



SÍNTESE DE DERIVADOS PIRRÓLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Eduardo Barbieri

Projeto Final de Curso

Orientadores:

Prof^a Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.
Prof^a Bárbara Vasconcellos da Silva, D.Sc.
Prof^o Marco Antônio Lemos Miguel, D.Sc.

Dezembro de 2017

SÍNTESE DE DERIVADOS PIRRÓLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Eduardo Barbieri

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheiro Químico.

Aprovado por:

Prof^a Carla Reis de Araújo, D.Sc.
EQ-UFRJ

Prof^a Márcia Rosa de Almeida, D.Sc.
FAT-UERJ

Prof^a Sabrina Baptista Ferreira, D.Sc.
IQ -UFRJ

Orientadores:

Prof^a Selma Gomes Ferreira Leite
EQ-UFRJ

Prof^a Bárbara Vasconcellos da Silva
IQ -UFRJ

Prof^o Marco Antônio Lemos Miguel
IMPG-UFRJ

Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Dezembro de 2017

Ficha Catalográfica

Barbieri, Eduardo.

Síntese de derivados pirrólicos com potencial atividade antimicrobiana/Eduardo Barbieri. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2017.

vi, p. 179; il.

(Projeto Final) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2017.
Orientadores: Selma Gomes Ferreira Leite e Bárbara Vasconcellos da Silva e Marco Antônio Lemos Miguel.

1. Pirróis. 2. Síntese orgânica. 3. Antimicrobiano. 4. Projeto Final. (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Selma Gomes Ferreira Leite e Bárbara Vasconcellos da Silva e Marco Antônio Lemos Miguel. I. Título.

A todos os meus professores por terem me
permitido chegar até aqui.

"Empathy fuels connection, sympathy drives disconnection."

Brené Brown

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Bárbara, Marco e Selma, por sempre estarem dispostos a me ajudar, discutir espectros, paciência em responder inúmeros e-mails e até mesmo ir para a bancada comigo.

A professora Lidilhone Hamerski Carbonezi por ser a ponte entre a química orgânica e os ensaios biológicos, e por ter ajudado nos espectros de RMN.

Aos meus pais, José Valentin Brumatti Barbieri e Maria Luiza Goldner Barbieri e a minha irmã, Naiane Goldner Barbieri, por da maneira deles acreditarem em mim.

Ao Paulo Soares pela imensa ajuda em formatação no word e por me aguentar durante todos os momentos de estresse.

As minhas amigas de graduação Giovanna Ronzé, Nicole Figueiredo e Thais Anjos por toda o companheirismo durante a graduação na Escola de Química.

A todos os colegas do laboratório, Bianca Nascimento, Eduardo Mangefeste, Letícia Magalhães, Luan Duarte, Lucas Barros, Urbano Luiz, Raiane Lima e Vitor Boechat. E também a Iara da Silva Santos por todas as sessões de desabafo no laboratório sobre as dificuldades de síntese orgânica e de se trabalhar em equipe.

A equipe do Laboratório de Ressonância Magnética e do LARHCO ambos pertencentes ao IQ-UFRJ pelas análises de RMN e IV, respectivamente.

Aos profissionais Eliane Matos Fernandes, Thiago Marcellus e Brice Bradshaw por cuidarem da minha saúde mental.

Ao meu amigo Guilherme Rodrigues por no início da graduação ter sido fundamental para a minha adaptação ao Rio de Janeiro e também pelos estudos em grupo.

A professora Mairy Bitencourt por acreditar na minha capacidade durante todo o ensino médio.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho, como os funcionários do IQ e da secretaria da Escola de Química.

Finalmente, o meu mais sincero sentimento de gratidão a todos os meus professores desde o primário, por todos os ensinamentos, críticas, palavras de motivação e carinho.

Resumo do Projeto Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheiro Químico.

SÍNTESE DE DERIVADOS PIRRÓLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Eduardo Barbieri

Dezembro, 2017

Orientadores: Prof^a Selma Gomes Ferreira Leite
Prof^a Bárbara Vasconcellos da Silva
Profo Marco Antônio Lemos Miguel

Este trabalho relata a síntese de compostos pirrólicos com diferentes substituintes ligados ao anel aromático, como a variação do tamanho da cadeia alifática de ésteres, visando a aplicação como antimicrobiano. Para obtenção dos núcleos pirrólicos, primeiramente sintetizou-se β -cetoésteres a partir da reação de transesterificação de acetoacetato de etila ou metila com diferentes álcoois, utilizando zinco em pó ou sulfato de cobre como catalisador. Posteriormente, uma solução aquosa de nitrito de sódio foi adicionada ao acetoacetato de *tert*-butila e ácido acético glacial para gerar o 1-*tert*-butil-3-metil-2-(hidróxi-imino)malonato, o qual teve o grupo oxima reduzido a amina em reator pressurizado com hidrogênio na presença de ácido acético e do catalisador paládio em carvão 10% ou em zinco em pó e ácido acético. A amina gerada *in situ*, por sua vez, reagiu com os acetoacetatos de alquila, conduzindo aos pirróis 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-alquila com rendimentos que variaram entre 18 e 87%. O passo seguinte foi a remoção do grupo éster *tert*-butila em ácido clorídrico (10 M) e aquecimento, dando origem aos derivados 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de alquila em 76-79% de rendimento. Em outras condições (TFA a 0 °C) foi feita a hidrólise do grupo éster *tert*-butila, formando os ácidos 4-(alquila-carbonil)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílicos com rendimentos entre 39 e 63%. Os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN e IV e quando possível por ponto de fusão e CG-EM. A atividade antimicrobiana dos compostos sintetizados foi avaliada pelo método de difusão em poços, o qual revelou que os compostos pirrólicos sintetizados não apresentaram halo de inibição na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$ e contra cepas de leveduras, bactérias Gram-negativas e Gram-positivas.

ÍNDICE

I – INTRODUÇÃO	21
II - MOTIVAÇÕES E JUSTIFICATIVAS DO TRABALHO	23
III – OBJETIVOS	25
III.1 – OBJETIVO GERAL.....	25
III.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
IV – ROTA SINTÉTICA	26
V - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
V.1 - HETEROCICLOS ORGÂNICOS E A INDÚSTRIA FARMACÊUTICA.....	29
V.2 - PIRRÓIS	30
V.2.1 - Síntese de derivados pirrólicos	31
V.2.1.1 - Método de Paal-Knorr	31
V.2.1.2 - Método de Hantzsch	32
V.2.1.3 - Método de Knorr	33
V.2.1.4 - Reações multicomponentes.....	33
V.2.2 - Reações com pirróis	34
V.2.2.1 - Substituição eletrofílica aromática no carbono	34
V.2.2.2 - Substituição eletrofílica no nitrogênio	36
V.2.3 - Derivados pirrólicos com atividade biológica	36
V.3 - MICRO-ORGANISMOS E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS	39
V.3.1 - Micro-organismos	40
V.3.1.1 - <i>Escherichia coli</i>	40
V.3.1.2 - <i>Enterococcus faecalis</i>	40
V.3.1.3 - <i>Salmonella enteritidis</i>	41
V.3.1.4 - <i>Bacillus cereus</i>	41
V.3.1.5 - <i>Listeria monocytogenes</i>	42

V.3.1.6 - <i>Staphylococcus aureus</i>	42
V.3.1.7 - <i>Candida famata</i>	43
V.3.1.8 - <i>Candida tropicalis</i>	44
V.3.1.9 - <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	44
V.3.1.10 - <i>Cryptococcus laurentii</i>	45
V.3.2 - Resistência a antimicrobianos	46
VI - MATERIAIS E MÉTODOS	47
VI.1 - REAGENTES E SOLVENTES.....	47
VI.2 EQUIPAMENTOS, MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS, ESPECTROSCÓPICOS E ESPECTROMÉTRICOS	48
VI.3 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA SÍNTESE	50
VI.3.1 - Síntese de 3-oxobutanoatos de alquila (1c-d).....	50
VI.3.2 - Síntese de 3-oxobutanoatos aromáticos e 2-((2-hidroxietil)-tio)-etila (1e-h) .	52
VI.3.3 - Síntese dos núcleos pirrólicos (4a-e).....	55
VI.3.4 - Síntese dos derivados ácido 4-(alquil-carbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol- 2- carboxílico (5 a, c-d)	59
VI.3.5 - Síntese dos derivados 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de alquila (6 a, c-d)	60
VI.3.6 - Síntese do 5-bromo-2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (8)	62
VI.3.7 Síntese dos derivados 3 e 4-hidroximetil-nitrobenzeno (10a e 10b)	62
VI.4 - ENSAIOS BIOLÓGICOS – TESTE DE DIFUSÃO EM POÇOS.....	64
VII - RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
VII.1 - ANÁLISE DOS DADOS ESPECTROSCÓPICOS E ESPECTROMÉTRICOS	66
VII.2 - SÍNTESE DE β-CETOÉSTERES.....	66
VII.2.1 - Espectros de ressonância magnética nuclear	68
VII.2.2 - Espectrometria de massa	70
VII.2.3 - Espectros de infravermelho	72
VII.3 - SÍNTESE DOS NÚCLEOS PIRRÓLICOS (4a-e).....	74

VII.3.2 - Espectrometria de massa	79
VII.3.3 - Análise por infravermelho	81
VII.3.4 - Desafios na síntese de derivados pirrólicos a partir de β -cetoésteres com ésteres aromáticos	82
VII.4 - SÍNTESE DOS COMPOSTOS 5a,c-d VIA HIDRÓLISE ÁCIDA	86
VII.4.1 - Análise por Ressonância Magnética Nuclear	88
VII.4.2 - Análise por infravermelho	90
VII.5 - REAÇÃO DE DESCARBOXILAÇÃO DOS COMPOSTOS 4a,c-d	91
VII.5.1 - Espectros de ressonância magnética nuclear	93
VII.5.2 - Análise por infravermelho	94
VII.5.3 - Espectrometria de massa	95
VII.5.4 - Um provável subproduto da reação de descarboxilação	96
VII.6 - REAÇÃO DE BROMAÇÃO DO PIRROL (6a)	98
VII.6.1 - Espectro de ressonância nuclear	99
VII.6.2 - Espectrometria de massa	100
VII.7 - REDUÇÃO DE ALDEÍDOS PARA SÍNTESE DOS ÁLCOOIS 10a e b	102
VII.7.1 - Espectros de ressonância magnética nuclear	102
VII.7.2 - Análise por infravermelho	103
VII.7.3 - Espectrometria de massa	104
VII.7 - ESTUDO DA REATIVIDADE DO 2,4-DIMETIL-1 <i>H</i> -PIRROL-3-CARBOXILATO DE METILA (6a)	105
VII.8 - ENSAIOS BIOLÓGICOS	109
CAPÍTULO VIII – CONCLUSÃO	110
CAPÍTULO IX – PERSPECTIVAS	111
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS	112
SUMÁRIO DO ANEXO I	121

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da citosina (11), guanina (12) e glicose (13).	29
Figura 2. Estrutura química do 3-amino-1,2,4-triazol (14), índigo (15) e ácido 3-(5-nitrofuril-2)-acrílico (16).	29
Figura 3. Estrutura química de alguns fármacos: penicilina G (17), sumatriptano® (18), furfenorex® (19).	30
Figura 4. Estrutura química da clorofila-b.....	31
Figura 5. Estrutura química dos fármacos Atorvastatina (53) e Sunitinibe (54).....	37
Figura 6. Estrutura química de pirróis marinhos com atividade antibacteriana.	38
Figura 7. Derivado pirrólico com atividade antimicrobiana sintetizado por IDHAYADHULLA <i>et al.</i> (2012).....	39
Figura 8. Composto 2-(3,5-dibromo-2-hidroxifenil)-1-(3,4,5-tribromo-1 <i>H</i> -pirrol-2-ico)etanoato sintetizado por RAIMONDI <i>et al.</i> (2006).	39
Figura 9. Imagem microscópica, gerada em computador, de <i>E. coli</i> . Fonte: NIH.....	40
Figura 10. Imagem microscópica de bactérias da espécie <i>E. faecalis</i> . Fonte: NIH...	41
Figura 11. Imagem microscópica, gerada em computador, de <i>S. enteritidis</i> . Fonte: NIH.	41
Figura 12. Imagem microscópica de bactérias da espécie <i>B. cereus</i> . Fonte: NIH. ...	42
Figura 13. Imagem microscópica, gerada em computador, de <i>L. monocytogenes</i> . Fonte: NIH.	42
Figura 14. Imagem microscópicas de bactérias da espécie <i>S. aureus</i> . Fonte: NIH. .	43
Figura 15. Imagem microscópica da espécie de levedura <i>C. Famata</i> . Fonte: <i>Resource For Eukaryotic Genome Research</i> (DIARK).....	44
Figura 16. Imagem microscópica da espécie de levedura <i>C. tropicalis</i> (MCDONALD, 2002).	44

Figura 17. Da esquerda para a direita imagem de uma placa de petri com colônias de <i>R. mucilaginosa</i> (LIFE) e imagem microscópica de <i>R. mucilaginosa</i> (UC-Davis).	45
Figura 18. Imagens microscópicas de <i>Cryptococcus laurentii</i> . Fonte: BUCHANAN & MURPHY (1998).	46
Figura 19. Sistema utilizado na síntese de β -cetoésteres.	51
Figura 20. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) do acetoacetato de butila (1c). .	69
Figura 21. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do acetoacetato de <i>p</i> -nitro benzila (1f).	70
Figura 22. Espectro de massas do composto 1c	72
Figura 23. Espectro de infravermelho do acetoacetato de pentila (1d).	73
Figura 24. Espectro de IV do composto 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxietil)-tio) etila (1h).	73
Figura 25. Espectro de ^1H (400 MHz, piridina- d_5) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).	78
Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, piridina- d_5) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).	79
Figura 27. Espectro de massa do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c).	81
Figura 28. Espectro de IV do composto 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c).	82
Figura 29. Cromatograma do composto 4e antes da recristalização.	85
Figura 30. Cromatograma do composto 4e após recristalização.	85
Figura 31. Espectro de massa do composto 4e	85
Figura 32. Espectro de massa do composto 4e descarboxilado.	86
Figura 33. Fragmento do espectro dos compostos 4c e 5c respectivamente mostrando o desaparecimento do simpleto em 1,56 ppm após a hidrólise ácida.	88

Figura 34. Espectro de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5c).....	89
Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5c).....	90
Figura 36. Espectro de IV do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5d).....	91
Figura 37. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).....	93
Figura 38. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).....	94
Figura 39. Espectros de IV do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d) na posição superior 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d) na posição inferior.....	95
Figura 40. Espectro de massa do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c)..	96
Figura 41. Dímero formado em uma reação de descarboxilação utilizando HCl e aquecimento (MANLEY <i>et al.</i> , 2003).....	97
Figura 42. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (4a) (superior) e do 5-bromo-2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (8) (inferior).....	100
Figura 43. Cromatograma de massa do 5-bromo-2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (8).....	102
Figura 44. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (10a).....	103
Figura 45. Espectro de IV do 3-nitrobenzaldeído na parte superior e do 3-hidroximetil-nitrobenzeno (10b) na parte inferior.....	104
Figura 46. Espectro de massa do composto 10a	105
Figura 47. Estrutura química do composto 11 inicialmente proposto neste trabalho.....	106

Figura 48. Estrutura química do composto 12 inicialmente proposto neste trabalho.	107
Figura 49. Estrutura química do composto 13 inicialmente proposto neste trabalho a partir da nitração do composto 6a	107
Figura 50. Reações para nitração conduzidas por SCHMUCK & DUDACZEK (2003).	109
Figura 51. Reações para nitração conduzidas por SCHMUCK & DUDACZEK (2003) material de partida sem metilas.	109

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes e solventes utilizados nos experimentos deste trabalho.	47
Tabela 2. Programa de temperatura do forno do CG para análise dos compostos 1c-e	49
Tabela 3. Álcoois, temperatura e rendimentos da síntese de β -cetoésteres de cadeia alifática linear.	50
Tabela 4. Álcoois, tempo e rendimentos da síntese de β -cetoestéres. NC – não calculado.	53
Tabela 5. Linhagens de micro-organismos utilizados nos testes biológicos.	65
Tabela 6. Dados do IV dos compostos 1c-h	74
Tabela 7. Comprimento de ondas de algumas bandas no espectro de IV dos compostos 4a-d	81
Tabela 8. Comprimento de ondas de algumas bandas no espectro de IV dos compostos 4a-d	90
Tabela 9. Alguns comprimentos de ondas de bandas presentes nos espectros de IV dos compostos 6a,c-d	94
Tabela 10. Tentativas de condições reacionais para síntese do composto 96	106
Tabela 11. Tentativas de condições reacionais para síntese do composto 97	107
Tabela 12. Tentativas de condições reacionais para síntese do composto 98	108

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntese de β -cetoésteres via reação de transesterificação.	26
Esquema 2. Síntese do intermediário oxima (3) e núcleos pirrólicos (4a-d).	27
Esquema 3. Reações de hidrólise ácida para síntese dos compostos 5 a, c e d e descarboxilação em meio ácido para síntese dos compostos 6 a, c e d	27
Esquema 4. Reação para bromação do composto 6a	28
Esquema 5. Redução de aldeídos aromáticos utilizando borohidreto de sódio.	28
Esquema 6. Esquema A mostra o método de Paal-Knorr para obtenção de derivados pirrólicos e o esquema B mostra a reação para síntese do composto 2,5-dimetilpirrol.	32
Esquema 7. Esquema A mostra o método o de Hantzsch para obtenção de derivados pirrólicos e o esquema B mostra um exemplo desse método para a síntese do 2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de etila.	33
Esquema 8. Representação geral do método de Knorr para obtenção de derivados pirrólicos.	33
Esquema 9. Exemplo de reação multicomponente desenvolvido por KUMAR, PADMINI & BHUVANESH (2017).	34
Esquema 10. Diferença de reatividade entre as posições α e β em reações de substituição eletrofílica aromática em pirróis.	35
Esquema 11. Exemplos de derivados pirrólicos obtidos a partir de substituição eletrofílica aromática em pirróis (STEFANI, 2009; BEATRIZ & MONDINO, 2014).	35
Esquema 12. Reações de substituições eletrofílica no átomo de nitrogênio de pirróis.	36
Esquema 13. Retrossíntese para obtenção do composto pirrolnitrina. TIPS – triisopropilsilílico e PinB - bis(pinacolato) de boro (MORRISON, HANTHOR & PRATT, 2009).	37
Esquema 14. Formação do complexo entre a prodigiosina e ácido clorídrico.	38

Esquema 15. Procedimento do teste de difusão em poços.	65
Esquema 16. Reagentes, condições e rendimentos na síntese de β -cetoésteres. NC- não calculado.	67
Esquema 17. Mecanismo da reação de transesterificação de β -cetoésteres. O símbolo M refere-se ao Zn^0 ou Cu^{2+}	68
Esquema 18. Equilíbrio tautomérico entre a forma cetônica e enólica de β -cetoésteres.	69
Esquema 19. Proposta de fragmentação para os β -cetoésteres baseado nos trabalhos de WEILER (1972), MOLDOVAN <i>et al.</i> (1981), ALLEGRETTI <i>et al.</i> (2006).....	71
Esquema 20. Mecanismo de rearranjo de McLafferty (FIELD <i>et al.</i> , 2008).....	72
Esquema 21. Síntese do precursor oxima (3).	74
Esquema 22. Mecanismo de reação para síntese do precursor 3 . Adaptado de STEFANI (2009).....	75
Esquema 23. Síntese dos núcleos pirrólicos a partir de β -cetoésteres.	76
Esquema 24. Mecanismo para formação do núcleo pirrólico. Adaptado de STEFANI (2009).....	77
Esquema 25. Proposta de fragmentação do composto 4c baseado em TAYLOR (1990) e BUDZIKIEWICZ <i>et al.</i> (1964).	80
Esquema 26. Tentativas para a síntese dos compostos 4g-h	84
Esquema 27. Reação de clivagem da ligação C-O de ésteres contendo o grupo benzila (RASTOGI <i>et al.</i> , 2013).	84
Esquema 28. Reação de hidrólise ácida.	87
Esquema 29. Mecanismo de reação para síntese dos compostos 5a,c-d (Adaptado de COSTA <i>et al.</i> , 2003).	87
Esquema 30. Formação do álcool <i>terc</i> -butílico com o marcador de ^{18}O	87
Esquema 31. Reação de descarboxilação em meio ácido e aquecimento.	92

Esquema 32. Mecanismo de reação de descarboxilação para síntese dos produtos 6a,c-d . Adaptado de MUNDLE <i>et al.</i> , 2009.....	92
Esquema 33. Proposta de fragmentação do composto 6a baseado em TAYLOR (1990) e BUDZIKIEWICZ <i>et al.</i> (1964).	96
Esquema 34. Reação de polimerização de pirróis em meio ácido (BEATRIZ & MONDINO, 2014).....	97
Esquema 35. Reação de bromação de um derivado pirrólico na posição α ao nitrogênio.....	98
Esquema 36. Proposta de mecanismo para formação do 5-bromo-2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (8).....	99
Esquema 37. Proposta de fragmentação do composto 8 baseado em TAYLOR (1990), BUDZIKIEWICZ <i>et al.</i> (1964).....	101
Esquema 38. Reagentes e condições para redução dos álcoois 9a-b	102
Esquema 39. Proposta de fragmentação para o composto 10a	105

ABREVIações, Símbolos e Fórmulas Químicas

Ac ₂ O	anidrido acético
Ar	aromático
BHI	meio de cultura <i>Brain Heart Infusion</i>
CCD	cromatografia em camada delgada
CDCl ₃	solvente clorofórmio deuterado
CG-EM	cromatografia a gás aplicada à espectrometria de massa
CIM	concentração mínima inibitória
DIARK	<i>Resource For Eukaryotic Genome Research</i>
Deg.	degradação
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMF	Dimetilformamida
DMSO- <i>d</i> ₆	solvente dimetil sulfóxido deuterado
DNA	ácido desoxirribonucleico
ERV	<i>Enterococcus</i> resistentes à vancomicina
HAc	ácido acético glacial
HIV	vírus da imunodeficiência humana
Interm.	intermediário
IV	espectroscopia na região do infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento em Hz
KCN	cianeto de potássio
LIFE	<i>Leading International Fungal Education</i>
MDDR	<i>Data Drug Report Database</i>
MO	micro-ondas
MRSA	<i>S. aureus</i> resistentes a metilicina
<i>m/z</i>	razão massa/carga
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
NC	não calculado
NCS	<i>N</i> -clorosuccinimida

NIH	<i>National Institute of Allergy and Infections Diseases</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
P.F.	ponto de fusão
Ph ₃ P	trifenil fosfina
p-TsOH	ácido para-toluenosulfônico
PinB	bis(pinacolato) de boro
Piridina- <i>d</i> ₅	solvente piridina deuterado
Ppm	parte por milhão
RMN	ressonância magnética nuclear
RMN ¹³ C	ressonância magnética nuclear de carbono
RMN ¹ H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
TFA	ácido trifluoracético
THF	tetraidrofurano
TIPS	triisopropilsilílico
UC-Davis	Universidade da Califórnia em Davis
δ	deslocamento químico
Δ	aquecimento
d	duplete
dd	duplo duplete
ddt	duplo duplo tripleto
dt	duplo tripleto
m	multiplete
q	quartenário
quint	quinteto
s	simpleto
sext	sexteto
t	tripleto
t. a.	temperatura ambiente

I – INTRODUÇÃO

A capacidade de alguns micro-organismos, principalmente bactérias, desenvolverem resistência a maioria dos antimicrobianos comerciais, como antibióticos da classe de beta-lactâmicos, vem preocupando órgãos da saúde como a Organização Mundial da Saúde (OMS). Neste cenário, heterociclos possuem potencial no desenvolvimento de novos fármacos para atuação como antimicrobianos (FADEYI *et al.*, 2016).

Os pirróis são heterociclos aromáticos de cinco membros, contendo um átomo de nitrogênio como heteroátomo. Compostos pirrólicos tradicionalmente podem ser obtidos pelos métodos de Paal-knorr, Hantzsch e Knorr. No método de Knorr, núcleos pirrólicos são obtidos através da ciclocondensação entre α -aminocetonas com α -amino- β -cetoésteres ou β -dicetonas (BEATRIZ & MONDINO, 2014). Outra possibilidade são reações multicomponentes envolvendo β -cetoésteres, aminas e indantrionas obtendo rendimentos superiores a 90% (KUMAR, PADMINI & BHUVANESH, 2017). Em termos de reatividade, as principais reações envolvendo derivados pirrólicos são substituições eletrofílicas aromáticas no anel, como bromação e cloração (STEFANI, 2009).

Núcleos pirrólicos estão presentes nas estruturas químicas de fármacos, como: atorvastatina, sunitinibe e pirrolnitrina (BAUMANN, 2011; KEUM, ZGU & KIM, 2011). Comercialmente, o pirrolnitrina é empregado no tratamento de infecções fúngicas. Além disso, compostos naturais e sintéticos vêm sendo reportados na literatura com atividade bacteriana e antifúngica. Por exemplo, substâncias orgânicas contendo o núcleo pirrólico foram isoladas de actinomicetos marinhos e apresentaram atividade contra cepas de *Staphylococcus aureus* Resistentes à Meticilina (MRSA) (HUGHES *et al.*, 2008). Em relação a compostos sintéticos, RAIMONDI *et al.* (2006) e IDHAYADHULLA *et al.* (2012) descreveram a síntese de compostos pirrólicos com atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *Micrococcus luteus*.

Diversos micro-organismos estão relacionados a casos de infecções bacterianas ou fúngicas. Em ambientes hospitalares, cepas de *Staphylococcus aureus* Resistentes à Meticilina aumentam em até 64% a chance de morte de pacientes infectados em comparação com cepas não resistentes (OMS). Já na indústria alimentícia, bactérias da espécie *B. cereus* são uma das causadoras de intoxicações alimentares (GOMES, 2013). Algumas espécies de leveduras, fungos não-filamentosos, também podem ser patológicas a seres humanos. Por exemplo, algumas cepas de leveduras do gênero *Candida* estão relacionadas a casos de candidíase (BEYDA *et al.*, 2013).

II - MOTIVAÇÕES E JUSTIFICATIVAS DO TRABALHO

Heterociclos são compostos orgânicos com uma série de aplicações que vão desde agroquímicos até produtos para revelação de fotos. As inúmeras transformações químicas com ou sem inserção de substituintes em heterocíclicos os tornam importantes candidatos para a síntese de novas moléculas bioativas (DUA *et al.*, 2011). Diante deste potencial, os heterocíclicos já são utilizados como antifúngicos e antibióticos (LIMA *et al.*, 2001; AMINOV, 2010), porém o crescente número de casos de micro-organismos resistentes aos fármacos atuais evidência a necessidade de desenvolvimento de novos protótipos antimicrobianos.

Dados da OMS (2017) mostram que todos os países do mundo já registraram casos de bactérias resistentes a antibióticos, comumente chamadas de superbactérias. Ainda de acordo com essa organização, duas causas são atribuídas ao desenvolvimento de resistência a antimicrobianos. A primeira seria a evolução natural de micro-organismos na qual ocorre alterações genéticas resultando no desenvolvimento de mecanismos de defesa contra antimicrobianos comumente utilizados. A segunda causa seria o consumo excessivo de antimicrobianos tanto por seres humanos quanto no manejo de animais sem acompanhamento correto de profissionais de saúde e veterinários, respectivamente.

Outro estudo conduzido por um grupo de pesquisa liderada por O'NEILL (2016) e vinculado ao Governo Britânico mostrou que a expectativa é que o número de mortes no mundo causado por resistência a antimicrobianos suba de 700 mil em 2015 para 10 milhões em 2050. Ainda segundo esse estudo, o investimento total entre 2003 e 2013 da indústria farmacêutica no desenvolvimento de antimicrobianos foi de apenas 5% do total investido em Pesquisa & Desenvolvimento para este setor. Os mesmos autores deste estudo concordam que um passo importante na mudança do cenário atual é o incentivo e promoção de investimentos para o desenvolvimento de novos fármacos e no melhoramento dos que já existem.

Portanto, este cenário mostra a necessidade e oportunidade de atuação de profissionais da área de química e da saúde na síntese, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana de compostos orgânicos, em especial heterociclos.

III – OBJETIVOS

III.1 – OBJETIVO GERAL

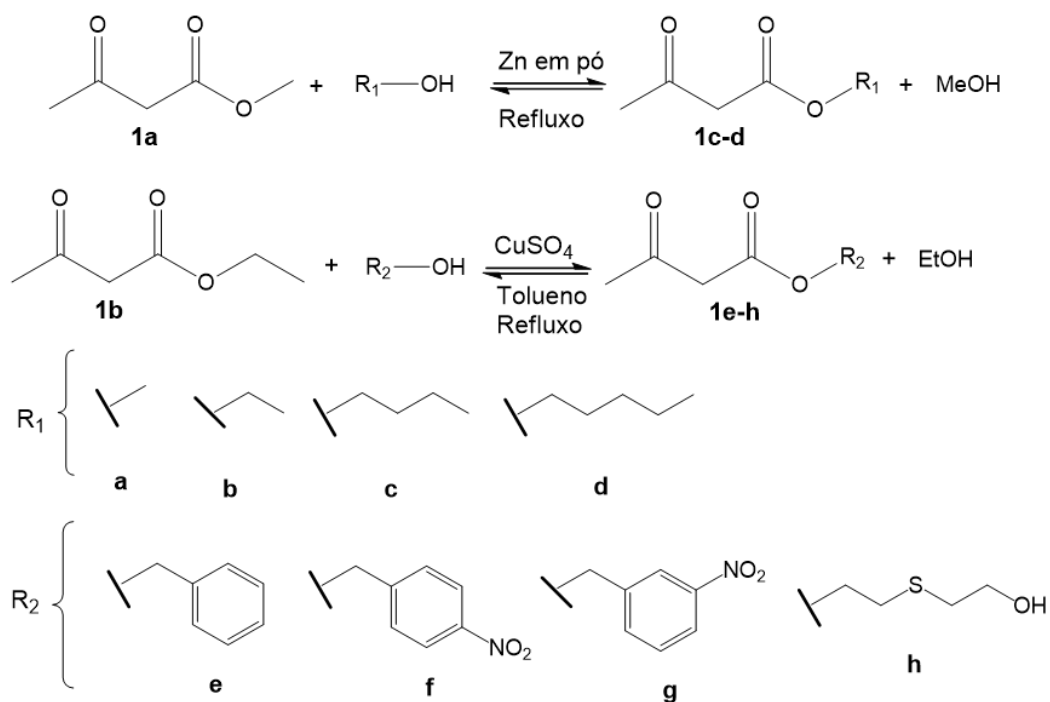
O objetivo desse trabalho foi sintetizar, caracterizar e avaliar o potencial antimicrobiano de derivados pirrólicos.

III.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

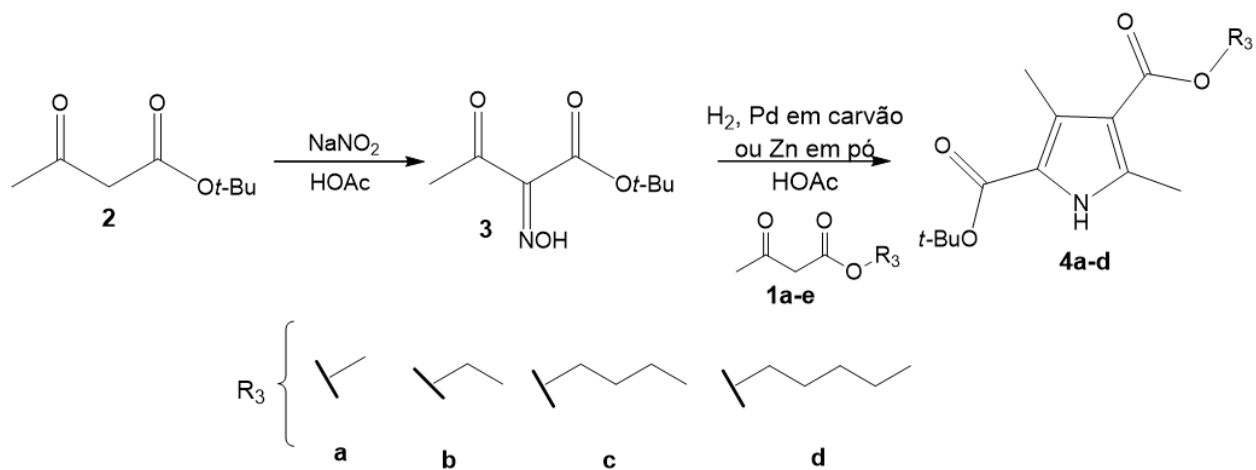
- Sintetizar derivados pirrólicos variando o tamanho da cadeia alifática de ésteres e substituintes ligados a este heterociclo.
- Caracterizar os compostos sintetizados pelas técnicas de ressonância magnética nuclear, infravermelho, espectrometria de massa e ponto de fusão.
- Avaliar a atividade antimicrobiana pela técnica de difusão em poços em culturas de leveduras e bactérias Gram-negativas e Gram-positivas.

IV – ROTA SINTÉTICA

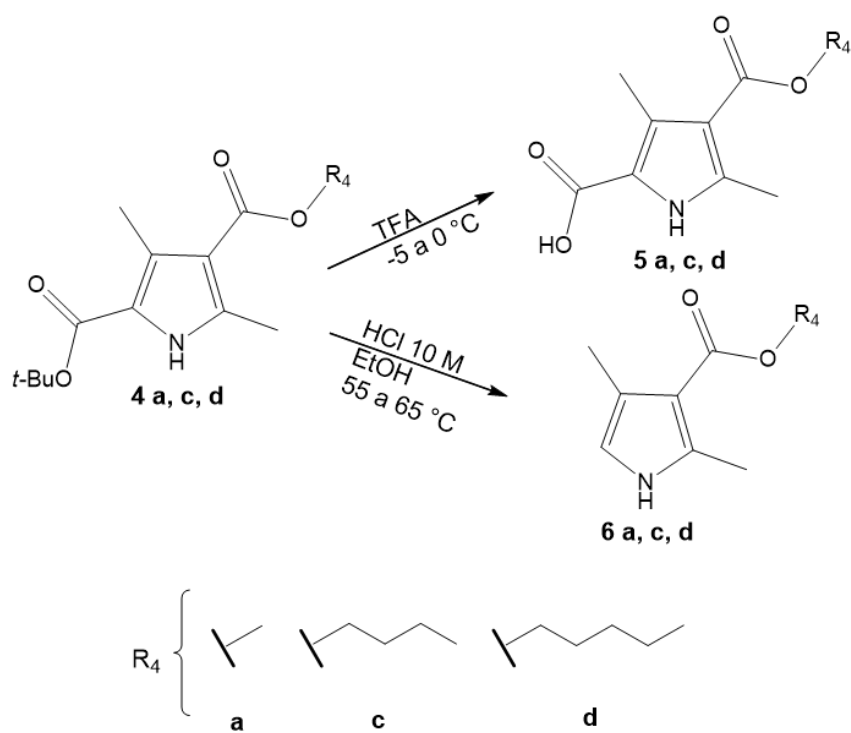
Os Esquemas 1-5 sumarizam as reações e condições utilizadas nas sínteses orgânicas deste trabalho. O esquema 1 mostra as reações de transesterificação para obtenção de beta-cetoésteres com cadeia alifática maior ou aromáticos. Já o esquema 2 representa a síntese do intermediário oxima (**3**) seguindo da formação de derivados pirrólicos. O esquema 3 trata-se das reações de hidrólise ácida utilizando TFA e descarboxilação em meio ácido e aquecimento. Finalmente, os esquemas 4 e 5 mostram reações de bromação por substituição eletrofílica aromática e redução de aldeídos a álcoois, respectivamente.



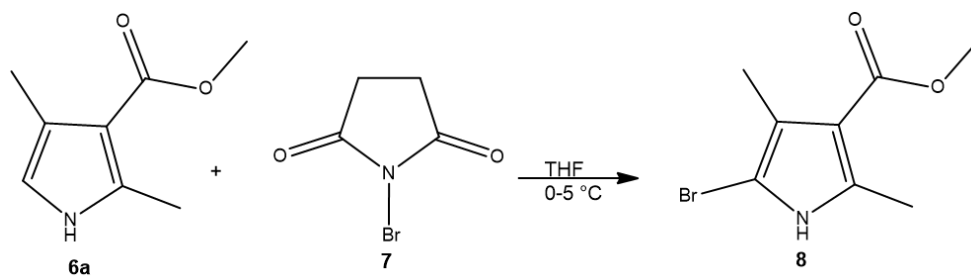
Esquema 1. Síntese de β -cetoésteres via reação de transesterificação.



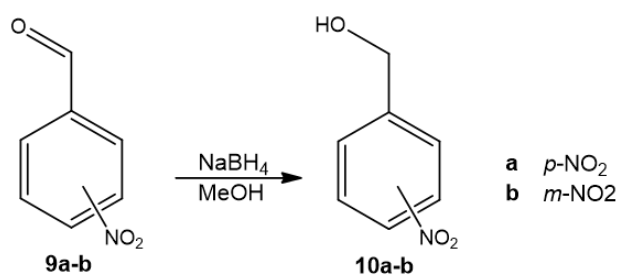
Esquema 2. Síntese do intermediário oxima (**3**) e núcleos pirrólicos (**4a-d**).



Esquema 3. Reações de hidrólise ácida para síntese dos compostos **5 a, c e d** e descarboxilação em meio ácido para síntese dos compostos **6 a, c e d**.



Esquema 4. Reação para bromação do composto **6a**.



Esquema 5. Redução de aldeídos aromáticos utilizando borohidreto de sódio.

V - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

V.1 - HETEROCICLOS ORGÂNICOS E A INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Heterociclos são compostos cíclicos com pelo menos dois átomos diferentes de carbono compondo um anel e para serem considerados heterociclos orgânicos pelo menos um desses átomos deve ser carbono (EICHER & HAUTMANN, 2003). Heterociclos compõem a estrutura química de diferentes moléculas, como da citosina (**11**) e guanina (**12**), que constituem o DNA humano, e da glicose (**13**) (Figura 1). Eles também possuem inúmeras aplicações industriais, por exemplo, na composição de herbicidas e fungicidas para agricultura (**14**), corantes para tingimento de tecidos (**15**) e como conservantes na indústria alimentícia (**16**) (Figura 2) (POZHARSKII, SOLDATENKOV & KATRITZKY, 2011).

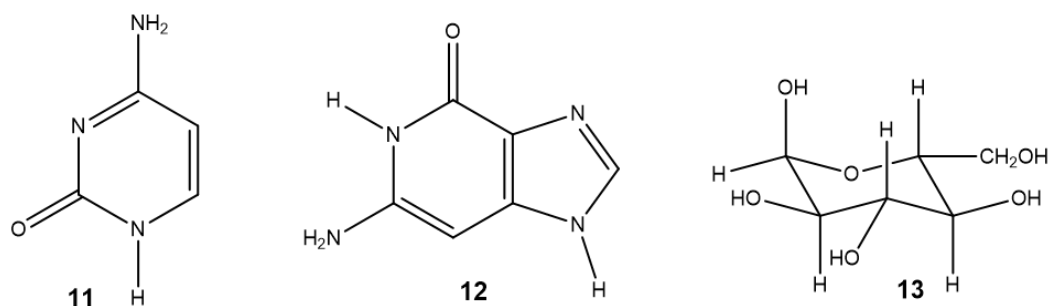


Figura 1. Estrutura química da citosina (**11**), guanina (**12**) e glicose (**13**).

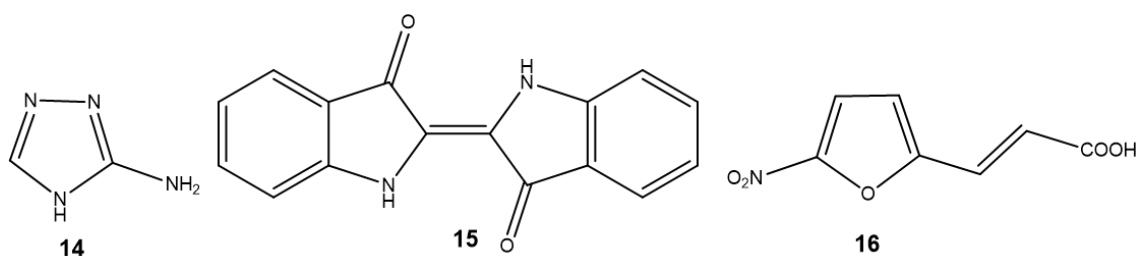


Figura 2. Estrutura química do 3-amino-1,2,4-triazol (**14**), índigo (**15**) e ácido 3-(5-nitrofuril-2)-acrílico (**16**).

Entre as inúmeras áreas de aplicação de heterociclos, a indústria farmacêutica é a que mais recebe destaque na utilização destes compostos como princípio ativo de diferentes medicamentos (TAYLOR *et al.*, 2016). Por exemplo, heterociclos são encontrados na estrutura química do antibiótico penicilina G, do analgésico sumatriptano® e do inibidor de apetite fufenorex® (Figura 3). Para mostrar quantitativamente a importância dos heterociclos na indústria farmacêutica SCRIVEN

e RAMSDEN (2017) realizaram uma pesquisa na base de dados *Drug Data Report* (MDDR) que revelou que 71% de todos os fármacos¹ lançados no mercado até 2014 contêm heterociclos em suas estruturas químicas. Além disso, esse estudo mostrou que a porcentagem de novos fármacos contendo heterociclos aprovados subiu de 81% para 87% quando comparado aos períodos entre 1995-2004 e 2005-2014.

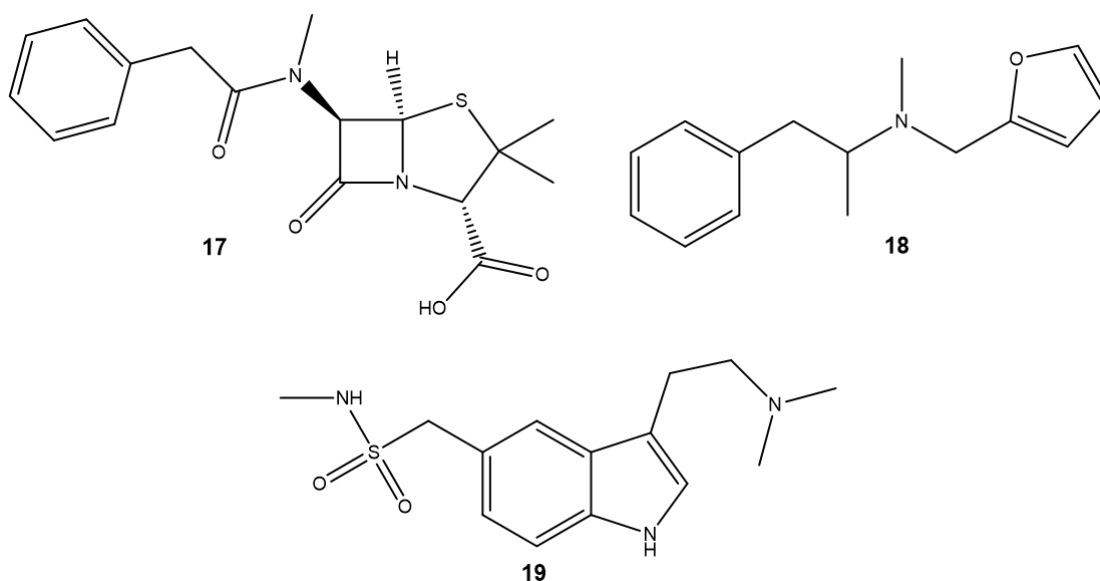


Figura 3. Estrutura química de alguns fármacos: penicilina G (17), sumatriptano® (18), furfenorex® (19).

V.2 - PIRRÓIS

O pirrol, assim como o furano e o tiofeno, é um heterociclo de 5 membros aromático contendo um heteroátomo. Na natureza, ele é encontrado na estrutura química da clorofila-b (Figura 4) (POZHARSKII, SOLDATENKOV & KATRITZKY, 2011) e de bilirrubinóides, que são compostos normalmente coloridos presentes em diversos organismos vivos vertebrados e invertebrados (STEFANI, 2009).

¹ Excluindo fármacos sem estrutura química definida como anticorpos e peptídeos com alta massa molecular

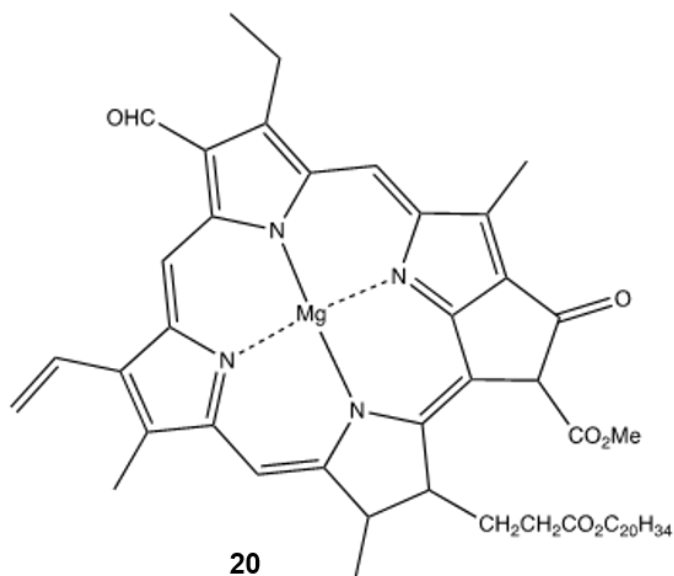


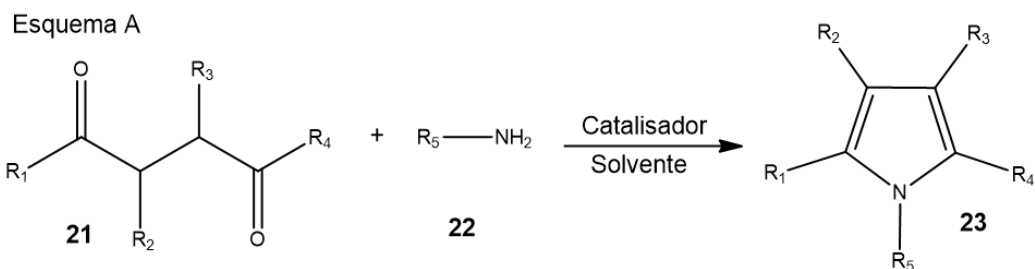
Figura 4. Estrutura química da clorofila-b.

V.2.1 - Síntese de derivados pirrólicos

Os principais meios de obtenção de núcleos pirrólicos são através dos métodos de Paal-Knorr, síntese de Hantzsch e síntese de Knorr (STEFANI, 2009; BEATRIZ & MONDINO, 2014). Além desses métodos clássicos, novas rotas vêm sendo descritas na literatura utilizando reações multicomponentes (BIENAYMÉ & ZHU, 2005; KUMAR, PADMINI & BHUVANESH, 2017).

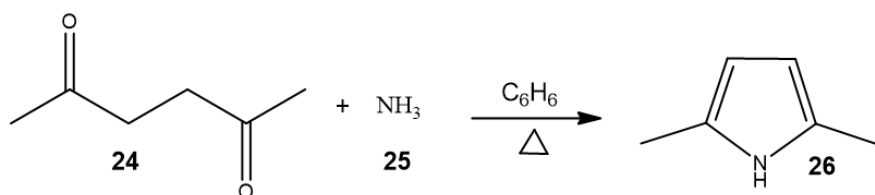
V.2.1.1 - Método de Paal-Knorr

No método de Paal-Knorr compostos 1,4-dicarbonilados reagem com amônia ou aminas primárias na presença de etanol ou ácido acético como solvente. Os substituintes ligados ao anel pirrólico dependem da composição dos compostos 1,4-dicarbonílicos, conforme mostra o Esquema 6A (STEFANI, 2009). O Esquema 6B mostra um exemplo desse método aplicado para a síntese do 2,5-dimetilpirrol.



R_{1-4} = H, alquil, aril; R_{2-3} = H, alquil, aril, CO_2 -aril; R_5 = H, alquil, aril, heteroaril, NR_2 , NHR , NH_2 , OH .
Catalisador: zeolita, Al_2O_3 , p-TsOH, microondas, etc; **Solvente:** MeOH, EtOH, H_2O , tolueno, DMF, etc.

Esquema B

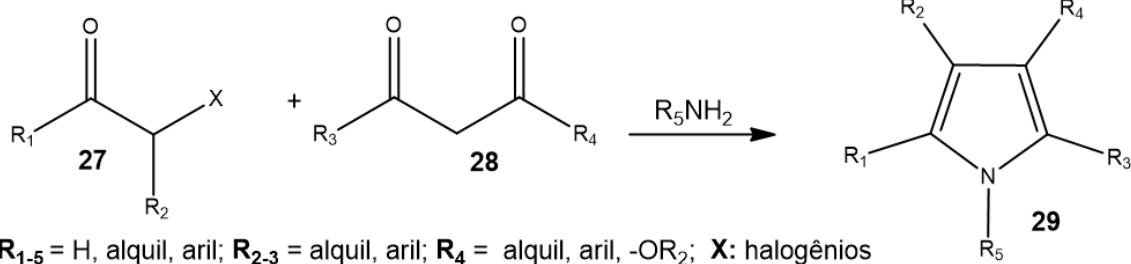


Esquema 6. Esquema A mostra o método de Paal-Knorr para obtenção de derivados pirrólicos e o esquema B mostra a reação para síntese do composto 2,5-dimetilpirrol.

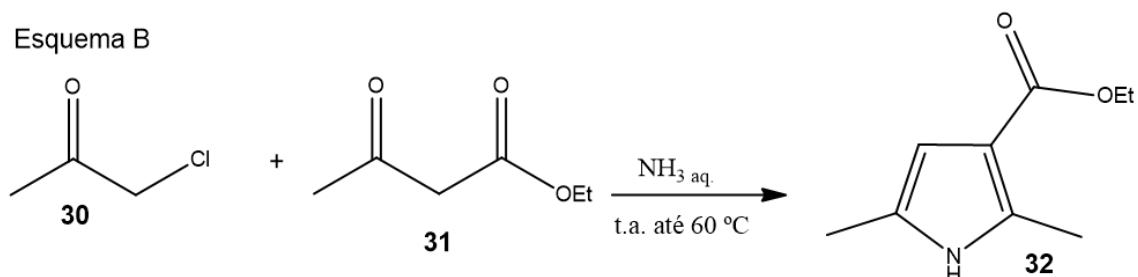
V.2.1.2 - Método de Hantzsch

A síntese de Hantzsch baseia-se na reação entre compostos α -halocarbonilados (cetona ou aldeído), β -cetoésteres ou β -dicetonas e amônia ou aminas primárias para obtenção de derivados pirrólicos. Esse método está representado de forma geral no Esquema 7A e um exemplo no Esquema 7B (BEATRIZ & MONDINO, 2014).

Esquema A



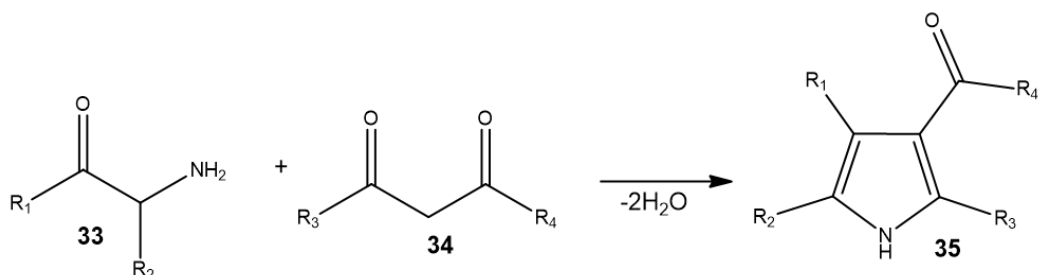
Esquema B



Esquema 7. Esquema A mostra o método de Hantzsch para obtenção de derivados pirrólicos e o esquema B mostra um exemplo desse método para a síntese do 2,5-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de etila.

V.2.1.3 - Método de Knorr

O método de Knorr consiste em uma reação de ciclocondensação entre uma α -aminocetona ou uma α -amino- β -cetoéster com β -cetoéster ou β -dicetonas para formação de derivados pirrólicos (Esquema 8) (BEATRIZ & MONDINO, 2014). A maioria dos núcleos pirrólicos sintetizados neste trabalho foram baseados neste método e, portanto, exemplos são encontrados na seção IV.

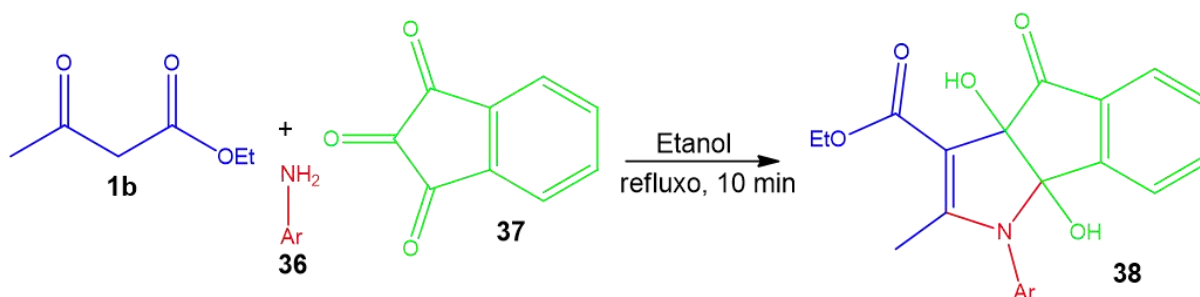


$\text{R}_1 = \text{H}, \text{alquil}, \text{aril}; \text{R}_2 = \text{H}, \text{alquil}, \text{aril}, \text{CO}_2\text{R}, \text{COR}; \text{R}_3 = \text{alquil}, \text{aril}, \text{OR}, \text{CN}, \text{SO}_2\text{R}, \text{etc.}; \text{R}_4 = \text{alquil}, \text{aril}, \text{OR}; \text{R} = \text{alquil}, \text{aril}; \text{Solvente}: \text{AcOH}, \text{H}_2\text{O}.$

Esquema 8. Representação geral do método de Knorr para obtenção de derivados pirrólicos.

V.2.1.4 - Reações multicomponentes

Em termos de desenvolvimento de novas rotas sintéticas, as reações multicomponentes vêm sendo exploradas para a produção de diferentes compostos orgânicos, incluindo derivados pirrólicos. Algumas vantagens desse método, como sua fácil execução, normalmente altos rendimentos, eficiência, redução da geração de resíduos e economia de átomos impulsionam pesquisas nessa área (BIENAYMÉ & ZHU, 2005). Por exemplo, KUMAR, PADMINI & BHUVANESH (2017), através de uma reação multicomponente, sintetizaram um derivado pirrólico fundido a outro anel, partindo de três reagentes, todos adicionado em um único balão de reação para geração do produto mostrado no Esquema 9.

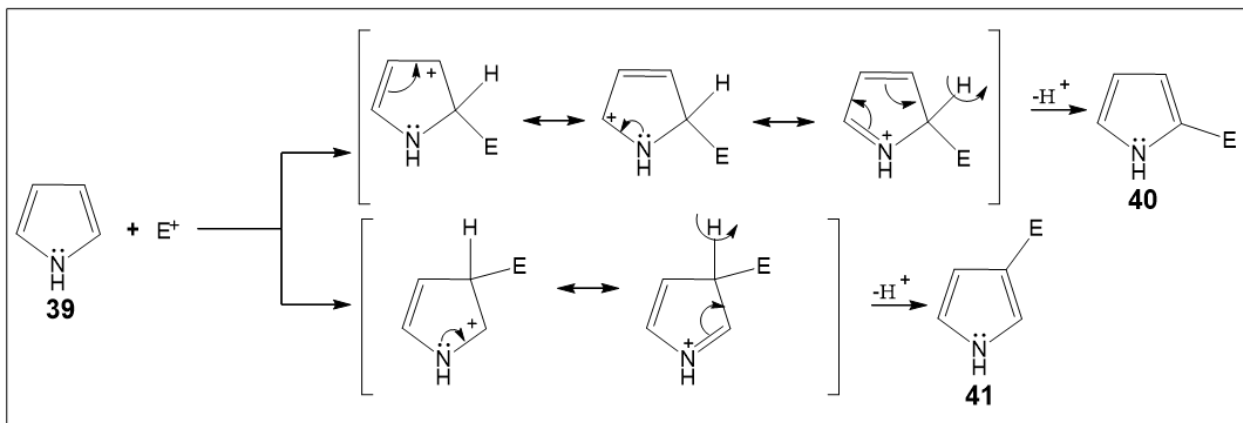


Esquema 9. Exemplo de reação multicomponente desenvolvido por KUMAR, PADMINI & BHUVANESH (2017).

V.2.2 - Reações com pirróis

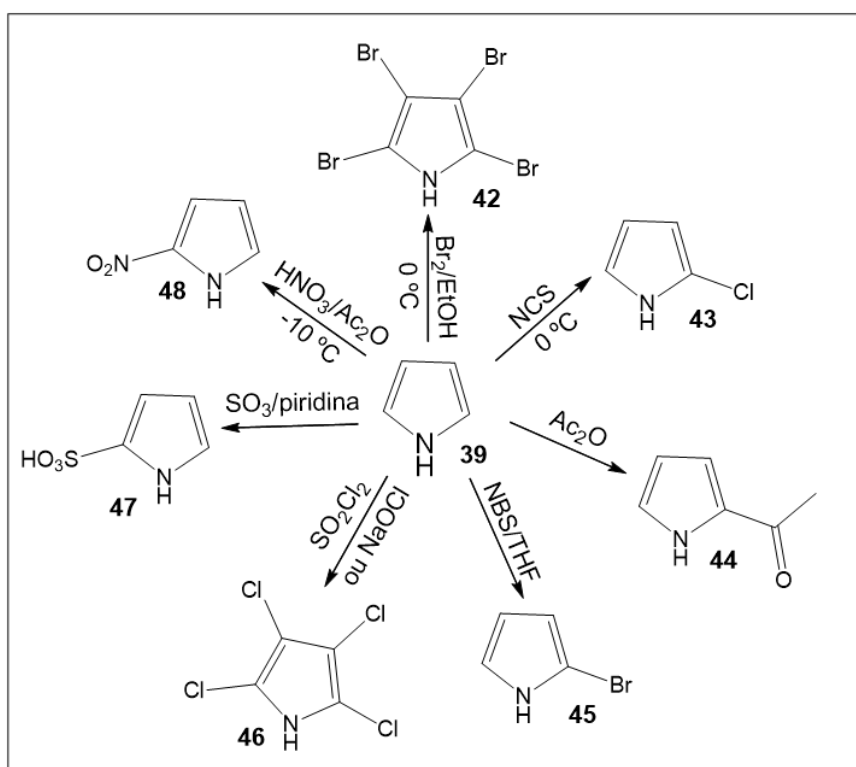
V.2.2.1 - Substituição eletrofílica aromática no carbono

Uma das principais reações envolvendo núcleos pirrólicos é a substituição eletrofílica aromática nos carbonos do anel aromático que se encontram sem substituintes. Para derivados pirrólicos com posições *alfa* e *beta* disponíveis, a substituição eletrofílica ocorre majoritariamente na posição *alfa* em relação ao nitrogênio. Essa posição é mais reativa devido ao maior número de estruturas de ressonância após a reação com um eletrófilo conforme mostra o Esquema 10 (BEATRIZ & MONDINO, 2014).



Esquema 10. Diferença de reatividade entre as posições α e β em reações de substituição eletrofílica aromática em pirróis.

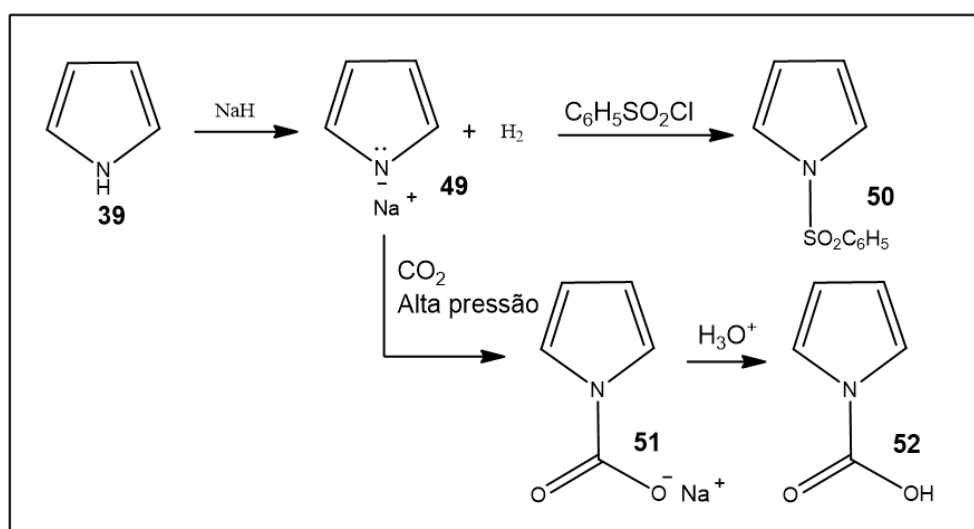
O Esquema 11 mostra alguns derivados pirrólicos que podem ser sintetizados através de substituição eletrofílica aromática. Conforme discutido anteriormente, nos casos em que ocorre a inserção de apenas um substituinte, como o 2-nitro-pirrol (48), o produto majoritário tem o substituinte ligado ao carbono do anel aromático vizinho ao nitrogênio (STEFANI, 2009).



Esquema 11. Exemplos de derivados pirrólicos obtidos a partir de substituição eletrofílica aromática em pirróis (STEFANI, 2009; BEATRIZ & MONDINO, 2014).

V.2.2.2 - Substituição eletrofílica no nitrogênio

Outra possibilidade de reação envolvendo pirróis é a substituições eletrofílica no nitrogênio. Para esta reação normalmente utiliza-se sais de sódio ou potássio e haloalcanos, halogenetos de ácidos, cloreto de trimetilsilano, halogenetos de sulfonila ou dióxido de carbono em alta pressão como reagentes. Alguns exemplos de produtos obtidos através de substituição eletrofílica no nitrogênio estão descritos no Esquema 12 (BEATRIZ & MONDINO, 2014).



Esquema 12. Reações de substituições eletrofílica no átomo de nitrogênio de pirróis.

V.2.3 - Derivados pirrólicos com atividade biológica

Na lista de fármacos contendo heterociclos de cinco membros mais vendidos no mundo, em 2010, os dois primeiros possuem o núcleo pirrólico em suas estruturas químicas. São eles, a atorvastatina (53) para redução do nível de colesterol no sangue e o sunitinibe (54) para tratamento de câncer do intestino (Figura 5) (BAUMANN, 2011).

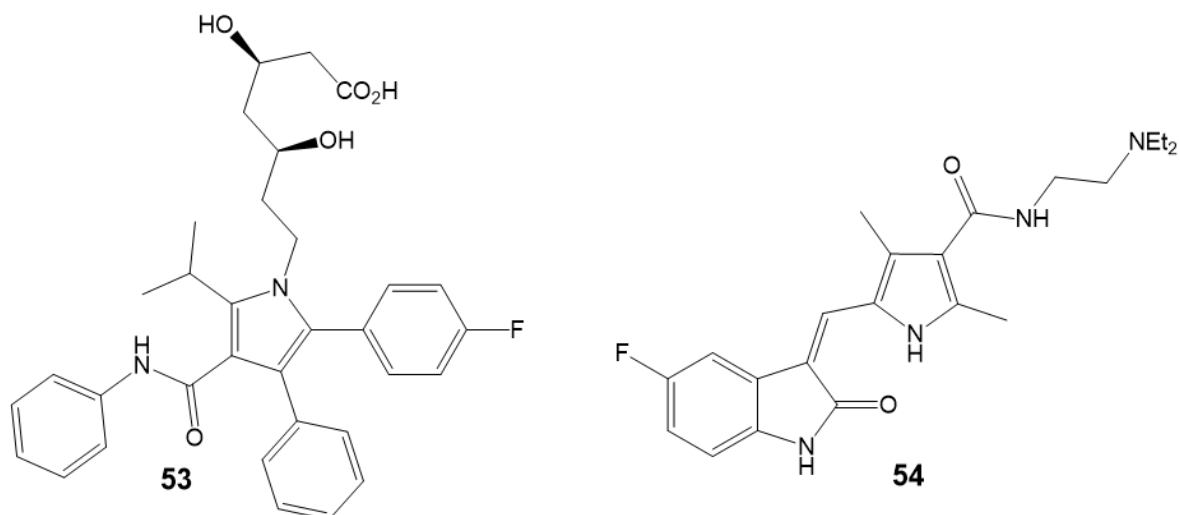
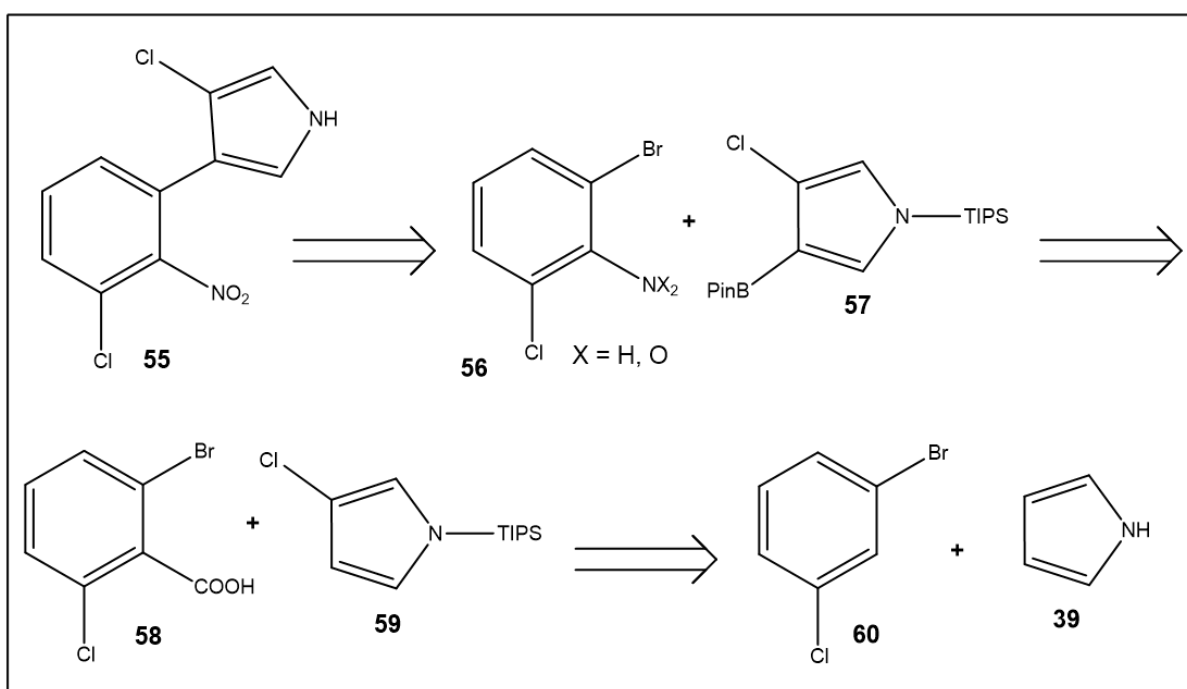


Figura 5. Estrutura química dos fármacos Atorvastatina (**53**) e Sunitinibe (**54**).

Em relação à atividade antimicrobiana, o pirrolnitrina é utilizado como antifúngico comercial e como biofungicida. Este derivado pirrólico pode ser produzido tanto por uma rota biotecnológica através de bactérias dos gêneros *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Serratia* ou *Myxococcus* (KEUM, ZGU & KIM, 2011) quanto por uma rota química, conforme mostra o Esquema 13 (MORRISON, HANTHOR & PRATT, 2009).



Esquema 13. Retrossíntese para obtenção do composto pirrolnitrina. TIPS – triisopropilsilílico e PinB - bis(pinacolato) de boro (MORRISON, HANTHOR & PRATT, 2009).

Além do pirrolnitrina, a literatura científica vem reportando uma série de derivados com atividade antimicrobiana. Por exemplo, os derivados pirrólicos mostrados na Figura 6 foram isolados de cepas de actinobactérias encontradas em oceanos. Ensaio biológicos mostraram que a concentração mínima inibitória (CIM) foi de 29 e 16 vezes menor do que o fármaco comercial penicilina G quando testadas em cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina para os compostos **61** e **62**, respectivamente (HUGHES *et al.*, 2008).

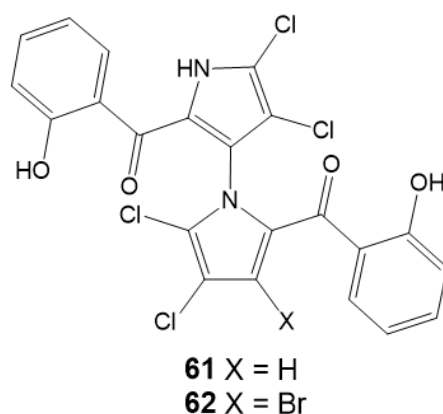
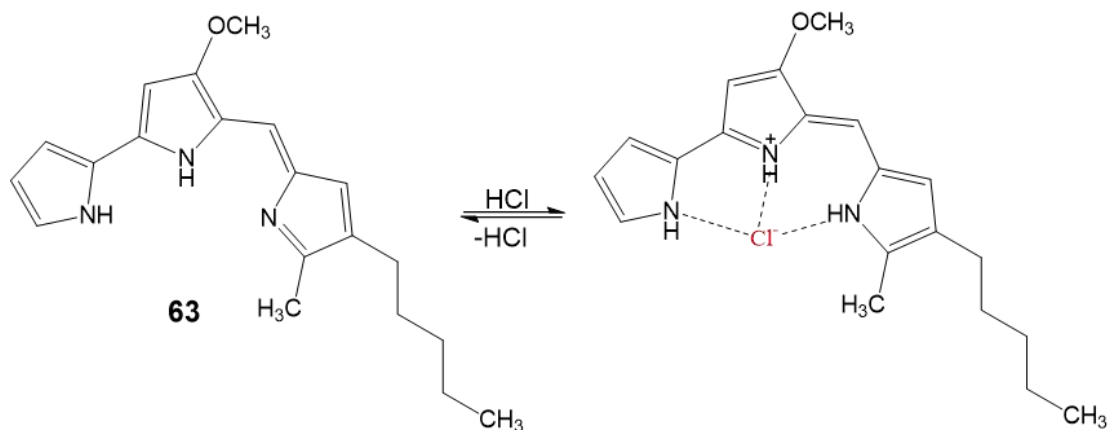


Figura 6. Estrutura química de pirróis marinhos com atividade antibacteriana.

Outro exemplo é a prodigiosina (**63**), um pigmento vermelho produzido por bactérias do gênero *Serratia* com propriedades antibióticas. De acordo com SEGANISH & DAVIS (2005), o mecanismo de ação deste composto baseia-se na formação de um complexo com íons Cl^- e H^+ (Esquema 14) transportando-os para o interior de bactérias através de membranas fosfolipídicas, acidificando o meio intracelular.



Esquema 14. Formação do complexo entre a prodigiosina e ácido clorídrico.

Além das substâncias naturais, a literatura reporta diversas moléculas sintéticas com propriedades antimicrobianas. IDHAYADHULLA *et al.* (2012) sintetizaram o composto **64** mostrado na Figura 7, que apresentou zona de inibição igual a 23 mm, enquanto o fármaco ciprofloxacina usado como padrão de referência mostrou 20 mm contra bactérias da espécie *Micrococcus luteus*. Já RAIMONDI *et al.* (2006) sintetizaram um derivado pirrólico **65** com átomos de bromo como substituintes (Figura 8). Este composto apresentou CIM igual a 0,093 µg/mL, enquanto o fármaco comercial amicacina teve CIM igual a 1 µg/mL contra *S. aureus*.

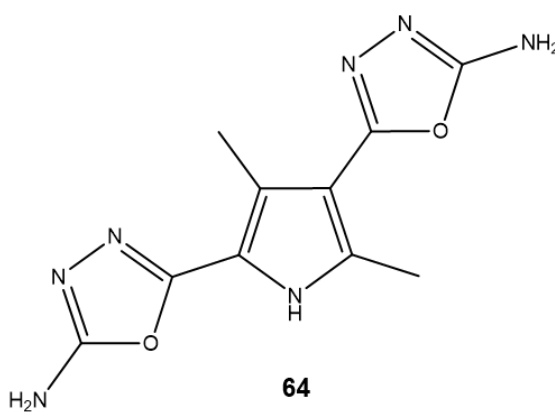


Figura 7. Derivado pirrólico com atividade antimicrobiana sintetizado por IDHAYADHULLA *et al.* (2012).

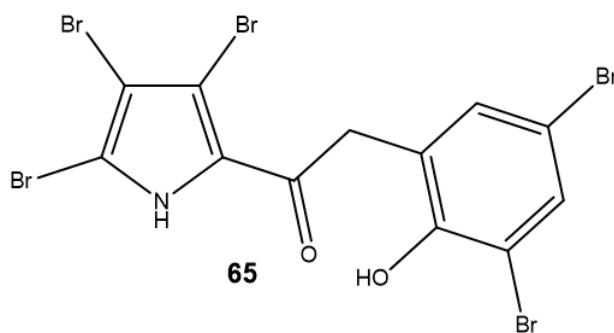


Figura 8. Composto 2-(3,5-dibromo-2-hidroxifenil)-1-(3,4,5-tribromo-1H-pirrol-2-ico)etanoato sintetizado por RAIMONDI *et al.* (2006).

V.3 - MICRO-ORGANISMOS E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

A primeira parte dessa seção tem como objetivo apresentar algumas características e patologias dos micro-organismos utilizados nos testes de difusão em

poços. A segunda parte discute o conceito de micro-organismos resistentes a antimicrobianos e cita alguns casos.

V.3.1 - Micro-organismos

V.3.1.1 - *Escherichia coli*

E. coli são bactérias Gram-negativas, anaeróbicas facultativas e possuem a forma de bastonetes. Elas são encontradas em intestinos de seres humanos e de outros animais. A maioria das cepas de *E. Coli* são inofensivas, porém algumas podem causar infecções urinária e intestinal através da produção da toxina *Shiga* (CDC, 2015).

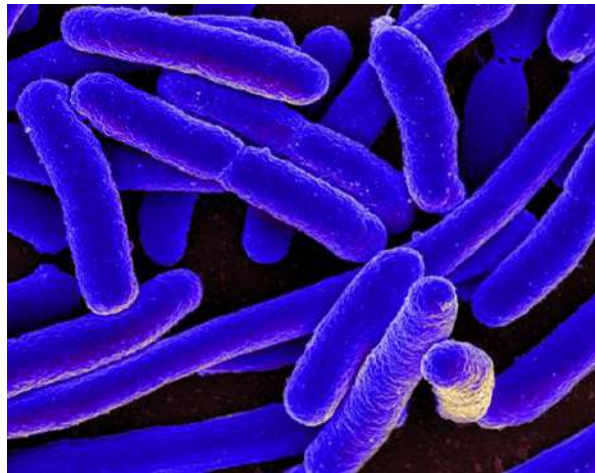


Figura 9. Imagem microscópica, gerada em computador, de *E. coli*. Fonte: NIH.

V.3.1.2 - *Enterococcus faecalis*

E. faecalis são bactérias Gram-positivas com forma de cocos que podem crescer em condições aeróbicas ou anaeróbicas. De acordo com CETINKAYA, FALK & MAYHALL (2000), *E. faecalis* representam em torno de 80 a 90% dos casos clínicos de *Enterococcus* Resistente à Vancomicina (ERV) nos Estados Unidos.

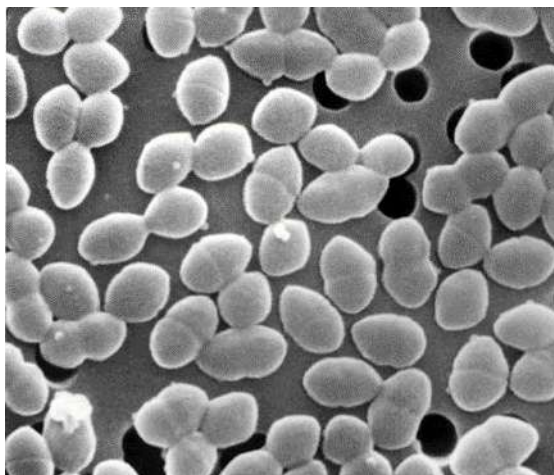


Figura 10. Imagem microscópica de bactérias da espécie *E. faecalis*. Fonte: NIH.

V.3.1.3 - *Salmonella enteritidis*

S. enteritidis são bactérias Gram-negativas na forma de bacilos com flagelos e anaeróbicos facultativos. Infecções causadas por *S. enteritidis* ocorrem normalmente pela ingestão de alimentos contaminados. Uma vez em um hospedeiro, a *S. Enteritidis* se aloja no intestino e libera citotoxinas, que provoca uma resposta do tecido epitelial, causando inflamações e sintomas como febre, calafrios, dores abdominais e diarreia (GIANNELLA, 1996).



Figura 11. Imagem microscópica, gerada em computador, de *S. enteritidis*. Fonte: NIH.

V.3.1.4 - *Bacillus cereus*

B. cereus são bactérias Gram-positivas com a forma de bastonetes, podendo apresentar mobilidade devido à presença de cílios peritríquios. São agentes oportunistas e muitas vezes estão relacionadas a intoxicações alimentares. Esses micro-organismos são um problema na indústria alimentícia devido à resistência ao

calor e capacidade de aderir fortemente a superfícies de tubulações e recipientes. A patogenicidade de *B. cereus* está relacionada a produção de toxinas, como: fosfolipases, hemolisinas, enterotoxinas, cereulida e proteases. Essas toxinas causam infecções tanto em seres humanos quanto em outros animais (GOMES, 2013).



Figura 12. Imagem microscópica de bactérias da espécie *B. cereus*. Fonte: NIH.

V.3.1.5 - *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes são bactérias Gram-positivas com formato de bastões sendo uma das espécies responsáveis pelos casos de listeriose, doença que ocorre principalmente através da ingestão de alimentos contaminados. Os casos mais graves dessa doença ocorrem em recém-nascidos, mulheres grávidas, idosos e pessoas com o sistema imunológico debilitado. Casos mais graves de listeriose podem evoluir para pneumonia e meningite (JONES, 2010).



Figura 13. Imagem microscópica, gerada em computador, de *L. monocytogenes*. Fonte: NIH.

V.3.1.6 - *Staphylococcus aureus*

S. aureus são bactérias Gram-negativas na forma de cocus, podem crescer em clusters, pares e, às vezes, em cadeias curtas. Esse micro-organismo, muitas vezes, está relacionado com infecções na pele, que causam bolhas, furúnculos, etc. Infecções mais graves podem ocorrer em pacientes debilitados, levando à pneumonia, abscessos profundos, osteomielite, endocardite, flebite, mastite e meningite. O grande problema do *Staphylococcus aureus* reside em cepas que desenvolveram resistência a maioria dos antibióticos em ambientes hospitalares. Essas cepas são normalmente chamadas de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), sendo resistentes a maioria de antibióticos comerciais, como penicilina, meticilina, tetraciclina e mupirocina (FOSTER, 1996).

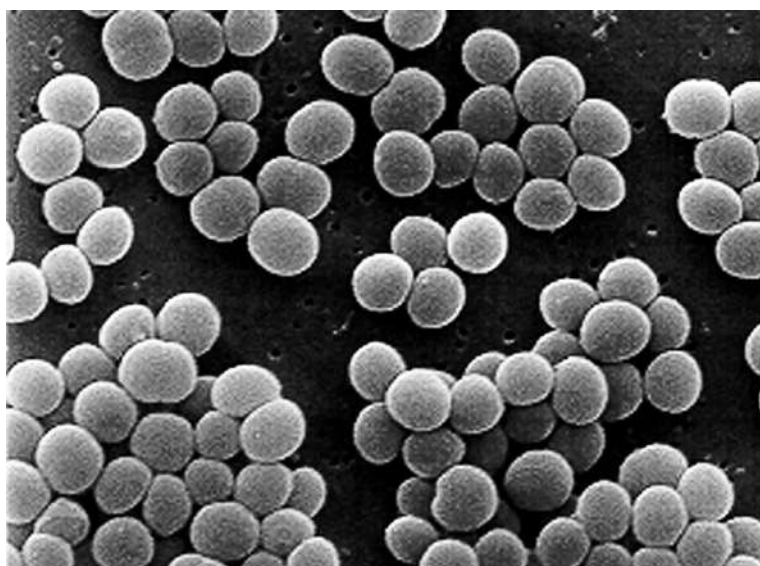


Figura 14. Imagem microscópicas de bactérias da espécie *S. aureus*. Fonte: NIH.

V.3.1.7 - *Candida famata*

C. famata é uma levedura que pode causar infecções no sangue de seres humano. De acordo com BEYDA *et al.* (2013), 0,2 a 2% dos casos de candidíases foram causados por esse micro-organismo. Pode ser encontrado naturalmente em queijos e outros laticínios.



Figura 15. Imagem microscópica da espécie de levedura *C. Famata*. Fonte: *Resource For Eukaryotic Genome Research* (DIARK).

V.3.1.8 - *Candida tropicalis*

Leveduras da espécie *Candida tropicalis* são encontradas em todo o globo terrestre, principalmente em água salgada de oceanos e no intestino de peixes marinhos. De acordo com *Leading International Fungal Education* (LIFE) Essa levedura é uma das principais causadoras de casos de candidíase, especialmente em áreas tropicais e subtropicais. Além disso, pode causar infecções no sangue (candidaemia) e, mais raramente, invadir tecidos mais internos.

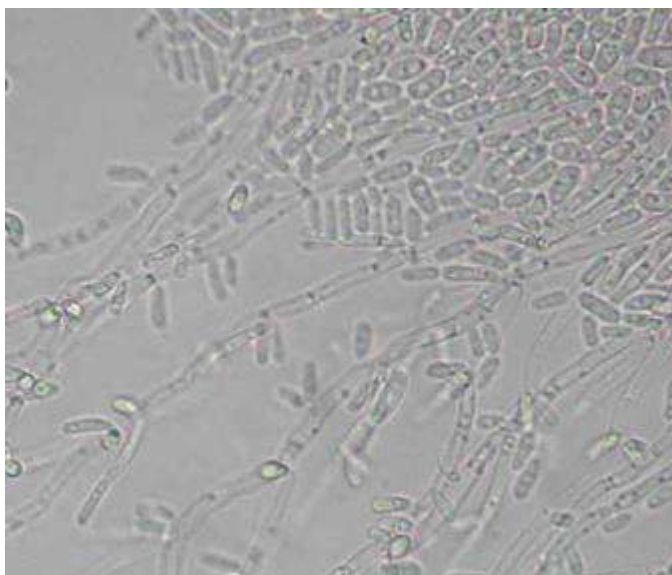


Figura 16. Imagem microscópica da espécie de levedura *C. tropicalis* (MCDONALD, 2002).

V.3.1.9 - *Rhodotorula mucilaginosa*

R. mucilaginosa é uma levedura de coloração alaranjada encontrada em diferentes ambientes, como solo, ar, água do mar e laticínios. Até 1960, leveduras do gênero *Rhodotorula* não eram consideradas patogênicas, porém a partir de 1960 casos clínicos de pessoas com infecções, causadas principalmente pela *Rhodotorula mucilaginosa*, começaram a ser reportados na literatura (RAMOS, 2010). A patogenicidade dessa levedura baseia-se em inflamações na pele e olhos, podendo evoluir para peritonite. É de grande ameaça, especialmente para seres humanos com o sistema imunológico debilitado, como portadores do vírus HIV.



Figura 17. Da esquerda para a direita imagem de uma placa de petri com colônias de *R. mucilaginosa* (LIFE) e imagem microscópica de *R. mucilaginosa* (UC-Davis).

V.3.1.10 - *Cryptococcus laurentii*

Cryptococcus laurentii é uma espécie de levedura que vive encapsulada em uma camada de polissacarídeos. Pode causar doenças tanto em seres humanos saudáveis quanto em pacientes com o sistema imunológico debilitado. Normalmente pacientes são contaminados por via respiratória, podendo causar infecções pulmonares. Sua toxidade baseia-se na capacidade de produzir uma grande cápsula e derramar grandes quantidades de material capsular nos fluidos corporais (BUCHANAN & MURPHY, 1998).

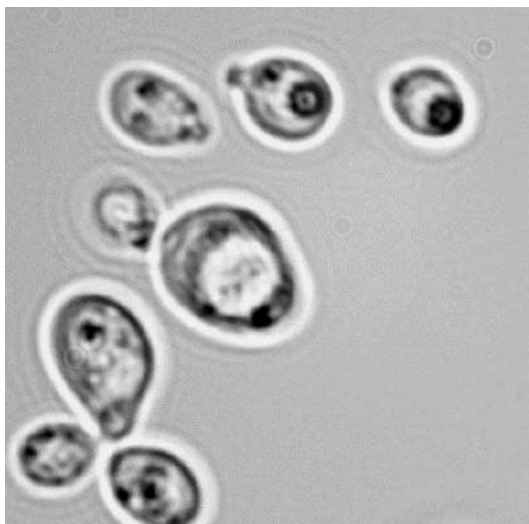


Figura 18. Imagens microscópicas de *Cryptococcus laurentii*. Fonte: BUCHANAN & MURPHY (1998).

V.3.2 - Resistência a antimicrobianos

A resistência a antimicrobianos acontece quando micro-organismos, como bactérias, fungos, vírus e parasitas, desenvolvem mecanismos de defesa quando são expostos a esses fármacos. Quando isso ocorre, aumenta-se a dificuldade de tratar pacientes infectados, além da preocupação do risco de transmissão para outros seres humanos (OMS, 2017).

Um mecanismo de defesa comumente desenvolvido por bactérias é a produção de enzimas β -lactamases que hidrolisam o grupo amídico em anéis β -lactâmicos, responsáveis pela atividade antimicrobiana de antibióticos das classes penicilina e cefalosporinas (BEBRONE *et al.*, 2010). Dados publicados pela OMS mostram que em alguns países mais da metade dos pacientes com infecções urinária causadas por *E. coli* apresentaram resistência ao tratamento por antibióticos da classe fluorquinolonas. Outro dado alarmante são os casos de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) que aumentam em 64% a chance de morte de pacientes contaminados em relação a cepas de *S. aureus* não resistentes.

VI - MATERIAIS E MÉTODOS

VI.1 - REAGENTES E SOLVENTES

A Tabela 1 lista os solventes e reagentes utilizados durante os experimentos bem como o fornecedor e a pureza quando disponível.

Tabela 1. Reagentes e solventes utilizados nos experimentos deste trabalho.

Fornecedor	Reagente, solventes e outros materiais
Baker & Adamson [®]	<i>m</i> -nitrobenzaldeído
John Townsend Baker Chemical Company [®]	2,2'-tiodietanol
Merck [®]	<i>p</i> -nitrobenzaldeído <i>N</i> -bromosucissinimida 98% Meio de cultura caldo de cérebro-coração
Riedel-de Haen [®]	1-pentanol 99%
Quimibrás Indústrias Químicas S. A. [®]	Álcool benzílico
Sigma-Aldrich [®]	Paládio suportado em carvão 10% (m/m) Acetoacetato de metila 99% acetoacetato de <i>tert</i> -butila 98% acetoacetato de etila 98% Cloreto de potássio (KCl) 99% Ácido trifluoracético (TFA) 99% Borohidreto de sódio (NaBH ₄) 98%
Vetec [®]	Sulfato de sódio anidro (NaSO ₄) 99% Cloreto de sódio (NaCl) 99% Hidróxido de sódio (NaOH) 99% Ácido clorídrico (HCl) 37%
Tedia [®]	Éter dietílico anidro 99,0% Tolueno 99,5% Metanol

	1-butanol 99,4% Ácido acético glacial 99,7% Hexano 95% Acetato de etila 99,5% Tetrahidrofurano 99,8%
Controltec Química Fina [®]	Sulfato de cobre II (CuSO ₄ .5H ₂ O) 99,0% Zinco metálico em pó 99,8%
Montedison farmacêutica S. A. [®]	Nitrito de sódio (NaNO ₂) 97%
Isopar [®]	Hexano
Cambridge Isotopo Laboratories, Inc. [®]	Clorofórmio deuterado 99,8% DMSO deuterado 99,9 % Piridina deuterada 99,5 %
Kasvi [®]	Ágar
BioMérieux [®]	Solução salina NaCl 0,85%

Todos os reagentes e solventes, exceto o sulfato de cobre hidratado, foram utilizados sem nenhuma purificação ou modificação antes das etapas de síntese e purificação. O sulfato de cobre penta hidratado foi previamente desidratado em estufa a 330 °C durante 4 horas antes de ser utilizado como catalisador.

VI.2 EQUIPAMENTOS, MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS, ESPECTROSCÓPICOS E ESPECTROMÉTRICOS

O progresso das reações foi acompanhado por cromatografia de camada delgada utilizando cromatofolhas de alumínio cobertas por sílica gel (F-254) com espessura de 250 µm da marca Silicycle[®]. As placas foram reveladas utilizando uma lâmpada de ultravioleta. As colunas cromatográficas foram preparadas utilizando sílica-gel flash Silicycle[®] (230-400 mesh) como fase estacionária e misturas de hexano e acetato de etila como eluente. Para remoção de solventes a pressão reduzida foi utilizado uma bomba a vácuo modelo V-855 da marca Buchi[®] e rotaevaporador IKA[®] modelo RV10 basic.

As temperaturas de ponto de fusão (P.F.) foram determinadas utilizando aparelho Mel-Temp colocando-se uma pequena porção de cada composto sintetizado em um capilar de vidro. As temperaturas não foram corrigidas.

As análises por CG-EM foram feitas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (QP 2010 Ultra, Shimadzu) com detector quadrupólo. As amostras foram preparadas na concentração aproximada de 1 mg.mL⁻¹, solubilizadas em acetato de etila, com volume de injeção igual a 1 µL e divisão de fluxo na razão de 1:10. No forno do CG foi utilizado uma coluna capilar DB-1 (30 m X 0,25mm X 0,25 µm) (J&M, Scientific), gás de arraste hélio e temperatura de injeção igual a 280 °C. No espectrômetro de massas a temperatura da fonte de íons foi de 230 °C e a temperatura de interface 290 °C. Para os compostos **4a-e**, **6a**, **6c-d** e **8**, a temperatura inicial do forno foi configurada para 95 °C e temperatura final 290 °C durante 12 minutos com um fluxo de hélio de 1,95 mL.min⁻¹. Para os β-cetoésteres (**1c-e**), a temperatura de injeção inicial foi de 80 °C seguido por um gradiente de temperatura mostrado na Tabela 2, o fluxo de hélio foi mantido a 2,09 mL.min⁻¹. Em ambos os métodos a taxa de aquecimento do forno foi igual a 12 °C.min⁻¹.

Tabela 2. Programa de temperatura do forno do CG para análise dos compostos 1c-e.

Temperatura (°C)	Tempo (min)
80	1
100	4
150	5
200	5

As análises de infravermelho foram conduzidas em um aparelho Nicolet Magna IR 760. Nesta análise, os compostos sólidos foram inicialmente misturados com brometo de potássio (KBr) anidro formando uma pastilha que teve seus valores de absorção na região de IV medidos e expressos em números de onda (cm⁻¹). Os espectros obtidos foram editados na versão teste do software ACD/Spectrum Processor.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e de carbono (RMN ¹³C) foram realizados em aparelho Bruker, modelo DPX 200, operando

a 500 MHz ou 400 MHz para os núcleos de ^1H e 125 MHz ou 100 MHz para os de ^{13}C . Como solventes deuterados foram utilizados dimetil-sulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$), clorofórmio deuterado (CDCl_3) ou piridina deuterada ($\text{Piridina-}d_5$). Os núcleos de hidrogênio residuais destes solventes foram utilizados como referencial interno. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e os valores das constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As áreas relativas dos sinais de hidrogênio foram obtidas por integração eletrônica e a multiplicidade das bandas de absorção foi indicada segundo a convenção: simpleto (s); duplete (d); duplo duplete (dd); tripleto (t); duplo tripleto (dt); quinteto (quint); sexteto (sext) ou multiplete (m). A abreviação q foi utilizada para descrever átomos de carbono quaternário nos espectros de RMN ^{13}C . Os fids adquiridas foram editadas com o software MestReNova.

VI.3 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA SÍNTESE

VI.3.1 - Síntese de 3-oxobutanoatos de alquila (1c-d)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 60 mmol de acetoacetato de metila (**1a**) juntamente com 1,2 g de zinco metálico em pó e 360 mmol do respectivo álcool (Tabela 3). O balão foi acoplado a um sistema de destilação e mantido sobre refluxo e agitação magnética por 3,5 horas (Figura 19). O progresso da reação foi acompanhado por CCD utilizando hexano: acetato de etila (80:20%) como eluente. Ao final da reação, o meio foi resfriado a temperatura ambiente, o zinco foi removido através de filtração simples e o álcool à pressão reduzida utilizado uma bomba a vácuo junto com um rotaevaporador. Os álcoois utilizados e rendimentos estão descritos na Tabela 3 (BANDGAR *et al.*, 2001).

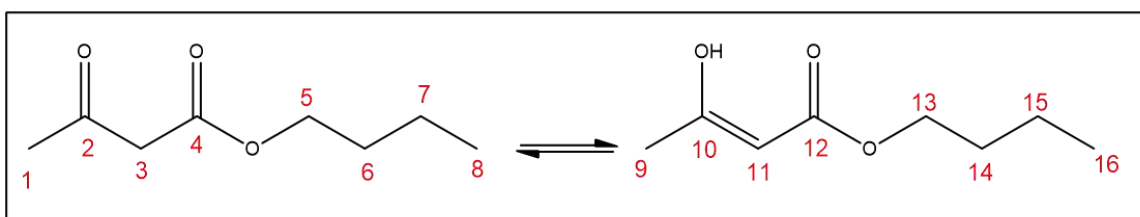
Tabela 3. Álcoois, temperatura e rendimentos da síntese de β -cetoésteres de cadeia alifática linear.

Produto	Álcool	Rendimento (%)
Acetoacetato de butila (1c)	1-Butanol	91
Acetoacetato de pentila (1d)	1-Pentanol	94



Figura 19. Sistema utilizado na síntese de β -cetoésteres.

Caracterização do 3-oxobutanoato de butila (**1c**)



Forma cetônica RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 4,12 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H; H5), 3,43 (s, 2H; H3), 2,25 (s, 3H; H1), 1,61 (quint, $J = 8,0$ Hz, 2H; H6), 1,37 (sext, $J = 8,0$ Hz, 2H; H7), 0,91 (t, $J = 8,0$ Hz, 5H; H8 e H16).

Forma enólica RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 12,08 (s; OH), 4,96 (s; H11), 3,62 (t; H13), 1,93 (s; H9), 1,53 (quint; H14).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 201,41 (Cq), 167,99 (Cq), 66,05 (CH_2), 63,45 (CH_2), 50,89 (CH_2), 35,62 (CH_2), 31,25 (CH_2), 30,87 (CH), 19,79 (CH_3), 19,64 (CH_2), 14,60 (CH_3), 14,38 (CH_3).

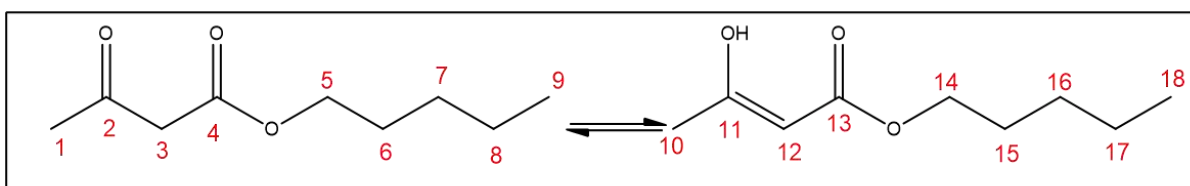
Proporção forma cetônica:enólica (90:10)

$\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr) (cm^{-1}): 1649 (C=O), 1721 (C=O), 1718 (C=O), 2962-2875 (C-H), 3548 (OH).

CG-EM (70 eV): m/z 159 $[\text{M}]^+$

Líquido amarelo; rendimento: 91%

Caracterização do 3-oxobutanoato de pentila (**1d**)



Forma cetônica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 4,11 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H; H5), 3,43 (s, 2H; H3), 2,25 (s, 3H; H1), 1,63 (quint, $J = 7,0$ Hz, 2H; H6), 1,33 – 1,29 (m, 7H; H7 e H8), 0,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 5H; H9 e H18).

Forma enólica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 12,08 (s; OH), 4,96 (s; H12), 3,65 – 3,68 (m; H14), 1,93 (s; H10), 1,57 - 1,52 (m; H15).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 200,58 (Cq), 167,20 (Cq), 89,76 (CH), 65,56 (CH₂), 64,07 (CH₂), 63,00 (CH₂), 50,12 (CH₂), 32,47 (CH₂), 30,07 (CH₃), 28,15 (CH₂), 27,93 (CH₂), 22,46 (CH₂), 22,23 (CH₂), 21,23 (CH₃), 14,00 (CH₃), 13,88 (CH₃).

Proporção forma cetônica:enólica (91:9)

$\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr) (cm^{-1}): 1626 (C=O), 1720 (C=O), 1743 (C=O), 2960-2862 (CH), 3531 (OH).

CG-EM (70 eV): m/z 172 [M] $^+$

Líquido amarelo; rendimento: 94%

VI.3.2 - Síntese de 3-oxobutanoatos aromáticos e 2-((2-hidroxietil)-tio)-etila (**1e-h**)

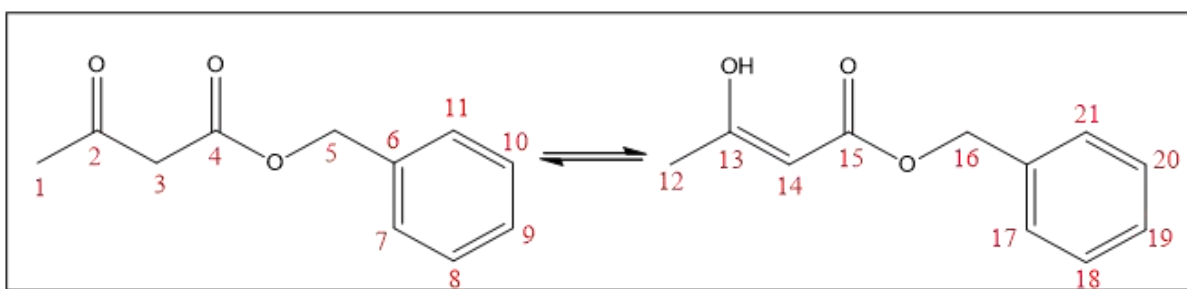
O procedimento desta reação foi semelhante ao descrito na seção VI.3.1. Inicialmente 30 mmols de acetoacetato de etila foram adicionados em um balão de fundo redondo juntamente com 32 mmols do respectivo álcool, 100 mL de tolueno e 600 mg de CuSO_4 desidratado. Montou-se um sistema igual ao da Figura 19 que permaneceu em refluxo a 125-130 °C por períodos descritos na Tabela 4 que variaram de acordo com o álcool empregado.

Tabela 4. Álcoois, tempo e rendimentos da síntese de β -cetoestéres. NC – não calculado.

Produto	Álcool	Tempo (h)	Rendimento (%)
Acetoacetato de benzila (1e)	Álcool benzílico	6	98
Acetoacetato de <i>p</i> -nitrobenzila (1f)	Álcool <i>p</i> -nitrobenzílico	8	66
Acetoacetato de <i>m</i> -nitrobenzila (1g)	Álcool <i>m</i> -nitrobenzílico	8	57
3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxietil) tio) etila (1h)	2,2'-tiodietanol	9	NC

A reação foi acompanhada por CCD utilizando como eluente hexano: acetato de etila (80:20 v/v). Após o consumo total do acetoacetato de etila, o meio foi resfriado a temperatura ambiente e filtrado à vácuo para remoção do sulfato de cobre. O filtrado foi colocado em um rotaevaporador acoplado a uma bomba de vácuo para remoção do tolueno, restando um óleo de coloração amarela. Para os acetoacetatos nitrados (**1f-1g**) foi feita uma etapa de cristalização com a adição de 1 mL de éter dietílico/g de produto bruto a temperatura ambiente, seguido de resfriamento do meio até 0 °C e filtração a vácuo. Os demais β -cetoésteres seguiram para as outras etapas sem purificação (YASUTSUGU, *et al.*, 1984; BANDGAR *et al.*, 2001).

Caracterização do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**)



Forma cetônica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,36-7,38 (m, 9H; H7-H11 e H17-21), 5,18 (s, 2H; H5), 3,50 (s, 2H; H3), 2,25 (s, 3H; H1).

Forma enólica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 12,03 (s, OH), 5,11 (s; H14), 2,10 (s; H12).

RMN ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 200,43 (Cq), 167,06 (Cq), 129,15 – 125,42 (CH aromático), 67,27 (CH_2), 65,46 (CH_2), 50,16 (CH_2), 30,23 (CH_3), 21,56 (CH_3).

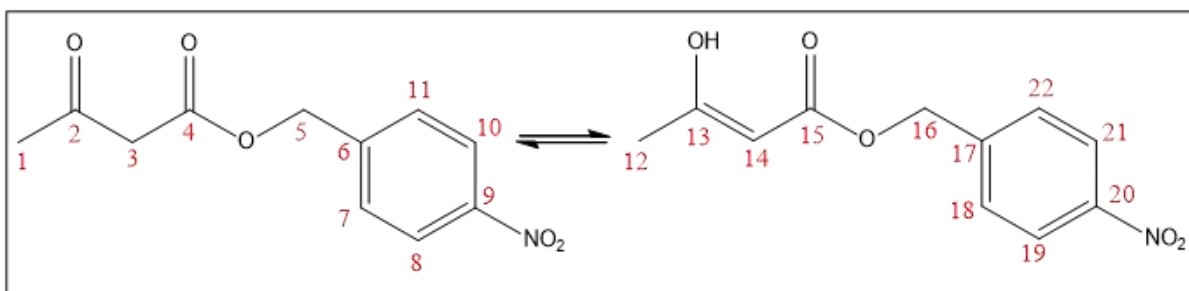
Proporção forma cetônica:enólica (85:15)

$IV_{\text{vmáx.}}$ (KBr) (cm^{-1}): 1624 (C=O), 1716 (C=O), 1743 (C=O), 3066-2958 (CH), 3473 (OH).

CG-EM (70 eV): m/z 192 [M] $^{+}$

Líquido amarelo; rendimento: 98%

Caracterização do 3-oxobutanoato de *p*-nitro benzila (**1f**)



Forma cetônica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,22 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H; H8, H10, H19 e H21), 7,53 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H; H7, H11, H18 e H22), 5,27 (s, 2H; H5 e H16), 3,56 (s, 2H; H3), 2,27 (s, 3H, H1).

Forma enólica RMN ^1H δ 11,86 (s; OH), 4,97 (s; H14), 1,98 (s; H12).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 200,09 (Cq), 166,73 (Cq), 147,95 (Cq), 142,67 (Cq), 128,59 (CH), 123,95 (CH), 65,60 (CH_2), 49,91 (CH_2), 30,40 (CH_3).

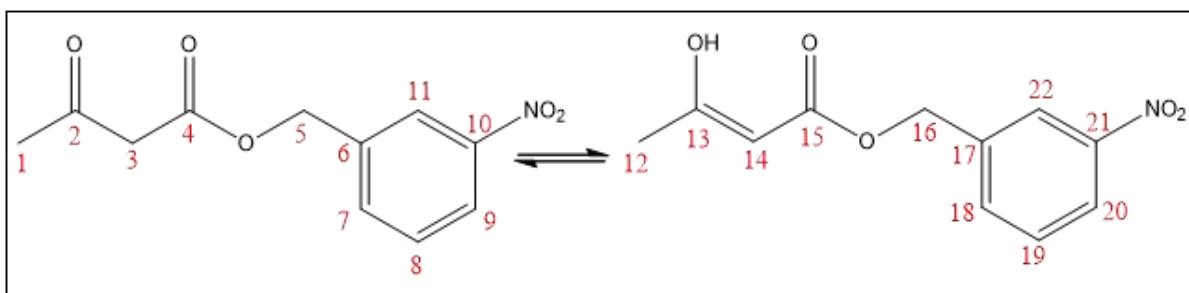
Proporção forma cetônica:enólica (88:12)

$IV_{\text{vmáx.}}$ (KBr) (cm^{-1}): 1605 (C=O), 1716 (C=O), 1743 (C=O), 3412 (OH).

P.F.: 44-45 $^{\circ}\text{C}$

Sólido branco; rendimento: 57%

Caracterização do 3-oxobutanoato de *m*-nitro benzila (**1g**)



Forma cetônica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,22 (s, 1H; H11), 8,19 (d, $J = 8$ Hz, 1H; H9), 7,70 (d, $J = 8$ Hz, 1H; H7), 7,55 (t, $J = 8$ Hz, 1H; H8), 5,26 (s, 2H; H5 e H16), 3,56 (s, 2H; H3), 2,27 (s, 3H; H1).

Forma enólica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 11,87 (s, OH), 4,96 (s, H14), 1,98 (s, 12H).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 200,09 (Cq), 166,79 (Cq), 148,53 (Cq), 137,58 (Cq), 134,09 (CH), 129,82 (CH), 123,46 (CH), 123,03 (CH), 65,66 (CH_2), 49,92 (CH_2), 30,38 (CH_3).

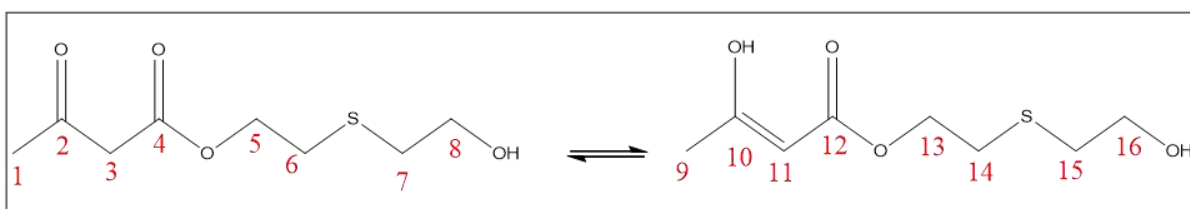
Proporção forma cetônica:enólica (88:12)

$\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr) (cm^{-1}): 1630 (C=O), 1716 (C=O), 1749 (C=O), 3413 (OH).

P.F.: 68-69 °C

Sólido branco; rendimento: 66%

Caracterização do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxietil)tio) etila (**1h**)



Forma cetônica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 4,29 (m, 2H; H5 e H13), 3,77-3,72 (m, 2H; H8 e H16), 3,47 (s, 2H; H3), 2,81-2,78 (m, 4H; H6, H7, H14 e H15), 2,26 (s, 3H; H1).

Forma enólica RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 11,93 (s; OH), 4,98 (s; H11), 1,95 (s; 3H).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 200,54 (Cq), 166,99 (Cq), 89,50 (CH), 64,27 (CH_2), 60,89 (CH_2), 50,01 (CH_2), 35,48 (CH_2), 30,67 (CH_2), 30,35 (CH_3), 30,31 (CH_2), 21,34 (CH_3).

Proporção forma cetônica:enólica (90:10)

$\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr) (cm^{-1}): 1620 (C=O), 1713 (C=O), 1740 (C=O), 2956-2881 (CH), 3440 (OH).

Líquido bege. Rendimento não calculado.

VI.3.3 - Síntese dos núcleos pirrólicos (4a-e)

Etapa 1: Síntese do intermediário 2-hidroxiimino-3-oxobutirato de *tert*-butila (**3**).

Em um balão de fundo redondo adicionou-se 10 g de acetoacetato de *tert*-butila e 10 mL de ácido acético glacial. O meio de reação foi resfriando a 0-5 °C em banho

de gelo e sal grosso e sob agitação magnética adicionou-se gota a gota uma solução de 7,0 g de nitrito de sódio (NaNO₂) solubilizado em 12 mL de água, mantendo o meio a uma temperatura menor do que 10 °C. Após o término da adição da solução de NaNO₂, o sistema foi lentamente conduzido a temperatura ambiente e mantido nessas condições durante 12 horas (FISCHER, 1943).

Etapa 2: Método de Knorr para síntese do composto 4b

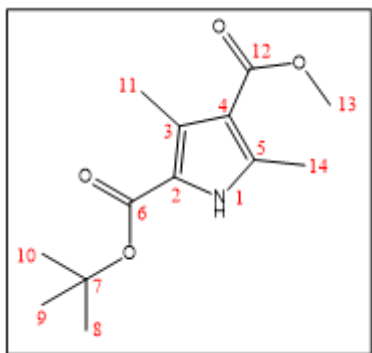
Adicionou-se em um balão de fundo redondo 10 mmols do β-cetoéster correspondente, 13 mL de ácido acético glacial e 6,34 g de Zn em pó até atingir a temperatura de 60 °C. Nesta temperatura, gota a gota adicionou-se 30 mmols do intermediário oxima (**3**) produzida na etapa 1 sem purificação prévia. Com o término da adição, o meio de reação foi mantido em refluxo a 75 °C durante 2 horas. O progresso da reação foi acompanhado por CCD utilizando hexano:acetato de etila (80:20 v/v) como eluente. Com o término da reação, o meio foi vertido em gelo picado, solubilizado em acetato de etila e filtrado para remoção do zinco residual. O filtrado foi vertido em um funil de separação para separar a fase orgânica da aquosa que foi seca com sulfato de sódio anidro. Uma vez seca, o acetato de etila foi removido a pressão reduzida obtendo um sólido gelatinoso. Para os compostos **4b** e **e** realizou-se uma recristalização em uma mistura de água:metanol (1:2,6 v/v) na proporção de 0,12 g de produto/mL de solução (FISCHER, 1943).

Etapa 2: Método descrito por Manley *et al.* (2003) para síntese dos compostos 4a, c-d

Neste procedimento, o primeiro passo foi a extração do intermediário (**3**) produzido na etapa 1. O meio de reação da etapa 1 (partindo de 10 g de acetoacetato de *terc*-butila) foi vertido num funil de separação juntamente com 15 mL de éter dietílico e 10 mL de uma solução saturada de cloreto de potássio (KCl). A fase aquosa foi lavada mais três vezes com 10 mL de éter dietílico. Depois, as fases orgânicas foram combinadas e lavadas três vezes com água, seca com sulfato de sódio e levada a um rotaevaporador, restando um óleo de coloração amarelo claro.

Em um reator acoplado a um cilindro de hidrogênio, adicionou-se 3,5 g da oxima, 33 mmols do respectivo β -cetoéster, 3 mL de ácido acético glacial e 0,28 g de paládio suportado em carvão. O reator foi parcialmente imerso num banho maria a 70 °C e mantido sob agitação por 7 horas. Ao final da reação, confirmada por CCD (80:20 hexano:acetato de etila v/v como eluente), o meio de reação foi filtrado para remoção do catalisador rinsando o paládio duas vezes com 5 mL de ácido acético glacial pré-aquecido a 60 °C. O meio foi neutralizado com NaOH 50% (m/m), formando um precipitado que foi filtrado a vácuo e lavado com água gelada.

Caracterização do 3-oxobutanoato de 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-metila (**4a**)



RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 9,32 (s, 1H; NH), 3,80 (s, 3H; H13), 2,52 (s, 3H; H14 ou H11), 2,49 (s, 3H; H11 ou H14), 1,56 (s, 9H; H8, 9 e 10).

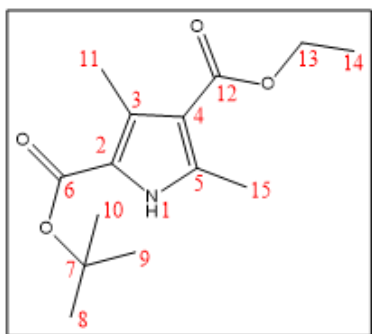
RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 166,17 (Cq), 161,46 (Cq), 138,67 (Cq), 130,11 (Cq), 119,36 (Cq), 113,32 (Cq), 81,35 (Cq), 50,76 (CH₃), 28,58 (CH₃), 14,39 (CH₃), 12,09 (CH₃).

$\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr) (cm^{-1}): 1649 (C=O), 1705 (C=O), 2985-2968 (CH), 3317 (NH).

CG-EM (70 eV): m/z 253 [M] $^{+}$

P.F.: 145-146 °C. Cristais brancos; rendimento: 61 %

Caracterização do 3-oxobutanoato de 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-etila (**4b**)



RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 9,18 (s, NH), 4,27 (q, $J = 8$ Hz, 2H; H13), 2,52 (s, 3H; H11 ou H15), 2,50 (s, 3H; H11 ou H15), 1,56 (s, 9H; H8, H9 e H10), 1,34 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H; H14).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 165,74 (Cq), 161,41 (Cq), 138,49 (Cq), 130,12 (Cq), 119,30 (Cq), 113,52 (Cq), 81,31 (Cq), 59,55 (CH₂), 28,59 (CH₃), 14,55 (CH₃), 14,45

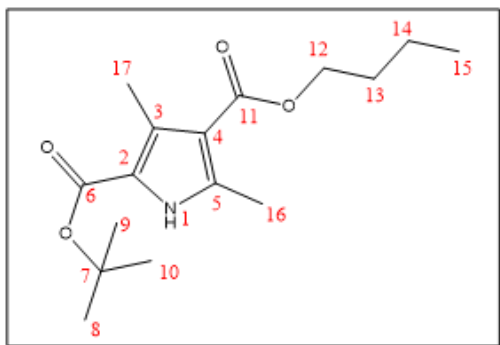
(CH₃), 12,11 (CH₃).

$\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr) (cm^{-1}): 1702 (C=O), 1691 (C=O), 3018-2931 (CH), 3301 (NH).

CG-EM (70 eV): m/z 267 [M] $^{+}$

P.F.: 131-132 °C. Cristais brancos; rendimento: 18%

Caracterização do 3-oxobutanoato de 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-metila (**4c**)



RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,17 (s, 1H, NH), 4,23 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, H12), 2,52 (s, 3H, H16 ou H17), 2,49 (s, 3H, H17 ou H16), 1,70 (quint, *J* = 7,5 Hz, 2H, H13), 1,56 (s, 9H, H8, H9 e H10), 1,45 (sext, *J* = 7,5 Hz, 3H, H14), 0,95 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, H15).

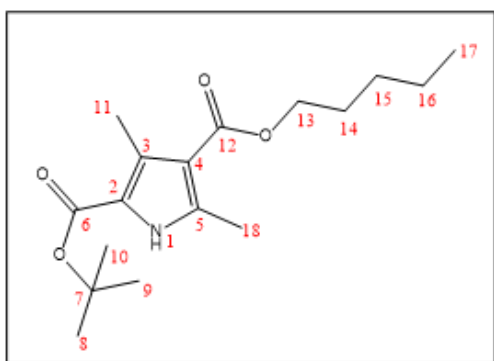
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 165,73 (Cq), 161,29 (Cq), 138,40 (Cq), 129,96 (Cq), 119,17 (Cq), 113,44 (Cq), 81,19 (Cq), 63,40 (CH₂), 30,90 (CH₂), 28,47 (CH₃), 19,43 (CH₂), 14,34 (CH₃), 13,75 (CH₃), 12,03 (CH₃).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1655 (C=O), 1697 (C=O), 2976-2873 (CH), 3315 (NH).

CG-EM (70 eV): *m/z* 295 [M]⁺

P.F.: 110 - 111 °C. Sólido amarelo; rendimento: 76%.

Caracterização do 3-oxobutanoato de 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-pentila (**4d**)



RMN ¹H (400 MHz, Piridina) δ 12,82 (s, 1H, NH), 4,33 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, H13), 2,98 (s, 3H, H18 ou H11), 2,67 (s, 3H, H11 ou H18), 1,69 (quint, *J* = 7,0, 2H, H14), 1,52 (s, 9H, H8, H9 e H10), 1,40 – 1,23 (m, 4H, H15 e H16), 0,85 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, H17).

RMN ¹³C (100 MHz, piridina) δ 166,29 (Cq), 161,91 (Cq), 139,85 (Cq), 130,62 (Cq), 120,88 (Cq), 114,11 (Cq), 80,80 (Cq), 64,04 (CH₂), 29,34 (CH₂), 29,07 (CH₂), 28,85 (CH₃), 23,02 (CH₂), 14,56 (CH₃), 14,44 (CH₃), 13,13 (CH₃).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1655 (C=O), 1705 (C=O), 3008-2870 (CH), 3302 (NH).

CG-EM (70 eV): *m/z* 309 [M]⁺

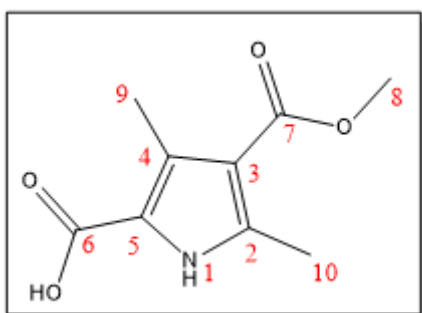
P.F.: 100-102 °C. Sólido amarelo; rendimento: 87%.

VI.3.4 - Síntese dos derivados ácido 4-(alquil-carbonil)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílico (5 a, c-d)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 10 mL de TFA resfriando-o entre -5 e 0 °C em banho de gelo, sal grosso e etanol. Ao TFA resfriado e sob agitação magnética adicionou-se 3,75 mmols do pirrol (4a, c-d) e o sistema foi mantido sob agitação e resfriamento durante 5 horas. No fim da reação, confirmado por CCD (50:50 hexano:acetato de etila v/v), adicionou-se 6 mL de gelo picado e água gelada formando um precipitado que foi filtrado a vácuo, lavado com água gelada seguido de hexano até adquirir uma coloração branca.

Caracterização do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílico

(5a)



RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,42 (s, 1H; NH), 11,76 (s, 1H; OH), 3,70 (s, 3H; H8), 2,44 (s, 3H; H10 ou H9), 2,38 (s, 3H; H9 ou H10).

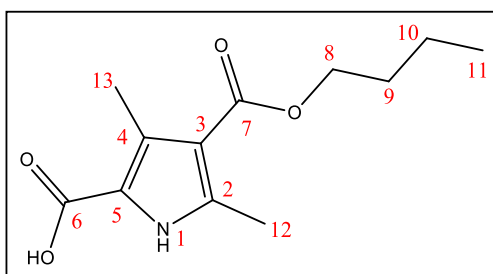
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165,62 (Cq), 162,69 (Cq), 139,39 (Cq), 129,46 (Cq), 118,72 (Cq), 112,45 (Cq), 50,84 (CH₃), 13,89 (CH₃), 12,16 (CH₃).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1668 (C=O), 1699 (C=O), 3284 (NH).

P.F.: deg. 193-194 °C. Sólido branco; rendimento: 55%.

Caracterização do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílico

(5c)



RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,38 (s, 1H, NH), 11,75 (s, 1H, OH), 4,12 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, H8), 2,45 (s, 3H, H12 ou H13), 2,39 (s, 3H, H13 ou H12), 1,63 (quint, *J* = 7 Hz, 2H, H9), 1,39 (sext, *J* = 7,0 Hz, 2H, H10), 0,91 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, H11).

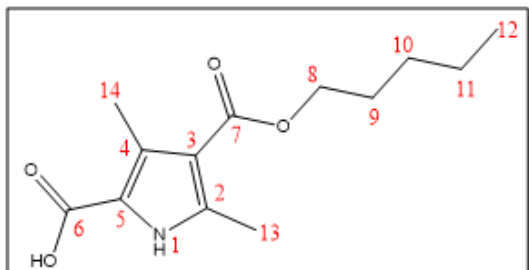
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO) δ 165,23 (Cq), 162,70 (Cq), 139,35 (Cq), 129,46 (Cq), 118,67 (Cq), 112,59 (Cq), 63,01 (CH₂), 30,89 (CH₂), 19,37 (CH₂), 14,047 (CH₃), 13,94 (CH₃), 12,17 (CH₃).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1678 (C=O), 2964-2875 (CH), 3340-3323 (NH).

P.F.: 164-165 °C. Sólido branco; rendimento: 39%.

Caracterização do ácido 4-(pentoxicarbonil)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílico

(5d)



RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,40 (s, 1H, NH), 11,75 (s, 1H; OH), 4,11 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H; H8), 2,45 (s, 3H; H13 ou H14), 2,39 (s, 3H; H14 ou H13), 1,64 (quint, $J = 7,0$ Hz, 2H; H9), 1,39 - 1,27 (m, 4H; H10 e H11), 0,87 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H; H12).

RMN 13C (100 MHz, DMSO) δ 165,22 (Cq), 162,70 (Cq), 139,34 (Cq), 129,46 (Cq), 118,68 (Cq), 112,59 (Cq), 63,30 (CH₂), 28,46 (CH₂), 28,32 (CH₂), 22,22 (CH₂), 14,31(CH₃), 13,93 (CH₃), 12,17 (CH₃).

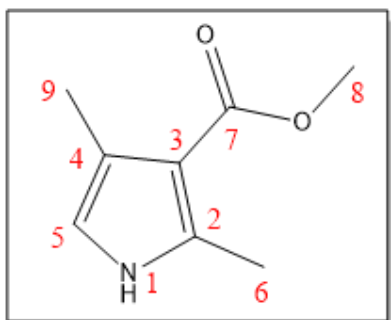
IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1660 (C=O), 1676 (C=O), 2953-2860 (CH), 3352 (NH).

P.F.: 165-166 °C. Sólido branco; rendimento: 63%.

VI.3.5 - Síntese dos derivados 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de alquila (6 a, c-d)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 1,6 mL de etanol e 6 mmols do respectivo pirrol (**4a**, **c-d**) sob agitação magnética. À temperatura ambiente, gota a gota, adicionou-se 0,75 mL de uma solução de HCl 10 M. Após o término da adição, o sistema foi aquecido até 55 °C e mantido entre 55-65 °C durante 1 hora. Durante esse tempo o progresso da reação foi acompanhado por CCD utilizando hexano:acetato de etila (80:20 v/v) como eluente. O meio de reação foi resfriado em banho de gelo e sob agitação magnética adicionou-se gota a gota 8 mL de água gelada e gelo. No caso de precipitação, o precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água gelada. Caso contrário, realizou-se uma extração líquido-líquido (3 vezes com 3 mL de acetato de etila). O solvente foi removido a pressão reduzida restando um óleo avermelhado que foi purificado em coluna de sílica utilizando hexano: acetato de etila (98:2 v/v) como eluente (SUN *et al.*, 2003).

Caracterização do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**6a**)



RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,27 (s, 1H; NH), 6,34 (s, 1H; H5), 3,80 (s, 3H; H8), 2,47 (s, 3H; H6 ou H9), 2,23 (s, 3H; H9 ou H6).

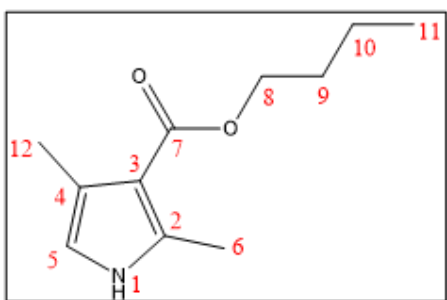
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 167.00 (Cq), 136.20 (Cq), 121.65 (Cq), 114.43 (CH), 110.67 (Cq), 50.55 (CH₃), 14.14 (CH₃), 12.66 (CH₃).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1668 (C=O), 3267 (NH).

CG-EM (70 eV): *m/z* 153 [M]⁺

P.F.: deg. 101-102 °C. Sólido amorfo e rosa; rendimento: 77%

Caracterização do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**6c**)



RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,18 (s, 1H; NH), 6,35 (s, 1H; H5), 4,22 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H; H8), 2,48 (s, 3H; H6 ou H12), 2,24 (s, 3H; H6 ou H12), 1,71 (quint, *J* = 7,5 Hz, 2H; H9), 1,46 (sext, *J* = 7,5 Hz, 2H; H10), 0,96 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H; H11).

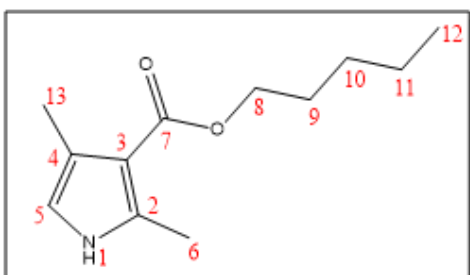
RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 166,63 (Cq), 136,07 (Cq), 121,71 (Cq), 114,35 (CH), 110,95 (Cq), 63,18 (CH₂), 31,12 (CH₂), 19,57 (CH₂), 14,21 (CH₃), 13,88 (CH₃), 12,78 (CH₃).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1659 (C=O), 1672 (C=O), 2958-2873 (CH), 3319 (NH).

CG-EM (70 eV): *m/z* 195 [M]⁺

Sólido amorfo branco; rendimento: 79%.

Caracterização do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**6d**)



RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,12 (s, 1H; NH), 6,35 (s, 1H; H5), 4,21 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H; H6), 2,48 (s, 3H; H6 ou H13), 2,24 (s, 3H; H13 ou H6), 1,72 (quint, *J* = 7,0 Hz, 2H; H10), 1,45 - 1,32 (m, 4H; H11), 0,91 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H; H12).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 166,61 (Cq), 136,08 (Cq), 121,74 (Cq), 114,33 (CH), 110,99 (Cq), 63,47 (CH₂), 28,74 (CH₂), 28,53 (CH₂), 22,48 (CH₂), 14,22 (CH₃), 14,12 (CH₃), 12,78 (CH₃).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1664 (C=O), 2958-2872 (CH), 3323 (NH).

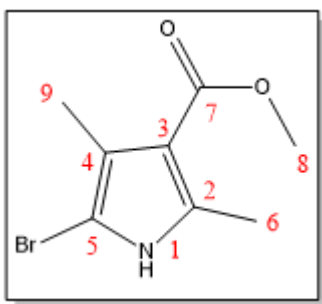
CG-EM (70 eV): *m/z* 209 [M]⁺

P.F.: 45-46 °C. Sólido amorfo branco; rendimento: 76%

VI.3.6 - Síntese do 5-bromo-2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**8**)

Adicionou-se 1,3 mmol (0,2 g) do composto **6a** em um balão de fundo redondo com 5 mL de THF a 0 °C em banho de gelo. A este balão adicionou-se gota a gota uma solução de 1,3 mmol de NBS, 0,5 mL de piridina e 5 mL de THF. O sistema foi mantido em agitação magnética e resfriamento por 30 minutos. Após o consumo do material de partida, confirmado por CCD (80:20 hexano:acetato de etila v/v), o meio reação foi vertido num funil de separação juntamente com 10 mL de acetato de etila e 10 mL de uma solução aquosa de 0,1 g/mL de sulfato de cobre pentahidratado. A fase orgânica foi lavada mais uma vez com a solução de CuSO₄.5H₂O e três vezes com 10 mL de água. Finalmente, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido a pressão reduzida obtendo um precipitado marrom. O produto obtido foi armazenado a temperatura ambiente protegido da luz (ANGUERA, 2015).

Caracterização do 5-bromo-2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**8**)



RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,34 (s, 1H, NH), 3,80 (s, 3H, H8), 2,46 (s, 3H, H6 ou H9), 2,17 (s, 3H, H9 ou H6).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 165,96 (Cq), 136,45 (Cq), 120,31 (Cq), 111,85 (Cq), 96,65 (Cq), 50,85 (CH₃), 14,05 (CH₃), 12,14 (CH₃).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1678 (C=O), 2953 (CH), 3259 (NH).

CG-EM (70 eV): *m/z* 231 [M]⁺, 233 [+2]⁺

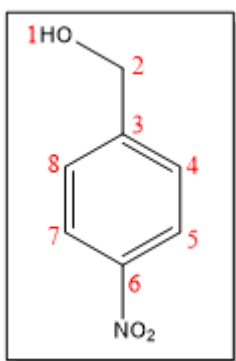
P.F.: não determinado (sensível a luz). Sólido amorfo marrom; rendimento: 73%

VI.3.7 Síntese dos derivados 3 e 4-hidroximetil-nitrobenzeno (**10a e 10b**)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 20 mL de metanol e 6,04 g de *p*-nitrobenzaldeído. O sistema foi mantido sob agitação magnética enquanto que 1,52 g

de NaBH₄ foram adicionadas em pequenas porções. O sistema permaneceu sob agitação durante 1 hora a temperatura ambiente. O progresso da reação foi acompanhado por CCD, hexano:acetato de etila 80:20 (v/v). Com o término da reação, gotejou-se uma solução de 5 M de HCl até que não se observou mais efervescência. Logo em seguida, o meio de reação foi vertido em um funil de separação juntamente com 20 mL de acetato de etila e 40 mL de água. Com a separação das fases, a fase aquosa foi extraída mais duas vezes com 15 mL de acetato de etila. As fases orgânicas foram combinadas, secas com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido a pressão reduzida.

Caracterização do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (**10a**)



RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,19 (dt, *J* = 8,8 Hz e *J* = 2,1 Hz, 2H; H7 e H5), 7,52 (dt, *J* = 8,8 Hz, *J* = 2,1 Hz, 2H; H8 e H4), 4,82 (s, 2H; H2), 2,14 (s, 1H; OH).

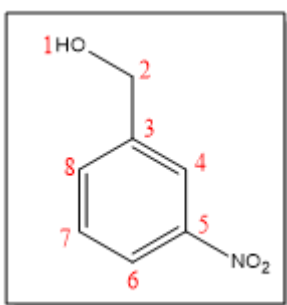
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 148,37 (Cq), 147,39 (Cq), 127,12 (CH), 123,83 (CH), 64,08 (CH₂).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1508 (C=C), 3518 (OH).

CG-EM (70 eV): *m/z* 153 [M]⁺

P.F.: 88-90 °C. Cristais brancos; rendimento: 79%.

Caracterização do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (**10b**)



RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,19 (s, 1H; H4), 8,09 (ddt, *J* = 8,0 Hz, *J* = 1,8 Hz, *J* = 0,6 Hz, 1H; H6), 7,67 (dt, *J* = 8,0 Hz, *J* = 0,6 Hz, 1H; H8), 7,50 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H; H7), 4,78 (s, 2H; H2), 2,44 (s, 1H; H1).

NMR ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 148,45 (Cq), 143,05 (Cq), 132,76 (CH), 129,53 (CH), 122,52 (CH), 121,55 (CH),

63,95 (CH₂).

IV_{vmáx.} (KBr) (cm⁻¹): 1525 (C=C), 3348 (OH).

CG-EM (70 eV): *m/z* 153 [M]⁺

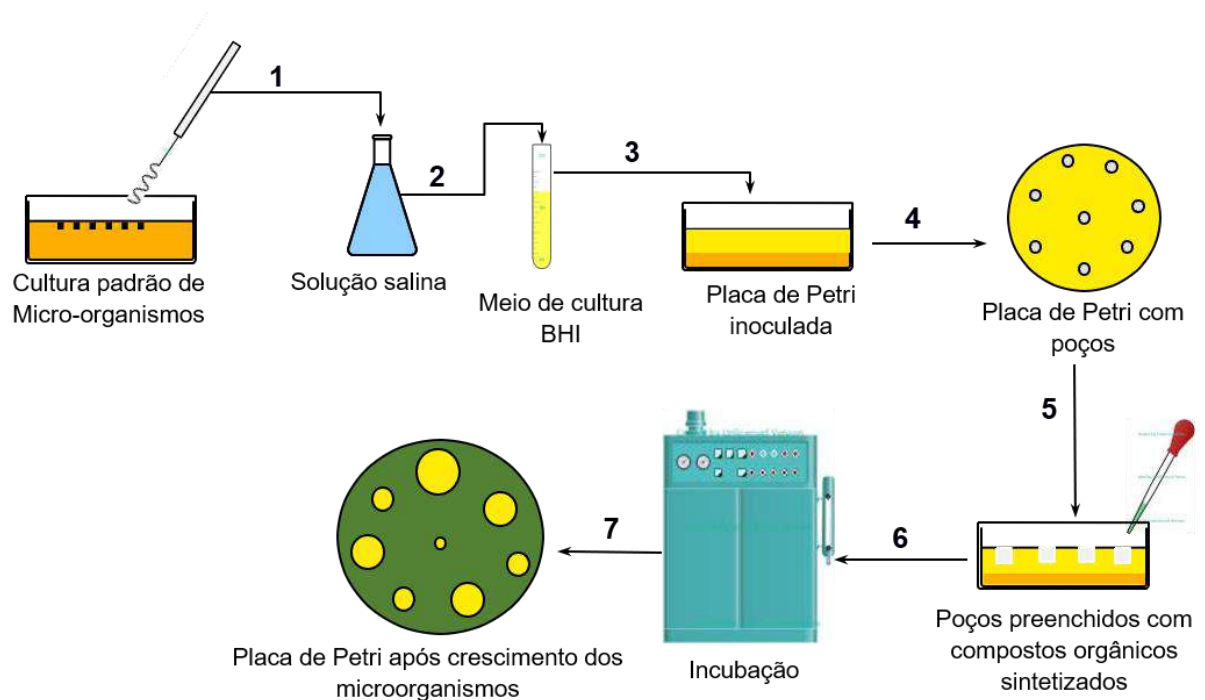
Líquido amarelo; rendimento: 85%.

VI.4 - ENSAIOS BIOLÓGICOS – TESTE DE DIFUSÃO EM POÇOS

O procedimento para o teste de difusão está representado no Esquema 15. Inicialmente as cepas de micro-organismos padrões (Tabela 5) foram ativados em meio de cultura padrão BHI durante 24 horas a 46 °C para bactérias e 48 horas a 25 °C para leveduras. Após a ativação, colônias de cada cepa foram suspensas em solução salina (0,85 % NaCl) até atingir uma turbidez de 0,5 na escala de McFallard (Esquema 15 - etapa 1). Logo em seguida, 50 µL dessa solução foram adicionados em 5 mL de meio de cultura semissólido BHI (0,75% ágar) fundido (Esquema 15 - etapa 2). A solução foi homogeneizada e vertida em placas de Petri (Figura 20 - etapa 3). Após o resfriamento, cavou-se poços de aproximadamente 50 µL na superfície do meio de cultivo (Esquema 15 - etapa 4) no qual depositou-se 50 µL de uma solução na concentração de 200 µg/mL dos compostos **5 a,c-d**, **6 a,c-d**, **8** e do padrão negativo em cada poço (Esquema 15 - etapa 5). As soluções padrões foram preparadas solubilizando inicialmente 10 mg de cada composto em 200 µL DMSO, 100 µL MeOH e 800 µL de água estéril, para diluição 26,4 µL de cada solução concentrada foram solubilizados em 1170 µL de água estéril. O mesmo procedimento foi repetido para produzir a solução do padrão negativo. Uma vez preenchidos os poços, as placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas para as bactérias e em uma sala com temperatura controlada a 25 °C por 48 horas para as leveduras (Esquema 15 - etapa 6). Ao término desse período, as placas foram visualmente analisadas para verificação da presença ou não de halo de inibição ao redor dos poços onde os compostos foram depositados (Esquema 15 - etapa 7). Nestes experimentos não foi utilizado controle positivo.

Tabela 5. Linhagens de micro-organismos utilizados nos testes biológicos.

Bactérias	Número da Coleção
<i>Escherichia coli</i>	11229
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212
<i>Salmonella enteritidis</i>	13076
<i>Bacillus cereus</i>	14579
<i>Listeria monocytogenes</i>	08962
Staphylococcus aureus	33591
Leveduras	
<i>Candida famata</i>	51388
<i>Candida tropicalis</i>	52317
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	51707
<i>Cryptococcus laurentii</i>	51996



Esquema 15. Procedimento do teste de difusão em poços.

VII - RESULTADOS E DISCUSSÃO

VII.1 - ANÁLISE DOS DADOS ESPECTROSCÓPICOS E ESPECTROMÉTRICOS

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H), de Carbono (RMN ^{13}C), bem como os espectros na região do Infravermelho (IV) dos compostos **1c-h**, **4a-d**, **5a,c-d**, **6a,c-d**, **8** e **10a-b** e os espectros de massa dos compostos **1c-e**, **4a-d**, **6a,c-d**, **8** e **10a-b**, sintetizados neste trabalho, encontram-se no Anexo I.

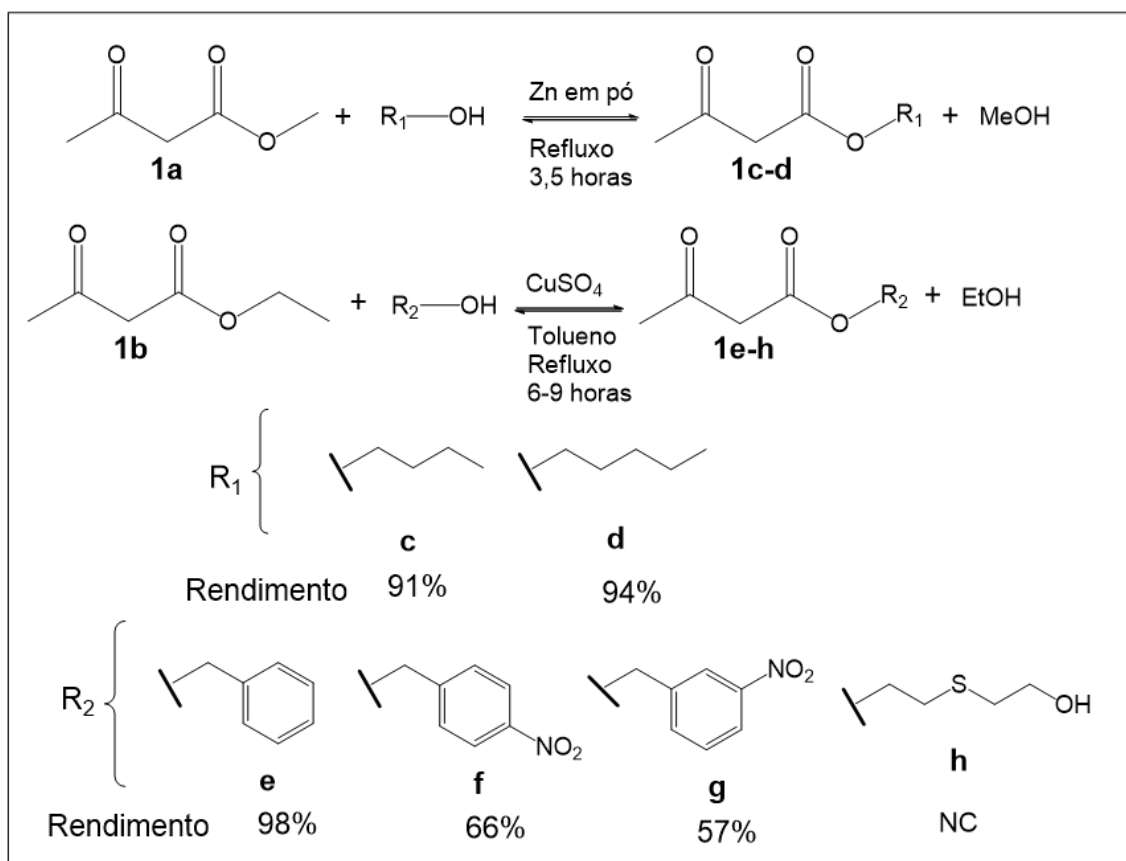
VII.2 - SÍNTESE DE β -CETOÉSTERES

Um dos objetivos deste trabalho foi sintetizar pirróis com diferentes ésteres em sua posição β do anel aromático pirrólico. Por isso, uma etapa importante foi as reações de transesterificação de acetoacetato de metila ou etila. O método de transesterificação descrito nos itens VI.3.1 e VI.3.2 foi baseado nos trabalhos de Yasutsugu *et al.* (1984) e Bandgar *et al.* (2001). Yasutsugu *et al.* (1984) sintetizaram o composto **1f** utilizando um sistema de refluxo acoplado a um condensador para remoção contínua de etanol gerado no meio de reação. Porém, o tempo total de reação descrito por eles foi de 15 horas. Visando a redução do tempo de reação, utilizou-se o mesmo procedimento de Yasutsugu *et al.* (1984), mas adicionando um catalisador, zinco em pó ou sulfato de cobre anidro (BANDGAR *et al.*, 2001). Com essa modificação foi possível reduzir o tempo de reação para 8 horas.

Outro ponto importante desta etapa de síntese foi a escolha dos catalisadores. Embora diversos catalisadores tenham sido descritos na literatura, como: ácido bórico (KONDAIAH *et al.*, 2008), resina amberlyst-15 (CHAVAN *et al.*, 2001), carbonato de céσιο (KRISHNAIAH *et al.*, 2015), sais de prata (IDAS & CHAKRABORTY, 2012), óxido de níobio V (SAIRRE *et al.*, 2005); catalisadores fluorados (YADAV *et al.*, 2007), optou-se pelo zinco em pó ou sulfato de cobre anidro, ambos em fase sólida que permitiu uma fácil remoção do meio de reação após o consumo do material de partida limitante através de filtração simples. Caso fosse utilizado outros catalisadores, como trifetil fosfina ou ácido bórico, seria necessária uma etapa de purificação utilizando coluna de sílica flash para obtenção dos β -cetoésteres. Dentre os compostos

sintetizados, observou-se que o zinco em pó foi efetivo para a síntese dos compostos (**1c-d**), porém para o composto **1e** a reação não se completou mesmo após 10 horas em agitação e em aquecimento sob refluxo. Por isso, utilizou-se sulfato de cobre anidro para a síntese dos compostos **1e-h** e as reações completaram-se entre 6-9 horas, conforme observado na análise por CCD ou CG-EM. O Esquema 16 apresenta as condições, reagentes e rendimentos obtidos na síntese dos compostos **1c-h**.

Embora a maioria dos β -cetoésteres sintetizados neste trabalho já tenham sido descritos na literatura, uma busca na base de dados Reaxys mostrou que os compostos **1g** e **1h** são inéditos² e, portanto, não possuem caracterização ou síntese descritas na literatura.

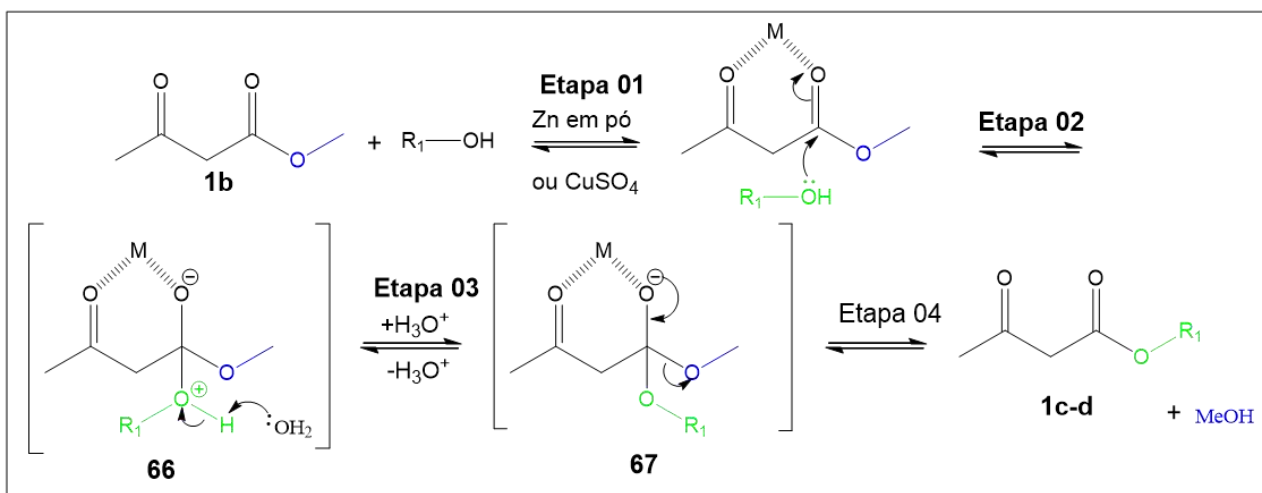


Esquema 16. Reagentes, condições e rendimentos na síntese de β -cetoésteres. NC-não calculado.

O Esquema 17 ilustra uma proposta de mecanismo para a reação de transesterificação de β -cetoésteres considerando acetoacetato de metila como

² Acesso em 15 de outubro de 2017.

material de partida. Inicialmente, os catalisadores adicionados ao meio de reação formam um complexo com as carbonilas ativando-as e favorecendo o ataque de uma molécula de álcool do meio à carbonila de éster. Assim, forma-se o intermediário **66**, que é desprotonado por uma molécula de água, formando o intermediário **67**. Este, por sua vez, com o auxílio de par de elétrons do oxigênio, tem a carbonila restaurada com a concomitante saída do grupo metóxido, gerando o metanol e o produto de interesse. É importante lembrar que essas reações ocorrem em equilíbrio químico, o que justifica a remoção contínua de etanol ou metanol do meio e a utilização de excesso de reagentes quando possível. Embora não representado no esquema 17, durante a reação também ocorre ataque das moléculas de álcool a carbonila cetônica porém o produto gerado é facilmente hidrolisado retornando a estrutura de partida.

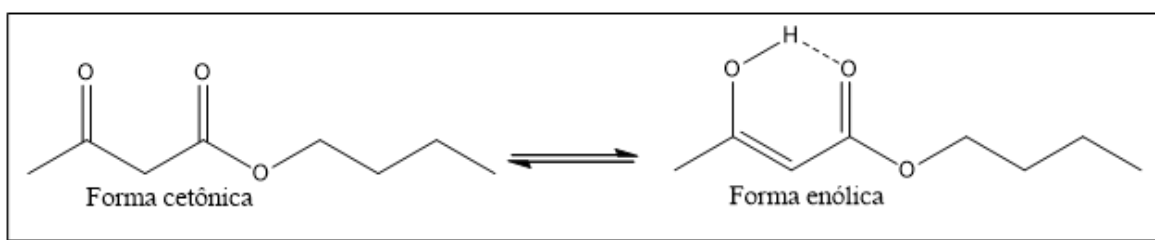


Esquema 17. Mecanismo da reação de transesterificação de β-cetoésteres. O símbolo M refere-se ao Zn^0 ou Cu^{2+} .

VII.2.1 - Espectros de ressonância magnética nuclear

Através dos espectros de RMN foi possível observar que todos os β-cetoésteres sintetizados neste trabalho se apresentam na forma de um equilíbrio tautomérico entre a forma cetônica e a forma enólica (Esquema 18). Este equilíbrio ocorre porque na forma enólica há a formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio da hidroxila e o oxigênio da carbonila de éster, gerando um ciclo de 6 membros. Pela relação entre área de um sinal da forma enólica por área de uma forma cetônica mais enólica foi possível calcular a proporção entre

os tautômeros. Para todos os β -cetoésteres a forma cetônica apresentou maior proporção. Os sinais mais característicos da forma enólica são os do hidrogênio da hidroxila com deslocamento químico em torno de 12 ppm e do hidrogênio ligado a dupla ligação entre as carbonilas com deslocamento químico em torno de 4,96 ppm (Figura 20). Com a expansão do espectro na parte superior da Figura 20 observa-se a multiplicidade esperada para os hidrogênios indicados por H6 (quinteto), H7 (sexteto) e H16 (triplete).



Esquema 18. Equilíbrio tautomérico entre a forma cetônica e enólica de β -cetoésteres.

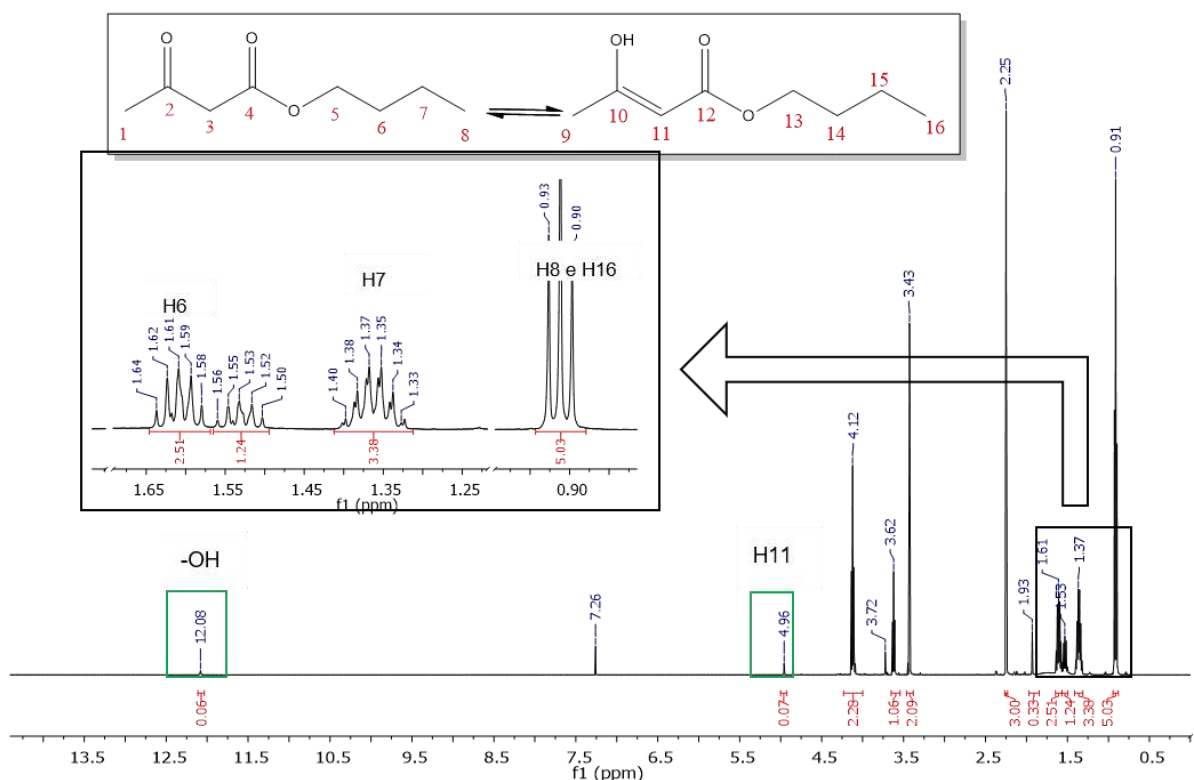


Figura 20. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) do acetoacetato de butila (**1c**).

A Figura 21 mostra o espectro de RMN de ^1H para o acetoacetato de *p*-nitrobenzila (**1f**) que também exibiu a presença de sinais de ambas as formas tautoméricas. Com relação à forma enólica observa-se um simpleto em 11,86 ppm

correspondente ao hidrogênio da hidroxila. Já a forma cetônica, apresenta um simpleto com deslocamento químico igual a 3,43 ppm e área 2 referentes aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono entre as duas carbonilas. Comum a ambos os tautômeros, o espectro mostra dois dupletos entre 8,3 e 7,5 ppm correspondentes aos hidrogênios aromáticos.

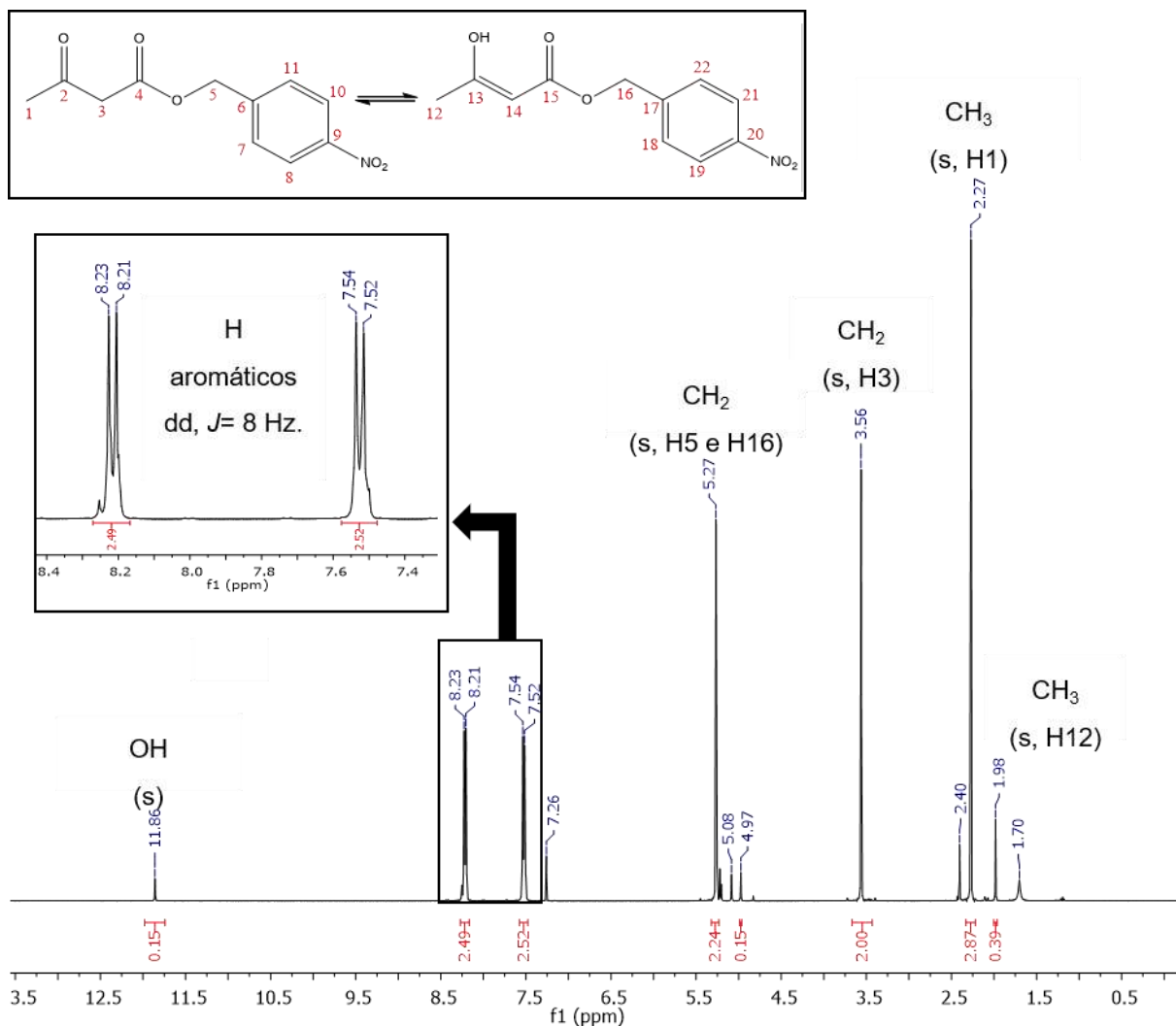
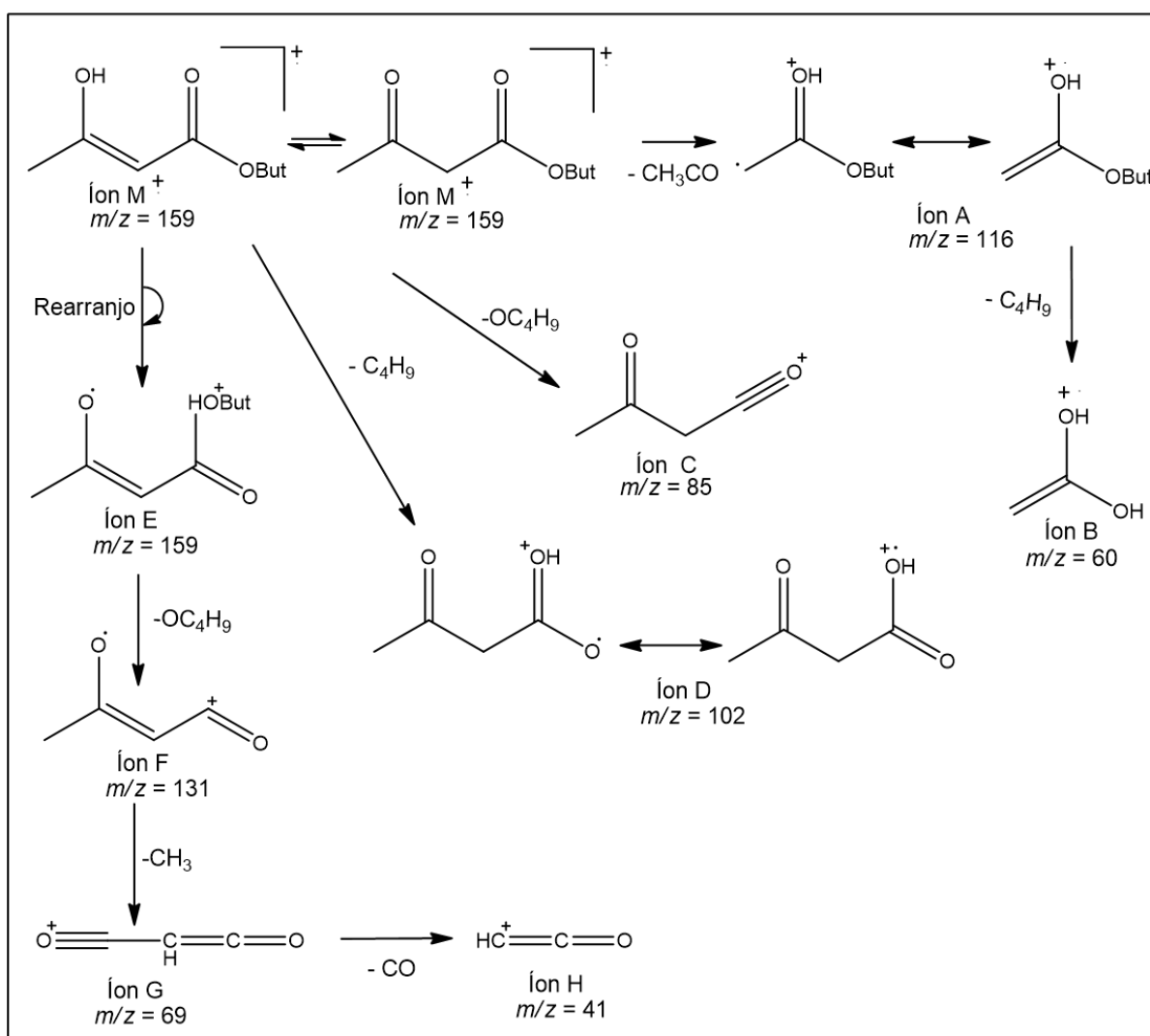


Figura 21. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do acetoacetato de *p*-nitro benzila (**1f**).

VII.2.2 - Espectrometria de massa

A proposta de fragmentação do acetoacetato de butila (**1c**) é descrito no Esquema 19. A quebra da ligação C-O, α em relação a carbonila de éster, gerou o pico base de m/z 85 (Esquema 19 - íon C). Além disso, conforme mostra o Esquema

20, no caso de β -cetoésteres, dois rearranjos de McLafferty são possíveis, a clivagem da ligação C-O na posição β a carbonila de éster (Esquema 20 - Fragmentação B) formando o íon Y ou da ligação C-C também em uma posição β (Esquema 20 - Fragmentação A) formando o íon Z. Ambas as possibilidades de rearranjo podem ser observadas no espectro de massa (Figura 22) e no Esquema 19 que mostra a formação dos íons com m/z em 116 (íon A) e 102 (íon D).



Esquema 19. Proposta de fragmentação para os β -cetoésteres baseado nos trabalhos de WEILER (1972), MOLDOVAN *et al.* (1981), ALLEGRETTI *et al.* (2006).

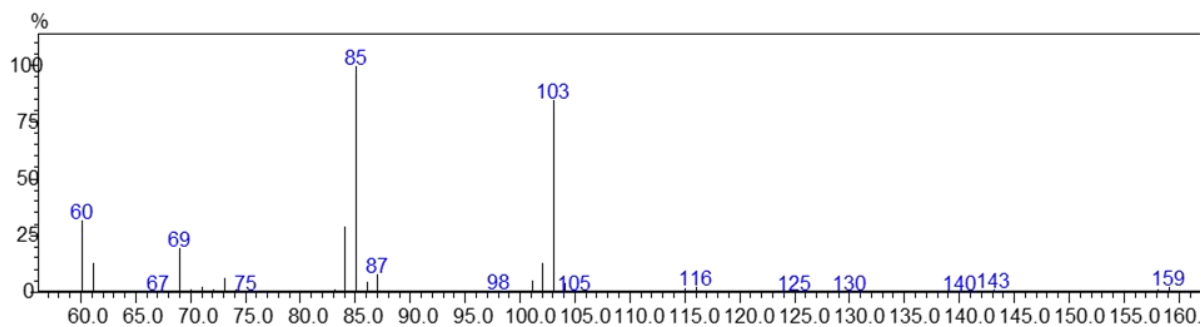
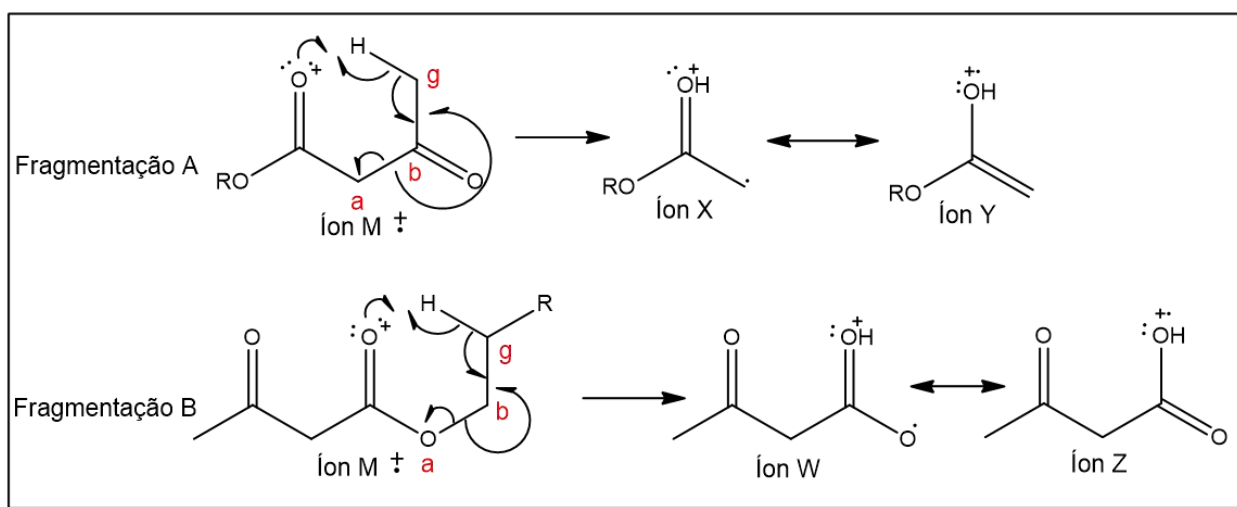


Figura 22. Espectro de massas do composto **1c**.



Esquema 20. Mecanismo de rearranjo de McLafferty (FIELD *et al.*, 2008).

VII.2.3 - Espectros de infravermelho

Com relação a caracterização por infravermelho, os dados da Tabela 06 juntamente com os espectros das Figuras 23 e 24 mostram a presença de duas bandas características de carbonilas na região entre 1713 e 1749 cm^{-1} , evidenciando a carbonila cetônica e de éster presente na estrutura química dos β -cetoésteres. Além disso, de acordo com PAIVA, LAMPMAN & KRIZ (2001) próximas a essas bandas características de carbonilas, observa-se bandas de menor intensidade e em alguns casos na forma de dupletos que são características da carbonila do tautômero enólico. Outra evidência da forma enólica é a presença de bandas na região entre 3400 e 3600 cm^{-1} que pode ser atribuída a um estiramento da ligação O-H dos compostos **1c-g** (PAIVA, LAMPMAN & KRIZ, 2001). No caso do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxietil) tio) etila (**1h**), não é possível observar essa banda provavelmente devido à

sobreposição com a banda característica de ligação O-H presente na cadeia do éster em 3440 cm^{-1} (Figura 24).

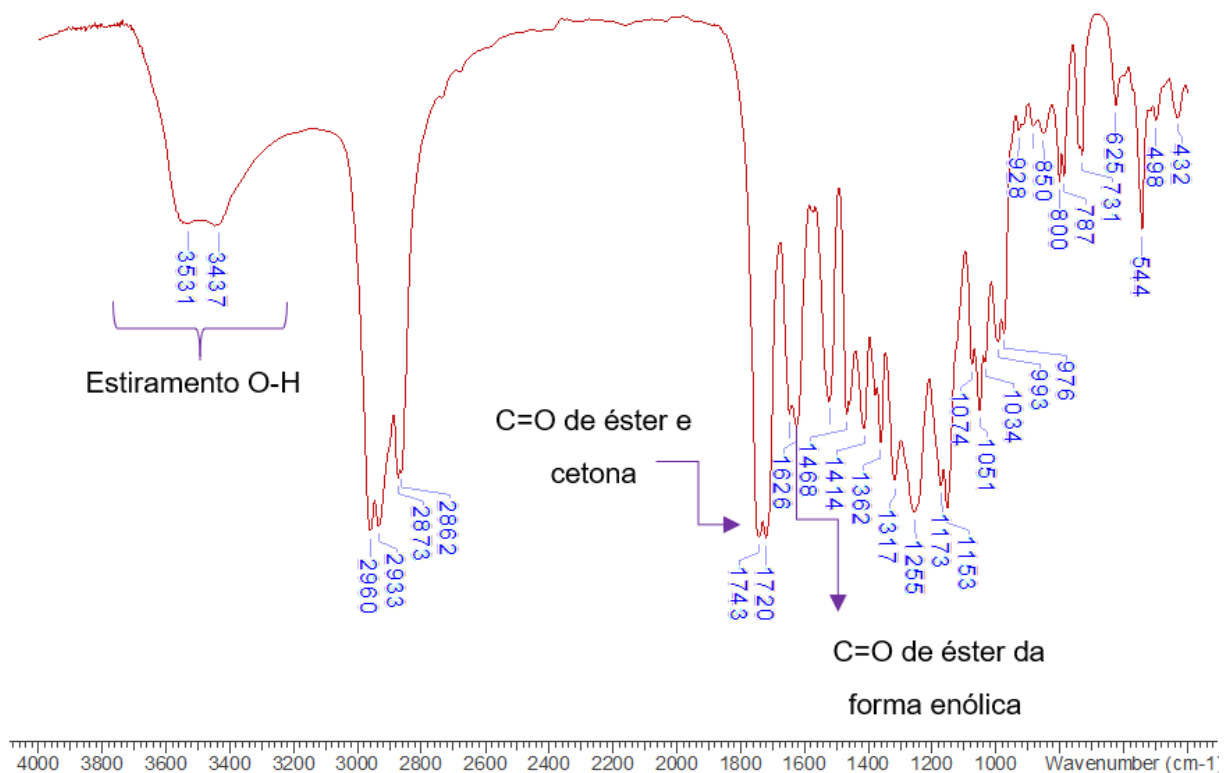


Figura 23. Espectro de infravermelho do acetoacetato de pentila (**1d**).

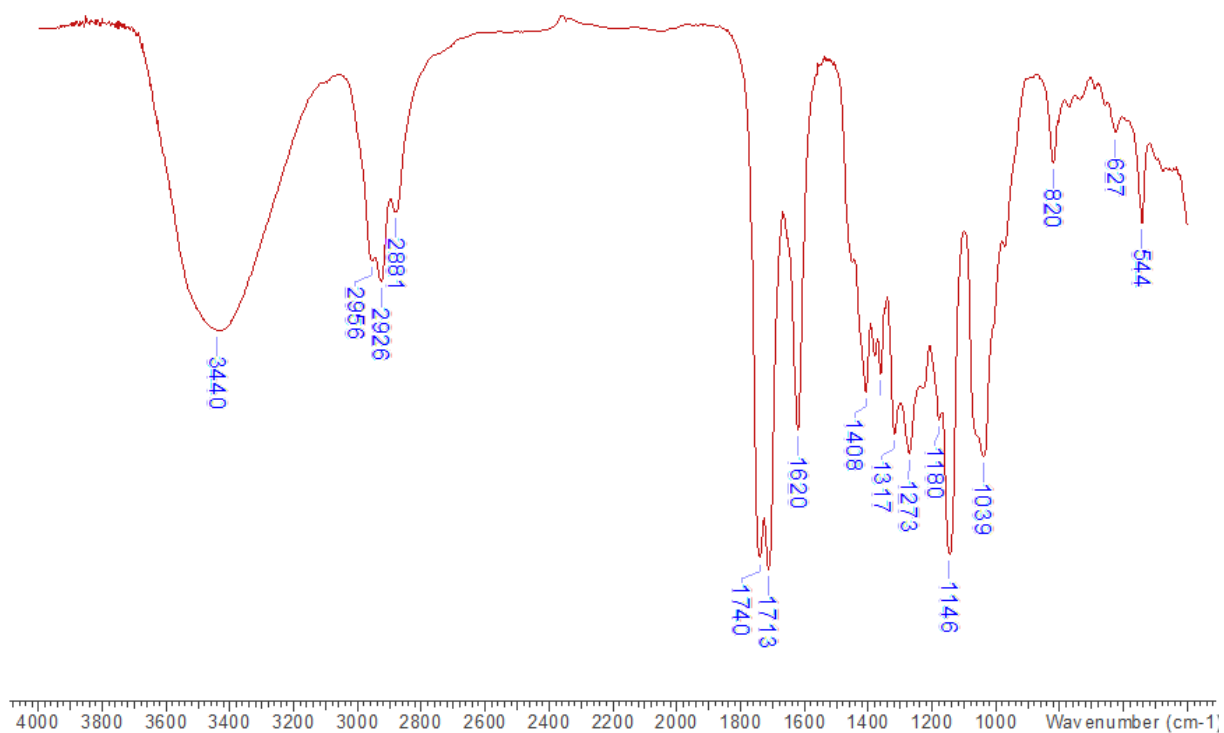


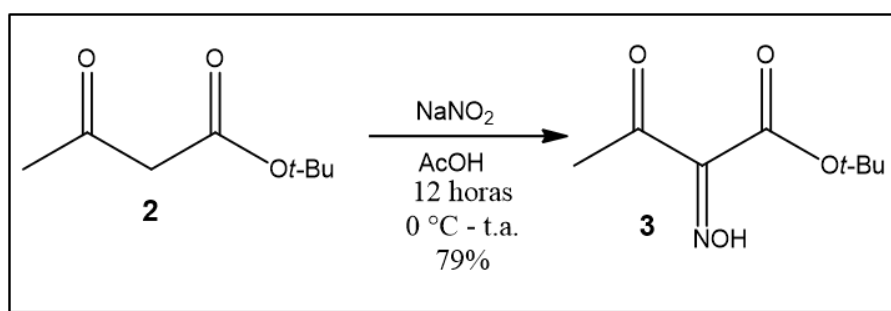
Figura 24. Espectro de IV do composto 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxietil)-tio) etila (**1h**).

Tabela 6. Dados do IV dos compostos **1c-h**.

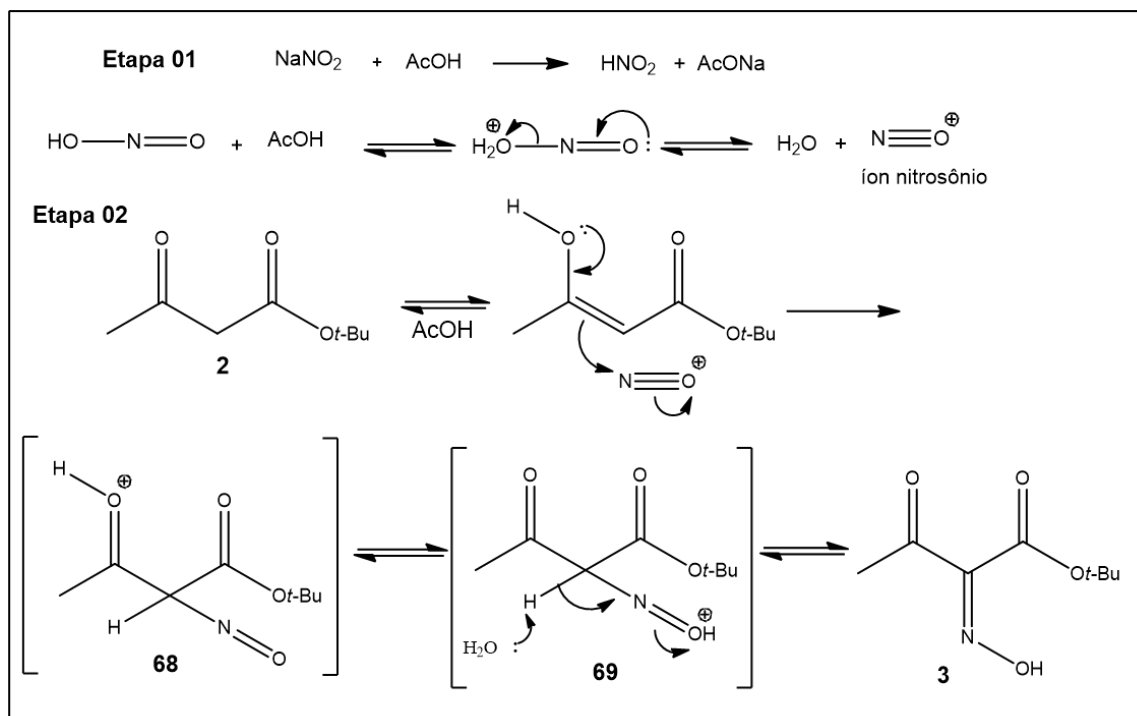
Composto	ν C=O de cetona e éster (tautômero cetônico) (cm ⁻¹)		ν C=O do tautômero enólico
1c	1718	1741	1649
1d	1720	1743	1626
1e	1716	1743	1649
1f	1716	1743	1632
1g	1716	1749	1630
1h	1713	1740	1620

VII.3 - SÍNTESE DOS NÚCLEOS PIRRÓLICOS (**4a-e**)

Uma vez sintetizados os β-cetoésteres, o próximo passo foi a síntese dos núcleos pirrólicos. Inicialmente, preparou-se um precursor de reação contendo o grupo oxima (Esquema 21). No início da reação, o nitrito de sódio reage com ácido acético formando o ácido nitroso que é protonado, perdendo uma molécula de água para a formação do íon nitrosônio (Esquema 22 – etapa 01). Na segunda etapa, em meio ácido, o equilíbrio tautomérico no sentido da forma enólica é favorecido. O íon nitrosônio (eletrófilo) é atacado pela ligação dupla do tautômero enólico formando o intermediário **68**, que através de um prototropismo forma o intermediário seguinte. Uma molécula de água do meio abstrai um átomo de hidrogênio do carbono ligado ao nitrogênio formando o grupo oxima (Esquema 21 – composto **3**).

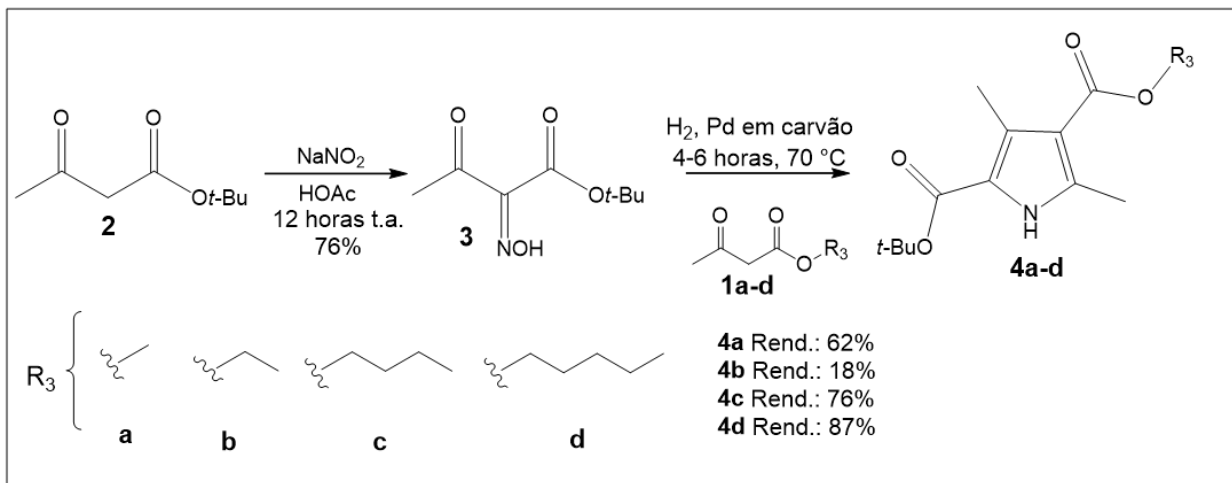


Esquema 21. Síntese do precursor oxima (**3**).



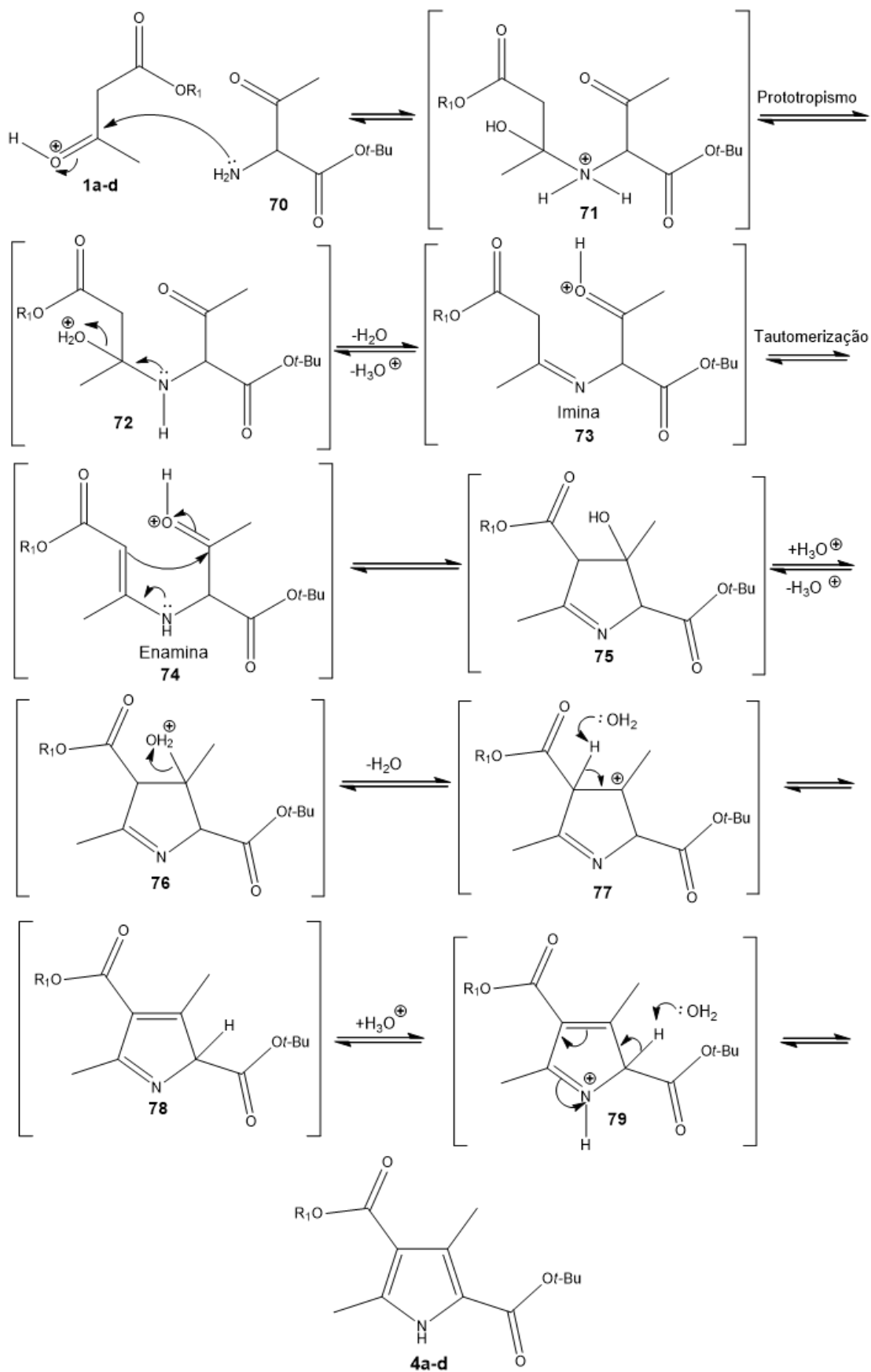
Esquema 22. Mecanismo de reação para síntese do precursor **3**. Adaptado de STEFANI (2009).

Neste trabalho, o grupo oxima foi reduzido a amino de duas formas diferentes: em meio ácido utilizando zinco em pó e refluxo ou com paládio suportado em carvão em um hidrogenador (Esquema 23). Para o composto **4b** utilizou-se o método de Knorr sendo zinco em pó o catalisador obtendo um rendimento bem menor do que dos outros compostos que foram sintetizados pelo método descrito por Manley *et al.* (2003). Essa diferença pode estar relacionada ao uso de diferentes catalisadores e a etapa de isolamento do produto gerado. No caso do método de Knorr foi necessário uma etapa de extração líquido-líquido e uma cristalização para purificação do produto **4b**. Já para os compostos **4a,c-d** o isolamento baseou-se em uma filtração simples para remoção de catalisador paládio seguido de neutralização do meio ocorrendo a precipitação do produto de interesse.



Esquema 23. Síntese dos núcleos pirrólicos a partir de β -cetoésteres.

O mecanismo após a formação do grupo amino está representado no Esquema 24. Inicialmente, o par de elétrons livres do nitrogênio do grupo amino ataca a carbonila protonada do β -cetoéster formando o intermediário **71**. Através de um prototropismo a hidroxila é protonada formando o intermediário **72**, que com o auxílio do par de elétrons do nitrogênio promove a saída de uma molécula de água, gerando uma imina. Esta imina possui uma forma tautomérica enamina, a qual ataca o grupo carbonila, gerando um ciclo de 5 membros (Esquema 24 – intermediário **75**). O próximo passo é uma reação de eliminação do tipo E_1 , pois a reação ocorre em um meio polar e prótico, e com a saída da água ocorre a formação de um carbocátion terciário (Esquema 24 - intermediário **77**), no qual um hidrogênio vizinho é abstraído formando uma insaturação. Logo após, o nitrogênio do intermediário **78** é protonado formando o intermediário **79**, que sofre aromatização formando a estrutura química de um pirrol que é mais estável.



Esquema 24. Mecanismo para formação do núcleo pirrólico. Adaptado de STEFANI (2009).

VII.3.1 - Ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C apresentaram todos os sinais esperados para os compostos **4a-d**. Por exemplo, para o composto **4d** observa-se inicialmente um sinal correspondente ao hidrogênio ligado ao heteroátomo de nitrogênio do núcleo pirrólico com deslocamento químico de 12,82 ppm (Figura 25). Além disso, dois simpletos correspondentes às duas metilas ligadas ao anel aromático em 2,98 e 2,68 ppm e um simpleto com aproximadamente 9 de área referente aos hidrogênios do grupo *tert*-butila. Outros sinais importantes que corroboram a obtenção da molécula desejada são os demais sinais com deslocamento químico menor que 4,5 referentes aos hidrogênios da cadeia alifática do éster, cuja multiplicidade, deslocamento químico e constante de acoplamento são mostrados na expansão do espectro de RMN ^1H na Figura 25.

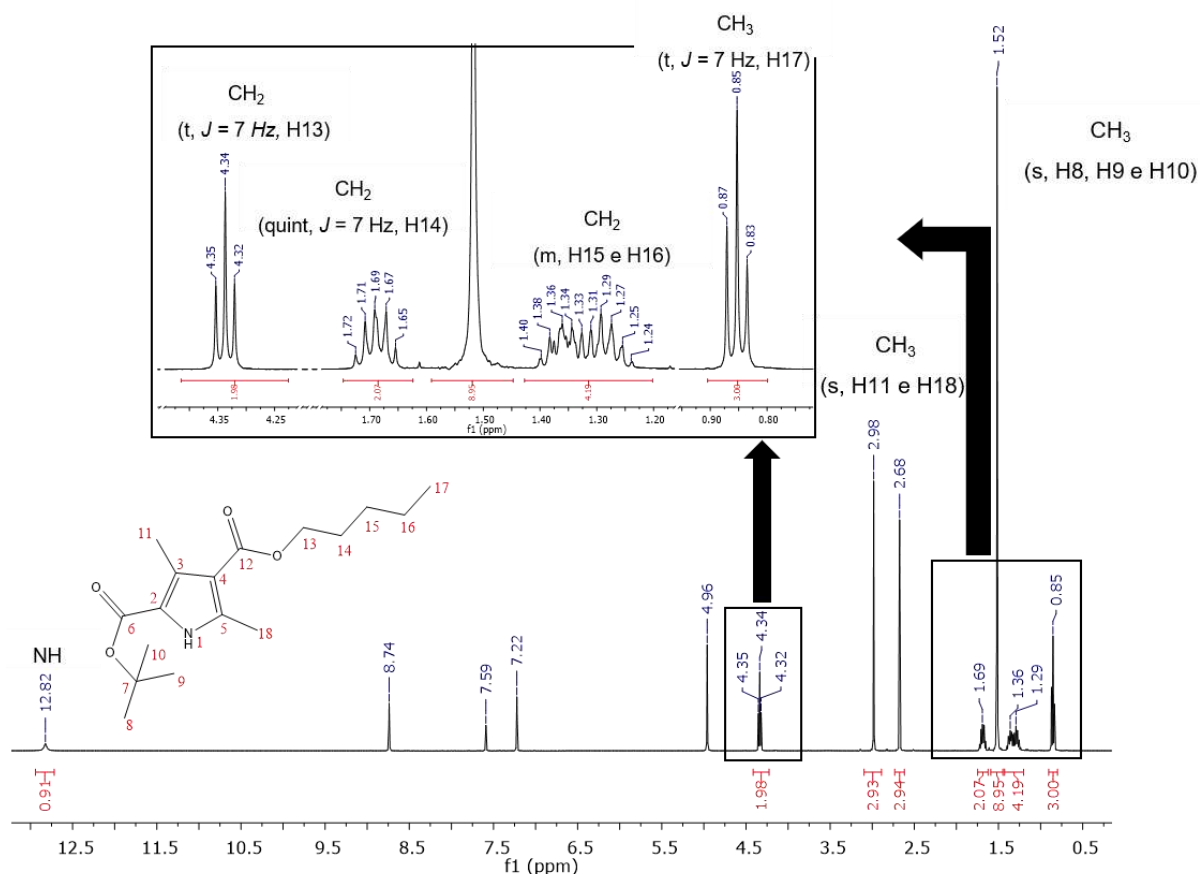


Figura 25. Espectro de ^1H (400 MHz, piridina-*d*₅) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

A Figura 26 mostra o espectro de RMN ^{13}C do composto **4d**, que apresenta 15 sinais (excluindo os sinais correspondentes ao solvente deuterado) conforme esperado para esta molécula. Na região entre 160 e 170 ppm há dois sinais característicos de carbonos de carbonilas, entre 140 e 110 ppm encontram-se os sinais de carbonos aromáticos e abaixo de 70 ppm sinais de carbonos alifáticos (Figura 26).

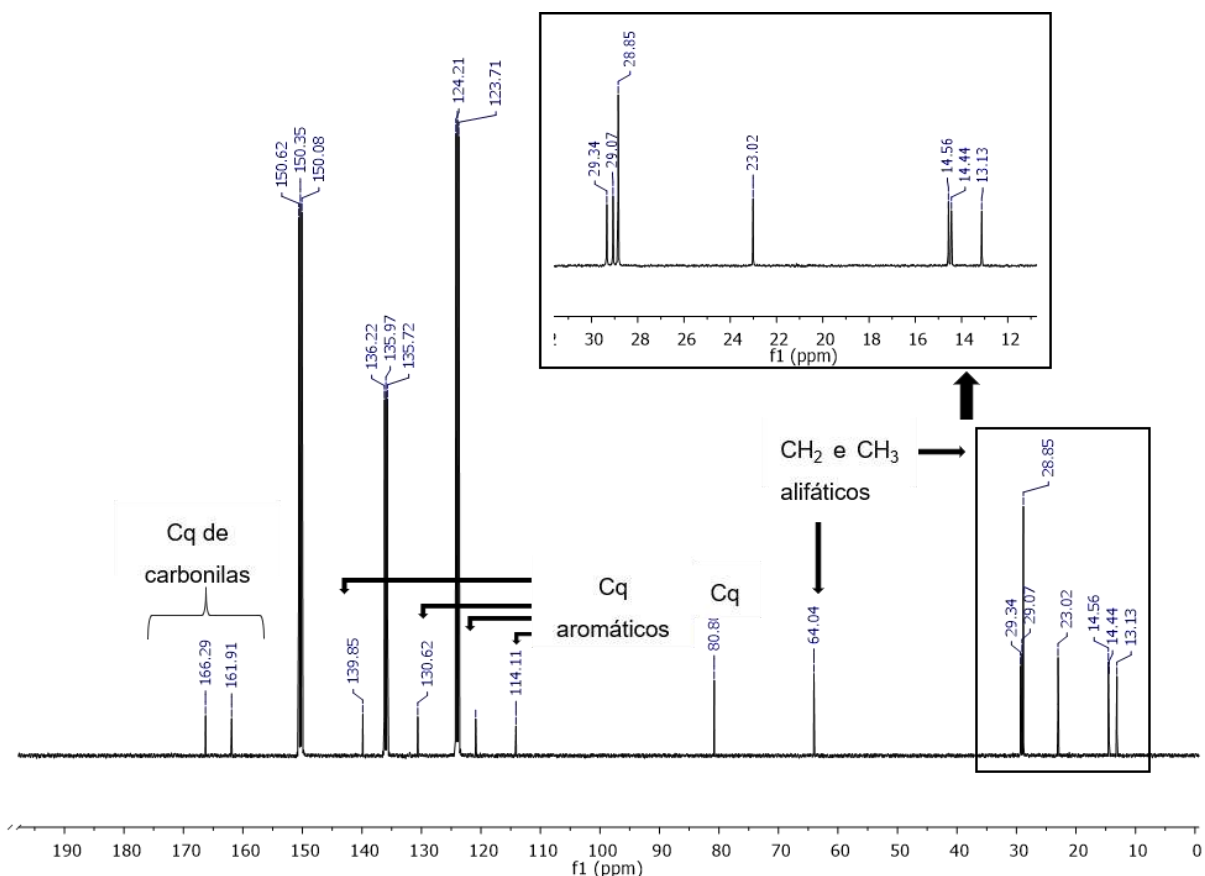
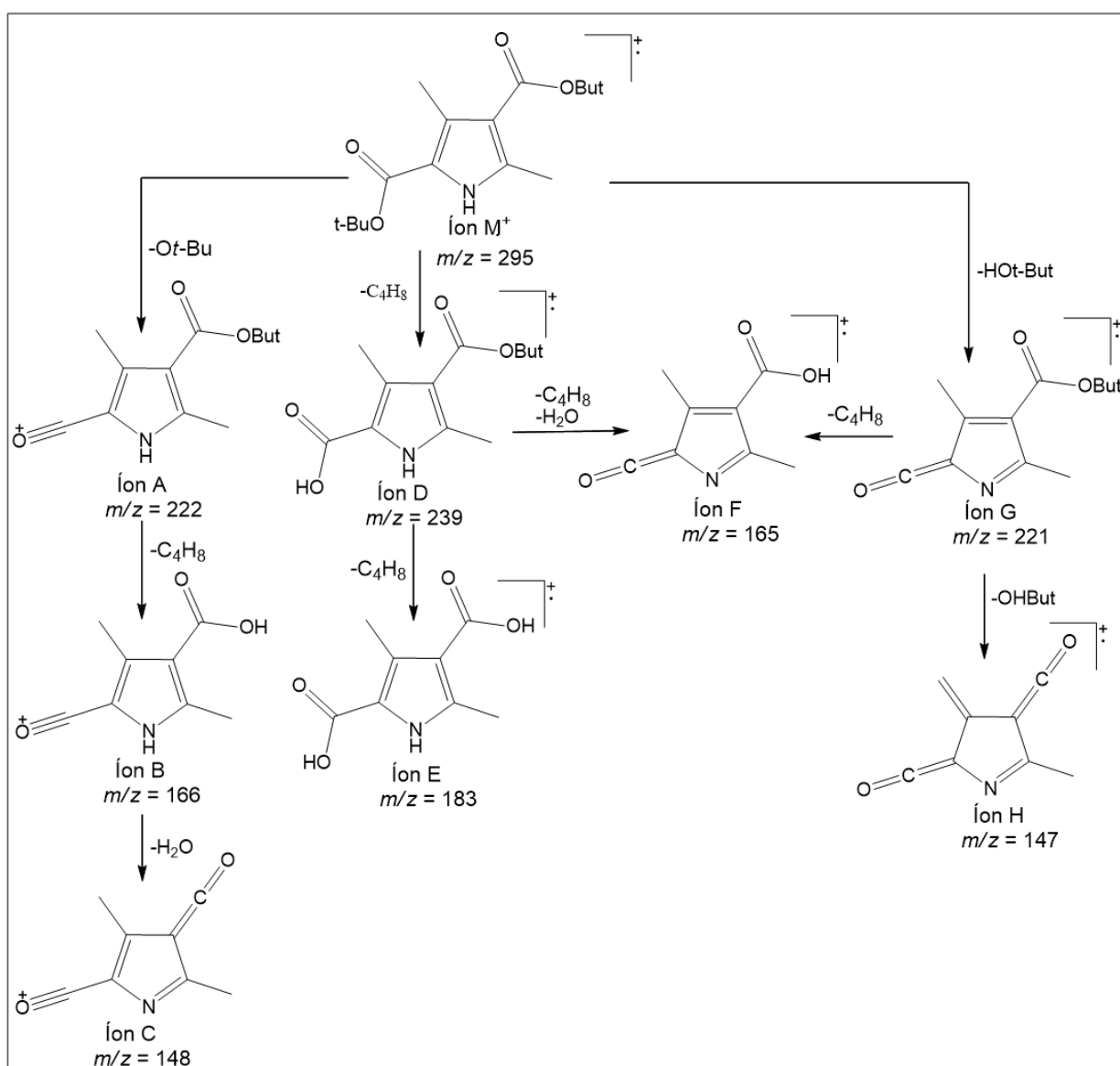


Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, piridina- d_5) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

VII.3.2 - Espectrometria de massa

Na análise por CG-EM observou-se que o pico correspondente ao íon molecular mostrou a massa esperada para os compostos **4a-d** (Anexo I). A Figura 27 e o Esquema 25 mostram o espectro de massa e uma proposta de fragmentação para o composto **4c**, respectivamente. Embora o Esquema 25 tenha sido proposto para o composto **4c**, muitos dos íons também foram verificados nos espectros das

substâncias **2 a,b e d**. Por exemplo, o íon E m/z 183 resultante da clivagem da ligação O-C foi o pico base dos compostos **2c e 2d**. Outro exemplo é o pico correspondente ao íon $m/z = 165$ presente em todos os espectros dos compostos **2a-d**. Além disso, assim como nos β -cetoésteres, devido à presença da carbonilas e átomos de hidrogênio na posição gama em relação à carbonila, essas moléculas produzem íons resultantes do rearranjo de McLafferty, por exemplo os íons D, F e E (Esquema 25).



Esquema 25. Proposta de fragmentação do composto **4c** baseado em TAYLOR (1990) e BUDZIKIEWICZ *et al.* (1964).

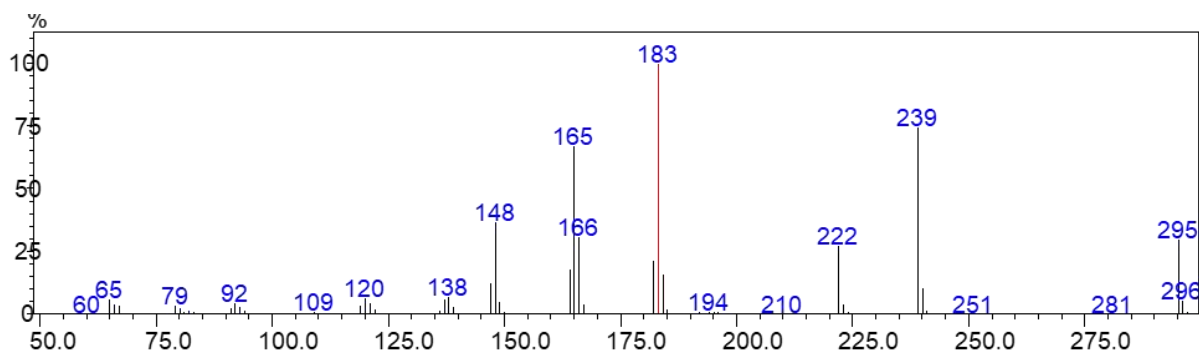


Figura 27. Espectro de massa do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-butila (**4c**).

VII.3.3 - Análise por infravermelho

Os espectros de IV dos 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-alquila (**4a-d**) mostraram a presença da banda correspondente à deformação axial de N–H entre 3302 a 3317 cm^{-1} e duas bandas intensas e distintas com comprimento de onda em torno de 1697-1705 cm^{-1} e 1649-1655 cm^{-1} referentes aos estiramentos das carbonilas de ésteres (Tabela 7 e Figura 28). Além disso, existe a presença de bandas na região entre 1300-1000 cm^{-1} , provavelmente devido a vibrações de estiramento das ligações C-O de ésteres (PAVIA, LAMPMAN & KRIZ, 2001).

Tabela 7. Comprimento de ondas de algumas bandas no espectro de IV dos compostos **4a-d**.

Composto	ν C=O de estér (cm^{-1})		ν NH (cm^{-1})
4a	1705	1649	3317
4b	1703	1660	3302
4c	1697	1655	3315
4d	1705	1655	3302

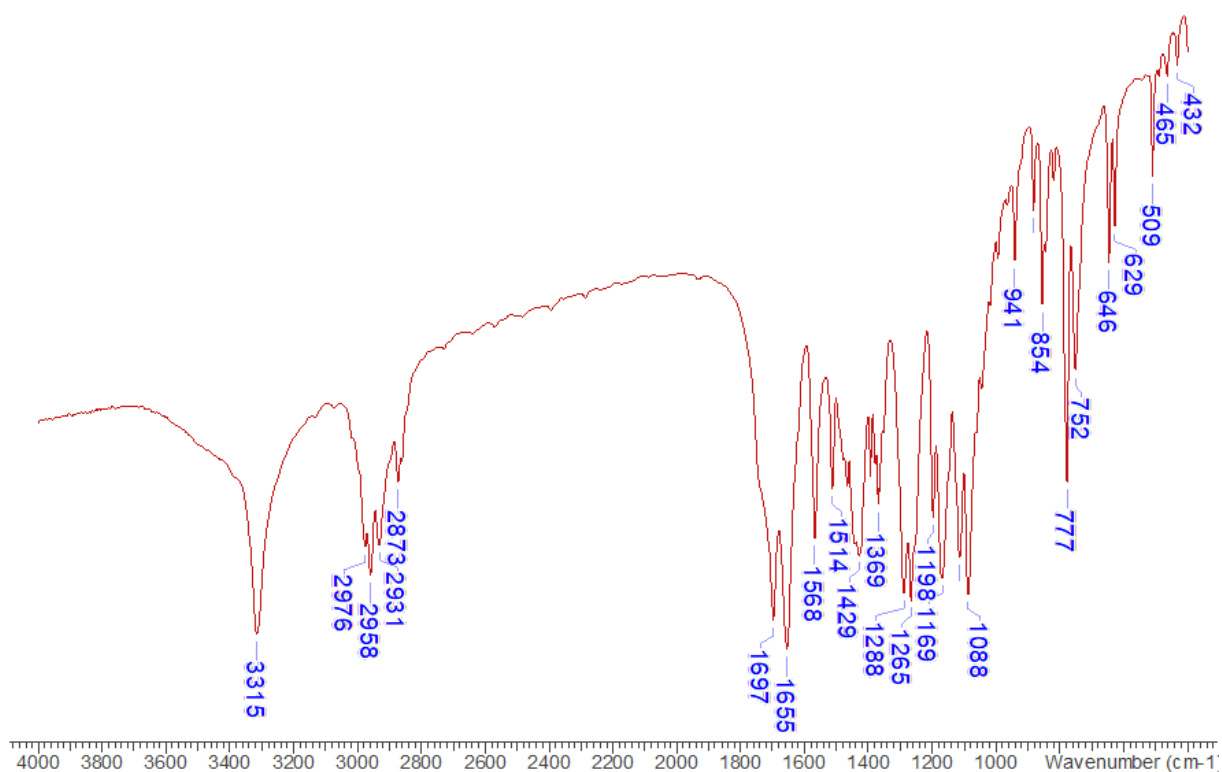


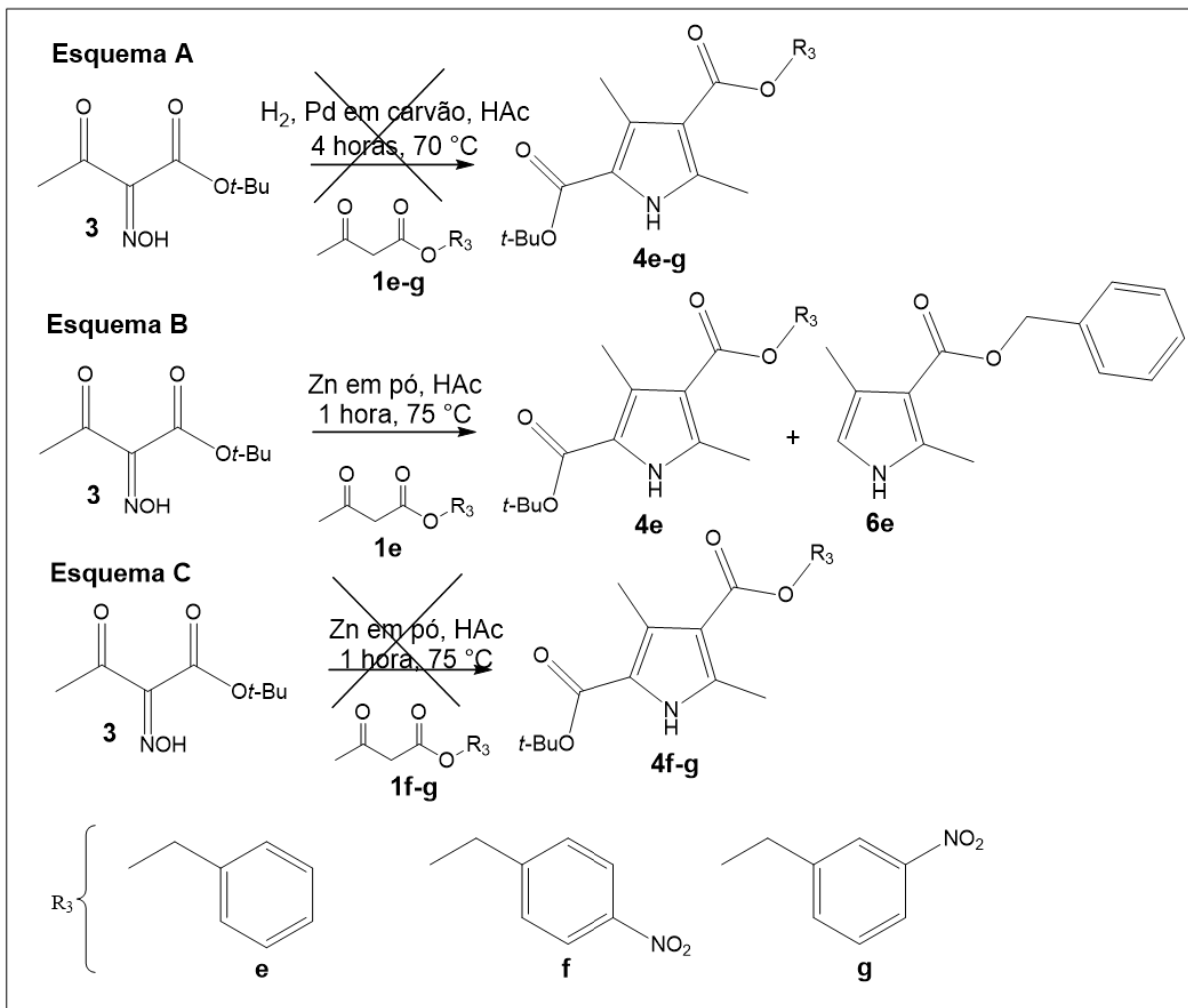
Figura 28. Espectro de IV do composto 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-butila (4c).

VII.3.4 - Desafios na síntese de derivados pirrólicos a partir de β -cetoésteres com ésteres aromáticos

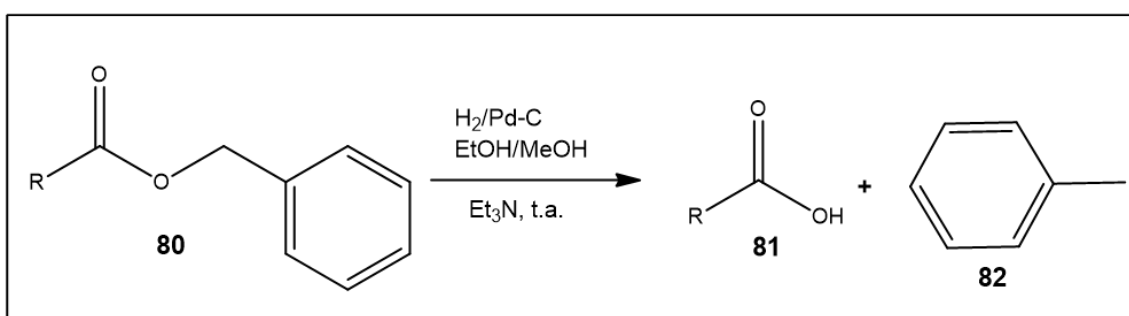
No planejamento deste trabalho uma das propostas foi sintetizar os compostos **4e-g** mostrados no Esquema 26 visando avaliar uma possível atividade antimicrobiana de compostos orgânicos nitrados, utilizando o método descrito por Manley *et al.* (2003). Porém as tentativas de síntese do composto **4e**, mostraram que após 2 horas de reação formou-se um óleo alaranjado não ocorrendo precipitação quando neutralizado com NaOH. A análise por CCD mostrou que o “spot” de uma solução do óleo solubilizado em acetato de etila permaneceu retido na origem utilizando hexano: acetato de etila (80:20 v/v) como eluente. RASTOGI *et al.* (2013), trabalhando com um sistema parecido, observou a clivagem da ligação C-O da benzila do grupo éster formando um ácido carboxílico (Esquema 27). Portanto, essa informação mais a alta polaridade do produto da reação visto por CCD mostram que provavelmente ocorreu a clivagem da ligação C-O do grupo benzila do acetoacetato de benzila, ou seja, não houve formação do produto de interesse. Porém, etapas de

purificação e caracterização ainda precisam ser realizadas para tentar determinar a composição dos subprodutos gerados durante este procedimento.

Outra tentativa foi feita utilizando zinco em pó e ácido acético como meio redutor (FISCHER, 1943; LI *et al.*, 2015). Neste procedimento, inicialmente adicionou-se acetoacetato de benzila, ácido acético e zinco em pó em um balão de fundo redondo que foi aquecido até 60 °C quando se adicionou lentamente o intermediário oxima (**3**) e elevou a temperatura para 75 °C. Após uma hora, o produto de reação apresentou o cromatograma mostrado na Figura 29. Para tentar purificar o produto de reação, realizou-se uma recristalização com metanol e água, e obteve-se, em seguida, o cromatograma representado na Figura 30. Neste último cromatograma, observou-se um pico corresponde ao pírrol **4e** (Figura 31) e o outro pico ao pírrol **4e** descarboxilado na posição alfa (Figura 32). Portanto, as condições de reação, como temperatura e tempo de reação, ainda precisam ser estudadas para evitar a descarboxilação do composto **4e**. As tentativas de síntese dos compostos **4g** e **4h**, nas mesmas condições relatadas acima, não foram bem-sucedidas e estudo dos subprodutos gerados ainda precisam ser conduzidos. O Esquema 26 representa as condições e reagentes empregados na tentativa de síntese dos compostos **4g-h**.



Esquema 26. Tentativas para a síntese dos compostos **4g-h**.



Esquema 27. Reação de clivagem da ligação C-O de ésteres contendo o grupo benzila (RASTOGI *et al.*, 2013).

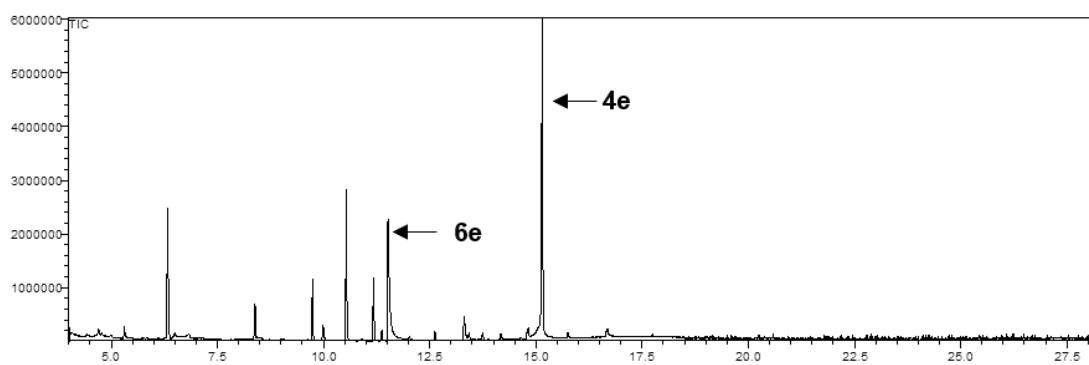


Figura 29. Cromatograma do composto **4e** antes da recristalização.

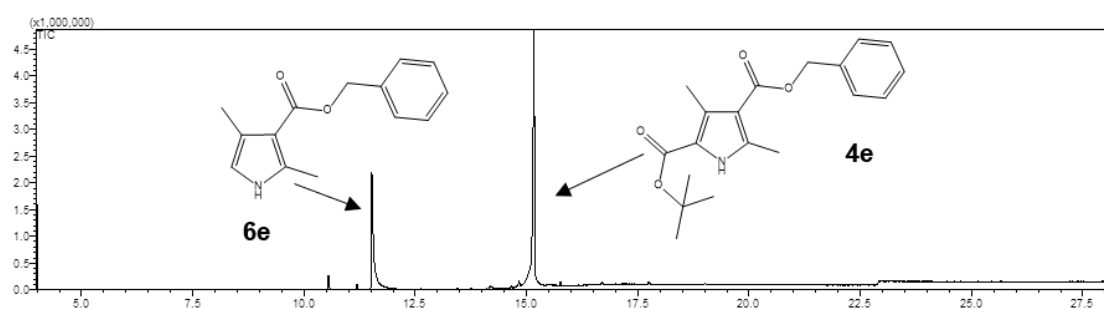


Figura 30. Cromatograma do composto **4e** após recristalização.

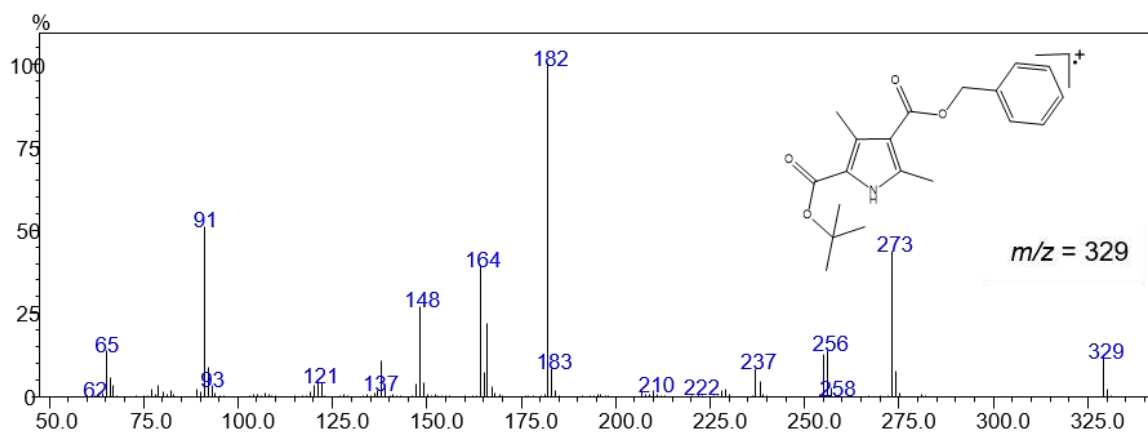


Figura 31. Espectro de massa do composto **4e**.

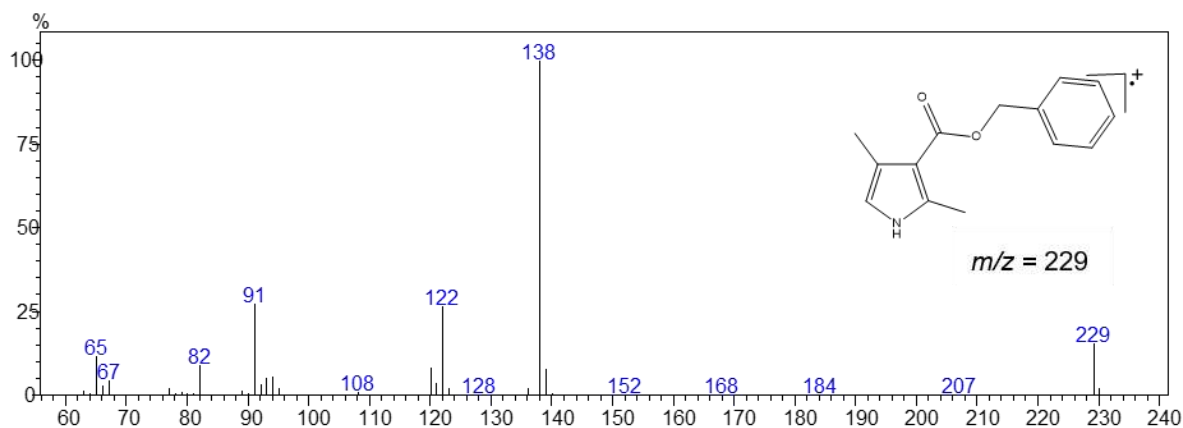
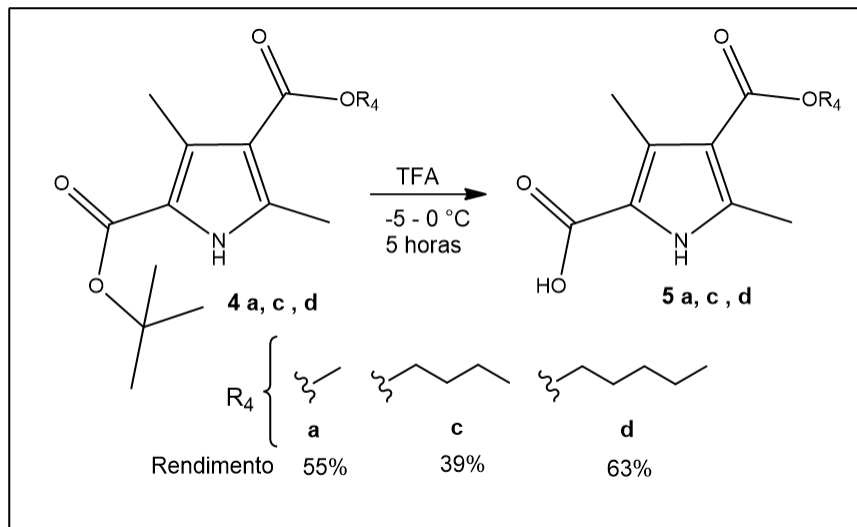


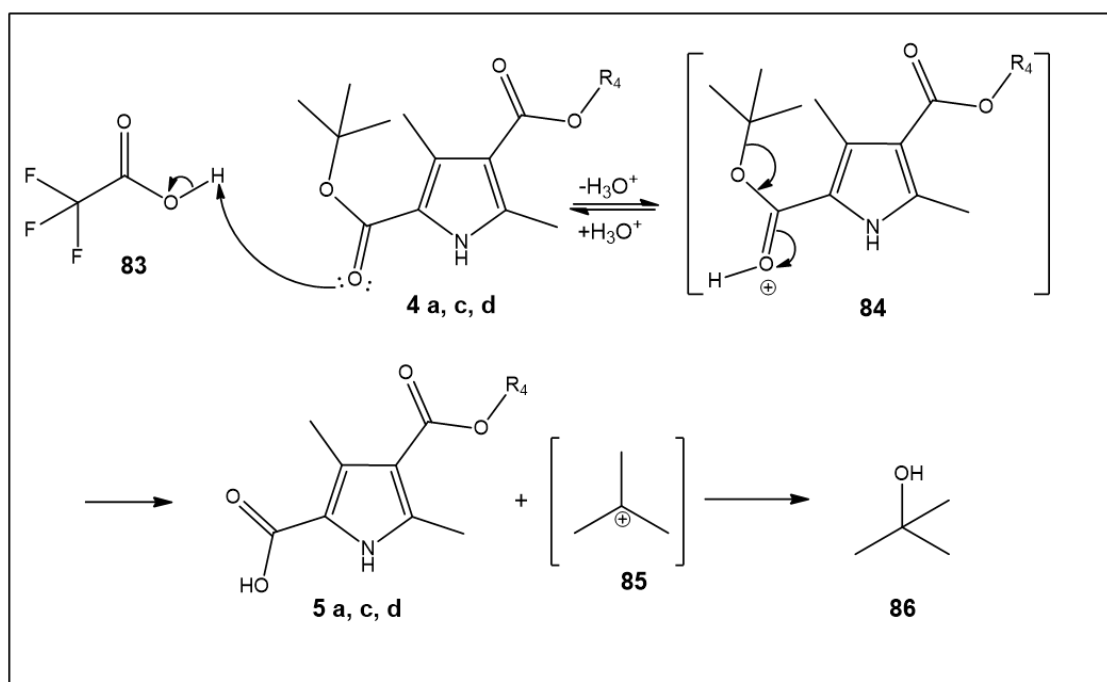
Figura 32. Espectro de massa do composto **4e** descarboxilado.

VII.4 - SÍNTESE DOS COMPOSTOS **5a,c-d** VIA HIDRÓLISE ÁCIDA

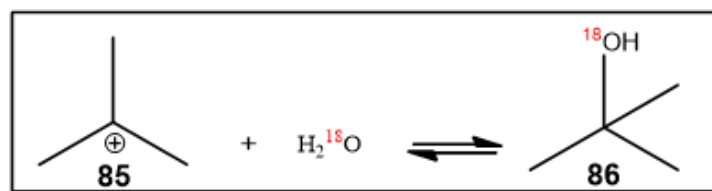
Neste trabalho, as reações de hidrólise ácida foram realizadas em meio ácido utilizando TFA e temperatura entre -5 e 0 °C (Esquema 28). O mecanismo para formação dos compostos **5a,c-d** está representado no Esquema 29. Inicialmente, um par de elétrons livre do oxigênio abstrai um hidrogênio do ácido trifluoracético, ocorrendo a protonação da carbonila (intermediário **84**). Logo após, ocorre a etapa lenta da reação correspondente a formação de um carbocátion terciário (**85**) e o produto de interesse devido a clivagem da ligação O-*terc*-Butila. Esse mecanismo foi confirmado utilizando água H₂¹⁸O que após a hidrólise ácida reagiu com o carbocátion terciário formando o álcool *terc*-butílico marcado com ¹⁸O (Esquema 30) (COSTA *et al.*, 2003).



Esquema 28. Reação de hidrólise ácida.



Esquema 29. Mecanismo de reação para síntese dos compostos **5a,c-d** (Adaptado de COSTA *et al.*, 2003).



Esquema 30. Formação do álcool *tert*-butílico com o marcador de ^{18}O .

VII.4.1 - Análise por Ressonância Magnética Nuclear

Como evidência da formação dos compostos ácido 4-(alquilcarbonil)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílico (**5a,c-d**) na análise de RMN verificou-se o desaparecimento do simpleto com área 9 e deslocamento químico em torno de 1,56 ppm, conforme esperado após a hidrólise ácida do grupo *terc*-butila dos compostos **4a,c-d** (Figura 33). A título de exemplificação, o espectro de RMN do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**5c**) está representado na Figura 33. Nesta figura é possível observar o hidrogênio ligado ao nitrogênio como um simpleto em 11,75 ppm, os sinais das metilas ligadas ao anel aromático em 2,45 e 2,39 ppm como simpletos com área de aproximadamente 3 para cada um. Já os sinais dos hidrogênios da butila encontram-se entre 4,15 e 0,9 ppm como um tripleto (δ 4,12, 3H, $J = 6,5$ Hz), um quinteto (δ 1,63, 2H, $J = 6,5$ Hz), um sexteto (δ 1,39, 2H, $J = 6,5$ Hz) e um tripleto (0,91, 3H, $J = 6,5$ Hz). Conforme esperado, os hidrogênios do -CH₂- ligado ao átomo de oxigênio do grupo éster apresenta maior deslocamento químico que o restante da cadeia alifática devido à maior desblindagem causada pelo átomo de oxigênio.

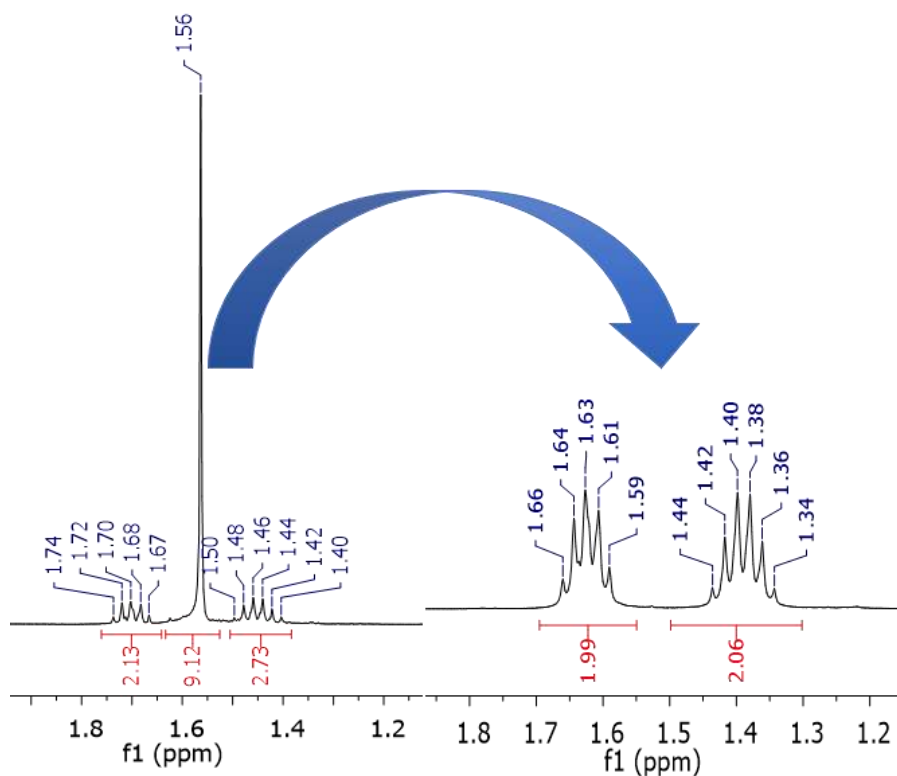


Figura 33. Fragmento do espectro dos compostos **4c** e **5c** respectivamente mostrando o desaparecimento do simpleto em 1,56 ppm após a hidrólise ácida.

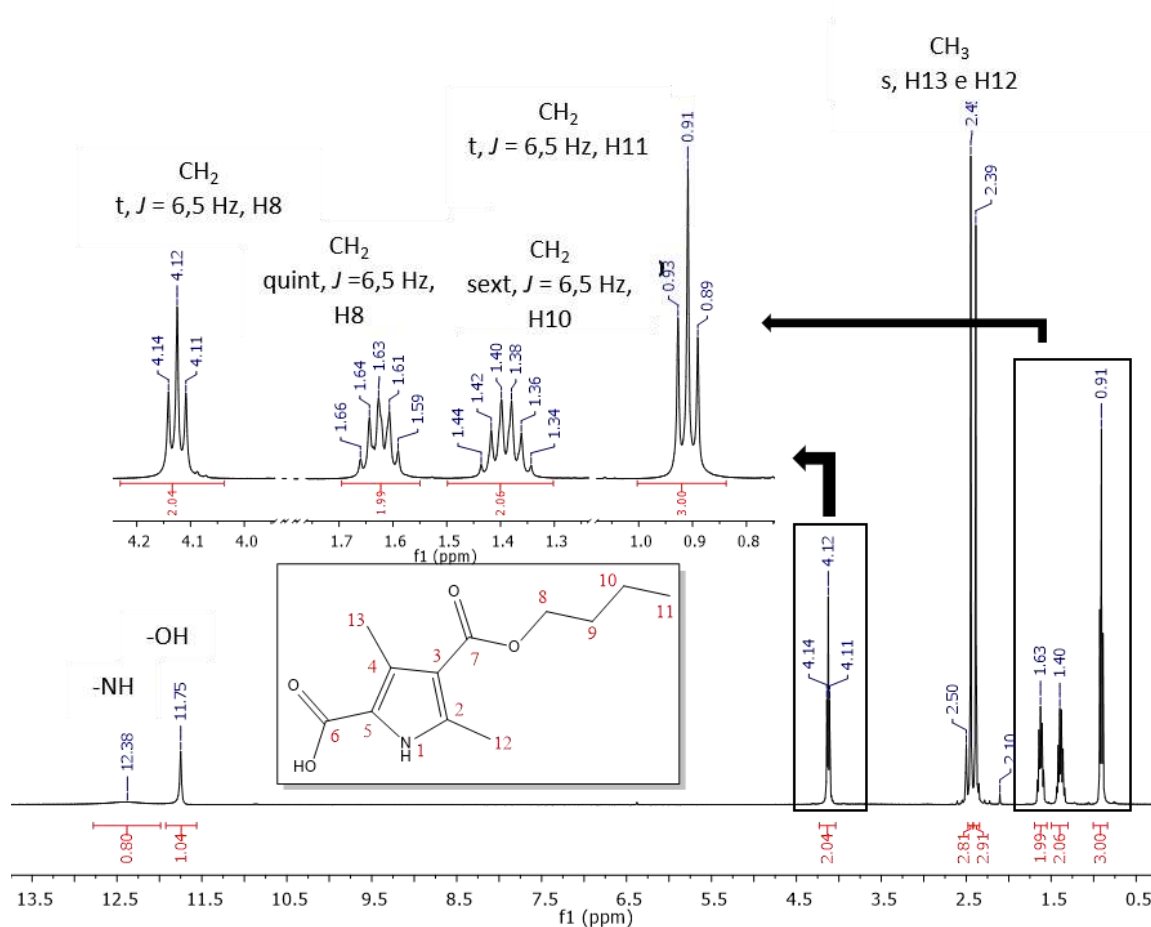


Figura 34. Espectro de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do ácido 4-(butoxycarbonyl)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (**5c**).

Com relação ao espectro de RMN do ^{13}C (Figura 35) também pode-se observar o desaparecimento de dois sinais de carbono quando comparado ao espectro do composto **4c** (Anexo I), um de um carbono quartenário e outro bem intenso correspondente a metilas, ambos do grupo *terc*-butila.

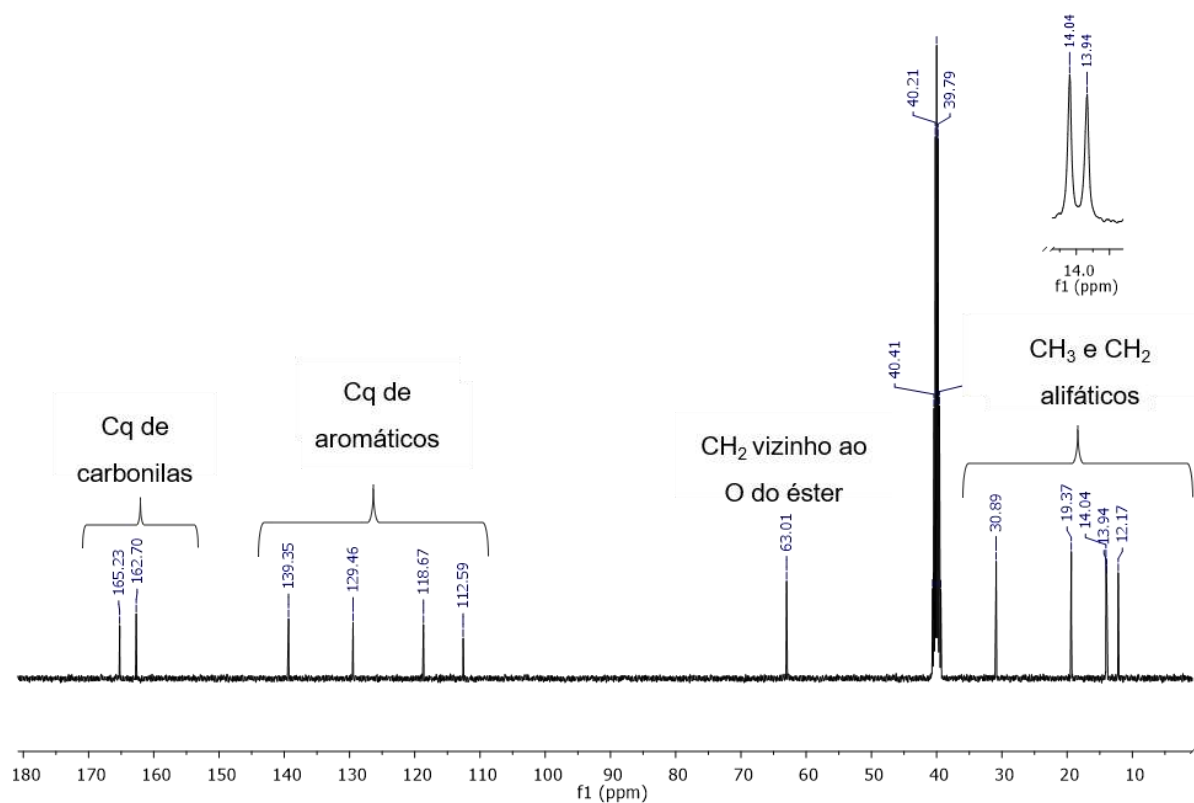


Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do ácido 4-(butoxicarbonyl)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2- carboxílico (**5c**).

VII.4.2 - Análise por infravermelho

Nos espectros de IV dos compostos **5a,c-d** observou-se que as bandas correspondente às carbonilas de éster e de ácido carboxílico têm valores muito próximos ou até se sobrepõe, como no caso do composto **5c** (Tabela 8). A título de exemplificação a Figura 36 mostra o espectro de IV do composto **5d**.

Tabela 8. Comprimento de ondas de algumas bandas no espectro de IV dos compostos **4a-d**.

Compostos	$\nu \text{ C=O}$ de estér e ácido (cm^{-1})	$\nu \text{ NH}$ (cm^{-1})
5a	1668 e 1699	3284
5c	1678	3340 e 3323
5d	1660 e 1676	3352

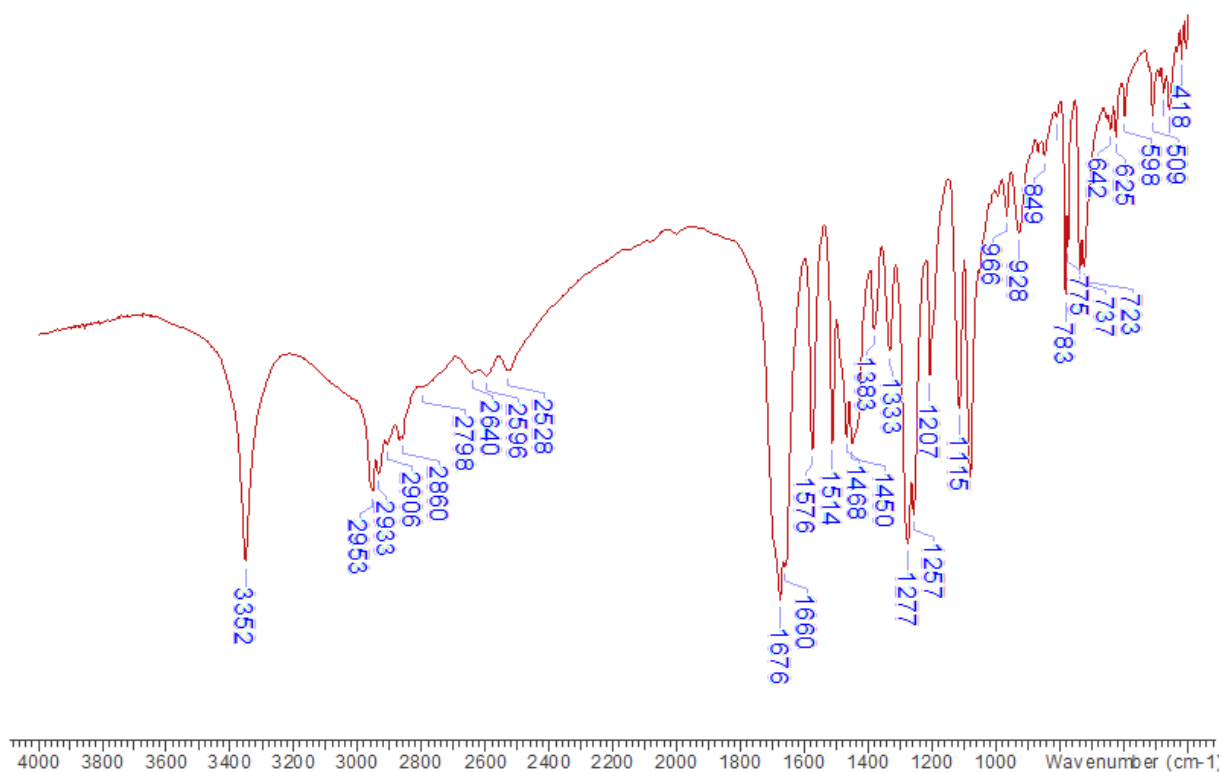
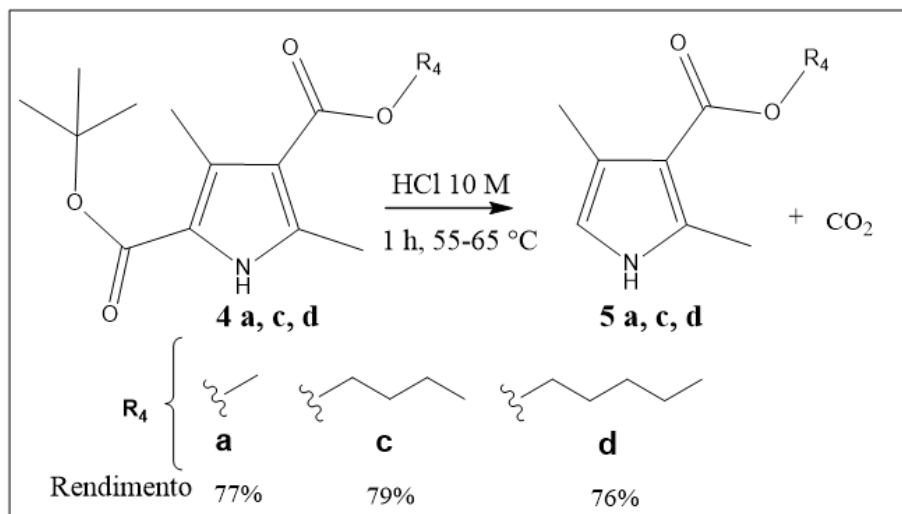


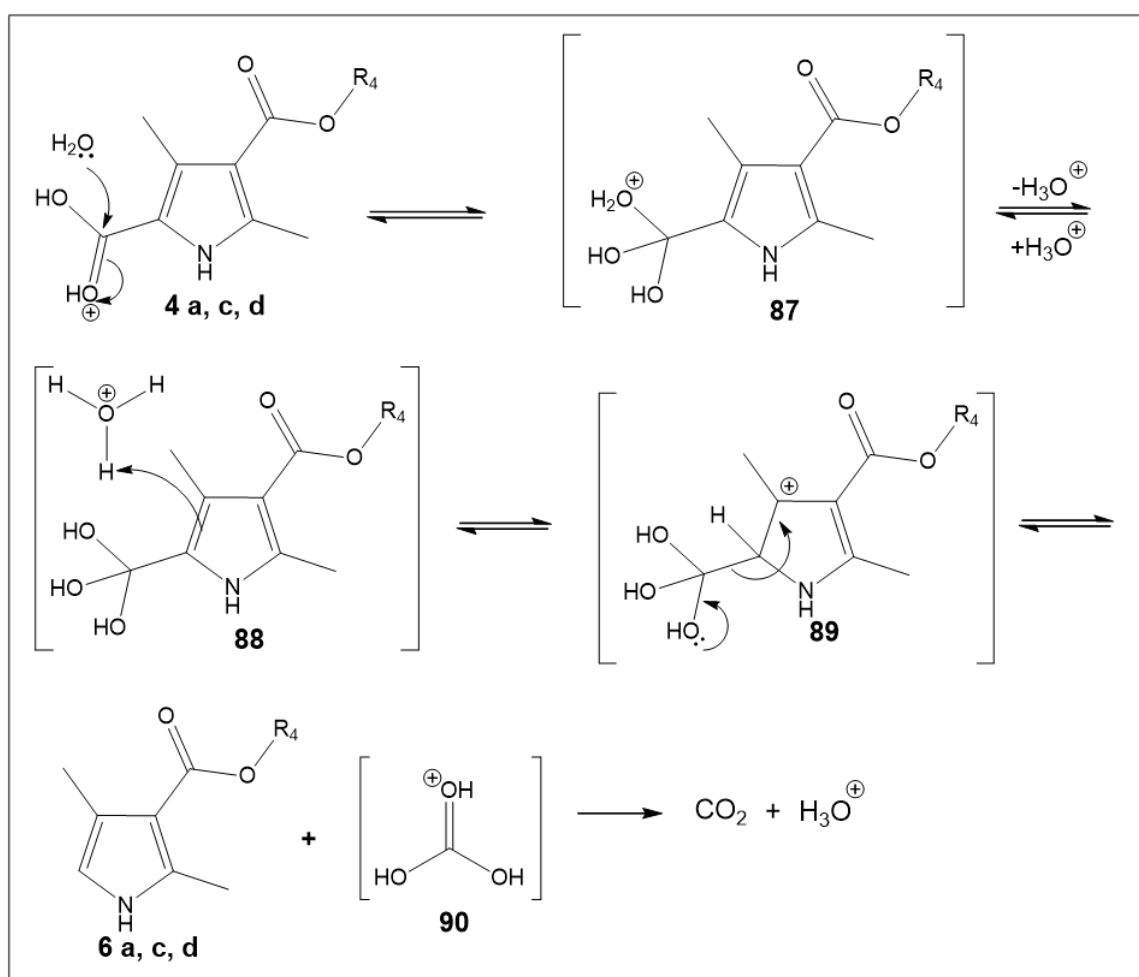
Figura 36. Espectro de IV do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol- 2-carboxílico (**5d**).

VII.5 - REAÇÃO DE DESCARBOXILAÇÃO DOS COMPOSTOS **4a,c-d**

As reações de descarboxilação dos 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-alkilas foram conduzidas na presença de ácido clorídrico e em aquecimento mantendo a temperatura entre 55-60 °C por aproximadamente 1 hora (Esquema 31). O mecanismo da reação descrito no Esquema 32 foi baseado em experimentos feitos por Mundle *et al.* (2009). Inicialmente, ocorre um ataque de uma molécula de água do meio a carbonila de éster *tert*-butílico formando o intermediário **87** que doa um átomo de hidrogênio para o meio. Em seguida, uma dupla ligação do anel aromático ataca um íon hidrônio do meio formando o intermediário **89**. Finalmente ocorre o reestabelecimento da aromaticidade do anel pirrólico com a clivagem da ligação C-C mostrado no intermediário **89** e formação do intermediário **90** que se decompõe liberando gás carbônico e íons hidrônios em solução.



Esquema 31. Reação de descarboxilação em meio ácido e aquecimento.



Esquema 32. Mecanismo de reação de descarboxilação para síntese dos produtos **6a,c-d**. Adaptado de MUNDLE *et al.*, 2009.

VII.5.1 - Espectros de ressonância magnética nuclear

Assim como nos compostos **5a,c-d**, os espectros de RMN de ^1H do compostos descarboxilados (**6a,c-d**) mostraram a perda do simpleto com área de 9 hidrogênios. Já com relação aos espectros de RMN de ^{13}C , observou-se a perda de três sinais de carbono, um correspondente as três metilas equivalentes do grupo *tert*-butila, um do carbono quaternário também do grupo *tert*-butila e um do carbono da carbonila de éster. Para exemplificar, as Figuras 37 e 38 mostram os espectros de ^1H e ^{13}C , respectivamente, do composto **6d**. As multiplicidades dos hidrogênios da cadeia alifática de éster já foram discutidas na seção VII.4.1.

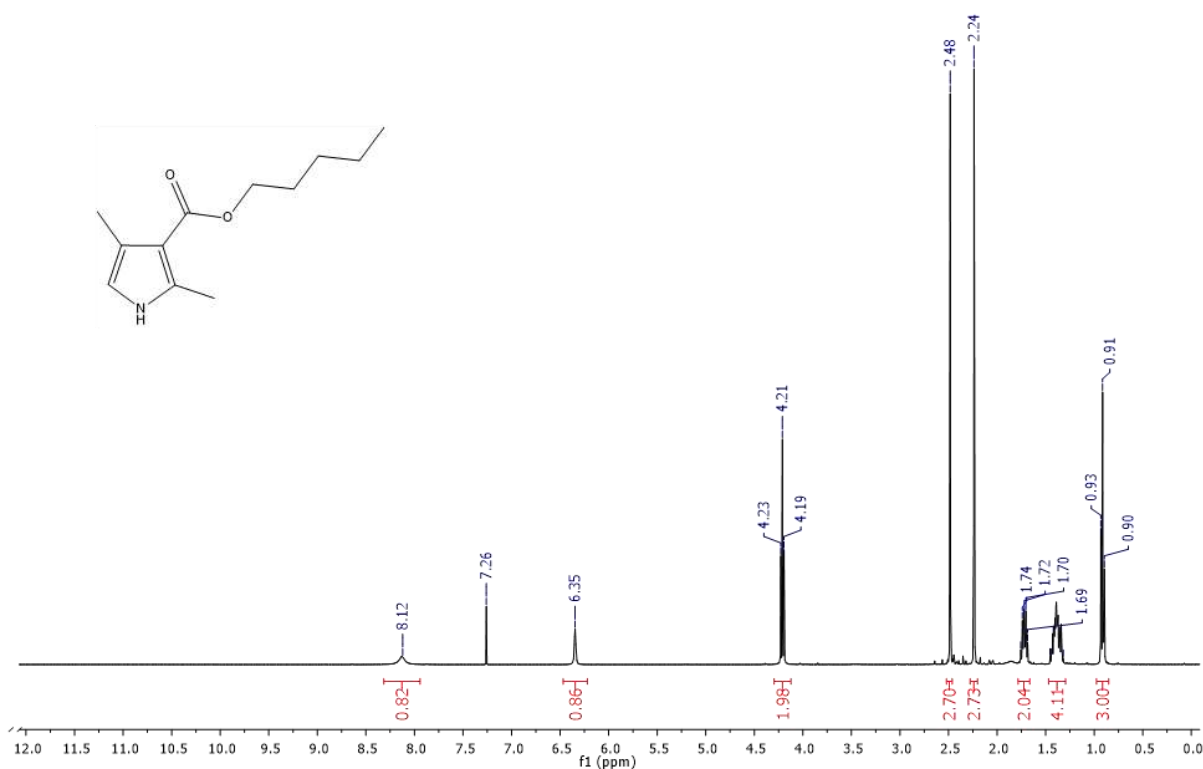


Figura 37. Espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de pentila (**6d**).

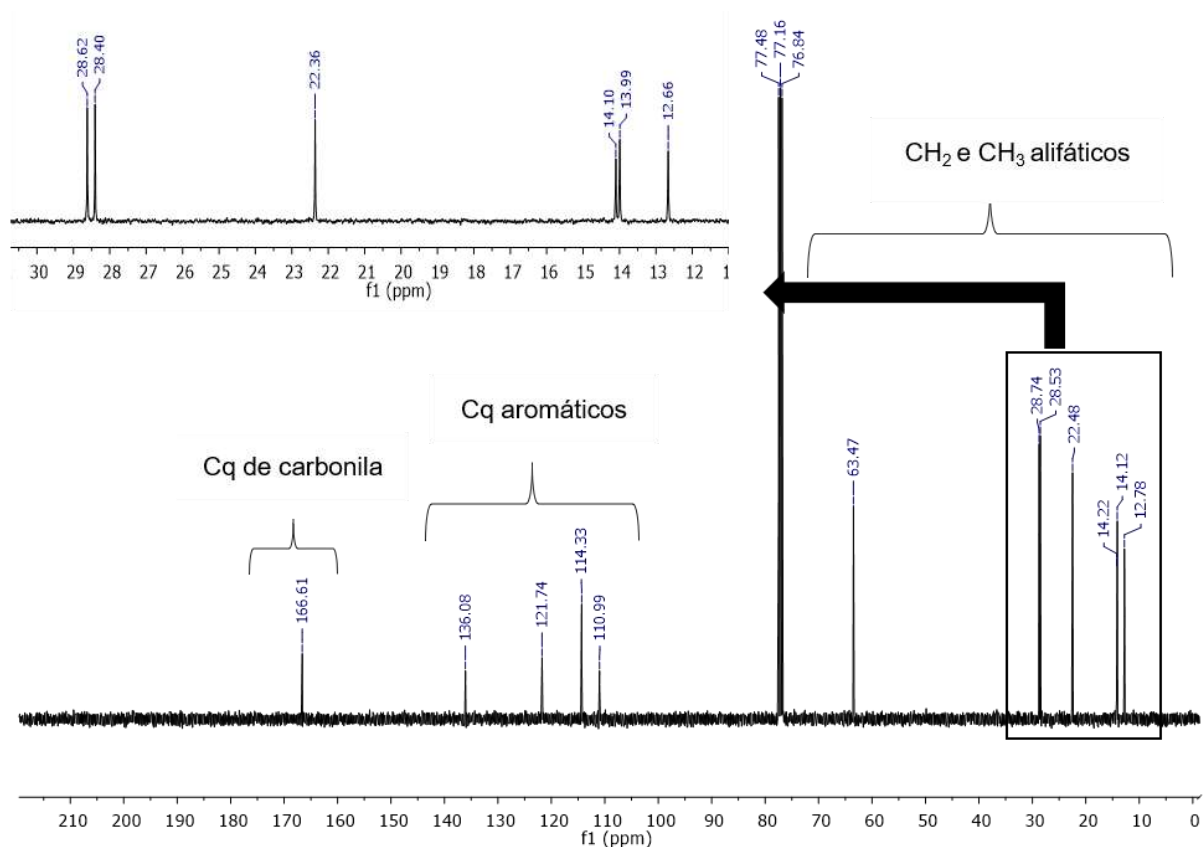


Figura 38. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de pentila (**6d**).

VII.5.2 - Análise por infravermelho

A técnica de caracterização por espectroscopia de infravermelho mostrou a perda de uma das bandas de estiramento característica da carbonila de éster do grupo *tert*-butila conforme representado na Figura 39. As principais bandas e seus respectivos comprimentos de onda estão descritos na Tabela 9. No caso do composto **6c** a banda da carbonila de éster não hidrolisada apareceu na forma de uma banda com número de onda em 1672 e 1659 cm^{-1} .

Tabela 9. Alguns comprimentos de ondas de bandas presentes nos espectros de IV dos compostos **6a,c-d**.

Compostos	$\nu\text{ C=O de estér (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu\text{ NH (cm}^{-1}\text{)}$
6a	1668	3267
6c	1672 e 1659	3319
6d	1664	3323

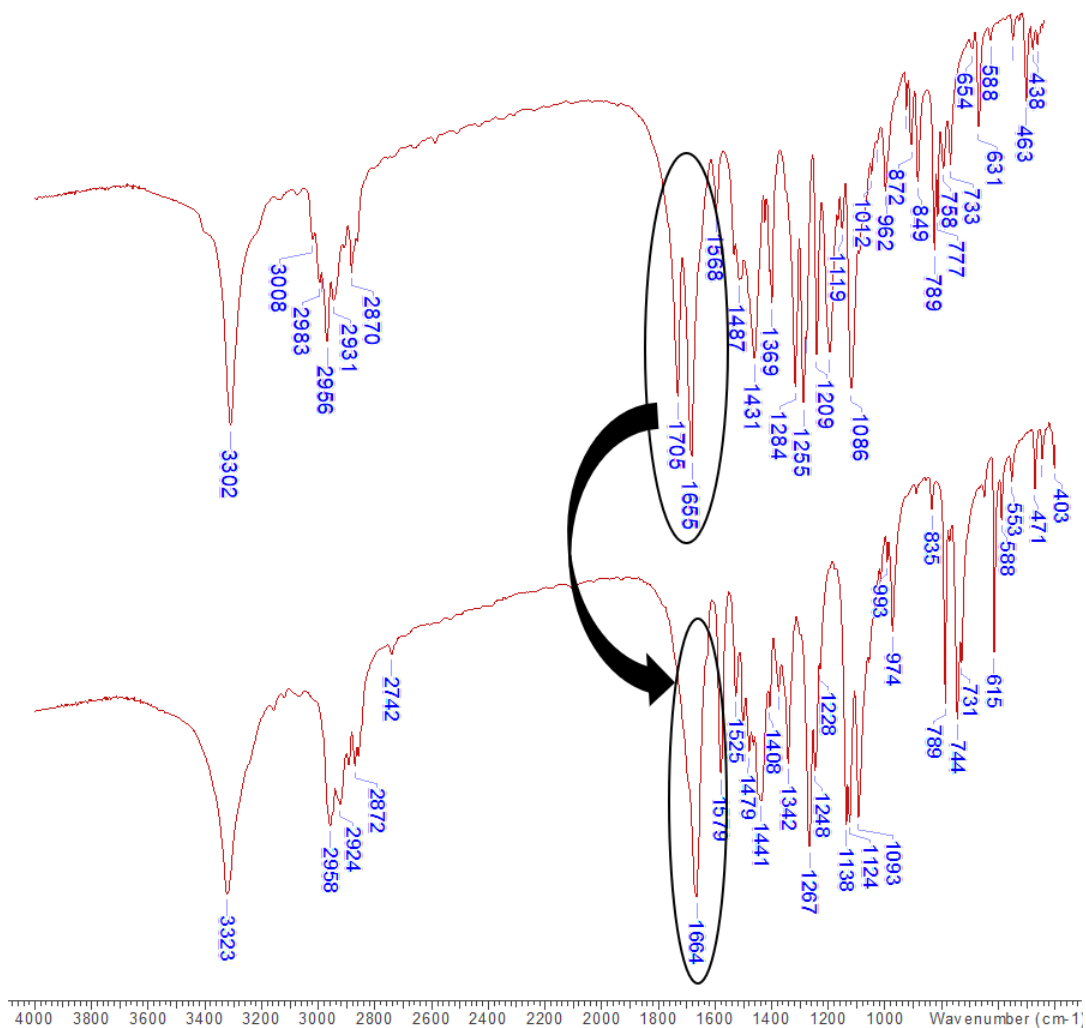


Figura 39. Espectros de IV do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-pentila (**4d**) na posição superior 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de pentila (**6d**) na posição inferior.

VII.5.3 - Espectrometria de massa

Os compostos descarboxilados **6a,c-d** apresentaram alguns íons em comum resultantes da fragmentação no espectrômetro de massas. Por exemplo, todos os compostos produziram o íon de m/z 122 (Esquema 33 - Íon G e Figura 40) resultante da clivagem da ligação C-O α a carbonila de éster.

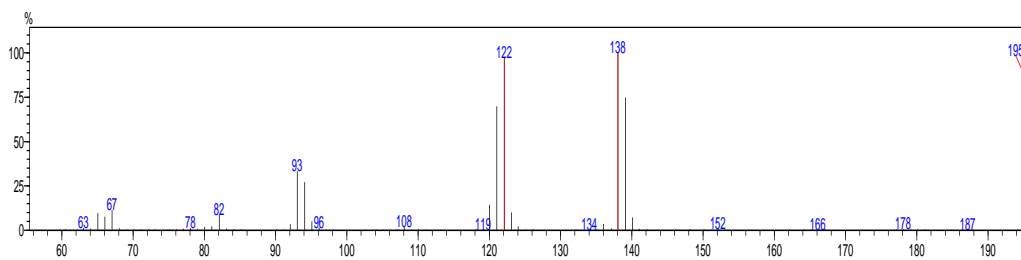
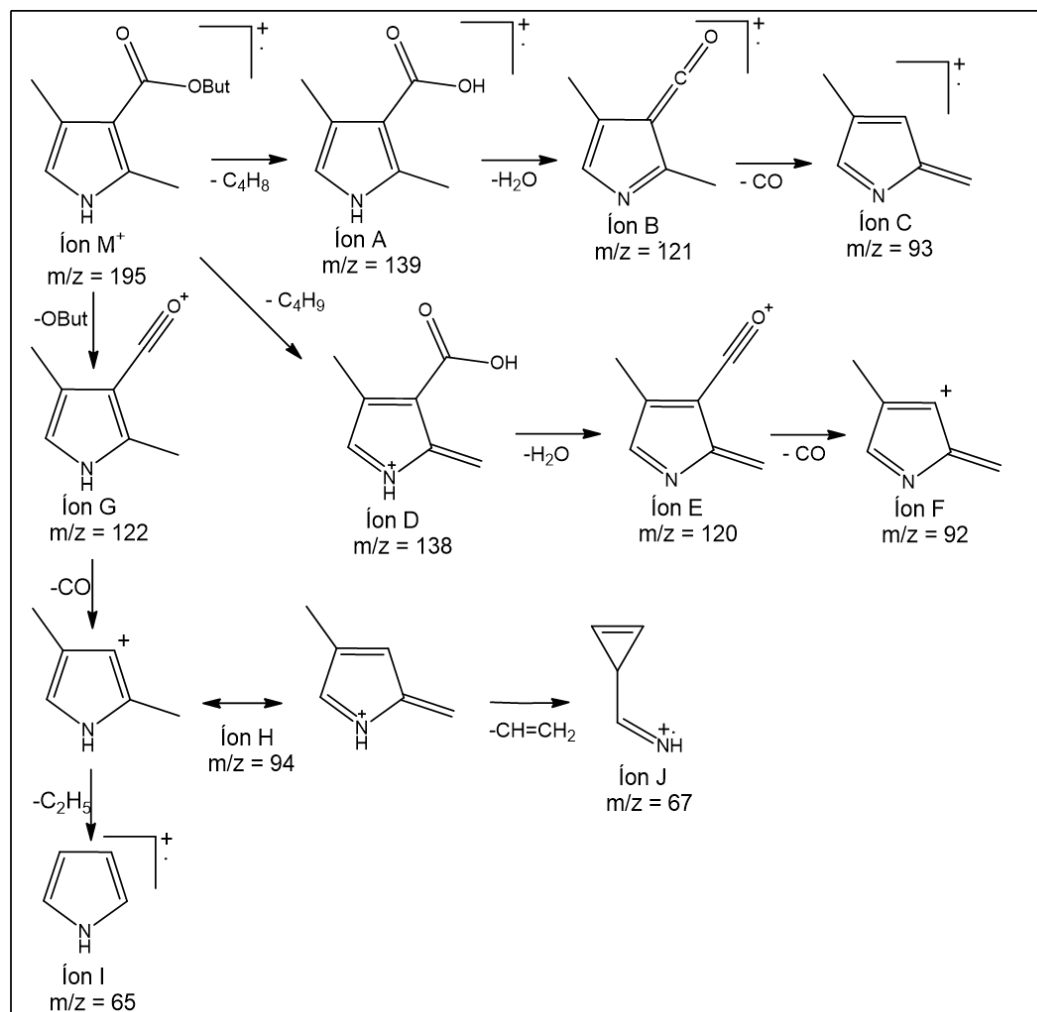


Figura 40. Espectro de massa do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

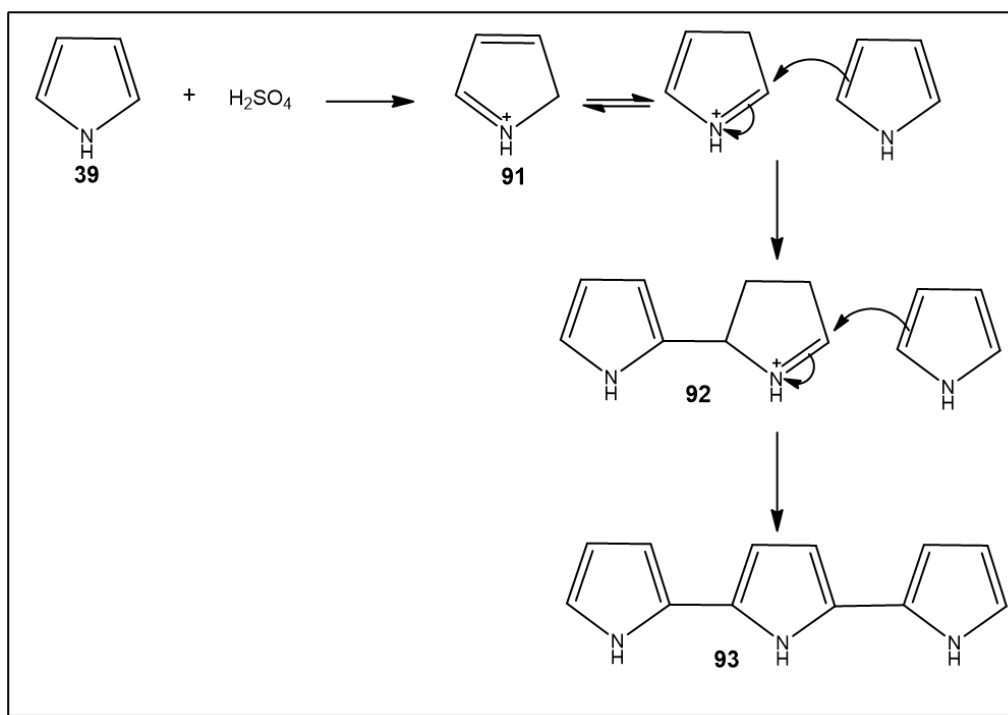


Esquema 33. Proposta de fragmentação do composto 6a baseado em TAYLOR (1990) e BUDZIKIEWICZ *et al.* (1964).

VII.5.4 - Um provável subproduto da reação de descarboxilação

Neste trabalho, no caso da síntese dos compostos **6c** e **6d** não ocorreu precipitação quando água e gelo foram adicionados ao meio de reação após seu

término. Portanto, fez-se uma extração líquido-líquido. Após a extração e remoção dos solventes a pressão reduzida, verificou-se a presença de impurezas por CCD. Logo, foi necessária uma etapa de purificação em coluna de sílica-gel. Algumas impurezas podem ser resultantes da capacidade dos pirróis polimerizarem em meio ácido (Esquema 34) (STEFANI, 2009; BEATRIZ & MONDINO, 2014). Porém, visto que os compostos **4c-d** só possuem uma posição em alfa livre é mais provável que ocorra a formação de dímeros (**92**), conforme mostrado nas primeiras etapas descritas no Esquema 34. Neste contexto, MANLEY *et al.* (2003), trabalhando com derivados pirrólicos semelhantes ao desse trabalho e utilizando as mesmas condições para descarboxilação, observaram a formação do dímero **94** representado na Figura 41.



Esquema 34. Reação de polimerização de pirróis em meio ácido (BEATRIZ & MONDINO, 2014).

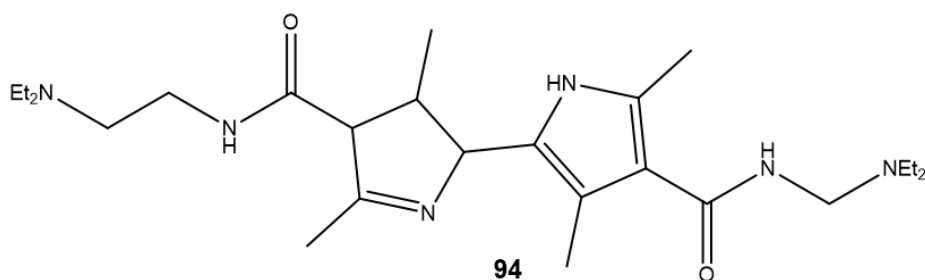
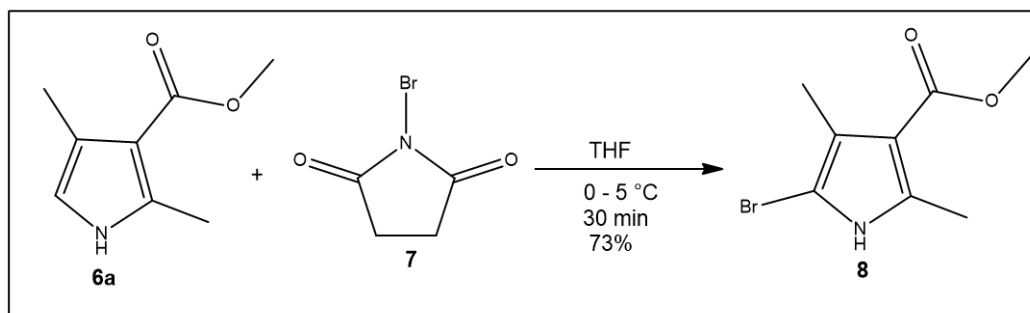


Figura 41. Dímero formado em uma reação de descarboxilação utilizando HCl e aquecimento (MANLEY *et al.*, 2003).

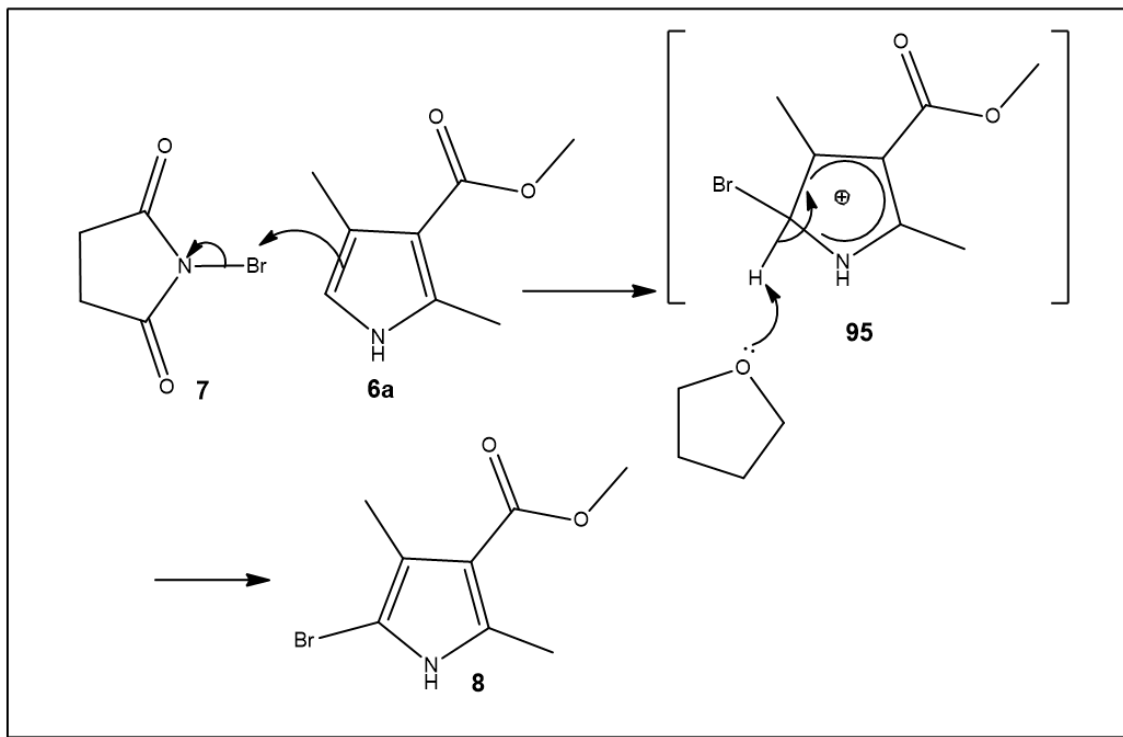
VII.6 - REAÇÃO DE BROMAÇÃO DO PIRROL (6a)

A reação de bromação do composto **6a** (Esquema 35) foi realizada sob resfriamento em banho de gelo, empregando *N*-bromo-succinimida como fonte de bromo eletrofílico. A evolução da reação foi acompanhada por CCD e observou-se o consumo do material de partida e formação do produto entre 0,5-1,0 hora. A grande importância dessa reação é que ela amplia a oportunidade de reações com outros halogênios, como o iodo, produzindo intermediários interessantes para reações de acoplamento C-C, por exemplo. Contudo, uma limitação do produto foi sua sensibilidade a luz e por isso precisou ser protegido da luz.



Esquema 35. Reação de bromação de um derivado pirrólico na posição α ao nitrogênio.

O Esquema 36 ilustra o mecanismo para a síntese do 2-bromo-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-4-carboxilato de metila (**8**). Inicialmente, ocorre uma substituição eletrofílica aromática com formação do intermediário **95**. O próprio solvente do meio, THF, atua como uma base e abstrai um hidrogênio do anel pirrólico formando o produto de interesse.



Esquema 36. Proposta de mecanismo para formação do 5-bromo-2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**8**).

VII.6.1 - Espectro de ressonância nuclear

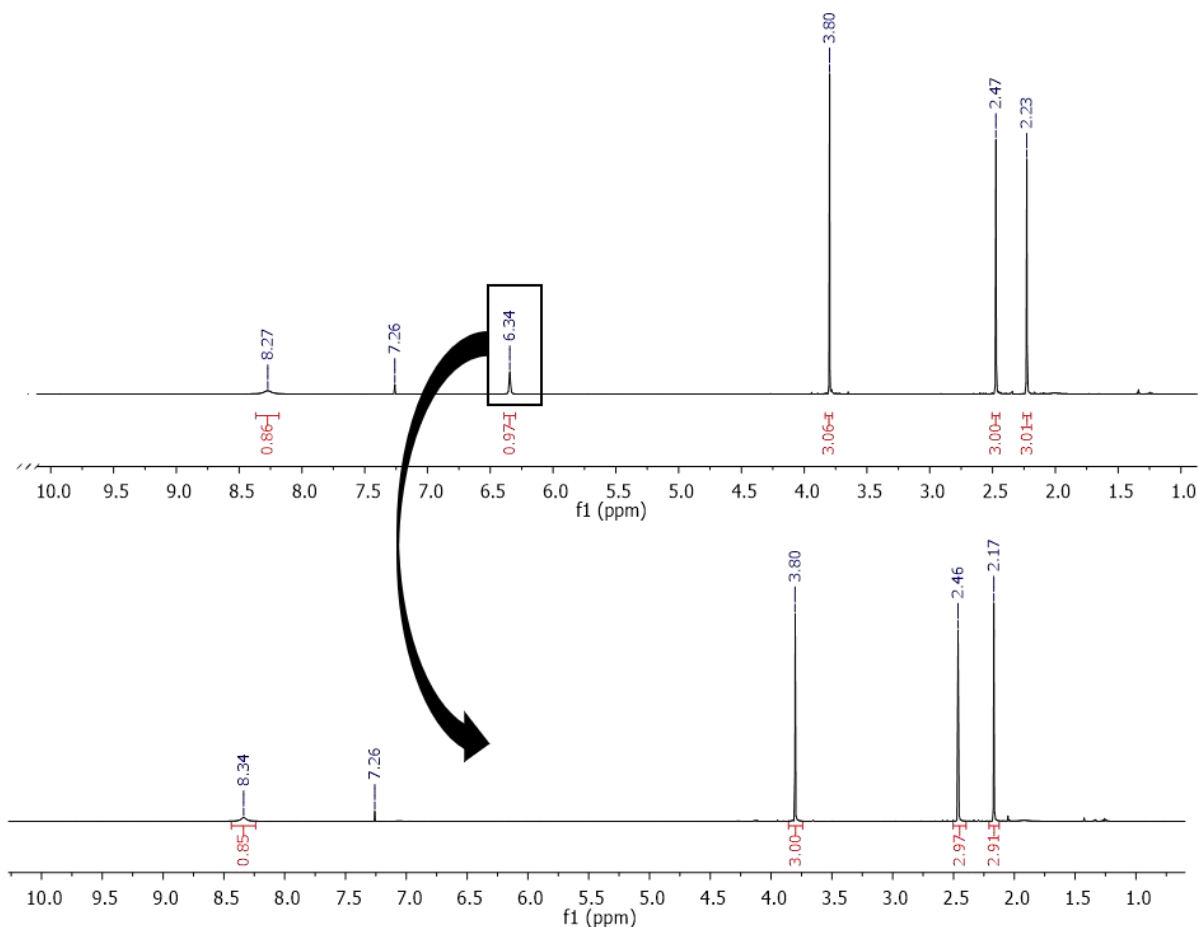


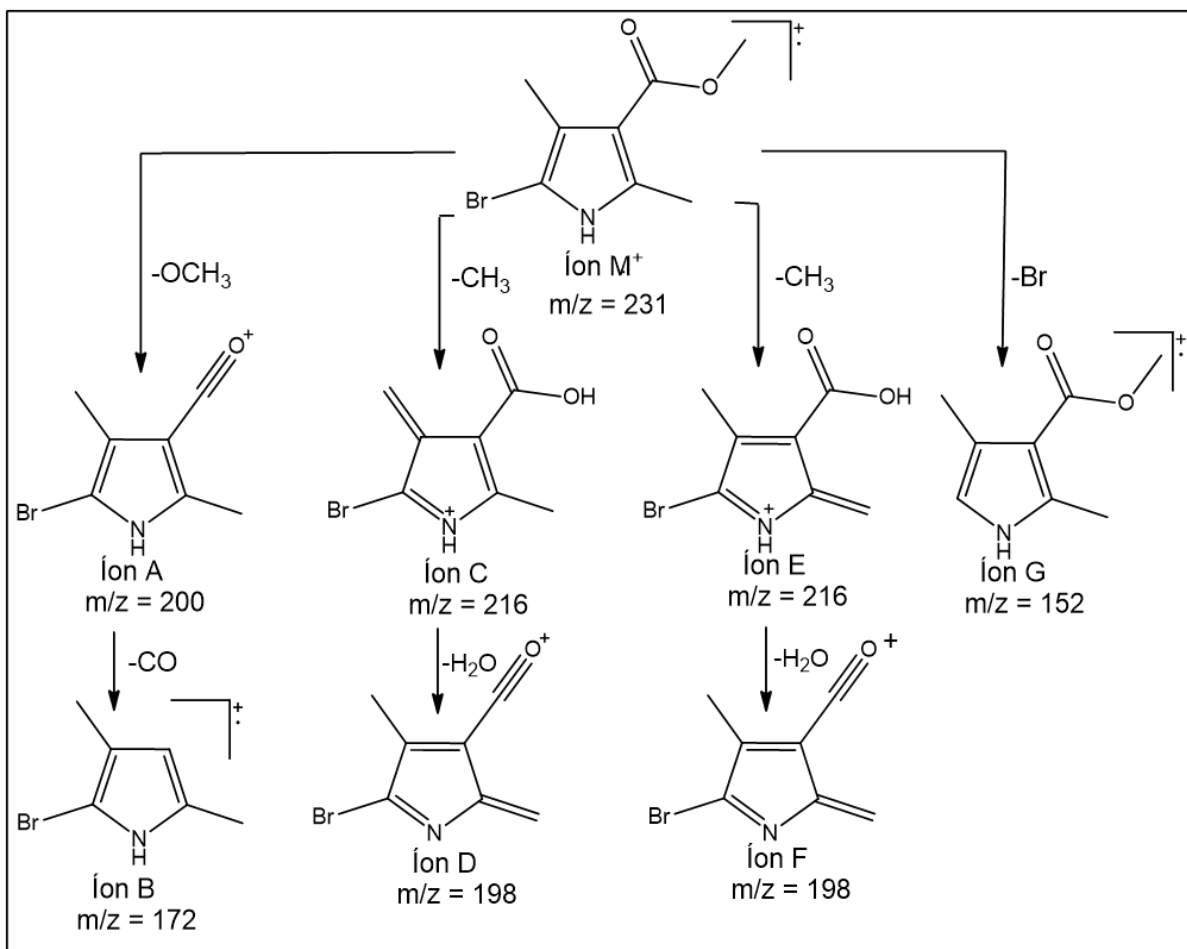
Figura 42. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**4a**) (superior) e do 5-bromo-2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**8**) (inferior).

Conforme esperado, o espectro de RMN de ¹H do composto **8** mostra o desaparecimento do simpleto de área 1 em 6,34 ppm (Figura 42 – espectro inferior) enquanto os outros sinais de seu espectro de RMN de ¹H permanecem de forma semelhante ao espectro do material de partida (Figura 42 - espectro superior). Esses resultados corroboram a estrutura proposta como produto da reação desenhada no Esquema 35.

VII.6.2 - Espectrometria de massa

O bromo é encontrado na natureza na forma de dois isótopos ⁷⁹Br e ⁸¹Br com abundância de 50,5 e 49,5 % respectivamente (WILLIAMS & FLEMING, 1995). Isso

implica na presença de picos com abundâncias aproximadamente iguais para os fragmentos com que possuem um átomo de bromo em suas estruturas (Figura 43). Portanto, conforme mostra a Figura 43, os picos com m/z 200 (íon A), 216 (íon C), 199 (íon D) e 171 (íon B) apresentaram-se vizinhos a picos de mesma intensidade com m/z igual a deles somado 2, confirmando a síntese do produto esperado (**8**). Uma proposta de fragmentação para o composto 2-bromo-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-4-carboxilato de metila é representado no Esquema 37.



Esquema 37. Proposta de fragmentação do composto **8** baseado em TAYLOR (1990), BUDZIKIEWICZ *et al.* (1964).

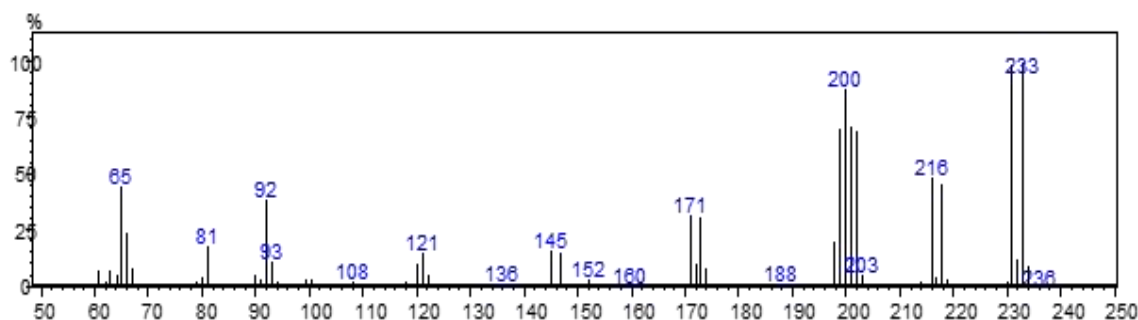
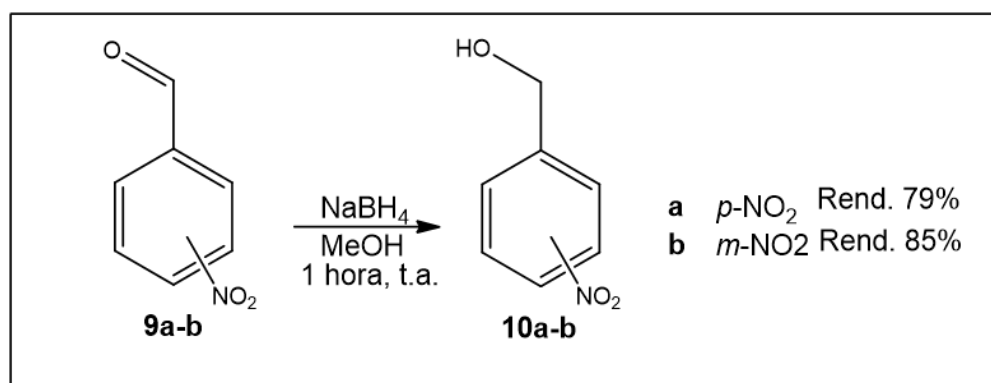


Figura 43. Cromatograma de massa do 5-bromo-2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**8**).

VII.7 - REDUÇÃO DE ALDEÍDOS PARA SÍNTESE DOS ÁLCOOIS **10a** e **b**

Um reagente necessário para a síntese dos β -cetoésteres **1f-g** foi a preparação dos álcoois *para*- e *meta*-nitro benzílico partindo-se de *para*- e *meta*-nitrobenzaldeído. A reação foi relativamente rápida (em torno de 1 hora) e a temperatura ambiente utilizando boro hidreto de sódio como agente redutor (Esquema 38).



Esquema 38. Reagentes e condições para redução dos álcoois **9a-b**.

VII.7.1 - Espectros de ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C apresentaram os sinais esperados para ambos os álcoois. Conforme esperado, foi possível distinguir o padrão de substituição do grupo nitro em *para* e em *meta*. Para exemplificar, a Figura 44 apresenta o espectro de RMN ¹H para o composto **10a**. Neste espectro, observa-se um simpleto em 2,14 ppm correspondente ao hidrogênio da hidroxila, um simpleto com área dois em 4,82 ppm correspondente ao CH₂ da molécula e, por fim, dois duplo tripletos com

deslocamentos químicos entre 8,20 e 7,50 ppm, referentes aos hidrogênios ligados ao anel aromático. Esses sinais tiveram constante de acoplamento igual a 8,8 e 2,1 Hz, valores dentro da faixa esperada para acoplamento em *orto* e *meta*, respectivamente (PAVIA, LAMPMAN & KRIZ, 2001).

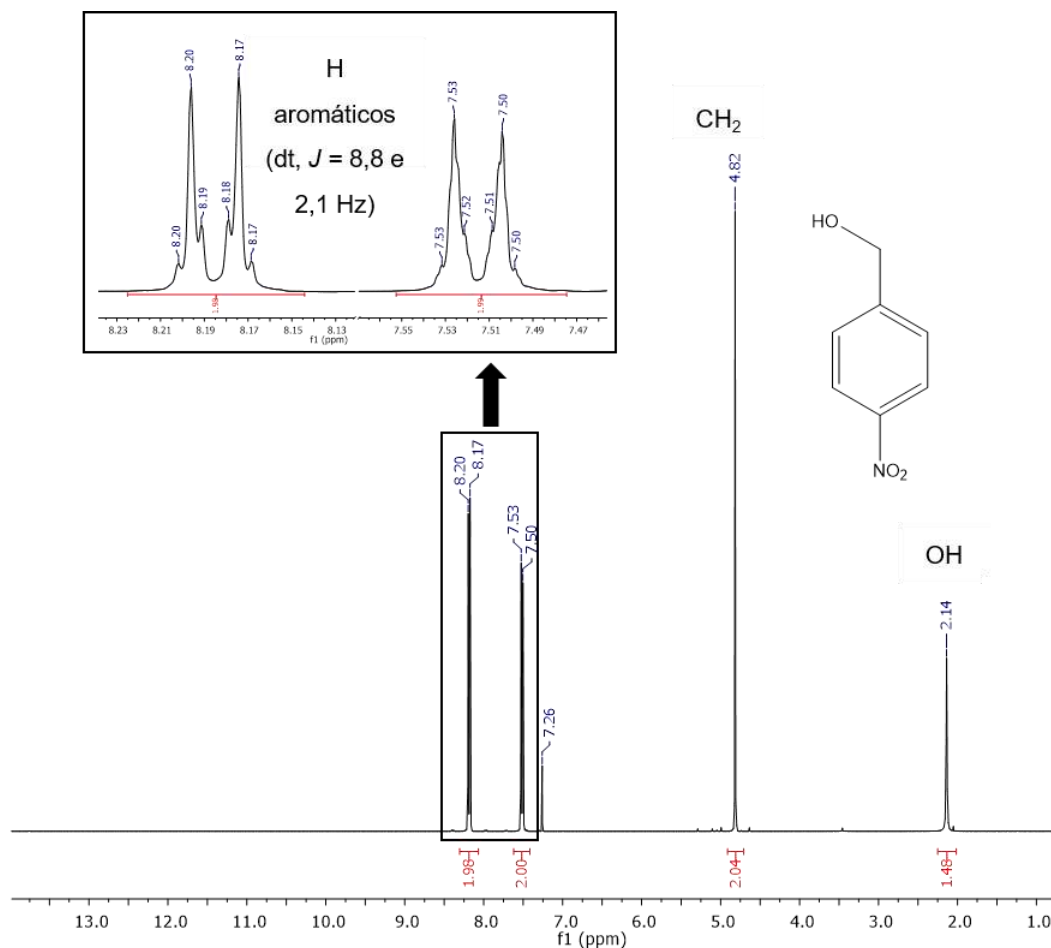


Figura 44. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (10a).

VII.7.2 - Análise por infravermelho

Uma vez que nessa reação a carbonila de aldeído é reduzida a álcool, o espectro de infravermelho auxilia na visualização dessa transformação química. A Figura 45 mostra que o espectro de IV do álcool *m*-benzílico ocorre o desaparecimento da banda característica de estiramento da ligação C=O da carbonila de aldeído em 1707 cm⁻¹ e o surgimento de uma banda em 3348 cm⁻¹ correspondente ao estiramento da ligação O-H.

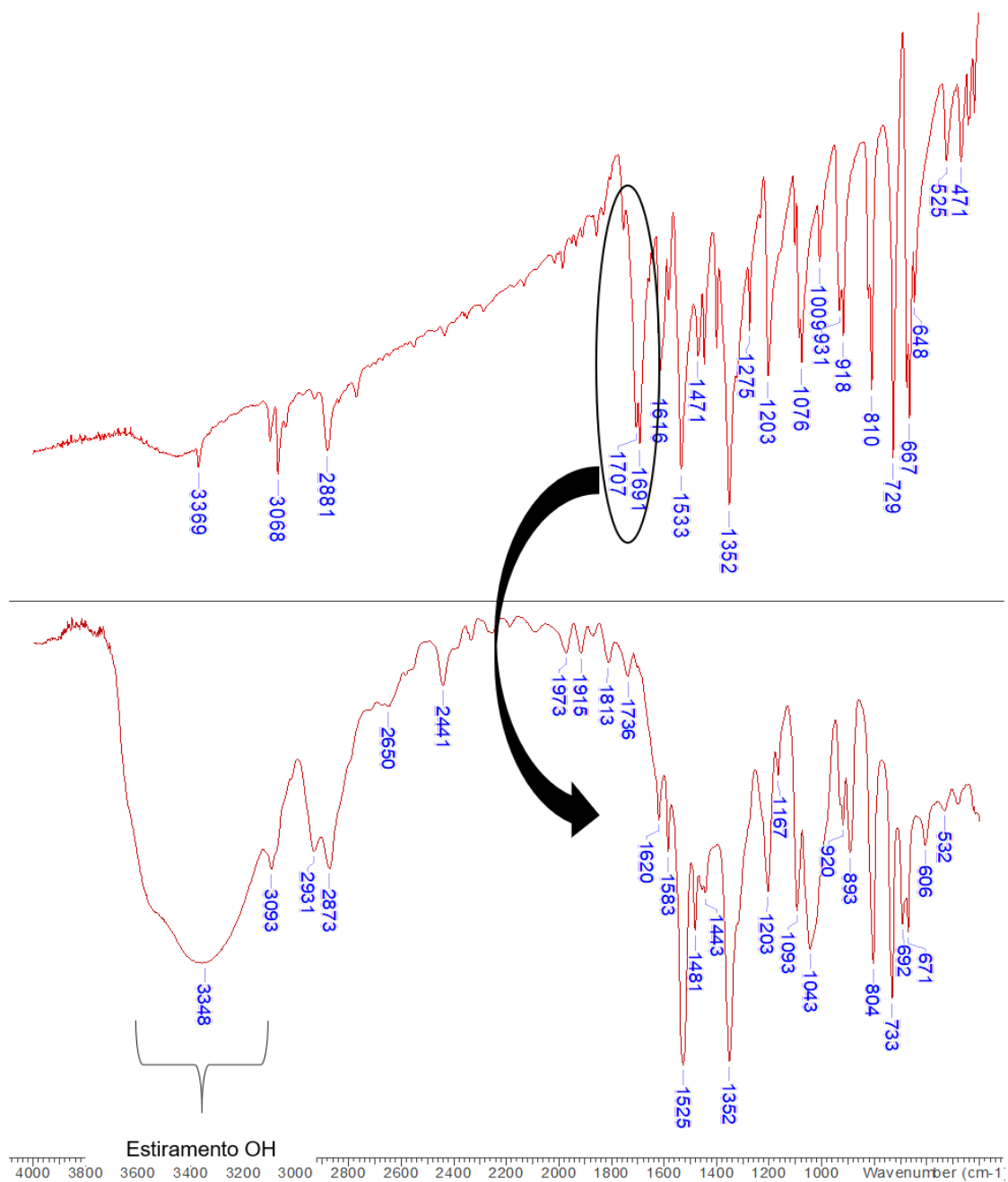
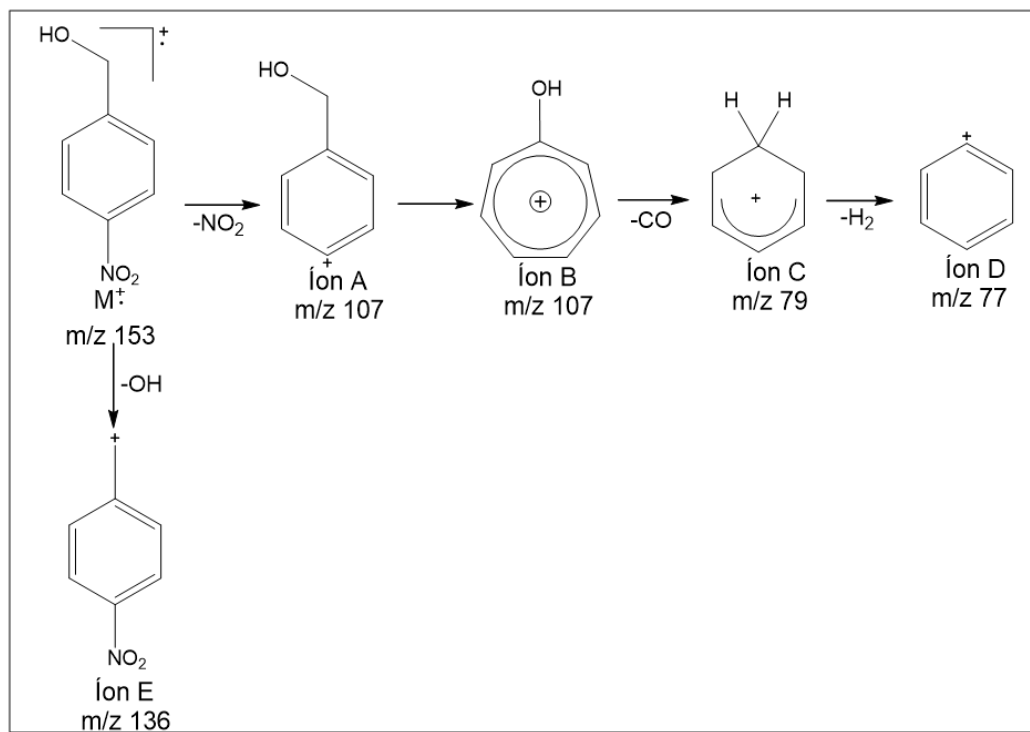


Figura 45. Espectro de IV do 3-nitrobenzaléido na parte superior e do 3-hidroximetil-nitrobenzeno (10b) na parte inferior.

VII.7.3 - Espectrometria de massa

O espectro de massas do composto **10a** apresentou íon molecular com m/z 153 conforme esperado (Figura 46). Conforme mostra o Esquema 39, em uma das propostas de fragmentação ocorre a perda do grupo $-NO_2$, formando o íon A que sofre rearranjo para gerar o íon B que com a perda de CO e de H_2 forma o fragmento de

pico base (íon D m/z 77) que também apareceu no cromatograma de massa do composto **10b**.



Esquema 39. Proposta de fragmentação para o composto **10a**.

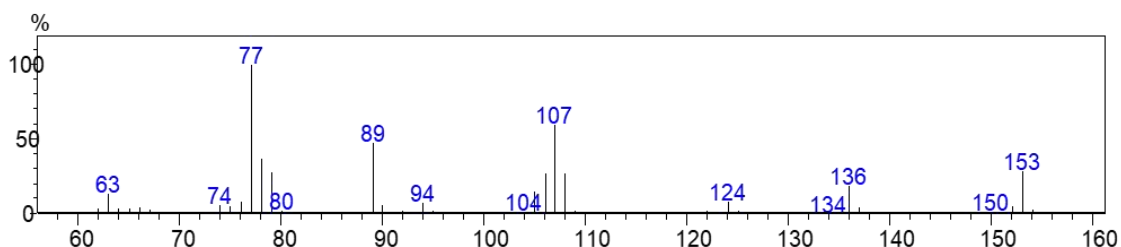


Figura 46. Espectro de massa do composto **10a**.

VII.7 - ESTUDO DA REATIVIDADE DO 2,4-DIMETIL-1H-PIRROL-3-CARBOXILATO DE METILA (**6a**)

Uma das propostas iniciais deste trabalho foi produzir os compostos **11** (Figura 47), **12** (Figura 48) e **13** (Figura 49) utilizando um núcleo pirrólico com um grupo éster na posição beta. Na etapa de planejamento sintético para a formação dos compostos **11** e **12** decidiu-se partir do composto **6a** (éster de metila) ao invés de ésteres de cadeia carbônica maior, como os compostos **6c-d**. A principal motivação foi dados da literatura informando que para a formação dos compostos **11** e **12** ocorreria reações

do tipo adição-eliminação, sendo a etapa de adição a que controla a velocidade de reação. Logo, grupos pouco volumosos facilitariam o ataque de um nucleófilo a carbonila de éster (COSTA *et al.*, 2003).

Porém, mesmo utilizando diferentes condições e reagentes, reações em refluxo ou em reator de micro-ondas em diferentes períodos de tempo não foi observado consumo do material de partida através da técnica de CCD (Tabelas 10 e 11). Um dos motivos deve ser o impedimento estérico devido à presença de metilas ligadas ao anel pirrólico e vizinhas ao grupo éster. As condições de reação e reagentes utilizados nas tentativas de síntese dos compostos **11** e **12** estão descritos nas Tabelas 10 e 11, respectivamente.

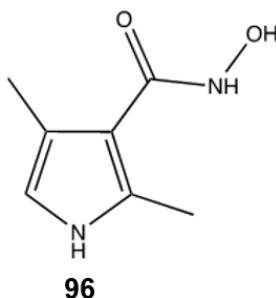


Figura 47. Estrutura química do composto **11** inicialmente proposto neste trabalho.

Tabela 10. Tentativas de condições reacionais para síntese do composto **96**.

Material de partida	Condições	Tempo	Resultado
6a	NH ₂ OH, MeOH em agitação a temperatura ambiente	24 horas	Não reagiu
6a	NH ₂ OH, MeOH em agitação e refluxo a 64 °C	4 horas	Não reagiu
6a	NH ₂ OH, MeOH, THF e KCN em refluxo a 64 °C ^A	7 horas	Não reagiu
5a	NH ₂ OH, MeOH, THF e KCN em refluxo a 64 °C ^A	8 horas	Não reagiu

A - baseado em HO *et al.*, 2005.

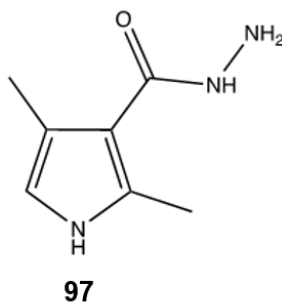


Figura 48. Estrutura química do composto **12** inicialmente proposto neste trabalho.

Tabela 11. Tentativas de condições reacionais para síntese do composto **97**.

Material de Partida	Condições	Tempo	Resultado
6a	NH ₂ NH.H ₂ O 64 %, metanol, agitação e refluxo	4 horas	Não reagiu
6a	NH ₂ NH.H ₂ O 64 %, MO 60 °C	10 min	Não reagiu
6a	NH ₂ NH.H ₂ O 64 %, MO 180 °C	15 min	Não reagiu
6a	NH ₂ NH.H ₂ O 64 %, MO 160 °C e pH = 7,0	10 min	Não reagiu
6a	Sulfato de hidrazina, metanol, agitação e refluxo	2 horas	Não reagiu
6a	Sulfato de hidrazina, metanol, pH = 10,0 e refluxo	4 horas	Não reagiu
6a	Sulfato de hidrazina, metanol, MO 160 °C	15 min	Não reagiu
6a	Sulfato de hidrazina, metanol, pH = 7,0, MO a 160 °C	15 min	Não reagiu
6a	Sulfato de hidrazina, metanol, pH = 8, MO a 180 °C	15 min	Não reagiu

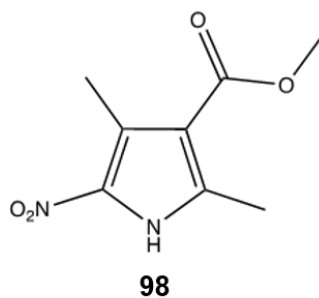


Figura 49. Estrutura química do composto **13** inicialmente proposto neste trabalho a partir da nitração do composto **6a**.

A nitração de pirróis sem e com substituintes é descrito na literatura por diversos autores (SONNET, 1970; MORREY & MORGAN, 1966; MORREY & MORGAN, 1971). Porém, conforme mostra a Tabela 12, com a presença da metila na posição beta vizinha ao carbono onde ocorreria a nitração não foi observada a formação de nenhum produto. No método descrito por MORREY & MORGAN (1966) partindo-se de um pirrol sem substituintes, a reação se completou em 2,5 horas. Utilizando um pirrol com uma metila como substituinte seria esperado um aumento da reatividade do núcleo pirrólico frente a uma substituição eletrofílica, visto que a metila atua como um doador de densidade eletrônica ao anel aromático. Porém, mesmo após 20 horas em agitação magnética a temperatura ambiente não foi observado consumo do material de partida através da técnica de CCD.

Tabela 12. Tentativas de condições reacionais para síntese do composto **98**.

Material de partida	Experimentos	Tempo	Resultado
6a	Ácido nítrico, anidrido acético, agitação a -10–5 °C ^A	2,5 horas	Não reagiu
6a	Ácido nítrico, anidrido acético, agitação temperatura ambiente ^A	20 horas	Não reagiu
6a	Ácido nítrico 65%, anidrido acético, agitação refluxo 145 °C ^A	2 horas	Não reagiu
6a	Trifenilfosfina, Br ₂ , nitrato de prata, temperatura ambiente ^B	2 horas	Não reagiu
6a	Ácido nítrico 65%, anidrido acético, MW 150 °C ^A	6 min	Não reagiu
6a	Trifenilfosfina, Br ₂ , nitrato de prata, refluxo 100 °C ^B	2 horas	Não reagiu

A baseado na metodologia descrito por MORREY & MORGAN, 1966

B baseado na metodologia descrito por IRANPOOR *et al.* (2006)

Um segundo método para nitração foi testado baseado na metodologia de IRANPOOR *et al.* (2006) que obteve conversão de 100% em 5 minutos na nitração de aminas aromáticas utilizando o sistema Ph₃P/Br₂/AgNO₃ em agitação a temperatura ambiente por 5 min. Contudo, utilizando o composto **6a** como material de partida, não houve nitração mesmo após duas horas em agitação a temperatura ambiente ou após refluxo por 4 horas empregando o sistema Ph₃P/Br₂/AgNO₃.

Os pesquisadores SCHMUCK & DUDACZEK (2003) também relataram dificuldades na nitração de um composto similar ao desse trabalho (Figura 50). Rendimentos em torno de 40% só foram obtidos em condições mais drásticas e

utilizando nitrito de *n*-pentilo. Porém, nestas condições também verificaram decomposição significativa do material de partida (**99**). Tentando reverter esse problema, os autores utilizaram o composto **101** que não possui metilas ligadas ao anel pirrólico (Figura 51) como material de partida alcançando rendimentos de 61%. Portanto, os dados de SCHMUCK & DUDACZEK (2003) e os deste trabalho corroboram o argumento de impedimento estérico causado pela presença do grupo metila.

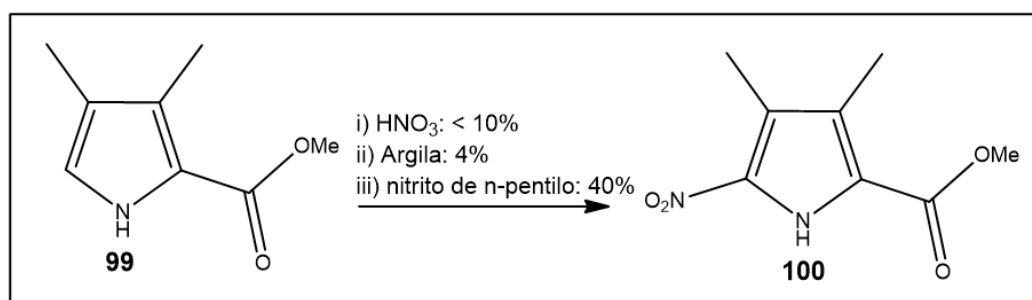


Figura 50. Reações para nitração conduzidas por SCHMUCK & DUDACZEK (2003).

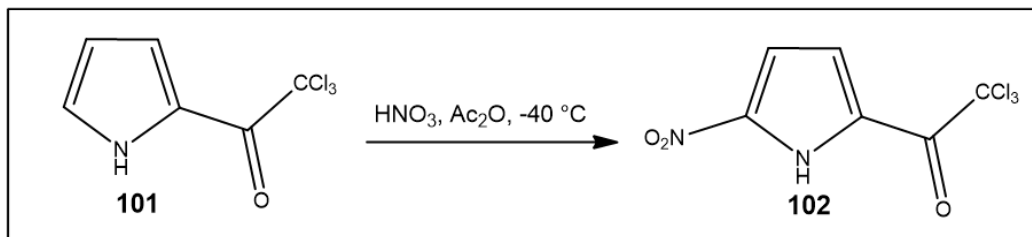


Figura 51. Reações para nitração conduzidas por SCHMUCK & DUDACZEK (2003) material de partida sem metilas.

VII.8 - ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os testes biológicos através da técnica de difusão em ágar mostraram que na concentração de 200 µg/mL os compostos **5 a,c-d**, **6 a,c-d**, **8** não apresentaram atividade antimicrobiana para as cepas analisadas tanto de bactérias gram-negativas quanto gram-positivas e leveduras. Através desse teste seria esperado a observação de um halo no entorno do poço feito no ágar se o composto orgânico apresentasse alguma atividade antimicrobiana para os organismos testados. Porém, nos experimentos realizados nenhum dos compostos analisados mostrou halo de inibição.

VIII – CONCLUSÃO

Neste trabalho, sintetizou-se e caracterizou-se 5 β -cetoésteres e 11 derivados pirrólicos com rendimentos de bom a moderado. Desse total, os β -cetoésteres **1g** e **1h** são inéditos juntamente com os derivados pirrólicos **4d**, **5 c-d** e **6 c-d**. Além disso, o procedimento experimental descrito neste trabalho permite a síntese de outros derivados pirrólicos inéditos, como por exemplo ésteres com maior cadeia alifática como substituinte do anel pirrólico.

Os compostos **5 a,c-d**, **6 a,c-d** e **8** não apresentaram atividade antimicrobiana através do teste de difusão em poços na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$ e contra cepas dos micro-organismos *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida famata*, *Candida tropicalis*, *Rhodotorula mucilaginosa* e *Cryptococcus laurentii*. Portanto, neste caso a presença do heterociclo pirrol não apresentou efeito antimicrobiano.

Na síntese de β -cetoésteres observou-se o equilíbrio tautomérico entre a forma cetônica e a enólica através da técnica de RMN. Já, com relação a síntese dos núcleos pirrólicos, o composto **4b** produzido utilizando pó de zinco e ácido acético como meio redutor teve rendimento de 18 %, bem menor que os compostos **4a,c-d** (61,5, 76 e 87%, respectivamente) que foram sintetizados utilizando paládio suportado em carbono e gás hidrogênio.

O estudo da reatividade do composto **6a** mostrou que não ocorre a reação entre a carbonila de éster e hidrazina ou hidroxilamina. Também não foi observado consumo do material de partida ao tentar nitrar o composto **6a** na posição alfa utilizando diferentes métodos.

IX – PERSPECTIVAS

Investigar outras possíveis aplicações para os compostos **5 a,c-d**, **6 a,c-d** e **8**. Além disso, ajustar as condições de reação para síntese do composto **4e** evitando a formação do subproduto descarboxilado. Ainda em termos de síntese, explorar outros derivados pirrólicos que possam ser sintetizados baseados neste trabalho.

Planejar novas rotas sintéticas na tentativa de obtenção de compostos orgânicos que apresentem atividade antimicrobiana visto a grande necessidade atual de desenvolvimento de novos fármacos principal para o tratamento de infecções causadas por micro-organismos resistentes.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

ALLEGRETTI, P.E.; CASTRO, E.A.; FURLONG, J.P. Mass spectrometry of β -keto esters. Some evidence of their tautomerism. **Eur. J. Mass Spectrom.**, v. 12, p. 317-330, 2006.

AMINOV, R.I. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. **Front. Microbiol.**, v. 1, p. 1-7, 2010.

ANGUERA, G.; KAUFFMANN, B.; BORRELL, J.I.; BORRÓS, S.; SÁNCHEZ-GARCÍA, D. Quaterpyrroles as Building Blocks for the Synthesis of Expanded Porphyrins. **Org. Lett.**, v. 17, p. 2194-2197, 2015.

BANDGAR, B.P.; SADAVARTE, V.S.; UPPALLA, L.S. Metal salts as novel catalysts for eficiente transesterification of beta-ketoesters. **Synth. Commun**, v. 31, n. 13, p. 2063-2066, 2001.

BANDGAR, B.P.; SADAVARTE, V.S.; UPPALLA, L.S. Zn mediated transesterification of beta-ketoesters. **J. Chem. Research (S)**, p. 16-17, 2001.

BAUMMANN, M.; BAXENDALE, I.R.; LEY, S.V.; NIKBIN, N. An overview of the key routes to the best selling 5-membered ring heterocyclic pharmaceuticals. **Beilstein J. Org. Chem.**, v. 7, p. 442-495, 2011.

BEATRIZ, A.; MONDINO, M.G. **Compostos Heterocíclicos: Estudo e aplicações sintéticas**. 1. ed., São Paulo, Editora Atheneu, p.70, 2014.

BEBRONE, C.; LASSAUX, P.; VERCHEVAL, L.; SOHIER, J.; JEHAES, A.; SAUVAGE, E.; GALLEN, M. Current Challenges in Antimicrobial Chemotherapy: Focus on β -lactamase inhibition. **Drugs**, v. 70, p. 651-679, 2010.

BEYDA, N.D.; CHUANG, S.H.; ALAM, M.J.; SHAH, D.N.; NG, T.M.; MCCASKEY, L.; GAREY, K.W. Treatment of *Candida famata* bloodstream infections:

case series and review of the literature. **J. Antimicrob Chemother**, v. 68, p. 438-443, 2013.

BIENAYMÉ, H.; ZHU, J. **Multicomponent Reactions**. 1.ed. França: Wiley-VHC Verlag GmbH & Co., p. 468, 2005.

BUCHANAN, K. L.; MURPHY, J.W. **What makes *Cryptococcus neoformans* a pathogen?** *Emerg Infect Dis.*, v. 4, p. 71-83, 1998.

BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C.; JACKSON, A.H.; KENNER, G.W.; NEWMAN, D.J.; WILSON, J.M. Pyrroles and Related Compounds. Part IV. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. Mass Spectra of Monocyclic Derivatives of Pyrrole. **J. Chem. Soc.**, v. 0, p. 1949-1960, 1964.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **E. Coli – General Information**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>. Acesso em: 23 nov. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Public Health Image Library (PHIL)**. Disponível em: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=209>. Acesso em: 23 nov. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Salmonella**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>. Acesso em: 24 nov. 2017.

CETINKAYA, Y.; FALK, P.; MAYHALL, C.G. Vancomycin-resistant enterococci. **Clin Microbiol Rev.**, v. 13, p. 686-707, 2000.

CHAVAN, S.P.; SUBBARAO, Y.T.; DANTALE, S.W.; SIVAPPA, R. Transesterification of ketoesters using amberlyst-15. **Synth. Commun.**, v. 31, n. 2, p. 289-294, 2001.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. **Substâncias carboniladas e derivados**. 1ª ed., Porto Alegre, Artmed Editora S.A., p. 262, 2003.

DEPARTMENT OF VITICULTURE & ENOLOGY. **Rhodotorula mucilaginosa**. University of California, Davis Campus. Disponível em: <http://wineserver.ucdavis.edu/industry/enology/winemicro/wineyeast/rhodotorula_mucilaginosa.html>. Acesso em: 23 de nov. 2017.

DUA R.; SHRIVASTAVA, S.; SONWANE, S.K.; SRIVASTAVA, S.K. Pharmacological Significance of Synthetic Heterocycles Scaffold: **A Review**. *Advan. Biol. Res.*, v. 5, p. 120-144, 2011.

EICHER, T.; HAUPTMANN, S. **The Chemistry of Heterocycles: Structures, Reactions, Synthesis, and Applications**. 2.ed. Alemanha: Wiley-VCH GmbH & Co. KGaA, 2003.

FIELD, L.D.; STERNHELL, S.; KALMAN, J.R. **Organic Structures from Spectra**. 4 ed, Inglaterra, Wiley, p. 30, 2008.

FISCHER, H. 2,4-dimethyl-3,5-dicarbethoxypyrrole. *Org. Synth. Coll.*, v. 2, p. 202, 1943.

FOSTER, T. Chapter 12: Staphylococcus. *In* BARON S. **Medical Microbiology**. 4.ed. Galveston (Estados Unidos): [University of Texas Medical Branch at Galveston](http://www.utmsi.edu/), 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK84448/>>. Acesso em: 26 de nov. 2017.

GIANNELLA, R.A. Chapter 21: Salmonella. *In* BARON S. **Medical Microbiology**. 4.ed. Galveston (Estados Unidos): [University of Texas Medical Branch at Galveston](http://www.utmsi.edu/), 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8435/?report=printable>>. Acesso em: 26 de nov. 2017.

GOMES, M.J.P. **Tópicos em Bacteriologia Veterinária**. FAVET-UFRGS, 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Bacillus%204-2013-1%20vers%C3%A3o%202013.pdf>>. Acesso em: 24 nov. 2017.

HO, C.Y.; STROBEL, E.; RALBOVSKY, J.; GALEMMO, R.A. Improved solution- and solid-phase preparation of hydroxamic acids from esters. **J. Org. Chem.**, v. 70, p. 4873-4875, 2005.

HUGHES, C.C.; DAVO, A.P.; JENSEN, P.R.; FENICAL, W. The marinopyrroles, antibiotics of an unprecedented structure class from a marine *Streptomyces sp.* **Org. Lett.**, v. 10, p. 629-631, 2008.

IDAS, R.; CHAKRABORTY, D. AgOTf-catalyzed transesterification of beta-keto esters. **Appl. Organometal. Chem.**, v. 26, p. 140-144, 2012.

IDHAYADHULLA, A.; KUMAR, R. S.; NASSER, A.J.A.; MANILAL, A. Synthesis and antimicrobial activity of some new pyrrole derivatives. **Bull. Chem. Soc. Ethiop.**, v. 26, p. 429-435, 2012.

IRANPOOR, N.; FIROUZABADI, H.; NOWROUZI, N.; FIROUZABADI, D. Highly chemoselective nitration of aromatic amines using the Ph₃P/Br₂/AgNO₃ system. **Tetrahedron Lett.**, v. 47, p. 6879-6881, 2006.

JONES, L. *Listeria monocytogenes*. Disponível em: https://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2010/L_monocytogenes.html. Acesso em: 24 nov. 2017.

KEUM, Y.S.; ZHU, Y.Z.; KIM, J.H. Structure-inhibitory activity relationships of pyrrolnitrin analogues on its biosynthesis. **Appl. Microbiol Biotechnol.**, v. 89, p. 781-789, 2011.

KONDAIAH, G.C.M.; REDDY, L.A.; BABU, K.S.; GURAV, V.M.; HUGE, K.G.; BANDICHHOR, R.; REDDY, P.P.; BHATTACHARYA, A.; ANAND, R.V. Boric acid: na

efficient and environmentally benign catalyst for transesterification of ethyl acetoacetate. **Tetrahedron Lett.**, v. 49, p. 106-109, 2008.

KRISHNAIAH, G.; RAJANNA, K.C.; REDDY, K.R.; KUMAR, M.S.; SRINIVAS, P.; RAO, Y.R. Cesium carbonate as efficient catalyst for chemoselective transesterification of beta-ketoesters under conventional and unconventional conditions. **Res. Chem. Intermed.**, v. 41, p. 2739-2781, 2015.

KUMAR, M.; PADMINI, V.; BHUVANESH, N. Stereo-selective green protocol for the synthesis of highly substituted 1-phenyl-tetrahydro indeno [a,2-b]pyrroles. **Res. Chem. Intermed**, v. 43, p. 4517-4530, 2017.

LEADING INTERNATIONAL FUNGAL EDUCATION (LIFE). **Fungal Infections**. Disponível em: <<http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/rhodotorula-mucilaginosa>>. Acesso em: 23 de nov. 2017.

LI, M.; YAO, Y.; DING, J.; QIN, J.; ZHAO, Y.; HONGWEI, H.; FAN, Y. Spectroscopic and crystallographic investigations of novel BODIPY-derived metal-organic frameworks. **Inorg. Chem.**, v. 54, p. 1346-1353, 2015.

LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial, volume 03: Processos fermentativos e enzimáticos**. 1.ed. São Paulo: Edgar Blucher, p. 101, 2001.

MANLEY, J.M.; KALMAN, M.J.; CONWAY, B.G.; BALL, C.C.; HAVENS, J.L.; VAIDYANATHAN, R. Early amidation approach to 3-[(4-amido)pyrrol-2-yl]-2-indolinones. **J. Org. Chem.**, v. 68, p. 6447-6450, 2003.

MCDONALD, W. **Yeasts**. 2002. Disponível em: <http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/yeastpage.html>. Acesso em: 23 de nov. 2017.

MOLDOVAN, Z.; PALIBRODA, N.; MERCEA, V.; MIHAILESCU, G.; CHIRIAC, M. Mass Spectra of some β -keto esters: a high-resolution study. **Org. Mass Spectrom.**, v. 16, n. 5, p. 195-199, 1981.

MORREY, D.P.; MORGAN, K.J. Nitropyrroles-I: The preparation and properties of 2- and 3-nitropyrrole. **Tetrahedron Lett.**, v. 22, n. 1, p. 57-62, 1966.

MORREY, D.P.; MORGAN, K.J. Nitropyrroles-III: The nitration of acylpyrroles. **Tetrahedron Lett.**, v. 27, n. 1, p. 245-253, 1971.

MORRISON, M.D.; HANTHOR, J.J.; PRATT, D.A. Synthesis of pyrrolnitrin and related halogenated phenylpyrroles. **Org. Lett.**, v. 11, 2009. p. 1051-1054.

MUNDLE, S.O.C.; RATHGEBER, S.; COULOUNE G.L.-, LOLLAR, B.S.; KLUGER, R. Internal Return of Carbon Dioxide in Decarboxylation: Catalysis of Separation and $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ Kinetic Isotope Effects. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 131, p. 11638-11639, 2009.

NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIONS DISEASES (NIH). **E. Coli**. Disponível em: <<https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/e-coli>>. Acesso em: 23 nov. 2017.

O'NEILL, J. **Tackling drug-resistente infections globally: final report and recomendations, 2016**. Disponível em: <https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf>. Acesso em: 25 de novembro de 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Antimicrobial resistance**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>>. Acesso em: 25 de novembro de 2017.

OTERA, J. Toward ideal (trans)esterification by use of fluorous distannoxane catalysts. **Acc. Chem. Res.**, v. 37, p. 288-296, 2004.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy: a guide for students of organic chemistry**. 3.ed. Estados Unidos, Thomson Learning, Inc., p. 58, 2001.

POZHARSKII, A.F.; SOLDATENKOV, A.T.; KATRITZKY, A.R. **Heterocycles in Life and Society: An Introduction to Heterocyclic Chemistry, Biochemistry and Applications**. 2.ed. Reino Unido: John Wiley & Sons, Ltd., 2011.

RAIMONDI, M.V.; CASCIOFERRO, S.; SCHILLACI, D.; PETRUSO, S. Synthesis and antimicrobial activity of new bromine-rich pyrrole derivatives related to monodeoxyphyllotoxin. **Eur. J. Med. Chem**, v. 41, 2006, p. 1439-1445.

RAMOS, A. **Rhodotorula species – antimicrobe**. E-Sun Technologies. Disponível em: <<http://www.antimicrobe.org/f16.asp>>. Acesso em: 23 de nov. 2017.

RASTOGI, S.; MARCHAL, E.; UDDIN, I.; GROVES, B.; COLPITTS, J.; MCFARLAND, S.A.; DAVIS, J.T.; THOMPSON, A. Synthetic prodigiosenes and the influence of C-ring substitution on DNA cleavage, transmembrane chloride transport and basicity. **Org. Biomol. Chem.**, v. 11, p. 3834-3845, 2013.

RESOURCE FOR EUKARYOTIC GENOME RESEARCH (DIARK). **Debaryomyces hansenii CBS767**. Disponível em: http://www.diark.org/diark/species_list/Debaryomyces_hansenii_CBS767. Acesso em: 23 de nov. 2017.

SAIRRE, M.I.; BRONZE-UHLE, E.S.; DONATE, P.M. Niobium(V) oxide: a new and efficient catalyst for the transesterification of beta-keto esters. **Tetrahedron Lett.**, v. 46, p. 2705-2708, 2005.

SCHMUCK, C.; DUDACZEK, J. New guanidinium-based carboxylate receptors derived from 5-amino-pyrrole-2-carboxylate: synthesis and first binding studies. **Tetrahedron Lett.**, v. 26, p. 7101-7105, 2005.

SCRIVEN, E. F. V.; RAMSDEN, C.A. **Advances in Heterocyclic Chemistry. Heterocyclic Chemistry in the 21st Century: A tribute to Alan Katritzky.** 1.ed. Reino Unido: Elsevier Inc., p.4, 2017.

SEGANISH, J.L.; DAVIS, J.T. Prodigiosin is a chloride carrier that can function as an anion exchanger. **Chem. Comm.**, 2005, p. 5781-5783.

SONNET, P.E. Nitration of 2-methylpyrrole. **J. Heterocycl. Chem.**, v. 7, n. 2, p. 399-400, 1970.

STEFANI, H.A. **Introdução à química de compostos heterocíclicos.** 1.ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A., p. 78-79, 2009.

SUN, L.; LIANG, C.; SHERI, S.; ZHOU, Y.; MILLER, T.; CUI, J.; FUKUDA, J.Y.; CHU, J.; NEMATALLA, A.; WANG, X.; CHEN, H.; SISTLA, A.; LUU, T.C.; TANG, F.; WEI, J.; TANG, C. Discovery of 5-[5-Fluoro-2-oxo-1,2-dihydroindol-(3Z)-ylidenemethyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic Acid (2-Diethylaminoethyl)amide, a Novel Tyrosine Kinase Inhibitor Targeting Vascular Endothelial and Platelet-Derived Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase. **J. Med. Chem.**, v. 46, p. 1116-1119, 2003.

TAYLOR, A.P.; ROBINSON, R.P.; FOBIAN, Y.M.; BLAKEMORE, D.C.; JONES, L.H.; FADEYI, O. Modern advances in heterocyclic chemistry in drug Discovery. **Org. Biomol. Chem.**, v. 14, p. 6611-6637, 2016.

TAYLOR, E.C. **The Chemistry of Heterocyclic Compounds: a Series of Monographs. Pyrrol I**, v. 48. Interscience, 1 ed., Nova Iorque, p. 62-66, 1990.

WEILER, L. Mass Spectra of β -keto esters. **Can. J. Chem.**, v. 50, p. 2707-2711, 1972.

WILLIAMS, D.H.; FLEMING, I. **Spectroscopic Methods in Organic Chemistry.** 5.ed., Reino Unido, McGraw-Hill, p. 185, 1995.

YADAV, J.S.; REDDY, B.V.S.; KRISHMA, A.D.; REDDY, C.S.; NARSAIAH, A.V. Triphenylphosphine: an efficient catalyst for transesterification of beta-ketoesters. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, v. 261, p. 93-97, 2007.

YASUTSUGU, U.; ROBERGE, G.; VINET, V. A simple method of preparing trimethylsilyl- and tert-butyldimethylsilyl-enol ethers of alpha-diazoacetoacetates and their use in the synthesis of a chiral precursor to thienamycin analogs. **Can. J. Chem.**, v. 62, p. 2936-2940, 1984.

SUMÁRIO DO ANEXO I

Figura A1. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-metila (4a).	128
Figura A2. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-metila (4a).	129
Figura A3. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-metila (4a).	129
Figura A4. Espectro de IV do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-metila (4a)... ..	130
Figura A5. Cromatograma CG da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-metila (4a).	130
Figura A6. Espectro de massa da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-metila (4a).	130
Figura A7. Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5a).	131
Figura A8. Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5a).	131
Figura A9. Espectro de DEPT135 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5a).	132
Figura A10. Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5a).	132
Figura A11. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (6a).	133
Figura A12. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 500 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (6a).	133
Figura A13. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 500 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (6a).....	134
Figura A14. Espectro de IV do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (6a).	134
Figura A15. Cromatograma CG do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (6a).	135
Figura A16. Espectro de massa do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de metila (6a).	135

Figura A17. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-bromo-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-4-carboxilato de metila (8).....	135
Figura A18. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-bromo-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-4-carboxilato de metila (8).....	136
Figura A19. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-bromo-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-4-carboxilato de metila (8).	136
Figura A20. Espectro de IV do 2-bromo-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-4-carboxilato de metila (8).....	137
Figura A21. Cromatograma CG do 2-bromo-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-4-carboxilato de metila (8).....	137
Figura A22. Espectro de massa do 2-bromo-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-4-carboxilato de metila (8).	137
Figura A23. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-etila (4b).	138
Figura A24. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-etila (4b).	138
Figura A25. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-etila (4b).	139
Figura A26. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-etila (4b).....	139
Figura A27. Espectro de IV do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-etila (4b)....	140
Figura A28. Cromatograma de CG do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-etila (4b).....	140
Figura A29. Espectro de massa do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-etila (4b).	140
Figura A30. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (1c).	141
Figura A31. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (1c).	141
Figura A32. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (1c).....	142
Figura A33. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl_3 , 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (1c).	142
Figura A34. Expansão espectro de RMN DEPT135 (CDCl_3 , 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (1c).	143

Figura A35. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de butila (1c).....	143
Figura A36. Cromatograma de CG do 3-oxobutanoato de butila (1c).....	144
Figura A37. Espectro de massa do 3-oxobutanoato de butila (1c).....	144
Figura A38. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c).	144
Figura A39. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c).....	145
Figura A40. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c).	145
Figura A41. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c).....	146
Figura A42. Espectro de IV do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c)..	146
Figura A43. Cromatograma CG do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c).	147
Figura A44. Espectro de massa do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-butila (4c).	147
Figura A45. Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol- 2-carboxílico (5c).	147
Figura A46. Expansão do espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol- 2-carboxílico (5c).....	148
Figura A47. Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol- 2-carboxílico (5c).	148
Figura A48. Espectro de RMN DEPT135 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol- 2-carboxílico (5c).....	149
Figura A49. Expansão do espectro de RMN DEPT135 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5c).....	149
Figura A50. Espectro de IV do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol- 2-carboxílico (5c).	150
Figura A51. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c).	150

Figura A52. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c).....	151
Figura A53. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c).....	151
Figura A54. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c).....	152
Figura A55. Expansão do espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c).....	152
Figura A56. Espectro de IV do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c).....	153
Figura A57. Cromatograma de CG do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c).....	153
Figura A58. Espectro de massa do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de butila (6c).....	153
Figura A59. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (1d).....	154
Figura A60. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (1d).....	154
Figura A61. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (1d).....	155
Figura A62. Espectro de DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (1d).....	155
Figura A63. Expansão de espectro de DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (1d).....	156
Figura A64. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de pentila (1d).....	156
Figura A65. Cromatograma CG do 3-oxobutanoato de pentila (1d).....	157
Figura A66. Espectro de massa do 3-oxobutanoato de pentila (1d).....	157
Figura A67. Espectro de RMN ¹ H (Piridina- <i>d</i> ₅ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).....	157
Figura A68. Expansão do espectro de RMN ¹ H (Piridina- <i>d</i> ₅ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).....	158
Figura A69. Espectro de RMN ¹³ C (Piridina- <i>d</i> ₅ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).....	158

Figura A70. Espectro de RMN DEPT135 (Piridina- <i>d</i> ₅ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).	159
Figura A71. Expansão do espectro de RMN DEPT135 (Piridina- <i>d</i> ₅ , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).	159
Figura A72. Espectro de IV do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).	160
Figura A73. Cromatograma CG do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).	160
Figura A74. Espectro de massa do 3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2,4-dicarboxilato de 2- <i>terc</i> -butila-4-pentila (4d).	160
Figura A75. Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(pentoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5d).	161
Figura A76. Expansão do espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(pentoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5d).	161
Figura A77. Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(pentoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5d).	162
Figura A78. Espectro de RMN DEPT135 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(pentoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5d).	162
Figura A79. Expansão do espectro de RMN DEPT135 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) do ácido 4-(pentoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5d).	163
Figura A80. Espectro de IV do ácido 4-(pentoxicarbonil)-3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxílico (5d). ...	163
Figura A81. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).	164
Figura A82. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).	164
Figura A83. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).	165
Figura A84. Espectro de RMN DPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).	165
Figura A85. Expansão do espectro de RMN DPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).	166

Figura A86. Espectro de IV do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).....	166
Figura A87. Cromatograma de CG do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).....	167
Figura A88. Espectro de massa do 2,4-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).....	167
Figura A89. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (1e).....	167
Figura A90. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (1e).	168
Figura A91. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (1e).....	168
Figura A92. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (1e).....	169
Figura A93. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (1e).	169
Figura A94. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de benzila (1e).....	170
Figura A95. Cromatograma CG do 3-oxobutanoato de benzila (1e).....	170
Figura A96. Espectro de massa do 3-oxobutanoato de benzila (1e).....	170
Figura A97. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de <i>p</i> -nitro benzila (1f).....	171
Figura A98. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de <i>p</i> -nitro benzila (1f).....	171
Figura A99. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de <i>p</i> -nitro benzila (1f).....	172
Figura A100. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de <i>p</i> -nitro benzila (1f).	172
Figura A101. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de <i>p</i> -nitro benzila (1f).....	173
Figura A102. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de <i>m</i> -nitro benzila (1g)...	173
Figura A103. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de <i>m</i> -nitro benzila (1g).....	174
Figura A104. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de <i>m</i> -nitro benzila (1g)..	174
Figura A105. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de <i>m</i> -nitro benzila (1g).....	175
Figura A106. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de <i>m</i> -nitro benzila (1g).....	175

Figura A107. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxi)etil)tio etila (1h).....	176
Figura A108. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxi)etil)tio etila (1h).....	176
Figura A109. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxi)etil)tio etila (1h).....	177
Figura A110. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxi)etil)tio etila (1h).....	177
Figura A111. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxi)etil)tio etila (1h).....	178
Figura A112. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 4-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10a).....	178
Figura A113. Expansão do espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 4-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10a).....	179
Figura A114. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 4-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10a).....	179
Figura A115. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 4-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10a).....	180
Figura A116. Espectro de IV do 4-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10a).....	180
Figura A117. Cromatograma CG do 4-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10a).....	181
Figura A118. Espectro de massa do 4-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10a).....	181
Figura A119. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10b).....	181
Figura A120. Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10b).....	182
Figura A121. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10b).....	182
Figura A122. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl ₃ , 400 MHz) do 3-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10b).....	183
Figura A123. Espectro de IV do 3-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10b).....	183
Figura A124. Cromatograma CG do 3-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10b).....	184
Figura A125. Espectro de massa do 3-hidroxi)etil-nitrobenzeno (10b).....	184

ANEXO I - DADOS ESPECTOMÉTRICOS E ESPECTROSCÓPICOS

Este anexo possui todos os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , DEPT135 e de IV das substâncias descritas nos materiais e métodos e cromatogramas de cromatografia gasosa e espectro de massa das substâncias **1c-e**, **4a-e**, **6a,c-d** e **8**.

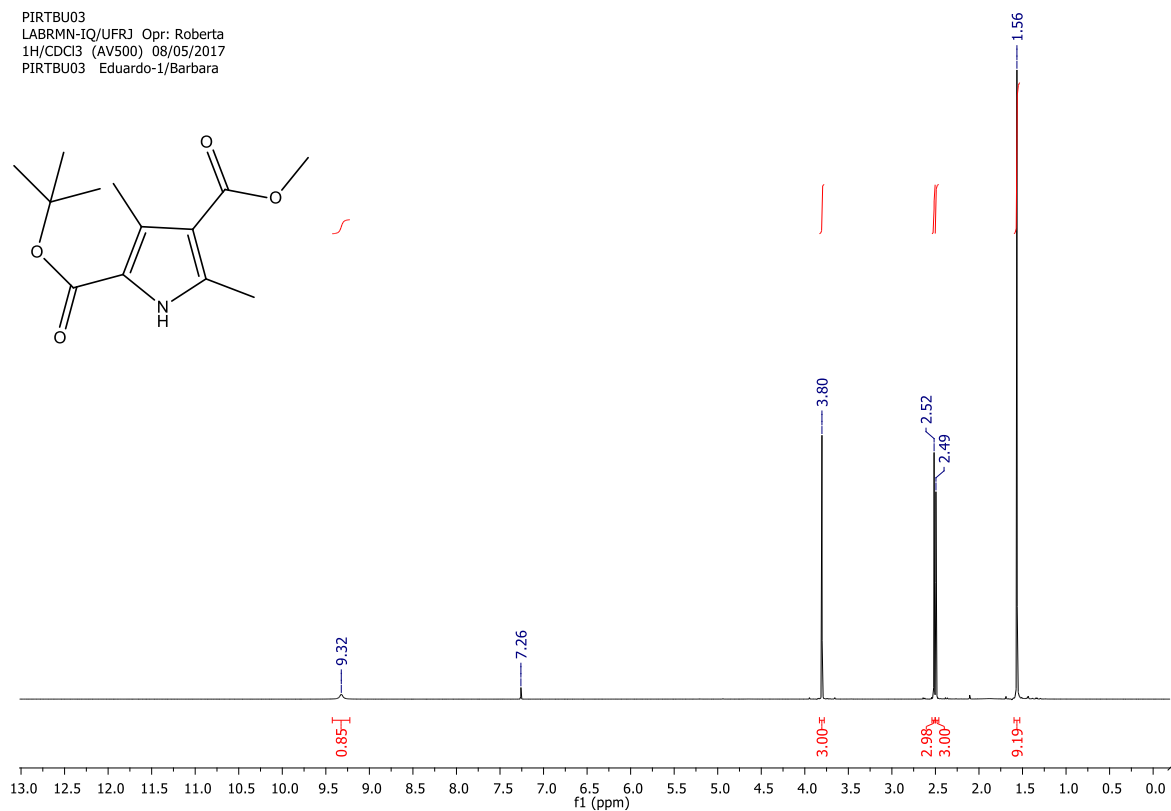


Figura A1. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-metila (**4a**).

PIRTBU03
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
13C(H)/CDCl3 (AV500) 08/05/2017
PIRTBU03 Eduardo-2/Barbara
31 mg

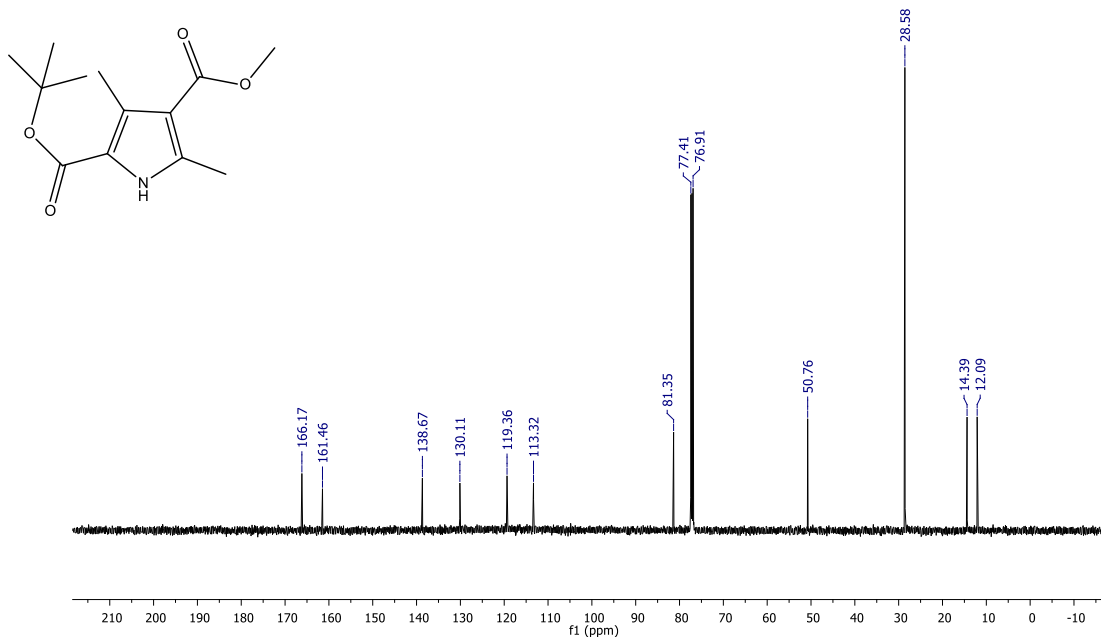


Figura A2. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-metila (**4a**).

PIRTBU03
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
DEPT135/CDCl3 (AV500) 08/05/2017
PIRTBU03 Eduardo-3/Barbara

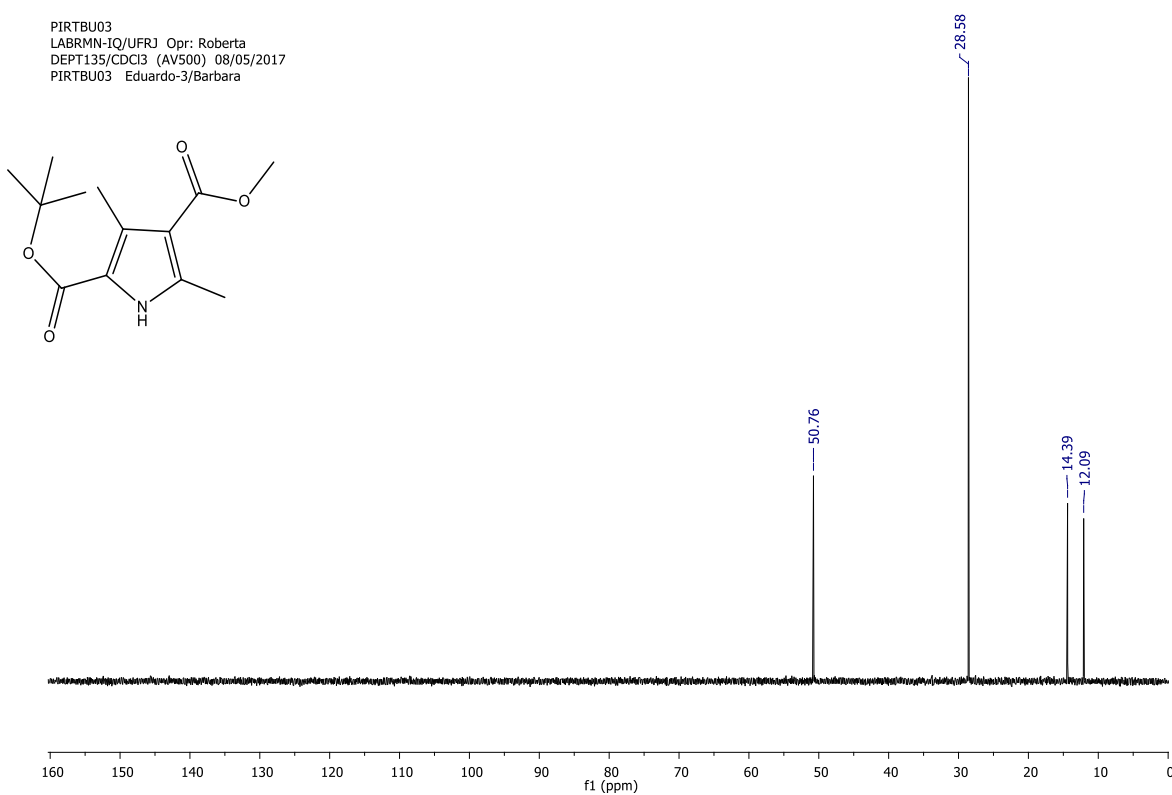


Figura A3. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-metila (**4a**).

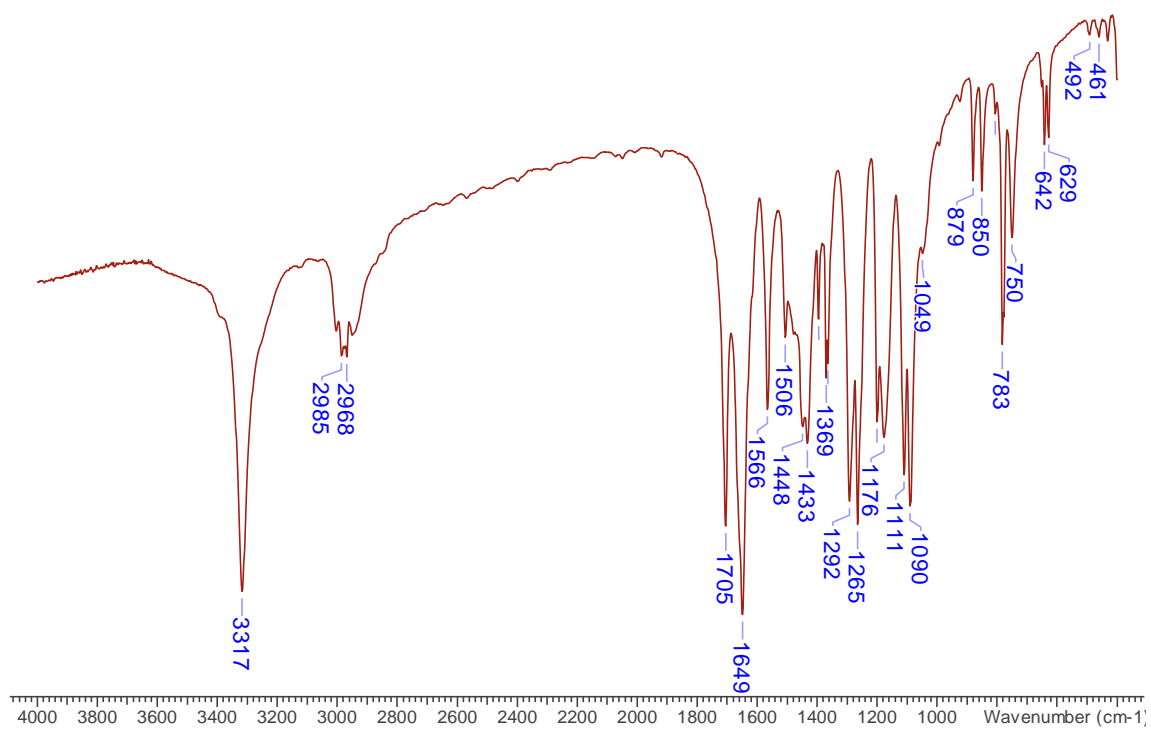


Figura A4. Espectro de IV do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-metila (**4a**).

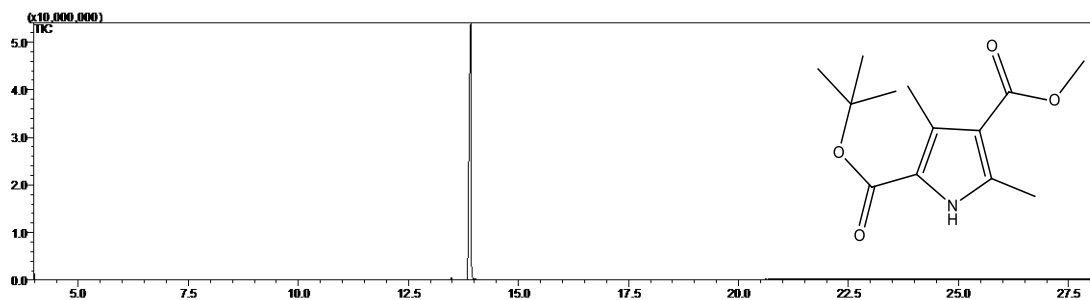


Figura A5. Cromatograma CG da 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-metila (**4a**).

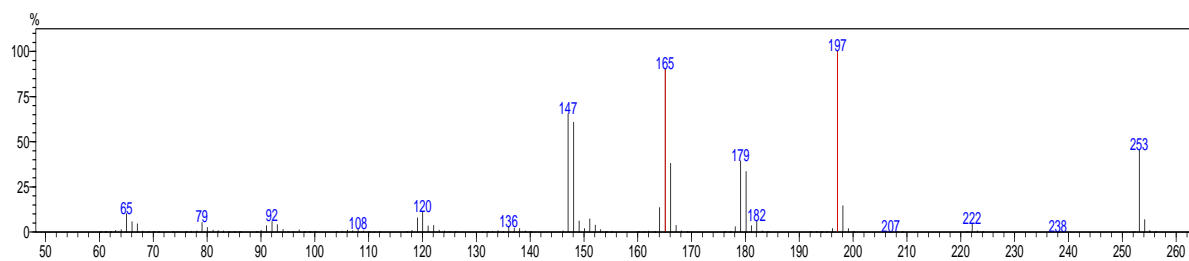


Figura A6. Espectro de massa da 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-metila (**4a**).

PIRMEACI
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/DMSO (Av400) 23/06/2017
PIRMEACI Eduardo-1/Barbara

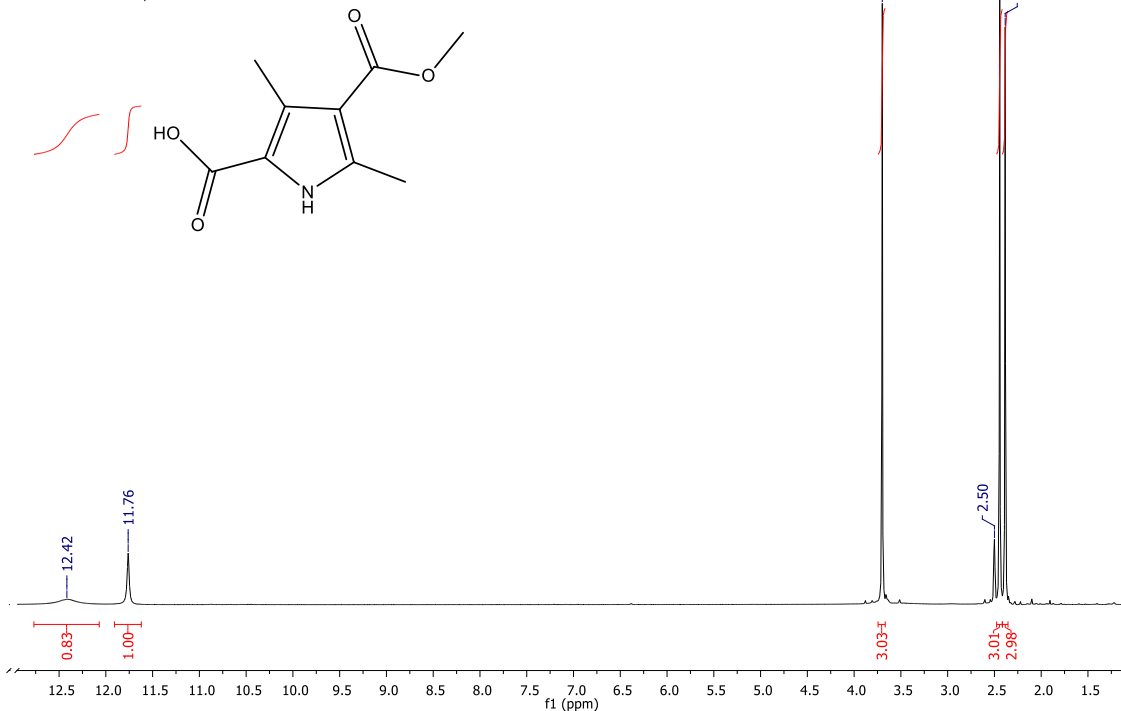


Figura A7. Espectro de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (5a).

PIRMEACI
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
13C(H)/DMSO (Av400) 23/06/2017
PIRMEACI Eduardo-2/Barbara
26 mg

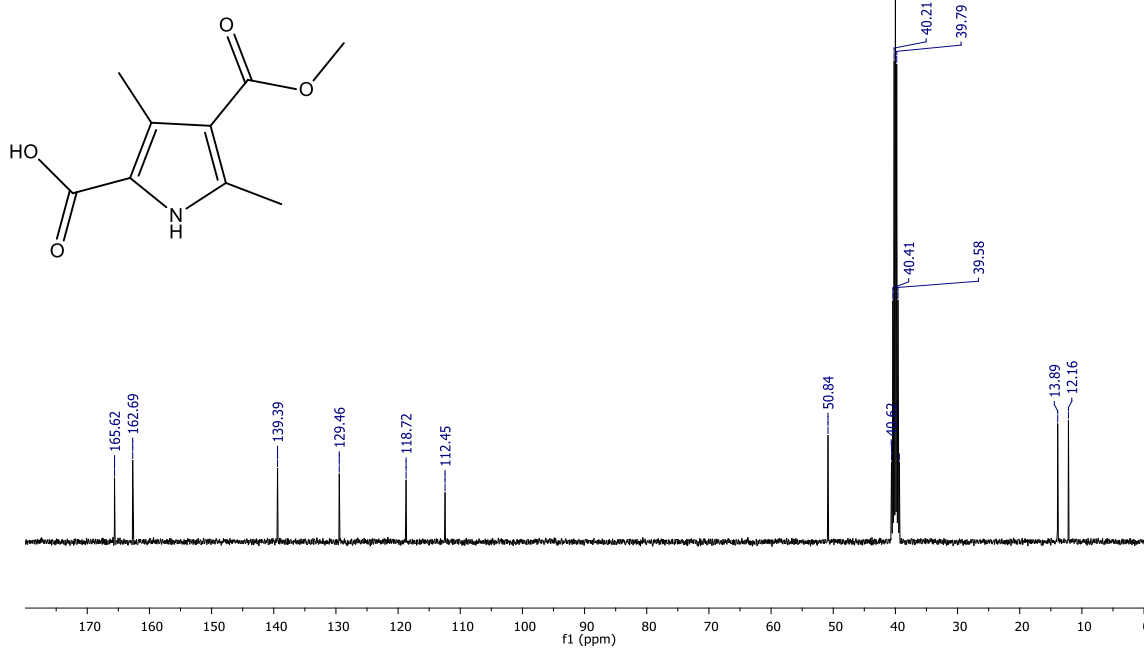


Figura A8. Espectro de RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (5a).

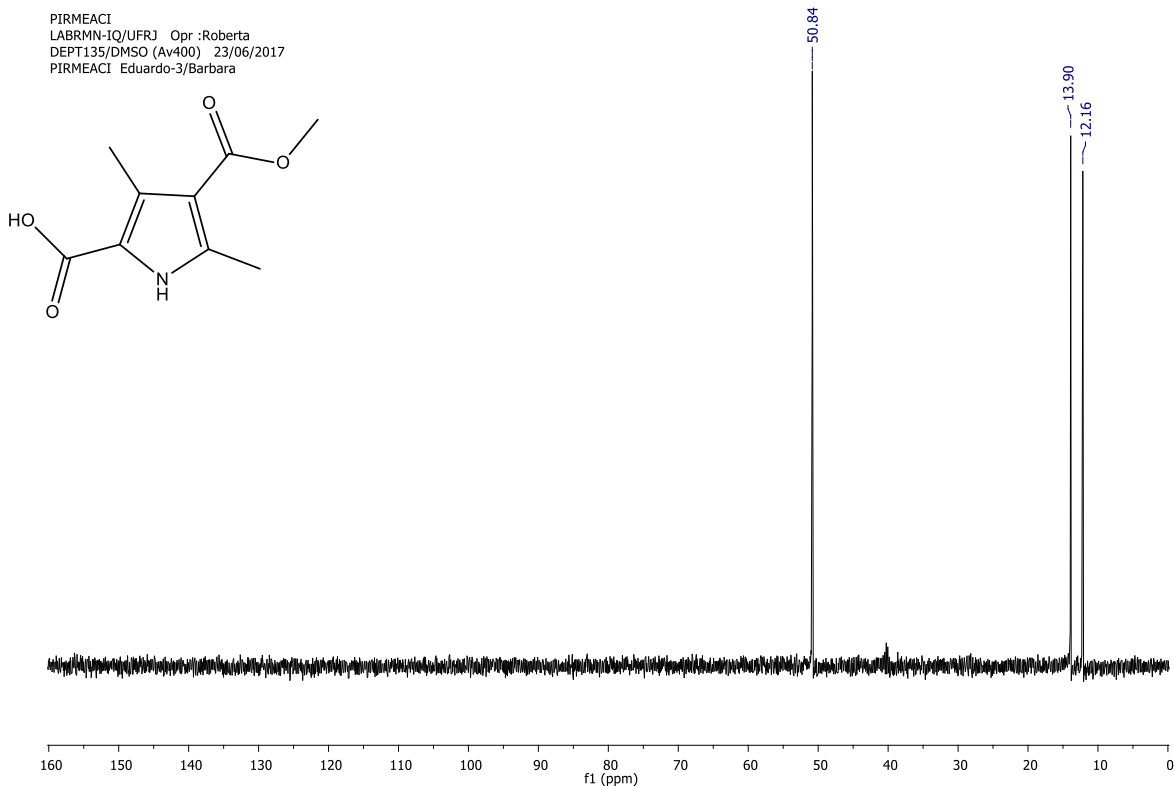


Figura A9. Espectro de DEPT135 (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (**5a**).

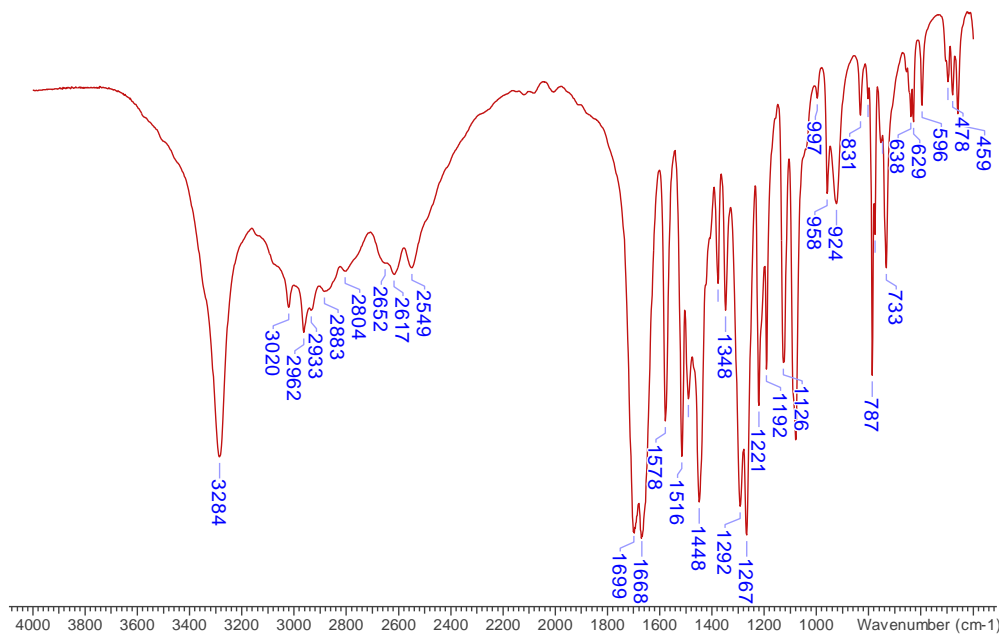


Figura A10. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 4-(metoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (**5a**).

PIRDES03
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
1H/CDCI3 (AV500) 08/05/2017
PIRDES03 Eduardo-1/Barbara

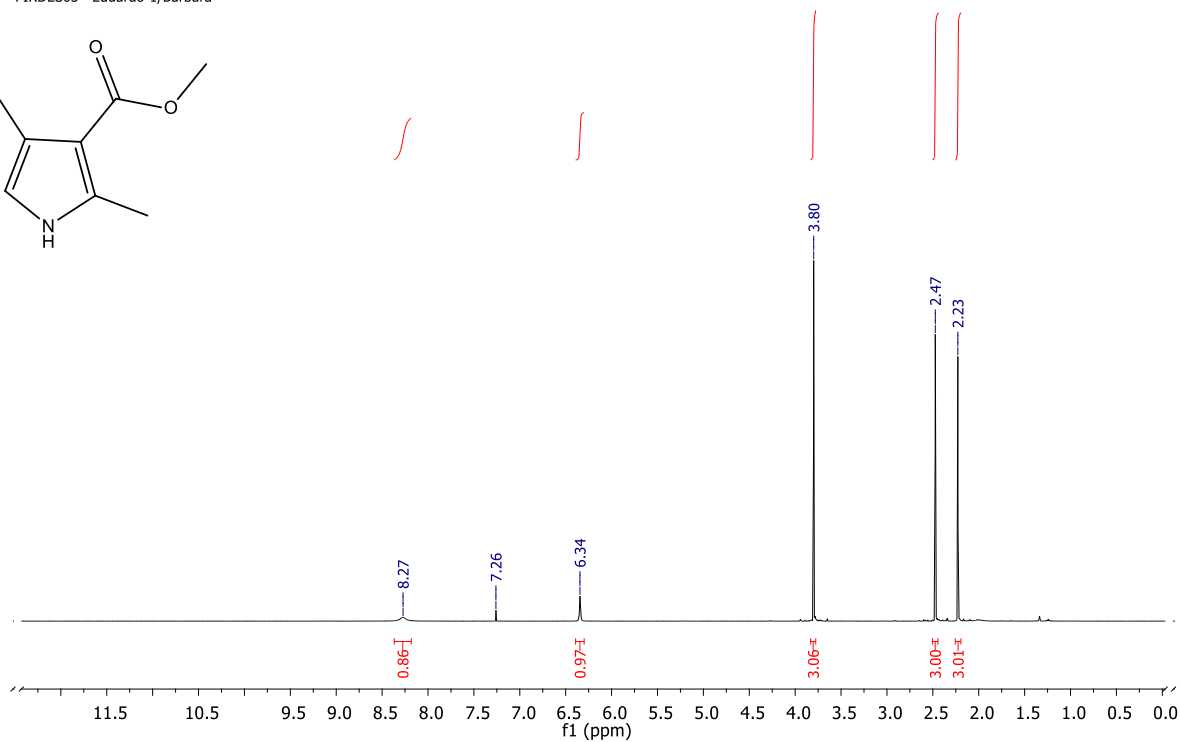
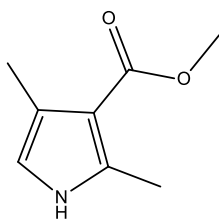


Figura A11. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (6a).

PIRDES03
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
13C(H)/CDCI3 (AV500) 08/05/2017
PIRDES03 Eduardo-2/Barbara
26 mg

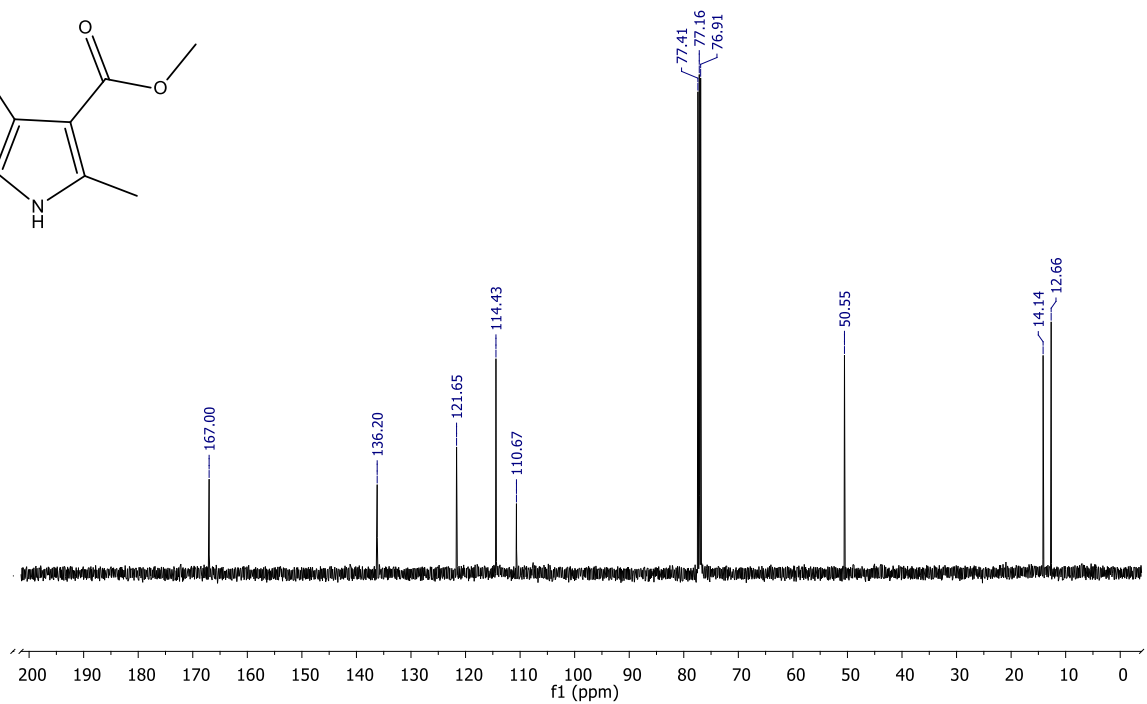
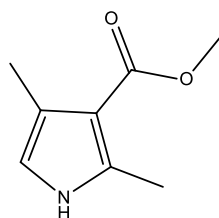


Figura A12. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 500 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (6a).

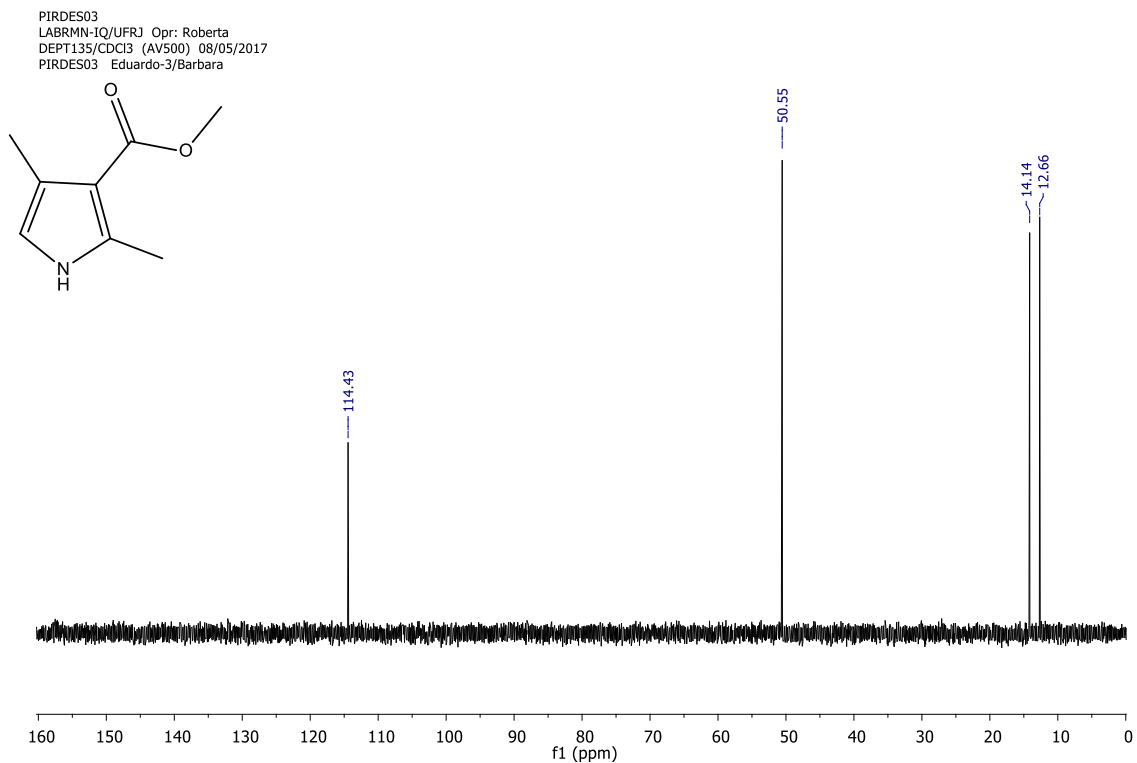


Figura A13. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 500 MHz) do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**6a**).

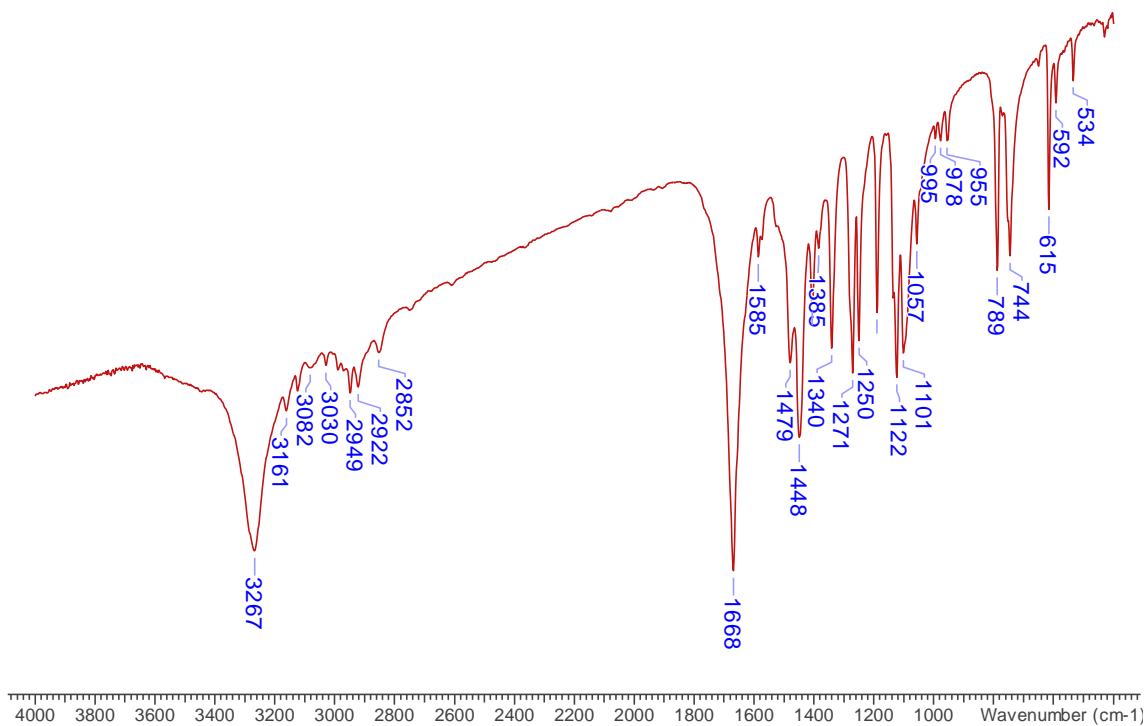


Figura A14. Espectro de IV do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**6a**).

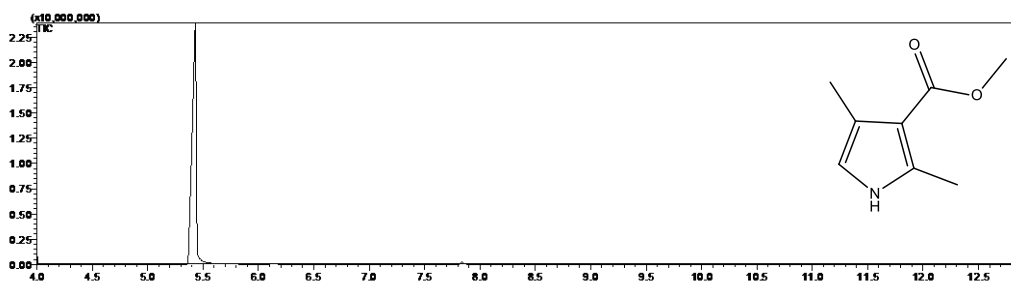


Figura A15. Cromatograma CG do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**6a**).

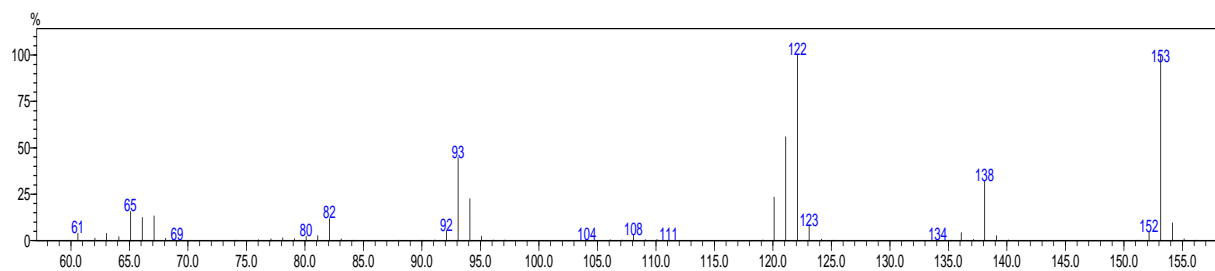


Figura A16. Espectro de massa do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metila (**6a**).

BROMOMET
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr:Roberta
 1H/CDCl3 (AV500) 10/08/2017
 BROMOMET Eduardo-1/Barbara

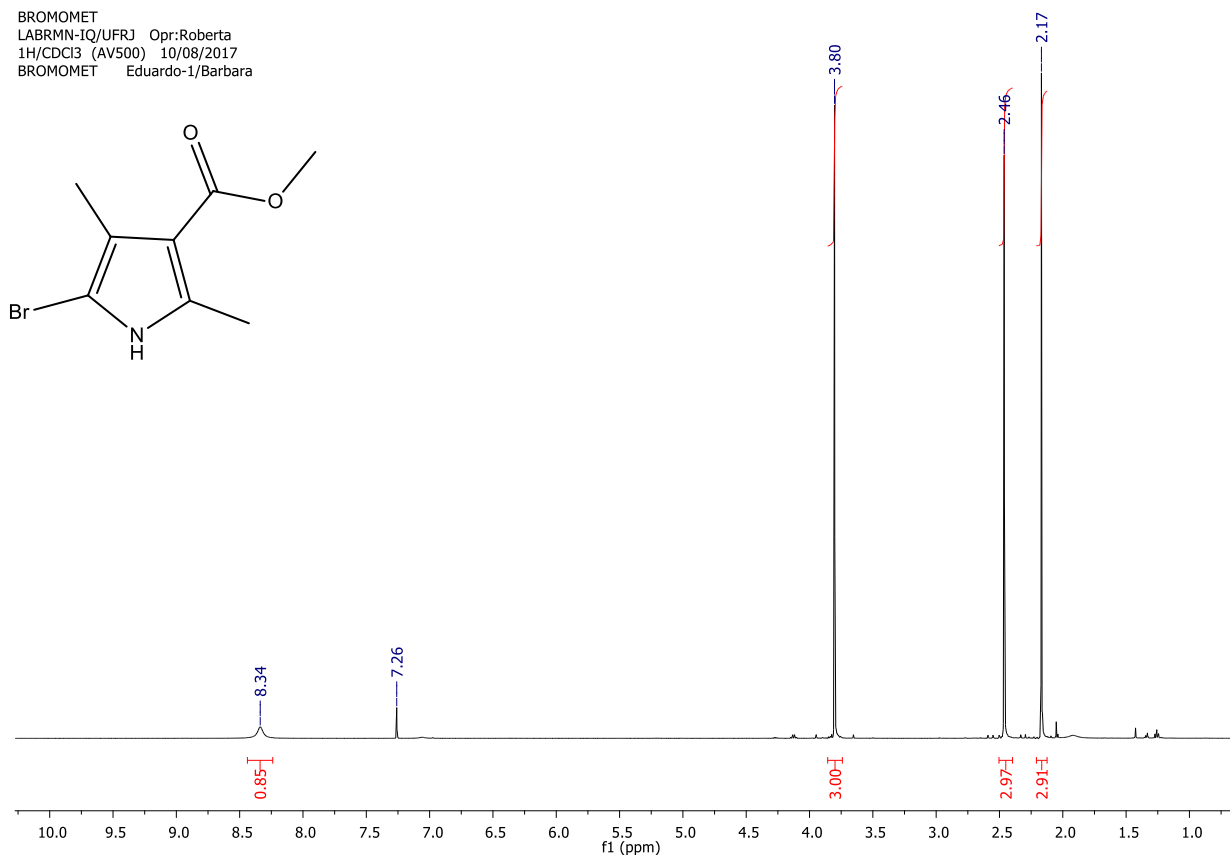


Figura A17. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-bromo-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-4-carboxilato de metila (**8**).

BROMOMET
LABRMN-IQ/UFRJ Opr:Roberta
13C(H)/CDCl3 (AV500) 10/08/2017
BROMOMET Eduardo-2/Barbara
26.2 mg

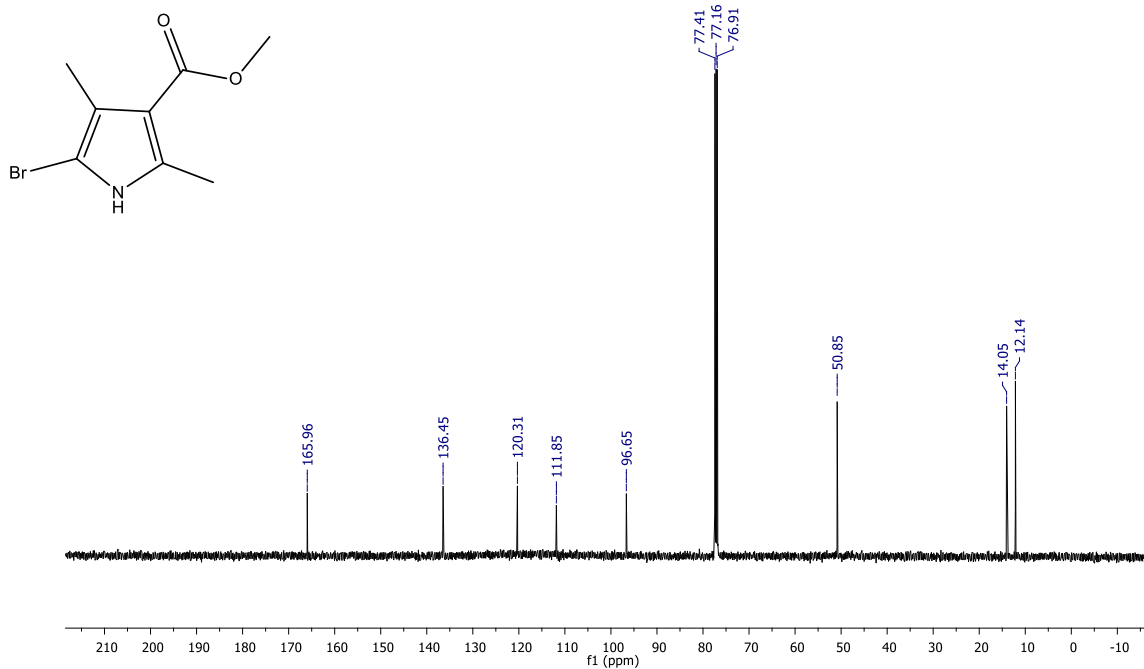


Figura A18. Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 500 MHz) do 2-bromo-3,5-dimetil-1H-pirrol-4-carboxilato de metila (8).

BROMOMET
LABRMN-IQ/UFRJ Opr:Roberta
DEPT135/CDCl3 (AV500) 10/08/2017
BROMOMET Eduardo-3/Barbara

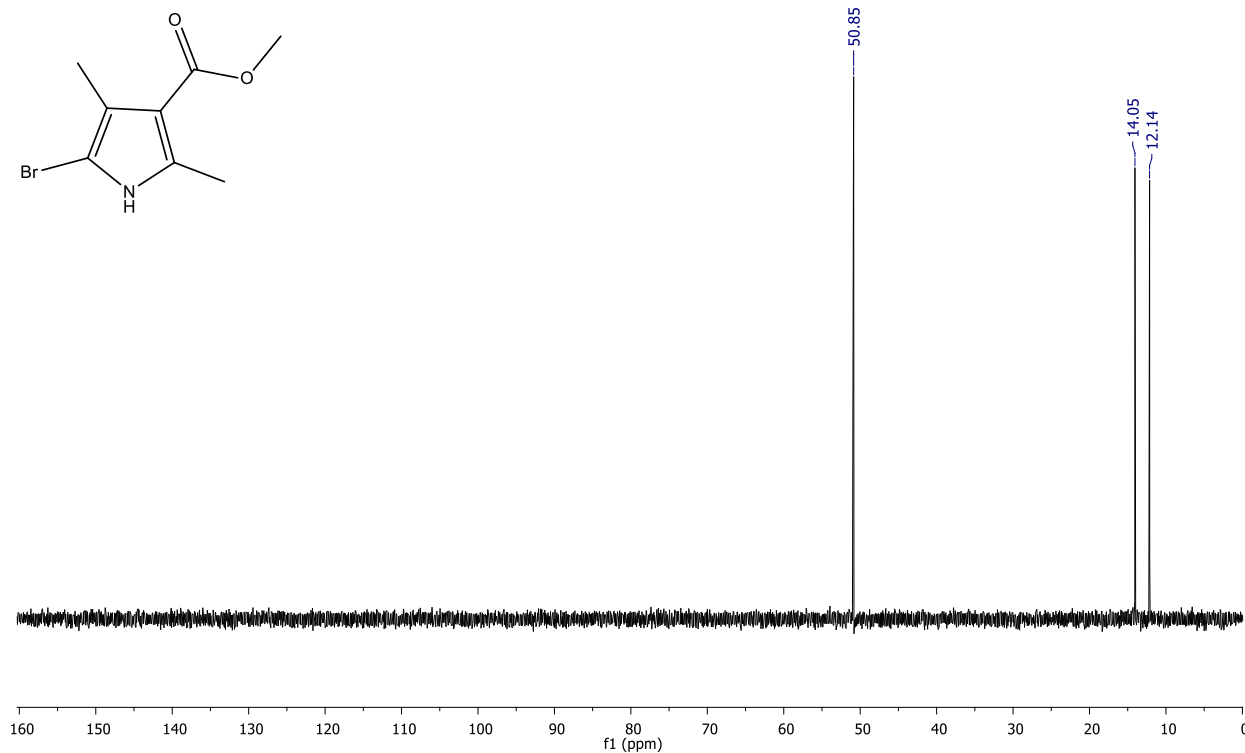


Figura A19. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 500 MHz) do 2-bromo-3,5-dimetil-1H-pirrol-4-carboxilato de metila (8).

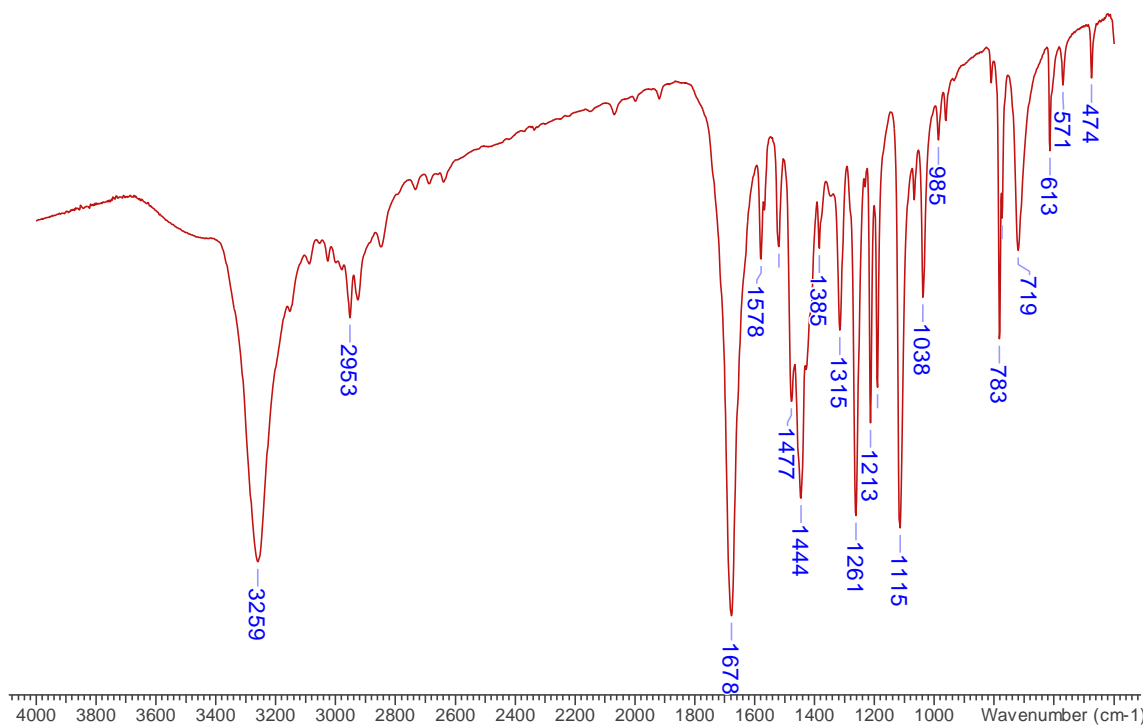


Figura A20. Espectro de IV do 2-bromo-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-4-carboxilato de metila (**8**).

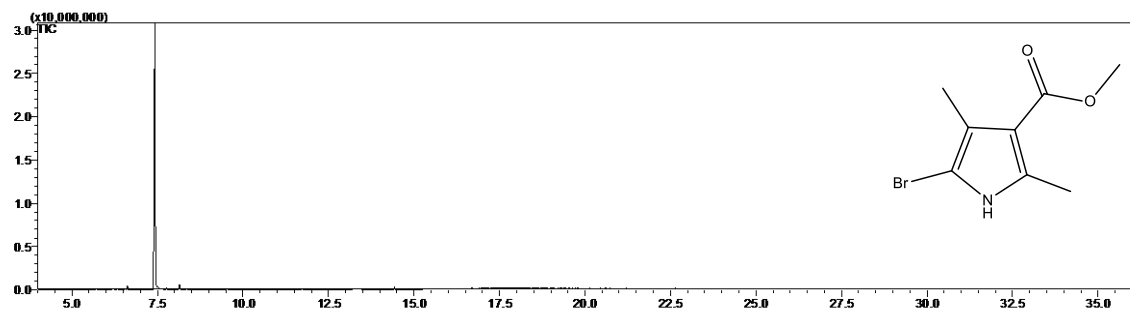


Figura A21. Cromatograma CG do 2-bromo-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-4-carboxilato de metila (**8**).

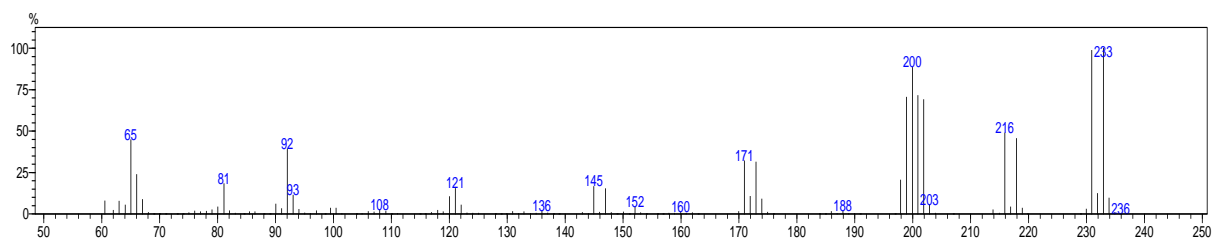


Figura A22. Espectro de massa do 2-bromo-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-4-carboxilato de metila (**8**).

INTERETI
LABRMN-1Q/UFRJ Opr: Roberta
1H/CDCI3 (AV500) 13/06/2017
INTERETI Eduardo-1/Barbara

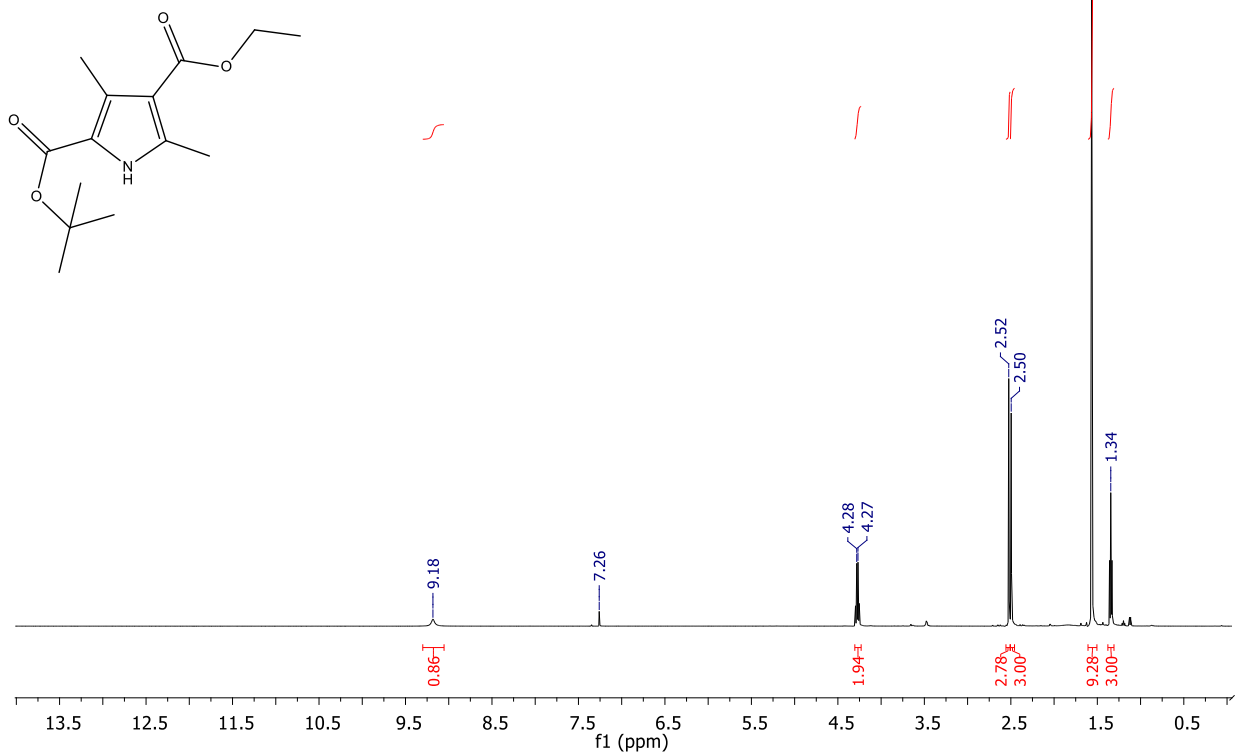


Figura A23. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-etila (**4b**).

INTERETI
LABRMN-1Q/UFRJ Opr: Roberta
1H/CDCI3 (AV500) 13/06/2017
INTERETI Eduardo-1/Barbara

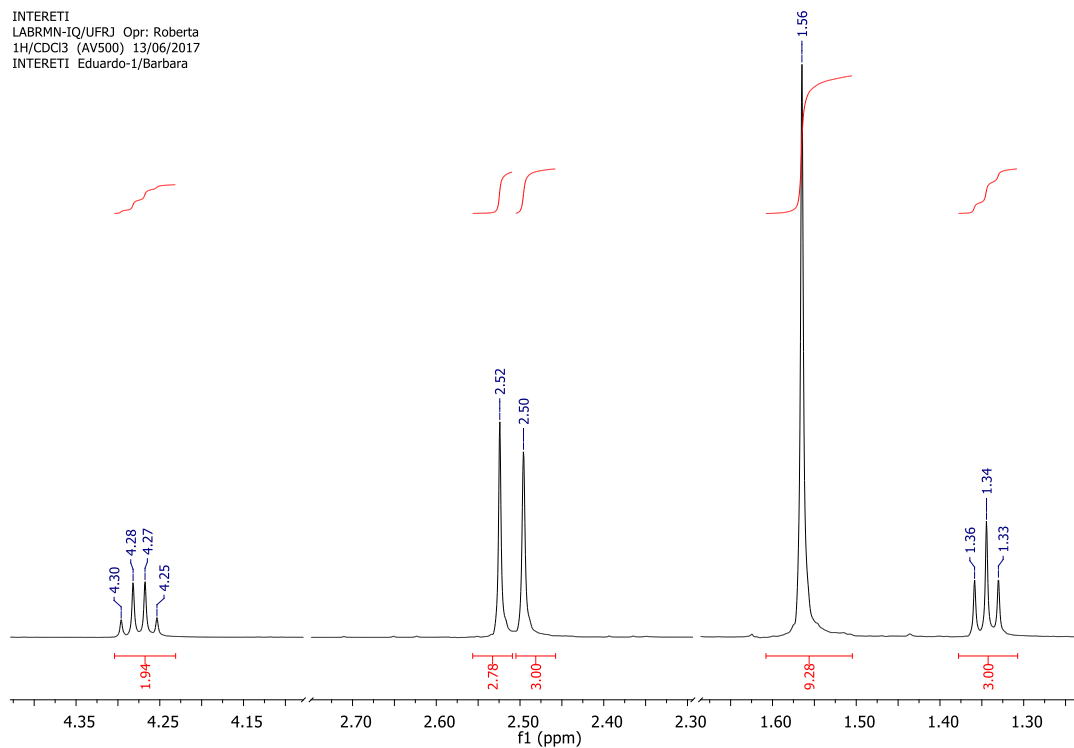


Figura A24. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-etila (**4b**).

INTERETI
LABRMN-1Q/UFRJ Opr: Roberta
13C(H)/CDCl3 (AV500) 13/06/2017
INTERETI Eduardo-2/Barbara
25.6 mg

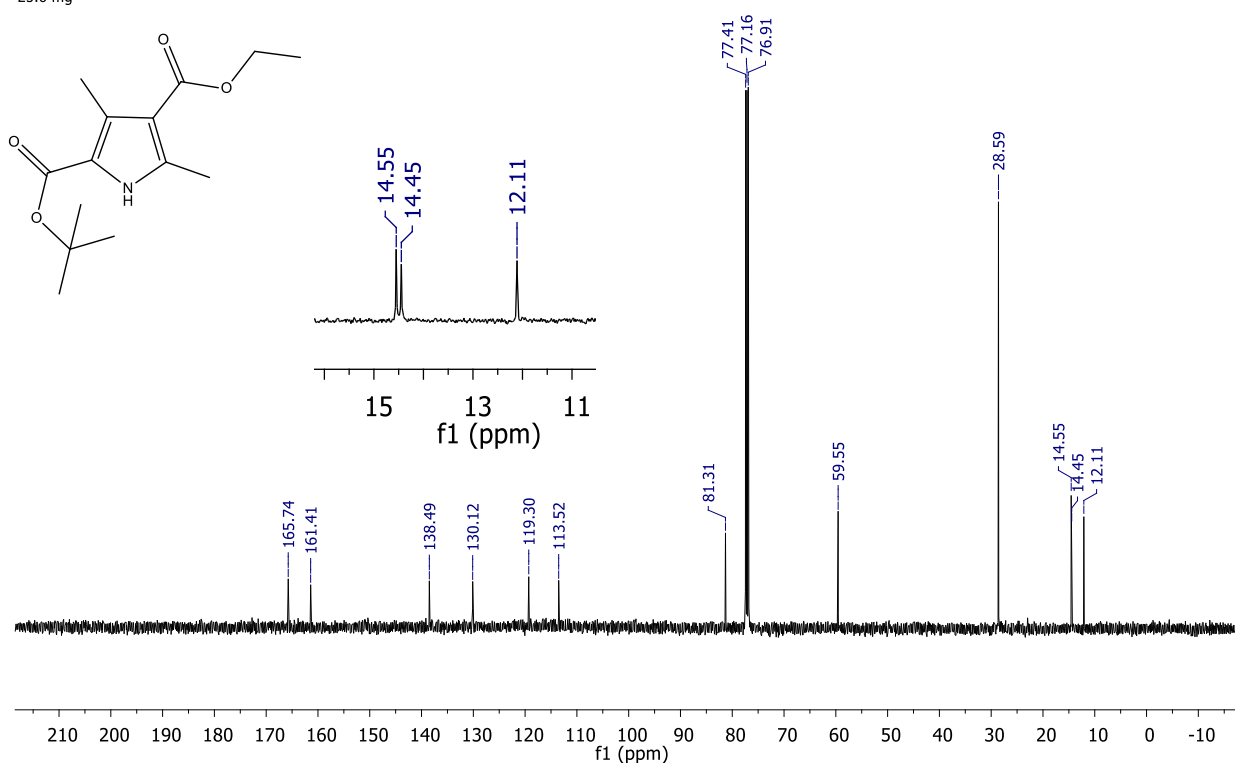


Figura A25. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-etila (**4b**).

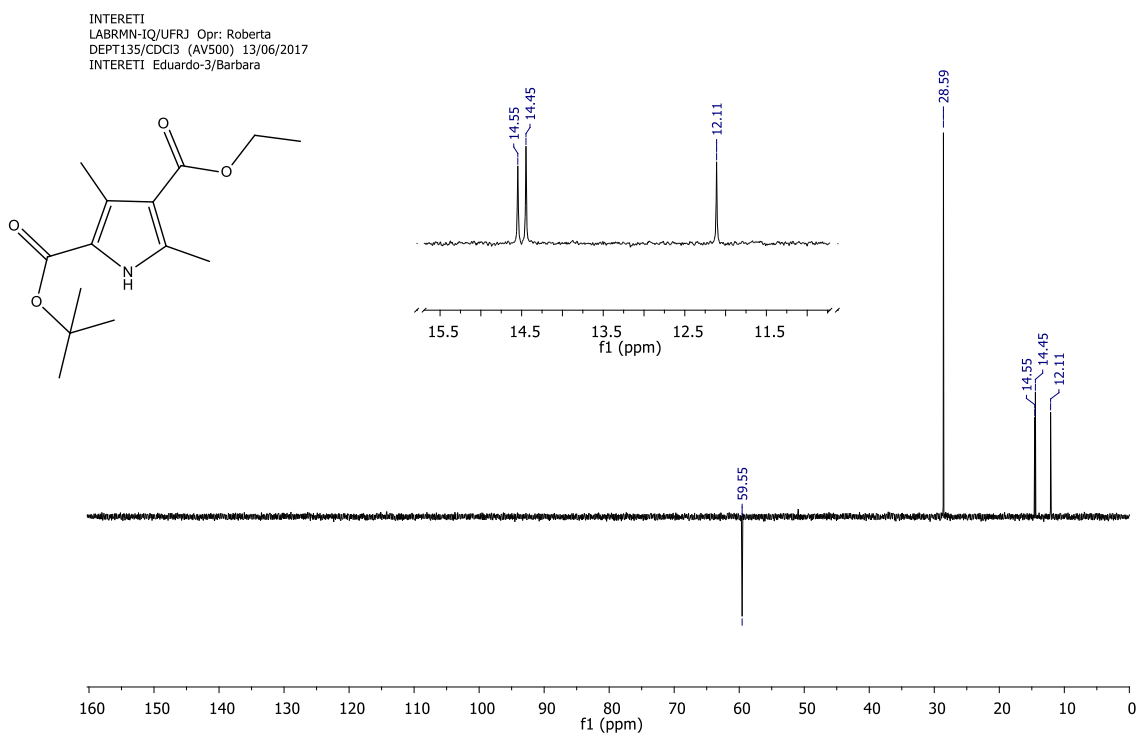


Figura A26. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl_3 , 500 MHz) da 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-etila (**4b**).

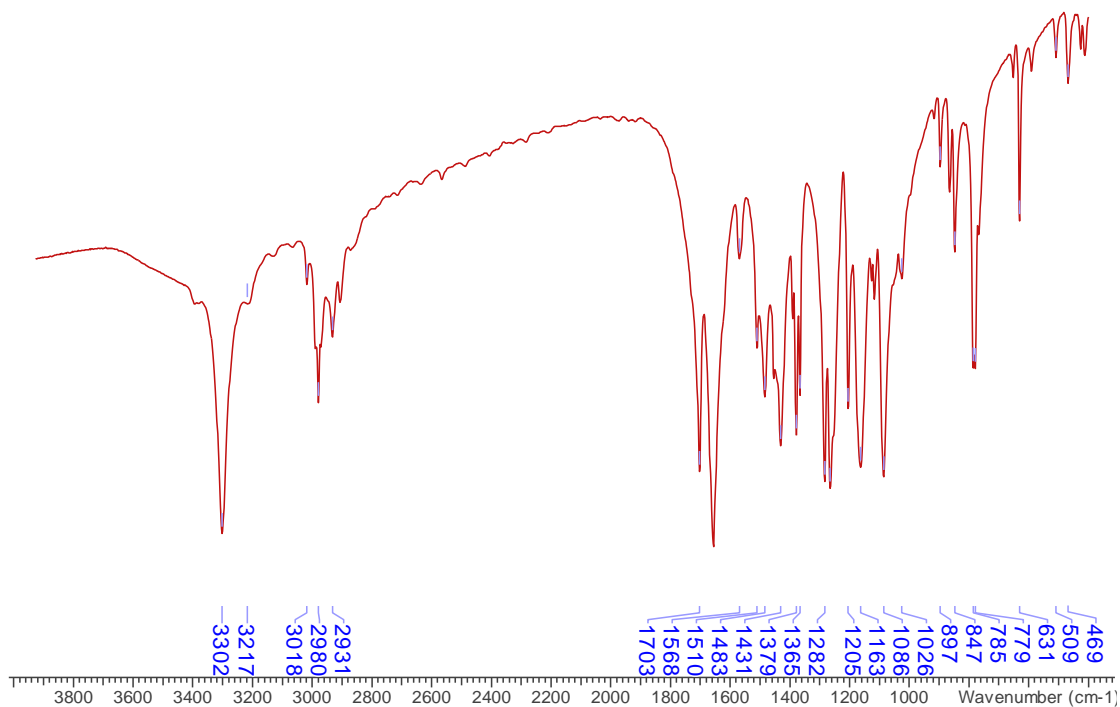


Figura A27. Espectro de IV do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-etila (**4b**).

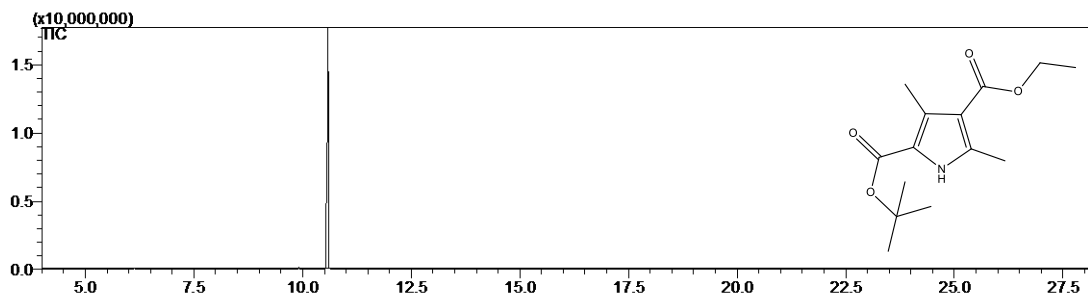


Figura A28. Cromatograma de CG do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-etila (**4b**).

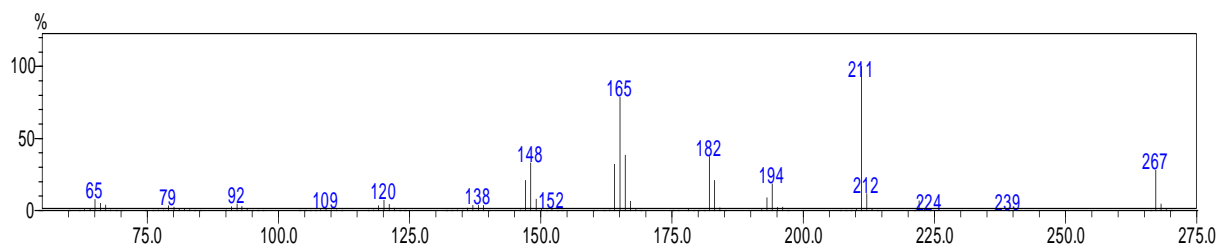


Figura A29. Espectro de massa do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-etila (**4b**).

ACETBU04
 LABRMN-1Q/UFRJ Opr: Roberta
 1H/CDCl3 (AV500) 08/05/2017
 ACETBU04 Eduardo-1/Barbara

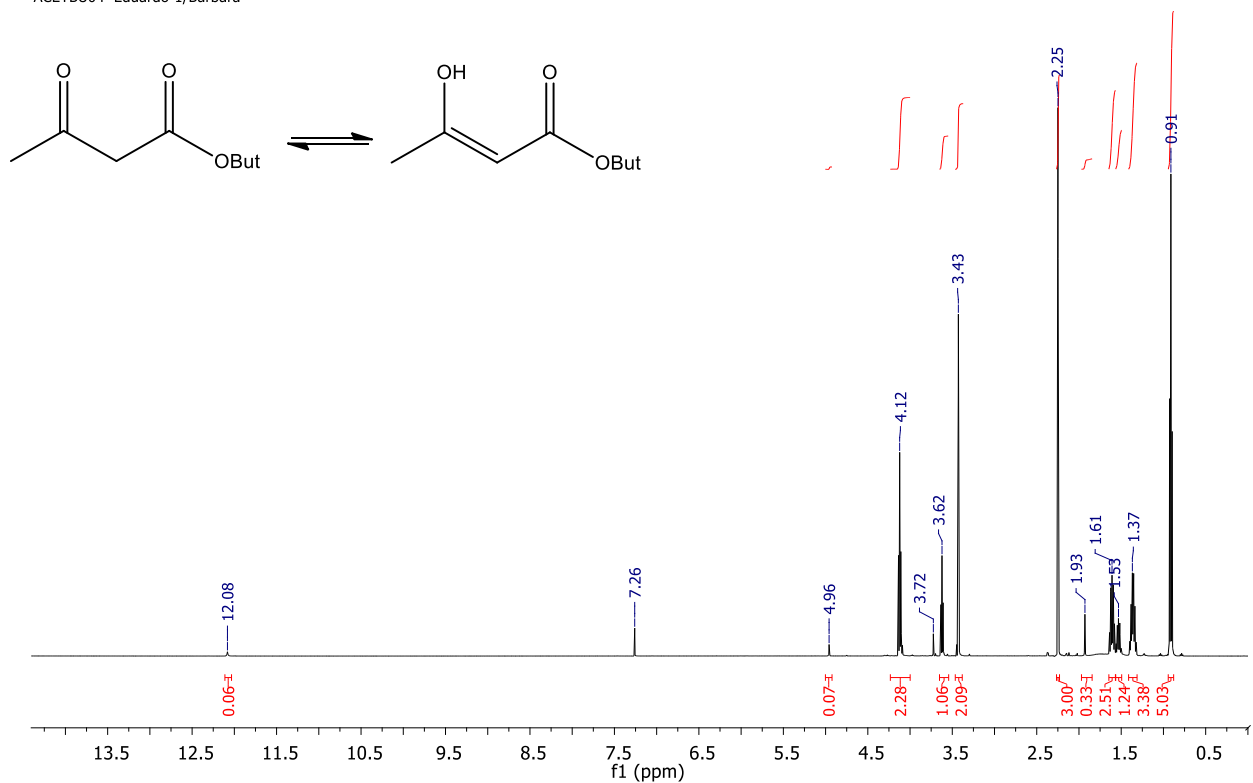


Figura A30. Espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (1c).

ACETBU04
 LABRMN-1Q/UFRJ Opr: Roberta
 1H/CDCl3 (AV500) 08/05/2017
 ACETBU04 Eduardo-1/Barbara

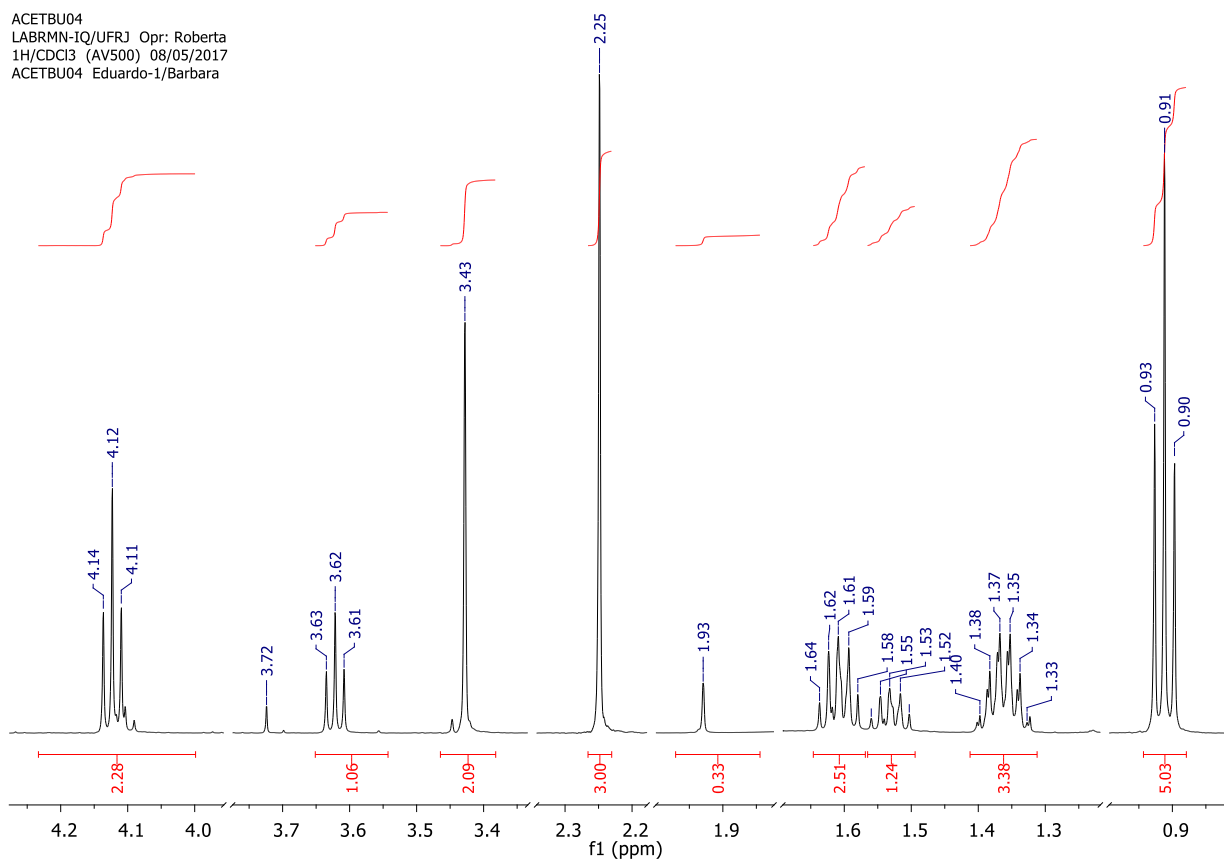


Figura A31. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (1c).

ACETBU04
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
 13C(H)/CDCl3 (AV500) 08/05/2017
 ACETBU04 Eduardo-2/Barbara
 30mg

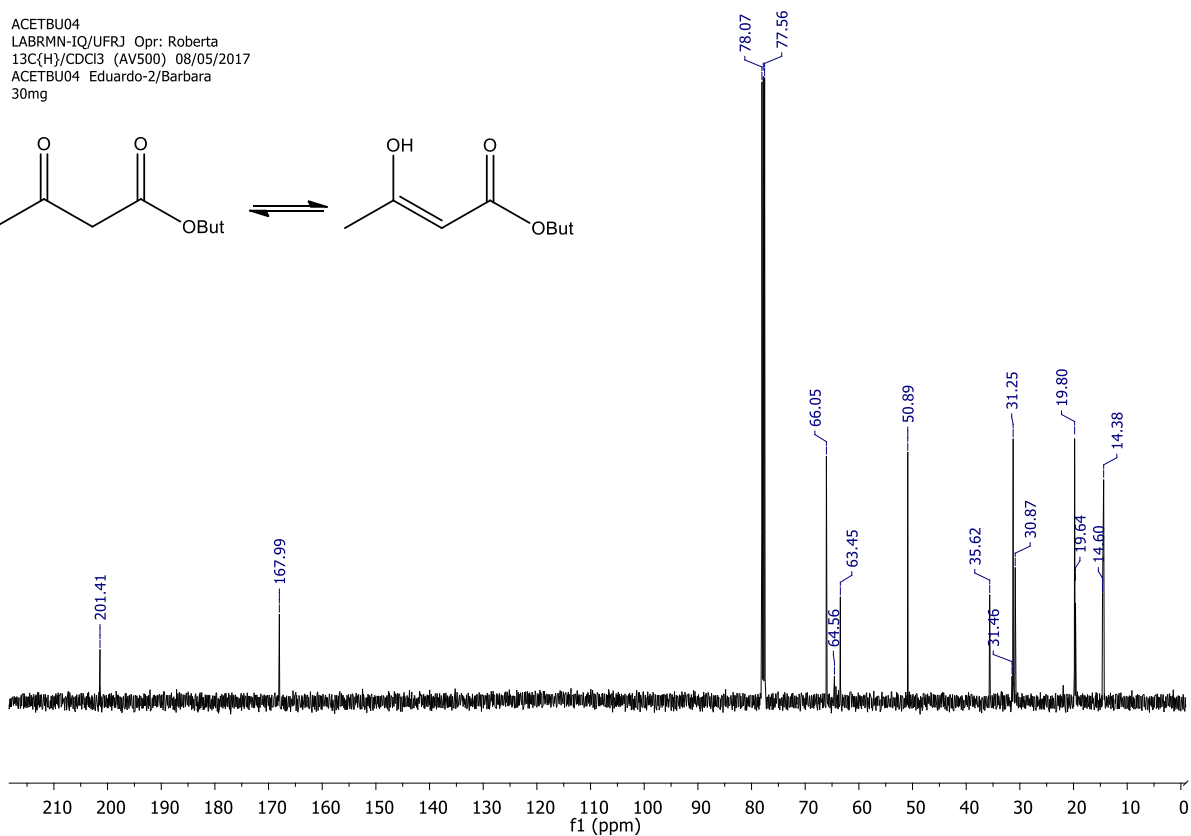
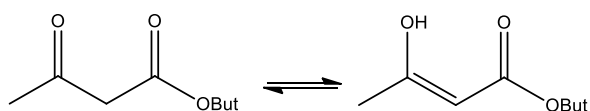


Figura A32. Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (**1c**).

ACETBU04
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
 DEPT135/CDCl3 (AV500) 08/05/2017
 ACETBU04 Eduardo-3/Barbara

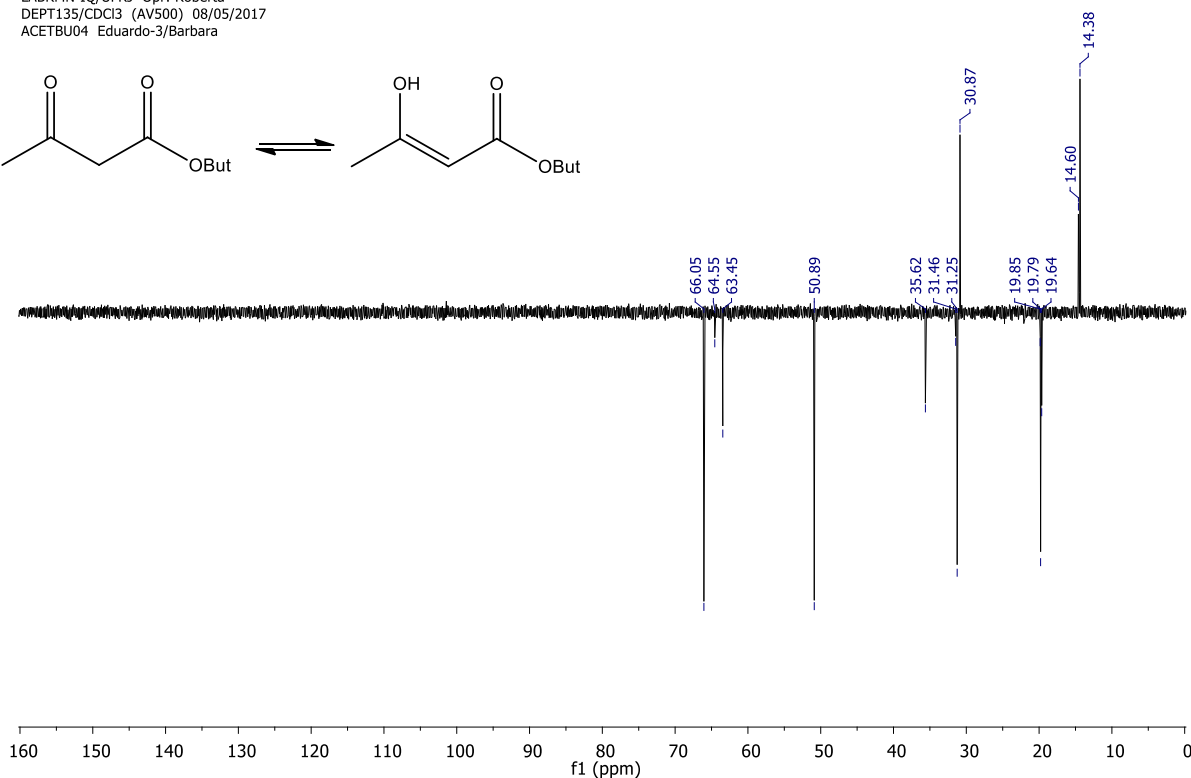
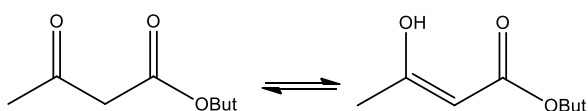


Figura A33. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (**1c**).

ACETBU04
 LABRMN-1Q/UFRJ Opr: Roberta
 DEPT135/CDCl3 (AV500) 08/05/2017
 ACETBU04 Eduardo-3/Barbara

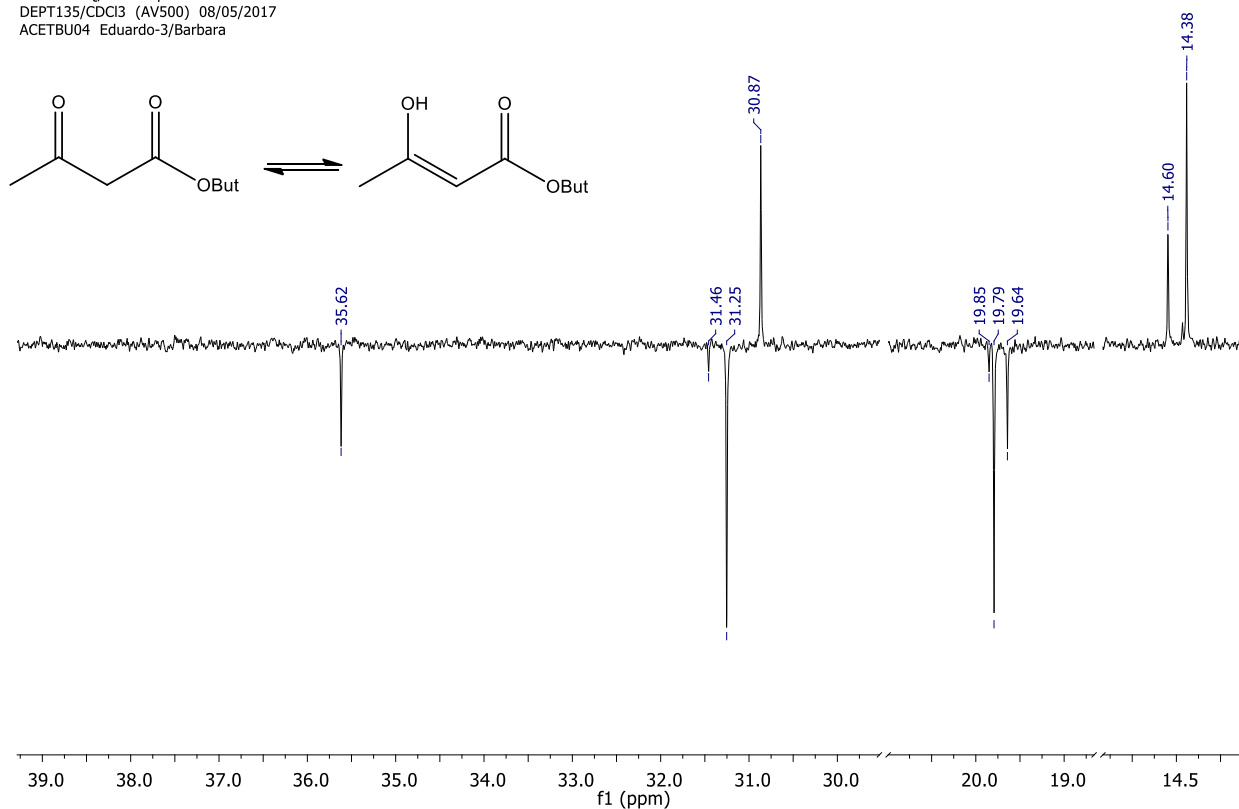


Figura A34. Expansão espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 500 MHz) do 3-oxobutanoato de butila (1c).

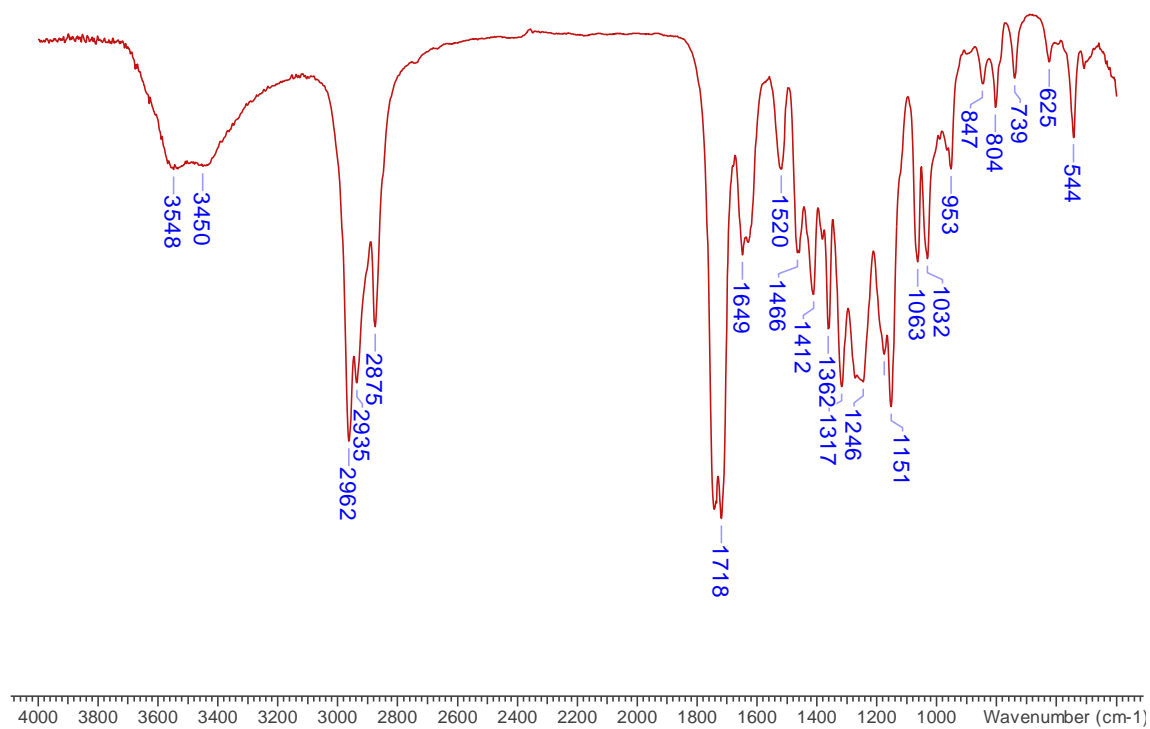


Figura A35. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de butila (1c).

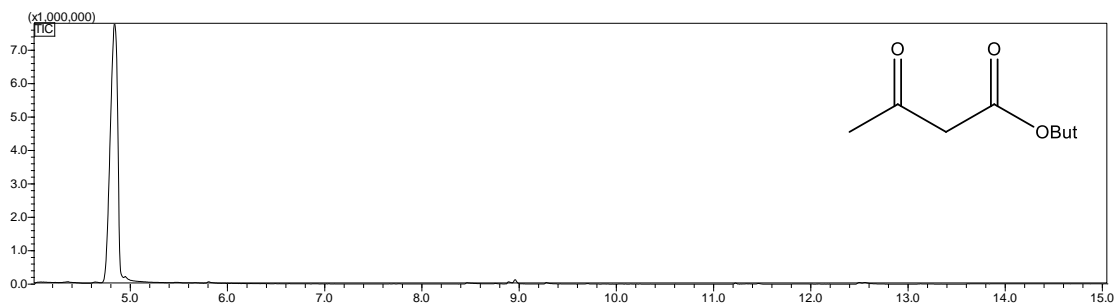


Figura A36. Cromatograma de CG do 3-oxobutanoato de butila (**1c**).

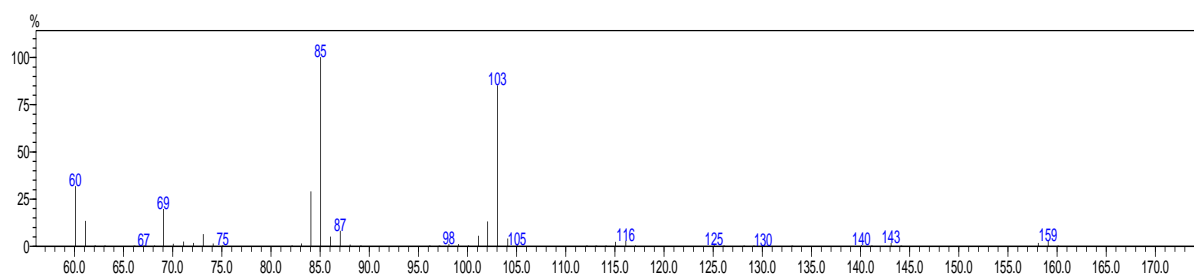


Figura A37. Espectro de massa do 3-oxobutanoato de butila (**1c**).

INTPIRBU
LABRMN-1Q/UFRJ Opr :Roberta
1H/CDCl3 (Av400) 29/05/2017
INTPIRBU Eduardo-1/Barbara

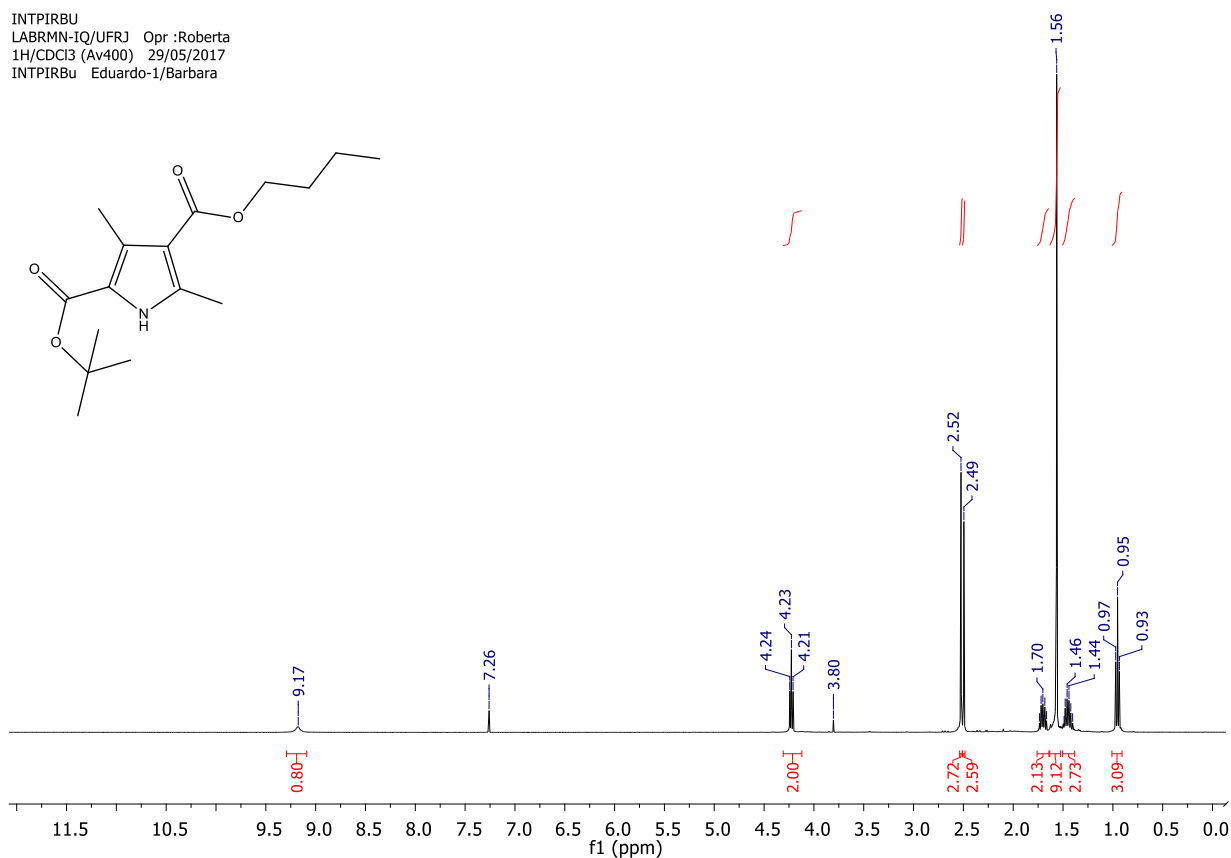


Figura A38. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-butila (**4c**).

INTPIRBU
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/CDCl3 (Av400) 29/05/2017
INTPIRBu Eduardo-1/Barbara

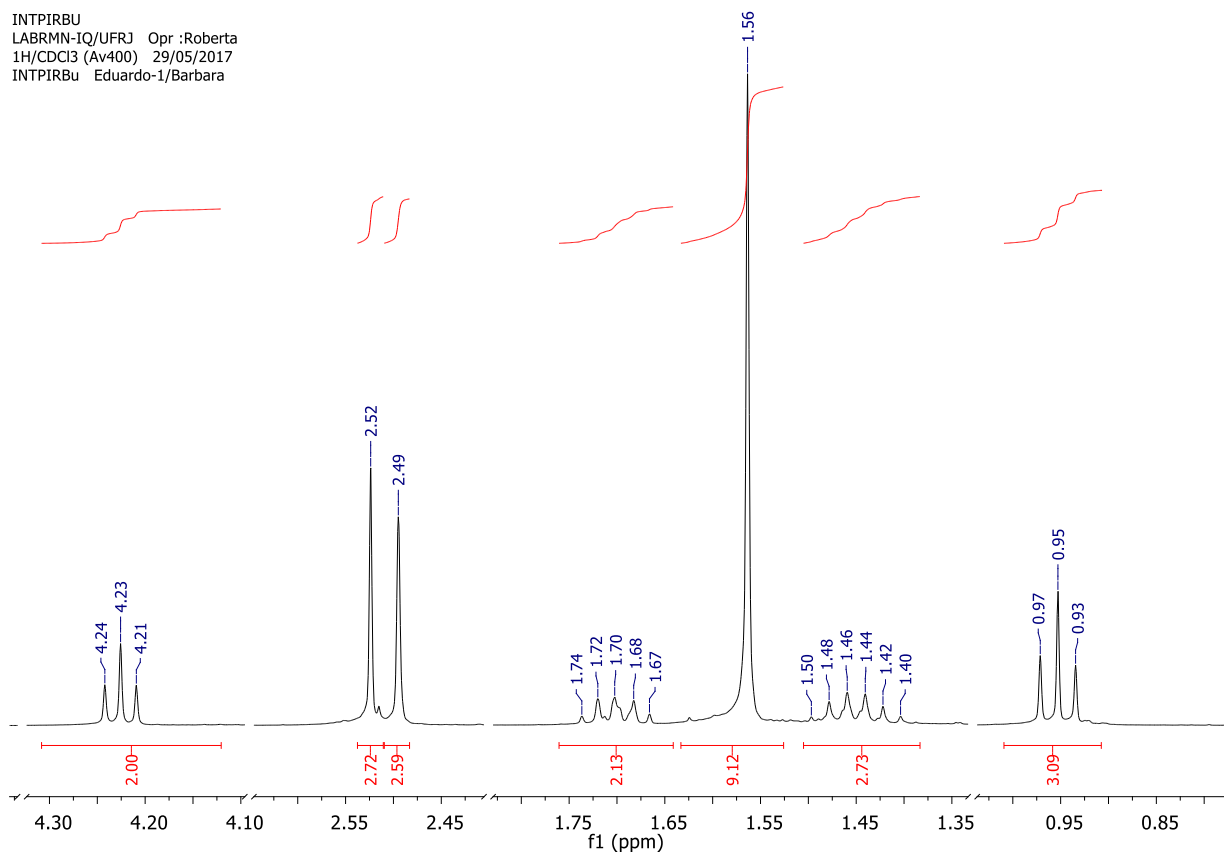


Figura A39. Expansão do espectro de RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-butila (**4c**).

INTPIRBU
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
13C{H}/CDCl3 (Av400) 29/05/2017
INTPIRBu Eduardo-2/Barbara
28.5 mg

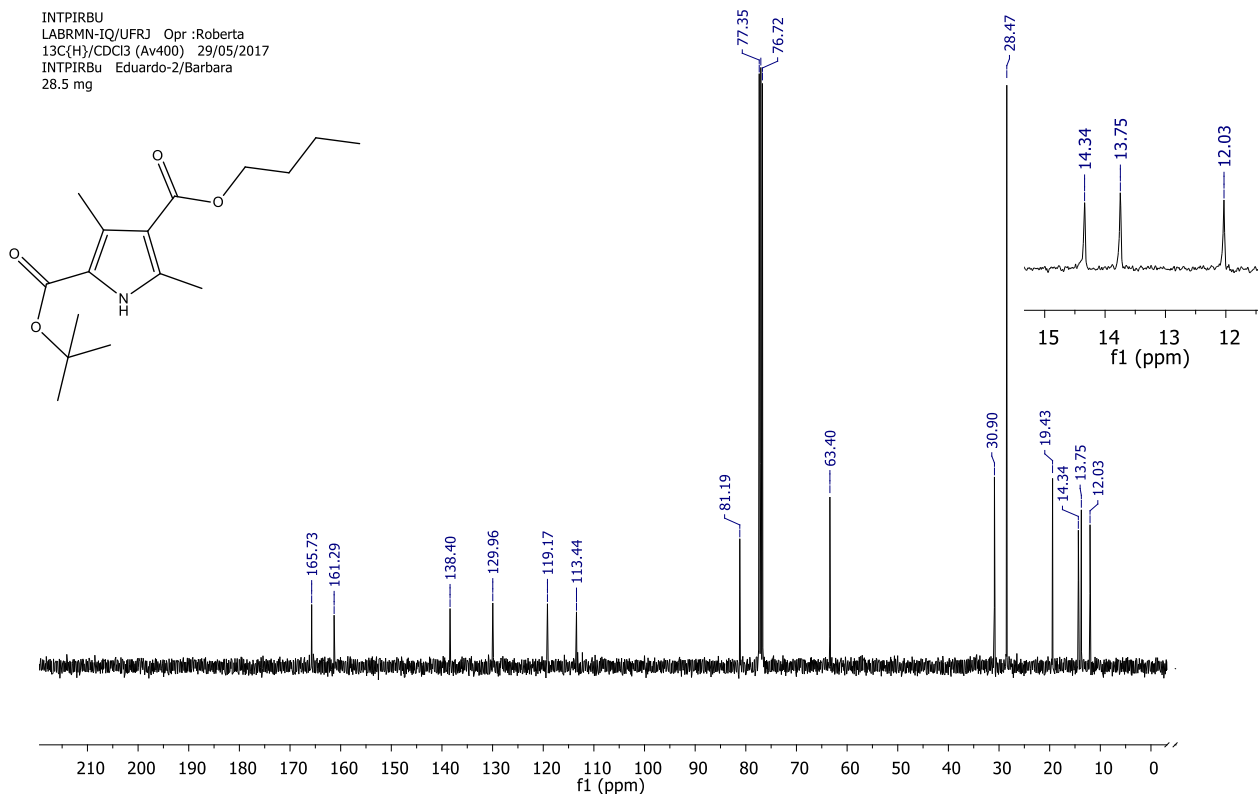


Figura A40. Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-butila (**4c**).

INTPIRBu
LABRMN-1Q/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/CDCl3 (Av400) 29/05/2017
INTPIRBu Eduardo-3/Barbara

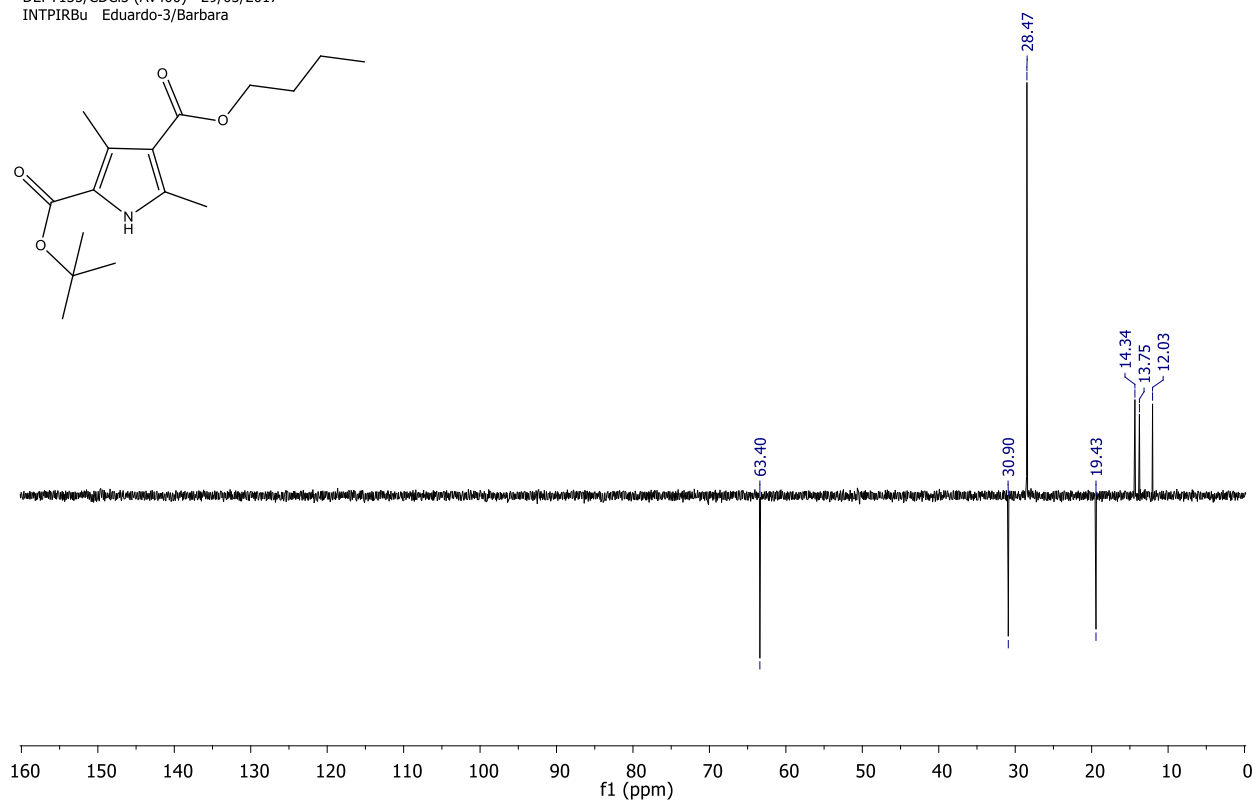
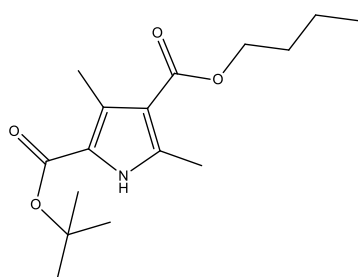


Figura A41. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 400 MHz) do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-butila (**4c**).

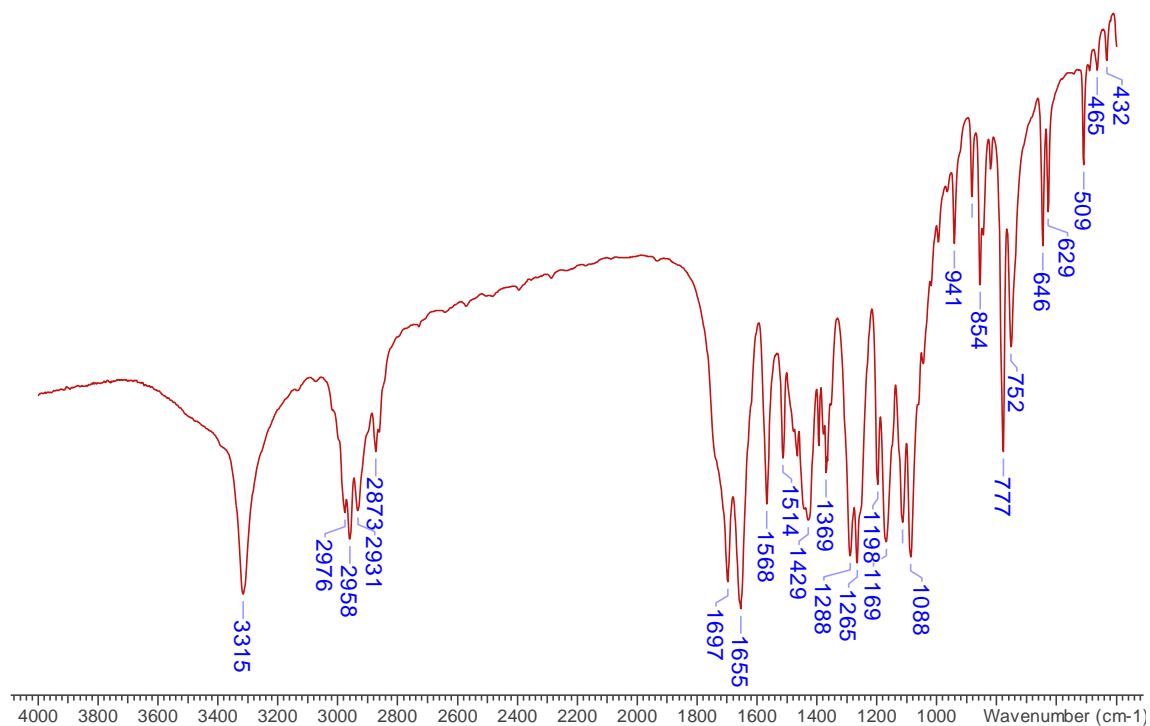


Figura A42. Espectro de IV do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-butila (**4c**).

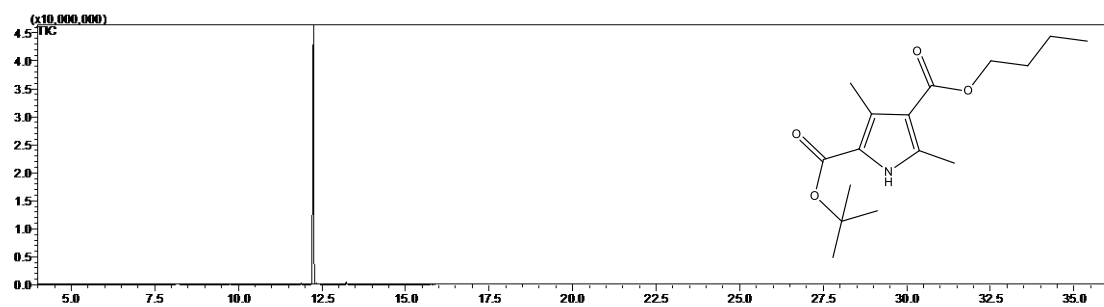


Figura A43. Cromatograma CG do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-butila (**4c**).

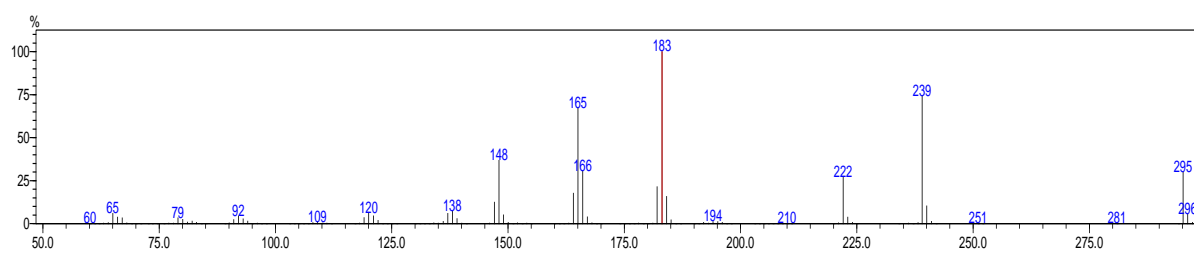


Figura A44. Espectro de massa do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-butila (**4c**).

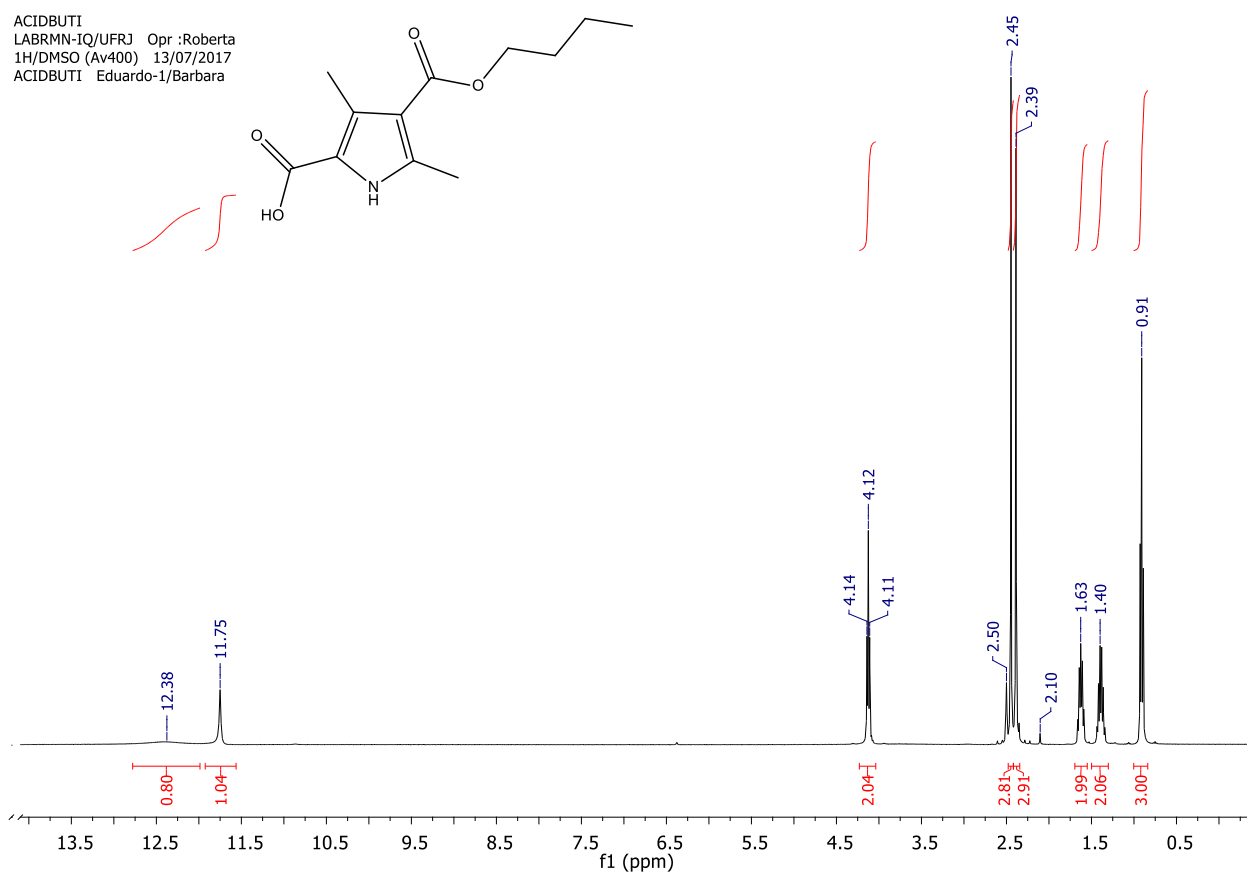


Figura A45. Espectro de RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (**5c**).

ACIDBUTI
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/DMSO (Av400) 13/07/2017
ACIDBUTI Eduardo-1/Barbara

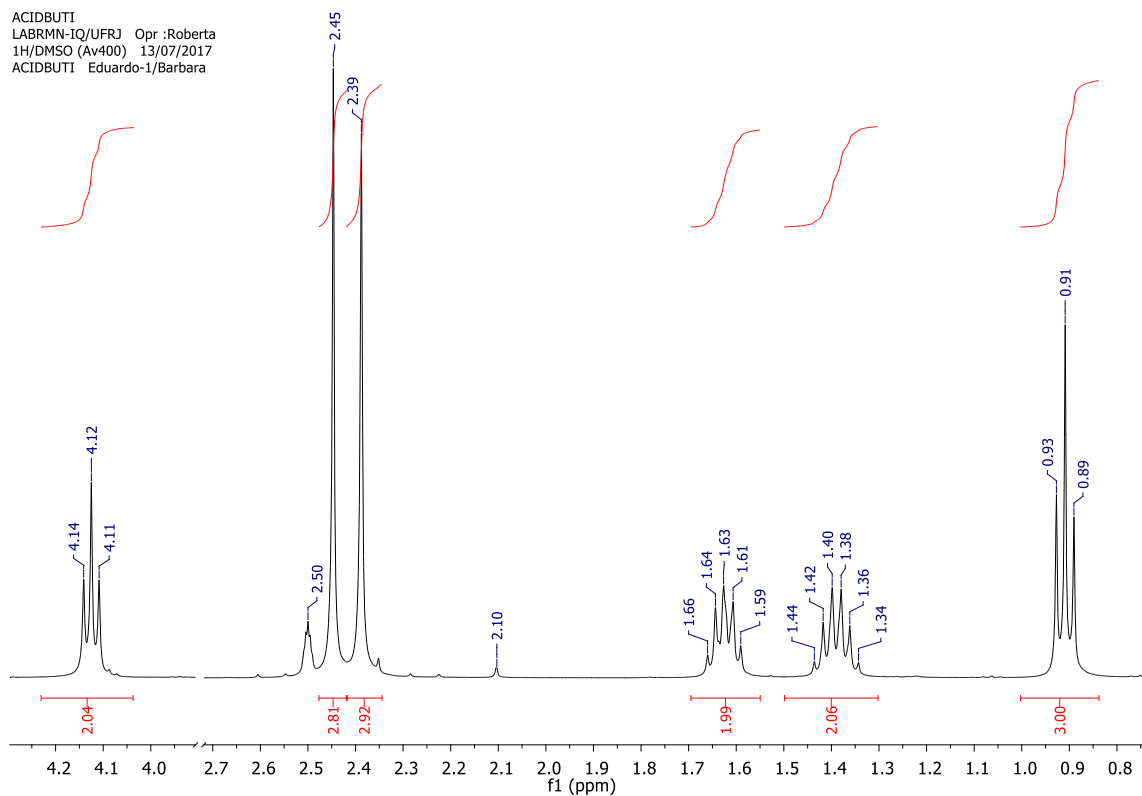


Figura A46. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol- 2-carboxílico (**5c**).

ACIDBUTI
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
13C{H}/DMSO (Av400) 13/07/2017
ACIDBUTI Eduardo-2/Barbara
25.5 mg

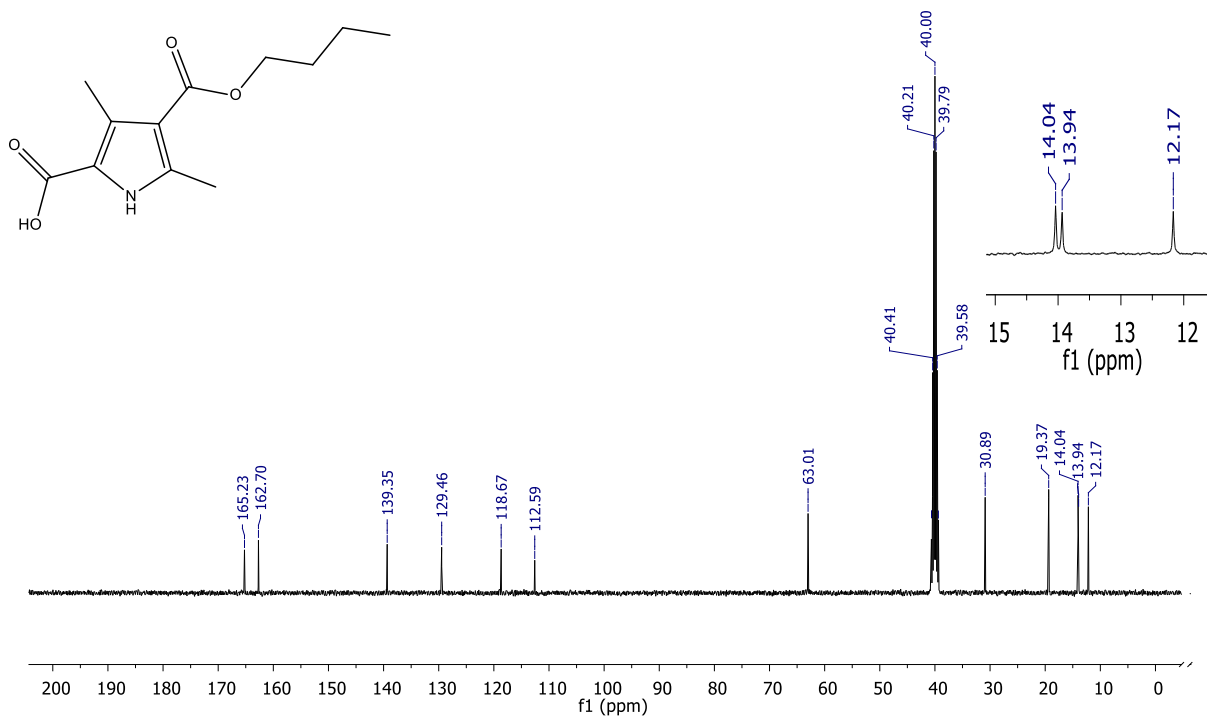


Figura A47. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol- 2-carboxílico (**5c**).

ACIDBUTI
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/DMSO (Av400) 13/07/2017
ACIDBUTI Eduardo-3/Barbara

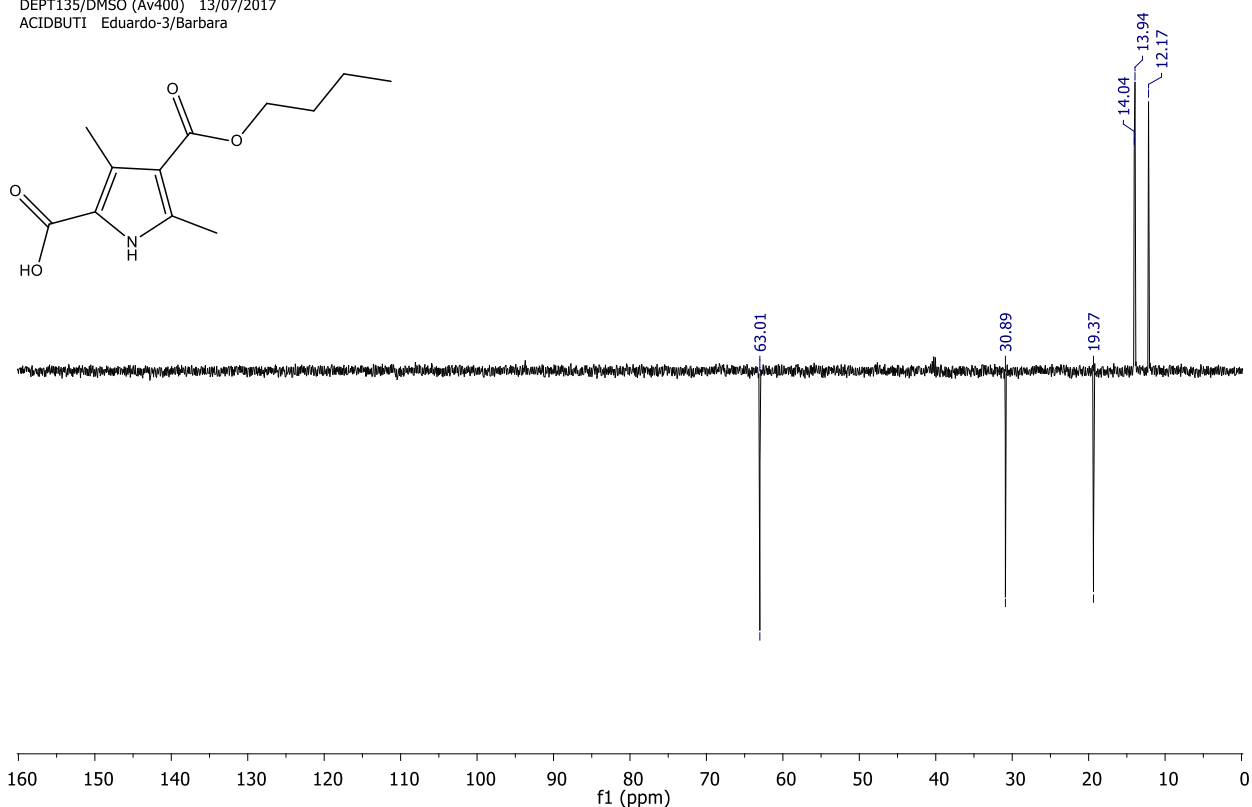


Figura A48. Espectro de RMN DEPT135 (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílico (**5c**).

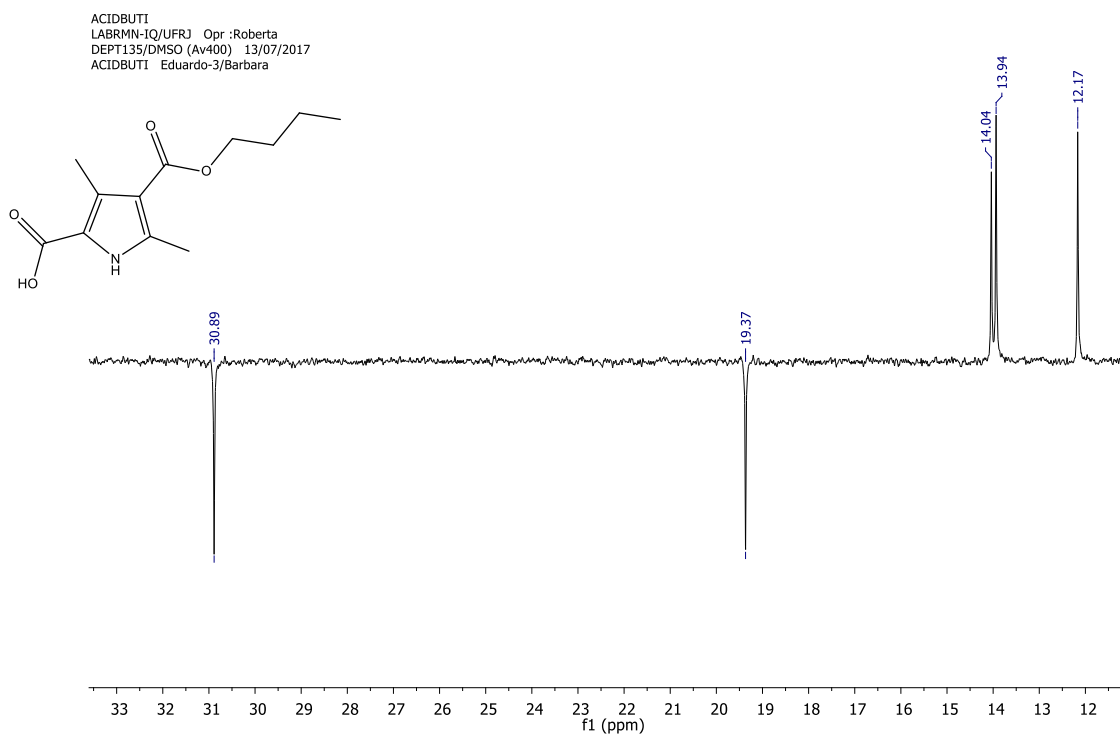


Figura A49. Expansão do espectro de RMN DEPT135 (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2-carboxílico (**5c**).

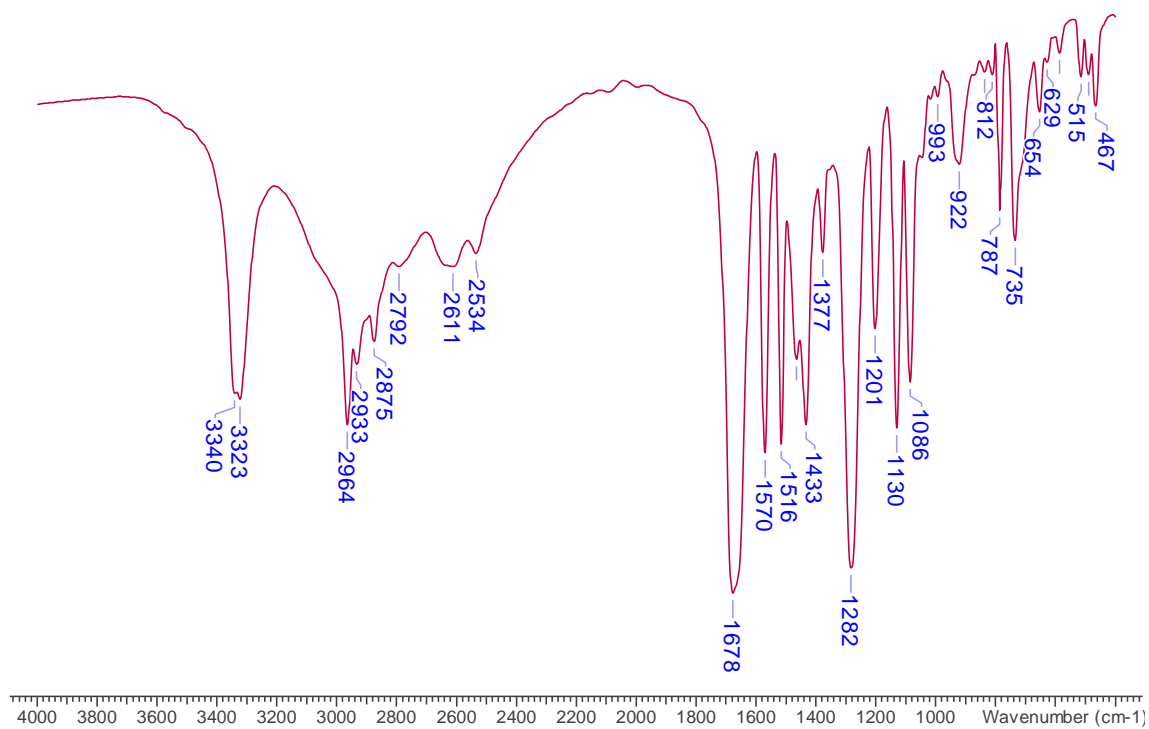


Figura A50. Espectro de IV do ácido 4-(butoxicarbonil)-3,5-dimetil-1H-pirrol- 2-carboxílico (**5c**).

DESCBUT2
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr.:Roberta
 1H/CDCI3(Av400) 02/08/2017
 DESCBUT2 Eduardo-1/Barbara

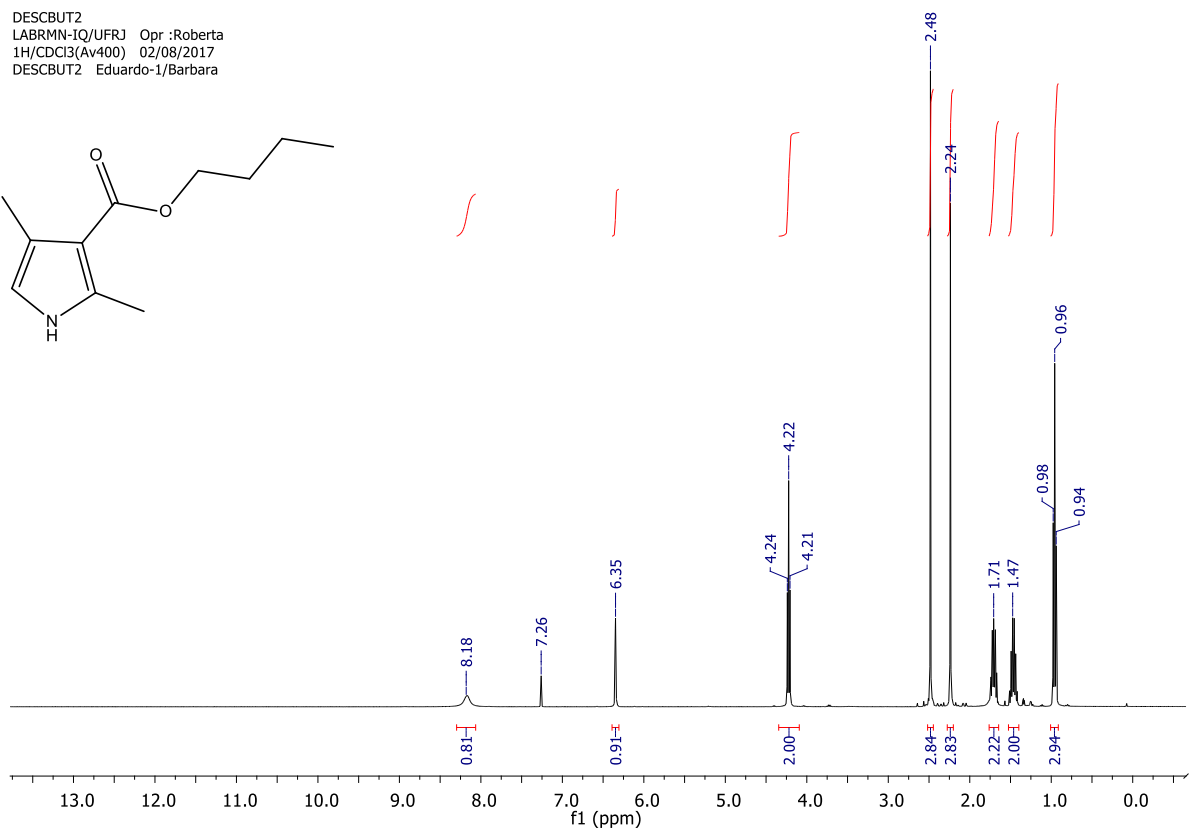


Figura A51. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

DESCBUT2
LABRMN-IQ/UFRJ Opr.:Roberta
1H/CDCl3(Av400) 02/08/2017
DESCBUT2 Eduardo-1/Barbara

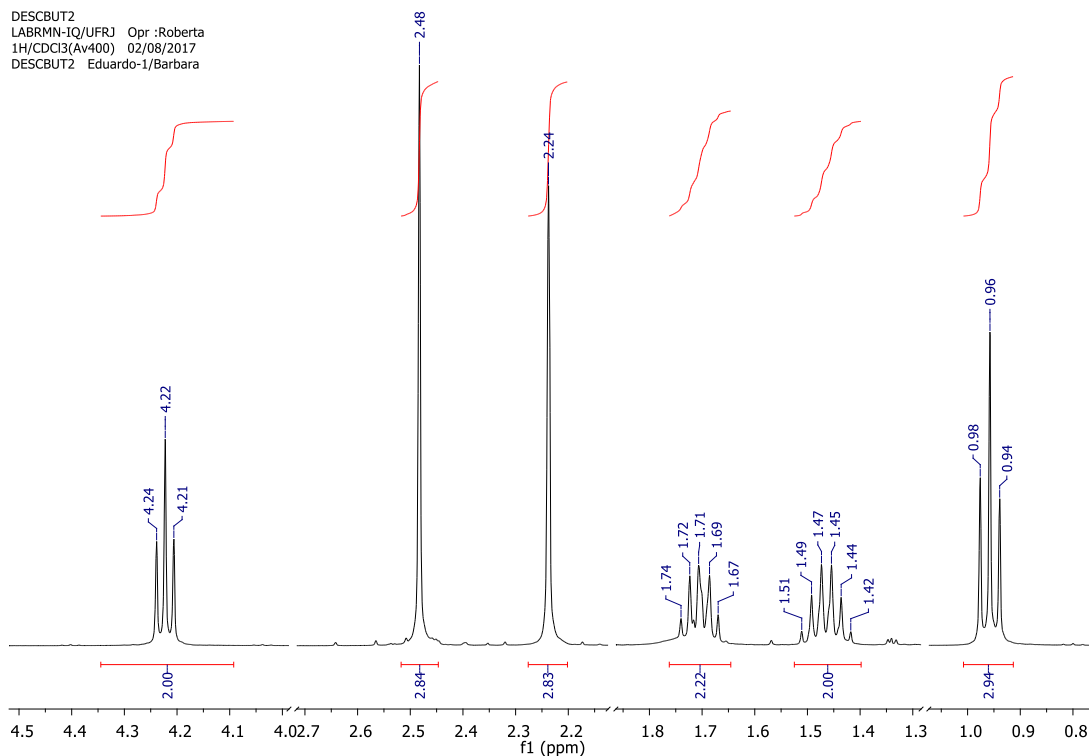


Figura A52. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

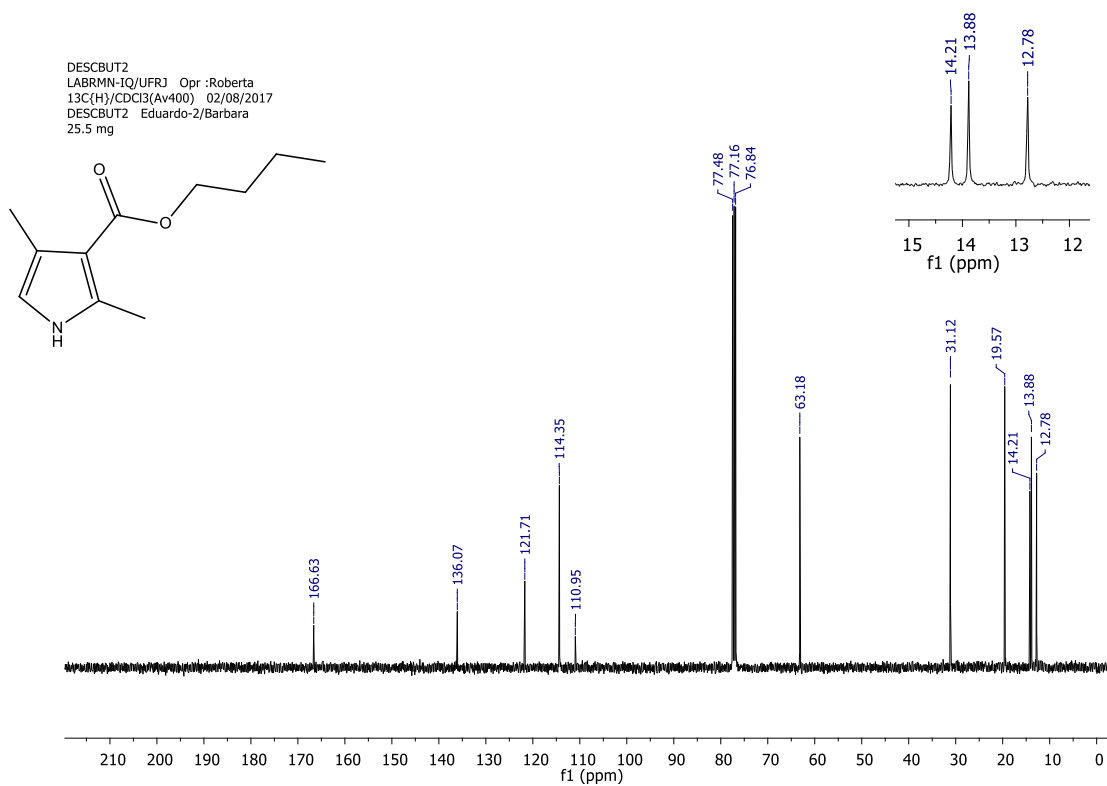


Figura A53. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

DESCBUT2
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/CDCl3(Av400) 02/08/2017
DESCBUT2 Eduardo-3/Barbara

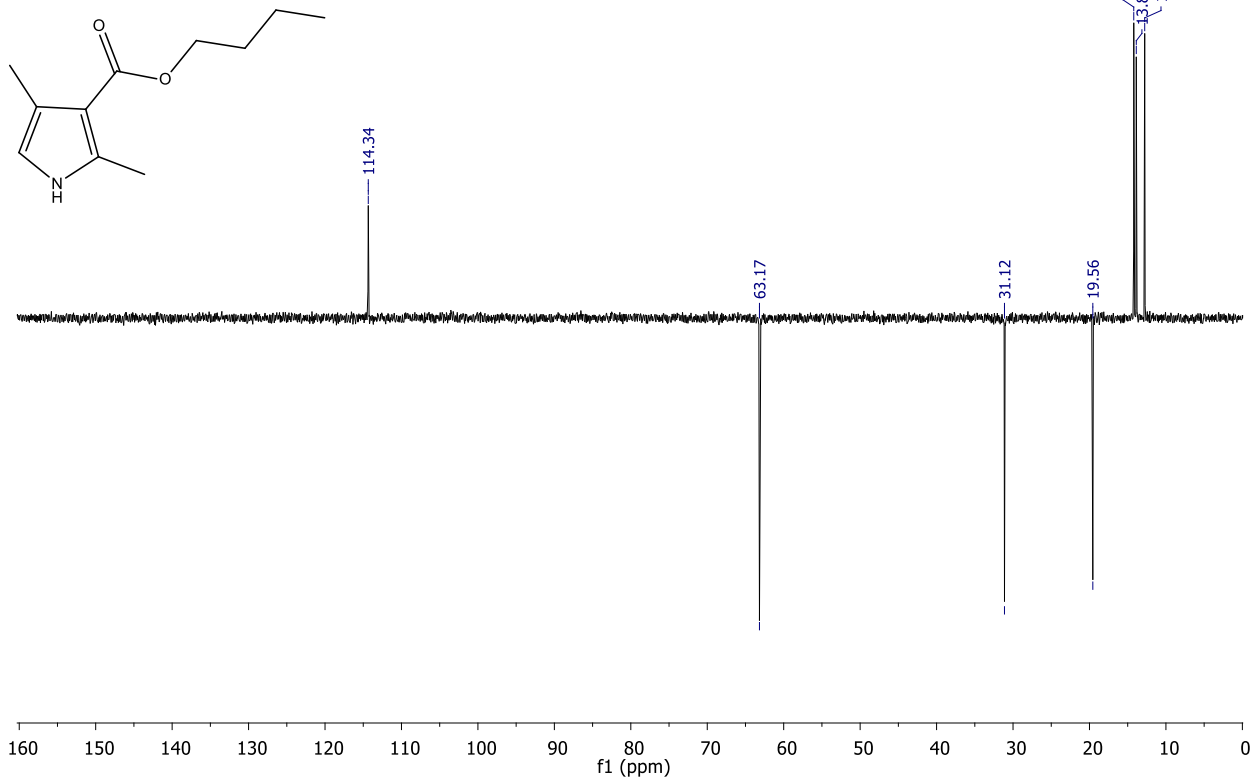


Figura A54. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

DESCBUT2
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/CDCl3(Av400) 02/08/2017
DESCBUT2 Eduardo-3/Barbara

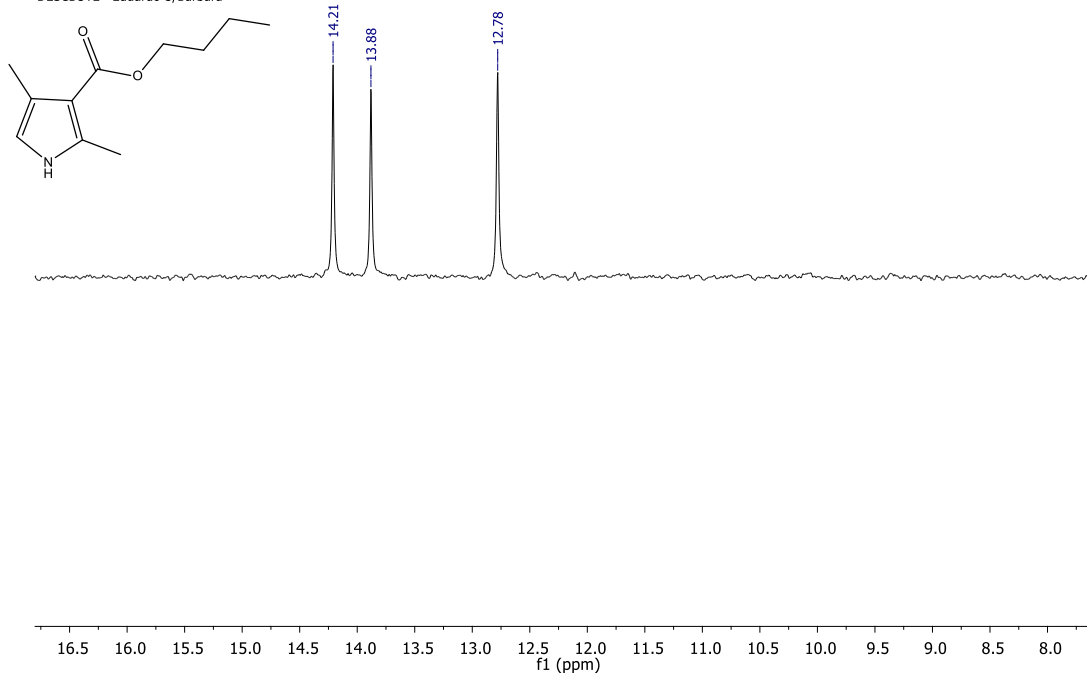


Figura A55. Expansão do espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

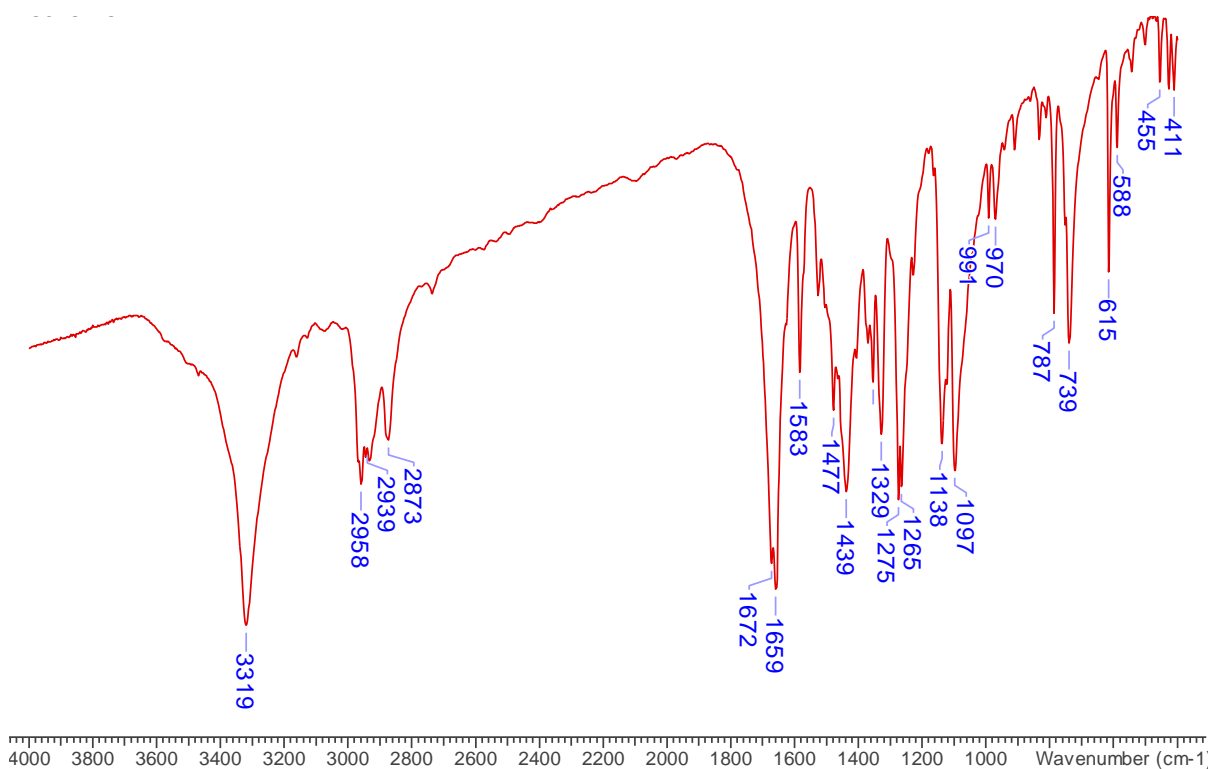


Figura A56. Espectro de IV do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

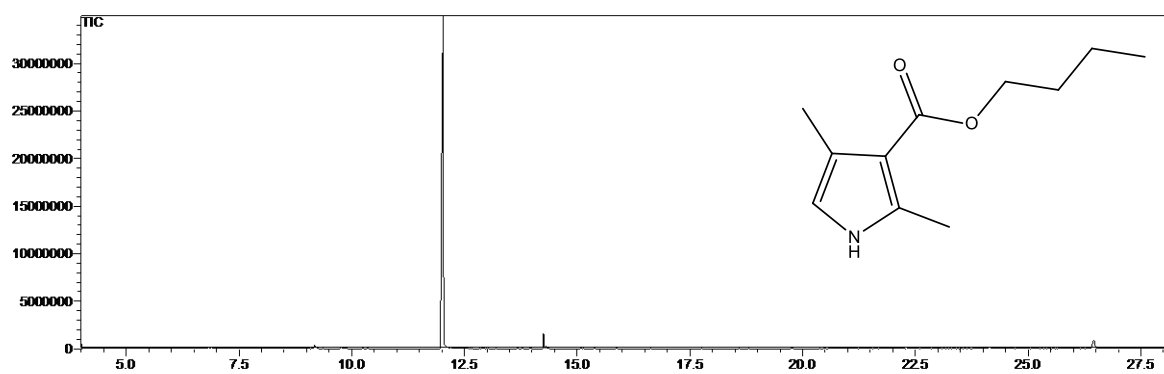


Figura A57. Cromatograma de CG do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

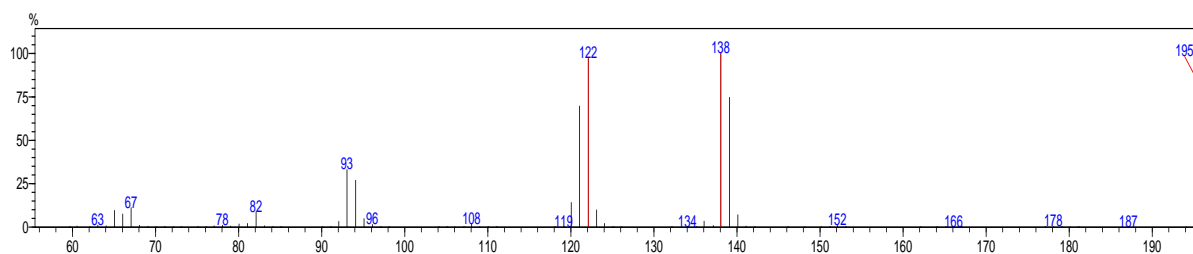


Figura A58. Espectro de massa do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de butila (**6c**).

ACETOPEN
LABRMN-1Q/UFRJ Opr :Roberta
1H /CDCl3 (Av400) 29/05/2017
ACETOPEN Eduardo-1/Barbara

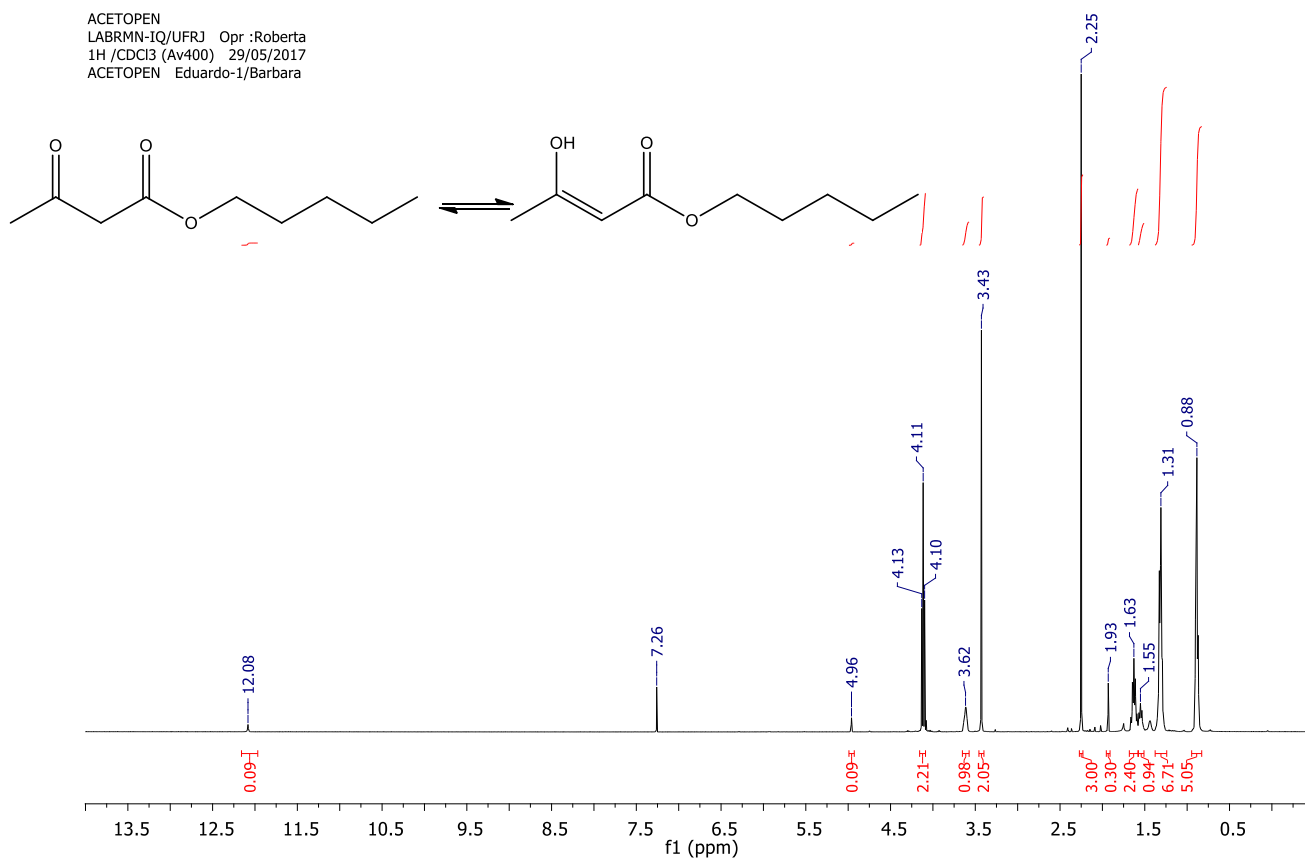


Figura A59. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (1d).

ACETOPEN
LABRMN-1Q/UFRJ Opr :Roberta
1H /CDCl3 (Av400) 29/05/2017
ACETOPEN Eduardo-1/Barbara

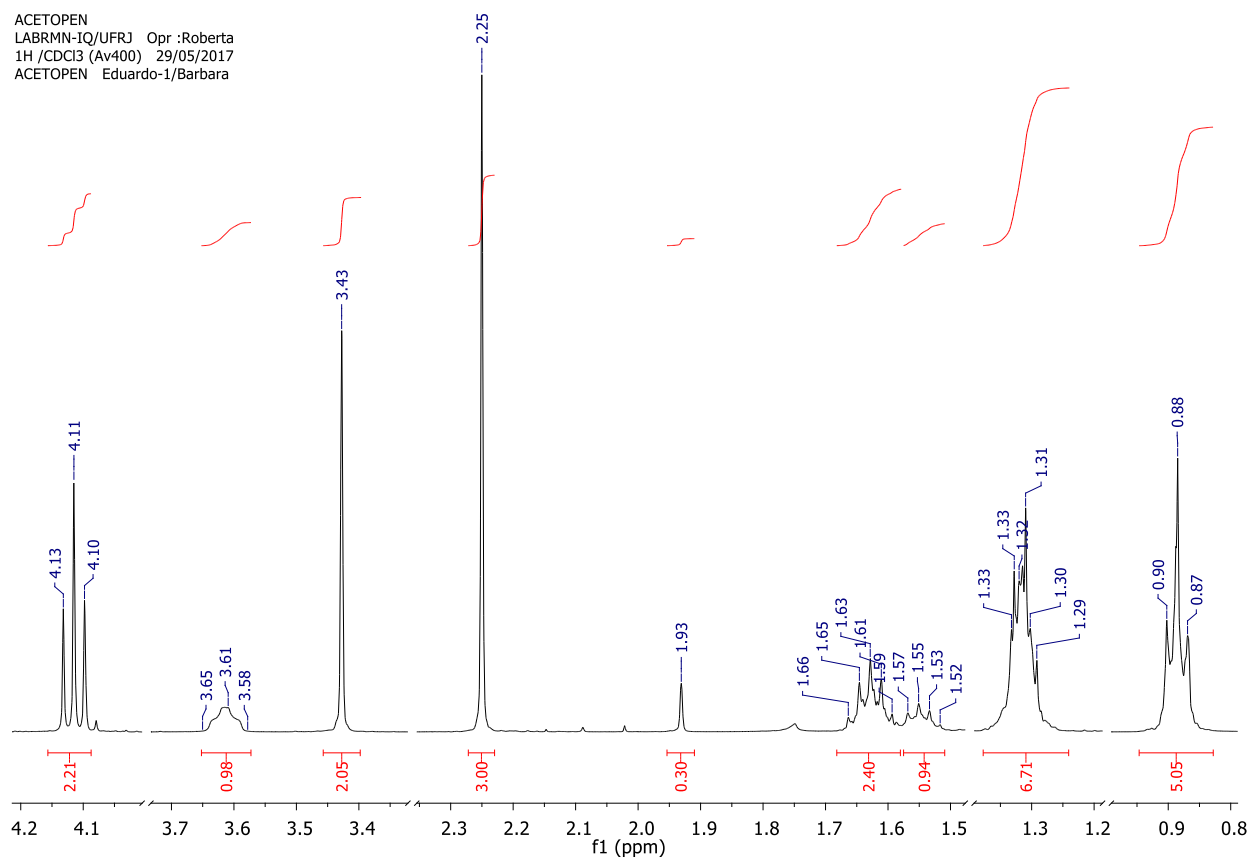


Figura A60. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (1d).

ACETOPEN
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
13C{H}/CDCl3 (Av400) 29/05/2017
ACETOPEN Eduardo-2/Barbara

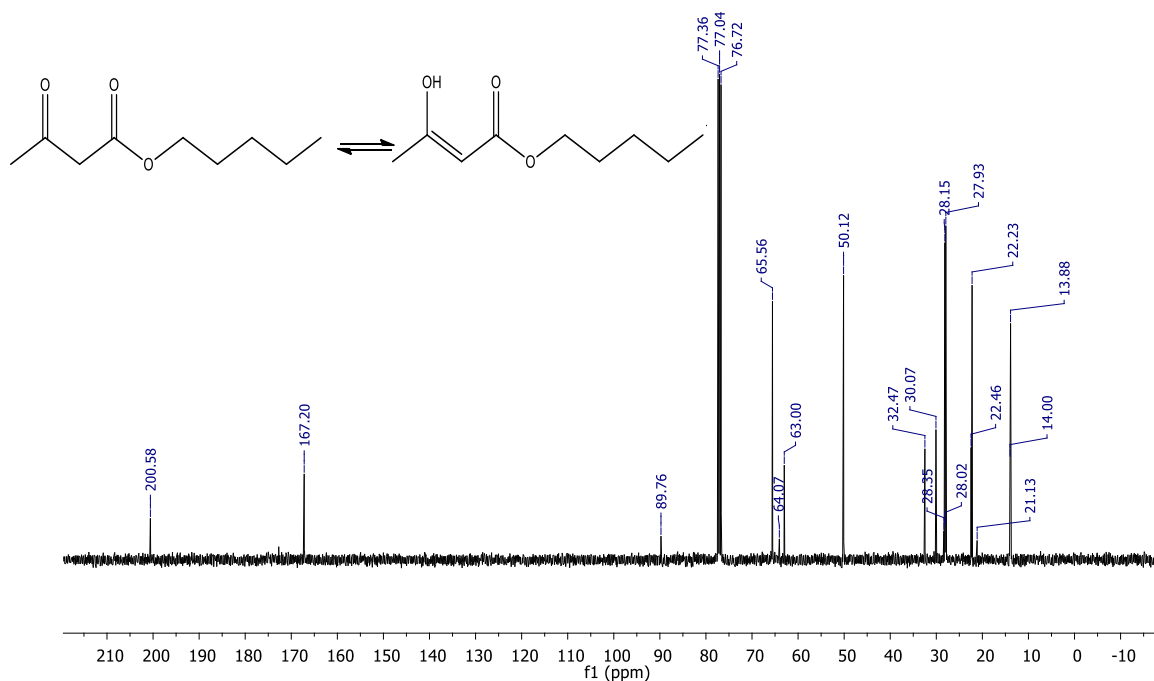


Figura A61. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (**1d**).

ACETOPEN
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135 /CDCl3 (Av400) 29/05/2017
ACETOPEN Eduardo-3/Barbara

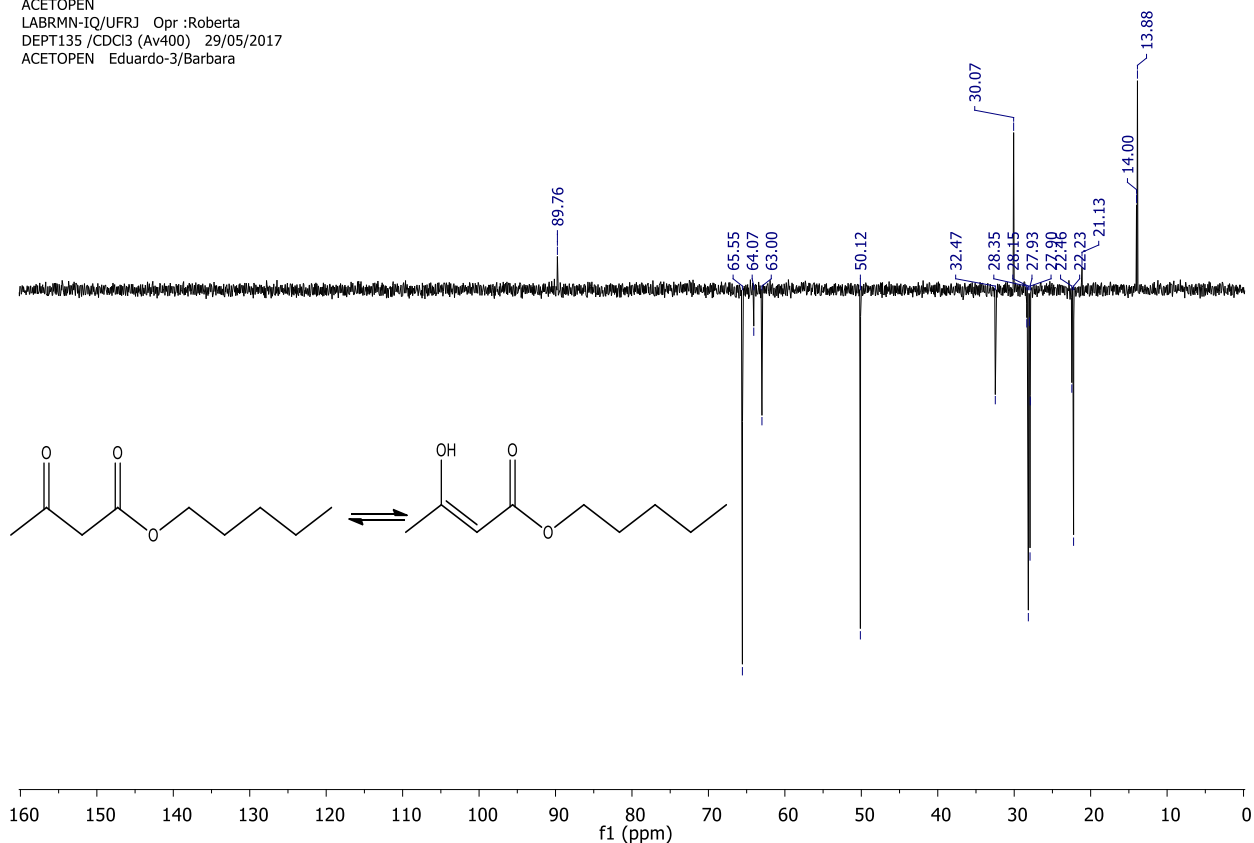


Figura A62. Espectro de DEPT135 (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (**1d**).

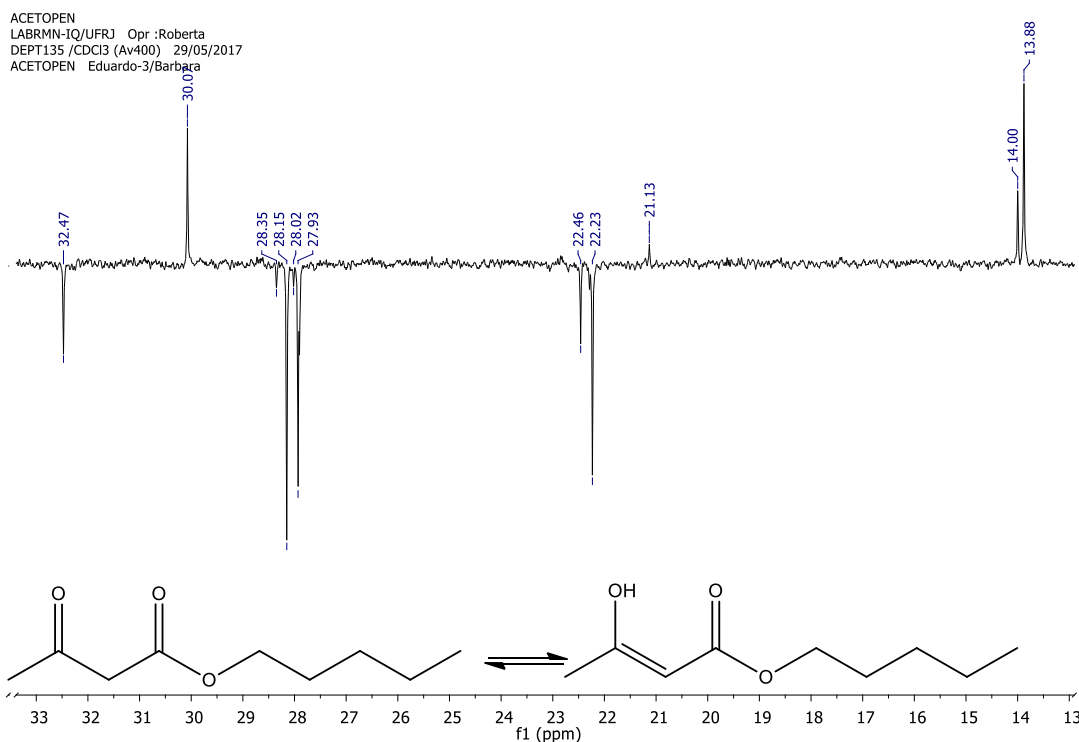


Figura A63. Expansão de espectro de DEPT135 (CDCl₃, 400 MHz) do 3-oxobutanoato de pentila (**1d**).

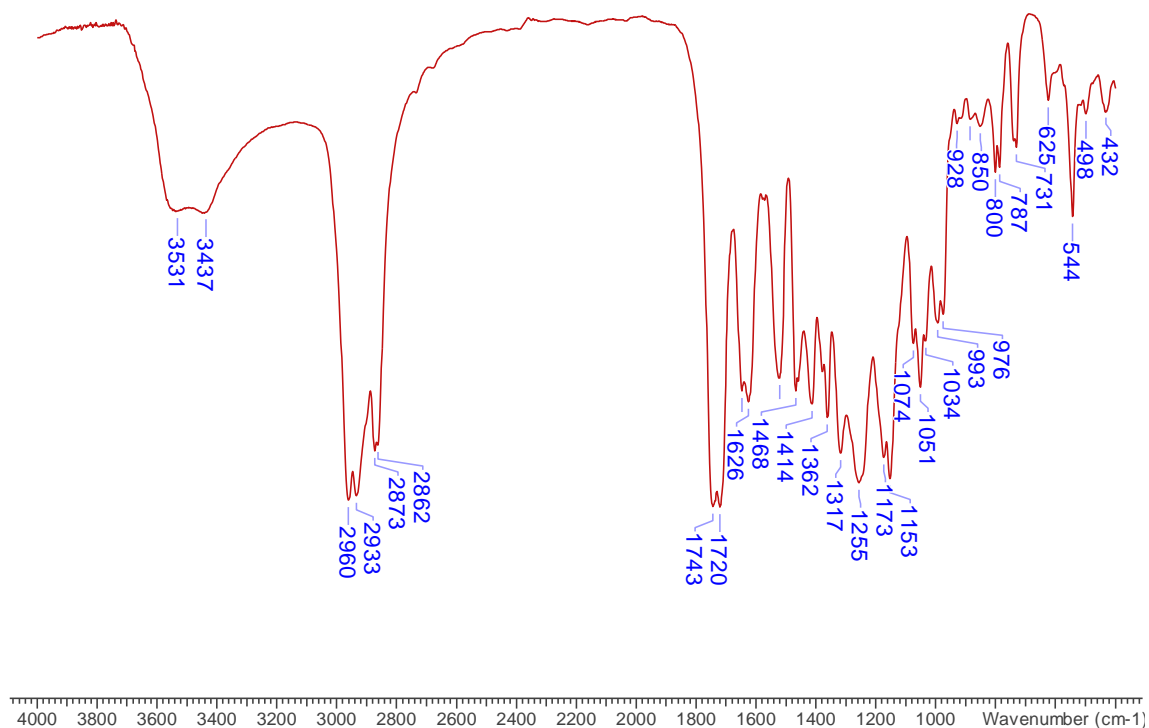


Figura A64. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de pentila (**1d**).

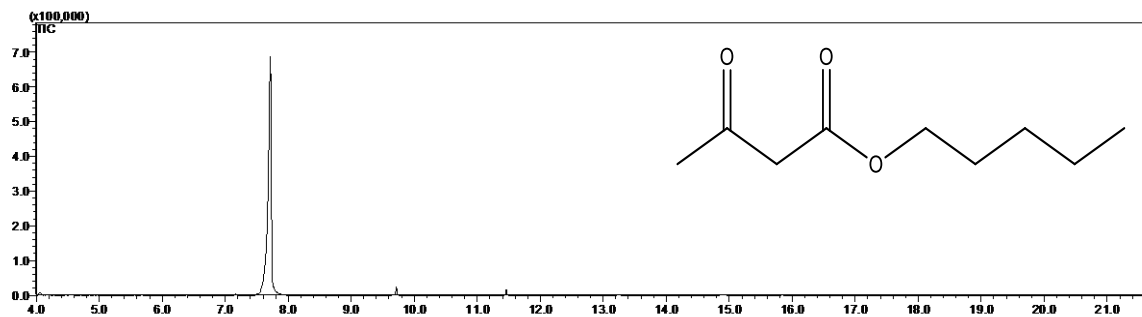


Figura A65. Cromatograma CG do 3-oxobutanoato de pentila (**1d**).

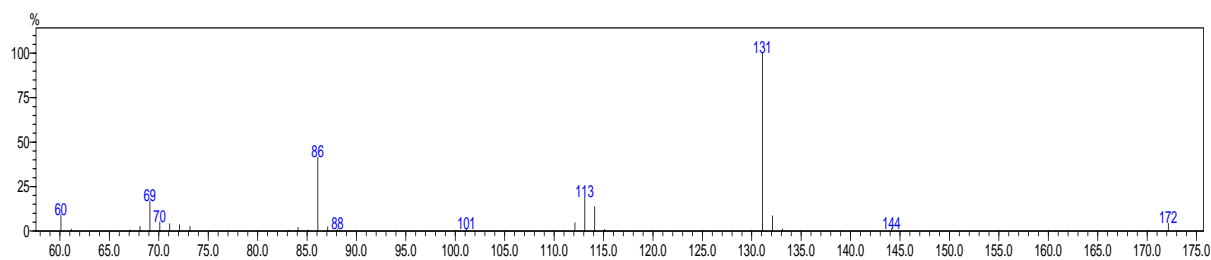


Figura A66. Espectro de massa do 3-oxobutanoato de pentila (**1d**).

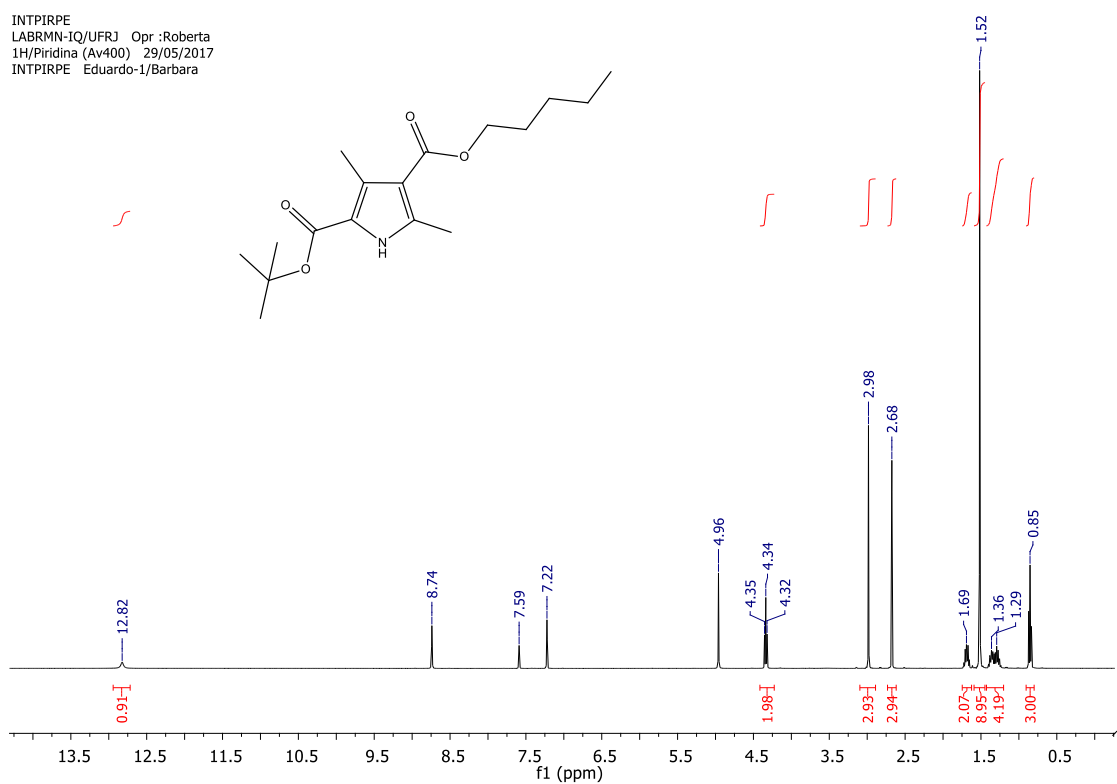


Figura A67. Espectro de RMN ^1H (Piridina- d_5 , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*terc*-butila-4-pentila (**4d**).

INTPIRPE
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/Piridina (Av400) 29/05/2017
INTPIRPE Eduardo-1/Barbara

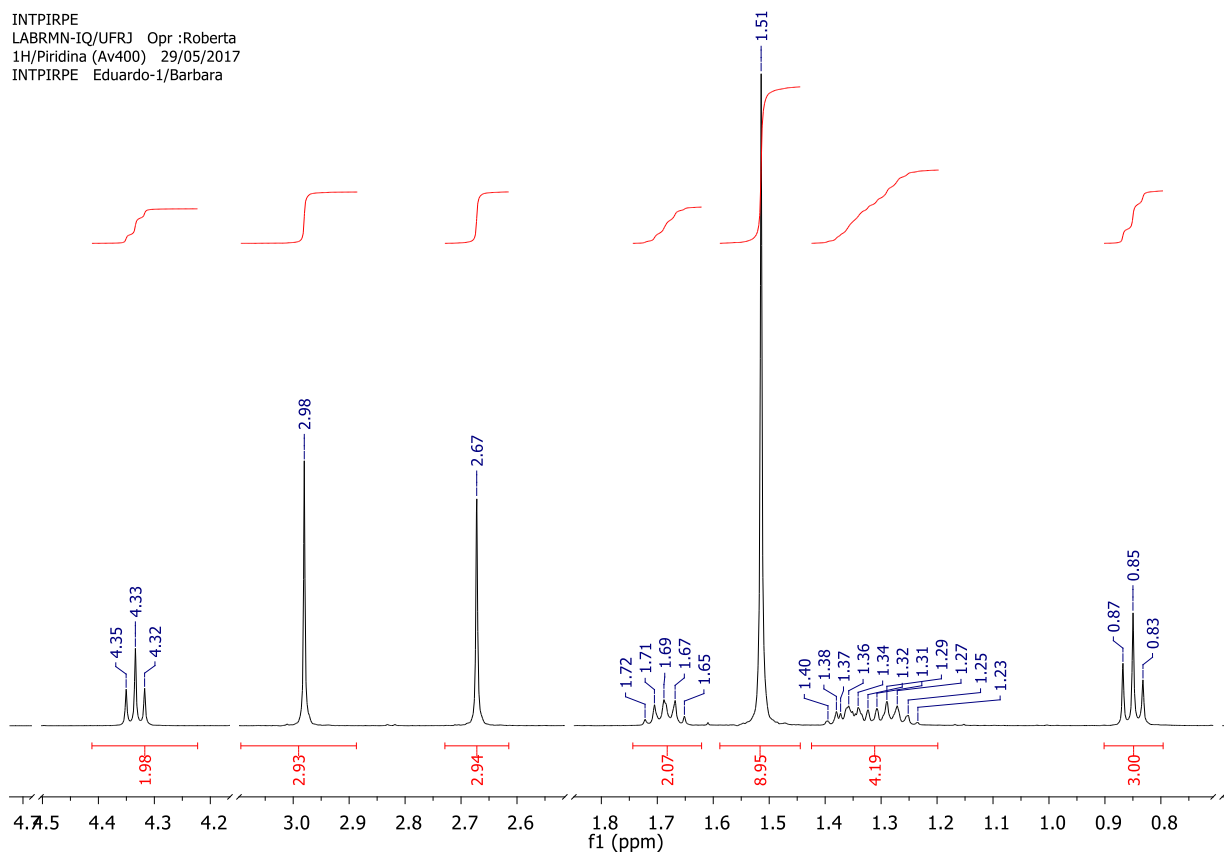


Figura A68. Expansão do espectro de RMN 1H (Piridina- d_5 , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

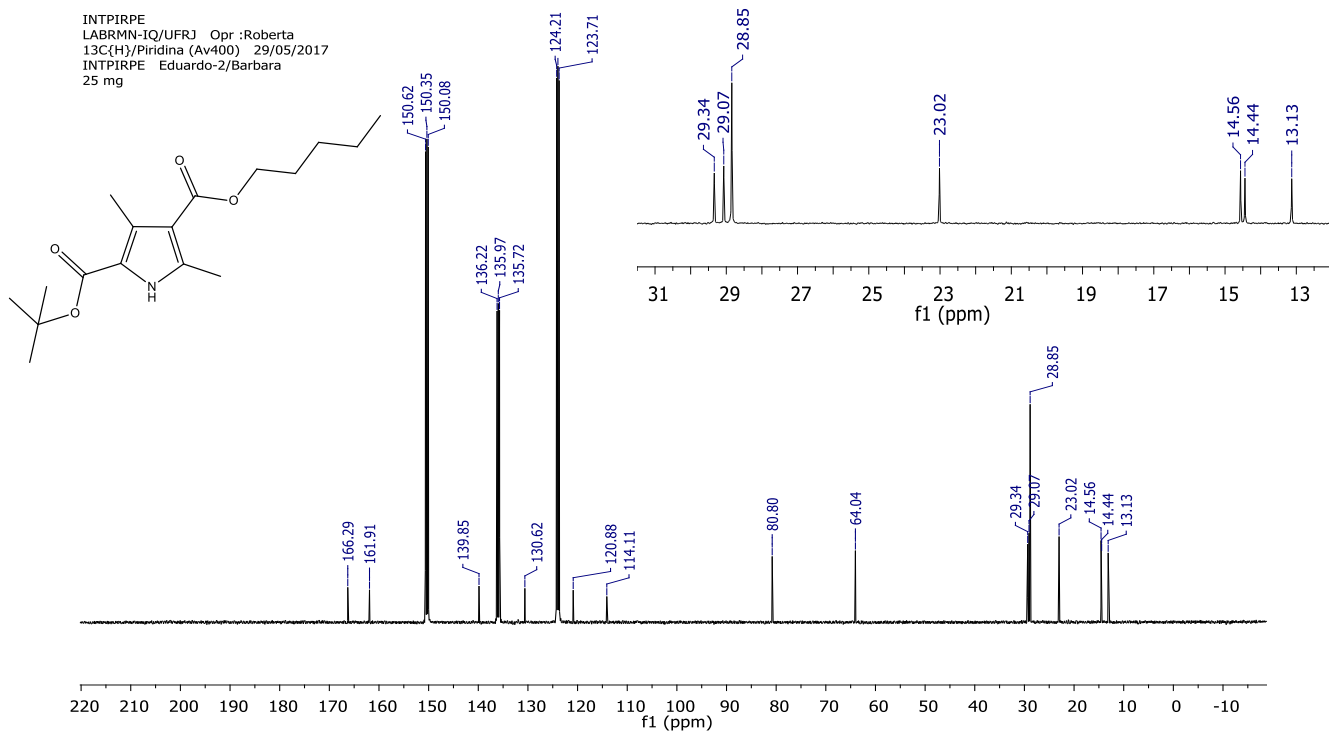


Figura A69. Espectro de RMN 13C (Piridina- d_5 , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

INTPIRPE
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/Piridina (Av400) 29/05/2017
INTPIRPE Eduardo-3/Barbara

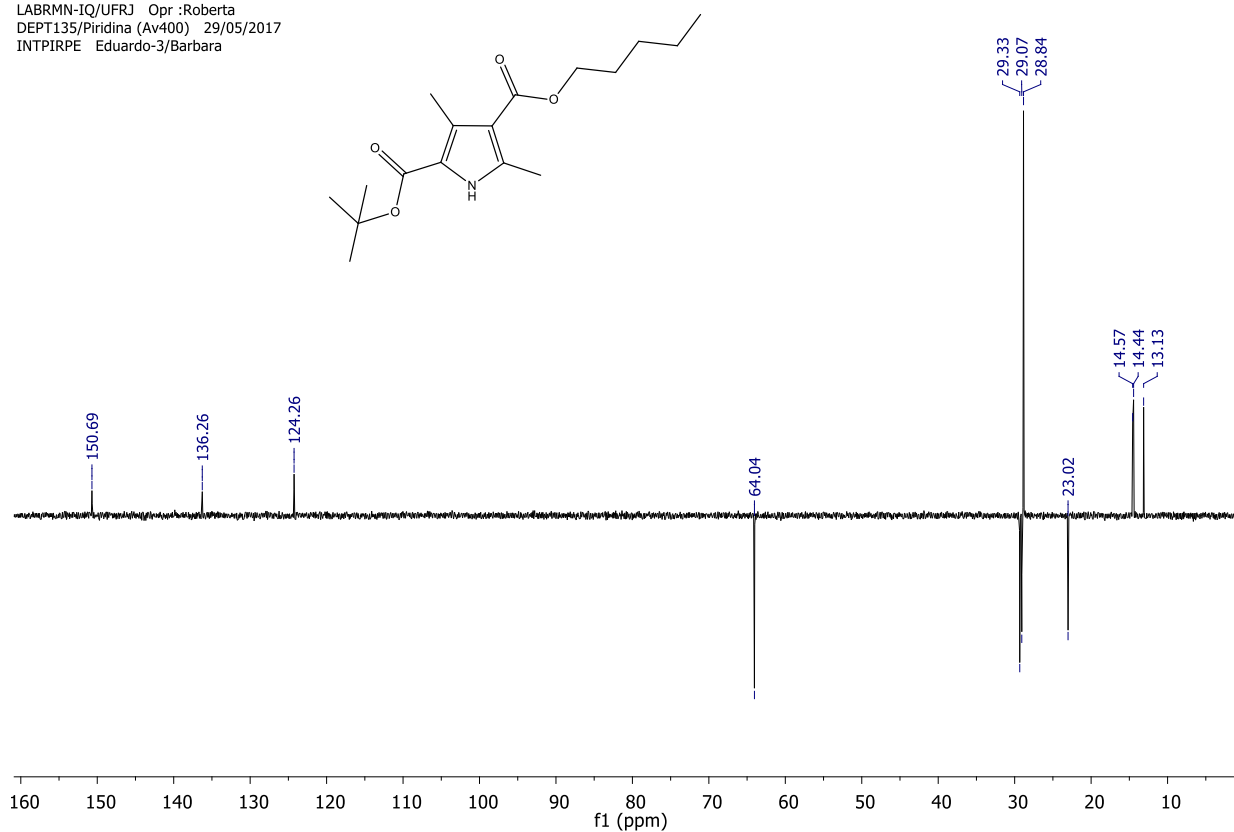


Figura A70. Espectro de RMN DEPT135 (Piridina- d_5 , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

INTPIRPE
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/Piridina (Av400) 29/05/2017
INTPIRPE Eduardo-3/Barbara

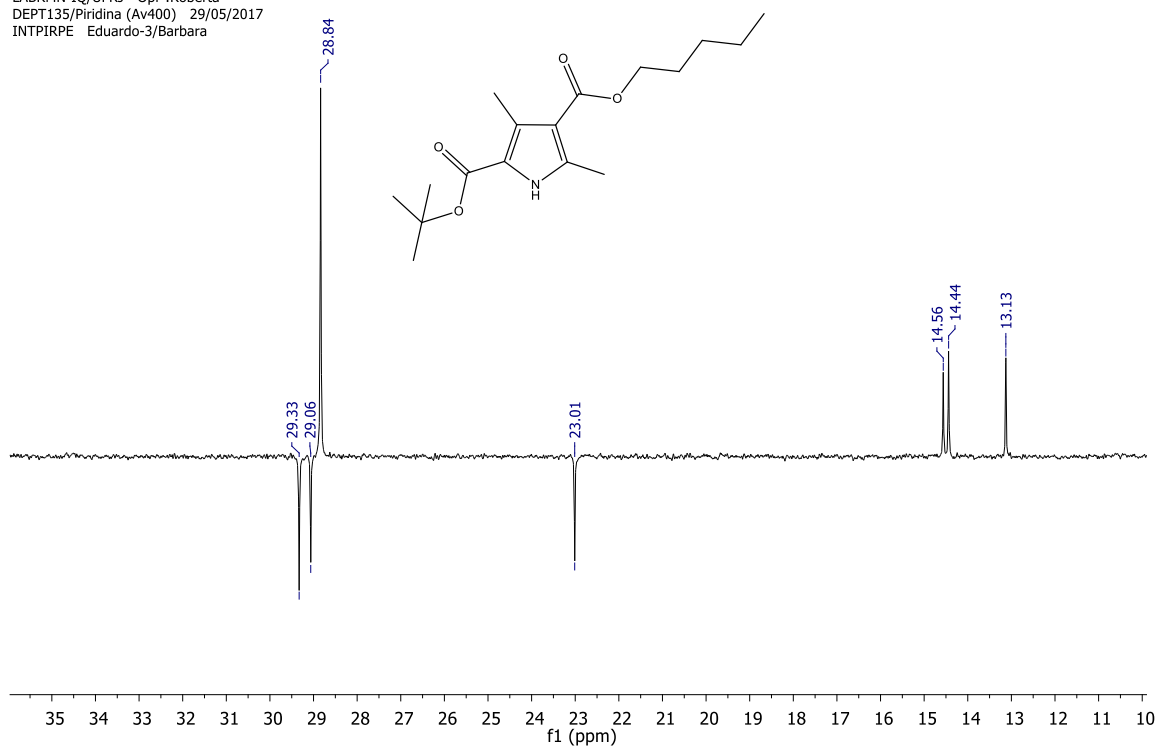


Figura A71. Expansão do espectro de RMN DEPT135 (Piridina- d_5 , 400 MHz) do 3,5-dimetil-1H-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

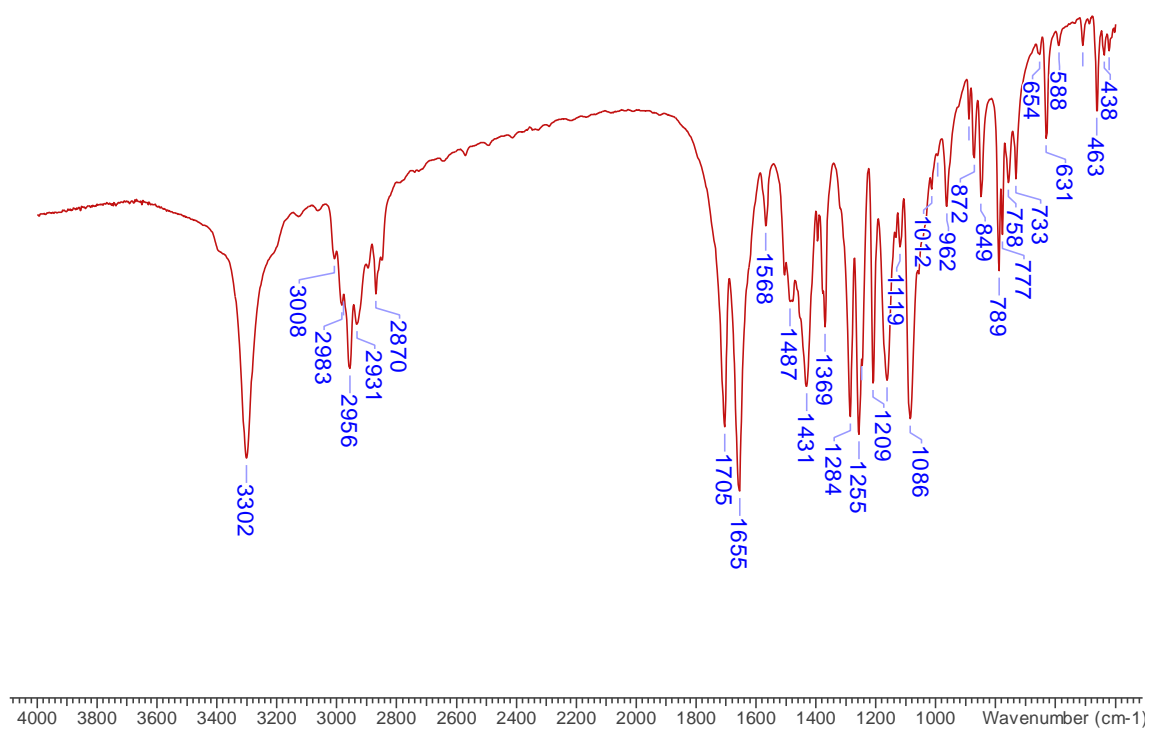


Figura A72. Espectro de IV do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

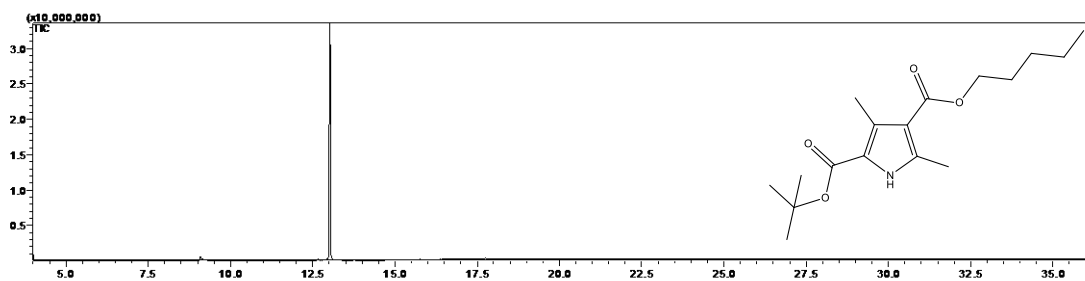


Figura A73. Cromatograma CG do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

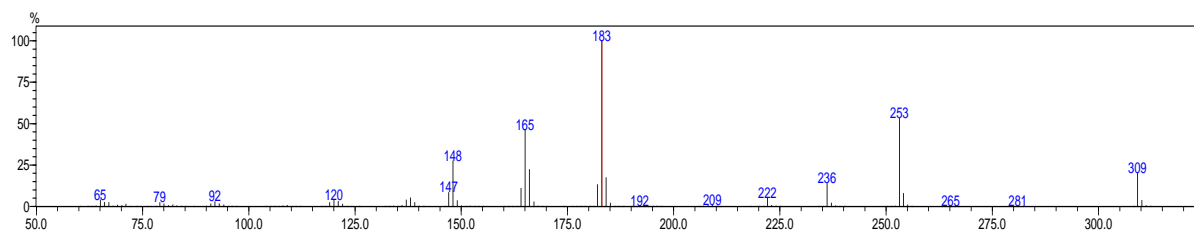


Figura A74. Espectro de massa do 3,5-dimetil-1*H*-pirrol-2,4-dicarboxilato de 2-*tert*-butila-4-pentila (**4d**).

ACETOPENT
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/DMSO (Av400) 26/06/2017
ACETOPENT Eduardo-1/Barbara

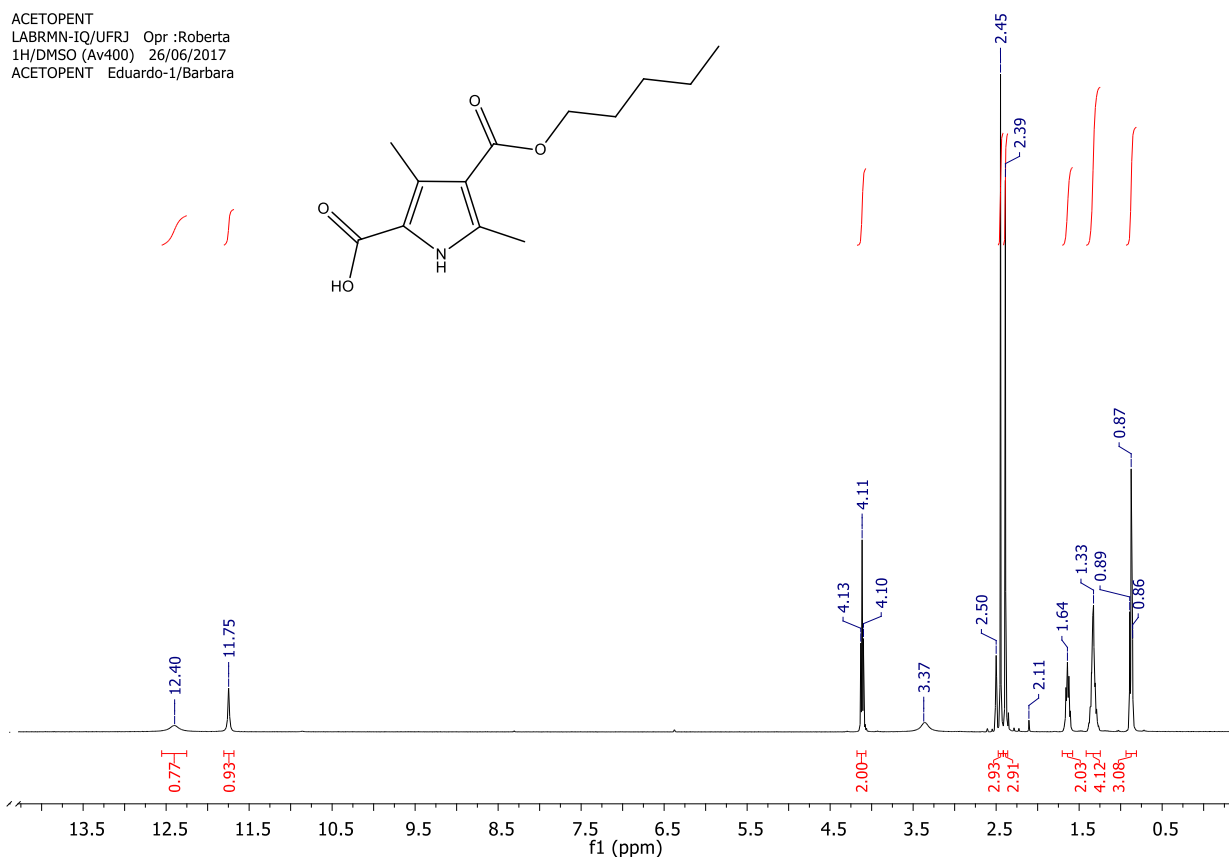


Figura A75. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 4-(pentoxycarbonyl)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (5d).

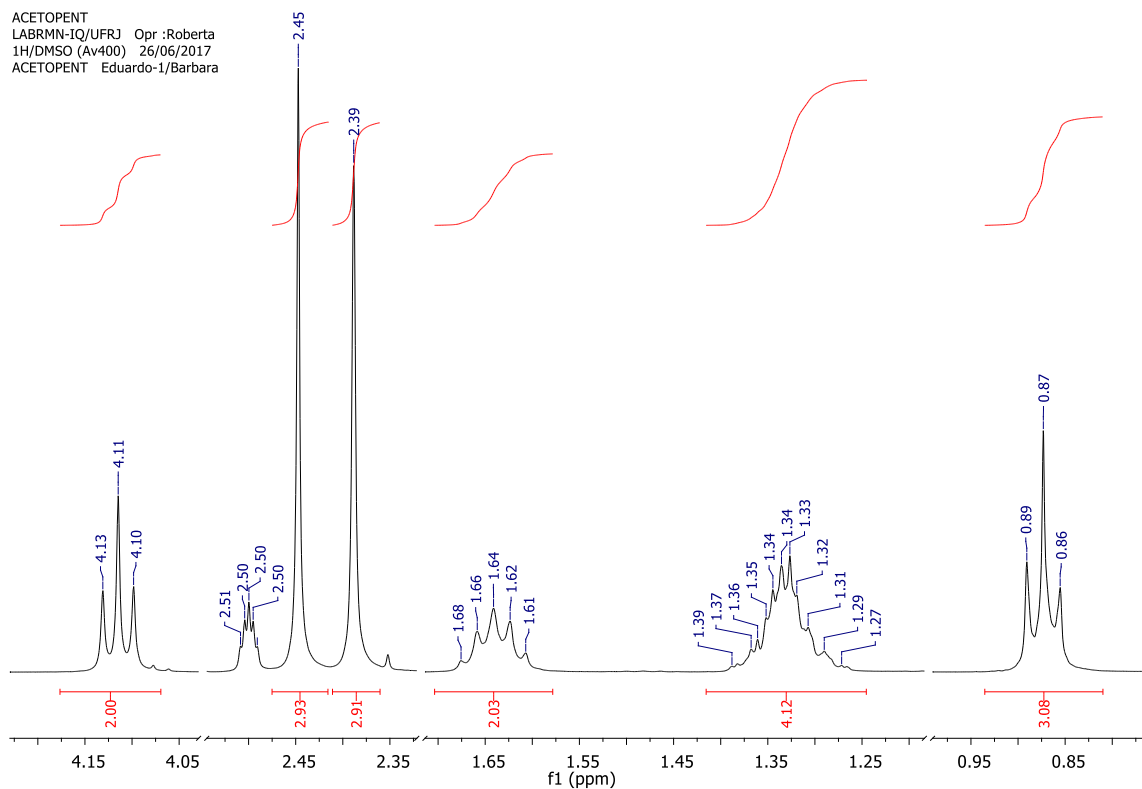


Figura A76. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 4-(pentoxycarbonyl)-3,5-dimetil-1H-pirrol-2-carboxílico (5d).

ACETOPENT
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
13C(H)/DMSO (Av400) 26/06/2017
ACETOPENT Eduardo-2/Barbara
25.2 mg

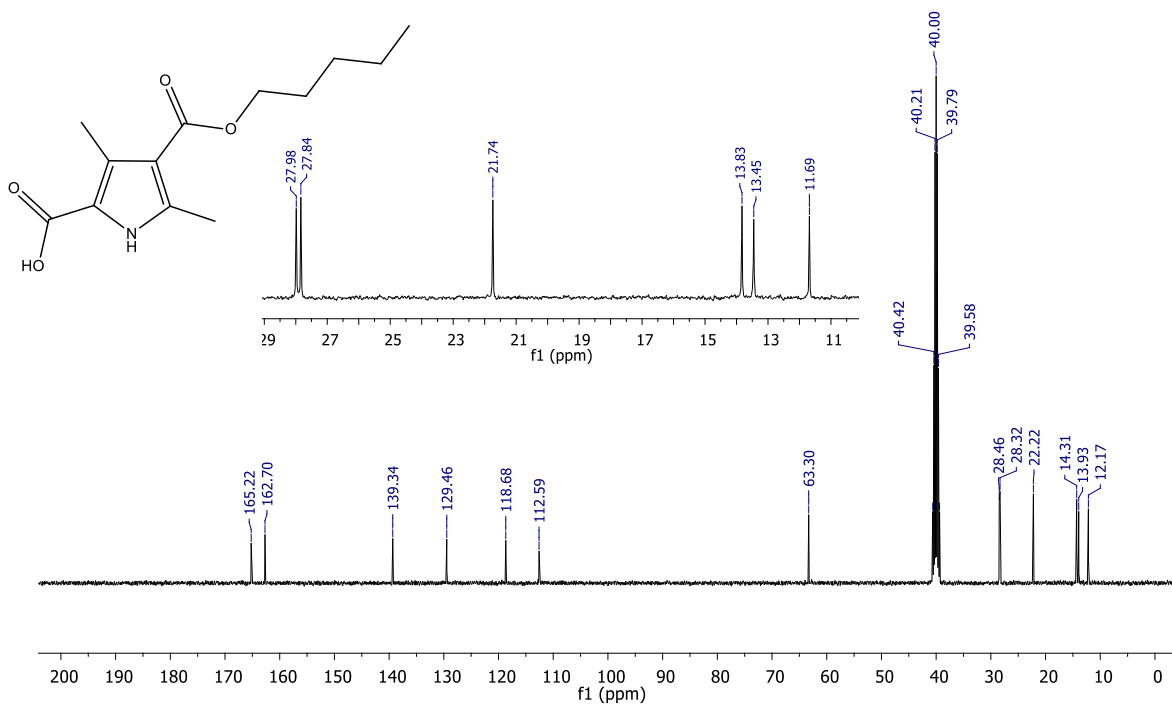


Figura A77. Espectro de RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do ácido 4-(pentoxycarbonyl)-3,5-dimetil-1H-pirrol- 2-carboxílico (5d).

ACETOPENT
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/DMSO (Av400) 26/06/2017
ACETOPENT Eduardo-3/Barbara

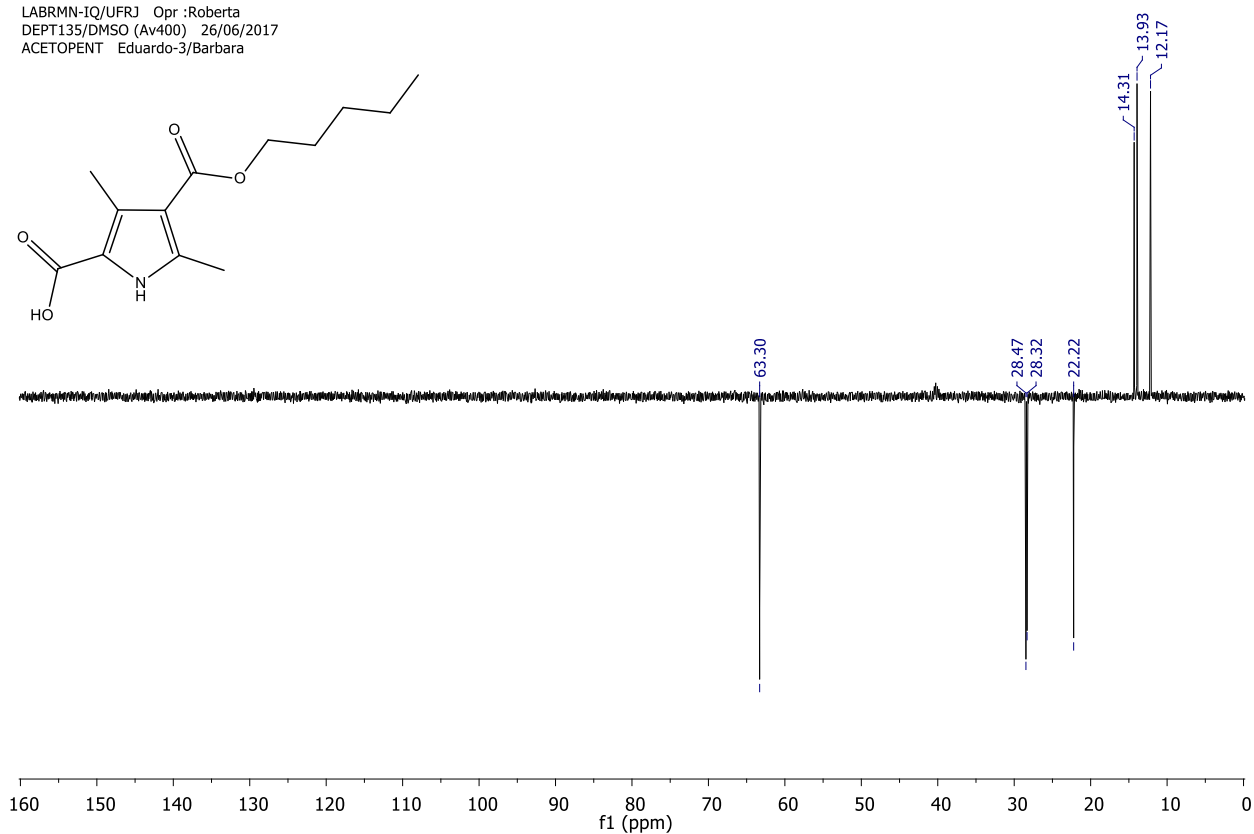


Figura A78. Espectro de RMN DEPT135 (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do ácido 4-(pentoxycarbonyl)-3,5-dimetil-1H-pirrol- 2-carboxílico (5d).

ACETOPENT
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/DMSO (Av400) 26/06/2017
ACETOPENT Eduardo-3/Barbara

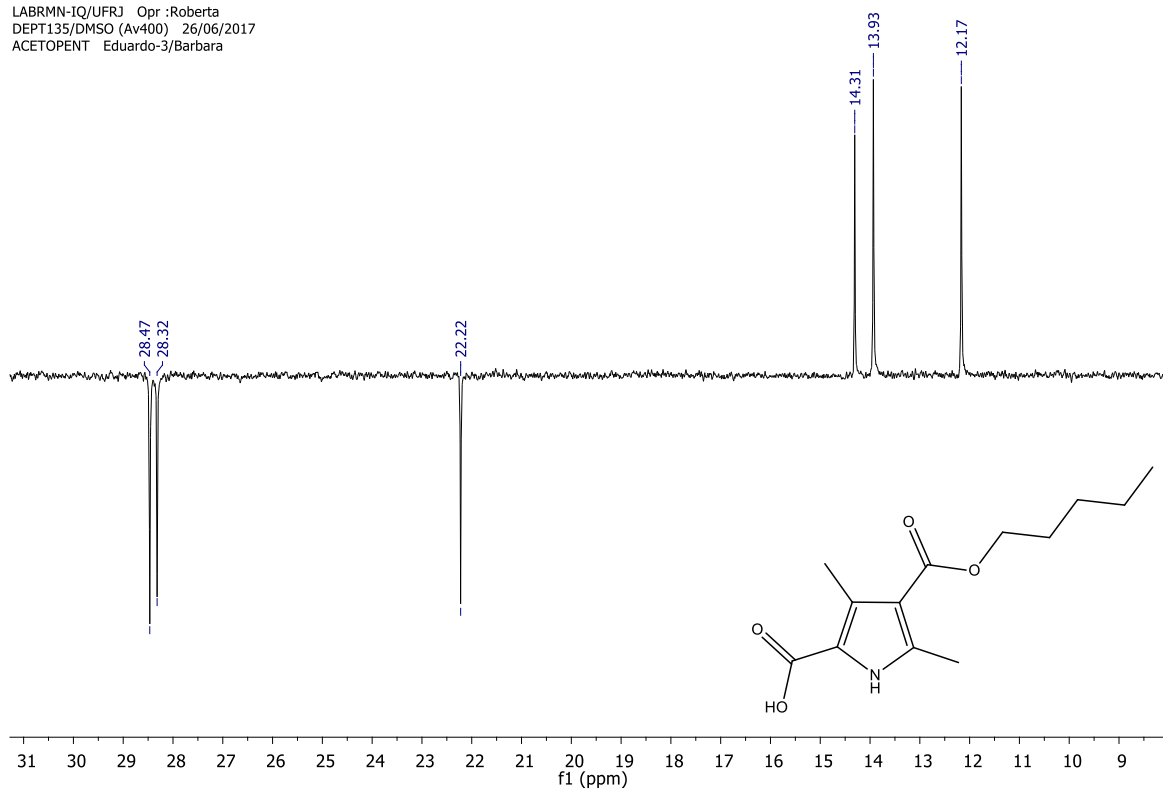


Figura A79. Expansão do espectro de RMN DEPT135 (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do ácido 4-(pentoxycarbonyl)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol- 2-carboxílico (**5d**).

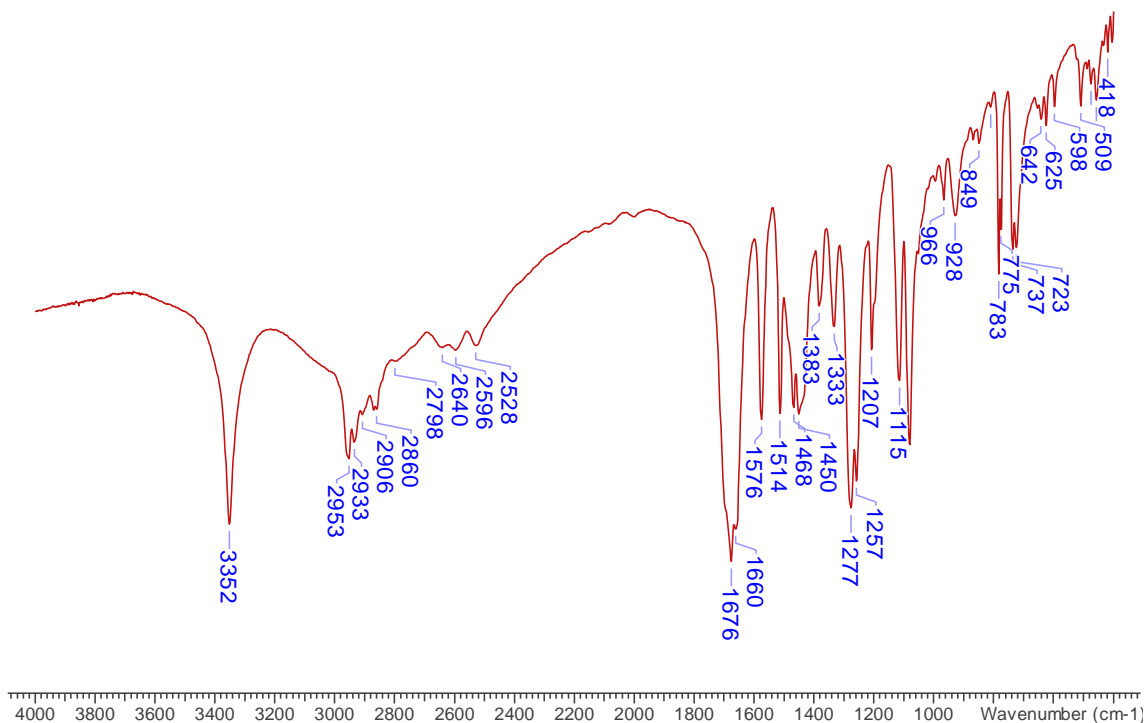


Figura A80. Espectro de IV do ácido 4-(pentoxycarbonyl)-3,5-dimetil-1*H*-pirrol- 2-carboxílico (**5d**).

DESCPEN
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr.:Roberta
 1H/CDCI3 (Av400) 05/06/2017
 DESC-PEN Eduardo-1/Barbara

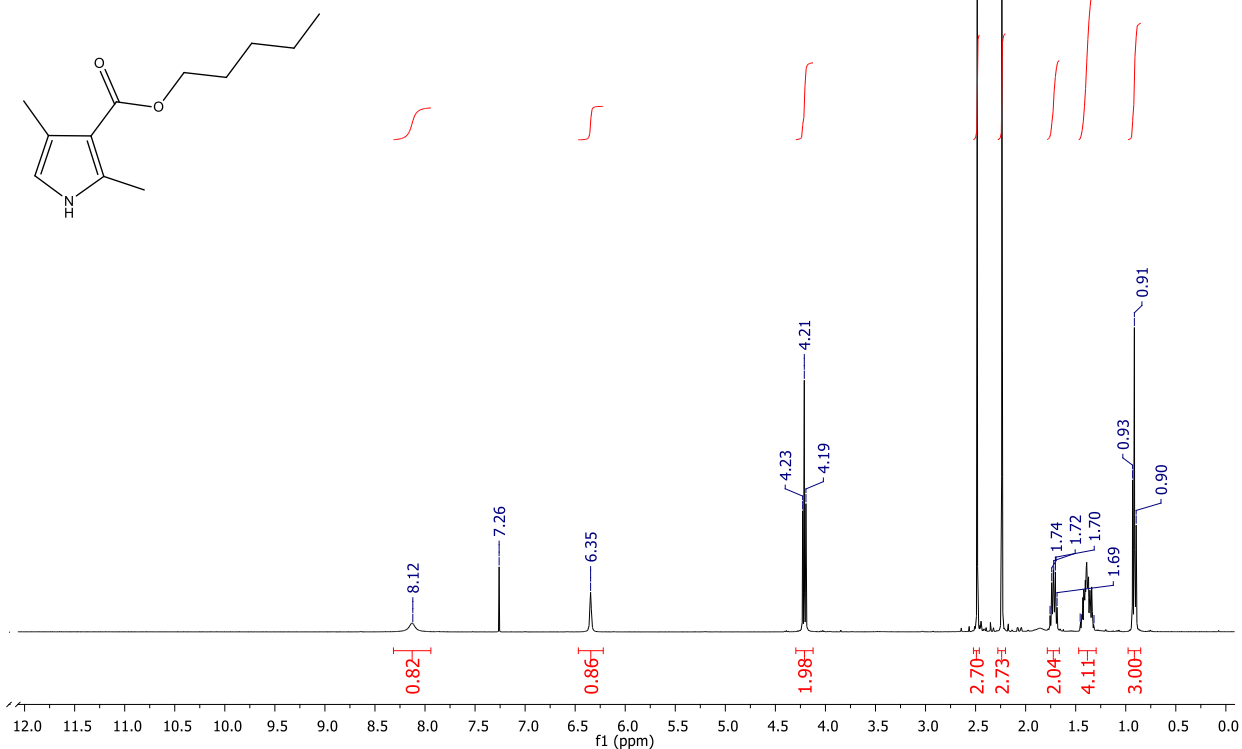


Figura A81. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).

DESCPEN
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr.:Roberta
 1H/CDCI3 (Av400) 05/06/2017
 DESC-PEN Eduardo-1/Barbara

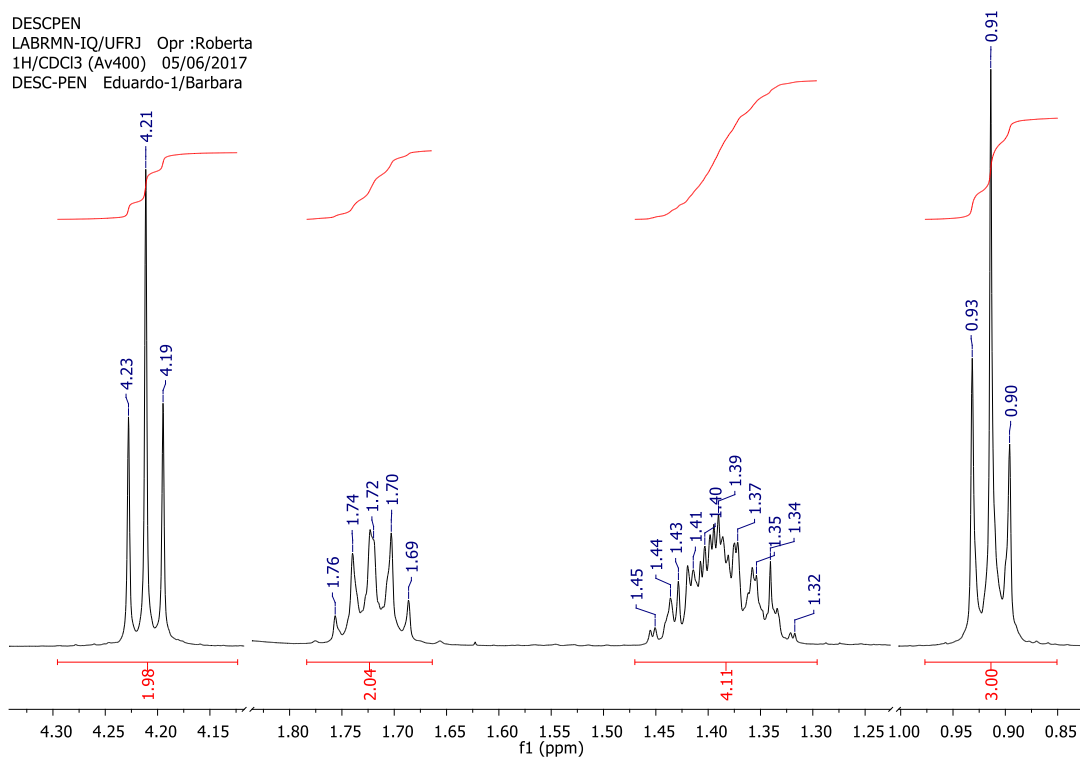


Figura A82. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).

DESCPEN
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr:Roberta
 13C(H)/CDCl3 (Av400) 05/06/2017
 DESC-PEN Eduardo-2/Barbara
 26 mg

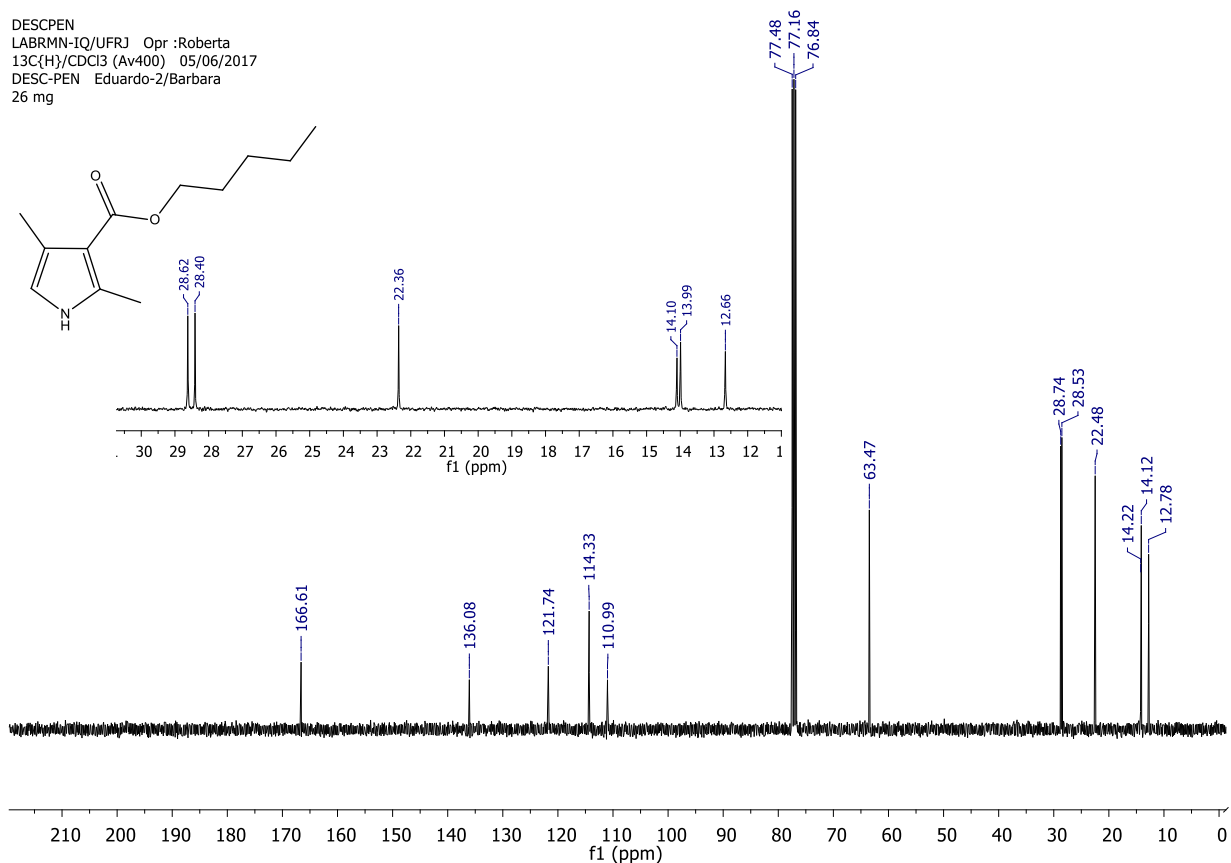


Figura A83. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).

DESCPEN
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr:Roberta
 DEPT135/CDCl3 (Av400) 05/06/2017
 DESC-PEN Eduardo-3/Barbara

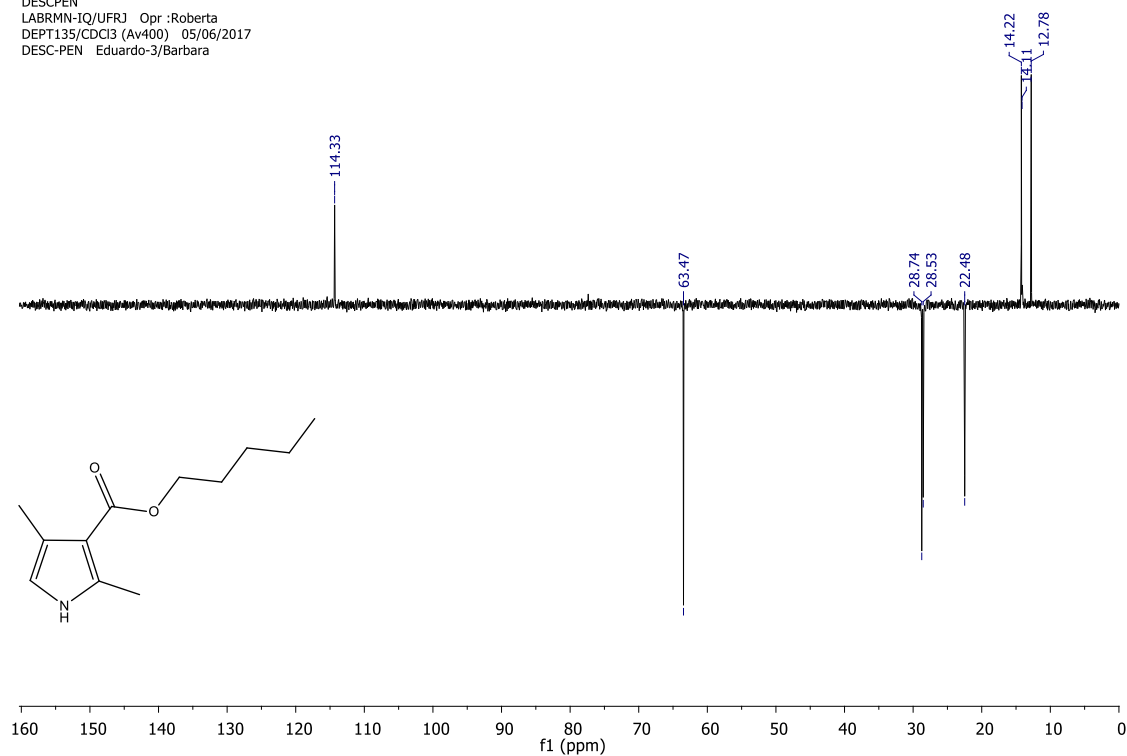


Figura A84. Espectro de RMN DPT135 (CDCl_3 , 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de pentila (6d).

DESCPEN
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/CDCl3 (Av400) 05/06/2017
DESC-PEN Eduardo-3/Barbara

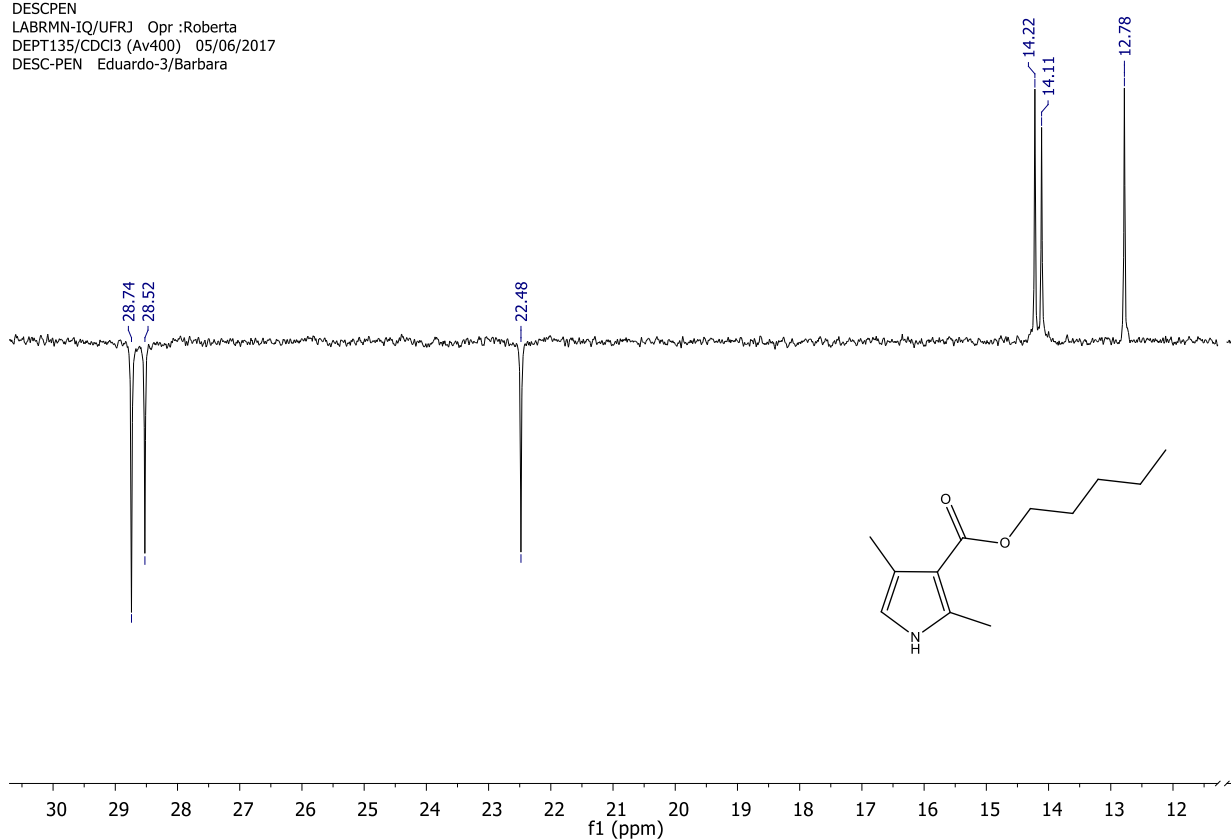


Figura A85. Expansão do espectro de RMN DPT135 (CDCl₃, 400 MHz) do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de pentila (**6d**).

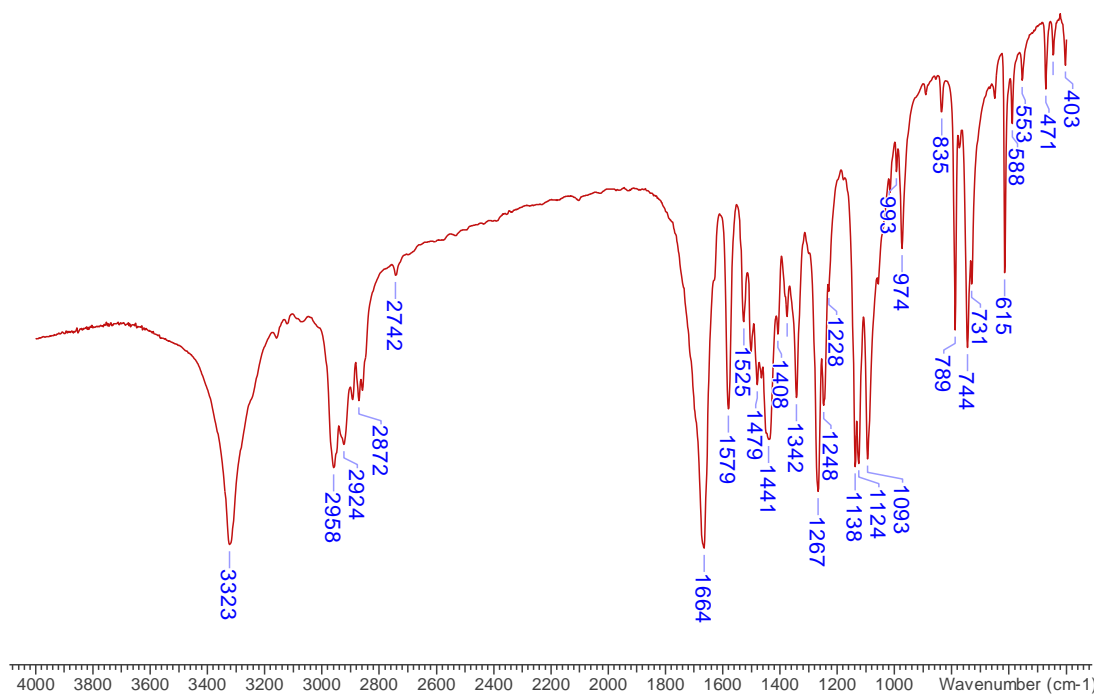


Figura A86. Espectro de IV do 2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxilato de pentila (**6d**).

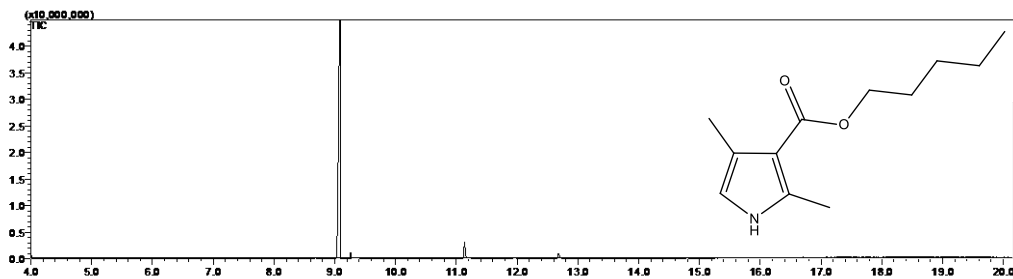


Figura A87. Cromatograma de CG do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de pentila (**6d**).

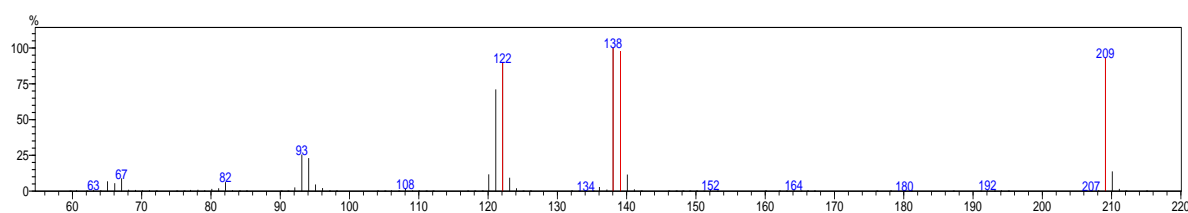


Figura A88. Espectro de massa do 2,4-dimetil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de pentila (**6d**).

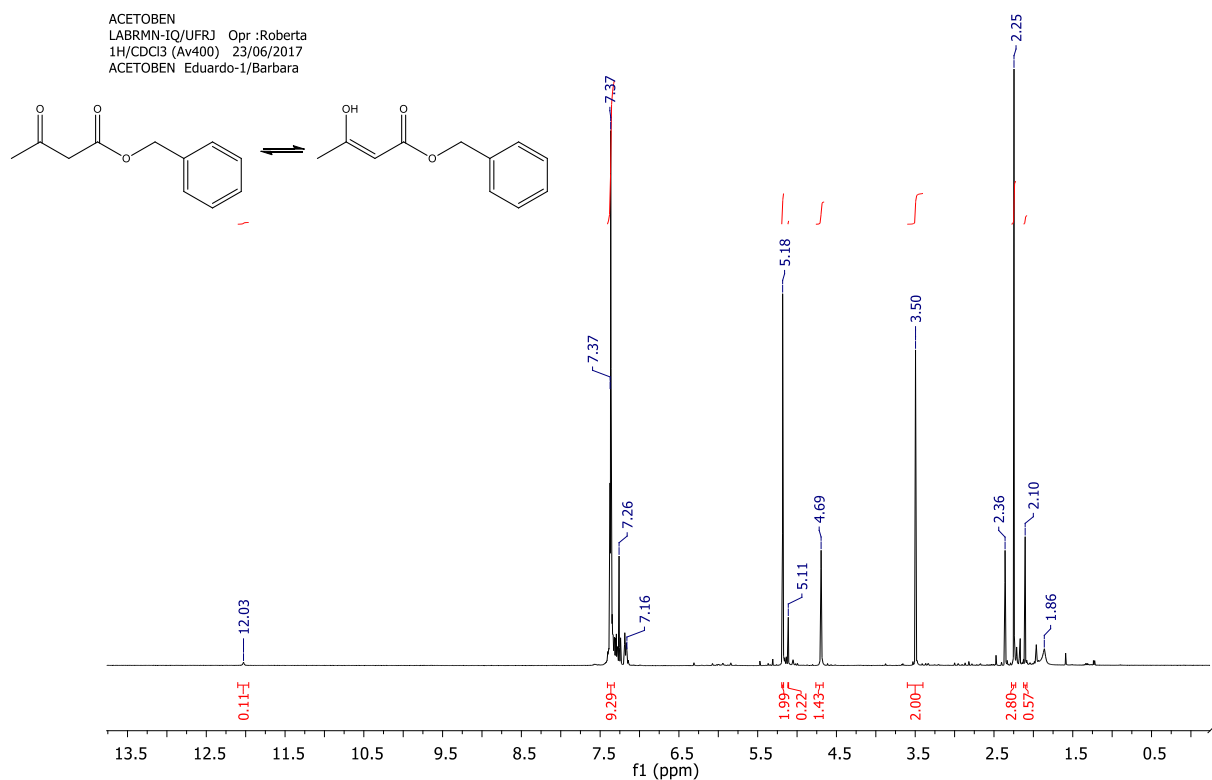


Figura A89. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**).

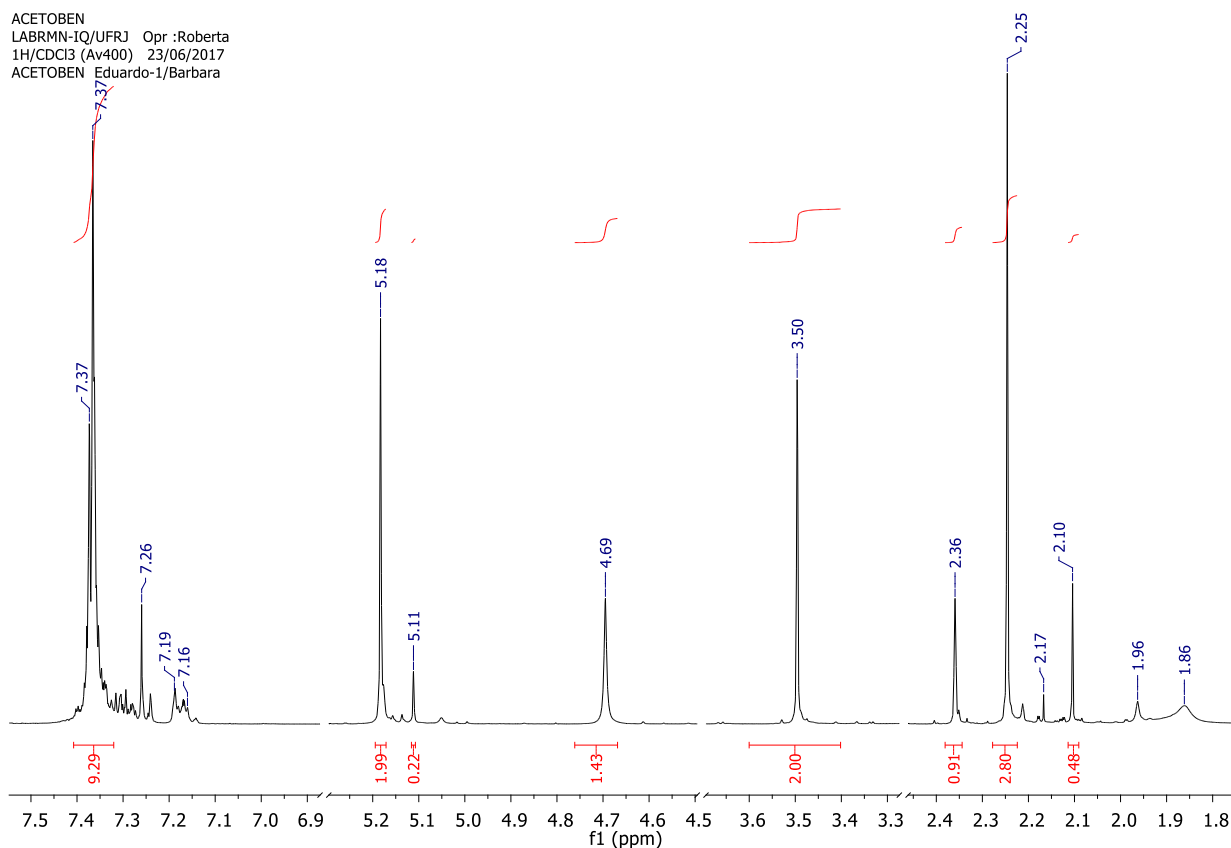


Figura A90. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**).

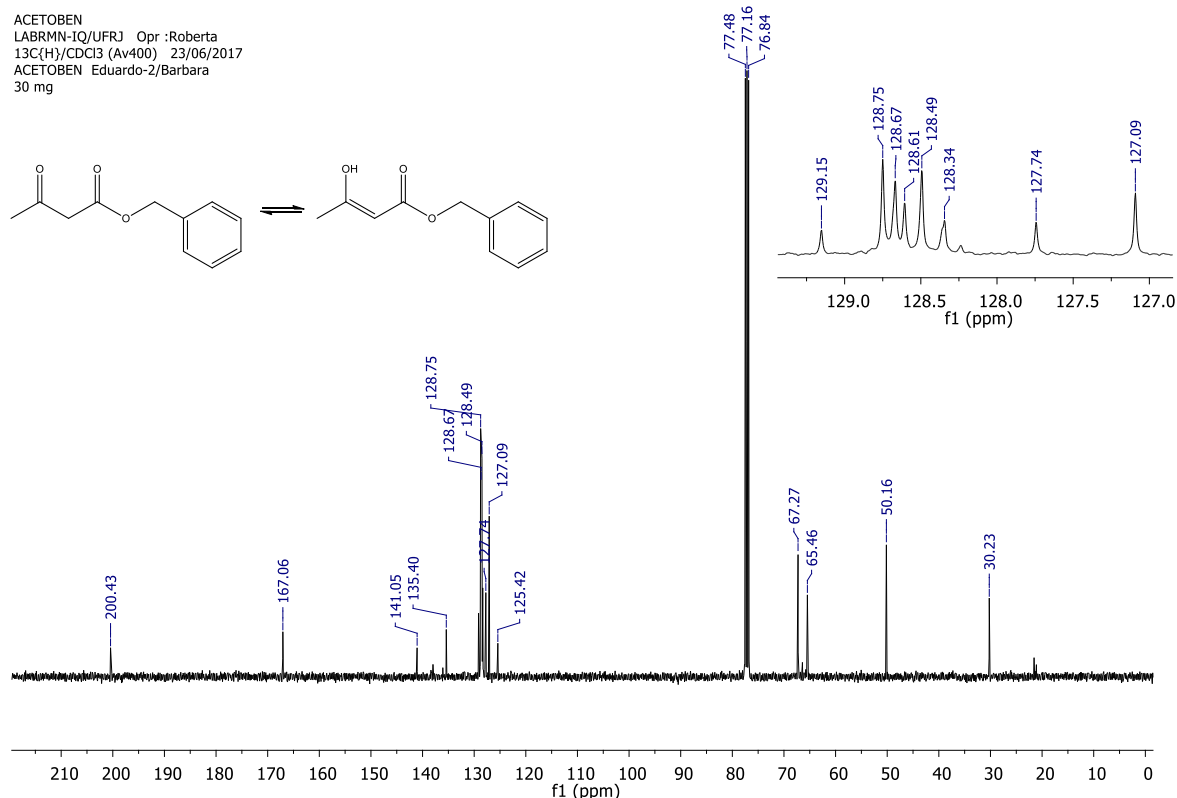


Figura A91. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**).

ACETOBEN
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/CDCl3 (Av400) 23/06/2017
ACETOBEN Eduardo-3/Barbara

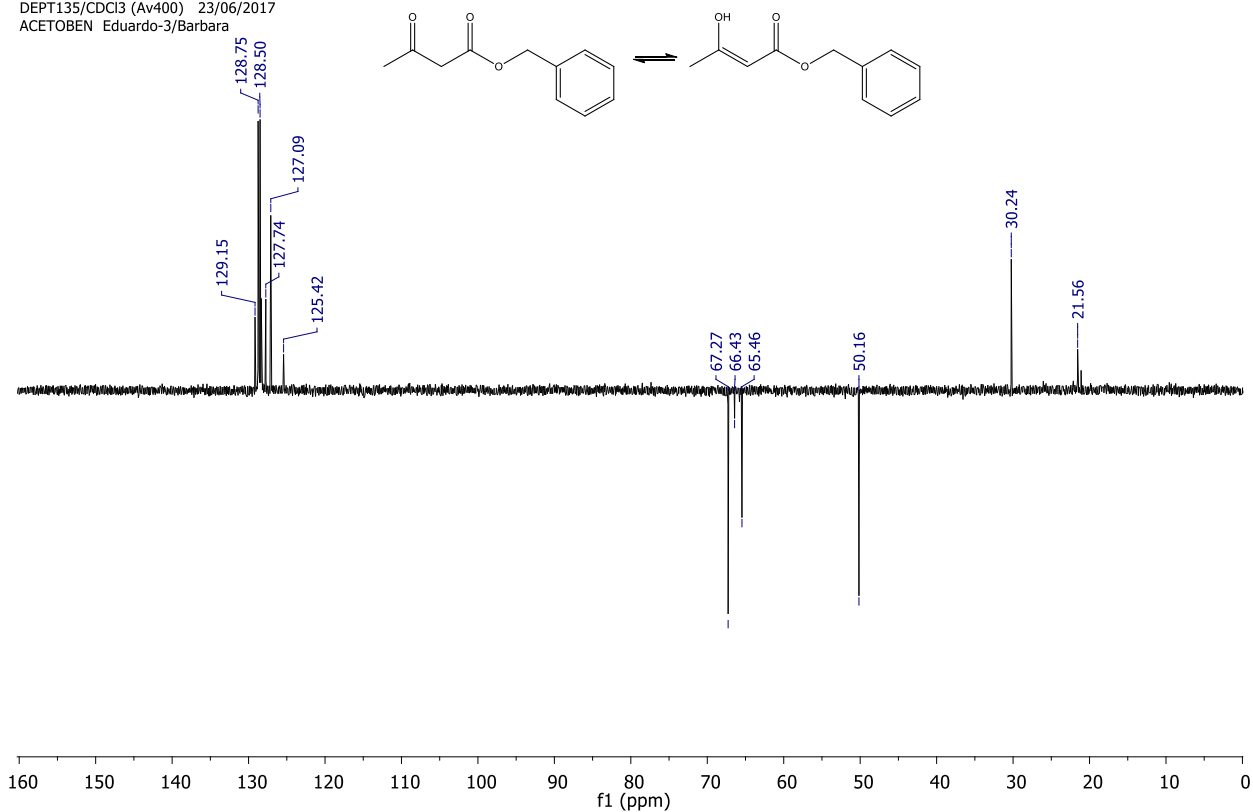


Figura A92. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**).

ACETOBEN
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
DEPT135/CDCl3 (Av400) 23/06/2017
ACETOBEN Eduardo-3/Barbara

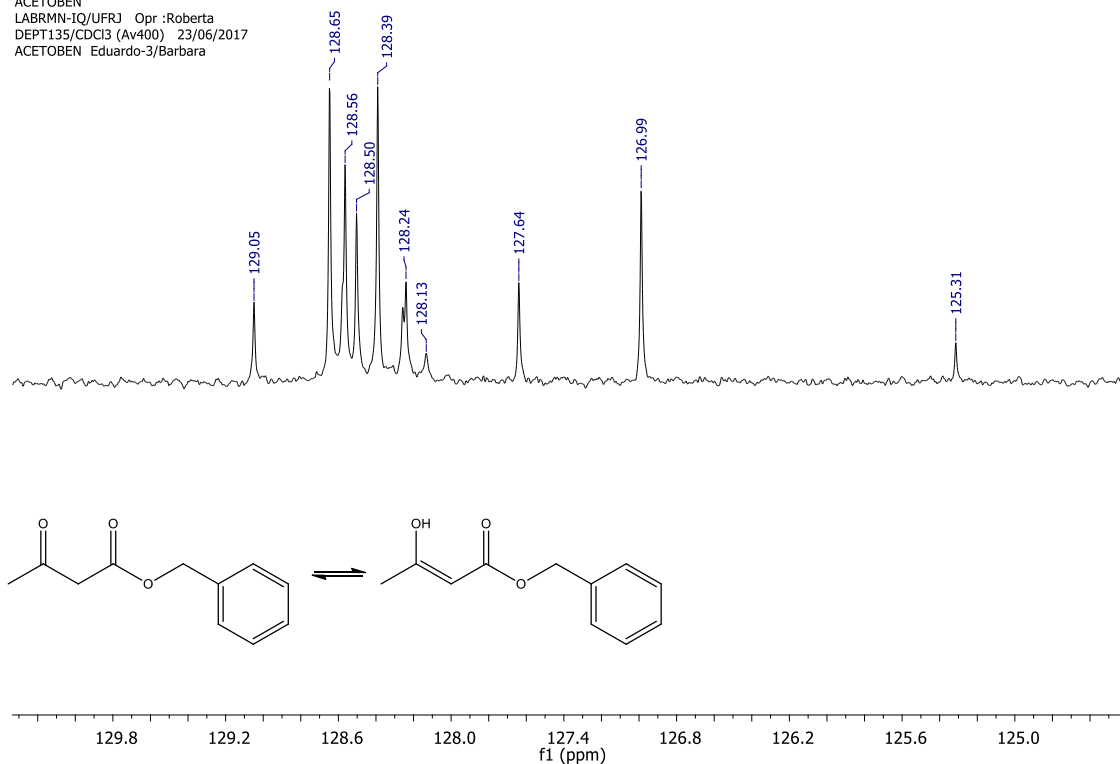


Figura A93. Expansão do espectro de RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz) do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**).

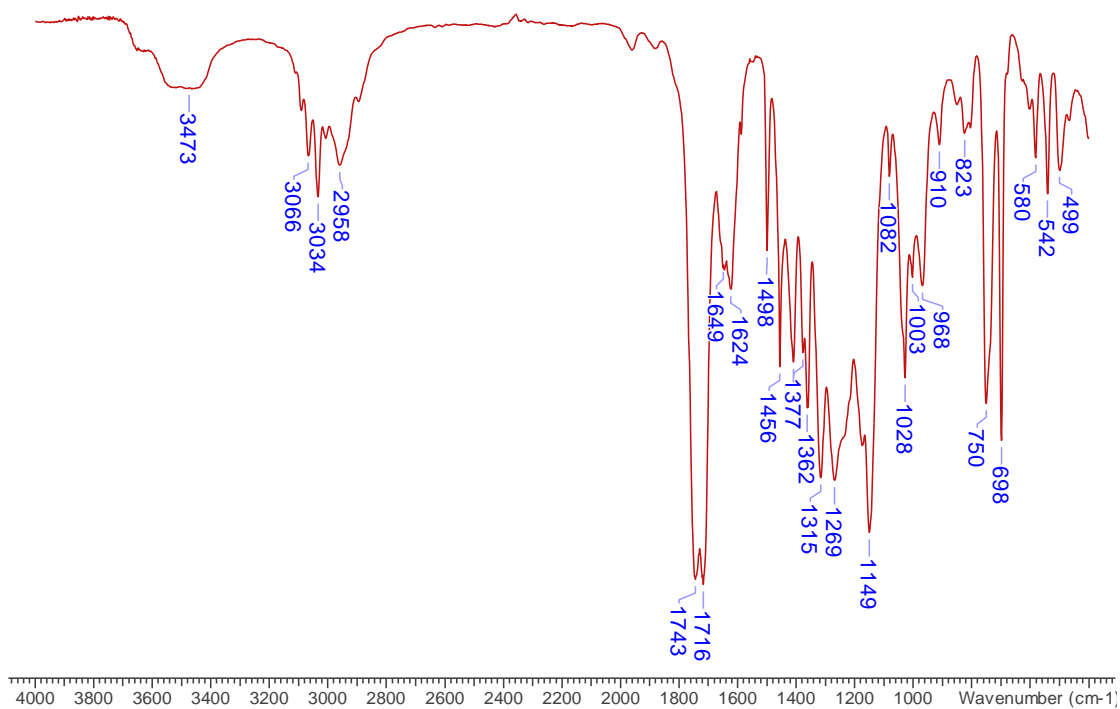


Figura A94. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**).

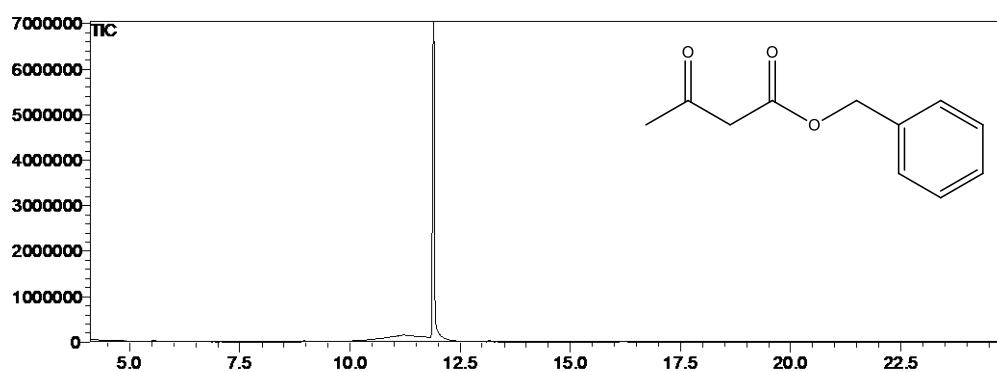


Figura A95. Cromatograma CG do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**).

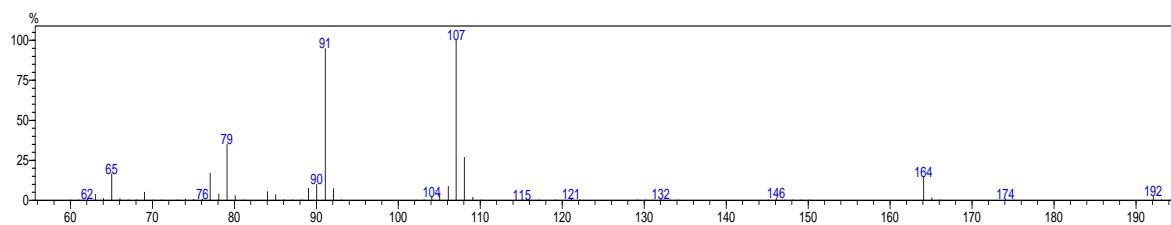


Figura A96. Espectro de massa do 3-oxobutanoato de benzila (**1e**).

AACETPNO
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/CDCI3 (Av400) 13/07/2017
AACETPNO Eduardo-1/Barbara

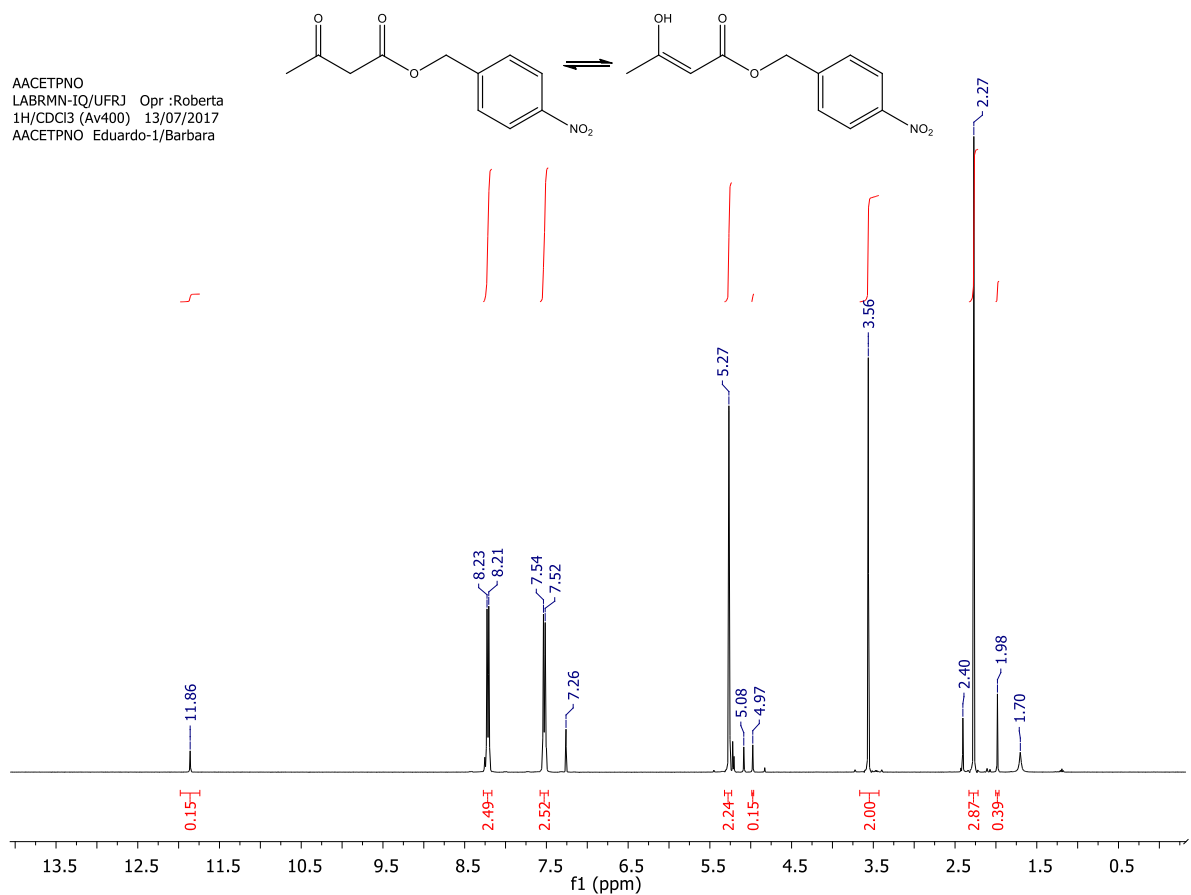


Figura A97. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do 3-oxobutanoato de *p*-nitro benzila (1f).

AACETPNO
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/CDCI3 (Av400) 13/07/2017
AACETPNO Eduardo-1/Barbara

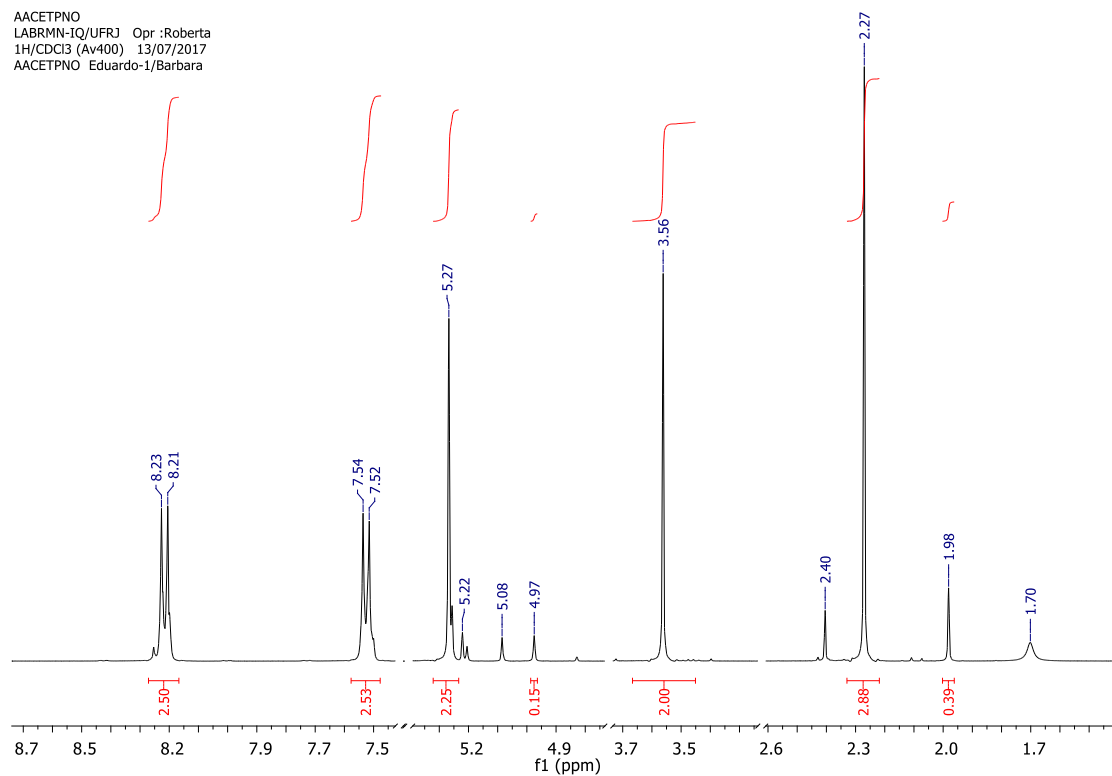


Figura A98. Expansão do espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do 3-oxobutanoato de *p*-nitro benzila (1f).

AACETPNO
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
 13C(H)/CDCl3 (Av400) 13/07/2017
 AACETPNO Eduardo-2/Barbara
 26 mg

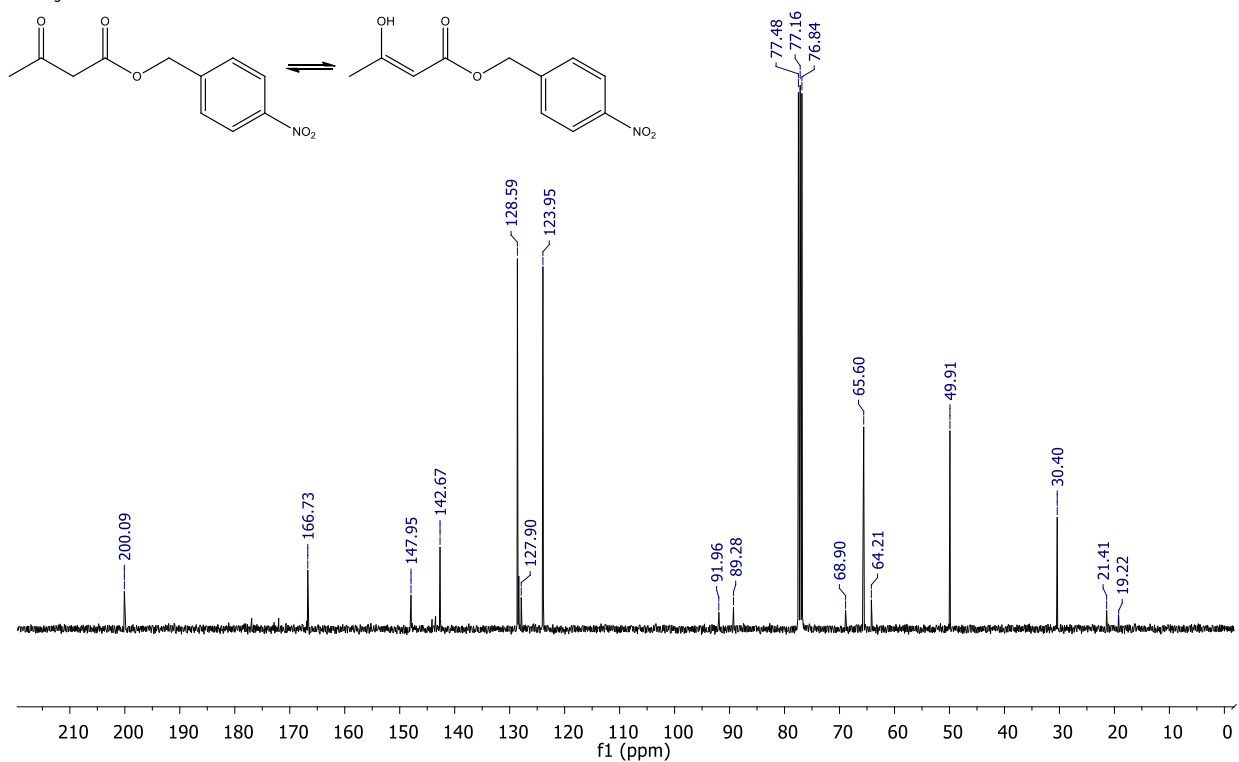


Figura A99. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de *p*-nitro benzila (1f).

AACETPNO
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
 DEPT135/CDCl3 (Av400) 13/07/2017
 AACETPNO Eduardo-3/Barbara

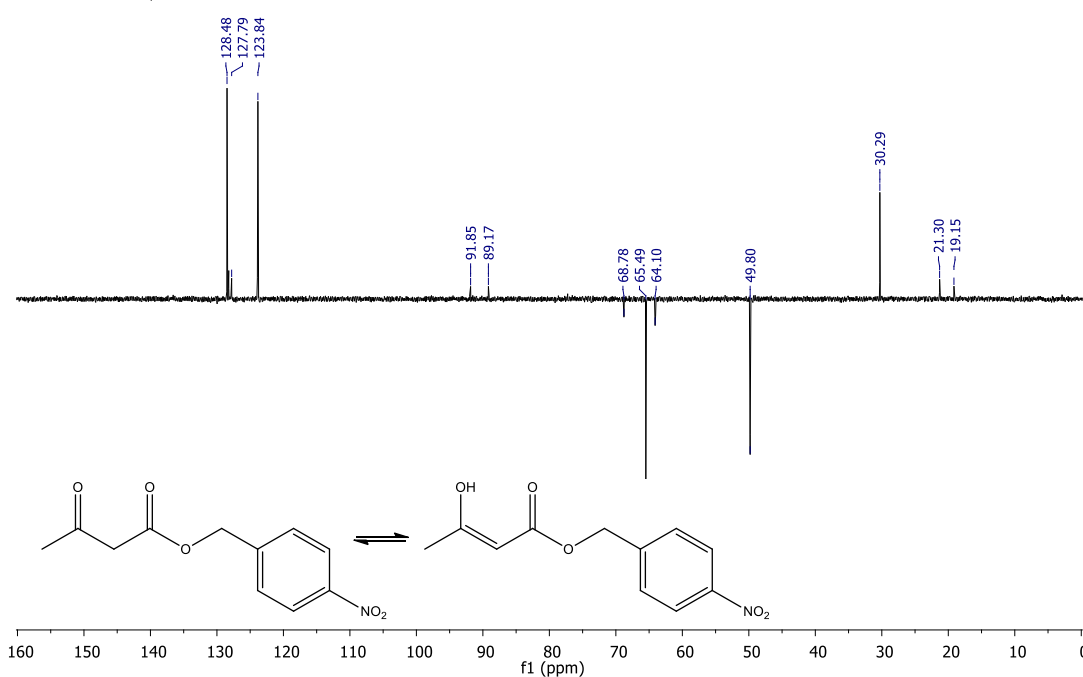


Figura A100. Espectro de RMN DEP135 (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de *p*-nitro benzila (1f).

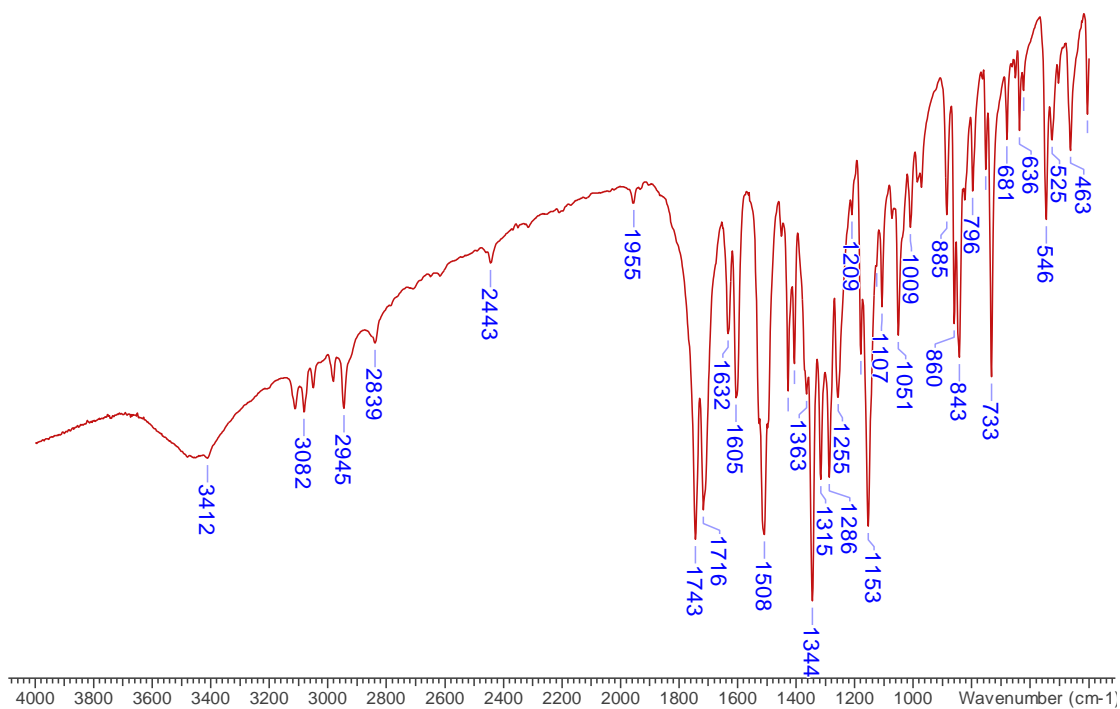


Figura A101. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de *p*-nitro benzila (**1f**).

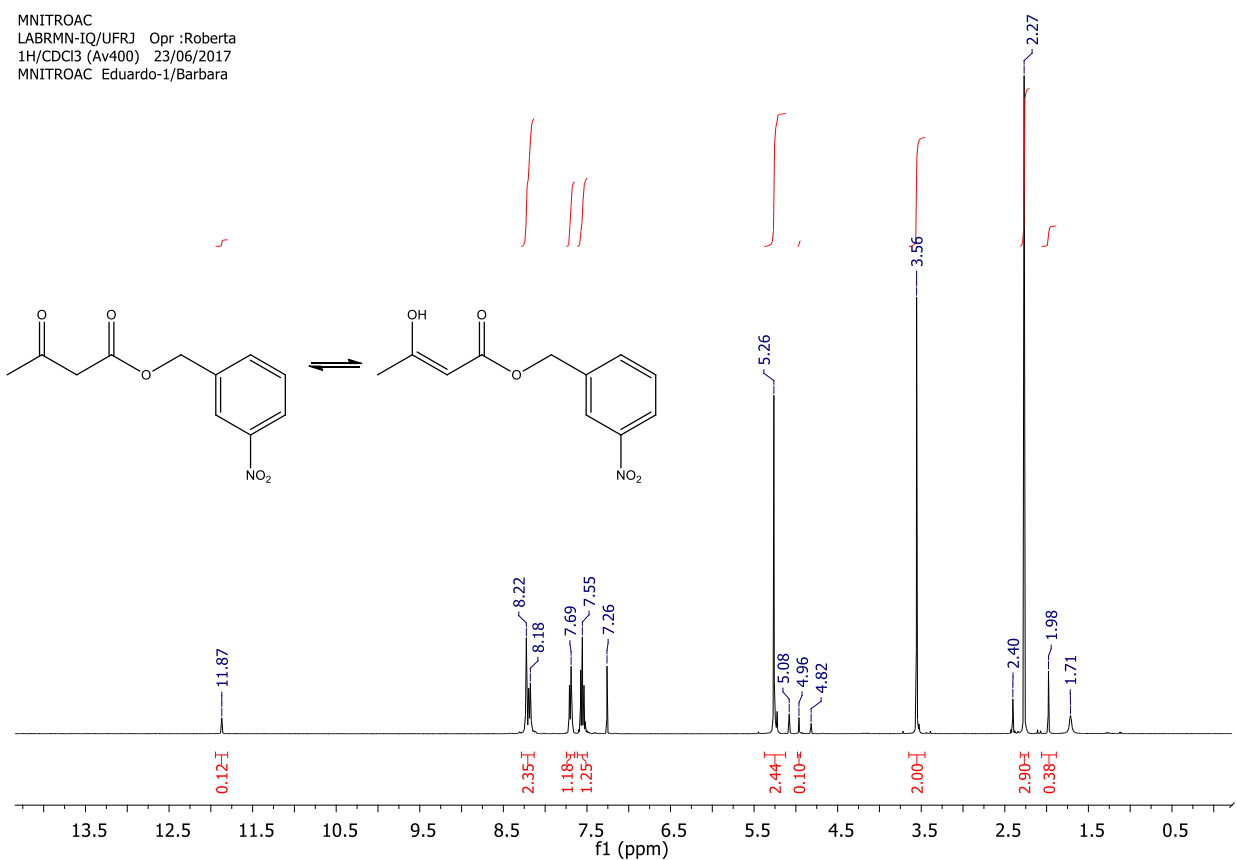


Figura A102. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de *m*-nitro benzila (**1g**).

MNITROAC
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/CDCI3 (Av400) 23/06/2017
MNITROAC Eduardo-1/Barbara

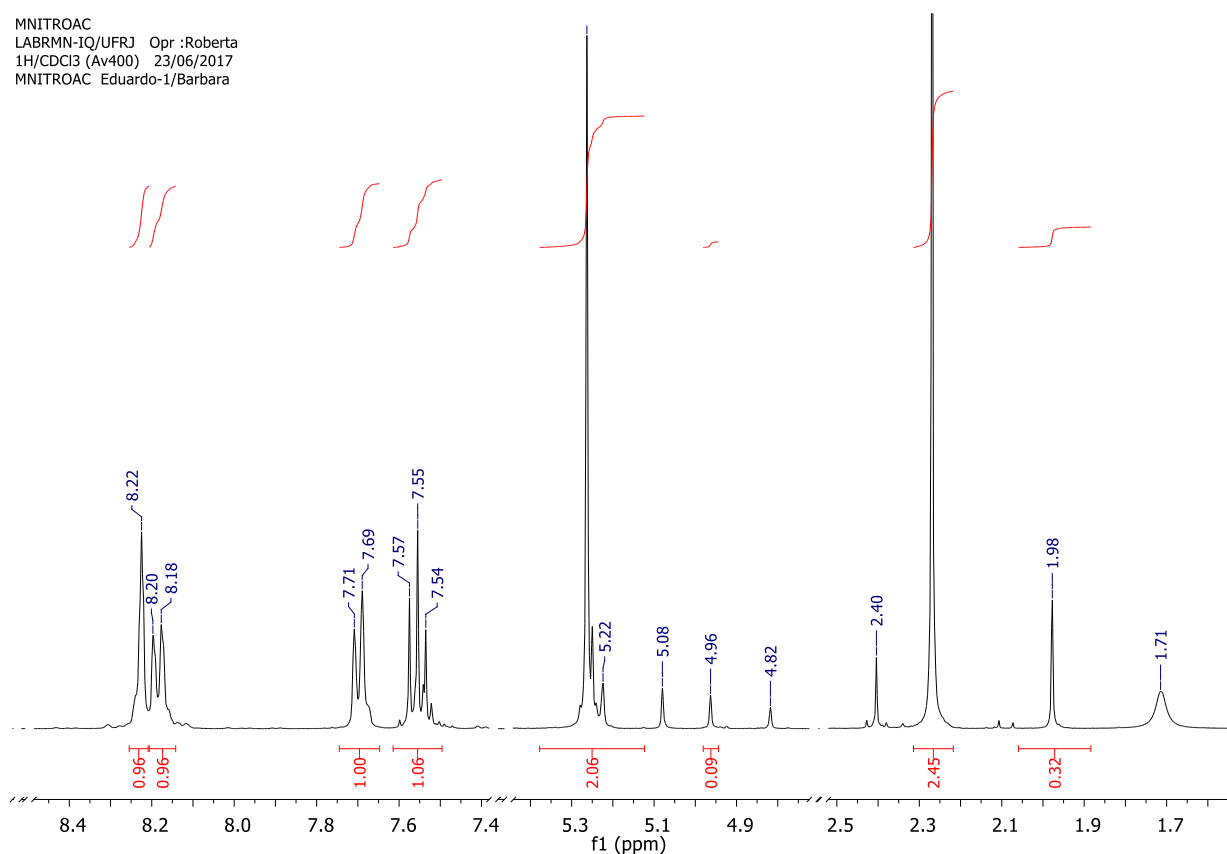


Figura A103. Expansão do espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do 3-oxobutanoato de *m*-nitro benzila (**1g**).

MNITROAC
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
13C{H}/CDCl3 (Av400) 23/06/2017
MNITROAC Eduardo-2/Barbara
27 mg

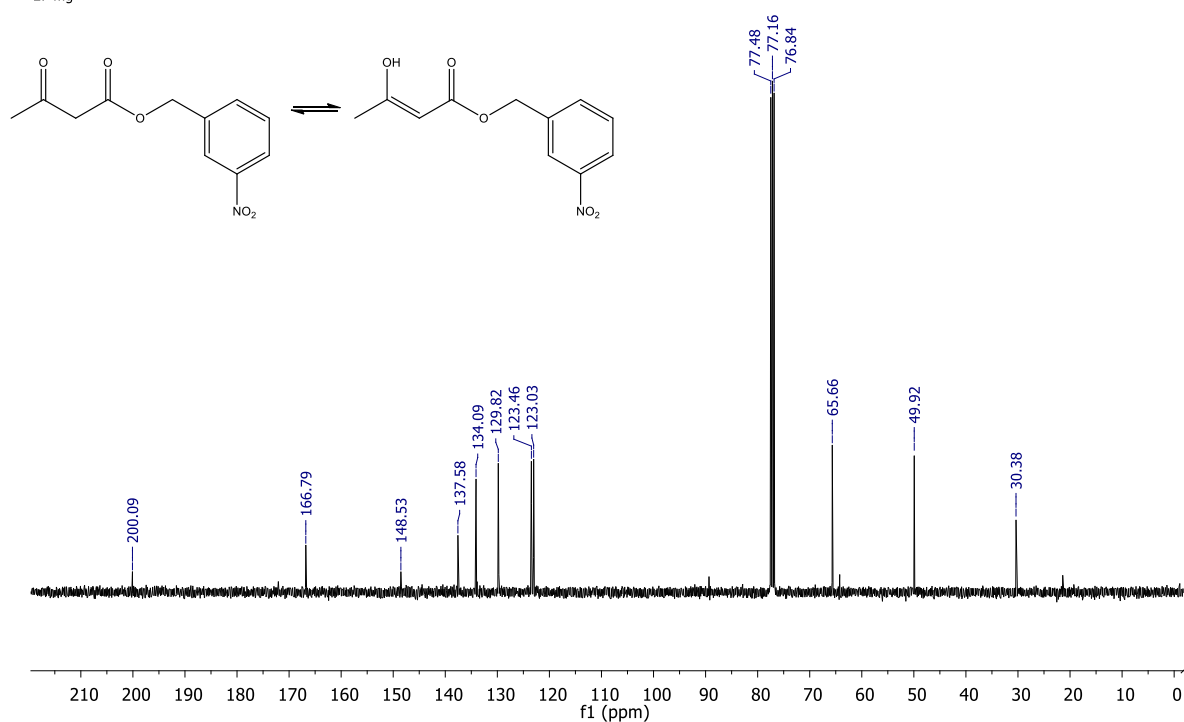


Figura A104. Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz) do 3-oxobutanoato de *m*-nitro benzila (**1g**).

MNITROAC
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
 DEPT135/CDCl3 (Av400) 23/06/2017
 MNITROAC Eduardo-3/Barbara

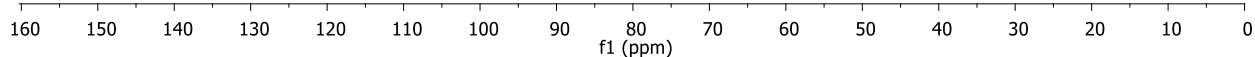
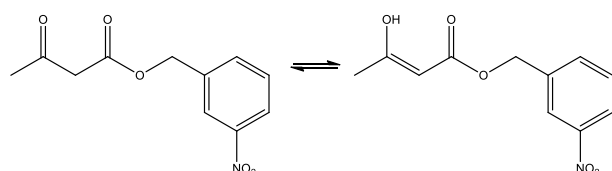
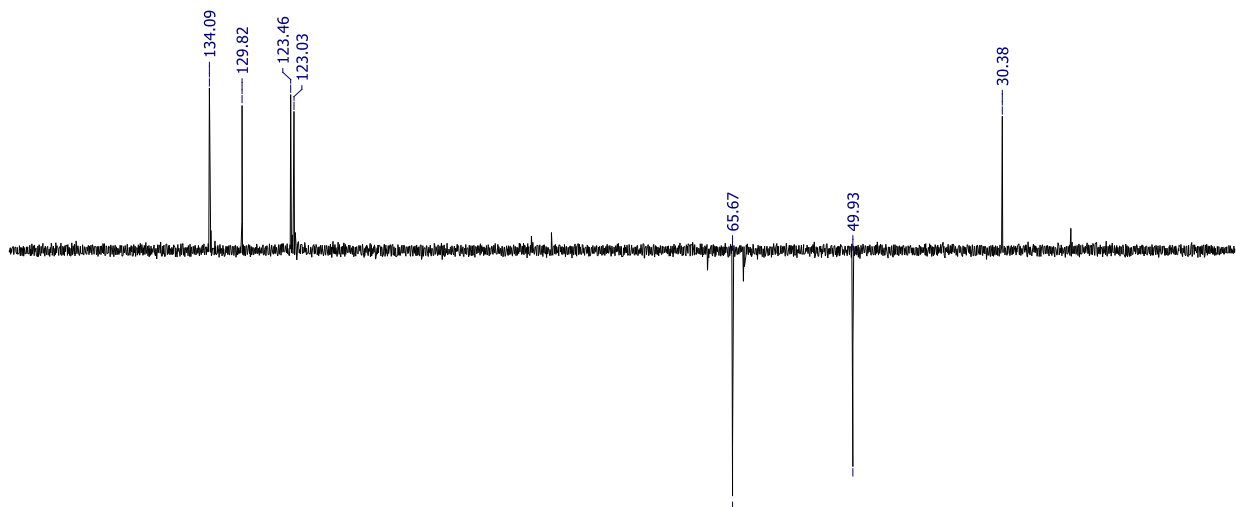


Figura A105. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 400 MHz) do 3-oxobutanoato de *m*-nitro benzila (1g).

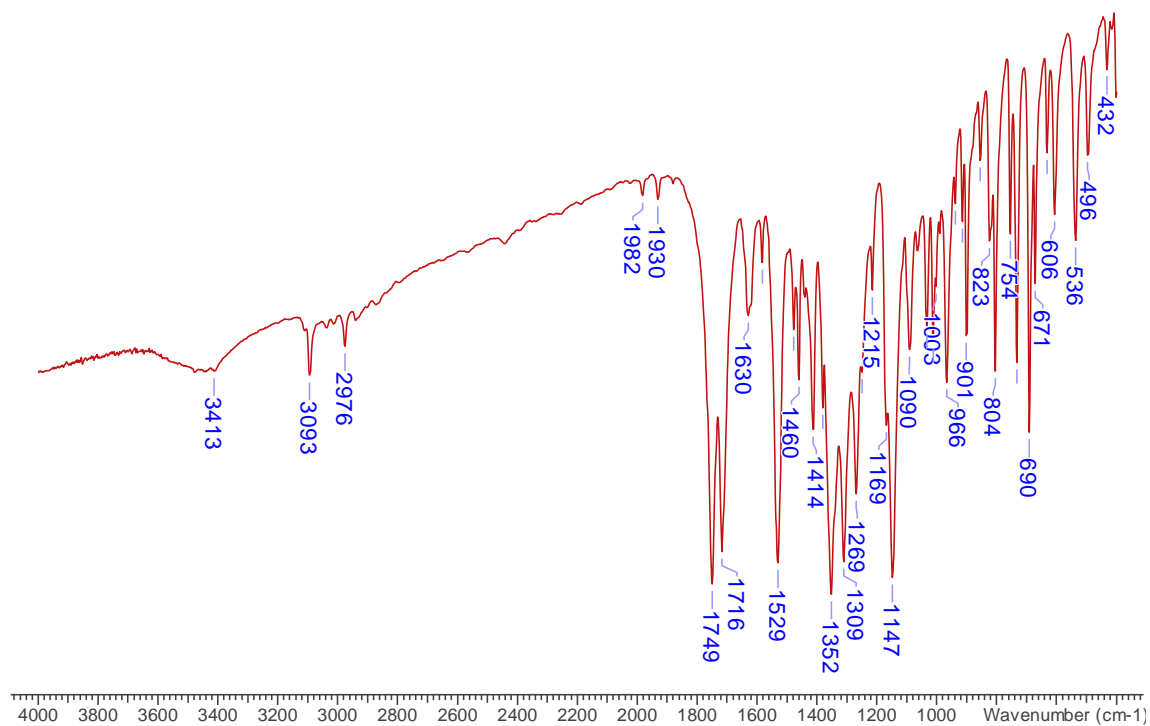


Figura A106. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de *m*-nitro benzila (1g).

ACETTI01
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr.:Roberta
 1H/CDCI3 (Av400) 13/07/2017
 ACETTI01 Eduardo-1/Barbara

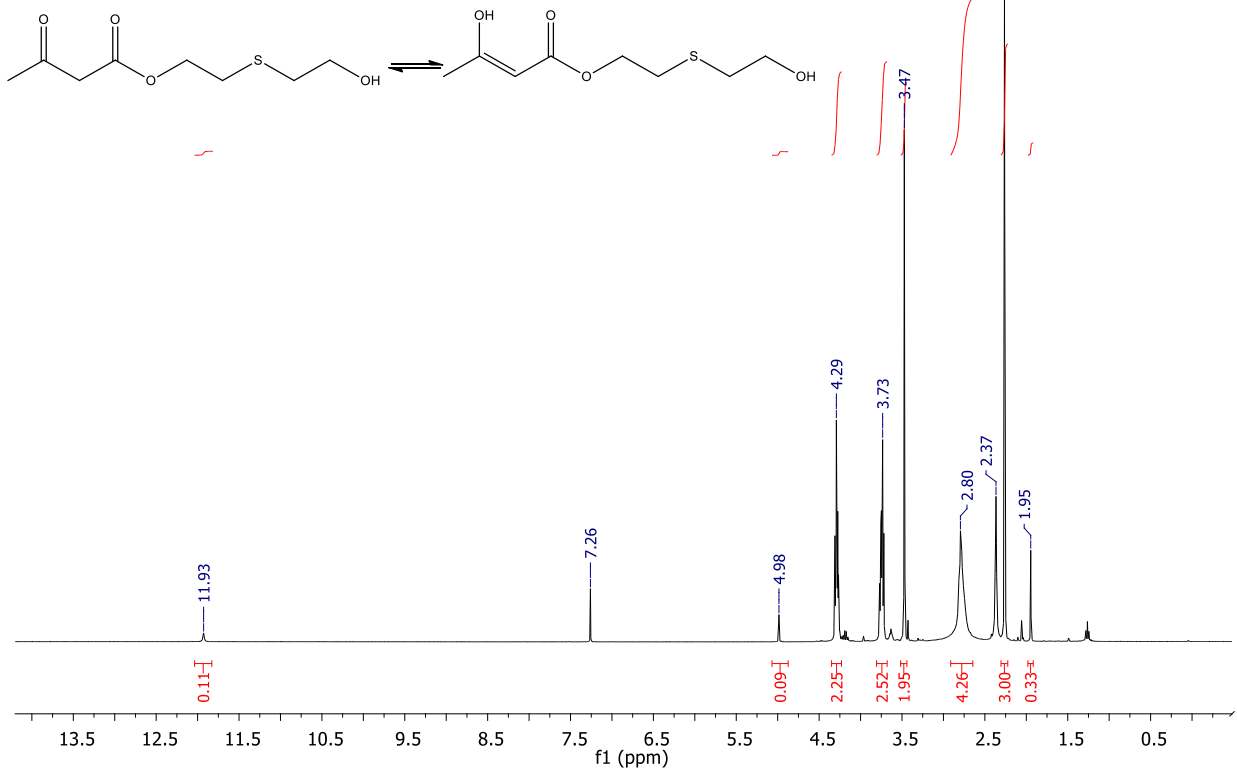


Figura A107. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxietil)tio) etila (**1h**).

ACETTI01
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr.:Roberta
 1H/CDCI3 (Av400) 13/07/2017
 ACETTI01 Eduardo-1/Barbara

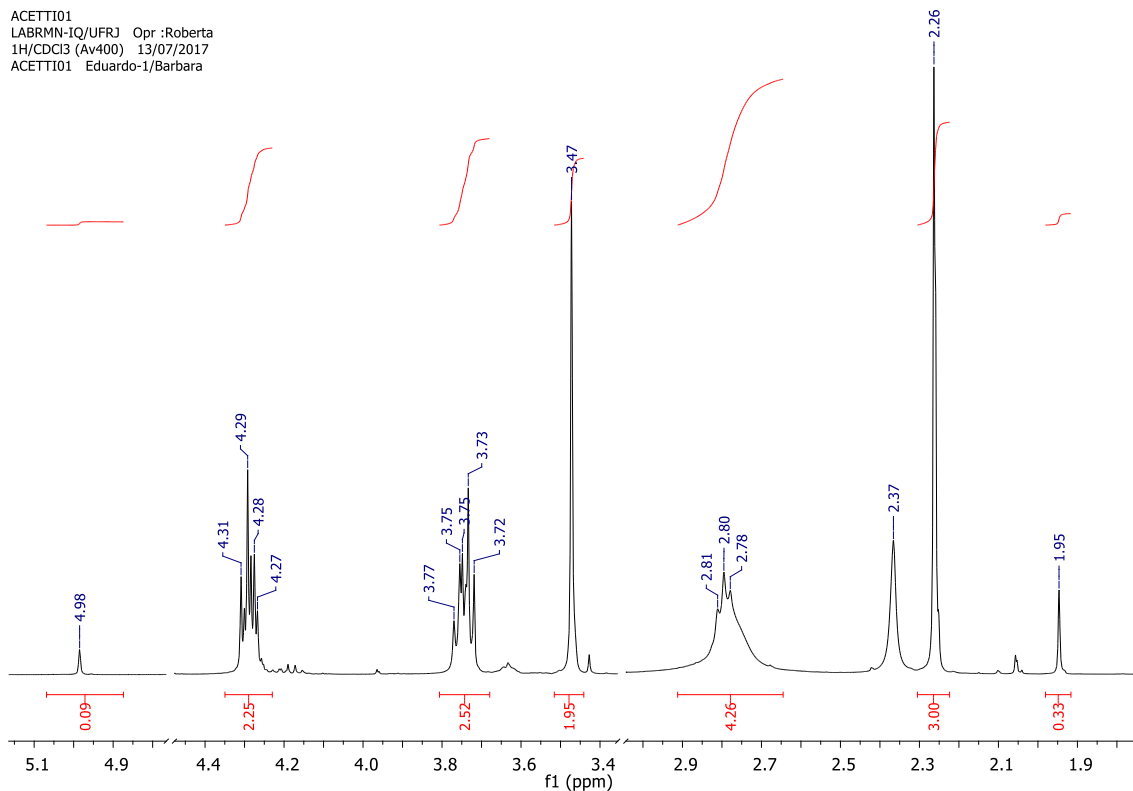


Figura A108. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxietil)tio) etila (**1h**).

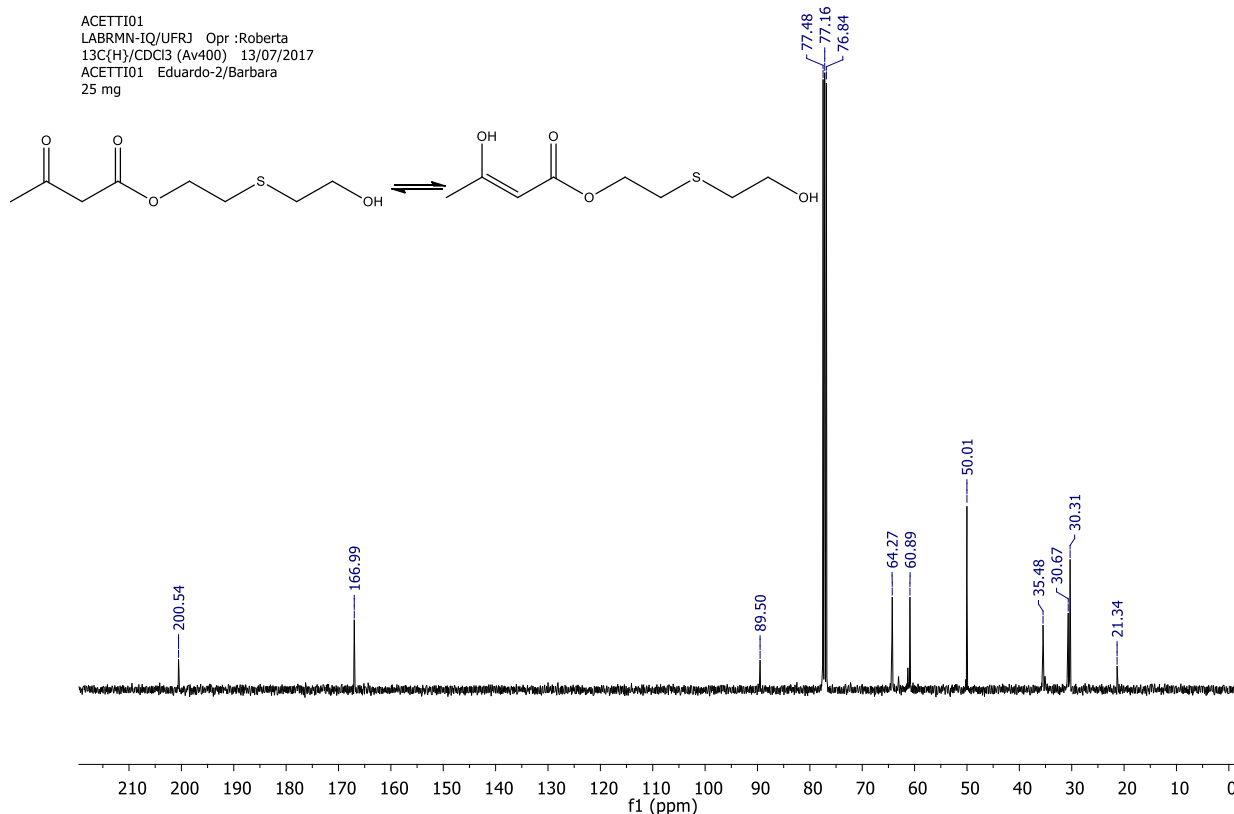


Figura A109. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxi-etil)tio) etila (**1h**).

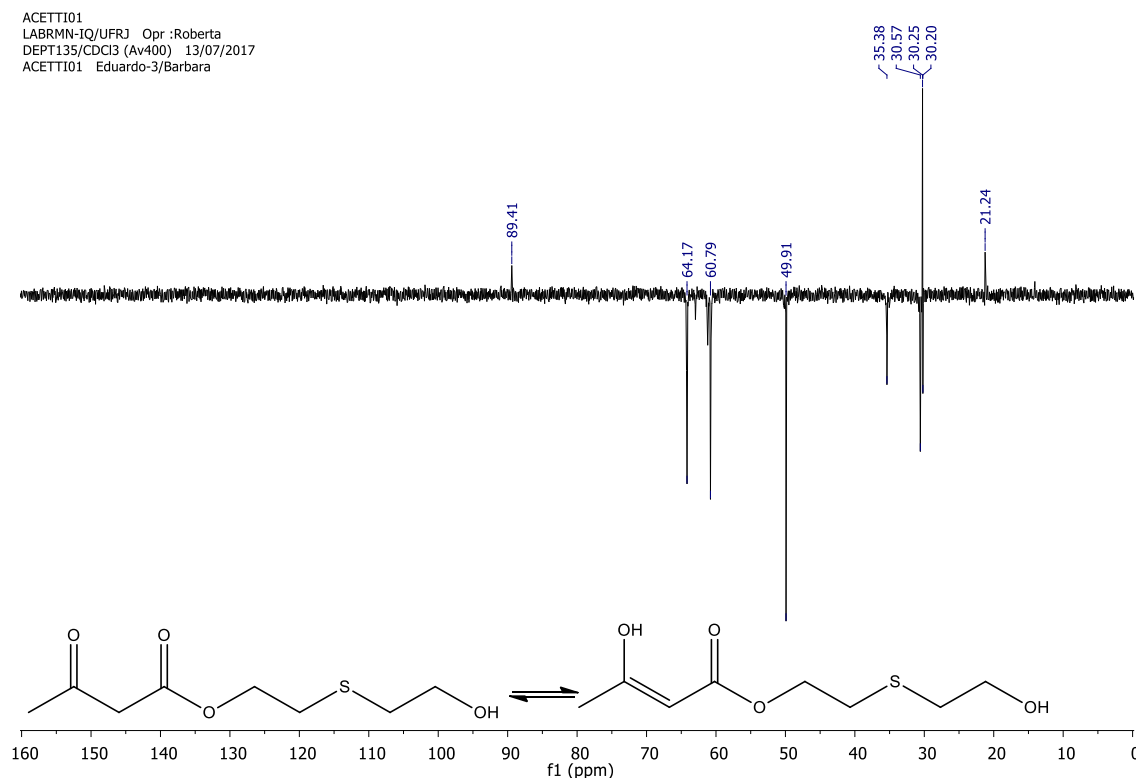


Figura A110. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxi-etil)tio) etila (**1h**).

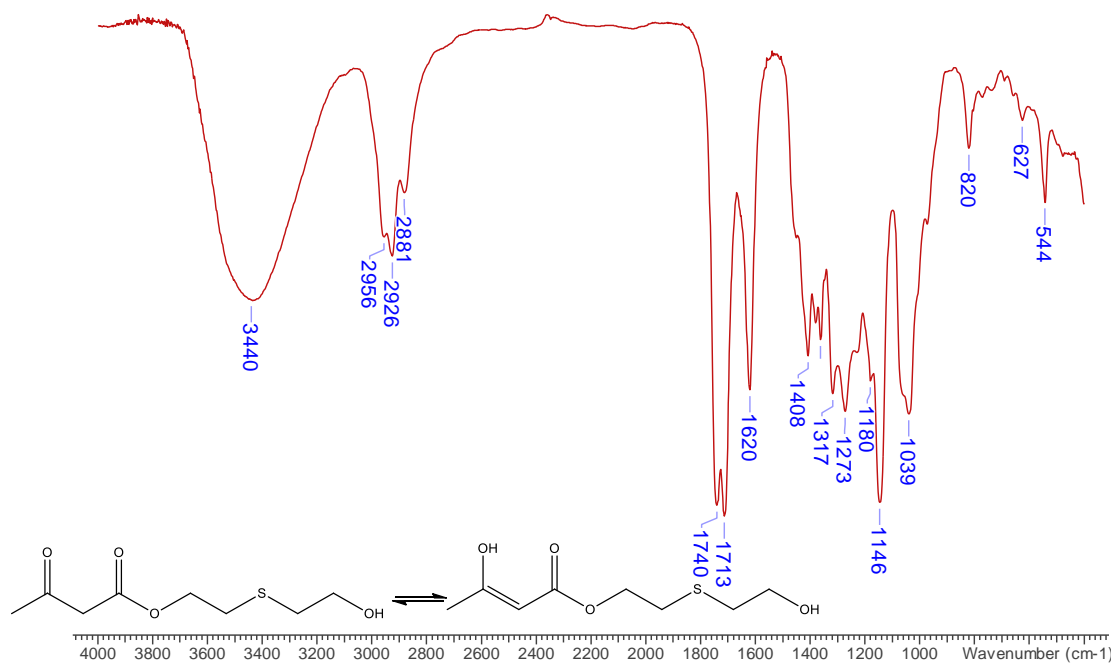


Figura A111. Espectro de IV do 3-oxobutanoato de 2-((2-hidroxietil)tio) etila (**1h**).

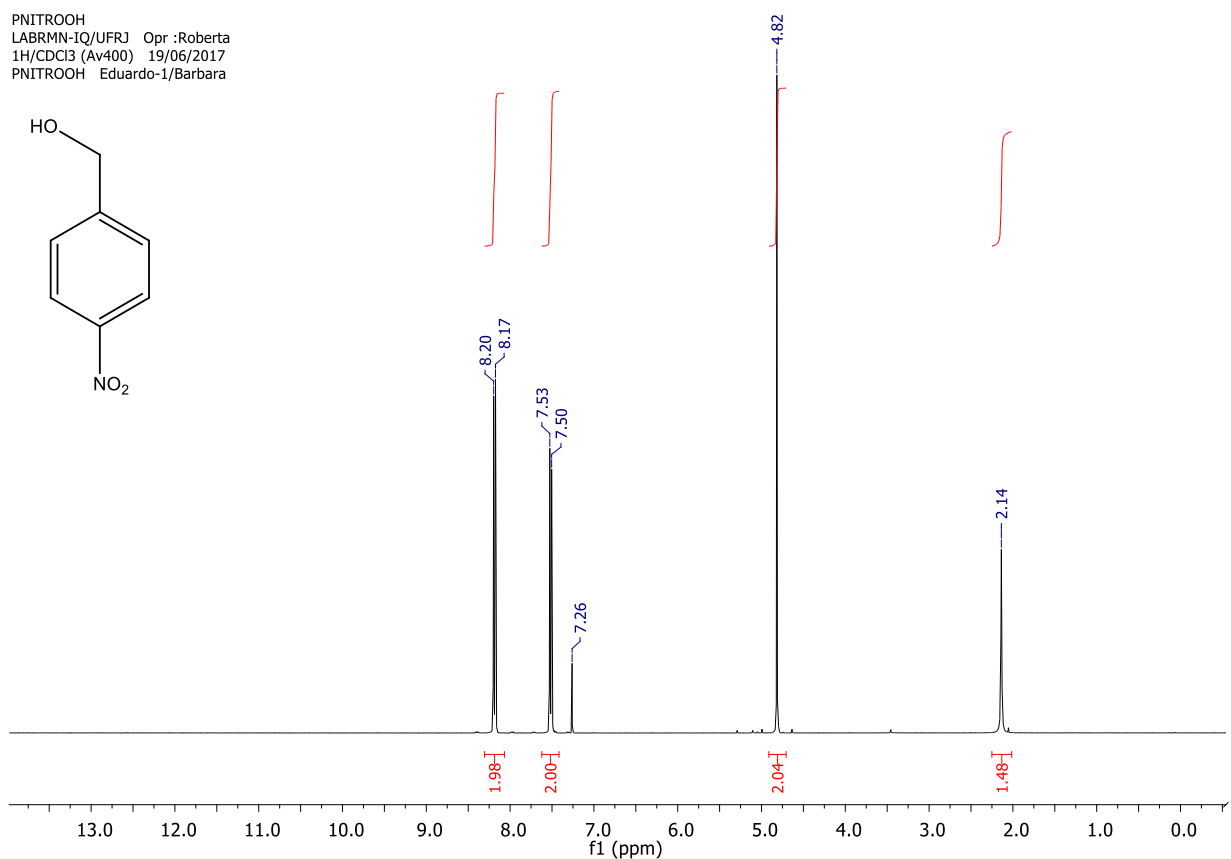


Figura A112. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (**10a**).

PNITROOH
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/CDCl3 (Av400) 19/06/2017
PNITROOH Eduardo-1/Barbara

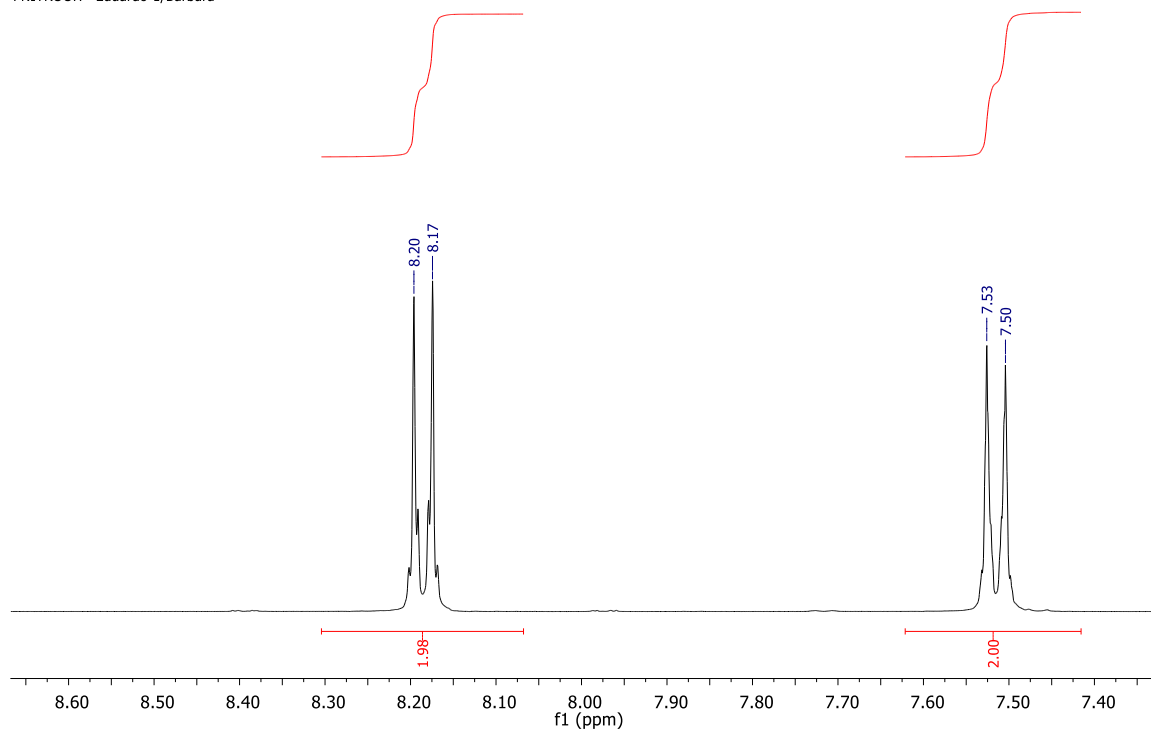


Figura A113. Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (10a).

PNITROOH
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
13C(H)/CDCl3 (Av400) 19/06/2017
PNITROOH Eduardo-2/Barbara
27 mg

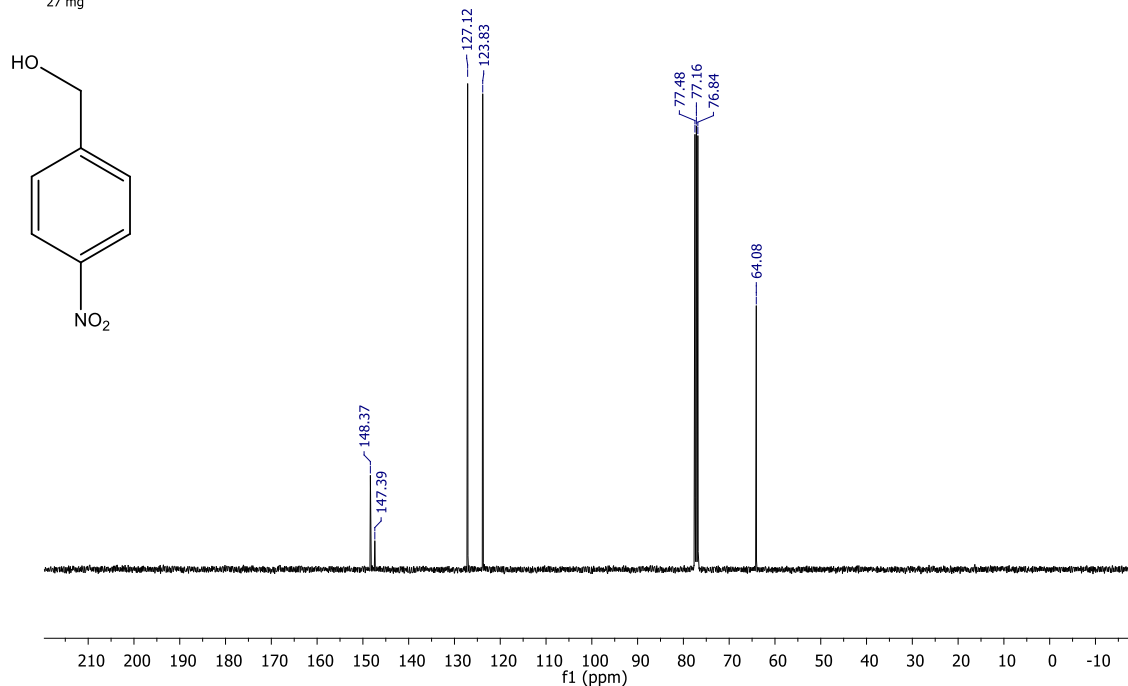


Figura A114. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (10a).

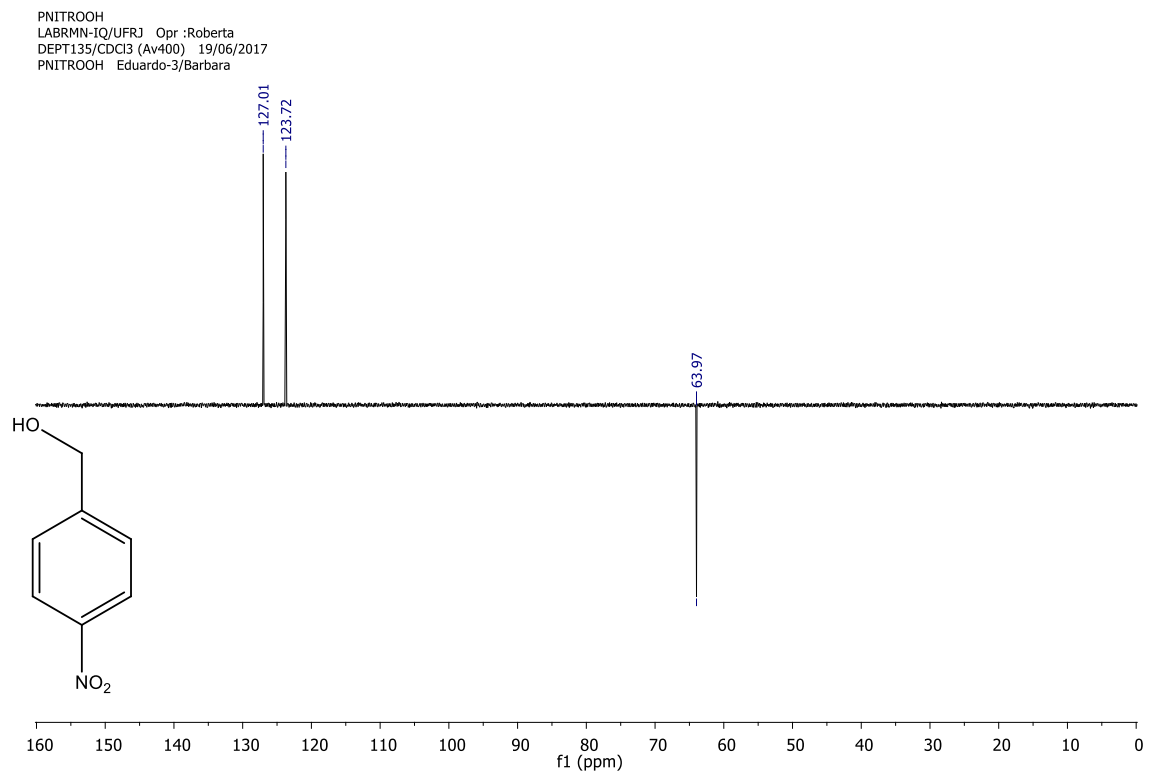


Figura A115. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl_3 , 400 MHz) do 4-hidroxi-metil-nitrobenzeno (**10a**).

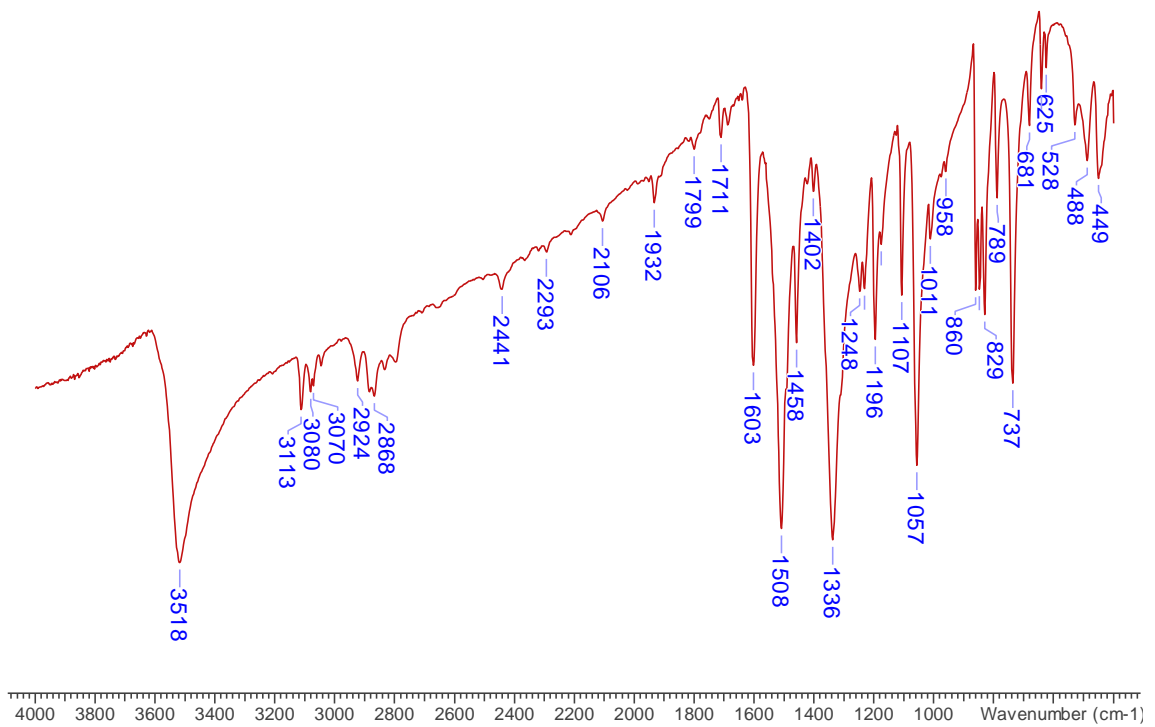


Figura A116. Espectro de IV do 4-hidroxi-metil-nitrobenzeno (**10a**).

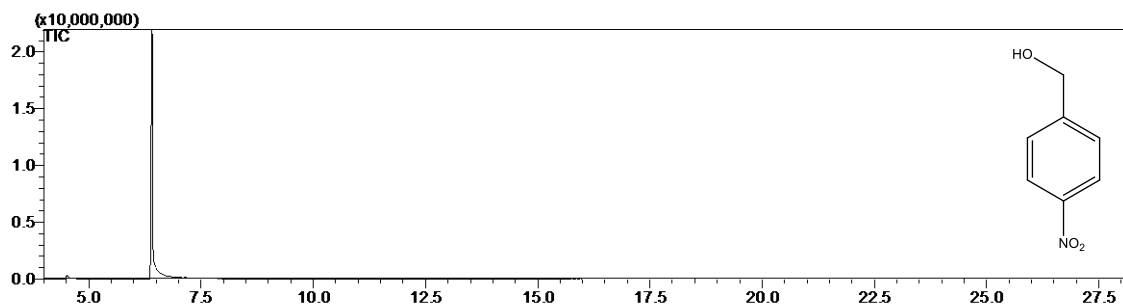


Figura A117. Cromatograma CG do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (**10a**).

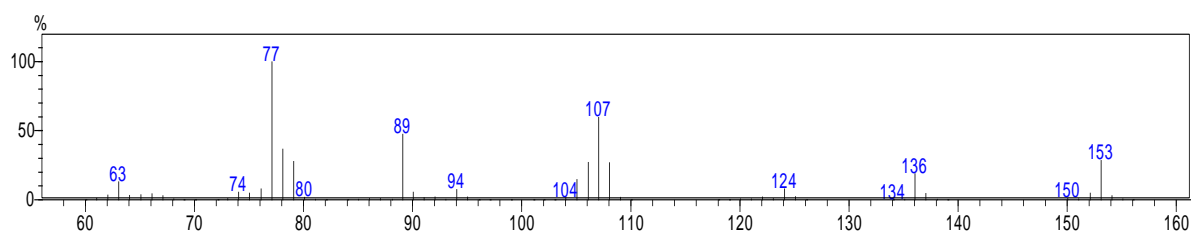


Figura A118. Espectro de massa do 4-hidroximetil-nitrobenzeno (**10a**).

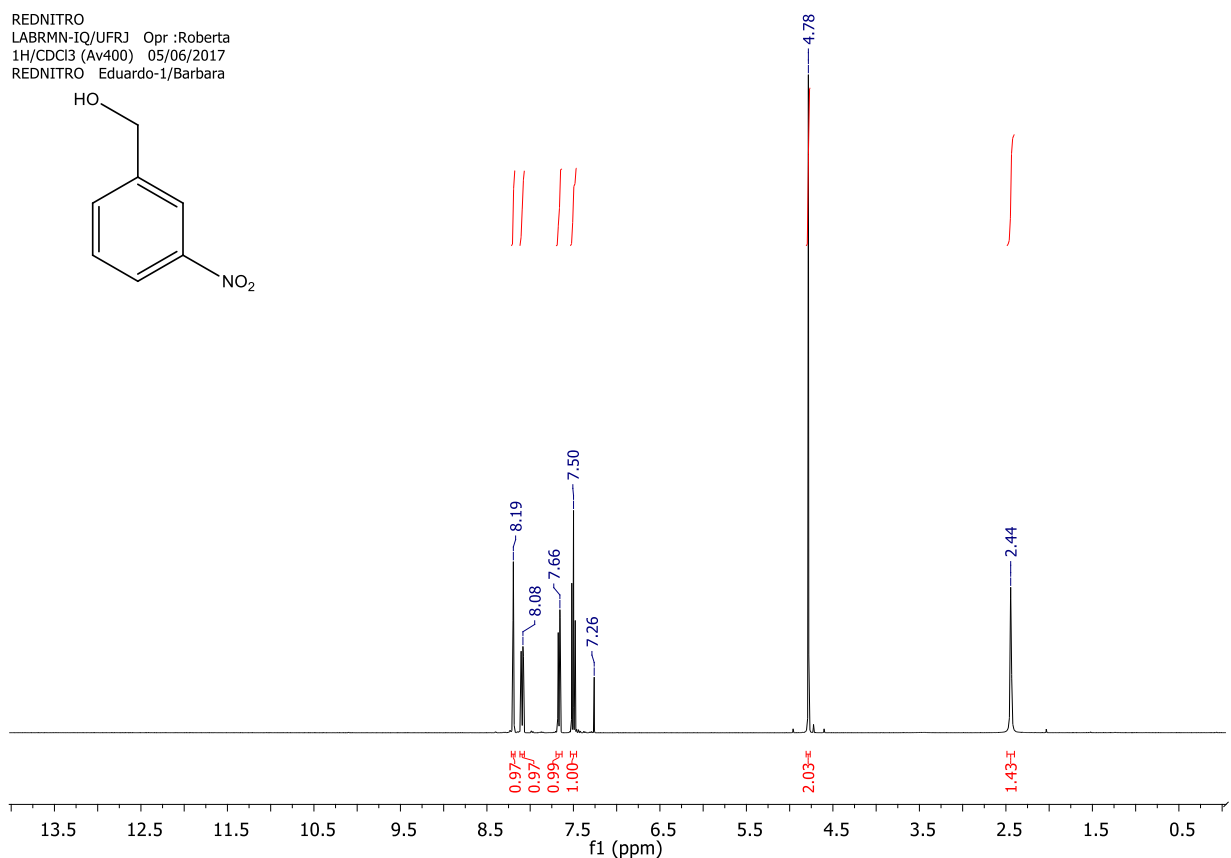


Figura A119. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-hidroximetil-nitrobenzeno (**10b**).

REDNITRO
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
1H/CDCI3 (Av400) 05/06/2017
REDNITRO Eduardo-1/Barbara

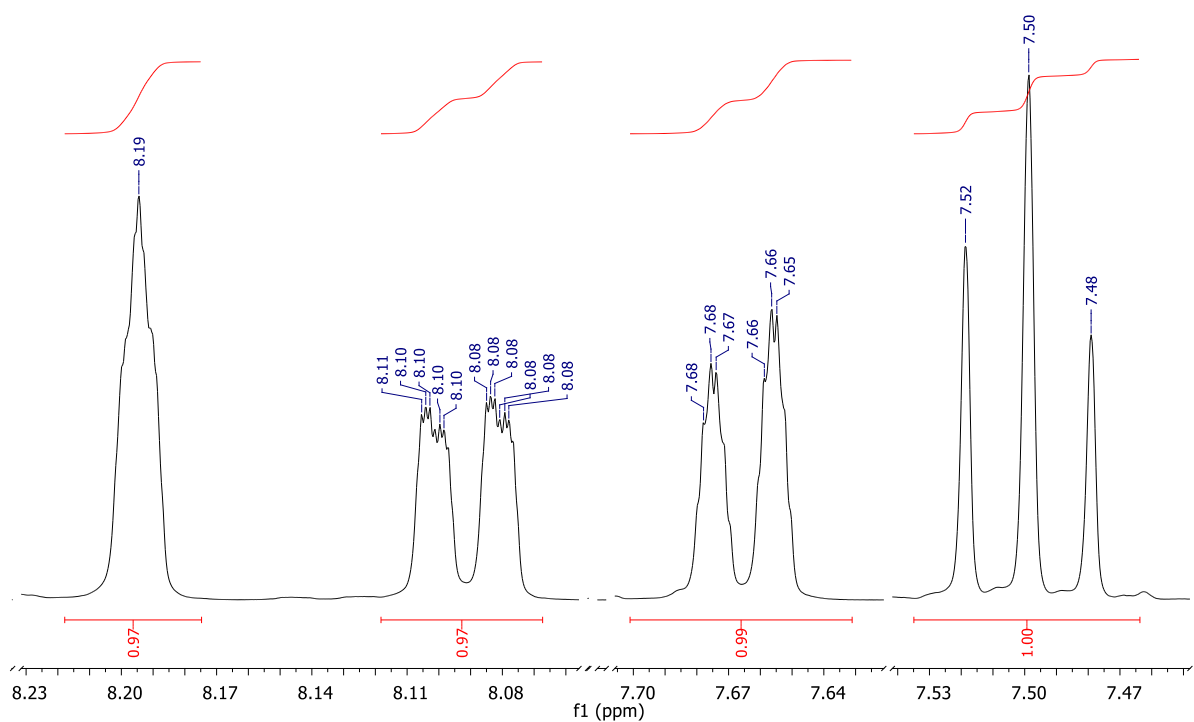


Figura A120. Expansão do espectro de RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz) do 3-hidroximetil-nitrobenzo (10b).

REDNITRO
LABRMN-IQ/UFRJ Opr :Roberta
13C{H}/CDCl3 (Av400) 05/06/2017
REDNITRO Eduardo-2/Barbara
32 mg

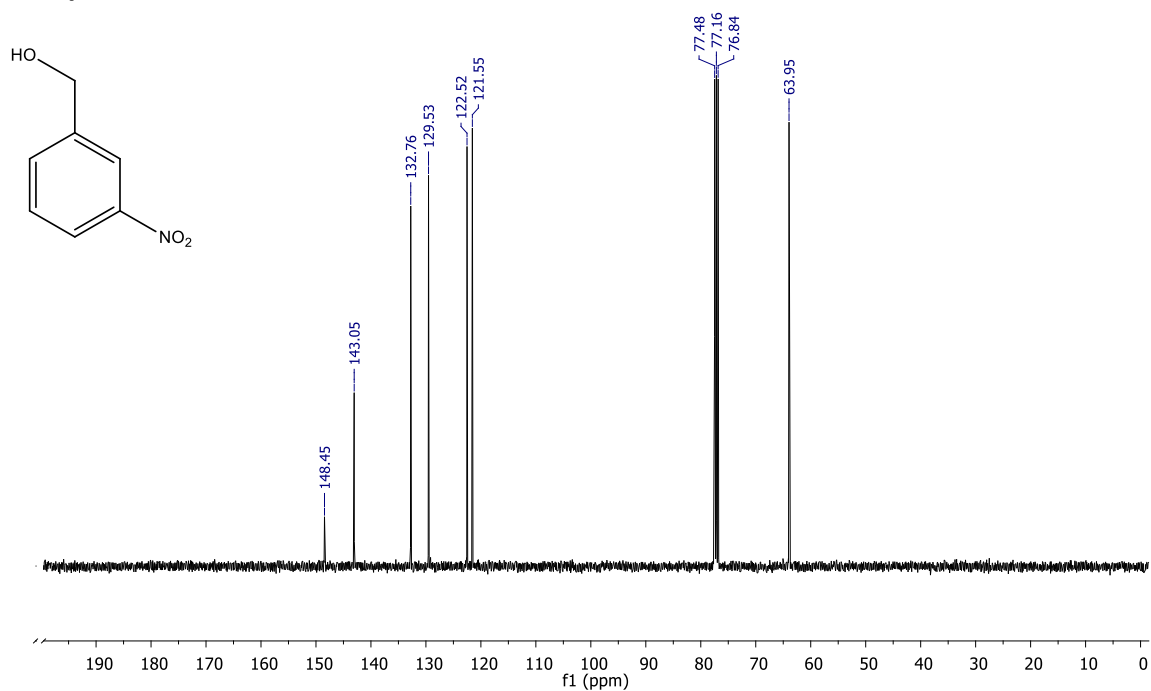


Figura A121. Espectro de RMN 13C (CDCl₃, 400 MHz) do 3-hidroximetil-nitrobenzo (10b).

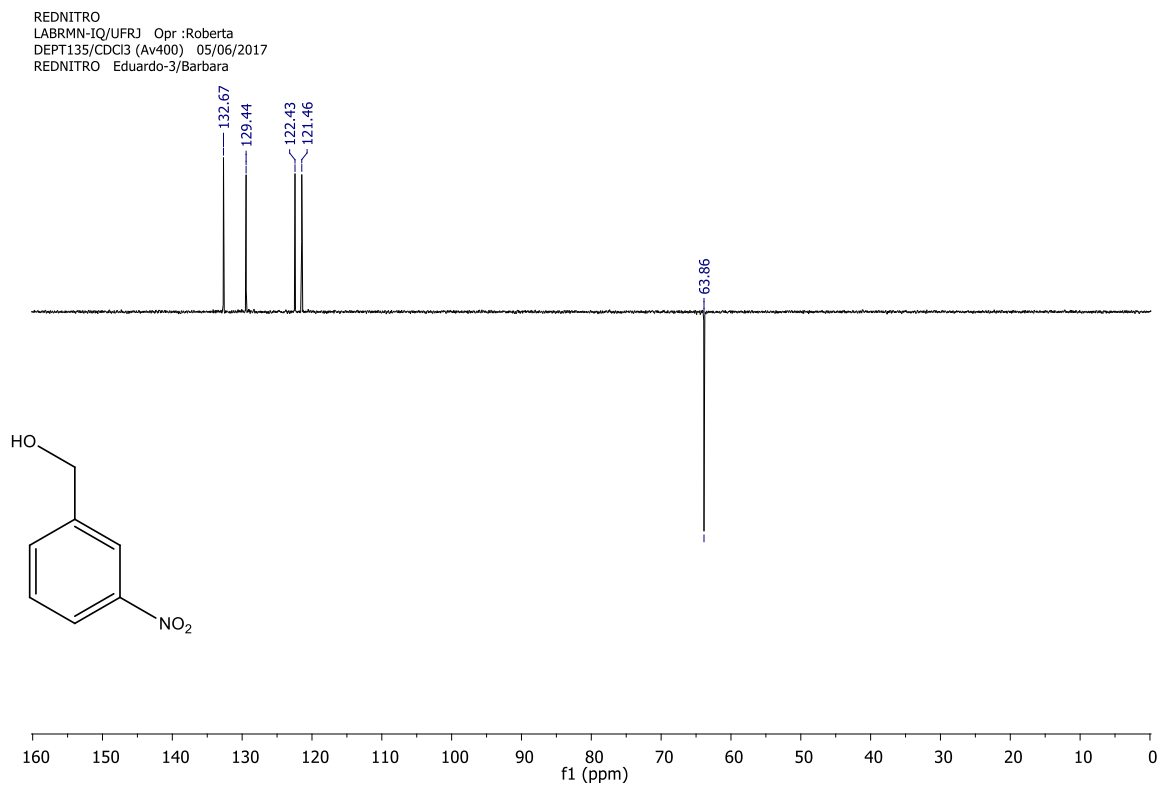


Figura A122. Espectro de RMN DEPT135 (CDCl₃, 400 MHz) do 3-hidroxi-metil-nitrobenzeno (**10b**).

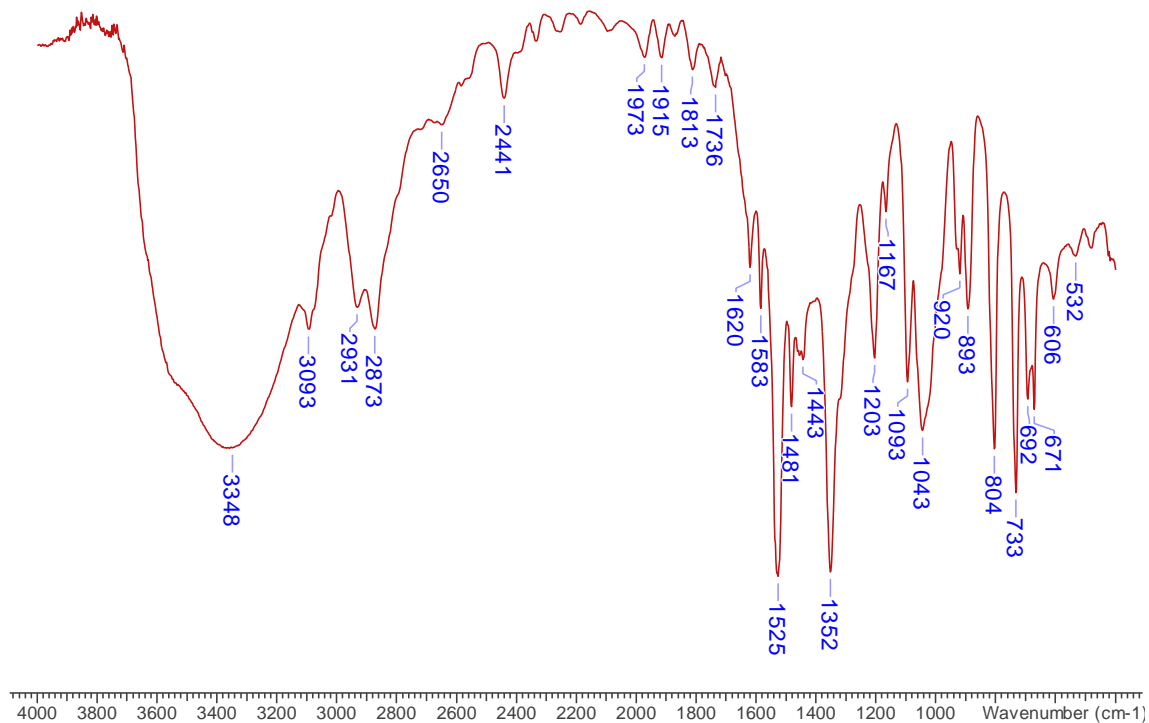


Figura A123. Espectro de IV do 3-hidroxi-metil-nitrobenzeno (**10b**).

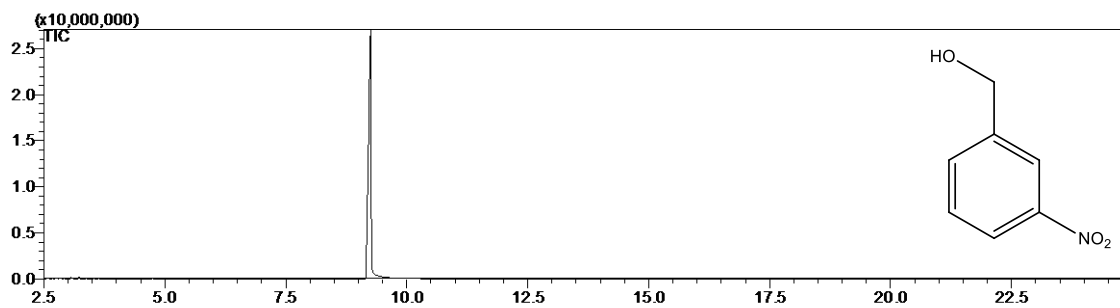


Figura A124. Cromatograma CG do 3-hidroximetil-nitrobenzeno (**10b**).

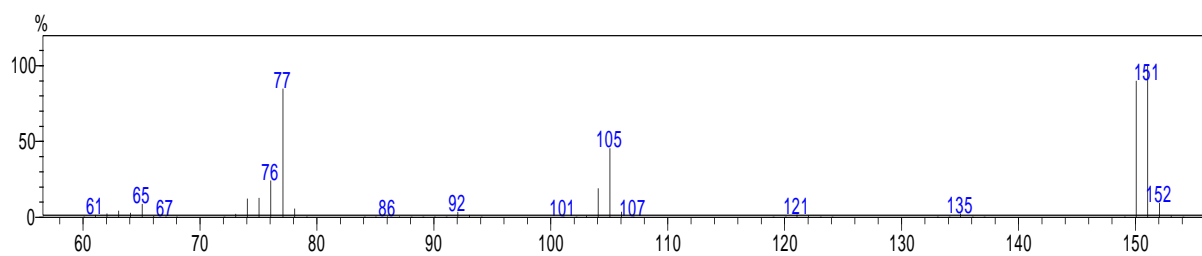


Figura A125. Espectro de massa do 3-hidroximetil-nitrobenzeno (**10b**).