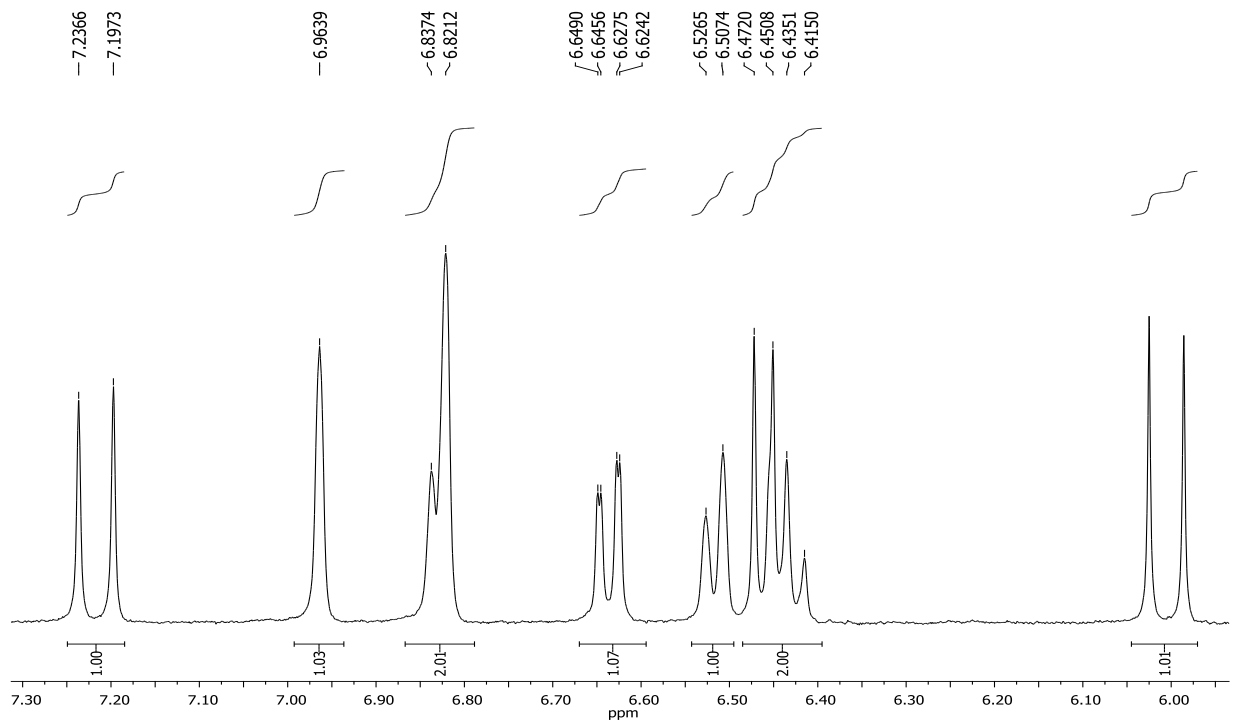
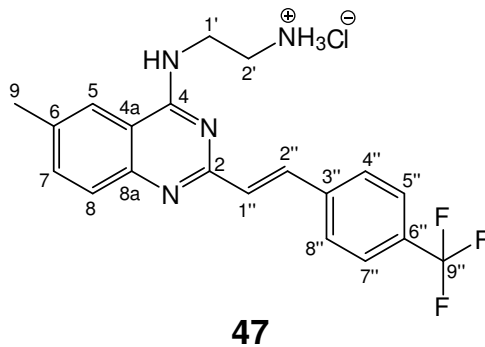


Figura 97. Ampliação do espectro da Figura 95 (δ 6,0–7,3) do análogo **46**.





Análogo (47): sólido branco (14,0 mg); EM-IES-(+) m/z 373,1633 $[M + H]^+$, calculado para $C_{20}H_{20}F_3N_4$, 373,1635 (Δ 0,5 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,33 (1H, d, $J = 15,7$ Hz, H-1''), 7,09 (1H, sl, H-5), 6,86 (2H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5'' e H-7''), 6,73 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-8), 6,61 (3H, d, $J = 8,4$ Hz, H-7, H-4'' e H-8''), 6,17 (1H, d, $J = 15,7$ Hz, H-2''), 3,14 (2H, t, $J = 5,9$ Hz, H-1'), 2,31 (2H, t, $J = 5,9$ Hz, H-2'), 1,43 (3H, s, H-9).

Figura 98. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **47**.

ACCM_I_021 #13-22 RT: 0.12-0.20 AV: 10 NL: 1.14E7
T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00] [M + H]⁺

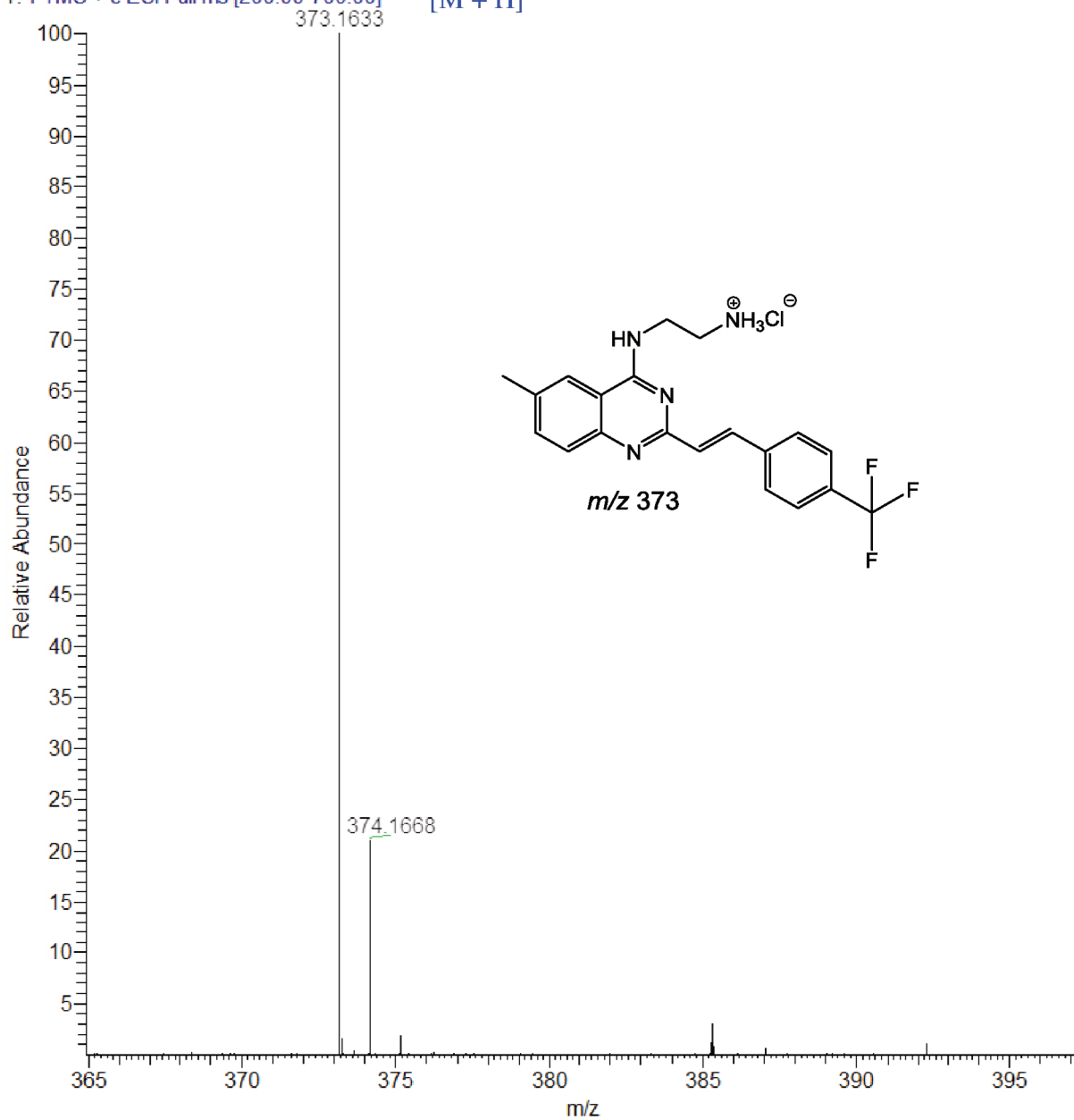


Figura 99. Espectro de RMN de ^1H do análogo **47** (CD_3OD , 400 MHz).

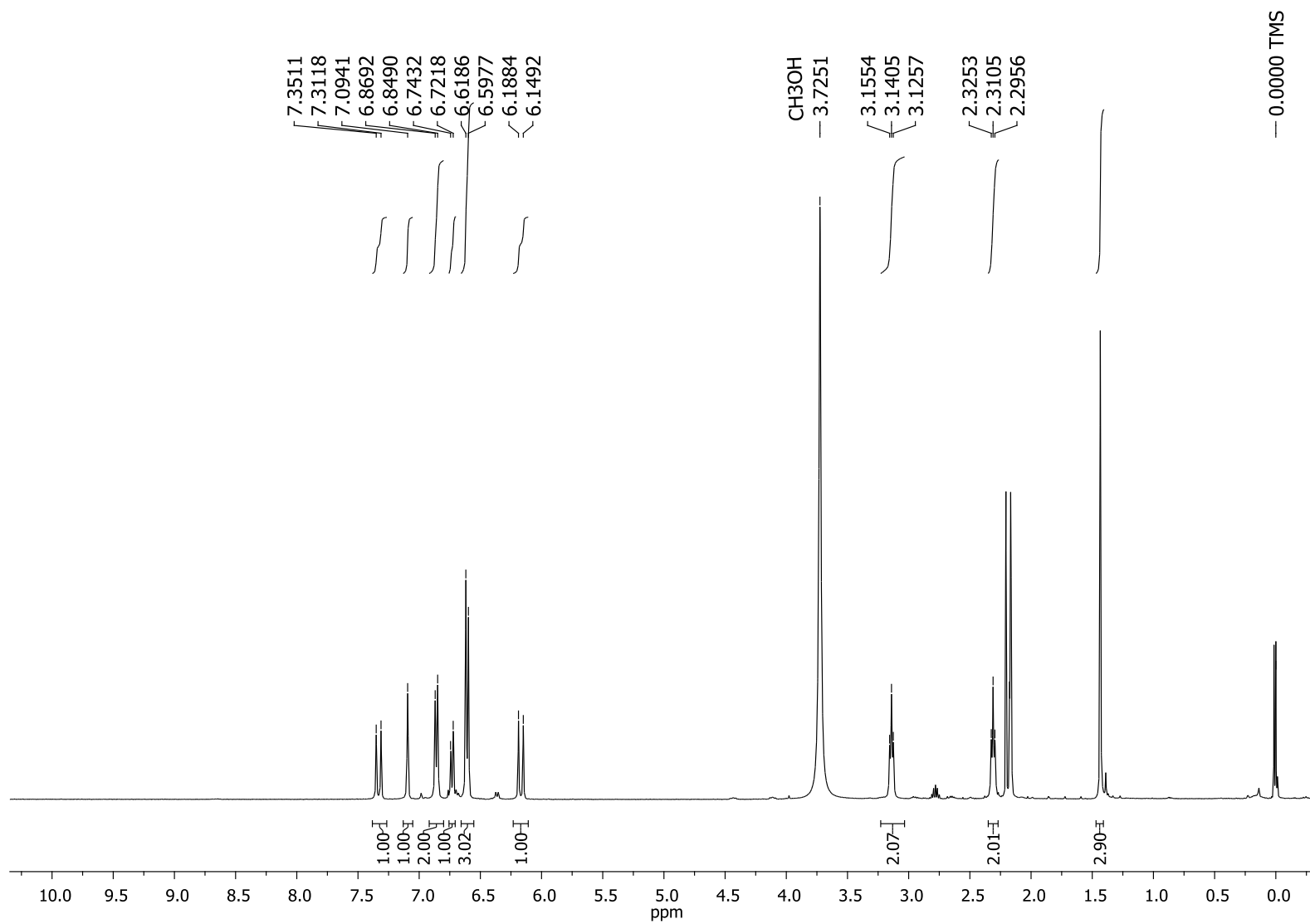


Figura 100. Ampliação do espectro da Figura 99 (δ 0,0–3,9) do análogo **47**.

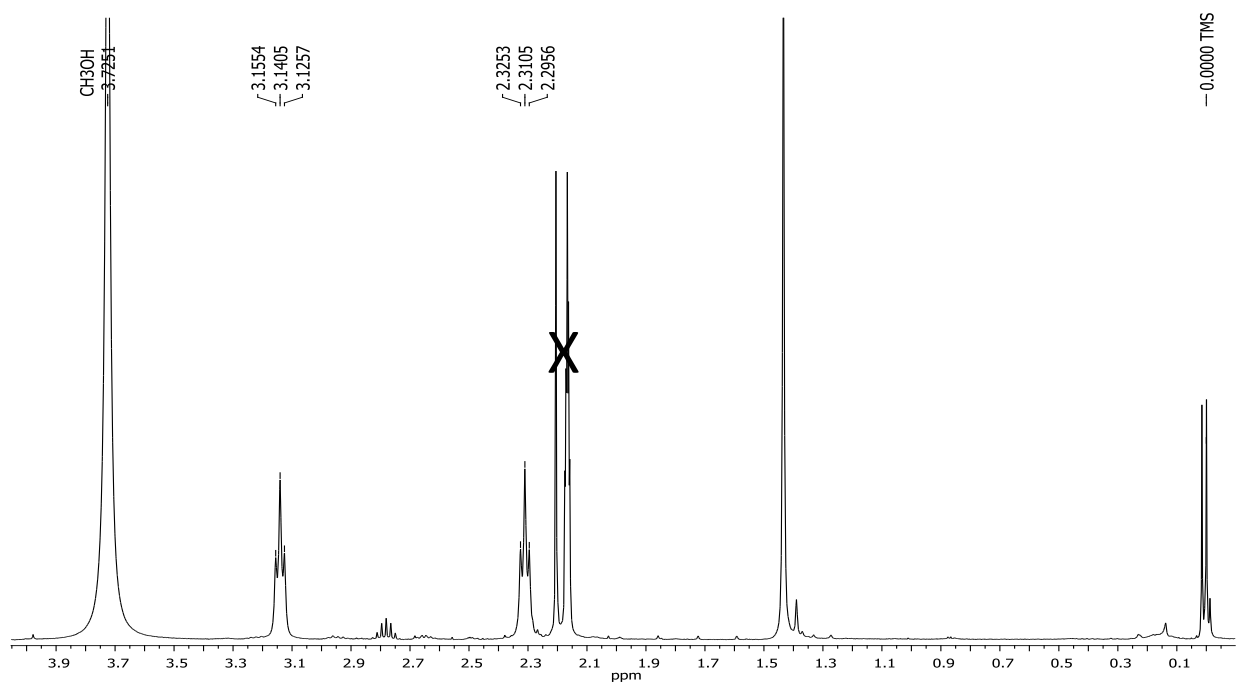
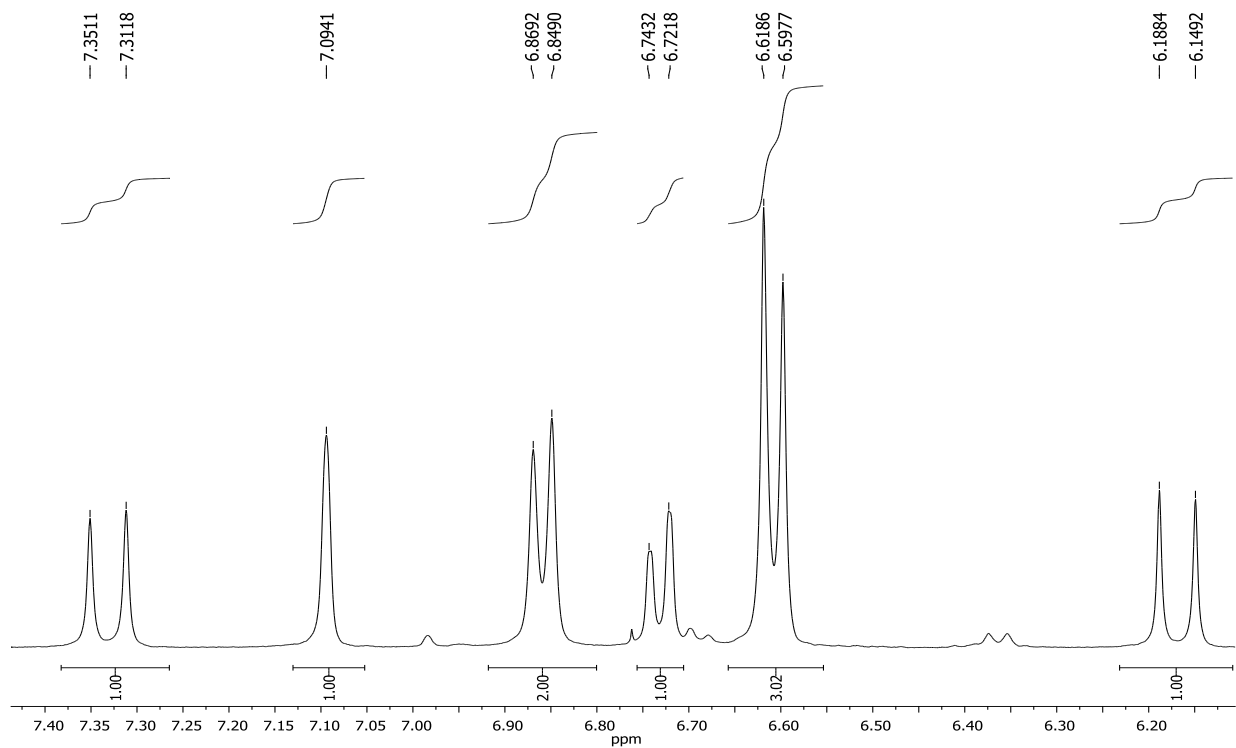
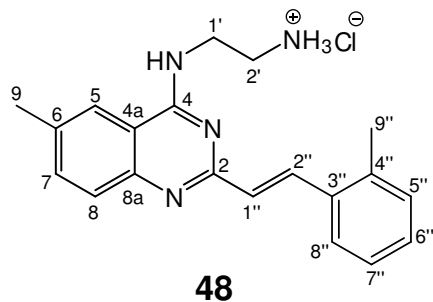


Figura 101. Ampliação do espectro da Figura 99 (δ 6,2–7,4) do análogo **47**.





Análogo (48): sólido branco (13,0 mg); EM-IES-(+) m/z 319,1921 $[M + H]^+$, calculado para $C_{20}H_{23}N_4$, 319,1917 (Δ 1,3 ppm); RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,39 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-1''), 7,01 (1H, sl, H-5), 6,62 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-8), 6,50 (1H, d, $J = 7,3$ Hz, H-8''), 6,46 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-7), 6,06–6,13 (2H, m, H-6'' e H-7''), 5,99–6,06 (1H, m, H-5''), 5,84 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-2''), 2,95 (2H, t, $J = 5,3$ Hz, H-1'), 2,19 (2H, t, $J = 5,3$ Hz, H-2'), 1,32 (3H, s, H-9''), 1,29 (3H, s, H-9).

Figura 102. EM-IES-(+) em alta resolução do análogo **48**.

ACCM_I_030 #18-24 RT: 0.16-0.22 AV: 7 |NL: 7.98E6

T: FTMS + c ESI Full ms [200.00-700.00]

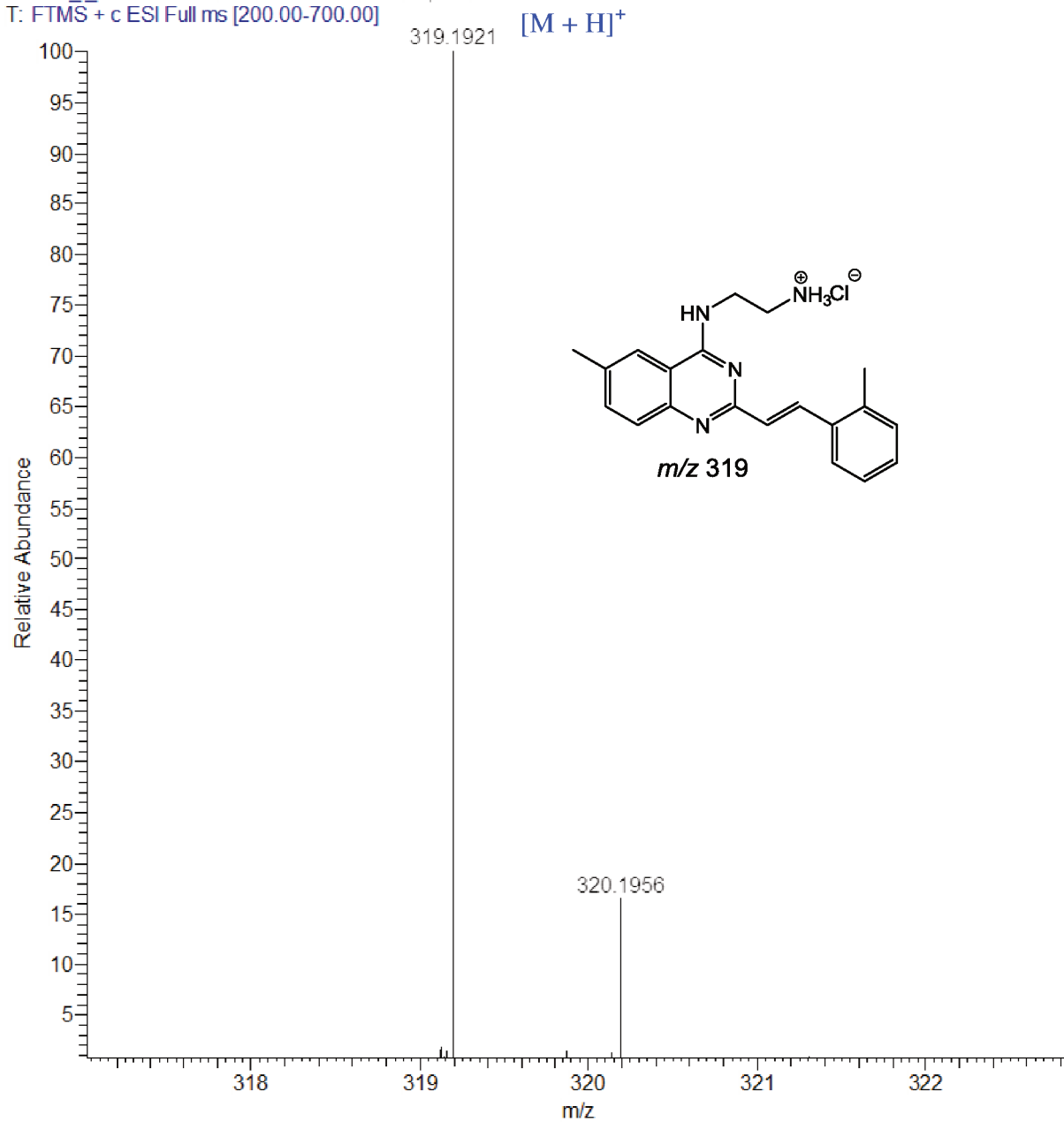


Figura 103. Espectro de RMN de ^1H do análogo **48** (CD_3OD , 400 MHz).

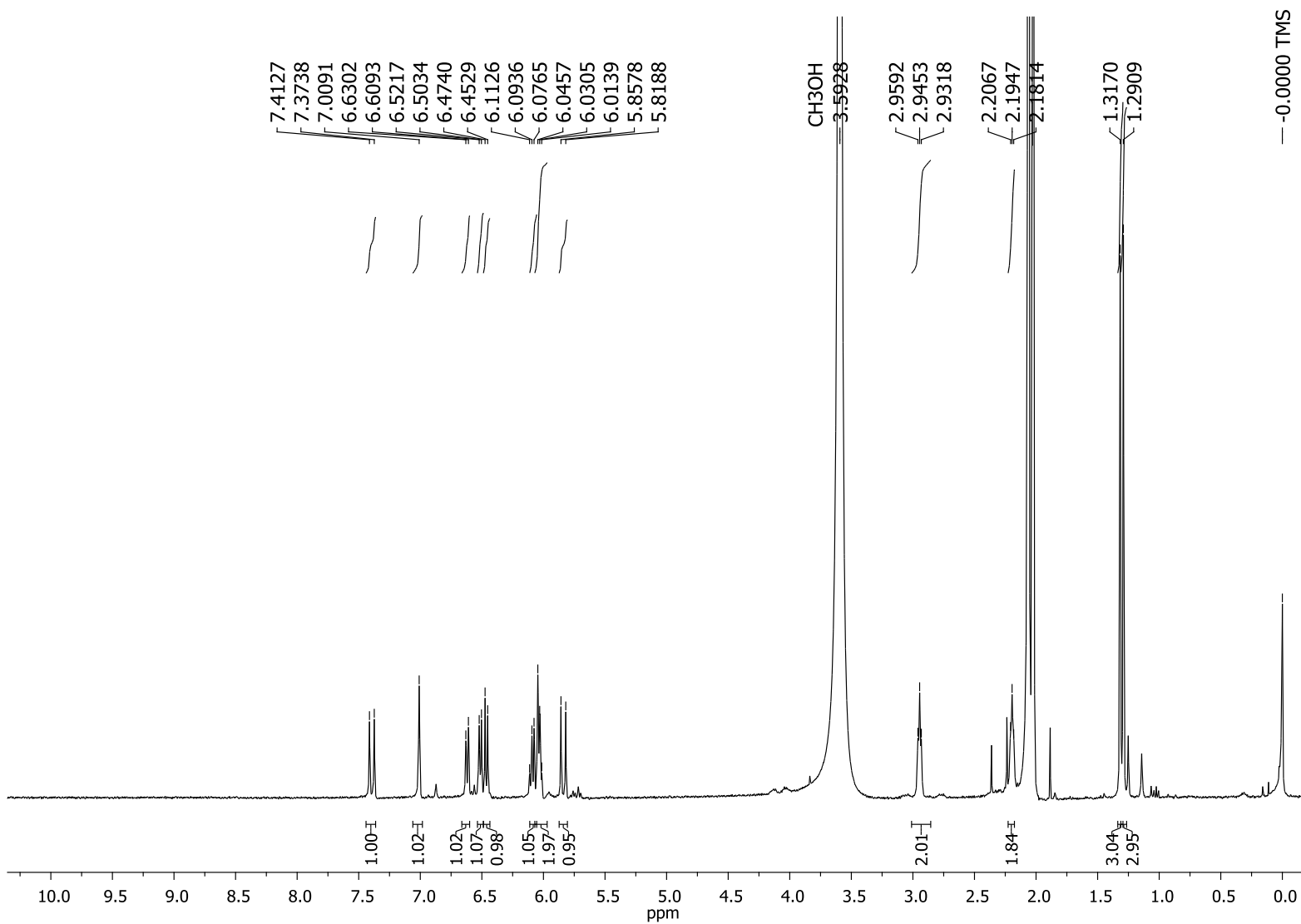


Figura 104. Ampliação do espectro da Figura 103 (δ 0,0–4,0) do análogo 48.

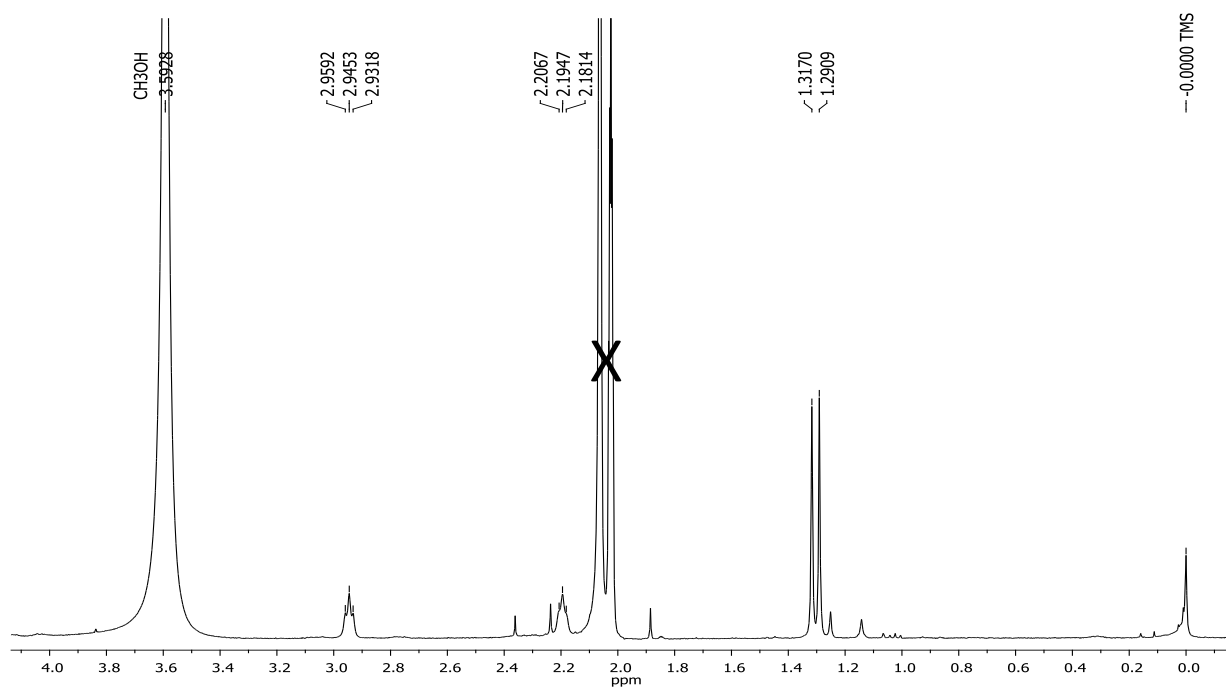
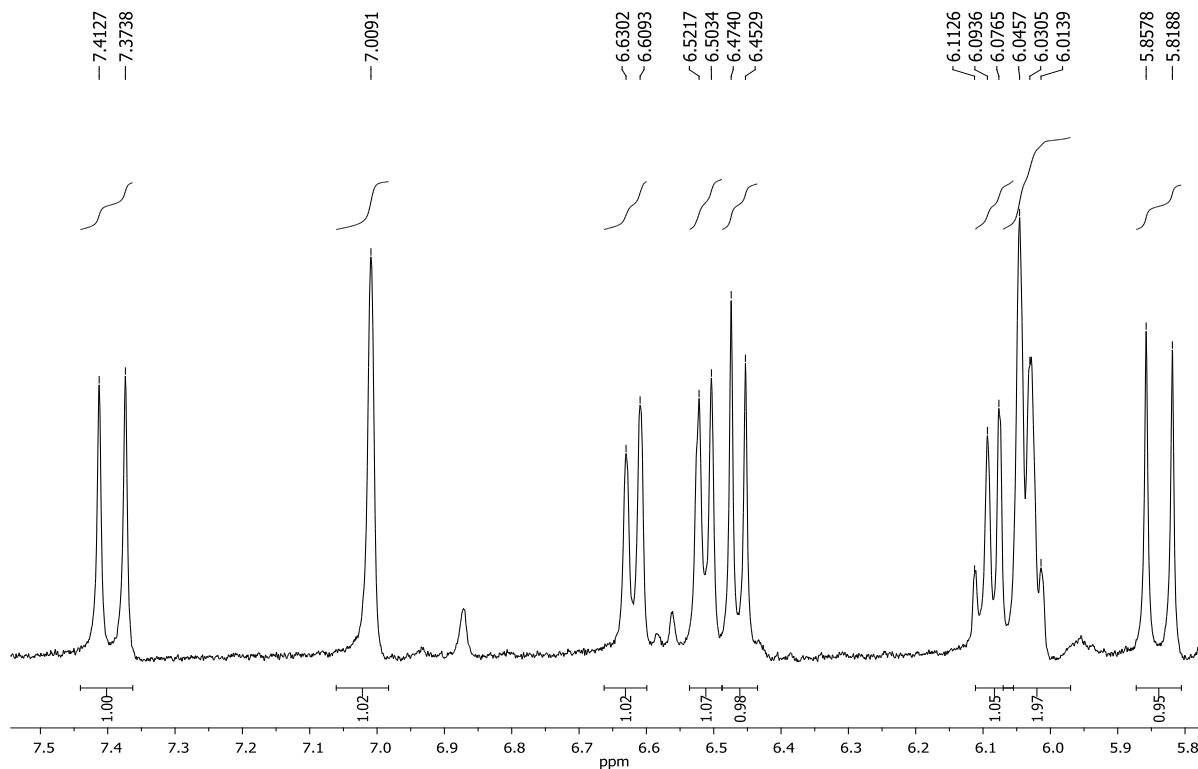


Figura 105. Ampliação do espectro da Figura 103 (δ 5,8–7,5) do análogo 48.



5.2 Ensaio para determinação do IC_{50}

Os análogos **44** e **45** foram submetidos ao ensaio para avaliar a capacidade de inibição da proteína FtsZ, presente na *E. coli*, uma vez que a zantrina Z3 (**6**) é o inibidor que deu origem a séria sintetizada. Os ensaios foram realizados conforme procedimento experimental descrito por Ingerman e Nunnari (2005) e Anderson e colaboradores (2012).

A partir das análises dos gráficos, foi possível determinar os valores de IC_{50} dos análogos **44** e **45** (Figuras 106 e 107) e comparar com o derivado **14** da zantrina Z3 (Figura 108), que foi eleito o controle positivo por apresentar o melhor resultado dentre aqueles compostos sintetizados. Os intermediários **28–38** não foram avaliados, pois a presença do grupo Boc reduz a capacidade de inibição dos derivados (NEPOMUCENO et al., 2005). Os análogos **39–43** e **46–48** também não foram avaliados, pois não apresentaram solubilidade suficiente, nas condições do ensaio, para serem testados.

Figura 106. Gráfico para avaliação do IC_{50} do análogo **44**.

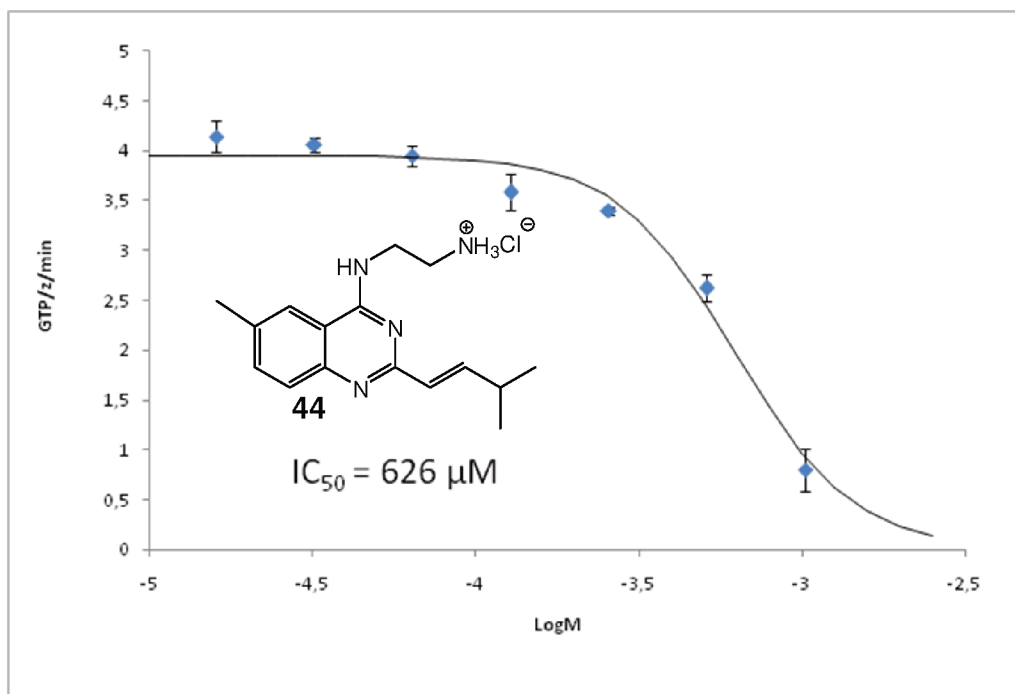


Figura 107. Gráfico para avaliação do IC₅₀ do análogo **45**.

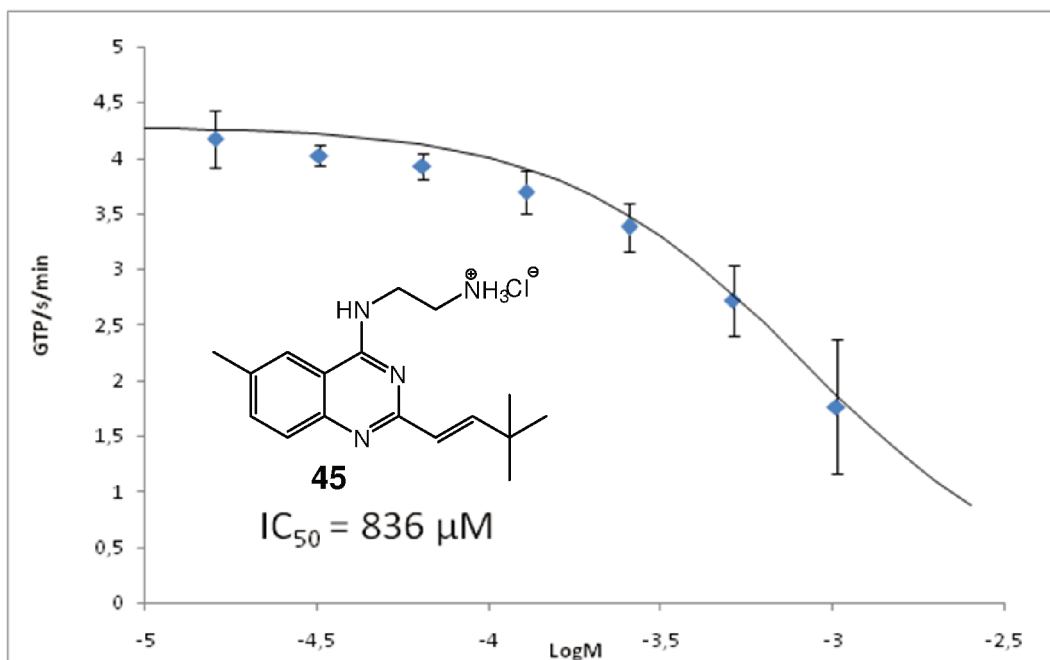
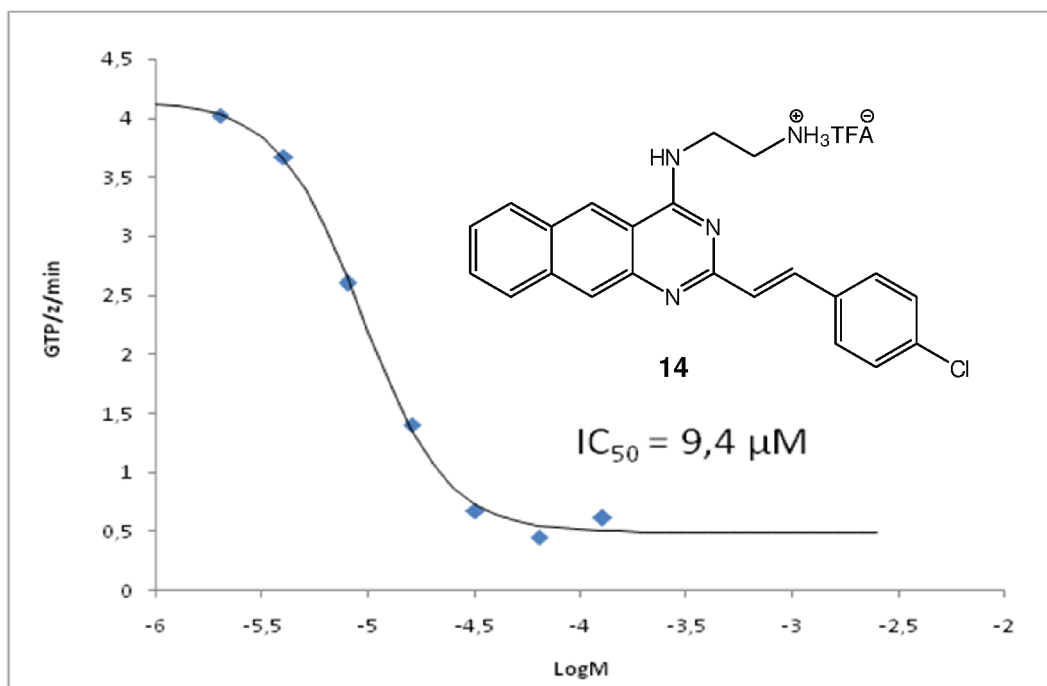


Figura 108. Gráfico para avaliação do IC₅₀ do derivado **14** da zantrina Z3 (**10**).



A concentração necessária do análogo **44** para inibir 50% (IC_{50}) da atividade enzimática da proteína FtsZ foi 626 μ M, enquanto a do análogo **45** foi 836 μ M. Quanto menor o valor de IC_{50} mais potente é o composto na inibição da proteína FtsZ. Fazendo uma comparação da zantrina Z3 (IC_{50} 9,4 μ M), com os análogos sintetizados, é possível observar que estes dois derivados apresentam menor potência que **14**. Assim, é possível sugerir que o grupo isopropil, no análogo **44**, assim como a *terc*-butila, no análogo **45** não contribuem para a inibição da FtsZ, pois a atividade biológica foi perdida.

6. Conclusões

A síntese dos análogos da zantrina Z3 (**10**) é parte de um projeto desenvolvido pelo professor Jared Shaw da Universidade da Califórnia, Davis, que visa a descoberta de novos compostos com potencial antimicrobiano, que possam atuar em diferentes alvos biológicos como a inibição da enzima FtsZ. Vale destacar que os dados apresentados aqui como Trabalho de Conclusão de Curso são de ciência do professor Jared Shaw e foram obtidos no período de estágio de 04/2016 a 08/2016, realizado em decorrência do programa Ciência sem Fronteira.

O estudo de novos compostos com potencial antibiótico é um assunto promissor visto que os fármacos existentes no mercado já não atuam com a mesma eficiência sob bactérias resistentes. Assim, foram planejados dez compostos, dos quais foram sintetizados nove análogos da zantrina Z3 (**10**), eleita como modelo estrutural por ser o único composto específico para inibição da proteína FtsZ e apresentar resultados de IC_{50} reprodutivos em laboratório. Estes análogos apresentam diferentes substituintes na região 3 (Figura 8).

A síntese dos análogos foi baseada no mecanismo de Horner-Wadsworth-Emmons que tem como princípio a reação de um carbânion, estabilizado por um fosfonato, com aldeídos, para produzir predominantemente alcenos com a configuração *E* (*trans*). Dessa forma, foi possível modificar regioseletivamente o substituinte da região denominada de 3 (verde) no núcleo quinazolínico (Figura 9), já que a região 2 (vermelha) se encontrava protegida. Para todas as reações foram obtidos rendimentos maiores que 60%. A confirmação da formação dos intermediários protegidos e dos produtos foi feita a partir dos experimentos de RMN 1H e ^{13}C . Na etapa de desproteção, alguns dos produtos finais apresentaram quantidade de massa maior do

que as teóricas, que foi correlacionado com a presença de impurezas que não foram removidas nos processos de purificação.

A partir dos compostos sintetizados, somente os análogos **44** e **45** foram submetidos ao ensaio para avaliar o potencial de inibição da proteína FtsZ. Os valores de IC₅₀ obtidos para esses análogos foram 626 e 836 μM, respectivamente, que são valores maiores quando comparados com o derivado **14** da zantrina Z3, eleito controle positivo (IC₅₀ 9,4 μM), sugerindo que os grupos isopropil, no análogo **44**, assim como a *terc*-butila, no análogo **45** não contribuem para a inibição da proteína.

REFERÊNCIAS

ACADEMY OF SCIENCES AND HUMANITIES IN HAMBURG GERMAN NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES LEOPOLDINA. **Antibiotics research: problems and perspective.**

Halle (Saale), 2013. Disponível em:

<<https://www.leopoldina.org/en/publications/detailview/publication/antibiotika-forschung-probleme-und-perspektiven-2013/>>. Acesso em 7 de março, 2017.

ANDERSON, D.; KIM, M.; MOORE, J.; O'BRIEN, T.; SORTO, N.; GROVE, C.; LACKNER, L.; AMES, J.; SHAW, J. Comparison of small molecule inhibitors of bacterial cell division protein FtsZ and identification of reliable cross-species inhibitor. **ACS Chemical Biology**, v. 7, p. 1918–1928, 2012. <https://doi.org/10.1021/cb300340j>.

AMINOV, R. The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. **Environmental Microbiology**, v. 11, n. 12, p. 2970–2988, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01972.x>.

BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I. N.; BOURNE, P. E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, v.28, p. 235, 2000. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic resistance threats in the United States.** Estados Unidos, 2013. Disponível em:

<<http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html>>. Acesso em 7 de março, 2017.

CALIXTO, C.; CAVALHEIRO, E. Penicilina: efeito do acaso e momento histórico no desenvolvimento científico. **Química Nova na Escola**, v. 34, n. 3, p. 118–123, 2012.

GUIMARÃES, D.; MOMESSO, L.; PUPO, M. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667–679, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000300035>.

HURLEY, K.; SANTOS, P.; NEPOMUCENO, G.; HUYNH, V.; SHAW, J.; WEIBEL, D. Targeting the bacterial division protein FtsZ. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, p. 6975–6998, 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01098>.

INGERMAN, E.; NUNNARI, J. A continuous, regenerative coupled GTPase assay for dynamin-related proteins. **Methods in Enzymology**, v. 404, p. 611–619, 2012. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)04053-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)04053-X).

MARGALIT, D.; ROMBERG, L.; METS, R.; HEBERT, A.; MITCHISON, T.; KIRSCHNER, M.; RAYCHAUDHURI, D. Targeting cell division: small-molecule inhibitors of FtsZ GTPase perturb cytokinetic ring assembly and induce bacterial lethality. **PNAS**, v. 101, n. 32, p. 11821–11826, 2004. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404439101>

NEPOMUCENO, G.; CHAN, K.; HUYNH, V.; MARTIN, K.; MOORE, J.; O'BRIEN, T.; POLLO, L.; SARABIA, F.; TADEUS, C.; YAO, Z.; ANDERSON, D.; AMES, J.; SHAW, J. Synthesis and evaluation of quinazolines as inhibitors of the bacterial cell division protein FtsZ. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 6, p. 308–312, 2015. <https://doi.org/10.1021/ml500497s>.

OLIVEIRA, J. H. H. L.; GRANATO, A. C.; HIRATA, D. B.; HOKKA, C. O.; BARBOZA, M.; TRSIC, M. Ácido clavulânico e cefamicina C: uma perspectiva da biossíntese, processos de isolamento e mecanismo de ação. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2142–2150, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000800028>.

SORTO, N.; OLMSTEAD, M.; SHAW, J. Practical synthesis of PC190723, an inhibitor of the bacterial cell division protein FtsZ. **Journal of Organic Chemistry**, v. 75, p. 7946–7949, 2010. <https://doi.org/10.1021/jo101720y>.

URGAONKAR, S.; PIERRE, H.; MEIR, I.; LUND, H.; RAYCHAUDHURI, D.; SHAW, J. Synthesis of antimicrobial natural products targeting FtsZ: (±)-dichamanetin e (±)-2''-hidroxy-5''-benzylisouvarinol-B. **Organic Letters**, v. 7, n. 25, p. 5609–5612, 2005. <https://doi.org/10.1021/ol052269z>.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>.