



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

RENAN DE OLIVEIRA GONÇALVES

**SÍNTESE DE ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO CINÂMICO, *P*-
METOXICINÂMICO E FERÚLICO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXIDADE**

FORTALEZA
2020

RENAN DE OLIVEIRA GONÇALVES

SÍNTESE DE ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO CINÂMICO, *P*-METOXCINÂMICO E
FERÚLICO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos.

Coorientadora: Profa. Dra. Davila de Souza Zampieri.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G628s Gonçalves, Renan de Oliveira.

Síntese de ésteres derivados do ácido cinâmico, p-metoxicinâmico e ferúlico e avaliação da citotoxicidade / Renan de Oliveira Gonçalves. – 2020.

111 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2020.

Orientação: Profa. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos.

Coorientação: Profa. Dra. Davila de Souza Zampieri.

1. Síntese orgânica . 2. Atividade anticâncer . 3. Ácido cinâmico . I. Título.

CDD 540

RENAN DE OLIVEIRA GONÇALVES

SÍNTESE DE ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO CINÂMICO, *P*-METOXCINÂMICO E
FERÚLICO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Francisco Jose Queiroz Monte
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Nogueira Bandeira
Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que me guia, me inspira e me dá forças todos os dias, me ensinando a ver na dificuldade uma oportunidade de seguir em frente, sempre me ajudando na busca dos meus sonhos.

À minha querida mãe Maria Lucilene de Oliveira e ao meu pai Francisco José Gonçalves de Lima pela educação e incentivo durante toda a minha vida e a minha irmã Ruth Kelly Oliveira Gonçalves que me apoiaram sempre em todos os momentos.

A professora Dra. Telma Leda Gomes de Lemos por ter me aceitado como orientando, pelo incentivo, pela confiança em mim depositada, pela paciência, pelos conhecimentos repassados sem nenhuma vaidade e pela oportunidade a mim cedida em participar desse trabalho, me proporcionando todas as condições para o meu desenvolvimento intelectual e profissional. Por todos esses anos de convivência, meu muito obrigado.

Aos professores Dr. Francisco Jose Monte Queiroz e Dr. Paulo Nogueira Bandeira, membros da banca examinadora, por gentilmente aceitarem o convite para avaliar e contribuir de maneira significativa com este trabalho.

A professora Dra. Davila de Souza Zampieri pelos ensinamentos e amizade.

A todos os colegas de laboratório: Giseli, Iolanda, Patricia, Daiane, Erivaldo, Naara, Jonatas, Gabriela e Kimberly, por toda a força e ajuda nos momentos que precisei. O apoio de vocês foi muito importante durante a realização deste trabalho. Quero agradecer especialmente a Iolanda, pelos ensinamentos de práticas de laboratório, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Ao professores Dr. José Auri Pinheiro e Dra. Zilvanir Querioz Fernandes, pelo incentivo e apoio a pesquisa durante toda minha graduação, meus sinceros agradecimentos.

Ao Alisson e a Debóra pela obtenção dos espectros de RMN ^{13}C e RMN ^1H , deste trabalho.

A Francilene por realizar os teste de citotoxicidade deste trabalho e pelo conhecimento compartilhado.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Aos laboratórios LABS e LOE, e ao CENAUREMN e Embrapa por todo o apoio técnico cedido.

Enfim, sou grato a todos os demais que de alguma forma contribuíram para a minha formação e a realização deste trabalho.

Tudo o que aparece em nosso caminho faz parte do processo evolutivo de cada indivíduo, nada acontece por acaso. A vida não faz nada, sem nenhuma finalidade. Todos os fatos que ocorrem, a cada momento, independentemente da situação, são porque temos condições de aproveitar e amadurecer. (Maira B. Bento).

RESUMO

Os ácidos cinâmico, *p*-metoxicinâmico e ferúlico e seus derivados apresentam uma notável variedade de atividades biológicas relatadas na literatura, e são frequentemente estudados como modelo estrutural em busca no desenvolvimento de novos fármacos altamente eficazes. Portanto, este trabalho tem como objetivo sintetizar e avaliar a atividade citotóxica de ésteres derivados dos ácidos cinâmico (**CA**), *p*-metoxicinâmico (**MA**) e ferúlico (**FA**), frente a quatro linhagens de células tumorais humanas SNB-19 (Astrocitoma), HCT-116 (Carcinoma de cólon - humano), PC3 (Próstata), HL60 (Leucemia promielocítica), além de célula saudável L929 (Fibroblasto murino), visando estabelecer uma relação-estrutura atividade. Assim, foram sintetizados dezoito novos ésteres por esterificação de Stiglich. Vale ressaltar que a partir do ácido cinâmico (**CA**) foram obtidos oito derivados: cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**CA-1**), cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**CA-2**), cinamato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**CA-3**), cinamato de 3-metoxifenila (**CA-4**), cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (**CA-5**), cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (**CA-6**), cinamato de 2-etil-4-formilfenila (**CA-7**) e cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**CA-8**). Adicionalmente, a partir do ácido *p*-metoxicinâmico (**MA**) foram obtidos os derivados: (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**MA-1**), (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**MA-2**), (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**MA-3**), (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxibenzila (**MA-4**), (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**MA-5**), (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**MA-6**), (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (**MA-7**) e (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**). A partir do ácido ferúlico (**FA**) foram obtidos os derivados: (*E*)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**FA-1a**) e (*E*)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**). Sendo todos os compostos inéditos na literatura. As estruturas dessas substâncias foram caracterizadas através de métodos espectroscópicos (IV, RMN ¹H e RMN ¹³C) e espectrométrico (EM). A citotoxicidade dos dezoito compostos foram avaliadas através do ensaio colorimétrico MTT. O resultado dos testes mostraram que o composto (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxibenzila (**MA-4**) é o mais potente contra as células HCT-116, PC3 e SBN-19, apresentando o menor IC₅₀ = 16,2 µM na linhagem HCT-116. O composto (*E*)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**) também mostrou citotoxicidade moderada na linhagem HCT-116 (IC₅₀ = 15,38 µM). Na linhagem HL60, o

composto cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (**CA-5**) foi o único que apresentou maior citotoxicidade ($IC_{50} = 25,2 \mu M$). Ambos os compostos, apresentaram seletividade frente células normais (L929), indicando que os derivados testados são bons candidatos ao estudo como novas drogas antineoplásicas.

Palavras-chave: Atividade anticâncer. Ésteres cinâmicos. Esterificação de Stiglich.

ABSTRACT

Cinnamic, *p*-methoxycinnamic and ferulic acids and their derivatives present a remarkable variety of biological activities reported in the literature, and are often studied as a structural model in the search for the development of highly effective new drugs. Therefore, this work aims to synthesize and evaluate the cytotoxic activity of esters derived from cinnamic acids (**CA**), *p*-methoxycinnamic (**MA**) and ferulic (**FA**) acids, against four human tumor cell lines SNB-19 (Astrocytoma), HCT-116 (Colon carcinoma - human), PC3 (Prostate), HL60 (Promyelocytic leukemia), in addition to a healthy L929 cell (murine fibroblast), aiming to establish a relationship-structure activity. Thus, eighteen new esters were synthesized by esterification of Stiglich. It is worth mentioning that eight derivatives were obtained from cinnamic acid (**CA**): 2,3-dihydro-1H-inden-5-yl cinnamate (**CA-1**), 1-oxo-1H-isochromen-6-yl cinnamate (**CA-2**), (*S*)-(4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-en-1-yl)methyl cinnamate (**CA-3**), 3-methoxyphenyl cinnamate (**CA-4**), 2-isopropyl-5-methylphenyl cinnamate (**CA-5**), 5-isopropyl-2-methylphenyl cinnamate (**CA-6**), 2-ethyl-4-formylphenyl cinnamate (**CA-7**) and *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)cyclohexyl cinnamate (**CA-8**). In addition, from the *p*-methoxykinamic acid (**MA**) the derivatives were obtained: 2,3-dihydro-1H-inden-5-yl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-1**), 1-oxo-1H-isochromen-6-yl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-2**), (*S*)-(4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-en-1-yl)methyl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-3**), 3-methoxybenzyl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-4**), 2-isopropyl-5-methylphenyl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-5**), 5-isopropyl-2-methylphenyl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-6**), 4-formyl-2-methoxyphenyl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-7**) and *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-(methyl-5-(prop-1-en-2-yl) cyclohexyl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-8**). From the ferulic acid (**FA**), derivatives were obtained: 5-isopropyl-2-methylphenyl (*E*)-3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)acrylate (**FA-1a**) and (*E*)-3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) 2-isopropyl-5-methylphenyl (**FA-1b**). All compounds being new in the literature. The structures of these substances were characterized by spectroscopic (IR, ¹H NMR and ¹³C NMR) and spectrometric (MS) methods. The cytotoxicity of the eighteen compounds was evaluated using the MTT colorimetric assay. The results of the tests showed that the compound 3-methoxybenzyl (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)acrylate (**MA-4**) is the most potent against HCT-116, PC3 and SBN-19 cells, with the lowest IC₅₀ = 16.2 μM in the HCT-116 strain. The compound (*E*)-3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)acrylate 2-isopropyl-5-methylphenyl (**FA-1b**) also showed moderate cytotoxicity in the HCT-116 strain (IC₅₀ = 15.38 μM). In the HL60 strain, the 2-isopropyl-5-

methylphenyl cinnamate compound (**CA-5**) was the only one that showed the highest cytotoxicity ($IC_{50} = 25.2 \mu M$). Both compounds showed selectivity towards normal cells (L929), indicating that the derivatives tested are good candidates for the study as new antineoplastic drugs.

Keywords: Anticancer activity. Cinnamic esters. Esterification of Stiglich.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura química do ácido cinâmico (CA)	15
Figura 2	– Mecanismo reacional de Perkin para obter os ácidos cinâmicos	16
Figura 3	– Mecanismo reacional da reação de Knoevenagel-Doebner	17
Figura 4	– Estrutura química do ácido <i>p</i> -metoxicinâmico	18
Figura 5	– Estrutura química do ácido ferúlico	18
Figura 6	– Mecanismo geral da reação de esterificação com ácidos cinâmicos	33
Figura 7	– Reação secundária ocorrida na esterificação de Steglich a partir do <i>O</i> -acilissouréia na ausência de nucleófilos, sofrendo um rearranjo para a formação da <i>N</i> -aciluréia	34
Figura 8	– Mecanismo geral da reação de acilação com o ácido felúrico	36
Figura 9	– Espectro de infravermelho em KBr do ácido (E)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)acrílico (FA-1)	37
Figura 10	– Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (CA-1)	38
Figura 11	– Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (CA-2)	39
Figura 12	– Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de (<i>S</i>)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (CA-3)	39
Figura 13	– Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4)	40
Figura 14	– Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5)	40
Figura 15	– Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6)	41
Figura 16	– Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)	41
Figura 17	– Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-	

(prop-1-en-2-il)ciclohexila (CA-8)	42
Figura 18 – Espectro de infravermelho em KBr (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (MA-1)	42
Figura 19 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (MA-2)	43
Figura 20 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (MA-3)	43
Figura 21 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxibenzila (MA-4)	44
Figura 22 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (MA-5)	44
Figura 23 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (MA-6)	45
Figura 24 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (MA-7)	45
Figura 25 – Espectro infravermelho em KBr (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (MA-8)	46
Figura 26 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (FA-1a)	46
Figura 27 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (FA-1b)	47
Figura 28 – Proposta de fragmentação por meio de segmentação α e indutiva	49
Figura 29 – Proposta de fragmentação por meio de segmentação β e rearranjo de quatro centros	49
Figura 30 – Espectro de massa do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (CA-1)	50
Figura 31 – Espectro de massa do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (CA-2)	50
Figura 32 – Espectro de massa do cinamato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (CA-3)	50

Figura 33 – Espectro de massa do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4)	51
Figura 34 – Espectro de massa do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5)	51
Figura 35 – Espectro de massa do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6)	51
Figura 36 – Espectro de massa do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)	52
Figura 37 – Espectro de massa do cinamato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ci- clohexila (CA-8)	52
Figura 38 – Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden- -5-ila (MA-1)	52
Figura 39 – Espectro de massa (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6- ila (MA-2)	53
Figura 40 – Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (<i>S</i>)-(4-(prop-1-en-2- il)ciclohex-1-en-1-il)metila (MA-3)	53
Figura 41 – Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxibenzila (MA-4)	53
Figura 42 – Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5- metilfenila (MA-5)	54
Figura 43 – Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2- metilfenila (MA-6)	54
Figura 44 – Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2- metoxifenila (MA-7)	54
Figura 45 – Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2- metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (MA-8)	55
Figura 46 – Espectro de massa do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5- isopropil-2-metilfenila (FA-1a)	55
Figura 47 – Espectro de massa do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2- isopropil-5-metilfenila (FA-1b)	55
Figura 48 – Fragmento molecular cinamato	56
Figura 49 – Fragmento molecular 3-(4-metoxifenil)acrilato	59

Figura 50 – Fragmento molecular (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato	60
Figura 51 – Fragmento molecular 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila	61
Figura 52 – Estrutura química do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (CA-1) e do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (MA-1)	62
Figura 53 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 2,3-dihidro-1H- inden-5-ila (CA-1)	62
Figura 54 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 2,3-dihidro-1H- inden-5-ila (CA-1)	63
Figura 55 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (MA-1)	63
Figura 56 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (MA-1)	64
Figura 57 – Fragmento molecular 1-oxo-1H-isocromen-6-ila	64
Figura 58 – Estrutura química do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (CA-2) e do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (MA-2)	65
Figura 59 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 1-oxo-1H- isocromen-6-ila (CA-2)	66
Figura 60 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 1-oxo-1H- isocromen-6-ila (CA-2)	66
Figura 61 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (MA-2)	67
Figura 62 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (MA-2)	67
Figura 63 – Fragmento molecular (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila	68
Figura 64 – Estrutura química do cinamato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1- il)metila (CA-3) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (S)-(4-(prop-1-en-2- il)ciclohex-1-en-1-il)metila (MA-3)	69
Figura 65 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do cinamato de (s)-(4-(prop-1-en- 2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (CA-3)	69

Figura 66 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do cinamato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (CA-3)	70
Figura 67 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (MA-3)	70
Figura 68 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (MA-3)	71
Figura 69 – Fragmento molecular 3-metoxibenzila	71
Figura 70 – Estrutura química do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (MA-4)	72
Figura 71 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4)	73
Figura 72 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4)	73
Figura 73 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (MA-4)	74
Figura 74 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (MA-4)	74
Figura 75 – Fragmento molecular 2-isopropil-5-metilfenila	75
Figura 76 – Fragmento molecular 5-isopropil-2-metilfenila	75
Figura 77 – Estrutura química do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5), cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6), (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (MA-5), (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (MA-6), (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (FA-1a) e (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (FA-1b).....	77
Figura 78 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5)	77
Figura 79 – Espectro de RMN ¹³ C (300 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5)	78

Figura 80 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6)	78
Figura 81 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6)	79
Figura 82 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (MA-5)	79
Figura 83 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (MA-5)	80
Figura 84 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (MA-6)	80
Figura 85 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (MA-6)	81
Figura 86 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (FA-1a)	81
Figura 87 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (FA-1a)	82
Figura 88 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (FA-1b)	82
Figura 89 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (FA-1b)	83
Figura 90 – Fragmento molecular 4-formil-2-metoxifenila	83
Figura 91 – Estrutura química do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (MA-7).....	84
Figura 92 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)	85
Figura 93 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)	85
Figura 94 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (MA-7)	86

Figura 95 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (MA-7)	86
Figura 96 – Fragmento molecular do <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila	87
Figura 97 – Estrutura química do cinamato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (CA-8) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (MA-8)	88
Figura 98 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do cinamato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (CA-8)	88
Figura 99 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (CA-8)	89
Figura 100 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (MA-8)	89
Figura 101 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de <i>rac</i> -(2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (MA-8)	90

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Porcentagem de inibição do crescimento celular (% IC) do conjunto de substâncias contra linha celular PC3 (próstata). Valores são médias \pm desvio padrão..... 91
- Gráfico 2 – Porcentagem de inibição do crescimento celular (% IC) do conjunto de substâncias contra linha celular HL60 (leucemia promielocítica). Valores são médias \pm desvio padrão 91
- Gráfico 3 – Porcentagem de inibição do crescimento celular (% IC) do conjunto de substâncias contra linha celular SNB19 (astrocitoma). Valores são médias \pm desvio padrão 92
- Gráfico 4 – Porcentagem de inibição do crescimento celular (% IC) do conjunto de substâncias contra linha celular HCT-116 (carcinoma de cólon – humano). Valores são médias \pm desvio padrão 92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados do massa de alta resolução de todos os compostos	48
Tabela 2 – Valores de δ_H (ppm), multiplicidade e constante de acoplamento (Hz) referente às substâncias CA-1 a CA-8	56
Tabela 3 – Valores de δ_C (ppm) referente às substâncias CA-1 a CA-8	58
Tabela 4 – Valores de δ_H (ppm), multiplicidade e constante de acoplamento (Hz) referente às substâncias MA-1 a MA-8	59
Tabela 5 – Valores de δ_C (ppm) referente às substâncias MA-1 a MA-8	60
Tabela 6 – Valores de IC_{50} (μM) dos compostos CA-6 , CA-8 , MA-4 , MA-6 , MA-7 e FA-1b em linhas celulares tumorais e não tumorais com intervalo de confiança de 95%	93
Tabela 7 – Valores do índice de seletividade (SI) dos compostos testados. O SI foi calculado para cada composto utilizando a fórmula: $SI = IC_{50}$ células normais / IC_{50} das respectivas células cancerígenas	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de Etila
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
DCC	Diciclo-hexilcarbodiimida
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimetilamino Piridina
g	Gramas
g.mol ⁻¹	Gramas por Mol
HOAc	Ácido Acético
HRMS	Espectometria de Massa de Alta Resolução
IC ₅₀	Concentração Mínima Inibitória
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IV	Infravermelho
MHz	Mega-hertz
mL	Mililitros
mmol	Milimol
p.f.	Ponto de Fusão
ppm	Partes por Milhão
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
μM	Micromolar

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
J	Constante de Acoplamento
δ_C	Deslocamento Químico de Carbono-13
δ_H	Deslocamento Químico de Hidrogênio
®	Marca Registrada
%	Porcentagem
m/z	Razão Massa/Carga

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1	Ácido cinâmico (CA)	15
2.2	Ácido <i>p</i> -metoxicinâmico (MA)	17
2.3	Ácido ferúlico (FA)	18
2.4	Atividade citotóxica	19
3	OBJETIVOS	21
3.1	Geral	21
3.2	Específicos	21
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	22
4.1	Materiais utilizados	22
4.1.1	<i>Reagentes</i>	22
4.1.2	<i>Solventes</i>	22
4.1.3	<i>Cromatografia em camada delgada (CCD)</i>	22
4.1.4	<i>Cromatografia em coluna</i>	23
4.2	Métodos espectroscópicos e espectométrico	23
4.2.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)</i>	23
4.2.2	<i>Espectrometria de massas (EM)</i>	23
4.2.3	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	23
4.3	Métodos físicos	24
4.3.1	<i>Ponto de fusão</i>	24
4.4	Atividade biológica	24
4.4.1	<i>Atividade citotóxica in vitro em linhagens de células tumorais humanas</i>	24
4.5	Procedimento geral para a síntese dos cinamatos	25
4.5.1	<i>Obtenção dos ésteres (CA-1 – 8) derivados do ácido cinâmico CA</i>	25
4.5.2	<i>Obtenção dos ésteres (MA-1 – 8) derivados do ácido <i>p</i>-metoxicinâmico (MA)</i>	26
4.5.3	<i>Obtenção do intermediário FA-1</i>	27
4.5.4	<i>Obtenção dos ésteres (FA-1a e FA-1b) derivados do ácido ferúlico (FA)</i>	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5.1	Os ésteres CA-1 a CA-8 e MA-1 a MA-8	28
5.2	Reações para obter os compostos FA-1a e FA-1b	34
5.3	Reação de acetilação para formar o intermediário FA-1	35

5.4	Caracterização do intermediário ácido (E)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil) acrílico (FA-1) por espectroscopia de infravermelho (IV)	36
5.5	Caracterização estrutural dos derivados semissintéticos	37
5.5.1	Caracterização dos compostos por espectroscopia na região de infravermelho (IV)	37
5.5.2	Caracterização dos compostos por espectrometria de massa de alta resolução (HRMS)	47
5.5.3	Caracterização dos compostos por ressonância magnética nuclear (RMN) ...	56
5.5.3.1	<i>Fragmento molecular cinamato comum para os compostos CA-1 a CA-8</i>	56
5.5.3.2	<i>Fragmento molecular 3-(4-metoxifenil)acrilato comum para os compostos MA-1 a MA-8</i>	58
5.5.3.3	<i>Fragmento molecular (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato comum para os compostos FA-1a e FA-1b</i>	60
5.5.3.4	<i>Caracterização do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (CA-1) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (MA-1)</i>	60
5.5.3.5	<i>Caracterização do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (CA-2) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (MA-2)</i>	64
5.5.3.6	<i>Caracterização do cinamato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il) ciclohex-1-en-1-il)metila (CA-3) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (MA-3)</i>	68
5.5.3.7	<i>2.1.1.1 Caracterização do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (MA-4)</i>	71
5.5.3.8	<i>Caracterização do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5), cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6), (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (MA-5), (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (MA-6), (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (FA-1a) e (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (FA-1b)</i>	75
5.5.3.9	<i>Caracterização do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (MA-7)</i>	83
5.5.3.10	<i>Caracterização do cinamato de rac-(2R, 5R)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (CA-8) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de rac-(2R, 5R)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (MA-8)</i>	87
5.6	Avaliação da atividade citotóxica <i>in vitro</i> dos composto em linhagens de	

	células tumorais humanas	90
6	CONCLUSÃO	97
	REFERÊNCIAS	98

1 INTRODUÇÃO

O câncer é a segunda principal causa de morte em todo o mundo e foi responsável por 8,8 milhões de mortes em 2015. Globalmente, quase 1 em cada 6 mortes é devido ao câncer. O número de novos casos deve aumentar cerca de 70% nas próximas 2 décadas (WHO, 2018).

Diante desta problemática, várias pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de novos fármacos, desempenham importante papel no processo de descoberta de compostos bioativos utilizados no tratamento do câncer e de outras doenças (SANGI, 2016). Vale salientar que há uma imensa variedade de substâncias naturais, cujo relatos na literatura com diversas atividades testadas conhecidas, sendo fortes candidatas como protótipos em busca no desenvolvimento de novas drogas (YUAN *et al.*, 2016).

A derivatização de produtos naturais tem contribuído significativamente para a obtenção de novas substâncias bioativas utilizadas no combate ao câncer e demais doenças (STIERLE, 2018). Dentre uma gama de compostos já sintetizados, com a finalidade de serem aplicados como moléculas bioativas, estão os ésteres derivados do ácido cinâmico, mostrando-se fortes candidatos. Ressaltando que na literatura há relatos de diversas atividades biológicas de ésteres do ácido cinâmico (CA), que apresentaram atividade inibitória da acetilcolinesterase (MAHAJAN; PATIL; PATIL, 2008), antioxidante (MALHEIRO *et al.*, 2019), antimalárica (SILVA, *et al.*, 2020), antimicrobiana (FORERO-DORIA, *et al.*, 2019) antifúngica (IMAI *et al.*, 2019) e anticâncer (SU *et al.*, 2015).

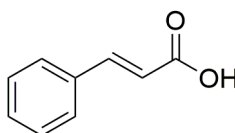
Em função das diversas propriedades biológicas relatadas na literatura para o ácidos cinâmico (CA), *p*-metoxicinâmico (MA) e ferúlico (FA), estes ácidos foram utilizados como material de partida para obtenção dos derivados. Com a finalidade de avaliar a atividade anticâncer de cinamatos, visando estabelecer uma relação estrutura-atividade, o presente trabalho descreve a síntese e a caracterização de ésteres do ácido cinâmico, *p*-metoxicinâmico e ferúlico, bem como a avaliação da atividade citotóxica de dezoito ésteres frente a quatro linhagens de células tumorais humanas SNB-19 (Astrocitoma), HCT-116 (Carcinoma de cólon - humano), PC3 (Próstata), HL60 (Leucemia promielocítica), além de célula saudável L929 (Fibroblasto murino).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Ácido cinâmico (CA)

Duas classes grandes e distintas de ácidos fenólicos são conhecidas em plantas - derivados do ácido benzóico e do ácido cinâmico (CA). O último compreende uma série de ácidos *trans*-fenil-3-propenóico que diferem em sua substituição de anel (Fig. 1). A sua estrutura molecular é normalmente encontrada na forma do estereoisômero *trans*, na sua forma mais estável (LIU *et al.*, 1995). Em sua estrutura química há nove átomos de carbono, composto por um anel benzeno e um curta instauração α , β a carbonila carboxílica. O ácido cinâmico (CA) e derivados pode ser encontrado em alimentos contidos na dieta alimentar humana a base de plantas, em citrinos, uvas, chá verde, cacau e espinafre (KASETTI *et al.*, 2012).

Figura 1- Estrutura química do ácido cinâmico (CA)



Fonte: elaborado pelo autor.

Em rotas biosintética de algumas plantas, o ácido cinâmico é um intermediário chave nas vias do chiquimato e fenilpropanóide, sendo um precursor dos flavonóides e da estrutura das lignina (EDREVA, 2005; HRAZDINA, 1992). Devido à sua ocorrência comum em plantas, o ácido cinâmico e seus derivados foram avaliados como compostos farmacologicamente ativos, e são frequentemente usados como modelo de compostos para o desenvolvimento de novas drogas altamente eficazes e promissoras.

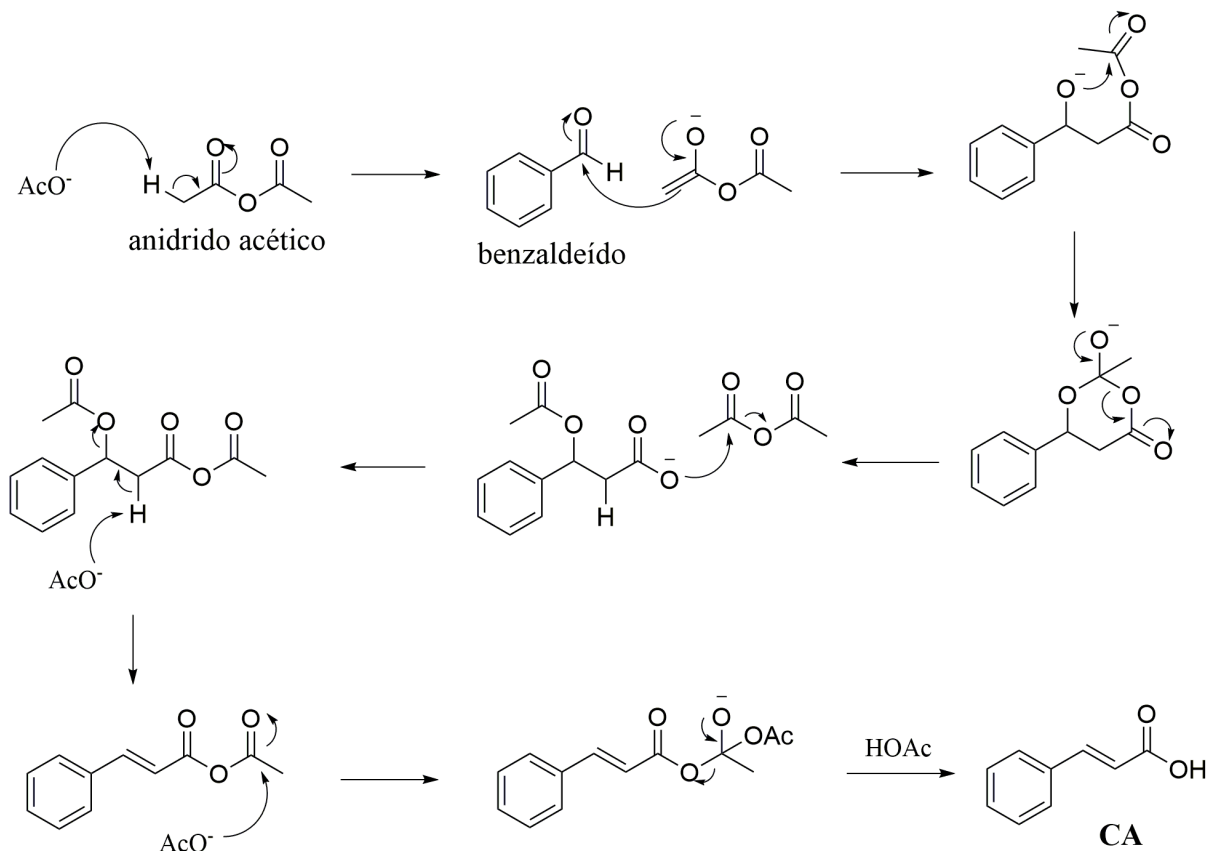
A partir desse contexto, vários derivados químicos foram sintetizados a partir do ácido cinâmico e seus derivados objetivando encontrar diferentes atividades biológicas. Dentre estes compostos sintéticos, destacam-se os ésteres, mostrando uma variedade notável de atividades biológica.

O ácido cinâmico e análogos, podem ser obtidos sinteticamente, através de rotas e métodos sintéticos, sendo as mais utilizadas a condensação Perkin (ALVES; COSTA, 2011) e Knoevenagel-Doebner (FERREIRA *et al.*, 2000).

A reação de Perkin foi desenvolvida por Henry Perkin para a obter os ácidos cinâmicos. Constitui em uma condensação aldólica entre o anidrido acético (Ac_2O) e um benzaldeído, na presença de um sal alcalino orgânico (AcO^-) de ácido carboxílico, cujo o

mecanismo é mostrado na figura 2. O sal alcalino é utilizado como catalisador. Além dos sais de ácidos orgânicos podem ser usadas outras bases como catalisadores (ROY; BOISVERT; LEBLANC, 2007).

Figura 2 – Mecanismo reacional de Perkin para obter os ácidos cinâmicos



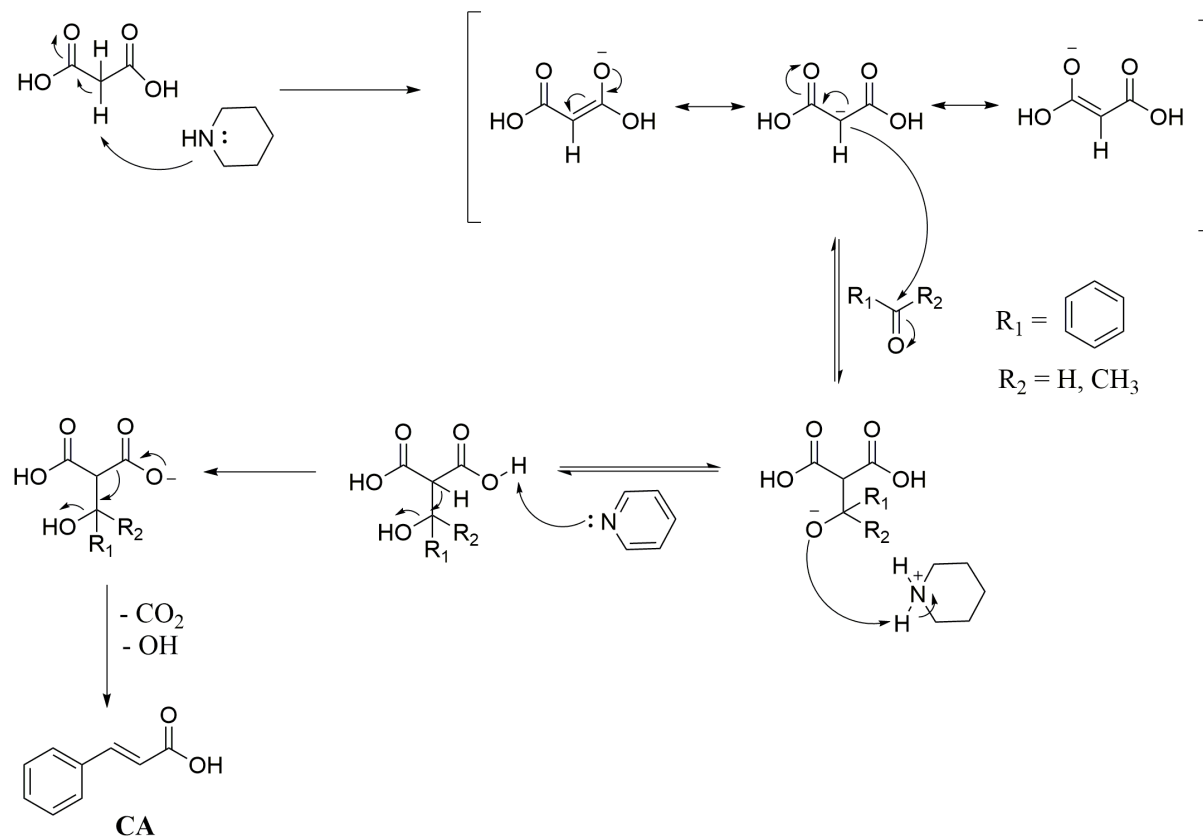
Fonte: elaborado pelo autor.

A reação de Perkin conduz a bons rendimentos, quando utiliza-se benzaldeídos substituídos com grupos retiradores de elétrons. A presença de grupos doadores de elétrons no anel aromático do aldeído levam a baixos rendimentos reacionais. Em tal caso, a utilização de carbonato de potássio anidro (K_2CO_3) como base e condições anidras permitem aumentar substancialmente o rendimento reacional.

A reação de Knoevenagel é uma reação clássica de condensação aldólica com a formação da ligação C-C. A reação ocorre entre aldeídos ou cetonas, sendo utilizados aminas como catalisadores (Fig. 3). A condensação de Knoevenagel do ácido malônico com compostos carbonílicos é uma via importante de síntese de ácidos insaturados. O método inclui preferencialmente a modificação Doebner que envolve o aquecimento de aldeídos aromáticos e do ácido malônico na presença de um excesso de piridina e piperidina que

facilita a descarboxilação para gerar os compostos α,β -insaturados respectivos (KNITTEL; HEMETSBERGER; WEIDMANN, 1970).

Figura 3 – Mecanismo reacional da reação de Knoevenagel-Doebner

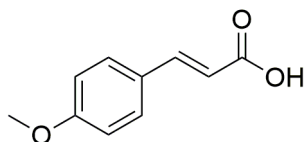


Fonte: elaborado pelo autor.

2.2 Ácido *p*-metoxicinâmico (MA)

Ácido *p*-metoxicinâmico (MA), cuja estrutura está mostrada abaixo (Fig. 4), é um fenilpropenóico de nome sistemático ácido (E)-3-(4-metoxifenil) acrílico, constituído por dez átomos de carbono, pertencente ao grupo dos compostos fenólicos. Apresenta em sua estrutura química uma metoxila no carbono aromático, *para* substituído. Este composto pode ser isolado de grãos de *Oriza sativa*, nas plantas de *Curcuma longa* e na *Kaemperfia galanga* (BROWN, 1965; STRACK, 1997; HUDSON *et al.*, 2000). Este ácido pode também ser obtido sinteticamente, através da condensação Perkin (ALVES; COSTA, 2011) e Knoevenagel-Doebner (FERREIRA *et al.*, 2000).

Figura 4 - Estrutura química do ácido *p*-metoxicinâmico (**MA**)



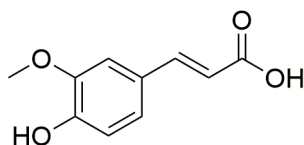
Fonte: elaborado pelo autor.

Estudos comprovaram que o ácido *p*-metoxicinâmico (**MA**) em animais, tem ação de proteção celular e, também, propriedades vaso relaxantes. Este ácido pode impedir a proliferação de células ligadas ao câncer de cólon e apresentar atividade hepatoprotetora (KIM *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2002). Além disso, estudos revelaram que o ácido *p*-metoxicinâmico (**MA**) é um composto bioativo, com atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante (SOVA *et al.*, 2013). Embora a investigação do ácido *p*-metoxicinâmico (**MA**) como fármaco seja crescente, a pouco relato na literatura sobre atividade biológicas dos derivados deste ácido. Portanto, estudos sobre atividade biológica deste compostos vem ganhando o interesse de pesquisadores nos últimos anos, principalmente nas áreas médicas e farmacológicas.

2.3 Ácido ferúlico (FA)

Ácido ferúlico (**FA**) cuja estrutura está mostrada abaixo (Fig. 5), é um fenilpropenóico de nome sistemático ácido (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrílico, constituído por dez átomos de carbono, pertencente a classe dos hidroxicinâmicos. O ácido ferúlico (**FA**) pode ser isolado de diversas fontes naturais, tais como: milho, arroz, trigo, beterraba, alcachofra, café e frutas vermelhas, ambos alimentos contidos na alimentação humana (MANCUSO; SANTANGELO, 2014). Esse ácido foi isolado pela primeira vez em 1866, da planta *Ferula foetida*, que deu origem a sua denominação (GRAF, 1992).

Figura 5 - Estrutura química do ácido ferúlico (**FA**)



Fonte: elaborado pelo autor.

O ácido ferúlico (**FA**), é obtido biosinteticamente a partir do metabolismo dos aminoácidos fenilalanina e tirosina. Em obtenção industrial, pode ser por duas vias: extraído de fontes naturais por hidrólise ou sinteticamente pela reação da vanilina com o ácido malônico, catalisada por piridina ou piperidina (ZHAO; ZHANG; MA, 2009). Sua forma estrutural isomérica *trans* é a mais encontrada, devido a sua estabilidade em comparação com o isômero *cis* (GRAFT, 1992).

2.4 Atividade citotóxica

O câncer é uma doença que acomete milhões de pessoas, sendo mundialmente a segunda principal causa de morte, com número estimado de 9,6 milhões de óbitos em 2018. Os tipos de câncer mais comuns com maior número de casos são: pulmão (2,09 milhões), mama (2,09 milhões), colo de útero (1,80 milhão) e próstata (1,28 milhão) (WHO, 2018). Portanto, o câncer ainda é um grande problema da saúde pública, onde se estima que, nos próximos anos, o impacto do câncer na população corresponda a 80% dos mais de 20 milhões de casos novos estimados para 2025 (SCHILITZH *et al.*, 2018).

No Brasil, o número de casos de pessoas diagnosticado com tumor primário é bastante preocupante. Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), essa incidência estimada em 2020 corresponde aproximadamente 626 mil novos casos, sendo que câncer de próstata, cólon e reto, é mais comum em homens, em mulheres, é o câncer de mama, cólon e reto (INCA, 2020).

Nos anos de 1981 a 2014, do total de 174 fármacos aprovados e utilizados no tratamento dos diferentes tipos de câncer, somente 17% foram classificados como fármacos sintéticos e 83% eram produtos naturais ou derivados deles (NEWMAN; CRAGG, 2016). Portanto, a busca por novos compostos naturais e/ou estruturalmente modificados para o tratamento desta doença tem sido o grande objeto de pesquisadores.

Em busca de novas drogas, utiliza-se o teste citotoxicidade, que se trata de um estudo de como um composto irá reagir no organismo frequentemente envolvendo estudo de cultura de células (LEWINSKI; COLVIN; DREZEK, 2008), e a capacidade intrínseca de um material em promover alteração metabólica nas células em cultura, podendo levar a morte celular. Células expostas a substâncias citotóxicas podem ter diversos efeitos, como a perda da integridade da membrana celular, bem como o crescimento e divisão celular podem ser afetados, ou pode ocorrer apoptose da célula (VINKEN; BLAAUBOER, 2016).

A medida da citotoxicidade mostra-se indispensável no processo de desenvolvimento de novas drogas que possam ser utilizadas na terapia anticâncer, por ser um método *in vitro*, pode-se limitar o número de variáveis experimentais, obter dados significativos mais facilmente em períodos mais curto (ROGERO *et al.*, 2003). Por meio da determinação dos níveis de citotoxicidade em células cancerígenas, novas medicações podem ser desenvolvidas (LAI *et al.*, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Realizar a síntese de ésteres derivados do ácido cinâmico (**CA**), *p*-metoxicinâmico (**MA**) e ferúlico (**FA**) por meio da esterificação de Steglich, e posteriormente, avaliar o potencial citotóxico.

3.2 Específicos

- Desenvolver metodologias de síntese descritas na literatura para os compostos de interesse;
- Obter e purificar os compostos da série de ésteres provenientes da reação de esterificação do ácido cinâmico (**CA**), *p*-metoxicinâmico (**MA**) e ferúlico (**FA**);
- Caracterizar os produtos sintetizados utilizando as técnicas abaixo relacionadas:
 - Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN de ^{13}C);
 - Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN de ^1H);
 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF);
 - Espectrometria de Massa de Alta Resolução;
- Verificar citotoxicidade *in vitro* dos dezoito compostos (**CA-1 a CA-8**; **MA-1 a MA-8**; **FA-1a e FA-1b**) isolados em quatro linhagens de células tumorais humanas SNB-19 (Astrocitoma), HCT-116 (Carcinoma de cólon - humano), PC3 (Próstata), HL60 (Leucemia promielocítica), além de célula saudável L929 (Fibroblasto murinho).

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Materias utilizados

4.1.1 Reagentes

Os ácidos cinâmico (CA), *p*-metoxicinâmico (MA) e felúrico (FA) utilizado como material de partida nas reações foram de procedência Sigma®. Os alcoóis utilizados nas reações de esterificação foram o (*S*)-(-)-perílico (Sigma®), carvacrol (Sigma®), timol (Sigma®), 5-indanol (Sigma®), 2-indanol (Sigma®), 3-metoxibenzilalcool (Vetec®), 7-hidroxicumarina (Aldrich®), *rac*-dihidrocarvenol (Vetec®) e vanilina (Sigma®). 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (Sigma®), *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (Sigma®), Anidrido acético (Ac₂O) (Vetec®), trietilamina (Et₃N) (Vetec®), foram utilizados nas reações de preparação dos ésteres.

4.1.2 Solventes

Nas reações de obtenção dos derivados e purificação, foram utilizados solventes comerciais: hexano, acetato de etila (AcOEt) e diclorometano (CH₂Cl₂) de qualidade P.A. da marca Synth®. Para a obtenção dos espectros de ressonância magnética nuclear, foi utilizado clorofórmio deuterado (CDCl₃) da marca Tedia®. Em todas as etapas em que se utilizou água, a mesma foi previamente purificada por meio de destilação.

4.1.3 Cromatografia em camada delgada (CCD)

O andamento das reações durante os procedimentos reacionais, bem como a pureza preliminar dos compostos, utilizando-se como referência os padrões dos reagentes, foram monitorados por cromatografia em camada delgada (CCD). Utilizou-se cromatoplasca de gel de sílica 60 (Ø µm 2-25) sobre alumínio, com camada de 0,20 mm e indicador de fluorescência na faixa de 254 nm, da marca MACHEREY-NAGEL®.

As placas foram cortadas nas dimensões apropriadas para cada análise. As amostras foram aplicadas com o auxílio de um tubo capilar à uma altura de aproximadamente 1 cm, com uma distância de aproximadamente 0,3 cm de uma amostra para outra; em seguida foram eluídas em cuba com uso de eluente apropriado.

A eluição dos *spots* e separação das substâncias nas placas foram realizadas utilizando-se hexano ou acetato de etila, nas proporções de 9:1, 9:2, 9:3, respectivamente, de modo a se obter diferentes graus de polaridade.

4.1.4 Cromatografia em coluna (CC)

Na execução das análises cromatográficas de adsorção em coluna do tipo *flash*, utilizou-se gel de sílica 60 (Φ μm 40-63) da marca Vetec®. O diâmetro e o comprimento da coluna variaram de acordo com a quantidade de amostra a ser purificada e solvente utilizado.

4.2 Métodos espectroscópicos e espectométrico

4.2.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, usando um Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF), da marca Perckin Elmer, modelo FT-IR SPECTRUM 100. As amostras foram incorporadas em pastilhas translúcidas de brometo de potássio (KBr) e analisadas na faixa de número de ondas 400 a 4000 cm^{-1} .

4.2.2 Espectrometria de massas (EM)

A análise dos compostos foi realizada acoplando o sistema Waters Acquity UPLC ao espectrômetro de massa Xevo G2-XS QToF (Waters MS Technologies, Manchester, Reino Unido), pertencente a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) com a interface de ionização por eletrospray no modo de íon positivo. As amostras do pool de HM devidamente preparadas foram introduzidas no sistema por infusão direta, de acordo com as seguintes condições: temperatura da fonte (150 °C), temperatura de dessolvatação (200 °C), tensão capilar (3,00 kV), tensão do cone (20,00 V) e fluxo de gás de dessolvatação (500 L h⁻¹). Os dados foram processados usando o software MassLynx™.

4.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN de ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 (RMN de ^{13}C) foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance DPX – 300, pertencente ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC), operando na frequência de 300 MHz para hidrogênio e 75 MHz para carbono-13. Os experimentos unidimensionais de RMN ^{13}C foram efetuados sob desacoplamento total de hidrogênios.

As amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) e acondicionadas em tubos de RMN. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados para RMN de ^1H pelo pico do hidrogênio pertencente à fração de clorofórmio não deuterado (δ 7,27) e para RMN de ^{13}C pelo pico central do tripleto em δ 77,23 do clorofórmio deuterado. As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN de ^1H foram indicadas segundo a convenção: *s* (simpleto), *d* (duplete), *dd* (duplete de duplete), *t* (tripleto), *q* (quarteto) e *m* (multiplete).

4.3 Métodos físicos

4.3.1 Ponto de fusão

Os pontos de fusão foram determinados em equipamento de microdeterminação digital da Mettler Toledo provido de uma estação de aquecimento FP82HT, uma central de processamento FP90 e acoplada a um microscópio óptico monocular. Sendo que foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de $2^\circ\text{C}/\text{min}$ e não foram corrigidas.

4.4 Atividade biológica

4.4.1 Atividade citotóxica *in vitro* em linhagens de células tumorais humanas

Os testes de atividade citotóxica foi realizado no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), no Laboratório de Oncologia (LOE), sob a supervisão da professora Dra. Claudia do Ó Pessoa. A atividade citotóxica dos cinamatos foi avaliada nas linhagens celulares SNB-19 (Astrocitoma), HCT-116 (Carcinoma do cólon), PC3 (Carcinoma da próstata), HL60 (leucemia promielocítica), obtidas no National Cancer Institute (Washington, DC, EUA). Todas as células foram cultivadas no Roswell Park

Memorial Institute (RPMI) 1640, exceto a L929, que foi cultivada em Meio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM), obtido do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). Todas as experiências de cultura de células foram realizadas a 37 °C. As células foram suplementadas com 10% de soro fetal de bezerro e 1% de antibióticos, em atmosfera umidificada com 5% de CO₂. A linhagem celular L929 foi utilizada para avaliar a seletividade dos compostos e nestes ensaios, o fármaco anticâncer doxorrubicina foi utilizado como controle positivo.

A determinação da citotoxicidade foi realizada pelo método colorimétrico MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio). Os compostos foram testados a 25 µg mL⁻¹ em quatro linhas de células tumorais para triagem inicial; a concentração de IC₅₀ foi determinada para amostras que apresentaram resultados positivos (inibição do crescimento > 70%) em pelo menos uma das linhas celulares. As células foram colocadas em placas de 96 poços nas seguintes concentrações: HCT-116/L929: 0,7 x 10⁵ células mL⁻¹; SNB-19/PC3: 0,1 x 10⁶ células mL⁻¹; HL60: 0,3 x 10⁶ células mL⁻¹. As células foram tratadas com as substâncias por 72 h. Ao final do tratamento, as placas foram centrifugadas e o sobrenadante removido. Em seguida, 100 µL de solução de MTT (0,5 µg mL⁻¹) foram adicionados e incubados por 3 h. Após a incubação, a solução de MTT foi removida e o precipitado formado foi dissolvido com 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). As absorvâncias foram lidas usando um espectrofotômetro de placa (Detector Multimodo, DTX 880, Beckman Coulter) a 595 nm.

Todos os experimentos foram realizados em duplicata e repetidos três vezes. Para amostras que mostraram atividade inibitória > 70%, o índice de seletividade (SI) foi calculado. O cálculo deste índice corresponde a divisão entre o valor IC₅₀ de cada composto de teste na linha celular não tumoral L929 e o valor IC₅₀ de cada composto na linha celular tumoral ($SI = IC_{50} \text{ L929} / IC_{50}$). Todos os dados obtidos foram analisados no software GraphPad Prism 5.01 e expressos como média ± desvio padrão. Os valores de IC₅₀ foram obtidos por interpolação de análise de regressão não linear com um nível de confiança de 95%. IC₅₀ foi definido como a concentração suficiente para obter 50% do efeito inibitório máximo sobre a viabilidade celular.

4.5 Procedimento geral para a síntese dos cinamatos

4.5.1 Obtenção dos ésteres (CA-1 – 8) derivados do ácido cinâmico CA

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, dissolve-se, 60,0 mg do CA (0,40 mmol) em 10 mL de diclorometano. Posteriormente, foram adicionados os respectivos álcoois: 70,0 µL de (S)-(-)-perílico (0,44 mmol), 64,0 µL carvacrol (0,44 mmol), 66,0 mg de timol (0,44 mmol), 59,0 mg de 5-indanol (0,44mmol), 59,0 mg de 2-indanol (0,44 mmol), 61,0 µL de 3-metoxibenzilalcool (0,44 mmol), 71,3 mg de 7-hidroxicumarina (0,44 mmol), 63,0 µL de *rac*-dihidrocarvenol (0,44 mmol) e 66,9 mg de vanilina (0,44 mmol), em seguida, adicionou-se 48,8 mg de 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP) (0,44 mmol) e 90,7 mg *N,N'*-díciclohexilcarbodiimida (DCC) (0,44 mmol). As misturas reacionais foram submetidas à agitação magnética à temperatura ambiente, com duração entre 2 a 24 horas, a formação dos produtos foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD). Decorrido este período reacional, ocorreu a formação do precipitado díciclohexil-ureia (DHU). As misturas foram filtradas e lavadas com CH₂Cl₂. A solução foi concentrada sob pressão reduzida em rotaevaporador. Em seguida, os produtos brutos foram purificados em coluna com gel de sílica eluída com hexano: AcOEt (9:1 v/v) e caracterizados por técnica espectrométrica (HRMS) e técnicas espectroscópicas (IV, RMN de ¹H e ¹³C).

4.5.2 Obtenção dos ésteres (MA-1 – 8) derivados do ácido *p*-metoxicinâmico (MA)

MA (60,0 mg, 0,33 mmol) foi inicialmente dissolvido em uma mistura de 7 mL de diclorometano com diferentes álcoois: 48,0 µL de (S)-(-)-perílico (0,33 mmol), 48,0 µL carvacrol (0,33 mmol), 49,6 mg de timol (0,33 mmol), 44,3 mg de 5-indanol (0,33 mmol), 59,0 mg de 2-indanol (0,33 mmol), 46,0 µL de 3-metoxibenzilalcool (0,44 mmol), 53,5 mg de 7-hidroxicumarina (0,33 mmol), 55,0 µL de *rac*-dihidrocarvenol (0,33 mmol) e 50,2 mg de vanilina (0,33 mmol), em seguida, adicionou-se 40,9 mg de 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP) (0,44 mmol) e 69,5 mg *N,N'*-díciclohexilcarbodiimida (DCC) (0,44 mmol). As diferentes soluções foram submetidas a refluxo, a temperatura de 50 °C sob agitação magnética durante 6 horas. Após esse período, a solução foi filtrada e lavada com CH₂Cl₂, em seguida, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. Os produtos brutos obtidos foram submetidos à cromatografia em coluna de gel de sílica, utilizando como eluente hexano : AcOEt (8:2), fornecendo aspectos físicos distintos dentre os produtos. Os compostos foram identificados através da análise de seus dados espectroscópicos (IV, RMN de ¹H e ¹³C) e por espectrometria de massa.

4.5.3 *Obtenção do intermediário FA-1*

Em um balão de 50 mL, misturou-se, 53,7 mg (0,44 mmol) de 4-(N, N-dimetilamino)piridina (DMAP) e 415 μ L de anidrido acético (Ac_2O) (4,4 mmol) em diclorometano (3 mL), em seguida, foram submetidos a agitação magnética durante 5 min à temperatura ambiente. Posteriormente, foi adicionado 87,1 mg de ácido ferúlico (**FA**) (0,44 mmol) e 30,5 μ L de trietilamina (Et_3N) (0,22 mmol), a mistura foi agitada por mais 30 min. Ao final da reação, o resíduo foi concentrado sob pressão reduzida. O produto bruto foi precipitado pela adição de 5 ml de água gelada e filtrada á vácuo. O produto **FA-1** foi obtido com rendimento de 86,3 % (91,3 mg).

4.5.4 *Obtenção dos compostos FA-1a e FA-1b derivados do ferúlico (FA)*

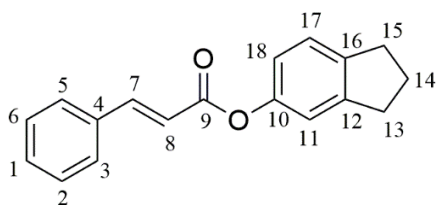
Em um balão de 50 mL dissolveu-se 96,0 mg do composto **FA-1** (0,40 mmol) em 5 mL de diclorometano (5 mL), e adicionado 90,6 mg de DCC (0,44 mmol) e 48,8 mg de DMAP (0,44 mmol). Logo em seguida, foram adicionado os fenóis: 64 μ L de carvacrol (0,44 mmol) e 66,0 mg de timol (0,44 mmol). As misturas foram mantidas sob agitação magnética à temperatura ambiente por 8 horas. Posteriormente, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano : AcOEt (9:1), sendo obtidos líquidos pastosos amarelos que foram caracterizado por HRMS, IV, RMN ^1H e ^{13}C .

5 RESULTADOS E DISCURSÕES

5.1 Os ésteres CA-1 a CA-8 e MA-1 a MA-8

Os derivados **CA-1** a **CA-8** e **MA-1** a **MA-8** foram obtidos através de reações de esterificação com o ácido cinâmico (**CA**) e *p*-metoxicinâmico (**MA**) utilizando as metodologias descritas nos itens 4.5.1 e 4.5.2 (pág.26), o mecanismo reacional está descrito na figura 6 (pág. 33). Foram utilizados diferentes álcoois e fenóis, para obter os produtos representados abaixo, com bons rendimentos.

Dados físicos do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**CA-1**)



Sólido branco amorfo

Massa obtida: 100,3 mg

Rendimento: 95%

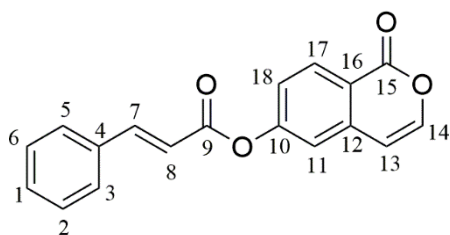
p.f.: 79,0 – 81,0 °C

Fórmula molecular: C₁₈H₁₆O₂

Massa molar: 264,3244 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**CA-2**)



Sólido branco amorfo

Massa obtida: 106,7 mg

Rendimento: 91,4 %

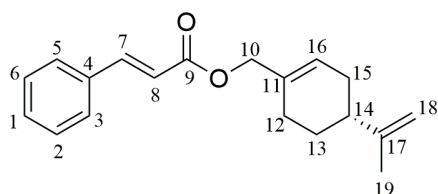
p.f.: 150 – 152 °C

Fórmula molecular: C₁₈H₁₂O₄

Massa molar: 292,0814 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do cinamato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il) ciclohex-1-en-1-il)metila (**CA-3**)



Líquido amarelo

Massa obtida: 109,6 mg

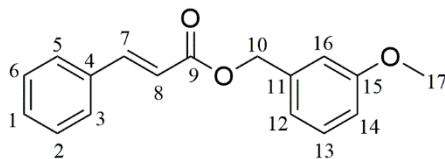
Rendimento: 88,4 %

Fórmula molecular: C₁₉H₂₂O₂

Massa molar: 282,1698 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4)



Líquido amarelo

Massa obtida: 89,5 mg

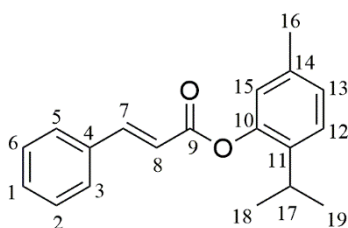
Rendimento: 83,5 %

Fórmula molecular: C₁₇H₁₆O₃

Massa molar: 268,1178 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5)



Líquido viscoso amarelo

Massa obtida: 108,6 mg

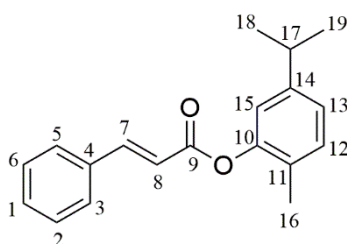
Rendimento: 97 %

Fórmula molecular: C₁₉H₂₀O₂

Massa molar: 280,1542 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6)



Sólido branco

Massa obtida: 104,8 mg

Rendimento: 93,6 %

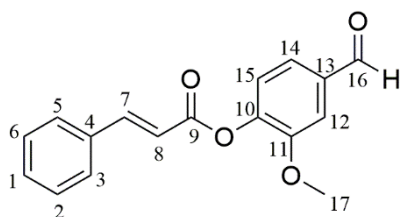
p.f.: 45 – 46 °C

Fórmula molecular: C₁₉H₂₀O₂

Massa molar: 280,1542 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)



Sólido branco

Massa obtida: 108,7 mg

Rendimento: 87,6 %

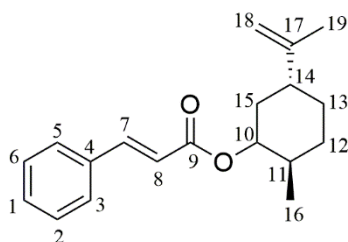
p.f.: 90 – 92 °C

Fórmula molecular: C₁₇H₁₄O₄

Massa molar: 282,0892 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**CA-8**)



Líquido translúcido

Massa obtida: 93,3 mg

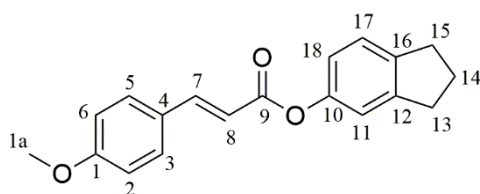
Rendimento: 79,5 %

Fórmula molecular: C₁₉H₂₄O₂

Massa molar: 284,1855 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**MA-1**)



Sólido amorfo branco

Massa obtida: 74,8 mg

Rendimento: 76,6 %

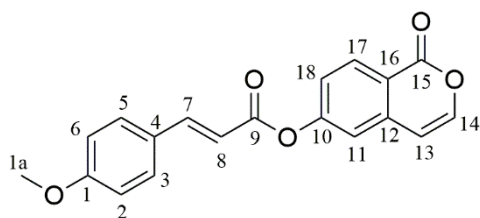
p.f.: 74 – 76 °C

Fórmula molecular: C₁₉H₁₈O₃

Massa molar: 294,1334 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**MA-2**)



Sólido amorfo branco

Massa obtida: 95,5 mg

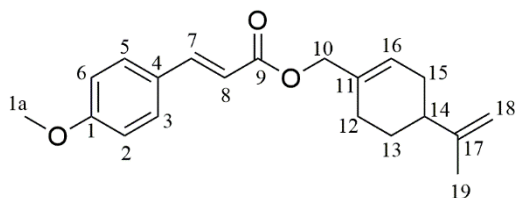
Rendimento: 89,9 %

Fórmula molecular: C₁₉H₁₄O₅

Massa molar: 322,0919 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**MA-3**)



Líquido amarelo

Massa obtida: 81,3 mg

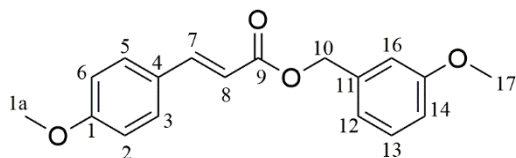
Rendimento: 81,3 %

Fórmula molecular: C₂₀H₂₄O₃

Massa molar: 312,1790 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxibenzila (**MA-4**)



Líquido amarelo

Massa obtida: 77,3 mg

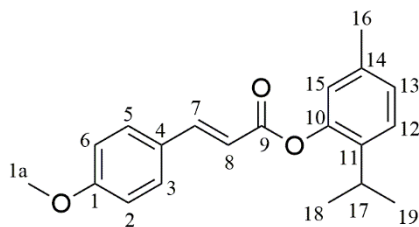
Rendimento: 88,7 %

Fórmula molecular: C₁₈H₁₈O₄

Massa molar: 298,1285 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**MA-5**)



Sólido branco

Massa obtida: 80,9 mg

Rendimento: 79,1 %

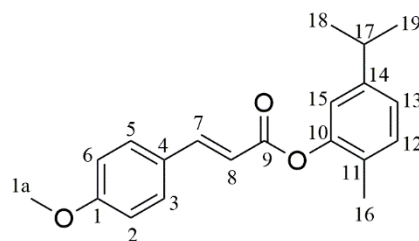
p.f.: 82 – 84 °C

Fórmula molecular: C₂₀H₂₂O₃

Massa molar: 310,1647 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**MA-6**)



Sólido branco

Massa obtida: 87,9 mg

Rendimento: 86,0 %

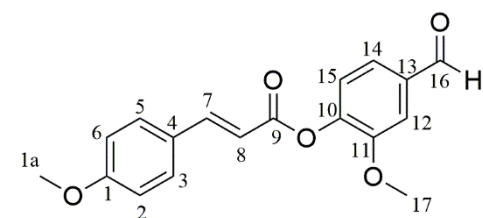
p.f.: 75 – 77 °C

Fórmula molecular: C₂₀H₂₂O₃

Massa molar: 310,1647 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (**MA-7**)



Sólido cristalino amarelo

Massa obtida: 96,6 mg

Rendimento: 93,8 %

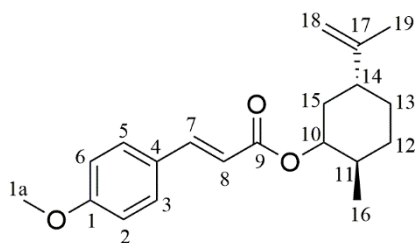
p.f.: 75 – 77 °C

Fórmula molecular: C₁₈H₁₆O₅

Massa molar: 312,1076 g/mol

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados físicos do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**)



Líquido translúcido

Massa obtida: 89,6 mg

Rendimento: 86,5 %

Fórmula molecular: C₂₀H₂₆O₃

Massa molar: 314,1960 g/mol

. Fonte: elaborado pelo autor.

A série de ésteres apresentados nesse estudo foi sintetizada por meio da reação de esterificação de Steglich (NEISES; STEGLICH, 1978), o mecanismo reacional é mostrado na figura 6. É uma reação caracterizada como uma reação de substituição a compostos carbonilados. Nessa reação, é utilizado um composto que tem a função orgânica álcool agindo como nucleófilo e ácido carboxílico agindo como eletrófilo.

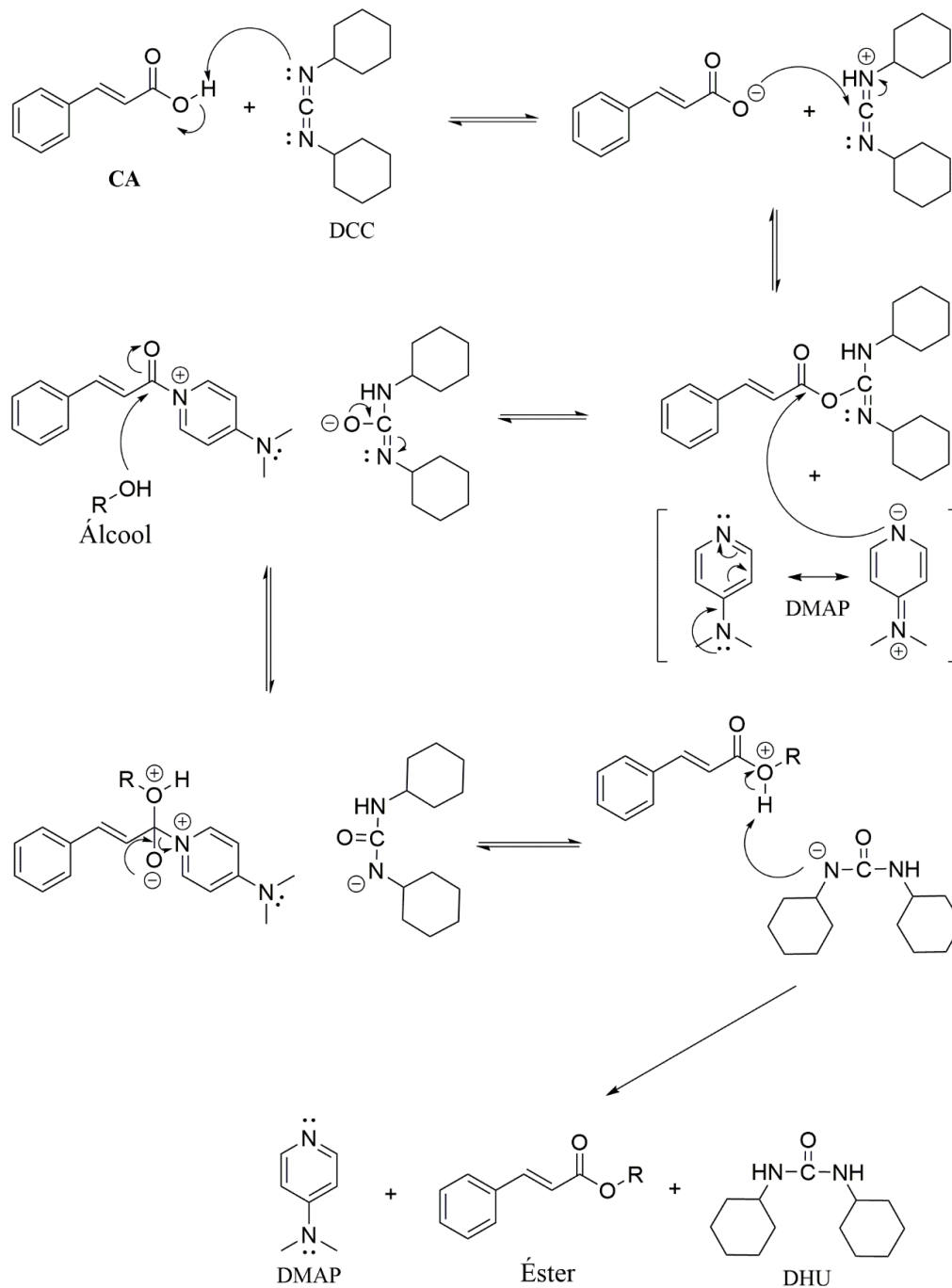
A primeira etapa da reação de esterificação, ocorre uma reação ácido e base, entre o ácido orgânico e a base orgânica presente mais forte, havendo a formação de um equilíbrio químico ácido-base. Nesta etapa, ocorre a abstração do próton mais ácido do ácido orgânico pela base orgânica. No meio reacional, estão presentes duas bases orgânicas o DCC e o DMAP, onde o DCC é mais básico do que o DMAP, assim, o DCC é responsável pela abstração do próton nesta primeira etapa.

Na segunda etapa, ocorre um ataque nucleofílico do carboxilato no sítio eletrofílico do DCC, como mostra o mecanismo abaixo. A reação entre o DCC e o ácido carboxílico forma um intermediário *o*-acilado derivado da ureia, que apresenta reatividade semelhante ao anidrido de ácido carboxílico, correspondente. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico do DMAP ao sítio eletrofílico da carbonila do intermediário *o*-acilado, sendo que o DMAP é um melhor nucleofílico do que o álcool (-OH), assim ocorrendo uma substituição nucleofílica na carbonila e ocorrendo a liberação do dicitlohexil-ureia (DHU), um composto bastante estável, sendo um bom grupo de saída, e obtendo um intermediário mais reativo frente ao ataque nucleofílico.

Logo em seguida, ocorre um ataque nucleofílico do álcool com o intermediário

formado na segunda etapa, obtendo o éster e ocorrendo a liberação do DMAP para o meio reacional, tornando-se um bom grupo abandonador, a qual o DMAP é utilizado como catalizador, sendo recuperado no final da reação.

Figura 6 – Mecanismo geral da reação de esterificação com ácidos cinâmicos



Fonte: elaborado pelo autor.

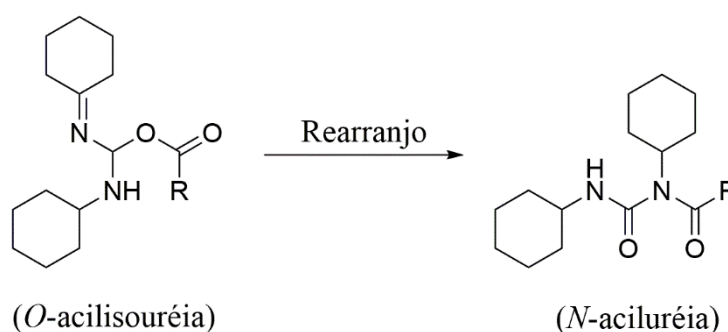
5.2 Reações para obter os compostos FA-1a e FA-1b

Os compostos **FA-1a** e **FA-1b**, a princípio, foi feito uso da metodologia DCC/DMAP, mas as condições utilizadas para formação dos produtos finais não foram favoráveis. Então, para favorecer a reação, aqueceu-se o sistema. No entanto, observou-se que mesmo assim não ocorreu a reação.

Em primeira instância foram combinados para formar um acoplamento ácido-amina ativado por DCC. Embora essa reação esteja bem estabelecida, várias reações colaterais tornam o procedimento mais complicado (REBEK; FEITLER, 1973). No caso ideal, o ácido carboxílico desprotonado, reage com uma molécula de DCC para formar uma *O*-acilureia como um intermediário, que é subsequentemente atacado pelo nucleofílico *N*-centro do DMAP, resultando na formação da amida desejada (Fig. 6 da pág 33).

Junto a reação de esterificação, segue também uma reação secundária, o intermediário *O*-acilisouréia (composto intermediário a formação do DHU) também pode se reorganizar em *N*-aciluréia, sendo mais estável (Fig. 7). Esta molécula é inativada com a perda da dupla ligação carbono/nitrogênio, formando uma imida, assim sendo estabilizada no processo (LEBEDEVA, *et al.*, 2012). Em diclorometano (CH₂Cl₂), a formação de *N*-aciluréia, o produto do arranjo do aduto DCC, domina devido a solubilidade do composto **FA**, e/ou a ausência/baixa nucleofilicidade (-OH) de qualquer nucleófilo em solução. Como a concentração de **FA** na solução é baixa, o rearranjo do aduto DCC é mais rápido do que o ataque do nucleófilo.

Figura 7 - Reação secundária ocorrida na esterificação de Steglich a partir do *O*-acilisouréia na ausência de nucleófilos, sofrendo um rearranjo para a formação da *N*-aciluréia.



Fonte: elaborado pelo autor.

Outro fator a ser levado em consideração é a competitividade dos nucleófilos em

solução, a hidroxila do ácido felúrico e dos fenóis utilizados nas reações. Os parâmetros para determinar a nucleofilicidade depende de vários fatores: estereoquímicos, solvatação, eletronegatividade, entre outros. Entretanto, os fenóis são poucos reativos em comparação com álcoois normais de cadeia aberta e curta, devido a estabilidade da hidroxila conjugada com anel aromático. Esses fatores podem favorecer a formação da *N*-aciluréia que sofre um rearranjo lento derivado do *O*-acilisouréia.

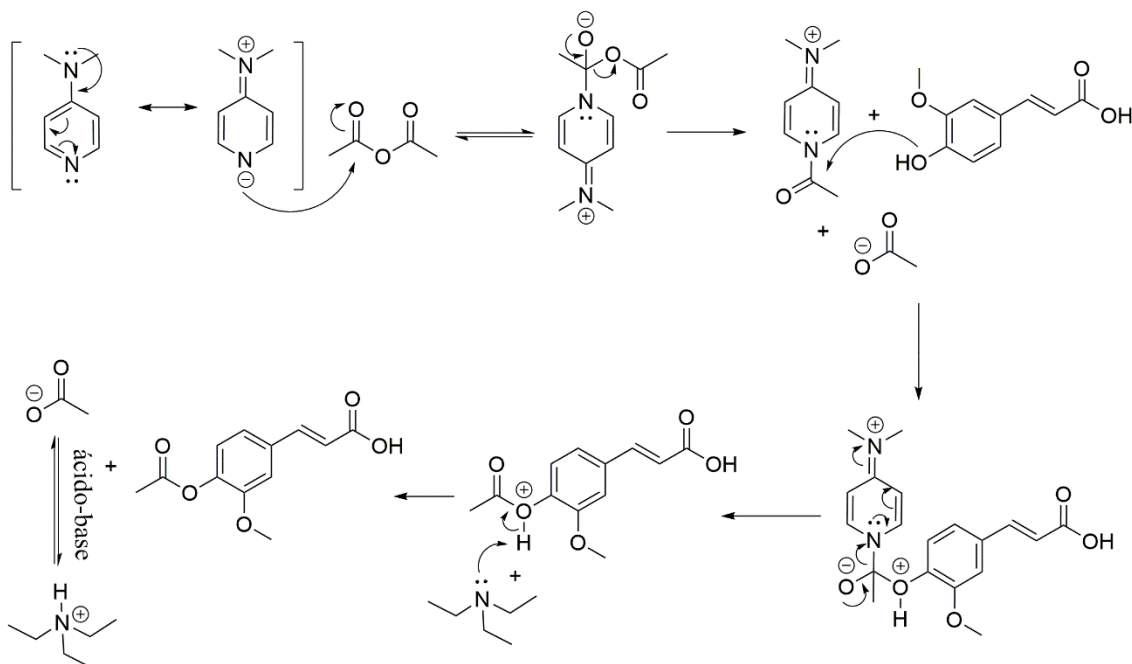
Desta forma, optou-se acetilar o ácido felúrico, para aumentar a solubilidade em diclometano e ausentar a competitividade nucleofílica (-OH) no meio reacional. Além disso, o grupo acetato pode ser facilmente eliminado. A metodologia sintética está descrita no item 4.5.3 (pág. 36) e o mecanismo está descrito na figura 6 (pág. 33). Assim, obteve-se o intermediário **FA-1** com o rendimento de 86,3 %, que foi caracterizado por espectroscopia na região do infravermelho (IV), comprovando a formação do **FA-1** com bandas de absorções compatíveis com da literatura (BIORAD).

Logo após a formação do **FA-1**, o composto foi submetido a esterificação Steglich, com a metodologia do item 4.5.3 (pág. 27) e o mecanismo na figura 8, utilizando os fenóis isoméricos carvacrol e timol, obtendo os compostos finais **FA-1a** e **FA-1b**, com rendimentos 26,7 % e 15,5 %, respectivamente. No processo reacional, ocorreu a desacetilação (AcO-) formando o produto final. Fazendo uma comparação dos rendimentos determinados para **CA-1** a **CA-8** e **MA-1** a **MA-8** citados acima, é fácil observar que os compostos **FA-1a** e **FA-1b** foram os que apresentaram menores rendimentos.

5.3 Reação de acetilação para formar o intermediário FA-1

Para a obtenção do intermediário **FA-1**, utilizou-se como catalisador 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP), é mais nucleofílico que o álcool, então o DMAP ataca o carbono eletrofílico carbonílico do anidrido, formando, um intermediário tetraédrico, tornando a carbonila mais reativa. Esse aumento de eletrofilicidade causada pela adição de um bom nucleofilo é denominada de catálise nucleofílica (CAREY; SUNDBERG, 2007). Em um segundo momento ocorre um ataque nucleofílico do grupo hidroxila do álcool sobre outro grupo acila, gerando o éster e regenerando o catalisador, cujo mecanismo é apresentado na figura 8.

Figura 8 – Mecanismo geral da reação de acilação com o ácido ferúlico

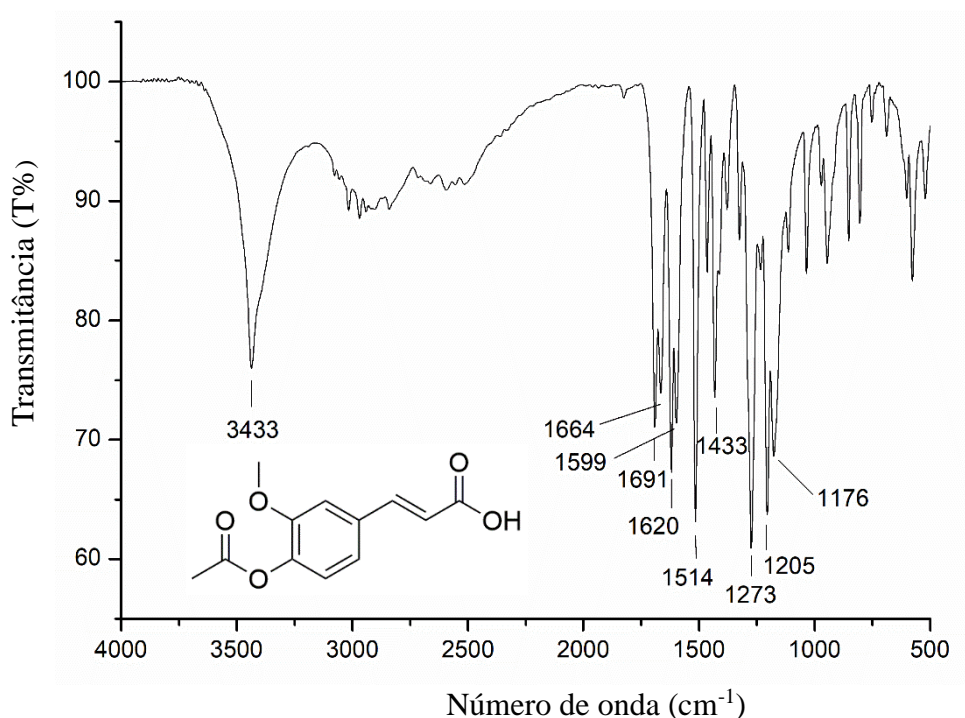


Fonte: elaborado pelo autor.

5.4 Caracterização do intermediário ácido (E)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)acrílico (FA-1) por espectroscopia de infravermelho (IV)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) dessa substância (Fig. 9 da pág. 37) apresentou o aparecimento de duas bandas de deformação axial de C=O referente do éster e outra do ácido carboxílico, 1691 cm^{-1} e 1664 cm^{-1} , respectivamente. Uma absorção em 1620 cm^{-1} de deformação axial em C=C, relacionada a presença de ligação olefínica. Bandas de absorções de estiramento C=C aromático na região entre 1599 e 1433 cm^{-1} , além de três absorções em 1273 , 1205 e 1176 cm^{-1} , referente a deformação axial de ligação C–O (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 9 – Espectro de infravermelho em KBr do ácido (E)-3-(4-acetoxi-3-metoxifenil)acrílico (FA-1)



Fonte: elaborado pelo autor.

5.5 Caracterização estrutural dos derivados semissintéticos

5.5.1 Caracterização dos compostos por espectroscopia na região de infravermelho (IV)

A análise do espectro na região de infravermelho confirma a presença dos grupos funcionais, por meio de absorções características. A absorção de estiramento de carbonila (C=O) de éster conjugado com o anel aromático e a ligação dupla aparecendo nas regiões entre 1750 cm⁻¹ e 1700 cm⁻¹. A introdução da ligação dupla α , β à carbonila diminui a frequência de absorção da ligação C=O de 15 a 25 cm⁻¹ (PAVIA *et al.*, 2010). Todos os compostos apresentaram bandas de absorções entre 1707 cm⁻¹ e 1751 cm⁻¹.

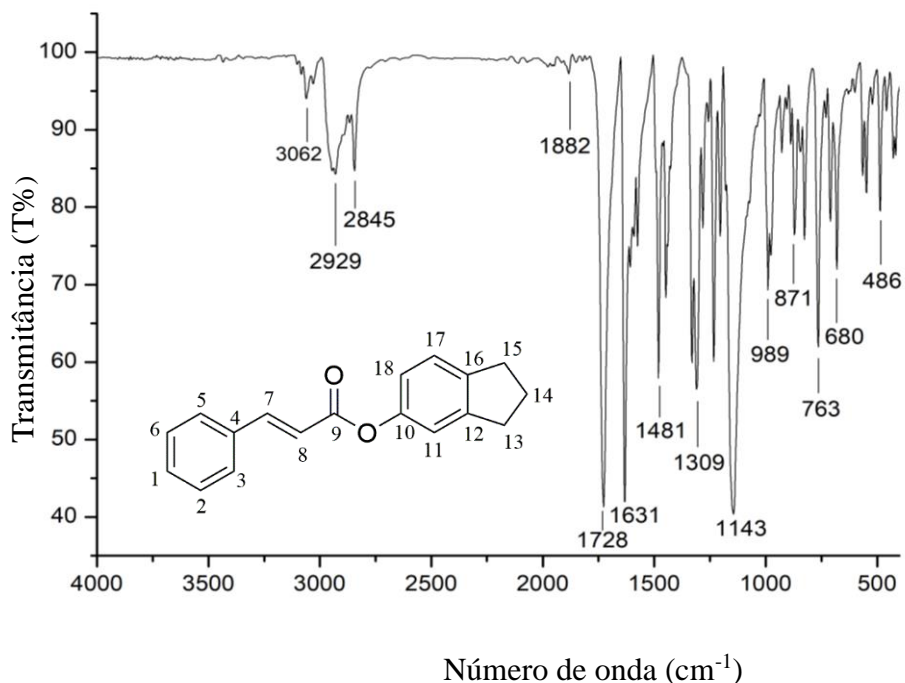
As absorções de estiramento C=C de aromático ocorrem na região entre 1600 cm⁻¹ e 1450 cm⁻¹. A conjugação da ligação dupla olefínica com um grupo carbonila move a absorção para frequências mais baixas. A deslocalização de densidade eletrônica origina uma ligação com maior caráter de ligação simples, diminuindo a constante de força e a frequência de vibração. As vibrações de estiramento da ligação C-O em éster, aparecem duas ou mais bandas de intensidade forte e larga na faixa de 1300 a 1000 cm⁻¹. Portanto, todos os

compostos apresentaram bandas de absorções referente ao estiramento C=C de aromáticos na região entre 1639 cm^{-1} e 1438 cm^{-1} e duas bandas de absorções de estiramento C-O na região entre 1145 cm^{-1} e 1271 cm^{-1} .

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) (Figs. 26 pág. 46, 27 pág. 47) dos compostos **FA-1a** e **FA-1b**, apresentou uma banda larga entre 3398 a 3425 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação O-H de fenol. Nos espectros (IV) (Figs. 16 pág. 41, 24 pág. 45) das substâncias **CA-7** e **MA-7**, observou-se o aparecimento da banda de absorção em 1701 e 1703 cm^{-1} , respectivamente, característica de deformação axial de C=O de aldeído, confirmando a formação dos produtos.

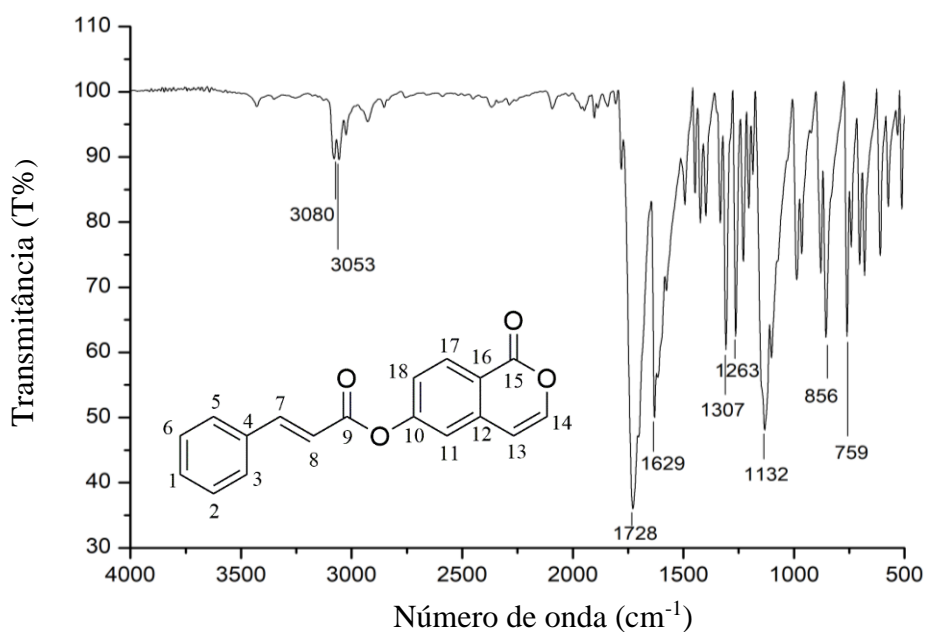
Todos os espectros de IV em KBr dos ésteres (Figs. 10; 11 e 12 pág. 39, 13 e 14 pág. 40, 15 e 16 pág. 41, 17 e 18 pág. 42, 19 e 20 pág. 43, 21 e 22 pág. 44, 23 e 24 pág. 44, 25 e 26 pág. 45, 27 pág. 46), confirmam a presença dos grupos funcionais, por meio de absorções características.

Figura 10 – Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**CA-1**)



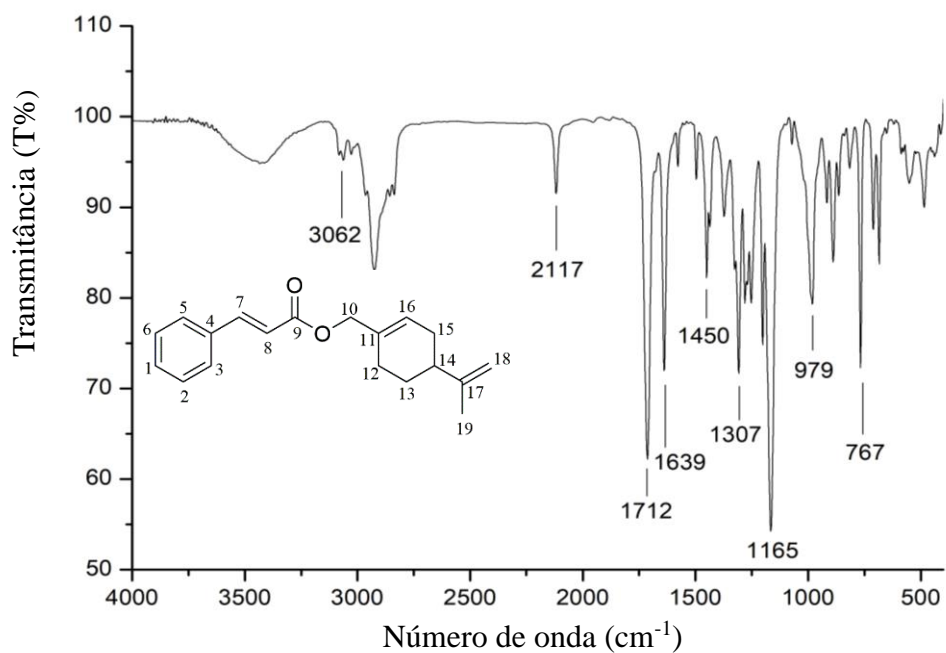
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 11 – Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (CA-2)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 12 – Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (CA-3)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 13 – Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4)

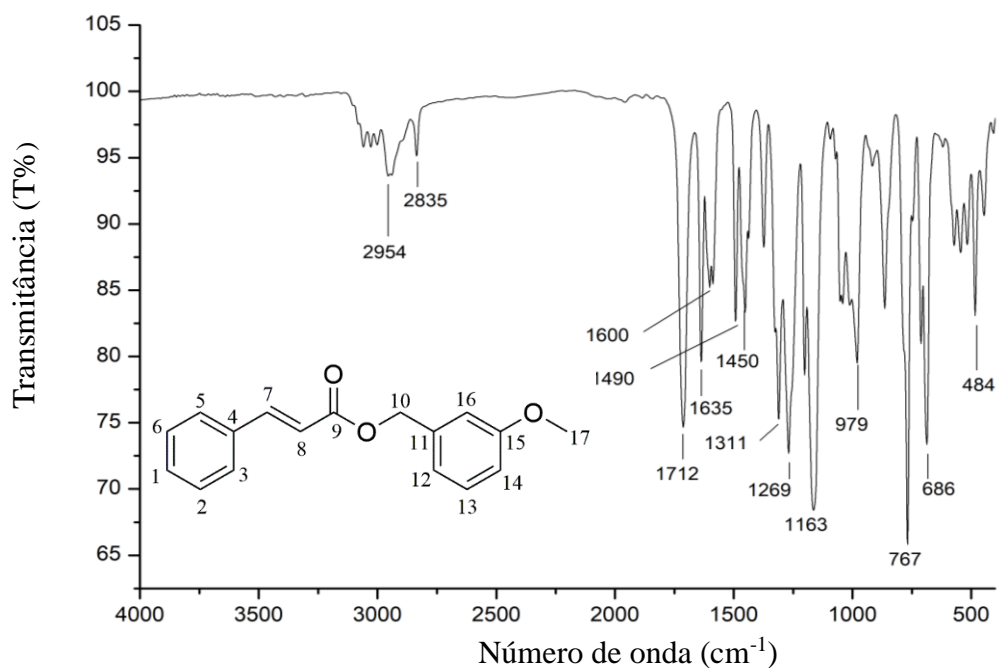


Figura 14 – Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5)

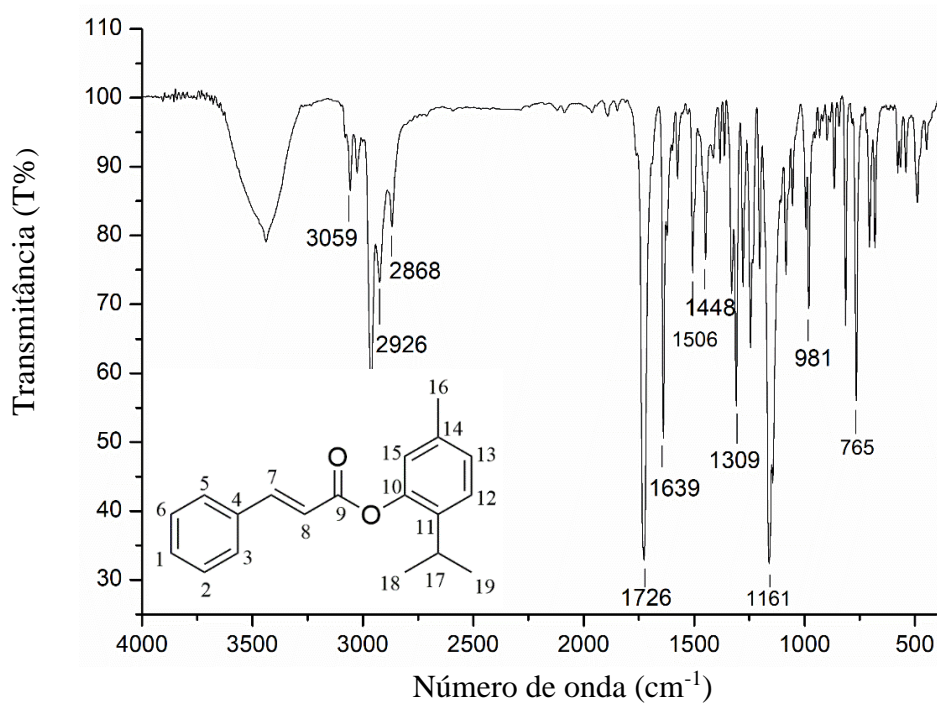
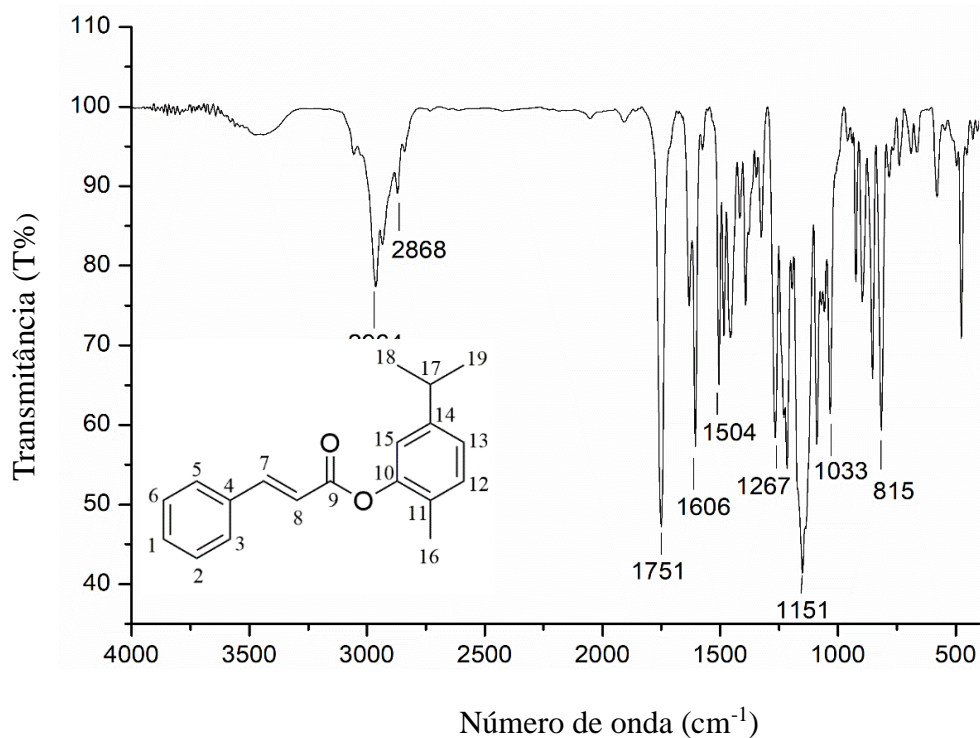
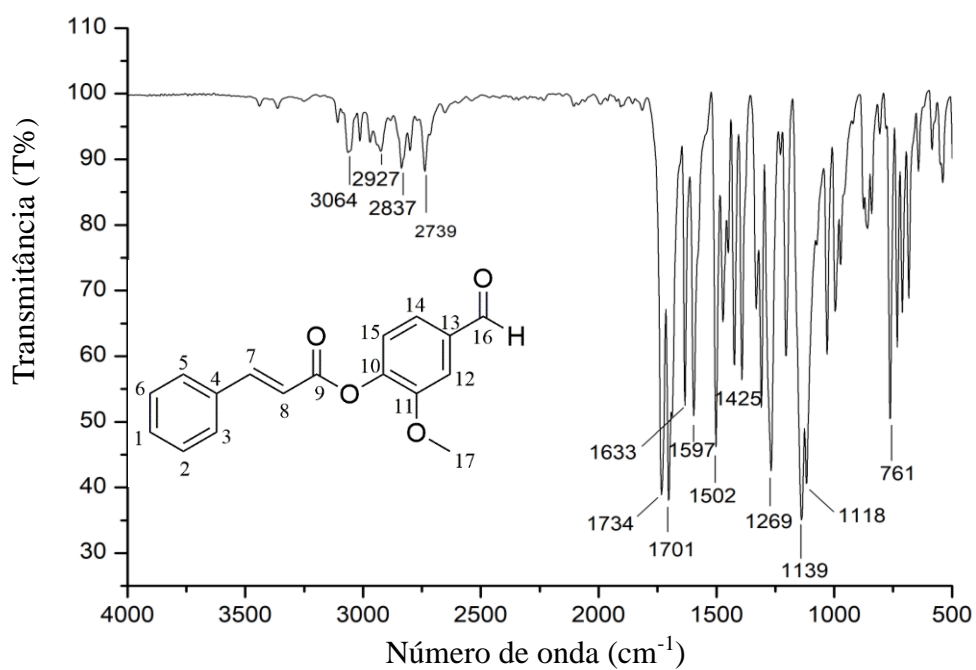


Figura 15 – Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6)



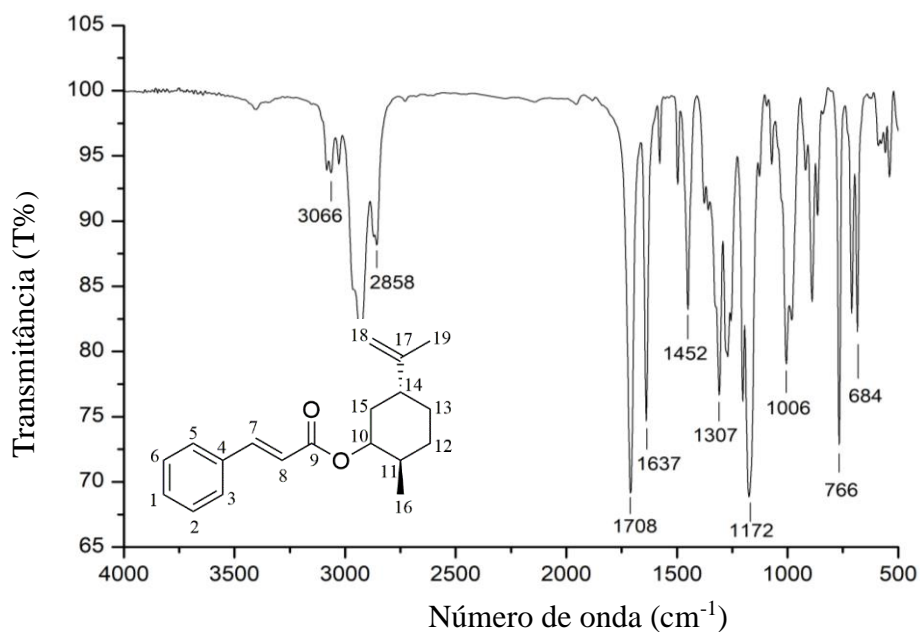
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 16 – Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)



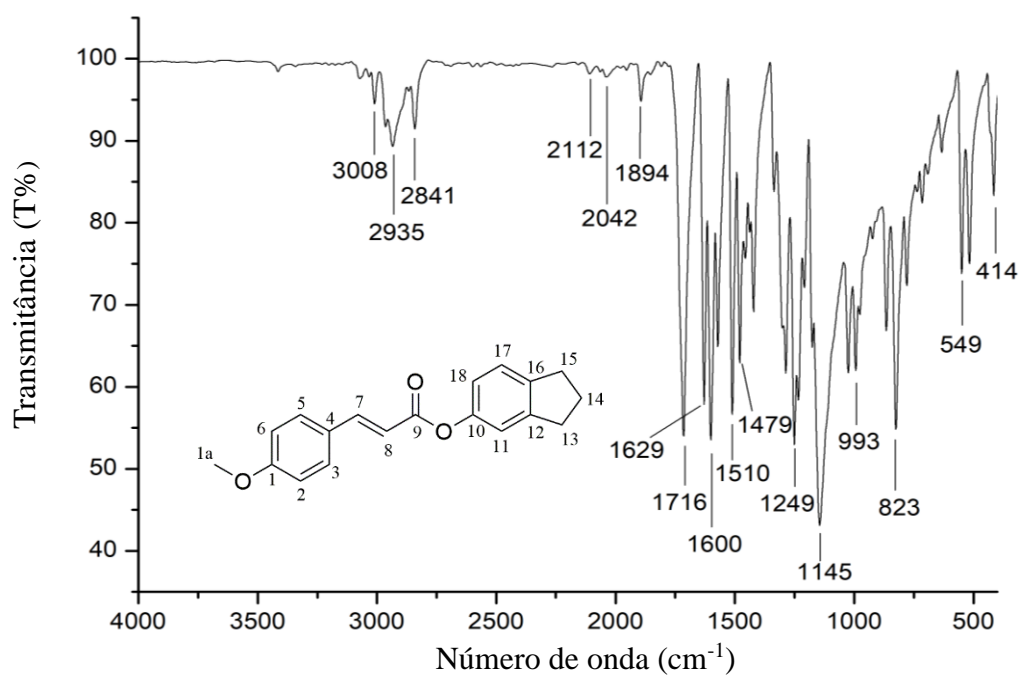
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 17 – Espectro de infravermelho em KBr do cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**CA-8**)



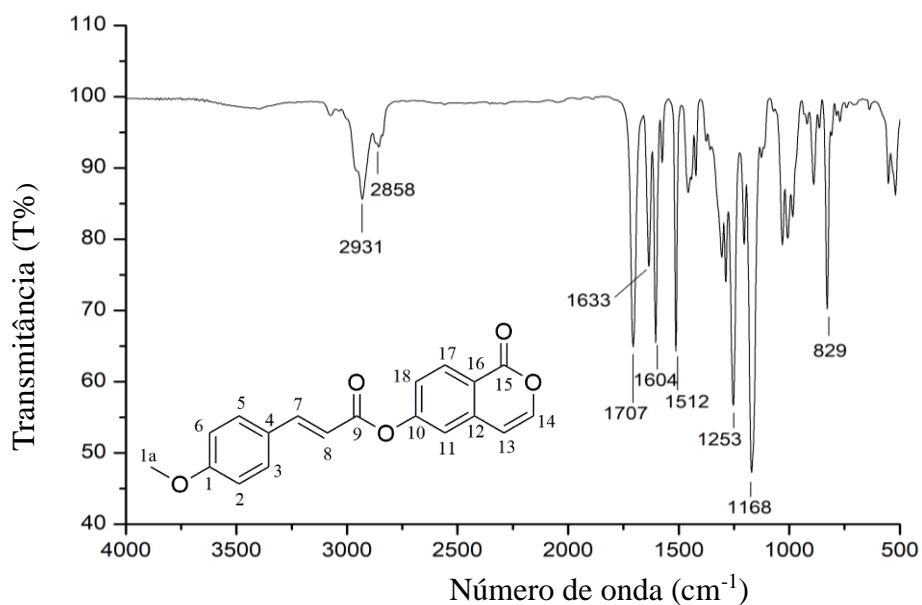
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 18 – Espectro de infravermelho em KBr (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**MA-1**)



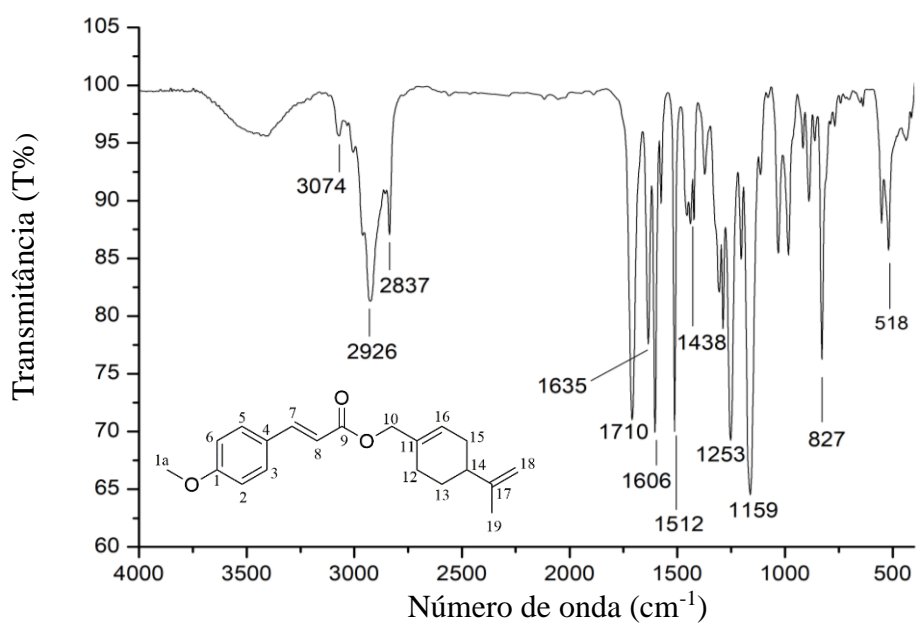
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 19 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**MA-2**)



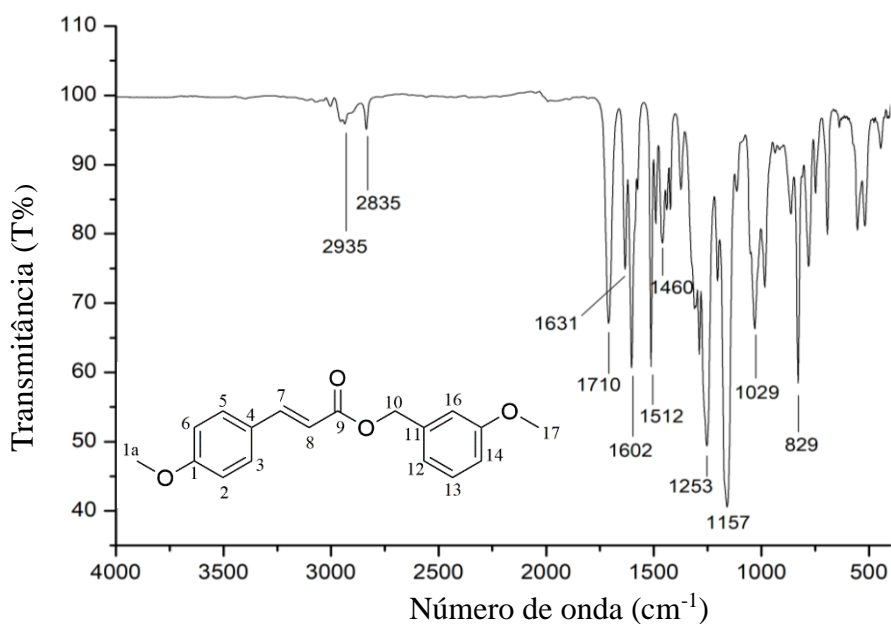
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 20 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**MA-3**)



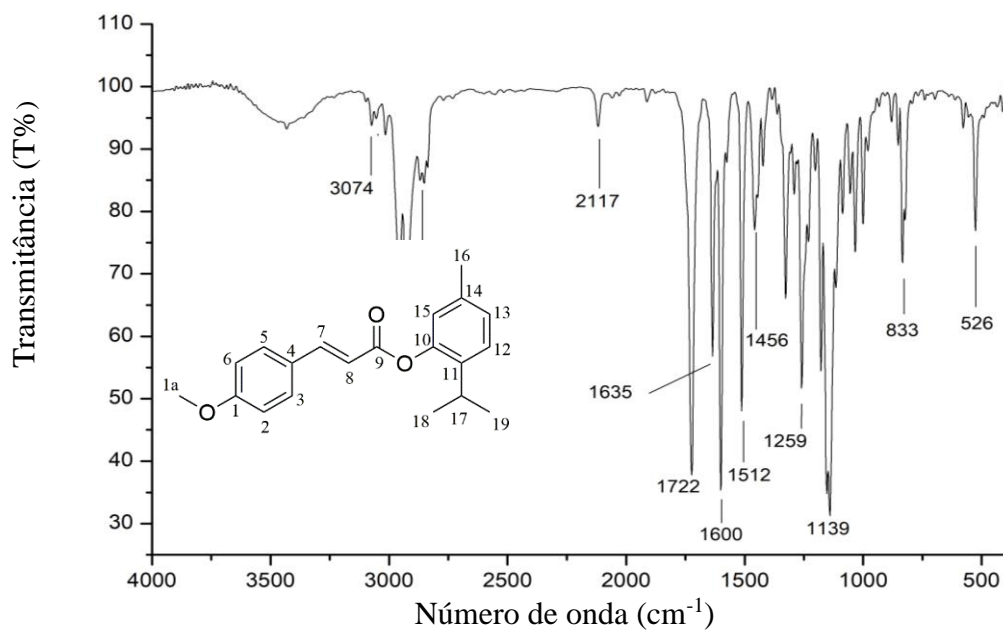
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 21 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxibenzila (**MA-4**)



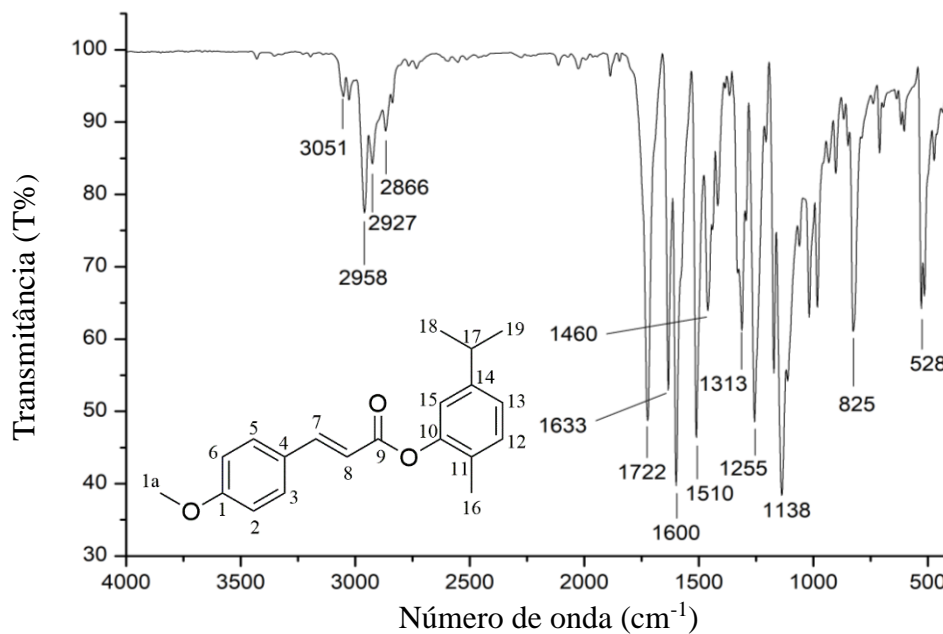
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 22 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**MA-5**)



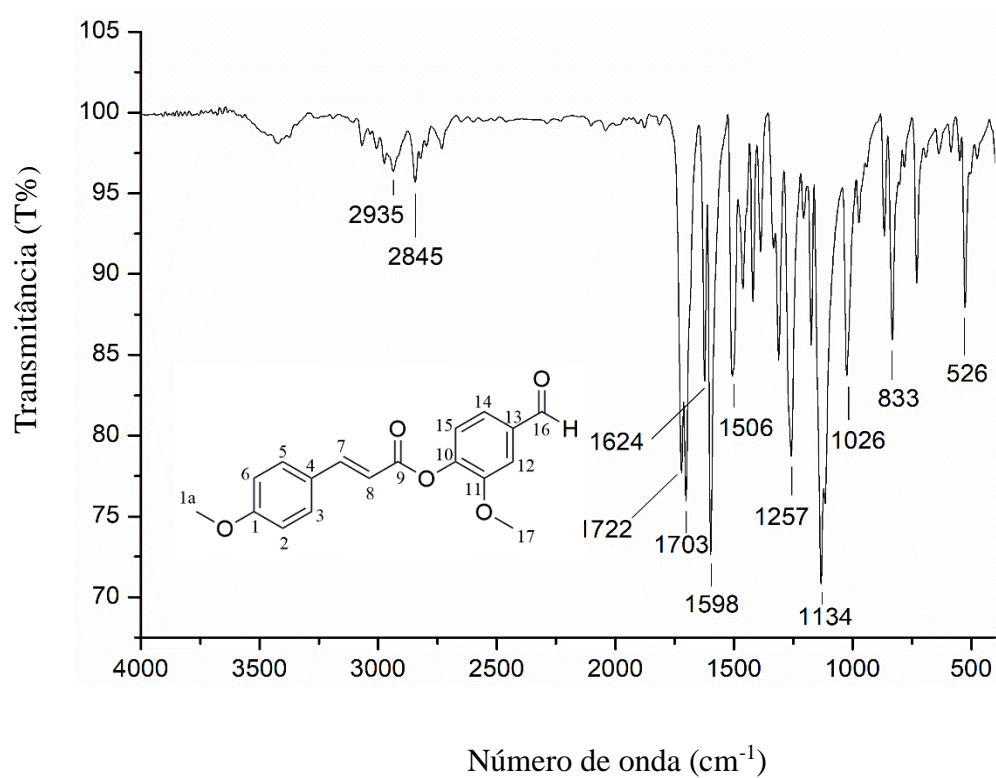
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 23 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**MA-6**)



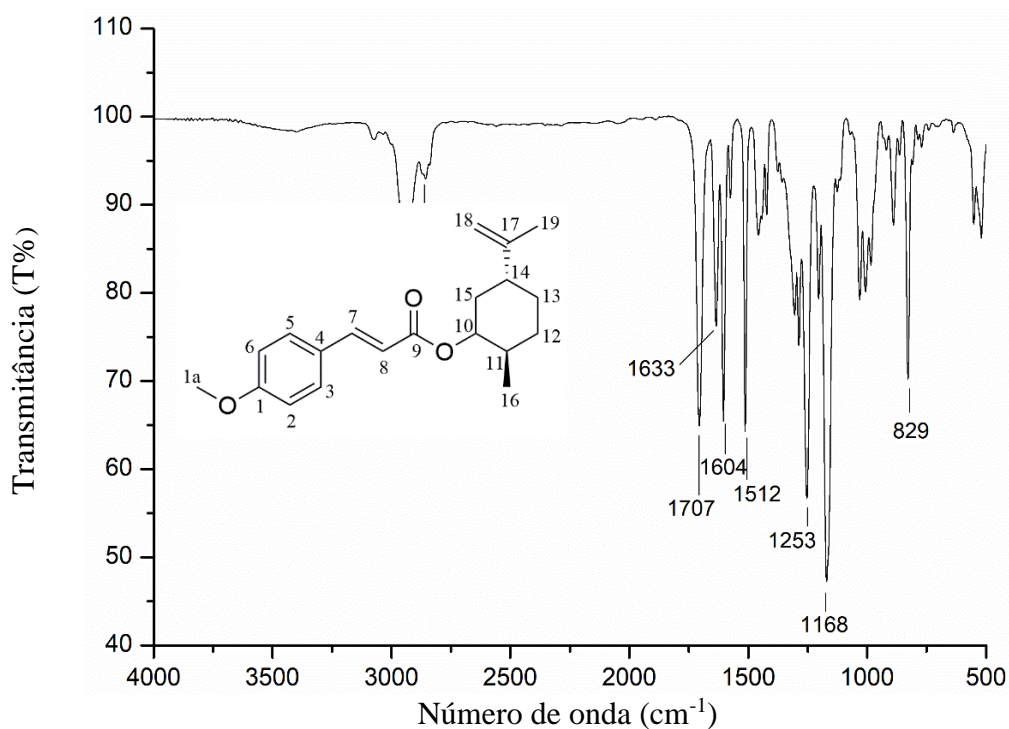
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 24 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (**MA-7**)



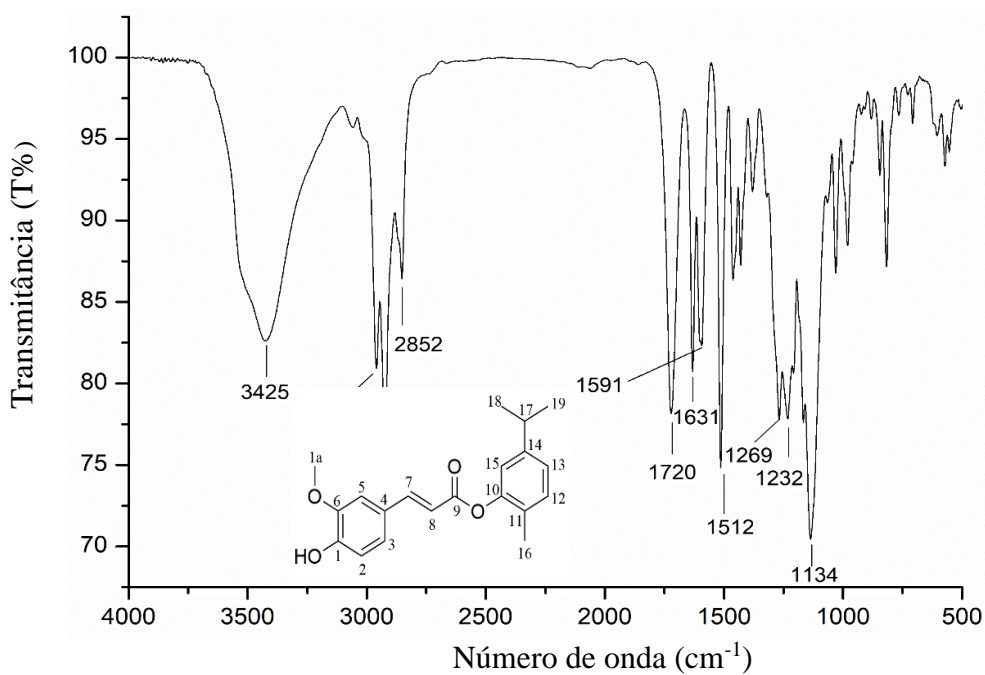
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 25 – Espectro infravermelho em KBr (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**)



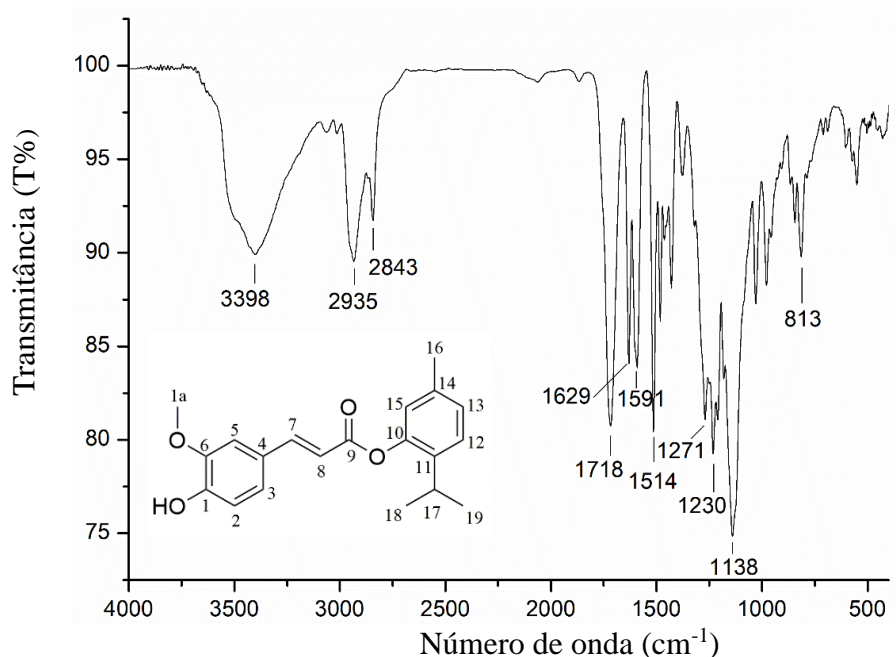
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 26 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**FA-1a**)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 27 – Espectro de infravermelho em KBr do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**)



Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.2 Caracterização dos compostos por espectrometria de massa de alta resolução (HRMS)

As estruturas dos ésteres sintetizados também puderam ser confirmadas por meio da análise dos espectros de massa de alta resolução, no modo positivo $[M + H^+]$, forneceu os picos correspondentes aos íons moleculares, correspondente a molécula protonada, condizente com a fórmula molecular de cada composto, como mostra a tabela 1. Exceto o composto **CA-4**, a alta energia de ionização não permitiu que o pico do íon molecular fosse observado. No entanto, os fragmentos de íons foram registrados em m/z 131, 121, 103, 91 e 77.

Tabela 1 – Dados do massa de alta resolução de todos os compostos

continua

Compostos	Fórmula Molecular	Massa Calculada	Massa observada
		$[M + H^+]$	$[M + H^+]$
CA-1	$C_{18}H_{16}O_2$	264,1150 g	265,1922 g
CA-2	$C_{18}H_{12}O_4$	293,0814 g	293,0818 g
CA-3	$C_{19}H_{22}O_2$	283,1698 g	283,1698 g
CA-4	$C_{17}H_{16}O_3$	268,1178 g	268,0000 g

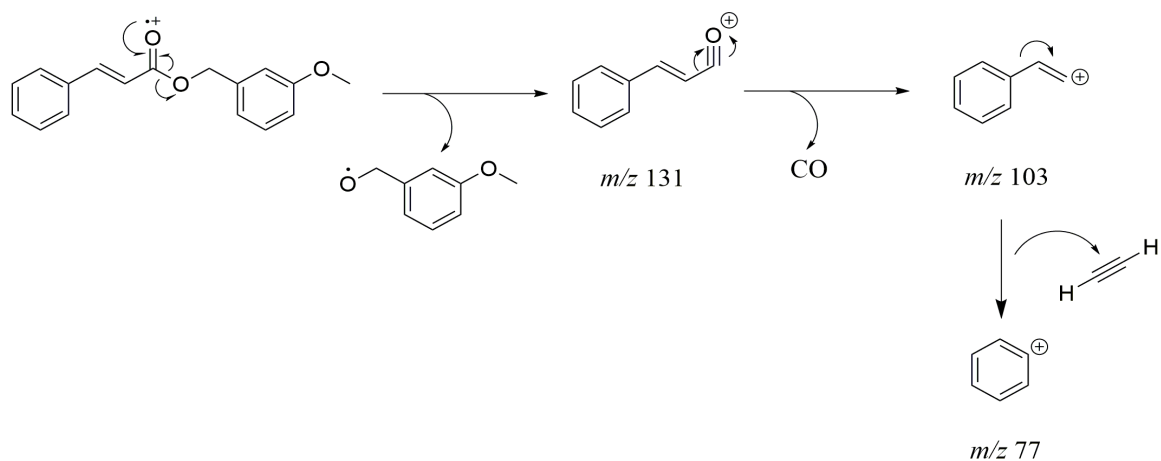
Tabela 1 – Dados do massa de alta resolução de todos os compostos *continua*

CA-5	C ₁₉ H ₂₀ O ₂	281,1542 g	283,1516 g
CA-6	C ₁₉ H ₂₀ O ₂	281,1542 g	280,2770 g
CA-7	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	283,0892 g	283,0961 g
CA-8	C ₁₉ H ₂₄ O ₂	285,1855 g	284,9351 g
MA-1	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	295,1334 g	295,1455 g
MA-2	C ₁₉ H ₁₄ O ₅	323,0919 g	323,0890 g
MA-3	C ₂₀ H ₂₄ O ₃	313,1790 g	313,1804 g
MA-4	C ₁₈ H ₁₈ O ₄	299,1285 g	299,1316 g
MA-5	C ₂₀ H ₂₂ O ₃	311,1647 g	311,1650 g
MA-6	C ₂₀ H ₂₂ O ₃	311,1647 g	311,1650 g
MA-7	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	313,1076 g	313,1985 g
MA-8	C ₂₀ H ₂₆ O ₃	315,1960 g	315,1962 g
FA-1a	C ₂₀ H ₂₂ O ₄	327,1596 g	327,1597 g
FA-1b	C ₂₀ H ₂₂ O ₄	327,1596 g	327,1576 g

Fonte: elaborado pelo autor.

O espectro de massa do composto **CA-4** (Fig. 34 pág 51) apresentou a segmentação α , envolvendo a perda do grupo alcóxi para formar o íon acílio correspondente ($R-C\equiv O^+$), originando um fragmento em m/z 131, conseqüentemente, ocorre a eliminação indutiva de uma molécula neutra de monóxido de carbono (CO), apresentando um pico em m/z 103. O fragmento em m/z 77, é correspondente a formação do cátion fenila, decorrente por meio de uma segmentação indutiva, com a ionização da ligação dupla α à carbonila. A proposta de fragmentação encontra-se na figura 28.

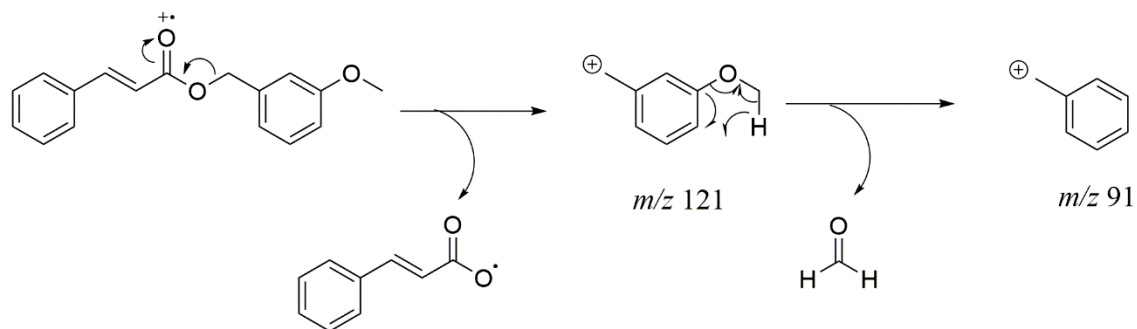
Figura 28 – Proposta de fragmentação por meio de segmentação α e indutiva



Fonte: elaborado pelo autor.

O composto **CA-4** forma um fragmento por meio da segmentação indutiva β a carbonila (CO-O-C) com o pico m/z 121. A partir desse fragmento formado, ocorre um rearranjo de quatro centros, liberando uma molécula neutra de formaldeído (HCOH) e a formação do íon tropílico m/z 91 (Fig. 30).

Figura 29 – Proposta de fragmentação por meio de segmentação β e rearranjo de quatro centros



Fonte: elaborado pelo autor.

Os espectros de massa de alta resolução de todos os compostos estão apresentados nas figuras 30, 31 e 32 pág. 50. 33, 34 e 35 pág. 51. 36, 37 e 38 pág. 52. 39, 40 e 41 pág. 53. 42, 43 e 44 pág. 54. 45, 46 e 47 pág. 55.

Figura 30 - Espectro de massa do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (CA-1)

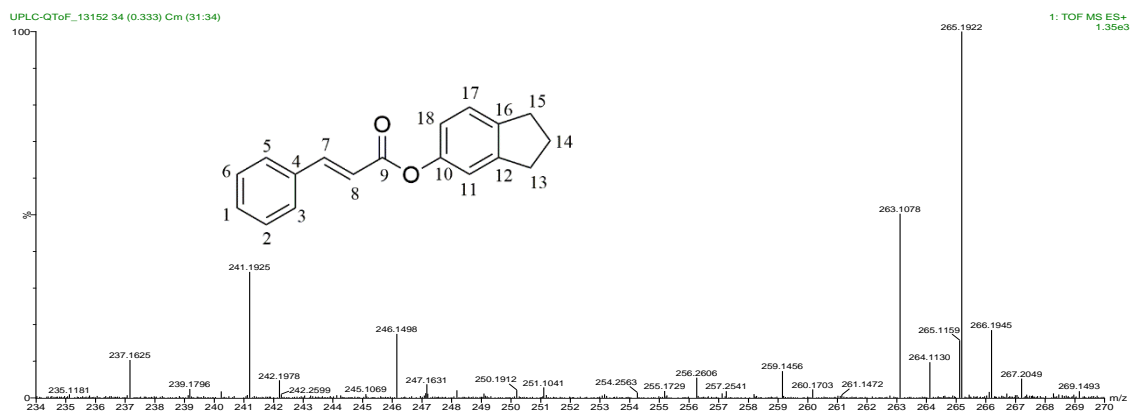


Figura 31 - Espectro de massa do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (CA-2)

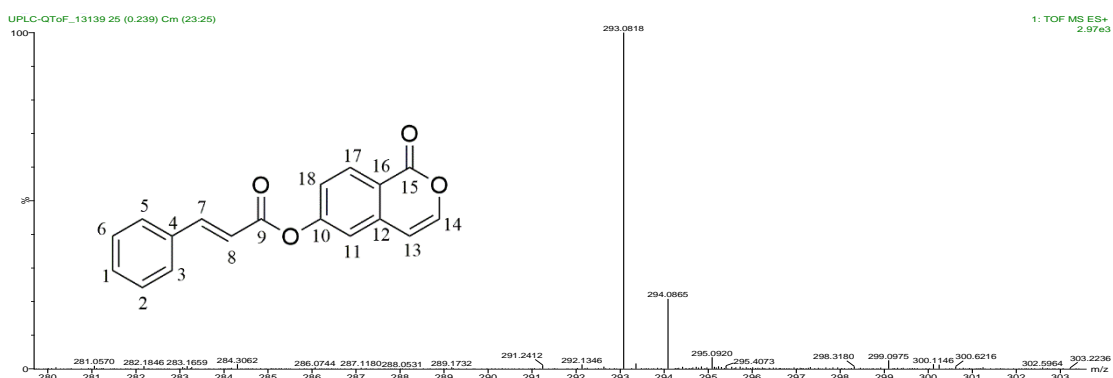


Figura 32 - Espectro de massa do cinamato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il) ciclohex-1-en-1-il)metila (CA-3)

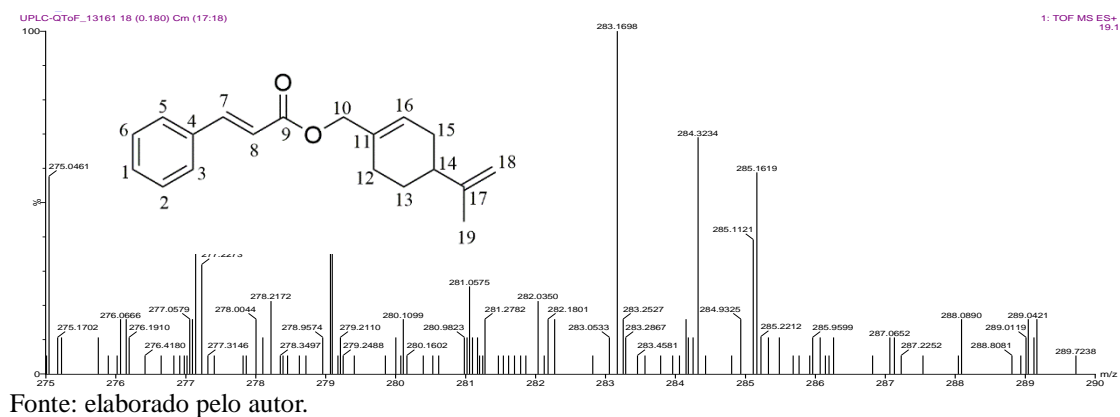
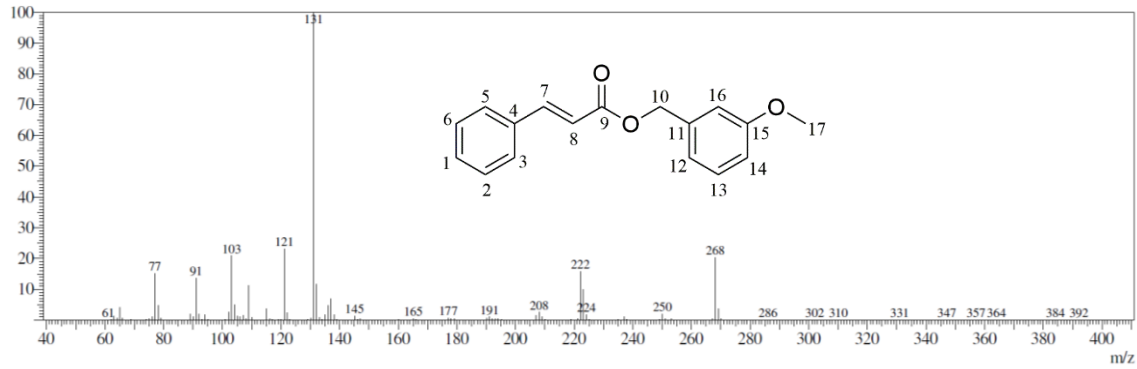
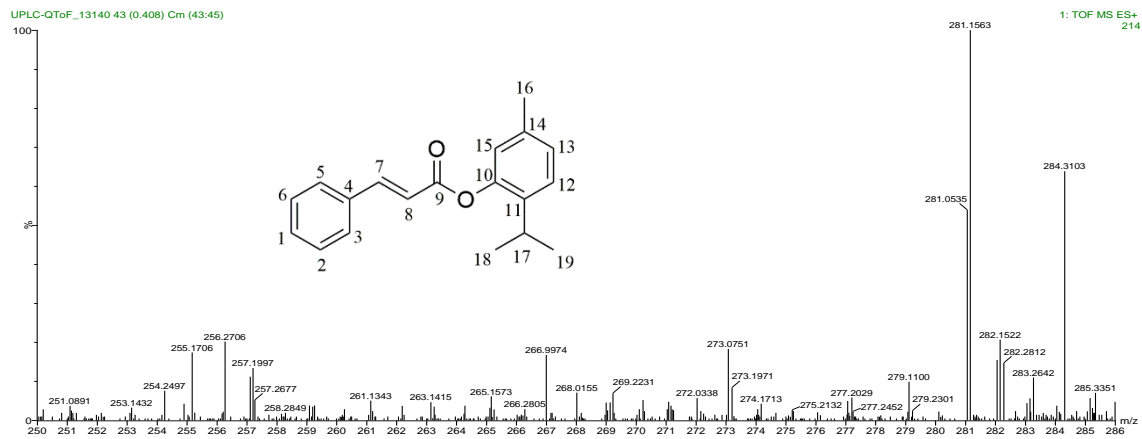


Figura 33 - Espectro de massa do cinamato de 3-metoxifenila (CA-4)



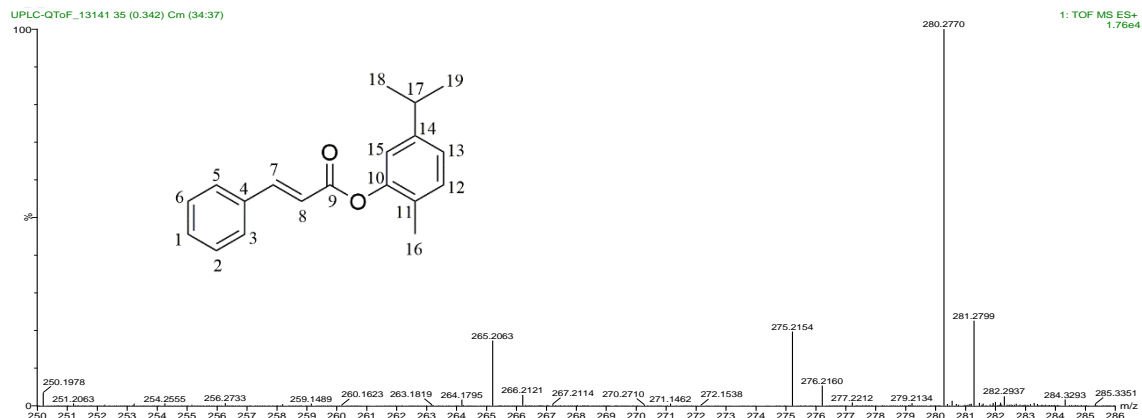
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 34 - Espectro de massa do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 35 - Espectro de massa do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 36 - Espectro de massa do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)

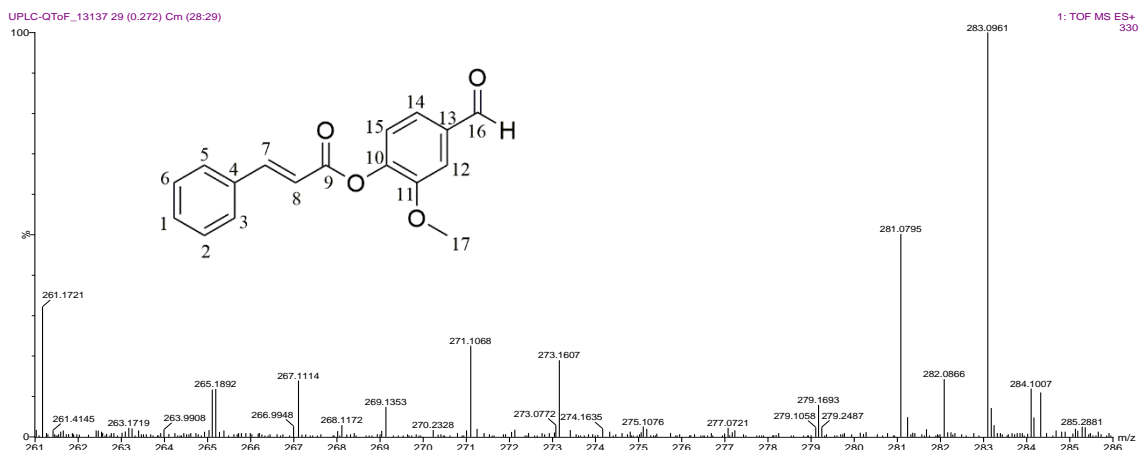
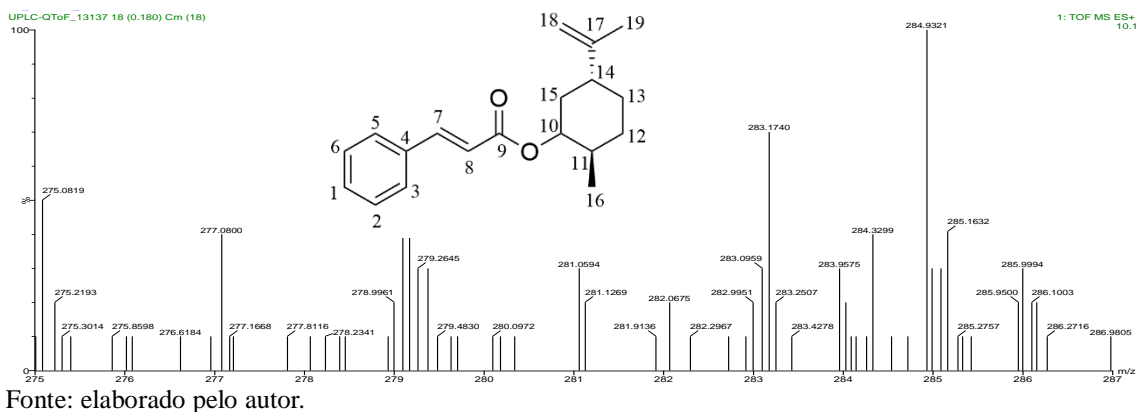
Figura 37 - Espectro de massa do cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (CA-8)

Figura 38 - Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (MA-1)

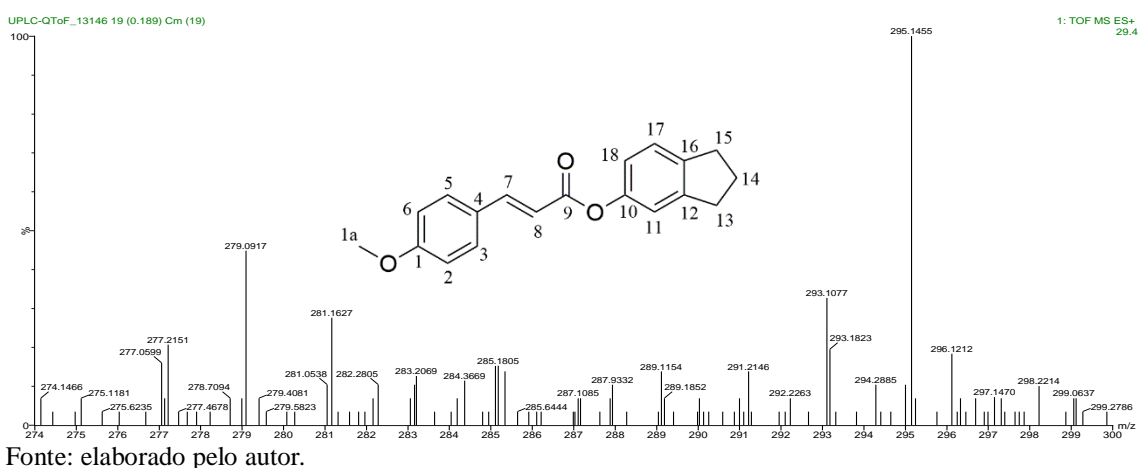


Figura 39 - Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (MA-2)

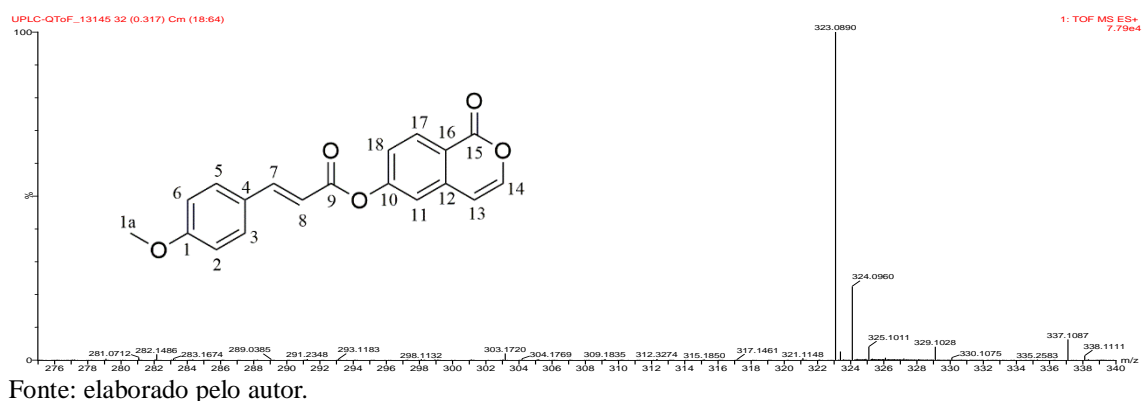


Figura 40 - Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (S)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (MA-3)

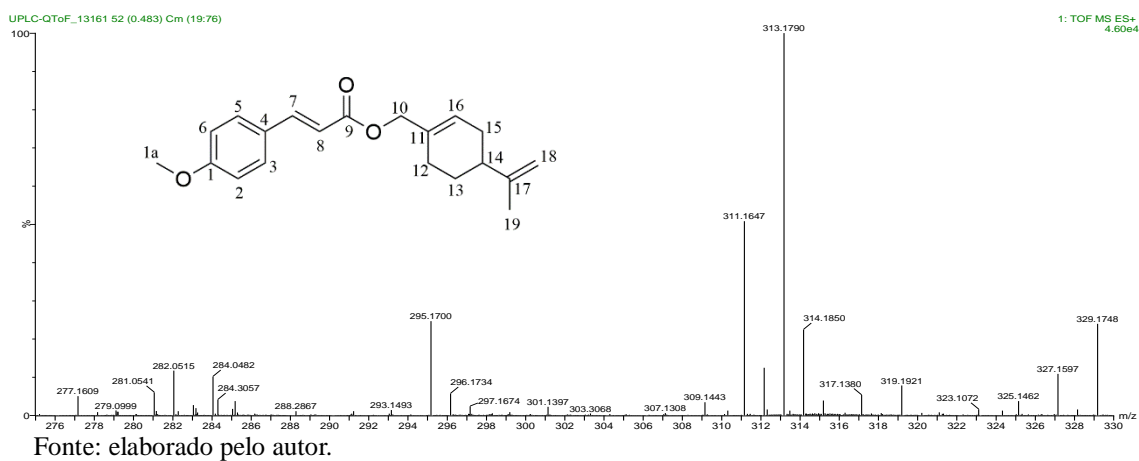


Figura 41 - Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxibenzila (MA-4)

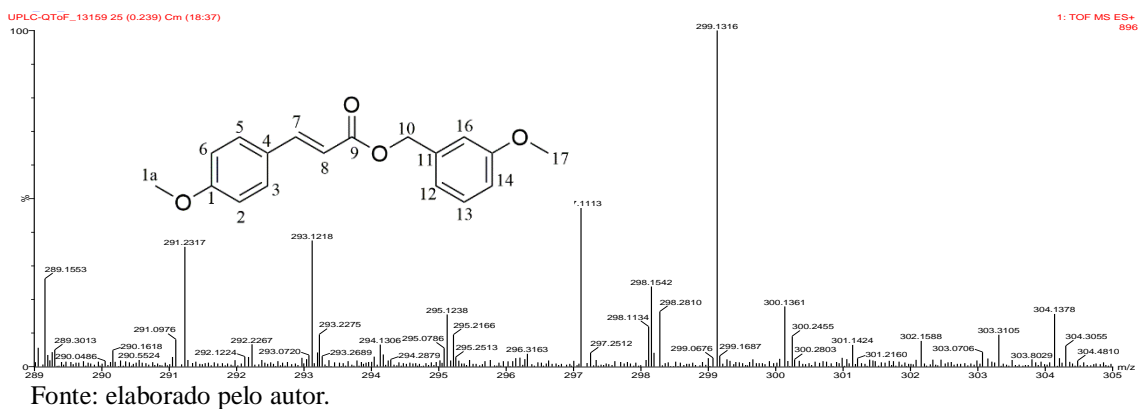


Figura 42 - Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (MA-5)

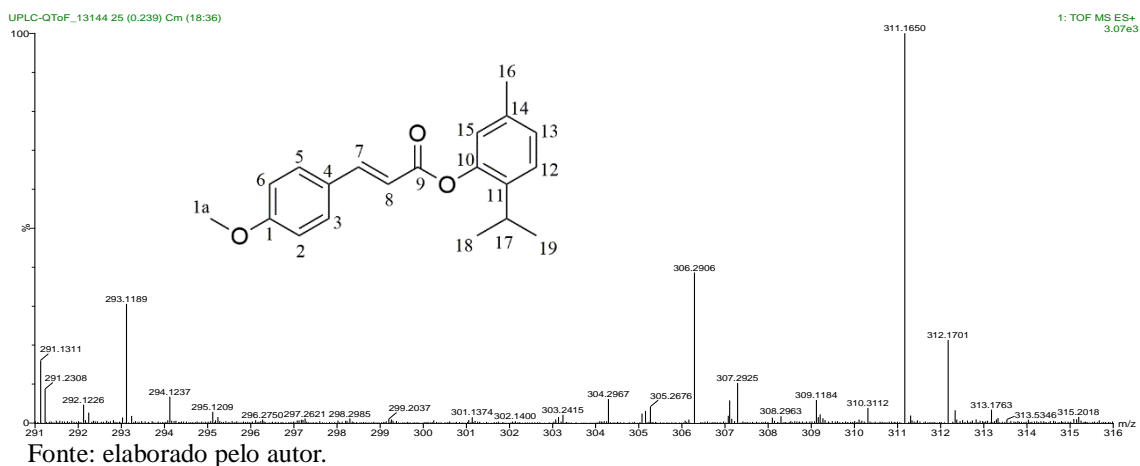


Figura 43 - Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (MA-6)

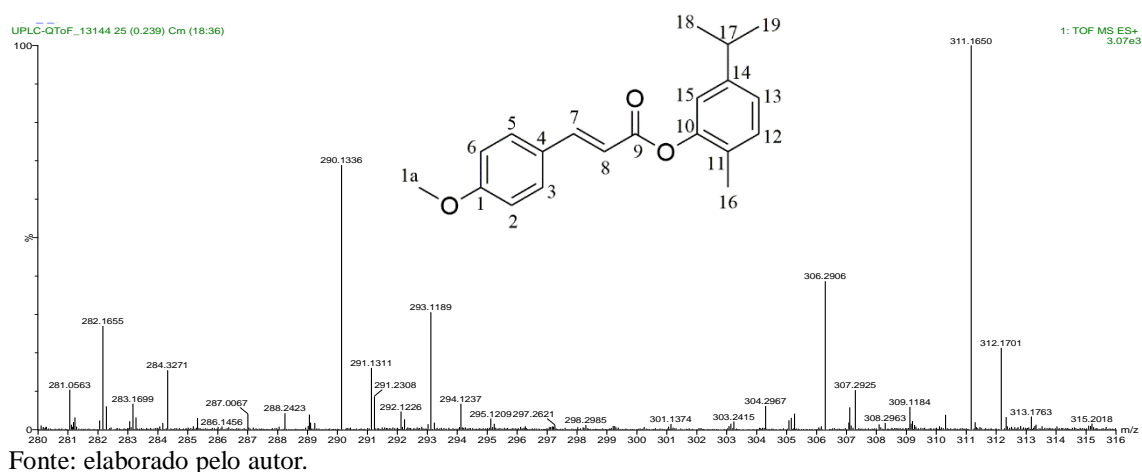


Figura 44 - Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (MA-7)

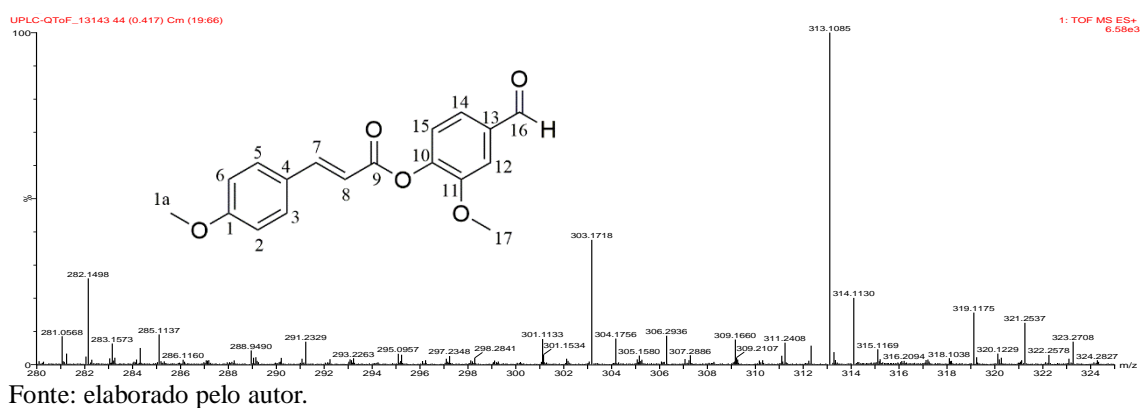


Figura 45 - Espectro de massa do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**)

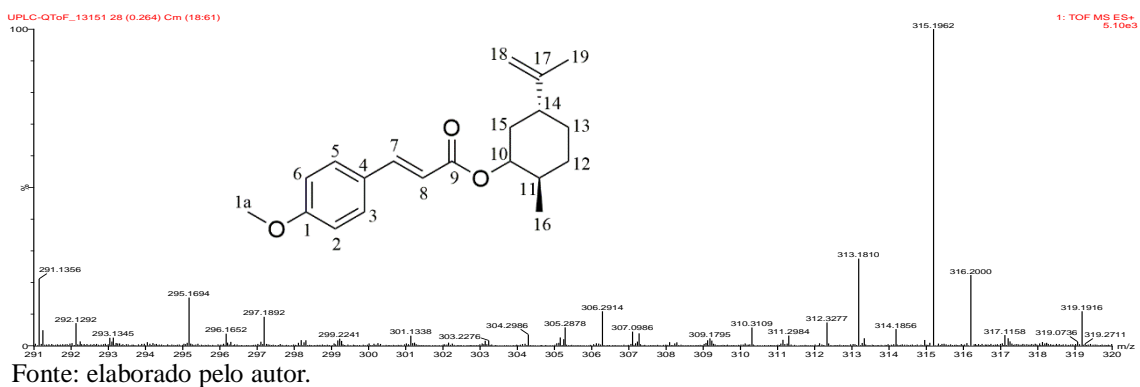


Figura 46 - Espectro de massa do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**FA-1a**)

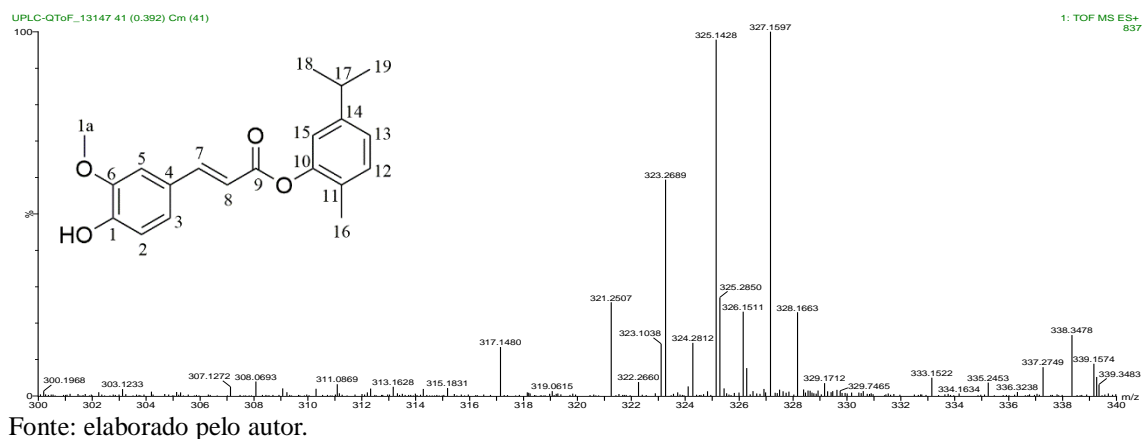
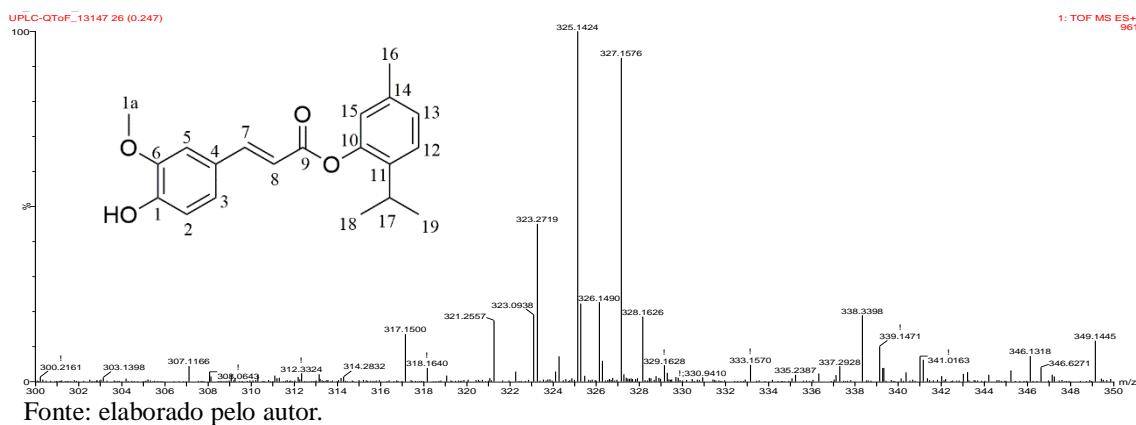


Figura 47 - Espectro de massa do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**)

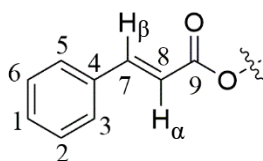


5.5.3 Caracterização dos compostos por ressonância magnética nuclear (RMN)

5.5.3.1 Fragmento molecular cinamato comum para os compostos CA-1 a CA-8

O fragmento molecular cinamato está presente nas estruturas químicas das substâncias CA-1 a CA-8. Os espectros RMN de ^1H dos compostos CA-1 a CA-8 reforçam a confirmação das estruturas dos ésteres obtidos. Todos os espectros apresentam os sinais referentes aos hidrogênios α e β à carbonila do éster (Fig. 48). O sinal atribuído aos H- α das estruturas se desdobra em um duplete, o mesmo ocorre para os hidrogênios β . O valor de deslocamento químico (δ_H) para os H- α encontra-se na faixa de 6,46 – 6,70 ppm, com constante de acoplamento (J) variando entre 15,90 e 16,00 Hz. Para o H- β , os sinais apresentassem δ_H entre 7,70 e 7,91 ppm, com o valor de J entre 15,90 e 16,00 Hz. O valor da constante de acoplamento referente ao acoplamento *trans* possui valor típico de 16 Hz, podendo variar em uma faixa de 11 a 18 Hz. Os valores de J referentes a acoplamento *cis* variam entre 6 e 15 Hz, sendo o valor típico de 10 Hz (PAVIA *et al.*, 2010). Portanto, esses dados indicam que todos os composto formados é o isômero *E*.

Figura 48 – Fragmento molecular cinamato



Fonte: Próprio autor.

Os espectros dos compostos apresentam os sinais de RMN de ^1H característicos referente ao anel aromático do cinamato. Os hidrogênios H-1, H-3 e H-5 aparecem como um multiplete para três hidrogênios com o valor de δ_H entre 7,43 e 7,53 ppm. Os hidrogênios na posição 2 (H-2) e 6 (H-6) observa-se como um multiplete para dois hidrogênios com o valor de deslocamento químico entre 7,49 a 7,70 ppm. Os dados de deslocamento químicos do fragmento cinamato dos compostos CA-1 a CA-8 encontra-se na tabela 2.

Tabela 2 – Valores de δ_H (ppm), multiplicidade e constante de acoplamento (Hz) referente as substâncias CA-1 a CA-8 *continua*

Substâncias	H β	H α	H $_1$, H $_3$ e H $_5$	H $_2$ e H $_6$
-------------	-----------	------------	--------------------------	-----------------

Tabela 2 – Valores de δ_H (ppm), multiplicidade e constante de acoplamento (Hz) referente as substâncias CA-1 a CA-8 *continua*

CA-1	7,88 (d, $J = 16$ Hz)	6,65 (d, $J = 16$ Hz)	7,43 (m)	7,60 (m)
CA-2	7,91 (d, $J = 16$ Hz)	6,64 (d, $J = 16$ Hz)	7,45 (m)	7,70 (m)
CA-3	7,71 (d, $J = 16$ Hz)	6,48 (d, $J = 16$ Hz)	7,53 (m)	7,39 (m)
CA-4	7,70 (d, $J = 16$ Hz)	6,48 (d, $J = 16$ Hz)	7,35 (m)	7,49 (m)
CA-5	7,91 (d, $J = 16$ Hz)	6,70 (d, $J = 16$ Hz)	7,45 (m)	7,63 (m)
CA-6	7,91 (d, $J = 16$ Hz)	6,69 (d, $J = 16$ Hz)	7,44 (m)	7,62 (m)
CA-7	7,91 (d, $J = 16$ Hz)	6,68 (d, $J = 16$ Hz)	7,44 (m)	7,60 (m)
CA-8	7,70 (d, $J = 16$ Hz)	6,46 (d, $J = 16$ Hz)	7,39 (m)	7,54 (m)

Fonte: elaborado pelo autor.

Nos espectros de RMN de ^{13}C foi observado os sinais característicos do fragmento molecular cinamato. Na tabela 03 (pág. 58), encontram-se os valores de deslocamento químico referente a cada carbono. Todas as estruturas apresentam no espectro um sinal em torno de 167 ppm. Portanto, os valores de δ_C nessa região do espectro de RMN de ^{13}C , confirmam a presença do carbono carbonílico (C-9) nas estruturas. Segundo Pavia (PAVIA *et al.*, 2010), o sinal de carbono referente à carbonila de éster α , β insaturadas aparece em valores de deslocamento químico entre 165 e 175 ppm. Portanto, os valores de δ_C nessa região do espectro de RMN de ^{13}C , confirmam a presença do carbono carbonílico nas estruturas.

Os sinais dos carbonos α (C-8) e β (C-7) a carbonila também apresentam valores característicos. O C-8 encontra-se no espectro com valores de δ_C entre 113,91 e 119,91 ppm, e valores de δ_C para o C-7, na faixa de 144,66 – 146,64 ppm. O C-7 se encontra fortemente desblindado, pois fica deficiente em elétrons, devido a deslocalização de densidade eletrônica. Em oposição, o C-8 não sente efeito de deficiência eletrônica, tornando-o mais blindado contra o campo magnético. Os sinais de carbonos aromáticos também foram observados. Os carbonos C-3 e C-5, que são equivalentes, com valores δ_C próximos de 129,1 ppm. Além disso, os carbonos C-2 e C-6 também são equivalentes, com δ_C em torno 128,4 ppm. Os demais carbonos C-1 e C-4 apresentam δ_C em torno de 130,5 e 134,5 ppm, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de δ_C (ppm) referente às substâncias CA-1 a CA-8

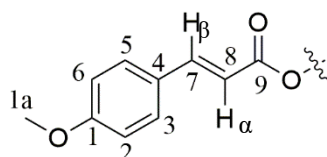
Substâncias	C=O	C-7	C-8	C-1	C-2 e C6	C-3 e C-5	C-4
CA-1	166,0	146,4	117,7	130,8	128,4	129,1	134,5
CA-2	164,7	147,7	118,5	131,1	128,5	129,1	133,9
CA-3	167,1	149,8	118,3	130,4	128,2	129,0	134,6
CA-4	166,9	145,4	118,0	130,5	128,3	129,1	134,5
CA-5	165,9	146,6	117,5	130,8	128,5	129,1	134,4
CA-6	165,4	146,6	117,8	130,8	128,5	129,2	134,4
CA-7	164,4	147,4	116,5	130,9	128,5	129,2	134,1
CA-8	166,9	144,6	118,8	130,3	128,2	129,0	134,7

Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.2 Fragmento molecular 3-(4-metoxifenil)acrilato comum para os compostos MA-1 a MA-8

Os espectros RMN de ^1H dos compostos MA-1 a MA-8 reforçam a confirmação das estruturas dos ésteres obtidos. Todos os espectros apresentam os sinais referentes aos hidrogênios α e β à carbonila do éster, discutido no item 5.5.3.1 (pág. 56), em δ_H entre 7,67 e 6,45 e ppm. Os compostos (MA-1 - 8) são *para* substituídos no anel aromático, tendo como substituição uma metoxila (CH_3O). Em consequência disso, os hidrogênios H-3 e H-5 são quimicamente equivalentes, bem como os H-2 e H-6 para todas as estruturas, que aparecem dois duplete para dois hidrogênios, característico de um substituição *para*, com J equivalente ao acoplamento *orto*, variando entre 7,8 a 8,7 Hz. Os valores de δ_H para os H-3 e H-5 aproximadamente 7,56 ppm, já os hidrogênios H-2 e H-6 possui maior densidade eletrônica no carbono sendo mais protegido. Os valores de constante de acoplamento estão de acordo com valores de J_{orto} , que possui valor típico de 8 Hz, podendo variar em uma faixa de 6 a 10 Hz (PAVIA *et al.*, 2010). Os hidrogênios do grupo metoxila, apresentam um simpleto com o valor de δ_H próximos de 3,85 ppm. Na tabela 4, é mostrado os deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênios do fragmento 3-(4-metoxifenil)acrilato, cuja estrutura encontra-se mostrada na figura 49.

Figura 49 – Fragmento molecular 3-(4-metoxifenil)acrilato



Fonte: Próprio autor.

Tabela 4 – Valores de δ_H (ppm), multiplicidade e constante de acoplamento (Hz) referente às substâncias **MA-1** a **MA-8**

Substâncias	H $_{\alpha}$	H $_{\beta}$	H $_2$ e H $_6$	H $_3$ e H $_5$	CH $_3$ O-
MA-1	6,51 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,83 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,55 (d, $J = 8,7$ Hz)	6,95 (d, $J = 8,8$ Hz)	3,87 (s)
MA-2	6,49 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,87 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,56 (d, $J = 8,7$ Hz)	6,96 (d, $J = 8,7$ Hz)	3,92 (s)
MA-3	6,35 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,67 (d, $J = 16$ Hz)	7,49 (d, $J = 8,7$ Hz)	6,91 (d, $J = 8,7$ Hz)	3,85 (s)
MA-4	6,37 (d, $J = 16$ Hz)	7,70 (d, $J = 16$ Hz)	7,49 (d, $J = 8,7$ Hz)	6,92 (d, $J = 8,7$ Hz)	3,84 (s)
MA-5	6,54 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,70 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,56 (d, $J = 8,7$ Hz)	6,96 (d, $J = 8,7$ Hz)	3,87 (s)
MA-6	6,55 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,86 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,56 (d, $J = 8,7$ Hz)	6,95 (d, $J = 8,7$ Hz)	3,87 (s)
MA-7	6,53 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,53 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,56 (d, $J = 8,7$ Hz)	6,95 (d, $J = 8,7$ Hz)	3,92 (s)
MA-8	6,32 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,65 (d, $J = 15,9$ Hz)	7,49 (d, $J = 8,5$ Hz)	6,91 (d, $J = 8,5$ Hz)	3,84 (s)

Fonte: elaborado pelo autor.

Através da análise dos espectros de RMN ^{13}C dos produtos esterificado **MA**, foi possível observar o surgimento de sinal em δ_c 166,23 atribuído à carbonila de éster. Também é possível observar os sinais dos carbonos α e β à carbonila δ_c próximos em 115,8 e 146,0, respectivamente.

Devido a substituição (CH $_3$ O-) no anel aromático, os valores de δ_c para o C-1 encontram-se próximo a 161 ppm, tendo o maior valor de deslocamento químico depois do carbono carbonílico, estando ligado diretamente ao átomo de oxigênio da metoxila, que exerce efeito indutivo retirador, atuante no aumento do valor de δ_c . Os carbonos C-3 e C-5, apresentam valores de δ_c em torno de 114,6 ppm. Em consequência, os carbonos C-2 e C-6, apresentam deficiência eletrônica com δ_c em torno de 130 ppm (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores de δ_C (ppm) referente às substâncias **MA-1** a **MA-8**

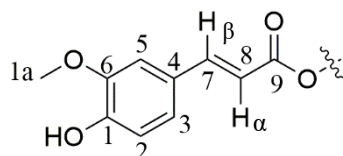
Substâncias	C=O	C-7	C-8	C-1	C-3 e C-5	C-2 e C6	C-4	CH ₃ O-
MA-1	166,3	146,1	115,1	161,8	114,6	130,1	127,2	55,6
MA-2	165,2	147,6	116,1	160,1	114,7	130,4	126,8	55,6
MA-3	167,4	144,7	115,8	161,6	114,5	129,9	127,4	55,6
MA-4	167,3	145,1	115,5	161,6	114,5	129,9	127,3	55,5
MA-5	166,2	146,3	114,9	161,9	114,6	130,2	126,7	55,6
MA-6	165,7	146,3	114,8	161,9	114,6	130,2	127,2	55,6
MA-7	164,6	147,1	113,7	161,9	114,5	130,2	126,8	55,4
MA-8	167,1	144,1	116,1	161,3	114,3	129,7	127,3	55,4

Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.3 Fragmento molecular (*E*)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato comum para os compostos **FA-1a** e **FA-1b**

Nos espectros RMN de ¹H dos compostos **FA-1a** a **FA-1b** observou-se os sinais referentes aos hidrogênios α e β à carbonila do éster, discutido no item 5.5.3.1 (pág. 56), de δ_H entre 6,43 e 7,82 ppm. Os demais de hidrogênios aromáticos H-2, H-3 e H-5, em δ_H 6,97, 7,15 e 7,12 ppm, respectivamente. Nos espectros de RMN ¹³C revelou a presença dez linhas espectrais para o fragmento molecular (*E*)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato, sendo o sinal em δ_C 166,3 ppm, correspondente ao átomo de carbono carbonílico do éster. Os carbono oxigenados C-1, C-6 e C-1a (CH₃O-), com valores respectivos de δ_C próximos 148,5, 147,1 e 56,2 ppm. O restante dos carbonos sp² em torno δ_C 146,7 (C-7), 126,9 (C-4), 123,6 (C-3), 115,0 (C-8), 114,8 (C-2) e 109,7 (C-5) ppm.

Figura 50 – Fragmento molecular (*E*)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato

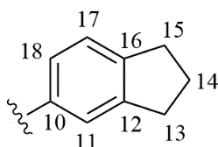


Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.4 Caracterização do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**CA-1**) e (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**MA-1**)

Em ambos os compostos **MA-1** e **CA-1**, apresentaram o fragmento molecular 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (Fig. 46) em comum. As frações moleculares cinamato e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato foram discutidas nos itens 5.5.3.1 (pág. 56) e 5.5.3.2 (pág. 58). Nos espectros de RMN de ^1H (Fig. 53 pág. 62 e 55 pág. 63) dos **MA-1** e **CA-1**, os hidrogênios H-17 e H-18 apresentam δ_H próximos a 7,24 e 6,92 ppm, respectivamente, com a constante de acoplamento $J_{ortho} = 8$ Hz, acoplando entre si e os sinais em forma de duplete. Para o H-11 não foi possível observar o acoplamento *meta* com H-18, como um simpleto em δ_H 7,03 ppm. As posições 11 e 18 são fortemente protegidas, devido ao efeito indutivo do grupo éster (-CO-O-C-10) aumentando a densidade eletrônica nas posição *orto* (11 e 18) e *para* (16), assim os H-11 e H-18 apresentam o menor valor de δ_H em comparação com H-17. O sinal de um tripleto em δ_H 2,93 ppm é referente aos H-15 e H-13, e o outro quinteto em δ_H 2,21 ppm para os H-14.

Figura 51 – Fragmento molecular 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila

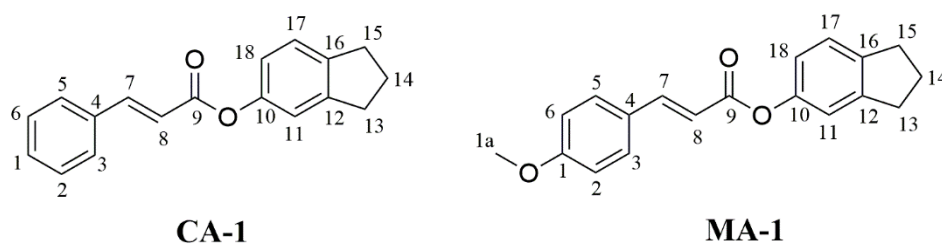


Fonte: elaborado pelo autor.

A análise dos espectros de RMN ^{13}C (Fig. 54 pág. 63 e 56 pág. 64) mostrou a presença de sinais em δ_c 149,5 ppm, atribuído ao C-10 ligado diretamente ao oxigênio do éster (-CO-O-C-10). Como foi discutido anteriormente, o efeito da substituição aumenta a densidade eletrônica nos C-11, C-16 e C-18, blindando os mesmos e apresentando menores valores δ_c próximos em 117,8, 141,9 e 119,3 ppm, respectivamente. Os demais carbonos aromáticos, C-12 e C-17, em δ_c 145,9 e 125,0 ppm. Os carbonos alifáticos C-13, C-14 e C-15 em δ_c 33,2, 25,9 e 32,5 ppm.

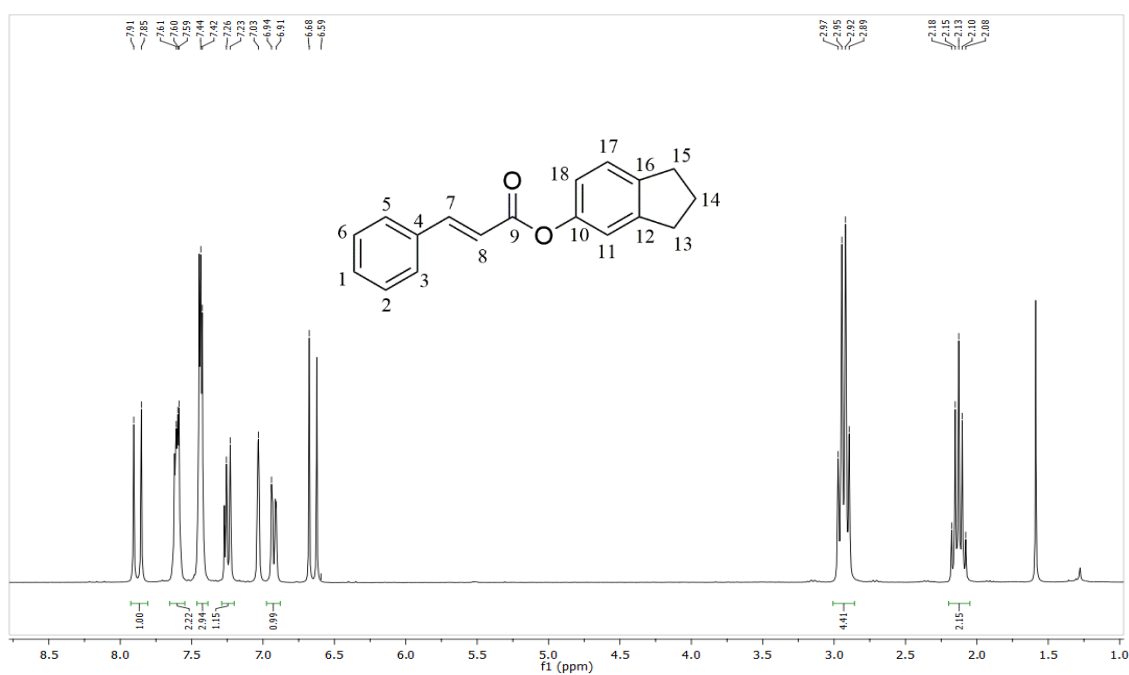
A análise dos dados de IV (Fig. 10 pág. 38 e 18 pág. 42), HRMS (Tabela 1 na pág. 47), RMN de ^1H e ^{13}C permitiram identificar os produtos esterificados dos cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**CA-1**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**MA-1**), cuja as estruturas encontra-se mostrada na figura 52.

Figura 52 – Estrutura química do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**CA-1**) e do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**MA-1**)



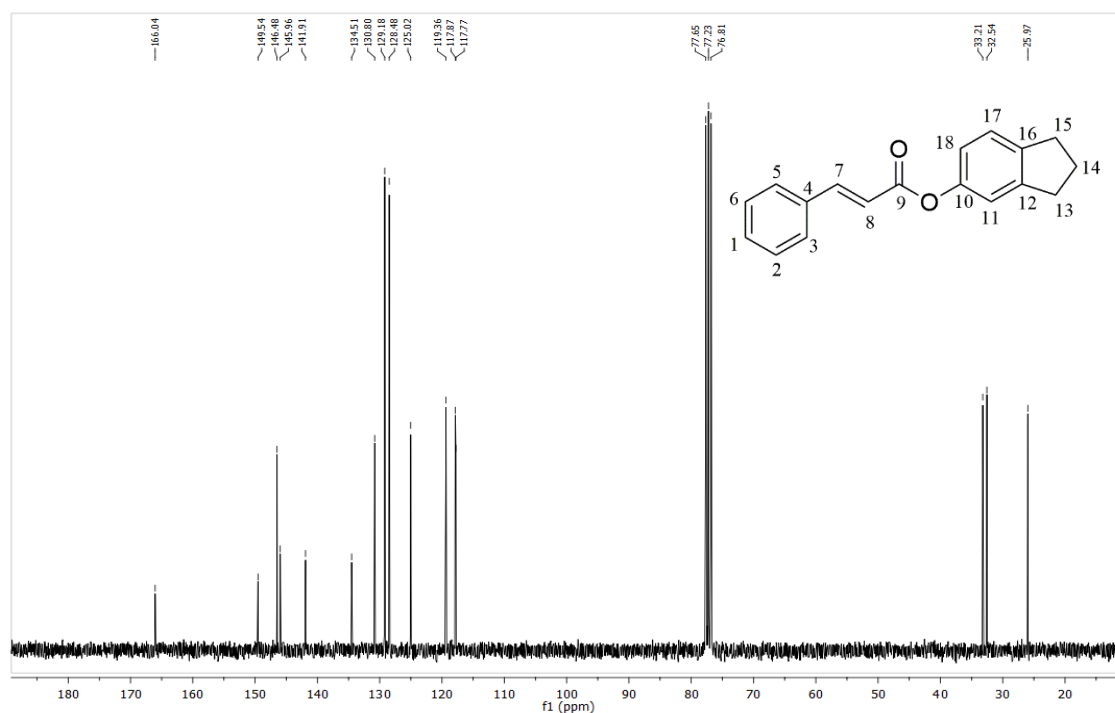
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 53 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**CA-1**)



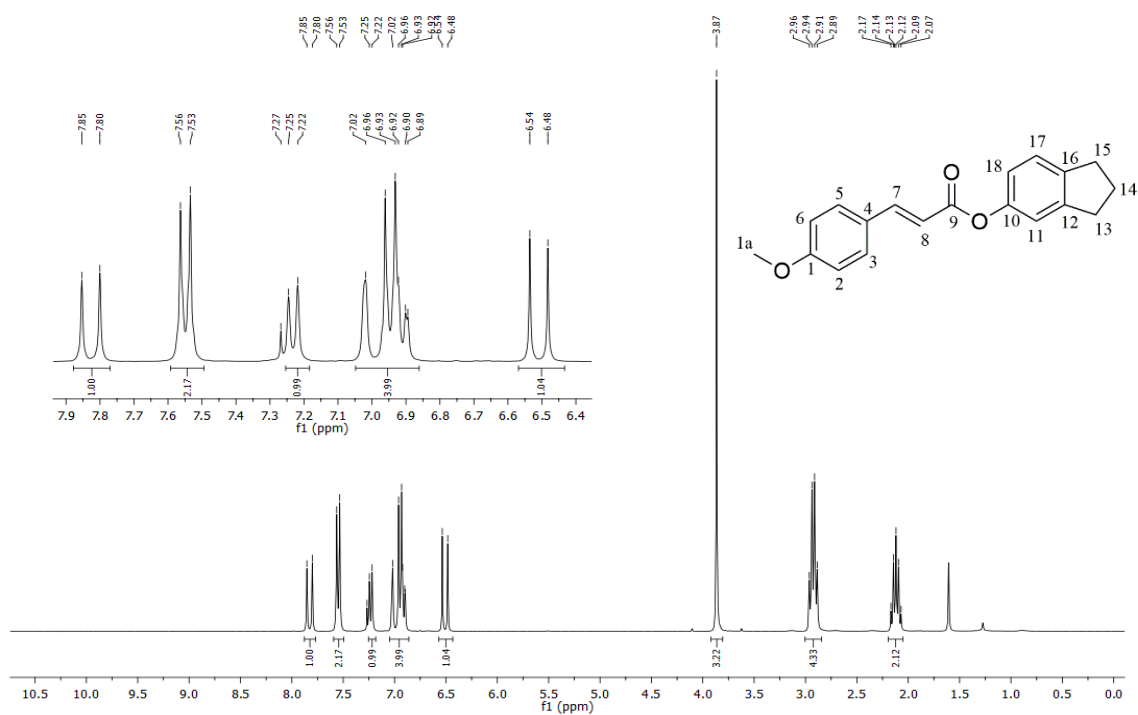
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 54 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**CA-1**)



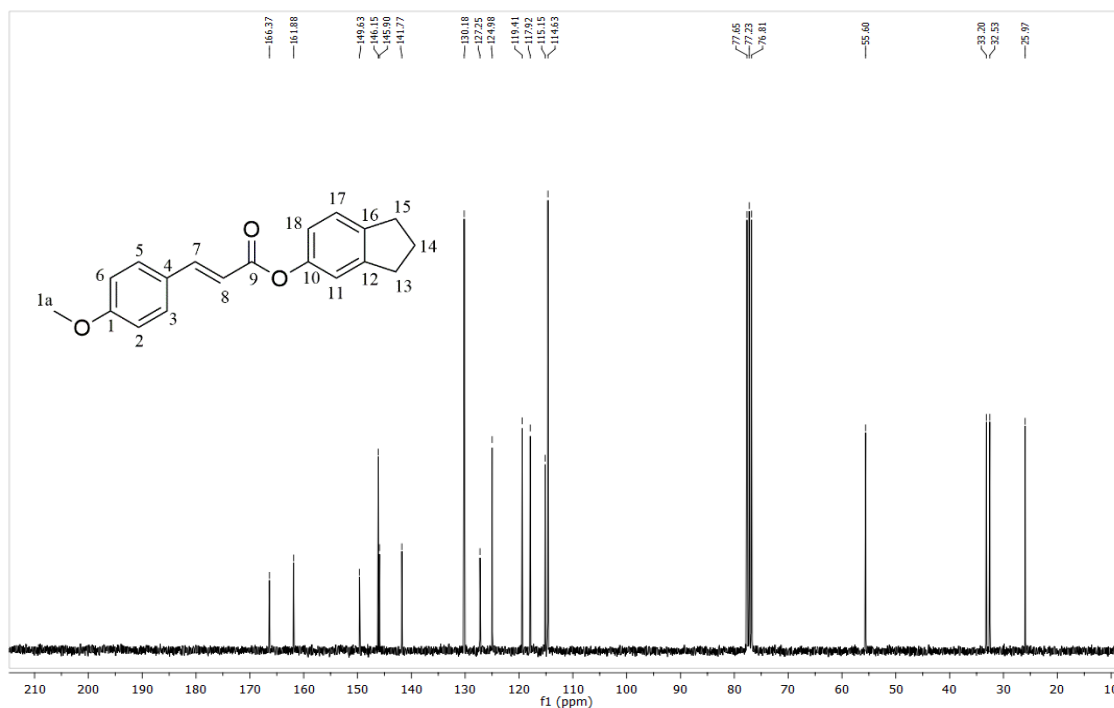
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 55 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**MA-1**)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 56 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2,3-dihidro-1H-inden-5-ila (**MA-1**)

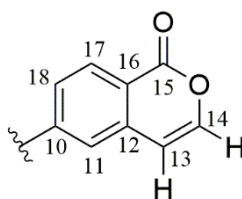


Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.5 Caracterização do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**CA-2**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**MA-2**)

O fragmento molecular 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (Fig. 57) está presente nas estruturas químicas das substâncias **CA-2** e **MA-2**, cuja única diferença é a fração cinamato para o **CA-2** e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato para o **MA-2**, descritos nos itens 5.5.3.1 (pag. 56) e 5.5.3.2 (pag. 58).

Figura 57 – Fragmento molecular 1-oxo-1H-isocromen-6-ila



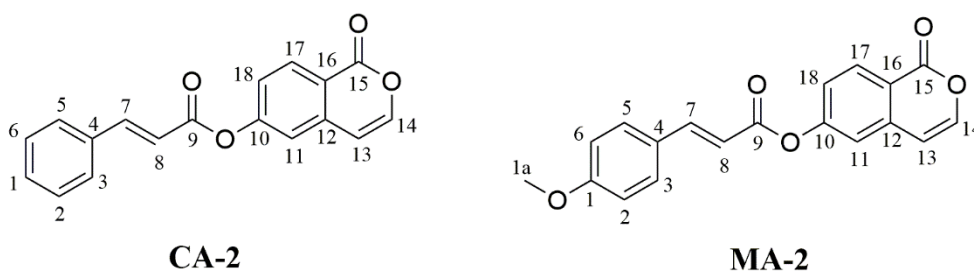
Fonte: elaborado pelo autor.

Os espectros de RMN de ^1H (Fig. 59 pág. 66 e 61 na pág. 67) apresentam dois dupletos com δ_H em 7,72 e 6,41 ppm, respectivo aos hidrogênios H-13 e H-14 do éster cíclico, acoplando-se entre si com o $J_{cis} = 6,0$ Hz. Valores de J referente ao acoplamento *cis* variam entre 6 e 15 Hz, sendo que possui valor típico de 10 Hz (PAVIA *et al.*, 2010). Os hidrogênios aromáticos H-17 e H-18, apresentaram-se como um duplete com $J_{orto} = 8,5$ Hz em δ_H 7,52 e 7,14 ppm, respectivamente. Para o H-11 observou-se o sinal como um duplete, referente ao acoplamento *meta* com H-18, $J_{meta} = 2,0$ Hz.

Nos espectros de RMN ^{13}C (Fig. 60 na pág. 66 e 63 na pág. 67) constatou-se a presença do sinal em δ_C em 162,2, atribuído ao carbono carbonílico do grupo éster cíclico. Os carbonos α (C-14) e β (C-13) a carbonila em δ_C 143,1 e 110,7, correspondentemente. Essa grande diferença de deslocamento químico é devido a deficiência de densidade eletrônica no carbono C-14, isso faz com que esse carbono e hidrogênio (H- β) estejam mas desprotegido, apresentando blindagem diamagnética local reduzida, sofrendo mais o efeito do campo magnético, como consequência, os valores de δ_C e δ_H mais altos em comparação com C-13 e H- α . Além disso, C-14 é oxigenado, sofrendo também o efeito retirador indutivo. E possível observar os seis sinais em δ_C 154,9 (C-10), em δ_C 113,9 (C-11), em δ_C 153,7 (C-12), em δ_C 110,7 (C-13), em δ_C 116,7 (C-16) e em δ_C 118,7 (C-18), atribuídos aos carbonos aromáticos.

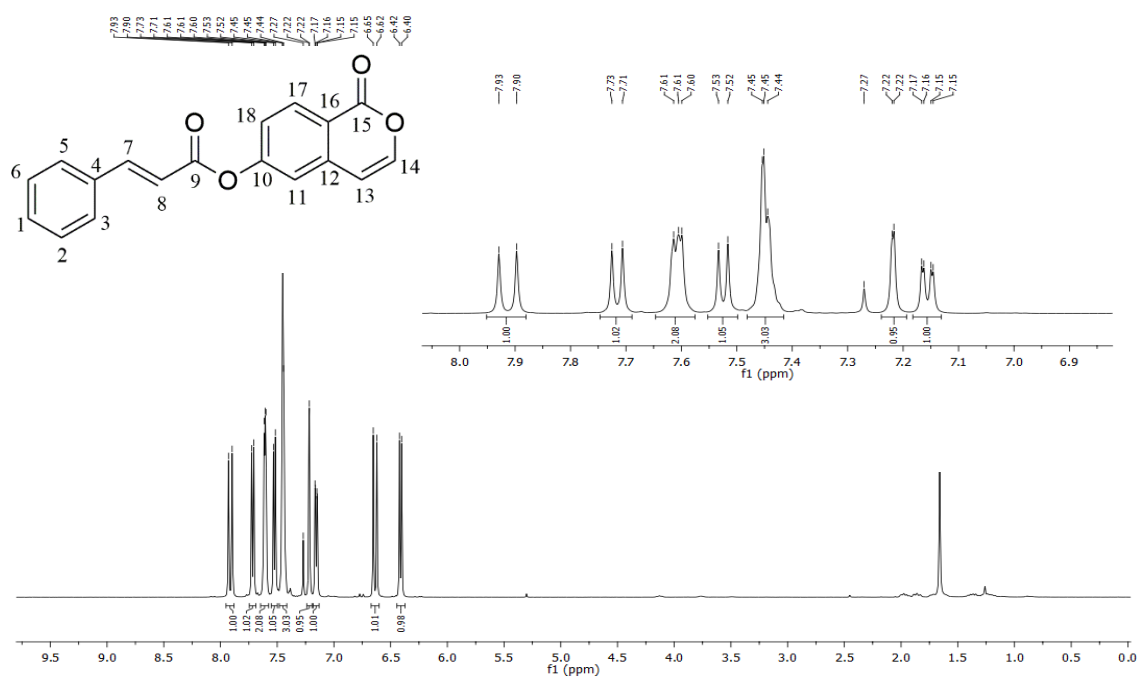
Com os dados de RMN de ^1H e ^{13}C agregados com IV (Fig. 11 pág. 39 e 19 pág. 43) e HRMS (Tabela 1 na pág. 47), confirmaram a formação dos produtos esterificados: cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**CA-2**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**MA-2**), as estruturas são mostradas na figura 58.

Figura 58 – Estrutura química do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**CA-2**) e do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**MA-2**)



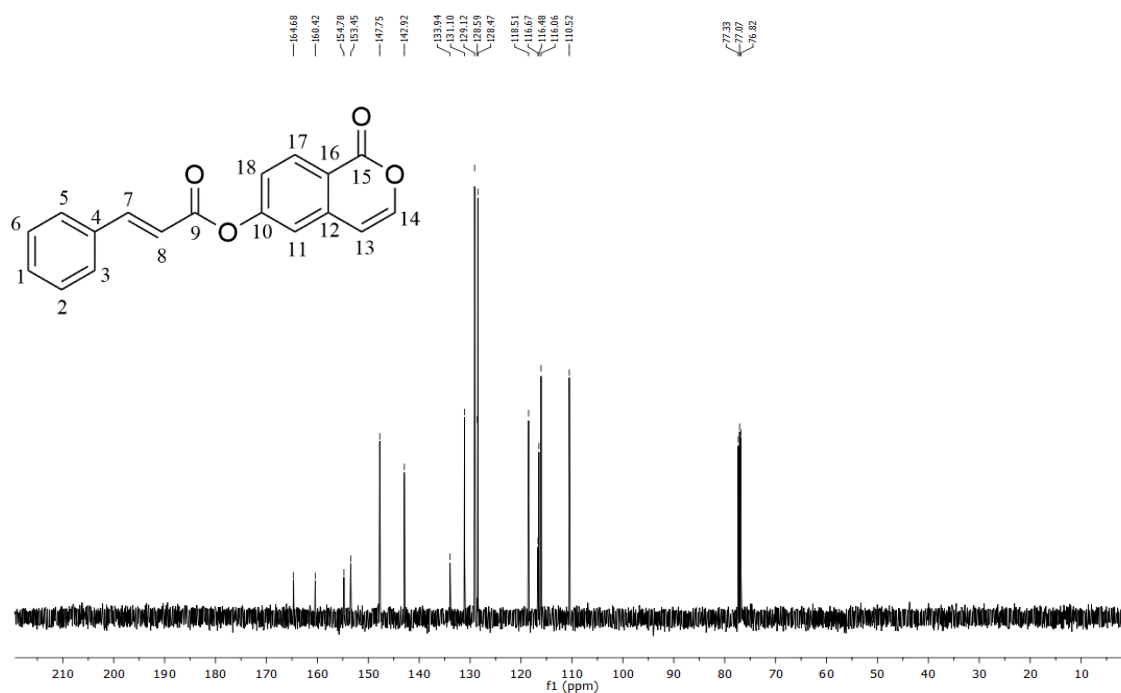
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 59 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (CA-2)



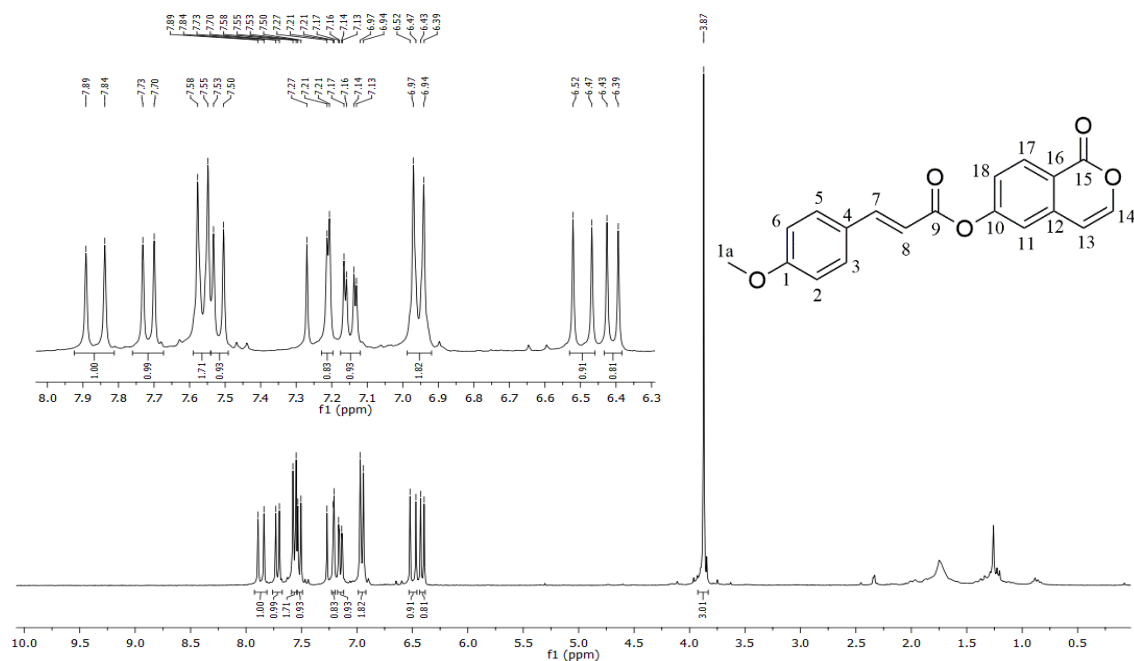
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 60 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (CA-2)



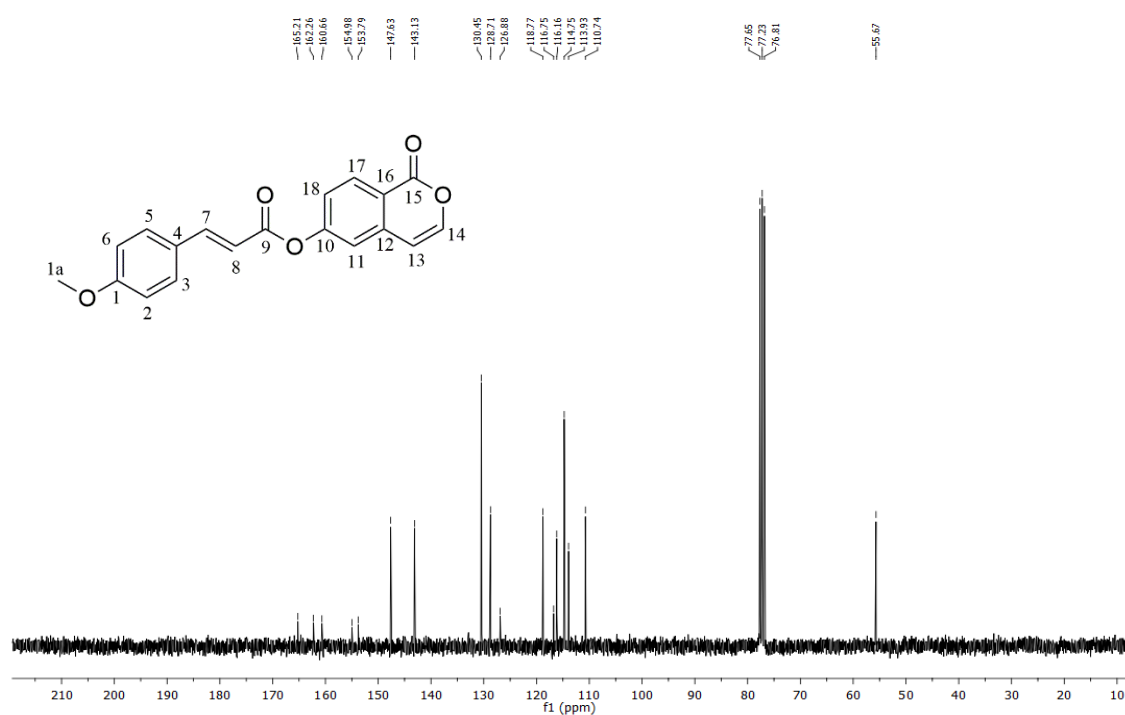
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 61 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**MA-2**)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 62 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 1-oxo-1H-isocromen-6-ila (**MA-2**)

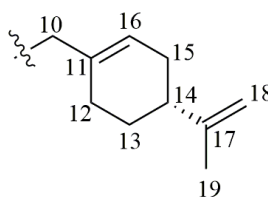


Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.6 Caracterização do cinamato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il) ciclohex-1-en-1-il)metila (**CA-3**) e (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**MA-3**)

Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Fig. 65 pág. 69, 66 e 67 pág. 70, 69 pág. 71) apresentaram os sinais característicos referente aos fragmentos cinamato para o **CA-3** e (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato para o **MA-3**, descritos nos itens 5.5.3.1 (pag. 56) e 5.5.3.2 (pág. 58). Além do que, esses dois compostos tem o mesmo fragmento (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila em sua estrutura química, mostrada na figura 63.

Figura 63 – Fragmento molecular (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila



Fonte: elaborado pelo autor.

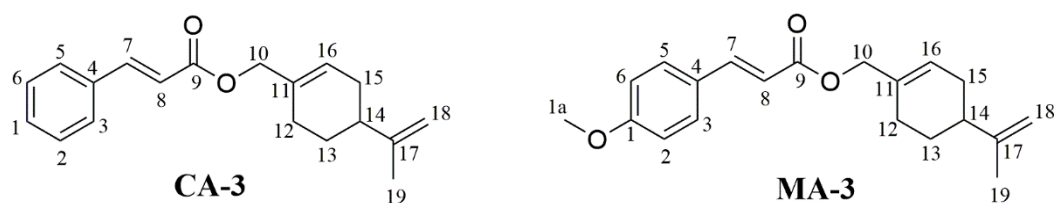
Na linha espectral de RMN de ^1H , a presença de dois sinais na região de hidrogênio ligado a carbono olefínico, sendo um em δ_H 5,83 ppm em forma de simpleto, referente ao H-16, e um duplete em δ_H 4,74 ppm, atribuído aos hidrogênios terminais olefínicos H-18, com $J_{geminal} = 3,0$ Hz, não sendo possível observar esse acoplamento para o composto **MA-3**, apresentando um simpleto alargado. Os hidrogênios (H-10) apresentaram na região de hidrogênio ligado a carbono oxigenado em torno δ_H 4,62 ppm. Os sinais em δ_H 1,75 e 3,20 ppm, corresponde aos átomos de hidrogênio da metila (H-19), em forma de um simpleto, e um multiplete referente ao hidrogênio (H-14) ligado ao carbono terciário. Os demais hidrogênio H-12, H-13, e H-15, aparecem como multiplete na faixa espectral entre 2,20 a 1,54 ppm.

Os espectros de RMN ^{13}C revelaram a presença de oito linhas espectrais para o fragmento (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila, sendo o sinal aproximado em δ_C 68,7, correspondente ao átomo de carbono (C-10) oxigenado. Nas análises dos espectros foi possível observar quatro sinais para carbonos olefínicos, sendo um de CH (C-16) em torno δ_C 126,0 ppm, dois sinais de C (C-11 e C-17) próximos em δ_C 132,9 e 149,8 ppm, e um sinal de CH_2 (C-18) em δ_C 108,9 ppm. Além disso, possibilitou a constatação de três carbonos

metilênicos (CH₂), em δ_c 30,7 (C-12), 26,6 (C-13) e 27,5 (C-15) ppm, e um carbono metílico (CH₃) (C-19) em δ_c 20,9 ppm.

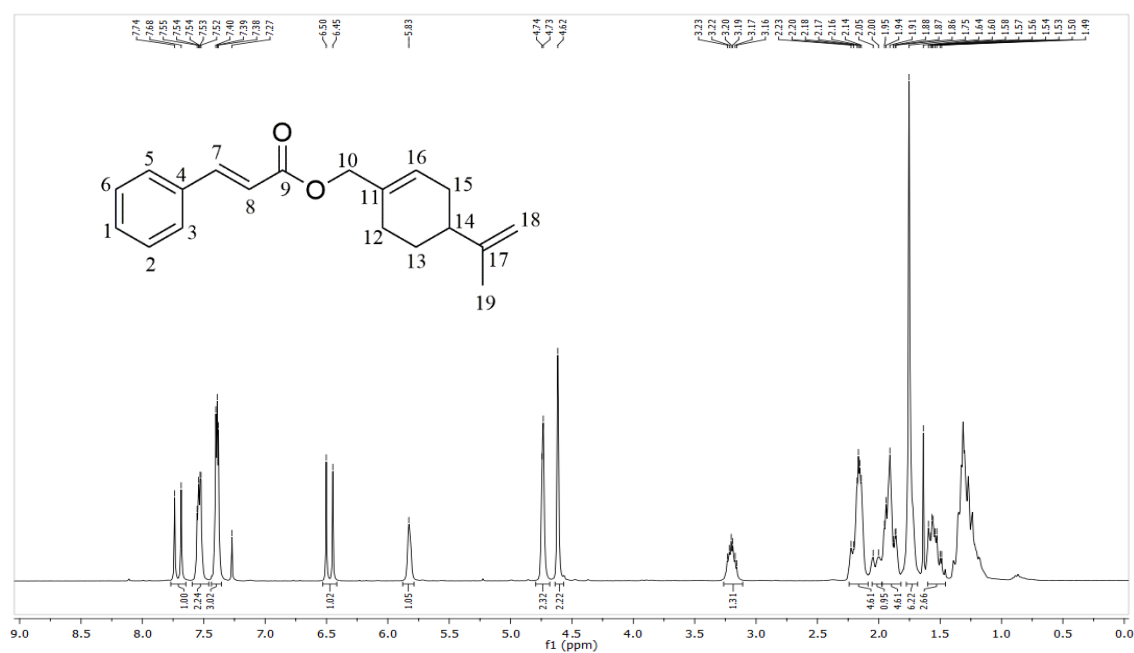
Agregando os dados de RMN de ¹H e ¹³C com IV (Fig. 12 pág. 39 e 20 pág. 43) e HRMS (Tabela 1 na pág. 47), confirmaram a formação dos produtos esterificados: cinamato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**CA-3**) e (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**MA-3**), as estruturas são mostradas na figura 64.

Figura 64 – Estrutura química do cinamato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**CA-3**) e (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**MA-3**)



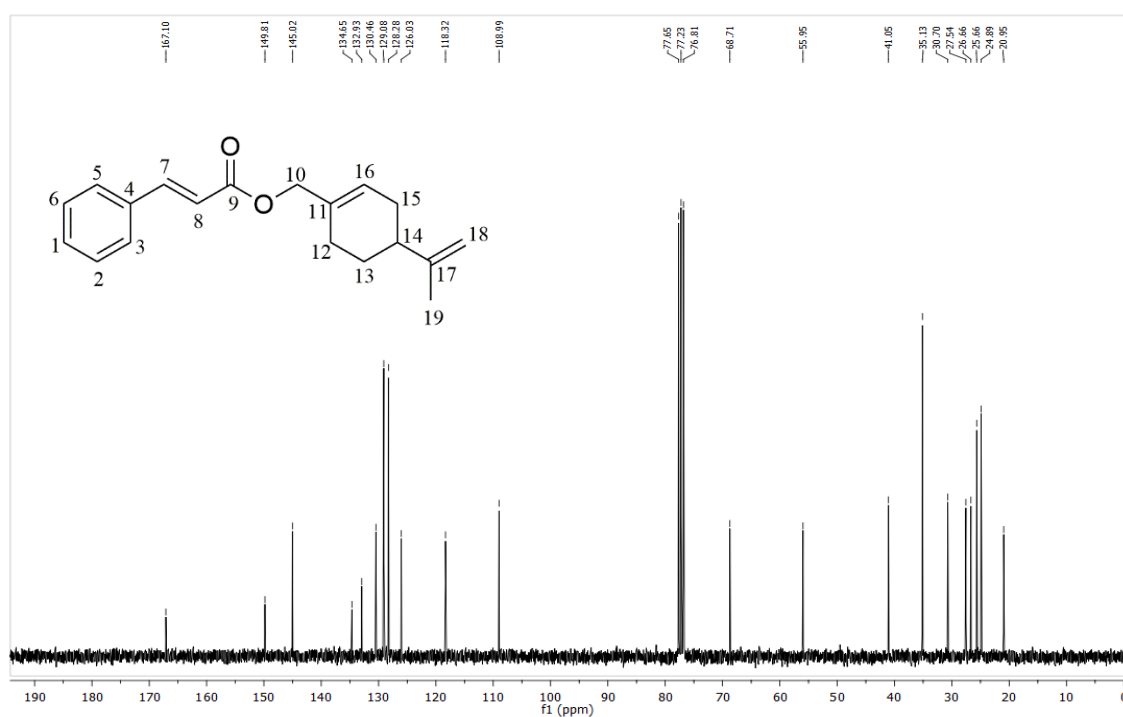
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 65 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do cinamato de (*s*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**CA-3**)



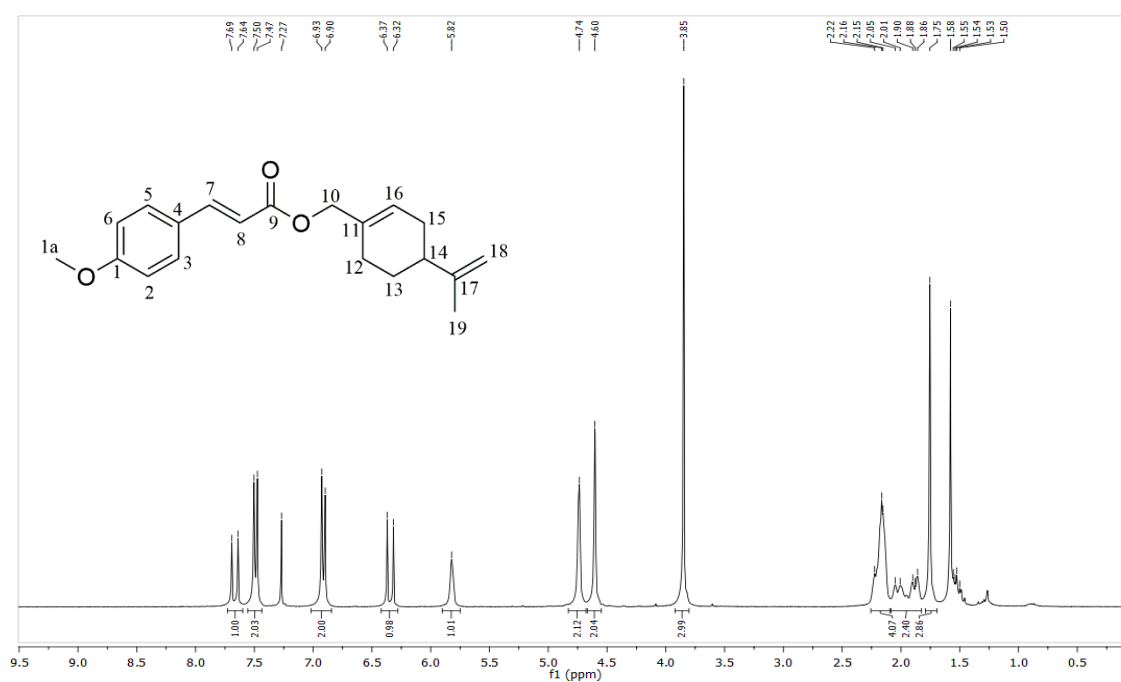
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 66 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**CA-3**)



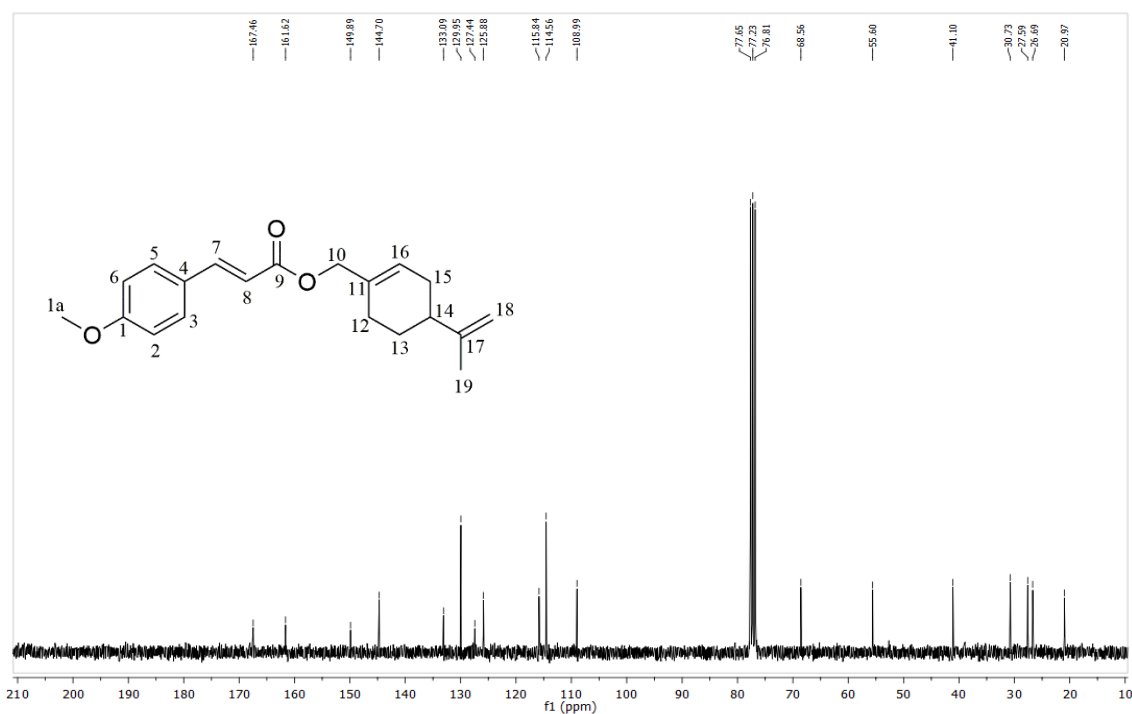
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 67 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (*S*)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**MA-3**)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 68 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de (S)-4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metila (**MA-3**)

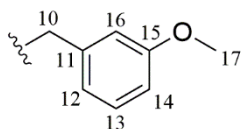


Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.7 Caracterização cinamato de 3-metoxifenila (**CA-4**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (**MA-4**)

Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **CA-4** e **MA-4** observou-se os sinais característicos referente aos fragmentos cinamato e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato, respectivamente, discutidos nos itens 5.5.3.1 (pag. 56) e 5.5.3.2 (pag. 58). Além disso, observou-se o fragmento 3-metoxibenzila em suas estruturas químicas (Fig. 69).

Figura 69 – Fragmento molecular 3-metoxibenzila



Fonte: elaborado pelo autor.

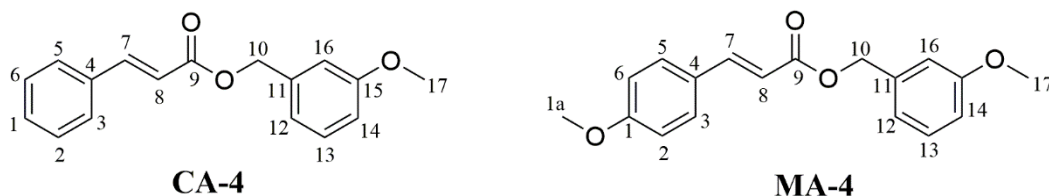
Nos espectros de RMN de ^1H (Fig. 71 pág. 73 e 73 pág. 74) é observável dois sinais referente a átomos de hidrogênio ligados a carbono oxigenado (C-O), atribuídos aos hidrogênios H-10 e H-17, em torno δ_{H} 5,20 e 3,79 ppm, respectivamente. Para os hidrogênios

aromáticos, o H-16 não foi possível observar o acoplamento *meta* com H-12 e H-14, apresentando um simpleto com valor próximo em δ_H 6,93 ppm. Para os referidos hidrogênios H-12, H-13 e H-14, foram observado o acoplamento *orto*, próximos de $J_{orto} = 8,0$ Hz, mas apenas o H-14 foi observado o acoplamento *meta* (com H-16 e/ou H-12), com $J_{meta} = 2,3$ Hz, apresentando um sinal em forma de um duplo de duplete. Os hidrogênios H-12, H-13 e H-14 apresentaram valores de δ_H 6,96, 7,26 e 6,85 ppm, respectivamente. Entretanto, no espectro de RMN de 1H (Fig. 73 pág. 74) do **MA-4**, os sinais dos hidrogênios H-12 e H-14 se sobrepuseram.

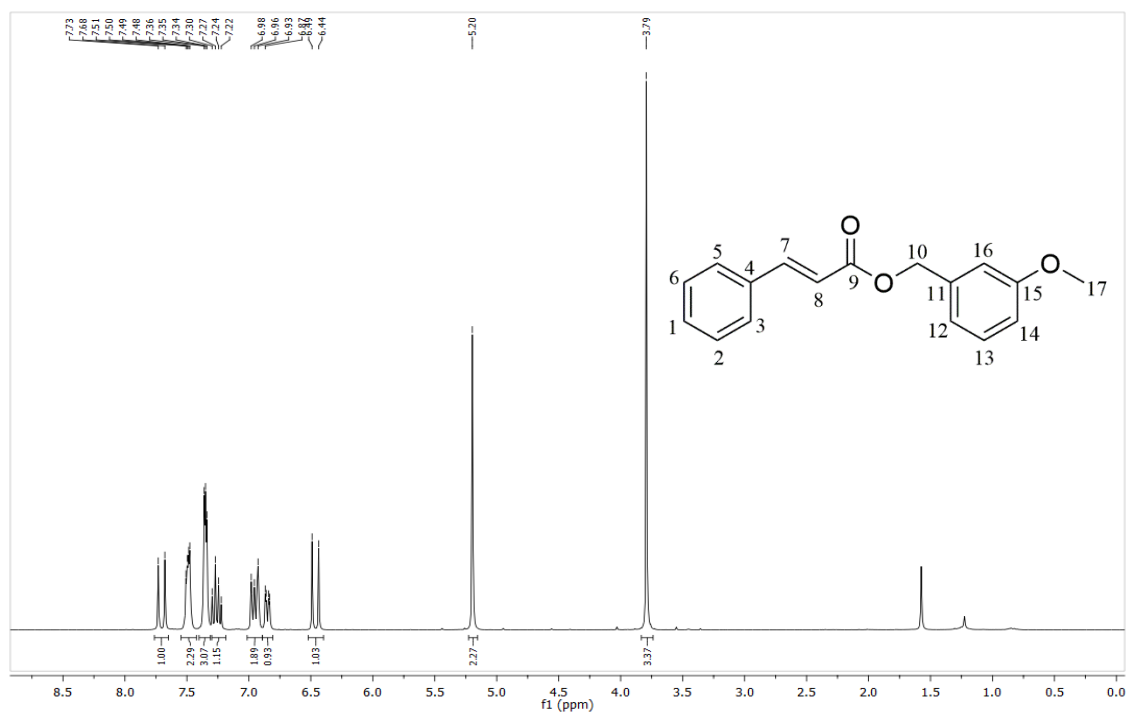
Os espectros de RMN ^{13}C (Fig. 73 pág. 73 e 75 pág. 74) mostraram sinais correspondentes a sete linhas espectrais, típico do fragmento 3-metoxibenzila, dois deles atribuído a átomos de carbono oxigenado alifático (C10 e C-17) em δ_C 66,4 e 55,4 ppm, e um carbono aromático (C-15) em δ_C 159,9 ppm. Os carbonos C-11, C-12, C-13, C-14 apresentaram na faixa espectral em δ_C 137,9, 120,6, 129,8 e 113,9 ppm.

Com base nos dados espectroscópicos de IV (Fig. 13 pág. 40 e 21 pág. 44), RMN de 1H e ^{13}C e espectrométrico de HRMS (Tabela 1 na pág. 47), confirmaram a formação dos produtos esterificados: cinamato de 3-metoxifenila (**CA-4**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (**MA-4**), as estruturas são mostradas na figura 70.

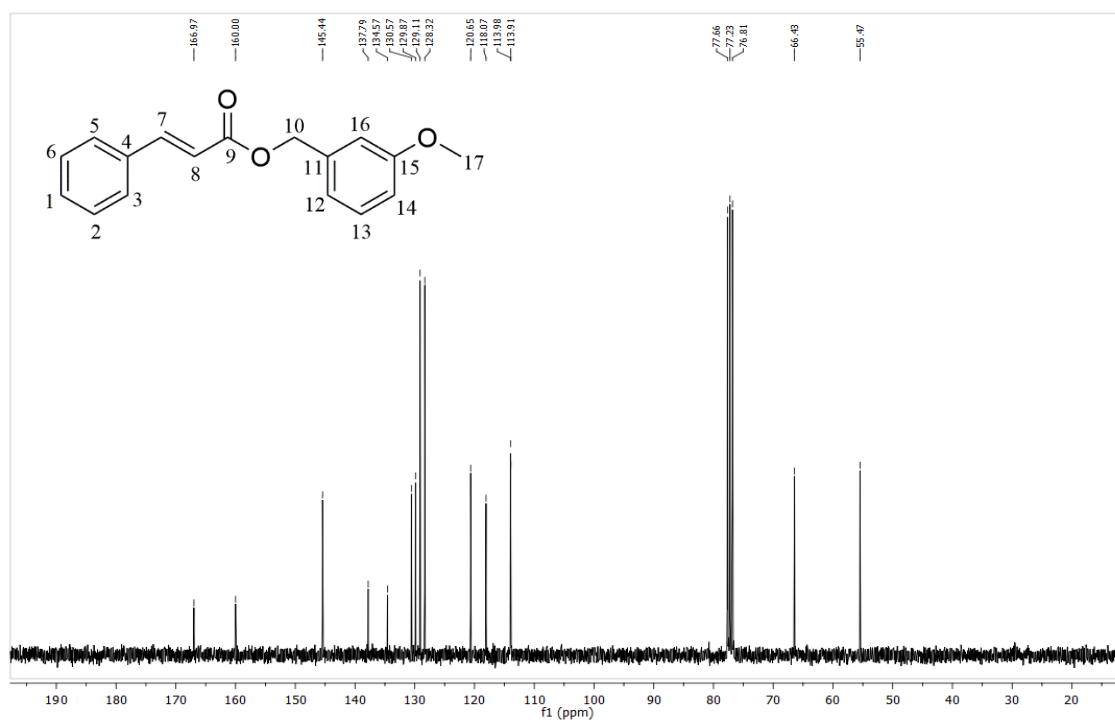
Figura 70 – Estrutura química do cinamato de 3-metoxifenila (**CA-4**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (**MA-4**)



Fonte: elaborado pelo autor.

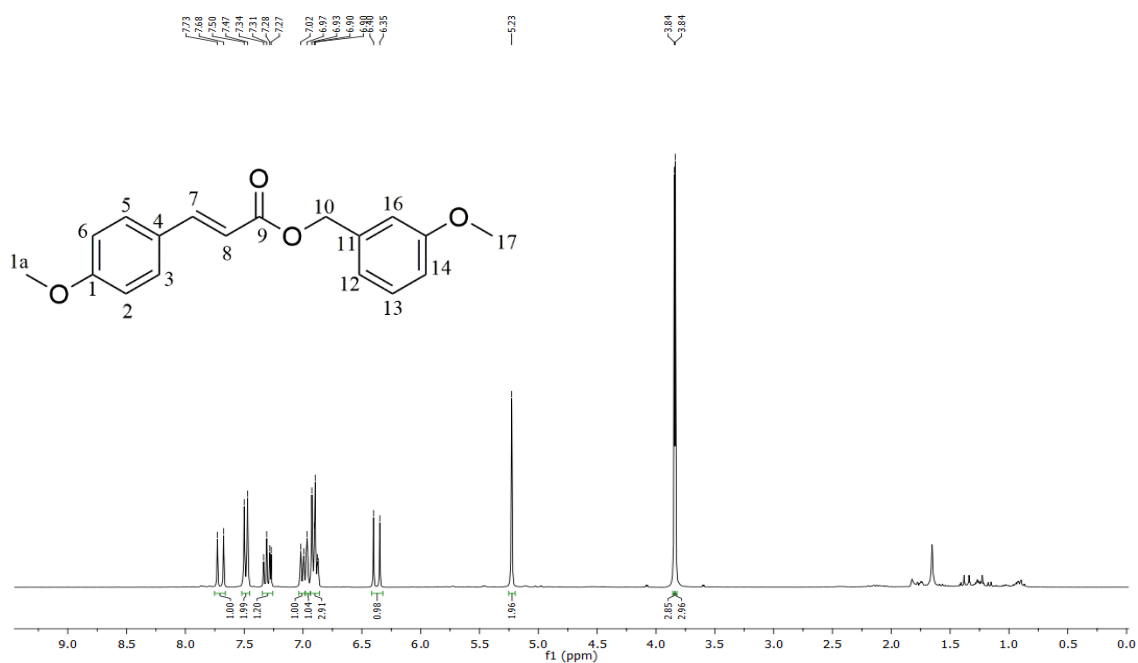
Figura 71 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do cinamato de 3-metoxifenila (**CA-4**)

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 72 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de 3-metoxifenila (**CA-4**)

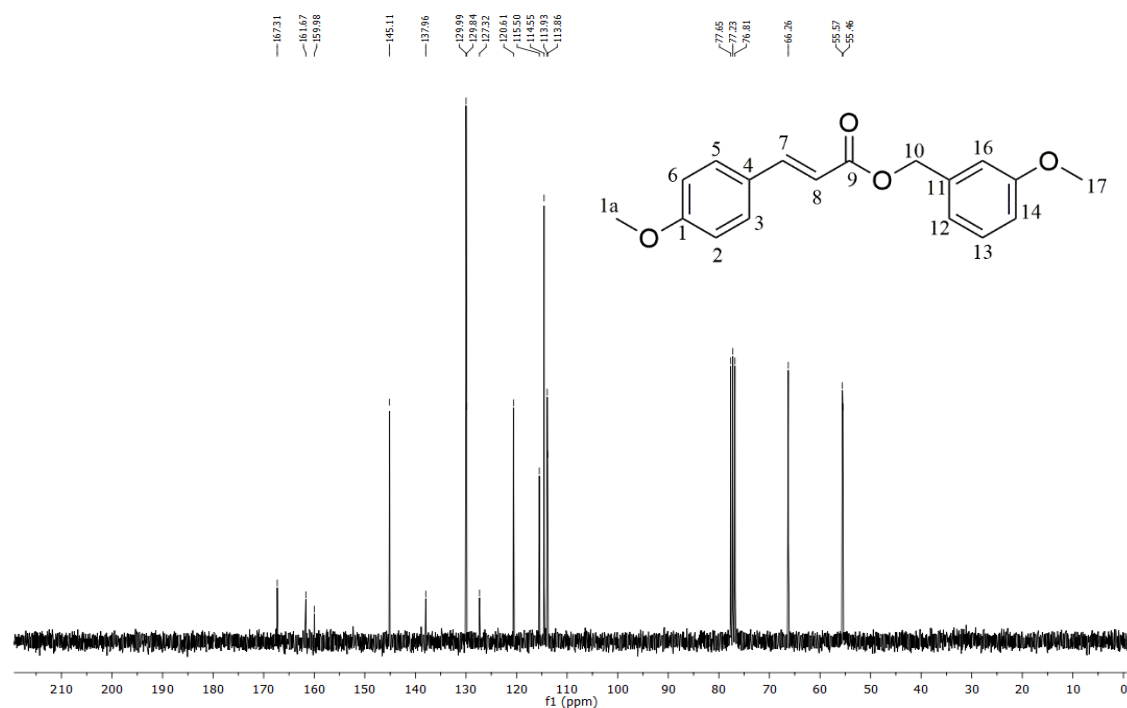
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 73 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (**MA-4**)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 74 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxifenila (**MA-4**)

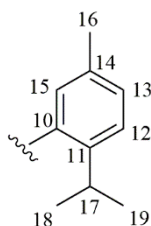


Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.8 Caracterização do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (**CA-5**), cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (**CA-6**), (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**MA-5**), (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**MA-6**), (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**FA-1a**) e (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**)

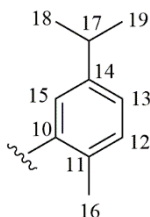
Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **CA-5** e **CA-6** observou-se os sinais característicos referente aos fragmentos cinamato (item 5.5.3.1 na pág. 56), para o **MA-5** e **MA-6**, o fragmento (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato (item 5.5.3.2 na pág. 58) e para **FA-1a** e **FA-1b**, o fragmento (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato (item 5.5.3.3 na pág. 60). Além disso, observou-se o fragmento 2-isopropil-5-metilfenila em comum para os composto **CA-5**, **MA-5** e **FA-1b** em suas estruturas químicas (Fig. 75), o fragmento 5-isopropil-2-metilfenila para os compostos **CA-6**, **MA-6** e **FA-1a** (Fig. 76). A diferença entre esses fragmentos é a inversão dos grupos substituintes (isopropila pela metila) do anel aromático, nas posições 11 e 14.

Figura 75 – Fragmento molecular 2-isopropil-5-metilfenila



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 76 – Fragmento molecular 5-isopropil-2-metilfenila



Fonte: elaborado pelo autor.

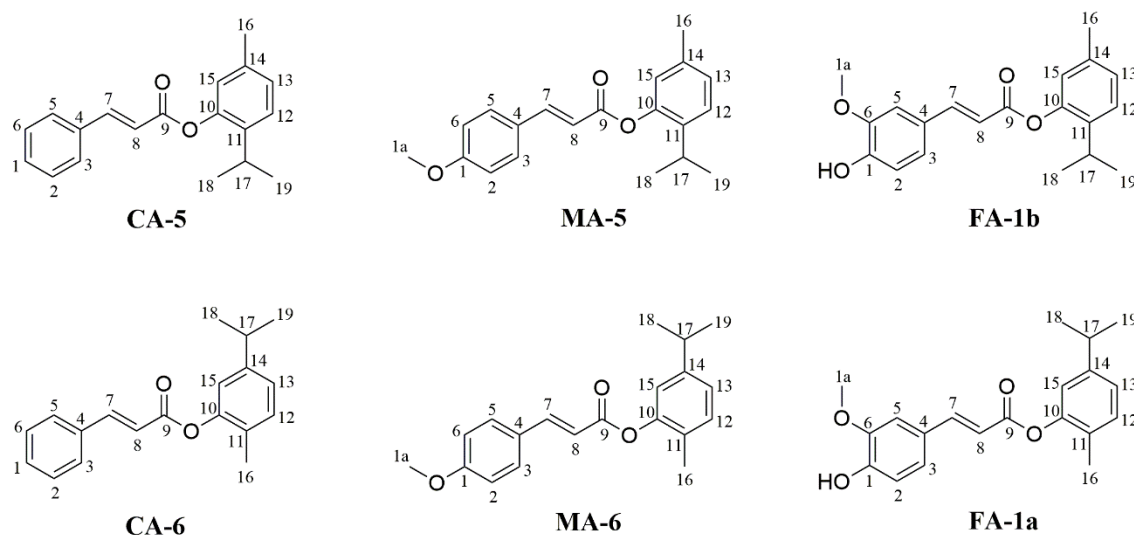
Na faixa espectral de RMN de ^1H (Fig. 78 pág. 77, 80 pág. 78, 82 pág. 79, 84 pág. 80, 86 pág. 81 e 88 pág. 82) apresentam sinais iguais para todos os compostos, mas diferem pelo deslocamento químico, apresentando um dubleto para seis hidrogênios, em torno δ_H 1,25

ppm; um hepteto para um hidrogênio, em δ_H 3,05 ppm para os compostos **CA-5**, **MA-5** e **FA-1b**, e em δ_H 2,91 ppm para os compostos **CA-6**, **MA-6** e **FA-1a**, característico do grupo isopirila (CH_3CHCH_3); um singlete para três hidrogênios do grupo metila (CH_3), com o valor de δ_H próximos de 2,36 e 2,20 ppm, respectivamente. Na região dos aromáticos, ambos apresentam dois dupletos em valores em torno de δ_H 7,20 e 7,06 ppm, com $J_{orto} = 8,0$ Hz aproximadamente, referente ao acoplamento *orto* dos H-12 e H-13; e um simpleto em δ_H 6,95 ppm, referente ao H-15, não sendo possível observar o acoplamento *meta*.

Os espectros de RMN ^{13}C (Fig. 79 pág. 78, 81 pág. 79, 83 pág. 80, 85 pág. 81, 87 pág. 82 e 89 pág. 83) apresentaram o sinal da metilênico (CH_3 -16) em δ_C 21 ppm, para os compostos **CA-5**, **MA-5** e **FA-1b**, e em δ_C 16 ppm para os compostos **CA-6**, **MA-6** e **FA-1a**. Os carbonos do grupo isopropila corresponde a duas linhas espectrais aproximados em δ_C 23,2 (C-18 e C-19) e 27,3 (C-17) ppm, referentes aos compostos **CA-5**, **MA-5** e **FA-1b**, e em δ_C 24,1 (C-18 e C-19) e 33,8 (C-17) ppm, atribuídos as substâncias **CA-6**, **MA-6** e **FA-1a**. Os demais carbonos apresentaram na faixa espectral de carbonos aromáticos.

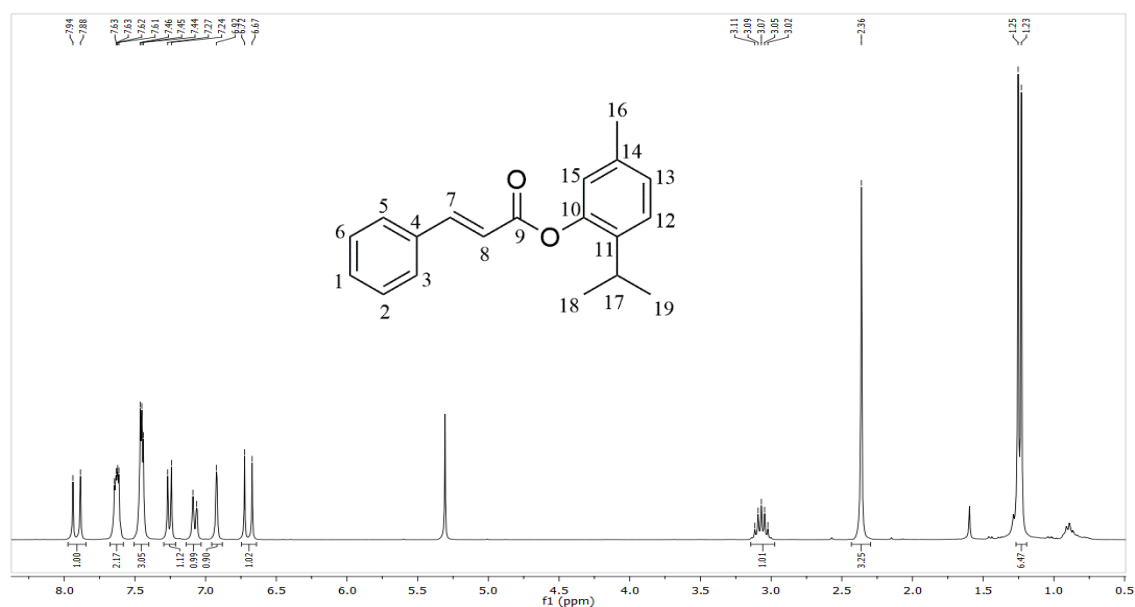
Através dos dados espectroscópicos de IV (Fig. 14 pág. 40, 15 pág. 41, 22 pág. 44, 23 pág. 45, 26 pág. 46 e 27 pág. 47), RMN de ^1H e ^{13}C e espectrométrico de HRMS (Tabela 1 pág. 47), confirmaram a formação dos produtos esterificados: cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (**CA-5**), cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (**CA-6**), (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**MA-5**), (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**MA-6**), (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**FA-1a**) e (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**), cuja as estruturas são mostradas na figura 77.

Figura 77 – Estrutura química do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (**CA-5**), cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (**CA-6**), (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**MA-5**), (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**MA-6**), (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**FA-1a**) e (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**)



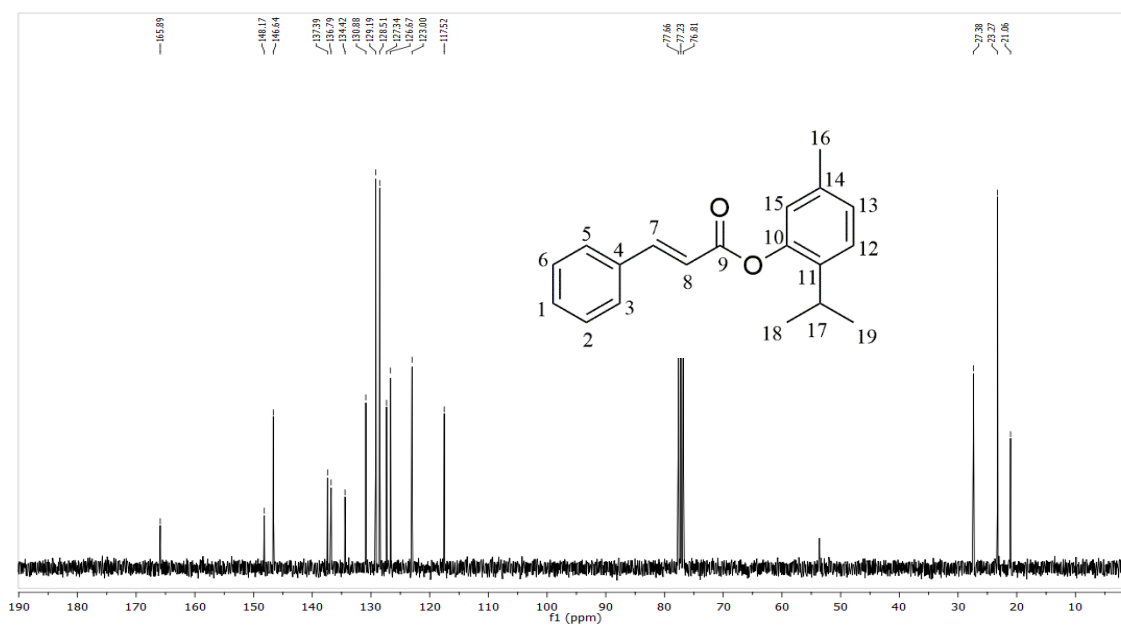
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 78 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (**CA-5**)



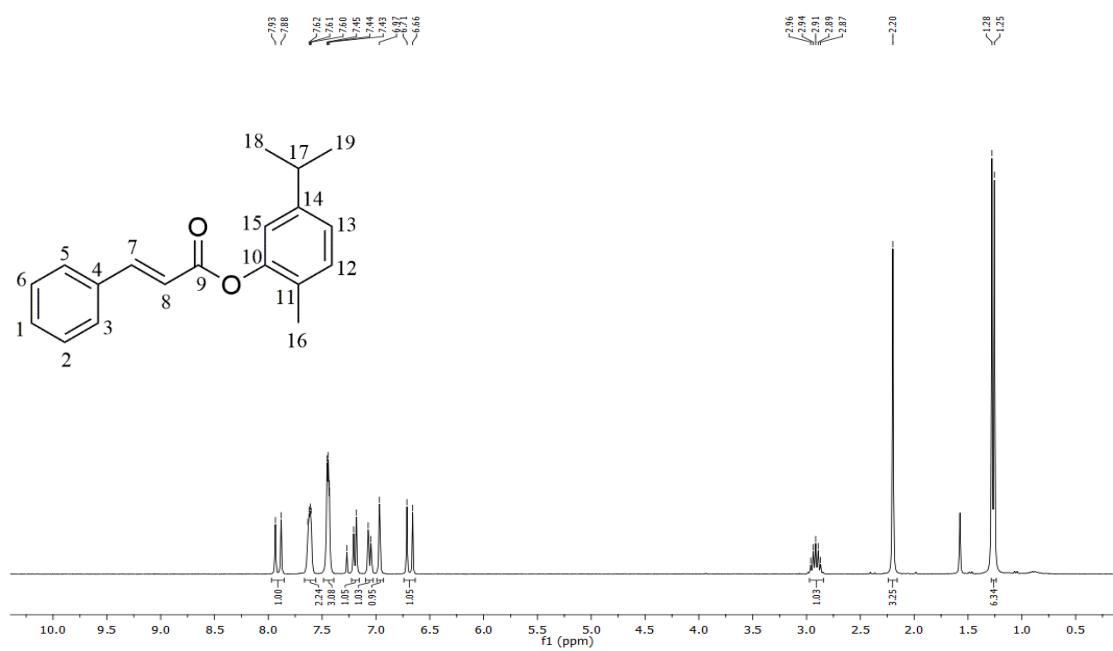
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 79 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (CA-5)



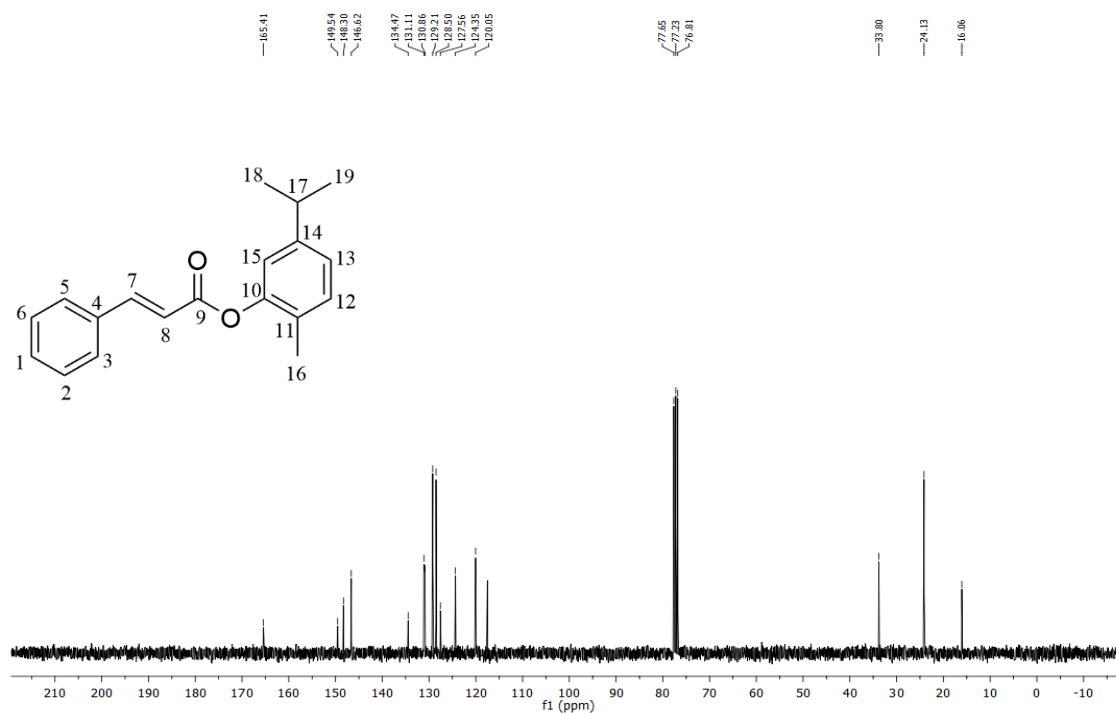
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 80 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (CA-6)



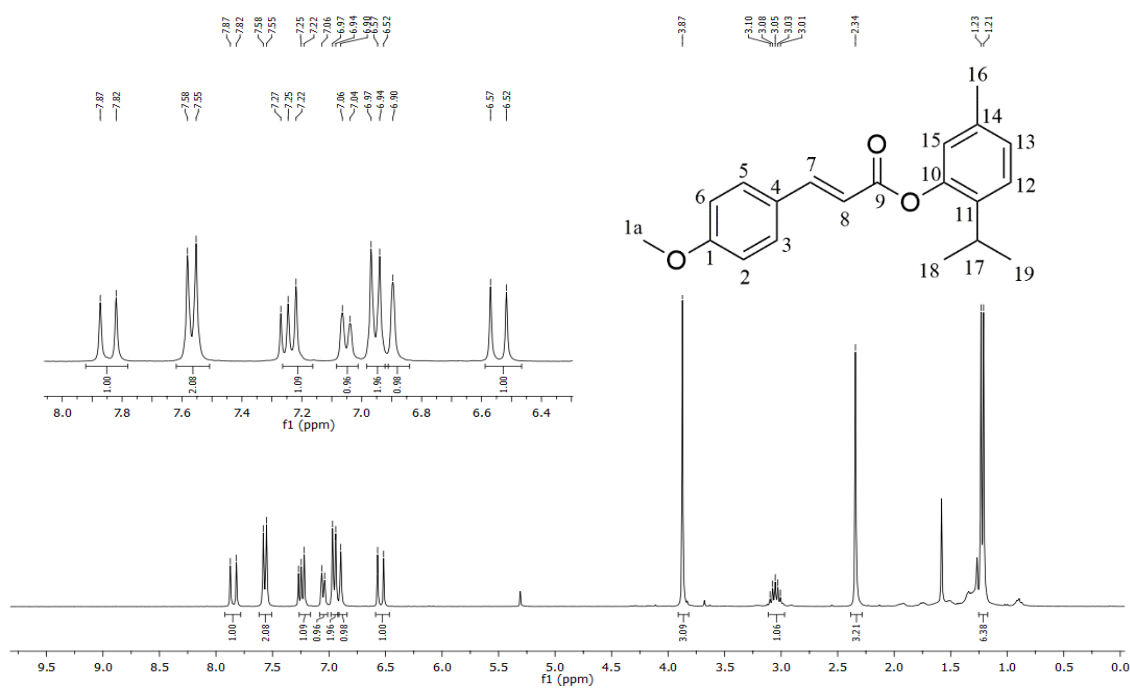
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 81 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de 5-isopropil-2-metilfenila (**CA-6**)



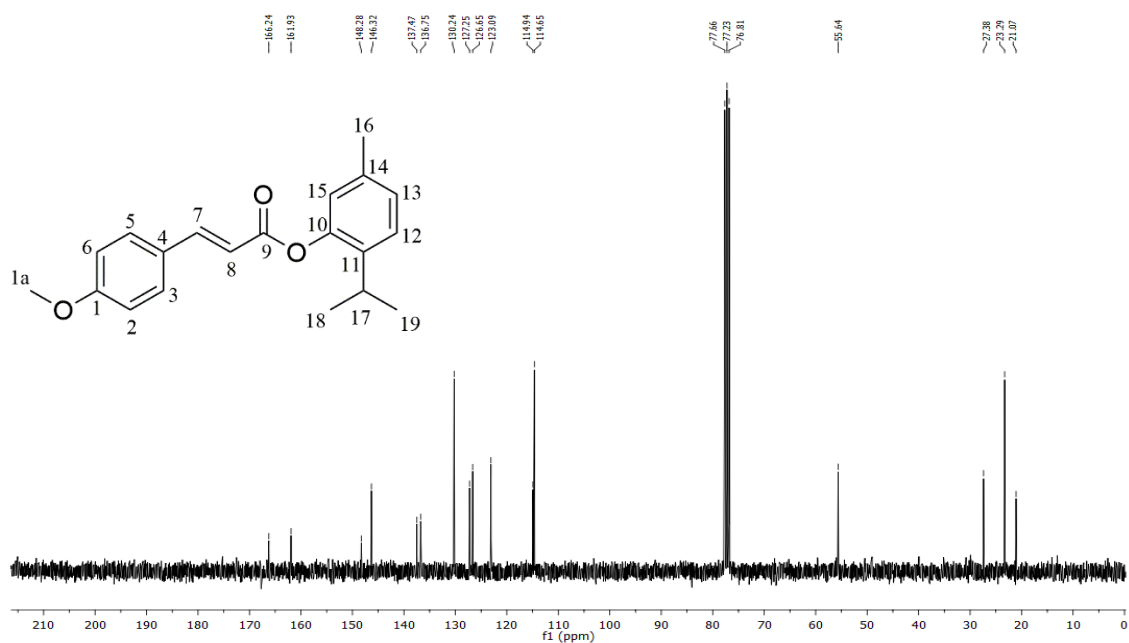
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 82 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**MA-5**)



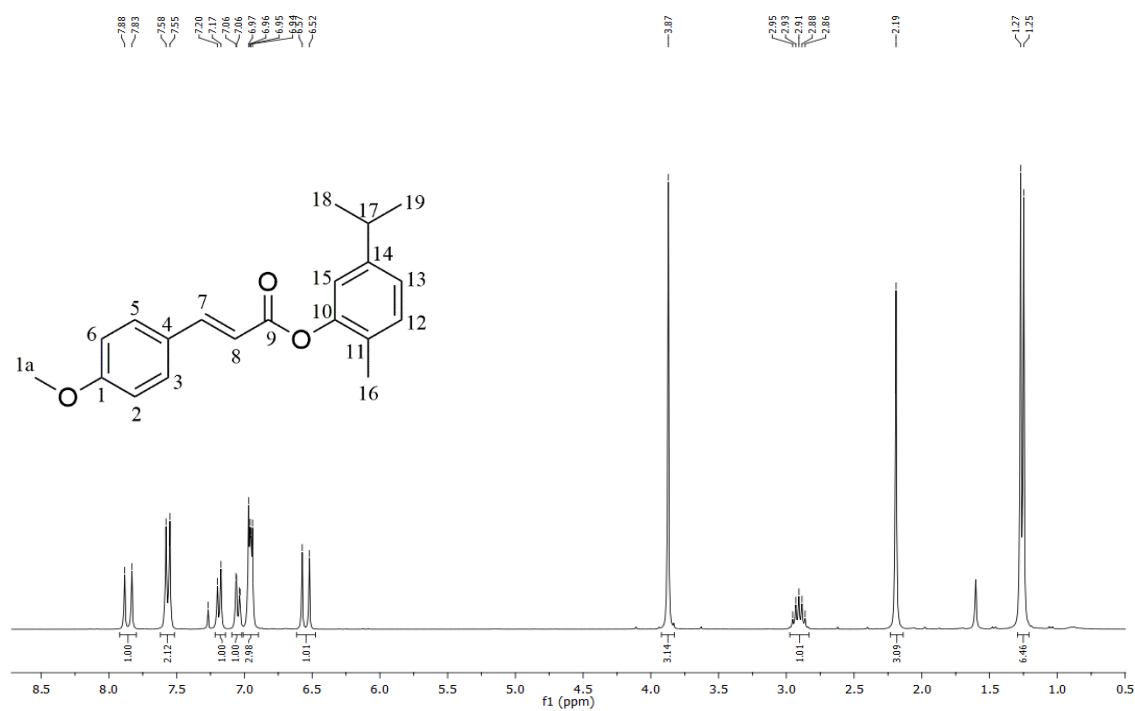
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 83 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**MA-5**)



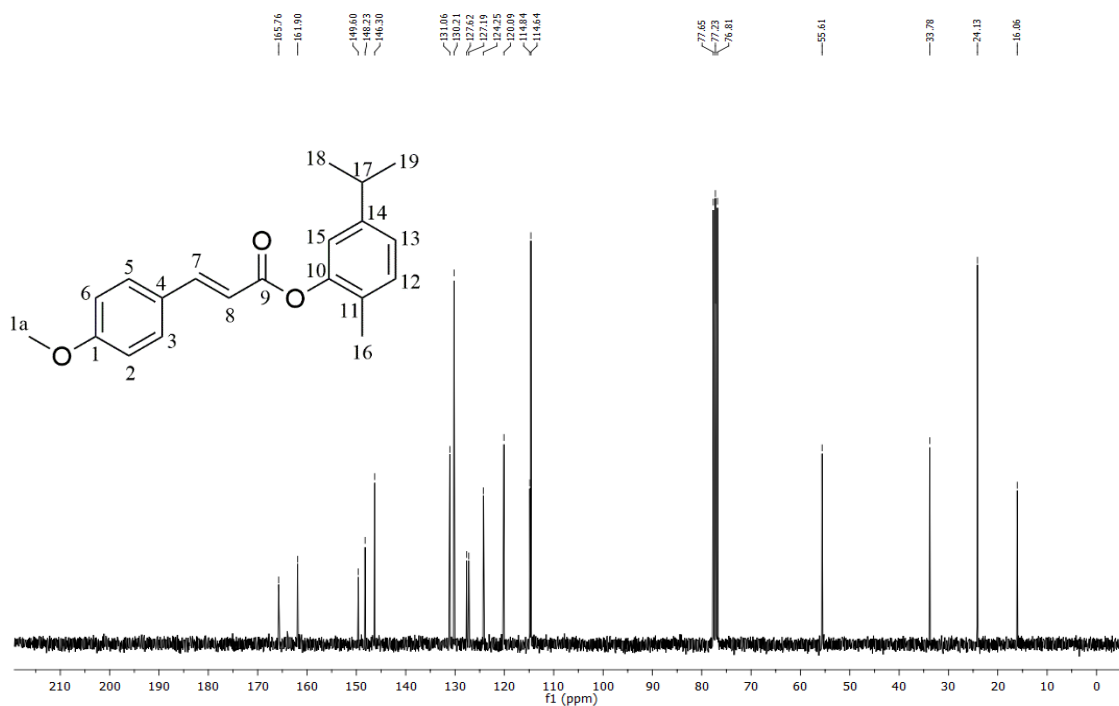
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 84 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**MA-6**)



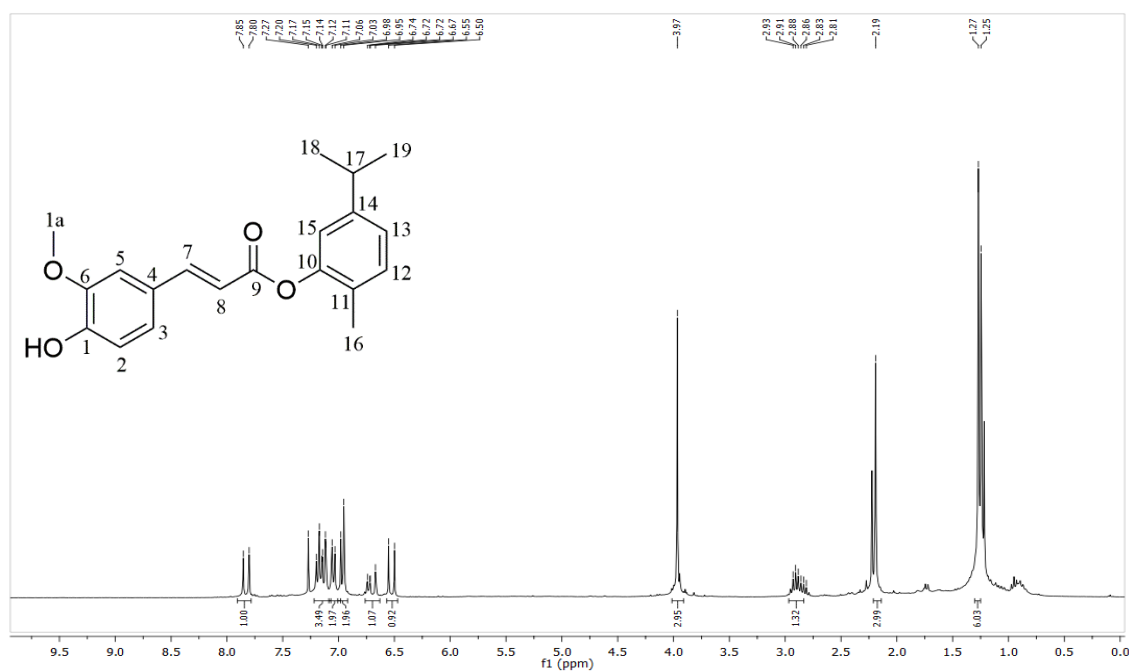
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 85 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**MA-6**)



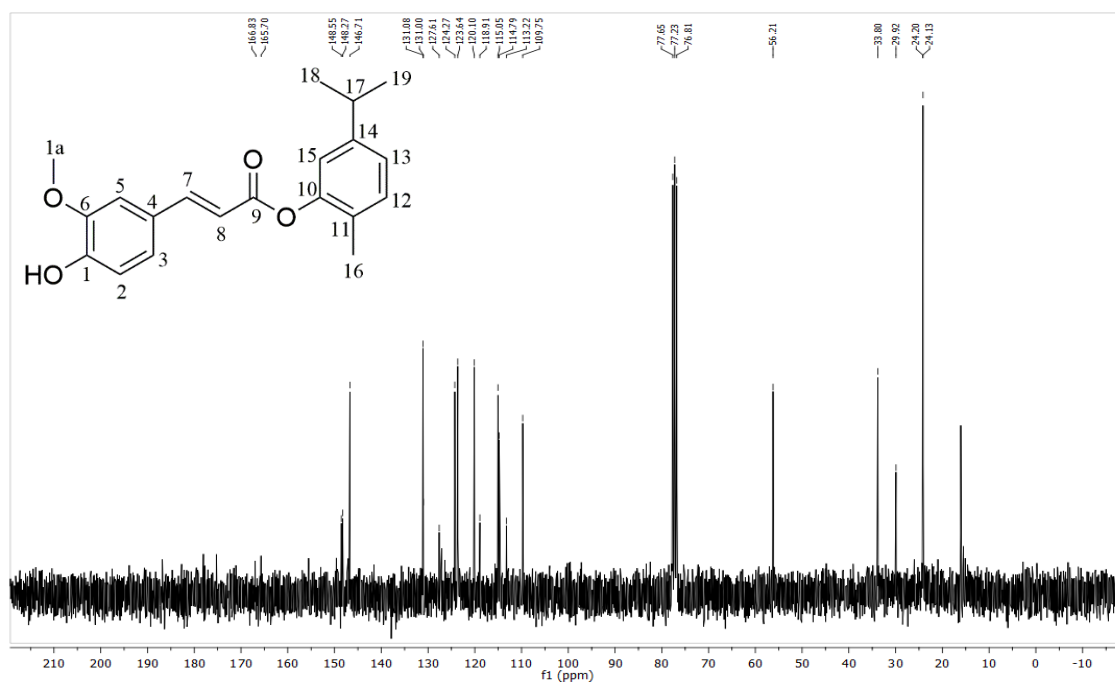
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 86 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**FA-1a**)



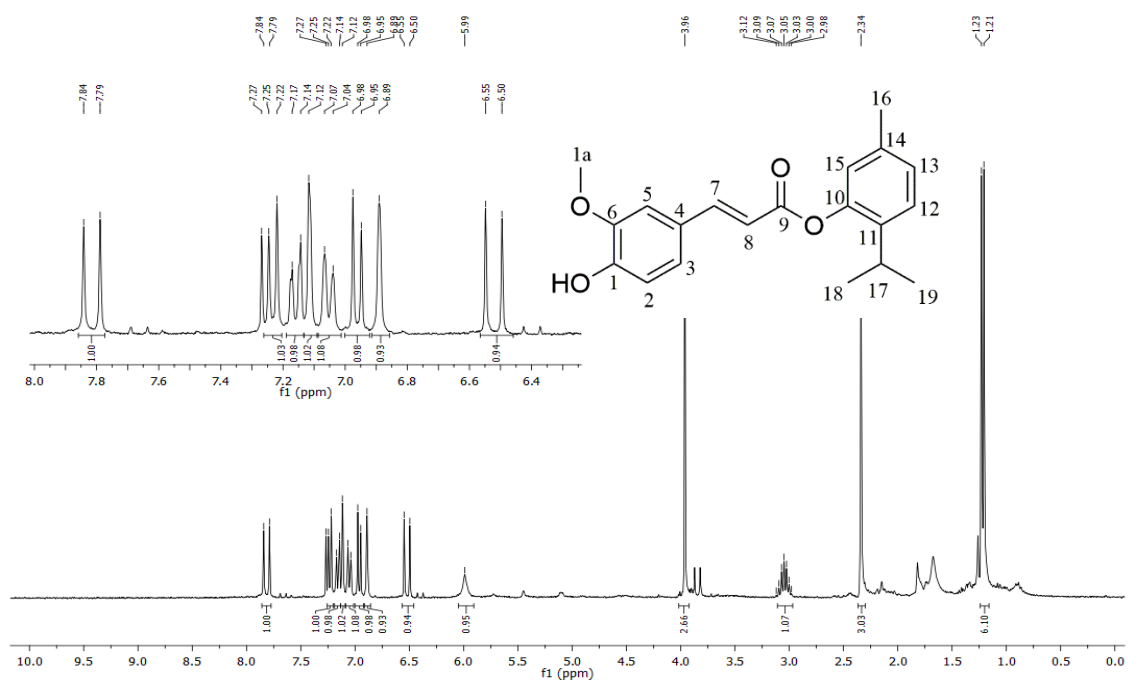
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 87 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 5-isopropil-2-metilfenila (**FA-1a**)



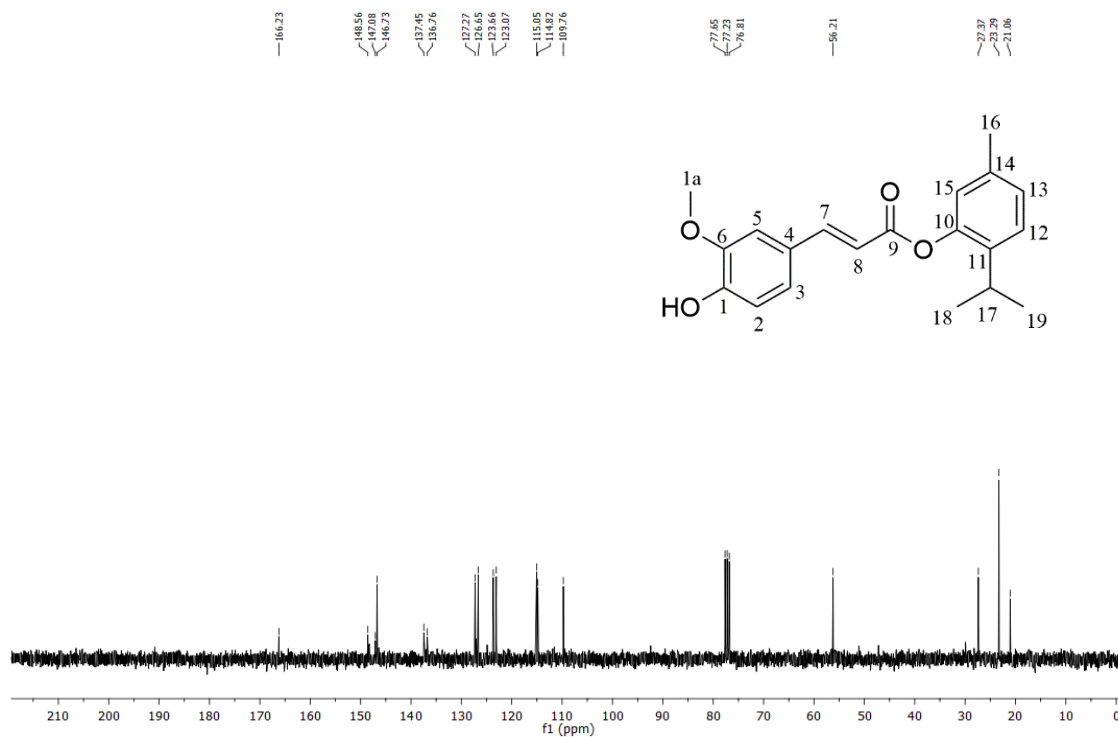
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 88 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 89 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenila (**FA-1b**)

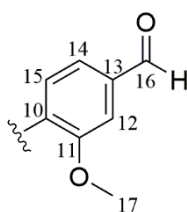


Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.9 Caracterização do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (**CA-7**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (**MA-7**)

Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Fig. 92 e 93 pág. 85, 94 e 95 pág. 86) dos compostos **CA-7** e **MA-7** observou-se os sinais característicos referente aos fragmentos cinamato e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato, relatados nos itens 5.5.3.1 (pag. 56) e 5.5.3.2 (pag. 58). Esses compostos apresenta o mesmo fragmento 4-formil-2-metoxifenila (Fig. 90) em suas estruturas química.

Figura 90 – Fragmento molecular 4-formil-2-metoxifenila



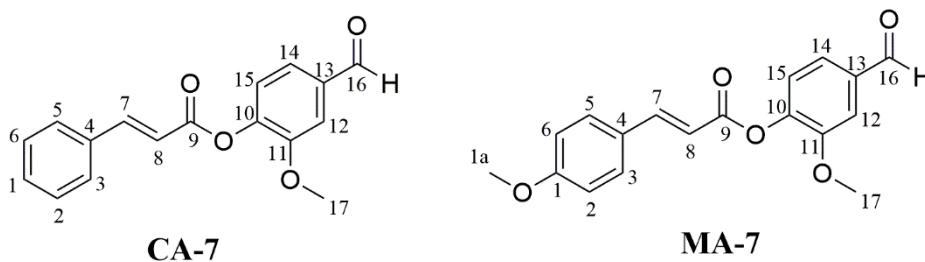
Fonte: elaborado pelo autor.

Nos espectros RMN de ^1H observou sinal referente ao hidrogênio do grupo funcional do aldeído em δ_H 9,97 ppm, e um simpleto dos hidrogênios da metoxila ($-\text{OCH}_3$). Na região espectral aromática, os átomos de hidrogênio H-14 e H-15 apresentam em forma de dois dupletos com valores δ_H 7,51 e 7,31 ppm, com $J_{orto} = 8,5$ Hz e um simpleto em δ_H 7,53 ppm referente ao H-12.

Através da análise do espectro de RMN ^{13}C dos produtos esterificados, foi possível observar o aparecimento do sinal em δ_C 191,2 relacionado à carbonila do aldeído e também dos sinais em δ_C 152,2 (C-10), em δ_C 145,4 (C-11), δ_C 110,9 (C-12), δ_C 135,2 (C-13), δ_C 134,1 (C-14) e δ_C 123,6 (C-15) ppm, associados aos carbonos aromáticos.

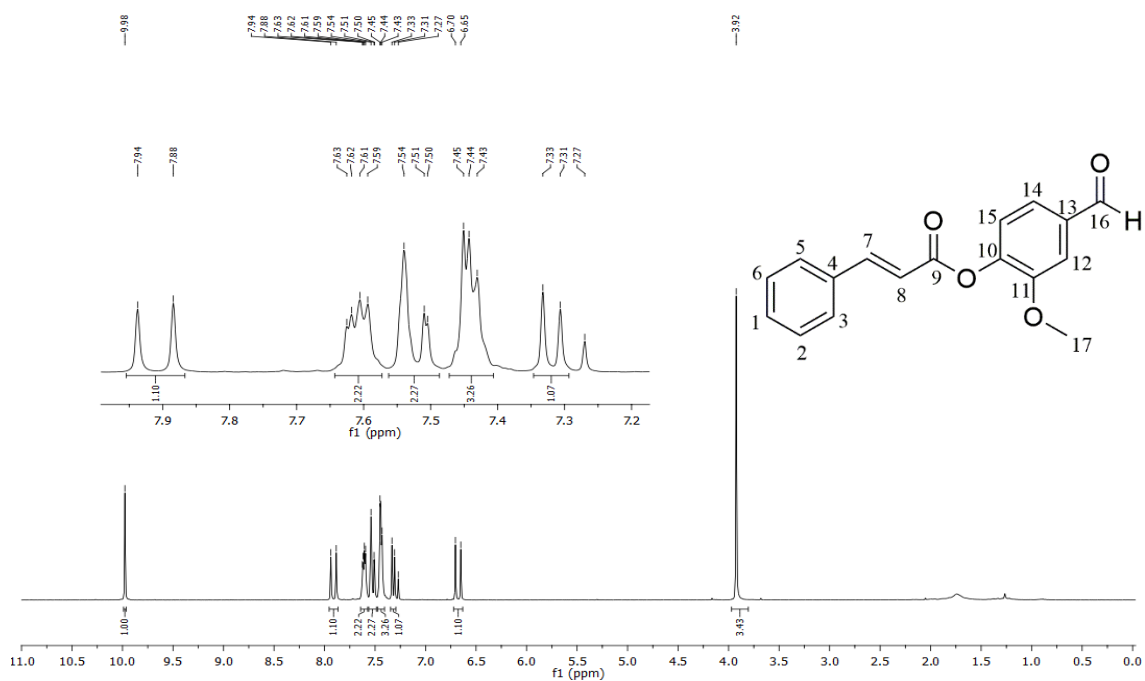
A arguição dos dados espectroscópicos de IV (Fig. 16 pág. 41 e 24 pág. 45), RMN de ^1H e ^{13}C e espectrométrico de HRMS (Tabela 1 na pág 47), confirmaram a formação dos produtos esterificados: cinamato de 2-etil-4-formilfenila (**CA-7**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (**MA-7**), cuja as estruturas são mostradas na figura 91.

Figura 91 – Estrutura química do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (**CA-7**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (**MA-7**)



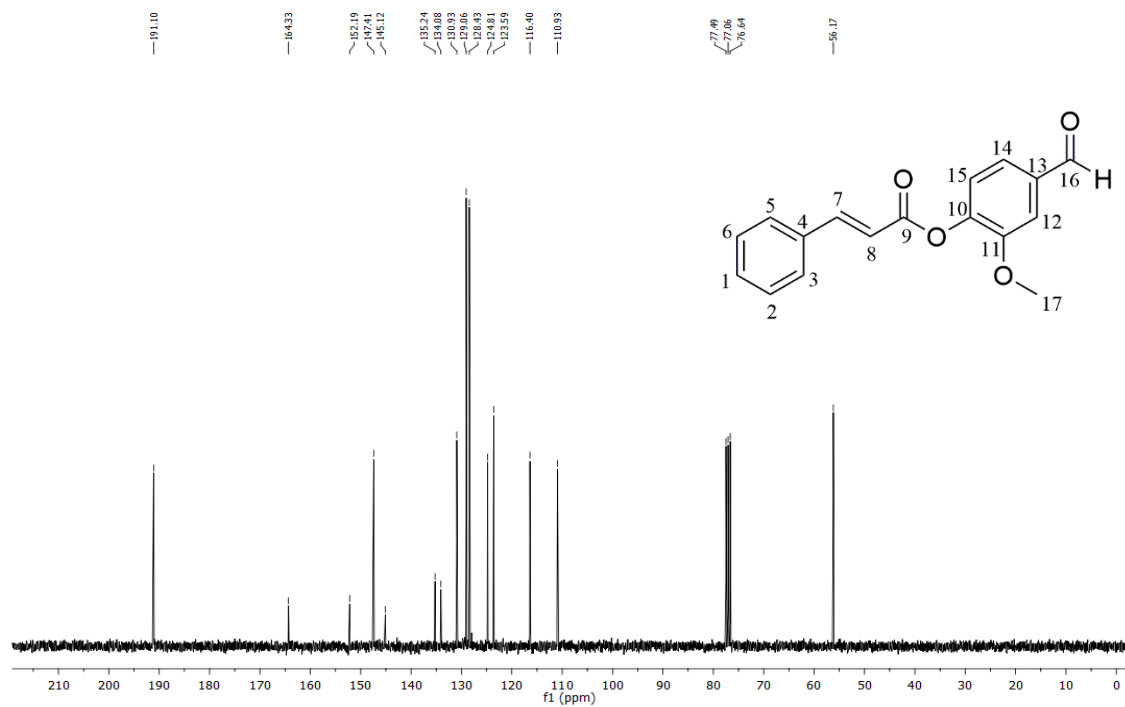
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 92 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)



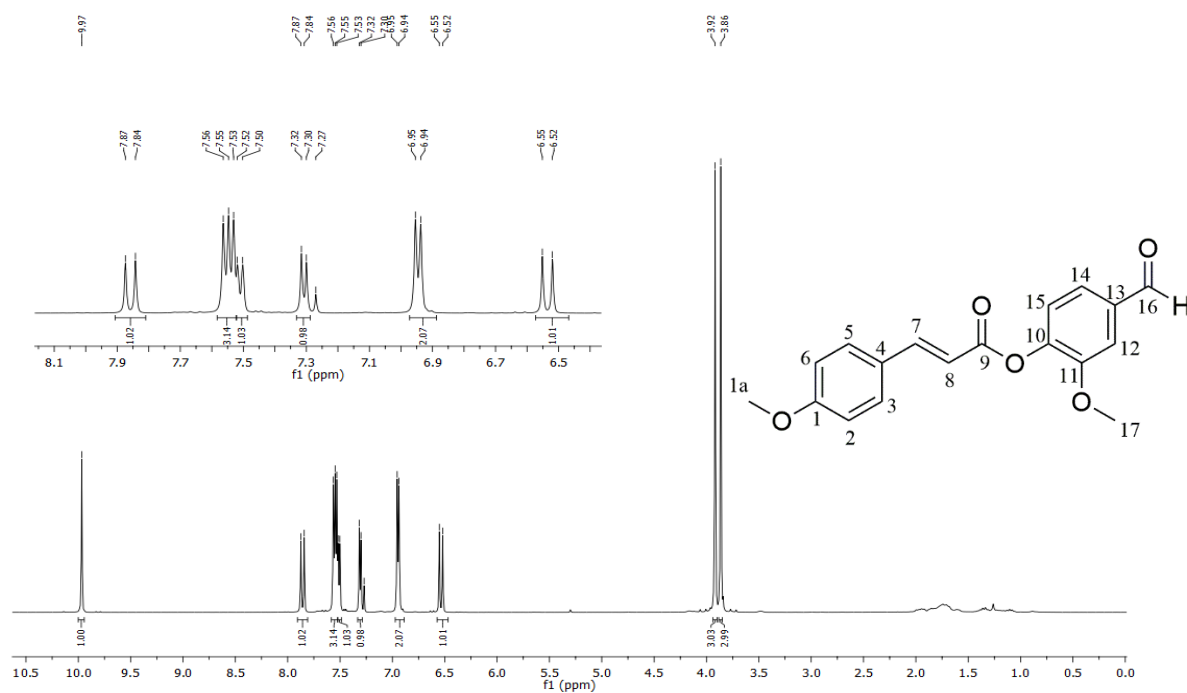
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 93 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do cinamato de 2-etil-4-formilfenila (CA-7)



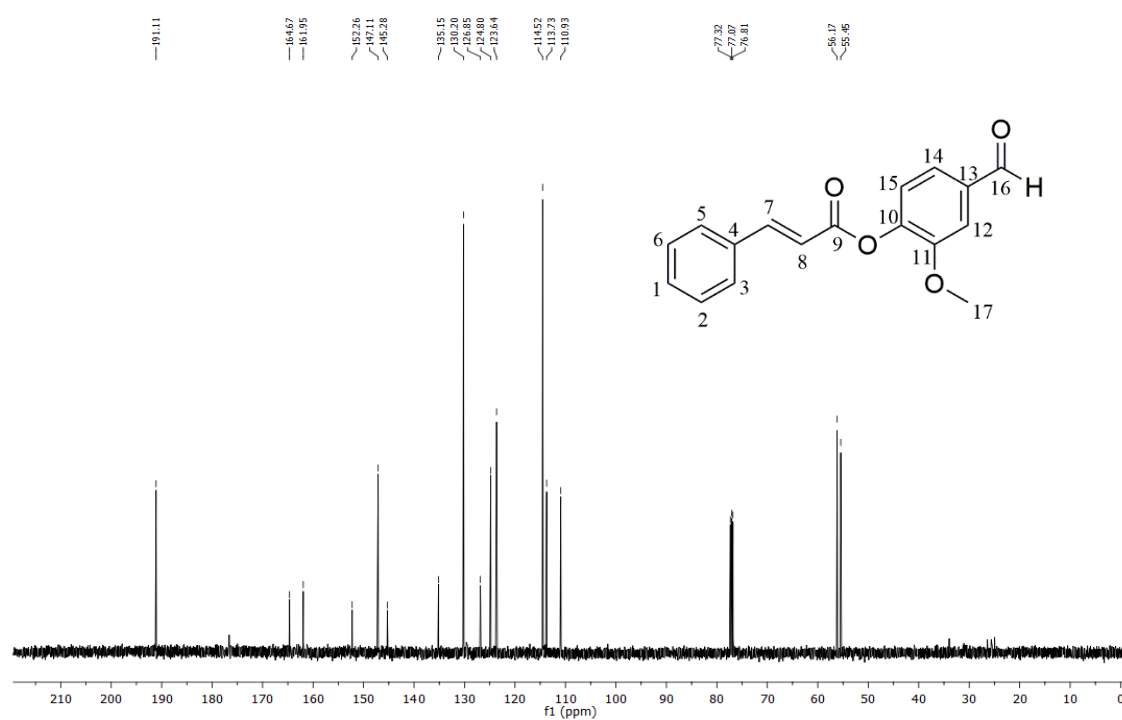
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 94 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (**MA-7**)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 95 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 4-formil-2-metoxifenila (**MA-7**)

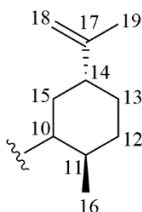


Fonte: elaborado pelo autor.

5.5.3.10 Caracterização do cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**CA-8**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**)

Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Fig. 87 pág. 88, 99 e 100 na pág. 89, 101 pág. 90), dos compostos **CA-8** e **MA-8** observou-se os sinais característicos referente aos fragmentos cinamato e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato, relatados nos itens 5.5.3.1 (pag. 56) e 5.5.3.2 (pag. 58). Tendo o fragmento *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila em comum em suas estruturas química (Fig. 96).

Figura 96 – Fragmento molecular do *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila



Fonte: elaborado pelo autor.

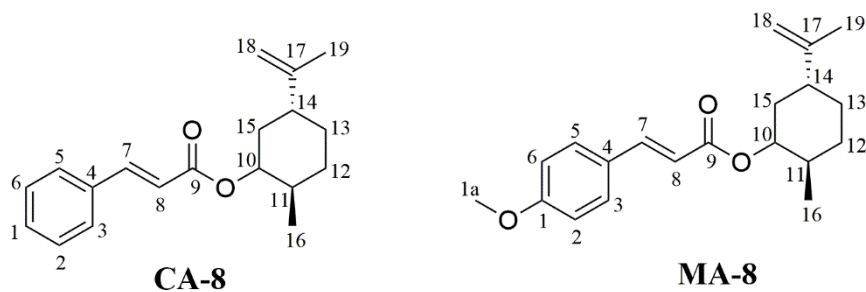
Na linha espectral de RMN de ^1H , há presença de um sinal na região de hidrogênio (H-18) ligado a carbono olefínico, sendo um em δ_H 4,71 ppm em forma de simpleto largo. Os sinais em δ_H 1,65 e 0,97 ppm, corresponde aos átomos de hidrogênio da metila (H-19 e H-16), em forma de um simpleto, respectivamente. Os demais hidrogênio H-11, H-12, H-13, H-14 e H-15, aparecem como multipeto na faixa espectral entre 2,15 a 1,19 ppm.

Os espectros de RMN ^{13}C revelou a presença de oito linhas espectrais para o fragmento *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila, sendo o sinal aproximado em δ_C 78,8, correspondente ao átomo de carbono (C-10) oxigenado. A análise dos espectros foi possível observar dois sinais para carbonos olefínicos, sendo um de C (C-17) em δ_C 149,1 ppm, e o outro sinal de CH_2 (C-18) próximos em δ_C 109,0 ppm. Além disso, possibilitou observar três carbonos metilênicos (CH_2), aproximadamente em δ_C 33,3 (C-12), 31,1 (C-13) e 37,2 (C-15) ppm, e dois carbono metílico (CH_3) (C-19 e C-16) próximo em δ_C 21,1 e 18,5 ppm.

O exame dos dados espectroscópicos de IV (Fig. 17 pág. 42 e 25 pág 46), RMN de ^1H e ^{13}C e espectrométrico de HRMS (Tabela 1 na pág. 47), confirmaram a formação dos produtos esterificados: cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**CA-8**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**),

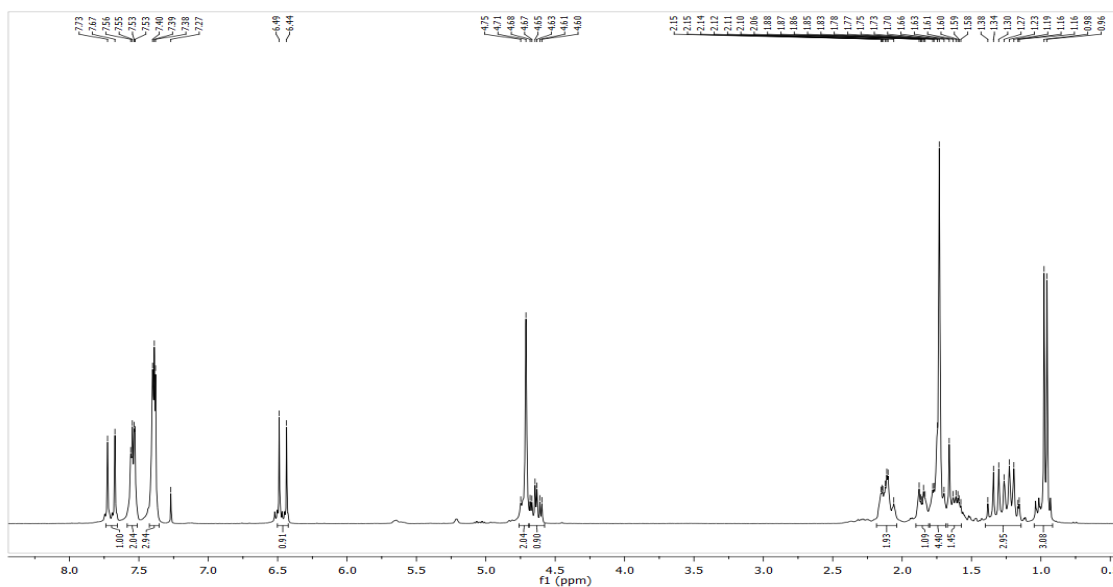
cuja as estruturas são mostradas na figura 97.

Figura 97 – Estrutura química do cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**CA-8**) e (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**)



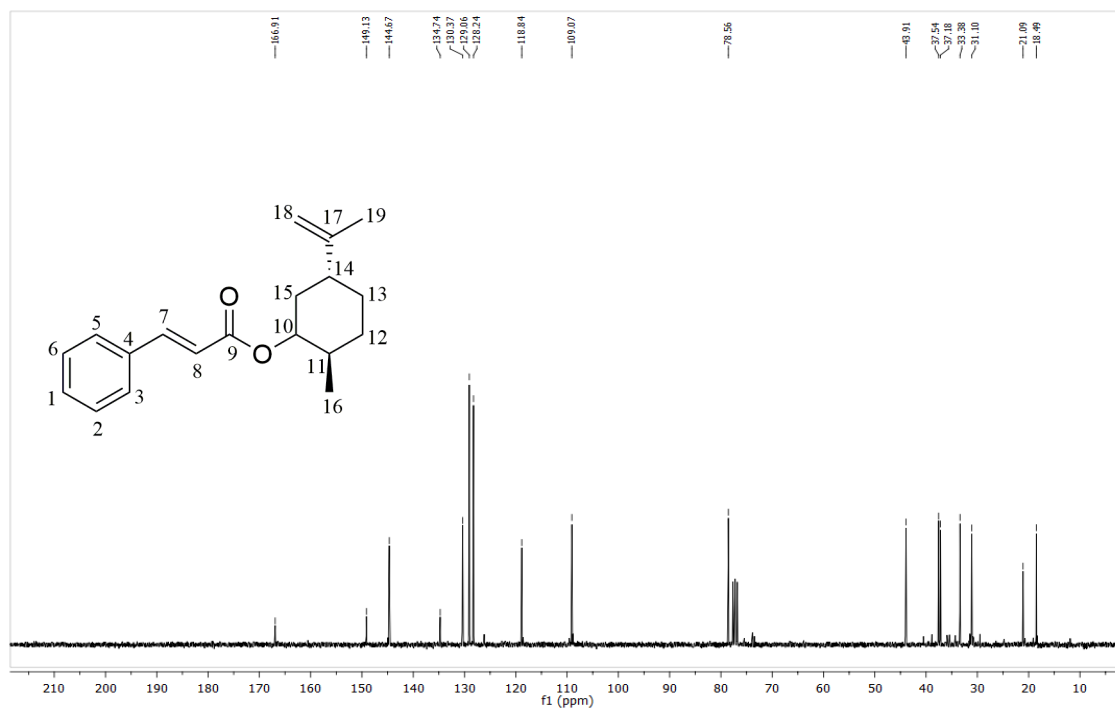
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 98 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**CA-8**)



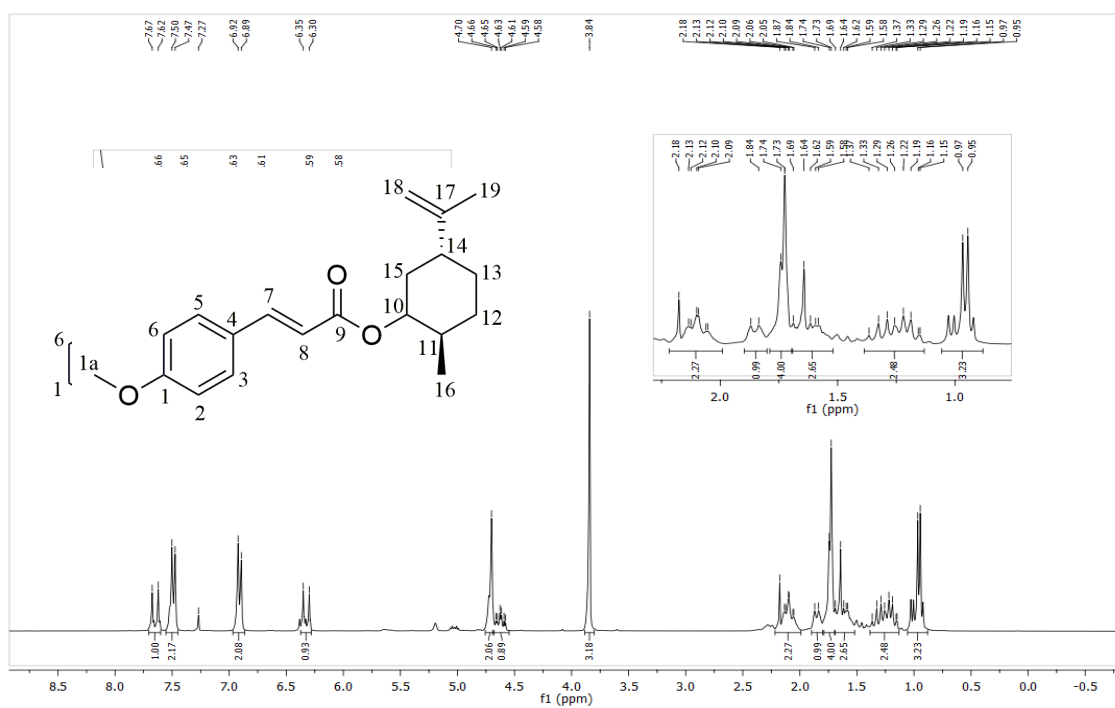
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 99 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do cinamato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**CA-8**)



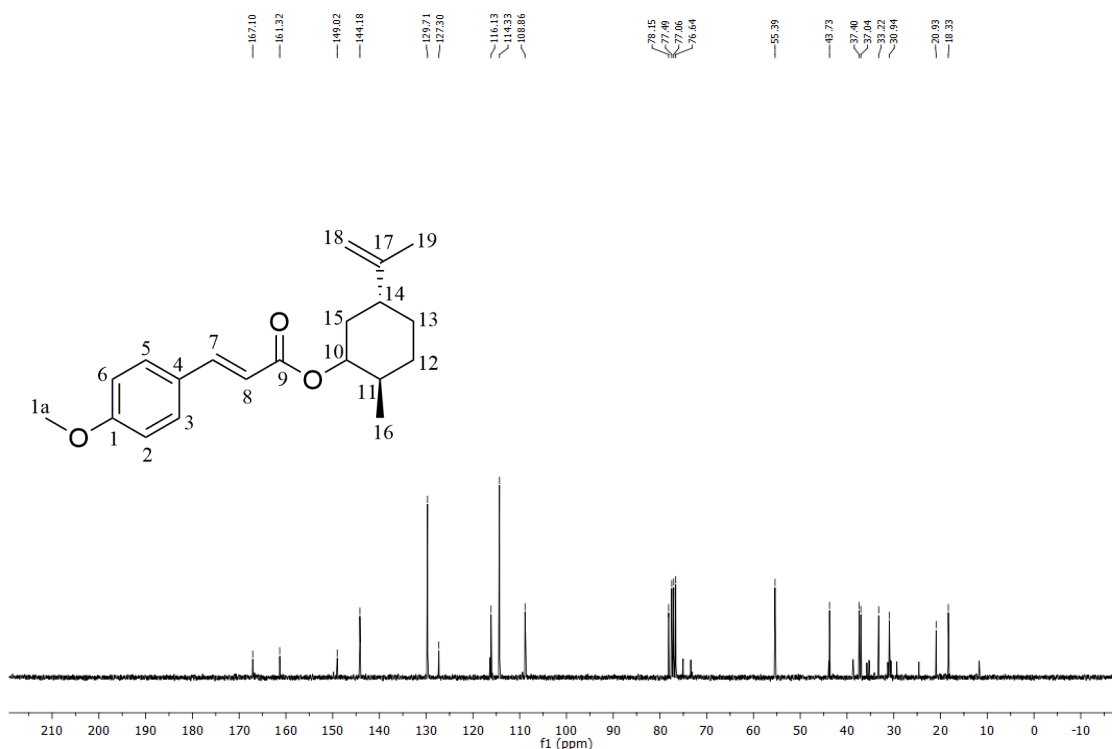
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 100 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**)



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 101 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de *rac*-(2*R*, 5*R*)-2-metil-5-(prop-1-en-2-il)ciclohexila (**MA-8**)



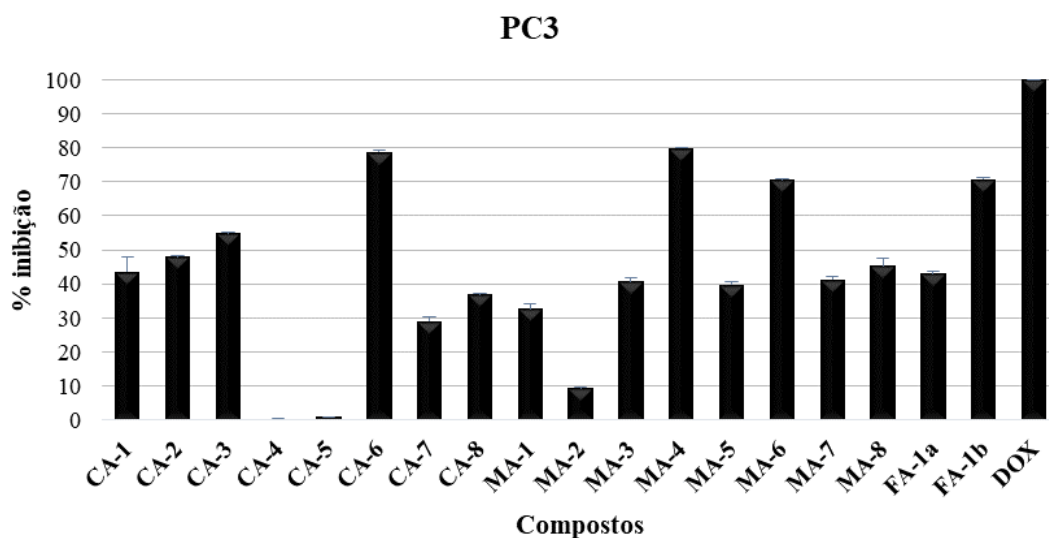
Fonte: elaborado pelo autor.

5.6 Avaliação da atividade citotóxica *in vitro* dos composto em linhagens de células tumorais humanas

Neste estudo, a série de ésteres sintetizados foi avaliada quanto à atividade antiproliferativa em um conjunto de linhagens celulares. O ensaio MTT foi empregado para medir a citotoxicidade em quatro linhagens celulares cancerígenas humanas, astrocitoma (SNB-19), carcinoma de cólon - humano (HCT-116), próstata (PC3) e leucemia promielocítica (HL60). Além disso, os compostos que se mostraram promissores foram testados frente a linhagem de célula saudável fibroblasto murinho (L929). A doxorubicina (DOX) foi utilizada como controle positivo para esses ensaios. Inicialmente, os dezoitos compostos passaram por um análise utilizado no programa de triagem do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (NCI) (SKEHAN *et al.*, 1990), que permite definir facilmente a citotoxicidade das substâncias testadas. Uma escala de intensidade foi usada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas; sendo consideradas amostras pouco ativas (inibição do crescimento celular 1-50%), moderada (inibição do crescimento celular 50-75%) e alta atividade (inibição do crescimento 75-100%) (SOUZA, *et al.*, 2016; GUEDES, *et al.*,

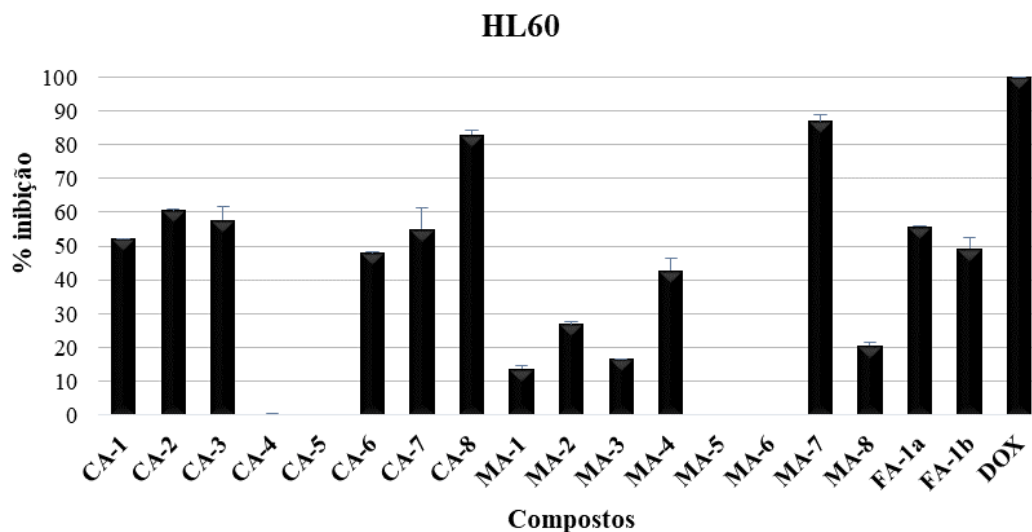
2018). Os resultados foram resumidos nos gráficos 1, 2, 3 e 4; e os compostos que apresentaram a porcentagem de inibição acima de 70% foi realizado avaliação da concentração inibitória média (IC₅₀).

Gráfico 1 - Porcentagem de inibição do crescimento celular (% IC) do conjunto de substâncias contra linha celular PC3 (próstata). Valores são médias \pm desvio padrão.



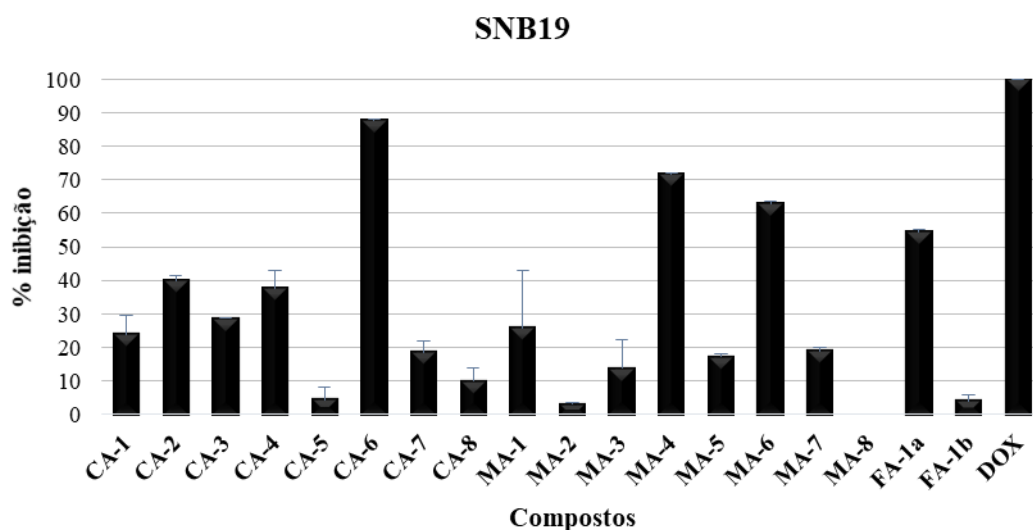
Fonte: elaborado pelo autor.

Gráfico 2 - Porcentagem de inibição do crescimento celular (% IC) do conjunto de substâncias contra linha celular HL60 (leucemia promielocítica). Valores são médias \pm desvio padrão.



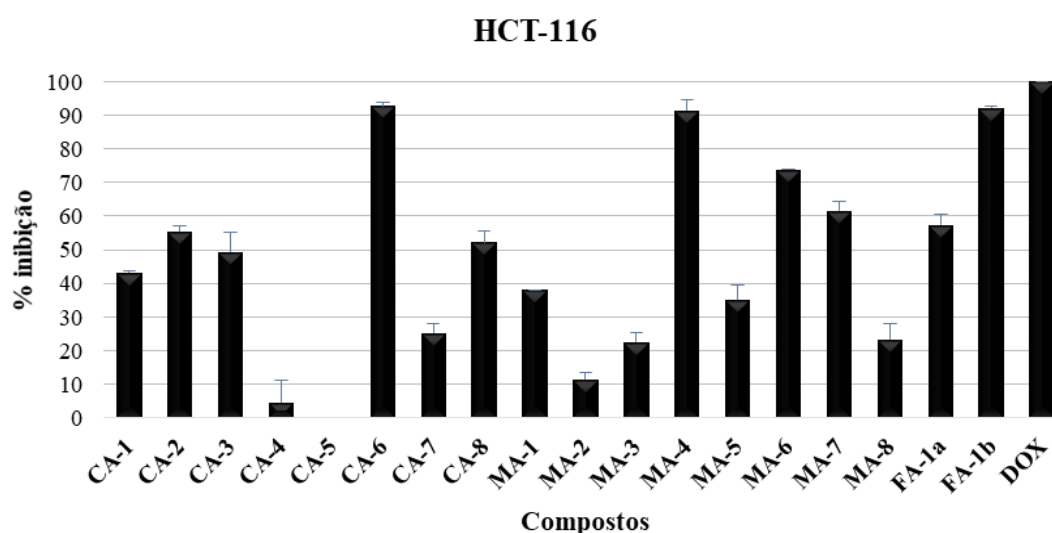
Fonte: elaborado pelo autor.

Gráfico 3 - Porcentagem de inibição do crescimento celular (% IC) do conjunto de substâncias contra linha celular SNB19 (astrocitoma). Valores são médias \pm desvio padrão.



Fonte: elaborado pelo autor.

Gráfico 4 - Porcentagem de inibição do crescimento celular (% IC) do conjunto de substâncias contra linha celular HCT-116 (carcinoma de cólon – humano). Valores são médias \pm desvio padrão.



Fonte: elaborado pelo autor.

Com base na triagem inicial, os compostos **CA-6**, **CA-8**, **MA-4**, **MA-6**, **MA-7** e **FA-1b** mostraram propriedades medicinais promissoras por sua citotoxicidade, apresentando $>$ 70% de inibição pelo menos em uma das linhagens celulares de câncer testadas. Para o

restante dos compostos, os resultados não foram satisfatórios, com o valor $< 70\%$ de inibição (> 77 ou $\gg 77 \mu\text{M}$). Portanto, com base nestes resultados, os compostos com a porcentagem de inibição acima de 70% foi realizado avaliação da concentração inibitória média (IC_{50}), listados na tabela 6.

Tabela 6 – Valores de IC_{50} (μM) dos compostos **CA-6**, **CA-8**, **MA-4**, **MA-6**, **MA-7** e **FA-1b** em linhas celulares tumorais e não tumorais com intervalo de confiança de 95% .

Compostos	IC_{50} (μM)				
	HL60	SNB19	HCT-116	PC3	L929
CA-6	$> 89^b$	$38,3 \pm 11,3$	$23,2 \pm 3,5$	$49,0 \pm 5,9$	$32,5 \pm 21,4$
CA-8	$25,2 \pm 3,0$	$> 88^b$	$> 88^b$	$> 88^b$	$> 88^b$
MA-4	$> 84^b$	$42,1 \pm 14,2$	$16,2 \pm 6,3$	$41,9 \pm 7,9$	$> 84^b$
MA-6	$> 80^b$	$> 80^b$	$29,3 \pm 7,5$	$68,1 \pm 3,6$	$> 80^b$
MA-7	$79,8 \pm 16,4$	$> 80^b$	$> 80^b$	$> 80^b$	$> 80^b$
FA-1b	$> 77^b$	> 77	$15,3 \pm 1,6$	$67,4 \pm 18,1$	$> 77^b$
DOX^a	$0,01 \pm 0,009$	$3,8 \pm 0,6$	$0,35 \pm 0,09$	$1,4 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,27$

Fonte: elaborado pelo autor.

^a Doxorubicina foi usada como controle positivo.

^b A inibição da proliferação não excedeu 50% na concentração mais alta testada.

Conforme é mostrado na tabela 6, para a linhagem celular câncer de cólon (HL60), o composto **CA-8** ($\text{IC}_{50} = 25,2 \mu\text{M}$) apresentou atividade anticâncer notável. Os compostos **CA-8** e **MA-4** mostraram atividade inibidora moderada na linhagem astrocitoma (SNB19) com valores de IC_{50} de $38,3$ e $42,1 \mu\text{M}$, respectivamente. Para as células de carcinoma de cólon humano (HCT-116), os compostos **FA-1b** e **MA-7** expressaram a melhor atividade anticâncer inibidora com valores IC_{50} de $15,38$ e $16,2 \mu\text{M}$, respectivamente, e os compostos **CA-5** ($\text{IC}_{50} = 23,2 \mu\text{M}$) e **MA-6** ($\text{IC}_{50} = 29,3 \mu\text{M}$) exibiram uma diminuição significativa de atividade antiproliferativa. Para as células cancerígenas de próstata (PC3), as atividades antitumorais dos compostos **MA-4**, **CA-6**, **FA-1b** e **MA-6** apresentaram pouco potentes com valores de IC_{50} $41,9$, $49,0$, $67,4$ e $68,1 \mu\text{M}$, respectivamente. Todos os compostos apresentaram valores de IC_{50} superiores com relação a doxorubicina em todas as linhagens. Com relação à citotoxicidade dos compostos contra a linhagem celular não tumoral (L929), as amostras apresentaram $\text{IC}_{50} > 77 \mu\text{M}$, demonstrando que as amostras apresentam baixa citotoxicidade contra linhagens celulares não tumorais. Com exceção do composto **CA-6**, que apresentou atividade inibitória contra as células L929 com valores IC_{50} de $32,5 \mu\text{M}$.

O composto **MA-4** verificou-se o mais potente, apresentando atividade nas linhas celulares cancerígenas SNB19, HCT-116 e PC3, identificando-o com uma liderança promissora em estudos futuros. Vale ressaltar que o composto **FA-1b** expressou um potencial de inibição contra a linhagem HCT-116, com o menor valor de IC₅₀. É importante relatar que a maioria dos compostos investigados apresentaram a maior atividade em relação às células HCT-116. Em contra partida, as células HL60 mostraram-se mais resistentes aos compostos testados (maior valores IC₅₀).

A comparação entre a atividade em relação às linhagens celulares neoplásica e as células normais (L929) foi feita para calcular o Índice de Seletividade (SI), como uma indicação do potencial da utilização dos compostos para futuros testes clínicos. Idealmente, o medicamento deve matar apenas as células cancerígenas dos pacientes sem afetar significativamente as células saudáveis. O SI é considerado significativo àquele que apresenta um valor maior ou igual a 2,0, isto é, este valor significa que o composto apresenta atividade duas vezes nas linhagens de células neoplásicas do que em células normais (HOSTETTMANN, 1991). Para os compostos **CA-6**, **CA-8**, **MA-4**, **MA-6**, **MA-7** e **FA-1b** foi calculado o índice de seletividade (SI), expressos na tabela 7.

Tabela 7 - Valores do índice de seletividade (SI) dos compostos testados. O SI foi calculado para cada composto utilizando a fórmula: $SI = IC_{50} \text{ células normais} / IC_{50} \text{ das respectivas células cancerígenas}$

Composto	SI			
	HL60	SNB19	HCT-116	PC3
CA-6	-	0,84	1,4	0,7
CA-8	- ^a	-	-	-
MA-4	-	- ^a	- ^a	- ^a
MA-6	-	-	- ^a	- ^a
MA-7	- ^a	-	-	-
FA-1b	-	-	- ^a	- ^a

Fonte: elaborado pelo autor.

^aÍndice de seletividade não foi possível ser calculado nas linhagens testadas devido as substâncias não ter apresentado CI₅₀ calculável para a linhagem não tumoral (IC₅₀ > 77 µM).

Para todas as linhagens testadas, os valores de SI > 2 demonstrando que os compostos são seletivo entre as células neoplásicas e normais. Combinando o IS com a atividade antiproliferativa, as substâncias tornam-se candidatos a fármacos para estudos futuros. Entretanto, uma exceção notável foi o composto **CA-6**, com valores de SI 0,84, 1,4 e 0,7 para as linhagens SNB19, HCT-116 e PC3, mutuamente. É importante observar que o composto

CA-6 apresentou uma alta toxicidade, inibindo preferencialmente as células normais do que as neoplásticas SNB19 e PC3.

Com base nos resultados dos testes *in vitro*, observou-se que a atividade anticâncer, na maioria dos compostos, está relacionada a presença de certos substituintes nas frações cinamato e álcool dos respectivos ésteres. Assim, comparando os derivados **CA-1 – 8** com **MA-1 – 8**, os compostos **MA-4**, **MA-6** e **MA-7** contendo o substituinte *p*-metoxi na parte cinamato, mostraram-se mais ativos que os análogos **CA-4**, **CA-6** e **CA-7**, que não têm o grupo mencionado. Esses dados obtidos foram apoiados com os resultados da literatura (YANG *et al.*, 2009; YAN *et al.*, 2015; XU *et al.*, 2016), nos quais observou-se o mesmo comportamento com a adição do grupo. Entretanto, comportamento contrário foi observado no composto **CA-8** em comparação com seu análogo **MA-8**, onde demonstrou atividade citotóxica na linhagem celular HL60.

Os compostos **FA-1a** e **FA-1b** que apresentam um grupo metóxi (*m*-OCH₃) e uma hidroxila (*p*-OH) no anel fenila, aumentaram a citotoxicidade na linhagem celular HCT-116, em comparação com seus análogos **MA-5**, **CA-5** e **MA-6**, **CA-6**, respectivamente. Além disso, o composto **FA-1a** também apresentou um aumento em média de 40% nas demais linhagens testadas, com relação ao composto **MA-5** (Gráficos 1-4, nas pág. 91, 92 e 93). O composto **CA-6** análogo aos compostos **MA-6** e **FA-1b**, apresentou atividade citotóxica nas células SNB19, HCT-116 e PC3 e também em células normais (L929) (Tabela 6 na pág. 93), não sendo seletivo. Entretanto, o composto **MA-6** apresentou um aumento significativo na citotoxicidade das linhagens celulares SNB19, HCT-116 e PC3, e sendo inativo na linhagem HL60, ele demonstrou ser seletivo sendo inativo nas células normais (L929). O composto **FA-1b** também mostrou ser seletivo e apresentou uma citotoxicidade significativa na linhagem HCT-116. Desta forma, a mudança de substituintes no anel aromático também pode afetar a atividade citotóxica e a seletividade.

Sova *et al* (2013) em seus estudos, comparou o efeito do anel fenila e do ciclohexila na porção alcoólica do éster. O derivado cinamato de (*E*)-fenila inibiu o crescimento das linhagens celulares HeLa (adenocarcinoma do colo de útero), K562 (leucemia mielóide), Fem-x (melanoma maligno) e MCF-7 (câncer de mama), com IC₅₀ de 75,6 ± 12 µM, 52,6 ± 3 µM, 69,0 ± 4 µM e 58,6 ± 4 µM, respectivamente, apresentando efeitos citotóxicos superiores ao derivado cinamato de (*E*)-ciclohexila, com IC₅₀ > 180 µM em todas as células. Comportamento semelhante foi observado nos derivados relatados neste trabalho, comprovando que o anel aromático é um grupo extremamente importante para o desing e

descoberta de novos cinamatos como agentes anticâncer. Dentre os derivados do ácido cinâmico (**CA**), caso interessante a ser observado é o composto **CA-8**, que tem um grupo cinamoíla ciclohexila com substituintes nas posições 2 (metila) e 5 (isopropenila), onde apresentou boa atividade na linhagem HL60. Com base nisso, apenas a porção ciclohexila não teve uma boa atividade, mas quando o anel apresenta um padrão de substituição o composto torna-se biologicamente ativo.

As relações estrutura-atividade dos derivados do ácido cinâmico (**CA**) demonstraram que o grupo metila na posição R₃ e isopropila na R₁ no composto **CA-6**, são responsáveis pela atividade em nas linhagens celulares testadas (SNB19, HCT-116 e PC3). Entretanto, quando os substituintes estão em posições invertidas, no caso do derivado (**CA-5**), o mesmo torna-se inativo, ou seja, essa diferença de substituição é um dos fatores essenciais para o composto apresentar uma boa atividade citotóxica.

Considerando o efeito da estrutura α , β -insaturado no ácido cinâmico, estudos realizados por Reta *et al* (2012), comparou os compostos (E)-3-(3,4-di-hidroxifenil)acrilato de metila (α , β -insaturado) e 3-(3,4-di-hidroxifenil)propanoato de metila (α , β -saturado), onde observa-se que o composto α , β -insaturado contribui positivamente para a atividade biológica nas células de câncer de mama (T-47D) e cólon (WiDr), com valores de IC₅₀ 64 e 59 μ M, respectivamente, sendo que o composto α , β -saturado foi inativo. Isto indicou que a porção molecular α , β -insaturada desempenhou um papel importante na atividade antitumoral, hipótese essa consistente com a literatura (XU *et al.*, 2016). Essa fração da estrutura química do éster pode ser considerada um aceitador de Michael, sendo um grupo farmacofórico frequentemente empregado no design de medicamentos anticâncer (MULLINER; WONDROUSCH; SCHÜÜRMAN, 2011).

Estudos envolvendo o ácido cinâmico (**CA**) revelaram-no como alvo de inibição em várias linhas celulares de câncer se dá por meio da ação inibitória na síntese do DNA das células em crescimento (NIERO; MACHADO-SANTELLI, 2013). No geral, dados indicam que derivados do ácido cinâmico (**CA**) inibem o crescimento celular por indução seletiva da morte celular e interrupção do ciclo (IMAI *et al.*, 2019; SOVA *et al.*, 2013; ALMEER *et al.*, 2018; UESAWA *et al.*, 2018). Deste modo, ação inibitória dos compostos que demonstraram atividade frente as células cancerígenas neste trabalho, sugere envolver a inibição na síntese do DNA ocasionando uma interrupção do ciclo celular.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, foram sintetizados 18 novos ésteres através da esterificação de Stiglich, apresentando uma rota sintética curta, fácil de sintetizar, purificar e com rendimentos bons em um curto período de tempo. O ensaio MTT mostra que as atividades dos compostos com anel aromático na fração cinamoíla, são mais ativos do que os ciclohexila. Através desses estudos, descobriu-se que os compostos (E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de 3-metoxibenzila (**MA-4**), (E)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilato de 2-isopropil-5-metilfenil (**FA-1b**) e cinamato de 2-isopropil-5-metilfenila (**CA-5**) mostraram boa atividade citotóxica e seletividade contra as células normais (L929).

Esta pesquisa indica que os derivados do ácido cinâmico testados representam bom desempenho de partida para o desenvolvimento no sentido de candidatos a medicamentos antineoplásicos, trazendo novas perspectivas para as substâncias naturais estruturalmente modificadas em estudo, contribuindo para o conhecimento e elaboração de novos compostos bioativos, mais eficazes contra o câncer.

REFERÊNCIAS

- ALMEER, Rafa S.; AREF, Ahmed M.; HUSSEIN, Romisa A.; OTHMAN, Mohamed S.; ABDEL MONEIM, Ahmed E. Antitumor potential of berberine and cinnamic acid against solid ehrlich carcinoma in mice. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 356–364, 2018.
- CARREIRAS, Maria do Carmo; MARCO-CONTELLES, José. **Heterocyclic targets in advanced organic synthesis**. 2. ed. India: Kerala, 2011.
- BIORAD: **Infrared spectral data from the Bio-Rad**. Califórnia, 2020. Disponível em: <https://www.bio-rad.com>. Acesso em: 24 de jul. de 2020.
- BILLEK, G. **Biosynthesis of Aromatic compounds**. 2. ed. Vienna: Pergamon, 1965.
- CAREY, Francis A; SUNDBERG, Richard J. **Advanced organic chemistry: part A: structure and mechanisms**. 5. ed. Charlottesville: Springer Science & Business Media, 2007.
- EDREVA, Aglika. The importance of non-photosynthetic pigments and cinnamic acid derivatives in photoprotection. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 106, p. 153-46, 2005.
- FERREIRA, Paula M. T.; ALVES, Maria José; MAIA, Hernâni L. S.; MONTEIRO, Luís S.; GILCHRIST, Thomas L. Novel aziridine esters by the addition of aromatic nitrogen heterocycles to a 2*H*-azirine-3-carboxylic ester. **Tetrahedron Letters**, v. 41, p. 4991-4995, 2000.
- FORERO-DORIA, Oscar; ARAYA-MATURANA, Ramiro; BARRIENTOS-RETAMAL, Anggela; MORALES-QUINTANA, Luis; GUZMÁN, Luis. *N*-alkylimidazolium salts functionalized with *p*-coumaric and cinnamic acid: a study of their antimicrobial and antibiofilm effects. **Molecules**, v. 24, p. 3484-3497, 2019.
- GRAF, Ernst. Antioxidante potencial of ferulic acid. **Free Radical in Biology and Medicine**, v. 13, p. 435-448, 1992.
- GUEDES, Jhonyson Arruda Carvalho; FILHO, Elenilson de Godoy Alves; RODRIGUES, Tigressa Helena Soares; SILVA, Maria Francilene Souza; SOUZA, Fernanda Vidigal Duarte; SILVA, Lorena Mara Alexandre; ALVES, Ricardo Elesbão; CANUTO, Kirley Marques; BRITO, Edy Sousa; PESSOA, Cláudia do Ó; NASCIMENTO, Ronaldo Ferreira; ZOCCOLO, Guilherme Julião. Metabolic profile and cytotoxicity of non-polar extracts of pineapple leaves and chemometric analysis of different pineapple cultivars. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 466–474, 2018.
- HOSTETTMANN, Kurt. **Methods in plant biochemistry: assays for bioactivity**. 6. ed. London: Academic Press, 1991.
- HRAZDINA, Geza. Plant polyphenols: synthesis, properties, Significance. *In*: HEMINGWAY, Richard W., LAKS, Peter E (Ed). **Plant polyphenols**. New York: Plenum Press, 1992. p. 61-72.

HUDSON, E. Ann, DINH, P. Anh, KOKUBUN, Tetsuo, SIMMONDS, Monique S. J., GESCHER, Andreas. Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 9, p. 1163-1170, 2000.

IMAI, Masahiko; YOKOE, Hiromasa; TSUBUKI, Masayoshi; TAKAHASHI, Noriko. Growth inhibition of human breast and prostate cancer cells by cinnamic acid derivatives and their mechanism of action. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, p. 1134–1139, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. Mídia Center. INCA, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>. Acesso em: 07 de setembro de 2020, 12:54.

KASSETTI, Ramesh Babu; NABI, Shaik Abdul; SWAPNA, Sirasangandla; APPARAO, Chippada. Cinnamic acid as one of the antidiabetic active principle(s) from the seeds of *Syzygium alternifolium*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 1425–1431, 2012.

KIM, So Ra; SUNG, Sang Hyun; JANG, Young Pyo; MARKELONIS, George J; OH, Tae H; KIM, Young Choong. E-*p*-methoxycinnamic acid protects cultured neuronal cells against neurotoxicity induced by glutamate. **British Journal of Pharmacology**, v. 135, p. 1281-1291, 2002.

KNITTEL, D.; HEMETSBERGER, H.; WEIDMANN, H. Synthese von 1,3-diaryl-3-azido-propenonen (α -azidochalkonen). **Monatshefte für Chemie**, v. 101, p. 157–160, 1970.

LAI, Fangfang; SHEN, Zhengwei; WEN, Hui; CHEN, Jialing; ZHANG, Xiang; LIN, Ping; YIN, Dali; CUI, Huaqing; CHEN, Xiaoguang. A morphological identification cell cytotoxicity assay using cytoplasm-localized fluorescent probe (CLFP) to distinguish living and dead cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 482, n. 2, p. 257–263, 2017.

LEBEDEVA, Maria A.; CHAMBERLAIN, Thomas W.; SCHRÖDER, Martin; KHLOBYSTOV, Andrei N. An efficient route to the synthesis of symmetric and asymmetric diastereomerically pure fullerene triads. **Tetrahedron**, v. 68, p. 4976-4985, 2012.

LEE, Eun Ju; KIM, So Ra; KIM, Jinwoong; KIM, Young Choong. Hepatoprotective phenylpropanoids from *Scrophularia buergeriana* roots against CCl₄ - induced toxicity: action mechanism and structure-activity relationship. **Planta Medica**, v. 68, p. 407-441, 2002.

LEWINSKI, Nastassja; COLVIN, Vicki; DREZEK, Rebekah. Cytotoxicity of nanoparticles. **Small**, v. 1, n. 1, p. 26–49, 2008.

LIU, Lei; HUDGINS, W. Robert; SHACK, Sonsoles; YIN, Mu Quan; SAMID, Dvorit. Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention. **International Journal of Cancer**, v. 62, p. 345-350, 1995.

SOVA, Matej. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. **Mini-Reviews Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 749–767, 2012.

MAHAJAN, Rajesh Prabhakar; PATIL, Ulhas K.; PATIL, Shamkant L. A facile microwave assisted synthesis and antimicrobial activities of naturally occurring (E)-cinnamyl cinnamates and (E)-aryl cinnamates. **Indian Journal of Chemistry**, v. 39, p. 1459–1465, 2008.

MALHEIRO, Joana F.; MAILLARD, Jean-Yves; BORGES, Fernanda; SIMÕES, Manuel. Evaluation of cinnamaldehyde and cinnamic acid derivatives in microbial growth control. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 141, p. 71–78, 2019.

MANCUSO, Cesare; SANTANGELO, Rosaria. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 185–195, 2014.

MULLINER, Denis; WONDROUSCH, Dominik; SCHÜÜRMAN, Gerrit. Predicting Michael-acceptor reactivity and toxicity through quantum chemical transition-state calculations. **Organic Biomolecule Chemistry**, v. 9, p. 8400–8412, 2011.

NEISES, Bernhard; STEGLICH, Wolfgang. Simple method for the esterification of carboxylic acids. **Angewandte Chemie International edition**, v. 17, p. 522–524, 1978.

NEWMAN, David J; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 629–661, 2016.

NIERO, Evandro Luís de Oliveira; MACHADO-SANTELLI, Gláucia Maria. Cinnamic acid induces apoptotic cell death and cytoskeleton disruption in human melanoma cells. **Journal of Experimental and Clinical Cancer Research**, v. 32, p. 31–45, 2013.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S.; VYVYAN, James R. **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

REBEK, Julius; FEITLER, David. Improved method for the study of reaction intermediates. Mechanism of peptide synthesis mediated by carbodiimides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 95, p. 4052–4053, 1973.

RETA, Guillermo F.; TONN, Carlos E.; RÍOS-LUCI, Carla; LEÓN, Leticia G; PÉREZ-ROTH, Eduardo; PADRÓN, José M.; DONADEL, Osvaldo J. Cytotoxic bioactivity of some phenylpropanoic acid derivatives. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 10, p. 1341–1346, 2012.

ROGERO, Sizue Ota; LUGÃO, Ademar Benévolo; IKEDA, Tamiko Ichikawa; CRUZ, Áurea Silveira. Teste *in vitro* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317–320, 2003.

ROY, Patrick; BOISVERT, Michel; LEBLANC, Yves; KURAMOCHI, Akiyoshi. Preparation of substituted 5-azaindoles: methyl 4-chloro-1h-pyrrolo[3,2-c]pyridine-2-carboxylate. **Organic Synthesis**, v. 84, p. 262, 2007.

SANGI, Diego Perreira. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**, v. 39, p. 1–12, 2016.

SANTOS, Marcell de Oliveira. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil. **Revista Brasileira Cancerol**, v. 64, n. 1, p. 119–20, 2018.

SECK, Rokhyatou; MANSALY, Malamine; GASSAMA, Abdoulaye; CAVÉ, Christian; COJEAN, Sandrine. Synthesis and antimalarial activity of cinnamic acid derivatives. **European Journal of Biomedical and Pharmaceutical sciences**, v.10, p. 1–8, 2018.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2007.

SKEHAN P; STORENG R; SCUDIERO D; MONKS A; MCMAHON J; VISTICA D; WARREN JT; BOKESCH H; KENNEY S; BOYD MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, p. 1107–1112, 1990.

SOUZA, Luciana Gregorio da Silva; ALMEIDA, Macia CS; LEMOS, Telma Leda Gomes; RIBEIRO, Paulo Riceli; BRITO, Edy Sousa; SILVA, Vera Lucia Marques; SILVA, Artur MS; BRAZ-FILHO, Raimundo; COSTA, José GM; RODRIGUES, Fábio FG; BARRETO, Francisco Stefano; MORAES, Manoel O. de. Synthesis, antibacterial and cytotoxic activities of new biflorin-based hydrazones and oximes. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, p. 435–439, 2016.

SOVA, Matej; ŽIŽAK, Željko; STANKOVIĆ, Jelena A Antic; PRIJATELJ, Matevž; TURK, Samo; JURANIĆ, Zorica D; MLINARIČ-RAŠČAN, Irena; GOBEC, Stanislav. Cinnamic acid derivatives induce cell cycle arrest in carcinoma cell lines. **Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 633–641, 2013.

STIERLE, Andrea. Review of cancer inhibitors from chinese natural medicines cancer inhibitors from chinese natural medicines. **Journal of Natural Products**, v. 81, p. 1125–1126, 2018.

STRACK, D. Phenolic metabolismo. **Plant Biochemistry**. London: Academic Press. 1997, p.387-416.

STRACK, D. Phenolic metabolism. *In*: DEY, P. M., HARBORNE, J. B. (Ed.). **Plant Biochemistry**. London: Academic Press, 1997. p. 387-416.

SILVA, Ana Teresa; BENTO, Clara M; PENA, Ana C; FIGUEIREDO, Luísa M; PRUDÊNCIO, Cristina; AGUIAR, Luísa; SILVA, Tânia; FERRAZ, Ricardo; GOMES, Maria Salomé; TEIXEIRA, Cátia; PAULA Gomes. Cinnamic acid conjugates in the rescuing and repurposing of classical antimalarial drugs. **Molecules**, v. 25, n.1, p. 66-81, 2020.

SU, Ping; SHI, Yaling; WANG, Jinfeng; SHEN, Xiuxiu; ZHANG, Jie. Anticancer agents derived from natural cinnamic acids anticancer. **Agents Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 980–987, 2015.

THIMANN, K. V. The auxins. *In*: Wilkins, M. B (Ed.). **The physiology of plant growth and development**. London: McGraw-Hill Publishing Company Limited, 1969. p. 1–45.

UESAWA, Yoshihiro; SAKAGAMI, Hiroshi; OKUDAIRA, Noriyuki; TODA, Kazuhiro; TAKAO, Koichi; KAGAYA, Hajime; SUGITA, Yoshiaki. Quantitative structure-cytotoxicity relationship of cinnamic acid phenetyl esters. **Anticancer Research**, v. 38, n. 2, p. 817-823,

2018.

VINKEN, Mathieu; BLAAUBOER, Bas J. In vitro testing of basal cytotoxicity: establishment of an adverse outcome pathway from chemical insult to cell death. **Toxicology in Vitro**, v. 39, p. 104–110, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Media Centre**. WHO, 2020. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. Acesso em: 07 de julho de 2020, 13:14.

XU, Cang-Cang; DENG, Ting; MENG-LIN, Ventilador; LV, Wen-Bo; LIU, Ji-Hua; YU, Bo-Yang. Synthesis and in vitro antitumor evaluation of dihydroartemisinin-cinnamic acid ester derivatives. **European Journal Medicinal Chemistry**, v. 107, p. 192–203, 2016.

YAN, Jun; GUO, Yueyan; WANG, Yali; MAO, Fei; HUANG, Ling; LI, Xingshu. Design, synthesis, and biological evaluation of benzoselenazole-stilbene hybrids as multi-target-directed anti-cancer agentes. **European Journal Medicinal Chemistry**, v. 95, p. 220–229, 2015.

YANG, Xuelin; WANG, Wei; TAN, Jun; SONG, Dandan; LI, Ming; LIU, Dan; JING, Yongkui; ZHAO, Linxiang. Synthesis of a series of novel dihydroartemisinin derivatives containing a substituted chalcone with greater cytotoxic effects in leukemia cells. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, p. 4385–4388, 2009.

YUAN, Haidan; MA, Qianqian; YE, Li; PIAO, Guangchun. The traditional medicine and modern medicine from natural products. **Molecules**, v. 21, p. 559- 578, 2016.

ZHAO, Lin; ZHANG; Yingfeng, MA, Zichuan. Synthesis and application of ferulic acid. **Chinese Journal of Chemical Education**, v. 7, p. 5-7, 2009.