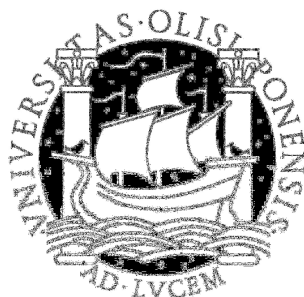


**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DE LISBOA**



**Síntese e avaliação citotóxica de compostos  
orgânicos contendo o grupo funcional  
seleno-carbonilo (C=Se)**

**Inês Sofia Lança Martins**

**I Curso de Mestrado em Química Farmacêutica e Terapêutica**

**Lisboa, 2010**



## Resumo

O interesse em compostos orgânicos contendo selênio tem crescido significativamente nos últimos anos, grande parte devido às propriedades antioxidante e anticarcinogénica que lhes são atribuídas. No entanto, no que diz respeito a compostos contendo o grupo seleno-carbonilo, verifica-se uma enorme lacuna na literatura, principalmente devido à falta de metodologias sintéticas práticas para a sua preparação.

Este trabalho consistiu fundamentalmente no desenvolvimento de um método sintético simples, que permite a interconversão dos grupos funcionais carbonilo para seleno-carbonilo, mediante a utilização do reagente de Woollins (R.W) por irradiação com microondas. O método desenvolvido permitiu a preparação de uma série de novos compostos organoselenados com rendimentos moderados, que foram totalmente caracterizados estruturalmente, nomeadamente por Ressonância Magnética Nuclear e Espectrometria de Massa. Numa fase posterior pretende-se efectuar o estudo do efeito da substituição do grupo carbonilo por um grupo seleno-carbonilo nas actividades antioxidante e anticarcinogénica de todos os compostos preparados.

A optimização das condições experimentais para esta reacção de interconversão levou ao estabelecimento de dois métodos gerais, sendo um mais adequado à selenação de flavonóides e o outro mais adequado à selenação de purinas, pirimidinas e desoxinucleósidos. Estes dois métodos diferem no número de equivalentes de R.W., no tempo e potência de irradiação e no solvente utilizado. Na selenação de purinas e pirimidinas verificou-se que a irradiação de microondas conduzia a uma melhoria da eficiência da reacção em relação ao aquecimento convencional e no caso da formação dos seleno-flavonóides, para além duma maior eficiência observou-se também uma maior selectividade. Nos casos em que os materiais de partida possuíam grupos hidroxilo, houve também a necessidade de otimizar os passos adicionais de protecção e desprotecção destes grupos funcionais.

A seleno-purina, 1,3,7-trimetill-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (seleno-cafeína) foi testada em linhas celulares humanas do cancro da mama (MCF-7). Os resultados preliminares obtidos revelam que o co-tratamento de seleno-cafeína (1 µM) e doxorubicina (1 µM) resultou num decréscimo da viabilidade celular quando comparada com a observada no tratamento com doxorubicina (1 µM). Uma vez que a cafeína não produziu este efeito sugere que com a interconversão do grupo do grupo carbonilo em seleno-carbonilo conduz a um aumento da capacidade citotóxica nas condições testadas. Este resultado parece indicar que a preparação de derivados da seleno-cafeína (com o objectivo de aumentar esta propriedade apresentada) poderá ter interesse no desenvolvimento de novos possíveis agentes terapêuticos em combinação com agentes anticancerígenos cujo modo de acção envolva a lesão de DNA.

**Palavras-Chave:** selênio, seleno-carbonilo, microondas, antioxidante, citotoxicidade.

## Abstract

The increasing number of reports of organoselenium compounds with either anticancer and antioxidant properties in recent years has markedly increased the interest in this class of compounds. However, examples of selenocarbonyl compounds are scarce in the literature, mostly due to the lack of effective synthetic procedures.

The present work was focused on the development of a new synthetic methodology to allow the interconversion of functional groups carbonyl to seleno-carbonyl upon use of Woollins' reagent (W.R) under microwave irradiation. The method developed allowed the preparation of several new organoselenium compounds in moderated yields, which were fully characterized by Nuclear Magnetic Resonance and Mass Spectrometry. The antioxidant and anticarcinogenic activities of the prepared seleno compounds will be assessed in future comparative studies, to establish the role of the seleno-carbonyl group on those properties.

The optimization of experimental conditions involved in this interconversion reaction allowed the establishment of two general methods. One is more suitable for flavonoids selenation and the other for purines and pyrimidines. These two general methods differ fundamentally on the number of equivalent of W.R., the time and potency of microwave irradiation and the solvent. It was observed that the use of microwaves resulted in an increase of efficiency for selenation reaction, when compared with conventional heating procedures. Moreover, the selenation of flavonoids under microwave irradiation also showed an increase on reaction selectivity. For starting materials containing hydroxyl group, additional work was performed involving the optimization of experimental condition for protection and deprotection of these functional groups.

The seleno-purine, 1,3,7-trimethyl-6-selenoxo-6,7-dihydro-1*H*-purine-2(3*H*)-one (Selenocaffeine) was tested on human breast cancer cellular lines (MCF-7). Preliminary results showed that the co-treatment of doxorubicin (1  $\mu\text{M}$ ) and selenocaffeine (100  $\mu\text{M}$ ) resulted in a decrease of cellular viability when compared to the treatment with doxorubicin (1  $\mu\text{M}$ ) alone. In contrast, a similar treatment of doxorubicin (1  $\mu\text{M}$ ) and caffeine (100  $\mu\text{M}$ ) did not affect cellular viability when compared to doxorubicin (1  $\mu\text{M}$ ) alone, suggesting that the interconversion of carbonyl to selenocarbonyl group of caffeine resulted in an increase of cytotoxic activity for the tested conditions. Moreover, these observations suggest that selenocaffeine analogs could be of interest in combination with DNA-damaging anticancer agents.

**Keywords:** selenium, seleno-carbonyl, microwave, antioxidant, cytotoxicity.

## Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Prof. Dra. Alexandra Antunes e ao Prof. Dr. Rui Moreira por aceitarem ser meus orientador e co-orientador, respectivamente, neste projecto. Um agradecimento especial à Prof. Dra. Alexandra Antunes pelos valiosos conhecimentos transmitidos e pela amizade e constante apoio nos momentos mais difíceis.

Em segundo lugar, gostaria de agradecer à Prof. Dra. Matilde Marques por ter permitido que realiza-se este projecto nas instalações do Centro de Química Estrutural do Instituto Superior Técnico (CQE-IST).

Gostaria também de agradecer ao Prof. Dr. Carlos Afonso, à Dra. Ana Charas e ao Dr. Konstantin Luzyanin por terem permitido a minha entrada nos respectivos laboratórios para utilizar o equipamento de microondas. Sem a sua colaboração este trabalho não teria sido possível. Um agradecimento especial ao Jamal e Ricardo, à Catarina e as meninas Graça e Luísa pela paciência e ajuda com o equipamento. Agradeço ainda às Redes Nacionais de Espectrometria de Massa e Ressonância Magnética Nuclear pelo acesso aos aparelhos. Ao Dr Gonçalo Justino pelos cálculos teóricos realizados e à Dra Joana Miranda (FFUL) pelos ensaios de citotoxicidade efectuados.

Queria ainda agradecer a todos os colegas de laboratório que me acompanharam durante este projecto. Ao Tiago e Pedro, à Ana Sofia e Filipa um obrigada pela disponibilidade constante. Para as meninas Shrika, Catarina e Ana, companheiras de tantas aventuras, sorrisos e algumas lágrimas, obrigada por todo o apoio no dia-a-dia do laboratório mas principalmente pela amizade.

Finalmente, gostaria de agradecer a toda a minha família e amigos por todo o apoio dado nesta caminhada. Um obrigada especial aos meus pais, à minha madrinha e tio, e ao David por todo o interesse demonstrado e por me fazerem acreditar que é sempre possível.

## Índice

Resumo .....	i
Abstract .....	ii
Agradecimentos.....	iii
Simbologias e Notações .....	xiv
I. Introdução.....	1
I.1- Selênio enquanto elemento químico .....	3
I.2- Selênio e o seu papel biológico.....	4
I.2.1- Selênio e as suas propriedades antioxidantes .....	6
I.2.2- Selênio como agente anticarcinogénico.....	8
I.3- Compostos orgânicos contendo selênio .....	9
I.3.1- Métodos de síntese para a preparação de compostos contendo grupo seleno-carbonilo (C=Se) .....	10
I.4. Síntese orgânica assistida por microondas .....	22
II. Discussão de resultados.....	27
II.1- Preparação de derivados selenados de flavonóides .....	29
II.1.1- Preparação de flavonóides metilados nas posições fenólicas.....	31
II.1.2 – Selenação de flavonóides nas posições carbonílicas, na presença de reagente de Woollins, por irradiação de microondas.....	46
II.1.3- Desprotecção de produtos selenados protegidos nas posições hidroxiladas .....	62
II.2- Preparação de derivados selenados de purinas e pirimidinas .....	64
II.2.1. Selenação de 2'-desoxinucleósidos .....	72
II.2.3.- Caracterização estrutural de derivados de purinas e pirimidinas selenadas nas posições carbonílicas.....	78
II.3 – Ensaio de citotoxicidade .....	84
II.4- Conclusões .....	84
III. Parte Experimental .....	87
III.1 - Reagentes, Solventes e Materiais .....	89

III.2 – Métodos e Equipamentos .....	89
III.2.1 – Espectrometria de infravermelho (IV) .....	89
III.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	90
III.2.3 – Espectrometria de massa (EM) .....	90
III.2.4 – Cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) .....	91
III.2.5 – Equipamentos de Microondas (MW) .....	91
III.2.6 – Equipamento de Raio-X .....	91
III.2.7 – Estudos computacionais .....	92
III.2.8 – Ensaio de citotoxicidade .....	92
III.3- Reacções para a preparação de materiais de partida protegidos nas posições hidroxiladas .....	93
III.3.1- Ensaio de optimização das condições experimentais para a protecção de posições fenólicas de flavonóides .....	93
III.3.2- Preparação de flavonóides metilados nas posições fenólicas .....	95
III.3.3- Métodos gerais para a protecção das posições hidroxiladas de desoxinucleósidos .....	98
III.3.3.1 Método geral para a protecção de desoxinucleósidos com brometo de benzilo (BnBr) .....	98
III.3.3.1.1- A partir de 2'-desoxiguanosina (130) .....	98
III.3.3.1.2- A partir de 2'-desoxitimidina (132) .....	98
III.4- Reacções para a preparação de produtos selenados nas posições carbonílicas, na presença de reagente de Woollins. ....	99
III.4.1- Por irradiação de microondas .....	99
III.4.1.1- Ensaio de optimização das condições experimentais .....	99
III.4.1.1.1- A partir de 2-(3', 4'-dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona (103) .....	99
III.4.1.1.2- A partir da cafeína (123) .....	101
III.4.1.2- Métodos gerais .....	104
Método geral A .....	104
Método geral B .....	104

III.4.1.2.1- A partir de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4 <i>H</i> -cromen-4-ona (103) .....	104
III.4.1.2.2- A partir da 2-(3', 5' – dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4 <i>H</i> -cromen-4-ona (105) .....	105
III.4.1.2.3- A partir da 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4 <i>H</i> -cromen-4-ona (107) .....	106
III.4.1.2.4- A partir da 2-fenil-4 <i>H</i> -cromen-4-ona (109) .....	106
III.4.1.2.5- A partir da cafeína (123) .....	107
III.4.1.2.6- A partir da 1-metil-xantina (125).....	107
III.4.1.2.7- A partir da tioxantina (126).....	107
III.4.1.2.8- A partir da guanina (127) .....	108
III.4.1.2.9- A partir da 3',5'- <i>O</i> -bis-( <i>terc</i> -butildimetilsilil)-2'-desoxiguanosina (133)	108
III.4.1.2.10- A partir da 3',5'- <i>O</i> -bis-( <i>terc</i> -butildimetilsilil)-2'-desoxicitosina (134)..	108
III.4.1.2.11- A partir do uracilo (128).....	108
III.4.1.2.12- A partir da 3-benzil-1-[(2 <i>R</i> , 4 <i>S</i> , 5 <i>R</i> )-4-benziloxil-5-(benziloximetil)tetra-hidrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> )-diona (135).....	109
III.4.2- Por aquecimento convencional .....	110
III.4.2.1- A partir de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4 <i>H</i> -cromen-4-ona (103) .....	110
III.4.2.2- A partir da cafeína (123) .....	110
III.5- Reacções para a desprotecção de produtos selenados protegidos nas posições hidroxiladas .....	110
III.5.1- A partir de 2-(3', 4'– dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4 <i>H</i> -cromen-4-selenona (110).....	110
Método I .....	110
Método II.....	111
III.5.2- A partir da 3-benzil-1-((2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )-4-(benziloxi)-5 (benziloximetil)tetra-hidroforano-2-il)-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1 <i>H</i> )-ona (136).....	112
Método I .....	112
Método II.....	112
IV. Bibliografia.....	115

## Índice de figuras

<b>Figura I.1-</b> Estrutura da selenocisteína (1). .....	4
<b>Figura I.2</b> - Estrutura do antioxidante contendo selênio – Ebselen (2).....	7
<b>Figura I.3</b> - Estrutura dos seleno-cianatos (3-6) avaliados na sua actividade antitumoral.....	8
<b>Figura I.4</b> -Reagente de Woollins (42) e o seu análogo de enxofre 43. ....	18
<b>Figura I.5</b> – Publicações sobre síntese química assistida por microondas (1986-2008). Adaptado de [52]. [legenda: barras cinzentas- numero de publicações em 7 jornais, envolvendo o uso de microondas ( <i>J. Org. Chem.</i> , <i>Org. Lett.</i> , <i>Tetrahedron</i> , <i>Tetrahedron lett.</i> , <i>synth commun.</i> , <i>Synthesis</i> e <i>Synlett</i> ); barras pretas: numero de publicações associadas a síntese química assistida por computador e que envolvem o uso do reactores apropriados).....	22
<b>Figura II.1-</b> Esqueleto da estrutura química base das flavonas e flavonóis. ....	29
<b>Figura II.2-</b> Estrutura da (2-(3',4'-di-hidroxi-fenil)-3,5,7-tri-hidroxi-cromen-4-ona (quercetina, 100), 2-(3',5'-di-hidroxi-fenil)-3,5,7-tri-hidroxi-cromen-4-ona (morina, 101) e 5,7-di-hidroxi-2-fenil-4H-cromen-4-ona (crisina, 102). ....	30
<b>Figura II.3-</b> Produtos formados na metilação da quercetina (100), morina (101) e crisina (102). ....	34
<b>Figura II.4-</b> Espectros a) <sup>1</sup> H-RMN e b) <sup>13</sup> C-RMN de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (103) em CDCl <sub>3</sub> (400 MHz). ....	39
<b>Figura II.5-</b> Correlações a duas e três ligações (HMBC) obtidas para 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (103) em CDCl <sub>3</sub> (400 MHz).....	39
<b>Figura II.6-</b> Correlações espaciais (↔) (NOESY) obtidas para 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (103) em CDCl <sub>3</sub> (400 MHz).....	40
<b>Figura II.7-</b> Algumas das correlações a duas e três ligações (↔) (HMBC) obtidas para 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4H-cromen-4-ona (107) em CDCl <sub>3</sub> (400 MHz). ....	41
<b>Figura II.8-</b> Correlações a duas e três ligações (↔) (HMBC) obtida para o sulfonato de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-3-hidroxi-4,5,7-trimetoxi-cromenilium (104) em CDCl <sub>3</sub> (400 MHz). ....	42

<b>Figura II.9-</b> Algumas das correlações a três ligações ( $\curvearrowright$ ) (HMBC) obtidas para sulfonato de 2-fenil-5-hidroxi-4,7-dimetoxi-cromenilium ( <b>108</b> ) em $\text{CDCl}_3$ (400 MHz)...	43
<b>Figura II.10-</b> Espectros de $^1\text{H}$ -RMN <b>a)</b> 2-(3',4'-dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4 <i>H</i> -cromene-4-selenona ( <b>110</b> ) e <b>b)</b> fração isolada na reacção por aquecimento convencional em $\text{CDCl}_3$ (400 MHz).....	50
<b>Figura II.11</b> – Estrutura química da 2-fenil-4 <i>H</i> -cromen-4-ona ( <b>109</b> ).....	51
<b>Figura II.12-</b> Correlações a duas e três ligações ( $\curvearrowright$ ) (HMBC) obtidas para 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1-ona ( <b>113</b> ) em $\text{CDCl}_3$ (400 MHz). ....	54
<b>Figura II.13-</b> Espectro de $^{77}\text{Se}$ -RMN (500 MHz) <b>a)</b> 2-(3', 4'– dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4 <i>H</i> -cromene-4-selenona ( <b>110</b> ) em acetona- $d_6$ ; <b>b)</b> 2-(3', 5'– dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4 <i>H</i> -cromene-4-selenona ( <b>111</b> ) em acetona- $d_6$ e <b>c)</b> 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4 <i>H</i> -cromene-4-selenona ( <b>112</b> ) em $\text{CDCl}_3$ . ....	59
<b>Figura II.14-</b> Estrutura tridimensional determinada para 2-(3', 4'– dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4 <i>H</i> -cromene-4-selenona ( <b>110</b> ). ....	60
<b>Figura II.15-</b> Estruturas químicas de dois antimetabolitos actualmente em uso clínico, 5-fluorouracilo ( <b>118</b> ) e Gemcitabina ( <b>119</b> ) [74]. ....	64
<b>Figura II.16</b> – Estruturas químicas de compostos estudados com potencial citotóxico.	65
<b>Figura II.17-</b> Estrutura química da cafeína ( <b>123</b> ). ....	66
<b>Figura II.18-</b> Estrutura química das bases púricas, 1-metil-xantina ( <b>125</b> ), tioxantina ( <b>126</b> ) e guanina ( <b>127</b> ) e a base pirimidínica uracilo ( <b>128</b> ), testadas com o método de selenação desenvolvido.....	70
<b>Figura II.19-</b> Contributores de ressonância da tioxantina ( <b>126</b> ). ....	71
<b>Figura II.20-</b> Estrutura química da 2'-desoxiguanosina ( <b>130</b> ), 2'-desoxicitidina ( <b>131</b> ) e 2'-desoxitimidina ( <b>132</b> ).....	72
<b>Figura II.21-</b> Estrutura química de 3',5'- <i>O</i> -bis( <i>tert</i> -butildimetilsilil)-2'-desoxiguanosina ( <b>133</b> ), e 3',5'- <i>O</i> -bis-( <i>tert</i> -butildimetilsilil)-2'-desoxicitosina ( <b>134</b> ) .....	73
<b>Figura II.22-</b> Algumas correlações a duas e três ligações ( $\curvearrowright$ ) (HMBC) observadas para 3-benzil-1-[(2 <i>R</i> , 4 <i>S</i> , 5 <i>R</i> )-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahidrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> )-diona ( <b>135</b> ) em $\text{DMSO}-d_6$ (400 MHz).....	76

**Figura II.23-** Algumas correlações a duas e três ligações (↷) (HMBC) observadas para 1,3,7-trimetil-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (**124**) em CDCl<sub>3</sub> (500 MHz)..... 81

## Índice de esquemas

<b>Esquema I.1</b> - Esquema reaccional das primeiras seleno-cetonas sintetizadas por Barton <i>et.al</i> [37] .....	10
<b>Esquema I.2</b> - Esquema reaccional da formação de olefinas ( <b>15</b> ) por competição com <b>14</b> [38]. .....	11
<b>Esquema I.3</b> - Esquema reaccional das seleno-cetonas ( <b>23</b> ) sintetizadas por Krafft <i>et. al.</i> [41].....	13
<b>Esquema I.4</b> - Esquema reaccional das seleno-aldeídos ( <b>23</b> ) sintetizadas por Segi <i>et. al.</i> [43].....	13
<b>Esquema I.5</b> - Esquema reaccional da preparação do reagente seleneto de bis (1,5-cicloctan-di-il-boril) ( <b>30</b> ) [47].....	15
<b>Esquema I.6-</b> Formação do reagente de Woollins por oxidação de (PhP) <sub>5</sub> ( <b>44</b> ). .....	18
<b>Esquema I.7–</b> Formação do reagente de Woollins por oxidação de PhPCl <sub>2</sub> ( <b>45</b> ). .....	18
<b>Esquema II.1-</b> Mecanismo da doação de H <sup>•</sup> a) do tipo SPLET e b) do tipo SET-PT... 29	
<b>Esquema II.2-</b> Via sintética usada para a síntese de análogos de flavonóides selenados ( <b>a</b> ) metilação; <b>b</b> ) selenação, com R.W ( <b>42</b> ); <b>c</b> ) desmetilação).....	31
<b>Esquema II.3-</b> Formação do produto fluorescente.....	35
<b>Esquema II.4-</b> Dissociação do reagente de Woolins ( <b>42</b> ). .....	53
<b>Esquema II.5-</b> Hipótese mecanística para a formação do grupo seleno-carbonilo na presença de R.W. ....	53

## Índice de Equações

<b>Equação II.1-</b> Equação deduzida por Karplus e Pople, para o termo de blindagem paramagnética, onde $\Delta E$ é a energia média de excitação electrónica, $r$ é a distância entre o electrão 2p e o núcleo e $Q_{AA}$ o número de electrões que ocupam a orbital p, e $\sum Q_{AX}$ a contribuição de ligações múltiplas [65].....	56
--	----

## Índice de tabelas

<b>Tabela I.1-</b> Relação entre os isótopos estáveis do selênio e a sua abundância natural [5]. .....	4
<b>Tabela I.2-</b> Algumas das selenoproteínas com função conhecida. Adaptado de [9] .....	5
<b>Tabela I.3 -</b> Condições experimentais e resultados obtidos por Guziec <i>et. al.</i> [40]. ...	12
<b>Tabela I.4 -</b> Condições experimentais e rendimentos obtidos para algumas das seleno-amidas sintetizadas por Li e Zingaro [45].....	14
<b>Tabela I.5-</b> Condições reaccionais e rendimentos obtidos na síntese de compostos contendo o grupo funcional seleno-carbonilo obtidos pelo tratamento de derivados do ácido carboxílicos com <b>30</b> [46].....	16
<b>Tabela I.6-</b> Condições reaccionais e rendimentos obtidos na síntese de compostos com o grupo funcional seleno-carbonilo obtidos pelo tratamento de cetonas impedidas com <b>30</b> .....	17
<b>Tabela I.7 -</b> Condições experimentais e rendimentos obtidos nas reacções de selenação de amidas na presença de R.W ( <b>42</b> ) [48]. .....	19
<b>Tabela I.8-</b> Condições experimentais e rendimentos obtidos nas reacções de selenação de indolizino-3-aldeído na presença de R.W. ( <b>42</b> ) .....	20
<b>Tabela I.9–</b> Condições experimentais e rendimentos obtidos para as seleno-amidas preparadas pelo método de Bentke <i>et al.</i> [50]. .....	21
<b>Tabela I.10-</b> Condições experimentais e rendimentos obtidos para o método de Varma e Kumar [54]. .....	24
<b>Tabela II.1-</b> Condições utilizadas e resultados obtidos para a metilação de 2-(3',4'-di-hidroxi-fenil)-3,5,7-tri-hidroxi-cromen-4-ona ( <b>100</b> ).....	32
<b>Tabela II.2-</b> Condições experimentais e resultados obtidos na preparação de derivados metilados nas posições fenólicas dos flavonóides quercetina ( <b>100</b> ), morina ( <b>101</b> ) e crisina ( <b>102</b> ).....	34
<b>Tabela II.3-</b> Dados espectroscópicos dos produtos ( <b>103</b> ), ( <b>105</b> ) e ( <b>107</b> ).....	44
<b>Tabela II.4-</b> Dados espectroscópicos dos produtos fluorescentes obtidos ( <b>104</b> ), ( <b>106</b> ) e ( <b>108</b> ).....	45

<b>Tabela II.5-</b> Métodos utilizados e resultados obtidos nos ensaios efectuados com <b>103</b> e R.W. com irradiação por microondas, na ausência de solvente. ....	47
<b>Tabela II.6-</b> Métodos utilizados nos ensaios efectuados com <b>103</b> e R.W. ( <b>42</b> ) com solvente e resultados obtidos.....	48
<b>Tabela II.7-</b> Condições experimentais e resultados obtidos na preparação de derivados selenados a partir dos flavonóides metilados <b>103</b> , <b>105</b> , <b>107</b> e a flavona <b>109</b> . ....	51
<b>Tabela II.8-</b> Valores de carga electrónica determinados por métodos computacionais (ver secção III.2). ....	52
<b>Tabela II.9-</b> Dados espectroscópicos do composto 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1-ona ( <b>113</b> ). ....	55
<b>Tabela II.10-</b> Dados físicos e espectroscópicos dos compostos <b>110</b> , <b>111</b> e <b>112</b> .....	57
<b>Tabela II.11-</b> Desvios químicos de $^{13}\text{C}$ -RMN para 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi .....	58
<b>Tabela II.12-</b> Dados cristalográficos e refinamento estrutural para 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromene-4-selenona ( <b>110</b> ). ....	61
<b>Tabela II.13-</b> Dados espectroscópicos obtidos para 2-(3,4-di-hidroxifenil)-3,5,7-tri-hidroxi-4H-cromen-4-selenona ( <b>117</b> ). ....	63
<b>Tabela II.14-</b> Condições experimentais testadas e resultados obtidos na preparação de <b>124</b> , a partir de <b>123</b> mediada por R.W. por irradiação de microondas.....	67
<b>Tabela II.15-</b> Ensaios efectuados a partir de das purinas <b>125</b> , <b>126</b> , <b>127</b> e pirimidina <b>128</b> . ....	70
<b>Tabela II.16-</b> Condições reaccionais e produtos obtidos na protecção de <b>130</b> e <b>132</b> com brometo de benzilo (BnBr). ....	74
<b>Tabela II.17-</b> Dados espectroscópicos obtidos para 3-benzil-1-[(2 <i>R</i> , 4 <i>S</i> , 5 <i>R</i> )-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahidrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> )-diona ( <b>135</b> ). ....	77
<b>Tabela II.18-</b> Dados espectroscópicos de infravermelho observados para os produtos ( <b>124</b> ), ( <b>129</b> ) e ( <b>130</b> ) e respectivos materiais de partida. ....	79

<b>Tabela II.19-</b> Desvios químicos de $^{13}\text{C}$ -RMN e $^{77}\text{Se}$ -RMN correspondentes aos dois carbonos mais desblindados para os produtos (124), (129) e (136) e respectivos materiais de partida. ....	80
<b>Tabela II.20-</b> Dados espectroscópicos obtidos para 1,3,7-trimetil-6-selenoxo-6,7-dihidro-1 <i>H</i> -purina-2(3 <i>H</i> )-ona (124).....	82
<b>Tabela II.21-</b> Dados espectroscópicos da 4-selenoxo-3,4-dihidropiridina-2(1 <i>H</i> )-ona (129).....	82
<b>Tabela II.22-</b> Dados espectroscópicos de 3-benzil-1-[(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofiran-2-il]-5-metil-4-selenoxo-3,4-dihidropiridina-2(1 <i>H</i> )-ona (136). ....	83
<b>Tabela III.1-</b> Condições experimentais nos ensaios efectuados para a protecção das posições fenólicas da quercetina (100).....	94
<b>Tabela III.2-</b> Condições experimentais utilizadas nos ensaios efectuados com (103) e R.W. sem solvente.....	100
<b>Tabela III.3-</b> Condições experimentais utilizadas nos ensaios efectuados com 103 e R.W. com solvente.....	101
<b>Tabela III.4-</b> Condições experimentais testadas para a preparação de 124.....	103

## Simbologias e Notações

acetona- $d_6$	acetona deuterada
Ar	aromático
AOM	azoximetano
AVC	Acidente Vascular Cerebral
9-BBN	9-borabicyclo [3.3.1] nonano
$i\text{Bu}_2\text{AlH}$	hidreto de di-isobutilalumínio
$n\text{BuLi}$	<i>n</i> -butil-lítio
$i\text{Bu}$	isobutilo
$t\text{Bu}$	<i>tert</i> -butilo
BnBr	brometo de benzilo
Calc.	calculada
Cat.	catalítico
c.c.	cromatografia em coluna
c.c.f.	cromatografia em camada fina
c.c.f.p.	cromatografia em camada fina preparativa
$\text{CDCl}_3$	clorofórmio deuterado
COSY	<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>
CQE-IST	Centro de Química Estrutural do Instituto Superior Técnico
$^{13}\text{C}$ -RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
d	cupleto
dd	cuplo dupleto
DDR	Dose Diária Recomendada
DMBA	dimetilbenzo ( $\alpha$ )-antraceno
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
$\text{DMSO-}d_6$	dimetilsulfóxido deuterado
DNA	ácido desoxirribonucleico
DPPH	radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

EM	Espectrometria de Massa
EMAR	Espectrometria de Massa de Alta Resolução
eq.	equivalente
ERO	Espécies Reactivas de Oxigénio
ESI	electrospray
Et	etilo
Et <sub>3</sub> N	trietilamina
FFUL	Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa
FO	radical fenoxilo
FOH	flavonóide
GPx	Glutathione Peroxidase
h	horas
H	Radical hidrogénio
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HPLC	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
<sup>1</sup> H-RMN	Ressonância Magnética Nuclear de protão
IE	impacto electrónico
int. rel.	intensidade relativa
IV	infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento
KBr	brometo de potássio
m	múltiplo
[M] <sup>+</sup>	ião molecular
[M+H] <sup>+</sup>	ião molecular protonado
Me	metilo
mg	miligrama
Mel	iodeto de metilo

4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	4-metóxfenilo
MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub>	metanol deuterado
(Me <sub>3</sub> Si) <sub>2</sub> Se	bis (trimetilsilil) selano
Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	dimetilsulfato
mL	mililitros
mmol	milimole
min.	minuto
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il')-2,5-difeniltetrazol
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidroxilpiridina
MW	radiação de microondas
m/z	relação massa/carga
NaH	hidreto de sódio
Na <sub>2</sub> Se	seleneto de sódio
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	selenito de sódio
Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	selenato de sódio
N. D.	não determinado
N. O.	não observado
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
OMe	metóxilo
Ph	fenilo
(PhP) <sub>5</sub>	pentafenilfosfina
PhPCl <sub>2</sub>	dicloreto de fenilfosfina
PhP(Se)Cl <sub>2</sub>	dicloreto de seleno-fenilfosfina
ppm	partes por milhão
<sup>i</sup> Pr	isopropilo
R <sub>f</sub>	factor de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ROO	radical livre

RSeH	selenóis
RSeR	selenetos
RSeSeR	diselenetos
R.W.	reagente de Woollins
s	singuleto
S <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	dicloreto de enxofre
Se	selênio
Se <sub>2</sub> Br <sub>2</sub>	dibrometo de selênio
Se <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	dicloreto de selênio
SeMe <sub>2</sub>	dimetilselano
SET-PT	<i>single-electron transfer followed by proton transfer</i>
SPLET	<i>sequential proton loss electron transfer</i>
SOD	superóxido dismutase
<sup>77</sup> Se-RMN	Ressonância Magnética Nuclear de selênio 77
t	triplete
t.a.	temperatura ambiente
TBAF	fluoreto de tetrabutílamônio
TBDMS	<i>tert</i> -butildimetilsililo
THF	tetra-hidrofurano
TMS	tetrametilsilano
Trx	Tioredoxina redutase
UV	ultravioleta
W	watt
ν <sub>máx</sub>	frequência do máximo de absorção em infravermelho
δ	desvio químico em relação ao tetrametilsilano ou dimetilselano
%	percentagem
η	rendimento



## **I. Introdução**







O selênio (Se) é um dos elementos mais raros, de ocorrência natural, presentes na superfície terrestre [1]. Apesar da sua escassez, o Se é actualmente considerado um micronutriente essencial na dieta humana, necessário para o normal funcionamento do metabolismo celular [2]. O reconhecimento desta propriedade é relativamente recente pois, até a algumas décadas atrás, o Se era considerado pela comunidade científica como um elemento dúbio. Não era consensual o seu benefício para a saúde, na medida em que a sua ingestão excessiva conduzia a respostas tóxicas bastante graves, sendo a sua margem terapêutica estreita. No entanto, a descoberta da intervenção do Se em alguns mecanismos celulares [3] levou à compreensão do verdadeiro papel deste elemento no nosso organismo. Apesar disso, há ainda muito por compreender.

### **I.1- Selénio enquanto elemento químico**

O Se foi descrito pela primeira vez, em 1817, pelo cientista sueco Berzelius [4]. O cientista e os seus colaboradores trabalhavam na produção de ácido sulfúrico quando observaram a formação de um sub-produto de coloração vermelha, muito semelhante ao telúrio. Enquanto todos os colaboradores se convenceram que estavam na presença de telúrio, Berzelius não. Investigou um pouco mais e concluiu que se tratava de um novo elemento. Esta relação entre os dois elementos é também verificada no seu nome. O nome *Selenium*, que deriva do nome da deusa grega da lua, *Selene*, foi dado por analogia a *Tellurium*, derivado do nome da deusa grega da Terra, *Tellus* [4].

O selénio, juntamente com o oxigénio, enxofre, telúrio e polónio, pertence ao grupo 16 da tabela periódica. A sua posição na tabela coloca-o na zona dos metalóides apresentando por isso, propriedades físicas e químicas de metais e também de não metais [5].

Tal como o enxofre, apresenta várias formas alotrópicas [4]. O selénio amorfo existe sob duas formas: a negra e vítrea e ainda em pó vermelho. No entanto, a forma mais estável e mais comum é o chamado selénio metálico que apresenta uma estrutura hexagonal e coloração cinzenta.

O selénio apresenta 8 isótopos estáveis, sendo que apenas seis são de ocorrência natural (Tabela I.1) [5] e os mais abundantes são o  $^{80}\text{Se}$  (49,8%) e o  $^{78}\text{Se}$  (23,2%).

**Tabela I.1-** Relação entre os isótopos estáveis do selênio e a sua abundância natural [5].

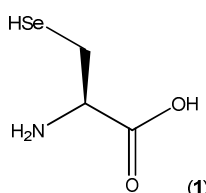
Isótopo	<sup>74</sup> Se	<sup>75</sup> Se	<sup>76</sup> Se	<sup>77</sup> Se	<sup>78</sup> Se	<sup>79</sup> Se	<sup>80</sup> Se	<sup>82</sup> Se
Abundância natural (%)	0,87	sintético	9,36	7,63	23,3	sintético	49,8	8,73

## I.2- Selênio e o seu papel biológico

A dieta representa a maior fonte de selênio para o Homem, podendo ser encontrado em alimentos como arroz, massa, cereais, marisco e carne [6]. Este elemento pode existir nas formas orgânicas como a selenometionina e o dimetilseleneto ou ainda nas formas inorgânicas como o selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) ou o selenato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ). A dose diária recomendada (DDR) para a ingestão de selênio nas suas várias formas é 55  $\mu\text{g}/\text{dia}$  para homens e mulheres em idade adulta [7], sendo que uma concentração acima dos 400  $\mu\text{g}/\text{dia}$  é considerada tóxica. O excesso de selênio provoca respostas tóxicas graves nomeadamente alopecia, *rash* cutâneo, cefaleias, alterações do tracto intestinal, dispneia e em caso extremo a morte [7].

Em 1957, o selênio foi reconhecido como elemento essencial para muitas formas de vida incluindo o Homem [2] e a importância deste elemento enquanto micronutriente, foi demonstrada devido à sua presença no centro activo de algumas enzimas – as selenoproteínas.

As selenoproteínas [8] correspondem a uma classe única de proteínas que contêm selênio na forma de selenocisteína (Figura I.1, **1**), estruturalmente muito semelhante à cisteína onde o átomo de enxofre da cadeia lateral é substituído por um átomo de selênio.

**Figura 0.1-** Estrutura da selenocisteína (1).

Este resíduo constitui o centro activo da maioria das 30 selenoproteínas identificadas em mamíferos [8,9]. Apesar de muitas destas proteínas não terem um

papel conhecido, existem pelo menos três cuja função enzimática é conhecida e de extrema importância (Tabela I.2).

**Tabela I.2-** Algumas das selenoproteínas com função conhecida. Adaptado de [9]

<b>Selenoproteína</b>	<b>Função</b>
<b>Glutathiona peroxidase (GPx)</b>	Tem como papel fisiológico manter o nível apropriado de peróxidos de hidrogénio dentro da célula. Funciona como linha de defesa impedindo a danificação de membranas e estruturas celulares, pelos radicais livres – redução do stress oxidativo. Existem pelo menos 6 tipos de GPx, presentes em vários tipos de tecidos.
<b>Tioredoxina redutase (Trx)</b>	Regula os processos redox intracelulares mantendo a viabilidade da célula, estimulando a sua proliferação (células normais e tumorais). Está também envolvida na síntese do DNA ao reduzir os nucleótidos envolvidos na sua síntese.
<b>Iodotironina deiodinase</b>	Envolvida na produção e regulação dos níveis da hormona activa da tiróide T <sub>3</sub> a partir da sua forma inactiva T <sub>4</sub> . Desta forma intervém directamente no normal desenvolvimento, crescimento e metabolismo do humano.

O papel fisiológico destas enzimas é drasticamente afectado pela deficiência de selénio no organismo. Um exemplo da deficiência deste elemento para o Humano é o desenvolvimento da doença de Keshan [10]. Esta doença foi descoberta numa região do nordeste da China, onde os solos são pobres em selénio, afectando a sua população, especialmente mulheres e crianças. Esta doença é caracterizada por um aumento do tamanho do coração com vários episódios de insuficiência cardíaca [11]. O fornecimento de suplementos nutricionais de selénio protege estas populações de desenvolverem a doença sem conseguir, contudo, reverter o dano do músculo cardíaco.

Nos últimos anos, têm sido efectuados estudos que demonstram a intervenção do selénio no bom funcionamento do sistema imunitário e na biossíntese de testosterona, onde a deficiência em Se corresponde a uma diminuição da mobilidade e número de espermatozóides com conseqüente redução da fertilidade [12]. Além disso, a deficiência em selénio tem sido associada a mudanças de humor e a doenças que envolvem stress oxidativo como é o caso do cancro, doenças cardiovasculares, arteriosclerose ou artrites [13].

### **I.2.1- Selénio e as suas propriedades antioxidantes**

As espécies reactivas de oxigénio (ERO) podem ter fontes exógenas, como a exposição a energia ionizante ou a agentes químicos, mas estão também continuamente a ser produzidas no nosso organismo. Em alguns casos são produzidas especificamente para exercer uma função biológica essencial. No entanto existem casos em que são sub-produtos de processos metabólicos. Estas espécies podem oxidar lípidos, ácidos nucleicos ou proteínas, causando o dano de estruturas celulares [14, 15]. Embora as células apresentem um sistema de defesa que mantém a concentração das ERO equilibrada, pode ocorrer um descontrolo que resulta no stress oxidativo, que é considerado o promotor de muitas doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, inflamatórias, diabetes ou cancro [16].

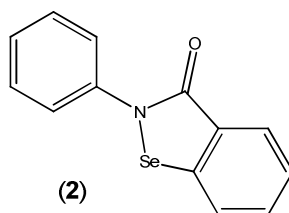
Os antioxidantes, que podem ser de origem enzimática ou não enzimática, têm a capacidade de converter as espécies reactivas de oxigénio em espécies menos reactivas e, conseqüentemente, impedir o dano celular causado pelas mesmas. Para isso, são eles próprios oxidados e é esta a razão pela qual as quantidades de antioxidantes têm de ser continuamente repostas. De uma maneira geral, os antioxidantes actuam de duas formas: 1) quebrando cadeias oxidativas, estabilizando os radicais livres formados e transformando-os em espécies neutras; 2) prevenindo os processos oxidativos através da captura de espécies reactivas de oxigénio iniciadoras [17,18].

Vários compostos como os polifenóis, antioxidantes enzimáticos como o superóxido dismutase (SOD) ou a glutathiona peroxidase (GPx) e ainda micronutrientes como a vitaminas C, E e carotenos têm sido estudados pelas suas propriedades antioxidantes [19,20]. Nesta lista inclui-se também o selénio.

Nos vários estudos biológicos efectuados é demonstrada a capacidade do Se capturar espécies reactivas de oxigénio, seja na forma de compostos orgânicos selenados ou na forma de enzimas antioxidantes como as GPx [21]. No entanto, e no

que diz respeito a compostos selenados, apesar da maioria dos estudos sugerir um papel preventivo em várias doenças, alguns estudos são também inconclusivos indicando a necessidade da realização de mais testes *in vivo*.

Estudos epidemiológicos e em modelos animais foram efectuados com vários compostos contendo selénio, apresentando-se nas formas inorgânicas como o selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) e o selenato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) ou em formas orgânicas como a selenometionina, a selenocisteína ou outros compostos sintéticos [22]. Um dos compostos que tem sido intensivamente estudado é o 2-fenil-1,2-benzioselinazol-3[2H]-ona ou Ebselen (Figura 1.2, **2**).



**Figura 0.2** - Estrutura do antioxidante contendo selénio – Ebselen (**2**).

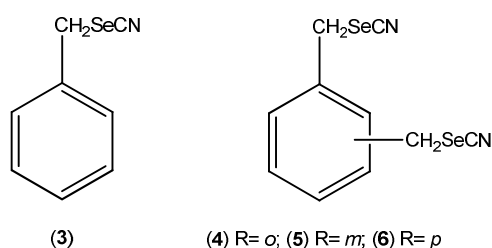
O Ebselen (**2**) é um composto contendo selénio conhecido por ter a capacidade de mimetizar a GPx [23]. Em vários estudos efectuados em modelos animais demonstrou ter um efeito protector em doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Baljinnyam *et. al.* [24] mostraram que suplementos orais de **2** (30 e 100 mg/Kg) dados a ratos resultavam numa protecção cardiovascular diminuindo o número de enfartes do miocárdio. Outro exemplo é um estudo efectuado por Moussaoui *et. al.* [25] que demonstra que o tratamento preventivo com **2**, reduz a perda dos neurónios dopaminérgicos induzida por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidroxilpiridina (MPTP), e o aparecimento dos sintomas da doença de Parkinson, em primatas (marmosets).

Este composto esteve sujeito a ensaios clínicos de Fase III, no Japão. A vários pacientes do sexo feminino e masculino, diagnosticados com acidente vascular cerebral (AVC) isquémico foi administrado por via oral 150 mg de ebselen, 24 a 48h após o acidente, continuando o tratamento por mais 15 dias. Os pacientes foram seguidos durante 1 a 3 meses. O estudo revelou que os pacientes tratados com Ebselen logo após 24h do AVC tiveram uma recuperação mais rápida e sem novos AVC's [26].

### I.2.2- Selênio como agente anticarcinogénico

Os resultados obtidos em estudos epidemiológicos e estudos *in vivo* em modelos animais indicam que existe uma relação inversa entre a presença de selênio e o risco de ocorrência de cancro, demonstrando a importância deste elemento na redução e prevenção desta patologia [27]. Embora a maioria dos estudos biológicos revelem um efeito protector do selênio contra vários tipos de cancro, existem alguns que apresentam resultados inconclusivos [28], evidenciando a necessidade de mais investigação nesta matéria.

Vários compostos orgânicos sintéticos contendo selênio têm sido estudados no que diz respeito à sua actividade antitumoral. São exemplo os seleno-cianatos aromáticos **3-6** (Figura I.3).



**Figura 0.3** - Estrutura dos seleno-cianatos (**3-6**) avaliados na sua actividade antitumoral.

Fiala *et. al.* [29] demonstraram que **3** inibe o indutor de cancro do cólon azoximetano (AOM), em ratos F344. A adição de outro grupo seleno-cianato (**4-6**) promove um aumento na sua potência quando comparado com o seleno-cianato **3** [30]. Estes últimos foram administrados em vários modelos animais verificando-se uma inibição em cancros da mama, pulmões e colón, quimicamente induzidos.

Ip *et. al.* [31] estudaram o efeito sinérgico da vitamina E e o Se como agentes preventivos do cancro da mama. O estudo revelou que embora a vitamina E sozinha não seja eficaz na inibição de tumores induzidos por dimetilbenzo ( $\alpha$ )-antraceno (DMBA) em ratos Sprague-Dawley, há um efeito sinérgico entre os dois antioxidantes. A presença da vitamina E potencia a capacidade do selênio inibir o desenvolvimento de tumores da mama, nos ratos tratados.

Clark e os seus colaboradores [32] estudaram um grupo de 1312 pacientes com historial de carcinomas da pele, aos quais foi administrando 200  $\mu\text{g}/\text{dia}$  de Se, na forma de selenometionina, comparativamente com um grupo de controlo ao qual foi

administrado placebo. Os indivíduos foram tratados durante 5 anos e observados por mais um ano. Os estudos concluíram que embora o Se não tenha tido um papel protector relativamente a incidência de novos casos de tumores na pele parece reduzir em 50% o aparecimento de outros tipos de cancro e a mortalidade a ele associada.

Yu *et. al* [33], conduziram um estudo em Quidong, uma das regiões da China com maior incidência de cancro do fígado, e com solos pobres em selénio. A avaliação foi levada a cabo durante mais de 8 anos, e pretendia demonstrar o efeito preventivo do Se neste tipo de cancro. A 130,471 indivíduos do sexo masculino foi dado uma barra salina fortificada com 15 ppm de selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) como suplemento ou placebo. O estudo revelou o efeito protector do selénio reduzindo a incidência de cancro do fígado em 35,1 % dos casos comparativamente ao grupo de controlo.

### **I.3- Compostos orgânicos contendo selénio**

As sínteses dos primeiros compostos orgânicos contendo selénio surgem a partir do século XIX [34]. Eram compostos alifáticos simples tais como selenóis ( $\text{RSeH}$ ), selenetos ( $\text{RSeR}$ ) e diselenetos de alquilo ( $\text{RSeSeR}$ ) [35]. No entanto, o mau cheiro característico deste tipo de compostos aliado à dificuldade de manuseamento por oxidação ao ar, tornou-os pouco atractivos do ponto de vista sintético. Durante muito tempo, a química do selénio foi abandonada.

Só mais tarde, na década de 70, já no século XX, surge um novo interesse por compostos selenados. A descoberta das propriedades antioxidantes do elemento selénio tornaram-no bastante mais atractivo, abrindo-se desta forma uma nova e interessante área de investigação. Os compostos contendo selénio têm sido bastante estudados, nomeadamente no que se refere as suas propriedades antioxidantes, antibacterianas, antivirais, e ainda anticancígenas, verificando-se um grande potencial preventivo e terapêutico [36].

Assim, nas últimas décadas, tem-se verificado um grande esforço por parte da comunidade científica, no sentido de desenvolver novos e melhores métodos sintéticos capazes de promover a formação de compostos orgânicos estáveis com selénio. Estes novos métodos permitirão que novos tipos de compostos biologicamente activos possam ser testados desencadeando um maior conhecimento deste elemento e das suas potencialidades.

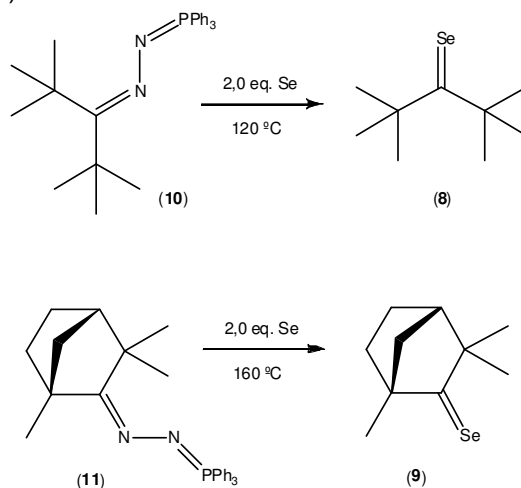
### I.3.1- Métodos de síntese para a preparação de compostos contendo grupo seleno-carbonilo (C=Se)

O grupo carbonilo (C=O) é considerado um dos grupos funcionais mais importantes em síntese química. A sua reactividade atípica permite a síntese de intermediários que dão origem a diferentes famílias de compostos.

A substituição do átomo de oxigénio por outros átomos mais pesados, do mesmo grupo da tabela periódica, como o enxofre, selénio e telúrio, desde cedo atraiu a comunidade científica. Por analogia ao grupo carbonilo (C=O), este tipo de transformação permitiria introduzir novas funcionalidades químicas que até então não haviam sido exploradas.

Em contraste com o análogo de enxofre (C=S) a preparação do grupo seleno-carbonilo (C=Se) é ainda um desafio. Tal deve-se não só à reactividade da ligação C=Se mas também à falta de uma metodologia sintética prática.

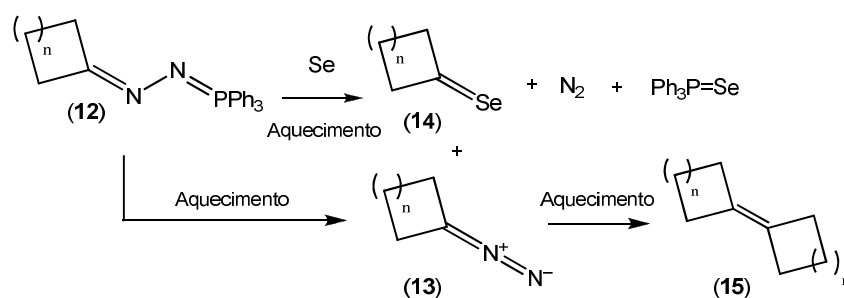
A tentativa de substituição do átomo de oxigénio por um átomo de selénio inicia-se na década de 70. Barton *et. al.* [37], descrevem pela primeira vez a síntese e o isolamento de duas seleno-cetonas. São elas a di-*tert*-butil-seleno-cetona (**8**) e a (-)-seleno-fenchona (**9**) (Esquema I.1) A síntese destas seleno-cetonas foi feita a partir das respectivas fosfazinas (**10** e **11**) com aquecimento, na presença de um excesso de selénio (Esquema I.1).



**Esquema I.1** - Esquema reaccional das primeiras seleno-cetonas sintetizadas por Barton *et.al* [37]

Barton e seus colaboradores [38] continuaram este trabalho aplicando o mesmo método a outras cetonas impedidas (Esquema I.2). No entanto, este método revelou

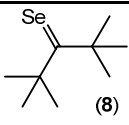
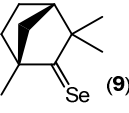
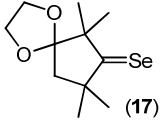
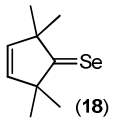
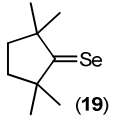
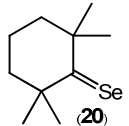
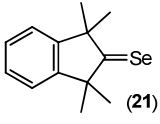
ter algumas limitações práticas. Verificou-se que o grau de pureza dos materiais de partida influenciava bastante os rendimentos das seleno-cetonas obtidas. Além disso, a temperatura e a velocidade de aquecimento da mistura reaccional era crucial. Um rápido aquecimento das fosfazinas **12** promove a formação de compostos do tipo diazo **13**. Estes, uma vez formados poderão reagir com as seleno-cetonas **14** formadas dando origem às olefinas **15**. O rendimento das seleno-cetonas diminui substancialmente por competição com compostos do tipo de **15** (Esquema I.2). Apesar de limitativo, no que diz respeito à síntese de compostos com seleno-carbonilo, este método revelou-se um excelente método para a síntese de olefinas impedidas.



**Esquema I.2** - Esquema reaccional da formação de olefinas (**15**) por competição com **14** [38].

Na década de 80, o dicloreto de enxofre ( $\text{S}_2\text{Cl}_2$ ) era um reagente usado na conversão de hidrazonas a tiocetonas [39]. Dada a semelhança entre o átomo de enxofre e o átomo de selênio, Guziec *et. al.* [40] investigaram o uso de dicloreto de selênio ( $\text{Se}_2\text{Cl}_2$ ) e dibrometo de selênio ( $\text{Se}_2\text{Br}_2$ ), para a formação das seleno-cetonas **8**, **9** e **17-21**, promovendo a reacção dos respectivos compostos diazo impedidos **16** na presença de um excesso de trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ), seguida da adição de selênio com aquecimento (Tabela I.3).

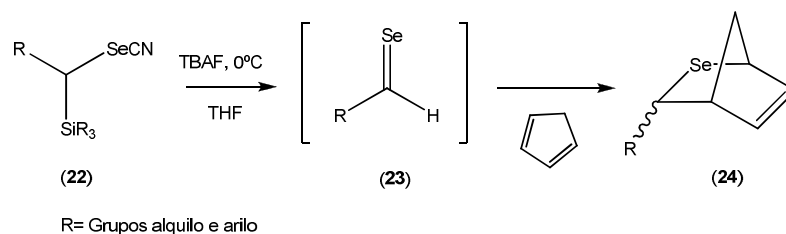
**Tabela I.3** - Condições experimentais e resultados obtidos por Guziec *et. al.* [40].

		$  \begin{array}{ccc}  \begin{array}{c} \text{R} \\   \\ \text{R}-\text{C}=\text{N}^+=\text{N}^- \\ (16) \end{array} & \begin{array}{c} 1) \text{ A ou B} \\ 2,0 \text{ eq. Et}_3\text{N} \\ 2) \text{ Se, aquecimento} \\ \hline \text{diclorometano} \end{array} & \begin{array}{c} \text{R} \\   \\ \text{R}-\text{C}=\text{Se} \\ (8, 9, 17-21) \end{array}  \end{array}  $	
Entrada	Produto	A - Se <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> η (%)	B- Se <sub>2</sub> Br <sub>2</sub> η (%)
1	 (8)	45	65
2	 (9)	40	76
3	 (17)	66	80
4	 (18)	-	70
5	 (19)	-	68
6	 (20)	37	73
7	 (21)	53	80

Dos dois reagentes utilizados, o Se<sub>2</sub>Br<sub>2</sub> revelou ser o mais eficaz, conduzindo a rendimentos superiores. As seleno-cetonas **8** e **9** (entrada 1 e 2) são obtidas nestas condições com rendimentos consideravelmente superiores aos obtidos pelos dois processos descritos anteriormente [37,38]. De facto, o método de Guziec *et al.* [40] revelou ser mais eficaz e prático, na medida em que para além de conduzir á formação de produtos com rendimentos superiores, diminui o número de passos sintéticos. No

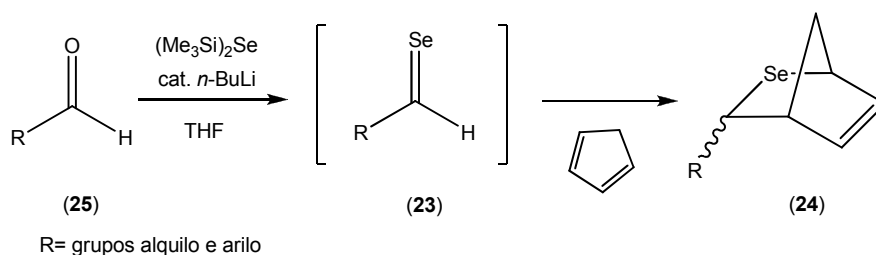
entanto, este método apresenta o mesmo problema de controlo de temperatura referido anteriormente, conduzindo à formação de olefinas.

No fim da década de 80, Krafft *et al.* [41] desenvolveram um método para a preparação de seleno-aldeídos. A formação destes compostos envolve 2 passos (Esquema I.3): a) formação de compostos do tipo seleno-cianato (**22**) [42]; b) geração de seleno-aldeídos **23**, *in situ*, pela adição lenta e a baixa temperatura de fluoreto de tetrabutílamónio (TBAF), em tetra-hidrofurano (THF). No entanto, devido à reactividade dos seleno-aldeídos formados, foi necessário armadilhá-los através da adição de ciclopentadieno. Desta forma, promove-se uma ciclo-adição dando origem a adutos do tipo (**24**), impedindo a polimerização de **23**. Estas reacções têm rendimentos na ordem dos 60-90%.



**Esquema I.3** - Esquema reaccional das seleno-cetonas (**23**) sintetizadas por Krafft *et al.* [41].

Paralelamente, Segi *et al.* [43], desenvolveram outro método que envolve o uso de bis (trimetilsilil) selano, e catálise básica (Esquema I.4). No entanto, tal como no método descrito por Krafft *et al.* [41], a forte reactividade dos compostos do tipo **23** não permitiu o seu isolamento sendo necessário armadilhar os compostos gerados. Este processo foi efectuado de modo análogo ao descrito anteriormente, recorrendo ao uso do ciclopentadieno, e os rendimentos contabilizados em função do aduto **24** formado, são semelhantes aos do método anteriormente descrito.

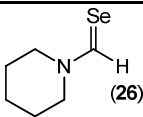
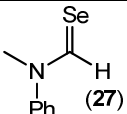
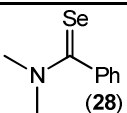
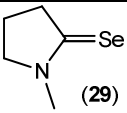


**Esquema I.4** - Esquema reaccional das seleno-aldeídos (**23**) sintetizadas por Segi *et al.* [43].

Qualquer um dos métodos anteriores foi aplicado a cetonas usando outro tipo de dienos, permitindo desta forma a síntese eficaz de compostos bicíclicos substituídos [44].

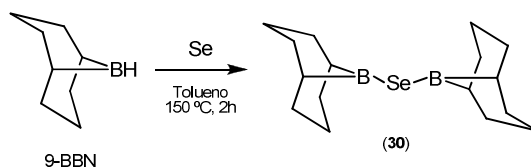
No final da década de 90, Li e Zingaro [45] desenvolvem um método para síntese de tio-, seleno-, e teluro-amidas. Este método envolve o uso de hidreto de diisobutilalumínio ( $i\text{Bu}_2\text{AlH}$ ) em presença do elemento pretendido (Tabela I.4). Os rendimentos obtidos são satisfatórios e este método tem como vantagem o facto do reagente de selenação ser gerado *in situ*, processando-se a reacção numa só etapa.

**Tabela I.4** - Condições experimentais e rendimentos obtidos para algumas das seleno-amidas sintetizadas por Li e Zingaro [45].

Produto	Temperatura (°C)	Tempo (h)	$\eta$ (%)
 (26)	60-70	4	66
 (27)	60-70	3	64
 (28)	100-110	12	30
 (29)	60-70	4	41

Takikawa *et. al.* [46], promoveu a formação de uma série de seleno-amidas e cetonas impedidas em apenas uma etapa reaccional explorando o uso do seleneto de bis (1,5-cicloctan-di-il-boril) (**30**), na troca directa do átomo de oxigénio pelo átomo de selénio, em vários compostos contendo o grupo carbonilo. Este reagente é preparado

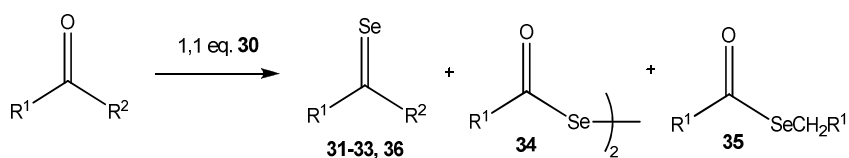
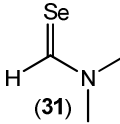
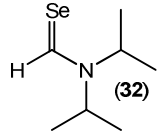
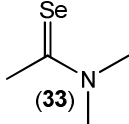
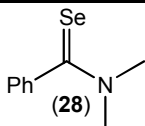
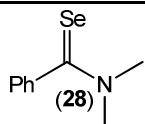
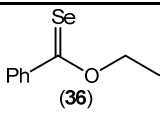
através do tratamento de 9-borabicyclo [3.3.1] nonano (9-BBN) com selênio elementar a 150 °C, por 2h. (Esquema I.5) [47].



**Esquema I.5** - Esquema reaccional da preparação do reagente seleneto de bis (1,5-ciclooctandi-il-boril) (**30**) [47]

O tratamento de amidas com o reagente **30** em vários solventes, à temperatura ambiente ou temperatura elevada, deu origem às respectivas seleno-amidas **31-33** (Tabela I.5, entrada 1 a 3, respectivamente), com rendimentos de 39-16%. No entanto, a seleno-amida **28** (Tabela I.5, entradas 4 e 5) não se formou, apesar do uso de duas condições reacionais diferentes. Nestes dois casos, ocorreu uma dimerização dando origem aos compostos **34** e **35**. De um modo similar, tratou-se o éster, benzoato de etilo (entrada 6), com **9** numa mistura de benzeno/diclorometano dando origem à seleno-éster correspondente **36**, com um rendimento baixo (14%).

**Tabela I.5**-Condições reaccionais e rendimentos obtidos na síntese de compostos contendo o grupo funcional seleno-carbonilo obtidos pelo tratamento de derivados do ácido carboxílicos com **30** [46].

						
Entrada	solvente	Temp. (°C)	Tempo (h)	η (%)		
				31-33,36	34,35	
1	tolueno	t.a	24	 (31)	39	-
2	benzeno/ diclorometano	110	1	 (32)	16	-
3	mesitileno/ diclorometano	63	5	 (33)	34	-
4	benzeno/ diclorometano	refluxo	18	 (28)	0	<b>6 (34)</b> <b>28 (35)</b>
5	mesitileno	60	5	 (28)	0	<b>25 (35)</b>
6	benzeno/ diclorometano	130	10	 (36)	14	-

O tratamento de cetonas estereoquimicamente impedidas na presença de **30**, numa mistura de benzeno/diclorometano (1:1), a 130 °C, sob atmosfera inerte origina as respectivas seleno-cetonas **9,37** e **38** (Tabela I.6, entrada 1-3). Os rendimentos são moderados, na ordem dos 30-40 % e, paralelamente, há a formação dos respectivos diselenetos **39, 40** e **41**. É de salientar também que a seleno-cetona **9**, já havia sido sintetizada pelos métodos de Barton *et. al.* [37] e Guizec *et. al.* [40], com rendimentos

significativamente maiores (entrada 1). No entanto, a síntese de **37** e **38** (entrada 2 e 3, respectivamente) não havia sido conseguida. O impedimento estérico dos grupos substituintes torna impossível a formação das hidrazonas precursoras de **37** e **38**. Desta forma, o método desenvolvido por Takikawa e os seus colaboradores [46] parece constituir um método alternativo para a síntese de seleno-cetonas muito impedidas.

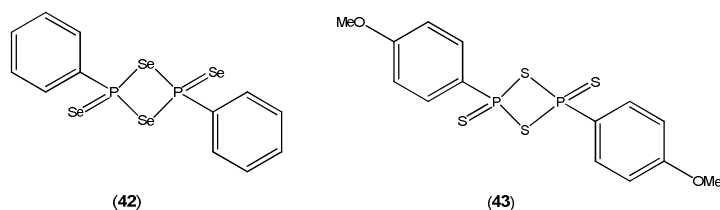
**Tabela I.6-** Condições reaccionais e rendimentos obtidos na síntese de compostos com o grupo funcional seleno-carbonilo obtidos pelo tratamento de cetonas impedidas com **30**.

Reaction scheme: A bicyclic ketone with substituents R<sup>1</sup> and R<sup>2</sup> reacts with 1.1 eq. of reagent **30** in benzene/dichloromethane at 130 °C for 72-96h under argon. The products are a seleno-ketone (labeled **9, 37, 38**) and a diselenide (labeled **39, 40, 41**).

Entrada	seleno-carbonilo	η (%)	diseleneto	η (%)
1		35		41
2		33		16
3		38		5

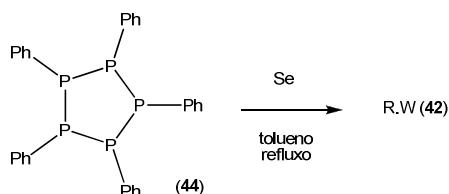
Já no sec. XXI, Woolins e os seus colaboradores desenvolveram o reagente 3-di-selena-2,4-di-fosfoetano-2,4-di-selenido (**42**, Figura I.4) mais conhecido por reagente de Woollins (R.W.) que permite de um modo simples a conversão do grupo funcional carbonilo em seleno-carbonilo [48]. O reagente de Woollins (**42**) é estruturalmente semelhante ao reagente de Lawesson (**43**, Figura I.4) usado na interconversão de um átomo de oxigénio por um de enxofre. O reagente **42** pode ser preparado de duas

formas distintas: A. oxidação do 1,2,3,4,5-pentafenilpentafosfolano [(PhP)<sub>5</sub>] (**44**) ou B. oxidação do dicloreto de fenilfosfina (PhPCl<sub>2</sub>) (**45**)



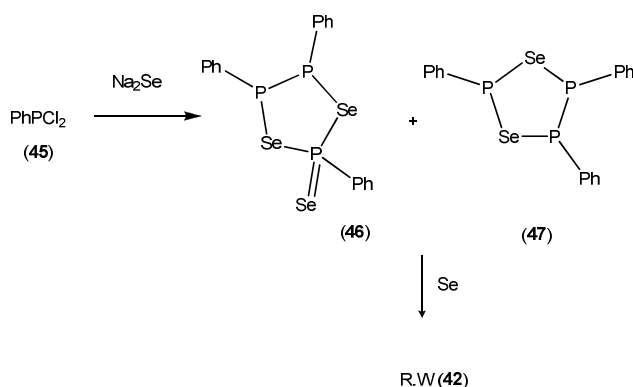
**Figura 0.1** -Reagente de Woollins (**42**) e o seu análogo de enxofre **43**.

No método A, promove-se o aquecimento do pentâmero (PhP)<sub>5</sub> (**44**) em tolueno, na presença de 10,0 eq. de selênio elementar que leva à formação de **42**, com rendimentos na ordem dos 70-80% (Esquema I.6). Uma das limitações deste método é que **44** é extremamente sensível ao ar e apresenta um odor desagradável.



**Esquema I.6-** Formação do reagente de Woollins por oxidação de (PhP)<sub>5</sub> (**44**).

O método B envolve o aquecimento da fosfina (**45**) em tolueno, na presença de seleneto de sódio (Na<sub>2</sub>Se) originando a formação de dois compostos cíclicos de 5 membros, **46** e **47**. Uma nova adição de selênio dá origem ao R.W. (**42**) com rendimentos na ordem dos 80-90% (Esquema I.7).



**Esquema I.7-** Formação do reagente de Woollins por oxidação de PhPCl<sub>2</sub> (**45**).

Para comprovar a eficácia de **42**, Woollins e os seus colaboradores [48] sintetizaram um grupo de seleno-amidas e seleno-aldeídos. O método desenvolvido, que envolve o aquecimento do R.W. (**42**) com amidas em tolueno a refluxo, demonstrou ser bastante eficaz na transformação de amidas secundárias e terciárias **48-51** nas correspondentes seleno-amidas **52-55**, sendo os rendimentos na ordem dos 70% (Tabela I.7). No entanto, a mesma transformação com substituintes mais impedidos revela-se menos eficaz, sendo que o rendimento desce para os 30% (Tabela I.7, entrada 3). No que diz respeito a amidas primárias, a conversão na respectiva seleno-amida é baixa (Tabela I.7, entrada 4).

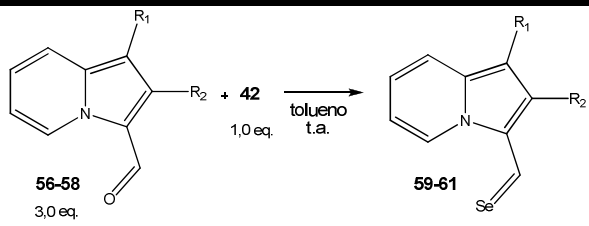
**Tabela I.7** - Condições experimentais e rendimentos obtidos nas reacções de selenação de amidas na presença de R.W (**42**) [48].

$$\text{Ph}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NR}_1\text{R}_2 + \text{42} \xrightarrow[\text{130 } ^\circ\text{C}]{\text{tolueno seco}} \text{Ph}-\overset{\text{Se}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NR}_1\text{R}_2$$

48-51 (3,0 eq) + 42 (1,0 eq) → 52-55

Entrada	Amida	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Tempo (h)	Produto	η (%)
1	48	Me	Me	1	52	72
2	49	H	Me	2	53	70
3	50	H	<i>t</i> -Bu	7	54	30
4	51	H	H	1	55	13

Para além das seleno-amidas **52-55**, o mesmo grupo promoveu a conversão de indolizino-3-aldeídos (**56-58**) nos respectivos seleno-aldeídos (**59-61**) (Tabela I.8). Neste caso, a selenação ocorre com rendimentos na ordem dos 40-60%. No entanto, comparativamente com outro método utilizado anos antes por Michael *et al.* [49], o rendimento é inferior. Speirs e colaboradores sintetizaram o mesmo tipo de seleno-aldeídos, **59-61**, recorrendo ao dicloreto de seleno-fenilfosfina (PhP(Se)Cl<sub>2</sub>), com rendimentos na ordem dos 70-80%.

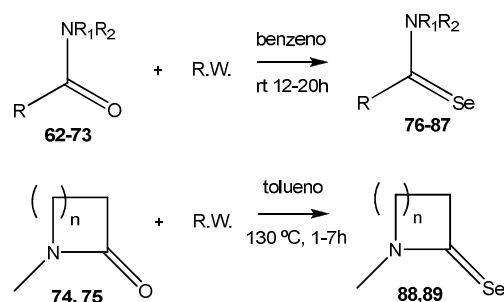
**Tabela I.8-** Condições experimentais e rendimentos obtidos nas reacções de selenação de indolizino-3-aldeído na presença de R.W. (**42**)


Indolizino-3-aldeído	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Tempo (h)	Produto	η (%)
<b>56</b>	H	Me	2	59	53
<b>57</b>	H	<i>t</i> -Bu	2	60	59
<b>58</b>	Me	<i>t</i> -Bu	2	61	40

Apesar da síntese de uma pequena biblioteca de compostos, Woollins [48] *et.al.* conseguiu demonstrar as potencialidades deste novo reagente para preparar compostos do tipo seleno-carbonilo.

Dois anos mais tarde, Bentke *et al.* [50] prepararam uma série de seleno-amidas usando o mesmo reagente **42**. O método utilizado era muito semelhante ao usado por Woolins, sendo que neste caso, a formação de seleno-amidas acíclicas se realizou à temperatura ambiente (Tabela I.9).

**Tabela I.9**– Condições experimentais e rendimentos obtidos para as seleno-amidas preparadas pelo método de Bentke *et al.* [50].



Amida	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Seleno-amida	η (%)
62	H	Me	Me	76	82
63	H	Et	Et	77	77
64	H	iPr	iPr	78	75
65	H	Me	Ph	79	85
66	H	Ph	Ph	80	59
67	Me	Me	Me	81	66
68	Me	Et	Et	82	29
69	Me	iPr	iPr	83	21
70	Me	Me	Ph	84	48
71	Et	Me	Me	85	57
72	Ph	Et	Et	86	72
73	4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Me	Me	87	66
74	n=1	Me	-	88	74
75	n=2	Me	-	89	61

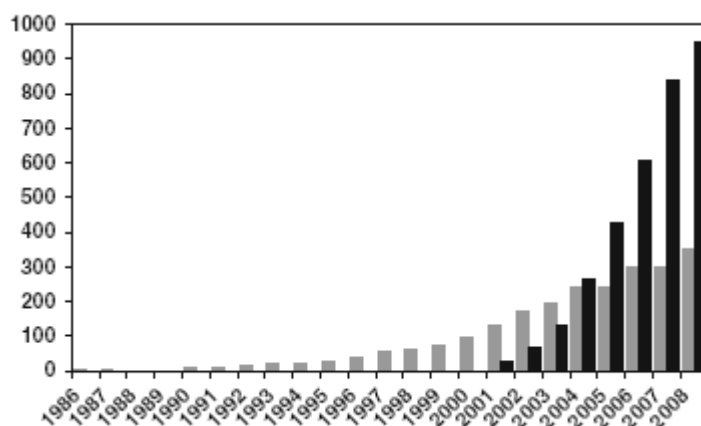
As reacções ocorreram numa razão molar de 4:1 (amida:1) em condições suaves, estando completas no máximo em 20h, dependendo do substrato. O método desenvolvido foi aplicado à síntese de várias seleno-amidas *N,N*-dissubstituídas com rendimentos bastantes bons. No entanto, verifica-se uma diminuição do mesmo com o aumento do comprimento da cadeia ou volume dos substituintes.

## I.4. Síntese orgânica assistida por microondas

Em síntese química, os métodos mais convencionais para o aquecimento de misturas reacionais são os banhos de óleo e areia e ainda as mantas de aquecimento. Neste tipo de aquecimento, os reagentes são lentamente activados pela fonte externa de energia, que para chegar ao seio da solução terá de passar pelas paredes do balão reaccional. Este é um processo de transferência energética lento e não homogêneo podendo levar à decomposição de reagentes e produtos.

No início da década de 80, surge uma alternativa às fontes de calor acima citadas, a radiação por microondas [51]. O sucesso desta tecnologia verifica-se pelo aumento exponencial de publicações a partir do início dos anos 90 (Figura I.5) [52].

O aquecimento com recurso a microondas permite que a radiação chegue directamente às moléculas da mistura reaccional promovendo um aumento rápido da temperatura. Neste caso, a transferência energética não depende da condutividade térmica resultando num aquecimento instantâneo e homogêneo da mistura reaccional, minimizando a formação de produtos laterais e decomposição de reagentes e produtos. Além disso, os tempos reacionais tornam-se significativamente menores sendo esta uma das maiores vantagens desta técnica [51].



**Figura 0.1**– Publicações sobre síntese química assistida por microondas (1986-2008).

Adaptado de [52]. [legenda: barras cinzentas- numero de publicações em 7 jornais, envolvendo o uso de microondas (*J. Org. Chem.*, *Org. Lett.*, *Tetrahedron*, *Tetrahedron lett.*, *synth commun.*, *Synthesis* e *Synlett*); barras pretas: numero de publicações associadas a síntese química assistida por computador e que envolvem o uso de reactores apropriados).

A comercialização de equipamentos especializados, cada vez mais seguros e o desenvolvimento de vários métodos sintéticos assistidos por microondas terão sido os factores que contribuirão para o sucesso desta técnica entre a comunidade científica.

Virtualmente, qualquer reacção que dependa da temperatura pode ser efectuada por microondas. Falamos de reacções como ciclo-adições, reacções de oxidação e redução, reacções de substituição nucleófila aromática entre outras [53]

Um exemplo prático da aplicação desta tecnologia é dado por Varna e Kumar [54]. Estes cientistas desenvolveram um método para a formação de tiocetonas, tiolactonas, tioamidas, tioesteres e tioflavonoides a partir dos respectivos análogos carbonílicos e que envolve o uso do reagente de Lawesson (**43**) com irradiação por microondas. O processo descrito é simples sendo necessário apenas misturar os substratos com 0,5 eq. de **43**, seguido de irradiação por microondas durante 2-3 min, sem qualquer solvente (Tabela I.10).

**Tabela I.10-** Condições experimentais e rendimentos obtidos para o método de Varma e Kumar [54].

com: R=grupos arilo e alquilo  
X=O,N,C

Entrada	Produto	Tempo (min.)	$\eta$ (%)	Entrada	Produto	Tempo (min.)	$\eta$ (%)
1	 (90)	3	92	6	 (95)	2	97
2	 (91)	3	95	7	 (96)	2	93
3	 (92)	3	96	8	 (97)	2	88
4	 (93)	3	86	9	 (98)	3	98
5	 (94)	2	96	10	 (99)	3	84

Os rendimentos obtidos são excelentes (acima dos 80%) demonstrando a eficácia deste método. O método desenvolvido apresenta bastantes vantagens comparativamente com outros métodos que envolvem aquecimento convencional [55].

Este método é extremamente rápido e não necessita de grandes quantidades de **43**. Além disso, pode ser aplicado a um vasto conjunto de compostos com grupos carbonilo, e por não necessitar de solvente, é considerado um método amigo do ambiente.





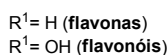
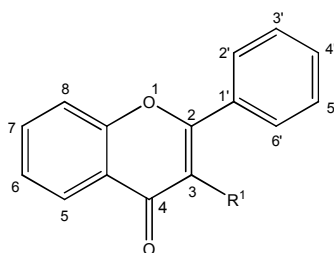


## **II. Discussão de resultados**



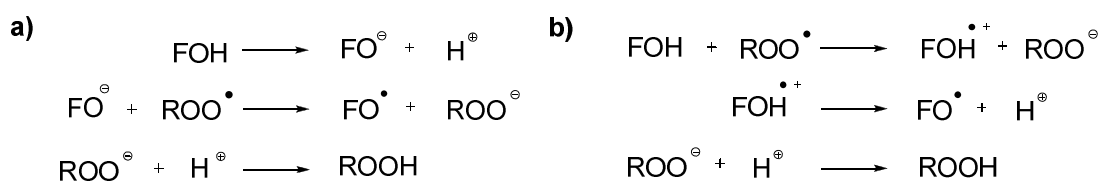
## II.1- Preparação de derivados selenados de flavonóides

Os flavonóides constituem uma das mais importantes famílias de compostos polifenólicos do reino vegetal [56], na qual se incluem as flavonas e os flavonóis (Figura II.1). Estes metabolitos secundários têm sido extensivamente estudados devido às suas propriedades terapêuticas, associadas à sua actividade antioxidante. Tem sido estudado particularmente, o seu papel em doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, bem como na prevenção do cancro. [57]



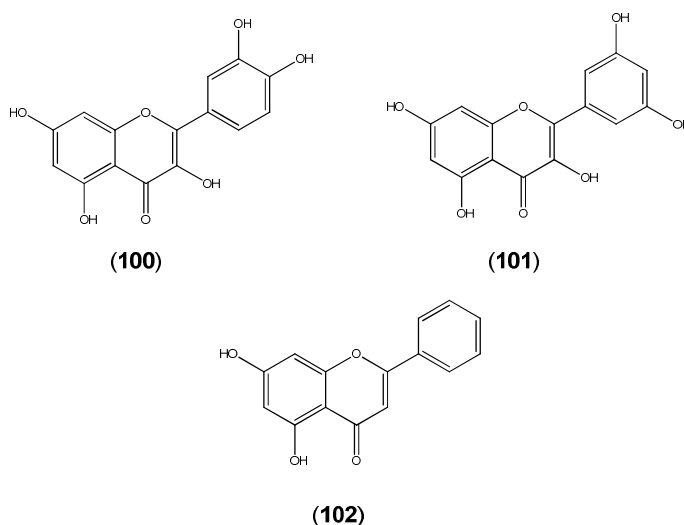
**Figura II.1-** Esqueleto da estrutura química base das flavonas e flavonóis.

A actividade antioxidante dos flavonóides (FOH) assenta fundamentalmente na sua capacidade de ceder radicais de hidrogénio (H<sup>•</sup>), reduzindo os radicais livres (ROO<sup>•</sup>) às suas formas estáveis. Os radicais fenoxilo (FO<sup>•</sup>) formados são menos reactivos e, portanto, menos lesivos. Tradicionalmente, esta doação de H<sup>•</sup> ocorre por homólise da ligação hidroxílica O-H; contudo, em meios biológicos, a doação de H<sup>•</sup> pode ocorrer em duas fases, dependendo da presença de solventes aceitadores de prótons ou de electrões, bem como do potencial de oxidação das espécies envolvidas. Assim, a doação de H<sup>•</sup> pode igualmente ocorrer por um mecanismo do tipo SPLET (*sequential proton loss electron transfer*), em que o flavonóide desprotonado cede um electrão, ou do tipo SET-PT (*single-electron transfer followed by proton transfer*), que corresponde à desprotonação do radical catião derivado do flavonóide [58] (Esquema II.1).



**Esquema II.1-** Mecanismo da doação de H<sup>•</sup> a) do tipo SPLET e b) do tipo SET-PT.

Estudos computacionais preliminares, realizados com metodologia previamente validada [59], indicam que a substituição do oxigênio do grupo carbonilo por um átomo de selênio na 2-(3',4'-di-hidroxi-fenil)-3,5,7-tri-hidroxi-cromen-4-ona (quercetina, Figura II.2, **100**) e na 2-(3',5'-di-hidroxi-fenil)-3,5,7-tri-hidroxi-cromen-4-ona (morina, Figura II.2, **101**) leva a uma diminuição ligeira dos valores de  $pK_a$  dos grupos hidroxílicos, favorecendo o mecanismo SPLET em detrimento do SET-PT. Sendo a água um solvente aceitador de prótons é provável que esta conversão estrutural se traduza num aumento da actividade antioxidante. Por outro lado, sabe-se que algumas flavonas, como a 5,7-di-hidroxi-2-fenil-4H-cromen-4-ona (crisina, Figura II.2, **102**), são bons ligandos de várias cinases [60], o que se traduz na sua actividade anticarcinogénica. No caso da crisina, que não apresenta à partida uma actividade antioxidante significativa, a introdução do átomo de selênio leva a uma diminuição da energia de dissociação homolítica da ligação O-H no carbono C<sup>5</sup> de aproximadamente 160 kJ/mol (de 200,41 para 40,56 kJ/mol), o que indica que esta flavona poderá tornar-se num antioxidante altamente eficaz. Por outro lado, o potencial de ionização também diminui cerca de 80 kJ/mol (de 717,03 para 636,15 kJ/mol), reforçando a sua potencial actividade antioxidante.

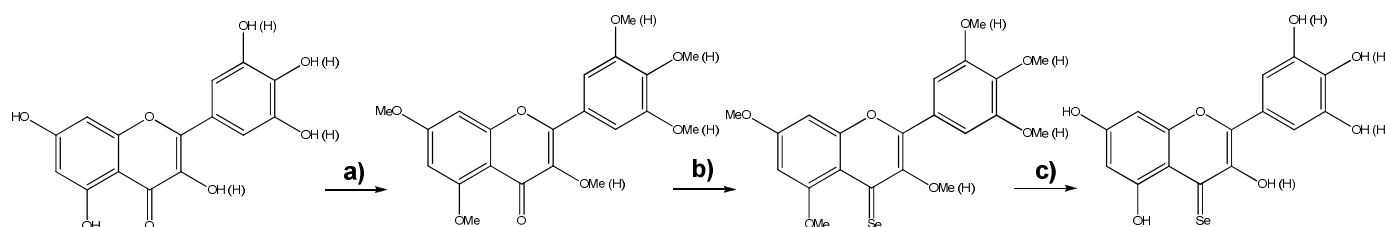


**Figura II.2-** Estrutura da (2-(3',4'-di-hidroxi-fenil)-3,5,7-tri-hidroxi-cromen-4-ona (quercetina, **100**), 2-(3',5'-di-hidroxi-fenil)-3,5,7-tri-hidroxi-cromen-4-ona (morina, **101**) e 5,7-di-hidroxi-2-fenil-4H-cromen-4-ona (crisina, **102**).

Com objectivo de prever o efeito da substituição do grupo carbonilo pelo grupo seleno-carbonilo em flavonóides (Figura II.2), foram realizados estudos de docking molecular à proteína 3-fosfatidilinositol cinase (envolvida na modulação de vias

intracelulares de transdução de sinal) [61], tendo-se verificado que a selenação não impede a formação dos complexos proteína-flavona.

A partir dos resultados obtidos por métodos computacionais, considerou-se que seria interessante estudar o efeito da substituição do grupo carbonilo por um grupo seleno-carbonilo nas actividades antioxidante e anticarcinogénica. Para tal, desenvolveu-se uma nova metodologia sintética para a interconversão destes grupos funcionais cuja estratégia (Esquema II.2) envolve a protecção inicial dos grupos hidroxilo presentes, a éteres metílicos, seguida da conversão do grupo carbonilo do material de partida, num grupo seleno-carbonilo, com o uso do reagente de Woollins (R.W.) (Figura I.4, **42**) e, por fim, a remoção dos grupos protectores por reacção com um ácido de lewis, o tribrometo de boro ( $\text{BBr}_3$ ).



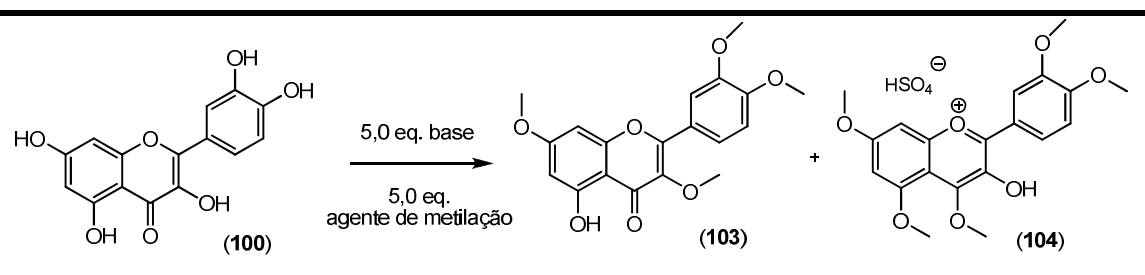
**Esquema II.2-** Via sintética usada para a síntese de análogos de flavonóides selenados (**a**) metilação; **b**) selenação, com R.W (**42**); **c**) desmetilação).

### II.1.1- Preparação de flavonóides metilados nas posições fenólicas

Os métodos clássicos para a protecção de compostos fenólicos, sob a forma de éteres metílicos envolvem reacções do tipo síntese de Williamson, recorrendo a sistemas base/agente de metilação como o carbonato de potássio/iodeto de metilo, carbonato de potássio/dimetilsulfato ou hidreto de sódio/iodeto de metilo [62]. Nos ensaios preliminares de metilação das posições fenólicas, que foram efectuados tendo como material de partida a quercetina (**100**), foram aplicados estes sistemas. O procedimento experimental utilizado envolveu a preparação uma solução de quercetina (**100**) num solvente apropriado, à qual foi adicionada uma base e um agente de metilação (5,0 eq.) (Tabela II.1). A mistura reaccional foi deixada em refluxo ou à temperatura ambiente, num intervalo de tempo variável e a reacção foi controlada por c.c.f [*n*-hexano/acetato de etilo (1:1)]. Verificou-se a formação de dois compostos de  $R_f$ 's muito distintos: um produto fluorescente (por visualização na luz ultravioleta a 366 nm) com um  $R_f$  muito próximo do ponto de aplicação e ligeiramente superior ao do

material de partida **100** e ainda um produto de  $R_f$  muito superior a **100**. As condições experimentais bem como os resultados obtidos podem ser observados na Tabela II.1.

**Tabela II.1-** Condições utilizadas e resultados obtidos para a metilação de 2-(3',4'-di-hidroxi-fenil)-3,5,7-tri-hidroxi-cromen-4-ona (**100**).



Ensaio	Base	Agente de metilação	Solvente (mL)	Condições reaccionais	$\eta$ (%)	
					(103)	(104)
1	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	MeI	acetona	t. a., 48h	-	-
2	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	MeI	acetona	refluxo, 2h	5	31
3	NaH	MeI	DMF	t.a., 20h	N.D. <sup>a</sup>	N.D. <sup>a</sup>
4	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	acetona	refluxo, 5h	5	9
5	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	acetona	refluxo, 22h	6	32

<sup>a</sup> Não determinado (N.D.). Produtos observados por c.c.f [n-hexano/acetato etilo (1:1)].

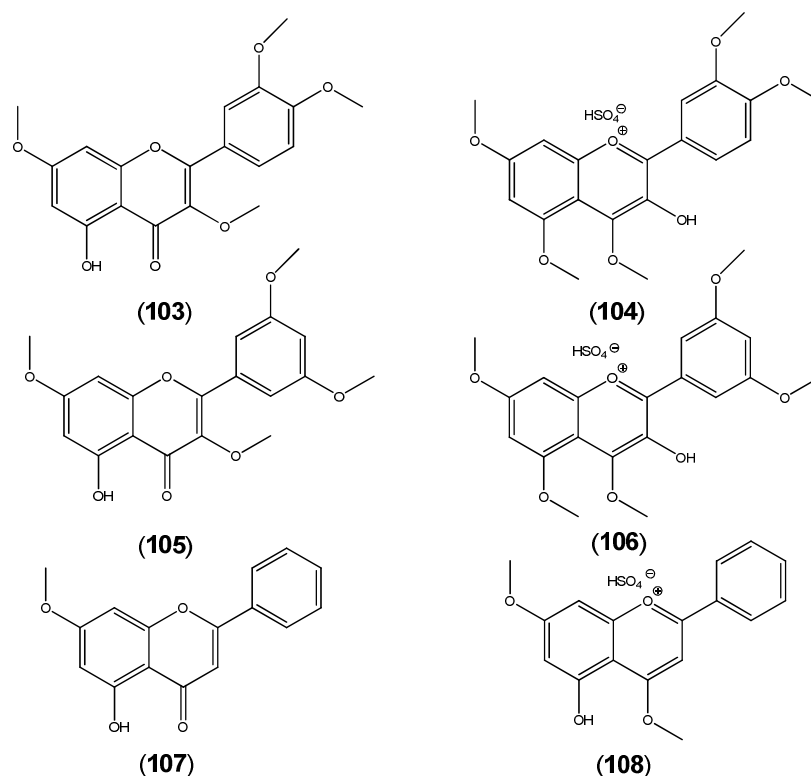
O tratamento da mistura reaccional envolveu a remoção do solvente por destilação a pressão reduzida sendo o resíduo obtido posteriormente dissolvido em água e extraído com diclorometano (com excepção do ensaio correspondente à entrada 3, Tabela II.1 em que se procedeu a uma extracção com acetato de etilo). O resíduo obtido foi purificado por c.c.f.p [n-hexano/acetato etilo (1:1), diclorometano/metanol (9:1)], obtendo-se o produto tetrametilado da quercetina, 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (**103**) e o produto fluorescente, o sulfonato de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-3-hidroxi-4,5,7-trimetoxi-cromenilium (**104**) (Tabela II.1).

Estes resultados foram algo surpreendentes uma vez que os métodos descritos na literatura para a metilação da quercetina [62] referem apenas a formação do produto pentametilado **103** com rendimentos superiores a 80%, que nunca foi isolado em qualquer dos ensaios efectuados. Adicionalmente, em nenhum dos métodos descritos na literatura é referida a formação do produto fluorescente **104**.

A utilização de carbonato de potássio ( $K_2CO_3$ ) como base em presença de iodeto de metilo (MeI) em acetona, a refluxo resultou na formação maioritária de **104** (com um rendimento de 31%, ensaio 2, Tabela II.1), e a formação de **103** com um rendimento de apenas 5%. Numa tentativa de alterar a percentagem relativa de formação destes produtos, diminuiu-se a temperatura reaccional, mas o ensaio efectuado à temperatura ambiente não resultou na formação de qualquer produto (ensaio 1, Tabela II.1). No ensaio efectuado na presença de hidreto de sódio (NaH) e MeI em *N,N*-dimetilformamida (DMF), à temperatura ambiente, verificou-se por c.c.f [n-hexano/acetato etilo (1:1)] formação de **103** e **104** (ensaio 3, Tabela II.1). Apesar de não ter sido possível calcular os rendimentos de cada um dos produtos formados, verificou-se também por c.c.f [n-hexano/acetato de etilo (1:1)], uma maior conversão no produto **104** comparativamente ao produto metilado **103**.

Para os ensaios efectuados na presença de  $K_2CO_3$  e dimetilsulfato ( $Me_2SO_4$ ) em acetona (ensaios 4 e 5, Tabela II.1), verifica-se que o aumento do tempo reaccional apenas promove uma formação mais significativa do produto fluorescente **104**.

Embora os ensaios realizados em pequena escala resultem, em geral, na formação do produto pretendido **103** com rendimentos muito baixos, o método que envolve o uso de  $K_2CO_3$  e  $Me_2SO_4$  em acetona, com um refluxo de 5h (ensaio 4, Tabela II.1) parece conduzir a uma menor formação do produto fluorescente **104**. Deste modo, o método representado a sombreado foi o método escolhido para os ensaios de protecção (em maior escala) da quercetina (**100**) e dos restantes flavonóides em estudo, a morina (**101**) e a crisina (**102**). Todos os ensaios resultaram na formação de dois produtos: o flavonóide parcialmente metilado (o grupo hidroxilo aromático adjacente ao grupo carbonilo nunca foi metilado) (Figura II.3, **103**, **105** e **107**) e um produto fluorescente resultante da formações de um sal envolvendo a metilação do grupo carbonilo (Figura II.3, **104**, **106** e **108**).



**Figura II.3-** Produtos formados na metilação da quercetina (100), morina (101) e crisina (102).

A Tabela II.2 reúne as condições utilizadas bem como os produtos obtidos para cada reacção efectuada.

**Tabela II.2-** Condições experimentais e resultados obtidos na preparação de derivados metilados nas posições fenólicas dos flavonóides quercetina (100), morina (101) e crisina (102).

Entrada	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (eq.)	Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (eq.)	Tempo (h)	Produtos - η (%)	
				Flavonóide metilado	fluorescente
1	5,0	5,0	6	52 (103)	9 (104)
2	5,0	5,0	4	33 (105)	1 (106)
3	2,0	2,0	20	17 (107)	51 (108)

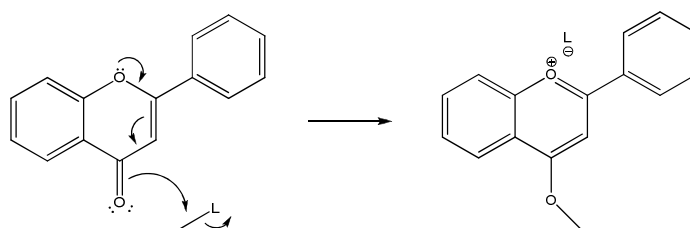
O tratamento das misturas reaccionais foi efectuado de forma idêntica ao descrito para os ensaios em menor escala. Os resíduos obtidos foram purificados por cromatografia “short path” [*n*-hexano/acetato etilo (1:1), diclorometano/metanol (9:1)]. O aumento de escala no ensaio de metilação da quercetina (**100**) resultou num aumento significativo do rendimento global da reacção tendo-se obtido, **103** e **104** com um rendimento de 52% e 9 % respectivamente. Nos ensaios de metilação da morina (**101**) e da crisina (**102**) foram obtidos os seguintes compostos:

- 2-(3', 5' – dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (**105**) e sulfonato de 2-(3',5'- dimetoxi-fenil)-3-hidroxi-4,5,7-trimetoxi-cromenilium (**106**) com rendimentos de 33% e 1% respectivamente, a partir de **101**;

- 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4*H*-cromen-4-ona (**107**) e sulfonato de 2-fenil-5-hidroxi-4,7-dimetoxi-cromenilium (**108**) com rendimentos de 17% e 51% respectivamente, a partir de **102**. Neste último caso, verifica-se uma conversão do material de partida em produto fluorescente **108** muito mais significativa comparativamente ao produto metilado **107**. Esta conversão poderá dever-se a um tempo de reacção excessivo (entrada 3, Tabela II.2).

O facto de não se ter conseguido metilar o grupo hidroxilo aromático adjacente ao grupo carbonilo dos produtos **103**, **105** e **107** poderá dever-se à existência de uma forte ponte de hidrogénio entre este grupo hidroxilo e o grupo carbonilo (cuja formação é evidenciada no espectro de IV destes compostos, ver secção II.1.1.1).

A formação dos produtos fluorescentes **104**, **106** e **108** é provavelmente, resultado da deslocalização electrónica dos electrões do átomo de oxigénio do anel pirano e consequente ataque nucleófilo do oxigénio do grupo carbonilo ao agente metilante ( $\text{CH}_3 - \text{L}$ ) (Esquema II.3).



**Esquema II.3-** Formação do produto fluorescente.

No caso do produto **108** (Figura II.3) verifica-se que, contrariamente aos restantes produtos fluorescentes (**104** e **106**), o grupo hidroxilo aromático adjacente ao

grupo carbonilo não foi metilado. Tal deverá ter ocorrido porque a reacção foi efectuada na presença de apenas 2,0 equivalentes de base e agente metilante (ver secção III.3.2.3), tendo sido metiladas apenas as duas posições mais disponíveis para ataque nucleófilo.

### II.1.1.1- Caracterização estrutural dos produtos obtidos nos ensaios de metilação das posições fenólicas de flavonóides

A caracterização estrutural dos derivados metilados dos flavonóides quercetina (**100**), morina (**101**) e crisina (**102**) foi efectuada tendo como base os resultados obtidos por espectrometria de massa, espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e espectroscopia de infravermelho (IV) (Tabela II.3).

As evidências da formação do composto **103** tiveram como base inicial o reconhecimento, no espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura II.4a), de um sinal a campo baixo, com desvio químico a 12,66 ppm, correspondente a um grupo hidroxilo livre e de três sinais com desvios químicos a 4,00, 3,90 e 3,88 ppm que integram para doze protões, correspondentes aos quatro grupos métoxilo. Por  $^{13}\text{C}$ -RMN (Figura II.4b) são também evidenciados os sinais correspondentes aos carbonos destes quatro grupos métoxilo, com desvios químicos entre 60,3 e 56,0 ppm. Observa-se também o sinal a 178,9 ppm correspondente ao carbono  $\text{C}^4$  do grupo carbonilo (Figura II.4). A atribuição dos restantes sinais foi efectuada tendo como base as correlações observadas nos espectros de RMN bidimensionais, de HMBC (Figura II.5) e HSQC:

- O sinal a 3,88 ppm (que apresenta uma correlação no espectros de HSQC com o carbono a 60,3 ppm) foi atribuído ao grupo métoxilo  $\text{C}^9\text{H}$ , uma vez que apresenta uma correlação a três ligações, no espectro de HMBC, com o carbono quaternário  $\text{C}^3$  a 139,2 ppm.

- O singuleto a 3,90 foi atribuído ao grupo métoxilo  $\text{C}^{10}\text{H}$ , uma vez que apresenta uma correlação a três ligações, no espectro de HMBC, com o carbono aromático quaternário  $\text{C}^7$  (a 165,6 ppm).

- O sinal a 6,39 ppm, que corresponde ao protão aromático na posição 6, apresenta uma correlação no espectro de HSQC, com o sinal a 98,0 ppm. No espectro de HMBC, este duplete apresenta uma correlação a duas ligações com os carbonos aromáticos quaternários  $\text{C}^7$  e  $\text{C}^5$  a 165,6 ppm e 162,2 ppm, respectivamente. Verifica-

se também, uma correlação a três ligações com o carbono aromático quaternário C<sup>4a</sup> a 156,9 ppm e ainda o carbono aromático C<sup>8</sup> a 92,4 ppm.

- O duplete a 6,47 ppm, que apresenta uma correlação no espectro de HSQC com o carbono a 92,4 ppm (carbono aromático C<sup>8</sup>), é atribuído ao protão aromático C<sup>8</sup>H já que este apresenta correlações, no espectro de HMBC, a duas ligações com os carbonos aromáticos C<sup>7</sup> e C<sup>8a</sup> (165,6 e 106,2 ppm respectivamente) e a três ligações com os carbonos aromáticos C<sup>6</sup> e C<sup>4a</sup> (98,0 e 156,9 ppm respectivamente).

- O duplete a 7,02 ppm correspondente ao protão aromático na posição 5' que apresenta uma correlação, no espectro de HSQC, com o sinal a 111,0 ppm. Este duplete, no espectro de HMBC, apresenta correlações com os carbonos quaternários a 123,1 ppm (C<sup>1'</sup>) e 148,9 ppm (C<sup>3'</sup>). Este último, por sua vez, apresenta no espectro de HMBC (Figura II.5) uma correlação a três ligações com o singuleto a 4,00 ppm que integra para seis protões (correspondente a dois grupos métoxilo).

- O duplete a 7,75 ppm, que integra para um protão, apresenta uma correlação no espectro de HSQC com o sinal a 122,3 ppm (carbono aromático C<sup>6'</sup>). Já no espectro de HMBC verificam-se as correlações com os sinais a 156,0 ppm (correspondente ao carbono C<sup>2</sup>), a 151,5 ppm (correspondente ao carbono aromático quaternário C<sup>4'</sup>) e a 111,4 ppm (correspondente ao carbono aromático C<sup>2'</sup>). O carbono aromático quaternário a 151,5 ppm apresenta uma correlação com o sinal a 4,00 que integra para seis protões (correspondente a dois grupos métoxilo).

- O duplete a 7,71 ppm, que integra para um protão, apresenta uma correlação no espectro de HSQC com o sinal a 111,4 ppm (carbono aromático C<sup>2'</sup>). Já no espectro de HMBC verificam-se as correlações com os sinais a a 156,0 ppm (C<sup>2</sup>), a 151,5 ppm (correspondente ao carbono aromático quaternário C<sup>4'</sup>), 148,9 ppm (correspondente ao carbono aromático quaternário C<sup>3'</sup>) e ainda a 122,3 ppm (carbono aromático quaternário C<sup>6'</sup>). O carbono aromático quaternário a 148,9 ppm apresenta também uma correlação com o sinal a 4,00 que integra para seis protões (correspondente a dois grupos métoxilo).

Embora o sinal de <sup>1</sup>H RMN a 12,66 ppm correspondente ao protão do grupo hidroxilo livre não apresente qualquer correlação no espectro de HMBC que permita determinar qual a sua posição na estrutura da molécula, foi possível determinar quais as posições que foram efectivamente metiladas conjugando os resultados obtidos por NOESY (Figura II.6) e HMBC (Figura II.5). No espectro de NOESY é possível verificar as correlações espaciais entre protões correspondentes aos grupos métoxilo C<sup>11</sup>H e

$C^{12}H$  (4.0 ppm), com os prótons aromáticos  $C^{2'}H$  (7,71 ppm) e  $C^5H$  (7,05 ppm), confirmando-se que os dois grupos metóxilos presentes neste anel se encontram metilados. Verifica-se também no espectro de NOESY as correlações espaciais entre os prótons do grupo metóxilo  $C^{10}H$  (3,90 ppm) com os prótons aromáticos  $C^6H$  (6.39 ppm) e  $C^8H$  (6,47 ppm), correlações estas, que são apenas possíveis estando o grupo hidroxilo da posição  $C^7$  metilado. O sinal correspondente ao grupo metóxilo  $C^9H$  (a 3,88 ppm) não apresenta qualquer correlação espacial no espectro de NOESY. A ausência desta correlação juntamente com a informação obtida no espectro de HMBC (Figura II.5) onde se verifica a correlação a três ligações deste grupo, com um carbono quaternário não aromático (a 139,2 ppm) permite afirmar com certeza a ligação do grupo metóxilo  $C^9H$  ao carbono  $C^3$ .

Relativamente ao espectro de infravermelho observa-se uma banda intensa a  $1664\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à ligação dupla  $C=O$ . Não se observa uma banda característica da ligação  $O-H$ . Tal pode ser explicado devido a uma forte ponte de hidrogénio formada entre o oxigénio do grupo carbonilo e o próton do fenol.

A confirmação da obtenção do produto tetrametilado foi obtida por espectrometria de massa. O espectro obtido por ionização de *electrospray*, apresenta um sinal correspondente à molécula protonada  $[M+H]^+$  a  $m/z$  359. O espectro de alta resolução obtido com ionização por impacto electrónico apresenta um sinal correspondente ao ião molecular  $[M]^+$ , a  $m/z$  358,10266.

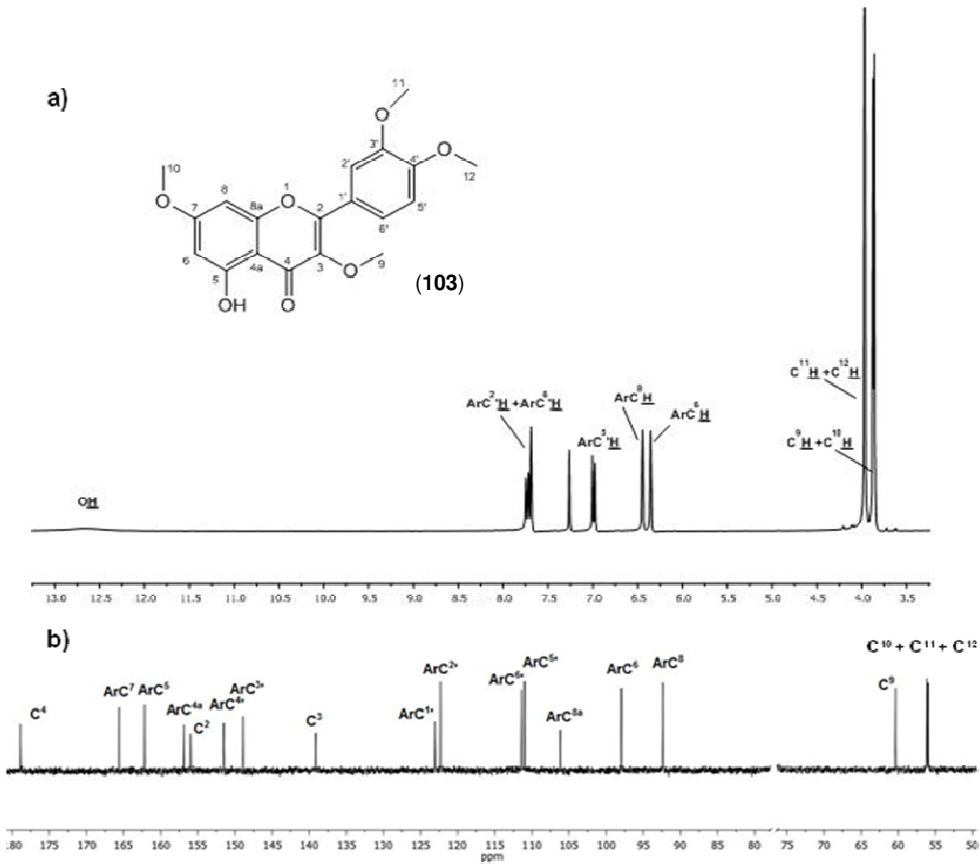


Figura II.4- Espectros a)  $^1\text{H}$ -RMN e b)  $^{13}\text{C}$ -RMN de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (**103**) em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz).

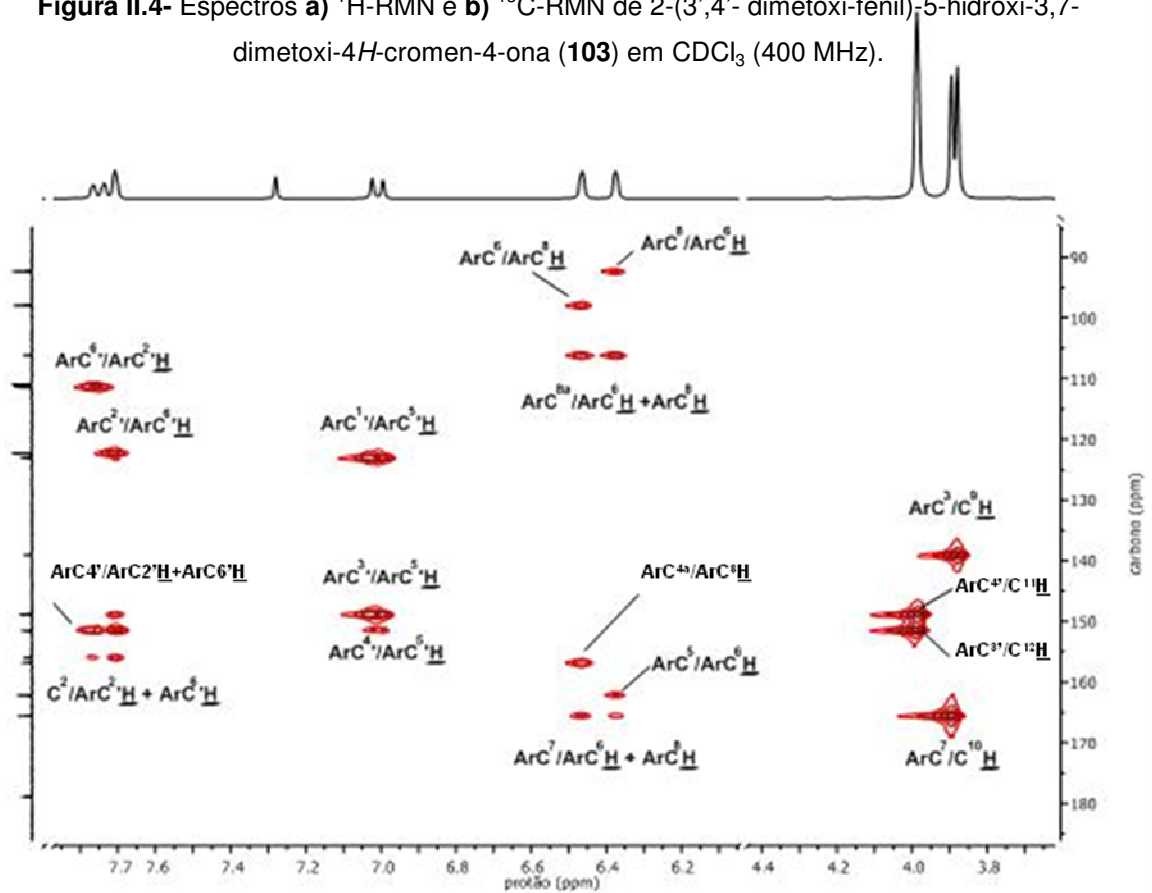
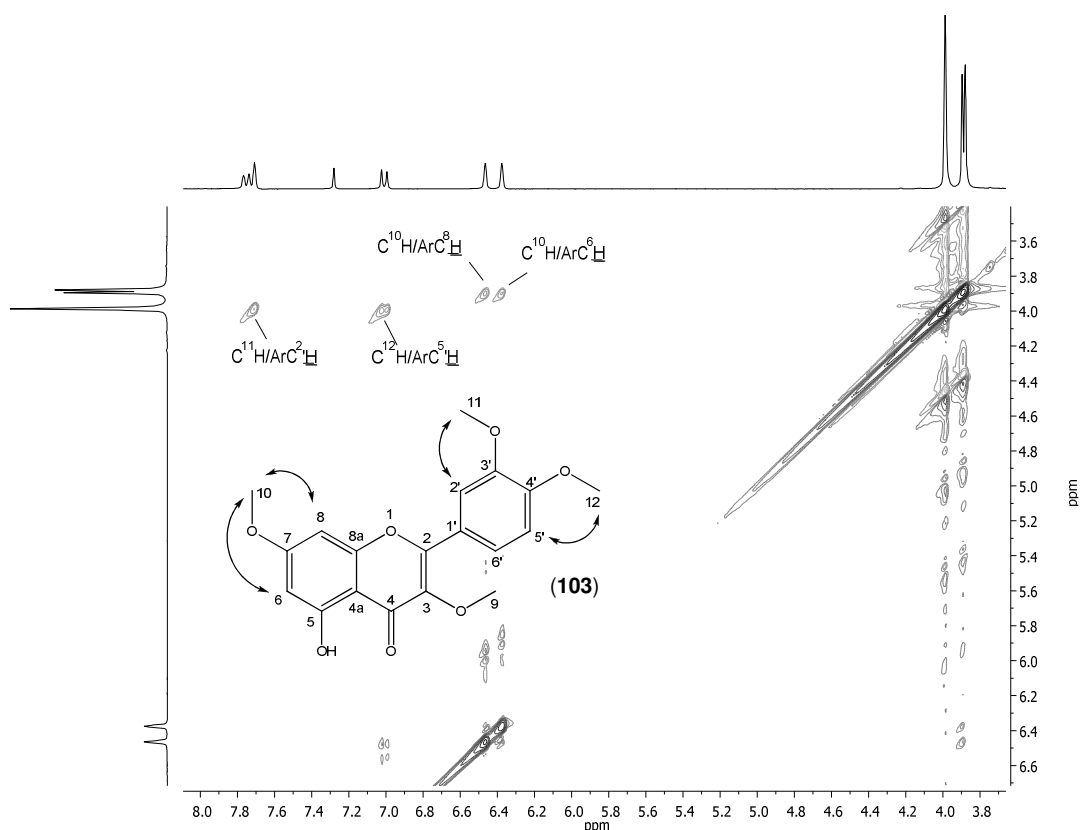
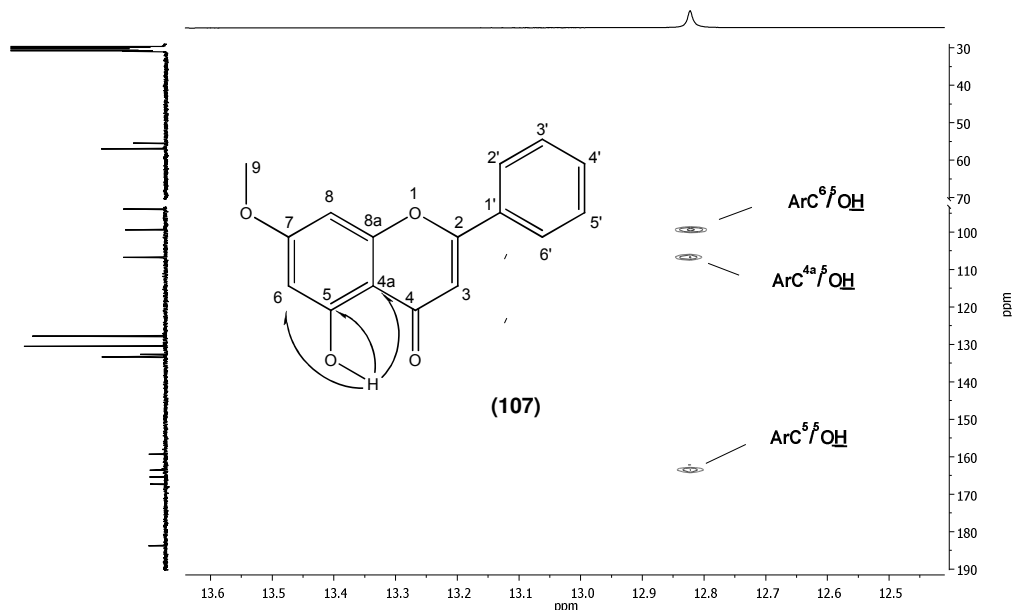


Figura II.5- Correlações a duas e três ligações (HMBC) obtidas para 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (**103**) em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz).



**Figura II.6-** Correlações espaciais (↔) (NOESY) obtidas para 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (**103**) em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz).

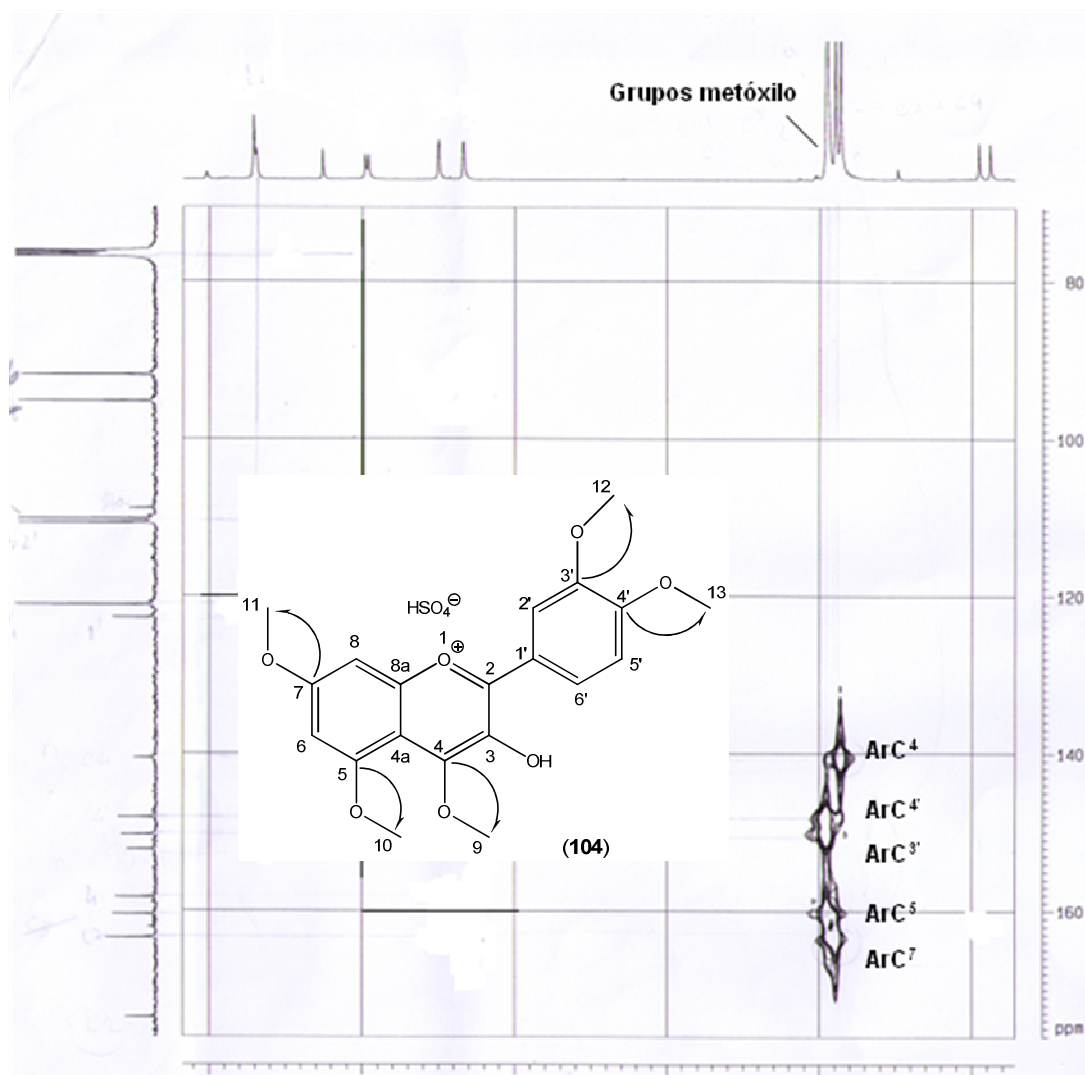
A caracterização estrutural dos produtos **105** e **107** foi efectuada de um modo análogo ao descrito anteriormente e os dados físicos e espectroscópicos destes produtos encontram-se na Tabela II.4. No que diz respeito, a **107**, o produto metilado da crisina (**102**), é de referir que foi também possível observar as correlações, no espectro de HMBC Figura II.7), do protão lábil  $^5\text{OH}$  e os sinais a 99,4 ppm (carbono aromático  $\text{C}^6$ ) e 106,7 ppm (carbono aromático quaternário  $\text{C}^{4a}$ ) e 163,6 ppm (carbono aromático quaternário  $\text{C}^5$ ) evidenciando a presença de um grupo hidroxilo no carbono aromático 5.



**Figura II.7-** Algumas das correlações a duas e três ligações (  $\curvearrowright$  ) (HMBC) obtidas para 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4H-cromen-4-ona (**107**) em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz).

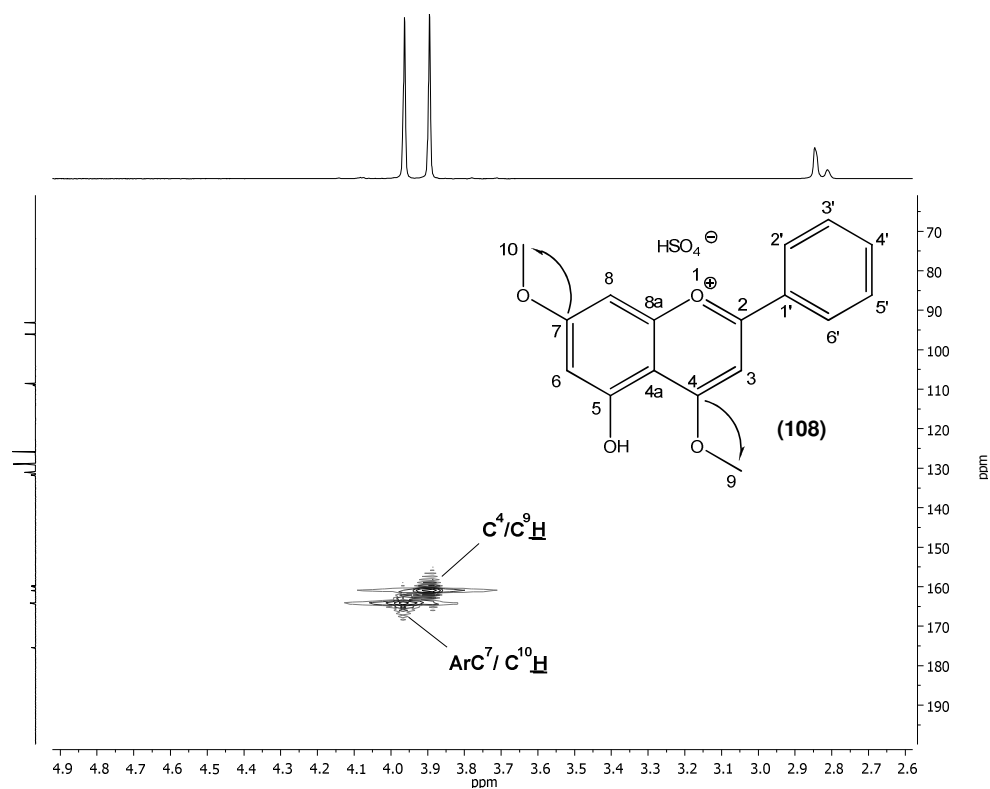
A primeira evidência de formação dos produtos fluorescentes foi obtida no espectro de IV onde se observa a ausência da frequência de vibração correspondente à ligação  $\text{C}=\text{O}$  e uma banda característica de ligações  $\text{O}-\text{H}$  a  $3450\text{-}3440\text{ cm}^{-1}$ . Adicionalmente, o espectro de massa obtido por ionização de *electrosray* apresenta um sinal correspondente ao ião molecular com  $m/z$  373, para **104** e **106**, e  $m/z$  283 para **108**, estando de acordo com as estruturas dos catiões apresentadas. As restantes evidências foram obtidas por RMN (Tabela II.4).

Tomando como exemplo o produto fluorescente **104**, a análise do espectro de  $^1\text{H}$ -RMN revelou a presença de 3 singuletos na zona 3,95-3,86 ppm, a integrar para quinze prótons, correspondentes a cinco grupos métoxilo. Por  $^{13}\text{C}$ -RMN são também evidenciados os sinais correspondentes aos carbonos destes cinco grupos métoxilo, com desvios químicos entre 59,4 e 55,3 ppm. Os restantes sinais foram atribuídos tendo como base as correlações observadas nos espectros de HMBC e HSQC. É possível observar, no espectro de HMBC (Figura II.8), as correlações a três ligações dos sinais correspondentes aos cinco grupos métoxilo (a 3,95-3,86 ppm) com os sinais correspondentes aos carbono  $\text{C}^4$  (a 140,6 ppm) e aos carbonos aromáticos  $\text{C}^5$  (a 162,1 ppm),  $\text{C}^7$  (a 163,5 ppm),  $\text{C}^{3'}$  (a 150,4 ppm) e  $\text{C}^{4'}$  (a 148,2 ppm).



**Figura II.8-** Correlações a duas e três ligações (  $\curvearrowright$  ) (HMBC) obtida para o sulfonato de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-3-hidroxi-4,5,7-trimetoxi-cromenilium (**104**) em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz).

Como já referido anteriormente (ver II.1.1), no produto **108** (Tabela II.4) o grupo hidroxilo na posição  $\text{C}^5$  não foi metilado, contrariamente aos restantes produtos fluorescentes (**104** e **106**), tendo sido metiladas apenas as posições correspondentes aos carbonos  $\text{C}^4$  e  $\text{C}^7$ . Este facto pode ser verificado no espectro de HMBC (Figura II.9) onde se observam as correlações a três ligações dos sinais correspondentes aos três prótons do grupo metilo  $\text{C}^9\text{H}$  a 3,91 ppm e os três prótons do grupo metilo  $\text{C}^{10}\text{H}$  a 3,98 ppm com os sinais a 162,6 ppm (correspondente ao carbono  $\text{C}^4$ ) e 165,8 ppm (correspondente ao carbono aromático  $\text{C}^7$ ), respectivamente.



**Figura II.9-** Algumas das correlações a três ligações (  $\curvearrowright$  ) (HMBC) obtidas para sulfonato de 2-fenil-5-hidroxi-4,7-dimetoxi-cromenilium (**108**) em  $CDCl_3$  (400 MHz).

Tabela II.3- Dados espectroscópicos dos produtos (103), (105) e (107).

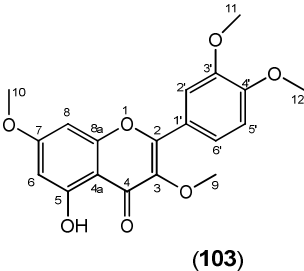
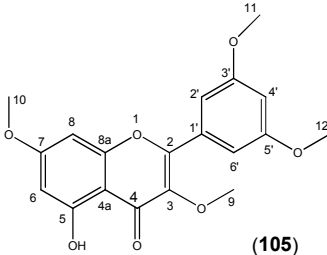
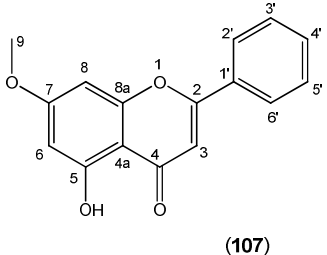
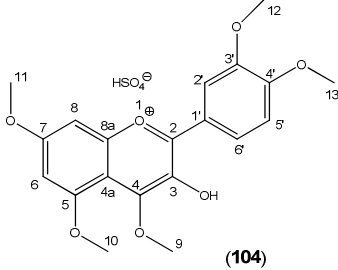
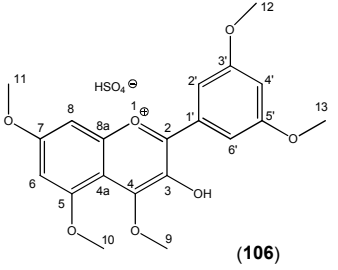
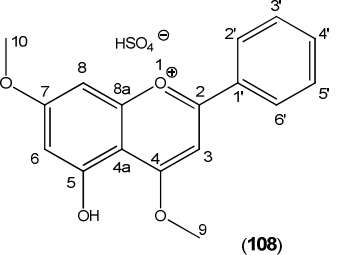
Estrutura	 (103)	 (105)	 (107)
IV (KBr) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )	1664 (C=O)	1668 (C=O)	1670 (C=O)
<sup>1</sup> H-RMN (CDCl <sub>3</sub> ) $\delta$ (ppm) J (Hz)	12,66 (1H, troca com D <sub>2</sub> O, s, OH), 7,75 (1H, d, J= 8,7, ArC <sup>6'</sup> H), 7,71 (1H, s, ArC <sup>2'</sup> H), 7,01 (1H, d, J= 8,7, ArC <sup>5'</sup> H), 6,47 (1H, d, J= 2,0, ArC <sup>8</sup> H), 6,39 (1H, d, J= 2,0, ArC <sup>6</sup> H), 4,0 (6H, s, C <sup>11</sup> H e C <sup>12</sup> H), 3,90 (3H, s, C <sup>10</sup> H) 3,88 (3H, s, C <sup>9</sup> H)	7,36 (1H, d, J= 8,4, ArC <sup>4'</sup> H), 6,60-6,56 (2H, m, ArC <sup>2'</sup> H e ArC <sup>6'</sup> H), 6,36 (1H, s, ArC <sup>8</sup> H) 6,34 (1H, s, ArC <sup>6</sup> H), 3,88 (3H, s, C <sup>11</sup> H), 3,84 (6H, s, C <sup>11</sup> H e C <sup>12</sup> H), 3,78 (3H, s, C <sup>9</sup> H)	12,82 (1H, troca com D <sub>2</sub> O, s, OH), 8,05 (2H, d, J= 8,0, ArC <sup>6'</sup> H e ArC <sup>2'</sup> H), 7,59-7,54 (3H, m, ArC <sup>3'</sup> H e ArC <sup>4'</sup> H e ArC <sup>5'</sup> H), 6,79 (1H, s, C <sup>3</sup> H), 6,70 (1H, d, J= 2,0, ArC <sup>8</sup> H), 6,32 (1H, d, J= 2,0, ArC <sup>6</sup> H) 3,91 (3H, s, C <sup>9</sup> H)
<sup>13</sup> C RMN (CDCl <sub>3</sub> ) $\delta$ (ppm)	178,9 (C <sup>4</sup> =O), 165,6 (ArC <sup>7</sup> ), 162,2 (ArC <sup>5</sup> ), 156,9 (ArC <sup>8a</sup> ), 156,0 (C <sup>2</sup> ), 151,5 (ArC <sup>4'</sup> ), 148,9 (ArC <sup>3'</sup> ), 139,2 (C <sup>3</sup> ), 123,1 (ArC <sup>1'</sup> ), 122,3 (ArC <sup>6'</sup> ), 111,4 (ArC <sup>2'</sup> ), 111,0 (ArC <sup>5'</sup> ), 106,2 (ArC <sup>4a</sup> ), 98,0 (ArC <sup>6</sup> ), 92,4 (ArC <sup>8</sup> ), 60,3 (C <sup>9</sup> ), 56,2 (C <sup>10</sup> ou C <sup>11</sup> ou C <sup>12</sup> ), 56,1 (C <sup>10</sup> ou C <sup>11</sup> ou C <sup>12</sup> ), 56,0 (C <sup>10</sup> ou C <sup>11</sup> ou C <sup>12</sup> )	178,9 (C <sup>4</sup> =O), 165,3 (ArC <sup>7</sup> ), 163,1 (ArC <sup>3'</sup> ), 162,2 (ArC <sup>5'</sup> ), 158,8 (ArC <sup>8a</sup> ), 157,5 (C <sup>2</sup> ), 156,7 (ArC <sup>5</sup> ), 140,2 (C <sup>3</sup> ), 132,9 (ArC <sup>4'</sup> ), 131,8 (ArC <sup>1'</sup> ), 112,5 (ArC <sup>4a</sup> ), 106,6 (ArC <sup>6'</sup> ), 104,9 (ArC <sup>2'</sup> ), 97,9 (ArC <sup>6</sup> ) 92,4 (ArC <sup>8</sup> ), 60,7 (C <sup>9</sup> ), 55,9 (C <sup>10</sup> e C <sup>11</sup> ), 55,7 (C <sup>10</sup> )	183,0 (C <sup>4</sup> =O), 167,3 (ArC <sup>7</sup> ), 165,4 (ArC <sup>2</sup> ), 163,6 (ArC <sup>5</sup> ), 159,3 (ArC <sup>8a</sup> ), 133,3-127,8 (ArC <sup>2'</sup> a ArC <sup>6'</sup> ), 106,8 (C <sup>3</sup> ), 106,7 (ArC <sup>4a</sup> ), 99,4 (ArC <sup>6</sup> ), 93,9 (ArC <sup>8</sup> ), 57,0 (C <sup>9</sup> )
EM (ESI+) $m/z$ (int.rel., %)	359 [M+H] <sup>+</sup> (100)	-	-
EMAR-IE (+) $m/z$ (calc.) obtida	[M] <sup>+</sup> C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub> (358,10471) 358,10266; [M+H] <sup>+</sup> C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub> (359,10806) 359,11217	[M] <sup>+</sup> C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub> (358,10471) 358,10458.	[M] <sup>+</sup> C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> (268,07301) 268,07389; [M+H] <sup>+</sup> C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> (269,07637) 269,07971

Tabela II.4- Dados espectroscópicos dos produtos fluorescentes obtidos (104), (106) e (108).

Estrutura	 (104)	 (106)	 (108)
IV (KBr) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )	3442 (O-H)	3448 (O-H)	3446 (O-H)
<sup>1</sup> H-RMN (CDCl <sub>3</sub> )	7,70-7,68 (2H, m, ArC <sup>2'</sup> H e ArC <sup>6'</sup> H), 6,96 (1H, d, $J = 8,7$ , ArC <sup>5'</sup> H), 6,49 (1H, s, ArC <sup>6'</sup> H), 6,33 (1H, s, ArC <sup>8'</sup> H), 3,95 (9H, s, C <sup>10</sup> H e C <sup>12</sup> H e C <sup>13</sup> H), 3,89 (3H, s, C <sup>11</sup> H), 3,86 (3H, s, C <sup>9</sup> H)	7,38 (1H, d, $J = 8,4$ , ArC <sup>4'</sup> H), 6,61-6,57 (2H, m, ArC <sup>2'</sup> H e ArC <sup>6'</sup> H), 6,44 (1H, d, $J = 2,0$ , ArC <sup>8'</sup> H), 6,35 (1H, d, $J = 2,0$ , ArC <sup>6'</sup> H), 3,97 (3H, s, C <sup>10</sup> H), 3,88 (3H, s, C <sup>12</sup> H ou C <sup>13</sup> H), 3,86 (3H, s, C <sup>11</sup> H), 3,84 (3H, s, C <sup>12</sup> H ou C <sup>13</sup> H), 3,80 (3H, s, C <sup>9</sup> H)	8,05-8,03 (2H, m, ArC <sup>2'</sup> H e ArC <sup>6'</sup> H), 7,61-7,59 (3H, m, ArC <sup>3'</sup> H e ArC <sup>3'</sup> H e ArC <sup>5'</sup> H), 6,81 (1H, d, $J = 2,2$ , ArC <sup>8'</sup> H), 6,63 (1H, s, C <sup>3</sup> H), 6,52 (1H, d, $J = 2,2$ , ArC <sup>6'</sup> H), 3,98 (3H, s, C <sup>10</sup> H), 3,91 (3H, s, C <sup>9</sup> H)
<sup>13</sup> C RMN (CDCl <sub>3</sub> )	173,6 (C <sup>2</sup> ), 163,5 (ArC <sup>7</sup> ), 162,2 (ArC <sup>5</sup> ), 158,3 (ArC <sup>8a</sup> ), 152,2 (C <sup>3</sup> ), 150,4 (ArC <sup>3'</sup> ), 148,2 (ArC <sup>4'</sup> ), 140,6 (C <sup>4</sup> ), 122,8 (ArC <sup>1'</sup> ), 121,2 (ArC <sup>2'</sup> ), 110,7 (ArC <sup>6'</sup> ), 110,3 (ArC <sup>5'</sup> ), 108,9 (ArC <sup>4a</sup> ), 95,3 (ArC <sup>6</sup> ), 91,9 (ArC <sup>8</sup> ), 59,4 (C <sup>9</sup> ), 55,9 (C <sup>10</sup> ou C <sup>11</sup> ou C <sup>12</sup> ou C <sup>13</sup> ), 55,6 (C <sup>10</sup> ou C <sup>11</sup> ou C <sup>12</sup> ou C <sup>13</sup> ), 55,4 (C <sup>10</sup> ou C <sup>11</sup> ou C <sup>12</sup> ou C <sup>13</sup> ), 55,3 (C <sup>10</sup> ou C <sup>11</sup> ou C <sup>12</sup> ou C <sup>13</sup> )	174,1 (C <sup>2</sup> ), 163,8 (ArC <sup>7</sup> ), 162,7 (ArC <sup>3'</sup> ou ArC <sup>5'</sup> ), 161,2 (ArC <sup>5</sup> ), 159,5 (ArC <sup>8a</sup> ), 158,7 (ArC <sup>3'</sup> ou ArC <sup>5'</sup> ), 142,3 (C <sup>4</sup> ), 131,8 (ArC <sup>4'</sup> ), 114,0 (C <sup>3</sup> ), 113,0 (ArC <sup>1'</sup> ), 110,0 (ArC <sup>4a</sup> ), 104,8 (ArC <sup>2'</sup> ou ArC <sup>6'</sup> ), 99,0 (ArC <sup>2'</sup> ou ArC <sup>6'</sup> ), 95,8 (ArC <sup>6</sup> ), 92,7 (ArC <sup>8</sup> ), 60,4 (C <sup>9</sup> ), 56,5 (C <sup>10</sup> ), 55,9 (C <sup>12</sup> ou C <sup>13</sup> ), 55,8 (C <sup>12</sup> ou C <sup>13</sup> ), 55,6 (C <sup>11</sup> )	177,1 (C <sup>2</sup> ), 165,8 (ArC <sup>7</sup> ), 162,6 (C <sup>4</sup> ), 161,6 (ArC <sup>5</sup> ), 161,4 (ArC <sup>8a</sup> ), 133,4 (ArC <sup>1'</sup> ), 132,7 (ArC <sup>4'</sup> ), 130,6 (ArC <sup>3'</sup> e ArC <sup>5'</sup> ), 127,5 (ArC <sup>2'</sup> e ArC <sup>6'</sup> ), 110,7 (ArC <sup>4a</sup> ), 110,2 (C <sup>3</sup> ), 97,7 (ArC <sup>6</sup> ), 94,7 (ArC <sup>8</sup> ), 57,2 (C <sup>9</sup> ), 57,1 (C <sup>10</sup> )
EM (ESI+) $m/z$ (int.rel., %)	395 [M+Na] <sup>+</sup> (10), 373 [M] <sup>+</sup> (100)	395 [M+Na] <sup>+</sup> (100), 373 [M] <sup>+</sup> (60)	305 [M+Na] <sup>+</sup> (100), 283 [M] <sup>+</sup> (40)

### **II.1.2 – Selenação de flavonóides nas posições carbonílicas, na presença de reagente de Woollins, por irradiação de microondas.**

O passo seguinte da estratégia sintética diz respeito à conversão do grupo carbonilo em grupo seleno-carbonilo. O reagente de Woollins (R.W) encontra-se descrito na literatura como um reagente eficaz na conversão de amidas em seleno-amidas [50]. Este reagente pode ser obtido com rendimentos elevados através de um procedimento experimental simples [48a], o que é essencial do ponto de vista da estratégia sintética traçada. Além disso, tem a vantagem de poder ser armazenado por longos períodos de tempo sem se deteriorar.

Encontra-se descrito na literatura um método [54] muito interessante para a síntese de tioflavonóides e tiocetonas, a partir dos respectivos flavonóides e cetonas, que envolve o uso da tecnologia de microondas e o reagente de Lawesson (Figura I.4, **43**), agente usado para a formação de tiocarbonilos. Dado a semelhança estrutural entre **43** e o reagente de Woollins (Figura I.4, **42**), considerou-se que adaptação da metodologia desenvolvida por Varna e Kumar [54], usando como agente de selenação, o reagente de Woollins, seria um método viável para a conversão dos flavonóides protegidos nos seus derivados selenados.

Os ensaios de optimização das condições experimentais foram realizados a partir da 2-(3', 4'-dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona (**103**). Numa primeira abordagem, tentou-se reproduzir a metodologia descrita por Varna e Kumar. Assim, foram efectuados ensaios na ausência de solvente, onde se dispersou **103** em 100 mg de alumina e, na presença de R.W (0,4 e 0,5 eq.), se irradiou a potências diferentes, por 2-3 minutos (Tabela II.5). As reacções foram seguidas por c.c.f (diclorometano), não se observando o consumo do material de partida **103** nem a formação de qualquer produto.

**Tabela II.5-** Métodos utilizados e resultados obtidos nos ensaios efectuados com **103** e R.W. com irradiação por microondas, na ausência de solvente.

Ensaio	R.W (eq.)	Potência (W)	Tempo irradiação (min.)	Resultado <sup>c</sup>
1 <sup>a</sup>	0,4	400	2	N.O.
2 <sup>a</sup>	0,4	800	2	N.O
3 <sup>b</sup>	0,4	300	3	N.O
4 <sup>a</sup>	0,5	400	2	N.O
5 <sup>a</sup>	0,5	800	2	N.O

<sup>a</sup> Microondas de cozinha; <sup>b</sup> Microondas CEM (Discover Benchmate); <sup>c</sup> Não foi observado a formação de qualquer produto.

Tendo em conta os resultados obtidos nos ensaios preliminares tentou-se alterar a metodologia utilizada, efectuando a reacção em solução. Em síntese química, o solvente desempenha um papel importante e, no que toca à tecnologia de microondas o tipo de solvente usado é determinante. Desta forma, foram testados vários solventes: tolueno, *p*-xileno e acetonitrilo [51c]. Nestes ensaios variaram-se ainda outras condições reaccionais como o tempo e a frequência de irradiação, o número de equivalentes de reagente de selenação e a temperatura máxima atingida no decurso da reacção (Tabela II.6). O procedimento experimental utilizado em todos os ensaios efectuados envolve a preparação de uma solução de **103** (1,0 eq.), num *vial* de vidro, num solvente apropriado (2 mL) seguida de irradiação por microondas.

**Tabela II.6-** Métodos utilizados nos ensaios efectuados com **103** e R.W. (**42**) com solvente e resultados obtidos.

Ensaio <sup>a</sup>	R.W (eq.)	Solvente	Potencia (W)	Tempo de irradiação (min.)	Temperatura atingida (°C)	Resultado <sup>b</sup>
1	0,3	tolueno	300	3	93	+
2	0,3	tolueno	300	8	127	++
3	0,4	tolueno	175	5	116	+
4	0,4	tolueno	225	5	125	++
5	0,4	tolueno	300	5	125	+++
6	0,5	tolueno	300	5	125	+++
7	0,6	tolueno	300	3	98	+
8	0,7	tolueno	300	5	122	++
9	0,8	tolueno	300	8	122	++
10	0,4	acetonitrilo	175	5	131	++++
11	0,4	<i>p</i> -xileno	175	5	120	+
12	0,4	<i>p</i> -xileno	225	5	132	++

<sup>a</sup> Microondas CEM (Discover Benchmate); <sup>b</sup> Por c.c.f (diclorometano) não se verifica o consumo total do material de partida (**103**) e a formação de um produto é visualmente observada; Legenda: + (muito pouco intenso), ++ (pouco intenso), +++ (intenso), ++++ (muito intenso)

As reacções foram seguidas por c.c.f (diclorometano) e em todas se observou a formação de um produto, sem contudo se verificar o consumo total do material de partida **103**. Nos ensaios realizados com tolueno, testou-se a variação das restantes condições reaccionais. Nos primeiros ensaios realizados, verificou-se que o aumento do tempo de irradiação, para um número de equivalentes e potência constante, promove uma maior conversão em produto (ensaio 1 vs 2, Tabela II.6). O mesmo se verifica com o aumento da potência (ensaio 4 vs 5, Tabela II.6). Verifica-se também que a partir de 0,4 eq., o aumento do número de equivalentes não promove um

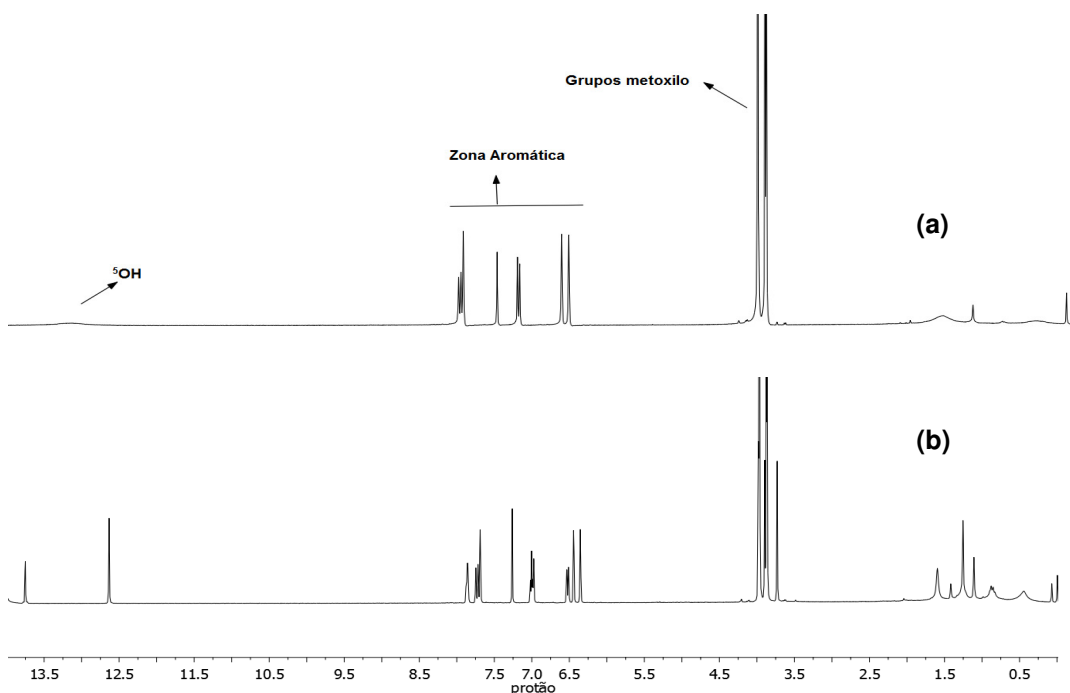
aumento na conversão do produto (ensaio 5 vs 6 e 8, Tabela II.6). De facto, quando se tentou aumentar o número de equivalentes, para uma potência máxima de 300 W, verificou-se uma menor conversão mesmo quando se aumentou o tempo de irradiação (ensaios 6 vs 7 a 9, Tabela II.6). Assim, as melhores condições encontradas tendo como solvente o tolueno envolveram a utilização de 0,4 eq. de R.W. com irradiação a uma potencia de 300 W, durante 5 min. (ensaio 5, Tabela II.6). Pelos resultados obtidos nos ensaios efectuados com tolueno, a temperatura máxima atingida no tubo reaccional parecia ser importante. Desta forma, de modo a promover uma temperatura mais elevada usou-se um solvente com um ponto de ebulição superior, o *p*-xileno. No entanto, os resultados obtidos, não resultaram em nenhuma melhoria significativa na conversão em produto (ensaios 3 e 4 vs 11 e 12, Tabela II.6). Por fim, tentou-se o acetonitrilo como solvente. Surpreendentemente, e num único ensaio, em que se usou 0,4 eq. de R.W. com irradiação a 175 W durante 5 min., verificou-se uma conversão quase total do material de partida **103** em produto (ensaio 10, Tabela II.6).

Como já foi referido, o solvente desempenha um papel muito importante no que diz respeito a reacções com recurso a microondas. A capacidade de transformar a energia fornecida pela irradiação em energia térmica está directamente relacionada com a capacidade dos solventes absorverem a radiação de microondas. De uma maneira geral, essa absorção é tanto maior quanto maior for a constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) do solvente. Deste modo, solventes mais polares terão maior capacidade de absorver energia e convertê-la a energia térmica [51a]. Sendo o acetonitrilo um solvente significativamente mais polar do que o tolueno ou *p*-xileno (solventes apolares), percebe-se a melhoria drástica verificada no ensaio realizado com acetonitrilo relativamente aos restantes solventes.

Os ensaios de optimização das condições reaccionais revelaram que o método mais eficaz para a selenação da quercetina tetrametilada (**103**) é o que envolve o uso de acetonitrilo, representado na Tabela II.6 a sombreado. Deste modo, este método foi escolhido para a selenação de **103** em maior escala. A solução de 103 em acetonitrilo e 0,4 eq. de R.W. foi irradiada a 175 W, durante 5 min. (Tabela II.7). Após o tratamento da mistura reaccional e separação por cromatografia “short path” (diclorometano) obteve-se o produto selenado na posição carbonilica, 2-(3',4'-dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (Tabela II.7, **110**) com um rendimento de 83%.

Com o objectivo de comprovar a vantagem do método desenvolvido, em alternativa a métodos que envolvem o aquecimento convencional, efectuou-se um ensaio nas condições descritas anteriormente em que se substituiu o aquecimento por

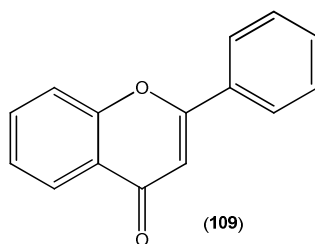
microondas, por aquecimento convencional. A reacção foi seguida por c.c.f. (diclorometano), observando-se a formação de um produto. Apesar de não se verificar o consumo total do material de partida **103**, parou-se o aquecimento ao fim de 5 min.. A comparação por c.c.f (diclorometano) do produto formado por aquecimento convencional e **110** revelou  $R_f$ 's muito semelhantes indicando a possibilidade de estarmos na presença de um mesmo produto. No entanto, o espectro de  $^1\text{H}$ -RMN da amostra obtida após purificação por c.c.f.p. [*n*-hexano/acetato de etilo (2:8)] indica que na realidade se trata de uma mistura de compostos. A sobreposição dos espectros de  $^1\text{H}$ -RMN do composto **110** (Figura II.10a) e da mistura obtida por aquecimento convencional (Figura II.10b), permite verificar que neste último caso existe uma duplicação do sinal correspondente ao protão fenólico livre (14-12 ppm) e também os sinais na zona aromática (8-6 ppm) correspondentes aos protões aromáticos (Figura II.10). Apesar das várias tentativas (ver secção III.4.2.1) não foi possível separar esta mistura, na medida em que os dois compostos apresentavam  $R_f$ 's muito próximos, não permitindo a sua separação por cromatografia.



**Figura II.10-** Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN **a)** 2-(3',4'-dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**110**) e **b)** fracção isolada na reacção por aquecimento convencional em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz).

O sucesso do método com recurso à radiação de microondas desenvolvido para **103** levou à sua aplicação na selenação de outros flavonóides. Assim, o método

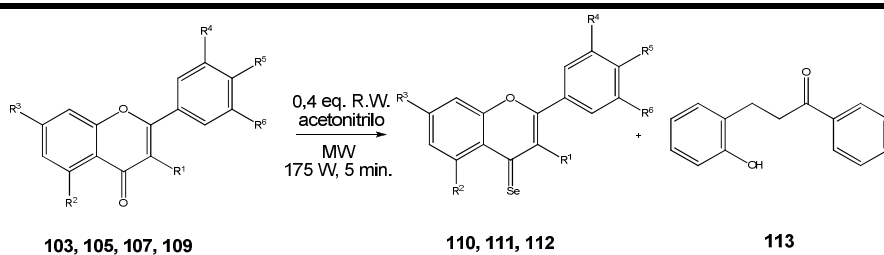
desenvolvido (representado a sombreado na Tabela II.6) foi também utilizado para a selenação dos restantes flavonóides metilados, **105** e **107** e ainda a flavona 2-fenil-4*H*-cromen-4-ona (flavona, **109**, Figura II.11).



**Figura II.11** – Estrutura química da 2-fenil-4*H*-cromen-4-ona (**109**).

Deste modo, foi possível obter, a 2-(3', 5'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**111**) e a 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**112**) com os rendimentos de 32% e 16%, respectivamente. No entanto, a reacção efectuada a partir da flavona **109**, não conduziu ao produto selenado pretendido mas sim ao produto 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1-ona (**113**) com um rendimento de 11% (Tabela II.7).

**Tabela II.7-** Condições experimentais e resultados obtidos na preparação de derivados selenados a partir dos flavonóides metilados **103**, **105**, **107** e a flavona **109**.



Entrada	Flavonóide	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	R <sup>6</sup>	Produto maioritário	η (%)
1	<b>103</b>	OMe	OH	OMe	OMe	OMe	H	<b>110</b>	83
2	<b>105</b>	OMe	OH	OMe	OMe	H	OMe	<b>111</b>	32
3	<b>107</b>	H	OH	OMe	H	H	H	<b>112</b>	16
4	<b>109</b>	H	H	H	H	H	H	<b>113</b>	11

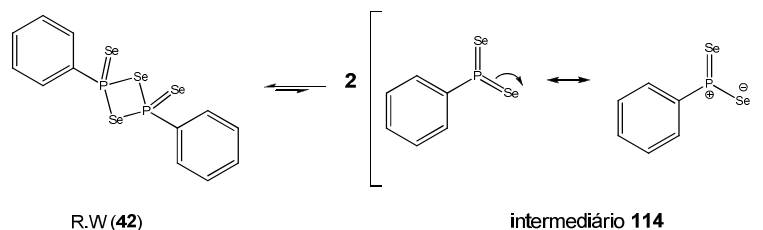
As diferenças estruturais dos materiais de partida **103**, **105**, **107** e **109** residem apenas no número e posição dos grupos metóxilo sendo que **109** não apresenta qualquer substituinte. A presença do grupo metóxilo na posição C<sup>3</sup> (R<sup>1</sup>, Tabela II.7), parece influenciar o rendimento de formação dos produtos na medida em que o rendimento desce drasticamente na sua ausência (entradas 1 e 2 vs entrada 3). Por métodos computacionais (ver secção III.2), determinou-se que a densidade electrónica do carbono C<sup>4</sup> (carbono carbonílico) dos derivados metilados **103**, **105**, **107** segue a ordem 103<105<<<107, que corresponde à ordem inversa do rendimento de selenação (Tabela II.8).

**Tabela II.8-** Valores de carga electrónica determinados por métodos computacionais (ver secção III.2).

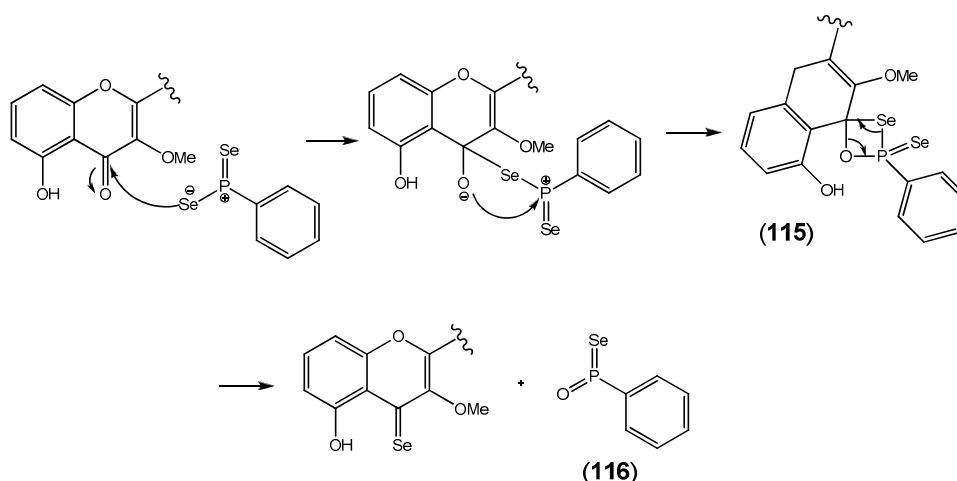
Flavonóide	Carga electrónica por átomo			
	C <sup>3</sup>	O <sup>4</sup>	C <sup>4</sup>	C <sup>5</sup>
<b>103</b>	-0,146	-0,647	0,686	0.649
<b>105</b>	-0,213	-0,666	0,699	0.647
<b>107</b>	-0,679	-0,694	0,765	0.647
<b>109</b>	-0,678	-0,662	0,720	0.013

Embora o mecanismo da reacção de selenação, que envolve o R.W, não seja conhecido, acredita-se que este reagente tenha um comportamento semelhante ao reagente de Lawesson (**43**) [63]. Inicialmente, o R.W. deverá passar por uma dissociação que resulta na formação de duas moléculas de um ileto de disselenofosfina (**114**) (Esquema II.4). A transformação do grupo carbonilo no grupo seleno carbonilo poderá dar-se por um mecanismo que envolve a formação de um intermediário cíclico, de quatro membros (**115**), semelhante ao que se forma numa reacção de Wittig. A *driving force* da reacção é a elevada afinidade do átomo de fósforo para o átomo de oxigénio, tornando a ligação formada entre estes dois átomos bastante forte e, promovendo a saída do óxido de selenofosfina (**116**, Esquema II.5). Por outro lado, tendo em conta a relação entre a densidade electrónica do carbono carbonílico C<sup>4</sup> e o rendimento das reacções de selenação, quanto menor for a densidade electrónica em C<sup>4</sup> maior será a facilidade do ataque do átomo de Se a esta posição, conduzindo a rendimentos de selenação mais elevados. Ainda assim, perante estes resultados, não é possível afirmar se o composto formado envolve um ataque concertado (ataque simultâneo do selénio ao carbono electropositivo e oxigénio ao

átomo de fósforo electrodeficiente) ou sequencial (primeiro ataque efectuado pelo átomo de selénio ou pelo átomo de oxigénio). O Esquema II.5 representa uma hipótese mecanística para a reacção.



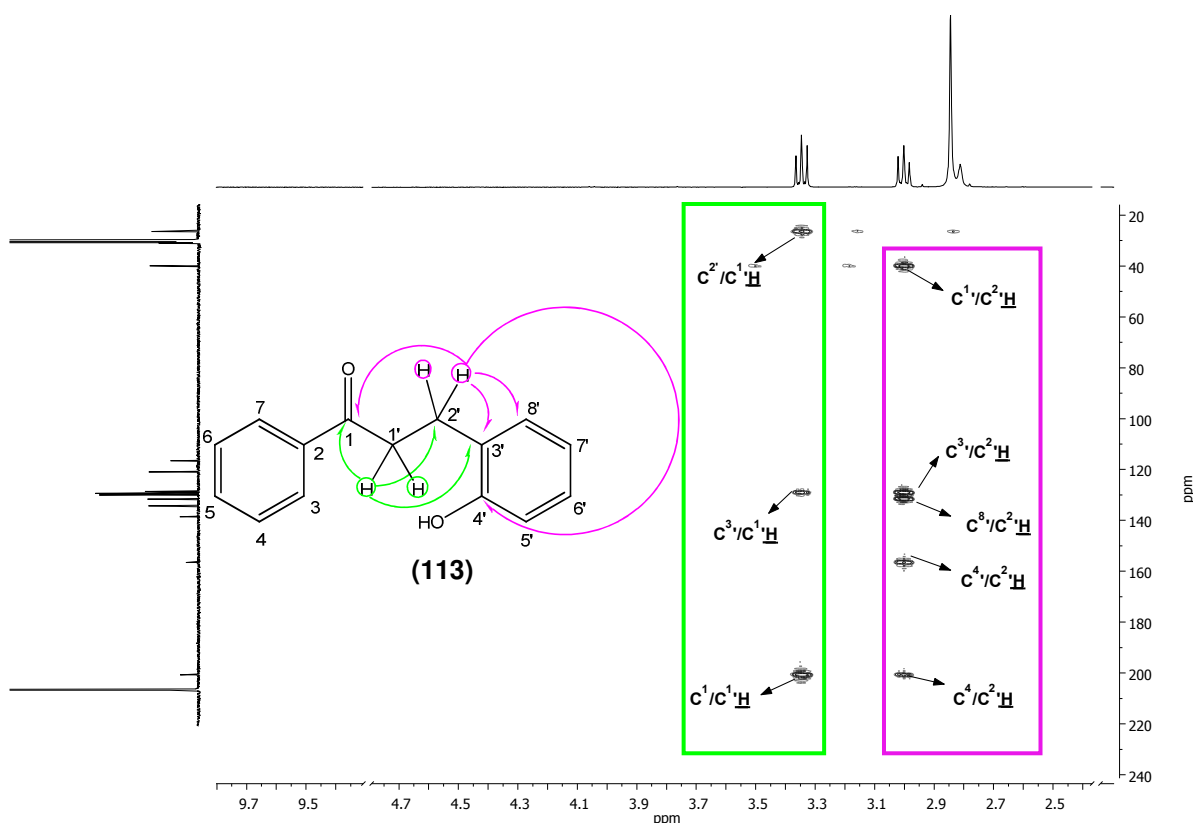
**Esquema II.4-** Dissociação do reagente de Woolins (42).



**Esquema II.5-** Hipótese mecanística para a formação do grupo seleno-carbonilo na presença de R.W.

A tentativa de selenação da flavona (**109**) promoveu a formação de um produto paralelo, o 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1-ona (**113**). Evidências dadas por IV e RMN e espectrometria de massa indicam que ocorreu uma abertura do anel pirano da flavona. Por espectroscopia de infravermelho (IV) observam-se as bandas correspondentes a uma ligação O-H de um fenol a  $3348\text{ cm}^{-1}$  e a uma ligação C=O a  $1669\text{ cm}^{-1}$ . Esta última característica de cetonas aromáticas. Por  $^1\text{H-RMN}$  é possível verificar o aparecimento de dois conjuntos de sinais a integrar para quatro prótons, na zona de 3,38-3,01 ppm. Estes sinais correspondem aos dois prótons geminais  $\text{C}^1\text{H}$  e os dois prótons geminais  $\text{C}^2\text{H}$ , confirmando-se o desaparecimento da ligação dupla do anel pirano de **109**. As restantes atribuições foram efectuadas com base nas

correlações observadas nos espectros bidimensionais de HSQC e HMBC (Tabela II.9). Através destas correlações foi possível determinar a posição do grupo O-H fenólico bem como o grupo carbonilo. No espectro de HMBC (Figura II.12) é possível verificar que o sinal correspondente aos prótons geminais  $C^1H$ , a 3,35 ppm apresenta correlações a duas ligações com o carbono quaternário  $C^1=O$  e o carbono  $C^2$  (a 200,7 e 26,4 ppm respectivamente) e correlações a três ligações com o carbono aromático quaternário  $C^3$  (a 128,9 ppm). Verifica-se também, que o sinal correspondente aos prótons geminais  $C^2H$ , a 3,01 ppm apresenta correlações a duas ligações com o carbono  $C^1$  e o carbono quaternário aromático  $C^3$  (128,9 e 30,9 ppm respectivamente) e ainda correlações a três ligações com o carbono aromático quaternário  $C^4$  e o carbono aromático  $C^8$  (156,5 e 131,5 ppm respectivamente). O sinal a 156,5 ppm, correspondente ao carbono aromático quaternário  $C^4$  está concordante com um carbono aromático ligado a um átomo electronegativo como é o caso do oxigênio.

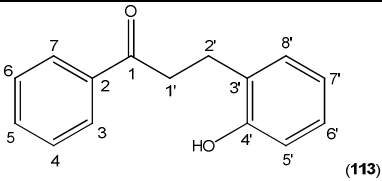


**Figura II.12-** Correlações a duas e três ligações (  $\curvearrowright$  ) (HMBC) obtidas para 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1-ona (**113**) em  $CDCl_3$  (400 MHz).

A confirmação da formação do produto **113** é dada também por espectrometria de massa com ionização por *electrospray*, na medida em que se observa um sinal

correspondente à molécula protonada a  $m/z$  227, que está de acordo com a estrutura apresentada.

**Tabela II.9-** Dados espectroscópicos do composto 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1-ona (**113**).

Estrutura	
IV (KBr) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )	3348 (O-H), 1669 (C=O)
<sup>1</sup> H-RMN (CDCl <sub>3</sub> )	8,38 (1H, troca com D <sub>2</sub> O, s, OH), 8,04-8,02 (2H, m, ArC <sup>3</sup> H e ArC <sup>7</sup> H), 7,64-7,60 (1H, m, ArC <sup>5</sup> H), 7,53-7,50 (2H, m, ArC <sup>4</sup> H e ArC <sup>6</sup> H), 7,18 (1H, dd, $J=1,6$ e $7,6$ , ArC <sup>8</sup> H), 7,06-7,02 (1H, m, ArC <sup>6</sup> H), 6,86 (1H, dd, $J=0,8$ e $8,8$ , ArC <sup>5</sup> H), 6,78 (1H, m, ArC <sup>7</sup> H), 3,38-3,34 (2H, t, $J=7,6$ , C <sup>1</sup> H), 3,01 (2H, t, $J=7,6$ , C <sup>2</sup> H)
$\delta$ (ppm)	
$J$ (Hz)	
<sup>13</sup> C RMN (acetona- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ (ppm)	200,7 (C <sup>1</sup> =O), 156,5 (ArC <sup>4</sup> ), 138,5 (ArC <sup>2</sup> ), 134,3 (ArC <sup>7</sup> ), 131,5 (ArC <sup>8</sup> ), 129,8 (ArC <sup>4</sup> e ArC <sup>6</sup> ), 129,3 (ArC <sup>3</sup> e ArC <sup>7</sup> ), 128,9 (ArC <sup>3</sup> ), 128,5 (ArC <sup>6</sup> ), 121,0 (ArC <sup>7</sup> ), 116,5 (ArC <sup>5</sup> ), 30,9 (C <sup>1</sup> ), 26,4 (C <sup>2</sup> )
EM (ESI+) $m/z$ (int.rel., %)	249 [M+Na] <sup>+</sup> (100), 227 [M+H] <sup>+</sup> (25), 209 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> (22,5)

A redução de sulfóxidos mediada pelo R.W. foi já observada por Woolins e Hua [64]. Pensa-se que o mesmo tipo de transformação terá ocorrido na reacção do R.W. com a flavona (**109**), que poderá ter sofrido inicialmente a redução do grupo carbonilo, mediada pelo R.W., seguida de uma hidrólise que origina a abertura do anel e a formação de um novo grupo carbonílico.

### II.1.2.1- Caracterização estrutural de derivados de flavonóides selenados na posição carbonílica

A caracterização estrutural destes compostos foi efectuada com base nos espectros de <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN, <sup>77</sup>Se-RMN bem como as experiências de HSQC, HMBC e em alguns casos COSY. Os dados espectroscópicos encontram-se na Tabela II.10.

Todos os compostos preparados, apresentam o mesmo esqueleto que os respectivos materiais de partida. A única diferença é a presença de um átomo de

selênio no lugar do átomo de oxigênio, do grupo carbonilo. Deste modo, e tal como o esperado, os espectros obtidos para os compostos **110**, **111** e **112** são muito semelhantes aos obtidos para os respectivos materiais de partida, evidenciando apenas algumas diferenças, principalmente no que diz respeito ao espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN, onde é de salientar um desvio para campo mais baixo do sinal correspondente ao carbono  $\text{C}^4$  quando comparado com os derivados carbonílicos.

Os valores de desvio químico de  $^{13}\text{C}$  RMN são fundamentalmente governados pelo termo de blindagem paramagnético ( $\sigma^{\text{para}}$ ), que é dado pela Equação II.1. Deste modo, o efeito desblindante do Se é atribuído a uma menor energia média de excitação electrónica do seleno-carbonilo (quando comparada com o carbonilo) que vai aumentar a contribuição paramagnética para o desvio químico, de acordo com a Equação I.1. [65]. Assim, os valores de desvio de  $^{13}\text{C}$  RMN correspondentes aos carbonos de grupos seleno-carbonilo aparecem a campo mais baixo do que os desvios correspondentes aos carbonos de grupos carbonilos.

$$\sigma^{\text{para}} = -\frac{e^2 h^2}{m^2 c^2} \Delta E^{-1} r_{2p}^{-3} [Q_{AA} + \sum Q_{AX}]$$

**Equação II.1-** Equação deduzida por Karplus e Pople, para o termo de blindagem paramagnética, onde  $\Delta E$  é a energia média de excitação electrónica,  $r$  é a distância entre o electrão 2p e o núcleo e  $Q_{AA}$  o número de electrões que ocupam a orbital p, e  $\sum Q_{AX}$  a contribuição de ligações múltiplas [65]

Tomando como exemplo o composto **103** e o respectivo produto selenado, **110**. Na Tabela II.11 é possível verificar que os sinais correspondentes aos carbonos de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (**103**) e o produto selenado **110**, são muito semelhantes. As excepções são observadas nos carbonos correspondentes à ligação  $\text{C}^{8a}\text{-C}^{4a}\text{-C}^4$  (=heteroátomo)- $\text{C}^3$ -, evidenciando uma alteração estrutural nesta ligação (a sombreado na Tabela II.11).

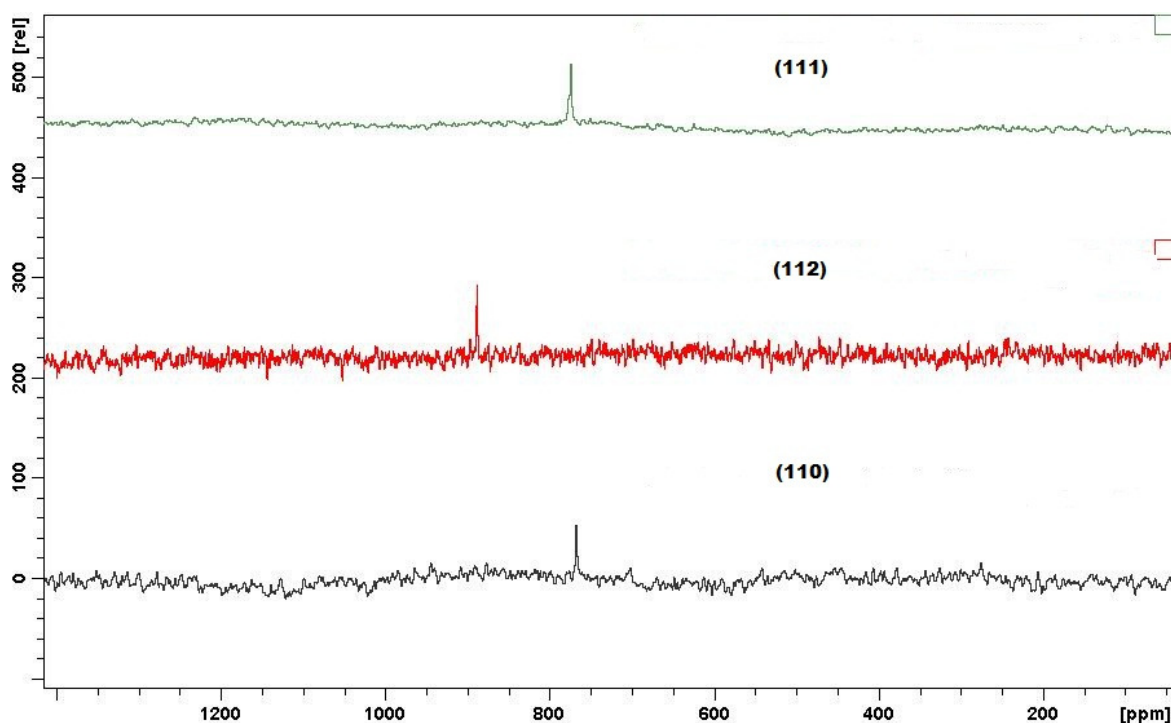


**Tabela II.11-** Desvios químicos de  $^{13}\text{C}$ -RMN para 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (**103**) em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz) e **110** em acetona- $d_6$  (400 MHz)

Carbono (ppm)	2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona ( <b>103</b> )	( <b>110</b> )
ArC <sup>1'</sup>	123,1	122,1
ArC <sup>2'</sup>	111,4	111,9
ArC <sup>3'</sup>	148,9	152,8 ou 149,6
ArC <sup>4'</sup>	151,5	152,8 ou 149,6
ArC <sup>5'</sup>	111,0	111,8
ArC <sup>6'</sup>	122,3	123,2
C <sup>2</sup>	156,0	152,4
C <sup>3</sup>	139,2	150,8
C <sup>4</sup> =X	178,9, com X = O	191,6, com X = Se
ArC <sup>4a</sup>	106,2	117,7
ArC <sup>5</sup>	162,2	161,9
ArC <sup>6</sup>	98,0	99,7
ArC <sup>7</sup>	165,6	165,1
ArC <sup>8</sup>	92,4	92,7
ArC <sup>8a</sup>	156,9	149,0
C <sup>9</sup> H-C <sup>12</sup> H	60,3-56,0	58,7-55,4

A presença do átomo de selênio é ainda evidenciada por  $^{77}\text{Se}$ -RMN, onde se observa um sinal correspondente à ligação C<sup>4</sup>=Se, a 768,3 ppm (Figura II.13). Aliás, todos os flavonóides selenados isolados apresentam um sinal com desvio químico entre 900-700 ppm, que está de acordo com o descrito na literatura para ligações do tipo C=Se (Figura II.13) [66].

Por espectrometria de massa com ionização por *electrospray*, observam-se cinco sinais correspondentes à molécula protonada,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , com cinco dos seis isótopos mais abundantes do elemento Se. A mesma razão isotópica é observada para o ião molecular  $[\text{M}]^+$ , por espectrometria de massa de alta resolução por impacto electrónico (Tabela II.10).

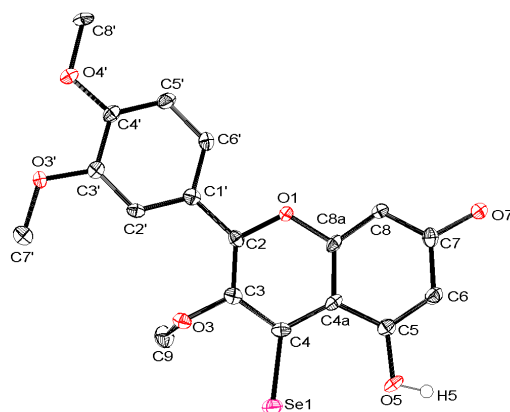


**Figura II.13-** Espectro de  $^{77}\text{Se}$ -RMN (500 MHz) **a)** 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**110**) em acetona- $d_6$ ; **b)** 2-(3', 5'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**111**) em acetona- $d_6$  e **c)** 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**112**) em  $\text{CDCl}_3$ .

Como o átomo de selênio apresenta uma massa atômica bastante mais elevada que o átomo de oxigênio ou enxofre, a vibração correspondente à ligação C=Se é esperada a números de onda significativamente menores do que os atribuídos para as ligações C=O ( $1750\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ ) e C=S ( $1200\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ ) [67]. Gingras et al. [68] consideram que a zona de frequências mais lógica para a ligação C=Se corresponde aos números de onda entre  $1200\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ . Nos espectros obtidos para os derivados de flavonóides, esta zona encontra-se bastante sobrecarregada com várias bandas, tornando difícil a comparação entre os espectros do material de partida e do produto selenado. Desta forma é impossível atribuir uma frequência correcta para a ligação C=Se. Ainda assim, verifica-se que no espectro de IV dos compostos **110**, **111** e **112**, a banda do grupo carbonilo desaparece (comparando com o seu material de partida, ver secção II.1.1.1, Tabela II.3).

A confirmação da estrutura apresentada para o composto **110** foi ainda conseguida por análise de raio-X (Tabela II.12). A determinação da estrutura molecular de 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**110**) por raios-X (Figura II.14) permitiu observar a sua estrutura tridimensional bem como os

seus ângulos de ligação, torsão e interações não-ligantes. Como se pode observar na figura apresentada (Figura II.14), a molécula apresenta um conjunto de dois anéis (aromático e pirano) unidos por uma ligação C-C, com um ângulo de torsão de  $-174.6^\circ$ , que é praticamente planar. O grupo métilo  $C^9H$  é o único que se apresenta praticamente perpendicular ao plano do anel (ângulo de torsão  $C^9-O-C^3-C^4$  a  $-86,5^\circ$ , enquanto os outros três grupos métilo se encontram praticamente no plano deste anel (ângulos de torsão de  $-6.9$ ,  $-14.4$  e  $-177.4^\circ$  para os métilos  $C^{10}H$ ,  $C^{11}H$  e  $C^{12}H$ , respectivamente). O grupo métilo  $C^9H$  apresenta esta particularidade uma vez que se encontra sujeito por um lado à influência do grupo dimetoxifenilo e por outro à influência do átomo de selênio. A proximidade do átomo de selênio e o grupo hidroxil livre é observada nos valores dos ângulos das ligações em torno de  $C^{4a}$ , principalmente no valor do ângulo que corresponde à ligação  $C^5-C^{4a}-C^4$  ( $127.4^\circ$ ).



**Figura II.14-** Estrutura tridimensional determinada para 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**110**).

**Tabela II.12-** Dados cristalográficos e refinamento estrutural para 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromene-4-selenona (**110**).

Característica	2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromene-4-selenona ( <b>110</b> )	
Fórmula química	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> Se	
Peso Molecular	421,29	
Temperatura	150(2) K	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Tamanho do cristal	0,40 x 0,06 x 0,02 mm	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Dimensões da célula	$a = 13,8279(19)$ Å	$\alpha = 90^\circ$
	$b = 15,465(2)$ Å	$\beta = 90^\circ$
	$c = 7,9179(11)$ Å	$\gamma = 90^\circ$
Volume	1693,2(4) Å <sup>3</sup>	
Z	4	
Densidade (calculada)	1,653 g cm <sup>-3</sup>	
Coeficiente de absorção	2,252 mm <sup>-1</sup>	
$F_{000}$	856	
Variação de $\theta$	2,63 a 27,58 °	
Variação de Índices	-17<=h<=17	
	- 20<=k<=19	
	-10<=l <=10	
Refleções recolhidas	15778	
Refleções independentes	3871 [ $R_{(int)} = 0,0863$ ]	
Método de Refinamento	Mínimos quadrados a $F^2$	

No que diz respeito aos compostos 2-(3', 5'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromene-4-selenona (**111**) e 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4H-cromene-4-selenona (**112**) (Tabela II.10) foram observadas as mesmas diferenças descritas para **110** e o seu material de partida **103** relativamente ao espectro de <sup>13</sup>C-RMN e IV. As evidências da presença do selênio verificam-se igualmente pelos dados da

espectrometria de massa e  $^{77}\text{Se}$ -RMN (ver Figura II.13). Todos os dados estão de acordo com as estruturas apresentadas.

### II.1.3- Desprotecção de produtos selenados protegidos nas posições hidroxiladas

A terceira etapa da estratégia sintética traçada consistiu na remoção dos grupos protectores. Um dos métodos tradicionais para a transformação de éteres metílicos em álcoois envolve o uso do ácido de lewis, tribrometo de boro ( $\text{BBr}_3$ ) em diclorometano seco [69].

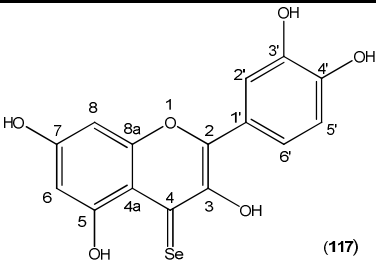
A reacção de desprotecção da 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromene-4-selenona (**110**) foi efectuada por dois métodos diferentes. No primeiro método (ver secção III.5.1-Método I) foram efectuadas duas adições de 6,0 eq. de  $\text{BBr}_3$ , a uma temperatura baixa ( $\sim 78^\circ\text{C}$ ), e o tratamento da mistura reaccional efectuado consistiu na adição de uma solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) à mistura reaccional. Após a neutralização do pH e extracção com diclorometano/*n*-butanol, a fase orgânica foi evaporada à secura. A análise por  $^1\text{H}$  RMN do resíduo obtido revelou uma mistura reaccional bastante complexa não sendo possível determinar se a desprotecção ocorreu em alguma extensão. Desta forma, promoveu-se uma nova reacção de **110** e um excesso de 7,5 eq. de  $\text{BBr}_3$ , adicionado a  $0^\circ\text{C}$ . O tratamento da mistura reaccional foi efectuado de acordo com o descrito na literatura [70] e envolveu a adição de metanol, a  $0^\circ\text{C}$ , seguido de aquecimento da mistura reaccional ( $\sim 50^\circ\text{C}$ ). O resíduo obtido após a neutralização e extracção da mistura reaccional, efectuado como descrito anteriormente, foi analisado por  $^1\text{H}$ -RMN. Embora o espectro de  $^1\text{H}$ -RMN na zona de desvios aromáticos fosse bastante complexo, foi possível identificar na zona de 3,5-4,0 ppm, sinais correspondentes a prótons de grupos métoxilos, revelando que a desprotecção de **110** não teria sido conseguida, pelo menos na totalidade. Desta forma, promoveu-se uma nova adição de 7,5 eq. de  $\text{BBr}_3$  a  $0^\circ\text{C}$  e o subsequente tratamento da mistura reaccional. Mais uma vez, a análise por  $^1\text{H}$ -RMN demonstrou que a desprotecção não teria sido completa na medida em que se observou novamente sinais na zona do espectro a 3,5-4,0 ppm. Foram necessárias mais duas adições de 7,5 eq. de  $\text{BBr}_3$  para que finalmente se obter o produto desejado. A análise do resíduo obtido, por  $^1\text{H}$ -RMN permitiu verificar a formação do produto 2-(3,4-di-hidroxifenil)-3,5,7-tri-hidroxi-4H-cromen-4-selenona (Tabela II.12, **114**), totalmente desprotegido, com um rendimento de 34 %.

Embora se tenha conseguido desproteger **110**, a tarefa de otimizar as condições experimentais para a desprotecção dos flavonóides selenados revelou-se difícil. Deste modo, e tendo em conta o tempo limitado para a execução deste trabalho, não foi possível aplicar este método aos restantes flavonóides. Pelo mesmo motivo, a determinação do poder antioxidante destes compostos selenados bem como a determinação da sua afinidade para as cinases, não foram efectuadas.

### II.1.3.1- Caracterização estrutural de derivados selenados de flavonóides desprotegidos nas posições hidroxiladas

A caracterização estrutural de **114** foi efectuada com base nos espectros de  $^1\text{H}$ -RMN e  $^{13}\text{C}$ -RMN, bem como as experiências de HSQC, HMBC e COSY. Os dados espectroscópicos encontram-se na Tabela II.13. As evidências para a formação de **114** são dadas por  $^1\text{H}$ -RMN onde se verifica a ausência dos sinais correspondentes aos prótons dos grupos metóxilo, na zona do espectro a 3,5-4,0 ppm. Já no espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN nota-se a ausência dos carbonos correspondentes aos quatro grupos metóxilo, na zona do espectro a 55,0-60,0 ppm. A atribuição dos restantes sinais foi efectuada tendo em conta as correlações observadas nos espectros bidimensionais de HSQC e HMBC.

**Tabela II.13-** Dados espectroscópicos obtidos para 2-(3,4-di-hidroxifenil)-3,5,7-tri-hidroxi-4H-cromen-4-selenona (**117**).

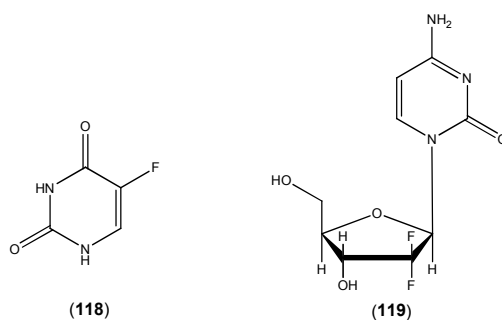
Estrutura	
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$ ) $\delta$ (ppm) $J$ (Hz)	7,71 (1H, s, $\text{ArC}^{2'}\text{H}$ ), 7,62 (1H, d, $J=7,9$ , $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 6,97 (1H, d, $J=7,9$ , $\text{ArC}^{5'}\text{H}$ ), 6,47 (1H, s, $\text{ArC}^{8}\text{H}$ ), 6,27 (1H, s, $\text{ArC}^{6}\text{H}$ )
$^{13}\text{C}$ RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$ ) $\delta$ (ppm)	177,4 ( $\text{C}^4=\text{Se}$ ), 165,6 ( $\text{ArC}^5$ ou $\text{ArC}^7$ ), 162,6 ( $\text{ArC}^5$ ou $\text{ArC}^7$ ), 158,3 ( $\text{ArC}^{8a}$ ), 148,9 ( $\text{ArC}^{4'}$ ou $\text{C}^2$ ), 148,1 ( $\text{ArC}^{4'}$ ou $\text{C}^2$ ), 146,3 ( $\text{ArC}^{3'}$ ), 130,8 ( $\text{C}^3$ ), 124,3 ( $\text{ArC}^{1'}$ ), 121,8 ( $\text{ArC}^{6'}$ ), 116,4 ( $\text{ArC}^{5'}$ ), 116,1 ( $\text{ArC}^{2'}$ ), 104,6 ( $\text{ArC}^{4a}$ ), 98,4 ( $\text{ArC}^6$ ) 94,6 ( $\text{ArC}^8$ )

## II.2- Preparação de derivados selenados de purinas e pirimidinas

O cancro [71] é uma doença caracterizada pelo crescimento anormal e descontrolado das células. O conjunto de células formado invade e destrói os tecidos circundantes (tumor) e pode mesmo espalhar-se por todo o corpo (metástase). Acredita-se que esta doença ocorre não só devido à susceptibilidade genética mas também a factores ambientais. A grande maioria dos fármacos usados actualmente na terapia do cancro, têm como principal objectivo, “matar” as células tumorais malignas, inibindo alguns dos mecanismos envolvidos na divisão celular ou desencadeando processos celulares que promovem a apoptose [72]. Todos estes fármacos, que causam o dano celular são denominados citotóxicos.

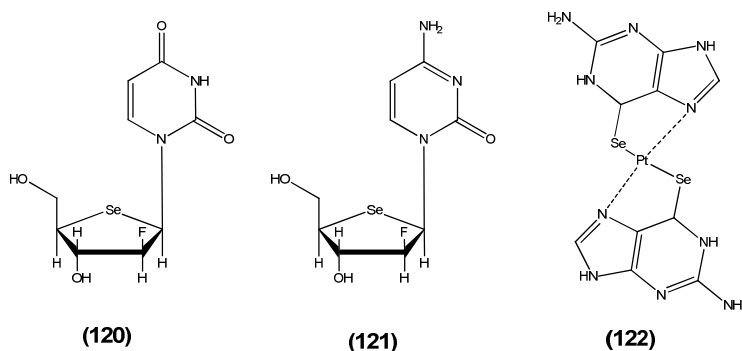
Dentro dos vários grupos de fármacos usados na terapia do cancro encontra-se o grupo dos antimetabolitos, [71,73] que podem ser definidos como compostos análogos de metabolitos, que interferem na sua biossíntese e/ou função, inibindo as vias metabólicas normais. A maioria dos antimetabolitos interfere na síntese dos ácidos nucleicos inibindo directamente a produção de DNA. Esta inibição pode ocorrer por duas vias principais: Competindo por sítios activos de enzimas que participam nos processos biossintéticos ou incorporando-se enquanto ácidos nucleicos desencadeando processos apoptóticos.

Destacam-se dois tipos de inibidores: os inibidores da biossíntese de purinas e pirimidinas e inibidores da redutase de ribonucleotidos (que está envolvida na biossíntese de 2'-desoxiribonucleótidos). Exemplos (Figura II. 15) destes dois tipos de inibidores são o 5-Fluorouracilo (**118**) (Adrucil®), análogo de pirimidinas; Gemcitabina (**119**) (Gemzar®), inibidor da redutase de ribonucleotidos. Ambos usados no tratamento do cancro da mama e estômago, etc.



**Figura II.15-** Estruturas químicas de dois antimetabolitos actualmente em uso clínico, 5-fluorouracilo (**118**) e Gemcitabina (**119**) [74].

Jeong *et. al.* [75] descreve a primeira síntese de compostos do tipo 4'-selenoarabinofuranosil pirimidinas (**120 e 121**, Figura II.16) que apresentam um elevado potencial citotóxico em várias linhas celulares de cancro humano (pulmões, mama, estômago, etc.) embora com menor actividade quando comparados com a Gemcitabina. Maeda *et. al.* [76] anos antes, efectuaram ensaios de actividade antitumoral com complexos de platina (II) e a seleno-guanina ou tio-guanina (**122**, Figura II.16) em linhas celulares de ratos (L1210) tendo verificado um aumento de actividade antitumoral do composto contendo selénio comparativamente ao complexo com enxofre.



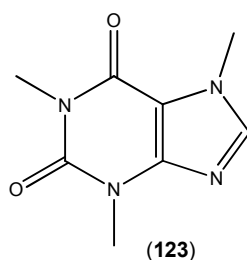
**Figura II.16-** Estruturas químicas de compostos estudados com potencial citotóxico.

Tendo em conta as evidências já demonstradas do papel do selénio, enquanto agente antioxidante e anticarcinogénico bem como os estudos efectuados que demonstram um potencial efeito citotóxico de compostos contendo selénio e que se inserem na categoria de antimetabolitos, pareceu-nos interessante avaliar a actividade citotóxica promovida pela substituição do grupo carbonilo pelo grupo seleno-carbonilo de várias purinas, pirimidinas e desoxinucleósidos.

Na sequência do sucesso obtido na selenação de flavonóides, na presença de R.W. (**42**) com aquecimento por microondas (secção II.1), pensou-se em aplicar a mesma metodologia na transformação do grupo(s) carbonilo(s) de purinas e pirimidinas em grupo(s) seleno-carbonilo.

Os ensaios preliminares de selenação desta classe de compostos foram efectuados com a 1,3,7-trimetilxantina (Figura II.17, **123**), que é vulgarmente conhecida como cafeína. As xantinas, têm sido intensivamente estudadas nas últimas décadas pelo seu potencial anticarcinogénico especialmente quando administradas em combinação com outros fármacos usados na terapia do cancro [77]. Vários

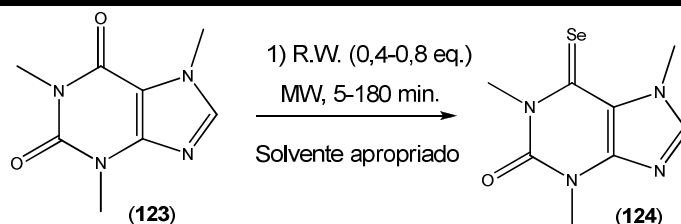
estudos, *in vivo* e *in vitro* já realizados, revelam que as xantinas e em particular a cafeína, inibem o desenvolvimento de tumores induzidos por agentes carcinogénicos, em órgãos como pele, mama, estômago, pulmões e fígado [77]. A escolha desta purina para os ensaios preliminares deve-se, para além das propriedades verificadas acima descritas, às suas características estruturais. Não existindo grupos hidroxilo na molécula, **123** poderá ser directamente submetida às condições de selenação com R.W. sem haver necessidade de incluir passos adicionais de protecção e desprotecção.



**Figura II.17** - Estrutura química da cafeína (**123**).

Assim, aplicou-se a metodologia usada na preparação de flavonóides selenados, envolvendo a irradiação por microondas de uma solução de cafeína (1,0 eq.) em acetonitrilo (3 mL), à qual se adicionou R.W. (0,4 eq.) (ensaio 1, Tabela II.16). A reacção foi seguida por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)] verificando-se a formação de um produto, sem haver consumo total do material de partida (**123**). A mistura reaccional foi purificada por c.c.f.p [diclorometano/metanol (9:1)] tendo-se isolado o produto 1,3,7-trimetill-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (Tabela II.14, **124**) com um rendimento de apenas 4%. Foi ainda recuperado 66% do material de partida. O programa de microondas usado, que envolveu uma irradiação da mistura reaccional durante 5 min., a uma potência de 175 W, deu origem à formação do produto pretendido mas com um baixo rendimento. Na tentativa de encontrar um conjunto de condições experimentais que favorecesse a formação de **124**, efectuou-se uma série de ensaios em que se variou o número de equivalentes de R.W., o solvente, o tempo e a potência de irradiação (Tabela II.14).

**Tabela II.14-** Condições experimentais testadas e resultados obtidos na preparação de **124**, a partir de **123** mediada por R.W. por irradiação de microondas.



Ensaio <sup>a</sup>	R.W. (eq.)	Solvente	Tempo Irradiação (min.)	Programa Microondas <sup>b</sup>	η (%) <sup>c</sup>	
					124	123
1	0,4	acetonitrilo	5	A	4	66
2	0,8	acetonitrilo	5	A	✓	✓
3	0,4	acetonitrilo	5	B	✓	✓
4	0,8	acetonitrilo	10	B	✓	✓
5	0,4	tolueno	5	C	2	79
6	0,4	tolueno	5	D	3	61
7	0,4	tolueno	10	D	5	75
8	0,4	tolueno	5	E	2	✓
9	0,8	tolueno	5	E	2	✓
10	0,4	tolueno	10	E	1	✓
11	0,8	tolueno	10	E	3	✓
12	0,4	tolueno	30	E	✓	✓
12	0,4	tolueno	50	E	7	51
13	0,4	tolueno	90	E	17	59
14	0,8	tolueno	180	E	23	49
15	0,8	<i>p</i> -xileno	180	E	30	49
16	0,6	<i>p</i> -xileno	180	E	41	✓
17	0,8	1,4-dioxano	180	E	19	59
18	0,8	Propionitrilo	180	E	21	✓

<sup>a</sup> Microondas CEM (Discover Benchmate); <sup>b</sup> Potência/Temperatura máxima atingida: A-175W/150°C; B-200W/130°C; C-175W/135°C; D-250W/150°C; E-300W/170°C. <sup>c</sup> Legenda: ✓ - Verifica-se formação de produto por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)]. Rendimento não determinado; x – Não se verifica a formação de produto por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)].

Nos ensaios efectuados em acetonitrilo, quando se tentou aumentar o número de equivalentes de R.W., mantendo a potência e o tempo de irradiação constantes, não se verificou uma melhoria na conversão da cafeína em **124** (ensaios 1 vs 2, Tabela II.14). Tentou-se ainda, mantendo o número de equivalentes e o tempo de irradiação, aumentar a potência. O aumento de 175 W para 200 W também não originou uma melhoria significativa na conversão em **124** (ensaios 1 vs 3, Tabela II.14). O mesmo se verifica com o aumento do tempo de irradiação (ensaios 2 vs 4, Tabela II.14). Nestes primeiros ensaios não foi efectuada uma purificação da mistura reaccional nem a quantificação do produto obtido. No entanto, as reacções foram controladas por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)] e comparadas com o resultado obtido no ensaio 1 (Tabela II.14).

Na medida em que os ensaios efectuados em acetonitrilo não resultaram em qualquer melhoria da conversão da cafeína em **124**, promoveram-se várias reacções com outros solventes como o tolueno, *p*-xileno, 1,4-dioxano e o propionitrilo (Tabela II.14). Como já referido, a literatura [51c] indica que os solventes mais indicados para reacções em microondas correspondem a solventes polares. No caso particular da reacção em estudo, a escolha do solvente estava limitada na medida em que não era possível utilizar solventes polares que apresentassem grupos carbonilo e/ou grupos hidroxilo, sob o risco reagirem com o R.W.

Comparando o ensaio efectuado em tolueno com o efectuado em acetonitrilo, mantendo o número de equivalentes, tempo e potência de irradiação, não se verificou, mais uma vez, qualquer melhoria significativa no rendimento (ensaios 1 vs 5, Tabela II.14). Ainda assim, efectuaram-se vários ensaios com tolueno como solvente. Com este solvente verifica-se que, mantendo o número de equivalentes e o tempo de irradiação, o aumento da potência não altera significativamente o rendimento (ensaios 5 vs 6 vs 8, Tabela II.14). O mesmo se pode afirmar relativamente ao aumento do número de equivalentes, mantendo as restantes condições experimentais (ensaios 8 vs 9 e ensaios 13 vs 14, Tabela II.14). No entanto, quando se aumentou o tempo reaccional (de 10 para 180 min.) mantendo as restantes condições experimentais, verificou-se um aumento bastante significativo na conversão da cafeína em **124** (ensaios 11 vs 14, Tabela II.14).

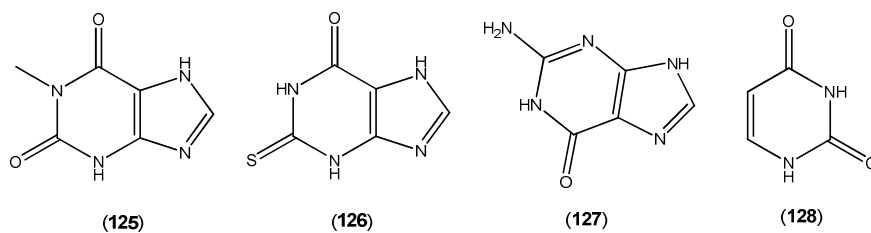
Perante estes resultados tentou-se promover a reacção com um tempo reaccional longo variando apenas o solvente usado (ensaios 14 vs 15, 17 e 18, Tabela II.14). O melhor resultado nestas condições foi obtido para a reacção efectuada em *p*-

xileno, em que **124** foi obtida com 30 %. Num último ensaio tentou-se verificar o efeito do do número de equivalentes de R.W.: quando se diminuiu o número de equivalentes (de 0.8 eq. para 0.6 eq.) mantendo o tempo e potência de irradiação verificou-se uma melhoria no rendimento do produto **124** de 30% para 41% (ensaios 15 vs 16, Tabela II.14).

Pelos ensaios de optimização das condições reaccionais efectuados, verifica-se que o método mais eficaz encontrado, para a selenação da cafeína (**123**) é o que envolve o uso de *p*-xileno como solvente, na presença de 0,6 eq. de R.W. com uma irradiação de 300 W durante 180 min. (ensaio 16, Tabela II.16). O produto **124** foi obtido pelo método descrito, com um rendimento razoável de 41%.

Mais uma vez, com o objectivo de comprovar a vantagem do método desenvolvido como alternativa a métodos que envolvem o aquecimento convencional, efectuou-se um ensaio em condições semelhantes às descritas anteriormente onde apenas se substituiu a irradiação de microondas, por aquecimento convencional. A reacção esteve em agitação a uma temperatura de 170 °C e foi controlada por c.c.f. [diclorometano/metanol (9:1)], observando-se a formação de **124**. Apesar de não se verificar o consumo total de cafeína, parou-se a reacção ao fim de 180 min.. Após o tratamento e purificação da mistura reaccional obteve-se **124** com um rendimento de apenas 2%. Os dados espectroscópicos obtidos estavam de acordo aos obtidos pelo método de aquecimento por microondas. Comprovando-se assim, o aumento da eficiência da reacção pelo uso do microondas relativamente ao método que envolve o uso do aquecimento convencional.

Devido ao sucesso obtido no método desenvolvido para a selenação da cafeína (a sombreado na Tabela II.14), tentou-se aplicar o mesmo método na tentativa promover a reacção de selenação de algumas purinas e pirimidinas. Começou-se por aplicar o método desenvolvido a algumas bases purínicas nomeadamente a 1-metil-xantina (**125**), tioxantina (**126**), guanina (**127**) e à base pirimidínica uracilo (**128**) (Figura II.18).



**Figura II.18** - Estrutura química das bases púricas, 1-metil-xantina (**125**), tioxantina (**126**) e guanina (**127**) e a base pirimidínica uracilo (**128**), testadas com o método de selação desenvolvido.

Assim, preparou-se uma suspensão de purina/pirimidina (1,0 eq.) em *p*-xileno seco (3 mL), à qual se adicionou R.W. (0,6 eq., 83 mg, 0,16 mmol). A mistura foi irradiada, por microondas a uma potência de 300 W, durante 180 min. (Tabela II.15). Em qualquer uma das reacções efectuadas verificou-se a formação de uma suspensão com o arrefecimento da mistura reaccional. A purificação e separação do material de partida (nunca se observou o seu consumo total) e os possíveis produtos formados foram bastante dificultadas por este motivo.

**Tabela II.15**– Ensaio efectuados a partir de das purinas **125**, **126**, **127** e pirimidina **128**.

Purina/Pirimidina (125-128)		1) RW (0,6 eq.) MW, 180 min. <i>p</i> -xileno	Produto Selenado (129)
Reacção	Material de partida		$\eta$ (%)
1	<b>125</b>		-
2	<b>126</b>		-
3	<b>127</b>		-
4	<b>128</b>		16 ( <b>129</b> )

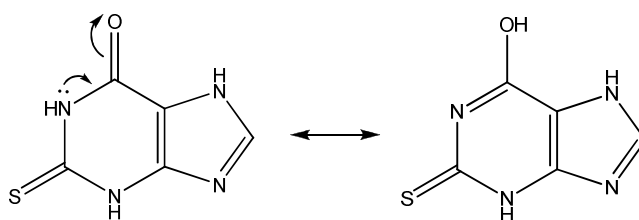
No que diz respeito à reacção a partir da 1-metil-xantina (**125**) (Reacção 1, Tabela II.15), verifica-se por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)] a formação de um produto de  $R_f$  superior ao material de partida **125**. No entanto o espectro de  $^1\text{H}$  RMN do produto isolado por c.c.f.p [diclorometano/metanol (9:1)] revelou ser extremamente complexo impossibilitando a atribuição de qualquer sinal.

A reacção efectuada a partir da tioxantina (**126**) (Reacção 2, Tabela II.15), foi analisada por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)] não se observando a formação de

qualquer produto. Ainda assim, para confirmar este resultado, a mistura reaccional foi centrifugada e o sobrenadante e o precipitado formado (dissolvidos em metanol) foram analisados por HPLC analítico, por comparação com o padrão do material de partida **126**, também dissolvido em metanol. Pela análise dos cromatogramas obtidos, confirmou-se a não formação de qualquer produto, e a existência de tioxantina (**126**) na fracção correspondente ao precipitado.

Da reacção efectuada a partir da guanina (**127**) (Reacção 3, Tabela II.15), obteve-se uma suspensão branca. O solvente da mistura reaccional foi evaporado a pressão reduzida e o sólido obtido foi dissolvido em metanol. No entanto, verificou-se que ainda assim não era possível solubilizar toda a mistura. Esta mistura foi centrifugada e o sobrenadante obtido retirado. Tentou-se ainda dissolver o precipitado noutros solventes polares como o DMF mas sem sucesso. O sobrenadante foi purificado por c.c.f.p [dicloromentano/metanol (9:1)] tendo sido recolhidas duas fracções. Estas foram analisadas por  $^1\text{H}$ -RMN sem no entanto se verificar a formação de qualquer produto.

O insucesso das reacções de selenação com **125**, **126** e **127** poderá ser explicado pela contribuição significativa dos respectivos híbridos de ressonância, na possibilidade de deslocalização de carga dos electrões não ligantes do átomo de azoto. Esta contribuição é promovida essencialmente pela não substituição total dos átomos de azoto do grupo funcional amida (Figura II.19). No caso da guanina, a insolubilidade observada nas condições utilizadas, poderá ter também contribuído para o resultado obtido.



**Figura II.19** - Contributores de ressonância da tioxantina (**126**).

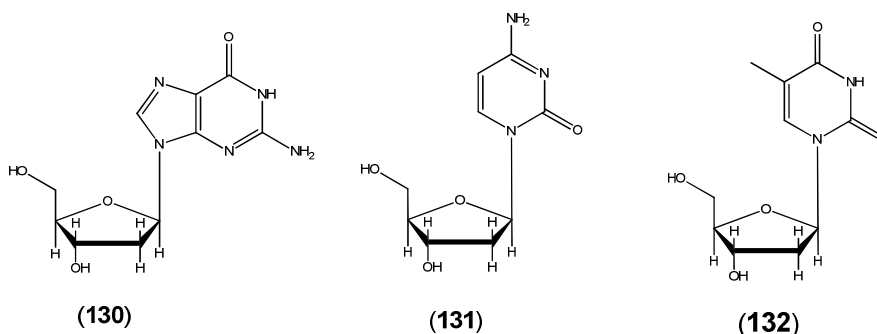
Apesar do insucesso obtido nas reacções de selenação das bases purínicas, quando se aplicaram as condições reaccionais desenvolvidas à selenação do uracilo (**128**) (Reacção 4, Tabela II.15), houve indicação de ocorrência de reacção. A mistura reaccional obtida apresentava-se sob a forma de suspensão sendo necessária a centrifugação para possibilitar a análise, separação e purificação da mesma, tendo-se

verificado por c.c.f [n-hexano/acetato de etilo (3:7)] que o produto resultante da selenação se encontrava na fracção do precipitado. Este por sua vez foi dissolvido em THF e purificado por cromatografia “short path” [n-hexano/acetato de etilo (1:1 até 3:7)], tendo-se isolado a 4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1H)-ona (**129**) com um rendimento de 16%.

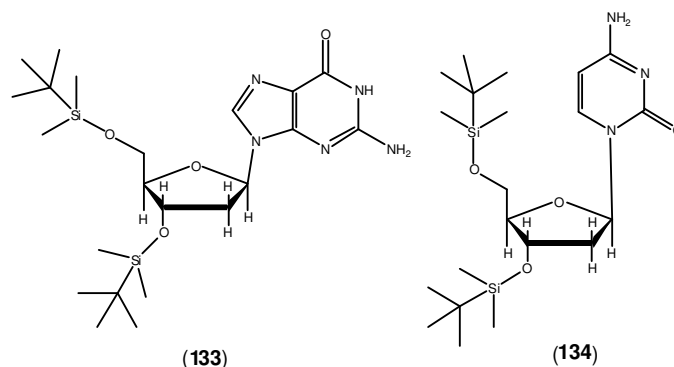
O composto **129** já havia sido descrito por Shiue e Chu [78]. A reacção descrita por estes autores, que envolve o uso de um excesso de H<sub>2</sub>Se (seleneto de hidrogénio) promove a formação de **129**, após 5 dias a refluxo (piridina), com um rendimento de 12%. Apesar do método desenvolvido não revelar uma melhoria significativa no rendimento, comparativamente ao método de Shiue e Chu [ref], a formação de **129** ocorre num menor tempo reaccional e com menor quantidade de agente de selenação (R.W.).

### II.2.1. Selenação de 2'-desoxinucleósidos

Para a selenação dos desoxinucleósidos, 2'-desoxiguanosina (**130**) e 2'-desoxicitosina (**131**) e 2'-desoxitimidina (**132**) (Figura II.20) houve necessidade de proteger previamente os grupos hidroxilos da unidade de açúcar (Figura II.21), tendo a 3',5'-O-bis-(*tert*-butildimetilsilil)-2'-desoxiguanosina (**133**) e 3',5'-O-bis-(*tert*-butildimetilsilil)-2'-desoxicitosina (**134**) sido inicialmente utilizadas nos primeiros ensaios de selenação. A escolha inicial do grupo TBDMS (*tert*-butildimetilsililo), como grupo protector, deve-se ao facto de a sua introdução ocorrer mediante uma reacção bastante simples, conduzindo a rendimentos satisfatórios [69]. Além disso, a clivagem do éter sililado a álcool é bastante rápida, bastando promover a reacção com o sal quaternário de amónio, fluoreto de tetrabutylamónio (TBAF) em tetra-hidrofurano (THF), à temperatura ambiente [69].



**Figura II.20** - Estrutura química da 2'-desoxiguanosina (**130**), 2'-desoxicitidina (**131**) e 2'-desoxitimidina (**132**).



**Figura II.21** - Estrutura química de 3',5'-*O*-bis(*tert*-butildimetilsilil)-2'-desoxiguanosina (**133**), e 3',5'-*O*-bis-(*tert*-butildimetilsilil)-2'-desoxicitosina (**134**)

Os desoxinucleósidos 3',5'-*O*-bis-(*tert*-butildimetilsilil)-2'-desoxiguanosina (**133**) e 3',5'-*O*-bis-(*tert*-butildimetilsilil)-2'-desoxicitosina (**134**) foram assim submetidos às condições de selenação. Obtendo-se em ambos os casos uma mistura reaccional muito complexa, sob a forma de suspensão, e extremamente difícil de separar e purificar. Ainda assim, evaporou-se o solvente da reacção e tentou-se dissolver o resíduo em metanol. As suspensões formadas foram centrifugadas e o sobrenadante separado do precipitado. Dada a impossibilidade de dissolver os precipitados pretos formados apenas os respectivos sobrenadantes foram analisados. No que diz respeito à reacção realizada a partir da 3',5'-*O*-bis-(*tert*-butildimetilsilil)-2'-desoxiguanosina (**133**), o sobrenadante foi analisado por HPLC analítico por comparação com o material de partida, **133**. O cromatograma obtido revelou que a fracção analisada não apresentava qualquer produto da reacção nem material de partida **133**. Já o sobrenadante de 3',5'-*O*-bis-(*tert*-butildimetilsilil)-2'-desoxicitosina (**134**), foi analisado por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)] tendo-se observado a formação de um produto, embora em muito baixa concentração, de  $R_f$  superior ao material de partida **134** e ainda o consumo do mesmo. Perante estes resultados, pensa-se que qualquer produto formado nas duas reacções acima referidas estará na fracção não analisada, nomeadamente o precipitado preto. Uma possível explicação para o consumo total do material de partida será a reacção do R.W com o átomo de silício (Si) do grupo protector. Desta forma, tentou-se proteger os desoxinucleósidos com outros grupos protectores.

Em alternativa ao método descrito anteriormente, promoveu-se a reacção de **130** e **132** (Figura II. 20) com o brometo de benzilo (BnBr). Este é também um grupo

protector muito usado na síntese de hidratos de carbono [69] originando éteres benzílicos. Desta forma, preparou-se uma solução de 2'-desoxinucleósido (1,0 eq.) em DMF, à qual se adicionou hidreto de sódio (NaH) e BnBr (Tabela II.16). A reacção foi deixada em agitação, à temperatura ambiente, sob atmosfera inerte, cerca de 72h e foi seguida por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)].

**Tabela II.16-** Condições reaccionais e produtos obtidos na protecção de **130** e **132** com brometo de benzilo (BnBr).

Entrada	Material de partida	NaH (eq.)	BnBr (eq.)	Produto maioritário η (%)
1	<b>130</b>	5,4	5,4	-
2 <sup>a</sup>	<b>132</b>	10,0	10,0	74 ( <b>135</b> )

<sup>a</sup> A mistura reaccional ficou em agitação e atmosfera inerte, cerca de 72 h. A reacção foi iniciada com 4,0 eq. de NaH e de 4,0 eq. de BnBr seguida de três adições de 2,0 eq. de NaH e 2,0 eq. de BnBr, ao longo da reacção.

Este tipo de reacções segue uma via do tipo de síntese de Williamson em que o NaH funciona como base (que permite a desprotonação do álcool) e o BnBr o agente de benzilação. A reacção de protecção da 2'-desoxiguanosina (**130**) (ensaio 1, Tabela II.13) deu origem a uma mistura reaccional extremamente complexa. Por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)] verifica-se o consumo total do material de partida **130** e a formação de vários produtos com  $R_f$  superior ao material de partida (ponto de aplicação). A tentativa de separação por cromatografia "short path" [*n*-hexano, *n*-hexano/acetato de etilo (3:7, 1:1, 7:3), acetato de etilo, diclorometano/metano (9:1)] resultou em duas fracções maioritárias que foram analisadas por <sup>1</sup>H-RMN. No entanto, qualquer uma delas apresentava um espectro complexo não sendo possível identificar qualquer produto. A formação destes produtos pode ser explicada pela presença de vários grupos funcionais na molécula com possibilidade de ataque ao electrófilo BnBr, nomeadamente o grupo amina (-NH<sub>2</sub>) ou o grupo amida (-NHC(O)-), para além dos dois grupos hidroxilo.

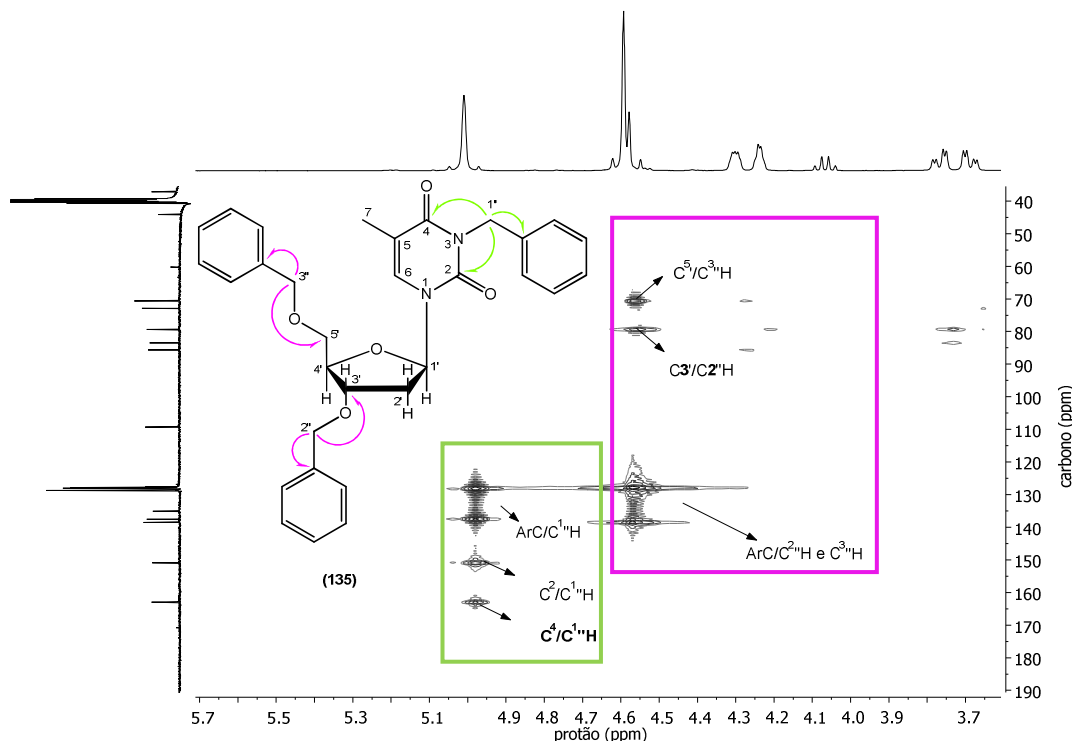
A reacção de protecção via BnBr da 2'-desoxitimidina (**132**) foi controlada por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)]. Logo nas primeiras horas de reacção verificou-se a formação de dois produtos maioritários, sem no entanto se verificar o consumo total do

material de partida. Considerou-se que estes produtos, de  $R_f$  superior ao material de partida, corresponderiam aos produtos monobenzilado e dibenzilado de **132**. Desta forma, foram efectuadas mais adições de BnBr e NaH (ensaios 2, Tabela II.16) para promover o consumo total do material de partida bem como a conversão máxima no produto dibenzilado. Tal foi conseguido ao fim de cerca de 72h de reacção. Após o tratamento e separação da mistura reaccional foi obtido o produto e 3-benzil-1-[(2*R*, 4*S*, 5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetra-hidrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1*H*, 3*H*)-diona (**135**, Tabela II.17)) com um rendimento de 74%.

A caracterização estrutural deste produto foi efectuada por RMN, tendo como base as correlações observadas nos espectros bidimensionais (HSQC e HMBC). Foi possível identificar os sinais correspondentes à unidade do açúcar (representados a rosa na Tabela II.17). Observa-se também, no espectro de  $^1\text{H}$ -RMN um singuleto (a integrar para um protão) a 7,68 ppm correspondente ao protão  $\text{C}^6\text{H}$  da unidade da timidina (representada a azul na Tabela II.17). Este sinal apresenta, no espectro de HMBC, correlações a três ligações com os sinais a 163,3 ppm ( $\text{C}^4=\text{O}$ ), 151,2 ppm ( $\text{C}^2=\text{O}$ ) e 13,3 ppm ( $\text{C}^7$ ) bem como uma única correlação a duas ligações com o sinal a 109,7 ppm ( $\text{C}^5$ ). O singuleto a 1,65 ppm, a integrar para três protões, corresponde aos protões do grupo metilo, da unidade da timidina,  $\text{C}^7\text{H}$ . Este apresenta correlações com os sinais a 163,3 ppm, 151,2 ppm e 109,7 ppm correspondentes aos carbonos  $\text{C}^4=\text{O}$ ,  $\text{C}^2=\text{O}$  e  $\text{C}^5$ , respectivamente.

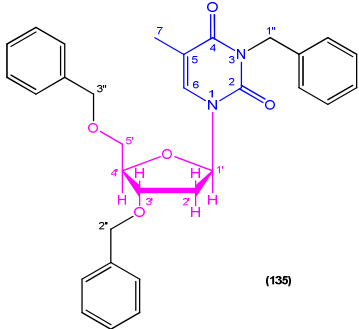
As evidências da formação de **135** foram ainda dadas pelo aparecimento no espectro de  $^1\text{H}$ -RMN, de um multipletto a integrar para quinze protões na zona aromática (7,41-7,27 ppm), sugerindo a entrada de três grupos benzilo. Além disso observa-se um singuleto a integrar para dois protões e um multipletto a integrar para quatro protões, a 5,01 ppm e 4,59-4,45 ppm, respectivamente, correspondentes aos carbonos  $\text{CH}_2$  dos grupos benzilos. A posição de entrada dos três grupos benzilo foi confirmada através dos espectros bidimensionais, HSQC e HMBC. O singuleto a 5,75 ppm correspondente ao protão  $\text{C}^{1''}\text{H}$ , apresenta uma correlação no espectro de HSQC, com o sinal a 44,6 ppm. Além disso, apresenta duas correlações a três ligações com os dois carbonos carbonílicos,  $\text{C}^4=\text{O}$  e  $\text{C}^2=\text{O}$  a 163,3 ppm e 151,2 ppm, respectivamente, no espectro de HMBC (Figura II.22). O multipletto a 4,59-4,45 ppm correspondente aos protões  $\text{C}^{2''}\text{H}$  e  $\text{C}^{3''}\text{H}$  apresenta no espectro de HSQC duas correlações com os sinais a 73,4 ppm e 71,1 ppm. Já no espectro de HMBC (Figura

II.22), os prótons  $C^{2''}H$  e  $C^{3''}H$  apresentam correlações a três ligações com os carbonos  $C^{3'}$  e  $C^{5'}$ , respectivamente.



**Figura II.22** - Algumas correlações a duas e três ligações (  $\curvearrowright$  ) (HMBC) observadas para 3-benzil-1-[(2*R*, 4*S*, 5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1*H*,3*H*)-diona (**135**) em DMSO- $d_6$  (400 MHz).

**Tabela II.17-** Dados espectroscópicos obtidos para 3-benzil-1-[(2*R*, 4*S*, 5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1*H*,3*H*)-diona (**135**).

Estrutura	<sup>1</sup> H-RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ (ppm) <i>J</i> (Hz)	<sup>13</sup> C RMN (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ (ppm)
	<p>7,68 (1H, s, C<sup>6</sup>H), 7,41-7,27 (15H, m, ArCH), 6,27 (1H, t, <i>J</i> = 7,8, C<sup>1</sup>H), 5,01 (2H, s, C<sup>1</sup>H), 4,59-4,45 (4H, m, C<sup>2</sup>H e C<sup>3</sup>H), 4,31-4,29 (1H, m, C<sup>3</sup>H), 4,24-4,23 (1H, m, C<sup>4</sup>H), 3,79-3,67 (2H, m, C<sup>5</sup>H<sub>a</sub> e C<sup>5</sup>H<sub>b</sub>), 2,54-2,43 (1H, m, C<sup>2</sup>H<sub>a</sub>), 2,31-2,24 (1H, m, C<sup>2</sup>H<sub>b</sub>), 1,65 (3H, s, C<sup>7</sup>H).</p>	<p>163,3 (C<sup>4</sup>=O), 151,2 (C<sup>2</sup>=O), 139,0 (C<sup>2</sup> ou C<sup>3</sup>), 139,9 (C<sup>2</sup> ou C<sup>3</sup>), 138,0 (C<sup>1</sup>), 135,6 (C<sup>6</sup>), 129,3-128,3 (ArC), 109,7 (C<sup>5</sup>), 86,1 (C<sup>1</sup>), 84,0 (C<sup>4</sup>), 79,8 (C<sup>3</sup>), 73,4 (C<sup>2</sup> ou C<sup>3</sup>), 71,1 (C<sup>2</sup> ou C<sup>3</sup> e C<sup>5</sup>), 44,6 (C<sup>1</sup>), 37,6 (C<sup>2</sup>), 13,5 (C<sup>7</sup>).</p>

A selenação 3-benzil-1-[(2*R*, 4*S*, 5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1*H*,3*H*)-diona (**135**) levou à formação de uma suspensão sendo necessária recorrer a um processo de centrifugação para possibilitar a análise, separação e purificação da mistura reaccional. Tendo-se verificado por c.c.f [n-hexano/acetato de etilo (7:3)] que o produto resultante da selenação se encontrava na fracção do sobrenadante. Assim, a solução foi separada e purificada por cromatografia “short path” [n-hexano/acetato de etilo (7:3)] tendo-se obtido o produto 3-benzil-1-[(2*R*,4*S*,5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofirano-2-il]-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1*H*)-ona (**136**), com um rendimento de 16%. Este resultado mostrou claramente que para a aplicação do método de selenação desenvolvido não se poderá utilizar como grupos protectores os éteres siliados.

Na sequência da estratégia adoptada, tentou-se desproteger o produto selenado **136** por dois métodos distintos. O primeiro método utilizado, que foi adaptado da literatura [79] para a desprotecção de desoxinucleósidos benzilados, consistiu na preparação de uma solução de 3-benzil-1-[(2*R*,4*S*,5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofirano-2-il]-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1*H*)-ona (**136**) em metanol/ácido acético (4,37mL/0,66mL), à qual foi adicionado paládio (0) sob

carvão activado (Pd-C). A mistura reaccional foi deixada em agitação, sob atmosfera de hidrogénio, à pressão atmosférica. Durante dois dias, a reacção foi seguida por c.c.f [n-hexano/acetato de etilo (7:3)] mas não se observou a formação de qualquer produto nem o consumo do material de partida.

Devido ao insucesso da primeira tentativa de desprotecção de **136**, tentou-se uma via alternativa. Qiu *et. al.* [80] descreve o uso de tricloreto de cloro (BCl<sub>3</sub>) como agente dos remoção de grupos benzilo. Assim, preparou-se uma solução de 3-benzil-1-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofirano-2-il)-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1*H*)-ona (**136**) em diclorometano seco (0,5 mL), à qual foi adicionado 12,0 eq. de BCl<sub>3</sub> (a -78°C). A reacção foi seguida por c.c.f [diclorometano/butanol (9:1)] e deixada em agitação durante a noite. Como não se observou a formação de qualquer produto arrefeceu-se novamente a mistura reaccional e adicionou-se mais 12,0 eq. de BCl<sub>3</sub>. Após mais 24h, sob agitação, parou-se a reacção e adicionou-se uma solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) (a -78 °C). A mistura reaccional, apresentava um precipitado que foi decantado. O precipitado e a solução obtida foram lavados com uma mistura de diclorometano/*n*-butanol (9:1) (2 x 10mL), Após a secagem com sulfato de magnésio anidro, filtração e a remoção do solvente por destilação a pressão reduzida, o precipitado bem como o resíduo obtido foram analisados por <sup>1</sup>H-RMN, tendo-se observado apenas os desvios correspondentes ao material de partida, revelando o insucesso desta reacção de desprotecção. No entanto, outros métodos poderão ser ainda testados nomeadamente o método de hidrogenação a pressões mais elevadas [80].

### **II.2.3.- Caracterização estrutural de derivados de purinas e pirimidinas selenadas nas posições carbonílicas**

A caracterização estrutural dos derivados selenados de purinas e pirimidinas foi efectuada por RMN, IV e espectrometria de massa. Como já referido para os derivados selenados de flavonóides (ver secção II.1.2), sendo o átomo de selénio maior que o átomo de oxigénio, a banda de IV correspondente a uma ligação C=Se aparecerá a números de onda significativamente inferiores (1200-700 cm<sup>-1</sup>) [68], comparativamente aos esperados para uma ligação C=O. As primeiras evidências da formação dos produtos selenados **124**, **129** e **136** foi dada quando se comparou os espectros de IV dos materiais de partida **123**, **128** e **135** com os respectivos produtos selenados, e se observou a variação acima mencionada (Tabela II.18)

**Tabela II.18-** Dados espectroscópicos de infravermelho observados para os produtos (**124**), (**129**) e (**130**) e respectivos materiais de partida.

Composto	C=O <sup>a</sup> (cm <sup>-1</sup> )	Produtos	C=X <sup>b</sup> observada (cm <sup>-1</sup> )
Cafeína ( <b>123</b> )	1700, 1655	<b>124</b>	1695 (C=O), <b>1093 (C=Se)</b>
Uracilo ( <b>128</b> )	1735, 1715	<b>129</b>	1697 (C=O), <b>1035 (C=Se)</b>
2'-desoxitimidina ( <b>132</b> )	1699, 1660	<b>136</b>	1688 (C=O)

<sup>a</sup> espectros padrão efectuados em KBr; <sup>b</sup> X=O, Se.

Tomando como exemplo a cafeína (**123**) e o respectivo produto selenado **124**, é possível verificar o desaparecimento da banda correspondente a um dos grupos carbonilo de **123**, dando lugar a uma nova banda a 1093 cm<sup>-1</sup> (a bold, Tabela II) correspondente à uma ligação C=Se. Os valores obtidos para as novas banda observadas estão de acordo com o esperado para o tipo de ligação C=Se [66, 68]. No caso do produto **136**, não foi possível observar a nova banda C=Se uma vez que a zona de 1200-700 cm<sup>-1</sup> se encontrava bastante sobrecarregada. Ainda assim observa-se o desaparecimento de uma das bandas correspondentes a um dos grupos carbonilo de **132**.

Outra evidência da formação dos produtos selenados **124**, **129** e **136**, foi dada pelos respectivos espectros de <sup>13</sup>C-RMN. A substituição do átomo de oxigénio por um átomo de selénio promove um desvio para campo mais baixo, do sinal correspondente ao carbono directamente ligado ao selénio, já explicado anteriormente. Mais uma vez, comparando os desvios químicos de carbono-13 (<sup>13</sup>C) dos compostos **124**, **129** e **136**, com os desvios químicos de <sup>13</sup>C dos respectivos materiais de partida, observa-se o aparecimento de um sinal a campo bastante baixo (a bold, Tabela II.19), indiciando a entrada de um átomo de selénio.

**Tabela II.19-** Desvios químicos de  $^{13}\text{C}$ -RMN e  $^{77}\text{Se}$ -RMN correspondentes aos dois carbonos mais desblindados para os produtos (**124**), (**129**) e (**136**) e respectivos materiais de partida.

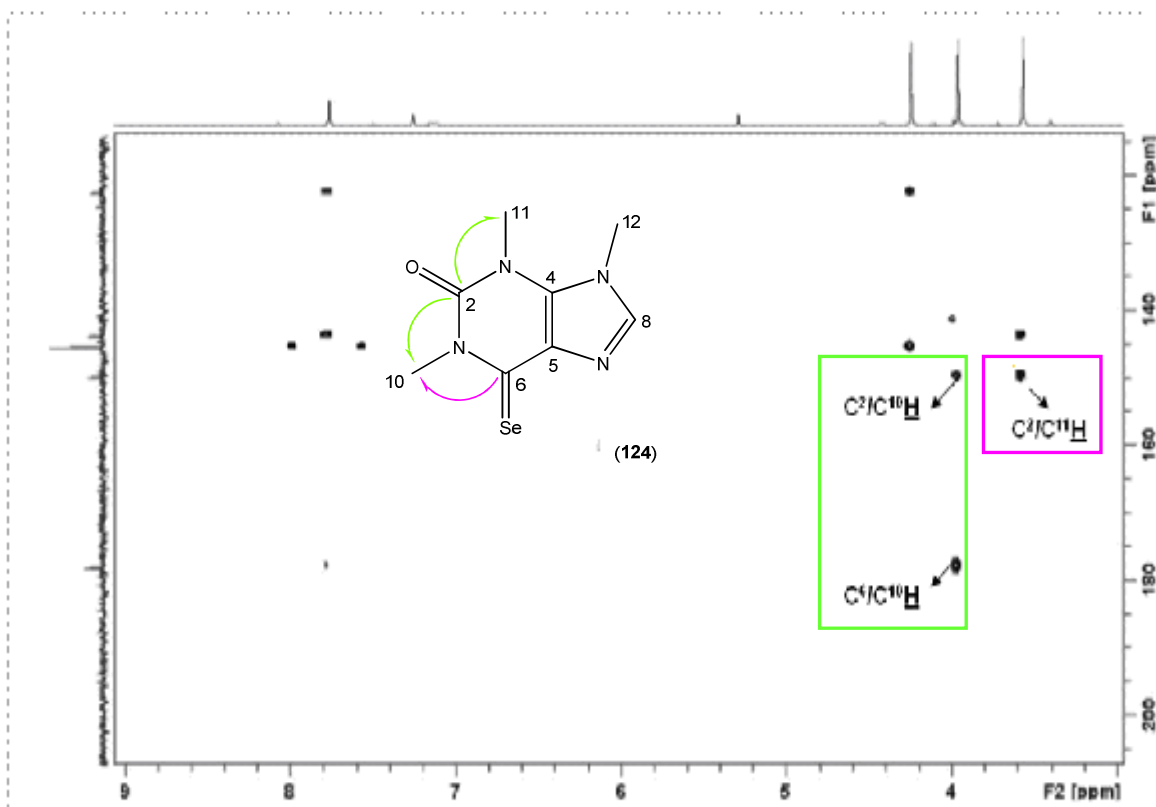
Material de Partida	$^{13}\text{C}=\text{O}$ (ppm)	Produto	$^{13}\text{C}=\text{X}^{\text{c}}$ observada (ppm)	$^{77}\text{Se}$ -RMN (ppm)
Cafeína ( <b>123</b> )	155, 150 <sup>a</sup>	<b>124</b>	<b>177,8</b> ; 149,6	601,5
Uracilo ( <b>128</b> )	165, 152 <sup>b</sup>	<b>129</b>	<b>191,7</b> ; 148,4	679,0
( <b>135</b> )	163, 151	<b>136</b>	<b>195,6</b> ; 149,2	801,1

<sup>a</sup> Espectro padrão de **123** adquirido em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz); <sup>b</sup> Espectro padrão de **128** adquirido em  $\text{DMSO-}d_6$  (400 MHz); <sup>c</sup> X=O, Se

Um exemplo desta situação, pôde ser observado para o uracilo (**128**) e o correspondente produto de selenação **129**, onde se observa o aparecimento a campo baixo de um sinal a 191,7 ppm, no espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN. De acordo com a literatura, os desvios químicos para os dois carbonos mais desblindados do uracilo, correspondentes aos dois carbonos dos grupos carbonilo, surgem a 165 e 152 ppm. O desvio de um dos sinais para campo mais baixo, sugere a substituição do átomo de oxigénio por um de selénio. A confirmação da presença do átomo de selénio nos produtos formados foi obtida por  $^{77}\text{Se}$ -RMN (Tabela II.19). Todos os desvios encontrados estão de acordo aos esperados para ligações do tipo C=Se [66].

A atribuição dos sinais de  $^1\text{H}$ -RMN e  $^{13}\text{C}$ -RMN (Tabela II.20 a II.22) foi efectuada com base nas correlações observadas nas técnicas de HSQC e HMBC.

Através das correlações observadas no espectro de HMBC (Figura II.23) foi possível, por exemplo, identificar a posição de substituição do átomo de oxigénio por um átomo de selénio do produto **124**. O sinal a 149,6 ppm (C=O), apresenta duas correlações a três ligações com os singuletos que integram para três protões, correspondentes a dois grupos metilo, a 3,98 e 3,59 ppm ( $\text{C}^{10}\text{H}$  e  $\text{C}^{11}\text{H}$  respectivamente). Por outro lado, o sinal mais desblindado, a 177,8 ppm (C=Se) apresenta apenas uma correlação a três ligações com o singuleto a 3,98 ppm, correspondente ao grupo metilo  $\text{C}^{10}\text{H}$ . Perante estes resultados, juntamente com a confirmação da presença do átomo de selénio por  $^{77}\text{Se}$ -RMN (Tabela II.19), com um sinal a 601,5 ppm, é possível afirmar que houve efectivamente uma substituição do átomo de oxigénio por um de selénio na posição C<sup>6</sup>.

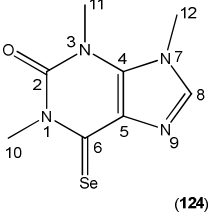


**Figura II.23** - Algumas correlações a duas e três ligações (  $\curvearrowright$  ) (HMBC) observadas para 1,3,7-trimetill-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (**124**) em  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz).

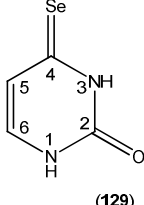
A determinação da posição de substituição do átomo de oxigénio por um átomo de selénio para os restantes produtos, foi efectuada de forma muito similar ao acima descrito.

A confirmação da formação dos produtos **124**, **129** e **136** foi dada por espectrometria de massa com ionização por *electrospray*, onde se observam cinco sinais correspondentes à molécula protonada,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , de cinco dos seis isótopos naturais mais abundantes do elemento Se. A mesma razão isotópica é observada para o ião molecular  $[\text{M}]^+$ , por espectrometria de massa de alta resolução por impacto electrónico (Tabela II.20 a II.22).

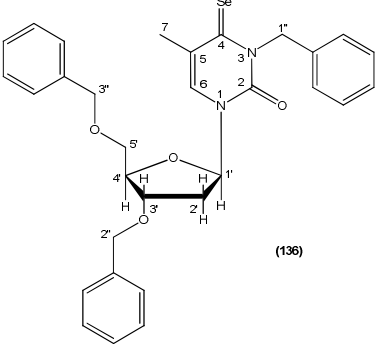
**Tabela II.20-** Dados espectroscópicos obtidos para 1,3,7-trimetil-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (124).

<b>Estrutura</b>	
<b>IV (KBr) <math>\nu_{\max}</math> (cm<sup>-1</sup>)</b>	1697 (C <sup>2</sup> =O), 1035 (C <sup>6</sup> =Se)
<b><sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) <math>\delta</math> (ppm) <i>J</i> (Hz)</b>	7,78 (1H, s, C <sup>8</sup> H), 4,26 (3H, s, C <sup>12</sup> H), 3,98 (3H, s, C <sup>10</sup> H), 3,59 (3H, s, C <sup>11</sup> H)
<b><sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) <math>\delta</math> (ppm)</b>	177,8 (C <sup>6</sup> =Se), 149,6 (C <sup>2</sup> =O), 145,2 (C <sup>8</sup> ), 143,5 (C <sup>4</sup> ), 122,2 (C <sup>5</sup> ), 37,8 (C <sup>10</sup> ), 36,3 (C <sup>12</sup> ), 30,3 (C <sup>11</sup> )
<b><sup>77</sup>Se-RMN (CDCl<sub>3</sub>) <math>\delta</math> (ppm)</b>	601,5
<b>EM (ESI+) <i>m/z</i> (int.rel., %)</b>	261 [M( <sup>82</sup> Se)+H] <sup>+</sup> (20), 259 [M( <sup>80</sup> Se)+H] <sup>+</sup> (100), 257 [M( <sup>78</sup> Se)+H] <sup>+</sup> (35), 256 [M( <sup>77</sup> Se)+H] <sup>+</sup> (15), 255 [M( <sup>76</sup> Se)+H] <sup>+</sup> (17,5)
<b>EMAR-IE (+) <i>m/z</i> (calc.) obtida</b>	[M( <sup>82</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>4</sub> <sup>82</sup> Se (260,00161) 260,00210, [M( <sup>80</sup> Se) C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>4</sub> <sup>80</sup> Se (258,00144) 258,00007, [M( <sup>78</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>4</sub> <sup>78</sup> Se (256,00221) 256,00302, [M( <sup>77</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>4</sub> <sup>77</sup> Se (255,00041) 255,00186, [M( <sup>76</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ON <sub>4</sub> <sup>76</sup> Se (254,00412) 254,00344

**Tabela II.21-** Dados espectroscópicos da 4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1*H*)-ona (129)

<b>Estrutura</b>	
<b>IV (KBr) <math>\nu_{\max}</math> (cm<sup>-1</sup>)</b>	1695 (C <sup>2</sup> =O), 1093 (C <sup>4</sup> =Se)
<b><sup>1</sup>H-RMN (DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>) <math>\delta</math> (ppm) <i>J</i> (Hz)</b>	7,40 (1H, d, <i>J</i> = 5,8, C <sup>6</sup> H), 6,47 (1H, d, <i>J</i> = 5,8, C <sup>5</sup> H)
<b><sup>13</sup>C-RMN (DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>) <math>\delta</math> (ppm)</b>	191,7 (C <sup>4</sup> =Se), 148,4 (C <sup>2</sup> =O), 137,9 (C <sup>6</sup> ), 116,4 (C <sup>5</sup> )
<b><sup>77</sup>Se-RMN (DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>) <math>\delta</math> (ppm)</b>	679,0

**Tabela II.22-** Dados espectroscópicos de 3-benzil-1-[(2R,4S,5R)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahidrofirano-2-il]-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1H)-ona (136).

Estrutura	
	
IV (filme) $\nu_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )	1688 (C <sup>2</sup> =O)
<sup>1</sup> H-RMN (acetona-d <sub>6</sub> ) δ (ppm) J (Hz)	8,03 (1H, s, C <sup>6</sup> H), 7,40-7,21 (15H, m, ArCH), 6,23 (1H, t, J = 7,2, C <sup>1'</sup> H), 5,98 (1H, d, J = 14,3, C <sup>1''</sup> H <sub>a</sub> ), 5,89 (1H, d, J = 14,3, C <sup>1''</sup> H <sub>b</sub> ), 4,65-4,57 (4H, m, C <sup>2''</sup> H e C <sup>3''</sup> H), 4,42-4,41 (1H, m, C <sup>3''</sup> H), 4,34-4,33 (1H, m, C <sup>4''</sup> H), 3,91-3,76 (2H, m, C <sup>3''</sup> H <sub>a</sub> e C <sup>3''</sup> H <sub>b</sub> ), 2,61-2,56 (1H, m, C <sup>2'</sup> H <sub>a</sub> ), 2,41-2,35 (1H, m, C <sup>2'</sup> H <sub>b</sub> ), 1,99 (3H, s, C <sup>7</sup> H)
<sup>13</sup> C-RMN (acetona-d <sub>6</sub> ) δ (ppm)	195,6 (C <sup>4</sup> =Se), 149,2 (C <sup>2</sup> =O), 139,4 (ArC <sup>2''</sup> ou ArC <sup>3''</sup> ), 139,2 (ArC <sup>2''</sup> ou ArC <sup>3''</sup> ), 137,3 (ArC <sup>1''</sup> ), 130,7 (C <sup>6</sup> ), 130,2-128,2 (ArC), 127,6 (C <sup>5</sup> ), 88,14 (C <sup>1'</sup> ), 85,49 (C <sup>4'</sup> ), 79,84 (C <sup>3'</sup> ), 74,12 (C <sup>2''</sup> ou C <sup>3''</sup> ), 71,89 (C <sup>2''</sup> ou C <sup>3''</sup> ), 71,09 (C <sup>5'</sup> ), 54,66 (C <sup>1''</sup> ), 39,09 (C <sup>2'</sup> ), 22,24 (C <sup>7</sup> )
<sup>77</sup> Se-RMN (acetona-d <sub>6</sub> ) δ (ppm)	801,1
EMAR-IE (+) m/z (calc.) obtida	[M( <sup>82</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> <sup>82</sup> Se (578,15236) 578,15515, [M( <sup>80</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> <sup>80</sup> Se (576,15218) 576,15430, [M( <sup>78</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> <sup>78</sup> Se (574,15296) 574,15059, [M( <sup>77</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> <sup>77</sup> Se (573,15487) 573,13298, [M( <sup>76</sup> Se)] <sup>+</sup> C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> <sup>76</sup> Se (572,15487) 572,13198.

## II.3 – Ensaios de citotoxicidade

Foram realizados estudos de viabilidade celular com o produto selenado, 1,3,7-trimetil-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (**124**) (ver secção III.2). Os resultados preliminares obtidos, efectuados em células de cancro de mama MCF-7 indicaram a diminuição efectiva de 14% da viabilidade celular, quando tratadas conjuntamente com doxorubicina (1 µM) e **124** (100 µM) em comparação com os valores obtidos no tratamento com apenas doxorubicina (1 µM). De referir que o tratamento conjunto destas células com doxorubicina (1 µM) e cafeína (100 µM) teve um efeito quase negligenciável na viabilidade celular evidenciando a influência do selénio neste efeito. Estes resultados sugerem que o desenvolvimento de novos derivados da selenocafeína poderão ter interesse como possíveis agentes terapêuticos em combinação com agentes anticancerígenos cujo modo de acção envolva a lesão de DNA

## II.4- Conclusões

Desenvolveu-se um método para a interconversão dos grupos funcionais carbonilo para seleno-carbonilo, envolvendo a utilização do reagente de Woollins (R.W.) por irradiação por microondas. Este método permitiu a preparação de uma série de novos compostos organoselenados que foram caracterizados estruturalmente com base nos resultados obtidos por Ressonância Magnética Nuclear e Espectrometria de Massa.

A optimização das condições experimentais envolvidas nesta reacção de interconversão permitiu o estabelecimento de dois métodos gerais, que diferem no número de equivalentes de R.W., no tempo e potência de irradiação e no solvente utilizado. O método geral A (que foi optimizado para a selenação de flavonóides) envolve a utilização de 0.4 eq. de R.W., em acetonitrilo mediante a irradiação por microondas, durante 5 min., com uma potência de 175 W. O método geral B (optimizado para a selenação de purinas) envolve a utilização de 0,6 eq. de R.W., em *p*-xileno, mediante a irradiação por microondas durante 180 min., com uma potência de 300 W. A aplicação do método desenvolvido a moléculas contendo grupos hidroxilo exige a protecção prévia deste grupo funcional, tendo-se observado que a utilização de éteres sililados como grupos protectores não é compatível com o método desenvolvido.

A aplicação do método geral A na selenação de flavonóides como a quercetina (**100**), morina (**101**) e crisina (**102**), cujos grupos hidroxilo foram previamente protegidos sob a forma de éteres metílicos, conduziu à formação dos derivados selenados com rendimentos razoáveis. Foi possível concluir que a eficiência desta reacção de selenação é tanto maior quanto menor for a densidade electrónica no carbono C<sup>4</sup> (carbono correspondente ao grupo carbonilo). Neste caso, a utilização da tecnologia de microondas revelou ser extremamente vantajosa, permitindo reacções mais selectivas quando comparadas a métodos de aquecimento convencionais.

Uma vez que a tarefa de optimização das condições experimentais para desprotecção dos grupos hidroxilo dos flavonóides selenados preparados se revelou mais morosa do que à partida se esperaria, não foi possível estudar o potencial antioxidante dos novos compostos sintetizados. Na continuação deste trabalho, pretende-se determinar a actividade antioxidante pelo método DPPH [81], destes compostos selenados, e comparar com os respectivos materiais de partida. Deste modo, avaliar-se-á as vantagens da introdução do elemento selénio em compostos com actividade antioxidante conhecida. Pretende-se ainda verificar se a introdução do átomo de selénio na crisina poderá aumentar o efeito anticarcinogénico via formação de complexos com cinases, já observado para diversos derivados da crisina (**102**).

O método geral B que foi optimizado para a selenação de uma purina, a cafeína (**123**) conduziu à formação da 1,3,7-trimetil-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (**124**) (seleno-cafeína) com um rendimento de 41%. Neste caso a utilização da tecnologia de microondas revelou ser extremamente vantajosa, relativamente ao método de aquecimento convencional permitindo promover reacção de interconversão do grupo carbonilo em seleno-carbonilo com rendimentos significativamente superiores.

Embora este método geral não tenha sido aplicado com sucesso na selenação das purinas, 1-metil-xantina (**125**), tioxantina (**126**) e guanina (**127**), a pirimidina uracilo (**128**) foi eficientemente selenada com um rendimento de 16%. O insucesso na selenação das purinas estudadas poderá ser explicado pela insolubilidade de alguns destes compostos nas condições experimentais utilizadas e pela contribuição significativa dos respectivos híbridos de ressonância, na possibilidade de deslocalização de carga dos electrões não ligantes do átomo de azoto. Provou-se ainda que é possível selenar os desoxinucleósidos pelo método geral B ainda que se

tenha que recorrer à protecção prévia dos grupos de hidroxilo da unidade de açúcar sob a forma de éteres benzílicos.

Os ensaios preliminares de viabilidade celular efectuados em linhas de células de cancro de mama efectuados com a cafeína selenada (**124**) indicam que administração conjunta deste composto com a doxorubicina leva a uma diminuição da viabilidade celular. Uma vez que a cafeína não produziu este efeito, sugere que com a interconversão do grupo do grupo carbonilo em selenocarbonilo conduziu a um aumento da capacidade citotóxica nas condições testadas. Este resultado parece indicar que a preparação de derivados da cafeína selenada (com o objectivo de aumentar esta propriedade apresentada pela cafeína selenada) poderá ter interesse para o desenvolvimento de novos possíveis agentes terapêuticos em combinação com agentes anticancerígenos cujo modo de acção envolva a lesão de DNA.

Embora estes estudos de viabilidade celular em linhas celulares de cancro tenham ainda sido efectuadas apenas para a cafeína selenada seria de todo o interesse que estes testes fossem também efectuados para o uracilo selenado (**129**) (dada a semelhança com o antimetabolito actualmente usado em clínica, o 5-fluorouracilo (**118**)). Por outro lado, seria também interessante avaliar se o método de selenação desenvolvido poderá também ser aplicado para a preparação de um derivado selenado do 5-fluorouracilo de modo a avaliar se a presença do átomo de selénio melhoraria a eficácia deste antimetabolito.

### **III. Parte Experimental**



### III.1 - Reagentes, Solventes e Materiais

Todos os reagentes, disponíveis comercialmente, foram adquiridos à Sigma Aldrich, SA (Madrid, Espanha) e usados como recebidos. O reagente de Woolins (R.W.) foi preparado em laboratório de acordo com o método descrito na literatura [48a] que envolve a formação inicial de um pentâmero (PPh)<sub>5</sub>, partindo do dicloreto de fenilfosfina na presença de magnésio, sendo posteriormente refluxado na presença de selênio.

Os solventes utilizados foram adquiridos à Sigma Aldrich, SA, Fulka e Merck. Sempre que necessário, os solventes foram purificados e secos de acordo com os métodos padronizados [82].

Para a realização das cromatografias em camada fina (c.c.f.) e camada fina preparativa (c.c.f.p.) foram utilizadas placas de sílica gel GF<sub>254</sub> da Merck com espessura 0.2 mm e 0.5 mm, respectivamente.

A detecção dos compostos foi efectuada por irradiação de luz ultravioleta (UV) a um comprimento de onda de 254 nm e/ou 366 nm.

As cromatografias em coluna “short path” foram efectuadas com suportes de sílica gel 60 GF<sub>254</sub> da Merck com grânulos de 0.040-0.063 mm.

Em todos os casos, o eluente é referido, indicando-se a proporção dos componentes utilizados no caso de eluentes mistos.

### III.2 – Métodos e Equipamentos

#### III.2.1 – Espectrometria de infravermelho (IV)

Os espectros de infravermelho (IV) foram obtidos num aparelho FT/IR JASCO-4100, em modo de transmitância entre 4000 e 400 cm<sup>-1</sup>. Em cada situação, apenas as frequências mais características serão indicadas e apresentam-se da seguinte forma: Suporte para a amostra [**KBr** – pastilhas de brometo de potássio ou **Filme** – sem agente dispersante, em células de cloreto de sódio], número de onda de absorção máxima ( $\nu_{\text{máx.}}$ , cm<sup>-1</sup>), atribuição da ligação envolvida.

### III.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de próton ( $^1\text{H}$ -RMN) foram obtidos num espectrómetro Bruker Avance III 300 ou Bruker Avance III 400 operando a 300 MHz e 400 MHz, respectivamente. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -RMN) foram obtidos num espectrómetro Bruker Avance III 400 e Bruker Avance III Plus 500, operando a 100.6 MHz e 120.8 MHz, respectivamente. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de selênio 77 ( $^{77}\text{Se}$ -RMN) foram obtidos no espectrómetro Avance III Plus 500 da Bruker, operando a 95.4 MHz. Os desvios são expressos em partes por milhão (ppm), e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz). Utilizou-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno para os espectros de  $^1\text{H}$ -RMN e  $^{13}\text{C}$ -RMN. Para os espectros de  $^{77}\text{Se}$ -RMN usou-se o dimetilselano ( $\text{SeMe}_2$ ) como referência externa. Em cada situação será indicado o solvente usado bem como os dados obtidos que serão apresentados da seguinte forma: **Núcleo estudado** (solvente): desvio químico ( $\delta$ , ppm) [intensidade relativa (nH), multiplicidade (s-singuleto; d-duplete; t-triplete; dd-duplo de duplete; m-multiplete), constante de acoplamento ( $J$ , Hz) e atribuição na molécula ( $\text{ArC}^n$ -carbono aromático).

A elucidação estrutural de todos os compostos sintetizados foi efectuada com base na análise dos resultados obtidos nas experiências bidimensionais. As experiências de *heteronuclear single quantum coherence* (HSQC), *heteronuclear multiple bond correlation* (HMBC), *homonuclear correlation spectroscopy* (COSY) e *nuclear overhauser effect spectroscopy* (NOESY) foram efectuadas usando os programas de pulso *standard* da Bruker.

### III.2.3 – Espectrometria de massa (EM)

Os espectros de massa foram obtidos num espectrómetro Varian 500-MS LC operando em modo de ionização de electrospray positivo (ESI+) e introduzidos directamente na fonte de massa. Para as análises por ESI+, a temperatura do gás de secagem foi de 350 °C e a voltagem de spray foi de 600 V.

Os espectros de massa exacta de alta resolução (EMAR) foram adquiridos pela técnica de espectrometria de massa de ressonância ciclotron iónica com transformada de Fourier, num espectrómetro Finnigan FT/MS 2001-DT, equipados com um supercondutor de 3,0 T, por impacto electrónico (IE). Estes espectros foram efectuados no Instituto Tecnológico e Nuclear.

Os resultados obtidos serão referidos pela seguinte ordem: Razão massa/carga (m/z), atribuição do ião ou fragmento molecular e intensidade do pico relativamente à do pico base (%).

### **III.2.4 – Cromatografia líquida de alta resolução (HPLC)**

A cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) foi efectuada com coluna de fase reversa RP-18e (Luna C18 (2), 250 x 4.6 mm, 5  $\mu$ m) da Phenomenex e os cromatogramas foram obtidos num sistema de HPLC (Dionex) equipado com bomba (Ultimate 3000) e detector de fotodiodos (DAD, Ultimate 3000). Para HPLC analítico, utilizou-se um gradiente linear 5-70% de acetonitrilo em 1% de ácido fórmico aquoso, até aos 32 min., seguido de 8 min. de um gradiente linear de 100% de acetonitrilo, com um fluxo de 1 mL/min.

### **III.2.5 – Equipamentos de Microondas (MW)**

Os ensaios preliminares para as reacções de selenação foram efectuados num microondas de cozinha convencional da marca Whirlpool (modelo VT 264/WH) com uma potência máxima de 800 W. Estes ensaios foram realizados em tubos de vidro de 5 mL.

As restantes experiências foram realizadas num reactor da GEM (modelo Discover Benchmate), com o máximo de irradiação a 300 W. Estas reacções foram efectuadas em tubos de pirex com a capacidade de 10 mL.

### **III.2.6 – Equipamento de Raio-X**

A determinação da estrutura molecular do composto por raios-X foi efectuada recorrendo a um difractor Bruker AXS-KAPPA APEX II equipado com um detector de área e um criostato de fluxo de azoto da Oxford Cryosystem, que permitiu a recolha dos dados a 150K ( $\lambda = 0,711 \text{ \AA}$ ). Os parâmetros de célula foram obtidos e refinados utilizando os programas Bruker SMART e Bruker SAINT, respectivamente. As correcções de absorção foram feitas através da aplicação do programa SADABS. As estruturas foram resolvidas por métodos directos usando o programa SIR 97 e foram refinadas com o programa SHELXL-97. Todos estes programas estão incluídos no conjunto WINGX (versão 1.64.05). Todos os átomos, à excepção dos átomos de hidrogénio, foram refinados anisotropicamente; os átomos de hidrogénio foram inseridos em posições geometricamente idealizadas. Os desenhos das estruturas moleculares foram feitos com o programa ORTEP3 para Windows.

### III.2.7 – Estudos computacionais

Os Estudos computacionais foram efectuados pelo Doutor Gonçalo Justino (CQE-IST). Os cálculos relativos à previsão da actividade antioxidante foram realizados, utilizando a metodologia referida em Justino e Vieira [59]. As estruturas de todas os compostos foram optimizadas com o método semi-empírico PM6 com a correcção para a dispersão DH2 utilizando o software MOPAC 2009.

O estudo de docking computacional foi efectuado, utilizando uma abordagem rígida para a proteína (cinase) e os vários confórmeros dos ligandos, utilizando o programa FRED da OpenEye Scientific Software versão 2.2 com os parâmetros padrão.

### III.2.8 – Ensaio de citotoxicidade

Os estudos de viabilidade celular foram efectuados pela Doutora Joana Miranda (FF-UL). Foram inoculadas  $6,5 \times 10^3$  células (MCF-7) por poço em placas de 96 poços. Após 48h de incubação a 37°C numa atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, adicionaram-se os compostos cafeína (**121**) e 1,3,7-trimetil-6-seleno-6,7-dihidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (**122**), numa concentração final de 100 µM por poço, bem como os respectivos controlos. A doxorubicina (1 e 2 µM) e a oxaliplatina (50 e 100 µM) foram adicionadas, nos respectivos poços, 2h depois da adição dos compostos **121** e **122** e as placas incubadas durante 24h. Após este tempo de incubação efectuou-se o ensaio colorimétrico de MTT para determinar a viabilidade celular. A absorvância foi lida ao comprimento de onda de 595 nm., num leitor de microplacas Zenyth 3100 Multimode Detection, auxiliado pelo software Anthos.

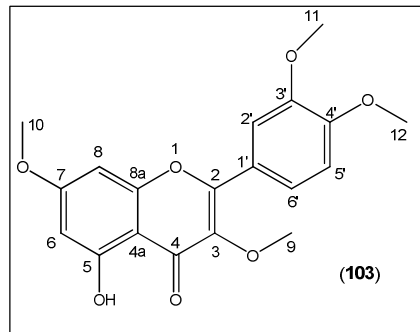
### III.3- Reacções para a preparação de materiais de partida protegidos nas posições hidroxiladas

#### III.3.1- Ensaio de optimização das condições experimentais para a protecção de posições fenólicas de flavonóides

Preparou-se uma solução de quercetina (**100**) (1,0 eq., 100 mg, 0,3 mmol) num solvente apropriado, à qual foi adicionada uma base (5,0 eq.) e um agente de metilação (5,0 eq.). A mistura reaccional foi deixada, à temperatura ambiente ou refluxo, num intervalo de tempo variável (Tabela III.1). A reacção foi seguida por c.c.f. [*n*-hexano/acetato de etilo (1:1)]. No fim da reacção, o solvente foi destilado a pressão reduzida e o resíduo obtido foi dissolvido em água e extraído com diclorometano (3x10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente removido por destilação a pressão reduzida. A mistura reaccional foi purificada por c.c.f.p [*n*-hexano/acetato etilo (1:1), diclorometano/metanol (9:1)].

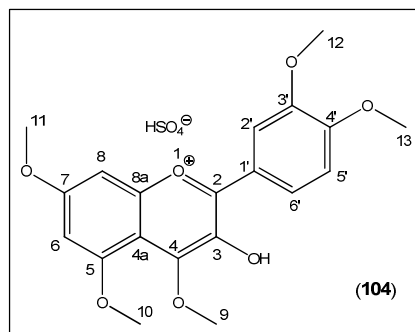
Desta forma isolaram-se os seguintes produtos:

**2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (103)** na forma de sólido amarelo **IV (KBr)**  $\nu_{\max}$  : 1664 (C=O) **<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 12,66 (1H, troca com D<sub>2</sub>O, s, OH), 7,75 (1H, d, *J* = 8,7, ArC<sup>6'</sup>H), 7,71 (1H, s, ArC<sup>2'</sup>H), 7,01 (1H, d, *J* = 8,7, ArC<sup>5'</sup>H), 6,47 (1H, d, *J* = 2,0, ArC<sup>8</sup>H), 6,39 (1H, d, *J* = 2,0, ArC<sup>6</sup>H), 4,00 (6H, s, C<sup>11</sup>H e C<sup>12</sup>H), 3,90 (6H, s, C<sup>10</sup>H) 3,88 (3H, s, C<sup>9</sup>H) **<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 178,9 (C<sup>4</sup>=O), 165,6 (ArC<sup>7</sup>), 162,2 (ArC<sup>5</sup>), 156,9 (ArC<sup>8a</sup>), 156,0 (C<sup>2</sup>), 151,5 (ArC<sup>4'</sup>), 148,9 (ArC<sup>3'</sup>), 139,2 (C<sup>3</sup>), 123,1 (ArC<sup>1'</sup>), 122,3 (ArC<sup>6'</sup>), 111,4 (ArC<sup>2'</sup>), 111,0 (ArC<sup>5'</sup>), 106,2 (ArC<sup>4a</sup>), 98,0 (ArC<sup>6</sup>), 92,4 (ArC<sup>8</sup>), 60,3 (C<sup>9</sup> ou C<sup>10</sup>), 56,2 (C<sup>11</sup> ou C<sup>12</sup>), 56,1 (C<sup>11</sup> ou C<sup>12</sup>), 56,0 (C<sup>9</sup> ou C<sup>10</sup>) **EM (ESI+)** *m/z*: 359 [M+H]<sup>+</sup> (100) **EMAR-IE (+)** *m/z*: [M]<sup>+</sup> calc. para C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub> (358,10471) obtida 358,10266, [M+H]<sup>+</sup> calc. para C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub> (359,10806) obtida 359,11217.



**Sulfonato de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-3-hidroxi-4,5,7-trimetoxi-cromenilium**

(104) na forma de sólido branco **IV (KBr)**  $\nu_{\max}$ : 3442 (O-H)  $^1\text{H-RMN (CDCl}_3)$   $\delta$ : 7,70-7,68 (2H, m,  $\text{ArC}^{2'}\text{H}$  e  $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 6,96 (1H, d,  $J = 8,7$ ,  $\text{ArC}^{5'}\text{H}$ ), 6,49 (1H, s,  $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 6,33 (1H, s,  $\text{ArC}^{8'}\text{H}$ ), 3,95 (9H, s,  $\text{C}^{10}\text{H}$  e  $\text{C}^{12}\text{H}$  e  $\text{C}^{13}\text{H}$ ), 3,89 (3H, s,  $\text{C}^{11}\text{H}$ ), 3,86 (3H, s,  $\text{C}^{9}\text{H}$ )  $^{13}\text{C RMN (CDCl}_3)$   $\delta$ : 173,6 ( $\text{C}^2$ ), 163,5 ( $\text{ArC}^7$ ), 162,2 ( $\text{ArC}^5$ ), 158,3 ( $\text{ArC}^{8a}$ ), 152,2 ( $\text{C}^3$ ), 150,4 ( $\text{ArC}^{3'}$ ), 148,2 ( $\text{ArC}^{4'}$ ), 140,6 ( $\text{C}^4$ ), 122,8 ( $\text{ArC}^{1'}$ ), 121,2 ( $\text{ArC}^{2'}$ ), 110,7 ( $\text{ArC}^{6'}$ ), 110,3 ( $\text{ArC}^{5'}$ ), 108,9 ( $\text{ArC}^{4a}$ ), 95,3 ( $\text{ArC}^6$ ), 91,9 ( $\text{ArC}^8$ ), 59,4 ( $\text{C}^9$ ), 55,9 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{11}$  ou  $\text{C}^{12}$  ou  $\text{C}^{13}$ ), 55,6 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{11}$  ou  $\text{C}^{12}$  ou  $\text{C}^{13}$ ), 55,4 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{11}$  ou  $\text{C}^{12}$  ou  $\text{C}^{13}$ ), 55,3 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{11}$  ou  $\text{C}^{12}$  ou  $\text{C}^{13}$ ) **EM (ESI+)**  $m/z$ : 395 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  (10), 373 [ $\text{M}$ ] $^+$  (100).



As várias condições experimentais testadas bem como os rendimentos obtidos podem ser observados na Tabela III.1.

**Tabela III.1-** Condições experimentais nos ensaios efectuados para a protecção das posições fenólicas da quercetina (100)

Entrada	Base	Agente de metilação	Solvente (mL)	Condições reaccionais	Rendimento (%)	
					(103)	(104)
1	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Mel	acetona (1,5)	t. a., 48h	-	-
2	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Mel	acetona (1,5)	refluxo, 2h	5	31
3	NaH	Mel	DMF (7)	t.a., 20h <sup>a</sup>	N.D. <sup>b</sup>	N.D. <sup>b</sup>
4	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	acetona (1,5)	refluxo, 5h	5	9
5	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	acetona (1,5)	refluxo, 22h	6	32

<sup>a</sup> Work up: adição de água (70 mL) e extracção com acetato de etilo (3x25 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com *brine* (20 mL), solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> (20 mL), e seca com sulfato de magnésio anidro. Após filtração, o solvente foi removido por pressão reduzida; <sup>b</sup> Não determinado (N.D.). Produtos observados por c.c.f [*n*-hexano/acetato etilo (1:1)]

### III.3.2- Preparação de flavonóides metilados nas posições fenólicas

#### III.3.2.1- Preparação da 2-(3', 4' – dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (103)

A uma solução de quercetina (**100**) (1,0 eq., 2,0 g, 5,9 mmol) em acetona (50 mL) foram adicionados carbonato de potássio (5,0 eq., 4,1 g, 30 mmol) e dimetilsulfato (5,0 eq., 2,8 mL, 30 mmol). A mistura reaccional foi mantida em agitação e refluxo, durante 6 h. O solvente foi destilado a pressão reduzida. O resíduo obtido foi dissolvido em água (60 mL) e extraído com diclorometano (4x30 mL). A fase orgânica resultante foi extraída com uma solução 1N de hidróxido de potássio (KOH) (10 mL) e de seguida seca com sulfato de magnésio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida. Obteve-se um sólido amarelo que foi disperso em celite e purificado por cromatografia “short path” [*n*-hexano/acetato de etilo (1:1) e diclorometano/metanol (9:1)]. Após a purificação obtiveram-se os seguintes compostos:

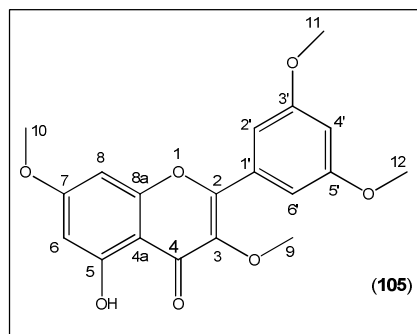
**2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (103)** na forma de sólido amarelo com um rendimento de 52% (1,1 g). Apresenta os mesmos dados espectroscópicos descritos em III.3.1.

**Sulfonato de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-3-hidroxi-4,5,7-trimetoxi-cromenilium (104)** na forma de sólido branco com um rendimento de 9% (260 mg). Apresenta os mesmos dados espectroscópicos descritos em III.3.1.

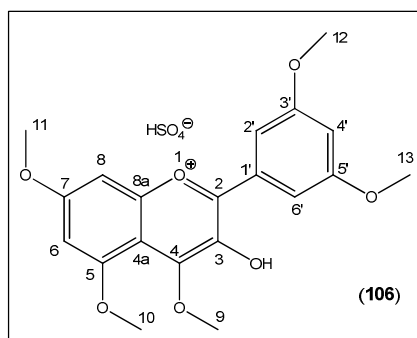
#### III.3.2.2- Preparação da 2-(3', 5' – dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (105)

A uma solução de morina (**101**) (1,0 eq., 900 mg, 2,6 mmol) em acetona (17 mL) foram adicionados carbonato de potássio (5,0 eq., 2,0 g, 15 mmol) e dimetilsulfato (5,0 eq., 1,4 mL, 15 mmol). A mistura reaccional foi mantida em refluxo e agitação, durante 4h. O solvente foi destilado a pressão reduzida, e o resíduo obtido foi dissolvido em água (25 mL) e extraído com diclorometano (3x15 mL). A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de magnésio anidro e o solvente evaporado a pressão reduzida. Obteve-se um sólido amarelo que foi purificado por cromatografia “short path” [*n*-hexano/acetato de etilo (1:1) e diclorometano/metanol (9:1)]. Isolaram-se os seguintes compostos:

**2-(3', 5' – dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (105)** na forma de sólido amarelo com um rendimento de 33% (307 mg) **IV** (KBr)  $\nu_{\max}$ : 1668 (C=O)  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,36 (1H, d,  $J = 8,4$ ,  $\text{ArC}^{4'}\text{H}$ ), 6,60-6,56 (2H, m,  $\text{ArC}^{2'}\text{H}$  e  $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 6,36 (1H, s,  $\text{ArC}^{8'}\text{H}$ ), 6,34 (1H, s,  $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 3,87 (3H, s,  $\text{C}^{11}\text{H}$ ), 3,83 (6H, s,  $\text{C}^{11}\text{H}$  e  $\text{C}^{12}\text{H}$ ), 3,77 (3H, s,  $\text{C}^9\text{H}$ )  $^{13}\text{C RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 178,9 ( $\text{C}^4=\text{O}$ ), 165,3 ( $\text{ArC}^7$ ), 163,1 ( $\text{ArC}^{3'}$ ), 162,2 ( $\text{ArC}^{5'}$ ), 158,8 ( $\text{ArC}^{8a}$ ), 157,5 ( $\text{C}^2$ ), 156,7 ( $\text{ArC}^5$ ), 140,2 ( $\text{C}^3$ ), 131,8 ( $\text{ArC}^{1'}$ ), 112,5 ( $\text{ArC}^{4a}$ ), 106,6 ( $\text{ArC}^{6'}$ ), 104,9 ( $\text{ArC}^{2'}$ ), 97,9 ( $\text{ArC}^6$ ) 92,4 ( $\text{ArC}^8$ ), 60,7 ( $\text{C}^9$ ), 58,7 ( $\text{C}^{11}$ ) 55,9 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{12}$ ), 55,7 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{12}$ ) **EMAR-IE (+)**  $m/z$ :  $[\text{M}]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$  (358,10471) obtida 358,10458.



**Sulfonato de 2-(3',5'- dimetoxi-fenil)-3-hidroxi-4,5,7-trimetoxi-cromenilium (106)** na forma de sólido branco com um rendimento de 1% (17 mg). **IV** (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3448 (O-H)  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,38 (1H, d,  $J = 8,4$ ,  $\text{ArC}^{4'}\text{H}$ ), 6,61-6,57 (2H, m,  $\text{ArC}^{2'}\text{H}$  e  $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 6,44 (1H, d,  $J = 2,0$ ,  $\text{ArC}^{8'}\text{H}$ ), 6,35 (1H, d,  $J=2,0$ ,  $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 3,97 (3H, s,  $\text{C}^{10}\text{H}$ ), 3,88 (3H, s,  $\text{C}^{12}\text{H}$  ou  $\text{C}^{13}\text{H}$ ) 3,86 (3H, s,  $\text{C}^{11}\text{H}$ ), 3,84 (3H, s,  $\text{C}^{12}\text{H}$  ou  $\text{C}^{13}\text{H}$ ), 3,80 (3H, s,  $\text{C}^9\text{H}$ )  $^{13}\text{C RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 174,1 ( $\text{C}^2$ ), 163,8 ( $\text{ArC}^7$ ), 162,7 ( $\text{ArC}^{3'}$  ou  $\text{ArC}^{5'}$ ), 161,2 ( $\text{ArC}^5$ ), 159,5 ( $\text{ArC}^{8a}$ ), 158,7 ( $\text{ArC}^{3'}$  ou  $\text{ArC}^{5'}$ ), 142,3 ( $\text{C}^4$ ), 131,8 ( $\text{ArC}^{4'}$ ), 114,0 ( $\text{C}^3$ ), 113,0 ( $\text{ArC}^{1'}$ ), 110,0 ( $\text{ArC}^{4a}$ ), 104,8 ( $\text{ArC}^{2'}$  ou  $\text{ArC}^{6'}$ ), 99,0 ( $\text{ArC}^{2'}$  ou  $\text{ArC}^{6'}$ ), 95,8 ( $\text{ArC}^6$ ), 92,7 ( $\text{ArC}^8$ ), 60,4 ( $\text{C}^9$ ), 56,5 ( $\text{C}^{10}$ ), 55,9 ( $\text{C}^{12}$  ou  $\text{C}^{13}$ ), 55,8 ( $\text{C}^{12}$  ou  $\text{C}^{13}$ ), 55,6 ( $\text{C}^{11}$ ) **EM (ESI+)**  $m/z$ : 395  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (100), 373  $[\text{M}]^+$  (60).

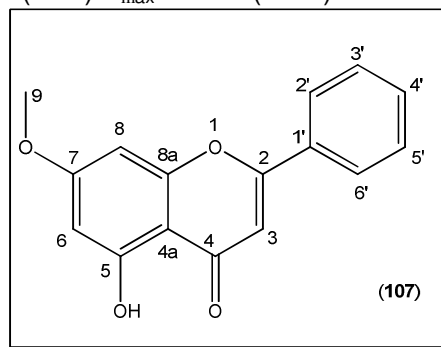


### III.3.2.3- Preparação da 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4H-cromen-4-ona (107)

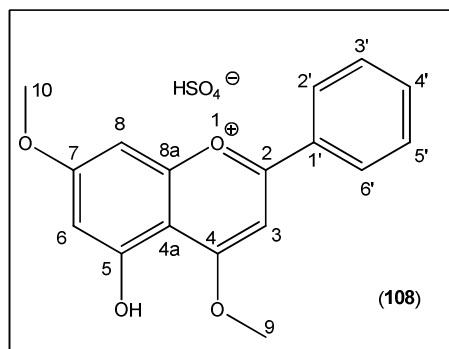
A uma solução de crisina (**102**) (1,0 eq., 605 mg, 2,4 mmol) em acetona (20 mL) foram adicionados carbonato de potássio (2,0 eq., 658 mg, 4,8 mmol) e dimetilsulfato (2,0 eq., 450  $\mu\text{L}$ , 4,8 mmol). A mistura reaccional esteve em refluxo e agitação durante 20h. O solvente foi destilado a pressão reduzida, e o resíduo obtido foi dissolvido em água (20 mL) e extraído com diclorometano (3x10 mL). A fase orgânica foi ainda extraída com uma solução KOH 1N (10 mL) e seca com sulfato de magnésio anidro. Com a destilação do solvente a pressão reduzida obteve-se um

sólido amarelo que foi purificado por cromatografia “short path” [acetato de etilo/*n*-hexano (1:1) e diclorometano/metanol (9:1)]. Isolaram-se os seguintes compostos:

**2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4*H*-cromen-4-ona (107)** na forma de sólido amarelo com um rendimento de 17% (110 mg). **IV (KBr)**  $\nu_{\max}$ : 1670 (C=O) **<sup>1</sup>H-RMN (acetona-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta$ : 12,82 (1H, troca com D<sub>2</sub>O, s, OH), 8,05 (2H, d,  $J = 8,0$ , ArC<sup>6'</sup>H e ArC<sup>2'</sup>H), 7,59-7,54 (3H, m, ArC<sup>3'</sup>H e ArC<sup>4'</sup>H e ArC<sup>5'</sup>H), 6,79 (1H, s, C<sup>3</sup>H), 6,70 (1H, d,  $J = 2,0$ , ArC<sup>8</sup>H), 6,32 (1H, d,  $J = 2,0$ , ArC<sup>6</sup>H) 3,91 (3H, s, C<sup>9</sup>H) **<sup>13</sup>C RMN (acetona-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta$ : 183,0 (C<sup>4</sup>=O), 167,3 (ArC<sup>7</sup>), 165,4 (C<sup>2</sup>), 163,6 (ArC<sup>5</sup>), 159,3 (ArC<sup>8a</sup>), 133,3-127,8 (ArC<sup>2'</sup> a ArC<sup>6'</sup>), 106,8 (C<sup>3</sup>), 106,7 (ArC<sup>4a</sup>), 99,4 (ArC<sup>6</sup>), 93,9 (ArC<sup>8</sup>), 57,0 (C<sup>9</sup>) **EMAR-IE (+)**  $m/z$ : [M]<sup>+</sup> calc. para C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> (268,07301) obtida 268,07389, [M+H]<sup>+</sup> calc. para C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> (269,07637) obtida 269,07971.



**Sulfonato de 2-fenil-5-hidroxi-4,7-dimetoxi-cromenilium (108)** na forma de um sólido branco com um rendimento de 51% (484 mg). **IV (KBr)**  $\nu_{\max}$ : 3446 (O-H) **<sup>1</sup>H-RMN (acetona-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta$ : 8,05-8,03 (2H, m, ArC<sup>2'</sup>H e ArC<sup>6'</sup>H), 7,61-7,59 (3H, m, ArC<sup>3'</sup>H e ArC<sup>4'</sup>H e ArC<sup>5'</sup>H), 6,81 (1H, d,  $J = 2,2$ , ArC<sup>8</sup>H), 6,63 (1H, s, C<sup>3</sup>H) 6,52 (1H, d,  $J = 2,2$ , ArC<sup>6</sup>H), 3,98 (3H, s, C<sup>10</sup>H), 3,91 (3H, s, C<sup>9</sup>H) **<sup>13</sup>C RMN (acetona-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta$ : 177,1 (C<sup>2</sup>), 165,8 (ArC<sup>7</sup>), 162,6 (C<sup>4</sup>), 161,6 (ArC<sup>5</sup>), 161,4 (ArC<sup>8a</sup>), 133,4 (ArC<sup>1'</sup>), 132,7 (ArC<sup>4'</sup>), 130,6 (ArC<sup>3'</sup> e ArC<sup>5'</sup>), 127,5 (ArC<sup>2'</sup> e ArC<sup>6'</sup>), 110,7 (ArC<sup>4a</sup>), 110,2 (C<sup>3</sup>), 97,7 (ArC<sup>6</sup>), 94,7 (ArC<sup>8</sup>), 57,2 (C<sup>9</sup>), 57,1 (C<sup>10</sup>) **EM (ESI+)**  $m/z$ : 305 [M+Na]<sup>+</sup> (100), 283 [M]<sup>+</sup> (40).



### **III.3.3- Métodos gerais para a protecção das posições hidroxiladas de desoxinucleósidos**

#### **III.3.3.1 Método geral para a protecção de desoxinucleósidos com brometo de benzilo (BnBr)**

##### **Método Geral**

Preparou-se uma solução de desoxinucleósido (1,0 eq, 250 mg) em DMF (8 mL), à qual se adicionou hidreto de sódio (NaH, 60% em óleo mineral) e brometo de benzilo (BnBr) em proporções variáveis. A reacção foi deixada em agitação, à temperatura ambiente, sob atmosfera inerte, cerca de 72 h e foi seguida por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)].

No final da reacção, adicionou-se água (80 mL) à mistura reaccional, e extraiu-se com acetato de etilo (3x45 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e filtrada. O solvente foi removido pressão reduzida e a mistura obtida foi purificada por cromatografia de “short path”.

##### **III.3.3.1.1- A partir de 2'-desoxiguanosina (130)**

A reacção foi efectuada segundo o método geral descrito em III.3.3.1, na presença da 2'-desoxiguanosina (**130**) (1,0 eq., 250 mg, 0,9 mmol), à qual se adicionou NaH (5,4 eq., 196 mg, 4,7 mmol) e BnBr (5,4 eq, 582 µL, 4,9 mmol). A mistura reaccional foi dispersada em celite e purificada por cromatografia “short path” [*n*-hexano, *n*-hexano/acetato de etilo (3:7, 1:1, 7:3), acetato de etilo, diclorometano/metano (9:1)]. As fracções maioritárias foram analisadas por <sup>1</sup>H-RMN.

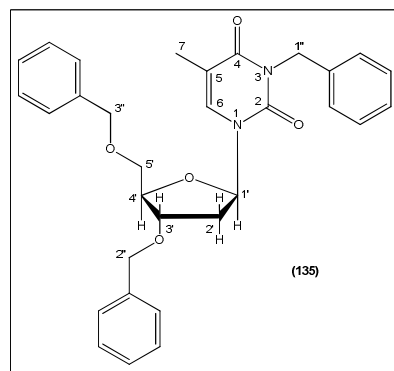
##### **III.3.3.1.2- A partir de 2'-desoxitimidina (132)**

A reacção foi efectuada segundo o método geral descrito em III.3.3.1, na presença da 2'-desoxitimidina (**132**) (1,0 eq., 250 mg, 1,0 mmol), à qual se adicionou NaH (4,0 eq., 165 mg, 4,0 mmol) e BnBr (4,0 eq, 0,5 mL, 4,0 mmol). A reacção foi deixada em agitação durante a noite. Nos dois dias seguintes foram efectuadas três adições de NaH (2,0 eq., 82 mg, 2,0 mmol) e BnBr (2,0 eq, 0,3 mL, 2,0 mmol). A reacção foi controlada por c.c.f. [diclorometano/metanol (9:1)]. O resíduo obtido foi dissolvido em *n*-hexano. A solução foi purificada por cromatografia “short path” [*n*-hexano, *n*-hexano/acetato de etilo (7:3)], obtendo-se o seguinte produto:

**3-benzil-1-[(2*R*, 4*S*, 5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahidrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1*H*,3*H*)-diona (135)** na forma

de óleo branco com um rendimento de 74% (374 mg)  
<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 7,68 (1H, s, C<sup>6</sup>H), 7,41-7,27 (15H, m, ArCH), 6,27 (1H, t, *J*= 7,8, C<sup>1</sup>H), 5,01 (2H, s, C<sup>1'</sup>H), 4,59-4,45 (4H, m, C<sup>2'</sup>H e C<sup>3'</sup>H), 4,31-4,29 (1H, m, C<sup>3</sup>H), 4,24-4,23 (1H, m, C<sup>4</sup>H), 3,79-3,67 (2H, m, C<sup>5</sup>H<sub>a</sub> e C<sup>5</sup>H<sub>b</sub>), 2,54-2,43 (1H, m, C<sup>2</sup>H<sub>a</sub>), 2,31-2,24 (1H, m, C<sup>2</sup>H<sub>b</sub>), 1,65 (3H, s, C<sup>7</sup>H) <sup>13</sup>C-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

δ: 163,3 (C<sup>4</sup>=O), 151,2 (C<sup>2</sup>=O) 139,0 (C<sup>2'</sup> ou C<sup>3'</sup>), 139,9 (C<sup>2''</sup> ou C<sup>3''</sup>), 138,0 (C<sup>1''</sup>), 135,6 (C<sup>6</sup>), 129,3-128,3 (ArC), 109,7 (C<sup>5</sup>), 86,1 (C<sup>1</sup>), 84,0 (C<sup>4</sup>), 79,8 (C<sup>3</sup>), 73,4 (C<sup>2''</sup> ou C<sup>3''</sup>), 71,1 (C<sup>2''</sup> ou C<sup>3''</sup> e C<sup>5</sup>), 44,6 (C<sup>1''</sup>), 37,6 (C<sup>2</sup>), 13,5 (C<sup>7</sup>).



### III.4- Reacções para a preparação de produtos selenados nas posições carbonílicas, na presença de reagente de Woollins.

#### III.4.1- Por irradiação de microondas

##### III.4.1.1- Ensaio de optimização das condições experimentais

##### III.4.1.1.1- A partir de 2-(3', 4'-dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona (103)

#### A. Sem solvente

Preparou-se uma mistura de 2-(3', 4'-dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona (**103**) (1,0 eq., 20 mg, 0,06 mmol) e reagente de woollins (R.W) (tabela III.2) num vial de vidro. A mistura foi dispersada em alumina (100 mg) e irradiada por microondas, a diferentes potências, durante 2 min..

As reacções foram seguidas por c.c.f. (diclorometano). Na tabela seguinte apresentam-se as condições experimentais e os resultados.

**Tabela III.2**– Condições experimentais utilizadas nos ensaios efectuados com (**103**) e R.W. sem solvente.

Ensaio	R.W (eq.)	Potência (W)	Tempo irradiação (min.)	Temperatura atingida (°C)	Resultado <sup>d</sup>
1 <sup>a</sup>	0,4	400	2	N.D <sup>c</sup>	N.O.
2 <sup>a</sup>	0,4	800	2	N.D <sup>c</sup>	N.O.
3 <sup>b</sup>	0,4	300	3	93	N.O.
4 <sup>a</sup>	0,5	400	2	N.D <sup>c</sup>	N.O.
5 <sup>a</sup>	0,5	800	2	N.D <sup>c</sup>	N.O.

<sup>a</sup> Microondas de cozinha; <sup>b</sup> Microondas CEM (Discover Benchmate); <sup>c</sup> Não determinada. Equipamento não permite a determinação da temperatura atingida; <sup>d</sup> Não foi observado a formação de qualquer produto.

### B. Com solvente

A uma solução de 2-(1', 2'-dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-5,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (**103**) (1,0 eq., 20 mg, 0,06 mmol) num solvente apropriado (2 mL), adicionou-se R.W (Tabela III.3). A suspensão foi irradiada por microondas, a potências e tempos variáveis.

As reacções foram seguidas por c.c.f. (diclorometano). Na tabela III.3 apresentam-se as condições experimentais e os resultados obtidos.

**Tabela III.3**– Condições experimentais utilizadas nos ensaios efectuados com **103** e R.W. com solvente.

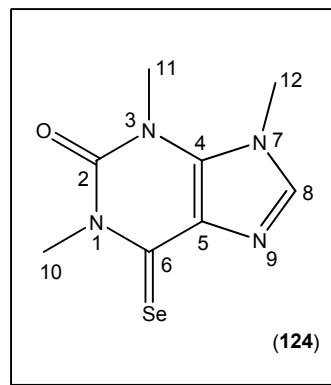
Ensaio <sup>a</sup>	R.W (eq.)	Solvente	Potencia (W)	Tempo de irradiação (min.)	Temperatura atingida (°C)	Resultado <sup>b</sup>
1	0,3	tolueno	300	3	93	+
2	0,3	tolueno	300	8	127	++
3	0,4	tolueno	175	5	116	+
4	0,4	tolueno	225	5	125	++
5	0,4	tolueno	300	5	125	+++
6	0,5	tolueno	300	5	125	+++
7	0,6	tolueno	300	3	98	+
8	0,7	tolueno	300	5	122	++
9	0,8	tolueno	300	8	122	++
10	0,4	acetonitrilo	175	5	131	++++
11	0,4	<i>p</i> -xileno	175	5	120	+
12	0,4	<i>p</i> -xileno	225	5	132	++

<sup>a</sup> Microondas CEM (Discover Benchmate) ; <sup>b</sup> Por c.c.f (diclorometano) não se verifica o consumo total do material de partida (**2**) e a formação de um produto é visualmente observada; Legenda: + (muito pouco intenso), ++ (pouco intenso), +++ (intenso), ++++ (muito intenso)

#### III.4.1.1.2- A partir da cafeína (**123**)

Preparou-se uma solução de cafeína (**123**) (1,0 eq., 50 mg, 0,26 mmol) num solvente apropriado (3 mL), à qual se adicionou R.W. (0,4 eq., 0,6 eq. ou 0,8 eq.). A suspensão foi irradiada por microondas a uma potência e duração variável (Tabela III.4). A reacção foi seguida por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)]. O solvente foi destilado a pressão reduzida, e o resíduo obtido dissolvido em diclorometano. A solução foi purificada por c.c.f.p [diclorometano/metanol (9:1)], obtendo-se o seguinte produto:

**1,3,7-trimetil-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1H-purina-2(3H)-ona (124)** obtido na forma de sólido amarelo **IV (KBr)**  $\nu_{\max}$ : 1697 ( $C^2=O$ ), 1035 ( $C^6=Se$ )  $^1H$ -RMN ( $CDCl_3$ ): 7,78 (1H, s,  $C^8H$ ), 4,26 (3H, s,  $C^{12}H$ ), 3,98 (3H, s,  $C^{10}H$ ), 3,59 (3H, s,  $C^{11}H$ ),  $^{13}C$ -RMN ( $CDCl_3$ ): 177,8 ( $C^6=Se$ ), 149,6 ( $C^2=O$ ), 145,2 ( $C^8$ ), 143,5 ( $C^4$ ), 122,2 ( $C^5$ ), 37,8 ( $C^{10}$ ), 36,3 ( $C^{12}$ ), 30,3 ( $C^{11}$ )  $^{77}Se$ -RMN ( $CDCl_3$ ): 601,5 ( $C^6=Se$ ) **EM (ESI+)**  $m/z$ : 261 [ $M(^{82}Se)+H$ ] $^+$  (20), 260 [ $M(^{81}Se)+H$ ] $^+$  (10) 259 [ $M(^{80}Se)+H$ ] $^+$  (100), 258 [ $M(^{79}Se)+H$ ] $^+$  (5), 257 [ $M(^{78}Se)+H$ ] $^+$  (35), 256 [ $M(^{77}Se)+H$ ] $^+$  (15), 255 [ $M(^{76}Se)+H$ ] $^+$  (17,5) **EMAR (IE)**  $m/z$ : [ $M(^{82}Se)$ ] $^+$  calc. para  $C_8H_{10}ON_4^{82}Se$  (260,00161) obtida 260,00210, [ $M(^{81}Se)$ ] $^+$  calc. para  $C_8H_{10}ON_4^{81}Se$  (259,00479) obtida 259,00823, [ $M(^{80}Se)$ ] $^+$  calc. para  $C_8H_{10}ON_4^{80}Se$  (258,00144) obtida 258,0007, [ $M(^{79}Se)$ ] $^+$  calc. para  $C_8H_{10}ON_4^{79}Se$  (257,00557) obtida 257,00193, [ $M(^{78}Se)$ ] $^+$  calc. para  $C_8H_{10}ON_4^{78}Se$  (256,00221) obtida 256,00302, [ $M(^{77}Se)$ ] $^+$  calc. para  $C_8H_{10}ON_4^{77}Se$  (255,00041) obtida 255,00186, [ $M(^{76}Se)$ ] $^+$  calc. para  $C_8H_{10}ON_4^{76}Se$  (254,00412) obtida 254,00344.



Na Tabela III.4 apresentam-se as condições experimentais e os resultados obtidos.

**Tabela III.4-** Condições experimentais testadas para a preparação de **124**.

Ensaio <sup>a</sup>	R.W. (eq.)	Solvente	Tempo Irradiação (min.)	Programa Microondas <sup>b</sup>	$\eta$ (%) <sup>c</sup>	
					122	121
1	0,4	acetonitrilo	5	A	4	66
2	0,8	acetonitrilo	5	A	✓	✓
3	0,4	acetonitrilo	5	B	✓	✓
4	0,8	acetonitrilo	10	B	✓	✓
5	0,4	tolueno	5	C	2	79
6	0,4	tolueno	5	D	3	61
7	0,4	tolueno	10	D	5	75
8	0,4	tolueno	5	E	2	✓
9	0,8	tolueno	5	E	2	✓
10	0,4	tolueno	10	E	1	✓
11	0,8	tolueno	10	E	3	✓
12	0,4	tolueno	30	E	✓	✓
12	0,4	tolueno	50	E	7	51
13	0,4	tolueno	90	E	17	59
14	0,8	tolueno	180	E	23	49
15	0,8	<i>p</i> -xileno	180	E	30	49
16	0,6	<i>p</i> -xileno	180	E	41	✓
17	0,8	1,4-dioxano	180	E	19	59
18	0,8	Propionitrilo	180	E	21	✓

<sup>a</sup> Microondas CEM (Discover Benchmate); <sup>b</sup> Potência/Temperatura máxima atingida: A-175W/150°C; B-200W/130°C; C-175W/135°C; D-250W/150°C; E-300W/170°C. <sup>c</sup> Legenda: ✓ - Verifica-se formação de produto por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)]. Rendimento não determinado; x – Não se verifica a formação de produto por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)].

### III.4.1.2- Métodos gerais

#### Método geral A

Preparou-se uma solução do flavonóide (1,0 eq.) em acetonitrilo (3 mL), à qual se adicionou R.W (0,4 eq.). O tubo foi irradiado por microondas a uma potência de 175 W, durante 5 minutos. A temperatura máxima atingida foi aproximadamente 150 °C. As reacções foram seguidas por c.c.f. (dicloromentano).

#### Método geral B

Preparou-se uma suspensão de purina ou pirimidina (1,0 eq.) em *p*-xileno seco (3 mL), à qual se adicionou R.W. (0,6 eq., 83 mg, 0,16 mmol). A mistura foi irradiada, num tubo fechado, por microondas, durante 180 min. a uma potência de 300 W. A temperatura atingida foi de 170 °C.

#### III.4.1.2.1- A partir de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (103)

A reacção foi efectuada segundo o método geral A descrito em III.4.1.2, na presença de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (**103**) (1,0 eq., 50 mg, 0,14 mmol) e R.W (0,4 eq., 30 mg, 0,56 mmol). No final da reacção, a mistura reaccional foi destilada a pressão reduzida. O resíduo obtido foi dissolvido em diclorometano. A solução foi separada por cromatografia "short path" (diclorometano), da qual foi isolado o seguinte composto:

**2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromene-4-selenona (110)**, obtido na forma de sólido vermelho com um rendimento de 83% (34 mg). **IV**

(KBr)  $\nu_{\max}$ : 3441 (O-H), 1627 (C=Se) **<sup>1</sup>H-RMN**

(acetona-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 13,83 (1H, troca com D<sub>2</sub>O, s,

OH), 7,99 (1H, dd,  $J=2,0$  e 8,8, ArC<sup>6'</sup>H), 7,94

(1H, d,  $J=2,0$ , ArC<sup>2'</sup>H), 7,21 (1H, d,  $J = 8,8$ ,

ArC<sup>5'</sup>H), 6,82 (1H, d,  $J = 2,0$ , ArC<sup>8</sup>H), 6,53 (1H, d,

$J = 2,0$ , ArC<sup>6</sup>H), 3,97 (6H, s, C<sup>11</sup>H e C<sup>12</sup>H), 3,95

(3H, s, C<sup>9</sup>H ou C<sup>10</sup>H), 3,76 (3H, s, C<sup>9</sup>H) **<sup>13</sup>C-RMN**

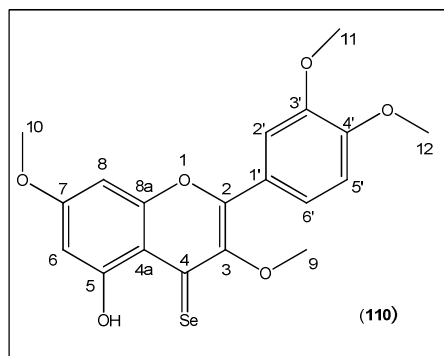
(acetona-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$ : 191,6 (C<sup>4</sup>=Se), 165,1 (ArC<sup>7</sup>),

161,9 (ArC<sup>5</sup>), 152,8 (ArC<sup>3'</sup> ou ArC<sup>4'</sup>), 152,4 (C<sup>2</sup>), 150,8 (C<sup>3</sup>), 149,6 (ArC<sup>3'</sup> ou ArC<sup>4'</sup>),

149,0 (ArC<sup>8a</sup>), 123,2 (ArC<sup>6'</sup>), 122,1 (ArC<sup>1'</sup>), 117,7 (ArC<sup>4a</sup>), 111,9 (ArC<sup>2'</sup>), 111,8 (ArC<sup>5'</sup>),

99,7 (ArC<sup>6</sup>) 92,7 (ArC<sup>8</sup>), 58,7(C<sup>9</sup>), 55,7 (C<sup>10</sup> ou C<sup>11</sup> ou C<sup>12</sup>), 55,5 (C<sup>9</sup> ou C<sup>10</sup> ou C<sup>11</sup> ou

C<sup>12</sup>), 55,4 (C<sup>9</sup> ou C<sup>10</sup> ou C<sup>11</sup> ou C<sup>12</sup>) **<sup>77</sup>Se-RMN (acetona-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 768,3 (C<sup>4</sup>=Se) **EM****



(ESI+)  $m/z$ : 425  $[M(^{82}\text{Se})+H]^+$  (18,5), 423  $[M(^{80}\text{Se})+H]^+$  (80), 421  $[M(^{78}\text{Se})+H]^+$  (42,5), 420  $[M(^{77}\text{Se})+H]^+$  (20), 419  $[M(^{76}\text{Se})+H]^+$  (18,5) **EMAR-IE(+)**  $m/z$ :  $[M(^{82}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{82}\text{Se}$  (424,026489) obtida 424,03352,  $[M(^{80}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{81}\text{Se}$  (422,02631) obtida 422,02507,  $[M(^{78}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{78}\text{Se}$  (420,027081) obtida 420,02567,  $[M(^{77}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{77}\text{Se}$  (419,029003) obtida 419,01839,  $[M(^{76}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{76}\text{Se}$  (418,029003) obtida 418,02523.

#### III.4.1.2.2- A partir da 2-(3', 5' – dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (105)

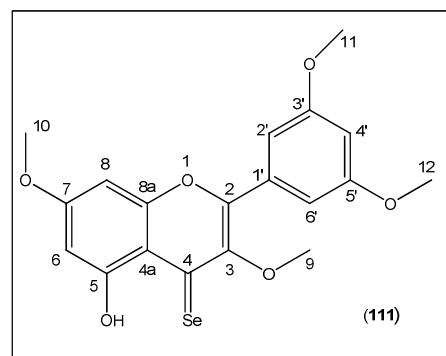
A reacção foi efectuada segundo o método geral A descrito em III.4.1.2, na presença de 2-(3', 5' – dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona (105) (1,0 eq., 50 mg, 0,14 mmol) e R.W (0,4 eq, 30 mg, 0,56 mmol). No final da reacção, a mistura reaccional foi evaporada a pressão reduzida e o resíduo obtido separado por cromatografia “short path” [diclorometano, hexano/acetato de etilo (1:1)]. Isolou-se o seguinte composto:

#### 2-(3', 5' – dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-cromene-4-selenona

(111), obtido na forma de sólido vermelho com um rendimento de 32% (15 mg) **IV (KBr)**  $\nu_{\text{max}}$ :

3442 (O-H), 1633 (C=Se)  **$^1\text{H-RMN}$  (acetona- $d_6$ )**

$\delta$ : 12,77 (1H, troca com  $\text{D}_2\text{O}$ , s, OH), 7,44 (1H, d,  $J = 8,4$ ,  $\text{ArC}^{4'}\text{H}$ ), 6,75 (1H, d,  $J = 2,2$ ,  $\text{ArC}^{2'}\text{H}$ ), 6,69 (2H, dd,  $J = 8,4$  e  $2,2$ ,  $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 6,51 (1H, d,  $J = 2,2$ ,  $\text{ArC}^{8'}\text{H}$ ), 6,39 (1H, d,  $J = 2,0$ ,  $\text{ArC}^{6'}\text{H}$ ), 3,91 (6H, s,  $\text{C}^{10}\text{H}$  ou  $\text{C}^{11}\text{H}$  ou  $\text{C}^{12}\text{H}$ ), 3,90 (3H, s,  $\text{C}^{10}\text{H}$  ou  $\text{C}^{11}\text{H}$  ou  $\text{C}^{12}\text{H}$ ) 3,80 (3H, s,  $\text{C}^9\text{H}$ )



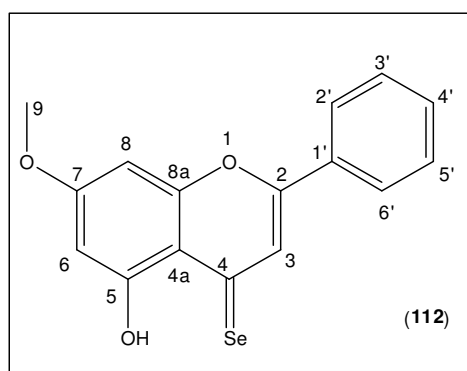
**$^{13}\text{C-RMN}$  (acetona- $d_6$ )**  $\delta$ : 180,2 ( $\text{C}^4 = \text{Se}$ ), 167,0 ( $\text{ArC}^7$ ), 164,6 ( $\text{ArC}^{5'}$ ), 163,5 ( $\text{C}^5$ ), 160,3 ( $\text{ArC}^{3'}$ ) 158,9 ( $\text{ArC}^{8a}$ ), 141,3 ( $\text{C}^3$ ), 132,9 ( $\text{ArC}^{4'}$ ), 115,4 ( $\text{C}^2$ ), 113,8 ( $\text{ArC}^{1'}$ ), 107,5 ( $\text{ArC}^{4a}$ ), 106,5 ( $\text{ArC}^{6'}$ ), 99,9 ( $\text{ArC}^{2'}$ ), 99,0 ( $\text{ArC}^6$ ) 93,3 ( $\text{ArC}^8$ ), 61,0 ( $\text{C}^9$ ), 56,9 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{11}$  ou  $\text{C}^{12}$ ), 56,7 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{11}$  ou  $\text{C}^{12}$ ), 56,4 ( $\text{C}^{10}$  ou  $\text{C}^{11}$  ou  $\text{C}^{12}$ )  **$^{77}\text{Se-RMN}$  (acetona- $d_6$ )**  $\delta$ : 774,6 ( $\text{C}^4 = \text{Se}$ ) **EM (ESI+)**  $m/z$ : 425  $[M(^{82}\text{Se})+H]^+$  (20), 423  $[M(^{80}\text{Se})+H]^+$  (100), 421  $[M(^{78}\text{Se})+H]^+$  (87.5), 420  $[M(^{77}\text{Se})+H]^+$  (20), 419  $[M(^{76}\text{Se})+H]^+$  (35) **EMAR-IE (+)**  $m/z$ :  $[M(^{82}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{82}\text{Se}$  (424,02649) obtida 424,03196,  $[M(^{80}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{81}\text{Se}$  (422,02631) obtida 422,02542,  $[M(^{78}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{78}\text{Se}$  (420,02708) obtida 420,02746,  $[M(^{77}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{77}\text{Se}$  (419,02900) obtida 419,02566,  $[M(^{76}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6^{76}\text{Se}$  (418,02900) obtida 418,02478.

### III.4.1.2.3- A partir da 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4*H*-cromen-4-ona (107)

A reacção foi efectuada segundo o método geral A descrito em III.4.2.1, na presença de 2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4*H*-cromen-4-ona (**107**) (1,0 eq., 50 mg, 0,20 mmol) e R.W. (0,4 eq., 42 mg, 79 mmol). No fim da reacção, a mistura reaccional foi destilada a pressão reduzida e o resíduo obtido foi dispersado em celite. A solução foi separada por cromatografia de coluna “short path” [*n*-hexano/acetato de etilo (9:1)], da qual se isolou o seguinte composto:

**2-fenil-5-hidroxi-7-metoxi-4*H*-cromene-4-selenona (112)**, obtido na forma de sólido vermelho com um rendimento de 16% (8,4 mg). **IV (KBr)**  $\nu_{\max}$ : 3453 (O-H), 1635

(C=Se) **<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta$ : 12,96 (1H, troca com D<sub>2</sub>O, s, OH), 7,98 (2H, d,  $J=7,7$ , ArC<sup>2'</sup>H e ArC<sup>6'</sup>H), 7,76 (1H, s, C<sup>3</sup>H), 7,62 (1H, t,  $J=7,4$ , ArC<sup>4'</sup>H), 7,53 (2H, t,  $J=7,7$ , ArC<sup>3'</sup>H e ArC<sup>5'</sup>H), 6,54-6,52 (2H, m, ArC<sup>6</sup>H e ArC<sup>8</sup>H), 3,88 (3H, s, C<sup>9</sup>H) **<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 196,3 (C<sup>4</sup>=Se), 164,7 (ArC<sup>7</sup>), 161,9 (ArC<sup>5</sup>), 153,0 (ArC<sup>8a</sup>), 151,4 (C<sup>2</sup>), 131,6 (ArC<sup>4'</sup>), 130,0 (ArC<sup>1'</sup>), 128,9 (ArC<sup>3'</sup> ou

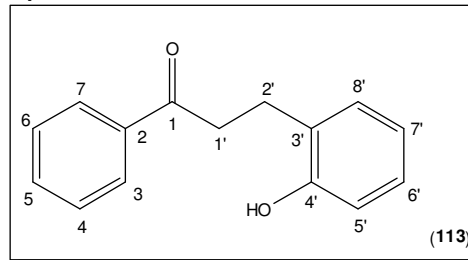


ArC<sup>5'</sup>), 128,6 (ArC<sup>3'</sup> ou ArC<sup>5'</sup>), 126,0 (ArC<sup>2'</sup> e ArC<sup>6'</sup>), 125,8 (ArC<sup>2'</sup> e ArC<sup>6'</sup>), 124,1 (C<sup>3</sup>), 117,3 (ArC<sup>4a</sup>) 99,6 (ArC<sup>6</sup> e ArC<sup>8</sup>), 93,1 (ArC<sup>6</sup> e ArC<sup>8</sup>), 55,5 (C<sup>9</sup>) **<sup>77</sup>Se-RMN (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 888,5 (C<sup>4</sup>=Se) **EM (ESI+)**  $m/z$ : 335 [M(<sup>82</sup>Se)+H]<sup>+</sup> (20), 333 [M(<sup>80</sup>Se)+H]<sup>+</sup> (100), 331 [M(<sup>78</sup>Se)+H]<sup>+</sup> (87,5), 330 [M(<sup>77</sup>Se)+H]<sup>+</sup> (20), 329 [M(<sup>76</sup>Se)+H]<sup>+</sup> (35) **EMAR-IE (+)**  $m/z$ : [M(<sup>82</sup>Se)]<sup>+</sup> calc. para C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub><sup>82</sup>Se (333,99479) obtida 333,99386, [M(<sup>80</sup>Se)]<sup>+</sup> calc. para C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub><sup>81</sup>Se (331,99462) obtida 331,99273, [M(<sup>78</sup>Se)]<sup>+</sup> calc. para C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub><sup>78</sup>Se (329,99540) obtida 329,99740, [M(<sup>77</sup>Se)]<sup>+</sup> calc. para C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub><sup>77</sup>Se (328,99731) obtida 328,99642, [M(<sup>76</sup>Se)]<sup>+</sup> calc. para C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub><sup>76</sup>Se (327,99731) obtida 327,99801.

### III.4.1.2.4- A partir da 2-fenil-4*H*-cromen-4-ona (109)

A reacção foi efectuada segundo o método geral A descrito em III.3.5, na presença de 2-fenil-4*H*-cromen-4-ona (flavona, **109**) (1,0 eq., 50 mg, 0,23 mmol) e R.W (0,4 eq., 48 mg, 0,90 mmol). A mistura reaccional foi destilada a pressão reduzida e o resíduo obtido foi dispersado em celite. A solução foi separada por cromatografia de coluna “short path” [*n*-hexano/acetato de etilo (9:1)], da qual se isolou o seguinte composto.

**1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1-ona (113)**, na forma de óleo amarelo com um rendimento de 11% (4,3 mg). **IV (filme)**  $\nu_{\max}$ : 3348 (O-H), 1669 (C=O)  **$^1\text{H-RMN}$  (acetona- $d_6$ )**  $\delta$ : 8,38 (1H, troca com  $\text{D}_2\text{O}$ , s, OH), 8,04-8,02 (2H, m,  $\text{ArC}^3\text{H}$  e  $\text{ArC}^7\text{H}$ ), 7,64-7,60 (1H, m,  $\text{ArC}^5\text{H}$ ), 7,53-7,50 (2H, m,  $\text{ArC}^4\text{H}$  e  $\text{ArC}^6\text{H}$ ), 7,18 (1H, dd,  $J=1,6$  e 7,6,  $\text{ArC}^8\text{H}$ ), 7,06-7,02 (1H, m,  $\text{ArC}^6\text{H}$ ), 6,86 (1H, dd,  $J=0,8$  e 8,8,  $\text{ArC}^5\text{H}$ ), 6,78 (1H, m,  $\text{ArC}^7\text{H}$ ), 3,38-3,34 (2H, m,  $\text{C}^{1'}$ ), 3,01 (2H, t,  $J=7,6$ ,  $\text{C}^{2'}$ )  **$^{13}\text{C-RMN}$  (acetona- $d_6$ )**  $\delta$ : 200,7 ( $\text{C}^1=\text{O}$ ), 156,5 ( $\text{ArC}^{4'}$ ), 138,5 ( $\text{ArC}^2$ ), 134,3 ( $\text{ArC}^7$ ), 131,5 ( $\text{ArC}^{8'}$ ), 129,8 ( $\text{ArC}^3$  e  $\text{ArC}^6$ ), 129,3 ( $\text{ArC}^3$  e  $\text{ArC}^7$ ), 128,9 ( $\text{ArC}^{3'}$ ), 128,5 ( $\text{ArC}^6$ ), 121,0 ( $\text{ArC}^{7'}$ ), 116,5 ( $\text{ArC}^{5'}$ ), 30,9 ( $\text{C}^{1'}$ ), 26,4 ( $\text{C}^{2'}$ ) **EM (ESI+)**  $m/z$ : 249  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (100), 227  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (25), 209  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (22,5).



#### III.4.1.2.5- A partir da cafeína (123)

A reacção foi efectuada de acordo com o método geral B descrito em III.4.1.2 na presença de cafeína (**123**) (1,0 eq., 50 mg, 0,26 mmol). A reacção foi seguida por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)]. O solvente foi destilado a pressão reduzida, e o resíduo obtido foi dissolvido em diclorometano e purificado por c.c.f.p [diclorometano/metanol (9:1)]. O composto obtido apresenta os mesmos dados espectroscópicos que (**124**) em III.4.1.1.2, com um rendimento de 41% (28 mg).

#### III.4.1.2.6- A partir da 1-metil-xantina (125)

A reacção foi efectuada de acordo com o método geral B descrito em III.4.1.2 na presença de 1-metil-xantina (**125**) (1,0 eq., 50 mg, 0,26 mmol). A mistura reaccional foi destilada a pressão reduzida. O resíduo obtido foi dissolvido em acetona e purificada por c.c.f.p. [diclorometano/metanol (9:1)], tendo-se isolado uma fracção maioritária que foi analisada por  $^1\text{H-RMN}$ .

#### III.4.1.2.7- A partir da tioxantina (126)

A reacção foi efectuada de acordo com o método geral B descrito em III.4.1.2 na presença de tioxantina (**126**) (1,0 eq., 44 mg, 0,26 mmol). A mistura reaccional foi analisada por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)]. A mistura reaccional foi centrifugada e o sobrenadante bem como o precipitado (dissolvido em metanol) foram analisados por HPLC analítico.

**III.4.1.2.8- A partir da guanina (127)**

A reacção foi efectuada de acordo com o método geral B descrito em III.4.1.2 na presença de guanina (**127**) (1,0 eq., 40 mg 0,26 mmol). Após a destilação a pressão reduzida do solvente, o resíduo obtido foi dissolvido em metanol e a mistura centrifugada. O sobrenadante foi purificado por c.c.f.p [diclorometano/metanol (9:1)]. As duas fracções maioritárias foram analisadas por  $^1\text{H-RMN}$ .

**III.4.1.2.9- A partir da 3',5'-O-bis-(*terc*-butildimetilsilil)-2'-desoxiguanosina (133)**

A reacção foi efectuada de acordo com o método geral B descrito em III.4.1.2 na presença de 3',5'-O-bis-(*terc*-butildimetilsilil)-2'-desoxiguanosina (**118**) (1,0 eq., 129 mg 0,26 mmol). A mistura reaccional foi centrifugada sendo o precipitado (dissolvido em metanol) analisado por HPLC analítico. O sobrenadante foi purificado por c.c.f.p [diclorometano/metanol (9:1)] e a fracção maioritária analisada por  $^1\text{H-RMN}$ .

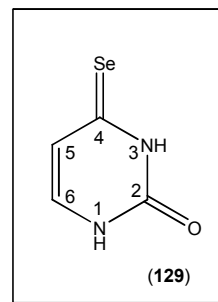
**III.4.1.2.10- A partir da 3',5'-O-bis-(*terc*-butildimetilsilil)-2'-desoxicitosina (134)**

A reacção foi efectuada de acordo com o método geral B descrito em III.4.1.2 na presença de 3',5'-O-bis-(*terc*-butildimetilsilil)-2'-desoxicitosina (**119**) (1,0 eq., 118 mg 0,26 mmol). A mistura reaccional foi centrifugada sendo o sobrenadante purificado por c.c.f.p [diclorometano/metanol (9:1)] e a fracção maioritária analisada por  $^1\text{H-RMN}$ .

**III.4.1.2.11- A partir do uracilo (128)**

A reacção foi efectuada de acordo com o método geral B descrito em III.4.1.2 na presença de uracilo (**3**) (1.0 eq., 29 mg, 0,26 mmol). A mistura reaccional foi centrifugada e o sobrenadante retirado. O precipitado obtido foi dissolvido em THF, a solução dispersada em celite e purificada por cromatografia "short path" [n-hexano/acetato de etilo (1:1 até 3:7)], obtendo-se o seguinte produto:

**4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1H)-ona (129)**, na forma de sólido amarelo com um rendimento de 16 % (7,9 mg). **IV (KBr)**  $\nu_{\text{max}}$ : 1695 ( $\text{C}^2=\text{O}$ ) e 1093 ( $\text{C}^4=\text{Se}$ )  $^1\text{H-RMN}$  (**DMSO- $d_6$** ): 7,40 (1H, d,  $J = 5,8$ ,  $\text{C}^6\text{H}$ ), 6,47 (1H, d,  $J = 5,8$ ,  $\text{C}^5\text{H}$ )  $^{13}\text{C-RMN}$  (**DMSO- $d_6$** ): 191,7 ( $\text{C}^4=\text{Se}$ ), 148,4 ( $\text{C}^2=\text{O}$ ), 137,9 ( $\text{C}^6$ ), 116,4 ( $\text{C}^5$ ),  $^{77}\text{Se-RMN}$  (**DMSO- $d_6$** ): 679,0 ( $\text{C}^6=\text{Se}$ ).



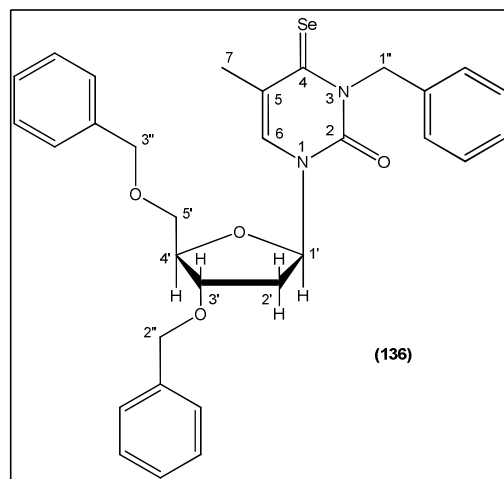
**III.4.1.2.12- A partir da 3-benzil-1-[(2*R*, 4*S*, 5*R*)-4-benziloxil-5-(benziloximetil)tetra-hidrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1*H*,3*H*)-diona (135).**

A reacção foi efectuada de acordo com o método geral B descrito em III.4.1.2 na presença de 3-benzil-1-[(2*R*, 4*S*, 5*R*)-4-benziloxil-5-(benziloximetil)tetra-hidrofurano-2-il]-5-metilpiridina-2,4-(1*H*,3*H*)-diona (15) (1.0 eq., 122 g, 0,26 mmol). A mistura reaccional foi centrifugada e o sobrenadante recolhido. A solução recolhida foi purificada por cromatografia “short path” [*n*-hexano/acetato de etilo (9:1, 7:3)]. Após destilação do solvente, a pressão reduzida, foi identificado o seguinte composto:

**3-benzil-1-[(2*R*,4*S*,5*R*)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahidrofirano-2-il]-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1*H*)-ona (136)** na forma de óleo vermelho

com um rendimento de 16 % (9,8 mg) **IV (filme)**  $\nu_{\max}$ : 1688 ( $\text{C}^2=\text{O}$ ) **<sup>1</sup>H-RMN (acetona-*d*<sub>6</sub>)**: 8,03 (1H, s,  $\text{C}^6\text{H}$ ), 7,40-7,21 (15H, m, ArCH), 6,23 (1H, t,  $J = 7,2$ ,  $\text{C}^1\text{H}$ ), 5,98 (1H,

d,  $J = 14,3$ ,  $\text{C}^{1''}\text{H}_a$ ), 5,89 (1H, d,  $J = 14,3$ ,  $\text{C}^{1''}\text{H}_b$ ), 4,65-4,57 (4H, m,  $\text{C}^{2''}\text{H}$  e  $\text{C}^{3''}\text{H}$ ), 4,42-4,41 (1H, m,  $\text{C}^3\text{H}$ ), 4,34-4,33 (1H, m,  $\text{C}^4\text{H}$ ), 3,91-3,76 (2H, m,  $\text{C}^{3''}\text{H}_a$  e  $\text{C}^{3''}\text{H}_b$ ), 2,61-2,56 (1H, m,  $\text{C}^{2''}\text{H}_a$ ), 2,41-2,35 (1H, m,  $\text{C}^{2''}\text{H}_b$ ), 1,99 (3H, s,  $\text{C}^7\text{H}$ ) **<sup>13</sup>C-RMN (acetona-*d*<sub>6</sub>)**: 195,6 ( $\text{C}^4=\text{Se}$ ), 149,2 ( $\text{C}^2=\text{O}$ ), 139,4 (Ar $\text{C}^{2''}$  ou Ar $\text{C}^{3''}$ ), 139,2 (Ar $\text{C}^{2''}$  ou Ar $\text{C}^{3''}$ ), 137,3 (Ar $\text{C}^{1''}$ ), 130,7 ( $\text{C}^6$ ), 130,2-128,2 (Ar $\text{C}$ ), 127,6 ( $\text{C}^5$ ), 88,14 ( $\text{C}^1$ ), 85,49 ( $\text{C}^4$ ), 79,84



( $\text{C}^3$ ), 74,12 ( $\text{C}^{2''}$  ou  $\text{C}^{3''}$ ), 71,89 ( $\text{C}^{2''}$  ou  $\text{C}^{3''}$ ), 71,09 ( $\text{C}^5$ ), 54,66 ( $\text{C}^{1''}$ ), 39,09 ( $\text{C}^2$ ), 22,24 ( $\text{C}^7$ ) **<sup>77</sup>Se-RMN (acetona-*d*<sub>6</sub>)**: 801,1 ( $\text{C}^4=\text{Se}$ ) **EMAR (IE)**  $m/z$ :  $[\text{M}^{(82}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_2^{82}\text{Se}$  (578,15236) obtida 578,15515,  $[\text{M}^{(80}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_2^{80}\text{Se}$  (576,15218) obtida 576,15430,  $[\text{M}^{(78}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_2^{78}\text{Se}$  (574,15296) obtida 574,15059,  $[\text{M}^{(77}\text{Se})]^+$  calc. para  $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_2^{77}\text{Se}$  (573,15487) obtida 573,13298.

### III.4.2- Por aquecimento convencional

#### III.4.2.1- A partir de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (103)

A uma suspensão de 2-(3',4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-ona (**2**) (1,0 eq., 50 mg, 0,14 mmol) em acetonitrilo (3 mL), adicionou-se R.W. (0.4 eq., 30 mg, 0,06 mmol). A mistura foi deixada, num tubo fechado sob agitação, a 150 °C, durante 3h. O solvente foi destilado a pressão reduzida. O resíduo resultante foi dispersado em celite e purificado por cromatografia "short path" [*n*-hexano/acetato de etilo (2:8)]. A fracção correspondente ao produto maioritário foi analisada por <sup>1</sup>H RMN.

Tentou-se também separar esta mistura reaccional por cromatografia "short path" com outros sistemas de eluentes. Tentou-se apenas diclorometano e ainda uma mistura de *n*-hexano/acetato de etilo (3:7) seguida de diclorometano.

#### III.4.2.2- A partir da cafeína (123)

A uma suspensão de cafeína (**123**) (1,0 eq., 50 mg, 0,26 mmol) em *p*-xileno seco (3 mL), adicionou-se R.W. (0.6 eq., 83 mg, 0,16 mmol). A mistura foi deixada sob agitação a uma temperatura de 170 °C, durante 3h. A reacção foi seguida por c.c.f [diclorometano/metanol (9:1)]. O solvente foi destilado a pressão reduzida, e o resíduo obtido dissolvido em diclorometano. A solução foi purificada por c.c.f.p [diclorometano/metanol (9:1)], obtendo-se o seguinte produto:

**1,3,7-trimetill-6-selenoxo-6,7-di-hidro-1*H*-purina-2(3*H*)-ona (124)** obtido na forma de sólido amarelo com um rendimento de 2% (1,4 mg). Apresenta os mesmos dados espectroscópicos do produto descrito em III.4.1.1.2.

### III.5- Reacções para a desprotecção de produtos selenados protegidos nas posições hidroxiladas

#### III.5.1- A partir de 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromen-4-selenona (110)

##### Método I

Preparou-se uma solução de 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**110**) (1,0 eq., 10 mg, 0,02 mmol) em diclorometano seco (5 mL).

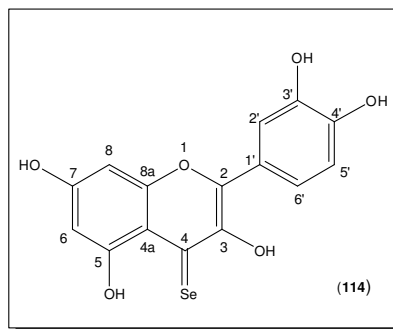
Arrefeceu-se a mistura reaccional a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  e adicionou-se tribrometo de boro ( $\text{BBr}_3$ ) (6.0 eq., 0,14 mL, 0,14 mmol). Permitiu-se que a temperatura subisse lentamente. A mistura reaccional ficou em agitação, sob atmosfera de azoto, durante a noite. De seguida, adicionou-se mais  $\text{BBr}_3$  (6.0 eq., 0,14 mL, 0,14 mmol). A reacção esteve em agitação por mais 24h. A reacção foi seguida por c.c.f [diclorometano/*n*-butanol (9:1)]. Arrefeceu-se novamente a mistura reaccional a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  e adicionou-se uma solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ).

O pH foi neutralizado e a solução extraída com uma mistura de diclorometano/*n*-butanol (9:1) (5x 20 mL). A fase aquosa foi seca com magnésio de sódio anidro, filtrada e destilada a pressão reduzida. O resíduo obtido foi analisado por  $^1\text{H}$  RMN.

## Método II

Preparou-se uma solução de 2-(3', 4'- dimetoxi-fenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4*H*-cromene-4-selenona (**110**) (1,0 eq., 40 mg, 0,95 mmol) em diclorometano seco (5 mL). Arrefeceu-se a mistura reaccional a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  e adicionou-se lentamente  $\text{BBr}_3$  (7,5 eq., 0,71 mL, 0,71 mmol). A mistura reaccional ficou em agitação, sob atmosfera de azoto, durante a noite. Na manhã seguinte, adicionou-se metanol (5 mL), a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  e deixou-se a temperatura subir lentamente. De seguida, colocou-se a mistura reaccional em refluxo, durante 2h. O pH foi neutralizado e a mistura reaccional extraída com uma mistura de diclorometano/*n*-butanol (9:1) (5x 20 mL). A fase aquosa foi seca com magnésio de sódio anidro, filtrada e destilada a pressão reduzida. O resíduo obtido foi analisado por  $^1\text{H}$ -RMN e novamente dissolvido em diclorometano seco (5 mL). Arrefeceu-se novamente a mistura reaccional e adicionou-se mais  $\text{BBr}_3$  (7,5 eq., 0,71 mL, 0,71 mmol). A reacção esteve em agitação por mais 24h e foi seguida por c.c.f [diclorometano/*n*-butanol (9:1)]. Foram feitas mais duas adições de  $\text{BBr}_3$  (7,5 eq., 0,71 mL, 0,71 mmol) durante as 48h seguintes. O tratamento da mistura reaccional foi feito de modo análogo ao já descrito. A fase aquosa foi seca com magnésio anidro, filtrada e destilada a pressão reduzida. Obteve-se o seguinte composto:

**2-(3,4-di-hidroxifenil)-3,5,7-tri-hidroxi-4H-cromen-4-selenona (114)**, com um rendimento de 34 % (11,7 mg)  $^1\text{H-RMN (CD}_3\text{OD-}d_4)$   $\delta$ : 7,71 (1H, s, ArC<sup>2'</sup>H), 7,62 (1H, d,  $J=7,9$ , ArC<sup>6'</sup>H), 6,97 (1H, d,  $J=7,9$ , ArC<sup>5'</sup>H), 6,47 (1H, s, ArC<sup>8</sup>H), 6,27 (1H, s, ArC<sup>6</sup>H)  $^{13}\text{C-RMN (CD}_3\text{OD-}d_4)$ :  $\delta$ : 177,4 (C<sup>4</sup>=Se), 165,6 (ArC<sup>5</sup> ou ArC<sup>7</sup>), 162,6 (ArC<sup>5</sup> ou ArC<sup>7</sup>), 158,3 (ArC<sup>8a</sup>), 148,9 (ArC<sup>4'</sup> ou C<sup>2</sup>), 148,1 (ArC<sup>4'</sup> ou C<sup>2</sup>), 146,3 (ArC<sup>3'</sup>), 130,8 (C<sup>3</sup>), 124,3 (ArC<sup>1'</sup>), 121,8 (ArC<sup>6'</sup>), 116,4 (ArC<sup>5'</sup>), 116,1 (ArC<sup>2'</sup>), 104,6 (ArC<sup>4a</sup>), 98,4 (ArC<sup>6</sup>) 94,6 (ArC<sup>8</sup>).



### III.5.2- A partir da 3-benzil-1-((2R,4S,5R)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetra-hidroforano-2-il)-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1H)-ona (136)

#### Método I

A uma solução de 3-benzil-1-((2R,4S,5R)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofuran-2-il)-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1H)-ona (136) (1,0 eq., 7,0 mg, 0,01 mmol) em metanol/ácido acético (4,37 mL/0,66mL) foi adicionado paládio (0) sob carvão activado (Pd-C). A mistura foi deixada em agitação, sob hidrogénio, à pressão atmosférica, durante 2 dias. A reacção foi seguida por c.c.f [n-hexano/acetato de etilo (7:3)].

#### Método II

Preparou-se uma solução de 3-benzil-1-((2R,4S,5R)-4-(benziloxi)-5-(benziloximetil)tetrahydrofuran-2-il)-5-metil-4-selenoxo-3,4-di-hidropiridina-2(1H)-ona (136) (1,0 eq., 8 mg, 0,002 mmol) em diclorometano seco (0,5 mL). Arrefeceu-se a mistura reaccional a -78 °C e adicionou-se tricloreto de boro (BCl<sub>3</sub>) (12,0 eq., 0,18 mL, 0,2 mmol). A mistura foi mantida em agitação *overnight*, deixando-se a temperatura subir lentamente. De seguida, arrefeceu-se novamente a mistura reaccional e adicionou-se mais BCl<sub>3</sub>) (12,0 eq., 0,18 mL, 0,2 mmol). A reacção foi seguida c.c.f [diclorometano/butanol (9:1)]. Após 24h, adicionou-se uma solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) (a -78 °C) e decantou-se a solução. Tanto o precipitado formado como a solução foram lavados uma mistura de diclorometano/n-butanol (9:1) (2 x 10mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro,

filtrada e o solvente destilado a pressão reduzida. As duas fracções foram analisadas por  $^1\text{H}$ -RMN.



## **IV. Bibliografia**



- [1] - D. F. Shriver, P.W. Atkins, *Inorganic Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Ed. Oxford University Press, Oxford, **1999**;
- [2] – Schwartz, K.; Bieri, J. G.; Briggs, G. M.; Scott, M. L.; *Proc. Soc. Exp. Med.*, **1957**, 95, 621-625;
- [3] – Zhuo, P.; Diamond, A. M.; *Biochim. Biophys. Acta.*, **2009**, 1790, 1546-1554;
- [4] - <http://en.wikipedia.org/wiki/Selenium> acedido a 9 de Janeiro de 2010;
- [5] - a) Janghorbani, M.; Ting, B.T.G.; Young, V. R.; *American Journal of Clinical Nutrition*, **1981**, 34, 2816-2830;
- [6] – W.R. Wolf, A. Schubert, Foods in: M. Inhant, Ed., *Occurrence and Distribution of Selenium*, CRC Press, Boca Raton, **1989**;
- [7] - a) Abdulah, R.; Miyazaki, K.; Nakazawa, M.; Koyam, H.; *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **2005**, 19, 141-150; b) <http://ods.od.nih.gov/factsheets/selenium/> acedido a 11 de Agosto de 2010.
- [8] - a) Arnér, E. S. J., *Experimental Cell Research*, **2010**, 316, 1296-1303; b) Lu, J.; Holmgren, A.; *Journal of Biological Chemistry*, **2009**, 284, 723-729; b) Brigelius-Flohé, R.; *Chemistry & Biodiversity*, **2008**, 5, 389-392;
- [9] - Rayman, M. P.; *The Lancet*, **2000**, 356, 233-241;
- [10] - Fuyu, Y.; *Life Sciences*, **2006**, 49, 513-518;
- [11] - <http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=4101> acedido 21 de Setembro de 2010;
- [12] - a) Ursini, F.; Heim, S.; Kiess, M.; *Science*, 1999, 285, 1393-1396; b) Behene, D.; Weiler, H.; Kyriankopoulos, A.; *J. Reprod. Fertil*, 1996, 106, 291-297;
- [13] - a) Néve, J.; *J. Cardiovasc. Risk*, **1996**, 3, 42-47; b) Knekt, P.; Heliövaara, M.; Aho, K.; Alfthan, G.; Marniemi, J.; Aromaa, A.; *Epidemiology*, **2000**, 11, 402-405; c) Finley, J. W.; Penland, J. G.; *J. Trace Elem. Exp. Med.*, **1998**, 11, 11-27;
- [14] - Valko, M.; Rhodes, C.; Moncola, J. J.; Izakovic, M.; Mazura, M.; *Chemico-Biological Interactions*, **2006**, 160, 1-40;
- [15] - Poli, G.; Leonarduzzi, G.; Biasi, F.; Chiarpotto, E.; *Curr. Med. Chem.*, **2004**, 11, 1163-1182;

- [16] - a) Sies, H.; *Exp. Physiol.*, **1997**, 82, 291-295; b) Cadet, J.; Sage, E.; Douki, T.; *Mutat. Res.*, **2005**, 571, 3-17; c) Flora, S.; Izzotti, A.; *Mutat. Res.*, **2007**, 621, 5-17;
- [17] - Bianchi, M.L.P; Antunes, L.M.G.; *Rev. Nutr.*, **1999**, 12, 123-130;
- [18] - Sies, H.; *Eur. J. Biochem.*, **1993**, 215, 213-219;
- [19] - a) Mates, J.; Perez-Gomez, C.; Castro, I.; *Clinical Biochemistry*, **1999**, 32, 595-603; b) Burton, G. W.; *Annual Review of Nutrition*, **1990**, 10, 357-382; c) Padyatty, S. J.; Katz, A.; Wang, Y.; Eck, P.; Kwon, O.; Lee, J. H.; *Journal of the American college of Nutrition*, **2003**, 22, 18-25
- [20] - Tinggi, U.; *Environmental Health and Preventive Medicine*, **2008**, 13, 102-108;
- [21] - Battin, E. E.; Brumaghim, J. L.; *Cell Biochem. Biophys*, **2009**, 55, 1-23 e referenciais citadas;
- [22] - a) Bayoumy, K.; *Mutation Research*. **2001**, 475, 129-139; b) Ostaldova, I.; Vobecky, M.; Chvojikova, Z.; Mikova, D.; Hampl, V.; Wilhelm, J.; *Mol. Cell. Biochem*, **2007**, 300, 259-267; c) Toufektsian, M.; Boucher, F.; Pucheu, S.; Tanguy, S.; *Toxicology*, **2000**, 148, 125-132;
- [23] - Müller, A; Cadenas, E.; Graf, P.; Sies, H.; *Biochem. Pharmacol.*, **1984**, 33, 3235-3243;
- [24] - Baljinnyam, E.; Hasebe, N.; Morihira, N.; Sumitomo, K.; Matsusaka, T.; Fujino, T.; *Hypertension Research*, **2006**, 29, 905-913;
- [25] - Moussaouis, S.; Obniu, M. C.; Daniel, N.; *Exp. Neurol.*, **2000**, 166, 235-245;
- [26] - Yamaguchi, T.; Sano, K.; Takakura, K.; Saito, I.; Shinohara, Y.; Asano, T.; Yasuhara, H.; *Stroke*, **1998**, 29, 12-17;
- [27] - a) Combs, G. F.; Gray, W. P.; *Pharmacol. Ther.*, **1998**, 79, 179-192; b) Abdulae, F.; Riverón-Negrete, L.; Pérez-López, I.; Camacho-Carranza, R.; Espinosa-Aguirre, J. J.; *Rev. Int. Contam. Ambient.*, **2005**, 21, 85-89;
- [28] - a) Romert, L.; Jansson, T.; Curvall, M.; Jensen, D.; *Mutat. Res.*, **1994**, 322, 97-110; b) Schrauzer, G. N.; *Cell Mol. Life sci.*, **2000**, 57, 1864-73;
- [29] - Fiala, E. S.; Joseph, C.; Sohn, O.S.; El-Bayoumy, K.; Reddy, S. B.; *Cancer Res.*, **1991**, 51, 2826-2832;

- [30] - a) Ip, C.; El-Bayoumy, K.; Ganther, H.; Vadhanavikit, S.; Thompson, H.; *Carcinogenesis*, **1994**, 15, 187; b) Reddy, B. S.; Rivenson, A.; Kulkarni, N.; Upadhyaya, P.; El-Bayoumy, K.; *Cancer Res.*, **1992**, 52, 5635-5641;
- [31] - Ip, C.; *Cancer Res.*, **1981**, 41, 4386-4391; b) Horvath, P. M.; Ip, C.; *Cancer Res.*, **1983**, 43, 5335-5339;
- [32] - Clark, L.C.; Combs, G.F.; Turnbull, B.W.; Slate, E. H.; Chalker, D. K.; Chow, J.; *J. Am. Med. Assoc.*, **1996**, 257, 1957-1985;
- [33] - Yu, S. Y.; Zhu, Y. J.; Li, W. G.; *Biol. Trace Elem. Res.*, **1997**, 6, 117-124;
- [34] - Nogueira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, J. B. T.; *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 6255-285;
- [35] - Mukherjee, A. J.; Zade, S. S.; Singh, H. B.; Sunoj, R. B.; *Chem. Rev.*, **2010**, 110, 4357-4416 e referências citadas;
- [36] - a) Muges, G.; du Mont, W.; Sies, H.; *Chem. Rev.*, **2001**, 2125-2179; b) Naithani, R.; *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **2008**, 3, 657-668;
- [37] - Back, T. G.; Barton, D. H. R.; Britten-Kelly, M. R.; Guziec, F. S.; *J. C. S. Chem. Comm.*, **1975**, 539;
- [38] - Back, T. G.; Barton, D. H. R.; Britten-Kelly, M. R.; Guziec, F. S.; *J. C. S. Perkin I*, **1976**, 2079-2087;
- [39] - Okazaki, R.; Inoue, K.; Inamoto, N.; *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 3673;
- [40] - Guizec, F. S.; Moustakis, C. A.; *J. Org. Chem.*, **1984**, 180-191;
- [41] - Kraft, G. A.; Meinke, P.T.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 1314-1315;
- [42] - George, M. V.; Peterson, D. J.; Gilman, H.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 403-406;
- [43] - Segi, M.; Nakajima, T.; Suga, S.; Murai, S.; Ryu, I.; Ogawa, A.; Sonoda, N.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 1976-1978;
- [44] - Meinke, P.T.; Kraft, G. A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 8671-8679;
- [45] - Li, G. M.; Zingaro, R. A.; *J. C. S. Perkin Trans. I*, **1998**, 647-650;
- [46] - Shimada, K.; Jin, N.; Kawaguchi, M.; Dobasi, K.; Nagano, Y.; Fujimura, M.; Kudoh, E.; Kai, T.; Saito, N.; Masuda, J.; Iwaya, M.; Fujisawa, H.; Aoyagi, S.; Takikawa, Y.; *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **1997**, 70, 197-206;

- [47] - Köster, R.; Seidel, G.; Yalpani, M.; *Chem. Ber.*, **1989**, 122, 1815;
- [48] - a) Gray, I. P.; Bhattachatyya, P.; Slawin, A. M. Z.; Woollins, J. D.; *Chem. Eur. J.*, **2005**, 11, 6221-6227; b) Bhattacharyya, P.; Woollins, J. D.; *Tetrahedron Letters*, **2001**, 42, 5949-5951;
- [49] - Michael, J. P.; Reid, D. H.; Rose, B. G.; Speirs, R. A.; *J. chem.. Soc. Commun.*, **1988**, 1494-1496;
- [50] - Bentke, J.; Karaghiosoff, K.; Wessjohann, L. A.; *Tet. Lett.*, **2003**, 44, 6911-6913;
- [51] - a) Kappe, C. O.; Standler, A.; *Microwaves in organic and medicinal chemistry*, Wiley-VCH, 1<sup>st</sup> Ed, **2005**; b) Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J.; *Tetrahedron*, **2001**, 15, 9225-9239; c) Hayes, B. L.; *Microwave synthesis*, **2002**, CEM Publishing; d) Nagariya, A. K.; Meena, A. K.; Yadav, A. K.; Niranjana, U. S.; Singh, B.; Rao, M. M.; *Journal of Pharmacy Research*, **2010**, 3, 575-580;
- [52] - Kappe, C. O.; Dallinger, D.; *Mol. Divers.*, **2009**, 13, 71-193;
- [53] - Hayes, B. L.; *Aldrichimica ACTA*, **2004**, 37, 66-75;
- [54] - Varma, R. S.; Kumar, D.; *Organic letters*, **1999**, 1, 697-700;
- [55] - a) Steilou, K; Mrani, M; *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 3104-3106; b) Jones, B. A.; Bradshaw, J. S; *Chem. Rev.*, **1984**, 84, 17-30;
- [56] - Bors, W.; Heller, W.; Michel, C.; Saran, M.; *Methods Enzymol.* **1990**, 186, 343-355;
- [57] - a) Dugas, A. J.; Acosta, J. C.; Bonin, G. C.; Price, K. L.; Fischer, N. H.; Winston, G. W.; *J. Nat. Prod.*, **2000**, 63, 327-331; b) Havsteen, B. H.; *Pharmacology & Therapeutics*, **2002**, 96, 67-202; Murakami, A.; Ashida, H.; Terao, J.; *Cancer letters*, **2008**, 315-325; c) Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G.; *Trends in plants science*, **1997**, 2, 152-161; d) Brusselmans, K.; Vrolix, R.; Verhoeven, G.; Swinnen, J. V.; *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 5636-5641; e) Mandel, S.; Youdim, M.B.H.; *Free Radical Biology & Medicine*, **2004**, 37, 304-317;
- [58] - Klein, E.; Lukes, V.; *J. Phys. Chem. A*, **2006**, 110, 12312-12320;
- [59] - Justino, G.C.; Vieira, A.J.S.C.; *Journal of molecular modeling*, **2010**, 16, 863-867;

- [60] - a) Weng, M.; Ho, Y.; Lin, J.; *Biochem. Pharmacol.*, **2005**, 69, 1815-1827; b) Lv, P.; Wang, K.; Li, Q.; Chen, J.; Sun, J.; Zhu, H.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 1117-1123;
- [61] - a) Agullo, G.; Gamet-Payrastre, L.; Manenti, S.; Viala, C.; Réméstry, C.; Chap, H.; Payrastre, B.; *Biochem. Pharmacol.*, **1997**, 53, 1649-1657; b) Walker, E. H.; Pacold, M. E.; Perisic, O.; Stephens, L.; Hawkins, P. T.; Wymann, M. P.; Williams, R. L.; *Mol. cell*, **2000**, 6, 909-916;
- [62] - a) Chu, H.; Wu, H.; Lee, Y.; *Tetrahedron*, **2004**, 60, 2647-265; b) Torre, M. D. L.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Silva, J. A. S.; Cavaleiro, J. A. S.; *Tetrahedron letters*, **2002**, 43, 4617-4620;
- [63] - Ozturk, T.; Ertas, E.; Mert, O.; *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 5210-5278;
- [64] - Hua, G.; Woollins, J. D.; *Eur. J. Chem.*, **2007**, 48, 2000-2004;
- [65] - E. Breitmaier, W. Volter, *Carbon 13 NMR Spectroscopy: High Resolution Methods and Applications in Organic and Biochemistry*, VCH, New York, 3<sup>rd</sup> Ed. **1980**;
- [66] - Dudgeon, H.; *Progress in NMR Spectroscopy*, **1995**, 27, 1-323;
- [67] - R. M. Silverstein, F. X. Webster, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc., 7<sup>th</sup> Ed., **2005**;
- [68] - a) B.A. Gingras, T. Suprunchuk, C.H. Bauley, *Canadian Journal of Chemistry*, **1945**, vol. 43; b) Jensen, K. A.; *Acta Chem. Scand.*, **1963**, 17, 551-552;
- [69] - a) T. W. Green and P. G. Wuts, *Protective groups in organic Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Ed., **1999**; b) - Ogilvie, K. *Canadian Journal of Chemistry*, **1973**, 3, 3799-3807;
- [70] - Patente: AxoGlia Therapeutics S.A.1316 Luxembourg (LU). EP 2 112 145 A1.
- [71] - C. Avendaño, J.C. Menéndez, *Medicinal Chemistry of anticancer drugs*, Elsevier, 1<sup>st</sup> Ed., **2008**;
- [72] - R. H. Bradbury, *Cancer in Topics in medicinal chemistry*, Springer-verlag, Berlin Heidelberg, vol.1, 1<sup>st</sup> Ed, **2007**;
- [73] - Seela, F.; Mittelbach, C.; *Nucleosides and Nucleotides*, **1999**, 18, 10, 2285-2291;
- [74] - a) [www.macmillan.org.uk/Cancerinformation/Cancertreatment/Treatmenttypes/Chemotherapy/Individualdrugs/Fluorouracil.aspx#DynamicJumpMenuManager\\_6\\_Anc](http://www.macmillan.org.uk/Cancerinformation/Cancertreatment/Treatmenttypes/Chemotherapy/Individualdrugs/Fluorouracil.aspx#DynamicJumpMenuManager_6_Anc)

hor\_1      acedido      a      17      de      Setembro      de      2010.  
b) [http://www.macmillan.org.uk/Cancerinformation/Cancertreatment/Treatmenttypes/Chemotherapy/Individualdrugs/Gemcitabine.aspx#DynamicJumpMenuManager\\_6\\_Anchor\\_1](http://www.macmillan.org.uk/Cancerinformation/Cancertreatment/Treatmenttypes/Chemotherapy/Individualdrugs/Gemcitabine.aspx#DynamicJumpMenuManager_6_Anchor_1)      acedidoa a 17 de Setembro de 2010.

[75] - Jeong, L. S.; Tosh, D. K.; Choi, W. J.; Lee, S. K.; Kang, Y.; Choi, S.; Lee, J. H.; *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 5303-5306;

[76] - Maeda, M.; Abiko, N.; Sasaki, T.; *J. Med. Chem.*, **1981**, 24,167-169;

[77] - Sadzuka, Y.; Mochizuki, E.; Takino, Y.; *Toxicol. Lett.*, **1995**, 75, 39-49;

[78] - Shiue, C.; Chu, S.; *J. Org. Chem.*, **1975**, 40, 2971-2975;

[79] - Patente: Nippon Shianyaku Co, Ld, US5703224 (**1997**);

[80] - Qui, Y.; *Zemlicka, J.; Nucleosides & Nucleotides*, **1999**, 18, 2285-2300;

[81] - Molyneux, P.; *Journal of Food Science and Technology*, **2004**, 26, 211-219;

[82] - D. D. Perrin, W. L. F. Armarego, D. R. Perrin, *Purification of Laboratorial Chemicals*, Pergamon press, Oxford, **1980**;

Os resultados obtidos no presente trabalho foram apresentados sob a forma de póster:

M. Matilde Marques, Inês L. Martins, Catarina Charneira, Abel J.S.C. Vieira, Alexandra M.M. Antunes." Microwave-based methodology for the preparation of organoselenium compounds" (ORG 996) 240th ACS National Meeting, Boston, MA **2010**.